



NORGE

(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **317867**

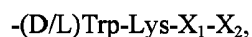
(13) **B1**

(51) Int Cl⁷

C 07 K 14/655 , A 61 K 38/31

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	19976064	(86)	Innt.inng.dag og søknadsnr	1996.06.28 PCT/EP96/02840
(22)	Inng.dag	1997.12.23	(85)	Videreføringsdag	1997.12.23
(24)	Løpedag	1996.06.28	(30)	Prioritet	1995.06.29, GB, 9513224 1996.01.10, GB, 9600429
(41)	Alm.tilgj	1998.02.16			
(45)	Meddelt:	2004.12.27			
(71)	Søker	Novartis AG , Schwarzwaldallee 215, 4058 Basel, CH Rainer Albert, Wartenbergstrasse 21, CH-4052 Basel, CH Wilfried Bauer, Rüssacherstrasse 10, CH-4432 Lampenberg, CH Ian Lewis, Grenzacherweg 309, CH-4125 Riehen, CH Christian Bruns, Ziegelhofstrasse 120, D-79110 Freiburg, DE Gisbert Weckbecker, Löhring 31, CH-4105 Biel-Benken, CH Nagarajan Chandramouli, Morristown, NJ, US			
(72)	Oppfinner				
(74)	Fullmektig	Ellen Holm - Bryns Zacco AS, Postboks 765 Sentrum, 0106 Oslo, NO			
(54)	Benevnelse	Sykliske somatostatin heksapeptider, farmasøytiske sammensetninger omfattende slike, og anvendelse av slike heksapeptider for fremstilling av farmasøytiske sammensetninger.			
(56)	Anførte publikasjoner	EP 029 310 EP 389 180 EP 395 417 WO 94/00489 WO 95/00553			
(57)	Sammendrag	Somatostatin analoger omfattende aminosyresekvensen med formel(1):			



hvor X₁ er en substituert Thr, Ser, Tyr, Glu eller Cys residie Og X₂ er en α-aminosyre som har et aromatisk residie på Cα sidekjeden, eller en aminosyreenhet valgt fra Dab, Dpr, Dpm, His(Bzl)HyPro, tienyl-Ala, cykloheksyl-Ala og t.-butyl-Ala, idet residiet Lys til nevnte sekvens tilsvare residiet Lys⁹ til nativ somatostatin-14, i fri form, i saltform eller kompleksbundet med et detekterbart element som har interessante farmakologiske egenskaper.

S



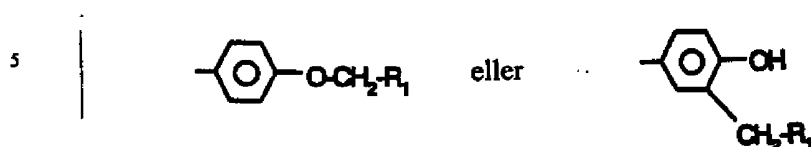
15 Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer spesielt en somatostatin analog som er et syklisk heksapeptid omfattende aminosyresekvensen med formel (I)



35

hvor R₁ er eventuelt substitueret fenyl, eller fenyl substitueret med halogen, metyl, etyl, metoksy eller etoksy,

R_2 er $-Z_1-CH_2-R_1$, $-CH_2-CO-O-CH_2-R_1$,



hvor

- 10 Z_1 er O eller S, og
 X_2 er en α -aminosyre som har en aromatisk rest på C_α sidekjeden, eller en
 aminosyreenhet valgt fra Dab, Dpr, Dpm, His, (Bzl)HyPro, tienyl-Ala,
 sykloheksyl-Ala og t-butyl-Ala,
 i fri form eller i salt eller kompleks form.

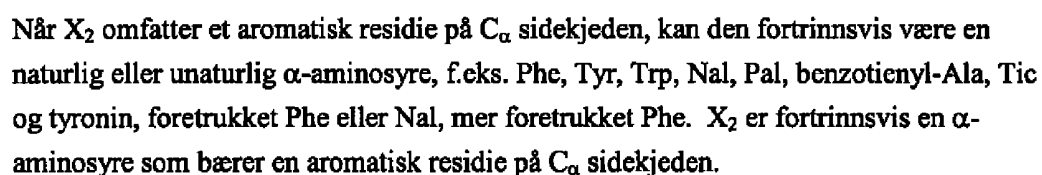
15

Disse forbindelsene blir referert til nedenfor som forbindelser ifølge oppfinnelsen.

- Med somatostatinanaloger som anvendt heri menes et syklisk peptid avledet fra det til
 naturlig forekommende somatostatin-14, omfattende sekvensen ifølge formel I og hvori
 20 ytterligere en eller flere aminosyreenheter er blitt utelatt og eller erstattet med en eller
 flere andre aminosyrerester og/eller hvori en eller flere funksjonelle grupper er blitt
 erstattet med en eller flere andre funksjonelle grupper og/eller en eller flere grupper er
 blitt erstattet med en eller flere andre isosteriske grupper. Generelt dekker betegnelsen
 alle modifiserte derivatene til nativ somatostatin-14 omfattende ovennevnte sekvens
 25 med formel I som har bindende affinitet i nM området til minst en somatostatinreseptor
 subtype som definert nedenfor.

- Det er fortrinnsvis tilveiebragt en somatostatinanalog som beskrevet ovenfor omfattende
 en heksapeptidenhet, idet residiene ved posisjonene 3 til og med 6 i nevnte
 30 heksapeptidenhet omfatter sekvensen med formel I. Spesielt foretrukket er et
 somatostatinheksapeptid hvori residiene i posisjonene 1 og 2 til heksapeptidenheten kan
 være hvilke som helst av det som er kjent innenfor fagområdet, f.eks. som beskrevet av
 A.S. Dutta in Small Peptides, Vol. 19, 292-354, Elsevier, 1993, eller som substituent
 for Phe⁶ og/eller Phe⁷ til somatostatin-14.
 35 Spesielt er det tilveiebragt en somatostatinanalog hvor heksapeptidenheten er syklisk,
 f.eks. med en direkte peptidbinding mellom α -karbonylgruppen til residiet i posisjon 6
 og α -aminogruppen til residiet i posisjon 1.

5

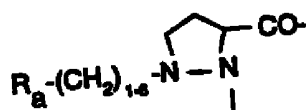


15

Representative forbindelser ifølge oppfinnelsen er f.eks. en forbindelse med formel (II).



25 A er en divalent residie valgt fra Pro,



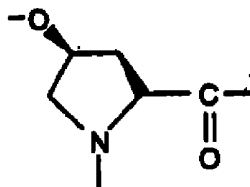


- 5 hvor R_3 er $\text{NR}_8\text{R}_9\text{C}_{2-6}$ alkylen, guanidino- C_{2-6} alkylen eller C_{2-6} alkylen- COOH , R_{3a} er H, C_{1-4} alkyl eller har uavhengig en av betydningene angitt for R_3 , R_{3b} er H eller C_{1-4} alkyl, R_a er OH eller NR_5R_6 , R_b er $\text{-(CH}_2\text{)}_{1-3}\text{-}$ eller $\text{-CH(CH}_3\text{)-}$, R_4 er H eller CH_3 , R_{4a} er eventuelt ring-substituert benzyl, hver av R_5 og R_6 er uavhengig H, C_{1-4} alkyl, ω -amino- C_{1-4} alkylen, ω -hydroksy- C_{1-4} alkylen eller
- 10 acyl, R_7 er en direkte binding eller C_{1-6} alkylen, hver av R_8 og R_9 er uavhengig H, C_{1-4} alkyl, ω -hydroksy- C_{2-4} alkylen, acyl eller $\text{CH}_2\text{OH-(CHOH)}_c\text{-CH}_2\text{-}$ hvori c er 0, 1, 2, 3 eller 4 eller R_8 og R_9 danner sammen med nitrogenatomet som de er koblet til en heterosyklisk gruppe som kan omfatte et ytterligere heteroatom, og R_{11} er eventuelt ring-substituert benzyl, $\text{-(CH}_2\text{)}_{1-3}\text{-OH}$, $\text{-CH}_3\text{-CH(OH)-}$ eller -
- 15 $\text{(CH}_2\text{)}_{1-5}\text{-NR}_5\text{R}_6$, og
- ZZ_a er en naturlig eller unaturlig α -aminosyreenhet i fri form eller i salt eller kompleks form.

- ZZ_a kan ha D- eller L-konfigurasjon. Når ZZ_a er en naturlig eller unaturlig α -
- 20 aminosyreenhet, kan den fortrinnsvis være f.eks. Thr, Ser, ala, Val, Ile, Leu, Nle, His, Arg, Lys, Nal, Pal, Tyr, Trp, eventuelt ring-substituert Phe eller N^{ϵ} -benzyl-Gly. Når ZZ_a er Phe, kan benzenringen derav være substituert med f.eks. NH_2 , NO_2 , CH_3 , OCH_3 eller halogen, fortrinnsvis i paraposisjon. Når ZZ_a er Phe, er benzenringen fortrinnsvis usubstituert.

- 25 Når A omfatter et Proaminosyreresidie, er en hvilken som helst substituent tilstede på prolinringen, f.eks. $\text{R}_3\text{-NH-CO-O-}$ osv., fortrinnsvis i posisjon 4. Et slikt substituert prolinresidie kan eksistere i cis form, f.eks.

30



samt i trans form. Foreliggende oppfinnelse dekker hver av de geometriske isomerene individuelt samt blandinger derav.

35

Når A er $(NR_8R_9-C_{2-6} \text{ alkylen-NH-CO-O})\text{Pro-}$ hvor NR_8R_9 danner en heterosyklisk

|

gruppe, kan en slik gruppe være aromatisk eller mettet og kan omfatte et nitrogen eller et nitrogen og et andre heteroatom valgt fra nitrogen og oksygen. Det er foretrukket at den heterosykliske gruppen f.eks. er pyridyl eller morfolino. C_{2-6} alkylen i dette residie er fortrinnsvis $-CH_2-CH_2-$.

En hvilken som helst acyl som R_5 , R_6 , R_8 og R_9 i A kan f.eks. være $R_{12}CO-$ hvor R_{12} er H, C_{1-4} alkyl, C_{2-4} alkenyl, C_{3-6} sykloalkyl eller benzyl, fortrinnsvis metyl eller etyl. Når R_{4a} eller R_{11} i A er ring-substituert benzyl, kan benzenringen bli substituert som angitt ovenfor for ZZ_a .

En foretrukket gruppe av forbindelser ifølge oppfinnelsen er f.eks. forbindelser med formel II hvor A er fri for en lateral $-NH-CO-O-$ del. En ytterligere gruppe av foretrukne forbindelser ifølge oppfinnelsen er f.eks. forbindelser med formel II hvori A omfatter en grunnleggende lateral rest, f.eks. en $R_3-NH-CO-O-$ eller R_5-N-R_7 -rest.



En ytterligere gruppe av foretrukne forbindelser ifølge oppfinnelsen er gruppen av forbindelser hvori den N-terminale aminosyren omfatter en substituert Pro, spesielt 4-substituert Pro, f.eks. forbindelser med formel II hvori A er 4-substituert Pro.

Det er foretrukket at A er $4-(R_3-NH-CO-O)\text{Pro-}$.

Foretrukne forbindelser ifølge oppfinnelsen er sykliske somastotatin heksapeptider kjennetegnet ved at de er $\text{syklo}[4-NH_2-C_2H_4-NH-CO-O]\text{Pro-Y-DTrp-Lys-Tyr(Bzl)-Phe}$ hvor Y er en naturlig ikke-naturlig α -aminosyreenhet.

Ytterligere foretrukne forbindelser er syklisk somastotatin heksapeptider, kjennetegnet ved at det er

$\text{syklo}[\{4-(NH_2-C_2H_4-NH-CO-O)\text{Pro}\}-\text{Phe-DTrp-Lys-Tyr(O-benzyl)-Phe}]$,
 $\text{syklo}[\{4-(NH_2-C_2H_4-NH-CO-O)\text{Pro}\}-\text{Tyr-DTrp-Lys-Tyr(O-benzyl)-Phe}]$ eller
 $\text{syklo}[\{4-(NH_2-C_2H_4-NH-CO-O)\text{Pro}\}-\text{Phe-DTrp-Lys-Ser(O-benzyl)-Phe}]$.

Ytterligere representative forbindelser ifølge oppfinnelsen er slike forbindelser som omfatter en aminogruppe som bærer en chelateringsgruppe, spesielt en forbindelse med formel II hvori A omfatter en sidekjedeaminogruppe som bærer en chelateringsgruppe, i

fri form, i saltform eller kompleksbundet med et detekterbart element. Disse forbindelsene er referert til heri som chelaterende forbindelser ifølge oppfinnelsen.

Egnede chelateringsgrupper er fysiologisk akseptable chelateringsgrupper som har evne til å bli kompleksbundet med et detekterbart element. Det er foretrukket at chelateringsgruppen har en vesentlig hydrofil karakter. Eksempler på chelateringsgrupper innbefatter f.eks. de som er avledet fra polyaminopolykarboksylsyrer eller anhydrider, dvs. de som er avledet fra ikke-sykliske ligander, f.eks. etylendiamintetraeddiksyre (edta), dietylentriamin pentaeddiksyre (DTPA), etylenglykol-0,0'-bis(2-aminoetyl)-N,N',N'-tetraeddiksyre (EGTA), N,N'-bis(hydroksybenzyl)etylendiamin-N,N'-dieddiksyre (HBED) og trietylentetramin heksaeddiksyre (TTHA), de som er avledet fra substituert EDTA eller DTPA, f.eks. p-isotiocyanato-benzyl-EDTA eller -DTPA, de som er avledet fra makrosykliske ligander, f.eks. 1, 4, 7, 10-tetra-azacylododekan-N,N',N'',N'''-tetraeddiksyre (TETA) eller 1, 4, 7, 10-tetraazasyklotridekan-N,N',N'',N'''-tetraeddiksyre (TITRA).

Chelateringsgruppen kan bli koblet enten direkte eller gjennom en spacer til aminogruppen av forbindelsen ifølge oppfinnelsen. Egnede spacere innbefatter de som er kjent innenfor fagområdet, f.eks. som beskrevet i GB-A-2,225,579, f.eks. divalent rest av en amino-karboksylsyre, f.eks. β -Ala eller et divalent residie avledet fra 6-amino-kaproisk syre.

Foretrukne chelateringsgrupper er de som er avledet fra DTPA, DOTA, TETA eller substituert EDTA eller DTPA. Chelateringsgrupper avledet fra DTPA eller DOTA er mest foretrukket.

Med detekterbart element menes et metallion som anvendes innen computer aksial tomografi, paramagnetiske ioner og radionuklider.

Egnede detekterbare metallioner innbefatter f.eks. tunge elementer eller sjeldne jordioner, f.eks. som anvendt i CAT scanning (Computer axial tomography), paramagnetiske ioner, f.eks. Gd^{3+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} og Cr^{2+} , fluorescens metallioner, f.eks. Eu^{3+} , og radionuklider, f.eks. et radiolantanid, spesielt γ -avgivende radionukleider, β -avgivende radionuklider, α -avgivende radionukleider, Auger- e^- -avgivende radionuklider, positron-avgivende radionuklider f.eks. ^{68}Ga .

Egnede γ -avgivende radionuklider innbefatter de som er nyttige i diagnostiske teknikker. γ -avgivende radionuklider har fordelaktig en halveringstid på fra 1 time til 40 dager, fortrinnsvis fra 5 timer til 4 dager, mer foretrukket fra 12 timer til 3 dager. Eksempler er radionuklider avledet fra Gallium, Indium, Technetium, Ytterbium, Rhenium, Terbiu-

5 Thallium og Samarium, f.eks. ^{67}Ga , ^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{161}Tb , ^{169}Yb og ^{186}Re .

Egnede β -avgivende radionuklider innbefatter de som er nyttige i terapeutiske applikasjoner, f.eks. ^{90}Y , ^{67}Cu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{169}Er , ^{121}Sn , ^{127}Te , ^{143}Pr , ^{198}Au , ^{109}Pd , ^{165}Dy , ^{32}P , ^{142}Pr og ^{156}Sm .

10

Egnede α -avgivende radionuklider er de som blir anvendt i terapeutiske behandlinger, f.eks. ^{211}At , ^{212}Bi eller ^{201}Tl .

Forbindelser ifølge oppfinnelsen kan f.eks. eksistere i fri eller salt form. Salter innbefatter syreaddisjonssalter som f.eks. organiske syrer, polymeriske syrer eller uorganiske syrer, f.eks. hydroklorider og acetater og saltformer som kan oppnås med karboksylsyregrupper når tilstede f.eks. i chelateringsgruppen, f.eks. alkalimetallsalter så som natrium eller kalium, eller substituerte eller usubstituerte ammoniumsalter.

Foreliggende oppfinnelse angår videre en farmasøytisk sammensetning kjennetegnet ved at den omfatter et syklisk somatostatin heksapeptid ifølge oppfinnelsen, eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller et kompleks med et detekterbart element utvalgt fra detekterbare metallioner som anvendes innen Computer Axial Tomografi, paramagnetiske ioner og radionuklider, sammen med en eller flere farmasøytiske akseptable bærere eller fortynningsmidler derav.

25

Foreliggende oppfinnelse angår videre anvendelse av et syklisk somatostatin heksapeptid ifølge oppfinnelsen eller et farmasøytisk akseptabelt salt av dette for fremstilling av en farmasøytisk sammensetning for behandling av forstyrrelser med en etiologi omfattende eller forbundet med et overskudd av GH-sekresjon, gastro

30 intestinale forstyrrelser, maligne celleproliferative sykdommer, angigenese eller for forebyggelse eller bekjempelse av kartransplantasjonssykdommer, restenoser og vaskulær okklusjon etter vaskulær skade og anvendelse av et syklisk somatostatin heksapeptid ifølge krav 6 eller et farmasøytisk akseptabelt salt av dette komplekset med

35 et detekterbart element for fremstilling av en farmasøytisk sammensetning for in vivo deteksjon av somatostatinreseptorpositive celler og vev eller for behandling av somatostatinreseptorpositive tumorer og metastaser.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan bli fremstilt f.eks. som følger:

- a) fjerning av minst en beskyttende gruppe som er tilstede i et somatostatin peptid omfattende et residie med formel I, idet somatostatinpeptidet er i beskyttet form, eller
- b) koblet sammen med en amidbinding to peptidenheter, idet hver av dem inneholder minst en aminosyre i beskyttet eller ubeskyttet form, hvori amidbinding er på en slik måte at den ønskede aminosyresekvensen blir oppnådd og, om nødvendig, tilveiebringning av fremgangsmåte-trinn a), eller
- c) fjerning av en funksjonell gruppe til et ubeskyttet eller et beskyttet somatostatinpeptid eller omdanning av dette til en annen funksjonell gruppe slik at et annet ubeskyttet eller beskyttet peptid blir oppnådd og i det sistnevnte tilfellet stadium a) av fremgangsmåten blir oppnådd, eller
- d) for å fremstille en chelatert forbindelse ifølge oppfinnelsen sammenkobling av et chelateringsmiddel og en ikke-chelatert forbindelse ifølge oppfinnelsen inn i beskyttet eller ubeskyttet form og omfattende en fri aminogruppe på en slik måte at chelateringsgruppen er koblet på den ønskede aminogruppen til forbindelsen, og stadium a) blir eventuelt oppnådd

og isolering av forbindelsene ifølge oppfinnelsen oppnådd på denne måten i fri form, i saltform eller eventuelt kompleksbundet med et detekterbart element.

Fremgangsmåte-trinn b) fører til fremstilling av et lineært peptid, men innbefatter også syklisering av en amidbinding til et lineært peptid for å tilveiebringe et syklisk peptid med ønsket aminosyresekvens. Om ønskelig kan den laterale kjeden tilstede i A bli introdusert på aminosyren før peptidkoblingstrinn b) eller på det endelige lineære eller sykliske peptidet ifølge trinn c). I sistnevnte tilfelle kan en forbindelse med formel II hvori A er hydrokso-Pro bli omdannet for å tilveiebringe en forbindelse med formel II hvori A er $R_3-NH-CO-O-Pro$.

Syklisering kan også hensiktsmessig bli utført via hydrazide. Når det lineære peptidet blir fremstilt på harpiksen, er det generelt ikke kritisk hvilken aminosyre som blir valgt å være i den C-terminale posisjonen bare forutsatt at sekvensen til aminosyrene i det lineære peptidet tilsvarer det i den ønskede somatostatinanalogen. Når et lineært peptid er blitt syklisert, kan det ikke lenger bestemme hvilken aminosyre som var i den C-

terminale enden til det lineære peptidet. Idet generelt seleksjon av den første aminosyren til å begynne kjeden ikke er kritisk, på grunn av at det lineære peptidet ville bli syklisert, kan det være andre faktorer som kan føre til at man foretrekker en begynnende aminosyre i forhold til en annen. Det er foretrukket at det lineære peptidet
 5 blir syklisert på en slik måte at det produserer en binding fra Trp i posisjon 3 til ZZ_a i posisjon 2 eller fra X₂ i posisjon 6 til X₁ i posisjon 5.

Kompleksbinding av en forbindelse ifølge oppfinnelsen omfattende en aminogruppe substituert med en chelateringsgruppe kan bli utført ved omsetning av den chelaterete
 10 forbindelsen som er tilsvarende detekterbart element som tilveiebringer forbindelsen, f.eks. et metallsalt, fortrinnsvis et vann-oppløselig salt. Reaksjonen kan bli utført analogt med kjente fremgangsmåter, f.eks. som beskrevet i Perrin, Organic Ligand, Chemical Data Series 22. NY Pergamon Press (1982); i Krejcarit and Tucker, Biophys. Biochem. Res. Com. 77: 581 (1977) og i Wagner and Welch, J. Nucl. Med. 20: 428
 15 (1979).

Idet fremstilling av utgangsmaterialene ikke er spesielt beskrevet, er forbindelsene kjente og kan bli fremstilt analogt med fremgangsmåter som er kjente og blir utført i fagområdet.

20

Følgende eksempler illustrerer oppfinnelsen. Alle temperaturer er i °C.

Følgende forkortelser blir anvendt:

25	Bzl	=	benzyl (Bzl) = -CH ₂ -fenyl koblet til en oksygen eller svovel ifølge (a) eller (b)
	DMF	=	dimetylformamid
	BOC	=	tert. butyloksykarbonyl
	Fmoc	=	9-fluorenylmetoksykarbonyl
30	TFA	=	trifluorediksyre
	DIPCI	=	diisopropylkarbodiimid
	DCCI	=	disykloheksyl karbodiimid
	HOBt	=	hydroksybenzotriazol
	Dab	=	2,4-diaminosmørsyre
35	Dpr	=	2,3-diaminopropansyre
	Dpm	=	2,6-diaminoheptandisyre
	Dde	=	4,4-dimetyl-2,6-dioksosykloheks-1-yliden etyl

RT = romtemperatur
 HyPro = 4-hydroksy-Pro (trans unntatt hvor annet blir angitt)
 Tic = tetrahydroisokinolin-karboksylsyre

5

Eksempel 1: syklo[HyPro-Phe-DTrp-Lys-Tyr(Bzl)-Phe]

Fmoc-Phe-SASRIN[®] Resin (1,00 g, 0,65 mmol) blir båret ifølge fremgangsmåten til Fmoc fast fasesyntese helt til ønsket Fmoc-(D)-Trp-Lys(Boc)-Tyr(Bzl)-Phe-Pro(y-t-
 10 OH)-Phe SASRIN[®] peptid resin blir oppstilt. Fmoc blir avbeskyttet ved anvendelse av piperidin. Spaltning av peptidharpiksen blir utført ved anvendelse av hydrazinolyse. Til 1.00 g av peptidharpiksen, blir 8,3 ml DMF og 1,24 ml hydrazinhydrat (ca. 15% hydrazinhydrat i DMF) tilsatt. Blandingen blir omrørt i 15 timer ved RT. Etter reaksjonen blir harpiksen filtrert og grundig vasket med DMF. Filtratet blir samlet og
 15 avdampet i høyt vakuum for å tilveiebringe et oljeholdig hydrazidproduktresidie. Residiet blir løst opp i vann og lyofilisert for å tilveiebringe 480 mg lineær H-(D)-Trp-Lys(Boc)-Tyr(Bzl)-Phe-HyPro-Phe-NH-NH₂ hydrazidprodukt. Dette hydrazidet blir oppløst i 16 ml DMF, avkjølt til -20° og blir behandlet med 4N HCl i eter (2,4 ml, 11,6 mmol) og deretter tert-butylnitrit (41,3 µl, 0,348 mmol). Reaksjonen blir omrørt i 20
 20 minutter. Diisopropyletylamin (11,6 mmol, 2 ml) blir tilsatt og reaksjonen blir omrørt i 72 timer ved romtemperatur. Etter at reaksjonen er fullført, blir DMF fjernet under høyt vakuum. Vann blir tilsatt til den oljeholdige resten og dette fører til en presipitasjon. Ekstraheringen blir utført mellom etylacetat og vann. De organiske fasene blir tørket over natriumsulfat og produktet isolert. Avspaltning blir utført ved anvendelse av
 25 TFA/vann 95:5 og produktet blir isolert ved anvendelse av revers fase HPLC. Ionebytting av produktet inneholdende fraksjoner blir utført og lyofilisering tilveiebringer tittelproduktet som et hvitt pulver, MH⁺ (FAB) 975, F = 1,24 [α]_D²² = -39,0° (95% AcOH; c = 0,1).

30 Eksempel 2: syklo[{4-(NH₂-C₂H₄-NH-CO-O-)Pro}-Phe-DTrp-Lys-Tyr(Bzl)-Phe]

Fmoc-HyPro-OMe blir tilsatt dråpevis til en oppløsning av trifosgen (0,6 ekv.) i THF. Etter 1 t blir dimetylaminopyridin (1,0 ekv.) og N-BOC-diaminoetan (6,0 ekv.) tilsatt og reaksjonen blir omrørt ved RT. Etter TLC studier blir oppløsningsmiddelet fjernet i
 35 vakuum og Fmoc-4-(N-BOC-aminoetylaminokarbonyloksy)Pro-OMe blir ekstrahert fra et tofasesystem av etylacetat /0,1 M HCl for å tilveiebringe råprodukt (MH⁺ = 554). Rå metylester isolert ovenfor blir deretter spaltet til fri syre ved behandling med 1N NaOH i

dioksan/vann og produktet Fmoc-4-(aminoetylaminokarbonyloksy)-Pro-OH blir renset på silikagel ($MNa^+ = 562$).

Fmoc-Phe-SASRIN[®] blir utført ifølge fremgangsmåten i Fmoc fast fasesyntese helt til ønsket Fmoc-(D)Trp(BOC)-Lys(Boc)-Tyr(Bzl)-Phe-Pro(y-t-N-BOC-diamino-etankarbamoyl)-Phe-SASRIN peptid harpiks er oppstilt. Fmoc blir avspaltet ved anvendelse av piperidin. Spaltning av peptidharpiksen blir utført ved behandling av peptidharpiksen i en glasskolonne med 2% TFA i CH_2Cl_2 . Nøytralisering blir utført med 1M $NaHCO_3$ oppløsning. Oppløsningsmiddelet blir avdampet i vakuum og beskyttet lineært peptid blir lyofilisert ($MH^+ = 1379,8$). Beskyttet lineært peptid blir cyclisert ved behandling med DCCI (6,0 ekv.) og HOBt (6,0 ekv.) over en periode på 5 dager.

Avspaltning blir deretter oppnådd med 95:5 TFA:H₂O, og syklisk peptid blir renset ved preparativ HPLC og ionebytting til acetatsaltform med AG4-X4 ionebytteharpiks for å tilveiebringe tittelforbindelsen ($FAB-MH^+ = 1061,7$).

Eksempel 3: syklo[{-4-(morfolino-etyl-aminokarbonyloksy)-Pro}-Phe-DTrp-Lys-Tyr(Bzl)-Phe]

Fremstilling av hydroksyprolin-ekstensjon er som følger: Fmoc-HyPro-OMe ble dråpevis tilsatt til en oppløsning av trifosgen (0,6 ekv.) i THF. Etter 1 t blir dimetylaminopyridin (1,0 ekv.) og N-etylaminomorfolin (6,0 ekv.) tilsatt og reaksjonen blir omrørt ved RT. Etter TLC studier blir oppløsningsmiddelet fjernet i vakuum og Fmoc-4-(morfolinoetylaminokarbonyloksy)Pro-OH blir renset på silikagel ($MH^+ 524$). Metylester blir deretter spaltet ved behandling med 1N NaOH i dioksan/vann og produktet Fmoc-4-(morfolinoetylaminokarbonyloksy)Pro-OH blir renset på silikagel, ($MH^+ 510$).

Fmoc-Phe-SASRIN ført igjennom prosedyren Fmoc fast fase syntese på en måte som er analog med tidligere eksempel helt til ønsket Fmoc-(D)-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Tyr(Bzl)-Phe-(morfolinoetylaminokarbamat)HyPro-Phe-SASRIN harpiks er oppstilt. Fmoc blir avspaltet ved anvendelse av piperidin. Spaltning av peptidharpiksen blir utført ved behandling av peptidharpiksen i en glasskolonne med 2% TFA i CH_2Cl_2 . Nøytralisering blir utført med 1M $NaHCO_3$ oppløsning. Oppløsningsmiddelet blir redusert i vakuum og beskyttet lineært peptid blir lyofilisert. Beskyttet lineært peptid blir cyclisert ved

behandling med DCCI (6,0 ekv.) og HOBt (6,0 ekv.) over en periode på 5 dager. Avspaltning blir deretter oppnådd med 95:5 TFA:H₂O og det sykliske peptidet blir rensset ved preparativ HPLC og ionebytting til acetatsaltform med AG4-X4 ionebytteharpiks for å tilveiebringe tittelforbindelsen.

5

MH^+ (FAB): 1131

$[\alpha]_{22}^D = -55,0^\circ$ (95% AcOH; c = 0,1).

Ved å gjenta prosedyrene som beskrevet ovenfor, men med anvendelse av tilsvarende utgangsmaterialer, kan forbindelser med formel

10

syklo[X-Y-DTrp-Lys-Z-Phe]

hvor X, Y og Z er som definert i Tabell 1 nedenfor, bli oppnådd.

Tabell 1

Eks.	X	Y	Z	Fysiske-kjemiske data MH ⁺		
4	4-HyPro	N ^ε -Bzl-Gly	Tyr(Bzl)	E.S.	975.7	
5	Pro	Phe	Tyr(Bzl)	FAB	959	
6	4-(NH ₂ -C ₂ H ₄ -NH-CO-O-)Pro	His	Tyr(Bzl)	E.S.	1051.5	
7	id.	Tyr	Tyr(Bzl)	FAB	1077	
8	id.	Arg	Tyr(Bzl)	E.S.	1070.4	
9	4-(NH ₂ -C ₃ H ₆ -NH-CO-O-)Pro	His	Tyr(Bzl)	E.S.	1065.4	
10	id.	Phe	Tyr(Bzl)	FAB	1075	
11	id.	Tyr	Tyr(Bzl)	E.S.	1091.7	
12	4-(NH ₂ -C ₂ H ₄ -NH-CO-O-)Pro	Phe	Ser(pClBzl)	E.S.	1019.6	
13	id.	Ala	Thr(Bzl)	E.S.	924.2	
14	id.	Phe	Tyr(Bzl)	FAB	1047	
15	id.	Trp	Tyr(Bzl)	FAB	1100	
16	id.	Phe	Thr(Bzl)	E.S.	999.6	
17	id.	Phe	Glu(Bzl)	E.S.	1027.7	
18	4-(N[CH ₃] ₂ -C ₂ H ₄ -NH-CO-O-)Pro	Phe	Tyr(Bzl)	FAB	1089	
19	4-(NH-C ₂ H ₄ -NH-CO-O-)Pro COCH ₃	Phe	Tyr(Bzl)	E.S.	1103.6	
20	NH ₂ -C ₂ H ₄ -CO-O-NCH ₃ Ser	Tyr	Tyr(Bzl)	E.S.	1065.6	
21	MeSer	Phe	Tyr(Bzl)	FAB	963	1)
22	4-(pyridyl-C ₂ H ₄ -NH-CO-O)Pro	Phe	Tyr(Bzl)	FAB	1123	2)
23	4-(NH ₂ -C ₃ H ₁₀ -NH-CO-O-)Pro	Phe	Tyr(Bzl)	FAB	1118	3)
24	4-HyPro	His	Tyr(Bzl)	E.S.	965.7	
25	id.	Tyr	Glu(Bzl)	FAB	941	
26	id.	Phe	Thr(Bzl)	FAB	913	
27	4-NH ₂ -Pro	Phe	Tyr(Bzl)	FAB	974	4)

Tabell 1 (fortsatt)

Eks.	X	Y	Z	Fysiske-kjemiske data MH ⁺		
28	N ^ε -Me-Lys		Phe	Tyr (Bzl)	FAB	967
29*	4-(NH ₂ -C(=NH)-NH-C ₂ H ₄ -NH-CO-O)Pro NH		Tyr	Tyr (Bzl)	E.S.	1118.7
30	4-(NH ₂ -C ₂ H ₄ -NH-CO-O)Pro		Tyr	Thr (Bzl)	E.S.	1015.5
31	4-(NH ₂ -C ₂ H ₄ -NH-CO-O)Pro		Phe	Ser (Bzl)	E.S.	985.1
32	4-(NH ₂ -C ₂ H ₄ -NH-CO-O)Pro (cis)		Phe	Ser (Bzl)	E.S.	985.1
33	4-(NH ₂ -C ₂ H ₄ -NH-CO-O)Pro		Ser	Thr (Bzl)	E.S.	939.0
34	4-(NH ₂ -C ₂ H ₄ -NH-CO-O)Pro		Thr	Thr (Bzl)	E.S.	953.1
35	4-NH ₂ -Pro-		Phe	Ser (Bzl)	E.S.	898.0
36	4-[N(CH ₃) ₂ -C ₂ H ₄ -NH-CO-O]Pro		Phe	Ser (Bzl)	E.S.	1013.2
37	4-(NH ₂ -C ₂ H ₄ -NH-CO-O)Pro		Tyr	Ser (Bzl)		
38	4-NH ₂ -Pro (cis)		Phe	Ser (Bzl)	E.S.	898
39	4-(NH ₂ -C ₂ H ₄ -NH-CO-O)Pro		Ile	Thr (Bzl)		
40	4-(NH ₂ -C ₂ H ₄ -NH-CO-O)Pro		Phe	Cys (Bzl)		
	1) [α] _D ²² = -47.0°		(95 % AcOH; c = 0.1)			
	2) [α] _D ²² = -54.0°		(95 % AcOH; c = 0.1)			
	3) [α] _D ²² = -54.0°		(95 % AcOH; c = 0.1)			
	4) [α] _D ²² = -99°		(95 % AcOH; c = 0.1)			
	id. = idem					

* Peptidet i Eksempel 29 kan bli fremstilt som følger:

- 30 Beskyttet peptid syklo[(NH₂-C(=NH)-NH-C₂H₄-NH-CO-O)]-Pro-Tyr-DTrp-Lys(Dde)-Tyr(Bzl)-Phe blir oppstilt på harpiksen ved en anvendelse av Fmoc fast
fasesynteseprosedyre som beskrevet i Eksempel 2. I stedet for N^ε-Boc-Lys, blir N^ε-Dde-Lys anvendt for fortrinnsvis å innføre guanidinylfunksjonen på den basiske sidekjeden
til HyPro residiet. Etter oppstilling av peptidet blir den terminale Fmoc gruppen fjernet
35 og peptidet cyclisert og til slutt avspaltet som i Eksempel 2. Dette peptidet blir løst opp
i DMF og diisopropyletylamin (3 ekv.) og HOBt (4 ekv.) blir tilsatt etterfulgt av 3,5-
dimetyl-pyrazolylformamidiniumnitrat (4 ekv.) og oppløsningen ble omrørt i 72 t ved

RT. Reaksjonsblandingen blir avdampet i vakuum og deretter utsatt for behandling med vannfri hydrazin (2% i DMF) i 30 min. for å fjerne Dde gruppen på Lys. Rå tittelpeptid (Eksempel 29) ble deretter renset ved HPLC i acetonitril og vandig trietylammoniumfosfatsystem.

Eksempel 41: syklo[4-(NH₂-C₂H₄-NH-CO-O-)Pro-Ala-DTrp-Lys-Tyr(3-Bzl)-Phe]

MH⁺ (E.S.): 984,5.

Eksempel 42: syklo[{4-(NH₂-C₂H₄-NH-CO-O-)Pro}-(p-NH₂)-Phe-DTrp-Lys-Tyr(3-Bzl)-Phe]

MH⁺ (E.S.): 1076,6.

Eksempel 43: syklo[4-HyPro-Phe-DTrp-Lys-Tyr(Bzl)-BNAI]

MH⁺ (E.S.): 1025,5.

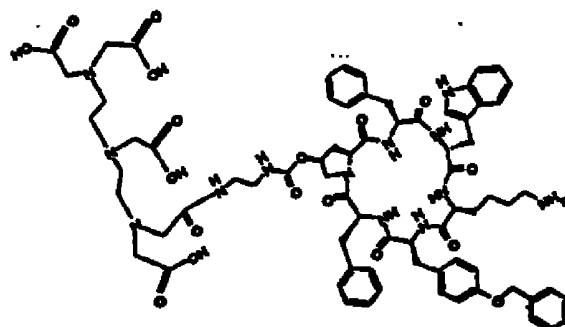
Eksempel 44: syklo[4-HyPro-Phe-DTrp-Lys-Tyr(Bzl)-Tyr]

MH⁺ (E.S.): 991,6.

Eksempel 45: syklo[MePhe-His-DTrp-Lys-Tyr(Bzl)-Dab]

MH⁺ (FAB): 1005.

Eksempel 46:



a) **syklo[4-(NH₂-C₂H₄-NH-CO-O-)Pro-Phe-DTrp-Lys-(ε-Boc)-Tyr(Bzl)-Phe]**

60 mg syklo[4-NH₂-C₂H₄-NH-CO-O)Pro-Phe-DTrp-Lys-Tyr(Bzl)-Phe], 12 mg NaHCO₃ og 12 mg (BOC)₂O blir løst opp i 10 ml DMF/vann 7/3, og oppbevart ved romtemperatur med omrøring over natt. Etter avdampning av oppløsningsmiddelet ble tittelproduktet isolert ved silika gelkromatografi ved anvendelse av metylenklorid/metanol/eddiksyre_{50%} 8/2/0,25 som mobil fase.

b) **syklo[4-(DTPA-NH-C₂H₄-NH-CO-O-)Pro-Phe-DTrp-Lys(ε-Boc)-Tyr(Bzl)-Phe]**

120 mg DTPA-hydrazid ble løst opp i 5 ml DMF og justert til pH 3 med dråper av dietyleter/3N HCl. Etter nedkjøling til -15°, blir 4 µl tert.-butylnitrit og en oppløsning av 15 mg av forbindelsen oppnådd i a) ovenfor i 3 ml DMF inneholdende 15 µl Hünig base tilsatt. Etter 4 timer blir oppløsningsmiddelet fjernet ved avdampning og den gjenværende resten blir avspaltet uten ytterligere rensing.

c) **syklo[4-(DTPA-NH-C₂H₄-NH-CO-O-)Pro-Phe-DTrp-Lys-Tyr(Bzl)-Phe]**

Råproduktet ifølge trinn b) blir behandlet med 5 ml TFA/vann 95/5 ved 0° i 10 minutter. Etter fortynning med 50 ml vann blir oppløsningen direkte overført på en RP18-HPLC kolonne og eluert med en vann/acetonitril/TFA_{0,1%} gradient. Rene fraksjoner blir slått sammen og lyofilisert. FAB-MS: 1436,6.

Eksempel 47: ¹¹¹In merket forbindelse ifølge Eksempel 46 c)

1 mg av forbindelsen i Eksempel 46 c) blir løst opp i 5 ml 0,01 M eddiksyre. Den resulterende oppløsningen blir sendt gjennom et 0,22 µ Millex[®]-GV filter (Registrert varemerke) og dispensert i 0,1 ml porsjoner og lagret ved -20°C. ¹¹¹InCl₃ (Amersham, 1 mCi/100 µl) blir forfortynnet i et likt volum 0,5 M natriumacetat og merkingen blir utført ved blandingen av liganden med InCl₃ oppløsning og forsiktig homogenisering ved romtemperatur.

HEPES buffer, pH 7,4 ble deretter tilsatt for å danne en oppløsning 10⁻⁶ M.

Eksempel 48: Syklo-[4-(DOTA-NH-C₂H₄-NH-CO-O)Pro-Phe-DTrp-Lys-Ser(Bzl)-Phe]

M.S.: 1371.57.

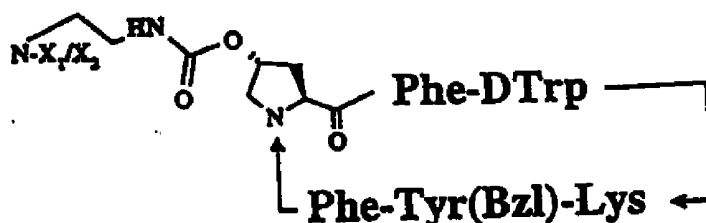
5

Denne forbindelsen ble merket med ⁹⁰Y som følger: 20 µl ⁹⁰Y (1,2 mCi, 0,04 M HCl) til 20 µl 50 µM av ovennevnte forbindelse (0,15 M NH₄ = Ac, 0,3% BSA, pH 4,5). Denne oppløsningen blir inkubert ved 100° i 15 minutter. En alikvot blir fjernet og fortynnet med 4 mM DTPA (pH 4,5) før de blir analysert ved C18 revers fase HPLC for å bekrefte mengden av fri uchelatert ⁹⁰Y i reaksjonsblandingen (som indikert ved tilstedeværelse av [⁹⁰YDTPA]²⁻).

10

Eksempel 49:

15



20

116 mg av forbindelsen i Eksempel 46 a), 12 mg NaCNBH₃ og 2 ekvivalenter av respektivt aldehyd ble løst opp i 25 ml DMF/HOAc_{1%} og holdt ved 60° helt til det ikke kan bli detektert utgangsmateriale ved TLC. Etter fjerning av oppløsningsmiddelet blir den gjenværende resten rensset ved silikagelkromatografi (metylenklorid/metanol/HOAc_{50%} 9/1/0,125 — 8/2/0,25) for å separere mono- og dobbelt-alkylert sluttprodukt.

25

i) Aldehyd: (D)-glukose
 $X_1 = \text{HOCH}_2 - (\text{CHOH})_4 - \text{CH}_2\text{-d}$ $X_2 = \text{H}$
 E.S. -MH⁺ = 1225.4

30

ii) Aldehyd: (D)-glukose
 $X_1 = X_2 = \text{HOCH}_2 - (\text{CHOH})_4 - \text{CH}_2\text{-}$
 E.S. -MH⁺ = 1389.6

35

iii) Aldehyd: 2,3-0-isopropyliden-(D)-glyceraldehyd
 $X_1 = \text{HOCH}_2\text{-CHOH-CH}_2\text{-}$ $X_2 = \text{H}$

iv) Aldehyd: 2,3-0-isopropyliden-(D)-glyceraldehyd
 $X_1 = X_2 = \text{HOCH}_2\text{-CHOH-CH}_2\text{-}$
 E.S.- $\text{MH}^+ = 1209.4$

v) Aldehyd: hydroksyacetaldehyd
 $X_1 = X_2 = \text{HOCH}_2\text{-CH}_2\text{-}$
 E.S. - $\text{MH}^+ = 1149.4$

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen i fri form eller form av farmasøytisk akseptable salter og komplekser utviser verdifulle farmakologiske egenskaper som indikert i in vitro og in vivo tester og er derfor indikert for terapi.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen blir spesielt bundet til minst en somatostatin reseptor subtype. 5 somatostatin reseptor subtyper, SST-1, SST-2, SST-3, SST-4 og SST-5 er blitt klonet og karakterisert.

hSST-1, hSST-2 og hSST-3 og deres sekvenser er blitt beskrevet av Y. Yamada et al. i Proc. Nat. Acad. Sci., 89, 251-255 (1992). hSST-4 og dets sekvens er blitt beskrevet av L. Rohrer et al. i Proc. Acad. Sci., 90, 4196-4200 (1993). hSST-5 og dets sekvens er blitt beskrevet av R. Panetta et al. i Mol. Pharmacol. 45, 417-427, 1993.

Bindingsanalysene kan bli utført som beskrevet heri ved anvendelse av membraner fremstilt fra hSST-1, hSST-2, hSST-3, hSST-4 eller hSST-5 selektive cellelinjer, f.eks. CHO celler som stabilt uttrykker hSST-1, hSST-2, hSST-3, hSST-4 eller hSST-5.

Hjerne og hypofysevev blir anvendt hvor hSST blir visualisert med f.eks. in situ hybridisering og/eller reseptor autoradiografi. Membraner blir fremstilt ifølge kjente fremgangsmåter, f.eks. som beskrevet av JC. Reubi et al. i J. Clin. Endocrinol. Metab. 1987, 65, 1127-1137. Membraner fremstilt fra hSST selektive cellelinjer, f.eks. CHO celler uttrykker stabil hSST-1 eller hSST-2 eller hSST-3 eller hSST-4 eller hSST-5 blir inkubert i triplikat i et totalvolum på 300 µl ved 22°C i 30 min. med økende konsentrasjoner av [$^{125}\text{I-Tyr}^3$]-oktreotid i 10 mmol/l Hepes buffer (pH 7.6) inneholdende 0,5% BSA. Inkubasjonen blir avsluttet ved hurtig filtrering gjennom Whatman GF/B glassfiberfiltre som deretter blir vasket fire ganger hver med 5 ml iskald 10 mmol/l

Tris/150 mmol/l NaCl. Filtrene blir telt i en LKB teller ved 78% telleeffektivitet.

Spesifikk binding er totalbinding minus uspesifikk binding i nærvær av 1 $\mu\text{mol/l}$ somatostatin-14. Eksperimenter blir utført i triplikat. Affinitetskonstant (K_D) og antall bindingssteder blir beregnet fra Scatchard plot av dataene.

5

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen, f.eks. som angitt ovenfor, har i ovennevnte bindingsanalyser overfor hSST-1, hSST-2, hSST-3, hSST-4 og/eller hSST-5 en IC_{50} i nmolar område, fortrinnsvis en IC_{50} på fra 0,1 til 10 nM (IC_{50} = konsentrasjon for halv-maksimal inhibisjon i en konkurrerende bindingsanalyse ved anvendelse av [^{125}I -Tyr 3]-octreotid samme radioligand som anvendt ovenfor).

10

IC_{50} (nM)					
Forbindelse	hSSTR-1	hSSTR-2	hSSTR-3	hSSTR-4	hSSTR-5
Eks. 1	63,00	0,94	1,90	320,00	0,35
Eks. 2	4,60	2,30	0,93	490,00	0,46
Eks. 14	7,40	1,20	0,86	>100	0,13
Eks. 31	0,50	0,80	3,90	3,60	2,90
Eks. 32	3,80	0,13	57,00	7,90	2,00
Eks. 36	0,60	1,30	2,40	2,20	4,50

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen viser videre GH-frigjørende inhiberende aktivitet som indikert ved inhibisjon av GH frigjøringen in vitro fra dyrkede hypofyseceller. Anterior pituitæri kjertler fra voksne hannrotter blir kuttet i små stykker og dispergert ved anvendelse av 0,1% trypsin i 20 mM HEPES buffer. Dispergerte celler blir dyrket i 4 dager i MEM (Gibco) supplementert med 5% føtalt kalveserum, 5% hesteserum, 1 mM NaHCO_3 , 2,5 nM deksametason, 2,5 mg/ml insulin og 20 U/ml Pen/Strep. På dagen for eksperimentet blir koblete celler vasket to ganger med Krebs-Ringer medium bufret med 20 mM HEPES og supplementers med 5 mM glukose og 0,2% BSA. Deretter blir cellene inkubert i to til fire timer med testforbindelsen i nærvær av $x \times 10^{-10}$ M veksthormon-frigjørende faktor. Mengden av veksthormon frigjort i mediet blir målt ved RIA. Forbindelsene ifølge oppfinnelsen inhiberer frigjøringen av GH konsentrasjon-avhengig fra 10^{-11} til 10^{-6} M. Forbindelsen i Eksempel 2 har en IC_{50} på 0,4 nM.

15

20

25

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen inhiberer også frigjøringen av insulin og/eller glukagon, som vist i standardtester ved anvendelse av hannrotter. Test-forbindelsen blir administrert ved varierende, logaritmiske varierende doser ved anvendelse av minst 5 rotter pr. dose. 1 time etter s.c. administrasjon og testforbindelsen blir blod tappet.

5 Bestemmelse av blodseruminsulin og glukagonnivåer blir oppnådd ved radio-immuno-analyse. Forbindelser ifølge oppfinnelsen er aktive i denne testen når administrert i en dosering i området fra 0,02 til 1000, f. eks. til 10 µg/kg s.c.. Forbindelsene i Eksempel 9 har en EC₅₀ på 1,8 µg/kg s.c. med hensyn på insulinsekresjon.

10 Forbindelsene ifølge oppfinnelsen er følgelig nyttige for behandling av forstyrrelser med en aetiologi omfattende eller assosiert med overskudd GH-sekresjon, f.eks. for behandling av akromegali samt for behandling av diabetes mellitus, spesielt komplikasjoner derav, f.eks. angiopati, proliferativ retinopati, dawnfenomen og nefropati og andre metabolske forstyrrelser relatert til insulin eller glukagonfrigjøring.

15 Forbindelsene ifølge oppfinnelsen inhiberer også magesyresekresjon, eksokrin og endokrin bukspyttkjertelsekresjon og sekresjon av forskjellige peptider i mage-tarmkallen, som vist i standardtester ved anvendelse av f.eks. rotter med mage eller bukspyttkjertel fistulae, hvori forbindelsene er aktive i en dose fra 0,01 til 10 mg/kg.

20 Forbindelsene ifølge oppfinnelsen er i tillegg nyttige for behandling av mage-tarmforstyrrelser, f.eks. for behandling av peptiske sår, enterokutane og pankreatocutaneous fistula, irritabel magesyndrom og sykdom, dumpingsyndrom, watery diare syndrom, AIDS-relatert diare, kjemoterapi-indusert diare, akutt eller
25 kronisk pancreatitt og magetarmhormonutskillende tumorer (f.eks. vipomas, glukagonomas, insulinomas, carcinoids o.l.) samt mage-tarmblødning.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen er også effektive for behandling av tumorer som er somatostatin reseptor positive, spesielt tumorer som bærer hSST-1, hSST-2, hSST-3,
30 hSST-4 og/eller hSST-5, som indikert i proliferasjonstester med forskjellige cancercellelinjer som bærer slike somatostatinreseptorer.

AR42J rotte bukspyttkjertel-tumorcellelinje er avledet fra en azaserin-indusert eksokrin bukspyttkjertel tumor (Jessop and Hay, 1980). Fravær av mykoplasma blir jevnlig
35 undersøkt ved anvendelse av bisbenzimidfarging og GenProbe hybridiseringsanalyse (San Diego, CA). Kulturer blir propagert i DMEM supplementert med 10% føtalt kalveserum (FC) ved 5% CO₂. Celler blir dyrket i fravær av antibiotika eller antisopp

midler. Subkonfluente AR42J celler blir trypsinert, fortynnet i DMEM + 2,5% FCS og sådd ut i ubelagte 96-brønn skåler. Etter en 48-t inkubasjonsperiode (dag 0), ble antall celler i en separat kontrollskål bestemt både ved telling av cellene i en Coulter counter og ved SRB kolorimetrisk analyse. Cellene blir deretter eksponert for forbindelsen som skal bli testet i 2 til 5 dager ved forskjellige konsentrasjoner og deretter opptelt. Under disse betingelsene inhiberer forbindelsene ifølge oppfinnelsen proliferasjon til tumorcellene i en konsentrasjon på fra 10^{-12} til 10^{-6} M. Forbindelsen ifølge Eksempel 2 har en IC_{50} på $0,7 \pm 0,3$ (SE) nM.

10 Tumor vekststudier in vivo

Hunn nakne mus (nu/nu Balbc-A fra IFFA Credo, Lyon, Frankrike) med vekt 19-22 g, blir holdt i grupper på 5 dyr i makrolonbur (type III, 16x22x11). Burene blir plassert i ventilerte kabinetter (Iffa Credo) som blir opprettholdt ved $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Dyrene har fri adgang til drikkevann og en patogen-fri gnagerdiett (Diet A, Kliba, Basel Sveits). For å initiere tumorer fra dyrkede celler blir AR42J cellene trypsinert og $5-10 \times 10^6$ tumorceller (i 0,2 ml) blir injisert subkutan (s.c.) inn i begge flankene til nakne mus. Behandlingen fortsetter 2 - 4 dager etter inokulasjon av tumorcellene og forbindelsen som skal bli testet blir fortrinnsvis administrert som en kontinuerlig infusjon, f.eks. i en rate på 10 til 50 $\mu\text{g/kg/t}$. Størrelsen til tumorene blir bestemt med en kaliper. For å beregne tumorvolumet blir ligningen "volum (ellipsoid) = lengde x dybde x høyde x 0,52" anvendt. For statistiske beregninger blir Student's t-test anvendt. I denne analysen inhiberer forbindelsen ifølge eksempel 2 tumorveksten på dag 11 med 51% vs saltvannkontroll.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen er følgelig nyttig for behandling av maligne celle-proliferative sykdommer, f.eks. cancertumorer, spesielt tumorer som bærer somatostatin-reseptortyper målsøkt av forbindelsene, f.eks. som beskrevet nedenfor for chelaterte forbindelser.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen har også en inhiberende effekt på angiogenesen, som vist i standardtester, f.eks. i nakne mus som beskrevet nedenfor.

Mus blir bedøvd med 400 mg/kg klorhydrat (Sigma) i.p. tumorceller ($0,1$ til 110×10^6 i 0,1 ml) (SiHa celler og MDA-MB-231 celler preparert som beskrevet i Angiogenesis, Ed. av R. Steiner, P.B. Weisz og R. Langer, 1992, Sveits) blir inokkulert intrakutant. Vanligvis blir to mid-ventrale seter/mus injisert som er beliggende langt fra

hovedventral hud årene slik at bakgrunnsbeholdertellingene er lave. Kontrollgrupper mottar 0,1 ml 0,02% trypanblå i PBS. 10 dager etter injeksjonen blir anestetiserte mus ofret ved CO₂ inhalasjon. Huden blir plassert på en plastring (40 mm diameter) for vurdering av et invertert mikroskop (Zeiss IM) ved 12,5- og 25-ganger forstørrelse.

- 5 Som et mål på aniogenesen blir beholderne fotografert og de som er direkte koblet med tumoren blir telt. I kontrolldyrene blir de beholderne som er koblet til et definert område rundt injeksjonssete opptelt. Dette området tilsvarer gjennomsnittlig området til dermale tumorer. Sistnevnte blir bestemt ved anvendelse av en kaliper ifølge ligningen $3,14 \times r^2$. Forbindelsene som skal bli testet blir administrert s.c. enten på dag for tumor-
- 10 inokulasjon eller tre dager senere. Kontrolldyrene blir bærer-behandlet. I denne analysen inhiberer forbindelsene blodåredannelsen når administrert i en dose på f.eks. 0,01 til 1000 µg/kg s.c.

- Forbindelsene ifølge oppfinnelsen er følgelig i tillegg nyttig for forhindring eller
- 15 behandling av angiogenese, inflammatoriske forstyrrelser og retinopati.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen har også en inhibert effekt på proliferasjonen og migreringen av glatte muskelceller som angitt i følgende tester.

20 **Kroniske allograftavstøtninger.**

- Forbindelsene ifølge oppfinnelsen inhiberer kronisk avstøtning av en rotnenyre allograft. Nyren til en hann DA (RT1^a) rotte blir ortotopisk transplantert inn i en hann Lewis (RT1^a) mottager. I alt 24 dyr blir transplantert. Alle dyrene blir behandlet med
- 25 syklosporin A med 7,5 mg/kg/dag pr. os i 14 dager begynnende på transplantasjonsdagen for å forhindre akutt cellulær avstøtning. Kontralateral nefrektomi blir ikke utført. Hver eksperimentelle gruppe behandlet med en bestemt dose av en forbindelse ifølge oppfinnelsen eller placebo omfatter seks dyr. Begynnende på dag 53 - 64 etter transplantasjonen, blir mottagerdyrene behandlet i ytterligere 69 - 72
- 30 dager ved infusjon med en forbindelse ifølge oppfinnelsen eller mottar placebo. 14 dager etter transplantasjon blir organperfusjon målt ved MRI. Dette blir gjentatt på dagene 53 - 64 etter transplantasjonen og i slutten av eksperimentet. Dyrene blir deretter autopsiert. Administrering av en forbindelse ifølge oppfinnelsen f.eks. forbindelsen ifølge Eksempel 31, i en dose på 1 - 10 µg/kg/t i denne rotnenyre allograft-
- 35 modellen tilveiebringer en forbedret organperfusjon. Et skarpt fall i IGF-1 nivåene er også blitt målt.

Angioplastikk

Studier på angioplastikk blir utført i modellen av Balloon kateter injury: Balloon kateterisering blir utført på dag 0, vesentlig som beskrevet av Powell et al. (1989).

- 5 Under isofluoran anestesi, blir et Fogarty 2F kateter innført i venstre felles karotidarterie via ytre karotid og inflatert (distensjon ? 10 µl H₂O). Inflatert ballong blir tatt ut langs lengden av felles karotid tre ganger, siste to gangene med forsiktig dreining for å oppnå en jevn de-endotelialisering. Kateteret blir deretter fjernet, en ligatur blir plassert rundt ytre karotid for å forhindre blødning og dyrene blir deretter latt være i fred.

10

- To grupper med 12 RoRo rotter (400 g, omtrent 24 uker gammel) blir anvendt i studiene: en kontrollgruppe og en gruppe som mottar en forbindelse ifølge oppfinnelsen. Rottene blir fullstendig randomisert i løpet av all håndtering, eksperimentelle prosedyrer og analyser. Forbindelsen som skal bli testet blir administrert ved kontinuerlig infusjon ved anvendelse av minipumper i en rate på 10 - 50 µg/kg/t begynnende 3 dager før ballonginnføringen (dag -3) helt til slutten av studien, 14 dager etter ballonginnføringen (dag +14). Rottene blir oppbevart i individuelle bur og mottar mat og vann ad libidum.

20

- Rottene blir deretter bedøvd med Isofluoran, et perfusjonskateter blir satt inn gjennom venstre ventrikel og sikret i aortabuen, og en aspirasjonskanyle blir satt inn i høyre ventrikel. Dyrene blir perfusert under et perfusjonstrykk på 150 mmHg, først i 1 min. med 0,1 M fosfatbufret saltvannopløsning (PBS, pH 7,4) og deretter 15 min. med 2,5% glutaraldehyd i fosfatbuffer (pH 7,4). Karotidarterier blir deretter tatt ut, separert fra omgivende vev og nedsenket i 0,1 M cacodylat buffer (pH 7,4) inneholdende 7% sakkarose og inkubert over natt ved 4°C. Følgende dag blir karotidene nedsenket og ristet i 1 t ved romtemperatur i 0,05% KMnO₄ i 0,1 M cacodylat. Vevene blir deretter dehydrert i en gradert etanolserie; 2 x 10 min. i 75%, 2 x 10 min i 85%, 3 x 10 min i 95% og 3 x 10 min i 100% etanol. Dehydrerte karotider blir deretter innesluttet i Technovit 7100 ifølge forhandlerens anbefalinger. Omgivende medium blir polymerisert over natt i en eksikator under argon.

30

- Snitt med tykkelse på 4 µm blir kuttet fra midtseksjonen til hvert karotin med en hard metallkniv på en roterende mikrotom og farget i 2 min. med Giemse-farging. Omtrent 5 snitt fra hvert karotin blir følgelig dannet og kryss-snittområder av media, neointima og lumen morfometrisk vurdering ved hjelp av et billedanalysesystem (MCID, Toronto, Canada).

35

I denne analysen inhiberer forbindelsen ifølge oppfinnelsen myointimal proliferasjon når administrert med kontinuerlig infusjon ved en daglig dose på fra 0,2 til 10 mg/kg, fortrinnsvis 0,05 til 5 mg/kg.

- 5 Forbindelsene ifølge oppfinnelsen er følgelig også nyttig for forhindring eller bekjemping av podningsåresykdommer, f.eks. allo- eller xenotransplant vaskulopater, f.eks. podningsåret atherosklerose, f.eks. ved transplantering av organ, f.eks. hjerte, lunge, kombinerte hjerte-lunge, lever, nyrer eller bukspyttkjertel-transplantater eller for
10 forhindring eller behandling av restenose og/eller vaskulær okklusjon etter vaskulær skade, f.eks. angioplasti.

- I alle ovennevnte indikasjoner, vil nødvendig dosering selvfølgelig variere avhengig av f.eks. forbindelsen ifølge oppfinnelsen som blir anvendt, verten, administrasjonsmåten og hvor alvorlig tilstanden som skal bli behandlet er. Generelt blir derimot
15 tilfredsstillende resultater oppnådd ved administrering i størrelser på fra 1 µg til 0,5 mg/kg/dag av forbindelsen. En indikert daglig dosering for pasienter er i området fra omtrent 2 µg til omtrent 20 mg, fortrinnsvis omtrent 0,01 til omtrent 20 mg, f.eks. omtrent 10 til omtrent 5.000 µg s.c. av forbindelsen hensiktsmessig administrert i oppdelte doser opp til 3 ganger pr. dag i enhetsdoseringsform inneholdende f.eks. fra
20 omtrent 0,5 µg til omtrent 10 mg, f.eks. fra omtrent 2 µg til 10 mg, av forbindelsen eller i vedvarende frigjøringsform.

- Forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan bli administrert i fri form eller i farmasøytisk akseptabel saltform eller komplekser. Slike salter og komplekser kan bli fremstilt på
25 konvensjonell måte og utviser samme aktivitetsstørrelse som de frie forbindelsene. Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer også en farmasøytisk sammensetning som omfatter en forbindelse ifølge oppfinnelsen, f.eks. en forbindelse med formel II, i fri baseform eller i farmasøytisk akseptabel saltform eller kompleksform i assosiasjon med et farmasøytisk akseptabelt fortynningsmiddel eller en bærer. Slike sammensetninger
30 kan bli formulert på konvensjonell måte. Forbindelsene ifølge oppfinnelsen eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller kompleks derav kan bli administrert ifølge en hvilken som helst vei, f.eks. parenteralt f.eks. i form av injiserbare oppløsninger eller suspensjoner, eller i en nasal eller suppositorieform.

- 35 I henhold til med det foregående omfatter foreliggende oppfinnelse videre:

- a) en forbindelse ifølge oppfinnelsen f.eks. en forbindelse med formel II, eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller kompleks derav som anvendes som et farmasøytisk middel;
- 5 b) en forbindelse for å forhindre eller behandle forstyrrelser som angitt ovenfor i et individ som trenger slik behandling, idet fremgangsmåten omfatter administrering til nevnte individ i en effektiv mengde av forbindelsen ifølge oppfinnelsen, f.eks. en forbindelse med formel II eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller kompleks derav; eller
- 10 c) en forbindelse ifølge oppfinnelsen eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller et kompleks derav som anvendes for fremstilling av en farmasøytisk sammensetning som anvendes i en hvilken som helst fremgangsmåte som definert under b) ovenfor.

15

Chelaterte forbindelser ifølge oppfinnelsen eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, er nyttig enten som et billeddannende middel, f.eks. visualisering av somatostatinreseptor-positive vev og celler, f.eks. somatostatinreseptor positive tumorer og metastaser, inflammatoriske- eller autoimmune forstyrrelser som utviser somatostatinreseptorer, tuberkulose eller organavstøtning etter transplantasjon, når 20 kompleksbundet med et γ - eller positron-avgivende nukleid, f.eks. ^{111}In , ^{161}Tb eller ^{86}Y , eller som et radiofarmasøytisk middel for behandling in vivo av somatostatinreseptor positive tumorer og metastaser, rheumatoid arthritt og alvorlige betennelsestilstander når kompleksbundet med et α - eller β -emitterende nukleotid, eller et nukleotid med Auger-
25 e^- -kaskader, f.eks. ^{90}Y , ^{61}Tb , ^{211}At , ^{213}Bi eller ^{201}Tl som angitt i standard tester.

25

Det er spesielt observert at de chelaterte forbindelsene ifølge oppfinnelsen f.eks. ^{111}In , ^{88}Y , ^{90}Y , ^{153}Sm , ^{186}Re eller ^{161}Tb chelaterte forbindelser ifølge oppfinnelsen bindes med en god affinitet til somatostatinreseptorer med pKi verdier på fra omtrent 8 til 10.
30 Forbindelsen ifølge Eksempel 47 har en IC_{50} verdi på 1,2 nM overfor hSST-2, 0,65 nM overfor hSST-3 og 0,30 nM overfor hSST-5.

30

Affiniteten til chelaterte forbindelser ifølge oppfinnelsen og deres komplekser for somatostatinreseptorer kan også bli vist ved in vivo testing, ifølge standard testmetoder, 35 f.eks. som beskrevet i GB-A-2,225,579. For eksempel tilveiebringer forbindelsen ifølge Eksempel 47 betydelig tumorakkumulasjon 4 timer etter injeksjon inn i mus eller rotter som bærer en eksokrin bukspyttkjerteltumor bærende SST-2 reseptorer.

35

Etter administrering av en chelatert forbindelse ifølge oppfinnelsen i kompleksbundet form, f.eks. en ^{111}In , ^{86}Y eller ^{161}Tb chelatert forbindelse i en dosering på fra 1 til 5 $\mu\text{g/kg}$ merket med 0,1 til 5 mCi radionuklid, fortrinnsvis 0,1 til 2 mCi, blir tumorsetene
 5 detekterbare sammen med organene hvor ekskresjonen vesentlig foregår.

Chelaterte forbindelser ifølge oppfinnelsen har når radiomerket med et α - eller β -emitterende radionukleotid eller et nukleid med et Auger- e^- -kaskade antiproliferativ og/eller cytotoxisk effekt på tumorceller som bærer somatostatinreseptorer, f.eks. som
 10 indikert i tester for nakne mus.

Nakne mus blir inokkulert med AR42J rotte-bukspyttkjertel tumorceller eller HCI-H69 humane små celle lungecancer som beskrevet ovenfor. Når tumorer har nådd et volum på 1 til 2 cm^3 , blir dyrene plassert i kontroll og behandlingsgrupper. Kontrolldyrene,
 15 mottar enten en umerket forbindelse eller en chelatert forbindelse i kompleksbundet form ved i.p. eller i.v. injeksjoner i doser som tilsvarer den høyeste dosen til behandlingsgruppene. Doser opp til 40 mCi/kg er gitt pr. mus. Størrelsen på tumorene blir bestemt med en kaliper som beskrevet ovenfor. For statistiske beregninger blir studiens t-test anvendt. I denne testen blir forbigående tumorinnskrenkninger til 50% av
 20 opprinnelig observert etter en uke og tumorveksten blir forsinket i 2 uker ved en enkelt anvendelse av forbindelsen i Eksempel 48. I kontrast viste kontrollgruppene kontinuerlig tumorvekst med en volumdoblingstid på omtrent 7 dager.

25 En chelatert forbindelse ifølge oppfinnelsen, f.eks. en chelatert forbindelse med formel II, i kompleksbundet form kan anvendes for in vivo deteksjon av somatostatinreseptor positive celler og vev i et individ og registrering av lokaliseringen av reseptorene målsøkt av nevnte chelat.

30 Radiomerkede forbindelser ifølge oppfinnelsen som anvendes som et billeddannende middel, kan bli administrert intra peritonealt, fortrinnsvis intravenøst, f.eks. i form av injiserbare oppløsninger eller suspensjoner, fortrinnsvis i en enkelt injeksjon. Radiomerking kan fortrinnsvis bli utført kort
 35 før administrering til et individ.

En chelatert forbindelse ifølge oppfinnelsen kan fordelaktig bli administrert i en dose omfattende 0,2 til 20 mCi av et stabilt kompleksbundet nukleotid, fortrinnsvis 1 til 10 mCi.

5 I dyr kan et indikert doseringsområde være fra 0,01 til 1 µg/kg av en chelatert forbindelse ifølge oppfinnelsen kompleksbundet med 0,02 til 0,5 mCi γ-emittert radionukleotid. I større dyr, f.eks. mennesker, kan et indikert doseringsområde være fra 1 til 20 µg chelatert forbindelse kompleksbundet f.eks. med 1 til 10 mCi ¹¹¹In eller ⁸⁶Y.

10 Anvendelse av en chelatert forbindelse ifølge oppfinnelsen, f.eks. en chelatert forbindelse med formel II, i kompleksbundet form for in vivo behandling av somatostatinreseptor positive tumorer og metastaser.

15 Doseringer anvendt for praktisering av den radioterapeutiske anvendelsen ifølge foreliggende oppfinnelse vil selvfølgelig variere avhengig f.eks. av den bestemte tilstanden som skal bli behandlet, f.eks. kjent radiotoksisitet til normale organer som uttrykker SST-2 reseptorer, volumet til tumoren og terapi som er ønskelig. Generelt blir dosen beregnet på grunnlag av farmakokinetikk og
20 radioaktivitetfordelingen til friske organer og på observert målopptak. Et β-emitterende kompleks av en chelatert forbindelse kan bli administrert gjentatte ganger for eksempel over en periode på 1 til 3 måneder.

25 I dyr vil et indikert doseringsområde være fra 20 til 100 µg/kg chelatert forbindelse kompleksbundet med 15 til 70 mCi ⁹⁰Y eller ¹⁶¹Tb.

De chelaterte forbindelsene ifølge oppfinnelsen i kompleksbundet form kan bli administrert ifølge en hvilken som helst konvensjonell vei, spesielt intraperitonealt eller intravenøst, f.eks. i form av injiserbare oppløsninger eller
30 suspensjoner. De kan også bli administrert fordelaktig ved infusjon, f.eks. en infusjon på 30 til 60 min. Avhengig av sete til tumoren kan de bli administrert så nære som mulig til tumorsetet, f.eks. ved hjelp av et kateter.

35 De chelaterte forbindelsene ifølge oppfinnelsen i kompleksbundet form, kan være egnede for bildeddannelse eller behandling av tumorer så som hypofyse, gastro-enteropancreatik, karsinoider, sentralnervesystem, bryst, prostata, ovarie eller tarmtumorer, små celledunge cancer, paragangliomer, nyrecancer, hudcancer,

neuroblastomer, pheokromocytomer, medullære thyroid carcinomer, myelomer, lymfomer, Hodgking og ikke-Hodgkings sykdom, bentumorer og metastaser derav, og leddgikt.

- 5 De farmasøytisk sammensetninger som omfatter en chelatert forbindelse ifølge oppfinnelsen i fri eller kompleksbundet form sammen med en eller flere farmasøytiske akseptable bærere eller fortynningsmidler kan bli fremstilt på konvensjonell måte og kan bli presentert, f.eks. for bildedannelse, i form av et sett som omfatter to separate doseringer, idet en er radionukleidets og det andre er et kompleksbundet chelat, med
10 instruksjoner for blanding av disse. For radioterapi kan de chelaterte forbindelsene ifølge oppfinnelsen i fri eller kompleksbundet form fortrinnsvis bli presentert som en varm væskeformulering.

15

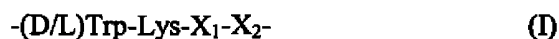
P a t e n t k r a v

20

1.

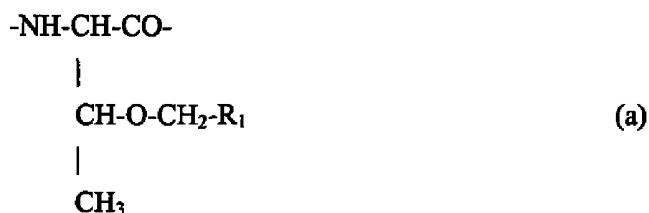
Syklisk somatostatin heksapeptid, k a r a k t e r i s e r t v e d at den omfatter en heksapeptidenhet nummerert fra 1-6, idet residiene i posisjon 3 til og med 6 av nevnte heksapeptidenhet har aminosyresekvensen ifølge formel (I)

25



hvor X_1 er et radikal med formel (a) eller (b)

30



35

eller

neuroblastomer, pheokromocytomer, medullære thyroid carcinomer, myelomer, lymfomer, Hodgking og ikke-Hodgkings sykdom, bentumorer og metastaser derav, og leddgikt.

- 5 De farmasøytisk sammensetninger som omfatter en chelatert forbindelse ifølge oppfinnelsen i fri eller kompleksbundet form sammen med en eller flere farmasøytiske akseptable bærere eller fortynningsmidler kan bli fremstilt på konvensjonell måte og kan bli presentert, f.eks. for bildedannelse, i form av et sett som omfatter to separate doseringer, idet en er radionukleidets og det andre er et kompleksbundet chelat, med
10 instruksjoner for blanding av disse. For radioterapi kan de chelaterte forbindelsene ifølge oppfinnelsen i fri eller kompleksbundet form fortrinnsvis bli presentert som en varm væskeformulering.

15

P a t e n t k r a v

20

1.

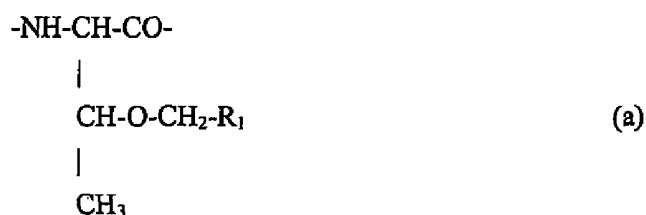
Syklisk somatostatin heksapeptid, k a r a k t e r i s e r t v e d at den omfatter en heksapeptidenhet nummerert fra 1-6, idet residiene i posisjon 3 til og med 6 av nevnte heksapeptidenhet har aminosyresekvensen ifølge formel (I)

25



hvor X_1 er et radikal med formel (a) eller (b)

30



35

eller



hvor R_1 er usubstituert fenyl, eller fenyl substituert med halogen, metyl, etyl, metoksy eller etoksy,

R_2 er $-Z_1-\text{CH}_2-R_1$, $-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2-R_1$,



hvor

Z_1 er O eller S, og

X_2 er en α -aminosyre som har en aromatisk rest på C_α sidekjeden, eller en aminosyreenhet valgt fra Dab, Dpr, Dpm, His, (Bzl)HyPro, tienyl-Ala, sykloheksyl-Ala og t.-butyl-Ala,

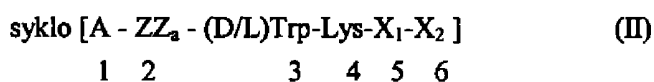
i fri form eller i salt eller kompleks form.

2.

Somatostatin heksapeptid ifølge krav 1, karakterisert ved at heksapeptidenheten er syklisk med en direkte peptidbinding mellom α -karbonylgruppen til residiet i posisjon 6 og α -aminogruppen til residiet i posisjon 1, i fri form eller i salt eller kompleks form.

3.

Somatostatin heksapeptid ifølge krav 1 eller 2, karakterisert ved at den er en forbindelse med formel (II)

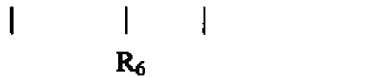
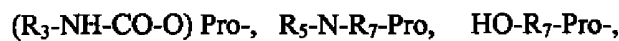


hvor

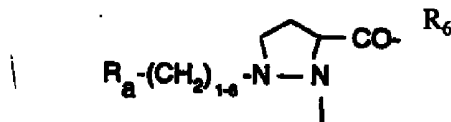
X_1 og X_2 er som i krav 1,

A er en divalent rest valgt fra Pro,

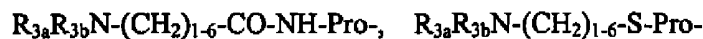
5



10



15



20



hvor R_3 er $NR_8R_9C_{2-6}$ alkylen, guanidino- C_{2-6} alkylen eller C_{2-6} alkylen-COOH, R_{3a} er H, C_{1-4} alkyl eller har uavhengig en av betydningene angitt for R_3 , R_{3b} er H eller C_{1-4} alkyl, R_a er OH eller NR_5R_6 , R_b er $-(CH_2)_{1-3}-$ eller $-CH(CH_3)-$, R_4 er H eller CH_3 , R_{4a} er eventuelt ring-substituert benzyl, hver av R_5 og R_6 er uavhengig H, C_{1-4} alkyl, ω -amino- C_{1-4} alkylen, ω -hydroksy- C_{1-4} alkylen eller acyl, R_7 er en direkte binding eller C_{1-6} alkylen, hver av R_8 og R_9 er uavhengig H, C_{1-4} alkyl, ω -hydroksy- C_{2-4} alkylen, acyl eller $CH_2OH\text{-(CHOH)}_c\text{-CH}_2\text{-}$ hvori c er 0, 1, 2, 3 eller 4 eller R_8 og R_9 danner sammen med nitrogenatomet som de er koblet til en heterosyklisk gruppe som kan omfatte et ytterligere heteroatom, og R_{11} er eventuelt ring-substituert benzyl, $-(CH_2)_{1-3}\text{-OH}$, $-\text{CH}_3\text{-CH(OH)-}$ eller $-(CH_2)_{1-5}\text{-NR}_5R_6$, og

25

30

ZZ_a er en naturlig eller unaturlig α -aminosyre enhet, i fri form eller i salt eller kompleks form.

35

4.

Syklisk somastotatin heksapeptid, karakterisert ved at ved at det er syklo[4-

$(\text{NH}_2\text{-C}_2\text{H}_4\text{-NH-CO-O-})\text{Pro-Y-DTrp-Lys-Tyr(Bzl)-Phe}$ hvor Y er en naturlig ikke-naturlig α -aminosyreenhet.

5.

- 5 Syklisk somatostatins heksapeptid, karakterisert ved at det er sykklo[$\{4\text{-(NH}_2\text{-C}_2\text{H}_4\text{-NH-CO-O-})\text{Pro}\}$ -Phe-DTrp-Lys-Tyr(O-benzyl)-Phe], sykklo[$\{4\text{-(NH}_2\text{-C}_2\text{H}_4\text{-NH-CO-O-Pro}\}$ -Tyr-DTrp-Lys-Tyr(O-benzyl)-Phe] eller sykklo[$\{4\text{-(NH}_2\text{-C}_2\text{H}_4\text{-NH-CO-O-})\text{Pro}\}$ -Phe-DTrp-Lys-Ser(O-benzyl)-Phe].

10 6.

Somatostatin heksapeptid ifølge et hvilket som helst av kravene 3-5, karakterisert ved at den omfatter en lateral aminogruppe i posisjon 1 som bærer en chelateringsgruppe, i fri form, i saltform eller kompleksbundet med et detekterbart element utvalgt fra detekterbare metallioner som anvendes innen Computer Axial Tomografi, paramagnetiske ioner og radionuklider.

7.

- 20 Syklisk somatostatin heksapeptid ifølge et hvilket som helst av kravene 1 - 6, eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller et kompleks med et detekterbart element utvalgt fra detekterbare metallioner som anvendes innen Computer Axial Tomografi, paramagnetiske ioner og radionuklider, for anvendelse som et legemiddel.

8.

- 25 Farmasøytisk sammensetning, karakterisert ved at den omfatter et syklisk somatostatin heksapeptid ifølge et hvilket som helst av kravene 1 - 6, eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller et kompleks med et detekterbart element utvalgt fra detekterbare metallioner som anvendes innen Computer Axial Tomografi, paramagnetiske ioner og radionuklider, sammen med en eller flere farmasøytiske akseptable bærere eller fortynningsmidler derav.

30

9.

- Anvendelse av et syklisk somatostatin heksapeptid ifølge et hvilket som helst av kravene 1-6 eller et farmasøytisk akseptabelt salt av dette for fremstilling av en farmasøytisk sammensetning for behandling av forstyrrelser med en etiologi omfattende eller forbundet med et overskudd av GH-sekresjon, gastro intestinale forstyrrelser, 35 maligne celleproliferative sykdommer, angigenese eller for forebyggelse eller

bekjempelse av kartransplantasjonssykdommer, restenoser og vaskulær okklusjon etter vaskulær skade.

10.

- 5 Anvendelse av et syklisk somatostatins heksapeptid ifølge krav 6 eller et farmasøytisk akseptabelt salt av dette komplekset med et detekterbart element utvalgt fra detekterbare metallioner som anvendes innen Computer Axial Tomografi, paramagnetiske ioner og radionuklider for fremstilling av en farmasøytisk sammensetning for in vivo deteksjon av somatostatinsreseptorpositive celler og vev eller for behandling av
- 10 somatostatinsreseptorpositive tumorer og metastaser.