

(11) Número de Publicação: **PT 1539803 E**

(51) Classificação Internacional:

C07K 7/54 (2006.01) **C07K 7/64** (2006.01)

A61K 38/12 (2006.01) **G01N 33/68** (2006.01)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: **2003.07.18**

(30) Prioridade(s): **2002.07.29 IT RM20020402**

(43) Data de publicação do pedido: **2005.06.15**

(45) Data e BPI da concessão: **2007.02.28**
005/2007

(73) Titular(es):

**SIGMA - TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE
RIUNITE S.P.A.**

VIALE SHAKESPEARE, 47 I-00144 ROMA IT

(72) Inventor(es):

ALMA DAL POZZO

G. GIANNINI

C. PISANO

IT

IT

IT

(74) Mandatário:

**JOSÉ EDUARDO LOPES VIEIRA DE SAMPAIO
R DO SALITRE 195 RC DTO 1250-199 LISBOA**

PT

(54) Epígrafe: **DERIVADOS DE FLUORO- ALQUIL-CICLOPÉPTIDOS COM ACTIVIDADE ANTI-
INTEGRINA**

(57) Resumo:

RESUMO

"DERIVADOS DE FLUORO-ALQUIL-CICLOPÉPTIDOS COM ATIVIDADE ANTI-INTEGRINA"

A presente invenção tem por objecto os compostos de fórmula geral (I) ciclo ciclo [NX₁-R₁-CO-NX₂-R₂-CO-NX₃-R₃-CO-NX₄-CO-NX₅-R₅-CO], em que está presente pelo menos um aminoácido x-fluoroalquilado, que são inibidores de integrinas, particularmente os que pertencem à família $\mu\gamma\beta_5$ e que são úteis como medicamentos, particularmente para o tratamento das doenças subjacentes responsáveis por angiogénese anormal, tal como retinopatia, insuficiência renal aguda, osteoporose e metástases. Os compostos aqui descritos são também úteis como agentes de diagnóstico, quando marcados apropriadamente, especialmente para a detecção e localização de pequenas massas tumorais e eventos de oclusão arterial

DESCRIÇÃO

"DERIVADOS DE FLUORO-ALQUIL-CICLOPÉPTIDOS COM ACTIVIDADE ANTI-INTEGRINA"

A presente invenção tem por objecto derivados de fluoro-alquil-ciclopéptidos dotado de actividade anti-integrina, particularmente compostos de péptidos cíclicos contendo grupos fluoro-alquilo no átomo de azoto da ligação de péptido e/ou na posição C- α , tal como indicado na fórmula geral (I) aqui a seguir. A presente invenção, aqui descrita, também tem por objecto processos para a preparação dos referidos compostos, a sua utilização como medicamentos, particularmente como inibidores de receptores de integrina, úteis como agentes antiangiogénicos e anti-metastásicos e composições farmacêuticas que os contêm.

Antecedentes da invenção

As integrinas são uma classe de receptores envolvida no fenómeno de adesão das células. São glicoproteínas que consistem em duas unidades α e β , combinadas para dar famílias diferentes. Para maiores detalhes, ver Kessler, H., et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1997, 36, 1374-89.

Todas as integrinas têm um "sítio universal de reconhecimento de células" capaz de reconhecer a sequência de péptidos comum Arg-Gli-Asp, também conhecida como RGD, dos símbolos de uma letra que identificam os três aminoácidos, embora cada integrina reconheça preferencialmente uma conformação diferente deste tripéptido (Kessler, H., et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, 118, 7461-72).

A família das integrinas β_1 desempenham um papel importante na organização dos tecidos e as integrinas β_2 são importantes para o sistema imunitário, enquanto as integrinas β_3 regulam o processo de coagulação e a angiogénese.

Um dos objectivos da química farmacêutica é tornar disponível para os médicos compostos capazes de interagir com a família das integrinas, mas selectivamente em vários sub-tipos, tendo em vista a diversidade dos papéis que cada um deles desempenha ao nível fisiopatológico.

A presente invenção, aqui descrita, tem por objecto as integrinas envolvidas nos mecanismos da angiogénese.

A acção dos diferentes factores de crescimento estimula a expressão da integrina $\alpha_v\beta_3$ (receptor de vitronectina) nas células endoteliais. Durante a migração consequente das células endoteliais na direcção da estimulação da angiogénese, a membrana com o receptor da integrina $\alpha_v\beta_3$ liga-se à sequência do tripéptido RGD presente em várias formas na matriz extracelular. Esta ligação leva a uma acumulação de proteínas - do tipo de talina, paxilina, α -actinina, tensina e vinculina - do cito-esqueleto. Isto favorece o processo de migração, actuando como um sinal de sobrevivência das células endoteliais, com a formação de novos vasos sanguíneos. A administração dos análogos de RGD solúveis impede a formação das proteínas nos receptores e leva à morte programada das células (apoptose), contrariando a migração das células endoteliais e prevenindo a neovascularização (Giannis, A., et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1997, 36, 588-90).

Entre as muitas moléculas envolvidas selectivamente na angiogénese, as integrinas constituem um alvo promissor na

terapia do cancro e em todas as doenças responsáveis pela neovascularização descontrolada.

Um estudo científico inicial deste assunto (Saiki, I., et al., *Jpn. J. Câncer Res.*, 1990, 81: 668-675) refere a acção dos péptidos que contêm uma sequência de RGD que reconhece a integrina, inibindo assim a angiogénese em tumores.

O tripéptido RGD está presente nos ligandos naturais destes receptores, tal como vitronectina, fibronectina e fibrinogénio.

Estudos mais recentes mostraram que as integrinas do tipo $\alpha_v\beta_3$ e $\alpha_v\beta_5$ aumentam na angiogénese dos tumores de células endoteliais e que essa inibição das integrinas α_v , por meio de anticorpos, péptidos cíclicos RGD e agentes peptido-miméticos de RGD, podem bloquear a neovascularização (Arap, W. , et al., *Current Opinion in Oncology*, 1998, 10 : 560-565). As integrinas β_1 ($\alpha_1 \beta_1$ e $\alpha_2 \beta_1$), podem também desempenhar um papel na angiogénese, embora o seu papel tenha ainda de ser estudado cuidadosamente.

A administração sistémica de um anticorpo anti- $\alpha_v\beta_3$, por exemplo, o anticorpo LM609 (Vitaxin), bloqueia a angiogénese do tumour e reduz o crescimento e as propriedades invasivas do carcinoma da mama em seres humanos (Brooks, P. C., et al., *J. Clin. Invest.*, 1995, 96: 1815-22).

Muitas integrinas podem ser inibidas por péptidos pequenos que incorporam a sequência de RGD. A incorporação desta sequência em ciclos de penta- ou de hexa-péptidos contendo D-aminoácidos, leva normalmente às moléculas que são

inibidores potentes e selectivos de integrinas (Haubneve, R., et al., *J. Am. Chem. Soc.* , 1996, 118: 7881-91).

A vitronectina é uma proteína da matriz vascular e um antagonista selectivo dos receptores de $\alpha_V\beta_3$, enquanto o fibrinogénio, outra proteína, apresenta uma ligação selectiva aos receptores de $\alpha_{IIb}\beta_3$.

Até à data, a pesquisa sobre análogos de RGD tem sido dirigida principalmente para os antagonistas dos receptores de $\alpha_{IIb}\beta_3$ que são potentes e selectivos e podem ser administrados oralmente. Alguns destes análogos de RGD que não são péptidos, utilizados como anticoagulantes, estão hoje em dia a ser investigados em ensaios clínicos.

Como agentes antiangiogénicos, por outro lado, são necessários análogos de RGD capazes de inibirem selectivamente os receptores de $\alpha_V\beta_3$ e $\alpha_V\beta_5$ sem afectarem os receptores de $\alpha_{IIb}\beta_3$.

Para analisar exemplos de compostos que inibem os receptores de $\alpha_V\beta_3$ e as suas aplicações, ver a patente de invenção europeia EP1 077 218, registada em nome do requerente, a que se faz uma referência específica, também para uma discussão alargada sobre o estado da técnica.

Exemplos de estruturas de péptidos cíclicos contendo a sequência Arg-Gli-Asp (RGD) estão descritas na patente de invenção europeia EP 0 596 350, patente da Merck; Wermute, J. et al., *J. Am. Chem.Soc.*, 1997, 119 (6), 1328-1335; patente de invenção norte-americana US 5.705.481, patente da Merck; patente da WO 99/58162, Du Pont Pharmaceuticals; Liu, S., et al., *Bioconjugate Chemistry* (2001), 12 (4), 559-568 ; patente de invenção WO 01/097860.

A patente de invenção alemã DE 197 25 368 descreve péptidos cíclicos contendo a sequência de RGD. Estes péptidos podem conter um Fen, eventualmente fluorado no anel de fenilo. Não se atribui nenhum significado técnico especial ao átomo de flúor e os compostos interagem com os receptores de integrina sem nenhuma selectividade em particular.

Um dos objectivos da presente invenção aqui descrito consiste em providenciar agonistas selectivos para os receptores de $\alpha_v\beta_3$ que podem ser administrados oralmente, que é uma característica útil para as terapias de longo prazo.

Exemplos de compostos naturais que contêm um átomo de flúor são ratos. Este elemento, graças às suas propriedades físico-químicas (dimensões, electronegatividade, etc.) pode dotar os compostos orgânicos, activos sob o ponto de vista biológico, com características particulares.

Nos últimos anos, com a disponibilidade de mais reagentes fluorados manipuláveis, prepararam-se derivados orgânicos com características promissoras, por exemplo, substratos de aminoácidos de enzimas dependentes de piridoxal (transaminases e descarboxilases) actuam como inactivadores específicos quando são fluorados; as pirimidinas fluoradas exercem actividade anti-cancro; análogos trifluorometilados de captorilo têm actividade inferior a nM; os análogos fluorados de antraciclinas naturais são agentes anti-cancro muito mais activos (Giannini, G., *Current Medicinal Chem.*, 2002, 9: 1867-93); os análogos de encefalina trifluorometilados aumentaram a sua potência mais do que 10.000 vezes. Os análogos lineares fluorados de RGD estão descritos em A. Dal Pozzo, et al., *J. Chem. Res. (S)* 468-469 (1999). Ver também Ojima, I., *Organofluorine Compounds in Medicinal Chemistry and Biomedical Applications*; R. Filler (ed), 1993-

Elsevier Science Publisher; Ojima, I. et al., Biomedical Frontiers of Fluorine Chemistry - ACS Symposium Series 639 (1996) ; Sewald, N. et al., Amino Acids (1995) 8: 187-194.

A alquilação de um aminoácido é um aspecto muito importante da química farmacêutica. Também no domínio dos inibidores de integrina, há exemplos de N-alquilação de aminoácidos (Kessler, H., et al., *J. Med. Chem.*, 1999, 42, 3033-40), que conduzem ao produto designado por EMD 121874 (Cilengitide), desenvolvido pela Merck e que estão neste momento na fase II dos ensaios clínicos.

Muito menos frequente é a abordagem da α -alquilação, embora ela seja ainda potencialmente promissora. É sabido, de facto, que a incorporação dos aminoácidos di-substituídos com C $^{\alpha}$ em posições chave dos péptidos pode modificar e estabilizar a estrutura secundária (Marshall, G. R., *Int. J. Pept. Protein Res.*, 1998, 32, 544-5). Além disso, a substituição do flúor por hidrogénio pode afectar a estabilidade proteolítica e a solubilidade do péptido que o contém (Köksch, B., *J. Pept.Sci.*, 1997, 3, 157-67).

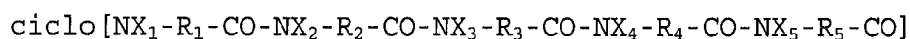
O estágio subsequente à alquilação é a fluoro-alquilação de aminoácidos. Neste caso, também, há exemplos de fluoro-alquilação de oligopéptidos lineares (Dal Pozzo, A., et al. *Tetrahedron*, 1998, 54: 6019-28; Köksch, B. et al. *Biomedical Frontiers of Fluorine Chemistry; ACS Symposium Série 639, Capítulo 3, 1996, 42-58*). Os péptidos fluoroalquilados apresentam as seguintes vantagens: protecção de peptidases fisiológicas, semelhantes a alqui-lo; um aumento substancial no carácter hidrofóbico (superior à maior parte dos grupos alquilo), que aumenta a biodisponibilidade (absorção e distribuição); endurecimento da conformação devido ao aumento de volume (que, em solução, é maior do que a distribuição de

um simples grupo metilo), a capacidade única de dar ligações de hidrogénio, o que, entre outras coisas, pode causar uma rotação restrita à volta da ligação de carbamida.

Um outro objecto da presente invenção é providenciar um processo de síntese de péptidos contendo, numa posição chave, aminoácidos fluoroalquilados na posição C- α e/ou N e, a despeito do volume estérico e dos efeitos electrónicos dos novos produtos, a descoberta das propriedades biológicas destes compostos, tal como inibidores selectivos potentes de inibidores de integrina $\alpha_V\beta_3$ e/ou $\alpha_V\beta_5$.

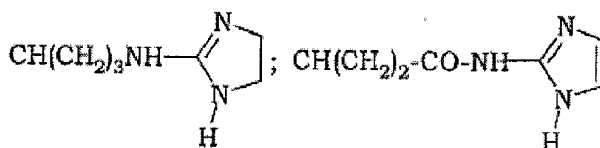
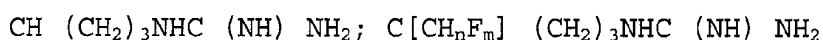
Sumário da invenção

Verificou-se agora que os compostos de fórmula geral (I)



na qual:

R_1 se selecciona entre



R_2 representa o grupo CH_2 ; $\text{CH}_2\text{-CH}_2$;

R_3 selecciona-se entre grupos CHCH_2COOH ; $\text{C}[\text{CH}_n\text{F}_m]\text{CH}_2\text{-COOH}$;

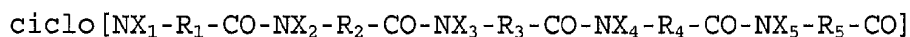
R_4 selecciona-se entre grupos $\text{CH-CH}_2\text{-Ph}$; $\text{C}[\text{CH}_n\text{F}_m]\text{CH}_2\text{-Ph}$;
 $\text{CH-CH}_2\text{-(4-OH)Ph}$; $\text{CH-CH}_2\text{-(4-OMe)Ph}$; $\text{CH-CH}_2\text{-(4-F)Ph}$;

um simples grupo metilo), a capacidade única de dar ligações de hidrogénio, o que, entre outras coisas, pode causar uma rotação restrita à volta da ligação de carbamida.

Um outro objecto da presente invenção é providenciar um processo de síntese de péptidos contendo, numa posição chave, aminoácidos fluoroalquilados na posição C- α e/ou N e, a despeito do volume estérico e dos efeitos electrónicos dos novos produtos, a descoberta das propriedades biológicas destes compostos, tal como inibidores selectivos potentes de inibidores de integrina $\alpha_v\beta_3$ e/ou $\alpha_v\beta_5$.

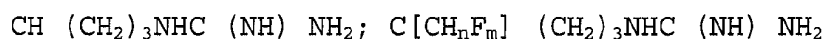
Sumário da invenção

Verificou-se agora que os compostos de fórmula geral (I)

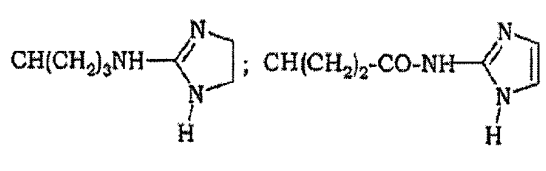


na qual:

R_1 se selecciona entre



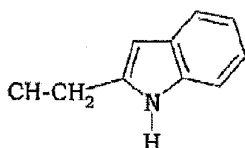
R_2 representa o grupo CH_2 ; CH_2-CH_2 ;



R_3 selecciona-se entre grupos CHCH_2COOH ; $\text{C}[\text{CH}_n\text{F}_m]\text{CH}_2-\text{COOH}$;

R_4 selecciona-se entre grupos $\text{CH}-\text{CH}_2-\text{Ph}$; $\text{C}[\text{CH}_n\text{F}_m]\text{CH}_2-\text{Ph}$;
 $\text{CH}-\text{CH}_2-(4-\text{OH})\text{Ph}$; $\text{CH}-\text{CH}_2-(4-\text{OMe})\text{Ph}$; $\text{CH}-\text{CH}_2-(4-\text{F})\text{Ph}$;

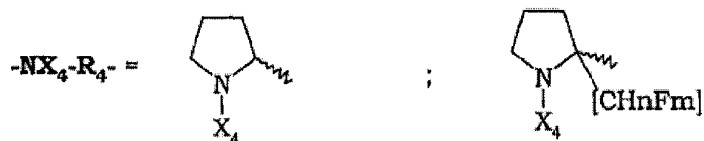
$\text{CH}-\text{CH}(\text{OH})-\text{Ph}$; $\text{C}(\text{CH}_3)_2$; $\text{CH}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$; $\text{CH}-\text{CH}_2-\text{COOH}$;



R_5 selecciona-se entre grupos $\text{CH}-\text{CH}_2-\text{Ph}$; $\text{C}[\text{CH}_n\text{F}_m]\text{CH}_2-\text{Ph}$;
 $\text{CH}-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$; $\text{C}[\text{CH}_n\text{F}_m]\text{CH}(\text{CH}_3)_2$; $\text{CH}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$;

ou, o grupo $\text{NX}_4-\text{R}_4-\text{CO}-\text{NX}_5-\text{R}_5-\text{CO}$ representa um grupo 3-aminometil-benzoílo, $n+m=3$

X_1-X_5 , que podem ser iguais ou diferentes, representam átomos de H, grupos de fórmula geral $(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$; $(\text{CH}_2)_n-$ grupos de fórmula geral



CHF_2 ; $(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2\text{F}$, $(\text{CH}_2)_n-\text{CF}_3$ em que $n=0-3$;

com a condição de que pelo menos um aminoácido α -fluoroalquilado esteja presente no composto de fórmula geral (I),

em que cada aminoácido $\text{NX}-\text{R}-\text{CO}$ uma configuração absoluta do tipo R ou do tipo S; os seus enantiómeros individuais, diastereómeros, as misturas relacionadas, os sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico são inibidores selectivos dos receptores de integrina $\alpha_v\beta_3$ e/ou $\alpha_v\beta_5$.

Por isso, são objectos da presente invenção os compostos de fórmula geral (I), tal como se descreveu antes, um processo para a sua preparação, a sua utilização como medicamentos e as composições farmacêuticas que os contêm.

Descrição detalhada da invenção

De acordo com a presente invenção, os sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico que um especialista na matéria é capaz de preparar sem que o ácido ou a base utilizados dêem efeitos colaterais indesejados, quando a os referidos sais são utilizados como medicamentos.

No contexto da presente invenção, preferem-se os seguintes compostos:

c(Arg-Gli-Asp-D-Fen-(R ou S)-Tfm-Fen) (ST1930/ST1931);
c(Arg-Gli-Asp-D-Fen-(R, S) -Dfm-Fen) (ST1932);
c(Arg-Gli-(R ou S)-Tfm-Asp-D-Fen-Val) (ST2189/2190);
c(Arg-Gli-Asp-(R ou S)-Tfm-Fen-Val) (ST2191/2192);
c(Arg-Gli-Asp-D-Fen-(R ou S)-Tfm-Val) (ST2409/ST2410);
c(Arg-Gli-Asp-D-Fen-(R ou S)-N-Me-Tfm-Fen.

No seu aspecto mais amplo, a presente invenção tem por objecto um processo para inibir de forma selectiva a adesão celular mediada pelas integrinas $\alpha_v\beta_3$ e/ou $\alpha_v\beta_5$ a um ligando contendo a sequência de RGD. Num outro dos seus aspectos, o objecto da presente invenção é a utilização de um composto de fórmula geral (I) para a preparação de um medicamento útil para o tratamento de indivíduos afectados por angiogénese anormal. Exemplos de utilização do medicamento, de acordo com a presente invenção, são a redução de metástases e o tratamento de retinopatia, insuficiência aguda do rim e osteoporose.

Num outro dos seus aspectos, a presente invenção tem por objecto a utilização dos compostos mencionados antes como agentes de diagnóstico. Em particular, os compostos de acordo com a presente invenção, quando marcados de forma apropriada,

são úteis para a detecção e a localização de pequenas massas tumorais. Do mesmo modo, os referidos compostos marcados são também úteis para a análise de acontecimentos de oclusão arterial tal como ataques e enfartes do miocárdio.

Por isso, um outro objecto da presente invenção é a utilização de compostos de fórmula geral (I), tal como se descreveu antes, para a preparação de agentes de diagnóstico, particularmente para a detecção e localização de tumores e, preferencialmente, pequenas massas tumorais ou eventos de oclusão arterial tal como ataques e enfartes do miocárdio. Também estão cobertos pela presente invenção agentes de diagnóstico contendo pelo menos um composto de fórmula geral (I). No que se refere à marcação dos compostos de acordo com a presente invenção, isto faz parte da perícia de um técnico médio neste domínio, o qual, com base no seu conhecimento específico, é capaz de escolher o agente de marcação apropriado e fazer a derivação do composto de acordo com a presente invenção, pode ser visto na patente de invenção WO 99/11590 e nas referências que se seguem: Su, Z. F., et al., *Bioconjug. Chem.* Maio-Jun 2002; 13 (3): 561-70; Haubner, R., et al., *Cancer Res.* Mar 2001, 1; 61 (5) : 1781-5 ; Haubner R, et al., *J. Nucl. Med.* Fev 2001 ; 42 (2) : 326-36 ; van Hagen, P. M, et al., *Int. J. Cancer* 20 Ago 2000; 90 (4): 186-98; Sivolapenko, G. B., et al., *Eur. J. Nucl. Med.* Out 1998; 25(10): 1383-9; Pearson, D. A., et al., *J. Med. Chem.* Mar 29 1996; 39 (7) : 1372-82.

De um ponto de vista químico, a presente invenção consiste na obtenção de derivados ciclizados de uma estrutura peptídica contendo um certo número de aminoácidos não naturais (aminoácidos de fluoroalquilo), cuja síntese já é conhecida e tem sido estudada apropriadamente.

Sintetizaram-se os ciclopéptidos a partir de um aminoácido fluorometilado sob a forma de um éster carboxílico; este é acilado com o brometo do aminoácido correspondente, protegido por N. Depois da hidrólise do éster de dipéptido assim obtido, o carboxilo terminal é condensado com H-Orn (Cbz)-Gli-OtBu.

Depois da eliminação da protecção do azoto terminal do tetrapéptido assim obtido, este é acilado com Fmoc-Allgli-OH (um precursor do ácido aspártico) para se obter o pentapéptido linear totalmente protegido. Depois da desprotecção dos dois grupos terminais protectores, o processo continua com ciclização por via de TBTU, seguido de oxidação do resíduo de alilo com permanganato. As últimas etapas envolvem a libertação de Cbz na cadeia lateral de ornitina, seguida de guadinilação da função amina, para se obter o ciclopéptido final, que é purificado por CLER-PR, com separação dos dois diastereoisómeros.

Aqui a seguir descrevem-se alguns exemplos de preparações para as sínteses de aminoácidos fluorados (blocos de construção):

Preparação 1

H- (R,S) - α -Tfm-Phe-OEt

(Burger, K., Gaa, K., *Chemiker Zeitung*, 1990, 114, 101-104)

Preparou-se o produto conforme descrito na referência citada antes.

RMN do ^1H (CDCl_3) δ 7,33-7,18 (m, 5H, arom.), 4,26 (q, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 3,45-2,95 (dd, $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$), 1,32 (t, CH_3).

Preparação 2

H-(R, S)- α -Dfm-Fen-OEt

(Bey, P., Vever, J. P., Van Dorsselaer, V. e Kolb, M., *J. Org. Chem.* 1979, 44, 2732-42)

Preparou-se o produto conforme descrito na referência citada antes.

RMN do ^1H (CDCl_3) δ 7,28-7,13 (m, 5H, arom.), 6,14-5,77 (t, CHF_2), 4,16 (q, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 3,20-2,87 (2 dd, $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$), 1,21 (t, CH_3).

Preparação 3

N-CH₃-(R, S)- α -Tfm-Fen-OCH₃

(Buvger, K. e Hollweier, W., *Synlett.* 1994, 751-3)

Preparou-se o produto conforme descrito na referência citada antes.

RMN do ^1H (CDCl_3) δ 7,28-7,15 (m, 5H, arom.), 3,73 (s, OCH_3), 3,27, 3,22, 3,16, 3,12 (q, $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$), 2,47 (s, N-CH_3).

Estes blocos sintéticos (blocos de construção) são utilizados para a síntese de ciclopéptidos de acordo com a presente invenção, utilizando técnicas que serão familiares para um técnico com experiência normal na matéria.

Os exemplos que se seguem ilustram melhor a presente invenção.

Abreviaturas: TEA: tetraetilamina; THF: tetra-hidrofurano; LDA: lítioisopropilamida; DMF: dimetilformamida; bromoenamina: 1-bromo-N,N-2-trimetil-1-propenilamina; HATU: hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N¹,N¹-tetrametilurônio; DIEA: di-iso-propilamina; DCM: diclorometano; DCC: diciclo-hexilcarbodi-imida; HOAT: azabenzotriazolo; agli: 2-alilglicina; Tfm: trifluorometilo; Dfm: difluorometilo; TBTU: tetrafluoroborato de O-(benzo-triazol-1-il)N,N,N¹,N¹-tetrametilurônio.

Exemplo 1

C(Arg-Gli-Asp-D-Fen-(R ou S)-Tfm-Fen) (ST1930/ST1931)

Preparação de Pht-D-Fen-Br (*Dal Pozzo, A., Bergonzi, R. e Ni, M. H., Tetrahedron Lett., 2001, 42, 3925-7*).

Dissolve-se 1,4 g (4,75 mmole) de Pht-D-Fen-OH em atmosfera de argônio no seio de 19 mL de uma solução 0,5 M de bromoenamina no seio de DCM. Passados 10 minutos, a solução está pronta para ser utilizada.

A 12,5 mL da solução de brometo (preparada como se descreveu antes), arrefecida para 0 °C, adicionou-se 248 mg (0,950 mmole) de H- α -Tfm-Fen-OEt e colilidina (1 eq.); a mistura agita-se à temperatura ambiente (t.a.) e, passados 10 minutos, adiciona-se mais 6,5 mL da solução de brometo e 1 eq. de colidina. Passadas 2 horas, leva-se a mistura à secagem e extraiu-se no seio de 15 mL de NaHCO₃ a 5 % e 15 mL de EtOAc, deixando-se em agitação durante 30 minutos. Lava-se o dissolvente com água, HCl 1N e água, seguido de evaporação

e purificação numa cromatografia à pressão em coluna com hexano-EtOAc 8 : 2 como o dissolvente.

A uma solução de 460 mg do dipéptido Pht-D-Fen- α -Tfm-Fen-OEt no seio de 21 mL de DCM anidro, adicionou-se 4,3 mL de uma solução 1M de BBr₃ no seio de DCM; faz-se a condensação da mistura em contra-corrente aquecendo-se durante 2 horas e depois lavou-se com 21 mL de água e levou-se à secagem.

Dissolveu-se 390 mg do péptido ácido (b) no seio de 6 mL de CH₃CN anidro com 406,7 mg (1,4 eq) de HATU e 2,8 eq de DIEA deixando-se em agitação durante 15 minutos, depois do que se adicionou 548 mg (2 eq) de HCl H-Orn(Cbz)-OtBu e outros 2 eq de DIEA. Passadas 2 horas, diluiu-se a mistura reaccional com 15 mL de DCM e extraiu-se no seio de 20 mL de salmoura. Lava-se a fase orgânica novamente com HCl 2N, NaHCO₃ e água. Purifica-se o resíduo numa coluna de cromatografia à pressão com hexano-EtOAc 6 : 4 como o dissolvente.

Dissolveu-se 482 g do péptido obtido antes no seio de 2,2 mL de TFA/DCM (1 : 1) e levou-se à secagem passados 30 minutos.

Dissolveu-se 283,8 mg do composto obtido no seio de 5,7 mL de DCM, e adicionou-se HCl-H-Gli-OtBu (1 eq), DIEA (2 eq), HOAT (3 eq) e DCC (3 eq). Passados 20 minutos, filtra-se a mistura, lava-se o filtrado com água, HCl 0,1N, NaHCO₃ a 5 % e água e depois levou-se à secagem.

Dissolveu-se 349 g do tetrapéptido obtido antes no seio de 5 mL de EtOH, adicionou-se 600 μ L de uma solução 1M de NH₂-NH₂ · H₂O no seio de EtOH (1,5 eq) e faz-se a condensação da mistura em contra-corrente aquecendo-se durante 2,5 horas.

Elimina-se o EtOH e faz-se a extracção com 10 mL de DCM e 10 mL de uma solução aquosa contendo 63,6 mg de Na_2CO_3 (1,5 eq). Passados 10 minutos de agitação, levou-se à secagem a fase orgânica e purifica-se o resíduo por cromatografia à pressão com CHCl_3 -MeOH 98 : 2.

Dissolveu-se 134 mg do tetrapéptido desprotegido no seio de 2,7 mL de DCM. Adiciona-se Fmoc-AlGli-OH (1 eq), DIEA (1 eq), HOAT (1,2 eq) e DCC (1,2 eq) e a reacção prosseguiu como se descreveu antes.

Dissolveu-se 151,6 mg do tetrapéptido obtido como descrito antes no seio de 5 mL de DCM e adiciona-se 140 μL de piperidina. Passadas 2 horas lava-se a miustura reaccional com água, tampão de pH 5,5, água, NaHCO_3 a 5 % e água e depois levou-se à secagem. Purifica-se o resíduo por filtração em gel de sílica, lava-se primeiro com CHCl_3 e depois com CHCl_3 -MeOH, 95 : 5.

Desprotege-se o pentapéptido no terminal carboxilo conforme se descreveu antes.

Dissolveu-se 116 mg do tetrapéptido linear desprotegido no seio de 66 mL de DMF, e adiciona-se TBTU (3 eq), HOBT (3 eq) ed DIEA (860 μL). Passados 5 minutos, leva-se a mistura à secagem, extrai-se o resíduo com 10 mL de DCM e lava-se a solução com salmoura, HCl 2N, água, NaHCO_3 a 5 % e água.

Dissolveu-se 80,9 mg do pentapéptido cíclico obtido como descrito antes no seio de 6,9 mL de acetona, arrefece-se a solução e adiciona-se, gota a gota uma solução aquosa de KMnO_4 (100,5 mg no seio de 620 μL). Passada uma hora a 0 °C, deixa-se a mistura reaccional durante a noite à temperatura ambiente. Finalmente, adicionou-se 770 μL de H_2SO_4 3N e

adicionou-se uma solução de NaHSO₃ a 40 % até se conseguir uma descoloração completa. Depois de se eliminar a acetona, diluiu-se a mistura reaccional e extrai-se o produto no seio de EtOAc.

Dissolveu-se 66,8 mg do pentapéptido cíclico obtido em 1 mL de uma mistura de DMF/AcOH a 6 : 4; adiciona-se 23,8 mg de formato de amónio (5 eq.) e depois 33,4 mg de Pd/C a 10 %. Passados 15 minutos, dilui-se a mistura reaccional com MeOH e filtra-se em Celite e leva-se o filtrado à secagem.

Dissolveu-se 60,5 mg do tetrapéptido cíclico, totalmente desprotegido no seio de 540 µL de MeOH, e adiciona-se 73 µL de DIEA (5 eq) e 49,8 mg de monocloridrato de pirazole-carboxamida (4 eq.). Passada 1 hora, neutralizou-se a reacção com TFA e levou-se à seca-gem. A purificação e a separação simultânea dos 2 diastereoisómeros foram feitas por CLER-RP nas seguintes condições:

Coluna: Alltima (Alltech Italia) C18, 10 µm, 250 x 22 mm;
Fase móvel: acetonitrilo a 34 % no seio de H₂O+TFA a 0,1 %.

Velocidade de fluxo : 12 mL/min.

Diastereoisómero I (Rt 21,30) ST1930

Diastereoisómero II (Rt 26,76) ST1931

Rendimento global calculado com base nas 3 últimas etapas: 33 %.

Diastereoisómero I (ST1930)

RMN do ¹H (CD₃OD): δ 7,30-7,19 (m, arom.), 4,70, 4,28 e 4,08 (m, α-CH), 3,80-3,15 (CH₂-Gli), 3,32 (m, CH₂-N),

3,15-2,0 (m CH₂-Asp + CH₂-Fen + CH₂-Tfm-Fen), 1,63-1,35 (m, CH₂-CH₂-Arg), RMN do ¹⁹F (CD₃OD): δ 5,18.
EM (M+H⁺): 691,13.

Diastereoisómero II (ST1931)

RMN do ¹H (CD₃OD): δ 7,23-7,20 (m, arom.), 4,85-4,05 (m, α-CH), 4,30-3,75 (2 dd CH₂-Gli), 3,18 (m, CH₂-N), 3,50-2,50 (m CH₂-Asp + CH₂-Fen + CH₂-Tfm-Fen), 2,10-1,55 (m, CH₂-CH₂-Arg).

RMN do ¹⁹F (CD₃OD): δ 4,17.

EM (M+H⁺): 691,13.

Exemplo 2

c(Arg-Gli-Asp-D-Fen-(R S)-Dfm-Fen) (ST1932)

Partindo de H-(R,S)-Dfm-Fen-OEt, o processo é tal como se descreveu no Exemplo 1. Obtém-se uma mistura dos dois diastereoisómeros, que não se separaram.

RMN do ¹H (CD₃OD): δ 8,00-7,05 (d, NH), 7,35-7,15 (m, arom.), 6,42-5,6 (t, CHF₂), 4,74-4,32 (m, α-CH), 4,32-3,96 (2 dd, CH₂-Gli), 3,68-2,50 (m), 1,75-1,45 (m, CH₂-CH₂-Arg).
RMN do ¹⁹F (CD₃OD): δ de 54,4 a 55,5.

EM (M+H⁺): 673,14.

Exemplo 3

c(Arg-Gli-(R ou S)-Tfm-Asp-D-Fen-Val) (ST2189/2190)

Condensou-se H-(R,S)-Tfm-Algly-Oet com Pth-Gli-Br, depois procedeu-se conforme descrito no Exemplo 1. Separou-se a mistura dos dois diastereoisómeros e purificou-se por meio de CLER preparativa com CH₃CN em água a 22 % + TFA a 0,1 %.

Diastereoisômero I (Rt 20.76)

RMN do ^1H ($\text{DMSOD}_6+\text{D}_2\text{O}$): δ 7,30-7,12, 4,70, 4,26, 4,10
3,86, 3,60-2-70, 1,72, 1,52-1,12, 0,65.

EM ($\text{M}+\text{H}^+$): 643,2.

Diastereoisômero II (Rt 25.44)

RMN do ^1H ($\text{DMSOD}_6+\text{D}_2\text{O}$) : δ 7,30-6,96, 4,50, 4,15, 4,10-
2,75, 1,90, 1,62, 1,43-1, 20, 0,82,

EM ($\text{M}+\text{H}^+$): 643,2.

Exemplo 4

c(Arg-Gli-Asp-(R ou S)-Tfm-Fen-Val) (ST2191/2192)

Condensou-se HCl. H-(R,S)-Tfm-Fen-OEt com Pth-AlGli-Br, depois procedeu-se conforme descrito no Exemplo 1. Separou-se a mistura dos dois diastereoisômeros e purificou-se por meio de CLER preparativa com CH_3CN em água a 30 % + TFA a 0-1 %.

Diastereoisômero I (Rt 17.19)

RMN do ^1H (D_2O): δ 7,50-7,30, 4,90, 4,30-4,16, 4,05 3,76-
3,60, 3,32-2,82, 2,03-170, 1,57, 0,86, 0,73,

EM ($\text{M}+\text{H}^+$): 643,2.

Diastereoisômero II (Rt 22.17)

RMN do ^1H (D_2O): δ 7,48-7,12, 4,5, 4,25, 4,07, 3,75-3,10,
2,95, 2,10, 1,85, 1,63-1,00, 0,77.

EM ($\text{M}+\text{H}^+$): 643,2.

Exemplo 5

c(Arg-Gly-Asp-D-Fen- (R ou S)-Tfm-Val) (ST2409/2410)

Condensou-se HCl. H-(*R,S*)-Tfm-Val-OEt com Pth-D-Fen-Br (sendo um cloridrato utilizou-se um total de 3 eq. de colidina), depois procedeu-se conforme descrito no Exemplo 1, obtendo-se o tetrapéptido Pht-D-Fen- (*R, S*)-Tfm-Val-Orn (Cbz)-Gli-OtBu. Separou-se a mistura dos dois diastereo-isómeros intermédios por meio de cromatografia à pressão [hexano - AcOEt = 4:6].

Diastereoisómero I (movimento rápido, Rf 0,23)

Diastereoisómero II (movimento lento, Rf 0,36)

Trataram-se separadamente os dois produtos intermédios, puros sob o ponto de vista quirálico, com duas sínteses paralelas, com etapas semelhantes às descritas no exemplo 1:

Diastereoisómero I (ST2409)

RMN do ^1H (D_2O): δ 7,37-7,25; 4,83, 4,73, 4,46, 4,13, 3,47, 3,21, 3,08-2,69, 2,33, 1,92-1,50, 1,08.

RMN do ^{19}F (D_2O) δ 10,50, 0,97

EM ($\text{M}+\text{H}^+$): 643,16

Diastereoisómero II (ST2410)

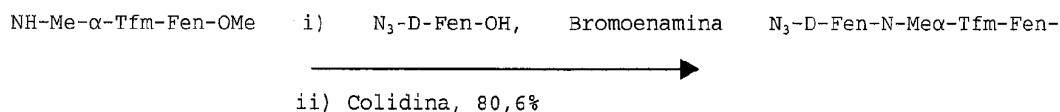
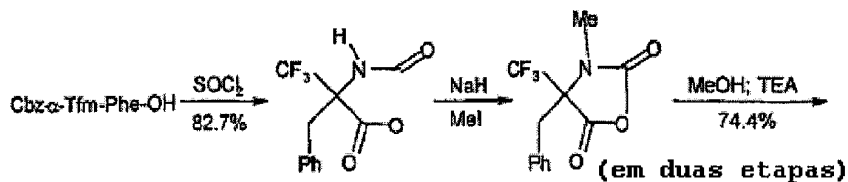
RMN do ^1H (D_2O): δ 7,37-7,29; 4,87, 4,73, 4,56, 4,46, 3,53, 3,18, 3,00-2,55, 1,87, 1,60, 1,18, 0,85,

RMN do ^{19}F (D_2O) δ 9,29, 0,97

EM ($\text{M}+\text{H}^+$): 643,16

Exemplo 6

c(Ar-Gli-Asp-D-Fen-(R ou S)-N-Me-Tfm-Fen) [ST2552/2553]



Depois da hidrólise do éster no carboxi terminal, fez-se o acoplamento com HOM(Cbz)-Gli-OtBu; o grupo azida foi então reduzido com [Et₃NH] [Sn (SPh)₃] e o pentapéptido linear ficou completo com a condensação de Fmoc-Algli no terminal N. Tal como para o produto intermédio, a síntese do ciclopentapéptido continua conforme descrito no exemplo 1.

Ligação aos receptores de integrina $\alpha_v\beta_3$

◀ Submeteram-se as placas de 96 microtubos, durante a noite, a um revestimento com 0,5 μ L de integrina $\alpha_v\beta_3$ (Chemicon, cat. CC1020). No dia seguinte, lavaram-se os microtubos e fez-se a incubação com (¹²⁵I) Echistatin (Amersham, cat. IM304) 0,05 nM na ausência ou na presença de compostos de acordo com a presente invenção. Passadas 3 horas de incubação e uma série de lavagens, solubilizou-se a integrina de cada microtubo, ligada à substância radioactiva, com NaOH 2N e mediu-se então a radioactividade utilizando um contador gama. Determinou-se a ligação não específica, a ser subtraída de todas as amostras, na presença de Echistatin μ M.

Ligação aos receptores de integrina $\alpha_V\beta_5$

Submeteram-se as placas de 96 microtubos, durante a noite, a um revestimento com 1 μL de integrina $\alpha_V\beta_5$ (Chemicon, cat. CC1022). No dia seguinte, lavaram-se os microtubos e fez-se a incubação com (^{125}I) Echistatin (Amersham, cat. IM304) 0,05 nM na ausência ou na presença de compostos de acordo com a presente invenção. O processo prosseguiu conforme descrito no caso anterior.

Avaliação dos parâmetros de CI_{50}

A afinidade dos compostos, de acordo com a presente invenção, para os receptores de vitronectina foi expressa como o valor de $\text{CI}_{50} \pm \text{DP}$ (nM) que é um parâmetro elaborado utilizando o software "ALLFIT".

O quadro 1 a seguir mostra os resultados obtidos. Em particular, ST2552 demonstrou uma elevada afinidade de ligação para ambos os receptores de vitronectina ($\alpha_V\beta_3$ e $\alpha_V\beta_5$)

Quadro 1

Composto	$\alpha_V\beta_3$	$\alpha_V\beta_5$
	$\text{CI}_{50} \pm \text{DP}$ (nM)	
ST1930	345 ± 86	$6,7 \pm 0,8$
ST1931	7238 ± 1283	93 ± 9
ST1932	332 ± 101	$5,5 \pm 0,8$
ST2189	> 10.000	> 10.000
ST2190	> 10.000	> 10.000
ST2191	237 ± 64	$10 \pm 1,9$
ST2192	1018 ± 348	$72,7 \pm 3,8$
ST2409	$36,3 \pm 0,84$	$3,4 \pm 0,07$
ST2410	$285,3 \pm 8,1$	$42,8 \pm 0,5$
ST2552	$18,9 \pm 0,7$	$7,7 \pm 0,1$
ST2553	$704,4 \pm 9,2$	$93,3 \pm 1,9$

Culturas de células

Isolaram-se células endoteliais microvasculares de glândulas supra-renais de bovino (células endoteliais microvasculares de bovino - CEMB) de animais que tinham acabado de ser sacrificados e armazenaram-se em gelo até à sua chegada ao laboratório. Em condições esterilizadas, lavaram-se as glândulas numa solução de betadine durante 5 minutos e depois em 2 litros de SBF esterilizado. Cortaram-se então as glândulas, com uma lanceta esterilizada, descartável, em fragmentos de aproximadamente 2 mm e transferiram-se para tubos Falcon de poliestireno contendo SBF (30 mL por glândula). Depois da centrifugação a 600 rpm numa centrífugadora arrefecida para +4 °C, decantou-se o sobrenadante. Fez-se uma nova suspensão da massa 1:2 com uma solução a 0,12 % de collagenase A (Boehringer Mannheim) e incubou-se a 37 °C durante 2 horas com agitação. Depois da filtração subsequente em cargas (Sigma), primeiro de 200 e depois de 100 mesh, adicionou-se o sobrenadante a uma solução de DMEM contendo SBF a 15 % para inibir a acção da collagenase A. Centrifugou-se a solução a 1000 rpm à temperatura ambiente e voltou a suspender-se o precipitado em meio DMEM contendo SBF a 20 %, 50 µg/mL de extracto de cérebro de bovino (ECB), 50 µg/mL de heparina (Sigma), gentamicina a 0,5 % v/v (Sigma) e L-glutamina a 1 % v/v. Semaram-se as células em pratos de Petri e gelatinizaram-se com gelatina a 1 % (gelatina porcina da Sigma). Na confluência, caracterizaram-se as células com marcadores endoteliais como factor VIII.

Mantiveram-se em cultura células MeWo de melanoma humano da American Type Culture Collection (ATCC), em Meio Essencial Mínimo de Eagle (MEME) completo contendo FCS a 10 %, L-glutamina 2 mM e 50 µg/mL de gentamicina.

Mantiveram-se todas as células a 37 °C numa atmosfera humidificada contendo 5 % de CO₂.

Ensaio de adesão de células

Pré-trataram-se placas de 96 microtubos com 5 µg/mL de vitronectina humana (Cal- biochem) durante 12 horas a +4 °C. Separaram-se células CEMB ou MeWo com tripsina-EDTA, contaram-se e colocaram-se em placas num substrato de vitronectina. Fez-se a análise das moléculas em concentrações crescentes variando de 0,1 a 100 µM e fez-se uma incubação conjunta com as células que estavam aderentes. Depois da incubação das células lavaram-se uma vez com SBF e Mg²⁺ de modo a eliminar as que não estavam aderentes ao substrato. Fixaram-se as células aderentes com uma solução a 4 % de para-formaldeído, durante 10 minutos, à temperatura ambiente. Coraram-se então as células com uma solução de azul de toluidina a 1 %, durante 10 minutos, à temperatura ambiente. Depois da coloração, lavaram-se as células em água duplamente destilada, secaram-se e solubilizaram-se com uma solução de SDS a 1 %. Quantificaram-se então as células por meio de uma leitura da absorvência num contador de placa de marcadores múltiplos da Victor (Wal-lac) a 600 nm.

O parâmetro de avaliação para a actividade das moléculas foi o valor de CI₅₀ ± DP (µM)

O quadro 2, que se mostra aqui a seguir, indica os resultados obtidos com as moléculas previamente encontradas em que se verificou que tinham uma maior afinidade de ligação para os receptores de vitronectina. Em particular, a molécula ST2552 mostrou que inibia a adesão das células de melanoma humano MeWo à vitronectina com um valor de CI₅₀ de 0,33 µM.

Quadro 2

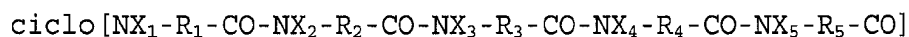
Composto	CEMB	MeWo	SK-LMS1
CI ₅₀ ± DP (µM)			
ST1930	8,9±0,4	6,9±1,3	/
ST1932	14,2±1,0	13,9±4,3	/
ST2191	18,8±4,4	21,9±2,5	/
ST2192	>100	/	/
ST2409	12,5±1,5	/	15,9±1,6
ST2410	77,6±7,2	/	>100
ST2552	>100	0,33±0,05	/

Em consonância com um outro objecto da presente invenção, as composições farmacêuticas contêm pelo menos um composto de fórmula geral (I) como o ingrediente activo, numa quantidade tal que produza um efeito terapêutico significativo. As composições incluídas na presente invenção são inteiramente convencionais e obtêm-se por processos que são de prática comum na indústria farmacêutica, tal como, por exemplo, os ilustrados no *Remington's Pharmaceutical Science Handbook*, Mack Pub. N. Y.- na sua última edição Consoante a via de administração escolhida, as composições estarão sob a forma sólida ou líquida, apropriada para administração oral, parentérica ou intravenosa. As composições de acordo com a presente invenção contêm, em conjunto com o ingrediente activo, pelo menos um veículo ou excipiente aceitável sob o ponto de vista farmacêutico. Estes podem ser coadjuvantes particularmente úteis da formulação, por exemplo, agentes de solubilização, agentes dispersantes, agentes de suspensão e agentes emulsionantes.

Lisboa, 10 de Maio de 2007

REIVINDICAÇÕES

1. Compostos de fórmula geral (I)

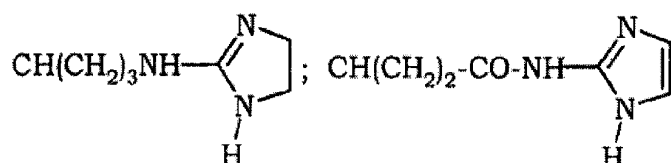


caracterizados pelo facto de:

R_1 se seleccionar entre

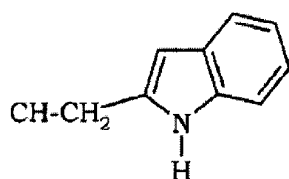


R_2 representar um grupo CH_2 ; CH_2-CH_2 ;



R_3 seleccionar-se entre grupos CHCH_2COOH ; grupos de fórmula geral $\text{C}[\text{CH}_n\text{F}_m]\text{CH}_2-\text{COOH}$;

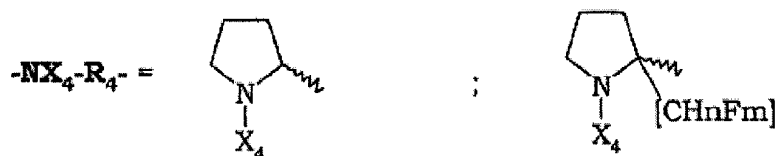
R_4 seleccionar-se entre grupos $\text{CH}-\text{CH}_2-\text{Ph}$; $\text{C}[\text{CH}_n\text{F}_m]\text{CH}_2-\text{Ph}$; $\text{CH}-\text{CH}_2-(4-\text{OH})\text{Ph}$; $\text{CH}-\text{CH}_2-(4-\text{OMe})\text{Ph}$; $\text{CH}-\text{CH}_2-(4-\text{F})\text{Ph}$; $\text{CH}-\text{CH}(\text{OH})-\text{Ph}$; $\text{C}(\text{CH}_3)_2$; $\text{CH}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$; $\text{CH}-\text{CH}_2-\text{COOH}$;



R_5 seleccionar-se entre grupos $\text{CH}-\text{CH}_2-\text{Ph}$; $\text{C}[\text{CH}_n\text{F}_m]\text{CH}_2-\text{Ph}$; $\text{CH}-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$; $\text{C}[\text{CH}_n\text{F}_m]\text{CH}(\text{CH}_3)_2$; $\text{CH}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$;

ou, o grupo de fórmula geral $\text{NX}_4-\text{R}_4-\text{CO}-\text{NX}_5-\text{R}_5-\text{CO}$ representar um grupo 3-aminometil-benzoílo, em que $n+m=3$

X_1-X_5 , que podem ser iguais ou diferentes, representarem átomos de H, grupos de fórmula geral $(CH_2)_n-CH_3$;



$(CH_2)_n-CHF_2$; $(CH_2)_n-CH_2F$, $(CH_2)_n-CF_3$ em que $n= 0-3$;

com a condição de que pelo menos um aminoácido α -fluoroalquilado esteja presente no composto de fórmula geral (I),

em que cada aminoácido de fórmula geral $NX-R-CO$ pode ter uma configuração absoluta do tipo R ou do tipo S; os seus enantiómeros individuais, diastereómeros, as misturas relacionadas, os sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de se seleccionar no grupo que consiste em:

c(Arg-Gli-Asp-D-Fen-(R ou S)-Tfm-Fen);
 c(Arg-Gli-Asp-D-Fen-(R, S)-Dfm-Fen);
 c(Arg-Gli-(R ou S)-Tfm-Asp-D-Fen-Val);
 c(Arg-Gli-Asp-(R ou S)-Tfm-Fen-Val);
 c(Arg-Gli-Asp-D-Fen-(R ou S)-Tfm-Val);
 c(Arg-Gli-Asp-D-Fen-(R ou S)-N-Me-Tfm-Fen.

3. Compostos de acordo com as reivindicações 1 ou 2 caracterizados pelo facto de se utilizarem como medicamentos.

4. Utilização dos compostos de acordo com as reivindicações 1 ou 2, caracterizados pelo facto de se destinarem à preparação de medicamentos que inibem os receptores que pertencem à família das integrinas que pertencem ao sistema de $\alpha_v\beta_3$ e $\alpha_v\beta_5$.
5. Utilização de acordo com a reivindicação 4, caracterizada pelo facto de os referidos medicamentos terem acti-vidade antiangiogénica.
6. Utilização de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo facto de os referidos medicamentos terem acti-vidade antimetastásica.
7. Utilização, de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo facto de os referidos medicamentos serem úteis para o tratamento de uma doença seleccionada no grupo que consiste em retinopatia, insuficiência aguda do rim e osteoporose.
8. Composições farmacêuticas caracterizadas pelo facto de conterem pelo menos um composto de acordo com as reivindicações 1 ou 2 como ingrediente activo, misturado com veículos e/ou excipientes aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico.
9. Utilização de compostos de acordo com as reivindicações 1 - 2, caracterizada pelo facto de se destinar à preparação de agentes de diagnóstico para a detecção e a localização de pequenas massas tumorais ou para a análise de eventos de oclusão arterial tal como acidentes vasculares ou enfartes do miocárdio, em que os referidos compostos estão marcados.

10. Utilização de acordo com a reivindicação 9, caracterizada pelo facto de o referido agente de diagnós-tico ser utilizado para a detecção e localização de massas tumorais.
11. Utilização de acordo com a reivindicação 10, caracterizada pelo facto de as massas tumorais serem pequenas.
12. Utilização de acordo com a reivindicação 9, caracterizada pelo facto de o referido agente de diagnós-tico ser utilizado para a detecção e localização de eventos de oclusão arterial.
13. Utilização de acordo com a reivindicação 12, caracterizada pelo facto de o referido evento ser um acidente vascular ou um enfarte do miocárdio.
14. Agente de diagnóstico caracterizado pelo facto de conter pelo menos um composto de acordo com as reivindicações 1 ou 2.

Lisboa, 10 de Maio de 2007