



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0701016-8 B1



* B R P I 0 7 0 1 0 1 6 B 1 *

(22) Data do Depósito: 03/05/2007

(45) Data de Concessão: 26/10/2021

(54) Título: MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANALGÉSICA, SEDATIVA E ADJUVANTE DE ANESTÉSICOS

(51) Int.Cl.: C07D 233/72; A61K 31/4166; A61P 25/04; A61P 25/20.

(73) Titular(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO.

(72) Inventor(es): IVAN DA ROCHA PITTA; MARIA DO CARMO ALVES DE LIMA; TERESINHA GONÇALVES DA SILVA; GISELE ZAPATA SUDO; ROBERTO TAKASHI SUDO; SUELY LINS GALDINO.

(57) Resumo: MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANALGÉSICA, SEDATIVA E ADJUVANTE DE ANESTÉSICOS. A presente invenção é relativa a uma nova série de substâncias da série 3-benzil-imidazolidina-2,4-diona substituída nas posições orto do anel benzílico por halogênios como exemplificado para a molécula codificada LPSF-PT-31, 3-(2-cloro-6-fluor- benzil)-imidazolidina-2,4-diona, GIRSIJAPAN e seu uso terapêutico enquanto fármacos dotados de efeitos analgésico, sedativo e adjuvante de anestésicos.

“MOLÉCULAS COM ATIVIDADE ANALGÉSICA, SEDATIVA E ADJUVANTE DE ANESTÉSICOS”

A presente invenção é relativa a uma nova série de compostos químicos, 3-benzil-imidazolidina-2,4-diona substituído nas posições 2 e 6 do
5 anel benzílico por halogênios como exemplificado para a molécula codificada LPSF-PT-31, GIRSUPAN e seu uso terapêutico enquanto fármacos dotados de efeitos analgésico, sedativo e adjuvante de anestésicos.

Sabe-se que a dor é tratada farmacologicamente por meio de uso de substâncias analgésicas e antiinflamatórias não esteroideal (AINES), como o
10 ácido acetil salicílico, cuja ação localiza-se preferencialmente em focos periféricos, e os analgésicos de ação sobre o sistema nervoso central. Os AINES são grupos de fármacos de amplo uso clínico, boa aceitabilidade e reduzida incidência de efeitos adversos graves. Os AINES são altamente eficazes no controle da dor periférica somática principalmente quando
15 acompanhada de processo inflamatório. Em função de seu mecanismo de ação fundamentado na inibição das enzimas cicloxigenase 1 (Vane, J.R., Nature New Biology, 2001, 231:232-235) e cicloxigenase 2 (Xie et al., PNAS, 1991, 88:2692-2696) a sua eficácia para tratamento de dor de alta intensidade, em forma de cólica, compressão, visceral, traumática ou central é
20 limitada. A vitrine terapêutica para esta modalidade de dor é ainda pequena. O grupo farmacológico indicado para dor de grande intensidade é o opióide cujo protótipo é a morfina e mesmo dentro deste grupo, as opções para dores de maior duração são reduzidas. O uso de morfina e seus análogos, mesmo em doses terapêuticas, não são dissociados de inúmeros efeitos adversos,

como náuseas, vômitos, prurido e depressão respiratório, que freqüentemente impede a continuidade do tratamento. Nos últimos anos tem-se preconizado o uso de uma nova modalidade terapêutica que consiste na aplicação simultânea de substâncias adjuvantes cujo objetivo é potencializar a atividade do principal fármaco. Em última análise a substância adjuvante aumentaria não só a eficiência, como também, a duração do efeito da morfina. A grande vantagem terapêutica da associação com a substância adjuvante é a redução da dose e da freqüência de administração do principal fármaco ativo diminuindo com isto, os efeitos adversos. Além da possibilidade de potencializar o efeito analgésico de fármacos tipo morfina, a substância adjuvante também potencializa a intensidade e duração da anestesia induzida pela administração de anestésicos locais por via tecal, procedimento este comum para a execução de cirurgias da região abdominal inferior e para a analgesia de pacientes com dor crônica. O grupo de fármacos que tem se consolidado como agentes adjuvantes são os agonistas alfa-2 adrenérgicos cujo protótipo é a clonidina. A eficácia analgésica dos agonistas alfa-2 adrenérgicos per se é menor do que a da morfina, porém, a capacidade de prolongar e potencializar a atividade analgésica são grandes (Salmenperä et al., *Anesthesiology* 1994, 80:837). Uma outra importante propriedade farmacológica inerente aos agonistas alfa-2 adrenérgicos é a atividade sedativa-hipnótica (Segal et al., *Anesthesiology* 1988, 69:818-823). A eficácia hipnótica não é comparável a dos anestésicos gerais venosos como os barbitúricos, entretanto, são extremamente eficazes como agentes pré-anestésicos e adjuvantes dos anestésicos gerais venosos (Richards et al. Br. J.

Anaesth., 1990, 65:157-163) e inalatórios (Flack et al., Anesthesiology 1987, 67:11-19). A restrição, que é freqüentemente relatada com uso de agonistas alfa-2 adrenérgicos, é a hipotensão arterial em função de sua ação em áreas do sistema nervoso central de fundamental importância fisiológica na regulação da pressão arterial (Kubo e Misu, Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol., 1981, 317:120-125). Esta propriedade é conhecida há vários anos, antes mesmo dos agonistas alfa-2 adrenérgicos ser descritos como analgésico e sedativo. Por este motivo a clonidina é classificada nos livros clássicos de farmacologia como fármaco anti-hipertensivo. Se de um lado é benéfico o uso de agonistas alfa-2 adrenérgicos como substância adjuvante analgésico-hipnótico, por outro lado existe a possibilidade de provocar efeitos adversos como a hipotensão arterial indesejável. Em função do exposto, a descoberta de análogos ou um grupo químico-farmacológico novo que mantivesse as propriedades da clonidina, sem, entretanto, provocar os efeitos adversos cardiovasculares seria importante terapeuticamente.

A descoberta de novos protótipos com propriedade analgésica de ação central e com perfil adjuvante na anestesiologia tem enorme apelo médico em vista da limitação de substâncias com estas características. Na prática clínica, fármacos com este perfil estão limitados a clonidina (Jarrott B. et al. USP 4,094,964, 1978) e mais recentemente a um dos isômeros da medetomidina denominado dexmedetomidina (Kalso E. et al., USP 5,091,402, 1992) ambos com ação agonística no receptor alfa-2 adrenérgicos.

A presente descoberta apresenta uma nova série de substâncias com perfil analgésico e sedativo cujos efeitos resultam da estimulação do receptor

alfa-2 adrenérgico, comprovada pela completa reversão de seus efeitos pelo antagonista específico, ioimbina. Parte do efeito farmacológico é também antagonizada pela naloxona um antagonista de receptor opióide, porém, a dimensão deste antagonismo é inferior a da ativação do receptor alfa-2
5 adrenérgico. A dualidade de ação de um fármaco é fato bastante conhecido na atualidade em função da homologia significativa entre os alvos receptores e, ainda, pela integração da rede neuronal que controlam diversas funções, principalmente no processo da modulação da atividade nociceptiva .

As substâncias desenvolvidas e preparadas conforme esta invenção, é
10 caracterizada por possuir o núcleo imidazolidina-2,4-diona substituído na posição 3 deste anel heterocíclico por um radical benzílico apresentando dois substituintes X e Y em posições orto do anel fenílico, podendo ser F, Cl, Br ou I como mostrado na FIGURA 1. Podendo ser na forma de um sal farmacologicamente aceitável, a exemplo do composto 3-(2-cloro-6-fluor-
15 benzil)-imidazolidina-2,4-diona LPSF-PT-31, GIRSUPAN apresentando os átomos de cloro e flúor em posição X e Y, os quais potencializam as atividades constatadas. No procedimento experimental de preparação do ca molécula 3-(2-cloro-6-fluor-benzil)-imidazolidina-2,4-diona LPSF-PT-31, GIRSUPAN utilizou-se uma mistura equimolar de imidazolidina-2,4-diona
20 C₃H₄N₂O₂ CAS 461-72-3 e 2-cloro-6-fluor-benzil-cloreto C₇H₅ClF CAS 127654-74-4 dissolvidos em etanol na presença de uma quantidade suficiente de hidróxido de sódio necessária na formação do sal de sódio da imidazolidina-2,4-diona. A mistura reacional é aquecida e a formação do LPSF-PT-31 é acompanhada cromatografia de camada fina. Ao final da

reação o produto formado é filtrado e purificado por cromatografia em coluna de sílica no sistema n-hexano:acetato de etila 8:2. O 3-(2-cloro-6-fluor-benzil)-imidazolidina-2,4-diona $C_{10}H_8ClFN_2O_2$, apresentou um rendimento de 36 % e um ponto de fusão de 155-156 °C. A comprovação estrutural do LPSF-PT-31 sintetizado foi realizada pelos espectros de infravermelho registrados em aparelho IFS 66 Bruker, em pastilha de KBr, pelos espectros de ressonância magnética nuclear protônica efetuados em um aparelho espectrofotômetro Bruker AC 300 P, utilizando o $DMSO_{d6}$ como solvente e pelo espectro de massas, sobre impacto eletrônico a 70eV registrados em um aparelho HP 5987. As características espectroscópicas no infravermelho e ressonância magnética nuclear de protons do LPSF-PT-31 preparado estão de acordo com a estrutura. Na espectrometria de massa as fragmentações observadas e a intensidade dos picos dos isótopos após impacto eletrônico encontram-se igualmente em acordo com a estrutura proposta. Do ponto de vista biológico este composto LPSF-PT-31 GIRSUPAN apresenta uma atividade farmacológica analgésica central e sedativa. A analgesia foi constatada por meio de teste específico denominado de teste em Placa Quente (Hot Plate) modelo validado para localizar ações de fármacos no sistema nervoso central. Inúmeras substâncias com interação a este nível podem ser identificadas por este teste, dentre elas, os opióides, cujo protótipo de maior relevância é a morfina, que ainda tem reconhecido espaço na terapêutica da dor e os agonistas alfa-2 adrenérgicos, cujo protótipo é a clonidina. A atividade analgésica central do GIRSUPAN comprovada nesta invenção foi totalmente revertida pela ioimbina, substância esta catalogada como

17

antagonista com especificidade sobre os receptores alfa-2 adrenérgicos (Calasans-Maia et al. J Pharm Pharmacol 2005, 57). Em termos práticos a reversão do efeito pela ioimbina indica que o GIRSUPAN exerce as suas ações analgésicas interagindo com o receptor alfa-2 adrenérgicos. A atividade sedativa foi comprovada pela medida da redução dos movimentos dos animais após a administração do GIRSUPAN usando para isto equipamento específico. A exemplo da observação em modelo de Placa Quente, a atividade inibitória dos movimentos foi totalmente antagonizada pela ioimbina reforçando ainda mais a hipótese de que o GIRSUPAN exerce seus efeitos interagindo e estimulando o receptor alfa-2 adrenérgico. A dualidade de efeito do GIRSUPAN não parece ser conseqüente a interação em dois sítios de ação, uma vez que os dois efeitos foram antagonizados pela ioimbina e sim, no mesmo sítio localizado em diferentes áreas de conexão do sistema nervoso central. É conhecida a vasta distribuição de receptores alfa-2 adrenérgicos sendo, a nível espinhal, relacionado à propriedade regulatória da dor e a nível mais elevado, principalmente no núcleo coeruleus, à propriedade sedativa (Correa-Sales et al., Anesthesiology 1992, 76:948).

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANALGÉSICA CENTRAL:

A atividade analgésica foi investigada em camundongos suíços, machos pesando entre 18 e 24 gramas por meio da técnica denominada Placa Quente Teste (Kuraishi et al., Brain Res. 1983, 245-252). Este modelo experimental é indicado quando se deseja investigar a atividade de substâncias que inibem a resposta a estímulo doloroso com ação no sistema nervoso central. Utilizando equipamento específico (“Analgesic Meter” –

Letica LE 7406) os animais foram posicionados sobre uma placa aquecida a uma temperatura constante de 52° C. Quando o limiar de dor era alcançado os animais levantavam as patas dianteira seguida de lambedura no sentido de esfriar as mesmas. O tempo entre o posicionamento dos animais sobre a placa e a retirada da pata era anotado, e este tempo denominado de latência em resposta ao estímulo doloroso. O tempo máximo de permanência dos animais sobre a placa quente ("cut off") era três vezes a média das latências medidas no controle, ou seja, sem tratamento com qualquer fármaco. A retirada após este tempo era importante para preservar a região plantar dos animais. O efeito analgésico de substâncias em teste era transformado em um índice chamado de atividade analgésica (%AA) (Kuraishi et al., Brain Res. 1983, 245-252) usando a equação: $\%AA = ((\text{latência pós-tratamento}) - (\text{latência controle})) / ((\text{"cut off"}) - (\text{latência controle})) \times 100$. O protocolo utilizado para testar o efeito analgésico na molécula exemplificada 3-(2-cloro-6-fluor-benzil)-imidazolidina-2,4-diona LPSF-PT-31, GIRSUPAN, consistiu na comparação da sua AA em relação ao controle (antes da administração da substância) após a administração por via intraperitoneal (i.p.) na dose de 10 mg.kg⁻¹. Em outro grupo experimental, o dimetilsulfóxido (DMSO), diluente utilizado para solubilizar o GIRSUPAN foi administrado pela via i.p. tomando-se o cuidado de injetar o mesmo volume da substância teste. Estabelecida a latência na ausência de qualquer tratamento, DMSO e o GIRSUPAN foram injetados pela via i.p. e os animais foram submetidos a reteste na placa quente até completa reversão do efeito analgésico. Os resultados apresentados em forma de gráfico (FIGURA 2) mostram que o

GIRSUPAN aumentou gradativamente a AA atingindo o pico de 60% vinte minutos após a administração. Após o pico, este efeito foi decaindo até desaparecer aos oitenta minutos. O pré-tratamento com a ioimbina (5 mg.kg⁻¹) reverteu completamente a AA induzida pelo GIRSUPAN. Durante o tratamento com o LPSF-PT-31 não houve qualquer sinal de toxicidade aguda que colocassem em risco a viabilidade dos animais. Deste modo esta figura mostra a atividade analgésica induzida pela administração intraperitoneal da substância 3-(2-cloro-6-fluor-benzil)-imidazolidina-2,4-diona LPSF-PT-31, GIRSUPAN, (10 mg.kg⁻¹) medida pela técnica de Placa Quente em camundongos. Note que a analgesia provocada pelo LPSF-PT-31 aumentou gradativamente em função do tempo alcançando o máximo em 15 minutos após a administração. No pico, a atividade analgésica foi de aproximadamente de 60% decaindo gradativamente a partir de 40 minutos até desaparecer aos 80 minutos. Tratamento prévio com a ioimbina (5 mg.kg⁻¹), antagonista do receptor alfa-2 adrenérgico, aboliu por completo a atividade analgésica do LPSF-PT-31.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE SEDATIVA:

A atividade sedativa do 3-(2-cloro-6-fluor-benzil)-imidazolidina-2,4-diona LPSF-PT-31, GIRSUPAN, foi investigada em camundongos suíços, machos pesando entre 18 e 24 gramas com auxílio de um equipamento denominado "Motor Activity Monitor" (Letica LE 8811). Este equipamento é constituído de um campo aberto inteiramente monitorado por uma malha de feixes de luz não visível. A contabilização é feita pela interrupção do feixe em função do movimento do animal. Após um período de adaptação, a

contagem dos movimentos do animal foi realizada durante 20 min por sistema inteiramente automatizado. A redução da atividade motora por este método indica redução da vigília e serve para pesquisar atividade farmacológica de substâncias que inibem a funcionalidade do sistema nervoso central tais como sedativos, hipnóticos, ansiolíticos e anestésicos gerais (Menegatti et al., Bioorg. Med. Chem. 2006, 14:632-640). Em termos de grupos farmacológicos a atividade motora é reduzida pela administração de barbitúricos, diazepínicos, opióides, agonistas alfa-2 adrenérgicos e todos os anestésicos gerais venosos e inalatórios. Ressalta-se que a medida da atividade motora não é específica para uma classe farmacológica, necessitando para isto, tratamento com antagonistas farmacológicos. O pré-tratamento com o GIRSUPAN (10 mg.kg^{-1}) reduziu a atividade motora em cerca de 80% e este efeito foi totalmente revertido pelo pré-tratamento com a ioimbina (5 mg.kg^{-1}) (FIGURA 3). Deste modo a inibição da atividade motora em camundongos induzida pelo GIRSUPAN em administração intraperitoneal de. O GIRSUPAN, LPSF-PT-31, (10 mg.kg^{-1}) reduziu 90-95% da atividade motora e este efeito foi totalmente abolido pelo pré-tratamento com o antagonista alfa-2 adrenérgico ioimbina (5 mg.kg^{-1}). Estes resultados indicam que a molécula exemplificada provoca sedação por interação com receptores alfa-2 adrenérgicos.

REIVINDICAÇÕES

- 1) Composto, **caracterizado por** apresentar um núcleo imidazolidina-2,4-diona di-substituído por halogênios nas posições orto do anel fenílico, sendo que o composto em questão é 3-(2-X-6-X-benzil)-imidazolidina-2,4-diona, onde X e Y podem ser flúor, cloro, bromo ou iodo, de maneira independente.
- 2) Composição farmacêutica, de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizado por** compreender o composto 3-(2-X-6-Y-benzil)-imidazolidina-2,4-diona, onde X e Y podem ser flúor, cloro, bromo ou iodo, de maneira independente, na forma de um sal farmacologicamente aceitável.
- 3) Composição farmacêutica, **caracterizada por** compreender o composto da Reivindicação 1, para ser usado como sedativo, hipnótico, analgésico, podendo ser empregado como adjuvante em anestésias locais e gerais.

FIGURAS

FIGURA 1

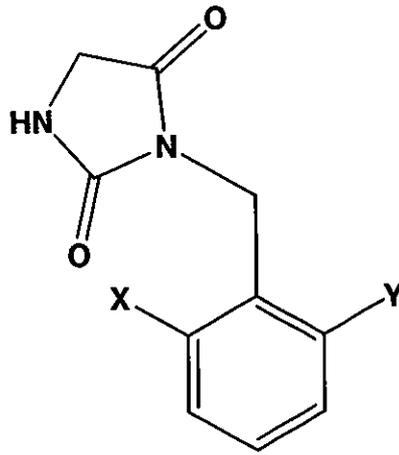


FIGURA 2

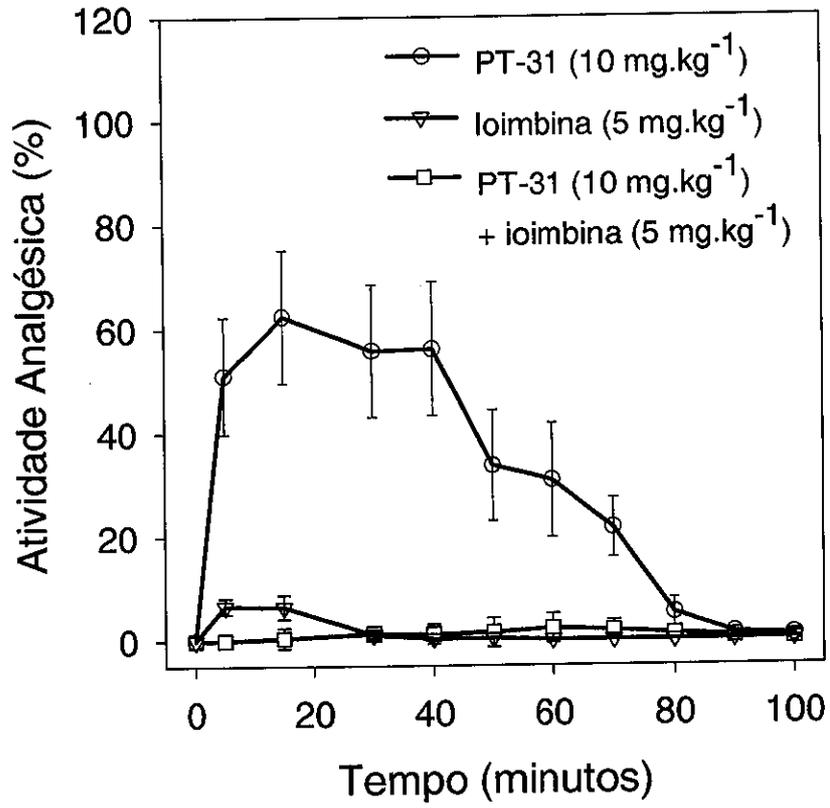


FIGURA 3

