



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0112859-0 B1

(22) Data do Depósito: 30/07/2001

(45) Data de Concessão: 01/03/2016
(RPI 2356)



(54) Título: ANÁLOGOS DE SOMATOSTATINA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, BEM COMO USO DOS REFERIDOS ANÁLOGOS

(51) Int.Cl.: C07K 7/00

(30) Prioridade Unionista: 01/08/2000 GB 00 18891.2

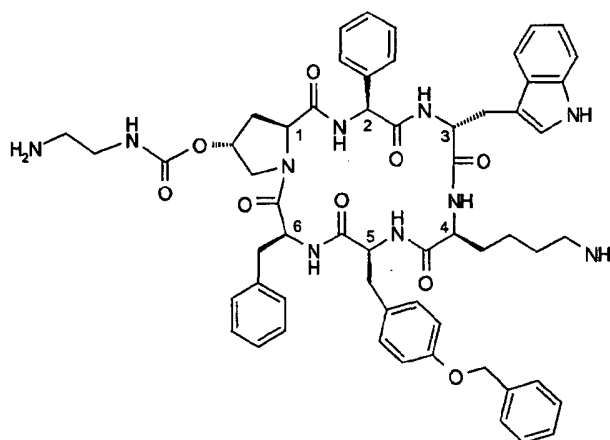
(73) Titular(es): NOVARTIS AG

(72) Inventor(es): RAINER ALBERT, WILFRIED BAUER, DAVID BODMER, CHRISTIAN BRUNS, IVO FELNER, HERIBERT HELLSTERN, IAN LEWIS, MARK MEISENBACH, GISBERT WECKBECKER, BERNHARD WIETFELD

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**ANÁLOGOS DE SOMATOSTATINA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, BEM COMO USO DOS REFERIDOS ANÁLOGOS**".

A presente invenção refere-se aos peptidomiméticos de somatostatina, a um processo para a sua produção e às preparações farmacêuticas contendo os mesmos.

Mais particularmente, a presente invenção proporciona o composto de fórmula



também chamado ciclo[4-(NH₂-C₂H₄-NH-CO-O-)Pro]-Phg-DTrp-Lys-Tyr(4-Bzl)-Phe], referido aqui como Composto A, bem como os seus diastereoisômeros e misturas, na forma livre, na forma de sal ou de complexo ou na forma protegida. Phg significa -HN-CH(C₆H₅)-CO- e Bzl significa benzila.

O Composto A na forma protegida corresponde à molécula acima descrita, em que pelo menos um dos grupos amino está protegido e a qual, por desproteção, resulta no Composto A, de preferência fisiologicamente removível. Os grupos protetores de amino adequados são, por exemplo, como divulgados em "Protective Groups in Organic Synthesis", T. W. Greene, J. Wiley & Sons NY (1981), 219-287, os conteúdos do mesmo sendo incorporados aqui por referência. O exemplo de um tal grupo protetor de amino é a acetila.

Quando o Composto A existir na forma de complexo, ele pode convenientemente ser um Composto A contendo um grupo quelante sobre o grupo amino da cadeia lateral de Pro e formar complexo com um elemento detectável ou radioterapêutico. O Composto A contendo um grupo quelante

é referido aqui como Composto A conjugado.

Os exemplos de grupos quelantes incluem, por exemplo, aqueles derivados de ácidos ou anidridos poli-aminopolicarboxílicos, por exemplo, aqueles derivados de ligantes não cíclicos, por exemplo, ácido dietileno triamina pentacético (DTPA), ácido etileno glicol-0,0'-bis(2-aminoetil)-N,N,N',N'-tetracético (EGTA), ácido N,N'-bis(hidroxibenzil)etilenodiamina-N,N'-diacético (HBED) e ácido trietilenotetramina hexacético (TTHA), aqueles derivados de DTPA substituído, por exemplo, p-isotiocianato-benzil-DTPA, aqueles derivados de ligantes macrocíclicos, por exemplo, ácido 1,4,7,10-tetra-azaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetracético (DOTA) e ácido 1,4,8-11-tetraazaciclotetradecano-N,N',N'',N'''-tetracético (TETA), ou ácido 1,4,7,10-tetraazaciclotridecano-N,N',N'',N'''-tetra-acético (TITRA).

O grupo quelante pode estar ligado diretamente ou através de um espaçador ao grupo amino da cadeia lateral de Pro. Os espaçadores adequados incluem aqueles conhecidos na técnica, por exemplo, como divulgados na GB-A-2.225.579, por exemplo o resíduo divalente de um ácido amino-carboxílico, por exemplo β -Ala ou um resíduo divalente derivado de ácido 6-amino-capróico.

Os grupos quelantes preferidos são aqueles derivados de DTPA, DOTA ou TETA. Os grupos quelantes derivados de DTPA ou DOTA são os mais preferidos.

Por elemento detectável é significado qualquer elemento, preferivelmente um íon de metal, que exiba uma propriedade detectável in vivo por técnicas diagnósticas, por exemplo, um íon de metal que emita uma radiação detectável ou um íon de metal que seja capaz de influenciar as propriedades de relaxação de RMN. Por elemento radioterapêutico é significado qualquer elemento que emita uma radiação tendo um efeito benéfico sobre as condições a serem tratadas.

Os elementos adequados incluem, por exemplo, os elementos pesados ou os íons de terras raras, por exemplo, como usados na varredura por CAT (Tomografia axial por computador), os íons paramagnéticos, por exemplo, Gd^{3+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} e Cr^{2+} , os íons de metais fluorescentes, por

exemplo, Eu^{3+} , e os radionuclídeos, por exemplo, um radiolantanídeo, particularmente um radiolantanídeo emissor de γ , radionuclídeo emissor de β , radionuclídeo emissor de α , radionuclídeo emissor de Auger- e^- ou um radionuclídeo emissor de pósitron, por exemplo, ^{68}Ga , ^{18}F ou ^{86}Y .

5 Os radionuclídeos emissores de γ adequados incluem aqueles que são úteis em técnicas diagnósticas. Os radionuclídeos emissores de γ vantajosamente têm uma meia-vida de 1 hora a 40 dias, preferivelmente de 5 horas a 4 dias, mais preferivelmente de 12 horas a 3 dias. Os exemplos são os radioisótopos de Gálio, Índio, Tecnécio, Itérbio, Rênio, Térbio, Lutécio, Tálcio e Samário, por exemplo, ^{67}Ga , ^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{161}Tb , ^{169}Yb , ^{186}Re ou ^{177}Lu .

Os radionuclídeos emissores de β adequados incluem aqueles que são úteis em aplicações radioterapêuticas, por exemplo ^{90}Y , ^{67}Cu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{169}Er , ^{121}Sn , ^{127}Te , ^{177}Lu , ^{143}Pr , ^{198}Au , ^{109}Pd , ^{165}Dy , ^{142}Pr ou ^{153}Sm .

15 Os radionuclídeos emissores de α adequados são aqueles que são usados em tratamentos terapêuticos, por exemplo ^{211}At , ^{212}Bi ou ^{201}Tl .

O Composto A pode existir, por exemplo, na forma livre ou de sal. Os sais incluem os sais de adição ácidos com, por exemplo, ácidos inorgânicos, ácidos poliméricos ou ácidos orgânicos, por exemplo com ácido
20 clorídrico, ácido acético, ácido láctico, ácido aspártico, ácido benzóico, ácido succínico ou ácido pamóico. Os sais de adição ácidos podem existir como sais mono- ou divalentes, por exemplo, dependendo de se 1 ou 2 equivalentes de ácido forem adicionados ao Composto A na forma de base livre. Os sais preferidos são o lactato, o aspartato, o benzoato, o succinato e
25 o pamoato, incluindo os mono- e os dissais, mais preferivelmente o dissal de aspartato e o monossal de pamoato.

O Composto A conjugado pode adicionalmente existir nas formas de sais obteníveis com os grupos ácido carboxílico quando presentes no grupo quelante, por exemplo, os sais de metais alcalinos, tais como o
30 sódio ou o potássio, ou os sais de amônio substituídos ou não-substituídos.

A presente invenção também inclui um processo para a produção do Composto A. Ele pode ser produzido em analogia aos métodos co-

nhecidos, por exemplo:

- a) ciclização de um peptídeo linear na forma protegida, ligada a polímero ou desprotegida, em um modo tal que o Composto A seja obtido e então opcionalmente remoção do(s) grupo(s) protetor(es),
- b) para produzir um Composto A conjugado ligando conjuntamente um grupo quelante e o Composto A na forma protegida ou desprotegida e então opcionalmente remoção do grupo protetor, e recuperação do Composto A ou de um Composto A conjugado assim obtido, na forma livre, na forma de sal ou opcionalmente formando complexo com um elemento detectável ou radioterapêutico.

Geralmente não é crítico qual aminoácido é selecionado para estar na posição C-terminal para iniciar a cadeia peptídica, visto que o peptídeo linear será ciclizado, com a condição somente que a seqüência de aminoácidos no peptídeo linear corresponda àquela no Composto A. Entretanto, pode haver outros fatores que podem preferir um aminoácido de partida sobre um outro. Quando o Composto A for preparado por síntese em fase sólida, o primeiro aminoácido é preferivelmente ligado à resina, por exemplo, uma resina à base de poliestireno comercialmente disponível, através de um ligador adequado, por exemplo, um ligador que seja capaz de clivagem sob condições brandas para manter intacta a proteção da cadeia lateral, por exemplo, SASRIN ou um ligador à base de tritila opcionalmente substituído, por exemplo o ácido 4-(hidróxi-difenil-metil)-benzóico, em que um dos grupos fenila pode opcionalmente ser substituído, por exemplo, por Cl. A formação da cadeia peptídica desejada pode ser efetuada na maneira convencional, por exemplo, usando unidades de aminoácidos nas quais o grupo amino terminal está protegido com Fmoc, os grupos amino da cadeia lateral, onde presentes, estando protegidos com um grupo protetor de amino diferente, por exemplo, Boc ou CBO. De preferência, o peptídeo linear é ciclizado em um modo tal para produzir uma ligação entre Tyr(4-Bzl)-OH e Phe, por exemplo, Phe-{4-(NHR₁-C₂H₄-NH-CO-O-)Pro}-Phg-DTrp(R₂)-Lys(ε-NHR₃)-Tyr(4-Bzl)-OH ou um seu derivado funcional, em que cada um de R₁,

R_2 e R_3 é um grupo protetor de amino. A etapa de ciclização a) pode convenientemente ser efetuada de acordo com método conhecido, por exemplo, por meio de uma azida, um éster ativo, um anidrido misto ou uma carbodii-
 5 de clivagem, por exemplo, com trifluoracético ou por hidrogenação.

A ciclização do peptídeo pode também ser efetuada diretamente sobre o suporte sólido, o primeiro aminoácido estando em uma forma protegida $N\alpha$ - e C-terminal e ligado através de uma cadeia lateral, por exemplo, a função ϵ -amino de Lys ou por ancoragem da cadeia principal. A sequência
 10 linear é então sintetizada seguindo os procedimentos padrão de síntese em fase sólida (SPPS). Após clivagem da proteção C-terminal, o peptídeo é ciclizado, por exemplo, conforme descrito acima. Após isso, o peptídeo cíclico é clivado da resina e desprotegido.

Se desejado, a cadeia lateral presente sobre Pro pode ser introduzida sobre o aminoácido antes ou após a etapa de ciclização do peptídeo
 15 a). Assim, a Pro como um aminoácido de partida ou um peptídeo linear ou cíclico de partida, em que em cada caso Pro é substituída no anel por OH, pode ser convertida para proporcionar o Composto A ou a unidade Pro desejada ou o peptídeo linear correspondente, respectivamente, em que aPro
 20 é substituída por $NHR_1-C_2H_4-NH-CO-O-$.

A formação de complexo de um Composto A conjugado pode ser efetuada por reação do Composto A conjugado com um elemento detectável ou radioterapêutico correspondente, produzindo composto, por exemplo, um sal de metal, preferivelmente um sal solúvel em água. A reação pode ser
 25 realizada por analogia com métodos conhecidos, por exemplo, conforme divulgado em Perrin, Organic Ligand, Chemical Data Series 22. NY Pergamon Press (1982); em Krejcarit e Tucker, Biophys. Biochem. Res. Com. 77: 581 (1977) e em Wagner e Welch, J. Nucl. Med. 20: 428 (1979).

Os seguintes exemplos são ilustrativos da invenção. Todas as
 30 temperaturas estão em °C.

Abreviações:

AcOH = ácido acético

	Boc	= terc.-butóxi-carbonila
	Bzl	= benzila
	CBO	= carbobenzóxi
	DIPCI	= N,N'-diisopropilcarbodiimida
5	DIPEA	= diisopropiletilamina
	DMF	= dimetilformamida
	DPPA	= difenilfosforilazida
	Fmoc	= fluorenilmetoxycarbonila
	HOBt	= 1-hidroxibenzotriazol
10	Osu	= N-hidroxissuccinimida
	TFA	= ácido trifluoracético
	THF	= tetraidrofurano

Exemplo 1: Ciclo[{4-(NH₂-C₂H₄-NH-CO-O-)Pro}-Phg-DTrp-Lys-Tyr(4-Bzl)-Phe]

a) Síntese de Fmoc-Pro[4-OCO-NH-CH₂-CH₂-NH-Boc)-OH

15 O cloridrato de éster L-hidroxiprolina metílico é reagido com Fmoc-OSu em carbonato de sódio a 1,0 N aquoso/THF, na temperatura ambiente. Após o término da reação, a Fmoc-Pro(4-OH)-OMe é isolada por precipitação. A Fmoc-Pro(4-OH)-OMe é então adicionada, gota a gota, a uma solução de trisfogênio (0,6 eq.) em THF, para dar um intermediário de

20 clorocarbonato. Após 1 h, a dimetilaminopiridina (1,0 eq.) e o N-Boc-diaminoetano (6,0 eq.) são adicionados e a reação é agitada na temperatura ambiente. Após o término da reação, o solvente é removido *in vacuo* e a Fmoc-Pro(4-OCO-NH-CH₂-CH₂-NH-Boc)-OMe é extraída de um sistema de duas fases de acetato de etila/HCl a 0,1 M, para dar o produto bruto (MH⁺ = 554),

25 o qual é purificado por cristalização a partir de acetato de etila. O éster metílico é então clivado ao ácido livre por tratamento com NaOH a 1N em dioxano/água e o produto Fmoc-Pro[4-OCO-NH-CH₂-CH₂-NH-Boc)-OH é purificado sobre sílica gel, [(M+Na)]⁺ = 562).

b) H-Phe-Pro(4-OCO-NH-CH₂-CH₂-NH-Boc)-Phg-DTrp(Boc)-Lys(Boc)-Tyr(Bzl)-OH

30 OH

A resina de Fmoc-Tyr(Bzl)-O-CH₂-Ph(3-OCH₃)-O-CH₂-Poliestireno comercialmente disponível (resina SASRIN-2,4 mM) é usada como material

de partida e levada através de um protocolo padrão consistindo em ciclos repetitivos de desproteção de N α (Piperidina/DMF, 2:8), lavagens repetidas com DMF e ligação (DIPCl: 4,8 mM/HOBT: 6 mM, DMF). Os seguintes derivados de aminoácidos são seqüencialmente ligados: Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-DTrp(Boc)-OH, Fmoc-Phg-OH, Fmoc-Pro(4-OCO-NH-CH₂-CH₂-NH-Boc)-OH, Fmoc-Phe-OH. As ligações (2 eq. de aminoácidos) são continuadas e repetidas até o término, isto é, até o desaparecimento completo de grupos amino residuais, o qual é monitorado por um teste com Ninidrina 'Kaiser' negativo. Antes da clivagem do peptídeo linear protegido, completamente montado, de seu suporte de resina, a proteção de N α -Fmoc do último resíduo é removida.

c) H-Phe-Pro(4-OCO-NH-CH₂-CH₂-NH-Boc)-Phg-DTrp(Boc)-Lys(Boc)-Tyr(Bzl)-OH

Após lavagens com CH₂Cl₂, a resina com peptídeo é transferida para uma coluna ou um filtro de sucção agitado e o fragmento peptídico é clivado e eluído com um curto tratamento com 2% de TFA em CH₂Cl₂ dentro de 1 h. O eluato é imediatamente neutralizado com uma solução saturada de NaHCO₃. A solução orgânica é separada e evaporada e o precursor protegido na cadeia lateral (MH⁺ 1366) é ciclizado sem purificação adicional.

d) trifluoracetato de ciclo[-Pro(4-OCO-NH-CH₂-CH₂-NH₂)-Phg-DTrp-Lys-Tyr(Bzl)-Phe-]

O fragmento linear acima descrito é dissolvido em DMF (4 mM), esfriado até menos 5°C e tratado com 2 eq. de DIPEA, então 1,5 eq. de DPPA e agitado até o término (cerca de 20 h) a 0-4°C. O solvente foi quase completamente removido em vácuo; o concentrado é diluído com acetato de etila, lavado com NaHCO₃, água, secado e evaporado em vácuo.

Para a desproteção, o resíduo é dissolvido a 0°C em TFA/H₂O a 95:5 (cerca de 50 mM) e agitado no frio por 30 min. O produto é então precipitado com éter contendo cerca de 10 eq. de HCl, filtrado, lavado com éter e secado. A fim de completamente decompor o Ácido indol-N-carbamínico restante, o produto é dissolvido em 5% de AcOH e liofilizado após 15 h em torno de 5°C. A RP-HPLC preparativa é realizada sobre uma coluna C-18 de

10 μm STAGROMA (5-25 cm), usando um gradiente de 0,5% de TFA até 0,5% de TFA em 70% de acetonitrila. As frações contendo o composto do título puro são combinadas, diluídas com água e liofilizadas. O liofilizado é dissolvido em água, seguido por precipitação com 10% de Na_2CO_3 em água.

- 5 A base livre sólida é filtrada de, lavada com água e secada em vácuo na temperatura ambiente. O pó branco resultante é diretamente usado para os diferentes sais.

Exemplo 2: Ciclo[{4-($\text{NH}_2\text{-C}_2\text{H}_4\text{-NH-CO-O-}$)Pro}-Phg-DTrp-Lys-Tyr(4-Bzl)-Phe] na forma de sal

- 10 a. Acetato

A conversão na forma de sal de acetato é efetuada usando uma resina trocadora de íons (por exemplo, AG 3-X4). EM (ESI): m/z 524,5 $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -42^\circ$, $c = 0,25$ em AcOH a 95%

- b. Aspartato

- 15 A conversão no mono- ou diaspartado é obtida por reação de 1 equivalente do composto do Exemplo 1 com 1 ou 2 equivalentes de ácido aspártico, em uma mistura de acetonitrila/água a 1:3. A mistura resultante é congelada e liofilizada. O diaspartato pode também ser obtido por dissolução do composto do Exemplo 1 em água/acetonitrila a 4:1, filtração, carga
20 sobre uma resina trocadora de íons, por exemplo, a coluna AG4X4 da Bio-Rad, e eluição com água/acetonitrila a 4:1. O eluato é concentrado, congelado e liofilizado. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -47,5^\circ$, $c = 2,5$ mg/ml em metanol

- c. Benzoato

- 25 A conversão ao benzoato pode ser obtida por dissolução do composto do Exemplo 1 com 2 equivalentes de ácido benzóico em uma mistura de acetonitrila/água a 1:2. A mistura resultante é congelada e liofilizada.

- d. Pamoato

- 30 1 equivalente do composto do Exemplo 1 é dissolvido juntamente com 1 equivalente de ácido embônico em uma mistura de acetonitrila/THF/água a 2:2:1. A mistura resultante é congelada e liofilizada.

Exemplo 3: Ciclo[{4-(DOTA-NH-C₂H₄-NH-CO-O-)Pro}-Phg-DTrp-Lys-Tyr(4-Bzl)-Phe

a) trifluoracetato de ciclo[-Pro(4-OCO-NH-CH₂-CH₂-NH₂)-Phg-DTrp-Lys(Cbo)-Tyr(Bzl)-Phe-]

- 5 O composto é sintetizado no mesmo modo como o trifluoracetato de ciclo[-Pro(4-OCO-NH-CH₂-CH₂-NH₂)-Phg-DTrp-Lys(Cbo)-Tyr(Bzl)-Phe-], por utilização de Fmoc-Lys(Cbo)-OH em vez de Fmoc-Lys(Boc)-OH.
- b) 400 mg de DOTA x 2H₂O comercialmente disponível (SYMAFEX - França) são dissolvidos em 20 ml de água. Após a adição de 20 ml de DMF, 170
- 10 mg de ciclo[-Pro(4-OCO-NH-CH₂-CH₂-NH₂)-Phg-DTrp-Lys(CBO)-Tyr(Bzl)-Phe-], juntamente com 190 mg de DCCI e 60 mg de N-hidroxissuccinimida são adicionados. A suspensão resultante é mantida na temperatura ambiente por 72 horas. Após filtração, o solvente é removido sob pressão reduzida e o bruto restante é purificado sobre sílica gel (DCM/MeOH/HOAc_{50%}
- 15 8/2/0,25 → 7/3/1 como fase móvel).
- c) Para a desproteção, o conjugado de DOTA é tratado com 5 ml de ácido trifluoracético/tioanisol (9/1) por duas horas, na temperatura ambiente. Após isto, a solução é vertida em uma mistura de 100 ml de éter dietílico + 5 ml de HCl a 3N/éter dietílico e o precipitado resultante é isolado por filtração. A
- 20 purificação é efetuada sobre sílica gel usando DCM/MeOH/HOAc_{50%} 7/4/2 → 7/5/4 como fase móvel. O produto final analiticamente puro é obtido após uma etapa de dessalinização usando um gradiente de 0,1% de TFA até 0,1% de TFA em 90 % de CH₃CN sobre uma coluna RP₁₈-HPLC (Spherisorb 250 x 4,5 mm). MH⁺: 1434,7

- 25 O Composto A na forma livre ou na forma de sais e complexos farmaceuticamente aceitáveis exibe propriedades farmacológicas valiosas, como indicadas em testes in vitro e in vivo e é, portanto, indicado para terapia.

- 30 Mais particularmente, o Composto A exibe um perfil de ligação interessante para os receptores de somatostatina humanos (hsst), particularmente com respeito ao hsst1, hsst2, hsst3 e hsst5. Os subtipos de receptor de somatostatina 5, sst1, sst2, sst3, sst4 e sst5 foram clonados e ca-

racterizados. O hsst1, o hsst2 e o hsst3 e as suas seqüências foram divulgados por Y. Yamada et al em Proc. Nat. Acad. Sci., 89, 251-255 (1992). O hsst4 e a sua seqüência foram divulgados por L. Rohrer et al em Proc. Acad. Sci., 90, 4196-4200 (1993). O hsst5 e a sua seqüência foram descritos por R. Panetta et al em Mol. Pharmacol. 45, 417-427, 1993.

Os ensaios de ligação podem ser realizados como divulgado abaixo, usando membranas a partir de linhas de células expressando seletiva e estavelmente hsst1, hsst2, hsst3, hsst4 ou hsst5, por exemplo, as células de CHO ou COS.

As membranas são preparadas de acordo com métodos conhecidos, por exemplo, como divulgado por C. Bruns et al em Biochem. J., 1990, 65, páginas 39-44. As membranas preparadas a partir de linhas de células seletivas para hsst, por exemplo, as células de CHO ou COS estavelmente expressando hsst1 ou hsst2 ou hsst3 ou hsst4 ou hsst5, são incubadas em triplicata, em um volume total de 300 µl, à 22°C, por 30 min, com concentrações crescentes de [¹²⁵I-Tyr¹¹]-SRIF-14 em 10 mmoles/l de tampão de Hepes (pH 7,6) contendo 0,5% de BSA. A incubação é terminada por filtração rápida e os filtros são contados em um contador. A ligação específica é a ligação total menos a ligação não-específica na presença de 1 µmol/l de somatostatina-14. As experiências são realizadas em triplicata. A constante de afinidade (K_D) e o número de locais de ligação são calculados usando estatística e programas de gráficos apropriados.

O Composto A tem nos ensaios de ligação acima mencionados, com relação ao hsst1, ao hsst2, ao hsst3 e/ou ao hsst5, uma IC₅₀ na faixa de nMolar, preferivelmente uma IC₅₀ de 0,1 a 10 nM (IC₅₀ = concentração para a inibição semimáxima em um ensaio de ligação por competição usando [¹²⁵I-Tyr¹¹]-SRIF-14 como o radioligante específico para hsst1-5.

IC₅₀

	hsst1	hsst2	hsst3	hsst4	hsst5
Composto A	9,3 nM±0,1	1,0 nM±0,1	1,5 nM±0,3	>100 nM	0,16nM±0,1

O Composto A também se liga aos receptores de secretagogos do hormônio do crescimento. Tais receptores são divulgados por G. Muccioli

et al, J. Endocrinol. 1998, 157, 99-106, por H. Ong et al, em Endocrinology 1998, 139, 432-435 e por R.G. Smith et al, Horm. Res., 1999, 3), 1-8. O ensaio de ligação a estes receptores pode ser efetuado conforme divulgado em J. Endocrinol. Invest. 24:RC1-RC3, 2001. Neste ensaio, o Composto A remove a ^{125}I -Tyr-Ala-hexarelina. O Composto A é, desse modo, útil para modular a atividade de receptores de secretagogos do hormônio do crescimento, por exemplo, indicando uma possível função no ganho de peso do corpo ou na regulação metabólica.

Além disso, o Composto A mostra atividade de inibição da liberação do GH, conforme indicada pela inibição da liberação do GH in vitro a partir de células pituitárias cultivadas. Por exemplo, as glândulas pituitárias anteriores de ratos machos adultos são cortadas em pequenos pedaços e dispersadas usando 0,1 % de tripsina em 20 mM de tampão de HEPES. As células dispersadas são cultivadas por quatro dias em MEM (Gibco) suplementado com 5 % de soro de bezerro fetal, 5% de soro de cavalo, 1 mM de NaHCO_3 , 2,5 nM de dexametasona, 2,5 mg/ml de insulina e 20 U/ml de Pen/Estrep. No dia da experiência, as células ligadas são lavadas duas vezes com meio Krebs-Ringer tamponado com 20 mM de HEPES e suplementado com 5 mM de glicose e 0,2 % de BSA. Subseqüentemente, as células são incubadas por três horas com o Composto A na presença de 3×10^{-10} M de fator de liberação do hormônio do crescimento. A quantidade de hormônio do crescimento liberado para o meio é medida por RIA. O Composto A tem uma IC_{50} de 0,4 nM neste ensaio.

O Composto A inibe a liberação do hormônio do crescimento (GH) em ratos. O Composto A é administrado s.c. a ratos anestesiados. O sangue é coletado após a decapitação 1 h após a administração do composto. A duração da ação é estimada na base da inibição da secreção de GH basal 6 h após o tratamento com a droga. Os níveis de hormônio são medidos por RIA 1 h e 6 h após o tratamento. O valor de ID_{50} para a inibição da secreção de hormônio é determinado graficamente (log-probit) para cada experiência e os valores resultantes têm a média tirada logaritmicamente. Neste modelo in vivo, o Composto A inibe significativamente a liberação do

hormônio do crescimento com uma longa duração de ação (ID_{50} média basal = 5,5 $\mu\text{g/kg}$ s.c. 6 h). Em um ensaio similar para a medição do efeito sobre a insulina, o Composto A inibe a secreção de insulina.

5 A inibição potente e eficaz do GH foi também confirmada em estudos com macacos. Além disso, os estudos metabólicos em macacos diabéticos demonstraram um potente efeito antidiabético/sensibilizador de insulina do Composto A.

Além disso, o Composto A inibe os níveis plasmáticos de IGF-1 in vivo, como indicado em testes padrões usando ratos machos. Resumida-
10 mente, o Composto A é administrado por bomba osmótica implantada s.c. em ratos machos da linhagem de Lewis. As amostras sangüíneas são coletadas do plexo retrobulbar usando uma anestesia curta com, por exemplo, isoflurano. Neste ensaio, o Composto A significativamente diminui os níveis plasmáticos de IGF-1 com um efeito de longa duração: por exemplo, mais
15 do que 60% de inibição é observada após 14 dias de tratamento com 10 $\mu\text{g/kg/h}$ de Composto A. Mais particularmente, não pôde ser observado nenhum escape após o tratamento contínuo em receptores de ratos de aloenxertos de aorta ou rim continuamente infundidos com o Composto A à 10 $\mu\text{g/kg/h}$ até 126 dias, que induz uma diminuição significativa e persistente
20 dos níveis plasmáticos de IGF-1.

O Composto A é, desse modo, útil para a prevenção ou o tratamento de distúrbios com uma etiologia compreendendo, ou associada com, secreção de GH excessiva e/ou excesso de IGF-1, por exemplo, no tratamento de acromegalia, bem como no tratamento de diabetes melito do tipo I
25 ou do tipo II, especialmente as suas complicações, por exemplo, a angiopatia, a retinopatia proliferativa diabética, o edema macular diabético, a nefropatia, a neuropatia e o fenômeno do amanhecer, e outros distúrbios metabólicos relacionados à liberação de insulina ou de glucagon, por exemplo, a obesidade, por exemplo, a obesidade mórbida ou a obesidade hipotalâmica
30 ou hiperinsulinêmica. O Composto A é também útil no tratamento de fístula enterocutânea e pancreaticocutânea, síndrome do intestino irritável, doenças inflamatórias, por exemplo, a Doença de Grave, a doença inflamatória

do intestino, a psoríase ou a artrite reumatóide, a doença do rim policístico, a síndrome do esvaziamento rápido, a síndrome da diarreia aguada, a diarreia relacionada à AIDS, a diarreia induzida por quimioterapia, a pancreatite aguda ou crônica e os tumores secretores de hormônios gastrointestinais (por exemplo, os tumores de GEP, por exemplo os vipomas, os glucagonomas, os insulinomas, os carcinóides e similares), as malignidades de linfócitos, por exemplo, os linfomas ou as leucemias, o carcinoma hepatocelular, bem como o sangramento gastrointestinal, por exemplo, o sangramento esofágico varicoso.

10 O Composto A é também útil no tratamento de tumores que são positivos para o receptor de somatostatina, por exemplo, os tumores contendo *hsst1*, *hsst2*, *hsst3* e/ou *hsst5*, como indicado nos testes de proliferação com diversas linhas de células de câncer contendo tais receptores de somatostatina.

15 A linha de células de tumor pancreáticas de ratos AR42J é derivada de um tumor pancreático exócrino induzido por azaserina (Jessop e Hay, 1980). As culturas sem células de mycoplasma são propagadas em DMEM suplementado com 10 % de soro de bezerro fetal (FCS) em 5 % de CO₂. As células são desenvolvidas na ausência de antibióticos ou agentes antifúngicos. As células AR42J subconfluentes são tripsinizadas, diluídas em DMEM + 2,5 % de FCS e semeadas em placas com 96 cavidades não revestidas. Após um período de incubação de 48 h (Dia 0), o número de células em uma placa de controle separada é determinado tanto por contagem das células em um contador Coulter, quanto pelo ensaio colorimétrico de SRB. As células são então expostas ao Composto A por 2 a 5 dias em diversas concentrações e então contadas. Sob estas condições, o Composto A inibe a proliferação das células de tumor em concentrações variando de 10⁻¹² a 10⁻⁶ M.

Estudos de desenvolvimento do tumor in vivo

30 Os camundongos nus fêmeas pesando 19-22 g são mantidos em grupos de 5 animais e têm livre acesso à água potável e a uma dieta de rodente sem patógeno. Os tumores subcutâneos são iniciados a partir das

células AR42J cultivadas. O tratamento começa 2-4 dias seguindo a inoculação das células de tumor, o Composto A é administrado como uma infusão contínua, por exemplo, em uma taxa de 10 a 50 µg/kg/h. O tamanho dos tumores é determinado com um calibrador. Para os cálculos estatísticos é aplicado o teste t de Student. Neste ensaio, o Composto A inibe o desenvolvimento do tumor no dia 11 em 51 % vs. o controle de salina.

O Composto A é assim útil para o tratamento de doenças proliferativas de células malignas, por exemplo, os tumores de câncer, particularmente os tumores contendo os tipos de receptores de somatostatina aos quais ele tem uma afinidade de ligação, por exemplo, conforme divulgado abaixo para o Composto A conjugado formando complexo.

O Composto A também tem um efeito inibidor sobre a angiogênese, conforme indicado em testes padrões, por exemplo, em camundongos nus. Resumidamente, as células de tumor ($0,1$ a 10×10^6 em $0,1$ ml) (células SiHa e células MDA MB-231 preparadas conforme divulgado em Angiogenesis, Ed. por R. Steiner, P.B. Weisz e R. Langer, 1992, Suíça) são inoculadas de forma intracutânea. Normalmente são injetados dois locais ventrais do meio/camundongo, os quais estão localizados distantes dos vasos ventrais principais da pele de modo que a contagem de vasos de fundo seja baixa. Os grupos de controle recebem $0,1$ ml de azul tripano a $0,02$ % em PBS. 10 dias seguindo a injeção, os camundongos anestesiados são sacrificados por inalação de CO_2 . A pele é fixada sobre um anel plástico (diâmetro de 40 mm) para a avaliação por um microscópio invertido (Zeiss IM) em aumento de $12,5$ e 25 vezes. Como uma medição da angiogênese, os vasos são fotografados e aqueles são contados que estão diretamente associados com o tumor. Nos animais de controle, aqueles vasos são contados que estão associados a uma área definida em torno do local da injeção. Esta área corresponde à área média dos tumores dérmicos. Esta é determinada pelo uso de um calibrador de acordo com a equação $3,14 \times r^2$. O Composto A é administrado s.c. no dia da inoculação do tumor ou 3 dias mais tarde. Os animais de controle são tratados com veículo. Neste ensaio, o Composto A inibe a formação de vasos sanguíneos quando administrado em uma dose

de, por exemplo, 0,01 a 1000 µg/kg s.c.

O Composto A é assim útil para a prevenção ou o tratamento de angiogênese, distúrbios inflamatórios conforme indicados acima, incluindo as doenças inflamatórias dos olhos, o edema macular, por exemplo, o edema macular cistóide, o edema macular cistóide idiopático, a degeneração macular relacionada à idade exsudativa, os distúrbios relacionados à neovascularização coróide e a retinopatia proliferativa.

O Composto A também tem um efeito inibidor sobre a proliferação e a migração de células do músculo liso, conforme indicadas nos testes que se seguem.

Rejeição Crônica ao Aloenxerto

O rim de um rato macho DA (RT1^a) é transplantado de forma ortotópica para um receptor de Lewis macho (RT1¹). No total, 24 animais são transplantados. Todos os animais são tratados com a ciclosporina A em 7,5 mg/kg/dia per os por 14 dias, começando no dia da transplantação, para impedir a rejeição celular aguda. A nefrectomia contralateral não é efetuada. Cada grupo experimental tratado com uma dose distinta de Composto A ou placebo compreende seis animais. Começando 14 dias após a transplantação, os animais receptores são tratados até 112 dias por infusão com o Composto A ou recebem placebo. Em 14 dias após a transplantação, a perfusão do órgão é medida por MRI. Isto é repetido nos dias 53-64 após a transplantação e no final da experiência. Os animais são então autopsiados. A administração do Composto A em uma dose de 10 µg/kg/h neste modelo de aloenxerto de rim de rato resulta em uma perfusão de órgão melhorada, bem como em uma redução na remodelagem vascular relacionada à rejeição crônica e na infiltração do enxerto (rejeição celular). Uma queda acentuada e persistente dos níveis de IGF-1 também foi medida. Estes resultados foram confirmados em um segundo grupo de experiências usando um modelo de alotransplantação de coração de camundongo heterotópico, demonstrando os efeitos benéficos sobre a remodelagem vascular, bem como na infiltração do enxerto.

O Composto A foi também testado em um modelo de transplan-

tação de alça de artéria carótida usando camundongos B10.A (2R) (H-2h²) como doador e camundongos B10.BR (H-2^k) como receptor. Em resumo, a artéria carótida do doador é transplantada de forma paratópica como uma alça na artéria carótida do receptor por uma anastomose da extremidade até o lado. Uma minibomba é colocada s.c. imediatamente após a transplantação que distribui o Composto A em uma taxa de 50 µg/kg/h. Os enxertos de artéria carótida são coletados em 30 dias após a transplantação, para analisar a remodelagem vascular, por exemplo, através de análise morfométrica de secções de parafina tingida com elastina de Verhoeff, usando um sistema auxiliado por computador. Neste modelo, o Composto A inibe a formação neoíntima comparada com os animais não tratados, onde é formada uma grande neoíntima.

Angioplastia

Os estudos sobre a angioplastia são feitos no modelo de ratos de lesão por sonda em balão. O cateterismo em balão é efetuado no dia 0, essencialmente conforme descrito por Powell et al (1989). Sob anestesia de isoflurano, uma sonda Fogarty 2F é introduzida na artéria carótida comum esquerda, para obter uma des-endotelialização uniforme. A sonda é então removida, uma ligadura colocada em torno da carótida externa para impedir o sangramento e os animais deixados recuperarem-se. 2 grupos de 12 ratos RoRo (400 g, aproximadamente 24 semanas de idade) são usados para o estudo: um grupo de controle e um grupo recebendo o Composto A e os ratos são inteiramente aleatorizados. O Composto A é administrado por infusão contínua, usando minibombas em uma taxa de 10 µg/kg/h, começando 2 dias antes da lesão por balão (dia -3) até o final do estudo, 14 dias após a lesão por balão. Os ratos são então anestesiados com Isoflurano e perfundidos com solução salina tamponada com fosfato a 0,1 M (PBS, pH 7,4) e então por 15 min. com 2,5 % de glutaraldeído em tampão de fosfato (pH 7,4). As artérias carótidas são então excisadas, separadas do tecido circundante e imersas em tampão de cacodilato a 0,1 M (pH 7,4) contendo 7 % de sacarose e incubadas durante a noite a 4°C. No dia seguinte, as carótidas são então encerradas em Technovit 7100, de acordo com a recomendação

dos fabricantes. A área transversal da média, da neoíntima e do lúmen são avaliadas de forma morfológica por meio de um sistema de análise da imagem (MCID, Toronto, Canadá). Neste ensaio, o Composto A inibe o engrossamento neoíntimo significativamente.

5 O Composto A é, desse modo, também útil para a prevenção ou o combate de doenças de vasos de enxertos, por exemplo, as vasculopatias de alo- ou xenotransplantes, por exemplo, a aterosclerose de vasos de enxerto, por exemplo, em um transplante de órgão, por exemplo, os transplantes de coração, pulmão, coração-pulmão combinados, fígado, rim ou
10 pancreáticos, ou para a prevenção ou o tratamento de estenose de enxertos de veias, reestenose e/ou oclusão vascular seguindo a lesão vascular, por exemplo, causada por procedimentos de cateterização ou procedimentos de raspagem vascular, tais como a angioplastia transluminal percutânea, o tratamento a laser ou outros procedimentos invasivos, os quais rompem a
15 integridade da íntima vascular ou do endotélio.

O Composto A tem uma meia-vida plasmática benéfica. Ele tem uma meia-vida de eliminação entre 15 e 30 horas.

Para todas as indicações acima descritas, a dosagem requerida obviamente variará dependendo, por exemplo, do hospedeiro, do modo de
20 administração e da gravidade da condição a ser tratada. Em geral, entretanto, são obtidos resultados satisfatórios por administração na ordem de 1 µg a 0,7 mg/kg/dia de Composto A. Uma dosagem diária indicada para os pacientes está na faixa de cerca de 2 µg a cerca de 50 mg, preferivelmente cerca de 0,01 a cerca de 40 mg, por exemplo, cerca de 0,01 a cerca de 3
25 mg s.c. do composto, convenientemente administrado em doses divididas até 3 vezes ao dia na forma de dosagem de unidade contendo, por exemplo, de cerca de 0,5 µg a cerca de 25 mg, por exemplo, de cerca de 2 µg a 20 mg, por exemplo, de 2 µg a 1,5 mg do Composto A.

O Composto A pode ser administrado na forma livre ou na forma
30 de sal ou complexos farmacologicamente aceitáveis. Tais sais e complexos podem ser preparados na maneira convencional e exibem a mesma ordem de atividade que o composto livre. A presente invenção também proporciona

uma composição farmacêutica compreendendo o Composto A na forma de base livre ou na forma de sal ou na forma de complexo farmaceuticamente aceitável, juntamente com um ou mais diluentes ou veículos farmaceuticamente aceitáveis. Tais composições podem ser formuladas na maneira convencional. O Composto A pode também ser administrado na forma de liberação constante, por exemplo, na forma de implantes, microcápsulas, microesferas ou nanoesferas compreendendo, por exemplo, um polímero ou copolímero biodegradável, na forma de uma formulação lipossômica, ou na forma de um autogel, por exemplo, uma composição sólida ou semi-sólida capaz de formar um gel após interação com os fluidos corpóreos do paciente.

O Composto A ou um sal ou complexo farmaceuticamente aceitável do mesmo, pode ser administrado por qualquer rota convencional, por exemplo, parenteralmente, por exemplo, na forma de soluções ou suspensões injetáveis (incluindo, por exemplo, a forma de liberação constante como indicada acima), oralmente usando um intensificador de absorção convencional, em uma forma nasal ou de supositório, ou topicamente, por exemplo, na forma de uma preparação oftálmica líquida, de gel, de unguento ou de suspensão, por exemplo, uma formulação lipossômica, de microesferas ou de nanoesferas, por exemplo, para a instilação ou injeções subconjuntivas ou intra- ou periocular.

De acordo com o precedente, a presente invenção adicionalmente proporciona:

1. O Composto A ou um sal ou complexo farmaceuticamente aceitável do mesmo para uso como uma substância farmacêutica;
- 25 2. Um método de prevenir ou tratar doenças ou distúrbios, como indicados acima, em um paciente estando necessitado de tal tratamento, método este que compreende administrar ao dito paciente uma quantidade efetiva do Composto A ou de um sal ou complexo farmaceuticamente aceitável do mesmo; ou
- 30 3. O Composto A ou um sal ou complexo farmaceuticamente aceitável do mesmo, para uso na preparação de uma composição farmacêutica para uso em qualquer método como definido em 2. acima.

O Composto A conjugado ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, é útil como um agente produtor de imagem, por exemplo, a visualização de tecidos e células positivos para receptores de somatostatina, por exemplo, os tumores e as metástases positivos para receptores de somatostatina, os distúrbios inflamatórios ou auto-imunes exibindo receptores de somatostatina, a tuberculose ou a rejeição a órgão após transplantação, quando formando complexo com um elemento detectável, por exemplo, um nuclídeo emissor de γ ou de pósitron, um íon de metal fluorescente ou um íon paramagnético, por exemplo ^{111}In , ^{161}Tb , ^{177}Lu , ^{86}Y , ^{68}Ga , Eu^{3+} , Gd^{3+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} ou Cr^{2+} , ou como uma substância radiofarmacêutica para o tratamento in vivo de tumores e metástases positivos para receptores de somatostatina, artrite reumatóide e condições de inflamações graves quando formando complexo com um nuclídeo emissor de α ou β ou um nuclídeo com cascatas de Auger- e^- , por exemplo, ^{90}Y , ^{161}Tb , ^{177}Lu , ^{211}At , ^{213}Bi ou ^{201}Tl , como indicado por testes padrão.

Em particular, é observado que o Composto A conjugado se liga aos receptores de somatostatina com valores de pK_i de cerca de 8 a 10. O composto do Exemplo 3, formando complexo com, por exemplo, ^{111}In , ^{88}Y , ^{90}Y ou ^{177}Lu , se liga na faixa de nM aos subtipos de sst respectivos de acordo com o perfil de ligação do Composto A.

A afinidade do Composto A conjugado e de seus complexos pelos receptores de somatostatina pode também ser mostrada por teste in vivo, de acordo com métodos padrão de teste, por exemplo, como divulgado na GB-A-2.225.579. Por exemplo, o composto do Exemplo 3, formando complexo com, por exemplo, ^{111}In , ^{88}Y , ^{90}Y ou ^{177}Lu , dá um acúmulo de tumor significativo 4 horas após a injeção em camundongos ou ratos contendo um tumor pancreático exócrino expressando os receptores de hsst2 .

Após a administração de um Composto A conjugado na forma de complexo, por exemplo, um composto A formando complexo com ^{111}In , ^{177}Lu , ^{86}Y ou ^{161}Tb , em uma dosagem de 1 a 5 $\mu\text{g/kg}$, marcado com 0,1 a 5 mCi de radionuclídeo, preferivelmente 0,1 a 2 mCi, o local do tumor torna-se detectável.

O Composto A conjugado, quando radiomarcado com um radio-nuclídeo emissor de α ou β ou um nuclídeo com cascatas de Auger- e^- , exibe um efeito antiproliferativo e/ou citotóxico sobre as células de tumor contendo receptores de somatostatina, por exemplo, conforme indicado em testes com
5 camundongos nus.

Os camundongos nus são inoculados com células de tumor pancreáticas de ratos AR42J ou células de câncer de pulmão de células pequenas humanas NCI-H69, como divulgado acima. Quando os tumores tiverem atingido um volume de 1 a 2 cm³, os animais são aleatorizados em
10 grupos de controle ou de tratamento. O Composto A conjugado, na forma de complexo, é administrado por injeções i.p. ou i.v.. As doses até 40 mCi/kg são dadas por camundongo. O tamanho dos tumores é determinado com um calibrador, como divulgado acima. Para os cálculos estatísticos é aplicado o teste t de Student. Neste teste, é observada uma contração do tumor transi-
15 ente até 50% do inicial após uma semana e o desenvolvimento do tumor é retardado por duas semanas com uma única aplicação do composto do Exemplo 3 formando complexo com ⁹⁰Y. Em contraste, os grupos de controle mostraram desenvolvimento de tumor contínuo, com um tempo de duplica-
ção do volume de cerca de sete dias.

20 Desse modo, em uma série de modalidades específicas ou alternativas, a presente invenção também proporciona:

4. O uso de um Composto A conjugado formando complexo com um elemento detectável para a detecção in vivo de células e tecidos positivos para os receptores de somatostatina, por exemplo, os tumores e as
25 metástases positivos para os receptores de somatostatina, em um paciente e registro da localização dos receptores visados pelo dito complexo;

5. Um método para a detecção in vivo de tecidos e células positivos para receptores de somatostatina, por exemplo, os tumores e as me-
tástases positivos para os receptores de somatostatina, em um paciente
30 compreendendo administrar ao dito paciente um Composto A conjugado, formando complexo com um elemento detectável ou uma forma de sal farmacologicamente aceitável e registrar a localização dos receptores visados

pelo dito complexo.

O Composto A conjugado, na forma de complexo, para uso como um agente produtor de imagem, pode ser administrado, por exemplo, de modo intravenoso, por exemplo, na forma de soluções ou suspensões injetáveis, preferivelmente na forma de uma única injeção. A radiomarcagem pode preferivelmente ser efetuada brevemente antes da administração a um paciente.

Nos animais, uma faixa de dosagens indicada pode ser de 0,01 a 1 $\mu\text{g/kg}$ de um Composto A conjugado, formando complexo com 0,02 a 0,5 mCi de radionuclídeo emissor de γ . Nos mamíferos maiores, por exemplo, os seres humanos, uma faixa indicada de dosagens pode ser de 1 a 100 $\mu\text{g/m}^2$ de Composto A conjugado formando complexo, por exemplo, com 1 a 100 mCi/m² de elemento detectável, por exemplo, ¹¹¹In, ⁸⁶Y ou ¹⁷⁷Lu.

6. O uso de um Composto A conjugado, formando complexo com um nuclídeo emissor de α ou β ou um nuclídeo com cascatas de Auger-e⁻, para o tratamento in vivo de tumores e metástases positivos para receptores de somatostatina.

7. Um método para o tratamento in vivo de tumores e metástases positivos para somatostatina, por exemplo, para o tratamento da capacidade de invasão de tais tumores ou sintomas associados com tal desenvolvimento do tumor, em um paciente estando necessitado de tal tratamento, o qual compreende administrar ao dito paciente uma quantidade terapêuticamente efetiva de um Composto A conjugado formando complexo com um nuclídeo emissor de α ou β ou um nuclídeo com cascatas de Auger-e⁻.

8. O uso de um Composto A conjugado ou de um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo na fabricação de um agente produtor de imagem ou uma composição radiofarmacêutica.

As dosagens empregadas na prática do uso radioterapêutico da presente invenção obviamente variarão dependendo, por exemplo, da condição particular a ser tratada, por exemplo, a radiotoxicidade conhecida para órgãos normais expressando receptores de somatostatina, o volume do tumor e a terapia desejada. Em geral, a dose é calculada na base dos dados

farmacocinéticos e de distribuição de radioatividade obtidos em órgãos saudáveis e com base na captação do alvo desejada. Um complexo emissor de β de um Composto A conjugado pode ser administrado repetidamente, por exemplo, durante um período de 1 a 3 meses.

- 5 Nos animais, uma faixa indicada de dosagens pode ser de 20 a 100 $\mu\text{g/kg}$ de Composto A conjugado, formando complexo com 15 a 70 mCi de um nuclídeo emissor de α ou β ou um nuclídeo com cascatas de Auger- e^- , por exemplo ^{90}Y , ^{177}Lu ou ^{161}Tb . Nos mamíferos maiores, por exemplo, os seres humanos, uma faixa de dosagens indicada pode ser de 1 a 100 $\mu\text{g/m}^2$
- 10 de Composto A conjugado formando complexo, por exemplo, com 1 a 100 mCi/ m^2 de um nuclídeo emissor de α ou β ou um nuclídeo com cascatas de Auger- e^- , por exemplo, ^{90}Y , ^{177}Lu ou ^{161}Tb .

- O Composto A conjugado, na forma de complexo, para uso como um agente radioterapêutico, pode ser administrado por qualquer rota
- 15 convencional, por exemplo, de modo intravenoso, por exemplo, na forma de soluções injetáveis. Ele pode também ser administrado vantajosamente por infusão, por exemplo, uma infusão durante 15 a 60 min. Dependendo do local do tumor, ele pode ser administrado tão próximo ao local do tumor quanto possível, por exemplo, por meio de um cateter. A presente invenção
- 20 também proporciona uma composição farmacêutica compreendendo um Composto A conjugado na forma de base livre ou na forma de sal farmacêuticamente aceitável ou formando complexo com um agente detectável ou radioterapêutico, juntamente com um ou mais diluentes ou veículos farmacêuticamente aceitáveis.

- 25 O Composto A ou o Composto A conjugado na forma de complexo, pode ser adequado para a produção de imagem ou o tratamento de tumores de expressão ou de acúmulo de receptores de somatostatina, tais como os tumores pituitários, gastroenteropancreáticos, carcinóides, do sistema nervoso central, da mama, prostáticos (incluindo o câncer de próstata
- 30 resistente ao hormônio avançado), ovarianos ou colônicos, o câncer de pulmão de células pequenas, a obstrução maligna do intestino, os paragangliomas, o câncer do rim, o câncer da pele, os neuroblastomas, os feocro-

mocitomas, os carcinomas medulares da tireóide, os mielomas, os linfomas, os linfomas Hodgkins e não-Hodgkins, os tumores ósseos e as suas metástases, bem como os distúrbios auto-imunes ou inflamatórios, por exemplo, a artrite reumatóide, a doença de Grave ou outras doenças inflamatórias do

5 olho.

De acordo com um aspecto adicional da invenção, é proporcionada uma composição farmacêutica compreendendo um Composto A conjugado ou um seu complexo juntamente com um ou mais veículos ou diluentes farmaceuticamente aceitáveis para o mesmo. Tais composições podem ser

10 fabricadas na maneira convencional e podem ser apresentadas, por exemplo, para a produção de imagens, na forma de um kit compreendendo duas dosagens separadas, uma sendo o radionuclídeo e a outra o Composto A conjugado, com instruções para misturá-las. Para a radioterapia, o Composto A conjugado na forma de complexo pode preferivelmente estar na

15 forma de uma formulação líquida quente.

O Composto A ou um Composto A conjugado na forma de complexo, pode ser administrado como o único ingrediente ativo ou em conjunção com, por exemplo, como um adjuvante para outras drogas. Por exemplo, o Composto A pode ser usado em combinação com um agente imunossupressor, por exemplo, um inibidor de calcineurina, por exemplo, a ciclosporina A ou FK 506; uma lactona macrocíclica tendo propriedades imunossupressoras, por exemplo, a rapamicina ou a 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina (RAD); uma ascomicina tendo propriedades imunossupressoras, por exemplo, ABT-281, ASM981, etc.; corticosteróides; a ciclofosfamida; o azatiopreno; o metotrexato; a leflunomida; a mizoribina; o ácido micofenólico ou um

20 sal do mesmo, por exemplo, o Myfortic®; o micofenolato mofetil; a 15-desoxiespergualina ou um homólogo, análogo ou derivado imunossupressor da mesma; um agente residente de linfócitos de aceleração, por exemplo, FTY720; os anticorpos monoclonais imunossupressores, por exemplo, os anticorpos monoclonais aos receptores de leucócitos, por exemplo, MHC,

30 CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD25, CD28, CD40, CD45, CD58, CD80, CD86 ou aos seus ligantes; outros compostos imunomoduladores, por exemplo,

uma molécula de ligação recombinante tendo pelo menos uma porção do domínio extracelular de CTLA4 ou um seu mutante, por exemplo, uma porção pelo menos extracelular de CTLA4 ou um seu mutante ligado a uma seqüência de proteína que não seja de CTLA4, por exemplo, CTLA4Ig (por exemplo, designada ATCC 68629) ou um seu mutante, por exemplo, LEA29Y; inibidores de moléculas de adesão, por exemplo, antagonistas de LFA-1, antagonistas de ICAM-1 ou -3, antagonistas de VCAM-4 ou antagonistas de VLA-4. O Composto A pode também ser usado em combinação com um agente antiinflamatório, um agente modulador de receptor de secretagogo do GH, por exemplo, grelina ou hexarelina, um antagonista de receptor de GH, por exemplo pegvisomant, um secretagogo da insulina ou intensificador da secreção de insulina, por exemplo, uma sulfonil uréia, por exemplo, tolbutamida, cloropropamida, tolazamida, acetoexamida, 4-cloro-N-[(1-pirolidinilamino)carbonil]-benzensulfonamida (glicopiramida), glibenclamida (gliburida), gliclazida, 1-butil-3-metanililuréia, carbutamida, glibonurida, glipizida, gliquidona, glisoxepid, glibutiazol, glibuzol, gliexamida, glimidina, glipinamida, fembutamida ou tolilciclamicamida, uma não-sulfonil uréia de atuação curta, um derivado de agente insulínico oral, por exemplo, um intensificador de insulina de atuação curta, por exemplo, meglitinida, repaglinida, um derivado de ácido fenil acético, por exemplo, nateglinida, um inibidor de DPP IV, por exemplo, o dicloridrato de 1-{2-[(5-cianopiridin-2-il)amino]etilamino}acetil-(2S)-ciano-pirrolidina, LAF237, GLP-1 ou um análogo de agonista de GLP-1, um sensibilizador de insulina, por exemplo, um agonista de receptor ativado de proliferador de peroxisoma γ (PPAR γ), por exemplo, uma glitazona, por exemplo, (S)-((3,4-diidro-2-(fenil-metil)-2H-1-benzopiran-6-il)metil-tiazolidina-2,4-diona (englitazona), 5-[[4-(3-(5-metil-2-fenil-4-oxazolil)-1-oxopropil)-fenil]-metil]-tiazolidina-2,4-diona (darglitazona), 5-[[4-(1-metil-cicloexil)metóxi]-fenil]metil]-tiazolidina-2,4-diona (ciglitazona), 5-[[4-(2-(1-indolil)etóxi)fenil]metil]-tiazolidina-2,4-diona (DRF2189), 5-{4-[2-(5-metil-2-fenil-4-oxazolil)-etóxi]benzil}-tiazolidina-2,4-diona (BM-13.1246), 5-(2-naftilsulfonil)-tiazolidina-2,4-diona (AY-31637), bis{4-[(2,4-dioxo-5-tiazolidinil)-metil]fenil}metano (YM268), 5-{4-[2-(5-metil-2-fenil-4-oxazolil)-2-

hidroxietóxi]benzil}-tiazolidina-2,4-diona (AD-5075), 5-[4-(1-fenil-1-ciclopro-
 pano-carbonilamino)-benzil]-tiazolidina-2,4-diona (DN-108) 5-{[4-(2-(2,3-
 diidroindol-1-il)etóxi)fenil]metil}-tiazolidina-2,4-diona, 5-[3-(4-cloro-fenil)]-2-
 propinil]-5-fenilsulfonil)tiazolidina-2,4-diona, 5-[3-(4-clorofenil)]-2-propinil]-5-
 5 (4-fluorofenil-sulfonil)tiazolidina-2,4-diona, 5-{[4-(2-(metil-2-piridinil-amino)-
 etóxi)fenil]metil}-tiazolidina-2,4-diona (rosiglitazona), 5-{[4-(2-(5-etil-2-piridil)
 etóxi)fenil]-metil}tiazolidina-2,4-diona (pioglitazona), 5-{[4-((3,4-diidro-6-
 hidróxi-2,5,7,8-tetrametil-2H-1-benzopiran-2-il)metóxi)-fenil]-metil}-tiazolidina-
 2,4-diona (troglitazona), 5-[6-(2-flúor-benzilóxi)naftalen-2-ilmetil]-tiazolidina-
 10 2,4-diona (MCC555), 5-{[2-(2-naftil)-benzoxazol-5-il]-metil}tiazolidina-2,4-
 diona (T-174) ou 5-(2,4-dioxotiazolidin-5-ilmetil)-2-metóxi-N-(4-trifluorometil-
 benzil)benzamida (KRP297), um tipo que não seja a glitazona, tal como um
 análogo de N-(2-benzoilfenil)-L-tirosina, por exemplo, GI-262570 ou uma
 oxolidinadiona, por exemplo, JTT501, um agonista duplo de PPAR γ /PPAR α ,
 15 por exemplo, DRF-554158, NC-2100 ou NN-622, um agonista de receptor
 de retinóide X ou um rexinóide, por exemplo, ácido 2-[1-(3,5,5,8,8-
 pentametil-5,6,7,8-tetraidro-2-naftil)-ciclopropil]-piridina-5-carboxílico, ácido
 4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetraidro-2-naftil)-2-carbonil]-benzóico, ácido
 9-cis retinóico ou um análogo, derivado ou um sal farmaceuticamente acei-
 20 tável do mesmo, uma tirosina fosfatase cinase protéica 1B, um inibidor do
 glicogênio sintase cinase-3, um composto mimético de insulina de molécula
 pequena que não seja de peptidila, por exemplo, L-783.281 ou CLX-901 ou
 uma baixa dose de insulina, uma glutamina; inibidor de frutose-6-fosfato
 amidotransferase, um inibidor de glicose-6-fosfatase, uma biguanida, por
 25 exemplo, Metformin, um inibidor de frutose-1,6-bifosfatase, um inibidor de
 glicogênio fosforilase, por exemplo CP-91149, um antagonista de receptor
 de glucagon, por exemplo, CP-99711, NNC 92-1687, L-168.049 ou BAY27-
 9955, uma fosfoenolpiruvato carboxicinase, um inibidor da piruvato desidro-
 genase cinase, um inibidor de α -Glicosidase, por exemplo, 4",6"-didesóxi-4"-
 30 [(1S)-(1,4,6/5)-4,5,6-triidróxi-3-hidroximetil-2-ciclo-hexenilamino]maltotriose
 ou O-4,6-didesóxi-4-{[1S,4R,5S,6S]-4,5,6-triidróxi-3-(hidroximetil)-2-cicloexen-
 1-il]-amino}- α -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-O- α -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-D-glicopi-

ranose (acarbose), N-(1,3-diidróxi-2-propil)valiolamina (voglibose) ou miglitol ou um inibidor do esvaziamento gástrico, por exemplo, GLP-1, CCK-8 e amilina (por exemplo, Prantilida), um agente tendo efeitos antiangiogênicos, por exemplo, uma benzoporfirina, por exemplo, verteporfina, midostaurina ou uma 4-piridilmetil-ftalazina.

O Composto A, ou um Composto A conjugado na forma de complexo pode também ser usado em combinação com um agente antiproliferativo, por exemplo, uma droga quimioterapêutica, por exemplo, o paclitaxel, a gencitabina, a cisplatina, a doxorrubicina, o 5-fluorouracil ou o taxol, um agente hormonal ou antagonista, por exemplo, um antiandrogênio ou a mitoxantrona (especialmente no caso de câncer da próstata), ou um antiestrogênio, como o letrozol (especialmente no caso de câncer de mama), um antimetabólito, um alcalóide de planta, um modificador da resposta biológica, preferivelmente uma linfocina ou interferons, um inibidor de tirosina cinase

15 protéica e/ou serina/treonina cinase ou um agente com outro mecanismo de ação ou com um mecanismo de ação desconhecido, por exemplo, qualquer epotilona ou derivado de epotilona ou uma lactona macrocíclica, por exemplo, rapamicina, RAD ou CCI779.

Onde o Composto A ou um Composto A conjugado na forma de complexo for administrado em conjunção com uma outra droga, as dosagens da droga co-administrada obviamente variarão dependendo do tipo de co-droga empregada, da droga específica empregada, da condição a ser tratada, e assim por diante. Os termos "co-administração" ou "administração combinada" ou similar, como utilizados aqui, são pretendidos incluir a administração dos agentes terapêuticos selecionados a um único paciente e são pretendidos incluir os regimes de tratamento nos quais os agentes não são necessariamente administrados pela mesma rota de administração ou ao mesmo tempo.

De acordo com o precedente, a presente invenção proporciona em mais um aspecto adicional:

9. Uma combinação farmacêutica compreendendo a) um primeiro agente, o qual é o Composto A ou um Composto A conjugado na forma de

complexo, e b) um co-agente, por exemplo, como definido acima.

10. Um método como definido acima compreendendo a co-administração, por exemplo, simultaneamente ou em seqüência, de uma quantidade terapeuticamente efetiva de Composto A ou um Composto A
- 5 conjugado na forma de complexo e uma segunda substância de droga, a dita segunda substância de droga sendo, por exemplo, conforme indicado acima.

- A combinação particular da invenção será selecionada dependendo da prevenção ou do tratamento das doenças ou dos distúrbios; por
- 10 exemplo, uma combinação com um agente imunossupressor para, por exemplo, a prevenção ou o tratamento de rejeição ao enxerto crônica, uma combinação com um secretagogo da insulina, um intensificador da secreção de insulina, um sensibilizador de insulina ou uma baixa dose de insulina no tratamento de diabetes ou de suas complicações, uma combinação com um
- 15 agente antiinflamatório para a prevenção ou o tratamento de doenças ou distúrbios inflamatórios, uma combinação com um agente tendo efeitos anti-angiogênicos para a prevenção ou o tratamento de, por exemplo, edema ou degeneração macular ou em câncer, uma combinação com um agente quimioterapêutico para uso em câncer.

diluentes ou veículos farmacêuticamente aceitáveis para o mesmo.

8. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 7, caracterizada pelo fato de estar em uma forma de liberação sustentada ou em uma forma tópica.

9. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 7, caracterizada pelo fato de ser para uso em combinação com um agente imunossupressor, um agente antiinflamatório, um agente modulador de receptor de secretagogo do GH, um antagonista do receptor de GH, um secretagogo da insulina, um intensificador da secreção de insulina, um sensibilizador de insulina, uma dose baixa de insulina, um agente tendo efeitos antiangiogênicos ou um agente quimioterapêutico.

10. Uso de um composto como definido na reivindicação 1, ou de um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo, caracterizado pelo fato de ser para a preparação de uma composição farmacêutica para o tratamento de acromegalia, fístula enterocutânea e pancreaticocutânea, síndrome do intestino irritável, distúrbios e doenças inflamatórias, doença do rim policístico, síndrome do esvaziamento rápido, síndrome da diarreia aguada, diarreia relacionada à AIDS, diarreia induzida por quimioterapia, pancreatite aguda ou crônica, sangramento gastrointestinal, tumores e malignidades, angiogênese, edema macular, distúrbios relacionados à neovascularização coróide, retinopatia proliferativa, doenças de vasos de enxerto, estenose de enxertos de veias, reestenose e/ou oclusão vascular seguindo lesão vascular.

11. Uso de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica é para o tratamento de acromegalia.

RESUMO

Patente de Invenção: "**ANÁLOGOS DE SOMATOSTATINA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, BEM COMO USO DOS REFERIDOS ANÁLOGOS**".

- A invenção refere-se a um ciclo[{4-(NH₂-C₂H₄-NH-CO-O-)Pro}-
- 5 Phg-DTrp-Lys-Tyr(4-Benzil)-Phe], opcionalmente na forma protegida ou um sal ou complexo farmaceuticamente aceitável do mesmo, o qual tem propriedades farmacêuticas interessantes.