

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 436 419**

51 Int. Cl.:

C07K 14/60 (2006.01)

A61K 38/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.09.2007 E 07838741 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.08.2013 EP 2083842**

54 Título: **Análogos de ghrelina sustituidos en el N terminal**

30 Prioridad:

27.09.2006 US 847423 P

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

02.01.2014

73 Titular/es:

**IPSEN PHARMA S.A.S. (100.0%)
65, QUAI GEORGES GORSE
92100 BOULOGNE-BILLANCOURT, FR**

72 Inventor/es:

DONG, ZHENG XIN

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 436 419 T3

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

DESCRIPCIÓN

Análogos de ghrelina sustituidos en el N terminal

Antecedentes de la invención**Campo de la invención**

- 5 La presente invención se refiere a análogos peptídicos de la ghrelina y a sus usos terapéuticos.

Descripción de la técnica anterior

La ghrelina, una hormona orexigénica descubierta recientemente, se produce como una preprohormona que se procesa proteolíticamente para dar lugar a un péptido con la siguiente secuencia: H-Gly-Ser-Ser-Phe-Leu-Ser-Pro-Glu-His-Gln-Arg-Val-Gln-Gln-

- 10 Arg-Lys-Glu-Ser-Lys-Lys-Pro-Pro-Ala-Lys-Leu-Gln-Pro-Arg-NH₂ (Kojima, M. et al., Nature, (1999), 402(6762):656-60). La ghrelina se produce en las células epiteliales que recubren el fondo del estómago y funciona como estimulador del apetito; sus niveles aumentan antes de una comida y se reducen posteriormente.

- Se conocen las estructuras naturales de la ghrelina de diversas especies de mamíferos y no mamíferos (Kaiya, H. et al., J. Biol. Chem., (2001), 276(44):40441-8; y la solicitud de patente internacional PCT/JP00/04907 [WO 01/07475]).
 15 Una región central presente en la ghrelina es responsable de las actividades observadas en el receptor GHS que comprende los cuatro aminoácidos N terminales en los que la serina en la tercera posición está modificada normalmente con ácido n-octanoico. Además de la acilación con ácido n-octanoico, la ghrelina natural también puede estar acilada con ácido n-decanoico (Kaiya, H. et al., J. Biol. Chem., (2001), 276(44):40441-8).

- Los niveles de ghrelina en el plasma de individuos obesos son menores que en los individuos más delgados y los niveles de ghrelina aumentan desde el tiempo que va desde la media noche al amanecer en los individuos más delgados lo que sugiere un fallo en el sistema circulatorio de los individuos obesos (Yildiz, B. O. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, (2004), 101(28):10434-9). Se ha encontrado que los individuos que sufren de anorexia nerviosa y los pacientes con caquexia inducida por cáncer tienen mayores niveles de ghrelina en plasma (García, J. M. et al., J. Clin. Endocrin. Metab., (2005), 90(5):2920-6).

- 25 Tanto en animales como en humanos, la ghrelina estimula fuertemente la secreción de hormona del crecimiento (GH) desde la glándula pituitaria anterior, principalmente a nivel del hipotálamo, a través de su interacción con el receptor (GHSR) del secretagogo GH (GHS) (Ukkola, O. et al., Ann. Med., (2002), 34(2):102-8; y Kojima, M. et al., Nature, (1999), 402(6762):656-60). La actividad liberadora de GH de la ghrelina está mediada por la activación de los receptores GHS en la pituitaria y fundamentalmente a nivel del hipotálamo (Kojima, M. et al., Nature, (1999), 402(6762):656-60).

- Antes de descubrirse que la ghrelina es un ligando natural para el receptor GHS, se conocía que la liberación pulsátil del GH desde los somatotopos está regulada por dos neuropéptidos del hipotálamo: la hormona liberadora de GH (GHRH) y la somatoestatina. La GHRH simula la liberación de GH mientras la somatoestatina inhibe la secreción de GH (Frohman, L. A. et al., Endocr. Rev., (1986), 7(3):223-53; y Strobl, J. S. et al., Pharmacology Review (1994) 46:1-34). La ghrelina probablemente aumenta la actividad de las neuronas que segregan GHRH mientras actúa concomitantemente como un antagonista funcional de somatoestatina (Ghigo, E. et al., Eur. J Endocri., (1997), 136(5):445-60).

- La liberación de GH desde los somatotopos de la pituitaria puede controlarse también mediante la liberación de péptidos secretores de GH (GHRP). Se ha encontrado que el hexapéptido His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-amida (GHRP-6) libera GH desde los somatotopos, en función de la dosis, en varias especies, incluyendo el hombre (Bowers, C. Y. et al., Endocrinology, (1984), 114(5):1537-45). Estudios químicos posteriores sobre el GHRP-6 llevaron a la identificación de otros potentes secretagogos de GH sintéticos tales como GHRP-1, GHRP-2 y hexarelina (Cheng, K. et al., Endocrinology, (1989), 124(6):2791-8; Bowers, C. Y., Novel GH-Releasing Peptides, Molecular and Clinical Advances in Pituitary Disorders, Ed: Melmed, S., Endocrine Research and Education, Inc., Los Ángeles, CA, EE.UU., (1993), 153-7; y Deghenghi, R. et al., Life Sci., (1994), 54(18):1321-8). La estructura de estos tres compuestos es:

GHRP-1 Ala-His-D-(2')-Nal-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂;

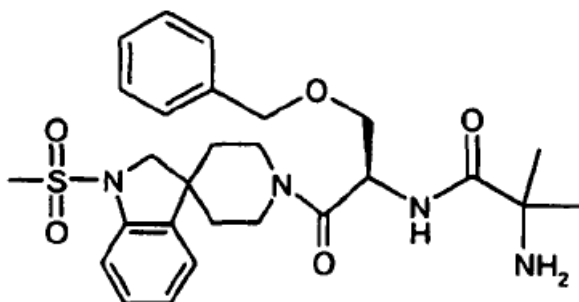
GHRP-2 D-Ala-D-(2')-Nal-Ala-Trp-D-Nal-Lys-NH₂; y

Hexarelina His-D-2-MeTrp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂

- 50 Un GHS puede estimular la secreción de GH por un mecanismo distinto al del GHRH (Bowers, C. Y. et al., Endocrinology, (1984), 114(5):1537-45; Cheng, K. et al., Endocrinology, (1989), 124(6):2791-8; Bowers, C. Y., Novel GH-Releasing Peptides, Molecular and Clinical Advances in Pituitary Disorders, Ed: Melmed, S., Endocrine

Research and Education, Inc., Los Angeles, CA, EE.UU., (1993), 153-7; y Deghenghi, R. et al., *Life Sci.*, (1994), 54(18):1321-8).

5 La baja biodisponibilidad oral (<1%) de un GHS peptídico estimuló la búsqueda de compuestos no peptídicos que simulasen la acción del GHRP-6 en la pituitaria. Se ha informado de que varias benzolactamas y espiroindanos estimulan la liberación de GH en muchas especies animales, incluidos los humanos (Smith, R. G. et al., *Science*, (1993), 260(5114):1640-3; Patchett, A. A. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, (1995), 92(15):7001-5; Chen, M.-H. et al., *Bioorg. Mod. Chem. Letts.*, (1996), 6(18):2163-8). Un ejemplo específico de un pequeño espiroindano es MK-0677 (Patchett, A. A. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, (1995), 92(15):7001-5):



10 Parece que las acciones de un GHS (tanto péptido como no péptido) están mediadas por un receptor específico de GHS (GHSR) (Howard, A. D. et al., *Science*, (1996), 273(5277):974-7; y Pong, S. S. et al., *Mol. Endocri.*, (1996), 10(1):57-61). El receptor GHS está presente en la pituitaria y en hipotálamo de varias especies animales (GHSR1a) y es diferente al receptor de la hormona liberadora de GH. El receptor GHS también se detectó en otras áreas del sistema nervioso central y en tejidos periféricos, por ejemplo, tejido adrenal, tiroideo, cardiaco, pulmonar, renal y muscular (Chen, M.-H. et al., *Bioorg. Med. Chem. Letts.*, (1996), 6(18):2163-9; Howard, A. D. et al., *Science*, (1996), 273(5277):974-7; Pong, S. S. et al., *Mol. Endocri.*, (1996), 10(1):57-61; Guan, X.-M. et al., *Mol. Brain Res.*, (1997), 48(1):23-9; y McKee, K.K. et al., *Genomics*, (1997), 46(3):426-34). También se ha informado sobre una versión truncada de GHSR1a (Howard, A. D. et al., *Science*, (1996), 273(5277):974-7).

20 El receptor GHS es un receptor acoplado a una proteína G. Los efectos de la activación del receptor GHS incluye las despolarización e inhibición de los canales de potasio, un aumento en la concentración intercelular de trifosfato de inositol (IP3) y un incremento transitorio en la concentración de calcio intracelular (Pong, S. S. et al., *Mol. Endocri.*, (1996), 10(1):57-61; Guan, X.-M. et al., *Mol. Brain Res.*, (1997), 48(1):23-9; y McKee, K. K. et al., *Genomics*, (1997), 46(3):426-34).

25 Las moléculas GHS como la ghrelina y sus análogos tienen una gran variedad de usos terapéuticos y diagnósticos (patente US 6.566.337; Inui, A., *FASEB J.*, (2004), 18(3):439-56; Muller, E. E. et al., *Neurobiol. Aging*, (2002), 23(5):907-19; Casanueva, F. F. et al., *Trends Endocrinol. Metab.*, (1999), 10(1):30-8; y Ankerson, M. et al., *Drug Discovery Today*, (1999), 4:497-506). Los compuestos que presentan efectos agonistas en el receptor GHS están indicados para mejorar estados de carencia de GH (patentes US 6.861.409 y US 6.967.237; y Casanueva, F. F. et al., *Trends Endocrinol. Metab.*, (1999), 10(1):30-8), aumentar la masa muscular (patentes US 6.861.409 y US 6.967.237) y/o la fuerza física (Ankerson, M. et al., *Drug Discovery Today*, (1999), 4:497-506) mejorar la densidad ósea (patentes US 6.861.409, 6.967.237 y 6.251.902; y Sibilia, V. et al., *Growth Horm. IGF Res.*, (1999), 9(4):219-27), tratar la osteoporosis (solicitudes de patente internacional PCT/IB96/01353 [WO 97/24369] y PCT/IB98/00873 [WO 98/58947]; y Casanueva, F. F. et al., *Trends Endocrinol. Metab.*, (1999), 10(1):30-8)), vencer la disfunción sexual (patente US 6.967.237; y Casanueva, F. F. et al., *Trends Endocrinol. Metab.*, (1999) 10(1):30-8), tratar enfermedades cardiovasculares (solicitudes de patente internacional PCT/IB96/01353 [WO 97/24369] y PCT/IB98/00873 [WO 98/58947]; patente US 6.251.902; De Gennaro Colonna, V. et al., *Eur. J. Pharmacol.*, (1997), 334(2-3):201-7; y Casanueva, F. F. et al., *Trends Endocrinol. Metab.*, (1999), 10(1):30-8), aliviar el dolor artrítico (Granado, M., *Am. J. Endo. Metab.*, (2005), 288:486-92), prevenir o retrasar el comienzo del Alzheimer (patentes US 6.866.359 y US 6.566.337) y/o tratar el lupus eritematoso sistémico o enfermedades inflamatorias del intestino, por ejemplo la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerosa (publicación de patente US 2002/0013320).

Los agonistas análogos de ghrelina pueden facilitar la ganancia de peso (patente US 6.967.237; Tschop, M. et al., *Nature*, (2000), 407(6806):908-13; y Tschop, M. et al., *Endocrinology*, (2002), 143(2):558-68), lo que a su vez, puede usarse para mantener el peso deseado (patentes US 6.861.409 and 6.967.237) y/o recuperar la condición física (patentes US 6.967.237 y US 6.251.902; y solicitud de patente internacional PCT/IB96/01353 [WO 97/24369]).

45 La ghrelina también aumenta el apetito (patente US 6.967.237; y Okada, K. et al., *Endocrinology*, (1996), 137(11):5155-8). De forma que la ghrelina se utiliza habitualmente para tratar pacientes que sufren de ciertas enfermedades o trastornos o que están en tratamientos médicos que normalmente van acompañados de una

pérdida de peso no deseable como: la anorexia (patente US 6.967.237; y Tschop, M. et al., *Endocrinology*, (2002), 143(2):558-68), la bulimia (patente US 6.967.237), la caquexia (patentes US 6.967.237 y US 6.251.902), particularmente caquexia inducida por cáncer (patente US 6.967.237; solicitud de patente internacional PCT/DK2004/000529 [WO 97/24369]; y Tschop, M. et al., *Endocrinology*, (2002), 143:558-68), SIDA (patentes US 6.861.409 y US 6.967.237; y Tschop, M. et al., *Endocrinology*, (2002), 143(2):558-68), el síndrome de desgaste en las personas delicadas y/o los ancianos (patentes US 6.861.409 y US 6.967.237; solicitud de patente PCT/B96/01353 [WO 97/24369]; y Ankerson, M. et al., *Drug Discovery Today*, (1999) 4:497-506) y fallo renal crónico (Casanueva, F. F. et al., *Trends Endocri. Metab.*, (1999), 10(1):30-8). Los tratamientos médicos que normalmente van acompañados de pérdida de peso incluyen la quimioterapia, la radioterapia, la inmovilización temporal o permanente y/o la diálisis (patentes US 6.967.237 y US 6.251.902)

La obesidad es uno de los factores de riesgo principales para la diabetes y una alta proporción de pacientes de diabetes melitus no insulino dependientes (también conocidos como NIDDM) son obesos. Ambos estados se caracterizan por altos niveles de insulina en circulación y niveles reducidos de GH. Se ha demostrado que el tratamiento con GH en adultos con deficiencias de GH (Jorgensen, J. O. et al., *Lancet*, (1989), 1 (8649): 1221-5), mujeres obesas (Richelsen, B. et al., *Am. J. Physiol.*, (1994), 266(2 Pt 1):E211-6) y ancianos (Rudman, D. et al., *Horm. Res.*, (1991), 36 (Suppl 1):73-81) produce un aumento en la masa de la fibra corporal, la masa hepática y la masa muscular mientras reduce la materia grasa. En consecuencia, la administración de un agonista de la ghrelina es una terapia atractiva para la obesidad si exceptuamos los efectos diabetogénicos de la GH (patente US 6.251.902; Ankerson, M. et al., *Drug Discovery Today*, (1999) 4:497-506; y Casanueva, F. F. et al., *Trends Endocri. Metab.*, (1999), 10(1):30-8). También pueden tratarse indirectamente mediante ghrelina otras complicaciones de la diabetes como la retinopatía y/o tratar enfermedades cardiovasculares (patente US 6.967.237; y publicación de solicitud de patente internacional 2003/0211967).

Se cree que los péptidos que afectan a la liberación de la hormona del crecimiento (GH), como GHRP-1; GHRP-2 y la ghrelina, presentan efectos gastrocinéticos o "procinéticos" (patente US 6.548.501; Peeters, T. L., *J. Physiol. Pharmacol.*, (2003), 54 (supp 4):95-103 y las referencias que ésta contiene; Trudel, L. et al., *J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, (2002), 282:G948-52). Así pues, los análogos de los secretagogos de GH se han empleado también para aumentar la motilidad gastrointestinal, particularmente en pacientes que sufren de motilidad gastrointestinal reducida derivada de íleo postoperatorio o de gastroparesia secundaria al inicio de la diabetes o a un estado de diabetes crónica (patente US 6.548.501).

La motilidad gastrointestinal (GI) es un proceso neuromuscular coordinado que transporta nutrientes a través del sistema digestivo (Scarpignato, C., *Dig. Dis.*, (1997), 15:112), una disfunción de la misma puede derivar en varias enfermedades incluyendo el reflujo gastroesofágico (GERD), la gastroparesia (por ejemplo, diabética y postquirúrgica), el síndrome del colon irritable (IBS de sus siglas en inglés), estreñimiento (por ejemplo, el asociado con la fase de hipo motilidad del IBS), la emesis (por ejemplo, la causada por agentes de quimioterapia para el cáncer), el íleo y la pseudo obstrucción del colon (patente US 6.548.501 y solicitud de patente US 20040266989). Estas diversas complicaciones de motilidad GI interrumpida contribuyen significativamente a los problemas de salud en las naciones industrializadas (patente US 6.548.501; Feighner, S.D. et al., *Science*, (1999), 284:2148-8)

El término "íleo" hace referencia a la obstrucción del intestino o la tripa especialmente el colon (ver, por ejemplo, *Dorland's Illustrated Medical Dictionary*, p. 816, 27ª ed. (W.B. Saunders Company, Philadelphia 1988). Generalmente, cualquier lesión en el intestino que conlleve la liberación de mediadores inflamatorios que lleven a la activación de reflejos neuronales inhibidores dará como resultado el inicio de un íleo. El íleo puede diagnosticarse por la interrupción de los movimientos coordinados de la tripa, que conlleva un fallo en la expulsión del contenido intestinal (Resnick, J., *Am. J. of Gastroentero.*, (1997), 92:751; Resnick, J., *Am. J. of Gastroentero.*, (1997), 92:934). Debe distinguirse el íleo del estreñimiento que se refiere a la infrecuencia o dificultad en evacuar las heces (ver, por ejemplo, *Dorland's Illustrated Medical Dictionary*, p. 375, 27ª ed. (W.B. Saunders Company, Philadelphia 1988).

El íleo puede sobrevenir por varias causas como el parto; la isquemia intestinal; el hematoma retroperitoneal; la sepsis intraabdominal; la inflamación intraperitoneal, por ejemplo la apendicitis aguda, la colecistitis, la pancreatitis; las fracturas de la columna vertebral; el cólico uretral; las lesiones torácicas; la neumonía basal; las fracturas de costillas; el infarto de miocardio y las alteraciones metabólicas. El íleo postparto es un problema habitual en mujeres en el periodo de tiempo que sigue al nacimiento del bebé y se cree que está causado por las fluctuaciones en los niveles naturales de opioides como resultado del estrés del parto. Los pacientes que han pasado por procedimientos de cirugía mayor abdominal incluyendo laparotomía de abscesos abdominales o pequeños trasplantes intestinales (SITx), y cirugía torácica, pélvica u ortopédica, sufren a menudo de un periodo transitorio de alteración de la función intestinal denominada íleo postquirúrgico o postoperatorio (denominado en adelante IPO).

El IPO aparece normalmente entre 24 y 72 horas después de la intervención quirúrgica. En algunos casos, la disfunción intestinal puede transformarse en bastante severa, durar más de una semana y afectar a más de un tramo del tracto GI (Livingston, E.H. et al., *Digest. Dis. and Sci.*, (1990), 35:121). La dismotilidad gastrointestinal asociada a IPO es generalmente más severa en el colon. El IPO se caracteriza por náusea abdominal, distensión, vómitos, estreñimiento, incapacidad para comer y calambres. El IPO no sólo retrasa la recuperación normal de la ingesta de comida después de la cirugía y prolonga la hospitalización, sino que también aumenta las complicaciones postoperatorias, especialmente la neumonía por aspiración.

La administración a un paciente de opioides analgésicos después de la cirugía a menudo puede contribuir a y/o exacerbar la disfunción intestinal existente, retrasando de este modo la recuperación de la función intestinal normal. Puesto que virtualmente todos los pacientes reciben analgésicos opioides, como la morfina u otros narcóticos para el alivio del dolor tras someterse a una intervención quirúrgica, particularmente tras una intervención quirúrgica mayor, los tratamientos del dolor postquirúrgicos actuales pueden, de hecho, hacer que la recuperación de la función intestinal normal sea más lenta, derivando en un retraso en el alta hospitalaria y aumentando el coste del tratamiento médico.

Los agentes que afectan a la motilidad gastrointestinal pueden también proporcionar efectos beneficiosos a pacientes que sufren emesis. La emesis, o vómitos, está precedida a menudo por arcadas y puede estar acompañada de náuseas. La emesis puede estar causada por un desequilibrio en el tracto digestivo, como el íleo, la dispepsia, o la inflamación de la pared intestinal, o por desequilibrios en el sistema sensorial o el cerebro, como una enfermedad motora, las migrañas o los tumores. La emesis también puede ser autoinducida como en la anorexia y la bulimia, y puede aparecer igualmente en respuesta a un dolor severo, a respuestas emocionales (por ejemplo, a visiones u olores desagradables) o por embarazo. La emesis es una complicación habitual que sigue a la administración de muchos medicamentos, particularmente tratamientos anticáncer como la quimioterapia. Los episodios prolongados o repetitivos de emesis pueden dar lugar a varias lesiones en el organismo, incluyendo la deshidratación y los desequilibrios electrolíticos (Quigley, E. M. et al., *Gastroentero.*, (2001), 120:263-86).

Los agentes que afectan a la movilidad gastrointestinal también pueden proporcionar efectos beneficiosos a los pacientes que sufren de gastroparesia. La gastroparesia, también denominada vaciado gástrico retrasado, es un trastorno en el que los nervios que van al estómago están dañados o dejan de funcionar y en el que el vaciado del contenido gástrico del estómago lleva demasiado tiempo. Por ejemplo, tras daños en el nervio vago, el nervio que controla el movimiento de la comida a través del tracto digestivo, los músculos del estómago y los intestinos no funcionan normalmente y el movimiento de la comida se reduce o para. Los altos niveles de glucosa en sangre producen cambios en los nervios y dañan los vasos sanguíneos que transportan el oxígeno y los nutrientes a los nervios. Si los niveles de glucosa en sangre permanecen muy altos durante un periodo prolongado de tiempo, como es a menudo el caso de la diabetes, el nervio vago puede dañarse; la gastroparesia se presenta a menudo en personas con diabetes tipo 1 o diabetes tipo 2 (Murray, C. D. et al., *Gut*, (2005), 54:1693-8).

Se considera que las terapias tradicionales para la motilidad GI dañada, como la debida al íleo, la gastroparesia y la emesis no son efectivas. Las terapias actuales para tratar el íleo incluyen la estimulación funcional del tracto intestinal, los ablandadores de heces, laxantes como el Dulcolax®, los lubricantes, la hidratación intravenosa, la succión nasogástrica, los agentes procinéticos, la alimentación enteral temprana y la descompresión nasogástrica. Tradicionalmente, para tratar el íleo, se ha utilizado la intubación nasogástrica para descomprimir el estómago.

Los productos farmacéuticos tradicionales empleados para tratar la motilidad GI dañada, como la causada por el íleo, incluyen medicamentos que actúan aumentando la motilidad del colon, como la motilina Leu13 y la prostaglandina F2 alfa, y agentes procinéticos, como el monohidrato de Cisaprida®. El PROPULSID®, que contiene monohidrato de Cisaprida®, es un agente gastrointestinal oral (patente US 4.926.115) indicado en el tratamiento sintomático de pacientes adultos con acidez de estómago nocturna debido a reflujo gastroesofágico. Otros agentes procinéticos incluyen, por ejemplo, la metoclopramida, la domperidona, el ondansetrón, el tropisetron, la mosaprida y la itoprida. Otros tratamientos incluyen la administración de compuestos de pirazolopiridina antagonistas de adenosina (patente US 6.214.843); un receptor antagonista de un péptido activador de la adenilatociclasa pituitaria (PACAP) en combinación con antagonista del receptor del péptido intestinal vasoactivo (VIP) (patente US 6.911.430); la fedotizina (patente US 5.362.756); los neuropeptidos (patente US 5.929.035) y los antagonistas de un receptor 2 activado por proteinasa (patente US 5.929.035). En casos extremos, el íleo se ha tratado mediante intervención quirúrgica para desbloquear el colon.

Estos tratamientos terapéuticos, no obstante, adolecen de numerosos problemas. Por ejemplo, recientemente se retiró del mercado el PROPULSID® debido a su potencial para inducir arritmias cardíacas (patente US 6.548.501). La compañía Adolor actualmente está en la fase III de los ensayos clínicos de un tratamiento para tratar el íleo postoperatorio utilizando Alvimopan (Entereg®). El tratamiento de Adolor, no obstante, utiliza antagonistas de un receptor opioide que simplemente bloquean los efectos secundarios de los analgésicos opiáceos, en lugar de eliminar efectivamente el íleo. Los ensayos de la fase III demuestran su eficacia marginal y su mínima aplicabilidad para el tratamiento del íleo, particularmente el íleo postoperatorio.

Lo que es más, estos métodos de la técnica anterior para el tratamiento de la motilidad GI alterada carecen de especificidad para diferentes tipos de disfunciones, por ejemplo, el íleo postoperatorio o el íleo postparto. Además, estos métodos de la técnica no presentan medios para la prevención de la motilidad GI alterada, como la debida al íleo, la gastroparesia y la emesis. Si la motilidad GI alterada, como la debida al íleo, la gastroparesia y la emesis, pudiera prevenirse o tratarse más eficazmente, las estancias hospitalarias, los tiempo de recuperación y los costes médicos se reducirían significativamente, con el beneficio adicional de minimizar el malestar de los pacientes.

Los medicamentos que se dirigen selectivamente a la motilidad abdominal para corregir la disfunción gastrointestinal causada por íleo postoperatorio serían candidatos ideales para prevenir y/o tratar el íleo postquirúrgico o postparto. Dichos medicamentos también serían excelentes candidatos para tratar la gastroparesia y/o la emesis,

particularmente la emesis asociada a la quimioterapia y otras disfunciones gastrointestinales inducidas por medicamentos. De ellos, los medicamentos que no interfieren con los analgésicos opioides proporcionarían un beneficio especial ya que podrían administrarse simultáneamente con medicamentos para el tratamiento del dolor con efectos secundarios limitados.

5 Varios estudios recientes han demostrado el uso potencial de los GHSs como la ghrelina, el GHRP-6 y otros, para estimular la actividad motora del tracto intestinal y tratar enfermedades como el íleo y la emesis. Por ejemplo, se ha indicado que la ghrelina y el GHRP-6 aceleran el vaciado gástrico en ratas y ratones (Peeters, T. L., *J Physiol. Pharmacol.*, (2003), 54 (supp 4):95-103). En ratas, la ghrelina ha mostrado revertir el retraso del vaciado gástrico en un modelo de íleo postoperatorio (Peeters, T. L., *J Physiol. Pharmacol.*, (2003), 54 (supp 4):95-103; Trudel, L. et al., *J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, (2002), 282(6):G948-52) y en perros laparotomizados, la ghrelina mostró que se mejoraba el IPO en los animales tratados (Trudel, L. et al., *Peptides*, (2003), 24:531-4). En ratones infectados, la ghrelina y el GHRP-6 aceleraron el vaciado gástrico, aunque tuvieron escaso efecto sobre el aumento del tránsito en el intestino delgado (De Winter, B. Y. et al., *Neurogastroenterol. Motil.*, (2004), 16:439-46).

15 En experimentos diseñados para reproducir las condiciones de hospitalización de un paciente humano que sufra IPO, las ratas laparotomizadas fueron expuestas a opiáceos además de al análogo de la ghrelina RC-1139 (Poitras, P. et al., *Peptides*, (2005), 26:1598-601). En un ensayo de medida del vaciado gástrico, el RC-1139 demostró revertir el IPO en el control y en las ratas laparotomizadas en presencia de morfina. Por tanto, se cree que la ghrelina exhibe efectos gastrocinéticos sin interferir en la actividad opiácea.

20 Hurones expuestos al agente anticáncer citotóxico cisplatine presentaron significativamente menos episodios de arcadas o vómitos tras la administración intracerebroventricular de ghrelina ((Rudd, J. A. et al., *Neurosci. Lett.*, (2006), 392:79-83) confirmando así la capacidad de la ghrelina para reducir la emesis de forma consistente con su papel de modular las funciones gastrointestinales. Se cree que el papel de la ghrelina de modular la motilidad gástrica es independiente de la activación secretora de GH y que puede estar regulada por vía vagal colinérgica muscarínica (solicitud de patente US 20060025566).

25 También se ha descubierto que la ghrelina incrementa el vaciado gástrico en pacientes con gastroparesia diabética (Murray, C.D. et al., *Gut*, (2005), 54:1693-8).

Es interesante hacer notar que en los estudios a los que se hace referencia anteriormente, la ghrelina o el análogo de ghrelina se administró mediante inyección por vía intraperitoneal (ip), intravenosa (iv) o intracerebroventricular (icv). Otras descripciones (patente US 6.458.501; solicitud de patente US 20020052419; solicitud de patente US 20050187237; solicitud de patente US 20060025566) informan sobre la administración oral de GHSs como un medio para tratar la motilidad gastrointestinal alterada.

35 En la técnica, se conocen pocos compuestos que sean útiles para tratar la motilidad GI alterada y sería muy deseable que hubiese más compuestos que afectasen a la motilidad gastrointestinal, por ejemplo estimulando la motilidad. Los compuestos que afectan a la cinética gastrointestinal son útiles en el tratamiento de las interrupciones del funcionamiento normal de las funciones GI como el íleo y la emesis.

Paradójicamente, los antagonistas de la ghrelina también pueden utilizarse para conseguir efectos beneficiosos en un paciente (publicaciones de patente US 2002/187938, 2003/0211967 y 2004/0157227, y patente US 6.967.237). Por ejemplo, los compuestos que presentan efectos antagonistas en el receptor GHS para promover la supresión de la secreción de GH, por ejemplo, antagonistas análogos de la ghrelina, están indicados para revertir la secreción excesiva de GH (publicación de solicitud de patente 2002/0187938), para facilitar la pérdida de peso en los no obesos (patente US 6.967.237), para mantener el peso ideal y/o reducir el apetito (patente US 6.967.237). Los antagonistas de la ghrelina también pueden utilizarse para facilitar la pérdida de peso en individuos obesos en los que dicha obesidad no se debe a la presencia de NIDDM (patente US 6.967.237 y publicación de solicitud de patente 2003/0211967).

45 El peso excesivo es un factor que contribuye a muchas enfermedades o estados como la hipertensión, la dislipidemia y la enfermedad cardiovascular (publicación de patente 2003/0211967; y patente US 6.967.237) además de cálculos biliares, osteoartritis (patente US 6.967.237), determinados cánceres (publicaciones de solicitud de patente US 2003/0211967 y 2004/0157227; y patente US 6.967.237) y el síndrome de Prader-Willy (Patente US 6.950.707; solicitud de patente internacional PCT/US2004/008382 [WO04/084943]; Haqq, A. M. et al., *J. Clin. Endocr. Metab.*, (2003), 88(1):174-8; y Cummings, D. E. et al., *Nat. Med.*, (2002), 8(7):643-4). Los antagonistas de la ghrelina que facilitan la pérdida de peso por tanto reducirían la probabilidad de dichas enfermedades o estados y/o comprenderían parte del tratamiento de tales enfermedades o estados. Se ha descrito que las moléculas antagonistas de GHS presentan uniones al tejido tumoral que conllevan una disminución en el número de células generadoras de tumores en los tejidos diana, por ejemplo tumores en el pulmón, las glándulas mamarias, el tiroides o el páncreas (solicitud de patente internacional PCT/EP99/08662 [WO 00/29011]).

La ghrelina natural, no obstante, tiene una vida media relativamente corta limitando las vías disponibles para la administración y las dosis requeridas para tener un efecto observable en la ingesta alimentaria y/o la reducción de peso. Se ha informado de que la vida media aparente de la ghrelina exógena en ratas es de 30 minutos (Tolle, V. et

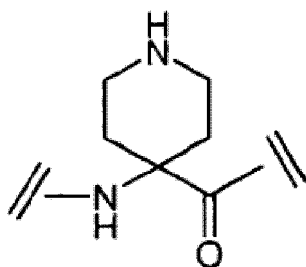
al., *Endocrin.*, (2002), 143:1353-61) y en humanos es de solo 10 minutos (Nagaya, N. et al., *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, (2001), 280:R1483-R1487). Dada la amplia variedad de efectos beneficiosos que los GHSs pueden ofrecer, hay una necesidad en la técnica de moléculas análogas a la ghrelina biológicamente estables.

5 La patente WO 2004/009616 A2 describe análogos peptídicos que poseen actividad agonista o antagonista de la ghrelina, junto con sus usos terapéuticos y no terapéuticos.

Compendio de la invención

10 Los análogos de la ghrelina que se describen aquí son activos en el receptor GHS. Los análogos pueden unirse al receptor y estimular o inhibir la actividad receptora del GHS. Los análogos de la Ghrelina tienen una gran variedad de usos diferentes, incluyendo, pero no limitándose a, ser empleados como herramienta en la investigación o como agentes terapéuticos.

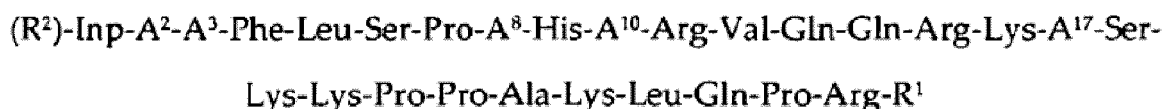
Se descubrió que los análogos de la ghrelina sustituidos con aminoácidos sintéticos de ácido isonipecótico (Inp) o



(1-Apc o 4-Apc) en el extremo N terminal presentaban mejor resistencia a la proteólisis comparados con la ghrelina natural al tiempo que presentaban una actividad aumentada en el receptor GHS.

15 En un aspecto la presente invención describe análogos de la ghrelina en los que el primer aminoácido enumerado en las definiciones de A², A³, A⁸, A¹⁰ y A¹⁷ es el aminoácido que se encuentra en la correspondiente posición de la ghrelina natural, esto es H-Gly-Ser-Ser-Phe-Leu-Ser-Pro-Glu-His-Gln-Arg-Val-Gln-Gln-Arg-Lys-Glu-Ser-Lys-Lys-Pro-Pro-Ala-Lys-Leu-Gln-Pro-Arg-NH₂

que tiene la fórmula (I):



(I)

20

en la que:

A² es Ser o Aib,

A³ es Ser o Glu (NH-R⁸);

A⁸ es Glu o Aib;

25 A¹⁰ es Gln o Aib;

A¹⁷ es Glu o Ser(C(O)-R¹⁰);

R¹ es -OH, -NH₂, alcoxi -(C₁-C₃₀) o NH-X⁶-CH₂-Z⁰, en el que X⁶ es alquilo (C₁-C₁₂) o alquenilo (C₂-C₁₂) y Z⁰ es -H, -OH, -CO₂H o -C(O)-NH₂;

30 R² es, H, alquilo(C₁-C₃₀), heteroalquilo(C₁-C₃₀), acilo(C₁-C₃₀), alquenilo(C₂-C₃₀), alquinilo(C₂-C₃₀), aril alquilo(C₁-C₃₀) o, aril acilo(C₁-C₃₀), alquilo(C₁-C₃₀) sustituido, heteroalquilo(C₁-C₃₀) sustituido, acilo(C₂-C₃₀) sustituido, alquenilo(C₂-C₃₀) sustituido, aril alquilo(C₁-C₃₀) sustituido, alquinilo(C₂-C₃₀) sustituido o aril acilo(C₁-C₃₀) sustituido; cada uno de los R⁸ y R¹⁰, independientemente de la presencia de los mismos, se selecciona de un grupo que consiste en alquilo(C₁-C₄₀), alquenilo(C₂-C₄₀), alquilo(C₁-C₄₀) sustituido, alquenilo(C₂-C₄₀) sustituido, alquilarilo, alquilarilo sustituido, arilo o arilo sustituido, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

35

Un grupo preferido de compuestos con la fórmula anterior, denominados compuestos Grupo 2, es aquel en que:

R¹ es NH₂;

R² es H o acilo;

R⁸ es hexilo; y

5 R¹⁰ es octanoilo;

o sus sales farmacéuticamente aceptables.

Un grupo incluso más preferido de compuestos del grupo de compuestos inmediatamente precedente, identificado como compuestos del Grupo 3, son compuestos en los que:

A² es Aib;

10 A³ es Glu (NH-hexil);

A⁸ es Aib;

A¹⁰ es Aib; y

A¹⁷ es Ser(n-octanoil);

o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

15 Otro grupo de compuesto conforme a la fórmula (I) descrita anteriormente, a los que se hace referencia como compuestos del Grupo 4, consiste en compuestos conformes a la fórmula:

(Inp¹)hGhrelina (1-28)-NH₂; (SEQ ID NO: 2)

(Inp¹, Aib²)hGhrelina (1-28)-NH₂; (SEQ ID NO: 2)

(Inp¹, Aib², Glu (NH-hexil)³)hGhrelina(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:3)

20 (Inp¹, Aib²¹⁰)hGhrelina(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:4)

cada uno de los X¹, X², X³, X⁴, y X⁵ se selecciona, independientemente de la presencia de los mismos, del grupo que consiste en: H, F, Cl, Br, I, alquilo(C₁-C₁₀), alquilo(C₁-C₁₀) sustituido, arilo, arilo sustituido, OH, NH₂, NO₂ y CN;

con la condición de que :

25 cuando R¹² es acilo (C₁-C₄₀), aril acilo(C₁-C₄₀), acilo(C₁-C₄₀) sustituido, aril acilo (C₁-C₄₀) sustituido, alquil(C₁-C₄₀)sulfonilo, o -C(NH)-NH₂, entonces R¹³ es H o alquilo(C₁-C₄₀), heteroalquilo(C₁-C₄₀), alqueno(C₂-C₄₀), alquino(C₂-C₄₀), aril alquilo(C₁-C₄₀), alquilo(C₁-C₄₀) sustituido, heteroalquilo(C₁-C₄₀) sustituido, alqueno(C₂-C₄₀) , alquino(C₂-C₄₀), o alquilo(C₁-C₄₀) sustituido.

Un grupo preferido de acuerdo con la fórmula (I) anterior, denominado compuestos del Grupo 1, es aquel en que:

A² es Ser o Aib;

30 A³ es Ser o Glu(NH-R⁸);

A⁴ es Phe;

A⁵ es Leu;

A⁶ es Ser;

A⁷ es Pro;

35 A⁸ es Glu o Aib;

A⁹ es His;

A¹⁰ es Gln-o Aib;

A¹¹ es Arg;

A¹² es Val;

A¹³ es Gln;

A¹⁴ es Gln;

A¹⁵ es Arg;

A¹⁶ es Lys;

5 A¹⁷ es Glu o Ser(C(O)-R¹⁰);

A¹⁸ es Ser;

A¹⁹ es Lys;

A²⁰ es Lys;

A²¹ es Pro;

10 A²² es Pro;

A²³ es Ala;

A²⁴ es Lys;

A²⁵ es Leu;

A²⁶ es Gln;

15 A²⁷ es Pro; y

A²⁸ es Arg;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

Otro grupo de compuestos preferidos de la fórmula anterior, denominado compuestos del Grupo 2, es aquel en que:

R¹ es NH₂;

20 R² es H o acilo;

R⁸ es hexil; y

R¹⁰ es octanilo;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptable .

25 Un grupo incluso más preferido de compuestos del grupo de compuestos inmediatamente precedente, identificado como compuestos de Grupo 3, son compuestos en los que:

A² es Aib;

A³ es Glu(NH-hexil);

A⁸ es Aib;

A¹⁰ es Aib; y

30 A¹⁷ es Ser(n-octanoílo);

o una de sus sales farmacéuticamente aceptable .

Otro grupo de compuestos preferidos conforme a la fórmula (I) descrita anteriormente, a los que se hace referencia como compuestos del Grupo 4, consiste en compuestos de acuerdo con la fórmula:

(Inp¹)hGhrelina(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:2)

35 (Inp¹, Aib²)hGhrelina(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:2)

(Inp¹, Aib², Glu(NH-hexil)³)hGhrelina(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:3)

(Inp¹, Aib^{2,10})hGhrelina(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:4)

(Inp¹, Aib²⁸)hGhrelin(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:5)

(Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:6)

(Inp¹, Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:6) y

(Inp¹, Aib^{2,8}, Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:7)

5 o sus sales farmacéuticamente aceptables.

En un aspecto, el compuesto preferido de los anteriores es (Inp¹)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:2) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable. En otro aspecto, el compuesto preferido de los anteriores es (Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:6) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

10 En un aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad efectiva de un compuesto con la fórmula anterior, más preferiblemente un compuesto conforme a uno o más de los derivados del Grupo 2, Grupo 3 Grupo 4, (Inp¹)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:2) y/o (Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelin(1,28)-NH₂ (SEQ ID NO:6), como se describe anteriormente en la presente memoria, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

15 Las aplicaciones como herramienta para la investigación generalmente incluyen el uso de un análogo de la ghrelina y la presencia de un receptor GHS o un fragmento del mismo. El receptor GHS puede estar presente en diferentes ambientes como en un mamífero, una célula completa o un fragmento de membrana. Los ejemplos de aplicaciones como herramientas para la investigación incluyen, pero no se limitan a, detectar compuestos activos en el receptor GHS, determinar la presencia del receptor GHS en una muestra o preparación y examinar el papel o efecto de la ghrelina.

20 Los análogos de la ghrelina pueden utilizarse para detectar tanto agonistas como antagonistas de la ghrelina. La detección de agonistas de la ghrelina puede llevarse a cabo, por ejemplo, utilizando un análogo de la ghrelina en un experimento de competición con los compuestos de ensayo. La detección de antagonistas de la ghrelina puede llevarse a cabo, por ejemplo, utilizando un análogo de la ghrelina para producir actividad en el receptor GHS y midiendo después la capacidad de un compuesto de alterar la actividad del receptor GHS.

25 En la presente memoria se describe un método de detección de un compuesto capaz de unirse a un receptor GHS. El método comprende el paso de medir la capacidad de un compuesto para afectar a la unión de un análogo de la ghrelina al receptor, a un fragmento del receptor que contenga un sitio de unión a la ghrelina, a un polipéptido que comprenda el fragmento o a un derivado del polipéptido. Los compuestos útiles para la detección incluyen compuestos de la fórmula anterior, más preferiblemente compuestos acordes a uno o más del Grupo 2, Grupo 3
30 Grupo 4, ((Inp¹)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:2) y/o (Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷) hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:6), como se define anteriormente en la presente memoria, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable y/o un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

También se describe un método para obtener una respuesta de un receptor en un sujeto con necesidad del mismo que comprende administrar al sujeto una cantidad efectiva terapéuticamente de un análogo de ghrelina de acuerdo
35 a, Grupo 2, Grupo 3 Grupo 4, (Inp¹)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:2) y/o (Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:6), como se define anteriormente en la presente memoria, o sus sales farmacéuticamente aceptables, o una de sus composiciones como se define en la presente memoria.

También se describe un método para conseguir efectos beneficiosos en un sujeto que comprende la administración
40 a dicho sujeto de uno o más compuestos de acuerdo con la fórmula anterior, más preferiblemente compuestos de acuerdo con uno o más del Grupo 2, Grupo 3 Grupo 4, (Inp¹)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:2) y/o (Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:6), como se define anteriormente en la presente memoria, o sus sales farmacéuticamente aceptables, o una de sus composiciones como se define en la presente memoria, en la que dicha cantidad es efectiva para producir un efecto beneficioso que ayude a tratar (por ejemplo, curar o reducir la gravedad) o prevenir (por ejemplo, reducir la probabilidad de comienzo o la gravedad) de una enfermedad o
45 trastorno.

La ghrelina induce la liberación de GH de células de la pituitaria de cultivo primario de forma dependiente de la dosis sin estimular la liberación de otras hormonas pituitarias. Inyectada por vía intravenosa en ratas anestesiadas, la ghrelina estimula la liberación pulsátil de GH (Kojima, M. et al., Nature, (1999), 402(6762):656-60), así pues también se describe en la presente memoria un método para estimular la secreción de GH en individuos con necesidad de la
50 misma, que comprende administrar una cantidad efectiva de uno o más compuestos agonistas de acuerdo con la fórmula (I), más preferiblemente un compuesto agonista de acuerdo con uno o más del Grupo 2, Grupo 3, Grupo 4, (Inp¹)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:2) y/o (Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:6)), como se define anteriormente en la presente memoria, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, o una de sus composiciones como se describe en la presente memoria, en la que dicha cantidad efectiva es al menos una
55 cantidad suficiente para producir un aumento detectable en la secreción de GH y, preferiblemente, es una cantidad suficiente para conseguir un efecto beneficioso en un paciente.

En consecuencia, la presente invención proporciona un compuesto análogo de la ghrelina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma conforme a la Fórmula (I) anterior para estimular la secreción de la hormona del crecimiento en un sujeto que necesite tal estimulación.

5 Dicha estimulación de la secreción de GH puede estar indicada para tratar un estado deficiente en GH, aumentar la masa muscular y/o la densidad ósea, superar la disfunción sexual, ganar peso corporal y/o mantener un peso corporal idóneo, mantener y/o ganar forma física y/o aumentar el apetito.

Dicha ganancia de peso o el mantenimiento del mismo o el aumento del apetito pueden estar indicados en pacientes que tengan una enfermedad o trastorno o que estén bajo un tratamiento acompañado de pérdida de peso.

10 Dicha enfermedad acompañada de pérdida de peso puede estar asociada con la caquexia que incluye, pero no se limita a , la anorexia, la bulimia, el cáncer, el SIDA y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Dicha pérdida de peso puede ser debida a la presencia del síndrome de pérdida, particularmente en individuos débiles o ancianos. El método anterior puede utilizarse para favorecer la ganancia de peso tras una pérdida de peso inexplicable en un paciente anciano que de otra forma estaría sano o para prevenir, tratar o aliviar el inicio de la enfermedad de Alzheimer. Los tratamientos acompañados de pérdida de peso pueden incluir la quimioterapia, la
15 terapia radiactiva, la inmovilización temporal, la inmovilización permanente y la diálisis.

Dicha ganancia de peso o el mantenimiento del mismo y/o el aumento de apetito pueden estar indicados en pacientes sanos que no sufran de una enfermedad o trastorno específico o que estén sometidos a alguno de los tratamientos mencionados anteriormente.

20 Además en la presente memoria se describe un método para tratar la enfermedad pulmonar obstructiva crónica en un sujeto que tenga necesidad del mismo que comprende la administración de una cantidad efectiva de uno más de uno de los compuestos de acuerdo con la fórmula (I), más preferiblemente un compuesto de acuerdo a uno o más de uno del Grupo 2, Grupo 3, Grupo 4, (Inp¹)hGhrelina(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:2) y/o (Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelina(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:6), como se define anteriormente en la presente memoria, o sus sales farmacéuticamente aceptables, o una de sus composiciones como se define en la presente memoria.

25 En consecuencia, la invención proporciona un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la Fórmula (I) anterior para tratar la enfermedad pulmonar obstructiva crónica en un sujeto con necesidad del mismo.

30 Además se describe un método para estimular la motilidad gastrointestinal en un paciente (por ejemplo, un mamífero como un ser humano). El método incluye el paso de administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más compuestos, de acuerdo con la fórmula anterior, más preferiblemente compuesto de uno o más de uno del Grupo 2 , Grupo 3 Grupo 4, (Inp¹)hGhrelina(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:2) y/o (Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelina(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:6), como se define anteriormente en la presente memoria, o sus sales farmacéuticamente aceptables, o una de sus composiciones como se describe en la presente memoria, a dicho paciente que sufre o está en riesgo de sufrir dismotilidad gastrointestinal.

35 Así la invención proporciona un compuesto análogo de la ghrelina o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la Fórmula (I) anterior para estimular la motilidad gastrointestinal en un sujeto con necesidad del mismo. Un paciente con necesidad de estimulación gastrointestinal puede sufrir de reflujo gastroesofágico, íleo, íleo postoperatorio, emesis, gastroparesia, IBS, estreñimiento, o pseudo obstrucción del colon. Un paciente puede sufrir de íleo asociado con la administración de un opiáceo.

40 También se describe un método para tratar estados de dismotilidad gastrointestinal mediante la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de un análogo peptídico de la ghrelina o un profármaco del mismo apto para atenuar tal estado gastrointestinal cuando el análogo o el profármaco comprende uno o más compuestos, de acuerdo con la fórmula anterior, más preferiblemente compuestos de acuerdo a uno o más de uno del Grupo 2, Grupo 3, Grupo 4, (Inp¹)hGhrelina(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:2) y/o (Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelina(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:6) como se definen anteriormente en la presente memoria, o sus sales farmacéuticamente aceptables,
45 o una de sus composiciones como se define en la presente memoria. El método es útil para promover la motilidad gástrica y gastrointestinal en un paciente (por ejemplo, un mamífero como un humano) y como tal ,es útil para tratar estados que se benefician de una motilidad gástrica o gastrointestinal mejorada tales como el reflujo gastroesofágico (GERD), el síndrome del colon irritable (IBS), el estreñimiento, el íleo, la emesis, la gastroparesia, la pseudo obstrucción del colon, y similares.
50

Además se describe en la presente memoria un método útil para promover la motilidad gástrica y gastrointestinal en un paciente (por ejemplo, un mamífero tal como un humano), mediante la administración de una cantidad terapéutica de uno o más compuestos de acuerdo con la fórmula anterior, más preferiblemente compuestos de acuerdo a uno o más del Grupo 2, Grupo 3 Grupo 4, (Inp¹)hGhrelina (1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:2) y/o (Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelina(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:6), como se definen anteriormente en la presente memoria, o sus sales farmacéuticamente aceptables, o una de sus composiciones como se define en la presente memoria, en la que la dismotilidad gástrica o el íleo están asociados a la administración de un opiáceo, como , pero no limitándose a, la morfina.
55

También se describe en la presente memoria un método para tratar el íleo, la gastroparesia o la emesis mediante la administración terapéutica de una cantidad efectiva de uno o más compuestos, de acuerdo con la fórmula anterior, más preferiblemente compuestos de acuerdo a uno o más del Grupo 2, Grupo 3, Grupo 4, (Inp¹)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:2) y/o (Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:6), como se define anteriormente en la presente memoria, o sus sales farmacéuticamente aceptables, o una de sus composiciones como se define en la presente memoria, apta para atenuar el íleo, la emesis o la gastroparesia. Aún en otro aspecto, el estado tratado de acuerdo con la invención es el íleo, como el íleo postoperatorio y la intervención quirúrgica puede ser una intervención quirúrgica gastrointestinal como la cirugía abdominal. El íleo postoperatorio puede darse en cualquier sección del tracto intestinal, por ejemplo el estómago, el intestino delgado o el intestino grueso. Aún en otro aspecto de la invención, el estado que se trata de acuerdo con la invención es la emesis, como la emesis asociada a o provocada por la administración de agentes de quimioterapia anticáncer, el embarazo, la bulimia o la anorexia. Aún en otro aspecto, el estado tratado de acuerdo con la invención es la gastroparesia, como la gastroparesia diabética. La diabetes puede ser diabetes Tipo I o Tipo II.

También se describe en la presente memoria un método para llevar a cabo una intervención quirúrgica a un paciente que comprende administrar a dicho paciente una cantidad efectiva terapéuticamente de uno o más compuestos, de acuerdo con la fórmula anterior, más preferiblemente compuestos de acuerdo a uno o más del Grupo 2, Grupo 3, Grupo 4, (Inp¹)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:2) y/o (Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:6), como se define anteriormente en la presente memoria, o sus sales farmacéuticamente aceptables, o una de sus composiciones como se define en la presente memoria. El método para llevar a cabo la intervención quirúrgica puede comprender identificar un paciente con necesidad de dicha intervención.

Así, en un aspecto, la invención proporciona un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la Fórmula (I) anterior para su uso en una intervención quirúrgica en un paciente, en la que dicho compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable se prepara para la administración antes, durante o después de la intervención quirúrgica, o en cualquiera de sus combinaciones.

La intervención quirúrgica puede manipular directa o indirectamente el tracto gastrointestinal. El tipo de intervención quirúrgica que puede beneficiarse de la invención incluye, pero no se limita a, la laparotomía, la cirugía para trasplantes, la cirugía del sistema urogenital, la cirugía del sistema linfático, la cirugía del sistema respiratorio, y la cirugía para tratar el cáncer en cualquier órgano o tejido dentro del abdomen. Los compuestos útiles para llevar a cabo la invención están de acuerdo con uno o más del Grupo 2, Grupo 3, Grupo 4, (Inp¹)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:2) y/o (Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:6), como se definen anteriormente en la presente memoria, o sus sales farmacéuticamente aceptables, o una de sus composiciones como se define en la presente memoria, que puede ser administrada antes, durante o después de una intervención quirúrgica, o en cualquiera de sus combinaciones.

Además se describe un método para prevenir el íleo postoperatorio en un paciente con necesidad del mismo que comprende administrar a dicho paciente, antes, durante, después, o en cualquiera de sus combinaciones, de una intervención quirúrgica, una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más compuestos, de acuerdo con la fórmula anterior, más preferiblemente compuestos de acuerdo con uno o más de del Grupo 2, Grupo 3, Grupo 4, (Inp¹)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:2) y/o (Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:6), como se definen anteriormente en la presente memoria, o sus sales farmacéuticamente aceptables, o una de sus composiciones como se define en la presente memoria.

En consecuencia, la invención también proporciona un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la Fórmula (I) anterior para prevenir el íleo postoperatorio en un paciente con necesidad del mismo, en el que dicho compuesto análogo de la ghrelina se prepara para su administración antes, durante o después de una cirugía, o en cualquiera de sus combinaciones.

Además se describe un método para prevenir el reflujo, la emesis, la gastroparesia, el síndrome del intestino irritable, el estreñimiento, o la pseudo obstrucción del colon en un paciente con necesidad del mismo que comprende administrar a dicho paciente una cantidad efectiva terapéuticamente de uno o más compuestos, de acuerdo con la fórmula anterior, más preferiblemente compuestos de acuerdo con uno o más de los Grupo 2, Grupo 3, Grupo 4, (Inp¹)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:2) y/o (Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:6), como se define anteriormente en la presente memoria, o sus sales farmacéuticamente aceptables o una de sus composiciones como se define en la presente memoria. En consecuencia la invención proporciona un método para prevenir el reflujo gastroesofágico, la emesis, la gastroparesia, el síndrome del colon irritable, el estreñimiento o la pseudo obstrucción del colon en un paciente con necesidad del mismo. La emesis puede estar asociada con el tratamiento con agentes de quimioterapia anticáncer, el embarazo, la bulimia o la anorexia. La gastroparesia puede estar asociada con diabetes, la diabetes puede ser diabetes Tipo I o Tipo II.

Un segundo grupo de compuesto más preferido de acuerdo con la fórmula (I) descrita anteriormente, al que nos referimos como compuestos del grupo 5, consiste en compuestos conformes a la siguiente fórmula:

(Inp¹, Aib^{2,10}, Glu(NH-hexil)³)hGhrelin(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:1) y

(Ac-Inp¹, Aib^{2,10}, Glu(NH-hexil)³)hGhrelin(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:8)

o sus sales farmacéuticamente aceptables.

5 En un aspecto, el compuesto preferido es Inp¹, Aib^{2,10}, Glu(NH-hexil)³)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable. En otro aspecto, el compuesto preferido es (Ac-Inp¹, Aib^{2,10}, Glu(NH-hexil)³)hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:8) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad efectiva de la fórmula anterior, más preferiblemente un compuesto de acuerdo con el Grupo 5, como se define anteriormente en la presente memoria, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

10 Se describe en la presente memoria un método de detección de un compuesto capaz de unirse a un receptor GHS que comprende medir la capacidad de un compuesto para afectar la unión de un compuesto del Grupo 5, como se describe anteriormente en la presente memoria, o sus sales farmacéuticamente aceptables, al receptor, a un fragmento del receptor, a un polipéptido que comprenda el fragmento del receptor, o a un derivado del polipéptido.

15 También se describe un método para conseguir una respuesta de un receptor de la ghrelina en un sujeto con necesidad del mismo que comprende administrar al sujeto una cantidad efectiva terapéuticamente de un compuesto análogo a un antagonista de la ghrelina conforme al Grupo 5, como se define anteriormente en la presente memoria, o sus sales farmacéuticamente aceptables, o una de sus composiciones como se define en la presente memoria.

20 Además se describe un método para conseguir un efecto beneficioso en un sujeto que comprende administrar al sujeto una cantidad efectiva de un compuesto análogo de la ghrelina de acuerdo con el Grupo 5, como se define anteriormente en la presente memoria, o sus sales farmacéuticamente aceptables, o una de sus composiciones como se define en la presente memoria, en que la cantidad efectiva es eficaz para producir un efecto beneficioso para ayudar a curar o reducir la gravedad o reducir la probabilidad de que se inicie o la gravedad de una enfermedad o trastorno. En un aspecto, el efecto beneficioso ayuda a curar o reduce la gravedad o reduce la probabilidad de inicio o la gravedad de una enfermedad o trastorno.

25 La secreción de GH en exceso se ha atribuido clínicamente a varias enfermedades o estados. En la presente memoria se describe un método para suprimir la secreción de GH en un sujeto con necesidad de la misma, que comprende administrar una cantidad efectiva de uno o más compuestos, de acuerdo con el Grupo 5, como se define anteriormente en la presente memoria, o sus sales farmacéuticamente aceptables, o una de sus composiciones como se define en la presente memoria, en el que dicha cantidad efectiva es al menos una cantidad suficiente para producir una disminución detectable en la secreción de GH y, preferiblemente, es una cantidad suficiente para conseguir un efecto beneficioso en un paciente.

35 Los compuestos análogos de la ghrelina del Grupo 5, como se define anteriormente en la presente memoria, o sus sales farmacéuticamente aceptables, o una de sus composiciones como se define en la presente memoria, puede utilizarse también para conseguir un efecto beneficioso en un paciente. La mencionada supresión de la secreción de GH puede estar indicada para facilitar la pérdida de peso y/o una disminución del apetito, mantener un peso corporal ideal, revertir la obesidad, tratar la diabetes y sus complicaciones como la retinopatía, y/o mejorar trastornos cardiovasculares. El peso excesivo es un factor que contribuye a diferentes enfermedades, incluyendo pero no limitándose a, hipertensión, diabetes, dislipidemia, enfermedad cardiovascular, formación de cálculos biliares, osteoartritis, síndrome de Prader-Willi y/o ciertas formas de cáncer. Se ha demostrado que la pérdida de peso reduce la probabilidad de tales enfermedades cuando forma parte de los tratamientos prescritos para dichas enfermedades.

40 También se describe en la presente memoria un método para suprimir la secreción de la hormona del crecimiento en un sujeto con necesidad de dicha supresión, que comprende el paso de administrar a un sujeto una cantidad efectiva de un compuesto análogo a la ghrelina del Grupo 5, como se define anteriormente en la presente memoria, o sus sales farmacéuticamente aceptables, o una de sus composiciones como se describe en la presente memoria, cuando la cantidad efectiva es al menos una cantidad suficiente para producir una reducción aceptable en la secreción de la hormona del crecimiento.

En consecuencia la invención proporciona un compuesto análogo a la ghrelina seleccionado del grupo que consiste en:

50 (Ac-Inp¹, Aib^{2,10}, Glu(NH-hexil)³)hGhrelin(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:8); y

(Inp¹, Aib^{2,10}, Glu(NH-hexil)³)hGhrelin(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:1)

o una de sus sales farmacéuticamente aceptable para suprimir la secreción de la hormona del crecimiento en un individuo con necesidad de dicha supresión.

La supresión de la secreción de la hormona del crecimiento puede estar indicada en el tratamiento de una enfermedad o estado por una secreción excesiva de hormona del crecimiento, para facilitar la pérdida del exceso de masa corporal, para facilitar la reducción del apetito, para facilitar el mantenimiento del peso, para tratar la obesidad, para tratar la diabetes, para tratar complicaciones de la diabetes incluyendo retinopatía, o para tratar trastornos cardiovasculares. El peso excesivo puede ser un factor que contribuya a una enfermedad o estado incluyendo hipertensión, dislipidemia, diabetes, enfermedad cardiovascular, cálculos biliares, osteoartritis y cánceres. Se contempla que facilitar la pérdida de peso corporal reduce la probabilidad de dichas enfermedades o estados. En otro aspecto, la pérdida de peso corporal puede comprender al menos parte de un tratamiento para tales enfermedades o estados. En otro aspecto, la pérdida de peso excesiva puede ser debida al síndrome de Prader-Willi. Todavía en otro aspecto, puede tratarse la obesidad.

La cantidad efectiva de uno o más compuestos análogos de la ghrelina y sus composiciones de acuerdo a y aptas para su uso en realizar cualquier aspecto de la presente invención puede ser administradas a un sujeto con necesidad de las mismas por cualquier método médico aceptable, incluyendo pero no limitándose a, métodos intravenosos, subcutáneos u orales, o la implantación de un fórmula de liberación controlada.

Otras características y ventajas de la presente invención son obvias a partir de las descripciones adicionales proporcionadas en la presente memoria, incluyendo los diferentes ejemplos. Los ejemplos proporcionados ilustran diferentes componentes y la metodología útil para llevar a cabo la presente invención. Los ejemplos no limitan la invención que se reivindica. Basándose en la presente descripción un experto en la técnica puede identificar y emplear otros componentes y metodologías útiles para llevar a cabo la presente invención.

20 Descripción detallada de la invención

La presente invención muestra análogos de la ghrelina que son resistentes a la proteólisis que sin embargo promueven, esto es, un agonista o suprimen, esto es un antagonista, la actividad de la ghrelina en el receptor GHS. Como se ha detallado anteriormente, los análogos de la presente invención son útiles para el tratamiento de una amplia variedad de afecciones en un sujeto.

Con un "sujeto", como se utiliza en la presente memoria, nos referimos a un animal mamífero o no mamífero, por ejemplo y sin limitarse a, un humano, una rata, un ratón o un animal de granja. La referencia a un sujeto no hace referencia necesariamente a la presencia de una enfermedad o trastorno. El término "sujeto" incluye, por ejemplo, un animal mamífero o no mamífero al que se le dosifica un análogo de la ghrelina como parte de un experimento, un animal mamífero o no mamífero que esté siendo tratado para ayudar a aliviar una enfermedad o trastorno, y un animal mamífero o no mamífero que esté siendo tratado profilácticamente para retrasar o prevenir el establecimiento de una enfermedad o trastorno.

Una "cantidad terapéuticamente aceptable" de un compuesto o composición de la invención, independientemente de la formulación o ruta de administración, es aquella cantidad que permite obtener una respuesta biológica deseada en un sujeto. El efecto biológico de la cantidad terapéutica puede ocurrir y estar medido en muchos niveles en un organismo. Por ejemplo, el efecto biológico de la cantidad terapéutica puede tener lugar en y puede ser medido a nivel celular mediante la medida de la respuesta en un receptor que se une a la ghrelina y/o a un análogo de la ghrelina, o el efecto biológico de la cantidad terapéutica puede tener lugar en y estar medido a nivel de sistema, tal como tener como efecto un aumento/descenso en los niveles de hormona del crecimiento en circulación. El efecto biológico de la cantidad terapéutica puede tener lugar en y puede ser medido a nivel de organismo, como la reducción de un(s) síntoma(s) o de de la progresión de una enfermedad o estado en un sujeto. Una cantidad terapéuticamente aceptable de un compuesto o composición de la invención, independientemente de la formulación o la ruta de administración, puede dar lugar a una o más respuestas biológicas en un sujeto. En el caso de que un compuesto o composición de la invención se someta a ensayo en un sistema *in vitro*, una cantidad terapéuticamente aceptable del compuesto o composición puede verse como aquella cantidad que proporciona una respuesta medible en el sistema *in vitro* elegido.

Los agonistas y antagonistas descritos en la presente invención, como aquellos del Grupo 2, Grupo 3, 4 y/o 5, son útiles para aumentar, reducir y/o mantener el peso corporal en un sujeto con necesidad del mismo. El peso corporal se utiliza a menudo para determinar el Índice de Masa Corporal (IMC). El valor del IMC de un sujeto se determina calculando el peso en kilogramos dividido por la el cuadrado de la altura en metros. El intervalo "normal" del IMC, que es bien conocido por la técnica, es 19-22. Los individuos cuyo índice de masa corporal está por debajo del intervalo "normal" son más susceptibles a tener enfermedades y ciertos tratamientos médicos beneficiosos como la quimioterapia, son menos efectivos en individuos que tienen un IMC corporal por debajo del normal.

Como se utiliza en la presente memoria, un sujeto o mamífero obeso se caracteriza por tener un peso corporal aproximadamente un 20%, aproximadamente un 25%, aproximadamente un 30% o superior al peso corporal normal de dicho sujeto. El peso normal corporal normal puede determinarse por comparación con el peso del sujeto en un punto temporal anterior, como cuando los niveles de ghrelina eran normales, o por comparación con los niveles de ghrelina de un sujeto comparados con la medias de otros sujetos de similar edad y/o estado.

5 Como se utiliza en la presente memoria, un sujeto o mamífero con sobrepeso se caracteriza por tener un peso corporal aproximadamente entre el 5% y el 20% superior al peso corporal normal de dicho sujeto. El peso corporal normal puede determinarse por comparación con el peso del sujeto en un punto de tiempo anterior, como cuando los niveles de ghrelina eran normales, o por comparación con los niveles de ghrelina del sujeto con las medias de otros sujetos de la misma edad y/o estado.

10 Como se utiliza en la presente memoria, un mamífero o sujeto normal se caracteriza por tener un peso corporal entre aproximadamente un 5% superior y aproximadamente un 5% inferior al peso corporal normal de dicho sujeto. El peso corporal normal puede determinarse por comparación con el peso del sujeto en un punto de tiempo anterior, como cuando los niveles de ghrelina eran normales, o por comparación con los niveles de ghrelina del sujeto con las medias de otros sujetos de la misma edad y/o estado. Un sujeto con un peso corporal normal puede tener un IMC aproximadamente en el intervalo de 19-22.

15 Como se utiliza en la presente memoria, un sujeto o mamífero delgado se caracteriza por tener un peso corporal aproximadamente de un 5% a un 30% o incluso un 50% inferior al peso normal de dicho sujeto. El peso corporal normal puede determinarse por comparación con el peso del sujeto en un punto de tiempo anterior, como cuando los niveles de ghrelina eran normales, o por comparación con los niveles de ghrelina del sujeto con las medias de otros sujetos de la misma edad y/o estado.

Como se utilizan en la presente memoria, los términos “tratar”, “tratando” y “tratamiento” incluyen el tratamiento paliativo, curativo y profiláctico.

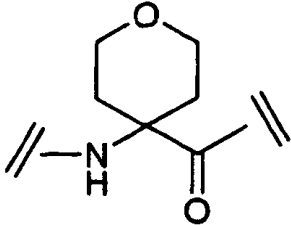
20 Como se utiliza en la presente memoria, “medible” significa el efecto biológico que es tanto reproducible como significativamente diferente de la línea de base del ensayo.

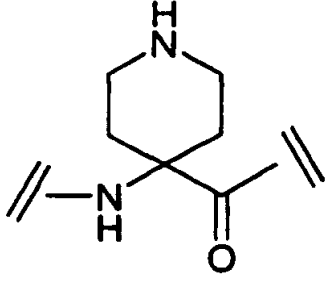
“Proteolisis” como se utiliza en la presente memoria, hace referencia a la degradación dirigida, esto es la escisión, de un péptido por la hidrólisis de un enlace peptídico por una enzima celular proteolítica a la que nos referimos como una proteasa.

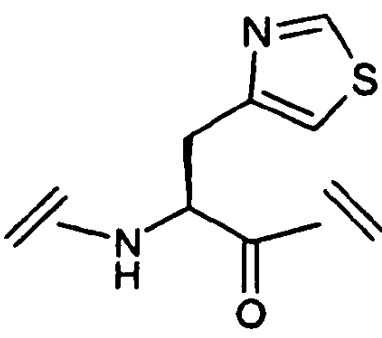
25 A menos que se defina de otra forma, todos los términos técnicos y científicos que se usan en la presente memoria tienen el mismo significado que el que se entienda normalmente por un experto normal en la técnica. También, todas las publicaciones, solicitudes de patente, patentes y otras referencias mencionadas en la presente memoria se incorporan por referencia.

Determinados aminoácidos pueden ser y son representados en la presente memoria como sigue:

Nomenclatura y abreviaturas

Símbolo	Significado
Abu	ácido α -aminobutírico
Acc	ácido 1-amino-1-ciclo(C3-C9)alquil carboxílico
A3c	ácido 1-amino-1-ciclopropano carboxílico
A4c	ácido 1-amino-1-ciclobutanocarboxílico
A5c	ácido 1-amino-1-ciclopentanocarboxílico
A6c	ácido 1-amino-1-ciclohexanocarboxílico
Act	representa la estructura: 
Aib	ácido α -aminoisobutírico
Aic	ácido 2-aminoindano-2-carboxílico
Ala o A	alanina

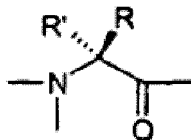
β-Ala	beta-alanina
Apc	representa la estructura: 
Arg o R	arginina
hArg	homoarginina
Asn o N	asparagina
Asp o D	ácido aspártico
Ava	ácido 5-amino-n-valérico
Cha	β-ciclohexilalanina
Cys o C	cisteína
hCys	L-homocisteína
Dab	ácido 2,4-diaminobutírico
Dap	ácido 2,3-diaminopropiónico
Dhp	3,4-dehidroprolina
Dmt	ácido 5,5-dimethyliazolidin-4-carboxílico
2-Fua	β-(2-furil)-alanina
Gln o Q	glutamina
Glu o E	ácido glutámico
Gly o G	glicina
His o H	histidina
3-Hyp	trans-3-hidroxi-L-prolina, esto es, ácido (2S, 3S)-3-hidroxi-pirrolidin-2-carboxílico
4-Hyp	ácido 4-hidroxi-prolina, esto es, ácido (2S, 4R)-4-hidroxi-pirrolidin-2-carboxílico
Ile o I	isoleucina
Inc	ácido indolin-2-carboxílico
Inp	ácido isonipecótico
Ktp	4-quetoprolina
Leu o L	leucina
hLeu	homoleucina
Lys o K	lisina
Met o M	metionina

1-Nal	β -(1-naftil)-L-alanina
2-Nal	β -(2-naftil)-L-alanina
Nle	norleucina
Nva	norvalina
Oic	ácido octahidroindol-2 carboxílico
Orn	ornitina
2-Pal	β -(2-piridinil)alanina
3-Pal	β -(3-piridinil)alanina
4-Pal	β -(4-piridinil)alanina
Phe o F	fenilalanina
hPhe	homofenilalanina
Pip	ácido piperídico
Pro o P	prolina
Ser o S	serina
Taz	β -(4-tiazolil)alanina, esto es, 
2-Thi	β -(2-tienil)alanina
3-Thi	β -(3-tienil)alanina
Thp	4-amino-4-carboxitetrahidropirano
Thr or T	treonina
Thz	ácido tiazolidin-4-carboxílico
Tic	ácido 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-3-carboxílico
Tle	terc-leucina
Trp o W	triptófano
Tyr o Y	tirosina
Val o V	valina

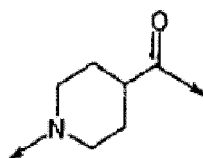
Cuando el aminoácido tiene formas isómeras, la que se representa es la forma L del aminoácido a no ser que se índice explícitamente lo contrario.

5 La nomenclatura utilizada para definir los péptidos es la que se emplea normalmente en la técnica cuando el grupo amino del extremo N aparece a la izquierda y el grupo carboxilo del extremo C aparece a la derecha, esto es,

representa la estructura -NH-CI(R')-CO- , en la que cada uno de los R y R' es, independientemente, hidrógeno o la cadena lateral de un aminoácido (por ejemplo, en Ala R= CH_3 y R'=H), o R y R' se unen para formar un anillo. Para el aminoácido N-terminal, la abreviatura representa la estructura de:



5 o cuando el amino ácido N-terminal es ácido isonipecótico (Inp), la abreviatura representa la estructura de:



10 Un péptido mencionado en la presente memoria también se describe en la presente memoria mediante otro formato, por ejemplo, $(\text{Aib}^2)\text{hGhrelina}(1-28)\text{-NH}_2$, con el/los aminoácido(s) sustituidos de la secuencia natural colocados entre el primer juego de paréntesis (por ejemplo, Aib^2 por Ser^2 en hGhrelina). Los números entre el segundo juego de paréntesis se refieren al número de aminoácidos presentes en el péptido (por ejemplo, hGhrelina (1-18) hace referencia a los aminoácidos del 1 al 18 de la secuencia de péptidos de la Ghrelina humana). La designación " NH_2 " en por ejemplo, $(\text{Aib}^2)\text{hGhrelina}(1-28)\text{-NH}_2$, indica que el extremo C terminal del péptido está amidado. $(\text{Aib}^2)\text{hGhrelin}(1-28)$, o, alternativamente, $(\text{Aib}^2)\text{hGhrelina}(1-28)\text{-OH}$ indica que el extremo C terminal es el ácido libre. Antes de "Ghrelina" se inserta una letra minúscula para indicar su origen, esto es "h" indica que la ghrelina es un homólogo de la forma de ghrelina que se encuentra en el homo sapiens.

A no ser que se indique lo contrario, aquellos aminoácidos con un centro quiral se proporcionan en forma de enantiomero L. La referencia a "uno de sus derivados" designa un aminoácido modificado como el correspondiente D-aminoácido, el N-alquil aminoácido, el aminoácido β o un aminoácido marcado.

20 Como se usa en la presente memoria, Acc hace referencia a un aminoácido seleccionado del grupo del ácido 1-amino-1-ciclopropanocarboxílico (A3c); ácido 1-amino-1-ciclobutanocarboxílico (A4c); ácido 1-amino-1-ciclopentanocarboxílico (A5c); ácido 1-amino-1-ciclohexacarboxílico (A6c); ácido 1-amino-1-cicloheptanocarboxílico (A7c); ácido 1-amino-1-ciclooctacarboxílico (A8c); y ácido 1-amino-1-ciclononocarboxílico (A9c).

"Acilo" hace referencia a $\text{R}''\text{-C(O)-}$, donde R'' es H, alquilo, un alquilo sustituido, un heteroalquilo, un heteroalquilo sustituido, un alquenilo, un alquenilo sustituido, un arilo, un aquilarilo o un alquilarilo sustituido.

25 "Alquilo" hace referencia a un grupo hidrocarbonado que contiene uno o más átomos de carbono, en que si están presentes múltiples átomos de carbonos se unen mediante enlaces simples. El grupo hidrocarbonado alquilo puede ser una cadena simple o contener uno o más ramificaciones o grupos cíclicos.

30 "Alquilo sustituido" hace referencia a un alquilo en el que uno o más átomos de carbono del grupo de hidrocarbonado se reemplazan con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en un halógeno (esto es, flúor, cloro, bromo y yodo), -OH , -CN , -SH , -NH_2 , -NHCH_3 , -NO_2 , un alquilo- C_{1-20} sustituido con de 1 a 6 halógenos, -CF_3 , -OCH_3 , -OCF_3 y $\text{-(CH}_2\text{)}_{0-20}\text{-COOH}$. En diferentes realizaciones están presentes 1, 2, 3 o 4 sustituyentes. La presencia de $\text{-(CH}_2\text{)}_{0-20}\text{-COOH}$ da como resultado la producción de un ácido alcanóico. Ejemplos de ácidos alquílicos que contienen o consisten en $\text{-(CH}_2\text{)}_{0-20}\text{-COOH}$ incluyen, pero no se limitan a, ácido 2-norbornano acético, el ácido acético, el ácido terbutílico y el ácido 3-ciclopentilpropiónico.

35 "Heteroalquilo" hace referencia a un alquilo en el que uno o más de los átomos de carbono del grupo de hidrocarbonado está sustituido con uno o más de los siguientes grupos: amino, amido, -O- , -S- o carbonilo. En diferentes realizaciones están presentes 1 o 2 heteroátomos.

40 "Heteroalquilo sustituido" hace referencia a un heteroalquilo en el que uno o más de los átomos de hidrógeno del grupo hidrocarburo está reemplazado por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en un halógeno (esto es, flúor, cloro, bromo y yodo), -OH , -CN , -SH , -NH_2 , -NHCH_3 , -NO_2 , alquilo C_{1-20} sustituido con 1 a 6 halógenos, -CF_3 , -OCH_3 , -OCF_3 y $\text{-(CH}_2\text{)}_{0-20}\text{-COOH}$. En diferentes realizaciones están presentes 1, 2, 3 o 4 sustituyentes.

“Alquenilo” hace referencia a un grupo hidrocarbonado compuesto por hasta dos o más átomos de carbono en el que están presentes uno o más enlaces dobles carbono-carbono. El grupo hidrocarbonado alquenilo puede ser de cadena simple o contener una o más ramificaciones o grupos cíclicos.

5 “Alquenilo sustituido” hace referencia a un alquenilo en el que uno o más átomos de hidrógeno es reemplazado por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en un halógeno (esto es, flúor, cloro, bromo y yodo), -OH, -CN, -SH, -NH₂, -NHCH₃, -NO”, alquilo C₁₋₂₀ sustituido con 1 a 6 halógenos, -CF₃, -OCH₃, -OCF₃ y -(CH₂)₀₋₂₀-COOH. En diferentes realizaciones están presentes 1, 2, 3 o 4 sustituyentes.

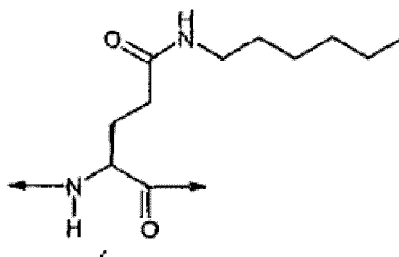
10 “Ariilo” hace referencia a un grupo aromático opcionalmente sustituido, con un grupo aromático que tiene al menos un anillo que tiene un sistema conjugado de electrones π, que contiene hasta dos sistemas de anillos conjugados o fusionados. Ariilo incluye, pero no se limita a, grupos ariilo carboxílicos, ariilo heterocíclicos y biarílicos. Preferiblemente, el ariilo es un anillo de 5- o 6- miembros. Los átomos preferidos para un ariilo heterocíclico son uno o más de azufre, oxígeno y/o nitrógeno. Los ejemplos de ariilo incluyen, pero no se limitan a, fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, indol, quinolina, 2-imidazol y 9-antraceno. Los sustituyentes del ariilo se seleccionan del grupo que consiste en alquilo -C₁₋₂₀, alcoxi C₁₋₂₀, halógeno (esto es, flúor, cloro, bromo y yodo), -OH, -CN, -SH, -NH₂, -NO₂, alquilo C₁₋₂₀ sustituido con 1 a 5 halógenos, -CF₃, -OCF₃ y -(CH₂)₀₋₁₀COOH. En diferentes realizaciones el ariilo contiene 0, 1, 2, 3 o 4 sustituyentes.

El término “halo” abarca fluoro, cloro, bromo y yodo.

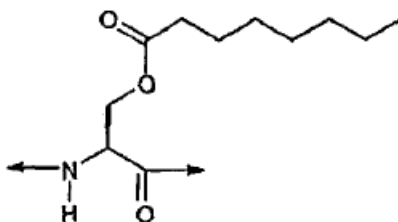
El término “fragmento de hidrocarburo (C₁-C₁₂)” abarca alquilo, alquenilo y alquiniilo y en el caso de alquenilo y alquiniilo hay C₂-C₁₂.

20 “Alquilarilo” hace referencia a un “alquilo” unido a un “ariilo.”

Lo que se entiende por Glu(NH-hexil) es

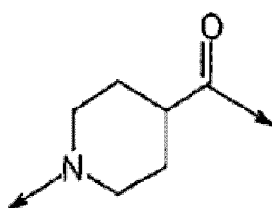


Lo que se entiende por Ser(n-octanoil) or Ser(C(O)-heptil) es



25 El aminoácido N-terminal Inp tiene la estructura de:

Inp:



La presente invención incluye diastereoisómeros así como sus mezclas racémicas y las formas enantioméricamente puras resueltas. Los análogos de la ghrelina pueden contener D-aminoácidos, L-aminoácidos o cualquiera de sus combinaciones. Preferiblemente, los aminoácidos presentes en un análogo de la ghrelina son los enantiomeros L.

5 Los derivados de los análogos que se describen en la presente memoria comprenden D-aminoácidos, N-alquil aminoácidos, β -aminoácidos y/o uno o más aminoácidos marcados (incluyendo una versión marcada de un aminoácido D, N-alquil aminoácidos, o un β -aminoácido).

10 Un derivado marcado indica la alteración de un aminoácido o un derivado de aminoácido con un marcador detectable. Los ejemplos de marcadores detectables incluyen marcadores luminescentes, enzimáticos y radioactivos. Tanto el tipo de marcador como la posición del marcador pueden afectar a la actividad del análogo. Los marcadores deben seleccionarse y colocarse de forma que no alteren sustancialmente la actividad del análogo de la ghrelina en el receptor GHS. El efecto de un marcador concreto y la posición en la actividad de la ghrelina puede determinarse utilizando ensayos que midan la actividad de y/o la unión a la ghrelina.

15 Un grupo protector unido covalentemente al grupo carboxilo C-terminal reduce la reactividad del extremo carboxilo bajo condiciones *in vivo*. El grupo protector del extremo carboxilo está unido preferiblemente al grupo α -carbonilo del último aminoácido. Los grupos protectores del extremo carboxilo preferidos incluyen la amida, la metilamida y etilamina.

Otras abreviaturas que se utilizan en la presente memoria se definen a continuación:

Nomenclatura y abreviaturas

Símbolo	Significado
Boc:	<i>tert</i> -butiloxicarbonilo
BSA:	albúmina sérica bovina
Bzl:	bencilo
DCM:	Diclorometano
DIC:	N,N-diisopropilcarbodiimida
DIEA:	diisopropiletil amina
Dmab:	4-{N-(1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexiliden)-3-metilbutil)-aminol bencilo
DMAP:	4-(dimetilamino)piridina
DMF:	dimetilformamida
DNP:	2,4-dinitrofenilo
EDTA	ácido etilendiaminotetracético
Fmoc:	fluorenilmetiloxicarbonilo
HBTU:	hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1 il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
cHex	ciclohexilo
HOAT:	hexafluorofosfato de O-(7-aza benzotriazol-1 il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
HOBt:	1-hidroxi-benzotriazol
HPLC:	cromatografía líquida de alta resolución
MBHA	4-metilbencilhidralamina
Mmt:	4-metoxitritilo
NMP:	N-metilpirrolidina
Pbf:	2,2,4,6,7-pentametilhidrobenzofurano-5-sulfonilo

PhiPr:	γ 2-fenilisopropil éster
PyAOP:	hexafluorofosfato de 7-azabenzotriazol-1-il oxi-tris (pirrolidino) fosfonio
tBu:	terc-butilo
TIS:	triisopropilsilano
TOS:	tosilo
trt	tritilo
TFA:	ácido trifluoroacético
TFFH:	hexafluorofosfato de tetrametilfluoroamidino
Z:	benciloxycarbonilo

Métodos de síntesis

Los compuestos de la invención pueden producirse utilizando las técnicas descritas en los ejemplos de la presente memoria así como las tecnologías que son bien conocidas por la técnica. Por ejemplo, una región de un polipéptido de un análogo de la ghrelina puede sintetizarse y modificarse química o bioquímicamente. Se proporcionan ejemplos de técnicas para la síntesis que implican la introducción de un ácido nucleico en una célula y la expresión de ácidos nucleicos en Ausubel, Current Protocols en Molecular

Biology, John Wiley, 1987-1998 y Sambrook et al., en Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2ª Edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. Las tecnologías para la síntesis química de polipéptidos también son bien conocidas en la técnica (Vincent en Peptide and Protein Drug Delivery, New York, N.Y., Dekker, 1990). Por ejemplo, los péptidos de esta invención pueden prepararse mediante síntesis estándar de péptidos en estado sólido (Stewart, J.M. et al., Solid Phase Synthesis, Pierce Chemical Co., 2ª ed. 1984).

El sustituyente R^2 de la fórmula genérica anterior puede unirse a la amina libre del aminoácido N-terminal mediante métodos estándar conocidos por la técnica. Por ejemplo, los grupos alquilo, por ejemplo, un alquilo(C_1 - C_{30}), puede unirse utilizando alquilación reductora. Los grupos hidroaxialquilo, por ejemplo, hidroaxialquilo(C_1 - C_{30}), también pueden unirse utilizando alquilación reductora en la que el grupo hidroxilo libre está protegido con un t-butiléster. Los grupos acilo, por ejemplo, COE^1 , pueden unirse acoplado el ácido libre, por ejemplo, E^1COOH , a la amina libre del aminoácido N terminal mezclando la resina terminada con 3 equivalentes molares de ambos, el ácido libre y diisopropilcarbodiimida en cloruro de metileno durante 1 hora. Si el ácido libre contiene un grupo hidroxilo, por ejemplo, ácido p-hidroxifenilpropiónico, el acoplamiento debe realizarse con tres equivalentes molares de HOBT.

Cuando el R^1 es $NH-X^2-CH_2-NH_2$ (esto es, $Z^0=CONH_2$) la síntesis del péptido comienza con Fmoc-HN- X^2-CH_2-COOH acoplado a una resina de amida de Rink MBHA (Amida-4 metilbecihidril amina suministrada por Novabiochem®, San Diego, CA). Cuando el R^1 es $NH-X^2-CH_2-COOH$ (esto es, $Z^0=COOH$) la síntesis del péptido comienza con Fmoc-HN- X^2-CH_2-COOH que se acopla con la resina Wang.

En la síntesis de un análogo de la ghrelina de la presente invención que contenga A5c, A6c y/o Aib, el tiempo de acoplamiento es de dos horas para estos residuos y para los residuos que inmediatamente les siguen.

Más adelante se proporcionan ejemplos para ilustrar diferentes características de la presente invención. Los ejemplos también ilustran metodologías útiles para llevar a cabo la invención. Estos ejemplos no limitan la invención que se reivindica.

30 Ejemplo de referencia 2: (Ac-1-Apc¹, Aib^{2,10}, Glu(NH-hexil)³)hGhrelina(1-28)-NH₃ (SEQ ID NO:8)

Se sintetizó una resina de amida de Rink-MBHA con cadena lateral protegida Fmoc-(Aib^{2,10},Glu³) hGhrelina (2-28) en un sintetizador de péptidos 433A (suministrado por Applied Biosystems®, Foster City, CA, EE.UU.) utilizando el método químico del fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc). Se utilizó una resina de amida de Rink-4-metilbencilhidrilamina (MBHA) (suministrada por Novabiochem®, San Diego, CA, EE.UU.) con una sustitución de 0,64 mmol/g. Los aminoácidos Fmoc (suministrados por AnaSpec®, San José, CA, EE.UU.) utilizados fueron Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Aib-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Glu(tBu)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, y Fmoc-Val-OH. Además, se utilizó Fmoc-Glu(O-2-PhiPr)-OH (suministrado por Novabiochem®, San Diego, CA, EE.UU.) en A³. La síntesis se realizó con una escala 0,1 mmol. Los grupos Fmoc se eliminaron mediante tratamiento con piperidina al 20% en N-metilpirrolidona (NMP) durante 30 min. En cada pase de acoplamiento, el aminoácido Fmoc (3eq, 0,3 mmol) se preactivó previamente en 2mL de una disolución 0,45M de hexafluorofosfato de 2-(1-H-benzotriazol-1-il)-1,1,2,3-tetrametiluronio /1-hidroxilo-

benzotriazol (HBTU/HOBT) en NMP. Al éster de aminoácido activado, se añadieron 1mL de diisopropiletilamina (DIEA) y 1mL de NMP. El sintetizador de péptidos ABI 433A se programó para llevar a cabo los siguientes pasos:

- (1) lavar con NMP;
- (2) eliminar el grupo protector Fmoc con 20% de piperidina en NMP durante 30 minutos;
- 5 (3) lavar con NMP; y
- (4) acoplar con un aminoácido Fmoc preactivado durante una a tres horas

La resina se acopló sucesivamente de acuerdo con la secuencia del péptido del título. Después de que se ensamblase la cadena peptídica, la resina se lavó completamente utilizando N,N- dimetilformamida (DMF) y diclorometano (DCM).

- 10 Al final del proceso de ensamblaje de la cadena peptídica en el 433A, la péptido resina se transfirió a un recipiente de reacción colocado sobre un agitador y el Fmoc se eliminó utilizando Pip/DMF al 25% durante 30 min. La resina se lavó con DMF: El Fmoc-Apc-OH (0,4 mmoles) se acopló utilizando TFFH (hexafluorofosfato de tetrametilfluoroformamidinio) (suministrado por Perceptive Biosystems®, Warrington, UK) (0,4 mmoles), HOAt (0,4 mmoles), DAMP (dimetilaminopiridina) (0,1 g) y DIEA (1,2 mmoles) una vez en un ciclo de cuatro horas y después
- 15 otra vez durante la noche.

- El grupo Fmoc se eliminó como se describe más arriba y el péptido se protegió utilizando Ac₂O (anhídrido acético) (5 mmoles) y DIEA (5mmoles) en DMF durante 30 minutos. Los grupos PhiPr se eliminaron de Glu³ utilizando TFA 2 x 3 % en DCM durante un ciclo de 10 minutos. El Boc que se eliminó parcialmente de la cadena lateral de Lys se reemplazó utilizando Boc₂O (0,8 mmoles) y DIEA (0,8 mmoles) en DCM durante la noche. La resina se trató después
- 20 con PyAOP (hexafluorofosfato de 7-azabenzotriazol-1-iloxitris(pirrolidino)fosfonio) (suministrado por Applied Biosystems®, Foster City, CA, EE.UU.) (0,6 mmoles), HoAt (0,6 mmoles), DMAP (0,1g) y DIEA (1,8 mmoles) durante un ciclo de 10 minutos después del cual se añadió hexil-NH₂, esto es, hexilamina (suministrada por Sigma-Aldrich Chemicals®, St. Louis, MO, EE.UU.) (2,0 mmoles) y la resina resultante se agitó continuamente durante la noche.

- Para escindir el péptido del enunciado, la resina se trató con una mezcla de TFA, H₂O y triisopropilsilano (TIS) (9,5 mL/0,85mL/0,8 mL) durante cuatro horas. La resina se filtró y el filtrado se vertió en 200 mL de éter. El precipitado se recogió mediante centrifugación. Este producto bruto se disolvió en una mezcla de acetonitrilo y agua y se purificó en un sistema de preparación HPLC de fase inversa con una columna (4 x 43 cm) de C₁₈ DYNAMAX-100 A₀ (suministrada por Varian®, Walnut Creek, CA, EE.UU.). La columna se eluyó durante aproximadamente una hora
- 25 utilizando un gradiente lineal de 92%A:8% B a 72%A:28%B, donde A era 0,1% TFA en agua y B era 0,1 %TFA en acetonitrilo. Las fracciones se inspeccionaron mediante HPLC analítica y las que contenían el producto puro se concentraron y liofilizaron hasta sequedad para proporcionar un rendimiento de 1,5 mg (0,5%) de un sólido blanco. La pureza se determinó utilizando HPLC y se encontró que era de aproximadamente el 97,5 %. El análisis mediante espectrometría de masas de ionización por electrospray (ESI-MS) proporcionó un peso molecular de 3.435,1 (de acuerdo con el peso molecular calculado de 3.434,5).
- 30

35 **Ejemplo de referencia 4 :(1-Apc¹, Aib^{2,10}, Glu(NH-hexil)³)-hGhrelin(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:1)**

- La resina de amida de Rink-MBHA con cadena lateral protegida Fmoc-(Aib^{2,10}, Glu³) hGhrelin(2-28) se sintetizó en un sintetizador de péptidos 433A (suministrado por Applied Biosystems®, Foster City, CA, EE.UU.) utilizando el método químico del Fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc). Se utilizó una resina de amida de Rink 4-metilbencilhidridilamina (MBHA) (suministrada por Novabiochem®, San Diego, CA, EE.UU.) con sustitución de 0,64 mmol/g. Los
- 40 aminoácidos Fmoc (suministrados por AnaSpec®, San José, CA, EE.UU.) utilizados fueron Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Aib-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Glu(tBu)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, y Fmoc-Val-OH. Además, se utilizó Fmoc-Glu(O-2-PhiPr)-OH (suministrado por Novabiochem® San Diego, CA) en A³. La síntesis se llevó a cabo con una escala de 0,01 mmol. Los grupos Fmoc se eliminaron mediante tratamiento con un 20% de piperidina en N-metil pirrolidona (NMP) durante un ciclo de 30 minutos. En cada pase de acoplamiento, el aminoácido Fmoc (3 eq, 0,3 mmol) se preactivó previamente en 2mL de disolución 0,45 M de hexafluorofosfato de 2-(1-H-benzotriazol-1il)-1,1,2,3-
- 45 tetrametiluronio/1-hidroxibenzotriazol (HBTU/HOBT) en NMP. Al éster de aminoácido activado, se añadieron a la resina 1mL de diisopropiletilamina (DIEA) y 1 mL de NMP: El sintetizador de péptidos ABI 433A se programó para llevar a cabo la siguiente reacción:

- 50 (1) lavar con NMP
- (2) eliminar el grupo protector Fmoc con 20% de piperidina en NMP durante 30 min;
- (3) lavar con NMP; y
- (4) acoplar con un aminoácido Fmoc preactivado durante una a dos horas. La resina se acopló sucesivamente de acuerdo con la secuencia del péptido del enunciado. Después de que se uniese la

cadena del péptido, la resina se lavó completamente utilizando N,N- dimetilformamida (DMF) y diclorometano (DCM).

Al final del proceso de ensamblaje de la cadena peptídica en el 433A, la péptido resina se transfirió a un recipiente de reacción colocado sobre un agitador y el Fmoc se eliminó mediante inmersión en una disolución de Pip/DMF al 25% durante aproximadamente 30 minutos. Posteriormente la resina se eliminó con DMF. La Fmoc-Apc-OH (0,4 mmoles) se acopló utilizando TFFH (hexafluorofosfato de tetrametilfluoroformamidinio) (suministrado por Perceptive Biosystems®, Warrington, UK), HOAt (0,4mmol), DMAP (dimetilaminopiridina) (0,1g) y DIEA (1,2 mmoles) durante un ciclo de cuatro horas y después otra vez durante la noche.

El grupo Fmoc se eliminó como se describe anteriormente. Los grupos PhiPr se eliminaron de Glu³ utilizando dos ciclos de 3% de TFA en DCM durante un periodo de 10 minutos por ciclo. El Boc que se eliminó parcialmente de la cadena lateral de Lys durante el proceso se reemplazó utilizando Boc₂O (0,8 mmoles) y DIEA (0,8 mmoles) en DCM durante la noche. La resina se trató con PyAOP (hexafluorofosfato de 7-azabenzotriazol-1-iloitris(pirrolidino) fosfonio) (suministrado por Applied Biosystems®, Foster City, CA, EE.UU.) (0,6 mmoles), HOAt (0,6mmoles), DMAP (0,1g) y DIEA (1,8mmoles) durante 10 minutos después de lo cual se añadió hexil-NH₂, esto es, hexilamina (proporcionada por Sigma-Aldrich Chemicals®, St. Louis, MO, EE.UU.) (2,0 mmoles) y la disolución de la resina se agitó durante la noche.

El péptido del enunciado se escindió de la resina mediante tratamiento con una mezcla de TFA, H₂O y triisopropilsilano (TIS) (9,5mL/0,85 mL/0,8 mL) durante un periodo de aproximadamente 4 horas. La resina se filtró y el filtrado se vertió en 200 mL de éter. El precipitado se recuperó mediante centrifugación. El producto crudo se disolvió en una mezcla de acetonitrilo y agua y se purificó en un sistema HPLC de preparación de fase inversa con una columna (4 x 43 cm) de C₁₈ DYNAMAX-100 A₀ (suministrada por Varian®, Walnut Creek, CA, EE.UU.). La columna se eluyó durante aproximadamente una hora utilizando un gradiente lineal de 92%A:8%B a 72%A:28%B, donde A era 0,1% de TFA en agua y B era 0,1% de TFA en acetonitrilo. Las fracciones se inspeccionaron mediante HPLC analítica y aquellas que contenían el producto puro se concentraron y se liofilizaron hasta sequedad para proporcionar 4,6 mg (1,4%) de un sólido blanco. La pureza se determinó utilizando HPLC y se encontró que era de aproximadamente el 99,8%. El análisis mediante espectrometría de masas de ionización por electrospray (ESI-MS) proporcionó un peso molecular de 3.393,5 (de acuerdo con el peso molecular calculado de 3.393,1).

Ejemplo 11: Ipn¹, Ser(n-octanoil)¹⁷ hGhrelina(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO 6):

La resina de amida de Rink MBHA de cadena lateral protegida Fmoc-(Ser¹⁷) hGhrelin(2-28) se sintetizó en un sintetizador de péptidos modelo 433A (suministrado por Applied Biosystems®, Foster City, CA, EE.UU.) utilizando el método químico del fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc). Se utilizó una resina de amida de Rink 4-metilbencilhidrilamina (MBHA) (suministrada por Novabiochem®, San Diego, CA, EEUU) con sustitución 0,64 mmol/g. Los aminoácidos Fmoc (suministrados por AnaSpec®, San José, CA, EE.UU.) utilizados fueron Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Aib-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Glu(tBu)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, y Fmoc-Val-OH. Además, se utilizó Fmoc-Ser(Trt)-OH (también suministrado por AnaSpec®, San José, CA, EE.UU) en A³ y A¹⁷. La síntesis se llevó a cabo con una escala de 0,2 mmol. Los grupos Fmoc se eliminaron mediante tratamiento con un 20% de piperidina en N-metilpirrolidona (NMP) durante 30 minutos. En cada pase de acoplamiento, el aminoácido Fmoc (3 eq, 0,3mmol) se activó previamente en 2mL de una disolución 0,45M de hexafluorofosfato de 2-(1-H-benzotriazol-1-il)-1,1,2,3-tetrametiluronio / 1-hidroxibenzotriazol (HBTU/HOBT) en NMP. Al éster del aminoácido activo se le añadieron 1 mL de diisopropiletilamina (DIEA) y 1mL de NMP. El sintetizador de péptidos ABI 433A se programó para llevar a cabo lo siguiente:

- (1) lavar con NMP;
- (2) eliminar el grupo protector Fmoc con 20% de piperidina en NMP durante 30 minutos;
- (3) lavar con NMP; y
- (4) acoplar con el aminoácido preactivado Fmoc durante 1 o 2 horas.

La resina se acopló sucesivamente de acuerdo con la secuencia del péptido del enunciado. Después de que se ensamblase la cadena de péptidos, la resina se lavó completamente usando N,N-dimetilformamida (DMF) y diclorometano (DCM).

Al final del proceso de ensamblaje de la cadena peptídica en el 433A, la péptido resina se transfirió a un recipiente sobre un agitador y el Fmoc se eliminó utilizando Pip/DMF al 25% en un ciclo de 30 minutos. La resina se lavó con DMF. Se acopló Fmoc-Ipn-OH (1,0 mmoles) utilizando TFF (hexafluorofosfato de tetrametilfluoroformamidinio) (suministrado por Perceptive Biosystems®, Warrington, UK) (1,0 mmoles), HOAt (1,0 mmol), DMAP (dimetilaminopiridina) (0,1g) y DIEA (3,0 mmoles) una vez durante la noche.

Los grupos Trt se eliminaron de Ser³ y Ser¹⁷ utilizando dos ciclos de 3% de TFA en DCM en los que cada ciclo tenía una duración de aproximadamente 10 minutos. El Boc que se había eliminado parcialmente de la cadena lateral de Lys como se indica anteriormente, se reemplazó utilizando Boc₂O (0,8mmoles) y DIEA (0,8mmoles) en DCM durante

la noche. Se acopló ácido octanoico (10 mmoles) a las cadenas laterales Ser³ y Ser¹⁷ utilizando DIC (5 mmoles), DMAP (0,2mg) y DIEA (5 mmoles) en DCM durante la noche.

5 El Fmoc terminal se eliminó por inmersión en Pip/DMF al 25% durante 30 minutos. La resina se lavó después con DMF. El péptido del enunciado se separó de la resina utilizando una mezcla de TFA, H₂O y triisopropilsilano (TIS) (9,5mL/ 0,85mL/ 0,8mL) durante aproximadamente 4 horas. La resina se filtró y el filtrado se vertió en 200 mL de éter. El precipitado se recogió mediante centrifugación. El producto crudo se disolvió en una mezcla de acetonitrilo y agua y se purificó en un sistema de preparación HPLC de fase inversa con una columna (4 x 43 cm) de C₁₈ DYNAMAX-100 A₀ (suministrada por Varian®, Walnut Creek, CA, EE.UU.). La columna se eluyó durante 10 aproximadamente 1 hora utilizando un gradiente lineal de 85% A:15% B a 55% A:45% B, donde A era 0,1% TFA en agua y B era 0,1 %TFA en acetonitrilo. Las fracciones se inspeccionaron mediante HPLC analítica y aquellas que contenían el producto puro se concentraron y liofilizaron hasta sequedad para proporcionar un rendimiento de 41,7 mg (5,9%) de un sólido blanco. La pureza se determinó utilizando HPLC y se encontró que era de aproximadamente del 96,6 %. El análisis mediante espectrometría de masas de ionización por electrospray (ESI-MS) proporcionó un peso molecular de 3.507,4 (de acuerdo con el peso molecular calculado de 3.508,16).

15 Un experto en la técnica puede preparar los siguientes péptidos de la invención utilizando procedimientos de síntesis análogos a los descritos anteriormente de forma general en la presente memoria:

Ejemplo 1: (Ac-Inp¹, Aib^{2,10}, Glu(NH-hexil)³)hGhrelinA(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:8)

Ejemplo de referencia 2 : (Ac-1-Apc¹, Aib^{2,10}, Glu(NH-hexil)³)hGhrelinA(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:8)

Ejemplo 3: (Inp¹, Aib^{2,10}, Glu(NH-hexil)³)hGhrelinA(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:1)

20 Ejemplo de referencia 4: (1-Apc¹, Aib^{2,10},Glu(NH-hexil)³)-hGhrelinA(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:1)

Ejemplo 5: (Inp¹)hGhrelinA(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:2)

Ejemplo 6: (Inp¹, Aib²)hGhrelin(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:2)

Ejemplo 7: (Inp¹, Aib², Glu(NH-hexil)³)hGhrelinA(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:3)

Ejemplo 8: (Inp¹, Aib^{2,10})hGhrelinA(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:4)

25 Ejemplo 9: (Inp¹, Aib^{2,8})hGhrelinA(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:5)

Ejemplo 10: (Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelinA(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:6)

Ejemplo 11: (Inp¹, Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelinA(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:6) y

Ejemplo 12: (Inp¹, Aib^{2,8},Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelinA(1-28)-NH₂ (SEQ ID NO:7)

30 Para determinar el peso molecular se analizó una selección de los péptidos anteriores mediante espectrometría de masas de ionización por electrospray (ESI-MS). La tabla 1 que se incluye a continuación presenta los datos recopilados durante este ensayo. También se proporciona la pureza de cada uno de los compuestos seleccionados, determinada utilizando HPLC.

Tabla 1-Peso Molecular y Pureza de Compuestos Seleccionados

Ejemplo #	COMPUESTO	Peso molecular (Calculado)	Peso molecular (MS-ES)	Pureza (%)
#1	(Ac-Inp ¹ , Aib ^{2,10} , Glu(NH-hexil) ³)hGhrelinA(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 8)	3.420,0	3.419,5	97,0%
Ejemplo de referencia #2	(Ac-1-Apc ¹ , Aib ^{2,10} , Glu(NH-hexil) ³)hGhrelinA(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 8)	3.435,5	3.434,5	97,5%

Ejemplo #	COMPUESTO	Peso molecular (Calculado)	Peso molecular (MS-ES)	Pureza (%)
#3	(Inp ¹ , Aib ^{2,10} , Glu(NH-hexil) ³)hGhrelin (1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 1)	3.378,0	3.377,6	97,8%
Ejemplo de referencia #4	(1-Apc ¹ , Aib ^{2,10} , Glu(NH-hexil) ³)-hGhrelin (1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 1)	3.393,1	3.393,5	99,8%
#5	(Inp ¹)hGhrelin (1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 2)	3.434,0	3.423,8	96,2%
#6	(Inp ¹ , Aib ²)hGhrelin(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO:2)	3.422,3	3.422,1	99,0%
#7	(Inp ¹ , Aib ³ , Glu(NH-hexil) ³)hGhrelin (1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 3)	3.421,4	3.421,3	99,0%
#8	(Inp ¹ , Aib ^{2,10})hGhrelin(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO:4)	3.379,0	3.379,3	99,0%
#9	(Inp ¹ , Aib ^{2,8})hGhrelin(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO:5)	3.378,2	3.377,4	98,0%
#10	(Inp ¹ , Aib ² , Ser(n-octanoil) ¹⁷)hGhrelin (1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 6)	3.506,2	3.505,8	98,0%
#11	(Inp ¹ , Ser(n-octanoil) ¹⁷)hGhrelin (1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 6)	3.508,2	3.507,4	96,6%
#12	(Inp ¹ , Aib ^{2,8} , Ser(n-octanoil) ¹⁷)hGhrelin (1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 7)	3.462,2	3.462,3	99,0%

Se analizó una selección de los péptidos enumerados anteriormente para determinar su estabilidad, esto es, su vida media en un modelo en plasma de ratas utilizando procedimientos conocidos por los expertos en la técnica. La tabla 2 que se incluye a continuación presenta los datos recopilados durante este ensayo.

Tabla 2-Vida media en plasma de rata de compuestos seleccionados

Ejemplo #	COMPUESTO	Vida media en plasma de ratas (horas)
#1	(Ac-Inp ¹ , Aib ^{2,10} , Glu(NH-hexil) ³)hGhrelin (1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 8)	9,4
#3	(Inp ¹ , Aib ^{2,10} , Glu(NH-hexil) ³)hGhrelin (1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 1)	10,6
Ejemplo de referencia #4	(1-Apc ¹ , Aib ^{2,10} , Glu(NH-hexil) ³)hGhrelin (1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 1)	10,0
#5	(Inp ¹)hGhrelin(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 2)	6,2
#6	(Inp ¹ , Aib ²)hGhrelin(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO:2)	1,4
#7	(Inp ¹ , Aib ² , Glu(NH-hexil) ³)hGhrelin(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 3)	6,7
#8	(Inp ¹ , Aib ^{2,10})hGhrelin(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO:4)	1,2
#9	(Inp ¹ , Aib ^{2,8})hGhrelin(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO:5)	1,2
#10	(Inp ¹ , Aib ² , Ser(n-octanoil) ¹⁷)hGhrelin (1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 6)	0,6
#11	(Inp ¹ , Ser(n-octanoil) ¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 6)	0,7
#12	(Inp ¹ , Aib ^{2,8} , Ser(n-octanoil) ¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 7)	0,7

Determinación de la Actividad Biológica

5 En la presente memoria se describen métodos que pueden ser y han sido usados para caracterizar los compuestos de la invención. Un experto en la técnica puede reconocer y apreciar las variaciones en los ensayos que generarían resultados comparables. Un experto en la técnica también podría conocer y detectar que pueden utilizarse otros ensayos para generar los resultados y diferenciar las características que se describen en la presente memoria.

Ensayo de Determinación de la Unión a un Receptor GHS

5 La actividad de los compuestos de la invención en el receptor GHS puede ser y fue determinada utilizando técnicas como las que se describen en los ejemplos que se proporcionan más adelante. Con respecto a IC₅₀, el término mayor hace referencia a potencia y, por tanto, indica que es necesaria una menor cantidad para conseguir la inhibición de la unión.

10 Los ensayos de unión pueden llevarse a cabo utilizando polipéptidos del receptor GHS presentes en diferentes medio ambientes producidos mediante recombinación. Tales medio ambientes incluyen, por ejemplo, extractos celulares y extractos celulares purificados que contienen el polipéptido receptor de GHS expresado a partir de un ácido nucleico recombinante o un ácido nucleico presente de forma natural, y también incluye, por ejemplo, el uso de un polipéptido receptor de GHS purificado producido por medios recombinantes o a partir de un ácido nucleico presente de forma natural que se introduce en un medio ambiente diferente.

Detección de Compuestos Activos del Receptor GHS

15 La detección de compuestos activos del receptor GHS está facilitada por el uso de un receptor expresado mediante recombinación. Un receptor de GHS expresado mediante recombinación presenta numerosas ventajas como la capacidad para expresar el receptor en un sistema celular definido de forma que una respuesta a un compuesto en el receptor GHS puede diferenciarse más fácilmente de diferentes respuestas en otros receptores. Por ejemplo, el receptor GHS puede expresarse en una línea celular como HEK 293, COS7 y CHO que normalmente no expresa el receptor mediante un vector de expresión en el que la misma línea celular sin el vector de expresión puede actuar como control.

20 La detección de compuestos que reducen la actividad receptora de GHS se facilita utilizando un análogo de la ghrelina en el ensayo que proporciona actividad para el receptor GHS. El efecto de los compuestos de ensayo en tal actividad se puede medir para identificar, por ejemplo, reguladores alostéricos y antagonistas.

25 La actividad receptora de GHS puede medirse utilizando diferentes técnicas como detectar un cambio en la conformación intracelular del receptor GHS, en las actividades de las proteínas G acopladas y/o en los mensajeros intracelulares. Preferiblemente, la actividad en el receptor GHS se mide utilizando técnicas como aquellas que miden el Ca²⁺ intracelular. Ejemplos de tecnologías bien conocidas por la técnica que pueden ser utilizadas para medir Ca²⁺ incluyen el uso de tintas como Fura-2 y el uso de proteínas bioluminescentes sensibles a Ca²⁺ como la aecurina. Un ejemplo de una línea celular que utiliza aecurina para medir la actividad de la proteína G es HEK293/aeq17 (Button, D. et al., Cell Calcium, (1993), 14(9):663-71; y Feighner, S. D. et al., Science, (1999), 284(5423):2184-8).

30 Los receptores quiméricos que contienen una región de unión a ghrelina acoplados a una proteína G diferente pueden utilizarse también para medir la actividad del receptor GHS. Un receptor GHS quimérico contiene un dominio extracelular N terminal, un dominio transmembrana construido a partir de regiones transmembrana, regiones con bucle extracelulares y regiones intracelulares con bucle y un extremo carboxilo intracelular. Las técnicas para producir receptores quiméricos y medir las respuestas de la proteína G acoplada se proporcionan en, por ejemplo, la solicitud de patente internacional PCT/US96/12336 [WO 97/05252] y en la patente US 5.264.565 que se incorporan en la presente memoria por referencia.

Estimulación de la actividad del receptor GHS

40 Los análogos de la ghrelina pueden utilizarse para estimular la actividad del receptor de GHS que pueden utilizarse, por ejemplo, para estudiar los efectos de la regulación del receptor GHS y/o la secreción de GH, para identificar antagonistas de la ghrelina y/o para favorecer a un sujeto que sufra de una enfermedad o estado como un estado deficiente en GH, masa muscular y/o densidad ósea reducida, disfunción sexual, peso corporal poco saludable, pérdida de capacidades motoras y/o capacidad física y/o una falta de apetito normal.

45 Aumentar el peso o el apetito es decisivo para mantener un peso corporal saludable e ideal en un individuo susceptible a la pérdida de peso, como los enfermos o ancianos. La pérdida de peso o apetito en un individuo con bajo peso puede llevar a serios problemas de salud. En un paciente que sufra de una enfermedad o que esté bajo tratamiento médico que cause pérdida de peso y/o una falta de apetito normal, la efectividad del tratamiento de dicha enfermedad o estado depende de la capacidad del paciente para mantener un peso constante.

En cambio, los antagonistas de la ghrelina son útiles en tratamientos para facilitar la pérdida de peso en aquellos sujetos para los que sea necesaria una pérdida de peso.

50 Ensayos Biológicos – Ejemplos1. Ensayos de unión a receptor1A. Preparación de células CHO-K1 que expresen el receptor GHS recombinante humano

El ADNc para el receptor del secretagogo de GH humano (hGHS-R o receptor de ghrelina) se clonó utilizando técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) bien conocidas por los expertos en la técnica en las que se

utilizó ARN del cerebro humano como patrón (suministrado por Clontech®, Palo Alto, CA, EE.UU.), los cebadores específicos que flanquean la secuencia codificadora del hGHS-R (S:5'-ATGTGGAACGC GACGCCAGCGAAGAG-3' y AS:5'-TCATGTATTAATACTA G A T T C T G T C C A - 3') y el kit 2 PCR Advantage® (suministrado por Clontech®, Palo Alto, CA, EE.UU.) El producto del PCR se clonó en el vector pCR2.1 utilizando el kit de clonado Original TA® (suministrado por Invitrogen®, Carlsbad, CA, EE.UU.) El plásmido se transfectó en la línea celular de ovario de hámster chino, CHO-K1 (suministrada por la Colección Americana de Cultivos Tipo®, MD, EE.UU.) utilizando métodos de fosfato de calcio como se describen en Wigler, M. et al., Cell, (1977), 11(1):223-32. Los clones unicelulares que expresan de forma estable el hGHS-R se obtuvieron mediante selección de células transfectadas que habían crecido en anillos de clonado en un medio RPMI 1.640 enriquecido con un 10% de suero fetal bovino y una disolución de 1mM de piruvato sódico que contiene 0,8 mg/ml de G418 (suministrado por Gibco®, Grand Island, NY, EE.UU.).

1B. Ensayo de unión de GHS-R

Las membranas para estudios de unión con radioligandos pueden ser y fueron preparadas por homogeneización de las células CHO-K1 precedentes que expresan el receptor humano GHS recombinante en alrededor de 20 ml de 50 mM de Tris-HCl helado con un Polytron® Brinkman (Brinkman®, Westbury, NY, EE.UU.) en configuración 6 durante alrededor de 15 segundos. Los homogeneizados se lavaron dos veces por centrifugación (39.000 g/ 10 minutos) y los pellets resultantes se resuspendieron en una disolución alrededor de 50 mM de Tris-HCl que contenía MgCl₂ 2,5 mM y 0,1% de albúmina sérica bovina (BSA). Para el ensayo seleccionado, se incubaron alícuotas de aproximadamente 0,4 ml con ghrelina(¹²⁵I) (-2000 Ci/mmol; Perkin Elmer Life Sciences®, Boston, MA, EE.UU.) con y sin 0,05 ml del péptido competidor de ensayo. Después de aproximadamente 60 minutos a 4°C, la ghrelina(¹²⁵I) unida se separó de la ghrelina libre mediante filtración rápida a través de filtros GF/C (disponibles en Brandel®, Gaithersburg, MD, EE. UU.) que fueron remojados previamente en 0,5% polietilenimina/0,1% BSA. Los filtros se lavaron después tres veces con alícuotas de 5 mL de Tris-HCl 50 mM y 0,1% de BSA helado. La radioactividad unida retenida en el filtro se contó mediante espectrometría gamma (utilizando un espectrómetro de Wallace LKB®, Gaithersburg, MD, EE. UU.). La unión específica se determinó mediante extracción de la ghrelina(¹²⁵I) unida de la ghrelina(¹²⁵I) total unida en presencia de ghrelina 1.000 nM (disponible en Bachem®, Torrence, CA, EE. UU.).

Se realizó un ensayo con una selección de los péptidos utilizando el ensayo de unión a receptor descrito anteriormente y los resultados para dichos compuestos se muestran en la Tabla 3 que se incluye a continuación.

Tabla 3-Valores Ki de unión a receptor para compuestos seleccionados

Ejemplo #	COMPUESTO	Ki (nM)	D.T.
#1	(Ac-Inp ¹ , Aib ^{2,10} , Glu(NH-hexil) ³)hGhrelina (1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 8)	370,00	18,18
Ejemplo de referencia #2	(Ac-1-Apc ¹ , Aib ^{2,10} , Glu(NH-hexil) ³)hGhrelina (1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 8)	39,99	10,92
#3	(Inp ¹ , Aib ^{2,10} , Glu(NH-hexil) ³)hGhrelina (1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 1)	0,10	0,04
Ejemplo de referencia #4	(1-Apc ¹ , Aib ^{2,10} , Glu(NH-hexil) ³)hGhrelina (1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 1)	0,12	0,01
#5	(Inp ¹)hGhrelina(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 2)	0,36	0,08
#6	(Inp ¹ , Aib ²)hGhrelina(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO:2)	0,41	0,20

Ejemplo #	COMPUESTO	Ki (nM)	D.T.
#7	(Inp ¹ , Aib ² , Glu(NH-hexil) ³)hGhrelin(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 3)	0,33	0,04
#8	(Inp ¹ , Aib ^{2,10})hGhrelin(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO:4)	0,40	0,02
#9	(Inp ¹ , Aib ^{2,8})hGhrelin(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO:5)	0,37	0,00
#10	(Inp ¹ , Aib ² , Ser(n-octanoil)l ¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 6)	0,44	0,05
#11	(Inp ¹ , Ser(n-octanoil)l ¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH ₂ (SEQ ID NO: 6)	0,49	0,02

2. Ensayos de Actividad Funcional GHS-R

2A. Movilización intracelular in vitro de iCa²⁺ mediada por el receptor GHS

5 Las células CHO anteriores que expresan el receptor humano de GHS fueron recolectadas por incubación en una disolución salina tamponada con 0,3 % EDTA/fosfato a 25°C; las células se lavaron después dos veces por centrifugación. Las células lavadas se resuspendieron en un disolución salina tamponada de Hank (HBBS) para cargar el indicador de Ca²⁺ fluorescente Fura-2AM. Se incubaron suspensiones de aproximadamente 10⁶ células/ml en Fura-2AM 2 μM durante alrededor de 30 minutos a una temperatura de alrededor de 25 °C. El Fura-2AM no cargado se eliminó mediante dos centrifugaciones en HBSS y las suspensiones finales se transfirieron a un espectrofluorómetro (modelo Hitachi F-2000®. Tokyo, Japón) equipado con un mecanismo de agitación magnético y un portacubetas de temperatura regulada. Después de equilibrarse a 37 °C, se añadieron los análogos de la ghrelin para la medida de la movilización del Ca²⁺ intracelular. Las longitudes de onda de excitación y emisión fueron 340 y 510 nm, respectivamente. Un aumento en la cantidad de Ca²⁺ medida era indicativa de actividad agonista del péptido ensayado mientras un descenso en la cantidad (o falta de) Ca²⁺ medida era indicativo de actividad antagonista del péptido ensayado.

Utilizando este método de análisis, se encontró que los Ejemplos 1, 2, 3 y 4 mostraban actividad antagonista en el receptor de ghrelin.

2B. Liberación/ Supresión de GH in vivo

20 Como se conoce bien en la técnica, los compuestos pueden someterse a un ensayo para detectar su capacidad para estimular o suprimir la liberación de GH *in vivo* (Deghenghi, R. et al., Life Sciences, (1994), 54(18):1321-8; y solicitud de patente internacional PCT/EP01/07929 [WO 02/08250]). Con objeto de establecer la capacidad de un compuesto para estimular la liberación *in vivo* de GH, el compuesto seleccionado se inyecta por vía subcutánea en una dosis de aproximadamente 300 mg/kg a ratas de 10 días de edad. La GH en circulación se mide aproximadamente 15 minutos después de la inyección y se compara con los niveles de GH en ratas inyectadas con un disolvente control.

25 De forma similar, puede someterse a ensayo la capacidad de los compuestos seleccionados para antagonizar la secreción *in vivo* de GH inducida por ghrelin. Una dosis de 300mg/kg de un compuesto de la presente solicitud se inyecta junto con ghrelin por vía subcutánea en ratas de 10 días de edad. La GH en circulación se mide después de aproximadamente 15 minutos tras la inyección y se compara con los niveles de GH en ratas inyectadas solamente con ghrelin.

2C. Efecto sobre la movilidad gastrointestinal

30 Se ha demostrado que la ghrelin aumenta la motilidad gástrica y mejora el vaciado gástrico en sujetos que sufren de gastroparesia. Se pueden ensayar los compuestos de la invención para determinar el efecto de los compuestos sobre el vaciado gástrico y el tránsito intestinal utilizando los ensayos que se describen más adelante.

2C(i). Estudio in vivo del efecto la ghrelina en el tránsito intestinal

Se puede dirigir el efecto sobre el tránsito intestinal de la ghrelina natural y los análogos peptídicos de la ghrelina de acuerdo con la presente invención. En tal estudio, grupos de ocho ratas se engordan durante 24 horas con acceso libre al agua. Se administra ghrelina natural, un análogo seleccionado, o un control como la atropina a sujetos de ensayo anestesiados. Aproximadamente cinco minutos después de la administración inicial de ghrelina, el análogo seleccionado o el control, se administra una comida con 2 ml de carbón vegetal a un sujeto de ensayo mediante alimentación esofágica forzada. Después de 25 minutos adicionales, los sujetos de ensayo son sacrificados por rotura cervical y se les extirpa el intestino delgado. La distancia que recorrió el carbón se mide desde el píloro.

2C(ii) Estudio in vivo del efecto de la ghrelina en el vaciamiento gástrico

Los compuestos de la invención se pueden someter a ensayo para determinar su efecto sobre el vaciamiento gástrico. En tal estudio, grupos de ocho ratas Sprague Dawley masculinas (con pesos de 200-250 g) se someten a ayuno durante aproximadamente 24 horas con acceso libre al agua. Se administra ghrelina natural, un análogo seleccionado de la ghrelina y un compuesto control como metoclopramida por vía intravenosa a sujetos de ensayo anestesiados. Aproximadamente cinco minutos después de la administración inicial de ghrelina natural, el análogo seleccionado de la ghrelina o el compuesto control, se administra una comida de 1,5 ml marcada con rojo fenol (0,5 mg/ml de rojo fenol y 1,5% de metilcelulosa en leche entera) a cada sujeto de ensayo mediante alimentación esofágica forzada. Después de aproximadamente 20 minutos adicionales, se sacrificaron los sujetos de ensayo mediante rotura cervical y se extrajeron y pulverizaron individualmente los estómagos. El rojo fenol residual en el estómago de los sujetos de ensayo se extrae y se mide por espectrofotometría a una longitud de onda de 560 nm.

En otros experimentos, grupos de ocho ratas Sprague Dawley masculinas (con pesos de 200 – 250 g) se someten a ayuno durante aproximadamente 24 horas con libre acceso al agua. Los animales son inyectados por vía subcutánea con el vehículo o dosis variables de ghrelina natural o análogos de la ghrelina seleccionados. Después de aproximadamente 15 minutos, se administra a las ratas por vía oral 1,5 ml de una comida nutritiva marcada con rojo fenol (0,5 mg/ml de rojo fenol y 1,5% de metilcelulosa en leche entera). Después de un tiempo adicional de aproximadamente 15 minutos, los sujetos son sacrificados por rotura cervical, y después de pinzar el píloro y el cardio, se les extirpa el estómago. El rojo fenol residual del estómago se extrae y se determina mediante métodos espectrofotométricos a una longitud de onda de 560 nm.

2C(iii). Efecto sobre IPO en ratas

Para inducir íleo gástrico en ratas Sprague Dawley macho (con pesos de 200 -250 g) se utiliza una laparotomía de 3 centímetros. Los músculos abdominales y la piel se cierran con sutura y se permite que los animales se recuperen durante aproximadamente dos horas y cuarenta y cinco minutos. Pasado este tiempo, se administran por vía subcutánea a los animales laparotomizados el vehículo o los análogos de la ghrelina seleccionados. Aproximadamente 15 minutos después de la administración de los compuestos o el vehículo, se introduce en los animales una comida marcada con rojo fenol (ver más arriba). Después de un tiempo adicional de aproximadamente 15 minutos, los sujetos son sacrificados por rotura cervical y se mide el vaciado gástrico como se describe más arriba.

2C(iv) Efecto sobre IPO en ratas en presencia de morfina

Para inducir íleo gástrico en ratas Sprague Dawley macho (con pesos de 200 -250 g) se utiliza una laparotomía de 3 centímetros. Los músculos y la piel se cierran con sutura y se deja que los animales se recuperen durante aproximadamente 2,5 horas al tiempo que a los animales laparotomizados se les administra 4 mg/kg de morfina por vía subcutánea. Aproximadamente 15 minutos después de recibir la morfina, se administran a los animales laparotomizados por vía subcutánea el vehículo o los análogos de la ghrelina seleccionados. Aproximadamente 15 minutos después de la administración de los análogos de ghrelina o el vehículo, se introduce en los animales laparotomizados la comida marcada con rojo fenol (ver más arriba). Después de un tiempo adicional de aproximadamente 15 minutos, los animales son sacrificados por rotura cervical y se mide el vaciamiento gástrico como se describe anteriormente.

2C(v). Efecto sobre la motilidad gástrica en presencia de morfina en ratas

Se administra a ratas Sprague Dawley macho (con pesos de 200 -250 g) 4 mg/kg de morfina por vía subcutánea. Aproximadamente 15 minutos después de recibir la morfina, se administra a los animales el vehículo o los análogos de la ghrelina seleccionados por vía subcutánea. Aproximadamente 15 minutos después de la administración de los compuestos o el vehículo, se introduce en los animales una comida marcada con rojo fenol (ver más arriba). Después de un tiempo adicional de aproximadamente 15 minutos, los sujetos son sacrificados por rotura cervical y el vaciamiento gástrico se midió como se describe más arriba.

2D. Efecto sobre el peso

Los ligandos de los receptores de la melanocortina de la presente invención pueden someterse a ensayo para determinar un efecto sobre la ingesta de comida y/o el peso corporal de acuerdo con los procedimientos siguientes.

Un experto en la técnica conocerá aquellos procedimientos similares a los descritos en la presente memoria que pueden utilizarse para analizar el efecto de los compuestos de la invención sobre la ingesta de comida y/o el peso corporal.

2D(i) Experimentos de alimentación agudos (ayuno)

5 Se colocan ratas Sprague Dawley macho (250g) en cajas individuales y se mantienen en condiciones de 12:12 horas luz:oscuridad. Las ratas se mantienen en ayuno durante las 18 horas previas al inicio del experimento con agua disponible *ad libitum*. A tiempo 0, las ratas son inyectadas por vía subcutánea (sc) con compuestos seleccionados a dosis seleccionadas, por ejemplo, 500 o 100 nmol/kg, o con el vehículo, y se les suministra comida. El consumo individual de alimento se mide aproximadamente a 1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas después de la inyección.

10 2D(ii) Experimentos de alimentación agudos (sin ayuno)

Se colocan ratas Sprague Dawley macho (250g) en cajas individuales y se mantienen en condiciones de 12:12 horas luz:oscuridad. Durante el experimento la comida y el agua están disponibles *ad libitum*. A tiempo 0, las ratas son inyectadas sc ya sea con compuestos a dosis de 8mmol/kg, o con el vehículo. El consumo individual de alimento se mide aproximadamente a 0,5, 1, 1,5, 2, 3, y 4 horas después de la inyección.

15 2D(iii) Experimento de alimentación crónico

Se colocan ratas Sprague Dawley macho (250g) en cajas individuales y se mantienen en condiciones 12:12 horas luz:oscuridad con tanto comida como agua disponibles *ad libitum*. Se inyecta a las ratas 3x/día (0800, 1200, y 1600h), sc, con el compuesto a varias dosis o con el vehículo durante 7 días. Diariamente se mide el peso corporal y el consumo de alimento.

20 Administración

Los análogos de la ghrelina pueden formularse y ser administrados a un sujeto utilizando las directrices proporcionadas en la presente memoria junto con tecnologías bien conocidas en la técnica. La ruta de administración preferida asegura que una cantidad efectiva del compuesto alcanza el objetivo. Se proporcionan directrices para la administración farmacéutica en general en, Remington's Pharmaceutical Sciences 18ª Edición, Ed. Gennaro, Mack Publishing, 1990, y en Modern Pharmaceutics 2ª Edición, Eds. Banker y Rhodes, Marcel Dekker, Inc., 1990, ambos se incorporan aquí por referencia.

Los análogos de la ghrelina pueden prepararse como sales ácidas o básicas. Las sales farmacéuticamente aceptables (en forma de productos solubles en agua o en aceite o productos dispersables) incluyen las sales convencionales no tóxicas o las sales de amonio cuaternario formadas a partir de ácidos o bases orgánicas o inorgánicas. Ejemplos de tales sales incluyen, pero no se limitan a, sales de adición de ácido como acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, canforato, canforosulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidrocloreuro, hidrobromuro, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, 2-naftalensulfonato, nicotinato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, tosilato y undecanoato; y sales básicas como sales de amonio, sales de metales alcalinos, sales de sodio u potasio, sales de metales alcalinotérreos como sales de calcio y magnesio, sales con bases orgánicas como sales de dicitlohexilamina, N-metil-D-glucamina y sales con aminoácidos como arginina y lisina.

Los análogos de la ghrelina pueden administrarse utilizando diferentes rutas que incluyen la ingestión oral y nasal o por inyección transdérmica o transmucosa. Los ingredientes activos administrados de forma oral como suspensión se pueden preparar conforme a las tecnologías de formulación farmacéutica bien conocidas por la técnica y pueden tener celulosa microcristalina como carga, ácido alginico o alginato sódico como agente de suspensión, metilcelulosa como potenciador de la viscosidad y agentes endulzantes/saborizantes. En forma de comprimidos de liberación inmediata, las formulaciones farmacéuticas pueden contener celulosa microcristalina, fosfato dicálcico, almidón, estearato magnésico y lactosa y/u otros excipientes, aglutinantes, conservantes, dispersantes, diluyentes y lubricantes.

Las formulaciones administradas por medio de aerosoles nasales o por inhalación, pueden prepararse, por ejemplo, como disoluciones en medio salino, utilizando alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, promotores de la absorción para aumentar la biodisponibilidad, empleando compuestos fluorocarbonados y/o utilizando otros agentes disolventes o dispersantes.

Los análogos de la ghrelina también pueden administrarse por vía intravenosa (tanto por bolo como por infusión), por vía intraperitoneal, por vía subcutánea, por vía tópica, con o sin oclusión, o por vía intramuscular. Cuando se administran por inyección, la disolución o suspensión inyectable puede formularse utilizando los diluyentes o disolventes no tóxicos aceptables por vía parenteral, como la disolución de Ringer o una disolución isotónica de cloruro sódico, o los agentes dispersantes, humectantes o de suspensión adecuados, como aceites fijos insípidos esterilizados, incluyendo mono o di glicéridos sintéticos y ácidos grasos, incluyendo el ácido oleico.

Las pautas de dosificación adecuadas se determinan preferiblemente teniendo en cuenta factores bien conocidos por la técnica incluyendo el tipo de sujeto al que se le dosifica, la edad, el peso, el sexo y el estado médico del sujeto, la vía de administración, el estado de la función renal y hepática del sujeto, el efecto deseado, y el compuesto específico utilizado.

- 5 La precisión óptima para alcanzar las concentraciones de medicamentos dentro del intervalo que proporciona eficacia sin causar toxicidad requiere de una pauta basada en la cinética de la disponibilidad del medicamento en las zonas objetivo. Esto implica considerar la distribución, el equilibrio y la eliminación de un medicamento. Se espera que la dosis diaria para un sujeto esté entre 0,01 y 1.000 mg por sujeto por día.

- 10 Los análogos de la ghrelina pueden suministrarse en un kit. Dicho kit normalmente contiene un compuesto activo en formas de dosificación para su administración. Una forma de dosificación contiene una cantidad suficiente de compuesto activo de forma que se puede obtener un efecto deseable cuando se administra a un sujeto a intervalos regulares, como de 1 a 6 veces por día, durante un periodo de 1 o más días. Preferiblemente, el kit contiene instrucciones que indican el uso de la forma de dosificación para alcanzar el efecto deseado y la cantidad de la forma de dosificación que debe tomarse durante un periodo de tiempo determinado.

- 15 La invención se ha descrito de forma ilustrativa, y ha de entenderse que la terminología utilizada pretende ser de naturaleza descriptiva en lugar de una limitación.

La patente y la bibliografía científica a la que se refiere en la presente memoria representan el conocimiento que está disponible para los expertos en la técnica

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> BIOMEASURE, INC.

5 <120> ANALOGOS DE LA GHRELINA SUSTITUIDOS EN EL N TERMINAL

<130> 169P Yankwich BIO-169

<140> PCT/US2007/XXXXXX

10 <141> 29-07-2007

<150> US 60/847423

<151> 27-09-2006

15 <160> 8

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

20 <211> 28

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <223> Análogo peptídico de la ghrelina

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (1)..(1)

30 <223> Xaa = ácido isonipecótico (Inp) o 1-Apc

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (2)..(2)

35 <223> Xaa = ácido alfa aminoisobutírico (Aib)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

40 <223> modificado con NH-hexilo

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (10)..(10)

45 <223> Xaa = ácido alfa aminoisobutírico (Aib)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (28)..(28)

50 <223> AMIDACIÓN

<400> 1

Xaa	Xaa	Glu	Phe	Leu	Ser	Pro	Glu	His	Xaa	Arg	Val	Gln	Gln	Arg	Lys
1				5					10					15	
Glu	Ser	Lys	Lys	Pro	Pro	Ala	Lys	Leu	Gln	Pro	Arg				
			20					25							

55 <210> 2

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial

60 <220>

<223> Análogo peptídico de la ghrelina

<220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = isonipecotic acid (Inp)
 5
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa = Ser o ácido alfa amino isobutírico (Aib)
 10
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)..(28)
 <223> AMIDACIÓN
 15
 <400> 2

Xaa	Xaa	Ser	Phe	Leu	Ser	Pro	Glu	His	Gln	Arg	Val	Gln	Gln	Arg	Lys
1				5					10					15	
Glu	Ser	Lys	Lys	Pro	Pro	Ala	Lys	Leu	Gln	Pro	Arg				
			20					25							

 20 <210> 3
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial

 25 <220>
 <223> Análogo peptídico de la ghrelina

 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 30 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido isonipecótico (Inp)

 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 35 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa = ácido alfa aminoisobutírico (Aib)

 <220>
 <221> MOD_RES
 40 <222> (3)..(3)
 <223> modificado con NH-hexilo

 <220>
 <221> MOD_RES
 45 <222> (28)..(28)
 <223> AMIDACIÓN

 <400> 3

Xaa	Xaa	Glu	Phe	Leu	Ser	Pro	Glu	His	Gln	Arg	Val	Gln	Gln	Arg	Lys
1				5					10					15	
Glu	Ser	Lys	Lys	Pro	Pro	Ala	Lys	Leu	Gln	Pro	Arg				
			20					25							

 50 <210> 4
 <211> 28
 <212> PRT
 55 <213> Artificial

 <220>
 <223> Análogo peptídico de la ghrelina

 60 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido isonipecótico (Inp)

5 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa = alpha-aminoisobutyric acid (Aib)

10 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa = ácido alfa aminoisobutírico (Aib)

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)..(28)
 <223> AMIDACIÓN

20 <400> 4

Xaa	Xaa	Ser	Phe	Leu	Ser	Pro	Glu	His	Xaa	Arg	Val	Gln	Gln	Arg	Lys
1				5					10					15	
Glu	Ser	Lys	Lys	Pro	Pro	Ala	Lys	Leu	Gln	Pro	Arg				
			20					25							

25 <210> 5
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Análogo peptídico de la ghrelina

35 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido isonipecótico (Inp)

40 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa = ácido alfa-aminoisobutírico (Aib)

45 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa = ácido alfa-aminoisobutírico (Aib)

50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)..(28)
 <223> AMIDACIÓN

<400> 5

Xaa	Xaa	Ser	Phe	Leu	Ser	Pro	Xaa	His	Gln	Arg	Val	Gln	Gln	Arg	Lys
1				5					10					15	
Glu	Ser	Lys	Lys	Pro	Pro	Ala	Lys	Leu	Gln	Pro	Arg				
			20					25							

55 <210> 6
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial

60 <220>
 <223> Análogo peptídico de la ghrelina

<220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (1)..(1)
 5 <223> Xaa = ácido isonipecótico (Inp)

<220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (2)..(2)
 10 <223> Xaa = ácido alfa-aminoisobutírico (Aib) o Ser

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (17)..(17)
 15 <223> modificado con n-octanoílo

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)..(28)
 20 <223> AMIDACIÓN

<400> 6

Xaa	Xaa	Ser	Phe	Leu	Ser	Pro	Glu	His	Gln	Arg	Val	Gln	Gln	Arg	Lys
1				5					10					15	
Ser	Ser	Lys	Lys	Pro	Pro	Ala	Lys	Leu	Gln	Pro	Arg				
			20				25								

25 <210> 7
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Análogo peptídico de la ghrelina

<220>
 35 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido isonipecótico (Inp)

<220>
 40 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa = ácido alfa-aminoisobutírico (Aib)

<220>
 45 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa = ácido alfa-aminoisobutírico (Aib)

<220>
 50 <221> MOD_RES
 <222> (17)..(17)
 <223> modificado con n-octanoílo

<220>
 55 <221> MOD_RES
 <222> (28)..(28)
 <223> AMIDACIÓN

<400> 7

60

Xaa	Xaa	Ser	Phe	Leu	Ser	Pro	Xaa	His	Gln	Arg	Val	Gln	Gln	Arg	Lys
1				5					10					15	
Ser	Ser	Lys	Lys	Pro	Pro	Ala	Lys	Leu	Gln	Pro	Arg				
			20				25								

- <210> 8
- <211> 28
- <212> PRT
- 5 <213> Artificial

- <220>
- <223> Análogo peptídico de la ghrelina

- 10 <220>
- <221> CARACTERÍSTICA_MISC
- <222> (1)..(1)
- <223> Xaa = ácido isonipecótico (Inp) o 1-Apc, ambos modificados con acilo (Ac)

- 15 <220>
- <221> CARACTERÍSTICA_MISC
- <222> (2)..(2)
- <223> Xaa = ácido alfa-aminoisobutírico (Aib)

- 20 <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (3)..(3)
- <223> modificado con NH-hexilo

- 25 <220>
- <221> CARACTERÍSTICA_MISC
- <222> (10)..(10)
- <223> Xaa = ácido alfa-aminoisobutírico (Aib)

- 30 <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (28)..(28)
- <223> AMIDACIÓN

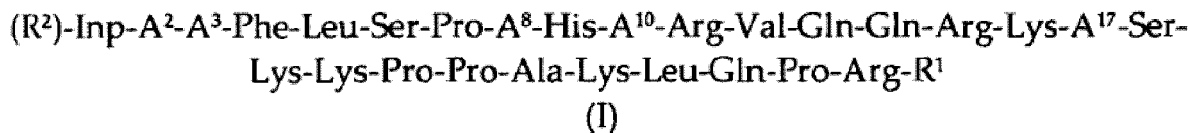
- 35 <400> 8

```

Xaa Xaa Glu Phe Leu Ser Pro Glu His Xaa Arg Val Gln Gln Arg Lys
 1           5           10           15
Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg
      20           25
    
```

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto análogo de la ghrelina de acuerdo con la fórmula (I):



en el que:

- 5 A^2 es Ser o Aib,;
- A^3 es Ser o Glu(NH- R^8);
- A^8 es Glu o Aib;
- A_{10} es Gln o Aib;
- A^{17} es Glu o Ser(C(O)- R^{10});
- 10 R^1 es -OH, -NH₂, alcoxi(C₁-C₃₀) o NH-X⁶-CH₂-Z⁰, en el que X⁶ es un alquilo(C₁-C₁₂) o un alqueno(C₂-C₁₂) y Z⁰ es-H, -OH, -CO₂H o-C(O)-NH₂;
- R^2 es H, alquilo(C₁-C₃₀), heteroalquilo(C₁-C₃₀), acilo (C₁-C₃₀), alqueno(C₂-C₃₀), alquino (C₂-C₃₀), aril alquilo(C₁-C₃₀), aril acilo(C₁-C₃₀), alquilo(C₁-C₃₀) sustituido, heteroalquilo(C₁-C₃₀) sustituido, acilo(C₂-C₃₀) sustituido, alqueno (C₂-C₃₀) sustituido, aril alquilo(C₁-C₃₀) sustituido, alquino(C₂-C₃₀) sustituido o aril acilo(C₁-C₃₀) sustituido;
- 15 cada uno de los R^8 y R^{10} se selecciona, independientemente de la presencia de cada uno de ellos, del grupo que consiste en alquilo(C₁-C₄₀), alqueno(C₂-C₄₀), alquilo(C₁-C₄₀) sustituido, alqueno(C₂-C₄₀) sustituido, alquilarilo, alquilarilo sustituido, arilo y arilo sustituido;
- o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.
2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que
- 20 R^1 es NH₂;
- R^2 es H o acilo;
- R^8 es hexilo; y
- R^{10} es octanoilo;
- o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.
- 25 3. Un compuesto conforme a la reivindicación 2, en el que
- A^2 es Aib;
- A^3 es Glu(NH-hexil);
- A^8 es Aib;
- A^{10} es Aib; y
- 30 A^{17} es (n-octanoil) Ser;
- o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.
4. Un compuesto conforme a la reivindicación 3, en el que dicho compuesto se selecciona del grupo que consiste en:
- (Inp¹)hGhrelina (1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:2)
- (Inp¹, Aib²)hGhrelina(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:2)
- 35 (Inp¹, Aib²,Glu(NH-hexil)³)hGhrelina(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:3)

(Inp¹, Aib²¹⁰)hGhrelin(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:4)

(Inp¹, Aib^{2,8}) hGhrelin (1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:5)

(Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:6)

(Inp¹, Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:6) y

5 (Inp¹, Aib²⁸, Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:7)

o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

5. Un compuesto según la reivindicación 4 en el que dicho compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

(Inp¹)hGhrelin(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:2); y

(Inp¹, Aib², Ser(n-octanoil)¹⁷)hGhrelin(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:6)

10 o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

6. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad efectiva de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 5, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

15 7. Un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para estimular el aumento de la secreción de la hormona del crecimiento en un sujeto que necesite dicha estimulación.

20 8. Un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 7, en el que dicha estimulación de la secreción de la hormona del crecimiento está indicada para tratar un estado de déficit en la hormona del crecimiento, para aumentar la masa muscular, para aumentar la densidad ósea, para tratar la disfunción sexual en varones o hembras, para facilitar la ganancia de peso, para facilitar el mantenimiento del peso, para facilitar el mantenimiento de la forma física, para facilitar la recuperación de la forma física o para facilitar el aumento del apetito.

25 9. Un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 8, en la que dicha ganancia de peso facilitada, o el aumento de apetito facilitado está indicado en un paciente que tiene una enfermedad o un trastorno o está sujeto a un tratamiento que se acompaña de pérdida de peso.

10. Un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 9, en el que dicha pérdida de peso se debe a la caquexia.

11. Un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para tratar la enfermedad pulmonar obstructiva crónica en un sujeto con necesidad de ello.

30 12. Un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para estimular la motilidad gastrointestinal de un sujeto con necesidad de ello.

13. Un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 12, en la que dicho paciente con necesidad de estimulación gastrointestinal sufre de reflujo gastroesofágico, íleo, íleo postoperatorio, emesis, gastroparesia, IBS, estreñimiento, o pseudo obstrucción de colon.

35 14. Un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 13, en que dicho paciente sufre íleo asociado a la administración de un opiáceo.

15. Un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 14, en que dicho íleo postoperatorio es posterior a una intervención quirúrgica abdominal.

40 16. Un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales según la reivindicación 15, en el que dicho íleo es de estómago, intestino delgado o intestino grueso.

17. Un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 13, en que dicho paciente sufre de emesis asociada con un agente de quimioterapia para el tratamiento anticáncer, el embarazo, la bulimia o la anorexia.

45 18. Un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 13, en que dicha gastroparesia está asociada a la diabetes.

19. Un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 12, en que dicha cantidad efectiva terapéuticamente de dicho compuesto o composición análoga a la ghrelina se

administra por vía intravenosa, por vía subcutánea, por vía oral o por implantación de una formulación de liberación controlada.

5 20. Un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para su uso en llevar a cabo una intervención quirúrgica en un paciente, en que dicho compuesto análogo de la ghrelina o su sal farmacéuticamente aceptable se prepara para su administración antes, durante o después de una intervención, o en cualquiera de sus combinaciones.

10 21. Un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 20, en que dicha intervención quirúrgica se selecciona del grupo que incluye la manipulación directa del tracto gastrointestinal, la manipulación indirecta del tracto gastrointestinal, la laparotomía, la cirugía de transplantes, la cirugía del sistema urogenital, la cirugía del sistema linfático, la cirugía del sistema respiratorio, y la cirugía para tratar el cáncer en cualquier órgano o tejido dentro del abdomen.

15 22. Un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para prevenir el íleo postoperatorio en un paciente con necesidad de ello, en que dicho compuesto análogo o su sal farmacéuticamente aceptable se prepara para administración antes, durante o después de una intervención quirúrgica, o en cualquiera de sus combinaciones.

23. Un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para prevenir el reflujo gastroesofágico, la emesis, la gastroparesia, el síndrome del colon irritable, el estreñimiento, o la pseudo obstrucción del colon en un paciente con necesidad del mismo.

20 24. Un compuesto análogo de la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para prevenir el íleo postoperatorio, el reflujo gastroesofágico, la emesis, la gastroparesia, el IBS; el estreñimiento o la pseudo obstrucción del colon en un paciente con necesidad del mismo en que dicho compuesto análogo de la ghrelina o su sal farmacéuticamente aceptable se prepara para ser administrada a dicho paciente en una cantidad terapéuticamente efectiva, en que dicha administración se realiza por vía intravenosa, por vía subcutánea, por vía oral, o por implantación de una formulación de liberación controlada.

25 25. Un compuesto según la reivindicación 1, en que dicho compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

(Ac-Inp1, Aib^{2,10}, Glu(NH-hexil)³)hGhrelina(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:8); y

(Inp1, Aib^{2,10}, Glu(NH-hexil)³)hGhrelina(1-28)-NH₂; (SEQ ID NO:1)

o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

30 26. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad efectiva de un compuesto según la reivindicación 25, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

27. Un compuesto análogo de la ghrelina según la reivindicación 25, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable para suprimir la secreción de la hormona del crecimiento en un sujeto con necesidad de dicha supresión.

35 28. Un compuesto análogo a la ghrelina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 27, en que dicha supresión de la secreción de la hormona del crecimiento está indicada para el tratamiento de una enfermedad o estado caracterizado por un excesivo aumento de la secreción de la hormona del crecimiento, para facilitar la pérdida de peso corporal en exceso, para facilitar la reducción del apetito, para facilitar el mantenimiento del peso, para tratar la obesidad, para tratar la diabetes, para tratar complicaciones de la diabetes, incluida la retinopatía, o para tratar enfermedades cardiovasculares.