República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria, Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0718650-9 B1

(22) Data do Depósito: 13/11/2007

(45) Data de Concessão: 11/07/2023

(54) Título: AMIDAS PEPTÍDICAS SINTÉTICAS, SUA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E SEU USO

(51) Int.Cl.: C07K 5/10; A61K 38/07.

(30) Prioridade Unionista: 10/05/2007 US 60/928,551; 10/05/2007 US 60/928,527; 10/05/2007 US 60/928,557; 10/11/2006 US 60/858,120; 10/11/2006 US 60/858,121; (...).

(73) Titular(es): CARA THERAPEUTICS, INC..

(72) Inventor(es): CLAUDIO D. SCHTEINGART; FREDERIQUE MENZAGHI; GUANGCHENG JIANG; ROBERTA VEZZA ALEXANDER; JAVIER SUEIRAS-DIAZ; ROBERT H. SPENCER; DEREK T. CHALMERS; ZHIYONG LUO.

(86) Pedido PCT: PCT US2007023874 de 13/11/2007

(87) Publicação PCT: WO 2008/060552 de 22/05/2008

(85) Data do Início da Fase Nacional: 11/05/2009

(57) Resumo: AMIDAS PEPTÍDICAS SINTÉTICAS E DÍMEROS DAS MESMAS. A invenção se refere a ligandos de amida peptídica sintética do receptor kappa opióide e particularmente a agonistas do receptor kappa opóide que exibem baixa inibição ao P450 CYP e baixa penetração no cérebro. As amídas peptídicas sintéticas da invenção estão em conformidade com a estrutura: As composições farmacêuticas contendo estes compostos são úteis na profixalia e tratamento da dor e inflamação associadas a uma variedade de doenças e condições. Tal dor tratável inclui dor nos rins, dor neutopática e hiperalgesia. A inflamação associada a condições tais como IBD e IBS. A inflamação ocular e ótica, outras pertubações e condições tais como prurido, edema, hiponatremia, hipocalemia, ileu e glaucoma são tratáveis ou podem ser prevenidas com as composições farmacêuticas da invenção.

AMIDAS PEPTÍDICAS SINTÉTICAS, SUA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E SEU USO

PEDIDOS RELACIONADOS

Este pedido reivindica prioridade ao Pedido Provisório U.S. Série Nº 60/858,120; 60/858,121; e 60/858,123, depositados em 10 de Novembro de 2006 e ao Pedido Provisório U.S. Série Nº 60/928,527; 60/928,551, e 60/928,557, depositado em 10 de Maio de 2007, ambos os quais são aqui expressamente integralmente incorporados por citação.

CAMPO DA INVENÇÃO

A invenção se refere a amidas peptídicas sintéticas que incorporam D-aminoácidos na cadeia peptídica e, mais particularmente, àquelas amidas peptídicas que são agonistas dos receptores kappa opióides e métodos para a sua utilização como agentes profiláticos e terapêuticos.

TÉCNICA ANTECEDENTE

Os receptores kappa opióides têm sido sugeridos como alvo para intervenção para o tratamento ou prevenção de uma ampla variedade de doenças e estados patológicos por meio da administração de agonistas dos receptores kappa opióides. Ver, por exemplo, Jolivalt *et al.*, *Diabetologia*, 49(11):2775-85; Epub 19 de Agosto de 2006), que descrevem a eficácia da asimadolina, um agonista dos receptores kappa opióides em neuropatia diabética em roedores; e Bileviciute-Ljungar *et al.*, *Eur. J. Pharm.* 494:139-46 (2004) que descrevem a eficácia do agonista kappa U-50,488 no modelo de lesão constritiva crônica do rato (CCI) de dor neuropática e o bloqueio dos seus efeitos pelo antagonista opióide, naloxona. Estas observações suportam a utilização

dos agonistas dos receptores kappa opióides para o tratamento de dor neuropática diabética, viral e induzida por quimioterapia. Foi também analisada a utilização de agonistas dos receptores kappa para tratamento ou prevenção de dor visceral incluindo estado ginecológicos, tais como cólicas dismenorreicas e endometriose. Ver, por exemplo, Riviere, *Br. J. Pharmacol.* 141:1331-4 (2004).

Os agonistas dos receptores kappa opióides também foram propostos para o tratamento da dor, incluindo hiperalgesia. Acredita-se que a hiperalgesia é causada por mudanças no ambiente do terminal sensorial periférico que ocorrem secundárias à lesão tecidular local. A lesão tecidular (por exemplo, abrasões, queimaduras) e a inflamação podem significar aumentos significativos na excitabilidade dos nociceptores polimodais (fibras C) e mecano-receptores de alto limiar (Handwerker *et al.* (1991) *Proceeding of the VIth World Congress on Pain*, Bond *et al.*, eds., Elsevier Science Publishers BV, pp. 59-70; Schaible *et al.* (1993) *Pain* 55:5-54). Acredita-se que esta aumentada excitabilidade e respostas exageradas de aferentes sensoriais estão subjacentes à hiperalgesia, onde a resposta de dor é o resultado de uma resposta exagerada a um estímulo. A importância do estado hiperalgésico no estado de dor pós-lesão foi demonstrada repetidamente e parece ser responsável por uma importante proporção do estado de dor pós-lesão/inflamatório. Ver, por exemplo, Woold *et al.* (1993) *Anesthesia and Analgesia* 77:362-79; Dubner *et al.* (1994) In, *Textbook of Pain*, Melzack *et al.*, eds., Churchill-Livingstone, Londres, pp. 225-242.

Os receptores kappa opióides foram sugeridos como

alvos para a prevenção e o tratamento de doença cardiovascular. Ver, por exemplo, Wu *et al.* "Cardioprotection of Preconditioning by Metabolic Inhibition in the Rat Ventricular Myocyte – Involvement of kappa Opioid Receptor" (1999) *Circulation Res* vol. 84: pp. 1388-1395. Ver também Yu *et al.* "Anti-Arrhythmic Effect of kappa Opioid Receptor Stimulation in the Perfused Rat Heart: Involvement of a cAMP-Dependent Pathway" (1999) *J Mol Cell Cardiol.* vol. 31(10): pp. 1809-1819.

Constatou-se também que o desenvolvimento ou o progresso destas doenças e estados patológicos envolvendo neurodegeneração ou morte de células neuronais pode ser evitado, ou pelo menos retardado, por meio de tratamento com agonistas dos receptores kappa opióide. Acredita-se que este resultado melhorado é devido à neuroproteção pelos agonistas dos receptores kappa opióides. Ver, por exemplo, Kaushik *et al.* "Neuroprotection in Glaucoma" (2003) *J. Postgraduate Medicine* vol. 49 (1): pp. 90-95.

A presença dos receptores kappa opióides em células imunes (Bidlak *et al.*, (2000) *Clin. Diag. Lab. Immunol.* 7(5):719-723) foi implicada na ação inibidora de um agonista dos receptores kappa opióide, que demonstrou suprimir a expressão do HIV-1. Ver Peterson PK *et al.*, *Biochem Pharmacol.* 2001, 61(19):1145-51.

Walker, *Adv. Exp. Med. Biol.* 521:148-60 (2003) avaliou as propriedades anti-inflamatórias dos agonistas kappa para o tratamento de osteoartrite, artrite reumatóide, doença inflamatória do intestino e eczema. Bileviciute-Ljungar *et al.*, *Rheumatology* 45:295-302 (2006) descrevem a redução da dor e a degeneração em artrite induzida por adjuvante de

Freund pelo agonista kappa U-50,488.

Wikstrom *et al., J. Am. Soc. Nephrol.* 16:3742-7 (2005) descrevem a utilização do agonista kappa, TRK-820 para o tratamento de prurido urêmico e induzido por opiáceo, e Ko *et al., J. Pharmacol. Exp. Ther.* 305:173-9 (2003) descrevem a eficácia do U-50.488 em prurido induzido por morfina em macacos.

A aplicação de opióides periféricos incluindo agonistas kappa para o tratamento de doenças gastrointestinais tem sido também amplamente analisada. Ver por exemplo, Lembo, *Diges. Dis.* 24:91-8 (2006) para uma discussão da utilização de opióides no tratamento de doenças digestivas, incluindo a síndrome do intestino irritável (IBS), íleo e dispepsia funcional.

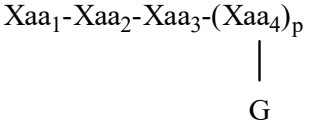
Foi também demonstrado que doenças oftálmicas, incluindo inflamação ocular e glaucoma podem ser tratadas por kappa opióides. Ver Potter *et al., J. Pharmacol. Exp. Ther.* 309:548-53 (2004), que descrevem o papel do potente agonista dos receptores kappa opióides, bremazocina, na redução da pressão intra-ocular e o bloqueio deste efeito por norbinaltorfimina (norBNI), o antagonista prototípico dos receptores kappa opióides; e Dortch-Carnes *et al., CNS Drug Rev.* 11(2):195-212 (2005). A Patente U.S. 6,191,126 de Gamache revela a utilização de agonistas kappa opióides para tratar a dor ocular. A dor ótica também demonstrou ser tratável pela administração de agonistas kappa opióides. Ver a Patente U.S. 6,174,878 também de Gamache.

Os agonistas kappa opióides aumentam a excreção renal de água e diminuem a excreção urinária de sódio (isto é, produzem uma diurese de água seletiva, também referida como

aquarese). Muitos, mas não todos os investigadores atribuem este efeito à supressão da secreção de vasopressina da pituitária. Estudos comparando kappa opióides centralmente atuantes e supostamente perifericamente seletivos levaram à conclusão de que os receptores kappa opióides na barreira sangue-cérebro são responsáveis pela mediação deste efeito. Outros investigadores propuseram tratar a hiponatremia com peptídeos nociceptina ou conjugados de peptídeos carregados que atuam perifericamente no receptor de nociceptina, que é relacionado mas é diferente do receptor kappa opióide. Ver: D. R. Kapusta, *Life Sci.*, 60:15-21, 1997; Pedido U.S. N° 5,840,696 e Pedido de Patente U.S. 20060052284.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção proporciona amidas peptídicas sintéticas tendo a fórmula da fórmula I adiante



Fórmula I

e estereoisômeros, misturas de estereoisômeros, pró-drogas, sais, hidratos, solvatos, hidratos de sal ácido, N-óxidos e formas cristalinas isomórficas farmaceuticamente aceitáveis dos mesmos.

Na fórmula I, Xaa_1 representa um aminoácido D-terminal que pode ser qualquer um de (A)(A')D-fenilalanina, (A)(A')α-metil-D-fenilalanina, D-tirosina, ácido D-1,2,3,4-tetra-hidroisoquinolina-3carboxílico, D-terc-leucina, D-neopentilglicina, D-fenilglicina, D-homofenilalanina, ou β(E)D-alanina, onde cada (A) e cada (A') são substituintes do anel fenila independentemente selecionados de -H, -F, -Cl, $-NO_2$, $-CH_3$, $-CF_3$, -CN e $-CONH_2$ e onde cada (E) é independentemente selecionado de ciclobutila, ciclopentila,

ciclo-hexila, piridila, tienila e tiazolila. Cada Xaa_2 é independentemente escolhido de (A)(A')D-fenilalanina, 3,4-dicloro-D- fenilalanina, (A)(A')(α-Me)D- fenilalanina, D-1-naftilalanina, D-2-naftilalanina, D-tirosina, (E)D-alanina ou D-triptofane. Cada Xaa_3 é independentemente escolhido de D-norleucina, D- fenilalanina, (E)D-alanina, D-leucina, α-MeD-leucina, D-homoleucina, D-valina e D-metionina, Cada Xaa_4 é independentemente escolhido de $(B)_2$D-arginina, $(B)_2$D-norarginina, $(B)_2$D-homoarginina, ζ-(B)D-homolisina, ácido D-2,3-diaminopropiônico, ε-(B)D-lisina, ε-$(B)_2$-D-lisina, D-aminometilfenilalanina, amidino-D-aminometil-fenilalanina, ácido γ-$(B)_2$D-α,γ-diamino butírico, δ-$(B)_2$α-(B')D-ornitina, ácido D-2-amino-3(4-piperidil)propiônico, ácido D-2-amino-3(2-aminopirrolidil)propiônico, ácido D-α-amino-β-amidinopropiônico, ácido α-amino-4-piperidineacético, ácido cis-α,4-diaminociclo-hexano acético, ácido trans-α,4-diaminociclo-hexanoacético, ácido cis-α-amino-4-metilamino ciclo-hexano acético, ácido trans-α-amino-4-metilaminociclohexano acético, ácido α-amino-1-amidino-4-piperidino acético, ácido cis-α-amino-4-guanidinociclo-hexano acético ou ácido trans-α-amino-4-guanidino-ciclohexano acético, onde cada (B) é independentemente escolhido de -H ou C_1-C_4 alquila, e (B') is -H ou (α-Me); e p é zero ou 1.

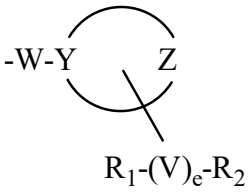
A unidade G é seleccionada de uma das seguintes unidades (i) – (iv):

(i) G é

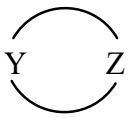
$$(Xaa_1)_q\text{-}(Xaa_2)_r\text{-}(Xaa_3)_s\text{-}(Xaa_4)_t\text{-}L$$

em que p, q, r, s e t são cada um independentemente zero ou 1, desde que pelo menos um de s e t seja 1. A unidade L é um ligante escolhido de ε-D-Lys, ε-Lys, δ-D-Orn, δ-Orn, ácido γ-aminobutírico, ácido 8-aminooctanôico, ácido 11-amino-undecanôico, ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanôico, 4-amino-4-carboxílico piperidina e (D-Lys-Gly lactam)$_2$,

(ii) G é

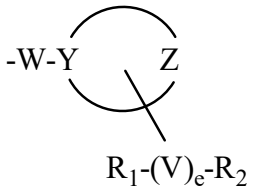


em que p é 1, e Xaa$_3$-Xaa$_4$- é escolhido de D-norleucina-(B)$_2$D-arginina-, D-leucina-δ-(B)$_2$α-(B′)D-ornitina-, e α-metil-D-leucina-δ(B)$_2$-α(B′)D-ornitina-; e a unidade

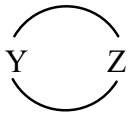


é uma unidade de anel heterocíclico de 4 a 8 membros opcionalmente substituídos em que todos os anéis de heteroátomos na referida unidade de anel são átomos de nitrogênio; em que Y e Z são cada um independentemente átomos de carbono ou nitrogênio; contanto que quando tal unidade de anel é um anel de seis, sete ou oito membros, Y e Z são separados por pelo menos dois átomos de anel, e contanto que quando ta unidade de anel tem um heteroátomo individual, que seja nitrogênio, então tal unidade de anel é não aromática.

(iii) G é

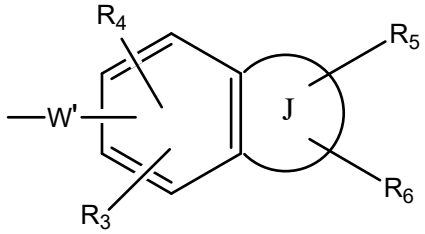


em que p é 1; e a unidade



é uma unidade de anel heterocíclico de 4 a 8 membros opcionalmente substituídos, em que Y é um átomo de carbono ou nitrogênio e Z é carbono, nitrogênio, oxigênio, enxofre, sulfóxido ou sulfonila; contanto que quando tal unidade de anel é um anel de seis, sete ou oito membros, Y e Z são separados por pelo menos dois átomos de anel, contanto que quando tal unidade é não aromática e Z é um átomo de carbono ou nitrogênio, então tal unidade de anel inlcui pelo menos um heteroátomo de anel de enxofre ou oxigênio; e contanto ainda que quando tal unidade de anel for aromática, Y é um átomo de carbono.

(iv) G é



em que J é uma unidade de anel heterocílico de 5-, 6-, ou 7 membros compreendendo 1, 2, ou 3 heteroátomos no anel em que R_3 e R_4 são cada um independentemente seleccionados de C_1-C_3 alquila, halo, -OH, $-CF_3$, $-NH_2$, -COOH e amidina; e R_5 e R_6 são cada um independentemente seleccionados de C_1-C_3 alquila, oxo, halo, -OH, $-CF_3$, $-NH_2$, -COOH e amidina.

A unidade W' é escolhida de uma das três opções seguintes: nula; $-NH-(CH_2)_b-$ com b igual a zero, 1, 2, 3,

4, 5, ou 6; e -NH-$(CH_2)_c$-O- com c igual a 2 ou 3.

A unidade V representa C_1-C_6 alquila, e o operador, e é zero ou 1, em que quando e é zero, então V é nulo e, R_1 e R_2 estão diretamente ligados aos mesmo ou a diferentes átomos de anel. Os grupos R_1 e R_2 podem ser qualquer um de (a), (b), (c) ou (d) como se segue:

(a) R_1 é H, OH, halo, CF_3, -NH_2, -COOH, C_1-C_6 alquila, amidina, amidina substituída por C_1-C_6 alquila, arila, heterociclila opcionalmente substituída, Pro-amida, Pro, Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Lys, Arg, Orn, Ser, Thr, CN, $CONH_2$, COR', SO_2R', CONR'R'', NHCOR', OR', ou SO_2NR'R''; em que a referida heterociclila opcionalmente substituída é opcionalmente substituída uma só vez ou duas vezes com substituintes independentemente seleccionados do grupo que consiste em C_1-C_6 alquila, C_1-C_6 alcoxi, oxo, -OH, -Cl, -F, -NH_2, -NO_2, -CN, -COOH, e amidina; em que R' e R'' são cada um independentemente H, C_1-C_8 alquila, arila, heterociclila ou R' e R'' são combinados para formar um anel de 4 a 8 membros, sendo o anel opcionalmente substituído uma só vez ou duas vezes com substituintes independentemente selecionados do grupo que consiste em C_1-C_6 alquila, C_1-C_6 alcoxi, -OH, -Cl, -F, -NH_2, -NO_2, -CN, e -COOH, amidina; e R_2 é H, amidina, amidina substituída uma só vez ou duas vezes por C_1-C_6 alquila, -CN, -$CONH_2$, -CONR'R'', -NHCOR', -SO_2NR'R'', ou -COOH; ou

(b) R_1 e R_2 em conjunto podem formar uma unidade de anel monocíclica ou bicíclica heterocíclica de 4 a 9 membros opcionalmente substituída que está ligada a um átomo de anel único de unidade de anel contendo Y e Z; ou

(c) R_1 e R_2 em conjunto com um átomo de anel único de

unidade de anel contendo Y e Z podem formar uma unidade de anel heterocíclico de 4 a 8 membros opcionalmente substituída para formar uma estrutura espiro; ou

(d) R_1 e R_2 em conjunto com dois ou mais átomos de anel adjacentes da unidade de anel contendo Y e Z podem formar uma unidade de anel monocíclico ou bicíclico heterocíclico de 4 a 9 membros opcionalmente substituída fundida para a unidade de anel contendo Y e Z.

Cada uma das unidades mencionadas em cima de anel heterocíclico de 4 a 9 membros opcionalmente substituída incluindo R_1 e R_2 é opcionalmente substituída uma só vez ou duas vezes com substituintes independentemente escolhidos de C_1-C_6 alquila, C_1-C_6 alcoxi, fenila opcionalmente substituída (como definido em cima), oxo, -OH, -Cl, -F, -NH_2, -NO_2, -CN, -COOH, e amidina.

As definições da fórmula I em cima estão sujeitas às três condições seguintes:

(1) Se a unidade de anel contendo Y e Z for um anel de seis ou sete membros compreendendo um heteroátomo de anel único e quando um de Y e Z for C e o outro de Y e Z for N, e e for zero, então R_1 não é OH, e R_1 e R_2 não são ambos H;

(2) Se a unidade de anel contendo Y e Z for um anel de seis membros compreendendo dois heterátomos de anel, tanto Y como Z forem átomos de nitrogênio, W for nulo, e a unidade -V_e(R_1)(R_2) estiver ligada a Z, então -V_e(R_1)(R_2) é escolhido de amidina, amidina substituída em C_1-C_6 alquila, dihidroimidazole, -CH_2COOH, e –CH_2C(O)NH_2; e

(3) Se a unidade de anel contendo Y e Z for um anel de seis membros compreendendo um heteroátomo de anel de

enxofre ou oxigênio, ou se a unidade de anel contendo Y e Z for um anel de seis membros não aromático que inclua dois heteroátomos de anel, em que tanto Y como Z são átomos de nitrogénio e W é nulo, ou se a unidade de anel contendo Y e Z for um anel aromático de seis membros que inclua um heteroátomo de anel único, sendo o heteroátomo um átomo de nitrogênio, então quando e for zero, R_1 e R_2 não são ambos hidrogênio.

A invenção também proporciona um agonista de receptor kappa opióide selectivo (intercambiavelmente designado aqui como agonista de receptor kappa ou simplesmente agonista kappa), o qual é uma amida peptídica sintética da invenção, como descrito em cima.

A invenção também fornece uma composição farmacêutica, que inclui uma amida peptídica sintética da invenção e um diluente, excipiente ou veículo farmaceuticamente aceitável.

Também é fornecido um método para tratar ou prevenir uma doença ou patologia associada ao receptor kappa opióide em um mamífero. O método inclui a administração ao mamífero de uma composição que inclui uma quantidade efectiva de uma amida peptídica sintética da invenção. A invenção também fornece usos das amidas peptídicas sintéticas da invenção para a preparação de medicamentos e composições farmacêuticas para o tratamento de doenças ou patologias associadas ao receptor kappa opióide em um mamífero.

A invenção proporciona ainda um método para tratar ou prevenir uma doença ou patologia associada ao receptor kappa opióide em um mamífero, em que uma amida peptídica sintética da invenção é co-administrada com uma dose

reduzida de um composto analgésico de agonista opióide mu para produzir um efeito analgésico terapêutico tendo o composto analgésico de agonista opióide mu um efeito secundário associado (especialmente depressão respiratória, sedação, euforia, anti-diurese, náusea, vómitos, obstipação e tolerância física, dependência e adição). A dose reduzida do composto analgésico de agonista opióide mu administrada por esse método tem efeitos secundários associados inferiores do que os efeitos secundários associados à dose do composto necessário para atingir o mesmo efeito analgésico terapêutico quando administrado individualmente.

A invenção também fornece um método para tratar ou prevenir a hiperalgesia periférica, em que o método inclui a aplicação tópica ou administração local em um mamífero em necessidade de tratamento, de uma quantidade eficaz de uma composição que inclui uma quantidade eficaz anti-hiperalgésica de uma amida peptídica sintética da invenção em um veículo formulado para aplicação tópica ou administração local.

A invenção também fornece um método para tratar ou prevenir a hiponatremia ou hipocalemia, e desse modo tratar ou prevenir uma doença ou patologia associada à hiponatremia ou hipocalemia, tal como enfarte congestivo, cirrose hepática, síndrome nevrótico, hipertensão ou edema e de preferência quando secreção de vasopressão aumentada está associada a tal doença ou perturbação, em que o método inclui a administração a um mamífero de uma quantidade aquareticamente eficaz de uma amida peptídica sintética da invenção em um diluente, excipiente ou veículo farmaceuticamente aceitável.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

Figura 1: Ilustra o esquema genérico utilizado na síntese do composto (1) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(2-aminoetil)-1-carboximetilpiperazina]-OH (SEQ ID NO: 1): Os passos a – g foram realizados com os seguintes reagentes ou condições: a) Fmoc-4-(2-aminoetil)-1-carboxilmetil-piperazina, DIEA, DCM; b) 25% de piperidina/DMF; c) Fmoc-D-Orn(Boc)-OH, DIC, HOBt, DMF; d) Fmoc-D-Leu-OH, DIC, HOBt, DMF; e) Fmoc-D-Phe-OH, DIC, HOBt, DMF; f) Boc-D-Phe-OH, DIC, HOBt, DMF; g) TFA/TIS/H2O (95:2.5:2.5).

Figura 2: Mostra o esquema geral usado na síntese do composto (13): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(2-aminoetil)-1-carboximetilpiperazina]-NH_2 (SEQ ID NO: 1). As etapas a – h foram realizadas com os seguintes reagentes ou condições: a) 25% de piperidina, DMF; b) Fmoc-4-(2-aminoetil)-1-carboxilmetil-piperazina, HBTU, DIEA, DMF; c) 25% de piperidina, DMF; d) Fmoc-D-Orn(Boc)-OH, DIC, HOBt, DMF; e) Fmoc-D-Leu-OH, DIC, HOBt, DMF; f) Fmoc-D-Phe-OH, DIC, HOBt, DMF; g) Boc-D-Phe-OH, DIC, HOBt, DMF; h) TFA/TIS/H2O (95:2.5:2.5).

Figura 3: Mostra o esquema geral usado na síntese de derivados do tetrapeptídeo homopiperazina tais como o composto (11). As etapas a – s foram realizadas com os seguintes reagentes ou condições: a) homopiperazina, DCM; b) Fmoc-D-Dap(ivDde)-OH or Fmoc-D-Dab(ivDde)-OH or Fmoc-D-Orn(Aloc)-OH ou Fmoc-D-Orn(Z)-OH ou Fmoc-D-Lys(Dde)-OH ou Fmoc-D-Arg(Pbf)-OH, DIC, HOBt, DMF; c) 25% de piperidina em DMF; d) Fmoc-D-Leu-OH ou Fmoc-D-Nle-OH, DIC, HOBt, DMF; e) Fmoc-D-Phe-OH, DIC, HOBt, DMF; f) Z-D-Phe-OH, DIC, HOBt, DMF; n = 0-3; R3 = iPr, nPr; PG4 = ivDde, Dde, Aloc, Z, Pbf

no caso de D-Arg; g) 4% de hidrazina em DMF; h) Pd(PPh3)4, CHCl3/AcOH/NMM; i) O-NBS-Cl, colidina, NMP; j) dimetilsulfato, DBU, NMR; k) mercaptoetanol, DBU, NMP; l)Z-OSu, DMF; m) acetona, AcOH, NaBH(OAc)3, TMOF; n) 1H-pirazole-1-carboxamidina, DIEA, DMF; n = 0 – 3; R3= iPr, nPr; R4 = H, Me, iPr, amidino; PG4 = Z, H se R4 é amidino; o) 50% de TFA/DCM; p) S-Metil-N-metilisotioréia hidroiodida, DIEA, DMF; q) 2-metiltio-2-imidazolina hidroiodida, DIEA, DMF; r) iodoetano, DIEA, DMF; s) TMSOTf/TFA/m-cresol (2:7:1); n = 0-3; R3 = iPr, nPr; R4 = H, Me, iPr, amidino; R5 = H, Et, amidino,4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il, N-metilcarbamimidoila.

Figura 4: Mostra o esquema geral usado na síntese dos compostos (25) – (38). As etapas a – h foram realizadas com os seguintes reagentes ou condições: a) EDC, HOBt, DIEA, THF; b) TFA, DCM; c) Boc-D-Phe-OH, EDC, HOBt, DIEA; d) H_2, Pd/C; e) H-D-Lys(Boc)-OAll, TBTU, DIEA, DMF; f) $Pd(PPh_3)_4$, pirrolidina; g) amina HNR_1R_2, HBTU, DMF; h) HCl, dioxano.

Figura 5: Mostra o esquema geral usado na síntese do composto (40): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[ε-Lys(D-Orn-D-Leu-H)]-H (SEQ ID NO: 1). As etapas a – i foram realizadas com os seguintes reagentes ou condições: a) Fmoc-L-Lys(Dde)-OH, DIEA, DCM; b) 25% de piperidina/DMF; c) Fmoc-D-Orn(Boc)-OH, PyBOP, DIEA, DMF; d) Boc-D-Leu-OH, PyBOP, DIEA, DMF; e) 4% de hidrazina, DMF; f) Fmoc-D-Leu-OH, PyBOP, DIEA, DMF; g) Fmoc-D-Phe-OH, PyBOP, DIEA, DMF; h) Boc-D-Phe-OH, PyBOP, DIEA, DMF; i) TFA/TIS/H2O (95:2.5:2.5).

Figura 6: Mostra o esquema geral usado na síntese do composto (51): 1N,4N-bis-(D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Nar)-4amino-

4carboxílico piperidina (SEQ ID NO: 6). As etapas a - k foram realizadas com os seguintes reagentes ou condições: a) 35% de piperidina, DMF; b) ácido N-Boc-(4-Fmoc-amino)piperidina-4-carboxílico, PyBOP, DIEA, DMF; c) 30% de TFA/DCM; d) Boc-D-Dab(Fmoc)-OH, PyBOP, DIEA, DMF; e) Boc-D-Leu-OH, PyBOP, DIEA, DMF; f) Boc-D-Phe-OH, PyBOP, DIEA, DMF; g) Boc-D-Phe-OH, PyBOP, DIEA, DMF; h) 2% de DBU/DMF; i) 1H-pirazole-1-carboxamidina, DIEA, DMF; j) acetato de cobre, piridina, DBU, DMF/água; k) 95% de TFA/água.

Figura 7: Mostra o esquema geral usado na síntese do composto (52): D-Phe-D-Phe-D-Leu-(D-Lys-GlyLactam)$_2$-D-Leu-D-Phe-D-Phe. As etapas a – h foram realizadas com os seguintes reagentes ou condições: a) Fmoc-Glicina, DIEA, DCM; b) 25% de piperidina/DMF; c) Fmoc-D-Lys(Boc)-OH, PyBOP, DIEA, DMF; d) Fmoc-D-Leu-OH, PyBOP, DIEA, DMF; e) Fmoc-D-Phe-OH, PyBOP, DIEA, DMF; f) Boc-D-Phe-OH, PyBOP, DIEA, DMF; g) TFA/TIS/H2O; h) PyBOP, DIEA, DMF;

Figura 8: Mostra o esquema geral usado na síntese do composto (53): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[R/S-2-carboximorfolina]-OH (SEQ ID NO: 1). As etapas a – g foram realizadas com os seguintes reagentes ou condições: a) ácido Fmoc-morfolina-2-carboxílico, DIEA, DCM; b) 25% de piperidina/DMF; c) Fmoc-D-Orn(Boc)-OH, DIC, HOBt, DMF; d) Fmoc-D-Leu-OH, DIC, HOBt, DMF; e) Fmoc-D-Phe-OH, DIC, HOBt, DMF; f) Boc-D-Phe-OH, DIC, HOBt, DMF; g) TFA/TIS/H2O (95:2.5:2.5).

Figura 9: Mostra o esquema geral usado na síntese do composto (55): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-N(homomorfolina) (SEQ ID NO: 1). As etapas a – d foram realizadas com os

seguintes reagentes ou condições: a) homomorfolina, EDC, HOBt, THF; b) H2, Pd/C, MeOH; c) Boc-D-Phe-D-Phe-D-Leu-OH, EDC, HOBt, THF; d) TFA, DCM.

Figura 10: Curba de dose de resposta para o composto (17) em camundongos IRC no ensaio de convulsões induzido por ácido acético (círculos abertos) e o meio (círculos fechados) e barras de erro; e no ensaio de locomoção (quadrados abertos) e meios (quadrados fechados) e barras de erro.

Figura 11: Concentrações de plasma após administração intravenosa de um bolus individual do composto (19) em macacos cynomolgus. O plasma foi recolhido em amostra a cada 2, 5, 10, 15, 30, 60, 120, e 240 minutos após a injecção.

DESCRIÇÃO DETALHADA

Conforme utilizado por toda esta memória descritiva, o termo “amida peptídica sintética” significa um composto da invenção de acordo com a fórmula I, ou um seu estereoisômero, mistura de estereoisômeros, pró-droga, sal, hidrato, solvato, hidrato de sal ácido, N-óxido ou forma cristalina isomórfica farmaceuticamente aceitáveis. As designações Xaa_1, Xaa_2, Xaa_3 e Xaa_4 especificam D aminoácidos nas amidas peptíducas sintéticas da invenção. Os estereoisômeros das amidas peptídicas da invenção de acordo com a fórmula I são limitados àqueles compostos que têm aminoácidos na configuração D onde especificado na Fórmula I. Os estereoisômeros das amidas peptídicas sintéticas da invenção incluem compostos que têm a configuração D ou L nos centros quirais que não sejam os carbonos alfa dos quatro aminoácidos Xaa_1, Xaa_2, Xaa_3 e

Xaa_4. O termo “misturas de estereoisômeros” se refere a misturas destes estereoisômeros da invenção. Conforme aqui utilizado, “racematos” se referem a misturas de estereoisômeros que têm proporções iguais de compostos com configurações D e L em um ou mais dos centros quirais que não sejam os carbonos alfa de Xaa_1, Xaa_2, Xaa_3 e Xaa_4 sem variar a quiralidade dos carbonos alfa de Xaa_1, Xaa_2, Xaa_3 e Xaa_4.

A nomenclatura utilizada para aqui definir os peptídeos é especificada por Schroder & Lubke, *The Peptides*, Academic Press, 1965, onde, de acordo com representação convencional, o N-terminal aparece à esquerda e o C-terminal à direita. Onde o resíduo de aminoácido tem formas isoméricas, tanto a forma de isômero L como a forma de isômero D do aminoácido pretendem ser cobertas, salvo indicação em contrário. Os aminoácidos são, em geral, aqui identificados pelo código padrão de três letras. O isômero D de um aminoácido é especificado pelo prefixo “D-” como em “D-Phe” que representa D-fenilalanina, o isômero D de fenilalanina. De modo semelhante, o isômero L é especificado pelo prefixo “L-” como em “L-Phe.” Os peptídeos são aqui representados de acordo com a convenção habitual como seqüências de aminoácidos da esquerda para a direita: N-terminal para C-terminal, salvo especificação em contrário.

Conforme aqui utilizado, D-Arg representa D-arginina, D-Har representa D-homoarginina, que tem um grupo metileno de cadeia lateral mais longo do que D-Arg e D-Nar representa D-norarginina, que tem um grupo metileno de cadeia lateral mais curto do que D-Arg. De modo semelhante,

D-Leu significa D-leucina, D-Nle significa D-norleucina e D-Hle representa D-homoleucina. D-Ala significa D-alanina, D-Tyr significa D-tirosina, D-Trp significa D-triptofano e D-Tic significa ácido D-1,2,3,4-tetra-hidroisoquinolina-3-carboxílico. D-Val significa D-valina e D-Met significa D-metionina. D-Pro significa D-prolina, Pro-amida significa a forma D ou L de prolina amida. D-Pro amida representa D-prolina com uma amida formada na sua unidade carboxi onde o nitrogênio da amida pode estar substituído por alquila, como em $-NR_aR_b$, onde R_a e R_b são, cada um independentemente um grupo C_1-C_6 alquila, ou um de R_a e R_b é -H. Gly significa glicina, D-Ile significa D-isoleucina, D-Ser significa D-serina e D-Thr significa D-treonina. (E)D-Ala significa o isômero D de alanina que está substituído pelo substituinte (E) no carbono β. Exemplos deste grupo substituinte (E) incluem ciclobutila, ciclopentila, ciclo-hexila, piridila, tienila e tiazoil. Deste modo, ciclopentil-D-Ala significa o isômero D de alanina que está substituído por ciclopentila no carbono β. De modo semelhante, D-Ala(2-tienil) e (2-tienil)D-Ala são intercambiáveis e ambos significam o isômero D de alanina substituído no carbono β por tienila que está ligada na posição 2 do anel.

Conforme aqui utilizado, D-Nal significa o isômero D de alanina substituído por naftila no carbono β. D-2Nal significa D-alanina substituída por naftila onde a ligação ao naftaleno é na posição 2 na estrutura do anel e D-1Nal significa D-alanina substituída por naftila onde a ligação ao naftaleno é na posição 1 na estrutura do anel. (A)(A')D-Phe significa D-fenilalanina substituída no anel fenila com um ou dois substituintes independentemente selecionados de

halogênio, nitro, metila, halometila (tal como, por exemplo, trifluorometila), per-halometila, ciano e carboxamida. D-(4-F)Phe significa D-fenilalanina que está substituída por flúor na posição 4 do anel fenila. D-(2-F)Phe significa D-fenilalanina que está substituída por flúor na posição 2 do anel fenila. D-(4-Cl)Phe significa D-fenilalanina que está substituída por cloro na posição 4 do anel fenila. (α-Me)D-Phe significa D-fenilalanina que está substituída por metila no carbono alfa. (α-Me)D-Leu significa D-leucina que está substituído por metila no carbono alfa.

As designações $(B)_2$D-Arg, $(B)_2$D-Nar e $(B)_2$D-Har representam D-arginina e D-norarginina D-homoarginina, respectivamente, tendo cada uma dois grupos substituintes (B) na cadeia lateral. D-Lys significa D-lisina e D-Hlys significa D-homolisina. ζ-(B)D-Hlys, ε-(B)D-Lys e ε-$(B)_2$-D-Lys representam D-homolisina e D-lisina cada uma tendo o grupo amino da cadeia lateral substituído com um ou dois grupos substituintes (B), conforme indicado. D-Orn significa D-ornitina e δ-(B)α-(B')D-Orn significa D-ornitina substituída com (B') no carbono alfa e substituída com (B) no grupo δ-amino da cadeia lateral.

D-Dap significa ácido D-2,3-diaminopropiônico. D-Dbu representa o isômero D do ácido alfa, gama-diamino butírico e $(B)_2$D-Dbu representa o ácido alfa, gama-diamino butírico que está substituído com dois grupos substituintes (B) no grupo gama amino. Salvo declarado em contrário, cada um dos grupos (B) destes resíduos substituídos duas vezes é independentemente selecionado de H- e C_1-C_4-alquila. Conforme aqui utilizado, D-Amf significa D-(NH_2CH_2-)Phe,

isto é, o isômero D fenilalanina substituída com aminometila no seu anel fenila e D-4Amf representa o D-Amf específico ao qual a aminometila está ligada na posição 4 do anel. D-Gmf significa D-Amf(amidina) que representa D-Phe onde o anel fenila está substituído com $-CH_2NHC(NH)NH_2$. Amd representa amidina,$-C(NH)NH_2$ e as designações (Amd)D-Amf e D-Amf(Amd) são também usadas de forma intercambiável para D-Gmf. As designações Ily e Ior são utilizadas, respectivamente, para significar isopropil Lys e isopropil Orn, onde o grupo amino da cadeia lateral é alquilado com um grupo isopropila.

Alquila significa um radical alcano que pode ser um grupo alquilo linear, ramificado e cíclico tal como, mas não limitado a metila, etila, propila, isopropila, ciclopropila, butila, t-butila, sec-butila, pentila, ciclopentila, hexila, ciclo-hexila, ciclo-hexiletila. C_1 a C_8 alquila se refere a grupos alquila que têm entre um e oito átomos de carbono. De modo semelhante C_1-C_6 alquila se refere a grupos alquila que têm entre um e seis átomos de carbono. Do mesmo modo, C_1-C_4 alquila se refere a grupos alquila que têm entre um e quatro átomos de carbono. Alquila de cadeia curta significa C_1-C_6 alquila. Me, Et, Pr, Ipr, Bu e Pn são usados de forma intercambiável para representar os grupos alquila comuns: metila, etila, propila, isopropila, butila e pentila, respectivamente. Embora a ligação para um grupo alquila seja tipicamente em uma extremidade da cadeia alquila, a ligação pode ser em outra parte da cadeia, por exemplo, 3-pentila que também pode ser referida como etilpropila ou 1-etilprop-1-ila. Substituída em alquila, tal como amidina substituída em C_1

a C_6 alquila, indica que a unidade relevante está substituída com um ou mais grupos alquila.

Onde uma unidade especificada é nula, a unidade está ausente e se esta unidade está indicada para ser ligada a duas outras unidades, estas duas outras unidades são conectadas por uma ligação covalente. Onde uma unidade de ligação é aqui apresentada como ligada a um anel em qualquer posição no anel, e ligada a duas outras unidades, tais como R_1 e R_2, no caso onde a unidade de ligação é especificada para ser nula, então as R_1 e R_2 podem ser, cada uma independentemente ligadas a qualquer posição no anel.

Os termos "heterociclo", "anel heterocíclico" e "heterociclila" são aqui usados de forma intercambiável e se referem a um anel ou unidade de anel que tem pelo menos um átomo não-carbono no anel, também chamado de heteroátomo, que pode ser um átomo de nitrogênio, de enxofre ou de oxigênio. Onde um anel é especificado como tendo um certo número de membros, o número define o número de átomos do anel sem referência a quaisquer substituintes ou átomos de hidrogênio ligados aos átomos do anel. Heterociclos, anéis heterocíclicos e unidades heterociclilas podem incluir heteroátomos múltiplos independentemente selecionados de um átomo de nitrogênio, enxofre ou oxigênio no anel. Os anéis podem estar substituídos em qualquer posição disponível. Por exemplo, mas sem limitação, anéis com 6 e 7 membros estão muitas vezes substituídos na posição 4 do anel e anéis com 5 membros estão freqüentemente substituídos na posição 3, onde o anel é ligado à cadeia amido peptídica na posição 1

do anel.

O termo 'saturado' se refere a uma ausência de ligações duplas ou triplas e a utilização do termo em relação aos anéis descreve anéis que não têm ligações duplas ou triplas dentro do anel, mas não exclui ligações duplas ou triplas presentes nos substituintes ligados ao anel. O termo "não-aromático" se refere no contexto de um anel em particular a uma ausência de aromaticidade naquele anel, mas não exclui a presença de ligações duplas dentro do anel, incluindo ligações duplas que são parte de um anel aromático fundido ao anel em questão. Um átomo do anel de uma unidade de anel heterocíclico saturado também não é excluído de ligação dupla a um átomo que não é do anel, tal como, por exemplo um átomo de enxofre do anel com ligação dupla a um átomo de oxigênio substituinte. Conforme aqui utilizado, heterociclos, anéis heterocíclicos e unidades heterociclilas também incluem anéis saturados, parcialmente insaturados e heteroaromáticos e estruturas de anel bicíclico fundido, salvo especificado em contrário. Um heterociclo, anel heterocíclico ou unidade heterociclila podem ser fundidos a um segundo anel, que pode ser um anel saturado, parcialmente insaturado ou aromático, cujo anel pode ser um heterociclo ou um carbociclo. Onde indicado, dois substituintes podem opcionalmente ser tomados em conjunto para formar um anel adicional. Os anéis podem estar substituídos em qualquer posição disponível. Um heterociclo, anel heterocíclico ou unidade heterociclila podem, quando indicado, estar opcionalmente substituídos em uma ou mais posições do anel com um ou mais substituintes independentemente selecionados, tais como, por exemplo, C_1-

C_6 alquila, C_3-C_8 cicloalquila, C_1-C_6 alcoxi, halo C_1-C_6 alquila, fenila opcionalmente substituída, arila, heterociclila, oxo, -OH, -Cl, -F, $-NH_2$, $-NO_2$, -CN, -COOH e amidina.

Substituintes opcionais adequados do substituinte fenila incluem, por exemplo, mas sem limitação, um ou mais grupos selecionados de C_1-C_3 alquila, C_1-C_3 alcoxi, halo C_1-C_3 alquila, oxo, -OH, -Cl, -F, $-NH_2$, $-NO_2$, -CN, -COOH e amidina.

D-Phe e D-Phe substituído são exemplos de um aminoácido adequado para o resíduo Xaa_1 na Fórmula I. O anel fenila pode estar substituído em qualquer das posições 2, 3 e/ou 4. Exemplos específicos de substituições permitidas incluem, por exemplo, cloro ou flúor nas posições 2 ou 4. Além disso, o carbono alfa pode ser metilado. Outros resíduos equivalentes que representam mudanças conservadoras para D-Phe também podem ser utilizados. Estes incluem D-Ala(ciclopentil), D-Ala(tienil), D-Tyr e D-Tic. O resíduo na segunda posição, Xaa_2 também pode ser D-Phe ou D-Phe substituído com substituições que incluem um substituinte no carbono na posição 4 do anel fenila ou nas posições 3 e 4. Alternativamente, Xaa_2 pode ser D-Trp, D-Tyr ou D-alanina substituída por naftila. O resíduo na terceira posição, Xaa_3 pode ser qualquer resíduo de aminoácido não-polar, tal como, por exemplo, D-Nle, D-Leu, (α-Me)D-Leu, D-Hle, D-Met ou D-Val. No entanto, D-Ala(ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila ou ciclo-hexila) ou D-Phe também podem ser usados como Xaa_3. O resíduo na quarta posição Xaa_4 pode ser qualquer resíduo de aminoácido carregado positivamente, tal

como, por exemplo, D-Arg e D-Har, que podem estar opcionalmente substituídos com grupos alquila de cadeia curta, tal como um ou dois grupos etila. Alternativamente, D-Nar e quaisquer outros resíduos equivalentes podem ser utilizados, tais como, por exemplo, D-Lys ou D-Orn (qualquer um dos quais pode ser grupo ω-amino alquilado, por exemplo, por grupos metila ou isopropila ou metilado no grupo carbono □). Além disso, D-Dbu, D-4-Amf (que podem estar opcionalmente substituídos com amidina) e D-Hlys são também aminoácidos adequados nesta posição.

Os compostos da invenção contêm um ou mais centros quirais, cada um dos quais tem duas disposições espaciais tridimensionais (configurações) possíveis dos quatro substituintes à volta do átomo de carbono central. Estes são conhecidos como e*stereoisômeros*, e mais especificamente como *enantiômeros* (todos os centros quirais invertidos) ou *diastereoisômeros* (dois ou mais centros quirais, pelo menos um centro quiral permanecendo o mesmo). Em uma modalidade específica da invenção, os aminoácidos que constituem a estrutura de base tetrapeptídica, $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$ são especificados para serem D-aminoácidos, isto é, a configuração oposta daqueles geralmente encontrados em mamíferos. Referência a estereoisômeros das amidas peptídicas sintéticas da invenção se refere a centros quirais a não ser os carbonos alfa dos D-aminoácidos que constituem Xaa_1-Xaa_4. Deste modo, os estereoisômeros das amidas peptídicas sintéticas que são modalidades da invenção onde cada de Xaa_1-Xaa_4 são especificados para serem D-aminoácidos, não incluem L-aminoácidos ou misturas racêmicas dos aminoácidos nestas posições. De modo

semelhante, referência aos racematos aqui se refere a um centro a não ser os carbonos alfa dos D-aminoácidos que constituem Xaa_1-Xaa_4. Os centros quirais nas amidas peptídicas sintéticas da invenção para os quais um estereoisômero pode tomar a configuração R ou S inclui os centros quirais na unidade ligada ao carboxi-terminal de Xaa_4, e também os centros quirais em quaisquer substituintes da cadeia lateral do aminoácido de Xaa_1-Xaa_4.

As amidas peptídicas sintéticas da invenção aqui descritas (também referidas de forma intercambiável como compostos de amida peptídica sintética, compostos da invenção, composto (número), ou simplesmente "os compostos") podem ser utilizadas ou preparadas de formas alternativas. Por exemplo, muitos compostos contendo amino podem ser utilizados ou preparados como um sal ácido. Muitas vezes estes sais melhoram as propriedades de isolamento e manipulação do composto. Por exemplo, dependendo dos reagentes, condições de reação e outros, os compostos, tais como as amidas peptídicas sintéticas aqui descritas, podem ser utilizados ou preparados, por exemplo, como os sais cloridrato ou tosilato. Formas cristalinas isomórficas, todas as formas quirais e racêmicas, N-óxido, hidratos, solvatos e hidratos de sal ácido são também contempladas como pertencendo ao âmbito da presente invenção.

Certas amidas peptídicas ácidas ou básicas da presente invenção podem existir como zwitterions. Todas as formas destes compostos de amida peptídica sintética, incluindo ácido livre, base livre e zwitterions, são contempladas como pertencendo ao âmbito da presente invenção. É bem

sabido na técnica que os compostos contendo ambos os grupos amino e carboxila muitas vezes existem em equilíbrio com a suas formas zwitteriônicas. Deste modo, para qualquer composto aqui descrito que contenha, por exemplo, ambos os grupos amino e carboxila, também será entendido que inclui o zwitterion correspondente.

Em uma modalidade, o presente invento proporciona amidas peptídicas sintéticas com a fórmula

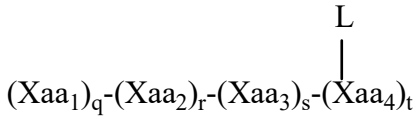
$$Xaa_1\text{-}Xaa_2\text{-}Xaa_3\text{-}(Xaa_4)_p$$
$$\Big|$$
$$G$$

e um estereoisômero, misturas de estereoisômeros, pró-drogas, sais, hidratos, solvatos, hidratos de sal ácido, N-óxidos e formas cristalinas isomórficas farmaceuticamente aceitáveis, em que Xaa_1 é escolhido independentemente de (A)(A')D-fenilalanina, (A)(A')(α-Me)D-fenilalanina, D-tirosina, ácido D-1,2,3,4-tetra-hidroisoquinolina-3carboxílico, D-fenilglicina, D-neopentilglicina, D-fenilglicina, D-homofenilalanina e β(E)D-Ala, onde cada (A) e cada (A') são substituintes do anel fenila independentemente selecionados de -H, -F, -Cl, $-NO_2$, $-CH_3$, $-CF_3$, -CN e $-CONH_2$ e onde cada (E) é independentemente selecionado de ciclobutila, ciclopentila, ciclo-hexila, piridila, tienila e tiazolila. Cada Xaa_2 é independentemente escolhido de (A)(A')D-fenilalanina, (A)(A')(α-Me)D- fenilalanina, D-1-naftilalanina, D-2-naftilalanina, D-tirosina, (E)D-alanina ou D-triptofane. Cada Xaa_3 é independentemente escolhido de D-norleucina, D-fenilalanina, (E)D-alanina, D-leucina, (α-Me)D-leucina, D-homoleucina, D-valina e D-metionina. Cada Xaa_4 é independentemente escolhido de $(B)_2$D-arginina,

$(B)_2$D-norarginina, $(B)_2$D-homoarginina, ζ-(B)D-homolisina, ácido D-2,3-diaminopropiônico, ε-(B)D-lisina, ε-$(B)_2$-D-lisina, ε-$(B)_2$-D-lisina, D-(NH_2CH_2-)fenilalanina, amidina-D-(NH_2CH_2-) fenilalanina, ácido γ-$(B)_2$D-diamino butírico, δ-$(B)_2$α-(B')D-ornitina, ácido D-2-amino-3(4-piperidil)propiônico, ácido D-2-amino-3(2-aminopirrolidil)propiônico, ácido D-α-amino-β-amidinopropiônico, ácido α-amino-4-piperidineacético, ácido cis-α,4-diaminociclo-hexano acético, ácido trans-α,4-diaminociclo-hexanoacético, ácido cis-α-amino-4-metilamino ciclo-hexano acético, ácido trans-α-amino-4-metilaminociclohexano acético, ácido α-amino-1-amidino-4-piperidino acético, ácido cis-α-amino-4-guanidinociclo-hexano acético e ácido trans-α-amino-4-guanidino-ciclohexano acético, onde cada (B) é independentemente escolhido de -H ou C_1-C_4 alquila, e (B') is -H ou (α-Me); e p é zero ou 1.

Em outra modalidade G é seleccionada de uma das seguintes quatro unidades:

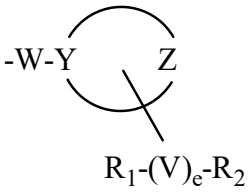
(i) G é



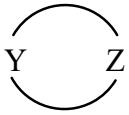
em que p, q, r, s e t são cada um independentemente zero ou 1, contanto que pelo menos um de s e t seja 1. A unidade L é um ligante escolhido de ε-D-lisina, ε-lisina, δ-D-ornitina, δ- ornitina, ácido γ-aminobutírico, ácido 8-aminooctanôico, ácido 11-amino-undecanôico, ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanôico, 4-amino-4-carboxílico piperidina e (D-Lys-Gly lactam)$_2$. As amidas peptídicas da presente modalidade são aquii também intercambiavelmete referidas

como "dímero", "estruturas diméricas" ou "dímeros de amidas peptídicas sintéticas", pois incluem dois componentes de amidas peptídicas sintéticas ligados pela unidade de ligação, L.

(ii) G é

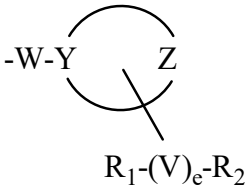


em que p é 1, e Xaa_3-Xaa_4- é escolhido de D-Nle-$(B)_2$D-arginina-, D-leucina-δ-$(B)_2$α-(B')D-ornitina-, e (α-Me)D-leucina-δ$(B)_2$-α(B')D-ornitina-; e a unidade de anel contendo Y e Z,



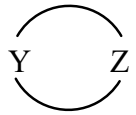
é uma unidade de anel heterocíclico de 4 a 8 membros opcionalmente substituídos em que todos os anéis de heteroátomos na referida unidade de anel são átomos de nitrogênio; em que Y e Z são cada um independentemente átomos de carbono ou nitrogênio; contanto que quando tal unidade de anel for um anel de seis, sete ou oito membros, Y e Z são separados por pelo menos dois átomos de anel, e contanto que quando a unidade de anel tiver um heteroátomo único, que seja nitrogênio, então tal unidade de anel é não aromática.

(iii) G é



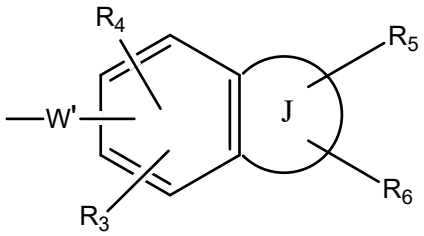
em que p é 1;

e a unidade



é uma unidade de anel heterocíclico de 4 a 8 membros opcionalmente substituídos, em que Y é C ou N e Z é carbono, nitrogênio, oxigênio, enxofre, grupo sulfóxido ou grupo sulfonila; contanto que quando tal unidade de anel for um anel de seis, sete ou oito membros, Y e Z são separados por pelo menos dois átomos de anel; contanto que quando tal unidade é não aromática e Z é um átomo de carbono ou nitrogênio, então tal unidade de anel inlcui pelo menos um heteroétomo de anel de enxofre ou oxigênio; e contanto ainda que quando tal unidade de anel for aromática, Y é um átomo de carbono; e

(iv) G é



em que J é uma unidade de anel heterocílico de 5-, 6-, ou 7 membros compreendendo 1, 2, ou 3 heteroátomos no anel em que R_3 e R_4 são cada um independentemente seleccionados de C_1-C_3 alquila, halo, -OH, $-CF_3$, $-NH_2$, -COOH e amidina; e R_5 e R_6 são cada um independentemente seleccionados de C_1-C_3 alquila, oxo, halo, -OH, $-CF_3$, $-NH_2$, -COOH e amidina; em que W' é escolhida de:

nula;

$-NH-(CH_2)_b-$ com b igual a zero, 1, 2, 3, 4, 5, ou 6; e

$-NH-(CH_2)_c-O-$ com c igual a 2 ou 3.

Em outra modalidade, V representa C_1-C_6 alquila, e é zero ou 1, em que quando e é zero, então V é nulo e, R_1 e

R_2 estão diretamente ligados ao mesmo ou a diferentes átomos de anel; em que

(a) R_1 é -H, -OH, halo, CF_3, $-NH_2$, -COOH, C_1-C_6 alquila, amidina, amidina substituída por C_1-C_6 alquila, arila, heterociclila opcionalmente substituída, Pro-amida, Pro, Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Lys, Arg, Orn, Ser, Thr, CN, $CONH_2$, COR', SO_2R', CONR'R'', NHCOR', OR', ou $SO_2NR'R''$; em que a referida heterociclila opcionalmente substituída é opcionalmente substituída uma só vez ou duas vezes com substituintes independentemente seleccionados do grupo que consiste em C_1-C_6 alquila, -C_1-C_6 alcoxi, oxo, -OH, -Cl, -F, $-NH_2$, $-NO_2$, -CN, -COOH, e amidina; em que R' e R'' são cada um independentemente H, C_1-C_8 alquila, arila, heterociclila ou R' e R'' são combinados para formar um anel de 4 a 8 membros, sendo o anel opcionalmente substituído uma só vez ou duas vezes com substituintes independentemente selecionados do grupo que consiste em C_1-C_6 alquila, -C_1-C_6 alcoxi, -OH, -Cl, -F, $-NH_2$, $-NO_2$, -CN, e -COOH, amidina; e R_2 é H, amidina, amidina substituída uma só vez ou duas vezes por C_1-C_6 alquila, -CN, $-CONH_2$, -CONR'R'', -NHCOR', $-SO_2NR'R''$, ou -COOH; ou

(b) R_1 e R_2 em conjunto podem formar uma unidade de anel monocíclica ou bicíclica heterocíclica de 4 a 9 membros opcionalmente substituída que está ligada a um átomo de anel único de unidade de anel contendo Y e Z; ou

(c) R_1 e R_2 em conjunto com um átomo de anel único de unidade de anel contendo Y e Z podem formar uma unidade de anel heterocíclico de 4 a 8 membros opcionalmente substituída para formar uma estrutura espiro; ou

(d) R_1 e R_2 em conjunto com dois ou mais átomos de

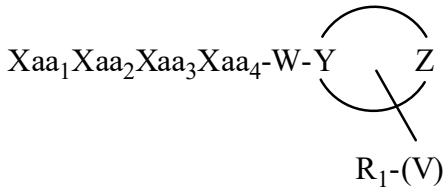
anel adjacentes da unidade de anel contendo Y e Z podem formar uma unidade de anel monocíclico ou bicíclico heterocíclico de 4 a 9 membros opcionalmente substituída fundida para a unidade de anel contendo Y e Z; e em que cada uma das unidades mencionadas em cima de anel heterocíclico de 4 a 9 membros opcionalmente substituída incluindo R_1 e R_2 é opcionalmente substituída uma só vez ou duas vezes com substituintes independentemente escolhidos de C_1-C_6 alquila, -C_1-C_6 alcoxi, fenila opcionalmente substituída, oxo, -OH, -Cl, -F, $-NH_2$, $-NO_2$, -CN, -COOH, e amidina;

contanto que se a unidade de anel contendo Y e Z for um anel de seis ou sete membros compreendendo um heteroátomo de anel único e quando um de Y e Z for C e o outro de Y e Z for N, e e for zero, então R_1 não é -OH, e R_1 e R_2 não são ambos -H;

contanto ainda que se a unidade de anel contendo Y e Z for um anel de seis membros compreendendo dois heterátomos de anel, tanto Y como Z forem N, W for nulo, e a unidade -$V_e(R_1)(R_2)$ estiver ligada a Z, então -$V_e(R_1)(R_2)$ é escolhido de amidina, amidina substituída em C_1-C_6 alquila, dihidroimidazole, $-CH_2COOH$, e $-CH_2C(O)NH_2$; e por último, se a unidade de anel contendo Y e Z for um anel de seis membros compreendendo um heteroétomo de anel de S ou O, ou se a unidade de anel contendo Y e Z for um anel de seis membros que inclua dois heteroátomos de anel, em que tanto Y como Z são átomos de N e W é nulo, ou se a unidade de anel contendo Y e Z for um anel aromático de seis membros que inclua um heteroátomo de anel único, sendo o heteroátomo um átomo N, então quando e for zero, R_1 e R_2

não são ambos -H.

Em uma outra modalidade proporcionam-se amidas peptídicas sintéticas com a fórmula:



e estereoisômeros, misturas de estereoisômeros, racematos, pró-drogas, sais, hidratos, solvatos, hidratos de sal ácido, N-óxidos e formas cristalinas isomórficas farmaceuticamente aceitáveis; em que

Xaa_1 é escolhido independentemente de (A)(A')D-Phe, (α-Me)D-Phe, D-Tyr, D-Tic, D-fenilglicina, D-homofenilalanina e β(E)D-Ala, onde cada (A) e cada (A') são cada um substituintes do anel fenila independentemente selecionados de -H, -F, -Cl, $-NO_2$, $-CH_3$, $-CF_3$, -CN e $-CONH_2$ e (E) é independentemente selecionado de ciclobutila, ciclopentila, ciclo-hexila, piridila, tienila e tiazolila. Xaa_2 é escolhido de (A)(A')D-Phe, (α-Me)D-Phe, D-1Nal, D-2Nal, D-Tyr, (E)D-Ala e D-Trp; e Xaa_3- Xaa_4- é escolhido de f D-Nle-$(B)_2$D-Arg-, D-Leu-δ-$(B)_2$α-(B')D-Orn-, e (α-Me)D-Leu-δ$(B)_2$-α(B')D-Orn; onde cada (B) é independentemente escolhido de -H e C_1-C_4 alquila, e (B') is -H ou (α-Me). W na fómrula em cima é escolhido de uma das seguintes opções:

(i) Nula, contanto que quando W for nulo, Y é N; ou

(ii) -NH-$(CH_2)_b$- com b igual a zero, 1, 2, 3, 4, 5, ou 6; e

(iii) -NH-$(CH_2)_c$-O- com c igual a 2 ou 3, contanto que Y é um átomo de carbono.

Em uma outra modalidade a unidade contendo Y e Z na fórmula mencionada em cima é uma unidade de anel

heterocílclico de mono- ou dinitrogênio saturada de 4-8 membros opcionalmente substituídos, na qual nenhum átomo de anel para além de Y e Z é um heteroátomo, Y é C ou N, Z é C ou N, e pelo menos um de Y e Z é N, e contanto que no caso de um anel hetrocíclico de 4 ou 5 membros, ou Y ou Z é C, e no caso de um heterociclo de dinitrogênio, Y e Z são separados por dois ou mais átomos de anel de carbono.

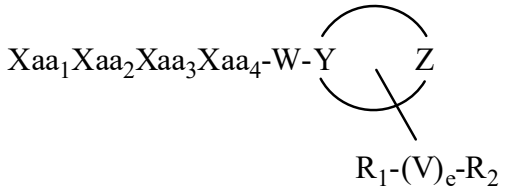
Em uma outra modalidade, quando a unidade de anel contendo Y e Z é um anel de seis membros saturado que inclui apenas dois heteroátomos de anel, os quais são ambos N e W é nulo, então Z não é N.

Em uma outra modalidade a unidade V é C_1-C_6 alquila, e e é zero ou 1, em que quando e é zero, então V é nulo e, R_1 e R_2 estão directamente ligados ao mesmo ou a diferentes átomos de anel. R_1 é H, OH, -NH_2, -COOH, C_1-C_6 alquila, amidina, amidina substituída em C_1-C_6 alquila, dihidroimidazole, Pro-amida, Pro, Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Lys, Arg, Orn, Ser, Thr, CN, $CONH_2$, CONR'R'', NHCOR', ou SO_2NR'R'', em que R' e R'' são cada um independentemente H, ou C_1-C_8 alquila, ou R' e R'' são combinados para formar um anel de 4 - 8 membros, em que o anel é opcionalmente substituído uma só vez ou por duas vezes com substituintes independentemente escolhidos de C_1-C_6 alquila, -OH, -Cl, -F, -NH_2, -NO_2, -CN, e -COOH, amidina; e R_2 é H, amidina, amidina substituída uma só vez ou por duas vezes em C_1-C_6 alquila, -CN, -$CONH_2$, -CONR'R'', -NHCOR', -SO_2NR'R'', ou -COOH.

Em uma modalidade, a fórmula I é sujeita a duas condições: (i) quando a unidade de anel contendo Y e Z for um anel de seis ou sete membros e quando um de Y e Z é C e

e é zero, então R_1 não é OH, e R_1 e R_2 não são ambos H; e (ii) quando a unidade de anel contendo Y e Z é um anel de seis membros, tanto Y como Z são N e W é nulo, então $-(V)_eR_1R_2$ está ligada a um átomo de anel diferente de Z; é se e é zero, então R_1 e R_2 não são ambos -H.

Em certas modalidades as amidas peptídicas sintéticas da invenção têm a fórmula:

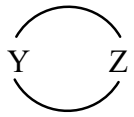


em que Xaa_1 é escolhido de (A)(A')D-Phe, (α-Me)D-Phe, D-Tyr, D-Tic, e (E)D-Ala, em que A e A' são cada um substituintes de anel fenila independentemente escolhidos de -H, -F, -Cl, $-NO_2$, $-CH_3$, $-CF_3$, -CN, $-CONH_2$, e em que E é seleccionado do grupo que consiste em ciclopentila, piridila, tienila e tiazolila. Xaa_2 é escolhido de (A)(A')D-Phe, (α-Me)D-Phe, D-1Nal, D-2Nal, D-Tyr, (E)D-Ala e D-Trp. Xaa_3 é escolhido de D-Nle, D-Phe, ciclopentila-D-Ala, D-Leu, (α-Me)D-Leu, D-Hle, D-Val, e D-Met. Xaa_4 é escolhido de $(B)_2$D-Arg, $(B)_2$D-nArg, $(B)_2$D-Har, ζ-(B)D-Hlys, D-Dap, ε-(B)D-Lys, ε-$(B)_2$-D-Lys, D-Amf, amidina-D-Amf, γ-$(B)_2$D-Dbu, δ-$(B)_2$α-(B')D-Orn, ácido D-2-amina-3(4-piperidil)propiônico, ácido D-2-amino-3(2-aminopirrolidil)propiônico, ácido D-α-amina-β-amidinapropiônico, ácido (R)-α-amina-4-piperidinacético, ácido cis-α,4-diaminociclohexano acético, ácido trans-α,4-diaminociclohexanacético, ácido cis-α-amino-4-metilaminociclohexano acético, ácido trans-α-amino-4-metilamino-ciclohexano acético, ácido α-amina-1-amidina-4-piperidinacético, ácido cis-α-amino-4-guanidinociclohexano

acético, e ácido trans-α-amino-4-guanidinociclohexano acético, em que cada (B) é independentemente seleccionado do grupo consistindo em H e C_1-C_4 alquila, e (B') é H ou (α-Me). A unidade W é escolhida de uma das três seguintes opções: (i) nulo; (ii) -N-$(CH_2)_b$ com b igual a zero, 1, 2, 3, 4, 5, ou 6; e

(iii) -N-$(CH_2)_c$-O- com c igual a 2 ou 3 contanto que Y é um átomo de carbono.

A unidade de anel contendo Y e Z,



é uma unidade de anel heterocíclico saturado de 6 - 8 membros opcionalmente substituída, em que nenhum átomo de anel para além de Y e Z é um heteroátomo, Y e Z são separados por pelo menos dois átomos de anel de carbono, Y é C ou N, e Z é S, O ou N.

A unidade V é C_1-C_6 alquila, e e é zero ou 1, em que quando e é zero, então V é nulo e, R_1 e R_2 estão directamente ligados ao mesmo ou a átomos de anel diferentes; R_1 é H, OH, -NH_2, -COOH, C_1-C_6 alquila, amidina, amidina substituída em C_1-C_6 alquila, dihidroimidazole, D-Pro, Gly, D-Ala, D-Val, D-Leu, D-Ile, D-Lys, D-Arg, D-Orn, D-Ser, D-Thr, -CN, -$CONH_2$, -CONR'R'', -NHCOR', ou -SO_2NR'R'', em que R' e R'' são independentemente -H, ou C_1-C_8 alquila, ou R' e R'' estão combinados para formar um anel de 4-8 membros, em que o anel é opcionalmente substituído uma só vez ou por duas vezes com substituintes independentemente escolhidos de C_1-C_6 alquila, -OH, -Cl, -F, -NH_2, -NO_2, -CN, e -COOH, amidina; e R_2 é -H, amidina, amidina substituída em C_1-C_6 alquila, -CN, -$CONH_2$,

-CONR'R'', -NHCOR', -SO_2NR'R'', ou –COOH.

Em certas modalidades aplica-se uma das seguintes condições: quando e é zero, então R_1 e R_2 não são ambos H; quando W é -N-$(CH_2)_c$-O-, então Y é C e c é 2 ou 3; ou (iii) se Z é N, então Y é N, W é nulo, a unidade de anel contendo Y e Z é um anel não aromático de seis membros, e -$V_e(R_1)(R_2)$ está ligado a Z, e -$V_e(R_1)(R_2)$ é escolhida a partir de amidina, amidina substituída em C_1-C_6 alquila, dihidroimidazole, -CH_2COOH, e -CH_2C(O)NH_2.

Em certas modalidades as amidas peptídicas sintéticas da invenção são dímeros que incluem dois componentes de amidas peptídicas sintéticas ligados por uma unidade ligante L.

Em um aspecto, as amidas peptídicas sintéticas têm a fórmula:

$$\begin{array}{c} Xaa_1\text{-}Xaa_2\text{-}Xaa_3\text{-}(Xaa_4)_p \\ | \\ L \\ | \\ (Xaa_1)_q\text{-}(Xaa_2)_r\text{-}(Xaa_3)_s\text{-}(Xaa_4)_t \end{array}$$

Na fórmula em cima, cada Xaa_1 é independentemente escolhido de (A)(A')D-Phe, (α-Me)D-Phe, D-Tyr, D-Tic, e (E)D-Ala, em que (A) e (A') são cada um substituintes de anel fenila independentemente escolhidos de -H, -F, -Cl, -NO_2, -CH_3, -CF_3, -CN, -$CONH_2$, e em que (E) é escolhido de tienila, ciclopentila, piridila, e tiazolila. Cada Xaa_2 é independentemente escolhido de (A)(A')D-Phe, (α-Me)D-Phe, D-1Nal, D-2Nal, D-Tyr, e D-Trp; e r é zero ou 1. Cada Xaa_3 é independentemente escolhido de D-Nle, D-Phe, ciclopentil-D-Ala, D-Leu, (α-Me)D-Leu, D-Hle, D-Val, e D-Met; e s é

zero ou 1. Cada Xaa_4 é independentemente escolhido de $(B)_2$D-Arg, $(B)_2$D-nArg, $(B)_2$D-Har, ε-(B)D-Hlys, ácido D-2,3-diaminopropiônico, ε-(B)D-Lys, ε-$(B)_2$-D-Lys, D-Amf, amidina-D-Amf, $(B)_2$D-Dbu, δ-$(B)_2$α-(B')D-Orn, ácido D-2-amina-3(4-piperidil)propiônico, ácido D-2-amina-3(2-aminopirrolidil)propiônico, ácido D-α-amina-β-amidinopropiônico, em que cada (B) é independentemente escolhido do grupo que consiste em H e C_1-C_4 alquila, e (B') é H ou (α-Me); e p, q, r, s e t são cada um independentemente zero ou 1, contanto que pelo menos um de q, r, s e t são 1. Em certos aspectos da invenção, pelo menos um de s e t é 1.

A unidade L é um ligate escolhido de ε-D-Lys, ε-Lys, δ-D-Orn, δ-Orn, ácido γ-aminobutírico, ácido 8-aminooctanôico, ácido 11-aminoundecanôico, ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanôico, amidina-4-amina-4-carboxílica piperidina e (D-Lys-Gly lactam)$_2$.

Estereoisômeros, misturas de estereoisômeros, pró-drogas, sais, hidratos, solvatos, hidratos de sais ácidos, N-óxidos e formas cristalinas isomórficas farmaceuticamente aceitáveis destas amidas peptídicas sintéticas são aqui também contempladas dentro do âmbito da presente invenção.

Em um outro aspecto, a presente invenção proporciona uma amida peptídica sintética com a fórmula:

$$Xaa_1\text{-}Xaa_2\text{-}Xaa_3\text{-}(Xaa_4)_p$$
$$\Big|$$
$$G$$

em que G é

$$(Xaa_1)_q\text{-}(Xaa_2)_r\text{-}(Xaa_3)_s\text{-}(Xaa_4)_t$$
$$\Big|$$
$$L$$

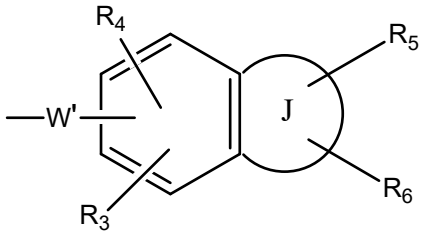
e em que q é zero ou 1; r é zero ou 1; s é zero ou 1;

p e t são cada um independentemente zero ou 1, contanto que pelo menos um de q, r, s e t são 1; e L é um ligante escolhido de ε-D-Lys, ε-Lys, δ-D-Orn, δ-Orn, ácido γ-aminobutírico, ácido 8-amina-octanôico, ácido 11-amina-undecanôico, ácido 8-amina-3,6-dioxaoctanôico, 4-amina-4-carboxílica piperidina e (D-Lys-Gly lactam)$_2$.

Em outra modalidade, a invenção proporciona amidas peptídicas sintéticas tendo a fórmula:

$$Xaa_1\text{-}Xaa_2\text{-}Xaa_3\text{-}(Xaa_4)_p$$
$$|$$
$$G$$

em que G é

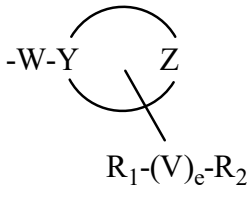


em que J é uma unidade de anel heterocíclico de 5-, 6-, ou 7 membros tendo 1, 2, ou 3 heteroátomos no anel em que R_3 e R_4 são cada um independentemente escolhidos de C_1-C_3 alquila, halo, -OH, -CF_3, -NH_2, -COOH e amidina; e R_5 e R_6 são cada um independentemente escolhidos de C_1-C_3 alquila, oxo, halo, -OH, -CF_3, -NH_2, -COOH e amidina.

Em outra modalidade, a invenção proporciona uma amida peptídica sintética tendo a fórmula:

$$Xaa_1\text{-}Xaa_2\text{-}Xaa_3\text{-}(Xaa_4)_p$$
$$|$$
$$G$$

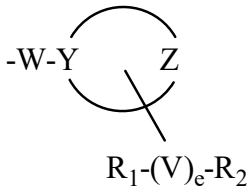
em que G is



e W é nulo, Y é N e Z é C. Em um aspecto, a unidade

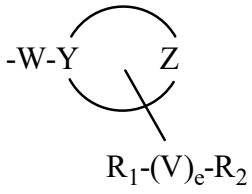
de anel contendo Y e Z é um anel saturado de seis membros compreendendo um heteroátomo de anel único.

Em outra modalidade, G é



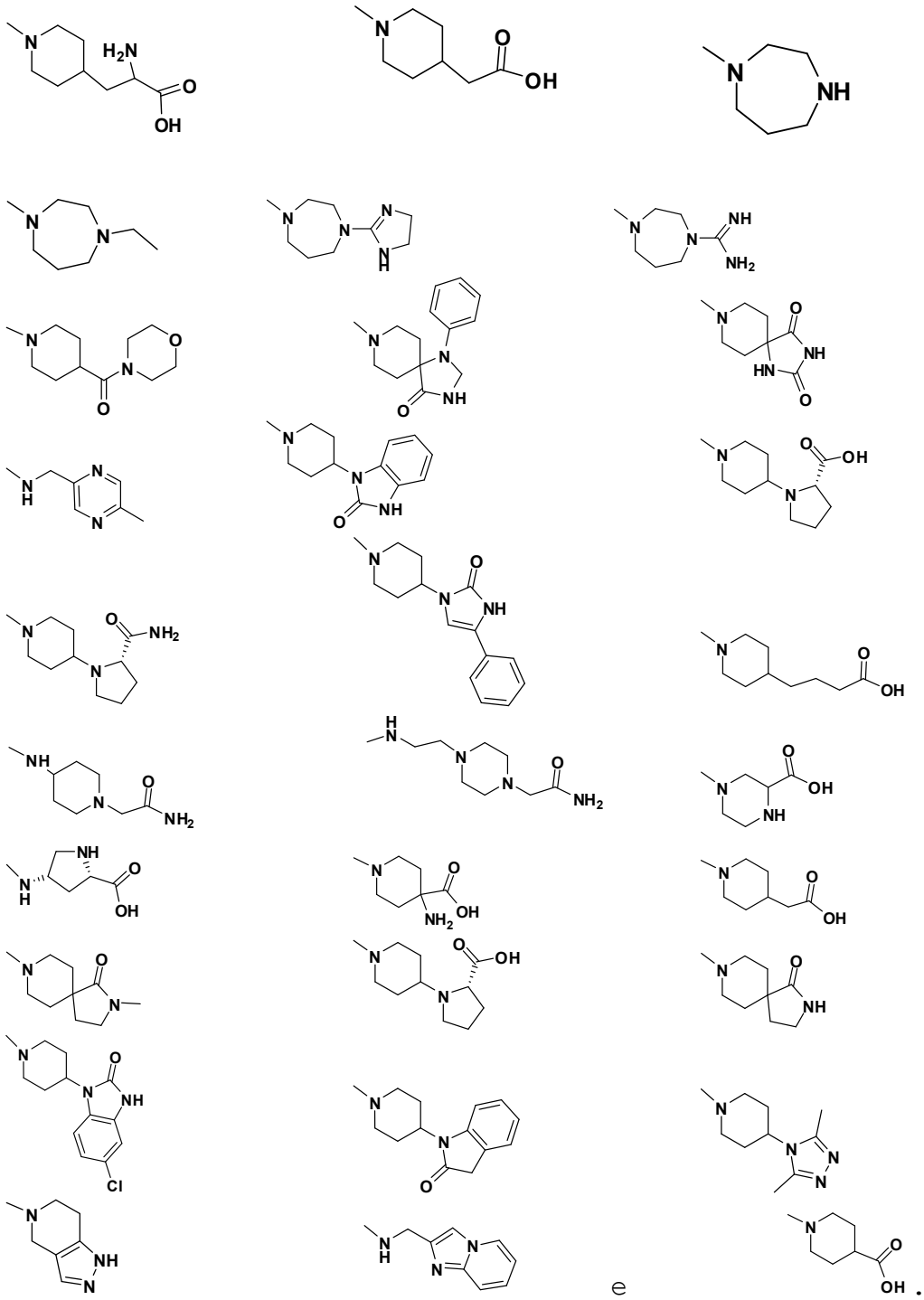
e Y e Z são ambos N e são os únicos heteroátomos de anel na unidade de anel contendo Y e Z. Em outra modalidade, e é zero, e os substituintes R_1 e R_2 em conjunto com zero, um ou dois átomos de anel da unidade de anel contendo Y e Z compreendem uma unidade de anel heterocíclico de 4-9 membros monocíclico ou bicíclico. Em um aspecto desta modalidade, R_1 e R_2 em conjunto com um átomo de anel da unidade de anel contendo Y e Z, compreendem uma unidade de anel heterocíclico de 4-8 membros em que a unidade de anel contendo Y e Z forma uma estrutura espiro e W é nulo.

Em uma modalidade, G é



e e é zero e R_1 e R_2 estão directamente ligados ao mesmo átomo de anel. Alternativamente, em outra modalidade, R_1 é H, OH, $-NH_2$, -COOH, $-CH_2COOH$, C_1-C_3 alquila, amidina, amidina substituída em C_1-C_3 alquila, dihidroimidazole, D-Pro, D-Pro amida, ou $CONH_2$ e em que R_2 é H, -COOH, ou C_1-C_3 alquila.

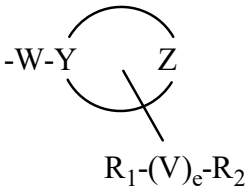
Em outra modalidade, G é escolhido de:



e .

Em uma modalidade, a invenção proporciona uma amida peptídica sintética em que cada Xaa_2 é D-Phe, cada Xaa_3 é D-Nle, e cada Xaa_4 é D-Arg. Em outra modalidade, cada Xaa_1 é D-Ala(2-tienila).

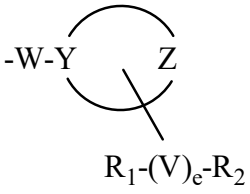
Em uma modalidade, G é



e os dipeptídeos Xaa_3-Xaa_4 são escolhidos de D-Leu-D-Orn e D-Nle-D-Arg. Em outra modalidade Xaa_1-Xaa_2 é D-Phe-D-Phe. Em outra modalidade Xaa_1 é D-(4-F)Phe, e Xaa_2 é D-(4-Cl)Phe.

Em outra modalidade cada Xaa_1 é D-Phe ou D-Ala(2-tienila) e cada Xaa_2 é D-(4-Cl)Phe. Em outra modalidade, cada Xaa_3 é D-Leu ou D-Nle.

Em outra modalidade G é



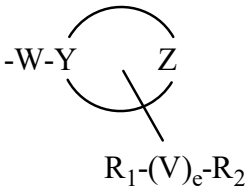
e Xaa_1 é escolhido de D-Phe, D-(4-F)Phe, D-(2-F)Phe, ciclopentila D-Ala, 2-tienila D-Ala, Xaa_2 é escolhido de D-(4-F)Phe, D-(4-Cl)Phe, D-1Nal, D-2Nal, e D-Trp, e Xaa_3-Xaa_4 é escolhido de D-Nle-D-Arg e D-Leu-D-Orn.

Em outra modalidade Xaa_1 pode ser (A)(A')D-Phe, e em outro aspecto, cada Xaa_1 é D-Phe. Em outra modalidade cada Xaa_2 é D-Phe. Em outra modalidade, cada Xaa_3 é escolhido de D-Nle, e D-Leu. Em outra modalidade, cada Xaa_4 é escolhido de $\delta(B)_2$D-Orn e D-Arg. Em outro aspecto, cada Xaa_4 é $\delta(B)_2$D-Orn e cada (B) é escolhido de -H, metila e isopropila. Em outro aspecto, cada Xaa_4 á $(B)_2$D-Orn, em que um (B) é H, e o outro (B) é escolhido do grupo consistindo em metila e isopropila. Em outro aspecto, cada Xaa_4 é D-Orn.

Em outra modalidade, cada Xaa_4 é escolhido de $(B)_2$D-Arg, e δ-$(B)_2$D-Orn. Em outro aspecto, cada Xaa_4 é

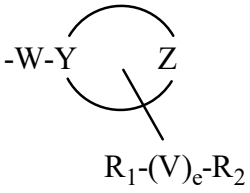
escolhido de D-Arg, $(Et)_2$D-Arg, e δ-(B)D-Orn, e (B) é H, Me, iPr, ou Bu.

Em outra modalidade G é



e W é nulo.

Em outra modalidade G é



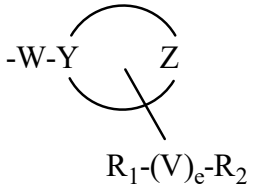
e W é $-N-(CH_2)_b$ com b igual a 0, 1, 2, 3, ou 4. Em outro aspecto b é zero e Y é um átomo de carbono. Em outro aspecto b é 1 ou 2 e Y é um átomo de nitrogênio. Em outra modalidade W é $-N-(CH_2)_c-O-$. Em outro aspecto c é 1 ou 2. Em outro aspecto a unidade de anel contendo Y e Z e um anel de quatro ou cinco membros e Y é um átomo de nitrogênio. Em outra modalidade a unidade de anel contendo Y e Z é um anel de quatro ou cinco membros e Y é um átomo de carbono.

Em outra modalidade a unidade de anel contendo Y e Z é um anel de seis ou sete membros, Y é um átomo de nitrogénio e Z é um átomo de carbono. Em outra alternativa, a unidade de anel contendo Y e Z é um anel de seis membros. Em um aspecto, a unidade de anel contendo Y e Z é um anel de sete membros. Ainda em um outro aspecto a unidade de anel contendo Y e Z é um anel de seis ou sete membros e tanto Y como Z são átomos de nitrogênio.

Ainda em outra modalidade e é zero e R_1 e R_2 estão ligados diretamente ao mesmo átomo de anel. Em um aspecto e é zero, R_2 é -H e R_1 está ligado diretamente a um átomo de

anel de carbono adjacente a Z. Em outro aspecto R_1 é H, amidina, C_1-C_3 alquila, amidina substituída, C_1-C_3 alquila, dihidroimidazole, D-Pro, D-Pro amida, ou -$CONH_2$ e em que e é zero e R_2 é -H. Em outro aspecto R_1 é -H, amidina, ou metila amidina. Em um aspecto a unidade de anel contendo Y e Z é um anel de cinco membros, e é zero e R_1 é -COOH.

Em outra modalidade G é



e Xaa_1 é D-Phe, Xaa_2 é D-Phe, Xaa_3 é D-Leu, Xaa_4 é δ-$(B)_2$D-Orn, em que (B) é -H, metila, ou isopropila; ainda em que W é nula, a unidade de anel contendo Y e Z é um anel de seis ou sete membros, Y é um étomo de nitrogênio, e é zero, R_1 é -NH_2, amidina, C_1-C_3 alquila, amidina substituída em C_1-C_3 alquila, dihidroimidazole, D-Pro, ou D-Pro amida, e R_2 é H ou -COOH.

Em certas modalidades das amidas peptídicas sintéticas da invenção, existem duas ocorrências independentes dos resíduos Xaa_1, Xaa_2, Xaa_3 e Xaa_4. Por exemplo, nas modalidades com a fórmula:

$$Xaa_1\text{-}Xaa_2\text{-}Xaa_3\text{-}(Xaa_4)_p$$
$$\Big|$$
$$G$$

em que G é:

$$(Xaa_1)_q\text{-}(Xaa_2)_r\text{-}(Xaa_3)_s\text{-}(Xaa_4)_t$$
$$\Big|$$
$$L$$

e um ou mais de q, r, e s é 1 ou tanto p como t é 1, então existem duas ocorrências de Xaa_1, Xaa_2, Xaa_3 e Xaa_4 respectivamente. Em tais modalidades, cada instância de cada um dos resíduos Xaa_1, Xaa_2, Xaa_3 e Xaa_4 pode ser

idêntica. Assim ambas as instâncias de Xaa_1 podem ser idênticas, tal como por exemplo, D-fenilalanina. De igual modo, cada instância de Xaa_2, Xaa_3, e Xaa_4 pode ser idêntica. Portanto, por exemplo, cada Xaa_2 pode ser D-(4-F)fenilalanina, cada Xaa_3 pode ser D-leucina e cada Xaa_2 pode ser D-arginina.

Em alternativa, e em outras modalidades, cada instância de um ou mais pares dos resíduos Xaa_1, Xaa_2, Xaa_3 ou Xaa_4 pode ser diferente. Por exemplo, uma instância de Xaa_1 pode ser D-fenilalanina, enquanto que a segunda instância de Xaa_1 na mesma molécula pode ser um resíduo diferente Xaa_1, tal como D-(4-F)fenilalanina. De modo semelhante, uma instância de Xaa_2 pode ser D-fenilalanina, enquanto que a segunda instância de Xaa_2 na mesma molécula pode ser D-Ala(2-tienila). De modo semelhante, uma instância de Xaa_3 pode ser D-norleucina, enquanto que a segunda instância de Xaa_3 na mesma molécula pode ser D-leucina. De modo semelhante, uma instância de Xaa_4 pode ser D-ornitina, enquanto que a segunda instância de Xaa_4 na mesma molécula pode ser D-arginina, e por aí em diante.

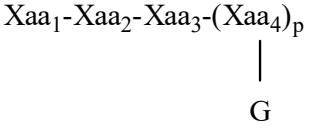
Em uma modalidade, a invenção proporciona uma amida peptídica sintética em que Xaa_1 é D-Ala(2-tienilal). Em outra modalidade Xaa_1 é D-(4-F)fenilalanina e Xaa_2 é D-(4-Cl)fenilalanina. Em outra modalidade cada Xaa_1 é D-fenilalanina ou D-Ala(2-tienila) e cada Xaa_2 é D-(4-Cl)fenilalanina. Em outra modalidade Xaa_1-Xaa_2 é D-fenilalanina-D-fenilalanina.

Em outra modalidade cada Xaa_3 é escolhido de D-norleucina e D-leucina. Em outra modalidade cada Xaa_2 é D-fenilalanina, cada Xaa_3 é D-norleucina, e cada Xaa_4 é D-

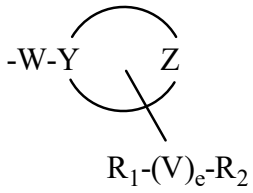
arginina. Em outra modalidade cada Xaa_3 pode ser D-leucina ou D-norleucina.

Em outra modalidade Xaa_4 é escolhido de $\delta(B)_2$D-ornitina e D-arginina. Em alternativa, cada Xaa_4 é $\delta(B)_2$D-ornitina e cada (B) é escolhido de -H, metila e isopropila. Em ainda outra modalidade, cada Xaa_4 é $(B)_2$D-ornitina, em que um (B) é -H, e o outro (B) é escolhido de metila e isopropila. Em um aspecto, cada Xaa_4 é $(B)_2$D-arginina, ou δ-$(B)_2$D-ornitine. Em outra modalidade cada Xaa_4 pode ser um resíduo escolhido de D-arginina, $(Et)_2$D-arginina, e δ-(B)D-ornitina, e em que (B) é -H, metila, isopropila, ou butila. Em uma modalidade o Xaa_3-Xaa_4 dipeptídico é escolhido de D-leucina-D-ornitina e D-norleucina-D-arginina.

Em uma modalidade particular, a amida peptídica da invenção tem a fórmula

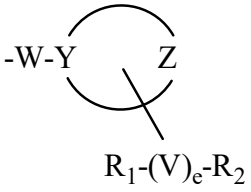


em que G é:



e b é zero e Y é um átomo de carbono. Em outra modalidade, b é 1 ou 2 e Y é um átomo de nitrogênio. Em um aspecto particular da invenção, b é 2.

Em outra modalidade G é



e a unidade contento Y e Z é [ω(ácido 4-aminopiperidina-4-carboxílico)]-OH.

Em uma modalidade particular Xaa_1 é escolhido de D-Phe, D-(4-F)Phe, D-(2-F)Phe, ciclopentila D-Ala, 2-tienila D-Ala, Xaa_2 é escolhido de D-(4-F)Phe, D-(4-Cl)Phe, D-1Nal, D-2Nal, e D-Trp, e Xaa_3-Xaa_4 é escolhido de D-Nle-D-Arg e D-Leu-D-Orn.

Em outra modalidade W é um ligante N-alcoxi da fórmula $-N-(CH_2)_c-O-$. Em um aspecto, c é 1 ou 2. Em uma modalidade alternativa, W é nulo e $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$ está diretamente ligado a Y. Em uma segunda modalidade alternativa, W é um ligante N-alquila da fórmula $-NH-(CH_2)_2-$.

Em uma outra modalidade particular, a unidade de anel contendo Y e Z é um anel de quarto ou cinco membros e Y é um átomo de nitrogênio. Em alternativa, a unidade de anel contendo Y e Z pode ser um anel de quarto ou cinco membros em que Y é um átomo de carbono. Em uma modalidade diferente, a unidade de anel contendo Y e Z é um anel de seis ou sete membros, Y é um átomo de nitrogénio e Z é um átomo de carbono. Em um aspecto desta modalidade, a unidade de anel contendo Y e Z é um anel de seis membros. Em alternativa, a unidade de anel contendo Y e Z pode ser um anel de sete membros. Em um aspecto desta modalidade, a unidade de anel contendo Y e Z é um anel de seis ou sete membros e tanto Y como Z são átomos de nitrogênio. Em alternativa, a unidade de anel contendo Y e Z pode ser um anel de seis membros. Em ainda outra alternativa, a unidade de anel contendo Y e Z é um anel de sete membros.

Em uma outra modalidade particular, a unidade de anel

contendo Y e Z é um anel de seis ou sete membros, Y é um átomo de carbono e Z é um átomo de carbono. Em um aspecto desta modalidade, a unidade de anel contendo Y e Z é um anel de seis membros. Em alternativa, a unidade de anel contendo Y e Z pode ser um anel de sete ou de oito membros. Em um aspecto, Y é um átomo de nitrogênio e Z é um átomo de carbono. Em uma modalidade alternativa Y e Z são cada um um átomo de nitrogênio.

Em uma outra modalidade particular, a unidade de anel contendo Y e Z é uma unidade de anel heterocíclico de 4 - 8 membros opcionalmente substituídos em que Y é um átomo de carbono ou nitrogénio e Z é carbono, nitrogénio, oxigénio, enxofre, sulfóxido ou sulfonila; e unidade de anel heterocíclico de 4 - 8 membros é opcionalmente substituída em uma vez ou em duas vezes com substituintes escolhidos independentemente de C_1-C_6 alquila, -C_1-C_6 alcóxi, oxo, -OH, -Cl, -F, -NH_2, -NO_2, -CN, -COOH, e amidina. Em um aspecto em que a unidade de anel contendo Y e Z é um anel de seis, sete ou oito membros, então Y e Z são separados em pelo menos dois átomos de anel. Em outro aspecto, em que a unidade de anel contendo Y e Z é não aromática e Z é um átomo de carbono ou de nitrogénio, então tal unidade de anel inclui pelo menos um heteroátomo de anel de enxofre ou oxigénio. Em um aspecto particular, quando a unidade de anel contendo Y e Z é aromática, então Y é um átomo de carbono.

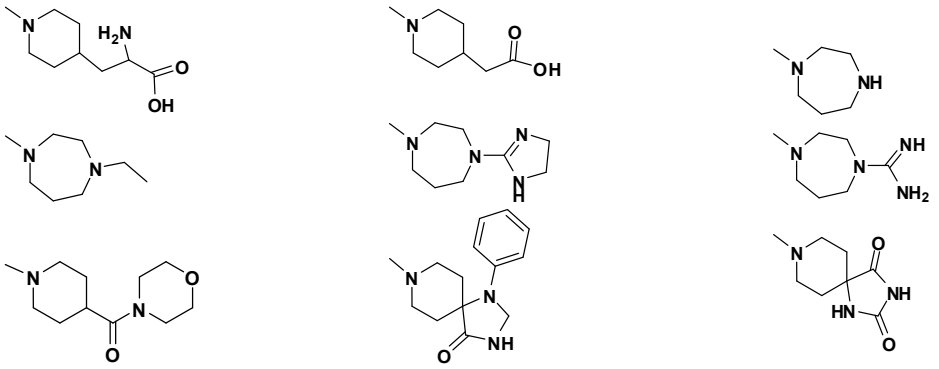
Em uma modalidade da amida peptídica sintética da invenção, R_1 é -H, -OH, -NH_2, -COOH, C_1-C_3 alquila, amidina, amidina substituída em C_1-C_3 alquila, dihidroimidazole, D-Pro, D-Pro amida, ou -$CONH_2$. Em uma outra modalidade

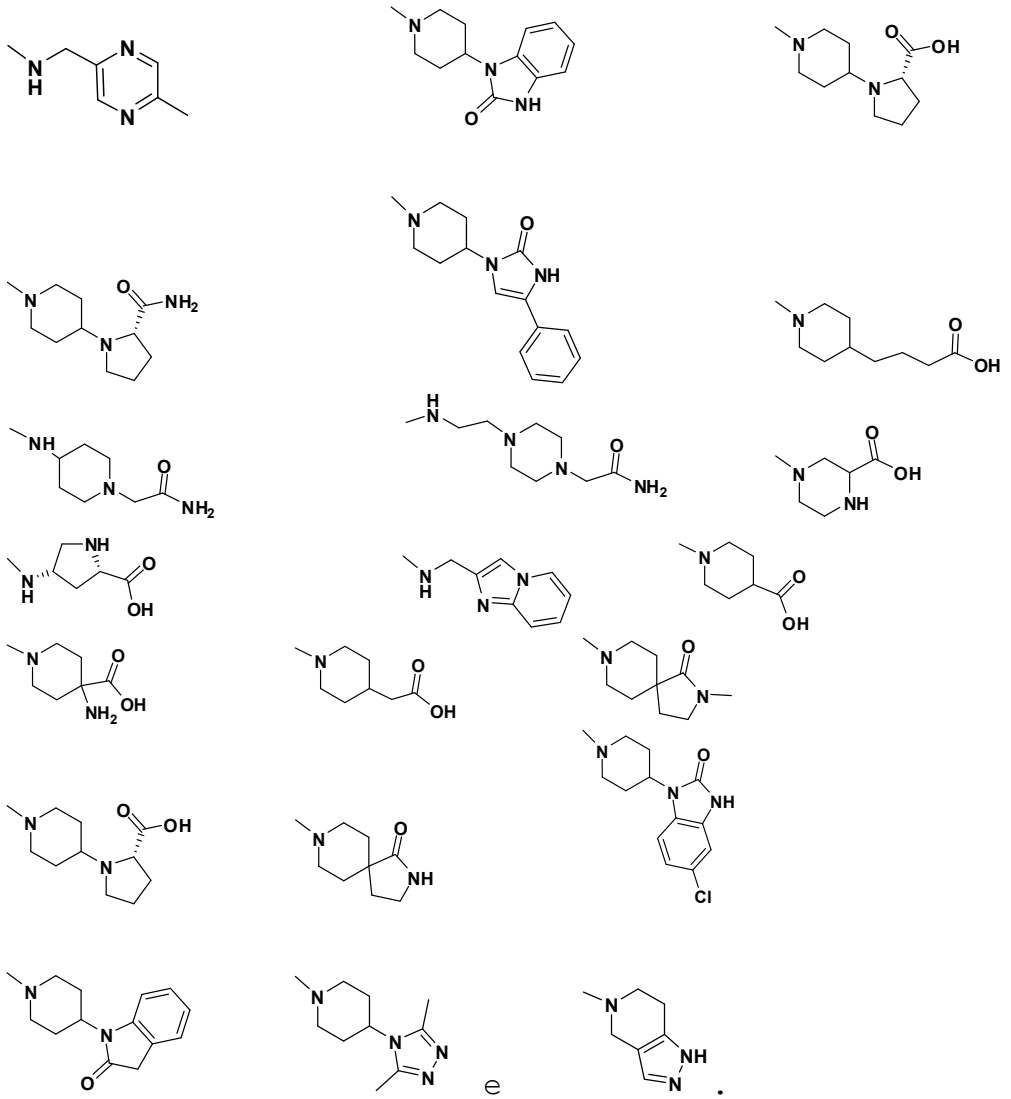
particular R_2 é -H, -COOH, ou C_1-C_3 alquila. Em um aspecto, apenas um de R_1 e R_2 é um átomo e hidrogênio. Em uma modalidade particular R_1 é -H, D-Pro, D-Pro amida, ou $-NH_2$ e R_2 é H ou –COOH. Em um aspecto desta modalidade, R_1 é $-NH_2$ e $_2$ é –COOH.

Em uma modalidade, o operador e é zero e R_1 e R_2 são diretamente ligados ao mesmo átomo de anel. Em uma modalidade particular, e é zero, R_2 é -H e R_1 é ligado diretamente a um átomo de anel de carbono adjacente a Z. Em outra modalidade particular, R_1 é -H, amidina, amidina substituída em C_1-C_3 alquila, C_1-C_3 alquila, dihidroimidazole, D-Pro, D-Pro amida, ou $-CONH_2$ e e é zero e R_2 é -H.

Em uma modalidade da amida peptídica sintética da invenção, Xaa_1 é D-Phe, Xaa_2 é D-Phe, Xaa_3 é D-Leu, Xaa_4 é δ-$(B)_2$D-Orn, em que (B) é -H, metila, ou isopropila; de tal modo em que W é nulo, a unidade de anel contendo Y e Z é um anel de seis ou sete membros, Y é um átomo de nitrogênio, e é zero, R_1 é $-NH_2$, amidina, C_1-C_3 alquila, amidina substituída em C_1-C_3 alquila, dihidroimidazole, D-Pro, ou D-Pro amida, e R_2 é H ou -COOH.

Em uma modalidade particular G representa uma das seguintes:





e .

Pode-se utilizar uma variedade de testes para verificar se as amidas da invenção exibem alta afinidade e seletividade para o receptor kappa opióide, longa duração da bioatividade *in vivo*, e ausência de efeitos colaterais no SNC. Ensaio para receptores são conhecidos na técnica e receptores kappa opióides de várias espécies foram clonados, bem como o foram receptores opióides mu e delta. Os receptores kappa opióide bem como os receptores mu e delta opióides são receptores clássicos acoplados à proteína G, com sete domínios transmembrana. Embora estes receptores clonados prontamente permitam que um composto candidato em particular, por exemplo, um peptídeo ou

derivado de peptídeo seja rastreado, fontes naturais de receptores opióides de mamíferos são também úteis para rastreio como é conhecido na técnica (Dooley CT *et al.* Selective ligands for the mu, delta, and kappa opioid receptors identified from a single mixture based tetrapeptide positional scanning combinatorial library. *J. Biol. Chem.* 273:18848-56, 1998). Deste modo, o rastreio contra os receptores opióides kappa ou mu, seja de origem recombinante ou natural, pode ser realizado com a finalidade de determinar a seletividade das amidas peptídicas sintéticas da invenção para o receptor kappa opióide em relação ao receptor mu opióide.

Em uma modalidade em particular, as amidas peptídicas sintéticas da invenção são agonistas seletivos do receptor kappa opióide. A potência das amidas peptídicas sintéticas da invenção como agonistas para um receptor em particular pode ser medida como uma concentração na qual metade do efeito máximo é obtido expresso como um valor de EC_{50}. A potência das amidas peptídicas sintéticas da invenção como agonistas kappa opióides, expressa como a percentagem do efeito máximo observável, pode ser determinada por uma variedade de métodos conhecidos na técnica. Ver, por exemplo, Endoh T *et al.*, 1999, Potent Antinociceptive Effects of TRK-820, a Novel κ-Opioid Receptor Agonist, *Life Sci*. 65 (16) 1685-94; e Kumar V *et al.*, Synthesis and Evaluation of Novel Peripherally Restricted κ-Opioid Receptor Agonists, 2005 *Bioorg Med Chem Letts* 15: 1091-1095.

Exemplos destas técnicas de ensaios para determinação de valores de EC_{50} são proporcionados adiante. Muitos

métodos de ensaio convencionais para caracterização de ligandos opióides são conhecidos dos especialistas na técnica. Ver, por exemplo, Waldhoer *et al.*, (2004) Ann. Rev. Biochem. 73:953-990, e Satoh & Minami (1995) Pharmac. Ther. 68(3):343-364 e referências aí citadas.

Em certas modalidades em particular, as amidas peptídicas sintéticas da invenção são agonistas do receptor kappa opióide com um valor de EC_{50} inferior a cerca de 500 nM. Em outras modalidades, as amidas peptídicas sintéticas têm um valor de EC_{50} inferior a cerca de 100 nM como agonistas do receptor kappa opióide. Em ainda outras modalidades, as amidas peptídicas sintéticas têm um valor de EC_{50} inferior a cerca de 10 nM como agonistas do receptor kappa opióide. Em modalidades em particular, as amidas peptídicas sintéticas da invenção têm um valor de EC_{50} inferior a cerca de 1,0 nM, inferior a cerca de 0,1 nM, ou inferior a cerca de 0,1 nM, ou mesmo inferior a cerca de 0,01 nM como agonistas do receptor kappa opióide. Os compostos da forma de realizçaão anterior podem ter um EC_{50} inferior a 10 vezes mais para um receptor opióide mu ou delta do que para um receptor opióide kappa, de preferência pelo menos 100 vezes mais e de maior preferência, pelo menos 1000 vezes maior, tal como por exemplo um EC_{50} de menos de cerca de 1nM para um receptor opióide kappa e valores de EC_{50} de mais de 1000 nM para um receptor opióide um e um receptor opióide delta).

Em modalidades em particular, as amidas peptídicas sintéticas da invenção são altamente seletivas para os receptores kappa opióide em relação aos receptores mu opióides. Em certas modalidades as amidas peptídicas

sintéticas da invenção têm valores de EC_{50} para o receptor mu opióide que são pelo menos cerca de cem vezes superiores aos valores EC_{50} correspondentes para o receptor kappa opióide. Em modalidades em particular, as amidas peptídicas sintéticas da invenção têm valores de EC_{50} para o receptor mu opióide que são pelo menos cerca de mil vezes superiores aos valores EC_{50} correspondentes para o receptor kappa opióide. Alternativamente, a seletividade das amidas peptídicas sintéticas da invenção pode ser expressa como um valor de EC_{50} maior para um receptor mu opióide do que para um receptor kappa opióide. Deste modo, em modalidades em particular, as amidas peptídicas sintéticas da invenção têm valores de EC_{50} superiores a cerca de 10 uM para o receptor mu opióide e valores de EC_{50} inferiores a cerca de 10 nM, e em outras modalidades inferiores a cerca de 1,0 nM, ou mesmo inferiores a cerca de 0,01nM para o receptor kappa opióide. Em uma outra modalidade, a amida peptídica sintética em particular pode ter um valor de EC_{50} inferior a cerca de 1 nM para um receptor kappa opióide e um valor de EC_{50} superior a cerca de 1000 nM para um receptor mu opióide ou para um receptor delta opióide.

Outra propriedade das amidas peptídicas sintéticas da invenção é a sua propriedade característica de baixa inibição das isozimas do citocromo P_{450}. As isozimas do citocromo P_{450} constituem uma grande superfamília de proteínas hemo-tiolato responsáveis pela inativação oxidativa metabólica de muitos compostos terapêuticos e outros compostos bioativos. De um modo geral, elas atuam como oxidases terminais em cadeias de transferência de elétron multicomponente, também referido como sistemas de

mono-oxigenase contendo o citocromo P_{450}.

Foram identificadas mais de cinqüenta isozimas diferentes do citocromo P_{450} e foram classificadas em famílias agrupadas por relacionamento genético conforme avaliadas por homologia de seqüência do ácido nucléico. Mais abundantes entre as isozimas do citocromo P_{450} em células humanas são as isozimas 1A2 e 3A4, embora as isozimas 2B6, 2C9, 2C19, 2D6 e 2E1 também contribuam, de forma significativa, para a inativação oxidativa de compostos terapêuticos administrados. Embora a inibição das isozimas do citocromo P_{450} possam ser úteis para prolongar o tempo pós-administração *in vivo* durante o qual é mantida uma concentração eficaz das amidas peptídicas sintéticas da invenção, também prolonga a persistência de qualquer composto terapêutico co-administrado que é submetido a oxidação pelo citocromo P_{450}. Este aumento em persistência pode fazer com que a composição terapêutica co-administrada persista além do período que é ótimo para a terapêutica ou pode fazer com que a concentração *in vivo* exceda os níveis desejados ou os níveis tolerados com segurança. Estes aumentos em persistência e/ou aumentos em concentração são difíceis de serem quantificados com precisão e são, de preferência, evitados. Os compostos terapêuticos que apresentam pouca ou nenhuma inibição da atividade das isozimas do citocromo P_{450} não têm este problema potencial e podem ser co-administrados com mais segurança com outros compostos terapêuticos sem o risco de afetar a taxa de inativação do composto terapêutico co-administrado pelas isozimas do citocromo P_{450}.

Modalidades particulares das amidas peptídicas

sintéticas da invenção apresentam baixa inibição das isozimas do citocromo P_{450} em concentrações terapêuticas das amidas peptídicas sintéticas, enquanto outras não apresentam essencialmente qualquer inibição das isozimas do citocromo P_{450} em concentrações terapêuticas. Em algumas modalidades, as amidas peptídicas sintéticas a uma concentração de 10 uM apresentam uma inibição inferior a cerca de 50% das isozimas do citocromo P_{450} CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 ou CYP2D6. Em modalidades em particular, as amidas peptídicas sintéticas a uma concentração de 10 uM apresentam menos de cerca de 20% de inibição de qualquer uma destas isozimas do citocromo P_{450}. Em modalidades muito particulares, as amidas peptídicas sintéticas em uma concentração de 10 uM apresentam menos de cerca de 10% de inibição de qualquer uma destas isozimas do citocromo P_{450}.

Em outra modalidade, as amidas peptídicas sintéticas da invenção a uma concentração eficaz não exibem mais do que cerca de 50% de inibição de qualquer um de P_{450} CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 ou CYP 2D6 pela amida peptídica sintética a uma concentração de 10 uM depois de 60 minutos de incubação com microssomas de fígado humano.

As amidas peptídicas sintéticas da invenção quando administradas a um mamífero ou a um paciente humano a uma concentração terapeuticamente eficaz exibem baixa ou essencialmente nenhuma penetração através da barreira sangue-cérebro. Os receptores kappa opióide (daqui por diante referidos, de forma intercambiável, como receptores kappa) são distribuídos em tecidos periféricos incluindo a pele e tecidos somáticos, bem como nas vísceras em humanos e outros mamíferos. Os receptores kappa são também

encontrados no cérebro. A ativação dos receptores kappa nos tecido periféricos provoca a supressão da dor e respostas inflamatórias, ao passo que a ativação dos receptores kappa no cérebro provoca efeitos sedativos e também pode levar a grave disforia e alucinações. Em certas modalidades, a amida peptídica sintética da invenção quando administrada em concentrações terapeuticamente eficazes essencialmente não exibe penetração através da barreira sangue-cérebro e, portanto, minimiza ou mesmo completamente elimina os efeitos sedativos alucinogênicos de muitos outros agonistas kappa que apresentam alguma penetração através da barreira sangue-cérebro.

Uma medida útil de até que ponto as amidas peptídicas sintéticas da invenção atravessam a barreira sangue-cérebro é a proporção do pico de concentração no plasma para a concentração no tecido cerebral. Em modalidades em particular, as amidas peptídicas sintéticas da invenção quando administradas a uma dose de cerca de 3 mg/kg, exibem uma concentração de pelo menos cerca cinco vezes inferior da amida peptídica sintética no cérebro do que no plasma quando o pico de concentração no plasma é atingido.

Outra medida útil de até que ponto as amidas peptídicas sintéticas da invenção atravessam a barreira sangue-cérebro é a proporção da dose necessária para alcançar um efeito sedativo e da dose necessária para alcançar um efeito analgésico. Os efeitos analgésicos e sedativos do estímulo do receptor kappa pelos agonistas do receptor kappa podem ser medidos por meio de testes convencionais conhecidos dos especialistas na técnica.

Em modalidades em particular, as amidas peptídicas

sintéticas da invenção têm um valor de ED_{50} para um efeito sedativo que é pelo menos cerca de dez vezes o valor de ED_{50} para um efeito analgésico. Em modalidades em particular, as amidas peptídicas sintéticas da invenção têm um valor de ED_{50} para um efeito sedativo que é pelo menos cerca de trinta vezes o valor de ED_{50} para um efeito analgésico. Em ainda outras modalidades, as amidas peptídicas sintéticas da invenção têm um valor de ED_{50} para um efeito sedativo que é pelo menos cerca de cinqüenta vezes o valor de ED_{50} para um efeito analgésico.

Em outra modalidade, as amidas peptídicas sintéticas da invenção têm um valor de ED_{50} para um efeito sedativo em um ensaio de redução de locomoção em um camundongo de pelo menos cerca de dez vezes o valor de ED_{50} da amida peptídica sintética para um efeito analgésico em um teste de Writhing em um camundongo.

Um outro indicador útil de até que ponto seria esperado que as amidas peptídicas sintéticas da invenção cruzassem a barreira sangue-cérebro é proporcionado pelos valores de permeabilidade da membrana das amidas peptídicas sintéticas em uma célula humana ou célula de outro mamífero quando administradas a uma concentração terapeuticamente relevante. Em certas modalidades, as amidas peptídicas sintéticas da invenção a concentrações terapeuticamente relevantes exibem uma capacidade baixa ou essencialmente inexistente de penetrar em uma monocamada de células cultivadas de seres humanos ou outro mamífero. Este parâmetro de permeabilidade pode ser expresso como uma permeabilidade aparente, P_{app}, representando a permeabilidade da monocamada da célula em particular para

um composto de interesse. Qualquer monocamada de célula de mamífero que possa ser cultivada pode ser utilizada para determinar a sua permeabilidade para um composto específico de interesse, embora certas linhas celulares sejam frequentemente utilizadas para esta finalidade. Por exemplo, a linha celular Caco-2 é um adenocarcinoma do cólon humano que pode ser utilizada como um sistema de teste de cultura em monocamada para determinação da permeabilidade da membrana para os compostos da invenção. Em certas modalidades, as amidas peptídicas sintéticas da invenção têm uma P_{app} inferior a cerca de 10^{-6} cm/seg. Em outras modalidades específicas, as amidas peptídicas sintéticas da invenção têm uma P_{app} inferior a cerca de 10^{-7} cm/seg.

Em uma modalidade, as amidas peptídicas sintéticas da invenção a uma dose de cerca de 3 mg/kg em rato atingem um pico de concentração no plasma da amida peptídica sintética e exibe uma concentração de pelo menos cerca de cinco vezes inferior no cérebro do que o pico de concentração no plasma.

Em outra modalidade, as amidas peptídicas sintéticas da invenção têm pelo menos cerca de 50% de eficácia máxima em cerca de 3 horas após administração de uma dose de cerca de 3 mg/kg da amida peptídica sintética em um rato.

Em uma modalidade, as amidas peptídicas sintéticas da invenção exibem uma duração prolongada de ação em um mamífero, tal como um ser humano. Em um aspecto, a amida peptídica sintética tem uma duração de ação que é de pelo menos cerca de 50% da eficácia máxima 3 horas após a administração de 0,1 mg/kg da amida peptídica sintética. Em

um outro aspecto, a amida peptídica sintética tem uma duração de ação que é de pelo menos cerca de 75% da eficácia máxima 3 horas após a administração de 0,1 mg/kg da amida peptídica sintética. Em um aspecto em particular a amida peptídica sintética tem uma duração de ação que é de pelo menos cerca de 90% da eficácia máxima 3 horas após a administração de 0,1 mg/kg da amida peptídica sintética. Em um aspecto específico, a amida peptídica sintética tem uma duração de ação que é de pelo menos cerca de 95% da eficácia máxima 3 horas após a administração de 0,1 mg/kg da amida peptídica sintética.

Em uma outra modalidade, a invenção proporciona uma composição farmacêutica que inclui uma amida peptídica sintética de acordo com qualquer uma das modalidades acima mencionadas e um excipiente ou veículo farmaceuticamente aceitáveis. A invenção proporciona métodos, composições ou formas farmacêuticas que utilizam e/ou contêm as amidas peptídicas sintéticas da invenção que são seletivas para o receptor kappa opióide. Em modalidades em particular, as amidas peptídicas sintéticas da invenção exibem uma forte afinidade para o receptor kappa opióide e têm uma alta potência como agonistas do receptor kappa opióide.

Uma pró-droga de um composto tal como as amidas peptídicas sintéticas da invenção incluem derivados farmaceuticamente aceitáveis os quais, depois da administração, podem se converter através de metabolismo ou outro processo em uma forma biologicamente ativa do composto. As pró-drogas são particularmente desejáveis quando a pró-droga tem propriedades mais favoráveis do que o composto ativo no que diz respeito à biodisponibilidade,

estabilidade ou adequabilidade para uma formulação em particular.

Conforme aqui utilizado, uma doença, estado patológico ou distúrbio associado ao receptor kappa opióide é qualquer doença, estado patológico ou distúrbio que pode ser evitado ou tratado por meio da ativação de um receptor kappa opióide. Em um aspecto, as amidas peptídicas sintéticas da invenção são agonistas do receptor kappa opióide que ativam o receptor kappa opióide. Em algumas modalidades uma dose e via de administração em particular da amida peptídica sintética da invenção pode ser selecionada por um clínico para prevenir ou curar completamente a doença, estado patológico ou distúrbio. Em outras modalidades uma dose e via de administração em particular da amida peptídica sintética da invenção selecionada por um clínico melhora ou reduz um ou mais sintomas da doença, estado patológico ou distúrbio.

Conforme aqui utilizado, "quantidade eficaz" ou "quantidade suficiente" da amida peptídica sintética da invenção se refere a uma quantidade do composto conforme aqui descrito que pode ser terapeuticamente eficaz para inibir, prevenir ou tratar um sintoma de uma doença, distúrbio, estado ou efeito colateral em particular. Conforme aqui utilizado, uma "dose reduzida" de um composto analgésico agonista mu opióide se refere a uma dose que, quando utilizada em combinação com um agonista kappa opióide, tal como uma amida peptídica sintética da invenção, é menor do que seria normalmente proporcionada a um paciente em particular, com a finalidade de reduzir um ou mais efeitos colaterais do composto. A redução da dose

pode ser selecionada de tal modo que a diminuição no efeito analgésico ou outro efeito terapêutico do composto seja um meio-termo aceitável tendo em vista o(s) efeito(s) colateral(is) reduzido(s), onde a referida diminuição no referido efeito analgésico ou outros efeitos terapêuticos do analgésico agonista mu opióide é pelo menos parcialmente, e mais preferencialmente totalmente, compensada pelo efeito analgésico ou outro efeito terapêutico de uma amida peptídica sintética da invenção. A co-adminsitração de um composto analgésico agonista mu opióide com uma amida peptídica sintética da invenção que atua como um agonista kappa opióide também permite a incorporação de uma dose reduzida da amida peptídica sintética e/ou do composto analgésico agonista mu opióide para obter o mesmo efeito terapêutico que uma dose mais alta da amida peptídica sintética ou do composto analgésico agonista mu opióide se administrados sós.

Conforme aqui utilizado, "farmaceuticamente aceitável" se refere a compostos, materiais, composições e/ou formas farmacêuticas que são, no âmbito da avaliação médica fidedigna, adequados para contato com os tecidos de seres humanos ou animais sem grave toxicidade, irritação, resposta alérgica ou outras complicações, comensuráveis com uma proporção risco benefício que seja razoável para o estado clínico a ser tratado.

Conforme aqui utilizado, o termo "unidade de dosagem" se refere a uma unidade fisicamente separada como dosagens unitárias para um indivíduo ou estado patológico a ser tratado. Cada unidade pode conter uma quantidade predeterminada do(s) composto(s) de amida peptídica

sintética ativa calculada para produzir o(s) efeito(s) terapêutico(s) desejado(s), opcionalmente em associação com um veículo farmacêutico. A especificação para as formas de dosagem unitárias pode ser ditada por (a) as características únicas do composto ou compostos ativos e o efeito terapêutico em particular a ser alcançado e (b) as limitações inerentes na técnica de preparação de combinar este composto ou compostos ativos. A unidade de dosagem é muitas vezes expressa como o peso do composto por unidade de peso corporal, por exemplo, em miligramas do composto por quilograma de peso corporal do indivíduo ou paciente (mg/kg). Alternativamente, a dosagem pode ser expressa como a quantidade de composto por unidade de peso corporal por unidade de tempo (mg/kg/dia) em um regime de dosagem em particular. Em outras alternativas, a dosagem pode ser expressa como a quantidade de composto por unidade de área de superfície corporal (mg/m^2) ou por unidade de área de superfície corporal por unidade de tempo (mg/m^2/dia). Para formulações tópicas, a dosagem pode ser expressa de uma maneira que seja convencional para aquela formulação, por exemplo, uma fita de meia polegada de pomada aplicada ao olho, onde a concentração do composto na formulação é expressa como uma percentagem da formulação.

Conforme aqui utilizado, o termo “sais farmaceuticamente aceitáveis” se refere a derivados dos compostos onde o composto precursor é modificado fazendo seus sais ácidos ou básicos. Exemplos de sais farmaceuticamente aceitáveis incluem, mas não são limitados a sais ácidos minerais ou orgânicos de resíduos básicos tais como aminas, sais alcalinos ou orgânicos de resíduos

ácidos, tais como ácidos carboxílicos e outros. Os sais farmaceuticamente aceitáveis incluem os sais não tóxicos convencionais ou os sais de amônio quaternário do composto precursor formado, por exemplo, de ácidos inorgânicos ou orgânicos não tóxicos. Por exemplo, estes sais não tóxicos incluem aqueles derivados de ácidos inorgânicos, tais como os ácidos clorídrico, bromídrico, sulfúrico, sulfâmico, fosfórico, nítrico e outros; e os sais preparados de ácidos orgânicos, tais como os ácidos acético, propiônico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, pamôico, maleico, hidroximaleico, fenilacético, glutâmico, benzôico, salicílico, sulfanílico, 2-acetoxibenzôico, fumárico, toluenossulfônico, metanossulfônico, etano dissulfônico, oxálico, isetiônico e outros. Estes sais fisiologicamente aceitáveis são preparados por métodos conhecidos na técnica, por exemplo, dissolvendo as bases amina livres com um excesso do ácido em álcool aquoso ou neutralizando um ácido carboxílico livre com uma base de metal alcalino tal como um hidróxido ou com uma amina. Deste modo, um sal farmaceuticamente aceitável de uma amida peptídica sintética pode ser formado a partir de qualquer amida peptídica que tem o grupo funcional ácido, básico ou ambos. Por exemplo, uma amida peptídica tendo um grupo ácido carboxílico pode, na presença de uma base farmaceuticamente aceitável, formar um ânion carboxilato emparelhado com um cátion tal como um cátion sódio ou potássio. De forma semelhante, uma amida peptídica tendo um grupo funcional amina pode, na presença de um ácido farmaceuticamente aceitável, tal como HCl, formar um sal.

Um exemplo de um solvato farmaceuticamente aceitável de uma amida peptídica sintética é uma combinação de uma amida peptídica com moléculas solventes que produz um complexo destas moléculas solventes em associação com a amida peptídica. Hidratos particularmente adequados de compostos são aqueles hidratos que têm atividade comparável ou hidratos que são reconvertidos no composto ativo depois da administração. Um N-óxido farmaceuticamente aceitável de uma amida peptídica sintética que contém uma amina é um composto onde o átomo de nitrogênio da amina está ligado a um átomo de oxigênio.

Uma forma cristalina, cristalina isomórfica ou amorfa farmaceuticamente aceitável de uma amida peptídica sintética da invenção pode ser qualquer forma cristalina ou não cristalina de uma forma ácida, básica, zwitteriônica, de sal, de hidrato farmaceuticamente aceitável ou qualquer outra forma estável fisiologicamente compatível da amida peptídica sintética de acordo com a invenção.

As amidas peptídicas sintéticas da invenção podem ser incorporadas em composições farmacêuticas. As composições podem incluir uma quantidade eficaz da amida peptídica sintética em um diluente, excipiente ou veículo farmaceuticamente aceitáveis. Excipientes, veículos e/ou diluentes para utilização em composições farmacêuticas são geralmente inertes e constituem o volume da preparação.

Em uma modalidade em particular, a amida peptídica sintética é um agonista do receptor kappa opióide. Em outra modalidade, a amida peptídica sintética é um agonista seletivo do receptor kappa opióide. O sítio alvo pode ser um receptor kappa no paciente ou indivíduo em necessidade

deste tratamento ou profilaxia. Certos agonistas do receptor kappa opióide da amida peptídica sintética da invenção são de atuação periférica e apresentam pouco ou nenhum efeito no SNC em doses terapeuticamente eficazes.

O excipiente ou veículo farmacêutico pode ser qualquer substância compatível, não tóxica, adequada como um veículo para administração da amida peptídica sintética da invenção. Excipientes ou veículos adequados incluem, mas não se limitam a água estéril (de preferência, livre de pirogênio), soro fisiológico, soro fisiológico tamponado com fosfato (PBS), água/etanol, água/gicerol, água/sorbitol, água/polietilenoglicol, propilenoglicol, álcool cetilestearílico, carboximetilcelulose, amido de milho, lactose, glicose, celulose microcristalina, estearato de magnésio, polivinilpirrolidona (PVP), ácido cítrico, ácido tartárico, óleos, substâncias gordas, ceras ou misturas adequadas de qualquer um dos antecedentes.

A composição farmacêutica de acordo com a invenção pode ser formulada como uma forma farmacêutica líquida, semi-sólida ou sólida. Por exemplo, a composição farmacêutica pode ser na forma de uma solução para injeção, gotas, xarope, spray, suspensão, comprimido, adesivo, cápsula, curativo, supositório, pomada, creme, loção, gel, emulsão, aerossol ou em uma forma em partículas, tais como *pellets* ou grânulos, opcionalmente prensados como comprimidos ou pastilhas, embalados em cápsulas ou suspensos em um líquido. Os comprimidos podem conter ligantes, lubrificantes, diluentes, agentes corantes, agentes aromatizantes, agentes umectantes e podem ter revestimento entérico para sobreviver o ambiente ácido do

estômago e dissolver nas condições mais alcalinas do lúmen intestinal. Alternativamente, os comprimidos podem ser revestidos com açúcar ou revestidos com filme ou com um filme solúvel em água. Adjuvantes, agentes tamponantes, agentes dispersantes e outros semelhantes farmaceuticamente aceitáveis também podem ser incorporados nas composições farmacêuticas.

Ligantes incluem, por exemplo, amido, mucilagem, gelatina e sacarose. Lubrificantes incluem talco, licopódio, estearato de magnésio e de cálcio/ácido esteárico. Diluentes incluem lactose, sacarose, manitol, sal, amido e caulino. Agentes umectantes incluem propileno glicol e monoestearato de sorbitano.

Conforme aqui utilizado, aplicação ou administração local se refere à administração de uma composição farmacêutica de acordo com a invenção ao local, tal como uma articulação inflamada, que exibe o estado doloroso e/ou inflamado. Esta aplicação local inclui aplicação dentro da articulação, tal como aplicação intra-articular, por meio de injeção, aplicação por meio de cateter ou administração como parte de um dispositivo biocompatível. Deste modo, a aplicação local se refere à aplicação a uma área interna distinta do corpo, tal como, por exemplo, uma articulação, uma área de tecido mole (tal como músculo, tendão, ligamentos, intra-ocular ou outras áreas internas musculosas) ou outra área interna do corpo. Em particular, conforme aqui utilizado, aplicação local se refere a aplicações que substancialmente não proporcionam libertação sistêmica e/ou administração sistêmica dos agentes ativos nas presentes composições. Além disso, conforme aqui

utilizado, aplicação local pretende se referir a áreas distintas do corpo, isto é, outras que não sejam as várias grandes cavidades corporais (tais como, por exemplo, as cavidades peritoneais e/ou pleurais).

Conforme aqui utilizado, aplicação tópica se refere à aplicação à superfície do corpo, tal como a pele, olhos, mucosa e lábios, que pode ser dentro ou sobre qualquer parte do corpo, incluindo mas não limitado à epiderme, qualquer outra derme, ou qualquer outro tecido do corpo. Administração ou aplicação tópica significa o contato direto da composição farmacêutica de acordo com a invenção com o tecido, tal como a pele ou membrana, particularmente a mucosa córnea, ou mucosa oral, vaginal ou anorretal. Deste modo, para a finalidade desta invenção, a aplicação tópica se refere à aplicação ao tecido de uma superfície acessível do corpo, tal como, por exemplo, a pele (o tegumento ou revestimento externo) e a mucosa (as superfícies que produzem, secretam e/ou contêm muco). Em particular, aplicação tópica se refere a aplicações que proporcionam pouca ou substancialmente nenhuma libertação sistêmica dos compostos ativos nas presentes composições. Superfícies mucosais exemplificativas incluem as superfícies mucosais dos olhos, boca (tais como os lábios, língua, gengivas, bochechas, sublingual e céu da boca), laringe, esôfago, brônquio, traquéia, passagens nasais, vagina e reto/ânus.

Para administração oral, um ingrediente ativo pode ser administrado em formas farmacêuticas sólidas, tais como cápsulas, comprimidos e pós ou em formas farmacêuticas líquidas, tais como elixires, xaropes e suspensões. O(s)

componente(s) ativo(s) podem ser encapsulados em cápsulas de gelatina juntamente com ingredientes não ativos e veículos em pó, tais como glicose, lactose, sacarose, manitol, amido, celulose e derivados de celulose, estearato de magnésio, ácido esteárico, sacarina sódica, talco, carbonato de magnésio e outros semelhantes. Exemplos de ingredientes não ativos adicionais que podem ser adicionados para proporcionar cor, sabor, estabilidade, capacidade de tamponamento, dispersão desejável ou outras características desejáveis são óxido de ferro vermelho, gel de sílica, lauril sulfato de sódio, dióxido de titânio, tinta branca comestível e outros semelhantes. Diluentes semelhantes podem ser utilizados para fazer comprimidos prensados. Tanto comprimidos como cápsulas podem ser fabricados como produtos de libertação sustentada para proporcionar a libertação contínua do medicamento por um período de horas. Os comprimidos prensados podem ser revestidos com açúcar ou revestidos com filme para mascarar algum sabor desagradável e proteger o comprimido da atmosfera, ou um revestimento entérico para desintegração seletiva no trato gastrointestinal. As formas farmacêuticas líquidas para administração oral podem conter corantes e aromatizantes para aumentar a aceitação do paciente. Para facilitar a estabilidade e absorção da droga, os peptídeos da invenção podem ser libertados a partir de uma cápsula depois de passar pelo hostil ambiente proteolítico do estômago. Métodos para aumentar a estabilidade e absorção do peptídeo depois da administração oral são conhecidos na técnica (por exemplo, Mahato RI. Emerging trends in oral delivery of peptide and protein drugs. *Critical Reviews in*

Therapeutic Drug Carrier Systems. 20:153-214, 2003).

As formas de dosagem, tais como pastilhas, comprimidos mastigáveis e gomas mastigáveis permitem uma ação terapêutica mais rápida em comparação com as formas farmacêuticas perorais dos compostos de amida peptídica sintética da invenção tendo absorção bucal significativa. As formulações de gomas mastigáveis são preparações sólidas de dose única com uma base consistindo principalmente de goma, que se destinam a serem mastigadas mas não deglutidas e contêm um ou mais compostos da invenção que são libertados por mastigação e se destinam a serem usadas para o tratamento local da dor e inflamação da boca ou administração sistêmica depois da absorção através da mucosa bucal. Ver, por exemplo, Patente U.S. N° 6,322,828 de Athanikar e Gubler intitulada: *Process for manufacturing a pharmaceutical chewing gum*.

Para administração nasal, os agonistas do receptor kappa opióide perifericamente seletivos podem ser formulados como aerossóis. O termo "aerossol" inclui qualquer fase suspensa em gás dos compostos da presente invenção que seja capaz de ser inalada para dentro dos brônquios ou passagens nasais. Especificamente, o aerossol inclui uma suspensão em gás de gotículas dos compostos da presente invenção, conforme pode ser produzido em um inalador ou nebulizador de dose medida, ou em um pulverizador. O aerossol também inclui uma composição em pó seco de um composto da presente invenção suspenso no ar ou outro gás transportador, que pode ser administrado, por exemplo, por insuflação de um dispositivo inalador. Ver Ganderton & Jones, Drug Delivery to the Respiratory Tract,

Ellis Horwood (1987); Gonda (1990) *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* 6:273-313; e Raeburn *et al.* (1992) *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 27:143-159.

As composições farmacêuticas da invenção podem ser preparadas em uma formulação adequada para administração sistêmica, tal como, por exemplo, por administração intravenosa, subcutânea, intramuscular, intraperitoneal, intranasal, intravaginal, intra-retal, intrapulmonar ou oral. Alternativamente, composições farmacêuticas da invenção podem ser adequadamente formuladas para administração local, tal como, por exemplo, para administração tópica ou iontoforética, ou para administração transdérmica por um adesivo revestido, difundido ou impregnado com a formulação, e aplicação local nas articulações, tais como injeção intra-articular.

Preparações para administração por via parentérica incluem soluções estéreis para injeção, produtos solúveis secos estéreis prontos para serem combinados com um solvente imediatamente antes da utilização, incluindo comprimidos hipodérmicos, suspensões estéreis prontas para injeção, produtos insolúveis secos estéreis prontos para serem combinados com um veículo imediatamente antes da utilização e emulsões estéreis. As soluções podem ser aquosas ou não aquosas e, deste modo, formuladas para administração por injeção, perfusão ou utilizando bombas implantáveis. Para administração por via intravenosa, subcutânea e intramuscular, formulações úteis da invenção incluem preparações de microcápsulas com propriedades de libertação controlada (R. Pwar *et al.* Protein and peptide parenteral controlled delivery. *Expert Opin Biol Ther.*

4(8):1203-12, 2004) ou encapsulação em lipossomas, com uma forma exemplificativa sendo lipossomas revestidos com polietileno, que são conhecidos na técnica como tendo um tempo de circulação prolongado na vasculatura (por exemplo, Koppal, T. "Drug delivery technologies are right on target", *Drug Discov. Dev.* 6, 49-50, 2003).

Para administração oftálmica, a presente invenção proporciona um método para tratar glaucoma ou dor e inflamação oftálmica, compreendendo administrar ao olho de um doente em necessidade, uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma amida peptídica sintética da invenção. A amida peptídica sintética pode ser administrada topicamente com um veículo farmacêutico compatível com o olho ou não-sistemicamente utilizando uma lente de contato ou implante intra-ocular que pode opcionalmente conter polímeros que proporcionam a libertação sustentada da amida peptídica sintética. Estes veículos farmacêuticos compatíveis com o olho podem incluir adjuvantes, antimicrobianos, conservantes, tensoativos e intensificadores de viscosidade, etc. É sabido na técnica que altas concentrações de muitos compostos são irritantes e baixas concentrações são menos irritantes; deste modo, a formulação é muitas vezes concebida para incluir as concentrações eficazes mais baixas do composto ativo, conservante, tensoativo e/ou intensificador de viscosidade, o referido intensificador de viscosidade tendo uma alta tensão superficial para reduzir a irritação do olho enquanto aumenta a retenção das soluções oftálmicas na superfície do olho. Esta libertação controlada das amidas peptídicas sintéticas da invenção pode durar 6 meses a um

ano para implantes ou períodos mais curtos (3-14 dias) para lentes de contato. Estes implantes podem ter bombas osmóticas, matrizes biodegradáveis ou dispositivos de libertação sustentada intra-ocular. Estas composições tópicas podem incluir uma solução salina tamponada com ou sem lipossomas.

Soluções poliméricas aquosas, suspensões aquosas, pomadas e géis podem ser utilizados para formulações tópicas das amidas peptídicas sintéticas da invenção para aplicações oculares. As formulações aquosas também podem conter lipossomas para criar um reservatório da amida peptídica sintética. Certas destas formulações tópicas são géis que aumentam a retenção pré-corneana sem a inconveniência e deterioração de visão associadas às pomadas. O veículo farmacêutico compatível com o olho também pode incluir um polímero sintético biodegradável. Composições de microesferas biodegradáveis aprovadas para uso humano incluem os polilácticos: poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico) e poli(ácido láctico-co-ácido glicólico). Formulações biodegradáveis adicionais incluem, mas não se limitam a: poli(anidrido-co-imida), poli(ácido láctico-glicólico), polietil-2-cianoacrilato, policaprolactona, poli-hidroxibutirato valerato, poliortoéster e óxido de polietileno/teraftalato de polibutileno. Implante intra-ocular ou injeção de composições de libertação sustentada que incluem uma amida peptídica da invenção pode proporcionar controle a longo prazo (variando de meses a anos) da pressão intra-ocular e, deste modo, evitar ou reduzir a necessidade de preparações tópicas. Métodos úteis para formular e distribuir

medicamentos oftálmicos são revelados na Patente U.S. N° 7,122,579 de Schwartz *et al.,* e na Patente U.S. N° 7,105,512 de Morizono *et al*. Métodos para formular medicamentos oftálmicos em lentes de contato são revelados por Gulsen e Chauhan, Ophthalmic drug delivery through contact lenses. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, (2004) 45:2342-2347.

Preparações para administração transdérmica são incorporadas em um dispositivo adequado para a referida administração, o referido dispositivo utilizando, por exemplo, iontoforese (Kalia YN *et al*., Iontophoretic Drug Delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 56:619-58, 2004) ou uma superfície penetrante da derme (Prausnitz MR. Microneedles for Transdermal Drug Delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 56:581-7, 2004), tais como são conhecidos na técnica para serem úteis para melhorar a administração transdérmica de drogas. Um dispositivo de eletrotransporte e seus métodos de funcionamento são revelados na Patente U.S. 6,718,201. Métodos para utilização de iontoforese para promover a administração transdérmica de peptídeos são revelados na Patente U.S. 6,313,092 e Patente U.S. 6,743,432.

Conforme aqui utilizados, os termos "eletrotransporte", "iontoforese" e "iontoforético" se referem à administração através de uma superfície corporal (por exemplo, pele ou mucosa) de um ou mais compostos farmaceuticamente ativos por meio de uma força eletromotriz aplicada a um reservatório contendo o agente. O composto pode ser administrado por eletromigração, eletroporação, eletro-osmose ou qualquer combinação destes. A eletro-osmose tem também sido referida como eletro-hidrocinese,

eletro-convecção e osmose eletricamente induzida. De um modo geral, a eletro-osmose de um composto para dentro de um tecido resulta da migração do solvente no qual o composto está contido, como resultado da aplicação da força eletromotriz ao reservatório de espécie terapêutica, tal como, por exemplo, o fluxo do solvente induzido por eletromigração de outras espécies iônicas. Durante o processo de eletrotransporte, podem ocorrer certas modificações ou alterações da pele, tais como a formação de poros existentes temporariamente na pele, também referidos como “eletroporação”. Qualquer transporte de espécie eletricamente assistido intensificado por modificações ou alterações da superfície do corpo (por exemplo, formação de poros na pele) são também incluídos no termo “eletrotransporte” conforme aqui utilizado. Deste modo, conforme aqui utilizado, aplicados aos compostos da presente invenção, os termos “eletrotransporte”, “iontoforese” e “iontoforético” se referem (1) à administração de agentes carregados por eletromigração, (2) à administração de agentes não carregados pelo processo de eletro-osmose, (3) à administração de agentes carregados ou não carregados por eletroporação, (4) à administração de agentes carregados pelos processos combinados de eletromigração e eletro-osmose e/ou (5) à administração de uma mistura de agentes carregados e não carregados pelos processos combinados de eletromigração e eletro-osmose. De um modo geral, os dispositivos de eletrotransporte utilizam dois eletrodos, ambos os quais são posicionados em estreito contato elétrico com alguma porção da pele do corpo. Um eletrodo, chamado eletrodo ativo ou doador, é o eletrodo a

partir do qual o agente terapêutico é administrado no corpo. O outro eletrodo, chamado contra eletrodo ou eletrodo de retorno, serve para fechar o circuito elétrico através do corpo. Em conjunto com a pele do paciente, o circuito é completo por conexão dos eletrodos a uma fonte de energia elétrica, por exemplo, uma bateria e, em geral, a circuitos capazes de controlar a corrente que passa através do dispositivo.

Dependendo da carga elétrica do composto a ser administrado por via transdérmica, o anodo ou o catodo podem ser o eletrodo ativo ou doador. Deste modo, se o composto a ser transportado for carregado positivamente, por exemplo, o composto aqui exemplificado no Exemplo 1, então o eletrodo positivo (o anodo) será o eletrodo ativo e o eletrodo negativo (o catodo) servirá como o contra eletrodo, completando o circuito. No entanto, se o composto a ser administrado for carregado negativamente, então o eletrodo catódico será o eletrodo ativo e o eletrodo anódico será o contra eletrodo. Além disso, os dispositivos para eletrotransporte necessitam de um reservatório ou fonte do agente terapêutico a ser administrado ao corpo. Estes reservatórios de droga são conectados ao anodo ou ao catodo do dispositivo de eletrotransporte para proporcionar uma fonte fixa ou renovável de uma ou mais espécies ou agentes desejados. Cada montagem de eletrodo é compreendida de um eletrodo eletricamente condutor em relação de transmissão de íon com um reservatório de líquido ionicamente condutor que em utilização é colocado em contato com a pele do paciente. Reservatórios de gel tais como os descritos em Webster (Patente U.S. 4,383,529) são

uma forma de reservatório, uma vez que géis hidratados são mais fáceis de manipular e fabricar do que recipientes cheios de líquido. A água é um solvente líquido que pode ser utilizado nestes reservatórios, em parte porque os sais dos compostos peptídicos da invenção são solúveis em água e, em parte porque a água é não-irritante à pele, permitindo, deste modo, um contato prolongado entre o reservatório de hidrogel e a pele. Para eletrotransporte, os peptídeos sintéticos da invenção podem ser formulados com intensificadores de fluxo, tais como tensoativos iônicos ou co-solventes que não seja a água (Ver, por exemplo, a Patente U.S. 4,722,726 e Pedido de Patente Européia 278,473, respectivamente). Alternativamente, a camada externa (isto é, o extrato córneo) da pele pode ser mecanicamente rompida antes da administração por eletrotransporte através da mesma, por exemplo, como descrito na Patente U.S. 5,250,023.

Amidas peptídicas sintéticas periféricas que são adequadas para eletrotransporte podem ser selecionadas medindo o seu fluxo por eletrotransporte através da superfície do corpo (por exemplo a pele ou mucosa), por exemplo, em comparação com um peptídeo de teste padronizado com características de fluxo por eletrotransporte conhecidas, por exemplo, o hormônio libertador da tirotropina (R. Burnette *et al. J. Pharm. Sci.* (1986) 75:738) ou vasopressina (Nair *et al. Pharmacol Res.* 48:175-82, 2003). O fluxo por eletrotransporte transdérmico pode ser determinado utilizando vários métodos *in vivo* ou *in vitro* conhecidos na técnica. Métodos *in vitro* incluem pinçar uma porção de pele de um mamífero apropriado (por

exemplo, pele de cadáver humano) entre os compartimentos do doador e receptor de uma célula de fluxo por eletrotransporte, com o lado do estrato córneo da porção de pele voltado para o compartimento do doador. Uma solução líquida ou gel contendo a droga a ser administrada é colocada em contato com o estrato córneo e uma corrente elétrica é aplicada aos eletrodos, um eletrodo em cada compartimento. O fluxo transdérmico é calculado colhendo uma amostra da quantidade de droga no compartimento do receptor. Dois modelos bem sucedidos utilizados para otimizar a administração de droga por eletrotransporte transdérmico são o modelo de retalho de pele de porco (Heit MC *et al.* Transdermal iontophoretic peptide delivery: *in vitro* and *in vivo* studies with luteinizing hormone releasing hormone. *J. Pharm. Sci.* 82:240-243, 1993) e a utilização de pele sem pêlo isolada de roedores sem pêlo ou porquinhos da índia, por exemplo. Ver Hadzija BW *et al.* Effect of freezing on iontophoretic transport through hairless rat skin. *J. Pharm. Pharmacol.* 44, 387-390, 1992. Os compostos da invenção para administração iontoforética transdérmica podem ter um ou, tipicamente, dois nitrogênios carregados para facilitar a sua administração.

Outros dispositivos úteis para administração transdérmica utilizam administração a alta velocidade, sob pressão, para conseguir a penetração da pele sem o uso de uma agulha. A administração transdérmica pode ser melhorada, como é conhecido na técnica, pelo uso de intensificadores químicos, algumas vezes referidos na técnica como “intensificadores de permeação” , isto é, compostos que são administrados juntamente com a droga (ou,

em alguns casos, usados para pré-tratar a pele antes da administração da droga) a fim de aumentar a permeabilidade do estrato córneo e, deste modo, proporcionar uma penetração aumentada da droga através da pele. Os intensificadores químicos de penetração são compostos que são inócuos e servem meramente para facilitar a difusão da droga através do estrato córneo, seja por difusão passiva, seja por um processo acionado por energia, tal como eletrotransporte. Ver, por exemplo, Meidan VM *et al.* Enhanced iontophoretic delivery of buspirone hydrochloride across human skin using chemical enhancers. *Int. J. Pharm.* 264:73-83, 2003.

As formas farmacêuticas de dosagem para administração retal incluem supositórios, cápsulas e comprimidos para efeito sistêmico. Supositórios retais, conforme aqui utilizado, significa corpos sólidos para inserção dentro do reto que fundem ou amaciam à temperatura do corpo libertando um ou mais ingredientes farmacologicamente ou terapeuticamente ativos. As substâncias farmaceuticamente aceitáveis utilizadas nos supositórios retais incluem bases ou veículos e agentes que elevam o ponto de fusão dos supositórios. Exemplos de bases incluem manteiga de cacau (óleo de teobroma), glicerina-gelatina, carbowax, (polioxietileno glicol) e misturas apropriadas de mono, di e triglicérides de ácidos graxos. Podem também ser utilizadas combinações de várias bases. Agentes que elevam o ponto de fusão dos supositórios incluem espermacete e cera. Os supositórios retais podem ser preparados pelo método de compressão ou por moldagem. Tipicamente, os supositórios retais pesam cerca de 2 g a cerca de 3 g.

Comprimidos e cápsulas para administração retal são fabricados utilizando a(s) mesma(s) substância(s) farmaceuticamente aceitável(is) e pelos mesmos métodos que as formulações para administração oral.

Os veículos farmaceuticamente aceitáveis utilizados nas preparações parentéricas incluem veículos aquosos, veículos não aquosos, agentes antimicrobianos, agentes isotônicos, tampões, antioxidantes, anestésicos locais, agentes de suspensão e dispersão, agentes emulsionantes, agentes seqüestrantes ou quelantes e outras substâncias farmaceuticamente aceitáveis.

Exemplos de veículos aquosos incluem cloreto de sódio para injeção, solução Ringer para injeção, dextrose isotônica para injeção, água estéril para injeção, dextrose e solução de Ringer lactado para injeção. Os veículos parentéricos não aquosos incluem óleos fixos de origem vegetal, óleo de semente de algodão, óleo de milho, óleo de gergelim e óleo de amendoim. Agentes antimicrobianos em concentrações bacteriostáticas ou fungistáticas têm de ser adicionados às preparações parentéricas embaladas em recipientes de doses múltiplas que incluem fenóis ou cresóis, mercuriais, álcool benzílico, clorobutanol, ésteres metílico e propílico do ácido p-hidroxibenzôico, timerosal, cloreto de benzalcônio e cloreto de benzetônio. Os agentes isotônicos incluem cloreto de sódio e dextrose. Tampões incluem fosfato e citrato. Antioxidantes incluem bissulfito de sódio. Anestésicos locais incluem cloridrato de procaína. Agentes de suspensão e dispersão incluem carboximetilceluose de sódio, hidroxipropil metilcelulose e polivinilpirrolidona. Agentes emulsionantes incluem

Polisorbato 80 (Tween 80). Um agente seqüestrante ou quelante de íons de metal, tal com o EDTA também pode ser incorporado. Os veículos farmacêuticos também incluem álcool etílico, polietileno glicol e propileno glicol para veículos miscíveis em água e o pH pode ser ajustado a um pH fisiologicamente compatível por meio da adição de hidróxido de sódio, ácido clorídrico, ácido cítrico ou ácido láctico.

O ingrediente ativo pode ser administrado de uma só vez, ou pode ser dividido em várias doses menores a serem administradas a intervalos de tempo, ou como uma formulação de libertação controlada. O termo "formulação de libertação controlada" abrange as formulações que permitem a administração contínua de uma amida peptídica sintética da invenção a um indivíduo por um período de tempo, por exemplo, vários dias a semanas. Estas formulações podem ser administradas por via subcutânea ou intramuscular e permitem a libertação em estado estável contínuo de uma quantidade predeterminada do composto no indivíduo ao longo do tempo. A formulação de libertação controlada da amida peptídica sintética pode ser, por exemplo, uma formulação de microcápsulas poliméricas contendo droga, tais como as descritas nas Patentes U.S. Nos. 4,677,191 e 4,728,721, aqui incorporadas por citação. A concentração do composto farmaceuticamente ativo é ajustada de modo que a administração proporcione uma quantidade eficaz para produzir um efeito desejado. A dose exata depende da idade, peso e estado do paciente ou animal, conforme é conhecido na técnica. Para qualquer indivíduo em particular, regimes de dosagem específicos podem ser ajustados ao longo do tempo de acordo com a necessidade individual e a avaliação

profissional da pessoa que administra ou supervisiona a administração das formulações. Deste modo, as faixas de concentração aqui apresentadas são apenas exemplificativas e não se destinam a limitar o âmbito ou prática da invenção reivindicada.

As preparações parentéricas de dose unitária incluem embalagem em uma ampola ou pré-embalada em uma seringa com ou sem uma agulha para administração. Todas as preparações para administração por via parentérica são tipicamente estéreis, conforme é praticado na técnica. De uma maneira ilustrativa, a perfusão intravenosa de uma solução tamponada, aquosa estéril contendo um composto ativo é uma maneira eficaz de administração. Em outra modalidade uma solução ou suspensão estéril aquosa ou oleosa contendo o material ativo pode ser injetada conforme necessário para produzir o efeito farmacológico desejado.

As composições farmacêuticas da invenção podem ser aplicadas ou administradas por via intravenosa, transdérmica, transmucosa, intranasal, subcutânea, intramuscular, oral ou tópica (tal como, por exemplo ao olho). As composições podem ser administradas para o tratamento profilático de indivíduos sofrendo ou em risco de sofrer uma doença ou distúrbio. Para aplicações terapêuticas, uma composição farmacêutica é tipicamente administrada a um indivíduo sofrendo de uma doença ou distúrbio, em uma quantidade suficiente para inibir, prevenir ou melhorar a doença ou distúrbio. Uma quantidade adequada para conseguir isto é definida como uma “dose terapeuticamente eficaz”.

As composições farmacêuticas da invenção podem ser

administradas a um mamífero com finalidade profilática ou terapêutica em qualquer uma das formulações e modos de administração acima descritos. O mamífero pode ser qualquer mamífero, tal como um mamífero domesticado ou feroz ou mesmo um mamífero selvagem. O mamífero pode ser qualquer primata, ungulado, canino ou felino. Por exemplo, e sem limitação, o mamífero pode ser um animal de estimação ou animal de companhia, tal como um cão ou um gato; um mamífero de alto valor tal como um cavalo de puro sangue ou um animal de espetáculo; um animal de fazenda, tal como uma vaca, uma cabra, uma ovelha ou um porco; ou um primata tal como um macaco, gorila, orangotango, lêmure, mico ou chimpanzé. Um mamífero adequado para profilaxia ou tratamento utilizando as composições farmacêuticas da invenção é um ser humano.

As composições farmacêuticas da invenção podem ser administradas a um mamífero que tem uma doença ou estado patológico que pode ser tratado pela ativação do receptor kappa opióide. Alternativamente, as composições farmacêuticas podem ser administradas como profilaxia a um mamífero em risco de contrair ou desenvolver uma doença ou estado patológico que pode ser evitado pela ativação do receptor kappa opióide. As doenças ou estados patológicos que podem ser tratados ou evitados pela administração das composições farmacêuticas da invenção incluem, sem limitação, qualquer estado que possa ser melhorado pela ativação do receptor kappa opióide, incluindo estados tais como dor, inflamação, prurido, hiponatremia, hipocalemia, insuficiência cardíaca congestiva, cirrose hepática, síndrome nefrótica, hipertensão, edema, íleo, tosse e

glaucoma.

Em uma modalidade em particular, as composições farmacêuticas da invenção podem ser co-administradas ou podem incluir um ou mais compostos ou adjuvantes terapêuticos, tais como, mas não limitados a outros opióides, cannabinóides, anti-depressivos, anticonvulsivos, neurolépticos, anti-histaminas, acetaminofeno, corticosteróides, agentes bloqueadores do canal iônico, drogas anti-inflamatórias não esteróides (NSAIDs) e diuréticos, muito dos quais são sinérgicos em efeito com as amidas peptídicas sintéticas da invenção.

Opióides adequados incluem, sem limitação, alfentanil, alfaprodina, anileridina, bremazocina, buprenorfina, butorfanol, codeína, conorfona, dextromoramida, dextropropoxifeno, dezocina, diamorfina, di-hidrocodeína, di-hidromorfina, difenoxilato, dipipanona, doxpicomina, eto-heptazina, etilcetazocina, etilmorfina, etorfina, fentanil, hidrocodona, hidromorfona, cetobemidona, levometadil, levorfanol, lofentanil, loperamida, meperidina (petidina), meptazinol, metadona, morfina, morfina-6-glucuronido, nalbufina, nalorfina, nicomorfina, oxicodona, oximorfona, pentazocina, fenazocina, fenoperidina, piritramida, propiram, propoxifeno, remifentanil, sufentanil, tilidato, tonazocina e tramadol.

Uma modalidade da invenção é a co-formulação e/ou co-administração de um opióide com substancial atividade agonista no receptor mu opióide, tal como morfina, fentanil, hidromorfona ou oxicodona, juntamente com uma amida peptídica sintética da invenção, com a finalidade de um efeito poupador de dose de um mu opióide, onde a dose do

mu opióide é reduzida para minimizar os efeitos colaterais comuns do mu opióide, particularmente em pacientes nunca antes tratados com opióides. Estes efeitos colaterais incluem obstipação intestinal, náusea, vômito, sedação, depressão respiratória, prurido (coceira), confusão mental, desorientação e deficiência cognitiva, retenção urinária, espasmo biliar, delírio, contração mioclônica e convulsões. A seleção da dose reduzida de mu opióide exige a avaliação clínica de um especialista e depende das características únicas dos vários mu opióides, bem como as características do paciente, tais como a intensidade da dor, idade do paciente, doença coexistente, regime de droga atual e potencial interações de drogas, resultados de tratamento anterior e preferência do paciente (McCaffery, M. e Pasero, C., *Pain Clinical Manual*, Second Edition, Mosby, 1999).

Cannabinóides adequados para administração ou incorporação nas composições farmacêuticas da invenção, incluem qualquer cannabinóide natural, tal como por exemplo, tetra-hidrocanabinol (THC), ou um derivado de THC ou um cannabinóide sintético, tal como por exemplo levonantradol, marinol, nabilona, rimonabant ou savitex.

Antidepressivos adequados que podem ser co-administrados ou incorporados nas composições farmacêuticas da invenção, incluem, por exemplo, imipramina, desipramina, trimipramina, protriptilina, nortriptilina, amitriptilina, doxepina e clomipramina; antidepressivos atípicos tais como amoxapina, maprotilina, trazodona, bupropiona e venlafaxina; inibidores da recaptação específica da serotonina tais como fluoxetina, sertralina, paroxetina, citalopram e fluvoxamina; inibidores da recaptação

específica da norepinefrina tais como reboxetina; ou antidepressivos de ação dupla tais como nefazodona e mirtazapina.

Neurolépticos adequados que podem ser co-administrados ou incorporados nas composições farmacêuticas da invenção, incluem qualquer neuroléptico, por exemplo, um composto com atividade antagonista do receptor da dopamina D2 tal como domperidona, metaclopramida, levosulpirida, sulpirida, tietilperazina, ziprasidona, zotepina, clozapina, clorpromazina, acetofenazina, carfenazina, clorprotixeno, flufenazina, loxapina, mesoridazina, molindona, perfenazina, pimozida, piperacetazina, perclorperazina, tioridazina, tiotixeno, trifluoperazina, triflupromazina, pipamperona, amperozida, quietiapina, melperona, remoxiprida, haloperidol, rispiridona, olanzepina, sertindole, ziprasidona, amisulprida, proclorperazina e tiotixeno.

Anticonvulsivos tais como fenobarbital, fenitoína, primidona, carbamazepina, etosuximida, lamotrigina, ácido valprôico, vigabatrin, felbamato, gabapentina, levetiracetam, oxcarbazepina, remacemida, tiagabina, e topiramato também podem ser incorporados de forma vantajosa nas composições farmacêuticas da invenção.

Relaxantes musculares tais como metocarbamol, orfenadrina, carisoprodol, meprobamato, carbamato de clorfenesina, diazepam, clordiazepóxido e clorzoxazona; agentes anti-enxaqueca tais como sumatriptano, analépticos tais como cafeína, metilfenidato, anfetamina e modafinil; anti-histaminas tais como clorfeniramina, cipro-heptadina, prometazina e pirilamina, bem como corticosteróides tais

como metilprednisolona, betametasona, hidrocortisona, prednisolona, cortisona, dexametasona, prednisona, alclometasona, clobetasol, clocortrolona, desonida, desoximetasona, diflorasona, fluocinolona, fluocinonida, flurandrenolida, fluticasona, florometalona, halcinonida, halobetasol, loteprednol, mometasona, prednicarbato e triamcinolona também podem ser incorporados nas composições farmacêuticas da invenção.

Agentes bloqueadores do canal iônico tais como, por exemplo, o bloqueador do canal iônico de sódio, carbamazepina, conforme comumente utilizado no tratamento do tinnitus, arritmia, derrame isquêmico e epilepsia podem ser co-administrados ou incorporados nas composições farmacêuticas da invenção. Alternativamente, ou além disso, os bloqueadores do canal iônico de cálcio, tais como ziconotida, também podem ser utilizados, bem como antagonistas do canal iônico associados ao receptor NMDA, tal como cetamina. Há evidência de que pelo menos alguns destes bloqueadores do canal iônico podem aumentar a potência dos efeitos analgésicos do agonista kappa e, deste modo, reduzir a dose necessária para um alívio eficaz da dor. Ver, por exemplo, Wang *et al.*, 2000, *Pain* 84: 271-81.

NSAIDs adequados, ou outros compostos não opióides com atividade anti-inflamatória e/ou analgésica que podem ser co-administrados ou incorporados nas composições farmacêuticas da invenção incluem, mas não se limitam a um ou mais dos seguintes: derivados do ácido aminoarilcarboxílico tais como etofenamato, ácido meclofenâmico, ácido mefanâmico, ácido niflúmico; derivados do ácido arilacético tais como acemetacina, amfenac,

cinmetacina, clopirac, diclofenac, fenclofenac, fenclorac, ácido fenclózico, fentiazac, glucametacina, isoxepac, lonazolac, ácido metiazínico, naproxina, oxametacina, proglumetacina, sulindac, tiaramida e tolmetina; derivados do ácido arilbutírico tais como butibufeno e fenbufeno; ácidos arilcarboxílicos tais como clidanac, cetorolac e tinoridina; derivados do ácido arilpropiônico tais como ácido buclóxico, carprofeno, fenoprofeno, flunoxaprofeno, ibuprofeno, ibuproxam, oxaprozina, derivados do ácido fenilalcanôico tais como flurbiprofeno, picetoprofeno, pirprofeno, pranoprofeno, ácido protizínico e ácido tiaprofênico; ácidos piranocarboxílicos tais como etodolac; pirazoles tais como mepirizole; pirazolonas tais como clofezona, feprazona, mofebutazona, oxifinbutazona, fenilbutazona, fenil pirazolidininonas, suxibuzona e tiazolinobutazona; derivados do ácido salicílico tais como aspirina, bromosaligenina, diflusinal, fendosal, salicilato de glicol, mesalamina, salicilato de 1-naftila, salicilato de magnésio, olsalazina e salicilamida, salsalato e sulfasalazina; tiazinacarboxamidas tais como droxicam, isoxicam e piroxicam outras tais como ácido ε-acetamidocaprôico, acetaminofeno, s-adenosilmetionina, ácido 3-amino-4-hidroxibutírico, amixetrina, bendazac, bucoloma, carbazonas, cromolina, difenpiramida, ditazol, hidroxicloroquina, indometacina, cetoprofeno e seus metabólitos ativos ácido 6-metoxi-2-naftilacético; guaiazuleno, ésteres aminoalquílicos heterocíclicos do ácido micofenólico e derivados, nabumetona, nimesulida, orgoteína, oxaceprol, derivados de oxazole, paranilina, pifoxima, 4, 6-di-terc-butil-s-hidroxi-1,3-pirimidinas 2-

substituídas, proquazona e tenidap, e inibidores da cox-2 (ciclooxigenase II) tais como celecoxib ou rofecoxib.

Diuréticos adequados que podem ser co-administrados ou incorporados nas preparações farmacêuticas da invenção, incluem, por exemplo, inibidores de anidrase carbônica tais como acetazolamida, diclorfenamida e metazolamida; diuréticos osmóticos tais como glicerina, isosorbida, manitol, e uréia; inibidores do simporte Na^+-K^+-$2Cl^-$ (diuréticos de alça ou diuréticos de alto teto), tais como furosemida, bumetanida, ácido etacrínico, torsemida, axosemida, piretanida e tripamida; inibidores do simporte Na^+-Cl^- (tiazida e diuréticos semelhantes a tiazida), tais como bendroflumetiazida, clorotiazida, hidroclorotiazida, hidroflumetazida, meticlotiazida, politiazida, triclormetiazida, clortalidona, indapamida, metolazona e quinetazona; e, além disso, inibidores dos canais epiteliais renais Na^+, tais como amilorida e triamtereno, e antagonistas dos receptores mineralocorticóide (antagonistas da aldosterona), tais como espironolactona, canrenona, canrenoato de potássio e eplerenona, que, juntos são também classificados como diuréticos poupadores de K^+. Uma modalidade é a co-formulação e/ou co-administração de um diurético de alça ou tiazida juntamente com uma amida peptídica sintética da invenção com a finalidade de obter um efeito poupador de dose de diurético de alça ou tiazida, onde a dose do diurético de alça ou tiazida é reduzida para minimizar a retenção indesejada de água e evitar ou reduzir a hiponatremia, particularmente no contexto de insuficiência cardíaca congestiva, bem como outros estados clínicos onde a diminuição da retenção de fluido corporal e

a normalização do equilíbrio de sódio poderiam ser benéficos para um paciente.Ver R M Reynolds *et al.* Disorders of sodium balance *Brit. Med. J.* 2006; 332:702-705.

A hiponatremia associada ao receptor kappa opióide pode ser qualquer doença ou estado patológico onde a hiponatremia (estado de baixa concentração de sódio) está presente, por exemplo, em seres humanos, quando a concentração de sódio no plasma cai para menos de 135 mmol/L, uma anomalia que pode ocorrer isoladamente ou, mais frequentemente, como uma complicação de outros estados clínicos ou como uma conseqüência de utilizar medicamentos que podem provocar a depleção de sódio.

Uma outra modalidade e a co-formulação e/ou co-administração de um diurético poupador de potássio, por exemplo, um antagonista do receptor mineralocorticóide tal como espironolactona ou eplerenona, juntamente com uma amida peptídica sintética da invenção, com a finalidade de permitir uma dose reduzida do referido diurético poupador de potássio, onde a dose do referido diurético é reduzida para minimizar a hipercalemia ou acidose metabólica, por exemplo, em pacientes com cirrose hepática.

Em modalidades em particular, as amidas peptídicas sintéticas da invenção exibem uma duração prolongada de ação quando administradas em doses terapeuticamente relevantes *in vivo*. Por exemplo, em algumas modalidades, as amidas peptídicas sintéticas da invenção quando administradas a um mamífero a uma dose de 3mg/kg da amida peptídica sintética mantêm pelo menos cerca de 50% de eficácia máxima em um ensaio dependente de receptor do

kappa opióide 3 horas após a administração. Em algumas outras modalidades, as amidas peptídicas sintéticas da invenção quando administradas a um mamífero a uma dose de 0,1 mg/kg da amida peptídica sintética mantêm pelo menos cerca de 50% de eficácia máxima em um ensaio dependente de receptor do kappa opióide 3 horas após a administração. A eficácia máxima é operacionalmente definida como o nível mais alto de eficácia determinado para o ensaio receptor-dependente de kappa opióide em particular para todos os agonistas testados.

Em certas modalidades, as amidas peptídicas sintéticas da invenção quando administradas a um mamífero a uma dose de 0,1 mg/kg mantêm pelo menos cerca de 75% de eficácia máxima 3 horas após a administração. Em ainda outras modalidades, as amidas peptídicas sintéticas da invenção quando administradas a um mamífero a uma dose de 0,1 mg/kg mantêm pelo menos cerca de 90% de eficácia máxima 3 horas após a administração. Em algumas outras modalidades, as amidas peptídicas sintéticas da invenção quando administradas a um mamífero a uma dose de 0,1 mg/kg mantêm pelo menos cerca de 95% de eficácia máxima 3 horas após a administração.

A invenção também proporciona um método para tratar ou prevenir uma doença ou estado patológico associado ao receptor kappa opióide em um mamífero, onde o método inclui administrar a um mamífero uma composição contendo uma quantidade eficaz de uma amida peptídica sintética da invenção. O mamífero pode ser qualquer mamífero, tal como um mamífero domesticado ou feroz, ou mesmo um mamífero selvagem. Alternativamente, o mamífero pode ser um primata,

ungulado, um canino ou um felino. Por exemplo, e sem limitação, o mamífero pode ser um animal de estimação ou animal de companhia, tal como um mamífero de alto valor tal como um cavalo de puro sangue ou um animal de espetáculo; um animal de fazenda, tal como uma vaca, uma cabra, uma ovelha ou um porco; ou um primata tal como um macaco, ou mico. Em um aspecto em particular, o mamífero é um ser humano.

A quantidade eficaz pode ser determinada de acordo com métodos de rotina por um especialista na técnica. Por exemplo, uma quantidade eficaz pode ser determinada como uma dosagem unitária suficiente para prevenir ou para tratar uma doença ou estado patológico associado ao receptor kappa opióide em um mamífero. Alternativamente, a quantidade eficaz pode ser determinada como uma quantidade suficiente para se aproximar do valor de concentração EC_{50} ou uma quantidade suficiente para se aproximar duas ou três vezes ou até cerca de cinco vezes ou mesmo cerca de dez vezes do valor de concentração EC_{50} em um fluido corporal terapeuticamente relevante do mamífero, por exemplo, onde o fluido corporal está em aposição direta a um tecido alvo, tal como o fluido sinovial de uma articulação inflamada em um paciente sofrendo de artrite reumatóide.

Em uma modalidade a amida peptídica sintética da invenção é uma composição farmacêutica que inclui uma quantidade eficaz da amida peptídica sintética da invenção e um excipiente ou veículo farmaceuticamente aceitáveis. Em um aspecto, a composição farmacêutica inclui uma amida peptídica sintética da invenção em uma quantidade eficaz para tratar ou prevenir um estado patológico associado ao

receptor kappa opióide em um mamífero, tal como um ser humano. Em outro aspecto, o estado patológico associado ao receptor kappa opióide é dor, inflamação, prurido, edema, íleo, tosse ou glaucoma.

Em uma modalidade a composição farmacêutica da invenção inclui também um ou mais dos seguintes compostos: um opióide, um cannabinóide, um anti-depressivo, um anticonvulsivo, um neuroléptico, um corticosteróide, um agente bloqueador do canal iônico, ou uma droga anti-inflamatória não esteróide (NSAID).

As composições farmacêuticas que incluem uma amida peptídica sintética da invenção e um veículo ou transportador farmaceuticamente aceitáveis podem ser utilizadas para tratar ou prevenir uma ou mais de uma variedade de doenças, distúrbios ou estados patológicos associados ao receptor kappa opióide.

A doença, distúrbio ou estado patológico associados ao receptor kappa opióide que podem ser prevenidos ou tratados com as amidas peptídicas sintéticas da invenção podem ser qualquer estado patológico associado ao receptor kappa opióide, incluindo mas não limitado à dor aguda ou crônica, inflamação, prurido, hiponatremia, edema, íleo, tosse e glaucoma. Por exemplo, a dor associada ao receptor kappa opióide pode ser dor neuropática, dor somática, dor visceral ou dor cutânea. Algumas doenças, distúrbios ou estados patológicos estão associados a mais de uma forma de dor, por exemplo, a dor pós-operatória pode ter qualquer um ou todos os componentes da dor neuropática, somática, visceral e cutânea, dependendo do tipo e da extensão do procedimento cirúrgico utilizado.

A inflamação associada ao receptor kappa opióide pode ser qualquer doença ou estado inflamatório incluindo, mas não limitado a sinusite, artrite reumatóide, tenossinovite, bursite, tendonite, epicondilite lateral, capsulite adesiva, osteomielite, inflamação osteoartrítica, doença inflamatória do intestino (IBD), síndrome do intestino irritável (IBS), inflamação ocular, inflamação otítica ou inflamação autoimune.

O prurido associado ao receptor kappa opióide pode ser qualquer doença ou estado prurítico tal como, por exemplo, prurido ocular, por exemplo associado à conjuntivite, prurido otítico, prurido associado à doença renal em estádio final onde muitos pacientes estão recebendo diálise de rim e outras formas de colestase, incluindo cirrose biliar primária, colestase intra-hepática da gravidez, doença hepática colestática crônica, uremia, colestase maligna, icterícia, bem como estados dermatológicos tais como eczema (dermatite), incluindo dermatite atópica ou de contato, psoríase, policitemia vera, líquen plano, líquen simples crônico, pediculose (piolho), tirotoxicose, pé de atleta, urticária, sarna, vaginite, e prurido associado às hemorróidas e, bem como o prurido de picada de inseto e prurido induzido por droga, tal como prurido induzido por mu opióide.

O edema associado ao receptor kappa opióide pode ser qualquer doença ou estado edematoso tal como, por exemplo, edema devido a doença cardíaca congestiva, ou a uma síndrome de secreção inapropriada de hormônio antidiurético (ADH).

O íleo associado ao receptor kappa opióide pode ser

qualquer doença ou estado do íleo incluindo mas não limitado a íleo pós-operatório ou disfunção do intestino induzida por opióide.

A dor neuropática associada ao receptor kappa opióide pode ser qualquer dor neuropática, tal como, por exemplo, neuralgia trigeminal, dor diabética, dor viral tal como dor associada ao herpes zóster, dor induzida por quimioterapia, dor de câncer metastático com compressão de nervo, dor neuropática associada a lesão traumática e procedimentos cirúrgicos, bem como variações de dor de cabeça que se acredita ter um componente neuropático, por exemplo, enxaqueca.

A dor associada ao receptor kappa opióide também inclui dor ocular, por exemplo, a seguir a ceratectomia foto-refrativa (PRK), laceração ocular, fratura do assoalho orbital, queimaduras químicas, abrasão ou irritação corneana ou associada à conjuntivite, úlceras corneanas, esclerite, episclerite, esclerocerátite, herpes zóster oftálmico, ceratite intersticial, irite aguda, ceratoconjuntivite sicca, celulite orbital, pseudotumor orbital, pênfigos, tracoma ou uveíte.

A dor associada ao receptor kappa opióide também inclui a dor de garganta, particularmente associada a estados inflamatórios, tais como rinite alérgica, bronquite aguda, o resfriado comum, úlceras de contato, lesões virais por herpes simples, mononucleose infecciosa, influenza, câncer da laringe, laringite aguda, gengivite ulcerativa necrosante aguda, abscesso peritonsilar, queimaduras faringeanas, faringite, laringofaringite por refluxo, sinusite aguda e tonsilite.

Além disso, a dor associada ao receptor kappa opióide pode ser dor artrítica, cálculos no rim, cálculos no trato urinário, cálculos na vesícula, e dor por cálculos no duto biliar, cólicas uterinas, dismenorréia, endometriose, mastite, dispepsia, dor pós-cirúrgica (tais como, por exemplo, de apendectomia, cirurgia colorretal aberta, reparo de hérnia, prostatectomia, ressecção colônica, gastrectomia, esplenectomia, colectomia, colostomia, laparoscopia pélvica, ligação tubal, histerectomia, vasectomia ou colecistectomia), dor após procedimento médico (tais como, por exemplo, após colonoscopia, cistoscopia, histeroscopia ou biópsia cervical ou endometrial), dor otítica, dor incidental do câncer e dor associada a um distúrbio GI tal como IBD ou IBS ou outros estados inflamatórios, particularmente das vísceras (por exemplo, doença do refluxo gastroesofageano, pancreatite, polinefrite aguda, colite ulcerativa, pielonefrite aguda, colecistite, cirrose, abscesso hepático, hepatite, úlcera duodenal ou gástrica, esofagite, gastrite, gastroenterite, colite, diverticulite, obstrução intestinal, cisto ovariano, doença inflamatória pélvica, úlcera perfurada, peritonite, prostatite, cistite intersticial) ou exposição a agentes tóxicos, tais como toxinas de insetos, ou drogas tais como salicilatos ou NSAIDs.

A presente invenção proporciona um método para tratar ou prevenir uma doença ou estado patológico associado ao receptor kappa opióide em um mamífero, tal como um ser humano, onde o método inclui administrar ao mamífero uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de uma amida peptídica sintética da invenção. Em outra modalidade o

estado patológico associado ao receptor kappa opióide é dor, inflamação (tal como inflamação artrítica reumatóide, inflamação osteoartrítica, inflamação IBD, inflamação IBS, inflamação ocular, inflamação otítica ou inflamação autoimune), prurido (tal como dermatite atópica, prurido associado à diálise do rim, prurido ocular, prurido otítico, prurido por picada de inseto, ou prurido induzido por opióide), edema, íleo, tosse ou glaucoma. Em um aspecto, a dor é uma dor neuropática (tal como neuralgia trigeminal, enxaqueca, dor diabética, dor viral, dor induzida por quimioterapia ou dor metastática do câncer), uma dor somática, uma dor visceral ou uma dor cutânea. Em outro aspecto a dor é dor artrítica, dor por cálculos no rim, cólicas uterinas, dismenorréia, endometriose, dispepsia, dor pós-cirúrgica, dor após procedimento médico, dor ocular, dor otítica, dor incidental do câncer ou dor associada a um distúrbio GI, tal como IBD ou IBS. Em outro aspecto a dor é dor associada à cirurgia, onde a cirurgia é laparoscopia pélvica, ligação tubal, histerectomia e colecistecomia. Alternativamente, a dor pode ser dor associada a um procedimento médico, tal como, por exemplo, colonoscopia, cistoscopia, histeroscopia ou biópsia endometrial. Em um aspecto específico, a dermatite atópica pode ser psoríase, eczema ou dermatite de contato. Em outro aspecto específico, o íleo é íleo pós-operatório ou disfunção do intestino induzida por opióide.

A dor associada ao receptor kappa opióide inclui hiperalgesia, que se acredita ser provocada por mudanças no ambiente do terminal sensorial periférico ocorrem secundárias à lesão tecidular local. A lesão tecidular (por

exemplo, abrasões, queimaduras) e a inflamação podem significar aumentos significativos na excitabilidade dos nociceptores polimodais (fibras C) e mecano-receptores de alto limiar (Handwerker *et al.* (1991) *Proceeding of the VIth World Congress on Pain*, Bond *et al.*, eds., Elsevier Science Publishers BV, pp. 59-70; Schaible *et al.* (1993) *Pain* 55:5-54). Acredita-se que esta aumentada excitabilidade e respostas exageradas de aferentes sensoriais estão subjacentes à hiperalgesia, onde a resposta de dor é o resultado de uma resposta exagerada a um estímulo. A importância do estado hiperalgésico no estado de dor pós-lesão foi demonstrada repetidamente e parece ser responsável por uma importante proporção do estado de dor pós-lesão/inflamatório. Ver, por exemplo, Woold *et al.* (1993) *Anesthesia and Analgesia* 77:362-79; Dubner *et al.* (1994) In, *Textbook of Pain*, Melzack *et al.*, eds., Churchill-Livingstone, Londres, pp. 225-242.

Em outra modalidade o estado associado ao receptor kappa opióide é dor, inflamação (tal como inflamação artrítica reumatóide, inflamação osteoartrítica, inflamação IBD, inflamação IBS, inflamação ocular, inflamação otítica ou inflamação autoimune), prurido (tal como dermatite atópica, prurido associado à diálise do rim, prurido ocular, prurido otítico, prurido por picada de inseto, ou prurido induzido por opióide), edema, íleo, tosse ou glaucoma. Em um aspecto, a dor é uma dor neuropática (tal como neuralgia trigeminal, enxaqueca, dor diabética, dor viral, dor induzida por quimioterapia ou dor metastática do câncer), uma dor somática, uma dor visceral ou uma dor cutânea. Em outro aspecto, a dor é dor artrítica, dor por

cálculos no rim, cólicas uterinas, dismenorréia, endometriose, dispepsia, dor pós-cirúrgica, dor após procedimento médico, dor ocular, dor otítica, dor incidental do câncer ou dor associada a um distúrbio GI, tal como IBD ou IBS. Em outro aspecto a dor é dor associada a cirurgia, onde a cirurgia é laparoscopia pélvica, ligação tubal, histerectomia e colecistecomia. Alternativamente, a dor pode ser dor associada a um procedimento médico, tal como, por exemplo, colonoscopia, cistoscopia, histeroscopia ou biópsia endometrial. Em um aspecto específico, a dermatite atópica pode ser psoríase, eczema ou dermatite de contato. Em outro aspecto específico, o íleo é íleo pós-operatório ou disfunção do intestino induzida por opióide.

Em outra modalidade o estado patológico associado ao receptor kappa opióide é um estado associado ao receptor kappa opióide que pode ser prevenido ou tratado por diuréticos poupadores de sódio e potássio, também conhecido como aquarese. Um exemplo destes estados associados ao receptor kappa opióide que podem ser prevenidos ou tratados pela administração de uma amida peptídica sintética da invenção inclui edema. O edema pode ser devido a qualquer uma de uma variedade de doenças ou estados patológicos, tais como doença cardíaca congestiva ou síndrome da secreção inapropriada de ADH.

Em outra modalidade o estado associado ao receptor kappa opióide é a hiponatremia ou outra doença edematosa. A hiponatremia ou edema associada ao receptor kappa opióide pode ser qualquer doença ou estado patológico hiponatrêmico ou edematoso tal como, por exemplo, hiponatremia e edema associados à insuficiência cardíaca congestiva ou a uma

síndrome de secreção inapropriada do hormônio diurético (ADH) ou hiponatremia que está associada à terapia diurética intensiva com tiazidas e/ou diuréticos de alça. As amidas peptídicas da invenção exibem um significativo efeito aquarético poupador de sódio e poupador de potássio, que é benéfico no tratamento dos estados patológicos formadores de edema associados a hiponatremia e/ou hipocalemia. Em concordância, as amidas peptídicas sintéticas da invenção também têm utilidade em métodos para tratar ou prevenir estados relacionados à hiponatremia, cujos exemplos são proporcionados adiante. Os estados relacionados à hiponatremia podem ser categorizados de acordo com o estado do volume como hipervolêmico, euvolêmico ou hipovolêmico.

A hiponatremia hipervolêmica é geralmente causada por um aumento no nível total de água corporal conforme pode ser observado em casos de insuficiência cardíaca congestiva, síndrome nefrótica e cirrose hepática.

A hiponatremia euvolêmica é muitas vezes encontrada na síndrome da secreção inapropriada do hormônio diurético (ADH) e também pode estar associada à pneumonia, câncer de pulmão de células pequena, polidipsia, casos de lesão de cabeça e causas orgânicas (por exemplo, o uso de certos fármacos, tais como haloperidol) ou causa psicogênica.

A hiponatremia hipovolêmica é devido à diminuição relativa no nível total de sódio no corpo e pode estar associada ao uso de diuréticos, casos de nefrite intersticial ou sudorese excessiva.

Estas formas de hiponatremia podem também ser classificadas de acordo com a concentração de sódio na

urina (isto é, se a concentração for superior ou inferior a trinta milimoles por litro). Ver: R M Reynolds *et al.* Disorders of sodium balance, *Brit. Med. J.* 2006;332:702-705.

A hiponatremia associada ao receptor kappa opióide pode ser qualquer doença ou estado onde a hiponatremia (estado de baixa concentração de sódio) está presente, por exemplo, em seres humanos, quando a concentração de sódio no plasma cai para menos de 135 mmol/L, uma anomalia que pode ocorrer isoladamente ou, mais frequentemente, como uma complicação de outros estados clínicos ou como uma conseqüência da utilização de medicamentos que podem provocar a depleção de sódio.

Além destes estados patológicos, inúmeros outros estado estão associados à hiponatremia incluindo, sem limitação: causas neoplásicas de secreção excessiva de ADH, incluindo carcinomas do pulmão, duodeno, pâncreas, ovário, bexiga e uretra, timoma, mesotelioma, adenoma brônquico, carcinóide, gangliocitoma e sarcoma de Ewing; infecções tais como: pneumonia (bacteriana ou viral), abscessos (pulmão ou cérebro), cavitação (aspergilose), tuberculose (pulmão ou cérebro), meningite (bacteriana ou viral), encefalite e AIDS; causas vasculares tais como: oclusões cerebrovasculares ou hemorragia e trombose do seio cavernoso; causas neurológicas tais como: síndrome de Guillan-Barre, esclerose múltipla, delirium tremens, esclerose amiotrófica lateral, hidrocefalia, psicose, neuropatia periférica, trauma da cabeça (fechada e penetrante), tumores ou infecções do SNC e insultos do SNC que afetam os osmo-receptores hipotalâmicos; más formações

congênitas incluindo: agênese do corpo caloso, lábio/palato leporino e outros defeitos da linha mediana; causas metabólicas, tais como: porfiria intermitente aguda, asma, respiração por pressão positiva pneumotoráxica; drogas tais como: diuréticos tiazida, acetaminofeno, barbituratos, agentes colinérgicos, estrogênio, agentes hipoglicêmicos, vasopressina ou desmopressina, oxitocina em alta dose, clorpropamida, vincristina, carbamezepina, nicotina, fenotiazinas, ciclofosfamida, antidepressivos tricíclicos, inibidores da monoamina oxidase e inibidores da recaptação da serotonina; administração de fluidos hipotônicos em excesso, por exemplo, durante a hospitalização, cirurgia ou durante ou após eventos atléticos (isto é, hiponatremia associada ao exercício), bem como uso de suplementos nutricionais com baixo teor de sódio em indivíduos idosos. Ver, por exemplo, Harrison's Principles of Internal Medicine, 16th Ed. (2005), p. 2102.

Outros estados associados à hiponatremia incluem insuficiência renal, síndrome nefrótica (nefropatia membranosa e doença de mudança mínima), caquexia, desnutrição, rabdomiólise, procedimentos cirúrgicos, cateterismo cardíaco eletivo, perda de sangue, bem como hipercalcemia, hipocalemia e hiperglicemia com conseqüente glicosúria levando à diurese osmótica.

A invenção também proporciona um método para tratar ou prevenir uma doença ou estado neurodegenerativo em um mamífero, tal como um ser humano, onde o método inclui administrar ao mamífero uma composição que inclui uma quantidade eficaz de uma amida peptídica sintética conforme descrito acima. A doença ou estado neurodegenerativo pode

ser qualquer doença ou estado neurodegenerativo, tal como, por exemplo, isquemia, anoxia, derrame, lesão cerebral, injúria da medula espinhal ou injúria de reperfusão. Alternativamente, a doença ou estado neurodegenerativo pode ser uma doença neurodegenerativa do olho. Doenças neurodegenerativas do olho em particular que podem ser tratadas ou evitadas pelo método da invenção incluem, degeneração macular, doença isquêmica retiniana e neuropatia diabética.

Em certas modalidades a invenção proporciona métodos para a prevenção ou tratamento de doenças e estados neuronais, tais como doenças e estados que têm um componente neurodegenerativo. As amidas peptídicas sintéticas da invenção podem ser administradas em uma quantidade eficaz para proteger as células neuronais contra os efeitos de patologia ou injúria que conduziria à neurodegeneração e/ou morte celular neuronal das células não tratadas. Por exemplo, várias doenças ou estados do olho que têm um componente neurodegenerativo podem ser evitados ou tratados pela administração de uma quantidade eficaz das amidas peptídicas sintéticas da invenção. Estas doenças e estados do olho incluem glaucoma, degeneração macular, doença isquêmica retiniana e neuropatia diabética. Acredita-se que o progresso destas doenças e estados envolve neurodegeneração ou morte celular neuronal, por exemplo por morte celular programada (apoptose) em que as células neuronais são enviadas para uma via que, sem intervenção, levaria à morte celular. Constatou-se que o desenvolvimento ou progresso destas doenças e estados pode ser evitado ou pelo menos retardado por meio do tratamento

com agonistas do receptor kappa opióide. Acredita-se que este resultado melhorado é devido à neuroproteção pelos agonistas do receptor kappa opióide. Ver, por exemplo, Kaushik *et al.* "Neuroprotection in Glaucoma" (2003) *J. Postgraduate Medicine* vol. 49 (1): pp. 90-95.

No caso de glaucoma, acredita-se que a profilaxia e o tratamento por meio da administração de agonistas do receptor kappa opióide é mediado por pelo menos duas atividades distintas induzidas pela ativação do receptor kappa opióide: neuroproteção e redução da pressão intra-ocular (IOP). Embora não desejando estar ligado por qualquer teoria, acredita-se que a neuroproteção é devida, pelo menos em parte, à indução do peptídeo natriurético atrial (ANP) no olho , levando à proteção contra dano oxidativo e outros insultos.

Acredita-se também que a pressão intra-ocular anormalmente alta seja um fator que leva ao desenvolvimento de glaucoma. A pressão intra-ocular elevada também pode ser evitada ou tratada por meio da administração de agonistas do receptor kappa opióide por três atividades separadas desencadeadas pela ativação do receptor: redução na secreção do humor aquoso, afluxo aumentado de humor aquoso e aquarese (diurese poupadora de sódio e de potássio, resultando em perda de água).

A invenção também proporciona um método para tratar ou prevenir uma doença ou estado associado ao receptor kappa do olho de um mamífero, tal como a pressão intra-ocular elevada (IOP). O método inclui administrar ao mamífero uma composição que inclui uma quantidade eficaz de uma amida peptídica sintética conforme descrito acima. Em um aspecto

da invenção, a amida peptídica sintética é administrada topicamente. Em um outro aspecto da invenção, a amida peptídica sintética é administrada como um implante.

Em outras modalidades a invenção proporciona métodos de prevenção ou tratamento de certas doenças e estados cardiovasculares tendo um componente degenerativo celular. As amidas peptídicas sintéticas da invenção podem ser administradas em uma quantidade eficaz para proteger as células do miocárdio contra os efeitos de patologia ou lesão que levariam à degeneração e/ou morte celular das células não tratadas. Por exemplo, várias doenças ou estados cardiovasculares podem ser evitados ou tratados por meio da administração de uma quantidade eficaz das amidas peptídicas sintéticas da invenção. Estas doenças e estados cardiovasculares incluem, sem limitação, doença cardíaca coronariana, isquemia, enfarte cardíaco, lesão de reperfusão e arritmia. Ver, por exemplo, Wu *et al.* "Cardioprotection of Preconditioning by Metabolic Inhibition in the Rat Ventricular Myocyte – Involvement of kappa Opioid Receptor" (1999) *Circulation Res* vol. 84: pp. 1388-1395. Ver também Yu *et al.* "Anti-Arrythmic Effect of kappa Opioid Receptor Stimulation in the Perfused Rat Heart: Involvement of a cAMP-Dependent Pathway" (1999) *J Mol Cell Cardiol.* vol. 31(10): pp. 1809-1819.

Doenças e estados patológicos de outros tecidos e órgãos que podem ser evitados ou tratados por meio da administração de uma quantidade eficaz das amidas peptídicas sintéticas da invenção incluem, mas não se limitam a isquemia, anoxia, derrame, lesão cerebral ou da medula espinhal e injúria de reperfusão.

Outra forma de dor associada ao receptor kappa opióide que pode ser tratada ou evitada com as amidas peptídicas sintéticas da invenção é a hiperalgesia. Em uma modalidade, o método inclui administrar uma quantidade eficaz de uma amida peptídica sintética da invenção a um mamífero sofrendo ou em risco de desenvolver hiperalgesia para prevenir, minorar ou completamente aliviar a hiperalgesia.

As amidas peptídicas sintéticas da invenção podem ser administradas pelos métodos aqui revelados para o tratamento ou prevenção de qualquer estado hiperalgésico, tal como, mas sem limitação, um estado hiperalgésico associado à dermatite alérgica, dermatite de contato, úlceras da pele, inflamação, erupções cutâneas, irritação fúngica e estados hiperalgésicos associados a agentes infecciosos, queimaduras, abrasões, escoriações, contusões, ulceração causada pelo frio, acne, picadas/ferroadas de insetos, úlceras da pele, mucosite, gengivite, bronquite, laringite, dor de garganta, herpes-zóster, irritação fúngica, bolhas causadas pela febre, furúnculo, verrugas plantares, procedimentos cirúrgicos ou lesões vaginais. Por exemplo, as amidas peptídicas sintéticas da invenção podem ser administradas topicamente às superfícies de uma mucosa, tal como a boca, esôfago ou laringe ou às passagens brônquicas ou nasais. Alternativamente, as amidas peptídicas sintéticas da invenção podem ser administradas topicamente à vagina ou reto/ânus.

Além disso, as amidas peptídicas sintéticas da invenção podem ser administradas por métodos aqui revelados para o tratamento ou prevenção de qualquer estado hiperalgésico associado a queimaduras, abrasões,

escoriações, abrasões (tais como abrasões corneanas), contusões, ulceração causada pelo frio, acne, picadas/ferroadas de insetos, úlceras da pele (por exemplo, úlceras diabéticas ou úlceras de decúbito), mucosite, inflamação, gengivite, bronquite, laringite, dor de garganta, herpes-zóster, irritação fúngica (tais como pé de atleta ou tinha da região genitocrural), bolhas causadas pela febre, furúnculo, verrugas plantares ou lesões vaginais (tais como lesões vaginais associadas à micose ou doenças sexualmente transmitidas). Os métodos contemplados para administração das amidas peptídicas sintéticas da invenção para o tratamento ou prevenção de hiperalgesia incluem aqueles onde o composto é aplicado topicamente a uma superfície dos olhos, boca, laringe, esôfago, brônquios, passagens nasais, vagina ou reto/ânus.

Estados hiperalgésicos associados à recuperação pós-cirúrgica podem ser tratados por meio da administração das amida peptídicas sintéticas da invenção. Os estados hiperalgésicos associados à recuperação pós-cirúrgica podem ser qualquer estado hiperalgésico associado à recuperação pós-cirúrgica, tal como, por exemplo, ceratectomia radial, extração de dente, lumpectomia, episiotomia, laparoscopia e artroscopia.

Os estados hiperalgésicos associados à inflamação também podem ser tratados por meio da administração das amidas peptídicas sintéticas da invenção. Inflamação periodontal, inflamação ortodôntica, conjuntivite inflamatória, hemorróidas e inflamações venéreas podem ser tratadas ou evitadas pela administração tópica ou local das amidas peptídicas sintéticas da invenção.

A invenção também proporciona um método para induzir a diurese em um mamífero em necessidade. O método inclui administrar ao mamífero uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de uma amida peptídica sintética da invenção conforme descrito acima.

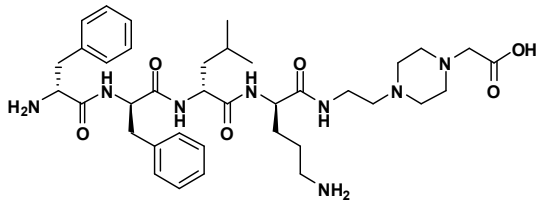
A invenção também proporciona um método para induzir a secreção de prolactina em um mamífero. O método inclui administrar ao mamífero uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de uma amida peptídica sintética da invenção conforme descrito acima. O método para induzir a secreção de prolactina é adequado para tratar um mamífero, tal como um ser humano sofrendo de lactação insuficiente, lactação inadequada, lactação sub-ótima, motilidade reduzida de esperma, um distúrbio relacionado à idade, diabetes tipo I, insônia ou sono REM inadequado. Em um aspecto em particular, o método inclui co-administrar a amida peptídica sintética com uma dose reduzida de um composto analgésico agonista mu opióide para produzir um efeito analgésico terapêutico, o composto tendo um efeito colateral associado, onde a dose reduzida do composto tem um efeito colateral associado menor do que o efeito colateral associado com a dose do composto analgésico agonista mu opióide necessário para obter o efeito analgésico terapêutico quando administrado só.

A presente invenção também proporciona um método de ligação de um receptor kappa opióide emum mamífero, o método inclui o passo de administrar ao mamífero uma composição contendo uma quantidade eficaz de uma amida peptídica sintética da presente invenção. A quantidade eficaz pode ser determinada de acordo com métodos de rotina

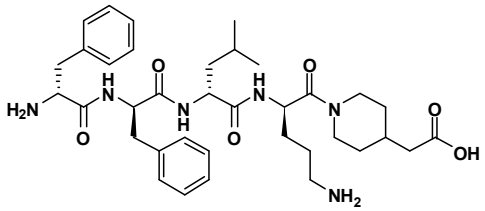
por um especialista na técnica. Por exemplo, a quantidade eficaz pode ser determinada como uma dosagem unitária suficiente para ligar os receptores kappa opióides em um mamífero e provocar um efeito antinociceptivo, um efeito anti-inflamatório, um efeito aquarético ou uma elevação dos níveis de prolactina no soro ou qualquer outro efeito sensível ao receptor kappa opióide. Alternativamente, a quantidade eficaz pode ser determinada como uma quantidade suficiente para se aproximar do valor de EC_{50} em um fluido corporal do mamífero, ou uma quantidade suficiente para se aproximar duas ou três, ou até cerca de cinco ou mesmo cerca de dez vezes o valor de EC_{50} em um fluido corporal terapeuticamente relevante do mamífero.

SÍNTESE DE AMIDAS PEPTÍDICAS E DÍMEROS DE AMIDAS PEPTÍDICAS DA INVENÇÃO

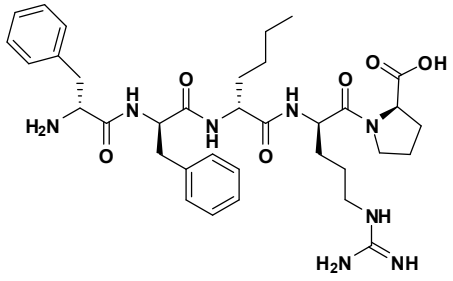
Composto (1): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(2-aminoetil)-1-carboximetil-piperazina]-OH (SEQ ID NO: 1):



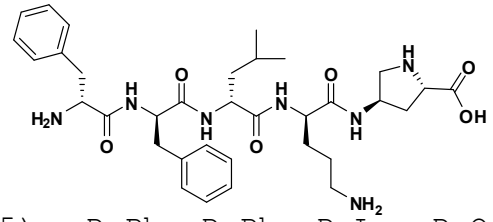
Composto (2) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-carboximetil-piperidina]-OH (SEQ ID NO: 1):



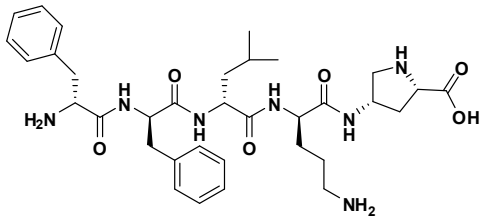
Composto (3) D-Phe-D-Phe-D-Nle-D-Arg-D-Pro-OH (SEQ ID NO: 2):



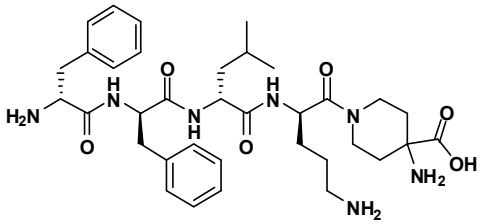
Composto (4) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[ácido (2S,4R)-4-amino-pirrolidina-2-carboxílico]-OH (SEQ ID NO: 1):



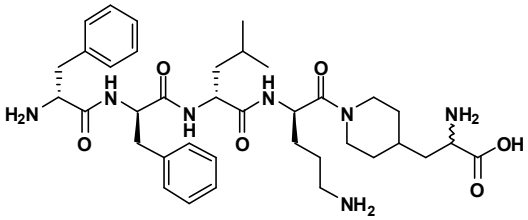
Composto (5) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[ácido (2*S*,4*S*)-4-amino-pirrolidina-2-carboxílico]-OH (SEQ ID NO: 1):



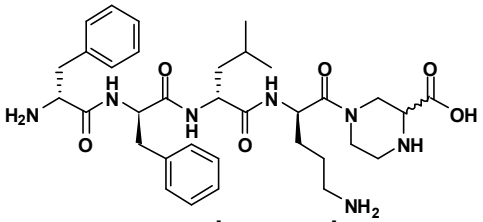
Composto (6) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[omega(ácido 4-aminopiperidina-4-carboxílico)]-OH (SEQ ID NO: 1):



Composto (7) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[omega(ácido D/L-2-amino-3-(4-N-piperidinil)propiônico)]-OH (SEQ ID NO: 1)

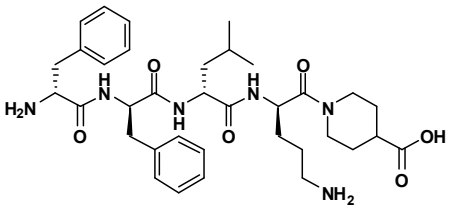


Composto (8) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[omega(ácido D/L-4-piperazina-2-carboxílico)]-OH (SEQ ID NO: 1):

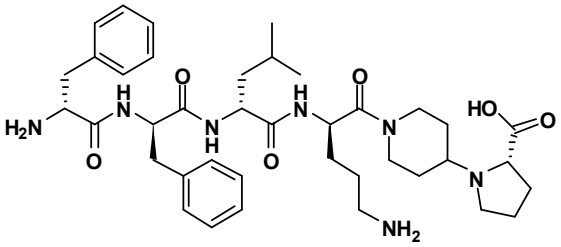


Composto (9) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[ácido

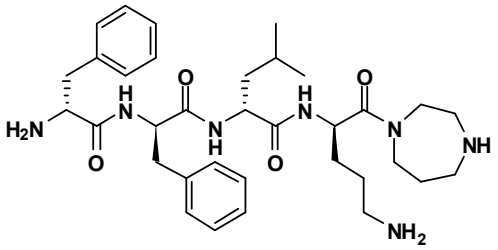
Isonipecotico]-OH (SEQ ID NO: 1):



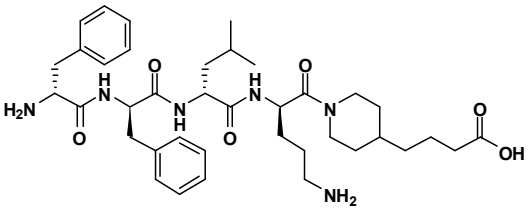
Composto (10) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[N-(4-piperidinil)-L-prolina]-OH (SEQ ID NO: 1):



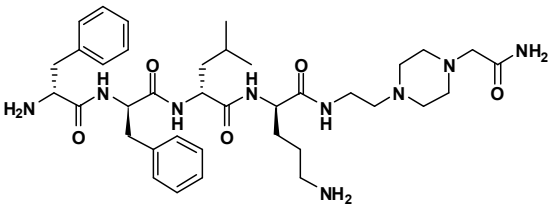
Composto (11) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[homopiperazina amida] (SEQ ID NO: 1):



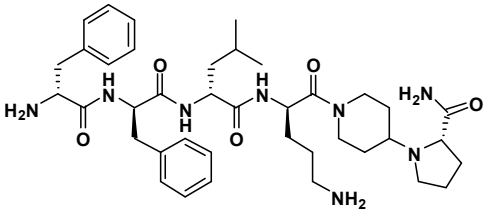
Composto (12) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[ácido 4-(4-piperidinil)-butanôico]-OH (SEQ ID NO: 1):



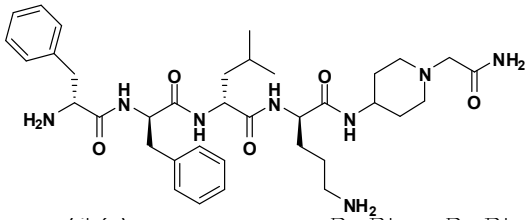
Composto (13) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(2-aminoetil)-1-carboximetil-piperazina]-NH_2 (SEQ ID NO: 1):



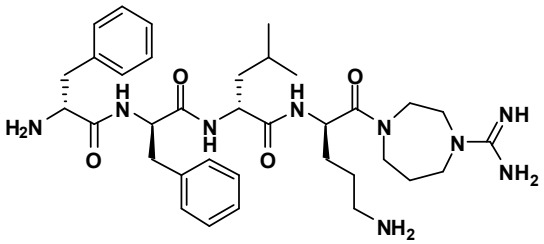
Composto (14) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[N-(4-piperidinil)-L-prolina]-NH_2 (SEQ ID NO: 1):



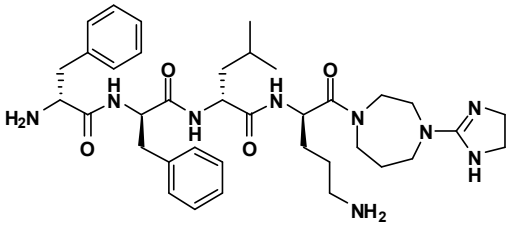
Composto (15) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-amino-1-carboximetil-piperidina]-NH_2 (SEQ ID NO: 1):



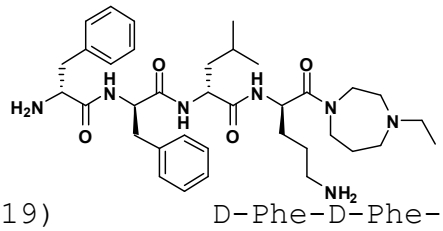
Composto (16) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-amidinohomopiperazina amida] (SEQ ID NO: 1):



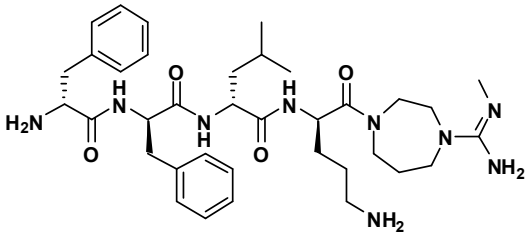
Composto (17) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)homopiperazina amida] (SEQ ID NO: 1):



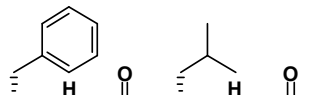
Composto (18) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-etilomopiperazina amida] (SEQ ID NO: 1):



Composto (19) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(N-metil)amidino-homopiperazina amida] (SEQ ID NO: 1):

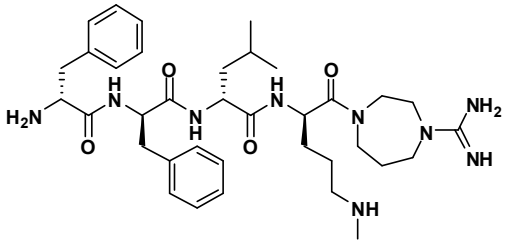


Composto (20) D-Phe-D-Phe-D-Leu-(δ-iPr)D-Orn-

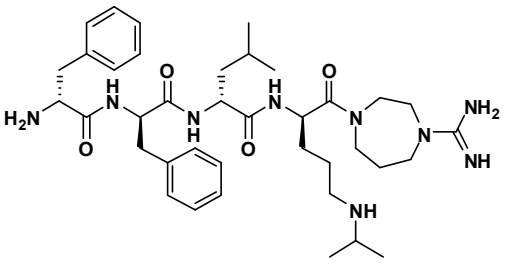


[omega(ácido 4-aminopiperidina-4-carboxílico)]-OH (SEQ ID NO: 3):

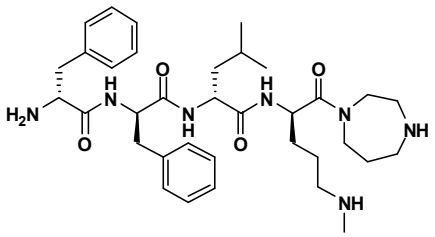
Composto (21) D-Phe-D-Phe-D-Leu-(δ-Me)D-Orn-[4-amidinohomopiperazina amida] (SEQ ID NO: 4):



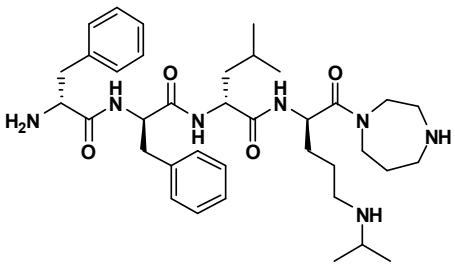
Composto (22) D-Phe-D-Phe-D-Leu-(δ-iPr)D-Orn-[4-amidinohomopiperazina amida] (SEQ ID NO: 3):



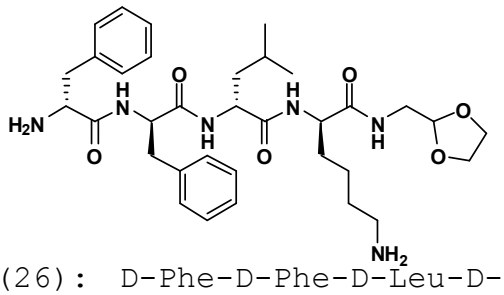
Composto (23) D-Phe-D-Phe-D-Leu-(δ-Me)D-Orn-[homopiperazina amida] (SEQ ID NO: 4):



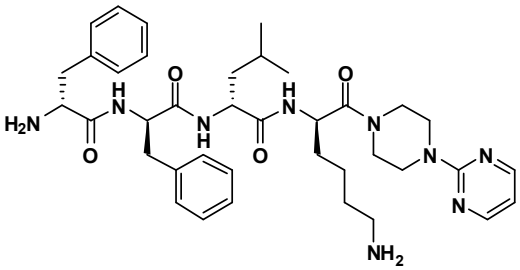
Composto (24) D-Phe-D-Phe-D-Leu-(δ-iPr)D-Orn-[homopiperazina amida] (SEQ ID NO: 3):



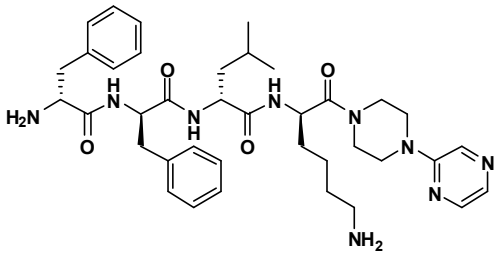
Composto (25): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1,3-dioxolan-2-il)metanamina amida] (SEQ ID NO: 5):



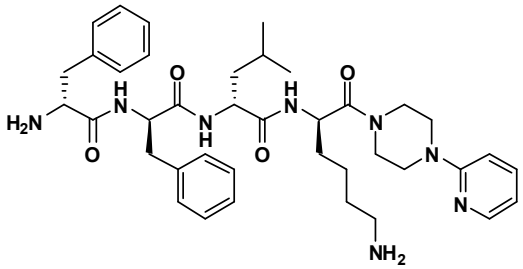
Composto (26): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[2-(piperazin-1-il)pirimidina amida] (SEQ ID NO: 5):



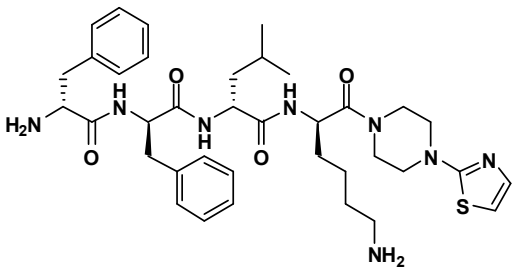
Composto (27): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[2-(piperazin-1-il)pirazina amida] (SEQ ID NO: 5):



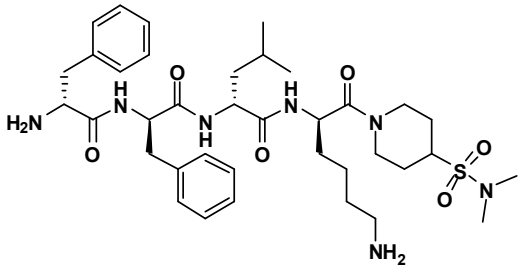
Composto (28): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1-(piridin-2-il)piperazina amida] (SEQ ID NO: 5):



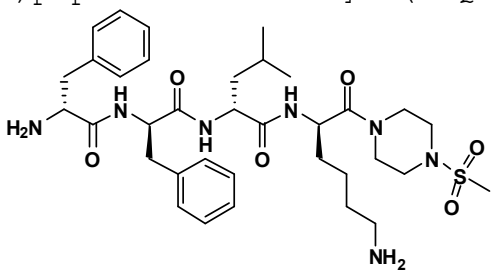
Composto (29): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[2-(piperazin-1-il)tiazole amida] (SEQ ID NO: 5):



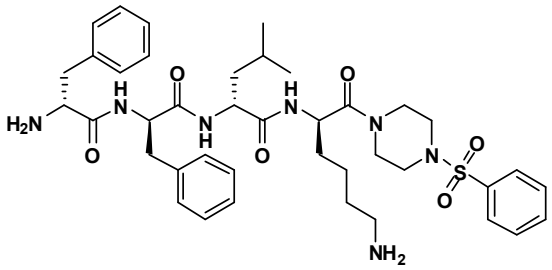
Composto (30): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[*N*,*N*-dimetilpiperazina-1-sulfonamida amida] (SEQ ID NO: 5):



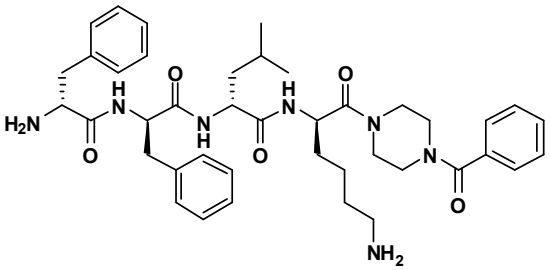
Composto (31): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1-(metilsulfonil)piperazina amida] (SEQ ID NO: 5):



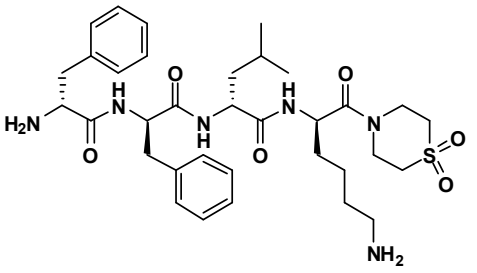
Composto (32): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1-(fenilsulfonil)piperazina amida] (SEQ ID NO: 5):



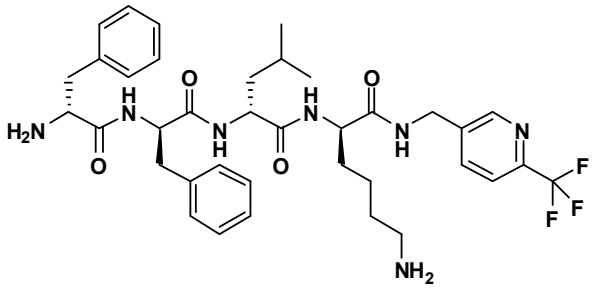
Composto (33): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[fenil(piperazin-1-il)metanona amida] (SEQ ID NO: 5):



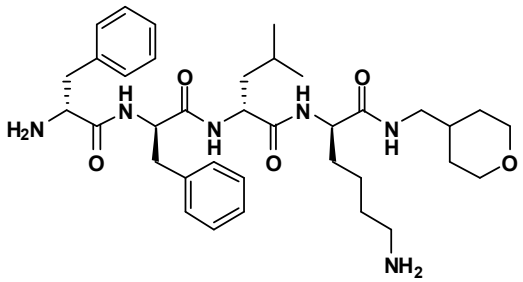
Composto (34): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[tiolmorfolina-1,1-dioxida amida] (SEQ ID NO: 5):



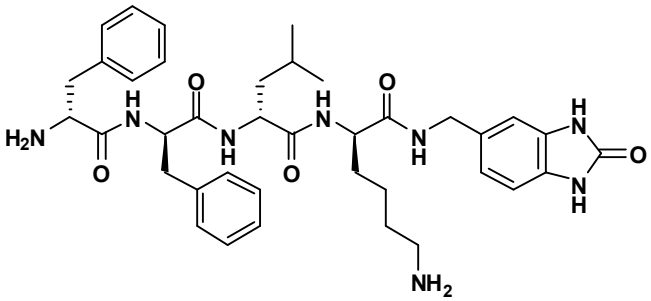
Composto (35): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[6-trifluorometil-3-aminometil piridina amida] (SEQ ID NO: 5):



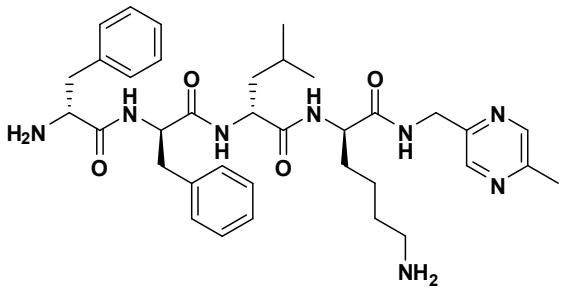
Composto (36): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-N-metil-1-(tetrahidro-2*H*-piran-4-il)metanamina amida (SEQ ID NO: 5):



Composto (37): H-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[5-(aminometil)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2(*3H*)-ona amida] (SEQ ID NO: 5):

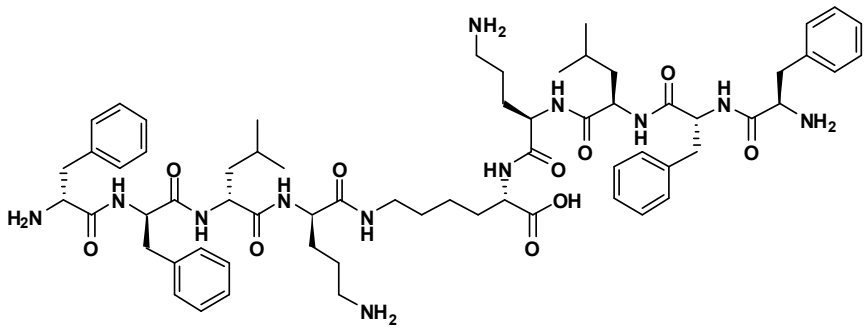


Composto (38): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-N-metil-1-(5-metilpirazin-2-il)-metanamina amida) (SEQ ID NO: 5):



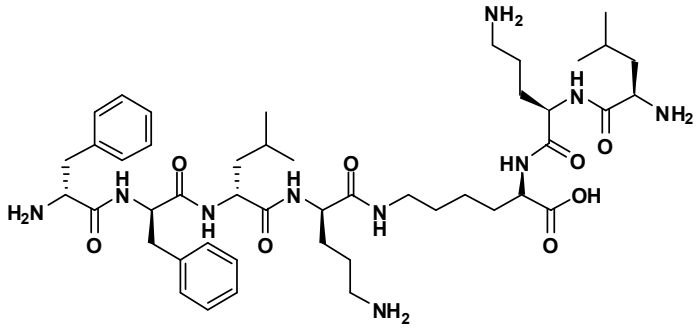
Composto (39): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-OH

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn



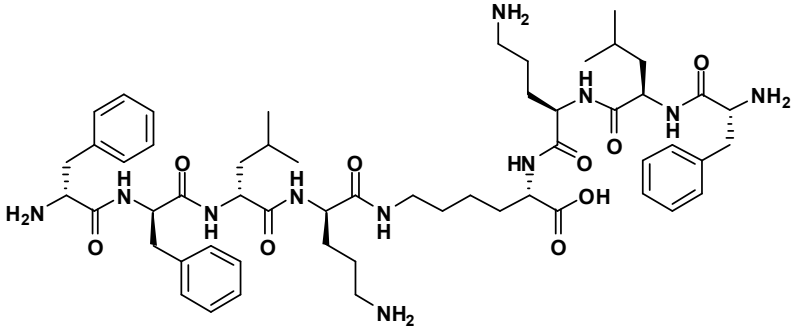
Composto (40): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-OH

D-Leu-D-Orn



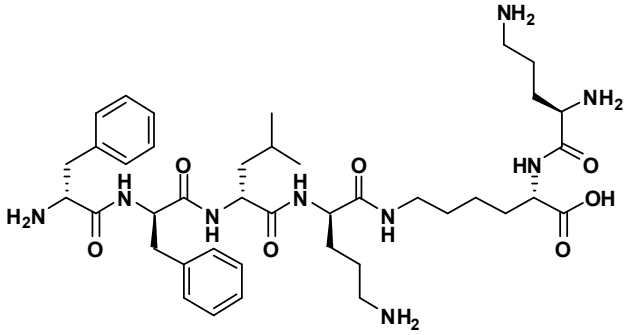
Composto (41): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-OH

D-Phe-D-Leu-D-Orn



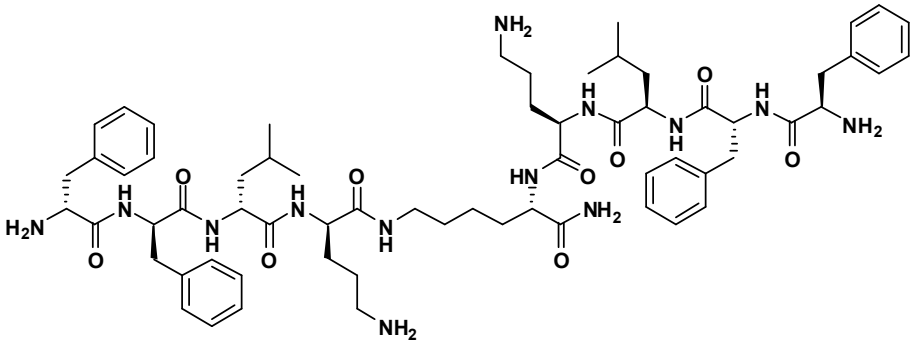
Composto (42): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-OH

D-Orn



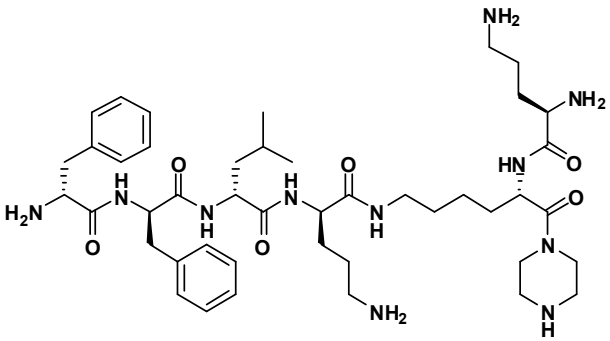
Composto (43): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-NH_2

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn



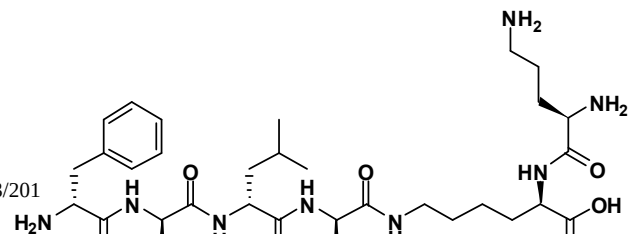
Composto(44):D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-N(-CH_2CH_2-NH-CH_2CH_2-)

D-Orn



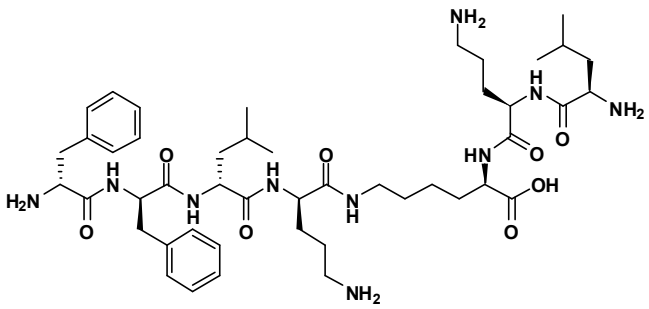
Composto (45): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-OH

D-Orn



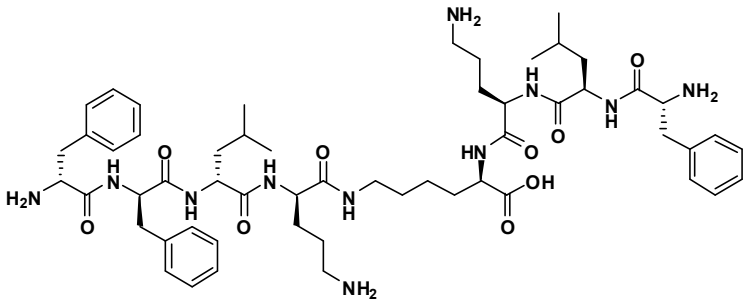
Composto (46): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-OH

D-Leu-D-Orn



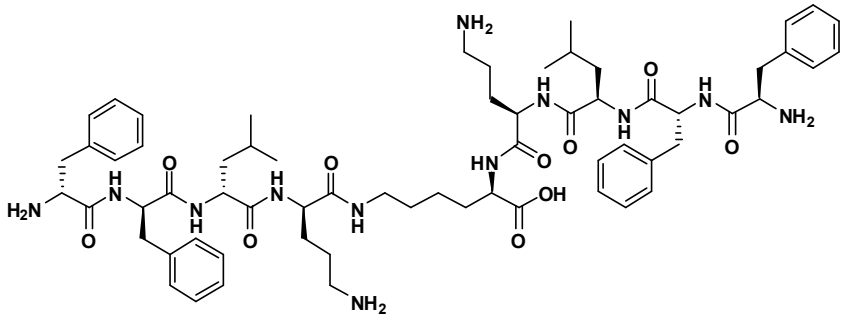
Composto (47): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-OH

D-Phe-D-Leu-D-Orn



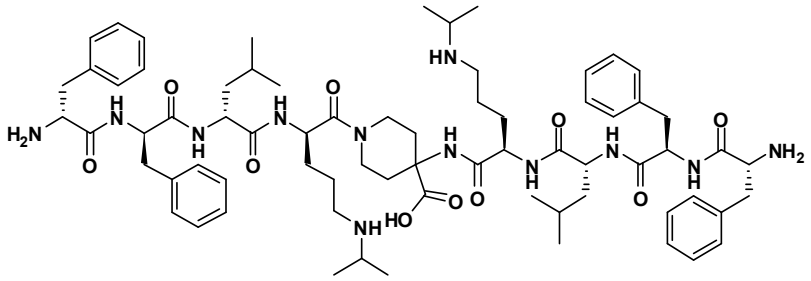
Composto (48): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-OH

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn

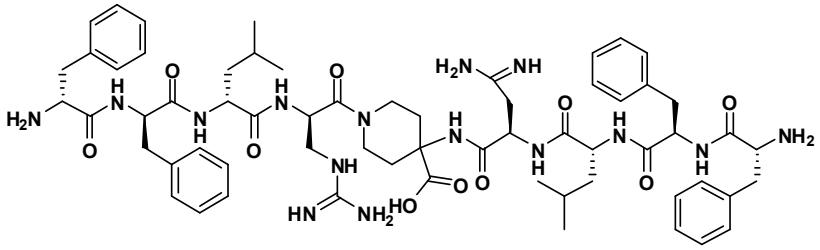


Composto (49): 1N,4N-bis-[D-Phe-D-Phe-D-Leu-(iPr)D-

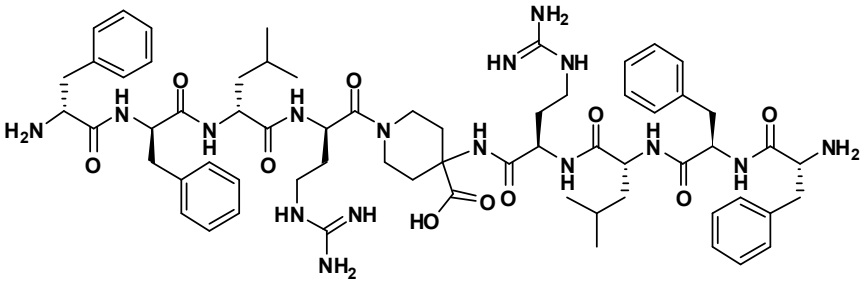
Orn]-4-amino-4-carboxílico-piperidina



Composto (50): 1N,4N-bis-[D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Dap(amidino)]-4-amino-4-carboxílico piperidina

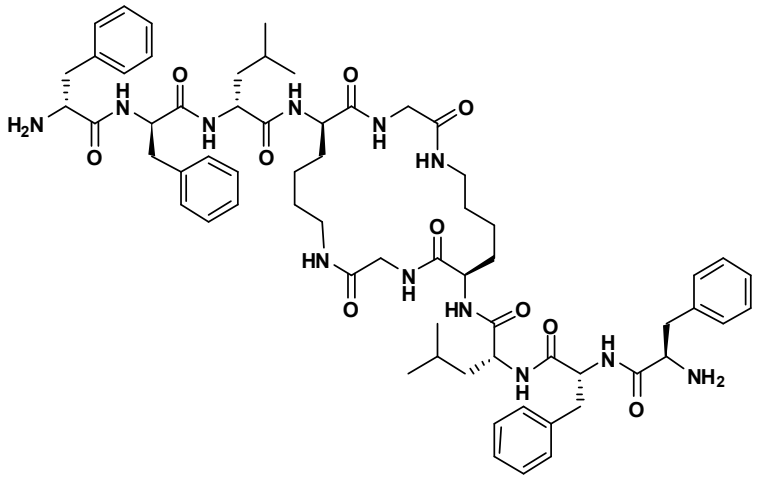


Composto (51): 1N,4N-bis-(D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Nar)-4-amino-4-carboxilic piperidina

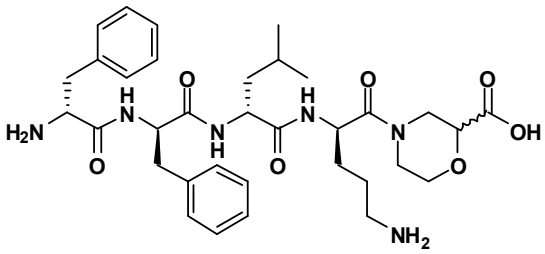


Composto (52): D-Phe-D-Phe-D-Leu-(D-Lys-GlyLactam)$_2$

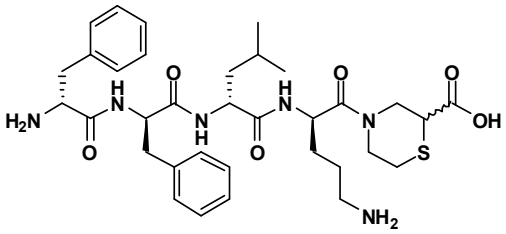
D-Phe-D-Phe-D-Leu



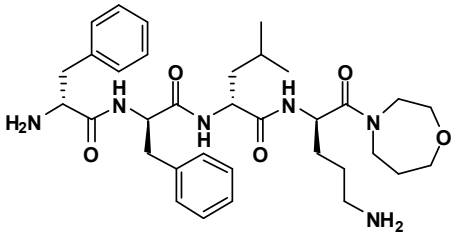
Composto (53) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[R/S-2-carboximorfolina]-OH (SEQ ID NO: 1):



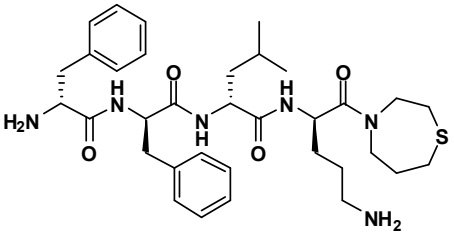
Composto (54) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[R/S-2-carboxitiomorfolina]-OH (SEQ ID NO: 1):



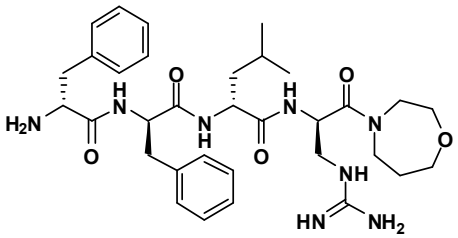
Composto (55) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-N(homomorfolina) (SEQ ID NO: 1):



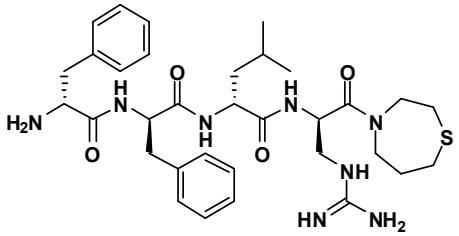
Composto (56) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-N(homotiomorfolina) (SEQ ID NO: 1):



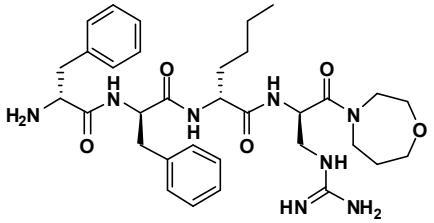
Composto (57) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Dap(amidino)-[homomorfolina amida] (SEQ ID NO: 6):



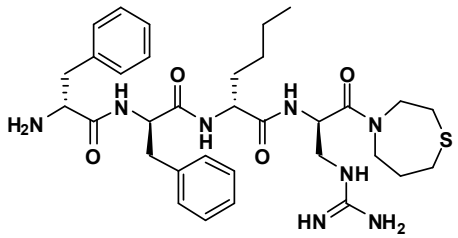
Composto (58) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Dap(amidino)-[homotiomorfolina amida] (SEQ ID NO: 6):



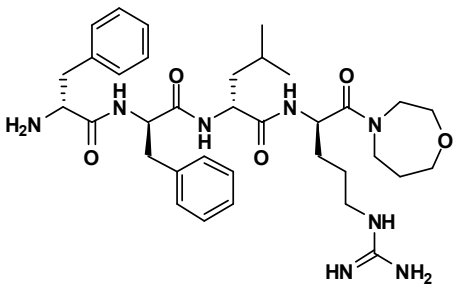
Composto (59) D-Phe-D-Phe-D-Nle-D-Dap(amidino)-[homomorfolina amida] (SEQ ID NO: 6):



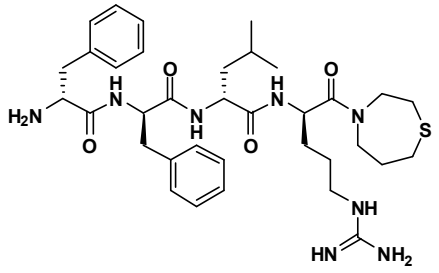
Composto (60) D-Phe-D-Phe-D-Nle-D-Dap(amidino)-[homotiomorfolina amida] (SEQ ID NO: 6):



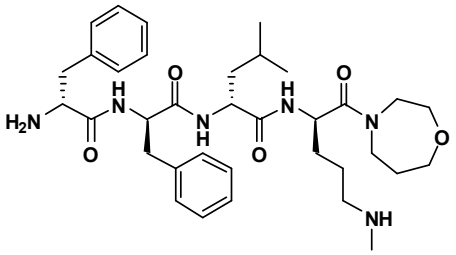
Composto (61) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Arg-[homomorfolina amida] (SEQ ID NO: 7):



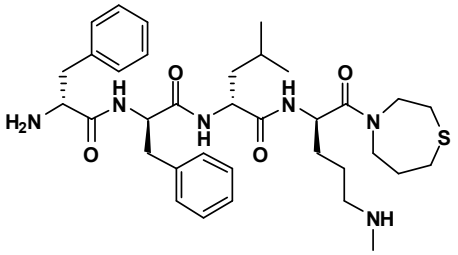
Composto (62) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Arg-[homotiopiperazina amida] (SEQ ID NO: 7):



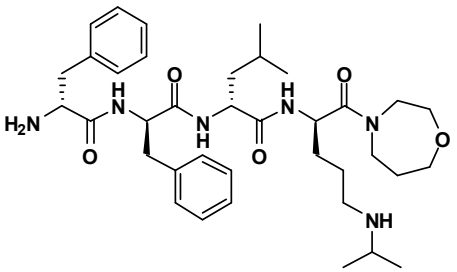
Composto (63) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Me)-[homomorfolina amida] (SEQ ID NO: 4):



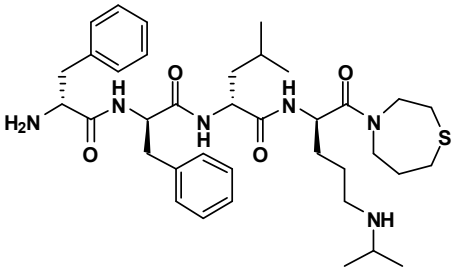
Composto (64) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Me)-[homotiomorfolina amida] (SEQ ID NO: 4):



Composto (65) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(iPr)-[homomorfolina amida] (SEQ ID NO: 3):



Composto (66) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(iPr)-[homotiomorfolina amida] (SEQ ID NO: 3):



EXEMPLOS

MÉTODOS SINTÉTICOS EXPERIMENTAIS GENÉRICOS:

Os derivados de aminoácidos e resinas foram adquiridos

de fornecedores comerciais (Novabiochem, Bachem, Peptide International e PepTech Corporation). Outros químicos e solventes foram adquiridos da Sigma-Aldrich, Fisher Scientific e VWR. Os compostos aqui foram sintetizados por métodos convencionais em química de peptídeo em fase sólida utilizando metodologia Fmoc e Boc. Salvo especificado em contrário, todas as reações foram realizadas à temperatura ambiente.

As seguintes referências padrão proporcionam orientação em configuração experimental genérica e a disponibilidade do material de partida e reagentes necessários: Kates, S. A., Albericio, F., Eds., *Solid Phase Synthesis, A Practical Guide*, Marcel Dekker, New York, Basel, (2000); Bodanszky, M., Bodanszky, A., Eds., *The Practice of Peptide Synthesis, Second Edition*, Springer-Verlag, (1994); Atherton, E., Sheppard, R. C., Eds., *Solid Phase Peptide Synthesis, A Practical Approach,* IRL Press at Oxford University Press, (1989); 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, R. B., *J. Am. Chem. Soc. 85*, 2149-2154 (1963).

Abreviações adicionais aqui utilizadas:

ACN: acetonitrila

Aloc: aliloxicarbonila

Boc: terc-butoxicarbonila

BOP: hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris(dimetilamino)-fosfônio

Cbz: benziloxicarbonila

Cbz-OSu: Nα-(Benziloxicarboniloxi) succinimida

DBU:1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno

DCM: Diclorometano

Dde: 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclo-hex-1-ilideno)etila

DIC: N,N'-diisopropilcarbodiimida

DIEA: N,N-diisopropiletilamina

DMF: N,N-dimetilformamida

Fmoc: 9-fluorenilmetoxicarbonila

HATU: hexafluorofosfato de 2-(1H-9-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilamínio

HBTU: hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilamínio

HOBt: 1-hidroxibenzotriazole

HPLC: cromatografia líquida de alto desempenho

i: iso

ivDde: 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclo-hex-1-ilideno)-3-metilbutila

NMM: 4-metil morfolino

NMP: N-metilpirrolidinona

All: alila

o-NBS-Cl: cloreto de *o*-nitrobenzenossulfonila

Pbf: 2,2,4,6,7-pentametildi-hidro-benzofuran-5-sulfonila

PyBOP: hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris-pirrolidino-fosfônio

RP: fase reversa

TBTU: tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio

TEAP: fosfato de trietilamônio

TFA: ácido trifluoroacético

TIS: triisopropilsilano

TMOF: ortoformato de trimetila

TMSOTf: trifluorometanossulfonato de trimetilsilila

Trt: tritila

Os peptídeos sintetizados por metodologia Fmoc foram clivados com uma mistura de TFA/TIS/H_2O (v/v/v = 95:2.5:2.5). O passo de clivagem na metodologia Boc foi alcançado com uma mistura de HF/anisole (v/v = 9:1) ou com uma mistura de TMSOTf/TFA/m-cresol (v/v/v = 2:7:1).

As reações de acoplamento no alongamento da cadeia peptídica foram realizadas manualmente em um sintetizador de peptídeo e mediadas por reagentes de acoplamento com um excesso de 2 a 4 vezes de derivados de aminoácidos. Os reagentes de acoplamento utilizados na síntese dos vários compostos da invenção foram selecionados das seguintes combinações: DIC/HOBt, HATU/DIEA, HBTU/DIEA, TBTU/DIEA, PyBOP/DIEA e BOP/DIEA.

A desproteção da cadeia lateral do aminoácido na posição N° 4 (designada Xaa_4 no produto final da amida peptídica sintética) de peptídeos ligados a resina foi conseguida como a seguir: os peptídeos foram montados a partir Xaa_4 e progressivamente adicionando Xaa_3, depois Xaa_2 e finalmente Xaa_1. Os grupos protetores de cadeia lateral do diaminoácido introduzidos em Xaa_4 foram seletivamente removidos como a seguir: (i) Os grupos N-Dde ou N-ivDde foram removidos por 2-4% de hidrazina em DMF. Ver Chabra, S. R., *et al.*, *Tetrahedron Lett. 39*:1603-1606 (1998) e Rohwedder, B., *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, *39*: 1175 (1998); (ii) N-Aloc: removido por 3 eq. de $(Ph_3P)_4Pd$ em $CHCl_3$/AcOH/NMM (v/v/v = 37:2:1). Ver Kates, S. A., *et al.* em "*Peptides Chemistry, Structure and Biology, Proc. 13th American Peptide Symposium*", Hodges, R. S. e Smith, J. A.

(Eds), ESCOM, Leiden, 113-115 (1994).

Quando os peptídeos foram montados com metodologia de proteção Boc, o grupo protetor de cadeia lateral dos diaminoácidos introduzidos em Xaa_4 era N-Fmoc, que foi removido por 20-30% de piperidina em DMF.

A isopropilação do terminal nitrogênio na cadeia lateral do aminoácido em Xaa_4 dos peptídeos ligados a resina foi conseguida como a seguir: Depois da desproteção, o peptídeo ligado a resina com a função ω-amino livre em Xaa_4 foi feito reagir com uma mistura de acetona e $NaBH(OAc)_3$ em TMOF produzindo o peptídeo Nω-isopropila ligado a resina.

Monometilação do terminal nitrogênio na cadeia lateral do aminoácido em Xaa_4 dos peptídeos ligados a resina: Para sintetizar peptídeos Nω-metila ligados a resina, a função ω-amino livre foi primeiro derivatizada com cloreto de *o*-nitrobenzeno-sulfonila (*o*-NBS-Cl; Biron, E.; Chatterjee, J.; Kessler, H. Optimized selective N-methylation of peptides on solid support. *J. Pep. Sci*. 12:213-219 (2006). A sulfonamida resultante foi então metilada com uma mistura de dimetilsulfato e 1,8-diaza-biciclo[5.4.0]undec-7-eno em NMP. O grupo protetor de *o*-NBS foi subsequentemente removido por uma mistura de mercaptoetanol e 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno em NMP.

Guanilação do terminal nitrogênio na cadeia lateral do aminoácido em Xaa_4 dos peptídeos ligados a resina: Depois da desproteção, o peptídeo ligado a resina com a função ω-amino livre na posição nº 4 foi feito reagir com uma mistura de cloridrato de 1H-pirazole-1-carboxamidina (Bernatowicz, M. S., et al., *J. Org. Chem*. 57, 2497-2502

(1992) e DIEA em DMF produzindo o peptídeo ligado a resina Nω-guanidino.

Os peptídeos foram purificados por HPLC preparativa em tampões fosfato de trietilamônio (TEAP) ou ácido trifluoroacético (TFA). Quando necessário, os compostos foram finalmente convertidos nos sais trifluoroacetato ou acetato utilizando metodologia HPLC convencional. As frações com pureza superior a 97% foram combinadas e liofilizadas. A pureza dos peptídeos sintetizados foi determinada por RP-HPLC analítica.

A RP-HPLC analítica foi realizada em um sistema de administração multissolvente Waters 600 com um detector de absorbância UV sintonizável Waters 486 e um módulo de dados Waters 746. As Análises por HPLC dos peptídeos foram realizadas utilizando uma coluna Vydac C_{18} (0,46 × 25 cm, tamanho de partícula de 5 μm, tamanho de poro de 300 Å) a uma taxa de fluxo de 2,0 mL/min. Os solventes A e B eram 0,1% de TFA em H_2O e 0,1% de TFA em 80% de ACN/20% de H_2O, respectivamente. Os tempos de retenção (t_R) são dados em min. A RP-HPLC preparativa foi obtida utilizando um cartucho preparativo Vydac C_{18} (5 × 30 cm, tamanho de partícula de 15-20 μm, tamanho de poro de 300 Å) a uma taxa de fluxo de 100 mL/min, em um sistema de cromatografia preparativa Waters Prep LC 2000 com um detector de absorbância UV sintonizável Waters 486 e um gravador *strip chart* Servogor 120. Os tampões A e B eram 0,1% de TFA em H_2O e 0,1% de TFA em 60% de ACN/40% de H_2O, respectivamente. A Análise por HPLC do composto final foi realizada em um Cromatógrafo Líquido Hewlett Packard 1090 usando uma coluna Phenomenex Synergi MAX-RP C_{12} (2,0 × 150

mm, tamanho de partícula de 4 μm, tamanho de poro de 80 Å) a uma taxa de fluxo de 0,3 mL/min a 40 °C. Os tampões A e B eram 0,01% de TFA em H_2O e 0,01% de TFA em 70% de ACN/30% de H_2O, respectivamente. A identidade das amidas peptídicas sintéticas foi confirmada por espectrometria de massa por electrospray. Os espectros de massa foram gravados em um espectrômetro de massa Finnigan LCQ com uma fonte ESI.

EXEMPLO 1: Síntese do composto (1)

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(2-aminoetil)-1-carboximetil-piperazina]-OH (SEQ ID NO: 1).

Ver o esquema ilustrado na Figura 1 para o esquema geral usado para a síntese do composto (1). Os derivados de aminoácidos utilizados foram Boc-D-Phe-OH, Fmoc-D-Phe-OH, Fmoc-D-Leu-OH, Fmoc-D-Orn(Boc)-OH e dicloriodrato de Fmoc-4-(2-aminoetil)-1-carboximetil-piperazina. O peptídeo ligado a resina totalmente protegido foi sintetizado em um SYMPHONYMultiple Synthesizer (Protein Technology Inc), iniciando a partir da resina 2-clorotritila (0,4 mmol; Novabiochem). A ligação do primeiro aminoácido à resina foi conseguida tratando-a com uma mistura de dicloriodrato de Fmoc-4-(2-aminoetil)-1-carboximetil-piperazina (0,24g, 0,5 mmol; ChemImpex International Inc) e DIEA (0,35 mL, 2mmol) em DMF (7 mL) à temperatura ambiente durante 4 horas. A resina foi lavada 3x com DCM/MeOH/DIEA (v/v/v=17:2:1) e 3x com DCM. O alongamento de cadeia peptídica subsequente foi atingido por acoplamentos individuais mediados por HBTU/DIEA com um excesso de 3 vezes de derivados de aminoácidos. O grupo Fmoc foi removido com 25% de piperidina em DMF. Para a clivagem, a resina peptídica final foi tratada com uma mistura de TFA/TIS/H_2O (15mL,

v/v/v= 95:2,5:2,5) à temperatura ambiente durante 90 minutos. A resina foi filtrada e lavada com TFA. O filtrado foi evaporado in vacuo e o péptido bruto (0,2 g, D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(2-aminometil)-1-carboximetil-piperazina]-OH) (SEQ ID NO: 1) foi precipitado a partir de éter dietila.

Para a purificação, o péptido crí mencionado em cima (0,2 g) foi dissolvido em 0,1% de TFA em H_2O (50 mL) e a solução foi carregada em uma coluna HPLC e purificada usando um sistema de tampão TFA (tampões A = 0,1% deTFA em H_2O e B = 0,1% de TFA em 60% deACN/40% de H_2O). O composto foi diluído com um gradiente linear ou tampão B, 25% de B a 75% de B durante 30 minutos, t_R=35% de B. As fracções com pureza superior a 97% foram combinadas, congeladas e secas em um liofilizador para dar o peptídeo purificado na forma de pó amorfo branco (101 mg). Análise em HPLC: t_R = 16,24, pureza de 100%, gradiente de 5% de B a 25% de B durante 20 minutos; MS (M+ H^+): massa iônica molecular esperada 709,4, observada 709,4.

EXEMPLO 2 Síntese do composto (2):

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-carboximetil-piperidina]-OH (SEQ ID NO: 1).

O composto foi preparado de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (1). A variação foi a substituição de Fmoc-4-carboximetil-piperidina (Chem-Impex International Inc) por dicloridrato de Fmoc 4-(2-aminoetil)-1-carboximetil-piperazina na ligação à resina 2-Cl-Trt. Peptídeo purificado final: pó amorfo, 123 mg de resultado em uma escala de síntese de 0,4 mmol. Análise em HPLC: t_R = 15,36 min, pureza de 100%, gradiente de 15% de B

a 35% de B durante 20 minutos; MS (M+ H^+): massa iônica molecular esperada 665,4, observada 665,3.

EXEMPLO 3 Síntese do composto (3):

D-Phe-D-Phe-D-Nle-D-Arg-D-Pro-OH (SEQ ID NO: 2):

O composto foi preparado de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (1). Os derivados de aminoácidos usados foram Boc-D-Phe-OH, Fmoc-D-Phe-OH, Fmoc-D-Nle-OH, Fmoc-D-Arg(Pbf)-OH e Fmoc-D-Pro-OH. Peptídeo purificado final: pó amorfo, 140 mg de resultado em uma escala de síntese de 0,3 mmol. Análise em HPLC: t_R = 20,23 min, pureza de 99,7%, gradiente de 10% de B a 30% de B durante 20 minutos; MS (M+ H^+): massa iônica molecular esperada 679,4, observada 679,5.

EXEMPLO 4 Síntese do composto (4):

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[ácido (2S,4R)-4-amino-pirrolodina-2-carboxílico]-OH (SEQ ID NO: 1):

O composto foi preparado de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (1). A variação foi a substituição de ácido Fmoc-(2S,4R)-4-amino-1-Boc-pirrolidina-2-carboxilico (Chem-Impex International Inc.) por dicloridrato Fmoc-4-(2-aminoetila)-1-carboximetil-piperazina na ligação à resina 2-Cl-Trt. Peptídeo purificado final: pó amorfo, 294 mg de resultado em uma escala de síntese de 0,3 mmol. Análise em HPLC: t_R = 16,65 min, pureza de 99,4%, gradiente de 5% de B a 25% de B durante 20 minutos; MS (M+ H^+): massa iônica molecular esperada 652,4, observada 652,4.

EXEMPLO 5 Síntese do composto (5): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[ácido (2S,4S)-4-amino-pirrolodina-2-carboxílico]-OH (SEQ ID NO: 1):

O composto foi preparado de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (1). A variação foi a substituição de ácido Fmoc-(2S,4S)-4-amino-1-Boc-pirrolidina-2-carboxilico (Chem-Impex International Inc.) por dicloridrato Fmoc-4-(2-aminoetila)-1-carboximetil-piperazina na ligação à resina 2-Cl-Trt. Peptídeo purificado final: pó amorfo, 285 mg de resultado em uma escala de síntese de 0,3 mmol. Análise em HPLC: t_R = 17,42 min, pureza de 99,5%, gradiente de 5% de B a 25% de B durante 20 minutos; MS (M+ H^+): massa iônica molecular esperada 652,4, observada 652,4.

EXEMPLO 6 Síntese do composto (6): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[ómega(ácido 4-aminopiperidina-4-carboxilico]-OH (SEQ ID NO: 1):

O composto foi preparado de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (1). A variação foi a substituição de ácido N-Boc-amino-(4-N-Fmoc-piperidinila)carboxilico (PharmaCore) por dicloridrato Fmoc-4-(2-aminoetila)-1-carboximetil-piperazina na ligação à resina 2-Cl-Trt. Peptídeo purificado final: pó amorfo, 343 mg de resultado em uma escala de síntese de 0,3 mmol. Análise em HPLC: t_R = 16,82 min, pureza de 99,7%, gradiente de 5% de B a 25% de B durante 20 minutos; MS (M+ H^+): massa iônica molecular esperada 664,4, observada 664,3.

EXEMPLO 7 Síntese do composto (7): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[ω(ácido D/L-2-amino-3-(4-N-piperidinila)propriônico]-OH (SEQ ID NO: 1):

O composto foi preparado de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (1). A variação foi a substituição de ácido 2-N-Boc-amino-3-(N-Fmoc-4-

piperidila)propiônico (PharmaCore) por dicloridrato Fmoc-4-(2-aminoetila)-1-carboximetil-piperazina na ligação à resina 2-Cl-Trt. Peptídeo purificado final: pó amorfo, 343 mg de resultado em uma escala de síntese de 0,3 mmol. Análise em HPLC: t_R = 16,82 min, pureza de 99,7%, gradiente de 5% de B a 25% de B durante 20 minutos; MS ($M+H^+$): massa iônica molecular esperada 664,4, observada 664,3.

EXEMPLO 8 Síntese do composto (8): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[ómega(ácido D/L-piperazina-2-carboxílico]-OH (SEQ ID NO: 1):

O composto foi preparado de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (1). A variação foi a substituição de ácido N^1-Boc-N^4-Fmoc-piperazina-2-carboxílico (Chem-Impex International Inc) por dicloridrato Fmoc-4-(2-aminoetila)-1-carboximetil-piperazina na ligação à resina 2-Cl-Trt. Peptídeo purificado final: pó amorfo, 200 mg de resultado em uma escala de síntese de 0,3 mmol. Análise em HPLC: t_R = 17,78 min, pureza de 99,9%, gradiente de 5% de B a 25% de B durante 20 minutos; MS ($M+H^+$): massa iônica molecular esperada 652,4, observada 652,4.

EXEMPLO 9 Síntese do composto (9): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[ácido isonipecotico]-OH (SEQ ID NO: 1):

O composto foi preparado de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (1). A variação foi a substituição de ácido Fmoc-isonipecotico (NeoMPS) por dicloridrato Fmoc-4-(2-aminoetila)-1-carboximetil-piperazina na ligação à resina 2-Cl-Trt. Peptídeo purificado final: pó amorfo, 125 mg de resultado em uma escala de síntese de 0,4 mmol. Análise em HPLC: t_R = 18,74 min, pureza de 99,3%, gradiente de 10% de B a 30% de B

durante 20 minutos; MS ($M+H^+$): massa iônica molecular esperada 651,4, observada 651,3.

EXEMPLO 10 Síntese do composto (10): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[N-(4-piperidinila)-L-prolina]-OH (SEQ ID NO: 1):

O composto foi preparado de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (1). A variação foi a substituição de N-(1-Fmoc-piperidina-4-il)-L-prolina (NeoMPS) por dicloridrato Fmoc-4-(2-aminoetila)-1-carboximetil-piperazina na ligação à resina 2-Cl-Trt. Peptídeo purificado final: pó amorfo, 18 mg de resultado em uma escala de síntese de 0,4 mmol. Análise em HPLC: t_R = 14,59 min, pureza de 100%, gradiente de 10% de B a 30% de B durante 20 minutos; MS ($M+H^+$): massa iônica molecular esperada 720,4, observada 720,3.

EXEMPLO 11 Síntese do composto (11): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[amida homopiperazina] (SEQ ID NO: 1):

A síntese foi iniciada a partir de 0,3 mmol do péptido intermediário, Cbz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Cbz)-[amida homopiperazina], que foi preparado durante a síntese do composto (19). O péptido foi hidrolizado com uma mistura de TMSOTf/TFA/m-cresol (10 mL, v/v/v = 2:7:1) e o produto bruto foi purificado por um preparativo HPLC de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (19). Péptido purificado final: pó amorfo, 225 mg em rendimento. Análise de HPLC: t_R = 16,43 min, pureza 100%, gradiente 2% de B a 22% de B durante 20 min; MS ($M+H^+$): massa iônica molecular esperada 622.4, observada 622.4.

EXEMPLO 12 Síntese do composto (12): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[ácido 4-(4-piperidinila)-butanoico]-OH

(SEQ ID NO: 1):

O composto foi preparado de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (1). A variação foi a substituição de ácido 4-(1-Fmoc-piperidina-4-il)-butanoico (NeoMPS) por dicloridrato Fmoc-4-(2-aminoetila)-1-carboximetil-piperazina na ligação à resina 2-Cl-Trt. Péptido purificado final: pó amorfo, 474 mg de resultado em uma escala de síntese de 0,4 mmol. Análise em HPLC: t_R = 17,91 min, pureza de 100%, gradiente 15% de B a 35% de B durante 20 min; MS ($M+H^+$): massa iônica molecular esperada 693.4, observada 693.3.

EXEMPLO 13 Síntese do composto (13): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(2-aminoetil)-1-carboximetil-piperazina]-NH_2 (SEQ ID NO: 1):

A síntese foi atingida tal como ilustrado na Figura 2. Os derivados de aminoácido usados foram Boc-D-Phe-OH, Fmoc-D-Phe-OH, Fmoc-D-Leu-OH, Fmoc-D-Orn(Boc)-OH, e dicloridrato de Fmoc-4-(2-aminoetila)-1-carboximetila-piperazina. O peptídeo ligado a resina totalmente protegido foi sintetizado em um SYMPHONY Multiple Synthesizer (Protein Technology Inc), iniciando a partir da resina Rink Amina AM (0,3 mmol; Novabiochem). A ligação do primeiro aminoácido à resina foi conseguida tratando-a com uma mistura de dicloriodrato de Fmoc-4-(2-aminoetil)-1-carboximetil-piperazina (0,48g, 1 mmol; Chem-Impex International Inc), HBTU (0,38 g, 1 mmol) e DIEA (0,53 mL, 3 mmol) em DMF (7 mL) à temperatura ambiente durante 3 horas. A resina foi lavada 3x com DMF.

O alongamento de cadeia peptídica subsequente foi atingido por acoplamentos individuais mediados por

HBTU/DIEA com um excesso de 3 vezes de derivados de aminoácidos. O grupo Fmoc foi removido com 25% de piperidina em DMF. Para a clivagem, a resina peptídica final foi tratada com uma mistura de TFA/TIS/H_2O (15mL, v/v/v= 95:2,5:2,5) à temperatura ambiente durante 90 minutos. A resina foi filtrada e lavada com TFA. O filtrado foi evaporado *in vacuo* e o péptido bruto (0,1 g, D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(2-aminometil)-1-carboximetil-piperazina]-NH_2) foi precipitado a partir de éter dietila.

Para a purificação, o péptido bruto mencionado em cima (0,1 g) foi dissolvido em 0,1% de TFA em H_2O (50 mL) e a solução foi carregada em uma coluna HPLC e purificada usando um sistema de tampão TFA (tampões A = 0,1% de TFA em H_2O e B = 0,1% de TFA em 60% de ACN/40% de H_2O). O composto foi eluído com um gradiente linear ou tampão B, 25% de B a 75% de B durante 30 minutos, t_R=38% de B. As fracções com pureza superior a 97% foram combinadas, congeladas e secas em um liofilizador para dar o peptídeo purificado na forma de pó amorfo branco (36 mg). Análise em HPLC: t_R = 16,59, pureza de 99,5%, gradiente de 2% de B a 22% de B durante 20 minutos; MS (M+ H^+): massa iônica molecular esperada 708,5, observada 708,3.

EXEMPLO 14 Síntese do composto (14): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[N-(4-piperidinil)-L-prolina]-NH_2 (SEQ ID NO: 1):

O composto foi preparado de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (13). A variação foi a substituição de N-(1-Fmoc-piperidin-4-il)-L-prolina (NeoMPS) por dicloridrato Fmoc-4-(2-aminoetil)-1-carboximetil-piperazina na ligação à resina Rink Amida AM.

Péptido purificado final: pó amorfo, 14 mg de resultado em uma escala de síntese de 0,3 mmol. Análise em HPLC: t_R = 18,13 min, pureza de 91,7%, gradiente 10% de B a 30% de B durante 20 min; MS ($M+H^+$): massa iônica molecular esperada 719,5, observada 719,3.

EXEMPLO 15 Síntese do composto (15): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-Amino-1-carboximetil-piperidina]-NH_2 (SEQ ID NO: 1):

O composto foi preparado de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (13). A variação foi a substituição de Fmoc-4-amino-1-carboximetil-piperidina (NeoMPS) dicloridrato Fmoc-4-(2-aminoetil)-1-carboximetil-piperazina na ligação à resina Rink Amida AM. Péptido purificado final: pó amorfo, 65 mg de resultado em uma escala de síntese de 0,3 mmol. Análise em HPLC: t_R = 16,74 min, pureza 99,7%, gradiente 2% de B a 22% de B durante 20 min; MS ($M+H^+$): massa iônica molecular esperada 679,4, observada 679,3.

EXEMPLO 16 Síntese do composto (16): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4- Amidinohomopiperazina amida] (SEQ ID NO: 1):

A síntese foi iniciada a partir de 0,2 mmol do péptido intermediário, Cbz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Cbz)-[amida homopiperazina], que foi preparada durante a síntese do composto (19). Para a guanilação da homopiperazina no C-terminal, o péptido foi tratado com uma solução de hidrocloreto 1H-Pirazole-1-carboxamidina (0,4 g, 3,0 mmol) e DIEA (0,5 ml, 6 mmol) em DMF (3 mL) de um dia para o outro, à temperatura ambiente. Adicionou-se ácido acético e H_2O para arrefecer a reacção e a solução foi congelada e

seca em um liofilizador para dar o peptídeo protegido desejado, Cbz-DPhe-DPhe-DLeu-DOrn(Cbz)-[amida 4-Amidinohomopiperazina] (0,2 mmol). A desprotecção/hidrólise subsequente e purificação HPLC foram realizadas de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (19). Péptido purificado final: pó amorfo, 74 mg em rendimento. Análise HPLC: t_R = 10,10 min, pureza 98,7%, gradiente 10% de B a 30% de B durante 20 min; MS ($M+H^+$): massa iônica molecular esperada 664,4, observado 664,5.

EXEMPLO 17 Síntese do composto (17): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(4,5-diidro-1H-imidazol-2-il)homopiperazina amida] (SEQ ID NO: 1):

A síntese foi iniciada a partir de 0,2 mmol do péptido intermediário, Cbz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Cbz)-[homopiperazina amide], que foi preparada durante a síntese do composto (19). Para a guanilação da homopiperazina no C-terminal, o péptido foi tratado com uma solução de 2-Metiltio-2-imidazolina hidroiodida (730 mg, 3,0 mmol; Aldrich) e DIEA (0,5 ml, 6 mmol) em DMF (3 mL) durante 4 dias à temperatura ambiente. Adicionou-se ácido acético e H_2O para arrefecer a reacção e a solução foi congelada e seca em um liofilizador para dar o peptídeo protegido desejado, Cbz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Cbz)-[4-(4,5-diidro-1H-imidazol-2-il)homopiperazina amida] (0,2 mmol). A desprotecção/hidrólise subsequente e purificação HPLC foram realizadas de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (19). Péptido purificado final: pó amorfo, 46 mg em rendimento. Análise HPLC: t_R = 10,89 min, pureza 100%, gradiente 10% de B a 30% de B durante 20 min; MS

($M+H^+$): massa iônica molecular esperada 690,4, observada 690.5.

EXEMPLO 18 Síntese do composto (18): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-etilomopiperazina amida] (SEQ ID NO: 1):

A síntese foi iniciada a partir de 0,3 mmol do péptido intermediário, Cbz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Cbz)-[homopiperazina amida], que foi preparada durante a síntese do composto (19). Para a etilação da homopiperazina no C-terminal, o péptido foi tratado com uma solução de iodoetano (0,4 mmol; Aldrich) e DIEA (0,5 ml, 6 mmol) em DMF (3 mL) durante 1 dia è temperatura ambiente. A desprotecção/hidrólise subsequente e purificação HPLC foram realizadas de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (19). Péptido purificado final: pó amorfo, 75 mg em rendimento. Análise HPLC: t_R = 10,43 min, pureza 98.4%, gradiente 10% de B a 30% de B durante 20 min; MS ($M+H^+$): massa iônica molecular esperada 650,4, observado 650,3.

EXEMPLO 19 Síntese do composto (19): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(N-metil)amidinohomopiperazina amida] (SEQ ID NO: 1):

Ver Figura 3 para o esquema sintético geral usado para preparer o composto (19). O composto foi preparado por guanilação da homopiperazina no C-terminal de Cbz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Cbz)-[homopiperazina amida], que foi sintetizada de acordo com o procedimento descrito em baixo.

O reagente de guanilação reagent *S*-Metil-N-metillisotioréia hidroiodida foi preparado através de reacção de 1,3-dimetil-2-tioréia com iodeto de metilo em

metanol de anidrido. Ver McKay, A. F.; Hatton, W. G. Synthesis of Cyclic Guanidino Acids. *J. Am. Chem. Soc.* (1955), *78*, 1618-1620 e Kennedy, K. J., *et al*. A Facile Route to Cyclic and Acyclic Alkyl-Arginines. *Synthetic Communications*, (1998), *28*, 741-746.

Para a síntese de Cbz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Cbz)-[homopiperazina amida], os derivados de aminoácidos usados foram Z-D-Phe-OH, Fmoc-D-Phe-OH, Fmoc-D-Leu-OH, e Fmoc-D-Orn(Cbz)-OH. O péptido de ligação a resina totalmente protegido foi sintetizado manualmente a partir de resina p-nitrofenilcarbonato Wang (5,0 g, 4,4 mmol; Novabiochem). A ligação de homopiperazina à resina foi atingida através de mistura de uma solução de homopiperazina (8,7 g, 87 mmol; Acros Organics) em DCM (100 mL) da noite para o dia, à temperatura ambiente. A resina foi lavada 3x com DMF e 3x com DCM. O alongamento da cadeia tídica subsequente foi atingido por agrupamentos individuais mediados por HBTU/DIEA com um excesso de 3 vezes de derivados de aminoácidos. O grupo Fmoc foi removido em 25% de piperidina em DMF. Para aclivagem, a resina peptídica final foi tratada com uma mistura de TFA/DCM (100 mL, v/v = 1:1) à temperatura ambiente durante 2 horas. A resina foi filtrada e lavada com DCM. O filtrado foi evaporado *in vacuo* e os resíduos foram dissolvidos em 0,1% de TFA em 60% de ACN/40% de H_2O. A solução foi congelada e seca em um liofilizador para dar o peptídeo bruto intermediário Cbz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Cbz)-homopiperazina (4,4 g). Para a purificação, o peptídeo bruto (4,4 g) foi dividido em duas porções e cada porção foi dissolvida em 0,1% de TFA em 30% de ACN (100 mL). Cada solução foi carregada em uma coluna

HPLC e purificada usando um sistema de tampão TFA (tampões A = 0,1% de TFA em H_2O e B = 0,1% de TFA em 60% de ACN/40% de H_2O). O composto foi eluído com um gradiente linear do tampão B, 40% de B a 100% de B durante 25 min, t_R = 87% de B. As fracções com pureza superior a 97% foram combinadas, congeladas e secas em um liofilizador para dar o peptídeo intermediário purificado na forma de pó amorfo branco (3,0 g).

Para a guanilação da homopiperazina em C-terminal, o intermediário peptídico mencionado em cima (210 mg, 0,3 mmol) foi tratado com uma mistura de *S*-Metil-N-metilisotioréia hidroiodida (1,4 g, 6 mmol) e DIEA (1,0 mL, 12 mmol) em DMF (4 mL) à temperatura ambiente durante 18 dias. A mistura foi evaporada *in vacuo* e os resíduos foram dissolvidos em 0,1% de TFA em 30% de ACN/70% de H_2O e a solução foi carregada em uma coluna HPLC e purificada usando um sistema de tampão TFA (tampões A = 0,1% de TFA em H_2O e B = 0,1% de TFA em 60% de ACN/40% de H_2O). O composto foi eluído com um gradiente linear do tampão B, 70% de B a 100% de B durante 30 min, t_R = 85% de B. As fracções com pureza superior a 97% foram combinadas, congeladas e secas em um liofilizador para dar o peptídeo intermediário purificado Cbz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Cbz)-[N-metilhomopiperazina-1-carboximidamida amida], na forma de um pó amorfo branco (100 mg).

Para a desprotecção/hidrólise final, o péptídeo purificado mencionado em cima (100 mg) foi tratado com uma mistura de TMSOTf/TFA/m-cresol (10 ml, v/v/v = 2:7:1) à temperatura ambiente durante 2 horas. A mistura foi evaporada *in vacuo* e o peptídeo bruto (100 mg) foi

precipitado a partir de éter dietilo.

Para a purificação, o peptídeo bruto mencionado em cima (100 mg) foi dissolvido em 0,1% de TFA em H_2O (50 mL) e a solução foi carregada em uma coluna HPLC e purificado usando um sistema de tampão TFA (tampões A = 0,1% de TFA em H_2O e B = 0,1% de TFA em 60% de ACN/40% de H_2O). O composto foi eluído com um gradiente linear do tampão B, 25% de B a 75% de B durante 25 min, t_R = 43% de B. As fracções com pureza superior a 97% foram combinadas, congeladas e secas em um liofilizador para dar o produto purificado na forma de um pó amorfo branco (53 mg). Análise HPLC: t_R = 17,99 min, pureza 99,4%, gradiente 2% de B a 22% de B durante 20 min; MS ($M+H^+$): massa iônica molecular esperada 678,4, observada 678,5.

EXEMPLO 20 Síntese do composto (20):

D-Phe-D-Phe-D-Leu-(□-iPr)D-Orn-[omega(ácido 4-Aminopiperidina-4-carboxilico)]-OH

Os derivados de aminoácidos usados foram Boc-D-Phe-OH, Fmoc-D-Phe-OH, Fmoc-D-Leu-OH, Fmoc-D-Orn(Aloc)-OH, e ácido N-Boc-amino-(4-N-Fmoc-piperidinil) carboxilico. O peptídeo de ligação a resina totalmente protegido foi sintetizado manualmente a partir de resina de cloreto 2-Clorotritilo (0,8 mmol). A ligação de ácido N-Boc-amino-(4-N-Fmoc-piperidinil) carboxilico à resina e subsequentes acoplamentos foram realizados de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (1). A resina peptídica combinada, Boc-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-omega(ácido 4-Aminopiperidina-4-carboxílico)-[resina 2-Cl-Trt], foi tratada com $Pd(PPh_3)_4$ (4,5 mmol; Aldrich) em uma mistura de $CHCl_3$/AcOH/NMM (80 mL, v/v/v = 37:2:1) em atmosfera de

árgon à temperatura ambiente durante 3 h para remoção de Aloc. A N-isopropilação subsequente foi realizada de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (22). A clivagem final e purificação preparativa HPLC foram conseguidas de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (1). Péptídeo final purificado: pó amorfo, 336 mg em rendimento. Análise HPLC: t_R = 18,88 min, pureza 98,9%, gradiente 5% de B a 25% de B durante 20 min; MS ($M+H^+$): massa iônica molecular esperada 708,4, observada 708,4.

EXEMPLO 21 Síntese do composto (21): D-Phe-D-Phe-D-Leu-(□-Me)D-Orn-[4-Amidinohomopiperazina amida] (SEQ ID NO: 1):

Ver esquema mostrado na Figura 3. Os derivados de aminoácidos usados foram Z-D-Phe-OH, Fmoc-D-Phe-OH, Fmoc-D-Leu-OH, e Fmoc-D-Orn(Aloc)-OH. O peptídeo de ligação a resina totalmente protegido foi sintetizado a partir de resina p-nitrofenilcarbonato Wang (5,0 g, 4,4 mmol; Novabiochem). A ligação da homopiperazina à resina foi atingida através da mistura da mesma com uma solução de homopiperazina (8,7 g, 87 mmol; Acros Organics) em DCM (100 mL) de um dia para o outro à temperatura ambiente. A resina foi lavada com DMF e DCM e seca *in vacuo*. A resina homopiperazina carbamato Wang resultante (5,1 g; homopiperazina-[resina carbamato Wang]) foi dividida em várias porções e uma porção de 1,1 g (1 mmol) foi usada para continuar a síntese de peptídeos. Os acoplamentos mediados por DIC/HOBt foram realizados com um excesso em 3 vezes de derivados de aminoácidos. O grupo Fmoc foi removido em 25% de piperidina em DMF. Após a finalização do

alongamento da cadeia peptídica, a resina foi tratada com $Pd(PPh_3)_4$ (3,5 g, 3,0 mmol; Aldrich) em uma mistura de $CHCl_3$/AcOH/NMM (60 ml, v/v/v = 37:2:1) em atmosfera de árgon, à temperatura ambiente durante 3 h para remoção de Aloc. A resina foi lavada com DMF e DCM e seca *in vacuo*. A resina peptídica resultante (1,8 g; Z-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-homopiperazina-[resina carbamato Wang]) foi dividida novamente e umaporção de 0,9 g (0.5 mmol) foi usada para derivação subsequente (N-metilação).

A metilação da função omega-amina de D-Orn em Xaa_4 foi realizada em três etapas: (i) [*o*-NBS Proteção]: O peptídeo de ligação a resina (0,5 mmol) foi primeiramente tratado com uma solução *o*-NBS-Cl (0,4 g, 2 mmol) and colidina (0,7 ml, 5 mmol) em NMP (7 ml) à temperatura ambiente durante 30 min. A resina foi então lavada em NMP. (ii) [N-Metilação]: O peptídeo de ligação a resina *o*-NBS protegido foi então feito reagir com uma solução de of 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno (0,5 ml, 3 mmol) e dimetilsulfato (1,0 ml, 10 mmol; Aldrich) em NMP (7 ml) à temperatura ambiente durante 5 min. A resina foi então lavada com NMP e o processo de N-foi repetido em uma vez. (iii) [*o*-NBS Desproteção]: a resina peptídica foi tratada com um asolução de mercaptoetanol (0,7 ml, 10 mmol) e 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno (0,8 ml, 5 mmol) em NMP (7 ml) à temperatura ambiente durante 5 min. A resina foi então lavada com NMP e o processo de desprotecção foi repetido uma vez.

Para proteger a amina secundária N-metila resultante de D-Orn em Xaa_4, o peptídeo metilado de ligação a resina foi feito reagir com uma solução de Z-OSu (6 mmol) em DMF

(7 ml). A resina foi lavada com DMF e DCM e seca *in vacuo*. O peptídeo foi então clivado da resina através de tratamento com uma solução de TFA/DCM (15 ml, v/v = 1:1) à temperatura ambiente durante 2 horas. A resina foi então filtrada e lavada com TFA. O filtrado foi vaporizado *in vacuo* e o peptídeo bruto (0,5 mmol; Z-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Me,Z)-[homopiperazina amida]) foi obtido na forma de óleo.

Para a guanilação da homopiperazina em C-terminal, uma porção do péptideo mencionado em cima (0,3 mmol) foi tratada com uma solução de 1H-Pirazol-1-carboxamidina hidrocloreto (0,4 g, 3,0 mmol) e DIEA (0,5 ml, 6 mmol) em DMF (3 ml) de um dia para o outro à temperatura ambiente. Adicionou-se ácido aceptico e H_2O para arrefecer a reacção e a solução foi congelada e seca em um liofilizador para dar o peptídeo protegido desejado, Z-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Me,Z)-[4-Amidinohomopiperazina amida] (0.3 mmol).

Para a desproteção/hidrólise final, a peptídeo mencionado em cima (0,3 mmol) foi tratado com uma mistura de TMSOTf/TFA/m-cresol (10 ml, v/v/v = 2:7:1) à temperatura ambiente durante 2 horas. A mistura foi evaporada promovendo o peptídeo bruto (0,3 mmol) na forma de óleo. A purificação preparativa HPLC do peptídeo bruto foi realizada de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (1). Peptídeo purificado final: pó amorfo, 183 mg em rendimento. Análise HPLC: t_R = 17,12 min, pureza 98,9%, gradiente 2% de B a 22% de B durante 20 min; MS ($M+H^+$): massa iônica molecular esperada 678,4, observada 678,5.

EXEMPLO 22 Síntese do composto (22): D-Phe-

D-Phe-D-Leu-(□-iPr)D-Orn-[4-Amidinohomopiperazina amida] (SEQ ID NO: 3):

A síntese foi iniciada a partir de 0,9 g (0,5 mmol) da resina peptídica: Z-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-homopiperazina-[resina carbamato Wang], que foi preparada durante a síntese do composto (21) descrita em cima.

Para a isopropilação da função omega-amina function de D-Orn em Xaa_4, a resina peptúidica foi tratada com uma mistura de sódio de triacetoxiborohidrato (3 mmol) e acetona (6 mmol) em TMOF (10 mL) de um dia para o outro, a temperatura ambiente. A resina peptídica foi então tratada com uma solução de Z-OSu (6 mmol) em DMF (7 ml) para protecção Z. A resina foi lavada em DMF e DCM e seca *in vacuo*. O peptídeo foi então clivado da resina através de tratamento com uma solução de TFA/DCM (15 ml, v/v = 1:1) à temperatura ambiente durante 2 horas. A resina foi filtrada e lavada com TFA. O filtrado foi evaporado *in vacuo* e o peptídeo bruto (0,5 mmol; Z-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(iPr,Z)-[homopiperazina amida]) foi obtido na forma de óleo.

Uma porção do peptídeo mencionado em cima (0,3 mmol) continuou para guanilação subsequente, clivagem e etapas de purificação, as quais foram realizadas de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (21). Peptídeo purificado final: pó amorfo, 166 mg em rendimento. Análise HPLC: t_R = 18.71 min, pureza 99.4%, gradiente 2% de B a 22% de B durante 20 min; MS ($M+H^+$): massa iónica molecular esperada 706,5, observada 706,5.

EXEMPLO 23 Síntese do composto (23): D-Phe-D-Phe-D-Leu-(□-Me)D-Orn-[homopiperazina amida] (SEQ ID NO:

4):

A síntese foi iniciada a partir de 0,2 mmol do intermediário peptídico, Z-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Me,Z)-[homopiperazina amida], que foi preparado durante a síntese do composto (21). O peptídeo foi hidrolisado com uma mistura de TMSOTf/TFA/m-cresol (10 ml, v/v/v = 2:7:1) e o produto bruto foi purificado através de preparativo HPLC de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (19). Peptídeo purificado final: pó amorfo, 98 mg em rendimento. Análise HPLC: t_R = 16,38 min, pureza 99,6%, gradiente 2% de B a 22% de B durante 20 min; MS ($M+H^+$): massa iónica molecular esperada 636,4, observada 636,5.

EXEMPLO 24 Síntese do composto (24): D-Phe-D-Phe-D-Leu-(δ-iPr)D-Orn-[homopiperazina amida] (SEQ ID NO: 3):

A síntese foi iniciada a partir de 0,2 mmol do intermediário peptídico, Z-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(iPr,Z)-[homopiperazina amida], que foi preparado durante a síntese do composto (22). O peptídeo foi hidrolizado com um a mistura de TMSOTf/TFA/m-cresol (10 ml, v/v/v = 2:7:1) e o produto bruto foi purificado por preparativo HPLC de acordo com o procedimento na síntese do composto (19). Peptídeo purificado final: pó amorfo, 87 mg em rendimento. Análise HPLC: t_R = 18,41 min, pureza 100%, gradiente 2% de B a 22% de B durante 20 min; MS ($M+H^+$): massa iónica molecular esperada 664,5, observada 664,5.

Confirmação das estruturas de amidas peptídicas sintéticas:

A tabela I mostra o peso molecular calculado do íon molecular MH^+ para cada composto e o peso molecular real

observado em espectrometria de massa. Também é mostrado o tipo de fase sintética usado na síntese de cada composto molecular: fase sólida ou misturada; e o tipo de resina usada na síntese, se se trata de umaresina 2-clorotritilo "2-Cl-Trt", uma resina hidrazinobenzoil "hidrazina", Rink AM ou uma resina p-nitrofenil-carbonato (Wang) "carbonato". A figura que mostra o esquema sintético relevante para a síntese de cada composto é mostrada na última coluna.

Tabela I Síntese e Confirmação de Estruturas de Compostos

COMPOSTO	**PM CALCULADO**	**PM OBSERVADO**	**FASE SINTÉTICA**	**RESINA**	**FIGURA**
1	709,4	709,4	sólido	2-Cl-Trt	1
2	665,4	665,3	sólido	2-Cl-Trt	1
3	679,4	679,5	sólido	2-Cl-Trt	1
4	652,4	652,4	sólido	2-Cl-Trt	1
5	652,4	652,4	sólido	2-Cl-Trt	1
6	666,4	666,3	sólido	2-Cl-Trt	1
7	694,4	694,4	sólido	2-Cl-Trt	1
8	652,4	652,4	sólido	2-Cl-Trt	1
9	651,4	651,3	sólido	2-Cl-Trt	1
10	720,4	720,6	sólido	2-Cl-Trt	1
11	622,4	622,4	sólido	Carbonato	2
12	693,4	693,3	sólido	2-Cl-Trt	1
13	708,3	708,3	sólido	Rink AM	2
14	719,5	719,3	sólido	Rink AM	2
15	679,4	679,3	sólido	Rink AM	2
16	664,4	664,5	misturado	Carbonato	3
17	690,4	690,5	misturado	Carbonato	3
18	650,4	650,3	misturado	Carbonato	3

19	678,4	678,5	misturado	Carbonato	3
20	708,4	708,4	sólido	2-Cl-Trt	1
21	678,4	678,5	misturado	Carbonato	3
22	706,5	706,5	misturado	Carbonato	3
23	636,4	636,5	sólido	Carbonato	3
24	664,5	664,5	sólido	Carbonato	3

EXEMPLO 25 Síntese do Composto (25): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1,3-dioxolan-2-il)metanamina amida] (SEQ ID NO: 5):

Estas sínteses foram realizadas de acordo com o esquema mostrado na Figura 4. Os intermediários descritos em baixo correspondem aos mostrados na Figura 4. Para uma suspensão de intermediárioI Boc-D-Phe-OH I-1 (7.96 g, 30,0 mmol), intermediário D-Leu-OBn p-TsOH I-2 (11.80 g, 30,0 mmol), monohidrato HOBt (4.46 g, 33,0 mmol) e DIEA (8,53 g, 66,0 mmol) THF de anidrido (250 mL), arrefecidos em um banho de água gelada foi adicionado EDCI (6,33 g, 33,0 mmol) em quatro porções ao longo de 20 minutos com 5 minutos entre cada adição. A suspensão foi agitada de um dia para o outro a partir de uma temperatura de partida de 0 °C para temperatura ambiente. Após a evaporação de THF, os resíduos foram dissolvidos em acetate etílico e lavados sequencialmente com 10% de ácido citrico, $NaHCO_3$ saturado e água. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio e evaporada sob pressão reduzida. Os resíduos foram dissolvidos em DCM, passados através de sílica gel e eluídos em 20% de acetato etílico em hexanos. O eluente foi evaporado para dar o produto puro Boc-D-Phe-D-Leu-OBn, intermediário I-3 (12.40 g, 88%) na forma de óleo. LC-MS: m/z = 469 (M+H).

O intermediário I-3 (12.40 g, 26,5 mmol) foi dissolvido em DCM (50mL). Adicionou-se TFA (25 mL) e a solução foi agitada à temperatura ambiente durante 2 horas. Após a evaporação de DCM e TFA, os resíduos foram residue tornaram-se em azeotrópicos através de tolueno para dar o sal TFA de D-Phe-Leu-OBn, intermediário I-4. Este dipeptídeo bruto foi suspenso em THF, ao qual se adicionou Boc-D-Phe-OH (6,36 g, 24 mmol), monohidrato HOBt (4.04 g, 26,4 mmol) e DIEA (8,7 mL, 50,0 mmol) a 0 °C. EDCI (6,33 g, 6.4 mmol) foi adicionado em quarto porções durante 20 minutos com 5 minutos entre cada adição. A suspensão foi agitada de 0 °C à temperatura ambiente de um dia para o outro. Após a evaporação de THF, os resíduos foram dissolvidos em acetato etílico e lavados sequencialmente com 10% de ácido citrico, $NaHCO_3$ saturado e água. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio e evaporada sob pressão reduzida. Os resíduos foram recristalizados de 400 mL acetona/hexanos (1:3) para dar 9,1 g de produto puro. O licor de base foi evaporado e novamente recristalizado a partir de acetona/hexanos (1:3) para dar 2,0 g de produto. O rendimento total foi de 11,1 g (68% em duas etapas). LC-MS: m/z = 616 (M+H).

Em um frasco limpo sob pressão com azoto, foi adicionado palladium humido em cabrono (1,8 g) e uma solução de Boc-D-Phe-D-Phe-D-Leu-OBn, intermediário I-5 (11,1 g, 18,05 mmol) em metanol (50 mL). A mistura foi agitada em balão de hidrogénio de um dia para o outro. Após a filtração através de celite, o metanol foi evaporado sob reduzida pressão. Os resíduos foram dissolvidos em acetona (20 mL) e lentamente adicionados com 500 mL de água com 25

mL de 1N HCl sob agitação vigorosa. O produto puro Boc-D-Phe-D-Phe-D-Leu-OH, intermediário I-6 foi obtido por filtração a 9,4 g (99%). LC-MS: m/z = 526 (M+H).

A uma solução de intermediário I-6 (2.06 g, 3.90 mmol), D-Lys(Boc)-OAll hidrocloreto (1,26 g, 3,90 mmol) e DIEA (1,7 ml, 9,8 mmol) em DMF adicionou-se TBTU (1,56 g, 4,88 mmol) em três porções durante 15 min a 0 °C. Após agitação de um dia para o outro a partir de uma temperature de partida de 0 °C para a temperatura ambiente, DMF foi evaporado sob elevado vácuo. A mistura de reacção bruta foi precipitada em 400 mL de água gelada e filtrada para recolha do precipitado Boc-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys(Boc)-OAll intermediário **I-7** (2,60 g), que foi usado sem purificação adicional para a próxima etapa.

A uma solução de intermediário I-7 (2,60 g, 3,3 mmol) em MeCN (75 mL) adicionou-se pirrolidina (1,1 ml, 13,3 mmol) e paladium tetracis(trifenilfosfina) (400 mg, 0,35 mmol) a 0 °C. A mistura de reacção foi agitada à temperature ambiente durante 3 horas e evaporada até ficar seca. Os resíduos foram purificados por cromatografia de coluna de fase reversa com 30% de MeCN/água a 90% de MeCN/água para dar o ácido puro, intermediário I-8 (2,0 g, 80%) após evaporação de acetonitrila/água. LC-MS: m/z = 754 (M+H).

A uma solução do ácido, intermediário I-8 **(**150 mg, 0,20 mmol), a amina HNR_aR_b, (1,3-dioxolan-2il)metanamina (31 mg, 0,30 mmol) e DIEA (175 ul, 1,0 mmol) em DMF (5 mL) adicionou-se HBTU (113 mg, 3,0 mmol) a 0 °C. Após agitação de um dia para o outro a partir de uma temperatura de partida de 0 °C para temperatura ambiente, DMF foi

evaporado sob pressão reduzida. Os resíduos foram agitados com 4N HCl em 1,4-dioxano (2,0 mL) à temperatura ambiente durante 1 hora. Após a remoção do dioxano, os resíduos foram dissolvidos em água e purificados em cromatografia de coluna de fase reversa com um gradiente de 10% de MeCN/água a 60% de MeCN/água em 30 minutos para dar o produto puro, o composto (25) (44 mg, 44% de rendimento para as duas etapas) após evaporação do solvente. LC-MS: m/z = 639 (M+H).

EXEMPLO 26 Síntese do composto (26): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[2-(piperazin-1-il)pirimidina amida] (SEQ ID NO: 5):

O composto (26) foi essencialmente preparado tal como descrito no Exemplo 25, exceto em que 2-(piperazin-1-il)pirimidina foi usada na etapa de acoplamento de amida. LC-MS: m/z = 700 (M+H).

EXEMPLO 27 Síntese do composto (27): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[2-(piperazin-1-il)pirazina amida] (SEQ ID NO: 5):

O composto 27 foi essencialmente preparado tal como descrito no Exemplo 25, exceto em que 2-(piperazin-1-il)pirazina foi usada na etapa de acoplamento de amida. LC-MS: m/z = 700 (M+H).

EXEMPLO 28 Síntese do composto (28): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1-(piridin-2-il)piperazina amida] (SEQ ID NO: 5):

O composto (28) foi essencialmente preparado tal como descrito no Exemplo 25, exceto em que 1-(piridin-2-il)piperazina foi usada na etapa de acoplamento de amida. LC-MS: m/z = 699 (M+H).

EXEMPLO 29 Síntese do composto (29): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[2-(piperazin-1-il)tiazol amida] (SEQ ID NO: 5):

O composto 29 foi essencialmente preparado tal como descrito no Exemplo 25, exceto em que 2-(piperazin-1-il) tiazol foi usada na etapa de acoplamento de amida. LC-MS: m/z = 705 (M+H).

EXEMPLO 30 Síntese do composto (30): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[*N*,*N*-dimetilpiperazina-1-sulfonamida amida] (SEQ ID NO: 5):

O composto 30 foi essencialmente preparado tal como descrito no Exemplo 25, exceto em que *N*,*N*-dimetil-piperazina-1-sulfonamida foi usada na etapa de acoplamento de amida. LC-MS: m/z = 729 (M+H).

EXEMPLO 31 Síntese do composto (31): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1-(metilsulfonil)piperazina amida] (SEQ ID NO: 5):

O composto 31 foi essencialmente preparado tal como descrito no Exemplo 25, exceto em que 1-(metilsulfonil)piperazine foi usada na etapa de acoplamento de amida. LC-MS: m/z = 700 (M+H).

EXEMPLO 32 Síntese do composto (32): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1-(fenilsulfonil)piperazina amida] (SEQ ID NO: 5):

O composto 32 foi essencialmente preparado tal como descrito no Exemplo 25, exceto em que 1-(fenilsulfonil) piperazina foi usada na etapa de acoplamento de amida. LC-MS: m/z = 762 (M+H).

EXEMPLO 33 Síntese do composto (33): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[fenil(piperazin-1-il)metanona amida] (SEQ ID

NO: 5):

O composto 33 foi essencialmente preparado tal como descrito no Exemplo 25, exceto em que fenil(piperazin-1-il)metanona foi usada na etapa de acoplamento de amida. LC-MS: m/z = 726 (M+H).

EXEMPLO 34 Síntese do composto (34): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[tiolmorfolina-1,1-dioxido amida] (SEQ ID NO: 5):

O composto 34 foi essencialmente preparado tal como descrito no Exemplo 25, exceto em que tiolmorfolina-1,1-dioxido foi usada na etapa de acoplamento de amida. LC-MS: m/z = 671 (M+H).

EXEMPLO 35 Síntese do composto (35): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[6-trifluorometil-3-aminometil piridina amida] (SEQ ID NO: 5):

O composto 35 foi essencialmente preparado tal como descrito no Exemplo 25, exceto em que 6-trifluorometil-3-aminometilpiridina foi usada na etapa de acoplamento de amida. LC-MS: m/z = 712 (M+H).

EXEMPLO 36 Síntese do composto (36): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-N-metil-1-(tetrahidro-2*H*-piran-4-il)metanamina amida (SEQ ID NO: 5):

O composto 36 foi essencialmente preparado tal como descrito no Exemplo 25, exceto em que (tetrahidro-2H-piran-4-il)metanamina foi usada na etapa de acoplamento de amida. LC-MS: m/z = 651 (M+H).

EXEMPLO 37 Síntese do composto (37): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[5-(aminometil)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2(*3H*)-one amide] (SEQ ID NO: 5):

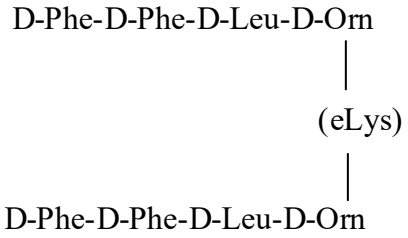
O composto (37) foi essencialmente preparado tal como

descrito no Exemplo 25, exceto em que 5-(aminometil)-1H-benzo[d]imidazol-2(3H)-ona foi usada na etapa de acoplamento de amida. LC-MS: m/z = 699 (M+H).

EXEMPLO 38 Síntese do composto (38): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-N-metil-1-(5-metilpirazin-2-il)-metanamine amide) (SEQ ID NO: 5):

O composto 38 foi essencialmente preparado tal como descrito no Exemplo 25, exceto em que (5-metil-pirazin-2-il)-metanamina foi usada na etapa de acoplamento de amida. LC-MS: m/z = 659 (M+H).

EXEMPLO 39 Síntese do composto (39):



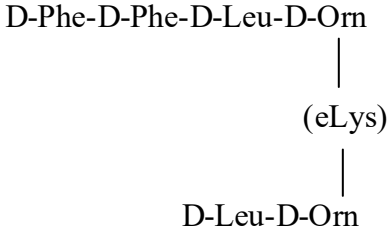
Ver esquema geral da Figura 5 para a síntese do composto (40). Os derivados de aminoácidos esados foram Boc-D-Phe-OH, Fmoc-D-Phe-OH, Fmoc-D-Leu-OH, Boc-D-Leu-OH, Fmoc-D-Orn(Boc)-OH, e Fmoc-Lys(Dde)-OH. O peptídeo de ligação a resina totalmente protegido foi sintetizado manualmente a partir de resina 2-cloreto de Clorotritila (0,3 mmol; Peptide International). A ligação do primeiro aminoácido à resina foi atingida através de tratamento com um amistura de Fmoc-Lys(Dde)-OH (0,29 g, 0,5 mmol; Novabiochem) e DIEA (0,35 mL, 2 mmol) em DCM (7 ml) à temperatura ambiente durante 4 horas. A resina foi lavada 3x com DCM/MeOH/DIEA (v/v/v = 17:2:1) e então tratada com 25% de piperidina em DMF para remoção Fmoc. O prolongamento da cadeia peptídica subsequente foi atingido por acoplamentos individuais mediados por PyBOP/DIEA com um

excesso de 3x de derivados de aminoácido Fmoc-D-Orn(Boc)-OH e Boc-D-Leu-OH. A resina peptídica resultante Boc-D-Leu-D-Orn(Boc)-Lys(Dde)-[resina 2-Cl-Trt], foi tratada com 4% de hodrazina em DMF por três vezes durante 3 min cada uma para a remoção de Dde. O prolongamento da cadeia peptídica subsequente foi atingido por acoplamentos individuais mediados por PyBOP/DIEA com um excesso de 3x de derivados de aminoácidos Fmoc-D-Orn(Boc)-OH, Fmoc-D-Leu-OH, Fmoc-D-Phe-OH, e Boc-D-Phe-OH. O grupo Fmoc foi remiovido com 25% de piperidina em DMF. O peptídeo totalmente recolhido foi clivado a partir da resina através de tratamento com um amistura de TFA/TIS/H2O (15 ml, v/v/v = 95:2.5:2.5) à temperatura ambiente durante 90 min. A resina foi filtrada e lavada com TFA. O filtrado foi evaporado *in vacuo* e o peptídeo bruto (0.3 mmol; D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[eLys(D-Orn-D-Leu-H)]-OH) foiprecipitado a partir de éter dietilo.

Para a purificação, o peptídeo bruto (0,3 mmol) foi dissolvido em 2% de ácido acético em H_2O (50 ml) e a solução foi carregada em uma coluna HPLC e purificada usando um sistema de tampão TEAP com um pH 5,2 (tampões A = TEAP 5,2 e B = 20% de TEAP 5,2 em 80% de ACN). O composto foi eluído com um gradiente linear de tampão B, 10% de B a 40% de B durante 60 min. As fracções com pureza superior a 95% foram combinadas e a solução resultante foi diluída com dois volumes de água. A solução diluída foi então carregada em uma coluna HPLC para transferência de sal e purificação adicional com um sistema de tampão TFA (tampões A = 0,1% de TFA em H_2O e B = 0,1% de TFA em 80% de ACN/20% de H_2O) e um gradiente linear de tampão B, 2% de B a 75% de B durante 25 min. As fracções com pureza

superior a 97% foram combinadas, congeladas e secas em um em um liofilizador para dar o peptídeo purificado na forma de um pó amorfo branco (396 mg). Análise HPLC: t_R = 13,63 min, pureza 99,7%, gradiente 10% de B a 30% de B durante 20 min; MS ($M+H^+$): massa iónica esperada 895,5, observada 895,6.

EXEMPLO 40: Síntese do composto (40):



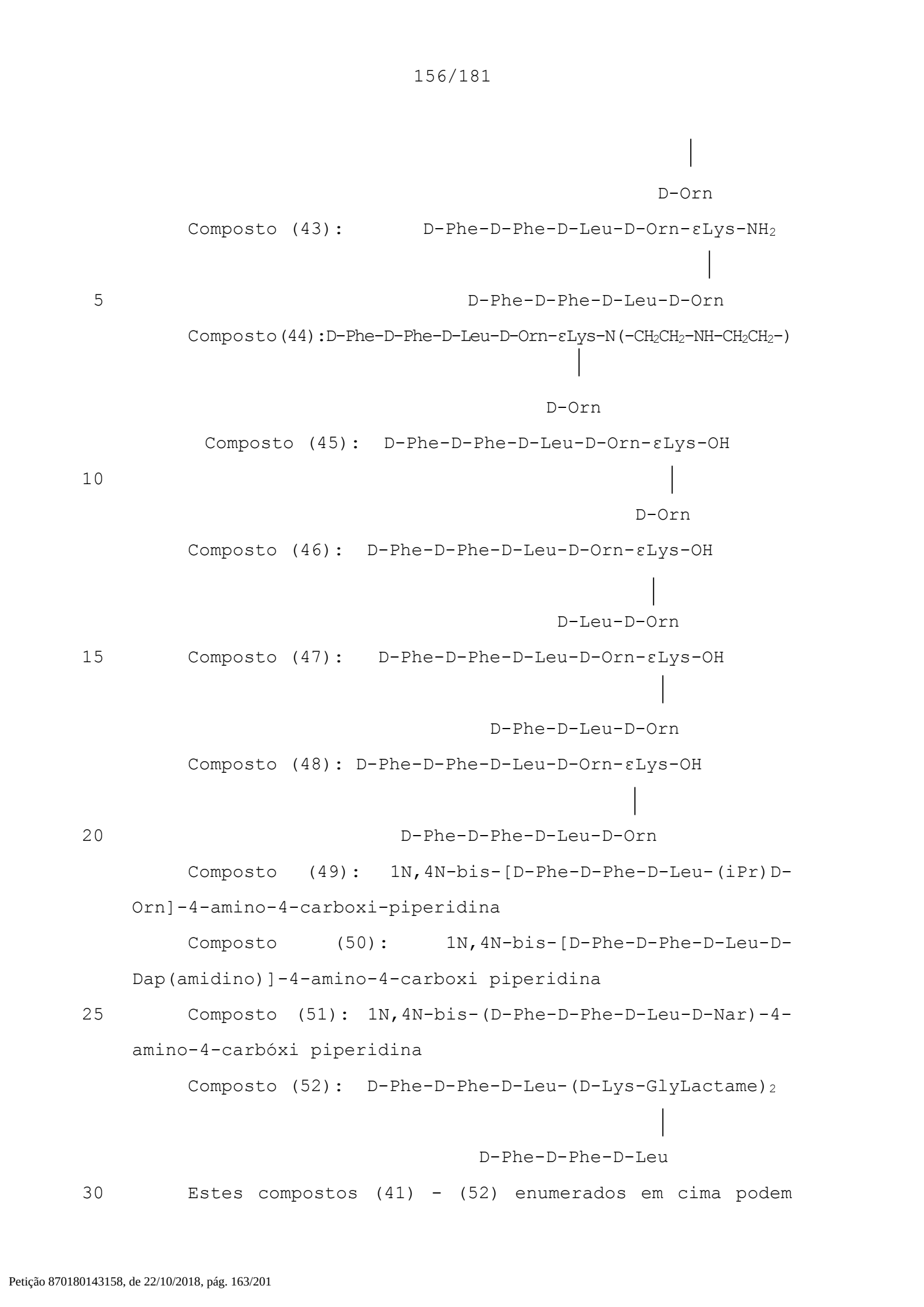
O composto foi preparado de acordo com o procedimento descrito na síntese do composto (39) em cima. A variação foi um resíduo de aminoácido adicional D-Phe no intermediário de resina peptídica, Boc-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Boc)-Lys(Dde)-[resina 2-Cl-Trt]. O intermediário de resina resin foi preparado através de ligação de Fmoc-Lys(Dde)-OH a resina de cloreto 2-Clorotritilo, seguida de remoção Fmoc e acoplamentos de derivados de aminoácidos Fmoc-D-Orn(Boc)-OH, Fmoc-D-Leu-OH, e Boc-D-Phe-OH. Peptídeo purificado final: pó amorfo, 508 mg em rendimento em uma escala de síntese de 0,3 mmol. Análise HPLC: t_R = 18,90 min, pureza 100%, gradiente 10% de B a 30% de B durante 20 min; MS ($M+H^+$): massa iónica esperada 1042,4, observada 1042,7.

EXEMPLO 41: Síntese do composto (41) - (52):

Composto (41): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-OH

D-Phe-D-Leu-D-Orn

Composto (42): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-εLys-OH



Composto (49): 1N,4N-bis-[D-Phe-D-Phe-D-Leu-(iPr)D-Orn]-4-amino-4-carboxi-piperidina

Composto (50): 1N,4N-bis-[D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Dap(amidino)]-4-amino-4-carboxi piperidina

Composto (51): 1N,4N-bis-(D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Nar)-4-amino-4-carbóxi piperidina

Estes compostos (41) - (52) enumerados em cima podem

ser sintetizados de acordo com os esquemas gerais mostrados nas Figuras 5, 6 e 7 através de métodos análogos aos usados na síntese dos compostos (39) e (40) descritos em detalhe em cima.

EXEMPLO 42 Síntese do composto (53) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[R/S-2-carboximorfolina]-OH (SEQ ID NO: 1):

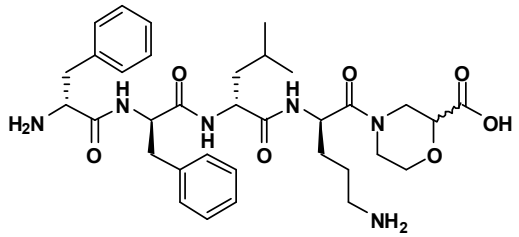
Ver esquema da Figura 8. Os derivados do aminoácido usados foram Boc-D-Phe-OH, Fmoc-D-Phe-OH, Fmoc-D-Leu-OH, Fmoc-D-Orn(Boc)-OH, e (R,S)-Fmoc-2-carboximorfolina. O peptídeo de ligação a resina totalmente protegido foi sintetizado em um SYMPHONY Multiple Synthesizer (Protein Technology Inc.) a partir de resina de cloreto 2-Clorotritila (0,4 mmol; Novabiochem). A ligação do primeiro aminoácido à resina foi atingido através de tratamento com uma mistura de (R,S)-Fmoc-2-carboximorfolina (0,18 g, 0,5 mmol; NeoMPS) e DIEA (0,35 mL, 2 mmol) em DCM (7 ml) à temperatura ambiente durante 4 horas. A resina foi lavada por 3x com DCM/MeOH/DIEA (v/v/v = 17:2:1) e 3x com DCM. O prolongamento de cadeia peptídica subsequente foi atingido por acoplamentos individuais mediados por HBTU/DIEA com um excesso de 3 vezes de derivados de aminoácidos. O grupo Fmoc foi removido em 25% de piperidina em DMF. Para aclivagem, a resina peptídica final foi tratada com uma mistura de TFA/TIS/H2O (15 ml, v/v/v = 95:2.5:2.5) à temperatura ambiente durante 90 min. A resina foi filtrada e lavada com TFA. O filtrado foi evaporado *in vacuo* e o peptídeo bruto (0.15 g, DPhe-DPhe-DLeu-DOrn-[R/S-2-carboximorfolina]-OH) foi precipitado de éter dietilo.

Para a purificação, o peptídeo bruto mencionado em

cima, (0,15 g) foi dissolvido em 0,1% de TFA em H_2O (50 ml) e a solução foi carregada em uma coluna HPLC e purificada usando um sistema de tampão TFA (tampões A = 0,1% de TFA em H_2O e B = 0,1% de TFA em 60% de ACN/40% de H_2O). O composto foi eluído com um gradiente linear de tampão B, 25% de B e 75% de B durante 30 min, t_R = 45% de B. As fracções com pureza superior a 97% foram combinadas, congeladas e secas em um liofilizador para dar o peptídeo purificado na forma de pó amorfo branco (84 mg). O composto foi uma mistura de diastereoisômeros, uma vez que não foi realizada qualquer tentativa para separar os dois isómeros DPhe-DPhe-DLeu-DOrn-[R-2-carboximorfolina]-OH e DPhe-DPhe-DLeu-DOrn-[S-2-carboximorfolina]-OH. Análise HPLC: t_R = 16,93 min (49,6%) e 17,34 min (50,4%), pureza combinada 100%, gradiente 10% de B a 30% de B durante 20 minutos.

A Figura 9 mostra o esquema químico geral usado na síntese do composto (53)

Composto (53): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[R/S-2-carboximorfolina]-OH (SEQ ID NO: 1)::

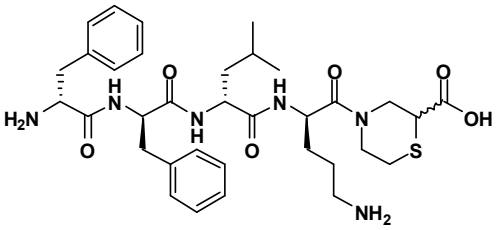


EXEMPLO 43 Síntese dos compostos (54) – (66)

Os compostos (54) – (66) podem ser preparados através de métodos sintéticos bem conhecidos. Por exemplo, o composto (40), ver em baixo, pode ser preparado de acordo com o esquema de síntese química da Figura 9.

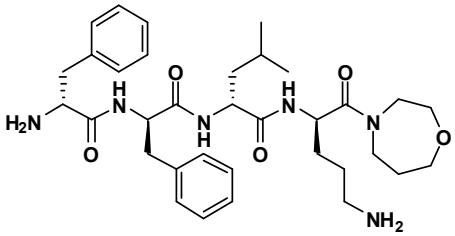
Composto (54): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[R/S-2-

carboxitiomorfolina]-OH (SEQ ID NO: 1):

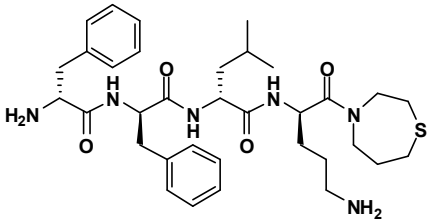


A Figura 9 mostra o esquema químico geral usado na síntese do composto (55).

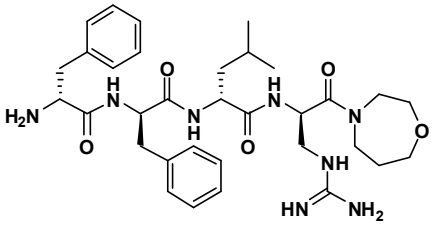
Composto (55) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-N(homomorfolina) (SEQ ID NO: 1):



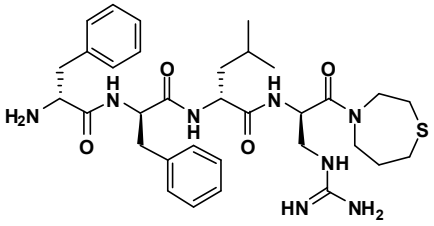
Composto (56): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-N(homotiomorfolina) (SEQ ID NO: 1):



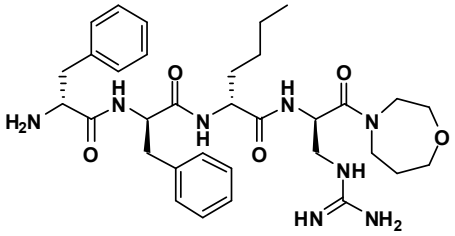
Composto (57): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Dap(amidina)-[homomorfolina amida] (SEQ ID NO: 8):



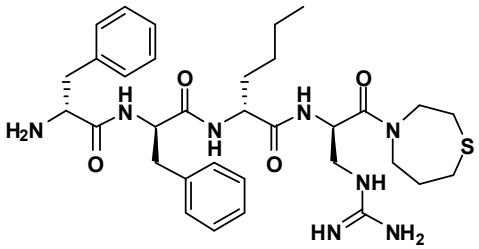
Composto (58): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Dap(amidina)-[homotiomorfolina amida] (SEQ ID NO: 8):



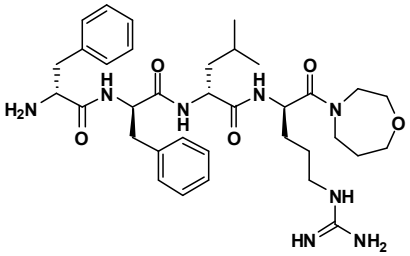
Composto (59): D-Phe-D-Phe-D-Nle-D-Dap(amidina)-[homomorfolina amida] (SEQ ID NO: 8):



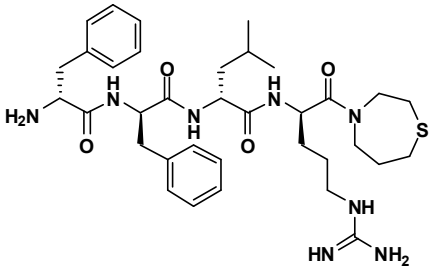
Composto (60): D-Phe-D-Phe-D-Nle-D-Dap(amidina)-[homotiomorfolina amida] (SEQ ID NO: 8):



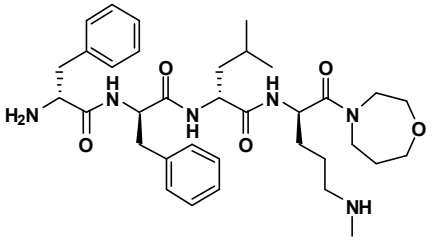
Composto (61): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Arg-[homomorfolina amida] (SEQ ID NO: 7):



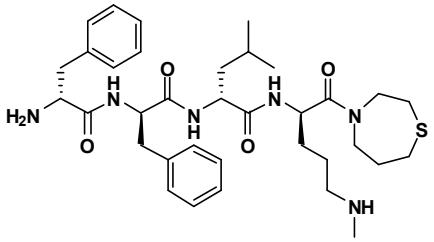
Composto (62): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Arg-[homotiopiperazina amida] (SEQ ID NO: 7):



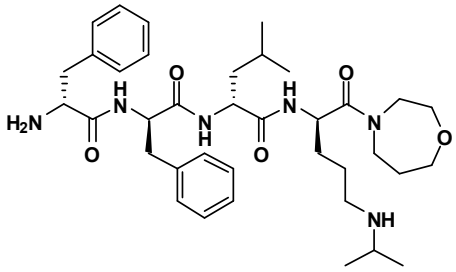
Composto (63): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Me)-[homomorfolina amida] (SEQ ID NO: 4):



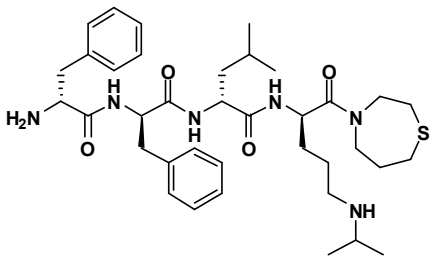
Composto (64): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(Me)-[homotiomorfolina amida] (SEQ ID NO: 4):



Composto (65): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(iPr)-[homomorfolina amida] (SEQ ID NO: 3):



Composto (66) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn(iPr)-[homotiomorfolina amida] (SEQ ID NO: 3):



EXEMPLO 44: Inibição da produção de AMPc pelo estímulo do receptor kappa opióide endógeno de camundongo em células R1.G1

A potência da amidas peptídicas sintéticas como agonistas do receptor kappa opióide foi determinada medindo a inibição da atividade adenilato ciclase estimulada por forscolina. Células R1.G1 (uma linhagem celular de timoma de camundongo que expressa apenas o receptor kappa opióide e nenhum outro subtipo de receptor opióide) foram primeiro expostas a forscolina (para induzir AMPc) mais a amida peptídica sintética na concentração de teste. Depois da

incubação, o nível de AMPc nas células R1.G1 desafiadas foi determinado utilizando um imunoensaio AMPc à base de transferência ressonante de energia de fluorescência resolvida no tempo (TR-FRET) (LANCE™, Perkin Elmer). O método detalhado está descrito adiante:

Células de camundongo R1.G1 (ATCC, Manassas, VA) foram desenvolvidas em suspensão em DMEM com alto teor de glicose (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, Cellgro, Herndon, VA) contendo 10% de soro de cavalo e 2% de glutaMax (Invitrogen, Carlsbad. CA) sem antibióticos adicionados. No dia do experimento, as células foram centrifugadas a 1.000 rpm por 5 minutos à temperatura ambiente e depois lavadas uma vez com HBSS (Solução Salina Tamponada com HEPES, Invitrogen, Carlsbad, CA). As células foram então centrifugadas uma vez mais e ressuspensas em tampão de estímulo (HBSS com 0,05% de FAF-BSA (Albumina de soro bovino livre de ácido graxo, Roche Applied Science, Indianapolis, IN), HEPES 5 mM) a 2 milhões de células por mL. O anticorpo fornecido com o kit de imunoensaio AMPc LANCE™ foi então adicionado às células de acordo com as instruções do fabricante e 12.000 células por poço foram então adicionadas aos poços contendo forscolina a uma concentração final fixa predeterminada (tipicamente cerca de 2,5 uM) e a quantidade previamente determinada da amida peptídica sintética a ser testada.

As amidas peptídicas sintéticas foram testadas em uma variedade de concentrações para determinar a potência. As células foram incubadas com a amida peptídica sintética mais forscolina durante cerca de 20 minutos à temperatura ambiente. Depois da incubação as células são lisadas pela

adição de 12 uL de mistura de detecção conforme fornecido com o kit LANCE™, seguido por incubação durante uma hora à temperatura ambiente. A fluorescência resolvida no tempo foi lida utilizando um filtro de excitação a 330 - 380 nm, um filtro de emissão a 665 nm, espelho dicrôico 380, e Z = 1 mm. Uma curva padrão para a concentração de AMPc neste ensaio permitiu a determinação da quantidade de AMPc presente em cada poço. Foi produzida uma curva traçando um gráfico da concentração da amida peptídica sintética em contraste com os níveis de AMPc nas células de teste e submetida a regressão não linear usando um algoritmo de ajuste de curva de quatro parâmetros para calcular o valor de EC_{50}, a concentração da amida peptídica sintética necessária para produzir 50% da supressão máxima da produção de AMPc pela amida peptídica sintética.

EXEMPLO 45: Confirmação da potência das amidas peptídicas sintéticas sobre o receptor kappa opióide humano

Células de Rim Embriônicas Humanas (células HEK-293, ATCC, Manassas, VA) em placas de 100 mm foram transfetadas com o reagente de transfeção, Fugene6 (Roche Molecular Biochemicals) e construções de ADN em uma proporção de 3,3 para 1. As construções de ADN usadas nas transfecções foram como a seguir: (i) um vetor de expressão para o receptor kappa opióide humano, (ii) um vetor de expressão para uma proteína G quimérica humana e (iii) uma construção repórter luciferase em que a expressão da luciferase é induzida pelo fator de transcrição sensível ao cálcio NFAT.

O vetor de expressão contendo o receptor kappa opióide humano foi construído como a seguir: O gene OPRK1 humano foi clonado de ARN total de gânglios da raiz dorsal humanos

por PCR e o gene foi inserido no vetor de expressão pcDNA3 (Invitrogen, Carlsbad, CA) para construir o vetor de expressão mamífero OPRK1 humano pcDNA3-hOPRK1.

Para construir o vetor de expressão da proteína G quimérica humana, a proteína G quimérica Gαqi5 foi primeiro construída substituindo os últimos 5 aminoácidos da Gαq humana com a seqüência dos últimos 5 aminoácidos de Gαi por PCR. Uma segunda mutação foi introduzida a este gene Gαqi5 humano na posição 66 do aminoácido para substituir a glicina (G) com um ácido aspártico (D) por mutagênese sítio-dirigida. Este gene foi, então, subclonado em um vetor de expressão mamífero pcDNA5/FRT (Invitrogen) para produzir o vetor de expressão da proteína G quimérica humana, pcDNA5/FRT-hGNAq-G66D-i5.

Para preparar a construção do gene repórter luciferase, elementos de resposta sintética incluindo 3 cópias de TRE (elementos sensíveis a 12-*O*-tetradecanoilforbol-13-acetato) e 3 cópias de NFAT (fator nuclear de células T ativadas) foram incorporadas a montante de um promotor mínimo c-fos. Este elemento sensível e cartucho promotor foi então inserido em um vetor do gene repórter luciferase pGL3-basic (Promega) para construir a construções do plasmídeo do gene repórter luciferase pGL3b-3TRE-3NFAT-cfos-Luc.

A mistura de transfecção de cada placa de células incluía 6 microgramas de pcDNA3-hOPRK1, 6 microgramas de pcDNA5/FRT-hGNAq-G66D-i5 e 0,6 microgramas de pGL3b-3TRE-3NFAT-cfos-Luc. As células foram incubadas por um dia a 37 °C em uma atmosfera umidificada contendo 5% de CO_2 depois da transfecção e plaqueadas em placas opacas de 96 poços a

45.000 células por poço em 100 microlitros de meio. No dia seguinte, os compostos de teste e de referência foram adicionados às células em poços individuais. Uma variedade de concentrações dos compostos de teste foi adicionada a um conjunto de poços e uma variedade similar de concentrações de compostos de referência foi adicionada a um conjunto de poços de controle. As células foram, então, incubadas por 5 horas a 37 °C. No final da incubação, as células foram lisadas pela adição de 100 microlitros de mistura de detecção contendo substrato luciferase (AMP (22ug/mL), ATP (1,1mg/mL), ditiotreitol (3,85 mg/mL), HEPES (concentração final 50 mM), EDTA (0,2 mg/mL), Triton N-101 (4 uL/mL), ácido fenilacético (45 ug/mL), ácido oxálico (8,5 ug/mL), luciferina (28 ug/mL), pH 7,8). As placas foram vedadas e a luminescência foi lida em 30 minutos. Foi traçado um gráfico da concentração de cada um dos compostos em contraste com as contagens de luminescência por segundo (cps) e as curvas de resposta resultantes foram submetidas a regressão não linear usando um algoritmo de ajuste de curva de quatro parâmetros para calcular o valor de EC_{50} (a concentração de composto necessária para produzir 50% do aumento máximo na atividade da luciferase) e a eficácia (o percentual de ativação máximo para a indução total por qualquer um dos agonistas receptores kappa opióides conhecidos, tais como asimadolina (EMD-61753: Ver Joshi *et al.*, 2000, *J. Neurosci.* 20(15):5874-9), ou U-69593: Ver Heidbreder *et al.*, 1999, *Brain Res.* 616(1-2):335-8).

A Tabela II apresenta os valores de EC_{50} obtidos do ensaio de inibição de AMPc com os compostos exemplificados sintetizados de acordo com a presente invenção e testados

em receptor kappa opióide de camundongo (mKOR) com replicação confirmatória de resultados no receptor kappa opióide humano (hKOR) por meio dos métodos acima descritos.

As amidas peptídicas sintéticas da invenção foram testadas em um ensaio similar quanto à potência do receptor mu opióide. Cada composto testado tinha um valor de EC_{50} para o receptor mu opióide humano superior ou igual a 1 uM.

Tabela II Actividades de Agonista Kappa Opióide

COMPOSTO N°	**mKOR EC_{50} (nM) Eficácia (%)**		**hKOR EC_{50} (nM) Eficácia(%)**	
1	0,403	98	0,49	102
2	0,08	97	0,13	99
3	9,05	88	nd	nd
4	50,56	87	nd	nd
5	3,01	96	nd	nd
6	0,041	100	0,17	107
7	0,028	102	0,14	104
8	0,197	102	0,16	93
9	0,088	92	0,39	134
10	0,085	99	0,12	92
11	0,08	100	0,12	90
12	0,092	100	0,30	99
13	0,115	96	0,24	96
14	0,022	96	0,21	105
15	1,966	93	nd	nd
16	0,030	99	0,12	90
17	0,056	99	0,12	90
18	0,049	99	0,14	99
19	0,035	101	0,21	93
20	0,193	92	0,15	97
21	0,078	97	nd	nd

nd – não determinado

Tabela II Actividades de Agonista Kappa Opióide (Continuação)

	mKOR	**hKOR**

COMPOSTO	EC_{50} (nM) Eficácia (%)		EC_{50} (nM) Eficácia (%)	
22	0,081	97	nd	nd
23	0,045	95	nd	nd
24	0,033	96	nd	nd
25	0,1472	85	0,021	98
26	0,12 (avg.)	78	0,0073	98
27	0,0005	85	0,0293	100
28	0,0471	89	0,0059	100
29	0,084	85	0,031	92
30	0,1931	86	0,0194	101
31	0,2456	82	0,0073	100
32	0,530	87	0,011	101
33	0,3476	92	0,012	94
34	0,1916	89	0,0306	103
35	0,4849	85	0,0667	95
36	0,6327	89	0,0034	99
37	0,072	87	0,0063	99
38	0,1894	87	0,0165	100
39	67,3	35	nd	nd
40	1,07	96	0,26	83
41	0,05	100	0,2	89
42	0,24	97	0,27	95

nd – não determinado

Tabela II Actividades de Agonista Kappa Opióide (Continuação)

COMPOS	mKOR EC_{50} (nM)	hKOR EC_{50} (nM)

TO	Eficácia(%)		Eficácia (%)	
43	0,08	101	0,13	94
44	1,30	91	0,25	93
45	0,05	96	0,28	96
46	0,12	95	nd	nd
47	0,05	91	nd	nd
48	0,34	85	nd	nd
49	1,83	50	nd	nd
50	56,66	77	nd	nd
51	95,78	60	nd	nd
52	13,81	76	nd	nd
53	0,178	100	0,16	100

nd – não determinado

A amida peptídica sintética (53) foi testada em um ensaio semelhante para efeitos de potência no receptor opióide um humano. O composto tinha um EC_{50} para o receptor opióide um humano superior ou igual a 1 uM.

EXEMPLO 46: Permeabilidade da membrana das amidas peptídicas sintéticas

A linhagem celular Caco-2 é uma linhagem celular de adenocarcinoma do cólon humano que diferencia em cultura e é utilizada como modelo do revestimento epitelial do intestino delgado humano. Os compostos da presente invenção foram testados em um ensaio de permeabilidade de membrana utilizando o subclone TC7 de Caco-2 em um ensaio convencional (Cerep, Seattle, WA). Em resumo, o coeficiente

de permeabilidade aparente (P_{app}) foi determinado na direção apical-para-basolateral (A-B) ao largo das monocamadas de células cultivadas em filtros de membrana de policarbonato de 96 poços.

Por exemplo, os compostos podem ser testados a uma concentração de, por exemplo, 10 uM ao pH 6,5 em 1% de DMSO, com o lado do recipiente mantido ao pH 7,4. A placa de ensaio é incubada durante 60 minutos a 37 °C com suave agitação. Amostras foram tomadas no tempo zero no lado do doador e no final do período de incubação no lado do doador e no lado do recipiente. As amostras são de preferência analisadas por HPLC-MS/MS. O valor de P_{app} (expresso como 10^{-6} cm/seg) foi então calculado com base na taxa de aparecimento do composto no lado do recipiente. Os compostos de referência tais como labetalol, propranolol, ranitidina e vinblastina podem ser testados simultaneamente para assegurar a validade do ensaio.

EXEMPLO 47: Inibição de citocromo P_{450} oxidases

A inibição das isozimas de citocromo P_{450} oxidase CYP1A, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 e CYP3A4 pelos composto (17) da amida peptídica sintética da invenção foi determinada de acordo com os seguintes métodos realizados por Cerep (Seattle, WA):

No ensaio do citocromo P_{450} CYP1A, microssomas de fígado humano (0,2 mg/mL de proteína) foram incubados por 15 minutos a 37 °C com 10 uM do composto de teste, 1 uM de etoxiresorufina, 1,3 mM de NADP, 3,3 mM de glicose-6-fosfate e 0,4 U/mL de glicose-6-fosfato desidrogenase. Na ausência do composto de teste a etoxiresorufina adicionada como substrato é oxidada em resorufina e na presença de um

inibidor da isozima CYP, a quantidade de resorufina produzida é reduzida. Utilizou-se furafilina como inibidor de referência. A mistura de reação do ensaio do citocromo P_{450} CYP2C9 contendo microssomas de fígado humano (0,2 mg/mL de proteína) foi incubada por 15 minutos a 37 °C com 10 uM do composto de teste, 10 uM de tolbutamida, 1,3 mM de NADP, 3,3 mM de glicose-6-fosfato e 0,4 U/mL de glicose-6-fosfato desidrogenase. Na ausência do composto de teste a tolbutamida é oxidada em 4-hidroxitolbutamida, e na presença de um inibidor da isozima CYP, a quantidade de 4-hidroxitolbutamida produzida é reduzida. Sulfafenazol (IC_{50}: 0,35 uM) foi o inibidor de referência. Para o ensaio do citocromo P_{450} CYP2C19, microssomas de fígado humano (0,2 mg/mL de proteína) foram incubados por 15 minutos a 37 °C com 10 uM do composto de teste, 10 uM de omeprazol, 1,3 mM de NADP, 3,3 mM de glicose-6-fosfato e 0,4 U/mL de glicose-6-fosfato desidrogenase. Na ausência do composto de teste, o omeprazol é oxidado em 5-hidroxi-omeprazol, e na presença de um inibidor da isozima CYP, a quantidade de 4-hidroxi-omeprazol produzida é reduzida. Oxibutinina (IC_{50}: 7,1 uM) foi o inibidor de referência.

A reação do ensaio do citocromo P_{450} CYP2D6 contendo microssomas de fígado humano (0,2 mg/mL de proteína) foi incubada por 15 minutos a 37 °C com 10 uM do composto de teste, 5 uM de dextrometorfano, 1,3 mM de NADP, 3,3 mM de glicose-6-fosfato e 0,4 U/mL de glicose-6-fosfato desidrogenase. Na ausência do composto de teste, o dextrometorfano é oxidado e na presença de um inibidor da isozima CYP, a quantidade de produto de oxidação é reduzida. Quinidina (IC_{50}: 0,093 uM) foi o inibidor de

referência. O citocromo humano recombinante P_{450} CYP3A4 (20 pmol/mL) foi incubado durante 20 minutos a 37°C com um composto de teste com 10 uM do composto de teste, 5 uM de midazolam, 1,3 mM NADP, 3,3 mM glicose-6-fosfato e 0,4 U/ml glicose-6-fosfato desidrogenase. Na ausência do composto de teste, o midazolam é oxidado e na presença de um inibidor da isozima recombinante a quantidade de produto de oxidação é reduzida. O produto da oxidação é determinado a partir da área sob a curva depois de separação HPLC-MS/MS. Cetoconazole (IC_{50}: 0,55 uM) foi o inibidor de referência. Em cada ensaio a percentagem de inibição do citocromo P_{450} CYP da isozima P_{450} foi determinada como cem vezes a proporção de (1-a quantidade do produto na amostra na presença do composto de teste) dividida pela quantidade de produto na amostra contendo isozima não tratada. Os resultados dos ensaios em duplicata (expressos como percentagem da atividade de CYP restante) são apresentados na Tabela III.

Tabela III Percentagem da Atividade das Isozimas do Citocromo P_{450} CYP

Composto	**(17)**	
Isozima P_{450}	**Exp 1**	**Exp 2**
CYP1A	97,1	95,8
CYP2C9	99,2	98,2
CYP2C19	94,1	97,8
CYP2D6	98,4	98,2
CYP3A4	94,7	95,9

EXEMPLO 48: Farmacocinética em macacos cynomolgus

Um bolus único do composto da amida peptídica

sintética foi administrado via injeção intravenosa em macacos cynomolgus (n= 4, machos, peso corporal 3-5 kg, SNBL, USA, Ltd, WA) e amostras de plasma foram tomadas aos 5, 10, 15, 20, 30, 60, 90, 120 e 180 minutos após a injeção. A "meia vida" foi determinada como o tempo necessário para a concentração no plasma cair para 50% depois da concentração máxima no plasma ter sido alcançada. Os macacos cynomolgus foram injectados com uma dose individual intravenosa de composto (19) de amida peptídica sintéctica de acordo com o protocolo detalhado no Exemplo 19, e a meia vida da concentração de plasma foi determinada. Os resultados são mostrados na tabela V.

Tabela V

Meia vida *In vivo* do composto (19)* de amida peptídica sintética

	Macacos Cynomolgus
Modo de administração	intravenoso
Meia vida (min)	69

*Composto (19) é: D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(N-metil)amidina-homopiperazina amida] (SEQ ID NO: 1).

EXEMPLO 49: Teste de contorções induzido por ácido acético em camundongos

Este teste identifica os compostos que exibem atividade analgésica contra a dor visceral ou dor associada à ativação de nociceptores sensíveis a um pH baixo [ver Barber e Gottschlich (1986) *Med. Res. Rev.* 12: 525-562; Ramabadran e Bansinath (1986) *Pharm. Res.* 3: 263-270]. A administração intraperitoneal de uma solução diluída de ácido acético provoca um comportamento de contorções em

camundongos. Uma contorção é definida como uma contração dos músculos abdominais acompanhada por uma extensão dos membros anteriores e alongamento do corpo. O número de contorções observadas na presença e na ausência dos compostos de teste é contado para determinar a atividade analgésica dos compostos.

A cada dia que se realizou um teste de contorções, um grupo de camundongos de controle com veículo (n=6-8) que foi tratado de forma idêntica ao grupo de teste (exceto por o composto de teste ter sido omitido da dose da injeção) foi sempre incluído e o número total médio de contorções neste grupo foi usado como o ponto de referência absoluto que define 0% de diminuição da percepção de dor para todos os outros camundongos recebendo um composto de teste naquele dia. Especificamente, o número total de contorções de cada camundongo recebendo o composto de teste foi convertido na % da diminuição da percepção da dor de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ de diminuição da percepção da dor} = \frac{(W_V - W_C)}{W_V} \times 100$$

Onde W_V é o número médio de contorções no grupo tratado com veículo e W_C é o número de contorções no camundongo tratado com o composto. Os dados foram analisados utilizando a equação de Hill de 2 parâmetros (também conhecida como modelo Emax), onde se presume que Emax seja 100% de antinocicepção (isto é, sem contorções durante o período de 15 minutos após a administração do ácido acético).

Camundongos ICR, machos, 23-37 gramas de peso, foram pesados e colocados em câmaras de observação individuais

(de um modo geral, uma proveta de vidro de 4000 mL) com uma fina camada de cama de palha SANI-CHIPS para roedores no fundo. Para determinar a atividade e a potência dos compostos de teste, doses diferentes de solução do composto ou veículo foram injetadas por via subcutânea na parte posterior do pescoço 15 ou 180 minutos antes da administração da solução de ácido acético. Depois da administração do composto ou controle com veículo, os camundongos foram levados de volta às suas câmaras de observação individuais esperando a administração por via intraperitoneal da solução de ácido acético. Quinze minutos ou três horas mais tarde, de acordo com o intervalo de tempo definido em cada experimento entre a administração do composto e a injeção de ácido acético, uma dose correspondente a 10 mL/kg de uma solução 0,6% (v/v) de ácido acético foi então injetada no quadrante inferior direito do abdômen. Imediatamente depois da injeção, o camundongo foi levado de volta à sua câmara de observação e o registro dos números de contorções começou imediatamente. O número de contorções foi contado durante um período de 15 minutos a partir do momento da injeção de ácido acético, os dados sendo colhidos durante três períodos de tempo separados de 5 minutos (0-5 min, 5-10 min e 10-15 min).

Os dados foram registrados como valores de ED_{50}, e coeficiente de Hill. O valor de ED_{50} é expresso como média ± erro padrão da média (sem) (ED_{50} +/- sem) ou como a média geométrica com 95% de intervalos de confiança (95% de CI) usando escores T. O coeficiente de Hill é expresso como a média aritmética ± sem calculada a partir dos valores obtidos dos animais. Os resultados estão apresentados na

Figura 10.

EXEMPLO 50: Inibição da locomoção em camundongos para medir a sedação por compostos depois de injeção subcutânea

Os compostos que exibem atividade sedativa inibem a locomoção espontânea em camundongos em uma câmara de teste. Para determinar o efeito sedativo potencial dos compostos de teste, a extensão da redução de locomoção depois da administração do composto de teste ou controle com veículo pode ser determinada e comparada com um aparelho especializado concebido para este fim (Opto-Varimex Activity Meter). No início de cada experimento, cada camundongo foi pesado e examinado para determinar boa saúde. Para determinar a atividade e a potência dos compostos, doses diferentes da solução do composto ou veículo foram injetadas por via subcutânea 15 ou 180 minutos antes do início da coleta de dados. A injeção subcutânea foi realizada na parte posterior do pescoço do camundongo, pinçada em forma de “tenda” para permitir acesso apropriado para a agulha da seringa. Depois da injeção, cada animal foi colocado individualmente em caixas de Plexiglas (43 cm x 43 cm) no interior do aparelho Opto-Varimex Activity Meter. Antes do animal ser colocado no aparelho, uma fina camada de cama de palha SANI-CHIPS para roedores foi colocada no fundo da caixa de Plexiglas a fim de proporcionar um ambiente confortável. Cada aparelho Opto-Varimex Activity Meter foi, então, ligado e teve início a aquisição de dados pelo Sistema ATM3 Auto-Track. Os dados foram processados e os resultados expressos da mesma maneira descrita para os dados do ensaio de convulsões em cima.

EXEMPLO 51: Efeito Analgésico *vs.* Efeito Sedativo da Amida Peptídica Sintética (17) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(4,5-diidro-1H-imidazol-2-il)homopiperazina amida] (SEQ ID NO: 1).

A inibição de contorções induzidaa por ácido acético é uma indicação de um efeito analgésico (também chamado um efeito antinociceptivo). De modo semelhante, uma redução em locomoção pode ser utilizada como uma medida do seu efeito sedativo genérico. O valor de ED_{50} determinado no ensaio de convulções induzido por ácido acético em camundongos ICR foi de 74 ug/kg [com um intervalo de confiança de 95% de 49-99 ug/kg] quando a amida peptídica sintética (17) foi administrada por via subcutânea. O valor de ED_{50} determinado no ensaio de inibição de locomoção foi de 3172 ug/kg [com um intervalo de confiança de 95% de 1810-4534 ug/kg] para a mesma amida peptídica sintética administrada por via subcutânea. Ver a Figura 10. A proporção terapêutica do efeito analgésico em relação ao efeito sedativo é a quantidade mais alta do valor de ED_{50} necessária para obter um efeito sedativo em comparação com o valor de ED_{50} necessário para obter um efeito analgésico. Assim, o composto (17) exibe uma proporção de quantidade (3172/74), isto é, 42,86 vezes. Deste modo, a proporção terapêutica é de aproximadamente 43 vezes para o composto (17).

EXEMPLO 52: Farmacocinética do Composto de Amida Peptídica Sintética em Macacos

Amostras foram administradas a macacos machos, *Macaca fascicularis* (SNBL USA, Ltd., Everett, WA, macacos cynomolgus criados para este fim, estreitamente

relacionados aos seres humanos, tanto filogeneticamente como fisiologicamente), com idades de 3-7 anos e pesando 3-5 quilogramas. As amostras foram administradas em uma veia superficial do braço ou perna (por exemplo, braquial ou artéria safena) em 0,9% de solução salina para injeção, USP (Baxter Healthcare, Deerfield, Ill.) como a seguir: Uma amostra contendo 0,4 mg do composto (19) da presente invenção e 0,4 mg de cada um de outros nove compostos (para uma dose total de 4 mg), foi preparada em 2 mL a 0,9% de solução salina para injeção, fornecendo uma concentração de 0,2 mg/mL de cada um dos dez compostos. Exactamente 2 mL foram administrados como um bolus intravenoso ao animal de teste, resultando em uma dose total de aproximadamente 0,8 a 1,3 mg/kg, dependendo do peso corporal do animal. A injecção intravenosa foi seguida por um jacto de 1 mL com 0,9% de solução de salina para injecção. Foram colhidas amostras de sangue de 0,6 mL por punção venosa de uma veia periférica aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos depois da dose da injeção e, depois, às 1, 2 e 4 horas. Cada amostra foi colocada em um tubo de ensaio pré-refrigerado contendo lítio heparina e imediatamente refrigerado em gelo. O plasma foi colhido depois de centrifugação a 2.000 g durante quinze minutos a 2-8 °C. As camadas de plasma de cada amostra foram transferidas para tubos de polipropileno e armazenadas congeladas a -60 °C ou menos, até serem testadas. Alíquotas de cem microlitros de plasma degelado foram repicadas com 5 microlitros de uma solução de 400 ng/mL de um padrão interno apropriado (neste caso um composto de amina peptídica sintética padrão conhecido) em 0,1% de TFA e as proteínas foram precipitadas com 100

microlitros de 0,1% de TFA em acetonitrila. As amostras foram centrifugadas a 1000 x g por 5 minutos e os sobrenadantes foram analisados por LC-MS. A análise por LC-MS foi realizada em um espectrômetro de massa Finnigan LCQ Deca ligado por meio de interface com um sistema Surveyor HPLC (Thermo Electron Corporation, Waltham, Massachusetts, EUA). A análise HPLC foi realizada em colunas de fase reversa 2,1 x 150 mm C18 com um gradiente de 0,01% de TFA em acetonitrila em 0,01% de TFA em água. A detecção de massa foi realizada no modo de monitoração de reação selecionada (SRM). A quantificação foi realizada contra uma curva de calibração do analito em plasma branco de macaco Cynomolgus usando o mesmo material padrão interno. Os dados de análise e extração dos parâmetros farmacocinéticos foram realizados com o programa PK Solutions 2.0 (Summit Research Services, Ashland, Ohio, EUA). Os resultados do composto (19): D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Orn-[4-(N-metil)amidino-homopiperazina amida] (SEQ ID NO: 1) são mostrados na Figura 11.

EXEMPLO 53: Analgesia Ocular Induzida por Amidas Peptídicas Sintéticas da Invenção

A analgesia ocular induzida por amidas peptídicas sintéticas da invenção pode ser avaliada em testes in vivo em colehos conforme se segue: 50 microlitros cada em solução salina fisiológica, à concentração a ser testada no olho direito de coelhos da estirpe Nova Zelândia albinos, naïve, em um período de vinte minutos. Quinze minutos depois da última instilação do composto de teste, cada animal foi administrado com uma única instilação de 30 microlitros de 10 mg/mL de capsaicina (33 mM) no olho

tratado. A capsaicina é conhecida por induzir dor corneana. A dor corneana foi avaliada por medições da abertura palpebral medida em milímetros usando uma régua transparente sobre os olhos tratados e não tratados. Neste modelo animal, a redução do tamanho da abertura palpebral depois da instilação de capsaicina é uma indicação do grau de dor ocular. Deste modo, qualquer restauração observada em tamanho da abertura palpebral depois do tratamento com o composto de teste é tomada como uma medida de alívio da dor ocular induzida por capsaicina.

Estas avaliações foram realizadas antes do tratamento com o composto de teste (pré-teste), imediatamente antes da instilação de capsaicina e, depois, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 e 60 minutos depois da instilação de capsaicina. A média das medições da abertura palpebral pode ser expressa como percentagem de controlo ao longo de períodos de 10-30 minutos depois da instilação de capsaicina em coelhos pré-instilados com um agonista kappa opióide da invenção e depois da pré-instilação com uma concentração padrão de um composto de controle tal como diltiazem, um bloqueador do canal de cálcio, a benzotiazepina. Ver Gonzalez *et al.*, (1993) *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 34: 3329-3335.

EXEMPLO 54: Dose Resposta de Amidas peptídicas Sintéticas da Invenção em Dor Ocular Induzida por Capsaicina

Foi avaliada a analgesia ocular induzida por amidas peptídicas sintéticas a ser testadas em várias concentrações no olho direto de coelhos da estirpe Nova Zelândia albinos, naïve, e avaliadas comforme o descrito no

Exemplo 31 em cima. Os resultados foram comparados com a analgesia induzida por 10 mg/mL de morfina (um agonista opióide não seletivo) e com 10 mM de diltiazem como um controle no mesmo experimento e nas mesmas condições.

As descrições de cada patente dos EUA e pedidos de publicados, e textos das referências de literatura citados nesta descrição são aqui incorporadas a título de referência na sua totalidade. No caso de qualquer definição ou descrição encontrada em uma ou mais daquelas referências se encontrar em conflito com a definição correspondente ou presente descrição, então a definição ou descrição divulgadas no presente documento é intencionada.

Os exemplos fornecidos no presente documento são para efeitos de ilustração apenas e não devem ser interpretados como limitativos do âmbito da invenção, cujo âmbito total será de imediato reconhecido pelos peritos na arte.

REIVINDICAÇÕES

1. Amida peptídica tendo a fórmula:

$$Xaa_1\text{-}Xaa_2\text{-}Xaa_3\text{-}(Xaa_4)_p$$
$$|$$
$$G$$

ou um sal, hidrato, solvato, hidrato de sal ácido, N-óxido ou forma cristalina isomórfica farmaceuticamente aceitável da mesma,

caracterizada pelo fato de

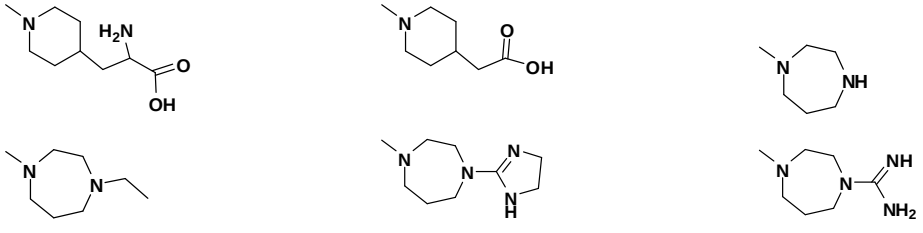
Xaa_1 ser escolhido do grupo consistindo em (A)(A')D-Phe, (α-Me)D-Phe, D-Tyr, D-Tic, D-fenilglicina, D-neopentilglicina, D-fenilglicina, D-homofenilalanina, e β-(E)D-Ala, em que cada (A) e cada (A') são substituintes de anel fenila e independentemente escolhidos do grupo consistindo em -H, -F, -Cl, $-NO_2$, $-CH_3$, $-CF_3$, -CN, $-CONH_2$, e em que cada (E) é independentemente escolhido do grupo consistindo em ciclobutila, ciclopentila, ciclohexila, piridila, tienila e tiazolila;

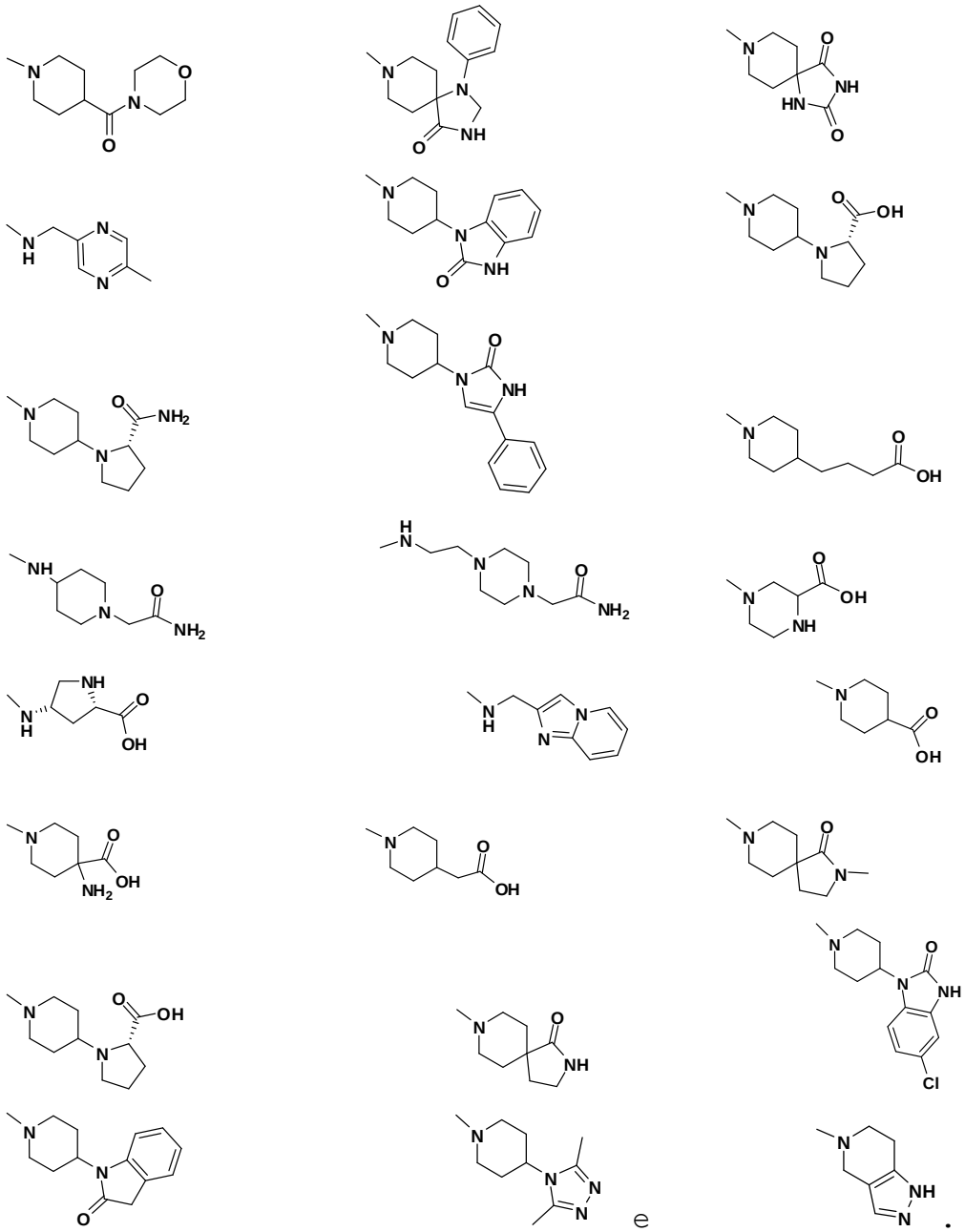
Xaa_2 ser escolhido do grupo consistindo em (A)(A')D-Phe,(α-Me)D-Phe, D-1Nal, D-2Nal, D-Tyr, (E)D-Ala, e D-Trp;

Xaa_3-Xaa_4- é escolhido do grupo consistindo em D-Nle-$(B)_2$D-Arg-, D-Leu-δ-$(B)_2$α-(B')D-Orn-, e (α-Me)D-Leu-δ$(B)_2$-α(B')D-Orn-;

G é

Selecionado do grupo que consiste em:





em que p é 1; e

em que cada (B) é independentemente selecionado de -H ou C_1-C_4 alquila e (B') é -H ou (α-Me).

2. Composição farmacêutica, **caracterizada** pelo fato de que compreende uma quantidade eficaz de amida peptídica sintética como definida na reivindicação 1 e um excipiente ou veículo farmaceuticamente aceitável.

3. Uso da amida peptídica sintética como definida na reivindicação 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato de que é para

a fabricação de um medicamento para o tratamento ou prevenção de um estado patológico ou doença associada ao receptor kappa opióide em um mamífero, em que o estado patológico ou doença associada ao receptor kappa opióide é selecionado do grupo que consiste em dor, pancreatite e prurido.

4. Uso, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizado** pelo fato da dor ser selecionada do grupo que consiste em dor neuropática, dor somática, dor visceral e dor cutânea.

5. Uso, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizado** pelo fato da dor ser selecionada do grupo que consiste em dor artrítica, dor por cálculos no rim, cólicas uterinas, dismenorréia, endometriose, dispepsia, dor pós-cirúrgica, dor pós procedimento médico, dor ocular, dor otítica, dor incidental do câncer e dor associada a um distúrbio GI.

6. Uso, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** pelo fato da cirurgia ser laparoscopia pélvica, ligação tubal, histerectomia e colecistectomia.

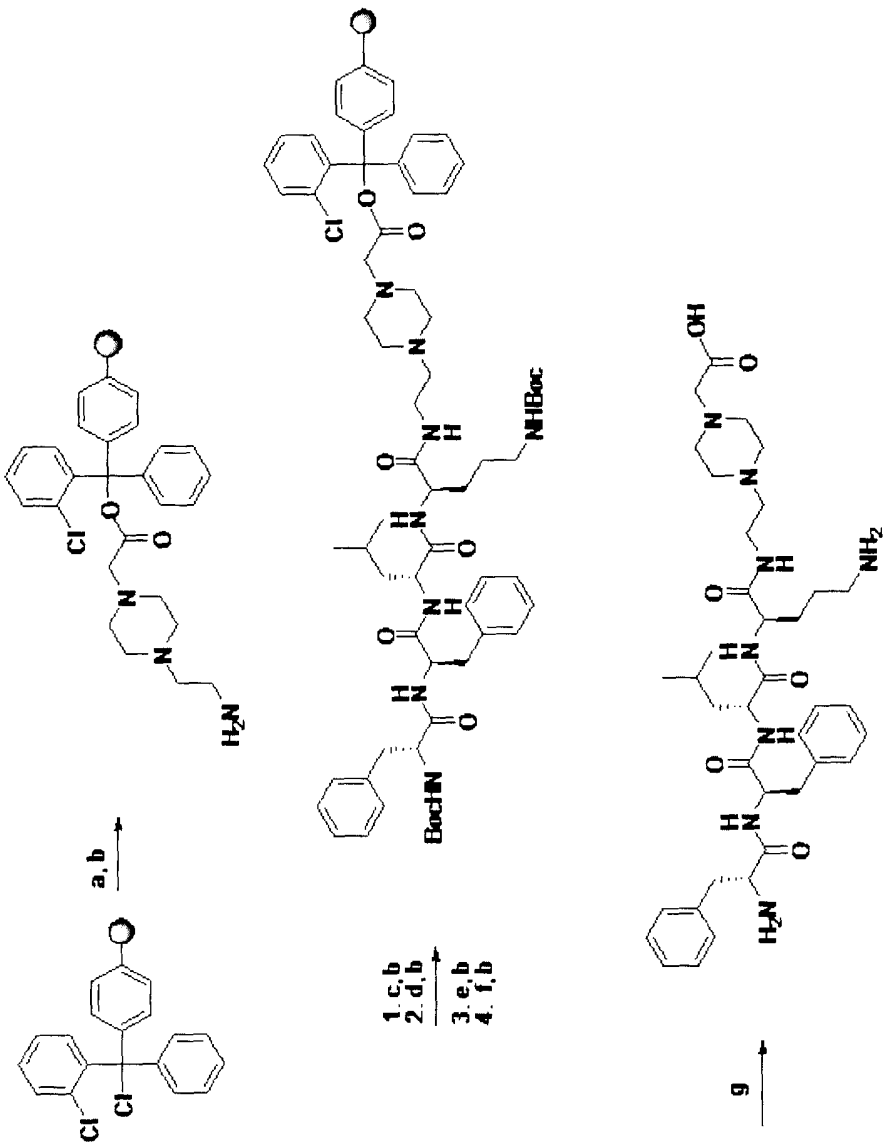
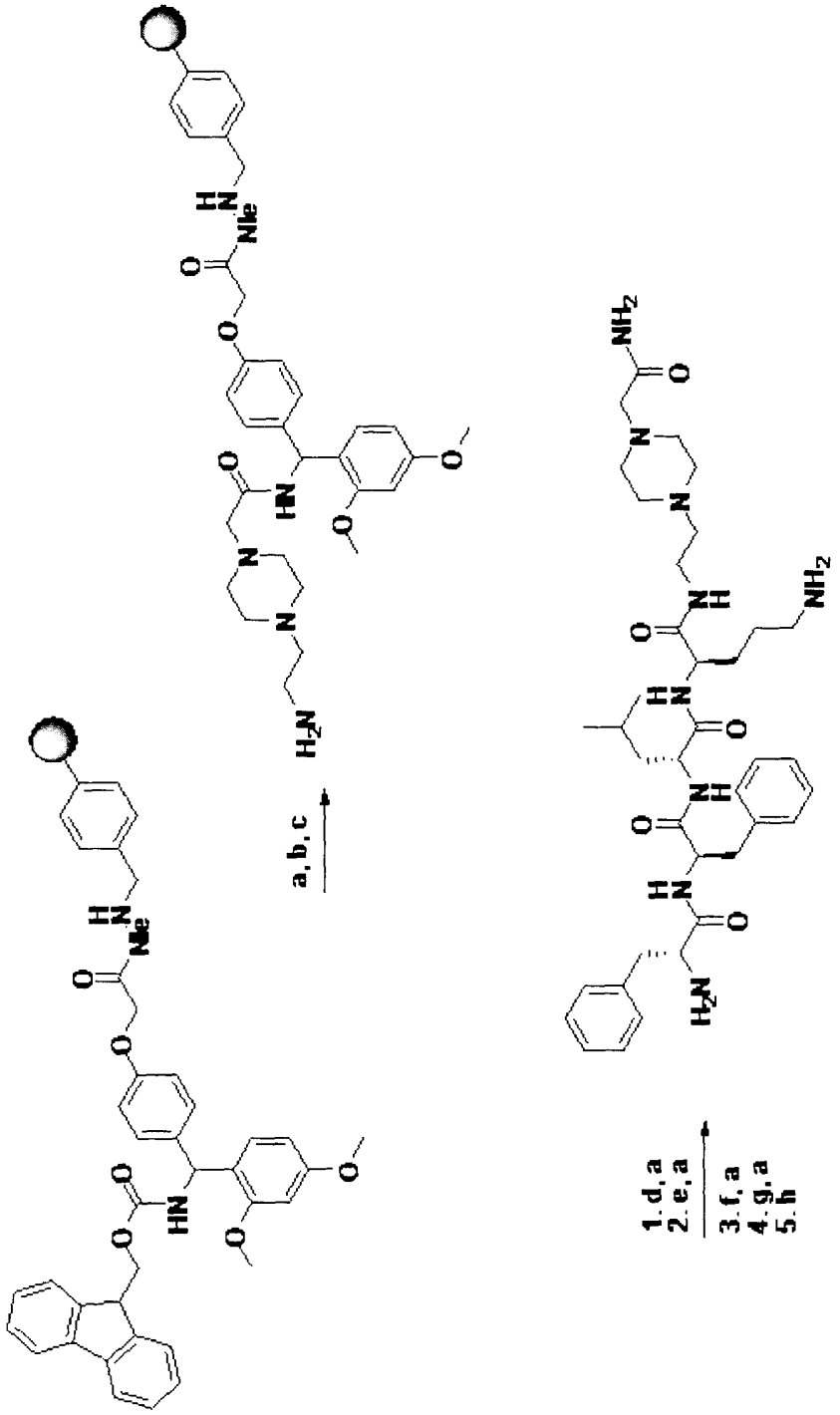


Figura 1

Figura 2



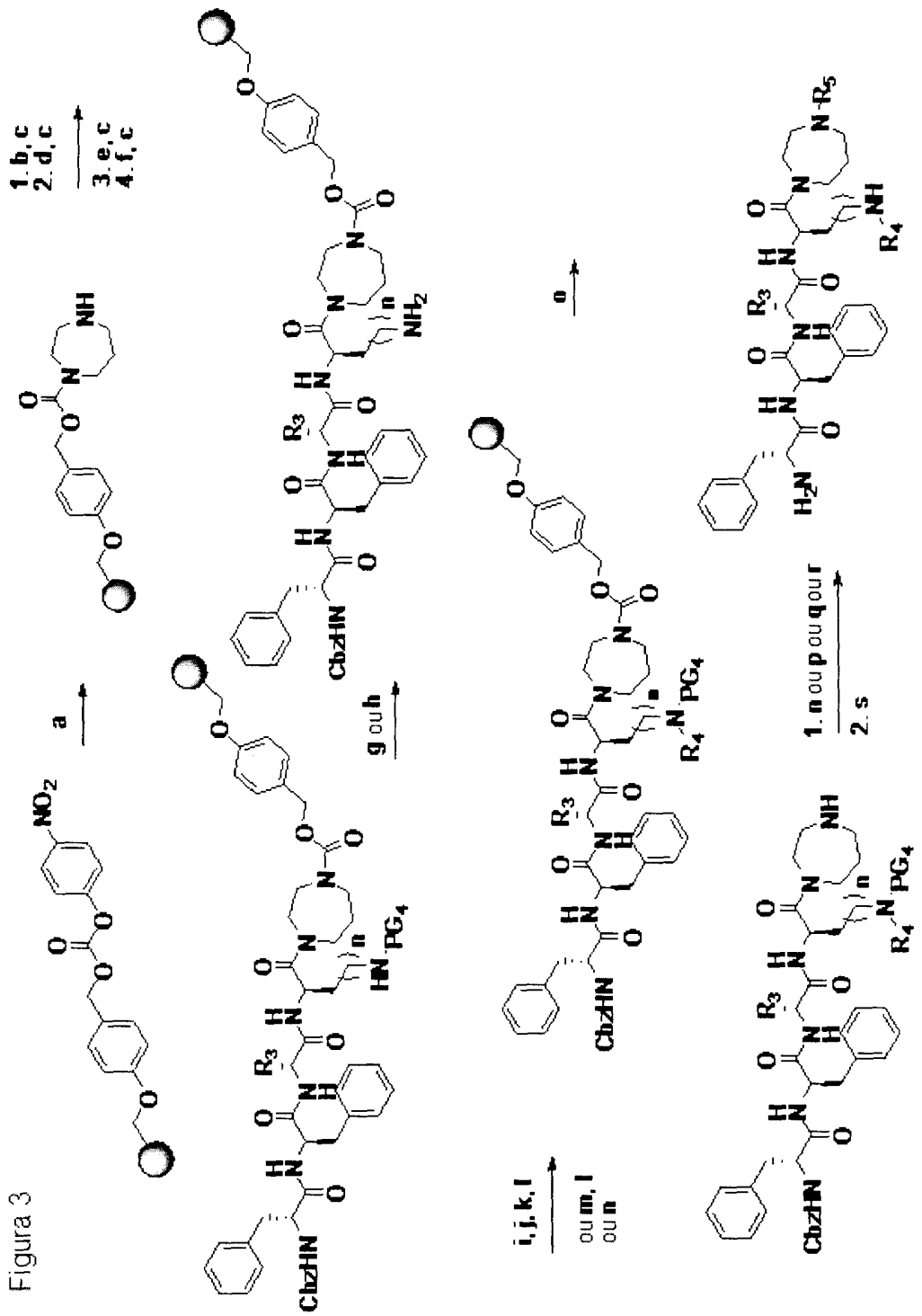

1.b,c
2.d,c
3.e,c
4.f,c
a
g ou h
i, j, k, l
ou m, l
ou n
o
1. n ou p ou q ou r
2. s
CbzHN
NO2
NH2
HN PG4
R4 N PG4
H2N
R4 NH
N R5
R3

Figura 3

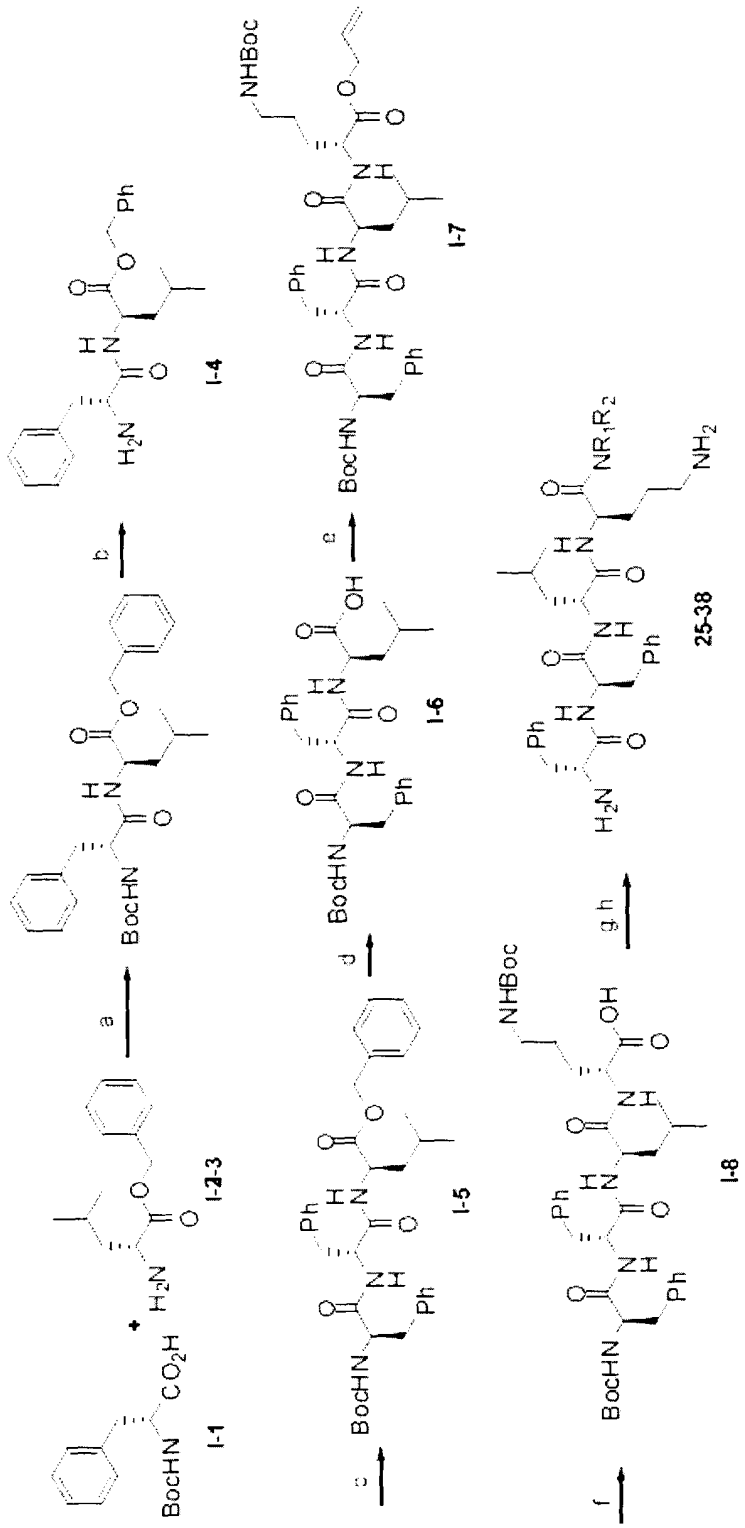


Figura 4

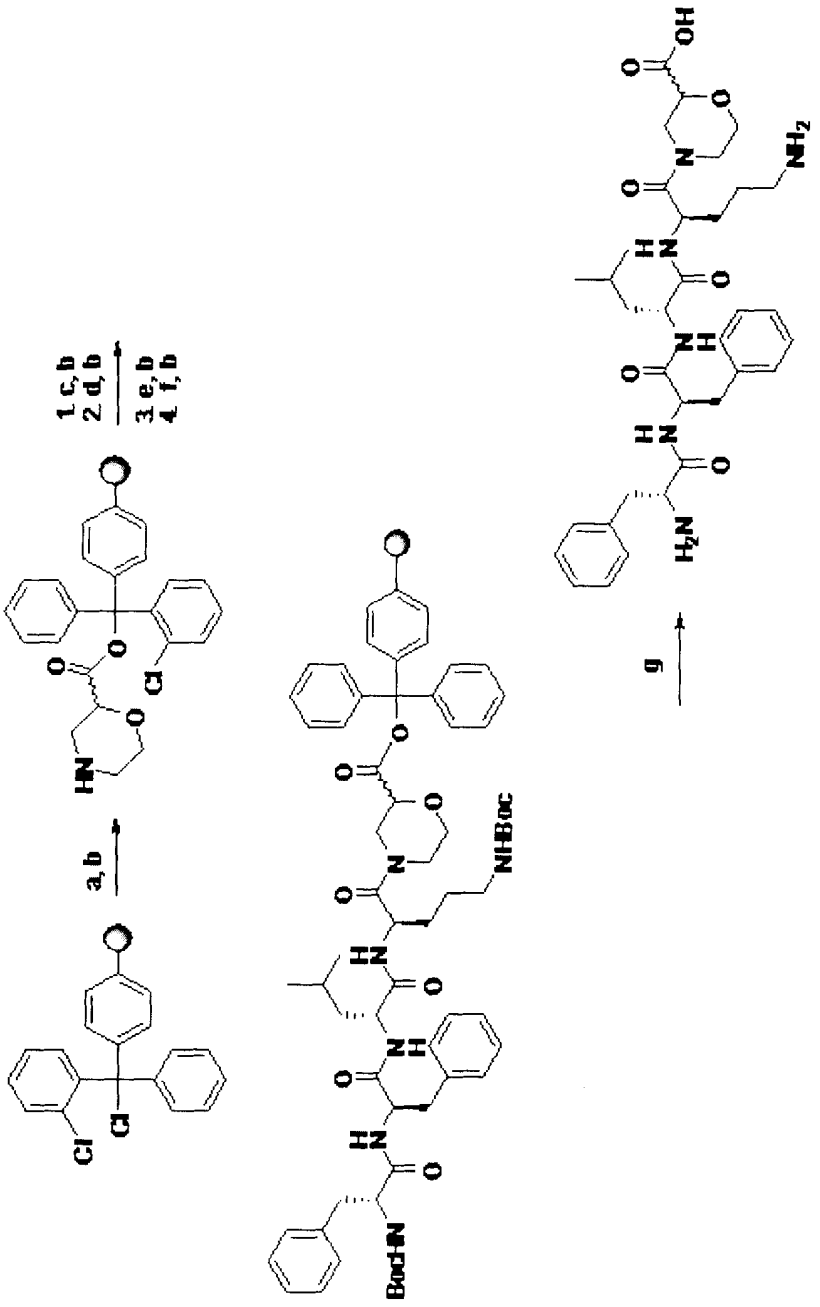
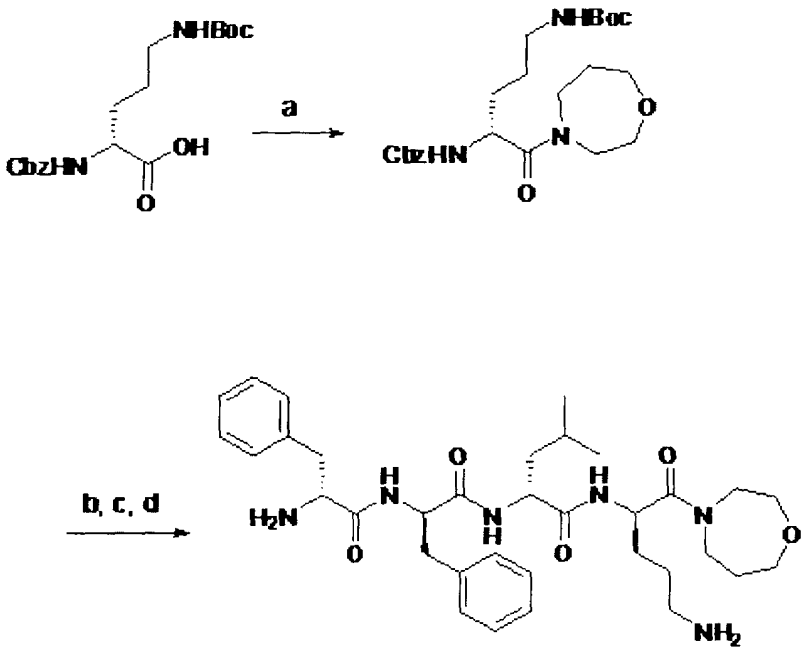

1 c, b
2 d, b
3 e, b
4 f, b
a, b
g
Cl
Cl
Cl
HN
O
O
O

Figura 6



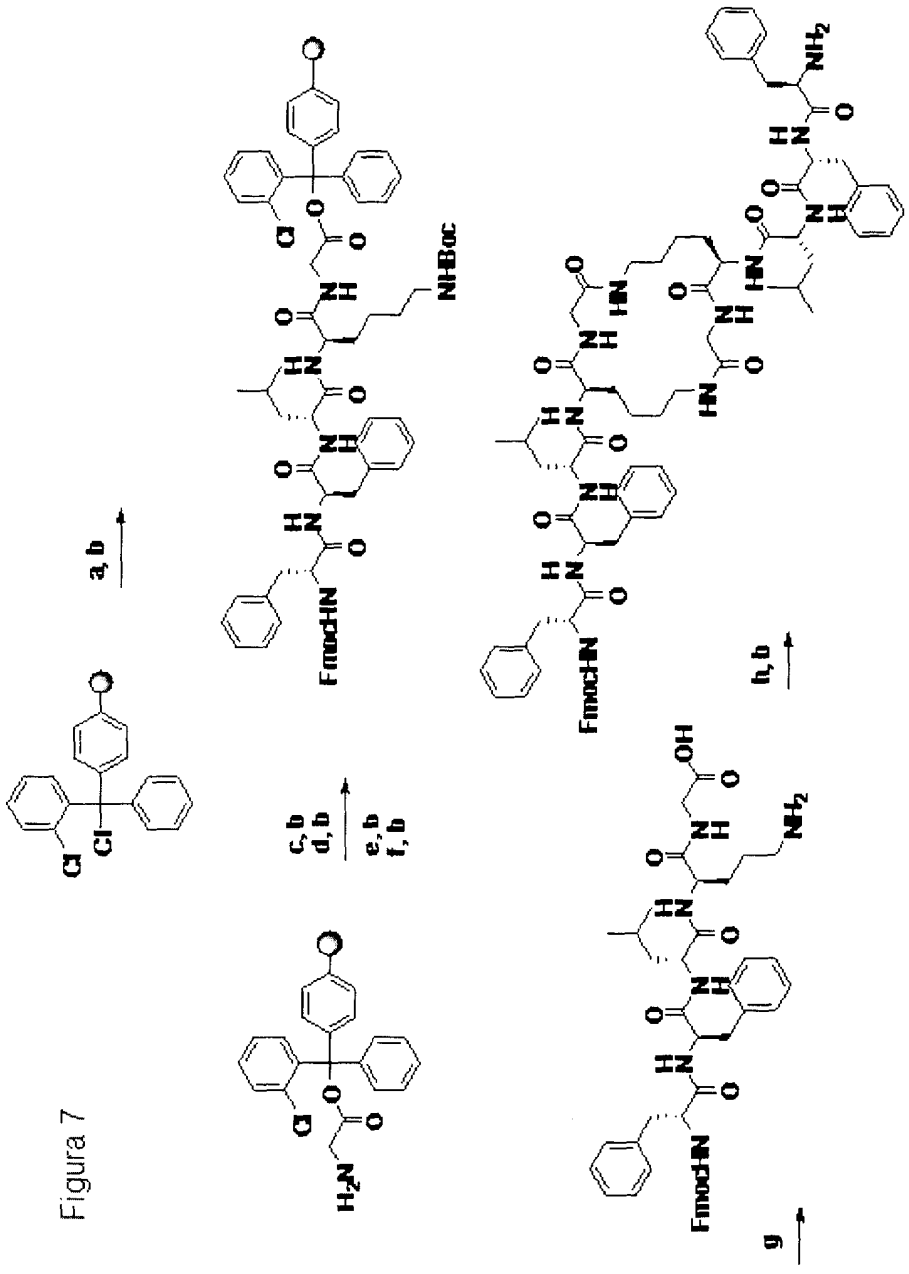


Figura 7

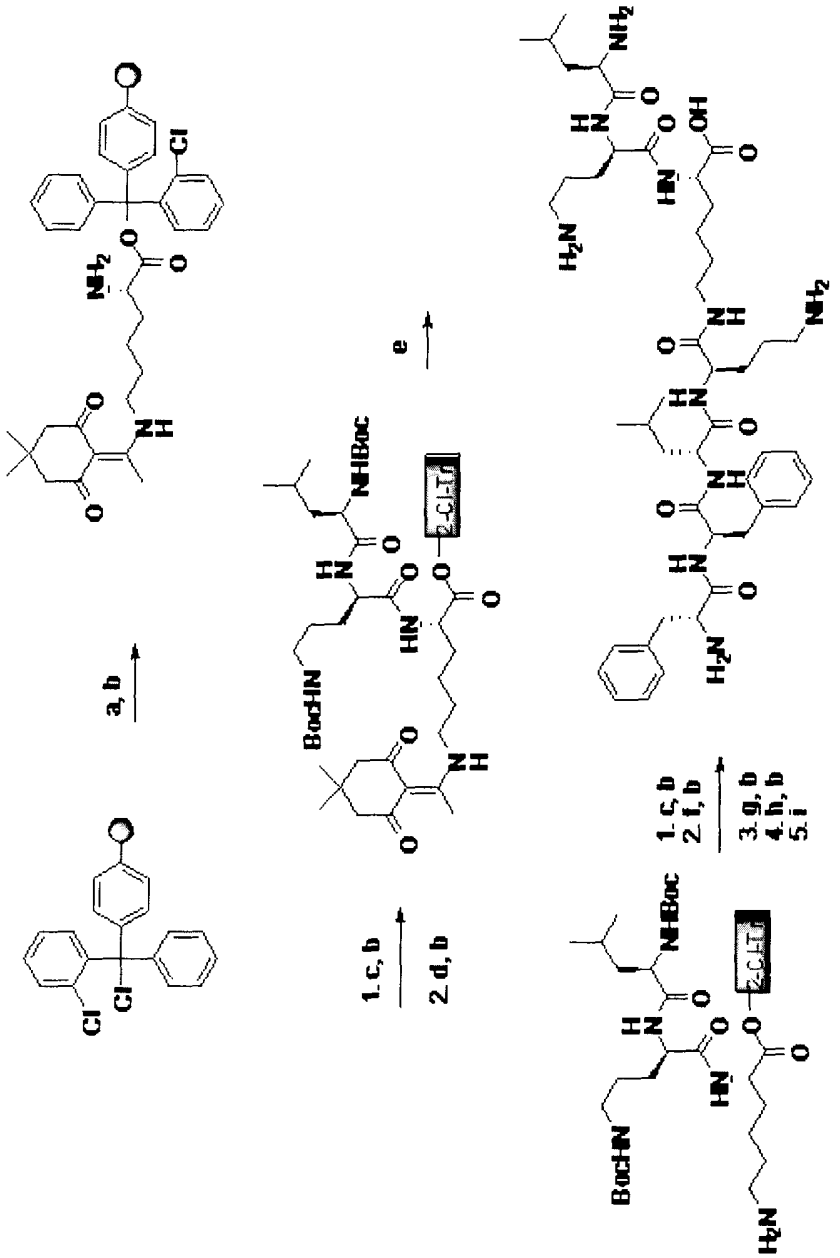


Figura 8

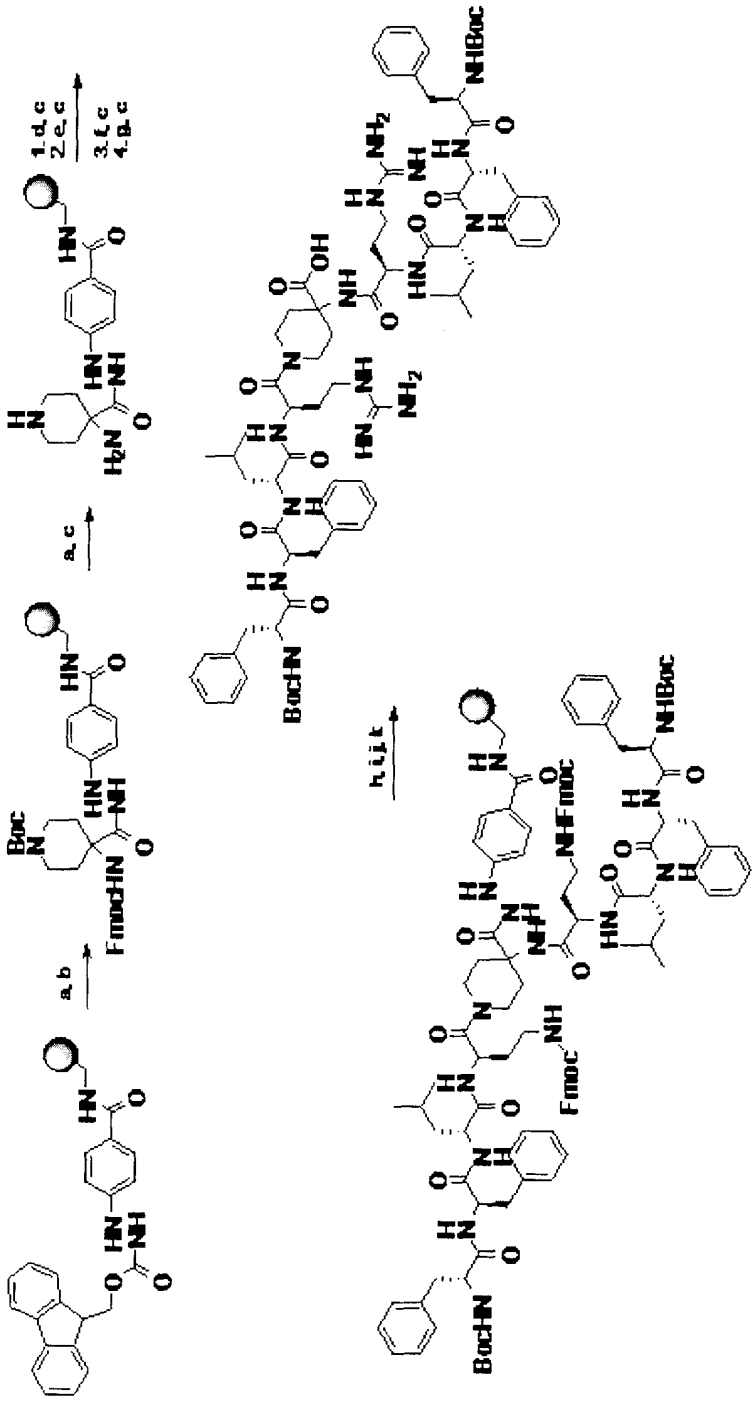


Figura 9

Figura 10

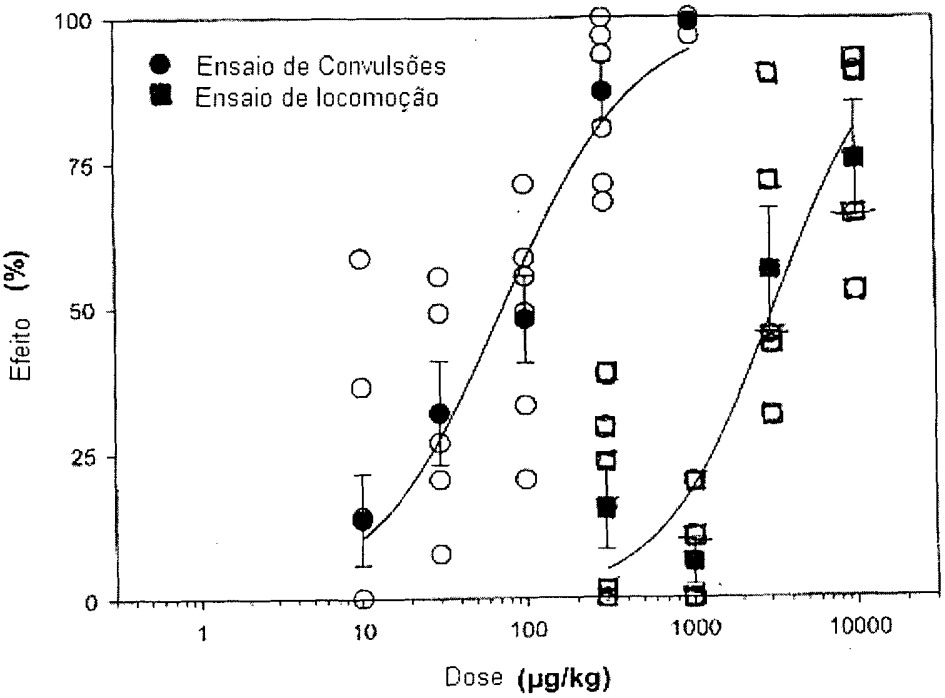


Figura 11

