

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 483 722**

51 Int. Cl.:

**C07K 14/655** (2006.01)

**A61K 38/31** (2006.01)

**C07D 401/02** (2006.01)

**A61K 47/48** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.06.2002 E 08171319 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.05.2014 EP 2062914**

54 Título: **Análogos quiméricos de somatostatina-dopamina**

30 Prioridad:

**08.06.2001 US 297059 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**07.08.2014**

73 Titular/es:

**IPSEN PHARMA (100.0%)  
65 QUAI GEORGES GORSE  
92100 BOULOGNE-BILLAN COURT, FR**

72 Inventor/es:

**CULLER, MICHAEL, D;  
DONG, ZHENG XIN;  
KIM, SUN H y  
MOREAU, JACQUES-PIERRE**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 483 722 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

Análogos quiméricos de somatostatina-dopamina

## Antecedentes de la invención

5 La presente invención se refiere a análogos quiméricos de somatostatina-dopamina. La dopamina es un neurotransmisor catecolamínico que se ha implicado en la patogenia de la enfermedad de Parkinson y de la esquizofrenia. Graybiel, et al., *Adv. Neurol.* 53, 17-29 (1990); Goldstein, et al., *FASEB J.* 6, 2413-2421 (1992); Olanow, et al., *Annu. Rev. Neurosci.* 22, 123-144 (1999). Egan, et al., *Curr. Opin. Neurobiol.* 7, 701-707 (1997). Se ha demostrado que la dopamina y las moléculas relacionadas inhiben el crecimiento de varios tipos de tumores malignos en los ratones, y esta actividad se ha atribuido de modos diversos a la inhibición de la proliferación de las células tumorales, la estimulación de la inmunidad tumoral o efectos sobre el metabolismo de la melanina en los melanomas malignos. Wick, M.M., *J. Invest. Dermatol.* 71, 163-164 (1978); Wick, M.M., *J. Natl. Cancer Inst.* 63, 1465-1467 (1979); Wick, M.M., *Cancer Treat. Rep.* 63, 991-997 (1979); Wick, M.M., *Cancer Res.* 40, 1414-1418 (1980); Wick, M.M., *Cancer Treat. Rep.* 65, 861-867 (1981); Wick, M.M. & Mui, J., *Natl. Cancer Inst.* 66, 351-354 (1981); Dasgupta, et al., *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 113, 363-368 (1987); Basu, et al., *Endocrine* 12, 237-241 (2000); Basu, et al., *J. Neuroimmunol.* 102, 113-124 (2000). Estudios recientes han demostrado la presencia de receptores D2 de la dopamina en las células endoteliales. Ricci, et al., *J. Auton. Pharmacol.*, 14, 61-68 (1994); Bacic, et al., *J. Neurochem.* 57, 1774-1780 (1991). Recientemente se ha descrito que la dopamina inhibe fuertemente y selectivamente en concentraciones no tóxicas las actividades angiogénica y de permeabilidad vascular del factor de permeabilidad vascular/factor de crecimiento endotelial vascular (VPF/VEGF por sus siglas en inglés). Basu et al., *Nat. Med.* 7 (5), 569-574 (2001).

La somatostatina (SS), un tetradecapéptido descubierto por Brazeau et al., ha mostrado tener un potente efecto inhibitorio sobre diferentes procesos secretores en los tejidos tales como la hipófisis, el páncreas y el tracto gastrointestinal. La SS también actúa como un neuromodulador en el sistema nervioso central. Estos efectos biológicos de la SS, todos de naturaleza inhibidores, están provocados por una serie de receptores acoplados a la proteína G, de los cuales se han caracterizado cinco diferentes subtipos (SSTR1 - SSTR5) (Reubi JC, et al., *Cancer Res* 47: 551 - 558, Reisine T, et al., *Endocrine Review* 16: 427 - 442, Lamberts SW, et al., *Endocr Rev* 12: 450 - 482, 4 Patel YC, 1999 *Front Neuroendocrinology* 20: 157 - 198). Estos cinco subtipos tienen una afinidad parecida por los ligandos de SS endógena, pero tienen diferentes distribución en los distintos tejidos. La somatostatina se une a los cinco subtipos diferentes del receptor (SSTR) con una afinidad relativamente alta e igual por cada subtipo.

30 Existe una evidencia de que la SS regula la proliferación celular al detener el crecimiento celular via los subtipos SSTR1, 2, 4, y 5 (Buscail L, et al., 1995 *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 1580 -1584; Buscail L, et al., 1994 *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 2315 - 2319; Florio T, et al., 1999 *Mol Endocrinol* 13: 24 - 37; Sharma K, et al., 1999 *Mol Endocrinol* 13: 82 - 90), o al inducir apoptosis via el subtipo SSTR3 (Sharma K, et al., 1996 *Mol Endocrinol* 10: 1688 - 1696). La SS y varios análogos han mostrado que inhiben la proliferación celular de células normales y neoplásicas in vitro e in vivo (Lamberts SW, et al., *Endocr Rev* 12: 450 - 482) via receptores específicos de SS (SSTR's) (Patel YC, 1999 *Front Neuroendocrinology* 20: 157 - 198) y posiblemente diferentes acciones postreceptores (Weckbecker G, et al., *Pharmacol Ther* 60: 245 - 264; Bell GI, Reisine T 1993 *Trends Neurosci* 16: 34 - 38; Patel YC, et al., *Biochem Biophys Res Commun* 198: 605 - 612; Law SF, et al., *Cell Signal* 7:1 - 8). Además, existe la evidencia de que distintos subtipos de SSTR se expresan en tejidos humanos normales y neoplásicos (9), confiriendo diferentes afinidades tisulares para varios análogos de SS y una respuesta clínica variable a sus efectos terapéuticos:

Se ha relacionado la unión a los diferentes tipos de los subtipos de receptores de la somatostatina con el tratamiento de diferentes afecciones y/o enfermedades. ("SSTR2") (Raynor, et al., *Molecular Pharmacol.* 43:838 (1993); Lloyd, et al., *Am. J. Physiol.* 268:G102 (1995)) mientras la inhibición de la insulina ha sido atribuida al receptor de tipo 5 de la somatostatina ("SSTR5") (Coy, et al. 197:366-371 (1993)). La activación de los tipos 2 y 5 ha sido relacionada con la supresión de la hormona de crecimiento y más particularmente adenomas secretores de GH (siglas en inglés de hormona de crecimiento) (Acromegalia) y adenomas secretores de TSH (siglas en inglés de hormona estimulante del tiroides). La activación del tipo 2 pero no el tipo 5 ha sido relacionada con el tratamiento de adenomas secretores de prolactina. Otras indicaciones relacionadas con la activación de los subtipos del receptor de la somatostatina incluyen la inhibición de la insulina y/o del glucagón para tratar diabetes mellitus, angiopatía, retinopatía proliferativa, fenómeno del alba y nefropatía; la inhibición de la secreción de ácido gástrico y más particularmente úlceras pépticas, fístula enterocutánea y pancreatico-cutánea, síndrome del colon irritable, síndrome de Dumping, síndrome de la diarrea líquida, diarrea relacionada con el sida, diarrea inducida por la quimioterapia, pancreatitis aguda o crónica y tumores secretores de hormonas gastrointestinales; tratamiento de cáncer tal como hepatoma; inhibición de la angiogénesis; tratamiento de enfermedades inflamatorias tales como la artritis; retinopatía; rechazo crónico de aloinjerto; angioplastia; vaso injertado preventivo y sangrado gastrointestinal. Se prefiere tener un análogo que sea selectivo del subtipo o subtipos específicos del receptor de la somatostatina responsables de la respuesta biológica deseada, de este modo, reduciendo la interacción con otros subtipos del receptor que podrían provocar unos efectos secundarios indeseables.

La somatostatina (SS) y sus receptores (SSTR1 a SSTR5) se expresan en las células C parafoliculares humanas normales y en el carcinoma tiroideo medular (MTC, por sus siglas en inglés). El MTC es un tumor originado por las

5 células C parafoliculares del tiroides que produce calcitonina (CT), somatostatina, al igual que otros muchos péptidos (Moreau JP, et al., *Metabolism* 45 (8 Suppl 1): 24 - 26). Recientemente, Mato et al. mostraron que la SS y SSTR's están expresados en el MTC humano (Mato E, et al., *J Clin Endocrinol Metab* 83: 2417 - 2420). Se ha descrito que la SS y sus análogos inducen un decrecimiento de los niveles de CT en plasma y una mejora sintomática de pacientes con MTC. Sin embargo, hasta ahora la actividad antiproliferativa de los análogos de SS en células tumorales no han sido demostradas claramente (Mahler C, et al., *Clin Endocrinol* 33: 261- 9; Lupoli G, et al., *Cancer* 78: 1114 - 8; Smid WM, et al., *Neth J Med* 40: 240 - 243). De este modo, el desarrollo y la evaluación de análogos del subtipo SSTR sobre el crecimiento de células de MTC proporciona una herramienta útil para su aplicación clínica. Hasta ahora, no se han descrito ningún dato concerniente a la implicación de los subtipos específicos de la SSTR en la regulación del crecimiento de células de MTC.

Miyagi M et al, (1996) *Biol. Pharm. Bull.* 19(9):1210-1213 describe un estudio de afinidades de receptores de dopamina *in vitro* y actividades estereotípicas *in vivo* de cabergolina en ratas.

El documento WO 94/14806 se refiere a derivados de terc-butilergolina serotoninérgicos.

15 Mantegani S et al, (1998) *Il Farmaco* 53: 293-304 se refiere a la síntesis y actividad antihipertensiva de derivados de 2,4-dioxoimidazolidin-1-il y perhidro-2,4-dioxopirimidin-1-il-ergolina.

El documento DE 1470285 A1 se refiere a la 1-metil-N-carbobenzoxi-dihidrolisergamina.

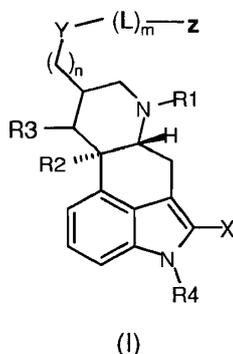
El documento BE 618187 A1 se refiere a derivados de 6-metil- y 1,6-dimetil-ergolina I y procedimientos para su preparación.

20 Temperilli A et al (1998) *Eur. J. Med. Chem.* 23: 77-81 se refiere a la actividad antihipertensiva de derivados de ergolinil-ureido y tioureido.

### Compendio de la invención

Lo que se describe en este texto es el descubrimiento de una serie de análogos quiméricos de somatostatina-dopamina que mantienen ambos la actividad de somatostatina y dopamina *in vivo*, incluido que varios de ellos muestran una actividad biológica mejorada respecto de los análogos originales de somatostatina y dopamina solos, y sus usos terapéuticos.

En un aspecto la presente invención proporciona a un compuesto de fórmula (I),



donde:

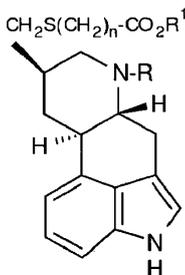
- X es H, Cl, Br, I, F, -CN, , o alquilo C<sub>1-5</sub> ;
- 30 R1 es H, alquilo C<sub>1-4</sub>, alilo, alquenilo o -CN;
- R2 y R3, cada uno, independientemente H o ausente, siempre que cuando R2 y R3 están ausentes, está presente un doble enlace entre los átomos de carbono al que están unidos;
- R4 es H o -CH<sub>3</sub>;
- Y es -S-;
- 35 m es 1;
- n es 1;
- L es -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)-;
- p es 1-10;

y

Z es un resto que comprende -H, -OH, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilalcoxi, -NH<sub>2</sub>, o -NR<sub>9</sub>R<sub>10</sub>, donde R<sub>9</sub> y R<sub>10</sub> cada uno es, independientemente, H o alquilo C<sub>1-5</sub>;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

5 El compuesto puede tener la fórmula



donde:

R es H, alquilo C<sub>1-4</sub>, alilo, alqueno, o -CN;

R<sup>1</sup> es H, alquilo C<sub>1-6</sub>, o arilalquilo; y

10 n es un número entero entre 1 y 10 incluido;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

El compuesto puede ser:

ácido (6-N-propil-8β-ergolinil)metiltioacético;

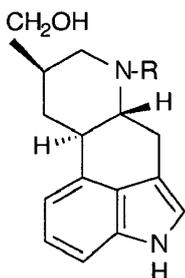
etil(6-N-propil-8β-ergolinil)metiltioacetato;

15 ácido (6-N-metil-8β-ergolinil)metiltioacético; o

ácido etil(6-N-metil-8β-ergolinil)metiltioacetato;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

La invención proporciona también un procedimiento para la síntesis de un compuesto de la invención, que comprende la etapa de tratamiento de un compuesto de fórmula



20

donde:

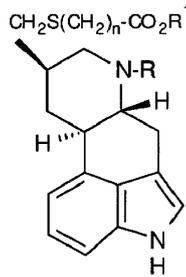
R es H, alquilo C<sub>1-4</sub>, alilo, alqueno, o -CN;

con cloruro de metanosulfonilo en piridina, y seguidamente con un compuesto de fórmula HS(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CO<sub>2</sub>-R<sup>1</sup>, donde R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, o arilalquilo y n es un número entero entre 1 y 10 incluido, con el fin de obtener un

25

compuesto de la invención donde R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, o arilalquilo ;

y opcionalmente hidrolizar el compuesto resultante de fórmula



donde:

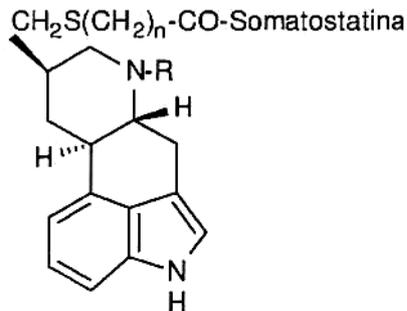
R es H, alquilo C<sub>1-4</sub>, alilo, alquenilo, o -CN;

R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-5</sub>, o arilalquilo ; y

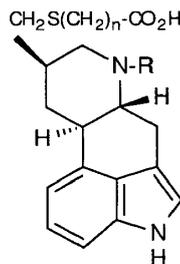
5 n es un número entero entre 1 y 10 incluido;

con el fin de obtener un compuesto de la invención donde R<sup>1</sup> es H.

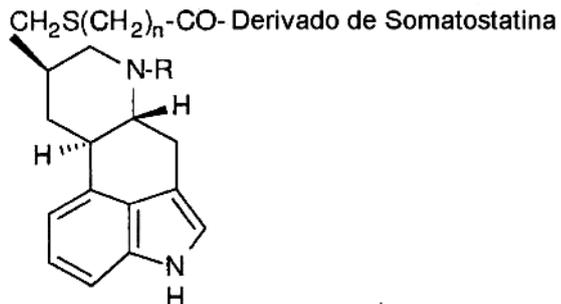
Además se proporciona un procedimiento para la síntesis de un compuesto de fórmula



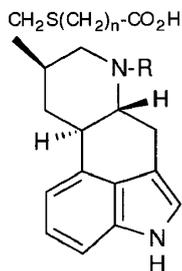
10 donde R es H, alquilo C<sub>1-4</sub>, alilo, alquenilo, o -CN; y n es un número entero entre 1 y 10 incluido, que comprende las etapas de acoplamiento con un compuesto de fórmula



donde R es H, alquilo C<sub>1-4</sub>, alilo, alquenilo, o -CN; y n es un número entero entre 1 y 10 incluido, con la somatostatina parcialmente protegida, y desbloqueo del compuesto resultante. Además se proporciona un procedimiento para la síntesis de un compuesto de fórmula

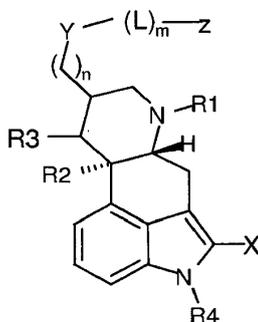


donde R es H, alquilo C<sub>1-4</sub>, alilo, alquenilo, o -CN; y n es un número entero entre 1 y 10 incluido, que comprende las etapas de acoplamiento con un compuesto de fórmula



5 donde R es H, C<sub>1-4</sub> alquilo, alilo, alquenilo, or -CN; y n es un número entero entre 1 y 10 incluido, con un derivado de somatostatina parcialmente protegido; y, cuando el derivado de somatostatina está parcialmente protegido, desbloqueo del compuesto resultante.

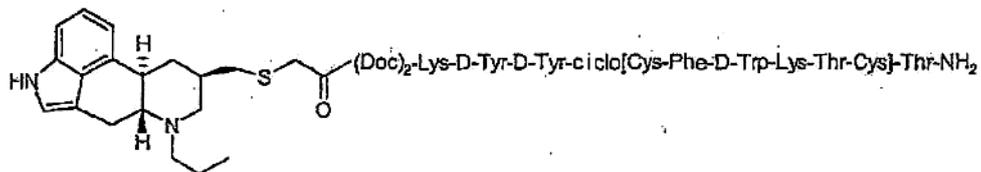
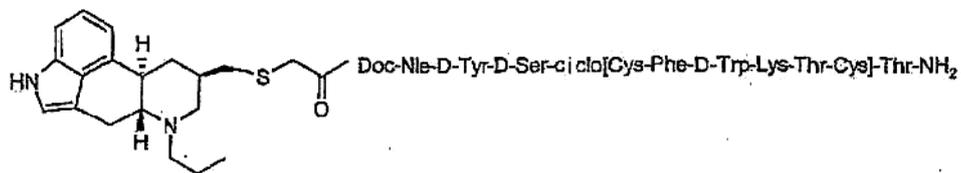
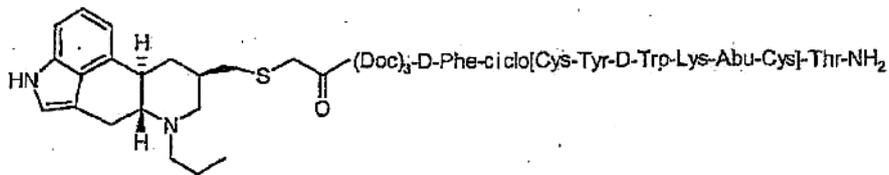
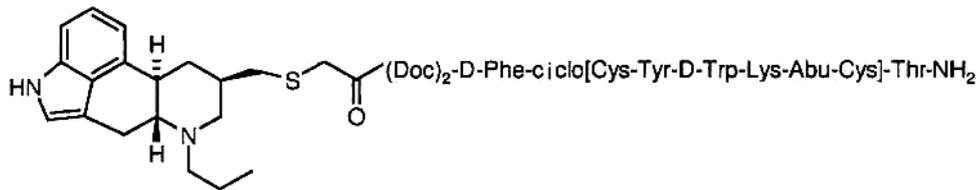
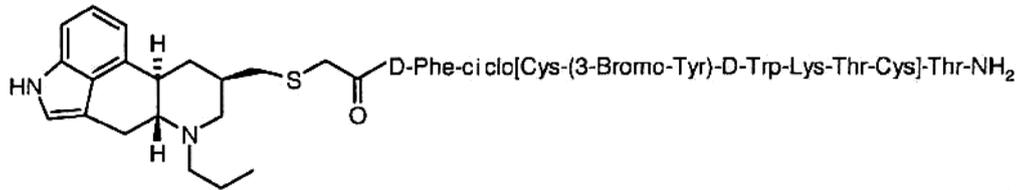
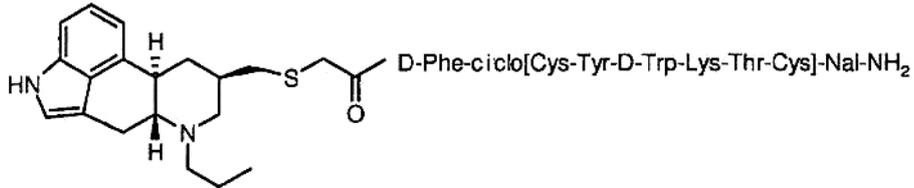
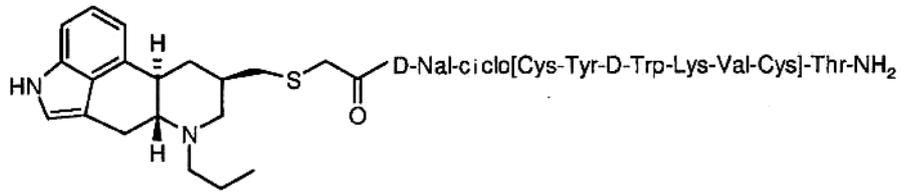
También se describen en este texto una quimera de dopamina-somatostatina de fórmula,

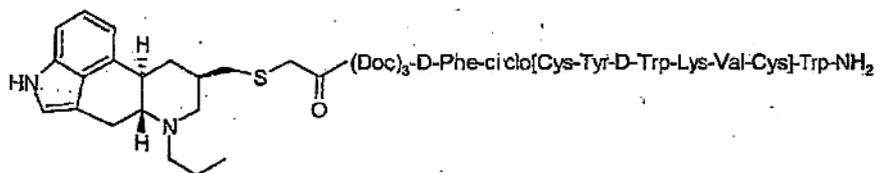
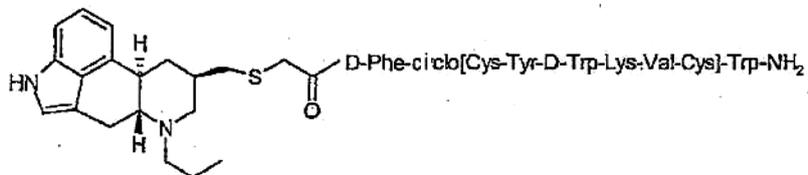
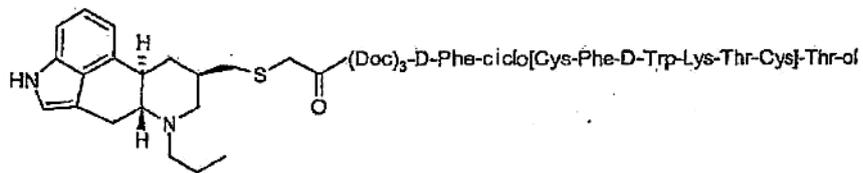
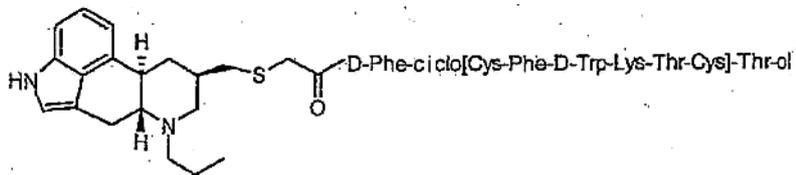
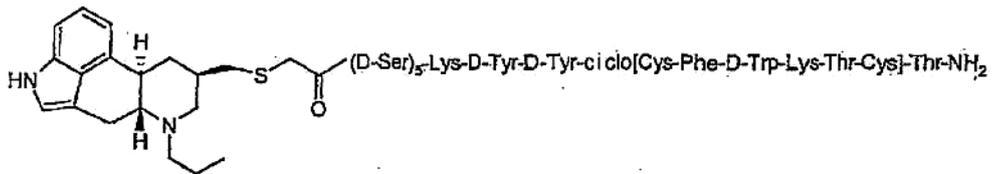
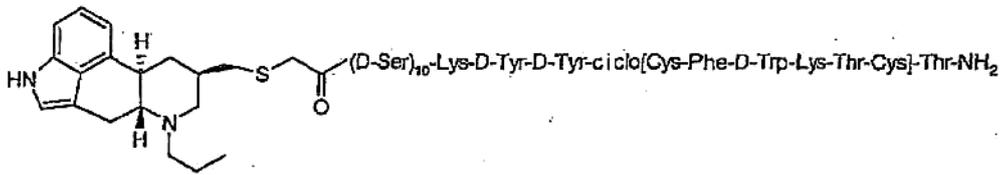
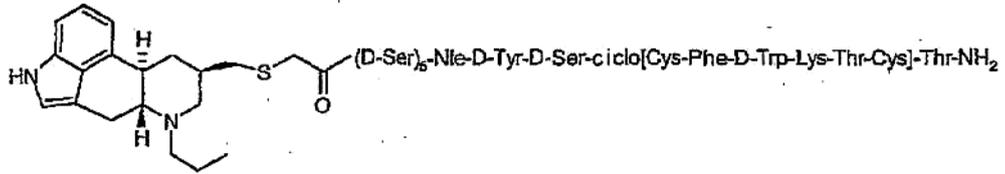
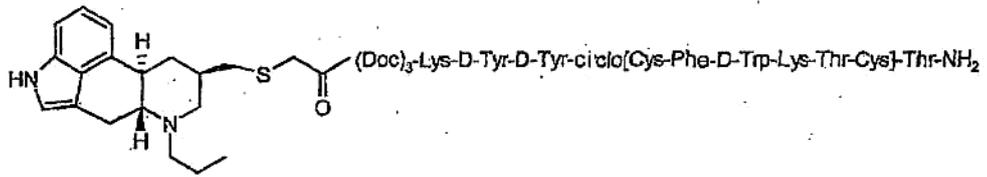


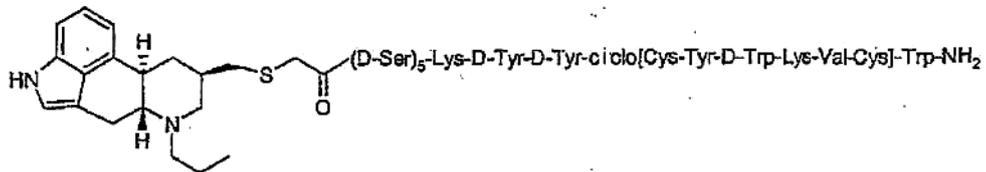
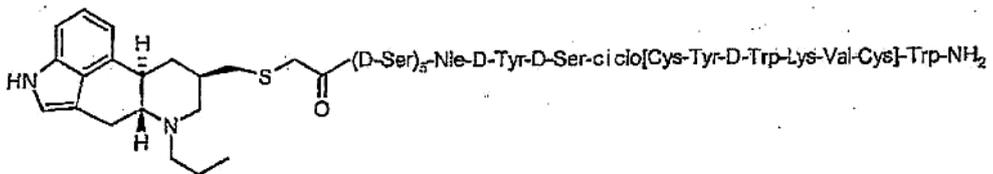
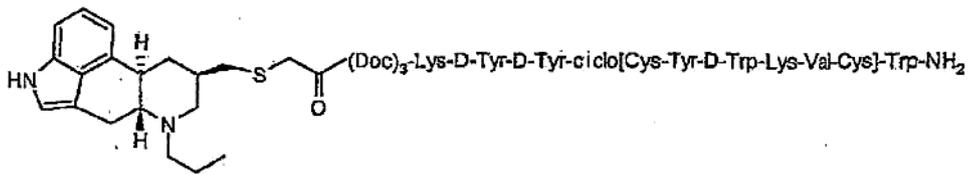
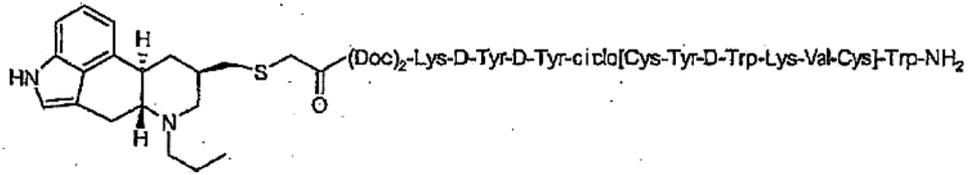
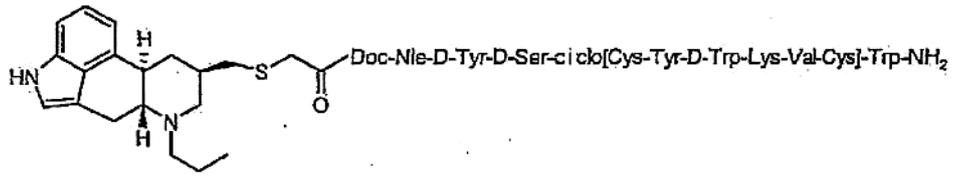
donde:

- 10 X es H, Cl, Br, I, F, -CN, , o alquilo C<sub>1-5</sub> ;  
 R1 es H, alquilo C<sub>1-4</sub>, alilo, alquenilo o -CN;  
 R2 y R3, cada uno, independientemente H o ausentes, siempre que cuando R2 y R3 están ausente, está presente un doble enlace entre los átomos de carbono al que están unidos;  
 R4 es H o -CH<sub>3</sub>;
- 15 Y es -S-;  
 m es 1;  
 n es 1;  
 L es -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)-;  
 p es 1-10;
- 20 y  
 Z es un análogo de somatostatina,  
 o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

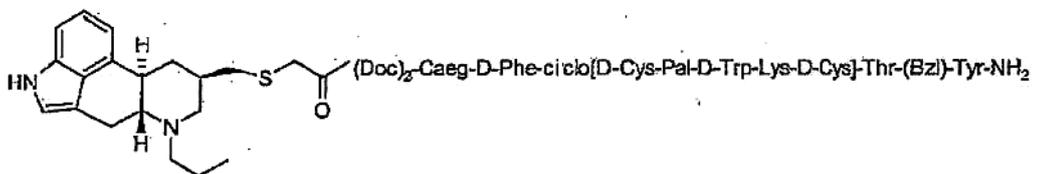
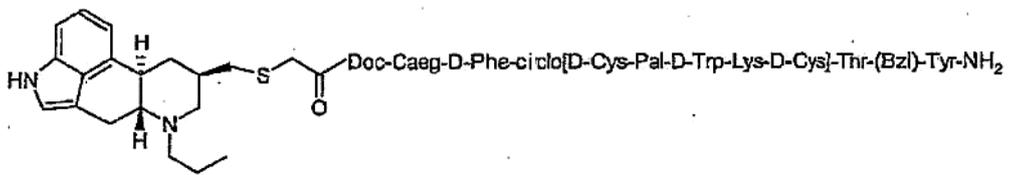
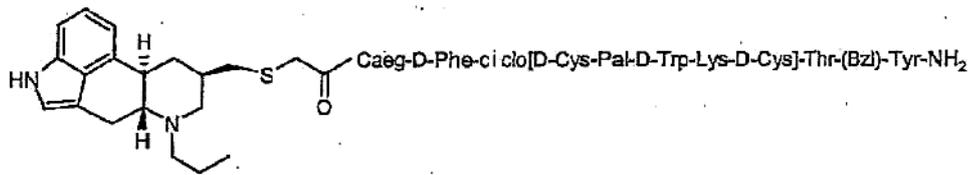
Ejemplos de un compuesto químérico descrito en este texto incluye un compuesto según la fórmula:

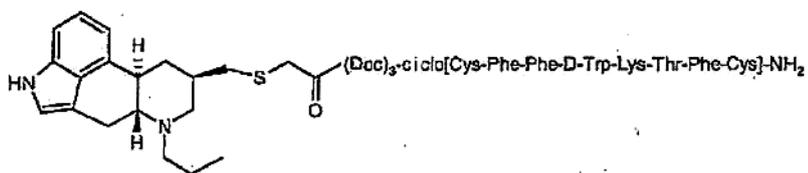
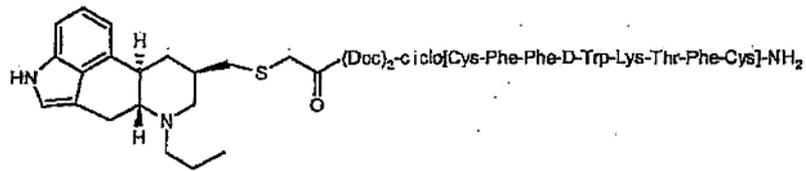
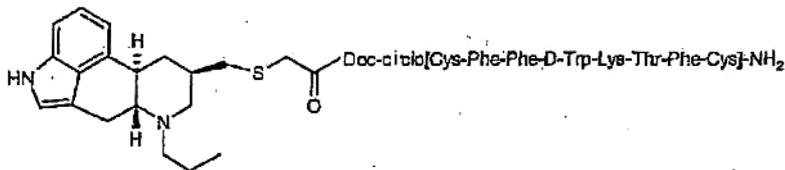
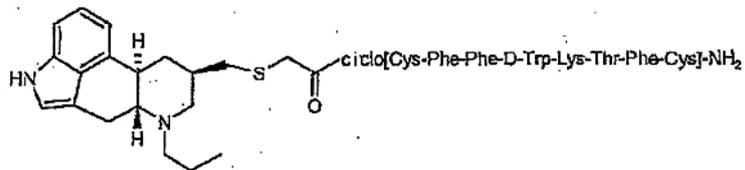
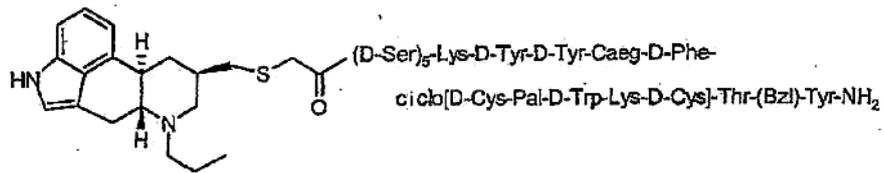
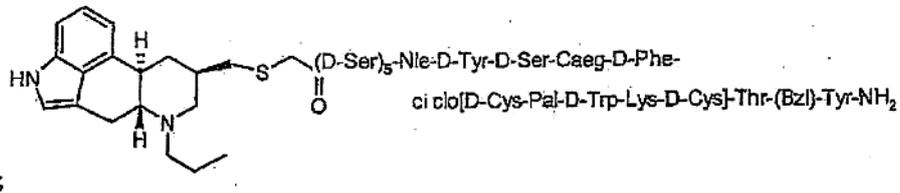
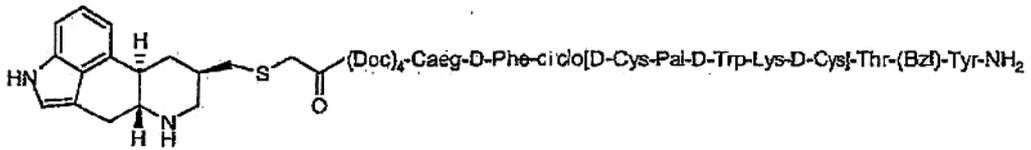
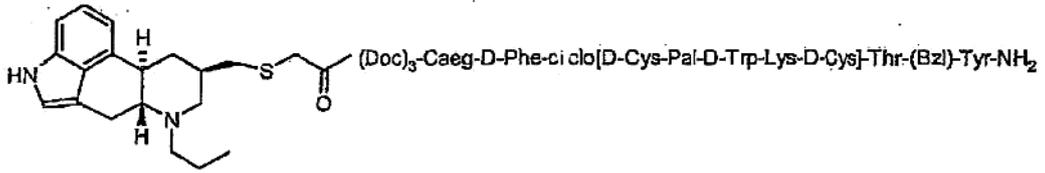


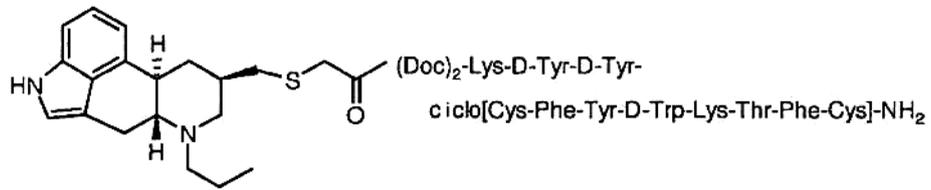
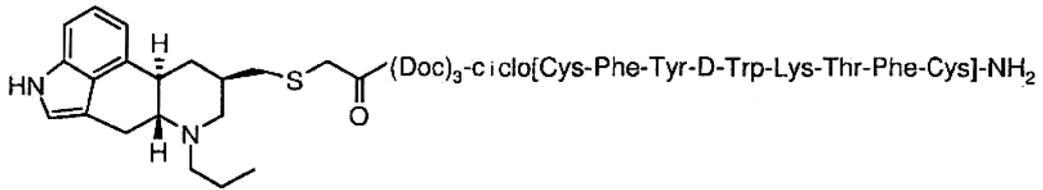
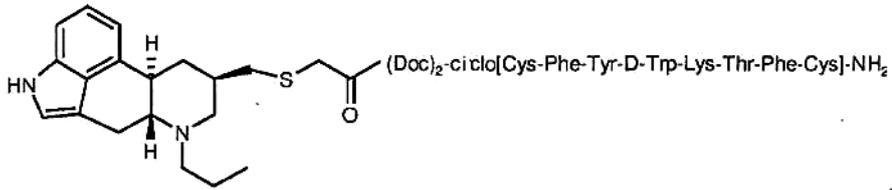
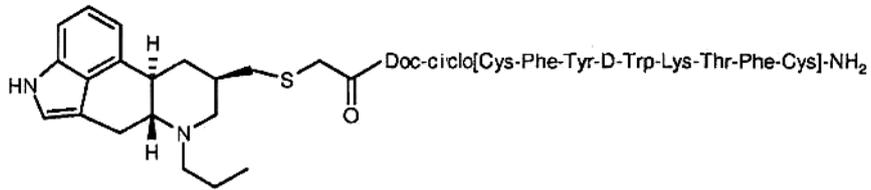
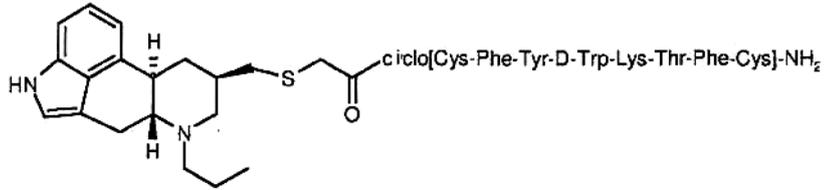
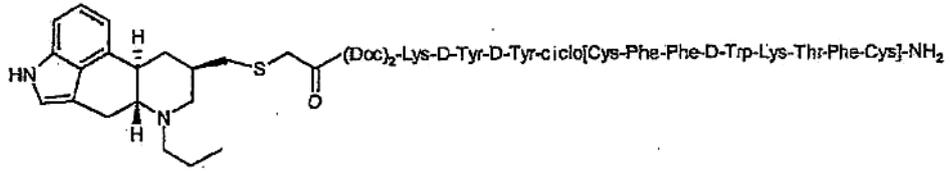


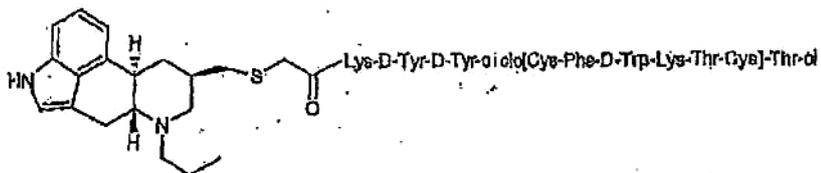
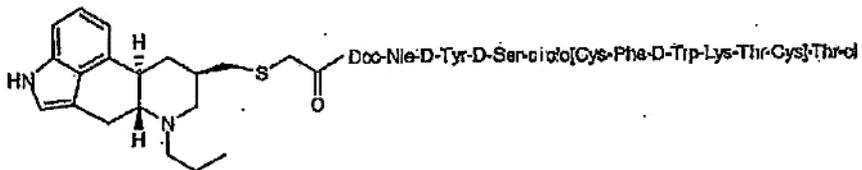
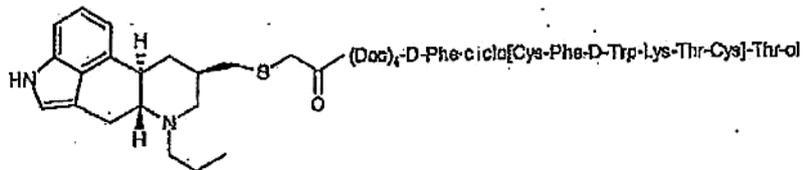
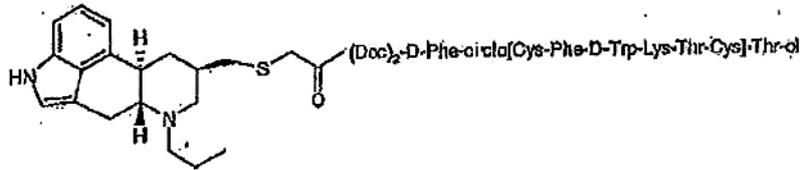
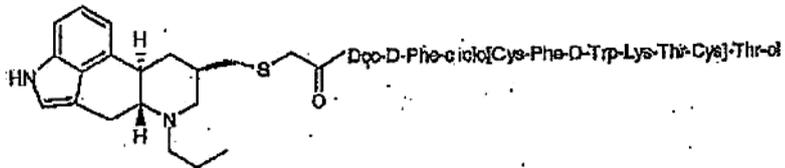
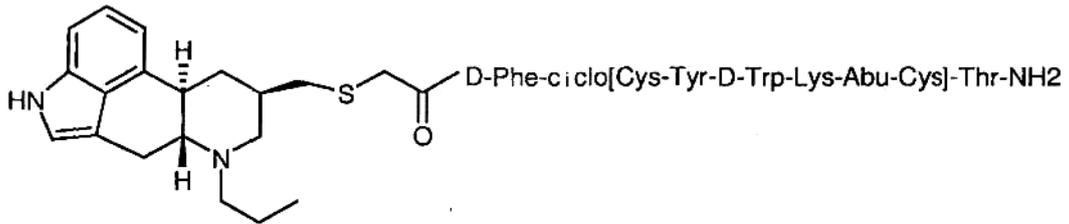
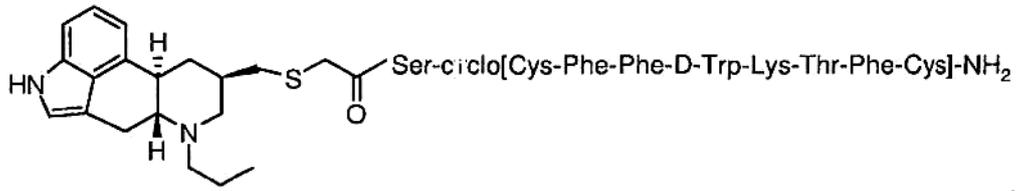


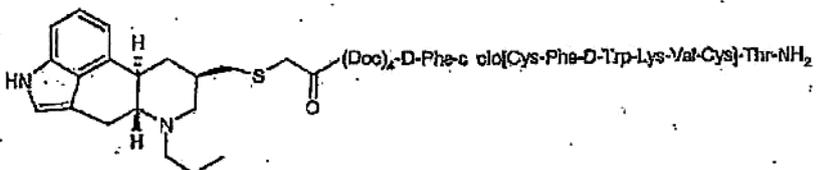
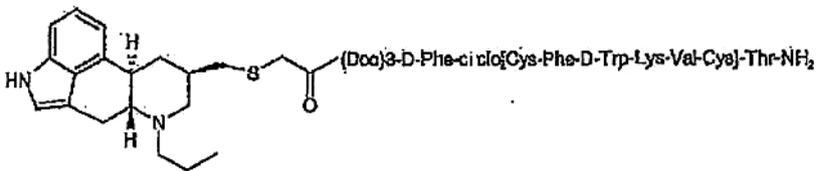
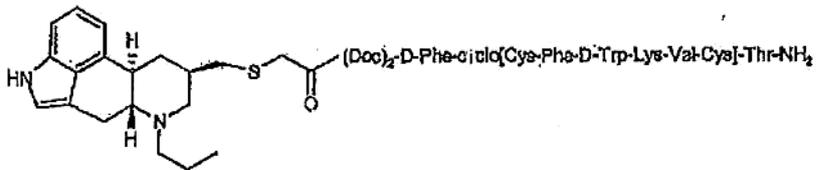
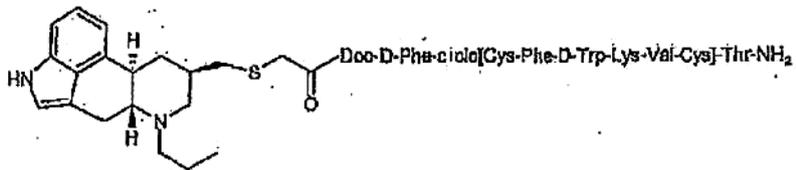
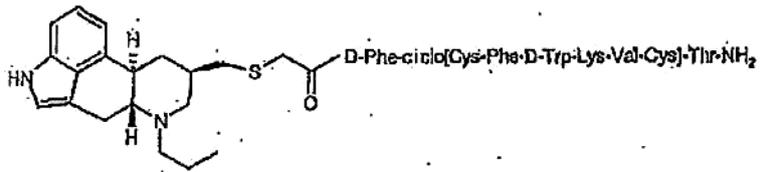
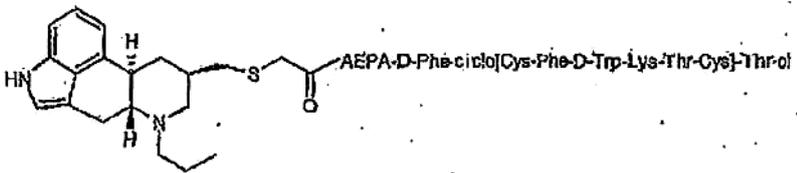
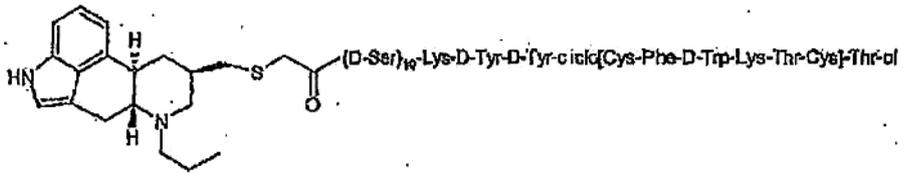
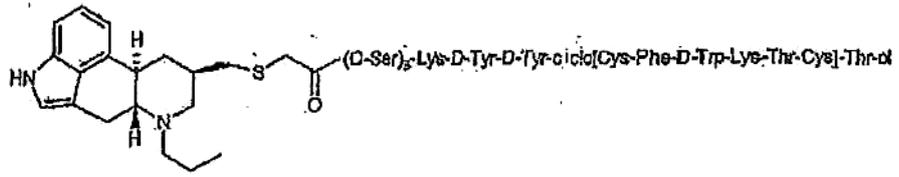
Caeg = N-(2-aminoetil)-N-(2-citosinil-1-oxo-etil)-glicina

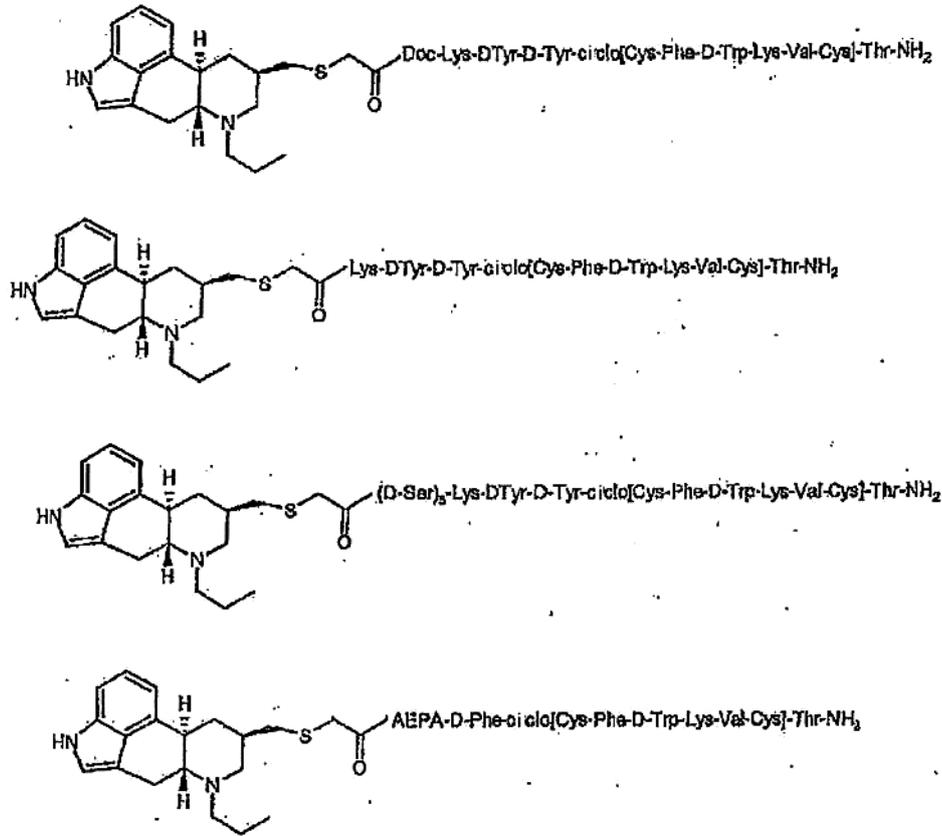




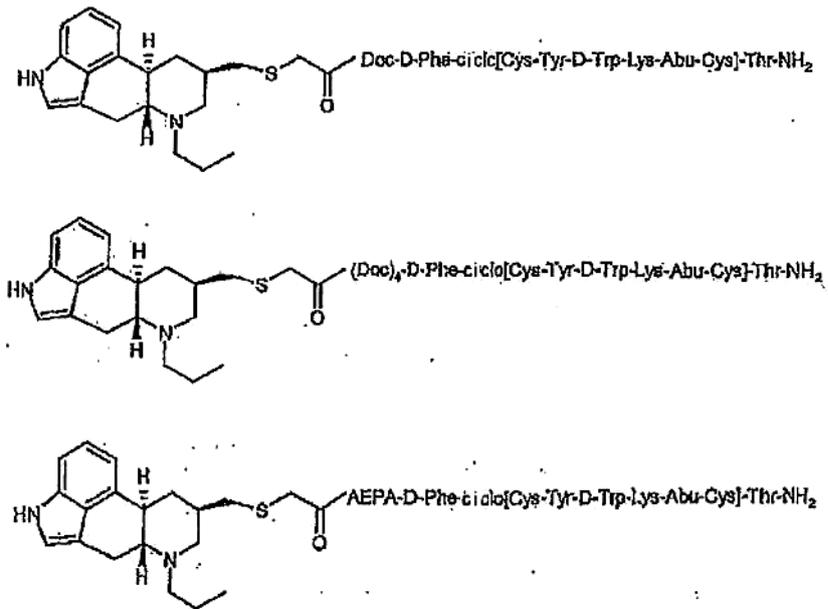


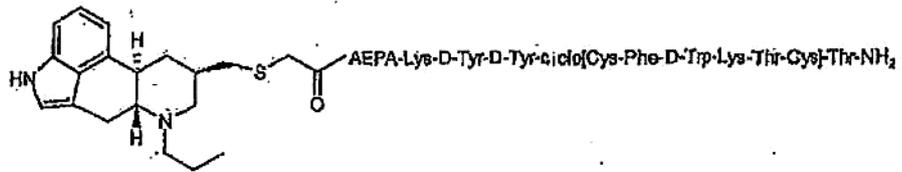
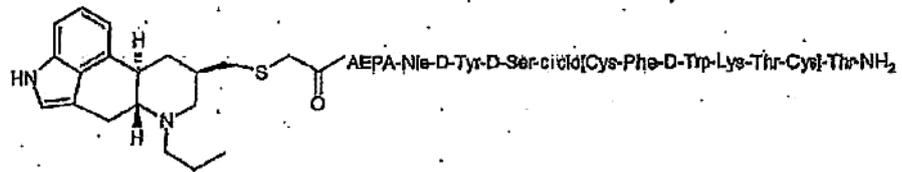
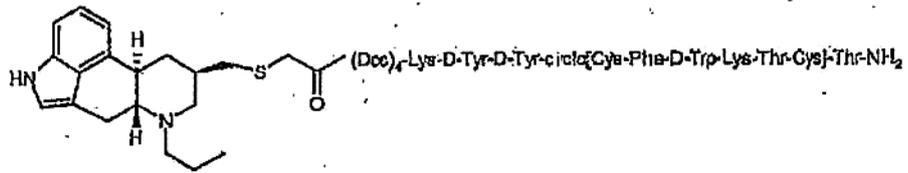
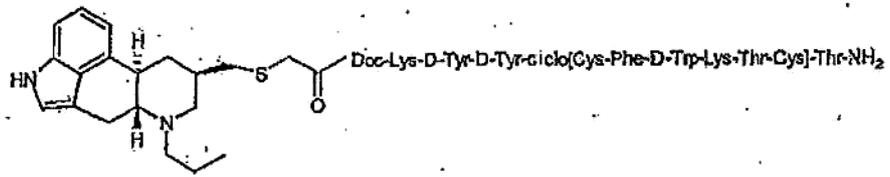






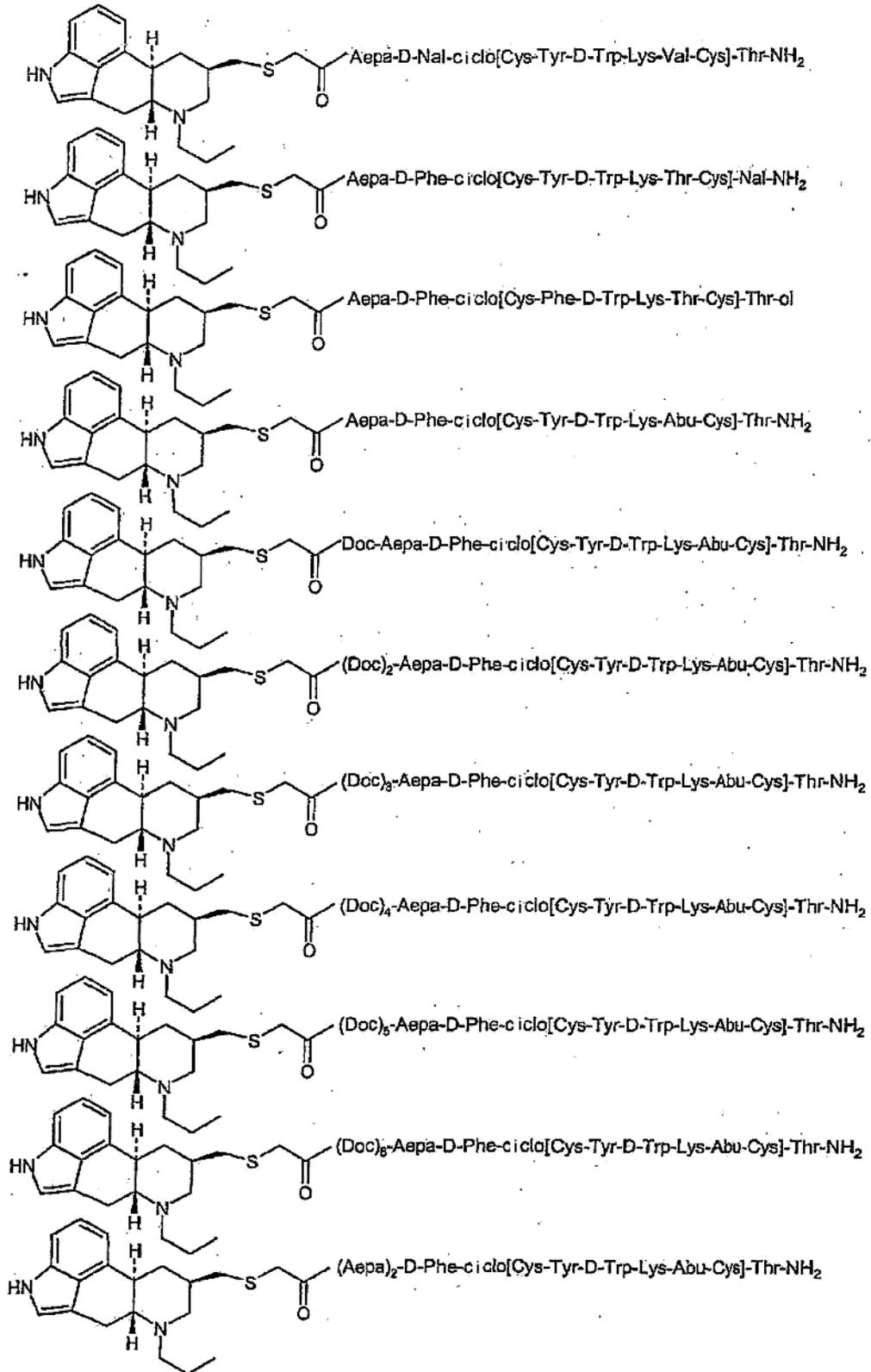
AEPA = 4-(2-aminoetil)-1-carboximetil-piperazina

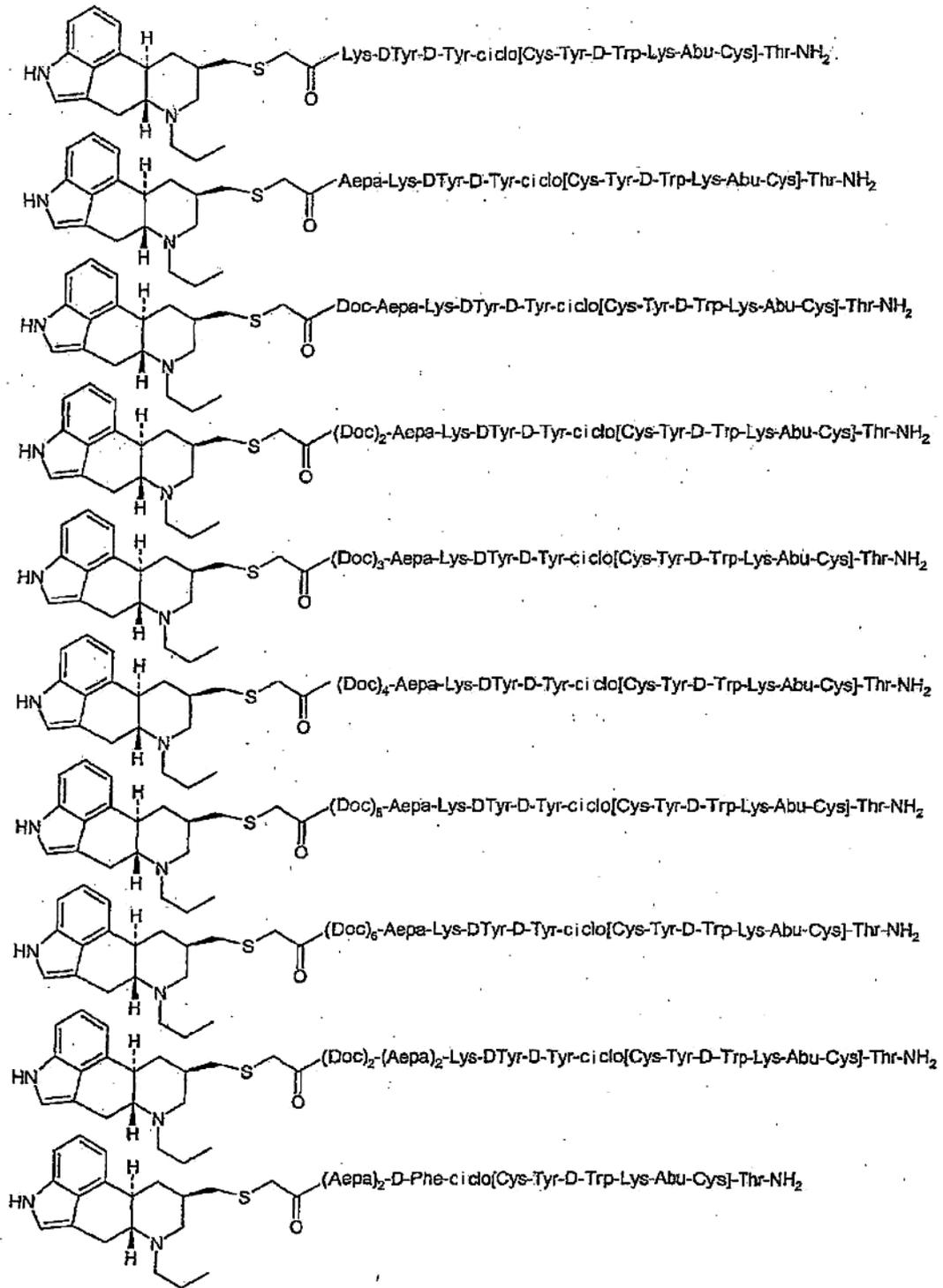


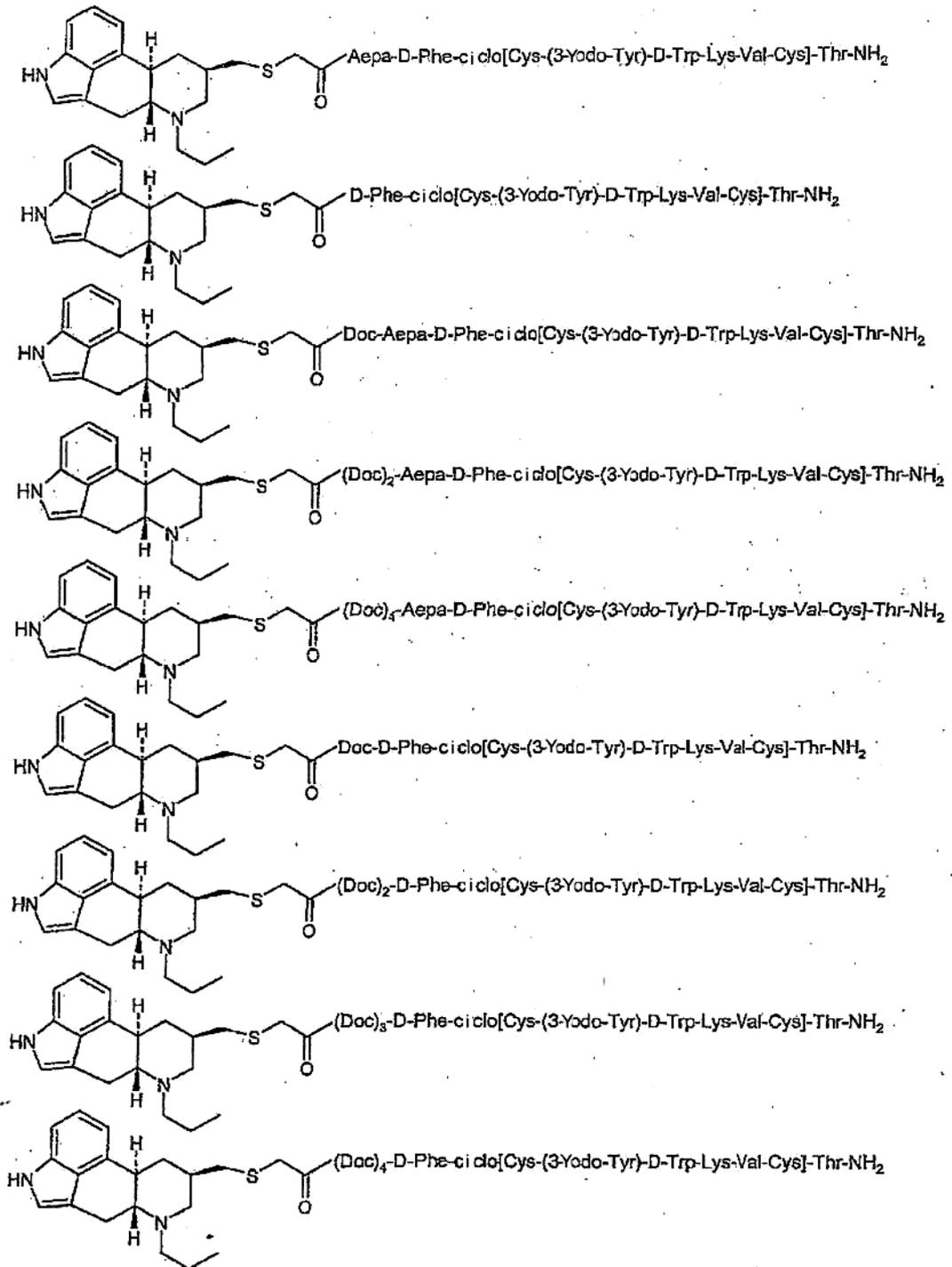


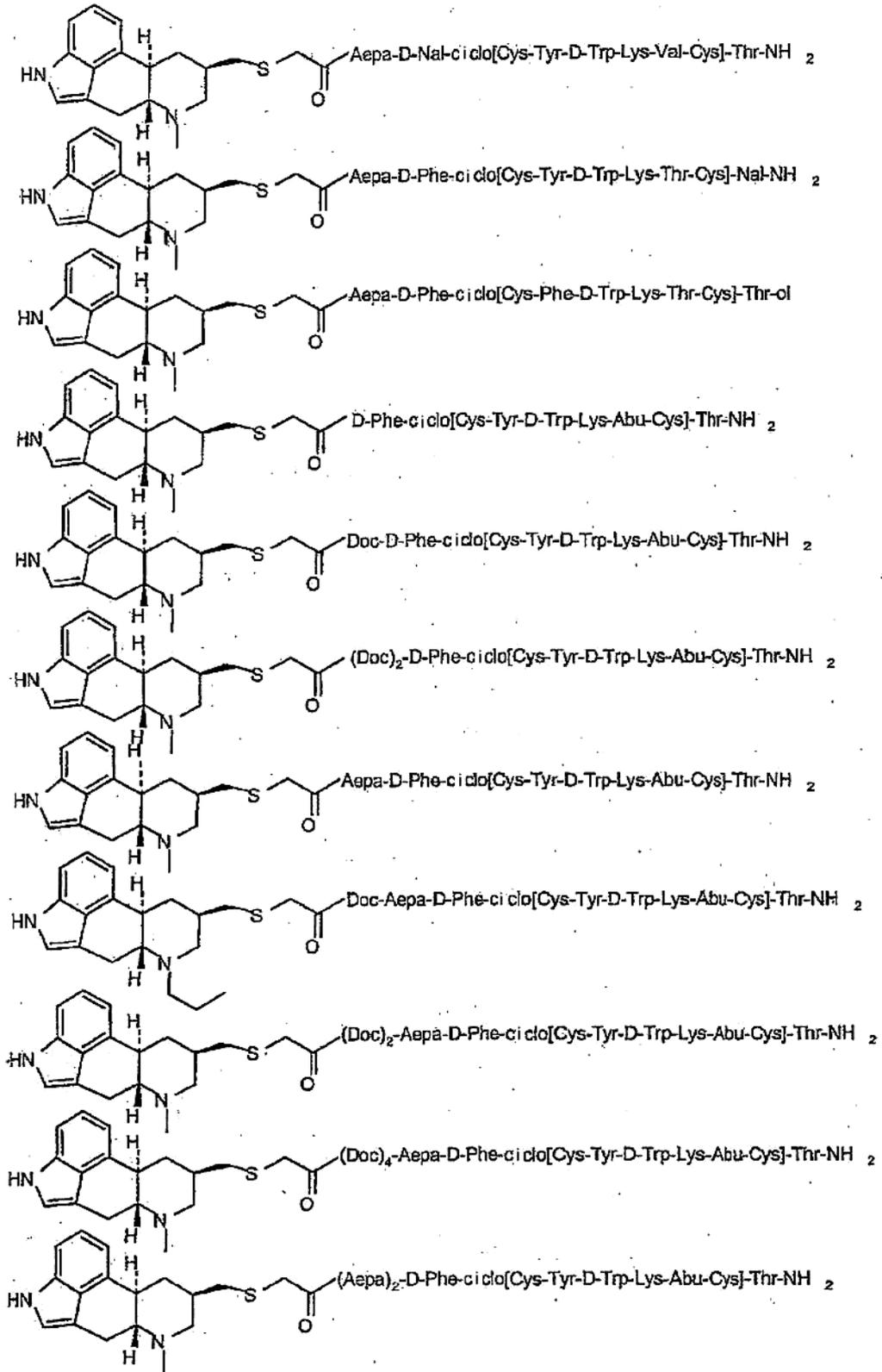
o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

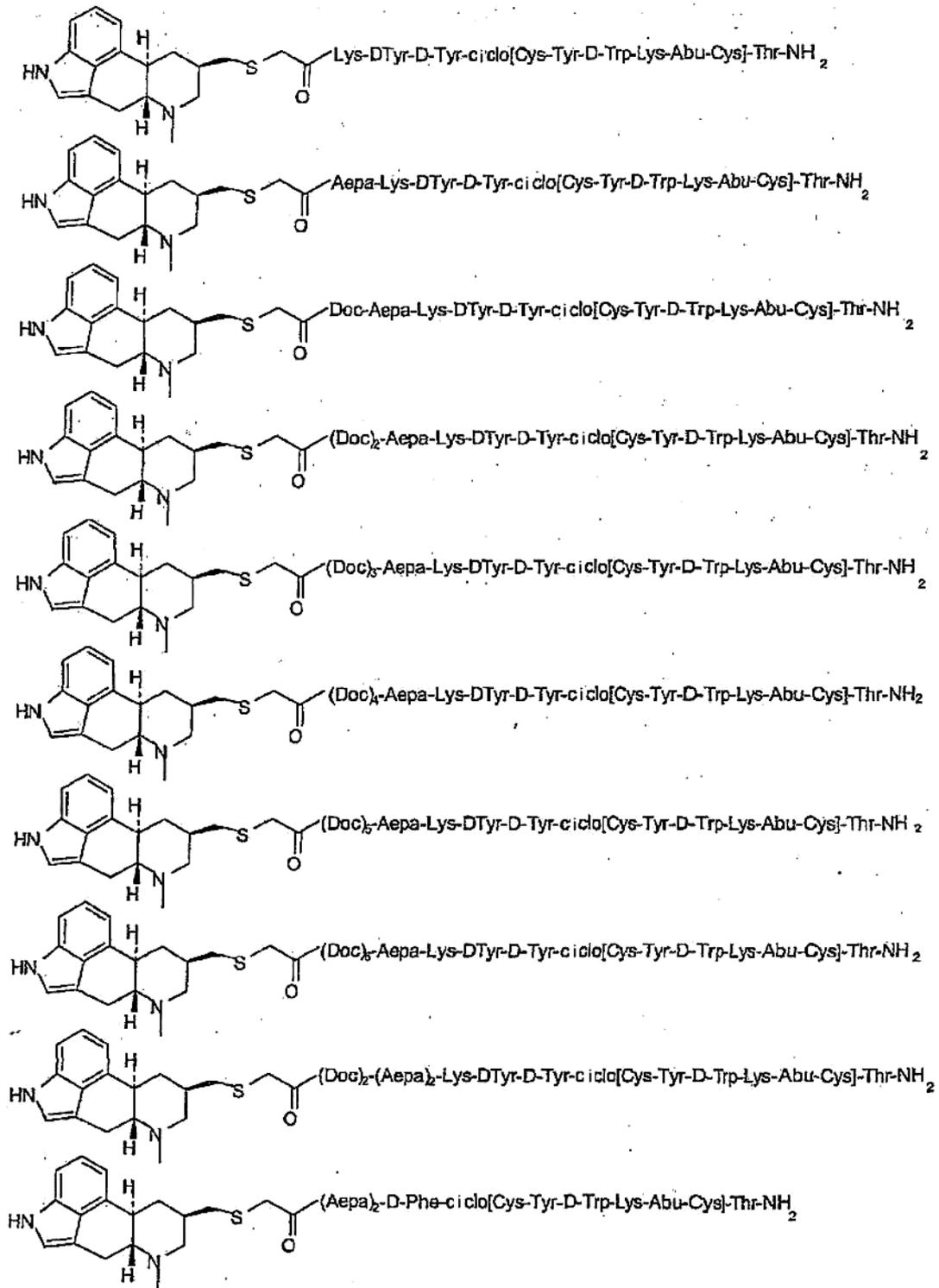
Los ejemplos incluyen también un compuesto según la fórmula:

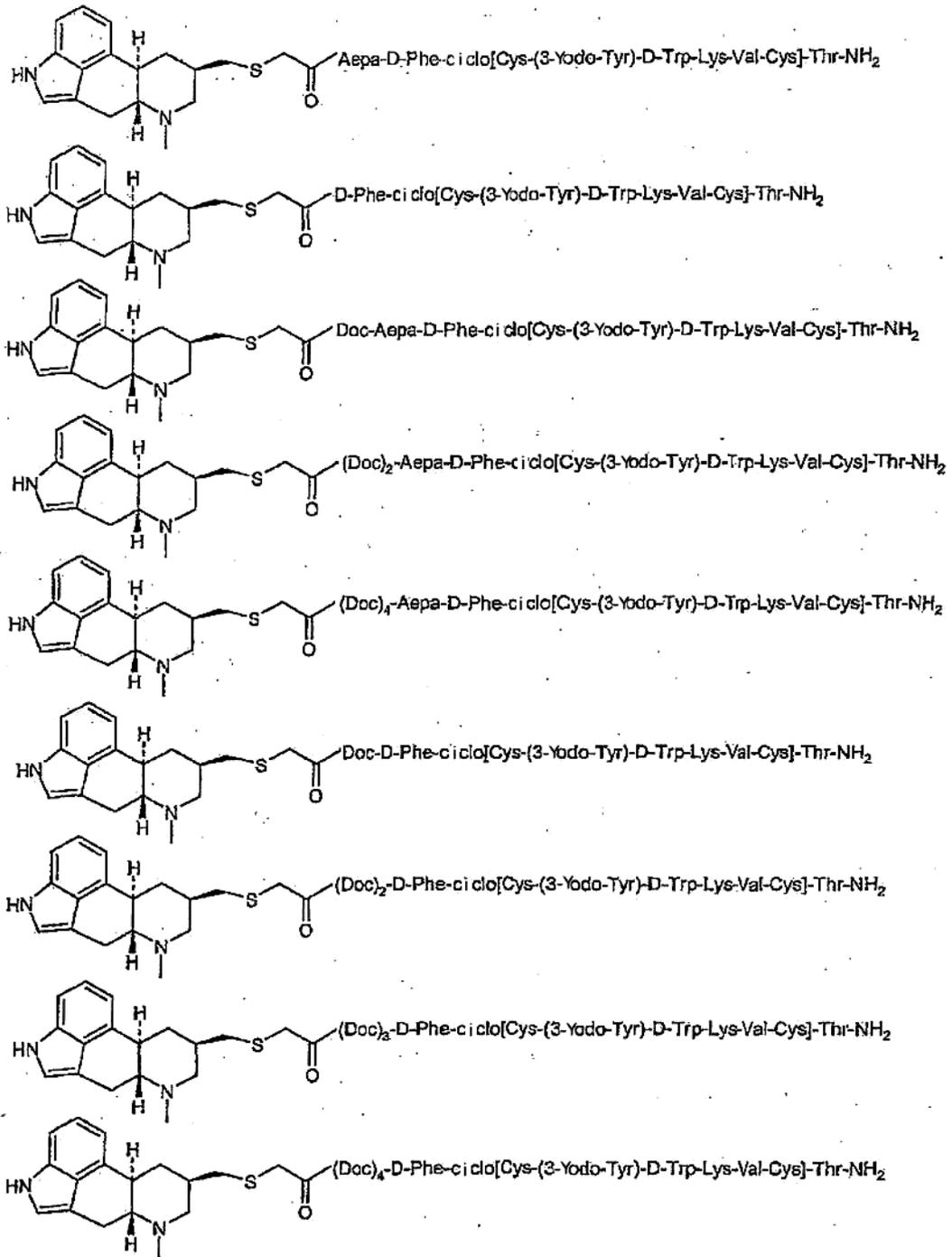


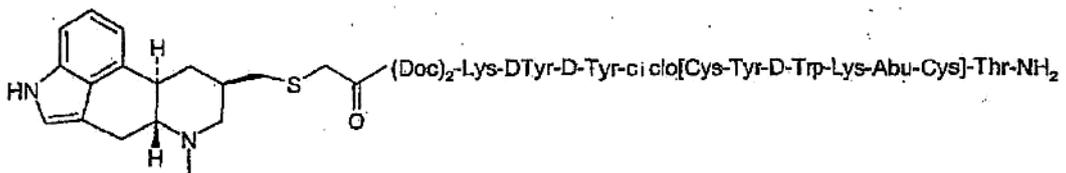
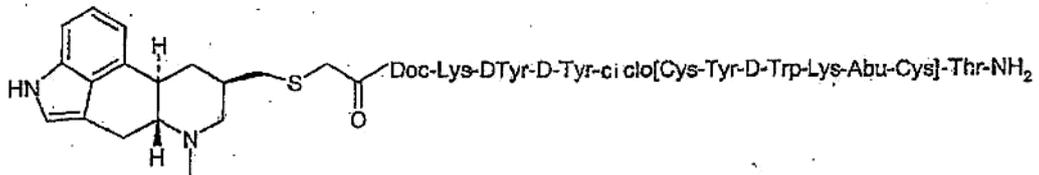
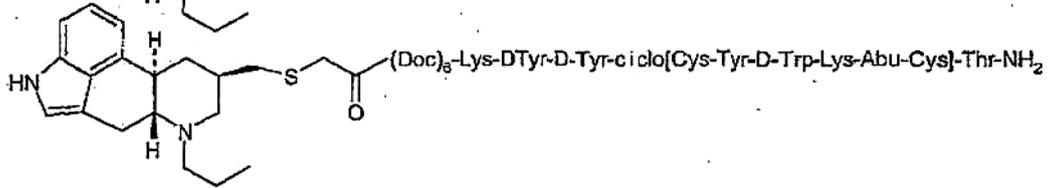
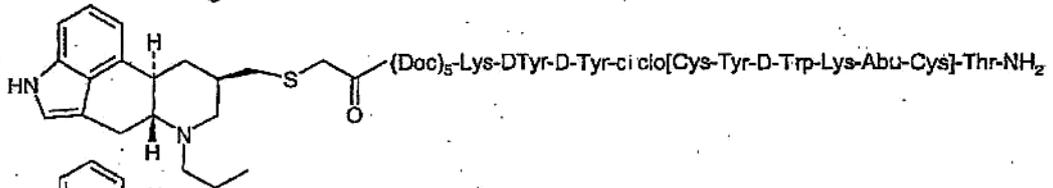
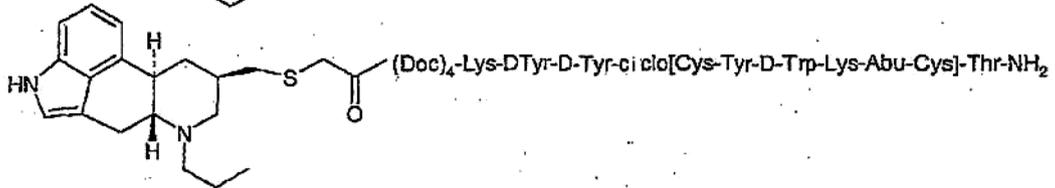
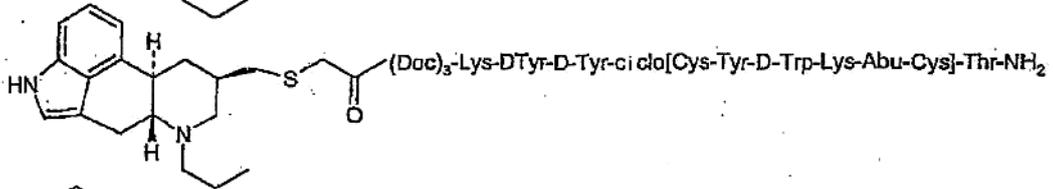
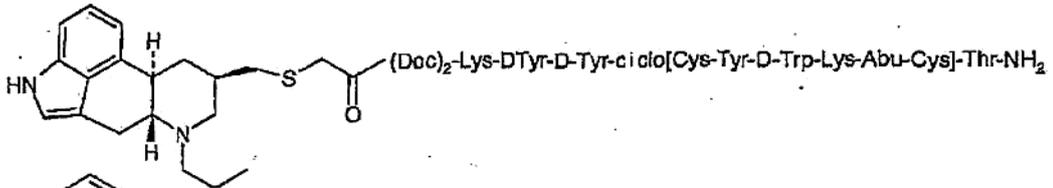
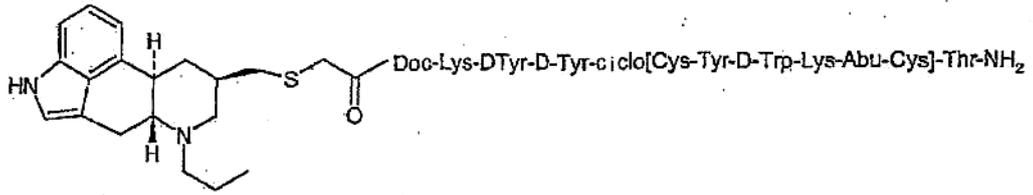


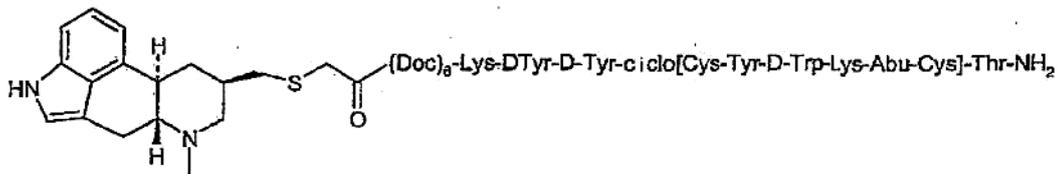
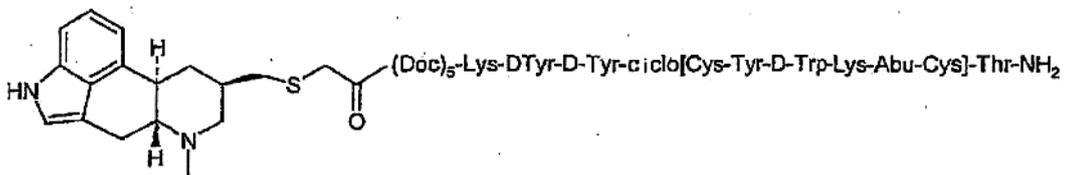
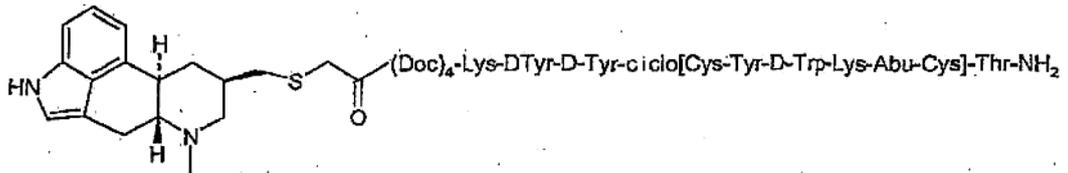
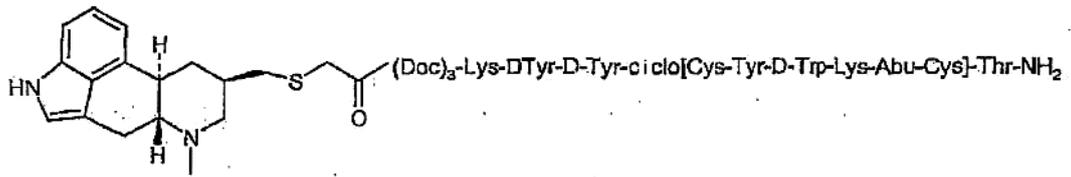


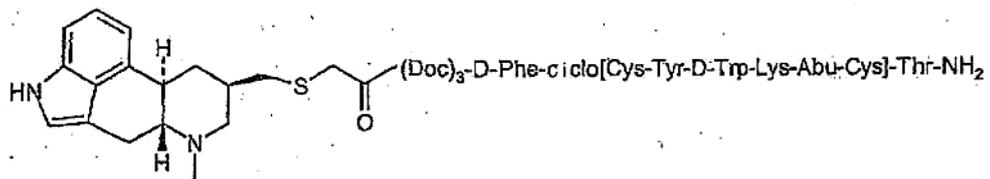
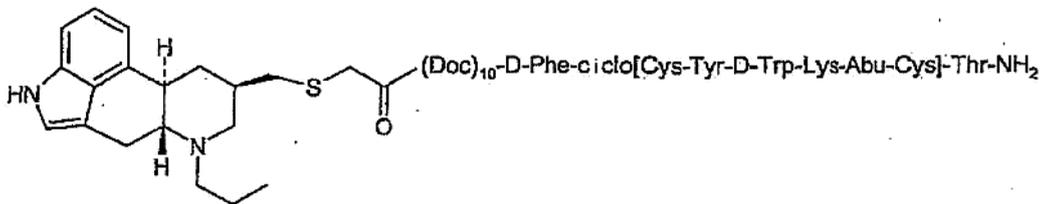
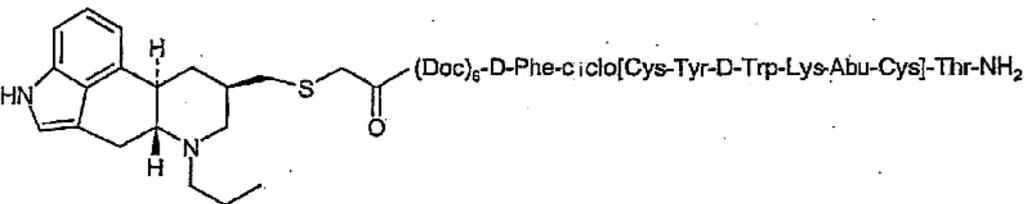
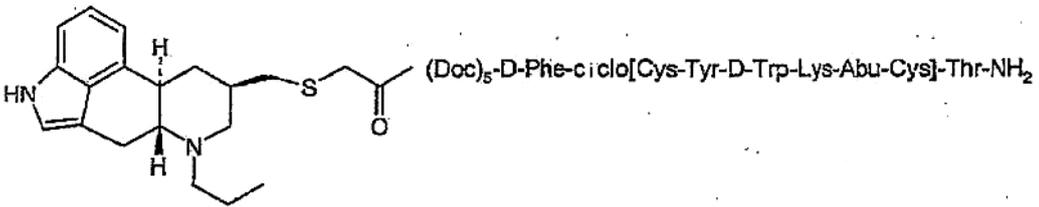
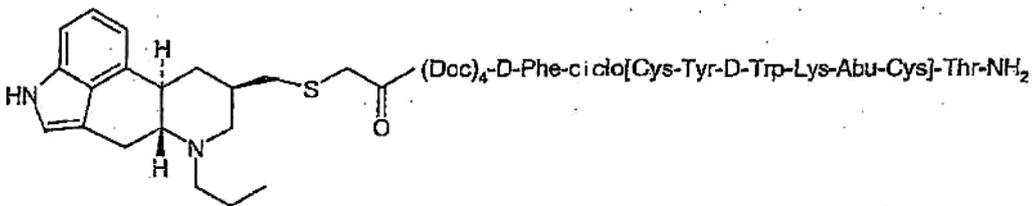
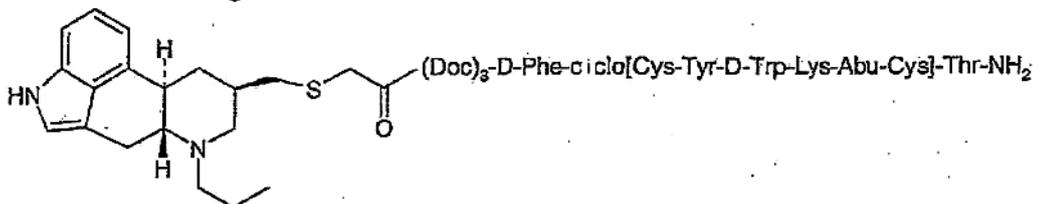
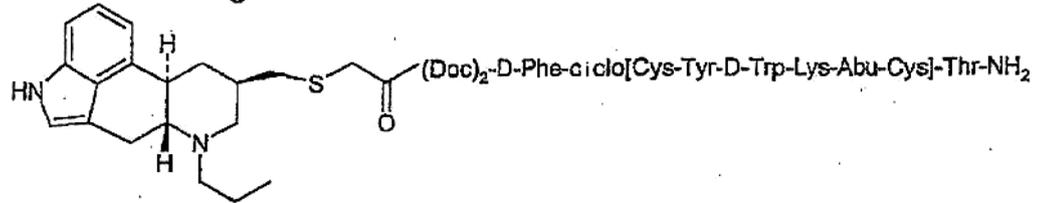
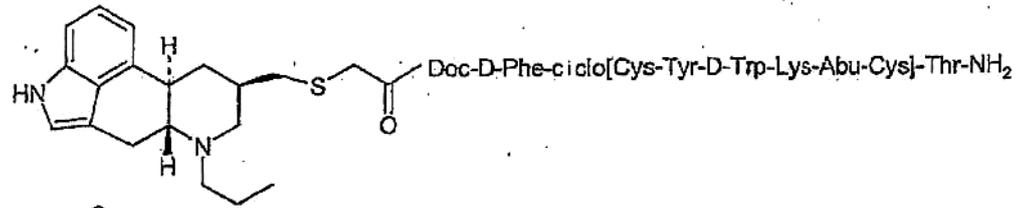


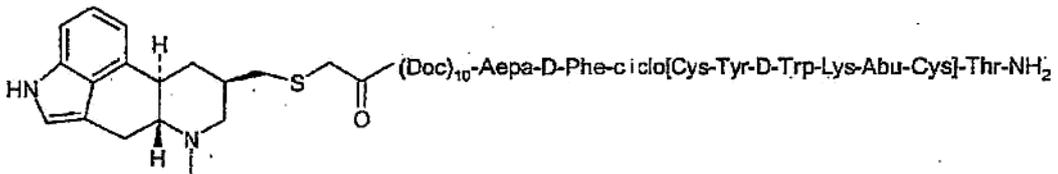
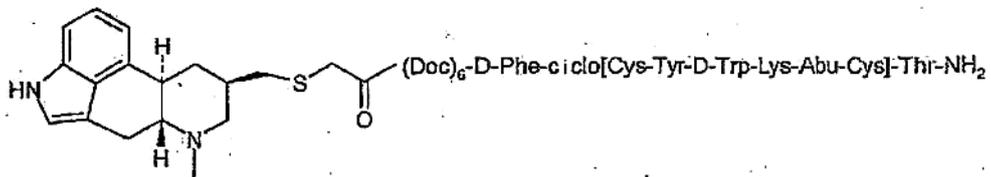
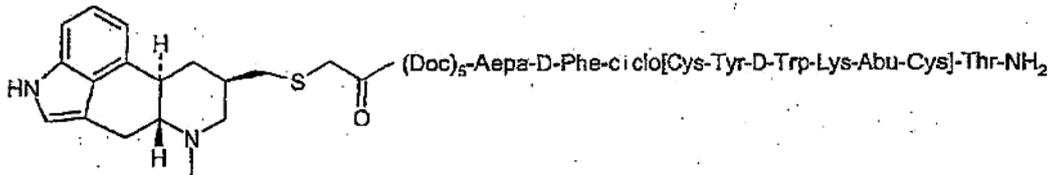
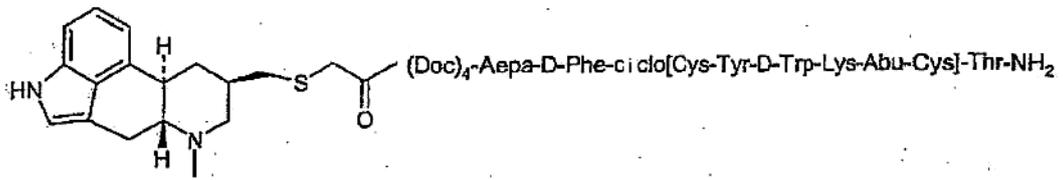


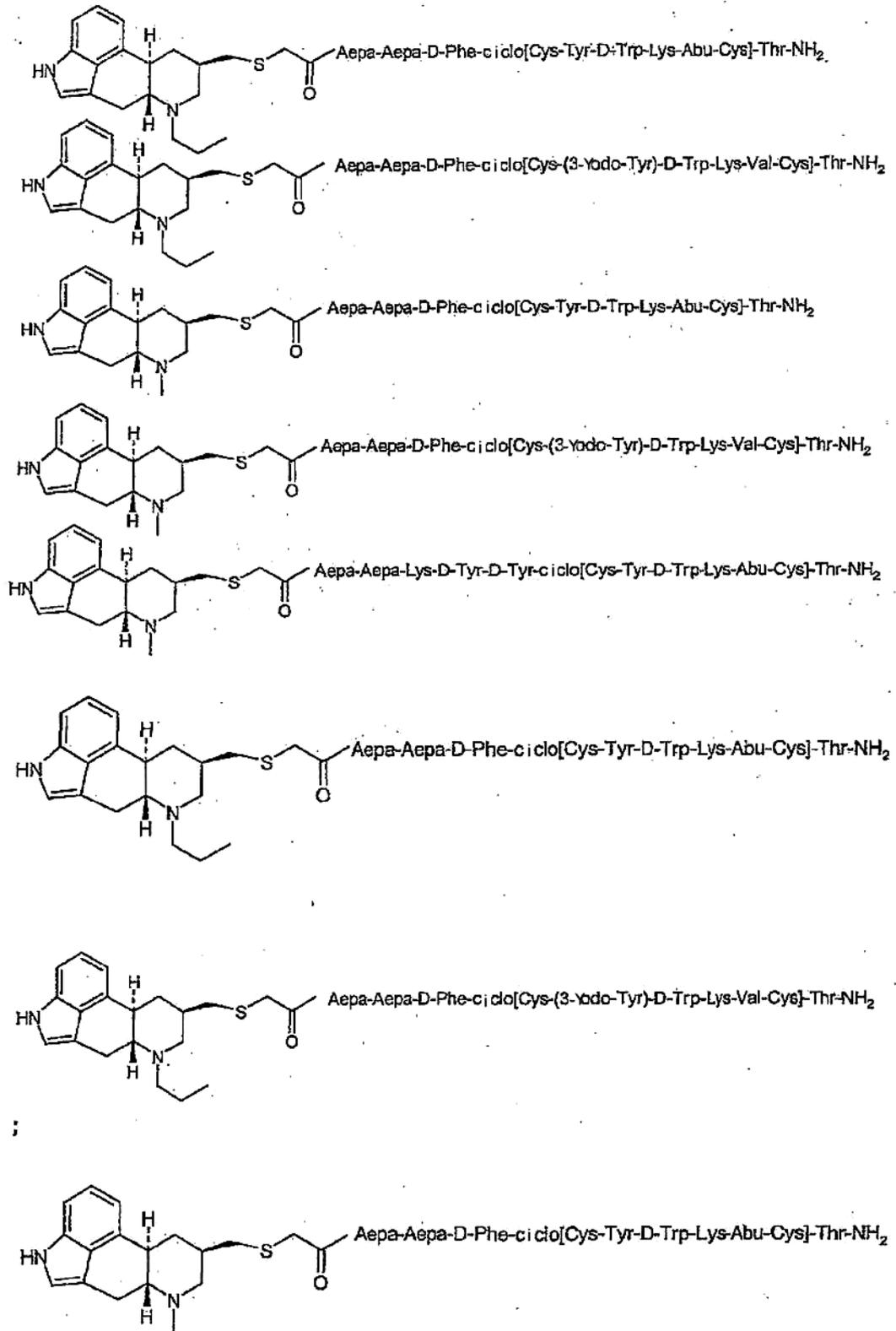


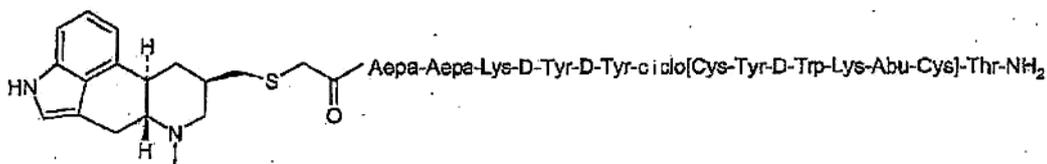
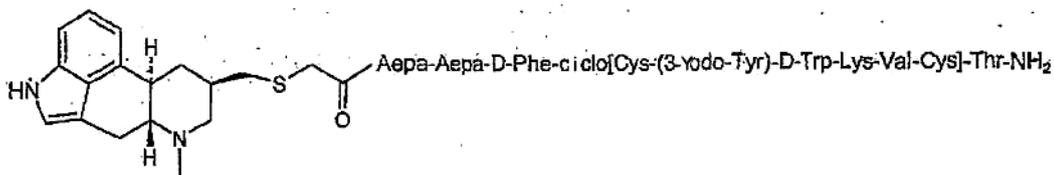












o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

5 También se describe en este texto un procedimiento para desencadenar un efecto agonista sobre el receptor de la dopamina en un sujeto que lo necesita, donde dicho procedimiento comprende la administración a dicho sujeto de una cantidad eficaz de una quimera de dopamina-somatostatina descrito en este texto, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable;

10 También se describe en este texto un procedimiento para desencadenar un efecto agonista sobre el receptor de la dopamina en un sujeto que lo necesita, donde dicho procedimiento comprende la administración a dicho sujeto de una cantidad eficaz de una quimera de dopamina-somatostatina descrito en este texto, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable;

También se describe un procedimiento para desencadenar simultáneamente ambos efecto agonista sobre el receptor de la dopamina y efecto agonista sobre el receptor de la somatostatina en un sujeto que lo necesita, donde dicho procedimiento comprende la administración a dicho sujeto de una cantidad eficaz de una quimera de dopamina-somatostatina descrito en este texto, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable;

15 Todavía más se describe una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de una quimera de dopamina-somatostatina descrito en este texto, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

20 También se describe un procedimiento para tratar una enfermedad o afección en un sujeto, comprendiendo dicho procedimiento la administración a dicho sujeto de una cantidad eficaz terapéuticamente de una quimera de dopamina-somatostatina descrito en este texto, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, donde dicha enfermedad se selecciona entre la lista que consiste en cáncer de pulmón, glioma, anorexia, hipotiroidismo, hiperaldosteronismo, proliferación de H. pylori, acromegalia, restenosis, enfermedad de Crohn, esclerosis sistémica, pseudoquistes y ascitis pancreáticos externos e internos, VIPoma, nesidoblastosis, hiperinsulinismo, gastrinoma, síndrome de Zollinger-Ellison, diarrea, diarrea asociada a SIDA, diarrea asociada con la quimioterapia, escleroderma, síndrome del colon irritable, pancreatitis, pequeña obstrucción de colon, reflujo gastroesofágico, reflujo duodenogástrico, síndrome de Cushing, gonadotropinoma, hiperparatiroidismo, enfermedad de Graves, neuropatía diabética, enfermedad de Paget, enfermedad de ovario poliquístico, cáncer de tiroides, hepatoma, leucemia, meningioma, cáncer caquexia, hipotensión ortostática hipotensión postprandial, ataques de pánico, adenomas secretores de GH, Acromegalia, adenomas secretores de TSH, adenomas secretores de prolactina, insulinoma, glucagonoma, diabetes mellitus, hiperlipidemia, resistencia a la insulina, síndrome X, angiopatía, retinopatía proliferativa, fenómeno del alba, nefropatía, secreción de ácido gástrico, úlceras pépticas, fístula enterocutánea, fístula pancreático-cutánea, síndrome de Dumping, síndrome de diarrea acuosa, pancreatitis, tumor secretor de hormona gastrointestinal, angiogénesis, artritis, rechazo de aloinjerto, sangrado de vasos injertados, hipertensión portal, sangrado gastrointestinal, obesidad, y sobredosis de opio. En una realización preferida de este aspecto el compuesto se selecciona entre los compuestos descritos específicamente en este texto. En una realización más preferida de este aspecto de la invención dicha enfermedad o afección es acromegalia.

40 En cada uno de los siguientes métodos el compuesto químico puede seleccionarse de entre la lista de compuestos que consiste en el compuesto A o compuesto F hasta compuesto J, o de entre la lista de compuestos que consiste en el Ejemplo L hasta Ejemplo V, tal como se describe a continuación bajo el título "Síntesis de quimeras de Somatostatina-Dopamina".

También se describe en este texto un agonista de dopamina según la fórmula química, anterior, donde el análogo de somatostatina "z" se reemplaza con un resto que comprende -H, - OH, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilalcoxi, (p.ej., bencilo, bencilo sustituido, y similares), -NH<sub>2</sub>, - NR<sub>9</sub>R<sub>10</sub>, donde R<sub>9</sub> y R<sub>10</sub> son cada uno independientemente H o alquilo C<sub>1-5</sub>.

Dicho agonista de dopamina puede seleccionarse entre los componentes con resto de dopamina de las quimeras de dopamina-somatostatina descritos en este texto, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

### Descripción detallada de la invención

5 Se cree que un experto en la técnica puede, en base a la descripción de este texto, utilizar la actual invención en su extensión más amplia. Las siguientes realizaciones específicas se van a construir por tanto, como meramente ilustrativas y no limitantes del resto de la descripción en cualquier otro modo.

A menos que se defina otra cosa, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria tienen el mismo significado que entiende habitualmente el experto en la técnica a la que pertenece la invención.

10 Se han aislado diferentes receptores de la somatostatina (SSTR, por sus siglas en inglés) p. ej., SSTR-1, SSTR-2, SSTR-3, SSTR-4 y SSTR-5. De este modo, un agonista puede ser uno o más de los agonistas de SSTR-1, agonista de SSTR-2, agonista de SSTR-3, agonista de SSTR-4 o un agonista de SSTR-5. Lo que significa, p.ej., un agonista del receptor de somatostatina de tipo-2 (es decir., agonista de SSTR-2) es un compuesto que tiene una gran afinidad de unión (p.ej.,  $K_i$  de menos de 100 nM, o preferiblemente menos de 10 nm, o más preferiblemente menos de 1 nM) para SSTR-2 (p.ej., tal como se define mediante el ensayo de unión al receptor descrito a continuación). Lo que significa, p.ej., un agonista del receptor selectivo de somatostatina de tipo-2 es un agonista del receptor de somatostatina de tipo-2 que tiene una gran afinidad de unión (es decir., menor  $K_i$ ) para SSTR-2 que cualquier otro receptor de somatostatina.

15 Un agonista de SSTR-2 puede ser también un agonista selectivo de SSTR-2. Los ejemplos de agonistas de SSTR-2 incluyen, sin ser limitantes:

20 D-Nal-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Thr-NH<sub>2</sub>;  
 ciclo[Tic-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Phe];  
 4-((2-Hidroxietyl)-1-piperazinilacetil-D-Phe-ciclo(Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys)-Thr-NH<sub>2</sub>;  
 4-((2-Hidroxietyl)-1-piperazin-2-etanosulfonil-D-Phe-ciclo(Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys)-Thr-NH<sub>2</sub>.

25 Otros ejemplos de agonistas de la somatostatina son los abarcados por las fórmulas o aquellos específicamente citados en las publicaciones presentadas a continuación.

Solicitud de patente europea n.º EP P5 164 EU (Inventor: G. Keri);

Van Binst, G. et al. *Peptide Research* 5:8 (1992);

Horvath, A. et al. Resumen, «Conformations of somatostatina Analogs Having Antitumor Activity», *22nd European peptide Symposium*, 13-19 de septiembre de 1992, Interlaken, Suiza;

30 Solicitud de patente internacional PCT n.º WO 91/09056 (1991);

Solicitud de patente europea n.º EP 0 363 589 A2 (1990);

Patente de los EE.UU. n.º 4.904.642 (1990);

Patente de los EE.UU. n.º 4.871.717 (1989);

Patente de los EE.UU. n.º 4.853.371 (1989);

35 Patente de los EE.UU. n.º 4.725.577 (1988);

Patente de los EE.UU. n.º 4.684.620 (1987);

Patente de los EE.UU. n.º 4.650.787 (1987);

Patente de los EE.UU. n.º 4.603.120 (1986);

Patente de los EE.UU. n.º 4.585.755 (1986);

40 Solicitud de patente europea n.º EP 0 203 031 A2 (1986);

Patente de los EE.UU. n.º 4.522.813 (1985);

Patente de los EE.UU. n.º 4.486.415 (1984);

Patente de los EE.UU. n.º 4,485,901 (1984);

- Patente de los EE.UU. n.º 4.435.385 (1984);  
 Patente de los EE.UU. n.º 4.395.403 (1983);  
 Patente de los EE.UU. n.º 4.369.179 (1983);  
 Patente de los EE.UU. n.º 4.360.516 (1982);  
 5 Patente de los EE.UU. n.º 4.358.439 (1982);  
 Patente de los EE.UU. n.º 4.328.214 (1982);  
 Patente de los EE.UU. n.º 4.316.890 (1982);  
 Patente de los EE.UU. n.º 4.310.518 (1982);  
 Patente de los EE.UU. n.º 4,231,022 (1981);  
 10 Patente de los EE.UU. n.º 4.238.481 (1980);  
 Patente de los EE.UU. n.º 4.235.886 (1980);  
 Patente de los EE.UU. n.º 4.224.199 (1980);  
 Patente de los EE.UU. n.º 4.211.693 (1980);  
 Patente de los EE.UU. n.º 4.190.648 (1980);  
 15 Patente de los EE.UU. n.º 4.146.612 (1979);  
 Patente de los EE.UU. n.º 4.133.782 (1979);  
 Patente de los EE.UU. n.º 5.506.339 (1996);  
 Patente de los EE.UU. n.º 4.261.885 (1981);  
 Patente de los EE.UU. n.º 4.728.638 (1988);  
 20 Patente de los EE.UU. n.º 4.282.143 (1981);  
 Patente de los EE.UU. n.º 4.215.039 (1980);  
 Patente de los EE.UU. n.º 4.209.426 (1980);  
 Patente de los EE.UU. n.º 4.190.575 (1980);  
 Patente europea n.º EP 0 389 180 (1990);  
 25 Solicitud de patente europea N.º 0 505 680 (1982);  
 Solicitud de patente europea N.º 0 083 305 (1982);  
 Solicitud de patente europea N.º 0 030 920 (1980);  
 Solicitud de patente internacional PCT n.º WO 88/05052 (1988);  
 Solicitud de patente internacional PCT n.º WO 90/12811 (1990);  
 30 Solicitud de patente internacional PCT n.º WO 97/01579 (1997);  
 Solicitud de patente internacional PCT n.º WO 91/18016 (1991);  
 Solicitud de patente de Reino Unido n.º GB 2.095.261 (1981); y  
 Solicitud de patente de francesa n.º FR 2.522.655 (1983).

35 Nótese que para todos los agonistas de somatostatina descritos en este texto, cada residuo de aminoácido representa la estructura  $\text{-NH-C(R)H-CO-}$ , donde R es la cadena lateral (p.ej.,  $\text{CH}_3$  para Ala). Las líneas entre residuos de aminoácido representan enlaces peptídicos que unen los aminoácidos. Además, cuando los aminoácidos son ópticamente activos, la configuración en la forma L es la que se pretende a menos que la forma D se nombre expresamente. Por motivos de claridad, no se muestran los enlaces disulfuro (p. ej., puente disulfuro) que

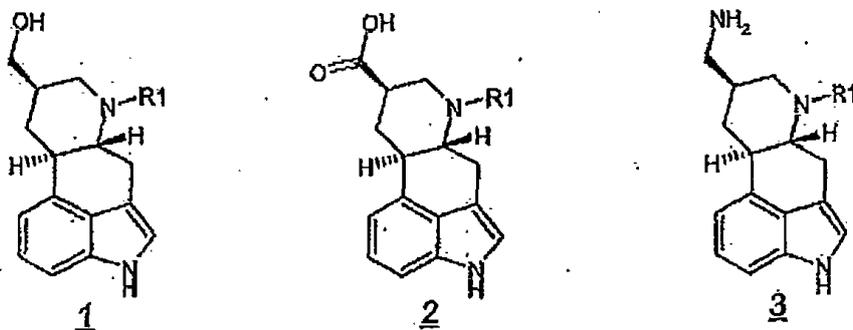
existen entre dos tioles libres de restos de Cys. Las abreviaturas de los aminoácidos habituales siguen las recomendaciones de la IUPAC-IUB.

#### Síntesis de los agonistas de la somatostatina

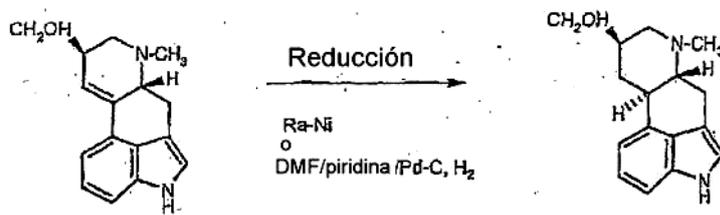
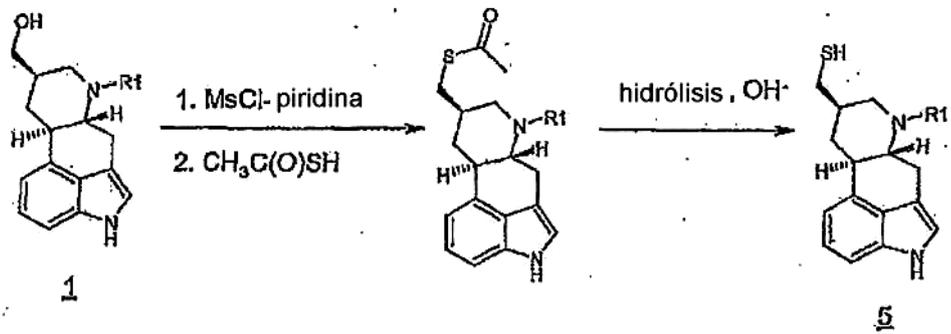
- 5 Los procedimientos para sintetizar los agonistas peptídicos de la somatostatina están bien documentados y se encuentran dentro de la capacidad de una persona experta en la técnica. Por ejemplo, los péptidos se sintetizan sobre una resina MBHA amida de Rink (4-(2',4'-dimetoxifenil-Fmoc-aminometil)-fenoxiacetamido-norleucil-resina MBHA) usando un protocolo de fase sólida estándar de la química Fmoc. A continuación, el péptido unido a la resina con el amino funcional libre en el extremo amino se trata con el correspondiente compuesto que contiene el resto de dopamina. El producto final se escinde de la resina con una mezcla de TFA/agua/triisopropilsilano (TIS).
- 10 Por ejemplo, la síntesis de H-D-Phe-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH<sub>2</sub> puede conseguirse siguiendo el protocolo presentado en el Ejemplo 1 de la solicitud de patente europea n.º 0 395 417 A1. La síntesis de los agonistas de la somatostatina con un extremo amino sustituido se puede conseguir, por ejemplo, siguiendo el protocolo presentado en la publicación de patente internacional PCT n.º WO 88/02756, publicación de patente internacional PCT n.º WO 94/04752 y/o la solicitud de patente europea n.º 0 329 295.
- 15 Los péptidos se pueden ciclar y se ciclaron con el uso de una solución de yodo en MeOH/agua y se purificaron por HPLC preparativa de fase reversa C18, utilizando tampones de acetonitrilo-TFA al 0,1%/agua-TFA al 0,1%. La homogeneidad se evaluó por HPLC analítica y espectrometría de masas, y se determinó que era >95% para cada péptido.
- 20 Algunos aminoácidos poco frecuentes se adquirieron a los siguientes vendedores : Fmoc-Doc-OH y Fmoc-AEPA se adquirieron a Chem-Impex International, Inc. (Wood Dale, IL, EE.UU.). Fmoc-Caeg (Bhoc)-OH se adquirió a PerSeptive Biosystems (Framingham, MA, EE.UU.). Bhoc significa benzhidriloxicarbonilo.

#### Síntesis de los agonistas de la dopamina

- 25 Los procedimientos para sintetizar muchos agonistas de la dopamina están bien documentados y se encuentran dentro de la capacidad de una persona experta en la técnica. Otros procedimientos sintéticos se dan a conocer en los esquemas de reacción y ejemplos que vienen a continuación.



Esquema 2

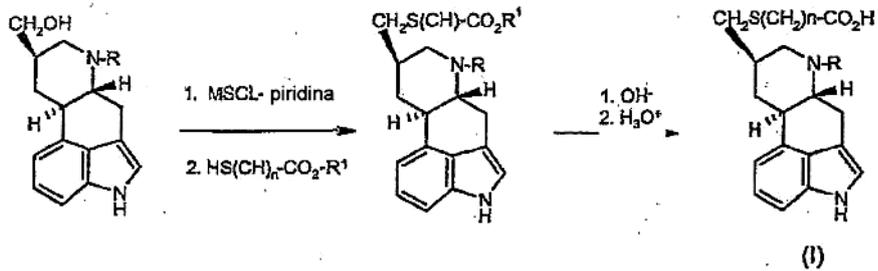
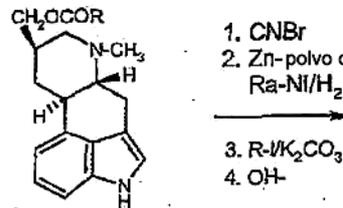


Lisergol

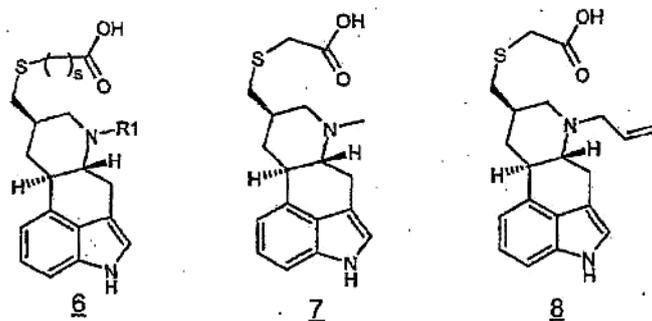
R COCl, piridina/DMAP (CAT)

Dihidrolisergol

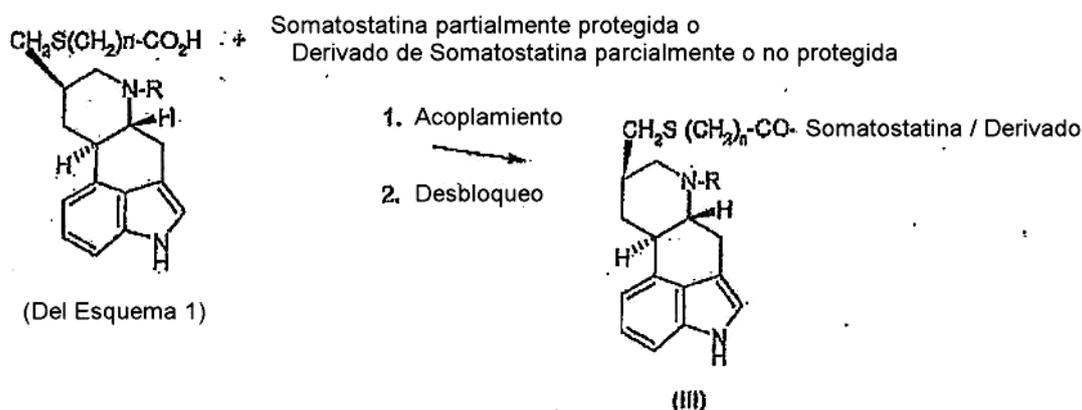
Reducción



Similitudes para 6, 7 y 8:



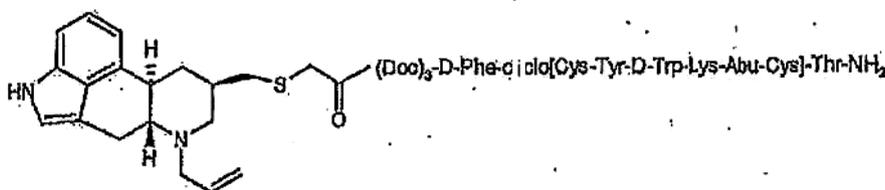
Esquema 1



Síntesis de las quimeras de somatostatina-dopamina

Las quimeras de somatostatina-dopamina se pueden sintetizar de acuerdo con los esquemas de reacción y ejemplos que vienen a continuación. El material de partida y los intermedios para el compuesto (I), representado en el esquema I, están comercialmente disponibles o pueden prepararse siguiendo la bibliografía; Pharmazie 39, 537 (1984); collect Czech, Chem. Commun. 33, 577 (1966); Helv. Chim. Acta 32, 1947, (1949) U.S.P. 6,097,031; USP 3,901,894; EP 0003667; USP 4,526,892. La síntesis de péptidos están dentro del alcance de un experto en la técnica, y en cualquier caso, está fácilmente accesible en la bibliografía. Véase, p.ej., Steward et al., Solid Phase Synthesis, Pierce Chemical, 2nd Ed. 1984; G.A., Grant; Synthetic peptide. WH., Freenand Co., New York, 1992; M. Bodenszky A. Bodanszky, The Practice of Peptide Synthesis. Spring Venlag. N.Y. 1984.

Preparación del compuesto A:



El compuesto 8 (3 eq.) se mezcló con H-(Doc)<sub>3</sub>-D-Phe-Cys(Acm)-Tyr(tBu)-D-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Abu-Cys(Acm)-Thr(tBu)-resina MBHA amida de Rink (1 eq.), HBTU (2,9 eq), HOBT (3,0 eq.) y DIEA (6 eq) en DMF. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La resina se lavó con DMF y DCM, y se secó a baja presión hasta sequedad. La resina seca se trató con TFA/TIS/agua (92/5/3, v/v) durante 1 hora a temperatura ambiente. La solución se filtró y se concentró. Sobre la solución concentrada se añadió éter frío. El precipitado se recogió y se disolvió en un sistema de disolventes agua-metanol. Sobre la solución se añadió una solución de yodo en metanol hasta que apareció el color marrón. Luego la solución se mantuvo a temperatura ambiente durante 1 hora. Sobre la solución se añadió una solución acuosa de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> hasta que desapareció el color marrón. La solución resultante se purificó utilizando una cromatografía de HPLC preparativa en fase reversa C18, eluyendo con un gradiente lineal

de tampón A (1% de TFA en agua)/tampón B (1% de TFA en CH<sub>3</sub>CN). Las fracciones se verificaron mediante HPLC analítica. Las fracciones que contenían el compuesto deseado se juntaron y se liofilizaron hasta sequedad. El peso molecular del compuesto se midió usando MS unida a una fuente electrospray.

Preparación del compuesto F:

5 Etil-[6-metil-8β-ergolinilmetil]tioacetato

Sobre una solución de dihidrolisergol (240 mg) en 10 ml de piridina se añadieron 250 µl de cloruro de meanosulfonilo. Después de agitación a temperatura ambiente durante 2 horas, la mezcla de reacción se vertió sobre 100 ml de agua, se extrajo con cloroformo (2x 20 ml). La fase orgánica se lavó con agua, luego se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y el disolvente se eliminó hasta sequedad para dar 140 mg de un sólido marrón pálido. Otra extracción de la solución acuosa después de basificación con NaHCO<sub>3</sub> dió otros 100 mg de producto. Total 240 mg. Mass Spec (Electrospray) 335,2.

15 Sobre una solución del anterior D-6-metil-8β-mesiloximetil-ergolina (140 ng) en 3 ml de dimetilformida se añadió K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en polvo (150 mg) seguido de 150 µl de etil-2-mercaptoacetato y la mezcla se calentó a 40°C durante 2 horas bajo atmósfera de nitrógeno. El disolvente se eliminó a vacío hasta sequedad, y el residuo se repartió entre cloroformo y agua. Luego la fase orgánica se secó (MgSO<sub>4</sub>), y después de evaporación del disolvente el residuo se sometió a una cromatografía de capa fina sobre gel de sílice preparativa usando cloroformo/metanol (9:1) como disolventes. La parte apropiada se aisló, se extrajo con cloroformo-metanol y los disolventes se eliminaron a vacío hasta sequedad. Sólido marrón pálido. 100 mg Espectroscopia de Masas (Electrospray) 359,2.

Preparación del compuesto G:

20 6-Metil-8β-ergolinilmetiltioacetil-D-Phe-c(Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys)-Thr-NH<sub>2</sub> Sobre una solución de ácido 6-Metil-8β-ergolinilmetiltioacetil (Esquema I, compuesto 7) (50 mg) y D-Phe-c(Cys-Tyr(OBT)-D-Trp-Lys(BOC)-Abu-Cys)-Thr-NH<sub>2</sub> (100 mg) preparado por síntesis en fase sólida usando química Fmoc en 10 ml de dimetilformida se añadieron 200 mg de EDC (1-[3-(dimetilamino)-propil]-3-etilcarbodiimida-HCL), 100mg of HOAT (1-Hidroxí-7-azabenzotriazol) seguido de 200 µl de diisopropiletilamina y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Las sustancias volátiles se eliminaron a vacío hasta sequedad. El residuo se repartió entre cloroformo metanol y sal muera. La fase orgánica se lavó con NaHCO<sub>3</sub> acuoso, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>. Después de la evaporación del disolvente, el residuo se sometió a una cromatografía de capa fina sobre gel de sílice preparativa usando cloroformo-metanol (85:15) como disolventes. La parte apropiada se aisló, se extrajo con cloroformo-metanol and y los disolventes se eliminaron a vacío para dar 40 mg del producto protegido Espectroscopia de Masas (Electrospray) 1500,7.

El producto protegido se trató luego con ácido trifluoroacético al 30% en diclorometano (10 ml) que contenía algunas gotas de triisopropilsilano durante 30 minutos. Las sustancias volátiles se eliminaron a vacío hasta sequedad. El residuo se purificó usando HPLC en vydac C18 y CH<sub>3</sub>CN/TFA acuoso al 0,1%, dando como resultado 17 mg de sólido blanco. Espectroscopia de Masas (Electrospray). 1344.8, 673,2.

35 Preparación del compuesto H:

Etil-(6-n-propil-8β-ergolinil)metiltioacetato

Este compuesto se preparó de manera análoga al compuesto F, partiendo de D-n-propil-8β-hidroximetilergolina que se puede hacer según el documento EP 000.667. Sólido amarillo pálido. Espectroscopia de Masas (Electrospray) 387,2.

40 Preparación del compuesto I:

6-n-Propil-8β-ergolinilmetiltioacetil-D-Phe-c(Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys)-Thr-NH<sub>2</sub>

Este compuesto se preparó de manera análoga al compuesto G, partiendo de ácido 6-n-propil-8β-ergolinil)metiltioacético (Esquema I, compuesto 6, donde R1=propil y s=1) y D-Phe-c(Cys-Tyr(OBT)-D-Trp-Lys(BOC)-Abu-Cys)-Thr-NH<sub>2</sub>. Sólido blanco. Espectroscopia de Masas (Electrospray) 1372,6, 687,3.

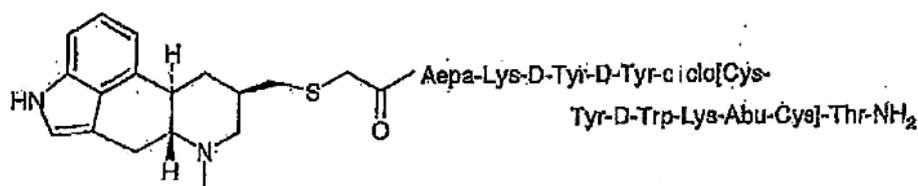
45 Preparación de compuestos J:

6-D-Metil-8β-ergolinilmetilaminosuccinil-D-Phe-c(Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys)-Thr-NH<sub>2</sub>

Este compuesto se preparó de manera análoga al compuesto G partiendo de 6-D-Metil-8β-succinoilaminometilergolina y D-Phe-c(Cys-Tyr(OBT)-D-Trp-Lys(BOC)-Abu-Cys)-Thr-NH<sub>2</sub>, sólido blanco. Espectroscopia de Masas (Electrospray) 1344,8, 673,2.

50

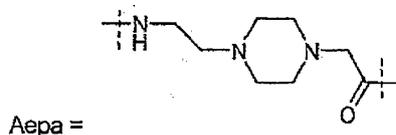
## Ejemplo L



A. H-Aepa-Lys(Boc)-DTyr(tBu)-DTyr(tBu)-Cys(Trt)-Tyr(tBu)-DTrp(Boc)-Lys(Boc)-Abu-Cys(Trt)-Thr(tBu)-resina MBHA amida de Rink

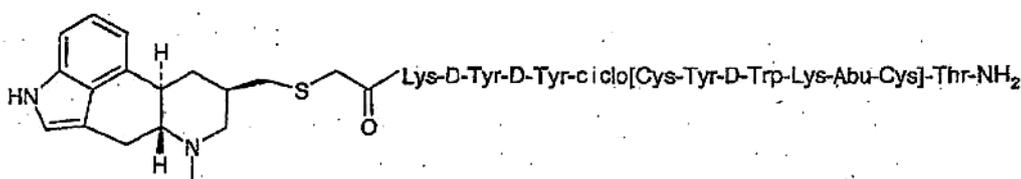
- 5 La resina peptídica protegida se sintetizó automáticamente sobre un sintetizador de péptidos modelo 433A de Applied Biosystems (Foster City, CA) usando química de Fluorenilmetiloxycarbonilo (Fmoc). Se usó una resina MBHA amida de Rink (Novabiochem., San Diego, CA) con sustitución 0,72 mmol/g. Los aminoácidos Fmoc (AnaSpec, San Jose, CA) se usaron con la protección de la cadena lateral siguiente: Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-DTrp(Boc)-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, Fmoc-DTyr(tBu)-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH y Fmoc-Abu-OH. Se adquirió Fmoc-Aepa-OH de Chem-Impex International, Inc. Wood Dale, IL). La síntesis se llevó a cabo a una escala de 0,25 mmol. Los grupos Fmoc se eliminaron por tratamiento con piperidina al 20% en N-metilpirrolidona (NMP) durante 30 min. En cada etapa de acoplamiento, primero se pre-activó el aminoácido Fmoc (4 eq, 1 mmol) en 2mL de una solución de 2-(1-H-benzotriazol-1-il)-1,1,2,3-tetrametilurono hexafluorofosfato/1-hidroxi-benzotriazol (HBTU/HOBT) 0,46 M en N,N-dimetilformamida (DMF). Este éster del aminoácido activado, 1mL de diisopropiltilamina (DIEA) y 1mL de NMP se añadieron a la resina. El sintetizador de péptidos ABI 433A se programó para llevar a cabo el ciclo de reacciones siguientes: (1) lavado con NMP, (2) eliminación del grupo protector Fmoc con piperidina al 20% en NMP durante 30 min, (3) lavado con NMP, (4) acoplamiento con el aminoácido preactivado durante 1h. La resina se acopló sucesivamente de acuerdo con la secuencia. Después se acopló la cadena lateral, el Fmoc se eliminó y se lavó completamente usando DMF y diclorometano (DCM).

MBHA= 4-metilbenzilhidrilamina



- B. La H-Aepa-Lys(Boc)-DTyr(tBu)-DTyr(tBu)-Cys(Trt)-Tyr(tBu)-DTrp(Boc)-Lys(Boc)-Abu-Cys(Trt)-Thr(tBu)-resina MBHA amida de Rink (0,188 mmol) se mezcló con el compuesto 7 (92 mg, 0,28 mmol, 1,5 eq.), [7-azabenzotriazol-1-iloxitris(pirrolidino)fosfonio-hexafluorofosfato] (PyAOP) (146 mg, 0,28 mmol, 1,5 eq.) e 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAT) (38 mg, 0,28 mmol, 1,5 eq.) en 5 mL de DCM. La mezcla se agitó durante toda la noche. La resina se drenó y se lavó sucesivamente con DMF, metanol y DCM. Después de secado con aire, la resina se trató con una mezcla de TFA, H<sub>2</sub>O y triisopropilsilano (TIS) (9,5 ml / 0,85ml/0,8 ml) durante 2h. La resina se filtró y el filtrado se vertió sobre 50 mL de éter frío. El precipitado se recogió después de centrifugado. El producto bruto se disolvió en 100ml de una solución acuosa de AcOH al 5%, a la que se añadió una solución de yodo en metanol gota a gota hasta que se mantuvo el color amarillo. La solución de la reacción se agitó durante 1h adicional. La solución acuosa de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> al 10% en agua se añadió para neutralizar el exceso de yodo. El producto bruto en la solución se purificó sobre un sistema de HPLC preparativo con una columna (4x43cm) de C18 DYNAMAX-100 A<sup>0</sup> (Varian, Walnut Creek, CA). La columna se eluyó con un gradiente lineal de 80% de A y 20% de B al 55% de A y 45% de B en 50 min., donde A era TFA al 0,1% en agua y B era TFA al 0,1% en acetonitrilo. Las fracciones se verificaron mediante HPLC analítica. Las que contenían el producto puro se combinaron y se liofilizaron hasta secarlas. Rendimiento: 40 %. La pureza fue del 96,8% basándose en un análisis por HPLC analítica. MS (Electro Spray): 1820,8 (de acuerdo con el peso molecular calculado de 1821,3).

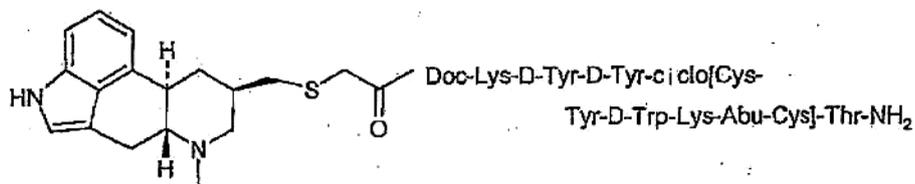
## Ejemplo M



40

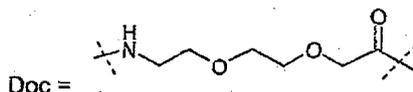
El ejemplo M se sintetizó principalmente según el procedimiento descrito en el Ejemplo L usando una H-Lys(Boc)-DTyr(tBu)-DTyr(tBu)-Cys(Trt)-Tyr(tBu)-DTrp(Boc)-Lys(Boc)-Abu-Cys(Trt)-Thr(tBu)-resina MBHA amida de Rink. La pureza del producto final era del 97,9% basándose en el análisis por HPLC analítica. MS (Electro Spray): 1652,1 (de acuerdo con el peso molecular calculado de 1652,03).

## 5 Ejemplo N

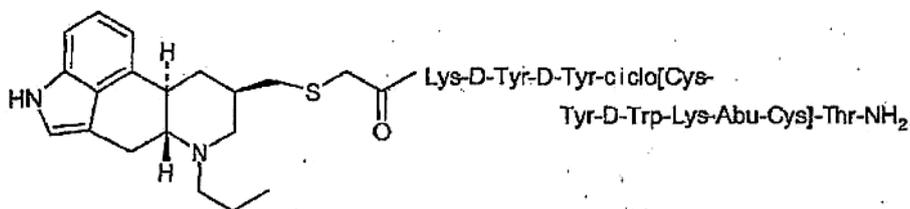


10 El ejemplo N se sintetizó principalmente según el procedimiento descrito en el Ejemplo L usando una H-Doc-Lys(Boc)-DTyr(tBu)-DTyr(tBu)-Cys(Trt)-Tyr(tBu)-DTrp(Boc)-Lys(Boc)-Abu-Cys(Trt)-Thr(tBu)-resina MBHA amida de Rink. La pureza del producto final era del 99,2% basándose en el análisis por HPLC analítica. MS (Electro Spray): 1797,1 (de acuerdo con el peso molecular calculado de 1797,19).

Se adquirió Fmoc-Doc-OH de Chem-Impex International, Inc. Wood Dale, IL).

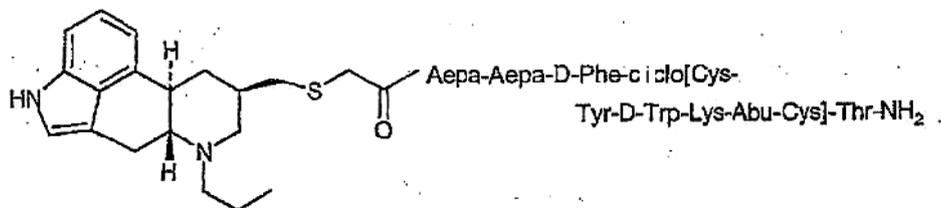


## Ejemplo O



15 El Ejemplo O se sintetizó principalmente según el procedimiento descrito en el Ejemplo L usando ácido (6-N-propil-8β-ergolinil)metiltioacético y H-Lys(Boc)-DTyr(tBu)-DTyr(tBu)-Cys(Trt)-Tyr(tBu)-DTrp(Boc)-Lys(Boc)-Abu-Cys(Trt)-Thr(tBu)-resina MBHA amida de Rink. La pureza del producto final era del 97,4% basándose en el análisis por HPLC analítica. MS (Electro Spray): 1680,6 (de acuerdo con el peso molecular calculado de 1680,1).

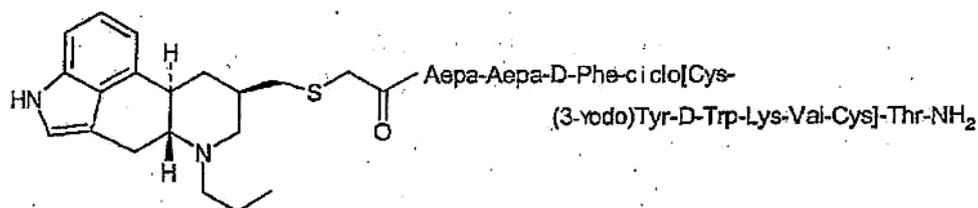
## Ejemplo P



20 El Ejemplo P se sintetizó principalmente según el procedimiento descrito en el Ejemplo L usando ácido (6-N-propil-8β-ergolinil)metiltioacético y H-Aepa-Aepa-D-Phe-Cys(Trt)-Tyr(tBu)-DTrp(Boc)-Lys(Boc)-Abu-Cys(Trt)-Thr(tBu)-resina MBHA amida de Rink. La pureza del producto final era del 99,9% basándose en el análisis por HPLC analítica. US (Electro Spray): 1710,7 (de acuerdo con el peso molecular calculado de 1711,2).

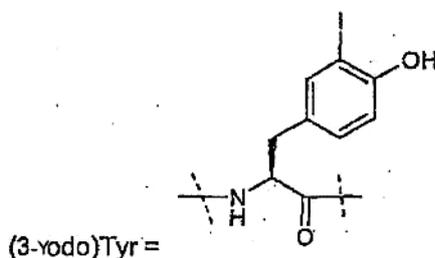
25

## Ejemplo Q

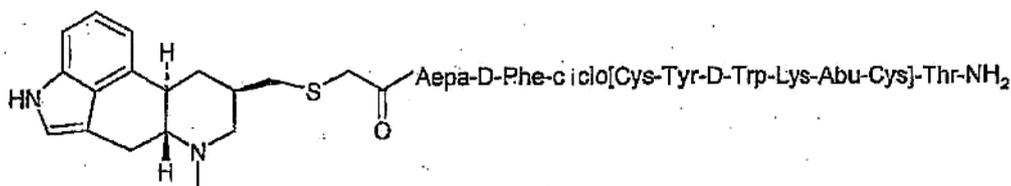


5 El ejemplo Q se sintetizó principalmente según el procedimiento descrito en el Ejemplo L usando ácido (6-N-propil-8β-ergolinil)metiltioacético y resina MBHA H-Aepa-Aepa-DPhe-Cys(Trt)-(3-Yodo)Tyr-DTrp(Boc)-Lys(Boc)-Val-Cys(Trt)-Thr(tBu)-enlace amida. La pureza del producto final era del 99% basándose en el análisis por HPLC analítica. MS (Electro Spray): 1851,1 (de acuerdo con el peso molecular calculado de 1851,1).

Fmoc-(3-Yodo)-Tyr-OH se adquirió en Advanced ChemTech (Louisville, KY).



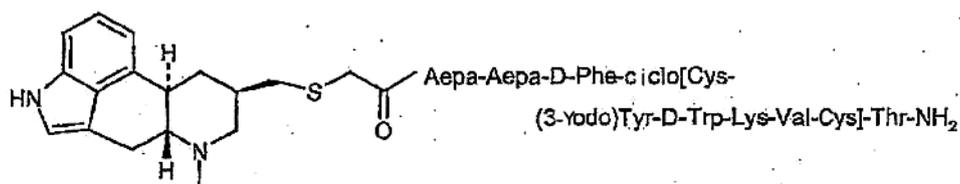
## Ejemplo R



10

El Ejemplo R se sintetizó principalmente según el procedimiento descrito en el Ejemplo L usando H-Aepa-DPhe-Cys(Trt)-Tyr(tBu)-DTrp(Boc)-Lys(Boc)-Abu-Cys(Trt)-Thr(tBu)-resina MBHA amida de Rink. La pureza del producto final era del 98,3% basándose en el análisis por HPLC analítica. MS (Electro Spray): 1513,8 (de acuerdo con el peso molecular calculado de 1513,9).

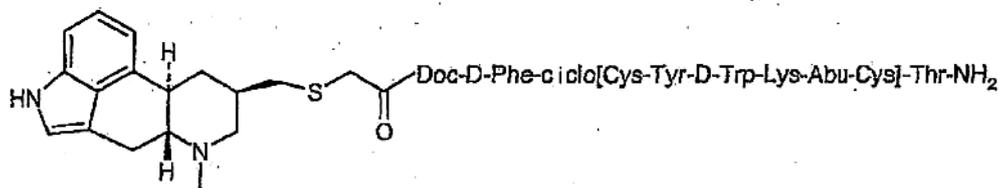
## 15 Ejemplo S



20

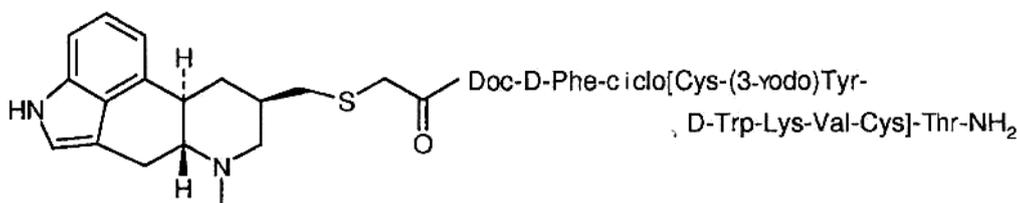
El Ejemplo S se sintetizó principalmente según el procedimiento descrito en el Ejemplo L usando H-Aepa-Aepa-DPhe-Cys(Trt)-(3-Yodo)Tyr-DTrp(Boc)-Lys(Boc)-Val-Cys(Trt)-Thr(tBu)-resina MBHA amida de Rink. La pureza del producto final era del 85,7% basándose en el análisis por HPLC analítica. MS (Electro Spray): 1822,9 (de acuerdo con el peso molecular calculado de 1823,06).

## Ejemplo T



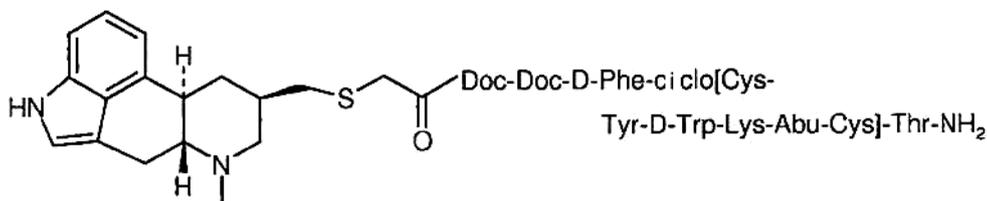
5 El Ejemplo T se sintetizó principalmente según el procedimiento descrito en el Ejemplo L usando H-Doc-DPhe-Cys(Trt)-Tyr(tBu)-DTrp(Boc)-Lys(Boc)-Abu-Cys(Trt)-Thr(tBu)-resina MBHA amida de Rink. La pureza del producto final era del 98,9% basándose en el análisis por HPLC analítica. MS (Electro Spray): 1489,6 (de acuerdo con el peso molecular calculado de 1489,84).

## Ejemplo U



10 El Ejemplo U se sintetizó principalmente según el procedimiento descrito en el Ejemplo L usando H-Doc-DPhe-Cys(Trt)-(3-Yodo)Tyr-DTrp(Boc)-Lys(Boc)-Val-Cys(Trt)-Thr(tBu)-resina MBHA amida de Rink . MS (Electro Spray): 1629,8 (de acuerdo con el peso molecular calculado de 1629,7).

## Ejemplo V



15 El compuesto señalado se sintetizó principalmente según el procedimiento descrito en el Ejemplo L usando H-Doc-Doc-DPhe-Cys(Trt)-Tyr(tBu)-DTrp(Boc)-Lys(Boc)-Abu-Cys(Trt)-Thr(tBu)-resina MBHA amida de Rink. La pureza del producto final era del 99% basándose en el análisis por HPLC analítica. MS (Electro Spray): 1635,0 (de acuerdo con el peso molecular calculado de 1633).

20 Algunos de los compuestos descritos en este texto pueden tener al menos un centro asimétrico. Pueden estar presentes centros asimétricos adicionales en la molécula dependiendo de la naturaleza de los diversos sustituyentes en la molécula. Cada uno de dichos centros asimétricos producirá dos isómeros ópticos y se pretende que todos los isómeros ópticos, tales como isómeros ópticos independientes, puros o parcialmente purificados, mezclas racémicas o sus mezclas diastereoméricas, estén incluidos dentro del alcance de la presente descripción.

25 Los compuestos actuales pueden aislarse generalmente en forma de sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables, tales como las sales derivadas del uso de ácidos inorgánicos y orgánicos. Ejemplos de tales ácidos son clorhídrico, nítrico, sulfúrico, fosfórico, fórmico, acético, trifluoroacético, propiónico, maleico, succínico, D-tartárico, L-tartárico, malónico, metanosulfónico y similares. Además, ciertos compuestos que contienen una función ácida tales como un carboxi pueden aislarse en forma de su sal inorgánica en la que el contraión puede seleccionarse entre sodio, potasio, litio, calcio, magnesio y similares, al igual que entre bases orgánicas.

30 Las sales farmacéuticamente aceptables pueden prepararse partiendo de 1 equivalente de un compuesto, y poniéndolo en contacto con aproximadamente 1 equivalente o más del correspondiente ácido apropiado de la sal que se desee. El tratamiento y el aislamiento de la sal resultante son bien conocidos por los expertos en la técnica.

Los compuestos quiméricos descritos en este texto pueden administrarse mediante rutas de administración oral, parenteral (por ejemplo, intramuscular, intraperitoneal, inyección intravenosa o subcutánea, o implante), nasal, vaginal, rectal, sublingual o tópica y pueden formularse con vehículos farmacéuticamente aceptables para proporcionar formas de dosificación apropiadas para cada ruta de administración. De acuerdo con esto, las composiciones farmacéuticas descritas en este texto comprenden, como ingrediente activo, al menos un compuesto quimérico asociado a un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Las formas de dosificación sólida para la administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas de dosificación sólida, el compuesto activo se mezcla con al menos un vehículo inerte farmacéuticamente aceptable tal como sacarosa, lactosa o almidón. Tales formas de dosificación pueden comprender además, como es práctica normal, sustancias adicionales distintas de tales diluyentes inertes, por ejemplo, agentes lubricantes tales como estearato de magnesio. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación pueden comprender además agentes de tamponamiento. Los comprimidos y píldoras pueden prepararse adicionalmente con recubrimientos entéricos.

Las formas farmacéuticas líquidas para la administración oral incluyen emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes farmacéuticamente aceptables, conteniendo los elixires diluyentes inertes usados con frecuencia en la técnica, tal como agua. Además de tales diluyentes inertes, las composiciones también pueden incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, y agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes.

Las preparaciones para la administración parenteral incluyen soluciones acuosas o no acuosas estériles, suspensiones y emulsiones. Ejemplos de solventes o vehículos no acuosos son propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales, tales como aceite de oliva y aceite de maíz, gelatina, y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. Tales formas de dosificación pueden contener además adyuvantes tales como agentes conservantes, humectantes, emulsionantes y dispersantes. Pueden esterilizarse mediante, por ejemplo, filtración a través de un filtro que retiene bacterias, incorporando agentes esterilizantes en las composiciones, irradiando las composiciones, o calentando las composiciones. También pueden fabricarse en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse en agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes del uso.

Las composiciones para la administración rectal o vaginal son preferiblemente supositorios que pueden contener, además de la sustancia activa, excipientes tales como manteca de cacao o una cera de supositorio.

Las composiciones para la administración nasal o sublingual se preparan también con excipientes estándares bien conocidos en la técnica.

En general, una dosis eficaz de ingrediente activo en las composiciones de esta invención puede ser variada; sin embargo, es necesario que la cantidad del ingrediente activo sea tal que se obtenga una forma farmacéutica adecuada. La dosis seleccionada depende del efecto terapéutico deseado, de la ruta de administración, y de la duración del tratamiento, todo lo cual está en el ámbito de conocimiento de un experto en la técnica. Generalmente, los niveles de dosificación de entre 0,0001 a 100 mg/kg de peso corporal al día pueden administrarse a seres humanos y a otros animales, por ejemplo, mamíferos.

Un intervalo de dosis puede ser de 0,01 a 10,0 mg/kg del peso corporal diario, que puede administrarse en una dosis única o dividida en dosis múltiples.

Ensayo de selectividad y especificidad del receptor de somatostatina

La especificidad y la selectividad de los análogos de la somatostatina utilizados para sintetizar las quimeras de somatostatina-dopamina se determinaron mediante un ensayo de unión de radioligando a las células CHO-K1 transfectadas de forma estable con cada uno de los subtipos de SSTR, como se indica a continuación.

Las secuencias de codificación completas de fragmentos genómicos de los genes de SSTR 1, 2, 3, y 4 genes y un clon de cADN para SSTR 5 se subclonaron en un vector de expresión de mamífero pCMV (Life Technologies, Milano, Italia). Las líneas celulares clonales que expresan de forma estable los SSTR 1 a 5 se obtuvieron mediante transfección de las células CHO-K1 (ATCC, Manassas, Va, EE.UU.) mediante el procedimiento de coprecipitación con fosfato de calcio (Davis L. et al., 1994 en: «Basic methods in Molecular Biology», 2.<sup>a</sup> edición, Appleton & Lange, Norwalk, CT, EE.UU.: 611-646). El plásmido pRSV-neo (ATCC) se incluyó como un marcador seleccionable. Se seleccionaron las líneas celulares clonales en el medio RPMI 1640 que contenía 0,5 mg/ml de G418 (Life Technologies, Milán, Italia), se clonaron en anillo y se expandieron en el cultivo.

Se obtuvieron membranas para los ensayos *in vitro* de unión al receptor por homogeneización de las células CHO-K1 que expresan los subtipos de SSTR en Tris-HCl 50 mM enfriado en hielo y por dos centrifugaciones a 39000 g (10 min), con una resuspensión intermedia en tampón nuevo. Los sedimentos finales se resuspendieron en Tris-HCl 10 mM para el ensayo. Para los ensayos de SSTR 1, 3, 4 y 5, las alícuotas de las preparaciones de la membrana se incubaron 90 min a 25 °C con [<sup>125</sup>I-Tyr11]SS-14 0,05 nM en HEPES 50 mM (pH 7,4) que contenía 10 mg/ml de seroalbúmina bovina SAB, MgCl<sub>2</sub> 5 mM, 200 kU/ml de Trasylol, 0,02 mg/ml de bacitracina y 0,02 mg/ml de fluoruro de fenilmetilsulfonilo. El volumen final del ensayo fue de 0,3 ml. Para el ensayo de SSTR 2 se empleó [<sup>125</sup>I]MK-678

0,05 nM a modo de radioligando y el tiempo de incubación fue de 80 min a 25 °C. Las incubaciones se terminaron mediante filtración rápida a través de filtros GF/C (empapados previamente en polietilimina al 0,3%) usando un colector de filtración BRANDEL. A continuación, cada tubo y cada filtro se lavaron tres veces con alícuotas de 8 ml del tampón enfriado en hielo. La unión específica se definió como el radioligando total unido menos el unido en presencia de SS-14 1000 nM en el caso de SSTR 1, 3, 4 y 5, o MK-678 1000 nM en el caso de SSTR2.

#### Ensayo de selectividad y especificidad del receptor de dopamina

La especificidad y la selectividad del receptor 2 de dopamina por los análogos de la dopamina utilizados para sintetizar las quimeras de somatostatina-dopamina pueden determinarse mediante un ensayo de unión de radioligando como se indica a continuación.

10 Se prepararon membranas brutas mediante la homogeneización del cuerpo estriado congelado de rata (Zivic Laboratories, Pittsburgh, PA) en 20 ml de Tris-HCl 50 mM enfriado en hielo con un aparato Polytron de Brinkman (ajuste 6, 15 s). Se añadió el tampón para obtener un volumen final de 40 ml y se centrifugó el homogeneizado en un rotor SS-34 de Sorval a 39000 g durante 10 min a 0-4 °C. El sobrenadante resultante se decantó y descartó. El sedimento se volvió a homogeneizar en tampón enfriado en hielo, se incubó previamente a 37 °C durante 10 min, se diluyó y se centrifugó como antes. El sedimento final se resuspendió en el tampón y se mantuvo en hielo para el ensayo de unión al receptor.

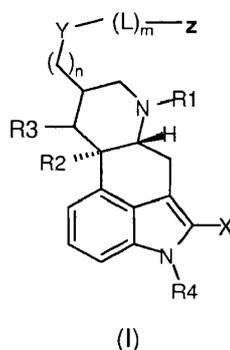
20 Para el ensayo, las alícuotas de las preparaciones de la membrana lavada y los compuestos para el ensayo se incubaron durante 15 min (37 C) con [<sup>3</sup>H]espiperona 0,25 nM (16,5 Ci/mmol, New England Nuclear, Boston, MA) en Tris HCl 60 mM, NaCl 120 mM, KCl 5 mM, CaCl<sub>2</sub> 2 mM, y MgCl<sub>2</sub> 1 mM. El volumen final del ensayo fue de 1,0 ml. Las incubaciones se terminaron mediante filtración rápida a través de filtros GF/B usando un colector de filtración Brandel. A continuación, cada tubo y cada filtro se lavaron tres veces con alícuotas de 5 ml del tampón enfriado en hielo. La unión específica se definió como el radioligando total unido menos el unido en presencia de (+) butaclamol 1000 nM.

#### Otras realizaciones

25 Se ha de entender que si bien la invención se ha descrito junto con su descripción detallada, la descripción anteriormente expuesta tiene como fin ilustrar y no limitar el alcance de la invención, que se define con el alcance de las reivindicaciones anejas. Otros aspectos, ventajas y modificaciones están dentro de las reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



donde:

5 X es H, Cl, Br, I, F, -CN, , o alquilo C<sub>1-5</sub> ;

R1 es H, alquilo C<sub>1-4</sub> , alilo, alquenilo o -CN;

R2 y R3, cada uno, independientemente H o ausente, siempre que cuando R2 y R3 están ausentes, está presente un doble enlace entre los átomos de carbono al que están unidos;

R4 es H o -CH<sub>3</sub>;

10 Y es -S-;

m es 1;

n es 1;

L es -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)-;

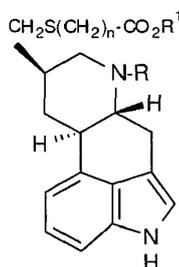
p es 1-10;

15 y

Z es -H, -OH, alcoxi C<sub>1-6</sub>, arilalcoxi, -NH<sub>2</sub>, o -NR<sub>9</sub>R<sub>10</sub>, donde R<sub>9</sub> y R<sub>10</sub> cada uno es, independientemente, H o alquilo C<sub>1-5</sub>;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, de fórmula



20

donde:

R es H, alquilo C<sub>1-4</sub>, alilo, alquenilo, o -CN;

R<sup>1</sup> es H, alquilo C<sub>1-6</sub>, o arilalquilo; y

n es un número entero entre 1 y 10 incluido;

25 o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

3. Un compuesto según una de las reivindicaciones 1 ó 2, donde dicho compuesto es:

ácido (6-N-propil-8β-ergolinil)metiltioacético;

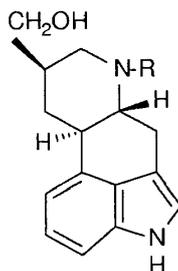
etil(6-N-propil-8β-ergolinil)metiltioacetato;

ácido (6-N-metil-8β-ergolinil)metiltioacético; o

5 ácido etil(6-N-metil-8β-ergolinil)metiltioacetato;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

4. Un procedimiento para la síntesis de un compuesto según la reivindicación 2, que comprende la etapa de tratamiento de un compuesto de fórmula

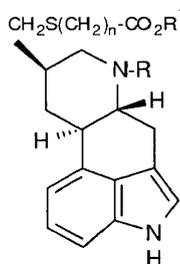


10 donde:

R es H, alquilo C<sub>1-4</sub>, alilo, alqueno, o -CN;

con cloruro de metanosulfonilo en piridina, y seguidamente con un compuesto de fórmula HS(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CO<sub>2</sub>-R<sup>1</sup>, donde R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, o arilalquilo y n es un número entero entre 1 y 10 incluido, con el fin de obtener un compuesto según la reivindicación 2 donde R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, o arilalquilo ;

15 y opcionalmente hidrolizar el compuesto resultante de fórmula



donde:

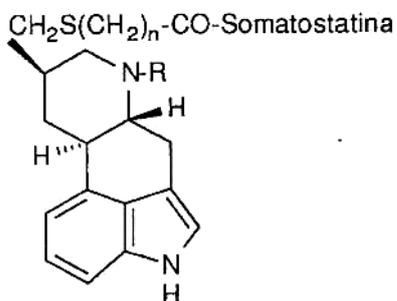
R es H, alquilo C<sub>1-4</sub>, alilo, alqueno, o -CN;

R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-5</sub>, o arilalquilo ; y

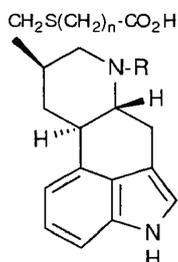
20 n es un número entero entre 1 y 10 incluido;

con el fin de obtener un compuesto según la reivindicación 2 donde R<sup>1</sup> es H.

5. Un procedimiento para la síntesis de un compuesto de fórmula

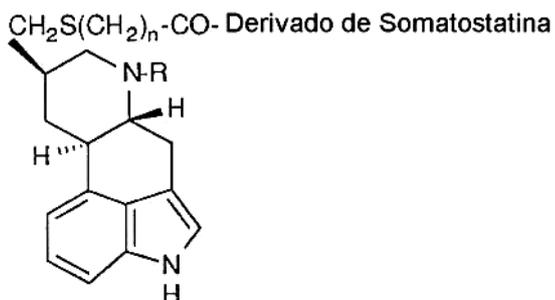


donde R es H, alquilo  $\text{C}_{1-4}$ , alilo, alqueniilo, o -CN; y n es un número entero entre 1 y 10 incluido, que comprende las etapas de acoplamiento a un compuesto de fórmula

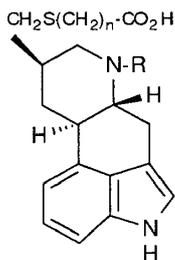


5 donde R es H, alquilo  $\text{C}_{1-4}$ , alilo, alqueniilo, o -CN; y n es un número entero entre 1 y 10 incluido, con la somatostatina parcialmente protegida, y desbloqueo del compuesto resultante.

6. Un procedimiento para la síntesis de un compuesto de fórmula



10 donde R es H, alquilo  $\text{C}_{1-4}$ , alilo, alqueniilo, o -CN; y n es un número entero entre 1 y 10 incluido, que comprende las etapas de acoplamiento a un compuesto de fórmula



15 donde R es H, alquilo  $\text{C}_{1-4}$ , alilo, alqueniilo, o -CN; y n es un número entero entre 1 y 10 incluido, con un derivado de somatostatina parcialmente protegido; y, cuando el derivado de somatostatina está parcialmente protegido, desbloqueo del compuesto resultante.