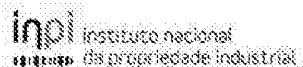

(11) Número de Publicação: **PT 2424546 E**



(51) Classificação Internacional:

A61K 31/7076 (2015.01) **A61P 27/02**
(2015.01)
C07H 19/167 (2015.01)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: **2010.04.30**

(30) Prioridade(s): **2009.05.01 US 174655 P**
2009.06.24 US 219990 P

(43) Data de publicação do pedido: **2012.03.07**

(45) Data e BPI da concessão: **2015.10.28**
250/2015

(73) Titular(es):

INOTEK PHARMACEUTICALS CORPORATION
91 HARTWELL AVENUE SECOND FLOOR
LEXINGTON, MA 02421 US

(72) Inventor(es):

SHIKHA BARMAN US
RUDOLF A. BAUMGARTNER US

(74) Mandatário:

ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS
RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **MÉTODO DE REDUÇÃO DE PRESSÃO INTRAOCULAR EM SERES HUMANOS**

(57) Resumo:

SÃO AQUI PROPORCIONADOS OS COMPOSTOS DE FÓRMULA I, AS COMPOSIÇÕES COMPREENDENDO UMA QUANTIDADE EFICAZ DE UM COMPOSTO DE FÓRMULA I, E OS MÉTODOS PARA REDUÇÃO DA PRESSÃO INTRAOCULAR, COMPREENDENDO A ADMINISTRAÇÃO DE UMA QUANTIDADE EFICAZ DE COMPOSTOS DE FÓRMULA I A UM INDIVÍDUO COM NECESSIDADE DOS MESMOS.

RESUMO

"MÉTODO DE REDUÇÃO DE PRESSÃO INTRAOCULAR EM SERES HUMANOS"

São aqui proporcionados os compostos de Fórmula I, as composições compreendendo uma quantidade eficaz de um composto de Fórmula I, e os métodos para redução da pressão intraocular, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de compostos de Fórmula I a um indivíduo com necessidade dos mesmos.

DESCRIÇÃO**“MÉTODO DE REDUÇÃO DE PRESSÃO INTRAOCULAR EM SERES HUMANOS”****PEDIDOS RELACIONADOS**

Este pedido reivindica prioridade ao Pedido Provisório dos EUA No. 61/174.655, registado a 1 de maio de 2009. Este pedido reivindica, também, prioridade ao Pedido Provisório dos EUA N°61/219.990, registado a 24 de junho de 2009.

CAMPO TÉCNICO DA INVENÇÃO

São aqui revelados métodos de redução da pressão intraocular (IOP) em seres humanos. São também aqui proporcionados usos de certos compostos em seres humanos para reduzir e/ou controlar IOPs elevadas ou anormalmente flutuantes no tratamento de glaucoma ou de hipertensão ocular (OHT).

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

O glaucoma refere-se a um grupo de neuropatias óticas que são caracterizadas pela perda de células ganglionares da retina e atrofia do nervo ótico com resultante perda de campo visual. A doença é a principal

causa de cegueira irreversível ao nível mundial e a segunda principal causa de cegueira, para além das cataratas. Os ensaios clínicos demonstraram que a IOP elevada é o principal fator de risco para o glaucoma e confirmaram o papel de abaixamento de IOP no tratamento do glaucoma.

O glaucoma é classificado de acordo com três parâmetros: 1) a causa subjacente, isto é, primária (idiopática) ou secundária (associada com algumas outras condições oculares ou sistémicas); 2) o estado do ângulo da câmara anterior, ou seja, do ângulo aberto (acesso aberto da drenagem de humor aquoso para a malha trabecular) ou do ângulo fechado (ângulo estreito; a malha trabecular está bloqueada por aposição da íris periférica e da córnea); e 3) cronicidade, isto é, agudo ou crónico. Embora existam formas secundárias de glaucoma com etiologias claras (por exemplo, pseudoexfoliação e dispersão pigmentar), a forma mais comum de glaucoma é o glaucoma primário de ângulo aberto (POAG).

A OHT é uma condição na qual a IOP é elevada, mas em que não foram observados sintomas glaucomatosos (Bell, 2005). O *Ocular Hypertension Study* demonstrou que os pacientes com OHT têm um risco global de 10% durante 5 anos de desenvolverem glaucoma e que esse risco pode ser reduzido em metade pela instituição de tratamento médico que reduz a IOP.

As terapias com fármaco que demonstraram ser

eficazes na redução da pressão intraocular incluem tanto os agentes que diminuem a produção de humor aquoso, bem como os agentes que aumentam a capacidade de drenagem. Estas terapias são em geral administradas através de uma de duas vias possíveis: por via tópica (aplicação direta no olho) ou por via oral. No entanto, as abordagens farmacêuticas anti-hipertensão ocular apresentaram vários efeitos secundários indesejáveis. Por exemplo, os mióticos, tais como pilocarpina, podem causar perda de nitidez da visão, dores de cabeça, e outros efeitos secundários visuais negativos. Os inibidores de anidrase carbónica administrados por via sistémica podem também causar náuseas, dispepsia, fadiga e acidose metabólica. Certas prostaglandinas causam hiperemia, prurido ocular, e escurecimento dos cílios e tecidos periorbitais. Além disso, certos bloqueadores beta tornaram-se, de forma crescente, associados a efeitos secundários pulmonares graves atribuíveis aos seus efeitos nos receptores beta-2 no tecido pulmonar. Os simpaticomiméticos causam taquicardia, arritmia e hipertensão. Estes efeitos secundários negativos podem levar à diminuição de adesão do paciente à terapia, ou ao término da mesma, de tal forma que a visão normal continua a deteriorar-se. Além disso, há indivíduos que simplesmente não respondem bem quando tratados com determinadas terapias de glaucoma atuais.

Existe, portanto, uma necessidade de outros agentes terapêuticos que controlem a IOP.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

É aqui proporcionado um composto para uso no tratamento de pressão intraocular elevada, glaucoma, hipertensão ocular, ou glaucoma primário de ângulo aberto, em que o composto é nitrato de ((2R,3S,4R,5R)-5-(6-(ciclopentilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-di-hidroxitetra-hidrofuran-2-il)-metilo (composto A). Numa concretização, as doenças e condições causadas pela IOP elevada num ser humano são selecionadas do grupo constituído por glaucoma de tensão normal, OHT, e POAG.

Assim, num primeiro aspetto é revelado um método para redução da pressão intraocular que compreende a etapa de: aplicação de uma quantidade eficaz de uma composição farmacêutica oftálmica a um olho afetado de um ser humano, compreendendo a composição, uma quantidade eficaz de composto A.

Numa concretização, a invenção compreende a aplicação de cerca de 0,05 mg/ml a cerca de 7,0 mg/ml de composto A, de 1 a 4 vezes ao dia. Noutra concretização, a invenção compreende a aplicação de cerca de 20-700 µg de composto A, de 1 a 2 vezes por dia. Noutra concretização, a invenção compreende a aplicação de cerca de 350 µg de composto A, de 1 a 2 vezes por dia.

Quando se pratica a invenção, o composto pode ser administrado em gotas, por exemplo, 1 a 2 gotas. Numa

concretização, a IOP do olho afetado é reduzida em pelo menos 10%, por exemplo, em pelo menos 10-20%, por exemplo, em 20% ou mais. Numa concretização, a IOP do olho afetado é reduzida em pelo menos 10% durante mais de 3 horas, por exemplo, em pelo menos 10-20% durante mais de 3 horas, por exemplo, em 20% ou mais, durante mais de 3 horas. Numa concretização, a IOP do olho afetado é reduzida em pelo menos 10% durante pelo menos 6 horas.

Noutra concretização, a invenção inclui ainda, a aplicação prévia, simultânea ou sequencial, de um segundo agente de redução de IOP. O segundo agente de redução de IOP é selecionado do grupo constituído por bloqueadores β , análogos de prostaglandina, inibidores de anidrase carbónica, inibidores de cinase ró, agonistas α_2 , mióticos, neuroprotetores, antagonistas A3, agonistas A2A, moduladores do canal iónico e combinações dos mesmos.

Num segundo aspetto, a presente invenção refere-se a um método de redução de IOP e de doenças e condições associadas causadas pela IOP elevada num ser humano por administração de uma quantidade eficaz de um agonista A1 seletivo a um olho afetado do indivíduo. Numa concretização, as doenças e condições causadas pela IOP elevada num ser humano são selecionadas do grupo constituído por glaucoma de tensão normal, OHT e POAG. O agonista A1 seletivo é o composto A, tal como definido anteriormente.

Quando se pratica o método, o agonista A1

seletivo pode ser administrado em gotas, por exemplo, 1 a 2 gotas. Numa concretização deste método, a IOP do olho afetado é reduzida em pelo menos 10%, por exemplo, em pelo menos 10-20%, por exemplo, em 20% ou mais. Numa concretização, a IOP do olho afetado é reduzida em pelo menos 10%, durante mais de 3 horas, por exemplo, em pelo menos 10-20%, durante mais de 3 horas, por exemplo, em 20% ou mais, durante mais de 3 horas. Numa concretização, a IOP do olho afetado é reduzida em pelo menos 10% durante, pelo menos, 6 horas.

Numa concretização dos métodos aqui descritos, a quantidade eficaz do agonista A1 seletivo de adenosina é pelo menos 20 µg, por exemplo, entre 60 µg e 350 µg, por exemplo, entre 60 µg e 700 µg.

Numa concretização, a quantidade eficaz do agonista A1 seletivo de adenosina é administrada como uma dose única. Numa outra concretização, a quantidade eficaz do agonista A1 seletivo de adenosina é administrada como uma dose, duas vezes por dia.

Num outro aspeto, é proporcionada uma composição farmacêutica oftálmica compreendendo o composto A, tal como definido anteriormente e um veículo ou excipiente farmaceuticamente aceitável. O veículo ou excipiente farmaceuticamente aceitável pode ser selecionado do grupo constituído por: conservantes, agentes tensioativos, intensificadores de viscosidade, intensificadores de penetração,

agentes gelificantes, bases hidrofóbicas, veículos, tampões, cloreto de sódio, e água, oftalmologicamente aceitáveis.

Numa concretização, a composição compreende um segundo agente de redução da IOP, para além de um composto de Fórmula I, tal como definido anteriormente. O segundo agente de redução de IOP pode ser selecionado do grupo compreendendo: bloqueadores β , análogos da prostaglandina, inibidores de anidrase carbónica, inibidores de cinase ró, agonistas α_2 , mióticos, neuroprotetores, antagonistas A3, agonistas A2A, moduladores de canal iónico e combinações dos mesmos.

A composição terapêutica pode compreender desde cerca de 0,05 mg/ml a cerca de 7,0 mg/ml, por exemplo, cerca de 0,4 mg/ml a cerca de 7,0 mg/ml, do referido composto A.

O composto A é nitrato de ((2R,3S,4R,5R)-5-(6-(ciclopentilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-di-hidroxitetrahidrofuran-2-il)metilo;

Num aspeto adicional, o composto A agonista A1 seletivo de adenosina pode ser utilizado para baixar e/ou controlar a IOP associada com glaucoma de tensão normal, OHT e POAG em seres humanos. Em certas concretizações, quando usado para tratar o glaucoma de tensão normal ou OHT, o composto A pode ser formulado em composições

armaceuticamente aceitáveis apropriadas para a aplicação tópica ao olho.

Outra concretização da presente invenção comprehende uma composição farmacêutica oftalmológica útil na redução da pressão intraocular, compreendendo uma quantidade eficaz de composto A.

Num outro aspeto da invenção, é proporcionada uma formulação oftálmica para uso na redução de pressão intraocular, compreendendo cerca de 0,05 mg.ml a cerca de 7 mg/ml de composto A, tal como definido anteriormente, e de 1 mg/ml a cerca de 140 mg/ml de hidroxipropil-β-ciclodextrina em solução salina para injeção.

Numa concretização, a formulação comprehende cerca de 7 mg/ml de composto A: nitrato de ((2R, 3S, 4R, 5R)-(2-cloro-6-(ciclopentilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-dihidroxitetrafuran-2-il)metilo;

Deve ser ainda apreciado que o uso de composto A, conforme definido anteriormente, ou de composições oftálmicas, conforme definidas anteriormente, podem ser utilizadas para a síntese de um medicamento para a redução de IOP num olho afetado de um ser humano.

O breve resumo acima menionado descreve amplamente as características e as vantagens técnicas de determinadas concretizações da presente invenção. Serão

descritas outras vantagens técnicas na descrição detalhada da invenção que se segue. As novas características que se crê serem particulares da invenção serão melhor compreendidas a partir da descrição detalhada da invenção quando considerada em conjunto com todas as figuras e exemplos que acompanham esta invenção. As figuras e os exemplos aqui proporcionados destinam-se a auxiliar a ilustração da invenção ou a contribuir para o desenvolvimento da compreensão da invenção.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A Figura 1 mostra o esquema de aumento de dose para os 7 grupos de tratamento do estudo clínico multicêntrico, aleatório, duplo cego. Distribuíram-se doze indivíduos, aleatoriamente, em cada grupo de tratamento: 8 indivíduos receberam o Composto A e 4 indivíduos receberam o placebo.

A Figura 2a mostra a IOP média (mmHg) do olho em estudo em cada ponto temporal em todos os grupos de tratamento.

A Figura 2b mostra a IOP mediana (mmHg) do olho em estudo para todos os grupos de tratamento em cada ponto temporal.

A Figura 3a mostra a variação média absoluta da IOP em relação à IOP da pré-dose (mmHg) no olho em

estudo em todos os grupos de tratamento em cada ponto temporal.

A Figura 3b mostra a variação mediana absoluta na IOP em relação à IOP da pré-dose (mmHg) do olho em estudo em todos os grupos de tratamento.

A Figura 4a apresenta um gráfico resumo da análise de resposta nos 7 grupos de tratamento, aproximadamente 2 horas após a dose, na qual é evidente a maior porção da diferença entre a IOP de olhos tratados com o fármaco versus olhos tratados com placebo.

A Figura 4b apresenta um gráfico resumo da análise de resposta nos 7 grupos de tratamento, utilizando-se a taxa de resposta média durante um período de observação de 6 horas após a dose.

A Figura 5 mostra a média e mediana da % de diminuição em relação à linha de base (BL; pré-dose) e a análise de resposta categórica da coorte 350 mcg durante todo o período de observação após a dose.

A Figura 6 mostra a percentagem de diminuição estatisticamente significativa nas IOPs média e mediana (em relação às determinações de IOP da linha de base da pré-dose) observada na coorte de 350 mcg em relação à resposta do placebo.

A Figura 7 mostra a média e mediana da % de diminuição em relação à linha de base (BL; pré-dose) e a análise de resposta categórica da coorte 700 mcg durante um período de observação 10 horas após a dose.

A Figura 8 mostra a percentagem de diminuição estatisticamente significativa nas IOPs média e mediana (em relação às determinações de IOP da linha de base da pré-dose) observada na coorte 700 mcg em relação à resposta do placebo.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

As concretizações da presente invenção proporcionam o composto A útil para uso no tratamento, redução e controlo de pressão intraocular (IOP) elevada e/ou no tratamento de hipertensão ocular ou de glaucoma primário de ângulo aberto.

A adenosina é um nucleósido de purina que modula muitos processos fisiológicos. A sinalização celular pela adenosina ocorre através de quatro subtipos de receptores de adenosina: A₁, A_{2A}, A_{2B}, e A₃, conforme relatado por Ralevic e Bumstock (Pharmacal Rev. 50:413-492, 1988) e Fredholm BB et al. (Pharmacol Rev. 53:527-552, 2001). No olho, os agonistas do receptor A₁ de adenosina diminuem a IOP em ratinhos, coelhos e macacos (Tian B et al. B Exp Eye Res. 64:979-989, 1997; Crosson CE. J Pharmacol Exp Ther. 273:320-326, 1995; e Avila MY et al. Br J. Pharmacol. 134:241-245, 2001). Embora outras publicações tenham

reconhecido que os agonistas do recetor A₁ de adenosina no olho atacam a via de drenagem convencional através da malha trabecular (Husain S et al. *J Pharmacol Exp Ther.* 320: 258-265, 2007), não foi excluída a redução de IOP através de outras vias.

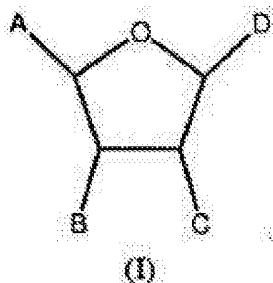
Deve notar-se que a diminuição da IOP mediada pelo recetor A₁ de adenosina, altamente robusta relatada em estudos pré-clínicos é muitas vezes precedida por uma elevação imediata, ainda que transitória, da IOP, após a instilação do ligando do recetor A₁ (Crosson CE and Grey T. *Inv Ophthal Visual Sci.* 37, [9] 1833-1839, 1996). Observaram-se aumentos transitórios na IOP de ~3-9 mmHg numa "janela" de ~30 minutos após a dosagem. Este fenómeno pode surgir da reatividade cruzada entre os subtipos do recetor de adenosina dentro do olho. Os estudos farmacológicos indicam que esta elevação transitória na IOP pode ser devida, pelo menos em parte, à ativação de recetores A_{2B} de adenosina (Crosson, 1996). Portanto, o desenvolvimento de um agonista A₁ altamente seletivo, que apenas reduza a IOP, parece ser mais defensável do que o desenvolvimento de fármacos com base no recetor A₂ de adenosina para o tratamento da IOP, dado que os agonistas A_{2A} podem aumentar, diminuir ou exercer efeitos mistos na IOP (Konno, 2004; Konno, *J Pharmacal Sci.*, 2005; Konno, *Eur J. Pharmacal.* 2005).

Os compostos que atuam como agonistas A₁ seletivos de adenosina são conhecidos e têm demonstrado uma variedade de utilidades. A Patente dos EUA No. 7.423.144 de

Jagtap *et al.* descreve estes compostos agonistas A1 seletivos de adenosina para a prevenção ou tratamento de taquiarritmias (ritmo cardíaco elevado), de desordens de dor e de lesão de isquemia-reperfusão.

Em estudos clínicos, descobriu-se que os agonistas A1 seletivos de adenosina reduzem a IOP nos seres humanos. Em particular, são aqui descritos os compostos de Fórmula I (por exemplo, os Compostos A, B, C, D, E, F, G ou H) que podem reduzir a pressão intraocular num indivíduo (por exemplo, um ser humano) com necessidade dos mesmos.

Os Compostos de Fórmula I têm a seguinte estrutura:

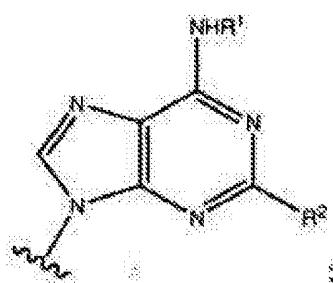


ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo,
onde

A é $-\text{CH}_2\text{ONO}_2$ ou $-\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{H}$;

B e C são $-\text{OH}$;

D é



A e B estão em posição *trans*, um em relação ao outro;

B e C estão em posição *cis*, um em relação ao outro;

C e D estão em posição *cis* ou *trans*, um em relação ao outro;

R¹ é -H, alquilo C₁-C₁₀, arilo, heterociclo monocíclico de 3 a 7 membros, heterociclo bicíclico de 8 a 12 membros, cicloalquilo C₃-C₈ monocíclico, cicloalcenilo C₃-C₈ monocíclico, -cicloalquilo C₈-C₁₂ bicíclico, -cicloalcenilo C₈-C₁₂ bicíclico, -(CH₂)_n-(cicloalquilo C₃-C₈ monocíclico), -(CH₂)_n-(cicloalcenilo C₃-C₈ monocíclico), -(CH₂)_n-(cicloalquilo C₈-C₁₂ bicíclico), -(CH₂)_n-(cicloalcenilo C₈-C₁₂ bicíclico), ou -(CH₂)_n-arilo;

R² é -H, halo, -CN, -NHR⁴, -NHC(O)R⁴, -NHC(O)OR⁴, -NHC(O)NHR⁴, -NHNHC(O)R⁴, -NHNHC(O)OR⁴, -NHNHC(O)NHR⁴ ou -NH-N=C(R⁶)R⁷;

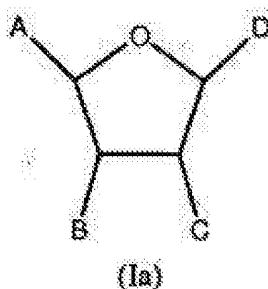
R⁴ é -alquilo C₁-C₁₅, arilo, -(CH₂)_n-arilo, -(CH₂)_n-(heterociclo monocíclico com 3 a 7 membros), -(CH₂)_n-(heterociclo bicíclico com 8 a 12 membros), -(CH₂)_n-(cicloalquilo C₃-C₈ monocíclico), -(CH₂)_n-(cicloalquilo C₈-C₁₂ bicíclico), -(CH₂)_n-(cicloalcenilo C₈-C₁₂ bicíclico), -C≡C-(alquilo C₁-C₁₀) ou -C≡C-arilo;

R₆ é alquilo C₁-C₁₀, -arilo, (CH₂)_n-arilo, -(CH₂)_n-(heterociclo monocíclico com 3 a 7 membros), -(CH₂)_n-(cicloalquilo C₃-C₈ monocíclico), -(CH₂)_n-(cicloalcenilo C₃-C₈ monocíclico), -(CH₂)_n-(cicloalquilo C₈-C₁₂ bicíclico), -(CH₂)_n-(cicloalcenilo C₈-C₁₂ bicíclico), -(CH₂)_n-(cicloalcenilo C₃-C₈ monocíclico), -fenileno-(CH₂)_nCOOH, ou -fenileno-(CH₂)_nCOO-(alquilo C₁-C₁₀);

R⁷ é -H, alquilo C₁-C₁₀, -arilo, (CH₂)_n-arilo, -(CH₂)_n-(heterociclo monocíclico com 3 a 7 membros), -(CH₂)_n-(cicloalquilo C₃-C₈ monocíclico), -(CH₂)_n-(cicloalcenilo C₃-C₈ monocíclico), -(CH₂)_n-(cicloalquilo C₈-C₁₂ bicíclico), ou -(CH₂)_n-(cicloalquilo C₈-C₁₂ bicíclico); e

cada n é independentemente um inteiro que varia de 1 a 5, e um veículo farmaceuticamente aceitável.

Numa concretização adicional, os compostos para uso na invenção são compostos que têm a fórmula

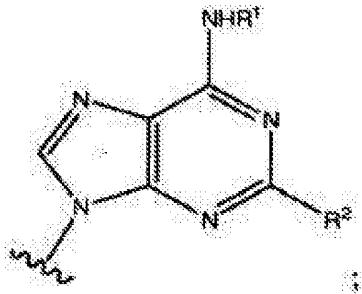


ou um sal farmaceuticamente aceitável dos mesmos, em que

A é $-\text{CH}_2\text{ONO}_2$ ou $-\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{H}$;

B e C são $-\text{OH}$;

D é



A e B estão em posição *trans*, um em relação ao outro;

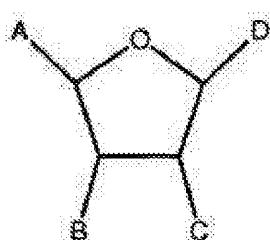
B e C estão em posição *cis*, um em relação ao outro;

C e D estão em posição *cis* ou *trans*, um em relação ao outro;

R^1 é cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_8$ monocíclico, heterociclo monocíclico com 3 a 7 membros, ou cicloalquilo $\text{C}_8\text{-C}_{12}$ bicíclico; e

R^2 é H ou halo.

Numa concretização adicional, os compostos para uso na invenção são compostos com a fórmula:

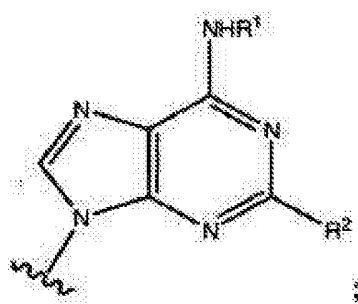


ou um sal farmaceuticamente aceitável dos mesmos,
em que

A é $-\text{CH}_2\text{ONO}_2$;

B e C são $-\text{OH}$;

D é



A e B estão em posição *trans*, um em relação ao outro;

B e C estão em posição *cis*, um em relação ao outro;

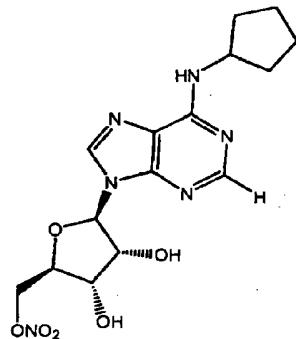
C e D estão em posição *cis* ou *trans*, um em relação ao outro;

R¹ é cicloalquilo C₃-C₈ monocíclico, heterociclo monocíclico com 3 a 7 membros, ou cicloalquilo C₈-C₁₂ bicíclico; e

R² é H ou halo.

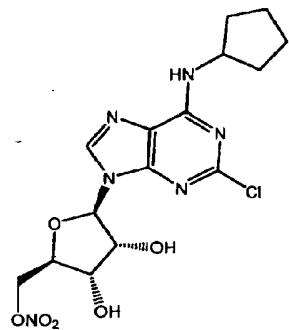
O composto de Fórmula I é um dos compostos seguintes:

Composto A



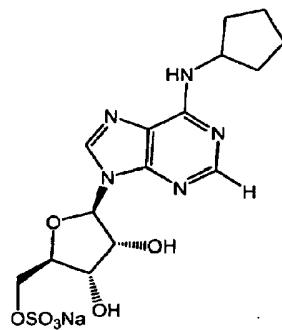
nitrato de ((2R,3S,4R,5R)-5-(6-(ciclopentilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-di-hidroxitetra-hidrofuran-2-il)metilo,

Composto B (não faz parte da invenção)

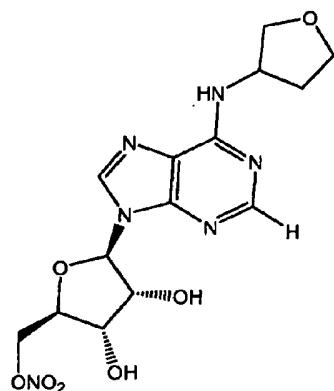


nitrato de ((2R,3S,4R,5R)-5-(2-chloro-6-(ciclopentilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-di-hidroxitetra-hidrofuran-2-il)metilo,

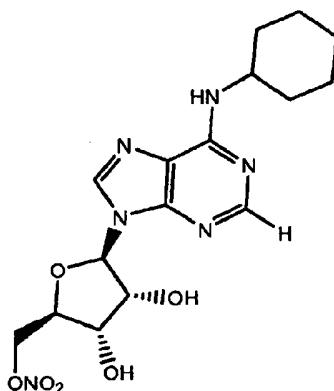
Composto C (não faz parte da invenção)



((2R,3S,4R,5R)-5-(6-(ciclopentilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-di-hidroxitetra-hidrofuran-2-il)metilsulfato de sódio,

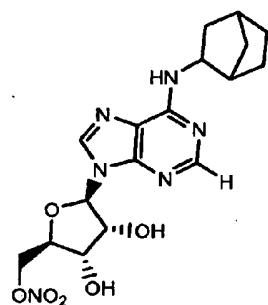
Composto D (não faz parte da invenção)

nitrato de ((2R,3S,4R,5R)-3,4-di-hidroxi-5-(6-(tetra-hidrofuran-3-ilamino)-9H-purin-9-il)tetra-hidrofuran-2-il)metilo,

Composto E (não faz parte da invenção)

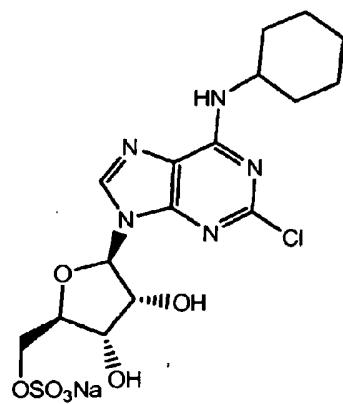
nitrato de ((2R,3S,4R,5R)-5-(6-(ciclo-hexilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-di-hidroxitetra-hidrofuran-2-il)metilo,

Composto F (não faz parte da invenção)



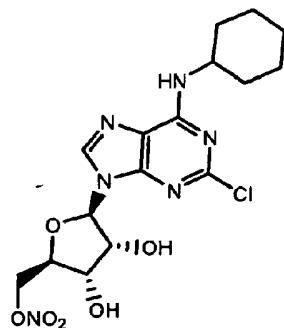
nitrato de ((2R,3S,4R,5R)-5-(6-(biciclo-[2.2.1]-heptan-2-ilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-di-hidroxitetra-hidrofuran-2-il)metilo,

Composto G (não faz parte da invenção)

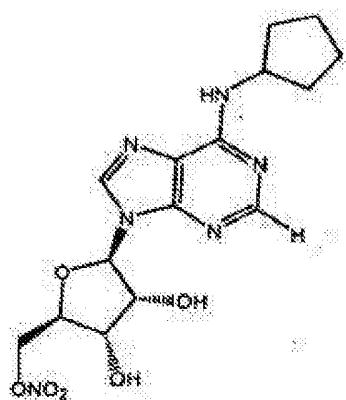


((2R,3S,4R,5R)-5-(2-chloro-6-(ciclo-hexilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-di-hidroxitetra-hidrofuran-2-il)metilsulfato de sódio, e

Composto H (não faz parte da invenção)



nitrato de ((2R,3S,4R,5R)-5-(2-chloro-6-(cyclohexylamino)-9H-purin-9-il)-3,4-di-hidroxitetra-hidrofuran-2-il)metilo,



Nitrato de ((2R,3S,4R,5R)-5-(6-(cyclopentylamino)-9H-purin-9-il)-3,4-di-hidroxitetra-hidrofuran-2-il)metilo,

ou sais farmaceuticamente aceitáveis dos mesmos.

Quando existem discrepâncias entre o nome de um composto e a estrutura de um composto, a estrutura química irá prevalecer.

Numa outra concretização, é aqui proporcionado um

método de redução da pressão intraocular elevada, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de Composto A a um ser humano. Em ainda outra concretização, é aqui proporcionado um método de redução da pressão intraocular, compreendendo a aplicação de uma quantidade eficaz de Composto A a um olho afetado de um ser humano. Ainda numa outra concretização, é aqui proporcionado um método de tratamento de glaucoma, compreendendo a administração a um olho afetado de um humano, de uma quantidade eficaz de Composto A. Numa outra concretização, é aqui proporcionado um método de tratamento de OHT, que compreende a administração a um olho afetado de um ser humano, de uma quantidade eficaz de Composto A. Em ainda outra concretização, é aqui proporcionado um método de tratamento de POAG, que compreende a administração a um olho afetado de um ser humano, de uma quantidade eficaz de Composto A. Numa concretização, são aplicados cerca de 0,05 mg/ml a cerca de 7,0 mg/ml de Composto A a um olho afetado de um ser humano, de 1 a 4 vezes por dia. Numa concretização, são aplicados cerca de 20-700 μ g de Composto A a um olho afetado de um ser humano, de 1 a 4 vezes por dia. Numa outra concretização, são aplicados cerca de 350 μ g de Composto A a um olho afetado de um ser humano, de 1 a 4 vezes por dia. O Composto A pode ser administrado em gotas, por exemplo, 1 a 2 gotas.

Numa outra concretização, é aqui proporcionada uma formulação oftálmica tópica para redução da pressão intraocular num ser humano, compreendendo 0,05 mg/ml a cerca de 7 mg/ml de Composto A, e de 1 mg/ml a cerca de 140

mg/ml de hidroxipropil- β -ciclodextrina em solução salina para injeção. Esta formulação pode ser usada para tratar glaucoma, OHT, ou POAG num ser humano.

Numa outra concretização, é aqui proporcionado o uso de Composto A para redução da pressão intraocular elevada num indivíduo. Numa outra concretização, é aqui proporcionado o uso de Composto A para o tratamento de OHT num indivíduo. Numa outra concretização, é aqui proporcionado o uso de Composto A para o tratamento de POAG num indivíduo.

É reconhecido que os compostos de Fórmula I podem conter um ou mais centros quirais. Esta descrição refere-se todos os enantiómeros, diastereómeros e misturas dos mesmos de Fórmulas I.

Além disso, certas revelações da presente descrição referem-se a sais farmaceuticamente aceitáveis de compostos de acordo com a Fórmula I.

Os sais farmaceuticamente aceitáveis compreendem, mas não estão limitados a, formas solúveis ou dispersíveis de compostos de acordo com a Fórmula I que são adequados para o tratamento de doença sem efeitos indesejáveis indevidos, tais como reações alérgicas ou toxicidade.

Os sais farmaceuticamente aceitáveis representativos incluem, mas não estão limitados a, sais de adição de ácido, tais como, de acetato, de citrato, de benzoato, de

lactato, ou de fosfato e sais de adição de base, tais como, de lítio, de sódio, de potássio, ou de alumínio.

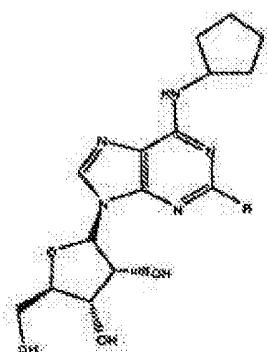
DEFINIÇÕES

Tal como é aqui utilizado, o termo "agonista A₁ seletivo de adenosina" significa um agonista A₁ que tem uma elevada afinidade para o receptor A₁, enquanto possui simultaneamente uma baixa afinidade para os receptores A₂ e A₃ de adenosina. Os compostos de Fórmula I (por exemplo, os Compostos A a H) acima referidos têm afinidades para o receptor A₁ consideravelmente maiores do que as suas afinidades respetivas para os receptores A_{2A} e A₃. Os dados de seletividade de A₁ para os compostos A a H encontram-se resumidos na Tabela abaixo.

Composto	POTÊNCIA A ₁ (Ki (nm))	SELETIVIDADE A ₁ >A _{2A} [KiA ₂ (nm) /KiA ₁ (nm)]	SELETIVIDADE A ₁ >A ₃ [KiA ₃ (nm) /KiA ₁ (nm)]
CPA	2,3	345	31,3
CCPA	0,83	2735	50
Composto A	0,97	4837	725
Composto B	2,63	1593	195
Composto C	4,05	2250	251
Composto D	10,6	>9434	202
Composto E	1,32	878	1098
Composto F	1,47	3945	260
Composto G	1,36	200	130
Composto H	8	192	167

Numa outra concretização, para os fins da presente invenção, um agonista A₁ seletivo é considerado um composto que tem uma seletividade de afinidade de ligação A₁ relativa à afinidade de ligação A₃ superior a cerca de 130 (isto é, A₁>A₃ [KiA₃(nm)/KiA₁(nm)]).

CPA e CCPA são exemplos de agonistas A₁ conhecidos. No entanto, estes compostos têm uma razão de selectividade recetor A₁/recetor A₃ menor:



quando R=H = ciclopentiladenosina (CPA) e quando R = Cl = 2-cloro ciclopentiladenosina (CCPA).

Tal como é aqui utilizado, o termo "alquilo" refere-se a uma metade de hidrocarboneto ramificado ou não ramificado, completamente saturado. De preferência, o alquilo compreende 1 a 20 átomos de carbono, mais preferivelmente, 1 a 16 átomos de carbono, 1 a 10 átomos de carbono, 1 a 7 átomos de carbono, ou 1 a 4 átomos de carbono. Exemplos representativos de alquilo incluem, mas não estão limitados a, metilo, etilo, *n*-propilo, *iso*-

propilo, *n*-butilo, *sec*-butilo, *iso*-butilo, *terc*-butilo, *n*-pentilo, isopentilo, neopentilo, *n*-hexilo, 3-metil-hexilo, 2,2-dimetilpentilo, 2,3-dimetilpentilo, *n*-heptilo, *n*-octilo, *n*-nonilo, *n*-decilo, e semelhantes. Além disso, a expressão "alquilo C_x-C_y", em que x é 1-5 e y é 2-15, indica um grupo alquilo particular (de cadeia linear ou ramificada) de uma gama específica de átomos de carbono. Por exemplo, a expressão alquilo C₁-C₄ inclui, mas não está limitado a, metilo, etilo, propilo, butilo, isopropilo, *terc*-butilo e isobutilo. O termo alquilo inclui, mas não está limitado a, alquilo C₁-C₁₅, alquilo C₁-C₁₀ e alquilo C₁-C₆.

O termo "alquilo C₁-C₁₅", tal como é aqui utilizado, refere-se a uma cadeia de hidrocarbonetos saturada, linear ou ramificada, possuindo de 1 a 15 átomos de carbono. Os grupos alquilo C₁-C₁₅ representativos incluem, mas não estão limitados a, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, *iso*-hexilo, neo-hexilo, heptilo, *iso*-heptilo, neo-heptilo, octilo, *iso*-octilo, neo-octilo, nonilo, isononilo, neononilo, decilo, isodecilo, neodecilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo e pentadecilo. Numa concretização, o grupo alquilo C₁-C₁₅ é substituído com um ou mais dos seguintes grupos: grupos -halo, -O-(alquilo C₁-C₆), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' ou -C(O)NHR', em que cada R' é independentemente -H ou alquilo -C₁-C₆ não substituído. A menos que seja indicado em contrário, o alquilo C₁-C₁₅ é não substituído.

O termo "alquilo C₁-C₁₀", tal como é aqui utilizado, refere-se a uma cadeia de hidrocarbonetos saturada, linear ou ramificada, possuindo de 1 a 10 átomos de carbono. Os grupos alquilo C₁-C₁₀ representativos incluem, mas não estão limitados a, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, iso-hexilo, neo-hexilo, heptilo, iso-heptilo, neo-heptilo, octilo, iso-octilo, neo-octilo, nonilo, isononilo, neononilo, decilo, isodecilo e neodecilo. Numa concretização, o grupo alquilo C₁-C₁₀ é substituído com um ou mais dos seguintes grupos: grupos halo, -O-(alquilo C₁-C₆), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' ou -C(O)NHR', em que cada R' é independentemente -H ou alquilo C₁-C₆ não substituído. A menos que seja indicado em contrário, o alquilo C₁-C₁₀ é não substituído. O alquilo C₁-C₁₀ inclui, mas não está limitado a, alquilo C₁-C₆.

O termo "alquilo C₁-C₆", tal como é aqui utilizado refere-se a uma cadeia linear ou ramificada; um hidrocarboneto saturado possuindo de 1 a 6 átomos de carbono. Os grupos alquilo C₁-C₆ representativos incluem, mas não estão limitados a, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, iso-hexilo e neo-hexilo. A menos que seja indicado em contrário, o alquilo C₁-C₆ é não substituído.

O termo "arilo", tal como é aqui utilizado, refere-se a um grupo fenilo ou a um grupo naftilo. Numa concretização, o grupo arilo é substituído com um ou mais dos seguintes grupos: grupos -halo, -O(alquilo C₁-C₆), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' ou -C(O)NHR', em que cada R' é independentemente -H ou alquilo C₁-C₆ não substituído. A menos que seja indicado em contrário, o arilo é não substituído.

O termo "cicloalquilo C₃-C₈ monocíclico", tal como é aqui usado, é um anel de cicloalquilo monocíclico, não aromático, saturado, com 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 membros. Os grupos cicloalquilo C₃-C₈ monocíclicos representativos incluem, mas não estão limitados a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-heptilo e ciclo-octilo. Numa concretização, o grupo cicloalquilo C₃-C₈ monocíclico é substituído com um ou mais dos seguintes grupos: grupos -halo, -O-(alquilo C₁-C₆), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' ou -C(O)NHR', em que cada R' é independentemente -H ou alquilo C₁-C₆ não substituído. A menos que seja indicado em contrário, o cicloalquilo C₃-C₈ monocíclico é não substituído.

O termo "cicloalcenilo C₃-C₈ monocíclico", tal como é aqui utilizado, é um anel carbocíclico monocíclico, não aromático, com 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 membros, com pelo menos uma ligação dupla endocíclica, mas que não é aromático. Deve ser entendido que quando quaisquer dois grupos, em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão

ligados, formam um grupo cicloalcenilo C_3-C_8 monocíclico, o átomo de carbono ao qual os dois grupos estão ligados permanece tetravalente. Os grupos cicloalcenilo C_3-C_8 monocíclicos representativos incluem, mas não estão limitados a, ciclopropenilo, ciclobutenilo, 1,3-ciclobutadienilo, ciclopentenilo, 1,3-ciclopentadienilo, ciclo-hexenilo, 1,3-ciclo-hexadienilo, ciclo-heptenilo, 1,3-ciclo-heptadienilo, 1,4-ciclo-heptadienilo, -1,3,5-ciclo-heptatrienilo, ciclooctenilo, 1,3-ciclo-octadienilo, 1,4-ciclo-octadienilo, -1,3,5-ciclo-octatrienilo. Numa concretização, o grupo cicloalcenilo C_3-C_8 monocíclico é substituído com um ou mais dos seguintes grupos: grupos -halo, -O-(alquilo C_1-C_6), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' ou -C(O)NHR', em que cada R' é independentemente -H ou alquilo C_1-C_6 não substituído. A menos que seja indicado em contrário, o cicloalcenilo C_3-C_8 monocíclico é não substituído.

O termo "cicloalquilo C_8-C_{12} bicíclico", tal como é aqui usado, é um sistema de anéis cicloalquilo bicíclicos saturados, não aromáticos, de 8, 9, 10, 11 ou 12 membros. Os grupos cicloalquilo C_8-C_{12} bicíclicos representativos grupos incluem, mas não estão limitados a, deca-hidronaftaleno, octa-hidroindeno, deca-hidrobenzociclo-hepteno e dodeca-hidro-heptaleno. Numa concretização, o grupo cicloalquilo C_8-C_{12} bicíclico é substituído com um ou mais dos seguintes grupos: grupos -halo, -O(alquilo C_1-C_6), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' ou -C(O)NHR', em que cada R' é independentemente -H ou alquilo C_1-C_6 não

substituído. A menos que seja indicado em contrário, o cicloalquilo C₈-C₁₂ bicíclico é não substituído.

O termo "cicloalcenilo C₈-C₁₂ bicíclico", tal como é aqui utilizado, é um sistema de anéis cicloalquilo bicíclicos, não aromáticos, com 8, 9, 10, 11 ou 12 membros, tendo pelo menos uma ligação dupla endocíclica. Deve ser entendido que quando quaisquer dois grupos, em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados, formam um grupo cicloalcenilo C₈-C₁₂ bicíclico, o átomo de carbono ao qual os dois grupos estão ligados permanece tetravalente. Os grupos cicloalcenilo C₈-C₁₂ bicíclicos representativos incluem, mas não estão limitados a, octa-hidronaftaleno, hexa-hidronaftaleno, hexa-hidroindeno, tetra-hidroindeno, octa-hidrobenzociclo-hepteno, hexa-hidrobenzociclo-hepteno, tetra-hidrobenzociclo-hepteno, deca-hidro-heptaleno, octa-hidroheptaleno, hexa-hidro-heptaleno e tetra-hidro-heptaleno. Numa concretização, o grupo cicloalquilo C₈-C₁₂ bicíclico é substituído com um ou mais dos seguintes grupos: grupos -halo, -O-(alquilo C₁-C₆), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' ou -C(O)NHR', em que cada R' é independentemente -H ou alquilo C₁-C₆ não substituído. A menos que seja indicado em contrário, o cicloalcenilo C₈-C₁₂ bicíclico é não substituído.

O termo "halo", tal como é aqui utilizado, refere-se a -F, -Cl, -Br ou -I.

O termo "heterociclo com 3 a 7 membros" refere-se

a: (i) um cicloalquilo monocíclico, não aromático, de 3 ou 4 membros, em que 1 dos átomos de carbono do anel foi substituído com um átomo N, O ou S; ou (ii) um cicloalquilo monocíclico, aromático, ou não aromático, com 5, 6, ou 7 membros, em que 1-4 dos átomos de carbono do anel foram substituídos, independentemente, com um átomo N, O ou S. Os heterociclos monocíclicos aromáticos de 3 a 7 membros encontram-se ligados através de um átomo de carbono do anel. Os exemplos representativos de um grupo heterociclo monocíclico de 3 a 7 membros incluem, mas não estão limitados a, furanilo, furazanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, imidazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, morfolinilo, oxadiazolilo, oxazolidinilo, oxazolilo, oxazolidinilo, pirimidinilo, fenantridinilo, fenantrolinilo, piperazinilo, piperidinilo, piranilo, pirazinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, pirazolilo, piridazinilo, pirido-oxazole, piridoimidazole, piridotiazole, piridinilo, pirimidinilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, quinuclidinilo, tetra-hidrofuranilo, tiadiazinilo, tiadiazolilo, tienilo, tienotiazolilo, tieno-oxazolilo, tienoimidazolilo, tiomorfolinilo, tiofenilo, triazinilo, triazolilo. Numa concretização, o grupo heterociclo monocíclico de 3 a 7 membros é substituído com um ou mais dos seguintes grupos: grupos -halo, -O(alquilo C₁-C₆), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' ou -C(O)NHR', em que cada R' é independentemente -H ou alquilo C₁-C₆ não substituído. A menos que seja indicado em contrário, o heterociclo monocíclico de 3 a 7 membros é não substituído.

O termo "heterociclo bicíclico de 8 a 12 membros" refere-se a um cicloalquilo bicíclico de 8 a 12 membros, aromático ou não aromático, no qual um ou ambos os anéis do sistema de anéis bicíclicos possui 1-4 dos seus átomos de carbono do anel, independentemente substituídos com um átomo de N, O ou S. Encontram-se incluídos nesta classe os heterociclos monocíclicos de 3 a 7 membros, que se encontram fundidos a um anel de benzeno. Um anel não aromático de um heterociclo monocíclico de 8 a 12 membros encontra-se ligado através de um átomo de azoto, de enxofre, ou de carbono do anel. Os heterociclos monocíclicos aromáticos de 8 a 12 membros encontram-se ligados através de um átomo de carbono do anel. Exemplos de heterociclos bicíclicos de 8 a 12 membros incluem, mas não estão limitados a, benzimidazolilo, benzofuranilo, benzotiofuranilo, benzotiofenilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzotriazolilo, benzotetrazolilo, benzisoxazolilo, benzisotiazolilo, benzimidazolinilo, cinolinilo, deca-hidroquinolinilo, 1H-indazolilo, indolenilo, indolinilo, indolizinilo, indolilo, isobenzofuranilo, isoindazolilo, isoindolilo, isoindolinilo, isoquinolinilo, naftiridinilo, octa-hidroisoquinolinilo, ftalazinilo, pteridinilo, purinilo, quinoxalinilo, tetra-hidroisoquinolinilo, tetra-hidroquinolinilo e xantenilo. Numa concretização, cada anel de um grupo heterociclo bicíclico de 8 a 12 membros pode ser substituído com um ou mais dos seguintes grupos: grupo -halo, -O-(alquilo C₁-C₆), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' ou C(O)NHR', em que cada R' é independentemente -H ou alquilo C₁-C₆ não substituído. A menos

que seja indicado em contrário, o heterociclo bicíclico de 8 a 12 membros é não substituído. Os exemplos representativos de um "grupo feníleno" são descritos a seguir:

A frase "sal farmaceuticamente aceitável", tal é como aqui utilizada, designa um sal de um ácido e um átomo de azoto básico de um composto de purina. Os sais ilustrativos incluem, mas não estão limitados a, sais de sulfato, citrato, acetato, oxalato, cloreto, brometo, iodeto, nitrato, bissulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, lactato, salicilato, citrato ácido, tartarato, oleato, tanato, pantotenato, bitartarato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formato, benzoato, glutamato, metanossulfonato, etanossulfonato, benzenossulfonato, p-toluenossulfonato e pamoato (isto é, 1,1'-metileno-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)). O sal farmaceuticamente aceitável pode também ser um sal de sulfonato de cânfora. O termo "sal farmaceuticamente aceitável" refere-se também a um sal de um composto de purina possuindo um grupo funcional ácido, tal como um grupo ácido carboxílico funcional, e uma base. As bases adequadas incluem, mas não estão limitadas a, hidróxidos de metais alcalinos, tais como sódio, potássio e lítio; hidróxidos de metais alcalino-terrosos, tais como, cálcio e magnésio; hidróxidos de outros metais, tais como, alumínio e zinco; amoníaco e aminas orgânicas, tais como, mono, di, ou tri-alquilaminas não substituídas ou substituídas com hidroxi, diciclo-hexilamina; tributilamina; piridina; N-metilo, N-etilamina; dietilamina; trietil-

amina: mono-, bis-, ou tris-(2-OH-alquilaminas inferiores), tais como, mono-; bis-, ou tris-(2-hidroxietil)amina, 2-hidroxi-terc-butilamina, ou tris-(hidroximetil)metilamina, N,N-di-alquil inferior-N-(hidroxil-alquil inferior)-aminas, tais como, N,N-dimetil-N-(2-hidroxietil)amina ou tri-(2-hidroxietil)amina; N-metil-D-glucamina; e aminoácidos, tais como, arginina, lisina, e semelhantes. O termo "sal farmaceuticamente aceitável" inclui, também, um hidrato de um composto de purina. Algumas estruturas químicas são aqui descritas, usando-se linhas a *negrito* e tracejadas para representar ligações químicas. Estas linhas a *negrito* e tracejadas representam a estereoquímica absoluta. Uma linha a *negrito* indica que um substituinte está acima do plano do átomo de carbono ao qual se encontra ligado, e uma linha tracejada indica que um substituinte está abaixo do plano do átomo de carbono ao qual está ligado.

O termo "quantidade eficaz", tal como é aqui utilizado, refere-se a uma quantidade de um agonista A1 seletivo de adenosina que é eficaz para: (i) tratar ou prevenir a IOP elevada; ou (ii) reduzir a IOP num ser humano.

O termo "indivíduo" refere-se a um ser humano, por exemplo, a um ser humano sofrendo de, em risco de sofrer de, ou potencialmente capaz de sofrer de um aumento de IOP.

O termo "tratar", "tratado", "em tratamento" ou

"tratamento" inclui a diminuição ou alívio de pelo menos um dos sintomas associados ou causados pelo estado, desordem, ou doença a ser tratada. Em certas concretizações, o tratamento compreende a indução de IOP elevada, seguida pela ativação do composto da invenção, que por sua vez, diminui ou alivia pelo menos um dos sintomas associados ou causados pela IOP elevada. Por exemplo, o tratamento pode ser a diminuição de um ou vários dos sintomas de uma desordem, ou a erradicação completa de uma desordem.

O termo "uso" inclui qualquer uma ou mais das seguintes concretizações da invenção, respetivamente: o uso no tratamento de IOP elevada; o uso na síntese de composições farmacêuticas para uso no tratamento destas doenças, por exemplo, na síntese de um medicamento; os métodos de uso dos compostos da invenção no tratamento destas doenças; as preparações farmacêuticas com os compostos da invenção para o tratamento destas doenças; e os compostos da invenção para uso no tratamento destas doenças; como apropriado e conveniente, se não for indicado nada em contrário. Em particular, as doenças a ser tratadas e, assim, as preferidas para uso de um composto da presente invenção são selecionadas de glaucoma, POAG, ou OHT.

O termo "cerca de" ou "aproximadamente" significa geralmente dentro de 20%, mais preferivelmente, dentro de 10%, e ainda mais preferivelmente, dentro de 5% de um dado valor ou gama. Em alternativa, especialmente nos sistemas

biológicos, o termo "cerca de" significa dentro de cerca de um log (isto é, uma ordem de magnitude), de preferência, dentro de um fator de dois de um determinado valor.

Tal como é aqui utilizado, o termo "gota" refere-se a uma quantidade de fluido oftalmicamente aceitável que se assemelha a uma gota de líquido. Numa concretização, uma gota refere-se a um volume líquido equivalente a cerca de 5 μ l até cerca de 200 μ l, por exemplo, a cerca de 30 μ l até cerca de 80 μ l.

As abreviaturas seguintes são aqui utilizadas e têm as definições indicadas: CCPA é 2-cloro-N6-ciclopentiladenosina; CPA é N6-ciclopentiladenosina; NECA é adenosina-5'--(N-etil)carboxamido; NMR é ressonância magnética nuclear; R-PIA é N6-(2-fenil-isopropil)adenosina, R-isómero; OHT é a hipertensão ocular ou POAG é glaucoma primário de ângulo aberto; HP β CD é hidroxipropil- β -ciclodextrina.

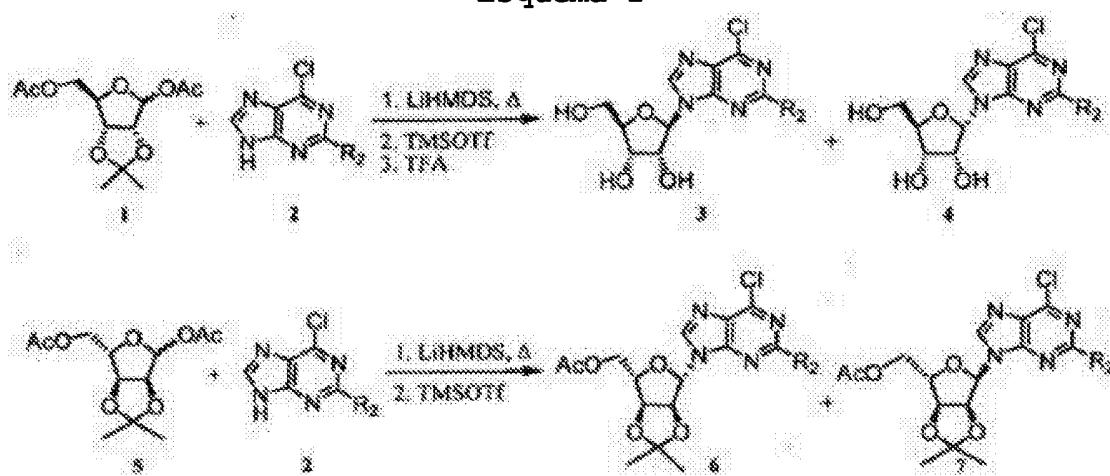
MÉTODOS DE SÍNTESE

Os compostos de acordo com a Fórmula I podem ser preparados usando-se procedimentos de síntese descritos na patente dos EUA 7.423.144, a qual é aqui incorporada na sua totalidade, assim como outros métodos publicados (ver Cristalli *et al.*, *J. Med. Chem.* 35:2363-2369, 1992; Cristalli *et. al.*, *J. Med. Chem.* 37:1720-1726, 1994;

Cristalli *et. al.*, *J. Med. Chem.* 38: 1462-1472, 1995; e Camaioni *et. al.*, *Bioorg. Med. Chem.* 5: 2267-2275, 1997), ou utilizando-se os procedimentos de síntese descritos abaixo.

O Esquema 1 mostra os métodos para a síntese de intermediários nucleósidos que são úteis para a síntese do composto da invenção.

Esquema 1



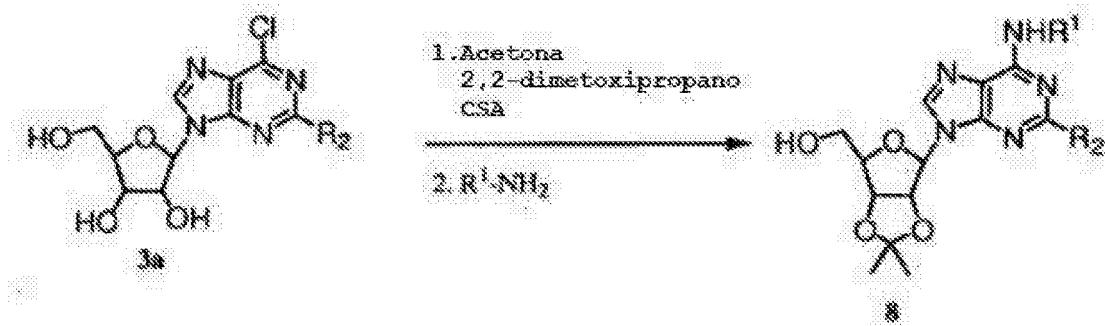
em que R₂ é conforme definido anteriormente.

O composto ribose protegido de Fórmula 1 pode ser acoplado com um composto de purina de Fórmula 2 usando-se hexametildissilazida de lítio e triflato de trimetilsililo, seguido por remoção de acetônido utilizando-se ácido trifluoroacético para proporcionar os intermediários nucleósidos de Fórmula 3 e os seus correspondentes anómeros de Fórmula 4. Da mesma forma, o diacetato de ribose de Fórmula 5 pode ser acoplado com um composto da Fórmula 2

utilizando-se hexametilsilazida de lítio e triflato de trimetilsililo para proporcionar intermediários nucleósidos de Fórmula 6 protegidos com acetonido e os seus correspondentes anómeros de Fórmula 7.

O Esquema 2 mostra um método útil para a síntese dos intermediários de adenosina de Fórmula 8 que são úteis para a síntese dos compostos da invenção.

Esquema 2

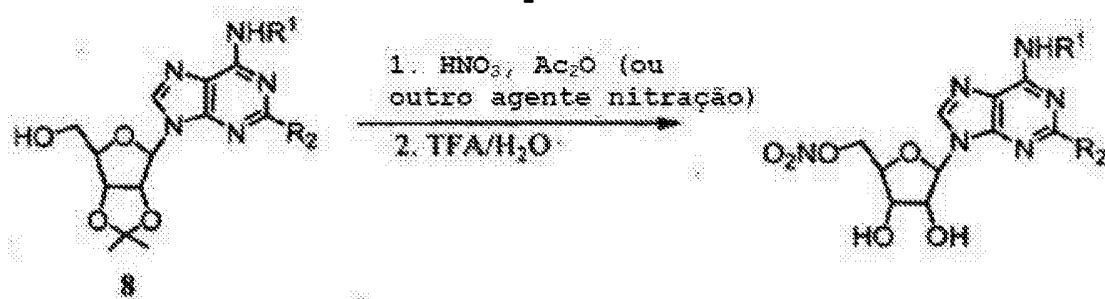


onde R^1 e R^2 são como definidos anteriormente.

O derivado 6-cloroadenosina de fórmula 3a é convertido no seu 2',3'-acetonido, utilizando-se acetona e 2,2-dimetoxipropano na presença de ácido canforossulfônico. O acetonido pode ser derivado adicionalmente, utilizando-se uma amina de fórmula R^1-NH_2 na presença de uma base para se proporcionar os compostos de fórmula 8.

A metodologia útil para sintetizar outros compostos da invenção está descrita no Esquema 4.

Esquema 4

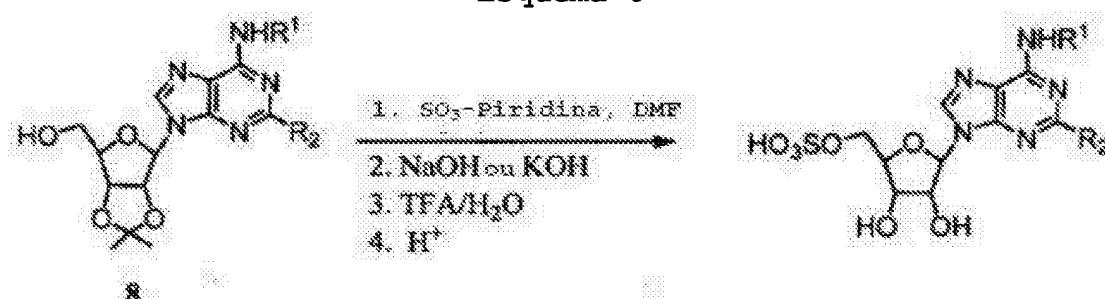


onde R^1 e R^2 são como definidos anteriormente.

Os intermediários adenosina de fórmula 8 podem ser convertidos nos seus análogos 5'-nitrato, utilizando-se ácido nítrico na presença de anidrido acético ou de outros agentes de nitração, tais como, MsCl/ONO_3 , ou tetrafluoroborato de nitrosônio. A remoção de acetonido utilizando-se TFA/água proporciona os compostos da invenção.

A metodologia útil para sintetizar os Dertivados de Purina de Fórmula (Id), em que R^3 é $-\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{H}$ encontra-se delineada no Esquema 6.

Esquema 6



onde R^1 e R^2 são como definidos anteriormente.

Os intermediários adenosina de fórmula 8 podem ser tratados com complexo trióxido de enxofre-piridina, para proporcionar o intermediário sal de piridina do ácido 5'-sulfónico correspondente. O intermediário sal de piridina pode então ser neutralizado com NaOH ou KOH, seguido por remoção de acetonido, utilizando-se TFA/água para proporcionar o sal de sódio ou de potássio correspondente, respetivamente, dos Derivados de Purina de Fórmula (Id), em que A é $-\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{H}$. O tratamento do sal de sódio ou de potássio com ácido aquoso forte, tal como ácido sulfúrico ou clorídrico, proporciona os compostos da invenção em que A é $-\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{H}$.

MODOS DE DISTRIBUIÇÃO

O composto A pode ser incorporado em vários tipos de composições ou formulações oftálmicas para distribuição. O Composto A pode ser administrado diretamente no olho (por exemplo: gotas ou pomadas oculares tópicas; dispositivos de libertação lenta, tais como as esponjas farmacêuticas de administração de fármaco implantados no *cul-de-sac* ou implantadas de forma adjacente à esclerótica ou no interior do olho; injeções perioculares, conjuntivais, intracamerais, intravítreas, ou intracanaliculares) ou sistemicamente (por exemplo: injeções orais, intravenosas, subcutâneas, ou intramusculares; parentericamente, distribuição dérmica ou nasal) utilizando-se técnicas bem conhecidas pelos peritos na técnica. É ainda contemplado que os agentes da invenção podem ser formulados nos dispositivos de implante ou de inserção intraocular.'

O Composto A é, de preferência, incorporado em formulações oftálmicas tópicas, com um pH de cerca de 4-8 para administração no olho. O composto pode ser combinado com conservantes, agentes tensioativos, intensificadores de viscosidade, intensificadores de penetração, tampões, cloreto de sódio e água, oftalmologicamente aceitáveis para se formar uma suspensão ou solução oftálmica estéril aquosa. As formulações de solução oftálmica podem ser preparadas por dissolução de um composto num tampão aquoso isotônico fisiologicamente aceitável. Além disso, a solução oftálmica pode incluir um agente tensioativo oftalmologicamente aceitável para ajudar na dissolução do composto. Além disso, a solução oftálmica pode conter um agente para aumentar a viscosidade ou a solubilidade, tal como, hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD), hidroximetilcelulose, hidroxietilcelulose, hidroxipropilmetylcelulose, metilcelulose, polivinilpirrolidona, ou semelhantes, para melhorar a retenção da formulação no saco conjuntival. Os agentes gelificantes podem também ser utilizados, incluindo, mas não se limitando a, goma de xantano ou de gellan. Com o fim de se preparar formulações de pomada oftálmicas estéreis, o ingrediente ativo pode ser combinado com um conservante num veículo apropriado, tal como óleo mineral, lanolina líquida, ou vaselina branca. As formulações de gel oftálmico estéril podem ser preparadas por suspensão do composto numa base hidrófila preparada a partir da combinação de, por exemplo, carbopol-974, ou semelhantes, de acordo com as formulações publicadas para

preparações oftálmicas análogas; os conservantes e agentes de tonicidade podem ser incorporados.

O Composto A em concretizações preferidas está contido numa composição em quantidades suficientes para diminuir a IOP em doentes com uma IOP elevada e/ou manter a IOP nos níveis normais em pacientes com POAG ou OHT. Tais quantidades são aqui referidas como "uma quantidade eficaz para controlar ou reduzir a IOP", ou mais simplesmente "uma quantidade eficaz". Os compostos estarão normalmente contidos nestas formulações numa quantidade de 0,05 mg/ml a 7,0 mg/ml, mas de preferência, numa quantidade de 0,4 a 7,0 mg/ml. Assim, na apresentação tópica, administram-se 1 a 2 gotas destas formulações sobre a superfície do olho, 1 a 4 vezes por dia, de acordo com o critério de um médico qualificado.

O Composto A também pode também ser utilizado em combinação com outros agentes de tratamento de glaucoma, tais como, mas não se limitando a, bloqueadores β , análogos de prostaglandina, inibidores de anidrase carbónica, agonistas α_2 , mióticos, neuroprotetores, antagonistas A3, agonistas A2A e combinações dos mesmos.

CONCEÇÃO DE UM ESTUDO CLÍNICO USANDO-SE OS COMPOSTOS DE FÓRMULA I

O estudo clínico aqui descrito é um estudo multicêntrico, aleatório, duplo cego, controlado por

placebo, com aumento da dose, com uma aplicação ocular tópica única do fármaco em estudo (ou seja, o Composto A ou placebo) ao olho em estudo de adultos com OHT ou POAG. O "olho em estudo" foi definido como o olho com a IOP média mais elevada, registada entre as 7:00 e 08h00 AM do dia anterior à dosagem (Dia 0). Os critérios de admissão de indivíduos incluem homens e mulheres sem potencial para procriar, com idades entre 18 a 75 anos (inclusive), que assinaram o consentimento informado, que foram diagnosticados com OHT ou POAG, e que tinham um risco baixo de exacerbação aguda da sua doença ocular no momento da admissão no estudo.

Os indivíduos adultos foram distribuídos sequencialmente em 1 a 7 grupos de tratamento. Cada grupo de tratamento incluia doze indivíduos: 8 indivíduos selecionados aleatoriamente para receberem 2,5, 7,5, 20, 60, 180, 350 ou 700 microgramas de Composto A no olho em estudo e 4, selecionados aleatoriamente, para receberem placebo (ver Tabela 1) no Dia 1.

Tabela 1. Esquema de Distribuição Aleatória no Ensaio Clínico

	Olho em Estudo	Olho Não Estudado
Ativo (8 por grupo de tratamento)	Fármaco ativo (2,5 - 700 μ g)	Sem tratamento
Placebo (4 por grupo de tratamento)	Placebo	Sem tratamento

Determinaram-se as pressões intraoculares mascaradas em duplicado com um tonómetro Goldmann após anestesia corneana tradicional. Após a determinação da linha de base da IOP bilateral (pré-dose) na manhã do Dia 1, aplicou-se o fármaco do estudo atribuída (Composto A ou placebo) como uma única gota de 50 μ L, apenas ao olho em estudo. Realizaram-se exames externos bilaterais subsequentes aos olhos e determinou-se a IOP mascarada às 9:00 AM, 10:00 AM, 12:00 AM e 2:00 PM (cada \pm 5 minutos), correspondendo a 1, 2, 4 e 6 horas após a aplicação do fármaco do estudo. Além disso, na coorte 700 mcg, determinou-se a IOP às 6:00 PM (18:00), correspondendo a 10 horas após a aplicação do fármaco do estudo.

DOSAGEM/FORMA DE DOSAGEM, VIA & REGIME DE DOSE

Os indivíduos tinham o fármaco do estudo aplicado por via de um conta-gotas ao saco conjuntival inferior do olho em estudo. O fármaco do estudo foi administrado apenas a um olho por indivíduo (o olho em estudo). As dosagens variaram de 2,5 microgramas a 350 microgramas por gota de 50 microlitros, por grupo de tratamento respetivo. Um oftalmologista certificado (ou pessoa designada com formação comparável) administrou o fármaco do estudo. A admissão aleatória de indivíduos em cada grupo de tratamento sucessivo baseou-se na revisão e aprovação dos dados de segurança dos grupos de tratamento completos, por parte do *Safety Research Committee*, constituído por três

médicos qualificados (ou seja, um interno, um cardiologista e um oftalmologista).

EXEMPLO DE FORMULAÇÃO

A formulação é 1 mg de Composto A por cada 20 mg de hidroxipropil- β -ciclodexrina (HP β CD) (isto é, 1:20 p/p) reconstituído com solução Salina para Injeção 0,9%, USP, a concentrações abaixo indicadas.

Dose Clínica (mcg/olho)	Composto A (mg/mL)	Dose Ocular Volume (μL)
2,5	0,05	50
7,5	0,15	50
20	0,40	50
60	1,2	50
180	3,6	50
350	7,0	50
700	7,0	2 x 50

RESULTADOS DO ENSAIO CLÍNICO

Os resultados do ensaio clínico são apresentados nas figuras e ainda conforme descrito a seguir.

A Figura 1 mostra o esquema de aumento de dose para os 7 grupos de tratamento do estudo clínico, multicêntrico, aleatório, duplo cego. Distribuíram-se aleatoriamente doze indivíduos em cada grupo de tratamento: 8 indivíduos receberam o Composto A e 4 indivíduos receberam

placebo. O aumento de dose em cada grupo de tratamento sucessivo baseou-se na aprovação do *Safety Review Committee* dos dados de segurança da coorte concluída mais recentemente.

As Figuras 2a e 2b mostram a IOP média e mediana (mmHg), respetivamente, no olho em estudo em cada ponto temporal para todos os grupos de tratamento. A variação da IOP média absoluta e mediana absoluta em relação à IOP da pré-dose (mmHg) no olho em estudo para todos os grupos de tratamento em cada ponto temporal é apresentada nas Figuras 3a e 3b.

A Figura 4a apresenta um gráfico que resume a análise de resposta nos 7 grupos de tratamento às 10:00 AM. Em indivíduos humanos tratados com doses oculares tópicas de Composto A, em aproximadamente 2 horas após a dose (aproximadamente às 10:00 AM), na qual é evidente a maior porção da diferença entre a IOP de olhos tratados com o fármaco versus olhos tratados com placebo. A avaliação clínica da IOP, 2 horas após a dose, é especialmente relevante para a deteção da presença de um efeito em pacientes humanos com glaucoma/OHT com significância estatística.

A Figura 4b apresenta um gráfico que resume a análise de resposta nos 7 grupos de tratamento, utilizando-se a taxa de resposta média num período de observação de 6

horas após a dose. Para se obter a taxa de resposta, calculou-se a média de percentagem de diminuição na IOP em cada indivíduo para cada um dos 3 pontos temporais após a dose. A média desta percentagem foi usada para se determinar a taxa de resposta.

A Figura 5 mostra a média e mediana da % de diminuição em relação à linha de base (BL; pré-dose) e a análise de resposta categórica da coorte 350 mcg durante todo o período de observação pós-dose.

Os valores apresentados nas Figuras 6 e 8 demonstram a diminuição estatisticamente significativa nas IOPs média e mediana (em relação às IOPs de linha de base de pré-dose) observada nas coortes 350 e 700 mcg em relação à resposta ao placebo.

A Figura 7 mostra a média e mediana da % de diminuição em relação à linha de base (BL; pré-dose) e a análise de resposta categórica da coorte 700 mcg durante o período de observação após a dose.

RESUMO DA EFICÁCIA DO COMPOSTO A

Descobriu-se que a diminuição na IOP em relação à linha de base da pré-dose do dia 1, induzida pelo Composto A foi a seguinte:

1. Diminuição da IOP relacionada com a dose

a. Observou-se uma tendência na diminuição média e mediana na IOP e a variação percentual relativamente à linha de base, especialmente no ponto temporal 2 horas após a dose. Os decréscimos médios e medianos maiores na IOP foram observados com a dose de 350 mcg.

b. A análise de resposta mostrou uma resposta à dose para o Composto A no número de indivíduos que obtiveram diminuições médias categóricas relativamente à linha de base na IOP de $\geq 10\%$, $\geq 15\%$ ou $\geq 20\%$, durante todo o período de observação (~6 horas). A % de indivíduos que atingiram maior diminuição na IOP (análise de resposta) foi observada no grupo de tratamento de 350 mcg.

2. Estatisticamente significativas em relação ao placebo

a. Observaram-se diferenças estatisticamente significativas em relação à resposta ao placebo nos grupos de tratamento de 350 mcg e 700 mcg, no ponto temporal de 2 horas após a dose.

3. No grupo de tratamento de 350 mcg, descobriu-se que a diminuição na IOP durou ao longo de todo o período de observação (~6 horas).

EXEMPLOS DE SÍNTESE

2',3'-isopropilideno-N⁶-ciclo-hexiladenosina:

Aqueceu-se uma solução de 6-cloroadenosina (2,58 g) e ciclo-hexilamina (5 g) em etanol (20 ml) ao refluxo durante 6 horas e, em seguida, arrefeceu-se até à temperatura ambiente. Concentrou-se a mistura reacional *in vacuo* e diluiu-se o resíduo resultante com água (50 ml) e acetato de etilo (300 ml). Separou-se a camada orgânica e extraíu-se a camada aquosa com acetato de etilo (2x50 ml). Lavaram-se as camadas orgânicas combinadas com água (1x30 ml), secaram-se sobre sulfato de sódio, concentraram-se *in vacuo* e secaram-se sob vácuo para proporcionar N⁶-ciclo-hexiladenosina como um sólido branco (2,600 g). Diluiu-se N⁶-ciclo-hexiladenosina (2,6 g) com acetona (30 ml) e adicionou-se 2,2-dimetoxipropano (12 ml) à solução resultante, seguido por ácido *D*-canforossulfônico (3,01 g) e deixou-se a mistura em agitação à temperatura ambiente, durante 18 horas. Concentrou-se a mistura reacional *in vacuo* e diluiu-se o resíduo resultante com acetato de etilo (150 ml), neutralizando-se, em seguida, até pH 8,0, utilizando-se NaHCO₃ aquoso saturado. Separou-se a camada orgânica, secou-se sobre sulfato de sódio, concentrhou-se *in vacuo*. Purificou-se o resíduo duas vezes numa coluna de gel de sílica, utilizando-se MeOH-CH₂Cl₂ (4:96) como um eluente para proporcionar 2',3'-isopropilideno-N⁶-ciclo-hexiladenosina (3,16 g). ¹H NMR (CDCl₃): δ 1,23-1,47 (m, 9H), 1,38 (s, 3H), 1,64 (s, 3H), 1,79-1,81 (m, 1H), 2,04-2,06 (m, 1H), 3,80 (d, J = 12 Hz, 1H), 3,96 (d, J = 12 Hz, 1H),

4,53 (s, 1H), 5,09-5,16 (m, 2H), 5,80-5,92 (m, 2H), 7,79 (s, 1H), 8,24 (s, 1H), 8,22-8,38 (m, 1H).

N⁶-ciclo-hexiladenosina-5'-O-nitrato (Composto E)

E) : Adicionou-se anidrido acético (6 mL) lentamente a uma solução agitada de ácido nítrico (2 g, 63%) a -25°C (banho de CCl₄-CO₂ usado para arrefecimento) e manteve-se a temperatura reacional a -7,5 até 0°C durante 1 hora adicional. Adicionou-se lentamente uma solução de 2',3'-isopropilideno-N⁶-ciclo-hexiladenosina (1,0 g) em anidrido acético (3 mL). Deixou-se em agitação a reação resultante a 0 até -5°C, durante 2 horas, e verteu-se a mistura lentamente para uma solução gelada de NaHCO₃ aquoso (40 mL) e de acetato de etilo (150 mL) e deixou-se em agitação durante 5 minutos. Separou-se a camada orgânica e lavou-se com água, secou-se sobre sulfato de sódio e concentrhou-se *in vacuo*. Diluiu-se e resíduo com uma mistura de TFA (16 mL) e água (4 mL) e deixou-se a mistura em agitação durante 30 minutos à temperatura ambiente. Concentrou-se a mistura *in vacuo* e diluiu-se o resíduo resultante com água (10 mL) e concentrhou-se *in vacuo*. Diluiu-se o resíduo obtido com acetato de etilo e lavou-se com bicarbonato de sódio aquoso, saturado e secou-se a camada orgânica sobre sulfato de sódio e concentrhou-se *in vacuo*. Purificou-se o resíduo em coluna de gel de sílica, utilizando-se acetato de etilo: hexano (gradiente de 40:60 a 20:80) para proporcionar N⁶-ciclo-hexiladenosina-5'-O-nitrato (0,150 gm). ¹H NMR (DMSO-D₆) : δ 1,08-1,13 (m, 1H), 1,27-1,41 (m, 4H), 1,57-1,83 (m, 6H), 4,12-4,17 (m, 2H), 4,30-4,33 (m, 1H), 5,48 (d, J = 5,4

Hz, 1H), 5,60 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 5,90 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 7,59 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 8,16 (s, 1H), 8,29 (s, 1H).

N⁶- (exo-2-norbornil)adenosina-5'-O-nitrato

(Composto F): Preparou-se 2',3'-isopropilideno-N⁶-exo-norborniladenosina seguindo-se o procedimento de 2',3'-isopropilideno-N⁶-ciclo-hexiladenosina e utilizou-se para a reação subsequente. Adicionou-se lentamente anidrido acético (6 mL) a uma solução agitada de ácido nítrico (2 g, 63%) a -25°C (banho de CCl₄-CO₂ usado para arrefecimento) e manteve-se a temperatura reacional a -7,5 até 0°C, durante 1 hora adicional. Adicionou-se lentamente uma solução de 2',3'-isopropilideno-N⁶-exo-norborniladenosina (1,2 g) em anidrido acético (3 mL). Deixou-se a mistura em agitação a 0 até -5°C, durante 40 minutos, e verteu-se a mistura lentamente numa solução gelada de NaHCO₃ aquoso (40 mL). Extraíu-se a solução em diclorometano. Separou-se a camada orgânica e lavou-se com salmoura, secou-se sobre sulfato de sódio e concentrhou-se sob vácuo. Purificou-se o resíduo numa coluna de gel de sílica, utilizando-se acetato de etilo-hexano (1:1) para proporcionar o produto desejado (0,245 g) e o composto de partida (1,0 g). Diluiu-se o produto nitro (0,245 g) numa mistura de TFA (15 mL) e água (5 mL) e deixou-se a mistura em agitação durante 30 minutos à temperatura ambiente. Concentrou-se sob vácuo e diluiu-se com água (10 mL) e concentrhou-se *in vacuo*. Diluiu-se o resíduo resultante com acetato de etilo e lavou-se com solução de bicarbonato de sódio aquoso saturado. Secou-se a camada orgânica sobre sulfato de sódio e concentrhou-se *in*

vacuo. O resíduo foi recristalizado a partir da mistura de acetato de etilo e hexano para proporcionar N⁶-exo-2-norborniladenosina-5'-O-nitrato (0,123 gm). ¹H NMR (DMSO-D₆): 1,03-1,21 (m, 3H), 1,40-1,56 (m, 3H), 1,58-1,64 (m, 4H), 3,94 (bs, 1H), 4,13-4,17 (m, 1H), 4,30 (bs, 1H), 4,66-4,87 (m, 3H), 5,49 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 5,62 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 5,91 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 7,60 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 8,20 (s, 1H), 8,31 (s, 1H).

2-cloro-N⁶-ciclo-hexiladenosina: Aqueceu-se uma mistura de 2,6-dicloroadenosina (1,0 g) e ciclo-hexilamina (0,926 g) em etanol (30 ml) ao refluxo, durante 6 horas, e em seguida, arrefeceu-se até à temperatura ambiente. Concentrou-se a mistura sob vácuo. Purificou-se o resíduo na coluna de gel de sílica, utilizando-se MeOH - CH₂Cl₂ (1:6 a 1:5). Concentraram-se as frações combinadas e secaram-se sob vácuo para proporcionar 2-cloro-N⁶-ciclo-hexiladenosina como um sólido branco (2,600 g). ¹H NMR (DMSO-D₆): δ 1,12-1,21 (m, 2H), 1,33-1,43 (m, 3H), 1,63-1,86 (m, 6H), 3,57-3,62 (m, 1H), 3,66-3,69 (m, 1H), 3,97 (d, J = 3 Hz, 1H), 4,16 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 4,54 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 5,08-5,11 (m, 1H), 5,24 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 5,51 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 5,85 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 8,26 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 8,41 (s, 1H).

2-Cloro-2',3'-isopropilideno-N⁶-ciclo-hexiladenosina: Diluiu-se 2-cloro-N⁶-ciclo-hexiladenosina (0,5 g) com acetona (30 ml) e adicionou-se à mistura 2,2-dimetoxipropano (2,04 g), seguido por ácido D-

canforossulfônico (CSA, 0,272 g). Deixou-se a mistura reacional resultante em agitação à temperatura ambiente durante 2 horas. Adicionou-se CSA adicional (0,2 g) e agitou-se durante 2 horas. Concentrou-se a mistura *in vacuo* e diluiu-se o resíduo resultante com acetato de etilo, em seguida, neutralizou-se até pH 8,0, utilizando-se NaHCO₃ aquoso concentrado. Separou-se a camada orgânica, secou-se sobre sulfato de sódio, concentrou-se sob vácuo para proporcionar 2-cloro-2',3'-isopropilideno-N⁶-ciclo-hexiladenosina (0,378 g). ¹H NMR (CDCl₃): δ 1,23-1,30 (m, 3H), 1,36-1,44 (m, 1H), 1,63 (s, 3H), 1,68-1,79 (m, 5H), 2,04-2,08 (m, 2H), 3,81 (d, J = 5 Hz, 1H), 3,99 (d, J = 12,9 Hz, 1H), 4,51 (s, 1H), 5,11 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 5,15-5,18 (m, 1H), 5,75 (bs, 1H), 5,78 (d, J = 4,5 Hz, 1H), 5,96 (bs, 1H), 7,76 (s, 1H).

Sal sódico de 2-cloro-N⁶-ciclo-hexiladenosina-5'-O-sulfato (Composto G): Dissolveu-se 2-cloro-2',3'-isopropilideno-N⁶-ciclo-hexiladenosina (0,540 g) em DMF (6 ml) e adicionou-se lentamente à solução de trióxido de enxofre (0,302 g) em DMF (3 ml). Agitou-se a mistura durante a noite, à temperatura ambiente. Concentrou-se em evaporador rotativo e diluiu-se o resíduo com água (8 ml). Neutralizou-se lentamente a solução aquosa com NaOH (0,1N) até pH 7,0. Extraiu-se em acetato de etilo e concentrou-se em seguida a camada aquosa. Usou-se o sólido branco obtido como tal na etapa seguinte. Tratou-se o sal de sulfato de sódio protegido com a mistura de TFA-água (16:4 ml) e agitou-se durante 30 min. Concentrou-se a mistura reacional

e cristalizou-se o resíduo a partir de acetona para proporcionar sal sódico de 2-cloro-N⁶-ciclo-hexiladenosina-5'-O-sulfato (0,150 g). ¹H NMR (DMSO-D₆): δ 1,10-1,13 (m, 1H), 1,25-1,41 (m, 4H), 1,57-1,83 (m, 6H), 3,72-4,08 (m, 4H), 4,47 (s, 1H), 5,81 (s, 1H), 8,14 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 8,43 (s, 1H).

2-Cloro-N⁶-ciclo-hexiladenosina-5'-O-nitrato

(Composto H): A seguir às reações de nitração e de desproteção com TFA água, preparou-se 2-cloro-N⁶-ciclo-hexiladenosina-5'-O-nitrato a partir de 2-cloro-2',3'-isopropilideno-N⁶-ciclo-hexiladenosina. ¹H NMR (CDCl₃): δ 1,06-1,42 (m, 4H), 1,64-1,88 (m, 5H), 4,08 (bs, 1H), 4,21 (s, 1H), 4,30 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 4,41 (s, 1H), 4,83-4,88 (m, 2H), 5,57 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 5,70 (d, J = 4,5 Hz, 1H), 5,90 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 8,26 (d, J = 8,7, 1H), 8,38 (s, 1H).

Síntese de Composto A

N⁶-Ciclopentiladenosina: Aqueceu-se uma solução de 6-cloroadenosina (43 g) e ciclopentilamina (5 eq.) em etanol (50 eq.) ao refluxo, durante 3 horas, arrefecendo-se em seguida até à temperatura ambiente. Concentrou-se a mistura reacional resultante *in vacuo* e diluiu-se o resíduo resultante com água (400 ml) e acetato de etilo (400 ml). Separou-se a camada orgânica e extraiu-se a camada aquosa em acetato de etilo (2x400 ml). Lavaram-se as camadas orgânicas combinadas com água (2x200 ml), secaram-se sobre sulfato de sódio, concentraram-se *in vacuo* e secaram-se sob

vácuo para proporcionar um sólido que foi suspenso em MeOH (400 mL), filtrado e seco para proporcionar N⁶-ciclopentiladenosina (43,8 g).

2',3'-Isopropilideno-adenosina-N⁶-ciclopentiladenosina:

Diluiu-se N⁶-ciclopentiladenosina (43 g) **com** acetona (75 eq.) **e adicionou-se** 2,2-dimetoxipropano (5 eq.) **à** solução resultante, seguido por ácido *D*-canforossulfônico (1 eq) **e deixou-se** a reação resultante **em agitação** **à** temperatura ambiente, durante 3 horas. Concentrou-se a mistura reacional resultante *in vacuo* e diluiu-se o resíduo resultante com acetato de etilo, em seguida, neutralizou-se até pH 7,0 utilizando-se NaHCO₃ aquoso concentrado. Separou-se a camada orgânica, secou-se sobre sulfato de sódio, concentrou-se *in vacuo* e secou-se sob vácuo, para proporcionar um sólido que foi suspenso em hexano (250 mL), filtrou-se, lavou-se com hexano e secou-se sob vácuo para proporcionar adenosina de 2',3'-isopropilideno-N⁶-ciclopentilo (43 g).

2',3'-isopropilideno-N⁶-ciclopentiladenosina-5'-nitrato:

Adicionou-se lentamente anidrido acético (22 eq) **a** uma solução agitada de ácido nítrico (5 eq., 63%) **a** -10°C (banho acetonitrilo-CO₂ usado para arrefecimento) durante um período de 4 horas, mantendo-se a temperatura reacional mantida a -5 até 5°C durante a adição. Arrefeceu-se a solução resultante até -20°C e adicionou-se lentamente uma solução de 2',3'-isopropilideno-N⁶-ciclopentiladenosina (18,250 gm, 0,048 mol) **em** anidrido acético (37 mL, 8 eq.).

Deixou-se a reação resultante a agitar a -15 até -5°C, durante 1 hora e verteu-se, lentamente, a mistura reacional resultante numa solução gelada de NaHCO₃ aquoso (168 g em 800 mL de água) e acetato de etilo (350 mL) e deixou-se a solução resultante a agitar durante 5 minutos. Separou-se a camada orgânica e extraiu-se a camada aquosa, utilizando-se acetato de etilo (350 mL). Lavaram-se as camadas orgânicas combinadas com água, e secaram-se sobre sulfato de sódio, concentraram-se *in vacuo* e purificaram-se utilizando-se cromatografia *flash* em coluna de gel de sílica, usando-se 70% de acetato de etilo-hexano como eluente para proporcionar 2',3'-isopropilideno-N⁶-ciclopentiladenosina-5'-nitrito (14,9 g).

Composto A: Diluiu-se 2',3'-isopropilideno-N⁶-ciclopentiladenosina-5'-nitrito (4,8 g) com uma mistura de TFA (20 mL) e água (5 mL) e deixou-se a reação resultante a agitar durante 30 minutos à temperatura ambiente. Concentrou-se a mistura reacional resultante *in vacuo* e diluiu-se o resíduo resultante com água (10 mL) e concentrou-se *in vacuo*. Diluiu-se o resíduo resultante com acetato de etilo e lavou-se com bicarbonato de sódio aquoso saturado, e secou-se a camada orgânica sobre sulfato de sódio e concentrou-se *in vacuo* para proporcionar um resíduo sólido branco que foi seco sob vácuo e, em seguida, recristalizado a partir de etanol frio para proporcionar o Composto A (3,1 gm). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 1,49-1,58 (m, 4H), 1,66-1,72 (m, 2H), 1,89-1,94 (m, 2H), 4,12-4,17 (m, 1H), 4,28-4,33 (m, 1H). 4,48 (bs, 1H), 4,65-4,87 (m, 3H), 5,5

(d, $J = 5,1$ Hz, 1H), 5,63 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 5,91 (d, $J = 5,1$ Hz, 1H), 7,75 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 8,17 (bs, 1H), 8,30 (s, 1H); MS (ES $^+$): m/z 381,35 (M + 1); Anal. Calc. para C₁₅H₂₀N₆O₆: C, 47,37; H, 5,30; N, 22,10. Encontrado: C, 47,49; H, 5,12; N, 21,96.

Síntese de Composto B

2-cloro-N⁶-ciclopentiladenosina - Diluiram-se 2',3',5'-triacetoxi-2,6-dicloroadenosina (1,5 g) e ciclopentilamina (8 eq.) com etanol (50 eq.) e aqueceu-se a solução resultante ao refluxo, durante cerca de 15 horas, em seguida arrefeceu-se até à temperatura ambiente e concentrou-se *in vacuo* para proporcionar um resíduo bruto que foi diluído com uma mistura de acetato de etilo e água e transferido para uma ampola de decantação. Separou-se a camada orgânica, secou-se sobre sulfato de sódio e concentrou-se *in vacuo* para proporcionar um resíduo bruto que foi purificado utilizando-se cromatografia *flash* em coluna de gel de sílica (8% MeOH-diclorometano como eluente) para proporcionar 2-cloro-N⁶-ciclopentiladenosina (0,948 g). MS m/z 370,32 [M + H] $^+$.

2',3'-isopropilideno-2-cloro-N⁶-ciclopentiladenosina: Diluiram-se 2-cloro-N⁶-ciclopentiladenosina (900 mg, como preparada na etapa anterior) e 2,2-dimetoxipropano (10 eq.) com acetona (15 mL) e adicionou-se à solução resultante ácido D-canforossulfônico (1 eq) e deixou-se a reação resultante a agitar à temperatura ambiente, durante

2 h. Concentrou-se a mistura reacional resultante *in vacuo*, diluiu-se com uma mistura de NaHCO₃ aquoso saturado e acetato de etilo e transferiu-se para uma ampola de decantação. Separou-se a camada orgânica, secou-se sobre sulfato de sódio e concentrou-se *in vacuo* para proporcionar um resíduo bruto, que foi purificado, utilizando-se cromatografia *flash* em coluna de gel de sílica (usando-se 5% MeOH-diclorometano como eluente) para proporcionar 2',3'-isopropilideno-2-cloro-N⁶-ciclopentiladenosina (0,905 g). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 1,36 (s, 3H), 1,62 (s, 3H), 1,66-2,16 (m, 9H), 3,78 (d, J = 12,9 Hz, 1H), 3,98 (d, J = 12,9 Hz, 1H), 4,51 (bs, 1H), 4,55-4,60 (m, 1H), 5,09-5,17 (m, 2H), 5,81 (bs, 1H), 7,25 (s, 1H), 7,89 (s, 1H).

2',3'-isopropilideno-2-cloro-N⁶-ciclopentiladenosina-5'-nitrato:

Adicionou-se lentamente uma solução de ácido nítrico (2,0 mL, 60%) durante um período de 30 minutos a anidrido acético (16,0 mL), a -10 até 10°C (utilizando-se banho de arrefecimento acetonitrilo-CO₂) e deixou-se a mistura reacional a agitar a -10 até 10°C, durante 10 minutos. Arrefeceu-se, em seguida, a mistura reacional a -30°C e, em seguida, adicionou-se lentamente uma solução de 2',3'-isopropilideno-2-cloro-N⁶-ciclopentiladenosina (655 mg, 0,0016 mol, como preparada na etapa anterior) em anidrido acético (8,0 mL). Quando a adição ficou completa, deixou-se a reação resultante aquecer até -5°C e monitorizou-se usando-se TLC (solvente 5% MeOH-CH₂Cl₂ ou 70% EtOAc-hexano). Quando a reação estava

completa, verteu-se a mistura reacional, lentamente, sobre uma mistura gelada de NaHCO₃ aquoso saturado (300 equivalentes em 75 mL de água) e acetato de etilo (60 mL). Separou-se a camada orgânica e extraiu-se novamente a camada aquosa com acetato de etilo. Lavaram-se as camadas orgânicas combinadas com água, secaram-se sobre sulfato de sódio, e concentraram-se *in vacuo* para proporcionar um resíduo bruto. Purificou-se o resíduo bruto, utilizando-se cromatografia *flash* em coluna (5% metanol-diclorometano como eluente) para proporcionar 2',3'.isopropilideno-2-cloro-N⁶-ciclopentiladenosina-5'-nitrato (0,435 g). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 1,38 (s, 3H), 1,59 (s, 3H), 1,66-2,13 (m, 9H), 4,50-4,55 (m, 1H), 4,71-4,83 (m, 2H), 5,14-5,17 (m, 1H), 5,31 (d, J = 5,7 Hz, 1 H), 6,04 (s, 1H), 7,24 (s, 1H), 7,81 (s, 1H). MS *m/z* 455,44 [M + H]⁺.

Composto B: Diluiu-se 2',3'-isopropilideno-2-cloro-N⁶-ciclopentiladenosina-5'-nitrato (0,435 g, conforme preparado na etapa anterior) com TFA (20 mL) e água (5 mL) e deixou-se a solução resultante a agitar durante 30 minutos. Concentrou-se a mistura reacional resultante *in vacuo* e diluiu-se o resíduo resultante com água (10 mL) e concentrou-se a solução resultante *in vacuo*. Diluiu-se o resíduo bruto obtido com acetato de etilo, transferiu-se para uma ampola de decantação, lavou-se com bicarbonato de sódio aquoso saturado, secou-se sobre sulfato de sódio e concentrou-se *in vacuo*. Purificou-se o resíduo bruto obtido utilizando-se cromatografia *flash* em coluna de gel de

sílica (usando-se 10% metanol-diclorometano como eluente) para proporcionar o Composto 16 (0,250 g). ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 1,52-1,95 (m, 9H), 4,13-4,24 (m, 2H), 4,55-4,58 (m, 1H), 4,73-4,85 (m, 2H), 5,50 (bs, 1H), 5,61 (bs, 1H), 5,84 (d, J = 5,1 Hz, 1 H), 8,33 (bs, 2H), MS m/z 414,85 [M + H]⁺.

Síntese de Composto C (sal de sódio)

Agitou-se uma mistura de 2',3'-isopropilideno-N⁶-ciclopentiladenosine (1 g, 0,0026 mol, preparada como descrito no Exemplo 1) e complexo trióxido de enxofre-piridina (0,0039 mol) em DMF (17 mL) à temperatura ambiente, durante cerca de 18 horas. Removeu-se o DMF *in vacuo* e secou-se o resíduo resultante *in vacuo*. Diluiu-se o resíduo seco com água (25 mL), neutralizou-se até pH 7,0, utilizando-se NaOH (1N) e concentrhou-se *in vacuo* para proporcionar um resíduo bruto, que foi diluído com uma solução de TFA (solução a 80% em água, 50 mL). Deixou-se a solução resultante a agitar a 25°C, durante 30 minutos e concentrhou-se a mistura reacional *in vacuo* para se obter um resíduo bruto, que foi diluído com água (10 mL) e concentrado *in vacuo*. O composto bruto obtido foi recristalizado a partir de acetona-água para proporcionar o composto C (sal de sódio) (805 mg). ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): 1,53-1,96 (m, 9H), 3,78-4,10 (m, 4H), 4,43-4,54 (m, 2H), 5,90 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,46 (s, 1H). MS m/z 416,20 [M + H]⁺.

EXEMPLO - ESTUDOS DE LIGAÇÃO**Preparação de Culturas Celulares e de Membranas**

Cultivaram-se e mantiveram-se células CHO estavelmente transfetadas com recetor A₁ de adenosina humana em Meio Eagles Modificado de Dulbecco com uma mistura de nutriente F12 (DMEM/F12), sem nucleósidos, contendo soro bovino fetal a 10%, penicilina (100 U/mL), estreptomicina (100 µg/mL), L-glutamina (2 mM) e Geneticina (G-418, 0,2 mg/mL; A₂₈, 0,5 mg/mL) a 37°C em 5% de CO₂/95% de ar. As células são, então, divididas 2 ou 3 vezes por semana a uma razão compreendida entre 1:5 e 1:20.

Prepararam-se as membranas para experiências de ligação a radioligando a partir de células frescas ou congeladas, tal como descrito em Klotz *et al.*, *Naunyn-Schmiedeberg' Arch. Pharmacal*, 357: 1-9 (1998). Em seguida, a suspensão de células foi homogeneizada em tampão hipotônico gelado (Tris/HCl 5 mM, EDTA 2 mM, pH 7,4) e centrifugou-se durante 10 minutos (4°C) a 1.000 g. As membranas foram, então, sedimentadas a partir do sobrenadante durante 30 minutos a 100.000 g e ressuspensas em tampão de Tris/HCl 50 mM a pH 7,4 (para recetores A₃ de adenosina: Tris/HCl 50 mM, MgCl₂ 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8,25), congeladas em azoto líquido a uma concentração proteíca de 1-3 mg/mL e armazenada a -80°C.

Estudos de Ligação ao Recetor de Adenosina

As afinidades dos Compostos de Purina selecionados ao recetor A₁ de adenosina podem ser determinadas, medindo-se o deslocamento da ligação específica de [³H]-2-cloro-N⁶-ciclopentil adenosina em células CHO transfectadas de forma estável com um recetor A₁ de adenosina recombinante humano expresso como K_i (nM).

As constantes de dissociação de compostos não marcados (valores de K_i) são determinadas em experiências de competição em microplacas de 96 poços, usando-se o agonista seletivo de A₁ 2-cloro-N⁶-[³H]ciclopentiladenosina ([³H]CCPA, 1 nM) para a caracterização da ligação ao recetor A₁. A ligação não específica é determinada na presença de R-PIA 100 µM e de teofilina 1 nM, respetivamente. Para mais detalhes, consultar Klotz *et al.*, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacal*, 357:1-9, 1998. Os dados de ligação podem ser calculados por ajuste de curva não linear, usando-se o programa SCTFIT (De Lean *et al.* *Mol. Pharm.* 1982, 21:5-16).

Caracterização funcional

Testou-se a inibição mediada pelos recetores A₁ e A₃ da atividade de adenililciclase estimulada por forscolina em membranas preparadas a partir de células CHO estavelmente transfectadas com os recetores A₁ e A₃ de adenosina humana. Testou-se a estimulação mediada por

recetores A_{2a} e A_{2b} de atividade de ciclase basal em membranas preparadas a partir de células CHO estavelmente transfectadas com os recetores A_{2a} e A₃ de adenosina humana.

Inibição da adenililciclase através dos recetores A₁ e A₃
de adenosina humana

	A₁ (EC₅₀ nM)	A₃ (EC₅₀ nM)
Composto A	17	>100.000
Composto B	20	>100.000
Composto E	29	>100.000
Composto G	19	>100.000

A presente invenção e as suas concretizações foram descritas em detalhe.

Lisboa, 30 de novembro de 2015

REIVINDICAÇÕES

1. Um composto para utilização no tratamento de pressão intraocular elevada, glaucoma, hipertensão ocular, ou glaucoma primário de ângulo aberto num ser humano, em que o composto é nitrato de ((2R,3S,4R,5R)-5-(6-(ciclopentilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-di-hidroxitetra-hidrofuran-2-il)metilo.

2. O composto para uso de acordo com a reivindicação 1, em que o composto é administrado ao olho afetado numa dosagem de

- i) desde cerca de 0,05 mg/ml a cerca de 7,0 mg/ml do composto, de 1 a 4 vezes diárias, ou
- ii) desde cerca de 20 a cerca de 700 µg do composto, de 1 a 2 vezes diárias, ou
- iii) cerca de 350 µg do composto, de 1 a 2 vezes diárias.

3. O composto para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 2, em que o composto é administrado em gotas, de preferência, em doses de 1 ou 2 gotas.

4. O composto para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, em que a administração do composto reduz a IOP do olho afetado em, pelo menos 10%,

ou, em pelo menos 10-20%, ou, em pelo menos 10-20%, ou em 20%, ou mais.

5. O composto para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, em que a administração do composto reduz a IOP do olho afetado em, pelo menos, 10% durante mais de 3 horas, ou, em pelo menos, 10-20% durante mais de 3 horas, ou em 20% ou mais, durante mais de 3 horas, ou em pelo menos 10%, durante pelo menos 6 horas.

6. O composto para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, em que é administrado um segundo agente de redução de IOP previamente a, simultaneamente com, ou sequencialmente ao composto.

7. O composto para uso de reivindicação 6, em que o segundo agente de redução de IOP é selecionado do grupo constituído por bloqueadores β , análogos de prostaglandina, inibidores de anidrase carbónica, inibidores de cinase ró, agonistas α^2 , mióticos, neuroprotetores, antagonistas A_3 , agonistas A_2A , moduladores do canal iónico e combinações dos mesmos.

8. O composto para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, em que o composto é para usar no tratamento de uma doença ou condição selecionada do grupo constituído por glaucoma de tensão normal, hipertensão ocular e glaucoma primário de ângulo aberto.

9. Uma composição farmacêutica oftálmica para uso no tratamento de pressão intraocular elevada, glaucoma, hipertensão ocular, ou glaucoma primário de ângulo aberto, compreendendo um composto, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 8 e um veículo ou excipiente farmaceuticamente aceitável.

10. A composição farmacêutica para uso de reivindicação 9, em que a dita composição compreende:

- (i) desde cerca de 0,05 mg/ml a cerca de 7 mg/ml do dito composto, ou
- (ii) desde cerca de 0,4 mg/ml a cerca de 7 mg/ml do dito composto.

11. A composição farmacêutica para uso de acordo com a reivindicação 9, a qual é uma formulação oftálmica tópica para a redução da pressão intraocular, compreendendo de 0,05 mg/ml a cerca de 7 mg/ml do composto, conforme definido na reivindicação 1, e de 1 mg/ml a cerca de 140 mg/ml de hidroxipropil- β -ciclodextrina em solução salina para injeção.

12. A composição farmacêutica para uso de acordo com a reivindicação 11, compreendendo 7 mg/ml do composto, conforme definido na reivindicação 1.

13. Um composto para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 9 a 12, em que a composição farmacêutica é para usar no tratamento de uma doença ou condição selecionada do grupo constituído por glaucoma de tensão normal, hipertensão ocular e glaucoma primário de ângulo aberto.

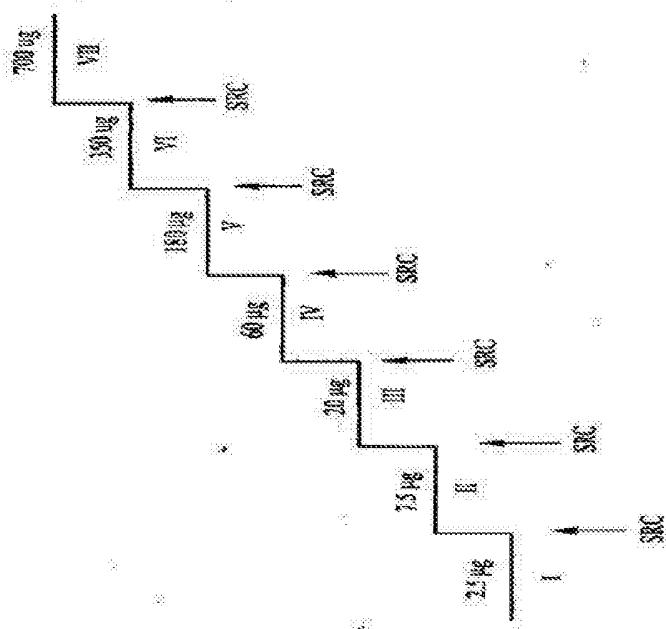
Lisboa, 30 de novembro de 2015

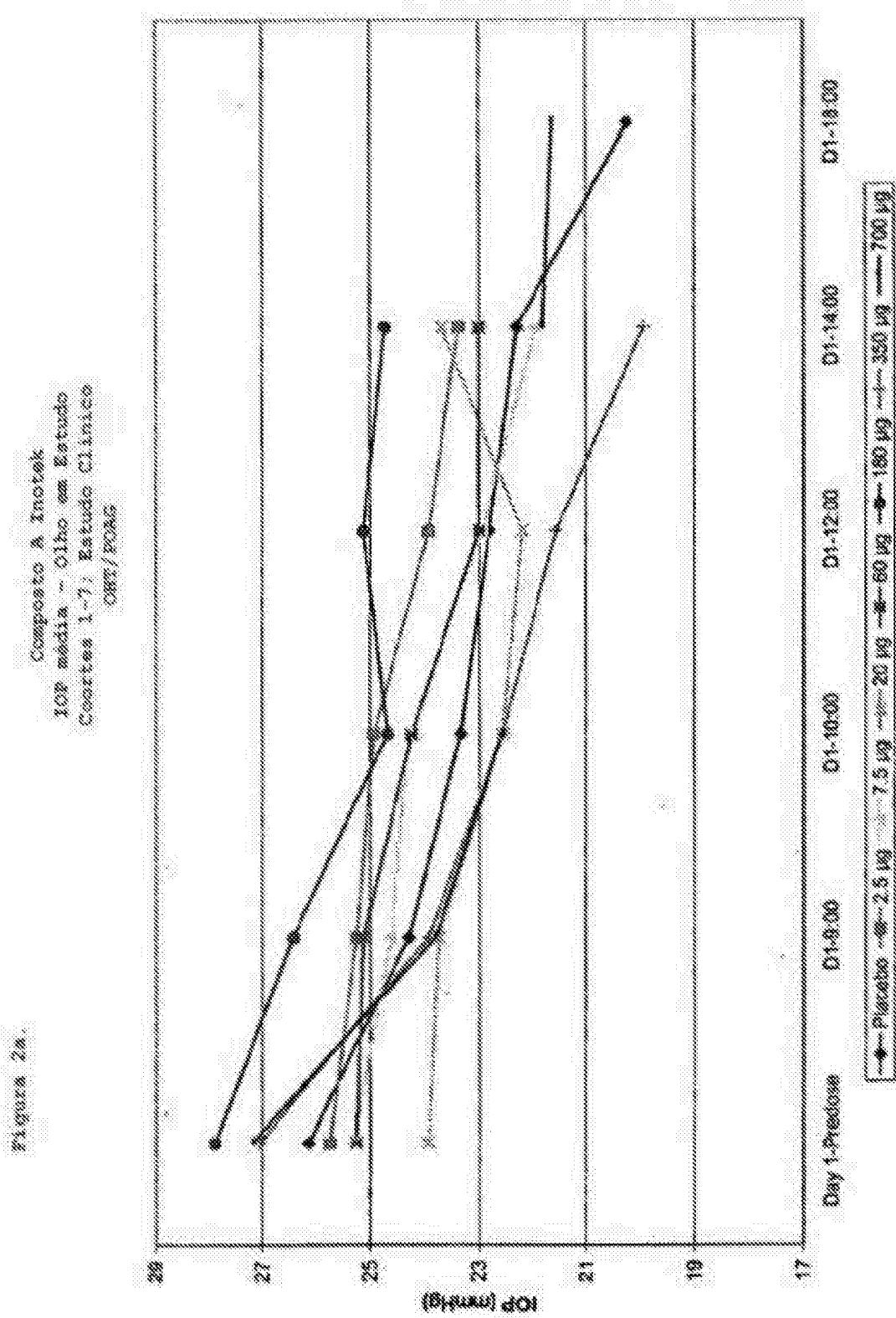
Figura 1

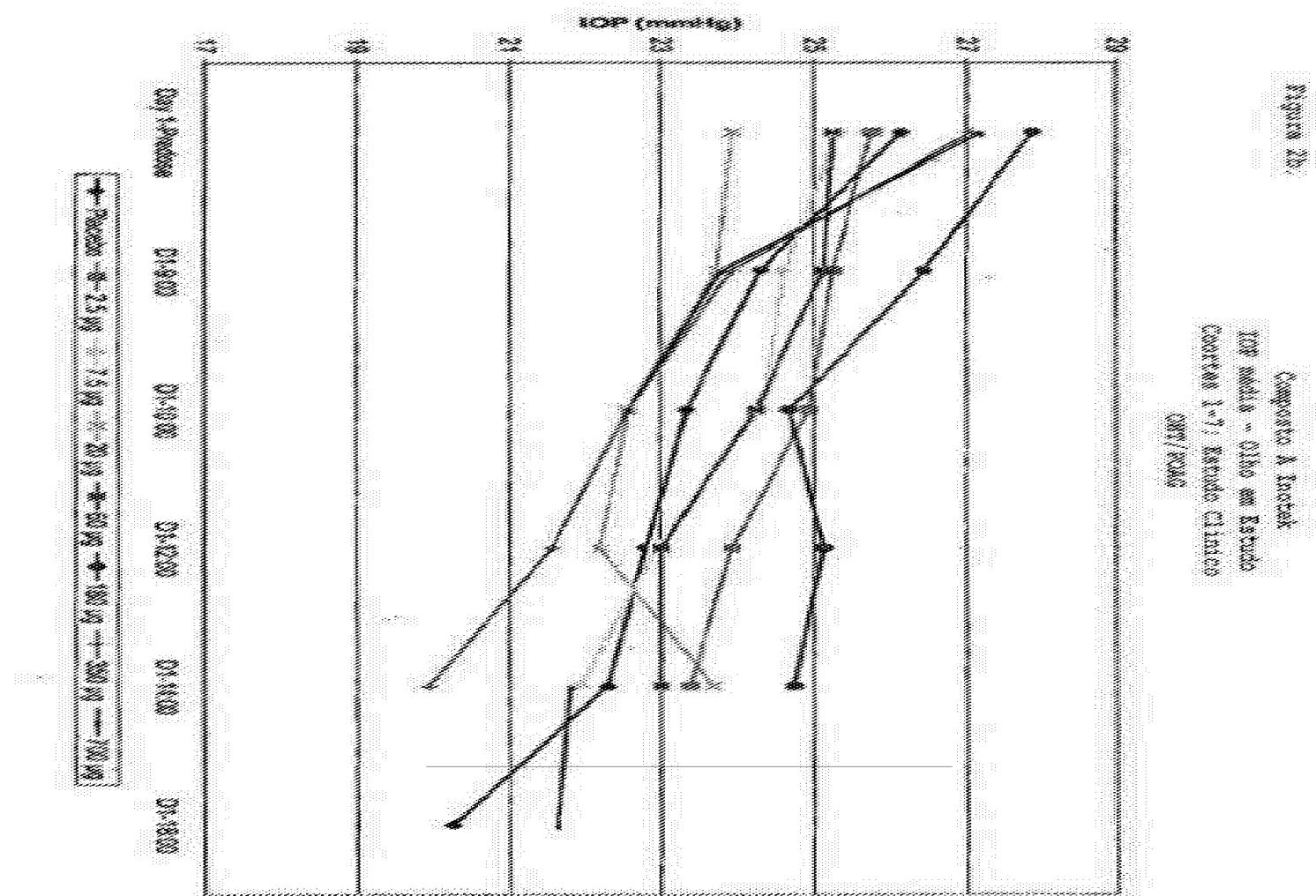
Composto A
Estudo de Aumento da
Dose Glaucoma/OHT

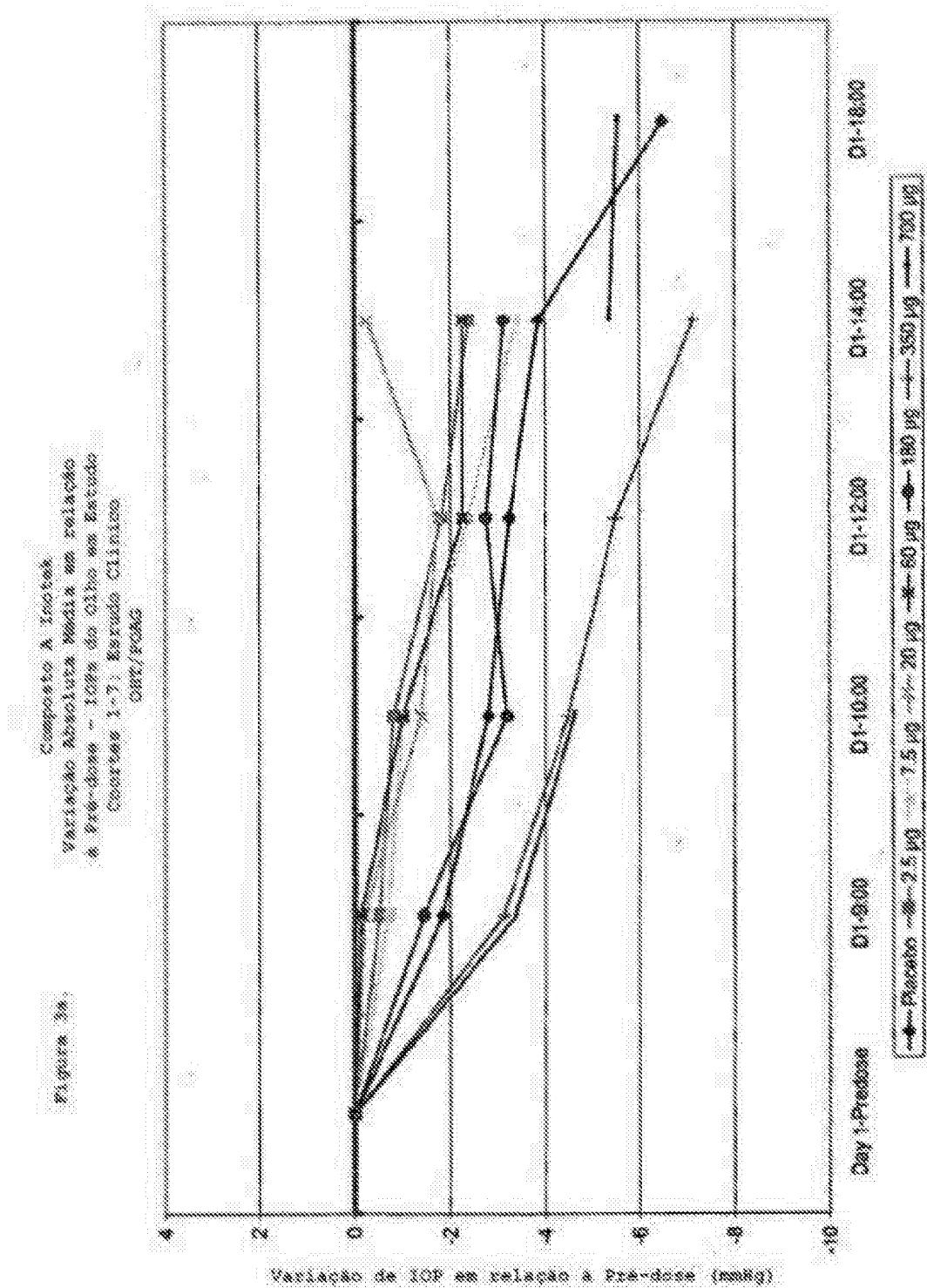
SRC=Safety Review Committee

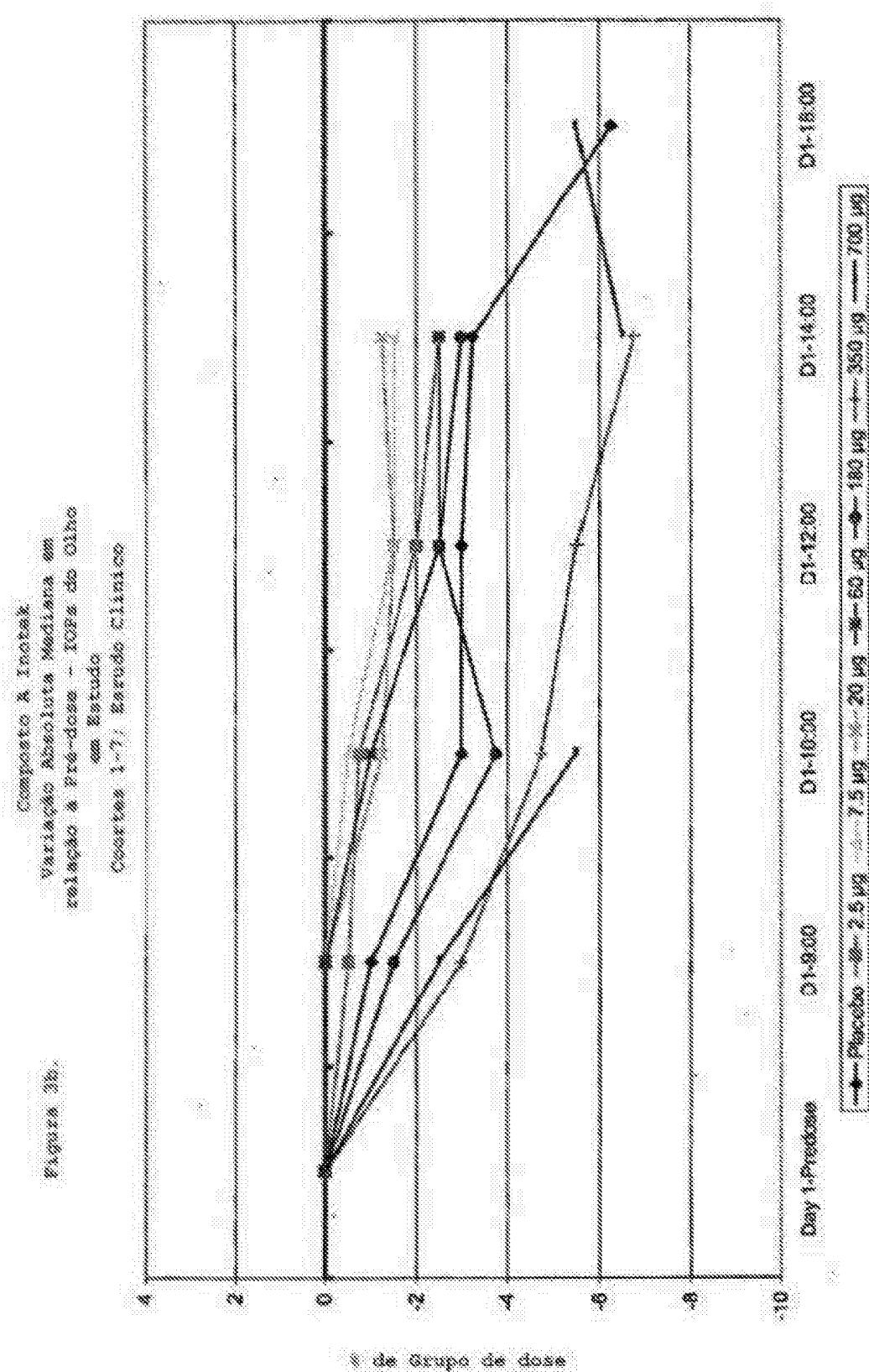
- 7 grupos de tratamento
- 12 indivíduos por grupo de tratamento
- 8 ativos + 4 com placebo

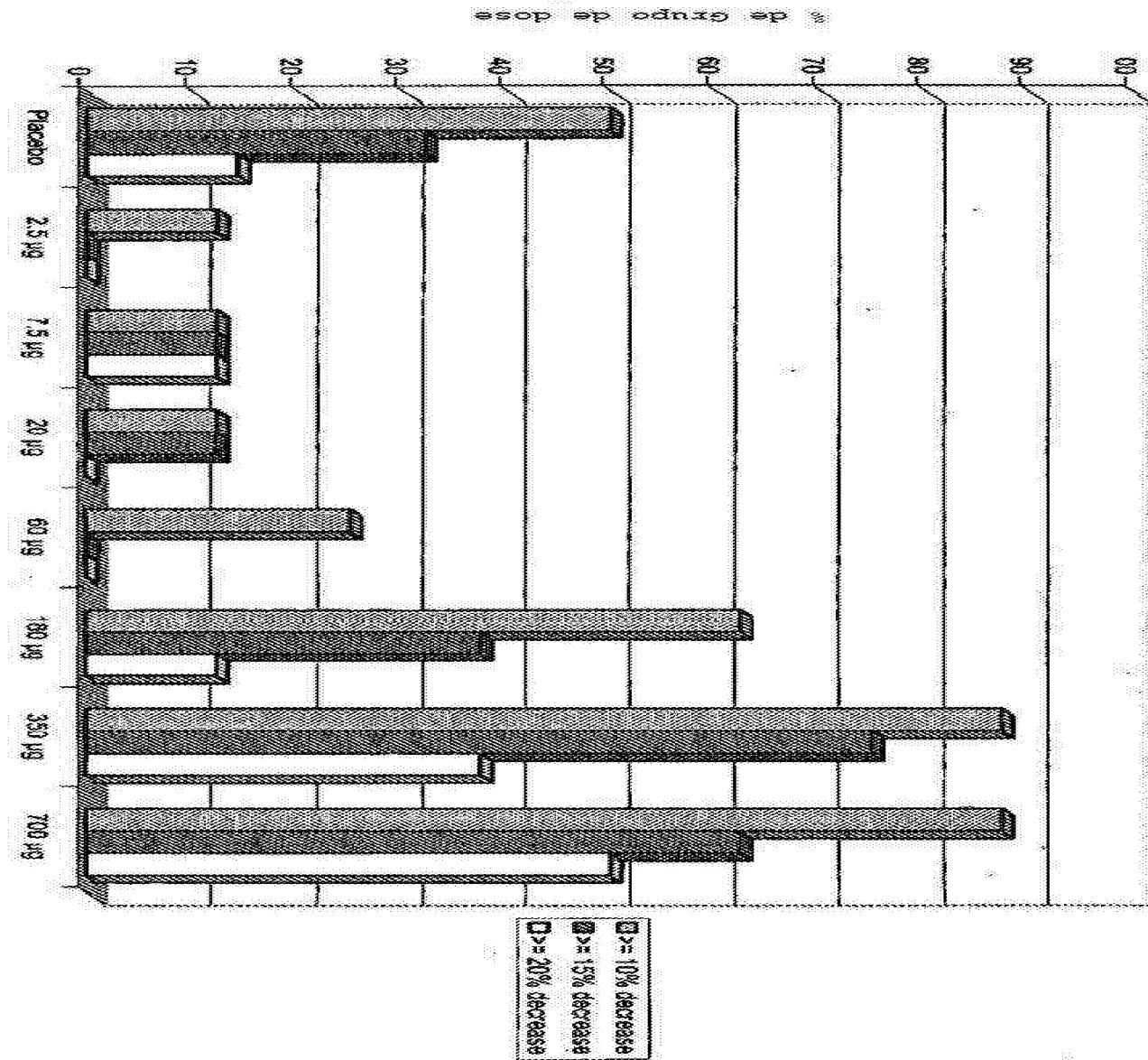


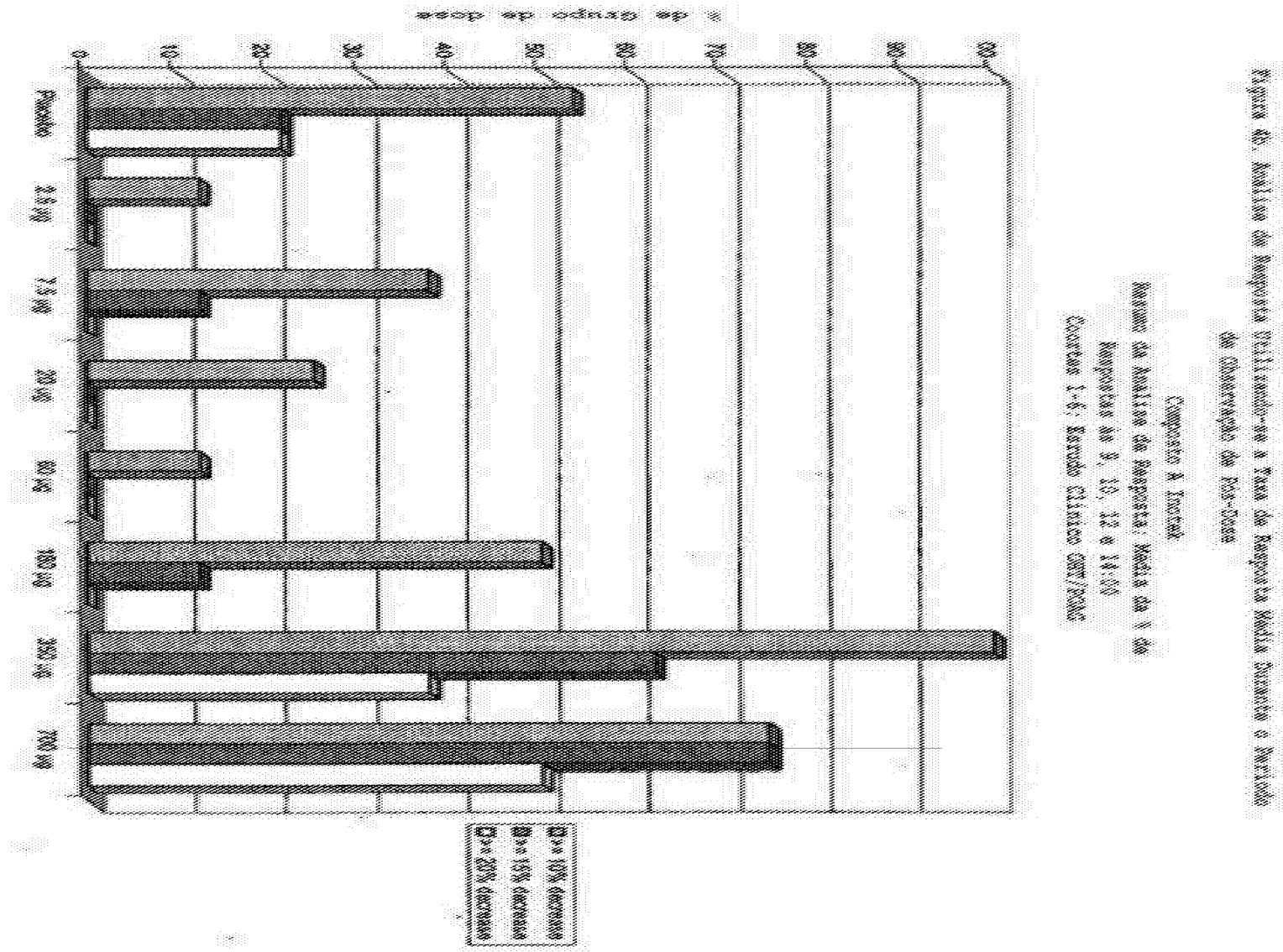












102

卷之三

三

Figura 6. Média e Mediana da % de Variação Relativamente à IOP da pré-Dose da Coarte 350 mcg E Placebo

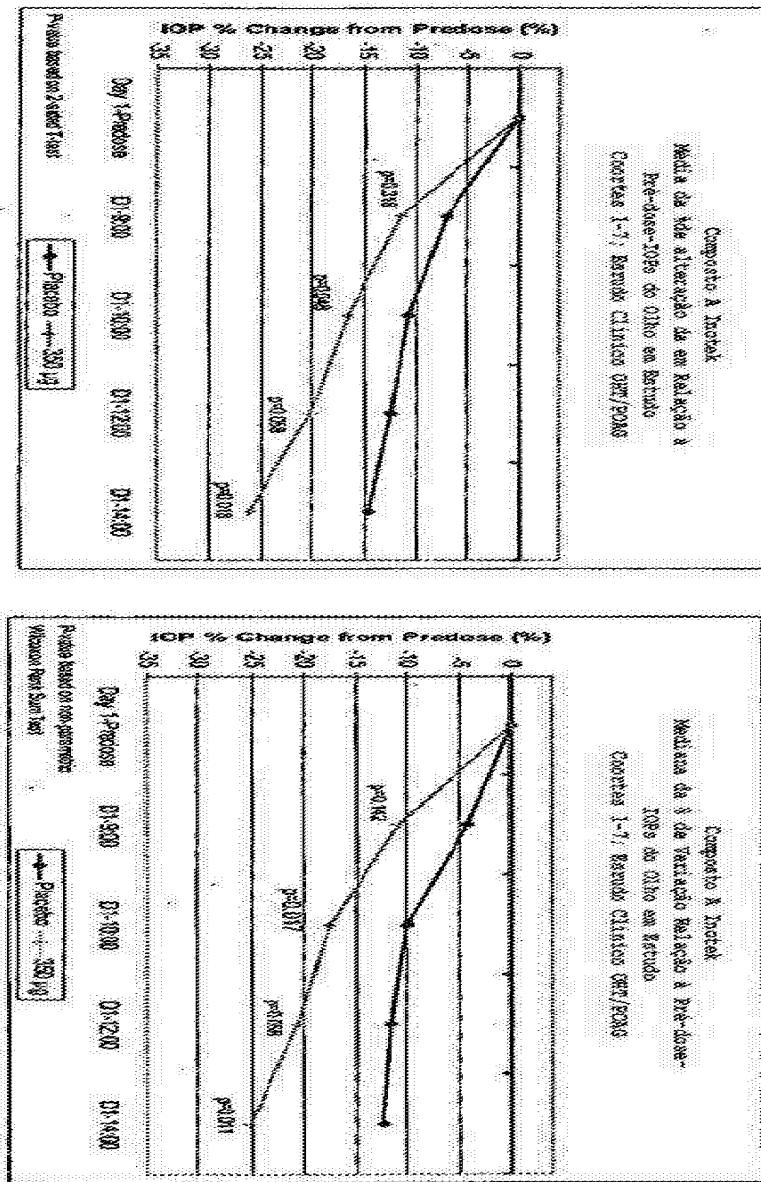
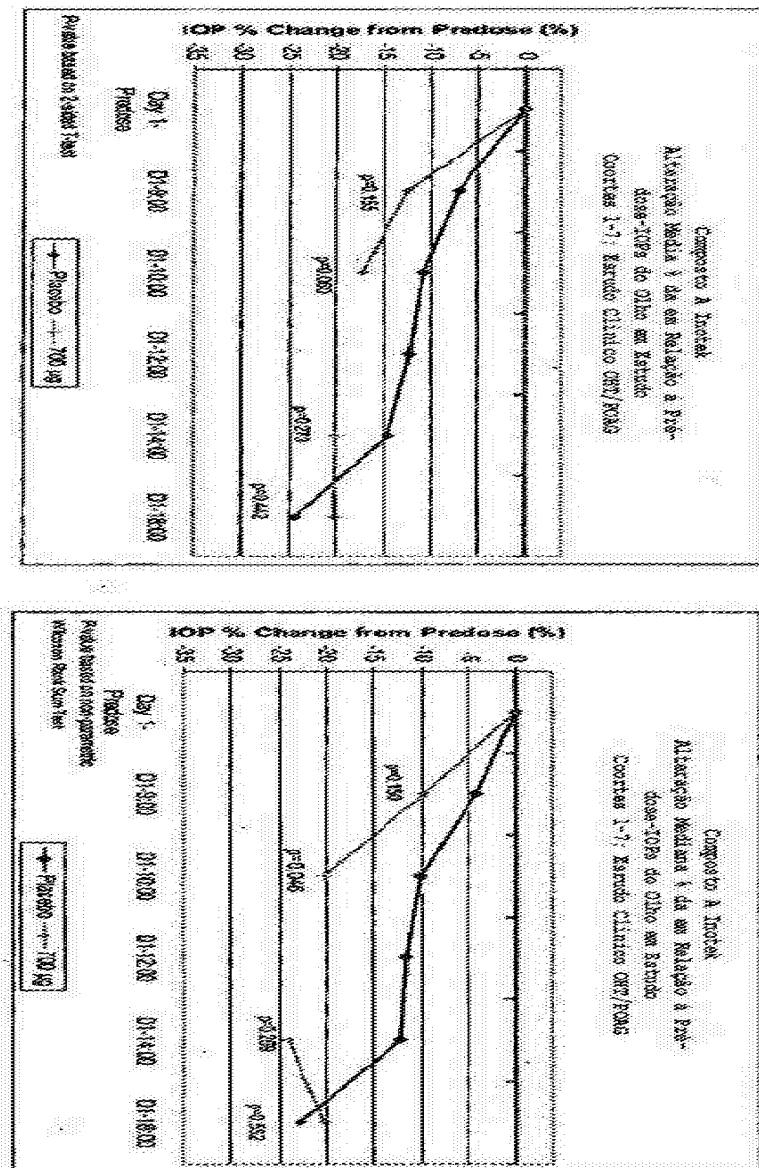


Figura 1 (Continua) **Resumo do Análise de Resposta, Média de 8 de Respostas às S, 10, 14 e 19:00**

Figura 8. Alteração Média e Mediana & Relativamente à IOP da pré-dose da Coorte 700 mg E Placebo



REFERÊNCIAS CITADAS NA DESCRIÇÃO

Esta lista de referências citadas pelo requerente é apenas para conveniência do leitor. A mesma não faz parte do documento da patente Europeia. Ainda que tenha sido tomado o devido cuidado ao compilar as referências, podem não estar excluídos erros ou omissões e o IEP declina quaisquer responsabilidades a esse respeito.

Documentos de patentes citadas na Descrição

- US 8117465 B
- US 8121999 B
- US 7423144 B, Jagtap

Literatura que não é de patentes citada na Descrição

- RALEVIC, BURNSTOCK. *Pharmacol Rev.*, 1988, vol. 39, 413-432
- FREDHOLM BB et al. *Pharmacol Rev.*, 2001, vol. 53, 527-552
- TIAN B et al. *Exp Eye Res.*, 1997, vol. 64, 879-883
- CROSSLON CE. *J Pharmacol Exp Ther.*, 1995, vol. 273, 320-326
- AVILA MY et al. *Br J Pharmacol.*, 2001, vol. 134, 241-245
- HUSAIN S et al. *J Pharmacol Exp Ther.*, 2007, vol. 320, 258-266
- CROSSLON CE, GREY T. *Inv Ophthalmol Visual Sci.*, 1996, vol. 37 (9), 1833-1839
- KONNO. *Eur J Pharmacol.*, 2005
- CRISTALLI et al. *J. Med. Chem.*, 1992, vol. 35, 2363-2369
- CRISTALLI et al. *J. Med. Chem.*, 1993, vol. 37, 1723-1728
- CRISTALLI et al. *J. Med. Chem.*, 1995, vol. 38, 1482-1472
- CAMAIONI et al. *Bioorg. Med. Chem.*, 1997, vol. 6, 2267-2275
- KLOTZ et al. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1998, vol. 357, 1-9
- KLOTZ et al. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1998, vol. 357, 1-9
- DE LEAN et al. *Mol. Pharmac.*, 1982, vol. 21, 5-18