

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 375 038**

51 Int. Cl.:
C07K 14/47 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06843555 .1**
96 Fecha de presentación: **21.12.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1963362**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **03.09.2008**

54 Título: **DERIVADOS DE METASTINA Y SU USO.**

30 Prioridad:
22.12.2005 JP 2005370388
06.10.2006 JP 2006275843

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
24.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
24.02.2012

73 Titular/es:
TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED
1-1, DOSHOMACHI 4-CHOME CHUO-KU
OSAKA-SHI, OSAKA 541-0045, JP

72 Inventor/es:
ASAMI, Taiji y
NISHIZAWA, Naoki

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 375 038 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de metastina y su uso

Campo técnico

La presente invención se refiere a los derivados de metastina y su uso.

5 Antecedentes de la técnica

La metastina derivada de un ser humano (también llamada péptido KiSS-1) (WO 00/24890) y la metastina derivada de ratón o rata (WO10 01/75104) son conocidas. También se conocen las preparaciones de liberación sostenida que contienen metastina (WO 02/85399).

10 Según se informa, la metastina tiene un efecto de suprimir las metástasis cancerosas y en consecuencia es efectiva para prevenir o tratar cánceres (por ejemplo, cáncer de pulmón, cáncer gástrico, cáncer de hígado, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer rectal, cáncer colónico, cáncer de próstata, cáncer ovárico, cáncer cervical, cáncer de mamas, cáncer renal, cáncer de vejiga, tumor cerebral, etc.); la metastina también tiene un efecto de controlar la función pancreática y es efectiva para prevenir o tratar enfermedades pancreáticas (por ejemplo, pancreatitis aguda o crónica, cáncer pancreático, etc.); y la metastina también tiene un efecto de controlar la función placentera y es efectiva para prevenir o tratar coriocarcinoma, mola hidatídica, mola invasiva, aborto, hipoplasia fetal, metabolismo anormal de la glucosa, metabolismo anormal de lípidos o parto anormal (WO 00/24890, WO 01/75104 y WO 02/85399).

El documento EP-A-1577323 describe derivados de metastina que exhiben actividad inhibidora de las metástasis cancerosas o el crecimiento del cáncer, y que tienen buena estabilidad en sangre.

20 El documento WO2004/060264 describe péptidos modificados que corresponden a, o son análogos a, una porción de la secuencia de aminoácidos de la metastina, que exhiben actividad inhibidora de las metástasis cancerosas y actividad inhibidora de la proliferación del cáncer.

Divulgación de la invención

25 La presente invención tiene por objeto proporcionar derivados de metastina estables que tienen excelentes actividades biológicas (una actividad de supresión de las metástasis cancerosas, una actividad de supresión del crecimiento del cáncer, una actividad estimulante de la secreción de hormona gonadotrófica, actividad estimulante de la secreción de hormona sexual, etc.).

30 Los presentes inventores han realizado estudios extensivos para resolver los problemas precedentes y como resultado, han hallado que al sustituir los aminoácidos constituyentes de la metastina con aminoácidos específicos, inesperadamente mejoran mucho la estabilidad en sangre, solubilidad, etc., se reduce la tendencia a la gelificación, también mejora la farmacocinética, y presenta excelente actividad supresora de las metástasis cancerosas o actividad supresora del crecimiento del cáncer. Los presentes inventores han hallado adicionalmente que de manera inesperada estos derivados de metastina tienen un efecto de supresión de la secreción de la hormona gonadotrófica, un efecto de supresión de la secreción de la hormona sexual, etc., que son totalmente diferentes de los efectos conocidos hasta ahora. Sobre la base de estos hallazgos, los presentes inventores han continuado otras investigaciones y llevaron a cabo la presente invención.

Es decir, la presente invención proporciona las siguientes características, y similares.

(1) Un derivado de metastina seleccionado de:

- Ac-D-Tyr-Aze(2)-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 720),
- 40 Ac-D-Tyr-Pic(2)-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 721),
- Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 723),
- Ac-D-Tyr-Gly-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 726),
- Ac-D-Tyr-Aib-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 727),
- Ac-D-Tyr-D-NMeAla-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 732),
- 45 Ac-D-Tyr-Izc-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 734),
- Ac-D-Tyr-D-Gln-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 738),
- Ac-D-Tyr-D-His-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 739),

- Ac-D-Tyr-Ala-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 742),
 Ac-D-Tyr-Ser-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 744),
 Ac-D-Tyr-Lys-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 745),
 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 746),
 5 Ac-D-Tyr-D-Trp-Asn-Thr-Phe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 750),
 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Phe(2F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 755),
 Ac-D-Tyr-Lys-Asn-Thr-Phe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 756),
 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Phe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 757),
 Ac-D-Tyr-Lys-Asn-Thr-Phe(4Cl)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 758),
 10 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Phe(4Cl)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 759),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(2F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 763),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 765),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(4Cl)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 767),
 Ac-D-Tyr-His(3Me)-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 773),
 15 Ac-D-Tyr-Tyr(PO3H2)-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 775),
 Glycoloyl-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 776),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(4F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 787),
 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Phe(4F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 788),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg-Trp-NH₂ (Compuesto No. 797),
 20 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Ala-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 814),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Ala(cPr)-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 856),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(2Me)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 870),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(3Me)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 872),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(4Me)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 874),
 25 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-threo-Ser(3Fenil)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 877),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-eritro-Ser(3Fenil)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 882),
 3-(p-Hidroxifenil)propionil-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 888),
 Ac-D-Tyr-cisHyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 896),
 Ac-D-Tyr-Pro(4F)-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 897),
 30 o una de sus sales.

(2) Un derivado de metastatina seleccionado de:

- Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 723),
 Ac-D-Tyr-Gly-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 726)
 Ac-D-Tyr-Aib-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 727),
 35 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 746),
 Ac-D-Tyr-Lys-Asn-Thr-Phe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 756),
 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Phe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 757),

Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(4Cl)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 767),

Glycoloil-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 776),

Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(4F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 787), o una de sus sales.

(3) El derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) o (2), o una de sus sales, para usar como un medicamento.

5 (4) El derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) o (2), o una de sus sales, para usar como un agente para suprimir metástasis cancerosas o un agente para suprimir crecimiento del cáncer.

(5) El derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) o (2), o una de sus sales, para usar como un agente para prevenir o tratar cáncer.

10 (6) El derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) o (2), o una de sus sales, para usar como un agente para controlar la función placentaria.

(7) El derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) o (2), o una de sus sales, para usar como un agente para prevenir o tratar coriocarcinoma, mola hidatídica, mola invasiva, aborto, hipoplasia fetal, metabolismo anormal de la glucosa, metabolismo anormal de lípidos o inducción del parto.

15 (8) El derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) o (2), o una de sus sales, para usar como un agente para mejorar la función gonadal.

(9) El derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) o (2), o una de sus sales, para usar como un agente para prevenir o tratar cáncer dependiente de hormonas, infertilidad, endometriosis, pubertad precoz o mioma del útero.

(10) El derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) o (2), o una de sus sales, para usar como un agente para inducir o estimular la ovulación.

20 (11) El derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) o (2), o una de sus sales, para usar como un agente secretagogo de hormona gonadotrófica o un agente secretagogo de hormona sexual.

(12) El derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) o (2), o una de sus sales, para usar como un agente para prevenir o tratar enfermedad de Alzheimer, Autismo o deterioro cognitivo moderado.

La presente invención además proporciona las siguientes características, y demás.

25 (13) Uso del derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) a (2) o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para suprimir metástasis cancerosas o un agente para suprimir crecimiento del cáncer.

(14) Uso del derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) a (2) o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para prevenir o tratar cáncer.

30 (15) Uso del derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) a (2) o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para controlar la función placentaria.

(16) Uso del derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) a (2) o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para prevenir o tratar coriocarcinoma, mola hidatídica, mola invasiva, aborto, hipoplasia fetal, metabolismo anormal de glucosa, metabolismo anormal de lípidos o inducción del parto.

35 (17) Uso del derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) a (2) o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para mejorar la función gonadal.

(18) Uso del derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) a (2) o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para prevenir o tratar cáncer dependiente de hormonas, infertilidad, endometriosis, pubertad precoz o mioma del útero.

40 (19) Uso del derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) a (2), o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para inducir o estimular la ovulación.

(20) Uso del derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) a (2), o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para promover a secreción de la hormona gonadotrófica o promover la secreción de la hormona sexual.

45 (21) Uso del derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) a (2), o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para prevenir o tratar enfermedad de Alzheimer, Autismo o deterioro cognitivo moderado.

(22) El derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) o (2), o una de sus sales, para usar como un agente de regulación por disminución de la hormona gonadotrófica u hormona sexual.

(23) El derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) o (2), o una de sus sales, para usar como un agente de regulación por disminución para la proteína de OT7T175 humana (receptor de metastina) que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEC ID NO: 9.

5 (24) El derivado de metastina de acuerdo con el punto (22) o (23), o una de sus sales, para usar como un agente para prevenir o tratar cáncer dependiente de hormonas.

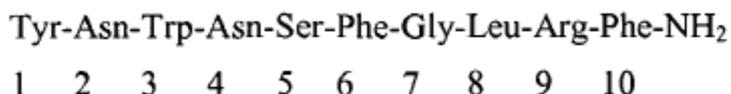
(25) Uso del derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) o (2), o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para regular por disminución hormona gonadotrófica u hormona sexual.

10 (26) Uso del derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) o (2), o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para regular por disminución la proteína de OT7T175 humana (receptor de metastina) que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEC ID NO: 9.

(27) Uso del derivado de metastina de acuerdo con el punto (1) o (2), o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para prevenir o tratar cáncer dependiente de hormonas.

En la presente invención, Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂ (SEC ID NO: 16) se denomina como metastina 10 (Metastina 10), es decir, MS10.

15 En la presente, la Tyr N-terminal y Phe C-terminal en MS 10 se cuentan como las posiciones 1 y 10, respectivamente.



Por ejemplo, [Hph10]MS10 significa un péptido en el que Phe en el extremo C-terminal (posición 10) de MS10 está sustituido con Hph.

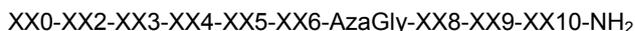
20 Por ejemplo, des(1)-MS10 significa un péptido en el que Tyr en el extremo N-terminal (posición 1) de MS10 está eliminado.

Por ejemplo, des(1-3)-Fmoc-MS10 significa un péptido en el que Tyr-Asn-Trp en el extremo N-terminal (1 a 3- posiciones) está eliminado y el grupo amino de Asn en la posición 4 está modificado con Fmoc.

Por ejemplo,

25 des(1)-Ac-[D-Tyr₂,D-Trp₃,Thr₅,AzaGly₇,D-Arg₉,Trp₁₀]MS10 del Compuesto No. 708 significa un péptido en el que el extremo amino del MS 10 está modificado con Ac, Tyr en el extremo N-terminal (posición 1) está eliminado, Asn en la posición 2 está sustituido con D-Tyr, Trp en la posición 3 está sustituido con D-Trp, Ser en la posición 5 está sustituido con Thr, Gly en la posición 7 está sustituido con AzaGly, Arg en la posición 9 está sustituido con D-Arg y Phe en la posición 10 está sustituido con Trp, es decir, Ac-D-Tyr-D-Trp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-D-Arg-Trp-NH₂.

30 Los derivados de metastina se pueden representar con la fórmula:



En las fórmula descritas anteriormente, XX0 representa un grupo modificador en el extremo amino; y cada uno de XX2, XX3, XX4, XX5, XX6, XX8, XX9 y XX10 representa las posiciones 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9 y 10 de MS10 descrito antes, respectivamente.

35 Cada enlace químico "-" entre XX0, XX2, XX3, XX4, XX5, XX6, AzaGly, XX8, XX9 y XX10 y NH₂ en la fórmula:

"XX0-XX2-XX3-XX4-XX5-XX6-AzaGly-XX8-XX9-XX10-NH₂" representa los siguientes significados.

El enlace químico "-" en la fórmula "XX0-XX2" significa un enlace entre el grupo representado por XX0 y el grupo amino (grupo α-amino) que contiene XX2. Más específicamente, la fórmula "XX0-XX2" representa el átomo de hidrógeno en el grupo amino (NH₂) contenido en XX2 está sustituido con un grupo representado por XX0.

40 El enlace químico "-" en la fórmula "XX2-XX3" significa que el grupo carboxilo (grupo α-carboxilo) contenido en XX2 se une al grupo amino (grupo α-amino) en XX3 a través de un enlace amida. Los enlaces químicos "-" en las fórmulas "XX3-XX4", "XX4-XX5", "XX5-XX6", "XX8-XX9" y "XX9-XX10" tienen la misma significación que se describió anteriormente.

45 El enlace químico "-" en la fórmula "XX6-AzaGly" significa que el grupo carboxilo (grupo α-carboxilo) contenido en XX6 está unido al grupo amino (grupo α-amino) en AzaGly [azaglicina] a través de un enlace amida.

El enlace químico "-" en la fórmula "AzaGly-XX8" significa que el grupo carboxilo (grupo α -carboxilo) contenido en AzaGly se une al grupo amino (grupo α -amino) en XX8 a través de un enlace amida.

5 El enlace químico "-" en la fórmula "XX10-NH₂" representa el enlace entre el grupo carboxilo (grupo α -carboxilo) y -NH₂. Más específicamente, la fórmula "XX10-NH₂" indica que el -OH del grupo carboxilo (-COOH) contenido en XX10 está sustituido con -NH₂.

XX2 puede representar un enlace químico "-", y este enlace químico "-" tiene la misma significación que se describió anteriormente.

Los ejemplos específicos de estos enlaces químicos incluyen los enlaces representados por las fórmulas estructurales mostradas en la TABLA 1 B posteriormente descritas, y demás.

10 En los derivados de metastina de la presente invención, se usan las siguientes definiciones:

(i) un aminoácido en el que el grupo -amino opcionalmente se puede metilar (un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ala [alanina], Arg [arginina], Asn [asparagina], Asp [ácido aspártico], Cys [cisteína], Gln [glutamina], Glu [ácido glutámico], Gly [glicina], His [histidina], Ile [isoleucina], Leu [leucina], Lys [lisina], Met [metionina], Phe [fenilalanina], Ser [serina], Thr [treonina], Trp [triptofano], Tyr [tirosina] y Val [valina]), (ii) un aminoácido cíclico (un aminoácido cíclico seleccionado de Pro [prolina], Aze(2), Aze(3), Pic(2), Pic(3), Hyp, Thz, Abz(2), Abz(3), Pzc(2), Pro (4NH₂), Hyp(Bzl), cisHyp, Pro(4F) y Izc), (iii) un aminoácido seleccionado de D-Dap, D-Pya(4), DL-Ala(Pip), Orn, Aib y Tyr(PO₃H₂).

20 En la presente, Aze(2) representa [ácido azetidino-2-carboxílico], Aze(3) representa [ácido azetidino-3-carboxílico], Pic(2) representa [ácido piperidínico], Pic(3) representa [ácido 3-piperidincarboxílico], D-Dap representa [Ácido D-2,3-diaminopropiónico], D-Pya(4) representa [4-piridil-D-alanina], Hyp representa [trans-4-hidroxirolina], Thz representa [tioprolina], Aib representa [ácido α -aminoisobutanoico], Abz(2) representa [ácido 2-aminobenzoico], Abz(3) representa [ácido 3-aminobenzoico], Izc representa [ácido imidazolidino-2-carboxílico], DL-Ala(Pip) representa [DL-(4-piperidino-1-il)alanina], Pzc(2) representa [ácido piperazino-2-carboxílico], Orn representa [ornitina], Tyr(PO₃H₂) representa [O-fosfotirosina], Pro (4NH₂) representa [cis-4-aminoprolina], Hyp(Bzl) representa [trans-4-benciloxiprolina], cisHyp representa [cis-4-hidroxirolina], y Pro(4F) representa [trans-4-fluoroprolina].

30 En la presente, el aminoácido puede ser un L-aminoácido o un D-aminoácido. La alanina puede ser α -alanina o β -alanina a menos que se indique de otro modo. Otras definiciones incluyen D-NMeAla [D-N^o-metilalanina], D-NMePhe [D-N^o-metilfenilalanina], Ala(cPr) [ciclopropilalanina], Arg(me) [N^o-metilarginina], treo-Ser(3Fenil), eritro-Ser(3Fenil), fenilalanina sustituida, seleccionada de Phe(2F) [2-fluorofenilalanina], Phe(3F) [3-fluorofenilalanina], Phe(4F) [4-fluorofenilalanina], Phe(4Cl) [4-clorofenilalanina], Phe(2Me), Phe (3Me), y Phe(4Me).

En la fórmula descrita anteriormente, AzaGly representa azaglicina.

Los derivados de metastina de la presente invención son:

Compuesto No. 720:

35 des(1)-Ac-[D-Tyr₂,Aze(2)₃,Thr₅,AzaGly₇,Arg(Me)₉,Trp 10]MS₁₀ Ac-D-Tyr-Aze(2)-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg (Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 721:

des(1)-Ac-[D-Tyr₂,Pic(2)₃,Thr₅,AzaGly₇,Arg(Me)₉,Trp₁₀]MS 10 Ac-D-Tyr-Pic(2)-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg (Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 723:

40 des(1)-Ac-[D-Tyr₂,Hyp₃,Thr₅,AzaGly₇,Arg(Me)₉,Trp₁₀]MS₁₀ Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 726:

des(1)-Ac-[D-Tyr₂,Gly₃,Thr₅,AzaGly₇,Arg(Me)₉,Trp₁₀]MS₁₀ Ac-D-Tyr-Gly-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

45 Compuesto No. 727:

des(1)-Ac-[D-Tyr₂,Aib₃,Thr₅,AzaGly₇,Arg(Me)₉,Trp₁₀]MS₁₀ Ac-D-Tyr-Aib-Asn-Thr-Phe-Aza-Gly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 732:

des(1)-Ac-[D-Tyr₂,D-NMeAla₃,Thr₅,AzaGly₇,Arg(Me)₉,Trp 10]MS 10 Ac-D-Tyr-D-NMeAla-Asn-Thr-Phe-

AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 734:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,Izc3,Thr5,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS10 Ac-D-Tyr-Izc-Asn-Thr-Phe-Aza-Gly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

5 Compuesto No. 738:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,D-Gln3,Thr5,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp 10]MS 10 Ac-D-Tyr-D-Gln-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg (Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 739:

10 des(1)-Ac-[D-Tyr2,D-His3,Thr5,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 Ac-D-Tyr-D-His-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg (Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 742:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,Ala3,Thr5,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS10 Ac-D-Tyr-Ala-Asn-Thr-Phe-Aza-Gly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 744:

15 des(1)-Ac-[D-Tyr2,Ser3,Thr5,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS10 Ac-D-Tyr-Ser-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 745:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,Lys3,Thr5,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS10 Ac-D-Tyr-Lys-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

20 Compuesto No. 746:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,Glu3,Thr5,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS10 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Phe-20 AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 750:

25 des(1)-Ac-[D-Tyr2,D-Trp3,Thr5,Phe(3F)6,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp 10]MS 10 Ac-D-Tyr-D-Trp-Asn-Thr-Phe(3F)-Aza-Gly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 755:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,Glu3,Thr5,Phe(2F)6,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp 10]MS 10 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Phe(2F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 756:

30 des(1)-Ac-[D-Tyr2,Lys3,Thr5,Phe(3F)6,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 Ac-D-Tyr-Lys-Asn-Thr-Phe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 757:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,Glu3,Thr5,Phe(3F)6,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Phe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

35 Compuesto No. 758:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,Lys3,Thr5,Phe(4Cl)6,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS Ac-D-Tyr-Lys-Asn-Thr-Phe(4Cl)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 759:

40 des(1)-Ac-[D-Tyr2,Glu3,Thr5,Phe(4Cl)6,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Phe(4Cl)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 763:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,Hyp3,Thr5,Phe(2F)6,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(2F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

ES 2 375 038 T3

Compuesto No. 765:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,Hyp3,Thr5,Phe(3F)6,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 767:

5 des(1)-Ac-[D-Tyr2,Hyp3,Thr5,Phe(4Cl)6,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(4Cl)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 773:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,His(3Me)3,Thr5,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 Ac-D-Tyr-His(3Me)-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

10 Compuesto No. 775:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,Tyr(PO₃H₂)₃,Thr5,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 Ac-D-Tyr-Tyr(PO₃H₂)-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 776:

15 des(1)-Glioloi-[D-Tyr2,Hyp3,Thr5,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS Glicoloi-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 787:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,Hyp3,Thr5,Phe(4F)6,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(4F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 788:

20 des(1)-Ac-[D-Tyr2,Glu3,Thr5,Phe(4F)6,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Phe(4F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 797:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,Hyp3,Thr5,AzaGly7,Trp10]MS10 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg-Trp-NH₂

Compuesto No. 814:

25 des(1)-Ac-[D-Tyr2,Hyp3,Ala5,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Ala-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 856:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,Hyp3,Thr5,AzaGly7,Ala(cPr)8,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Ala(cPr)-Arg(Me)-Trp-NH₂

30 Compuesto No. 870:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,Hyp3,Thr5,Phe(2Me)6,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(2Me)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 872:

35 des(1)-Ac-[D-Tyr2,Hyp3,Thr5,Phe(3Me)6,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]M 10 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(3Me)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 874:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,Hyp3,Thr5,Phe(4Me)6,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(4Me)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 877:

40 des(1)-Ac-[D-Tyr2,Hyp3,Thr5,threo-Ser(3Fenil)6,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 1 0 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-threo-Ser(3Fenil)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 882:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,Hyp3,Thr5,eritro-Ser(3Fenil)6,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-erythro-Ser(3Fenil)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 888:

5 des(1-2)-3-(p-Hidroxifenil)propionil-[Hyp3,Thr5,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 3-(p-Hidroxifenil)propionil-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 889:

des(1-2)-[pGlu3,Thr5,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS10 pGlu-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 896:

10 des(1)-Ac-[D-Tyr2,cisHyp3,Thr5,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 Ac-D-Tyr-cisHyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂

Compuesto No. 897:

des(1)-Ac-[D-Tyr2,Pro(4F)3,Thr5,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS 10 Ac-D-Tyr-Pro(4F)-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂.

15 En particular, los compuestos representados por los siguientes números de compuestos son preferidos como derivados de metastina.

Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 723),

Ac-D-Tyr-Gly-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 726)

Ac-D-Tyr-Aib-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 727),

20 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 746),

Ac-D-Tyr-Lys-Asn-Thr-Phe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 756),

Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Phe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 757),

Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(4Cl)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 767),

Glycoloil-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 776),

25 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Phe(4F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 787).

Los derivados de metastina de la presente invención o sus sales o profármacos tienen excelente estabilidad, solubilidad en sangre, etc., además de excelentes efectos de supresión de las metástasis cancerosas y el crecimiento del cáncer, y son útiles como agentes para prevenir o tratar cánceres (por ejemplo, cáncer de pulmón, cáncer gástrico, cáncer de hígado, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer rectal, cáncer colónico, cáncer de próstata, cáncer de ovarios, cáncer cervical, cáncer de mamas, etc.). Los derivados de metastina de la presente invención o sus sales o profármacos tienen el efecto de controlar la función pancreática y son útiles como agentes para prevenir o tratar enfermedades pancreáticas (por ejemplo, pancreatitis aguda o crónica, cáncer pancreático, etc.). Los derivados de metastina de la presente invención o sus sales o profármacos tienen el efecto de controlar la función placentaria y son útiles como agentes para prevenir o tratar coriocarcinoma, mola hidatídica, mola invasiva, aborto, hipoplasia fetal, metabolismo anormal de la glucosa, metabolismo anormal de lípidos o inducción del parto.

30 Asimismo, los derivados de metastina de la presente invención o sus sales o profármacos tienen los efectos de aumentar el nivel de azúcar, promover la secreción de glucagon pancreático y promover la formación de orina, y son útiles como agentes para prevenir o tratar obesidad, hiperlipemia, diabetes mellitus tipo II, hipoglucemia, hipertensión, neuropatía diabética, nefropatía diabética, retinopatía diabética, edema, alteraciones urinarias, resistencia a la insulina, diabetes mellitus inestable, atrofia grasa, alergia a la insulina, insulinoma, arteriosclerosis, trastornos trombóticos o lipotoxicidad.

40 Además, los derivados de metastina de la presente invención o sus sales o profármacos tienen excelentes actividades de promover la secreción de la hormona gonadotrófica, promover la secreción de la hormona sexual, inducir la ovulación o estimular la ovulación, y son útiles como agentes de baja toxicidad y estables, por ejemplo, agentes para mejorar la función gonadal, agentes para prevenir o tratar cáncer dependiente de hormonas (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de mamas, etc.), infertilidad, endometriosis, pubertad precoz, mioma del útero, etc., agentes para inducir o estimular la ovulación, agente secretagogo de hormona gonadotróficas, anticonceptivos, agentes secretagogos de hormona sexual, o similares.

Además, los derivados de metastina de la presente invención o sus sales o profármacos son útiles como agentes para prevenir o tratar enfermedad de Alzheimer, autismo, deterioro cognitivo moderado, etc.

5 Los derivados de metastina de la presente invención o sus sales o profármacos son útiles como agentes para suprimir la secreción de la hormona gonadotrófica o secreción de las hormonas sexuales; agentes de regulación por disminución para la hormona gonadotrófica u hormona sexual; agentes de regulación por disminución para la proteína de OT7T175 humana (receptor de metastina) que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEC ID NO: 9; agentes para prevenir o tratar cáncer dependiente de hormonas (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de mamas, etc.); en particular, cáncer de próstata sensible a hormonas, cáncer de próstata sensible a hormonas, etc.); agentes para prevenir o tratar endometriosis; agentes para inhibir la maduración folicular ovárica; 10 agentes de suspensión del ciclo menstrual; agentes para tratar el mioma de útero; agentes para tratar la pubertad precoz; anticonceptivos, etc.

Además, los derivados de metastina de la presente invención o sus sales o profármacos son útiles como agentes para potenciar la inmunidad (por ejemplo, agentes profilácticos para infección después del trasplante de médula ósea, agentes para potenciar la inmunidad deseada para el cáncer, etc.); inmunoestimuladores (por ejemplo, regeneración del timo, crecimiento del timo, potenciación del desarrollo de las células T, etc.); agentes para prevenir o tratar atrofia muscular bulboespinal; agentes para proteger el ovario; agentes para prevenir o tratar hipertrofia prostática benigna (HPB); agentes para prevenir o tratar el trastorno de identidad de género; o agentes para la fertilización in vitro (IVF). Además, también son útiles como agentes para prevenir o tratar infertilidad, hipogonadismo, oligospermia, azospermia, aspermia, astenospermia, o necrospermia. Además son útiles para las enfermedades dependientes de hormonas (por ejemplo, cáncer dependiente de hormonas sexuales tales como 20 cáncer de próstata, cáncer uterino, cáncer de mamas, tumor hipofisario, etc.), agrandamiento de la glándula prostática, endometriosis, fibroide uterino, pubertad precoz, dismenorrea, amenorrea, síndrome menstrual, síndrome ovárico multilocular, recaída posoperatoria de los cánceres mencionados anteriormente, metástasis de los cánceres mencionados anteriormente, hipofisarismo, enanismo (el caso en que la secreción de la hormona de crecimiento estaba comprometida con la hiposecreción de la hormona hipofisaria, etc.), trastornos menopáusicos, síntomas indefinidos, trastornos dependientes de hormonas sexuales tales como trastornos metabólicos del calcio y fósforo del hueso. También es aplicable para anticoncepción (o infertilidad cuando se utilizan los efecto rebotes después del cese del fármaco), etc.

Además, la metastina per se o ADN que codifica metastina, etc. también son útiles como agentes para suprimir la secreción de la hormona gonadotrófica o secreción de las hormonas sexuales; agentes de regulación por disminución para hormona gonadotrófica u hormona sexual; agentes de regulación por disminución para la proteína de OT7T175 humana (receptor de metastina) que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 9; agentes para prevenir o tratar cáncer dependiente de hormonas (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de mamas, etc.); particularmente, cáncer de próstata sensible a hormonas, cáncer de mamas sensible a hormonas, etc.); agentes para prevenir o tratar endometriosis; agentes para inhibir la maduración folicular ovárica; agentes de suspensión del ciclo menstrual; agentes para tratar mioma del útero; agentes para tratar pubertad precoz; anticonceptivos, etc.

Los derivados de metastina de la presente invención se pueden preparar por procedimientos conocidos públicamente para la síntesis de péptidos. Como procedimientos para la síntesis de péptidos, por ejemplo, se pueden usar síntesis de fase sólida o fase líquida. Es decir, el péptido parcial o los aminoácidos que pueden constituir el péptido de la presente invención se condensan repetidamente con la parte restante para dar el producto que tiene una secuencia deseada. Cuando el producto tiene grupos protectores, estos grupos protectores se eliminan para dar el péptido deseado. Los procedimientos conocidos públicamente para la condensación y eliminación de los grupos protectores se describen en (1) a (5) a continuación.

45 (1) M. Bodanszky & M.A. Ondetti: Peptide Synthesis, Interscience Publishers, New York (1966)

(2) Schroeder & Luebke: The Peptide, Academic Press, New York (1965)

(3) Nobuo Izumiya, et al.: Peptide Gosei-no-Kiso to Jikken (Basics and experiments of peptide synthesis), published by Maruzen Co (1975)

50 (4) Haruaki Yajima & Shunpei Sakakibara: Seikagaku Jikken Koza (Biochemical Experiment) 1, Tanpakushitsu no Kagaku (Chemistry of Proteins) IV, 205 (1977) (5) Haruaki Yajima, ed.: Zoku Iyakuhi no Kaihatsu (A sequel to Development of Pharmaceuticals), Vol. 14, Peptide Synthesis, published by Hirokawa Shoten

Después de completar la reacción, el producto se puede purificar y aislar por una combinación de procedimientos de purificación convencionales tales como extracción por disolventes, destilación, cromatografía en columna, cromatografía líquida y recristalización para dar el péptido de la presente invención. Cuando el péptido obtenido por los procedimientos anteriores está en forma libre, el péptido se puede convertir en una sal apropiada por un procedimiento conocido públicamente; a la inversa cuando el péptido se obtiene en una forma de sal, se puede convertir en su forma libre por procedimientos públicamente conocidos.

Para la condensación de los aminoácidos o péptidos protegidos, se puede usar una variedad de reactivos de

activación para la síntesis de péptidos, pero se prefiere particularmente sales de trisfosfonio, sales de tetrametiluronio, carbodiimidias, etc. Los ejemplos de sales de trisfosfonio incluyen hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(pirrolidino)fosfonio (PyBOP), hexafluorofosfato de bromotris(pirrolidino)fosfonio (PyBroP) y hexafluorofosfato de 7-azabenzotriazol-1-iloxitris(pirrolidino)fosfonio (PyAOP), los ejemplos de sales de tetrametiluronio incluyen 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-hexafluorofosfato (HBTU), 2-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-hexafluorofosfato (HATU), tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TBTU), tetrafluoroborato de 2-(5-norborneno-2,3-dicarboxiimido)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TNTU) y tetrafluoroborato de O-(N-succimidil)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TSTU); los ejemplos de carbodiimidias incluyen DCC, N,N'-diisopropilcarbodiimida (DIPCDI) y clorhidrato de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDCI.HCl); etc. Para la condensación usando estos reactivos, se prefiere la adición de inhibidores de la racemización (por ejemplo, HONB, HOBt, HOAt, HOOBt, etc). Los disolventes usados en la condensación se pueden elegir apropiadamente de los disolventes que se sabe que son utilizables para la condensación. Por ejemplo, se usan amidas ácidas tales como N,N-dimetilformamida anhidra o hidratada, N,N-dimetilacetamida, N-metilpirrolidona, etc., hidrocarburos halogenados tales como cloruro de metileno, cloroformo, etc., alcoholes tales como trifluoroetanol, fenol, etc., sulfóxidos tales como dimetil sulfóxido, etc., aminas terciarias tales como piridina, etc., éteres tales como dioxano, tetrahidrofurano, etc., nitrilos tales como acetonitrilo, propionitrilo, etc., ésteres tales como acetato de metilo, acetato de etilo, etc., o mezclas adecuadas de estos, etc. La temperatura de reacción se elige apropiadamente del intervalo conocido aplicable a las reacciones de unión del péptido y normalmente se selecciona de modo adecuado del intervalo de aproximadamente -20°C a 50°C. Los derivados de aminoácidos activados se usan generalmente en 1,5 a 6 veces de exceso. En el caso de la síntesis en fase sólida, la condensación se examina usando la reacción de ninhidrina; cuando la condensación es insuficiente, la condensación se puede completar por la repetición de la reacción de condensación sin eliminación de los grupos protectores. Cuando la condensación aún es insuficiente incluso después de repetir la reacción, los aminoácidos sin reaccionar se acilan con anhídrido acético o acetilimidazol para cancelar cualquier efecto adverso en la reacción posterior.

Los ejemplos de los grupos protectores usados para proteger los grupos amino en los aminoácidos iniciales incluyen Z, Boc, ter-pentiloxicarbonilo, isoborniloxicarbonilo, 4-metoxibenciloxicarbonilo, Cl-Z, Br-Z, adamantiloxicarbonilo, trifluoroacetilo, ftaloilo, formilo, 2-nitrofenilsulfenilo, difenilfosfinitoilo, Fmoc, tritilo, etc. Los ejemplos de grupos protectores para un grupo carboxilo incluyen, además del grupo alquilo C₁₋₆, grupo cicloalquilo C₃₋₈ y grupo aralquilo C₇₋₁₄ para R descritos anteriormente, grupo alilo, 2-adamantilo, 4-nitrobencilo, 4-metoxibencilo, 4-clorobencilo, fenacilo, benciloxicarbonilhidrazida, ter-butoxicarbonilhidrazida, tritilhidrazida, etc.

El grupo hidroxilo de serina y treonina se puede proteger, por ejemplo, por esterificación o eterificación. Los ejemplos de grupos adecuados para esta esterificación incluyen un grupo derivado del ácido orgánico como un grupo alcanilo inferior (C₂₋₄) tal como grupo acetilo, un grupo aroilo tal como grupo benzoilo, etc. Los ejemplos de un grupo adecuado para la eterificación incluyen grupo bencilo, grupo tetrahidropiranilo, grupo ter-butilo, grupo tritilo (Trt), etc.

Los ejemplos de grupos para proteger el grupo hidroxilo fenólico de la tirosina incluyen Bzl, 2,6-diclorobencilo (Cl₂-Bzl), 2-nitrobencilo, Br-Z, ter-butilo, etc.

Los ejemplos de grupos usados para proteger el resto imidazol de la histidina incluyen Tos, 4-metoxi-2,3,6-trimetilbencensulfonilo (Mtr), DNP, Bom, Bum, Boc, Trt, Fmoc, etc.

Los ejemplos de grupos protectores para el grupo guanidino de la arginina incluyen Tos, Z, 4-metoxi-2,3,6-trimetilbencensulfonilo (Mtr), p-metoxibencensulfonilo (MBS), 2,2,5,7,8-pentametilcroman-6-sulfonilo (Pmc), mesitileno-2-sulfonilo (Mts), 2,2,4,6,7-pentametilhidrobenzofuran-5-sulfonilo (Pbf), Boc, Z, NO₂, etc.

Los ejemplos de grupos protectores para el grupo amino de la cadena lateral de lisina incluyen Z, Cl-Z, trifluoroacetilo, Boc, Fmoc, Trt, Mtr, 4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexilideneilo (Dde); etc.

Los ejemplos de grupos protectores para el indolilo de triptofano incluyen formilo (For), Z, Boc, Mts, Mtr, etc.

Un grupo protector para asparagina y glutamina incluye Trt, xantilo (Xan), 4,4'-dimetoxibenzhidrido (Mbh), 2,4,6-trimetoxibencilo (Tmob), etc.

Los ejemplos de grupos carboxilo activados en el material de partida incluyen los correspondientes anhídridos ácidos, azidas, ésteres activados [ésteres con alcoholes (por ejemplo, pentaclorofenol, 2,4,5-triclorofenol, 2,4-dinitrofenol, alcohol cianometílico, p-nitrofenol, HONB, N-hidroxisuccimida, 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) o 1-hidroxibenzotriazol (HOAt)], etc. Como los aminoácidos tienen los grupos amino activados en el material de partida, se emplean las correspondientes amidas fosforosas.

Para eliminar (separar) los grupos protectores, se usa la reducción catalítica bajo flujo de gas hidrógeno en presencia de un catalizador tal como negro de Pd o carbón-Pd; un tratamiento ácido con fluoruro de hidrógeno anhidro, ácido metansulfónico, ácido trifluorometansulfónico, ácido trifluoroacético, bromuro de trimetilsilano (TMSBr), trifluorometansulfonato de trimetilsililo, ácido tetrafluorobórico, tris(trifluoro)boro, tribromuro de boro o una solución mixta de estos, un tratamiento con base con diisopropiletilamina, trietilamina, piperidina, piperazina, etc., y reducción con sodio en amoniaco líquido. La eliminación de los grupos protectores por el tratamiento ácido descrito

anteriormente se lleva a cabo generalmente a una temperatura de aproximadamente -20°C a 40°C. En el tratamiento ácido, es eficiente añadir un depurador de iones tales como anisol, fenol, tioanisol, m-cresol, p-cresol, etc., dimetilsulfuro, 1,4-butanoditiol, 1,2-etanditiol, etc. Además, un grupo 2,4-dinitrofenilo usado como grupo protector para el imidazol de la histidina se elimina por un tratamiento con tiofenol. El grupo formilo usado como grupo protector del indol del triptofano se elimina por el tratamiento ácido anteriormente mencionado en presencia de 1,2-etanditiol, 1,4-butanoditiol, etc. así como por un tratamiento con un álcali tal como una solución de hidróxido de sodio diluido, amoníaco diluido, etc.

La protección de grupos funcionales que no deben estar involucrados en la reacción de los materiales de partida, los grupos protectores, la eliminación de los grupos protectores y la activación de grupos funcionales involucrados en la reacción se pueden seleccionar apropiadamente de grupos conocidos públicamente y medios conocidos públicamente.

Los procedimientos para obtener la amida del péptido incluyen, por ejemplo, síntesis en fase sólida usando resinas para la formación de la amida del péptido. En otro procedimiento para obtener las amidas del péptido, por ejemplo, el grupo α -carboxilo del carboxi terminal del aminoácido se protege primero por amidación; la cadena del péptido posteriormente se extiende desde el grupo amino lateral a una longitud deseada. A partir de este momento, se preparan un péptido en que solo se ha eliminado el grupo protector del grupo α -amino N-terminal de la cadena peptídica del péptido y un péptido (o un aminoácido) en que solo se ha eliminado el grupo protector del grupo carboxilo C-terminal. Los dos péptidos se condensan en una mezcla de los disolventes descritos anteriormente. Los detalles de la reacción de condensación son los mismos que los descritos anteriormente. Después que el péptido protegido obtenido por condensación se purifica, todos los grupos protectores se eliminan por el procedimiento descrito anteriormente para dar el péptido bruto deseado. Este péptido bruto se purifica por varios medios de purificación conocidos. La liofilización de la fracción mayor proporciona la amida del péptido.

Cuando el derivado de metastina de la presente invención está presente en la forma de un isómero configuracional, un diastereómero, un confórmero, o similares, cada uno se puede aislar por medios de separación y purificación descritos antes, según se desee. Además, cuando el compuesto de la presente invención es racémico, se puede separar en un isómero S y un isómero R por los medios de resolución óptica convencionales.

Cuando existen isómeros estéricos para el derivado de metastina de la presente invención, la presente invención incluye ambos de estos isómeros solos y los isómeros presentes como una mezcla de ellos.

Además, el derivado de metastina de la presente invención también puede estar hidratado o no hidratado.

El derivado de metastina de la presente invención también puede estar marcado con un isótopo (por ejemplo, ^3H , ^{14}C , ^{35}S), etc.

A lo largo de la memoria descriptiva, los péptidos se representan de acuerdo con la manera convencional de describir los péptidos, es decir, el extremo N-terminal (extremo amino terminal) a la izquierda y el extremo C-terminal (extremo carboxilo terminal) a la derecha. En los péptidos, el extremo C-terminal usualmente está en forma de una amida (-CONH₂), un grupo carboxilo (-COOH), un carboxilato (-COO⁻), una alquilamida (-CONHR) o un éster (-COOR) y la amida (-CONH₂) es particularmente preferida. Los ejemplos de R en el éster o alquilamida incluyen un grupo alquilo C₁₋₆ tal como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, etc.; un grupo cicloalquilo C₃₋₈ tal como ciclopentilo, ciclohexilo, etc.; un grupo arilo C₆₋₁₂ tal como fenilo, α -naftilo, etc.; un grupo aralquilo C₇₋₁₄ tal como un grupo fenil-alquilo C₁₋₂, por ejemplo bencilo, fenetilo, etc., o un grupo α -naftil-alquilo C₁₋₂ tal como α -naftilmetilo, etc.; grupo pivaloiloximetilo, que se usan ampliamente como un éster para uso oral y similares.

Los ejemplos de una sal del derivado de metastina de la presente invención incluyen una sal metálica, una sal de amonio, una sal con base orgánica, una sal con ácido inorgánico, una sal con ácido orgánico, una sal con aminoácido básico o ácido, y similares. Los ejemplos preferidos de la sal metálica incluye sales de metal alcalino tales como sales de sodio, sales de potasio, etc.; sales de metal alcalinotérreo tales como sales de calcio, sales de magnesio, sales de bario, etc.; sales de aluminio; y similares. Los ejemplos preferidos de las sales con bases orgánicas incluyen sales con trimetilamina, trietilamina, piridina, picolina, 2,6-lutidina, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, ciclohexilamina, dicitlohexilamina, N,N'-dibenciletilendiamina, etc. Los ejemplos preferidos de las sales con ácidos inorgánicos incluyen sales con ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, etc. Los ejemplos preferidos de sales con ácidos orgánicos incluyen sales con ácido fórmico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido ftálico, ácido fumárico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido málico, ácido metansulfónico, ácido bencensulfónico, ácido p-toluensulfónico, etc. Los ejemplos preferidos de sales con aminoácidos básicos incluyen sales con arginina, lisina, ornitina, etc., y los ejemplos preferidos de sales con aminoácidos ácidos incluyen sales con ácido aspártico, ácido glutámico, etc.

Entre ellos, se prefieren las sales farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, cuando el compuesto tiene un grupo funcional ácido, se prefieren sales inorgánicas tales como sales de metal alcalino (por ejemplo, sal de sodio, sal de potasio, etc.), sales de metal alcalinotérreo (por ejemplo, sal de calcio, sal de magnesio, sal de bario, etc.), sales de amonio, etc. Cuando el compuesto tiene un grupo funcional básico se prefieren sales con ácidos inorgánicos con ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, etc., y sales con ácidos orgánicos

tales como ácido acético, ácido ftálico, ácido fumárico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido metansulfónico, ácido p-toluensulfónico.

5 El profármaco del derivado de metastina o una de sus sales (de aquí en adelante algunas veces denominado como derivado de metastina de la presente invención) se refiere a tal derivado de metastina que se convierte en el derivado de metastina de la presente invención en condiciones fisiológicas o con una reacción debido a una enzima, un ácido gástrico, etc., en el cuerpo vivo. En otras palabras, el profármaco de la presente invención es el derivado de metastina que experimenta oxidación, reducción, hidrólisis enzimática, etc. para convertirse en el derivado de metastina de la presente invención, o el derivado de metastina que experimenta hidrólisis, etc. por ácido gástrico, para convertirse en el derivado de metastina de la presente invención.

10 Los ejemplos del profármaco del derivado de metastina de la presente invención incluyen un derivado de metastina en el que un grupo amino del derivado de metastina de la presente invención está sustituido con un acilo, un alquilo, ácido fosfórico, etc. (por ejemplo, derivados de metastina en los que un grupo amino del derivado de metastina de la presente invención está sustituido con eicosanoilo, alanilo, pentilaminocarbonilo (5-metil-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)metoxicarbonilo, tetrahidrofuranilo, pirrolidilmetilo, pivaloiloximetilo, ter-butilo, etc); derivados de metastina en los que un grupo hidroxilo del derivado de metastina de la presente invención está sustituido con un acilo, un alquilo, ácido fosfórico, ácido bórico, etc. (por ejemplo, derivados de metastina en los que un grupo hidroxilo del derivado de metastina de la presente invención está sustituido con acetilo, palmitoilo, propanoilo, pivaloilo, succinilo, fumarilo, alanilo, dimetilaminometilcarbonilo, etc.); y derivados de metastina en los que un grupo carboxilo del derivado de metastina de la presente invención está sustituido con éster, amida, etc. (por ejemplo, derivados de metastina en los que el grupo carboxilo del derivado de metastina de la presente invención se convierte en el etil éster, fenil éster, carboximetil éster, dimetilaminometil éster, pivaloiloximetil éster, etoxicarboniloxietil éster, ftalidil éster, (5-metil-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)metil éster, ciclohexiloxicarboniletil éster, metilamida, etc); y similares. Estos derivados de metastina se pueden producir a partir de los derivados de metastina de la presente invención por procedimientos conocidos por se.

25 Los profármacos de los derivados de metastina de la presente invención pueden ser aquellos que se convierten en los derivados de metastina de la presente invención en las condiciones fisiológicas que se describen en "Pharmaceutical Research and Development", Vol. 7 (Drug Design), páginas 163-198, publicado en 1990 por Hirokawa Publishing Co.

30 Los derivados de metastina de la presente invención o sus sales o profármacos (de aquí en adelante algunas veces mencionado simplemente como el compuesto de la presente invención) poseen la actividad supresora de las metástasis cancerosas o la actividad supresora del crecimiento del cáncer. En consecuencia, los derivados de metastina son útiles para medicamentos tales como agentes para prevenir o tratar todos los cánceres (por ejemplo, cáncer de pulmón, cáncer gástrico, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer colorrectal, cáncer rectal, cáncer colónico, cáncer de próstata, cáncer de ovarios, cáncer cervical, cáncer de mamas, etc.), y similares.

35 El compuesto de la presente invención también posee el efecto de controlar la función pancreática y en consecuencia es útil como medicamento tal como un agente para prevenir o tratar varias enfermedades pancreáticas (por ejemplo, pancreatitis aguda o crónica, cáncer pancreático, etc.).

40 Además, el compuesto de la presente invención posee el efecto de controlar la función placentaria y en consecuencia es útil como medicamento tales como un agente para prevenir o tratar coriocarcinoma, mola hidatídica, mola invasiva, aborto, hipoplasia fetal, metabolismo anormal de la glucosa, metabolismo anormal de lípidos o inducción del parto, etc.

45 Además, el compuesto de la presente invención posee los efectos de aumentar el nivel de azúcar, promover la secreción de glucagon pancreático y promover la formación de orina y en consecuencia es útil como medicamento tales como agentes hiperglicémicos, agentes secretagogos del glucagon pancreático o agentes para promover la formación de orina, que son útiles para los agentes para prevenir o tratar obesidad, hiperlipemia, diabetes mellitus tipo II, hipoglucemia, hipertensión, neuropatía diabética, nefropatía diabética, retinopatía diabética, edema, alteraciones urinarias, resistencia a la insulina, diabetes mellitus inestable, atrofia grasa, alergia a la insulina, insulinoma, arteriosclerosis, trastornos tromboticos o lipotoxicidad; y similares.

50 Además, el compuesto de la presente invención también posee los efectos de promover la secreción de la hormona gonadotrófica (por ejemplo, FSH, LH, etc.), promover la secreción de hormonas sexuales [por ejemplo, andrógenos (por ejemplo, testosterona, androstenediona, etc.), estrógenos (por ejemplo, estradiol, estrona, etc.), progesteronas, etc.], mejorar la función gonadal e inducir o estimular la ovulación, así como un efecto de maduración sexual, etc., y en consecuencia, se puede usar como un agente para mejorar la función gonadal, un agente para inducir o estimular la ovulación, un agente secretagogo de hormona gonadotrófica o un agente secretagogo de la hormona sexual, o un agente para prevenir o tratar cáncer dependiente de hormonas [por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de mamas, de etc.], infertilidad [por ejemplo, irregular menstruación, dismenorrea, amenorrea, amenorrea inducida por pérdida de peso, amenorrea secundaria, anovulación, hipoovarismo, hipogonadismo, deficiencia espermatogénica, hipogonadismo (por ejemplo, impotencia, etc.), atrofia genital, atrofia testicular, trastorno de la función testicular, azoospermia, hipoandrogenemia, etc.], endometriosis, pubertad precoz, mioma del útero, etc.

Además, el profármaco del derivado de metastina de la presente invención o su sal es útil como un agente para prevenir o tratar enfermedad de Alzheimer, autismo, deterioro cognitivo moderado, etc.

Más aún, el compuesto de la presente invención tiene excelente estabilidad en sangre, solubilidad y estabilidad en solución, en comparación con la metastina nativa tal como metastina 54 (1-54) o metastina 10 (45-54).

5 El derivado de metastina de la presente invención o su sal o profármaco, metastina per se, o ADN que codifica metastina, etc. es útil como un agente para suprimir la secreción de hormona gonadotrófica (por ejemplo, FSH, LH) secreción o secreción de hormonas sexuales [por ejemplo, andrógeno (por ejemplo, testosterona, androstenodiona), estrógeno (por ejemplo, estradiol, estrona), progesterona]; un agente de regulación por disminución para la hormona gonadotrófica u hormona sexual; en particular, es útil para suprimir la secreción de la hormona gonadotrófica o la secreción de hormona sexual por medio de la regulación por disminución de la hormona gonadotrófica u hormona sexual (en las que la regulación por disminución de la hormona gonadotrófica u hormona sexual puede ser por pérdida de pulso de LHRH o reducción de LHRH) o regulación por disminución de la proteína de OT7T175 humana (receptor de metastina) que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 9; particularmente útil como un agente para prevenir o tratar cánceres dependiente de hormonas (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de mamas, de etc.; especialmente cáncer de próstata, cáncer de próstata sensible a hormonas, etc.); un agente para prevenir o tratar endometriosis; un agente para inhibir la maduración folicular ovárica; un agente de suspensión del ciclo menstrual; un agente para tratar mioma del útero; un agente para tratar pubertad precoz; o como anticonceptivo, etc. Cuando el derivado de metastina de la presente invención o su sal o profármaco, metastina per se, o ADN que codifica metastina, etc. tiene actividad agonista normal, se administra una dosis efectiva del derivado de metastina suficiente para suprimir la secreción de hormona gonadotrófica u hormona sexual en el sitio o tejido donde se ejercerán los efectos terapéuticos, de modo que el derivado de metastina está presente en una dosis mayor de la requerida (es decir, el derivado de metastina se administra en un exceso respecto de la dosis efectiva normal, a la cual el derivado de metastina ejerce los efectos de suprimir las metástasis cancerosas, suprimir el crecimiento del cáncer, etc.; o el efecto de promover la secreción de la hormona gonadotrófica, el efecto de promover la secreción de la hormona sexual, etc.) para exhibir los efectos de suprimir la secreción de la hormona gonadotrófica o la secreción de hormonas sexuales. Los ejemplos específicos incluyen administración sostenida o continua de la dosis efectiva normal (que incluye una técnica de administración para liberar gradualmente los ingredientes farmacéuticos por administración en bolo); y similares. Además cuando el derivado de metastina de la presente invención o su sal o el profármaco de esta, etc. tiene suficiente actividad agonista mayor de la requerida (una actividad superagonista), es posible sostener las actividades más que las exhibidas por la dosis necesaria en el sitio o tejido donde se exhibirán los efectos terapéuticos. En consecuencia, es suficiente incluso con la administración de la dosis efectiva normal para suprimir la secreción de hormona gonadotrófica u hormona sexual, a través de la cual se exhibe el efecto de supresión de la secreción de la hormona gonadotrófica o secreción de las hormonas sexuales.

35 En otras palabras, se administra una dosis efectiva del derivado de metastina de la presente invención o su sal o profármaco, metastina per se, o ADN que codifica metastina, etc. suficiente para suprimir la secreción de hormona gonadotrófica u hormona sexual de modo que el derivado de metastina esté presente en una dosis mayor de la requerida en el sitio o tejido donde se ejercerán los efectos terapéuticos o sus actividades se pueden sostener más de lo que requerido, lo que permite exhibir los efectos de supresión de la secreción de la hormona gonadotrófica o secreción de las hormonas sexuales.

La composición farmacéutica que comprende el compuesto de la presente invención es de baja toxicidad. En consecuencia, el compuesto de la presente invención se puede administrar de modo seguro tanto en forma directa como tal o como una mezcla con portadores farmacológicamente aceptables, por vía oral o parenteral (por ejemplo, tópica, rectal, intravenosa, etc.), en la forma de preparaciones farmacéuticas tales como comprimidos (que incluyen grageas y comprimidos revestidos con película), formas de dosis en polvo, gránulos, cápsulas (que incluyen cápsulas blandas), formas de dosis líquidas, inyecciones, supositorios, formas de dosis de liberación sostenida, etc., de acuerdo con medios conocidos públicamente usados generalmente en el proceso para producir preparaciones farmacéuticas.

El compuesto de la presente invención está contenido en la preparación farmacéutica de la presente invención en aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100% en peso, sobre la base del peso total de la preparación.

Una dosis del compuesto de la presente invención puede variar de acuerdo con el sujeto al que se administra, órgano blanco, condiciones, vía de administración, etc., y en la administración oral, el compuesto generalmente se administra al paciente con cáncer (de 60 kg de peso corporal) en una dosis diaria de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg, preferentemente aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 mg y más preferentemente aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 mg. En la administración parenteral, una dosis única del compuesto puede variar dependiendo del sujeto al que se administra, órgano blanco, condiciones, vía de administración, etc., y en la forma de una dosis inyectable, es ventajoso administrar el compuesto al paciente con cáncer (como 60 kg peso corporal) generalmente en una dosis diaria de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 30 mg, preferentemente aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg, y más preferentemente aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg. Para otras especies de animal, se puede administrar la dosis correspondiente convertida por 60 kg de peso.

- Los portadores aceptables para uso farmacológico, que se pueden usar en la fabricación de la preparación farmacéutica de la presente invención, incluyen diversas sustancias portadoras orgánicas o inorgánicas usadas convencionalmente como materiales para las preparaciones farmacéuticas. Esta sustancias incluyen, por ejemplo, un excipiente, un lubricante, un aglutinante y un agente desintegrante en una forma de dosis sólida, y un disolvente, un auxiliar de disolución, un agente de suspensión, un agente isotonzante, una solución tampón, un agente suavizante, etc. en una forma de dosificación líquida. Además, se pueden usar en forma apropiada los aditivos convencionales tales como un conservante, un antioxidante, un colorante, un edulcorante, un adsorbente, un agente humectante, etc. en cantidades adecuados, si es necesario.
- Los ejemplos de excipientes incluyen lactosa, sacarosa, D-manitol, almidón, almidón de maíz, celulosa cristalina, ácido silícico anhidro liviano, etc.
- Los ejemplos de lubricantes incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, talco, sílice coloidal, etc.
- Los ejemplos de aglutinantes incluyen celulosa cristalina, sacarosa, D-manitol, dextrina, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, polivinilpirrolidona, almidón, sacarosa, gelatina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, etc.
- Los ejemplos de agentes desintegrantes incluyen almidón, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa cálcica, carboximetil almidón de sodio, L-hidroxipropilcelulosa, etc.
- Los ejemplos de disolventes incluyen agua para inyecciones, alcohol, propilenglicol, Macrogol, aceite de sésamo, aceite de maíz, aceite de oliva, etc.
- Los ejemplos de auxiliares de disolución incluyen polietilenglicol, propilenglicol, D-manitol, benzoato de bencilo, etanol, trisaminometano, colesterol, trietanolamina, carbonato de sodio, citrato de sodio, etc.
- Los ejemplos de agentes de suspensión incluyen tensioactivos tales como estearil trietanolamina, laurilsulfato de sodio, aminopropionato de laurilo, lecitina, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, monoestearato de glicerina, etc.; polímeros hidrófilos tales como alcohol polivinílico, polivinil pirrolidona, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, etc.
- Los ejemplos de agentes isotonzantes incluyen glucosa, D-sorbitol, cloruro de sodio, glicerina, D-manitol, etc.
- Los ejemplos de tampón incluyen soluciones tampón de un fosfato, acetato, carbonato, citrato, etc.
- Los ejemplos de agentes suavizantes incluyen alcohol bencílico, etc.
- Los ejemplos de conservantes incluyen p-hidroxibenzoatos, clorobutanol, alcohol bencílico, alcohol fenílico, ácido deshidroacético, ácido sórbico, etc.
- Los ejemplos de antioxidantes incluyen un sulfito, ácido ascórbico, α -tocoferol, etc.
- Además, el compuesto de la presente invención se puede usar en combinación con fármacos diferentes del compuesto de la presente invención.
- Los ejemplos de los fármacos, que se pueden usar en combinación con el compuesto de la presente invención (de aquí en adelante algunas veces denominados simplemente como fármacos concomitantes), incluyen agentes quimioterapéuticos para el tratamiento del cáncer, agentes terapéuticos hormonales, agentes inmunoterapéuticos, etc. (de aquí en adelante algunas veces denominados simplemente como fármacos concomitantes)
- Los ejemplos de "agentes quimioterapéuticos" incluyen agentes alquilantes, antimetabolitos, antibióticos anticáncer, agentes anticancerosos derivados de plantas, etc.
- Los ejemplos de "agentes alquilantes" incluyen mostaza nitrogenada, clorhidrato de mostaza nitrogenada N-óxido, clorambutilo, ciclofosfamida, ifosfamida, tiotepa, carboquona, tosilato de improsulfan, busulfan, clorhidrato de nimustina, mitobronitol, melfalan, dacarbazina, ranimustina, fosfato de estramustina sódica, trietilenmelamina, carmustina, lomustina, estreptozocina, pipobroman, etoglucido, carboplatino, cisplatino, miboplatino, nedaplatino, oxaliplatino, altretamina, ambamustina, clorhidrato de dibrospidio, fotemustina, prednimustina, pumitepa, ribomustina, temozolomida, treosulfan, trofosfamida, estimalámero de cinostatina, carboquona, adozelesina, cistemustina, bizelesina, etc.
- Los ejemplos de "antimetabolitos" incluyen mercaptopurina, ribósido de 6-mercaptopurina, tioinosina, metotrexato, encitabina, citarabina, ocfosfato de citarabina, clorhidrato de ancitabina, fármacos 5-FU (por ejemplo, fluorouracilo, tegafur, UFT, doxifluridina, carmofur, galocitabina, emmitetur, etc.), aminopterina, leucovorina cálcica, tabloid, butocina, folinato de calcio, levofolinato de calcio, cladribina, emitefur, fludarabina, gemcitabina, hidroxycarbamida, pentostatina, piritrexim, idoxuridina, mitoguazona, tiazofrina, ambamustina, etc.
- Los ejemplos de "antibióticos anticáncer" incluyen actinomicina D, actinomicina C, mitomicina C, cromomicina A3,

clorhidrato de bleomicina, sulfato de bleomicina, sulfato de peplomicina, clorhidrato de daunorrubicina, clorhidrato de doxorrubicina, clorhidrato de aclarrubicina, clorhidrato de pirarrubicina, clorhidrato de epirubicina, neocarzinostatina, mitramicina, sarcomicina, carzinofilina, mitotano, clorhidrato de zorrubicina, clorhidrato de mitoxantrona, clorhidrato de idarrubicina, etc.

- 5 Los ejemplos de "agentes anticancerosos derivados de plantas" incluyen etopósido, fosfato de etopósido, sulfato de vinblastina, sulfato de vincristina, sulfato de vindesina, tenipósido, paclitaxel, docetaxel, vinorelbina, etc.

Los ejemplos de "agentes terapéuticos hormonales" incluyen fosfestrol, dietilestilbestrol, clorotrianiseno, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, acetato de clormadinona, acetato de ciproterona, danazol, alilestrenol, gestrinona, mepartricina, raloxifeno, ormeloxifeno, levormeloxifeno, antiestrógenos (por ejemplo, citrato de tamoxifeno, citrato de torremifeno, etc.), formas de dosificación en pastillas, mepitiostano, testrolactona, aminoglutetimida, agonistas de LH-RH (por ejemplo, acetato de goserelina, buserelina, leuprorelina, etc.), droloxifeno, epitioestanol, sulfonato de etinilestradiol, inhibidores de aromatasa (por ejemplo, clorhidrato de fadrozol, anastrozol, retrozol, exemestano, vorozol, formestano, etc.), antiandrógenos (por ejemplo, flutamida, bicartamida, nilutamida, etc.), inhibidores de 5 α -reductasa (por ejemplo, finasterida, epristerida, etc.), fármacos adrenocortico-hormonas (por ejemplo, dexametasona, prednisolona, betametasona, triamcinolona, etc.), inhibidores de la síntesis de andrógenos (por ejemplo, abiraterona, etc.), retinoide y fármacos que retardan el metabolismo retinoide (por ejemplo, liarzol, etc.), y entre otros, son preferibles los agonistas de LH-RH (por ejemplo, acetato de goserelina, buserelina, leuprorelina, etc.).

Los ejemplos de "agentes inmunoterapéuticos (BRM)" incluyen picibanilo, krestin, sizofiran, lentinan, ubenimex, interferones, interleuquinas, factor estimulante de colonia de macrófagos, factor estimulante de colonia de granulocitos, eritropoyetina, linfotóxina, vacuna BCG, *Corynebacterium parvum*, levamisol, polisacárido K, procodazol, etc.

El uso combinado del compuesto de la presente invención y un fármaco concomitante exhibe los siguientes excelentes efectos.

- 25 (1) Se puede reducir la dosis en comparación con la dosis cuando se administra el compuesto de la presente invención o un fármaco concomitante solo.

(2) Se puede seleccionar un fármaco administrado en forma concomitante con el compuesto de la presente invención de acuerdo con la enfermedad (moderada, grave, etc.) de un paciente.

- 30 (3) Se puede elegir un fármaco concomitante, cuyo mecanismo funcional es diferente al del compuesto de la presente invención, de modo que un período de tratamiento se puede prolongar más tiempo.

(4) Se puede elegir un fármaco concomitante, cuyo mecanismo funcional es diferente al del compuesto de la presente invención, de modo que se puedan obtener efectos terapéuticos sostenidos.

(5) Se puede obtener un efecto sinérgico por el uso concomitante del compuesto de la presente invención y un fármaco concomitante.

35 Además, el compuesto de la presente invención puede reducir los valores de testosterona al nivel de castración inmediatamente después de la medicación. De este modo, cuando se usa el fármaco concomitante tal como agonista de LH-RH (por ejemplo, acetato de goserelina, buserelina, leuprorelina, etc.; preferentemente leuprorelina) en combinación con el compuesto de la presente invención, se pueden reducir los valores de testosterona al nivel de castración inmediatamente después de la medicación del compuesto de la presente invención. Además, debido a
40 que el uso combinado del fármaco concomitante tal como agonista de LH-RH (por ejemplo, acetato de goserelina, buserelina, leuprorelina, etc.; preferentemente leuprorelina, etc.) y el compuesto de la presente invención produce una conservación prolongada del período dependiente de hormona, se puede usar en forma ventajosa.

De aquí en adelante, el uso combinado del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante se denomina como "la preparación combinada de la presente invención".

45 Cuando se usa la preparación combinada de la presente invención, el período de dosificación del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante no está restringido, el compuesto de la presente invención o su composición farmacéutica y el fármaco concomitante o su composición farmacéutica se pueden administrar al sujeto en forma simultánea o en determinados intervalos de tiempo. La dosis del fármaco concomitante se puede modificar de acuerdo con la dosis usada clínicamente y se puede seleccionar apropiadamente de acuerdo con el sujeto al que
50 se la administra, vía de administración, enfermedad, combinación, etc.

Un modo de administración de la preparación combinada de la presente invención no está particularmente limitado, pero es suficiente que el compuesto de la presente invención se use en combinación con el fármaco concomitante en el momento de la administración. Para tal modo de administración, existen, por ejemplo, (1) administración de una forma de dosis única obtenida por la mezcla del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante
55 junto al mismo tiempo, (2) administración simultánea de dos formas de dosis preparadas por separado a partir del

compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante mediante la misma vía de administración, (3) administración de dos formas de dosis preparadas por separado a partir del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante a determinados intervalos de tiempo mediante la misma vía de administración, (4) administración simultánea de dos formas de dosis preparadas por separado a partir del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante mediante vías de administración diferentes, (5) administración de dos formas de dosificación preparadas por separado a partir del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante a determinados intervalos de tiempo (por ejemplo, administración del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante en este orden, o administración en un orden inverso) mediante vías de administración diferentes, etc.

La preparación combinada de la presente invención es de baja toxicidad y de este modo se puede administrar en forma segura por vía oral o parenteral (por ejemplo, tópica, rectal, intravenosa, etc.) en forma directa como tales o en forma de preparaciones farmacéuticas tales como comprimidos (que incluyen grageas y comprimidos revestidos con película), formas de dosificación en polvo, gránulos, cápsulas (que incluyen cápsulas blandas), formas de dosificación líquidas, inyecciones, supositorios, formas de dosificación de liberación sostenida, etc., que se obtienen por la mezcla del compuesto de la presente invención o (y) el fármaco concomitante descrito anteriormente con portadores aceptables para uso farmacológico por procedimientos públicamente conocidos. Las formas de dosis inyectables se pueden administrar por vía intravenosa, intramuscular o subcutánea, en el órgano, o directamente en el foco.

Los portadores farmacológicamente aceptables, que se pueden usar en la fabricación de la preparación combinada de la presente invención, incluyen diversas sustancias portadoras orgánicas o inorgánicas usadas convencionalmente como materiales para las preparaciones farmacéuticas. Estas sustancias incluyen, por ejemplo, un excipiente, un lubricante, un aglutinante y un agente desintegrante en una forma de dosis sólida, y un disolvente, un auxiliar de disolución, un agente de suspensión, un agente isotonzante, una solución tampón, un agente suavizante, etc. en una forma de dosificación líquida. Además, se pueden usar en forma apropiada los aditivos convencionales tales como un conservante, un antioxidante, un colorante, un edulcorante, un adsorbente, un agente humectante, etc. en cantidades adecuadas, si es necesario.

Los ejemplos de excipientes incluyen lactosa, sacarosa, D-manitol, almidón, almidón de maíz, celulosa cristalina, ácido silícico anhidro liviano, etc.

Los ejemplos de lubricantes incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, talco, sílice coloidal, etc.

Los ejemplos de aglutinantes incluyen celulosa cristalina, sacarosa, D-manitol, dextrina, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, polivinilpirrolidona, almidón, sacarosa, gelatina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, etc.

Los ejemplos de agentes desintegrantes incluyen almidón, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa cálcica, carboximetil almidón de sodio, L-hidroxipropilcelulosa, etc.

Los ejemplos de disolventes incluyen agua para inyecciones, alcohol, propilenglicol, Macrogol, aceite de sésamo, aceite de maíz, aceite de oliva, etc.

Los ejemplos de auxiliares de disolución incluyen polietilenglicol, propilenglicol, D-manitol, benzoato de bencilo, etanol, trisaminometano, colesterol, trietanolamina, carbonato de sodio, citrato de sodio, etc.

Los ejemplos de agentes de suspensión incluyen tensioactivos tales como estearil trietanolamina, laurilsulfato de sodio, aminopropionato de laurilo, lecitina, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, monoestearato de glicerina, etc.; polímeros hidrófilos tales como alcohol polivinílico, polivinil pirrolidona, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, etc.

Los ejemplos de agentes isotonzantes incluyen glucosa, D-sorbitol, cloruro de sodio, glicerina, D-manitol, etc.

Los ejemplos de tampones incluyen soluciones reguladoras de fosfato, acetato, carbonato, citrato, etc.

Los ejemplos de agentes suavizantes incluyen alcohol bencílico, etc.

Los ejemplos de conservantes incluyen p-hidroxibenzoatos, clorobutanol, alcohol bencílico, alcohol fenético, ácido deshidroacético, ácido sórbico, etc.

Los ejemplos de antioxidantes incluyen un sulfito, ácido ascórbico, α -tocoferol, etc.

En la preparación combinada de la presente invención, se puede elegir apropiadamente una relación del compuesto de la presente invención al fármaco concomitante de acuerdo con el sujeto al que se administra, vía de administración, enfermedad, etc.

Por ejemplo, la cantidad del compuesto de la presente invención contenida en la preparación combinada de la presente invención varía dependiendo de la forma de dosis de la preparación, pero es usualmente aproximadamente 0,01 a 100% en peso, preferentemente aproximadamente 0,1 a 50% en peso, y más preferentemente

aproximadamente 0,5 a 20% en peso, sobre la base del peso total de la preparación.

5 La cantidad del fármaco concomitante contenida en la preparación combinada de la presente invención varía de acuerdo con la forma de dosis de la preparación, pero es usualmente aproximadamente 0,01 a 100% en peso, preferentemente aproximadamente 0,1 a 50% en peso, y más preferentemente aproximadamente 0,5 a 20% en peso, sobre la base del peso total de la preparación.

La cantidad de aditivos tales como un portador, etc., contenida en la preparación combinada de la presente invención varía de acuerdo con la forma de dosis de la preparación, y es usualmente aproximadamente 1 a 99,99% en peso, preferentemente aproximadamente 10 a 90% en peso, sobre la base del peso total de la preparación.

10 Estas cantidades pueden ser iguales, también cuando el compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante se preparan por separado, respectivamente.

En general estas preparaciones se pueden fabricar por los procedimientos públicamente conocidos usados en forma convencional.

15 Por ejemplo, el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante se pueden preparar en una forma de dosis inyectable por la formulación con un agente dispersante (por ejemplo, Tween 80 (fabricado por Atlas Powder Company, USA), HCO 60 (fabricado por Nikko Chemicals Co., Ltd.), polietilenglicol, carboximetil celulosa, alginato de sodio, hidroxipropilmetil celulosa, dextrina, etc.), un estabilizante (por ejemplo, ácido ascórbico, piro-sulfito de sodio), un tensioactivo (por ejemplo, polisorbato 80, macrogol, etc.), un agente solubilizante (por ejemplo, glicerina, etanol, etc.), un agente amortiguador (por ejemplo, ácido fosfórico o su sal de metal alcalino, ácido cítrico o su sal de metal alcalino, etc.), un agente isotonizante (por ejemplo, cloruro de sodio, cloruro de potasio, manitol, sorbitol, glucosa, etc.), un agente de ajuste de pH (por ejemplo, ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, etc.), un conservante (por ejemplo, p-oxibenzoato de etilo, ácido benzoico, metilparabeno, propilparabeno, alcohol bencílico, etc.), un solubilizante (por ejemplo, glicerina concentrada, meglumina, etc.), un auxiliar de disolución (por ejemplo, propilenglicol, sacarosa, etc.), un agente suavizante (por ejemplo, glucosa, alcohol bencílico, etc.), para preparar en la inyección acuosa; o por disolución, suspensión, o emulsión con un aceite vegetal tal como aceite de oliva, aceite de sésamo, aceite de semilla de algodón, aceite de maíz, etc., un auxiliar de disolución tal como propilenglicol o similares para preparar en una inyección oleosa.

30 Una forma de dosis oral se puede producir en una manera convencional por la adición al compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante, por ejemplo, un excipiente (por ejemplo, lactosa, sacarosa, almidón, etc.), un agente desintegrante (por ejemplo, almidón, carbonato de calcio, etc.), un aglutinante (por ejemplo, almidón, goma arábiga, carboximetil celulosa, polivinilpirrolidona, hidroxipropil celulosa, etc.), un lubricante (por ejemplo, talco, estearato de magnesio, polietilenglicol 6000, etc.) y otros aditivos, se comprime la mezcla resultante y si es necesario, se reviste el producto comprimido con el propósito de enmascarar el sabor, degradación entérica o liberación sostenida por técnicas públicamente conocidas per se. Los agentes de revestimiento para este propósito incluyen, por ejemplo, hidroxipropilmetil celulosa, etil celulosa, hidroximetil celulosa, hidroxipropil celulosa, polioxietilenglicol, Tween 80, Prulonic F68, ftalato de acetato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetil celulosa, succinato de acetato de hidroximetil celulosa, Eudragit (fabricado por Rohm Company, Alemania, copolímero de ácido metacrílico/ácido acrílico) y colorantes (por ejemplo, óxido de hierro, dióxido de titanio). La forma de dosis oral puede ser tanto una forma de dosis de liberación inmediata o una forma de dosis de liberación sostenida.

40 Por ejemplo, en un supositorio, el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante se prepara en una composición sólida oleosa o acuosa, semisólida o líquida por técnicas públicamente conocidas per se. Las bases oleosas usadas en la composición descrita anteriormente incluyen glicéridos de ácidos grasos superiores [por ejemplo, manteca de cacao, uitepsoles (fabricado por Dynamite Nobel Company, Alemania), etc.], ácidos grasos moderados [por ejemplo, miglioles (fabricado por Dynamite Nobel Company, Alemania), etc.], aceites vegetales (por ejemplo, aceite de sésamo, aceite de soja, aceite de semillas de algodón, etc.), y similares. Las bases acuosas incluyen, por ejemplo, polietilenglicoles y propilenglicol. Las bases para geles acuosos incluyen, por ejemplo, gomas naturales, derivados de celulosa, polímeros de vinilo, polímeros de acrílico, etc.

Los ejemplos de formas de dosificación de liberación sostenida anteriores incluyen microcápsulas de liberación sostenida, y similares.

50 Las microcápsulas de liberación sostenida se pueden obtener por procedimientos públicamente conocidos per se, y preferentemente se preparan en forma de, por ejemplo, una forma de dosificación de liberación sostenida por el procedimiento [2] que se muestra a continuación y luego se administra.

Preferentemente, el compuesto de la presente invención se prepara en una forma de dosis para la administración oral tal como una forma de dosis sólida (por ejemplo, forma de dosis en polvo, gránulos, comprimidos, cápsulas) o en una forma de dosis para administración rectal tal como un supositorio, etc. Una forma de dosis para administración oral es particularmente preferida.

El fármaco concomitante se puede preparar en la forma de dosis descrita anteriormente, dependiendo de la clase de fármaco.

De aquí en adelante se describirán específicamente [1] una preparación inyectable del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y su producción, [2] una preparación de liberación sostenida o inmediata del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y su producción y [3] preparaciones de desintegración sublingual, bucal u oral rápida del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y su producción.

[1] Preparación inyectable y su producción

Se prefiere una preparación inyectable obtenida por la disolución del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante en agua. La preparación inyectable puede contener un benzoato y/o un salicilato.

La preparación inyectable se obtiene por la disolución del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y opcionalmente un benzoato y/o un salicilato en agua.

Los ejemplos del benzoato y/o salicilato descritos anteriormente incluyen una sal de metal alcalino tal como sales de sodio y potasio, etc., una sal de metal alcalinotérreo tal como sales de calcio y magnesio, etc., una sal de amonio, una sal de meglumina, una sal de un ácido orgánico tal como trometamol y similares.

La concentración del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante en la preparación inyectable es aproximadamente 0,05 a 50% en p/v, preferentemente aproximadamente 0,3 a 20% en p/v. la concentración del benzoato y/o salicilato es 0,5 a 50% en p/v, preferentemente 3 a 20% en p/v.

Además, los aditivos usados generalmente en una preparación inyectable tales como un estabilizante (ácido ascórbico, piro-sulfito de sodio, etc.), un tensioactivo (polisorbato 80, macrogol, etc.), un agente solubilizante (glicerina, etanol, etc.), un agente amortiguador (ácido fosfórico y su sal de metal alcalino, ácido cítrico y su sal de metal alcalino, etc.), un agente isotonzante (cloruro de sodio, cloruro de potasio, etc.), un agente dispersante (hidroxipropilmetil celulosa, dextrina), un agente de ajuste de pH (ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, etc.), un conservante (p-oxibenzoato de etilo, ácido benzoico, etc.), un solubilizante (glicerina concentrada, meglumina, etc.), un auxiliar de disolución (propilenglicol, sacarosa, etc.), un agente suavizante (glucosa, alcohol bencílico, etc.) se añaden apropiadamente a la preparación. Cualquiera de estos aditivos se añade en una cantidad generalmente usada en una preparación inyectable.

La preparación inyectable se ajusta de 2 a 12, preferentemente 2,5 a 8,0 por la adición de un agente de ajuste de pH.

La preparación inyectable se obtiene por la disolución del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y opcionalmente un benzoato y/o salicilato, y, si es necesario, los anteriores aditivos en agua. Estos componentes se pueden disolver en cualquier orden de acuerdo con la misma manera que en una preparación inyectable convencional.

Preferentemente se calienta una solución acuosa para inyección y se usa como una preparación inyectable después de la esterilización por filtración o autoclavado como en la preparación inyectable convencional para proporcionar una preparación inyectable.

Una preparación inyectable acuosa preferentemente se autoclava, por ejemplo, a 100 a 121°C durante 5 a 30 minutos.

Además, la preparación puede estar en forma de solución a la que se imparte actividad antibacteriana para que sea usable como múltiples forma de dosis en dosis divididas.

2] Preparación de liberación sostenida o liberación inmediata y su producción

Una preparación de liberación sostenida preferida comprende un núcleo que comprende el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante, que está opcionalmente revestido con un material insoluble en agua o un polímero hinchable. Por ejemplo, se prefiere una preparación de liberación sostenida para administración de una forma de dosis una vez por día.

Los ejemplos de material insoluble en agua usado para el agente de revestimiento incluye éteres de celulosa tales como etil celulosa, butil celulosa, etc., ésteres de celulosa tales como acetato de celulosa, propionato de celulosa, etc., ésteres polivinílicos tales como acetato de polivinilo, butirato de polivinilo, etc., polímeros de ácido acrílico tales como un copolímero de ácido acrílico/ácido metacrílico, un copolímero de metacrilato de metilo, un copolímero de metacrilato de etoxietilo/ metacrilato de cinnamoetilo/metacrilato de aminoalquilo, un ácido poliacrílico, un ácido polimetacrílico, un copolímero de ácido metacrílico alquilamida, a poli(metacrilato de metilo), a polimetacrilato, un copolímero de metacrilato de aminoalquilo, a poli(anhídrido metacrílico), un copolímero de metacrilato de glicidilo, en particular, una serie de Eudragits (Rohm & Farma) tales como Eudragit RS-100, RL-100, RS-30D, RL-30D, RL-PO y RS-PO (copolímero de acrilato de etilo/ metacrilato de metilo/metacrilato de clorotrimetilo/etil amonio) y Eudragit NE-30D (copolímero de metacrilato de metilo/acrilato de etilo), etc., aceites hidrogenados tales como aceite de ricino hidrogenado (por ejemplo, LUBRI WAX (Freund Industrial Co., Ltd.), etc.), ceras tales como cera de carnauba, un

éster de ácidos grasos de glicerina, parafina, etc., ésteres de ácidos grasos de poliglicerina, etc.

5 El polímero hinchable es preferentemente un polímero que presenta un grupo ácido removible y que exhibe un hinchamiento dependiente de pH y se prefiere un polímero que presenta un grupo ácido removible, que experimenta un menor hinchamiento a un pH ácido tal como en el estómago pero se hincha extensamente a un pH neutro tal como en los intestinos delgado y grueso.

Los ejemplos de tal polímero que presenta un grupo ácido removible y que exhibe un hinchamiento dependiente de pH incluye un polímero de ácido poliacrílico reticulado tal como Carbómeros 934P, 940, 941, 974P, 980, 1342, etc., policarbofilo y policarbofilo de calcio (todos fabricados por BF Goodrich Chemicals), Hivis Wakos 103, 104, 105 y 304 (todos fabricados por Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), etc.

10 El agente de revestimiento usado en la preparación de liberación sostenida puede contener adicionalmente un material hidrófilo.

15 Los ejemplos de material hidrófilo incluyen un polisacárido que puede tener un grupo sulfato, tal como pululano, dextrina, alginatos de metal alcalino, etc., un polisacárido que tiene un grupo hidroxialquilo o un grupo carboxialquilo, tal como hidroxipropil celulosa, hidroxipropilmetil celulosa, carboximetilcelulosa sódica, etc., metil celulosa, polivinil pirrolidona, alcohol polivinílico, polietilenglicol, etc.

20 La cantidad de material insoluble en agua contenida en el agente de revestimiento de la preparación de liberación sostenida es aproximadamente 30 a aproximadamente 90% (p/p), preferentemente aproximadamente 35 a aproximadamente 80% (p/p), más preferentemente aproximadamente 40 a aproximadamente 75% (p/p), y el contenido del polímero hinchable es aproximadamente 3 a aproximadamente 30% (p/p), preferentemente aproximadamente 3 a aproximadamente 15% (p/p). El agente de revestimiento puede contener también un material hidrófilo, y la cantidad de material hidrófilo contenida en el agente de revestimiento es aproximadamente 50% (p/p) o menos, preferentemente aproximadamente 5 a aproximadamente 40% (p/p), más preferentemente aproximadamente 5 a aproximadamente 35% (p/p). Como se usa en la presente memoria, el % (p/p) anterior se usa para significar un % en peso sobre la base de la composición del agente de revestimiento, que es el remanente de la solución del agente de revestimiento después de eliminar cualquier disolvente (por ejemplo, agua, un alcohol inferior tal como metanol, etanol, etc.). La preparación de liberación sostenida se fabrica por la preparación de un núcleo que contiene un fármaco como se ilustra a continuación, seguido por el revestimiento del núcleo resultante con una solución del agente de revestimiento obtenida por fusión con calor de un material insoluble en agua o un polímero hinchable o por la disolución o dispersión de tal material en un disolvente.

30 I. Producción del núcleo que contiene el fármaco

La forma de un núcleo que contiene un fármaco para recubrir con un agente de revestimiento (de aquí en adelante denominado algunas veces simplemente como un núcleo) no está limitada específicamente pero preferentemente se prepara en forma particulada tal como gránulos, gránulos finos o similares.

35 Cuando el núcleo es gránulos o gránulos finos, estos tienen un tamaño de partícula medio preferentemente de aproximadamente 150 a aproximadamente 2.000 μm , con preferentemente aproximadamente 500 a aproximadamente 1.400 μm .

El núcleo se puede preparar en forma convencional. Por ejemplo, un fármaco se mezcla con un excipiente, aglutinante, agente desintegrante, lubricante, estabilizante, etc., adecuados y luego se somete a granulación por extrusión húmeda, granulación en lecho fluidizado o similares.

40 El contenido del fármaco del núcleo es de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 95% (p/p), preferentemente aproximadamente 5,0 a aproximadamente 80% (p/p), más preferentemente aproximadamente 30 a aproximadamente 70% (p/p).

45 Los ejemplos del excipiente contenido en el núcleo incluye un sacárido tal como sacarosa, lactosa, manitol, glucosa, etc., almidón, celulosa cristalina, fosfato de calcio, almidón de maíz, etc. Entre otros, se prefieren, celulosa cristalina y almidón de maíz.

50 Los ejemplos de aglutinante usado incluyen alcohol polivinílico, hidroxipropil celulosa, polietilenglicol, polivinil pirrolidona, Plurónico F68, goma arábica, gelatina, almidón, etc. Los ejemplos de agentes desintegrantes incluyen carboximetil celulosa de calcio (ECG505), croscarmelosa sódica (Ac-Di-Sol), polivinil pirrolidona entrecruzada (crospovidona), hidroxipropil celulosa poco sustituida (L-HPC), etc. Entre otros, se prefieren hidroxipropil celulosa, polivinil pirrolidona e hidroxipropil celulosa poco sustituida. Los ejemplos del lubricante y anticoagulante incluyen talco, estearato de magnesio y sus sales orgánicas, y los ejemplos de lubricante incluyen polietilenglicol, etc. Los ejemplos de estabilizante incluyen un ácido tal como ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico, etc.

55 Además de las técnicas descritas anteriormente, el núcleo se puede preparar por medio de otras técnicas tales como una técnica de granulación giratoria, una técnica de revestimiento en bandeja, una técnica de revestimiento en lecho

fluido y una técnica de granulación por fusión, en la que un fármaco o una mezcla del fármaco con un excipiente, un lubricante, etc. se agrega en porciones a las partículas del vehículo inerte como semillas para el núcleo con la pulverización de un aglutinante disuelto en un disolvente adecuado tal como agua, un alcohol inferior (por ejemplo, metanol, etanol, etc.) o similares. Los ejemplos de partículas del portador inerte incluyen a las preparadas a partir de sacarosa, lactosa, almidón, celulosa cristalina y ceras y, preferentemente, estos portadores tienen un tamaño de partícula medio de aproximadamente 100 μm a aproximadamente 1.500 μm .

Para separar el fármaco obtenido en el núcleo de un agente de revestimiento, se puede cubrir la superficie del núcleo con un material protector. Los ejemplos de material protector incluyen el material hidrófilo descrito anteriormente y el material insoluble en agua. El material protector preferido es polietilenglicol o un polisacárido que tiene un grupo hidroxialquilo o un grupo carboxialquilo, más preferentemente, hidroxipropilmetil celulosa e hidroxipropil celulosa. El material protector puede contener, como estabilizador, un ácido tal como ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico, etc., y un lubricante tal como talco. Cuando se usa el material protector, la cantidad de este para recubrir es aproximadamente 1 a aproximadamente 15% (p/p), preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 10% (p/p), más preferentemente aproximadamente 2 a aproximadamente 8% (p/p) sobre la base del núcleo.

El material protector se puede revestir por un procedimiento de revestimiento convencional y específicamente, el núcleo se reviste por aspersion con el material protector por una técnica de revestimiento en lecho fluido, una técnica de revestimiento en bandeja, etc.

II. Revestimiento del núcleo con agente de revestimiento

El núcleo obtenido en I anterior se reviste con una solución de agente de revestimiento preparada por calentamiento por fusión del material insoluble en agua y polímero hinchable dependiente de pH descrito anteriormente y un material hidrófilo o por disolución o dispersión de estos en un disolvente para obtener una preparación de liberación sostenida.

Como procedimiento de revestimiento del núcleo con la solución del agente de revestimiento, existen, por ejemplo, revestimiento por aspersion, etc.

Se puede seleccionar la relación de la composición del material insoluble en agua, polímero hinchable y material hidrófilo de la solución del agente de revestimiento que está dentro de las cantidades de los componentes respectivos contenidos en el revestimiento.

La cantidad del agente de revestimiento es aproximadamente 1 a aproximadamente 90% (p/p), preferentemente aproximadamente 5 a aproximadamente 50% (p/p), más preferentemente aproximadamente 5 a aproximadamente 35% (p/p) sobre la base del núcleo (que excluye al revestimiento del material protector).

Como el disolvente para la solución del agente de revestimiento, agua y un disolvente orgánico se pueden usar por separado o como una mezcla de estos. Cuando se usa una mezcla, la relación de agua y el disolvente orgánico (agua/disolvente orgánico: una relación de peso) puede variar con el rango de 1 a 100%, y es preferentemente 1 a aproximadamente 30%. El disolvente orgánico no está particularmente limitado siempre que pueda disolver el material insoluble en agua, y los ejemplos de disolventes incluyen un alcohol inferior tal como alcohol metílico, alcohol etílico, alcohol isopropílico, alcohol n-butílico, etc., una alcanona inferior tal como acetona, acetonitrilo, cloroformo, cloruro de metileno, etc. Entre ellos, se prefiere un alcohol inferior, alcohol etílico y alcohol isopropílico son los de mayor preferencia. Preferentemente se usan agua y una mezcla de agua y un disolvente orgánico, como disolventes para la solución del agente de revestimiento. En este caso, se puede añadir a un ácido tal como ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico, etc. a la solución del agente de revestimiento, si es necesario, para el propósito de estabilizar la solución del agente de revestimiento.

Para llevar a cabo el revestimiento mediante revestimiento por aspersion, se puede realizar el revestimiento mediante un procedimiento de revestimiento convencional. Específicamente, el núcleo se pulveriza con una solución del agente de revestimiento por una técnica de revestimiento en lecho fluido, una técnica de revestimiento en bandeja o similares. En este momento, también se puede añadir un lubricante tal como talco, óxido de titanio, estearato de magnesio, estearato de calcio, anhídrido silícico liviano, etc., y un plastificante tal como éster de glicerina grasa, aceite de ricino endurecido, citrato de trietilo, alcohol cetílico, alcohol estearílico, etc.

Después del revestimiento con un agente de revestimiento, también se puede mezclar un agente antiestático tal como talco, si es necesario.

La preparación de liberación inmediata puede ser líquida (solución, suspensión, emulsión, etc.) o sólida (partículas, pastillas, comprimidos, etc.). Se puede usar una preparación oral y una preparación parenteral tal como una preparación inyectable, y se prefiere una preparación oral.

La preparación de liberación inmediata usualmente puede contener un portador, aditivos y un excipiente (de aquí en adelante algunas veces abreviado como excipientes) usado convencionalmente en el campo farmacéutico, además de un fármaco que es un componente activo. Los excipientes farmacéuticos no están específicamente limitados

siempre que sean excipientes usados convencionalmente en el campo farmacéutico. Los ejemplos del excipiente para una preparación sólida oral incluye lactosa, almidón, almidón maíz, celulosa cristalina (Avicel F101, fabricado por Asahi Kasei Corporation, etc.), azúcar en polvo, azúcar granulado, manitol, anhídrido silícico liviano, carbonato de magnesio, carbonato de calcio, L-cisteína, etc., con almidón de maíz y manitol como los preferidos. Cualquiera de estos excipientes se puede emplear solo o en combinación con los otros. Las cantidades de los excipientes, por ejemplo, son de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 99,4% en p/p, preferentemente aproximadamente 20 a aproximadamente 98,5% en p/p, más preferentemente aproximadamente 30 a aproximadamente 97% en p/p, sobre la base del peso total de la preparación de liberación inmediata.

El contenido del fármaco en la preparación de liberación inmediata se puede seleccionar apropiadamente del rango de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 95%, preferentemente aproximadamente 1% a aproximadamente 60% a la cantidad total de la preparación de liberación inmediata.

Cuando la preparación de liberación inmediata es una preparación sólida oral, la preparación contiene un agente desintegrante además de los componentes descritos anteriormente. Los ejemplos del agente desintegrante incluyen carboximetilcelulosa de calcio (ECG505 fabricado por GOTOKU CHEMICAL Co., Ltd.), croscarmelosa sódica (por ejemplo, Ac-Di-Sol fabricado por Asahi Kasei Corporation), crospovidona (por ejemplo, COLIDON CL fabricado por BASF), hidroxipropil celulosa poco sustituida (Shin-Etsu chemical Co., Ltd.), carboximetil almidón (MATSUTANI CHEMICAL INDUSTRY Co., Ltd.), carboximetil almidón sódica (EXORITAB fabricado por KIMURA SANGYO), α almidón parcial (PCS fabricado por Asahi Kasei Corporation), etc. Por ejemplo, se puede usar el agente desintegrante que desintegra gránulos por absorción de agua o hinchamiento en contacto con agua, o forma un canal entre el componente activo que comprende el núcleo y un excipiente. Cualquiera de estos agentes desintegrantes se pueden usar solo o en combinación con los otros. La cantidad del agente desintegrante usado se puede seleccionar apropiadamente de acuerdo con el tipo y la cantidad de fármaco usado o un diseño de preparación particular para el rendimiento de liberación esperado. Por ejemplo, la cantidad es aproximadamente 0,05 a aproximadamente 30% en p/p, preferentemente aproximadamente 0,5 a aproximadamente 15% en p/p sobre la base del peso total de la preparación de liberación inmediata.

Cuando la preparación de liberación inmediata es una preparación sólida oral, la preparación sólida oral opcionalmente puede contener aditivos convencionalmente usados en una preparación sólida, además de los componentes descritos anteriormente. Los ejemplos de los aditivos incluyen aglutinantes (por ejemplo, sacarosa, gelatina, goma arábica en polvo, metil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropilmetil celulosa, carboximetilcelulosa, polivinil pirrolidona, pullran, dextrina, etc.), lubricantes (polietilenglicol, estearato de magnesio, talco, anhídrido silícico liviano (por ejemplo, aerosil (NIPPON AEROSIL)), tensioactivos (por ejemplo, tensioactivos aniónicos tales como alquilsulfato de sodio, tensioactivos no iónicos tales como éster graso de polioxietileno, éster graso de polioxietileno sorbitano, derivados de aceite de ricino polioxietileno, etc.), colorantes (por ejemplo, colorante de alquitrán, caramelo, colcothar, óxido de titanio, riboflavinas), si es necesario, correctores (por ejemplo, edulcorantes, sabores, etc.), adsorbentes, conservantes, agentes humectantes, agentes antiestáticos, etc. Además, también se puede añadir un ácido orgánico tal como ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido fumárico o similares como estabilizador.

Como el aglutinante anterior, preferentemente se usa hidroxipropil celulosa, polietilenglicol y polivinil pirrolidona, etc.

La preparación de liberación inmediata se puede preparar por la mezcla de los componentes descritos anteriormente y amasado de la mezcla, si es necesario y luego se moldea de acuerdo con una técnica convencional para fabricar preparaciones farmacéuticas. La mezcla anterior se puede realizar de forma convencional, por ejemplo, por mezclado, amasado, etc. En forma específica, cuando la preparación de liberación inmediata está en forma de partículas, la preparación se puede preparar por la mezcla de los componentes con un granulador vertical, un amasador multipropósito (fabricado por HATA IRON WORKS CO., LTD), un granulador de lecho fluido FD-5S (fabricado por POWREX CORPORATION) o similares y luego la granulación de la mezcla resultante por granulación por extrusión húmeda o granulación de lecho fluido por una técnica similar a la de la preparación del núcleo de la preparación de liberación sostenida descritas anteriormente.

La preparación de liberación inmediata y la preparación de liberación sostenida obtenida de este modo se pueden componer, tal como son o, junto con excipientes farmacéuticos apropiados, en preparaciones farmacéuticas por separado en forma convencional para preparar las preparaciones respectivas para administrar en combinación con los otros en forma simultánea o en determinados intervalos de tiempo. Alternativamente, ambas preparaciones se pueden formar composiciones en una única forma de dosis para la administración oral (por ejemplo, gránulos, gránulos finos, comprimidos, cápsulas) como tales o junto con excipientes farmacéuticos apropiados. Ambas preparaciones en la forma de gránulos o gránulos finos también se pueden llenar en una cápsula única para la administración oral.

[3] Preparación desintegrante rápidamente oral, sublingual o bucal y su producción

Una preparación desintegrante rápidamente oral, sublingual o bucal puede estar en forma de una preparación sólida tal como un comprimido, o puede estar en forma de un parche de la mucosa oral (película) o una película de desintegración oral.

La preparación desintegrante rápidamente oral, sublingual o bucal es preferentemente una preparación que contiene el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y un excipiente. La preparación también puede contener agentes auxiliares tales como un lubricante, un agente isotonzante, un vehículo hidrófilo, un polímero dispersable en agua, un estabilizador, etc. Además con el propósito de promover la absorción y mejorar la biodisponibilidad, la preparación también puede contener β -ciclodextrina o derivados de β -ciclodextrina (por ejemplo, hidroxipropil- β -ciclodextrina, etc.), y similares.

Los ejemplos de los excipientes anteriores incluyen lactosa, sacarosa, D-manitol, almidón, celulosa cristalina, anhídrido silícico liviano, etc. Los ejemplos de lubricante incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, talco, sílice coloidal, etc., se prefieren estearato de magnesio y sílice coloidal. Los ejemplos de agente isotonzante incluyen cloruro de sodio, glucosa, fructosa, manitol, sorbitol, lactosa, sacarosa, glicerina y urea, con manitol como particularmente preferido. Como vehículo hidrófilo, existen, por ejemplo, un vehículo hidrófilo de hinchamiento tal como celulosa cristalina, etil celulosa, polivinil pirrolidona entrecruzada, anhídrido silícico liviano, ácido silícico, fosfato dicálcico, carbonato de calcio, etc., con celulosa cristalina (por ejemplo, microcelulosa cristalina, etc.) como preferido. Como polímero dispersable en agua, existen, por ejemplo, una goma (por ejemplo, goma de tragacanto, goma de acacia, goma de guar), alginato (por ejemplo, alginato de sodio), derivados de celulosa (por ejemplo, metil celulosa, carboximetilcelulosa, hidroximetil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropilmetil celulosa), gelatina, almidón soluble en agua, ácido poliacrílico (por ejemplo, carbómero), ácido polimetacrílico, alcohol polivinílico, polietilenglicol, polivinil pirrolidona, policarbofilo, sal palmitato ascorbato, etc., se prefieren hidroxipropilmetil celulosa, ácido poliacrílico, alginato, gelatina, carboximetilcelulosa, polivinil pirrolidona y polietilenglicol. La hidroxipropilmetil celulosa es particularmente preferida. Como estabilizador, existen, por ejemplo, cisteína, tiosorbitol, ácido tartárico, ácido cítrico, carbonato de sodio, ácido ascórbico, glicina, sulfito de sodio, etc., ácido cítrico y ácido ascórbico son particularmente preferidos.

La preparación desintegrante rápidamente oral, sublingual o bucal o rápida se pueden preparar por la mezcla del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y un excipiente por un conocido per se. Además, si se desea, también se pueden mezclar los agentes auxiliares descritos anteriormente, tales como el lubricante, agente isotonzante, vehículo hidrófilo, polímero dispersable en agua, estabilizador, colorante, edulcorante, conservante, etc. Después de mezclar los componentes descritos anteriormente en forma simultánea o en determinados intervalos de tiempo, la mezcla se comprime en comprimidos para obtener el comprimido de desintegración oral sublingual, bucal o rápida. Para obtener una dureza adecuada, se puede usar un disolvente tal como agua, un alcohol, etc. para humedecer o mojar los componentes antes o después de la formación de los comprimidos, seguido por el secado.

Para preparar el parche de la mucosa oral (película), el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y el polímero dispersable en agua (preferentemente, hidroxipropil celulosa, hidroxipropilmetil celulosa), excipiente, etc. descrito anteriormente se disuelven en un disolvente tal como agua, etc. y luego la solución resultante se moldea en una película. Además, se pueden añadir aditivos tales como un plastificante, un estabilizador, un antioxidante, a conservante, un colorante, un agente amortiguador, edulcorantes, etc. a la preparación. También se puede añadir a un glicol tal como polietilenglicol, propilenglicol, etc. para impartir una elasticidad apropiada a una película, y un polímero bioadhesivo (por ejemplo, policarbofilo, carbopol) para mejorar la adhesión del película al revestimiento de la mucosa oral. El moldeo se puede realizar al verter una solución en una superficie no adhesiva, extender la solución mediante un aplicador de revestimiento tal como una cuchilla doctor en un espesor uniforme (preferentemente, aproximadamente 10 a 1000 micrones), y luego se seca la solución para formar una película. La película así formada se seca a temperatura ambiente o mientras se calienta, y luego se corta en trozos, cada uno de los cuales tiene el área de superficie deseada.

Una preparación de desintegración oral rápida, por ejemplo, es una preparación de difusión rápida en una forma de red sólida, que comprende el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y un vehículo hidrosoluble o difusible en agua inerte para el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante. La red se forma por la sublimación de un disolvente de la composición sólida que comprende una solución del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante en un disolvente adecuado.

Además del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante, la composición de la preparación de desintegración oral rápida preferentemente puede contener un agente formador de matriz y componentes secundarios.

Los ejemplos de agente formador de matriz incluyen gelatinas, dextrinas y proteínas animales o vegetales de soja, trigo, semilla de psillium, etc.; materiales de goma tales como goma arábiga, goma de guar, agar, goma de xantano, etc.; polisacáridos; alginatos; carboximetilcelulosas; carragenanos; dextranos; pectinas; polímeros sintéticos tales como polivinil pirrolidonas; materiales derivados de complejos de gelatina-goma arábiga, etc. El agente formador de matriz además incluye sacáridos tales como manitol, dextrosa, lactosa, galactosa, trehalosa, etc.; sacáridos cíclicos tales como ciclodextrinas, etc.; sales inorgánicas tales como fosfato de sodio, cloruro de sodio, silicato de aluminio, etc.; aminoácidos que tienen de 2 a 12 átomos de carbono tales como glicina, L-alanina, ácido L-aspártico, ácido L-glutámico, L-hidroxiprolina, L-isoleucina, L-leucina, L-fenilalanina, etc.

Se puede incorporar uno o más agentes formadores de matriz en una solución o suspensión antes de la

solidificación. Los agentes formadores de matriz pueden estar presentes con adición de un tensioactivo, o pueden estar presentes en ausencia de un tensioactivo. Los agentes formadores de matriz actúan no solo para formar una matriz en sí misma sino que también ayudan a mantener la difusión del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante en la solución o suspensión.

- 5 La composición puede contener un componente secundario tal como un conservante, un antioxidante, un tensioactivo, un agente espesante, un colorante, un agente de ajuste de pH, un saborizante, un edulcorante, un agente para enmascarar el sabor, etc. Como colorante adecuado, existen, por ejemplo, rojo de óxido de hierro, negro y amarillo, colorantes FD & C disponibles en ERIS & EVERALD tales como FD & C Blue No. 2 y FD & C Red No. 40, etc. Los ejemplos de sabor adecuado incluyen sabor a menta, frambuesa, anís, naranja, limón, pomelo,
- 10 caramelo, vainilla, cereza, uva y una combinación de estos. Los ejemplos de agentes de ajuste de pH adecuados incluyen ácido cítrico, ácido tartárico, ácido fosfórico, ácido clorhídrico y ácido maleico. Los ejemplos de edulcorantes adecuados incluyen aspartamo, acesulfama K y taumatina. Los ejemplos de agentes adecuados para enmascarar el sabor incluyen bicarbonato de sodio, resinas de intercambio iónico, compuestos de inclusión con ciclodextrina, adsorbentes y apomorfina microencapsulada.
- 15 La preparación generalmente contiene el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante en una cantidad de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50% en peso, preferentemente aproximadamente 0,1 a aproximadamente 30% en peso y, preferentemente, la preparación (el comprimido sublingual, bucal, etc. descrito anteriormente) permite que el 90% o más del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante se disuelva (en agua) dentro de un período de tiempo de aproximadamente 1 a aproximadamente 60 minutos,
- 20 preferentemente aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 15 minutos, más preferentemente aproximadamente 2 minutos a aproximadamente 5 minutos, o una preparación de desintegración oral rápida que se desintegra dentro de aproximadamente 1 a aproximadamente 60 segundos, preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 30 segundos, más preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 10 segundos, después de colocarse en la cavidad oral.
- 25 La cantidad del excipiente anterior es de aproximadamente 10 a aproximadamente 99% en peso, preferentemente aproximadamente 30 a aproximadamente 90% en peso sobre la base del peso total de la preparación. La cantidad de β -ciclodextrina o derivado de β -ciclodextrina es aproximadamente 0 a aproximadamente 30% en peso sobre la base del peso total de la preparación. La cantidad del lubricante es aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10% en peso, preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 5% en peso sobre la base del peso total de la preparación. La cantidad del agente isotonzante es aproximadamente 0,1 a aproximadamente 90% en peso,
- 30 preferentemente aproximadamente 10 a aproximadamente 70% en peso sobre la base del peso total de la preparación. La cantidad del vehículo hidrófilo es aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50% en peso, preferentemente aproximadamente 10 a aproximadamente 30% en peso sobre la base del peso total de la preparación. La cantidad del polímero dispersable en agua es aproximadamente 0,1 a aproximadamente 30% en peso, preferentemente aproximadamente 10 a aproximadamente 25% en peso sobre la base del peso total de la preparación. La cantidad del estabilizador es aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10% en peso, preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 5% en peso sobre la base del peso total de la preparación. Si es necesario, la preparación descrita anteriormente puede contener adicionalmente aditivos tales como un colorante, un edulcorante, un conservante, etc.
- 35 Una dosis de las preparaciones combinadas de la presente invención varía de acuerdo con la clase del compuesto de la presente invención, edad, peso corporal, condiciones, forma de dosis, vía de administración, período de dosificación, etc.

Una dosis del compuesto de la presente invención puede variar de acuerdo con el sujeto al que se administra, órgano blanco, condiciones, vía de administración, etc., y en la administración oral, el compuesto generalmente se

45 administra al paciente (como 60 kg de peso corporal) con cáncer en una dosis diaria de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg, preferentemente aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 mg y más preferentemente aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 mg. En la administración parenteral, una dosis única del compuesto puede variar con el sujeto al que se administra, órgano blanco, condiciones, vía de administración, etc., y en la forma de dosis inyectable administración, es ventajoso el administrar el compuesto por vía intravenosa al

50 paciente (como 60 kg de peso corporal) con cáncer generalmente en una dosis diaria de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 30 mg, preferentemente aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg, y más preferentemente aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg. Para otras especies animales, se puede administrar la dosis correspondiente convertida por 60 kg de peso. Obviamente, la dosis puede variar de acuerdo con las condiciones individuales como se describió anteriormente; en tal caso, una dosis menor que la dosis dada

55 anteriormente puede ser suficiente o se puede usar una dosis mayor que el rango anterior.

Es posible establecer cualquier rango de dosis para el fármaco concomitante, siempre que no cause efectos adversos. Una dosis diaria del fármaco concomitante puede variar de acuerdo con la gravedad de la enfermedad, la edad, sexo, peso corporal y susceptibilidad del sujeto, período e intervalos de dosificación, características, formulación, tipo y componentes activos de la preparación farmacéutica, etc. y no está particularmente limitado. Por

60 ejemplo, en la administración oral, la dosis es aproximadamente 0,001 a 2000 mg, preferentemente aproximadamente 0,01 a 500 mg, y más preferentemente aproximadamente 0,1 a 100 mg por kg peso corporal de

los mamíferos en términos de un fármaco; usualmente esta dosis se administra por dividida en 1 a 4 veces por día.

5 Cuando se administran las preparaciones farmacéuticas de la presente invención, estas se pueden administrar en forma concomitante. Alternativamente, primero se administra el fármaco concomitante y se administra el compuesto de la presente invención, o el compuesto de la presente invención se administra primero y luego se administra el fármaco concomitante. Cuando estos se administran a determinados intervalos de tiempo, los intervalos varían de acuerdo con el componente activo administrado, forma de dosis y vía de administración; por ejemplo, cuando el fármaco concomitante se administra primero, el compuesto de la presente invención se puede administrar dentro de 1 minuto a 3 días, preferentemente 10 minutos a 1 día, más preferentemente 15 minutos a 1 hora después de la administración del fármaco concomitante. Cuando el compuesto de la presente invención se administra primero, el fármaco concomitante se puede administrar dentro de 1 minuto a 1 día, preferentemente 10 minutos a 6 horas, más preferentemente 15 minutos a 1 hora después de la administración del compuesto de la presente invención.

10 Como procedimiento preferido de administración, por ejemplo, aproximadamente 0,001 a 200 mg/kg del fármaco concomitante en la forma de preparación de dosificación oral se administra por vía oral y, después de aproximadamente 15 minutos, se administra aproximadamente 0,005 a 0,5 mg/kg del compuesto de la presente invención en forma de una preparación parenteral por vía parenteral como dosis diaria.

15 Como metastinas, se han usado, por ejemplo, metastina humana descrita en WO 00/24890, metastina de ratón o rata descrita en WO 01/75104, etc.

20 Los ejemplos específicos de metastina humana incluyen un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos 47-54 N-terminal de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 1 y que consiste en 8 a 54 residuos de aminoácidos y similares.

25 El "péptido que comprende la secuencia de aminoácidos 47-54 N-terminal de la secuencia de aminoácidos representada la SEC ID NO: 1 y que consiste en 8 a 54 residuos de aminoácidos" puede ser cualquier péptido, en la medida que este sea un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos 47-54 N-terminal de la secuencia de aminoácidos representada la SEC ID NO: 1 y que consiste en 8 a 54 residuos de aminoácidos, pero significa que estos péptidos presentan sustancialmente la misma actividad fisiológica (por ejemplo, una actividad de unión al receptor, una acción de transducción de señal, una acción que eleva el nivel de azúcar, una acción estimulante de la secreción de glucagon pancreática, una acción de promoción de la formación de orina, etc.). Específicamente, se usan (i) un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 1, (ii) un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos 47-54 N-terminal del extremo C terminal de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 1 y que consiste en 8 a 15 residuos de aminoácidos, etc.

30 Más específicamente, la metastina usada incluye (i) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 1 (metastina humana 54 (1-54)), (ii) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos N-terminal 40-54 de la de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 1 (metastina humana 15 (40-54); SEC ID NO: 15), (iii) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos N-terminal 40-54 de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 1 (metastina humana 10 (45-54); SEC ID NO: 16), (iv) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos N-terminal 46-54 de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 1 (metastina humana 9 (46-54); SEC ID NO: 17), (v) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos N-terminal 47-54 de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 1 (metastina humana 8 (47-54); SEC ID NO: 18), etc..

35 40 Como metastina de ratón (A), se usa, por ejemplo, (i) un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos N-terminal 134-141 de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 3 y que consiste en 8 a 52 residuos de aminoácidos. Los ejemplos específicos de metastina de ratón (A) usada incluyen (i) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos N-terminal 90-141 de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 3, (ii) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos N-terminal 132-141 de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 3, (iii) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos N-terminal 127-141 de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 3, y similares.

45 50 Como metastina de ratón (B), se usan, por ejemplo, (i) un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos N-terminal 138-145 de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 5 y que consiste en 8 a 52 residuos de aminoácidos. Los ejemplos específicos de metastina de ratón (B) usados incluyen un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos N-terminal 94-145 de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 5, y similares.

55 Como metastina de rata, se usan, por ejemplo, (i) un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos N-terminal 112-119 de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 7 y que consiste en 8 a 52 residuos de aminoácidos. Los ejemplos específicos de metastina de rata usada incluyen (i) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos N-terminal 68-119 de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 7, (ii) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos N-terminal 110-119 de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 7, (iii) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos N-terminal 105-119 de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 7 y similares.

A lo largo de la memoria descriptiva, las metastinas se representan de acuerdo con la forma convencional de describir péptidos, es decir, el extremo N-terminal (extremo amino) a la izquierda y el extremo C-terminal (extremo carboxilo) a la derecha. En el péptido representado por la SEC ID NO: 1, el extremo C-terminal puede estar en forma de un grupo carboxilo (-COOH), un carboxilato (-COO⁻), una amida (-CONH₂) y un éster (-COOR). En la presente, los ejemplos de R del grupo éster o alquilamida incluyen un grupo alquilo C₁₋₆ tal como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, etc.; un grupo cicloalquilo C₃₋₈ tal como ciclopentilo, ciclohexilo, etc.; un grupo arilo C₆₋₁₂ tal como fenilo, α -naftilo, etc.; un aralquilo C₇₋₁₄ tal como a grupo fenilalquilo C₁₋₂, por ejemplo, bencilo, fenetilo, benzhidrilo, etc., o un grupo α -naftilalquilo C₁₋₂ tal como α -naftilmetilo, etc.; grupo pivaloiloximetilo, que son ampliamente usados como un éster para uso oral y similares.

Además, las metastinas incluyen péptidos, en los que el grupo amino del residuo metionina N-terminal está protegido con un grupo protector (por ejemplo, un grupo acilo C₁₋₆ tal como un grupo alcanóilo C₂₋₆, por ejemplo, grupo formilo, grupo acetilo, etc.); en los que la región N-terminal se escinde in vivo y el grupo glutamilo así formado está piroglutaminado, en los que un grupo sustituyente (por ejemplo, -OH, -SH, grupo amino, grupo imidazol, grupo indol, grupo guanidino, etc.) de la cadena lateral de un aminoácido de la molécula está protegido con un grupo protector adecuado (por ejemplo, un grupo acilo C₁₋₆ tal como un grupo alcanóilo C₂₋₆, por ejemplo, grupo formilo, grupo acetilo, etc.), o péptidos conjugados tales como unidos a glicopéptidos a cadenas de azúcares.

Para las sales de la metastina de la presente invención, se prefieren las sales con bases fisiológicamente aceptables (por ejemplo, sales de metales alcalino) o ácidos (por ejemplo, ácidos orgánicos o inorgánicos), etc., especialmente preferidas son las sales de adición de ácidos fisiológicamente aceptables. Los ejemplos de tales sales incluyen sales con, por ejemplo, ácidos inorgánicos (por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido fosfórico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico); sales con ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido acético, ácido fórmico, ácido propiónico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido málico, ácido oxálico, ácido benzoico, ácido metansulfónico, ácido bencensulfónico) y similares.

Como los ADN que codifican metastinas, se usan, por ejemplo, ADN que codifican metastina humana descrita en WO 00/24890, ADN que codifican metastina de ratón o rata descrita en WO 01/75104, etc.

El ADN que codifica las metastinas puede ser cualquier ADN genómico, genoteca de ADN genómico, ADNc derivado de las células y tejidos descritos anteriormente, genoteca de ADNc derivado de las células y tejidos descritos anteriormente y ADN sintético. El vector usado para la genoteca puede ser cualquier bacteriófago, plásmido, cósmido y fagémido. El ADN también se puede amplificar directamente por la reacción en cadena de polimerasa de transcriptasa inversa (de aquí en adelante abreviada como RT-PCR) mediante ARN total o fracción de ARNm preparado a partir de las células y tejidos descritos anteriormente.

El ADN que codifica metastina humana, precursor de metastina de ratón (A), precursor de metastina de ratón (B) o precursor de metastina de rata puede ser cualquier ADN, siempre que cada ADN contenga una secuencia de bases representada por la SEC ID NO: 2, SEC ID NO: 4, SEC ID NO: 6 o SEC ID NO: 8, o una ADN que tenga una secuencia de bases hibridable con la secuencia de bases representada por cualquier secuencia representada por la SEC ID NO: 2, SEC ID NO: 4, SEC ID NO: 6 o SEC ID NO: 8 en condiciones de alta rigurosidad y que codifican la metastina humana, metastina de ratón (A), metastina de ratón (B) o metastina de rata descritas anteriormente.

Los ejemplos específicos de ADN hibridable con la secuencia de bases representada por cualquiera de las SEC ID NO: 2, SEC ID NO: 4, SEC ID NO: 6 o SEC ID NO: 8 incluyen los ADN que contienen una secuencia de bases que tiene por lo menos aproximadamente 70% de homología, preferentemente por lo menos aproximadamente 80% de homología, más preferentemente por lo menos aproximadamente 90% de homología y con la máxima preferencia por lo menos aproximadamente 95% de homología, con la secuencia de bases representada por cualquiera de las SEC ID NO: 2, SEC ID NO: 4, SEC ID NO: 6 o SEC ID NO: 8.

La homología de la secuencia de bases se puede medir en las siguientes condiciones (un valor esperado = 10; brechas permitidas; filtración = activa; puntuación de apareamiento = 1; puntuación de apareamiento erróneo = -3) mediante el algoritmo de clasificación de homología NCBI BLAST (National Center para Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool).

La hibridación se puede realizar por procedimientos públicamente conocidos per se o por modificaciones de estos procedimientos, por ejemplo, de acuerdo con el procedimiento descrito en Molecular Cloning, 2nd (J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989). También se puede usar una genoteca disponible en el mercado de acuerdo con las instrucciones del protocolo de fabricación adjunto. Preferentemente, la hibridación se puede realizar en condiciones de alta rigurosidad.

Las condiciones de alta rigurosidad usadas en la presente son, por ejemplo, las de una concentración de sodio de aproximadamente 19 a 40 mM, preferentemente aproximadamente 19 a 20 mM a una temperatura de aproximadamente 50 a 70 °C, preferentemente aproximadamente 60 a 65 °C. En particular, las condiciones de hibridación en una concentración de sodio de aproximadamente 19 mM a una temperatura de aproximadamente 65°C son de máxima preferencia.

En forma específica, como ADN que codifica la metastina humana que consiste en la secuencia de aminoácidos

- representada por la SEC ID NO: 1, se usa el ADN que consiste en la secuencia de bases representada por la SEC ID NO: 2. Por consiguiente, para la secuencia de bases que codifica la metastina humana que consiste en varias secuencias de aminoácidos descritas anteriormente, se puede elegir una secuencia de bases que corresponde a cada una de las secuencias de aminoácidos parciales de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 1 a partir de la secuencia de bases representada por SEC ID NO: 2.
- 5
- Como ADN que codifica el precursor de la metastina de ratón (A) que comprende la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 3, se emplea un ADN que consiste en la secuencia de bases representada por la SEC ID NO: 4, y similares. Por consiguiente, para la secuencia de bases que codifica el precursor de la metastina de ratón (A) que consiste en varias secuencias de aminoácidos descritas anteriormente, se puede elegir una secuencia de bases que corresponde a cada una de las secuencias de aminoácidos parciales de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 3 a partir de la secuencia de bases representada por SEC ID NO: 4.
- 10
- Como ADN que codifica el precursor de la metastina de ratón (B) que comprende la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 5, se emplea un ADN que consiste en la secuencia de bases representada por la SEC ID NO: 6, y similares. Por consiguiente, para la secuencia de bases que codifica el precursor de la metastina de ratón (B) que comprende varias secuencias de aminoácidos descritas anteriormente, se puede elegir una secuencia de bases que corresponde a cada una de las secuencias de aminoácidos parciales de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 5 a partir de la secuencia de bases representada por SEC ID NO: 6.
- 15
- Como ADN que codifica la metastina de rata que comprende la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 7, se emplea un ADN que consiste en la secuencia de bases representada por la SEC ID NO: 8 y similares. Por consiguiente, para la secuencia de bases que codifica la metastina de rata que consiste en varias secuencias de aminoácidos descritas anteriormente, se puede elegir una secuencia de bases que corresponde a cada una de las secuencias de aminoácidos parciales de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 7 a partir de la secuencia de bases representada por SEC ID NO: 8.
- 20
- En forma más específica, para el péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 1 (metastina humana 54 (1-54)), se usa un ADN que contiene la secuencia de bases representada por la SEC ID NO: 2, etc.
- 25
- Para el péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos N-terminal 40-54 de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 1 (metastina humana 15 (40-54); SEC ID NO: 15), se usa un ADN que contiene la secuencia de bases representada por SEC ID NO: 19, etc.
- 30
- Para el péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos N-terminal 45-54 de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 1 (metastina humana 10 (45-54); representada por la SEC ID NO: 16), se usa un ADN que contiene la secuencia de bases representada por la SEC ID NO: 20, etc.
- Para el péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos N-terminal 46-54 de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 1 (metastina humana 9 (46-54); representada por la SEC ID NO: 17), se usa un ADN que contiene la secuencia de bases representada por la SEC ID NO: 21, etc.
- 35
- Para el péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos N-terminal 47-54 de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 1 (metastina humana 8 (47-54); representada por la SEC ID NO: 18), se usa un ADN que contiene la secuencia de bases representada por la SEC ID NO: 22, etc.
- 40
- Como receptor de metastina, sus péptidos parciales o sus sales, se usan, por ejemplo, un receptor de metastina humana, sus péptidos parciales o sus sales descritos en WO 00/24890, un receptor de metastina humana, de rata o ratón sus péptidos parciales o sus sales descritos en WO 01/75104, etc.
- En forma específica, se usa una proteína que comprende la misma o sustancialmente la misma secuencia de aminoácidos que la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 9, SEC ID NO: 11 o SEC ID NO: 13, etc. como receptor de metastina.
- 45
- La secuencia de aminoácidos que es sustancialmente la misma secuencia de aminoácidos que la secuencia de aminoácidos representada por SEC ID NO: 9, SEC ID NO: 11 o SEC ID NO: 13 incluye, por ejemplo, una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 70% de homología, preferentemente al menos aproximadamente 80% de homología, más preferentemente al menos aproximadamente 90% de homología, y con máxima preferencia al menos aproximadamente 95% de homología, con la secuencia de aminoácidos representada por SEC ID NO: 9, SEC ID NO: 11 o SEC ID NO: 13.
- 50
- La homología de la secuencia de bases se puede determinar en las siguientes condiciones (un valor esperado = 10; brechas permitidas; matriz = BLOSUM62; filtración = inactiva) mediante el algoritmo de clasificación de homología NCBI BLAST (National Center para Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool).
- 55
- Como la proteína que comprende sustancialmente la misma secuencia de aminoácidos que la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 9, SEC ID NO: 11 o SEC ID NO: 13, se prefiere una proteína que

tenga sustancialmente la misma secuencia de aminoácidos que la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 9, SEC ID NO: 11 o SEC ID NO: 13 y que tenga actividad de la misma naturaleza que la de una proteína que tiene la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 9, SEC ID NO: 11 o SEC ID NO: 13, etc.

- 5 Como la actividad de sustancialmente misma naturaleza, se halla, por ejemplo, una actividad de unión al ligando, una actividad de transducción de señal y similares. La frase "sustancialmente la misma naturaleza" se usa para significar que la naturaleza de estas actividades es equivalente en términos de calidad. De este modo, las actividades tales como una actividad de unión al ligando, una actividad de transducción de señal, etc. preferentemente son equivalentes (por ejemplo, aproximadamente 0,01 a 100 veces, preferentemente aproximadamente 0,5 a 10 veces, más preferentemente 0,5 a 2 veces), pero también pueden estar presentes y son permisibles diferencias de factores cuantitativos tales como un nivel de estas actividades, o tales como un peso molecular de la proteína.

15 Las actividades tales como una actividad de unión al ligando, una actividad de transducción de señal, etc. se pueden ensayar por procedimientos públicamente conocidos per se con modificaciones y se pueden determinar de acuerdo con los procedimientos de determinación de un ligando o procedimientos de detección descritos en, por ejemplo, WO 00/24890 o WO 01/75104.

20 Los ejemplos del receptor de metastina usados incluyen proteínas que comprenden (i) la secuencia de aminoácidos representada por las SEC ID NO: 9, SEC ID NO: 11 o SEC ID NO: 13, de la que se suprimen por lo menos 1 o 2 (preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 30, más preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 10 y con máxima preferencia varios (1 o 2)) aminoácidos; (ii) la secuencia de aminoácidos representada por las SEC ID NO: 9, SEC ID NO: 11 o SEC ID NO: 13, a la que se agregan por lo menos 1 o 2 (preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 30, más preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 10 y con máxima preferencia varios (1 o 2)) aminoácidos; (iii) la secuencia de aminoácidos representada por las SEC ID NO: 9, SEC ID NO: 11 o SEC ID NO: 13, en la que se sustituyen por lo menos 1 o 2 (preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 30, más preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 10 y con máxima preferencia varios (1 o 2)) aminoácidos por otros aminoácidos; o (iv) una combinación de esta secuencias de aminoácidos y similares.

30 A lo largo de la memoria descriptiva, los receptores de metastina se representan de acuerdo con la forma convencional de describir péptidos, es decir, el extremo N-terminal (extremo amino) a la izquierda y el extremo C-terminal (extremo carboxilo) a la derecha. En los receptores de metastina que incluyen el receptor de metastina representado por la SEC ID NO: 9, SEC ID NO: 11 o SEC ID NO: 13, el extremo C-terminal puede estar en forma de un grupo carboxilo (-COOH), un carboxilato (-COO⁻), una amida (-CONH₂) y un éster (-COOR). En la presente memoria, los ejemplos de R del grupo éster o alquilamida incluyen un grupo alquilo C₁₋₆ tal como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, etc.; un grupo cicloalquilo C₃₋₈ tal como ciclopentilo, ciclohexilo, etc.; un grupo arilo C₆₋₁₂ tal como fenilo, α -naftilo, etc.; un aralquilo C₇₋₁₄ tal como a grupo fenilalquilo C₁₋₂, por ejemplo, bencilo, fenetilo, benzhidrido, etc., o un grupo α -naftilalquilo C₁₋₂ tal como α -naftilmetilo, etc.; grupo pivaloiloximetilo, que son ampliamente usados como un éster para uso oral y similares.

40 Cuando los receptores de metastina contienen un grupo carboxilo (o un carboxilato) en una posición diferente que el extremo C-terminal, el grupo carboxilo se puede amidar o esterificar y tales amidas o ésteres también están incluidos dentro la proteína del receptor de la presente invención. En este caso, el grupo éster usado puede ser el mismo grupo que los ésteres C-terminales descritos anteriormente.

45 Además, los receptores de metastina incluyen aquellos en los que el grupo amino del residuo metionina N-terminal está protegido con un grupo protector (por ejemplo, un grupo acilo C₁₋₆ tal como un grupo alcanilo C₂₋₆, por ejemplo, grupo formilo, grupo acetilo, etc.); en los que la región N-terminal se escinde in vivo y el grupo glutamilo así formado está piroglutaminado, aquellos en los que un grupo sustituyente (por ejemplo, -OH, -SH, grupo amino, grupo imidazol, grupo indol, grupo guanidino, etc.) de la cadena lateral de un aminoácido de la molécula está protegido con un grupo protector adecuado (por ejemplo, un grupo acilo C₁₋₆ tal como un grupo alcanilo C₂₋₆, por ejemplo, grupo formilo, grupo acetilo, etc.), o proteínas conjugadas tales como glicoproteínas unidas a cadenas de azúcares.

50 Los ejemplos específicos de los receptores de metastina incluyen al receptor de metastina humana que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 9, receptor de metastina de rata que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 11, receptor de metastina de ratón que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 13, etc.

55 Los péptidos parciales del receptor de metastina (de aquí en adelante algunas veces denominados simplemente como péptido parcial) puede ser cualquier péptido, en la medida que estos son péptidos parciales del receptor de metastina descrito anteriormente; se usan aquellos tales como moléculas de proteína del receptor de metastina, que son los sitios expuestos fuera de la membrana celular y que tienen actividad de unión al ligando.

En forma específica, el péptido parcial del receptor de metastina que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 9, SEC ID NO: 11 o SEC ID NO: 13 es un péptido que contiene la partes analizadas

que son dominios extracelulares (dominios hidrófilos) en el análisis del trazado hidrófobo. También se puede usar un péptido que contiene una parte del dominio hidrófobo. Además, el péptido puede contener cada dominio por separado o una pluralidad de dominios juntos.

- 5 En el receptor de metastina, los péptidos parciales preferidos son los que tienen un número de aminoácidos de por lo menos 20, preferentemente por lo menos 50, y más preferentemente por lo menos 100, en la secuencia de aminoácidos descrita anteriormente, que constituye el receptor de metastina.

- 10 El péptido parcial puede ser un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos descrita anteriormente, de la que se suprimen por lo menos 1 o 2 (preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 10 y más preferentemente varios (1 o 2)) aminoácidos; de la que por lo menos se agregan 1 o 2 (preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 10 y más preferentemente varios (1 o 2)) aminoácidos; o, en la que por lo menos se sustituyen 1 o 2 (preferentemente aproximadamente 1 a aproximadamente 10 y más preferentemente varios (1 o 2)) aminoácidos por otros aminoácidos.

En el péptido parcial, el extremo C terminal puede ser cualquier forma de un grupo carboxilo (-COOH), un carboxilato (-COO⁻), una amida (-CONH₂) y un éster (-COOR), como el receptor de metastina descrito anteriormente.

- 15 Además, los péptidos parciales incluyen péptidos, en los que el grupo amino del residuo de metionina N-terminal está protegido con un grupo protector, en los que la región N-terminal se escinde in vivo y el grupo glutamilo así formado está piroglutaminado, en los que un grupo sustituyente de la cadena lateral de un aminoácido de la molécula está protegido con un grupo protector adecuado o péptidos conjugados tales como unidos a glicopéptidos a cadenas de azúcares, como en los receptores de metastina descritos anteriormente.
- 20 Para las sales del receptor de metastina o el péptido parcial, se prefieren sales con ácidos fisiológicamente aceptables, en especial sales de adición de ácidos fisiológicamente aceptables. Los ejemplos de tales sales incluyen sales con, por ejemplo, ácidos inorgánicos (por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido fosfórico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico); sales con ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido acético, ácido fórmico, ácido propiónico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido málico, ácido oxálico, ácido benzoico, ácido metansulfónico, ácido bencensulfónico) y similares.
- 25

Como los ADN que codifican al receptor de metastinas o sus péptidos parciales, se usan, por ejemplo, un ADN que codifica el receptor de metastina humana o sus péptidos parciales descritos en WO 00/24890, un ADN que codifica el receptor de metastina de ratón o metastina de rata o sus péptidos parciales descritos en WO 01/75104, etc.

- 30 Los ADN que codifican el receptor de metastina o sus péptidos parciales pueden ser cualquier ADN genómico, genoteca de ADN genómico, ADNc derivado de las células y tejidos descritos anteriormente, genoteca de ADNc derivado de las células y tejidos descritos anteriormente y ADN sintético. El vector usado para la genoteca puede ser cualquier bacteriófago, plásmido, cósmido y fagémido. El ADN también se puede amplificar directamente por la reacción en cadena de polimerasa de transcriptasa inversa (de aquí en adelante abreviada como RT-PCR) por medio de ARN total o fracción de ARNm preparado a partir de las células y tejidos descritos anteriormente.

- 35 En forma específica, el ADN que codifica el receptor de metastina humana, receptor de metastina de ratón o receptor de metastina de rata puede ser cualquier ADN, siempre que sea un ADN que comprende cada secuencia de bases representada por la SEC ID NO: 10, SEC ID NO: 12 o SEC ID NO: 14, o un ADN que comprende una secuencia de bases hibridable con la secuencia de bases representada por las SEC ID NO: 10, SEC ID NO: 12 o SEC ID NO: 14 en condiciones de muy alta rigurosidad y que codifica un receptor que tiene la actividad de sustancialmente la misma naturaleza (por ejemplo, una actividad de unión al ligando, una actividad de transducción de señal, etc.) que la del receptor de metastina humana, receptor de metastina de ratón o receptor de metastina de rata que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por las SEC ID NO: 10, SEC ID NO: 12 o SEC ID NO: 14.
- 40

- 45 Los ejemplos de ADN hibridable a la secuencia de bases representada por cualquiera de las SEC ID NO: 10, SEC ID NO: 12 o SEC ID NO: 14 incluye a los ADN que comprende una secuencia de bases que tiene por lo menos aproximadamente 70% de homología, preferentemente por lo menos aproximadamente 80% de homología, más preferentemente por lo menos aproximadamente 90% de homología y con la máxima preferencia por lo menos aproximadamente 95% de homología, con la secuencia de bases representada por cualquiera de las SEC ID NO: 10, SEC ID NO: 12 o SEC ID NO: 14.

- 50 La homología de la secuencia de bases se puede determinar en las siguientes condiciones (un valor esperado = 10; brechas permitidas; filtering = activa; puntuación de coincidencia = 1; puntuación de apareamiento erróneo = -3) mediante el algoritmo de clasificación de homología NCBI BLAST (National Center para Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool).

- 55 La hibridación se puede realizar por procedimientos públicamente conocidos per se o por modificaciones de estos procedimientos, por ejemplo, de acuerdo con el procedimiento descrito en Molecular Cloning, 2nd (J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989). También se puede usar una genoteca disponible en el mercado de acuerdo con las instrucciones del protocolo de fabricación adjunto. Preferentemente, la hibridación se puede realizar

en condiciones de alta rigurosidad.

5 Las condiciones de alta rigurosidad usada en la presente memoria son, por ejemplo, las de una concentración de sodio de aproximadamente 19 a 40 mM, preferentemente aproximadamente 19 a 20 mM a una temperatura de aproximadamente 50 a 70 °C, preferentemente aproximadamente 60 a 65 °C. En particular, las condiciones de hibridación en una concentración de sodio de aproximadamente 19 mM a una temperatura de aproximadamente 65°C son de máxima preferencia.

En forma más específica, como el ADN que codifica el receptor de metastina humana receptor que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 9, se usa el ADN que consiste en la secuencia de bases representada por la SEC ID NO: 10.

10 Como el que codifica el receptor de metastina de rata que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 11, se usa el ADN que consiste en la secuencia de bases representada por la SEC ID NO: 12.

Como el que codifica el receptor de metastina de ratón que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 13, se usa el ADN que consiste en la secuencia de bases representada por la SEC ID NO: 14.

15 Los receptores de metastina, sus péptidos parciales o sus sales y el ADN que codifica los receptores de metastina o sus péptidos parciales se pueden obtener o producir por los procedimientos descritos en WO 00/24890 o WO 01/75104.

La presente invención se describirá en detalle con referencia a los EJEMPLOS, EJEMPLOS DE FORMULACIÓN Y EJEMPLOS DE ENSAYO, pero no implica una limitación a estos, y se puede realizar cualquier modificación sin apartarse del alcance de la presente invención.

20 En los siguientes EJEMPLOS, el término "temperatura ambiente" normalmente significa una temperatura de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 35 °C. En porcentajes, se muestra el rendimiento en % en mol/mol y el disolvente usado en la cromatografía en % en vol, y el resto en % en peso. En los espectros de RMN, los datos de OH, protones NH, etc. que son anchos y no identificados no se muestran.

Las otras abreviaturas usadas en la memoria descriptiva significan lo siguiente.

Abreviatura	Descripción
10Ψ,CSNH	: El enlace C-terminal-CONH ₂ de la posición 10 está sustituido con -CSNH ₂ .
1Ψ2,CH ₂ NH	: El enlace -CONH- entre las posiciones 1 y 2 está sustituido con el enlace -CH ₂ NH.-
2Ψ3,CH ₂ NH	: El enlace -CONH- entre las posiciones 2 y 3 está sustituido con el enlace -CH ₂ NH.-
3Ψ4,CH ₂ NH	: El enlace -CONH- entre las posiciones 3- y 4 está sustituido con el enlace -CH ₂ NH.-
4Ψ5,CH ₂ NH	: El enlace -CONH- entre las posiciones 4 y 5 está sustituido con el enlace -CH ₂ NH.-
6Ψ7,CSNH	: El enlace -CONH- entre las posiciones 6 y 7 está sustituido con el enlace -CSNH.-
6Ψ7,NHCO	: El enlace -CONH- entre las posiciones 6 y 7 está sustituido con el enlace -NHCO- .
6Ψ7,CH ₂ NH	: El enlace -CONH- entre las posiciones 6 y 7 está sustituido con el enlace -CH ₂ NH.-
6Ψ7,CHO ₂ O	: El enlace -CONH- entre las posiciones 6 y 7 está sustituido con el enlace -CH ₂ O.-
7Ψ8,CH ₂ NH	: El enlace -CONH- entre las posiciones 7 y 8 está sustituido con el enlace -CH ₂ NH.-
8Ψ9,CH ₂ NH	: El enlace -CONH- entre las posiciones 8 y 9 está sustituido con el enlace -CH ₂ NH.
9Ψ10,CH ₂ NH	: El enlace -CONH- entre las posiciones 9 y 10 está sustituido con el enlace -CH ₂ NH.-

(continuación)

Abreviatura	Descripción
Abu	: ácido 2-aminobutanoico
Abz(2)	: ácido 2-aminobenzoico
Abz(3)	: ácido 3-aminobenzoico
Ac	: acetilo
AcONB	: N-acetoxi-5-norborneno-2,3-dicarboximida
Acp	: ácido 6-aminocaproico
AcOEt	: acetato de etilo
AcOH	: ácido acético
Aib	: ácido α -aminoisobutanoico
Ala(2-Qui)	: 2-quinolilalanina
Ala(3-Bzt)	: 3-benzotienilalanina
Ala(cPr)	: ciclopropilalanina
Ala(Pip)	: (4-piperidin-1-il)alanina
Alb	: ácido Albizziin 2-amino-3-ureidopropiónico
Ambz(4)	: 4-aminometilbenzoilo
Arg(Ac)	: N ^o -acetilarginina
Arg(Boc ₂ ,Me)	: N ^o , ^o -bis-ter-butoxicarbonil-N ^o -metilarginina
Arg(Et)	: N ^o -etilarginina
Arg(Me)	: N ^o -metilarginina
Arg(asyMe ₂) o Arg(Me ₂)asym	: N ^o , ^o -dimetilarginina asimétrica
Arg(symMe ₂) o Arg(Me ₂)sym	: N ^o , ^o -dimetilarginina simétrica
Arg(NO ₂)	: N ^o -nitroarginina
Arg(Pbf)	: N ^o -2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofuransulfonilarginina
Arg(n-Pr)	: N ^o -propilarginina
Arg(Tos)	: N ^o -tosilarginina
Asp(NHMe)	: N ^o -metilasparagina
Asp(NMe ₂)	: N ^o , ^o -dimetilasparagina
Asp(NHPen)	: N ^o -pentilasparagina
Asp(NHcPr)	: N ^o -ciclopropilasparagina
Asp(NHBzl)	: N ^o -bencilasparagina
AzaGly	: azaglicina
AzaPhe	: azafenilalanina
Aze(2)	: ácido azetidín-2-carboxílico

(continuación)

Abreviatura	Descripción
Aze(3)	: ácido azetidín-3-carboxílico
β -Ala	: β -alanina
Boc	: ter-butoxicarbonilo
Boc ₂ O	: bicarbonato de di-ter-butilo
Br-Z	: 2-bromobenciloxicarbonilo
Bu'	: ter-butilo
Bzl	: bencilo
CDI	: 1,1'-carbonildiimidazol
Cha	: ciclohexilalanina
CIP	: tetrafluoroborato de 2-cloro-1,3-dimetilimidazolio
Cit	: citrulina
Clt resin	: resina 2-clorotritilo
Cl-Z	: ácido 2-clorobenciloxicarbonilo
cPr	: ciclopropilo
Dab	: ácido 2,4-diaminobutanoico
Dap	: ácido 2,3-diaminopropiónico
Dap(Ac)	: ácido N ^{β} -acetil- β -diaminopropiónico
Dap(For)	: ácido N ^{β} -formil- β -diaminopropiónico
Dap(Gly)	: ácido N ^{β} -glicil- β -diaminopropiónico
Dap(GnGly)	: ácido N ^{β} -(N-guanidinoglicil)- β -diaminopropiónico
DCM	: diclorometano
DEA	: dietilamina
DIEA	: N,N-diisopropiletilamina
DIPCDI	: 1,3-diisopropilcarbodiimida
DMAP	: 4-dimetilaminopiridina
DMF	: N,N-dimetilformamida
EDT	: 1,2-etanoditiol
Fmoc	: 9-fluorenilmetoxicarbonilo
For	: formilo
γ -Abu	: ácido 4-aminobutanoico
γ -MeLeu	: γ -metileucina
Gn	: guanidino
GuAmb	: 4-guanidinometilbenzoílo

(continuación)

Abreviatura	Descripción
Har	: homoarginina
Har(Me)	: N ^ω -metilhomoarginina
His(3Me)	: 3-metilhistidina π-metilhistidina
HOAt	: 1-hidroxi-7-azabenzotriazol
HOBt	: 1-hidroxibenzotriazol
HONB	: N-hidroxi-5-norborneno-2,3-dicarboximida
Hph	: homofenilalanina
cisHyp	: cis-4-hidroxiprolina
Hyp	: trans-4-hidroxiprolina
Hyp(Bz1)	: O-benzil-trans-4-hidroxiprolina
IndPr	: 3-(indol-3-il)propionilo
Izc	: ácido imidazolidino-2-carboxílico
Lys(Me ₂)	: N ^ε -dimetilisina
MBHA	: p-metilbenzidrilamina
MeOH	: metanol
Mtt	: 4-metiltrilito
N((CH ₂) ₃ Gn)Gly	: N-(3-guanidinopropil)glicina
Nal(1)	: 1-naftilalanina
Nal(2)	: 2-naftilalanina
Nar	: norarginina
Nar(Me)	: N ^ω -metilnorarginina
Nle	: norleucina
NmeAla	: N ^α -metilalanina
NmeArg	: N ^α -metilarginina
NmeAsn	: N ^α -metilasparagina
NmeLeu	: N ^α -metilleucina
NMePhe	: N ^α -metilfenilalanina
NmeSer	: N ^α -metilserina
NMeTrp	: N ^α -metiltriptofano
NmeTyr	: N ^α -metiltirosina
Nva	: norvalina
OBu [†]	: ter-butoxi
Orn	: ornitina

ES 2 375 038 T3

(continuación)

Abreviatura	Descripción
Orn(Mtt)	: N ^δ -(4-metiltritol)ornitina
PAL	: ácido 5-(4-(9-fluorenilmetoxicarbonil)aminometil-3,5-dimetoxifenoxi)valérico
Pbf	: 2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofuran-5-sulfonilo
pGlu	: ácido piroglutámico
Phe(2Cl)	: 2-clorofenilalanina
Phe(2F)	: 2-fluorofenilalanina
Phe(2Me)	: 2-metilfenilalanina
Phe(3,4Cl ₂)	: 3,4-diclorofenilalanina
Phe(3,4F ₂)	: 3,4-difluorofenilalanina
Phe(3CF ₃)	: 3-trifluorometilfenilalanina
Phe(3Cl)	: 3-clorofenilalanina
Phe(3F)	: 3-fluorofenilalanina
Phe(3Me)	: 3-metilfenilalanina
Phe(4Cl)	: 4-clorofenilalanina
Phe(4CN)	: 4-cianofenilalanina
Phe(4F)	: 4-fluorofenilalanina
Phe(4Gn)	: 4-guanidinofenilalanina
Phe(4NH ₂)	: 4-aminofenilalanina
Phe(4NO ₂)	: 4-nitrofenilalanina
Phe(4CN)	: 4-cianofenilalanina
Phe(4Me)	: 4-metilfenilalanina
Phe(F ₅)	: pentafluorofenilalanina
αMePhe	: α-metilfenilalanina
PheΨ(CH ₂ O)Gly	: El enlace -CONH- entre Phe y Gly está sustituido con el enlace CH ₂ O-
PheΨ(CSNH)-NH ₂	: El enlace de fenilalanilamida C-terminal está sustituido con la fenilalaniltoamida.
Phg	: fenilglicina
PhOH	: fenol
PhSMe	: tioanisol
Pic(2)	: ácido pipercolínico
Pic(3)	: ácido 3-piperidincarboxílico
Pip(2)	: ácido 2-aminopipercolínico
Pro	: prolina

(continuación)

Abreviatura	Descripción
Pro(4F)	: trans-4-fluoroprolina
Pro(4NH ₂)	: cis-4-aminoprolina
Pya(2)	: 2-piridilalanina
Pya(3)	: 3-piridilalanina
Pya(4)	: 4-piridilalanina
PyAOP	: hexafluorofosfato de (7-azabenzotriazol-1-iloxi)-tris(pirrolidino)fosfonio
PyBOP	: hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)-tris(pirrolidino)fosfonio
PyBrop	: hexafluorofosfato de bromo-tris(pirrolidino)fosfonio
Pzc(2)	: ácido piperazin-2-carboxílico
Sar	: N-metilglicina
Ser(Ac)	: O-acetilserina
Ser(Me)	: O-metilserina
Ser(3Fenil)	: 3-fenilserina
Thr	: 2-tienilalanina
Thz	: tioprolina
Tic	: ácido 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-2-carboxílico
TIS	: triisopropilsilano
Tle	: ter-leucina
Tos	: tosilo
Trp(For)	: N ⁱⁿ -formiltryptofano
Trt	: tritilo
Tyr(Me)	: O-metiltirosina
Tyr(PO ₃ H ₂)	: O-fosfotirosina
TyrΨ(CH ₂ NH)Asn	: El enlace -CONH- entre Tyr y Asn está sustituido con el enlace -CH ₂ NH-.
TFA	: ácido trifluoroacético
TFE	: trifluoroetanol
Z	: benciloxicarbonilo

5 En la memoria descriptiva, cuando los códigos de las bases y aminoácidos se indican con abreviaturas, se basan en las abreviaturas de acuerdo con la Comisión IUPAC-IUB de Nomenclatura Bioquímica o los códigos comunes en la técnica, cuyos ejemplos se muestran a continuación. Para los aminoácidos que pueden tener el isómero óptico, la forma L está presente a menos que se indique otra cosa.

ES 2 375 038 T3

ADN	: ácido desoxirribonucleico
cADN	: ácido desoxirribonucleico complementario
A	: adenina
T	: timina
G	: guanina
C	: citosina
Y	: timina o citosina
N	: timina, citosina, adenina o guanina
R	: adenina o guanina
M	: citosina o adenina
W	: timina o adenina
S	: citosina o guanina
ARN	: ácido ribonucleico
ARNm	: ácido ribonucleico mensajero
dATP	: trifosfato de desoxiadenosina
dTTP	: trifosfato de desoxitimidina
dGTP	: trifosfato de desoxiguanosina
dCTP	: trifosfato de desoxicitidina
ATP	: trifosfato de adenosina
EDTA	: ácido etilendiaminotetraacético
SDS	: dodecil sulfato de sodio
TFA	: ácido trifluoroacético
EIA	: inmunoensayo enzimático
Gly o G	: glicina
Ala o A	: alanina
Val o V	: valina
Leu o L	: leucina
Ile o I	: isoleucina
Ser o S	: serina
Tr o T	: treonina
Cys o C	: cisteína
Met o M	: metionina
Glu o E	: ácido glutámico
Asp o D	: ácido aspártico

(continuación)

Lys o K	: lisina
Arg o R	: arginina
His o H	: histidina
Phe o F	: fenilalanina
Tyr o Y	: tirosina
Trp o W	: triptofano
Pro o P	: prolina
Asn o N	: asparagina
Gln o Q	: glutamina
pGlu	: ácido piroglutámico

Los números de identificación de secuencias en el listado de secuencia de la memoria descriptiva indica la siguiente secuencia, respectivamente.

5 [SEC ID NO: 1]

Esta muestra la secuencia de aminoácidos de metastina derivada humana (Metastina).

[SEC ID NO: 2]

Esta muestra la secuencia de bases de ADN que codifica la metastina humana.

[SEC ID NO: 3]

10 Esta muestra la secuencia de aminoácidos del precursor de metastina de ratón (A).

[SEC ID NO: 4]

Esta muestra la secuencia de bases del ADN que codifica el precursor de metastina de ratón (A), que es la secuencia de bases del plásmido pCMV-mKiSS-1 alojado en el transformante DH10B/pCMV-mKiSS-1 de Escherichia coli.

15 [SEC ID NO: 5]

Esta muestra la secuencia de aminoácidos de precursor de metastina de ratón (B).

[SEC ID NO: 6]

20 Esta muestra la secuencia de bases de ADN que codifica el precursor de metastina de ratón (B), que es la secuencia de bases del plásmido pCR2.1-mKiSS-1.4A alojado en el transformante DH5 α /pCR2.1-mKiSS-1.4a de Escherichia coli.

[SEC ID NO: 7]45

Esta muestra la secuencia de aminoácidos de precursor de metastina de rata.

[SEC ID NO: 8]

Esta muestra la secuencia de bases de ADN que codifica el precursor de metastina de rata.

25 [SEC ID NO: 9]

Esta muestra la secuencia de aminoácidos de OT7T175 humana (receptor de metastina).

[SEC ID NO: 10]

Esta muestra la secuencia de bases de ADN que codifica OT7T175 humana (receptor de metastina).

[SEC ID NO: 11]

Esta muestra la secuencia de aminoácidos de OT7T175 de rata (receptor de metastina).

[SEC ID NO: 12]

Esta muestra la secuencia de bases de ADN que codifica OT7T175 de rata (receptor de metastina).

5 [SEC ID NO: 13]

Esta muestra la secuencia de aminoácidos de OT7T175 de ratón (receptor de metastina).

[SEC ID NO: 14]

Esta muestra la secuencia de bases de ADN que codifica OT7T175 de ratón (receptor de metastina).

[SEC ID NO: 15]

10 Esta muestra la secuencia de aminoácidos de metastina humana (40-54).

[SEC ID NO: 16]

Esta muestra la secuencia de aminoácidos de metastina humana 10 (45-54) (MS 10).

[SEC ID NO: 17]

Esta muestra la secuencia de aminoácidos de metastina humana 9 (46-54).

15 [SEC ID NO: 18]

Esta muestra la secuencia de aminoácidos de metastina humana 8 (47-54),

[SEC ID NO: 19]

Esta muestra la secuencia de bases de ADN que codifica la metastina humana 15 (40-54).

[SEC ID NO: 20]

20 Esta muestra la secuencia de bases de ADN que codifica la metastina humana 10 (45-54).

[SEC ID NO: 21]

Esta muestra la secuencia de bases de ADN que codifica la metastina humana 9 (46-54)

[SEC ID NO: 22]

Esta muestra la secuencia de bases de ADN que codifica la metastina humana 8 (47-54).

25 El transformante DH10B/pCMV-mKiSS-1 en *Escherichia coli* se ha depositado desde el 24 de enero de 2000 con International Patent Organisms Depository, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (anteriormente Ministry of International Trade and Industry, Agency of Industrial Science and Technology, National Institute of Bioscience and Human Technology (NIBH)), ubicado en Central 6, 1-1-1 Higashi, Tsukuba, Ibaraki (código postal 305-8566), Japón, con el Número de Acceso FERM BP-7003 y desde el 16 de diciembre de 1999 con
30 el Institute for Fermentation (IFO), ubicado en 2-17-85, Juso-Honmachi, Yodogawa-ku, Osaka-shi, Osaka, Japón, con el Número de Acceso IFO 16348.

El transformante DH5 α /pCR2.1-mKiSS-1.4a de *Escherichia coli* se ha depositado desde el 6 de marzo de 2000 con International Patent Organisms Depository, National Institute of Advanced Industrial Science y Technology (anteriormente Ministry of International Trade and Industry, Agency of Industrial Science and Technology, National
35 Institute of Bioscience and Human Technology (NIBH)), ubicado en Central 6, 1-1-1 Higashi, Tsukuba, Ibaraki (código postal 305-8566), Japón, con el Número de Acceso FERM BP-7073 y desde febrero de 2000 con el Institute for Fermentation (IFO), ubicado en 2-17-85, Juso-Honmachi, Yodogawa-ku, Osaka-shi, Osaka, Japón, con el Número de Acceso IFO 16360.

Ejemplos

40 **Ejemplo de referencia 1**

Producción de N-metil-N,N'-Bis-Boc-1-guanilpirazol

Bajo flujo de nitrógeno, 720 mg de NaH 60% en aceite se disolvieron en 20 ml de DMF seco y 20 ml de solución de

5 DMF seco de 5,59 g de N,N'-Bis-Boc-1-guanilpirazol disponible en el comercio se añadieron a la solución a 0°C, seguido por agitación durante 10 minutos. Después se añadieron 1,68 ml de yoduro de metilo, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Posteriormente el disolvente se extrajo por destilación, el residuo se disolvió en AcOEt y la solución se lavó con solución de HCl acuoso 1 N, solución de NaHCO₃ acuosa saturada y posteriormente solución acuosa saturada de NaCl. Después de secar con Na₂SO₄, el disolvente se concentró y el concentrado se purificó por cromatografía en columna flush (acetato de etilo/n-hexano = 1/4) por medio de gel de sílice 60 (200 ml) para dar 5,35 g (rendimiento 91,6%) de N-metil-N,N'-bis-Boc-1-guanilpirazol como un aceite incoloro.

10 ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8,00 (br s, 1H), 7,69 (br s, 1H), 6,42 (dd, 1H, J=2,7, 1,5 Hz), 3,25 (s, 3H), 1,53 (s, 9H), 1,30 (s, 9H)

Análisis elemental como C₁₅H₂₄N₄O₄

Calculado: C, 55,54; H, 7,46; N, 17,27

Hallado: C, 55,36; H, 7,48; N, 17,06

Rf1: 0,64, Rf2: 0,79

15 Disolvente de desarrollo para TLC:

Rf1 (acetato de etilo/n-hexano = 1/2), Rf2 (metanol/cloroformo = 2/98)

Tiempo de elución en HPLC: 26,7 min.

Condiciones de elución:

Columna: Wakosil-II 5C18 HG (4,6 x 100 mm)

20 Elución con gradiente de densidad lineal con eluyentes A/B = 100/0-20/80, mediante 0,1% de TFA en agua como eluyente A y acetonitrilo que contiene 0,1% de TFA como eluyente B (40 min)

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Ejemplo de referencia 2

Producción de N-metil-N,N'-Bis-Z-1-guanilpirazol

25 En una atmósfera de argón, 40 mg de NaH 60% en aceite se disolvieron en 5 ml de DMF seco y se añadieron 5 ml de solución de DMF seco de 380 mg de N,N'-Bis-Z-1-guanilpirazol disponible en el comercio a la solución a 0°C, seguido por agitación durante 10 minutos. Después se añadieron 125 µl de yoduro de metilo, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. Después el disolvente se destiló, el residuo se disolvió en AcOEt y la solución se lavó con solución de HCl acuoso 1 N, solución de NaHCO₃ acuosa saturada y posteriormente solución acuosa saturada de NaCl. Después de secar con Na₂SO₄, el disolvente se concentró para dar 393 mg del producto bruto. A partir del producto bruto, 170 mg se purificaron por cromatografía en columna flash (acetato de etilo/n-hexano = 1/4) por medio de gel de sílice 60 (75 ml) para dar 353 mg (rendimiento 89,5%) de N-metil-N, N'-bis-Z-1-guanilpirazol como un aceite incoloro.

30 ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7,97 (br s, 1H), 7,61 (d, 1H, J=1,0Hz), 7,37-7,32 (m, 4H), 7,29-7,26 (m, 4H), 7,16-7,13 (m, 2H), 6,36 (dd, 1H, J=2,8, 1,6 Hz), 5,18 (s, 2H), 5,04 (s, 2H), 3,22 (s, 3H)

Análisis elemental como C₂₁H₂₀N₄O₄

Calculado: C, 64,28; H, 5,14; N, 14,28

Hallado: C, 64,09; H, 5,24; N, 14,43

Rf1: 0,50, Rf2: 0,86

40 Disolvente de desarrollo para TLC:

Rf1 (acetato de etilo/n-hexano=1/2)

Rf2 (metanol/cloroformo=2/98)

Tiempo de elución en HPLC: 28,9 min.

Condiciones de elución:

45 Columna: Wakosil-II 5C18 HG (4,6 x 100 mm)

Elución con gradiente de densidad lineal con eluyentes A/B = 100/0-20/80, por medio de 0,1% de TFA en agua como eluyente A y acetonitrilo que contiene 0,1% de TFA como eluyente B (40 min.)

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min.

Ejemplo 1

5 (Síntesis A): Producción de des(1)-Ac-[D-Tyr²,D-Trp³,Thr⁵,AzaGly⁷,D-Arg⁹,Trp¹⁰]MS 10 (Compuesto No. 708)

Trp(Boc), D-Arg(Pbf) y Leu se introdujeron en este orden en 178 mg de resina Rink amida MBHA (0,56 mmol/g) en un sintetizador de péptidos ABI 433A para producir H-Leu-D-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. Por separado, 116,3 mg (0,4 mmol) de Fmoc-NHNH₂ HCl se suspendió en 1 ml de DMF, y bajo enfriamiento en hielo se añadió una suspensión de 61,6 mg (0,38 mmol) de CDI en 10 ml de THF. Posteriormente, 139,4 µl (0,8 mmol) de DIEA se añadieron a la mezcla, seguido por agitación a temperatura ambiente durante una hora. La solución de reacción resultante se añadió a H-Leu-D-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA descrita anteriormente, seguido por agitación a temperatura ambiente durante 15 horas. Después de completar la reacción, la resina se lavó y Phe, Thr(Bu^t) y Asn(Trt) se introdujeron en este orden en Fmoc-AzaGly-Leu-D-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA resultante en el ABI 433A. La resina se dividió en mitades, una de las cuales se retiró y la mitad restante se aplicó nuevamente en el ABI 433A, a través del cual D-Trp(Boc) y D-Tyr(Bu^t) se introdujeron en este orden para dar H-D-Tyr(Bu^t)-D-Trp(Boc)-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-D-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. Posteriormente, el producto se trató durante 20 minutos en 3 ml de DMF con 9,4 µl (0,1 mmol) de Ac₂O y 17,4 µl (0,1 mmol) de DIEA por acetilación N-terminal. La resina se lavó y secó para dar 202,2 mg de Ac-D-Tyr(Bu^t)-D-Trp(Boc)-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-D-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. A la resina obtenida, se añadieron 1,5 ml de TFA/FSMe/m-cresol/H₂O/TIS/EDT (80/5/5/2,5/2,5) y la mezcla se agitó durante 90 minutos. Se añadió éter dietílico a la solución de reacción, el precipitado resultante se centrifugó, y se extrajo el sobrenadante. Este procedimiento se repitió dos veces para el lavado. El residuo se extrajo con una solución de ácido acético acuoso y el extracto se filtró para eliminar la resina. Posteriormente, se realizó la elución con gradiente de densidad lineal (60 minutos) a una velocidad de flujo de 15 ml/min con los eluyentes A/B: 70/30-60/40 por medio de: eluyente A: 0,1% de TFA en agua y eluyente B: 0,1% de acetonitrilo que contiene TFA en HPLC preparativa por medio de YMC Pack R&D-ODS-5-B S-5, columna 120A (30 x 250 mm). Se recolectaron las fracciones que contienen el producto y se liofilizaron para dar 16,2 mg de polvos blancos.

Espectro de masa (M+H)⁺ 1284,9 (calculado 1284,6)

Tiempo de elución en HPLC: 13,3 min.

30 Condiciones de elución:

Columna: YMC-AM301 (4,6 x 100 mm)

Elución con gradiente de densidad lineal con eluyentes A/B = 80/20 - 30/70, por medio de 0,1% de TFA en agua como eluyente A y acetonitrilo que contiene 0,1% de TFA como eluyente B (25 min.)

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min.

35 Ejemplo 2

Producción de Fmoc-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂, Me)-Trp(Boc)-resina Rink Amida MBHA .

Después de embeber 5 g (0,4 mmol/g) de resina Rink amida MBHA disponible en el comercio en DMF, la resina se trató con 50 ml de solución 20% de piperidina/DMF durante 20 minutos para eliminar el grupo Fmoc. La resina obtenida se lavó con DMF y trató con 4,213 g (8 mmol) de Fmoc-Trp(Boc)-OH, 1,272 ml (8 mmol) de DIPCDI y 16 ml (8 mmol) de solución 0,5 M HOAt/DMF a temperatura ambiente durante 90 minutos, a través del cual se introdujo Trp(Boc) para dar Fmoc-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. De manera similar, se introdujo Orn(Mtt) para dar 2 mmol de la Fmoc-Orn (Mtt)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. Posteriormente la resina obtenida se lavó y embebió con DCM, se añadieron 50 ml de TFA/TIS/DCM (1/5/94), seguido por agitación durante 10 minutos y se extrae la solución a través de la filtración. Este procedimiento se repitió hasta que desapareció el color amarillo producido por el grupo Mtt libre en una solución TFA/TIS/DCM (1/5/94) cuando se añadió la solución; en consecuencia se extrajo el grupo Mtt.

La Fmoc-Orn-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA resultante se neutralizó con solución 5%-DIEA/DCM. Después de lavar con DCM, se añadieron 25 ml de DCM-TFE (4:1) y 1,946 g (6 mmol) de N-metil-N,N'-bis-Boc-1-guanilpirazol obtenidos en el EJEMPLO DE REFERENCIA 1 a la resina. Se añadió DIEA a la mezcla para ajustar el pH de la solución resultante a 10. La solución se agitó durante 15 horas para dar 6,195 g de Fmoc-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. Se introdujo Fmoc-Leu en la resina obtenida de la misma manera que se describió antes. La resina se dividió en mitades y el grupo Fmoc se extrajo de la Fmoc-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA obtenida de este modo (1 mmol) para dar H-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA (1 mmol).

Por separado, 1,745 g (6 mmol) de Fmoc-NHNH₂ HCl se suspendieron en 20 ml de DMF-THF (4:1). Bajo

enfriamiento con hielo, 973 mg (6 mmol) de CDI y 2,09 ml (12 mmol) de DIEA se añadieron a la suspensión, seguido por agitación a temperatura ambiente durante una hora. La solución de reacción resultante se añadió a la H-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA descrita anteriormente, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. Después de completar la reacción, la resina se lavó y secó para dar 3,314 g de la Fmoc-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA.

Ejemplo 3

(Síntesis B): Producción de des(1-3)-Ac-[Thr5,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS10 (Compuesto No. 709)

Después de embeber 5,455 g (0,55 mmol/g) de resina Rink amida MBHA disponible en el comercio en DMF, la resina se trató con 50 ml de solución de 20% de piperidina/DMF durante 20 minutos para eliminar el grupo Fmoc. La resina obtenida se lavó con DMF y posteriormente se trató con 6,319 g (12 mmol) de Fmoc-Trp(Boc)-OH, 1,908 ml (12 mmol) de DIPCDI y 24 ml (12 mmol) de solución de 0,5 M de HOAt/DMF a temperatura ambiente durante 90 minutos, a través de la cual se introdujo Trp(Boc) para dar la Fmoc-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. De manera similar, se introdujo Orn(Mtt) para dar 3 mmol de la Fmoc-Orn(Mtt)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. La resina obtenida se lavó con DCM y se hinchó, y posteriormente 50 ml de TFA/TIS/TFE/DCM (1/5/19/75) se añadieron a la resina, seguido por agitación durante 10 minutos y se extrae la solución a través de filtración. Se repitió hasta que desapareció el color amarillo producido por el grupo Mtt libre en una solución TFA/TIS/TFE/DCM (1/5/19/75) cuando se añadió la solución; en consecuencia se extrajo el grupo Mtt

La Fmoc-Orn-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA resultante se neutralizó con solución de 5%-DIEA/DCM. Después de lavar con DCM, 20 ml de DCM-TFE (4:1) y 2,919 g (9 mmol) de N-metil-N,N'-bis-Boc-1-guanilpirazol obtenido en el EJEMPLO DE REFERENCIA 1 se añadieron a la resina. Se añadió DIEA a la mezcla para ajustar el pH de la solución a 10. La mezcla se agitó durante 15 horas para dar la Fmoc-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. Fmoc-Leu se introdujo en la resina obtenida de la misma manera que se describió antes. Posteriormente se eliminó el grupo Fmoc de la Fmoc-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA así obtenida (3 mmol) para dar la H-Leu-Arg(Boc₂, Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA (3 mmol).

Por separado, 3,489 g (12 mmol) de Fmoc-NHNH₂.HCl se suspendieron en 20 ml de DMF. Bajo enfriamiento con hielo, una suspensión de 1,849 g (11,4 mmol) de CDI en 20 ml de THF se añadió y posteriormente 4,181 ml (24 mmol) DIEA se añadieron a la mezcla, seguido por agitación a temperatura ambiente durante una hora. La solución de reacción resultante se añadió a la HLeu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA descrita anteriormente, seguido por agitación a temperatura ambiente durante 15 horas. Después de completar la reacción, la resina se lavó y secó para dar la Fmoc-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp (Boc)-resina Rink amida MBHA.

La resina obtenida se embebió en DMF y posteriormente se trató con 30 ml de solución de 20% de piperidina/DMF durante 20 minutos para eliminar el grupo Fmoc. Después la resina obtenida se lavó con DMF, la resina se trató con 5,419 g (12 mmol) de Trt-Phe-OH,0,5AcOEt, 6,257 g (12 mmol) de PyAOP, 24 ml (12 mmol) de 0,5M HOAt/DMF y 7,316 ml (42 mmol) de DIEA a temperatura ambiente durante 90 minutos para dar la Trt-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. Después la resina obtenida se lavó con DCM y se embebió, se añadieron 50 ml de TFA/TIS/TFE/DCM (1/5/19/75)20 a la resina, seguido por agitación durante 10 minutos y se extrae la solución a través de filtración. Este procedimiento se repitió hasta que desapareció el color marrón amarillento causado por el grupo Trt libre en una solución TFA/TIS/TFE/DCM (1/5/19/75) cuando se añadió la solución; de este modo se eliminó el grupo Trt. La H-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp (Boc)-resina Rink amida MBHA obtenida se neutralizó con solución de 5%-DIEA/DMF y se lavó en DMF. A partir de este momento, la resina se trató con 4,780 g (12 mmol) de Fmoc-Thr(Bu^t)-OH, 1,908 ml (12 mmol) de DIPCDI y 24 ml (12 mmol) de 0,5 M HOAt/DMF a temperatura ambiente durante 90 minutos para introducir Thr(Bu^t). Posteriormente, se realizaron la desprotección del Fmoc mediante el tratamiento con 50 ml de solución de 20% de piperidina/DMF durante 20 minutos y la condensación por el procedimiento DIPCDI/HOAt como en la introducción de Thr(Bu^t) para introducir Asn(Trt). La resina posteriormente se lavó y secó para dar 10,624 g de the Fmoc-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. Después 100 mg (0,03 mmol) de la resina resultante se embebieron en DMF, la resina se trató con 3 ml de solución 20% de piperidina/DMF durante 20 minutos para eliminar el grupo Fmoc. La resina obtenida se lavó con DMF y se trató en 1 ml de DMF con 9,4 µl (0,1 mmol) de Ac₂O y 17,4 µl (0,1 mmol) de DIEA a temperatura ambiente durante 30 minutos para la acetilación N-terminal. La resina se lavó y secó para dar 94,2 mg de la Ac-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂, Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA.

A la resina obtenida, se añadieron 0,75 ml de TFA/FsMe/m-cresol/H₂O/TIS/EDT (80/5/5/5/2,5/2,5) y la mezcla se agitó durante 90 minutos. Se añadió éter dietílico a la solución de reacción, el precipitado resultante se centrifugó, y se extrajo el sobrenadante. Este procedimiento se repitió dos veces para el lavado. El residuo se extrajo con una solución de ácido acético acuoso y el extracto se filtró para extraer la resina. A partir de este momento, se realizó la elución con gradiente de densidad lineal (60 minutos) a una velocidad de flujo de 15 ml/min con los eluyentes A/B: 76/24-66/34 por medio de: 0,1% de TFA en agua y eluyente B: eluyente A: 0,1% de acetonitrilo que contiene TFA en HPLC preparativa por medio de YMC Pack R&D-ODS-5-B S-5, columna 120A (30 x 250 mm). Se recolectaron las fracciones que contienen el producto y se liofilizaron para dar 2,8 mg de polvos blancos.

Espectro de masa (M+H)⁺ 949,8 (Calculado 949,5)

Tiempo de elución en HPLC: 10,2 min.

Condiciones de elución:

Columna YMC-AM301 (4,6 x 100 mm)

- 5 Elución con gradiente de densidad lineal con eluyentes A/B = 80/20-30/70, por medio de 0,1% de TFA en agua como eluyente A y acetonitrilo que contiene 0,1% TFA como eluyente B (25 min.)

Caudal: 1,0 ml/min.

Ejemplo 4

(Síntesis C): Producción de des₍₁₋₂₎-Ac-[Acp3,Thr5,AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10] MS 10 (Compuesto No. 713)

- 10 Después de embeber 100 mg (0,03 mmol) de la Fmoc-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA en DMF, la resina se trató con 3 ml de solución de 20% de piperidina/DMF durante 20 minutos para eliminar el grupo Fmoc. La resina se lavó con DMF y posteriormente se trató en 1 ml de DMF con 70,6 mg (0,2 mmol) de Fmoc-Acp-OH, 104,2 mg (0,2 mmol) de PyAOP y 52,4 µl (0,2 mmol) de DIEA a temperatura ambiente durante 90 minutos para introducir Acp; en consecuencia, se obtuvo la Fmoc-Acp-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-
- 15 AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. La resina obtenida se trató con 3 ml de solución de 20% de piperidina/DMF y posteriormente se lavó con DMF para eliminar el grupo Fmoc. Posteriormente, la resina se trató en 1 ml de DMF con 9,4 µl (0,1 mmol) de Ac₂O y 17,4 µl (0,1 mmol) de DIEA a temperatura ambiente durante 30 minutos para acetilar el extremo N terminal. La resina tratada luego se lavó y secó para dar 101,2 mg de la Ac-Acp-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. A la resina obtenida, se
- 20 añadieron 0,75 ml de TFA/FSMe/m-cresol/H₂O/TIS/EDT (80/5/5/5/2,5/2,5), seguido por agitación durante 90 minutos. Se añadió éter dietílico a la solución de reacción, el precipitado resultante se centrifugó, y se extrajo el sobrenadante. Este procedimiento se repitió dos veces para el lavado. El residuo se extrajo con una solución de ácido acético acuoso y el extracto se filtró para eliminar la resina. Posteriormente, se realizó la elución con gradiente de densidad lineal (60 minutos) a una velocidad de flujo de 15 ml/min con eluyentes A/B: 77/23-67/33 por medio de:
- 25 eluyente A: 0,1% de TFA en agua y eluyente B: 0,1% de acetonitrilo que contiene TFA en HPLC preparativa por medio de YMC Pack R&D-ODS-5-B S-5, columna 120A (30 x 250 mm). Se recolectaron las fracciones que contienen el producto y se liofilizaron para dar 7,3 mg de polvos blancos.

Espectro de masa (M+H)⁺ 1062,7 (Calculado 1062,6)

Tiempo de elución en HPLC: 10,7 min

- 30 Condiciones de elución:

Columna YMC-AM301 (4,6 x 100 mm)

Elución con gradiente de densidad lineal con eluyentes A/B = 80/20-30/70, por medio de 0,1% de TFA en agua como eluyente A y acetonitrilo que contiene 0,1% TFA como eluyente B (25 min)

Caudal: 1,0 ml/min.

- 35 **Ejemplo 5**

(Síntesis D): Producción de Ac-D-Tyr-D-Trp-Asp(NHPen)-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 714)

- Por medio de 661 mg (0,25 mmol) de la Fmoc-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA, la cadena peptídica se extendió en un sintetizador de péptidos ABI 433A (Fmoc/DCC/HOBt) para dar la H-D-Tyr(Bu^t)-D-
- 40 Trp (Boc)-Asp(OBut)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. A la resina, se añadieron 5 ml de DMF, 111 mg de AcONB y 87 µl de DIEA, seguido por agitación durante 3 horas. La resina se lavó y luego se secó para dar la Ac-D-Tyr(Bu^t)-D-Trp(Boc)-Asp(OBut)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. En la proporción 9/10 de la resina, se añadieron 5 ml de TFA/FSMe/m-cresol/H₂O/TIS/EDT (80/5/5/5/2,5/2,5) y la mezcla se agitó durante 2 horas y se añadió éter para la precipitación. El
- 45 procedimiento de lavado con éter se repitió y posteriormente se secó para dar 218,4 mg de Ac-D-Tyr-D-Trp-Asp-Thr-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂. A 32,5 mg del producto, se añadieron 1 ml de DMF, 5,7 µl de aminopentano, 13,5 mg de HOBt, 26,0 mg de PyBOP y 26,1 µl de DIEA, y la mezcla se agitó durante 24 horas. Después el disolvente se extrajo por destilación, se añadió éter para precipitación. El procedimiento de lavado con éter se repitió y se secó. El residuo se disolvió en una solución de ácido acético acuoso. Después de que los materiales insolubles se eliminaron por filtración, se realizó la elución con gradiente de densidad lineal (60 minutos) con eluyentes A/B:
- 50 65/35-55/45 por medio de: eluyente A: 0,1% de TFA en agua y eluyente B: 0,1% de acetonitrilo que contiene TFA en HPLC preparativa por medio de YMC D-ODS-5-ST S-5 columna 120A (20 x 150 mm). Se recolectaron las fracciones

que contienen el producto y se liofilizaron para dar 11,0 mg de polvos blancos.

Espectro de masa (M+H)⁺ 1368,9 (Calculado 1368,7)

Tiempo de elución en HPLC: 20,9 min.

Condiciones de elución:

- 5 Columna: Wakosil-II 5C18 (4,6 x 100 mm)

Elución con gradiente de densidad lineal con eluyentes A/B = 100/0-50/50, por medio de 0,1% de TFA en agua como eluyente A y acetonitrilo que contiene 0,1% de TFA como eluyente B (25 min.)

Caudal: 1,0 ml/min.

Ejemplo 6

- 10 (Síntesis E): Producción de des(1)-Ac-[D-Tyr₂,D-Trp₃,Alb₄,Thr₅,AzaGly₇,Arg(Me)₉,Trp₁₀]MS 10 (Compuesto No. 717)

Por medio de 132 mg (0,05 mmol) de la Fmoc-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA, la cadena peptídica se extendió en un sintetizador de péptidos ABI 433A (Fmoc/DCC/HOBt) para dar la H-D-Tyr(Bu^t)-D-Trp(Boc)-Alb-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. A la resina, se añadieron 2 ml de DMF, 23 mg de AcONB y 17 µl de DIEA, seguido por agitación durante 3 horas. La resina se lavó y posteriormente se secó para dar la Ac- D-Tyr(Bu^t)-D-Trp(Boc)-Alb-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA, se añadió 1 ml de TFA/FsMe/m-cresol/H₂O/TIS/EDT (80/5/5/5/2,5/2,5), seguido por agitación durante 2 horas. Se añadió éter a la solución de reacción, el precipitado resultante se centrifugó y se extrajo el sobrenadante. Este procedimiento se repitió para el lavado. El residuo se extrajo con una solución de ácido acético acuoso y las materias insolubles se extrajeron por filtración. Posteriormente, se realizó la elución con gradiente de densidad lineal (60 minutos) con eluyentes A/B:5 69/31-59/41 por medio de: eluyente A: 0,1% de TFA en agua y eluyente B: 0,1% de acetonitrilo que contiene TFA en HPLC preparativa por medio de YMC D-ODS-5-ST S-5 columna 120A (20 x 150 mm). Se recolectaron las fracciones que contienen el producto y se liofilizaron para dar 4,8 mg de polvos blancos.

- 25 Espectro de masa (M+H)⁺ 1313,9 (Calculado 1313,7)

Tiempo de elución en HPLC: 18,3 min

Condiciones de elución:

Columna: Wakosil-II 5C18 (4,6 x 100 mm)

- 30 Elución con gradiente de densidad lineal con eluyentes A/B = 100/0-50/50, por medio de 0,1% de TFA en agua como eluyente A y acetonitrilo que contiene 0,1% TFA como eluyente B (25 min.)

Caudal: 1,0 ml/min.

Ejemplo 7

Producción de des(1)-Ac-[D-Tyr₂,Hyp₃,Thr₅,AzaGly₇,Arg(Me)₉,Trp 10]MS 10 (Compuesto No. 723)

35 La Fmoc-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA, 800 mg (0,3 mmol), se usó como material de partida, y el material de partida se hizo reaccionar en un sintetizador de péptidos ABI 433A (de acuerdo con el protocolo de Fmoc/DCC/ HOBt 0,25 mmol) para introducir Phe, Thr(Bu^t), Asn(Trt), Hyp(Bu^t) y D-Tyr(Bu^t) en este orden para dar de este modo la H-D-Tyr(Bu^t)-Hyp(Bu^t)-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. Posteriormente, la resina se trató durante 20 minutos en DMF con 94,4 µl (1 mmol) de Ac₂O y 174,2 µl (1 mmol) de DIEA por acetilación N-terminal para dar 1,049 g de la Ac-D-Tyr(Bu^t)-Hyp(Bu^t)-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂, Me)-Trp(Bo c)-resina Rink amida MBHA. El mismo procedimiento se llevó a cabo de nuevo para dar 1,035 g de la resina. A cada resina, se añadieron 8 ml de TFA/FsMe/m-cresol/H₂O/TIS/EDT (80/5/5/5/2,5/2,5), seguido por agitación durante 90 minutos. Se añadió éter dietílico a la solución de reacción, el precipitado resultante se centrifugó, y se retiró el sobrenadante. Este procedimiento se repitió dos veces para el lavado. El residuo se extrajo con una solución de ácido acético acuoso y la resina se extrajo por filtración. A partir de este momento, se realizó la elución con gradiente de densidad lineal (60 minutos) a una caudal de 15 ml/min con eluyentes A/B: 76/24-66/34 por medio de: eluyente A: 0,1% de TFA en agua y eluyente B: 0,1% de acetonitrilo que contiene TFA en HPLC preparativa por medio de YMC Pack R&D-ODS-5-B S-5, columna 120A (30 x 250 mm). Se recolectaron las fracciones que contienen el producto y se liofilizaron. Los polvos blancos obtenidos, 159,5 mg, se disolvieron en 200 ml de agua y se añadieron 550 µl de resina de intercambio iónico BioRAD AG1 x 8 forma AcO- a la solución. Mientras se agita manualmente la solución de reacción algunas veces, la solución se dejó estacionar durante una hora. La solución se filtró a través de un filtro de membrana para extraer la resina y dar 134,5 mg de

5 polvos blancos como acetato. A la muestra purificada (el acetato) obtenida, se añadieron 6,725 ml de ácido acético glacial se añadió y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos. Posteriormente, se añadieron 20,175 ml de agua pura para preparar una solución de 5 mg/ml/25% de ácido acético acuoso. La solución 5 mg/ml resultante se dispensó en 4 ml en cada uno de los seis viales, y el resto de la solución se transfirió a un vial. Estos viales se congelaron a -80°C durante 2 horas y posteriormente se liofilizaron, en los cuales se realizó la liofilización mientras se enfría a -40°C durante una hora, -20°C durante 2 horas, 0°C durante 12 horas, 5°C durante 8 horas y 20°C durante 5 horas. Como resultado, se obtuvieron seis viales de 20 mg cada uno y un vial de 12,34 mg.

Espectro de masa (M+H)⁺ 1225,9 (Calculado 1225,6)

10 Análisis para aminoácidos (20% de HCl que contiene 4% de ácido tioglicólico 110°C, hidrólisis durante 24 horas; las cifras entre paréntesis muestran los valores teóricos.): Asp 0,99 (1); Thr 0,96 (1); Leu 0,98 (1); Tyr 0,98 (1); Phe 1,00 (1)

Tiempo de elución en HPLC: 11,4 min.

Condiciones de elución:50

Columna: YMC ODS AM-301 (4,6 x 100 mm) (4,6 x 100 mm)

15 Elución con gradiente de densidad lineal con eluyentes A/B = 80/20-30/70, por medio de 0,1% de TFA en agua como eluyente A y acetonitrilo que contiene 0,1% TFA como eluyente B (25 min.)

Caudal: 1,0 ml/min

Ejemplo 8

Producción de des(1)-Ac-[D-Tyr²,Gly³,Thr⁵,AzaGly⁷,Arg(Me)⁹,Trp¹⁰]MS10 (Compuesto No. 726)

20 La Fmoc-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA, 661 mg (0,25 mmol), se usó como material de partida, y el material de partida se hizo reaccionar en un sintetizador de péptidos ABI 433A (de acuerdo con el protocolo de Fmoc/DCC/ HOBt 0,25 mmol) para introducir Phe, Thr(Bu^t), Asn(Trt), Gly y D-Tyr(Bu^t) en este orden para dar de este modo la HD-Tyr(Bu^t)-Gly-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. Posteriormente, la resina se trató durante 20 minutos in DMF con 94,4 µl (1 mmol) de Ac₂O y 174,2 µl (1 mmol) de DIEA por acetilación N-terminal para dar 866,6 mg de la Ac-D-Tyr(Bu^t)-Gly-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. A la resina obtenida, se añadieron 8 ml de TFA/FSMe/m-cresol/H₂O/TIS/EDT (80/5/5/5/2,5/2,5), seguido por agitación durante 90 minutos. Se añadió éter dietílico a la solución de reacción, el precipitado resultante se centrifugó, y se extrajo el sobrenadante. Este procedimiento se repitió dos veces para el lavado. El residuo se extrajo con una solución de ácido acético acuoso y la resina se extrajo por filtración. Posteriormente, se realizó la elución con gradiente de densidad lineal (6015 minutos) a una caudal de 15 ml/min con eluyentes A/B: 76/24-66/34 por medio de: eluyente A: 0,1% de TFA en agua y eluyente B: 0,1% de acetonitrilo que contiene TFA en HPLC preparativa por medio de YMC Pack R&D-ODS-5-B S-5, columna 120A (30 x 250 mm). Se recolectaron las fracciones que contienen el producto y se liofilizaron. Los polvos blancos obtenidos, 42,9 mg, se disolvieron en 50 ml de agua y se añadieron 153 µl de resina de intercambio iónico BioRAD AG1 x 8 forma AcO⁻ a la solución. Mientras se agita manualmente la solución de reacción algunas veces, la solución se dejó estacionar durante una hora. La solución posteriormente se filtró a través de un filtro de membrana para extraer la resina y dar 39,9 mg de polvos blancos como acetato. A la muestra purificada (el acetato) obtenida, 1,995 ml de ácido acético glacial se añadió y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos. Posteriormente, se añadieron 5,985 ml de agua pura para preparar 5 mg/ml/25% de solución de ácido acético acuoso. La solución de 5 mg/ml resultante se dispensó en un vial de 4 ml, y el resto de la solución se transfirió a un vial. Estos viales se congelaron a -80°C durante 2 horas y posteriormente se liofilizaron, en los cuales se realizó la liofilización mientras se enfría a -40°C durante una hora, -20°C durante 2 horas, 0°C durante 12 horas, 5°C durante 8 horas y 20°C durante 5 horas. Como resultado, se obtuvieron un vial de 20 mg y un vial de 19,08 mg preparado de la solución restante.

45 Espectro de masa (M+H)⁺ 1169,7 (Calculado 1169,6)

Análisis para aminoácidos (20% de HCl que contiene 4% de ácido tioglicólico a 110°C, hidrólisis durante 24 horas; las cifras entre paréntesis muestran los valores teóricos.): Asp 0,98 (1); Thr 0,93 (1); Gly 0,97 (1); Leu 0,94 (1); Tyr 0,97 (1); Phe 1,00 (1)

Tiempo de elución en HPLC: 11,3 min.

50 Condiciones de elución:

Columna: YMC ODS Arm-301 (4,6 x 100 mm)

Elución con gradiente de densidad lineal con eluyentes A/B =80/20-30/70, por medio de 0,1% de TFA en agua como eluyente A y acetonitrilo que contiene 0,1% de TFA como eluyente B (25 min.)

Caudal: 1,0 ml/min.

Ejemplo 9

Producción de des(1)-Ac-[D-Tyr²,Aib³,Thr⁵,AzaGly⁷,Arg(Me)⁹,Trp¹⁰]MS 10 (Compuesto No. 727)

5 La Fmoc-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA, 1325 mg (0,4 mmol), se usó como material de partida, y el material de partida se hizo reaccionar por la síntesis de fase sólida manual (Fmoc/DIPCDI/HOAt) para introducir Aib y D-Tyr(Bu^t) en este orden. En consecuencia, se obtuvo la H-D-Tyr(Bu^t)-Aib-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. Posteriormente, se añadieron 5 ml de DMF, 265 mg de AcONB y 209 µl de DIEA y la mezcla se agitó durante 3 horas por acetilación N-terminal para dar la Ac-D-Tyr(Bu^t)-Aib-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. A la resina obtenida, se añadieron 8 ml de TFA/FsMe/m-cresol/H₂O/TIS/EDT (80/5/5/5/2,5/2,5), seguido por agitación durante 90 minutos. Se añadió éter dietílico a la solución de reacción, el precipitado resultante se centrifugó, y se extrajo el sobrenadante. Este procedimiento se repitió dos veces para el lavado. El residuo se extrajo con una solución de ácido acético acuoso y la resina se extrajo por filtración. Posteriormente, se realizó la elución con gradiente de densidad lineal (60 minutos) a una caudal de 15 ml/min con eluyentes A/B: 72/28-62/38 por medio de: eluyente A: 0,1% de TFA en agua y eluyente B: 0,1% de acetonitrilo que contiene TFA en HPLC preparativa por medio de YMC Pack R&D-ODS-5-B S-5, columna 120A (30 x 250 mm). Se recolectaron las fracciones que contienen el producto y se liofilizaron. Los polvos blancos obtenidos se disolvieron en 50 ml de agua y se añadieron 150 µl de resina de intercambio iónico BioRAD AG1 x 8 forma AcO⁻ a la solución. Mientras se agita manualmente la solución de reacción algunas veces, la solución se dejó estacionar durante una hora. La solución posteriormente se filtró a través de un filtro de membrana para extraer la resina y dar 41,9 mg de polvos blancos como acetato. A la muestra purificada (el acetato) obtenida, 2,095 ml de ácido acético glacial se añadió y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos. Posteriormente, se añadieron 16,285 ml de agua pura para preparar 5 mg/ml/25% de solución de ácido acético acuoso. La solución de 5 mg/ml resultante se dispensó en un vial de 4 ml y un vial de 3 ml, y el resto de la solución se transfirió a un vial. Estos viales se congelaron a -80°C durante 2 horas y posteriormente se liofilizaron, en los cuales se realizó la liofilización mientras se enfría a -40°C durante una hora, -20°C durante 2 horas, 0°C durante 12 horas, 5°C durante 8 horas y 20°C durante 5 horas. Como resultado, se obtuvieron un vial de 20 mg, un vial de 15 mg y un vial de 4,8 mg preparado de la solución restante.

Espectro de masa (M+H)⁺ 1197,7 (Calculado 1197,6)

30 Análisis para aminoácidos (20% de HCl que contiene 4% de ácido tioglicólico 110°C, hidrólisis durante 24 horas; las cifras entre paréntesis muestran los valores teóricos.): Asp 0,98 (1); Thr 0,94 (1); Leu 0,95 (1); Tyr 0,97 (1); Phe 1,00 (1)

Tiempo de elución en HPLC: 13,0 min.

Condiciones de elución:

Columna YMC-AM301 (4,6 x 100 mm)

35 Elución con gradiente de densidad lineal con eluyentes AB = 80/20-30/70, por medio de 0,1% de TFA en agua como eluyente A y acetonitrilo que contiene 0,1% TFA como eluyente B (25 min.)

Caudal: 1,0 ml/min.

Ejemplo 10

Producción de des(1)-Ac-[D-Tyr²,Glu³,Thr⁵,AzaGly⁷,Arg(Me)⁹,Trp¹⁰]MS 10 (Compuesto No. 746)

40 La Fmoc-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA, 661 mg (0,25 mmol), se usó como material de partida, y el material de partida se hizo reaccionar en un sintetizador de péptidos ABI 433A (de acuerdo con el protocolo Fmoc/DCC/ HOBT 0,25 mmol), por el cual se introdujeron Phe, Thr(Bu^t), Asn(Trt), Glu(OBut) y D-Tyr(Bu^t) en este orden para dar la H-D-Tyr(Bu^t)-Glu(OBut)-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. Posteriormente, la resina se trató durante 20 minutos en DMF con 94,4 µl (1 mmol) de Ac₂O y 174,2 µl (1 mmol) de DIEA por acetilación N-terminal para dar 940,0 mg de la Ac-D-Tyr(Bu^t)-Glu(OBut)-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. A la resina obtenida, se añadieron 6 ml de TFA/FsMe/m-cresol/H₂O/TIS/EDT (80/5/5/5/2,5/2,5) se añadió, seguido por agitación durante 90 minutos. Se añadió éter dietílico a la solución de reacción, el precipitado resultante se centrifugó, y se extrajo el sobrenadante. Este procedimiento se repitió dos veces para el lavado. El residuo se extrajo con una solución de ácido acético acuoso y la resina se extrajo por filtración. Posteriormente, se realizó la elución con gradiente de densidad lineal (60 minutos) a una caudal de 15 ml/min con eluyentes A/B: 76/24-66/34 por medio de: eluyente A: 0,1% de TFA en agua y eluyente B: 0,1% de acetonitrilo que contiene TFA en HPLC preparativa por medio de YMC Pack R&D-ODS-5-B S-5, columna 120A (30 x 250 mm). Se recolectaron las fracciones que contienen el producto y se liofilizaron. Los polvos blancos obtenidos, 57,3 mg, se disolvieron en 100 ml de agua y se añadieron 192 µl de resina de intercambio iónico AG1 x 835 forma AcO⁻, que se obtuvo por la conversión de BioRAD AG1 x 8 forma Cl⁻ disponible en el

comercio en el tipo acetato de una manera convencional, a la solución. Mientras se agita manualmente la solución de reacción algunas veces, la solución se dejó estacionar durante una hora. La solución posteriormente se filtró a través de un filtro de membrana para extraer la resina y la resina se liofilizó para dar 42,7 mg de polvos blancos. A la muestra purificada (el acetato) obtenida, se añadieron 2,135 ml de ácido acético glacial y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos. Posteriormente, se añadieron 6,405 ml de agua pura para preparar 5 mg/ml/25% de solución de ácido acético acuoso. La solución resultante se dispensó a razón de 4 ml en cada uno de los dos viales y el resto de la solución se transfirió a un vial. Estos viales se congelaron a -80°C durante 2 horas y posteriormente se liofilizaron, en los cuales se realizó la liofilización mientras se enfría a -40°C durante 4 horas, -20°C durante 2 horas, 0°C durante 12 horas, 5°C durante 8 horas y 20°C durante 5 horas. Como resultado, se obtuvieron dos viales de 20 mg cada uno y un vial de 0,52 mg preparado de la solución restante.

Espectro de masa (M+H)⁺ 1241,8 (Calculado 1241,4)

Análisis para aminoácidos (20% de HCl que contiene 4% de ácido tioglicólico 110°C, hidrólisis durante 24 horas; las cifras entre paréntesis muestran los valores teóricos.): Asp 0,99 (1); Thr 0,95 (1); Glu 0,96 (1); Leu 0,98 (1); Tyr 0,98 (1); Phe 1,00 (1)

15 Tiempo de elución en HPLC: 11,4 min.

Condiciones de elución:

Columna: YMC ODS AM-301 (4,6 x 100 mm)

Elución con gradiente de densidad lineal con eluyentes A/B =80/20-30/70, por medio de 0,1% de TFA en agua como eluyente A y acetonitrilo que contiene 0,1% TFA como eluyente B (25 min.)

20 Caudal: 1,0 ml/min

Ejemplo 11

Producción de des(1)-Ac-[D-Tyr²,Lys³,Thr⁵,Phe(3F)⁶,AzaGly⁷,Mg(Me)⁹,Trp¹⁰]MS10 (Compuesto No. 756)

La Fmoc-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA, 661 mg (0,25 mmol), se usó como material de partida, y el material de partida se hizo reaccionar en un sintetizador de péptidos ABI 433A (de acuerdo con el protocolo de Fmoc/DCC/ HOBt 0,25 mmol), por el cual se introdujeron Phe(3F), Thr(Bu^t), Asn(Trt), Lys(Boc) y D-Tyr(Bu^t) en este orden para dar la H-D-Tyr(Bu^t)-Lys(Boc)-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. Posteriormente, la resina se trató durante 20 minutos en DMF con 94,4 µl (1 mmol) de Ac₂O y 174,2 µl (1 mmol) de DIEA por acetilación N-terminal para dar 881,7 mg de la Ac-D-Tyr(Bu^t)-Lys(Boc)-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. A la resina obtenida, se añadieron 6 ml de TFA/FsMe/m-cresol/H₂O/TIS/EDT (80/5/5/5/2,5/2,5), seguido por agitación durante 90 minutos. Se añadió éter dietílico a la solución de reacción, el precipitado resultante se centrifugó, y se extrajo el sobrenadante. Este procedimiento se repitió dos veces para el lavado. El residuo se extrajo con una solución de ácido acético acuoso y la resina se extrajo por filtración. Posteriormente, se realizó la elución con gradiente de densidad lineal (60 minutos) a una caudal de 15 ml/min con eluyentes A/B: 77/23-67/33 por medio de: eluyente A: 0,1% de TFA en agua y eluyente B: 0,1% de acetonitrilo que contiene TFA en HPLC preparativa por medio de YMC Pack R&D-ODS-5-B S-5, columna 120A (30 x 250 mm). Se recolectaron las fracciones que contienen el producto y se liofilizaron. Los polvos blancos obtenidos, 47,7 mg, se disolvieron en 50 ml de agua y se añadieron 316 µl de resina de intercambio iónico BioRAD AG1 x 8 forma AcO- a la solución. Mientras se agita manualmente la solución de reacción algunas veces, la solución se dejó decantar durante una hora. La solución posteriormente se filtró a través de un filtro de membrana para extraer la resina y dar 42,2 mg de polvos blancos como acetato. A la muestra purificada (el acetato) obtenida, se añadieron 2,11 ml de ácido acético glacial y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos. Posteriormente, se añadieron 6,33 ml de agua pura para preparar 5 mg/ml/ 25% de solución de ácido acético acuoso. La solución de 5 mg/ml resultante se dispensó dos viales de 4 ml cada uno, y el resto de la solución se transfirió a un vial. Estos viales se congelaron a -80°C durante 2 horas y posteriormente se liofilizaron, en los cuales se realizó la liofilización mientras se enfría a -40°C durante una hora, -20°C durante 2 horas, 0°C durante 12 horas, 5°C durante 8 horas y 20°C durante 5 horas. Como resultado, se obtuvieron dos viales de 20 mg y un vial de 0,20 mg preparado de la solución restante.

Espectro de masa (M+H)⁺ 1258,8 (Calculado 1258,6)

50 Análisis para aminoácidos (20% de HCl que contiene 4% de ácido tioglicólico a 110°C, hidrólisis durante 24 horas; las cifras entre paréntesis muestran los valores teóricos.): Asp 0,99 (1); Thr 0,95 (1); Leu 0,95 (1); Tyr 0,99 (1); Phe(3F) 1,00 (1); Lys 0,97 (1)

Tiempo de elución en HPLC: 10,8 min.

Condiciones de elución:

Columna: YMC ODS AM-301 (4,6 x 100 mm)

Elución con gradiente de densidad lineal con eluyentes A/B =80/20-30/70, por medio de 0,1% de TFA en agua como eluyente A y acetonitrilo que contiene 0,1% TFA como eluyente B (25 min.)

Caudal: 1,0 ml/min.

Ejemplo 12

5 Producción de des(1)-Ac-[D-Tyr²,Glu³,Thr⁵,Phe(3F)⁶,AzaGly⁷,Arg(Me)⁹,Trp¹⁰]MS¹⁰ (Compuesto No. 757)

La Fmoc-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA, 661 mg (0,25 mmol), se usó como material de partida, y el material de partida se hizo reaccionar en un sintetizador de péptidos ABI 433A (de acuerdo con el protocolo Fmoc/DCC/ HOBt 0,25 mmol), por el cual se introdujeron Phe(3F), Thr(Bu^t), Asn(Trt), Glu(OBut) y D-Tyr(Bu^t) en este orden para dar la H-D-Tyr(Bu^t)-Glu(OBut)-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. Posteriormente, la resina se trató durante 20 minutos en DMF con 94,4 µl (1 mmol) de Ac₂O y 174,2 µl (1 mmol) de DIEA por acetilación N-terminal para dar 872,5 mg de la Ac-D-Tyr(Bu^t)-Glu(OBut)-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. A la resina obtenida, se añadieron 8 ml de TFA/FSMe/m-cresol/H₂O/TIS/EDT (80/5/5/5/2,5/2,5), seguido por agitación durante 90 minutos. Se añadió éter dietílico a la solución de reacción, el precipitado resultante se centrifugó, y se extrajo el sobrenadante. Este procedimiento se repitió dos veces para el lavado. El residuo se extrajo con una solución de ácido acético acuoso y la resina se extrajo por filtración. Posteriormente, se realizó la elución con gradiente de densidad lineal (60 minutos) a una caudal de 15 ml/min con eluyentes A/B: 74,5/25,5-64,5/35,5 por medio de: eluyente A: 0,1% de TFA en agua y eluyente B: 0,1% de acetonitrilo que contiene TFA en HPLC preparativa por medio de YMC Pack R&D-ODS-5-B S-5, columna 120A (30 x 250 mm). Se recolectaron las fracciones que contienen el producto y se liofilizaron. Los polvos blancos obtenidos, 60,0 mg, se disolvieron en 100 ml de agua y se añadieron 198 µl de resina de intercambio iónico AG1 x 8 forma AcO⁻, que se obtuvo por la conversión de BioRAD AG1 x 8 forma Cl⁻ disponible en el comercio en el tipo acetato de una manera convencional, a la solución. Mientras se agita manualmente la solución de reacción algunas veces, la solución se dejó estacionar durante una hora. La solución posteriormente se filtró a través de un filtro de membrana para extraer la resina y dar 45,2 mg de polvos blancos como acetato. A la muestra purificada (el acetato) obtenida, se añadieron 2,26 ml de ácido acético glacial y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos. Posteriormente, se añadieron 6,78 ml de agua pura para preparar 5 mg/ml/25% de solución de ácido acético acuoso. La solución de 5 mg/ml resultante se dispensó en 4 ml en cada uno de los dos viales, y el resto de la solución se transfirió a un vial. Estos viales se congelaron a -80°C durante 2 horas y posteriormente se liofilizaron, en los cuales se realizó la liofilización mientras se enfría a -40°C durante una hora, -20°C durante 2 horas, 0°C durante 12 horas, 5°C durante 8 horas y 20°C durante 5 horas. Como resultado, se obtuvieron dos viales de 20 mg y un vial de 3,81 mg preparado de la solución restante.

Espectro de masa (M+H)⁺ 1259,9 (Calculado 1259,6)

35 Análisis para aminoácidos (20% de HCl que contiene 4% de ácido tioglicólico a 110°C, hidrólisis durante 24 horas; las cifras entre paréntesis muestran los valores teóricos): Asp 0,99 (1); Thr 0,94 (1); Glu 0,99 (1); Leu 0,94 (1); Tyr 0,97 (1); Phe(3F) 1,00 (1)

Tiempo de elución en HPLC: 11,9 min.

Condiciones de elución:

Columna: YMC ODS AM-301 (4,6 x 100 mm)

40 Elución con gradiente de densidad lineal con eluyentes A/B =80/20-30/70, por medio de 0,1% de TFA en agua como eluyente A y acetonitrilo que contiene 0,1% TFA como eluyente B (25 min)

Caudal: 1,0 ml/min.

Ejemplo 13

Producción de des(1)-Ac-[D-Tyr²,Hyp³,Thr⁵,Phe(4F)⁶,AzaGly⁷,Arg(Me)⁹,Trp¹⁰]MS¹⁰ (Compuesto No. 787)

45 La Fmoc-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA, 661 mg (0,25 mmol), se usó como material de partida, y el material de partida se hizo reaccionar en un sintetizador de péptidos ABI 433A (de acuerdo con el protocolo Fmoc/DCC/25 HOBt 0,25 mmol), por el cual se introdujeron Phe(4F), Thr(Bu^t), Asn(Trt), Hyp(Bu^t) y D-Tyr(Bu^t) en este orden para dar la H-D-Tyr(Bu^t)-Hyp(Bu^t)-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe(4F)-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. Posteriormente, la resina se trató durante 20 minutos en DMF con 94,4 µl (1 mmol) de Ac₂O y 174,2 µl (1 mmol) de DIEA por acetilación N-terminal para dar 832,8 mg de la Ac-D-Tyr(Bu^t)-Hyp(Bu^t)-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe(4F)-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. El mismo procedimiento se llevó a cabo de nuevo para dar 823,9 mg de la resina. A cada resina, se añadieron 6 ml de TFA/FSMe/m-cresol/H₂O/TIS/EDT (80/5/5/5/2,5/2,5), seguido por agitación durante 90 minutos. Se añadió éter dietílico a la solución de reacción, el precipitado resultante se centrifugó, y se extrajo el sobrenadante. Este procedimiento se repitió dos veces para el lavado. El residuo se extrajo con una solución de ácido acético acuoso y

la resina se extrajo por filtración. Posteriormente, se realizó la elución con gradiente de densidad lineal (60 minutos) a una caudal de 15 ml/min con eluyentes A/B: 74/26-64/36 por medio de: eluyente A: 0,1% de TFA en agua y eluyente B: 35 0,1% de acetonitrilo que contiene TFA en HPLC preparativa por medio de YMC Pack R&D-ODS-5-B S-5, columna 120A (30 x 250 mm). Se recolectaron las fracciones que contienen el producto y se liofilizaron. Los polvos blancos obtenidos, 117,7 mg, se disolvieron en 200 ml de agua y se añadieron 394 µl de resina de intercambio iónico AG1 x 8 forma AcO-, que se obtuvo por la conversión de BioRAD AG1 x 8 forma Cl- disponible en el comercio en el tipo acetato de una manera convencional, a la solución. Mientras se agita manualmente la solución de reacción algunas veces, la solución se dejó estacionar durante una hora. La solución posteriormente se filtró a través de un filtro de membrana para extraer la resina y dar 115,5 mg de polvos blancos como acetato. A la muestra purificada (el acetato) obtenida, se añadieron 5,775 ml de ácido acético glacial y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos. Posteriormente, se añadieron 17,325 ml de agua pura para preparar 5 mg/ml/25% de solución de ácido acético acuoso. La solución de 5 mg/ml resultante se dispensó en 4 ml en cada uno de los cinco viales, y el resto de la solución se transfirió a un vial. Estos viales se congelaron a -80°C durante 2 horas y posteriormente se liofilizaron, en los cuales se realizó la liofilización mientras se enfría a -40°C durante 4 horas, -20°C durante 2 horas, 0°C durante 12 horas, 5°C durante 8 horas y 20°C durante 5 horas. Como resultado, se obtuvieron cinco viales de 20 mg y un vial de 11,95 mg preparado de la solución restante.

Espectro de masa (M+H)⁺ 1243,6 (Calculado 1243,6)

Análisis para aminoácidos (20% de HCl que contiene 4% de ácido tioglicólico a 110°C, hidrólisis durante 24 horas; las cifras entre paréntesis muestran los valores teóricos.): Asp 1,01 (1); Thr 0,96 (1); Leu 0,97 (1); Tyr 1,02 (1); Phe(4F) 1,00 (1)

Tiempo de elución en HPLC: 12,0 min.

Condiciones de elución:

Columna: YMC ODS AM-301 (4,6 x 100 mm)

Elución con gradiente de densidad lineal con eluyentes A/B =80/20-30/70, por medio de 0,1% de TFA en agua como eluyente A y acetonitrilo que contiene 0,1% TFA como eluyente B (25 min.)

Caudal: 1,0 ml/min

Ejemplo 14

Producción de des(1)-Ac-[D-Tyr²,Hyp³,Thr⁵,AzaGly⁷,Trp¹⁰]MS10 (Compuesto No. 797)5

La resina Rink amida MBHA, 357 mg (0,25 mmol), se usó como material de partida, y el material de partida se hizo reaccionar en un sintetizador de péptidos ABI 433A (de acuerdo con el protocolo Fmoc/DCC/HOBt 0,25 mmol), por el cual se introdujeron Trp (Boc), Arg(Pbf) y Leu para dar la H-Leu-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. En un reactor separado, se pesaron 290,75 mg (1 mmol) del Fmoc-NHNH₂.HCl y se disolvieron en DMF. Bajo enfriamiento con hielo, se añadió una suspensión de 156,9 mg (0,95 mmol) de CDI en THF y se añadieron 339,7 µl de DIEA y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La mezcla se añadió a la H-Leu-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA, seguido por agitación a temperatura ambiente durante la noche. Después de lavar la resina, Phe, se introdujeron Thr(Bu^t), Asn(Trt), Hyp(Bu^t) y D-Tyr(Bu^t) en este orden nuevamente en un sintetizador de péptidos ABI 433A (de acuerdo con el protocolo Fmoc/DCC/HOBt 0,25 mmol) para dar la H-D-Tyr(Bu^t)-Hyp(Bu^t)-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. Posteriormente, la resina se trató durante 20 minutos en DMF con 94,4 µl (1 mmol) de Ac₂O y 174,2 µl (1 mmol) de DIEA para la acetilación N-terminal para dar 596,6 mg de la resina Ac-D-Tyr(Bu^t)-Hyp(Bu^t)-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Pbf)-Trp (Boc)-Rink amida MBHA. A la resina obtenida, se añadieron 4 ml de TFA/FsMe/m-cresol/H₂O/TIS/EDT (80/5/5/5/2,5/2,5), seguido por agitación durante 90 minutos. Se añadió éter dietílico a la solución de reacción, el precipitado resultante se centrifugó, y se extrajo el sobrenadante. Este procedimiento se repitió dos veces para el lavado. El residuo se extrajo con una solución de ácido acético acuoso y la resina se extrajo por filtración. Posteriormente, se realizó la elución con gradiente de densidad lineal (60 minutos) a una caudal de 15 ml/min con eluyentes A/B: 74/26-64/36 por medio de: eluyente A: 0,1% de TFA en agua y eluyente B: 0,1% de acetonitrilo que contiene TFA en HPLC preparativa por medio de YMC Pack R&D-ODS-5-B S-5, columna 120A (30 x 250 mm). Se recolectaron las fracciones que contienen el producto y se liofilizaron. Los polvos blancos obtenidos, 146,3 mg, se disolvieron en 100 ml de agua y 530 µl de resina de intercambio iónico BioRAD AG1 x 8 AcO- se añadió a la solución, seguido por agitación durante una hora. Después la resina se extrajo por filtración con tapón de algodón a través de lana de sílice, se añadió nuevamente la misma cantidad de resina y la mezcla se agitó durante una hora. La solución se filtró a través de un filtro de membrana para extraer la resina y se liofilizó para dar 127,3 mg de polvos blancos como acetato.

Espectro de masa (M+H)⁺ 1211,1 (Calculado 1211,6)

Análisis para aminoácidos (20% de HCl que contiene 4% de ácido tioglicólico a 110°C, hidrólisis durante 24 horas; las cifras entre paréntesis muestran los valores teóricos.): Asp 0,99 (1); Thr 0,96 (1); Leu 0,93 (1); Tyr 0,98 (1); Phe

1,00 (1); Arg 0,99 (1) Tiempo de elución en HPLC: 11,4 min.

Condiciones de elución:

Columna YMC ODS AM-301 (4,6 x 100 mm)

5 Elución con gradiente de densidad lineal con eluyentes A/B =80/20-30/70, por medio de 0,1% de TFA en agua como eluyente A y acetonitrilo 35 que contiene 0,1% TFA como eluyente B (25 min.)

Caudal: 1,0 ml/min.

Ejemplo 15

Producción de des(1)-Ac-[D-Tyr²,Hyp³,Alb⁴,Thr⁵,AzaGly⁷,Arg(Me)⁹,Trp¹⁰]MS 10 (Compuesto No. 800)

10 La Fmoc-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)- resina Rink amida MBHA (0,378 mmol/g), 661 mg (0,25 mmol), se usó como material de partida, y el material de partida se hizo reaccionar en el sintetizador de péptidos ABI 433A (de acuerdo con el protocolo Fmoc/DCC/HOBt 0,25 mmol), por el cual se introdujeron Phe, Thr(Bu^t), Alb, Hyp(Bu^t) y D-Tyr(Bu^t) en este orden para dar de este modo la H-D-Tyr(Bu^t)-Hyp(Bu^t)-Alb-Thr(Bu^t)-Phe-Gly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. Posteriormente, la resina se trató durante 20 minutos en DMF con 94,4 µl (1 mmol) de Ac₂O y 174,2 µl (1 mmol) de DIEA por acetilación N-terminal para dar 1,173 g de la Ac-D-Tyr(Bu^t)-Hyp(Bu^t)-Asn(Trt)-Thr(Bu^t)-Phe-AzaGly-Leu-Arg (BOC₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. A la resina obtenida, se añadieron 7 ml de TFA/FsMe/m-cresol/H₂O/TIS/EDT (80/5/5/5/2,5/2,5), seguido por agitación durante 90 minutos. Se añadió éter dietílico a la solución de reacción, el precipitado resultante se centrifugó, y se extrajo el sobrenadante. Este procedimiento se repitió dos veces para el lavado. El residuo se extrajo con una solución de ácido acético acuoso y la resina se extrajo por filtración. A partir de este momento, se realizó la elución con gradiente de densidad lineal (60 minutos) a una caudal de 8 ml/min con eluyentes A/B: 74/26-64/36 por medio de: eluyente A: 0,1% de TFA en agua y eluyente B: 0,1% de acetonitrilo que contiene TFA en HPLC preparativa por medio de Daisopak-SP 100-5-ODS-P (20 x 250 mm). Se recolectaron las fracciones que contienen el producto y se liofilizaron. Los polvos blancos obtenidos, 94,8 mg, se disolvieron en 20 ml de agua y se añadieron 320 µl de resina de intercambio iónico BioRAD AG1 x 8 forma AcO- a la solución. La solución se filtró a través de un filtro de membrana para extraer la resina y se liofilizó para dar 79,4 mg de polvos blancos como acetato.

25 Espectro de masa (M+H)⁺ 1240,4 (Calculado 1240,6)

Análisis para aminoácidos (20% de HCl que contiene 4% de ácido tioglicólico a 110°C, hidrólisis durante 24 horas; las cifras entre paréntesis muestran los valores teóricos.): Thr 1,02 (1); Leu 0,99 (1); Tyr 1,00 (1); Phe 1,00 (1)

Tiempo de elución en HPLC: 12,3 min.

30 Condiciones de elución:

Columna: YMC ODS AM-301 (4,6 x 100 mm)

Elución con gradiente de densidad lineal con eluyentes A/B =80/20-30/70, por medio de 0,1% de TFA en agua como eluyente A y acetonitrilo que contiene 0,1% TFA como eluyente B (25 min.)

Caudal: 1,0 ml/min.

35 (Ejemplo 16)

(Síntesis F): Producción de des(1-5)-4-[bis-(2-piridilmetil)aminometil]benzoil-[AzaGly⁷,Arg(Me)⁹,Trp¹⁰] MS10 (Compuesto No. 801)

40 En un reactor, se pesaron 265 mg (0,1 mmol) de la Fmoc-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA (0,378 mmol/g) y se lavaron y embebieron en DMF. La resina posteriormente se trató con 5 ml de solución de 20% de piperidina/DMF durante 20 minutos para desprotección Fmoc. La resina se trató con 155,0 mg (0,4 mmol) de Fmoc-Phe-OH, 63,6 ml (0,4 mmol) de DEPCDI y 0,8 ml (0,4 mmol) de HOAt/DMF 0,5 M a temperatura ambiente durante 90 minutos para introducir Phe. Posteriormente, se realizaron la desprotección Fmoc a través del tratamiento en 5 ml de solución de 20% de piperidina/DMF durante 20 minutos y la condensación por el procedimiento de DIPCDI/HOAt como en la introducción de Phe, por el cual se introdujeron Ambz(4) para dar la Fmoc-Ambz(4)-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp(Boc)-resina Rink amida MBHA. Después de la desprotección Fmoc, la resina resultante se trató durante 10 minutos en DMF con 11,4 µl (0,12 mmol) de 2-piridincarboxialdehído en presencia de 50 µl de AcOH, se añadieron 41,1 mg (0,4 mmol) de NaBH₃CN a esta y la mezcla se agitó durante una hora. Después de lavar en DMF, el mismo procedimiento se repitió otra vez. La resina obtenida se lavó en DMF y MeOH y se secó para dar 281,4 mg de la 4-[Bis-(2-Piridilmetil)aminometil]benzoil-Phe-AzaGly-Leu-Arg(Boc₂,Me)-Trp (Boc)-resina Rink amida MBHA.

A la resina obtenida, se añadieron 2 ml de TFA/FsMe/m-cresol/H₂O/TIS/EDT (80/5/5/5/2,5/2,5), seguido por

5 agitación durante 90 minutos. Se añadió éter dietílico a la solución de reacción, el precipitado resultante se centrifugó, y se extrajo el sobrenadante. Este procedimiento se repitió dos veces para el lavado. El residuo se extrajo con una solución de ácido acético acuoso y la resina se extrajo por filtración. Posteriormente, se realizó la elución con gradiente de densidad lineal (60 minutos) a una caudal de 15 ml/min con eluyentes AB: 76/24-66/34 por medio de: eluyente A: 0,1% de TFA en agua y eluyente B: 0,1% de acetonitrilo que contiene TFA en HPLC preparativa por medio de YMC Pack R&D-ODS-5-B S-5, columna 120A (30 x 250 mm). Se recolectaron las fracciones que contienen el producto y se liofilizaron. Los polvos blancos obtenidos, 17,3 mg, se disolvieron en 20 ml de AcCN-agua (9: 1) y se añadieron 210 ml de resina de intercambio iónico BioRAD AG1 x 8 AcO⁻ a la solución. Mientras se agita manualmente la solución de reacción algunas veces, la solución se filtró a través de un filtro de membrana para extraer la resina y se liofilizó para dar 10,8 mg de polvos blancos como acetato.

10 Espectro de masa (M+H)⁺ 1007,3 (Calculado 1007,5)

Tiempo de elución en HPLC: 10,7 min

Condiciones de elución:

Columna: YMC ODS AM-301 (4,6 x 100 mm)

15 Elución con gradiente de densidad lineal con eluyentes A/B =80/20-30/70, por medio de 0,1% de TFA en agua como eluyente A y acetonitrilo que contiene 0,1 % TFA como eluyente B (25 min.)

Caudal: 1,0 ml/min.

20 Las estructuras de los compuestos sintetizados en los EJEMPLOS 1 a 16 o compuestos sintetizados por procedimientos de síntesis similares a los EJEMPLOS 1 a 6 y las propiedades fisicoquímicas de estos compuestos se muestran en la siguiente TABLA 1A.

La descripción de la columna "Procedimiento de síntesis" de la Tabla representa que el compuesto se puede sintetizar o se sintetizó por o de acuerdo con el procedimiento de síntesis descrito en la presente.

Más específicamente, "A" en la columna "Procedimiento de síntesis" del Compuesto número 708 representa que el compuesto se sintetizó por el procedimiento de síntesis A que se describe en el EJEMPLO 1.

25 "B" en la columna "Procedimiento de síntesis" de Compuesto número 709 representa que el compuesto se sintetizó por el procedimiento de síntesis B que se describe en el EJEMPLO 3

"C" en la columna "Procedimiento de síntesis" de Compuesto número 713 representa que el compuesto se sintetizó por el procedimiento de síntesis C que se describe en el EJEMPLO 4.

30 "D" en la columna "Procedimiento de síntesis" de Compuesto número 714 representa que el compuesto se sintetizó por el procedimiento de síntesis D que se describe en el EJEMPLO 5.

"E" en la columna "Procedimiento de síntesis" de Compuesto número 717 representa que el compuesto se sintetizó por el procedimiento de síntesis E que se describe en el EJEMPLO 6.

Cada descripción en la columna "Procedimiento de síntesis" de cada compuesto descrito en los EJEMPLOS 7 a 16 representa que el compuesto se puede sintetizar de acuerdo con cada procedimiento de síntesis descrito en esta.

35 Cada descripción en la columna "Procedimiento de síntesis" de cada compuesto que no se describe en los EJEMPLOS 1 a 16 representa que el compuesto se sintetizó de acuerdo con cada procedimiento de síntesis descrito en este.

La descripción de la columna "Condición de HPLC" en la Tabla representa que cada compuesto se eluyó por cada condición de HPLC de "a", "b" o "c" descrita en la presente.

40 En las siguientes Tablas, las entradas marcadas con un "*" son ejemplos comparativos

[TABLA 1A]

Compuesto número	Estructura	M+H ⁺ (obs.)	M+H ⁺ (calc)	HPLC (min.)	Condición de HPLC	Procedimiento de síntesis
708 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.D-Trp3.Thr5.AzaGly7.D-Arg9,Trp10]MS10	1284,9	1284,6	13,3	a	A

ES 2 375 038 T3

(continuación)

Compuesto número	Estructura	M+H+ (obs.)	M+H+ (calc)	HPLC (min.)	Condición de HPLC	Procedimiento de síntesis
709 *	des(1-3)-Ac-[Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	949,8	949,5	10,2	a	B
710 *	des(1-3)-Decanoil-[Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1061,9	1061,6	19,4	a	B
712 *	des ₍₁₋₂₎ -[Acp3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1020,7	1020,6	9,2	a	C
713 *	des ₍₁₋₂₎ -Ac-[Acp3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1062,7	1062,6	10,7	a	C
714 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.D-Trp3.Asp(NHPen)4.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1368,9	1368,7	20,9	b	D
715 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.D-Trp3.Asp(NHcPr)4.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1339,1	1338,7	18,4	b	D
716 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.D-Trp3.Asp(NHBzl)4.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1389,0	1388,7	20,2	b	D
717 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.D-Trp3.Alb4.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1313,9	1313,7	18,3	b	E
718 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.D-Pya(4)3.Alb4.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1275,9	1275,6	14,5	b	E
719 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.D-Trp3.D-Pro5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1294,8	1294,6	18,4	b	E
720	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Aze(2)3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1195,8	1195,6	11,7	a	E
721	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Pic(2)3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1223,8	1223,6	12,5	a	E
722 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Pic(3)3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1223,8	1223,6	11,7	a	E
723	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1225,9	1225,6	11,4	a	E
724 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Thz3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1227,8	1227,6	12,6	a	E
725 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.NMeAla3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1197,8	1 197,6	12,0	a	E

ES 2 375 038 T3

(continuación)

Compuesto número	Estructura	M+H+ (obs.)	M+H+ (calc)	HPLC (min.)	Condición de HPLC	Procedimiento de síntesis
726	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Gly3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1169,7	1169,6	11,3	a	E
727	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Aib3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1197,7	1197,6	13,0	a	E
728 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Abz(2)3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1231,6	1231,7	13,1	a	E
730 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Aze(3)3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1195,8	1 195,6	11,0	a	E
731 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Sar3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]M10	1183,8	1 183,6	11,5	a	E
732	des(1)-Ac-[D-Tyr2.D-NMeAla3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1197,8	1197,6	12,9	a	E
734	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Izc3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1210,7	1210,6	10,5	a	E
735 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.D-Asp3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1227,9	1227,6	11,4	a	E
736 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.D-Dap3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1198,9	1198,6	10,1	a	E
737 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.D-Ser3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1199,8	1199,6	11,0	a	E
738	des(1)-Ac-[D-Tyr2.D-Gln3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1240,9	1240,9	10,9	a	E
739	des(1)-Ac-[D-Tyr2.D-His3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1249,4	12494	10,2	a	E
740 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.D-Trp3.Dab4.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1284,5	1284,7	16,2	b	E
742	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Ala3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1183,8	1183,6	11,8	a	E
743 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Leu3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1226,0	1225,6	13,6	a	E

(continuación)

Compuesto número	Estructura	M+H+ (obs.)	M+H+ (calc)	HPLC (min.)	Condición de HPLC	Procedimiento de síntesis
744	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Ser3,Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1199,8	1 199,3	11,3	a	E
745	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Lys3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1241,0	1240,7	10,3	a	E
746	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Glu3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1241,8	1241,4	11,4	a	E
747 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.[3-Ala3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1183,8	1183,3	11,0	a	E
748 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.D-Trp3.Thr5.Phe(4Cl)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1333,0	1332,6	15,2	a	E
749 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.D-Trp3.Thr5.Phe(2F)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1316,9	1316,6	14,2	a	E
750	des(1)-Ac-[D-Tyr2.D-Trp3.Thr5.Phe(3F)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1316,9	1316,6	14,4	a	E
754 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Lys3.Thr5.Phe(2F)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1258,8	1258,6	10,6	a	E
755	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Glu3.Thr5.Phe(2F)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1259,8	1259,6	11,7	a	E
756 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Lys3.Thr5.Phe(3F)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1258,8	1258,6	10,8	a	E
757	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Glu3.Thr5.Phe(3F)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1259,9	1259,6	11,9	a	E
758	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Lys3.Thr5.Phe(4Cl)6.AzaGly7,Arg(Me)9,Trp10]MS10	1274,8	1274,6	11,6	a	E
759	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Gly3.Thr5.Phe(4Cl)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1275,8	1275,6	12,8	a	E
760 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Pzc(2)3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1224,8	1224,6	10,2	a	E
763	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.Thr5.Phe(2F)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1243,8	1243,6	11,5	a	E

(continuación)

Compuesto número	Estructura	M+H+ (obs.)	M+H+ (calc)	HPLC (min.)	Condición de HPLC	Procedimiento de síntesis
764 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Trp3.Thr5.Phe(2F)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1316,9	1316,6	14,6	a	E
765	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.Thr5.Phe(3F)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1243,6	1243,6	12,0	a	E
766 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Trp3.Thr5.Phe(3F)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1316,4	1316,6	14,8	a	E
767	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.Thr5.Phe(4Cl)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1259,7	1259,6	12,9	a	E
768 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Trp3.Thr5.Phe(4Cl)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1332,4	1332,6	15,6	a	E
769 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Gly3.Thr5.Phe(4Cl)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1203,5	1203,5	13,0	a	E
770 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Aib3.Thr5.Phe(4Cl)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1261,4	1231,6	14,7	a	E
771 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Orn3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1226,3	1226,4	14,2	b	E
772 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Thr3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1213,4	1213,6	15,6	b	E
773	des(1)-Ac-[D-Tyr2.His(3Me)3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1263,3	1263,6	14,4	b	E
774 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.DL-Ala(Pip)3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1266,3	1266,7	14,5	b	E
775	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Tyr(PO3H2)3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1254,8	1254,6	15,7	b	E
776	des(1)-Glycoloil-[D-Tyr2.Hyp3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1241,3	1241,6	15,3	b	E
777 *	des ₍₁₋₂₎ -Ac-[D-Tyr3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1112,6	1112,3	15,4	b	E
780 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Pro(4NH ₂)3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1224,7	1224,6	10,3	a	E

ES 2 375 038 T3

(continuación)

Compuesto número	Estructura	M+H+ (obs.)	M+H+ (calc)	HPLC (min.)	Condición de HPLC	Procedimiento de síntesis
781 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp(Bzl)3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1315,8	1315,7	15,7	a	E
782 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.D-NMeFe3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1273,8	1273,6	15,4	a	E
783 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Gly3.Thr5.Phe(2F)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1187,8	1187,6	11,7	a	E
784 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Aib3.Thr5.Phe(2F)6.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1215,8	1215,6	13,4	a	E
785 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Gly3.Thr5.Phe(3F)6.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1187,7	1187,6	11,9	a	E
786 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Aib3.Thr5.Phe(3F)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1215,8	1215,6	13,5	a	E
787	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.Thr5.Phe(4F)6.AzaGly7.Arg(Me)9,Trp10]MS10	1243,6	1243,6	12,0	a	E
788	des(3)-Ac-[D-Tyr2.Glu3.Thr5.Phe(4F)6.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1259,5	1259,6	11,9	a	E
789 *	des(i)-Ac-[D-Tyr2.Lys3.Thr5.Phe(4F)6.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10] MS10	1258,6	1258,6	10,8	a	E
790 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Gly3.Thr5.Phe(4F)6.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1187,4	1187,6	11,9	a	E
791 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Aib3.Thr5.Phe(4F)6.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1215,2	1215,6	13,6	a	E
794 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.Thr5.D-Fe6.AzaGly7.ArR(Me)9.Trp10]MS10	1225,5	1225,6	11,8	a	E
797	des(1)-Ac-D-Tyr2.Hyp3.Thr5.AzaGly7.Trp10]MS10	1211,1	1211,6	11,4	a	A
800 *	des(1)-Ac-D-Tyr2.Hyp3.Alb4.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1240,4	1240,6	12,3	a	E
801 *	des(1-5)-4-[Bis-(2-Piridimetil)aminometil]benzoil-[AzaGly7.Ar(Me)9.Trp10]MS10	1007,3	1007,5	10,7	a	F .

ES 2 375 038 T3

(continuación)

Compuesto número	Estructura	M+H+ (obs.)	M+H+ (calc)	HPLC (min.)	Condición de HPLC	Procedimiento de síntesis
809 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.NMeSer5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1225,6	1225,6	10,3	c	E
810 *	des(1)-Ac-D-Tyr2.Hyp3.Hyp5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1237,6	1237,6	10,5	c	E
813 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.Gly5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1181,5	1181,6	10,1	c	E
814	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.Ala5.AzaGly7.ArR(Me)9.Trp10]MS10	1195,4	1195,6	11,0	c	E
815 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.D-Ala5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1195,6	1195,6	10,8	c	E
816 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.His4.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1248,6	1248,6	9,7	c	E
843 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.Gln4.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1239,8	1239,6	10,4	c	E
844 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.D-Asn4.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1225,6	1225,6	10,2	c	E
845 *	des(1)-Ac-[D-Tyr.Hyp3.Cit4.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1269,0	1268,7	10,3	c	E
846 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.D-Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1226,1	1225,6	10,3	c	E
856	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.Thr5.AzaGly7.Ala(cPr)8.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1223,9	1223,6	10,9	a	E
860 *	des(1-5)-4-Ureidobenzoil-[AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	854,7	854,4	17,7	b	F
861 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.Arg4.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1268,1	1267,7	10,5	c	E
862 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.Gly4.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1168,9	1168,6	11,2	c	E
863 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.Dap4.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1198,2	1197,6	9,9	c	E
864 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.Dab4.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1212,3	1211,6	9,9	c	E

(continuación)

Compuesto número	Estructura	M+H+ (obs.)	M+H+ (calc)	HPLC (min.)	Condición de HPLC	Procedimiento de síntesis
868 *	des(1)-Ac-D-Tyr2.Hyp3.Thr5.aMeFe6.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1240,0	1239,6	13,4	a	E
870	des(1)-Ac-D-Tyr2.Hyp3.Thr5.Phe(2Me)6.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10MS10	1239,7	1239,6	12,5	a	E
872	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.Thr5.Phe(3Me)6.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1239,6	1239,6	12,7	a	E
874	des(1)-Ac-D-Tyr2.Hyp3.Thr5.Phe(4Me)6.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1239,6	1239,6	12,5	a	E
877	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.Thr5.threo-Ser(3Fenil)6.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1241,1	1241,6	10,5	a	E
882	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.Thr5.erythro-Ser(3Fenil)6.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1241,6	1241,6	10,9	a	E
886 *	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Hyp3.Nva4.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1210,8	1210,6	14,0	a	E
887 *	des _(1,2) -Ac-[Hyp3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1062,7	1062,5	10,2	a	B
888	des _(1,2) -3-(p-Hidroxifenil)propionil-[Hyp3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1168,7	1168,6	12,2	a	B
889 *	des _(1,2) -[pGlu3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1018,5	1018,5	10,3	a	B
896	des(1)-Ac-[D-Tyr2.cisHyp3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1225,6	1225,4	12,4	a	E
897	des(1)-Ac-[D-Tyr2.Pro(4F)3.Thr5.AzaGly7Arg(Me)9.Trp10]MS10	1227,4	1227,6	12,9	a	E
899*	des(1)-Ac-[Tyr2.Hyp3.Thr5.AzaGly7.Arg(Me)9.Trp10]MS10	1225,7	1225,4	17,0	b	E
	a:20-70% AcCN/25 min, flujo 1 ml/min, YMC ODS AM-301 (4,6 x 100 mm)					

(continuación)

Compuesto número	Estructura	M+H+ (obs.)	M+H+ (calc)	HPLC (min.)	Condición de HPLC	Procedimiento de síntesis
	b:0-50% AcCN/25 min flujo 1ml/min. Wakosil-II 5C18 HG (4,6 x 100mm)					
	c:20-70% AcCN/25 min flujo 1 ml/min SHISEIDO CAPCELL PAK C18 MGII(4,6 x 100mm)					

Las estructuras de los compuestos de la TABLA 1A anterior se muestran en la TABLA 1B.

[TABLA 1B]

Compuesto No	Estructura
708*	The chemical structure of compound 708* is a long-chain peptide with a terminal primary amide group. It features several side chains: a 4-hydroxyphenyl group, a tryptophan residue, a hydroxymethyl group, a benzyl group, an isobutyl group, and a tryptophan residue. A guanidinoethyl group is attached to the side chain of the second tryptophan residue.
709*	The chemical structure of compound 709* is a long-chain peptide with a terminal primary amide group. It features several side chains: a tryptophan residue, a hydroxymethyl group, a benzyl group, an isobutyl group, and a tryptophan residue. A guanidinoethyl group is attached to the side chain of the second tryptophan residue.
710*	The chemical structure of compound 710* is a long-chain peptide with a terminal primary amide group. It features several side chains: a long-chain alkyl group, a hydroxymethyl group, a benzyl group, an isobutyl group, and a tryptophan residue. A guanidinoethyl group is attached to the side chain of the second tryptophan residue.

(continuación)

Compuesto No	Estructura
712*	<p>The structure of compound 712* is a long-chain peptide derivative. It features a terminal primary amine group (H₂N) on the left. The backbone consists of several amide bonds. Key side chains include a hydroxyl group (OH), a phenyl ring, a hydroxyethyl group, a tert-butyl group, and a tryptophan residue (indole ring). A terminal secondary amine group (NH) is attached to the right end of the chain.</p>
713*	<p>The structure of compound 713* is similar to 712* but lacks the terminal primary amine group. It features a terminal carbonyl group (C=O) on the left. The backbone and side chains are identical to those of compound 712*.</p>
714*	<p>The structure of compound 714* is a long-chain peptide derivative. It features a terminal secondary amine group (NH) on the left. The backbone consists of several amide bonds. Key side chains include a hydroxyl group (OH), a phenyl ring, a hydroxyethyl group, a tert-butyl group, and a tryptophan residue (indole ring). A terminal primary amine group (NH₂) is attached to the right end of the chain.</p>
715*	<p>The structure of compound 715* is similar to 714* but features a cyclopropylmethyl group instead of a hydroxyl group on the left side chain. The backbone and other side chains are identical to those of compound 714*.</p>
716*	<p>The structure of compound 716* is similar to 714* but features a tryptophan residue (indole ring) instead of a hydroxyl group on the left side chain. The backbone and other side chains are identical to those of compound 714*.</p>

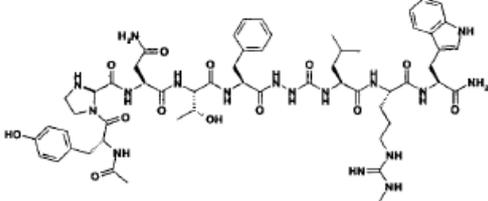
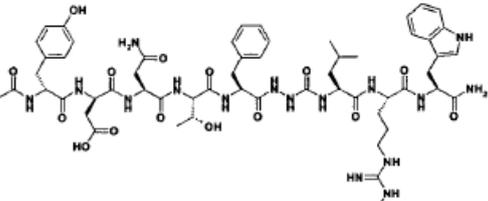
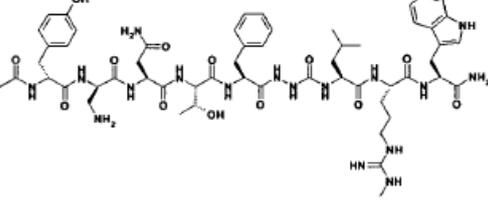
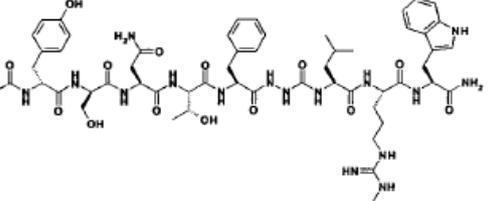
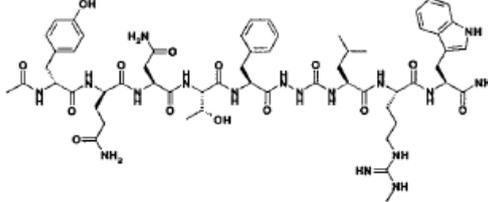
(continuación)

Compuesto No	Estructura
722*	<p>The structure of compound 722* is a long-chain peptide derivative. It features a piperidine ring at the N-terminus, followed by a sequence of amino acid residues including a hydroxyphenyl group, a hydroxyl group, a benzyl group, and a tryptophan residue. The C-terminus is a primary amide. A guanidino group is attached to the side chain of the tryptophan residue.</p>
723	<p>The structure of compound 723 is similar to 722* but with a different N-terminal group, specifically a hydroxyphenyl group attached to a piperidine ring. The rest of the peptide backbone and side chains are identical to those of 722*.</p>
724*	<p>The structure of compound 724* is similar to 722* but with a different N-terminal group, specifically a hydroxyphenyl group attached to a piperidine ring. The rest of the peptide backbone and side chains are identical to those of 722*.</p>
725*	<p>The structure of compound 725* is similar to 722* but with a different N-terminal group, specifically a hydroxyphenyl group attached to a piperidine ring. The rest of the peptide backbone and side chains are identical to those of 722*.</p>
726	<p>The structure of compound 726 is similar to 722* but with a different N-terminal group, specifically a hydroxyphenyl group attached to a piperidine ring. The rest of the peptide backbone and side chains are identical to those of 722*.</p>

(continuación)

Compuesto No	Estructura
727	
728*	
730*	
731*	
732	

(continuación)

Compuesto No	Estructura
734	
735*	
736*	
737*	
738	

(continuación)

Compuesto No	Estructura
739	
740*	
742	
743*	
744	

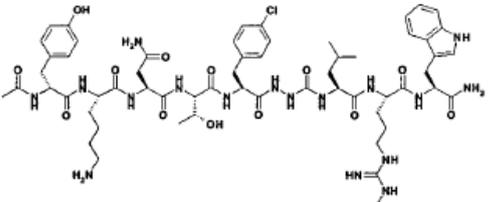
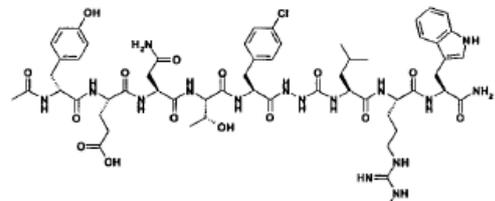
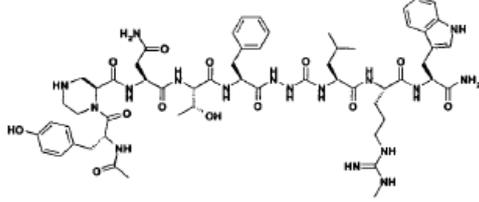
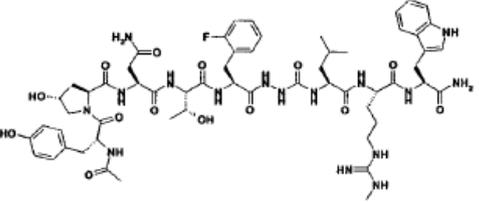
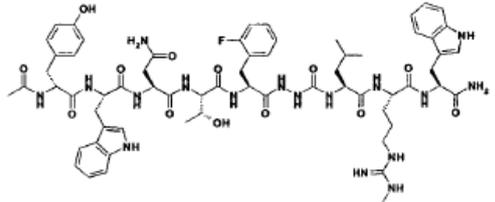
(continuación)

Compuesto No	Estructura
745	
746	
747*	
748*	
749*	

(continuación)

Compuesto No	Estructura
750	
754*	
755	
756	
757	

(continuación)

Compuesto No	Estructura
758	
759	
760*	
763	
764*	

(continuación)

Compuesto No	Estructura
765	
766*	
767	
768*	
769*	

(continuación)

Compuesto No	Estructura
770*	<p>The structure of compound 770* is a complex peptide derivative. It features a central backbone with several side chains: a 4-hydroxyphenyl group, a 4-chlorophenyl group, a 2-hydroxyphenyl group, and an indol-3-ylmethyl group. The backbone is terminated with a primary amide group (NH₂) and a guanidino group (HN=C(NH)NH₂).</p>
771*	<p>The structure of compound 771* is similar to 770* but lacks the 4-chlorophenyl side chain. It contains a 4-hydroxyphenyl group, a 2-hydroxyphenyl group, and an indol-3-ylmethyl group. The backbone is terminated with a primary amide group (NH₂) and a guanidino group (HN=C(NH)NH₂).</p>
772*	<p>The structure of compound 772* is similar to 770* but lacks the 4-hydroxyphenyl side chain. It contains a 4-chlorophenyl group, a 2-hydroxyphenyl group, and an indol-3-ylmethyl group. The backbone is terminated with a primary amide group (NH₂) and a guanidino group (HN=C(NH)NH₂).</p>
773	<p>The structure of compound 773 is similar to 770* but lacks the 4-hydroxyphenyl side chain and includes a 1-methyl-1H-imidazol-2-ylmethyl group. It contains a 4-chlorophenyl group, a 2-hydroxyphenyl group, and an indol-3-ylmethyl group. The backbone is terminated with a primary amide group (NH₂) and a guanidino group (HN=C(NH)NH₂).</p>
774*	<p>The structure of compound 774* is similar to 770* but lacks the 4-hydroxyphenyl side chain and includes a 1H-imidazol-2-ylmethyl group. It contains a 4-chlorophenyl group, a 2-hydroxyphenyl group, and an indol-3-ylmethyl group. The backbone is terminated with a primary amide group (NH₂) and a guanidino group (HN=C(NH)NH₂).</p>

(continuación)

Compuesto No	Estructura
782*	<p>The chemical structure of compound 782* is a long-chain peptide derivative. It features a backbone of amide bonds with various side chains. From left to right, the side chains include: a 4-hydroxyphenyl group, a benzyl group, a 2-hydroxyethyl group, a 4-fluorophenyl group, an isobutyl group, a 2-aminopropyl group, and a 2-aminopropyl group. The chain terminates in a primary amide group (-NH₂) and a cyclic guanidino-like structure.</p>
783*	<p>The chemical structure of compound 783* is a long-chain peptide derivative. It features a backbone of amide bonds with various side chains. From left to right, the side chains include: a 4-hydroxyphenyl group, a benzyl group, a 2-hydroxyethyl group, a 4-fluorophenyl group, an isobutyl group, a 2-aminopropyl group, and a 2-aminopropyl group. The chain terminates in a primary amide group (-NH₂) and a cyclic guanidino-like structure.</p>
784*	<p>The chemical structure of compound 784* is a long-chain peptide derivative. It features a backbone of amide bonds with various side chains. From left to right, the side chains include: a 4-hydroxyphenyl group, a benzyl group, a 2-hydroxyethyl group, a 4-fluorophenyl group, an isobutyl group, a 2-aminopropyl group, and a 2-aminopropyl group. The chain terminates in a primary amide group (-NH₂) and a cyclic guanidino-like structure.</p>
785*	<p>The chemical structure of compound 785* is a long-chain peptide derivative. It features a backbone of amide bonds with various side chains. From left to right, the side chains include: a 4-hydroxyphenyl group, a benzyl group, a 2-hydroxyethyl group, a 4-fluorophenyl group, an isobutyl group, a 2-aminopropyl group, and a 2-aminopropyl group. The chain terminates in a primary amide group (-NH₂) and a cyclic guanidino-like structure.</p>
786*	<p>The chemical structure of compound 786* is a long-chain peptide derivative. It features a backbone of amide bonds with various side chains. From left to right, the side chains include: a 4-hydroxyphenyl group, a benzyl group, a 2-hydroxyethyl group, a 4-fluorophenyl group, an isobutyl group, a 2-aminopropyl group, and a 2-aminopropyl group. The chain terminates in a primary amide group (-NH₂) and a cyclic guanidino-like structure.</p>

(continuación)

Compuesto No	Estructura
787	
788	
789*	
790*	
791*	

(continuación)

Compuesto No.	Estructura
810*	<p>The structure of compound 810* is a complex polypeptide chain. It features a central backbone with several side chains, including a 4-hydroxyphenyl group, a 3-hydroxyphenyl group, a benzyl group, a 1H-indol-3-ylmethyl group, and a 2-amino-3-hydroxybutyl group. The chain is terminated with an amino group (NH₂) and a carboxyl group (COOH).</p>
813*	<p>The structure of compound 813* is a complex polypeptide chain, similar to 810*. It features a central backbone with side chains including a 4-hydroxyphenyl group, a 3-hydroxyphenyl group, a benzyl group, a 1H-indol-3-ylmethyl group, and a 2-amino-3-hydroxybutyl group. The chain is terminated with an amino group (NH₂) and a carboxyl group (COOH).</p>
814	<p>The structure of compound 814 is a complex polypeptide chain, similar to 810*. It features a central backbone with side chains including a 4-hydroxyphenyl group, a 3-hydroxyphenyl group, a benzyl group, a 1H-indol-3-ylmethyl group, and a 2-amino-3-hydroxybutyl group. The chain is terminated with an amino group (NH₂) and a carboxyl group (COOH).</p>
815*	<p>The structure of compound 815* is a complex polypeptide chain, similar to 810*. It features a central backbone with side chains including a 4-hydroxyphenyl group, a 3-hydroxyphenyl group, a benzyl group, a 1H-indol-3-ylmethyl group, and a 2-amino-3-hydroxybutyl group. The chain is terminated with an amino group (NH₂) and a carboxyl group (COOH).</p>
816*	<p>The structure of compound 816* is a complex polypeptide chain, similar to 810*. It features a central backbone with side chains including a 4-hydroxyphenyl group, a 3-hydroxyphenyl group, a benzyl group, a 1H-indol-3-ylmethyl group, and a 2-amino-3-hydroxybutyl group. The chain is terminated with an amino group (NH₂) and a carboxyl group (COOH).</p>

(continuación)

Compuesto No	Estructura
843*	<p>The structure of compound 843* is a long-chain peptide derivative. It features a hydroxytryptophan residue at the N-terminus, followed by a hydroxyphenylalanine residue. The chain continues with a hydroxyisoleucine residue, a hydroxyvaline residue, a hydroxyphenylalanine residue, a hydroxyisoleucine residue, a hydroxyvaline residue, a hydroxyisoleucine residue, a hydroxyvaline residue, a hydroxyisoleucine residue, and a hydroxytryptophan residue at the C-terminus. A guanidinoethyl side chain is attached to the C-terminal residue.</p>
844*	<p>The structure of compound 844* is identical to 843*, but the hydroxytryptophan residue at the C-terminus is in its zwitterionic form, with a protonated amino group (NH₃⁺) and a deprotonated carboxylate group (COO⁻).</p>
845*	<p>The structure of compound 845* is identical to 843*, but the hydroxytryptophan residue at the C-terminus is in its neutral form, with a primary amino group (NH₂) and a carboxylate group (COO⁻).</p>
846*	<p>The structure of compound 846* is identical to 843*, but the hydroxytryptophan residue at the C-terminus is in its zwitterionic form, with a protonated amino group (NH₃⁺) and a deprotonated carboxylate group (COO⁻).</p>
856	<p>The structure of compound 856 is a long-chain peptide derivative, similar to the others but with a cyclopropylmethyl side chain instead of a guanidinoethyl side chain on the C-terminal residue.</p>

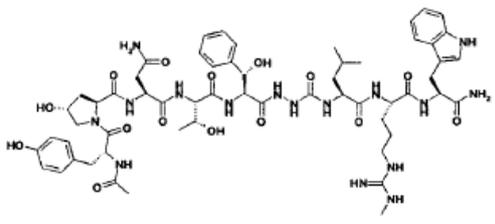
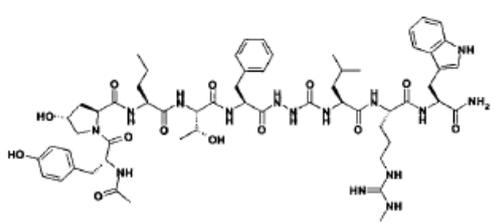
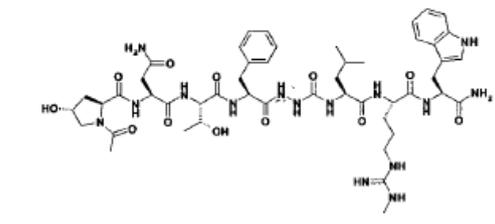
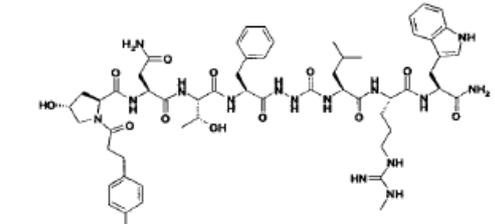
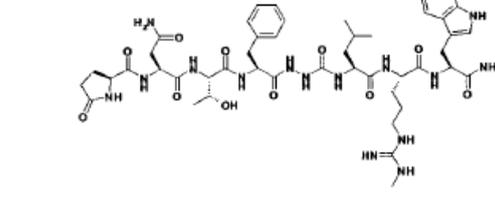
(continuación)

Compuesto No	Estructura
860*	<p>The structure of compound 860* is a long-chain peptide derivative. It features a terminal primary amide group (H₂N-CO-) on the left. The backbone consists of several amino acid residues, including a phenylalanine derivative, a proline ring, and a tryptophan derivative. A side chain containing a guanidino group (-NH-C(=NH)-NH₂) is attached to one of the residues. The C-terminus is a primary amide (-CONH₂).</p>
861*	<p>The structure of compound 861* is similar to 860* but includes a hydroxyl group (-OH) on the proline ring and a hydroxyl group on the phenylalanine side chain. It also features the guanidino side chain and the terminal primary amide group.</p>
862*	<p>The structure of compound 862* is similar to 861* but lacks the hydroxyl group on the phenylalanine side chain. It retains the hydroxyl group on the proline ring, the guanidino side chain, and the terminal primary amide group.</p>
863*	<p>The structure of compound 863* is similar to 861* but lacks the hydroxyl group on the proline ring. It features the hydroxyl group on the phenylalanine side chain, the guanidino side chain, and the terminal primary amide group.</p>
864*	<p>The structure of compound 864* is similar to 861* but lacks the hydroxyl group on the phenylalanine side chain. It retains the hydroxyl group on the proline ring, the guanidino side chain, and the terminal primary amide group.</p>

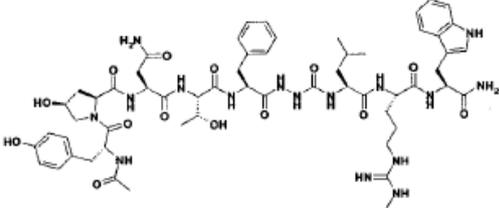
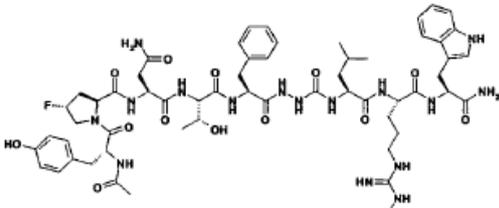
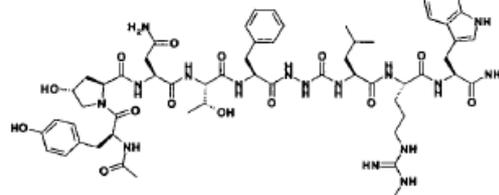
(continuación)

Compuesto No.	Estructura
868*	The chemical structure of compound 868* is a long, complex peptide chain. It features a central backbone of amide bonds. On the left side, there is a hydroxyl group and a side chain containing a hydroxyl group and a methyl group. On the right side, there is a side chain with a hydroxyl group and a methyl group, and another side chain with a hydroxyl group and a methyl group. The chain ends with a primary amide group. The structure is highly branched and contains several functional groups, including hydroxyl, amide, and methyl groups.
870	The chemical structure of compound 870 is a long, complex peptide chain, similar to 868*. It features a central backbone of amide bonds. On the left side, there is a hydroxyl group and a side chain containing a hydroxyl group and a methyl group. On the right side, there is a side chain with a hydroxyl group and a methyl group, and another side chain with a hydroxyl group and a methyl group. The chain ends with a primary amide group. The structure is highly branched and contains several functional groups, including hydroxyl, amide, and methyl groups.
872	The chemical structure of compound 872 is a long, complex peptide chain, similar to 868*. It features a central backbone of amide bonds. On the left side, there is a hydroxyl group and a side chain containing a hydroxyl group and a methyl group. On the right side, there is a side chain with a hydroxyl group and a methyl group, and another side chain with a hydroxyl group and a methyl group. The chain ends with a primary amide group. The structure is highly branched and contains several functional groups, including hydroxyl, amide, and methyl groups.
874	The chemical structure of compound 874 is a long, complex peptide chain, similar to 868*. It features a central backbone of amide bonds. On the left side, there is a hydroxyl group and a side chain containing a hydroxyl group and a methyl group. On the right side, there is a side chain with a hydroxyl group and a methyl group, and another side chain with a hydroxyl group and a methyl group. The chain ends with a primary amide group. The structure is highly branched and contains several functional groups, including hydroxyl, amide, and methyl groups.
877	The chemical structure of compound 877 is a long, complex peptide chain, similar to 868*. It features a central backbone of amide bonds. On the left side, there is a hydroxyl group and a side chain containing a hydroxyl group and a methyl group. On the right side, there is a side chain with a hydroxyl group and a methyl group, and another side chain with a hydroxyl group and a methyl group. The chain ends with a primary amide group. The structure is highly branched and contains several functional groups, including hydroxyl, amide, and methyl groups.

(continuación)

Compuesto No	Estructura
882	
886*	
887*	
888	
889*	

(continuación)

Compuesto No	Estructura
896	
897	
899*	

5 Ejemplo de ensayo 1

Ensayo para determinar actividad de aumento del nivel del ion calcio intracelular mediante FLIPR40

De acuerdo con el método descrito en JPA 2000-312590, se midió la actividad de aumento del nivel de ion Ca intracelular por medio de FLIPR.

- La expresión estable de la línea celular hOT7T175 se obtuvo por la transfección del plásmido de expresión pAK-rOT175 para células animales en las células CHO/dhfr-, por medio del kit de transfección CellFect (Amersham Pharmacia Biotech, Inc.). Primero, se añadieron 240 ml de Buffer A (adjunto en el kit de transfección CellFect) a 9,6 µg del ADN del plásmido disuelto en 240 µl de agua destilada seguido por agitación. Después de que la mezcla decantó durante 10 minutos, se añadieron 480 µl de Buffer B (adjunto en el kit de transfección CellFect) a la mezcla, que se agitó vigorosamente para formar liposomas que contienen el ADN. Posteriormente, se inocularon 4 x 10⁵ células CHO/dhfr- (obtenido de ATCC) en una placa de Petri de 60 mm. Después de cultivar las células en medio de Ham F-12 (Nissui Seiyaku Co., Ltd.) suplementado con 10% de suero bovino fetal (BIO WHITTAKER, Inc.) a 37°C durante 2 días en 5% de gas dióxido de carbono, se añadieron 480 ml de los liposomas gota a gota a las células en la placa de Petri. Después de cultivar las células a 37°C durante 6 horas en 5% de gas dióxido de carbono, las células se lavaron dos veces con medio de Ham F-12 libre de suero y se añadieron 3 ml de 15% de glicerol a las células en la placa de Petri seguido por el tratamiento durante 2 minutos. Las células nuevamente células se lavaron dos veces con medio de Ham F-12 libre de suero seguido por la incubación en medio de Ham F-12 suplementado con 10% de suero bovino fetal a 37°C durante 15 horas en 5% de gas dióxido de carbono. Las células se dispersaron por tratamiento con tripsina para recuperarlas de la placa de Petri. Las células recuperadas se inocularon en una placa de 6 pocillos en 1,25 x 10⁴ células/ pocillo y la incubación se inició a 37°C en medio Eagle mínimo modificado de Dulbecco (DMEM) (Nissui Seiyaku Co., Ltd.) que contiene 10% de suero bovino fetal dializado

(JRH BIOSCIENCES, Inc.) en 5% de gas dióxido de carbono. Los transformantes de CHO transfectados con el plásmido crecieron en el medio pero las células no transfectadas murieron gradualmente, por consiguiente el medio se cambió en los Días 1 y 2 después de la iniciación de la incubación para eliminar las células muertas. Se aislaron aproximadamente 20 colonias de los transformantes CHO que mantuvieron el crecimiento en los Días 8 a 10 después de la incubación. A partir de las células de estas colonias, se seleccionaron las células que muestran alta reactividad con el péptido ligando de la metastina (de aquí en adelante simplemente mencionado como hOT7T175/CHO) para proporcionar al siguiente experimento.

La actividad de aumento del nivel de ion Ca intracelular del péptido sintético en hOT7T175/CHO se determinó por medio de FLIPR (Molecular Devices, Inc.).

Las hOT7T175/CHO se subcultivaron en DMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal dializado (de aquí en adelante abreviado como dFBS) (de aquí en adelante mencionado como 10% dFBS/DMEM) y se proporcionó al experimento. Las hOT7T175/CHO se suspendieron en 10% de dFBS-DMEM en 15×10^4 células/ml. La suspensión se inoculó en una placa de 96 pocillos para FLIPR (Placa de parte inferior transparente negra, Coster, Inc.) a razón de 200 μ l/pocillo ($3,0 \times 10^4$ células/200 μ l/pocillo), seguido por la incubación a 37°C toda la noche en un incubador con 5% de CO₂ (de aquí en adelante mencionado como la placa de células). Posteriormente, se mezclaron 21 ml de HANKS/ HBSS (9,8 g de HANKS, 0,35 g de hidrógenocarbonato de sodio, 20 ml de HEPES 1 M; después de ajustar el pH a 7,4 con hidróxido de sodio 1 N, la mezcla se esterilizó por filtración), 210 μ l de 250 mM de Probenecid y 210 μ l de suero bovino fetal (FBS) (HANKS/HBSS-Probenecid-FBS).

Además, 2 viales de Fluo3-AM (50 μ g/vial) se disolvieron en 21 μ l de dimetilsulfóxido y 21 μ l de 20% de ácido plurónico. Se añadió la solución resultante y se mezcló con 10 ml de HANKS/HBSS-Probenecid-FBS descrito anteriormente. Después de extraer el medio de cultivo, la mezcla se dispensó en la placa de células a razón de 100 μ l cada una/pocillo, seguido por la incubación a 37°C durante una hora en un incubador de 5% de CO₂ (carga de pigmento). El péptido se disolvió en dimetilsulfóxido a 1×10^{-3} M. La solución de péptido se diluyó con HANKS/HBSS que contiene 2,5 mM de Probenecid, 0,2% de BSA y 0,1% de CHAPS. La dilución después se transfirió a una placa de 96 pocillos para FLIPR (placa con parte inferior en V, Coster, Inc.) (de aquí en adelante mencionado como placa de muestra). Después de completar la carga del pigmento en la placa de células, la placa de células se lavó 4 veces con buffer de lavado, que se preparó por la adición de 2,5 mM de Probenecid a HANKS/HBSS, usando un lavador de placa para dejar 100 μ l del buffer de lavado después del lavado. La placa de células y la placa de muestra se montaron en el FLIPR y 0,05 ml de una muestra de la placa de muestra se transfirió automáticamente a la placa de células con el dispositivo FLIPR para promover la respuesta celular. Se midió un cambio en el nivel del ion calcio intracelular durante 180 segundos con pasaje de tiempo. La actividad de aumento del nivel del ion calcio intracelular [actividad específica para Metastina (1-54)] se muestra en la TABLA 2.

[TABLA 2]

Compuesto No.	Actividad específica	Compuesto No.	Actividad específica	Compuesto No.	Actividad específica
708*	12,8	747	2,6	789	3,4
709*	9,8	748	0,4	790	2,3
710*	7,2	749	0,5	791	2,9
712*	8,9	750	1,0	794	2,3
713*	3,7	754	3,1	797	1,4
714*	0,7	755	3,5	800	0,8
715*	1,6	756	2,4	801	11,1
716*	3,6	757	2,7	809	1,0
717*	1,0	758	1,8	810	1,5
718*	2,6	759	1,9	813	0,5
719*	3,8	760	1,7	814	0,5
720	0,8	763	6,4	815	0,5
721	1,1	764	1,5	816	1,1

(continuación)

Compuesto No.	Actividad específica	Compuesto No.	Actividad específica	Compuesto No.	Actividad específica
722*	2,2	765	2,6	843	0,8
723	2,0	766	0,2	844	0,9
724*	1,4	767	1,5	845	1,0
725*	2,7	768	0,6	846	0,9
726	3,1	769	1,5	856	0,6
727	1,5	770	2,6	860	1,3
728*	3,2	771	1,9	861	1,4
730*	4,1	772	1,3	862	0,7
731*	8,8	773	1,1	863	0,9
732	3,2	774	2,0	864	1,0
734	2,3	775	1,3	868	1,4
735*	3,4	776	1,5	870	0,6
736*	2,4	777	1,8	872	0,7
737*	3,0	780	2,1	874	0,8
738	1,4	781	1,0	877	1,0
739	1,6	782	1,8	882	0,8
740*	1,1	783	8,8	886	1,2
742	2,3	784	3,4	888	1,1
743*	3,4	785	3,2	896	0,6
744	2,4	786	3,3	897	0,7
745	3,0	787	2,3	899	1,1
746	2,2	788	2,7		

Ejemplo de ensayo 2

5 Evaluación del efecto reductor del nivel de testosterona sanguínea de los derivados del péptido de metastina por medio del uso de ratas macho maduras

10 Un derivado del péptido de metastina (de aquí en adelante mencionado como péptido) se disolvió en 50% de solución acuosa de DMSO (Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.) para preparar una solución del péptido con una concentración de 0,03, 0,01 o 0,003 mM. Esta solución del péptido se cargó en cinco bombas osmóticas ALZET (Modelo 2001, 0,2 ml de volumen, velocidad de liberación: 0,001 ml/hr, DURECT Corporation). Las bombas ALZET cargadas con la solución del péptido se implantaron por vía subcutánea en 5 ratas macho CD(SD)IGS 9 semanas después del nacimiento (Charles River Japón, Inc.) en el lomo bajo anestesia con éter a razón de una bomba/animal. Para el control negativo, se cargó solución acuosa de 50% de DMSO en 5 bombas osmóticas ALZET, que se implantaron de modo similar en 5 ratas machos CD(SD)IGS (Charles River Japón, Inc.), respectivamente. Estas ratas implantadas con la bomba se alimentaron durante 6 días en condiciones de alimentación normal. Después del

15 pesado, el animal fue decapitado para recolectar sangre. Después de añadir 0,03 ml/ml de sangre de solución de aprotinina (Trasilol, Bayer) que contiene 0,1 g/ml de EDTA.2Na a la sangre, se separó el plasma y se recuperó por centrifugación a 1.800 x g durante 25 min. A partir del plasma obtenido, se aplicaron 0,05 ml al radioinmunoensayo (DPC. Total Testosterone Kit, Diagnostic Products Corporation) para medir el nivel de testosterona plasmática en cada rata. Los péptidos se listan en la TABLA 3, cuando el número de ratas que muestran el nivel de testosterona

por debajo del límite de medición (0,04 ng/ml del nivel plasmático) en el radioinmunoensayo fue 3 o más en las 5 ratas que reciben los péptidos.

[TABLA 3]

Compuesto No.	Compuesto No.
720	763
721	765
723	767
726	773
727	775
732	776
734	787
738	788
739	797
742	814
744	856
745	870
746	872
750	874
755	877
756	882
757	888
758	896
759	897

5 Aplicabilidad industrial

De acuerdo con la presente invención, se proporcionan derivados estables de la metastina que tienen excelentes actividades biológicas (una actividad supresora de las metástasis cancerosas, una actividad supresora del crecimiento del cáncer, una actividad estimuladora de la secreción de la hormona gonadotrófica, actividad estimuladora de la secreción de hormonas sexuales, etc.).

[Listado de secuencias]

<110> Takeda Farmaceutical Company Limited

<120> Derivados de metastina y su uso

<130> PCT06-0113

5 <150> JP2005-370388

<151> 2005-12-22

<150> JP2006-275843

<151> 2006-10-06

<160> 22

10 <210> 1

<211> 54

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

```

Gly Thr Ser Leu Ser Pro Pro Pro Glu Ser Ser Gly Ser Arg Gln Gln
  1           5           10           15
Pro Gly Leu Ser Ala Pro His Ser Arg Gln Ile Pro Ala Pro Gln Gly
           20           25           30
Ala Val Leu Val Gln Arg Glu Lys Asp Leu Pro Asn Tyr Asn Trp Asn
           35           40           45
Ser Phe Gly Leu Arg Phe
           50
    
```

15

<210> 2

<211> 162

<212> ADN

20 <213> Homo sapiens

<400> 2

```

ggtacttctc tgtctccgcc gccggaatct tctggttctc gtcagcagcc gggctctgtct 60
gctccgcact ctcgtcagat cccggetccg cagggtgctg ttctggttca gcgtgaaaaa 120
gacctgccga actacaactg gaactctttc ggtctgcggt tc 162
    
```

<210> 3

Trp Gln Leu Leu Leu Leu Leu Cys Val Ala Thr Tyr Gly Glu Pro Leu
 35 40 45
 Ala Lys Val Ala Pro Leu Val Lys Pro Gly Ser Thr Gly Gln Gln Ser
 50 55 60
 Gly Pro Gln Glu Leu Val Asn Ala Trp Glu Lys Glu Ser Arg Tyr Ala
 65 70 75 80
 Glu Ser Lys Pro Gly Ser Ala Gly Leu Arg Ala Arg Arg Ser Ser Pro
 85 90 95
 Cys Pro Pro Val Glu Gly Pro Ala Gly Arg Gln Arg Pro Leu Cys Ala
 100 105 110
 Ser Arg Ser Arg Leu Ile Pro Ala Pro Arg Gly Ala Val Leu Val Gln
 115 120 125
 Arg Glu Lys Asp Leu Ser Thr Tyr Asn Trp Asn Ser Phe Gly Leu Arg
 130 135 140
 Tyr Gly Arg Arg Gln Ala Ala Arg Ala Ala Arg Gly
 145 150 155

<210> 6

<211> 468

<212> ADN

5 <213> Mus musculus

<400> 6

atgtatctga gatttggcgt tgatgtctgc agcctgagtc cctggaagga gactgtagac 60
 ctgccccttc ctcccagaat gatctcaatg gcttcttggc agctgctgct tctcctctgt 120
 gtcgccacct atggggagcc gctggcaaaa gtggcacctt tggatgaagcc tggatccaca 180
 ggccagcagt ccggacccca ggaactcggt aatgcctggg aaaaggaatc gcggtatgca 240
 gagagcaagc ctgggtctgc agggctgctg gctcgttaggt cgtcgcatg cccgcccgtt 300
 gagggccccg cggggcgcca gcggcccctg tgtgcctccc gcagtcgct gatccctgcg 360
 ccccggggag cgggtctggt gcagcgggag aaggacctgt ccacctacaa ctggaactcc 420
 ttcggcctgc gctacggcag gaggcaggcg gcgcgggcag cacggggc 468

<210> 7

<211> 130

10 <212> PRT

ES 2 375 038 T3

atgacctgcg tggtttcttg gcagctgctg cttctcctct gtgtggcctc ttttggggag 60
 ccaactggcaa aaatggcacc tgtggtgaac cctgaacca caggccaaca gtccggacc 120
 caggaactcg ttaatgcctg gcaaaagggc ccgcggatg cagagagcaa gcctggggct 180
 gcaggactgc gcgctcgccg aacatcgcca tgcccgcggg tggagaacct cacggggcac 240
 cagcggcccc cgtgtgccac ccgcagtcgc ctgatccctg cgccccgagg atcgggtgctg 300
 gtgcagcgcg agaaggacat gtcagcctac aactggaact cctttggcct gcgctacggc 360
 aggaggcagg tggcgcgggc ggcacggggc 390

<210> 9

<211> 398

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 9

Met His Thr Val Ala Thr Ser Gly Pro Asn Ala Ser Trp Gly Ala Pro
 5 10 15
 Ala Asn Ala Ser Gly Cys Pro Gly Cys Gly Ala Asn Ala Ser Asp Gly
 20 25 30
 Pro Val Pro Ser Pro Arg Ala Val Asp Ala Trp Leu Val Pro Leu Phe
 35 40 45
 Phe Ala Ala Leu Met Leu Leu Gly Leu Val Gly Asn Ser Leu Val Ile
 50 55 60
 Tyr Val Ile Cys Arg His Lys Pro Met Arg Thr Val Thr Asn Phe Tyr
 65 70 75 80
 Ile Ala Asn Leu Ala Ala Thr Asp Val Thr Phe Leu Leu Cys Cys Val
 85 90 95
 Pro Phe Thr Ala Leu Leu Tyr Pro Leu Pro Gly Trp Val Leu Gly Asp
 100 105 110
 Phe Met Cys Lys Phe Val Asn Tyr Ile Gln Gln Val Ser Val Gln Ala
 115 120 125

Thr Cys Ala Thr Leu Thr Ala Met Ser Val Asp Arg Trp Tyr Val Thr
 130 135 140
 Val Phe Pro Leu Arg Ala Leu His Arg Arg Thr Pro Arg Leu Ala Leu
 145 150 155 160
 Ala Val Ser Leu Ser Ile Trp Val Gly Ser Ala Ala Val Ser Ala Pro
 165 170 175
 Val Leu Ala Leu His Arg Leu Ser Pro Gly Pro Arg Ala Tyr Cys Ser
 180 185 190
 Glu Ala Phe Pro Ser Arg Ala Leu Glu Arg Ala Phe Ala Leu Tyr Asn
 195 200 205
 Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu Pro Leu Leu Ala Thr Cys Ala Cys Tyr
 210 215 220
 Ala Ala Met Leu Arg His Leu Gly Arg Val Ala Val Arg Pro Ala Pro
 225 230 235 240
 Ala Asp Ser Ala Leu Gln Gly Gln Val Leu Ala Glu Arg Ala Gly Ala
 245 250 255
 Val Arg Ala Lys Val Ser Arg Leu Val Ala Ala Val Val Leu Leu Phe
 260 265 270
 Ala Ala Cys Trp Gly Pro Ile Gln Leu Phe Leu Val Leu Gln Ala Leu
 275 280 285
 Gly Pro Ala Gly Ser Trp His Pro Arg Ser Tyr Ala Ala Tyr Ala Leu
 290 295 300
 Lys Thr Trp Ala His Cys Met Ser Tyr Ser Asn Ser Ala Leu Asn Pro
 305 310 315 320
 Leu Leu Tyr Ala Phe Leu Gly Ser His Phe Arg Gln Ala Phe Arg Arg
 325 330 335
 Val Cys Pro Cys Ala Pro Arg Arg Pro Arg Arg Pro Arg Arg Pro Gly
 340 345 350
 Pro Ser Asp Pro Ala Ala Pro His Ala Glu Leu His Arg Leu Gly Ser
 355 360 365
 His Pro Ala Pro Ala Arg Ala Gln Lys Pro Gly Ser Ser Gly Leu Ala

ES 2 375 038 T3

Met Ala Ala Glu Ala Thr Leu Gly Pro Asn Val Ser Trp Trp Ala Pro
5 10 15
Ser Asn Ala Ser Gly Cys Pro Gly Cys Gly Val Asn Ala Ser Asp Gly
20 25 30
Pro Gly Ser Ala Pro Arg Pro Leu Asp Ala Trp Leu Val Pro Leu Phe
35 40 45
Phe Ala Ala Leu Met Leu Leu Gly Leu Val Gly Asn Ser Leu Val Ile
50 55 60
Phe Val Ile Cys Arg His Lys His Met Gln Thr Val Thr Asn Phe Tyr
65 70 75 80
Ile Ala Asn Leu Ala Ala Thr Asp Val Thr Phe Leu Leu Cys Cys Val
85 90 95
Pro Phe Thr Ala Leu Leu Tyr Pro Leu Pro Thr Trp Val Leu Gly Asp
100 105 110
Phe Met Cys Lys Phe Val Asn Tyr Ile Gln Gln Val Ser Val Gln Ala
115 120 125
Thr Cys Ala Thr Leu Thr Ala Met Ser Val Asp Arg Trp Tyr Val Thr
130 135 140
Val Phe Pro Leu Arg Ala Leu His Arg Arg Thr Pro Arg Leu Ala Leu
145 150 155 160
Thr Val Ser Leu Ser Ile Trp Val Gly Ser Ala Ala Val Ser Ala Pro
165 170 175
Val Leu Ala Leu His Arg Leu Ser Pro Gly Pro His Thr Tyr Cys Ser
180 185 190
Glu Ala Phe Pro Ser Arg Ala Leu Glu Arg Ala Phe Ala Leu Tyr Asn

ES 2 375 038 T3

atggccgcag aggcgacgtt gggctccgaac gtgagctggt gggctccgtc caacgcttcg 60
 ggatgccccgg gctgcgggtg caatgcctcg gatggcccag gctccgcgcc aaggcccctg 120
 gatgcctggtc tgggtcccct gtttttcgct gccctaagt tgctggggct agtcgggaac 180
 tcactgggtca tcttcgttat ctgccgccac aagcacatgc agaccgtcac caattctac 240
 atcgctaacc tggcggccac agatgtcact ttccttctgt gctgcgtacc cttcaccgcg 300
 ctctctatc cgctgccac ctgggtgctg ggagacttca tgtgcaaatt cgtcaactac 360
 atccagcagg tctcggtgca agccacatgt gccactttga cagccatgag tgtggaccgc 420
 tggtagctga ctgtgttccc gctgcgtgca cttcaccgcc gcactccgcg cctggccctg 480
 actgtcagcc ttagcatctg ggtgggttcc gcagctggtt ccgccccggt gctggctctg 540
 caccgctgt cgccccggcc tcacacctac tgcagtgagg cgtttcccag ccgtgccctg 600
 gagcgcgctt tcgcgtcta caacctgctg gccctatacc tgctgccgt gctgccacc 660
 tgcgcctgct acggtgccat gctgcgccac ctgggccgcg ccgctgiacg cccccaccc 720
 actgatggcg ccctgcaggg gcagctgcta gcacagcgcg ctggagcagt gcgcaccaag 780
 gtctcccggc tgggtggccc tgctgtctg ctcttcgccg cctgctgggg cccgatccag 840
 ctgttctggt tgcttcaagc cctgggcccc tcgggggcct ggcaccctcg aagctatgcc 900
 gcctacgcgc tcaagatctg ggctcactgc atgtcctaca gcaattctgc gctcaaccg 960
 ctgctctatg ccttctggtt tcccacttc agacaggcct tctgccgct gtgccctgc 1020
 ggccccgaac gccagcgtcg gccccacgcg tcagcgcact cggaccgagc cgcaccccat 1080
 agtgtgccgc acagccgggc tgcgcaccct gtccgggtca ggacccccga gcctgggaac 1140
 cctgtggtgc gctgccctc tgttcaggat gaacacactg ccccactc 1188

<210> 13

<211> 39645

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 13

Met Ala Thr Glu Ala Thr Leu Ala Pro Asn Val Thr Trp Trp Ala Pro

1 5 10 15

Ser Asn Ala Ser Gly Cys Pro Gly Cys Gly Val Asn Ala Ser Asp Asp

Ala Ala Cys Trp Gly Pro Ile Gln Leu Phe Leu Val Leu Gln Ala Leu
 275 280 285
 Gly Pro Ser Gly Ala Trp His Pro Arg Ser Tyr Ala Ala Tyr Ala Val
 290 295 300
 Lys Ile Trp Ala His Cys Met Ser Tyr Ser Asn Ser Ala Leu Asn Pro
 305 310 315 320
 Leu Leu Tyr Ala Phe Leu Gly Ser His Phe Arg Gln Ala Phe Cys Arg
 325 330 335
 Val Cys Pro Cys Cys Arg Gln Arg Gln Arg Arg Pro His Thr Ser Ala
 340 345 350
 His Ser Asp Arg Ala Ala Thr His Thr Val Pro His Ser Arg Ala Ala
 355 360 365
 His Pro Val Arg Ile Arg Ser Pro Glu Pro Gly Asn Pro Val Val Arg
 370 375 380
 Ser Pro Cys Ala Gln Ser Glu Arg Thr Ala Ser Leu
 385 390 395

<210> 14

<211> 1188

<212> ADN

5 <213> Mus musculus

<400> 14

atggccaccg aggcgacatt ggctcccaat gtgacctggt gggctccgtc caacgcttca 60
 ggatgcccag gctgcggtgt caacgcctcg gatgaccag gctctgcgcc aaggcccctg 120
 gatgcctggc tggttcccct gtttttcgct aactcatgt tgcttgggct ggtcggaaac 180
 tcattggtca tctacgttat ctgccgccac aagcacatgc agacagttac caacttctac 240
 atcgctaacc tggctgccac agacgtcact ttctactgt gctgcgtgcc cttcaccgca 300
 ctctctacc cgctgcccgc ctgggtgctg ggagacttca tgtgcaaatt cgtcaactac 360
 atccagcagg tctcggtgca agccacatgt gccactctga cggccatgag tgtggaccgc 420
 tggtatgtga ctgtgtccc gctgcgtgca cttcaccgcc gactccgcg cctggccctg 480

ES 2 375 038 T3

gctgtcagcc tcagcatctg ggtgggggtca gcagctgtgt ccgccccggt gctggccctg 540
 caccgcctgt cgccagggcc tcgcacctac tgcagcgagg cgtttcccag ccgcgcctg 600
 gagcgcgcct tcgcgtcta caacctgtg gctctatata tgcctccgct gctcgcacc 660
 tgcgcctgct acggcgccat gctgcgccac ctgggcccgt cggtgttacg cccgcaccc 720
 actgacggcg ccctgcaggg acagctgcta gcacagcgcg ccggagcagt gcgcaccaag 780
 gtctcccggc tgggtggccg tglcgtcctg ctcttcgccc cctgctgggg cccgatccag 840
 ctgttcctgg tgcttcaagc cctggggccc tcgggggcct ggcaccctcg aagctatgcc 900
 gcctacggcg tcaagatctg ggctcactgc atgtcctaca gcaactcggc gctcaatccg 960
 ctgtctatg ccttcctggg ttcacacttc agacaggcct tetgcccgt gtccccctgc 1020
 tgccggcaac gccagcgccg gccccacag tcagcgcaact cggaccgagc tgcaactcac 1080
 actgtgccgc acagccgtgc tgcgcacct gtgcggatca ggagcccgga gcctgggaac 1140
 cctgtggtgc gctcgcctg cgctcagagt gaacgcactg cctcactc 1188

<210> 15

<211> 15

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> el extremo C-terminal del polipéptido es de forma amida (-CONH₂)

<400> 15

Lys Asp Leu Pro Asn Tyr Asn Trp Asn Ser Phe Gly Leu Arg Phe

1 5 10 15

10 <210> 16

<211> 1045

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> el extremo C-terminal del polipéptido es de forma amida (-CONH₂)

<400> 16

Tyr Asn Trp Asn Ser Phe Gly Leu Arg Phe

1 5 10

<210> 17

<211> 9

20 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> el extremo C-terminal del polipéptido es de forma amida (-CONH₂)

<400> 17

Asn Trp Asn Ser Phe Gly Leu Arg Phe

1 5 9

5 <210> 18

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> el extremo C-terminal del polipéptido es de forma amida (-CONH₂)

<400> 18

Trp Asn Ser Phe Gly Leu Arg Phe

1 5 8

<210> 19

<211> 45

15 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 19

<210> 19
<211> 45
<212> **ADN**
<213> Homo sapiens

<400> 19
aaggacctgc egaactacaa ctggaactcc ttcggcctgc gcttc 45

<210> 20
<211> 30
<212> **ADN**
<213> Homo sapiens

<400> 20
tacaactgga actccttcgg cctgcgcttc 30

<210> 21
<211> 27
<212> **ADN**
<213> Homo sapiens

<400> 21
aactggaact ccttcggcct gcgcttc 27

<210> 22
<211> 24
<212> **ADN**
<213> Homo sapiens

<400> 22
tggaactcct tcggcctgcg cttc 24

REIVINDICACIONES

1. Un derivado de metastina seleccionado de:

- Ac-D-Tyr-Aze(2)-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 720),
 Ac-D-Tyr-Pic(2)-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 721),
 5 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 723),
 Ac-D-Tyr-Gly-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 726),
 Ac-D-Tyr-Aib-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 727),
 Ac-D-Tyr-D-NMeAla-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 732),
 Ac-D-Tyr-Izc-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 734),
 10 Ac-D-Tyr-D-Gln-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 738),
 Ac-D-Tyr-D-His-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 739),
 Ac-D-Tyr-Ala-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 742),
 Ac-D-Tyr-Ser-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 744),
 Ac-D-Tyr-Lys-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 745),
 15 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 746),
 Ac-D-Tyr-D-Trp-Asn-Thr-Fe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 750),
 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Fe(2F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 755),
 Ac-D-Tyr-Lys-Asn-Thr-Fe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 756),
 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Fe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 757),
 20 Ac-D-Tyr-Lys-Asn-Thr-Fe(4Cl)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 758),
 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Fe(4Cl)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 759),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Fe(2F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 763),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Fe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 765),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Fe(4Cl)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 767),
 25 Ac-D-Tyr-His(3Me)-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 773),
 Ac-D-Tyr-Tyr(PO3H2)-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 775),
 Glycoloil-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 776),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Fe(4F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 787),
 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Fe(4F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 788),
 30 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg-Trp-NH₂ (Compuesto No. 797),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Ala-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 814),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Ala(cPr)-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 856),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Fe(2Me)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 870),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Fe(3Me)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 872),
 35 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Fe(4Me)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 874),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-threo-Ser(3Fenil)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 877),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-erythro-Ser(3Fenil)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 882),

- 3-(p-Hidroxifenil)propionil-Hyp-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 888),
 Ac-D-Tyr-cisHyp-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 896),
 Ac-D-Tyr-Pro(4F)-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 897),
 o una de sus sales.
- 5 2. Un derivado de metastina seleccionado de:
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 723),
 Ac-D-Tyr-Gly-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 726)
 Ac-D-Tyr-Aib-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 727),
 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 746),
- 10 B1Ac-D-Tyr-Lys-Asn-Thr-Fe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 756),
 Ac-D-Tyr-Glu-Asn-Thr-Fe(3F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 757),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Fe(4Cl)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 767),
 Glycoloil-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Fe-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 776),
 Ac-D-Tyr-Hyp-Asn-Thr-Fe(4F)-AzaGly-Leu-Arg(Me)-Trp-NH₂ (Compuesto No. 787),
- 15 o una de sus sales.
3. El derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, para su uso como un medicamento.
4. El derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, para su uso como un agente para suprimir metástasis cancerosas o un agente para suprimir el crecimiento del cáncer.
- 20 5. El derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, para su uso como un agente para prevenir o tratar cáncer.
6. El derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, para su uso como un agente para controlar la función placentaria.
- 25 7. El derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, para su uso como un agente para prevenir o tratar coriocarcinoma, mola hidatídica, mola invasiva, aborto, hipoplasia fetal, metabolismo anormal de la glucosa, metabolismo anormal de lípidos o inducción del parto.
8. El derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, para su uso como un agente para mejorar la función gonadal.
- 30 9. El derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, para su uso como un agente para prevenir o tratar cáncer dependiente de hormonas, infertilidad, endometriosis, pubertad precoz o mioma del útero.
10. El derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, para su uso como un agente para inducir o estimular la ovulación.
- 35 11. El derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, para su uso como un agente secretagogo de hormona gonadotrófica o un agente secretagogo de hormona sexual.
12. El derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, para su uso como un agente para prevenir o tratar enfermedad de Alzheimer, autismo o deterioro cognitivo moderado.
13. Uso del derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para suprimir las metástasis cancerosas o el crecimiento del cáncer.
- 40 14. Uso del derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para prevenir o tratar cáncer.
15. Uso del derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para controlar la función placentaria.

16. Uso del derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para prevenir o tratar coriocarcinoma, mola hidatídica, mola invasiva, aborto, hipoplasia fetal, metabolismo anormal de la glucosa, metabolismo anormal de lípidos o inducción del parto.
- 5 17. Uso del derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para mejorar la función gonadal.
18. Uso del derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para prevenir o tratar cáncer dependiente de hormonas, infertilidad, endometriosis, pubertad precoz o mioma del útero.
- 10 19. Uso del derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para inducir o estimular la ovulación.
20. Uso del derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para promover secreción de la hormona gonadotrófica o promover la secreción de la hormona sexual.
21. Uso del derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para prevenir o tratar enfermedad de Alzheimer, autismo o deterioro cognitivo moderado.
- 15 22. El derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, para su uso como un agente de regulación por disminución de hormona gonadotrófica u hormona sexual.
23. El derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, para su uso como un agente de regulación por disminución para la proteína OT7T175 humana (receptor de metastina) que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID NO: 9.
- 20 24. El derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 22 o 23, o una de sus sales, para su uso como un agente para prevenir o tratar cáncer dependiente de hormonas.
25. Uso del derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para regular por disminución la hormona gonadotrófica u hormona sexual.
- 25 26. Uso del derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para regular por disminución la proteína de OT7T175 humana (receptor de metastina) que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEC ID NO: 9.
27. Uso del derivado de metastina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una de sus sales, en la fabricación de un medicamento para prevenir o tratar cáncer dependiente de hormonas.