



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 309 131**

51 Int. Cl.:
C07K 7/08 (2006.01)
C07K 14/655 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02026863 .7**
96 Fecha de presentación : **08.08.1994**
97 Número de publicación de la solicitud: **1288224**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **05.03.2003**

54 Título: **Derivados peptídicos terapéuticos.**

30 Prioridad: **09.08.1993 US 104194**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.12.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.12.2008

73 Titular/es: **SOCIÉTÉ DE CONSEILS DE
RECHERCHES ET D'APPLICATIONS
SCIENTIFIQUES S.A.S.**
51-53 rue du Docteur Blanche
75016 Paris, FR

72 Inventor/es: **Kim, Sun Hyuk;**
Moreau, Sylviane;
Dong, Zhengxin;
Keyes, Susan Riley y
Taylor, John E.

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 309 131 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados peptídicos terapéuticos.

5 **Antecedentes de la presente invención**

La presente invención se refiere a péptidos terapéuticos.

Se han hecho varios intentos de prolongar la actividad de los péptidos biológicamente activos. Por ejemplo, se han modificado péptidos químicamente, añadiéndoles sintéticamente fracciones de azúcares para aumentar el periodo de actividad del péptido (Sandoz, WO 88/02756; Sandoz, WO 89/09786; DE 3910667 A1, EPO 0 374 089 A2 (1990); y Breipohl, patente U.S. n° 4,861,755 (1989)). La adición de anclajes catiónicos (EPO 0 363 589 A2 (1990)) y de fracciones lípidas (Whittaker, WO 91/09837; Jung, patente U.S. n° 4,837,303 (1989)) también se ha empleado para incrementar el tiempo de vida del péptido.

Resumen de la presente invención

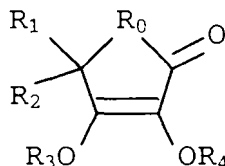
En general la presente invención proporciona derivados de péptidos biológicamente activos que contienen uno o varios sustituyentes unidos por separado a un grupo amino situado en el extremo N-terminal o en una cadena lateral del fragmento peptídico. En esta forma modificada los derivados tienen una actividad biológica más potente y prolongada que el respectivo péptido sin modificar.

Los derivados peptídicos son ventajosos porque no son caros, son muy biocompatibles, carecen de efectos secundarios nocivos y son compatibles con diversas formas de administración terapéutica. En concreto, muchos de los derivados que llevan somatostatina como fragmento peptídico tienen mucha mejor potencia y selectividad en comparación con la somatostatina no modificada.

En un aspecto, la presente invención ofrece un derivado peptídico que comprende:

un fragmento peptídico biológicamente activo, escogido del grupo formado por somatostatina, bombesina y similares; y

al menos un sustituyente unido a dicho fragmento peptídico, siendo dicho sustituyente el compuesto I, el cual es:



donde:

R_0 es O, S, o NR_5 , donde R_5 es H o alquilo (C_1 - C_6);

R_1 y R_2 , independientemente entre sí, son H, $(CH_2)_mOR_6$ o $CH(OR_7)CH_2OR_8$, donde R_6 es H o acilo (C_2 - C_7), y R_7 y R_8 , independientemente entre sí, son H, acilo (C_2 - C_7) o $C(R_9)(R_{10})$, donde R_9 y R_{10} , independientemente entre sí, son H o alquilo (C_1 - C_6);

o R_1 y R_2 son $=CHCH_2OR_{11}$, donde en R_1 y R_2 , independientemente entre sí, R_{11} es H o acilo (C_2 - C_7), y m es un número entero entre 1 y 5, ambos inclusive; y

R_3 o R_4 es $(CH_2)_nR_{12}$ o $(CH_2)_nCH(OH)R_{12}$, donde R_{12} es CO, CH_2 o SO_2 , y n es un número entero entre 1 y 5, ambos inclusive;

y el otro R_3 o R_4 es H, hidroxialquilo (C_1 - C_6) o acilo (C_2 - C_7).

En el compuesto I el fragmento peptídico está unido al sustituyente mediante un enlace CO-N, CH_2 -N o SO_2 -N entre el sustituyente y un átomo de nitrógeno del extremo N-terminal o de una cadena lateral de dicho fragmento peptídico.

En formas de ejecución preferidas de la presente invención R_{12} es preferentemente CH_2 o SO_2 .

El fragmento peptídico es preferiblemente somatostatina o uno similar. Con mayor preferencia, el fragmento peptídico análogo a la somatostatina es uno de los siguientes: H-D-Phe-c[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys]-Thr-NH₂, H-D-Phe-c[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys]-Nal-NH₂ y H-D-Nal-c[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Thr-NH₂. Alternativamente el fragmento peptídico es bombesina o un derivado, fragmento o similar del mismo.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un derivado peptídico dímero que contiene dos fragmentos peptídicos biológicamente activos y al menos un sustituyente unido a cada uno de los fragmentos peptídicos. El sustituyente es el compuesto IV, con una estructura genérica equivalente al compuesto I, y el compuesto V, con una estructura genérica equivalente al compuesto III. En el dímero, cada uno de los fragmentos peptídicos va unido a los sustituyentes mediante un enlace CO-N, CH₂-N o SO₂-N entre el sustituyente y un átomo de nitrógeno del extremo N-terminal o de una cadena lateral de uno de los fragmentos peptídicos.

En otros aspectos, la presente invención proporciona el uso de los derivados peptídicos de la misma para fines terapéuticos y para elaborar un medicamento.

En las formas de ejecución preferidas, el fragmento peptídico empleado en el tratamiento es somatostatina.

Tal como se usa aquí, "biólogicamente activo" significa un péptido de origen natural, recombinante o sintético que posee actividad fisiológica o terapéutica. En general este término abarca todos los derivados, fragmentos y similares de péptidos biológicamente activos, que despliegan un efecto cualitativo similar u opuesto al del péptido no modificado.

Descripción breve de las figuras

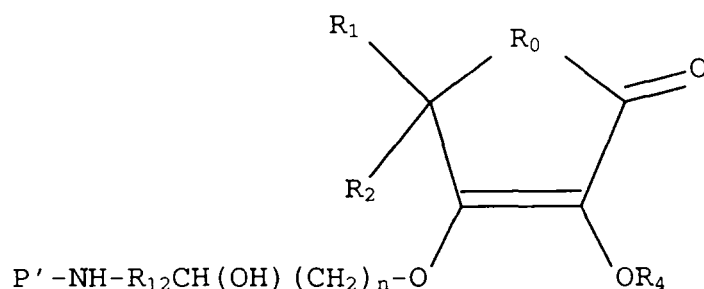
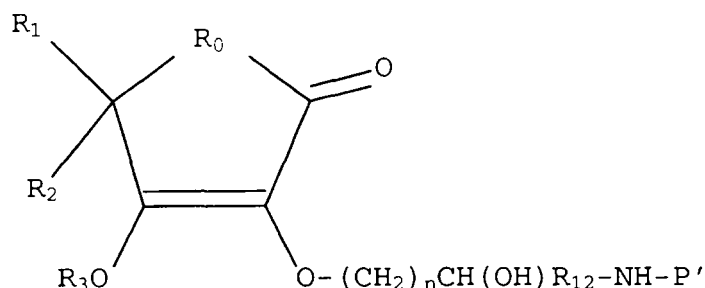
La fig. 1 es una representación gráfica de las curvas de crecimiento de células AR42J en presencia de diferentes derivados de somatostatina.

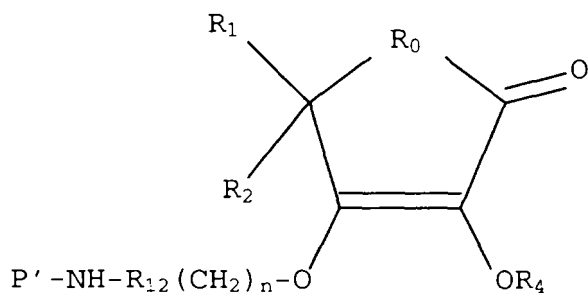
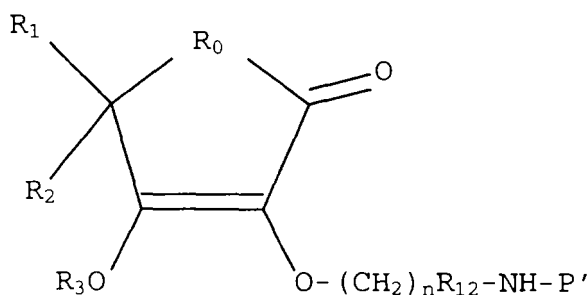
Descripción de las formas de ejecución preferidas

Derivados peptídicos

En general los derivados peptídicos de la presente invención contienen dos componentes separados: 1) un fragmento peptídico biológicamente activo elegido del grupo formado por somatostatina, bombesina y péptidos análogos, y 2) al menos un sustituyente con la estructura del compuesto I. Los derivados peptídicos según los métodos aquí descritos incluyen los compuestos siguientes.

Derivados basados en el compuesto I





donde R_0 , R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_{12} y n son tal como se ha definido aquí y $NH-P'$ es el fragmento peptídico biológicamente activo. En estas formas de ejecución el grupo NH está situado en el extremo N-terminal o en la cadena lateral del péptido y P' representa el resto del péptido.

Además de las estructuras representadas arriba los compuestos conforme a la presente invención incluyen derivados peptídicos que contienen dos o más sustituyentes unidos a un fragmento peptídico. Estas formas de ejecución de la presente invención son derivados de péptidos biológicamente activos, que poseen más de un grupo amino libre, como p.ej. un resto de lisina.

La presente invención también ofrece derivados peptídicos dímeros que contienen dos fragmentos peptídicos unidos a un solo sustituyente.

En las formas de ejecución especialmente preferidas el fragmento peptídico es somatostatina o un péptido análogo a la somatostatina. Los péptidos similares a la somatostatina que pueden usarse conforme a la presente invención incluyen, sin limitarse a ellos, los siguientes compuestos:

H-D- β -Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂;

H-D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys- β -Nal-NH₂;

H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys- β -Nal-NH₂;

H-D- β -Nal-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂;

H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Pen-Thr-NH₂;

H-D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Pen-Thr-NH₂;

H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Pen-Thr;

H-D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Pen-Thr;

H-Gly-Pen-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr;

H-Phe-Pen-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr;

H-Phe-Pen-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Pen-Thr;

H-D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-ol;

H-D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂;

ES 2 309 131 T3

- H-D-Trp-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂;
- H-D-Trp-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂;
- 5 H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂;
- H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Trp-NH₂;
- H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂;
- 10 Ac-D-Phe-Lys*-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Asp-Thr-NH₂;
- Ac-hArg(Et)₂-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂;
- 15 Ac-D-hArg(Et)₂-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂;
- Ac-D-hArg(Bu)-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂;
- Ac-D-hArg(Et)₂-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂;
- 20 Ac-L-hArg(Et)₂-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂;
- Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂;
- 25 Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂;
- Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Phe-NH₂;
- Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NHEt;
- 30 Ac-L-hArg(CH₂CF₃)₂-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂;
- Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys(Me)-Thr-Cys-Thr-NH₂;
- 35 Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys(Me)-Thr-Cys-Thr-NHEt;
- Ac-hArg(CH₃, hexil)-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂;
- Ac-hArg(hexil)₂-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂;
- 40 Ac-D-hArg(Et)₂-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NHEt;
- Ac-D-hArg(Et)₂-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Phe-NH₂;
- 45 Propionil-D-hArg(Et)₂-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys(iPr)-Thr-Cys-Thr-NH₂;
- Ac-D-β-Nal-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Gly-hArg-(Et)₂-NH₂;
- Ac-D-Lys(iPr)-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂;
- 50 Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂;
- Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Phe-NH₂;
- 55 Ac-D-hArg(Et)₂-D-hArg(Et)₂-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂;
- Ac-Cys-Lys-Asn-4-Cl-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-D-Cys-NH₂;
- Bmp-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂;
- 60 Bmp-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Phe-NH₂;
- Bmp-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-p-Cl-Phe-NH₂;
- 65 Bmp-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-β-Nal-NH₂;
- H-D-β-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂;

ES 2 309 131 T3

H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂;
 H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-β-Nal-NH₂;
 5 H-pentafluoro-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂;
 Ac-D-β-Nal-Cys-pentafluoro-Phe-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂;
 H-D-β-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-β-Nal-NH₂;
 10 H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-β-Nal-NH₂;
 H-D-β-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂;
 15 H-D-p-Cl-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂;
 Ac-D-p-Cl-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂;
 H-D-Phe-Cys-β-Nal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂;
 20 H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys-Thr-NH₂;
 ciclo(Pro-Phe-D-Trp-N-Me-Lys-Thr-Phe);
 25 ciclo(Pro-Phe-D-Trp-Lys-Thr-N-Me-Phe);
 ciclo(N-Me-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe);
 ciclo(Pro-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe);
 30 ciclo(Pro-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe);
 ciclo(Pro-Phe-L-Trp-Lys-Thr-Phe);
 35 ciclo(Pro-Phe-D-Trp(F)-Lys-Thr-Phe);
 ciclo(Pro-Phe-Trp(F)-Lys-Thr-Phe);
 ciclo(Pro-Phe-D-Trp-Lys-Ser-Phe);
 40 ciclo(Pro-Phe-D-Trp-Lys-Thr-p-Cl-Phe);
 ciclo(D-Ala-N-Me-D-Phe-D-Thr-D-Lys-Trp-D-Phe);
 45 ciclo(D-Ala-N-Me-D-Phe-D-Val-Lys-D-Trp-D-Phe);
 ciclo(D-Ala-N-Me-D-Phe-D-Thr-Lys-D-Trp-D-Phe);
 ciclo(D-Abu-N-Me-D-Phe-D-Val-Lys-D-Trp-D-Tyr);
 50 ciclo(N-Me-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe);
 ciclo(Pro-Tyr-D-Trp-4-Amphe-Thr-Phe);
 55 ciclo(Pro-Phe-D-Trp-4-Amphe-Thr-Phe);
 ciclo(N-Me-Ala-Tyr-D-Trp-4-Amphe-Thr-Phe);
 ciclo(Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Gaba);
 60 ciclo(Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Gaba-Gaba);
 ciclo(Asn-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe);
 65 ciclo(Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-NH(CH₂)₄CO);
 ciclo(Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-β-Ala);

ciclo(Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-D-Glu)-OH;

ciclo(Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe);

5 ciclo(Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Gly);

ciclo(Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Gaba);

ciclo(Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Gly);

10 ciclo(Asn-Phe-Phe-D-Trp(F)-Lys-Thr-Phe-Gaba);

ciclo(Asn-Phe-Phe-D-Trp(NO₂)-Lys-Thr-Phe-Gaba);

15 ciclo(Asn-Phe-Phe-Trp(Br)-Lys-Thr-Phe-Gaba);

ciclo(Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe(I)-Gaba);

ciclo(Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Tyr(But)-Gaba);

20 ciclo(Bmp-Lys-Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Pro-Cys)-OH;

ciclo(Bmp-Lys-Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Tpo-Cys)-OH;

25 ciclo(Bmp-Lys-Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-MeLeu-Cys)-OH;

ciclo(Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Phe-Gaba);

ciclo(Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-D-Phe-Gaba);

30 ciclo(Phe-Phe-D-Trp(5F)-Lys-Thr-Phe-Phe-Gaba);

ciclo(Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys(Ac)-Thr-Phe-NH-(CH₂)₃-CO);

35 ciclo(Lys-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Gaba); y

ciclo(Orn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Gaba),

donde Lys* indica un puente amido formado entre Lys* y Asp.

40

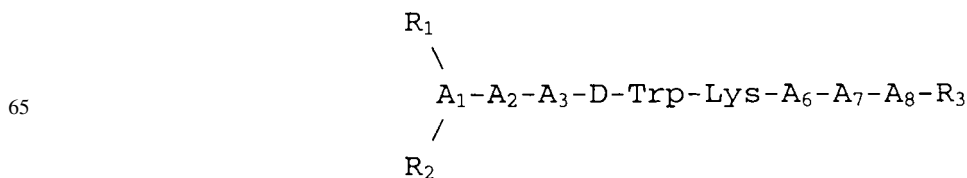
Los compuestos peptídicos arriba enumerados están descritos en las siguientes referencias de la literatura:

45 Solicitud de patente EP nº P5 164 EU; Van Binst, G. y otros, Peptide Research 5:8 (1992); Horvath, A. y otros, Abstract, "Conformations of Somatostatin Analogs Having Anti-tumor Activity", 22° European Peptide Symposium, September 13-19, 1992, Interlaken, Suiza; solicitud de patente PCT WO 91/09056 (1991); solicitud de patente EP 0 363 589 A2 (1990); solicitud de patente EP 0 203 031 A2 (1986); patentes U.S. nº 4,904,642; 4,871,717; 4,853,371; 4,725,577; 4,684,620; 4,650,787; 4,603,120; 4,585,755; 4,522,813; 4,486,415; 4,485,101; 4,435,385; 4,395,403; 4,369,179; 4,360,516; 4,358,439; 4,328,214; 4,316,890; 4,310,518; 4,291,022; 4,238,481; 4,235,886; 4,224,190; 50 4,211,693; 4,190,648; 4,146,612; y 4,133,782.

En los péptidos análogos a la somatostatina anteriormente relacionados cada resto de aminoácido tiene la estructura NH-C(R)H-CO-, donde R es la cadena lateral; las líneas entre los restos de aminoácidos representan enlaces peptídicos que unen los aminoácidos. Si el resto de aminoácido es ópticamente activo, la configuración propuesta es la forma L, a no ser que se indique expresamente la forma D. Cuando en el péptido hay dos restos Cys se forma un puente disulfuro entre los dos fragmentos. Sin embargo este enlace no está representado en los citados restos.

Otros péptidos análogos a la somatostatina igualmente preferidos según la presente invención son los de la fórmula siguiente:

60



donde A₁ es un isómero D o L de β-Nal, Trp, β-piridil-Ala, Phe, Phe sustituido, o se suprime; y A₂ y A₇, independientemente entre sí, son Cys, Asp o Lys. Estos fragmentos están unidos entre sí por enlace covalente mediante un puente disulfuro o amido. Además A₃ es β-Nal, Phe o X-Phe sustituido en posición orto, meta o para, siendo X un halógeno, OH, NH₂, NO₂ o alquilo C₁₋₃; A₆ es Val, Thr, Ser, Ala, Phe, β-Nal, Abu, Ile, Nle, o Nva; y A₈ es Phe, Thr, Tyr, Trp, Ser, β-Nal, un grupo alcohol o se suprime; R₁ y R₂, independientemente entre sí, son H, acilo inferior o alquilo inferior; y R₃ es OH, NH₂ o se suprime. Preferentemente, si A₂ o A₇ es Cys, el otro también es Cys; si A₈ es un alfa-aminoalcohol R₃ se suprime; y cuando ni A₂ ni A₇ son Cys, A₂ es diferente de A₇.

Los péptidos análogos a la somatostatina especialmente preferidos en esta forma de ejecución son:

Me-D-Phe-Cys-Tyr-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂;

H-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Nal-NH₂;

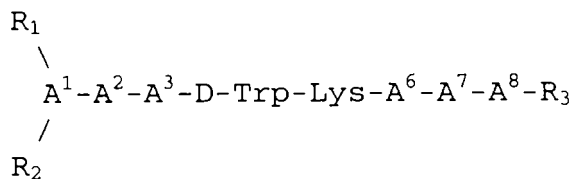
H-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂;

H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂;

H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Nal-NH₂; y

H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-ol.

En otras formas de ejecución los péptidos lineales análogos a la somatostatina según la presente invención tienen la siguiente estructura:



donde

A¹ es un isómero D o L de Ala, Leu, Ile, Val, Nle, Thr, Ser, β-Nal, β-piridil-Ala, Trp, Phe, 2,4-dicloro-Phe, pentafluoro-Phe, p-X-Phe u o-X-Phe, en que X es CH₃, Cl, Br, F, OH, OCH₃ o NO₂;

A² es Ala, Leu, Ile, Val, Nle, Phe, β-Nal, piridil-Ala, Trp, 2,4-dicloro-Phe, pentafluoro-Phe, o-X-Phe o p-X-Phe, en que X es CH₃, Cl, Br, F, OH, OCH₃ o NO₂;

A³ es piridil-Ala, Trp, Phe, β-Nal, 2,4-dicloro-Phe, pentafluoro-Phe, o-X-Phe o p-X-Phe, en que X es CH₃, Cl, Br, F, OH, OCH₃ o NO₂;

A⁶ es Val, Ala, Leu, Ile, Nle, Thr, Abu o Ser;

A⁷ es Ala, Leu, Ile, Val, Nle, Phe, β-Nal, piridil-Ala, Trp, 2,4-dicloro-Phe, pentafluoro-Phe, o-X-Phe o p-X-Phe, en que X es CH₃, Cl, Br, F, OH, OCH₃ o NO₂;

A⁸ es un isómero D o L de Ala, Leu, Ile, Val, Nle, Thr, Ser, Phe, β-Nal, piridil-Ala, Trp, 2,4-dicloro-Phe, pentafluoro-Phe, p-X-Phe u o-X-Phe, en que X es CH₃, Cl, Br, F, OH, OCH₃ o NO₂, o un alcohol de los mismos; y

R₁ y R₂, independientemente entre sí, son H, acilo inferior o alquilo inferior; y R₃ es OH, NH₂ o se suprime. Preferentemente, al menos A¹ o A⁸ y A² o A⁷ debe ser un aminoácido aromático; y cuando A⁸ es un alcohol R₃ se suprime. Además A¹, A², A⁷ y A⁸ no pueden ser todos al mismo tiempo aminoácidos aromáticos. Los péptidos análogos especialmente preferidos en este aspecto de la presente invención incluyen:

H-D-Phe-p-cloro-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH₂;

H-D-Phe-p-NO₂-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH₂;

H-D-Nal-p-cloro-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH₂;

H-D-Phe-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH₂;

H-D-Phe-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH₂;

H-D-Phe-p-cloro-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH₂; y

5 H-D-Phe-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Ala-D-β-Nal-NH₂.

En otras formas de ejecución igualmente preferidas el fragmento peptídico es bombesina o un péptido análogo a ella. Los péptidos similares a la bombesina que pueden usarse para poner en práctica la presente invención incluyen, sin limitarse a ellos, Neuromedina C, Neuromedina B, litorina y el péptido liberador de gastrina (GRP), que tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

15 H-Ala-Pro-Val-Ser-Val-Gly-Gly-Gly-Thr-Val-Leu-Ala-Lys-Met-Tyr-Pro-Arg-Gly-Asn-His-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂

Otros péptidos análogos a la bombesina que se pueden usar en la presente invención incluyen compuestos descritos en las siguientes referencias:

20 Coy y otros, Peptides, Proceedings of the Eleventh Amer. Peptide Symposium, editado por Rivier y otros, ES-COM, p. 65-67 (1990); Wang y otros, J. Biol. Chem. 265:15695 (1990); Mahmoud y otros, Cancer Research 51:1798 (1991); Wang y otros, Biochemistry 29:616 (1990); Heimbrook y otros, "Synthetic Peptides: Approaches to Biological Problems", UCLA Symposium on Mol. and Cell. Biol. New Series, vol. 86, ed. Tam y Kaiser; Martínez y otros, 25 J. Med. Chem. 28:1874 (1985); Gargosky y otros, Biochem. J. 247:427 (1987); Dubreuil y otros, Drug Design and Delivery, vol 2:49, Harwood Academic Publishers, GB (1987); Heikkila y otros, J. Biol. Chem. 262:16456 (1987); Caranikas y otros, J. Med. Chem. 25:1313 (1982); Saeed y otros, Peptides 10:597 (1989); Rosell y otros, Trends in Pharmacological Sciences 3:211 (1982); Lundberg y otros, Proc. Nat. Aca. Sci. 80:1120, (1983); Engberg y otros, Nature 293:222 (1984); Mizrahi y otros, Euro. J. Pharma. 82:101 (1982); Leander y otros, Nature 294:467 (1981); Woll y otros, Biochem. Biophys. Res. Comm. 155:359 (1988); Rivier y otros, Biochem. 17:1766 (1978); Cuttitta y otros, Cancer Surveys 4:707 (1985); Aumelas y otros, Int. J. Peptide Res. 30:596 (1987); Szepeshazi y otros, Cancer Research 51:5980 (1991); Jensen, y otros, Trends Pharmacol. Sci. 12:13 (1991); patentes U.S. n° 5,028,692; 4,943,561; 4,207,311; 5,068,222; 5,081,107; 5,084,555; solicitudes de patente EP n° 0 315 367 A2 (1989); 0 434 979 A1 (1991); 0 468 497 A2 (1992); 0 313 158 A2 (1989); 0 339 193 A1 (1989); solicitudes de patente PCT n° WO 90/01037 (1990); 35 90/02545 (1992); y solicitud de patente UK GB 1 231 051 A (1990).

Los péptidos de la presente invención se pueden presentar en forma de sales farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de sales preferidas son las que están constituidas con ácidos orgánicos terapéuticamente aceptables, p.ej. acético, láctico, maleico, cítrico, málico, ascórbico, succínico, benzoico, salicílico, metanosulfónico, toluenosulfónico o pamoico, y también ácidos poliméricos como el ácido tánico o la carboximetilcelulosa, y sales con ácidos inorgánicos tales como los hidrohálicos, incluyendo el clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico.

Síntesis de los compuestos

45 A continuación se describe la síntesis del compuesto I.

En la descripción de las síntesis de los compuestos de la presente invención se usan las siguientes abreviaturas:

50 Nal: naftilalanina (1 o 2)

Abu: ácido alfa-aminobutírico

D: dextrorrotatorio

55 L: levorrotatorio

HOAC: ácido acético

60 BOP: benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino) fosfonio hexafluoro-fosfato

BOC: terc.-butiloxycarbonilo

DCC: diciclohexil-carbodiimida

65 EDC: 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida

DEPC: dietilcianofosfonato

DMF: dimetilformamida

CH₂Cl₂: diclorometano

MeOH: metanol

EtOH: etanol

DIEA: N,N-diisopropiletilamina

HOBT: 1-hidroxibenzotriazol

HBTU: O-benzotriazol-1-il,N,N,N',N'-tetrametiluronio hexafluorofosfato

THF: tetrahidrofurano

TFA: ácido trifluoroacético

Los materiales iniciales e intermedios para los compuestos I, II y III son comercialmente asequibles. Alternativamente, los materiales de partida pueden prepararse fácilmente mediante métodos bien conocidos que se encuentran en la literatura. Por ejemplo, la química de los derivados relacionados con el ácido ascórbico puede encontrarse en *J. Chem. Soc.*, Perkin Trans. 1:1220 (1974); *Carbohydr. Res.*, 67:127 (1978); *Yakugaku Zasshi*, 86:376 (1966); patente U.S. n° 4,552,888; *J. Med. Chem.*, 31:793 (1988); *ibid.* 34:2152 (1991); y 35:1618 (1992), cuyo contenido está incorporado aquí como referencia. La química de los derivados relacionados con tris puede hallarse en *Arch. Biochem. Biophys.*, 96, 653 (1962), *Biochem.*, 5 467 (1966), cuyo contenido también está incorporado aquí como referencia.

Síntesis de los derivados peptídicos

En sentido general, el acoplamiento del compuesto I a un grupo amino libre adecuado de un aminoácido o péptido protegido puede lograrse según métodos bien conocidos usados en la síntesis de péptidos (p.ej. DCC, DCC-HOBT, DIC-HOBT PPA, EDC-HOBT, DEPT, BOP, HBTU), empleando una base (p.ej. DIEA) en un disolvente inerte (p.ej. DMF, THF o CH₂Cl₂ acetato de etilo o una combinación de los mismos). Los grupos protegidos también pueden desbloquearse mediante métodos bien conocidos (p.ej. eliminación del grupo por adición de ácido o base, TFA, dioxano-HCl, amoniaco, NaOMe, piperidina). En la mayoría de los casos la temperatura de reacción debería estar comprendida entre -30°C y temperatura ambiente.

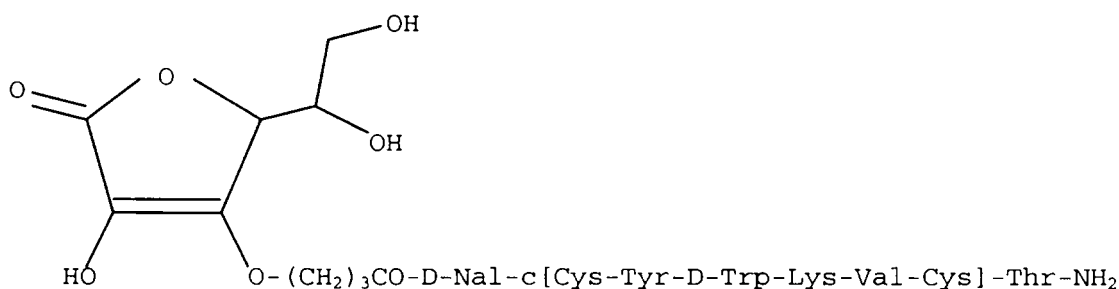
En general la primera etapa de la síntesis implica la reacción entre un epóxido y un grupo amino libre de un aminoácido o péptido protegido; la complejación y la desprotección se puede realizar empleando métodos bien conocidos, como los descritos en McManus y otros, *Synth. Communications* 3, 177 (1973), cuyo contenido se incorpora aquí como referencia. La purificación de los productos intermedios y finales posterior a la síntesis puede llevarse a cabo por métodos convencionales tales como cromatografía o HPLC. Los compuestos se pueden identificar mediante técnicas convencionales, tales como RMN, análisis de aminoácidos y espectrometría de masas.

Los siguientes ejemplos ilustran los métodos preferidos para preparar los compuestos de la presente invención.

Ejemplo 1

Síntesis de compuestos análogos a la somatostatina

Se sintetizó el siguiente derivado de somatostatina - también citado aquí como BIM-23118 - conforme a la presente invención:



ES 2 309 131 T3

Ejemplo 1.1

Ácido 3-0-(benziloxycarbonilmetil)-2,5,6-triacetil-ascórbico

Se adicionó anhídrido acético (6 ml) gota a gota a una disolución de ácido 3-0-(benziloxycarbonilmetil)-ascórbico (2,2 g) en piridina (30 ml) y luego la mezcla se agitó por la noche a temperatura ambiente. Se evaporó la piridina a presión reducida, dejando un residuo que luego se repartió entre acetato de etilo y HCl 1N. La capa de acetato de etilo se lavó con HCl 1N y luego con agua. Después de secar (MgSO₄) se evaporó el acetato de etilo a presión reducida y las trazas de piridina y de anhídrido acético que aún quedaban se eliminaron mediante varias coevaporaciones con tolueno. El ácido 3-0-(benziloxycarbonilmetil)-2,5,6-triacetil-ascórbico resultante se secó a vacío, obteniéndose un gel viscoso que quedó como resto (2,4 g). TLC (gel de sílice: CHCl₃/acetona [9:1], R_f = 0,52).

Ejemplo 1.2

Ácido 3-0-(carboximetil)-2,5,6-triacetil-ascórbico

Se añadió una suspensión de Pd-C (100 mg) en agua (2 ml) a una solución de ácido 3-0-(benziloxycarbonilmetil) ascórbico (2,4 g) en etanol (30 ml) y la suspensión se agitó bajo presión de hidrógeno (17 psi) durante seis horas. Luego se eliminó el catalizador filtrando a través de una capa de celite y el filtrado se evaporó a presión reducida, obteniéndose ácido 3-0-(carboximetil)-2,5,6-triacetil-ascórbico. TLC (gel de sílice: CHCl₃/MeOH/HOAc [9:1:0,1], R_f = 0,2).

Ejemplo 1.3

Ácido 5,6-0-isopropilidenascórbico

Se añadió cloruro de acetilo (0,67 ml) a una suspensión de ácido ascórbico (8,0 g) en acetona (80 ml) agitada rápidamente y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con acetato de etilo y se secó a presión reducida, obteniéndose 8,29 g de ácido 5,6-0-isopropilidenascórbico en forma de sólido incoloro. TLC (gel de sílice: CHCl₃/MeOH/HOAc [3:1:0,1], R_f = 0,54).

Ejemplo 1.4

Ácido 3-0-(etoxicarbonilpropil)-5,6-iso-propiliden-ascórbico

Una solución de ácido 5,6-isopropilidenascórbico (2,0 g) en 10 ml de DMF se añadió gota a gota a una suspensión de NaH (0,44 g de dispersión de NaH al 50% en aceite mineral, lavada varias veces con hexano) en 5 ml de DMF. Una vez terminado el desprendimiento de gas se agregó gota a gota una disolución de 1,43 ml de 4-bromobutirato de etilo en 5 ml de DMF y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo resultante se cromatografió sobre gel de sílice (55 g), empleando CHCl₃/MeOH (19:1) como eluyente. Se reunieron las fracciones adecuadas y los disolventes se eliminaron a presión reducida, obteniéndose un residuo viscoso que llevaba ácido 3-0-(etoxi-carbonilpropil)-5,6-isopropiliden-ascórbico (1,1 g).

Ejemplo 1.5

Ácido 3-0-(carboxipropil)-5,6-isopropiliden-ascórbico

Se añadieron 4,6 ml de NaOH 2N a una solución de ácido 3-0-(etoxicarbonilpropil)-5,6-isopropilidenascórbico (1,02 g) en 15 ml de EtOH. Al cabo de una hora se eliminó la mayor parte de etanol a presión reducida y el residuo se diluyó con agua (10 ml) y se acidificó con HCl diluido (pH 3). Después se saturó la solución con NaCl y se extrajo varias veces con acetato de etilo; los extractos reunidos se secaron luego con MgSO₄. Se evaporó el disolvente a presión reducida, resultando un residuo viscoso que contenía ácido 3-0-(carboxipropil)-5,6-isopropiliden-ascórbico (0,84 g). TLC (gel de sílice: CHCl₃/MeOH/HOAc [5:1:0,1], R_f = 0,55).

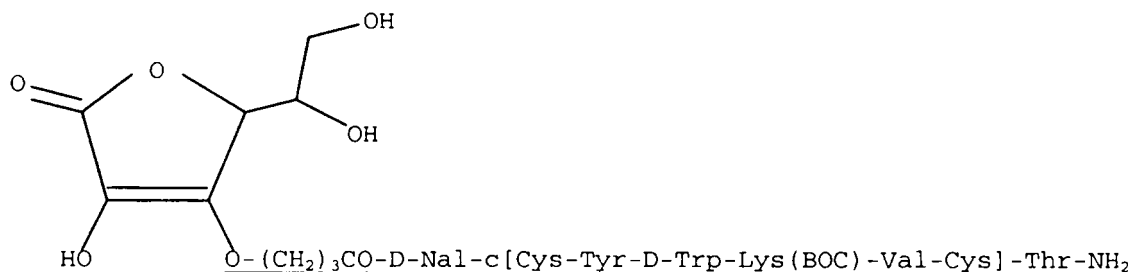
Ejemplo 1.6

D-Nal-c[Cys-Tyr-D-Trp-Lys(BOC)-Val-Cys]-Thr-NH₂

Se añadió gota a gota una disolución de dicarbonato de diterc.-butilo (0,36 g) en 10 ml de DMF a una disolución de acetato de D-Nal-c[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Thr-NH₂ (2 g, BIM-23014) en 45 ml de DMF. Tras dos horas a la temperatura ambiente se eliminó el disolvente a presión reducida, dando un residuo que se cromatografió sobre gel de

sílice (150 g), empleando $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (9:1) como eluyente. Se reunieron las fracciones adecuadas y los disolventes se eliminaron a presión reducida, obteniéndose un residuo que contenía D-Nal-c[Cys-Tyr-D-Trp-Lys(BOC)-Val-Cys]-Thr- NH_2 (1,45 g). TLC (gel de sílice: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ [3:1], $R_f = 0,52$).

Ejemplo 1.7



Se añadieron 0,2 ml de diisopropiletilamina a una solución de D-Nal-ciclo-[Cys-Tyr-D-Trp-Lys(BOC)-Val-Cys]-Thr- NH_2 (300 mg), de ácido 3-O-(carboxipropil)-5,6-isopropiliden-ascórbico (56 mg) y de HBTU (113 mg) en 5 ml de DMF. Después se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante la noche y el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se repartió entre una mezcla de acetato de etilo/MeOH y una disolución acuosa saturada de NaCl; la capa de acetato de etilo se lavó con NaCl acuoso saturado, luego se saturó con NaHCO_3 acuoso y se secó (MgSO_4). El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se sometió a TLC preparativa, empleando una mezcla de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (8:1) como disolvente revelador. La zona de UV positiva se aisló y se extrajo con $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$. Los disolventes se eliminaron a presión reducida, obteniéndose el producto identificado arriba (0,20 g). TLC (gel de sílice: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ [5:1], $R_f = 0,54$).

Ejemplo 1.8

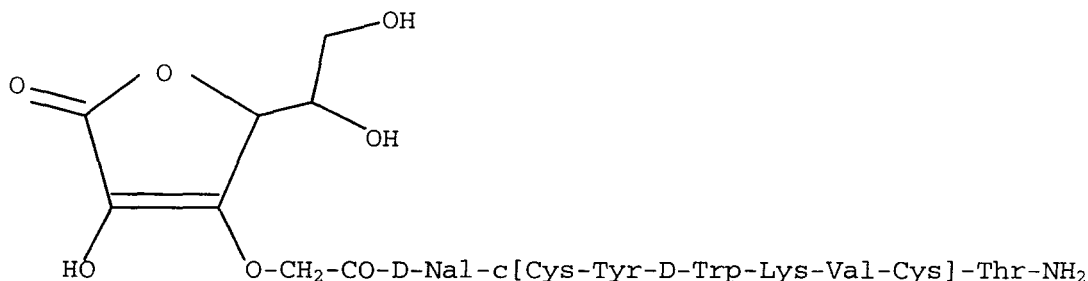
Eliminación del grupo BOC

El derivado de ácido ascórbico arriba indicado que contenía D-Nal-c[Cys-Tyr-D-Trp-Lys(BOC)-Val-Cys]-Thr- NH_2 (95 mg) se trató con TFA al 25% en CHCl_3 durante 45 minutos a temperatura ambiente. Las sustancias volátiles se eliminaron bajo presión reducida, resultando un residuo seco que se purificó por HPLC con columna Vydac C18 y $\text{CH}_3\text{CN}/\text{TFA}$ acuoso al 0,1%. El rendimiento final fue de 90 mg (FAB-MS (m/e) 1341).

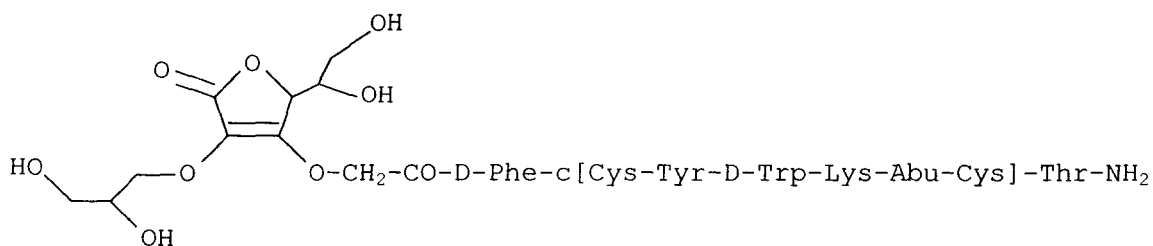
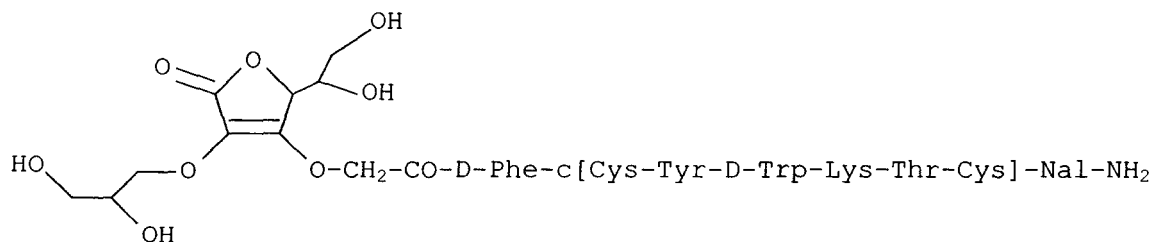
Ejemplo 1.9

Otras formas de ejecución

Los siguientes derivados de somatostatina se sintetizaron asimismo de manera similar:



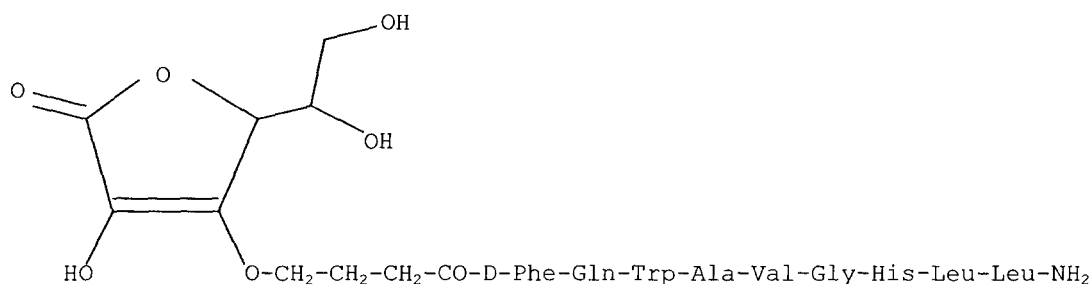
BIM-23135

**BIM-23181****BIM-23183**

Ejemplo 2

Síntesis de compuestos análogos a la bombesina

Se sintetizó el siguiente compuesto análogo a la bombesina, también citado como BIM-26333, de manera similar a la descrita anteriormente:



Análogamente pueden sintetizarse otros derivados peptídicos de la presente invención, empleando modificaciones sintéticas conocidas del estado técnico.

Resultados de ensayo de los péptidos examinados

Ejemplo 3

Ensayos de fijación

Con el fin de demostrar que los compuestos análogos a la somatostatina tienen afinidad (SRIF) para fijarse al receptor de la misma, los compuestos purificados descritos anteriormente se sometieron a ensayos de fijación de somatostatina, que consisten en medir la inhibición *in vitro* de la fijación de [¹²⁵I-Tyr¹¹]SRIF-14 a células AR42J de membranas pancreáticas de rata. Tal como se indica en la tabla I, los compuestos purificados de la presente invención análogos a la somatostatina mostraron grandes afinidades de fijación a estos receptores. En la tabla también figura el peso molecular de cada derivado de somatostatina, determinado por espectrometría de masas y estimado a partir de la estructura molecular

De manera similar, el compuesto purificado análogo a la bombesina arriba descrito se sometió a un ensayo de fijación de bombesina. El ensayo de fijación consistió en mediciones de la inhibición *in vitro* de la fijación de [¹²⁵I-Tyr¹¹] bombesina a células AR42J de membranas pancreáticas de rata. En el ensayo se halló que el compuesto análogo a la bombesina tenía una afinidad de fijación al receptor de GRP aproximadamente igual a 21 nM.

Ejemplo 4

Ensayo de inhibición de la hormona del crecimiento (GH)

5 Se inyectó por vía subcutánea un derivado de somatostatina o suero salino a grupos de cinco ratas Sprague Dawley macho (cada una de 250-300 g de peso). Treinta minutos antes de los periodos de tiempo post inyección elegidos que figuran en la tabla II (2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas) las ratas se anestesiaron con Nembutal i.p. (50 mg/kg). Quince minutos después de la anestesia se extrajo un alícuota de sangre por punción cardiaca con heparina, a fin de medir la GH basal. Además se puso una inyección s.c. de D-Ala²-GRF (10 µg/kg). Quince minutos más tarde se extrajo sangre para cuantificar la GH estimulada, la cual se determinó en plasma mediante un ensayo radioinmune suministrado por NIADDKD. El porcentaje de inhibición de GH se calculó a partir de las diferencias obtenidas entre los valores de la GH basal y estimulada.

15 La tabla II muestra el efecto en función del tiempo de varios compuestos purificados análogos a la somatostatina. Se compara la eficacia del D-Phe-c[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys]-Nal-NH₂ (BIM-23060) con otros derivados de somatostatina de la presente invención (BIM-23181) para inhibir la hormona de crecimiento en las ratas. Todos los derivados demuestran una duración sorprendentemente prolongada del efecto, que disminuye en función del tiempo.

20 Ejemplo 5

Ensayo antiproliferativo

25 Los compuestos purificados análogos a la somatostatina descritos anteriormente también se ensayaron para comprobar su actividad contra las células de rápida proliferación. La tabla III describe el efecto de estos péptidos en el crecimiento de las células tumorales AR42J de páncreas de rata. Al contrario que la somatostatina natural, los derivados de la presente invención despliegan una actividad antiproliferativa importante. Como se puede ver en la fig. 1, el BIM-23118 (un derivado de BIM-23014) inhibe el crecimiento de las células tumorales AR42J de páncreas de rata en función de la concentración, siendo el BIM-23118 el más efectivo de los dos compuestos. Ambos compuestos inhiben el crecimiento de células tumorales en mayor medida que los compuestos similares a la somatostatina no modificados, a concentraciones equivalentes.

Ejemplo 6

35 *Ensayo de absorción de timidina*

En este ensayo se cultivan células Swiss 3T3 procedentes de cultivos de reserva en medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) y suplementado con 10% de suero fetal bovino, en una atmósfera humedecida de 10% de CO₂ y 90% de aire a 37°C. Las células se sembraron luego en placas de 24 pocillos y se utilizaron cuatro días después del último cambio de medio. Para frenar las células en la fase G1/G0 del ciclo celular se usó un DMEM libre de suero 24 horas antes del ensayo de absorción de timidina; luego se lavaron dos veces las células con 1 ml de alícuotas de DMEM (- suero, 0,5 µM) y [metil-³H] timidina (20 Ci/mmol, New England Nuclear). Los derivados de bombesina se ensayaron inicialmente a 0,001, 0,01, 0,1, 1, 10 y 100 nM. Después de 28 horas a 37°C, la incorporación de [metil-³H] timidina a grupos insolubles en ácido se ensayó del siguiente modo. Primero se lavaron las células dos veces con NaCl al 0,9% enfriado con hielo (alícuotas de 1 ml); luego se eliminó la radiactividad soluble en ácido, incubando a 40°C con ácido tricloroacético al 5% (TCA) durante 30 minutos. Después, los cultivos se lavaron una vez (1 ml) con etanol al 95% y se solubilizaron incubando 30 minutos con 1 ml de NaOH 0,1 N. El material solubilizado se transfirió a unos viales que contenían 10 ml de ScintA (Packard), y la radiactividad se midió por espectrometría líquida de destellos. Este ensayo demuestra la capacidad de los derivados de bombesina para estimular la absorción de timidina en las células. El cálculo de la E₅₀ dio 0,48 nm, lo cual demuestra que los derivados de bombesina según la presente invención son estimuladores potentes de la absorción de timidina.

Métodos de uso

55 Los derivados peptídicos de la presente invención pueden administrarse a mamíferos, en concreto al hombre, mediante cualquiera de los modos habituales (p.ej. oral, parenteral, transdérmico o transmucosal) en una formulación de liberación prolongada, usando un polímero biocompatible y biodegradable, o por administración *in situ* (p.ej. a los pulmones en caso de un péptido anticáncer análogo a la bombesina o a la somatostatina) mediante micelas, geles y liposomas. Las dosis son en general las mismas que suelen usarse para la administración de péptidos terapéuticos a humanos.

Asimismo, los derivados peptídicos de la presente invención son adecuados para mejorar el tratamiento de enfermedades susceptibles de tratarse con el correspondiente péptido no modificado. En concreto los péptidos análogos a la somatostatina anteriormente descritos son adecuados para el tratamiento de cáncer, acromegalia, pancreatitis, proliferación inducida por traumatismo, diabetes, retinopatía diabética, reestenosis tras angioplastia, SIDA, inflamación neurogénica, arteritis y problemas gastrointestinales, incluyendo diarrea.

ES 2 309 131 T3

TABLA I

Afinidades de fijación in vitro y pesos moleculares de los derivados péptidos de somatostatina

	MW _{TEST}	MW _{CALC}	IC ₅₀ nM
SRIF - 14	-	-	0,17
SRIF - 28	-	-	0,23
BIM - 23118	1313,5	1313,52	0,30
BIM - 23135	1426,2	1426,64	2,52
BIM - 23181	1435,0	1434,62	0,25
BIM - 23183	1323,0	1322,49	0,22

TABLA II

Inhibición de la liberación de la hormona del crecimiento estimulado en ratas mediante derivados peptídicos de somatostatina

Inhibición (control percentil) 25 µg/kg

	2 Horas	4 Horas	6 Horas	8 Horas
BIM - 23181	99,24	77,07	60,56	56,12

TABLA III

Actividad antiproliferativa de los derivados peptídicos de somatostatina

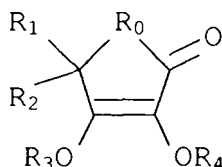
CRECIMIENTO CELULAR (PORCENTAJE DEL CONTROL) ¹	
SRIF - 14	91,3
SRIF - 28	98,0
BIM - 23118	61,0
BIM - 23135	62,9
BIM - 23181	69,1
BIM - 23183	69,1

¹ Concentración 100 nM, células tumorales AR42J de páncreas de rata después de 8 días.

REIVINDICACIONES

1. Derivado peptídico que comprende:

un fragmento peptídico biológicamente activo seleccionado del grupo formado por: somatostatina, bombesina y compuestos análogos a ellos, y al menos un sustituyente unido a dicho fragmento peptídico, siendo dicho sustituyente el compuesto I, el cual es:



en que R_0 es O, S o NR_5 , donde R_5 es H o alquilo (C_1-C_6); R_1 y R_2 , independientemente, son H, $(CH_2)_mOR_6$ o $CH(OR_7)CH_2OR_8$, donde R_6 es H o acilo (C_2-C_7), y R_7 y R_8 , independientemente, son H, acilo (C_2-C_7) o $C(R_9)(R_{10})$, donde R_9 y R_{10} , son H o alquilo (C_1-C_6);

o bien R_1 y R_2 son $=CHCH_2OR_{11}$, donde en R_1 y R_2 , independientemente, R_{11} es H o acilo (C_2-C_7), y m es un número entero entre 1 y 5, ambos inclusive; y

R_3 o R_4 es $(CH_2)_nR_{12}$ o $(CH_2)_n(OH)R_{12}$, donde R_{12} es CO, CH_2 o SO_2 , y n es un número entero entre 1 y 5, ambos inclusive;

y el otro R_3 o R_4 es H, hidroxialquilo (C_1-C_6) o acilo (C_2-C_7);

de modo que dicho fragmento peptídico está unido a cada uno de dichos sustituyentes por un enlace CO-N, CH_2-N o SO_2-N entre dicho sustituyente y un átomo de nitrógeno del extremo N-terminal o de una cadena lateral de dicho fragmento peptídico.

2. El derivado peptídico de la reivindicación 1, en que R_{12} es CH_2 o SO_2 .

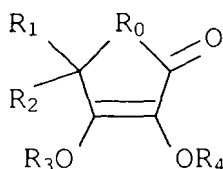
3. El derivado peptídico de la reivindicación 1, en que dicho fragmento peptídico es somatostatina o un péptido análogo a ella.

4. El derivado peptídico de la reivindicación 3, en que dicho péptido análogo a la somatostatina es uno de los siguientes: H-D-Phe-c[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys]-Thr-NH₂, H-D-Phe-c[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys]-Nal-NH₂ y H-D-Nal-c[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Thr-NH₂.

5. El derivado peptídico de la reivindicación 1, en que dicho fragmento peptídico es bombesina o un péptido análogo a ella.

6. Derivado peptídico dímero que comprende:

dos fragmentos peptídicos biológicamente activos seleccionados del grupo formado por: somatostatina, bombesina y compuestos análogos a ellos, y al menos un sustituyente unido a uno de dichos fragmentos peptídicos, siendo dicho sustituyente el compuesto IV, el cual es:



en que R_0 es O, S o NR_5 , donde R_5 es H o alquilo (C_1-C_6); R_1 y R_2 , independientemente, son H, $(CH_2)_mOR_6$ o $CH(OR_7)CH_2OR_8$, donde R_6 es H o acilo (C_2-C_7), y R_7 y R_8 , independientemente, son H, acilo (C_2-C_7) o $C(R_9)(R_{10})$, donde R_9 y R_{10} , son H o alquilo (C_1-C_6);

o bien R_1 y R_2 son $=CHCH_2OR_{11}$, donde en R_1 y R_2 , independientemente, R_{11} es H o acilo (C_2-C_7), y m es un número entero entre 1 y 5, ambos inclusive; y

ES 2 309 131 T3

R_3 o R_4 es $(CH_2)_nR_{12}$ o $(CH_2)_n(OH)R_{12}$, donde R_{12} es CO, CH_2 o SO_2 , y n es un número entero entre 1 y 5, ambos inclusive;

y el otro R_3 o R_4 es H, hidroxialquilo (C_1 - C_6) o acilo (C_2 - C_7);

de modo que al menos uno de dichos fragmentos peptídicos está unido a cada uno de dichos sustituyentes por un enlace CO-N, CH_2 -N o SO_2 -N entre dicho sustituyente y un átomo de nitrógeno del extremo N-terminal o de una cadena lateral de dicho fragmento peptídico.

7. Uso de un derivado peptídico como el reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para elaborar un medicamento.

8. Composición farmacéutica que comprende un derivado peptídico como el reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

9. Un derivado peptídico como el reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para uso terapéutico.

Efecto de compuestos análogos a la somatostatina en la proliferación de células tumorales pancreáticas de rata AR42J

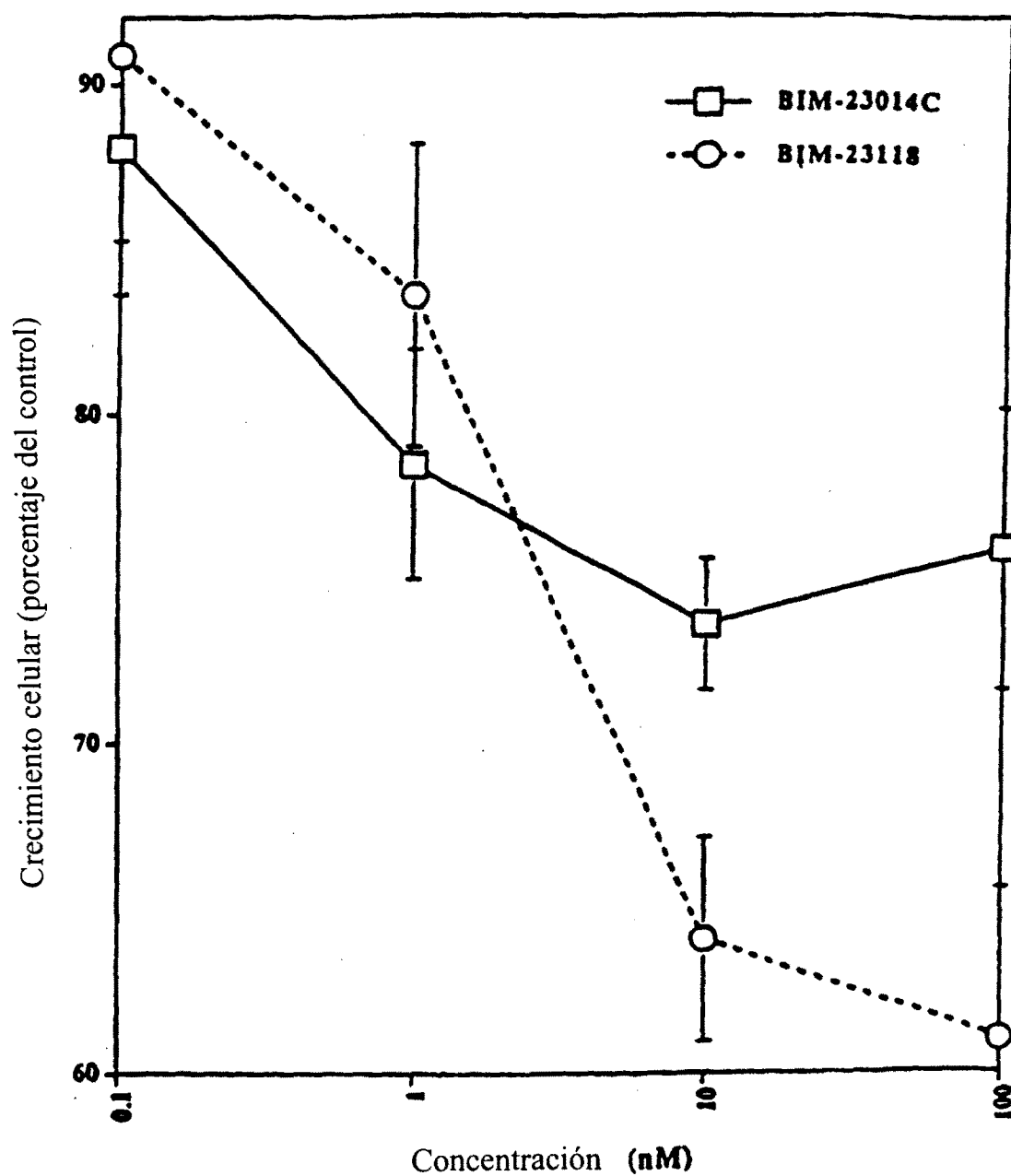


Fig. 1