

00 63456

DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombres y Apellidos o Razón Social

DIATIDE, INC.

No. de Identificación

Representante Legal (Persona Jurídica)

País de Domicilio

ESTADOS UNIDOS DE AMERICA.

Departamento o Estado

Londonderry, Estado de New Hampshire,

Dirección

Ciudad

Teléfono

(74) DATOS DEL APODERADO

Nombre

CARLOS R. OLARTE

Dirección

CALLE 35 No. 7-25 Piso 4

Ciudad

SANTAFE DE BOGOTÁ

Teléfono

285-14-00/570-0010

DATOS DEL INVENTOR

(72) Nombre del Inventor (es)

JOHN LISTER-JAMES, RICHARD T. DEAN, DANIEL A.
PEARSON y DAVID M. WILSON.

Identificación

Dirección

Ciudad

Teléfono

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCION

(54) Título de la Invención

NOVEDOSOS ANALOGOS DE LA SOMATOSTATINA.

Nuevo título
folio 246

PRIORIDAD REIVINDICADA

SI ☒

NO ☐

TIPO DE PRIORIDAD

ANDINA ☐

UNIONISTA ☒

(33) País

US

(32) Fecha

Agosto 27, 1999

(31) No. Solicitud

60/151,001

US

Septiembre 16, 1999

09/397,792

Para Publicar a los

☒ 6 meses

☐ 12 meses

☐ 18 meses a partir de la fecha de la presente solicitud

(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL

A61K 38/16.

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

ANEXOS DE LA SOLICITUD

- | | |
|--|-------------------------------------|
| Certificado de Existencia y Representación Legal cuando el solicitante sea Persona Jurídica | ☒ |
| Los poderes debidamente otorgados, o mención de su protocolización ante la Adjunto | ☒ |
| Recibo de la tasa respectiva | ☒ |
| Recibo de la tasa por concepto de excedente de palabras de la publicación | ☐ |
| Si se reivindica prioridad Andina: | |
| Copia de la primera solicitud | ☐ |
| Traducción oficial | ☐ |
| Si se reivindica prioridad Unionista: | |
| Copia certificada de la primera solicitud | ☐ |
| Nota: Debe presentarse dentro de los tres (3) meses, contados a partir de la fecha de radicación de la solicitud posterior | |
| Traducción simple | ☐ |
| Capítulo descriptivo | ☒ |
| Dibujos, planos necesarios | ☒ |
| Capítulo reivindicatorio | ☒ |
| Tarjeta archivo propietarios según formato | ☒ |
| Tarjeta archivo temático según formato | ☒ |
| Extracto para publicación según formato | ☒ |
| Arte final 12 x 12 y 6 x 6 cms | ☐ |
| Otros Documentos | ☐ |

SOLICITO LA CONCESION DE LA PATENTE DE INVENCION Y DECLARO
QUE LA INVENCION ES NUEVA Y DE MI PROPIEDAD

FIRMA

NOMBRE CARLOS R. OLARTE

CC. 79.782.747 de Bogotá

T.P.No. 74.295



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

NIT : 800176089-2

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00063456 00000000

Folios: 74

Fecha (REC): 2000-08-24 16:57:14

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 45,624
FECHA : JULIO 24 DE 2000

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	SUCURSAL	CUENTA	No. PAGO	Vr. PAGO
ALVARO CORREA ORDONEZ	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	BOGOTA	050-00110-6	2885674	27,860,000.00

***** CONCEPTO *****

RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	600,000.00
	TOTAL :	600,000.00

SON: SEISCIENTOS OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.



Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia

patentes

TRADUCCION OFICIAL No. 278/99 de un documento escrito en Inglés, el cual para su identificación se sella con el sello del Traductor. Esta es una Traducción Oficial efectuada el día 23 de abril de 1999 por la Sra. María Teresa Lara R., c.c. 41.568.055 de Bogotá, Traductora Oficial según Resolución No. 01016 del 2 de octubre de 1998, expedida por el Ministerio de Justicia.

= = = = =

Poder otorgado por DIATIDE, INC. para su representación en relación con asuntos de propiedad Industrial en Colombia. Certificación notarial suscrita por Marcia J. Gookin, Notario Público del Estado de New Hampshire, y legalizaciones subsiguientes.

EL PODER NO SE TRADUCE POR- ENCONTRARSE EN INGLES Y ESPAÑOL EN EL DOCUMENTO ORIGINAL.

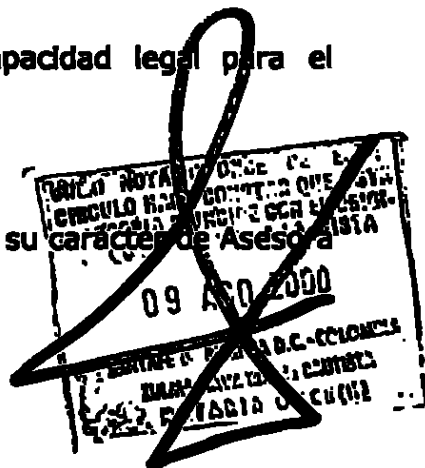
MARIA TERESA LARA R.
TRADUCTORA OFICIAL
RESOLUCION No. 01016
DE MINJUSTICIA

CERTIFICACION NOTARIAL

A los 17 días del mes de marzo de 1999, la suscrita Notario

DA FE

1. Que Patricia A. McDaniels, mayor y domiciliada en 12 Wilkele Road, Sandown, NH 03873, EUA, suscribió de su puño y letra el documento que antecede.
2. Que conozco a la otorgante y que ésta tiene capacidad legal para el otorgamiento.
3. Que la otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de Asesora de Patentes de la persona jurídica Diatide, Inc.



4. Que la persona jurídica Dlatide, Inc., con sede en 9 Delta Drive, Londonderry, NH 03053, EUA, está legalmente constituida, que tiene existencia legal actual y que el acto para el cual se ha otorgado el poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.
5. Que la otorgante tiene efectivamente la representación que ostenta y que ésta es legítima.
6. Que he basado las certificaciones 3, 4 y 5 anteriores en los siguientes documentos auténticos que al efecto se me exhibieron y que menciono específicamente con expresión de sus fechas y de su origen o procedencia:

Resolución de la Compañía fechada el 9 de septiembre de 1997, firmada por Richard T. Dean, Presidente y Funcionario Ejecutivo Principal de Dlatide, Inc.

(Fdo.) Marcia J. Gookin

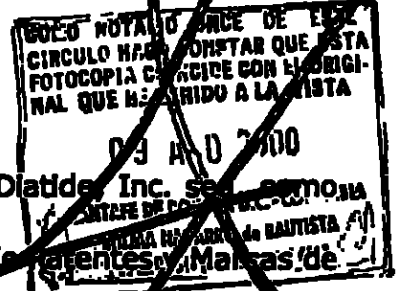
MARCIA J. GOOKIN, Notario Público
Mi comisión expira el 6 de diciembre del 2000

(Sello notarial
en relieve)

El suscrito, Richard T. Dean, por el presente doy fe de la siguiente resolución, adoptada en la Reunión de la Junta Directiva de Dlatide, Inc. celebrada el 30 de julio de 1997

RESOLUCION:

Que Patricia A. McDaniels, asesora interna de patentes de Dlatide, Inc. sea en efecto lo es, autorizada para comparecer ante la Oficina de Patentes y Marcas de



MARIA TERESA LARA R.
TRADUCTORA OFICIAL
RESOLUCION No. 010199
DE MINJUSTICIA

los Estados Unidos y ante cualquier oficina de patentes y marcas en el extranjero como representante debidamente autorizada de la compañía y para suscribir y entregar, a nombre y en representación de la compañía, todos y cada uno de los documentos, instrumentos, solicitudes y otros relacionados con las solicitudes de patente y patentes de la compañía, o relacionados de otro modo con la protección de la propiedad intelectual de la compañía.

Firmado:

(Fdo.) Richard T. Dean

Fecha: 9/9/97

Richard T. Dean
Presidente y Funcionario Ejecutivo Principal

MARIA TERESA LABA R.
TRADUCTORA OFICIAL
RESOLUCION No. 91918
DE MINISTERIA

ESTADO DE NEW HAMPSHIRE
SECRETARÍA DE ESTADO

No. 19962

Por el presente certifico Que, a la fecha del testimonio adjunto, Marcia J. Gookin era una Notario Público para todo el Estado, residente en el Condado de Rockingham, debidamente Comisionada y Autorizada por las leyes de New Hampshire para tomar juramentos, recibir el reconocimiento de escrituras, etc.; y que a sus actos y testimonios como tal se da y se debe dar plena fe y crédito; que su período en el cargo se inició a los ocho días del mes de diciembre de 1995, y terminará a los seis días del mes de diciembre de 1 año 2000.

Certifico además que conozco bien la letra de la ciudad Marcia J. Gookin y considero en verdad que su firma allí estampada es auténtica.

7

En testimonio de lo cual he colocado aquí mi firma oficial y estampado
el sello del Estado, en Concord, a los dieciocho días del mes de marzo de 1999.

(Fdo.) Robert P. Ambrose

Robert P. Ambrose Subsecretario de Estado

EN ESPAÑOL: Certificación del Consulado General de Colombia en Boston,
Massachusetts, bajo el No. 3002 de fecha 13 de abril de 1999. Legalización de la
firma del Vicecónsul por el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia, bajo el
No. 041625 de fecha 22 de abril de 1999.

=====

La anterior es traducción fiel y completa del documento en referencia, de la cual se
deja copia en este archivo para su confrontación.

MARIA TERESA LARA R.
TRADUCTORA OFICIAL
RESOLUCION No. 01016
DE MINISTERIO DE JUSTICIA

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

99 APR 27 AM 9:42

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

Maria Teresa Lara R.

María Teresa Lara R.
c.c. 41.568.055 de Bogotá
Traductora Oficial según
Resolución No. 01016 del
2 de octubre de 1998, del
Ministerio de Justicia

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

Maria Teresa
043462

COYA FIRMA AFERIDA EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

LO QUE SE HA VISTO ONCE DE FOLIO
CIRCULO HA CONSTAR QUE CUYA
FOTOCOPIA CONCIDE CON ORIGINAL
HAL QUE SE ENVIDO A LA VISTA
09 ABR 2000
FIRMADO POR EL SECRETARIO DE JUSTICIA
FIRMADO POR EL SECRETARIO DE JUSTICIA

CONSULADO DE COLOMBIA

535 Boylston Street 11th Floor Boston, MA 02116 Tel: (617)536-6222 Fax: (617)536-9372

No. 3002

El suscrito Cónsul de Colombia en Boston, MA, Estados Unidos vistos los documentos presentados

CERTIFICA:

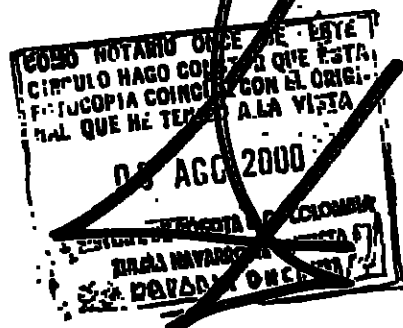
Que el señor(a) ROBERT P AMBROSE, quien autenticó la firma de MARCIA J GOOKIN, notario publico del estado de New Hampshire, en el documento adjunto ejercía en la fecha allí indicada las funciones de SUBSECRETARIO DE ESTADO DEL ESTADO DE NEW HAMPSHIRE, USA y su firma y sello son los que acostumbra a usar en sus actos oficiales. Que la compañía DIATIDE, INC., con domicilio principal en LONDONDERRY, NEW HAMPSHIRE, EUA, es sociedad constituida bajo las leyes del estado de DELAWARE, Estados Unidos y tiene y ejerce su objeto social conforme a las leyes de ese país. Que el señor PATRICIA McDANIELS en su calidad de DIRECTOR DE PATENTES de dicha compañía esta debidamente autorizado para otorgar este poder a nombre de esta compañía y, para los fines y propositos allí expresados.

La presente certificación se expide en cumplimiento del artículo 480 del Código de Comercio. El Cónsul no asume responsabilidad por el contenido del documento.

Esta certificación se expide en Boston a los 13 días del mes de Abril de 1999

Pagado Impuesto de Timbre US\$57.00

LUIS F LEMAITRE CARBONELL
VICECONSUL



NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

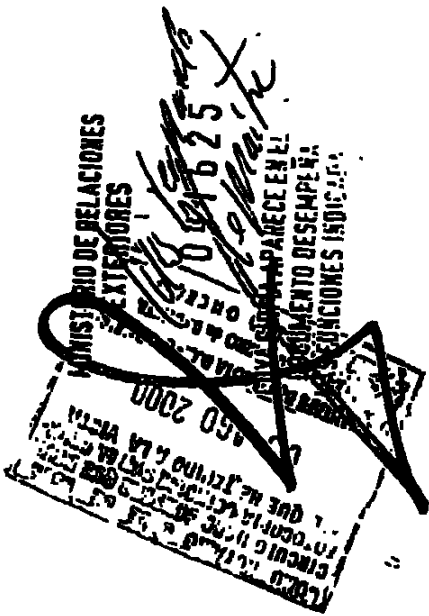
99 APR 22 AM 9:32

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

Maria Teresa Lara R.

MARIA TERESA LARA R.
TRADUCTORA OFICIAL
RESOLUCION No. 01016
DE MINJUSTICIA

278/99



RAIBERCK, LARA, RODRIGUEZ & RUEDA

Members of the Firm

BAKER & MCKENZIE

ATTORNEYS AT LAW

APARTADO AEREO 5746

TELEFONO: 306-1290

SANTAFE DE BOGOTA, D.C.

COLOMBIA

POWER OF ATTORNEY

The undersigned.

Diatide, Inc.

located in 9 Delta Drive
Londonderry, NH
US

declares that it hereby grants to

ALVARO CORREA ORDOÑEZ and/or
CARLOS REINALDO OLARTE
LUZ HELENA VILLAMIL and/ora full and sufficient power of attorney to apply to the
proper national offices and authorities for the issue of:Letters Patent, mergers, changes of name,
assignments, filing and prosecution of applications,
changes of address

to which and it empowers them to take all steps
necessary before said authorities for the objects stated,
to file petitions, prepare descriptions, make protests,
declarations, appeals and objections, pay imposts,
apply for certifications, receive documents and
securities, abandon applications and collect refunds.
To the said mandatories sufficient power is granted
hereby to receive notifications for and on behalf of the
Company, to confer powers on those who are to
represent the company judicially and extrajudicially, to
answer in court in the matter of all claims and demands
that may be presented in connection with the patents,
and to do everything that may be required, before
administrative or judicial officers of any class giving
them likewise power to substitute those presents and
revoke such substitutions if necessary. Additionally, the
Company hereby ratifies all acts taken to date on its
behalf and in furtherance of this Power of Attorney.

Done and subscribed in Londonderry, NH

On the 17th day of March

1999

Patricia A. McDanielsPatricia A. McDaniels,
Patent Counsel**PODER**

La abajo firmada.

Diatide, Inc.

domiciliada en 9 Delta Drive
Londonderry, NH
EE.UU.

declara por el presente otorgar a

ALVARO CORREA ORDOÑEZ y/o
CARLOS REINALDO OLARTE
LUZ HELENA VILLAMIL y/opoder especial amplio y bastante para recabar de las
oficinas y autoridades nacionales que correspondan, la
obtención de:Patentes de invención, fusiones, cambios de
nombre, traslados, presentación y tramitación
de oposiciones, cambios de dirección

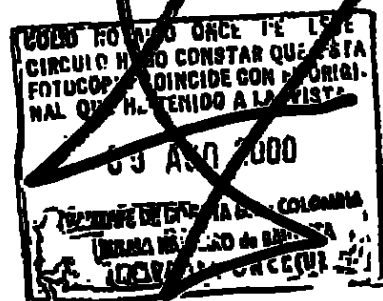
a cuyo efecto las faculta para dar ante dichas
autoridades, todos los pasos necesarios al objeto
indicado, elevar solicitudes, formular descripciones,
protestas, declaraciones, apelaciones y reclamos,
oblar impuestos, solicitar testimonios, recibir
documentos y valores, declarar y percibir. Se concede a
los expresados mandatarios poder bastante para
recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar
poderes a quienes vayan a representar a la compañía
judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a
todas las reclamaciones o demandas que por motivo
de las patentes se presentaren y hacer cuanto fuere
necesario, ante las autoridades administrativas o
judiciales de cualquier orden, dándoles asimismo
facultad para sustituir al presente y en caso necesario
revocar dichas sustituciones. Adicionalmente, la
compañía por medio de la presente ratifica toda
actuación tomada en representación suya y en relación
con este poder.

Done and signed in Londonderry NH

A los 17 días del mes de marzo

1999

18



19962

STATE OF NEW HAMPSHIRE
OFFICE OF THE SECRETARY OF STATE

I Hereby Certify That, at the date of the attestation hereunto annexed,
_____ was a _____ Notary Public

_____ Marcia J. Gookin
_____ throughout the State, residing in _____ Rockingham _____ County, duly Commissioned
and Authorized by the laws of New Hampshire to administer oaths, take acknowledgment of deeds, etc.; and that to his acts
and attestations, as such, full faith and credit are and ought to be given; that his term of office began on the _____
_____ eighth _____ day

of _____ December _____ 1995, and will end on the
_____ sixth _____ day of _____ December _____ 2000,

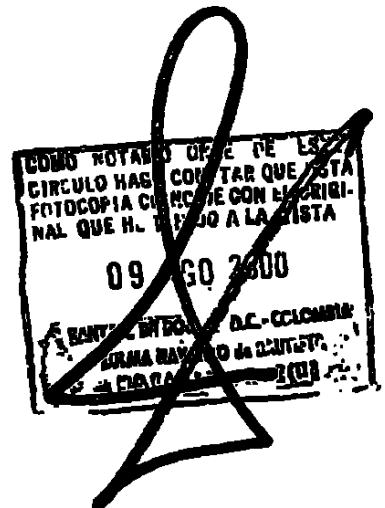
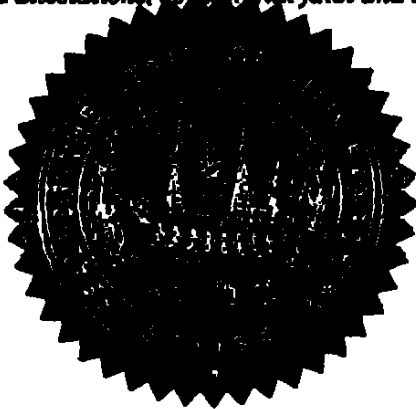
I further certify that I am well acquainted with the handwriting of
said _____ Marcia J. Gookin _____ and I
verily believe his signature annexed hereto is genuine.

In testimony whereof I have hereunto subscribed my official signature
and affixed the seal of the State, at Concord, N.H.

_____ eighteenth _____ day of _____ March _____ 1999,

Robert P. Ambrose

Deputy Secretary of State



Diatide, Inc.

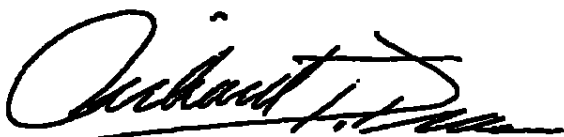
9 Delta Drive • Londonderry, New Hampshire 03053
(603) 437-8970 • FAX (603) 437-8977

I, Richard T. Dean, hereby swear to the following resolution which was made at the Board of Directors' Meeting for Diatide, Inc., on July 30, 1997.

RESOLUTION:

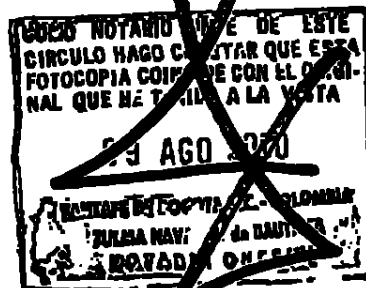
That Patricia A. McDaniels, Diatide, Inc.'s in-house patent counsel, be and hereby is authorized to appear before the United States Patent and Trademark Office and before any foreign patent or trademark office as the duly authorized representative of the company and to execute and deliver, in the name and on behalf of the company, any and all documents, instruments, applications and filings related to the company's patent applications and patents, or otherwise relating to the protection of the company's intellectual property.

Signed:



Richard T. Dean
President and Chief Executive Officer

Date: 8/8/97



NOVEDOSOS ANÁLOGOS DE LA SOMATOSTATINA

Esta solicitud en parte es una continuación de la solicitud precaucional acta N° 60/151.001, presentada el 27 de agosto de 1999.

Esta solicitud se refiere al campo de la visualización de imagen del cáncer y una
5 terapia que utiliza novedosos análogos de somatostatina.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El cáncer es una de las causas principales de morbilidad y mortalidad en los países desarrollados. Por ejemplo, en 1996 se registraron 1,4 millón de casos nuevos de cáncer y más que 0,5 millón de muertes por cáncer en los Estados Unidos. En 1995 en Estados
10 Unidos el costo anual total de tratamientos del cáncer, incluyendo costos directos e indirectos, fue estimado en ser más que \$96.000 millones. Existe una gran necesidad de nuevos métodos de diagnóstico y terapéuticos mejorados que permitan efectuar una detección temprana y un tratamiento seguro del cáncer y que justifique los costos.

Muchos tumores expresan los receptores para la hormona peptídica somatostatina.
15 En particular, los tumores neuroendócrinos, tales como adenomas pituitarios, feocromocitomas, paragangliomas, algunos carcinomas medular-tiroideos y algunos cánceres de células pequeñas de pulmón expresan receptores de somatostatina (SSTRs). Adicionalmente, células de tumores del sistema nervioso, tales como astrocitomas y meningiomas manifiestan SSTRs en sus superficies. La expresión de SSTR también se ha encontrado en
20 tumores de mamas, linfomas malignos y carcinomas de células renales humanos, y algunos tumores de próstata pueden estar caracterizados por la expresión de SSTR.

Estudios de enlace realizados con somatostatina y sus análogos marcados radioactivamente o iodados han identificado cinco subtipos de SSTR (SSTR₁₋₅). Los tumores que portan SSTR, descritos anteriormente, con mayor frecuencia expresan SSTR₂ y SSTR₃,
25 ocurriendo los SSTR₃ y SSTR₄ con menos frecuencia, según la mayoría de los autores. Un grupo informa que el SSTR₃ es expresado a niveles muy altos en casi todos los tumores humanos (Virgolini (1997) *Eur. J. Clin. Invest.* 27, 793-800). Hay un acuerdo general de que la mayoría de los tumores típicamente expresan más que un subtipo de SSTR y que pueden ser expresadas densidades variables de SSTRs en las células contenidas en un tumor
30 particular. La disponibilidad de genes clonados de subtipos de SSTR ha permitido caracterizar análogos de somatostatina por sus afinidades por SSTR₁₋₅ y estos estudios han revelado una considerable variabilidad en la especificidad de los subtipos de SSTR entre los análogos de somatostatina, como está descrito en Raynor, *et al.* (1993) *Molecular Pharmacol.* 43, 838-844 y en Patel *et al.* (1997) *TEM* 8, 398-404.

- Hasta ahora, han estado comercialmente disponibles tres análogos de somatostatina. Octreotide (Sandostatín®) se enlaza con SSSTR₂, SSSTR₃ y SSSTR₄ y se comercializa en los Estados Unidos y en Europa para el tratamiento de la acromegalia y el control de los síntomas asociados con vipomas y tumores carcinoides metastáticos. Lanreotide (Somatuline™) tiene un perfil de subtipo de SSSTR similar al del octreotide y está aprobado en varios países europeos para las mismas indicaciones que octreotide. En los Estados Unidos y en Europa se ha aprobado una forma marcada radioactivamente de octreotide, ¹¹¹In-pentetreotide (¹¹¹In-DTPA-D-Phe¹-octreotide o ¹¹¹In-OctreoScan®), para producir imágenes de tumores neuroendócrinos.
- 10 Recientemente la Food and Drug Administration de Estados Unidos aprobó un nuevo radiofármaco, Neo Tect™, una forma marcada con ^{99m}Tc del novedoso análogo de la somatostatina depreotide (P829), para comercializarlo como agente creador de imagen. Blum, *et al.*, (1999) *Chest* 115, 224-232, describe el uso de ^{99m}Tc-depreotide para la evaluación de nódulos pulmonares solitarios. Depreotide marcado con ^{99m}Tc también ha sido
- 15 estudiado como agente formador de imagen para otros tumores portadores de receptores de somatostatina. Por ejemplo, Handmaker (1998) *J. Nucl. Med.* 39, 315P describe una comparación de ^{99m}Tc-depreotide y ^{99m}Tc-sestamibi para el diagnóstico de cáncer de mama. El depreotide está descrito en las solicitudes comúnmente asignadas copendientes aprobadas USSN 08/592,323; en la USSN 08/253,973; y en la WO 95/00553 y WO 95/33497.
- 20 Existe un gran cuerpo de literatura en relación con los usos clínicos de octreotide y lanreotide no marcados. Por ejemplo, como se resume en Lamberts, *et al.*, (1996) *New England J. of Med.* 334, 246-254, el octreotide ha sido investigado para el uso en el tratamiento adenomas pituitarios secretores de tirotropina, adenomas pituitarios no secretores y adenomas secretores de corticotropina, tales como carcinomas bronquiales y
- 25 tímicos, carcinomas medulares tiroideos y tumores de las células insulares pancreáticas, pero no aquéllos no asociados con las enfermedad de Cushing. Lamberts, *et al.* revela que en general el tratamiento con octreotide sólo ocasionalmente tuvo por resultado una inhibición transitoria del crecimiento del tumor. Lamberts, *et al.* además revela que el octreotide también fue estudiado para el uso en enfermedades gastrointestinales y pancreáticos, con
- 30 resultados variables: por ejemplo, el octreotide no fue eficaz para tratar el sangrado por úlceras pépticas, pero fue eficaz para controlar el sangrado por várices del esófago. Lamberts, *et al.* describen el octreotide como ineficaz en el tratamiento de pancreatitis aguda, pero eficaz para reducir la producción de fluido por fistulas y pseudoquistes pancreáticos. También se describen ensayos clínicos del octreotide para el tratamiento de la

diarrea acuosa en pacientes de SIDA, en Lambert, *et al.* El octreotide también ha sido estudiado como un agente anti-angiogénico, como se resume en Woltering, *et al.* (1997) *Investigational New Drugs* 15, 77-86. El lanreotide ha sido aplicado a heridas quirúrgicas inducidas en ratones con tumores implantados para estudiar su efecto en la aceleración del crecimiento de un tumor, inducida por una herida, y se ha sugerido su uso como anti-secretoγόgo endócrino en el tratamiento citorredutor del cáncer, en Bogden, *et al.* (1997) *Brit. J. Cancer* 75, 1021-1027.

A pesar de la disponibilidad en el comercio de octreotide, lanreotide y pentetreotide, se han propuesto un gran número de análogos de la somatostatina para el uso como formadores de imagen y/o agentes terapéuticos para detectar y/o tratar cáncer y otros estados de enfermedad, cuya responsabilidad tiene la somatostatina. Patel, *et al.*, *supra*, revela la necesidad de análogos de somatostatina de segunda generación que se enlacen más selectivamente, es decir, con más alta afinidad a los SSTRs en general y a los subtipos de SSTRs, en particular a SSTR₁, SSTR₂ y SSTR₄. También son deseables análogos de mayor afinidad por SSTR₂ y SSTR₃, de manera que se puedan administrar dosis más bajas de análogos de somatostatina para obtener una respuesta clínica.

Se describen análogos de la somatostatina de segunda generación, por ejemplo, en las patentes de los Estados Unidos comúnmente asignadas Nos. 5.620.675; 5.716.596; 5.783.170; 5.814.298; 5.820.845; 5.833.942; 5.843.401; 5.871.711; 5.932.189; solicitudes aprobadas USSN 08/592.323; 08/586.670; 08/776.160; 08/931.095; 09/039.062; 09/039.116; 09/042.224 y 09/042.315; y la solicitud copendiente USSN 08/092.355. La patente de los Estados Unidos N° 5.597.894 revela análogos de la somatostatina que contienen aminoácidos N-terminales adicionales. Las patentes de los Estados Unidos Nos. 4.310.518 y 4.486.415 y las EP 143 307 y EP 222 578 revelan análogos de la somatostatina cíclicos hexapeptídicos que son ciclizados por uniones peptídicas. La patente estadounidense N° 5.708.135 revela análogos de somatostatina que están ciclizados a través de una unión de disulfuro entre el resto N-terminal y el resto C-terminal. La patente de los Estados Unidos N° 5.776.894 revela péptidos de somatostatina que tienen un grupo quelante unido covalentemente a un grupo amino N-terminal. La patente de los Estados Unidos N° 5.770.687 revela análogos de somatostatina con la estructura de sostén ciclizada obligada conformacionalmente. La patente de los Estados Unidos N° 5.830.431 revela un análogo de somatostatina marcado radiactivamente, que tiene un carboxilo terminal en la forma de ácido carboxílico. La EP 714 911 revela análogos de octreotide DOTA-conjugados. La WO 96/37239 revela vapreotide marcado con ¹⁸⁸Re. La WO 97/01579 revela análogos de

somatostatina cíclicos hexapeptídicos que tienen un grupo quelante unido a un grupo amino de una cadena lateral de un aminoácido designado. Incluso en vista del gran número de análogos de somatostatina de segunda generación que han sido propuestos, continúa la búsqueda de los análogos de somatostatina con propiedades de enlace mejoradas.

- 5 Las formas marcadas radioactivamente de octreotide y lanreotide han sido investigadas para el uso como agentes radioterapéuticos en estudios preclínicos y clínicos. Por ejemplo, Anderson *et al.* (1996) *J. Nucl. Med.* 37, 128P-129P, revela un estudio de TETA-octreotide marcado con ^{64}Cu como radioterapéutico en un modelo de rata que porta un tumor. Stolz, *et al.* (1996) *Digestion* 57 (supl. 1) 17-21 revela ^{90}Y -DTPA-bencil-acetamido-
- 10 D-Phe¹, Tyr³-octreotide en un modelo de ratón que porta un tumor. Otte *et al.* (1997) *Eur. J. Nucl. Med.* 24, 792-795, revela el uso de DOTA-D-Phe¹, Tyr¹-octreotide para tratar la enfermedad neuroendócrina metastática en un paciente humano.. Krenning *et al.* (1994) *Annals of N.Y. Acad. Sci.* 733, págs 496-506 describe la radioterapia de un paciente con un tumor neuroendócrino usando dosis terapéuticas de ^{111}In -DTPA-D-Phe-octreotide. DeJong,
- 15 *et al.* (1998) *Int. J. Cancer* 75, 406-411, revela una comparación preclínica de {DTPA}-octreotide, {DTPA, Tyr³}-octreotide y {DOTA, Tyr³}-octreotide marcado con ^{111}In y ^{90}Y . Breeman, *et al.* (1998) *Eur. J. Nucl. Med.* 25, 182-186, describe una comparación de ^{111}In DTPA-RC-160 (vaporeotide) y ^{111}In -DTPA-octreotide para centelleografía del receptor de somatostatina en humanos. La WO 98/41540 revela el DOTA-lanreotide para marcar con
- 20 ^{111}In , ^{90}Y , ^{86}Y , $^{67/68}\text{Ga}$, ^{161}Tb y ^{153}Sm . Virgolini, *et al.* (1998) *J. Nucl. Med.* 39, 1928-1936 describe la biodistribución de ^{111}In -DOTA-lanreotide en humanos. Leimer, *et al.* (1998) *J. Nucl. Med.* 39, 2090-2094, describe el tratamiento de un carcinoma metastático en un paciente humano usando ^{90}Y -DOTA-lanreotide. Datos preliminares indican que cuando están marcados con un radionucleido que tiene emisiones suficientemente energéticas, el
- 25 octreotide y el lanreotide pueden ser eficaces agentes antitumorales para tumores que portan receptores de somatostatina.

- Un fenómeno frecuentemente observado con péptidos marcados radiactivamente es la retención en un órgano que no es el objetivo, tal como riñones, hígado o bazo. Cuando se utilizan isótopos de corta vida, de relativamente baja energía, tales como $^{99\text{m}}\text{Tc}$, la retención
- 30 en el riñón generalmente no presenta un problema clínico. No obstante, el uso de péptidos marcados con isótopos que tienen energías más altas y/o vidas medias más largas, tales como aquéllos propuestos para el uso en radioterapia, podría dar por resultado una dosis de radiación inaceptablemente alta para el órgano que no es el objetivo. En efecto, Breeman, *et al.*, *supra*, concluye que el alto fondo en riñones, hígado, bazo y pulmones de ^{111}In -DTPA-

vapreotide hizo inapropiado al compuesto para centelleografía. La retención de péptidos marcados radioactivamente en órganos que no son objetivos limita la cantidad de radioactividad que puede ser administrada.

Bernard, *et al.* (1997) *J. Nucl. Med.* 38, 1929-1933 revela que cantidades significativas de ^{111}In -DTPA-octreotide y ^{90}Y -DOTA-octreotide se acumulan en el parénquima renal cuando se administran a ratas normales. Bass, *et al.* (1998) *Bioconjugate Chem.* 9, 192-200, revela que ^{111}In -DTPA-octreotide es retenido en el hígado y los riñones de ratas normales y que portan un tumor. Virgolini, *et al.*, *supra*, revela que a 24 horas después de la inyección, ^{111}In -DOTA-lanreotide es retenido en el hígado humano en una cantidad aproximadamente igual al ^{111}In -DTPA-D-Phe¹-octreotide (aproximadamente 3,2% de la dosis inyectada); en el bazo en una cantidad menor (aproximadamente 1,2% de la dosis inyectada de ^{111}In -DOTA-lanreotide, comparado con aproximadamente 3% de la dosis inyectada de ^{111}In -DTPA-D-Phe¹-octreotide); y en los riñones una cantidad menor (aproximadamente 2,5% de la dosis inyectada de ^{111}In -DOTA-lanreotide, comparado con aproximadamente 3,7% de la dosis inyectada de ^{111}In -DTPA-D-Phe¹-octreotide). Leimer, *et al.*, *supra*, informa dosis en los riñones de ^{90}Y de 1,98-2,43 mGy/MBq y dosis en el bazo de 1,68-3,35 mGy/MBq en el paciente tratado con cuatro ciclos de tratamiento con ^{90}Y -DOTA-lanreotide.

Se han sugerido varios accesos para minimizar la acumulación de péptidos marcados radioactivamente en órganos que no son objetivos. Se revela el uso de D- o L-lisina para reducir la absorción renal de anticuerpos y/o péptidos, en las patentes estadounidenses Nos. 5,380,513; 5,648,059 y 5,843,894. Stolz, *et al.* (1998) *Eur. J. Nucl. Med.* 25, 668-674, discute el uso de ligantes específicamente escindibles en los riñones para incrementar la excreción de péptidos marcados radioactivamente, pero sugiere utilizarlos antes de la inyección de L-lisina para disminuir la dosis de radiación en los riñones que resulta de la administración de ^{90}Y -DOTA-D-Phe¹, Tyr³-octreotide. Bernard, *et al.*, *supra*, enseña que dosis altas de L-lisina pueden resultar en toxicidad y sugiere el uso de D-lisina para reducir la acumulación de ^{111}In -DTPA-octreotide y ^{90}Y -DOTA-octreotide en los riñones. Hammond, *et al.* (1993) *Brit. Cancer J.* 67, 1437-1439, enseña una infusión de una mezcla de lisina y arginina para prevenir la absorción renal de ^{111}In -pentetreotide en pacientes humanos.

Aunque la infusión de aminoácidos reduce la absorción renal de análogos de somatostatina marcados radioactivamente, existe el potencial de que los aminoácidos infundidos ellos mismos pueden resultar en toxicidad. Adicionalmente en el comercio corrientemente no hay disponibles líquidos infundibles con aminoácidos en la concentración suficientemente alta de lisina para reducir eficazmente la absorción renal de análogos de

somatostatina marcados radioactivamente. Un decrecimiento de la acumulación renal de un análogo de somatostatina marcado radioactivamente permitiría una dosis más alta de radiación y por lo tanto se esperaría una reducción más eficaz del tumor.

Por lo tanto queda una necesidad de novedosos análogos de somatostatina con
5 afinidad mejorada por los SSTRs y propiedades farmacocinéticas mejoradas.

DESCRIPCIÓN ABREVIADA DE LA INVENCION

Los presentes inventores han diseñado novedosos farmacóforos de SSTR, que estructuralmente son distintos de todos los análogos de somatostatina previamente conocidos. Los farmacóforos novedosos de la invención presentan una alta afinidad por los
10 SSTRs y como consecuencia una alta absorción por el tumor. Los inventores también han descubierto nuevos quelantes de iones metálicos que cuando están unidos covalentemente a los farmacóforos de la invención, esto da por resultado un decrecimiento de la retención en los riñones, el bazo, el tracto intestinal y/o hígado, aumentando así la utilidad de los farmacóforos para su uso con radioisótopos citotóxicos. Además la combinación de los
15 novedosos quelantes de la invención con los novedosos farmacóforos revelados aquí resulta en una alta absorción del farmacóforo por el tumor. Los análogos de somatostatina de la invención pueden ser administrados para tratar estados de enfermedad de responsabilidad de la somatostatina y además pueden ser marcados con un radioisótopo para su uso como agentes para diagnóstico y terapéuticos.

20 En una realización la invención provee un compuesto que comprende un péptido que se enlaza al receptor de somatostatina y que tiene la fórmula



donde B¹ es Phe, Tyr, Nal, Ain, o un derivado sustituido de los mismos;

B² es Trp o un derivado sustituido del mismo;

25 B³ es Lys, Hly, Achxa, Amf, Aec, Apc, Aes, Aps o un derivado sustituido de los mismos;

B⁴ es Thr, Ser, Val, Phe, Ile, Abu, Nle, Leu, Nva, o Aib;

C es un L-α-aminoácido;

A es un N-alkil- α-aminoácido o un alkil- α-aminoácido N-sustituido,

30 donde A comprende una cadena lateral que contiene un átomo de azufre;

donde B¹ y A están unidos por unión covalente a través de un término amino de B¹ y un término carboxilo de A, para formar un péptido cíclico. Conforme a la invención el residuo A puede estar unido a un quelante de metal a través de un átomo de nitrógeno, carbono,

En otra realización la invención provee un compuesto que comprende un péptido que enlaza receptores de somatostatina, que tiene la fórmula

5

B² es Trp o un derivado sustituido del mismo;

10 B' es Thr, Ser, Val, Phe, Ile, Abu, Nle, Leu, Nva o Aib;

C es un L-α-aminoácido:

X es un H o un quelante de metal;

donde B¹ y (N-CH₂)₃Hcy están unidos covalentemente a través de un término amino de B¹ y un término carboxilo de (N-CH₂)₃Hcy para formar un péptido cíclico. Conforme a la

15 invención, X está unido al resto $(N-CH_3)Hcy$ a través del átomo de azufre de la cadena lateral de Hcy.

En otra realización la invención provee un novedoso quelante de péptidos que tiene la fórmula:

b-Dap.Xaa.Cys.Zaa

20 donde X_{aa} es un L- α -aminoácido, y

Zaa es un a-aminoácido, una amida de a-aminoácido, un éter aminoetílico, un b-aminol o un péptido que contiene de dos a diez a-aminoácidos, teniendo dicho péptido un a-aminoácido carboxílico terminal, una amida de a-aminoácido, un éter aminoetílico o b-aminol.

25 En otra realización la invención provee un radiofármaco que comprende un compuesto de la invención y un radioisótopo que puede ser un emisor g para propósitos de formación de imagen o alternativamente un emisor a o un emisor b para propósitos terapéuticos.

En otra realización la invención provee un equipo que comprende un vial sellado que
30 contiene una cantidad predeterminada de un compuesto de la invención. El frasco sellado
opcionalmente puede contener una cantidad suficiente de un agente reductor para marcar el
compuesto con ^{99m}Tc , ^{186}Re o ^{188}Re .

En aún otra realización la invención provee un método para visualizar la imagen de un sitio dentro del cuerpo de un mamífero que comprende los pasos de marcado radiactivo

de un compuesto de la invención con un radioisótopo apropiado emisor g, administrando una cantidad eficaz para diagnóstico, del compuesto marcado radioactivamente al cuerpo y detectando el radioisótopo acumulado en el sitio.

La invención también provee un método para tratar un animal que padece una enfermedad de responsabilidad de la somatostatina, que comprende los pasos de marcado radioactivo de un compuesto de la invención con un radioisótopo emisor a o un emisor b y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto radioactivamente marcado al animal.

Los métodos de diagnóstico y terapéuticos de la invención pueden combinarse para tratar un tumor que porta SSSTR en un mamífero, donde una primera alícuota de un compuesto es marcado con un radioisótopo emisor g y usado para producir una imagen para el diagnóstico y si se observa una acumulación de radioisótopo emisor g, se marca una segunda alícuota del mismo compuesto o de un compuesto farmacológicamente similar con un radioisótopo citotóxico y se administra al animal para efectuar la reducción del tumor.

15 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La literatura de patentes y científica incluida aquí como referencias constituye el conocimiento disponible para los experimentados en el arte. Las patentes de los Estados Unidos concedidas y las solicitudes aprobadas son incorporadas de esta manera como referencia.

Los novedosos farmacóforos de la invención se enlazan con alta afinidad a los SSSTRs y cuando están unidos por enlace covalente a los novedosos quelantes de metales de la invención, demuestran una alta absorción por el tumor y adicionalmente se acumulan en el hígado, el bazo y/o los riñones en menor extensión que los análogos de somatostatina conocidos. Los compuestos preferidos de la invención demuestran propiedades mejoradas, tales como afinidad subnanomolar por los SSSTRs, alta absorción en el tumor y/o mínima acumulación en los riñones y/o el tracto gastrointestinal, cuando están marcados radioactivamente.

Los novedosos compuestos de la invención pueden ser usados en forma no marcada o marcada para tratar cualquier estado de enfermedad de responsabilidad de la somatostatina. En general los estados de enfermedad de responsabilidad de la somatostatina se caracterizan por la expresión o la sobreexpresión de SSSTRs. Los ejemplos de estados de enfermedad de responsabilidad de la somatostatina incluyen, sin limitación, tumores endócrinos, tales como los descritos anteriormente, tumores del tracto gastrointestinal, carcinoma de mama, carcinoma de células pequeñas de los pulmones, linfoma, neuroblastoma, hipersecreción de

péptidos por tumores endócrinos funcionales del eje gastroenteropancreático, hipersecreción de la hormona del crecimiento en la acromegalia, retinopatía diabética, hipersecreción y motilidad aumentada del intestino en el síndrome de vaciamiento, fistulas pancreáticas y del tracto gastrointestinal, complicaciones que siguen a la cirugía pancreática, presión portal incrementada y sangrado varical asociado con várices esofágicas, y similares.

Como se expuso anteriormente el novedoso farmacóforo de la invención está realizado como un compuesto que tiene la fórmula



donde B¹ es Phe, Tyr, Nal, Ain, o un derivado sustituido de los mismos;

10 B² es Trp o un derivado sustituido del mismo;

B³ es Lys, Hly, Achxa, Amf, Aec, Apc, Aes, Aps o un derivado sustituido de los mismos;

B⁴ es Thr, Ser, Val, Ile, Abu, Nle, Leu, Nva o Aib;

C es un L- a -aminoácido;

15 A es un N-alquil- a-aminoácido o un alquil- a -aminoácido N-sustituido, donde A comprende una cadena lateral que contiene un átomo de azufre;

donde B¹ y A están unidos de manera covalente a través de un término amino de B¹ y un término carboxilo de A para formar un péptido cíclico. En la fórmula expuesta precedentemente se entiende que "sustituido" incluye tales sustituciones como H, amino, 20 hidroxilo, N-alquilo donde alquilo representa C₁ a C₄-alquilo, N, N-dialquilo, donde alquilo representa C₁-a C₄-alquilo, N-arilo, N-acilo, O-alquilo, donde alquilo representa C₁ a C₄-alquilo, O-arilo, O-acilo, S-alquilo, donde alquilo representa C₁ a C₄-alquilo, S-arilo y similares. Conforme a la invención, los aminoácidos expuestos anteriormente pueden ser de configuración D- ó L-. Como se definió aquí, "conteniendo un átomo de azufre" significa 25 que la cadena lateraal del resto A comprende tales grupos como -SH, -S-, -S-CH₂COOH, -S-CH₂COO-, -S-CH₂-CH(CO)(NH-), y similares.

Preferentemente B¹ es L-Phe o L-Tyr, B² es D-Trp; B³ es L-Lys; y B⁴ es L-Thr o L-Val, y A es un N-metil- a -aminoácido. Más preferentemente, A está seleccionado entre el grupo consistente en (N-CH₃)Cys, (N-CH₃)Hcy, (N-CH₃)Tyr, (N-CH₃)Tty, y (N-CH₃)Tyr(CH₂CH₂SH). De mayor preferencia, A es (N-CH₃)Tyr, (N-CH₃)Cys, o (N-CH₃)Hcy. 30 Cuando A es (N-CH₃)Tyr, (N-CH₃)Cys o (N-CH₃)Hcy, C preferentemente es L-metionina, L-fenilalanina o un derivado sustituido de L-fenilalanina. Más preferentemente, A es (N-CH₃)Cys o (N-CH₃)Hcy y C es L-fenilalanina o un derivado sustituido de L-fenilalanina. De

mayor preferencia A es (N-CH₃)Hcy y C es L-fenilalanina. En una realización de mayor preferencia el farmacóforo de la invención tiene la fórmula:



El uso del término "ciclo" y el subrayado de los aminoácidos aquí tiene el propósito de indicar que el péptido está ciclizado por la formación de una unión amida entre la amina sustituida o no sustituida del primer aminoácido subrayado y el grupo carboxilo del último aminoácido subrayado. El uso de una fuente más chica indica que el símbolo químico para un átomo tiene más un propósito de un código de aminoácidos de una letra.

Todos los aminoácidos que existen naturalmente pueden estar denominados aquí en forma abreviada utilizando códigos estándar de una o tres letras (que pueden encontrarse en G. Zubay, *Biochemistry* (2ª edición), 1988 (MacMillan Publishing: New York) pág 33). Además, como se usan aquí, los siguientes análogos aminoácidos se representan aquí mediante las siguientes abreviaturas: Hcy es homocisteína, Hhc es homohomocisteína (3-mercaptopropilglicina; Pen es penicilamina; Aib es ácido aminoisobutírico; Nal es 2-naftilalanina; Aca es ácido 6-aminocaproico; Ain es ácido 2-aminoindan-2-carboxílico; Hly es homolisina; Achxa es 4-amino-ciclohexilalanina; Amf es 4-aminometil-fenilalanina; Aec es S(2-aminoetil)cisteína; Ape es S-(3-aminopropil)cisteína; Aes es O-(2-amonietyl)serina; Aps es O-(3-aminopropil)serina; Abu es ácido 2-aminobutírico; Nva es norvalina, F_D es D-fenilalanina; W_D es D-triptofano; Y_D es D-tirosina; Cpa es L(4-clorofenil)alanina; Thp es ácido 4-amino-tetrahidrotiopiran-4-carboxílico; D-Nal es D-2-naftilalanina; Dpg es dipropilglicina; Nle es norleucina; (N-CH₃)Cys es N-metilcisteína; (N-CH₃)Hcy es N-metil-homocisteína; (N-CH₃)Tyr es N-metiltirosina; (N-CH₃)Tty es N-metil-tiotirosina (es decir, N-metil-4-mercaptopfenilalanina); (N-CH₃)Tyr(CH₂CH₂SH) es N-metil-O-2-mercptoetil tirosina; Thr(OH) es un resto treoninol (donde el grupo carboxilo del aminoácido es reducido formando un alcohol primario, incorporado en el péptido, utilizando el procedimiento de Neugebauer *et al.* (1990, Peptides: "Proceeding of the 11th American Peptide Symposium, págs. 1020-21); Ser(ol) es serinol; Asp(ol) es aspartinol; Glu(ol) es glutarinol; Gln(ol) es glutaminol; Asn(ol) es asparaginol; Phe(4-F) es 4-flúor-fenilalanina; Phe(4-NH₂) es 4-amino-fenilalanina; e-Lys representa una unión covalente a través del grupo e-amino en la cadena lateral de un resto lisina; d-Orn representa un resto ornitina en el cual el grupo d-amino está unido covalentemente al grupo carboxilo del aminoácido adyacente para formar una unión peptídica; g-Dab representa un resto de ácido 2,4-diaminobutírico, en el cual el grupo g-amino está unido covalentemente al grupo carboxilo del aminoácido adyacente para formar una unión peptídica; b-Dap representa un resto de

ácido 2,3-diaminopropiónico, en el cual el grupo b-amino está ligado covalentemente al grupo carboxilo del aminoácido adyacente para formar una unión peptídica. Cuando se utiliza una combinación de códigos de una letra con las abreviaturas expuestas anteriormente, la abreviatura es resaltada por períodos.

- 5
- Conforme a la presente invención un “derivado sustituido” de un aminoácido incluye tales sustituyentes como amino, hidroxilo, N-alquilo, donde alquilo representa C₁ a C₄-alquilo, N-arilo, N-acilo, O-alquilo, donde alquilo representa C₁ a C₄-alquilo, O-arilo, O-acilo, S-alquilo, donde alquilo representa C₁ a C₄-alquilo, S-arilo. Cuando se aplica a aminoácidos que contienen un anillo aromático en la cadena lateral, el término también
- 10
- incluye o-, m- y p-sustituciones que incluyen, pero no se limitan a o-amino, m-amino, p-amino, amino, o-hidroxilo, m-hidroxilo, p-hidroxilo y similares.

La invención también está en una realización como un compuesto que tiene la fórmula:



- 15
- donde B¹ es Phe, Tyr, Nal, Ain, o un derivado sustituido de los mismos;
B² es Trp o un derivado sustituido del mismo;
B³ es Lys, Hly, Achxa, Amf, Acc, Apc, Acs, Aps o un derivado sustituido de los mismos;
- 20
- B⁴ es Thr, Ser, Val, Phe, Ile, Abu, Nle, Leu, Nva o Aib;
C es L-metionona, L-fenilalanina o un derivado sustituido de L-fenilalanina;
X es H o un quelante de metal;

- 25
- donde B¹ y (N-CH₂)Hcy están unidos de manera covalente a través de un término amino de B¹ y un término carboxilo de (N-CH₂)Hcy, para formar un péptido cíclico. Conforme a la invención X está unido al resto (N-CH₂)Hcy a través del átomo de azufre de la cadena lateral de Hcy. Los aminoácidos en la fórmula expuestos precedentemente pueden ser de configuración D ó L. En esta realización B¹ preferentemente es L-Phe o L-Tyr; B² preferentemente es D-Trp; B³ preferentemente es L-Lys; y B⁴ preferentemente es L-Thr o L-Val.

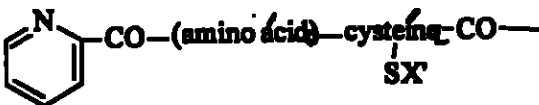
- 30
- Conforme a la invención, puede emplearse cualquier quelante de metal como sustituyente X. Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden comprender un quelante de iones metálicos que tiene la fórmula:



donde (pgp)^a es hidrógeno o un grupo protector de tiol y (aa) es cualquier a - ó b-aminoácido que no comprende un grupo tiol. En una realización de preferencia el amino-

ácido es glicina. Se exponen métodos para elaborar tales quelantes de iones metálicos en las patentes estadounidenses Nos. 5.654.272; 5.681.541; 5.788.960 y 5.811.394.

Alternativamente el compuesto de la invención puede comprender un quelante de ión metálico capaz de formar complejos eléctricamente neutros con el ión metálico, como se expone en las patentes estadounidenses Nos. 5.720.934; 5.776.428; 5.780.007 y 5.922.303; en las solicitudes aprobadas USSN 08/467.791, 08/170.299; y 07/871.282. Tales quelantes incluyen, pero no se limitan a:

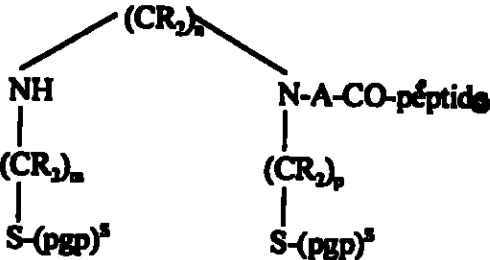


donde $X' = \text{H}$ o un grupo protector;
(aminoácido) = cualquier aminoácido;

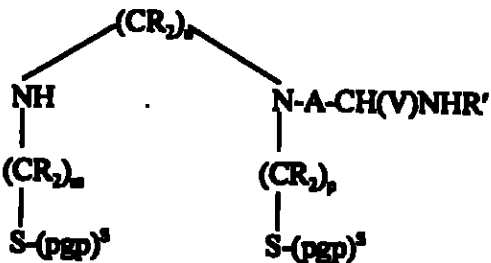
10



donde $X' = \text{H}$ o un grupo protector;
(aminoácido) = cualquier aminoácido;



15 donde cada R independientemente es H, CH₃ o C₂H₅; cada (pgp)^s independientemente es un grupo protector de tiol o H; m, n y p independientemente son 2 ó 3; A es C₁-C₈-alquilo lineal, C₁-C₈-alquilo lineal sustituido, C₃-C₈-alquilo cíclico, C₃-C₈-alquilo cíclico sustituido, arilo, arilo sustituido o una combinación de éstos; y

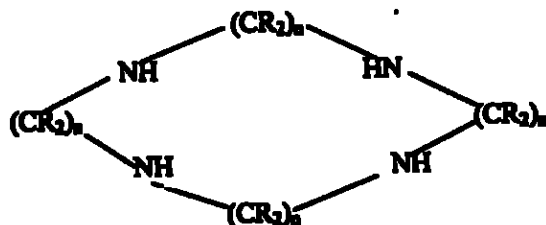


- donde cada R independientemente es H, CH₃ o C₂H₅; m, n y p independientemente son 2 ó 3; A es C₁-C₈-alquilo lineal, C₁-C₈-alquilo lineal sustituido, C₃-C₈-alquilo cíclico, C₃-C₈-alquilo cíclico sustituido, arilo, arilo sustituido o una combinación de éstos; V es H o CO-péptido; R' es H o péptido; con la condición de que cuando V es H, R' es un péptido y cuando R' es H, V es un CO-farmacóforo. Conforme a la invención los derivados sustituidos en las fórmulas de bisamina, bistirol se definen como se expuso anteriormente.

Alternativamente el compuesto de la invención puede comprender un quelante de ión metálico que tiene una fórmula seleccionada entre el grupo consistente en:

- ácido dietilentriaminopentacético (DTPA);
 10 un derivado de DTPA que tiene la fórmula
 $(\text{HOOCCH}_2)_2\text{N}(\text{CR}_2)\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})(\text{CR}_2)(\text{CR}_2)\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})_2$;
 donde cada R independientemente es H, C₁ a C₄-alquilo o arilo y un R está unido covalentemente a un ligante bivalente;
 ácido etilendiaminotetracético (EDTA);
 15 Un derivado de EDTA que tiene la fórmula
 $(\text{HOOCCH}_2)_2\text{N}(\text{CR}_2)\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})_2$;
 donde cada R independientemente es H, C₁ a C₄-alquilo o arilo y un R está unido de manera covalente a un ligante bivalente;
 ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecanotetracético y derivados de éstos, tales como
 20 aquéllos expuestos en las patentes estadounidenses Nos. 4.923.985; 5.053.503; 5.428.154; las WO 94/27977; EP 512 661; y similares;

Un quelante de iones metálicos:

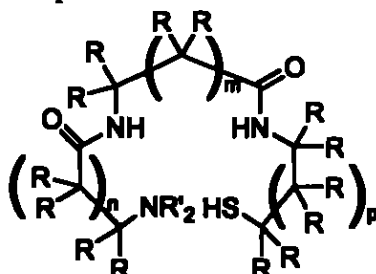


- donde n es un número entero que es 2 ó 3 y donde cada R independientemente es H, C₁ a C₄-alquilo o arilo y un R está unido de manera covalente al péptido;
 25 y desferrioxamina.

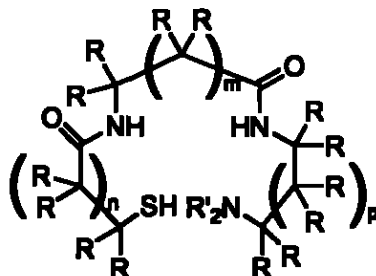
- Además de los quelantes expuestos precedentemente, los péptidos enlazantes de receptores de somatostatina de la invención pueden estar unidos de manera covalente a un ligante que enlaza metales radiactivos, tal como una mitad hidrazino-nicotinamida y co-
 30 ligantes apropiados usados marcados radiactivamente. Tales ligantes y co-ligantes se

revelan, por ejemplo, en las patentes estadounidenses Nos. 5.300.278; 5.350.837; 5.589.576; 5.679.778 y 5.879.659 y en Spies, et al. "Technetium, Rhenium and Other Metals in Chemistry and Nuclear Medicine, Nicolini et al., eds., SGEEditoriali (Padua, 1999) pp. 101-108 y 687-690.

- 5 Más preferentemente, los compuestos de la invención comprenden un quelante de iones metálicos que contiene monoamina, diamida, tiol simple, tal como se expone en la solicitud comúnmente asignada copendiente USSN 08/253.973. Ejemplos de tales quelantes de iones metálicos son quelantes que tienen las fórmulas:



10 y



- donde n, m y p son cada uno números enteros que independientemente son 0 ó 1; cada R' independientemente es H, alquilo inferior, C₂-C₄-hidroxialquilo o C₂-C₄-alcoxialquilo y cada R independientemente es H o R'', donde R'' es un C₁-C₆-alquilo sustituido que no comprende un grupo tiol, un C₁-C₆-alquilo no sustituido, un fenilo no sustituido o un fenilo sustituido que no comprende un grupo tiol, y uno de R o R' es L², donde L² es una mitad ligante bivalente que enlaza el quelante de metal al péptido y donde cuando un R' es L², NR'₂ es una amina. En esta realización L² puede ser un grupo C₁-C₆-alquilo lineal, un grupo alquilo de cadena ramificada, un grupo alquilo cíclico, un éster carboxílico, una carboxamida, una sulfonamida, un éter, un tioéter, una amina, un alqueno, un alquileno, un anillo bencénico 1,2-ligado, opcionalmente sustituido, un anillo benceno 1,3-ligado opcionalmente sustituido, un anillo bencénico 1,4-ligado, opcionalmente sustituido, o un aminoácido, o una combinación de éstos. En esta realización R'' puede ser un grupo C₁-C₆-alquilo lineal; un grupo alquilo ramificado; Un grupo alquilo cíclico; un grupo -C_qOC_r-, -C_qNHC_r- ó -C_qSC_r-, donde q y r, cada uno independientemente, son números enteros de 1 a

5, donde la suma de $q + r$ no es mayor que 6; (C_1-C_6) alquilo-X, donde X es un grupo hidroxilo, una amina sustituida, una guanidina, una amidina, un grupo tiol sustituido o un ácido carboxílico, un grupo éster, fosfato o sulfato; un grupo fenilo o un grupo fenilo sustituido por halógeno, un grupo hidroxilo, una amina sustituida, un grupo guanidina, un grupo amidina, un tiol sustituido, un éter, un fosfato, un sulfato; un grupo indol; un grupo C_1-C_6 -heterocíclico que contiene de 1 a 3 átomos de nitrógeno, oxígeno o azufre, o una combinación de los mismos. Conforme a la invención, los derivados sustituidos en las fórmulas de los quelantes que contienen monoamina, diamida, tiol, se definen como se expuso anteriormente.

10 De mayor preferencia, los compuestos de la invención comprenden un quelante de iones metálicos que comprende un grupo que contiene un tiol simple de fórmula:



donde A es H, $HOOC-$, H_2NOC- , $-NHOC-$, $-OOC-$, R^a_2NOC- ó R^d ; B es H, SH, $-NHR^e$, $-N(R^e)-$ ó R^d ; Z es H ó R^d ; X es SH, $-NHR^e$, $-N(R^e)-$ ó R^d ; R^a , R^b , R^e y R^d , independientemente son H , C_1-C_3 -alquilo de cadena recta, C_1-C_3 -alquilo de cadena ramificada o C_3-C_6 -alquilo cíclico; n es 0, 1 ó 2; R^e es C_1-C_4 -alquilo, un aminoácido, o un péptido que comprende de 2 a aproximadamente 10 aminoácidos; Y: (1) donde B es $-NHR^e$ ó $-N(R^e)-$, X es SH y n es 1 ó 2; (2) donde X es $-NHR^e$ ó $-N(R^e)-$, B es SH y n es 1 ó 2; (3) donde B es H ó R^d , A es $HOOC-$, H_2NOC- , $-NHOC-$ u $OOC-$, X es SH y n es 0 ó 1; (4) donde A es H ó R^d , entonces donde B es SH, X es $-NHR^e$ ó $-N(R^e)-$ y donde X es SH, B es $-NHR^e$ ó $-N(R^e)-$ y n es 1 ó 2; (5) donde X es H ó R^d , A es $HOOC-$, H_2NOC- , $-NHOC-$ u $OOC-$ y B es SH; (6) donde Z es metilo, X es metilo, A es $HOOC-$, H_2NOC- , $-NHOC-$ u $OOC-$ y B es SH y n es 0; y (7) donde B es SH, X no es SH y donde X es SH, B no es SH.

20 Conforme a la invención, un quelante de iones metálicos que comprende un grupo que contiene un tiol simple puede tener la fórmula:



donde $(\text{aminoácido})^1$ y $(\text{aminoácido})^2$, cada uno independientemente, son cualquier α - ó β -aminoácido que no comprende un grupo tiol, Z^1 está seleccionado entre el grupo que consiste en cisteína, homocisteína, isocisteína, penicilamina, 2-mercaptoetilamina, 2-mercaptopropilamina, 2-mercapto-2-metilpropilamina y 3-mercaptopropilamina, y R^1 es alquilo inferior (C^1-C^4), o R^1-CO es un aminoácido, un péptido o (aa)-péptido; donde cuando Z^1 es cisteína, homocisteína, isocisteína o penicilamina, Z^1 comprende un grupo carbonilo unido de manera covalente a un grupo hidroxilo, un grupo NR^3R^4 , donde cada uno de R^3 y

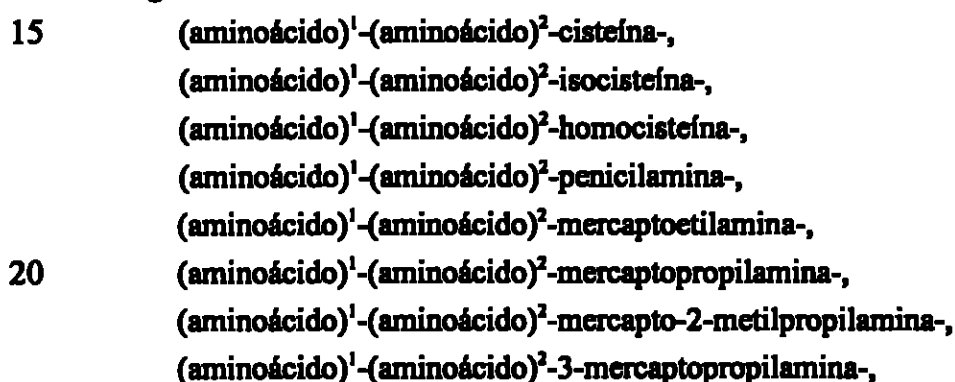
R^4 , independientemente son H, una unión, alquilo inferior (C^1-C^4), un aminoácido o un péptido que comprende de 2 a 10 aminoácidos.

Alternativamente, un quelante de iones metálicos que comprende un grupo que contiene un tiol simple puede tener la fórmula:



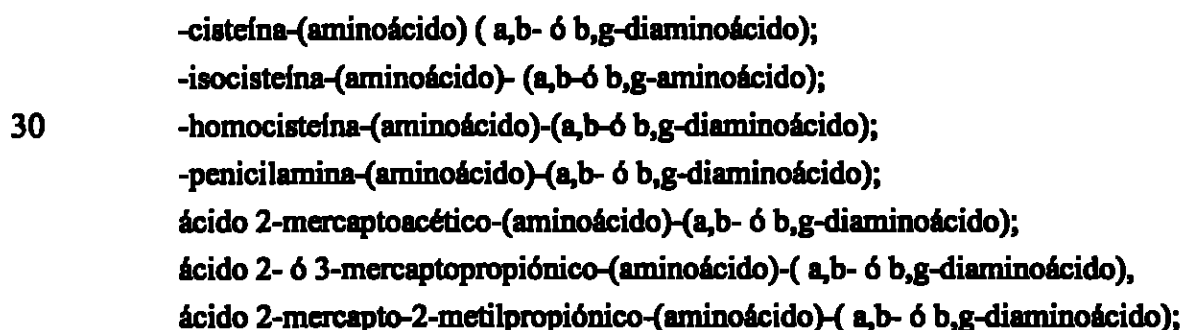
donde $(\text{aminoácido})^1$ y $(\text{aminoácido})^2$ cada uno independientemente, son cualquier a- ó b-aminoácido primario que no comprende un grupo tiol, Y está seleccionado entre el grupo consistente en cisteína, homocisteína, isocisteína, penicilamina, 2-mercaptoacetato, 2-mercaptopropionato, 2-mercapto-2-metilpropionato, 3-mercaptopropionato y R^2 es H, una
10 unión, alquilo inferior (C^1-C^4) y NHR^2 es un aminoácido, un péptido o un (aa)-péptido; donde cuando Y es cisteína, homocisteína, isocisteína o penicilamina, Y comprende un grupo amino unido de manera covalente a -H, un aminoácido, un péptido o un (aa)péptido.

Por ejemplo, los quelatos de iones metálicos apropiados pueden tener cualquiera de las siguientes fórmulas:



donde el quelante está unido a, ya sea, un péptido, o bien, a un grupo enlazante mediante una unión covalente, con el término carboxilo del quelante o una cadena lateral de uno de los
25 grupos aminoácido.

Otros quelantes de iones metálicos apropiados incluyen aquéllos seleccionados entre el grupo consistente en:



donde el quelante de iones metálicos está unido, ya sea, a un péptido o un grupo enlazante mediante una unión covalente con el término amino del quelante o una cadena lateral de uno de los grupos aminoácido.

Se puede utilizar cualquier a- ó b-aminoácido que existe naturalmente, modificado, sustituido o alterado que no contenga un grupo tiol en los quelantes de tiol simple de la invención. Como se utiliza aquí, el término "a- ó b-aminoácido modificado, sustituido o alterado" incluye, sin limitación, cualquiera de los aminoácidos identificados anteriormente. Preferentemente el a- ó b-aminoácido no comprende más que dieciséis átomos de carbono.

Los quelantes novedosos de la invención de mayor preferencia tienen la fórmula:

10
$$\text{b-Dap.Xaa.Cis.Zaa}$$

donde Xaa es un L- a-aminoácido

Zaa es un a-aminoácido, una amida de un a -aminoácido, un éter aminoetílico, un b-aminol, o un péptido que contiene de dos a diez a -aminoácidos, teniendo dicho péptido un a-aminoácido carboxilo-terminal, una amida de a-aminoácido, éter aminoetílico o b-aminol.

15

También se pueden emplear homólogos de b-Dap en los novedosos quelantes de la invención.

Los L- a-aminoácidos apropiados para la sustitución para Xaa en el novedoso quelante de la invención incluyen aminoácidos que existen naturalmente, tales como asparagina, glutamina, treonina, serina, arginina, histidina, lisina, ornitina, fenilalanina, tirosina, y adicionalmente aminoácidos sintéticos que contienen sustituyentes hidrófilos. Los ejemplos de aminoácidos sintéticos incluyen, sin limitación, ácido diaminopropiónico; ácido diaminobutírico; tirosinas sustituidas, tales como halotirosina; hidroxiltirosina; aminotirosina; fenilalaninas sustituidas, tales como o-, m- ó p-halofenilalanina; o-, m- ó p-amino-

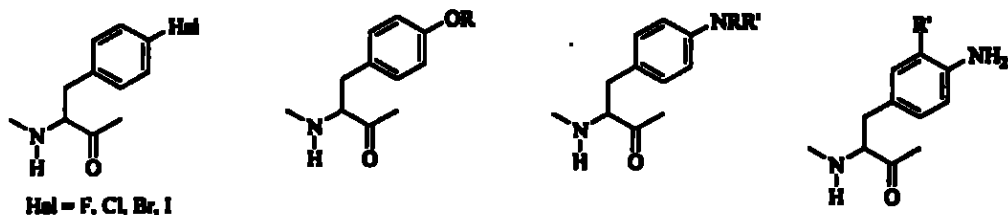
25

fenilalanina, donde el sustituyente amino puede ser una amina primaria, secundaria o terciaria; o-, m- ó p-hidroxilfenilalanina; o-, m- ó p-O-alkilfenilalanina, donde alkilo representa de C₁ a C₄-alkilo; o-, m- ó p-O-acylfenilalanina; o-, m- ó p-S-alkilfenilalanina, donde alkilo representa de C₁ a C₄-alkilo; y similares.

En una realización de preferencia Xaa es un L- a -aminoácido, tal como serina, ácido diaminobutírico, arginina, histidina, tirosina o una fenilalanina sustituida. Más preferentemente Xaa es un L- a -aminoácido aromático, tal como tirosina, un restode tirosina sustituido, tal como iodotirosina, bromotirosina, clorotirosina, O-alkiltirosina, donde alkilo representa de C₁ a C₈-alkilo, hidroxiltirosina, aminotirosina y similares, o un resto fenilalanina sustituido. De mayor preferencia, Xaa es un resto de fenilalanina sustituido,

30

- donde las sustituciones incluyen halógeno, amino, hidroxilo, NH-alquilo, donde alquilo representa de C₁ a C₄-alquilo, NH-acilo, O-alquilo, donde alquilo representa de C₁ a C₄-alquilo, O-acilo, S-alquilo, donde alquilo representa de C₁ a C₄-alquilo, SO-alquilo y SO₂-alquilo, donde alquilo representa de C₁-C₄-alquilo, SO₃H, CO₂H, CO₂-alquilo, donde alquilo representa de C₁ a C₄-alquilo, CONH-alquilo, donde alquilo representa de C₁ a C₄-alquilo.
- Realizaciones específicas de tales restos de fenilalanina sustituidos incluyen 4-fluor-fenilalanina, 4-clorofenilalanina, 4-bromofenilalanina, 4-iodofenilalanina, 4-nitro-fenilalanina, 4-aminofenilalanina, N^t-R-4-aminofenilalanina, N^t-R, N^t-R'-4-amino-fenilalanina o 3-R'-4-aminofenilalanina, donde R es de C₁ a C₄-alquilo y R' está seleccionado entre el grupo consistente en H, de C₁ a C₄-alquilamino, hidroxilo, NH-alquilo, donde alquilo representa de C₁ a C₄-alquilo, NH-acilo, O-alquilo, donde alquilo representa de C₁ a C₄-alquilo, O-acilo, S-alquilo, donde alquilo representa de C₁ a C₄-alquilo, SO-alquilo y SO₂-alquilo, donde alquilo representa de C₁ a C₄-alquilo, SO₃H, CO₂H, CO₂-alquilo, donde alquilo representa de C₁ a C₄-alquilo, CONH-alquilo, donde alquilo representa de C₁ a C₄-alquilo. Las estructuras de los ejemplos de los restos de fenilalanina sustituidos de mayor preferencia para el uso en quelantes de la invención, se exponen en lo que sigue.



- donde R y R' cada uno independientemente son H, un grupo de C₁ a C₄-alquilo de cadena recta, un grupo de C₁ a C₄-alquilo de cadena ramificada, o un grupo arilo. Conforme a la invención el aminoácido de carboxilo terminal de los quelantes de la invención puede ser en forma de ácido carboxílico o en forma de amida, o alternatively, en forma de b-aminol.

- Los novedosos quelantes de la invención tienen las propiedades de incrementar la absorción por parte del tumor de los farmacóforos para los SSTRs y aumentar el clearance del riñón de los péptidos marcados radioactivamente. En consecuencia los novedosos quelantes de la invención minimizan la retención de péptidos marcados radioactivamente en tejidos que no son blanco.

Las realizaciones específicas de los compuestos de la invención incluyen los siguientes péptidos.

- Ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂O- b -Dap-Tyr-Cys-Thr(ol))
- ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Phe(4F)-Cys-Thr(ol))

- ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Phe(4-NH₂)-Cys-Thr-Ser)
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Dab-Cys-Thr)
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Phe(4-NH₂)-Cys-Thr)
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Phe(4-NH₂)-Cys-Thr(ol))
 5 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-His-Cys-Thr(ol))
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Arg-Cys-Thr(ol))
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Gly-Cys-Lys-NH₂)
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Ser-Cys-Thr(ol))
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Dab-Cys-Thr(ol))
 10 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Gly-Cys-Thr(ol))
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Dab-Cys-Ser(ol))
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Gly-Gly-Cys-Lys-NH₂)
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Gly-Gly-Cys-Arg-NH₂)
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Ser-Ser-Cys-Lys-NH₂)
 15 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Ser-Ser-Cys-Arg-NH₂)
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Ser-Ser-Cys-Thr(ol))
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Ser-Ser-Cys-Dap-NH₂)
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Ser-Ser-Cys-NH-(CH-CH₂O)₂CH₂CH₂NH₂)
 20 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Ser-Cys-Thr-NH(CH₂CH₂O)₂CH₂CH₂NH₂)
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Gly-Lys-Cys-NH₂)
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Ser-Lys-Cys-NH₂)
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Lys-Gly-Cys-NH₂)
 25 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Ser-Dab-Cys-Ser(ol))
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Ser-Dap-Cys-NH₂)
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Gly-Gly-Cys-His-NH₂)
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Gly-Gly-Cys-Phe(4-NH₂)-NH₂)
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Orn-Cys-Thr(ol))
 30 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Dap-Cys-Thr(ol))
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Lys-Cys-Thr(ol))
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Ser-Ser-Cys-NHCH₂CH₂OCH₂CH₂NH₂)
 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Lys-Cys-NH₂)

ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Orn-Gly-Cys-NH₂)
ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Thr-Gly-Gly-Cys-NH₂)

Compuestos de preferencia de la invención presentan una alta afinidad por los SSTRs, como se indica en el ejemplo 5. Conforme a la invención, alta afinidad por los SSTRs se define como menor que alrededor de una afinidad 25 nanomolar, como se mide en un ensayo de afinidad de enlace para con los SSTRs, tal como el ensayo expuesto en el ejemplo 5. Los compuestos de mayor preferencia de la invención están caracterizados por una alta afinidad por los SSTRs, como se indica en el ejemplo 5, y por una alta absorción por parte del tumor, como se indica en el ejemplo 6: Como se define aquí, una alta absorción por parte del tumor significa un porcentaje de la dosis inyectada (% ID) de ^{99m}Tc por gramo de tumor (% ID/g) en el modelo de xenoinjerto en los ratones/ratas desnudos/as AR42J, descrito en el ejemplo 6, mayor que alrededor de 4. Las realizaciones de mayor preferencia de los compuestos de la invención tienen una absorción por parte del tumor mayor que 15% ID/g y una absorción en los riñones menor que aproximadamente 7% ID/g a aproximadamente 9% ID/g; o alternatively una absorción por el tumor mayor que aproximadamente 10% ID/g, una absorción en los riñones menor que aproximadamente 7% ID/g a aproximadamente 9% ID/g y una absorción en el tracto gastrointestinal menos que aproximadamente 5% ID/g a aproximadamente 7% ID/g. Los ejemplos de los compuestos de mayor preferencia incluyen:

- 20 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-TyrCys-THr(ol))
ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Phe(4-F)-Cys-Thr(ol))
ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Phe(4-NH₂)-Cys-Thr-Ser)
ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Phe(4-NH₂)-Cys-Thr)
ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Phe(4-NH₂)-Cys-Thr(ol))
- 25 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO- b -Dap-Dab-Cys-Thr(ol))

Se exponen métodos para elaborar los compuestos de la invención y en particular aquéllos que comprenden los quelantes de iones metálicos de la realización de mayor preferencia, en las patentes estadounidenses Nos. 5.443.815; 5.807.537; 5.814.297 y 5.866.097; en la solicitud autorizada USSN 08/253.678; y en las USSNs 08/236.402; 08/253.973; y 08/582.134. Como se revela allí, los compuestos de la invención pueden ser elaborados utilizando un sintetizador de péptidos obtenible en el comercio. El ejemplo 1 expone un método ejemplar para elaborar una realización del farmacóforo de la presente invención. Otras realizaciones del novedoso farmacóforo se elaboran utilizando métodos similares. El

ejemplo 2 expone un método ejemplar para elaborar una realización del quelante novedoso de la invención.

Conforme a la invención, el resto A puede ser unido a un quelante de metal, a través de un átomo de nitrógeno, azufre u oxígeno de la cadena lateral del resto A. La unión puede ser directa o por intermedio de átomos o residuos de aminoácidos intervinientes. En una realización de preferencia la unión se realiza a través de $-\text{CH}_2\text{CO}-$. Tales uniones pueden ser efectuadas mediante alquilación de estos átomos con mitades que contienen electrófilos reactivos, tales como haluros de alquilo. Estos átomos también pueden ser hechos reaccionar con quelantes que contienen isocianatos, isotiocianatos o ésteres carboxílicos activados. Un resto A apropiadamente protegido también puede ser unido al quelante de metal a través de un carbono de cadena lateral formando un reactivo de Wittig o de Emmons-Horner en la cadena lateral y haciendo reaccionar esto con una funcionalidad de aldehído en un quelante apropiadamente protegido. La unión de doble enlace resultante puede ser dejada como está o a continuación puede ser reducida para dar una unión de hidrocarburo saturado. El ejemplo 3 expone un método ejemplar para conectar un quelante a través de un átomo de azufre de cadena lateral en un resto $(\text{N}-\text{CH}_2)\text{Hcy}$ del farmacóforo.

Los experimentados reconocerán que la mayoría de los iones metálicos pueden ser quelados por los quelantes de iones metálicos mencionados anteriormente y radicales ligantes/coligantes enlazantes de metales radioactivos. Cualquier ión metálico capaz de generar una señal puede ser quelado por el farmacóforo de la invención, formando así un complejo de ion metálico con el compuesto de la invención. Los iones metálicos apropiados incluyen iones de metales radioactivos, iones metálicos fluorescentes, iones metálicos paramagnéticos, metales pesados, iones de tierras raras apropiados para el uso en tomografía computarizada, y similares. Se prefieren iones de metales radioactivos o radionucleidos. Más preferentemente se utilizan en los métodos de la invención radionucleidos emisores α , como ^{67}Cu , ^{67}Ga , ^{111}In y $^{99\text{m}}\text{Tc}$; radionucleidos emisores β , tales como ^{90}Y , ^{186}Re o ^{166}Ho ; radionucleidos emisores β^-/γ , tales como ^{67}Cu , ^{47}Sc , ^{153}Sm o ^{188}Re ; radionucleidos emisores de positrones, tales como ^{68}Ga , $^{94\text{m}}\text{Tc}$, ^{64}Cu o radionucleidos emisores α , tales como ^{213}Bi , ^{212}Bi , ^{225}Ac , ^{223}Ra . De mayor preferencia se utilizan $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{188}Re y/o ^{186}Re en los métodos de la invención.

Los experimentados reconocerán que los farmacóforos y compuestos de la invención pueden ser marcados con radioisótopos de halógenos, tales como ^{125}I , ^{131}I , ^{123}I , ^{18}F y ^{211}At , a través de un resto de tirosina que puede agregarse al farmacóforo o al compuesto, utilizando

métodos conocidos, o utilizando otros métodos conocidos, tales como el reactivo de Bolton-Hunter, cloramina T, y similares.

Los compuestos de la invención también pueden complejarse con metales no radioactivos, tales como renio, utilizando métodos similares a los que se exponen más adelante.

5 La tabla 4 indica que los compuestos de la invención efectivamente inhiben el enlace de ^{125}I -Tyr¹¹-somatostatina-14 cuando se compleja con renio..

Se pueden formar complejos de la invención utilizando métodos conocidos. Por ejemplo, una sal de pertecnetato de $^{99\text{m}}\text{Tc}$, perrenato de ^{185}Re o perrenato de ^{186}Re pueden hacerse reaccionar con el compuesto en presencia de un agente reductor, tal como un ión ditionito, ión estannoso o ión ferroso. En este método el agente reductor de mayor preferencia es el cloruro estannoso. Alternativamente los complejos y quelatos pueden ser formados mediante el intercambio de ligantes, donde el compuesto de la invención es hecho reaccionar con un complejo inestable pre-formado de $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{185}Re o ^{186}Re y otro compuesto conocido como ligante de transferencia. En este procedimiento se puede utilizar cualquier ligante de transferencia, por ejemplo, tartrato, citrato, gluconato, glucoheptonato, manitol, y similares. En el ejemplo 4 se exponen métodos ejemplares de marcado de los compuestos de la invención con $^{99\text{m}}\text{Tc}$ y ^{185}Re . En general, se introduce una cantidad apropiada del reactivo de la invención en un frasco que contiene el agente reductor, tal como cloruro estannoso en una cantidad suficiente para marcar el reactivo con $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{185}Re ó ^{186}Re . En general se requiere más agente reductor para efectuar el marcado con ^{185}Re ó ^{186}Re de lo que se requiere para marcar con $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

Los compuestos de la invención pueden ser suministrados en la forma de una composición farmacéutica aceptable para uso parenteral, exento de pirogénos, que puede ser una solución acuosa o un liofilizado para reconstituir. La preparación de tales composiciones farmacéuticas, teniendo la debida consideración al pH, la isotonicidad, la estabilidad y similares, es parte del ejercicio del arte. La composición farmacéutica de la invención puede incluir diluyentes farmacéuticamente aceptables, tales como inyección de cloruro de sodio e inyección de Ringer. Para la administración a humanos la composición puede ser administrada en suero o plasma autólogo. Conforme a la invención, también se pueden co-administrar compuestos activos suplementarios juntos con el análogo de somatostatina.

Las composiciones farmacéuticas de la invención opcionalmente pueden contener un estabilizante, tal como ácido gentísico, como se expone en las patentes estadounidenses Nos. 4.232.000; 4.233.284; 4.497.744; 5.384.113 y/o ácido ascórbico, como se revela en las

patentes estadounidenses Nos. 5.393.512 y 5.011.676, en la WO 97/28181 y WO 98/33531. Alternativamente se pueden agregar estabilizantes de hidroquinona, tales como los revelados en en la patente estadounidense N° 4,229,427, a los complejos de la invención. También se pueden agregar otros compuestos, como ácido reductico, ácido eritórbito, ácido p-aminobenzoico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido nicotínico, nicotinamida, ácido 2,5-dihidroxi-1,4-bencenodisulfónico, ácido tartárico, inositol, y similares, para estabilizar los complejos de la invención.

También es una realización de la invención un equipo para preparar reactivos marcados por metales radioactivos para usar como radiofármacos. El equipo de la invención comprende un vial sellado que contiene una cantidad predeterminada del compuesto de la invención y opcionalmente, cuando el metal radioactivo es ^{99m}Tc , ^{188}Re o ^{186}Re , un agente reductor. También pueden estar incluidos estabilizantes como ácido gentísico y/o ácido ascórbico o cualquiera de los estabilizantes descritos anteriormente en equipos para marcar radioactivamente con ^{188}Re ó ^{186}Re . También puede estar incluida en el equipo una cantidad apropiada de un ligante de transferencia como se describió anteriormente (tal como tartrato, citrato, gluconato, glucoheptanato o manitol, por ejemplo). El equipo también puede contener materiales adjuntos farmacéuticos convencionales, tales como, por ejemplo, sales farmacéuticamente aceptables para ajustar la presión osmótica, soluciones reguladoras, conservantes, frascos adicionales y similares. El equipo también puede contener instrucciones para el marcado radioactivo. Los componentes del equipo pueden estar en forma líquida, forma congelada o forma seca. En una realización de preferencia los componentes del equipo se proveen en forma liofilizada.

El equipo de la invención también puede estar realizado en una forma apropiada para el diagnóstico por formación de imagen o como agente terapéutico utilizando un radioisótopo de un halógeno, incluyendo ^{18}F , ^{211}At , ^{125}I y ^{131}I , y preferentemente ^{125}I . En esta realización el equipo comprende un frasco sellado que contiene una cantidad predeterminada de un compuesto de la invención que puede ser modificado para tomar una forma capaz de ser marcado radioactivamente con un isótopo de yodo, utilizando métodos conocidos, como fueron descritos anteriormente. Las dosis, sitios y vías de administración, formulaciones y radioactividad específica administrada, utilizando el equipo de esta realización, son como se describen aquí para los reactivos marcados con tecnecio y renio para usos centellográficos y terapéuticos.

Los compuestos de la invención pueden ser utilizados en forma marcada y no marcada para diagnosticar o tratar cualquier estado de enfermedad de responsabilidad de la

somatostatina. Los compuestos de la invención son particularmente útiles para el diagnóstico y/o el tratamiento de tumores, tales como tumores neuroendócrinos, por ejemplo, adenomas pituitarios, feocromocitomas, paragangliomas, carcinomas medulares tiroideos, cánceres de células pequeñas y no pequeñas de pulmón, astrocitomas, melanomas, meningiomas, tumores de mamas, linfomas malignos, carcinomas de células renales, tumores prostáticos, y similares. Los compuestos de la invención también pueden ser utilizados para diagnosticar o tratar condiciones en las cuales ocurre la angiogénesis y la regulación ascendente concomitante de los SSSTRs, como se describe en Woltering *et al.*, *supra*. Como se expuso en la solicitud comúnmente señalada aprobada USSN 08/976,995, los compuestos de la invención son útiles en reflejar y tratar condiciones de alta proliferación celular en el sistema cardiovascular. Tales condiciones incluyen, por ejemplo, aterosclerosis y proliferación celular que ocurren en arterias después de procedimientos invasivos, tales como la angioplastia.

Preferentemente los complejos marcados radioactivamente de los compuestos de la invención son utilizados para tales diagnósticos y tratamientos. Las realizaciones marcadas radioactivamente de los compuestos de la invención pueden ser utilizadas en cirugía guiada por radioisótopos, como se describe en la WO 93/18797 y en Woltering *et al.* (1994) *Surgery* 116, 1139-1147. En una realización de preferencia un complejo de un radionucleido emisor g, tal como ^{99m}Tc y un compuesto de la invención son utilizados para diagnosticar un tumor que expresa un SSSTR y a continuación se utiliza un complejo de radionucleido emisor b, tal como ^{185}Re ó ^{186}Re con el compuesto para tratar el tumor.

Para propósitos de diagnóstico se administra, preferentemente por vía endovenosa, una cantidad eficaz para el diagnóstico del agente para diagnóstico o radiodiagnóstico de la invención. Se define cantidad eficaz para el diagnóstico como la cantidad de agente para diagnóstico o radiodiagnóstico necesaria para efectuar la localización y detección del marcado in vivo, utilizando metodologías convencionales, tales como resonancia magnética, tomografía computarizada, centelligrafías gama, SPECT, PET, y similares.

Para diagnóstico usando reflejo centelligráfico, preferentemente se administran compuestos marcados con ^{99m}Tc de la invención, en una dosis inyectable de unidad simple. Los compuestos marcados con ^{99m}Tc provistos por la invención pueden administrarse por vía endovenosa en cualquier medio convencional para inyección endovenosa, tal como un medio acuoso salino o en medio de plasma sanguíneo. Generalmente la dosis unitaria a ser administrada tiene una radioactividad de alrededor de 0,01 mCi a alrededor de 100 mCi, preferentemente de 1 mCi a 50 mCi. La solución a ser inyectada a dosis unitaria es de aproximadamente 0,01 ml a aproximadamente 10 ml. Después de la administración

endovenosa se puede llevar a cabo la visualización de la imagen in vivo en pocos minutos. Sin embargo, si se desea, se puede efectuar la formación de imagen después de horas o aún más tiempo después de que el compuesto marcado radioactivamente haya sido inyectado al paciente. En la mayoría de las veces se acumulará una cantidad suficiente de la dosis
5 administrada en el área a ser reflejada dentro de 0,1 de una hora para permitir la toma de scintifotos. Se puede utilizar cualquier método convencional de centellografía para propósitos de diagnóstico, conforme a esta invención.

Cuando se utilizan los compuestos marcados radioactivamente de la invención con propósitos terapéuticos, son marcados con una cantidad terapéuticamente eficaz de un
10 radioisótopo citotóxico, preferentemente ^{188}Re . Conforme a la invención, una cantidad terapéuticamente eficaz de un radioisótopo citotóxico significa la cantidad total de cada componente activo de la composición farmacéutica o método que es suficiente para manifestar un beneficio significativo en el paciente, es decir, una reducción de la incidencia o severidad de los síntomas atribuidos al estado de enfermedad de responsabilidad de la
15 somatostatina, comparado con el efecto esperado en un grupo comparativo de pacientes que no reciben el agente radioterapéutico de la invención. Cuando se aplica a un componente activo individual administrado solo, el término se refiere a ese componente solo. Cuando se aplica a una combinación, el término se refiere a las cantidades combinadas de los componentes activos que dan por resultado el efecto terapéutico, ya se, administrado en
20 combinación, en serie o simultáneamente. Para los propósitos de esta invención la radioterapia abarca cualquier efecto terapéutico desde la mitigación del dolor hasta la reducción del tumor o la remisión de los síntomas asociados con la enfermedad particular de responsabilidad de la somatostatina que se trata.

Cuando se usa para radioterapia, un complejo del compuesto de la invención y un
25 radioisótopo citotóxico son administrados a un mamífero, incluyendo un paciente humano que necesita el tratamiento, para una enfermedad de responsabilidad de la somatostatina. En el método radioterapéutico de la invención se puede administrar una cantidad de radioisótopo citotóxico de alrededor de 5 mCi a alrededor de 200 mCi por cualquier vía clínica apropiada, preferentemente por inyección endovenosa o por inyección intratumoral.
30 El complejo radioterapéutico de la invención opcionalmente puede ser administrado en combinación con una droga quimioterapéutica, tal como tamoxifeno, cisplatino, taxol, compuestos antiangiogénicos, y similares.

Cuando se utiliza un compuesto no marcado para la terapia del estado de enfermedad de responsabilidad de la somatostatina, la administración del compuesto preferentemente es

parenteral y más preferentemente endovenosa. La cantidad de compuesto no marcado administrado para terapia de un estado de enfermedad de responsabilidad de la somatostatina dependerá de la naturaleza y la severidad de la condición que se trata y de la naturaleza de los tratamientos anteriores a los cuales se ha sometido al paciente. En última instancia el

5 médico que atiende a los pacientes decidirá la cantidad de compuesto con la cual tratar a cada paciente individual. Inicialmente el médico a cargo administrará dosis bajas del compuesto y observará la respuesta del paciente. Luego se pueden aplicar dosis mayores hasta que se obtenga el efecto terapéutico óptimo para el paciente y en un punto la dosificación no se incrementa más. Se considera que la dosis de un compuesto no marcado

10 administrado en el método terapéutico de la invención deberá estar en el ámbito de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 100 mg de compuesto por Kg de peso corporal. Más preferentemente la dosis del compuesto no marcado administrado en el método terapéutico de la invención está en el ámbito de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 100 mg por Kg de peso corporal. El compuesto no marcado de la

15 invención opcionalmente puede ser administrado en combinación con una droga quimioterapéutica.

La duración de la terapia, ya sea, con un radiofármaco que comprende un compuesto de la invención, o con un compuesto no marcado de la invención, variará dependiendo de la severidad de la enfermedad que se trata y de la condición y la respuesta idiosincrática de

20 cada paciente individual. Se considera que la duración de cada administración del radiofármaco de la invención estará en el ámbito de aproximadamente uno a aproximadamente 120 minutos de administración endovenosa continua. Se considera que la duración de cada administración del compuesto no marcado de la invención estará en el ámbito de aproximadamente uno a aproximadamente 120 minutos de administración endovenosa continua. En

25 última instancia el médico a cargo decidirá la duración apropiada de la terapia endovenosa, utilizando compuestos marcados o no marcados de la invención, ya sea, administrados solos, o bien en combinación con otras drogas.

Los siguientes ejemplos son mostrados para la ilustración y no para la limitación.

EJEMPLO 1

30 Síntesis en fase sólida de un farmacóforo protegido

Paso 1. Fmoc-Lys(Boc)-Thr(tBU)-resina ClTrt. Se colocó O-t-butiltreonina (2,5 g, 1,1 mmol/g, 2,75 mmoles) en soporte de resina de 2-clorotritilo, en el recipiente de síntesis de péptidos y se lavó dos veces durante 5 minutos con 30 ml de N-metilpirrolidona (NMP) con suave agitación de la resina mediante gas argón. Se removió una pequeña alícuota de resina

- para el análisis de ninhidrina (como control) y se lavó la resina con NMP (30 ml x 1 min). En un frasco separado se disolvieron N- a -Fmoc-N- e -Boc-lisina (3.22 g, 6,68 mmol) y hexafluorofosfato de 2-[0-7-azabenzotriazol-1-il]-1,1-3,3-tetrametiluronio (reactivo HATU) (2,56 g, 6,74 mmoles), en 30 ml de NMP. Se agregó N,N-diisopropiletilamina (DIEA: 2,40 ml, 13,76 mmoles) a la solución de lisina protegida. Se agitó el frasco en remolino durante 1 minuto y se agregó el contenido al recipiente de síntesis peptídica que contenía el aminoácido sobre el soporte de resina. La resina fue agitada con una suave corriente de argón durante 2.0 hs. Se drenó la solución y se lavó la resina en secuencia con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y diclorometano (DCM: 3 x 30 ml x 1 min). Una reacción con ninhidrina efectuada sobre una pequeña porción de resina indicó que la reacción fue completada.
- 10 Paso 2. Fmoc-D-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Thr(tBu)-resina ClTrt. Se trató el péptido sobre soporte de resina del paso 1 con 5% de piperidina en NMP/DCM 1:1 (30 ml) durante 10 minutos, seguido del tratamiento con 20% de piperidina en NMP (30 ml) durante 15 minutos. Se lavó la resina en secuencia con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y DCM (3 x 30 ml x 1 min). Se retiró una pequeña alícuota de resina para el análisis con ninhidrina (como control) y se lavó la resina con NMP (30 ml) En un frasco separado se disolvieron N- a -Fmoc-N-in-Boc-D-triptofano (3,62 g, 6,88 mmoles) y reactivo HATU (2,56 g, 6,74 mmoles), en 30 ml de NMP. Se agregó DIEA (2,40 ml, 13,76 mmoles) para proteger la solución de triptofano. El frasco fue arremolinado durante 1 minuto y se agregó el contenido al recipiente de la síntesis peptídica que contenía el péptido sobre el soporte de resina. Se agitó la resina con una suave corriente de argón durante 2 hs. Se drenó la solución y se lavó la resina en secuencia con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y DCM (3 x 30 ml x 1 min). El análisis con ninhidrina, efectuado sobre una pequeña porción de resina, indicó que la reacción estaba completa.
- 20 Paso 3. Fmoc-Tyr(tBu)-D-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Thr(tBu)-resina ClTrt. El péptido sobre el soporte de resina del paso 2 fue tratado con 5% de piperidina en NMP/DCM 1:1 (30 ml) durante 10 minutos, seguido por un tratamiento con 20% de piperidina en NMP (30 ml) durante 15 minutos. Se lavó la resina en secuencia con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y DCM (3 x 30 ml x 1 min). Se retiró una pequeña alícuota de resina para el análisis con ninhidrina (como control) y se lavó la resina con NMP (30 ml) En un frasco separado se disolvieron N- a -Fmoc-O-t-butil-tirosina (3,16 g, 6,88 mmoles) y reactivo HATU (2,56 g, 6,74 mmoles), en 30 ml de NMP. Se agregó DIEA (2,40 ml, 13,76 mmoles) a la solución de tirosina protegida. Se arremolinó el frasco durante 1 minuto y se agregó el contenido de éste al recipiente de síntesis peptídica que contenía el péptido en soporte de resina. Se agitó la resina con una suave corriente de argón durante 2 hs. Se removió la solución y se lavó la

resina en secuencia con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y DCM (3 x 30 ml x 1 min). El análisis con ninhidrina, efectuado sobre una pequeña porción de resina, indicó que la reacción estaba completada.

Paso 4. H-Hcy(Trt)-Tyr(tBu)-D-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Thr(tBu)-resina C1Trt. El péptido sobre el soporte de resina fue tratado con 5% de piperidina en NMP/DCM 1:1 (30 ml) durante 10 minutos, seguido por un tratamiento con 20% de piperidina en NMP (30 ml) durante 15 minutos. La resina fue lavada en secuencia con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y DCM (3 x 30 ml x 1 min). Se retiró una pequeña alícuota de resina para el análisis con ninhidrina (como control) y se lavó la resina con NMP (30 ml). En un frasco separado se disolvieron N- a - Fmoc-S-tritil-homocisteína (3,16 g, 6,88 mmoles) y reactivo HATU (2,56 g, 6,74 mmoles), en 30 ml de NMP. Se agregó DIEA (2,40 ml, 13,76 mmoles) a la solución de homocisteína protegida. Se arremolinó el frasco durante 1 minuto y se agregó el contenido de éste al recipiente de síntesis peptídica que contenía el péptido sobre el soporte de resina. Se agitó la resina con una suave corriente de argón durante 2 .0 hs. Se removió la solución y se lavó la resina en secuencia con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y DCM (3 x 30 ml x 1 min). El análisis con ninhidrina, efectuado sobre una pequeña porción de resina indicó que la reacción estaba completada. Se trató la resina con 5% de piperidina en NMP/DCM 1:1 (30 ml) durante 10 minutos, seguido por un tratamiento con 20% de piperidina en NMP (30 ml) durante 15 minutos. La resina fue lavada en secuencia con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y DCM (3 x 30 ml x 1 min). Se retiró una pequeña alícuota de resina para el análisis con ninhidrina (como control). También se retiró una pequeña porción de resina para el análisis por HPLC, que fue efectuado de la siguiente manera: la porción de resina (aprox. 1-3 mg) fue tratada con 250 ml de 1,1,1,3,3,3-hexaflúor-2-propanol (HFIPA)/DCM 1:4, durante 5 min. Una alícuota (15 ml de la mezcla de escisión fue diluida con 150 ml de TFA al 0,1% (v/v) en acetonitrilo/agua 9:1 (v/v). Se analizó la solución mediante HPLC analítica en fase inversa C18, como está esbozado en el método 1 de HPLC.

Método de HPLC 1:

	Columna:	Vydac C18, 4,6 mm x 150 mm
	Solvente A:	TFA al 0,1% (v/v) en agua
30	Solvente B:	TFA al 0,1% (v/v) en acetonitrilo/agua 9:1
	Gradiente:	50%-100% B/A durante 20 min, 100% de B durante 5 min
	Tasa de flujo:	1,2 ml/min
	Volumen de inyección:	10 µl
	Detección:	UV (220 nm)

El cromatograma resultante del análisis por HPLC del péptido protegido escindido presentó sólo un pico con un tiempo de retención de 18,7 minutos.

- Paso 5. 2-NO₂-PhSO₂-Hcy(Trt)-Tyr(tBu)-D-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Thr(tBu)-resina ClTrt. El péptido sobre el soporte de resina del paso 4 fue lavado con DCM anhidro (30 ml x 1 min),
 5 fue suspendido en DCM anhidro (30 ml x 1 min) y tratado con 2,4,6-colidina (1,82 ml, 13,8 mmoles). Se agregó cloruro de 2-nitrobenzenosulfonilo (1,52g, 6,9 mmoles) en 20 ml de DCM y se agitó suavemente la reacción con gas argón durante 14 horas. Se removió la solución de la reacción y se lavó la resina con DCM (2 x 30 ml x 1 min), NMP (2 x 30 ml x 1 min) y DCM (3 x 30 ml x 1 min). Se retiró una pequeña muestra de resina, se trató con
 10 HFIPA y se analizó por HPLC como anteriormente (método 1 de HPLC). El pico de la amina terminal libre del péptido a 18,7 minutos estaba ausente y reemplazado por un pico a 21,6 minutos, representando al péptido sulfonado.

- Paso 6. H-(N-CH₃)Hcy(Trt)-Tyr(tBu)-D-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Thr(tBu)-resina ClTrt. El péptido sobre el soporte de resina fue lavado con NMP (2 x 30 ml x 1 min), DMF anhidra (1
 15 x 30 ml x 1 min) y fue transferido con el auxilio de 40 ml de DMF anhidra a un frasco seco de 100 ml de fondo redondo equipado con una varilla de agitación. Se agregó 1,3,4,6,7,8-hexahidro-1-metil-2H-pirimido{1,2-a}pirimidina (MTBD, 0,79 ml, 5,5 mmoles) y se agitó la suspensión de resina durante 15 minutos (color verde) en atmósfera de argón. Se trató la resina con iodometano (0,26 ml, 4,13 mmoles) y se agitó durante 5 horas en atmósfera de
 20 argón. Se retransfirió la suspensión al recipiente de síntesis peptídica y se removió la solución de la reacción. Se lavó la resina con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y DCM (3 x 30 ml x 1 min). Se retiró una pequeña muestra de resina, se trató con HFIPA/DCM 1:4 y se monitoreó el progreso de la reacción mediante HPLC como anteriormente (método 1 de HPLC). Este cromatograma resultante de esta análisis por HPLC indicó que la reacción
 25 estaba completada en > 90%, presentando el péptido N-metilado un tiempo de retención de 22,1 minutos. Se trató la resina con NMP (30 ml) que contenía 2-mercaptoetanol (BME, 0,58 ml, 8,25 mmoles) y 1,8-diazabicyclo{5.4.0}undec-7 eno (DBU, 1,23 ml, 8,25 mmoles) durante 15 minutos. Se drenó la solución y se lavó la resina con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y DCM (3 x 30 ml x 1 min). Se retiró una pequeña muestra de resina, se trató con
 30 HFIPA/DCM y se monitoreó el progreso de la reacción por HPLC como anteriormente (método 1 de HPLC) El cromatograma resultante de esta análisis por HPLC indicó que la remoción del grupo sulfonilo fue completa en > 90%, presentando el péptido de-sulfonado un tiempo de retención de 18,5 minutos.

- Paso 7.** H-Phe-(N-CH₃)Hcy(Trt)-Tyr(tBu)-D-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Thr(tBu)-OH. Se disolvieron N-Fmoc-fenilalanina (3,20 g, 8,25 mmoles) y reactivo HATU (3,14 g, 8,25 mmoles), en 30 ml de NMP. Se agregó DIEA (2,40 ml, 13,76 mmoles) a la solución de fenilalanina protegida. Se arremolinó el frasco durante 1 minuto y se agregó el contenido de éste al recipiente de la síntesis peptídica que contenía el péptido sobre en soporte de resina. Se agitó la resina mediante una suave corriente de argón durante 5 hs. Se drenó la solución y se lavó la resina en secuencia con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y DCM (3 x 30 ml x 1 min). Se retiró una pequeña muestra de resina, se trató con HFIPA/DCM 1:4 y se monitoreó el progreso de la reacción por HPLC (método 1 de HPLC). El cromatograma resultante de este análisis por HPLC indicó que el acoplamiento de la fenilalanina estaba completo en > 90%, presentando el péptido acoplado un tiempo de retención de 25,1 minutos. La resina fue tratada con piperidina al 5% en NMP/DCM 1:1 (30 ml) durante 10 minutos, seguido de un tratamiento con piperidina al 20% en NMP (30 ml) durante 15 minutos.. La resina fue lavada en secuencia con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y DCM (3 x 30 ml x 1 min). El péptido protegido fue escindido de la resina tratando el péptido sobre el soporte de resina con hexafluorisopropanol/DCM 1:4 (2 x 50 ml x 10 min). Se lavó la resina con DCM (4 x 30 ml x 5 min). Las soluciones de escisión y los lavados de DCM fueron combinados y se removieron los solventes al vacío en un evaporador rotatorio. La espuma resultante fue secada al alto vacío durante la noche para dar 4,23 g de producto bruto en forma de espuma de color anaranjado. Se analizó el producto bruto de hexapéptido lineal protegido por HPLC (método 1 de HPLC). El cromatograma resultante de esta análisis presentaba predominantemente un pico con un tiempo de retención de 19,8 minutos.
- Paso 8.** Ciclo-{Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(NCH₃)Hcy}. Se disolvió hexapéptido lineal bruto (4,23g; 2,99 mmoles, 2,75 mmoles supuestos) en 100 ml de DMF anhidra. Se agregó DIEA (0,48 ml, 2,75 mmoles), seguido del agregado del reactivo HATU (1,05 g, 2,75 mmoles). Se retiró una alícuota (15 ml) de la mezcla de la reacción y se diluyó con 150 ml de TFA al 1% (v/v) en acetonitrilo/agua 9:1 (v/v). Se analizó la solución mediante HPLC analítica en fase inversa C18 (método 1 de HPLC). Se continuó la agitación a temperatura ambiente mientras se seguía controlando el progreso de la reacción mediante HPLC. Después de 2 horas se juzgó completa la ciclización con la desaparición del material de partida (tiempo de retención = 19,9 min) y la aparición de producto (tiempo de retención = 23,8 min). Se agregó una solución de ácido trifluoracético (TFA: 212 ml, 2,75 mmoles) en H₂O (20 ml) y los solventes fueron removidos concentrando la mezcla de la reacción en un evaporador rotatorio bajo alto vacío. El producto cíclico bruto protegido fue tratado con DCM (30 ml) y

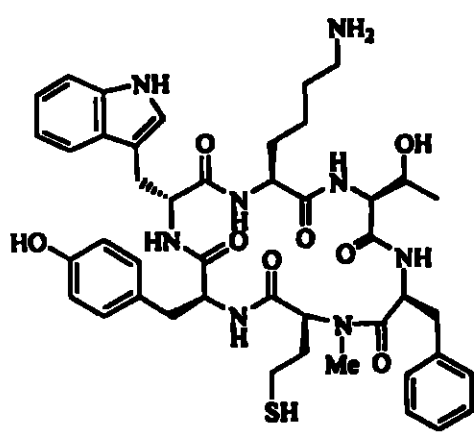
- se dejó en reposo la suspensión resultante durante 30 min. Se separaron los sólidos por filtración y se lavaron con DCM (10 ml). Se trataron los filtrados combinados con triisopropilsilano (1 ml), etanoditiol (1 ml) y una solución de H₂O/TFA 1:20 (40 ml). Después de 1 hora se concentró la mezcla de desprotección al vacío y se disolvió en TFA al 0,1% (v/v) en acetonitrilo/agua 9:1 (v/v) (buffer B, 40 ml). Esta solución fue diluida con TFA al 0,1% (v/v) en H₂O (buffer A, 100 ml). Se filtró la suspensión resultante a través de una almohadilla de tierra de diatomeas que a continuación fue lavada con 20% B/A. Se fraccionaron los filtrados combinados en cuatro porciones de 40 ml y cada porción fue aplicada individualmente a una columna de HPLC preparativa equilibrada en 15% de B/A.
- 10 Se eluyó la columna con 15% a 28% de B/A durante 5 min y con 28% a 33% de B/A durante 25 minutos. Se recolectaron fracciones y se analizaron mediante el método 2 de HPLC.

Método de HPLC 2:

- | | | |
|----|-----------------------|---|
| | Columna: | Vydac C18, 4,6 mm x 250 mm |
| 15 | Solvente A: | TFA al 0,1% (v/v) en agua |
| | Solvente B: | TFA al 0,1% (v/v) en acetonitrilo/agua 9:1 (v/v) |
| | Gradiente: | 30%-35% B/A durante 20 min, 100% de B durante 5 min |
| | Tasa de flujo: | 1,2 ml/min |
| | Volumen de inyección: | 50 µl |
| 20 | Detección: | UV (220 nm) |

- Las fracciones que contenían producto de >95% de pureza por integración de picos, fueron combinadas y se removió el acetonitrilo en un evaporador rotatorio. La solución acuosa resultante fue congelada y liofilizada para dar ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy en forma de polvo blanco (510 mg). El análisis del producto por espectrometría de masas por electrospray (ESMS) confirmó el producto esperado. El peso molecular exacto esperado de ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy (C₄₄H₅₆N₈O₈S₁) fue de 856,4 dalton. El pico de ESMS MH⁺ observado fue de 857 daltons.
- 25

En lo que sigue se expone la estructura del novedoso farmacóforo.



= Ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(NMe)Hcy

EJEMPLO 2

Síntesis del precursor de quelante de peptídilo cloroacetilado

Se describe en lo que sigue la síntesis de un precursor representativo de quelante de peptídilo cloroacetilado {ClCH₂CO- b -Dap(Boc)-Dab(Boc)-Cys(Trt)-Thr(tBu)(ol)}.

5 Paso 1. H-Cys(Trt)-Thr(tBu)(ol)-ClTrt. Se colocó O-t-butil-treoninol sobre un soporte de resina de 2-clorotritilo (4,6 g, 0,6 mmol/g, 2,76 mmoles) en un recipiente de síntesis peptídica y se lavó dos veces durante 5 minutos con NMP (30 ml) con suave agitación de la resina mediante gas argón. Se retiró una pequeña alícuota de la resina para el análisis con ninhidrina (como control) y se lavó la resina con NMP (30 ml x 1 min). En un frasco

10 separado se disolvieron N-Fmoc-S-tritilcisteína (4,03 g, 6,88 mmoles) y reactivo HATU (2,56 g, 6,74 mmoles), en 30 ml de NMP. Se agregó 2,4,6-colidina (1,82 ml, 13,76 mmoles) a la solución de cisteína protegida, seguido del inmediato agregado de la solución de cisteína agregada al recipiente de síntesis peptídica que contenía el aminoácido sobre el soporte de resina. Se agitó la resina con una suave corriente de argón durante 2,0 hs. Se drenó la

15 solución y se lavó la resina en secuencia con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y DCM (3 x 30 ml x 1 min). El análisis con ninhidrina efectuado sobre una pequeña porción de resina indicó que la reacción estaba completada. Se trató la resina con piperidina al 5% en NMP/DCM 1:1 (30 ml) durante 10 minutos, seguido por el tratamiento con piperidina al 20% en NMP (30 ml)

20 durante 15 minutos. Se lavó la resina en secuencia con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y DCM (3 x 30 ml x 1 min). Se retiró una pequeña alícuota de resina para el análisis con ninhidrina (como control) y se lavó la resina con NMP (30 ml)

Paso 2. H-Dab(Boc)-Cys(Trt)-Thr(tBu)(ol)-ClTrt. Se disolvieron ácido N- a -Fmoc-N- g- Boc-2,4-(S)-diaminobutírico (3,03 g, 6,88 mmoles) y reactivo HATU (2,56 g, 6,74 mmoles)

25 en 30 ml de NMP. Se agregó DIEA (2,40 ml, 13,76 mmoles) a la solución de ácido

- diaminobutírico protegido. Se arremolinó el frasco durante 1 minuto y se agregó el contenido de éste al recipiente de síntesis peptídica que contenía el péptido sobre el soporte de resina del paso 1. La resina fue agitada mediante una suave corriente de argón durante 2,0 hs. Se drenó la solución y se lavó la resina en secuencia con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y
- 5 DCM (3 x 30 ml x 1 min). El análisis con ninhidrina efectuado sobre una pequeña porción de resina indicó que la reacción estuvo completada.. Se trató la resina con piperidina al 5% en NMP/DCM 1:1 (30 ml) durante 10 minutos, seguido del tratamiento con piperidina al 20% en NMP (30 ml) durante 15 minutos. Se lavó la resina en secuencia con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y DCM (3 x 30 ml x 1 min). Se retiró una pequeña alícuota de resina para el
- 10 análisis con ninhidrina (como control) y se lavó la resina con NMP (30 ml).
- Paso3. H- b -Dap(Boc)-Dab(Boc)-Cys(Trt)-Thr(tBu)(ol)-ClTrt. Se disolvieron ácido N- a-Boc-N-b-Fmoc-2,3-(S)-diaminopropiónico (2,93 g, 6,88 mmoles) y reactivo HATU (2,56 g, 6,74 mmoles) en 30 ml de NMP. Se agregó DIEA (2,40 ml, 13,76 mmoles) a la solución de tirosina protegida. Se arremolinó el frasco durante 1 minuto y se agregó el contenido de éste
- 15 al recipiente de síntesis peptídica que contenía el péptido sobre el soporte de resina del paso 2. Se agitó la resina mediante una suave corriente de argón durante 2 ,0 hs. Se drenó la solución y se lavó la resina en secuencia con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y DCM (3 x 30 ml x 1 min). El análisis con ninhidrina efectuado sobre una pequeña porción de resina indicó que la reacción estaba completada.. Se trató el péptido sobre el soporte de resina con piperidina
- 20 al 5% en NMP/DCM 1:1 (30 ml) durante 10 minutos, seguido del tratamiento con piperidina al 20% en NMP (30 ml) durante 15 minutos. Se lavó la resina en secuencia con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y DCM (3 x 30 ml x 1 min). Una pequeña alícuota de resina se retiró para el análisis con ninhidrina (como control) y se lavó la resina con NMP (30 ml).
- Paso 4. CCH₂CO-b-Dap(Boc)-Dab(Boc)-Cys(Trt)-Thr(tBu)(ol). Se disolvió ácido cloroacético (0,65 mg, 6,88 mmoles) en 20 ml de NMP y se agregó una solución de reactivo HBTU/HOBt 1:1 en DMF (0,45 M) (5,0 ml, 6,74 mmoles), seguido del agregado de DIEA (2,40 ml, 13,76 mmoles). Se arremolinó el frasco durante 1 minuto y se agregó el contenido de éste al recipiente de síntesis peptídica que contenía el aminoácido sobre el soporte de resina del paso 3. La resina fue agitada mediante una suave corriente de argón durante 1,0
- 25 hora. Se drenó la solución y se lavó la resina en secuencia con NMP (3 x 30 ml x 1 min) y DCM (3 x 30 ml x 1 min). El análisis con ninhidrina efectuado sobre una pequeña porción de resina indicó que la reacción estaba completada. Se trató el péptido sobre el soporte de resina con TFA al 1% (v/v) en DCM (60 ml, 7,79 mmoles de TFA) durante 15 minutos. La solución de escisión fue separada por filtración y se agregó DIEA (2,7 ml, 5,6 mmoles) a la
- 30

- solución de escisión. Se lavó la resina con DCM (3 x 60 ml x 3 min) y se agregaron los lavados a la solución de péptido escindido. Se removieron las sustancias volátiles al vacío en un evaporador rotatorio. Se disolvió el péptido crudo protegido en TFA al 1% (v/v) en acetonitrilo/agua 9:1 (v/v) (60 ml). Se dividió la solución en dos fracciones iguales que se aplicaron individualmente a una columna de HPLC preparativa equilibrada en TFA al 0,1% (v/v) en acetonitrilo/agua 1:1 (v/v). Se eluyó la columna con 50% a 100% B/A durante 25 minutos y se combinaron fracciones que contenían producto (tiempo de retención = 16,4 min usando el método 1 de HPLC) de pureza mayor que 90% por integración de pico. Se removió la mayoría del acetonitrilo en un evaporador rotatorio y se congeló la solución acuosa resultante y se la liofilizó para dar el producto en forma de un sólido blanco (970 g). El análisis del producto por ESMS confirmó el producto esperado. El peso molecular exacto esperado de $\text{ClCH}_2\text{CO-b-Dap(Boc)-Dab(Boc)-Cys(Trt)-Thr(tBu)(ol)}$ ($\text{C}_{48}\text{H}_{89}\text{N}_6\text{O}_{10}\text{S}_1\text{C}_{11}$) fue de 968,5 daltons. El pico observado por ESMS MH^+ fue de 969 daltons.

EJEMPLO 3

15 Síntesis del conjugado farmacóforo-quelante

Se describe en lo que sigue la reacción entre el farmacóforo enlazante del receptor de somatostatina ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy y el precursor de quelante de peptidilo $\text{ClCH}_2\text{CO-b-Dap(Boc)-Dab(Boc)-Cys(Trt)-Thr(tBu)(ol)}$ para producir un conjugado farmacóforo-quelante de la invención.

- 20 Paso 1. Ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy($\text{CH}_2\text{CO-b-Dap(Boc)-Dab(Boc)-Cys(Trt)-Thr(tBu)(ol)}$). Se disolvieron ciclo Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy tri-fluoracetato (30 mg, 30,9 μmoles) y $\text{CH}_2\text{CO-b-Dap(Boc)-Dab(Boc)-Cys(Trt)-Thr(tBu)(ol)}$ (36 mg, 37 μmoles) en DMF (3,0 ml) en atmósfera de argón. A esta solución se agregó una solución reguladora de carbonatos (0,15 M, pH = 10,0, 2,0 ml). Se agitó la mezcla reaccionante en atmósfera de argón durante la noche. Se agregó TFA al 0,1% (v/v) en agua (buffer A, 20 ml) y se removieron las sustancias volátiles al vacío en un evaporador rotatorio para dar el conjugado bruto protegido en forma de sólido.
- 25 Paso 2. Ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-thr-Phe-(N-CH₃)Hcy($\text{CH}_2\text{CO-b-Dap-Dab-Cys-Thr(ol)}$). Se trató el conjugado bruto protegido producido en el paso 1 con una mezcla de TFA/DCM/agua/triisopropilsilano/etanodiol 55:40:2,5:1,5:1 (10 ml) durante 1,5 hora. Se diluyó la solución de desprotección con éter frío (200 ml). Este precipitado resultante fue separado por filtración en un embudo de vidrio sinterizado y se lavó con éter frío (2 x 20 ml) para dar el producto bruto en forma de sólido blanco descolorido. Se disolvió el producto bruto en una mezcla 1:1 de TFA al 0,1% (v/v) en acetonitrilo/agua 9:1 (v/v) buffer B/buffer

A (5 ml) y se diluyó con buffer A (20 ml). Se aplicó la solución resultante a una columna de HPLC preparativa que había sido equilibrada con buffer A. La columna fue eluida con un gradiente de 20% a 35% de B/A durante 25 minutos. Se analizaron las fracciones mediante HPLC usando el método 3 de HPLC.

- 5

Método de HPLC 3:

Columna:

Vydac C18, 4,6 mm x 250 mm

Solvente A:

TFA al 0,1% (v/v) en agua

Solvente B:

TFA al 0,1% (v/v) en acetonitrilo/agua 9:1 (v/v)

Gradiente:

20%-50% B/A durante 20 min. 100% de B durante 5 min
- 10

Tasa de flujo:

1,2 ml/min

Volumen de inyección:

50 µl

Detección:

UV (220 nm)

- 15

Se combinaron las fracciones que contenían producto puro (tiempo de retención = 10,0 min) con una pureza mayor que 95% por integración de picos y se removió el acetonitrilo en un evaporador rotatorio. La solución acuosa resultante fue congelada y liofilizada para dar un polvo blanco (32 mg). El análisis del producto mediante ESMS confirmó el producto esperado. El peso molecular exacto esperado de ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Dab-Cys-Thr(ol)) (C₆₀H₈₆N₁₄O₁₄S₂) fue de 1290,6 daltons. El pico observado de ESMS MH⁺ fue de 1292 daltons.

Tabla 1		
Compuesto	PM (medio)	ESMS M+H ⁺
Ciclo-YW _p KTE.(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.YC.T(ol))	1354,6	1355
Ciclo-YW _p KTE.(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.F(4-NH ₂).CT	1367,6	1368
Ciclo-YW _p KTE.(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.F(4-NH ₂)CTS	1454,6	1455
Ciclo-YW _p KTE.(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.F(4-F).CT(ol))	1356,6	1357
Ciclo-YW _p KTE.(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.F(4-NH ₂).CT(ol))	1343,6	1354
Ciclo-YW _p KTE.(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.HC.T (ol))	1328,5	1329
Ciclo-YW _p KTE.(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.RC.T (ol))	1346,6	1348
Ciclo-YW _p KTE.(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.GCK-amida	1288,5	1289
Ciclo-YW _p KTE.(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.SC.T(ol))	1278,6	1279
Ciclo-YW _p KTE.(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.Dab.C.T(ol))	1291,6	1292
Ciclo-YW _p KTE.(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.Dab.C.S(ol))	1277,5	1278
Ciclo-YW _p KTE.(N-	1322,6	1323

CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSC.NH(CH ₂ CH ₂ O) ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂		
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.GKC.amida)	1202	1203
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.Om.C.T(ol))	1305,6	1306
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SKC.amida)	1232,5	1233
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.KC.T(ol))	1319,6	1320
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSCK.amida	1319,6	1320
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSC.NHCH ₂ CH ₂ OCH ₂ CH ₂ NH ₂	1278,5	1279
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSCR.amida)	1346,6	1348
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.KGC.amida)	1202,5	1203
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.KC.amida)	1230,6	1231
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.GGCR.amida)	1286,6	1288
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.GC.T(ol))	1248,6	1249
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.S.Dab.C.S(ol))	1278,5	1279
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap-Dap.C.T(ol))	1277,5	1278
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.S.Dap.C.amida)	1190,5	1191
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSC.Dap.amida)	1277,5	1278
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSCK.T(ol))	1407,7	1408
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.TGGC.amida)	1232,5	1255 ¹
Ciclo-(N-CH ₃ -FWDKTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.KC.T(ol))	1318,6	1320
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. d-Om.GC.amida)]	1188,5	1211 ¹
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.GGCH.amida)	1268,5	1269
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.GGC.F(4-NH ₂).amida)	1293,5	1294
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.Dap.CT.amida)	1305,6	1306
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.- SSCT.NH(CH ₂ CH ₂ O) ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂	1422,6	1423

¹ (M + Na⁺)

EJEMPLO 4

MARCADO RADIOACTIVO DE COMPUESTOS DE LA INVENCION

A. Método del frasco placebo para marcar radioactivamente con ^{99m}Tc

5 Aproximadamente 100 mg de cada compuesto, como también 100 ml de una solución de una sal de TFA disuelta en 0,9% de solución salina se agregaron a un “frasco placebo” que contenía liofilizados 5 mg de dihidrato de glucoheptonato de sodio, 50 mg de dihidrato de cloruro estannoso y 100 mg de dihidrato de edetato disódico. Entonces se re-

constituyó el contenido del frasco con pertecnetato de sodio ^{99m}Tc (15 a 25 mCi) y solución salina, de manera que el volumen total era 1,1 ml. Después de la reconstitución se incubaron los frascos a 100°C en un baño de agua durante 10-12 minutos..

La pureza del compuesto marcado con ^{99m}Tc fue determinada mediante HPLC analítica en fase inversa usando las siguientes condiciones: una columna analítica Zorbax 300SB C18 4 m, de 4,6 mm x 250 mm fue cargada con cada compuesto marcado radioactivamente y se eluyó el compuesto a una tasa de flujo del solvente igual a 1,2 ml/min. La elución en gradiente fue efectuada utilizando un gradiente lineal de 20-100% solvente B/solvente A (solvente A es ácido trifluoracético (TFA) al 0,1% (v/v) en agua y solvente B es TFA al 0,1% (v/v) en acetonitrilo/agua 90/10 (v/v)) durante 20 minutos; seguido por el gradiente lineal de 50-100% de solvente B/solvente A durante cuatro minutos y 100% solvente B/solvente A durante tres minutos (método 1).

Los componentes radiactivos fueron detectados en el método de HPLC utilizando un detector radiométrico interno conectado a un sistema computarizado de recolección de datos y análisis (Waters Millennium) ^{99m}Tc -glucoheptonato, ^{99m}Tc -edetato y ^{99m}Tc -pertecnetato eluyen entre uno y cuatro minutos en estas condiciones, mientras que los compuestos marcados con ^{99m}Tc eluyeron después de un tiempo mucho más largo. La pureza radioquímica (como se determinó por el área % de los picos de los productos ^{99m}Tc principales) fue de $\geq 80\%$.

La pureza del compuesto marcado con ^{99m}Tc también fue determinada mediante análisis de control de calidad por cromatografía en capa delgada. Se sembraron las muestras de péptidos marcados radioactivamente en el origen de cada uno de las dos tiras Gelman ITLC-SG. Cada tira fue desarrollada en solución salina saturada (SAS) y metanol:acetato de amonio 1M (MAM) 1:1 (v/v) y se dejó secar. Las tiras de SAS fueron cortadas a R_f 0,75 y la tira de MAM fue cortada a R_f 0,40. Las porciones de las tiras fueron contadas en cuanto a radioactividad en un calibrador de dosis y fue calculada la actividad porcentual de las porciones superiores e inferiores de cada tira. La pureza radioquímica de cada muestra fue calculada como sigue:

$$\text{Pureza por TLC} = \% \text{ parte inferior (SAS)} - \% \text{ parte inferior (MAM)}$$

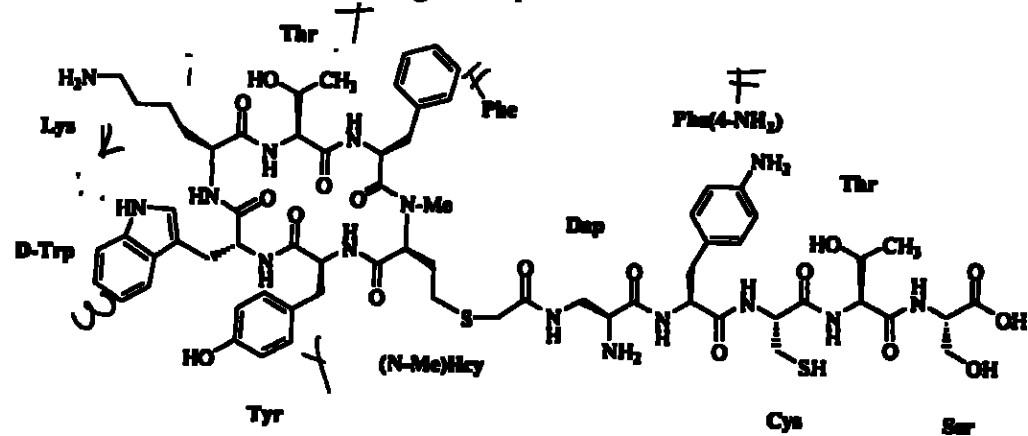
La pureza radioquímica por TLC fue $\geq 90\%$.

Tabla 2		
Datos de pureza radioquímica – ^{99m} Tc		
Compuesto	RCP	RCP
	HPLC	TLC
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.YC.T(ol))	87	98
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.F(4-NH ₂).CT	83	97
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.F(4-NH ₂).CTS	88	93
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.F(4-F).C.T(ol))	86	99
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.F(4-NH ₂).C.T(ol))	88	98
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.HC.T(ol))	92	96
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.RC.T(ol))	90	96
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.GCK.amida)	82	92
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.SC.T(ol))	92	96
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.Dab.C.T(ol))	90	94
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.Dab.C.S(ol))	88	98
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSC.NH(CH ₂ CH ₂ O) ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂)	83	95
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.GKC.amida)	93	97
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.Orn.C.T(ol))	96	97
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SK.C.amida)	-	92
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.KC.T(ol))	82	97
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSCK.amida)	94	98
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSC.NHCH ₂ CH ₂ OCH ₂ CH ₂ NH ₂)	76 ¹	92
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSCR.amida)	87	95
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.KGC.amida)	87	98
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.KC.amida)	88	96
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.GGCR.amida)	88	97
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.GC.T(ol))	92	95
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.S.Dab.C.S(ol))	-	96
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.Dap.C.T(ol))	-	98
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.S.Dap.C.amida)	-	96
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSC.Dap.amida)	-	92
Ciclo-YW _p KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSCK.T(ol))	91	95

Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.TGGC.amida)	95	96
Ciclo-(N-CH ₃)FW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.KC.T(ol))	90	95
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.d-Orn.GC.amida)]	75	90
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.GGCH.amida)	88	99
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.GGC:F(4-NH ₂).amida)	82 ²	92

B. Método para marcar radioactivamente con ¹⁸⁸Re

Un compuesto de la invención que tiene la estructura expuesta en lo que sigue, fue marcado con ¹⁸⁸Re utilizando el siguiente procedimiento.



5 En la descripción y en las reivindicaciones este compuesto está representado por ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO.b-Dap-Phe(4-NH₂)-Cys-Thr-Ser) y en las tablas de los ejemplos el compuesto está representado por

ciclo-YW₂KTF(N-CH₃)Hcy(CH₂CO. b-Dap.F(4-NH₂)-CTS).

Se debe colocar un escudo adecuado para la protección contra la exposición a la radiación b, la radiación g y rayos X, entre los recipientes de reacción y la persona que efectúa el marcado. Se formuló la sal trifluoracetato del péptido (70 mg) con 25 mg de dihidrato de a-D-gluconato de sodio, 850 mg de dihidrato de cloruro de estaño (II) ACS, 100 mg de edetato disódico USP, y agua para inyección USP cantidad suficiente para 1,0 ml, se ajustó el pH a 7,4 ± 0,1 con hidróxido de sodio y/o ácido clorhídrico y se liofilizó. Se reconstituyó la formulación liofilizada con 1 ml de eluato de ¹⁸⁸Re de un generador ¹⁸⁸W/¹⁸⁸Re en solución inyectable de cloruro de sodio al 0,9% USP. La formulación reconstituida fue incubada durante 15 minutos en un baño de agua hirviendo. Se agregaron cuatro ml de una solución salina que contenía 20 mg de ácido gentísico (como sal sódica, monohidrato) y 10 mg de ácido ascórbico y se dejó enfriar la solución durante 15 minutos hasta temperatura ambiente. Se filtró la solución enfriada a través de un filtro de 0,22 micrón, hacia adentro de un vial estéril, preferentemente evacuado, llenado con nitrógeno.

El péptido marcado con ^{125}Re es estable ($\geq 90\%$ de pureza radioquímica según TLC y $\geq 85\%$ de pureza radioquímica según HPLC), durante por lo menos 3 horas después de su preparación, cuando se almacena a temperatura ambiente.

EJEMPLO 5

5 AFINIDADES POR SSSTR DE COMPUESTOS DE LA INVENCION

Se obtuvo [^{125}I -Tyr 11] somatostatina-14([^{125}I]SST-14) de Amersham. Se adquirió somatostatina-14 no marcada, ya sea, de BACHEM (Torrance, CA), o bien de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). Los inhibidores de proteasa, leupeptina, aprotinina, bacitracina y benzamidina y otros reactivos se obtuvieron de Sigma. Se prepararon los
10 inhibidores de proteasa en dimetilsulfóxido (DMSO) a una concentración 500 veces más alta que la concentración final para el ensayo. La solución preparada de proteasa fue almacenada a -20°C y se diluyó con la solución reguladora antes del uso.

Las preparaciones de membranas utilizadas en estos estudios fueron preparadas a partir de dos cepas de células tumorales disponibles en el comercio, la cepa de células
15 decáncer humano de células pequeñas de pulmón, NCI-H69 y la cepa de células de tumor pancreático de ratas AR42J, obtenidas de American Type Culture Collection (ATCC) (Manassas, VA). Las células NCI-H69 fueron mantenidas por pasaje serial en RPMI 1640 con suero fetal de ternera al 10%. Las células fueron incubadas a 37°C en frascos de cultivo con 5% de CO_2 en atmósfera de aire, siguiendo las recomendaciones de la "hoja del
20 producto" de ATCC.

Las células del cultivo primero fueron desprendidas de las placas con solución salina bufferizada con fosfatos, pH 7,4, que contenía EDTA 2 mM, y se centrifugaron a $1\,500 \times g$ durante 10 min. Las células entonces fueron resuspendidas en 5-10 ml del buffer de
25 homogeneización (1 mM de bicarbonato de sodio, pH 7,4, 1mM de EDTA, 1mM de EGTA, 2,5 mM de DTT, 5 mg/ml de leupeptina, 5 mg/ml de aprotinina, 100 mg/ml de bacitracina, 100 mg/ml de benzamidina) durante 10 min sobre hielo. Las células fueron lisadas durante 30 seg dos veces en un polytron conectado en 5. El lisado fue centrifugado a $1000 \times g$ durante 10 min a 4°C . Se centrifugó el sobrenadante a $40,000 \times g$ durante 20 min a 4°C . Se centrifugó el sobrenadante a $40\,000 \times g$ durante 20 min a 4°C . Se repitió este paso dos veces
30 con el buffer de homogeneización en ausencia de inhibidores de proteasa. Entonces se resuspendió el pellet 1-5 mg de proteína de membrana/ml en Tris mM, pH 7,4 sin agregado de inhibidores de proteasa y se almacenaron las membranas a -80°C antes de su uso. Se determinó espectroscópicamente la concentración de proteínas de membrana utilizando el

equipo de determinación de proteínas del ácido bicinónico (BCA) (Pierce Chemical Inc. (Rockford, IL)).

Todos los ensayos de enlace de [125 I]SST-14 fueron efectuados en 0,5 ml de buffer de enlace que contenía 50 mM de HEPES, pH 7,5, 10 mM de $MgCl_2$, 0,25% de BSA (p/v), que contenía inhibidores de proteasa (igual que anteriormente) y se incubaron a 37°C durante 45 minutos. Después de la incubación se conservaron las muestras a 4°C y se filtraron rápidamente al vacío a través de un filtro de fibra de vidrio Whatman GF/B con un recolector de 12 huecos (Skatron Instruments Inc. Sterling, VA). Se lavó el filtro durante 9 segundos con HEPES 50 mM pH 7,5 frío, $MgCl_2$ 10 mM, BSA al 0,25% (p/v). Se utilizaron treinta y cinco pmoles de [125 I]SST-14 de Amersham en cada tubo. Se disolvieron los péptidos en DMSO y sediluyeron en serie con DMSO. Se utilizaron cinco ml de péptido en DMSO para obtener la concentración final. Se agregó DMSO (5 ml) al tubo sin agregar ningún péptido o SST-14 no marcado, de manera que cada tubo contenía DMSO al 1%. “Que no enlaza específicamente” fue definido como el enlace de [125 I]SST-14 que no era desplazable por un exceso de SST-14 no marcado a una concentración de 1×10^{-6} M. El enlace [125 I]SST-14 sin o con exceso de SST-14 no marcado (1×10^{-6} M) fue definido como enlace total y enlace no específico respectivamente. La diferencia entre enlace total y enlace no específico fue definido como enlace específico. La inhibición por ciento (% inh) por el péptido es expresado como

$$\% Inh = (\text{enlace total} - \text{enlace total en presencia de péptido}) / \text{enlace no específico} \times 100\%$$

La inclusión de inhibidores de proteasa en medio homogeneizante, como también de buffer de ensayo, es esencial para mantener la integridad tanto de [125 I]SST-14, como también de análogos de somatostatina, para el ensayo de enlace al receptor y para obtener un enlace específico óptimo. El enlace específico más alto se observó cuando se incluyó $MgCl_2$ (10 mM). Finalmente se resuspendieron las membranas en un medio exento de sdio y se efectuaron los ensayos de enlace al receptor en ausencia de iones de sodio.

La potencia de los compuestos de la invención para inhibir el enlace de [125 I]SST-14 a membranas aisladas fue expresada como IC_{50} , definido como la concentración de compuesto que inhibe en un 50% el enlace específico. Las isotermas de enlace indicaron que muchos compuestos de enlazaban a dos clases de receptores. Los valores de IC_{50} fueron calculados a partir de los datos de un programa computarizado no lineal de ajuste de curvas por medio de los cuadrados mínimos, suponiendo dos clases de sitios de enlace a los receptores (GraphPad Prism, GraphPad Software, Inc., San Diego, CA).

Tabla 3
Valores IC₅₀ para compuestos no complejados

Compuesto	NCI-H69	
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy	2,10 x 10 ⁻¹⁰	
Ciclo-YW ₂ KVF(N-CH ₃)Hcy	2,10 x 10 ⁻¹⁰	
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.TGGC.amida)	1,63 x 10 ⁻⁹	2,43 x 10 ⁻⁸
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. d-O.GC-amida)	2,92 x 10 ⁻⁹	
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.KC.T(ol)	3,46 x 10 ⁻¹⁰	2,34 x 10 ⁻⁷
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSC.NH(CH ₂ CH ₂ O) ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂)	6,45 x 10 ⁻¹⁰	> 10 ⁻⁶
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap-Dap.C.T(ol)	4,49 x 10 ⁻¹⁰	4,68 x 10 ⁻⁸
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.Dab.C.T(ol)	6,42 x 10 ⁻¹⁰	> 10 ⁻⁶
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.O.C.T(ol)	5,05 x 10 ⁻¹⁰	7,44 1 10 ⁻⁷
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.RC.T(ol)	4,13 x 10 ⁻¹⁰	< 10 ⁻¹²
Ciclo-YW ₂ RTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.F(4-NH ₂).C.T(ol))]	5,01 x 10 ⁻¹⁰	< 10 ⁻¹²
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.S.C.T(ol)	1,57 x 10 ⁻⁹	< 10 ⁻¹²
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.HC.T(ol)	8,61 x 10 ⁻¹⁰	
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.Dab.C.S(ol)	1,08 x 10 ⁻⁹	
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.S.Dab.C.S(ol)		
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-DapDab.CT)	1,25 x 10 ⁻⁹	1,25 x 10 ⁻⁹
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.F(4-NH ₂).CT)	6,41 x 10 ⁻¹⁰	6,41 x 10 ⁻¹⁰
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.F(4-NH ₂).CTS)	2,01 x 10 ⁻¹⁰	8,91 x 10 ⁻⁹
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.F(4-NH ₂)CT.S(ol))	3,88 x 10 ⁻¹⁰	3,88 x 10 ⁻¹⁰

Tabla 4		
Valores de IC ₅₀ para compuestos complejados con renio		
Compuesto	NCI-H69	
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO. d-O.GC.amida)(ReO)	3,83 x 10 ⁻⁹	1,62 x 10 ⁻⁶
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ -CO.TGGC.amida)(ReO)	3,71 x 10 ⁻⁹	> 10 ⁻⁵
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO.TGGC.amida)(ReO)	3,88 x 10 ⁻⁹	> 10 ⁻⁵
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO.GGCH.amida)(ReO)	8,16 x 10 ⁻⁹	> 10 ⁻⁵
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO.SSCK.amida)(ReO)	1,55 x 10 ⁻⁹	> 10 ⁻⁵
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO.KGC.amida)(ReO, a-N)	5,00 x 10 ⁻¹⁰	1,91 x 10 ⁻⁷
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO.KGC.amida)(ReO, e-N)	5,09 x 10 ⁻¹⁰	2,47 x 10 ⁻⁷
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.GCK.amida)(ReO, r.t. 12,3)	4,30 x 10 ⁻¹⁰	5,07 x 10 ⁻⁶
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.GCK.amida)(ReO, r.t. 12,8),	3,31 x 10 ⁻¹⁰	> 10 ⁻⁶
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.KC.Y(ol) (ReO),	6,47 x 10 ⁻¹⁰	> 10 ⁻⁶
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO.SSCK.T(ol)(ReO)	7,41 x 10 ⁻¹⁰	> 10 ⁻⁶
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO.GKC.amida)(ReO)	1,15 x 10 ⁻¹⁰	1,88 x 10 ⁻⁸
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.KC.amida)](ReO)	4,99 x 10 ⁻¹⁰	1,58 x 10 ⁻¹¹
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO.SSCR.amida)(ReO)	9,15 x 10 ⁻¹⁰	> 10 ⁻⁶
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO.GGCR.amida)(ReO)	6,18 x 10 ⁻⁹	1,18 x 10 ⁻¹⁰
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO.GGCK.amida)(ReO)	1,43 x 10 ⁻⁹	> 10 ⁻⁶
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.KC.amida)(ReO)	8,90 x 10 ⁻⁹	3,18 x 10 ⁻¹⁰
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.KC.amida)(ReO)	8,23 x 10 ⁻⁹	< 10 ⁻¹⁰
Ciclo-YW ₂ KTF.(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO.GGC.F(4-NH ₂))(ReO)	2,73 x 10 ⁻¹⁰	2,73 x 10 ⁻¹¹

SK

Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃) ₂ Hcy(CH ₂ CO.SKC.amida)(ReO)	2,70 x 10 ⁻¹⁰	1,26 x 10 ⁻⁸
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃) ₂ Hcy(CH ₂ CO.SSC.Dap.amida)(ReO)	6,91 x 10 ⁻¹⁰	9,76 x 10 ⁻⁹
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃) ₂ Hcy(CH ₂ CO.S.Dap.C.amida)(ReO)	3,12 x 10 ⁻¹⁰	1,56 x 10 ⁻⁹
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃) ₂ Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.Dap.C.T(ol)(ReO)	3,51 x 10 ⁻¹⁰	5,36 x 10 ⁻⁸
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃) ₂ Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.Dab.C.T(ol)(ReO)	6,07 x 10 ⁻¹⁰	1,37 x 10 ⁻¹²

Tabla 4		
Valores de IC ₅₀ para compuestos complejados con renio		
Compuesto	NCI-H69	
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃) ₂ Hcy(CH ₂ CO.SSC.NH(CH ₂ CH ₂ O) ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂)(ReO)	4,89 x 10 ⁻¹⁰	2,17 x 10 ⁻¹²
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃) ₂ Hcy(CH ₂ CO. b -Dap.O.C.T(ol)(ReO)	4,75 x 10 ⁻¹⁰	1,41 x 10 ⁻¹²
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃) ₂ Hcy(CH ₂ CO. b-DapDab.C.T(ol)(ReO)	1,43 x 10 ⁻¹⁰	1,02 x 10 ⁻⁷
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃) ₂ Hcy(CH ₂ CO. b -Dap.F(4-NH ₂).C.T(ol)(ReO).	1,22 x 10 ⁻¹⁰	4,30 x 10 ⁻⁷
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃) ₂ Hcy(CH ₂ CO. b -DapS.C.T(ol)(ReO).	5,13 x 10 ⁻¹⁰	2,63 x 10 ⁻¹²
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃) ₂ Hcy(CH ₂ CO. b -Dap.HC.T(ol)ReO	2,23 x 10 ⁻¹⁰	6,03 x 10 ⁻⁸
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃) ₂ Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.GC.T(ol)ReO	2,22 x 10 ⁻¹⁰	3,29 x 10 ⁻⁹
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃) ₂ Hcy(CH ₂ CO. b -DapDab.C.S(ol)ReO	2,00 x 10 ⁻¹⁰	2,67 x 10 ⁻⁸
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃) ₂ Hcy(CH ₂ CO. S.Dab.C.S(ol)ReO	1,55 x 10 ⁻⁹	1,14 x 10 ⁻¹¹
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃) ₂ Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.F(4-NH ₂).CT.S(ol)ReO	6,02 x 10 ⁻¹⁰	4,13 x 10 ⁻¹²
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃) ₂ Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.F(4-NH ₂).CTS)ReO	2,27 x 10 ⁻¹⁰	1,47 x 10 ⁻⁸
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃) ₂ Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.Dab.CT)ReO	7,75 x 10 ⁻¹⁰	
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃) ₂ Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.F(4-NH ₂).CT)ReO	4,45 x 10 ⁻¹⁰	

5

Tabla 5
Valores de IC₅₀ para membranas de células AR42J

Compuesto		
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.F(4-NH ₂).CTS)	4,33 x 10 ⁻¹⁰	1,26 x 10 ⁻¹²
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.Dab.C.T(ol)(ReO	1,81 x 10 ⁻¹⁰	5,08 x 10 ⁻⁷
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO.SSC.NH(CH ₂ CH ₂ O) ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂)(ReO)	2,17 x 10 ⁻¹⁰	6,17 x 10 ⁻³
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO.SSC.NH(CH ₂ CH ₂ O) ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂)(ReO)	1,67 x 10 ⁻¹⁰	8,99 x 10 ⁻⁷
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.F(4-NH ₂).C.T(ol)(ReO).	9,00 x 10 ⁻¹¹	> 10 ⁻⁶
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃).Hcy(CH ₂ CO.b-Dap.F(4-NH ₂).CTS)ReO	4,96 x 10 ⁻¹⁰	3,74 x 10 ⁻¹²

52

EJEMPLO 6

BIODISTRIBUCIONES DE LOS COMPUESTOS DE LA INVENCION

Se cultivaron células pancreáticas de ratas AR42J (ATCC, Rockville, MD, Estados Unidos) en medio Ham F12K modificado (cat. N° N-3520, Sigma, St. Louis, MO, Estados Unidos), que contenía suero fetal bovino al 20% (FCS) (Cat. N° 1224, lote N° 9702058, Sigma, St. Louis, MO, Estados Unidos) en condiciones estériles a 95% de humedad y 5% de CO₂. Se recolectaron la células con tripsina a una densidad de aproximadamente 10 x 10⁶ células por frasco T150 y se aglomeraron por centrifugación a 2400 rpm (800 x g) durante 15 minutos en una centrífuga de superficie de banco (IEC Centra-8, centrífuga de superficie de mesa, International Equipment Company, Needham, MA, Estados Unidos). Se re-suspendieron las células en un medio que contenía FCS al 20%, para la implantación.

Se inyectaron células tumorales (2 x 10⁷/100 ml) en matrigel al 20% (Collaborative Biochemical Products, Chicago, IL, Estados Unidos) por vía subcutánea en el flanco derecho a seis ratones hembra desnudos (CrILNU/NU-*nu*BR, 6-8 semanas de edad). Catorce días después de la inoculación los tumores fueron visibles en todos los animales. Tres semanas después de la inoculación se disecaron asépticamente los tumores, se desmenuzaron y se implantaron en 60 ratones desnudos usando un trocar. Se utilizaron los xenoinjertos de los tumores del segundo pasaje para estudios de biodistribución.

Se inyectó por vía endovenosa una dosis de aproximadamente 50-100 mCi por ratón, de compuesto marcado con ^{99m}Tc en un volumen total de 100 ml. Se sacrificaron por decapitación los ratones 90 minutos después de la inyección y se recolectó la sangre del tronco. Los tumores (de 1 a 3 por ratón), hígado, tracto gastrointestinal, riñones y muestras de músculos de ambas patas traseras (*quadriceps femoralis*) fueron recolectados, pesados y contados para determinar radiactividad. Los datos de biodistribución de una cantidad de compuestos de la invención marcados con ^{99m}Tc son presentados en la Tabla 6.

Tabla 6							
Datos de Biodistribución – ^{99m} Tc							
	TUMOR	Riñones	Bazo	Gastroin- testinal	Orina	T:M	T:B
	%Id/g	%id/g	%ID	%ID	%ID		
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b -Dap.YC.T(ol))	27,6	7,7	0,1	22	32	165	63
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.F(4-NH ₂).CT	25	5,7	0,08	14	53	129	59
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.F(4-NH ₂).CTS	24,7	4,8	0,21	8	59	127	29
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b -Dap.F(4-F).C.T(ol))	23,5	4,7	0,17	24	20	124	25
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.F(4-NH ₂).C.T(ol))	31,8	6,5	0,08	11	48	188	81
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.HC.T(ol))	15,5	8,1	0,3	9	53	96	29
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b -Dap.RC.T(ol))	15,2	17,6	0,1	4,8	58	94	34
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b -Dap.GCK.amida)	13,36	80,1	0,05	4	40	108	27
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b -Dap.SC.T(ol))	12,6	6,1	0,06	8	59	144	31
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b -Dap.Dab.C.T(ol))	11,7	6,6	0,08	3	84	43	13
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b-Dap.Dab.C.S(ol))	10,8	13,9	0,04	2	73	89	30
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSC.NH(CH ₂ CH ₂ O) ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂)	10,6	17,8	0,05	3	70	132	44
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.GKC.amida)	10,3	28,3	0,09	15	46	49	13
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b -Dap.OC.T(ol))	10,3	28,8	0,05	2	73	96	24
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SK.C.amida)	10,3	41,9	0,07	5	68	49	15
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b -Dap.KC.T(ol))	10,2	26,8	0,04	3	65	104	48
Ciclo-YW ₂ KTE(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSCK.amida)	9,2	25,1	0,04	6	72	71	26

60

Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSC.NHCH ₂ CH ₂ OCH ₂ CH ₂ NH ₂)	9,1	54	0,07	5	68	70	19
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSCR.amida)	8,6	31,6	0,05	6	37	50	11
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.KGC.amida)	7,94	58,8	0,04	7	48	49	15
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b -Dap.KC.amida)	7,52	42,5	0,05	3	36	32	16
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.GGCR.amida)	7,24	32,3	0,09	8	39	18	5
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO. b -Dap.GC.T(ol))	7,1	4,5	0,07	19	43	56	13
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.S.Dab.C.S(ol))	7	21,1	0,04	3	76	65	18

Tabla 6							
Datos de Biodistribución – ^{99m} Tc							
Compuesto	TUMOR	Riñones	Bezo	Gastroin- testinal	Orina	T:M	T:B
	%Id/g	%Id/g	%ID	%ID	%ID		
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b -Dap.Dap.C.T(ol))	6,4	7,9	0,04	7	85	64	16
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.S.Dap.C.amida)	4,8	9,3	0,07	25	45	25	9
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSC.Dap.amida)	4,5	12,6	0,07	8	65	23	8
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.SSCK.T(ol))	4,3	13,6	0,002	1	65	35	21
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.TGGC.amida)	3,81	4,7	0,04	30	26	95	30
Ciclo-(N-CH ₃)-FW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.b -Dap.KCT(ol))	3,58	43,4	0,04	5	51	33	90
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.d -Orn.GC.amida)]	1,8	1,5	0,023	47	15	95	29
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.GGCH.amida)	0,8	3	0,009	42	14	32	8,7
Ciclo-YW ₂ KTF(N-CH ₃)Hcy(CH ₂ CO.GGC.F(4-NH ₂).amida)	0,7	1,9	0,07	33	7	9	2,8

70

Se deberá entender que la revelación precedente enfatiza ciertas realizaciones específicas de la invención y que todas las modificaciones o equivalentes a éstas están dentro del espíritu y el alcance de la invención, como se expone en las reivindicaciones adjuntas.

,

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que comprende un péptido que se enlaza al receptor de somatostatina que tiene una fórmula



- 5 donde B¹ es Phe, Tyr, Nal, Ain, o un derivado sustituido de éstos;
B² es Trp o un derivado sustituido del mismo;
B³ es Lys, Hly, Achxa, Amf, Aec, Apc, Aes, Aps o un derivado sustituido de los mismos;
B⁴ es Thr, Ser, Val, Phe, Ile, Abu, Nle, Leu, Nva o Aib;
10 C es un L-a-aminoácido;
A es un N-alquil- a -aminoácido o un alquil- a -aminoácido N-sustituido, cld
donde A comprende una cadena lateral que contiene un átomo de azufre;
donde A y C están unidos de manera covalente a través de un término amino de A o un término carboxilo de C para formar un péptido cíclico.

- 15 2. El compuesto de la reivindicación 1, donde A es un N-metil- a -aminoácido.
3. El compuesto de la reivindicación 2, donde A está seleccionado entre el grupo consistente en (N-CH₃)Cys, (N-CH₃)Hcy, (N-CH₃)Tyr, (N-CH₃)Trp y (N-CH₃)Tyr(CH₂CH₂SH).
- 20 4. El compuesto de la reivindicación 3, donde A está seleccionado entre el grupo consistente en (N-CH₃)Cys, (N-CH₃)Hcy y (N-CH₃)Tyr y C está seleccionado entre el grupo consistente en L-metionina, L-fenilalanina y un derivado sustituido de L-fenilalanina.
5. El compuesto de la reivindicación 4, donde A está seleccionado entre el grupo consistente en (N-CH₃)Cys y (N-CH₃)Hcy y C está seleccionado entre el grupo
25 consistente en L-metionina, L-fenilalanina y un derivado sustituido de l-fenilalanina.
6. El compuesto de la reivindicación 5, donde A es (N-CH₃)Hcy y C es L-fenilalanina.
7. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la fórmula:



8. El compuesto de la reivindicación 1, donde a una cadena lateral de A está unido de manera covalente un quelante o un ligante de metal radioactivo.
9. El compuesto de la reivindicación 8, donde el quelante tiene la fórmula:



5 donde Xaa es un L- a -aminoácido y

Zaa es un a-aminoácido, una amida de a-aminoácido, un éter aminoetilico, un b-aminol o un péptido que contiene de dos a diez a-aminoácidos, teniendo dicho péptido un a-aminoácido, una amida de a-aminoácido de terminal carboxilo, un éter aminoetilico o un b-aminol.

10. El compuesto de la reivindicación 8, donde el quelante está seleccionado entre el grupo consistente en ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7-triacético, ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7-10-tetraacético, un derivado sustituido de ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7-triacético y un derivado sustituido de ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético.

11. El compuesto de la reivindicación 8, donde el ligante es una fracción de hidrazino-nicotinamida.

12. Un compuesto que tiene la fórmula



donde B¹ es Phe, Tyr, Nal, Ain o un derivado sustituido de éstos;

20 B² es Trp o un derivado sustituido de éste;

B³ es Lys, Hly, Achxa, Amf, Aec, Apc, Acs, Aps o un derivado sustituido de éstos;

B⁴ es Thr, Ser, Val, Phe, Ile, Abu, Nle, Leu, Nva o Aib;

C es L-metionina, L-fenilalanina, o un derivado sustituido de L-fenilalanina;

25 X es un H, un quelante o un ligante de metal radioactivo; -

donde B¹ y (N-CH₃)Hcy están unidos de manera covalente, a través de un término amino de B¹ y un término carboxilo de (N-CH₃)Hcy para formar un péptido cíclico y X está unido al resto (N-CH₃)Hcy a través de un átomo de azufre de cadena lateral.

13. El compuesto de la reivindicación 12, donde X es un quelante que tiene una fórmula:



donde Xaa es un L- a -aminoácido, y

Zaa es un aminoácido, una amida de aminoácido, un éter aminoetílico, un

5 b-aminol, o un péptido que contiene de dos a diez aminoácidos,

teniendo dicho péptido un aminoácido de carboxilo terminal, una amida

de aminoácido, un éter aminoetílico o un b-aminol.

14. El compuesto de la reivindicación 13, donde Xaa está seleccionado entre el grupo
consistente en serina, ácido diaminobutírico, histidina, arginina, tirosina, iodotirosina,
10 bromotirosina, clorotirosina, O-alquil-tirosina, donde alquilo representa de C₁ a C₄-
alquilo, hidroxiltirosina, aminotirosina, fenilalanina, 4-fluorfenilalanina, 4-cloro-
fenilalanina, 4-bromofenilalanina, 4-iodofenilalanina, 4-nitrofenilalanina, 4-amino-
fenilalanina, N^t-R-4-aminofenilalanina, N^t-R, N^t-R'-4-aminofenilalanina o 3-R'-4-
aminofenilalanina, donde R es de C₁ a C₄-alquilo y R' está seleccionado entre el grupo
15 consistente en H, de C₁ a C₄-alquilo, amino, hidroxil, NH-alquilo, donde alquilo
representa de C₁ a C₄-alquilo, NH-acilo, O-alquilo, donde alquilo representa de C₁ a C₄-
alquilo, O-acilo, S-alquilo, donde alquilo representa de C₁ a C₄-alquilo, SO-alquilo y
SO₂-alquilo, donde alquilo representa de C₁ a C₄-alquilo, SO₃H, CO₂H, CO₂-alquilo,
donde alquilo representa de C₁ a C₄-alquilo y CONH-alquilo, donde alquilo representa
20 de C₁ a C₄-alquilo.

15. El compuesto de la reivindicación 12, donde X es una fracción de hidrazino-
nicotinamida.

16. El compuesto de la reivindicación 12, donde X es un quelante seleccionado entre el
grupo consistente en ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7-triacético, ácido
25 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético, un derivado sustituido de ácido
1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7-triacético o un derivado sustituido de ácido
1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético.

17. Un radiofármaco que comprende el compuesto de cualquiera de las reivindicaciones de
1 a 16 y un radioisótopo seleccionado entre el grupo consistente en un radionucleido
30 emisor a, un radionucleido emisor b, un radionucleido emisor b-g, un radionucleido
emisor de positrones y un radionucleido emisor g.

- 59
18. El radiofármaco de la reivindicación 17, donde el radioisótopo está seleccionado entre el grupo consistente en ^{68}Ga , ^{67}Ga , ^{67}Cu , ^{47}Sc , ^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{186}Re , ^{188}Re , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{90}Y , ^{64}Cu , ^{153}Sm , $^{94\text{m}}\text{Tc}$, ^{166}Ho , ^{223}Ra y ^{225}Ac .
19. El radiofármaco de la reivindicación 17, donde el radioisótopo está seleccionado entre el grupo consistente en ^{18}F , ^{125}I , ^{131}I , ^{123}I y ^{211}At .
20. Un compuesto que tiene una fórmula seleccionada entre el grupo consistente en:
- ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Tyr-Cys-Thr(ol));
- ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Phe(4-F)-Cys-Thr(ol));
- ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Phe(4-NH₂)-Cys-Thr-Ser);
- 10 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Dab-Cys-Thr);
- ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Phe(4-NH₂)-Cys-Thr);
- ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Phe(4-NH₂)-Cys-Thr(ol));
- ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Gly-Gly-Cys-Lys-Thr(ol));
- ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-His-Cys-Thr(ol));
- 15 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Arg-Cys-Thr(ol));
- ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Gly-Cys-Lys-NH₂);
- ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Ser-Cys-Thr(ol));
- ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy-(CH₂CO-b-Dap-Dab-Cys-Thr(ol));
- ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap Gly-Cys-Thr(ol));
- 20 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Dab-Cys-Ser(ol));
- ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Gly-Gly-Cys-Lys-NH₂);
- ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Gly-Gly-Cys-Arg-NH₂);
- ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Ser-Ser-Cys-Lys-NH₂);
- ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Ser-Ser-Cys-Arg-NH₂);
- 25 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Ser-Ser-Cys-Lys-Thr(ol));
- ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Ser-Ser-Cys-Dap-NH₂);

ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Ser-Ser-Cys-NH(CH₂CH₂O)₂CH₂CH₂NH₂);

ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Ser-Cys-Thr-NH(CH₂CH₂O)₂CH₂CH₂NH₂);

5 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Gly-Lys-Cys-NH₂);

ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Ser-Lys-Cys-NH₂);

ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Lys-Gly-Cys-NH₂);

ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Ser-Dab-Cys-Ser(ol));

ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Ser-Dap-Cys-NH₂);

10 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Gly-Gly-Cys-His-NH₂);

ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Gly-Gly-Phe(4-NH₂)-NH₂);

ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Orn-Cys-Thr(ol));

ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Dap-Cys-Thr(ol));

ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Lys-Cys-Thr(ol));

15 ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Ser-Ser-Cys-NHCH₂CH₂OCH₂CH₂NH₂);

ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Lys-Cys-NH₂);

ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-d-Orn-Gly-Cys-NH₂) y

ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-Thr-Gly-Gly-Cys-NH₂).

20, 21. Un radiofármaco que comprende el compuesto de la reivindicación 20 y un radioisótopo seleccionado entre el grupo consistente en ^{99m}Tc, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ²¹²Bi y ²¹³Bi.

22. Un compuesto que tiene una fórmula:

Ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Phe(4-NH₂)-Cys-Thr-Ser).

23. Un radiofármaco que comprende el compuesto de la reivindicación 22 y ^{99m}Tc.

25 24. Un radiofármaco que comprende el compuesto de la reivindicación 22 y ¹⁸⁸Re.

25. Un complejo de ^{99m}Tc y un compuesto que tiene la fórmula:

ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₃)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Phe(4-NH₂)-Cys-Thr-Ser).

Handwritten notes:
234
25
244
26

5
10
15
20
30
35
40
45
50
55
60
65
70
75
80
85
90
95
100

26. Un complejo de ^{186}Re o ^{188}Re y un compuesto que tiene la fórmula:
ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₂)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Phe(4-NH₂)-Cys-Thr-Ser).
27. Un equipo para elaborar una preparación radiofarmacéutica, comprendiendo dicho equipo un vial sellado que contiene una cantidad predeterminada del compuesto de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 16 y una cantidad suficiente de un agente reductor para marcar el compuesto con $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{186}Re ó ^{188}Re .
28. Un equipo para elaborar una preparación radiofarmacéutica, comprendiendo dicho equipo un vial sellado que contiene una cantidad predeterminada del compuesto de la reivindicación 20 y una cantidad suficiente de agente reductor para marcar el compuesto con $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{186}Re ó ^{188}Re .
29. Un equipo para elaborar una preparación radiofarmacéutica, conteniendo dicho equipo un vial sellado que contiene una cantidad predeterminada del compuesto de la reivindicación 22 y una cantidad suficiente de un agente reductor para marcar el compuesto con $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{186}Re ó ^{188}Re .
30. Un equipo que comprende un vial sellado que contiene una cantidad predeterminada del compuesto de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 16.
31. Un equipo que comprende un vial sellado que contiene una cantidad predeterminada del compuesto de la reivindicación 20.
32. Un equipo que comprende un vial sellado que contiene una cantidad predeterminada del compuesto de la reivindicación 22.
33. Un método para visualizar la imagen de un sitio dentro del cuerpo de un mamífero que comprende los pasos de:
 - a) marcar radioactivamente el compuesto de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 16, con $^{99\text{m}}\text{Tc}$;
 - b) administrar al cuerpo una cantidad eficaz para diagnóstico, del compuesto marcado radioactivamente; y
 - c) detectar el $^{99\text{m}}\text{Tc}$ acumulado en el sitio.
34. Un método de visualizar una imagen de un sitio dentro del cuerpo de un mamífero que comprende los pasos de:
 - a) marcar radioactivamente el compuesto de la reivindicación 20 con $^{99\text{m}}\text{Tc}$;

- 68
- diag.
- 5
- b) administrar al cuerpo una cantidad eficaz para diagnóstico del compuesto marcado radioactivamente; y
 - c) detectar el ^{99m}Tc acumulado en el sitio.
35. Un método para visualizar una imagen de un sitio dentro del cuerpo de un mamífero que comprende los pasos de:
- a) administrar una cantidad eficaz para diagnóstico del radiofármaco de la reivindicación 23 al cuerpo; y
 - c) detectar el ^{99m}Tc acumulado en el sitio.

10 36. Un método para tratar un animal que padece una enfermedad de responsabilidad de la somatostatina, comprendiendo los pasos de:

- a) marcar radioactivamente el compuesto de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 16 con ^{186}Re , ^{188}Re , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{90}Y , ^{153}Sm , ^{47}Sc , ^{68}Ga , ^{94m}Tc , ^{67}Cu , ^{166}Ho , ^{223}Ra , ^{225}Ac , ^{18}F , ^{125}I , ^{131}I , ^{123}I ó ^{211}At ; y
- b) administrar al animal una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto marcado radioactivamente.

15 37. Un método para tratar un animal que padece una enfermedad de responsabilidad de la somatostatina, que comprende los pasos de:

- a) marcar radioactivamente el compuesto de la reivindicación 20 con ^{186}Re , ^{188}Re , ^{212}Bi o ^{213}Bi ; y
- b) administrar al animal una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto marcado radioactivamente.

20 38. Un método para tratar un animal que sufre una enfermedad caracterizada por la regulación que aumenta la actividad de los receptores de somatostatina, que comprende los pasos de:

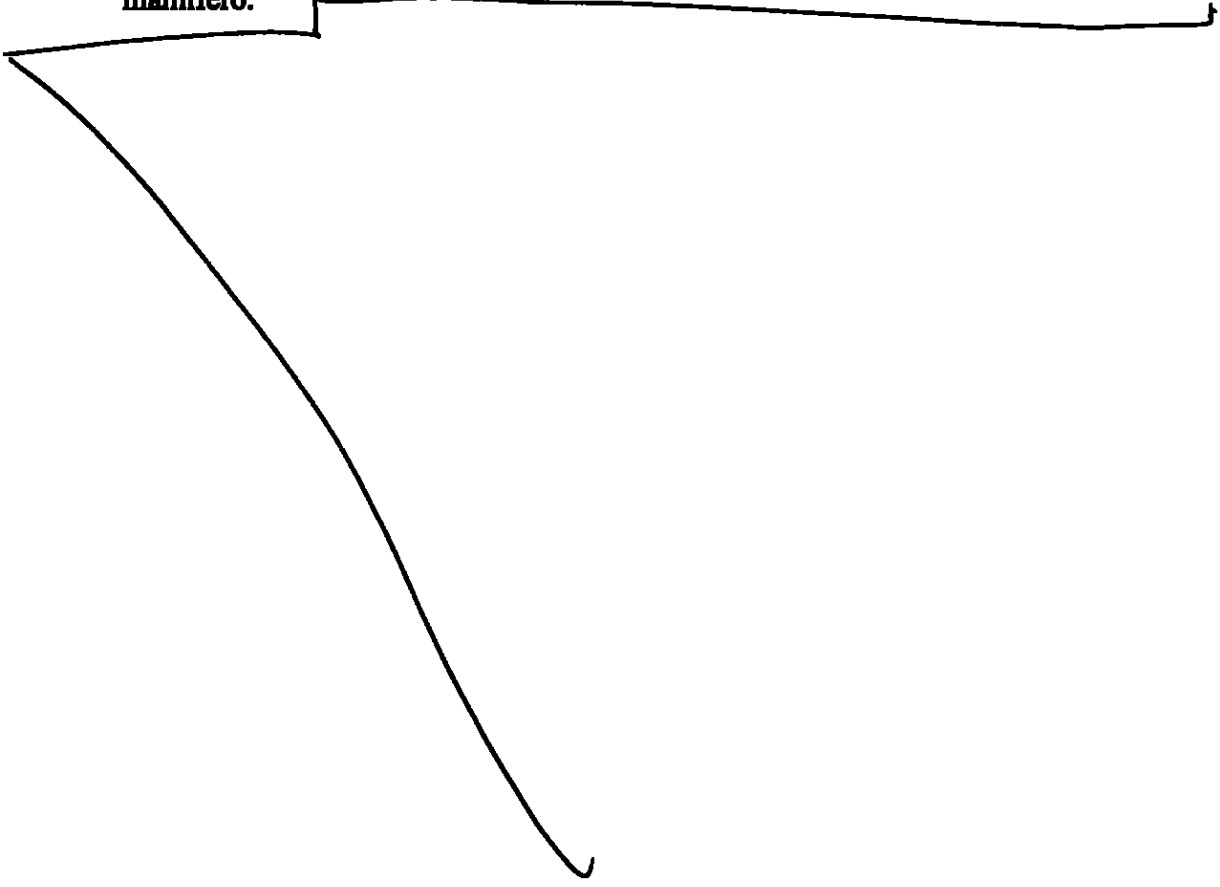
- a) marcar radioactivamente el compuesto de la reivindicación 20 con ^{186}Re , ^{188}Re , ^{212}Bi o ^{213}Bi ; y
- b) administrar al animal una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto marcado radioactivamente.

25 39. Un método para tratar un animal que padece una enfermedad de responsabilidad de la somatostatina, que comprende el paso de:

30

administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del radiofármaco de la reivindicación 24 al animal.

40. ⁸⁹ Un método para tratar un animal que padece una enfermedad de responsabilidad de la somatostatina que comprende el paso de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 16 al animal.
41. ⁴⁶ Un método para tratar un animal que padece una enfermedad de responsabilidad de la somatostatina que comprende el paso de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de la reivindicación 20 al animal.
42. ⁴¹ Un método para tratar un animal que padece una enfermedad de responsabilidad de la somatostatina, que comprende el paso de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de la reivindicación 22 al animal.
43. ⁴¹ Un método para tratar un tumor en un mamífero, que comprende los pasos de:
 - a) combinar una primera alícuota del compuesto de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 16 con ^{99m}Tc para formar un agente de diagnóstico;
 - b) administrar una cantidad eficaz para diagnóstico del agente de diagnóstico al mamífero;
 - c) detectar el ^{99m}Tc acumulado en el mamífero, detectando así la presencia de un tumor que expresa el SSSTR;
 - d) combinar una segunda alícuota de dicho compuesto con un radioisótopo citotóxico para formar un agente radioterapéutico; y
 - e) administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del agente radioterapéutico al mamífero.
44. ⁷¹ Un método para tratar un tumor en un mamífero, que comprende los pasos de:
 - a) combinar una primera alícuota del compuesto de la reivindicación 20 con ^{99m}Tc para formar un agente de diagnóstico;
 - b) administrar una cantidad eficaz para diagnóstico del agente de diagnóstico al mamífero;
 - c) detectar el ^{99m}Tc acumulado en el mamífero, detectando así la presencia de un tumor que expresa el SSSTR;

- d) combinar una segunda alícuota de dicho compuesto con un radioisótopo citotóxico para formar un agente radioterapéutico; y
- e) administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del agente radioterapéutico al mamífero.
- 5 45. ^b Un método para tratar un tumor en un mamífero, que comprende los pasos de:
- a) combinar una primera alícuota de un compuesto que tiene una fórmula:
ciclo-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-(N-CH₂)Hcy(CH₂CO-b-Dap-Phe(4-NH₂)-Cys-Thr-Ser)
con ^{99m}Tc para formar un agente de diagnóstico;
- 10 b) administrar una cantidad eficaz para diagnóstico del agente de diagnóstico al mamífero;
- c) detectar el ^{99m}Tc acumulado en el mamífero, detectando así la presencia de un tumor que expresa el SSSTR;
- d) combinar una segunda alícuota de dicho compuesto con un radioisótopo para formar un agente radioterapéutico; y
- 15 e) administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del agente radioterapéutico al mamífero.
- 

RESUMEN

- La invención provee novedosos farmacóforos basados en péptidos y compuestos que se enlazan con gran afinidad a los receptores de la somatostatina y que presentan propiedades farmacocinéticas mejoradas frente a los análogos de somatostatina conocidos. Los
- 5 farmacóforos y compuestos de la invención pueden ser utilizados en forma marcada o no marcada para diagnosticar y/o tratar enfermedades de responsabilidad de la somatostatina. La invención también provee radiofármacos y equipos que comprenden estos compuestos, como también métodos para diagnosticar y/o tratar enfermedades mediadas por los receptores de la somatostatina.

11. Las fotos 71 y 72 son tarjetas de 2020/12/1.

72
74

EXTRACTO PARA PUBLICACION

SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION

DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

(21) No. SOLICITUD: (51) INT. CL.
(22) FECHA DE PRESENTACION: (71) SOLICITANTE: DIATIDE, INC.
(30) PRIORIDAD:
(31) No. DE SOLICITUD : 60/151,001; (72) INVENTOR/ES: JOHN LISTER-JAMES, RICHARD T.
09/397,792 DEAN, DANIEL A. PEARSON y DAVID M. WILSON.
(32) FECHA DE PRESENTACION : 27-08-99, 16-09-99 (74) APODERADO: CARLOS R. OLARTE
(33) PAIS: US/US

(54) TITULO : NOVEDOSOS ANALOGOS DE LA SOMATOSTATINA.

(57) RESUMEN :

La invención provee novedosos farmacóforos basados en péptidos y compuestos que se enlazan con gran afinidad a los receptores de la somatostatina y que presentan propiedades farmacocinéticas mejoradas frente a los análogos de somatostatina conocidos. Los farmacóforos y compuestos de la invención pueden ser utilizados en forma marcada o no marcada para diagnosticar y/o tratar enfermedades de responsabilidad de la somatostatina. La invención también provee radiofármacos y equipos que comprenden estos compuestos, como también métodos para diagnosticar y/o tratar enfermedades mediadas por los receptores de la somatostatina.

REQUISITOS MINIMOS PARA ADM

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Folios: 74

Radicacion : 00063458 00000000

Fecha (AMP): 2000-08-24 16:57:14

Trámite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

PATENTE DE INVENCION

- Nombre e identificación del Solicitante 1 []
- Nombre e identificación del Inventor 1 []
- Título o nombre de la invención 1 []
- Descripción 20 []
- Reivindicaciones 62 []
- Resumen 71 []
- Comprobante de Pago 3 []
- Poder, cuando proceda 9 []
- Copia de la primera solicitud de patente, si reivindica prioridad, señalándola expresamente []
- Firma del solicitante o apoderado 2 []

COMPLETA []

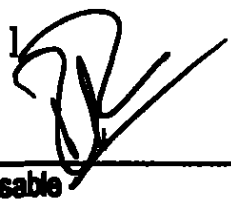
INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- Nombre e identificación del peticionario []
- Nombre e identificación del inventor o diseñador []
- Indicación del género de productos para los cuales debe utilizarse []
- Representación gráfica []
- Comprobante de pago []
- Poder, cuando proceda []
- Firma del solicitante o apoderado []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable 

Fecha: _____

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5 y 10
Conmutador: 334 12 21-23-4
Fax: 281 31 25 e-mail: info@sic.gov.co
Santa Fe de Bogotá D.C. - Colombia

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

PRIMER EXAMEN DE FORMA

EXPEDIENTE 00-63458

Practicado el examen jurídico de acuerdo con lo establecido en el art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de Patente de Invención:

- | | | |
|--|--|--|
| SI ☐ | NO ☒ | NO APLICABLE ☐ Presentó los poderes necesarios en forma correcta (Decisión 344, art. 14-a). |
| SI ☒ | NO ☐ | NO APLICABLE ☐ Acreditó, en forma correcta, la existencia y representación de la persona jurídica solicitante (art. 14-c de la Decisión 344; literal g) del art. 4 del Decreto 117/94). |
| SI ☒ | NO ☐ | NO APLICABLE ☐ Presentó, en forma correcta, el comprobante de pago por la tasa de presentación establecida (art. 13-f de la Decisión 344 y la Resolución 02 del 4 de Enero del 2000) |
| SI ☒ | NO ☐ | EXTEMPORANEAMENTE ☐ Reivindicó prioridad, dentro del plazo y de acuerdo con lo previsto en el Artículo 4 del Convenio de París. |
| SI ☐ | NO ☒ | NO APLICABLE ☐ Presentó copia, certificada su conformidad por la Administración que recibió la solicitud de la cual reivindica prioridad, al momento de radicar la solicitud nacional. |
| SI ☐ | NO ☒ | NO APLICABLE ☐ Presentó la traducción del capítulo reivindicatorio de la solicitud de la cual se reivindica prioridad (Art. 4, D-3 Convenio de París; Concepto: 5 de enero de 1999 S.I.C.). |
| SI ☐ | NO ☒ | CUMPLE LOS REQUISITOS JURIDICOS |

BSERVACIONES JURÍDICAS CONVENIO DE PARIS: Deberá presentar copia certificada su conformidad por la Administración que recibió la solicitud de la cual reivindica prioridad, en cualquier momento dentro del plazo de tres (3) meses, contados a partir de la fecha de depósito de la solicitud posterior. La omisión de esta formalidad implicará la pérdida del derecho de prioridad.

* Con el fin de reconocer personería al abogado que presenta la solicitud, es necesario que se allegue la sustitución del poder, otorgada por quien aparece como apoderado principal. Lo anterior de conformidad con el artículo 66 del Código de Procedimiento Civil.

En consecuencia, se conceptúa que esta solicitud:

SI ☐ NO ☒ Se ajusta a los aspectos **FORMALES** indicados en la Decisión 344 y por tanto,

SI ☐ NO ☒ Se recomienda **PUBLICAR** el extracto correspondiente.

Bogotá, D.C., 25 de Agosto del 2000

EXAMINADOR JURIDICO.
202022

Carrera 13 N° 27-00 Pisos 5° y 10°
Commutador 334 1221-2-3-4
Fax 281 3125
Santafé de Bogotá, D.C. - Colombia

1° EXAMEN DE FORMA

Radicación n° 00- 63458 .

CONCEPTO TÉCNICO N° 1825

Clasificación Internacional Patentes: A61K³⁸/16

Practicado el examen de acuerdo a lo establecido en el Art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de Patente de Invención:

- | | |
|--|---|
| SI ☒ NO ☐ | Contiene la identificación correcta del inventor (Art.8, Art.13-a). |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene la identificación correcta del solicitante (Artículo 13-a). |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene el resumen con el objeto y finalidad de la invención en forma correcta (Art.13-e). |
| SI ☐ NO ☒ | Contiene el título o nombre de la invención en forma correcta (Art.13-b). |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene la descripción clara y completa de la invención (Art.13-c). |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene los dibujos correctos (Art.14-c junto con el literal d) del Art. 4 del Dto. 117 del 94). |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene las unidades de medida en el sistema exigido (Art.14-c junto con el Decreto 3464 del 26 de diciembre de 1980). |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene una o más reivindicaciones. |
| SI ☐ NO ☒ | Contiene el extracto de acuerdo con el literal c) del artículo 4 del Dto. 117 /94. |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene el arte final del dibujo característico de acuerdo con el literal c) del artículo 4 y el artículo 27 del Dto. 117 /94. |
| SI ☐ NO ☒ | Contiene la tarjeta del Archivo Temático [formato P-104] en forma correcta (Art.14-c junto con el literal b) del artículo 4 del Dto. 117 /94). |
| SI ☐ NO ☒ | Contiene la tarjeta del Archivo de Propietarios [formato P-105] en forma correcta (Art.14-c junto con el literal b) del artículo 4 del Dto. 117 /94). |
| SI ☐ NO ☒ | CUMPLE LOS REQUISITOS TÉCNICOS |

OBSERVACIONES Y OTROS: SI ☐ NO ☒ ver hoja(s) anexa(s)

Bogotá, D.C., 15 de noviembre de 2000 .

202012

78

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

EXPEDIENTE 00-63458

AUTO 3027

DISPONE

ARTICULO PRIMERO: Conforme lo establece el artículo 22 de la Decisión 344 de la Comisión del Acuerdo de Cartagena, requiérese al solicitante, para que dentro del plazo de treinta (30) días hábiles siguientes a la fecha de notificación del auto, presente respuesta a las observaciones o complementa los antecedentes señalados en el examen de forma.

ARTICULO SEGUNDO: Notificar por estado el presente auto, advirtiéndolo que contra el no procede recurso alguno en la vía gubernativa.

NOTIFIQUESE Y CUMPLASE

Dado en Bogotá D.C., a los 21 NOV 2001

EL JEFE DE LA DIVISION DE NUEVAS CREACIONES,

ALIX CARMEN LA CESPEDES DE VERGEL

NOTIFICADO POR ESTADO

Bogotá D.C., 23 NOV 2001 notificado por anotación en estado de esta misma fecha.

VENCIMIENTO NOTIFICACION ESTADO

SOLICITO PRORROGA TERMINO SI ____ NO ____

VENCIMIENTO TERMINO PRORROGA

202022