



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 697 34 215 T2** 2006.06.29

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 184 370 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **697 34 215.8**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **01 123 155.2**

(96) Europäischer Anmeldetag: **17.07.1997**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **06.03.2002**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **14.09.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **29.06.2006**

(51) Int Cl.⁸: **C07C 281/06** (2006.01)

C07D 207/08 (2006.01)

A61K 31/16 (2006.01)

A61K 31/395 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

80396 22.07.1996 DK

(73) Patentinhaber:

Novo Nordisk A/S, Bagsvaerd, DK

(74) Vertreter:

**Patent- und Rechtsanwälte Bardehle, Pagenberg,
Dost, Altenburg, Geissler, 81679 München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI,
LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**Peschke, Bernd, 2760 Malöv, DK; Ankersen,
Michael, 3660 Stenløse, DK; Hansen, Thomas
Kruse, 2730 Herlev, DK; Thøgersen, Henning, 3520
Farum, DK**

(54) Bezeichnung: **Verbindungen mit Wachstumshormon-freisetzenden Eigenschaften**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung**GEBIET DER ERFINDUNG**

[0001] Die Erfindung betrifft neue Verbindungen, Arzneimittel, die diese enthalten, ein Verfahren zum Stimulieren der Freisetzung von Wachstumshormon aus der Hypophyse, ein Verfahren zum Erhöhen der Geschwindigkeit und des Ausmaßes des Wachstums von Tieren zur Steigerung deren Milch- oder Wollproduktion oder zur Behandlung von Beschwerden und die Verwendung der Verbindungen zur Herstellung von Arzneimitteln.

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0002] Wachstumshormon ist ein Hormon, das das Wachstum aller Gewebe, die in der Lage sind, zu wachsen, stimuliert. Zusätzlich ist bekannt, dass Wachstumshormon zahlreiche Wirkungen auf Stoffwechselprozesse ausübt, z.B. Stimulierung der Proteinsynthese und der Mobilisierung von freien Fettsäuren, und eine Umstellung beim Energiestoffwechsel vom Kohlenhydrat- zum Fettsäurestoffwechsel verursacht. Ein Mangel an Wachstumshormon kann zu verschiedenen schweren medizinischen Störungen, z.B. Zwergwuchs, führen.

[0003] Wachstumshormon wird aus der Hypophyse freigesetzt. Die Freisetzung steht entweder direkt oder indirekt unter enger Kontrolle zahlreicher Hormone und Neurotransmitter. Die Freisetzung von Wachstumshormon kann durch das Wachstumshormon-freisetzende Hormon („growth hormone releasing hormone“; GHRH) stimuliert und durch Somatostatin gehemmt werden. In beiden Fällen werden die Hormone aus dem Hypothalamus freigesetzt, aber ihre Wirkung wird primär über spezifische Rezeptoren, die sich in der Hypophyse befinden, vermittelt. Es sind auch andere Verbindungen, die die Freisetzung von Wachstumshormon aus der Hypophyse stimulieren, beschrieben worden. Beispielsweise setzen Arginin, L-3,4-Dihydroxyphenylalanin (L-Dopa), Glucagon, Vasopressin, PACAP („pituitary adenylyl cyclase activating peptide“; Hypophysen-Adenylylcyclase aktivierendes Peptid), Agonisten muskarinischer Rezeptoren und ein synthetisches Hexapeptid, GHRP („growth hormone releasing peptide“; Wachstumshormon-freisetzendes Peptid) endogenes Wachstumshormon entweder durch eine direkte Wirkung auf die Hypophyse oder durch Beeinflussung der Freisetzung von GHRH und/oder Somatostatin aus dem Hypothalamus frei.

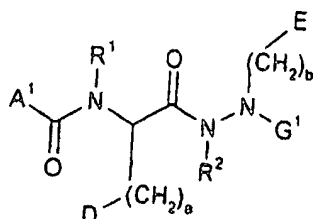
[0004] Bei Störungen oder Zuständen, bei denen erhöhte Spiegel an Wachstumshormon erwünscht sind, macht die Protein-Natur von Wachstumshormon alles außer einer parenteralen Verabreichung unmöglich. Darüber hinaus sind andere direkt wirkende natürliche Sekretagoge, z.B. GHRH und PACAP, längere Polypeptide, aus welchem Grunde eine orale Verabreichung von diesen nicht möglich ist.

[0005] Die Verwendung von bestimmten Verbindungen zum Erhöhen der Spiegel von Wachstumshormon bei Säugetieren ist bereits früher vorgeschlagen worden, z.B. in EP 18 072, EP 83 864, WO 89/07110, WO 89/01711, WO 89/10933, WO 88/9780, WO 83/02272, WO 91/18016, WO 92/01711, WO 93/04081, WO 95/17422, WO 95/17423, WO 95/14666, WO 96/15148 und WO 96/10040.

[0006] Die Zusammensetzung von Wachstumshormon freisetzenden Verbindungen ist für deren Wachstumshormonfreisetzungskraft wie auch deren biologische Verfügbarkeit von Bedeutung. Es ist dementsprechend eine Aufgabe der Erfindung, neue Verbindungen mit Wachstumshormon freisetzenden Eigenschaften bereitzustellen.

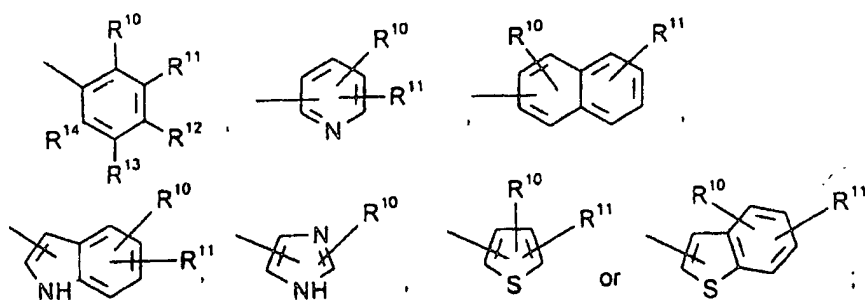
ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0007] Dementsprechend betrifft die Erfindung eine Verbindung der allgemeinen Formel VII



Formel VII,

worin E Wasserstoff, $-O-(CH_2)_r-R^{10a}$,

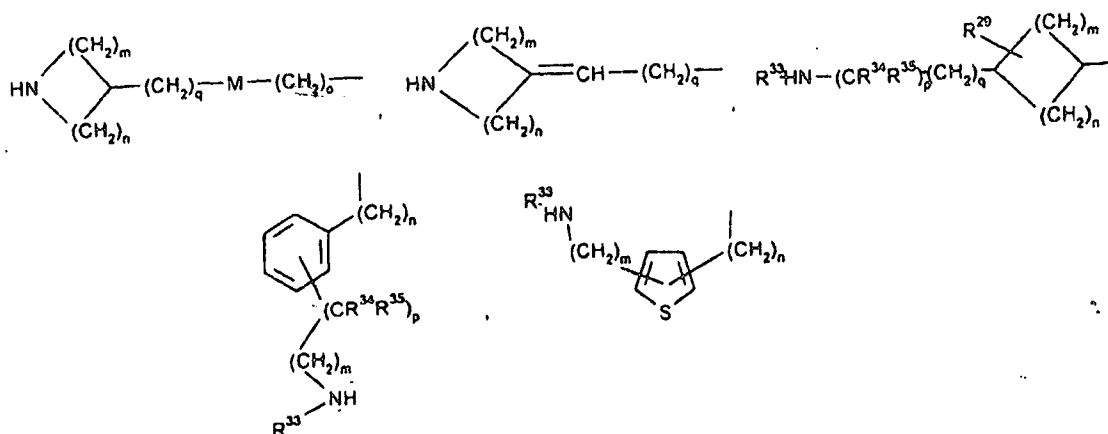
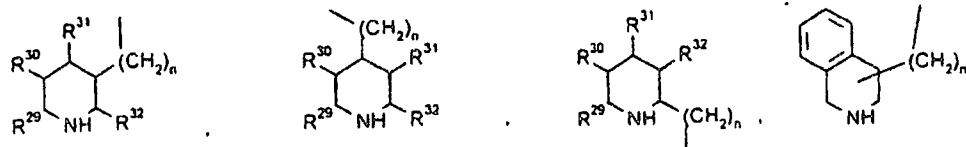


ist, worin R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} und R^{14} unabhängig voneinander Wasserstoff, Halogen, Aryl, C_{1-6} -Alkyl-, C_{1-6} -Alkoxy sind,

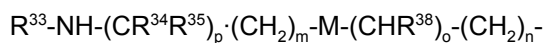
R^{10a} Wasserstoff, Aryl oder C_{1-6} -Alkyl ist,

l 0, 1, 2 oder 3 ist

A^1



oder



ist,

wobei R^{29} , R^{30} , R^{31} , R^{32} , R^{33} , R^{34} , R^{35} und R^{36} unabhängig voneinander Wasserstoff oder C_{1-6} -Alkyl gegebenenfalls substituiert mit Halogen, Amino, Hydroxyl oder Aryl sind;

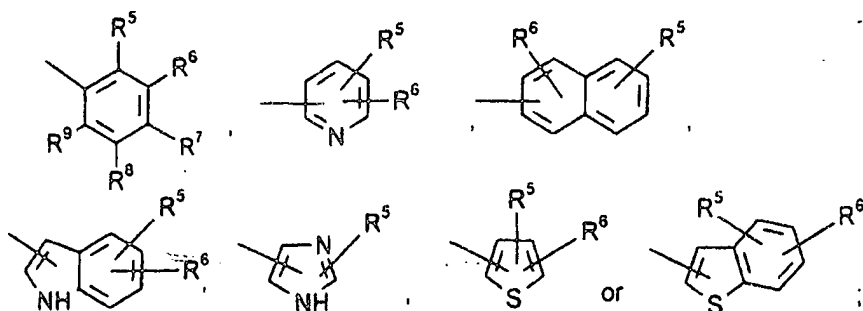
R^{33} und R^{34} , R^{33} und R^{35} oder R^{34} und R^{35} gegebenenfalls $-(CH_2)_i-Z-(CH_2)_j-$, worin i und j unabhängig voneinander 1 oder 2 sind und Z -O-, -S- oder eine Valenzbindung ist, bilden können;

n , m und q unabhängig voneinander 0, 1, 2 oder 3 sind;

o und p unabhängig voneinander 0 oder 1 sind; M - $CR^{37}=CR^{38}$ -, -O- oder -S- ist;

R^{37} und R^{38} unabhängig voneinander Wasserstoff oder gegebenenfalls mit Aryl substituiertes C_{1-6} -Alkyl sind;

D Wasserstoff, $-O-(CH_2)_k-R^{5a}$,

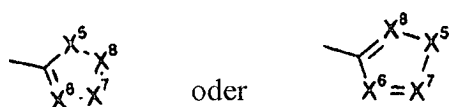


ist, worin R^5 , R^6 , R^7 , R^8 und R^9 unabhängig voneinander Wasserstoff, Halogen, Aryl, C_{1-6} -Alkyl oder C_{1-6} -Alkoxy sind;

R^{5a} Wasserstoff, Aryl oder C_{1-6} -Alkyl ist;

k 0, 1, 2 oder 3 ist;

G^1 Wasserstoff, Halogen, Aryl, C_{1-6} -Alkyl, C_{1-6} -Alkoxy, $-\text{CONR}^{39}\text{R}^{40}$, $-(\text{CH}_2)_e\text{-NR}^{39}\text{SO}_2\text{R}^{41}$, $-(\text{CH}_2)_e\text{-NR}^{39}\text{COR}^{40}$, $-(\text{CH}_2)_e\text{-OR}^{41}$, $-(\text{CH}_2)_e\text{-OCOR}^{40}$, $-\text{CH}(\text{R}^{39})\text{R}^{40}$, $-\text{CONR}^{39}\text{-NR}^{40}\text{R}^{42}$, $-(\text{CH}_2)_e\text{-NR}^{39}\text{-CS-NR}^{40}\text{R}^{42}$, $-(\text{CH}_2)_e\text{NR}^{39}\text{-CO-NR}^{40}\text{R}^{42}$,



ist,

worin

X^5 $-\text{N}(\text{R}^{43})$ -, $-\text{O}$ - oder $-\text{S}$ - ist,

X^6 $-\text{C}(\text{R}^{44})=$ oder $-\text{N}=$ ist,

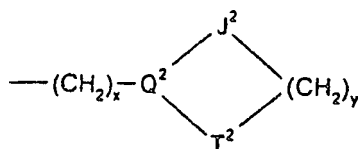
X^7 $-\text{C}(\text{R}^{45})=$ oder $-\text{N}=$ ist,

X^8 $-\text{C}(\text{R}^{22})=$ oder $-\text{N}=$ ist,

R^{43} Wasserstoff oder C_{1-6} -Alkyl gegebenenfalls substituiert mit Aryl ist,

R^{44} , R^{45} und R^{46} unabhängig voneinander Wasserstoff, $-\text{COOR}^{47}$, $-\text{CONR}^{38}\text{R}^{49}$, $-(\text{CH}_2)_f\text{NR}^{48}\text{R}^{49}$, $-(\text{CH}_2)_f\text{OR}^{47}$, $-(\text{CH}_2)_f\text{R}^{47}$ oder Halogen sind;

R^{39} , R^{40} , R^{47} und R^{49} unabhängig voneinander Wasserstoff oder C_{1-6} -Alkyl gegebenenfalls substituiert mit Halogen, $-\text{N}(\text{R}^{50})\text{R}^{51}$, Hydroxy, C_{1-6} -Alkoxy, C_{1-6} -Alkoxycarbonyl, C_{1-6} -Alkykarbonyloxy oder Aryl sind, oder R^{40}



ist, worin

$-\text{Q}^2<$ $-\text{CH}<$ oder $-\text{N}<$ ist,

J^2 und T^2 unabhängig voneinander $-\text{CH}_2$ -, $-\text{CO}$ -, $-\text{O}$ -, $-\text{S}$ -, NR^{52} oder eine Valenzbindung sind,

wobei R^{52} Wasserstoff oder C_{1-6} -Alkyl ist;

x und y unabhängig voneinander 0, 1, 2, 3 oder 4 sind;

R^{41} C_{1-6} -Alkyl substituiert mit Aryl ist

R^{42} C_{1-6} -Alkyl ist;

R^{50} und R^{51} unabhängig voneinander Wasserstoff oder C_{1-6} -Alkyl sind;

e und f unabhängig voneinander 0, 1, 2 oder 3 sind;

R^1 Wasserstoff oder C_{1-6} -Alkyl ist;

R^2 Wasserstoff oder C_{1-6} -Alkyl ist;

a und b unabhängig voneinander 0, 1, 2 oder 3 sind;

oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon.

[0008] In einer Ausführungsform der Verbindung der Formel VII ist A^1 (1E)-4-Amino-4-methylpent-1-enyl, (2-Amino-2-methylpropoxy)methyl, ((2S)-Pyrrolidin-2-yl)methoxymethyl, 4-Piperidinyll oder (1E)-4-((2R)-2-hydroxypropylamino)-4-methylbut-1-enyl.

[0009] In einer weiteren Ausführungsform der Verbindung der Formel VII ist D (2-Naphthyl), Benzyloxy oder Biphenyl-4-yl.

[0010] In einer anderen Ausführungsform der Verbindung ist E Phenyl, 2-Thienyl oder 2-(Methylsulfonylamino)phenyl.

[0011] In noch einer anderen Ausführungsform der Erfindung ist G¹ Wasserstoff, Methylcarbamoyl oder Ethylcarbamoyl.

[0012] In weiteren Ausführungsformen der Verbindungen ist R¹ Methyl.

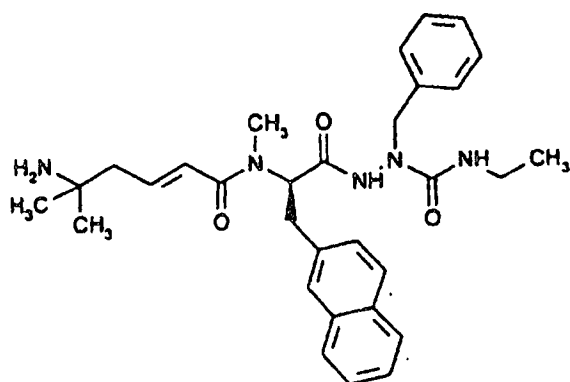
[0013] In weiteren Ausführungsformen der Verbindungen ist R² Methyl oder Wasserstoff.

[0014] In weiteren Ausführungsformen der Verbindungen ist a 1.

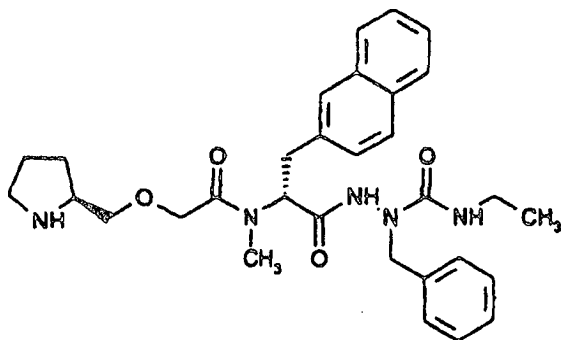
[0015] In weiteren Ausführungsformen der Verbindungen ist b 1.

[0016] Bei bevorzugten Verbindungen der Erfindung handelt es sich um:

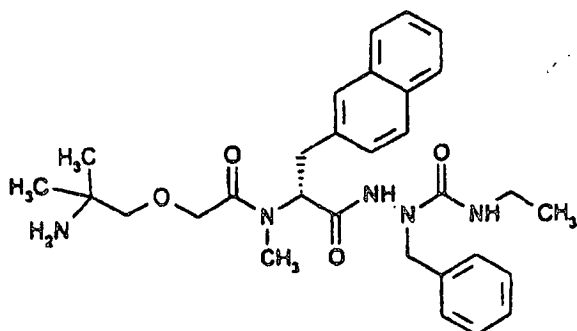
1-((2R)-2-(N-((2E)-5-Amino-5-methylhex-2-enoyl)-N-methylamino)-3-(2-naphthyl)propionyl)-2-benzyl-4-ethylsemicarbazid:



1-((2R)-2-(N-(((2S)-Pyrrolidin-2-yl)methoxy)acetyl)-N-methylamino)-3-(2-naphthyl)propionyl)-2-benzyl-4-ethylsemicarbazid:



1-((2R)-2-(N-2-Amino-2-methylpropoxy)acetyl)-N-methylamino)-3-(2-naphthyl)propionyl)-2-benzyl-4-ethylsemicarbazid:



und pharmazeutisch verträgliche Salze davon.

[0017] Es wird angenommen, dass Verbindungen der Formel VII aufgrund des Fehlens von natürlichen Peptidbindungen verglichen mit jener der Peptide, die in der früheren Literatur vorgeschlagen worden sind, eine verbesserte Widerstandsfähigkeit gegenüber einem proteolytischen Abbau durch Enzyme aufweisen. Es wird erwartet, dass die erhöhte Widerstandsfähigkeit gegenüber einem proteolytischen Abbau kombiniert mit der geringeren Größe der Verbindungen der Erfindung verglichen mit bekannten Wachstumshormon freisetzenden Peptiden deren biologische Verfügbarkeit verglichen mit jener der in der früheren Literatur vorgeschlagenen Peptide verbessern wird.

[0018] In den vorstehenden Strukturformeln und in der gesamten vorliegenden Beschreibung haben die folgenden Begriffe die angegebenen Bedeutungen:

Die vorstehend angegebenen C₁₋₆-Alkylgruppen sollen jene Alkylgruppen der angegebenen Länge in einer entweder linearen oder verzweigten oder cyclischen Konfiguration einschließen. Beispiele von linearem Alkyl sind Methyl, Ethyl, Propyl, Butyl, Pentyl und Hexyl. Beispiele von verzweigtem Alkyl sind Isopropyl, sek.-Butyl, tert.-Butyl, Isopentyl und Isohexyl. Beispiele von cyclischem Alkyl sind C₃₋₆-Cycloalkyl, wie Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl und Cyclohexyl.

Die vorstehend angegebenen C₁₋₆-Alkoxygruppen sollen jene Alkoxygruppen der angegebenen Länge in einer entweder linearen oder verzweigten oder cyclischen Konfiguration einschließen. Beispiele von linearem Alkoxy sind Methoxy, Ethoxy, Propoxy, Butoxy, Pentoxy und Hexoxy. Beispiele von verzweigtem Alkoxy sind Isopropoxy, sek.-Butoxy, tert.-Butoxy, Isopentoxy und Isohexoxy. Beispiele von cyclischem Alkoxy sind Cyclopropyloxy, Cyclobutyloxy, Cyclopentyloxy und Cyclohexyloxy.

[0019] In dem vorliegenden Kontext soll der Begriff „Aryl“ aromatische Ringe, wie carbocyclische und heterocyclische aromatische Ringe, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Phenyl, Naphthyl, Pyridyl, 1-H-Tetrazol-5-yl, Thiazolyl, Imidazolyl, Indolyl, Pyrimidinyl, Thiadiazolyl, Pyrazolyl, Oxazolyl, Isoxazolyl, Oxadiazolyl, Thienyl, Chinolinyl, Pyrazinyl oder Isothiazolyl, gegebenenfalls substituiert durch ein oder mehrere C₁₋₆-Alkyl, C₁₋₆-Alkoxy, Halogen, Amino oder Aryl, einschließen. Aryl ist vorzugsweise Phenyl, Thienyl, Imidazolyl, Oxadiazolyl, Pyridyl, Indolyl, Chinolinyl oder Naphthyl, gegebenenfalls substituiert mit Halogen, Amino, Hydroxy C₁₋₆-Alkyl oder C₁₋₆-Alkoxy.

[0020] Der Begriff „Halogen“ soll Cl, F, Br und I einschließen.

[0021] Die Verbindungen der Erfindung können ein oder mehrere Asymmetriezentren aufweisen und es ist beabsichtigt, dass Stereoisomere in Form von getrennten, reinen oder teilweise gereinigten Stereoisomeren oder racemische Mischungen davon in dem Umfang der Erfindung mit eingeschlossen sind.

[0022] Die Verbindungen der Erfindung können gegebenenfalls in Form von pharmazeutisch verträglichen Salzen vorliegen, wie den pharmazeutisch verträglichen Säureadditionssalzen von Verbindungen der Formel VII, die jene einschließen, die hergestellt worden sind, indem man die Verbindung der Formel VI mit einer anorganischen oder organischen Säure, wie Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Essigsäure, Phosphorsäure, Milchsäure, Maleinsäure, Phthalsäure, Citronensäure, Glutarsäure, Gluconsäure, Methansulfonsäure, Salicylsäure, Bernsteinsäure, Weinsäure, Toluolsulfonsäure, Trifluoressigsäure, Sulfaminsäure oder Fumarsäure, umsetzt.

[0023] Die Verbindungen der Formel VII können in Form von pharmazeutisch verträglichen Säureadditionssalzen oder, wo passend, als ein Alkalimetall- oder Erdalkalimetall- oder Niederalkylammoniumsalz verabreicht werden. Es wird angenommen, dass solche Salzformen etwa die gleiche Größenordnung an Aktivität wie die freien Basenformen zeigen.

[0024] In einem anderen Aspekt betrifft die Erfindung ein Arzneimittel, das als Wirkstoff eine Verbindung der allgemeinen Formel VII oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon zusammen mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger oder Verdünnungsmittel umfasst.

[0025] Arzneimittel, die eine Verbindung der Erfindung enthalten, können durch herkömmliche Techniken, z.B. wie in Remington's Pharmaceutical Sciences, 1985, beschrieben, hergestellt werden. Die Zusammensetzungen können in herkömmlichen Formen, beispielsweise Kapseln, Tabletten, Aerosolen, Lösungen, Suspensionen oder topischen Anwendungen, auftreten.

[0026] Der pharmazeutische Träger oder das pharmazeutische Verdünnungsmittel, die eingesetzt werden,

kann ein herkömmlicher fester oder flüssiger Träger sein. Beispiele von festen Trägern sind Lactose, Terra alba, Saccharose, Cyclodextrin, Talkum, Gelatine, Agar, Pektin, Akaziengummi, Magnesiumstearat, Stearinsäure oder Niederalkylether von Cellulose. Beispiele von flüssigen Trägern sind Dicksaft, Erdnussöl, Olivenöl, Phospholipide, Fettsäuren, Fettsäureamine, Polyoxyethylen oder Wasser.

[0027] Der Träger oder das Verdünnungsmittel können in ähnlicher Weise ein beliebiges Material für eine länger andauernde Freisetzung, das in diesem Fachgebiet bekannt ist, wie Glycerylmonostearat oder Glyceryldistearat, allein oder mit einem Wachs gemischt, einschließen.

[0028] Wenn ein fester Träger für eine orale Verabreichung verwendet wird, kann die Zubereitung tablettiert, in Pulver- oder Pelletform in eine Hartgelatinekapsel eingebracht werden oder sie kann in Form einer Pastille oder eines Trochiskus vorliegen. Die Menge von festem Träger wird stark variieren, wird aber üblicherweise im Bereich von etwa 25 mg bis etwa 1 g liegen. Wenn ein flüssiger Träger verwendet wird, kann die Zubereitung in Form eines Sirups, einer Emulsion, Weichgelatinekapsel oder sterilen injizierbaren Flüssigkeit, wie einer wässrigen oder nicht-wässrigen flüssigen Suspension oder Lösung, vorliegen.

[0029] Eine typische Tablette, die durch herkömmliche Tablettiertechniken hergestellt werden kann, kann enthalten:

Kern:

Wirkstoff (als freie Verbindung oder Salz davon)	100 mg
Kolloides Siliciumdioxid (Aerosil)	1,5 mg
Cellulose, mikrokrist. (Avicel)	70 mg
Modifizierter Cellulosegummi (Ac-Di-Sol)	7,5 mg

Magnesiumstearat

Überzug:

HPMC, ungef.	9 mg
*Mywacett 9–40 T, ungef.	0,9 mg
* Acyliertes Monoglycerid, das als Weichmacher für den Filmüberzug verwendet wird.	

[0030] Für eine nasale Verabreichung kann die Zubereitung eine Verbindung der Formel VII gelöst oder suspendiert in einem flüssigen Träger, insbesondere einem wässrigen Träger, für eine Anwendung als Aerosol enthalten. Der Träger kann Zusatzstoffe, wie Solubilisierungsmittel, z.B. Propylenglycol, oberflächenaktive Mittel, Absorptionsverstärker, wie Lecithin (Phosphatidylcholin) oder Cyclodextrin, oder Konservierungsmittel, wie Parabene, enthalten.

[0031] Im Allgemeinen werden die Verbindungen der Erfindung in Einheitsdosisform, umfassend 10 bis 200 mg wie 50–200 mg Wirkstoff zusammen mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger pro Einheitsdosis, abgegeben.

[0032] Die Dosierung der erfindungsgemäßen Verbindungen beträgt geeigneterweise 0,1–500 mg/Tag, z.B. 5 bis 50 mg, wie beispielsweise etwa 10 mg pro Dosis, wenn sie an Patienten, z.B. Menschen, als Arzneimittel verabreicht werden.

[0033] Es wurde gezeigt, dass Verbindungen der allgemeinen Formel VII die Fähigkeit aufweisen, endogenes Wachstumshormon *ir vivo* freizusetzen. Die Verbindungen können dementsprechend bei der Behandlung von Leiden, die erhöhte Wachstumshormon-Plasmaspiegel erfordern, wie bei Menschen mit Wachstumshormonmangel¹ oder bei älteren Patienten oder landwirtschaftlichen Nutztieren, verwendet werden.

[0034] So betrifft die Erfindung in einem besonderen Aspekt ein Arzneimittel zum Stimulieren der Freisetzung von Wachstumshormon aus der Hypophyse, wobei die Zusammensetzung als einen Wirkstoff eine Verbindung der allgemeinen Formel VII oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon zusammen mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger oder Verdünnungsmittel umfasst.

[0035] In einem noch weiteren Aspekt betrifft die Erfindung die Verwendung einer Verbindung der allgemei-

nen Formel VII oder eines pharmazeutisch verträglichen Salzes davon für die Herstellung eines Medikaments, insbesondere eines Medikaments zum Stimulieren der Freisetzung von Wachstumshormon aus der Hypophyse.

[0036] Dem Fachmann auf diesem Gebiet ist es wohlbekannt, dass die gegenwärtigen und potentiellen Verwendungen von Wachstumshormon bei Menschen sehr unterschiedlich und zahlreich sind. So können Verbindungen der Formel VII für Zwecke einer Stimulierung der Freisetzung von Wachstumshormon aus der Hypophyse verabreicht werden und würden dann ähnliche Wirkungen oder Verwendungen wie Wachstumshormon selbst haben. Die Verwendungen von Wachstumshormon können, wie folgt, zusammengefasst werden: Stimulierung einer Wachstumshormonfreisetzung bei älteren Menschen; Prävention von katabolischen Nebenwirkungen von Glucocorticoiden, Prävention und Behandlung von Osteoporose, Behandlung von NIDDM, Stimulierung des Immunsystems, Beschleunigung der Wundheilung, Beschleunigung der Knochenbruchreparatur, Behandlung von Wachstumsverzögerungen, Behandlung von Nierenversagen oder -insuffizienz, die aus einer Wachstumsverzögerung resultieren, Behandlung von physiologischem Kleinwuchs, einschließlich Kindern mit Wachstumshormonmangel, und Kleinwuchs, der mit chronischen Erkrankungen verbunden ist, Behandlung von Obesität und einer mit Obesität verbundenen Wachstumsverzögerung, Behandlung von Anorexie, Behandlung einer Wachstumsverzögerung, die mit dem Prader-Willi-Syndrom und Turner'-Syndrom verbunden ist; Beschleunigen der Genesung und Verringerung des Krankenhausaufenthalts von Verbrennungspatienten; Behandlung von intrauteriner Wachstumsverzögerung, Skelettdysplasie, Hypercortisolismus und Cushing'-Syndrom; Induktion einer pulsierenden Wachstumshormonfreisetzung; Ersetzen von Wachstumshormon bei unter Stress stehenden Patienten, Behandlung von Osteochondrodysplasien, Noonan'-Syndrom, Schizophrenie, Depressionen, Alzheimer'-Krankheit, verzögerter Wundheilung und psychosozialer Deprivation, Behandlung von Lungendysfunktion und Abhängigkeit von Beatmungsgeräten, Abschwächung der Proteinkatabolismusreaktionen nach einem größeren chirurgischen Eingriff, Verringern von Kachexie und Proteinverlust aufgrund von chronischen Erkrankungen, wie Krebs oder AIDS; Behandlung von Hyperinsulinämie, einschließlich Nesidioblastose, ergänzende Behandlung zur Ovulationsinduktion; zur Stimulierung der Thymusentwicklung und zur Verhinderung der mit dem Alter zusammenhängenden Abnahme der Thymusfunktion, Behandlung von Patienten mit Immunsuppression, Verbesserung der Muskelfestigkeit bzw. -stärke, Mobilität, Beibehaltung der Hautdicke, Stoffwechselhomöostase, Nierenhomöostase bei gebrechlichen älteren Menschen, Stimulierung von Osteoblasten, Knochenumbau und Knorpelwachstum, Stimulierung des Immunsystems bei Begleit- oder Haustieren und Behandlung von Alterungserkrankungen bei Begleit- oder Haustieren, Wachstumsförderer bei landwirtschaftlichen Nutztieren und Stimulierung des Wollwachstums bei Schafen.

[0037] Für die vorstehenden Indikationen wird die Dosierung abhängig von der eingesetzten Verbindung der Formel VII, von der Verabreichungsweise und von der gewünschten Therapie variieren. Jedoch werden im allgemeinen Dosierungsmengen zwischen 0,0001 und 100 mg/kg Körpergewicht täglich an Patienten und Tiere verabreicht, um eine wirksame Freisetzung von endogenem Wachstumshormon zu erzielen. Üblicherweise umfassen für eine orale, nasale, pulmonale oder transdermale Verabreichung geeignete Dosierungsformen 0,0001 mg bis 100 mg, vorzugsweise 0,001 mg bis 50 mg der Verbindungen der Formel VI, die mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger oder Verdünnungsmittel gemischt sind.

[0038] Gegebenenfalls kann das Arzneimittel der Erfindung eine Verbindung der Formel VII kombiniert mit einer oder mehreren Verbindungen, die eine unterschiedliche Aktivität zeigen, z.B. einem Antibiotikum oder andersartigen pharmakologisch wirksamem Material, umfassen.

[0039] Der Verabreichungsweg kann ein beliebiger Weg sein, der den Wirkstoff wirksam zu dem korrekten oder gewünschten Wirkort transportiert, wie oral, nasal, pulmonal, transdermal oder parenteral, wobei der orale Weg bevorzugt ist.

[0040] Abgesehen von der pharmazeutischen Verwendung der Verbindungen der Formel VII können sie nützliche in vitro einsetzbare Hilfsmittel zum Untersuchen der Regulation der Wachstumshormonfreisetzung sein.

[0041] Verbindungen der Formel VII können auch nützliche in vivo einsetzbare Hilfsmittel sein, um das Wachstumshormonfreisetzungsvermögen der Hypophyse auszuwerten. Beispielsweise können Serumproben, die vor und nach der Verabreichung dieser Verbindungen an Menschen abgenommen worden sind, auf Wachstumshormon untersucht werden. Ein Vergleich des Wachstumshormons in jeder Serumprobe würde direkt die Fähigkeit der Hypophyse dieser Patienten, Wachstumshormon freizusetzen, bestimmen.

[0042] Verbindungen der Formel VII können an kommerziell wichtige Tiere, wie Kühe, Schafe, Schweine, Ziegen u.s.w. verabreicht werden, um deren Wachstumsrate und -ausmaß zu erhöhen und um die Milchprodukti-

on zu erhöhen.

[0043] Eine weitere Verwendung von Wachstumshormon-sekretatogen Verbindungen der Formel VII besteht in Kombination mit anderen sekretatogen Verbindungen, wie GHRP (2 oder 6), GHRH und dessen Analogen, Wachstumshormon und dessen Analogen oder Somatomedinen, einschließlich IGF-1 und IGF-2.

Pharmakologische Verfahren

[0044] Verbindungen der Formel VII können in vitro hinsichtlich ihrer Wirksamkeit und Wirkkraft, Wachstumshormon in Rattenhypophysen-Primärkulturen freizusetzen, ausgewertet werden.

[0045] Die Isolierung von Ratten-Hypophysenzellen ist eine Modifizierung von O. Sartor et al., Endocrinology 116, 1985, S. 952–957. Männliche Sprague-Dawley-Albinoratten (250 $\pm$ 25 g) wurden von Møllegaard, Lille Skensved, Dänemark, erworben. Die Ratten wurden in Gruppenkäfigen (vier Tiere/Käfig) gehalten und in Räume mit einem 12 h Licht-Zyklus gesetzt. Die Raumtemperatur variierte von 19–24°C und die Feuchtigkeit von 30–60%.

[0046] Die Ratten wurden dekapitiert und die Hypophysen wurden präpariert. Die Neuralzwischenlappen wurden entfernt und das restliche Gewebe wurde unverzüglich in eiskalten Isolierungspuffer (Gey's-Medium (Gibco 041-04030), ergänzt mit 0,25% D-Glucose, 2% nicht-essentiellen Aminosäuren (Gibco 043-01140) und 1% Rinderserumalbumin (BSA) (Sigma A-4503)) gelegt. Das Gewebe wurde in kleine Stücke geschnitten und in Isolierungspuffer, der mit 3,8 mg/ml Trypsin (Worthington #3707 TRL-3) und 330 mg/ml DNase (Sigma D-4527) ergänzt worden war, transferiert. Diese Mischung wurde bei 70 Umdrehungen/min 35 min bei 37°C in einer 95/5%-Atmosphäre von O₂/CO₂ inkubiert. Das Gewebe wurde dann dreimal in dem obigen Puffer gewaschen. Unter Verwendung einer Standard-Pasteurpipette wurde das Gewebe dann in Einzelzellen angesaugt. Nach der Dispergierung wurden die Zellen durch einen Nylon-Filter (160 μ m) filtriert, um unverdautes Gewebe zu entfernen. Die Zellsuspension wurde 3-mal mit mit Trypsininhibitor (0,75 mg/ml, Worthington #2829) ergänztem Isolierungspuffer gewaschen und schließlich in Kulturmedium, DMEM (Gibco 041-01965), ergänzt mit 25 mM HEPES (Sigma H-3375), 4 mM Glutamin (Gibco 043-05030H), 0,075% Natriumbicarbonat (Sigma 5-8875), 0,1% nicht-essentiellen Aminosäuren, 2,5% fötalem Kälberserum (FCS, Gibco 011-06290), 3% Pferde-Serum (Gibco 034-06050), 10% frischem Rattenserum, 1 nM T₃ (Sigma T-2752) und 40 mg/l Dexamethason (Sigma D-4902), pH 7,3, zu einer Dichte von 2×10^5 Zellen/ml resuspendiert. Die Zellen wurden in Mikrotiterplatten (Nunc, Dänemark) ausgesät, 200 μ l/Vertiefung, und 3 Tage bei 37°C und 8% CO₂ kultiviert.

Untersuchung von Verbindungen

[0047] Nach der Kultivierung wurden die Zellen zweimal mit Stimulierungspuffer (Hanks Balanced Salt Solution (Gibco 041-04020), ergänzt mit 1% BSA (Sigma A-4503), 0,25% D-Glucose (Sigma G-5250) und 25 mM HEPES (Sigma H-3375) pH 7,3) gewaschen und 1 h bei 37°C vorinkubiert. Der Puffer wurde gegen 90 μ l Stimulierungspuffer (37°C) ausgetauscht. Zehn μ l Testverbindungslösung wurden zugesetzt und die Platten wurden 15 min bei 37°C und 5% CO₂ inkubiert. Das Medium wurde dekantiert und auf den Wachstumshormon- oder GH-Gehalt in einem rGH-SPA-Testsystem analysiert.

[0048] Alle Verbindungen wurden in Dosen, die von 10 pM bis 100 nM reichten, getestet. Eine Dosis-Wirkungs-Kurve wurde unter Verwendung der Hill-Gleichung (Fig P, Biosoft) konstruiert. Die Wirksamkeit (maximales freigesetztes GH, E_{max}) wurde in % des E_{max} von GHRP-6 ausgedrückt. Die Wirkkraft (EC₅₀) wurde als die Konzentration, die eine halbmaximale Stimulierung der GH-Freisetzung induzierte, bestimmt.

[0049] Verbindungen der Formel VII können hinsichtlich ihrer metabolischen Stabilität ausgewertet werden.

[0050] Verbindungen werden in einer Konzentration von 1 mg/ml in Wasser gelöst. 25 μ l dieser Lösung werden zu 175 μ l der jeweiligen Enzymlösung (was zu einem Enzym:Substrat-Verhältnis (Gew./Gew.) von etwa 1:5 führt) hinzugesetzt. Die Lösung wird bei 37°C über Nacht stehengelassen. 10 μ l der verschiedenen Abbaulösungen werden gegen eine entsprechende Null-Probe unter Verwendung von Flussinjektions-Elektrospray-Massenspektrometrie (ESMS) mit einem auf ausgewählte Ionen gerichteten Überwachen des Moleküls analysiert. Wenn das Signal um mehr als 20% verglichen mit der Null-Probe abgenommen hat, wird der Rest der Lösung durch HPLC und Massenspektrometrie analysiert, um das Ausmaß und die Stelle(n) des Abbaus genau zu identifizieren.

BEISPIELE

[0051] Das Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel VII und diese enthaltenden Zubereitungen werden in den folgenden Beispielen, die jedoch nicht als beschränkend verstanden werden sollen, weiter veranschaulicht.

[0052] Die Strukturen der Verbindungen werden entweder durch Elementaranalyse (MA), Kernmagnetresonanz (NMR) oder Massenspektrometrie (MS) bestätigt. NMR-Verschiebungen (δ) sind in Teilen pro Million (ppm) angegeben und es werden nur ausgewählte Peaks angegeben. Schmp. ist Schmelzpunkt und ist in $^{\circ}\text{C}$ angegeben. Säulenchromatographie wurde unter Verwendung der von W. C. Still et al., J. Org. Chem. 1978, 43, 2923–2925, beschriebenen Technik an Merck Kieselgel 60 (Art. 9385) ausgeführt. Als Ausgangsmaterialien verwendete Verbindungen sind entweder bekannte Verbindungen oder Verbindungen, die durch an sich bekannte Verfahren leicht hergestellt werden können.

Abkürzungen:

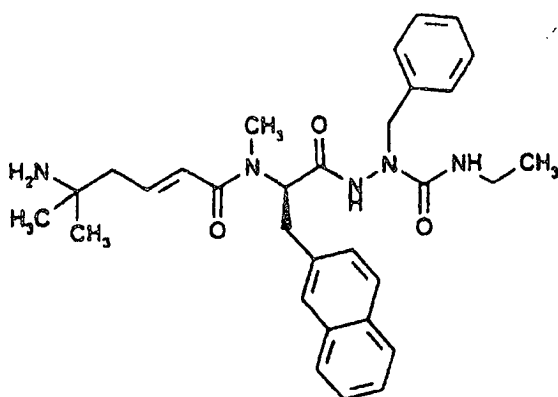
DSC:	Dünnschichtchromatographie
DMSO:	Dimethylsulfoxid
min:	Minuten
h:	Stunden

HPLC-Analyse:

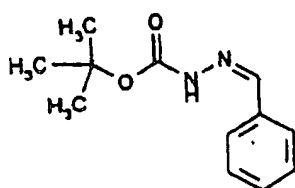
Methode A1.

[0053] Die RP-Analyse wurde unter Verwendung von UV-Detektionen bei 214, 254, 276 und 301 nm an einer 4,6 mm $\times$ 250 mm-218TP54-5m-C-18-Siliciumdioxid-Säule (The Separations Group, Hesperia), die mit 1 ml/min bei 42°C eluiert wurde, ausgeführt. Die Säule wurde mit 5% Acetonitril in einem Puffer, bestehend aus 0,1 M Ammoniumsulfat, der mit 4 M Schwefelsäure auf pH 2,5 eingestellt worden war, äquilibriert. Nach dem Einspritzen wurde die Probe durch einen Gradienten von 5% bis 60% Acetonitril in demselben Puffer während 50 min eluiert.

Beispiel 1 (2R)-2-(N-((2E)-5-Amino-5-methylhex-2-enoyl)-N-methylamino)-3-(2-naphthyl)propionyl-2-benzyl-4-ethylsemicarbazid



N'-Benzylidenhydrazincarbonsäure-tert-butylester:

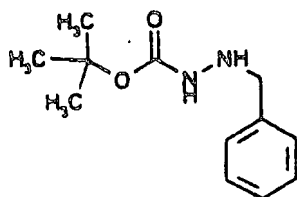


[0054] Einer Lösung von t-Butylcarbazat (2,0 g, 15,1 mmol) in 99%igem Ethanol (20 ml) wurde Benzaldehyd (1,6 g, 15,1 mmol) zugesetzt und das Gemisch für eine Dauer von 30 min gerührt. Dann wurde das Gemisch auf 0°C abgekühlt und der Niederschlag abgetrennt und mit kaltem Ethanol gewaschen und im Vakuum ge-

trocknet, um 2,7 g (81%) N'-Benzylidenhydrazincarbonsäure-tert-butylester zu erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): d 1.5 (s, 9H) 7.35 (m, 3H) 7.65 (m, 2H) 7.85 (s, 1H) 8.0 (s, 1H)

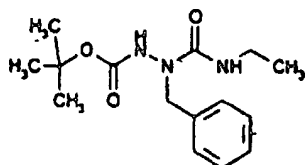
N'-Benzylhydrazincarbonsäure-tert-butylester:



[0055] Einer Lösung von N'-Benzylidenhydrazincarbonsäure-tert-butylester (2,7 g, 12,3 mmol) in Tetrahydrofuran (100 ml) wurde 10% Palladium auf Kohle (0,3 g) zugesetzt und das Gemisch mit 280 ml Wasserstoff für eine Dauer von 40 min bei Atmosphärendruck hydriert. Das Gemisch wurde durch einen Celitestopfen filtriert und das Filtrat im Vakuum eingengt, um 2,63 g N'-Benzylhydrazincarbonsäure-tert-butylester zu erhalten

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): d 1.5 (s, 9H) 4.0 (s, 2H) 4.2 (b, 1H) 6.1 (b, 1H) 7.2–7.4 (m, 5H).

2-Benzyl-1-tert-butoxycarbonyl-4-ethylsemicarbazid:

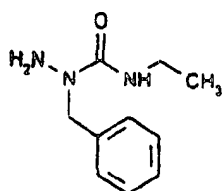


[0056] Einer Lösung von N'-Benzylhydrazincarbonsäure-tert-butylester (2,5 g, 11,8 mmol) in 99%igem Ethanol (40 ml) wurde Isocyanat (1,1 g, 15,2 mmol) zugesetzt und das Gemisch für eine Dauer von 2 h gerührt. Dann wurde das Gemisch im Vakuum eingengt und über Silica (20 g) mit Petrolether/Ethylacetat 3:2 chromatographiert, um 3,0 g 2-Benzyl-1-tert-butoxycarbonyl-4-ethylsemicarbazid zu erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): d 1.1 (t, 3H) 1.45 (s, 9H) 3.3 (m, 2H) 3.9–5.0 (b, 2H) 5.35 (t, 1H) 5.9 (s, 1H) 7.2–7.4 (m, 5H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 15.0 ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$) 27.6 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$) 34.9 ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$) 50.0 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$) 81.7 ($-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$) 127.3–128.6 ($-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$) 135.9 ($-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$) 154.0 ($-\text{OCON}$) 157.1 ($-\text{NCON}$).

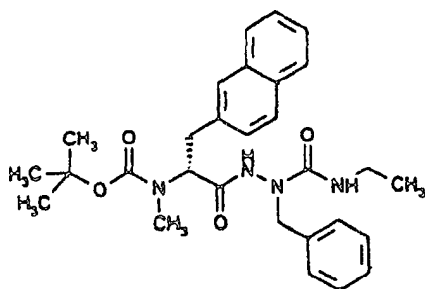
2-Benzyl-4-ethylsemicarbazid:



[0057] Eine Lösung von 2-Benzyl-1-tert-butoxycarbonyl-4-ethylsemicarbazid (2,8 g, 9,6 mmol) in 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan (10 ml) wurde für eine Dauer von 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde gesättigte Natriumbicarbonatlösung bis auf einen pH-Wert von > 7 zugesetzt und die wässrige Schicht mit Dichlormethan (2 × 100 ml) extrahiert, und die vereinigten organischen Schichten wurden getrocknet (Magnesiumsulfat) und im Vakuum eingengt. Das erhaltene Öl wurde über Silica (100 g) mit Ethylacetat als Eluent chromatographiert, um 1,7 g 2-Benzyl-4-ethylsemicarbazid zu erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): d 1.15 (t, 3H) 3.3 (m, 2H) 4.7 (s, 2H) 7.2–7.4 (m, 5H).

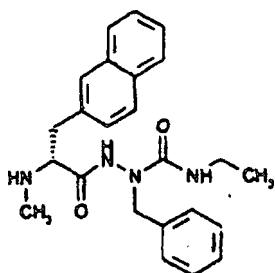
2-Benzyl-1-[(2R)-2-(N-(tert-butoxycarbonyl)-N-methylamino)-3-(2-naphthyl)propionyl]-4-ethylsemicarbazid:



[0058] Einer Lösung von (2R)-2-(N-tert-Butoxycarbonyl-N-methylamino)-3-(2-naphthyl)propionsäure (2,6 g, 7,9 mmol) in Dichlormethan (20 ml) wurde 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol (1,1 g, 8,0 mmol) und 1-Ethyl-3-dimethylaminopropylcarbodiimid-Hydrochlorid (1,6 g, 8,6 mmol) zugesetzt und das Gemisch für eine Dauer von 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 2-Benzyl-4-ethylsemicarbazid (1,3 g, 6,6 mmol) und Diisopropylethylamin (1,5 ml, 8,6 mmol) in Dichlormethan (20 ml) zugesetzt, und das Gemisch wurde über Nacht gerührt. Das Gemisch wurde mit gesättigter Natriumbicarbonatlösung (2 × 50 ml) gewaschen, getrocknet (Magnesiumsulfat) und im Vakuum eingedunstet. Das erhaltene Produkt wurde über Silica (100 g) mit Petrolether/Ethylacetat 1:1 chromatographiert, um 3,0 g (90%) 2-Benzyl-1-[(2R)-2-(N-(tert-butoxycarbonyl)-N-methylamino)-3-(2-naphthyl)propionyl]-4-ethylsemicarbazid zu erhalten.

¹H-NMR (CDCl₃): δ 0.9 (t, 3H) 1.45 (s, 9H) 2.65 (s, 3H) 3.9 (m, 2H) 3.2 (m, 9H) 3.3 (dd, 2H) 4.4 (b, 2H) 4.9 (b, 1H) 5.2 (b, 1H) 6.9–7.8 (m, 12H).

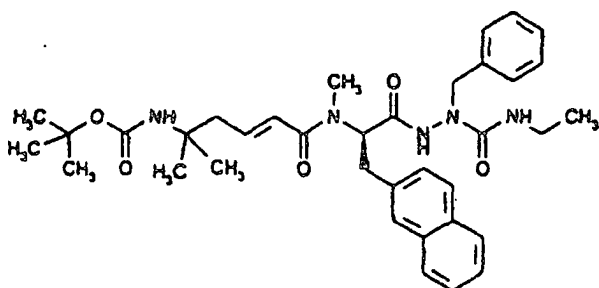
2-Benzyl-1-[(2R)-2-N-methylamino-3-(2-naphthyl)propionyl]-4-ethylsemicarbazid:



[0059] Einer Lösung von 2-Benzyl-1-[(2R)-2-(N-(tert-butoxycarbonyl)-N-methylamino)-3-(2-naphthyl)propionyl]-4-ethylsemicarbazid (2,9 g, 5,7 mmol) in Dichlormethan (15 ml) bei 0°C wurde Trifluoressigsäure (5 ml) zugesetzt, und man ließ das Gemisch für eine Dauer von 3 h bei 0°C rühren. Dann wurde Natriumbicarbonatlösung bis auf einen pH-Wert von > 7 zugesetzt, und die wässrige Schicht wurde mit Dichlormethan (3 × 25 ml) extrahiert, und die vereinigten organischen Schichten wurden getrocknet (Magnesiumsulfat) und eingedunstet, um 2,0 g 2-Benzyl-1-[(2R)-2-N-methylamino-3-(2-naphthyl)propionyl]-4-ethylsemicarbazid zu erhalten.

¹H-NMR (CDCl₃): δ 0.9 (t, 3H) 2.1 (s, 3H) 3.0 (m, 2H) 3.3 (dd, 2H) 4.6 (t, 1H) 4.7 (dd, 2H) 7.1–7.5 (m, 12H) 8.3 (s, 1H).

(2R)-2-(N-((2E)-5-(N-tert-butoxycarbonyl)amino-5-methylhex-2-enoyl)-N-methylamino)-3-(2-naphthyl)propionyl-2-benzyl-4-ethylsemicarbazid:



[0060] Einer Lösung von (2E)-5-(N-tert-Butyloxycarbonylamino)-5-methylhexensäure (0,5 g, 2,1 mmol) in Dichlormethan (20 ml) wurden 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol (336 mg, 2,5 mmol) und 1-Ethyl-3-dimethylaminopropylcarbodiimid-Hydrochlorid (5,5 g, 2,9 mmol) zugesetzt, und das Gemisch wurde für eine Dauer von 30 min

bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 2-Benzyl-1-[(2R)-2-N-methylamino-3-(2-naphthyl)propionyl]-4-ethylsemicarbazid (0,5 g, 1,2 mmol) und Dissopropylamin (0,4 ml, 2,3 mmol) in Dichlormethan (20 ml) zugesetzt, und das Gemisch wurde über Nacht gerührt. Das Gemisch wurde mit gesättigter Natriumbicarbonatlösung (2 × 20 ml) gewaschen, getrocknet (Magnesiumsulfat) und im Vakuum eingeeengt. Das erhaltene Produkt wurde über Silica (100 g) mit Petrolether/Ethylacetat 1:1 chromatographiert, um 0,68 g (2R)-2-(N-((2E)-5-(N-tert-butyloxycarbonyl)amino-5-methylhex-2-enoyl)-N-methylamino)-3-(2-naphthyl)propionyl-2-benzyl-4-ethylsemicarbazid zu erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): d 0.9 (t, 3H) 1.25 (s, 6H) 1.4 (s, 9H) 2.65 (d, 2H) 2,9 (s, 3H) 3,0 (m, 2H) 3.1 (m, 1H) 3.5 (m, 1H) 4.4 (s, 1H) 4.7 (b, 1H) 5.4 (b, 1H) 5.1 (b, 1H) 6.1 (d, 1H) 6.8 (m, 1H) 6.9–7.8 (m, 12H).

[0061] Einer Lösung von (2R)-2-(N-((2E)-5-(N-tert-butyloxycarbonyl)amino-5-methylhex-2-enoyl)-N-methylamino)-3-(2-naphthyl)propionyl-2-benzyl-4-ethylsemicarbazid (0,66 g, 1,0 mmol) in Dichlormethan (5 ml) wurde Trifluoressigsäure (2,5 ml) zugesetzt, und es wurde für eine Dauer von 2 h gerührt. Dann wurde Natriumbicarbonatlösung bis auf einen pH-Wert von > 7 zugesetzt und die wässrige Schicht mit Dichlormethan (3 × 10 ml) extrahiert, und die vereinigten organischen Schichten wurden getrocknet (Magnesiumsulfat) und im Vakuum eingeeengt. Das erhaltene Produkt wurde in Wasser (20 ml) und 1 N Essigsäure (2 ml) gelöst und das Gemisch auf 0,5 g des Acetatsalzes der Verbindung lyophilisiert.

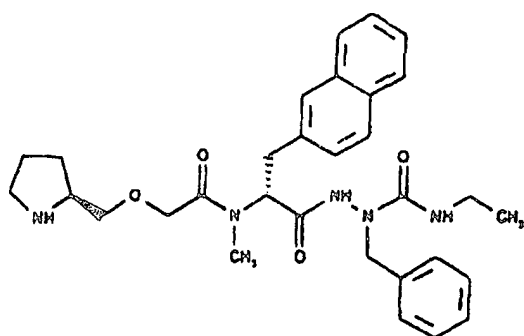
HPLC (A1): $R_1 = 31.3$ min

LC-MS: 530.2 (M + H)⁺

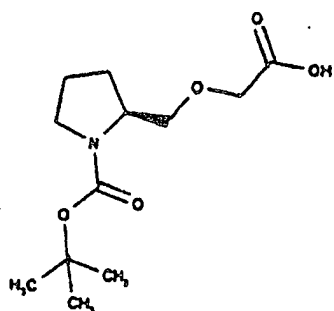
$^1\text{H-NMR}$ (ausgewählte Signale) d 0.9 (t, 3H) 1.1 (s, 6H) 2.7 (s, 3H) 6.25 (d, 1H) 6.6 (m, 1H) 7.2–7.9 (m, 12H).

Beispiel 2

1-((2R)-2-(N-(((2S)-Pyrrolidin-2-yl)methoxy)acetyl)-N-methylamino)-3-(2-naphthyl)propionyl-2-benzyl-4-ethylsemicarbazid



(2S)-2-(((Carboxy)methoxy)pyrrolidin-1-carbonsäure-tert-butylester:



[0062] Einer Lösung von N-t-Butyloxycarbonyl-(S)-prolinol (5,0 g, 25 mmol) in 1,2-Dichlorethan (500 ml) wurde Rhodium(II)-acetat (180 mg) zugesetzt und das Gemisch auf 60°C erwärmt. Ethyldiazoacetat (3,9 ml, 37 mmol) in 1,2-Dichlorethan (160 ml) wurde über eine Dauer von 90 min zugesetzt und das Gemisch bei 80°C für eine Dauer von 3 h erwärmt. Dann wurde eine weitere Portion Ethyldiazoacetat (1,3 ml, 12 mmol) in 1,2-Dichlorethan (40 ml) zugesetzt und das Gemisch für eine Dauer von 6 h unter Rückfluss gekocht. Das Gemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und mit gesättigter Natriumbicarbonatlösung (2 × 100 ml) gewaschen, getrocknet (Magnesiumsulfat) und im Vakuum eingeeengt. Das Rohprodukt wurde über Silica (300 g) mit Petrolether/Ethylacetat 4:1 als Eluent chromatographiert, um 4,7 g (2S)-(((Ethoxycarbonyl)methoxy)methyl)pyrrolidin-1-carbonsäure-tert-butylester zu erhalten. Das erhaltene Produkt wurde in 1 M Lithiumhydroxid in Was-

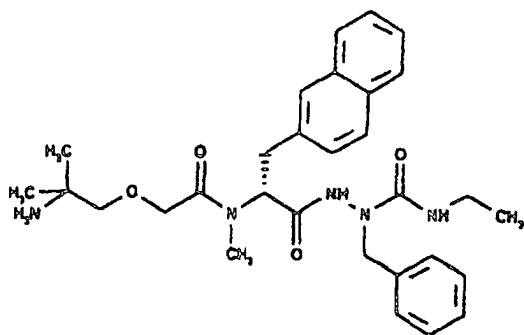
ser/Methanol 1:3 (50 ml) gelöst und bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das Gemisch wurde im Vakuum eingengt, Wasser (20 ml) wurde zugesetzt, und es wurde mit Ether (20 ml) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit 1 M wässriger Salzsäure auf einen pH-Wert von 4 angesäuert, mit Ethylacetat (2 × 100 ml) extrahiert, und die vereinigten Schichten wurden getrocknet (Magnesiumsulfat) und im Vakuum eingengt, um 3,6 g (2S)-2-(((Carboxy)methoxy)pyrrolidin-1-carbonsäure-tert-butylester zu erhalten.
¹H-NMR (CDCl₃): δ 1.45 (2, 9H) 1.90 (m, 4H) 3.55 (t, 2H) 3.60 (m, 3H) 4.10 (s, 2H) 10.6 (s, 1H).

[0063] Einer Lösung von (2S)-2-(((Carboxy)methoxy)pyrrolidin-1-carbonsäure-tert-butylester (0,97 g, 3,7 mmol) in Dichlormethan (15 ml) wurden 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol (0,51 mg, 3,7 mmol) und 1-Ethyl-3-dimethylaminopropylcarbodiimid-Hydrochlorid (0,79 g, 4,1 mmol) zugesetzt, und das Gemisch wurde für eine Dauer von 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 2-Benzyl-1-[(2R)-2-methylamino-3-(2-naphthyl)propionyl]-4-ethylsemicarbazid (0,75 g, 1,9 mmol) und Dissopropylamin (0,42 ml, 2,4 mmol) in Dichlormethan (15 ml) zugesetzt, und das Gemisch wurde über Nacht gerührt. Das Gemisch wurde mit gesättigter Natriumbicarbonatlösung (2 × 20 ml) gewaschen, getrocknet (Magnesiumsulfat) und im Vakuum eingengt. Das erhaltene Produkt wurde über Silica (20 g) mit Petrolether/Ethylacetat 1:1 chromatographiert. Das chromatographierte Produkt wurde in Dichlormethan (10 ml) gelöst, und Trifluoressigsäure (2,5 ml) wurde bei 0°C zugesetzt, und es wurde für eine Dauer von 2 h gerührt. Dann wurde Natriumbicarbonatlösung bis auf einen pH-Wert von > 7 zugesetzt, und die wässrige Schicht wurde mit Dichlormethan (2 × 10 ml) extrahiert, und die vereinigten organischen Schichten wurden getrocknet (Magnesiumsulfat) und eingengt. Das erhaltene Produkt wurde in Wasser (20 ml) und 1 N Essigsäure (2 ml) gelöst und das Gemisch auf 0,88 g des Acetatsalzes der Titelverbindung lyophilisiert.

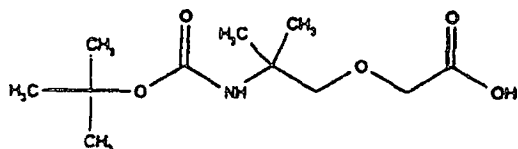
HPLC (A1): R₁ = 31.1

LC-MS: 546.0 (M + H)⁺

1-((2R)-2-(N-2-Amino-2-methylpropoxy)acetyl)-N-methylamino-3-(2-naphthyl)propionyl-2-benzyl-4-ethylsemicarbazid



(2-t-Butoxycarbonylamino-2-methylpropoxy)essigsäure:



[0064] Einer Lösung von 2-t-Butoxycarbonylamino-2-methylpropanol (5,0 g, 26,46 mmol) und Rhodium(II)-acetat (90 mg) in 1,2-Dichlorethan (500 ml) wurde auf 80°C erwärmt. Dann wurde Ethyldiazoacetat (4,0 ml, 34,78 mmol) über eine Dauer von 1 h zugesetzt und das Gemisch für eine Dauer von 3 h unter Rückfluss gekocht. Dann wurde eine weitere Portion Rhodium(II)-acetat (90 mg) zugesetzt und das Gemisch für eine Dauer von weiteren 5 h unter Rückfluss gekocht. Das Gemisch wurde über Nacht abgekühlt, und gesättigte Natriumbicarbonatlösung (500 ml) wurde zugesetzt, die Schichten wurden getrennt, und die organische Schicht wurde zweimal mit gesättigter Natriumbicarbonatlösung (2 × 200 ml) gewaschen und getrocknet (Magnesiumsulfat) und im Vakuum eingengt. Das erhaltene Produkt wurde in 1 M Lithiumhydroxid in Wasser/Methanol 3:1 (200 ml) gelöst und bei über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum auf ein Minimum entfernt, Wasser (50 ml) wurde zugesetzt (pH > 9) und das Gemisch mit Ether (100 ml) gewaschen. Dann wurde 1 M wässrige Salzsäure auf einen pH-Wert von 4 zugesetzt und das Gemisch mit Ethylacetat (100 ml) extrahiert, und die vereinigten Schichten wurden getrocknet (Magnesiumsulfat) und im Vakuum eingengt, um 2,5 g (2-t-Butoxycarbonylamino-2-methyl-propoxy)essigsäure zu erhalten.

¹H-NMR (CDCl₃): δ 1.3 (s, 6H) 1.45 (s, 9H) 3.5 (s, 2H) 4.15 (s, 2H) 9.9 (b, 1H).

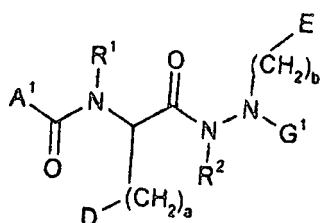
[0065] Einer Lösung von (2-t-Butoxycarbonylamino-2-methylpropyloxy)essigsäure (0,93 g, 3,7 mmol) in Dichlormethan (15 ml) wurden 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol (0,51 mg, 3,7 mmol) und 1-Ethyl-3-dimethylamino-propylcarbodiimid-Hydrochlorid (0,79 g, 4,1 mmol) zugesetzt, und das Gemisch wurde für eine Dauer von 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 2-Benzyl-1-[(2R)-2-N-methylamino)-3-(2-naphthyl)propionyl]-4-ethylsemicarbazid (0,75 g, 1,9 mmol) und Dissopropylamin (0,42, ml, 2,4 mmol) in Dichlormethan (15 ml) zugesetzt, und das Gemisch wurde über Nacht gerührt. Das Gemisch wurde mit gesättigter Natriumbicarbonatlösung (2 × 20 ml) gewaschen, getrocknet (Magnesiumsulfat) und im Vakuum eingeeengt. Das erhaltene Produkt wurde über Silica (20 g) mit Petrolether/Ethylacetat 1:1 chromatographiert. Das chromatographierte Produkt wurde in Dichlormethan (10 ml) gelöst, und Trifluoressigsäure (2,5 ml) wurde bei 0°C zugesetzt, und es wurde für eine Dauer von 2 h gerührt. Dann wurde Natriumbicarbonatlösung bis auf einen pH-Wert von > 7 zugesetzt, und die wässrige Schicht wurde mit Dichlormethan (2 × 10 ml) extrahiert, und die vereinigten organischen Schichten wurden getrocknet (Magnesiumsulfat) und eingeeengt. Das erhaltene Produkt wurde in Wasser (20 ml) und 1 N Essigsäure (2 ml) gelöst und das Gemisch auf 0,98 g des Acetatsalzes der Titelverbindung lyophilisiert.

HPLC (A1): $R_1 = 31.0$

LC-MS: 534.2 (M + H)⁺

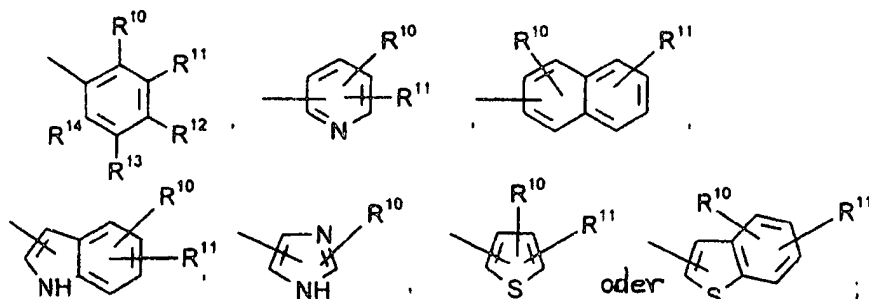
Patentansprüche

1. Verbindung der allgemeinen Formel VII



Formel VII,

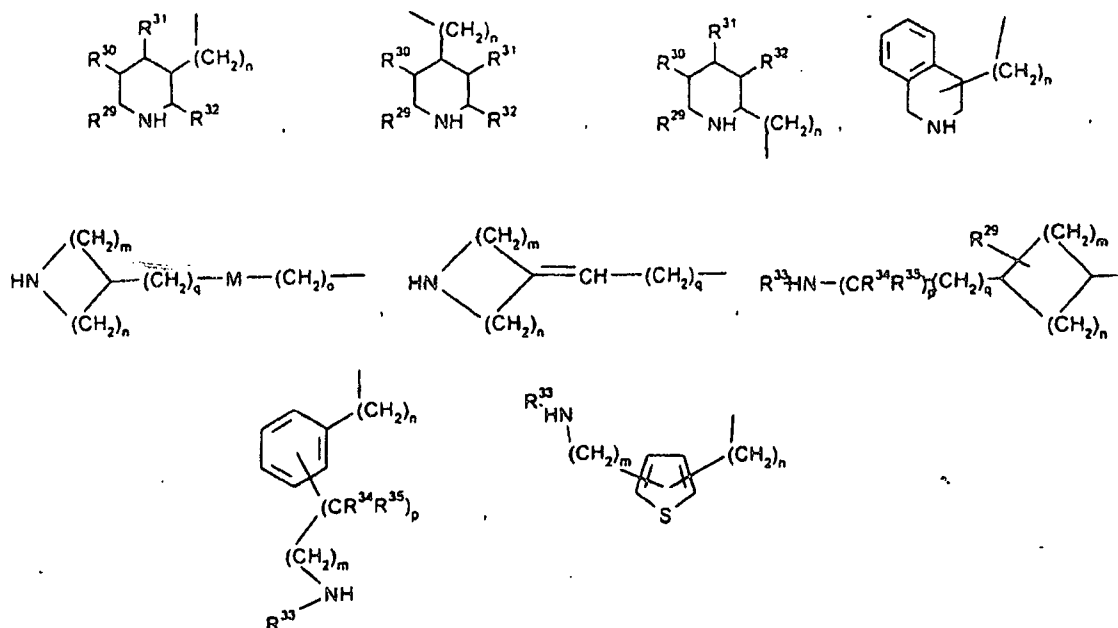
worin E Wasserstoff, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_r-\text{R}^{10a}$,



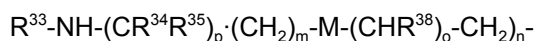
ist, worin R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} und R^{14} unabhängig voneinander Wasserstoff, Halogen, Aryl, C_{1-6} -Alkyl-, C_{1-6} -Alkoxy sind,

R^{10a} Wasserstoff, Aryl oder C_{1-6} -Alkyl ist, l 0, 1, 2 oder 3 ist

A^1



oder



ist,

wobei R^{29} , R^{30} , R^{31} , R^{32} , R^{33} , R^{34} , R^{35} und R^{36} unabhängig voneinander Wasserstoff oder C_{1-6} -Alkyl gegebenenfalls substituiert mit Halogen, Amino, Hydroxyl oder Aryl sind;

R^{33} und R^{34} , R^{33} und R^{35} oder R^{34} und R^{35} gegebenenfalls $-(CH_2)_i-Z-(CH_2)_j-$, worin i und j unabhängig voneinander 1 oder 2 sind und Z -O-, -S- oder eine Valenzbindung ist, bilden können;

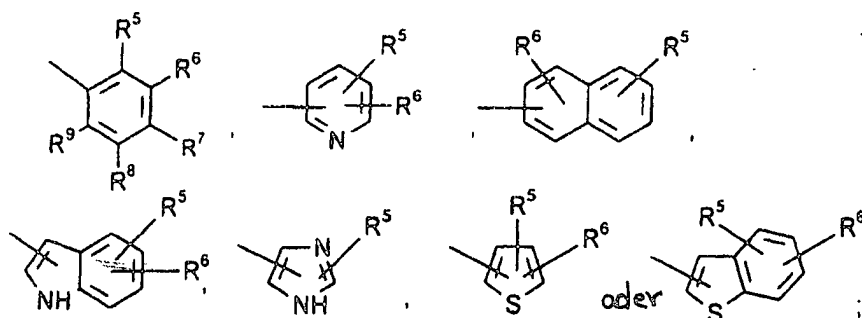
n, m und q unabhängig voneinander 0, 1, 2 oder 3 sind;

o und p unabhängig voneinander 0 oder 1 sind;

M - $CR^{37}=CR^{38}$ -, -O- oder -S- ist;

R^{37} und R^{38} unabhängig voneinander Wasserstoff oder gegebenenfalls mit Aryl substituiertes C_{1-6} -Alkyl sind;

D Wasserstoff, -O- $(CH_2)_k-R^{5a}$,

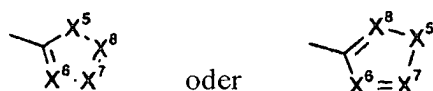


ist, worin R^5 , R^6 , R^7 , R^8 und R^9 unabhängig voneinander Wasserstoff, Halogen, Aryl, C_{1-6} -Alkyl oder C_{1-6} -Alkoxy sind;

R^{5a} Wasserstoff, Aryl oder C_{1-6} -Alkyl ist;

k 0, 1, 2 oder 3 ist;

G^1 Wasserstoff Halogen, Aryl, C_{1-6} -Alkyl, C_{1-6} -Alkoxy, $-CONR^{39}R^{40}$, $-(CH_2)_e-NR^{39}SO_2R^{41}$, $-(CH_2)_e-NR^{39}COR^{40}$, $-(CH_2)_e-OR^{41}$, $-(CH_2)_e-OCOR^{40}$, $-CH(R^{39})R^{40}$, $-CONR^{39}-NR^{40}R^{42}$, $-(CH_2)_e-NR^{39}-CS-NR^{40}R^{42}$, $-(CH_2)_e-NR^{39}-CO-NR^{40}R^{42}$,



ist,

worin

X^5 -N(R^{43})-, -O- oder -S- ist,

X^6 -C(R⁴⁴)= oder -N= ist,

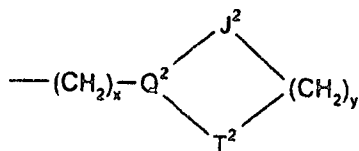
X^7 -C(R⁴⁵)= oder -N= ist,

X^8 -C(R²²)= oder -N= ist,

R⁴³ Wasserstoff oder C₁₋₆-Alkyl gegebenenfalls substituiert mit Aryl ist,

R⁴⁴, R⁴⁵ und R⁴⁶ unabhängig voneinander Wasserstoff, -COOR⁴⁷, -CONR³⁸R⁴⁹, -(CH₂)_fNR⁴⁸R⁴⁹, -(CH₂)_fOR⁴⁷, -(CH₂)_fR⁴⁷ oder Halogen sind;

R³⁹, R⁴⁰, R⁴⁷ und R⁴⁹ unabhängig voneinander Wasserstoff oder C₁₋₆-Alkyl gegebenenfalls substituiert mit Halogen, -N(R⁵⁰)R⁵¹, Hydroxy, C₁₋₆-Alkoxy, C₁₋₆-Alkoxycarbonyl, C₁₋₆-Alkylcarbonyloxy oder Aryl sind, oder R⁴⁰



ist, worin -Q²< -CH< oder -N< ist,

J² und T² unabhängig voneinander -CH₂-, -CO-, -O-, -S-, NR⁵² oder eine Valenzbindung ist,

wobei R⁵² Wasserstoff oder C₁₋₆-Alkyl ist;

x und y unabhängig voneinander 0, 1, 2, 3 oder 4 sind;

R⁴¹ C₁₋₆-Alkyl substituiert mit Aryl ist

R⁴² C₁₋₆-Alkyl ist;

R⁵⁰ und R⁵¹ unabhängig voneinander Wasserstoff oder C₁₋₆-Alkyl sind;

e und f unabhängig voneinander 0, 1, 2 oder 3 sind;

R¹ Wasserstoff oder C₁₋₆-Alkyl ist;

R² Wasserstoff oder C₁₋₆-Alkyl ist;

a und b unabhängig voneinander 0, 1, 2 oder 3 sind;

oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon.

2. Verbindung nach Anspruch 1, worin A¹ (1E)-4-Amino-4-methylpent-1-enyl, (2-Amino-2-methylpropoxy)methyl, ((2S)-Pyrrolidin-2-yl)methoxymethyl, 4-Piperidinyll oder (1E)-4-((2R)-2-hydroxypropylamino)-4-methylbut-1-enyl ist.

3. Verbindungen nach Anspruch 1 oder 2, worin D (2-Naphthyl), Benzyloxy oder Biphenyl-4-yl ist.

4. Verbindung nach einem der Ansprüche 1–3, worin E Phenyl, 2-Thienyl oder 2-(Methylsulfonylamino)phenyl ist.

5. Verbindung nach einem der Ansprüche 1–5, worin G¹ Wasserstoff, Methylcarbamoyle oder Ethylcarbamoyle ist.

6. Verbindung nach einem der Ansprüche 1–5, worin R¹ Methyl ist.

7. Verbindung nach einem der Ansprüche 1–6, worin R² Methyl oder Wasserstoff ist.

8. Verbindung nach einem der Ansprüche 1–7, worin a 1 ist.

9. Verbindung nach einem der Ansprüche 1–8, worin b 1 ist.

10. Verbindung nach Anspruch 1, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus
1-((2R)-2-(N-((2E)-5-Amino-5-methylhex-2-enoyl)-N-methylamino)-3-(2-naphthyl)propionyl)-2-benzyl-4-ethylsemicarbazid,
1-((2R)-2-(N-(((2S)-Pyrrolidin-2-yl)methoxy)acetyl)-N-methylamino)-3-(2-naphthyl)propionyl)-2-benzyl-4-ethylsemicarbazid und
1-((2R)-2-(N-2-Amino-2-methylpropoxy)acetyl)-N-methylamino)-3-(2-naphthyl)propionyl)-2-benzyl-4-ethylsemicarbazid; oder einem pharmazeutisch verträgliches Salz davon.

11. Pharmazeutische Zusammensetzung, die als einen Wirkstoff eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1–10 oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon zusammen mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger oder Verdünnungsmittel umfasst.

12. Zusammensetzung nach Anspruch 11 in Einheitsdosierungsform, umfassend 10 bis 200 mg der Ver-

bindung nach einem der Ansprüche 1–10 oder eines pharmazeutisch verträglichen Salzes davon.

13. Pharmazeutische Zusammensetzung zum Stimulieren der Freisetzung von Wachstumshormon aus der Hypophyse, wobei die Zusammensetzung als einen Wirkstoff eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1–10 oder eines pharmazeutisch verträglichen Salzes davon zusammen mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger oder Verdünnungsmittel umfasst.

14. Pharmazeutische Zusammensetzung für eine Verabreichung an Tiere, um deren Wachstumsgeschwindigkeit und -ausmaß zu erhöhen, um deren Milch- und Wollproduktion zu erhöhen, oder für die Behandlung von Krankheiten, wobei die Zusammensetzung als einen Wirkstoff eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1–10 oder eines pharmazeutisch verträglichen Salzes davon zusammen mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger oder Verdünnungsmittel umfasst.

15. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 11–14 für eine orale, nasale, transdermale, pulmonare oder parenterale Verabreichung.

16. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1–10 oder eines pharmazeutisch verträglichen Salzes davon für die Herstellung eines Arzneimittels.

17. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1–10 oder eines pharmazeutisch verträglichen Salzes davon für die Herstellung eines Arzneimittels zum Stimulieren der Freisetzung von Wachstumshormon aus der Hypophyse.

18. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1–10 oder eines pharmazeutisch verträglichen Salzes davon für die Herstellung eines Arzneimittels für eine Verabreichung an Tiere, um deren Wachstumsgeschwindigkeit und -ausmaß zu erhöhen, um deren Milch- und Wollproduktion zu erhöhen, oder für die Behandlung von Krankheiten.

19. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1–10 oder eines pharmazeutisch verträglichen Salzes davon für die Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung einer Stimulierung einer Wachstumshormonfreisetzung bei älteren Menschen; Prävention von katabolischen Nebenwirkungen von Glucocorticoiden, Prävention und Behandlung von Osteoporose, Behandlung von NIDDM; Stimulierung des Immunsystems, Beschleunigung der Wundheilung, Beschleunigung der Knochenbruchreparatur, Behandlung von Wachstumsverzögerungen, Behandlung von Nierenversagen oder -insuffizienz, die aus einer Wachstumsverzögerung resultieren, Behandlung von physiologischem Kleinwuchs, einschließlich Kindern mit Wachstumshormonmangel, und Kleinwuchs, der mit chronischen Erkrankungen verbunden ist, Behandlung von Obesität und einer mit Obesität verbundenen Wachstumsverzögerung, Behandlung von Anorexie, Behandlung einer Wachstumsverzögerung, die mit dem Prader-Willi-Syndrom und Turner-Syndrom verbunden ist; Beschleunigen der Genesung und Verringerung des Krankenhausaufenthalts von Verbrennungspatienten; Behandlung von intrauteriner Wachstumsverzögerung, Skelettdysplasie, Hypercortisolismus oder Cushing-Syndrom; Induktion einer pulsierenden Wachstumshormonfreisetzung; Ersetzen von Wachstumshormon bei unter Stress stehenden Patienten, Behandlung von Osteochondrodysplasien, Noonan-Syndrom, Schizophrenie, Depressionen, Alzheimer-Krankheit, verzögerter Wundheilung oder psychosozialer Deprivation, Behandlung von Lungendysfunktion und Abhängigkeit von Beatmungsgeräten, Abschwächung der Proteinkatabolismusreaktionen nach einem größeren chirurgischen Eingriff, Verringern von Kachexie und Proteinverlust aufgrund von chronischen Erkrankungen, wie Krebs oder AIDS; Behandlung von Hyperinsulinämie, einschließlich Nesidioblastose, ergänzende Behandlung zur Ovulationsinduktion; zur Stimulierung der Thymusentwicklung und zur Verhinderung der mit dem Alter zusammenhängenden Abnahme der Thymusfunktion, Behandlung von Patienten mit Immunsuppression, Verbesserung der Muskelstärke, Mobilität, Beibehaltung der Hautdicke, Stoffwechselhomöostase, Nierenhomöostase bei gebrechlichen älteren Menschen, Stimulierung von Osteoblasten, Knochenumbau und Knorpelwachstum, Stimulierung des Immunsystems bei Begleittieren; Behandlung von Alterserkrankungen bei Begleittieren, Wachstumsförderer bei landwirtschaftlichen Nutztieren und Stimulierung des Wollwachstums bei Schafen.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen