



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 288 724**

⑮ Int. Cl.:

C07D 401/12 (2006.01)

A61K 38/06 (2006.01)

C07K 5/02 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Número de solicitud europea: **05075086 .8**

⑯ Fecha de presentación : **13.06.2001**

⑯ Número de publicación de la solicitud: **1524272**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **20.04.2005**

⑭ Título: **Estimuladores de secreción de la hormona del crecimiento.**

⑩ Prioridad: **13.06.2000 US 211326**
26.09.2000 US 234928

⑮ Titular/es: **Zentaris GmbH**
Weismullerstrasse 50
60314 Frankfurt/Main, DE

⑮ Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.01.2008

⑯ Inventor/es: **Martinez, Jean;**
Guerlavais, Vincent y
Fehrentz, Jean-Alain

⑮ Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.01.2008

⑯ Agente: **Urízar Anasagasti, José Antonio**

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

Estimuladores de secreción de la hormona del crecimiento.

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a compuestos que son útiles para la administración a mamíferos, elevando con ello el nivel plasmático de la hormona del crecimiento.

10 **Antecedentes de la invención**

(A) *Descripción del estado anterior de la técnica*

15 La hormona de crecimiento (GH, del inglés Growth Hormone) o somatotropina, secretada por la glándula pituitaria, constituye una familia de hormonas cuya actividad biológica es fundamental para el crecimiento lineal de un organismo joven, pero también para el mantenimiento de su integridad en el estado adulto. La GH actúa directa o indirectamente sobre los órganos periféricos, estimulando la síntesis de los factores de crecimiento (factor de crecimiento I semejante a la insulina, ó IGF-I) o de sus receptores (el factor de crecimiento epidérmico, o EGF). La acción directa de la GH es del tipo referido como antiinsulínica, que favorece la lipólisis a nivel del tejido adiposo. A través de su acción 20 sobre la síntesis y secreción del IGF - I (somatomedina C), la GH estimula el crecimiento de los cartílagos y los huesos (crecimiento estructural), la síntesis de proteínas y la proliferación celular en múltiples órganos periféricos, incluyendo los músculos y la piel. A través de su actividad biológica, la GH participa en los adultos en el mantenimiento de un estado de anabolismo proteico, y juega un papel principal en el fenómeno de la regeneración de los tejidos después de un trauma.

25 La disminución de la secreción de la GH con la edad, demostrada en seres humanos y animales, favorece un cambio metabólico hacia el catabolismo, que inicia o participa en el envejecimiento de un organismo. La pérdida de la masa muscular, la acumulación de tejido adiposo, la desmineralización ósea, la pérdida de la capacidad de regeneración de los tejidos después de una lesión, que se observa en los ancianos, se correlaciona con la disminución de la secreción 30 de la GH.

Por lo tanto, la GH, es un agente anabólico fisiológico, absolutamente necesario para el crecimiento lineal en los niños y que controla el metabolismo de proteínas en los adultos.

35 La secreción de la hormona del crecimiento (GH) es regulada por dos péptidos hipotalámicos: el liberador hormonal de la GH (GHRH, por las siglas de la expresión inglesa, GH-releasing hormone), que ejerce el efecto estimulador para la liberación de la GH, y la somatostatina, que presenta una influencia inhibitoria. En los últimos años, varios 40 investigadores han demostrado que la secreción de la GH también puede ser estimulada por oligopeptídos sintéticos, denominados péptidos liberadores de la GH (GHRP, por las siglas de la expresión inglesa, GH-releasing peptides) como la hexarelin y varios análogos de la hexarelin (Ghigo *et al.*, European Journal of Endocrinology, 136, 445 - 460, 1997). Estos compuestos actúan a través de un mecanismo que es distinto al del GHRH (C.Y. Bowers, in "Xenobiotic Growth Hormone Secretagogues"; Eds. B.Bercu and R.F.Walker, Pag. 9-28, Springer-Verlag, New York 1996) y por la interacción con receptores específicos, localizados en el hipotálamo y la glándula pituitaria ((a) G. Muccioli *et al.*, Journal of Endocrinology, 157, 99-106; 1998; (b) G. Muccioli, "Tissue Distribution of GHRP Receptors in Humans", Abstracts IV European Congress of Endocrinology, Sevilla, Spain, 1998). Recientemente, se demostró que los receptores de los GHRP estaban presentes no sólo en el sistema del hipotálamo - glándula pituitaria, sino también en varios 45 tejidos humanos, en general no relacionados con la liberación de la GH (G. Muccioli *et al.*, ver arriba (a)).

50 Los GHRPs y sus antagonistas se describen, por ejemplo, en las siguientes publicaciones: C.Y. Bowers, supra, R. Deghenghi, "Growth Hormone Releasing Peptides", *ibidem*, 1996, pg. 85-102; R. Deghenghi *et al.*, "Small Peptides as Potent Releasers of Growth Hormone", J. Ped. End. Metab., 8, pg. 311-313, 1996; R. Deghenghi, The Development of Impervious Peptides as Growth Hormone Secretagogues", Acta Paediatr. Suppl.; 423, pg. 85-87, 1997; K. Veeraragavan *et al.*, "Growth, Hormone Releasing Peptides (GHRP) Binding to Porcine Anterior Pituitary and Hypothalamic Membranes", Life Sci., 50; Pg. 1149-1155, 1992; y T.C. Somers *et al.*, "Low Molecular Weight Peptidomimetic Growth Hormone Secretagogues; WO 96/15148 (May 23, 1996).

55 La GH humana ha sido producida por ingeniería genética durante diez años aproximadamente. Hasta hace poco, la mayoría de los usos de la GH estaban relacionados con el retraso del crecimiento en niños y ahora se estudian los usos de la GH en adultos. Los usos farmacológicos de la GH, los GHRPs y los estimuladores de secreción de la hormona del crecimiento podrían ser clasificados en las tres siguientes categorías principales.

(B) *Crecimiento en niños*

60 Los tratamientos con la hormona del crecimiento humana recombinante han demostrado que estimulan el crecimiento en niños con enanismo pituitario (hipofisario), insuficiencias renales, el síndrome de Turner y baja estatura. La GH humana recombinante es comercializada actualmente en Europa y en los Estados Unidos para el retraso del crecimiento en niños, causado por una deficiencia en la GH y para las insuficiencias renales en niños. Los otros usos están en investigación mediante ensayos clínicos.

(C) *Tratamiento a largo plazo para adultos y pacientes ancianos*

La disminución de la secreción de la GH causa cambios en la composición del cuerpo durante el envejecimiento. Estudios preliminares del tratamiento por un año con la GH humana recombinante reportaron un aumento en la masa muscular y en el grosor de la piel, y disminución en la masa de grasa, con un aumento leve en la densidad ósea, en una población de pacientes ancianos. Con respecto a la osteoporosis, los estudios recientes indican que la GH humana recombinante no aumenta la mineralización del hueso ósea, pero sugieren que se podría prevenir la desmineralización ósea en mujeres posmenopáusicas. Los estudios adicionales están actualmente en marcha para demostrar esta teoría.

10

(D) *Tratamiento a corto plazo en adultos y pacientes ancianos*

En estudios preclínicos y clínicos, la hormona del crecimiento ha demostrado estimular el anabolismo proteico y la cicatrización en casos de quemaduras, SIDA y cáncer, en cicatrización de heridas y huesos.

15

La GH, los GHRPs y los estimuladores de secreción de la hormona del crecimiento también están dirigidos a usos farmacológicos veterinarios. La GH, los GHRPs y los estimuladores de secreción de la hormona del crecimiento estimulan el aumento en cerdos durante su período de engorde, favoreciendo la deposición de tejido muscular en lugar de tejido adiposo y el aumento de la producción de leche en vacas, y esto sin ningún efecto secundario no deseado que pudiera poner en peligro la salud de los animales, y sin ningún residuo en la carne o la leche producidas. La somatotropina bovina (BST) es comercializada actualmente en los Estados Unidos.

La mayoría de los estudios clínicos emprendidos actualmente se realizaron con la GH recombinante. Los GHRPs y los estimuladores de secreción de la hormona del crecimiento son considerados como productos de segunda generación, destinados a reemplazar los usos de la GH en un futuro próximo, en la mayoría de los casos. Por lo tanto, el uso de los GHRPs y de los estimuladores de secreción de la hormona del crecimiento presenta varias ventajas sobre el uso de la GH como tal.

Por lo tanto, hay necesidad de compuestos que, cuando se administren a un mamífero, actúen como estimuladores de secreción de la hormona de crecimiento.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a nuevos compuestos que actúan como estimuladores de secreción de la hormona del crecimiento y su uso en un medicamento para elevar el nivel plasmático de la hormona del crecimiento en un mamífero, administrándole uno o más de los compuestos, de acuerdo con la invención. La invención también se refiere a medicamentos para el tratamiento de la deficiencia de secreción de la hormona del crecimiento, para promover la cicatrización de heridas, la recuperación de cirugías o la recuperación de enfermedades debilitantes, administrando a un mamífero uno de estos compuestos en una cantidad efectiva terapéuticamente.

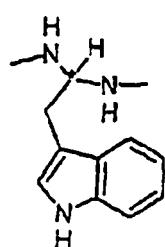
40

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

En la presente descripción, se emplean las siguientes abreviaturas: D es el dextro enantiómero, GH es la hormona del crecimiento, Boc es terc-butiloxicarbonil, Z es benziloxicarbonil, N-Me es N-metil, Pip es 4-amino-piperidina-4-carboxilato, Iinp es isonipecotil, o sea, piperidina-4-carboxilato, Aib es α -amino isobutil, Nal es β -naftilalanina, Mrp es 2-metil-Trp, y Ala, Lys, Phe, Trp, His, Thr, Cys, Tyr, Leu, Gly, Ser, Pro, Glu, Arg, Val y Gln son los aminoácidos alanina, lisina, fenilalanina, triptófano, histidina, treonina, cisteína, tirosina, leucina, glicina, serina, prolina, ácido glutámico, arginina, valina y glutamina, respectivamente. Además, gTrp es un grupo de la fórmula

50

55

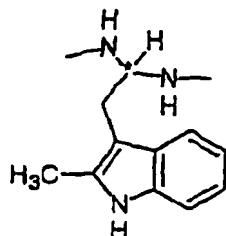


60

65

5 y gMrp un grupo de la fórmula

10

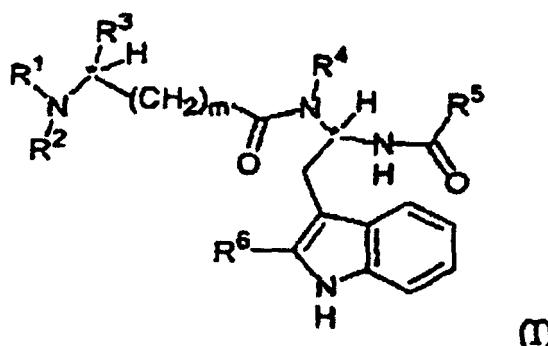


15 donde * significa un átomo de carbono que, cuando es un átomo de carbono quiral, tiene una configuración R o S. Los compuestos de la invención son de la fórmula general I:

20

25

30

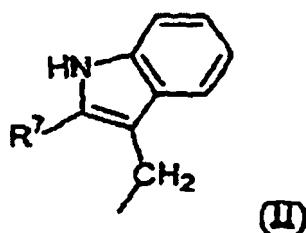


35 donde * significa un átomo de carbono que, cuando es un átomo de carbono quiral, tiene configuración R o S, R1 es un átomo de hidrógeno y R3 es un grupo de fórmula II

40

45

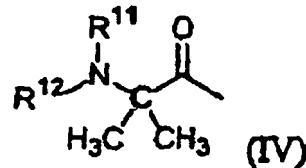
50



55

R2 es un grupo acorde con la fórmula IV a continuación:

60



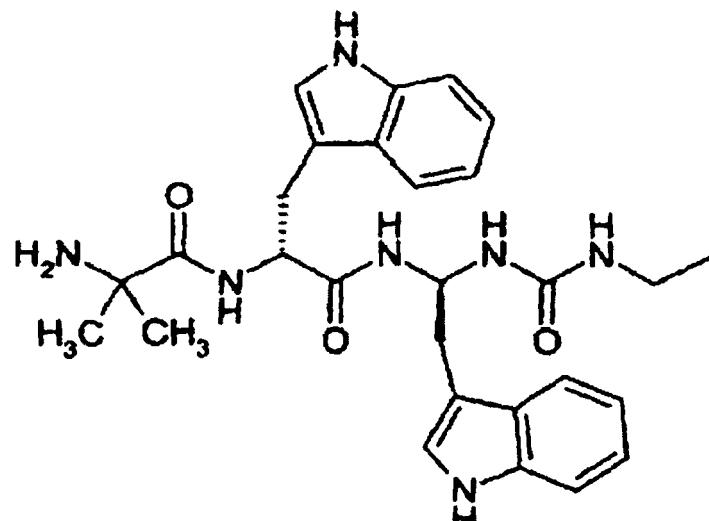
65 R4 es un átomo de hidrógeno, R5 es -NHCH2CH3, R6 y R7 son independientemente de cada uno, un átomo de hidrógeno, R11 y R12 son independientemente de cada uno, un átomo de hidrógeno y m es 0.

Los compuestos de la invención son los siguientes:

H-Aib-D-Trp-D-gTrp-C(O)NH₂CH₂CH₃:

5

10



20

25

N-Me-Aib-D-Trp-D-gTrp-C(O)NH₂CH₂CH₃

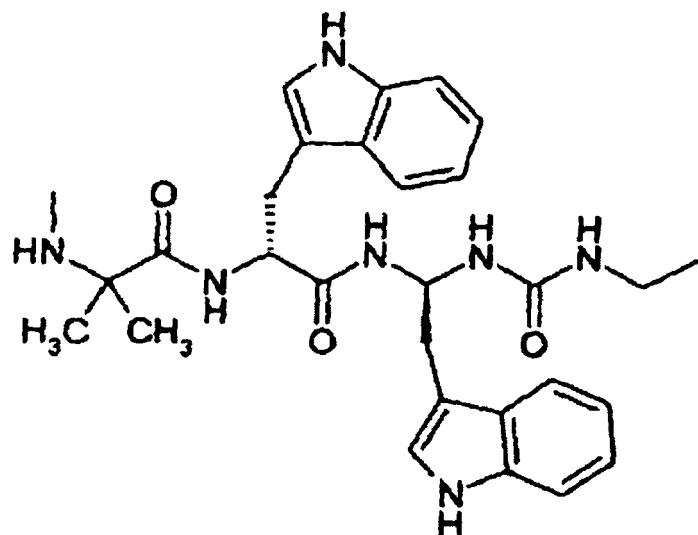
30

35

40

45

50



55

De acuerdo con la presente invención, se ha encontrado que los compuestos de la invención son útiles para elevar el nivel plasmático de la hormona del crecimiento en un mamífero. Además, los compuestos de la presente invención son útiles para el tratamiento de la deficiencia de secreción de la hormona del crecimiento, el retraso del crecimiento en niños y los trastornos metabólicos asociados con la deficiencia de secreción de la hormona del crecimiento, en particular en sujetos ancianos.

60

Las sales farmacéuticamente aceptables de estos compuestos se pueden usar también, si se desea. Tales sales incluyen sales de adición orgánicas o inorgánicas, como hidrocloruros, hidrobromuros, fosfatos, sulfatos, acetatos, succinatos, ascorbatos, tartratos, gluconatos, benzoatos, malatos, fumaratos, estearatos o pamoatos.

65

Las composiciones farmacéuticas de la invención son útiles para elevar el nivel plasmático de la hormona del crecimiento en un mamífero, incluyendo seres humanos, al igual que para el tratamiento de la deficiencia de la secreción de la hormona del crecimiento, el retraso del crecimiento en niños y los trastornos metabólicos relacionados con la deficiencia de secreción de la hormona del crecimiento, en particular en sujetos ancianos. Tales composicio-

ES 2 288 724 T3

nes farmacéuticas pueden comprender un compuesto de acuerdo con la presente invención, o una sal suya aceptable farmacéuticamente, o combinaciones de compuestos, de acuerdo con la presente invención, o sus sales farmacéuticamente aceptables, opcionalmente en mezcla con un portador, excipiente, vehículo, diluente, matriz, o recubrimiento de liberación lenta. Ejemplos de tales portadores, excipientes, vehículos, y diluyentes, se pueden encontrar en Remington's 5 Pharmaceutical Sciences, 18th Edition; A.R. Gennaro, Ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1990.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden comprender un estimulador adicional de la secreción de la hormona del crecimiento. Los ejemplos de estimuladores apropiados de la secreción de la hormona del crecimiento son Ghrelin (cf. M. Kojima *et al.*, *Nature*, 402 (1999), 656-660), GHRP-1, GHRP-2 y GHRP-6.

10 Ghrelin: Gly-Ser-Ser(O-n-octanoyl)-Phe-Leu-Ser-Pro-Glu-His-Gln-Arg-Val-Gln-Gln-Arg-Lys-Glu-Ser-Lys-Lys-Pro-Pro-Ala-Lys-Leu-Gln-Pro-Arg

15 GHRP-1: Ala-His-D-β-Nal-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH2

GHRP-2: D-Ala-D-B-Nal-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH2

GHRP-6: His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH2

20 De acuerdo con la presente invención, cualesquiera de los compuestos puede ser formulado por expertos en la técnica, para proporcionar medicamentos que sean apropiados para las vías de administración parenteral, bucal, rectal, vaginal, transdérmica, pulmonar u oral.

25 El tipo de formulación del medicamento que contiene el compuesto puede ser seleccionado de acuerdo con la velocidad de administración deseada. Por ejemplo, si los compuestos deben ser administrados rápidamente, la ruta nasal o intravenosa son las preferidas.

30 Los medicamentos pueden ser administrados a mamíferos, incluyendo seres humanos, en una dosis terapéutica efectiva que puede ser determinada fácilmente por un experto en la técnica y que puede variar de acuerdo con la especie, edad, sexo y peso del paciente o sujeto tratado, así como también de acuerdo con la ruta de la administración. El nivel exacto se puede determinar fácilmente, de manera empírica.

35 (Esquema pasa a página siguiente)

40

45

50

55

60

65

Ejemplos

Los Ejemplos 1 al 57 son compuestos de referencia.

5 **Ejemplo 1***H-Aib-D-Trp-D-gTrp-CHO*

Síntesis total (los porcentajes representan los rendimientos obtenidos en la síntesis como se describe más abajo):

10

15

20

25

30

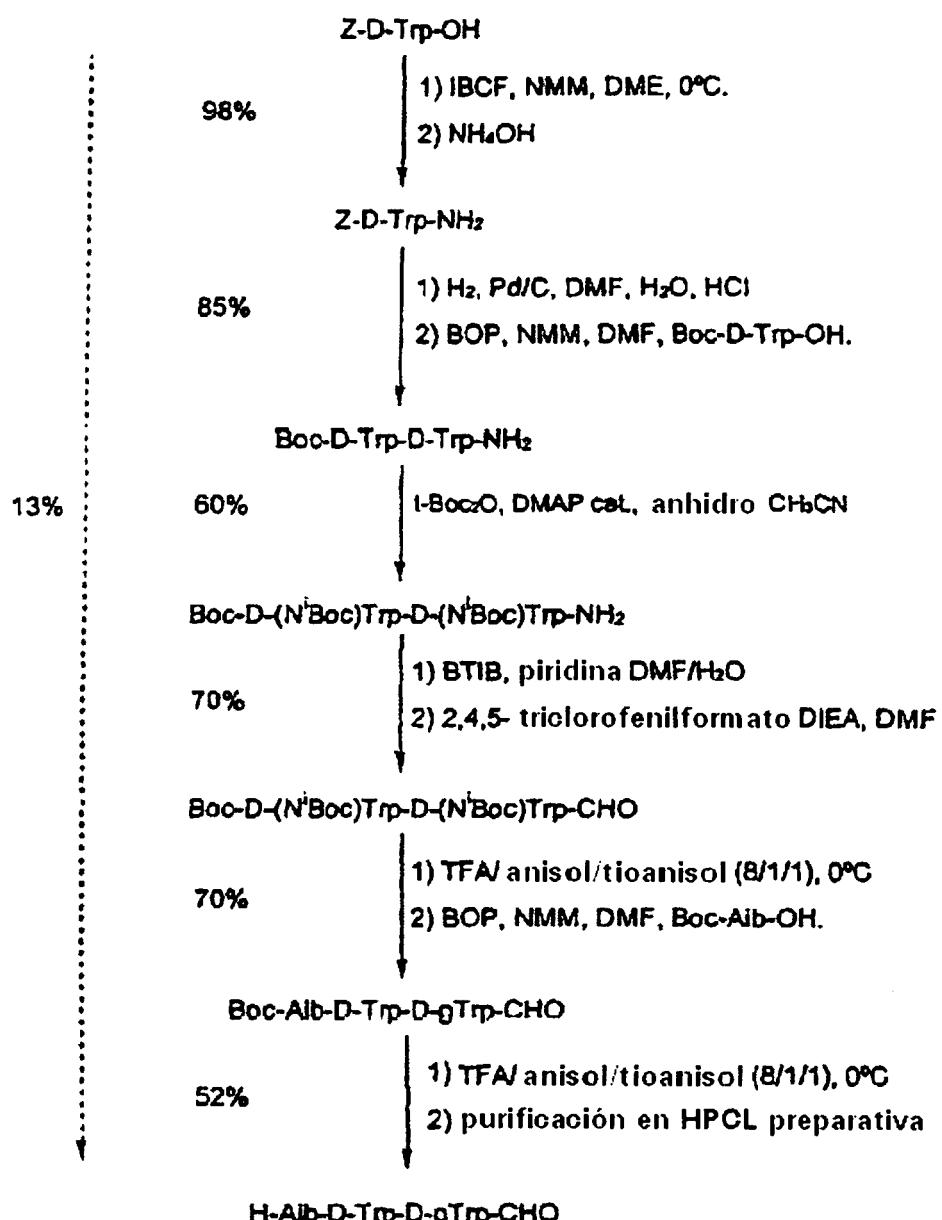
35

40

45

50

55

**Z-D-Trp-NH₂**

60

Z-D-Trp-OH (8,9 g; 26 mmol; 1 eq.) se disolvió en DME(Dimetil éter) (25 ml) y se colocó en un baño de agua fría a 0°C. NMM (N-metil morfolina) (3,5 ml; 1,2 eq.), IBCF(Isobutil cloroformato) (4,1 ml; 1,2 eq) y solución de amoníaco al 28% (8,9 ml; 5 eq) se añadieron sucesivamente. La mezcla se diluyó con agua (100 ml), y se precipitó el producto Z-D-Trp-NH₂. Este se filtró y secó al vacío para obtener 8,58 g de un sólido blanco.

65

Rendimiento = 98%.

C19H19N3O3, 337 g.mol-1.

ES 2 288 724 T3

Rf = 0,46 {cloroformo / metanol / ácido acético (180/10/5)}

5 1H NMR (250 MHz, DMSO(Dimetil sulfóxido)-d6): δ 2,9. (dd, 1H, H β , J $\beta\beta$, = 14,5 Hz; J $\beta\alpha$ =9,8 Hz);3,1 (dd, 1H, H β , J $\beta\beta$ = 14,5 Hz; J $\beta\alpha$ =4,3 Hz); 4,2 (sextuplete, 1H, H α); 4,95 (s, 2H, CH₂ (Z)); 6,9 - 7,4 (m, 1H); 7,5 (s, 1H, H2); 7,65 (d, 1H, J = 7,7 Hz); 10,8 (s, 1H, N1H).

Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 338 [M+H]+, 360 [M+Na]+, 675 [2M+H]+, 697 [2M+Na]+.

Boc-D-Trp-D-Trp-NH2

10 Z-D-Trp-NH2 (3 g; 8.9 mmol; 1 eq.) se disolvió en DMF (Dimetil formamida) (100 ml). HCl 36% (845 μ l; 1.1 eq.), Agua (2 ml) y paladio sobre carbón activado (95 mg, 0.1 eq.) se adicionaron a la mezcla en agitación. La solución se burbujeó en atmósfera de hidrógeno durante 24 horas. Cuando la reacción se terminó, el paladio se filtró con celite. El solvente se eliminó al vacío para obtener HCl, H-D-Trp-NH2 como un aceite incoloro.

15 En 10 ml de DMF (Dimetil formamida), se adicionaron sucesivamente HCl, H-D-Trp-NH2 (8,9 mmol; 1 eq.), Boc-D-Trp-OH (2,98 g; 9,8 mmol; 1,1 eq.), NMM (N-metil morfolina) (2,26 ml; 2,1 eq.) y BOP (4,33 g; 1,1 eq.). Después de 1 hora, la mezcla se diluyó con acetato de etilo (100 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (200 ml), sulfato ácido de potasio acuoso (200 ml, 1M), y cloruro de sodio acuoso saturado (100 ml). La capa orgánica se 20 secó sobre sulfato de sodio, se filtró y el solvente se eliminó al vacío para obtener 4,35 g de Boc-D-Trp-D-Trp-NH2 como un sólido blanco.

Rendimiento = 85%.

25 C27H31N5O4, 489, g.mol-1

Rf = 0,48 {cloroformo / metanol / ácido acético (85/10/5)}.

30 1H NMR (200 MHz, DMSO-d6): δ 1,28 (s, 9H, Boc); 2,75-3,36 (m, 4H, 2 (CH₂) β ; 4,14 (m, 1H, CH α); 4,52 (m, 1H, CH α); 6,83-7,84 (m, 14H, 2 indoles (10H), NH2, NH (uretano) y NH (amida)); 10,82 (d, 1H, J = 2Hz, N1H); 10,85 (d, 1H, J = 2Hz, N1H).

Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 490 [M+H]+, 512 [M+Na]+, 979 [2M+ H]+.

35 Boc-D-(NiBoc)Trp-D-(NiBoc)Trp-NH2

40 Boc-D-Trp-D-Trp-NH2 (3 g; 6,13 mmol; 1 eq.) se disolvió en acetonitrilo (25 ml). A esta solución, se adicionaron sucesivamente dibicarbonato de di-terc-butilo (3,4 g; 2,5 eq.) y 4-dimetilaminopiridina (150 mg; 0,2 eq.). Después de 1 hora, la mezcla se diluyó con acetato de etilo (100 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (200 ml) sulfato ácido de potasio acuoso (200 ml, 1 M), y cloruro de sodio acuoso saturado (200 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y el solvente se eliminó al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash sobre gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo/hexano {5/5} para obtener 2,53 g de Boc-D-(NiBoc) Trp-D-(NiBoc) Trp-NH2 como un sólido blanco.

45 Rendimiento = 60%.

C37H47N5O8, 689 g.mol-1

50 Rf = 0.23 {acetato de etilo/hexano (5/5)}

50 1H NMR (200 MHz, DMSO-d6): δ 1,25 (s, 9H, Boc); 1,58 (s, 9H, Boc); 1,61 (s, 9H, Boc); 2,75 - 3,4 (m, 4H, 2 (CH₂) β); 4,2 (m, 1H, CH α); 4,6 (m, 1H, CH α); 7,06 -8 (m, 14H, 2 indoles (1 OH), NH (uretano), NH y NH2 (amidas)).

55 Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 690 [M+H]+, 712 [M+Na]+, 1379 [2M+H]+, 1401 [2M+Na]+.

Boc-D-(Ni Boc)Trp-D-g(Ni Boc)Trp-H

60 Boc-D-(NiBoc)Trp-D-g(NiBoc)Trp-NH2 (3 g; 4,3 mmol; 1 eq.) se disolvió en la mezcla DMF/Agua (18 ml/7 ml). Luego, se adicionaron piridina (772 μ l; 2,2 eq.) y Bis (Trifluoroacetoxi) yodo benceno (2,1 g; 1,1 eq.). Después de 1 hora, la mezcla se diluyó con acetato de etilo (100 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (200 ml) sulfato ácido de potasio acuoso (200 ml, 1 M), y cloruro de sodio saturado acuoso (200 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y el solvente se eliminó al vacío. Boc-D-(Ni Boc)Trp-D-g(Ni Boc)Trp-H se usó inmediatamente en la próxima reacción de formilación.

65 Rf = 0,14 {acetato de etilo / hexano (7/3)}.

C36H47N5O7, 661 g.mol-1.

ES 2 288 724 T3

1H NMR (200 MHz, DMSO - d6): δ 1,29 (s, 9H, Boc); 1,61 (s, 18H, 2 Boc); 2,13 (s, 2H, NH2 (amina)); 3,1 - 2,8 (m, 4H, 2 (CH₂) β); 4,2 (m, 1H, CH α); 4,85 (m, 1H, CH α); 6,9-8 (m, 12H, 2 indoles (10H), NH (uretano), NH (amida)).

5 Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 662 [M+H]+, 684 [M+Na]+.

Boc-D-(NiBoc)Trp-D-g(Ni Boc)Trp-CHO

10 Boc-D-(NiBoc)Trp-D-g(Ni Boc) Trp-H (4.3 mmol; 1 eq.) se disolvió en DMF (20 ml), Luego se adicionaron N,N-diisopropiletilamina (815 μ l; 1.1eq.) y 2,4,5-triclorofenilformato (1,08 g; 1,1 eq.). Después de 30 minutos, la mezcla se diluyó con acetato de etilo (100 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (200 ml) sulfato ácido de potasio acuoso (200 ml, 1 M), y cloruro de sodio acuoso saturado (200 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y el solvente se eliminó al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash sobre gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo/hexano {5/5} para obtener 2.07 g de Boc-D-(NiBoc)Trp-D-g(Ni Boc)Trp-CHO como un sólido blanco.

15 Rendimiento =70%.

20 C37H47N5O8, 689 g.mol-1.

25 Rf = 0,27 {acetato de etilo / hexano (5/5)}

1H NMR (200 MHz, DMSO-d6): δ 1,28 (s, 9H, Boc); 1,6 (s, 9H, Boc); 1,61 (s, 9H, Boc); 2,75 - 3,1 (m, 4H, 2 (CH₂) β); 4,25 (m, 1H, (CH) α A & B); 5,39 (m, 0,4H, (CH) α 'B); 5,72 (m, 0,6H, (CH) α 'A); 6,95 - 8,55 (m, 14H, 2 indoles (10H), NH (uretano), 2 NH (amidas), CHO (formil).

30 Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 690 [M+H]+, 712 [M+Na]+, 1379 [2M+H]+.

Boc-Aib-D-Trp-M-D-gTrp-CHO

35 Boc-D-(NiBoc)Trp-D-g(NiBoc)Trp-CHO (1,98 g; 2,9 mmol; 1 eq.) se disolvió en una mezcla de ácido trifluoroacético (16 ml), anisol (2 ml) y tioanisol (2 ml) durante 30 minutos a 0°C. Los solventes se eliminaron al vacío, el residuo se agitó con éter y se filtró el TFA(Ácido trifluoroacético), H-D-Trp-D-gTrp-CHO precipitado.

40 TFA, H-D-Trp-D-gTrp-CHO (2,9 mmol; 1eq.), Boc-Aib-OH (700 mg; 1 eq.); NMM (2,4 ml; 4,2 eq.) y BOP (1,53 g; 1,2 eq.) se adicionaron sucesivamente en 10 ml de DMF. Después de 1 hora, la mezcla se diluyó con acetato de etilo (100 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (200 ml), sulfato ácido de potasio acuoso (200 ml, 1 M), y cloruro de sodio acuoso saturado (200 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y el solvente se eliminó al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash en gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo para obtener 1,16 g de Boc-Aib-D-Trp-D-gTrp-CHO como un sólido blanco.

45 Rendimiento =70%.

50 C31H38N6O5, 574 g.mol-1.

55 Rf = 0,26 {cloroformo / metanol / ácido acético (180/10/5)}.

1H NMR (200 MHz, DMSO-d6): δ 1,21 (s, 6H, 2 CH₃ (Aib)); 1,31 (s, 9H, Boc); 2,98-3,12 (m, 4H, 2 (CH₂) β); 4,47 (m, 1H, (CH) α A & B); 5,2 (m, 0,4H, (CH) α 'B); 5,7 (m, 0,6H, (CH) α 'A); 6,95 - 8,37 (m, 15H, 2 indoles (10H), 3 NH (amidas), 1 NH (uretano), CHO (formil)); 10,89 (m, 2H, 2 N1H (indoles)).

55 Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 575 [M+H]+, 597 [M+Na]+, 1149 [2M+H]+, 1171 [2M+Na]+.

H-Aib-D-Trp-D-gTrp-CHO

60 Boc-Aib-D-Trp-D-gTrp-CHO (1 g; 1,7 mmol) se disolvió en una mezcla de ácido trifluoroacético (8 ml), anisol (1 ml) y tioanisol (1 ml) durante 30 minutos a 0°C. Los solventes se eliminaron al vacío, el residuo se agitó con éter y se filtró el TFA, H-Aib-D-Trp-D-gTrp-CHO precipitado..

65 El producto TFA, H-Aib-D-Trp-D-gTrp-CHO se purificó por HPLC preparativa (Waters, delta pak, C18, 40x100 mm, 5 μ m, 100 A).

65 Rendimiento =52%.

70 C26H30N6O3, 474 g.mol-1.

1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) + correlación 1H/1H: δ 1,21 (s, 3H, CH₃ (Aib)); 1,43 (s, 3H, CH₃ (Aib)); 2,97 (m, 2H, (CH₂) β); 3,1 (m, 2H, (CH₂) β); 4,62 (m, 1H, (CH) α A&B); 5,32 (q, 0,4H, (CH) α 'B); 5,71 (q, 0,6H, (CH) α 'A); 7,3

ES 2 288 724 T3

(m, 4H, H5 y H6 (2 indoles)); 7,06-7,2 (4d, 2H, H2A y H2B (2 indoles)); 7,3 (m, 2H, H4 ó H7 (2 indoles)); 7,6-7,8 (4d, 2H, H4A y H4B ó H7A y H7B); 7,97 (s, 3H, NH2 (Aib) y CHO (Formil)); 8,2 (d, 0,4H, NH1B (diamino)); 8,3 (m, 1H, NHA&B); 8,5 (d, 0,6H, NH1A (diamino)); 8,69 (d, 0,6H, NH2A (diamino)); 8,96 (d, 0,4H, NH2B (diamino)); 10,8 (s, 0,6H, N1H1A (indol)); 10,82 (s, 0,4H, N1H1B (indol)); 10,86 (s, 0,6H, N1H2A (indol)); 10,91 (s, 0,4H, N1H2B (indol)).

Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 475 [M+H]+ 949 [2M+H]+.

La síntesis de análogos se llevó a cabo para los siguientes compuestos:

Ejemplo 2

H-Aib-D-Mrp-D-gMrp-CHO

C28H34N6O3, 502 g.mol-1.

1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) + correlación 1H/1H: δ 1,19 (s, 2H, (CH₃)1A (Aib)); 1,23 (s, 1H, (CH₃)1B (Aib)); 1,41 (s, 2H, (CH₃)2A (Aib)); 1,44 (s, 2H, (CH₃)2B (Aib)); 2,33-2,35 (4s, 6H, 2 CH₃ (indoles)); 2,93 (m; 2H; (CH₂) β); 3,02 (m, 2H, (CH₂) β); 4,65 (m, 0,6H, (CH) α A); 4,71 (m, 0,4H, (CH) α B); 5,2 (m, 0,4H, (CH) α' B); 5,6 (m, 0,6H, (CH) α' A); 6,95 (m, 4H, H5 y H6 (2 indoles)); 7,19 (m, 2H, H4 ó H7 (2 indoles)); 7,6 (m, 2H, H4 ó H7 (2 indoles)); 7,9 (s, 1H, CHO (Formil)); 7,95 (s, 2H, NH2 (Aib)); 8,05 (d, 0,4H, NH1B (diamino)); 8,3 (m, 1H, NHA&B); 8,35 (m, 0,6H, NH1A (diamino)); 8,4 (d, 0,6H, NH2A (diamino)); 8,75 (d, 0,4H, NH2B (diamino)); 10,69 (s, 0,6H, N1H1A (indol)); 10,71 (s, 0,4H, N1H1B (indol)); 10,80 (s, 0,6H, N1H2A (indol)); 10,92 (s, 0,4H, N1H2B (indol)).

Espectrometría de masa (Electrospray), m / z 503.1 [M+H]+.

Ejemplo 3

N-Me-Aib-D-Trp-D-gTrp-CHO

Boc-N-Me-Aib-OH (327 mg; 1,5 mmol; 2,6 eq.) se disolvió en cloruro de metileno (10 ml) y se enfrió a 0°C. Luego, se adicionó dicitclohexilcarbodiimida (156 mg; 0,75 mmol; 1,3 eq.). La mezcla, después de la filtración de DCU, se añadió a una solución que contenía TFA, H-D-Trp-D-gTrp-CHO (0,58 mmol; 1eq.) y trietilamina (267 μ l; 3,3 eq.) en cloruro de metileno (5 ml). La mezcla de reacción se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se detuvo después de 24 horas. La mezcla se diluyó con acetato de etilo (25 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (50 ml), sulfato ácido de potasio acuoso (50 ml, 1 M) y cloruro de sodio acuoso saturado (50 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y el solvente se eliminó al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash en gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo/metanol {9/1} para obtener 180 mg (53%) de Boc-N-Me-Aib-D-Trp-D-gTrp-CHO como una espuma blanca.

Boc-N-Me-Aib-D-Trp-D-gTrp-CHO (180 mg; 0.3 mmol) se disolvió en una mezcla de ácido trifluoroacético (8 ml), anisol (1 ml) y tioanisol (1 ml) durante 30 minutos a 0°C. Los solventes se eliminaron al vacío, el residuo se agitó con éter y se filtró el TFA, N-Me-Aib-D-Trp-D-gTrp-CHO precipitado.

El producto TFA, N-Me-Aib-D-Trp-D-gTrp-CHO (39 mg; 15%) se purificó por HPLC preparativa (Waters, delta pak, C18, 40x100 mm, 5 μ m, 100 A).

C27H32N6O3, 488 g.mol-1.

1H RMN (200 MHz, DMSO-d6): δ 1,19 (s, 3H, CH₃ (Aib)); 1,42 (s, 3H, CH₃ (Aib)); 2,26 (s, 3H, N CH₃); 3,12 (m, 4H, 2 (CH₂) β); 4,66 (m, 1H, (CH) α); 5,32 y 5,7 (m, 1H, (CH) α'); 6,9-7,8 (m, 10H, 2 indoles); 8 (m, 1H, CHO (formil)); 8,2-9 (m, 4H, 3 NH (amidas) y NH (amina)); 10,87 (m, 2H, 2 N1H (indoles)).

Espectrometría de masa (Electrospray), m / z 489,29 [M+H] +.

Ejemplo 4

H-Aib-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃

Boc-D-(NiBoc)Trp-D-g(NiBoc)Trp-H (0,72 mmol; 1 eq.) se disolvió en DMF (20 ml). Luego, se añadieron N,N-diisopropil-etylamina (259 ml; 2,1 eq.) y anhídrido acético (749 ml; 1.1 eq.). Después de 1 hora, la mezcla se diluyó con acetato de etilo (100 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (100 ml) sulfato ácido de potasio acuoso (100 ml, 1 M), y cloruro de sodio acuoso saturado (50 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y el solvente se eliminó al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash en gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo/hexano para obtener 370 mg (73%) de Boc-D-(NiBoc)Trp-D-g(NiBoc)Trp-C(O)CH₃ como un sólido blanco.

ES 2 288 724 T3

Boc-D-(Ni Boc)Trp-D-g(Ni Boc)Trp-C(O)CH₃ (350 mg; 0,5 mmol; 1 eq.) se disolvió en una mezcla de ácido trifluoroacético (8 ml), anisol (1 ml) y tioanisol (1 ml) durante 30 minutos a 0°C. Los solventes se eliminaron al vacío, el residuo se agitó con éter y se filtró el TFA, H-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ precipitado.

5 En 10 ml de DMF, se añadieron sucesivamente TFA, H-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ (0,5 mmol; 1 eq.), Boc-Aib-OH (121 mg; 0,59 mmol; 1,2 eq.), NMM (230 μ l; 4,2 eq.) y BOP (265 mg; 1,2 eq.). Después de 1 hora, la mezcla se diluyó con acetato de etilo (25 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (50 ml), sulfato ácido de potasio acuoso (50 ml, 1 M), y cloruro de sodio acuoso saturado (50 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y el solvente se eliminó al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash sobre gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo para obtener 249 mg (85%) de Boc-Aib-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ como una espuma blanca.

10 Boc-Aib-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ (249 mg; 0,42 mmol) se disolvió en una mezcla de ácido trifluoroacético (8 ml), anisol (1 ml) y tioanisol (1 ml) durante 30 minutos a 0°C. Los solventes se eliminaron al vacío, el residuo se agitó con éter y se filtró el TFA, H-Aib-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ precipitado.

15 10 El producto TFA, H-Aib-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ (80 mg; 23%) se purificó por HPLC preparativa (Waters, delta pak, C18, 40x100 mm, 5 mm, 100 Å).

20 C27H32N6O3, 488 g.mol-1

25 1H NMR (200 MHz, DMSO-d6): δ 1,22 (s, 3H, CH₃ (Aib)); 1,44 (s, 3H; CH₃ (Aib)); 1,8 (s, 3H, C(O)CH₃); 3,06 (m, 4H, 2 (CH₂) β); 4,6 (m, 1H, (CH) α); 5,6 (m, 1H, (CH) α); 6,9-7,8 (m, 10H, 2 indoles); 7,99 (s, 2H, NH2 (Aib)); 8,2-8,6 (m, 3H, 3 NH (amidas)); 10,83 (s, 2H, 2 N1H (indoles)).

25 Espectrometría de masa (Electrospray), m / z 489,32 [M+H]⁺.

Ejemplo 5

N-Me-Aib-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃

30 Boc-N-Me-Aib-OH (1,09 g; 5,04 mmol; 4 eq.) se disolvió en cloruro de metileno (10 ml) y se enfrió a 0°C. Luego, se adicionó diciclohexilcarbodiimida (520 mg; 2,52 mmol; 2 eq.). La mezcla, después de la filtración de DCU, se añadió a una solución que contenía TFA, H-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ (940 mg; 1,26 mmol; 1 eq.) y trietilamina (580 ml; 3,3 eq.) en cloruro de metileno (5 ml). La mezcla de reacción se calentó lentamente hasta la temperatura ambiente y se detuvo después de 24 h. La mezcla se diluyó con acetato de etilo (50 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (100 ml) sulfato ácido de potasio acuoso (100 ml, 1 M), y cloruro de sodio acuoso saturado (100 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y el solvente se eliminó al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash en gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo/metanol {9/1} para obtener 530 mg (70%) de Boc-N-Me-Aib-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ como una espuma blanca.

40 Boc-N-Me-Aib-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ (530 mg; 0,88 mmol) se disolvió en una mezcla de ácido trifluoroacético (8 ml), anisol (1 ml) y tioanisol (1 ml) durante 30 minutos a 0°C. Los solventes se eliminaron al vacío, el residuo se agitó con éter y se filtró el TFA, N-Me-Aib-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ precipitado.

45 45 El producto TFA, N-Me-Aib-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ (220 mg; 30%) se purificó por HPLC preparativa (Waters, delta pak, C18, 40x100 mm, 5 mm, 100 Å).

C26H34N6O3, 502 g.mol-1.

50 50 1H NMR (200 MHz, DMSO-d6): δ 1,17 (s, 3H, CH₃ (Aib)); 1,4 (s, 3H, CH₃ (Aib)); 1,78 (s, 3H, C(O)CH₃); 2,23 (s, 3H, N CH₃); 3,15 (m, 4H, 2 (CH₂) β); 4,7 (m, 1H, (CH) α); 5,55 (m, 1H, (CH) α '); 6,9-7,9 (m, 10H, 2 indoles); 8,2-8,8 (s, 4H, NH (amina) y 3 NH (amidas)); 10,8 (s, 2H, 2 N1H (indoles)).

Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 503,19 [M+H]⁺.

55 Ejemplo 6

Pip-D-Trp-D-gTrp-CHO

60 En 5 ml de DMF, se añadieron sucesivamente TFA, H-D-Trp-D-gTrp-CHO (230 mg; 0,31 mmol; 1 eq.), Boc-(N4Boc) Pip-OH (130 mg; 0,38 mmol; 1,2 eq.), NMM (145 μ l; 4,2 eq.) y BOP (167 mg; 0,38 mmol; 1,2 eq.). Después de 15 minutos, la reacción concluyó. La mezcla se diluyó con acetato de etilo (25 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (50 ml) sulfato ácido de potasio acuoso (50 ml, 1 M), y cloruro de sodio acuoso saturado (50 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y el solvente se eliminó al vacío para obtener Boc-(N4Boc) Pip-D-Trp-D-gTrp-CHO como una espuma.

65 65 Boc-(N4Boc)Pip-D-Trp-D-gTrp-CHO (0,31 mmol) se disolvió en una mezcla de ácido trifluoroacético (8 ml), anisol (1 ml) y tioanisol (1 ml) durante 30 minutos a 0°C. Los solventes se eliminaron al vacío, el residuo se agitó con éter y se filtró el TFA, H-Pip-D-Trp-D -gTrp-CHO.

ES 2 288 724 T3

El producto TFA, H-Pip-D-Trp-D-gTrp-CHO (127 mg; 42%) se purificó por HPLC preparativa (Waters, delta pak, C18, 40x100 mm, 5 μ m, 100 A).

5 C28H33N7O3, 515 g.mol-1.

1H RMN (200 MHz, DMSO-d6): δ 1,81 (m, 2H, CH₂ (Pip)); 2,3 (m, 2H, CH₂ (Pip)); 3,1 (m, 8H, 2 (CH₂) β y 2 CH₂ (Pip)); 4,68 (m, 1 H, (CH) α); 5,3 y 5,73 (2m, 1H, (CH) α'); 6,9-7,7 (m, 10H, 2 indoles); 7,98 (2s, 1H, CHO (formil)); 8,2-9,2 (m, 6H, NH2 y NH (Pip) y 3 NH (amidas)); 10,9 (m, 2H, 2 N1H (indoles)).

10 Espectrometría de masa (Electrospray), m / z 516,37 [M+H]⁺, 538,27 [M + Na]⁺.

Ejemplo 7

15 *Pip-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃*

En 5 ml de DMF se añadieron sucesivamente TFA, H-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ (218 mg, 0,29 mmol; 1 eq.), Boc-(N4Boc)Pip-OH (121 mg; 0,35 mmol; 1,2 eq.), NMM (135 μ l; 4,2 eq.) y BOP (155 mg; 0,35 mmol; 1,2 eq.). Después de 15 minutos, la reacción concluyó. La mezcla se diluyó con acetato de etilo (25 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (50 ml) sulfato ácido de potasio acuoso (50 ml, 1 M), y cloruro de sodio acuoso saturado (50 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y el solvente se eliminó al vacío para obtener Boc-(N4Boc) Pip-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ como una espuma.

20 Boc-(N4Boc)Pip-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ (0,29 mmol) se disolvió en una mezcla de ácido trifluoroacético (8 ml), anisol (1 ml) y tioanisol (1 ml) durante 30 minutos a 0°C. Los solventes se eliminaron al vacío, el residuo se agitó con éter y se filtró el TFA, H-Pip-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ precipitado.

25 El producto TFA, H-Pip-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ (135 mg; 47%) se purificó por HPLC preparativa (Waters, delta pak, C18, 40x100 mm, 5 μ m, 100 A).

30 C29H35N7O3, 529 g.mol-1.

1H RMN (200 MHz, DMSO-d6): δ 1,79 (m, 2H, CH₂ (Pip)); 1,81 (s, 3H, C(O)CH₃); 2,3 (m, 2H, CH₂ (Pip)); 3,1 (m, 8H, 2(CH₂) β y 2 CH₂ (Pip)); 4,7 (m, 1H, (CH) α); 5,6 (m, 1H, (CH) α'); 6,9-7,8 (m, 10H, 2 indoles); 8,2-9 (m, 6H, NH2 NH(Pip) y 3 NH (amidas)); 10,85 (m, 2H, 2 N1H (indoles)).

35 Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 530,39 [M+H]⁺, 552,41 [M+Na]⁺.

Ejemplo 8

40 *Isonipecotil-D-Trp-D-gTrp-CHO*

En 5 ml de DMF se añadieron sucesivamente TFA, H-D-Trp-D-gTrp-CHO (250 mg, 4,1 mmol; 1 eq.), Fmoc-Isonipecotic-OH (144 mg; 4,1 mmol; 1,2 eq.), NMM (158 μ l; 4,2 eq.) y BOP (181 mg; 4,1 mmol; 1,2 eq.). Después de 15 minutos, la reacción concluyó. La mezcla se diluyó con acetato de etilo (25 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (50 ml) sulfato ácido de potasio acuoso (50 ml, 1 M), y cloruro de sodio acuoso saturado (50 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y el solvente se eliminó al vacío para obtener Fmoc-Isonipecotil-D-Trp-D-gTrp-CHO como una espuma.

45 Fmoc-Isonipecotil-D-Trp-D-gTrp-CHO (4,1 mmol) se disolvió en una mezcla de DMF (8 ml) y piperidina (2 ml) y se dejó reposar durante 30 minutos. Los solventes se eliminaron al vacío, el residuo se agitó con éter y se filtró el Isonipecotil-D-Trp-D-gTrp-CHO precipitado.

50 El producto Isonipecotil-D-Trp-D-gTrp-CHO (81 mg; 28%) se purificó por HPLC preparativa (Waters, delta pak, C18, 40x100 mm, 5 μ m, 100 A).

55 C28H32N6O3, 500 g.mol-1.

1H RMN (200 MHz, DMSO-d6): δ 1,65 (m, 4H, 2 CH₂ (Pip)); 2,4 (m, 1H, CH (Pip)); 2,7-3,3 (m, 8H, 2 (CH₂) β y 2 CH₂ (Pip)); 4,6 (m, 1H, (CH) α); 5,3 a 5,7 (2m, 1H, (CH) α'); 6,9-7,7 (m, 10H, 2 indoles); 7,97 (2s, 1H, CHO (formil)); 8-8,8 (m, 4H, NH (Pip) y 3 NH (amidas)); 10,9 (m, 2H, 2 N1H (indoles)).

60 Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 501,36 [M+H]⁺.

Ejemplo 9

65 *Isonipecotil-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃*

En 5 ml de DMF se añadieron sucesivamente TFA, H-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ (250 mg, 0,33 mmol; 1 eq.), Fmoc-Isonipecotic-OH (141 mg; 0,4 mmol; 1,2 eq.), NMM (155 μ l; 4,2 eq.) y BOP (178 mg; 0,4 mmol; 1,2 eq.). Después de

ES 2 288 724 T3

15 minutos, la reacción concluyó. La mezcla se diluyó con acetato de etilo (25 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (50 ml) sulfato ácido de potasio acuoso (50 ml, 1 M), y cloruro de sodio acuoso saturado (50 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y el solvente se eliminó al vacío para obtener Fmoc-Isonipecotil-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ como una espuma.

5 Fmoc-Isonipecotil-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ (0.33 mmol) se disolvió en una mezcla de DMF (8 ml) y piperidina (2 ml) y se dejó reposar por 30 minutos. Los solventes se eliminaron al vacío, el residuo se agitó con éter y se filtró el Isonipecotil-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ precipitado.

10 El producto Isonipecotil-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH₃ (65 mg; 13%) se purificó por HPLC preparativa (Waters, delta pak, C18, 40x100 mm, 5 μm, 100 A).

C29H34N6O3, 514 g.mol-1.

15 ¹H RMN de (200 MHz, DMSO-d6): δ 1,66 (m, 4H, 2CH₂ (Pip)); 1,79 (s, 3H, C(O)CH₃); 2,7 - 3,3 (m, 8H, 2 (CH₂) β y 2 CH₂ (Pip)); 4,54 (m, 1H, (CH) α); 5,59 (m, 1H, (CH) α'); 6,9-7,7 (m, 10H, 2 indoles); 8-8,6 (m, 4H, NH (Pip) y 3 NH (amidas)); 10,82 (m, 2H, 2 N1H (indoles)).

20 Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 515,44 [M+H]⁺.

Ejemplos 10-62

Los siguientes compuestos se prepararon de manera similar:

Ejemplo 10

H-Aib-D-Mrp-gMrp-CHO

Ejemplo 11

H-Aib-Trp-gTrp-CHO

Ejemplo 12

Ejemplo 13

H-D-Trp-gTrp-CHO

Ejemplo 14

N-Me-D-Trp-gTrp-CHO

Ejemplo 15

N-Metilsulfonil-D-Trp-gTrp-CHO

Ejemplo 16

N-Fenilsulfonil-D-Trp-gTrp-CHO

Ejemplo 17

Ejemplo 18

N-(3-Metil-butanoil)-D-Trp-gTrp-CO-CH₃

Ejemplo 19

Aib-D-Trp-gTrp-CO-CH₂-CH₃

Ejemplo 20

Aib-D-Trp-gTrp-CO-CH₂-CH(CH₃)-CH₃

- Ejemplo 21
Aib-D-Trp-gTrp-CO-CH₂-fenil
- 5 Ejemplo 22
Aib-D-Trp-gTrp-CO-piperidina-4-il
- Ejemplo 23
10 *Aib-D-Trp-gTrp-CO-CH₂-pirrol-3-il*
- Ejemplo 24
15 *Aib-D-Trp-gTrp-CO-CH₂-ciclohexil*
- Ejemplo 25
20 *N-Me-Aib-D-Trp-gTrp-CO-CH₂-CH₃*, *CH₃*
- Ejemplo 26
25 *N-Me-Aib-D-Trp-gTrp-CO-CH₂-CH(CH₃)-CH₃*
- Ejemplo 27
30 *N-Me-Aib-D-Trp-gTrp-CO-CH₂-fenil*
- Ejemplo 28
35 *N-Me-Aib-D-Trp-gTrp-CO-CH₂-pirrol-3-il*
- Ejemplo 29
40 *N-(3-amino-3-metil-butanoil)-D-Trp-gTrp-CO-CH₃*
- Ejemplo 30
45 *N-Me-Aib-D-Trp-gTip-CO-CH₂-CH₂-cyclohexil*
- Aib-D-Trp-gTrp-CHO*
50 Ejemplo 31
N-Acetil-D-Trp-gTrp-CHO
- Ejemplo 33
55 *N-Formil-D-Trp-gTrp-CHO*
- Ejemplo 35
60 *N-Formil-D-Trp-gTrp-CO-CH₃*
- Ejemplo 36
65 *N-(1,1-dimetil-2-amino-2-keto-etil)-D-Trp-gTrp-CHO*
- N-(2-amino-2-metil-propil)-D-Trp-gTrp-CHO*

ES 2 288 724 T3

Ejemplo 38

N-(2-amino-2-metil-propil)-D-Trp-gTrp-CO-CH₃

5 Ejemplo 39

N-Me-Aib-D-Trp-D-gTrp-Isonipeicotil

10 Ejemplo 40

10 *N-Me-Aib-D-Trp-N-Me-D-gTrp-C(O)CH₃*

Ejemplo 41

15 *H-Aib-D-Trp-N-Me-D-gTrp-C(O)CH₃*

Ejemplo 42

20 *H-Aib-(D)-1-NalI-g-(D)-1-Nal-formil*

20 C30H32N4O3, 496 g.mol-1.

1H RMN (200 MHz, DMSO-d6): δ 1,14 y 1,4 (2m, 6H, 2 CH₃ (Aib)); 3,17-3,55 (m, 4H, 2 (CH₂) β); 4,82 (m, 1H, CH α); 5,5 y 5,82 (2m, 1H, CH α); 7,36-7,64 (m, 8H); 7,83-8 (m, 7H); 8,25- 9,45 (m, 5H).

25 Espectrometría de masa (FAB), m/z 497 [M+H]⁺.

30 Análisis por HPLC (Delta Pak 5 μ m C18 100A, 1 ml/min, 214 nm, eluente: H₂O / ACN (Acetonitrilo) 0,1% TFA, gradiente de ACN de 0 a 100% en 50 min), tr = 20.28 min, 99%. Compuesto liofilizado.

30 Ejemplo 43

H-Aib-(D)-2-NalI-g-(D)-2-Nal-formil

35 C30H32N4O3, 496 g.mol-1.

1H RMN (200 MHz, DMSO-d6): δ 1,18 y 1,36 (2m, 6H, 2 CH₃ (Aib)); 2,84-3,3 (m, 4H, 2 (CH₂) β); 4,7 (m, 1H, CH α); 5,45 y 5,73 (2m, 1H, CH α); 7,47-7,51 (m, 6H); 7,76-8,06 (m, 11H); 8,36- 9,11 (m, 3H).

40 Espectrometría de masa (FAB), m/z 497 [M+H]⁺.

40 Análisis por HPLC (Delta Pak 5 μ m C18, 100A, 1 ml / min, 214 nm, eluente: H₂O / ACN 0,1% TFA, gradiente de ACN de 0 a 100% en 50 min), tr = 20.26 min, 95%. Compuesto liofilizado.

45 Ejemplo 44

H-Aib-(D)-1-NalI-g-(D)-Trp-formil

50 C28H31N5O3, 485 g.mol-1.

50 1H RMN (200 MHz, DMSO-d6): δ 1,15 y 1,42 (2m, 6H, 2 CH₃ (Aib)); 3,11-3,3 y 3,54-3,7 (m, 4H, 2 (CH₂) β); 4,81 (m, 1H, CH α); 5,4 y 5,74 (2m, 1H, CH α); 7,06-7,2 (m, 3H); 7,34-7,65 (m, 6H); 7,91-8,1 (m, 4H); 8,2-8,4 (m, 1H); 8,55-9,5 (m, 3H); 10,95 (m, 1H, N1H).

55 Espectrometría de masa (FAB), m/z 486 [M+H]⁺.

55 HPLC analítico (Delta Pak 5 μ m C18 100A, 1 ml / min, 214 nm, eluente: H₂O / ACN 0,1% TFA, gradiente de ACN de 0 a 100% en 50 min), tr = 17.33 min, 92%. Compuesto liofilizado.

60 Ejemplo 45

H-Aib-(D)-2-NalI-g-(D)-Trp-formil

60 C28H31N5O3, 485 g.mol-1.

60 1H RMN (200 MHz, DMSO-d6): δ 1,19 y 1,45 (2m, 6H, 2 CH₃ (Aib)); 2,93-3,3 (m, 4H, 2 (CH₂) β); 4,71 (m, 1H, CH α); 5,35 y 5,7 (2m, 1H, CH α); 7,05-7,1 (m, 2H); 7,2-7,34 (m, 1 H); 7,47 - 7,53 (m, 4H); 7,64 (m, 1H); 7,78-8 (m, 8H); 8,48-9,37 (m, 2H); 10,88-11,04 (m, 1H, N1H).

ES 2 288 724 T3

Espectrometría de masa (FAB), m/z 486 [M+H]+.

5 Análisis por HPLC (Delta Pak 5 μ m, C18 100A, 1 ml / min, 214 nm, eluente: H2O / ACN 0,1% TFA, gradiente de ACN de 0 a 100% en 50 min), tr = 17.30 min, 95%. Compuesto liofilizado.

Ejemplo 46

H-Aib-(D)-Trp-g-(D)-1-Nal-formil

10 C28H31N5O3, 485 g.mol-1.

15 1H RMN (200 MHz, DMSO-d6): δ 1,23 y 1,41 (2m, 6H, 2 CH₃ (Aib)); 2,92-3,15 (m, 2H, (CH₂) β); 3,4-3,6 (m, 2H, (CH₂) β); 4,63 (m, 1H, CH α); 5,44 y 5,79 (2m, 1H, CH α'); 6,99-7,15 (m, 3H); 7,33 (m, 1H); 7,45-8,1 (m, 11H); 8,34-9,37 (m, 3H); 10,83 (m, 1H).

15 Espectrometría de masas (FAB), m/z 486 [M+H]+.

20 Análisis por HPLC (Protector simétrico 3,5 μ m, C18 100A 1 ml/min, 214 nm, eluente: H2O / ACN 0,1% TFA, gradiente de ACN de 0 a 60% en 15 min, luego ACN desde 60 a 100% en 3 min), tr = 10.00 min, 99%. Compuesto liofilizado.

Ejemplo 47

H-Aib-D-Trp-g-D-2-Nal-formil

25 C28H31N5O3, 485 g.mol-1.

30 1H RMN (200 MHz, DMSO-d6): δ 1,22 y 1,43 (2m, 6H, 2 CH₃ CH₃ (Aib)); 2,85-3,3 (m, 4H, 2 (CH₂) β); 4,64 (m, 1H, CH α); 5,37 y 5,72 (2m, 1H, CH α); 6,97-7,13 (m, 3H); 7,32 (m, 1H); 7,44-7,54 (m, 3H); 7,66 (d, 1H); 7,78 (m, 1H); 7,86-8,02 (m, 7H); 8,33-9,4 (m, 2H); 10,82 (m, 1H, N1H).

Espectrometría de masa (FAB), m/z 486 [M+H]+.

35 Análisis por HPLC (Delta Pak 5 μ m, C18 100A, 1 ml / min, 214 nm, eluente: H2O / ACN 0,1% TFA, gradiente de ACN de 0 a 100% en 25 min), tr = 9.00 min, 99%. Compuesto liofilizado.

Ejemplo 48

H-Aib-(D)-Trp-g-(D)-3-(R/s) Dht-formil

40 C26H32N6O3, 476 g.mol-1.

45 1H RMN (400 MHz, DMSO-d6): δ 1,12 (s, 3H, CH₃ (Aib)); 1,32 (s, 3H, CH₃ (Aib)); 1,73 (m, 1H, CH₂); 2,01 (m, 1H, CH₂); 2,9 (m, 1H); 3,03 (m, 1H); 3,13 (m, 2H); 3,54 (m, 1H); 4,47 (m, 1H, CH α); 5,10 y 5,52 (2m, 1H, CH α'); 6,71-8,83 (m, 16H, 5H (Trp), 4H (Dht), 3 NH (amidas), NH y NH2 (aminas), formil); 10,7 (m, 1H, N1H).

Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 477.46 [M+H]+, 499.42 [M+Na]+; 953.51 [2M+ H]+.

50 Análisis por HPLC (Delta Pak 5 μ m C18 100A, 1 ml / min, 214 nm, eluente: H2O / ACN 0,1% TFA, gradiente de ACN de 0 a 100% en 50 min), tr = 9.40 min, 98%. Compuesto liofilizado.

Ejemplo 49

H-Aib-(D)-3(R/S)Dht-g-(D)-Trp-formil

55 C26H32N6O3, 476g.mol-1.

60 1H RMN (400 MHz, DMSO-d6): δ 1,58 (s, 3H, CH₃ (Aib)); 1,85 (m, 1H, CH₂); 2,2 (m, 1H, CH₂); 3,1 (d, 2H); 3,35 (m, 2H); 3,56 (m, 1H); 3,7 (m, 1H); 4,5 (m; 1H, CH α); 5,33 y 5,71 (2m, 1H, CH α); 6,88-8,91 (m, 16H, 5H (Trp), 4H (Dht), 3 NH (amidas) , NH y NH2 (aminas), formil); 10,92 y 10,97 (2s, 1H, N1H).

Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 477,33 [M+I]+ 499,42 [M+Na]+ 953,51 [2M+ H]+.

65 Análisis por HPLC (Delta Pak 5 μ m, C18 100A, 1 ml / min, 214 nm, eluente: H2O / ACN 0,1% TFA, gradiente de ACN de 0 a 100% en 50 min), tr = 10.35 mm, 98%. Compuesto liofilizado.

ES 2 288 724 T3

Ejemplo 50

N-Me-Aib-(D)-Trp-g-(D)-3-(R/S)Dht-acetil

5 C28H36N6O3, 504 g.mol-1.

1H RMN (400 MHz, DMSO-d6): δ 1,42 (s, 3H, CH₃ (Aib)); 1,63 (s; 3H, CH₃ (Aib)); 2,72 (m, 3H, acetil); 2,4 (m, 2H, CH₂); 2,5 (m, 3H, NCH₃); 3,2-3,5 (m, 4H); 3,85 (m, 1H); 4,85 (m, 1H, CH α); 5,76 (m, 1H, CH α); 7,04-8,86 (m, 14H, 5H (Trp), 4H (Dht), 3 NH (amidas), 2 NH (aminas); 11,02 (2s, 1H, N1H).

10 Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 505,31 [M+H]⁺; 527,70 [M+Na]⁺.

15 Análisis por HPLC (Delta Pak 5 μ m, C18 100A, 1 ml / min, 214 nm, eluente: H₂O / ACN 0,1% TFA, gradiente de ACN de 0 a 100% en 50 min), tr = 10.20min, 98%. Compuesto liofilizado.

Ejemplo 51

N-Me-Aib-(D)-3(R/S) Dht-g-(D)-Trp-acetil

20 C28H36N6O3 504g.mol-1.

25 1H RMN (400 MHz, DMSO-d6): δ 1,58 (s, 6H, 2 CH₃ (Aib)); 1,81 (m, 3H, acetil); 1,98 (m, 1H, CH₂); 2,24 (m, 1H, CH₂); 2,54 (m, 3H, NCH₃); 3,08 (d, 2H); 3,31 (m, 2H); 3,4 (m, 1H); 3,59 (m, 1H); 3,71 (m, 1H); 4,52 (m, 1H, CH α); 5,61 (m, 1H, CH α); 6,9-8,92 (m, 14H, 5H (Trp), 4H (Dht), 3 NH (amidas), 2 NH (aminas)); 10,88 (s, 1H, N1H).

Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 505,43 [M+H]⁺; 527,52 [M+Na]⁺.

30 Análisis por HPLC (Delta Pak 5 μ m, C18 100A, 1 ml / min, 214 nm, eluente: H₂O / ACN 0,1% TFA, gradiente de ACN de 0 a 100% en 50 min), tr = 11 min, 98%. Compuesto liofilizado.

Ejemplo 52

N(Me)2-Aib-(D)-Trp-(D)-gTrp-formil

35 C28H36N6O3, 502 g.mol-1.

40 1H RMN (400 MHz, DMSO-d6): δ 1,2 (s, 3H, CH₃ (Aib)); 1,39 (s, 3H, CH₃ (Aib)); 2,29 (m, 3H, NCH₃); 2,99-3,33 (m, 4H, 2 (CH₂) β); 4,68 (m, 1H, CH α); 5,3 y 5,69 (m, 1H, CH α); 6,97-7,72 (m, 10H, 2 indoles); 7,97 (2s, 1H, formil); 8,2-9,47 (m, 3H, 3 NH (amidas)); 10,85 (m, 2H, 2 NH (indoles)).

Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 503,45 [M+H]⁺

45 Análisis por HPLC (Protector simétrico 3,5 μ m C18 100A, 1 ml / min, 214 nm, eluente: H₂O / ACN 0,1% TFA, gradiente de ACN de 0 a 100% en 15 min), tr = 6.63 min, 99%. Compuesto liofilizado.

Ejemplo 53

N(Me)2-Aib-D-Trp-D-gTrp-acetil

50 C29H36N6O3, 516 g.mol-1.

55 1H RMN (200 MHz, DMSO-d6): δ 1,22 (s, 3H, CH₃ (Aib)); 1,4 (s, 3H, CH₃ (Aib)); 1,8 (s, 3H, acetil); 2,28 (d, 3H, NCH₃); 2,96-3,22 (m, 4H, 2 (CH₂) β); 4,7 (m, 1H, (CH) α); 5,60 (m, 1H, (CH) α'); 6,98-7,75 (m, 10H, 2 indoles); 8,2-9,47 (m, 3H, 3 NH (amidas)); 10,84 (m, 2H, 2 NH (indoles)).

Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 517,34 [M+H]⁺.

60 Análisis por HPLC (Protector simétrico 3,5 μ m C18 100A, 1 ml / min, 214 nm, eluente: H₂O / ACN 0.1% TFA, gradiente de ACN de 0 a 100% en 15 min.), tr = 7.07 min, 99%. Compuesto liofilizado.

Ejemplo 54

H-Acc3-(D)-Trp-(D)-gTrp-formil

65 C26H28N6O3, 472 g.mol-1.

ES 2 288 724 T3

1H RMN (400 MHz, DMSO-d6): δ 1.11 y 1.5 (2m, 4H, 2 CH₂ (Acc3)); 2.91-3.12 (m, 4H, 2 (CH₂) β); 4.6 (m, 1H, CH α); 5.3 y 5.7 (2m, 1H, CH α); 6.97-7.17 (m, 6H, indoles); 7.32 (m, 2H, indoles); 7.62-7.72 (m, 2H, indoles); 7.97 (2s, 1H, formil); 8.27-8.92 (m, 5H, 3 NH (amidas) y NH2 (amina)); 10.80-10.90 (4s, 2H, 2 N1H).

5 Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 473.22 [M+H]+; 495.15 [M+Na]+; 945.47 [2M+H]+; 967.32 [2M + Na]+.

10 Análisis por HPLC (Delta Pak 5 μ m, C18 100A, 1 ml / min, 214 nm, eluente: H₂O /ACN 0,1% TFA , gradiente de ACN de 0 a 100% en 50 min), tr = 14.20 min, 98%. Compuesto liofilizado.

Ejemplo 55

H-Acc5-(D)-Trp-(D)-gTrp-formil

15 C26H28N6O3, 472 g.mol-1

1H RMN (400 MHz, DMSO-d6): δ 1,51 y 2,31 (m, 8H, 4 CH₂ (Acc5)); 2,97-3,18 (m, 4H, 2 (CH₂) β); 4,64 (m, 1H, CH α); 5,31 y 5,69 (2m, 1H, CH α); 6,96-7,34 (m, 8H, indoles); 7,62-7,74 (m, 2H, indoles); 7,96 (m, 3H, formil y NH2 (amina)); 8,48-8,96 (m, 3H, 3 NH (amidas); 10,80-10,90 (4s, 2H, 2 N1H).

20 Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 501,31 [M+H]+; 523,42 [M+Na]+; 101,37 [2M+H]+.

25 Análisis por HPLC (Delta Pak 5 μ m, C18 100A, 1 ml / min, 214 nm, eluente: H₂O /ACN 0,1% TFA, gradiente de ACN de 0 a 100% en 50 min) tr = 15.35 min, 98%. Compuesto liofilizado.

Ejemplo 56

H-Acc6-(D)-Trp-(D)-gTrp-formil

30 C26H28N6O3, 472 g.mol-1.

35 1H RMN (400 MHz, DMSO-d6): δ 1,29 - 1,57 (m, 8H, 4 CH₂ (Acc6)); 1,89 y 2,04 (2m, 2H, CH₂ (Acc6)); 2,95-3,17 (m, 4H, 2 (CH₂) β ; 4,61 (m, 1H, CH α); 5,3 y 5,68 (2m, 1H, CH α); 6,95-7,21 (m, 6H, indoles); 7,32 (m, 2H, indoles); 7,6 (m, 2H, indoles); 7,74 (m, 2H, indoles); 7,96 (m, 3H, formil y NH2 (amina)); 8,18-8,67 (m, 5H, 3 NH (amidas)); 10,77 - 10,89 (4s, 2H, 2N1H).

Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 515.11 [M+H]+.

40 Análisis por HPLC (Delta Pak 5 μ m, C18 100A, 1 ml / min, 214 nm, eluente: H₂O /ACN 0,1% TFA, gradiente de ACN de 0 a 100% en 50 min), tr = 15.9 min, 97%. Compuesto liofilizado.

Ejemplo 57

H-Dpg-(D)-Trp-(D)-gTrp-formil

45 C26H28N6O3, 530 g.mol-1.

50 1H RMN (400 MHz, DMSO-d6): δ 0 (m, 1H, Dpg); 0,40 (m, 3H, Dpg); 0,70 (m, 4H, Dpg); 1,01-1,51 (m, 5H, Dpg); 1,76 (m, 1H, Dpg); 2,82-2,95 (m, 4H, 2 (CH₂) β); 4,59 (m, 1H, CH α); 5,3 y 5,54 (2m, 1H, CH α); 6,81-7,09 (m, 6H, indoles); 7,19 (m, 2H, indoles); 7,48 (m, 1 H, indoles); 7,6-7,68 (m, 5H, 1H (indoles), formil y NH2 (amina); 7,83-8,82 (m, 3H, 3 NH (amidas)); 10,69 y 10,76 (2m, 2H, 2N1H).

Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 531,24 [M+H]+.

55 Análisis por HPLC (Delta Pak 5 μ m, C18 100A, 1 ml / min, 214 nm, eluente: H₂O /ACN 0,1% TFA, gradiente de ACN de 0 a 100% en 50 min) tr = 15.35 min, 98%. Compuesto liofilizado.

Ejemplo 58

60 *H-Aib-(D)-Trp-(D)-gTrp-C(O)NH CH₂ CH₃*

C26H25N7O3, 517 g.mol-1

65 1H RMN (400 MHz, DMSO-d6): δ 0,94 (t, 3H, NH CH₂ CH₃); 1,01 (s, 3H, CH₃ (Aib)); 1,08 (s, 3H, CH₃ (Aib)); 1,8 (s, 2H, NH2); 2,95-3,15 (m, 6H, 2 (CH₂) β y NH CH₂ CH₃); 4,43 (m, 1H, CH α); 5,39 (m, 1H, CH α ’); 6,02 (m, 1H); 6,22 (m, 1H); 6,9-7,56 (m, 10H, indoles); 8 (m, 1H); 8,31 (m, 1H); 10,77 y 10,79 (2s, 2H, 2N1H).

Espectrometría de masa (Electrospray), m/z 518,4 [M+H]+ 540,3 [M+Na]+.

ES 2 288 724 T3

Análisis por HPLC (Protector simétrico 3,5 μ m, C18 100A 1 ml/min, 214 nm, eluente: H₂O / ACN 0,1% TFA, gradiente de ACN de 0 a 100% en 15 min), tr = 7,12 min, 99%. Compuesto liofilizado.

Ejemplo 59

5 *N*-Me-Aib-(D)-Trp-(D)-gTrp-C(O)NH CH₂ CH₃

Los ejemplos 60 al 62 son compuestos de referencia.

10 Ejemplo 60

H-Aib-(R)-Me-Trp-(D)-gTrp-formil

Ejemplo 61

15 *H*-Aib-(D)-Trp-(R)-Me-gTrp-formil

Ejemplo 62

20 *H*-Me-Aib-(D)-Trp-(R)-Me-gTrp-acetil

Ejemplo 63

25 *Evaluación de la actividad de liberación de la hormona del crecimiento de nuevos estimuladores de secreción de la hormona del crecimiento en ratas infantes*

Animales

Se emplearon ratas machos Sprague Dawley de 10 días de edad, con aproximadamente 25 g de peso corporal.

30 Las crías se recibieron al quinto día de nacidas y se mantuvieron alojadas en condiciones controladas (22 \pm 2°C, 65% de humedad y luz artificial de 06.00 a 20.00 h). Una dieta estándar de alimento seco y agua estuvieron disponibles a las madres *ad limitum* (A libre voluntad).

35 *Procedimiento experimental*

Una hora antes de los experimentos, las crías se separaron de sus madres y se dividieron al azar en grupos de ocho. Las crías se desafilaron intensivamente por vía subcutánea con 100 μ l de solvente (DMSO, 1:300 de dilución final en solución salina fisiológica), hexarelin (Tyr-Ala-His-D-Mrp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂ usada como fármaco de referencia), o los nuevos compuestos (300 μ g / kg) y se sacrificaron por decapitación 15 minutos más tarde.

40 La sangre del torso se colectó y centrifugó inmediatamente: las muestras de plasma se almacenaron a -20°C hasta que fueron ensayadas para la determinación de la concentración de GH en el plasma.

45 Las concentraciones plasmáticas de la hormona del crecimiento se midieron por RIA, usando materiales proporcionados por el Instituto Nacional de Diabetes y Enfermedades Digestivas y Renales (NIDDK) de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de América.

50 Los valores se expresaron en ng/ml de plasma, referidos al estándar del NIDDK, NIDDK-rata-GH-RP-2 (potencia 21 U/mg).

55 El mínimo valor detectable de GH de rata fue alrededor de 1,0 ng/ml, y la variabilidad entre ensayos fue aproximadamente del 6%.

55 Los resultados obtenidos de varias series de ensayos, en los que fue determinada la actividad en vivo en ratas, se relacionan en las tablas 1 a 10.

60

65

ES 2 288 724 T3

TABLA 1

Ejemplo	Estructura	GH ng/ ml
1	H-Aib-D-Trp-D-gTrp-CHO	158,8 ± 39,4
13	H-Aib-D-Trp-gTrp-CHO	58 ± 6,3
SOLVENTE		15,0 ± 8,0
HEXARELINA	Tyr-Ala-His-D-Mrp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH2	202 ± 32,7

TABLA 2

Ejemplo	Estructura	GH ng/ ml
3	N-Me-Aib-D-Trp-D-gTrp-CHO	86,6 ± 12,6
4	H-Aib-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH3	104,7 ± 13,5
5	N-Me-Aib-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH3	175,5 ± 37,2
SOLVENTE		20,7 ± 0,9
HEXARELINA	Tyr-Ala-His-D-Mrp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH2	134,5 ± 27,2

TABLA 3

Ejemplo	Estructura	GH ng/ ml
6	Pip-D-Trp-D-gTrp-CHO	109,7 ± 10,1
7	Pip-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH3	53,1 ± 6,6
8	Isonipecotil-D-Trp-D-gTrp-CHO	94,2 ± 8,6
9	Isonipecotil-D-Trp-D-gTrp-C(O)CH3	61,2 ± 10,8
19	Aib-D-Trp-gTrp-CO-CH ₂ -CH ₃	79,8 ± 22,4
20	Aib-D-Trp-gTrp-CO-Piperidina-4-il	153,6 ± 30,6
SOLVENTE		22,3 ± 5
HEXARELINA	Tyr-Ala-His-D-Mrp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH2	114,7 ± 8,4

ES 2 288 724 T3

TABLA 4

Ejemplo	Estructura	GH ng/ ml
39	N-Me-Aib-D-Trp-D-gTrp- Isonipecotil	97,1 ± 21,0
40	N-Me-Aib-D-Trp-N-Me-D-gTrp-C(O)CH3	188,2 ± 28,5
41	H-Aib-D-Trp-N-Me-D-gTrp-C(O)CH3	75,4 ± 15,0
SOLVENTE		10,55 ± 2,65
HEXARELINA	Tyr-Ala-His-D-Mrp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH2	114,5 ± 12,9

TABLA 5

Ejemplo	Estructura	GH ng/ ml
42	H-Aib-(D)-1-Nal-g-(D)-1-Nal-formil	25,05 ± 06,00
43	H-Aib-(D)-2-Nal-g-(D)-2-Nal-formil	37,33 ± 19,74
44	H-Aib-(D)-1-Nal-g-(D)-1-Trp-formil	15,04 ± 03,30
45	H-Aib-(D)-2-Nal-g-(D)-1-Trp-formil	13,91 ± 03,87
46	H-Aib-(D)-Trp-g-(D)-1-Nal-formil	8,26 ± 01,09
47	H-Aib-(D)-Trp-g-(D)-2-Nal-formil	9,04 ± 04,03
SOLVENTE		6,49 ± 01,18
HEXARELINA		276,01 ± 23,5

60

65

ES 2 288 724 T3

TABLA 6

Ejemplo	Estructura	GH ng/ ml
48	H-Aib-(D)-Trp-g-3(R/S)Dht-formil	17,49 ± 2,40
49	H-Aib-(D)-3(R/S)Dht-(D)-Trp-formil	24,35 ± 4,85
50	N-Me-Aib-(D)-Trp-(D)-3(R/S)Dht-acetil	11,17 ± 1,35
51	H-Me-Aib-(D)-3(R/S)Dht-(D)-Trp-acetil	19,38 ± 4,16
SOLVENTE		14,65 ± 0,92
HEXARELINA		91,61 ± 4,09

TABLA 7

Ejemplo	Estructura	GH ng/ ml
52	N(Me)2-Aib-(D)-Trp-(D)-gTrp-formil	121,43 ± 29
53	N(Me)2-Aib-(D)-Trp-(D)-gTrp-acetil	26,80 ± 5,64
SOLVENTE		7,89 ± 1,77
HEXARELINA		172,5 ± 38,53

TABLA 8

Ejemplo	Estructura	GH ng/ ml
60	H-Aib-(R)-Me-Trp-(D)-gTrp-formil	21,02 ± 3,43
61	H-Aib-(D)-Trp-(R)-Me-gTrp-formil	152,28 ± 43,76
62	H-Me-Aib-(D)-Trp-(R)-Me-gTrp-acetil	171,78 ± 10,32
SOLVENTE		7,89 ± 1,77
HEXARELINA		172,5 ± 38,53

ES 2 288 724 T3

TABLA 9

Ejemplo	Estructura	GH ng/ ml
54	H-Acc3-(D)-Trp-(D)-gTrp-formil	7,89 ± 3,20
55	H-Acc5-(D)-Trp-(D)-gTrp-formil	11,46 ± 1,18
56	H-Acc6-(D)-Trp-(D)-gTrp-formil	8,49 ± 0,40
57	H-Dpg-(D)-Trp-(D)-gTrp-formil	18,38 ± 2,88
SOLVENTE		17,32 ± 1,70
HEXARELINA		89,91 ± 3,04

TABLA 10

Ejemplo	Estructura	GH ng/ ml
58	H-Aib-(D)-Trp-(D)-gTrp-C(O)NH CH ₂ CH ₃	376,48 ± 43,24
59	N-Me-Aib-(D)-Trp-(D)-gTrp-C(O)NH CH ₂ CH ₃	179,53 ± 24,65
SOLVENTE		7,89 ± 1,77
HEXARELINA		172,5 ± 38,53

Adicionalmente, se estimó para el ejemplo 1 (H-Aib-D-Trp-D-gTrp-CHO) la dependencia con el tiempo de la actividad oral en el perro (1 mg/kg; por boca) Se emplearon perros Beagle bien entrenados, de cualquier sexo, > 10 años, 10-15 kg de peso. Los animales se alimentaron con alimento normal desecado y agua ad libitum y se sometieron a un régimen de 12 h de luz/12 h de oscuridad, comenzando a las 7.00 h. El compuesto se administró oralmente a los perros, que estuvieron en ayunas desde las 16:00 h del día anterior. Las muestras de sangre se tomaron 20 min antes de la administración, y a los 15, 30, 60, 90, 120 y 180 min después de la administración. Los resultados se presentan en la tabla 11.

55

60

65

ES 2 288 724 T3

TABLA 11

Ejemplo	NOMBRE DEL PERRO								
1	DAKOTA	JORMA	RAZ DEGAN	FORREST LEE	MARKUS	TAYLOR	VALOR MEDIO	SEM	
t (min)	Concentración GH (ng/ml)								
-20	0.48	3.58	2.14	1.43	2.45	2.32	2.07	0.38	
0	0.35	2.75	1.64	2.01	2.55	1.41	1.79	1.03	
15	2.11	8.91	3.58	6.38	6.11	4.8	5.32	1.02	
30	0.54	6.85	6.37	8.48	6.9	3.89	5.5	1.07	
60	0.17	2.65	3.02	4.41	6.51	4.34	3.52	0.84	
90	0.4	2.47	2.61	6.42	5.18	4.43	3.59	0.66	
120	3.58	2.48	1.94	3.71	4.54	4.28	3.42	0.38	
180	3.46	2.82	1.49	3.18	4.12	3.18	3.04	0.36	
AUC	328.53	658.38	510.64	888.91	944.26	721.34	675.35	94.47	

SEM = Desviación estándar AUC = Área bajo la curva

30

35

40

45

50

55

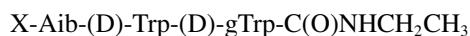
60

65

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula:

5



Donde X = H ó N-Me.

10

2. Una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de la reivindicación 1.

15

3. La composición de la reivindicación 2, en combinación con un portador aceptable farmacéuticamente.

20

4. La composición de la reivindicación 2, en combinación con un estimulador adicional de la secreción de la hormona del crecimiento.

5. El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, para la fabricación de un medicamento para elevar el nivel plasmático de la hormona del crecimiento en un mamífero.

25

6. El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la deficiencia en la secreción de la hormona de crecimiento.

30

7. El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del retraso de crecimiento en un niño.

8. El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de los trastornos metabólicos relacionados con la deficiencia en la secreción de la hormona del crecimiento en un sujeto.

35

9. El uso como se reivindica en la reivindicación 8, donde el sujeto es un sujeto envejecido

10. El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, para la fabricación de un medicamento para promover la cicatrización de heridas, la recuperación de intervenciones quirúrgicas o de enfermedades debilitantes.

40

45

50

55

60

65