



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 359 850**

51 Int. Cl.:
C07K 14/575 (2006.01)
A61K 38/22 (2006.01)
C07K 7/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06700451 .5**
96 Fecha de presentación : **11.01.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1844070**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **17.10.2007**

54 Título: **Péptidos con actividad agonista del receptor del Neuropeptido-2 (Y2R).**

30 Prioridad: **18.01.2005 US 644840 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
27.05.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
27.05.2011

73 Titular/es: **F. Hoffmann-La Roche AG.**
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH

72 Inventor/es: **Danho, Waleed;**
Ehrlich, George;
Fry, David, C.;
Khan, Wajiha y
Swistok, Joseph

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

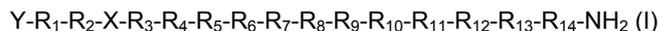
ES 2 359 850 T3

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

DESCRIPCIÓN

Péptidos con actividad agonista del receptor del Neuropeptido-2 (Y2R)

5 La presente invención se refiere a análogos truncados de PYY₃₋₃₆ de fórmula (I)



10 donde X se selecciona del grupo consistente en ácido N-piperazin-1-il-4(3H)-quinoxolinona-3-acético (Pqa), N-(5-O-carboximetil)-serotonina (Cms), ácido 4-(2-aminometil)-6-dibenzofuranpropanoico, ácido 4-(1-piperidin-4-il)-butanoico y 4-(2-aminoetil)-1-carboximetil piperazina, Y es H, un alquilo sustituido o sin sustituir, un alquilo inferior sustituido o sin sustituir, un arilo sustituido o sin sustituir, un alcoxilo sustituido o sin sustituir o una porción polietilenglicol, R₁ es Ile, Ala, (D) Ile, N-metil Ile, Aib, 1-1Aic, 2-2 Aic, Ach o Acp, R₂ es Lys, Ala, (D) Lys, NMelys, Nle o (Lys-Gly), R₃ es Arg, Ala, (D)Arg, N-metilArg, Phe, 3,4,5- TrifluoroPhe o 2,3,4,5,6- Pentafluoro Phe, R₄ es His, Ala, (D)His, N-metil His, 4-MeOapc, 3-Pal o 4-Pal, R₅ es Tyr, Ala, (D) Tyr, N- metil Tyr, Trp, Tic, Bip, Dip, (1)Nal, (2)Nal, 3,4,5- TrifluoroPhe o 2,3,4,5,6- Pentafluoro Phe, R₆ es Leu, Ala, (D)Leu o N-metil Leu, R₇ es Asn, Ala o (D)Asn, R₈ es Leu, Ala, (D)Leu o N-metil Leu, R₉ es Val, Ala, (D) Val o N-metil Val, R₁₀ es Thr, Ala o N-metil Thr, R₁₁ es Arg, (D) Arg o N-metil Arg, R₁₂ es Gln o Ala, R₁₃ es Arg, (D)Arg o N-metil Arg, y R₁₄ es Tyr, (D) Tyr o N- metil Tyr, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

20 Los análogos son agonistas del receptor del neuropeptido-2 y son útiles para el tratamiento de trastornos metabólicos, como, por ejemplo, obesidad.

25 La obesidad es ampliamente reconocida como un problema serio de salud en los países desarrollados, y ha alcanzado el estado de epidemia en los Estados Unidos. De acuerdo con estudios recientes, más del 50 % de la población de los EE.UU. se considera con sobrepeso, con más del 25% diagnosticados como clínicamente obesos y con un riesgo considerable para enfermedades del corazón, diabetes mellitus no-insulino dependiente (DMNID), hipertensión, y ciertos cánceres. Esta epidemia presenta una carga significativa sobre el sistema sanitario de salud ya que el tratamiento de la obesidad cuesta más de 70 mil millones de dólares anuales sólo en los EE.UU. Las estrategias para tratar la obesidad incluye la reducción de la ingesta y potenciar el gasto de energía.

35 El neuropeptido Y (NPY), un péptido neurotransmisor de 36 aminoácidos, es un miembro de la clase de polipéptidos pancreáticos neurotransmisores/neurohormonas que han mostrado estar presentes tanto en el sistema periférico como en el sistema nervioso central. NPY es uno de los agentes más potentes orexogénicos conocidos y ha mostrado jugar un papel principal en la regulación de la ingesta de comida en animales, incluyendo humanos.

40 Cinco receptores de neuropeptido Y (NPY), los subtipos Y1-, Y2-, Y3-, Y4, Y5- y Y6, han sido clonados, que pertenecen a los receptores de 7 hélices transmembrana acoplados a proteína G similares a rodopsina (GPCR). El receptor NPY Y2 (Y2R) son 381 aminoácidos que inhibe la activación de adenil ciclasa vía G_i; aunque posee baja homología con otros receptores NPY. Existe un alto grado de conservación entre el receptor de rata y humano Y2 con un 98% de identidad de aminoácidos.

45 El receptor Y2R se distribuye ampliamente dentro del sistema nervioso central tanto en los roedores como en humanos. En el hipotálamo, el mRNA de Y2 está localizado en el núcleo arcuato, núcleo preóptico, y núcleo dorsomedial. En el cerebro humano, Y2R es el subtipo de receptor Y predominante. En el núcleo arcuato, sobre el 80% de las neuronas NPY co-expresan mRNA Y2R. La aplicación de un agonista selectivo Y2 ha mostrado reducir la liberación de NPY de cortes hipotalámicos in vitro, mientras que el antagonista Y2 no peptídico BIIE0246 aumenta la liberación de NPY. Estos hallazgos soportan el papel de Y2R como autoreceptor presináptico que regula la liberación de NPY y por lo tanto puede estar involucrado en la regulación de la alimentación. (Poter, E.K., et al. Eur. J. Pharmac. 267,253-262 (1994)).

50 El péptido YY₃₋₃₆ (PYY₃₋₃₆) es un péptido de 33 aminoácidos lineal que posee una actividad específica agonista del neuropeptido Y2 (NPY2R). Se ha demostrado que una inyección Intra-arcuata (IC) o Intra-peritoneal (IP) de PYY₃₋₃₆ reduce la alimentación en ratas y, como tratamiento crónico, reducción del aumento de peso. La infusión intra-venosa (IV) (0,8pmol/kg/min) durante 90 min de PYY₃₋₃₆ redujo la ingesta de comida en sujetos humanos obesos y normales en un 33% durante 24 horas. Estos hallazgos sugieren que el sistema PYY puede ser una diana terapéutica para el tratamiento de la obesidad. (Bloom, S. et al, Nature Vol. 418, 8 August 2002, P. 650-654). Además, una versión ciclada de Cys²-(D)Cys²⁷ de PYY, en que los residuos 5-24 se reemplazaron por una cadena metilén de 5 a 8 carbonos en longitud, mostró la activación del receptor PYY intestinal, como se evidencia por la reducción de corriente a través de preparaciones mucosas sujetas a voltaje de yeyuno de rata. (Krstenansky, et al. en Peptides, Proceedings of the Twelfth American Peptide Symposium. J. Smith y J. Rivier Editors, ESCOM. Leiden Página 136-137).

Además, la modificación covalente de proteínas con polietilenglicol o poli óxido de etileno (ambos referidos como PEG), se demostró con superóxido dismutasa (Somack, R, et al., (1991) Free Rad Res Commun 12-13:553-562; Pat. EE.UU. Nos. 5,283,317 y 5,468,478) y para otros tipos de proteínas, p.ej., citoquinas (Saifer, M G P, et al., (1997) Polym

Preprints 38:576-577; Sherman, M R, et al., (1997) en J M Harris, et al., (Eds.), Poly(etilene glycol) Chemistry and Biological Applications. ACS Symposium Series 680 (pp. 155-169) Washington, D.C.: American Chemical Society).

5 Beck-Sickinger et al. (1992) Eur. J. Biochem. 206, 957-964; (1990) Eur. J. Biochem. 194, 449-456; (1995) Biopolymers 37, 123-142; Beck et. al (1989) FEBS Lett. 244, 119-122; Krstenansky et al. (1989) PNAS, USA 86, 4377-4387

se direigen a la provisión de análogos NPY. Batterham et al. (2002) Nature 418 650-654 describe el uso de PYY₃₋₃₆ pra el tratamiento de la obesidad.

10 Existe una necesidad, no obstante, para la elaboración de nuevos análogos de PYY poseyendo significativamente menos peso molecular, mientras que posea igual o mejor potencia, propiedades farmacocinéticas y propiedades farmacológicas que los agonistas Y2R existentes. También existe una necesidad de análogos pegilados de PYY para, por ejemplo, aumentar la vida media del péptido y reducir la inmunogenicidad en sujetos que necesitan tales agonistas.

15 Los compuestos de la invención son también ventajosos debido a que son versiones truncadas de PYY₃₋₃₆. Así, los péptidos más cortos no solo facilitan más la síntesis y la purificación de los compuestos, sino que también mejora y reduce los procesos de elaboración y gastos. Además, los compuestos de la invención interactuarán preferiblemente con receptores PYY y no con receptores homólogos tales como NPY Y1, Y4 e Y5. Las reacciones secundarias de agonistas o antagonistas son, por lo tanto, minimizadas.

20 La Figura 1 muestra un cromatograma HPLC de un compuesto de la presente invención.

La Figura 2 muestra un cromatograma HPLC de un compuesto de la presente invención.

25 La Figura 3 muestra un MALDI-TOF de un compuesto de la presente invención.

La Figura 4 muestra un cromatograma HPLC de otro compuesto de la presente invención.

30 La Figura 5 muestra un cromatograma HPLC de un compuesto de la presente invención.

La Figura 6 muestra un MALDI-TOF de un compuesto de la presente invención.

35 La Figura 7 muestra un gráfico de los efectos sobre la ingesta de comida tras la administración de un compuesto de la presente invención.

La Figura 8 muestra un gráfico de los efectos sobre la ingesta de comida tras la administración de otro compuesto de la presente invención.

40 La Figura 9 muestra un gráfico de los efectos sobre la ingesta de comida tras la administración de aún otro compuesto de la presente invención.

La Figura 10 muestra un gráfico de los efectos sobre la ingesta de comida tras la administración de aún otro compuesto de la presente invención.

45 Todas las secuencias peptídicas mencionadas aquí están escritas de acuerdo con la convención común por lo que el aminoácido N-terminal está en la izquierda y el aminoácido C-terminal está en la derecha, a menos que se indique de otra manera. Una línea corta entre dos residuos de aminoácidos indica un enlace peptídico. Donde el aminoácido posee formas isoméricas, esta es la forma L del aminoácido que está representada a menos que se indique expresamente de otra manera. Por conveniencia al describir esta invención, las abreviaciones convencionales y no convencionales se usan para los diferentes aminoácidos. Estas abreviaciones son familiares para aquellos entendidos en la materia, pero por claridad se listan a continuación:

50 Asp=D=Ácido aspártico; Ala=A=Alanina; Arg=R=Arginina; Asn=N=Asparagina; Gly=G=Glicina; Glu=E= Ácido Glutámico; Gln=Q=Glutamina; His=H=Histidina; Ile=I=Isoleucina; Leu=L=Leucina; Lys=K=Lisina; Met=M=Metionina; Phe=F= Fenilalanina; Pro=P=Prolina; Ser=S=Serina; Thr=T=Treonina; Trp=W=Triptófano; Tyr=Y=Tirosina; y Val=V=Valina.

También por conveniencia, y fácilmente conocido por un experto en la materia, las siguientes abreviaciones o símbolos se usan para representar las fracciones, reactivos y similares usados en esta invención:

60

Pqa	ácido N-piperazin-1-il-4-(3H)-quinazolinona-3-acético;
Cms	N-(5-O-carboximetil)-seratonina;
3,4,5, F3-Phe	3,4,5 -Trifluoro fenilalanina;
2,3,4,5,6,F5-Phe	2,3,4,5,6-Pentafluoro fenilalanina;
4-MeO-Apc	ácido 4-Metoxi-1-amino 4-fenilciclohexano carboxílico;
3-Pal	3-Piridil alanina;

65

	4-Pal	4-Piridil Alanina;
	Aib	ácido Amino isobutírico;
	1-1-Aic	ácido 1 Amino-indan 1- carboxílico;
5	2-2-Aic	ácido 2 Amino-indan 2- carboxílico;
	Ach	ácido 1-Amino ciclohexil carboxílico;
	Acp	ácido 1-Amino ciclopentil carboxílico;
	Fmoc	9-Fluorenilmetiloxycarbonilo;
	Alil	Alil éster;
10	Aloc	Aliloxycarbonilo;
	Mtt	4- Metiltritilo;
	2Pip	2-Fenilisopropil éster;
	Pmc	2,2,5,7,8-Pentametilcroman-6-sulfonilo;
	CH ₂ Cl ₂	Cloruro de Metileno;
	A2O	Anhidruro Acético;
15	CH ₃ CN	Acetonitrilo;
	DMAc	Dimetilacetamida;
	DMF	Dimetilformamida;
	DIPEA	N, N-Diisopropiletilamina;
	TFA	Ácido Trifluoroacético;
20	HOBT	N-Hidroxibenzotriazol;
	DIC	N, N'-Diisopropilcarbodiimida;
	BOP	Benzotriazol-1-iloxi-tris-(dimetilamino) fosfonio-Hexafluorofosfato;
	HBTU	2-(1H-Benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio-Hexafluorofosfato;
	NMP	1-metil 2-Pirolidona;
25	Bip	Bifenilalanina o 4-fenil-fenilalanina;
	Dip	Difenilalanina;
	Tic	Ácido 1,2,3,4,-tetrahidroisoquinolina-3 carboxílico;
	FAB-MS	Bombardeo con Átomos Rápidos-Espectrometría de Masas; y
30	ES-MS	Espectrometría de masas de tipo Electrospray.

Tal como se usa aquí, el término "alquilo" indica un radical hidrocarbilo ramificado o sin ramificar, cíclico o acíclico, saturado o insaturado (p.ej. alqueno o alquino) que puede estar sustituido o sin sustituir. Cuando es cíclico, el grupo alquilo es preferiblemente C₃ a C₁₂, más preferiblemente C₅ a C₁₀, más preferiblemente C₅ a C₇. Cuando es acíclico, el grupo alquilo es preferiblemente C₁ a C₁₀, más preferiblemente C₁ a C₆, más preferiblemente metilo, etilo, propilo (n-propilo o isopropilo), butilo (n-butilo, isobutilo o butilo terciario) o pentilo (incluyendo n-pentilo e isopentilo), más preferiblemente metilo. Se apreciará por lo tanto que el término "alquilo" tal como se usa aquí incluye alquilo (ramificado o sin ramificar), alquilo sustituido (ramificado o sin ramificar), alqueno (ramificado o sin ramificar), alqueno sustituido (ramificado o sin ramificar), alquino (ramificado o sin ramificar), alquino sustituido (ramificado o sin ramificar), cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, cicloalquino y cicloalquino sustituido.

Tal como se usa aquí, el término "alquilo inferior" indica un radical hidrocarbilo ramificado o sin ramificar, cíclico o acíclico, saturado o insaturado (p.ej. alqueno o alquino) donde dicho grupo alquilo inferior cíclico es C₅, C₆ o C₇, y donde dicho grupo alquilo inferior acíclico es C₁, C₂, C₃ o C₄, y es preferiblemente seleccionado de metilo, etilo, propilo (n-propilo o isopropilo) o butilo (n-butilo, isobutilo o butilo terciario). Se apreciará por lo tanto que el término "alquilo inferior" tal como se usa aquí incluye alquilo inferior (ramificado o sin ramificar), alqueno inferior (ramificado o sin ramificar), alquino inferior (ramificado o sin ramificar), cicloalquilo inferior, cicloalqueno inferior y cicloalquino inferior.

Tal como se usa aquí, el término "arilo" indica un grupo aromático carbocíclico sustituido o sin sustituir, tal como fenilo o naftilo, o un grupo heteroaromático sustituido o sin sustituir que contiene uno o más, preferiblemente un, heteroátomo, tal como piridilo, pirrolilo, furanilo, tienilo, tiazolilo, isotiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, pirazolilo, imidazolilo, triazolilo, pirimidinilo, piridazinilo, pirazinilo, triazinilo, indolilo, indazolilo, quinolilo, quinazolilo, benzimidazolilo, benzotiazolilo, benzisoxazolilo y benzisotiazolilo.

Los grupos alquilo y arilo pueden estar sustituidos o sin sustituir. Cuando están sustituidos, habrán generalmente 1 a 3 sustituyentes presentes, preferiblemente 1 sustituyente. Los sustituyentes pueden incluir: grupos que contienen carbono tales como alquilo, arilo, arilalquilo (p.ej. fenilo sustituido y sin sustituir, bencilo sustituido y sin sustituir); átomos de halógeno y grupos que contienen halógeno tales como haloalquilo (p.ej. trifluorometilo); grupos que contienen oxígeno tales como alcoholes (p.ej. hidroxilo, hidroxialquilo, aril(hidroxil)alquilo), éteres (p.ej. alcoxi, ariloxi, alcoxialquilo, ariloxialquilo), aldehídos (p.ej. carboxialdehído), cetonas (p.ej. alquilcarbonilo, alquilcarbonilalquilo, arilcarbonilo, arilalquilcarbonilo, arylcarbonilalquilo), ácidos (p.ej. carboxi, carboxialquilo), derivados de ácidos como ésteres (p.ej. alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilcarboniloxi, alquilcarboniloxialquilo), amidas (p.ej. aminocarbonilo, mono- o di-alquilaminocarbonilo, aminocarbonilalquilo, mono- o di-alquilaminocarbonilalquilo, arilaminocarbonilo), carbamatos (p.ej. alcoxycarbonilamino, ariloxycarbonilamino, aminocarboniloxi, mono- o di-alquilaminocarboniloxi, arilaminocarboniloxi) y ureas (p.ej. mono- o di- alquilaminocarbonilamino o arilaminocarbonilamino); grupos que contienen nitrógeno como aminas (p.ej. amino, mono- o di-alquilamino, aminoalquilo, mono- o di-alquilaminoalquilo), azidas, nitrilos (p.ej. ciano,

cianoalquilo), nitro; grupos que contienen azufre como astioles, tioéteres, sulfóxidos y sulfonas (p.ej. tioalquilo, alquilsulfino, alquilsulfono, alquiltioalquilo, alquilsulfinalquilo, alquilsulfonilalquilo, tioarilo, arilsulfino, arilsulfono, ariltioalquilo, arilsulfinalquilo, arilsulfonilalquilo); y grupos heterocíclicos que contienen uno o más, preferiblemente un, heteroátomo, (p.ej. tienilo, furanilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, oxazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, aziridinilo, azetidino, pirrolidinilo, pirrolinilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, pirazolidinilo, tetrahidrofuranilo, piranilo, pironilo, piridilo, pirazinilo, piridazinilo, piperidilo, hexahidroazepinilo, peperazinilo, morfolinilo, tianaftilo, benzofuranilo, isobenzofuranilo, indolilo, oxiindolilo, isoindolilo, indazolilo, indolinilo, 7-azaindolilo, benzopiranilo, cumarinilo, isocoumarinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, naftiridinilo, cinolinilo, quinazolinilo, piridopiridilo, benzoxazinilo, quinoxalinilo, cromenilo, cromanilo, isocromanilo, ftalazinilo y carbolinilo).

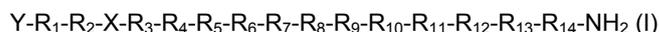
Los grupos alquilo inferior pueden estar sustituidos o sin sustituir, preferiblemente sin sustituir. Cuando están sustituidos, habrá generalmente 1 a 3 sustituyentes presentes, preferiblemente 1 sustituyente. Los sustituyentes incluyen los grupos de sustituyentes listados antes diferentes de alquilo, arilo y arilalquilo.

Tal como se usa aquí, el término "alcoxi" indica alquil-O- y "alcoilo" indica alquil-CO-. Grupos sustituyentes de alcoxi o sustituyentes que contienen grupos alcoxi pueden estar sustituidos por uno o más grupos alquilo.

Tal como se usa aquí, el término "halógeno" indica un radical flúor, cloro, bromo o yodo, preferiblemente un radical flúor, cloro o bromo, y más preferiblemente un radical flúor o cloro.

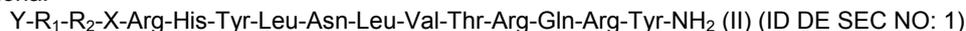
Tal como se usa aquí, el término "sal farmacéuticamente aceptable" indica cualquier sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula (I). Las sales pueden prepararse a partir de ácidos farmacéuticamente aceptables no tóxicos y bases incluyendo ácidos y bases orgánicos e inorgánicos. Tales ácidos incluyen acético, benecenosulfénico, benzoico, camforsulfénico, cítrico, etenosulfónico, dicloroacético, fórmico, fumárico, glucónico, glutámico, hipúrico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, mónico, nítrico, oxálico, pamoico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, oxálico, p-toluenosulfónico y similares. Particularmente preferidos son los ácidos fumárico, clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, succínico, sulfúrico y metanosulfónico. Sales básicas aceptables incluyen sales alcalinometálicas (p.ej. sodio, potasio), metales alcalinotérreos (p.ej. calcio, magnesio) y sales de aluminio.

En una realización de la presente invención, un receptor del agonista del neuropéptido-2 de la fórmula (I) se proporciona:



donde X se selecciona del grupo consistente en ácido N-piperazin-1-il-4(3H)-quinoxolinona-3-acético (Pqa), N-(5-O-carboximetil)-serotonina (Cms), ácido 4-(2-aminometil)-6-dibenzofuranpropanoico, ácido 4-(1-piperidin-4-il)-butanoico y 4-(2-aminoetil)-1-carboximetil piperazina, Y es H, un alquilo sustituido o sin sustituir, un alquilo inferior sustituido o sin sustituir, un arilo sustituido o sin sustituir, un alcoxi sustituido o sin sustituir o una porción polietilenglicol, R₁ es Ile, Ala, (D) Ile, N-metil Ile, Aib, 1-1Aic, 2-2 Aic, Ach o Acp, R₂ es Lys, Ala, (D) Lys, NMelys, Nle o (Lys-Gly), R₃ es Arg, Ala, (D)Arg, N-metilArg, Phe, 3,4,5- TrifluoroPhe o 2,3,4,5,6- Pentafluoro Phe, R₄ es His, Ala, (D)His, N-metil His, 4-MeOApC, 3-Pal o 4-Pal, R₅ es Tyr, Ala, (D) Tyr, N- metil Tyr, Trp, Tic, Bip, Dip, (1)Nal, (2)Nal, 3,4,5- TrifluoroPhe o 2,3,4,5,6- Pentafluoro Phe, R₆ es Leu, Ala, (D)Leu o N-metil Leu, R₇ es Asn, Ala o (D)Asn, R₈ es Leu, Ala, (D)Leu o N-metil Leu, R₉ es Val, Ala, (D) Val o N-metil Val, R₁₀ es Thr, Ala o N-metil Thr, R₁₁ es Arg, (D) Arg o N-metil Arg, R₁₂ es Gln o Ala, R₁₃ es Arg, (D)Arg o N-metil Arg, y R₁₄ es Tyr, (D) Tyr o N- metil Tyr, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización de la presente invención, un agonista del receptor del neuropéptido-2 de la fórmula (II) se proporciona:



donde X es una porción seleccionada de un grupo consistente en ácido N-piperazin-1-il-4(3H)-quinoxolinona-3-acético (Pqa), N-(5-O-carboximetil)-serotonina (Cms), ácido 4-(2-aminometil)-6-dibenzofuranpropanoico, ácido 4-(1-piperidin-4-il)-butanoico y 4-(2-aminoetil)-1-carboximetil piperazina, Y es H, un alquilo sustituido o sin sustituir, un alquilo inferior sustituido o sin sustituir, un arilo sustituido o sin sustituir, un alcoxi sustituido o sin sustituir o una porción polietilenglicol, R₁ es Ile, Ala, (D) Ile, N-metil Ile, Aib, 1-1Aic, 2-2 Aic, Ach o Acp, y R₂ es Lys, Ala, (D) Lys, NMelys, Nle o (Lys-Gly), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En aún otra realización de la presente invención, un agonista del receptor del neuropéptido-2 de la fórmula (III) se proporciona:



donde X se selecciona del grupo consistente en ácido N-piperazin-1-il-4(3H)-quinoxolinona-3-acético (Pqa), N-(5-O-carboximetil)-serotonina (Cms), ácido 4-(2-aminometil)-6-dibenzofuranpropanoico, ácido 4-(1-piperidin-4-il)-butanoico y 4-(2-aminoetil)-1-carboximetil piperazina, y Y es H, un alquilo sustituido o sin sustituir, un alquilo inferior sustituido o sin sustituir, un arilo sustituido o sin sustituir, un alcoxi sustituido o sin sustituir o una porción polietilenglicol, o una sal

farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Agonistas preferidos del receptor del neuropéptido-2 como se ha definido antes son aquellos, donde X es Pqa. Otros agonistas preferidos del receptor del neuropéptido-2 como se ha definido antes son aquellos, donde X es Cms. Preferiblemente, Y es H o (C₁-C₆) alquilo, más preferiblemente Y es una porción (C₁-C₆) alquilo.

Agonistas preferidos del receptor del neuropéptido-2 como se ha definido antes son aquellos seleccionados del grupo consistente en

10 IK-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 Ac-IK-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -RHYLNLVTRARY,
 IK-Pqa -RHYLNLVARQRY,
 15 IK-Pqa -RHYLNLATRQRY,
 IK-Pqa -RHYLNAVTRQRY,
 IK-Pqa -RHYLALVTRQRY,
 IK-Pqa -RHYANLVTRQRY,
 IK-Pqa -RHALNLVTRQRY,
 IK-Pqa -RAYLNLVTRQRY,
 20 IK-Pqa -AHYLNLVTRQRY,
 IA-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 Ac-IA-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 AK-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -RHYLNLVTRQR(D)Y,
 25 IK-Pqa -RHYLNLVTRQ(D)RY,
 IK-Pqa -RHYLNLVT(D)RQRY,
 IK-Pqa -RHYLNL(D)VTRQRY,
 IK-Pqa -RHYLN(D)LVTRQRY,
 IK-Pqa -RHYL(D)NLVTRQRY,
 30 IK-Pqa -RHY(D)LNLVTRQRY,
 IK-Pqa -RH(D)YLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -R(D)HYLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -(D)RHYLNLVTRQRY,
 I(D)K-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 35 (D)IK-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -RHYLNLVTRQR(N-metil)Y,
 IK-Pqa -RHYLNLVTRQ(N-metil)RY,
 IK-Pqa -RHYLNLVT(N-metil)RQRY,
 IK-Pqa -RHYLNLV(N-metil)TRQRY,
 40 IK-Pqa -RHYLNL(N-metil)VTRQRY,
 IK-Pqa -RHYLN(N-metil)LVTRQRY,
 IK-Pqa -RHY(N-metil)LNLVTRQRY,
 IK-Pqa -RH(N-metil)YLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -R(N-metil)HYLNLVTRQRY,
 45 IK-Pqa -(N-metil)RHYLNLVTRQRY,
 I(N-metil)K-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 (N-metil)IK-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 50 Ac-INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -FHYLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -RHWLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -AHWLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -RHYLNLVTRQR(D)Y,
 Ac-INle-Pqa -RHYLNLVTRQR(N-metil)Y,
 55 Ac-INle-Pqa -RHYLys(28)NLVAsp(32)RQRY (ciclo Lys-Asp),
 IK-Cms -RHYLNLVTRQRY,
 IKG-Cms -RHYLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Cms-RHYLys(28)NLVAsp(32)RQRY(ciclo Lys-Asp),
 Ac-INle-Pqa -RHTicLNLVTRQRY,
 60 Ac-INle-Pqa -RHBipLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -RHDipLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -RH(1)NalLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -RH(2)NalLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -RH(3,4,5 Trifluoro Phe)LNLVTRQRY,
 65 Ac-INle-Pqa -RH(2,3,4,5,6 Pentafluoro Phe)LNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -R(4-MeOapc)YLNLVTRQRY,

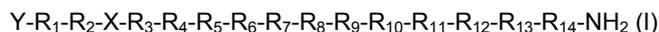
Ac-INle-Pqa -R(3-Pal)YLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -R(4-Pal)YLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -(3,4,5 Trifluoro Phe)HYLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -(2,3,4,5,6 Pentafluoro Phe)HYLNLVTRQRY,
 Ac-Aib-Nle-Pqa-RHYLNLVTRQRT,
 Ac1-1-Aic-Nle-Pqa -RHYLNLVTRQRT,
 Ac1-1-Aic-Nle-Pqa -RHYLNLVTRQRT,
 Ac-2-2Aic-Nle-Pqa -RHYLNLVTRQRT,
 Ac-Ach-Nle-Pqa-RHYLNLVTRQRT,
 Ac-Acp-Nle-Pqa -RHYLNLVTRQRT,
 H- INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 (PEG-10,000) INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY, y
 (PEG-30,000) INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY.

15 Agonistas del receptor del neuropéptido-2 más preferidos como se ha definido antes son aquellos seleccionados del grupo consistente en:

IK-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 Ac-IK-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -RHYLNLVTRQR(N-metil)Y,
 IK-Pqa -RHYLNLVTRQ(N-metil)RY,
 INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY, y
 (PEG-30,000) INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY.

25 Todos los agonistas del receptor del neuropéptido-2 mencionados antes individualmente constituyen realizaciones preferidas separadas.

30 En otra realización de la presente invención, se proporciona un método de tratamiento de la obesidad en un paciente que lo necesita, el método posee los pasos de administración a dicho paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un receptor del agonista del neuropéptido-2 de la fórmula (I):



35 donde X se selecciona del grupo consistente en ácido N-piperazin-1-il-4(3H)-quinoxolinona-3-acético (Pqa), N-(5-O-carboximetil)-serotonina (Cms), ácido 4-(2-aminometil)-6-dibenzofuranpropanoico, ácido 4-(1-piperidin-4-il)-butanoico y 4-(2-aminoetil)-1-carboximetil piperazina, Y es H, un alquilo sustituido o sin sustituir, un alquilo inferior sustituido o sin sustituir, un arilo sustituido o sin sustituir, un alcoxilo sustituido o sin sustituir o una porción polietilenglicol, R₁ es Ile, Ala, (D) Ile, N-metil Ile, Aib, 1-1Aic, 2-2 Aic, Ach o Acp, R₂ es Lys, Ala, (D) Lys, NMelys, Nle o (Lys-Gly), R₃ es Arg, Ala, (D)Arg, N-metilArg, Phe, 3,4,5- TrifluoroPhe o 2,3,4,5,6- Pentafluoro Phe, R₄ es His, Ala, (D)His, N-metil His, 4-MeOApc, 3-Pal o 4-Pal, R₅ es Tyr, Ala, (D) Tyr , N- metil Tyr, Trp, Tic, Bip, Dip, (1)Nal, (2)Nal, 3,4,5- TrifluoroPhe o 2,3,4,5,6- Pentafluoro Phe, R₆ es Leu, Ala, (D)Leu o N-metil Leu, R₇ es Asn, Ala o (D)Asn, R₈ es Leu, Ala, (D)Leu o N-metil Leu, R₉ es Val, Ala, (D) Val o N-metil Val, R₁₀ es Thr, Ala o N-metil Thr, R₁₁ es Arg, (D) Arg o N-metil Arg, R₁₂ es Gln o Ala, R₁₃ es Arg, (D)Arg o N-metil Arg, y R₁₄ es Tyr, (D) Tyr o N- metil Tyr, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

50 Es preferido un método como el descrito antes, donde dicho agonista del receptor del neuropéptido-2 es administrado a dicho paciente una vez cada tres días. Preferiblemente, dicho agonista del receptor del neuropéptido-2 es administrado a dicho paciente una vez a la semana.

55 Es preferido un método como el descrito antes, donde dicho agonista del receptor del neuropéptido-2 es administrado a dicho paciente oralmente, intranasalmente, intravenosamente, subcutáneamente, parenteralmente, transdérmicamente, intraperitonealmente o rectalmente. Preferiblemente, dicho agonista del receptor del neuropéptido-2 es administrado intranasalmente. También es preferido, que dicho agonista del receptor del neuropéptido-2 se administre subcutáneamente.

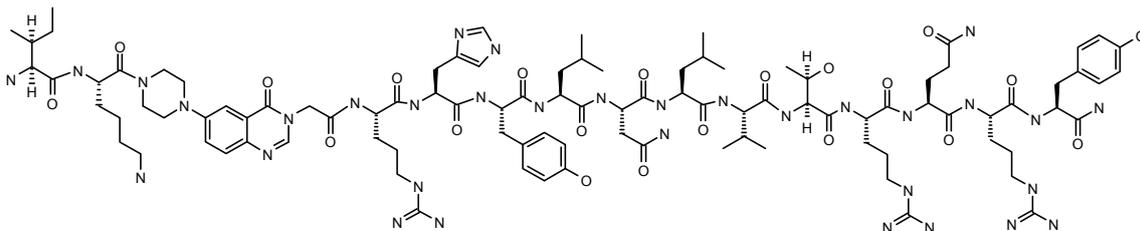
60 En un método preferido como se ha descrito antes, dicho agonista del receptor del neuropéptido-2 es administrado en una dosis de alrededor de 2,5 a alrededor de 10 mg/kg, más preferiblemente de alrededor de 2,5 a alrededor de 5 mg/kg. Un método también es preferido, donde dicho agonista del receptor del neuropéptido-2 es administrado en una dosis de alrededor de 5 a alrededor de 10 mg/kg.

65 En los métodos como se ha descrito antes, agonistas del receptor del neuropéptido-2 son preferidos, donde X se selecciona del grupo consistente en ácido N-piperazin-1-il-4(3H)-quinoxolinona-3-acético (Pqa), N-(5-O-carboximetil)-serotonina (Cms), ácido 4-(2-aminometil)-6-dibenzofuranpropanoico, ácido 4-(1-piperidin-4-il)-butanoico y 4-(2-aminoetil)-1-carboximetil piperazina.

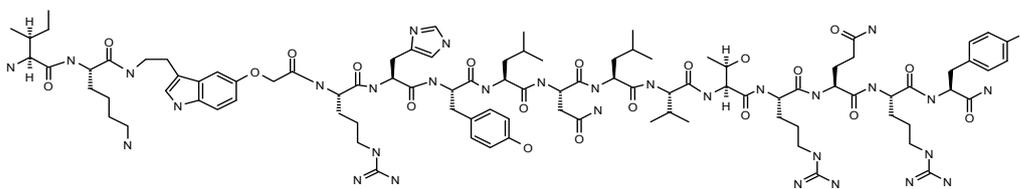
En aún otra realización de la presente invención, un agonista del receptor del neuropéptido-2 se proporciona teniendo un derivado de PYY₃₋₃₆ con los residuos de aminoácido 5-24 reemplazados por una porción de alrededor de 8 a alrededor de 11 Angstroms en longitud.

5 La invención se ilustra ahora según la siguiente descripción detallada y las figuras acompañantes de los que se tomarán más realizaciones, características y ventajas.

La presente invención pertenece a los análogos de PYY₃₋₃₆, donde los residuos de los aminoácidos 5-24 son reemplazados por una porción tal como, por ejemplo, Pqa o Cms. Por ejemplo, la invención proporciona compuestos de la fórmula PYY₃₋₄-Pqa- PYY₂₅₋₃₆:

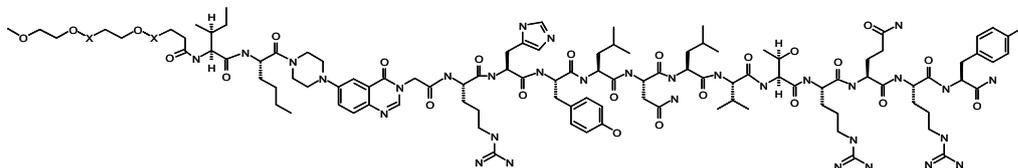


y la fórmula PYY₃₋₄-Cms- PYY₂₅₋₃₆:



15

La invención además proporciona compuestos de fórmula:



20

En la estructura anterior, el grupo -X-CH₂-CH₂-O-X-, de acuerdo con la nomenclatura común, se refiere a las unidades glicol repetidas de una porción polietilenglicol, es decir, a un grupo -(CH₂-CH₂-O)_n-. "n" es escogido concordantemente para alcanzar el peso deseado de la unidad polietilenglicol deseada, preferiblemente alrededor de 10'000 (n es aproximadamente 227) o alrededor de 30'000 (n es aproximadamente 682). Usando la estructura derivada de RMN del PYY₃₋₃₆ nativo como guía, los análogos se presentan aquí con una porción reemplazando los residuos de aminoácidos 5-24 de PYY₃₋₃₆. Los ejemplos de tales fracciones incluye ácido N-piperazin-1-il-4-(3H)-quinazolinona-3-acético (Pqa) y N-(5-O-carboximetil)-seratonina (Cms). La fracción es normalmente rígida y ventajosamente estabiliza la estructura terciaria de la molécula, por lo tanto proporciona análogos truncados con la potencia deseada y propiedades farmacocinéticas y farmacológicas. La fracción es normalmente alrededor de 8 a alrededor de 11 Angstroms de longitud, preferiblemente alrededor de 9 a alrededor de 11 Angstroms de longitud, más preferiblemente alrededor de 9 a alrededor de 10 Angstroms de longitud, aún más preferiblemente alrededor de 8 a alrededor de 10 Angstroms de longitud, aún más preferiblemente alrededor de 8 a alrededor de 9 Angstroms de longitud.

Se debe entender que la invención no está limitada por las realizaciones particulares de la invención descritas aquí, ya que las variaciones de las realizaciones particulares pueden realizarse entrar aún dentro del alcance de las reivindicaciones anexadas. También deberá entenderse que la terminología empleada es para propósito de describir las realizaciones particulares, y no es para limitarlas. En su lugar, el alcance de la presente invención se establecerá en las reivindicaciones anexadas.

Aunque puede usarse cualquier método, dispositivos y materiales similar o equivalente a aquellos descritos aquí pueden utilizarse en la práctica o prueba de la invención, los métodos preferidos, dispositivos y materiales se describen ahora.

Los presentes compuestos representativos pueden sintetizarse rápidamente por cualquier procedimiento convencional para la formación de una unión peptídica entre aminoácidos. Tales procedimientos convencionales incluyen, por ejemplo, cualquier procedimiento de solución en fase que permita una condensación entre el grupo alfa amino libre de un aminoácido o residuo del mismo con su grupo carboxilo y otros grupos reactivos protegidos y el grupo carboxilo

primario libre de otro aminoácido o residuo del mismo con su grupo amino u otros grupos reactivos protegidos.

- 5 Tales procedimientos convencionales para sintetizar los nuevos compuestos de la presente invención incluye por ejemplo cualquier método de síntesis de péptidos en fase sólida. En tal método la síntesis de los nuevos compuestos puede llevarse a cabo secuencialmente incorporando los residuos de aminoácido a la vez en la cadena peptídica creciente de acuerdo con los principios generales de los métodos de fase sólida. Tales métodos se describen en, por ejemplo, Merrifield, R. B., J. Amer. Chem. Soc. 85, 2149-2154 (1963); Barany *et al.*, The Peptides, Analysis, Synthesis and Biology, Vol. 2, Gross, E. y Meienhofer, J., Eds. Academic Press 1-284 (1980).
- 10 Común a la síntesis química de péptidos es la protección de grupos de cadenas laterales reactivos de varias fracciones de aminoácido con grupos protectores adecuados, que prevendrán que ocurra una reacción química en este sitio hasta que se elimine el grupo protector en última instancia. Normalmente también es común la protección del grupo alfa amino en un aminoácido o fragmento mientras que la entidad reacciona en el grupo carboxilo, seguido por la eliminación selectiva del grupo protector alfa amino permitiendo tener lugar en este sitio la consiguiente reacción. Mientras que los grupos protectores específicos han sido descritos respecto al método de síntesis de fase sólida, deberá notarse que cada aminoácido puede protegerse por un grupo protector convencionalmente utilizado por los aminoácidos respectivos en síntesis de solución en fase.
- 15 Los grupos alfa amino pueden protegerse mediante un grupo protector adecuado seleccionado de los grupos protectores aromáticos de tipo uretano, tales como aliloxicarbonilo, benciloxicarbonilo (Z) y benciloxicarbonilo sustituido, tales como p-clorobenciloxicarbonilo, p-nitroben-ciloxicarbonilo, p-bromoben-ciloxicarbonilo, p-bifenil-isopropiloxicarbonilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc) y p-metoxibenciloxicarbonilo (Moz); grupos protectores alifáticos de tipo uretano, tales como t-butiloxicarbonilo (Boc), diisopropilmetiloxicarbonilo, isopropiloxicarbonilo, y aliloxicarbonilo. Aquí, Fmoc es más preferido para la protección alfa amino.
- 20 Los grupos guanidino pueden protegerse por un grupo protector adecuado seleccionado de nitro, p-tolueno-sulfonilo (Tos), (Z,) pentametilmcromanosulfonilo (Pmc), 4-Metoxi-2,3,6,-trimetilbenzenosulfonilo (Mtr), (Pmc), y (Mtr) son más preferidos para arginina (Arg).
- 25 Los grupos e-amino pueden protegerse por un grupo protector adecuado seleccionado de 2-cloro benciloxicarbonilo (2-Cl-Z), 2- Bromo benciloxicarbonilo (2-Br-Z) y t-buti-loxicarbonilo (Boc). Boc es el más preferido para (Lys).
- 30 Los grupos hidroxilo (OH) pueden protegerse por un grupo protector adecuado seleccionado de bencilo (Bzl), 2, 6 diclorobencilo (2, 6 diCl-Bzl), y terc. Butilo (t-Bu), (tBu) es el más preferido para (Tyr), (Ser) y (Thr).
- 35 Los grupos b y g-amida pueden protegerse por un grupo protector adecuado seleccionado de 4- metiltritilo (Mtt), 2, 4, 6-trimetoxibencilo (Tmob), 4, 4-DimetoxiditilBis-(4-metoxifenil)-metil (Dod) y Tritilo (Trt). Trt es el más preferido para (Asn) y (Gln).
- 40 El grupo indol puede protegerse por un grupo protector adecuado seleccionado de formilo (For), Mesitil-2- sulfonilo (Mts) y t-butiloxicarbonilo (Boc). Boc es el más preferido para (Trp).
- El grupo imidazol puede protegerse por un grupo protector adecuado seleccionado de Bencilo (Bzl), -t-butiloxicarbonilo (Boc), y Tritilo (Trt). Trt es el más preferido para (His).
- 45 Todos los solventes, isopropanol (iPrOH), cloruro de metileno (CH₂Cl₂), dimetilformamida (DMF) y N-metil-pirrolinona (NMP) se compraron de Fisher o Burdick & Jackson y se utilizaron sin destilación adicional. Ácido trifluoroacético se compró de Halocarbon o Fluka y se usaron sin más purificación.
- 50 Diisopropilcarbodiimida (DIC) y diisopropiletilamina (DIPEA) se obtuvieron de Fluka o Aldrich y se usaron sin más purificación. Hidroxibenzotriazol (HOBT) dimetilsulfuro (DMS) y 1, 2-etanoditilo (EDT) se obtuvieron de Sigma Chemical Co. y se usaron sin más purificación. Los aminoácidos protegidos fueron generalmente de la configuración L y se obtuvieron comercialmente de Bachem, o Neosystem. La pureza de estos reactivos se confirmó mediante cromatografía de capa fina, RMN y punto de fusión antes de sus uso. La resina de Benzhidrilamina (BHA) es un copolímero de estireno - 1% divinilbenceni (100-200 o 200-400 malla) obtenido de Bachem o Advanced Chemtech. El contenido total de nitrógeno de estas resinas fue generalmente entre 0,3 - 1,2 meq/g.
- 55 La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se llevó a cabo en un aparato LDC consistente en bombas Constametric I y III, un programador de solventes Gradient Master y un mezclador, y un detector de longitud de onda UV variable Spectromonitor III. La HPLC analítica se realizó en modo de fase reversa usando columnas Vydac C₁₈ (0,4 x 30 cm). Las separaciones de HPLC preparativa se corrieron en columnas Vaydac (2 x 25 cm).
- 60 En una realización preferida, los péptidos se prepararon usando síntesis de fase sólida por el método generalmente descrito por Merrifield, (J. Amer. Chem. Soc., 85, 2149 (1963)), aunque otras síntesis químicas equivalentes en el campo pueden utilizarse como se ha mencionado antes. La síntesis de fase sólida empieza del extremo C-terminal del péptido acoplado un alfa-aminoácido protegido en una resina adecuada. Tal a material de partida puede prepararse
- 65

5 uniendo un aminoácido alfa-amino protegido por un enlace éster a una resina (Wang) alcohol p-benciloxibencilo, o mediante un enlace amida entre un enlazante Fmoc, como ácido p-((R, S)-a-(1-(9H-fluoren-9-il)-metoxiformamido)-2,4-dimetiloxibencil)-fenoxiacético (enlazante Rink) a una resina benzhidrilamina (BHA). La preparación de la resina hidroximetilo es bien conocida en el campo. Los soportes Fmoc-Enlazante-resina BHA están comercialmente disponibles y generalmente se usan cuando el péptido deseado que está siendo sintetizado posee una amida sin sustituir en el C-terminal.

10 Normalmente, los aminoácidos o miméticos están acoplados en el Fmoc-Enlazante-resina BHA usando la forma Fmoc protegida del aminoácido o mimético, con 2 - 5 equivalentes de aminoácido y un reactivo de acoplamiento adecuado. Tras los acoplamientos, la resina puede lavarse y secarse al vacío. La carga del aminoácido en la resina puede determinarse mediante el análisis de aminoácido de una alícuota de Fmoc-resina de aminoácido o por determinación de grupos Fmoc por análisis UV. Cualquier grupo amino sin reaccionar puede taponarse "capping" reaccionando la resina con anhídrido acético y diisopropiltilamina en cloruro de metileno.

15 Las resinas se llevan a término varios ciclos repetitivos para añadir aminoácidos secuencialmente. Los grupos protectores alfa amino Fmoc se eliminan bajo condiciones básicas. Piperidina, piperazina o morfolina (20-40% v/v) en DMF pueden utilizarse para este propósito. Preferiblemente 40% piperidina en DMF es utilizado.

20 Siguiendo la eliminación del grupo protector alfa amino, los posteriores aminoácidos protegidos se acoplaron por pasos en el orden deseado para obtener un intermediario, resina de péptidos protegidos. Los reactivos activantes usados para el acoplamiento de los aminoácidos en la síntesis de fase sólida de los péptidos son bien conocidos en el campo. Por ejemplo, reactivos apropiados para tal síntesis son benzotriazol-1-iloxi-tri- (dimetilamino) fosfonio hexafluorofosfato (BOP), Bromo-tris-pirrolidino-fosfonio hexafluorofosfato (PyBroP) 2-(1H-Benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio hexafluorofosfato (HBTU), y diisopropilcarbodiimida (DIC). Aquí son preferidos HBTU y DIC. Otros agentes activantes están descritos por Barany y Merrifield (en The Peptides, Vol. 2, J. Meienhofer, ed., Academic Press, 1979, pp 1-284) pueden utilizarse. Varios reactivos tales como 1 hidroxibenzotriazol (HOBT), N-hidroxisuccinimida (HOSu) y 3, 4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1, 2, 3-benzotriazina (HOBT) pueden añadirse a las mezclas de acoplamiento para poder optimizar los ciclos sintéticos. Aquí es preferido HOBT.

30 El protocolo para un ciclo sintético típico es como sigue:

Protocolo 1

Paso	Reactivo	Tiempo
35	1 DMF	2 x 30 seg
	2 20% piperidina/DMF	1 min
	3 20% piperidina/DMF	15 min
	4 DMF	2 x 30 seg
	5 iPrOH	2 x 30 seg
	6 DMF	3 x 30 seg
40	7 acoplamiento	60 min - 18 horas
	8 DMF	2 x 30 seg
	9 iPrOH	1 x 30 seg
	10 DMF	1 x 30 seg
	11 CH ₂ Cl ₂	2 x 30 seg

45 Los solventes para todos los lavados y acoplamientos se midieron para volúmenes de resinas de 10-20ml/g. Las reacciones de acoplamiento durante toda la síntesis se monitorizó mediante el test Kaiser Ninhidrina para determinar la extensión de la completación (Kaiser et al. Anal. Biochem,34, 595-598 (1970)). Se observó una reacción cinética lenta para Fmoc-Arg (Pmc) y para acoplamientos a aminas secundarias por ácidos estéricamente impedidos. Cualquier reacción de acoplamiento incompleta se reacopló con aminoácido activado recién preparado o se taponó "capped" tratando la resina de péptido con anhídrido acético como se ha descrito antes. Las resinas de péptido totalmente ensambladas se secaron al vacío durante varias horas.

55 Para cada compuesto, los grupos de bloque se eliminaron y el péptido se escindió de la resina. Por ejemplo, las resinas de péptido se trataron con 100mL de etanoditol, 100mL dimetilsulfuro, 300mL anisol, y 9,5mL de ácido trifluoroacético, por gramo de resina, a temperatura ambiente durante 180 min. o alternativamente las resinas de péptido se trataron con 1,0mL de triisopropil silano y 9,5 mL de ácido trifluoroacético, por gramo de resina, a temperatura ambiente durante 180 min. La resina se eliminó por filtración y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y la fase éter se decantó.

60 El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se recentrifugó. Los productos brutos se secaron al vacío.

65 La purificación de los péptidos brutos se realizó en un sistema Shimadzu LC-8A por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en una columna de fase reversa Vydac C-18 (50x250 mm. 300 A, 10-15µm). Los péptidos se inyectaron a las columnas en un volumen mínimo de tanto 0,1 AcOH/ H₂O o CH₃CH/H₂O. El gradiente de elución

5 empezó generalmente a 2% de tampón B, 2% -70% B durante 70 minutos, (tampón A: 0,1% TFA/H₂O, tampón B: 0,1% TFA/CH₃CN) a una tasa de flujo de 50 ml/min. La detección UV se realizó a 220/280nm. Las fracciones que contienen los productos se separaron y su pureza se juzgó en un sistema analítico Shimadzu LC-10AT usando una columna de fase reversa Ace C18 (4,6 x50mm) a una tasa de flujo de 2 ml/min., gradiente (2-70 %) durante 10 min.(tampón A: 0,1% TFA/ H₂O, tampón B: 0,1% TFA/ CH₃CN)). Las fracciones se juzgaron ser de alta pureza se mezclaron y liofilizaron.

10 La pureza de los productos finales se probó por HPLC analítica en una columna de fase reversa como se ha dicho antes. La pureza de todos los productos se juzgó ser aproximadamente de 95-99%. Todos los productos finales se sometieron también a espectrografía de masas de bombardeo de átomos rápidos (FAB-MS) o espectrometría de masas de tipo electrospray (ES-MS). Todos los productos proporcionaron los iones parentales M+H esperados dentro de límites aceptables.

15 Los agonistas de Y2R provocan la reducción de la ingesta de comida en modelos de ratones de obesidad humana. Por lo tanto, la administración de estos compuestos agonizan la actividad del receptor Y2, que es importante para la reducción de la ingesta de comida y la regulación del peso corporal. De acuerdo con los experimentos de actividad in vivo en el Ejemplo 78, la reducción de la ingesta de comida se demostró para los análogos seleccionados de la invención (aquellos de los Ejemplos 5, 44, 73 y 74) y los resultados resumidos en las Figuras 7, 8, 9 y 10.

20 Los compuestos de la presente invención pueden proporcionarse en forma de sales farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de sales preferidas son aquellas formadas con ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables, p.ej., ácido acético, láctico, maleico, cítrico, málico, ascórbico, succínico, benzoico, salicílico, metanosulfónico, toluenosulfónico, trifluoroacético, o pamoico, así como ácidos poliméricos tales como ácido tánico o carboximetil celulosa, y sales con ácidos inorgánicos, tales como ácidos hidrohálicos (p.ej., ácido clorhídrico), ácido sulfúrico, o ácido fosfórico y similares. Cualquiera procedimiento para obtener una sal farmacéuticamente aceptable conocida para un experto en la materia puede utilizarse.

30 Como se ha descrito antes, los nuevos compuestos de la presente invención han sido encontrados de ser agonistas del receptor del neuropéptido-2. Los compuestos de la presente invención pueden por lo tanto utilizarse en el tratamiento y/o prevención de enfermedades que están moduladas por agonistas del receptor del neuropéptido-2, particularmente obesidad.

La invención por lo tanto también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprende un compuesto como se ha definido antes y un vehículo y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

35 La invención igualmente abarca compuestos como se ha descrito antes para el uso como sustancias terapéuticamente activas, especialmente como sustancias terapéuticamente activas para el tratamiento y/o prevención de enfermedades que están moduladas por los agonistas del receptor del neuropéptido-2, particularmente como sustancias terapéuticamente activas para el tratamiento y/o prevención de obesidad.

40 En otra realización preferida, la invención se refiere a un método para el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de enfermedades que están moduladas por los agonistas del receptor del neuropéptido-2, particularmente para el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de obesidad, cuyo método comprende la administración de un compuesto como se ha definido antes a un ser humano o animal.

45 La invención también abarca el uso de compuestos como se ha definido antes para el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de enfermedades que están moduladas por los agonistas del receptor del neuropéptido-2, particularmente para el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de obesidad.

50 La invención también se refiere al uso de compuestos como se ha descrito antes para la preparación de medicamentos para el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de enfermedades que están moduladas por los agonistas del receptor del neuropéptido-2, particularmente para el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de obesidad. Tales medicamentos comprenden un compuesto como se ha descrito antes.

55 En la práctica del método de la presente invención, una cantidad efectiva de cualquiera de los péptidos de esta invención o una combinación de cualquiera de los péptidos de esta invención o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, es administrado vía cualquiera de los métodos usuales y aceptables conocidos en la materia, tanto solos como en combinación. Los compuestos o composiciones pueden así administrarse oralmente (p.ej., cavidad bucal), sublingualmente, parenteralmente (p.ej., intramuscularmente, intravenosamente, o subcutáneamente), rectalmente (p.ej., mediante supositorios o lavativas), transdérmicamente (p.ej., electroporación de la piel) o por inhalación (p.ej., por aerosol), y en forma de dosis sólida, líquida o gaseosa, incluyendo comprimidos y suspensiones. La administración puede realizarse en forma de dosis unitarias simples con terapia continua o en una dosis simple de terapia ad libitum. La composición terapéutica puede también ser en forma de una emulsión aceitosa o dispersión junto con una sal lipofílica como ácido pamoico, o en forma de una composición biodegradable de liberación sostenida para la administración subcutánea o intramuscular.

65 Así, el método de la presente invención es practicado cuando el alivio de los síntomas es específicamente requerido o

puede que inminente. Alternativamente, el método de la presente invención se practica de forma efectiva como un tratamiento continuo o profiláctico.

5 Vehículos farmacéuticos útiles para la preparación de las composiciones de las mismas, pueden ser sólidos, líquidos o gases; así, las composiciones pueden tener la forma de comprimidos, pastillas, cápsulas, supositorios, polvos, formulaciones entéricamente recubiertos o protegidas de otra manera (p.ej. unión a resinas de intercambio de iones o empaquetando en vesículas lípido-proteína), formulaciones de liberación sostenida, soluciones, suspensiones, elixires, aerosoles, y similares. El vehículo puede seleccionarse de varios aceites incluyendo aquellos de origen en el petróleo, animal, vegetal o sintético, p.ej., aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo, y similares. Agua, salina, dextrosa acuosa, y glicoles son vehículos líquidos preferidos, particularmente (cuando es isotónico con la sangre) para soluciones inyectables. Por ejemplo, formulaciones para administración intravenosa comprende soluciones acuosas estériles de los ingrediente(s) activo(s) que están preparados por disolución de ingrediente(s) sólido(s) activo(s) en agua para producir una solución acuosa, y dejando la solución estéril. Los excipientes farmacéuticos aceptables incluyen almidón, celulosa, talco, glucosa, lactosa, talco, gelatina, malta, arroz, harina, tiza, sílice, estearato magnésico, 10 estearato sódico, glicerol monoestearato, cloruro sódico, leche en polvo, glicerol, propilenglicol, agua, etanol, y similares. Las composiciones pueden estar sometidas a aditivos farmacéuticos convencionales tales como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsificantes, sales para ajustar la presión osmótica, tampones y similares. Vehículos farmacéuticos adecuados y su formulación están descritos en Remington's Pharmaceutical Sciences por E. W. Martin. Tales composiciones contendrán, en cualquier caso, una cantidad efectiva del compuesto activo junto con un vehículo 20 adecuado para preparar la forma de dosis adecuada para una administración adecuada para el receptor.

La dosis de un compuesto de la presente invención depende de un número de factores, como por ejemplo, la forma de administración, la edad y el peso corporal del sujeto, y la condición del sujeto a tratar, y en última instancia lo decidirá el médico o veterinario. Tal cantidad del compuesto activo determinada por el médico o veterinario es referida aquí, y en 25 las reivindicaciones, como una "cantidad efectiva". Por ejemplo, la dosis para la administración intranasal está normalmente en el rango de alrededor de 1 a alrededor de 100mg/kg de peso corporal; y la dosis para la administración está normalmente en el rango de alrededor de 0,001 a alrededor de 50mg/kg de peso corporal.

Preferiblemente, la dosis de un compuesto de la presente invención es de alrededor de 2,5 a alrededor de 10 mg/kg. Más preferiblemente, las dosis están alrededor de 2,5, a alrededor de 5 y alrededor de 10mg/kg.

La invención será ahora descrita en más profundidad en los siguientes Ejemplos, que intentan ilustrar sólo y no limitar el alcance de la invención.

35 **Ejemplos**

EJEMPLO 1

Preparación de Fmoc-Enlazante-resina BHA

40 La resina de benzhidrilamina copoliestireno-1% divinilbenceno entrecruzado (10,0g, 9,3 mequiv, 100-200 ASTM malla, Advanced ChemTech) se hinchó en 100mL de CH₂Cl₂, se filtró y lavó sucesivamente con 100ml de CH₂Cl₂, 6% DIPEA/CH₂Cl₂ (dos veces), CH₂Cl₂ (dos veces). La resina se trató con ácido p-((R, S)-α-(1-(9H-fluoren-9-il)-metoxi-formamido)-2, 4-dimetoxibencil)-fenoxiacético (Fmoc-enlazante) (7,01g, 13,0mmol), N-hidroxibenzotriazol (2,16g, 16,0mmol), y diisopropil-carbodiimida (2,04ml, 13,0mmol) en 100mL 25% DMF/CH₂Cl₂ durante 24 horas a temperatura ambiente. La resina se filtró y lavó sucesivamente con 100 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol (dos veces), DMF, y CH₂Cl₂ (tres veces). El análisis Kaiser Ninhidrina fue negativo. La resina se secó al vacío para proporcionar 16,12g de Fmoc-Enlazante-resina BHA. Una porción de esta resina (3,5mg) se sometió a desprotección Fmoc y análisis UV cuantitativo que indicó una carga de 0,56mmol/g.

EJEMPLO 2

Protocolo para la síntesis de péptidos por el sintetizador 433A de Applied Biosystem usando la química de Fluorenilmetiloxycarbonilo (Fmoc).

55 Para una síntesis de péptido a escala de 0,25mmol por el sintetizador 433A de Applied Biosystem (Foster City, CA), los ciclos FastMoc de 0,25mmol se usaron tanto con la muestra de resina sin muestra de resina, 41mL de recipiente de reacción. La resina Fmoc-aminoácido se disolvió con 2,1g de NMP, 2g de 0,45M HOBt/HBTU en DMF y 2M de DIEA, luego se transfirió al recipiente de reacción.

60 El ciclo de acoplamiento básico de FastMoc se representó por el módulo "BADEIFD," donde cada letra representa un módulo. Por ejemplo:

65 B representa el módulo para la desprotección de Fmoc usando 20% Piperidina/NMP y lavados relacionados y lecturas durante 30 min (tanto monitorización UV o conductividad);

A representa el módulo para la activación de aminoácido en cartuchos con 0,45M HBTU/HOBt y 2,0M DIEA y mezclar con burbujeo de N₂;

D representa el módulo para el lavado de NMP de la resina en el recipiente de reacción;

E representa el módulo para transferir el aminoácido activado al recipiente de reacción para el acoplamiento;

I representa el módulo para un periodo de espera de 10 minutos con encendido y apagado de la agitación del recipiente de reacción; y

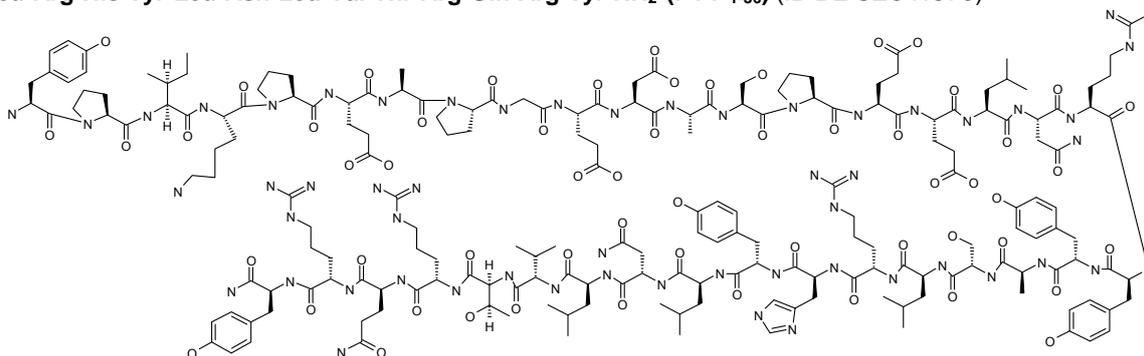
F representa el módulo para limpiar el cartucho, acoplamiento durante aproximadamente 10 minutos y drenaje del recipiente de reacción.

Los acoplamientos normalmente se extienden por adición del módulo "I" una o múltiples veces. Por ejemplo, los acoplamientos dobles se realizaron mediante el procedimiento "BADEIIADEIFD." Otros módulos están disponibles como c para lavado de cloruro de metileno y "C" para taponar "capping" con anhídrido acético. Los módulos individuales son también modificables mediante, por ejemplo, cambiar el tiempo de varias funciones, como el tiempo de transferencia, para alterar la cantidad de solvente o reactivos transferidos.

Los ciclos anteriores se utilizan normalmente para acoplar un aminoácido. Para sintetizar tetra péptidos, no obstante, los ciclos se repitieron y se encadenaron juntos. Por ejemplo, BADEIIADEIFD se usó para acoplar el primer aminoácido, seguido por BADEIIADEIFD para acoplar el segundo aminoácido, seguido por BADEIIADEIFD para acoplar el tercer aminoácido, seguido por BADEIIADEIFD para acoplar el cuarto aminoácido, seguido por BIDDcc para la desprotección final y lavado.

EJEMPLO 3

Preparación de H-Tyr-Pro-Ile-Lys-Pro-Glu-Ala-Pro-Gly-Glu-Asp-Ala-Ser-Pro-Glu-Glu-Leu-Asn-Arg-Tyr-Tyr-Ala-Ser-Leu-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (PYY₁₋₃₆) (ID DE SEC NO: 3)

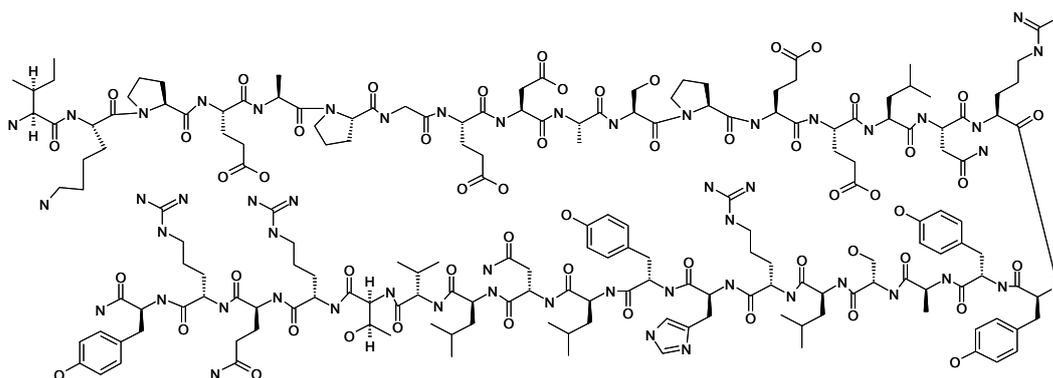


El péptido anterior se sintetizó usando química Fmoc en un sintetizador 433A de Applied Biosystem. El sintetizador se programó para acoplamiento doble usando los módulos descritos en el Ejemplo 2. La síntesis se llevó a cabo en una escala de 0,25mmol usando el Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1. Al final de la síntesis, la resina se transfirió a un recipiente de reacción en un agitador para escisión. El péptido se escindió de la resina usando 13,5mL 97% TFA/ 3%H₂O y 1,5mL de triisopropilsilano durante 180 minutos a temperatura ambiente. La solución de desprotección se añadió a 100mL de ET₂O frío, y se lavó con 1mL de TFA y 30mL de ET₂O frío para precipitar el péptido. The péptido se centrifugó en 2x50mL tubos de polipropileno. Los precipitados de los tubos individuales se combinaron en un sólo tubo y se lavó 3 veces con ET₂O frío y se secaron en un desecador al vacío casero.

El material bruto se purificó mediante HPLC preparativa en una Columna Pursuit C18 (250x50mm, 10µm tamaño de partícula) y se eluyó con un gradiente lineal de 2-70%B (tampón A: 0,1%TFA/H₂O; tampón B: 0,1% TFA/CH₃CN) en 90 min., tasa de flujo 60mL/min,y detección 220/280 nm. Las fracciones se recogieron y se probaron por HPLC analítica. Las fracciones que contienen producto puro se combinaron y liofilizaron para proporcionar 65mg (6%) de un polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calculado ("calc.") para C₁₉₄H₂₉₅N₅₅O₅₇ 4309,85, encontrado 4309,15.

EJEMPLO 4

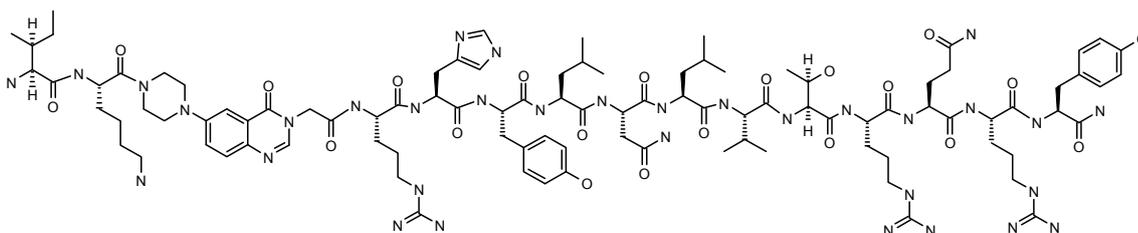
Preparación de H-Ile-Lys-Pro-Glu-Ala-Pro-Gly-Glu-Asp-Ala-Ser-Pro-Glu-Glu-Leu-Asn-Arg-Tyr-Tyr-Ala-Ser-Leu-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (PYY₃₋₃₆) (ID DE SEC NO: 4)



5 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 151mg (15%) de polvo blanco amorfo. (ES)+LCMS m/e calc. para $C_{180}H_{279}N_{53}O_{54}$ 4049,55 encontrado 4050,40.

EJEMPLO 5

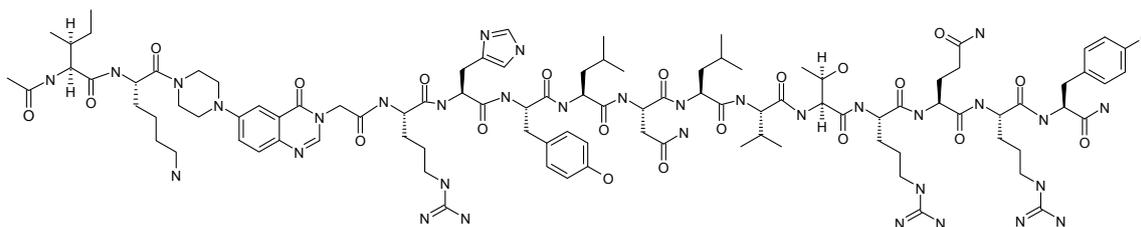
10 Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr- NH₂ (ID DE SEC NO: 5)



15 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 148mg (9%) de polvo blanco amorfo. (ES)+LCMS m/e calc. para $C_{98}H_{155}N_{33}O_{21}$ 2131,53 encontrado 2130,56.

EJEMPLO 6

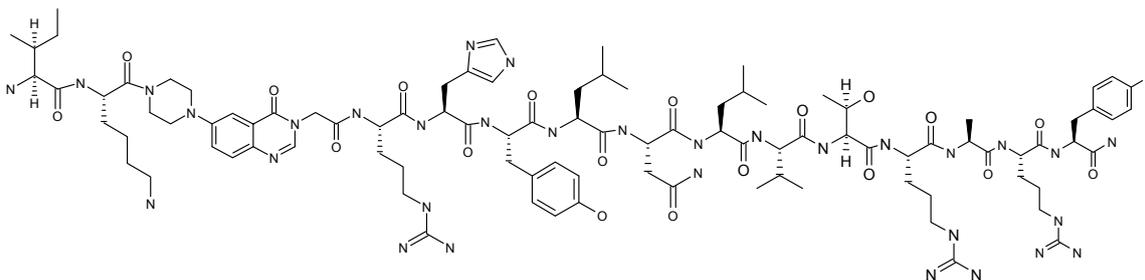
20 Preparación de Ac-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 5)



25 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (el ciclo de acetilación se añadió al protocolo ABI-) y la purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 150mg (27%) de polvo blanco amorfo. (ES)+LCMS m/e calc. para $C_{100}H_{157}N_{33}O_{22}$ 2171,57 encontrado 2171,4.

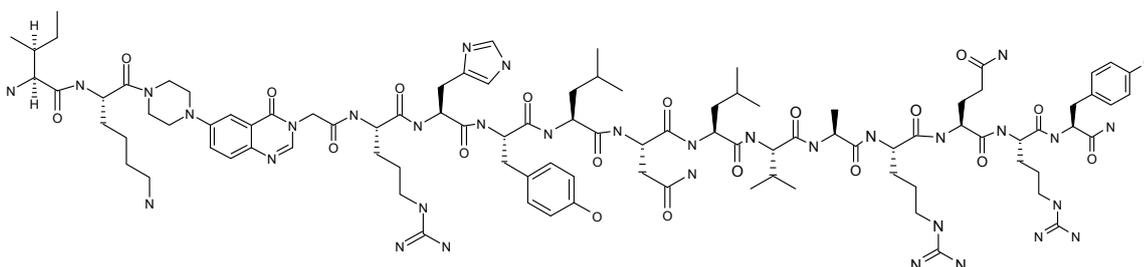
EJEMPLO 7

30 Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Ala-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 6)



5 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Ala se insertó en la posición 34 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 142mg (27%) de polvo blanco amorfo. (ES)+LCMS m/e calc. para $C_{96}H_{150}N_{32}O_{20}$ 2072,47 encontrado 2072,4

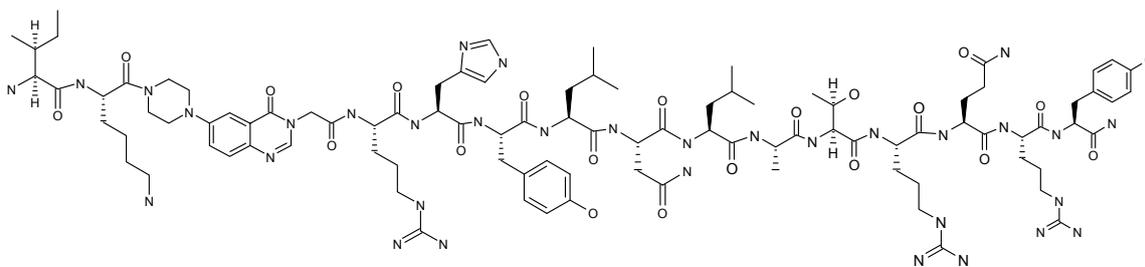
EJEMPLO 8



10 **Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Ala-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂** (ID DE SEC NO: 7)

15 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Ala se insertó en la posición 32 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 167mg (32%) de polvo blanco amorfo. (ES)+LCMS m/e calc. para $C_{97}H_{151}N_{33}O_{20}$ 2099,49 encontrado 2100,3

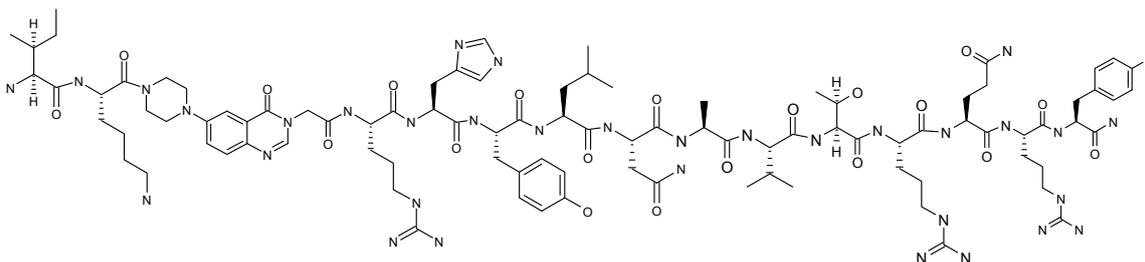
EJEMPLO 9



20 **Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Ala-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂** (ID DE SEC NO: 8)

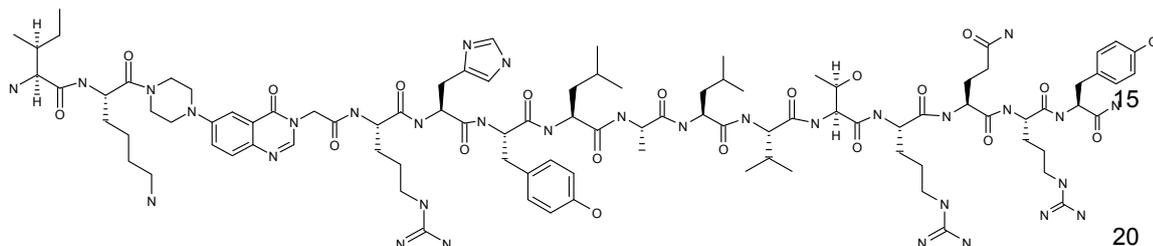
25 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Ala se insertó en la posición 31 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 105mg (20 %) de polvo blanco amorfo. (ES)+LCMS m/e calc. para $C_{96}H_{149}N_{33}O_{21}$ 2101,47 encontrado 2102,1

EJEMPLO 10

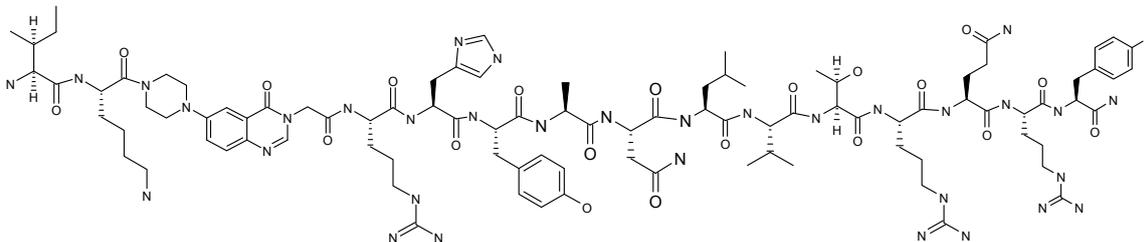


Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Ala-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 9)

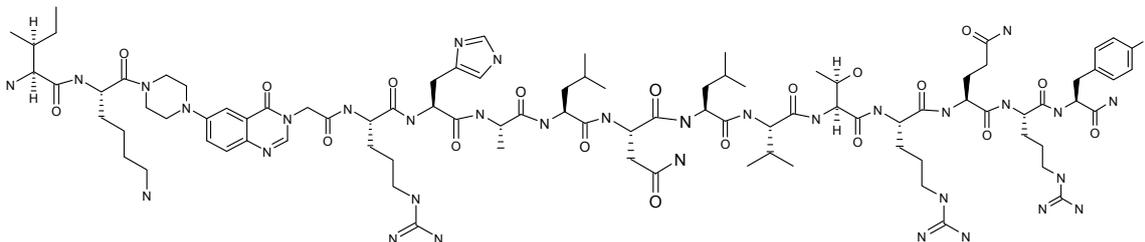
El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Ala se insertó en la posición 30 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 167mg (27 %) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para C₉₅H₁₄₇N₃₃O₂₁ 2087,44 encontrado 2087,7

EJEMPLO 11**Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Ala-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂** (ID DE SEC NO: 10)

El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Ala se insertó en la posición 29 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 142mg (27 %) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para C₉₇H₁₅₂N₃₂O₂₀ 2086,50 encontrado 2086,50.

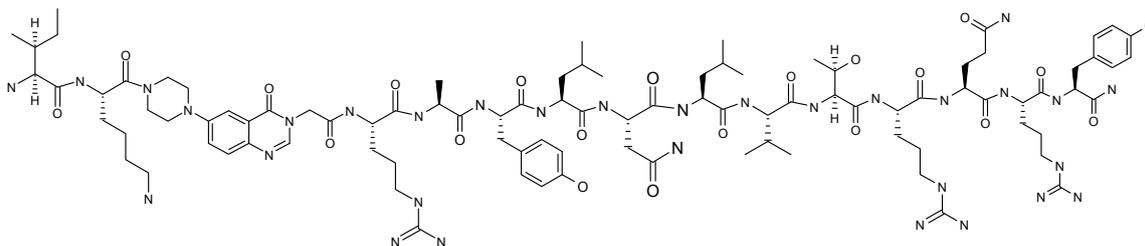
EJEMPLO 12**Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Ala-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂** (ID DE SEC NO: 11)

El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Ala se insertó en la posición 28 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 164mg (31%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para C₉₅H₁₄₇N₃₃O₂₁ 2087,44 encontrado 2087,40.

EJEMPLO 13**Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Ala-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂** (ID DE SEC NO: 12)

El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Ala se insertó en la posición 27 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 132mg (26 %) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para C₉₂H₁₄₉N₃₃O₂₀ 2037,42 encontrado 2037,60.

EJEMPLO 14**Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-Ala-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂** (ID DE SEC NO: 13)

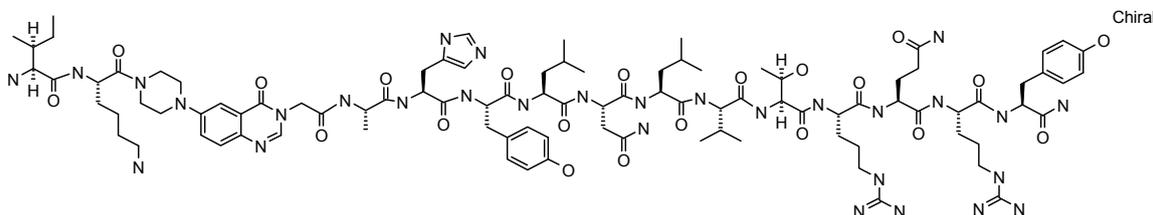


5 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Ala se insertó en la posición 26 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 76mg (15 %) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{95}H_{151}N_{31}O_{21}$ 2063,46 encontrado 2064,0

EJEMPLO 15

10

Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Ala-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 14)



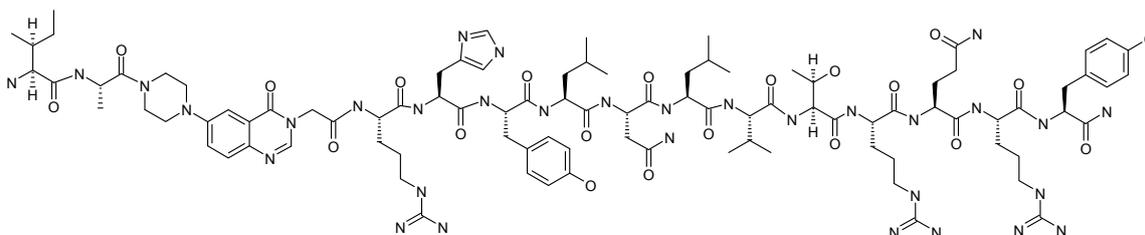
15

El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Ala se insertó en la posición 25 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 152mg (30 %) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{95}H_{146}N_{30}O_{21}$ 2043,13 encontrado 2043,4.

EJEMPLO 16

20

Preparación de H-Ile-Ala-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 5)



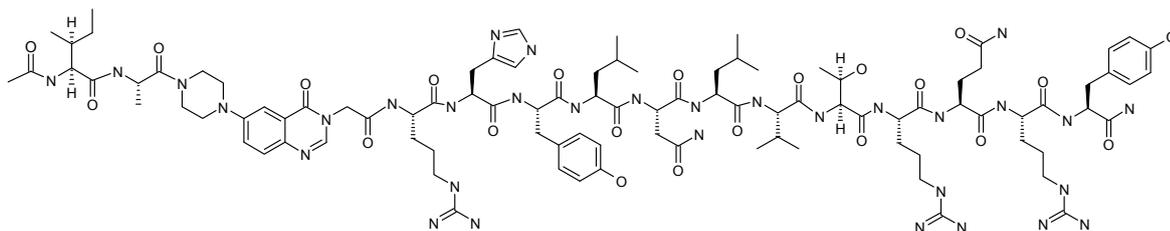
25

El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Ala se insertó en la posición 4 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 72mg (14%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{95}H_{146}N_{32}O_{21}$ 2072,44 encontrado 2071,2

EJEMPLO 17

30

Preparación de Ac-Ile-Ala-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 5)



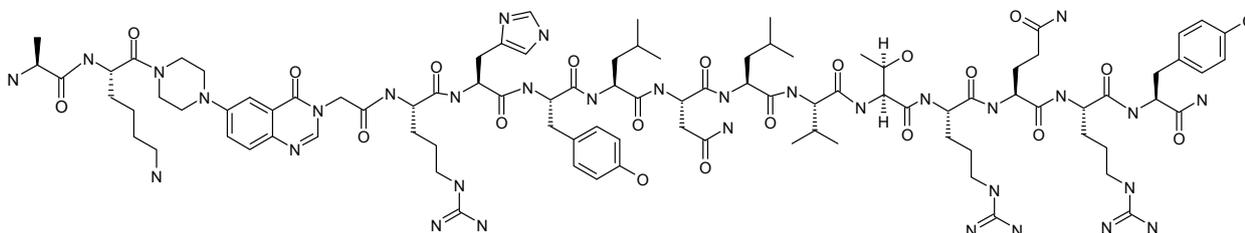
35

El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 16 se sometió a síntesis de fase sólida, donde se añadió un ciclo de acilación al protocolo, y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar

234mg (44%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{97}H_{148}N_{32}O_{22}$ 2114,46 encontrado 2114,7.

EJEMPLO 18

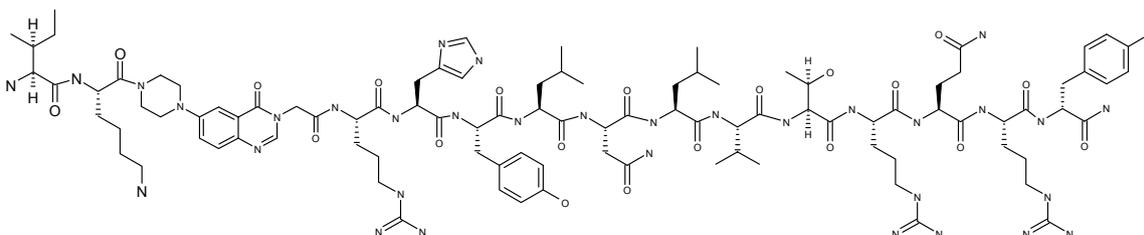
5 Preparación de H-Ala-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 5)



10 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Ala se insertó en la posición 3 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 196mg (38%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{95}H_{147}N_{33}O_{21}$ 2087,45 encontrado 2086,5.

EJEMPLO 19

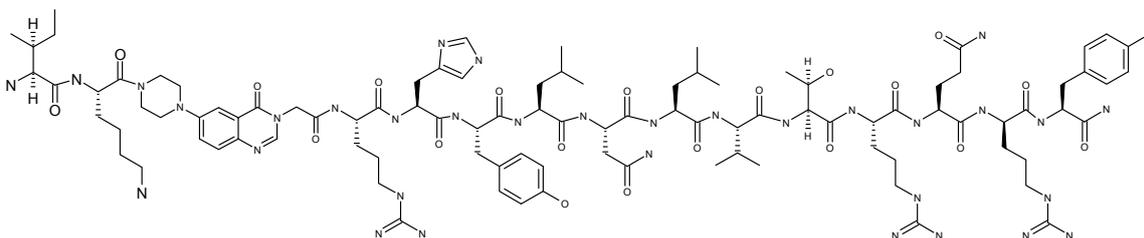
15 Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-(D)Tyr-NH₂



20 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida ((D) Tyr se insertó en la posición 36 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 114mg (21%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{98}H_{153}N_{33}O_{21}$ 2129,52 encontrado 2129,10.

EJEMPLO 20

25 Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-(D)Arg-Tyr-NH₂



30 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida ((D) Arg se insertó en la posición 35 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 221mg (42%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{98}H_{153}N_{33}O_{21}$ 2129,52 encontrado 2129,10.

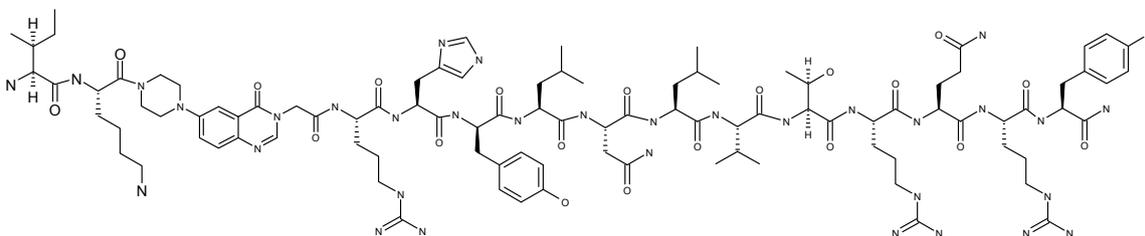
EJEMPLO 21

35 Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-(D)Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂

188mg (35%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{98}H_{153}N_{33}O_{21}$ 2129,53 encontrado 2129,40.

EJEMPLO 26

5 Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-(D)Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂



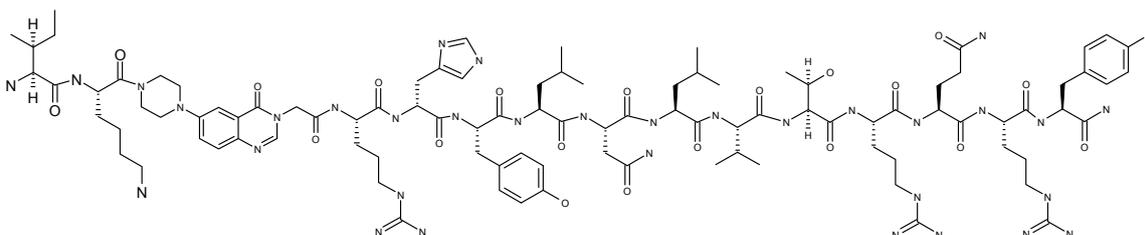
10

El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida ((D) Tyr se insertó en la posición 27 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 119mg (22%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{98}H_{153}N_{33}O_{21}$ 2129,53 encontrado 2129,70.

15

EJEMPLO 27

Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-(D)His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂



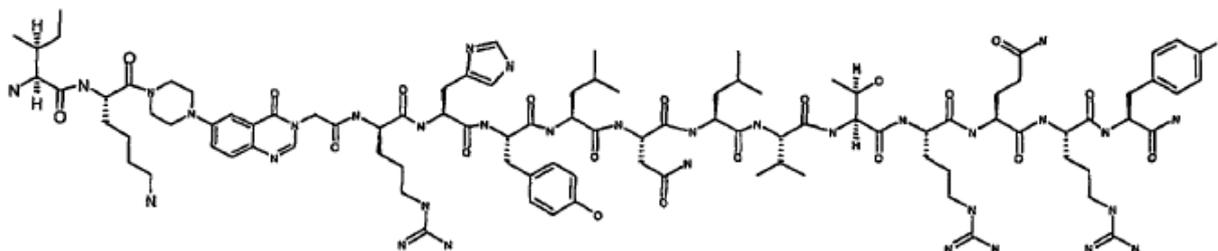
20

El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida ((D) His se insertó en la posición 26 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 84mg (16%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{98}H_{153}N_{33}O_{21}$ 2129,53 encontrado 2128,80.

25

EJEMPLO 28

Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-(D)Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂



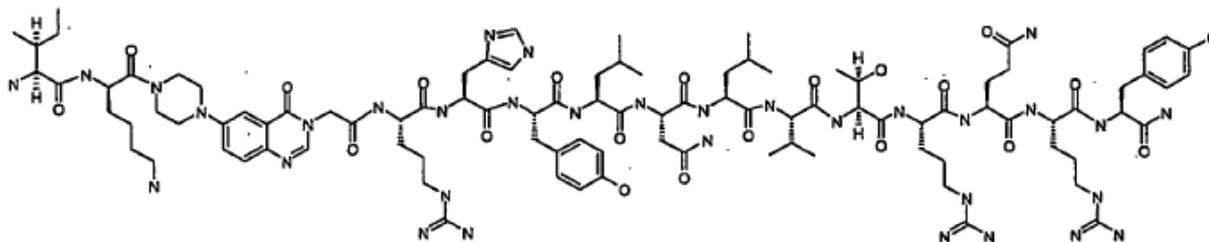
30

El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida ((D) Arg se insertó en la posición 25 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 85mg (16%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{98}H_{153}N_{33}O_{21}$ 2129,53 encontrado 2128,80.

35

EJEMPLO 29

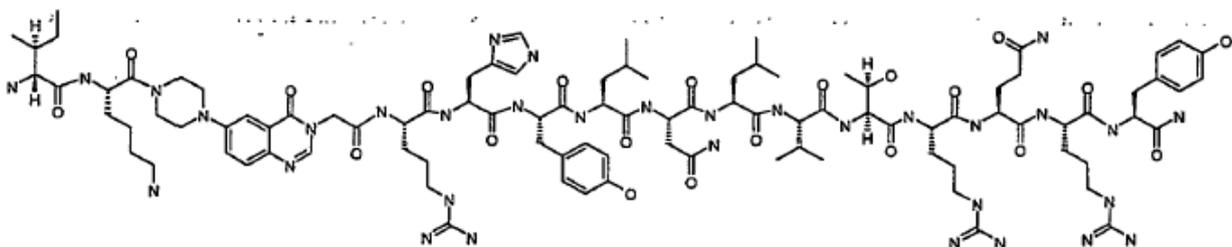
Preparación de H-Ile-(D)Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 5)



5 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida ((D) Lys se insertó en la posición 4 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 165mg (31%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{98}H_{153}N_{33}O_{21}$ 2129,53 encontrado 2129,10.

EJEMPLO 30

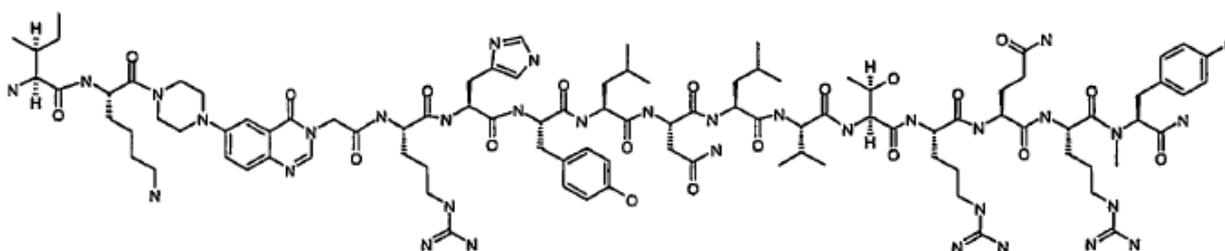
10 Preparación de H-(D) Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 5)



15 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida ((D) Ile se insertó en la posición 3 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 84mg (8%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{98}H_{153}N_{33}O_{21}$ 2129,53 encontrado 2129,40.

EJEMPLO 31

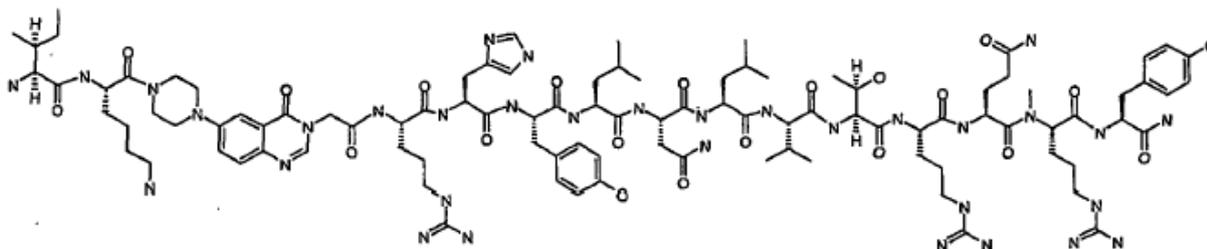
20 Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-(NMe)Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 15)



25 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (N-metil Tyr se insertó en la posición 36 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 90mg (17%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{99}H_{157}N_{33}O_{21}$ 2143,56 encontrado 2143,50.

EJEMPLO 32

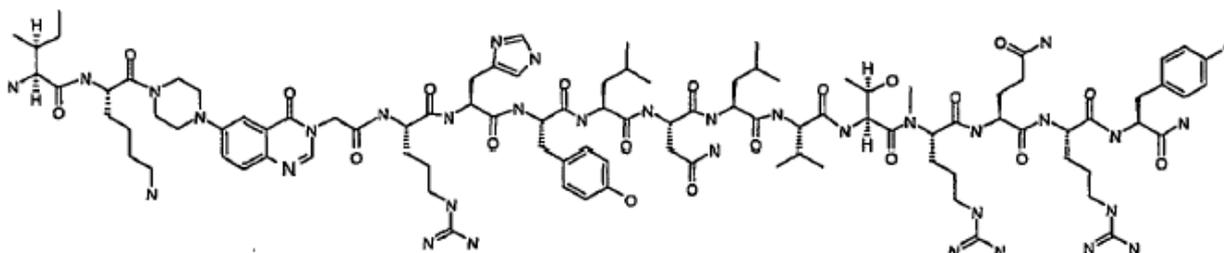
30 Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-(NMe)Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 16)



5 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (N-metil Arg se insertó en la posición 35 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 32mg (6%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{99}H_{155}N_{33}O_{21}$ 2143,56 encontrado 2143,50.

EJEMPLO 33

Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-(NMe)Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 17)



10

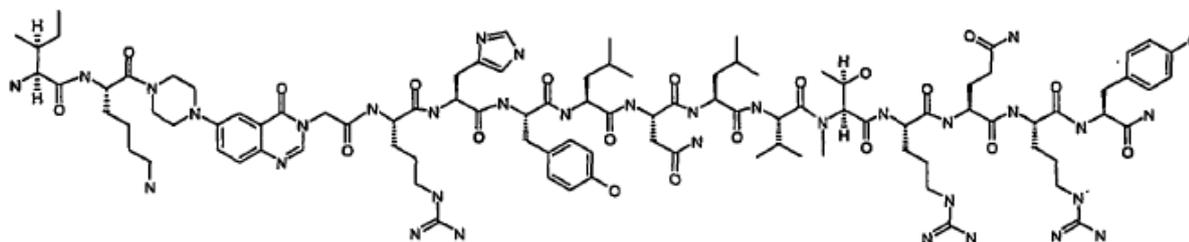
El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (N-metil Arg se insertó en la posición 33 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 40mg (7%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{99}H_{155}N_{33}O_{21}$ 2143,56 encontrado 2143,20.

15

EJEMPLO 34

Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-(NMe)Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 18)

20



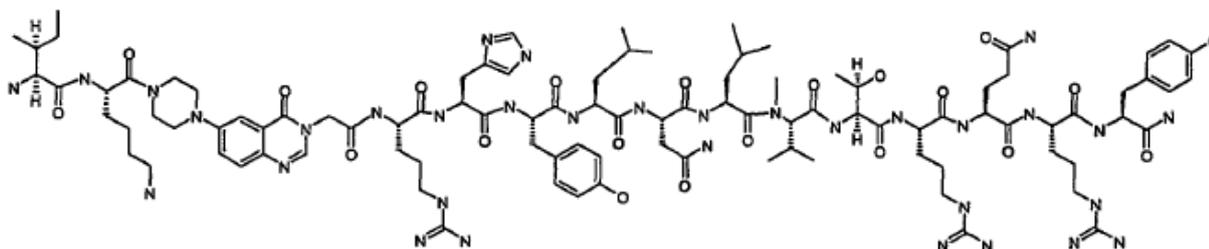
25

El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (N-metil Thr se insertó en la posición 32 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 115mg (21%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{99}H_{155}N_{33}O_{21}$ 2143,56 encontrado 2143,20.

EJEMPLO 35

Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-(NMe)Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 19)

30

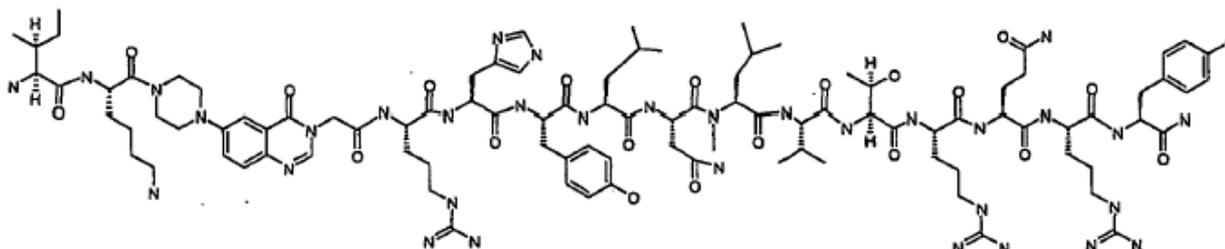


5 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (N-metil Val se insertó en la posición 31 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 60mg (11%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{99}H_{155}N_{33}O_{21}$ 2143,56 encontrado 2143,20.

EJEMPLO 36

10

Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-(NMe)Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 20)



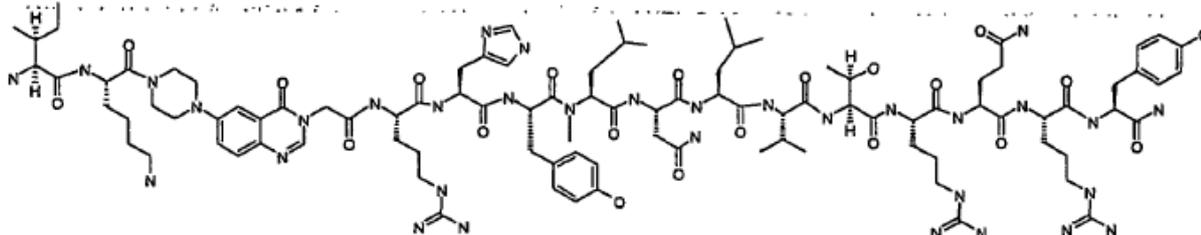
15

El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (N-metil leu se insertó en la posición 30 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 91mg (17%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{99}H_{155}N_{33}O_{21}$ 2143,56 encontrado 2142,90.

EJEMPLO 37

20

Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-(NMe)Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 21)



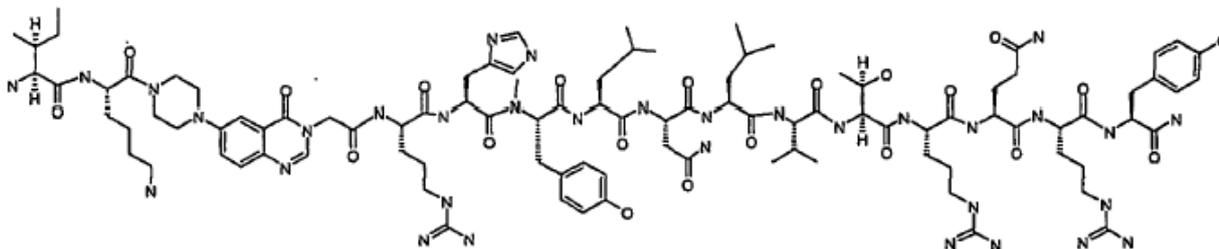
25

El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (N-metil leu se insertó en la posición 28 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 153mg (28%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{99}H_{155}N_{33}O_{21}$ 2143,56 encontrado 2142,90.

EJEMPLO 38

30

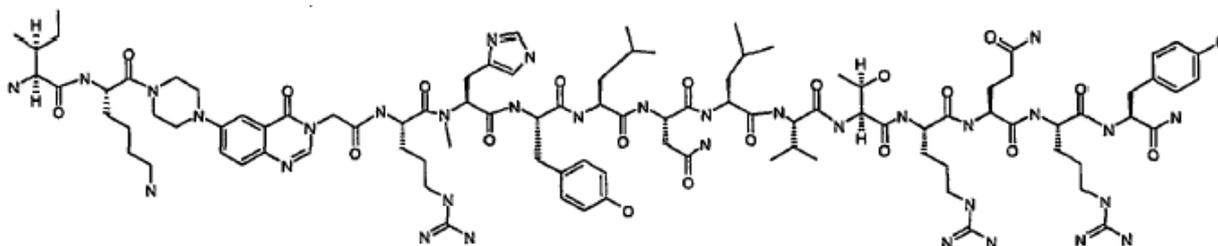
Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-(NMe)Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 22)



5 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (N-metil Tyr se insertó en la posición 27 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 76mg (14%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{99}H_{155}N_{33}O_{21}$ 2143,56 encontrado 2142,90.

EJEMPLO 39

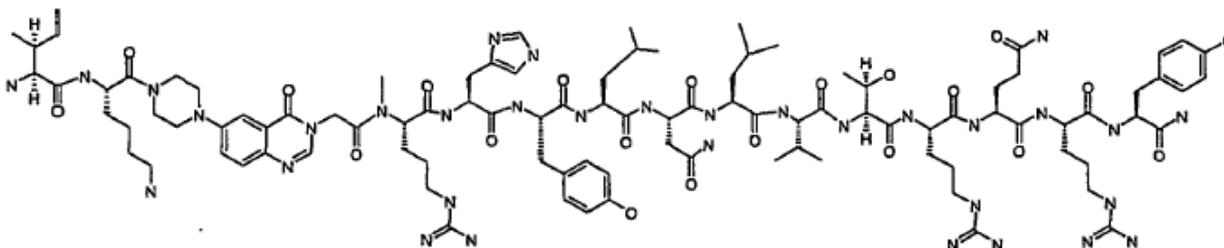
10 **Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-(NMe)His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂** (ID DE SEC NO: 23)



15 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (N-metil His se insertó en la posición 26 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 93mg (7%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{99}H_{155}N_{33}O_{21}$ 2143,53 encontrado 2143,50.

EJEMPLO 40

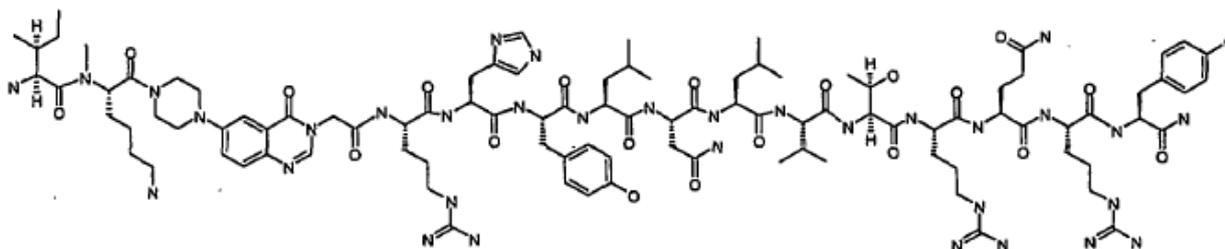
20 **Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-(NMe)Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂** (ID DE SEC NO: 24)



25 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (N-metil Arg se insertó en la posición 25 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 33mg (6 %) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{99}H_{155}N_{33}O_{21}$ 2143,56 encontrado 2143,50.

EJEMPLO 41

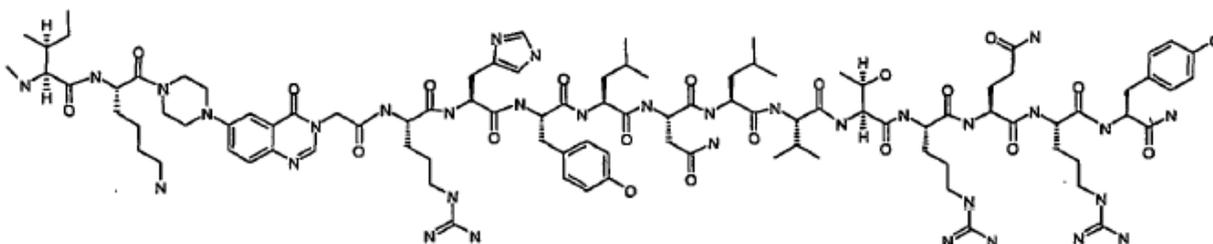
30 **Preparación de H-Ile-NMeLys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂** (ID DE SEC NO: 5)



5 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (N-metil Lys se insertó en la posición 4 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 156mg (29%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{99}H_{155}N_{33}O_{21}$ 2143,56 encontrado 2143,20.

EJEMPLO 42

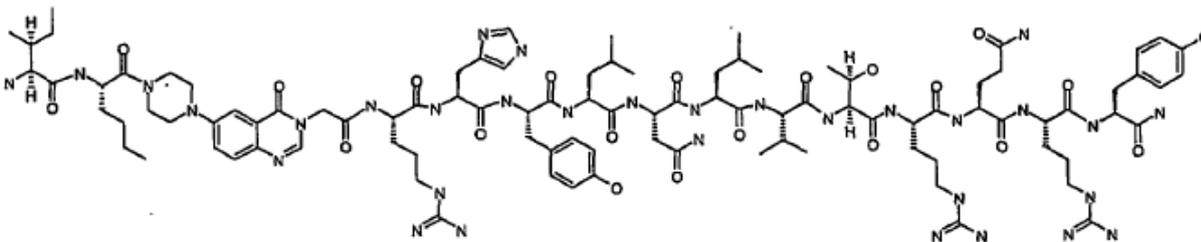
10 Preparación de *H-NMlle*-Lys-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 5)



15 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (N-metil lle se insertó en la posición 3 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 203mg (38%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{99}H_{155}N_{33}O_{21}$ 2143,56 encontrado 2143,20.

EJEMPLO 43

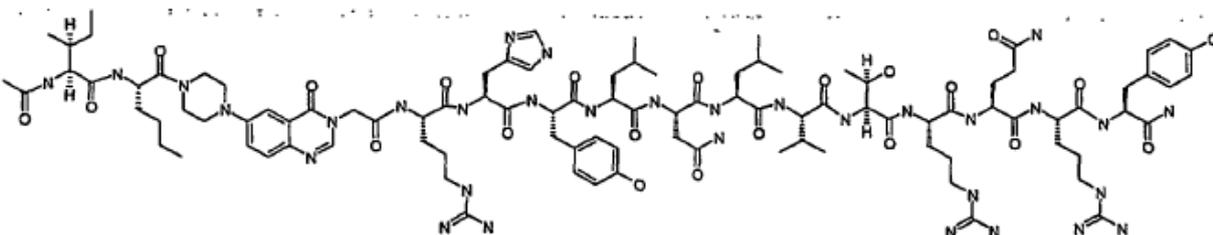
20 Preparación de *H-Ile-Nle*-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 5)



25 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Nle se insertó en la posición 4 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 60mg (11%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{98}H_{153}N_{32}O_{21}$ 2114,52 encontrado 2113,80.

EJEMPLO 44

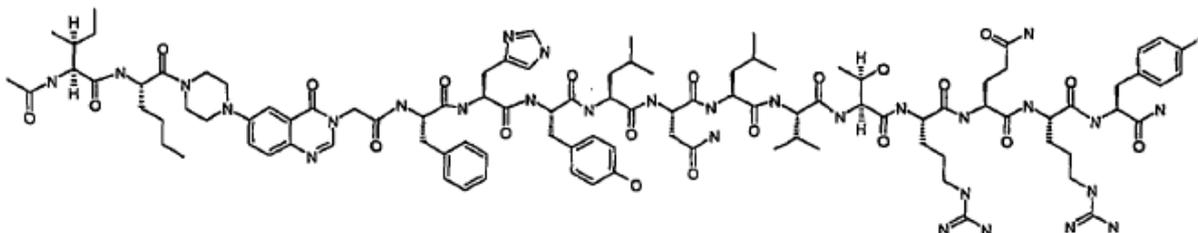
Preparación de *Ac-Ile-Nle*-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 5)



El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (el ciclo de acilación se añadió al protocolo) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 41mg (8%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{100}H_{154}N_{32}O_{22}$ 2156,56 encontrado 2156,10.

5 EJEMPLO 45

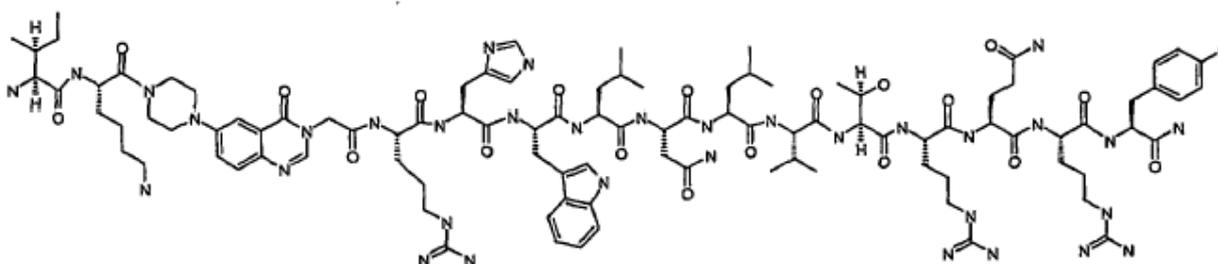
Preparación de Ac-Ile-Nle-Pqa-Phe-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 25)



10 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Phe se insertó en la posición 25 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 92mg (7%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{103}H_{151}N_{29}O_{22}$ 2147,53 encontrado 2148,00.

15 EJEMPLO 46

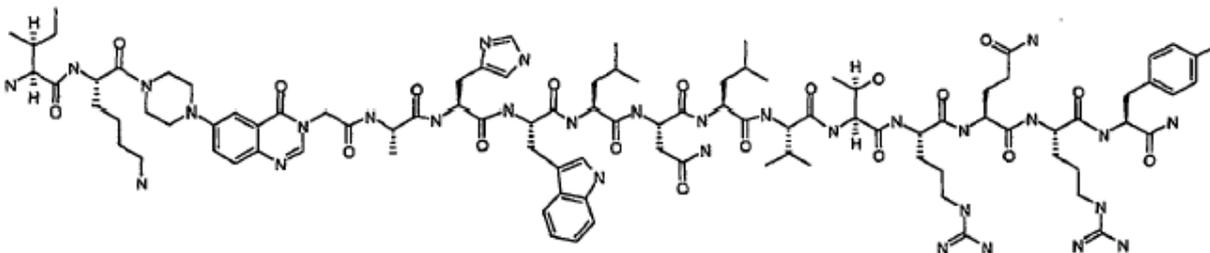
Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Arg-His-Trp-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 26)



20 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Trp se insertó en la posición 27 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 30mg (6%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{100}H_{154}N_{34}O_{20}$ 2153,56 encontrado 2152,20

25 EJEMPLO 47

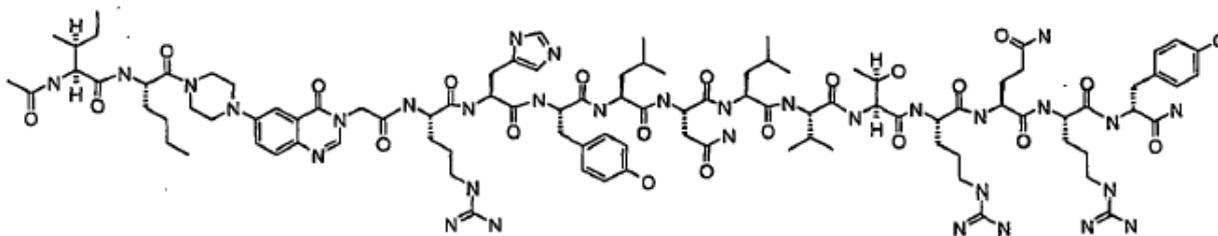
Preparación de H-Ile-Lys-Pqa-Ala-His-Trp-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 27)



30 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Ala 25 y Trp 27 se insertaron en la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 50mg (9%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{97}H_{147}N_{31}O_{20}$ 2067,46 encontrado 2067,30.

35 EJEMPLO 48

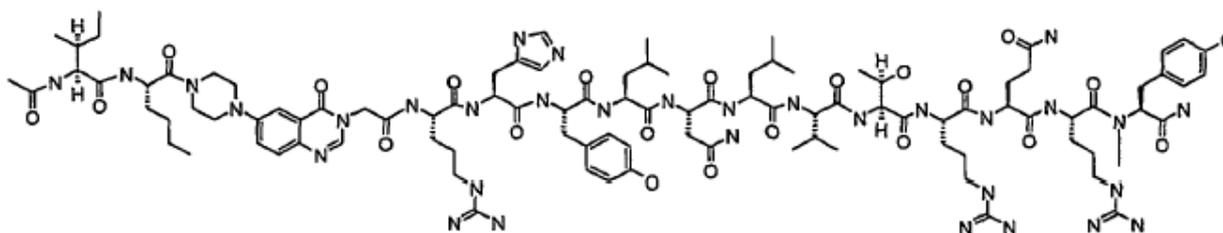
Preparación de Ac-Ile-Nle-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-(D)Tyr-NH₂



5 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida ((D)Tyr se insertó en la posición 36 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 104mg (19%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{100}H_{154}N_{32}O_{22}$ 2156,54 encontrado 2157,00.

EJEMPLO 49

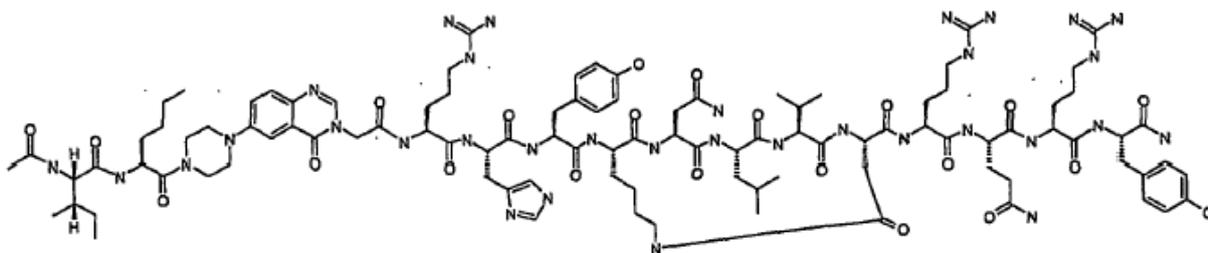
10 **Preparación de Ac-Ile-Nle-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg- N-metilTyr-NH₂** (ID DE SEC NO: 15)



15 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (N-metil Tyr se insertó en la posición 36 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 28mg (5%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{101}H_{156}N_{32}O_{22}$ 2170,57 encontrado 2170,50.

EJEMPLO 50

20 **Preparación de Ciclo Lys28-Asp32 Ac-Ile-Nle-Pqa-Arg-His-Tyr-Lys-Asn-Leu-Val-Asp-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂** (ID DE SEC NO: 28)



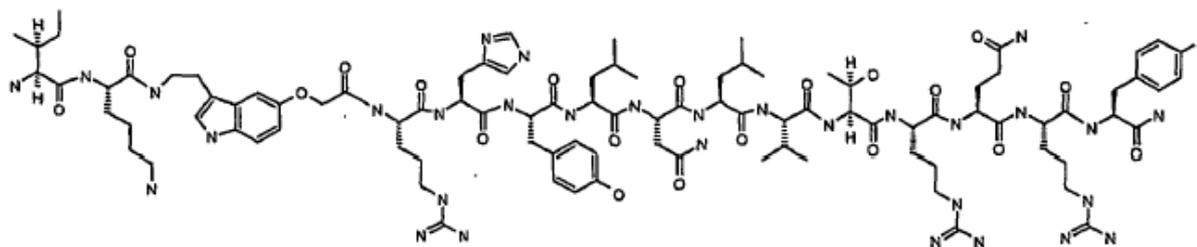
25 El péptido se preparó a través de una combinación de síntesis automatizada en un sintetizador ABI 433 usando un protocolo estándar y el manual de síntesis en una escala de 0,25mM. El fragmento Fmoc-Asn(Trt)-Leu-Val-Asp(2Pip)-Arg(Pmc)-Gln(Trt)-Arg(Pmc)-Tyr(OBut)- BHA Resina (ID DE SEC NO: 29) se sintetizó usando el protocolo ABI y se extendió manualmente para obtener Fmoc-Ile-Nle-Pqa-Arg(Pmc)-His(Trt)-Tyr(OBut)-Lys-Asn(Trt)-Leu-Val-Asp-Arg(Pmc)-Gln(Trt)-rg(Pmc)-Tyr(OBut)-Resina BHA (ID DE SEC NO: 30). Tras completar la síntesis automática la resina de péptido se transfirió a un recipiente manual de fase sólida y se lavó con cloruro de metileno y DMF múltiples veces. Fmoc-Lys(Mtt) 1,2g (2,0mM 8 eq.) se añadió como un sólido y se añadió 15mL de DMF seguido por 1,2mL Dic (7mM 28 eq.). Se dejó proceder el acoplamiento hasta obtener una ninhidrina negativa o casi negativa. Si no se obtuvo una ninhidrina negativa la resina se acetiló con 6mL Ac₂O, 1mL DIEA y 18mL DMF durante 30 min y se comprobó la completación con ninhidrina. La resina se lavó entonces 3 X DMF y 4 X CH₂Cl₂. Los Lys(Mtt) y Asp(2Pip) fueron desprotegidos 10 veces usando 2% TFA en CH₂Cl₂. Tras la desprotección, la resina de péptido se lavó 2 X CH₂Cl₂; 2 X 6% TFA/ CH₂Cl₂; 2 X 6% DIEA/DMF y 2 X DMF. La cadena lateral se cicló con HATU (240mg 0,625mM (2,5 eq.) y DIEA (175μL 1,0 mM (4 eq.)) y se monitorizó con ninhidrina hasta ser negativo.

35 Tras completar la ciclación, la resina de péptido se transfirió a un recipiente ABI para la extensión a Fmoc-Arg(Pmc)-His(Trt)-Tyr(OBut)-Lys-Asn(Trt)-Leu-Val-Asp-Arg(Pmc)-Gln(Trt)-Arg(Pmc)-Tyr(OBut)-Resina BHA (ID DE SEC NO: 30). Fmoc-Pga-OH (160mg, 313mM (1,25 eq.)) y HOBt (5mg, 313mM (1,25 eq.)) se añadieron como sólidos y 15mL de DMF

- se añadió seguido por 1,2mL de Dic (7mM 28 eq.). El acoplamiento se dejó en marcha durante la noche (generalmente 18h.) a temperatura ambiente. Tras lavar 4 veces con DMF el acoplamiento se monitorizó con ninhidrina y fue generalmente negativo. Tras la desprotección estándar y los lavados, Fmoc-Ile-OH (1,2g, 3,0mM (12 eq.)) se preactivó con 6,6mL de 0,45 M HBTT/HOBt en DMF durante 3 min y se añadió a la resina de péptido. El acoplamiento se dejó proceder durante 3 a 4 hrs, el recipiente de reacción se drenó y lavó 4 veces con DMF. Este acoplamiento se monitorizó con clorinal (2% Acetaldehído en DMAc y 2% tetracloro-1,4-benzoquinona). Si el acoplamiento se juzgó incompleto, la resina se reactivó durante la noche. Cuando el acoplamiento se completó, la resina se desprotegió y lavó y Fmoc-Ile (1,2g, 3,0mM (12 eq.)) se preactivó con 6,6mL de 0,45M de HBTT/HOBt en DMF durante 3 min y se añadió a la resina de péptido. El acoplamiento se dejó proceder durante 3 a 4 hrs, el recipiente de reacción se drenó y lavó 4 veces con DMF. Este acoplamiento se monitorizó con ninhidrina y fue generalmente negativo. La resina se desprotegió y se lavó y acetiló con 6mL Ac₂O, 1mL DIEA y 18mL DMF durante 30 min y se comprobó la completación hasta obtener una ninhidrina negativa o casi negativa. Si no se obtuvo una ninhidrina negativa la resina se acetiló con 6mL Ac₂O, 1mL DIEA y 18mL DMF durante 30 min y se comprobó la completación con ninhidrina.
- Tras completar la síntesis, la resina se lavó 4 veces con CH₂Cl₂ y se secó bajo una corriente de N₂. El péptido se desprotegió y se escindió de la resina con 1,5mL de triisopropilsilano y 13,5mL de 97% TFA/3% H₂O durante 180 minutos. La solución de desprotección se añadió a 100mL de ET₂O frío, y se lavó con 1mL de TFA y 30mL de ET₂O frío para precipitar el péptido luego se centrifugó y secó en un desecador bajo vacío casero.
- El péptido bruto se purificó y liofilizó siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 3 para proporcionar 49mg (9%) de polvo blanco amorfo. (ES)+LCMS m/e calc. para C₁₀₀H₁₅₁N₃₃O₂₂ 2167,53 encontrado 2167,80.

EJEMPLO 51

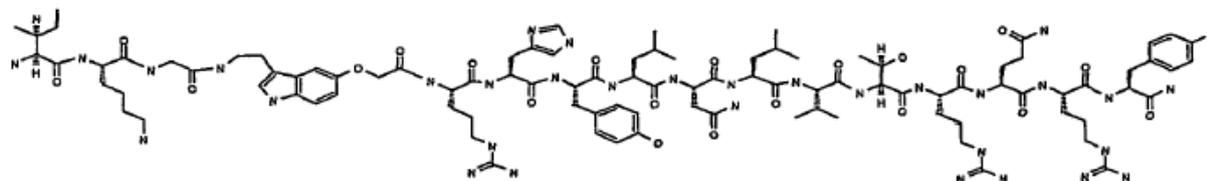
- Preparación de H-Ile-Lys-Cms-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 5)



- El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 44mg (8%) de polvo blanco amorfo. (ES)+LCMS m/e calc. para C₉₆H₁₅₁N₃₁O₂₁ 2075,47 encontrado 2074,80.

EJEMPLO 52

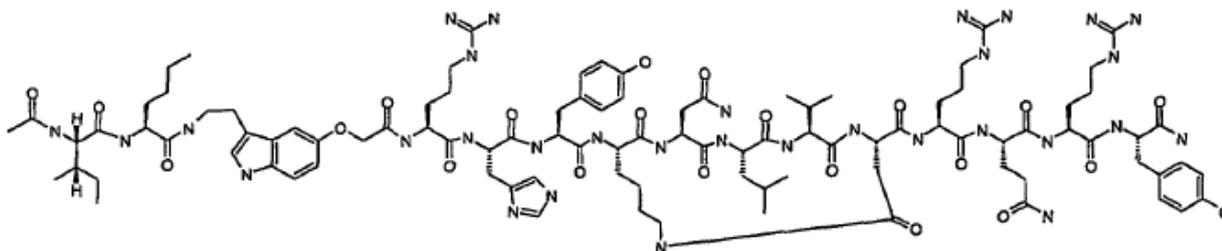
- Preparación de H-Ile-Lys- Gly-Cms-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 5)



- El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 129mg (24%) de polvo blanco amorfo. (ES)+LCMS m/e calc. para C₉₈H₁₅₄N₃₂O₂₂ 2132,52 encontrado 2133,00.

EJEMPLO 53

- Preparación de Ciclo Lys28-Aspu32 Ac-Ile-Ile-Cms-Arg-His-Tyr-Lys-Asn-Leu-Val-Asp-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 28)

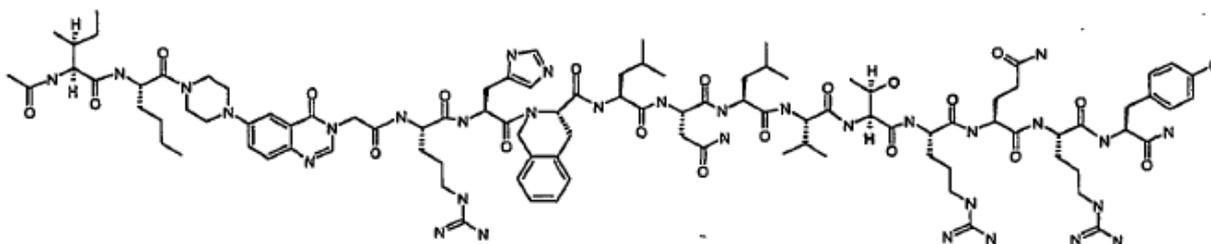


5 Este péptido se preparó a través de una combinación de síntesis automática en un ABI 433 y síntesis manual en una escala 0,25mM de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 50. Fmoc-Cms-OH (151mg, 313mM (1,25 eq.)) y HOBt (45mg, 313mM (1,25 eq.)) se añadieron como sólidos y 15mL DMF se añadió seguido por 1,2mL Dic (7 mM 28 eq.). El acoplamiento se dejó durante la noche (generalmente 18 hr.) a temperatura ambiente.

10 El péptido bruto se purificó y liofilizó para proporcionar 19mg (9%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{98}H_{149}N_{31}O_{22}$ 2113,47 encontrado 2113,80.

EJEMPLO 54

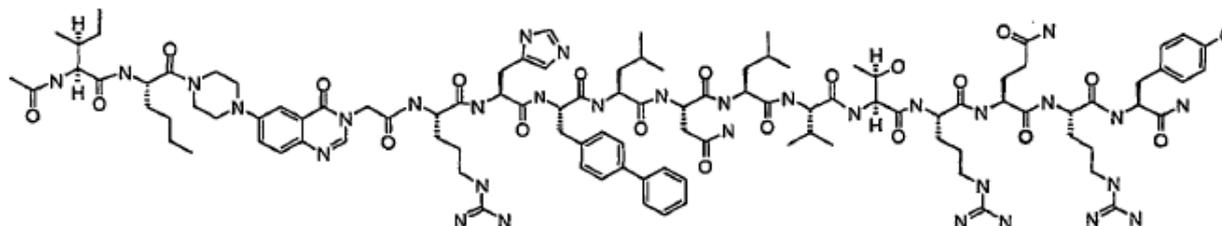
Preparación de Ac-Ile-Nle-Pqa-Arg-His-Tic-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 31)



15 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Tic se insertó en la posición 27 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 87mg (16%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{101}H_{154}N_{32}O_{21}$ 2152,56 encontrado 2152,50.

EJEMPLO 55

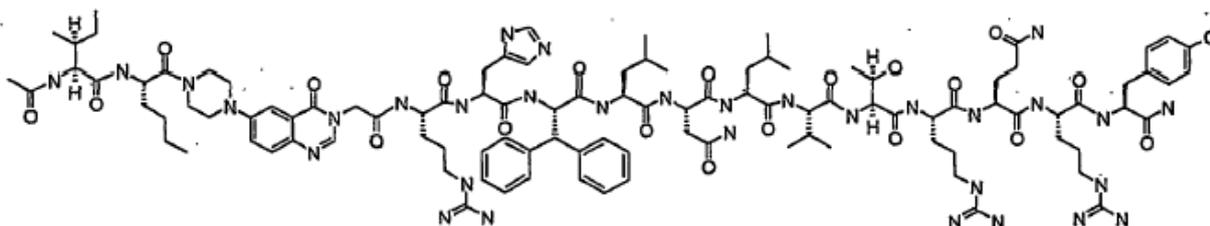
Preparación de Ac-Ile-Nle-Pqa-Arg-His-Bip-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 32)



25 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Bip se insertó en la posición 27 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 90mg (16%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{106}H_{158}N_{32}O_{21}$ 2216,64 encontrado 2217,00.

EJEMPLO 56

Preparación de Ac-Ile-Nle-Pqa-Arg-His-Dip-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 33)

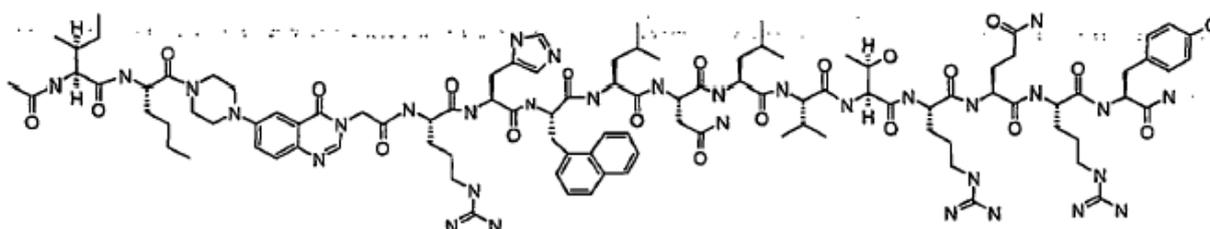


5 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Dip se insertó en la posición 27 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 84mg (15%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{106}H_{158}N_{32}O_{21}$ 2216,64 encontrado 2217,30.

EJEMPLO 57

10

Preparación de Ac-Ile-Nle-Pqa-Arg-His-(1)Nal-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr- NH₂ (ID DE SEC NO: 34)



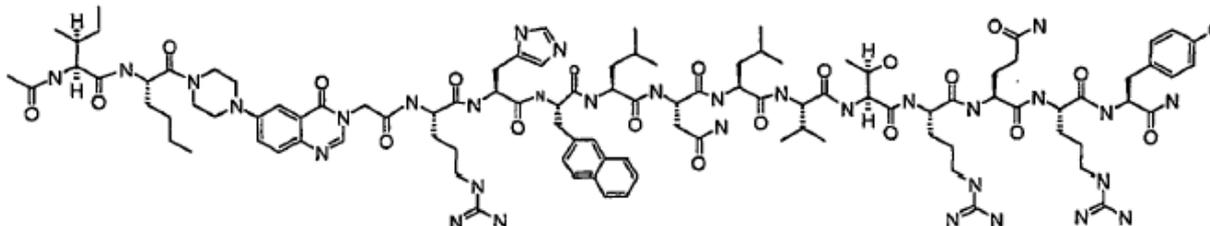
15

El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (1) Nal se insertó en la posición 27 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 88mg (16%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{104}H_{156}N_{32}O_{21}$ 2190,60 encontrado 2190,61.

EJEMPLO 58

20

Preparación de Ac-Ile-Nle-Pqa-Arg-His-(2)Nal-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 35)



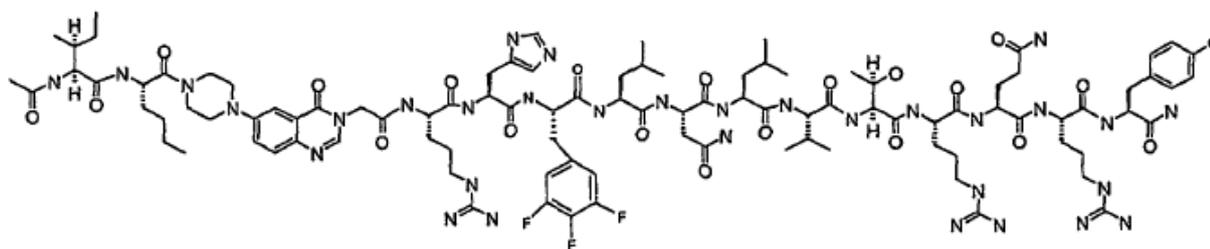
25

El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida ((2) Nal se insertó en la posición 27 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 40mg (7%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{104}H_{156}N_{32}O_{21}$ 2190,60 encontrado 2191,20.

EJEMPLO 59

30

Preparación de Ac-Ile-Nle-Pqa-Arg-His-(3,4,5trifluorPhe)-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 36)

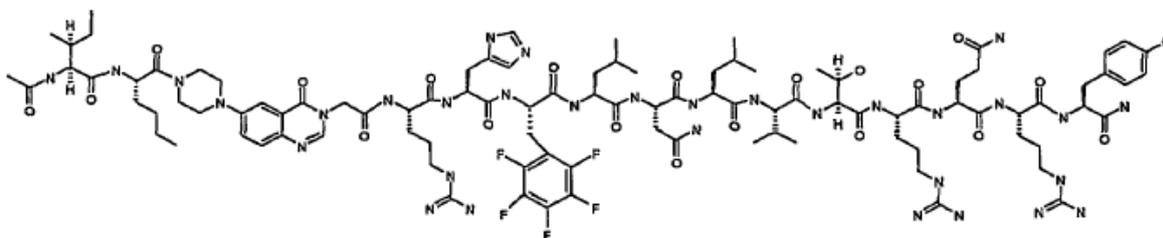


El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (3,4,5, trifluoro

Phe se insertó en la posición 27 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 101,4mg (18%) de polvo blanco amorfo. (ES)+LCMS m/e calc. para $C_{100}H_{151}F_3N_{32}O_{21}$ 2194,52 encontrado 2194,20.

5 EJEMPLO 60

Preparación de Ac-Ile-Nle-Pqa-Arg-His-(2,3,4,5,6 Penta fluoroPhe)-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 37)



10

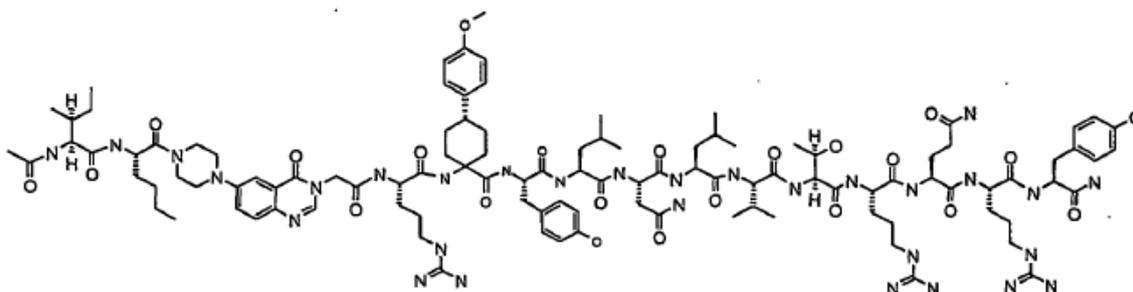
El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (2,3,4,5,6, pentafluoro Phe se insertó en la posición 27 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 122,5mg (22%) de polvo blanco amorfo. (ES)+LCMS m/e calc. para $C_{100}H_{149}F_5N_{32}O_{21}$ 2230,50 encontrado 2230,50.

15

EJEMPLO 61

Preparación de Ac-Ile-Nle-Pqa-Arg-(4-MeOApC)-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 38)

20



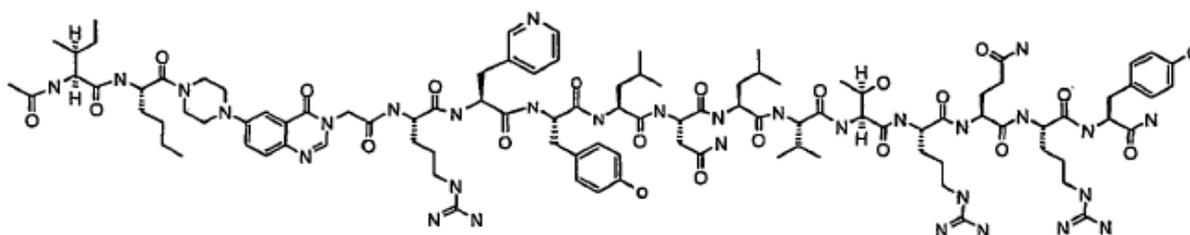
25

El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida ((4-MeO-ApC) se insertó en la posición 26 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 43mg (8%) de polvo blanco amorfo. (ES)+LCMS m/e calc. para $C_{108}H_{164}N_{30}O_{23}$ 2250,70 encontrado 2250,60.

EJEMPLO 62

Preparación de Ac-Ile-Nle-Pqa-Arg-(3-Pal)-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 39)

30

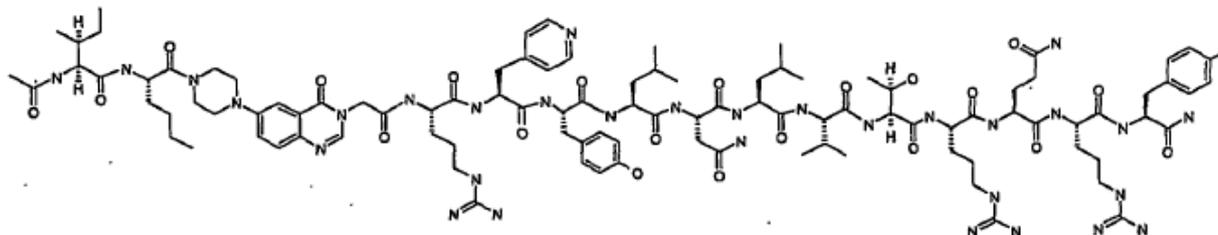


35

El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida ((3-Pal) se insertó en la posición 26 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 112mg (21%) de polvo blanco amorfo. (ES)+LCMS m/e calc. para $C_{102}H_{155}N_{31}O_{22}$ 2167,57 encontrado 2167,20.

EJEMPLO 63

Preparación de Ac-Ile-Nle-Pqa-Arg-(4-Pal)-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 40)



5

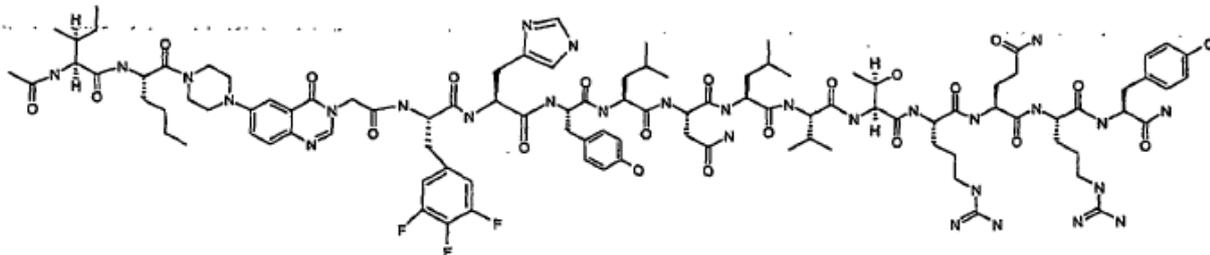
El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida ((4-Pal) se insertó en la posición 26 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 146mg (27%) de polvo blanco amorfo. (ES)+LCMS m/e calc. para C₁₀₂H₁₅₅N₃₁O₂₂ 2167,57 encontrado 2167,20.

10

EJEMPLO 64

Preparación de Ac-Ile-Nle-Pqa -(3,4,5 Trifluoro Phe)-His- Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 41)

15



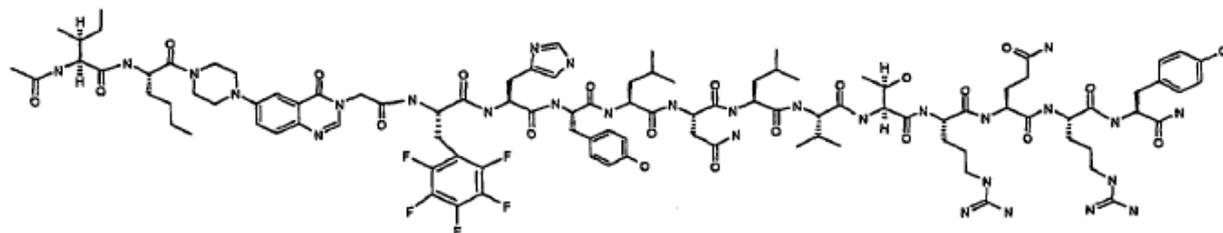
20

El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida ((3,4,5 trifluoro Phe) se insertó en la posición 25 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 55mg (10%) de polvo blanco amorfo. (ES)+LCMS m/e calc. para C₁₀₃H₁₄₈F₃N₂₉O₂₂ 2201,50 encontrado 2201,40.

EJEMPLO 65

25

Preparación de Ac-Ile-Nle-Pqa-(2,3,4,5,6 Penta fluoro Phe)-His Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 42)



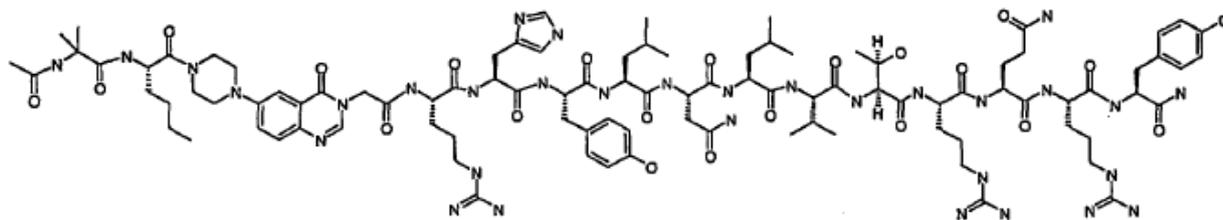
30

El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida ((2,3,4,5,6 Pentafluoro Phe) se insertó en la posición 25 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 65mg (12%) de polvo blanco amorfo. (ES)+LCMS m/e calc. para C₁₀₃H₁₄₆F₅N₂₉O₂₂ 2237,49 encontrado 2237,70.

35

EJEMPLO 66

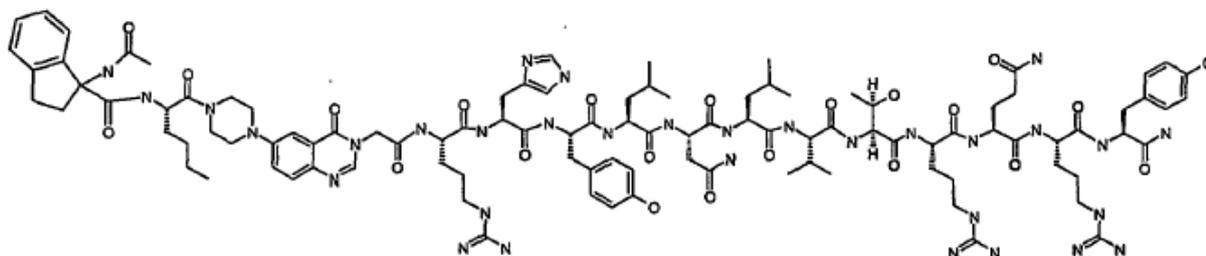
Preparación de Ac-Aib-Nle-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 5)



5 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida ((Aib) se insertó en la posición 3 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 32mg (6%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{98}H_{150}N_{32}O_{22}$ 2128,49 encontrado 2128,00.

EJEMPLO 67

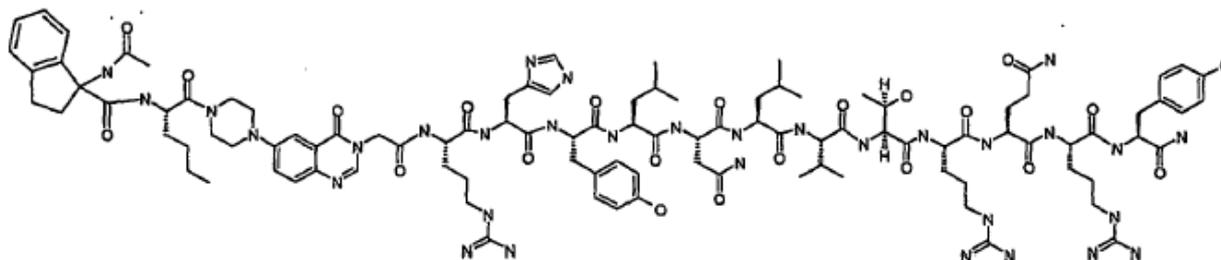
10 **Preparación de Ac-1,1-Aic-Nle-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂** (ID DE SEC NO: 5)



15 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida ((1,1 Aic) se insertó en la posición 3 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar una mezcla racémica separada como **Pk A**: 31mg (6%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{104}H_{152}N_{32}O_{22}$ 2202,57 encontrado 2202,60.

EJEMPLO 68

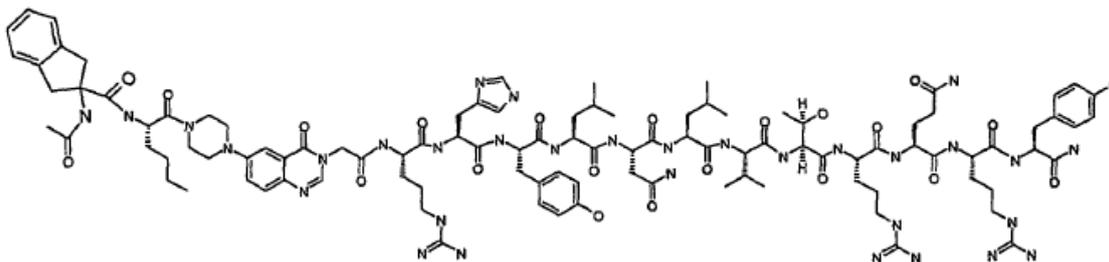
20 **Preparación de Ac-1,1-Aic-Nle-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂** (ID DE SEC NO: 5)



25 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida ((1,1 Aic) se insertó en la posición 3 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar una mezcla racémica separada como **Pk. B**: 46 mg (8%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para Pk B. $C_{104}H_{152}N_{32}O_{22}$ 2202,57 encontrado 2202,60.

EJEMPLO 69

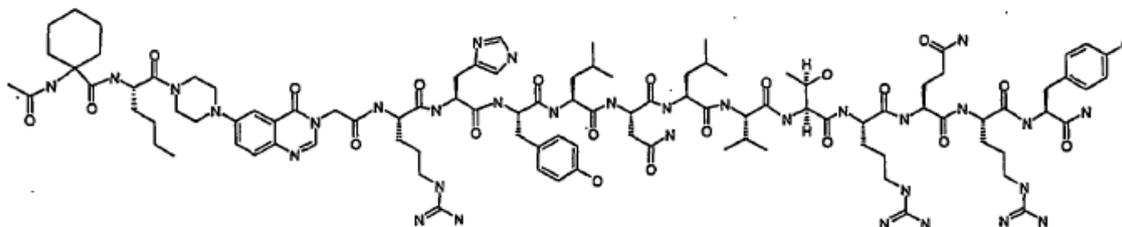
30 **Preparación de Ac-2,2-Aic-Nle-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂** (ID DE SEC NO: 5)



5 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida ((2,2 Aic) se insertó en la posición 3 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 103 mg (19%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para C₁₀₄H₁₅₂N₃₂O₂₂ 2202,57 encontrado 2202,30.

EJEMPLO 70

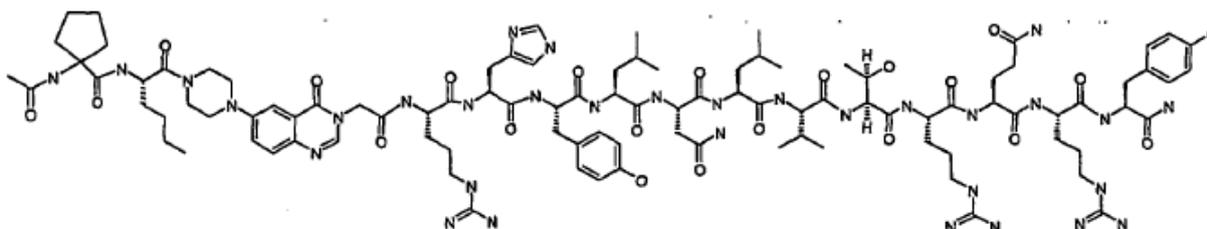
10 **Preparación de Ac-Ach-Nle-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂** (ID DE SEC NO: 5)



15 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Ach se insertó en la posición 3 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 81mg (15%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para C₁₀₁H₁₅₄N₃₂O₂₂ 2168,55 encontrado 2168,10.

EJEMPLO 71

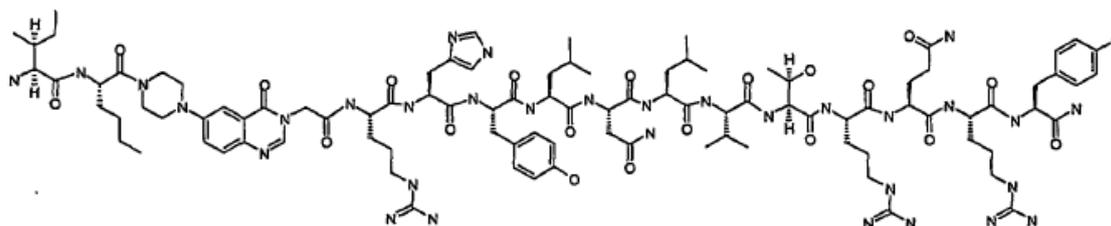
20 **Preparación de Ac-Acp-Nle-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂** (ID DE SEC NO: 5)



25 El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida (Acp se insertó en la posición 3 de la secuencia) y purificación siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 95mg (18%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para C₁₀₀H₁₅₂N₃₂O₂₂ 2154,53 encontrado 2154,30.

EJEMPLO 72

30 **Preparación de H-Ile-Nle-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂** (ID DE SEC NO: 5)

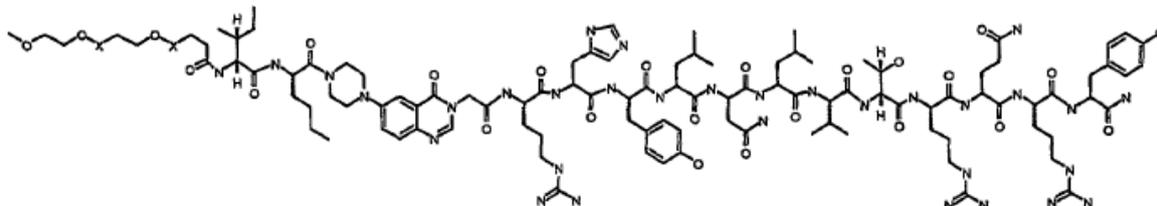


El Fmoc-Enlazante-resina BHA (450mg, 0,25mmol) del Ejemplo 1 se sometió a síntesis de fase sólida y purificación

siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3 para proporcionar 80mg (15%) de polvo blanco amorfo. (ES)+-LCMS m/e calc. para $C_{98}H_{152}N_{32}O_{21}$ 2114,51 encontrado 2113,80.

EJEMPLO 73

Preparación de PEG (10,000)-Ile-Nle-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 5)



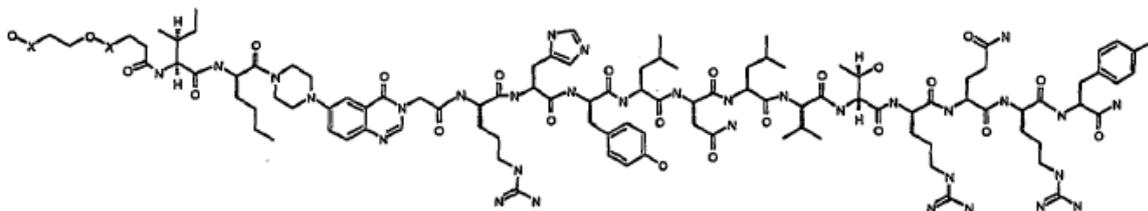
En la estructura anterior, el grupo $-X-CH_2-CH_2-O-X-$, de acuerdo con la nomenclatura común, se refiere a la repetición de unidades glicol de una porción polietilenglicol, es decir, a un grupo $-(CH_2-CH_2-O)_n-$. "n" es escogido concordantemente para alcanzar el peso deseado de la unidad polietilenglicol deseada. Quince mg de péptido del Ejemplo 72 se pesó y disolvió en 50mM de Borato, pH 7,4 tampón. 107 mg 10 kDa PEG-SPA-NHS (Nektar) se pesó para alcanzar una relación molar 2:1 PEG: péptido y se añadió al péptido disuelto. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2h antes de que se diluyera 10-veces en NaOAc 20mM, tampón pH 4,5 y purificado por cromatografía de intercambio de cationes en S-Sepharose (Amersham). Figura 1 es un cromatograma HPLC de péptido de 10 kDa PEG-PYY. La reacción proporcionó 67,8% de péptido de 10 kDa.

Péptido PYY Mono-pegilado se eluyó usando un paso de gradiente de NaCl. Normalmente, el péptido mono-pegilado deseado se eluyó con 125mM NaCl. El péptido similar a PEG-PYY eluido se concentró en una célula de ultrafiltración Amicon usando una membrana de filtro de peso molecular de 10 kDa. Se diafiltró entonces 10 veces una vez con PBS.

El péptido concentrado del ejemplo 73 se sometió a análisis, se ensayó y almacenó a $-20C$. La Figura 2 es un cromatograma HPLC de péptido PEG-PYY de 10 kDa purificado. La purezas del péptido de 10 kDa se determinó al 97,6%. Y la Figura 3 es una gráfica representando un MALDI-TOF de péptido PEG-PYY de 10 kDa que se realizó para confirmar el peso molecular.

EJEMPLO 74

Preparación de PEG (30,000)-Ile-Nle-Pqa-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (ID DE SEC NO: 5)



En la estructura anterior, el grupo $-X-CH_2-CH_2-O-X-$, de acuerdo a la nomenclatura común, se refiere a las unidades glicol que se repiten de una porción polietilenglicol, es decir a un grupo $-(CH_2-CH_2-O)_n-$. "n" es escogido concordantemente para alcanzar el peso deseado de la unidad polietilenglicol. Quince mg de péptido del Ejemplo 72 se pesó y disolvió en 50mM de Borato, pH 7,4 tampón. 244mg de 30kDa PEG-SPA-NHS se pesó para alcanzar una relación molar 2:1 PEG: péptido y se añadió al péptido disuelto. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2h (Figura 4) antes de que se diluyera 10-veces en NaOAc 20 mM, tampón pH 4,5 y purificado por cromatografía de intercambio de cationes en S-Sepharose (Amersham). La Figura 4 es un cromatograma HPLC de péptido PEG-PYY de 30 kDa. La reacción proporcionó 88,3% de péptido de 30 kDa.

Péptido PYY Mono-pegilado se eluyó usando un paso de gradiente de NaCl. Normalmente, el péptido PYY mono-pegilado deseado se eluyó con 125mM NaCl. El péptido similar a PEG-PYY eluido se concentró en una célula de ultrafiltración Amicon usando una membrana de filtro de peso molecular de 10 kDa. Se diafiltró entonces 10 veces una vez con PBS. El péptido concentrado se sometió a análisis, se ensayó y almacenó a $-20C$. La Figura 5 es un cromatograma HPLC de péptido PEG-PYY de 30 kDa purificado. La purezas del péptido de 30 kDa se determinó al 98,4%. Y la Figura 6 representa un MALDI-TOF de péptidos PEG-PYY de 30 kDa que se realizó para confirmar el peso molecular.

EJEMPLO 75**Estabilidad en Plasma del Compuesto del Ejemplo 49**

Se midió la estabilidad en plasma del péptido Humano y de ratón del Ejemplo 49. En este Ejemplo, 140 microgramos del péptido del Ejemplo 49 se incubaron con 300 microlitros de plasma humano o de ratón durante 0, 40, 90 y 150 minutos a 37,5°C. La incubación POSR de cada muestra se diluyó 50 veces en 0,1% de ácido acético en agua. Las muestras diluidas se analizaron entonces por LC/UV/MS y se encontró que eran estables.

EJEMPLO 76**Estabilidad en Plasma del Compuesto del Ejemplo 32**

Se midió la estabilidad en plasma del péptido Humano y de ratón del Ejemplo 32. En este Ejemplo, 51 microgramos del péptido del Ejemplo 32 se incubaron con 300 microlitros de plasma humano o de ratón durante 0, 40, 90 y 150 minutos a 37,5°C. La incubación POSR de cada muestra se diluyó 50 veces en 0,1% de ácido acético en agua. Las muestras diluidas se analizaron entonces por LC/UV/MS y se encontró que eran estables.

EJEMPLO 77**Ensayo agonista cAMP**

En este Ejemplo, se usaron los siguientes materiales: placa de 384 pocillos; Kit Tropix cAMP-Screen; Sistema ELISA cAMP (Applied Biosystems, cat. #T1505; CS 20000); Forskolin (Calbiochem cat. # 344270); células: HEK293/hNPY2R; medio de crecimiento: Medio eagle modificado de Dulbecco (D-MEM, Gibco); Suero bovino fetal 10% (FBS, Gibco), inactivado por calor; Penicilina/Streptomocina 1% (Pen 10000 unidad/ml: Strep 10000 mg/ml, Gibco); 500 mg/ml G418 (Geneticin, Gibco cat. # 11811-031); y medio de placas: DMEM/F12 sin rojo fenol (Gibco); 10% FBS (Gibco, cat. # 10082-147), inactivado por calor; Penicilina/Streptomocina 1% (Gibco, cat. # 15140-122); 500 mg/ml G418 (Geneticin, Gibco, cat. # 11811-031).

En el primer día, se descartó el medio, y las células en monocapa se lavaron con 10ml PBS por frasco (T225). Tras decantar con PBS, se usaron 5 ml de VERSENE (Gibco, cat#1504006) para despegar las células (5min a 37C). El frasco se golpeó fuertemente y la suspensión celular se juntó. Cada frasco se aclaró con 10 ml de medio de placas y se centrifugó a 1000rpm durante 5 min. La suspensión se juntó y contó.

La suspensión se resuspendió en medio de placas a una densidad de $2,0 \times 10^5$ células/ml para HEK293/hNPY2R. 50 microlitros de células (HEK293/hNPY2R–10,000 células /pocillo) se transfirieron en una placa de 384 pocillos usando un dispensador Multi-drop. Las placas se incubaron a 37°C toda la noche.

Al segundo día, las células se comprobaron para una confluencia del 75-85%. El medio y los reactivos se dejaron a temperatura ambiente. Antes de preparar las diluciones, la solución stock del compuesto estimulador en dimetil sulfóxido (DMSO, Sigma, cat#D2650) se dejó calentar a 32C durante 5-10 min. Las diluciones se prepararon en DMEM/F12 con 0,5mM 3-Isobutil-1-metilxantina (IBMX, Calbiochem, cat#410957) y 0,5mg/ml BSA. La concentración final de DMSO en el medio de estimulación fue de 1,1% con concentración de Forskolin de 5µM.

El medio celular se retiró con una fuerte inversión de la placa celular en una servilleta de papel. Se colocaron 50µL de medio de estimulación por pocillo (cada concentración se realizó por cuatro replicados). Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 30 min, y las células se comprobaron bajo un microscopio para toxicidad.

Tras 30 minutos de tratamiento, el medio de estimulación se descartó y se añadió 50µl/pocillo del Tampón de Lisis del Ensayo (proporcionado en el kit Tropix). Las placas se incubaron durante 45 min a 37°C.

20µL del lisado se transfirió de las placas de estimulación en las placas pre-cubiertas de anticuerpos (384-pocillos) del kit Tropix. Se añadieron 10 µL de conjugado AP y 20µL de anticuerpo anti-cAMP. Las placas se incubaron a temperatura ambiente mientras se agitaba durante 1 hora. Las placas se lavaron entonces 5 veces con Tampón de lavado, 70 µL por pocillo para cada lavado. Las placas se golpearon para secar. Se añadió 30µL /pocillo de CSPD/Saphire-II RTU sustrato/solución potenciadora y se incubó durante 45 min a TA (agitación). Señal para 1 sec/pocillo en un Luminómetro. Se midió por (VICTOR-V).

EJEMPLO 78**Ensayo de reducción In vivo de la ingesta de comida.**

En este Ejemplo, los compuestos de los Ejemplos 5, 44, 73 y 74 se administrado a cuatro grupos de ratones en cuatro experimentos separados para medir el efecto sobre la ingesta de comida. Ratones macho C57BL/6J o ratones macho

DIO (obeso inducido por dieta) se utilizaron en los experimentos, con ocho ratones por grupo experimental. Los ratones se mantuvieron en un ciclo de luz regular (6 AM - encendido; 6 PM - apagado). Los ratones se dejaron en ayuno 24 horas antes del ensayo con ad lib acceso a agua. Durante el ensayo, los ratones se colocaron uno por jaula.

5 Los compuestos de los Ejemplos 5 y 44 se administraron intraperitonealmente; y los compuestos de los Ejemplos 73 y 74 se administraron de forma subcutánea. La ingesta de comida se midió 1, 2, 4, 6, y 24 horas tras la dosis y los resultados se presentaron en las Figuras 7 a 10. La ingesta de comida se midió durante intervalos de tiempo largos para los compuestos de los Ejemplos 73 y 74, y mostrados en las Figuras 9 y 10. En cada Figura, se midieron los consumos de alimento acumulativos y los intervalos de tiempo en cada ratón individualmente. El consumo medio de comida y el porcentaje de cambio de vehículo se calculó para cada intervalo de tiempo. Los datos se analizaron usando una prueba t Student de dos colas. Las Figuras 7 a 10 muestran que los compuestos de la presente invención son efectivos en la reducción de la ingesta de comida cuando se compara con los controles.

EJEMPLO 79

15 *Ensayo CaFlux*

Las células Hek-293 se transfectaron establemente con la quimera de proteína G Gaq19 y el gen de resistencia a higromicina-B se transfectó además con el receptor NPY2 humano y la selección de antibiótico G418. Tras la selección en ambos higromicina-B y G418, se ensayaron clones individuales por su respuesta a PYY. Las células transfectadas se cultivaron en medio DMEM suplementado con 10% suero bovino fetal, 50µg/ml de higromicina-B 2mM glutamina, 100U/ml penicilina, 100µg/ml streptomycin y 250µg/ml G418. Las células se recogieron con tripsina-EDTA y se contaron usando reactivo ViaCount. El volumen de suspensión celular se ajustó a $4,8 \times 10^5$ células/ml con medio de crecimiento completo. Las alícuotas de 25µL se dispensaron en microplacas negras/transparentes de 384 pocillos cubiertas de Poly-D Lisina (Falcon) y las microplacas se colocaron en un incubador a 37°C con CO₂ durante la noche.

El Tampón de carga (Kit de ensayo Calcium-3, Molecular Devices) se preparó disolviendo el contenido de un vial (Express Kit) en 1000 ml de Solución Salina equilibrada de Hank conteniendo 20mM HEPES y 5mM probenecid. Se dispensaron alícuotas de 25µL de tinte diluido en las placas y estas se incubaron durante 1 hora a 37°C.

30 Durante la incubación, los compuestos del ensayo se prepararon a 3,5X de la concentración deseada en HBSS (20mM HEPES)/0,05%BSA/1%DMSO y se transfirieron a placas de 384 pocillos para usar en FLIPR.

Tras la incubación, las células y las placas de compuestos se llevaron a FLIPR y se transfirieron 20µL de los compuestos diluidos a las placas de células por el FLIPR. Durante el ensayo, las lecturas de fluorescencia se tomaron simultáneamente para los 384 pocillos de cada placa cada 1,5 segundos. Se hicieron cinco lecturas para establecer una línea basal estable, y luego se añadieron rápidamente y simultáneamente 20µL de muestra (30µL/sec) a cada pocillo de la placa. Se monitorizó continuamente la fluorescencia antes, durante y después de la adición de las muestras para un tiempo total transcurrido de 100 segundos. Las respuestas (aumento en pico de la fluorescencia) se determinó en cada pocillo tras la adición. La lectura inicial de fluorescencia de cada pocillo, antes de la estimulación de ligando, se utilizó como una línea basal cero para los datos de cada pocillo. Las respuestas se expresan como % de respuesta máxima del control positivo.

45 Los compuestos de la presente invención presentaron actividad selectiva del receptor del Neuropeptido -2 in vitro, como se demostró en el ensayo cAMP (Ejemplo 77) y ensayo CaFlux (FLIPR) (Ejemplo 78). El resumen de los resultados in vitro, IC₅₀ y EC₅₀ para los Ejemplos 3 a 74, se ilustran en la siguiente Tabla 1:

TABLA 1

Ejemplo	Secuencia	Y2R EC50 (nM)	Y2R IC50 (nM)	Y1R EC50 (nM)	Y4R EC50 (nM)
		FLIPR	cAMP	FLIPR	FLIPR
3	YPIKPEAPGEDASPEELNRYASLRH YLNLVTRQRY (1-36)	0,76	0,042	62	123
4	IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYL NLVTRQRY (3-36)	2,93	0,032	557	>5000
5	IK-Pqa -RHYLNLVTRQRY	3,2	0,032	373	>5000
6	Ac-IK-Pqa -RHYLNLVTRQRY	0,58	0,026	184	>5000
7	IK-Pqa -RHYLNLVTRARY	176	29	>5000	>5000
8	IK-Pqa -RHYLNLVARQRY	18,6	5,27	>5000	>5000
9	IK-Pqa -RHYLNLATRQRY	9,65	0,21	>5000	>5000

ES 2 359 850 T3

Ejemplo	Secuencia	Y2R EC50 (nM)	Y2R IC50 (nM)	Y1R EC50 (nM)	Y4R EC50 (nM)
10	IK-Pqa -RHYLNAVTRQRY	4,85	0,25	>5000	>5000
11	IK-Pqa -RHYLALVTRQRY	38,3	3,11	>5000	>5000
12	IK-Pqa -RHYANLVTRQRY	6,25	0,24	>5000	>5000
13	IK-Pqa -RHALNLVTRQRY	10,8	1,39	>5000	>5000
14	IK-Pqa -RAYLNLVTRQRY	12,2	0,062	>5000	>5000
15	IK-Pqa -AHYLNLVTRQRY	25	0,639	3400	>5000
16	IA-Pqa -RHYLNLVTRQRY	1,68	0,079	1000	>5000
17	Ac-IA-Pqa -RHYLNLVTRQRY	2,47	0,247	>5000	3017
18	AK-Pqa -RHYLNLVTRQRY	0,62	0,172	>5000	>5000
19	IK-Pqa -RHYLNLVTRQR(D)Y	3,5	1,09	3300	>5000
20	IK-Pqa -RHYLNLVTRQ(D)RY	110	25	>5000	>5000
21	IK-Pqa -RHYLNLVT(D)RQRY	324	65	>5000	>5000
22	IK-Pqa -RHYLNL(D)VTRQRY	322	21	>5000	>5000
23	IK-Pqa -RHYLN(D)LVTRQRY	66	22	>5000	>5000
24	IK-Pqa -RHYL(D)NLVTRQRY	48	0,92	3800	>5000
25	IK-Pqa -RHY(D)LNLVTRQRY	5,26	0,37	3800	>5000
26	IK-Pqa -RH(D)YLNLVTRQRY	2,98	0,26	654	>5000
27	IK-Pqa -R(D)HYLNLVTRQRY	12,3	3,18	431	>5000
28	IK-Pqa -(D)RHYLNLVTRQRY	5,2	0,201	1100	>5000
29	I(D)K-Pqa -RHYLNLVTRQRY	0,43	0,078	>5000	>5000
30	(D)IK-Pqa -RHYLNLVTRQRY	0,22	0,099	>5000	>5000
31	IK-Pqa -RHYLNLVTRQR(N-metil)Y	11,8	2,6	>5000	>5000
32	IK-Pqa -RHYLNLVTRQ(N-metil)RY	18,9	0,417	>5000	>5000
33	IK-Pqa -RHYLNLVT(N-metil)RQRY	30,6	13,5	>5000	>5000
34	IK-Pqa -RHYLNLV(N-metil)TRQRY	78,6	89	>5000	>5000
35	IK-Pqa -RHYLNL(N-metil)VTRQRY	44,4	42	>5000	>5000
36	IK-Pqa -RHYLN(N-metil)LVTRQRY	103	12	>5000	>5000
37	IK-Pqa -RHY(N-metil)LNLVTRQRY	782	168	>5000	>5000
38	IK-Pqa -RH(N-metil)YLNLVTRQRY	1,2	11,7	>5000	>5000
39	IK-Pqa -R(N-metil)HYLNLVTRQRY	41,9	1,488	3800	>5000
40	IK-Pqa -(N-metil)RHYLNLVTRQRY	4,4	0,218	1600	>5000
41	I(N-metil)K-Pqa -RHYLNLVTRQRY	0,614	0,19	834	>5000
42	(N-metil)IK-Pqa -RHYLNLVTRQRY	0,799	0,12	327	>5000
43	INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY	0,89	0,096	430	>5000
44	Ac-INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY	6,1	0,338	760	>5000
45	Ac-INle-Pqa -FHYLNLVTRQRY	19,3	2,74	>5000	>5000
46	IK-Pqa -RHWNLVTRQRY	6,1	0,103	252	>5000
47	IK-Pqa -AHWNLVTRQRY	17,05	0,547	1100	>5000
48	Ac-INle-Pqa -RHYLNLVTRQR(D)Y	107	2,2	2020	>5000

Ejemplo	Secuencia	Y2R EC50 (nM)	Y2R IC50 (nM)	Y1R EC50 (nM)	Y4R EC50 (nM)
49	Ac-INle-Pqa -RHYLNLVTRQR(N-metil)Y	113	3,6	4200	>5000
50	Ac-INle-Pqa -RHYLys(28)NLVAsp (32)RQRY (ciclo Lys-Asp)	92,4	33,48	>5000	>5000
51	IK-Cms -RHYLNLVTRQRY	4,91	0,1	>5000	>5000
52	IKG-Cms -RHYLNLVTRQRY	4,16	0,085	>5000	>5000
53	Ac-INle-Cms-RHYLys(28)NLVAsp (32)RQRY(ciclo Lys-Asp)	146	32,25	>5000	>5000
54	Ac-INle-Pqa -RHTicLNLVTRQRY	163	45	>5000	>5000
55	Ac-INle-Pqa -RHBipLNLVTRQRY	24,7	3,72	561	>5000
56	Ac-INle-Pqa -RHDipLNLVTRQRY	33,5	1,21	1516	>5000
57	Ac-INle-Pqa -RH(1)NaILNLVTRQRY	13	1,36	701	>5000
58	Ac-INle-Pqa -RH(2)NaILNLVTRQRY	12,3	2,68	870	>5000
59	Ac-INle-Pqa -RH(3,4,5 Trifluoro Phe)LNLVTRQRY	13,8	1,34	1089	>5000
60	Ac-INle-Pqa -RH(2,3,4,5,6 Pentafluoro Phe)LNLVTRQRY	14,2	2,13	832	>5000
61	Ac-INle-Pqa -R(4-MeOApc) YLNLVTRQRY	11,9	7,8	>5000	>5000
62	Ac-INle-Pqa -R(3-Pal) YLNLVTRQRY	5,6	1,78	2022	>5000
63	Ac-INle-Pqa -R(4-Pal) YLNLVTRQRY	4,97	0,099	>5000	>5000
64	Ac-INle-Pqa -(3,4,5 Trifluoro Phe)HYLNLVTRQRY	46	1,74	>5000	>5000
65	Ac-INle-Pqa -(2,3,4,5 ,6 Pentafluoro Phe)HYLNLVTRQRY	134	9,37	>5000	>5000
66	Ac-Aib-Nle-Pqa-RHYLNLVTRQRT	8,9	0,38	3329	>5000
67	Ac1-1-Aic-Nle-Pqa -RHYLNLVTRQRT	8,8	0,64	1654	>5000
68	Ac1-1-Aic-Nle-Pqa -RHYLNLVTRQRT	6	1	2646	>5000
69	Ac-2-2Aic-Nle-Pqa -RHYLNLVTRQRT	8,2	0,45	>5000	>5000
70	Ac-Ach-Nle-Pqa-RHYLNLVTRQRT	7,1	0,57	>5000	>5000
71	Ac-Acp-Nle-Pqa -RHYLNLVTRQRT	8,7	0,303	>5000	>5000
72	H- INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY	0,89	0,096	450	>5000
73	(PEG-10,000) INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY	7,4	45		
74	(PEG-30,000) INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY	15,4	79		

Deberá entenderse que la invención no está limitada a las realizaciones particulares de la invención descritos antes, como variaciones de las realizaciones particulares pueden realizarse y todavía caer dentro del alcance de las reivindicaciones anexadas.

5

Ejemplo A

Comprimidos recubiertos por película que contienen los siguientes ingredientes pueden elaborarse de manera convencional:

10

<u>Ingredientes</u>	Por comprimido	
Kernel:		
Compuesto de fórmula (I)	10,0mg	200,0mg
Celulosa Microcristalina	23,5mg	43,5mg
Lactosa hidratada	60,0mg	70,0mg
Povidona K30	12,5mg	15,0mg
Glicolato de almidón sódico	12,5mg	17,0mg
Estearato magnésico	1,5mg	4,5mg
(Peso del Kernel)	120,0mg	350,0mg
Cubierta:		
Hidroxipropil metil celulosa	3,5mg	7,0mg
Polietilen glicol 6000	0,8mg	1,6mg
Talco	1,3mg	2,6mg
Óxido de hierro (amarillo)	0,8mg	1,6mg
Dióxido de titanio	0,8mg	1,6mg

5 El ingrediente activo es tamizado y mezclado con celulosa microcristalina y la mezcla se granuló con una solución de polivinilpirrolidona en agua. El granulado se mezcló con glicolato de almidón sódico y estearato magnésico y se comprimió para proporcionar kernels de 120 o 350 mg respectivamente. Los kernels se lacaron con una solución acuosa / suspensión de la cubierta anteriormente mencionada.

Ejemplo B

10 Las cápsulas que contienen los siguientes ingredientes pueden elaborarse de manera convencional:

<u>Ingredientes</u>	Por cápsula
Compuesto de fórmula (I)	25,0mg
Lactosa	150,0mg
Almidón de maíz	20,0mg
Talco	5,0mg

Los componentes se tamizan y mezclan y rellenan en cápsulas de tamaño 2.

Ejemplo C

15 Soluciones de inyección pueden tener las siguientes composiciones:

Compuesto of fórmula (I)	3,0mg
Polietilen Glicol 400	150,0mg
Ácido Acético	c.s. ad pH 5,0
Agua para soluciones inyectables	ad 1,0ml

20 El ingrediente activo se disolvió en una mezcla de Polietilen Glicol 400 y agua para inyección (parte). El pH es ajustado a 5,0 con Ácido Acético. El volumen es ajustado a 1,0ml por adición de la cantidad residual de agua. La solución se filtró, se relleno en viales usando una cantidad apropiada y se esterilizó.

Ejemplo D

25 Las cápsulas blandas de gelatina que contienen los siguientes ingredientes pueden elaborarse de manera convencional:

Contenido de la cápsula	
Compuesto de fórmula (I)	5,0mg
Cera amarilla	8,0mg
Aceite de soja hidrogenado	8,0mg
Aceites vegetales parcialmente hidrogenados	34,0mg
Aceite de soja	110,0mg
Peso del contenido de la cápsula	165,0mg
Cápsulas de gelatina	
Gelatina	75,0mg
Glicerol 85 %	32,0mg
Karion 83	8,0mg (materia seca)
Dióxido de titanio	0,4mg
Óxido de hierro (amarillo)	1,1mg

El ingrediente activo se disolvió en una fusión caliente de los otros ingredientes y la mezcla se relleno en cápsulas blandas de gelatina de tamaño apropiado. Las cápsulas blandas de gelatina rellenas se trataron de acuerdo con los procedimientos normales.

Ejemplo E

Los saquitos que contienen los siguientes ingredientes pueden elaborarse de manera convencional:

5	Compuesto of fórmula (I)	50,0mg
	Lactosa, polvo fino	1015,0mg
	Celulosa Microcristalina (AVICEL PH 102)	1400,0mg
	Carboximetil celulosa sódica	14,0mg
	Polivinilpirrolidona K 30	10,0mg
	Estearato magnésico	10,0mg
	Aditivos Saborizantes	1,0mg

El ingrediente activo se mezcló con lactosa, celulosa microcristalina y carboximetil celulosa sódica y se granuló con una mezcla de polivinilpirrolidona en agua. El granulado se mezcló con estearato magnésico y los aditivos saborizantes y se rellenaron en los saquitos.

10

LISTA DE SECUENCIAS

<110> F.Hoffmann- La Roche AG

15

<120> AGONISTAS DEL RECEPTOR DEL NEUROPEPTIDO-2 (Y-2R) Y USOS DE LOS MISMOS

<130> 22849

20

<140> 60/644.840

<141> 2005-01-18

<160> 42

25

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 12

<212> PRT

30

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 1

Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr

1

5

10

35

<210> 2

<211> 12

<212> PRT

40

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

45

<220>

<223> C-term amidado

<400> 2

Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr

1

5

10

50

<210> 3

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

5

<220>
 <223> C-term amidado

<400> 3

```

Tyr Pro Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu
Glu
    1           5           10           15
Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val
Thr
                20           25           30
    
```

```

Arg Gln Arg Tyr
                35
    
```

10

<210> 4
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

20

<220>
 <223> C-term amidado

<400> 4

```

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
Asn
    1           5           10           15
Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg
Gln
                20           25           30
    
```

```

Arg Tyr
    
```

25

<210> 51
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

35

<220>
 <223> C-term amidado

<400> 5

Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

5 <210> 6
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<220>
 <223> C-term amidado

15 <400> 6

Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Ala Arg Tyr
 1 5 10

20 <210> 7
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<220>
 <223> C-term amidado

30 <400> 7

Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Ala Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

<210> 8
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<220>
 <223> C-term amidado

<400> 8

Arg His Tyr Leu Asn Leu Ala Thr Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

45 <210> 9
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<220>
 <223> C-term amidado

55

<400> 9

Arg His Tyr Leu Asn Ala Val Thr Arg Gln Arg Tyr

1 5 10

5 <210> 10
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<220>
 <223> C-term amidado

15 <400> 10

Arg His Tyr Leu Ala Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr

1 5 10

20 <210> 11
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<220>
 <223> C-term amidado

30 <400> 11

Arg His Tyr Ala Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr

1 5 10

35 <210> 12
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<220>
 <223> C-term amidado

45 <400> 12

Arg His Ala Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr

1 5 10

50 <210> 13
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<220>
<223> C-term amidado

<400> 13

5

Arg Ala Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
1 5 10

<210> 14
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

15

<220>
<223> C-term amidado

<400> 14

20

Ala His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
1 5 10

<210> 15
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

30

<220>
<221> MOD_RES
<222> (12)
<223> (NMe)Tyr

35

<220>
<223> C-term amidado

<400> 15

Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
1 5 10

40

<210> 16
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

50

<220>
<221> MOD_RES
<222> (11)
<223> (NMe)Arg

55

<220>
<223> C-term amidado

<400> 16

Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

5 <210> 17
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)
 <223> (NMe)Arg

<220>
 <223> C-term amidado

20 <400> 17

Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

25 <210> 18
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)
 <223> (NMe)Thr

<220>
 <223> C-term amidado

40 <400> 18

Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

45 <210> 19
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)
 <223> (NMe)Val

<220>

<223> C-term amidado

<400> 19

Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

5

<210> 20

<211> 12

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

15

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)

<223> (NMe)Leu

20

<220>

<223> C-term amidado

<400> 20

Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

25

<210> 21

<211> 12

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

35

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)

<223> (NMe)Leu

40

<220>

<223> C-term amidado

<400> 21

Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

45

<210> 22

<211> 12

<212> PRT

50 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

55

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)

<223> (NMe)Tyr

<220>

<223> C-term amidado

5

<400> 22

Arg His Tyr Leu Asnⁱ Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

10

<210> 23

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<220>

<221> MOD_RES

20

<222> (2)

<223> (NMe)His

<220>

<223> C-term amidado

25

<400> 23

Arg His Tyr Leu Asnⁱ Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

30

<210> 24

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<220>

<221> MOD_RES

40

<222> (1)

<223> (NMe)Arg

<220>

<223> C-term amidado

45

<400> 24

Arg His Tyr Leu Asnⁱ Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

50

<210> 25

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

55

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<220>
<223> C-term amidado

<400> 25

5

Phe His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
1 5 10

<210> 26
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

15

<220>
<223> C-term amidado

<400> 26

20

Arg His Trp Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
1 5 10

<210> 27
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

30

<220>
<223> C-term amidado

<400> 27

35

Ala His Trp Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
1 5 10

<210> 28
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

45

<220>
<223> Puente ciclo entre los residuos 4 y 8

<220>
<223> C-term amidado

50

<400> 28

Arg His Tyr Lys Asn Leu Val Asp Arg Gln Arg Tyr
1 5 10

<210> 29
 <211> 8
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

 10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)
 <223> Asn(Trt)

 15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)
 <223> Asp(2Pip)

 20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)
 <223> Arg(Pmc)

 25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)
 <223> Gln(Trt)

 30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)
 <223> Arg(Pmc)

 35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)
 <223> Tyr(Obut)

 40 <400> 29

 Asn Leu Val Asp Arg Gln Arg Tyr
 1 5

 45 <210> 30
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 50 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)
 55 <223> Arg(Pmc)

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)
 60 <223> His(Trt)

 <220>
 <221> MOD_RES

<222> (3)
 <223> Tyr(Obut)

5

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)
 <223> Asn(Trt)

10

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)
 <223> Arg(Pmc)

15

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)
 <223> Gln(Trt)

20

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)
 <223> Arg(Pmc)

25

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)
 <223> Tyr(OBut)

30

<400> 30

Arg His Tyr Lys Asn Leu Val Asp Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

35

<210> 31
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

45

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)
 <223> Tic

50

<220>
 <223> C-term amidado

<400> 31

Arg His Xaa Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

55

<210> 32
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

60

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

5
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)
 <223> (4-meOApc)

10
 <220>
 <223> C-term amidado
 <400> 38

Arg Xaa Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

15
 <210> 39
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

25
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)
 <223> (3-Pal)

30
 <220>
 <223> C-term amidado
 <400> 39

Arg Xaa Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

35
 <210> 40
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

45
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)
 <223> (4-pal)

50
 <220>
 <223> C-term amidado
 <400> 40

Arg Xaa Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

55
 <210> 41
 <211> 12

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)
 <223> (3,4,5 Trifluoro Phe)

<220>
 <223> C-term amidado

15 <400> 41

Xaa His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

20 <210> 42
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)
 <223> (2,3,4,5,6 Pentafluoro Phe)

<220>
 <223> C-term amidado

35 <400> 42

Xaa His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
 1 5 10

REIVINDICACIONES

1. Un agonista del receptor del neuropéptido-2 de la fórmula (I):



donde:

- 10 X se selecciona del grupo consistente en ácido N-piperazin-1-il-4(3H)-quinoxolinona-3-acético (Pqa), N-(5-O-carboximetil)-serotonina (Cms), ácido 4-(2-aminometil)-6-dibenzofuranpropanoico, ácido 4-(1-piperidin-4-il)-butanoico y 4-(2-aminoetil)-1-carboximetil piperazina,
 Y es H, un alquilo sustituido o sin sustituir, un alquilo inferior sustituido o sin sustituir, un arilo sustituido o sin sustituir, un alcoxilo sustituido o sin sustituir o una porción polietilenglicol,
 15 R₁ es Ile, Ala, (D) Ile, N-metil Ile, Aib, 1-1Aic, 2-2 Aic, Ach o Acp,
 R₂ es Lys, Ala, (D) Lys, NMelys, Nle o (Lys-Gly),
 R₃ es Arg, Ala, (D)Arg, N-metilArg, Phe, 3,4,5- TrifluoroPhe o 2,3,4,5,6- Pentafluoro Phe,
 R₄ es His, Ala, (D)His, N-metil His, 4-MeOApC, 3-Pal o 4-Pal,
 R₅ es Tyr, Ala, (D) Tyr , N- metil Tyr, Trp, Tic, Bip, Dip, (1)Nal, (2)Nal, 3,4,5- TrifluoroPhe o 2,3,4,5,6- Pentafluoro Phe,
 20 R₆ es Leu, Ala, (D)Leu o N-metil Leu,
 R₇ es Asn, Ala o (D)Asn,
 R₈ es Leu, Ala, (D)Leu o N-metil Leu,
 R₉ es Val, Ala, (D) Val o N-metil Val,
 R₁₀ es Thr, Ala o N-metil Thr,
 25 R₁₁ es Arg, (D) Arg o N-metil Arg,
 R₁₂ es Gln o Ala,
 R₁₃ es Arg, (D)Arg o N-metil Arg, y
 R₁₄ es Tyr, (D) Tyr o N- metil Tyr,
 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 30 2. El agonista del receptor del neuropéptido-2 de acuerdo con la reivindicación 1, donde X es Pqa.
 3. El agonista del receptor del neuropéptido-2 de acuerdo con la reivindicación 1, donde X es Cms.
 35 4. El agonista del receptor del neuropéptido-2 de acuerdo con la reivindicación 1, donde Y es una porción (C1-C6) alquilo.
 5. Un agonista del receptor del neuropéptido-2 de la fórmula (II):



donde:

- X es una porción seleccionada del grupo consistente en ácido N-piperazin-1-il-4(3H)-quinoxolinona-3-acético (Pqa), N-(5-O-carboximetil)-serotonina (Cms), ácido 4-(2-aminometil)-6-dibenzofuranpropanoico, ácido 4-(1-piperidin-4-il)-butanoico y 4-(2-aminoetil)-1-carboximetil piperazina,
 45 Y es H, un alquilo sustituido o sin sustituir, un alquilo inferior sustituido o sin sustituir, un arilo sustituido o sin sustituir, un alcoxilo sustituido o sin sustituir o una porción polietilenglicol,
 R₁ es Ile, Ala, (D) Ile, N-metil Ile, Aib, 1-1Aic, 2-2 Aic, Ach o Acp, y
 R₂ es Lys, Ala, (D) Lys, NMelys, Nle o (Lys-Gly),
 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 50 6. El agonista del receptor del neuropéptido-2 de acuerdo con la reivindicación 5, donde X es Pqa.
 7. El agonista del receptor del neuropéptido-2 de acuerdo con la reivindicación 5, donde X es Cms.
 55 8. Un agonista del receptor del neuropéptido-2 de la fórmula (III):



donde:

- 60 X se selecciona del grupo consistente en ácido N-piperazin-1-il-4(3H)-quinoxolinona-3-acético (Pqa), N-(5-O-carboximetil)-serotonina (Cms), ácido 4-(2-aminometil)-6-dibenzofuranpropanoico, ácido 4-(1-piperidin-4-il)-butanoico y 4-(2-aminoetil)-1-carboximetil piperazina, y
 Y es H, un alquilo sustituido o sin sustituir, un alquilo inferior sustituido o sin sustituir, un arilo sustituido o sin sustituir, un alcoxilo sustituido o sin sustituir o una porción polietilenglicol,
 65 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

9. El agonista del receptor del neuropéptido-2 de acuerdo con la reivindicación 8, donde X es Pqa.

10. El agonista del receptor del neuropéptido-2 de acuerdo con la reivindicación 8, donde X es Cms.

11. Un agonista del receptor del neuropéptido-2 de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, seleccionado del grupo consistente en

- IK-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 Ac-IK-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -RHYLNLVTRARY,
 IK-Pqa -RHYLNLVARQRY,
 IK-Pqa -RHYLNLATRQRY,
 IK-Pqa -RHYLNAVTRQRY,
 IK-Pqa -RHYLALVTRQRY,
 IK-Pqa -RHYANLVTRQRY,
 IK-Pqa -RHALNLVTRQRY,
 IK-Pqa -RAYLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -AHYLNLVTRQRY,
 IA-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 Ac-IA-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 AK-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -RHYLNLVTRQR(D)Y,
 IK-Pqa -RHYLNLVTRQ(D)RY,
 IK-Pqa -RHYLNLVT(D)RQRY,
 IK-Pqa -RHYLNL(D)VTRQRY,
 IK-Pqa -RHYLN(D)LVTRQRY,
 IK-Pqa -RHYL(D)NLVTRQRY,
 IK-Pqa -RHY(D)LNLVTRQRY,
 IK-Pqa -RH(D)YLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -R(D)HYLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -(D)RHYLNLVTRQRY,
 I(D)K-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 (D)IK-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -RHYLNLVTRQR(N-metil)Y,
 IK-Pqa -RHYLNLVTRQ(N-metil)RY,
 IK-Pqa -RHYLNLVT(N-metil)RQRY,
 IK-Pqa -RHYLNLV(N-metil)TRQRY,
 IK-Pqa -RHYLNL(N-metil)VTRQRY,
 IK-Pqa -RHYLN(N-metil)LVTRQRY,
 IK-Pqa -RHY(N-metil)LNLVTRQRY,
 IK-Pqa -RH(N-metil)YLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -R(N-metil)HYLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -(N-metil)RHYLNLVTRQRY,
 I(N-metil)K-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 (N-metil)IK-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -FHYLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -RHWLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -AHWLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -RHYLNLVTRQR(D)Y,
 Ac-INle-Pqa -RHYLNLVTRQR(N-metil)Y,
 Ac-INle-Pqa -RHYLys(28)NLVAsp(32)RQRY (ciclo Lys-Asp),
 IK-Cms -RHYLNLVTRQRY,
 IKG-Cms -RHYLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Cms-RHYLys(28)NLVAsp(32)RQRY(ciclo Lys-Asp),
 Ac-INle-Pqa -RHTicLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -RHBipLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -RHDipLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -RH(1)NalLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -RH(2)NalLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -RH(3,4,5 Trifluoro Phe)LNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -RH(2,3,4,5,6 Pentafluoro Phe)LNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -R(4-MeOApC)YLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -R(3-Pal)YLNLVTRQRY,

Ac-INle-Pqa -R(4-Pal)YLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -(3,4,5 Trifluoro Phe)HYLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -(2,3,4,5,6 Pentafluoro Phe)HYLNLVTRQRY,
 Ac-Aib-Nle-Pqa-RHYLNLVTRQRT,
 Ac1-1-Aic-Nle-Pqa -RHYLNLVTRQRT,
 Ac1-1-Aic-Nle-Pqa -RHYLNLVTRQRT,
 Ac-2-2Aic-Nle-Pqa -RHYLNLVTRQRT,
 Ac-Ach-Nle-Pqa-RHYLNLVTRQRT,
 Ac-Acp-Nle-Pqa -RHYLNLVTRQRT,
 H- INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 (PEG-10,000) INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY, y
 (PEG-30,000) INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY.

5

10

15

- 12.** Un agonista del receptor del neuropéptido-2 de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, seleccionado del grupo consistente en

IK-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 Ac-IK-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 IK-Pqa -RHYLNLVTRQR(N-metil)Y,
 IK-Pqa -RHYLNLVTRQ(N-metil)RY,
 INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY,
 Ac-INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY, y
 (PEG-30,000) INle-Pqa -RHYLNLVTRQRY.

20

25

- 13.** Composiciones farmacéuticas comprendiendo un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 - 12 y un vehículo y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

30

- 14.** Compuestos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 - 12 para usar como sustancias terapéuticas activas.

35

- 15.** Compuestos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 - 12 para usar como sustancias terapéuticas activas para el tratamiento y/o prevención de enfermedades que están moduladas por los agonistas del receptor del neuropéptido-2.

40

- 16.** Compuestos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 - 12 para el tratamiento y/o prevención de enfermedades que están moduladas por los agonistas del receptor del neuropéptido-2.

- 17.** El uso de compuestos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 - 12 para el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de obesidad.

45

- 18.** El uso de compuestos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 - 12 para la preparación de medicamentos para el tratamiento y/o prevención de enfermedades que están moduladas por los agonistas del receptor del neuropéptido-2.

- 19.** El uso de compuestos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 - 12 para la preparación de medicamentos para el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de obesidad.

Figura 1

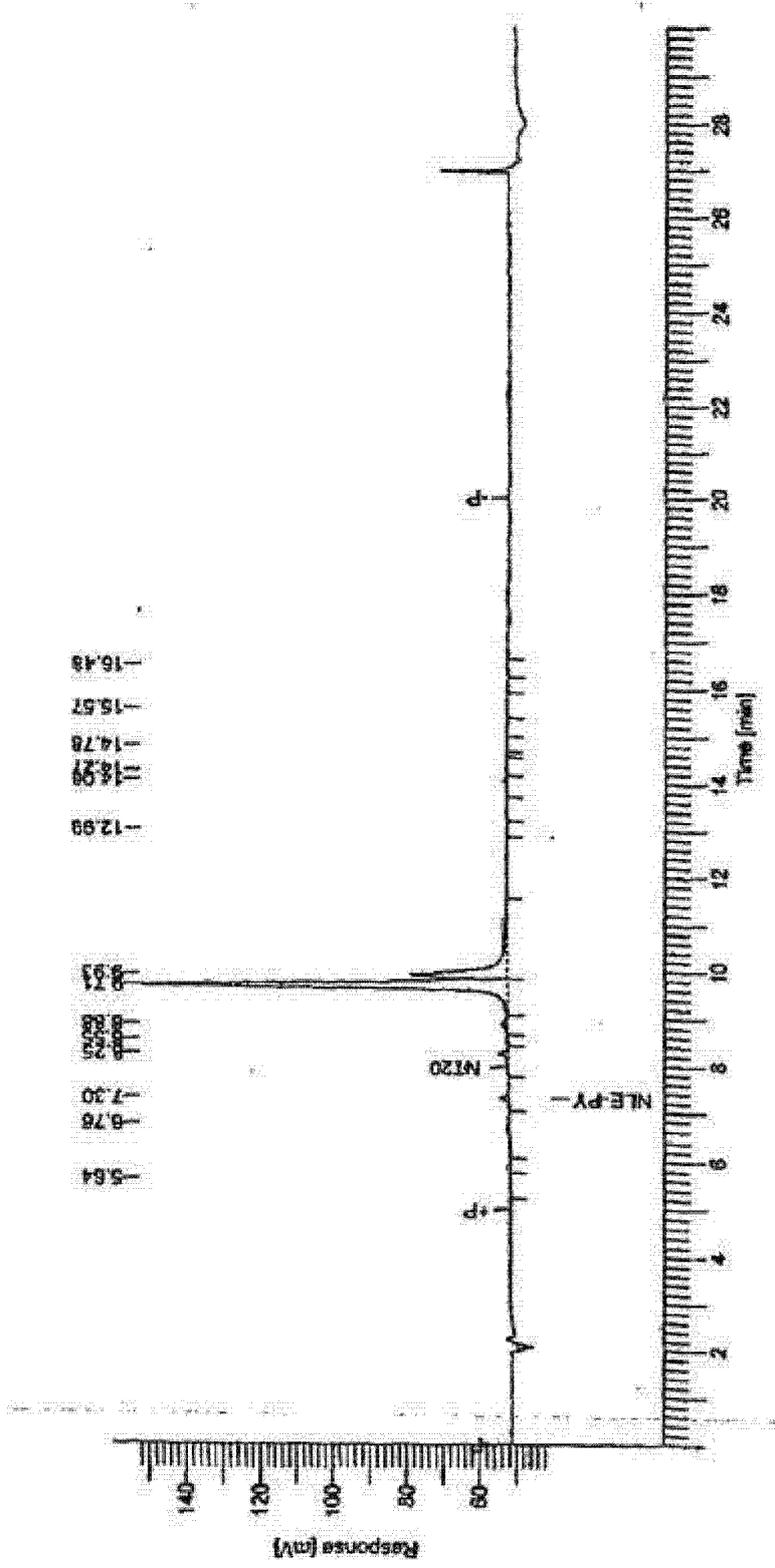


Figura 2

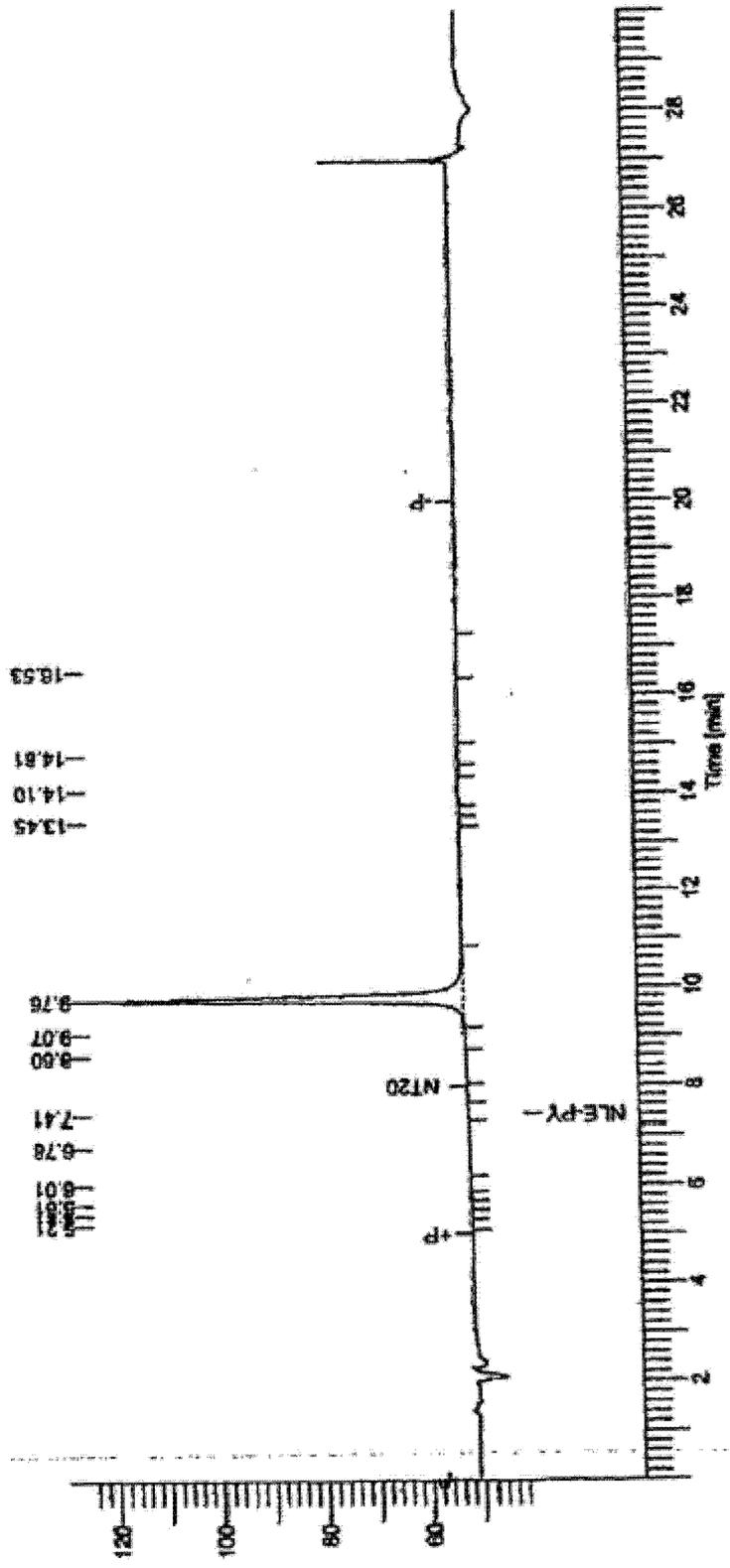


Figura 3

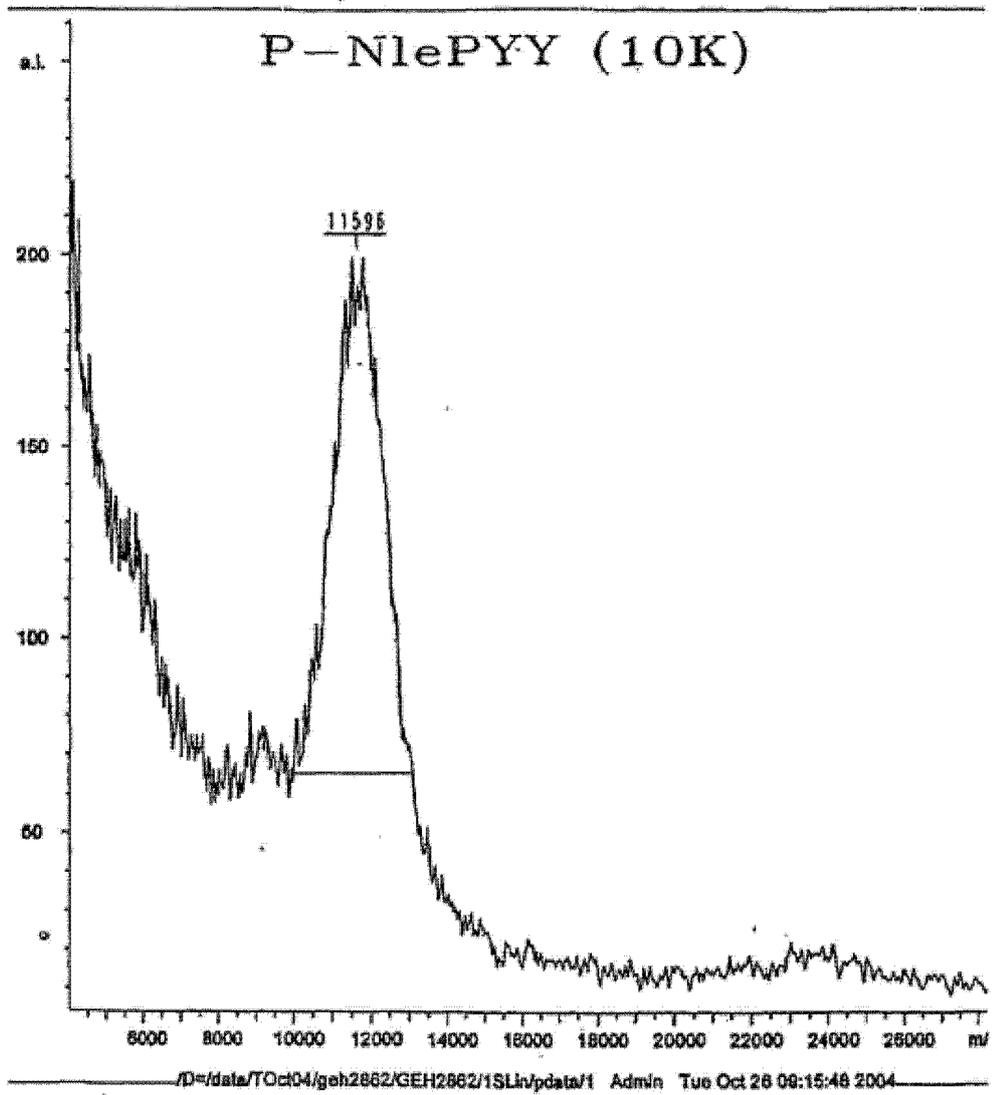


Figura 4

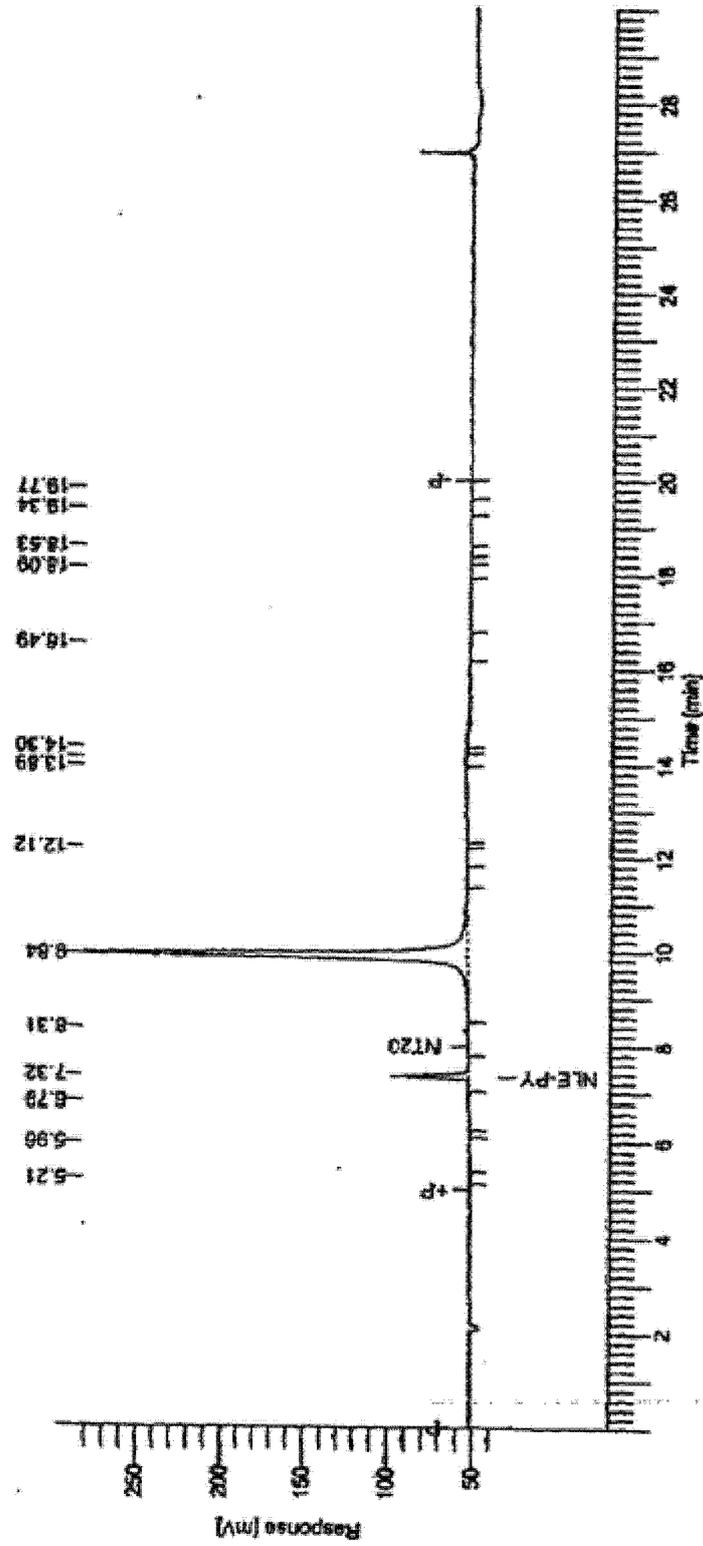


Figura 5

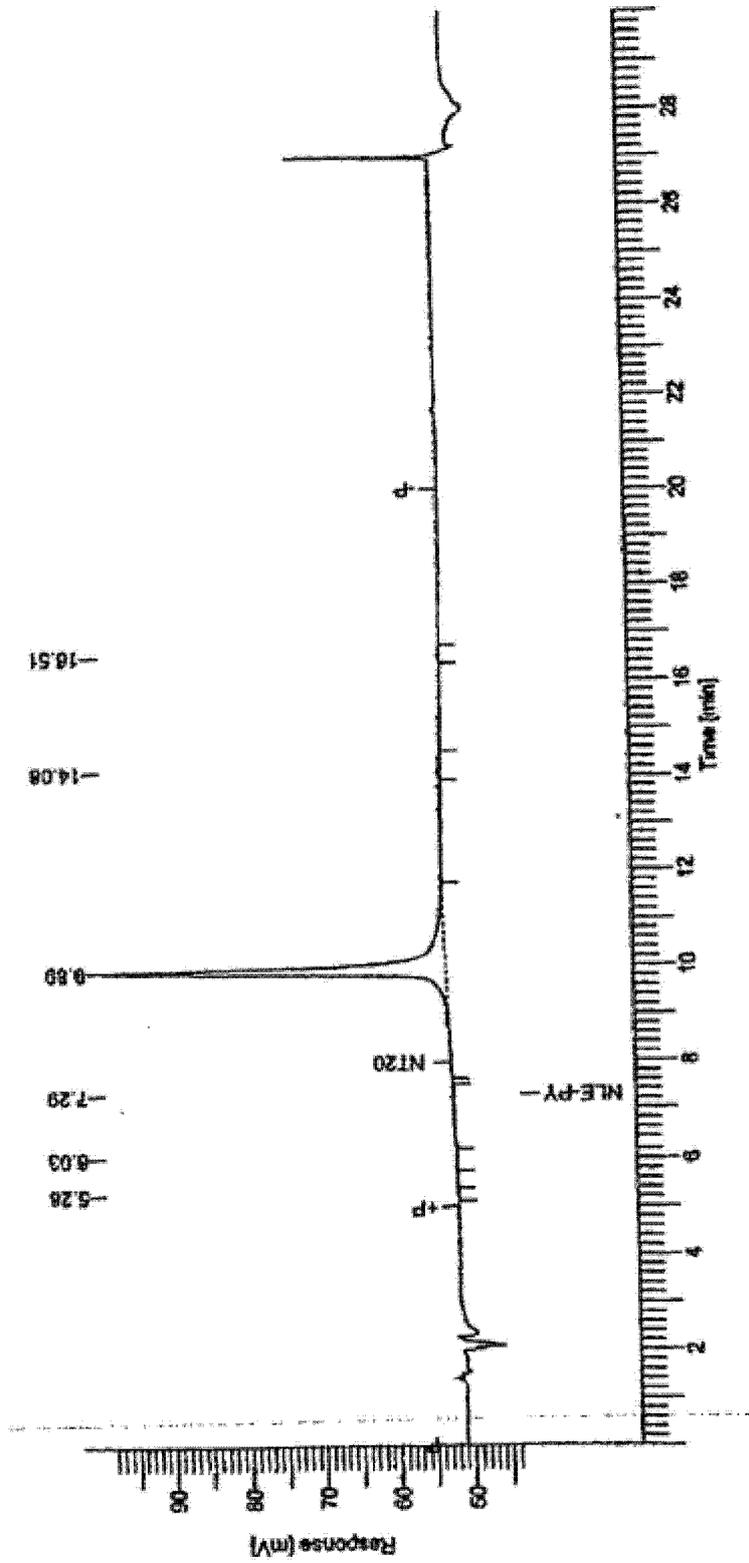
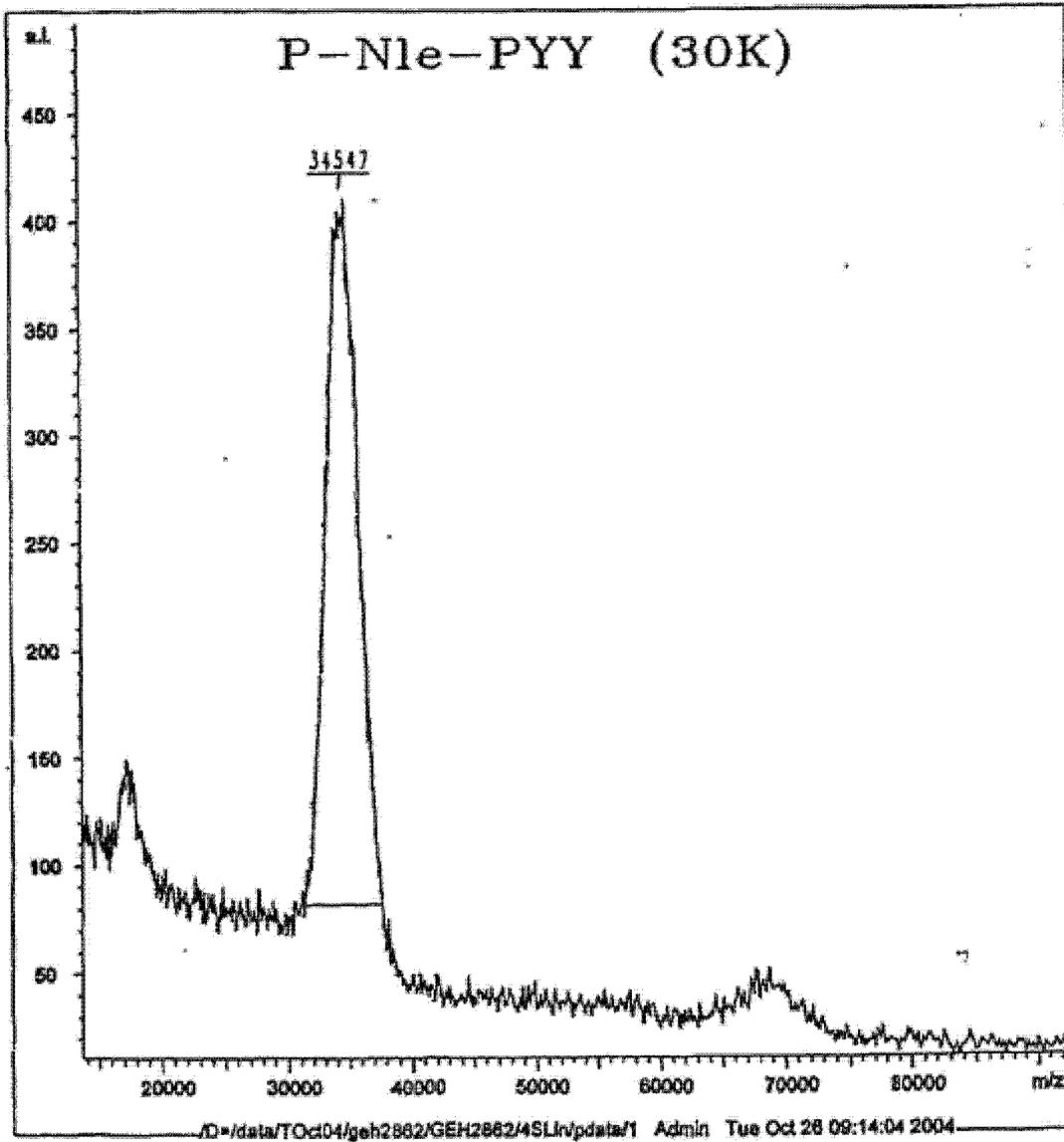


Figura 6



EFFECTOS DEL COMPUESTO DEL EJEMPLO (44) EN LA INGESTA DE COMIDA EN RATONES C57BL/6J MACHOS POR LA RUTA IP DE ADMINISTRACION

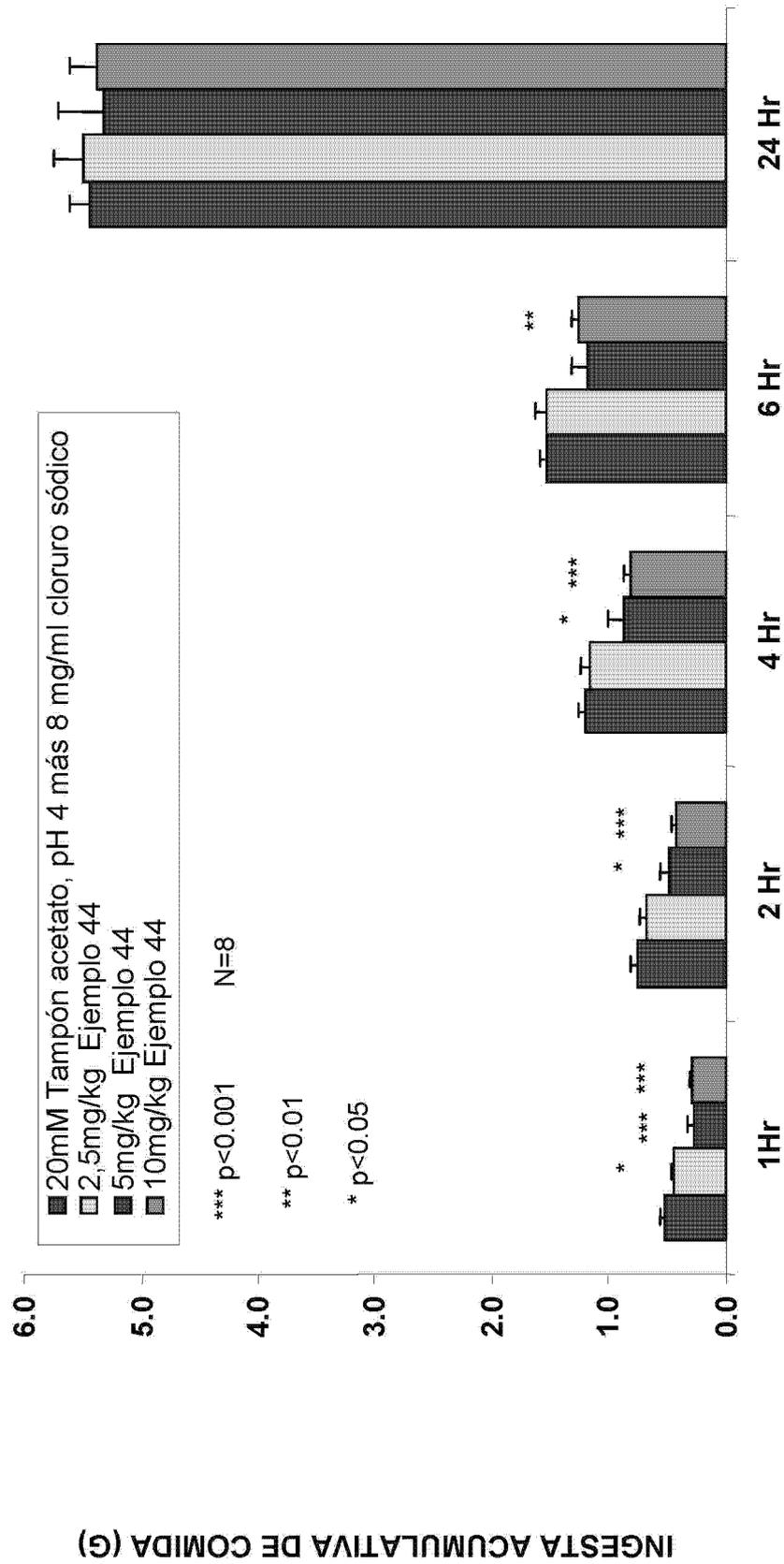
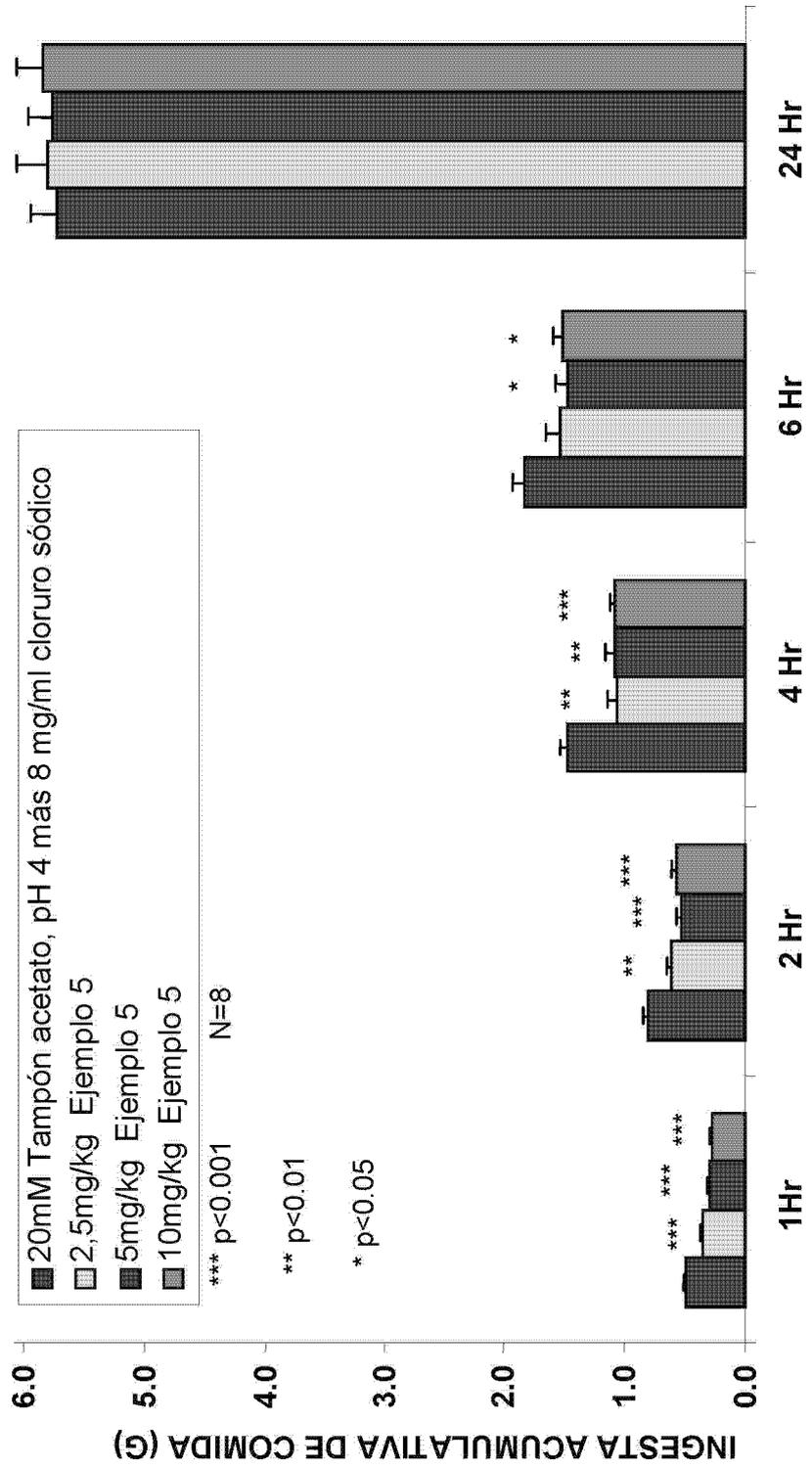


Figura 7

Figura 8

EFFECTOS DEL COMPUESTO DEL EJEMPLO (5) EN LA INGESTA DE COMIDA EN RATONES C57BL/6J MACHOS POR LA RUTA IP DE ADMINISTRACION



EFFECTOS DEL COMPUESTO DEL EJEMPLO (73) EN LA INGESTA DE COMIDA EN RATONES C57BL/6J MACHOS POR LA RUTA SC DE ADMINISTRACION

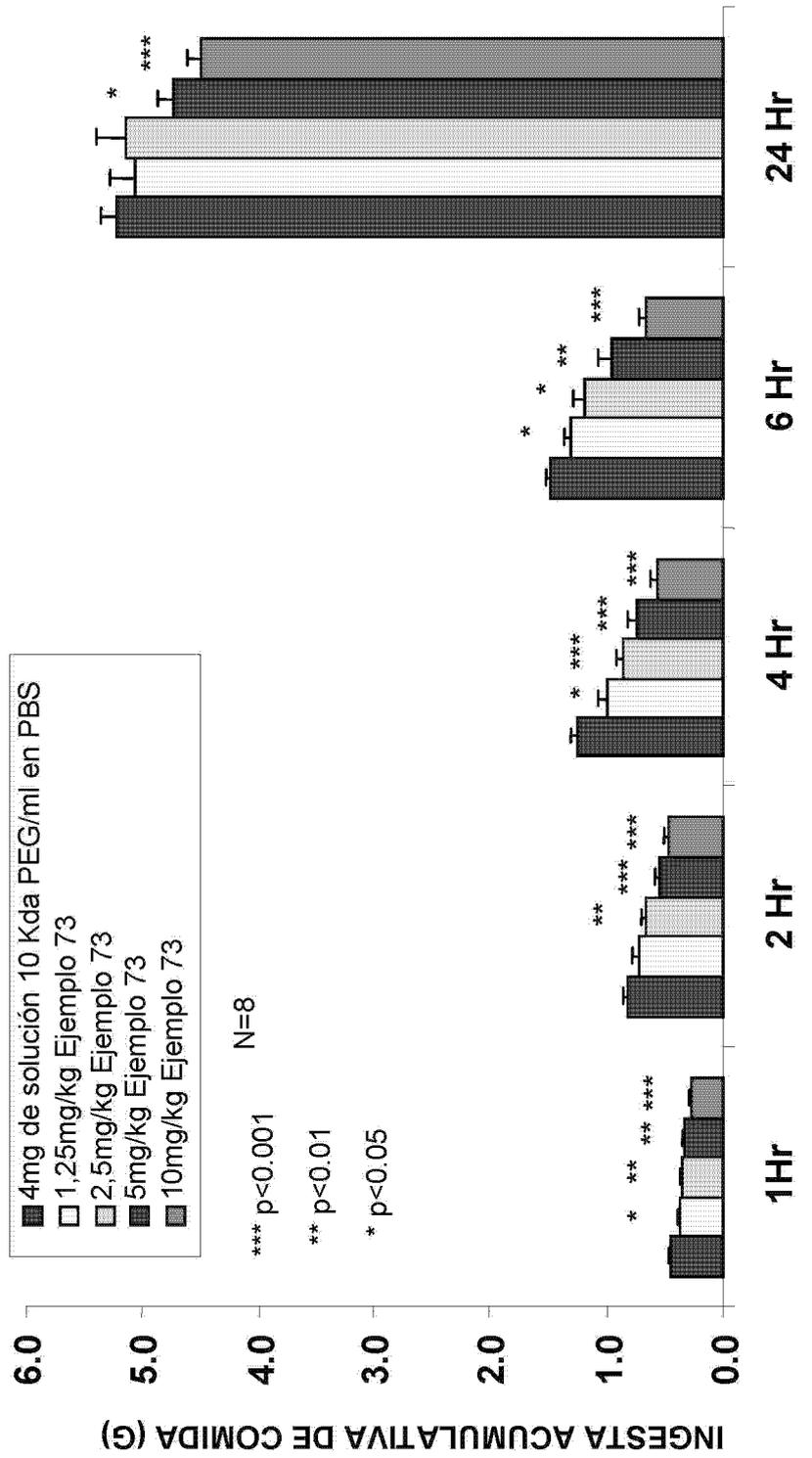


Figura 9

Figura 10

EFFECTOS DEL COMPUESTO DEL EJEMPLO (74) EN LA INGESTA DE COMIDA EN RATONES C57BL/6J MACHOS POR LA RUTA SC DE ADMINISTRACION

