



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

(11) PI 0910345-7 B1



(22) Data do Depósito: 30/03/2009

(45) Data de Concessão: 17/08/2021

(54) Título: COMPOSTOS ANÁLOGOS DE OXITOCINA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO OS MESMOS E USO DOS DITOS ANÁLOGOS

(51) Int.Cl.: C07K 7/16.

(30) Prioridade Unionista: 19/05/2008 EP 08251739.2; 31/03/2008 US 61/040,973.

(73) Titular(es): FERRING B.V..

(72) Inventor(es): SUDAR ALAGARSAMY; ROBERT GALYEAN; KAZIMIERZ WISNIEWSKI; CLAUDIO SCHTEINGART.

(86) Pedido PCT: PCT IB2009005351 de 30/03/2009

(87) Publicação PCT: WO 2009/122285 de 08/10/2009

(85) Data do Início da Fase Nacional: 30/09/2010

(57) Resumo: ANÁLOGOS DE OXITOCINA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO OS MESMO E USO DOS DITOS ANÁLOGOS. A presente invenção refere-se a novos composto, composições farmacêuticas que compreendem os mesmos, uso dos ditos compostos para a fabricação de um medicamento para tratamento inter alia de condições comprometidas de lactação, bem como um método para tratamento das ditas condições, em que os ditos compostos são administrados. Os compostos são representados pela fórmula genérica (I), como definida ainda no relatório descritivo.

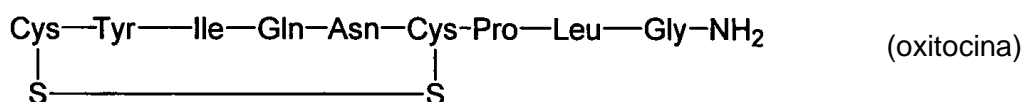
Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMPOSTOS ANÁLOGOS DE OXITOCINA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO OS MESMOS E USO DOS DITOS ANÁLOGOS**".

CAMPO TÉCNICO DA INVENÇÃO

5 A presente invenção refere-se a novos compostos, composições farmacêuticas que compreendem os mesmos, uso dos ditos compostos para a fabricação de um medicamento para tratamento *inter alia* de condições comprometidas de lactação, bem como um método para tratamento das ditas condições, em que os ditos compostos são administrados.

10 ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Os agonistas de receptores peptídicos de oxitocina incluem o hormônio natural oxitocina, e carbetocina.



A oxitocina é um agente uterotônico potente, usado clinicamente para induzir o parto, e demonstrou intensificar o início e manutenção da lactação (Gimpl, G. *et al.*, *Physiol Rev.* 81:629-683 (2001); Ruis, H. *et al.*, *British Medical Jornal* 283:340-342 (1981)). A carbetocina (1-desamino-1-carba-2-tirosina-(O-metil)-oxitocina) também é um agente uterotônico potente usado clinicamente para o controle de atonia uterina e sangramento excessivo. Outra pesquisa indica que os agonistas de oxitocina são úteis para o tratamento de inflamação e dor, incluindo dor abdominal e dorsal; disfunção sexual, masculina e feminina; síndrome do intestino irritável (IBS), constipação e obstrução gastrointestinal; autismo, tensão, ansiedade (incluindo distúrbio de ansiedade) e depressão (Pitman, R. *et al.*, *Psychiatry Research*, 48:107-117; Kirsch, P. *et al.*, *The Journal of Neuroscience* 25(49):11489-11493); perda cirúrgica de sangue, controle de hemorragia pós-parto, cicatrização de feridas e infecção; mastite e expulsão placentária; e osteoporose. Adicionalmente, os agonistas de oxitocina podem ser úteis para o diagnóstico de câncer e insuficiência placentária.

Uma desvantagem de oxitocina e também carbetocina é sua falta de seletividade sobre receptores de vasopressinas, especialmente o receptor V₂. Durante a administração de oxitocina, esta desvantagem é observada

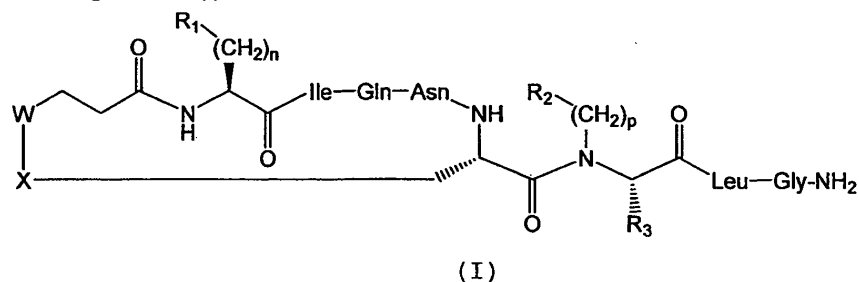
por efeitos colaterais tais como antidiurese e hiponatremia.

Para melhorar as propriedades farmacológicas de oxitocina, análogos de oxitocina foram sintetizados. Tais análogos são descritos por Grozonka, Z. *et al.*, em *J. Med. Chem.* 26:555-559 (1983) e *J. Med. Chem.* 26:1786-1787 (1983), e por Engström, T. *et al.* em *E. J. Pharmacol.* 355:203-210 (1998). Adicionalmente, os análogos de oxitocina com atividade antagonista no receptor de oxitocina foram descritos por Fragiadaki, M. *et al.*, em *E. J. Med. Chem.* 799-806 (2007).

A presente invenção pode prover compostos eficazes e seletivos, fornecendo alternativas e/ou melhoras possíveis, por exemplo, no tratamento de condições de lactação comprometidas.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a compostos representados pela fórmula genérica (I):



em que:

n é selecionado entre 0, 1 e 2;

p é selecionado entre 0, 1, 2, 3, 4, 5 e 6;

R_1 é selecionado entre arila opcionalmente substituída com pelo menos um substituinte OH, F, Cl, Br, alquila ou O-alquila;

R_2 é selecionado entre R_4 , H, alquila, cicloalquila, arila e sistemas anelares heteroaromáticos com 5 e 6 membros;

R_3 é selecionado entre H e uma ligação covalente a R_2 , quando R_2 é R_4 , para formar uma estrutura anelar;

R_4 é um grupamento alquilenos de C_{1-6} com pelo menos um substituinte O-alquila, S-alquila ou OH;

W e X são selecionados, um independentemente do outro, entre

CH₂ e S, mas não podem ser ambos CH₂;

- a alquila é selecionada entre alquila com cadeia linear de C₁₋₆ e ramificada de C₄₋₈ e tem opcionalmente pelo menos um substituinte hidroxila;

- a arila é selecionada entre fenila e fenila monossubstituída ou polissubstituída;

desde que, quando R₂ é H, p é 1, R₃ é H, n é 1 e W e X são ambos S, R₁ não seja 4-hidróxi-fenila;

- a cicloalquila é selecionada entre cicloalquila de C₃₋₆ e tem opcionalmente pelo menos um substituinte hidroxila; e

seus solvatos e sais farmaceuticamente aceitáveis.

A presente invenção pode se referir ainda a compostos representados pela fórmula (I) acima com outra ressalva que, quando R₂ é H, p é 0, R₃ é H, n é 1, e W e X são ambos S, R₁ não seja 4-hidróxi-fenila. Assim sendo, a presente invenção pode se referir a compostos da fórmula (I) acima com a ressalva que o composto não seja [1-β-Mpa,7-Sar]OT e/ou não {deamino-[7-glicina]-oxitocina}.

Para os propósitos da presente invenção, a terminologia que se segue é utilizada.

Alquila com cadeia linear de C₁₋₆ denota que tem entre um e seis átomos de carbono, incluindo qualquer número entre eles.

Alquila com cadeia ramificada de C₄₋₈ denota todos grupos alquila ramificados contendo quatro a oito átomos de carbono, incluindo as configurações iso-, sec- e terc-, pois a dita expressão não está relacionada ao local de ligação da cadeia alquila em questão.

Cicloalquila de C₃₋₆ denota um sistema anelar carbocíclico que contém entre três e seis átomos de carbono, incluindo qualquer número entre eles. O sistema anelar pode conter ligações insaturadas entre átomos de carbono.

Um sistema anelar heteroaromático com cinco membros é um sistema anelar aromático monocíclico que tem cinco átomos no anel, em que 1, 2, 3 ou 4 átomos do anel são selecionados independentemente entre N, O e S. Os sistemas anelares preferidos são selecionados no grupo que consis-

te em tienila, furila, imidazolila, tiazolila, tiadiazolila e tetrazolila.

Um sistema anelar heteroaromático com seis membros é um sistema anelar aromático monocíclico que tem seis átomos no anel, em que 1, 2, 3 ou 4 átomos do anel são selecionados independentemente entre N, O e S. Os sistemas anelares preferidos são selecionados no grupo que consiste em piridila.

Aрила denota um grupo aromático selecionado entre fenila e fenila monossubstituída ou polissubstituída.

As porções substituintes podem ser selecionadas entre átomos de flúor (F), cloro (F) e bromo (BR), e alquila, hidróxi (-OH), alcóxi (-O-alquila) e alquil-tio (-S-alquila).

Os exemplos de sais farmacologicamente aceitáveis compreendem sais de adição de ácidos, por exemplo, um sal formado pela reação com ácidos halogenídricos tais como ácido clorídrico e ácidos minerais, tais como ácido sulfúrico, ácido fosfórico e ácido nítrico, bem como ácidos carboxílicos alifáticos, aromáticos ou heterocíclicos, sulfônicos, tais como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiônico, ácido succínico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido ascórbico, ácido maleico, ácido hidróxi-maleico, ácido pirúvico, ácido p-hidróxi-benzoico, ácido embônico, ácido metanossulfônico, ácido halo-benzenossulfônico, ácido trifluor-acético, ácido trifluor-metanossulfônico, ácido toluenossulfônico, e ácido naftalenossulfônico.

Em uma modalidade preferida, n é 1.

Em modalidades preferidas, p é selecionado entre 1, 2, 3, 4 e 5.

Em modalidades preferidas, R¹ é selecionado entre fenila, 4-hidróxi-fenila, 4-metóxi-fenila e 4 etil-fenila.

Em modalidades preferidas, R² é selecionado entre etila, n-propila, n-butila, ciclopropila, 2-hidróxi-etila, 2-metóxi-etila, 2-fenil-etila, fenila, benzila, 2-metil-fenila, 3-metil-fenila, 4-metil-fenila, 4-metóxi-fenila, 4-flúor-fenila, 3,4-difluor-fenila, 2-tienila, 2-tetra-hidrofurila, 2-furila, 2-piridila e 4-piridila.

Em modalidades preferidas, R³ é H.

Em modalidades preferidas, a dita estrutura anelar é selecionada

entre (R)-4-metóxi-pirrolidinila, (R)-4-metil-tiopirrolidinila, e (S)-4-hidróxi-pirrolidinila.

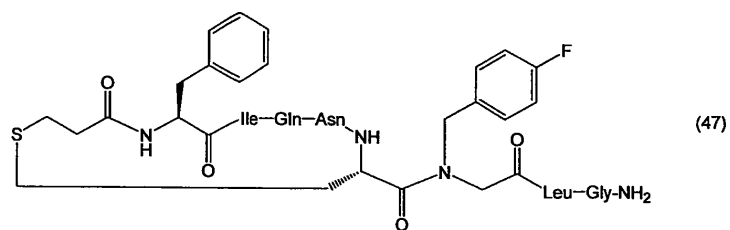
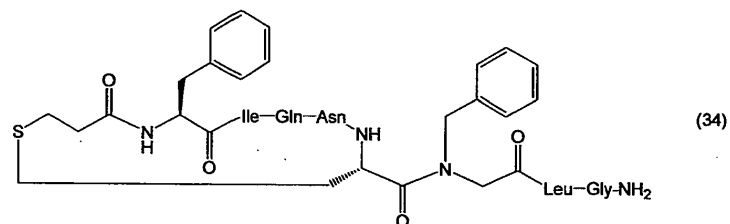
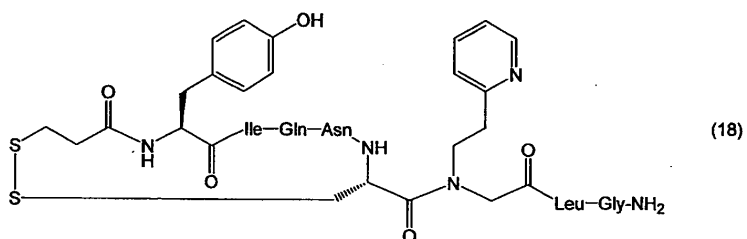
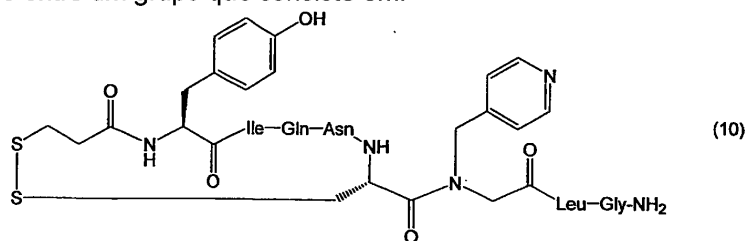
Em modalidades preferidas, W é CH₂, e X é S.

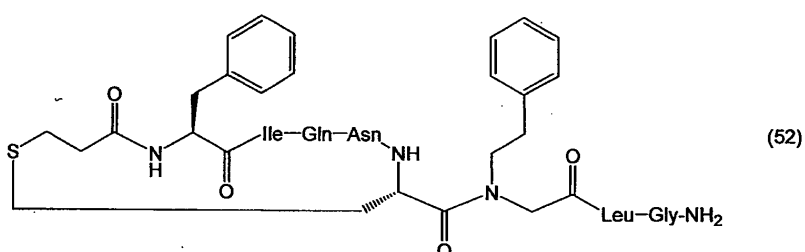
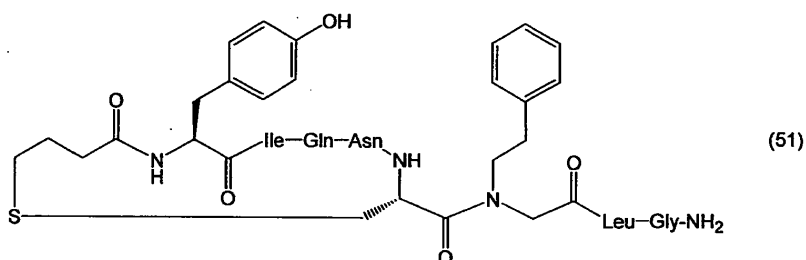
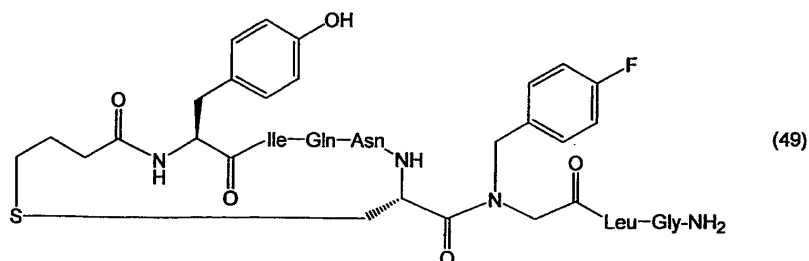
Em modalidades preferidas, W é S e X é CH₂.

5

Em modalidades preferidas, W e X são ambos S.

Na modalidade mais preferida, a invenção é um composto selecionado entre um grupo que consiste em:





Além disso, a presente invenção refere-se a um composto como enunciado acima para uso como um produto farmacêutico.

Consequentemente, a presente invenção refere-se também a
 5 uma composição farmacêutica que compreende um composto como enunciado acima como ingrediente ativo em associação com um adjuvante, diluente ou veículo farmacêuticamente aceitável.

A composição farmacêutica pode ser adaptada para administração oral, intravenosa, tópica, intraperitoneal, nasal, bucal, intraocular, intra-
 10 aural, sublingual ou subcutânea ou para administração por intermédio do trato respiratório, por exemplo, na forma de um aerossol ou pó fino em suspensão no ar. A composição pode assim, por exemplo, estar na forma de comprimidos, cápsulas, pós, micropartículas, grânulos, xaropes, suspensões, soluções emplastos transdérmicos ou supositórios.

Deve-se assinalar que a composição de acordo com a presente invenção pode incluir opcionalmente dois ou mais dos compostos delineados acima.

5 A presente composição farmacêutica pode compreender opcionalmente, por exemplo, pelo menos um outro aditivo selecionado entre um agente desintegrador, ligante, lubrificante, agente saporífero, conservante, colorante e qualquer mistura deles. Os exemplos desses outros aditivos são encontrados em "Handbook of Pharmaceutical Excipients", editor A. H. Kibbe, 3ª edição, American Pharmaceutical Association, USA and Pharmaceutical Press UK, 2000.

10 A presente composição farmacêutica pode ser adaptada para administração nasal. Ela pode compreender uma preparação aquosa estéril, de preferência, isotônica com o sangue do recebedor. Esta preparação aquosa pode ser formulada de acordo com métodos conhecidos, usando agentes dispersantes ou umectantes e agentes de suspensão apropriados. A 15 formulação de *spray* nasal SYNTOCINON® (oxitocina) é exemplificativa de uma formulação farmacêutica apropriada aplicável também para os compostos da invenção aqui descritos. Água, solução de Ringer, e solução isotônica de cloreto de sódio são diluentes exemplificativos aceitáveis. A preparação 20 pode incluir também excipientes tais como fosfato de sódio, ácido cítrico, cloreto de sódio, glicerina, solução de sorbitol, para-hidróxi-benzoato de metila (metilparaben), para-hidróxi-benzoato de propila (propilparaben) e clorobutanol.

Além disso, a presente invenção refere-se ao uso de um composto como delineado acima para tratamento, ou para a fabricação de um medicamento para o tratamento de uma ou mais condições médicas, tais 25 como condições comprometidas de lactação; enfraquecimento de indução do parto; condições de atonia uterina; sangramento excessivo; inflamação e dor, incluindo dor abdominal e dorsal; disfunção sexual, masculina e também 30 feminina; síndrome do intestino irritável (IBS), constipação e obstrução gastrointestinal; autismo, tensão, ansiedade (incluindo distúrbio de ansiedade) e depressão; perda cirúrgica de sangue, hemorragia pós-parto, cicatrização e

infecção de feridas; mastite e enfraquecimento de expulsão placentária; e osteoporose; e para o diagnóstico de câncer e insuficiência placentária. Neste relatório descritivo, o termo "ansiedade" inclui distúrbio de ansiedade. O distúrbio de ansiedade inclui as indicações dependentes distúrbio de ansiedade generalizada, distúrbio do pânico, agorafobia, fobias, distúrbio de ansiedade social, distúrbio obsessivo-compulsivo, distúrbio de tensão pós-traumática, e ansiedade da separação.

Em outra modalidade a invenção refere-se a um método para o tratamento de condições comprometidas de lactação; enfraquecimento de indução do parto; condições de atonia uterina; sangramento excessivo; inflamação e dor, incluindo dor abdominal e dorsal; disfunção sexual, masculina e também feminina; síndrome do intestino irritável (IBS), constipação e obstrução gastrointestinal; autismo, tensão, ansiedade (incluindo distúrbio de ansiedade) e depressão; perda cirúrgica de sangue, hemorragia pós-parto, cicatrização e infecção de feridas; mastite e enfraquecimento de expulsão placentária; e osteoporose; e para o diagnóstico de câncer e insuficiência placentária.

A dosagem típica dos compostos de acordo com a presente invenção varia dentro de uma ampla faixa e dependerá de vários fatores, tais como as necessidades individuais de cada paciente, e da via de administração. Um médico versado na técnica será capaz de otimizar a dosagem para a situação em questão.

Por exemplo, caso a composição da invenção seja para intensificar o início e manutenção de lactação (por exemplo, para administração nasal), uma dose típica pode ficar na faixa de 0,05 a 1,0 µg/kg de peso corporal para cada sessão de bombeamento das mamas. Uma dose intranasal pode ser dividida, por exemplo, em 1, 2 ou 3 doses menores (por exemplo, fungadas), por exemplo, distribuídas para uma ou ambas narinas, conforme necessário. Os versados nessas técnicas ou um médico podem considerar relevantes variantes desta faixa de dosagem e implementações práticas para adaptar à situação em questão.

Em outro exemplo, a composição da invenção pode ser adminis-

trada como uma infusão intravenosa, por exemplo, para o tratamento de hemorragia pós-parto ou perda cirúrgica de sangue. Neste exemplo, ela pode ser administrada durante um período mais longo. Uma dosagem exemplificativa para administração por infusão intravenosa é 0,5-200 µg/kg em peso corporal por hora.

- 5 Em outro exemplo, a composição da invenção pode ser para administração subcutânea, intranasal ou bucal, por exemplo, para tratar distúrbio de ansiedade ou depressão. Uma dosagem exemplificativa para administração subcutânea, intranasal ou bucal é 0,5-1.000 µg/kg em peso corporal. A dosagem pode ser, por exemplo, para administração tantas vezes
- 10 ao dia quanto necessário, por exemplo, uma ou duas vezes ao dia.

As abreviaturas usadas são:

	AcOH	ácido acético
	Boc	t-butóxi-carbonila
15	BOP	benzotriazol-1-iloxi hexaflúorofosfato de trisdimetilaminofosfônio
	Bua	ácido butírico
	Bu	resíduos de butil-alquila podem ser denotados ainda um resíduo n (normal, isto é, não ramificado), i (isso), s (sec) e terc (terciário)
	CH ₃ CN	acetonitrila
20	DCC	N,N'-diciclo-hexil-carbodi-imida
	DCM	dicloro-metano
	DIC	N,N'-di-isopropil-carbodi-imida
	DIPEA	N,N-di-isopropil-etil-amina
	DMF	N,N-dimetil-formamida
25	4-FBzlGly	N-(4-flúor-benzil)-glicina
	Fmoc	9-fluorenil-metóxi-carbonila
	Fmoc-Cl	cloreto de 9-fluorenil-metóxi-carbonila
	Fmoc-OSu	N-(9-fluorenil-metóxi-carbonil)-succinimida
	h	hora(s)
30	HBTU	O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-hexaflúor-fosfato de terametil -urônio
	Hcy	homocisteína
	HF	ácido fluorídrico

- | | | |
|----|-------|---------------------------------------------------------------------------|
| | HOBT | 1-hidróxi-benzotriazol |
| | HPLC | cromatografia líquida de alto desempenho |
| | IPA | álcool isopropílico |
| | MeOH | metanol |
| 5 | MBHA | 4-metil-benzidril-amina |
| | NMM | 4-metil-morfolina |
| | 4-Pic | 4-picolil-(4-piridil-metila) |
| | PyBOP | benzotriazol-1-iloxi-hexafluorofosfato trispirrolidinofosfônico |
| | tBu | terc-butila |
| 10 | tBuOH | álcool t-butilico |
| | TEA | triethylamina |
| | TFA | ácido trifluoroacético |
| | TIS | tri-isopropil-silano |
| | Trt | tritol-[trifenil-metil, (C ₆ H ₅) ₃ C-] |
- 15 A menos que diferentemente especificado, foram usados L-aminoácidos, e a terminologia convencional de aminoácidos é seguida.
- Seção Experimental (síntese)
- Os derivados de aminoácidos e as resinas foram adquiridas em fornecedores comerciais (Bachem, Novabiochem e Peptides International).
- 20 N-Fmoc-N-(R₂(CH₂)_p)-glicina, Fmoc-Hcy(t-butoxi-carbonil-etil)-OH foram sintetizados de acordo com a literatura [Weber *et al.*, *J. Med.Chem.* 46:1918 (2003); Prochaska *et al.*, *Collect. Czech. Chem. Commun.* 57:1335 (1992); e Wisnieski *et al.* no documento nº WO 03/072597]. Outros produtos químicos e solventes foram fornecidos pela Sigma-Aldrich, fluka e Across Organics.
- 25 Os compostos desta invenção foram sintetizados por métodos usuais com química de peptídeos em fase sólida, utilizando metodologia Fmoc e Boc. Todo acoplamento de aminoácidos protegidos com Fmoc foi mediado com DIC/HOBT/DMF e todo acoplamento de aminoácidos protegidos com Boc foi mediado com DIC ou DCC em DCM. A remoção do grupo
- 30 Fmoc foi realizada com piperidina a 20% em DMF e a remoção do grupo Boc foi realizada em uma mistura de 50% de TFA/DCM com 1% de m-cresol por 5 e 25 minutos. As lavagens requeridas da resina foram realizadas com

DCM, IPA e MeOH. A neutralização, conforme necessária, foi realizada com 2 lavagens da resina de 10% de TEA/DCM por 5 minutos.

A menos que diferentemente mencionado, todas reações foram realizadas à temperatura ambiente. Além das referências citadas acima, a
5 seguinte literatura referencial padrão fornece orientação adicional sobre a organização experimental geral, bem como sobre a disponibilidade das matérias-primas e reagentes necessários:

Kates, S.A., Albericio, F., Editores, "Solid Phase Synthesis: A Practical Guide", Marcel Dekker, Nova Iorque, Basel, 2000;
10 Stewart, J.M., Young, J.D., "Solid Phase Synthesis", Pierce Chemical Company, 1984;

Bisello *et al.*, *J. Biol. Chem.* 273:22498-22505 (1998); e
Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* 85:2149-2154 (1963).

A pureza do peptídeo sintetizado pode ser determinada por H-
15 PLC em fase reversa. A integridade estrutural dos peptídeos pode ser confirmada usando análise de aminoácidos e espectrometria de massas por eletrospray.

Metodologias de Fmoc e Boc foram usadas para sintetizar o dipeptídeo (Leu) na posição 8 e (Gly) na posição 9 ligado à resina.

20 O derivado de aminoácido na posição 7 do resíduo de aminoácidos foi introduzido por intermédio de uma das seguinte rotas: ácido bromoacético foi acoplado ao dipeptídeo ligado à resina sob condições de DIC/HOBt/DMF e o átomo de bromo foi deslocado com $(R_2(CH_2)_p)NH_2$, produzindo uma $N-(R_2(CH_2)_p)$ -glicina ou um derivado de Fmoc-pro-OH foi acoplado
25 ao dipeptídeo ligado à resina, de acordo com a metodologia de Fmoc. Todos os acoplamentos de aminoácidos subsequentes seguiram a metodologia de Fmoc, a menos que diferentemente especificado.

O derivado de aminoácido introduzido na posição 6 foi um dos seguintes: Fmoc-Cys(Trt)-OH; FmocHcy(t-butoxi-acarbonil-etil)-OH ou Fmoc-
30 Cys(t-butoxi-carbonil-propil)-OH. Os análogos de peptídeos nos quais a posição 6 era Fmoc-Cys(Trt)-OH requereu acoplamento de Mpa(Trt)-OH ao terminal N do resíduo de nonapeptídeo ligado à resina.

Os peptídeos sintetizados usando um suporte de resina amida Rink foram clivados da resina, junto com quaisquer grupos protetores lábeis a ácidos tais como Boc, tritila e terc-butila, com solução de TFA/TIS/H₂O 95/2,5/2,5 (v/v/v). Os ditos peptídeos foram ciclizados depois da clivagem do peptídeo da resina. Os peptídeos sintetizados usando um suporte de resina de MBHA foram clivados da resina com solução de HF/anisol 14/1 (v/v). Os ditos peptídeos foram ciclizados antes da clivagem do peptídeo da resina.

A ciclização do nonapeptídeo linear através da formação de disulfeto (anel) foi realizada por oxidação de peptídeos lineares dissolvidos em solução aquosa de TFA a 10% com iodo. A ciclização do nonapeptídeo através da formação de ligação amida foi realizada por mediação com HB-TU/DIPEA/DMF ou PyBOP/DIPEA/DMF em uma alta diluição.

Os peptídeos foram purificados por HPLC preparatória em tampões de fosfato de trietilamônio (aquosos) e dessalinizados com um sistema de tampão de ácido acético (aquoso)/acetonitrila. As frações com uma pureza maior do que 97% foram selecionadas e liofilizadas.

A tabela 1 lista os compostos preparados pelo procedimento acima. Um asterisco "*" marca as modalidades mais preferidas.

Tabela 1

Compostos Preparados com a Fórmula (I)

SEQ ID No.	W	X	R ₁	n	R ₂	p	R ₃
1	CH ₂	S	4-metóxi-fenila	1	CH ₂ -(R)-CH(OCH ₃)-CH ₂	-	ligação
2	CH ₂	S	4-metóxi-fenila	1	CH ₂ -(R)-CH(SCH ₃)-CH ₂	-	ligação
3	CH ₂	S	4-etil-fenila	1	CH ₂ -(R)-CH(OCH ₃)-CH ₂	-	ligação
4	S	CH ₂	4-etil-fenila	1	CH ₂ -(S)-CH(OH)-CH ₂	-	ligação
5	CH ₂	S	4-metóxi-fenila	1	H	0	H
6	CH ₂	S	4-etil-fenila	1	CH ₂ -(S)-CH(OH)-CH ₂	-	ligação
7	S	S	4-hidróxi-fenila	1	H	4	H
8	S	S	4-hidróxi-fenila	1	fenila	2	H
9	S	S	4-hidróxi-fenila	1	2-furyl	1	H
10*	S	S	4-hidróxi-fenila	1	4-pyridyl	1	H
11	S	S	4-hidróxi-fenila	1	3,4-difluorophenyl	1	H
12	S	S	4-hidróxi-fenila	1	3-metil-fenila	1	H
13	S	S	4-hidróxi-fenila	1	2-methylphenyl	1	H
14	S	S	4-hidróxi-fenila	1	H	5	H

SEQ ID No.	W	X	R ₁	n	R ₂	p	R ₃
15	S	S	4-hidróxi-fenila	1	4-methylphenyl	2	H
16	S	S	4-hidróxi-fenila	1	2-tienila	1	H
17	S	S	4-hidróxi-fenila	1	4-pyridyl	2	H
18*	S	S	4-hidróxi-fenila	1	2-pyridyl	2	H
19	S	S	4-hidróxi-fenila	1	4-fluorofenila	1	H
20	S	S	4-hidróxi-fenila	1	methoxy	2	H
21	S	S	4-hidróxi-fenila	1	cyclopropyl	1	H
22	S	S	4-hidróxi-fenila	1	4-metóxi-fenila	1	H
23	S	S	4-hidróxi-fenila	1	4-methylphenyl	1	H
24	S	S	4-hidróxi-fenila	1	2-tienila	2	H
25	S	S	4-hidróxi-fenila	1	fenila	3	H
26	S	S	4-hidróxi-fenila	1	2-tetrahydrofuryl	1	H
27	S	S	4-hidróxi-fenila	1	2-tetrahydrofuryl	1	H
28	S	CH ₂	fenila	1	methoxy	2	H
29	CH ₂	S	fenila	1	methoxy	2	H
30	CH ₂	S	4-hidróxi-fenila	1	methoxy	2	H
31	S	CH ₂	fenila	1	2-tienila	1	H
32	S	CH ₂	4-hidróxi-fenila	1	fenila	1	H
33	S	CH ₂	4-hidróxi-fenila	1	fenila	2	H
34*	S	CH ₂	fenila	1	fenila	1	H
35	CH ₂	S	4-hidróxi-fenila	1	H	4	H
36	S	CH ₂	fenila	1	OH	3	H
37	CH ₂	S	fenila	1	H	3	H
38	S	CH ₂	fenila	1	H	3	H
39	CH ₂	S	fenila	1	H	5	H
40	S	CH ₂	fenila	1	H	5	H
41	CH ₂	S	fenila	1	H	4	H
42	S	CH ₂	fenila	1	H	4	H
43	CH ₂	S	4-hidróxi-fenila	1	3,4-difluorophenyl	1	H
44	S	CH ₂	4-hidróxi-fenila	1	3-metil-fenila	1	H
45	S	CH ₂	4-hidróxi-fenila	1	4-fluorofenila	1	H
46	CH ₂	S	4-hidróxi-fenila	1	fenila	1	H
47*	S	CH ₂	fenila	1	4-fluorofenila	1	H
48	CH ₂	S	4-hidróxi-fenila	1	2-tienila	1	H
49*	CH ₂	S	4-hidróxi-fenila	1	4-fluorofenila	1	H
50	CH ₂	S	4-hidróxi-fenila	1	3-metil-fenila	1	H
51*	CH ₂	S	4-hidróxi-fenila	1	fenila	2	H
52*	S	CH ₂	fenila	1	fenila	2	H
53	S	CH ₂	fenila	1	3-metil-fenila	1	H
54	CH ₂	S	4-hidróxi-fenila	1	OH	3	H

Os exemplos detalhados que se seguem são foram fornecidos para ilustrar ainda mais a síntese.

Em todas as sínteses, foi realizada HPLC analítica em um cromatógrafo de Líquido Waters 600, usando uma coluna Vydac C18, 5 μ m, 4,6 x 250 mm, em uma vazão de 2 mL/min. A HPLC preparatória foi realizada em um cromatógrafo de líquido Waters 2000, usando um cartucho PrePak de 47 x 300 mm em uma vazão de 100 mL/min. A análise do composto final foi realizada em um cromatógrafo de líquido Agilent 1100, usando uma coluna Vydac C18, 5 μ m, 2,1 x 250 mm, em uma vazão de 0,3 mL/min. Os espectros de massas foram registrados em um espectrômetro Finnigan MAT.

Composto 49: carba-1-[4-FBzlGly⁷]dOT

Os derivados de aminoácidos usados foram Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Cys(t-butóxi-carbonil-propil)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Ile-OH, e Boc-Tyr(tBtu)-OH (Peptides International). Fmoc-Cys(t-butóxi-carbonil-propil)-OH foi sintetizado como descrito acima.

A resina com peptídeo completamente protegida foi sintetizada manualmente, partindo de 1,45 g (0,87 mol) de resina Amida AM Rink de 0,074-0,037 mm (200-400 mesh, Novabiochem). Foram realizados acoplamentos individuais mediados com DIC/HOBt/DMF com um excesso de 3 vezes de derivados dos aminoácidos Gly e Leu. O resíduo N-(4-flúorbenzil)-glicina foi introduzido com um excesso de 4 vezes de BrCH₂CO₂H/DIC/HOBt em DMF e subsequente substituição de bromo por um excesso de 10 vezes de 4-flúorbenzil-amina em DMF. O acoplamento mediado por DIC/DCM com um excesso de 4 vezes de Fmoc-Cys(t-butóxi-carbonil-propil)-OH foi realizado. Foram realizados subsequentes acoplamentos individuais mediados por DIC/HOBt/DMF com um excesso de 3 vezes de derivados de aminoácidos Asn, Gln, Ile e Tyr. Os grupos Fmoc foram removidos com solução de piperidina a 20% em DMF. Depois de completada a síntese em fase sólida, a resina foi tratada com uma solução de TFA/TIS/H₂O 96/2,5/1,5 (v/v/v) (50 mL) por 1,5 h, e removida por filtração. O filtrado foi concentrado sob vácuo e o peptídeo linear bruto foi precipitado com etóxi-etano. O precipitado em DMF (300 mL) foi adicionado em 3 parcelas (3 x 100 mL) a uma solução sob agi-

tação intensa de DIPEA (1 mL) em DMF (100 mL). HBTU (150 mg) em DMF (5 mL) foi adicionado à mistura reativa depois da adição de cada parcela de 100 mL da solução de peptídeo; o pH da solução reativa foi mantido em pH 9 pela adição de DIPEA pura, conforme necessário. A reação foi monitorada por HPLC analítica. A solução reativa foi concentrada sob vácuo e o resíduo foi dissolvido em AcOH/CH₃CN/H₂O. A mistura foi carregada em uma coluna de HPLC e purificada usando um tampão de fosfato de trietil-amônio com pH 5,2. O composto foi eluído com um gradiente de acetonitrila. As frações com uma pureza maior do que 97% foram selecionadas, diluídas com água (2 volumes), e carregadas em uma coluna pré-equilibrada com solução aquosa de AcOH a 2%. O composto desejado foi eluído com um gradiente rápido (3%/min) de CH₃CN. As frações que continham o produto desejado foram selecionadas e liofilizadas. 434 mg (rendimento de ~40%, baseado no carregamento da resina inicial e presumindo 85% de teor do peptídeo) do composto amorfo em pó foram obtidos. HPLC: Rt = 19,4 min; gradiente: 5% de B por 5 min, t = 40 °C; solvente A: solução de TFA a 0,01%, solvente B: CH₃CN a 70%, 0,01% de TFA (aquoso); pureza: 99,3%; MS (M+H⁺): esperado 1.042,4, observado 1.042,5.

O texto que se segue é uma síntese em larga escala (isto é, aumento de escala) do Composto 49: carba-1-[4-FBzlGly⁷]dOT

Os derivados de aminoácidos usados foram Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-4-FBzlGly-OH, Fmoc-Cys(t-butóxi-carbonil-propil)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Ile-OH, e Boc-Tyr(tBtu)-OH (Peptides International). Fmoc-4-FBzlGly-OH e Fmoc-Cys(t-butóxi-carbonil-propil)-OH foram sintetizados como descrito acima. O peptídeo foi sintetizado por acoplamentos individuais mediados por DIC/HOBt/DMF com um excesso de 3 vezes de derivado de aminoácido. A síntese remanescente e a caracterização do composto 49 foram seguidas como fornecido acima. 434 mg (rendimento de ~40%, baseado no carregamento da resina inicial e presumindo 85% de teor do peptídeo) de um pó amorfo branco foram obtidos.

Composto 10: [4-PicGly⁷]dOT

Os derivados de aminoácidos usados foram Fmoc-Gly-OH, Fmoc-

Leu-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, e Mpa(Trt)-OH (Peptides International). A resina com peptídeo completamente protegida foi sintetizada manualmente, partindo de 1,33 g (0,65 mol) de resina Rink AM de 0,074-0,037 mm (200-400 mesh, Novabiochem). Foram realizados acoplamentos individuais mediados por DIC/HOBt/DMF com um excesso de 3 vezes dos derivados de aminoácidos Gly e Leu. O resíduo N-(4-picolil)-glicina foi introduzido com um excesso de 4 vezes de BrCH₂CO₂H/DIC/HOBt em DMF e a subsequente substituição de bromo por um excesso de 10 vezes de 4-picolil-amina em DMF. O acoplamento mediado por DIC/DCM com um excesso de 4 vezes de Fmoc-Cys(Trt)-OHe os acoplamentos individuais mediados por DIC/HOBt/DMF com um excesso de 3 vezes dos derivados de aminoácidos Asn, Ile, tyr e Mpa foram realizados. Os grupos Fmoc foram removidos com piperidina a 20% em DMF. Depois de completada a síntese em fase sólida, a resina foi tratada com uma solução de TFA/TIS/H₂O 96/2/2 (v/v/v) (50 mL) por 1,5 h, e removida por filtração. O filtrado foi concentrado sob vácuo e o peptídeo linear bruto foi precipitado com etóxi-etano. O precipitado foi dissolvido em TFA ouro (50 mL), vertido sobre uma solução aquosa de acetonitrila a 5% (600 mL) sob agitação com um agitador magnético, e o peptídeo foi oxidado adicionando I₂ a 0,1 M em metanol até que persistisse uma cor amarela. O excesso de iodo foi reduzido com ácido ascórbico sólido (Sigma-Aldrich) e o pH da solução foi ajustado até cerca de 4 adicionando amônia concentrada (aquosa). A mistura foi carregada em uma coluna de HPLC e purificada usando um tampão de fosfato de trietil-amônio com pH 5,2. O composto foi eluído com um gradiente de acetonitrila. As frações com uma pureza maior do que 97% foram selecionadas, diluídas com água (2 volumes), e carregadas em uma coluna pré-equilibrada com solução aquosa de AcOH a 2%. O composto desejado foi eluído com um gradiente rápido (3%/min) de acetonitrila. As frações que continham o produto desejado foram selecionadas e liofilizadas. 348,7 mg (rendimento de ~44%, baseado no carregamento da resina inicial e presumindo 85% de teor do peptídeo) de um pó amorfo branco foram obtidos. HPLC: Rt = 21,7 min; gradiente: 5% de B por 0,5 min,

5→10% de B em 0,5 min, 10→30% de B durante 20 min e 100% de B por 5 min, $t = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$; solvente A: solução aquosa de TFA a 0,01%, solvente B: CH_3CN a 70%, 0,01% de TFA (aquoso); pureza: 99,9%; MS ($\text{M}+\text{H}^+$): esperado 1.043,4, observado 1.043,4.

5 Composto 29: carba-6-[Phe²,MeOEtGly⁷]doT

Os derivados de aminoácidos usados foram Boc-Gly-OH e Boc-Leu-OH (Bachem), Fmoc-Hcy(t-butoxi-carbonil-etil)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Ile-OH, e Boc-Phe-OH (Peptides International). Fmoc-Hcy(t-butoxi-carbonil-etil)-OH foi sintetizado como descrito acima.

10 A resina com peptídeo completamente protegido foi sintetizada manualmente, partindo de 1,33 g (0,94 mol) de resina MBHA (Novabiochem). A resina foi neutralizada com TEA a 10% em DCM. Foram realizados acoplamentos individuais mediados por DIC/DCM com um excesso de 1,7 vez dos aminoácidos Boc-Gly-OH e Boc-Leu-OH. O resíduo N-(2-metóxi-etil)

15 -glicina foi introduzido com um excesso de 3,6 vezes de $\text{BrCH}_2\text{CO}_2\text{H}$ /DIC/HOBt em DMF e subsequente substituição do bromo por um excesso de 7 vezes de 2-metóxi-etila e um excesso de 4 vezes de DIPEA em DMF (10 mL); a reação foi agitada por 5 h. Foram realizados o acoplamento mediado por DIC/DCM com um excesso de 4 vezes dos derivados de Fmoc-Hcy(t-

20 butóxi-carbonil-etil)-OH e os acoplamentos individuais mediados por DIC/HOBt/DMF com um excesso de 3 vezes dos derivados de aminoácidos Asn e Gln. Os dois acoplamentos individuais finais com Fmoc-Ile-OH e Boc-Phe-OH foram realizados com DIC/DCM para produzir o peptídeo linear ligado à resina protegida. Os grupos Fmoc foram removidos com piperidina a

25 20% em DMF. A resina foi tratada com TFA/ H_2O /TIS 95/3/2 (v/v/v) por 2 h, para remover os grupos tritila, Boc e t-butila. BOP (4 eq) e DIPEA (10 eq) foram adicionados a uma suspensão da resina em DMF (10 mL) sob agitação; depois de 2 h, PyBOP (2 eq) e DIPEA (5 eq) foram adicionados. O peptídeo foi clivado da resina usando 70 mL de HF anidro contendo 5 mL de

30 anisol a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 90 min. O HF foi removido sob vácuo e o peptídeo linear bruto foi lavado com etóxi-etila (300 mL). O peptídeo foi dissolvido em $\text{AcOH}/\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 1/2/7 (v/v/v) (400 mL). A mistura resultante foi carregada

diretamente em uma coluna de HPLC e purificada usando tampão de fosfato de trietil-amônio em pH 2,3. O composto foi eluído com um gradiente de acetonitrila. As frações com uma pureza maior do que 97% foram selecionadas, diluídas com água (2 volumes), e carregadas em uma coluna pré-equilibrada com solução aquosa de AcOH a 2%. O composto desejado foi eluído com um gradiente de 1% de AcOH/CH₃CN. As frações que continham o produto desejado foram selecionadas e liofilizadas.

292,7 mg (rendimento de ~27%, baseado no carregamento da resina inicial e presumindo 85% de teor do peptídeo) de um pó amorfo branco foram obtidos. HPLC: Rt = 16,7 min; gradiente: 5% de B por 0,5 min, 5→30% de B em 0,5 min, 30→50% de B durante 20 min e 100% de B por 5 min, t = 40 °C; solvente A: solução aquosa de TFA a 0,01%, solvente B: CH₃CN a 70%, 0,01% de TFA (aquoso); pureza: 100,0%; MS (M+H⁺): esperado 976,5, observado 976,3.

Os outros compostos foram preparados por variação análoga destes procedimentos sintéticos.

Seção Experimental (testes biológicos)

Ensaio de receptores *in vitro*:

A atividade agonista de compostos sobre o receptor hOT foi determinada em um ensaio de gene repórter de transcrição transfectando de forma transiente um DNA com expressão do receptor hOT dentro da linhagem de células do ovário do *hamster* chinês (CHO) conjuntamente com um DNA repórter que contém elementos promotores responsivos a cálcio intracelular que regulam a expressão de luciferase de pirilampo. Vide Boss, V., Talpade, D.J., Murphy, T.J., *J. Biol. Chem.* 271(18):10429-10432 (3 de maio de 1996) para obter informações adicionais sobre este ensaio. As células foram expostas a diluições seriais de compostos diluídos 10 vezes por dose durante 5 h, e em seguida, lise das células, determinação de eficácias dos compostos e valor de CE₅₀ através de regressão não-linear. Oxitocina (OT) foi usada como controle interno em cada experimento, e os compostos foram testados em pelo menos três experimentos independentes. Para determinar a seletividade, os compostos foram testados ainda em ensaios de gene re-

pórtor de transcrição baseados em luciferase, expressando o receptor de vasopressina (hV₂) humano.

Com propósitos comparativos adicionais, carbetocina foi usada como composto referencial.

- 5 Os resultados nos ensaios *in vivo* estão representados na tabela 2 abaixo. O valor de CE₅₀ fornecido é a média geométrica expressa em nanomol/L (nM). Os valores de seletividade são fornecidos em relações de CE₅₀.

Tabela 2

10 Resultados dos Testes Biológicos

Composto Testado	E ₅₀ do Receptor hOT	CE ₅₀ do receptor hV ₂	Seletividade hV ₂ /hOT
1	0,980	688,22	702
2	0,817	671,12	822
3	0,207	446,76	2158
4	0,033	17,70	544
5	0,370	448,67	1211
6	0,064	39,95	629
7	0,062	34,78	558
8	0,116	65,55	565
9	0,114	61,79	544
10	0,464	384,04	828
11	0,026	58,54	2217
12	0,011	29,78	2607
13	0,121	67,81	562
14	0,005	77,11	15124

Composto Testado	E ₅₀ do Receptor hOT	CE ₅₀ do receptor hV ₂	Seletividade hV ₂ /hOT
15	0,040	101,77	2533
16	0,009	57,29	6067
17	0,023	47,27	2014
18	0,115	180,32	1561
19	0,012	82,03	6607
20	0,030	80,29	2659
21	0,006	9,87	1729
22	0,063	77,83	1245
23	0,148	83,55	565
24	0,016	86,10	5469
25	0,058	159,44	2736
26	0,072	226,14	3160
27	0,189	238,02	1259
28	0,847	1264,33	1493
29	0,957	1100,45	1149
30	0,109	69,68	639
31	0,297	760,80	2564
32	0,051	35,83	705
33	0,046	100,71	2203
34	0,405	718,38	1774
35	0,122	72,66	597

Composto Testado	E ₅₀ do Receptor hOT	CE ₅₀ do receptor hV ₂	Seletividade hV ₂ /hOT
36	0,859	2551,62	2970
37	0,228	441,72	1941
38	0,271	227,03	839
39	0,254	2058,97	8115
40	0,069	1024,67	14945
41	0,227	1999,84	8793
42	0,086	1192,93	13901
43	0,104	123,61	1187
44	0,023	55,14	2404
45	0,036	140,24	3914
46	0,039	140,36	3632
47	0,228	1415,28	6221
48	0,089	253,03	2854
49	0,08	328,57	4293
50	0,077	212,57	2761
51	0,045	161,91	3614
52	0,779	3005,36	3860
53	0,562	1613,76	2870
54	0,013	496,61	37735
oxitocina	2,34	7,33	3
carbetocina	0,70	171,98	244

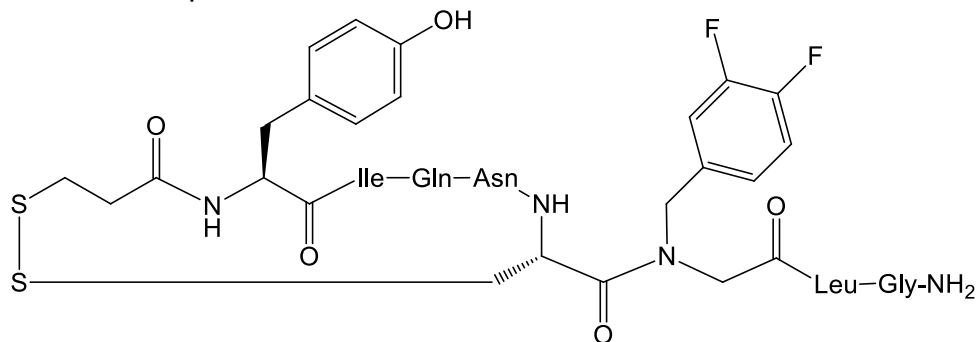
Os resultados precedentes indicam que os compostos exemplificativos estão dentro do âmbito de invenção e podem ser úteis, por exemplo, no tratamento seguro e eficaz de seres humanos, para induzir parto, controlar atonia uterina, promover e manter lactação, etc.

- 5 O âmbito de presente invenção está definido ainda nas reivindicações que se seguem.

REIVINDICAÇÕES

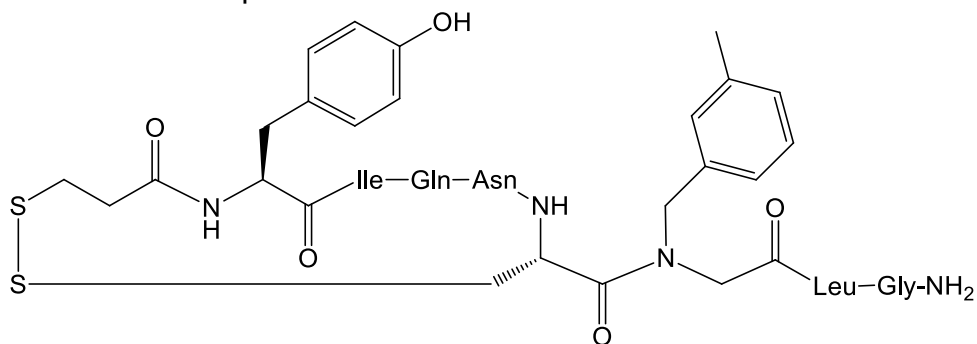
1. Composto, caracterizado pelo fato de ser selecionado do grupo que consiste em:

Composto 11

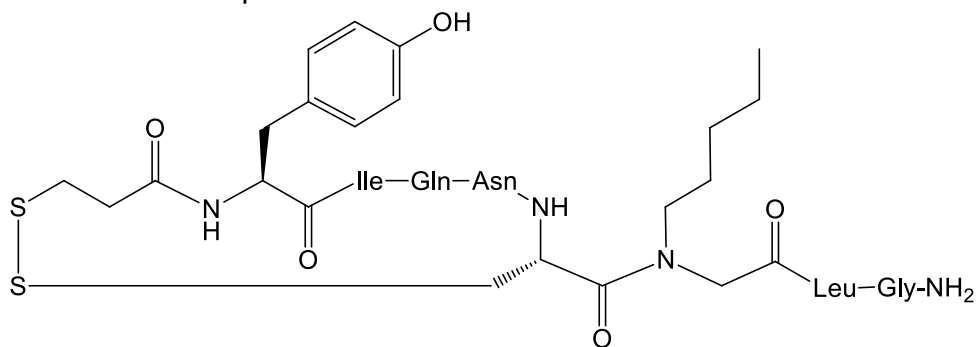


5

Composto 12

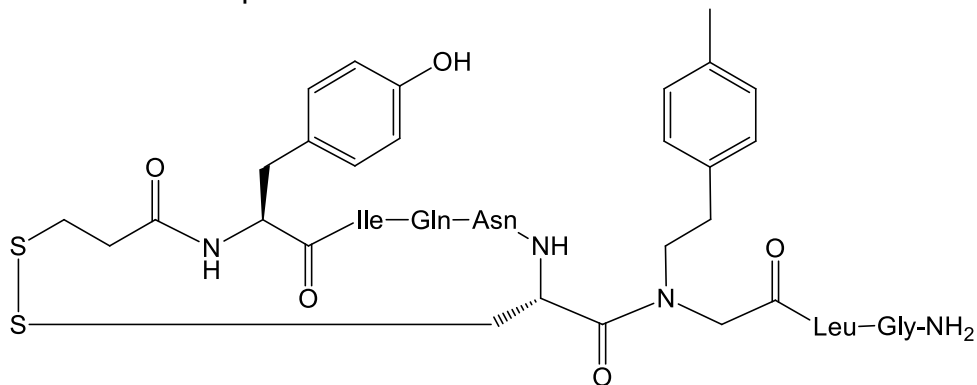


Composto 14

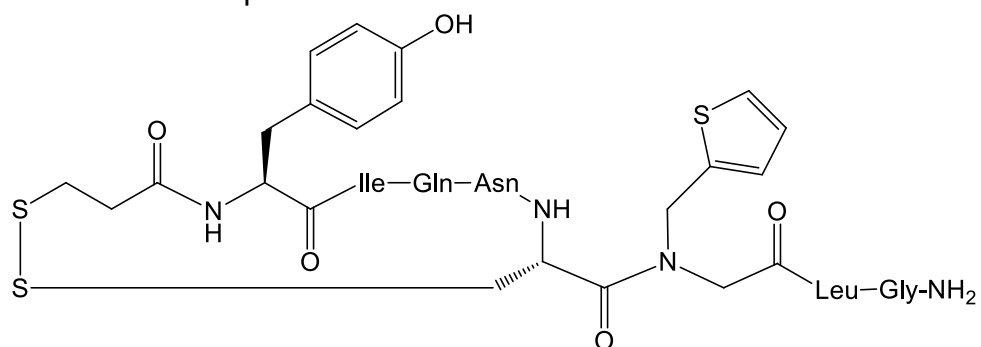


10

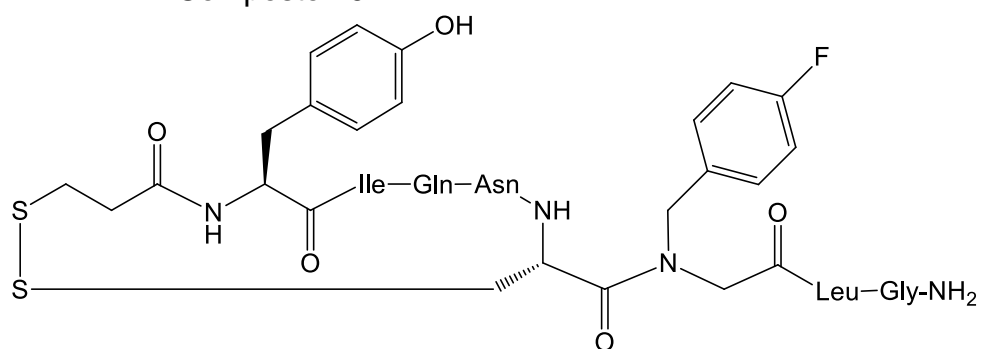
Composto 15



Composto 16

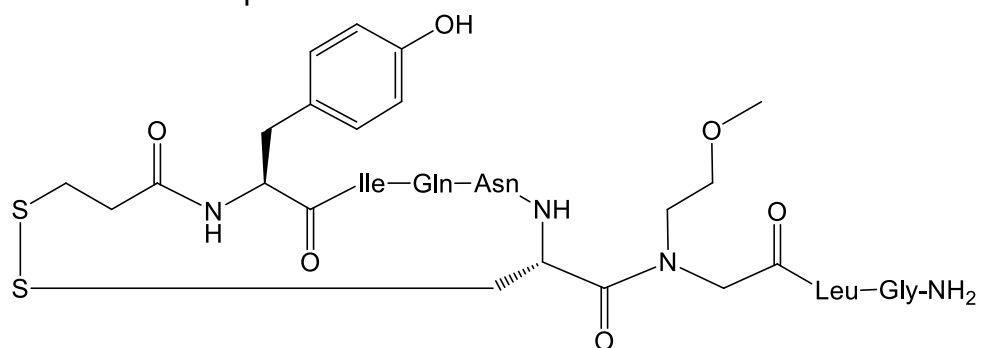


Composto 19

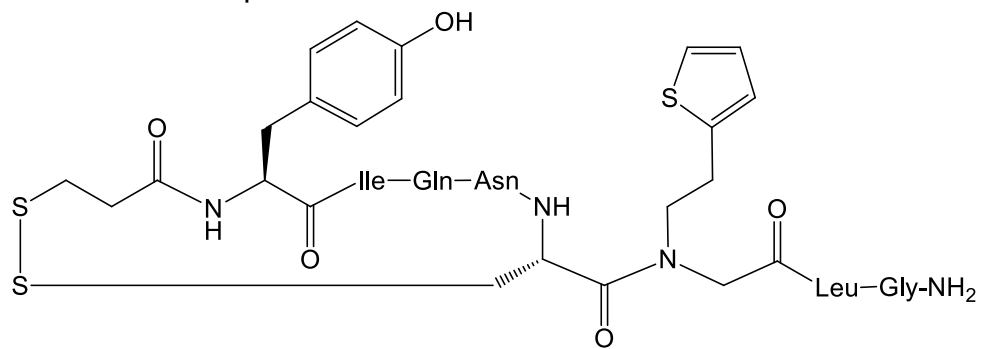


5

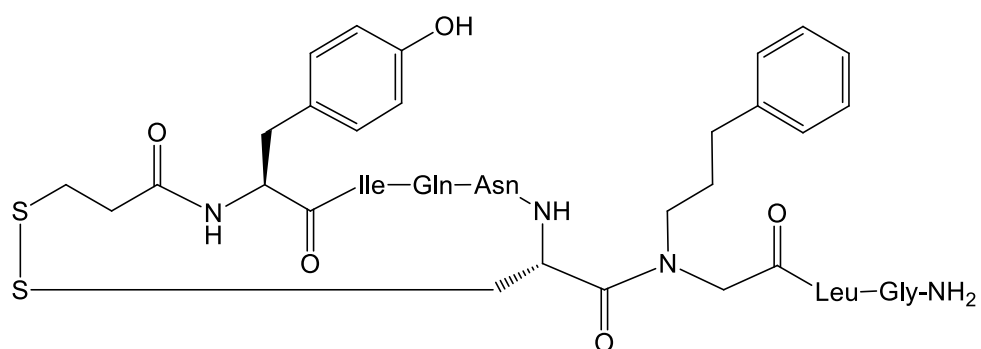
Composto 20



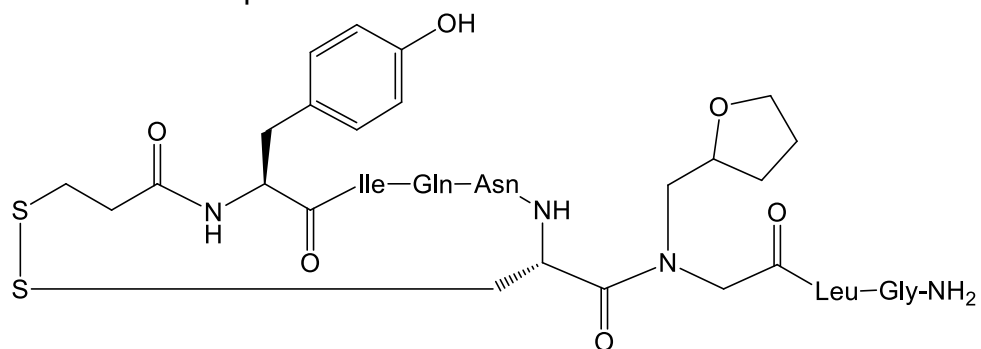
Composto 24



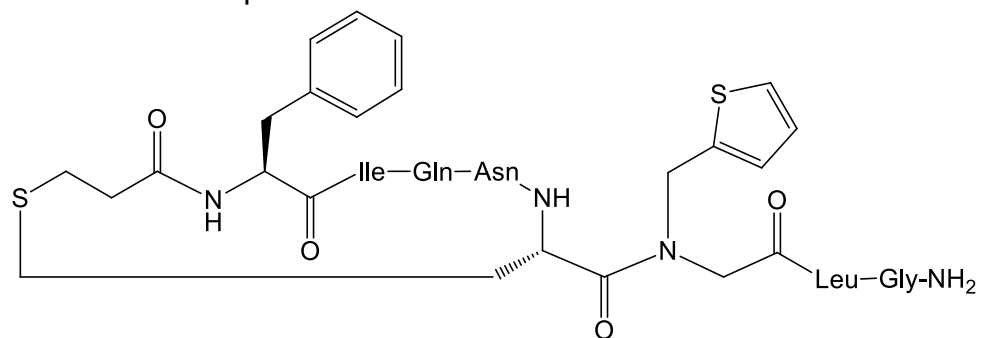
Composto 25



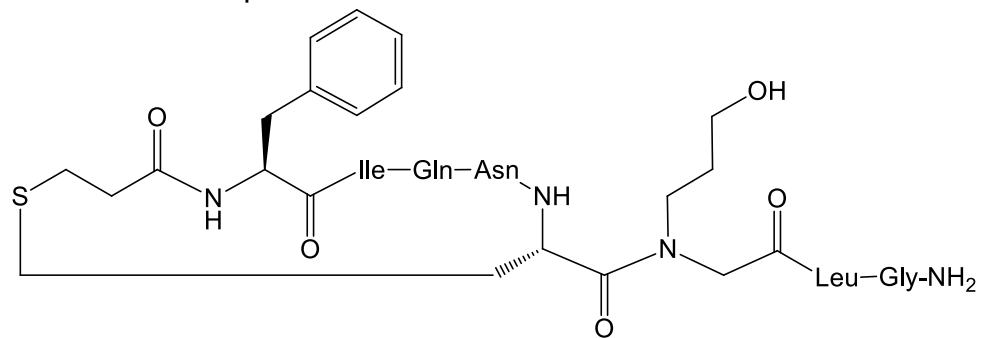
Composto 26



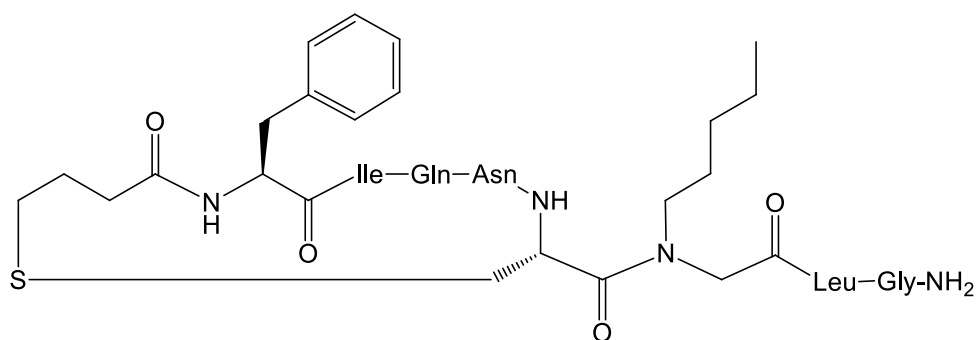
Composto 31



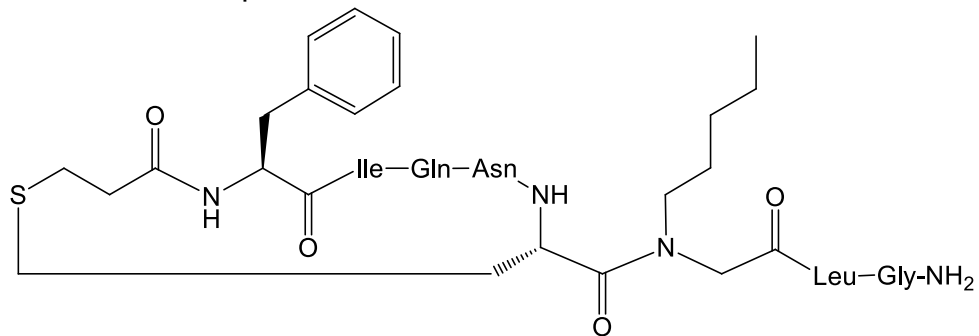
Composto 36



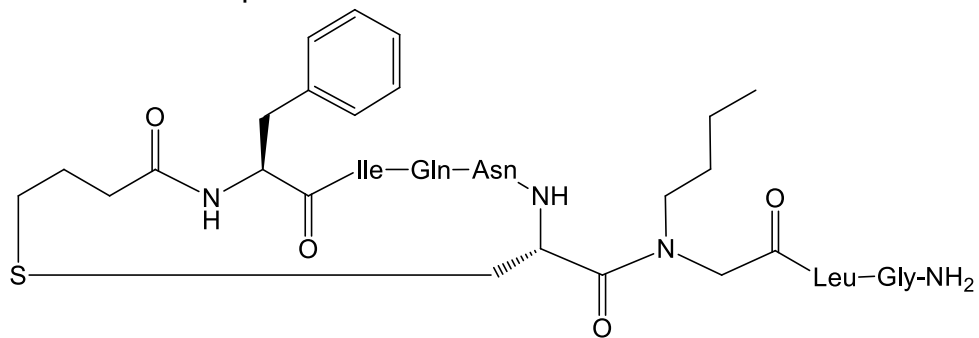
Composto 39



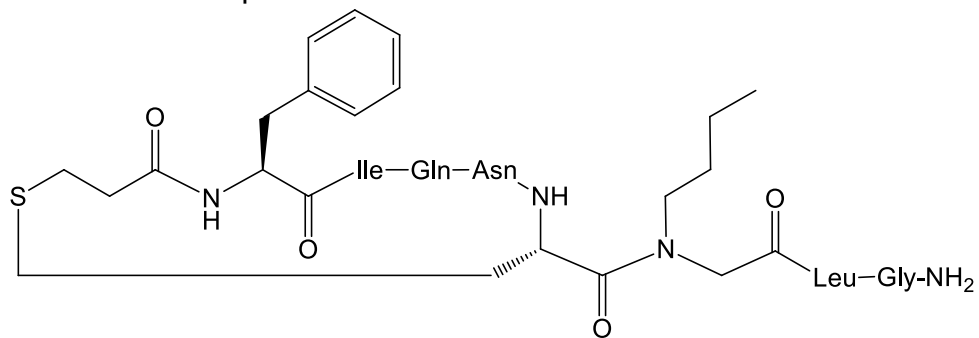
Composto 40



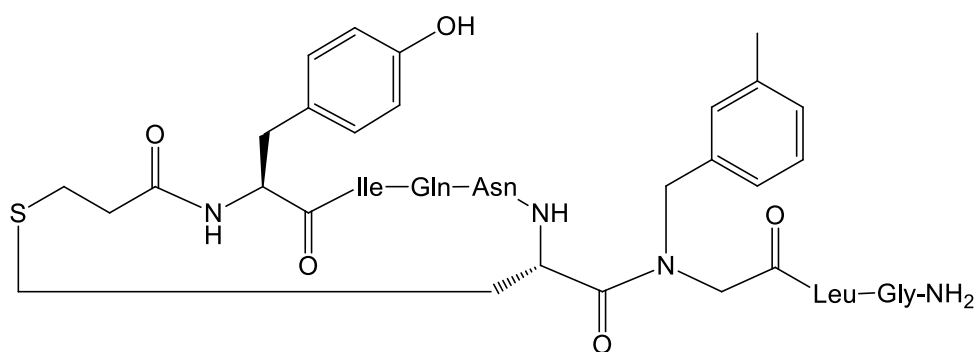
Composto 41



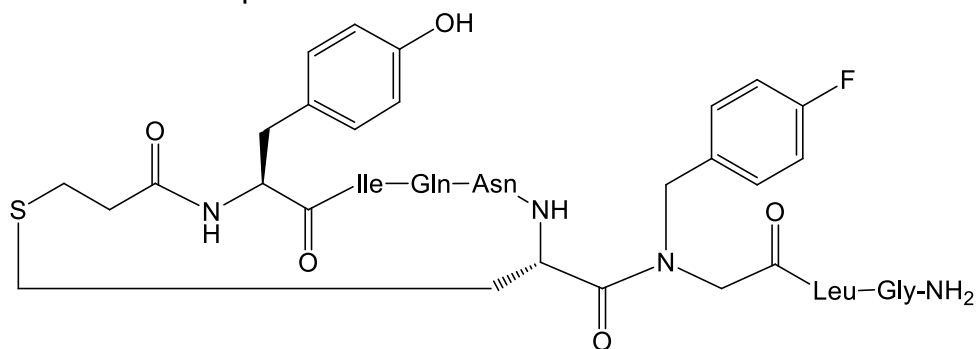
Composto 42



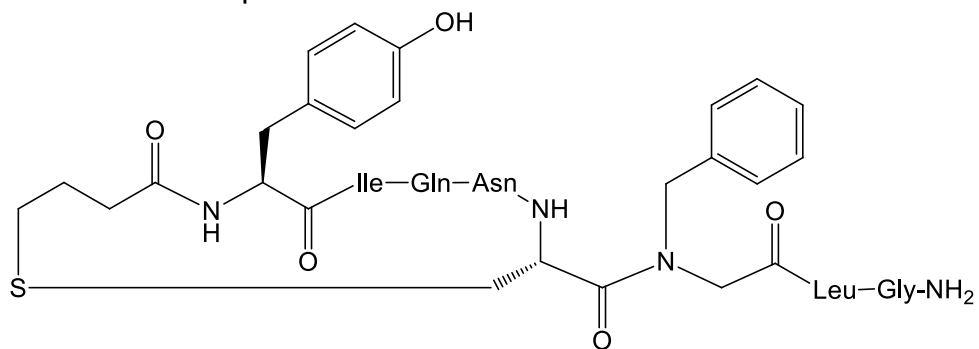
Composto 44



Composto 45

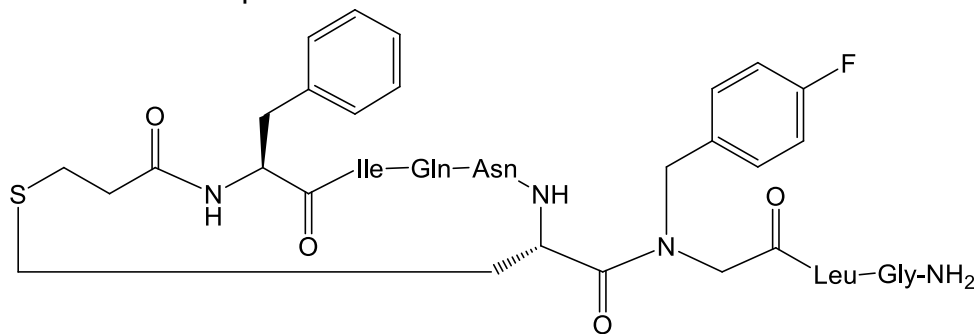


Composto 46

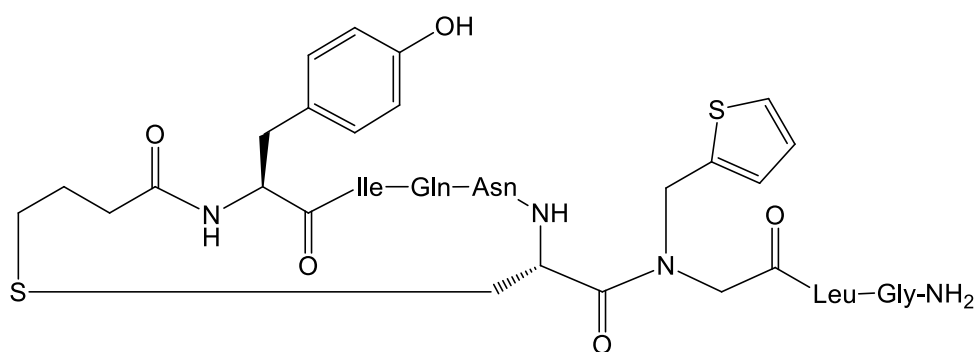


5

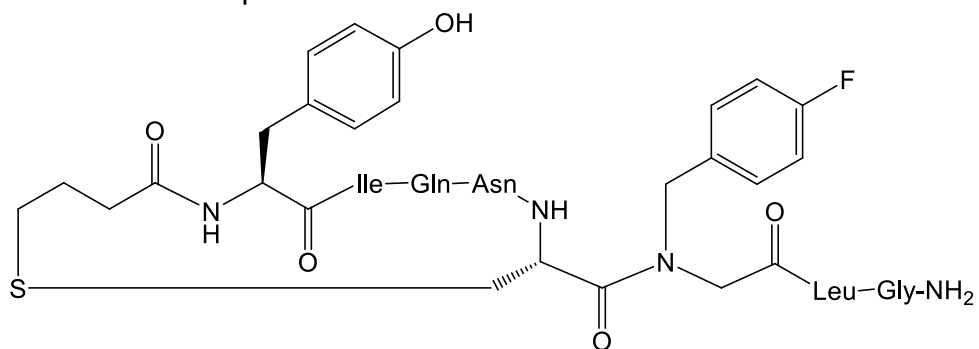
Composto 47



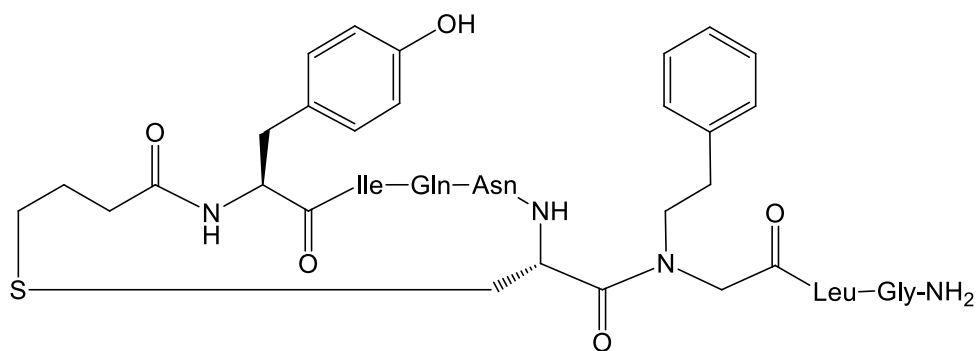
Composto 48



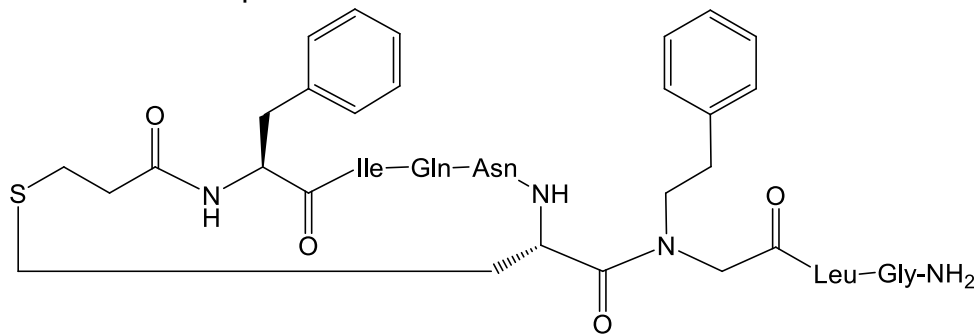
Composto 49



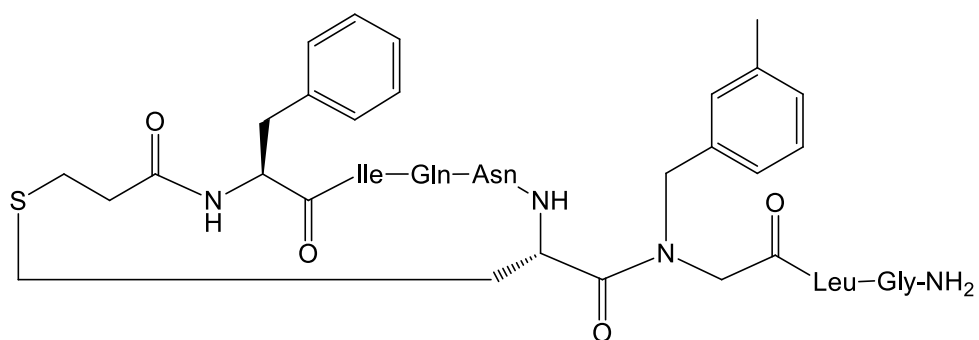
Composto 51



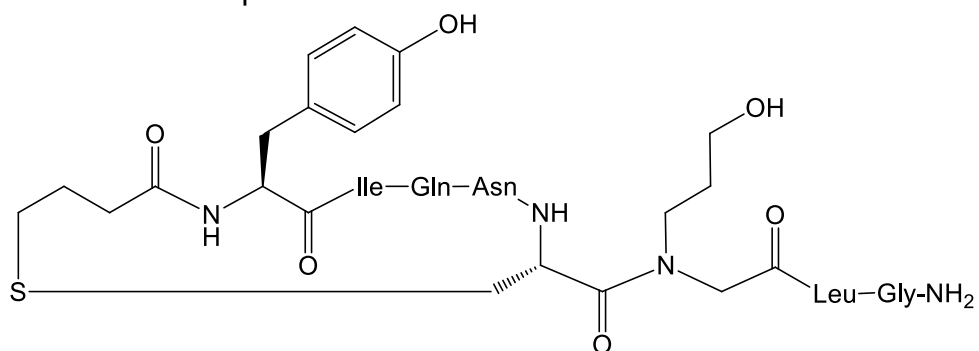
Composto 52



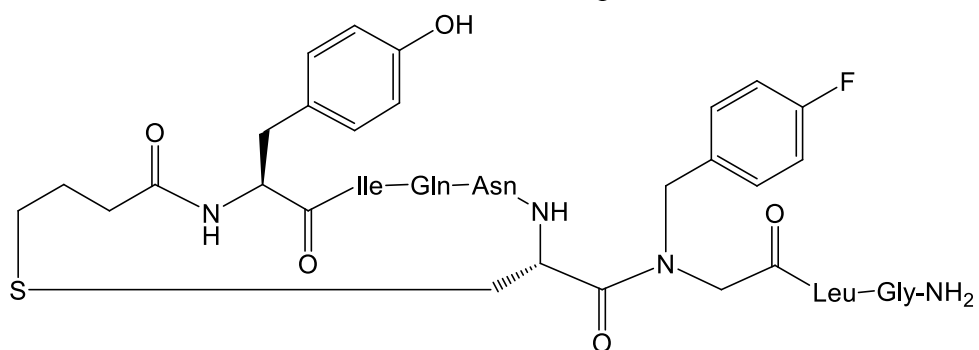
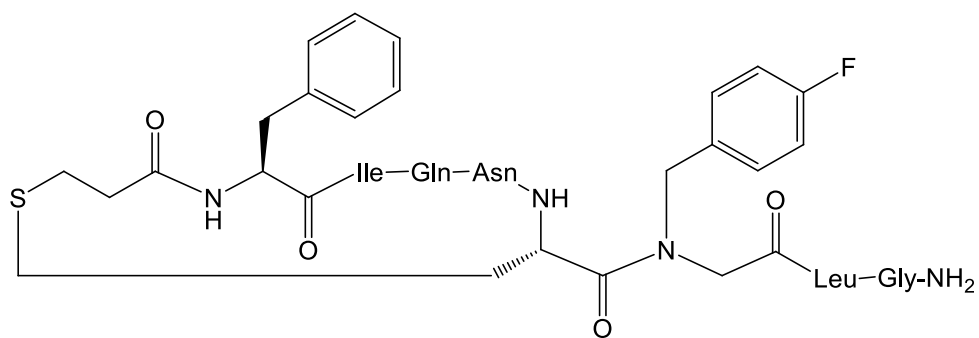
Composto 53

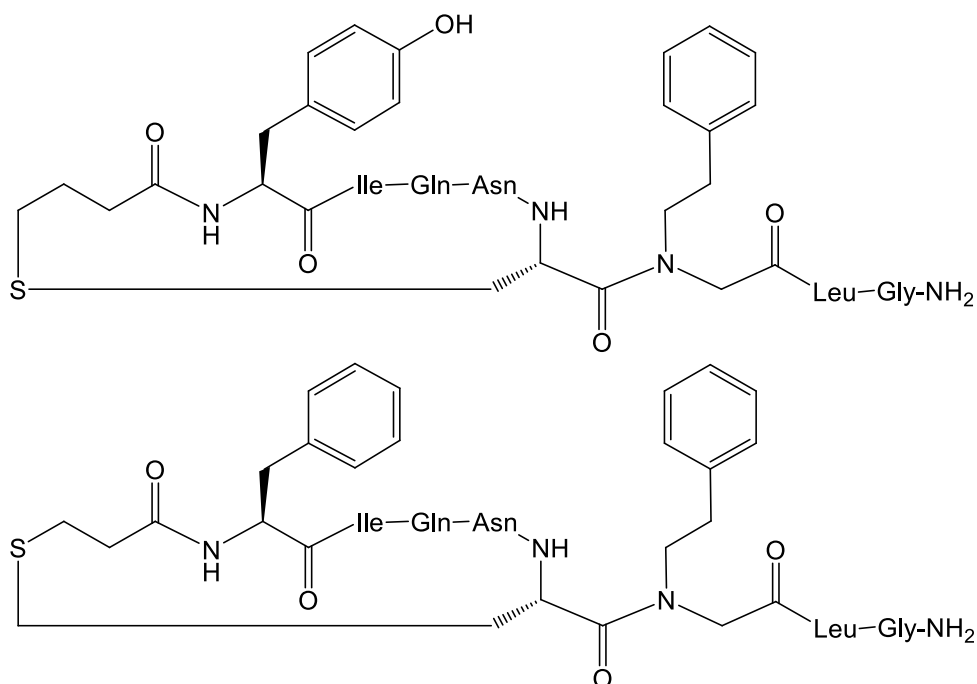


Composto 54

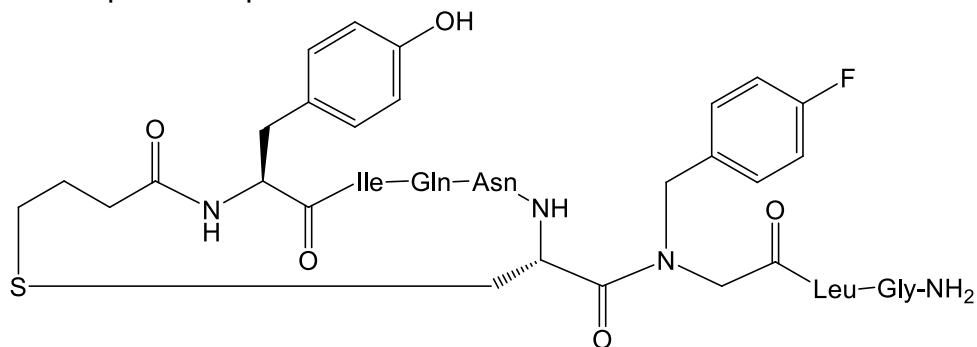


2. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de ser selecionado do grupo que consiste em:





3. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o composto é:



5

4. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de ser para uso como produto farmacêutico.

5. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende um composto como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 3, como ingrediente ativo, em associação com um adjuvante, diluente ou veículo farmacêuticamente aceitável.

6. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de ser para uso no tratamento de uma ou mais dentre condições comprometidas de lactação, enfraquecimento de indução do parto, condições de atonia uterina, sangramento excessivo, inflamação, dor, dor abdominal, dor dorsal, disfunção sexual masculina e feminina, sín-

drome do intestino irritável (IBS), constipação, obstrução gastrointestinal, autismo, tensão, ansiedade, depressão, distúrbio de ansiedade, perda cirúrgica de sangue, hemorragia pós-parto, cicatrização de feridas, infecção, mastite, enfraquecimento de expulsão placentária e osteoporose.

5 7. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de ser para uso no diagnóstico de câncer ou insuficiência placentária.

10 8. Uso de um composto como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de ser para a fabricação de um medicamento para tratamento de condições comprometidas de lactação, enfraquecimento de indução do parto, condições de atonia uterina, sangramento excessivo, inflamação, dor, dor abdominal, dor dorsal, disfunção sexual masculina e feminina, síndrome do intestino irritável (IBS), constipação, obstrução gastrointestinal, autismo, tensão, ansiedade, depressão, distúrbio
15 de ansiedade, perda cirúrgica de sangue, hemorragia pós-parto, cicatrização de feridas, infecção, mastite, enfraquecimento de expulsão placentária ou osteoporose.

20 9. Uso de um composto como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de ser na fabricação de um medicamento para o diagnóstico de câncer ou insuficiência placentária.