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

(21) BR 102019005011-0 A2

(22) Data do Depósito: 14/03/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 29/09/2020

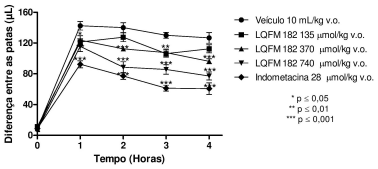
(54) Título: USO DOS DERIVADOS (4-R-PIPERAZIN-1-IL)(1-W-FENIL-1H-PIRAZOL-4-IL)METANONA COMO ANALGÉSICOS E/OU ANTI-INFLAMATÓRIOS E SAIS FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEIS, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO OS MESMOS E PROCESSOS DE PREPARAÇÃO

(51) Int. Cl.: A61K 31/4155; A61P 29/00; C07D 207/02.

(71) Depositante(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS.

(72) Inventor(es): RICARDO MENEGATTI; MARIZE CAMPOS VALADARES; LUCIANO MORAIS LIÃO; DANIEL DA COSTA BATISTA; DAIANY PRISCILLA BUENO DA SILVA; ELSON ALVES COSTA; IZIARA FERREIRA FLORENTINO.

(57) Resumo: São descritos processos e o uso dos derivados (4-r-piperazin-1-il)(1-w-fenil-1h-pirazol-4-il) metanona como analgésicos e/ou anti-inflamatórios e sais farmaceuticamente aceitáveis, composições farmacêuticas contendo os mesmos e processos de preparação, que atuam como compostos analgésicos e anti-inflamatórios, com ação em modelos de inflamação, sendo portanto úteis no tratamento de dores agudas e de doenças inflamatórias. Foi verificado que o composto LQFM182 (1) apresenta baixa toxicidade quando administrado em cultura celular. Neste estudo também são descritas composições farmacêuticas contendo os referidos compostos e sais farmaceuticamente aceitáveis, processos para sua preparação, bem como ferramenta farmacológica.



USO DOS DERIVADOS (4-R-PIPERAZIN-1-IL)(1-W-FENIL-1*H*-PIRAZOL-4-IL)METANONA COMO ANALGÉSICOS E/OU ANTI-INFLAMATÓRIOS E SAIS FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEIS, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO OS MESMOS E PROCESSOS DE PREPARAÇÃO

CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A presente invenção é relacionada aos derivados do núcleo (4-R-piperazin-1-il)(1-W-fenil-1*H*-pirazol-4-il)metanona, mais particularmente aos derivados heterocíclicos e sais farmaceuticamente aceitáveis. Ainda mais particularmente, a presente invenção relaciona-se com o derivado (4-metilpiperazin-1-il)(1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)metanona-LQFM182 (**1**) e sais farmaceuticamente aceitáveis, opcionalmente substituídos, e seus isósteros, de acordo com a fórmula geral (I), a um processo para sua preparação, as composições farmacêuticas contendo os mesmos e a seu uso como agentes terapêuticos analgésicos e anti-inflamatórios, particularmente no tratamento de doenças inflamatórias crônicas, bem como seu uso como ferramenta farmacológica.

Antecedentes da Invenção

Mercado farmacêutico global

[002] O mercado farmacêutico global movimentou, em 2014, aproximadamente $ 1,057 trilhões de dólares (Total Unaudited and Audited Global Pharmaceutical Market 2005 – 2014. Disponível em: http://www.imshealth.com/files/web/Corporate/News/Top-Line%20Market%20Data/2014/World%20figures%202014.pdf. Acesso em: 12 de maio de 2016) e liderando esse ranking encontra-se a América do Norte responsável por 38,4% deste montante o que corresponde a $ 406 bilhões do dólares, seguida pela Europa com aproximadamente 22,9% (US $ 243 bilhões), Ásia, África e Austrália com 19% (US $ 201,5 bilhões), Japão com 8,3% (US $ 88 bilhões) e América Latina com 7,1% (US $ 75,5 bilhões)

(http://www.imshealth.com/files/web/Corporate/News/Top-Line%20Market%20Data/Global%20Prescription%20Sales%20Information5%20World%20figures%20by%20Region%202015-2019.pdf. (Total Unaudited and Audited Global Pharmaceutical Market 2005 – 2014. Disponível em: Acesso em: 12 de maio de 2016).

[003] Dentre os dez fármacos que mais faturaram em 2014 tem-se na 1ª, 5ª, 8ª e 10ª posição os anticorpos monoclonais, alalimumab (Humira®), etanercept (Enbrel®), infliximab (Remicade®) e rituximab (Mabthera®), respectivamente, que atuam inibindo o fator de necrose tumoral alfa (TNF-α), utilizados principalmente no tratamento da artrite reumatoide, e na 6ª posição encontra-se a associação fluticasona + salmeterol (Seretide®) empregado na terapêutica como antiasmático (Top 20 Global Produtcs 2014. Disponível em: http://www.imshealth.com/files/web/Corporate/News/Top-Line%20Market%20Data/2014/Top_20_Global_Products_2014.pdf. Acesso em: 12 de maio de 2016). Apenas estes cinco medicamentos somados representam cerca de US $ 43,6 bilhões o que corresponde aproximadamente a uma fatia de 4,2% de todo o mercado farmacêutico global. Do mesmo modo, observando-se as dez classes terapêuticas que mais faturaram em 2014, observa-se na 3ª e 6ª posições as classes dos analgésicos e antiasmáticos que juntas faturaram cerca de US $ 99,2 bilhões o que corresponde a 9,38% do montante total movimentado pelo mercado farmacêutico global em 2014 (Top 20 Global Therapy Areas 2014. Disponível em: http://www.imshealth.com/files/web/Corporate/News/Top-Line%20Market%20Data/2014/Top_20_Global_Therapy_Classes_2014.pdf. Acesso em: 12 de maio de 2016).

[004] No ano de 2014 um relatório foi publicado, pela revista *Pharmaceutical Research and Manufacturers of America (*PHARMA*)*, com um total de 100 novos candidatos a protótipos de fármacos anti-inflamatórios que se encontram nas diversas fases de estudo clínicos sendo três entidades farmacológicas para artrite juvenil, cinco para gota, cinco para espondilite anquilosante, sete para artrite psoriática, dez para osteoartrite, 15 para dores

musculoesqueléticas e 55 para artrite reumatóide (Medicines in Development Arthritis – A Reporto n Arthritis and Related Musculoskeletal Diseases. 2014. Disponível em: http://www.phrma.org/sites/default/files/pdf/2014-meds-in-dev-arthritis.pdf. Acesso em: 12 de maio de 2016).

Aspectos relativos à inflamação

[005] O processo inflamatório é definido por ser uma reação benéfica, dinâmica e adaptativa de proteção frente a qualquer agente agressor, seja ele de natureza física, química ou biológica, visando a neutralização do mesmo bem como o reparo do tecido afetado seja, por regeneração ou cicatrização (KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C.; Robbins Patologia Básica. 2013. Rio de Janeiro: Ed. Elsevier, 9ª edição). É caracterizado pela produção de biomoléculas pró-inflamatórias, conhecidas como mediadores pró-inflamatórios, que irão promover a saída de proteínas, plasma e células imunológicas do sangue para o tecido lesado que em conjunto resultarão no surgimento dos “sinais cardinais” da inflamação conhecidos como dor, calor, rubor, edema e caso não haja a devida resolução deste processo o mesmo poderá resultar na perda da função do tecido afetado (MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. Nature, 2008, v. 454, p. 428-435).

[006] O início do processo inflamatório ocorre com o reconhecimento dos agentes invasores pelas células da imunidade inata residentes no tecido afetado que, devido a seus receptores do tipo *Toll like* (TLR), reconhecem componentes moleculares presentes nestes agentes, os chamados padrões moleculares associados a patógenos (PAMP’s) (KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C.; Robbins Patologia Básica. 2013. Rio de Janeiro: Ed. Elsevier, 9ª edição). Após esse reconhecimento inicial, processos bioquímicos intracelulares são desencadeados resultando na síntese e/ou liberação de vesículas contendo mediadores pró-inflamatórios, como a imediata liberação de aminas vasoativas previamente formadas, como a histamina e a serotonina (5-HT) pelos mastócitos, a maior produção e liberação de produtos de degradação do ácido araquidônico (AA), dentre eles, os eicosanoides como as prostaglandinas (PG’s) e os leucotrienos (LT’s), a produção das cininas,

bradicinina e calidina, a partir do cininogênio, a produção e liberação de neuropeptídios como a substância P e o *calcitonin gene-related peptide* (CGRP), bem como a síntese de citocinas como o TNF-α e IL-1β que serão responsáveis por dar início ao recrutamento celular dentre outros mediadores (ASHLEY, N. T.; WEIL, Z. M.; NELSON, R. J.; Inflammation: Mechanisms, cost, and natural variation. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 2012, v. 43, p. 385-406). Estes eventos podem ser úteis, juntamente com o padrão celular predominante e o tempo de duração, como critérios utilizados para a classificação em um processo como agudo ou crônico (LAWRENCE, T.; WILLOUGHBY, D. A.; GILROY, D. W.; Anti-inflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation. Nature Reviews Immunology, 2002, v. 2, p. 787-795).

[007] As citocinas pró-inflamatórias, principalmente o TNF-α e a IL-1β, apesar de não serem os primeiros mediadores produzidos e secretados no processo, irão promover, dentre outros efeitos, a expressão de moléculas de adesão tanto endoteliais quanto celulares, as selectinas e integrinas, sendo responsáveis pela rolagem e adesão fraca ao endotélio bem como pela adesão forte e migração celular do sangue para o tecido, respectivamente (KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C.; Robbins Patologia Básica. 2013. Rio de Janeiro: Ed. Elsevier, 9ª edição). Ambas as famílias são representadas por glicoproteínas, sendo a primeira formada pela P-selectina (CD62P) e E-selectina (CD62E) expressas, em sua grande maioria, na superfície das células endoteliais, porém, a presença do CD62P é constitutiva tanto nas plaquetas quanto nos corpúsculos de *Weibel-Palade* endoteliais tendo a sua expressão elevada durante o processo inflamatório (KELLY, M.; HWANG, J. M.; KUBES, P.; Modulating leukocyte recruitment in inflammation. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2007, v. 120, p. 3-10) que irão promover a ancoragem do leucócito se ligando ao tetrasacarídeo expresso na superfície leucocitária denominada *Sialyl-Lewis* X e L-selectina (CD62L), a qual é expressa na superfície leucocitária e será responsável pela ligação com a glicoproteína *Glycosylation-dependent cell adhesion molecule-1* (Gly-CAM 1) endotelial[6]. Já

a segunda é representada, majoritariamente, pelas integrinas endoteliais *Intercellular adhesion molecule 1* (ICAM-1) e *Vascular cell adhesion molecule 1* (VCAM-1) cuja ligação às integrinas leucocitárias *Lymphocyte function-associated 1* (LFA-1) ou *Macrophage-1 antigen* (MAC-1) e *Very late antigen-4* (VLA-4), respectivamente, promoverá a diapedese (KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C.; Robbins Patologia Básica. 2013. Rio de Janeiro: Ed. Elsevier, 9ª edição).

[008] Outros mediadores são as cininas, a bradicinina (BK) e a calidina, as quais são produtos nonapeptídicos e decapepitídicos, respectivamente, derivados da clivagem enzimática do cininogênio de alto peso molecular pela calicreína e ambos possuem atividade agonista sob os receptores B_2, receptores estes que, quando ativados, promovem a estimulação dos neurônios nociceptores primários resultando assim no surgimento da dor (COUTURE, R. *et al*.; Kinin receptors in pain and inflammation. European Journal Pharmacology, 2001, v. 429, p. 161-176).

[009] Já os neuropeptídios, dentre eles a substância P, um undecapeptídeo, GCRP e as neuromicinas A e B estão intimamente relacionados com o início da inflamação neurogênica bem como com o início de processos hiperálgicos (COUTURE, R. *et al*.; Kinin receptors in pain and inflammation. European Journal Pharmacology, 2001, v. 429, p. 161-176).

[010] Os produtos de metabolismo do ácido araquidônico (AA), em sua grande maioria, também são importantes mediadores pró-inflamatórios (Grosser, T., Smyth, E., FitzGerald, G. A. Agentes anti-inflamatórios, antipiréticos e analgésicos; farmacoterapia da gota. In Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. 2012. Brunton, L. L.; Chabner, B. A.; Knollman, B. C. Porto Alegre, AMGH Editora, 12ª ed.). O AA, estruturalmente caracterizado por ser um ácido carboxílico contendo 20 carbonos com quatro instaurações (Δ 5, 8, 11, 14), permanece inicialmente esterificado aos fosfolipídios de membrada e, sob ação da enzima fosfolipase A_2 (PLA_2), sofre hidrólise regioseletiva para ser liberado no citoplasma celular (HARIZI, H.; CORCUFF, J.; GUALDE, N.; Arachidonic-acid-derived eicosanoids: roles in

biology and immunopathology. Cell, 2008, v. 14, n. 10, p. 461-469). O ácido araquidônico livre no citoplasma estará disponível para sofrer a ação de diversas enzimas, dentre elas se encontram as duas isoformas da cicloxigenase (COX) conhecidas como COX-1 e COX-2, as quais serão responsáveis pela produção de diversas prostaglandinas (PG's), de prostaciclina (PGI_2) e de tromboxanos (TX's) (HARIZI, H.; CORCUFF, J.; GUALDE, N.; Arachidonic-acid-derived eicosanoids: roles in biology and immunopathology. Cell, 2008, v. 14, n. 10, p. 461-469). As enzimas 5-lipoxigenase (5-LOX), 12-lipoxigenase (12-LOX) e 15-lipoxigenase (15-LOX) serão responsáveis pela produção de leucotrienos (LT's), ácido 12-hidroxieicosatetraenoico (12-HETE) e lipoxinas (LX's), respectivamente, sendo estes últimos mediadores anti-inflamatórios (CAMPBELL, W. B.; FALCK, J. R.; Arachidonic acid metabolites as endothelium-derived hyperpolarizing factors. Hypertension, 2007, v. 49, p. 590-596). As enzimas do complexo citocromo P450 (CYP450), irão promover a biossíntese de ácidos epoxieicosatrienoicos (EET's) bem como de ácido 20-hidroxieicosatetraenoico (20-HETE) (SACERDOTI, D.; GATTA, A.; MCGIFF, J. C.; Role of cytochrome P450-dependent arachidonic acid metabolites in liver physiology and pathophysiology. Prostaglandins & other Lipid Mediators, 2003, v. 72, p. 51-71). A partir do ácido araquidônico há também a possibilidade da produção de canabinoides endógenos cujo principal representante desta classe é a *N*-araquidoniletanolamida também conhecida como anandamida, que, via agonismo dos receptores de canabinoides tipo 1 (CB_1), promove tanto ações anti-inflamatórias quanto analgésicas (OKAMOTO, Y.; Biosynthetic pathways of the endocannabinoid anandamide. Chemistry & Biodiversity, 2007, v. 4, p. 1842-1857). Em conjunto, todos os produtos de metabolismo do AA dão origem a chamada cascata do ácido araquidônico (Grosser, T., Smyth, E., FitzGerald, G. A. Agentes anti-inflamatórios, antipiréticos e analgésicos; farmacoterapia da gota. In Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. 2012. Brunton, L. L.; Chabner, B. A.; Knollman, B. C. Porto Alegre, AMGH Editora, 12ª ed.).

[011] A isoenzima COX-1 é de expressão constitutiva estando amplamente distribuída em todo o organismo e é responsável pela produção de níveis basais de prostanoides que são necessários à manutenção de processos fisiológicos essenciais, como a citoproteção gástrica, relacionada à prostaglandina E_2 (PGE_2), a vasoconstrição e a agregação plaquetária relacionadas ao tromboxano A_2 (TXA_2), a vasodilatação bem como o potencial anti-agregante plaquetário relacionados à PGI_2 e inúmeros outros eventos (MEEK, I. L.; VAN DE LAAR, M. A. F. J.; VONKEMAN, H. E.; Non-steroidal anti-inflammatory drugs - an overview of cardiovascular risks. Pharmaceuticals, 2010, v. 3, p. 2146-2162). Já a isoforma majoritariamente induzida, COX-2, está presente constitutivamente em regiões como o cérebro e arteríolas renais, sendo responsável pela manutenção do fluxo sanguíneo local devido à constante produção de PGI_2 (MELGAÇO, S. S. C. *et al*.; Nefrotoxicidade dos anti-inflamatórios não esteroidais. Medicina (Ribeirão Preto), 2010, v. 43, n. 4, p. 382-390), e durante o processo inflamatório ocorre uma super-expressão da mesma devido a ação de citocinas pró-inflamatórias secretadas pelas células imunitárias, em especial as citocinas TNF-α e IL-1β (HARRIS, S. G. et al.; Prostaglandins as modulators of immunitu. Trends in Immunology, 2002, v. 23, n. 3, p.144-150). Ambas as isoenzimas, em suas atividades de cicloxigenase, convertem o AA a um endoperóxido cíclico, a prostaglandina G_2 (PGG_2), que por sua vez sofre ação da atividade de peroxidase das mesmas enzimas resultando na formação de um novo endoperóxido cíclico, a prostaglandina H_2 (PGH_2), que difere de seu precursor apenas no grupamento hidroxila ligado ao átomo de carbono 15 de sua molécula. Posteriormente, sob ação das respectivas sintetases, haverá a formação da PGE_2 e da prostaglandina D_2 (PGD_2), caracterizadas por serem isômeros constitucionais variando entre si apenas na posição dos grupos carbolina e hidroxila alternados entre os carbonos 9 e 11 de suas estruturas, da prostaciclina (PGI_2), da prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) e do tromboxano A_2 (TXA_2). Já a formação da prostaglandina J_2 (PGJ_2) bem como do tromboxano B_2 (TXB_2), são processos não enzimáticos nos quais a PGD_2 sofre uma desidratação intramolecular, a qual resultará na

perda do grupo hidroxila do carbono 9 levando à formação de uma insaturação, e o TXA_2 sofrerá uma hidratação intramolecular no átomo de carbono 11, levando à hidrólise do éter cíclico a qual resultará a formação de um diol, levando à produção da PGJ_2 e do TXB_2 (Grosser, T., Smyth, E., FitzGerald, G. A. Agentes anti-inflamatórios, antipiréticos e analgésicos; farmacoterapia da gota. In Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. 2012. Brunton, L. L.; Chabner, B. A.; Knollman, B. C. Porto Alegre, AMGH Editora, 12ª ed.).

[012] As enzimas 5-LOX, 12-LOX e 15-LOX são responsáveis pela produção de outros derivados do AA que também desempenham importantes papéis no processo inflamatório. Dentre eles, estão os produtos trihidroxitetraênicos resultantes da atividade da 15-LOX, as lipoxinas (LXA_4 e LXB_4) que promovem a diminuição da ativação e migração de células inflamatórias, diminuição da produção de citocinas *i.e.* TNF-α e IL-1β, leucotrieno B_4 (LTB_4) bem como a produção e liberação de espécies reativas tanto de oxigênio quanto de nitrogênio[34]. Já a 5-LOX, é encarregada da epoxidação inicial da insaturação do carbono 5 do AA resultando na formação do leucotrieno A_4 (LTA_4), onde este último poderá sofrer ação de duas enzimas subsequentes, a LTA_4 hidrolase e LTC_4 sintetase, as quais irão originar o produto de hidrólise do epóxido e a hidratação da insaturação 11 do LTA_4, o LTB_4 e os leucotrienos cisteínicos (LTC_4, LTD_4 e LTE_4), devido à inserção de pequenos peptídeos contendo um resíduo de cisteína (Glu-Cis-Gli para LTC_4, Cis-Gli para LTD_4 e Cis para LTE_4) ao LTA_4, respectivamente (WENZEL, S. E.; The role of leukotrienes in asthma. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 2003, v. 69, p. 145-155). Os leucotrienos representam um grupo de mediadores lipídicos pró-inflamatórios de suma importância, principalmente em processos inflamatórios das vias aéreas como a asma. Os mesmos agravam o quadro fisiopatológico, uma vez que são responsáveis pela broncoconstrição, formação de edema e aumento significativo da produção de muco nas vias aéreas, sintomas estes característicos da asma (WENZEL, S. E.; The role of

leukotrienes in asthma. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 2003, v. 69, p. 145-155).

[013] Há também a possibilidade de o AA ser deslocado para a via das enzimas microssomais levando à produção dos EET's (5,6-EET, 8,9-ETT, 11,12-EET e 14,15-EET), devido à atividade de epoxidação da subfamília CYP2C e CYP2J, e de 20-HETE, pela hidroxilação no carbono 20 da subfamília CYP4A[28,37]. Fisiologicamente os EET's promovem vasodilatação das artérias renais e cerebrais e são dotados de efeitos anti-inflamatórios resultantes da inibição da expressão da molécula de adesão VCAM-1 induzida pelo TNF-α (THOMSON, S. J.; ASKARI, A.; BISHOP-BAILEY, D.; Anti-Inflammatory Effects of Epoxyeicosatrienoic Acids. International Journal of Vascular Medicine, 2012, v. 2012, p. 1-7).

[014] As aminas vasoativas, histamina e a serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT), são os primeiros mediadores pró-inflamatórios liberados durando o início do processo inflamatório, por já encontrarem-se pré-formadas no interior dos grânulos de alguns tipos celulares (KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C.; Robbins Patologia Básica. 2013. Rio de Janeiro: Ed. Elsevier, 9ª edição). A 5-HT, caracterizada estruturalmente como uma indolamina, a qual é biossintetizada, perifericamente, em grande maioria pelas células enterocromafins (EC), a partir do aminoácido *L*-triptofano (Trp) pela ação inicial da enzima triptofano hidroxilase-1 (TPH_1), a qual é encarregada da inserção de um grupo hidroxila no carbono 5 do anel indólico levando à formação do *L*-5-hidroxitriptofano (5-HTP) que, por sua vez, sob a ação da enzima aminoácido aromático descarboxilase (AADC), tem seu grupo carboxila retirado resultando na 5-HT (SHAJIB, M. S.; KHAN, W. I.; The role of serotonin and its receptors in activation of immune responses and inflammation. Acta Physiol, 2015, v. 213, p. 561-574). A 5-HT induz uma vasodilatação resultante da liberação de óxido nítrico (NO) devido à estimulação dos receptores $5\text{-}HT_1$ vasculares e também pode ser armazenada nos grânulos plaquetários e liberada durante lesões vasculares para promover uma vasoconstrição com a finalidade de auxiliar na ativação plaquetária (MOHAMMAD-SADEH, L. F.;

MOSES, L.; GWALTNEY-BRANT, S. M.; Serotonin: A review. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2008, v. 31, p. 187-199).

[015] Já a histamina, outra amina vasoativa, é biossintetizada e armazenada principalmente nos mastócitos e basófilos a partir do aminoácido *L*-histidina (His) o qual tem o seu grupo carboxila removido pela ação da enzima *L*-histidina descarboxilase (PARSONS, M. E.; GANELLIN, C. R.; Histamine and its receptors. British Journal of Pharmacology, 2006, v. 147, p. 127-135). A histamina desempenha, dentre outras funções, um importante papel na manutenção do processo inflamatório (THURMOND, R. L.; GERFAND, E. W.; DUNFORD, P. J.; The role of histamine H1 and H4 receptors in allergic inflammation: The search for new antihistamines. Nature Reviews Drug Discovery, 2008, v. 7, p. 41-53).

LQFM182 e seus derivados

[016] Em relação ao nosso objetivo de trabalho o derivado pirazolínico (4-metilpiperazin-1-il)(1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)metanona - LQFM182 (**1**), o qual foi originalmente planejado a partir do protótipo JNJ7777120, um antagonista dos receptores histaminérgicos H_4.

[017] Atualmente, os fármacos utilizados para o tratamento de condições clínicas inflamatórias são subdivididos, de maneira geral, em anti-inflamatórios esteroidais e não-esteroidais (AINE's), sendo o padrão molecular apresentado na estrutura do fármaco utilizado como critério para a classificação do mesmo (Grosser, T., Smyth, E., FitzGerald, G. A. Agentes anti-inflamatórios, antipiréticos e analgésicos; farmacoterapia da gota. In Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. 2012. Brunton, L. L.; Chabner, B. A.; Knollman, B. C. Porto Alegre, AMGH Editora, 12ª ed.). Os anti-inflamatórios esteroidais são caracterizados por conterem em suas estruturas químicas o núcleo esteroidal ciclopentanoperidrofenantreno, o qual lhes confere um caráter lipofílico. Como exemplo tem-se o cortisol, um glicocorticoide endógeno, sintetizado a partir do colesterol pelas células da zona fasciculada do córtex das glândulas suprarrenais devido à ação estimulante do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) (Schimmer, B. P.; Funder, J. W. ACTH, esteroides

suprarrenais e farmacologia do córtex suprarrenal. In Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. 2012. Brunton, L. L.; Chabner, B. A.; Knollman, B. C. Porto Alegre, AMGH Editora, 12ª ed.). Durante o processo inflamatório há um aumento dos níveis de cortisol e este promoverá sua ação anti-inflamatória ao induzir a transcrição de genes bem como expressão de proteínas sendo uma delas, a anexina A_1, também conhecida como lipocortina 1, encarregada de suprimir a atividade hidrolítica da enzima PLA_2 resultando então na disponibilidade reduzida do ácido araquidônico liberado no citoplasma celular o qual estará pouco disponível para a ação de enzimas encarregadas da produção de mediadores pró-inflamatórios como a COX e LOX (PERRETTI, M.; D'ACQUISTO, F.; Annexin A1 and glucocorticoids as effectors of the resolution of inflammatio. Nature Reviews Immunology, 2009, v. 9, p. 62-70).

[018] Já os anti-inflamatórios não esteroidais (AINE's) são uma extensa classe de fármacos com grande distinção tanto entre suas estruturas químicas quanto nos seus respectivos mecanismos de ação farmacológicos (Grosser, T., Smyth, E., FitzGerald, G. A. Agentes anti-inflamatórios, antipiréticos e analgésicos; farmacoterapia da gota. In Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. 2012. Brunton, L. L.; Chabner, B. A.; Knollman, B. C. Porto Alegre, AMGH Editora, 12ª ed.). A exemplo têm-se fármacos como a licofelona que atua frente a inibição dual das enzimas COX e LOX, a zileutona que atua promovendo a inibição apenas da LOX e o montelucaste que antagoniza os receptores de leucotrienos cisteínicos, fármacos estes que tem eficácia, ainda que bastante inferior quando comparada à eficácia dos glicocorticoides, no tratamento de doenças inflamatórias crônicas das vias respiratórias como a asma. Há também fármacos imunobiológicos com alta especificidade para citocinas pró-inflamatórias e glicoproteínas presentes nas membranas das células do sistema imune como, por exemplo, os anticorpos contra o TNF-α adalimumabe, caracterizado por ser um anticorpo humano de administração por via subcutânea (*s.c.*) a cada duas semanas, infliximabe, de origem quimérica humano-murino, etanercepte, o qual é produto de uma fusão entre o receptor solúvel do TNF-α com a subunidade Fc da IgG com

administração semanal e o certolizumabe sendo este último resultante da conjugação entre a subunidade Fab de um articorpo anti-TNFα com duas moléculas de polietilenoglicol prescrito para administração quinzenal, anticorpos contra a IL-1β como o anaquinra, moduladores da co-estimulação linfocitária como o abatacepte o qual é resultante da fusão CTLA-4-IgG que atua inibindo a co-estimulação de linfócitos T indicado para pacientes que já não respondem mais ao tratamento com agentes anti-TNF-α e depletores de linfócitos B como o anticorpo quimérico dirigido contra células que expressam a glicoproteína CD20 em sua membrana, o rituximabe (Grosser, T., Smyth, E., FitzGerald, G. A. Agentes anti-inflamatórios, antipiréticos e analgésicos; farmacoterapia da gota. In Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. 2012. Brunton, L. L.; Chabner, B. A.; Knollman, B. C. Porto Alegre, AMGH Editora, 12ª ed.).

[019] Dentre os AINE's os inibidores da COX são os mais utilizados na terapêutica e representam a subclasse com maior número de fármacos disponíveis comercialmente. A exemplo tem-se o AAS que produz uma inibição não seletiva das isoformas da COX e o celecoxibe que promove a inibição seletiva da isoforma COX-2, enzima esta majoritariamente induzida durante o processo inflamatório (Grosser, T., Smyth, E., FitzGerald, G. A. Agentes anti-inflamatórios, antipiréticos e analgésicos; farmacoterapia da gota. In Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. 2012. Brunton, L. L.; Chabner, B. A.; Knollman, B. C. Porto Alegre, AMGH Editora, 12ª ed.).

[020] Os inibidores, seletivos ou não, das enzimas COX apresentam reações adversas significativas, principalmente quando utilizados a longo prazo. De maneira geral ambas as subclasses podem induzir efeitos nefrotóxicos devido à diminuição da síntese local de eicosanoides relacionados ao fluxo fisiológico das arteríolas aferentes renais (MELGAÇO, S. S. C. et al.; Nefrotoxicidade dos anti-inflamatórios não esteroidais. Medicina (Ribeirão Preto), 2010, v. 43, n. 4, p. 382-390) porém, os inibidores não seletivos como o AAS e ibuprofeno estão relacionados a reações adversas gastrointestinais uma vez que, ao promover a inibição da isoforma constitutiva da COX, promovem a

redução das concentrações de PGE_2 resultando assim na diminuição da citoproteção gástrica frente ao HCl estomacal a qual esta prostaglandina está relacionada. Já os inibidores seletivos como o lumiracoxibe e rofecoxibe, ao inibirem a isoforma COX-2 podem apresentar efeitos cardiotóxicos resultantes da diminuição dos níveis de PGI_2, redução esta que irá resultar no desequilíbrio entre fatores anti-agregantes e pró-agregantes uma vez que a produção de TXA_2 pela enzima COX-1 não foi bloqueada e devido a esta toxidade, grande parte dos inibidores seletivos foram retirados de mercado (Grosser, T., Smyth, E., FitzGerald, G. A. Agentes anti-inflamatórios, antipiréticos e analgésicos; farmacoterapia da gota. In Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. 2012. Brunton, L. L.; Chabner, B. A.; Knollman, B. C. Porto Alegre, AMGH Editora, 12ª ed.).

Sumário da invenção

[021] O objetivo da presente invenção é proporcionar alternativas terapêuticas em relação aos compostos empregados como analgésicos e anti-inflamatórios atualmente disponíveis.

[022] Os compostos e sais farmaceuticamente aceitáveis da presente invenção são particularmente úteis como analgésicos e anti-inflamatórios. Portanto, um adicional objetivo é proporcionar composições farmacêuticas para o tratamento de doenças inflamatórias e da dor em patologias crônicas como artrite reumática. Dadas às vantagens decorrentes da seletividade dos compostos desta invenção, as composições farmacêuticas podem ser administradas em uma maior variedade de formas de apresentação, o que resulta em benefícios para o usuário e maior flexibilidade de produção. Portanto, outro objetivo da presente invenção é proporcionar alternativas para as limitações da administração de composições farmacêuticas para o tratamento de doenças inflamatórias e dor.

[023] Os compostos e sais farmaceuticamente aceitáveis da presente invenção têm vias de síntese distintas dos outros compostos utilizados atualmente para o tratamento de doenças inflamatórias ou dor. Ademais, o composto LQFM182 (**1**) e seus análogos é aquiral, sendo obtidos em quatro

etapas sintéticas, elevado rendimento global, com reagentes de fácil acesso e baixo custo, o que torna a produção dos mesmos, na presente invenção, mais simples e menos onerosas, resultando em vantagens sob o ponto de vista industrial. Portanto, um adicional objetivo da presente invenção é proporcionar processos para a produção dos compostos anti-inflamatórios e analgésicos.

Breve Descrição das Figuras

[024] A figura 1 mostra o efeito de LQFM182 (185; 370 e 740 µmol/kg) no teste do edema de pata induzida por carragenina. No eixo das ordenadas são representadas as diferenças de volume (µL) entre as patas em diferentes tempos após a aplicação da carragenina na pata direita e salina na esquerda. Os símbolos indicam as médias ± erro padrão das médias das diferenças de volume (µL) entre as patas dos animais (n=8) em relação ao tempo de aplicação do agente flogístico. Indometacina 28 µmol/kg foi utilizada como controles positivos. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ e *** $p \leq 0,001$ indicam o nível de significância das diferenças entre os grupos tratados e o controle, segundo análise de variância de duas vias seguida do pós-teste de Bonferroni.

[025] A figura 2 mostra o efeito de LQFM182 (370 µmol/kg) no teste da pleurisia induzida por carragenina. A figura representa o efeito de LQFM-182 (370 µmol/kg) sobre a migração celular (A), atividade da mieloperoxidase (B), níveis de TNF-α (C) e IL-1β (D). As barras verticais representam as médias ± erro padrão das médias, dos diferentes parâmetros analisados a partir do exsudato pleural dos animais (n=8). Dexametasona 5 µmol/kg foi utilizada como controle positivo. * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$ e *** $p \leq 0,001$ indicam o nível de significância da diferença entre os grupos tratados com LQFM182 ou Dexametasona e o grupo controle, segundo análise de variância seguido do pós-teste Newman-Keuls.

[026] A figura 3 mostra o efeito de LQFM182, em concentrações de 0,02-2,26 mM), sobre a viabilidade cecular de células da linhagem 3T3. No exido das abcissas são representadas as concentrações de LQFM182 (µg/mL). Já nos eixos das ordenadas é representada a viabilidade celular (%). Os dados

estão expressos como média ± desvio padrão (DP) de três experimentos independentes em seis repetições para cada grupo de tratamento.

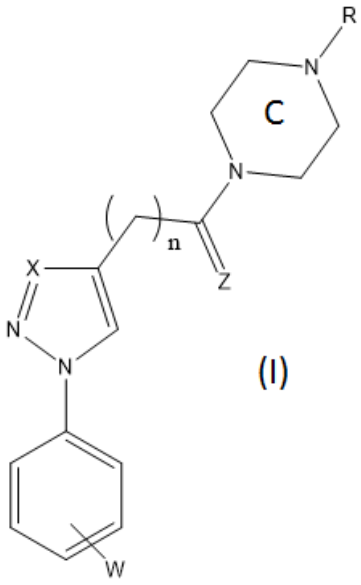
Descrição Detalhada da Invenção

[027] Tendo feito uma breve referência aos objetivos da presente invenção, passaremos agora a descrevê-la em seus detalhes, usando, sempre que oportuno, as concretizações preferenciais da invenção.

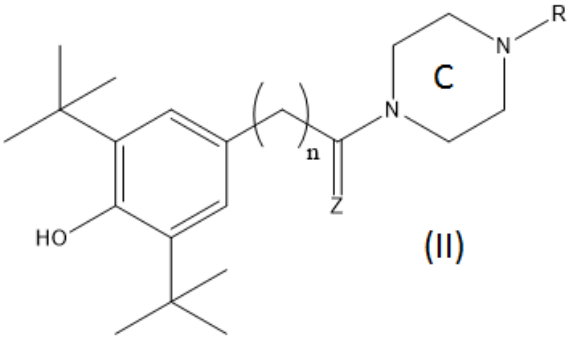
[028] Esta invenção tem como uma das características inovadoras a síntese de derivados heterocíclicos funcionalizados (**1**), e sais farmaceuticamente aceitáveis, derivados do sistema (4-R-piperazin-1-il)(W-fenil-1*H*-pirazol-4-il)metanona. Estes derivados e sais farmaceuticamente aceitáveis apresentam como principais características estruturais o padrões heterocíclicos (4-metilpiperazin-1-il)(1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)metanona funcionalizados na subunidade W-fenila (anel A), heterociclo central (anel B), posição X pode ter o heteroátomo N ou CH, posição Y pode ter o espaçador “n” com ou sem remificação alquílicas com 1 a 4 átomos de carbono, espaçador carbonílico ou tiocarbonílico, além das variações R da subunidade piperazícina (C) ou seus análogos bioisósteros, consistem nos grupo farmacofóricos envolvidos no reconhecimento da atividade anti-inflamatória; as demais subunidades, atuam como grupos farmacofóricos secundários, com características biofóricas (eletrônica e hidrofóbica), necessárias para o reconhecimento pelas enzimas-alvo, através de interações de van der Waals entre seu anel aromático e sítios de semelhantes.

[029] O uso deste padrão estrutural em análogos de anti-inflamatórios não foi relatado anteriormente, e, portanto, os compostos descritos nesta invenção e sua metodologia sintética representam uma inovação entre os agentes anti-inflamatórios.

[030] Os compostos e sais farmaceuticamente aceitáveis de que trata esta invenção pertencem à classe dos derivados, de estrutura geral (I) e (II):



(I)



(II)

Onde:

X é CH ou N;

n é $(CH_2)_n$ onde n=0, 1, 2, 3 ou 4;

Z é O ou S;

W é hidrogênio, *o*-alquila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-alquila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-alquila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-cicloalquila com 3 a 6 átomos de carbono, *m*-cicloalquila com 3 a 6 átomos de carbono, *p*-cicloalquila com 3 a 6 átomos de carbono; *o*-fenila, *m*-fenila, *p*-fenila; furila, tiofenil, piridil, pirimidinil, pirroil, tiazolil, quinazoil ou isoquinolil; *o*-flúor, *m*-flúor, *p*-flúor; *o*-cloro, *m*-cloro, *p*-cloro; *o*-bromo, *m*-bromo, *p*-bromo; *o*-nitro, *m*-nitro, *p*-nitro; *o*-amina, *m*-amina, *p*-amina; *o*-metilsulfonamida, *m*-metilsulfonamida, *p*-metilsulfonamida; *o*-trifluormetil, *m*-trifluormetil, *p*-trifluormetil; *o*-alcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-alcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-alcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-cicloalcoxila, *m*-cicloalcoxila, *p*-cicloalcoxila, *o*-tioxila com 0 a 4 átomos de carbono, *m*-tioxila com 0 a 4 átomos de carbono, *p*-tioxila com 0 a 4 átomos de carbono, *o*-arioxila, *m*-arioxila, *p*-arioxila, *o*-sulfonas, *m*-sulfonas, *p*-sulfonas, *o*-sulfetos, *m*-sulfetos, *p*-sulfetos, *o*-sulfóxidos, *m*-sulfóxidos, *p*-sulfóxidos, *orto*-sulfonatos, *m*-sulfonatos, *p*-sulfonatos, *o*-sulfonamidas, *m*-sulfonamidas, *p*-sulfonamidas, *o*-amido com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-amido com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-amido com 1 a

4 átomos de carbono, *o*-carboalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-carboalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-carboalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-carbotioalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-carbotioalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-carbotioalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-ciano, *m*-ciano, *p*-ciano;

R é hidrogênio, acil com 1 a 4 átomos de carbono, carboxilato de etila, ligado ao átomo de carbono daguanidina, (2-hidroxi-etil), (2-nitrato-etil) e mesil, ácido carbotióico, (2-succinilcolesterol-etil), 1-[6-(hidroximetil)oxano-2,3,4,5-tetrol], {2-1-[6-(hidroximetil)oxano-2,3,4,5-tetrol]-etil}, 1-ácido (2S)-2-amino-4-carbamoilbutanóico, (2-1-ácido (2S)-2-amino-4-carbamoilbutanóico-etil;

[031] Em uma realização preferencial, o composto (**1**) e sais farmaceuticamente aceitáveis corresponde à fórmula geral (I) onde: W é H; X é CH; Z é C=O e R é CH_3.

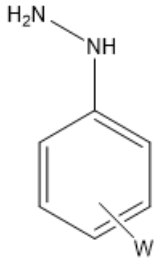
[032] O composto (4-metilpiperazin-1-il)(1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)metanona (LQFM182) (**1**) foi obtido empregando-se metodologia sintética aqui descrita. Esta metodologia de síntese se caracteriza por apresentar apenas quatro etapas, com rendimentos satisfatórios e utilizando como ponto de partida compostos comercialmente disponíveis, o que qualifica esta metodologia sintética para utilização industrial.

[033] Os compostos e sais farmaceuticamente aceitáveis da presente invenção foram planejados através de estratégias de síntese linear, utilizando reações clássicas. Mais especificamente, os compostos de fórmula (I) da presente invenção pode ser preparado em processo que compreende as etapas de:

- Condensação;
- Reação de Duff;
- Reação de oxidação de aldeido;
- Reação de aminólise;

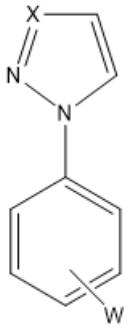
[034] Mais especificamente, os compostos de fórmula (**1**) e sais farmaceuticamente aceitáveis da presente invenção podem ser preparados por um processo que compreende as etapas de:

- condensação da fenilhidrazinas funcionalizadas de fórmula geral (II) com 1,1,3,3-tetrametoxipropano, em etanol e ácido clorídrico;



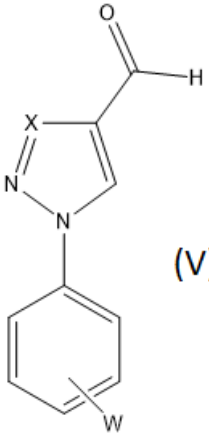
(III)

- formilação de *N*-fenilpirazóis de fórmula geral (IV) através da adaptação das condições de DUFF;



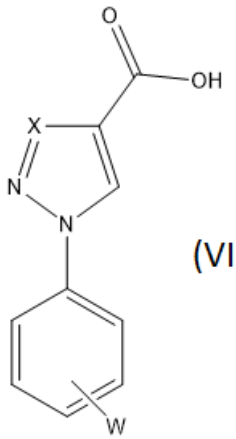
(IV)

- oxidação dos aldeídos de fórmula geral (V) a ácidos carboxílicos através do emprego de $KMnO_4$;



(V)

- aminólise, através do emprego dos ácidos carboxílicos de fórmula geral (VI) com a *N*-metilpiperazina via intermediário cloreto de ácido em meio de CH_2Cl_2 com auxílio de Et_3N;



(VI)

[035] Os processos acima citados não limitam a invenção, servindo apenas de exemplo de um dos inúmeros modos de se realizar a invenção.

[036] A título de exemplificação, neste relatório, descrevemos a síntese dos compostos:

1-fenil-1*H*-pirazol (Finar, I.; Hurlock, R.; *J. Chem. Soc.* 1957, p. 3024-3027.)

1-fenil-1*H*-pirazol-4-carbaldeído (De Oliveira, C. H. A. *et al*. *Synth. Commun.* 2013, v. 43, p. 1633-1639*)*;

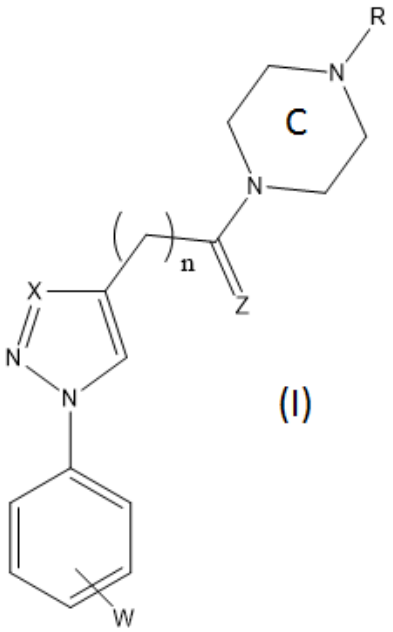
Ácido 1-fenil-1*H*-pirazola-4-carboxílico (Shriner, R. L.; Kleiderer, E. C.; Piperonylic Acid. Organic Syntheses, 1943, v. 2, p.538);

(4-metilpiperazin-1-il)(1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)metanona (Ermond, G. *et al*. *IL Farmaco*. 1998, v. 53, p. 519-524);

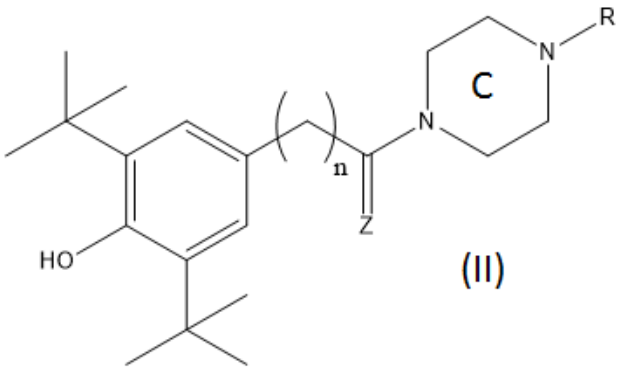
[037] Composição Farmacêutica

[038] A composição farmacêutica da presente invenção é tal que compreende:

a) um composto e sais farmaceuticamente aceitáveis de acordo com a fórmula geral (I) e (II):



(I)



(II)

; e

b) um veículo farmaceuticamente aceitável.

[039] A composição farmacêutica está na forma adequada para que proporcione uma administração por via oral, enteral, parenteral, tópica, retal ou qualquer outra forma de administração disponível no estado da arte.

[040] Uma descrição detalhada dos métodos sintéticos desta invenção para alguns dos compostos reivindicados é relatada a seguir, incluindo-se os dados espectroscópicos relevantes a sua caracterização. Os exemplos seguintes ilustram, mas não limitam a presente invenção.

Exemplo 1

Preparação dos derivados 1-fenil-1*H*-pirazolas

Procedimento geral

[041] Foram tranferidos a um balão de fundo redondo de 25,0 mL, acoplado a um condensador de refluxo, 1,0 mmol de cloridrato de fenilhidrazina, 1,2 mmol de 1,1,3,3-tetrametoxipropano, 1,01 mL de etanol e 0,05 mL de ácido clorídrico concentrado. A mistura foi mantida à temperatura de 80 ºC por 1-2 horas. A formação do 1-fenil-1*H*-pirazola foi acompanhada por CCD. Ao término da reação, a mesma foi vertida em banho de gelo e na

sequência foi neutralizada com solução de bicarbonato de sódio (p/v) a 10%. Por fim fez-se uma extração com alíquotas (3x20mL) de clorofórmio, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e concentrada em evaporador rotatório. O composto foi obtido em redimento de 84%.

IV máx. (KBr) cm^{-1}: 3201 (υ C-H de aromático), 1497 (υ C=C de aromático), 753 e 690 (υ C-H de aromático monosubstituído).

Exemplo 2

Preparação dos derivados 1-fenil-1*H*-pirazol-4-carbaldeídos

Procedimento geral

[042] Foram transferidos para um balão de fundo redondo de 25,0 mL, acoplado a um condensador de refluxo, 1,0 mmol do composto 1-fenil-1*H*-pirazol-4-carbaldeído, 1,5 mmol de hexametilenotetramina (HMTA) e 1,25 mL de ácido trifluoracético, permanecendo a mistura reacional a temperatura de 100 ºC por 12 horas. A reação foi acompanhada por CCD, empregando o revelador 2,4 dinitrofenilhidrazina, na qual uma mancha alaranjada foi observada, comprovando a presença de aldeído. Ao término da reação, a mistura reacional foi vertida em banho de gelo e na sequência foi neutralizada com solução de bicarbonato de sódio (p/v) a 10%. Por fim o sobrenadante formado foi filtrado à vácuo e secado à temperatura ambiente. O composto foi obtido em redimento de 83%.

IV máx. (KBr) cm^{-1}: 3125 (υ C-H de aromático), 1672 (υ C=O), 756 e 683 (υ C-H de aromático monosubstituído).

Exemplo 3

Preparação dos derivados ácidos 1-fenil-1*H*-pirazola-4-carboxílicos

[043] Foram transferidos a um balão de fundo redondo de 25,0 mL, acoplado a um condensador de refluxo, foram adicionados 1,0 mmol de aldeído e 3,8 mL de água destilada. A mistura reacional foi mantida sob agitação à temperatura de 100 ºC, em seguida foi adicionado uma solução de permanganato de potássio, 1 mmol em 3,3 mL de água, gota-a-gota. Após o término da adição do permanganato de potássio a mistura reacional permaneceu sob agitação à temperatura de refluxo por 1 hora e a reação foi

acompanhada por meio de CCD. Posteriormente adicionou-se uma solução de hidróxido de potássio a 10%,100mL.

[044] Ao término da reação, a mesma foi vertida em banho de gelo, acidificada com 12 mL de solução de ácido clorídrico 10% até pH 2, e o precipitado formado foi filtrado à vácuo. O composto foi obtido em redimento de 98%.

I.V. máx. (KBr) cm^{-1}: 3116 (u O-H), 3056 (u C-H de aromático), 1667 (u C=O).

Exemplo 4

Preparação dos derivados (4-metilpiperazin-1-il)(1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)metanona Procedimento geral

[045] Foram transferidos a um balão de fundo redondo com junta esmerilhada de 50 mL, acoplado a um condensador de refluxo, 1 mmol dos compostos 1-fenil-1*H*-pirazola-4-ácidos carboxílicos, 4 mL de $SOCl_2$ e 4 gotas de DMF anidra. A mistura reacional foi mantida à temperatura de 80ºC por 3 horas para a formação do cloreto de ácido. Imediatamente após o término da reação o excesso de $SOCl_2$ foi retirado por destilação a vácuo e sobre o sólido resultante foram adicionados 1 mmol de *N*-metilpiperazina, 1 mmol de Et_3N e 4 mL de CH_2Cl_2 sendo que a mistura resultante foi mantida em agitação constante a temperatura ambiente por 2 horas. Ao termino da reação, monitorada por CCD, fez-se uma extração com alíquotas (3x20mL) de clorofórmio, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e concentrada em evaporador rotatório. O composto foi obtido em redimento de 70%.

IV máx. (KBr) cm^{-1}: 1606 (u C=O), 1461 (u C-N), 684 (u C-H de aromático monosubstituido).

Avaliação Farmacológica

[046] Possíveis atividades analgésicas e anti-inflamatórias do novo composto (**1**) foram avaliadas *in vivo* através de metodologias específicas descritas abaixo. Os resultados obtidos demonstraram importantes atividades anti-inflamatória para o composto (**1**).

Ensaios de atividade farmacológica do Composto LQFM182 (1)

Efeito anti-inflamatório de LQFM182 (1) em modelos agudos de inflamação

Efeito de LQFM182 (1) no teste do edema de pata induzido por carragenina

[047] Para investigação da possível atividade anti-inflamatória do composto LQFM182 foi realizado o teste de edema de pata induzido por carragenina, o qual permite avaliar a ação de fármacos com propriedades anti-inflamatórias sobre a formação do edema, um dos sinais cardinais da inflamação formado a partir de uma leve vasoconstrição, seguida de dilatação, aumento do fluxo local e da permeabilidade vascular que leva ao extravasamento de líquidos e proteínas para o interstício (Garcia, L. J.; Hamamura, L.; Leite, M. P.; Rocha, S. M. *British Journal of Pharmacology*, 1973, v. 48, p. 88-96.; Morris, C. J. *Methods in Molecular Biology*, 2003, v. 225, p. 115-121).

[048] A injeção sub-plantar de carragenina na pata dos animais provoca um processo inflamatório agudo, não imune, onde há a formação do edema que é constituído de três fases. Na primeira hora, logo após a injeção da carragenina, há aumento da permeabilidade vascular mediada principalmente por histamina e serotonina. Na segunda hora, o aumento da permeabilidade é ocasionado predominantemente por cininas e na terceira hora pela ação das prostaglandinas (Winter, C. A.; Risley, E. A.; Nuss, G. W. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1962, v. 111, p. 544-7.; Di Rosa, M.; Giroud, J. P.; Willoughby, D. A. *The Journal of Pathology*, 1971, v. 104, p. 15-29).

[049] Os resultados mostram que o tratamento dos animais com LQFM182 na dose de 135 µmol/kg reduziu o edema de pata na primeira e terceira horas do teste e o tratamento com LQFM182 nas doses de 370 e 740 µmol/kg reduziu a formação do edema em todas as horas do teste, mostrando assim, que este composto possui atividade anti-edematogênica assim como o controle positivo celecoxibe, e um provável efeito anti-inflamatório que pode

estar contribuindo para o efeito antinociceptivo visto na segunda fase do teste da formalina.

Efeito de LQFM182 (1) no teste da pleurisia induzida por carragenina

[050] Outro teste realizado para confirmar o efeito anti-inflamatório de LQFM182 foi o teste da pleurisia induzida por carragenina, modelo caracterizado pelo acúmulo de exsudato e infiltração de leucócitos na cavidade pleural. A pleurisia induzida por carragenina é um modelo de inflamação aguda usualmente utilizado para avaliar os efeitos anti-inflamatórios de novos compostos candidatos a fármacos, bem como alguns de seus mecanismos de ação a partir da avaliação de mediadores inflamatórios presentes no exsutado coletado (Ahmad, S. F.; Zoheir, K. M.; Abdel-Hamied, H. E.; Alrashidi, I.; Attia, S. M.; Bakheet, S. A.; Ashour, A. E.; Abd-Allah, A. R. *The Journal of Immunology*, 2014, v. 142, p. 374-83.; Murai, N.; Nagai, K.; Fujisawa, H.; Hatanaka, K.; Kawamura, M.; Harada, Y. Journal of Leukocyte Biology, 2003, v. 73, p. 456-63).

[051] Desta forma, a partir do tratamento com LQFM182 foi possível avaliar parâmetros como migração celular, atividade da enzima mieloperoxidase e quantificar as citocinas TNF-α e IL-1β. Logo, foi observado que o tratamento com LQFM182 na dose de 370 µmol/kg reduziu o número de leucócitos polimorfonucleares em 34%, a atividade da mieloperoxidase em 43% e os níveis de TNF-α e IL-1β em 87 e 26%respectivamente, quando comparados ao grupo controle, confirmando a atividade anti-inflamatória do composto LQFM182 observada no teste do edema de pata induzido por carragenina. De forma semelhante o tratamento com dexametasona na dose de 5 µmol/kg reduziu o número de leucócitos polimorfonucleares em 67%, a atividade da mieloperoxidase em 72% e os níveis de TNF-α e IL-1β em 82 e 85% respectivamente, quando comparado ao grupo controle.

Avaliação da citotoxicidade aguda *in vitro* de LQFM182 (1)

Efeito do tratamento agudo de LQFM182 (1) no ensaio de captação do vermelho neutro

[052] Para investigar a citotoxicidade bem como estabelecer uma DL_{50} foi realizado o ensaio de captação do vermelho neutro que é carcterizado por ser um corante vital que é captado pelos lisossomos/endossomos e vacúolos de células vivas, o que permite quantificar a viabilidade celular (Borenfreund, E.; Puerner, J. A.. Toxicology Letters, 1985, v. 24, p. 119-124). Foram utilizadas células da linhagem 3T3 as quais foram expostas a diferentes concentrações da LQFM 182 (0,02- 2,26 mM) por 48 h e a viabilidade celular avaliada pelo ensaio de captação de vermelho neutro. A LQFM 182 promoveu a morte celular de forma concentração-dependente, obtendo-se um CI_{50} igual a 0,832 mM. A partir desse valor, a DL_{50} foi estimada em 1397 mg/Kg, sendo a molécula classificada na categoria 4 do *Harmonized Classification System for Chemical Substances and Mixtures* (GSH) (*Organization for Economic Cooperation and Development* – OECD. *Guideline for The Testing of Chemicals*, 2001, n. 423).

REIVINDICAÇÕES

1. Os processos e usos de uso dos derivados (4-r-piperazin-1-il)(1-w-fenil-1*h*-pirazol-4-il)metanona como analgésicos e/ou anti-inflamatórios e sais farmaceuticamente aceitáveis, composições farmacêuticas contendo os mesmos e processos de preparação, caracterizado por estrutura de fórmula geral (I)

Onde:

X é CH ou N;

n é $(CH_2)_n$ onde n=0, 1, 2, 3 ou 4;

Z é O ou S;

W é hidrogênio, *o*-alquila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-alquila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-alquila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-cicloalquila com 3 a 6 átomos de carbono, *m*-cicloalquila com 3 a 6 átomos de carbono, *p*-cicloalquila com 3 a 6 átomos de carbono; *o*-fenila, *m*-fenila, *p*-fenila; furila, tiofenil, piridil, pirimidinil, pirroil, tiazolil, quinazoil ou isoquinolil; *o*-flúor, *m*-flúor, *p*-flúor; *o*-cloro, *m*-cloro, *p*-cloro; *o*-bromo, *m*-bromo, *p*-bromo; *o*-nitro, *m*-nitro, *p*-nitro; *o*-amina, *m*-amina, *p*-amina; *o*-metilsulfonamida, *m*-metilsulfonamida, *p*-metilsulfonamida; *o*-trifluormetil, *m*-trifluormetil, *p*-trifluormetil; *o*-alcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-alcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-alcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-cicloalcoxila, *m*-cicloalcoxila, *p*-cicloalcoxila, *o*-tioxila com 0 a 4 átomos de carbono, *m*-tioxila com 0 a 4 átomos de carbono, *p*-tioxila com 0 a 4 átomos de carbono, *o*-arioxila, *m*-arioxila, *p*-arioxila, *o*-sulfonas, *m*-sulfonas, *p*-sulfonas, *o*-sulfetos, *m*-sulfetos, *p*-sulfetos, *o*-sulfóxidos, *m*-sulfóxidos, *p*-sulfóxidos, *orto*-sulfonatos, *m*-sulfonatos, *p*-sulfonatos, *o*-sulfonamidas, *m*-sulfonamidas, *p*-sulfonamidas, *o*-amido com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-amido com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-amido com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-carboalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-carboalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-carboalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-carbotioalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-carbotioalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-carbotioalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-ciano, *m*-ciano, *p*-ciano;

R é hidrogênio, acil com 1 a 4 átomos de carbono, carboxilato de etila, ligado ao átomo de carbono daguanidina, (2-hidroxi-etil), (2-nitrato-etil) e mesil, ácido carbotióico, (2-succinilcolesterol-etil), 1-[6-(hidroximetil)oxano-2,3,4,5-tetrol], {2-1-[6-(hidroximetil)oxano-2,3,4,5-tetrol]-etil}, 1-ácido (2S)-2-amino-4-carbamoilbutanóico, (2-1-ácido (2S)-2-amino-4-carbamoilbutanóico-etil;

2. Derivados, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo composto, e seus sais farmaceuticamente acetiáveis, corresponder a fórmula geral (I) e (II) onde: W é H, X é CH, n é 0, Z é O e R é CH_3. III. Processo de preparo de compostos e seus sais farmaceuticamente acetiáveis para o uso como anti-inflamatórios de acordo com a fórmula geral (I) e (II):

Onde:

X é CH ou N;

n é $(CH_2)_n$ onde n=0, 1, 2, 3 ou 4;

Z é O ou S;

W é hidrogênio, *o*-alquila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-alquila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-alquila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-cicloalquila com 3 a 6 átomos de carbono, *m*-cicloalquila com 3 a 6 átomos de carbono, *p*-cicloalquila com 3 a 6 átomos de carbono; *o*-fenila, *m*-fenila, *p*-fenila; furila, tiofenil, piridil, pirimidinil, pirroil, tiazolil, quinazoil ou isoquinolil; *o*-flúor, *m*-flúor, *p*-flúor; *o*-cloro, *m*-cloro, *p*-cloro; *o*-bromo, *m*-bromo, *p*-bromo; *o*-nitro, *m*-nitro, *p*-nitro; *o*-amina, *m*-amina, *p*-amina; *o*-metilsulfonamida, *m*-metilsulfonamida, *p*-metilsulfonamida; *o*-trifluormetil, *m*-trifluormetil, *p*-trifluormetil; *o*-alcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-alcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-alcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-cicloalcoxila, *m*-cicloalcoxila, *p*-cicloalcoxila, *o*-tioxila com 0 a 4 átomos de carbono, *m*-tioxila com 0 a 4 átomos de carbono, *p*-tioxila com 0 a 4 átomos de carbono, *o*-arioxila, *m*-arioxila, *p*-arioxila, *o*-sulfonas,

m-sulfonas, *p*-sulfonas, *o*-sulfetos, *m*-sulfetos, *p*-sulfetos, *o*-sulfóxidos, *m*-sulfóxidos, *p*-sulfóxidos, *orto*-sulfonatos, *m*-sulfonatos, *p*-sulfonatos, *o*-sulfonamidas, *m*-sulfonamidas, *p*-sulfonamidas, *o*-amido com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-amido com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-amido com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-carboalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-carboalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-carboalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-carbotioalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-carbotioalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-carbotioalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-ciano, *m*-ciano, *p*-ciano;

R é hidrogênio, acil com 1 a 4 átomos de carbono, carboxilato de etila, ligado ao átomo de carbono daguanidina, (2-hidroxi-etil), (2-nitrato-etil) e mesil, ácido carbotióico, (2-succinilcolesterol-etil), 1-[6-(hidroximetil)oxano-2,3,4,5-tetrol], {2-1-[6-(hidroximetil)oxano-2,3,4,5-tetrol]-etil}, 1-ácido (2S)-2-amino-4-carbamoilbutanóico, (2-1-ácido (2S)-2-amino-4-carbamoilbutanóico-etil;

- condensação da fenilhidrazinas funcionalizadas de fórmula geral (III)

com 1,1,3,3-tetrametoxipropano, em etanol e ácido clorídrico;

- formilação de *N*-fenilpirazóis de fórmula geral (IV) através da adaptação das condições de DUFF;

- oxidação dos aldeídos de fórmula geral (V) à ácidos carboxílicos através do emprego de $KMnO_4$;

- aminólise, através do emprego dos ácidos carboxílicos de fórmula geral (VI) com a *N*-metilpiperazina via intermediário cloreto de ácido em meio de CH_2Cl_2 com auxílio de Et_3N;

3. O uso dos compostos e seus sais farmaceuticamente acetiáveis para fabricar medicamento para uso como analgésicos e/ou anti-inflamatórios caracterizados por compreender:

a) um composto e seus sais farmaceuticamente acetiáveis com estrutura conforme fórmula geral (I) e (II):

Onde:

X é CH ou N;

n é $(CH_2)_n$ onde n=0, 1, 2, 3 ou 4;

Z é O ou S;

W é hidrogênio, *o*-alquila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-alquila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-alquila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-cicloalquila com 3 a 6 átomos de carbono, *m*-cicloalquila com 3 a 6 átomos de carbono, *p*-cicloalquila com 3 a 6 átomos de carbono; *o*-fenila, *m*-fenila, *p*-fenila; furila, tiofenil, piridil, pirimidinil, pirroil, tiazolil, quinazoil ou isoquinolil; *o*-flúor, *m*-flúor, *p*-flúor; *o*-cloro, *m*-cloro, *p*-cloro; *o*-bromo, *m*-bromo, *p*-bromo; *o*-nitro, *m*-nitro, *p*-nitro; *o*-amina, *m*-amina, *p*-amina; *o*-metilsulfonamida, *m*-metilsulfonamida, *p*-metilsulfonamida; *o*-trifluormetil, *m*-trifluormetil, *p*-trifluormetil; *o*-alcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-alcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-alcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-cicloalcoxila, *m*-cicloalcoxila, *p*-cicloalcoxila, *o*-tioxila com 0 a 4 átomos de carbono, *m*-tioxila com 0 a 4 átomos de carbono, *p*-tioxila com 0 a 4 átomos de carbono, *o*-arioxila, *m*-arioxila, *p*-arioxila, *o*-sulfonas, *m*-sulfonas, *p*-sulfonas, *o*-sulfetos, *m*-sulfetos, *p*-sulfetos, *o*-sulfóxidos, *m*-sulfóxidos, *p*-sulfóxidos, *orto*-sulfonatos, *m*-sulfonatos, *p*-sulfonatos, *o*-sulfonamidas, *m*-sulfonamidas, *p*-sulfonamidas, *o*-amido com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-amido com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-amido com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-carboalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-carboalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-carboalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-carbotioalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-carbotioalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-carbotioalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-ciano, *m*-ciano, *p*-ciano;

R é hidrogênio, acil com 1 a 4 átomos de carbono, carboxilato de etila, ligado ao átomo de carbono daguanidina, (2-hidroxi-etil), (2-nitrato-etil) e mesil, ácido carbotióico, (2-succinilcolesterol-etil), 1-[6-(hidroximetil)oxano-2,3,4,5-tetrol], {2-1-[6-(hidroximetil)oxano-2,3,4,5-tetrol]-etil}, 1-ácido (2S)-2-amino-4-carbamoilbutanóico, (2-1-ácido (2S)-2-amino-4-carbamoilbutanóico-etil;
b) um veículo farmaceuticamente aceitável;

4. Composição farmacêutica, conforme reivindicação 4, caracterizada pelo composto e seus sais farmaceuticamente acetiáveis para o uso como anti-inflamatórios de a fórmula geral (I) e (II) onde: W é H, X é CH, n é 0, Z é O e R é CH_3.

5. Composição farmacêutica, conforme reivindicação 4, caracterizada por ser administrada pela via oral, enteral, parenteral, retal, intratecal e combinações das mesmas.

6. Uso de compostos e seus sais farmaceuticamente acetiáveis de acordo com a fórmula geral (I):
Onde:
X é CH ou N;
n é $(CH_2)_n$ onde n=0, 1, 2, 3 ou 4;
Z é O ou S;
W é hidrogênio, *o*-alquila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-alquila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-alquila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-cicloalquila com 3 a 6 átomos de carbono, *m*-cicloalquila com 3 a 6 átomos de carbono, *p*-cicloalquila com 3 a 6 átomos de carbono; *o*-fenila, *m*-fenila, *p*-fenila; furila, tiofenil, piridil, pirimidinil, pirroil, tiazolil, quinazoil ou isoquinolil; *o*-flúor, *m*-flúor, *p*-flúor; *o*-cloro, *m*-cloro, *p*-cloro; *o*-bromo, *m*-bromo, *p*-bromo; *o*-nitro, *m*-nitro, *p*-nitro; *o*-amina, *m*-amina, *p*-amina; *o*-metilsulfonamida, *m*-metilsulfonamida, *p*-metilsulfonamida; *o*-trifluormetil, *m*-trifluormetil, *p*-trifluormetil; *o*-alcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-alcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-alcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-cicloalcoxila, *m*-cicloalcoxila, *p*-cicloalcoxila,

o-tioxila com 0 a 4 átomos de carbono, *m*-tioxila com 0 a 4 átomos de carbono, *p*-tioxila com 0 a 4 átomos de carbono, *o*-arioxila, *m*-arioxila, *p*-arioxila, *o*-sulfonas, *m*-sulfonas, *p*-sulfonas, *o*-sulfetos, *m*-sulfetos, *p*-sulfetos, *o*-sulfóxidos, *m*-sulfóxidos, *p*-sulfóxidos, *orto*-sulfonatos, *m*-sulfonatos, *p*-sulfonatos, *o*-sulfonamidas, *m*-sulfonamidas, *p*-sulfonamidas, *o*-amido com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-amido com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-amido com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-carboalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-carboalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-carboalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-carbotioalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *m*-carbotioalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *p*-carbotioalcoxila com 1 a 4 átomos de carbono, *o*-ciano, *m*-ciano, *p*-ciano;

R é hidrogênio, acil com 1 a 4 átomos de carbono, carboxilato de etila, ligado ao átomo de carbono daguanidina, (2-hidroxi-etil), (2-nitrato-etil) e mesil, ácido carbotióico, (2-succinilcolesterol-etil), 1-[6-(hidroximetil)oxano-2,3,4,5-tetrol], {2-1-[6-(hidroximetil)oxano-2,3,4,5-tetrol]-etil}, 1-ácido (2S)-2-amino-4-carbamoilbutanóico, (2-1-ácido (2S)-2-amino-4-carbamoilbutanóico-etil; caracterizado por ser no tratamento de doenças inflamatórias.

Figuras

Figura 1

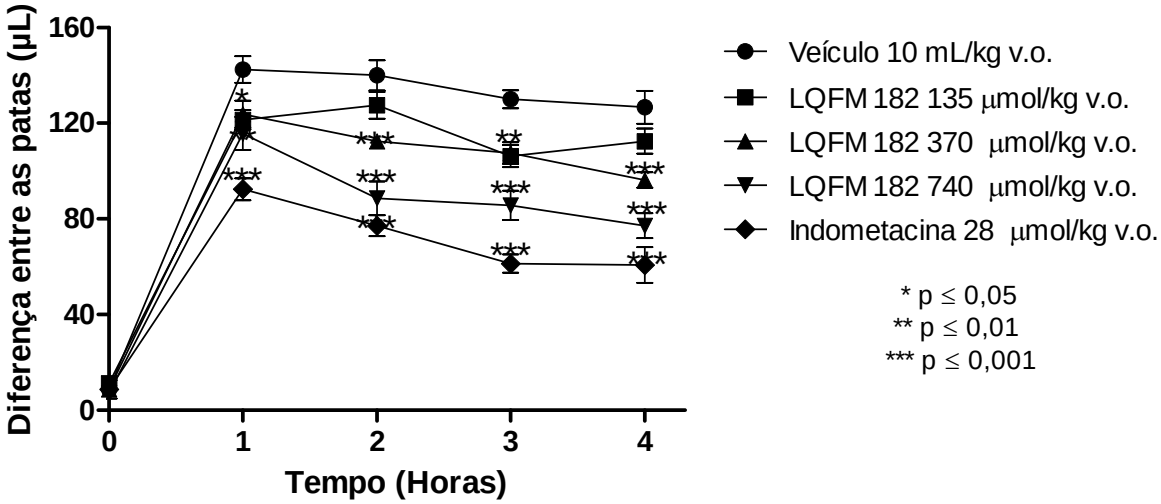


Figura 2

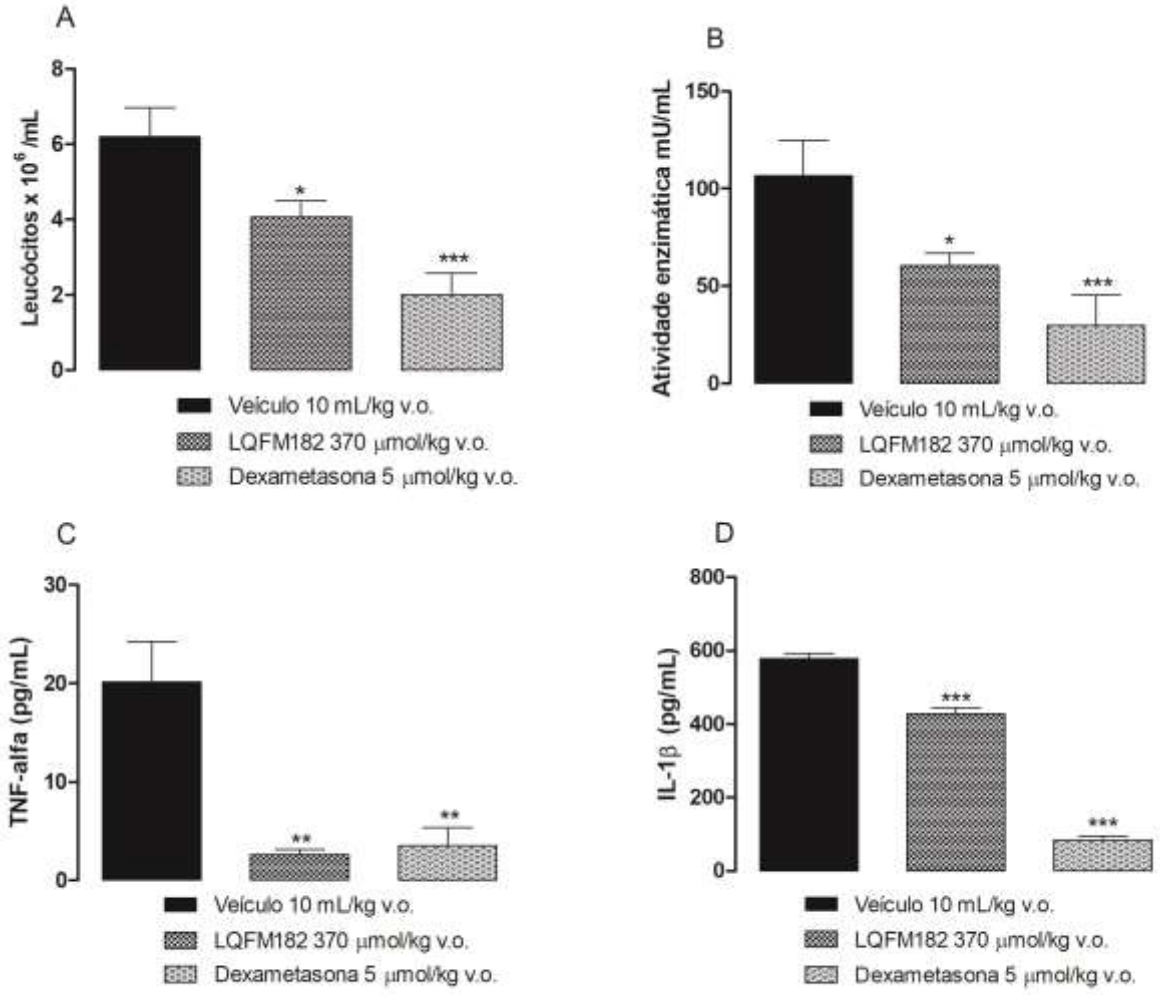
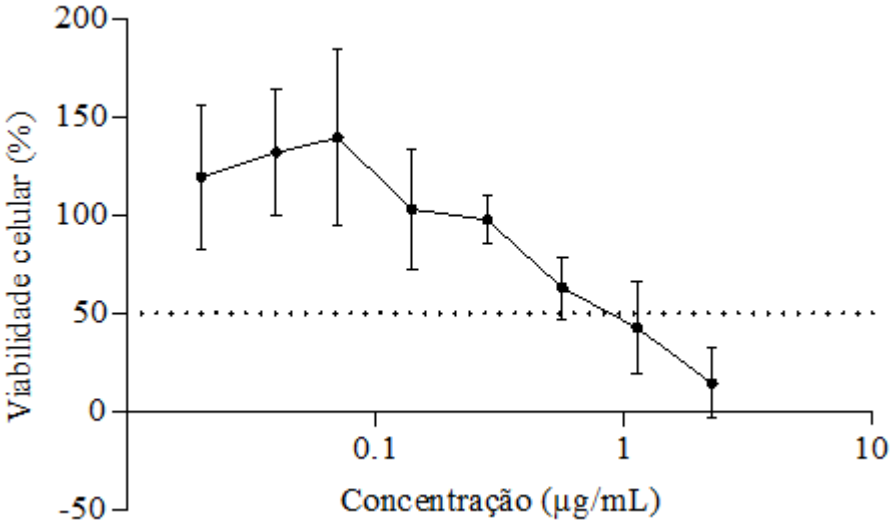

A
Leucócitos x 10^6 /mL
0
2
4
6
8
*
***
Veículo 10 mL/kg v.o.
LQFM182 370 μmol/kg v.o.
Dexametasona 5 μmol/kg v.o.
B
Atividade enzimática mU/mL
0
50
100
150
*
***
Veículo 10 mL/kg v.o.
LQFM182 370 μmol/kg v.o.
Dexametasona 5 μmol/kg v.o.
C
TNF-alfa (pg/mL)
0
10
20
30
**
**
Veículo 10 mL/kg v.o.
LQFM182 370 μmol/kg v.o.
Dexametasona 5 μmol/kg v.o.
D
IL-1β (pg/mL)
0
200
400
600
800
***
***
Veículo 10 mL/kg v.o.
LQFM182 370 μmol/kg v.o.
Dexametasona 5 μmol/kg v.o.

Figura 3


200
150
100
50
0
-50
Viabilidade celular (%)
0.1
1
10
Concentração (µg/mL)

USO DOS DERIVADOS (4-R-PIPERAZIN-1-IL)(1-W-FENIL-1*H*-PIRAZOL-4-IL)METANONA COMO ANALGÉSICOS E/OU ANTI-INFLAMATÓRIOS E SAIS FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEIS, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO OS MESMOS E PROCESSOS DE PREPARAÇÃO

Resumo: São descritos processos e o uso dos derivados (4-r-piperazin-1-il)(1-w-fenil-1*h*-pirazol-4-il)metanona como analgésicos e/ou anti-inflamatórios e sais farmaceuticamente aceitáveis, composições farmacêuticas contendo os mesmos e processos de preparação, que atuam como compostos analgésicos e anti-inflamatórios, com ação em modelos de inflamação, sendo portanto úteis no tratamento de dores agudas e de doenças inflamatórias. Foi verificado que o composto LQFM182 (**1**) apresenta baixa toxicidade quando administrado em cultura celular. Neste estudo também são descritas composições farmacêuticas contendo os referidos compostos e sais farmaceuticamente aceitáveis, processos para sua preparação, bem como ferramenta farmacológica.