

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 602 789**

51 Int. Cl.:

C07K 5/12 (2006.01)

C07C 271/12 (2006.01)

C07C 211/27 (2006.01)

C07C 403/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.02.2008** E 12195556 (1)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.08.2016** EP 2644618

54 Título: **Productos intermedios conectores para la síntesis de moduladores macrocíclicos del receptor de la grelina**

30 Prioridad:

09.02.2007 US 889163 P

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

22.02.2017

73 Titular/es:

**OCERA THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
525 University Avenue, Suite 610
Palo Alto, CA 94301, US**

72 Inventor/es:

**HOVEYDA, HAMID;
FRASER, GRAEME;
BEAUCHEMIN, SOPHIE;
BRASSARD, MARTIN;
DRUTZ, DAVID;
MARSAULT, ERIC;
QUELLET, LUC;
PETERSON, MARK L;
WANG, ZHIGANG y
BENKALI, KAMEL**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 602 789 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

Productos intermedios conectores para la síntesis de moduladores macrocíclicos del receptor de la grelina

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a novedosos compuestos macrocíclicos conformacionalmente definidos que se unen a y/o son moduladores funcionales del receptor de la grelina (secretagogo de la hormona de crecimiento) que incluye GHS-R1a y subtipos, isoformas y/o variantes del mismo. La presente invención también se refiere a productos intermedios de estos compuestos, composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos y procedimientos de uso de los compuestos. Estos novedosos compuestos macrocíclicos son útiles como terapéuticos para una variedad de indicaciones de enfermedad. En particular, estos compuestos son útiles para el tratamiento y la prevención de trastornos gastrointestinales que incluyen, pero no se limitan a, íleo postoperatorio, gastroparesia, que incluye gastroparesia diabética, disfunción intestinal por opioides, pseudo-obstrucción intestinal crónica, síndrome del intestino corto y trastornos gastrointestinales funcionales. Adicionalmente, los compuestos tienen aplicación para el tratamiento y la prevención de trastornos metabólicos y/o endocrinos, trastornos cardiovasculares, obesidad y trastornos asociados a la obesidad, trastornos del sistema nervioso central, trastornos óseos, trastornos genéticos, trastornos hiperproliferativos y trastornos inflamatorios.

Antecedentes de la invención

El entendimiento mejorado de diversas vías reguladoras fisiológicas facilitado por los esfuerzos de investigación en la genómica y proteómica ha empezado a afectar el descubrimiento de novedosos agentes farmacéuticos. En particular, la identificación de receptores clave y sus ligandos endógenos ha creado nuevas oportunidades para la explotación de estos pares receptor/ligando como dianas terapéuticas. Por ejemplo, la grelina es una hormona peptídica de 28 aminoácidos recientemente caracterizada aislada originalmente del estómago de ratas con el ortólogo posteriormente identificado en seres humanos (Kojima, M.; Hosoda, H. et al. Nature 1999, 402, 656-660). La existencia de este péptido en una variedad de otras especies sugiere una función conservada e importante en la función corporal normal. Se ha demostrado que este péptido es el ligando endógeno para un receptor acoplado a la proteína G (GPCR) previamente huérfana, el receptor del secretagogo de la hormona de crecimiento tipo 1 (hGHS-R1a) (Howard, A.D.; Feighner, S.D.; et al. Science 1996, 273, 974-977) encontrado predominantemente en el cerebro (núcleo arqueado y núcleo ventromedial en el hipotálamo, hipocampo y la sustancia negra) y la pituitaria (patente de EE.UU. N.º 6.242.199; solicitudes de patente internacional N.º WO 97/21730 y WO 97/22004). hGHS-R1a se ha reclasificado recientemente como el receptor de la grelina (GHRN) en reconocimiento de su ligando endógeno (Davenport, A.P.; et al. Pharmacol Rev. 2005, 57, 541-546). El receptor también se ha detectado en otras áreas del sistema nervioso central (SNC) y en tejidos periféricos, por ejemplo, glándulas suprarrenal y tiroideas, corazón, pulmón, riñón y músculo esquelético. Este receptor se identificó y se clonó antes del aislamiento y la caracterización del ligando peptídico endógeno y es distinto de otros receptores implicados en la regulación de la secreción de la hormona de crecimiento (GH), en particular, el receptor de la hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GHRH).

Una característica única de tanto los péptidos de rata como humanos es la presencia del resto de *n*-octanoilo (Oct) en Ser³. Sin embargo, la forma *des*-acilo predomina en la circulación, con aproximadamente el 90 % de la hormona en esta forma. Este grupo se deriva de una modificación post-traducciona y parece ser relevante para la bioactividad y posiblemente también para el transporte en el SNC (Banks, W.A.; Tschöp, M.; Robinson, S.M.; Heiman, M.L. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2002, 302, 822-827). En un ensayo de liberación de GH, la forma *des*-octanoilo de la hormona fue al menos 100 veces menos potente que el péptido original, aunque se ha sugerido que la especie de *des*-acilo puede ser responsable de algunos de los otros efectos biológicos asociados a la grelina. También se ha propuesto que esta forma de *des*-acilo es principalmente responsable de los efectos de proliferación cardiovascular y celular atribuidos a la grelina, mientras que la forma acilada participa en el mantenimiento del equilibrio de la energía y la liberación de la hormona de crecimiento (Baldanzi, G.; Filighenddu, N.; Cutrupi, S.; et al. J. Cell Biol. 2002, 159, 1029-1037). Similarmente, la *des*-Gln¹⁴-grelina y su derivado octanoilado han sido aislados como formas endógenas de la hormona que surge del corte y empalme alternativo del gen de la grelina, pero se encuentra que ambos son inactivos en estimular la liberación de GH *in vivo* (Hosoda, H.; Kojima, M.; Matsuo, H.; Kangawa, K. J. Biol. Chem. 2000, 275, 21995-2120). Otras formas secundarias de la grelina producidas por el procesamiento post-traducciona se han observado en plasma, aunque no se les ha atribuido actividad específica (Hosoda, H.; Kojima, M.; et al. J. Biol. Chem. 2003, 278, 64-70).

Incluso antes del aislamiento de este receptor y su ligando peptídico endógeno, se dedicó una cantidad significativa de investigación al hallazgo de agentes que pudieran estimular la secreción de GH. La adecuada regulación de la GH humana tiene significancia no solo para el apropiado crecimiento del cuerpo, sino también para una variedad de otros efectos fisiológicos críticos. Como la GH y otros péptidos estimulantes de GH, tales como GHRH y el factor liberador de la hormona de crecimiento (GRF), además de sus derivados y análogos, se administran por inyección, para aprovechar mejor estos efectos positivos, la atención se ha centrado en el desarrollo de agentes terapéuticos activos por vía oral que aumentarían la secreción de GH, llamados los secretagogos de GH (GHS). Adicionalmente, cabría esperar que el uso de estos agentes orales imitara más estrechamente la liberación fisiológica pulsada de GH.

Empezando con la identificación de los péptidos liberadores de la hormona de crecimiento (GHRP) a finales de los años 70 (Bowers, C.Y. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes* 2000, 7, 168-174; Camanni, F.; Ghigo, E.; Arvat, E. *Front. Neurosci.* 1998, 19, 47-72; Locatelli, V.; Torsello, A., *Pharmacol. Res.* 1997, 36, 415-423), se ha estudiado una multitud de agentes para su potencial para actuar de GHS. Además de su estimulación de la liberación de GH y efectos positivos concomitantes a ese respecto, se predijo que los GHS tenían utilidad en el tratamiento de una variedad de otros trastornos, que incluyen afecciones consuntivas (caquexia) como se observa en pacientes con VIH/SIDA y anorexia inducida por el cáncer, debilidad musculoesquelética en los ancianos, y enfermedades de deficiencia de la hormona de crecimiento. Muchos esfuerzos durante los últimos 25 años han dado varios potentes GHS disponibles por vía oral (Rocha-Sousa, A.; Henriques-Coelho, T.; Leite_Moreira, A.F. *Exp. Opin. Ther. Patents* 2007, 17, 909-926; Isidro, M.L.; Cordido, F. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* 2006, 9, 178-180; Smith, R.G.; Sun, Y.X.; Beatancourt, L.; Asnicar, M. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004, 18, 333-347; Fehrentz, J.-A.; Martinez, J.; Boeglin, D.; Guerlavais, V.; Deghenghi, R. *IDrugs* 2002, 5, 804-814; Svensson, J. *Exp. Opin. Ther. Patents* 2000, 10, 1071-1080; Nargund, R.P.; Parcheett, A.A.; et al. *J. Med. Chem.* 1998, 41, 3103-3127; Ghigo, E.; Arvat, E.; Camanni, F. *Ann. Med.* 1998, 30, 159-168; Smith, R.G.; Van der Ploeg, L.H.T.; Howard, A.D.; Feighner, S.D.; et al. *Endocr. Rev.* 1997, 18, 621-645). Éstos incluyen péptidos pequeños, tales como hexarelina (Zentaris) e ipamorelina (Novo Nordisk), y análogos de adenosina, además de moléculas pequeñas tales como capromorelina (Pfizer), L-252.564 (Merck), MK-0677 (Merck), NN703 (tabimorelina, Novo Nordisk), G-7203 (Genentech), S-37435 (Kaken) y SM-130868 (Sumitomo), BMS-604992 (Bristol-Myers Squibb) y RC-1291 (anamorelina, Sapphire) diseñadas para ser activas por vía oral para la estimulación de la hormona de crecimiento. Sin embargo, pruebas clínicas con tales agentes han dado resultados decepcionantes debido a que, entre otras cosas, carecen de eficacia durante el tratamiento prolongado o efectos secundarios no deseados, que incluyen inhibición irreversible de las enzimas citocromo P450 (Zdravkovic M.; Olse, A.K.; Christiansen, T.; et al. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2003, 58, 683-688). Por tanto, sigue existiendo la necesidad de agentes farmacológicos que puedan ser dirigidos eficazmente al receptor de la grelina para la acción terapéutica.

A pesar de su participación en la modulación de GH, la grelina se sintetiza principalmente en la glándula oxíntica del estómago, aunque también se produce en menores cantidades en otros órganos, que incluyen el riñón, páncreas e hipotálamo (Kojima, M.; Hosoda, H.; Kangawa, K. *Horm. Res.* 2001, 56 (Suppl. 1), 93-97; Ariyasu, H.; Takaya, K.; Tagami, T.; et al. *Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001, 86, 4753-4758). Además de su función en estimular la liberación de GH, la hormona tiene una variedad de otras funciones endocrinas y no endocrinas (Broglia, F.; Gottero, C.; Arvat, E.; Ghigo, E. *Horm. Res.* 2003, 59, 109-117) y se ha mostrado que interacciona con varios otros sistemas fisiológicos en el mantenimiento del equilibrio apropiado de la energía (Horvath, T.L.; Diano, S.; Sotonyi, P.; Heiman, M.; Tschöp, M. *Endocrinology* 2001, 142, 4163-4169; Casanueva, F.F.; Dieguez, C. *Rev. Endocrinol. Metab. Disord.* 2002, 3, 325-338). En particular, la grelina desempeña una función como señal orexigénica en el control de la alimentación, en la que actúa contrarrestando los efectos de la leptina. De hecho, fue el primer péptido intestinal que se demostró que tenía tales propiedades orexigénicas (Kojima, M.; Kangawa, K. *Curr. Opin. Pharmacology* 2002, 2, 665-668). La hormona también participa en la regulación hipotalámica de la síntesis y la secreción de varios otros neuropéptidos implicados en el apetito y el comportamiento alimentario. Los niveles de grelina son elevados en respuesta a ayuno o amplia restricción de comida (Nakazato, M.; Murakami, N.; Date, Y.; Kojima, M.; et al. *Nature* 2001, 409, 194-198). Por ejemplo, los sujetos que sufren anorexia o bulimia presentan niveles elevados de grelina. Se ha encontrado que los niveles en circulación de la hormona aumentan antes de las comidas y disminuyen después de las comidas. Además, la pérdida de peso inducida por la dieta conduce a niveles elevados de grelina, aunque los sujetos obesos que tienen cirugía de derivación gástrica no experimentan asimismo un aumento tal (Cummings, D.E.; Weigle, D.S.; Frayo, R.S.; et al. *N. Engl. J. Med.* 2002, 346, 1623-1630).

Esta participación íntima de la grelina en el control del consumo de alimentos y el apetito ha hecho que sea una diana atractiva para la investigación de la obesidad (Spanswick, D.; Lee, K. *Exp. Opin. Emerging Drugs* 2003, 8, 217-237; Horvath, T.L.; Castañeda, T.; Tang-Christensen, M.; Pagotto, U.; Tschöp, M.H. *Curr. Pharm. Design* 2003, 9, 1383-1395; Crowley, V.E.F.; Yeo, G.S.H.; O-Rahilly, S. *Nat. Rev. Drug Disc.* 2002, 1, 276-286). De hecho, se ha demostrado que algunas otras sustancias naturales están implicadas en la modulación de tanto la secreción de GH como el consumo de alimentos.

Similarmente, la grelina desempeña una función en la regulación de la liberación de insulina y la glucemia y, por lo tanto, los moduladores del receptor de la grelina tienen aplicación en el tratamiento de la diabetes y el síndrome metabólico. (Yada, T.; Dezaki, K. Sone, H.; et al. *Curr. Diab. Rev.* 2008, 4, 18-23).

Por tanto, como se menciona previamente con respecto al GHS, se ha demostrado que la grelina y los agonistas de la grelina tienen efectos positivos en síndromes consuntivos y caquexia. Se han iniciado ensayos clínicos para aprovechar estos efectos (Strasser, F.; Lutz, T.A.; Maeder, M.T. *Br. J. Cancer* 2008, 98, 300-308; Garcia, J.M.; Polvino, W.J. *The Oncologist* 2007, 12, 594-600).

Un efecto adicional de la grelina que no se ha explotado hasta la fecha para fines terapéuticos está en modular la motilidad gástrica y la secreción de ácido gástrico. La actividad pro-cinética parece ser independiente de la acción secretora de GH y es probable que esté mediada por la vía muscarínica vagal-colinérgica. Los niveles de dosis requeridos son equivalentes a aquellos necesarios para las acciones de estimulación de GH de la hormona y del

apetito. Es de notar que, a diferencia de su inactividad para otras acciones de la grelina, el péptido *des-Gln*¹⁴ también demostró la promoción de la motilidad (Chen, C.-Y.; Inui, A.; Asakawa, A.; Fujino, K.; Kato, I.; Chen, C.-C.; Ueno, N.; Fujimiya, M. *Gastroenterology* 2005, 129, 8-25; Chen, C.-Y.; Chao, Y.; Chang, F.-Y.; Chien, E. J.; Lee, S.-D.; Doong, M.-L. *Int. J. Mol. Med.* 2005, 16, 695-699; Trudel, L.; Bouin, M.; Tomasetto, C.; Eberling, P.; St-Pierre, S.; Bannon, P.; L'Heureux, M.C.; Poitras, P. *Peptides* 2003, 24, 531-534; Trudel, L.; Tomasetto, C.; Rio, M.C.; Bouin, M.; Plourde, V.; Eberling, P.; Poitras, P. *Am. J. Physiol.* 2002, 282, G948-G952; Peeters, T.L. *J. Physiol. Pharmacol.* 2003, 54(Supp. 4), 95-103).

Una cantidad cada vez mayor de pruebas ha demostrado que la grelina es un regulador de la inflamación y la función inmunitaria (Taub, D.D. *Vitamins and Hormones* 2007, 77, 325-346; Vixit, V.D.; Taub, D.D. *Exp. Gerontol.* 2005, 40, 900-910). La grelina inhibe específicamente la expresión de citocinas pro-inflamatorias tales como IL-1 β , IL-6 y TNF- α en monocitos y linfocitos T humanos (Dixit, V.D.; Schaffer, E.M.; et al. *J. Clin. Invest.* 2004, 114, 57-66). La grelina presenta acciones antiinflamatorias en células endoteliales humanas mediante la desactivación de la vía NF- κ B (Li, W.G.; Gavrilka, D.; Liu, X.; et al. *Circulation* 2004, 109, 2221-2226; Zhao, D.; Zhan, Y.; Zeng, H.; et al. *J. Cell. Biochem.* 2006, 97, 1317-1327). La grelina ejerce un efecto protector sobre la mucosa gástrica mediado en parte por las prostaglandinas (Konturek, P.C.; Brzozowski, T.; Pajdo, R.; et al. *J. Physiol. Pharmacol.* 2004, 55, 325-336). Los niveles de grelina son elevados en pacientes con EII (Peracchi, M.; Bardella, M.T.; et al. *Gut* 2006, 55, 432-433; Karmiris, K.; Koutroubakis, I.E. et al. *Inflamm. Bowel Dis.* 2006, 12, 100-105), colitis (Gonzalez-Rey, E.; Chorny, A.; Delgado, M. *Gastroenterology* 2006, 130, 1707-1720), enfermedad por úlcera péptica (Suzuki, H.; Masaoka, T.; Nomoto, Y.; et al. *Aliment. Pharmacol. Ther. Symp. Ser.* 2006, 2, 120-126), úlceras duodenales (Fukuhara, S.; Suzuki, H.; Masaoka, T.; et al. *Am. J. Physiol.* 2004, 289, G138-G145) y septicemia intrabdominal postoperatoria (Maruna, P.; Gürlich, R.; Frasko, R.; Rosicka, M. *Eur. Surg. Res.* 2005, 37, 354-359), pero disminuidos en artritis reumatoide (Otero, M.; Nogueiras, R.; et al. *Rheumatol.* 2004, 43, 306-310). En modelos de rata, el péptido grelina protege contra o mejora la lesión por isquemia-reperusión (Konturek, P.C.; Brzozowski, T.; et al. *Eur. J. Pharmacol.* 2006, 536, 171-181), daño pancreático y hepático (Kasimay, O.; Iseri, S.O.; Barlas, A.; et al. *Hepatol. Res.* 2006, 36, 11-19), pancreatitis aguda (Dembinski, A.; Warzecha, Z.; et al. *J. Physiol. Pharmacol.* 2003, 54, 561-573), septicemia y choque séptico (Wu, R.; Dong, W.; Cui, X.; et al. *Ann. Surg.* 2007, 245, 480-486; Chang, L.; Lu, J.-B.; et al. *Acta Pharmacol. Sin.* 2003, 24, 45-49), daño gástrico producido por ciertos fármacos (Iseri, S.; Sener, G.; et al. *J. Endocrinol.* 2005, 187, 399-406), daño gástrico inducido por el estrés (Brzozowski, T.; Konturek, P.C.; Konturek, S.J.; et al. *Regul. Pept.* 2004, 120, 39-51), daño gástrico producido por *H. pylori* (Isomoto, H.; Ueno, H.; et al. *Dig. Dis. Sci.* 2005, 50, 833-838) y dolor inflamatorio (Sibilia, V.; Lattuada, N.; et al. *Neuropharmacology* 2006, 51, 497-505). La grelina también está asociada a enfermedad renal crónica (Stenvinkel, P.; Pecoits-Filho, R.; Lindholm, B. *Adv. Renal Replacement Ther.* 2003, 10, 332-3450). Además, los agonistas peptídicos han demostrado ser eficaces en modelos animales, que incluyen GHRP-2 para artritis en la rata (Granado, M.; Priego, T.; et al. *Am. J. Physiol.* 2005, 288, E486-E492; *Am. J. Physiol.* 2005, 289, E1007) y GHRP-6 para isquemia aguda en perros (Shen, Y.-T.; Lynch, J.J.; Hargreaves, R.J.; Gould, R.J. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2003, 306, 815-820). La grelina y los agonistas de la grelina pueden, por lo tanto, aplicarse al tratamiento y la prevención de trastornos inflamatorios. De forma interesante, se ha descrito que los antagonistas de la grelina son útiles para el tratamiento de inflamación intestinal (publicación de solicitud de patente de EE.UU. 2007/0025991).

La grelina también participa en diversos aspectos de la reproducción y el desarrollo neonatal (Arvat, E.; Gianotti, L.; Giordano, R.; et al. *Endocrine* 2001, 14, 35-43). También son de importancia los efectos cardiovasculares de la grelina, ya que el péptido es un potente vasodilatador. Como tales, los agonistas de la grelina tienen posibilidades de tratamiento de la insuficiencia cardíaca crónica (Nagaya, N.; Kangawa, K. *Regul. Pept.* 2003, 114, 71-77; Nagaya, N.; Kangawa, K. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2003, 3, 146-151; Bedendi, I.; Alloatti, G.; Marcantoni, A.; Malan, D.; Catapano, F.; Ghé, C.; et al. *Eur. J. Pharmacol.* 2003, 476, 87-95; Isgaard, J.; Johansson, I. *J. Endocrinol. Invest.* 2005, 28, 838-842). La publicación de solicitud de patente internacional WO 2004/014412 describe el uso de los agonistas de la grelina para la protección de muerte celular en células de miocardio y como tratamiento cardioprotector para afecciones que conducen a insuficiencia cardíaca.

La grelina también participa en la regulación del metabolismo óseo (van der Velde, M.; Delhanty, P.; et al. *Vitamins and Hormones* 2008, 77, 239-258). La grelina y su receptor, GHS-R1a, se identificaron en osteoblastos, y la grelina promovió tanto la proliferación como la diferenciación. Además, la grelina aumentó la densidad mineral ósea y afecta directamente la formación de hueso en ratas (Fukushima, N.; Hanada, R.; Teranishi, H.; et al. *J. Bone Mineral Res.* 2005, 20, 790-798).

Adicionalmente, se ha demostrado que el péptido grelina posee potentes efectos inhibidores sobre la angiogénesis *in vitro* e *in vivo* (Baiguera, S.; Conconi, M.T.; Guidolin, D.; et al. *Int. J. Mol. Med.* 2004, 14, 849-854; Conconi, M.T.; Nico, B.; Guidolin, D.; et al. *Peptides* 2004, 25, 2179-2185).

Además, también se han obtenido pruebas de que la grelina puede tener implicaciones en la ansiedad y otros trastornos del SNC, además de la mejora de la memoria (Carlini, V.P., Monzon, M.E., Varas, M.M., Cragolini, A.B., Schioth, H.B., Scimonelli, T.N., de Barioglio, S.R. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002, 299, 739-743; Diano, S.; Farr, S.A.; Benoit, S.C.; et al. *Nature Neurosci.* 2006, 9, 381-388; McNay, E.C. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2007, 7, 628-632). Finalmente, también se ha demostrado que la grelina tiene efectos sobre la regulación del sueño (Szentirmay, E.; Kapás, L.; Krueger, J.M. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2007, 292, R575-R585; Szentirmay, E.; Hajdu, I.; Obal, Jr, F.; Krueger, J.M. *Brain Res.* 2006, 1088, 131-140; Yannielli, P.C.; Molyneux, P.C.; Harrington,

M.E.; Golombek, D.A. J. Neurosci. 2007, 2890-2895; Tolle, V.; Bassant, M.-H.; Zizzari, P. Endocrinology 2002, 143, 1353-1361). Sin embargo, se ha informado que el ciclo del sueño-vigilia en ratones inactivados para grelina es normal, que indica que la situación reguladora podría ser más compleja (Szentirmai, E.; Kapás, L.; et al. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2007, 293, R510-R517). Los agonistas de la grelina tienen utilidad, por tanto, como tratamientos para prevenir o mejorar afecciones que implican al SNC, que incluyen ansiedad, estrés, mejora cognitiva y regulación del sueño.

Los documentos WO 2005/097174 y WO 2006/045314 tratan el uso de GHS, grelina y otros péptidos o combinaciones de los mismos para el tratamiento de caquexia y enfermedad pulmonar obstructiva crónica, respectivamente. El documento WO 2005/09726 informa sobre GHS para el tratamiento de enfermedades producidas por la proteína C reactiva. El documento WO 2006/045319 describe el uso de GHS en el tratamiento de insuficiencia renal y/o hepática y complicaciones de la misma. Más generalmente, el documento WO 2005/097173 sugiere el uso de GHS para el tratamiento de deficiencia de grelina, que incluye una amplia matriz de indicaciones terapéuticas.

La multitud de efectos de la grelina en los seres humanos ha sugerido la existencia de subtipos para su receptor, aunque hasta ahora no se ha identificado ninguno (Torsello, A.; Locatelli, Y.; Melis, M.R.; Succu, S.; Spano, M.S.; Deghenghi, R.; Muller, E.E.; Argiolas, A.; Torsello, A.; Locatelli, V.; et al. Neuroendocrinology 2000, 72, 327-332). Sin embargo, una forma inactiva truncada de GHS-R1a, llamada GHS-R1b, se aisló e identificó al mismo tiempo que la caracterización original. Está cada vez más demostrado que subtipos de receptores adicionales podrían estar presentes en diferentes tejidos para explicar los diversos efectos presentados por los péptidos endógenos y GHS sintético. Por ejemplo, también se han encontrado sitios de unión de alta afinidad para la grelina y *des*-acil grelina en líneas de células de cáncer de mama, cardiomiocitos y corazón de cobaya que participan en mediar en los efectos inotrópicos antiproliferativos, cardioprotectores y cardíacos negativos de los péptidos. Similarmente, se han encontrado sitios de unión de GHS específicos, además de GHS-R1a y GHS-R1b, en células de cáncer de próstata. Además, la grelina y la *des*-acil grelina ejercen diferentes efectos sobre la proliferación celular en líneas celulares de carcinoma de próstata (Cassoni, P.; Ghé, C.; Marocco, T.; et al. E Eur. J. Endocrinol. 2004, 150, 173-184). Estos diversos subtipos de receptores pueden entonces estar implicados independientemente en la amplia matriz de actividades biológicas presentadas por los péptidos endógenos y GHS sintético. De hecho, recientemente, la existencia de subtipos de receptores fue ofrecida como una explicación para la promoción de la acumulación de grasa por la grelina, a pesar de su potente estimulación de la hormona lipolítica, la hormona de crecimiento. (Thompson, N. M.; Gill, D. A. S.; Davies, R.; Loveridge, N.; Houston, P. A.; Robinson, I. C. A. F.; Wells, T. Endocrinology 2004, 145, 234-242). Además, este trabajo sugirió que la relación de producción de grelina y *des*-acil grelina podría ayudar a regular el equilibrio entre la adipogénesis y la lipólisis en respuesta al estado nutricional.

La satisfactoria creación de análogos de grelina peptídicos que separen los efectos moduladores de GH de la grelina de los efectos sobre el aumento de peso y el apetito proporciona una prueba contundente de la existencia y relevancia fisiológica de otros subtipos de receptores (Halem, H.A.; Taylor, J.E.; Dong, J.Z.; Shen, Y.; Datta, R.; Abizaid, A.; Diano, S.; Horvath, T.L.; Culler, M.D. Neuroendocrinol. 2005, 81, 339-349; Halem, H.A.; Taylor, J.E.; Dong, J.Z.; Shen, Y.; Datta, R.; Abizaid, A.; Diano, S.; Horvath, T.; Zizzari, P.; Bluet-Pajot, M.-T.; Epelbaum, J.; Culler, M.D. Eur. J. Endocrinol. 2004, 151, S71-S75). BIM-28163 actúa como un antagonista en el receptor GHS-R1a e inhibe la activación del receptor por grelina nativa. Sin embargo, esta misma molécula es un agonista completo con respecto a la estimulación del aumento de peso y el consumo de alimentos. Adicionalmente, se ha propuesto la existencia de un subtipo de receptor todavía sin caracterizar basándose en los estudios de unión en diversos tejidos que mostraron diferencias entre GHS peptídico y no peptídico (Ong, H.; Menicoll, N.; Escher, F.; Collu, R.; Deghenghi, R.; Locatelli, V.; Ghigo, E.; Muccioli, G.; Boghen, M.; Nilsson, M. Endocrinology 1998, 139, 432-435). Se ha informado de diferencias entre la expresión global de GHS-R y la del subtipo GHS-R1a en testículos de rata (Barreiro, M.L.; Suominen, J.S.; Gaytan, F.; Pinilla, L.; Chopin, L.K.; Casanueva, F.F.; Dieguez, C.; Aguilar, E.; Toppari, J.; Tena-Sempere, M. Biol. Reproduction 2003, 68, 1631-1640). Se propone un subtipo de GHS-R sobre los nervios colinérgicos como una explicación de las acciones diferenciales de la grelina y un GHS peptídico sobre la respuesta contráctil neural observada durante los estudios de unión en el receptor de motilina (Depoortere, I.; Thijs, T.; Thielemans, L.; Robberecht, P.; Peeters, T.L. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2003, 305, 660-667). Finalmente, los documentos WO 2006/009645 y WO 2006/009674 informan de la separación de los efectos GI de los efectos de liberación de GH en modelos animales usando agonistas de la grelina macrocíclicos, sugiriendo también que diferentes subtipos participan en estos efectos fisiológicos.

La variedad de actividades asociadas al receptor de la grelina también podrían ser debidas a diferentes agonistas que activan diferentes vías de señalización como se ha mostrado para la grelina y la adenosina, ambas de las cuales interactúan como agonistas en GHS-R1a (Carreira, M.C.; Camina, J.P.; Smith, R.G.; Casanueva, F.F. Neuroendocrinology 2004, 79, 13-25.)

Se ha mostrado que la actividad funcional de un GPCR requiere frecuentemente la formación de dímeros u otros complejos multiméricos consigo mismo u otras proteínas. (Prinster, S.C.; Hague, C.; Hall, R.A. Pharmacol. Rev. 2005, 57, 289-298; Park, P.S.; Filipek, S.; Wells, J.W.; Palczewski, K. Biochemistry 2004, 43, 15643-15656; Rios, C.D.; Jordan, B.A.; Gomes, I.; Devi, L.A. G-protein-coupled receptor dimerization: modulation of receptor function. Pharmacol. Ther. 2001, 92, 71-87; Devi, L.A. Trends Pharmacol. Sci. 2001, 22, 532-537). Asimismo, la actividad del receptor de la grelina también podría estar al menos parcialmente gobernada por tales complejos. Por ejemplo,

ciertos informes indican que la interacción de GHS-R1a con GHRH (Cunha, S.R.; Mayo, K.E. *Endocrinology* 2002, 143, 4570-4582; Malagón, M.M.; Luque, R.M.; Ruiz-Guerrero, E.; Rodríguez-Pacheco, F.; García-Navarro, S.; Casanueva, F.F.; Gracia-Navarro, F.; Castaño, J.P. *Endocrinology* 2003, 144, 5372-5380) o entre subtipos de receptores (Chan, C.B.; Cheng, C.H.K. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2004, 214, 81-95) puede estar implicada en la modulación de la función del receptor.

Además, los efectos reguladores del apetito de la grelina se han atribuido a la actividad constitutiva del receptor (Holst, B. Schwartz, T. *J. Clin. Invest.* 2006, 116, 637-641; Holst, B.; Schwartz, T.W. *Trends Pharmacol. Sci.* 2004, 25, 113-117; Holst, B.; Holliday, N. D.; Bach, A.; Elling, C.E.; Cox, H.M.; Schwartz, T.W. *J. Biol. Chem.* 2004, 279, 53806-53817; Holst, B.; Cygankiewicz, A.; Jensen, T.H.; Ankersen, M.; Schwartz, T.W. *Mol. Endocrinol.* 2003, 17, 2201-221). La reciente observación de que los seres humanos que poseen una mutación en el receptor de la grelina que altera la actividad constitutiva son de talla baja sugiere la importancia de la actividad constitutiva para la función *in vivo* normal de este receptor (Pantel, J.; Legendre, M. Cabrol, S.; et al. *J. Clin. Invest.* 2006, 116, 760-768).

La gran mayoría de los enfoques informados para explotar el receptor de la grelina para fines terapéuticos se han centrado en modular las funciones metabólicas. Similarmente, la gran mayoría de la bibliografía sobre GHS se basa en afecciones que pueden ser tratadas mediante sus acciones promotoras de GH. Algunas realizaciones de la invención descritas en el presente documento, en particular, se aprovechan de la activación selectiva del receptor de la grelina para proporcionar una vía para el tratamiento de enfermedades caracterizadas por dismotilidad GI. La motilidad GI mejorada observada con la grelina demuestra que los agonistas de la grelina pueden ser útiles en corregir afecciones asociadas a motilidad reducida o limitada (Murray, C.D.R.; Kamm, M.A.; Bloom, S.R.; Emmanuel, A.V. *Gastroenterology* 2003, 125, 1492-1502; Fujino, K.; Inui, A.; Asakawa, A.; Kihara, N.; Fujimura, M.; Fujimiya, M. *J. Physiol.* 2003, 550, 227-240; Edholm, T.; Levin, F.; Hellström, P.M.; Schmidt, P.T. *Regul. Pept.* 2004, 121, 25-30; Locatelli, V.; Bresciani, E.; Bulgarelli, I.; Rapetti, D.; Torsello, A.; Rindi, G.; Sibilia, V. *Netti, C. J. Endocrinol. Invest.* 2005, 28, 843-848; Peeters, T.L. *Gut* 2005, 54, 1638-1649; Fruhwald, S.; Holzer, P.; Metzler, H. *Wien. Klin. Wochenschr.* 2008, 120, 6-17).

Entre estas afecciones está incluido el íleo postoperatorio (POI, Luckey, A.; Livingston, E.; Taché, Y. *Arch. Surg.* 2003, 138, 206-214; Baig, M.K.; Wexner, S.D. *Dis. Colon Rectum* 2004, 47, 516-526; Greenwood-Van Meerveld, B. *Exp. Opin. Emerging Drugs* 2007, 12, 619-627; Senagore, A.J. *Am. J. Health Syst. Pharm.* 2007, 64, S3-S7; Maron, D.J.; Fry, R.D. *Am. J. Ther.* 2008, 15, 59-65). El POI se define como la alteración de la motilidad GI que se produce rutinariamente tras las cirugías abdominal, intestinal, ginecológica y pélvica. En los EE.UU. solo, 2,1 millones de cirugías anualmente inducen POI, representando un impacto económico de más de 1 billón de dólares. El POI se considera una respuesta perjudicial a la manipulación quirúrgica con una duración variable que generalmente dura durante 72 horas. Se caracteriza por dolor, distensión o hinchazón abdominal, náuseas y vómitos, acumulación de gas y fluidos en el intestino, y tránsito retrasado de las heces. Los pacientes ni son capaces de tolerar alimentación oral ni defecan hasta que vuelve la función intestinal. El POI conduce a numerosas consecuencias no deseables, que incluyen elevada morbilidad del paciente, la costosa prolongación de las hospitalizaciones y, además, es una causa importante de readmisión hospitalaria. Además, los fármacos opioides administrados como analgésicos después de la cirugía agravan esta afección debido a su efecto secundario bien reconocido de inhibir la función intestinal.

La manipulación quirúrgica del estómago o el intestino producen una desorganización de las vías de señalización intestino-cerebro, que alteran la actividad GI y provocan el POI. La grelina actúa localmente en el estómago para estimular y coordinar la activación de las neuronas aferentes vagales y así modular la motilidad intestinal. Así, la grelina acelera el vaciamiento gástrico en seres humanos (Peeters, T.L. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2006, 6, 553-558; Tack, J.; Depoortere, I.; Bisschops, R.; Delpoortere, C.; Coulie, B.; Meulemans, A.; Janssens, J.; Peeters, T. *Gut* 2006, 55, 327-333; Inui, A.; Asakawa, A.; Bowers, C.Y.; Mantovani, G.; Laviano, A.; Meguid, M.M.; Fujimiya, M. *FASEB J.* 2004, 18, 439-456; Peeters, T.L. *J. Physiol. Pharmacol.* 2003, 54(Supp. 4), 95-103) y es un potente agente demostrado para tratar POI en modelos animales (Trudel, L.; Tomasetto, C.; Rio, M.C.; Bouin, M.; Plourde, V.; Eberling, P.; Poitras, P. *Am. J. Physiol.* 2002, 282, G948-G952; Trudel, L.; Bouin, M.; Tomasetto, C.; Eberling, P.; St-Pierre, S.; Bannon, P.; L'Heureux, M.C.; Poitras, P. *Peptides* 2003, 24, 531-534; De Winter, B.Y.; De Man, J.G.; Seerden, T.C.; Depoortere, I.; Herman, A.G.; Peeters, T.L.; Pelckmans, P.A. *Neurogastroenterol. Motil.* 2004, 16, 439-446). Los agonistas de la grelina duplican los efectos de la grelina, dirigiéndose así directamente a las causas subyacentes de la POI para acelerar la normalización de la función intestinal y permitir el alta más rápida del hospital (Kitazawa, T.; De Smet, B.; Verbeke, K.; Depoortere, I.; Peeters, T.L. *Gut* 2005, 54, 1078-1084; Poitras, P.; Polvino, W.J.; Rocheleau, B. *Peptides* 2005, 26, 1598-1601). Las acciones antiinflamatorias informadas de la grelina también pueden desempeñar una función en mejorar esta afección (Granado, M.; Priego, T.; Martín, A.I.; Villanua, M.A.; Lopez-Calderon, A. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2005, 288, E486-E492; Iseri, S.O.; Sener, G.; Yuksel, M.; Contuk, G.; Cetinel, S.; Gedik, N.; Yegen, B.C. *J. Endocrinol.* 2005, 187, 399-406).

La administración intravenosa es frecuentemente la vía de tratamiento preferida para el POI debido a la alteración de la motilidad GI en estos pacientes que impide la terapia oral. Actualmente no hay ningún agente autorizado por la FDA estadounidense específicamente para el tratamiento de POI.

Otra trastorno de la motilidad importante es la gastroparesia, un problema particular para tanto diabéticos de tipo I como de tipo II (Camilleri, M. *Advances in diabetic gastroparesis. Rev. Gastroenterol. Disord.* 2002, 2, 47-56; Abell,

T.L.; Bernstein, R.K.; Cutts, T. *Neurogastroenterol. Motil.* 2006, 18, 263-283; Camilleri, M. *New Eng. J. Med.* 2007, 356, 820-829). La gastroparesia ("parálisis del estómago") es un síndrome caracterizado por el vaciamiento gástrico retardado en ausencia de cualquier obstrucción mecánica. Se caracteriza variablemente por dolor abdominal, náuseas, vómitos, pérdida de peso, anorexia, saciedad rápida, desnutrición, deshidratación, reflujo gastroesofágico, calambres e hinchazón. Esta afección crónica puede conducir a hospitalización frecuente, incapacidad elevada y disminución de la calidad de vida (Wang, Y.R.; Fisher, R.S.; Parkman, H.P. *Am. J. Gastro.* 2007, 102, 1-10). La gastroparesia sintomática grave es común en individuos que padecen diabetes, afectando al 5-10 % de los diabéticos para una población total de pacientes de 1 millón en los EE.UU. solo. La neuropatía es una complicación debilitante frecuente de la diabetes. La neuropatía visceral produce disfunción GI, que especialmente afecta al estómago, y que conduce a motilidad gástrica alterada. La grelina promueve el vaciamiento gástrico tanto estimulando el nervio vago como mediante la acción procinética directa en la mucosa gástrica. Además, estudios clínicos recientes indican que la administración intravenosa del péptido grelina natural es una terapia aguda eficaz en pacientes con gastroparesia diabética (Binn, M.; Albert, C.; Gougeon, A.; Maerki, H.; Coulie, B.; Lemoyne, M.; Rabasa Lhoret, R.; Tomasetto, C.; Poitras, P. *Peptides* 2006, 27, 1603-1606; Murray, C.D.R.; Martin, N.M.; Patterson, M.; Taylor, S.; Ghatei, M.A.; Kamm, M.A.; Johnston, C.; Bloom, S.R.; Emmanuel, A.V. *Gut* 2005, 54, 1693-1698; Tack, J.; Depoortere, I.; Bisschops, R.; Verbeke, K.; Janssens, J.; Peeters, T. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2005, 22, 847-853).

Un agonista de la grelina sería, por tanto, altamente eficaz en vencer la barrera de motilidad fundamental a la que hacen frente los pacientes con gastroparesia y corregir esta afección. Al igual que con el POI, no está disponible terapia aceptada o eficaz para la gastroparesia diabética y las terapias más actuales tiene como objetivo proporcionar solo alivio sintomático. Además, muchos de los terapéuticos en desarrollo tienen un mecanismo de acción similar a los productos anteriores que han fracasado en esta indicación. Los procedimientos quirúrgicos pueden mejorar el proceso de enfermedad, pero no ofrecen posibilidad de cura.

El síndrome de gastroparesia post-quirúrgica es una complicación resultante de la cirugía caracterizado por vaciamiento gástrico retardado, náuseas y vómitos postprandiales, y dolor abdominal (Eckhauser, F.E., et al. *Am. Surg.* 1998, 64, 711-717; Tanaka, M. *Surg. Today* 2005, 35, 345-350). Estas cirugías incluyen gastrectomía, pancreato-duodenectomía, gastroyeyunostomía en pacientes con cáncer pancreático y cirugía gástrica, además de en pacientes con cirrosis hepática (Doberneck, R.C.; Berndt, G.A. *Arch. Surg.* 1987, 122, 827-829; Bar-Natan, M.; Larson, G.M.; Stephens, G.; Massey, T. *Am. J. Surg.* 1996, 172, 24-28; Cohen, A.M.; Ottinger, L.W. *Ann. Surg.* 1976, 184, 689-696; Isobe, H.; Sakai, H.; Satoh, M.; Sakamoto, S.; Nawata, H. *Dig. Dis. Sci.* 1994, 39, 983-987). Los únicos agentes farmacéuticos informados que mostraron ser útiles para este síndrome son la cisaprida y la eritromicina (Takeda, T.; Yoshida, J.; Tanaka, M.; Matsunaga, H.; Yamaguchi, K.; Chijiwa, K. *Ann. Surg.* 1999, 229, 223-229; Heidenreich, A.; Wille, S.; Hofmann, R. *J. Urology* 2000, 163, 545). Sin embargo, la cisaprida se retiró del mercado debido, al menos en parte, a la aparición de efectos secundarios de arritmias cardíacas potencialmente mortales. Además, la eritromicina no es un tratamiento deseable debido a la actividad antibiótica que posiblemente da lugar a resistencia en caso de que se use para fines no infecciosos.

La disfunción intestinal inducida por opioides (OBD, Kurz, A.; Sessler, D.J. *Drugs* 2003, 63, 649-671) es el término aplicado a la confluencia de síntomas que afectan la motilidad GI reducida que resulta del tratamiento con analgésicos opioides. Aproximadamente el 40-50 % de los pacientes que toman opioides para el control del dolor experimentan OBD. Se caracteriza por heces secas duras, esfuerzo, evacuación incompleta, hinchazón, distensión abdominal y elevado reflujo gástrico. Además de la obvia molestia a corto plazo, esta afección conduce al deterioro físico y psicológico en pacientes que reciben tratamiento con opioides a largo plazo. Además, la disfunción puede ser tan grave que se llegue a un efecto adverso limitante de la dosis que en realidad previene el control adecuado del dolor. Al igual que con el POI, puede esperarse que un agonista de la grelina contrarreste la dismotilidad resultante del uso de opioides.

Dos síndromes menos comunes también pueden ser ayudados mediante los efectos de estimulación de la motilidad GI de la grelina y los agonistas de la grelina. El síndrome del intestino corto es una afección que se produce después de la resección de una porción sustancial del intestino delgado y se caracteriza por desnutrición. Se observa que los pacientes tienen niveles de grelina reducidos resultantes de la pérdida de células neuroendocrinas productoras de grelina del intestino. Es posible que el intestino corto repercuta en la liberación de la hormona (Krsek, M.; Rosicka, M.; Haluzik, M.; et al. *Endocr. Res.* 2002, 28, 27-33). La pseudo-obstrucción intestinal crónica es un síndrome definido por la presencia de dilatación intestinal crónica y dismotilidad en ausencia de obstrucción mecánica o inflamación. Se sabe que tanto las causas genéticas como adquiridas producen este trastorno, que afecta a altos números de individuos en el mundo anualmente (Hirano, I.; Pandolfino, J. *Dig. Dis.* 2000, 18, 83-92).

Otras afecciones y trastornos que podrían ser tratados mediante la estimulación del receptor de la grelina son: estreñimiento tal como el asociado a la fase de hipomotilidad del síndrome del intestino irritable (EII), vaciamiento gástrico retardado asociado a afecciones consuntivas, enfermedad por reflujo gastroesofágico (GERD), úlceras gástricas (Sibilia, V.; Muccioli, G.; Deghenghi, R.; Pagani, F.; DeLuca, V.; Rapetti, D.; Locatelli, V.; Netti, C. *J. Neuroendocrinol.* 2006, 18, 122-128; Sibilia, V.; Rindi, G.; Pagani, F.; Rapetti, D.; Locatelli, V.; Torsello, A.; Campanini, N.; Deghenghi, R.; Netti, C. *Endocrinology* 2003, 144, 353-359) y enfermedad de Crohn. La grelina y los agonistas de la grelina también se han descrito como tratamientos para náuseas, vómitos o síntomas de los mismos (publicación de solicitud de patente de EE.UU. N.º 2005/277677; Rudd, J.A.; Ngan, M.P.; Wai, M.K.; King, A.G.;

Witherington, J.; Andrews, P.L.R.; Sanger, G.J. *Neurosci. Lett.* 2006, 392, 79-83).

Adicionalmente, la dismotilidad GI también es un problema significativo en otros mamíferos. Por ejemplo, la disfunción por motilidad llamada íleo o cólico es la causa número uno de mortalidad entre caballos. Además, el íleo es una de las complicaciones más comunes de la cirugía intestinal equina, en otras palabras, íleo postoperatorio. Esta afección también puede tener una etiología no quirúrgica. Algunos caballos pueden tener predisposición a íleo basándose en la anatomía y el funcionamiento de su tubo digestivo. Prácticamente cualquier caballo es susceptible a cólico con solo menores diferencias basadas en la edad, sexo y raza. Adicionalmente, el íleo puede afectar a otros animales, por ejemplo caninos (Roussel, A. J., Jr.; Cohen, N.D.; Hooper, R.N.; Rakestraw, P. C. *J. Am Vet. Med. Assoc.* 2001, 219, 72-78; Van Hoogmoed, L.M.; Nieto, J.E.; Snyder, J.R.; Harmon, F.A. *Vet. Surg.* 2004, 33, 279-285).

Las reacciones adversas inducidas por fármaco son una complicación muy conocida de todos los tipos de farmacoterapia. Los efectos secundarios gastrointestinales están entre la complicación más común experimentada con productos farmacéuticos, que aparecen en el 20-40 % de todos los casos (Lewis, J.H. *Am. J. Gastroenterol.* 1986, 81, 819-834; Henry, D.A.; Ostapowicz, G.; Robertson, J. *Clin. Gastroenterol.* 1994, 8, 271-300). Lo más grave, una estimación del 25 % de reacciones inducidas por fármaco en pacientes hospitalizados afectan al tubo GI con desenlaces potencialmente mortales en un pequeño porcentaje de casos (Stewart, R.B.; Cluff, L.E. *Am. J. Dig. Dis.* 1974, 19, 1-7). Los efectos secundarios pueden afectar a todas las porciones del tubo GI (Gore, R.M.; Levine, M.S.; Ghahremani, G.G. *Abdom. Imaging* 1999, 24, 9-16; Neitlich, J.D.; Burrell, M.I. *Abdom. Imaging* 1999, 24, 17-22; Neitlich, J.D.; Burrell, M.I. *Abdom. Imaging* 1999, 24, 23-38). Tales efectos secundarios pueden frecuentemente solo ser tratados reduciendo las dosis, disminuyendo así frecuentemente la eficacia de la medicación. Adicionalmente, los pacientes frecuentemente simplemente dejan de tomar sus medicinas debido a que experimentan estos efectos secundarios.

Los efectos secundarios GI son comunes en muchas clases farmacéuticas establecidas, que incluyen agentes anticolinérgicos (por ejemplo, atropina, benzotropina, hioscina, propantelina, escopolamina, trihexifenidilo), antidepresivos tricíclicos (por ejemplo, fenotiazinas, amitriptilina, nortriptilina), antidepresivos bloqueantes de la captación de monoamina (por ejemplo, desipramina, fluoxetina, citalopram, nomifensina), otras medicaciones psicoactivas, agentes de quimioterapia para el cáncer (por ejemplo, vincristina), agonistas adrenérgicos para hipertensión, particularmente β -agonistas y α_2 -agonistas, (por ejemplo, isoproterenol, salbutamol, lidamidina, clonidina), agentes dopaminérgicos (por ejemplo, levodopa, bromocriptina, apomorfina), antipalúdicos (por ejemplo, cloroquina, mepacrina), antiespasmódicos (por ejemplo, pavatrina) y muchos otros agentes (por ejemplo, zonisamida, pergolida, ibudilast, mexiletina, acarbosa, valproato sódico, hexametonio, alendronato).

Además, muchas medicaciones más nuevas, aunque son terapias mejoradas prometedoras para una variedad de enfermedades, también son objeto de efectos secundarios GI. Entre éstos están los agonistas del péptido 1 similar al glucagón (GLP-1), amilina y receptores del péptido YY (PYY) que son muy útiles para el tratamiento de diabetes y/u otros trastornos metabólicos. Otras clases farmacéuticas que presentan efectos secundarios GI son inhibidores del proteasoma, un nuevo quimioterapéutico, frecuentemente como terapia auxiliar, para el cáncer, antagonistas de los receptores de leucotrieno para asma y otras enfermedades inflamatorias (por ejemplo, pranlukast, Garcia, M.; Nakabayashi, T.; Mochiki, E.; Naga, N.; Pacheco, I.; Suzuki, T.; Kuwano, H. *Am. J. Dig. Dis. Sci.* 2004, 49, 1228-1235), inhibidores de la fosfodiesterasa-5 (PDE-5) (por ejemplo, sildenafil: Dishy, V.; Pour, M.C.; Feldman, L. *Clin. Pharm. Ther.* 2004, 76, 281-286) y moduladores de los receptores de la acetilcolina nicotínica (Mandl, P.; Kiss, J.P. *Brain Res. Bull.* 2007, 72, 194-200).

Se han introducido varios tratamientos farmacéuticos nuevos para trastornos metabólicos o están en desarrollo. Desafortunadamente, muchos de éstos presentan efectos secundarios gastrointestinales (GI) que pueden producir eficacia reducida, mal cumplimiento del paciente, e incluso retirada de pacientes de la medicación.

Por ejemplo, los agonistas de GLP-1, tales como la exenatida, están entre los agentes nuevos más eficaces para el tratamiento de la diabetes. Sin embargo, este mecanismo de acción también produce una reducción significativa en el vaciamiento gástrico (Nauck, M.A.; Nedereichholz, U.; Ettl, R.; Holst, J.J.; Orskov, C.; Ritzel, R.; Schmiegel, W.H. *Am. J. Physiol.* 1997, 273, E981-E988; Tolessa, T.; Gutniak, M.; Holst, J.J.; Efendic, S.; Hellström, P.M. *J. Clin. Invest.* 1998, 102, 764-774; Poco, T.J.; Pilichiewicz, A.N.; Russo, A.; Phillips, L.; Jones, K.L.; Nauck, M.A.; Wishart, J.; Horowitz, M.; Feinle-Bisset, C. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006, 91, 1916-1923; Barnett, A. *Exp. Opin. Pharmacother.* 2007, 8, 2593-2608). Como el vaciamiento gástrico retardado, o la gastroparesia, ya es un problema bien establecido para pacientes diabéticos, este efecto secundario agrava una situación ya de por sí difícil.

Análogamente, se ha introducido la pramlintida como un agonista de la amilina que también es útil para el tratamiento de diabetes. Desafortunadamente, inherente en su mecanismo de acción está el vaciamiento gástrico reducido (Young, A. *Adv. Pharmacol.* 2005, 52, 99-121).

Asimismo, los agonistas del péptido YY tienen posible utilidad para el tratamiento de trastornos metabólicos, pero también reducen el vaciamiento gástrico (Chelikani, P.K.; Haver, A.C.; Reidelberger, R.D. *Am. J. Physiol.* 2004, 287, R1064-R1070).

5 Similarmente, se han introducido los inhibidores del proteasoma como una terapia útil, tanto solos como en combinación con otros agentes quimioterapéuticos para el tratamiento de una amplia variedad de trastornos hiperproliferativos, que incluyen muchos tipos diferentes de cánceres. Sin embargo, uno de estos fármacos, bortezomib, también produce tránsito GI retardado (Perfetti, V.; Palladini, G.; Brunetti, L.; Sgarella, A.; Brugnattelli, S.; Gobbi P.G.; Corazza, G.R. Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. 2007, 19, 599-601).

10 Se han empleado agonistas de la grelina (como secretagogos de la hormona de crecimiento, GHS), pero no aquellos descritos en la presente invención, en combinación con una variedad de otros agentes terapéuticos, aunque no específicamente para contrarrestar los efectos secundarios GI inducidos por fármacos. Se ha informado de GHS en combinación con moduladores selectivos de los receptores de estrógeno (SERM) para el tratamiento de debilidad muscoesquelética (documentos WO 99/65486, WO 99/65488, GB 2324726). El documento EP 1149583 trata el uso de GHS con antagonistas del factor liberador de corticotropina (CRF) como medicamentos para la osteoporosis y enfermedades cardiovasculares tales como insuficiencia cardíaca congestiva. Se han descrito GHS en combinación con antidepresivos para la mejora en la calidad de vida (documento WO 01/089570).

15 Se han tratado varias combinaciones de agentes farmacéuticos con GHS para tratar Alzheimer, que incluyen con inhibidores de la fosfodiesterasa-4 (documento WO 2004/087157), con agentes modificadores de β -amiloide (documento WO 2004/110443) e inhibidores de cinasas p38 (documento WO 2005/058308). El documento US 6.657.063 informa de combinaciones de GHS y agonistas β_3 -adrenérgicos para el tratamiento de diabetes de tipo II. Se han usado GHS en combinación con GH para caquexia, falta de apetito y para aumentar el consumo de alimentos (documentos WO 2005/097173; WO 2005/097174). El documento WO 2006/092106 describe el uso de un GHS representativo, GHRP-6, con factor de crecimiento epidérmico (EGF) para enfermedades autoinmunes y del SNC.

20 Se han descrito combinaciones de otros agentes para una variedad de trastornos GI. Éstos incluyen inhibidores de la acetilcolinesterasa con agentes anticolinérgicos como tratamiento para pseudo-obstrucción intestinal crónica (documento US 2004/082644). El documento WO 2006/005613 desvela inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV, en combinación con moduladores de 5-HT₃ y 5-HT₄ para trastornos GI.

25 Se conocen informes de combinaciones de fármacos específicamente para trastornos de la motilidad GI, que incluyen agonistas de 5-HT₃ con un segundo compuesto para tratar enfermedades caracterizadas por hipomotilidad (documento WO 2007/005780). Los antagonistas de 5-HT₃ y los agonistas 5-HT₄ con un segundo agente se describen en los documentos WO 01/041748 y US 2004/092511.

30 Se ha informado de inhibidores de la bomba de protones (PPI) en combinación con agentes procinéticos (documento WO 2005/065664) y con agentes de motilidad GI (documento WO 2004/105795). También se ha informado de PPI en combinación con compuestos que modifican la motilidad gastrointestinal como un enfoque al tratamiento de enfermedad por reflujo gastroesofágico (GERD, publicación de solicitud de patente de EE.UU. N.º 2006/0241134). Se ha usado norcispripida, un agente procinético, en combinación con PPI y antagonistas de H₂, tales como berberina (documentos WO 00/051583; WO 00/051584).

35 Sigue, sin embargo, existiendo una necesidad de combinaciones adicionales, tales como las composiciones farmacéuticas de la presente invención, que puedan tratar los efectos secundarios GI inducidos por fármacos de ciertos fármacos como se ha expuesto previamente.

40 Y, lo que es más importante, para la mayoría de las afecciones anteriores, no existen terapéuticos autorizados específicos y la mayoría de las terapias simplemente tratan el alivio sintomático. Sin embargo, la modulación específica del receptor de la grelina proporciona una oportunidad para ser dirigido directamente al sitio de perturbación fisiopatológica para tratar mejor la afección subyacente y mejorar el desenlace clínico. Además, se ha mostrado que los agonistas macrocíclicos de la grelina no estimulan la secreción simultánea de GH en modelos animales (Venkova, K.; Fraser, G.; Hoveyda, H.R.; Greenwood-Van Meerveld, B. Dig. Dis. Sci. 2007, 52, 2241-2248). Esta separación de los efectos gastrointestinales y de GH no se ha informado previamente para ningún modulador del receptor de la grelina. Sin embargo, como ya se ha mencionado, se ha informado recientemente de la existencia de análogos que separan el control del apetito y los efectos moduladores de GH asociados a la grelina (Halem, H.A.; Taylor, J.E.; Dong, J.Z.; et al. Eur. J. Endocrinol. 2004, 151, S71-S75).

45 El documento WO 01/00830 trata péptidos gastrointestinales cortos (SGIP) que secretan hormona de crecimiento y también promueven la motilidad GI, pero no se mostró que éstos fueran debidos a la acción en el receptor de la grelina. Similarmente, el documento WO 2007/041278 describe análogos peptídicos de la grelina que estimulan la motilidad GI. Las patentes de EE.UU. N.º 6.548.501 y 6.852.722 tratan compuestos de GHS no peptídicos específicos útiles para la estimulación de la motilidad GI. Similarmente, los documentos WO 2006/010629, WO 2006/020930 y WO 2006/023608 describen los agonistas de la grelina (secretagogos de la hormona de crecimiento) para su uso en trastornos GI. Además, se conocen otros factores endógenos que estimulan la secreción de GH, pero no promueven la motilidad GI. De hecho, muchos inhiben en realidad esta función fisiológica. Los agonistas específicos de receptor tales como los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento tienen mucho mejor potencial para ser agentes terapéuticos selectivos y eficaces.

Las solicitudes de patente internacional WO 2006/009645 y WO 2006/009674 describen el uso de compuestos macrocíclicos como moduladores de la grelina para su uso en el tratamiento de trastornos GI. Se ha informado de la actividad de uno de estos compuestos en un modelo de rata de POI (Venkova, K.; Fraser, G.; Hoveyda, H.R.; Greenwood-Van Meerveld, B. Dig. Dis. Sci. 2007, 52, 2241-2248). Estos compuestos macrocíclicos son estructuralmente distintos de otros compuestos que se ha encontrado que interaccionan en el receptor de la grelina como agonistas. Por ejemplo, se ha dedicado trabajo significativo al desarrollo de GHS potentes y selectivos con varios derivados de molécula pequeña que ahora se conocen como se ha resumido recientemente (Carpino, P. Exp. Opin. Ther. Patents 2002, 12, 1599-1618). GHS específicos se describen a continuación: publicaciones de solicitud de patente internacional N.º WO 89/07110; WO 89/07111; WO 92/07578; WO 93/04081; WO 94/11012; WO 94/13696; WO 94/19367; WO 95/11029; WO 95/13069; WO 95/14666; WO 95/17422; WO 95/17423; WO 95/34311; WO 96/02530; WO 96/15148; WO 96/22996; WO 96/22997; WO 96/24580; WO 96/24587; WO 96/32943; WO 96/33189; WO 96/35713; WO 96/38471; WO 97/00894; WO 97/06803; WO 97/07117; WO 97/09060; WO 97/11697; WO 97/15191; WO 97/15573; WO 97/21730; WO 97/22004; WO 97/22367; WO 97/22620; WO 97/23508; WO 97/24369; WO 97/34604; WO 97/36873; WO 97/38709; WO 97/40023; WO 97/40071; WO 97/41878; WO 97/41879; WO 97/43278; WO 97/44042; WO 97/46252; WO 98/03473; WO 98/10653; WO 98/18815; WO 98/22124; WO 98/46569; WO 98/51687; WO 98/58947; WO 98/58948; WO 98/58949; WO 98/58950; WO 99/08697; WO 99/08699; WO 99/09991; WO 99/36431; WO 99/39730; WO 99/45029; WO 99/58501; WO 99/64456; WO 99/65486; WO 99/65488; WO 00/01726; WO 00/10975; WO 00/48623; WO 00/54729; WO 01/47558; WO 01/92292; WO 01/96300; WO 01/97831; WO 2004/021984; WO 2005/039625; WO 2005/046682; WO 2005/070884; WO 2006/044359; patente de EE.UU. No. 3.239.345; patente de EE.UU. N.º 4.036.979; patente de EE.UU. N.º 4.411.890; patente de EE.UU. N.º 5.492.916; patente de EE.UU. No. 5.494.919; patente de EE.UU. N.º 5.559.128; patente de EE.UU. N.º 5.663.171; patente de EE.UU. N.º 5.721.250; patente de EE.UU. N.º 5.721.251; patente de EE.UU. N.º 5.723.616; patente de EE.UU. N.º 5.726.319; patente de EE.UU. N.º 5.767.124; patente de EE.UU. N.º 5.798.337; patente de EE.UU. N.º 5.830.433; patente de EE.UU. N.º 5.919.777; patente de EE.UU. N.º 6.034.216; patente de EE.UU. N.º 6.548.501; patente de EE.UU. N.º 6.559.150; patente de EE.UU. N.º 6.576.686; patente de EE.UU. N.º 6.639.076; patente de EE.UU. N.º 6.686.359; patente de EE.UU. N.º 6.828.331; patente de EE.UU. N.º 6.861.409; patente de EE.UU. N.º 6.919.315; patente de EE.UU. N.º 7.034.050 y las solicitudes de patente de EE.UU. N.º 2002/0168343; 2003/100494; 2003/130284; 2003/186844; 2005/187237; 2005/233981.

A pesar de este inmenso conjunto de trabajo, raramente se ha encontrado que los compuestos cíclicos actúen en el receptor de la grelina. Cuando tienen, la actividad de antagonista ha sido más predominante. Por ejemplo, se demostró que el compuesto de 14 aminoácidos, vapreotida, un agonista de SRIH-14 y mimético de la somatostatina, era un antagonista de la grelina (Deghenghi R, Papotti M, Ghigo E, et al. Endocrine 2001, 14, 29-33). Se ha informado de la unión y actividades de antagonistas de análogos de la cortistatina, un neuropéptido cíclico que se sabe que se une no selectivamente a receptores de la somatostatina, al receptor del secretagogo de la hormona de crecimiento (solicitud de patente internacional WO 03/004518). (Deghenghi R, Broglio F, Papotti M, et al. Endocrine 2003, 22, 13-18; Sibilia, V.; Muccioli, G.; Deghenghi, R.; Pagani, F.; DeLuca, V.; Rapetti, D.; Locatelli, V.; Netti, C. J. Neuroendocrinol. 2006, 18, 122-128). En particular, se ha avanzado uno de estos análogos, EP-01492 (cortistatina-8) en estudios preclínicos para el tratamiento de la obesidad como antagonista de la grelina, aunque un estudio reciente arroja dudas sobre su eficacia (Prodam, F.; Benso, A.; Gramaglia, E. Neuropeptides 2008, 42, 89-93). Estos compuestos presentan una CI₅₀ de 24-33 nM. Además, se han descrito estos compuestos cíclicos y sus derivados, más su uso con aglutinantes metálicos, para su capacidad para ser útiles para su uso en radiodiagnóstico o radioterapéutico en el tratamiento de tumores y acromegalia.

Se han estudiado análogos cíclicos y lineales de la hormona de crecimiento 177-191 como tratamientos para la obesidad (documento WO 99/12969), con un compuesto particular, AOD9604, que se ha incorporado en la clínica para esta indicación. Un compuesto ya estudiado que es el más similar a las moléculas de la presente invención es el GHS, G-7203 (CE₅₀ = 0,43 nM), el análogo de péptido cíclico del péptido liberador de la hormona de crecimiento, GHRP-2 (Elias, K.A.; Ingle, G.S.; Burnier, J.P.; Hammonds, G.; McDowell, R.S.; Rawson, T.E.; Somers, T.C.; Stanley, M.S.; Cronin, M.J. Endocrinol. 1995, 136, 5694-5699). Sin embargo, la simplificación de este derivado cíclico condujo a compuestos lineales todavía potentes, mientras que para los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento se han encontrado análogos lineales que carecen de actividad del receptor de la grelina.

Se ha mostrado que los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento poseen actividad moduladora de la grelina, y en realizaciones particulares, como agonistas. Se han descrito previamente peptidomiméticos macrocíclicos como moduladores del receptor de la grelina y resumidos sus usos para el tratamiento de una variedad de trastornos GI y metabólicos (publicaciones de solicitud de patente internacional N.º WO 2006/009645; 2006/009674; WO 2006/046977; 2006/137974; publicaciones de solicitud de patente de EE.UU. N.º 2006/025566; 2007/0021331; solicitud de patente de EE.UU. N.º 11/774.185). Uno de estos compuestos se ha incorporado en la clínica (Lasseter, K.C.; Shaughnessy, L.; Cummings, D.; et al. J. Clin. Pharmacol. 2008, 48, 193-202).

Aunque la potencia de unión y la afinidad por la diana son factores en el descubrimiento y el desarrollo de fármacos, también son importantes para el desarrollo de agentes farmacéuticos viables la optimización de parámetros farmacocinéticos (PK) y farmacodinámicos (PD). Un área de atención para investigación en la industria farmacéutica ha sido entender mejor los factores subyacentes que determinan la idoneidad de moléculas de este modo, frecuentemente llamado coloquialmente su "similitud a fármaco" (Lipinski, C.A.; Lombardo, F.; Dominy, B.W.;

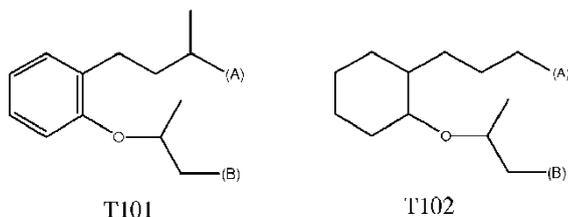
Feeney, P.J. Adv. Drug Delivery Rev. 1997, 23, 3-25; Muegge, I. Med. Res. Rev. 2003, 23, 302-321; Veber, D.F.; Johnson, S.R.; Cheng, H.-Y.; Smith, B.R.; Ward, K.W.; Kopple, K.D. J. Med. Chem. 2002, 45, 2615-2623). Por ejemplo, el peso molecular, log P, permeabilidad de la membrana, el número de donantes y aceptores de enlaces de hidrógeno, área superficial polar total (TPSA) y el número de enlaces giratorios se han correlacionado todos con compuestos que han sido satisfactorios en el desarrollo de fármacos. Adicionalmente, se emplean mediciones experimentales de unión a proteínas del plasma, interacción con enzimas citocromo P450, y parámetros farmacocinéticos en la industria farmacéutica para seleccionar y fomentar nuevos candidatos a fármaco.

Sin embargo, estos parámetros no se han explorado o informado ampliamente en la clase estructural macrocíclica. Esta falta de información crea retos en el desarrollo de fármacos para tales moléculas. Se ha encontrado que los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento poseen características farmacológicas deseables, mientras que mantienen afinidad de unión y selectividad suficientes por el receptor de la grelina, como se ilustra en los ejemplos presentados en el presente documento. Estas características combinadas hacen que los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento generalmente sean más adecuados que los macrociclos previamente informados para desarrollo como agentes farmacéuticos, particularmente para su uso como agentes administrados por vía oral o para usos crónicos.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a novedosos compuestos macrocíclicos conformacionalmente definidos. Estos compuestos pueden servir de moduladores, en particular agonistas, del receptor de la grelina (secretagogo de la hormona de crecimiento) (GHS-R1a).

Un primer aspecto de la presente invención proporciona un compuesto que tiene la fórmula HO-T-NRPG, en la que T- tiene una de las siguientes estructuras:

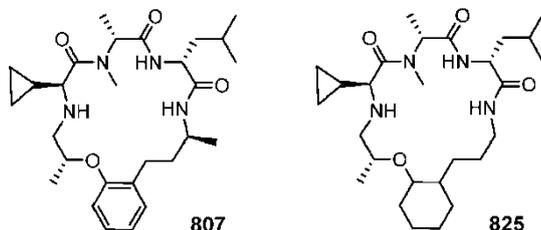


o un isómero óptico, enantiómero o diaestereómero del mismo, en las que:

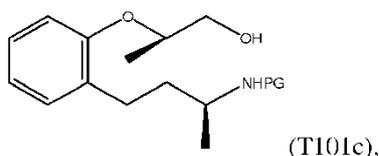
- (A) indica donde T está unido al grupo NRPG;
- (B) indica donde T está unido al grupo OH;

PG está seleccionado del grupo que consiste en hidrógeno y un grupo protector para un grupo funcional de amina seleccionado del grupo que consiste en ftalimido, tricloroacetilo, benciloxicarbonilo, *tert*-butoxicarbonilo, adamantiloxicarbonilo, aliloxicarbonilo, 9-fluorenilmetoxicarbonilo y α,α -dimetil-3,5-dimetoxibenciloxicarbonilo; y R es hidrógeno.

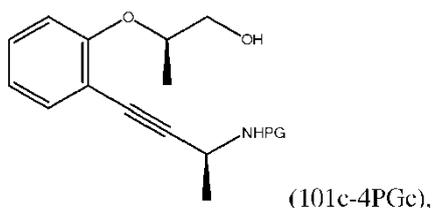
Un segundo aspecto de la invención proporciona el uso de un compuesto según el primer aspecto de la invención en la fabricación de un macrocíclico conformacionalmente definido de fórmula 807 o 825:



Un tercer aspecto de la invención proporciona un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula T101c:



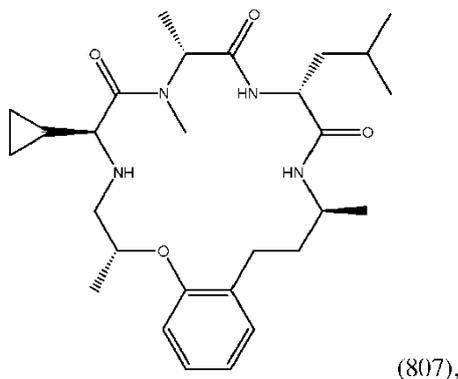
que comprende hidrogenar un compuesto de fórmula 101c-4PG:



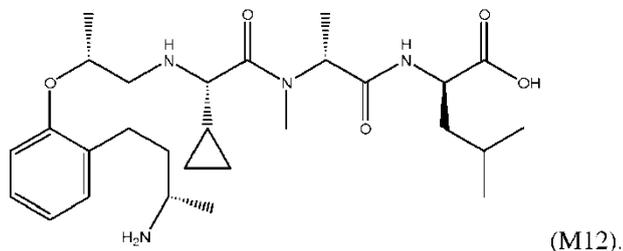
en la que:

5 PG está seleccionado del grupo que consiste en hidrógeno y un grupo protector para un grupo funcional de amina seleccionado del grupo que consiste en ftalimido, tricloroacetilo, benciloxicarbonilo, *terc*-butoxicarbonilo, adamantiloxicarbonilo, aliloxicarbonilo, 9-fluorenilmetoxicarbonilo y α,α -dimetil-3,5-dimetoxibenciloxicarbonilo.

Un cuarto aspecto de la invención proporciona un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula 807:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende ciclar un compuesto de fórmula M12:



10 Los aspectos anteriores y otros de la presente invención se explican en mayor detalle en la memoria descriptiva expuesta a continuación.

Breve descripción de los dibujos

15 La **Figura 1** muestra un gráfico de concentración-respuesta para la activación de la vía de señalización mediada por el receptor de la grelina con compuestos descritos en el presente documento.

La **Figura 2** muestra una gráfica que representa el efecto sobre la liberación pulsada de la hormona de crecimiento para un compuesto descrito en el presente documento.

La **Figura 3** muestra gráficos que representan parámetros farmacocinéticos para compuestos descritos en el presente documento, específicamente después de la administración por vía oral de 8 mg/kg del compuesto 802 (panel A) y después de la administración por vía oral de 8 mg/kg del compuesto 807 (panel B).

20 La **Figura 4** muestra gráficos que representan parámetros farmacocinéticos para compuestos descritos en el presente documento, específicamente después de la administración por vía oral de 8 mg/kg del compuesto 810 (panel A) y después de la administración por vía oral de 8 mg/kg del compuesto 819 (panel B).

La **Figura 5** muestra gráficos que representan parámetros farmacocinéticos para compuestos descritos en el presente documento, específicamente después de la administración por vía oral de 2 mg/kg del compuesto 822 (panel A) y después de la administración por vía oral de 8 mg/kg del compuesto 825 (panel B).

25 La **Figura 6** muestra gráficos que representan parámetros farmacocinéticos para compuestos descritos en el presente documento, específicamente después de la administración por vía oral de 8 mg/kg del compuesto 831 (panel A) y después de la administración por vía oral de 8 mg/kg del compuesto 854 (panel B).

30 La **Figura 7** muestra gráficos que representan parámetros farmacocinéticos para compuestos descritos en el presente documento, específicamente después de la administración por vía oral de 8 mg/kg del compuesto 877 (panel A) y después de la administración por vía oral de 8 mg/kg del compuesto 968 (panel B).

La **Figura 8** muestra gráficos que representan parámetros farmacocinéticos para compuestos descritos en el presente documento, específicamente después de la administración por vía oral de 8 mg/kg del compuesto 1011 (panel A) y después de la administración por vía oral de 8 mg/kg del compuesto 1069 (panel B).

Descripción detallada

- 5 Los aspectos anteriores y otros de la presente invención se describirán ahora en más detalle con respecto a otras realizaciones descritas en el presente documento. Debe apreciarse que la invención puede integrarse en diferentes formas y no debe interpretarse como limitada a las realizaciones expuestas en el presente documento. Más bien, estas realizaciones se proporcionan de manera que la presente divulgación sea exhaustiva y completa, y transmitirá completamente el alcance de la invención a aquellos expertos en la materia.
- 10 La terminología usada en la descripción de la invención en el presente documento es con el fin de describir realizaciones particulares solo y no pretende ser limitante de la invención. Como se usa en la descripción de la invención y las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una", "el" y "la" pretenden también incluir las formas en plural, a menos que el contexto indique claramente de otro modo. Adicionalmente, como se usa en el presente documento, el término "y/o" incluye todas y cada una de las combinaciones de uno o más de los artículos enumerados asociados y puede abreviarse "/".
- 15

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que comúnmente es entendido por un experto habitual en la materia a la que pertenece la presente invención.

- 20 El término "alquilo" se refiere a grupos de hidrocarburo saturados o parcialmente insaturados de cadena lineal o ramificada que tienen de 1 a 20 átomos de carbono, en algunos casos 1 a 8 átomos de carbono. El término "alquilo inferior" se refiere a grupos alquilo que contienen 1 a 6 átomos de carbono. Ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, isopropilo, *tert*-butilo, 3-hexenilo y 2-butinilo. Por "insaturado" se indica la presencia de 1, 2 o 3 dobles o triples enlaces, o una combinación de los dos. Tales grupos alquilo también pueden estar opcionalmente sustituidos como se describe más adelante.

- 25 Cuando se usa un subíndice con referencia a un alquilo u otro grupo de hidrocarburo definido en el presente documento, el subíndice se refiere al número de átomos de carbono que el grupo puede contener. Por ejemplo, alquilo C₂-C₄ indica un grupo alquilo con 2, 3 o 4 átomos de carbono.

- 30 El término "cicloalquilo" se refiere a grupos de hidrocarburo cíclicos saturados o parcialmente insaturados que tienen de 3 a 15 átomos de carbono en el anillo, en algunos casos 3 a 7, y a grupos alquilo que contienen dichos grupos de hidrocarburo cíclicos. Ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclopropilmetilo, ciclopentilo, 2-(ciclohexil)etilo, cicloheptilo y ciclohexenilo. Cicloalquilo como se define en el presente documento también incluye grupos con múltiples anillos de carbono, cada uno de los cuales puede estar saturado o parcialmente insaturado, por ejemplo, decalinilo, [2.2.1]-bicycloheptanilo o adamantanilo. Todos aquellos grupos cicloalquilo también pueden estar opcionalmente sustituidos como se describe más adelante.

- 35 El término "aromático" se refiere a un grupo de hidrocarburo cíclico insaturado que tiene un sistema de electrones pi conjugado que contiene 4n+2 electrones donde n es un número entero superior o igual a 1. Las moléculas aromáticas normalmente son estables y se representan como un anillo plano de átomos con estructuras de resonancia que consisten en dobles enlaces y enlaces sencillos alternos, por ejemplo, benceno o naftaleno.

- 40 El término "arilo" se refiere a un grupo aromático en un sistema de anillos carbocíclicos individuales o condensados que tiene de 6 a 15 átomos de anillo, en algunos casos 6 a 10, y a grupos alquilo que contienen dichos grupos aromáticos. Ejemplos de grupos arilo incluyen, pero no se limitan a, fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo y bencilo. Arilo como se define en el presente documento también incluye grupos con múltiples anillos de arilo que pueden estar condensados, como en naftilo y antraceno, o sin condensar, como en bifenilo y terfenilo. Arilo también se refiere a anillos de carbono bicíclicos o tricíclicos, donde uno de los anillos es aromático y los otros pueden estar saturados, parcialmente insaturados o ser aromáticos, por ejemplo, indanilo o tetrahidronaftilo (tetralinilo). Todos aquellos grupos arilo también pueden estar opcionalmente sustituidos como se describe más adelante.
- 45

- El término "heterociclo" o "heterocíclico" se refiere a grupos monocíclicos, bicíclicos o tricíclicos saturados o parcialmente insaturados que tienen de 3 a 15 átomos, en algunos casos 3 a 7, con al menos un heteroátomo en al menos uno de los anillos, estando dicho heteroátomo seleccionado de O, S o N. Cada anillo del grupo heterocíclico puede contener uno o dos átomos de O, uno o dos átomos de S, uno a cuatro átomos de N, a condición de que el número total de heteroátomos en cada anillo sea cuatro o menos, y cada anillo contenga al menos un átomo de carbono. Los anillos condensados que completan los grupos heterocíclicos bicíclicos o tricíclicos pueden contener solo átomos de carbono y pueden ser saturados o parcialmente insaturados. Los átomos de N y S pueden opcionalmente estar oxidados y los átomos de N pueden opcionalmente estar cuaternizados. Heterocíclico también se refiere a grupos alquilo que contienen dichos grupos heterocíclicos monocíclicos, bicíclicos o tricíclicos. Ejemplos de anillos heterocíclicos incluyen, pero no se limitan a, 2- o 3-piperidinilo, 2- o 3-piperazinilo, 2- o 3-morfolinilo. Todos aquellos grupos heterocíclicos también pueden estar opcionalmente sustituidos como se describe más adelante.
- 50
- 55

El término "heteroarilo" se refiere a un grupo aromático en un sistema de anillos individuales o condensados que tiene de 5 a 15 átomos de anillo, en algunos casos 5 a 10, que tiene al menos un heteroátomo en al menos uno de los anillos, estando dicho heteroátomo seleccionado de O, S o N. Cada anillo del grupo heteroarilo puede contener uno o dos átomos de O, uno o dos átomos de S, uno a cuatro átomos de N, a condición de que el número total de heteroátomos en cada anillo sea cuatro o menos, y cada anillo contenga al menos un átomo de carbono. Los anillos condensados que completan los grupos bicíclicos o tricíclicos pueden contener solo átomos de carbono y pueden estar saturados, parcialmente insaturados o ser aromáticos. En estructuras donde el único par de electrones de un átomo de nitrógeno no participa en completar el sistema de electrones aromático, los átomos de N pueden estar opcionalmente cuaternizados u oxidarse dando el N-óxido. Heteroarilo también se refiere a grupos alquilo que contienen dichos grupos cíclicos. Ejemplos de grupos heteroarilo monocíclicos incluyen, pero no se limitan a, pirrolilo, pirazolilo, pirazolinilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, tiadiazolilo, isotiazolilo, furanilo, tienilo, oxadiazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo y triazinilo. Ejemplos de grupos heteroarilo bicíclicos incluyen, pero no se limitan a, indolilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, benzotienilo, quinolinilo, tetrahydroisoquinolinilo, isoquinolinilo, bencimidazolilo, benzopirranilo, indolizínilo, benzofuranilo, isobenzofuranilo, cromonilo, cumarinilo, benzopirranilo, cinnolinilo, quinoxalinilo, indazolilo, purinilo, pirrolopiridinilo, furopiridinilo, tienopiridinilo, dihydroisoindolilo y tetrahydroquinolinilo. Ejemplos de grupos heteroarilo tricíclicos incluyen, pero no se limitan a, carbazolilo, bencindolilo, fenantrolinilo, acridinilo, fenantridinilo y xantenilo. Todos aquellos grupos heteroarilo también pueden estar opcionalmente sustituidos como se describe más adelante.

El término "hidroxi" se refiere al grupo -OH.

El término "alcoxi" se refiere al grupo -OR_a, en el que R_a es alquilo, cicloalquilo o heterocíclico. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a metoxi, etoxi, *terc*-butoxi, ciclohexiloxi y tetrahidropirraniloxi.

El término "ariloxi" se refiere al grupo -OR_b en el que R_b es arilo o heteroarilo. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, fenoxi, benciloxi y 2-naftiloxi.

El término "acilo" se refiere al grupo -C(=O)-R_c en el que R_c es alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, acetilo, benzoílo y furoílo.

El término "aminoacilo" indica un grupo acilo que se deriva de un aminoácido.

El término "amino" se refiere a un grupo -NR_dR_e en el que R_d y R_e están seleccionados independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo y heteroarilo. Alternativamente, R_d y R_e juntos forman un anillo heterocíclico de 3 a 8 miembros, opcionalmente sustituido con alquilo sin sustituir, cicloalquilo sin sustituir, heterocíclico sin sustituir, arilo sin sustituir, heteroarilo sin sustituir, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, acilo, amino, amido, carboxi, carboxialquilo, carboxiarilo, mercapto, sulfínico, sulfonilo, sulfonamido, amidino, carbamoílo, guanidino o ureido, y que opcionalmente contiene uno a tres heteroátomos adicionales seleccionados de O, S o N.

El término "amido" se refiere al grupo -C(=O)-NR_fR_g en el que R_f y R_g están seleccionados independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo y heteroarilo. Alternativamente, R_f y R_g juntos forman un anillo heterocíclico de 3 a 8 miembros, opcionalmente sustituido con alquilo sin sustituir, cicloalquilo sin sustituir, heterocíclico sin sustituir, arilo sin sustituir, heteroarilo sin sustituir, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, acilo, amino, amido, carboxi, carboxialquilo, carboxiarilo, mercapto, sulfínico, sulfonilo, sulfonamido, amidino, carbamoílo, guanidino o ureido, y que opcionalmente contiene uno a tres heteroátomos adicionales seleccionados de O, S o N.

El término "amidino" se refiere al grupo -C(=NR_h)NR_iR_j en el que R_h está seleccionado del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo y heteroarilo; y R_i y R_j están seleccionados independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo y heteroarilo. Alternativamente, R_i y R_j juntos forman un anillo heterocíclico de 3 a 8 miembros, opcionalmente sustituido con alquilo sin sustituir, cicloalquilo sin sustituir, heterocíclico sin sustituir, arilo sin sustituir, heteroarilo sin sustituir, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, acilo, amino, amido, carboxi, carboxialquilo, carboxiarilo, mercapto, sulfínico, sulfonilo, sulfonamido, amidino, carbamoílo, guanidino o ureido, y que opcionalmente contiene uno a tres heteroátomos adicionales seleccionados de O, S o N.

El término "carboxi" se refiere al grupo -CO₂H.

El término "carboxialquilo" se refiere al grupo -CO₂R_k, en el que R_k es alquilo, cicloalquilo o heterocíclico.

El término "carboxiarilo" se refiere al grupo -CO₂R_m, en el que R_m es arilo o heteroarilo.

El término "ciano" se refiere al grupo -CN.

El término "formilo" se refiere al grupo -C(=O)H, también indicado -CHO.

El término "halo", "halógeno" o "haluro" se refiere a fluoro, flúor o fluoruro, cloro o cloruro, bromo o bromuro, y yodo o yoduro, respectivamente.

El término "oxo" se refiere al grupo bivalente =O, que está sustituido en lugar de dos átomos de hidrógeno sobre el mismo carbono para formar un grupo carbonilo.

El término "mercapto" se refiere al grupo $-SR_n$ en el que R_n es hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo.

El término "nitro" se refiere al grupo $-NO_2$.

El término "trifluorometilo" se refiere al grupo $-CF_3$.

- 5 El término "sulfinilo" se refiere al grupo $-S(=O)R_p$ en el que R_p es alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo.

El término "sulfonilo" se refiere al grupo $-S(=O)_2R_{q1}$ en el que R_{q1} es alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo.

- 10 El término "aminosulfonilo" se refiere al grupo $-NR_{q2}-S(=O)_2R_{q3}$ en el que R_{q2} es hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo; y R_{q3} es alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo.

- 15 El término "sulfonamido" se refiere al grupo $-S(=O)_2-NR_rR_s$ en el que R_r y R_s están seleccionados independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo. Alternativamente, R_r y R_s juntos forman un anillo heterocíclico de 3 a 8 miembros, opcionalmente sustituido con alquilo sin sustituir, cicloalquilo sin sustituir, heterocíclico sin sustituir, arilo sin sustituir, heteroarilo sin sustituir, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, acilo, amino, amido, carboxi, carboxialquilo, carboxiarilo, mercapto, sulfinilo, sulfonilo, sulfonamido, amidino, carbamoilo, guanidino o ureido, y que opcionalmente contiene uno a tres heteroátomos adicionales seleccionados de O, S o N.

- 20 El término "carbamoilo" se refiere a un grupo de fórmula $-N(R_t)-C(=O)-OR_u$ en la que R_t está seleccionado de hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo; y R_u está seleccionado de alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo.

- 25 El término "guanidino" se refiere a un grupo de fórmula $-N(R_v)-C(=NR_w)-NR_xR_y$ en la que R_v , R_w , R_x y R_y están seleccionados independientemente de hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo. Alternativamente, R_x y R_y juntos forman un anillo heterocíclico de 3 a 8 miembros, opcionalmente sustituido con alquilo sin sustituir, cicloalquilo sin sustituir, heterocíclico sin sustituir, arilo sin sustituir, heteroarilo sin sustituir, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, acilo, amino, amido, carboxi, carboxialquilo, carboxiarilo, mercapto, sulfinilo, sulfonilo, sulfonamido, amidino, carbamoilo, guanidino o ureido, y que opcionalmente contiene uno a tres heteroátomos adicionales seleccionados de O, S o N.

- 30 El término "ureido" se refiere a un grupo de fórmula $-N(R_z)-C(=O)-NR_{aa}R_{bb}$ en la que R_z , R_{aa} y R_{bb} están seleccionados independientemente de hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo. Alternativamente, R_{aa} y R_{bb} juntos forman un anillo heterocíclico de 3 a 8 miembros, opcionalmente sustituido con alquilo sin sustituir, cicloalquilo sin sustituir, heterocíclico sin sustituir, arilo sin sustituir, heteroarilo sin sustituir, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, acilo, amino, amido, carboxi, carboxialquilo, carboxiarilo, mercapto, sulfinilo, sulfonilo, sulfonamido, amidino, carbamoilo, guanidino o ureido, y que opcionalmente contiene uno a tres heteroátomos adicionales seleccionados de O, S o N.

- 35 El término "opcionalmente sustituido" pretende indicar expresamente que el grupo especificado está sin sustituir o sustituido con uno o más sustituyentes adecuados, a menos que los sustituyentes opcionales se especifiquen expresamente, en cuyo caso el término indica que el grupo está sin sustituir o sustituido con los sustituyentes especificados. Como se ha definido anteriormente, diversos grupos pueden estar sin sustituir o sustituidos (es decir, están opcionalmente sustituidos), a menos que se indique lo contrario en el presente documento (por ejemplo, indicando que el grupo especificado está sin sustituir).

- 40 El término "sustituido", cuando se usa con los términos alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo y heteroarilo, se refiere a un grupo alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo que tiene uno o más de los átomos de hidrógeno del grupo sustituidos con sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo sin sustituir, cicloalquilo sin sustituir, heterocíclico sin sustituir, arilo sin sustituir, heteroarilo sin sustituir, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, acilo, amino, amido, carboxi, carboxialquilo, carboxiarilo, halógeno, oxo, mercapto, sulfinilo, sulfonilo, sulfonamido, amidino, carbamoilo, guanidino, ureido y grupos de fórmulas $-NR_{cc}C(=O)R_{dd}$, $-NR_{ee}C(=NR_{ff})R_{gg}$, $-OC(=O)NR_{hh}R_{ii}$, $-OC(=O)R_{jj}$, $-OC(=O)OR_{kk}$, $-NR_{mm}SO_2R_{nn}$ o $-NR_{pp}SO_2NR_{qq}R_{rr}$ en las que R_{cc} , R_{dd} , R_{ee} , R_{ff} , R_{gg} , R_{hh} , R_{ii} , R_{jj} , R_{mm} , R_{pp} , R_{qq} y R_{rr} están seleccionados independientemente de hidrógeno, alquilo sin sustituir, cicloalquilo sin sustituir, heterocíclico sin sustituir, arilo sin sustituir o heteroarilo sin sustituir; y en las que R_{kk} y R_{nn} están seleccionados independientemente de alquilo sin sustituir, cicloalquilo sin sustituir, heterocíclico sin sustituir, arilo sin sustituir o heteroarilo sin sustituir. Alternativamente, R_{gg} y R_{hh} , R_{jj} y R_{kk} o R_{pp} y R_{qq} juntos forman un anillo heterocíclico de 3 a 8 miembros, opcionalmente sustituido con alquilo sin sustituir, cicloalquilo sin sustituir, heterocíclico sin sustituir, arilo sin sustituir, heteroarilo sin sustituir, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, acilo, amino, amido, carboxi, carboxialquilo, carboxiarilo, mercapto, sulfinilo, sulfonilo, sulfonamido, amidino, carbamoilo, guanidino o ureido, y que opcionalmente contiene uno a tres heteroátomos adicionales seleccionados de O, S o N. Además, el término "sustituido" para grupos arilo y heteroarilo incluye como opción tener uno de los átomos de hidrógeno del grupo sustituido con ciano, nitro o trifluorometilo.

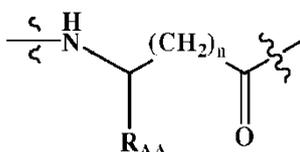
Una sustitución se hace a condición de que cualquier valencia normal del átomo no se supere y que la sustitución produzca un compuesto estable. Generalmente, cuando una forma sustituida de un grupo está presente, tal grupo sustituido no está preferentemente adicionalmente sustituido o, si está sustituido, el sustituyente comprende solo un número limitado de grupos sustituidos, en algunos casos 1, 2, 3 o 4 de tales sustituyentes.

- 5 Cuando cualquier variable se produce más de una vez en cualquier constituyente o en cualquier fórmula en el presente documento, su definición en cada aparición es independiente de su definición en cualquier otra aparición. Por tanto, son permisibles combinaciones de sustituyentes y/o variables solo si tales combinaciones producen compuestos estables.

- 10 Un "compuesto estable" o "estructura estable" se refiere a un compuesto que es suficientemente robusto para sobrevivir al aislamiento a un grado de pureza útil y formulación en un agente terapéutico eficaz.

- 15 El término "aminoácido" se refiere a los aminoácidos naturales (genéticamente codificados) o sintéticos comunes y derivados comunes de los mismos, conocidos para aquellos expertos en la materia. Cuando se aplican a los aminoácidos, "estándar" o "proteínogénico" se refiere a los 20 aminoácidos genéticamente codificados en su configuración natural. Similarmente, cuando se aplica a aminoácidos, "no natural" o "poco usual" se refiere a la amplia selección de aminoácidos no naturales, raros o sintéticos tales como aquellos descrito por Hunt, S. en Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids, Barrett, G.C., Ed., Chapman y Hall: New York, 1985.

El término "resto" con referencia a un aminoácido o derivado de aminoácido se refiere a un grupo de fórmula:



en la que R_{AA} es una cadena lateral de aminoácido, y $n = 0, 1$ o 2 en este caso.

- 20 El término "fragmento", con respecto a un dipéptido, tripéptido o derivado de péptido de orden superior, indica un grupo que contiene dos, tres o más, respectivamente, restos de aminoácidos.

El término "cadena lateral de aminoácido" se refiere a cualquier cadena lateral de un aminoácido estándar o no natural, y se indica R_{AA} . Por ejemplo, la cadena lateral de alanina es metilo, la cadena lateral de valina es isopropilo y la cadena lateral de triptófano es 3-indolilmetilo.

- 25 El término "agonista" se refiere a un compuesto que duplica al menos alguno de los efectos del ligando endógeno de una proteína, receptor, enzima o similares.

El término "antagonista" se refiere a un compuesto que inhibe al menos alguno de los efectos del ligando endógeno de una proteína, receptor, enzima o similares.

- 30 El término "secretagogo de la hormona de crecimiento" (GHS) se refiere a cualquier compuesto o agente exógenamente administrado que estimule o aumente directa o indirectamente la liberación endógena de la hormona de crecimiento, hormona liberadora de la hormona de crecimiento, o somatostatina en un animal, en particular, un ser humano. Un GHS puede ser peptídico o no peptídico en la naturaleza, en algunos casos, con un agente que puede administrarse por vía oral. En algunos casos, el agente puede inducir una respuesta pulsada.

- 35 El término "modulador" se refiere a un compuesto que confiere un efecto sobre un proceso o mecanismo biológico o químicos. Por ejemplo, un modulador puede aumentar, facilitar, regular por incremento, activar, inhibir, disminuir, bloquear, prevenir, retardar, desensibilizar, desactivar, regular por disminución, o similares, un proceso o mecanismo biológico o químico. Por consiguiente, un modulador puede ser un "agonista" o un "antagonista." Procesos o mecanismos biológicos a modo de ejemplo afectados por un modulador incluyen, pero no se limitan a, unión a receptor y liberación o secreción de hormona. Procesos o mecanismos químicos a modo de ejemplo afectados por un modulador incluyen, pero no se limitan a, catálisis e hidrólisis.

El término "variante" cuando se aplica a un receptor pretende incluir dímeros, trímeros, tetrámeros, pentámeros y otros complejos biológicos que contienen múltiples componentes. Estos componentes pueden ser iguales o diferentes.

- 45 El término "péptido" se refiere a un compuesto químico comprendido de dos o más aminoácidos covalentemente unidos juntos.

El término "peptidomimético" se refiere a un compuesto químico diseñado para imitar un péptido, pero que contiene diferencias estructurales mediante la adición o sustitución de uno de más grupos funcionales del péptido con el fin de modular su actividad u otras propiedades, tales como la solubilidad, estabilidad metabólica, biodisponibilidad oral, lipofilia, permeabilidad, etc. Esto puede incluir la sustitución del enlace peptídico, modificaciones de la cadena

lateral, truncaciones, adiciones de grupos funcionales, etc. Cuando la estructura química no se deriva del péptido, pero imita su actividad, se denomina frecuentemente un "peptidomimético no peptídico".

El término "enlace peptídico" se refiere a la funcionalidad amida [-C(=O)-NH-] con la que aminoácidos individuales normalmente se unen covalentemente entre sí en un péptido.

- 5 El término "grupo protector" se refiere a cualquier compuesto químico que pueda usarse para prevenir que un grupo funcional potencialmente reactivo, tal como una amina, un hidroxilo o un carboxilo, sobre una molécula experimente una reacción química mientras que el cambio químico se produce en cualquier parte en la molécula. Varios de tales grupos protectores son conocidos para aquellos expertos en la materia, y pueden encontrarse ejemplos en "Protective Groups in Organic Synthesis", Theodora W. Greene and Peter G. Wuts, editors, John Wiley & Sons, New York, 3ª edición, 1999 [ISBN 0471160199]. Ejemplos de grupos protectores de amino incluyen, pero no se limitan a, ftalimido, tricloroacetilo, benciloxicarbonilo, *tert*-butoxicarbonilo y adamantiloxicarbonilo. En algunas realizaciones, los grupos protectores de amino son grupos protectores de amino del carbamato, que se definen como un grupo protector de amino que cuando se une a un grupo amino forma un carbamato. En otras realizaciones, grupos protectores del carbamato de amino son aliloxicarbonilo (Alloc), benciloxicarbonilo (Cbz), 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc), *tert*-butoxicarbonilo (Boc) y α,α -dimetil-3,5-dimetoxibenciloxicarbonilo (Ddz). Para una discusión reciente de grupos protectores de nitrógeno más nuevos: Theodoridis, G. *Tetrahedron* 2000, 56, 2339-2358. Ejemplos de grupos protectores de hidroxilo incluyen, pero no se limitan a, acetilo, *tert*-butildimetilsililo (TBDMS), tritilo (Trt), *tert*-butilo y tetrahidropirano (THP). Ejemplos de grupos protectores de carboxilo incluyen, pero no se limitan a, éster metílico, éster *tert*-butílico, éster bencílico, éster trimetilsililetilico y éster 2,2,2-tricloroetilico.
- 10
- 15
- 20 El término "química en fase sólida" se refiere a la realización de reacciones químicas donde un componente de la reacción se une covalentemente a un material polimérico (soporte sólido como se define a continuación). Los procedimientos de reacción para realizar la química sobre fase sólida han llegado a ser más ampliamente conocidos y establecidos fuera de los campos tradicionales de la química de los péptidos y los oligonucleótidos.
- 25 El término "soporte sólido", "fase sólida" o "resina" se refiere a una matriz polimérica mecánica y químicamente estable utilizada para realizar la química en fase sólida. Esto se indica por "Resina", "P-" o el siguiente símbolo:



- Ejemplos de materiales de polímero apropiados incluyen, pero no se limitan a, poliestireno, polietileno, polietilenglicol, polietilenglicol injertado o covalentemente unido a poliestireno (también llamado PEG-poliestireno, TentaGel™, Rapp, W.; Zhang, L.; Bayer, E. en *Innovations and Perspectives in Solid Phase Synthesis. Peptides, Polypeptides and Oligonucleotides*; Epton, R., Ed.; SPCC Ltd.: Birmingham, RU; p 205), poliácido (CLEAR™), poliácido, poliuretano, PEGA [co-polímero de polietilenglicol-poli(N,N-dimetilacrilamida), Meldal, M. *Tetrahedron Lett.* 1992, 33, 3077-3080], celulosa, etc. Estos materiales pueden opcionalmente contener agentes químicos adicionales para formar enlaces reticulados para estabilizar mecánicamente la estructura, por ejemplo, poliestireno reticulado con divinilbenceno (DVB, normalmente 0,1-5 %, preferentemente 0,5-2 %). Este soporte sólido puede incluir como ejemplos no limitantes aminometilpoliestireno, hidroximetilpoliestireno, benzhidrilamina poliestireno (BHA), metilbenzidrilamina (MBHA) poliestireno, y otros esqueletos poliméricos que contienen grupos funcionales químicos libres, lo más normalmente, -NH₂ o -OH, para derivatización o reacción adicional. El término también pretende incluir "Ultra-resinas" con una alta proporción ("carga") de estos grupos funcionales tales como aquellas preparadas a partir de polietileniminas y moléculas de reticulación (Barth, M.; Rademann, J. J. *Comb. Chem.* 2004, 6, 340-349). Al finalizar la síntesis, las resinas normalmente se desechan, aunque se ha mostrado que son capaces de ser reutilizadas, tal como en Frechet, J.M.J.; Haque, K.E. *Tetrahedron Lett.* 1975, 16, 3055.
- 30
- 35
- 40

- En general, los materiales usados como resinas son polímeros insolubles, pero ciertos polímeros tienen solubilidad diferencial dependiendo del disolvente y también pueden emplearse para química en fase sólida. Por ejemplo, puede utilizarse polietilenglicol de este modo, ya que es soluble en muchos disolventes orgánicos en los que pueden realizarse reacciones químicas, pero es insoluble en otros, tales como éter dietílico. Por lo tanto, pueden realizarse reacciones homogéneamente en solución, luego precipitarse el producto sobre el polímero mediante la adición de éter dietílico y procesarse como un sólido. Esto se ha llamado química de "fase líquida".
- 45

- El término "conector", cuando se usa en referencia a la química de la fase sólida, se refiere a un grupo químico que está unido covalentemente a un soporte sólido y está unido entre el soporte y el sustrato normalmente con el fin de permitir la liberación (escisión) del sustrato del soporte sólido. Sin embargo, también puede usarse para conferir estabilidad al enlace al soporte sólido o simplemente como elemento espaciador. Muchos soportes sólidos están comercialmente disponibles con conectores ya unidos.
- 50

- Abreviaturas usadas para aminoácidos y la designación de péptidos siguen las reglas de la UPAC-IUB Commission of Biochemical Nomenclature in *J. Biol. Chem.* 1972, 247, 977-983. Este documento ha sido actualizado: *Biochem. J.*, 1984, 219, 345-373; *Eur. J. Biochem.*, 1984, 138, 9-37; 1985, 152, 1; *Internat. J. Pept. Prot. Res.*, 1984, 24, a continuación p 84; *J. Biol. Chem.*, 1985, 260, 14-42; *Pure Appl. Chem.*, 1984, 56, 595-624; *Amino Acids and Peptides*, 1985, 16, 387-410; y en *Biochemical Nomenclature and Related Documents*, 2ª edición, Portland Press,
- 55

1992, pp 39-67. Extensiones a las reglas fueron publicadas en JCBN/NC-IUB Newsletter 1985, 1986, 1989; véase Biochemical Nomenclature and Related Documents, 2ª edición, Portland Press, 1992, pp 68-69.

5 Está previsto que el término "cantidad eficaz" o "eficaz" designe una dosis que produce un alivio de síntomas de una enfermedad o trastorno como se indica mediante pruebas clínicas y evaluación, observación del paciente, y/o similares, y/o una dosis que produce un cambio detectable en la actividad biológica o química. Los cambios detectables pueden detectarse y/o cuantificarse adicionalmente por un experto en la materia para el mecanismo o proceso relevante. Como es generalmente entendido en la materia, la dosificación variará dependiendo de las vías de administración, síntomas y peso corporal del paciente, pero también dependiendo del compuesto que se administra.

10 La administración de dos o más compuestos "en combinación" significa que los dos compuestos se administran tan suficientemente próximos en el tiempo que la presencia de uno altera los efectos biológicos del otro. Los dos compuestos pueden administrarse simultáneamente (concurrentemente) o secuencialmente. La administración simultánea puede llevarse a cabo mezclando los compuestos antes de la administración, o administrando los compuestos en el mismo momento de tiempo, pero en diferentes sitios anatómicos o usando diferentes vías de administración. Las expresiones "administración concurrente", "administración en combinación", "administración simultánea" o "administrado simultáneamente", como se usan en el presente documento, significan que los compuestos se administran en el mismo momento de tiempo o inmediatamente uno tras otro. En el último caso, los dos compuestos se administran en momentos suficientemente próximos tal que los resultados observados sean indistinguibles de aquellos logrados cuando los compuestos se administran en el mismo momento de tiempo.

20 Además, los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento pueden administrarse en combinación con otro compuesto, tal como un agente(s) particular(es), de un modo que contemple administrar los compuestos de la presente invención antes de iniciar la terapia con el (los) agente(s) particular(es) con el fin de prevenir y/o tratar los efectos del (de los) agente(s) particular(es).

25 El término "metabolito farmacéuticamente activo" pretende significar un producto farmacológicamente activo producido mediante el metabolismo en el cuerpo de un compuesto especificado.

El término "solvato" pretende significar una forma de solvato farmacéuticamente aceptable de un compuesto especificado que retiene la eficacia biológica de tal compuesto. Ejemplos de solvatos, sin limitación, incluyen compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento en combinación con agua, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etilo, ácido acético, o etanolamina.

30 1. Compuestos

Los novedosos compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento incluyen compuestos macrocíclicos que comprenden una estructura de elemento estructural que incluye un componente conector que se somete a ciclación para formar el compuesto macrocíclico. La estructura de elemento estructural puede comprender aminoácidos (estándar y no naturales), hidroxilácidos, hidrazinoácidos, aza-aminoácidos, restos especializados tales como aquellos que desempeñan una función en la introducción de sustitutos e isómeros de péptido, y un componente conector como se describe en el presente documento.

40 La presente invención incluye compuestos aislados. Un compuesto aislado se refiere a un compuesto que, en algunas realizaciones, comprende al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 50 % o al menos el 70 % de los compuestos de una mezcla. En algunas realizaciones, el compuesto, sal farmacéuticamente aceptable del mismo o composición farmacéutica que contiene el compuesto presenta una unión y/o actividad de antagonista estadísticamente significativa cuando se prueba en ensayos biológicos en el receptor de la grelina humana.

En el caso de compuestos, sales o solvatos que son sólidos, se entiende por aquellos expertos en la materia que los compuestos inventivos, sales y solvatos pueden existir en diferentes formas cristalinas o polimórficas, todas las cuales pretenden estar dentro del alcance de la presente invención y las fórmulas especificadas.

45 Los compuestos desvelados en el presente documento pueden tener centros asimétricos. Los compuestos inventivos pueden existir como estereoisómeros individuales, racematos, y/o mezclas de enantiómeros y/o diaestereómeros. Todos aquellos estereoisómeros individuales, racematos, y mezclas de los mismos, pretenden estar dentro del alcance de la presente invención. En realizaciones particulares, sin embargo, los compuestos inventivos se usan en forma ópticamente pura. Los términos configuración "S" y "R", como se usan en el presente documento, son como se definen por la IUPAC 1974 Recommendations for Section E, Fundamentals of Stereochemistry (Pure Appl. Chem. 1976, 45, 13-30).

55 A menos que se represente de otro modo para ser una orientación específica, la presente invención representa todas las formas estereoisoméricas. Los compuestos pueden prepararse como un estereoisómero individual o una mezcla de estereoisómeros. Las formas no racémicas pueden obtenerse por tanto síntesis como resolución. Los compuestos pueden resolverse, por ejemplo, en los enantiómeros componente por técnicas convencionales, por ejemplo, formación de pares diaestereoméricos mediante la formación de sal. Los compuestos también pueden resolverse uniendo covalentemente a un resto quiral. Los diaestereómeros pueden entonces resolverse por

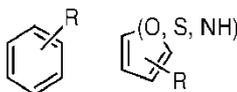
separación cromatográfica y/o separación cristalográfica. En el caso de un resto auxiliar quiral, puede entonces eliminarse. Como alternativa, los compuestos pueden resolverse mediante el uso de cromatografía quiral. También podrían usarse en ciertos casos procedimientos enzimáticos de resolución.

5 Como generalmente es entendido por aquellos expertos en la materia, un compuesto "ópticamente puro" es uno que contiene solo un enantiómero individual. Como se usa en el presente documento, el término "ópticamente activo" pretende significar un compuesto que comprende al menos un exceso suficiente de un enantiómero con respecto al otro de forma que la mezcla gire el plano de la luz polarizada. Los compuestos ópticamente activos tienen la capacidad de girar el plano de la luz polarizada. El exceso de un enantiómero con respecto al otro normalmente se expresa como exceso enantiomérico (e.e.). En la descripción de un compuesto ópticamente activo, los prefijos D y L o R y S se usan para indicar la configuración absoluta de la molécula alrededor de su(s) centro(s) quiral(es). Los prefijos "d" y "l" o (+) y (-) se usan para indicar la rotación óptica del compuesto (es decir, la dirección en la que un plano de luz polarizada es girado por el compuesto ópticamente activo). El prefijo "l" o (-) indica que el compuesto es dextrógiro (es decir, gira el plano de la luz polarizada a la izquierda o en el sentido en contra de las agujas del reloj) mientras que el prefijo "d" o (+) significa que el compuesto es levógiro (es decir, gira el plano de la luz polarizada a la derecha o en el sentido de las agujas del reloj). El signo de la rotación óptica, (-) y (+), no está relacionado con la configuración absoluta de la molécula, R y S.

Un compuesto de la invención que tiene las propiedades farmacológicas deseadas será ópticamente activo y, puede comprender al menos el 90 % (80 % de e.e.), al menos el 95 % (90 % de e.e.), al menos el 97,5 % (95 % de e.e.) o al menos el 99 % (98 % de e.e.) de un isómero individual.

20 Asimismo, muchos isómeros geométricos de dobles enlaces y similares también pueden estar presentes en los compuestos desvelados en el presente documento, y todos aquellos isómeros estables están incluidos dentro de la presente invención, a menos que se especifique de otro modo. También están incluidos en la invención tautómeros y rotámeros de los compuestos.

25 El uso de los siguiente símbolos a la derecha se refiere a la sustitución de uno o más átomos de hidrógeno del anillo indicado



con el sustituyente R definido.

El uso del siguiente símbolo indica un enlace sencillo o un doble enlace opcional: --- .

2. Procedimientos sintéticos

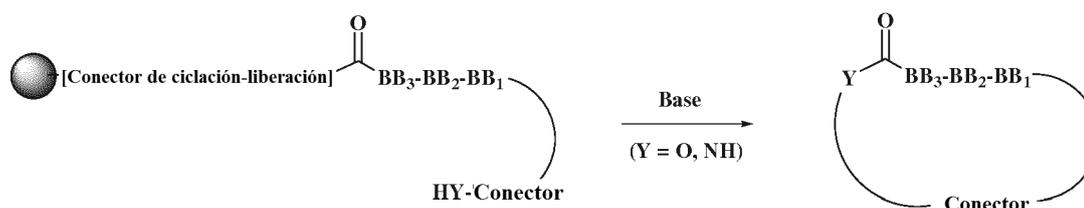
30 Los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento pueden sintetizarse usando técnicas de síntesis en solución tradicionales o procedimientos de química en fase sólida. En cualquiera, la construcción implica cuatro fases: primera, síntesis de las unidades estructurales que comprenden elementos de reconocimiento para el receptor diana biológico, más un resto conector, principalmente para el control y la definición de la conformación. Estas unidades estructurales se ensamblan juntas, normalmente de un modo secuencial, en una segunda fase empleando transformaciones químicas estándar. Los precursores del ensamblaje se ciclan entonces en la tercera fase para proporcionar las estructuras macrocíclicas. Finalmente, la cuarta etapa de procesamiento post-ciclación que implica la eliminación de grupos protectores y la purificación opcional proporciona los compuestos finales deseados. Procedimientos sintéticos para este tipo general de estructura macrocíclica se describen en las solicitudes de patente internacional WO 01/25257, WO 2004/111077, WO 2005/012331 y WO 2005/012332, que incluyen procedimientos de purificación descritos en los documento WO 2004/111077 y WO 2005/012331. Véanse también las solicitudes de patente de EE.UU. N.º de serie 11/149.512 y 11/149.731.

45 En algunas realizaciones de la presente invención, los compuestos macrocíclicos pueden sintetizarse usando química en fase sólida sobre un matriz de polímero soluble o insoluble como se ha definido previamente. Para la química en fase sólida, debe realizarse una etapa preliminar que implica la unión de la primera unidad estructural, también llamada "carga", a la resina. La resina utilizada para la presente invención preferencialmente se ha unido a un resto conector, L. Estos conectores están unidos a una funcionalidad química libre apropiada, normalmente un alcohol o amina, aunque también son posibles otros, sobre la resina base mediante procedimientos de reacción estándar conocidos en la técnica, tales como cualquiera del gran número de condiciones de reacción desarrolladas para la formación de enlaces éster o amida. Algunos restos conectores para la presente invención se diseñan para permitir la escisión simultánea de la resina con formación del macrociclo en un proceso generalmente llamado "ciclación-liberación" (van Maarseveen, J.H. Solid phase synthesis of heterocycles by cyclization/cleavage methodologies. Comb. Chem. High Throughput Screen. 1998, 1, 185-214; Ian W. James, Linkers for solid phase organic synthesis. Tetrahedron 1999, 55, 4855-4946; Eggenweiler, H.-M. Linkers for solid-phase synthesis of small molecules: coupling and cleavage techniques. Drug Discovery Today 1998, 3, 552-560; Backes, B.J.; Ellman, J.A. Solid support linker strategies. Curr. Opin. Chem. Biol. 1997, 1, 86-93. Of particular utility in this regard for

macrocyclic compounds described herein is the 3-thiopropionic acid linker. (Hojo, H.; Aimoto, S. Bull. Chem. Soc. Jpn. 1991, 64, 111-117; Zhang, L.; Tam, J. J. Am. Chem. Soc. 1999, 121, 3311-3320).

Un proceso tal proporciona material de pureza más alta ya que solo los productos cíclicos son liberados del soporte sólido y no se produce contaminación con el precursor lineal como se produciría en fase de solución. Después del ensamblaje secuencial de todas las unidades estructurales y el conector en el precursor lineal usando química de reacción conocida o estándar, el ataque intramolecular mediado por base sobre el carbonilo unido a este conector por una funcionalidad de nucleófilo apropiada que es parte de la unidad estructural conectora produce la formación del enlace amida o éster que completa la estructura cíclica como se muestra (Esquema 1). Una metodología análoga adaptada a la fase de solución también puede aplicarse como sería probablemente preferible para aplicaciones a mayor escala.

Esquema 1. Estrategia de ciclación-liberación



Aunque esta descripción representa con exactitud la vía para uno de los procedimientos de la presente invención, la estrategia de tioéster, otro procedimiento de la presente invención, aquél de la metátesis de cierre de anillos (RCM), avanza mediante una vía modificada donde el componente conector se ensambla en realidad durante la etapa de ciclación. Sin embargo, en la metodología de RCM también, el ensamblaje de las unidades estructurales avanza secuencialmente, seguido de ciclación (y liberación de la resina si es fase sólida). Se requiere una etapa de procesamiento post-ciclación adicional para eliminar subproductos particulares de la reacción de RCM, pero el procesamiento posterior restante se hace del mismo modo que para la estrategia de tioéster o de ciclación mediada por base análoga.

Además, se entenderá que las etapas que incluyen los procedimientos proporcionados en el presente documento pueden realizarse independientemente o pueden combinarse al menos dos etapas. Adicionalmente, las etapas que incluyen los procedimientos proporcionados en el presente documento, cuando se realizan independientemente o combinadas, pueden realizarse a la misma temperatura o a diferentes temperaturas sin apartarse de las enseñanzas de la presente invención.

Los novedosos compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento incluyen aquellos formados por un proceso novedoso que incluye ciclación de una estructura de unidad estructural para formar un compuesto macrocíclico que comprende un componente de conexión descrito en el presente documento. Por consiguiente, en el presente documento se describen procedimientos de fabricación de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento que comprenden (a) ensamblar las estructuras de unidades estructurales, (b) transformar químicamente las estructuras de unidades estructurales, (c) ciclar las estructuras de unidades estructurales que incluyen un componente de conexión, (d) eliminar los grupos protectores de las estructuras de unidades estructurales, y (e) opcionalmente purificar el producto obtenido de la etapa (d). En algunas realizaciones, el ensamblaje de las estructuras de unidades estructurales puede ser secuencial. En realizaciones adicionales, los procedimientos de síntesis se llevan a cabo usando técnicas de síntesis en solución tradicionales o técnicas de química en fase sólida.

A. Aminoácidos

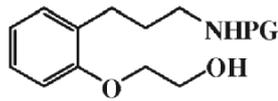
Se obtuvieron aminoácidos, aminoácidos protegidos con Boc y Fmoc y derivados protegidos en la cadena lateral, que incluyen aquellos de N-metilaminoácidos y aminoácidos no naturales, de proveedores comerciales [por ejemplo, Advanced ChemTech (Louisville, KY, EE.UU.), Astatech (Bristol, PA, EE.UU.), Bachem (Bubendorf, Suiza), ChemImpex (Wood Dale, IL, EE.UU.), Novabiochem (subsidiaria de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania), PepTech (Burlington, MA, EE.UU.), Synthetech (Albany, OR, EE.UU.)] o se sintetizaron mediante metodologías estándar conocidas para los expertos en la materia. Los aminoácidos Ddz tanto se obtuvieron comercialmente de Orpegen (Heidelberg, Alemania) o Advanced ChemTech (Louisville, KY, EE.UU.) como se sintetizaron usando procedimientos convencionales utilizando Ddz-OPh o Ddz-N₃ (Birr, C.; Lochinger, W.; Stahnke, G.; Lang, P. Justus Liebigs Ann. Chem. 1972, 763, 162-172). Los aminoácidos Bts se sintetizaron por procedimientos conocidos (Vedejs, E.; Lin, S.; Klapara, A.; Wang, J. J. Am. Chem. Soc. 1996, 118, 9796-9797. También los documentos WO 01/25257, WO 2004/111077). Los N-alquilaminoácidos, en particular N-metil aminoácidos, están comercialmente disponibles de múltiples vendedores (Bachem, Novabiochem, Advanced ChemTech, ChemImpex). Además, se accedió a los derivados de N-alquilaminoácidos mediante procedimientos de la bibliografía (Hansen, D. W., Jr.; Pilipauskas, D. J. Org. Chem. 1985, 50, 945-950).

B. Conectores

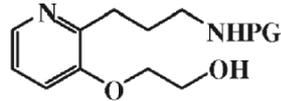
Se obtuvieron conectores de los procedimientos previamente descritos en las solicitudes de patente internacional WO 01/25257, WO 2004/111077, WO 2005/012331 y PCT/US2007/017905. Véanse también las solicitudes de patente de EE.UU. N.º de serie 11/149.512 y 11/149.731. La preparación de conectores adicionales se proporciona en los ejemplos.

5

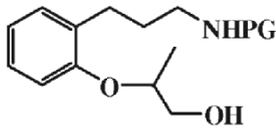
Lo siguiente son productos intermedios conectores utilizados en la síntesis de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento:



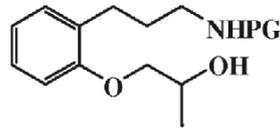
T9



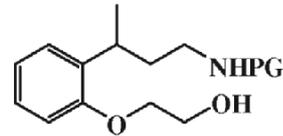
T11



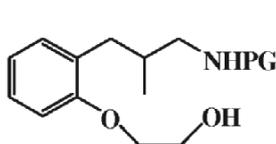
T33a [(R)-isómero]
T33b [(S)-isómero]



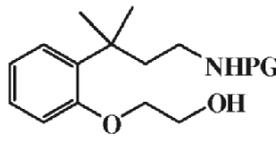
T38a [(R)-isómero]
T38b [(S)-isómero]



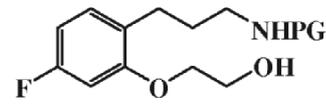
T39a [(R)-isómero]
T39b [(S)-isómero]



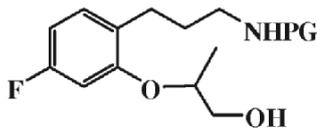
T40a [(R)-isómero]
T40b [(S)-isómero]



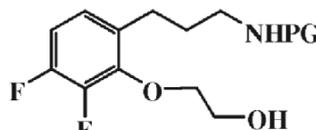
T58



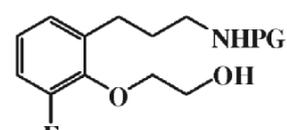
T69



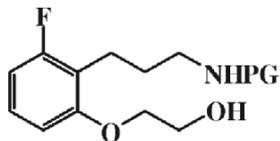
T75a [(R)-isómero]
T75b [(S)-isómero]



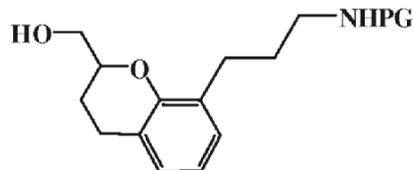
T85



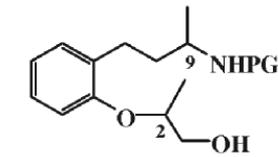
T86



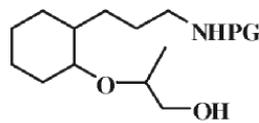
T87



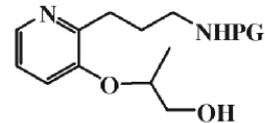
T100a [(R)-isómero]
T100b [(S)-isómero]



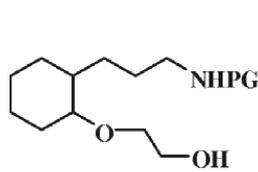
T101a [(2R,9R)-isómero]
T101b [(2S,9S)-isómero]
T101c [(2R,9S)-isómero]
T101d [(2S,9R)-isómero]



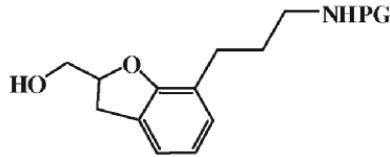
T102a [(R)-isómero]
T102b [(S)-isómero]



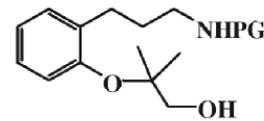
T103a [(R)-isómero]
T103b [(S)-isómero]



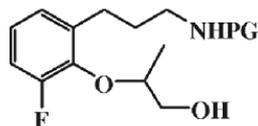
T104



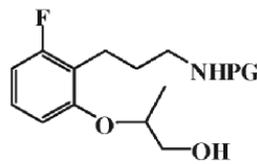
T105a [(R)-isómero]
T105b [(S)-isómero]



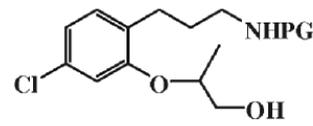
T108



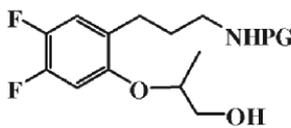
T109a [(R)-isómero]
T109b [(S)-isómero]



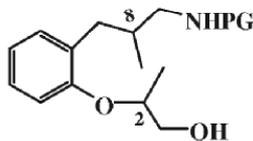
T110a [(R)-isómero]
T110b [(S)-isómero]



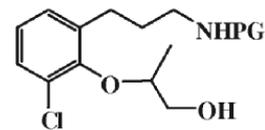
T111a [(R)-isómero]
T111b [(S)-isómero]



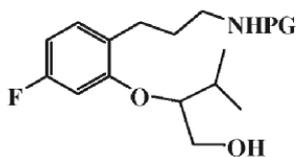
T112a [(R)-isómero]
T112b [(S)-isómero]



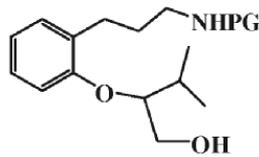
T114a [(2R,8R)-isómero]
T114b [(2S,8S)-isómero]
T114c [(2R,8S)-isómero]
T114d [(2S,8R)-isómero]



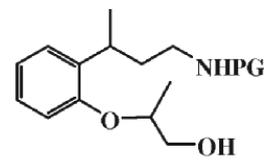
T115a [(R)-isómero]
T115b [(S)-isómero]



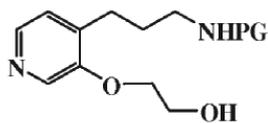
T116a [(R)-isómero]
T116b [(S)-isómero]



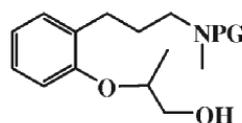
T117a [(R)-isómero]
T117b [(S)-isómero]



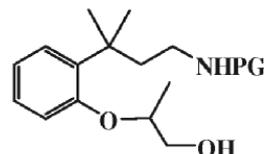
T118a [(2R,7R)-isómero]
T118b [(2S,7S)-isómero]
T118c [(2R,7S)-isómero]
T118d [(2S,7R)-isómero]



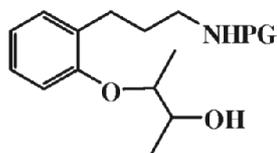
T119



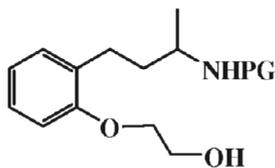
T122a [(R)-isómero]
T122b [(S)-isómero]



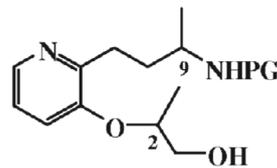
T123a [(R)-isómero]
T123b [(S)-isómero]



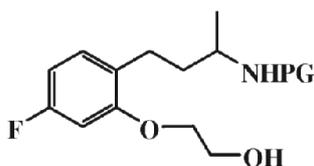
T124a [(1R,2R)-isómero]
 T124b [(1S,2S)-isómero]
 T124c [(1R,2S)-isómero]
 T124d [(1S,2R)-isómero]



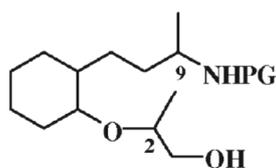
T125a [(R)-isómero]
 T125b [(S)-isómero]



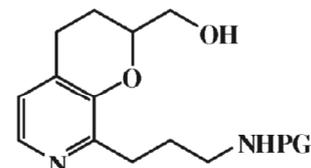
T126a [(2R,9R)-isómero]
 T126b [(2S,9S)-isómero]
 T126c [(2R,9S)-isómero]
 T126d [(2S,9R)-isómero]



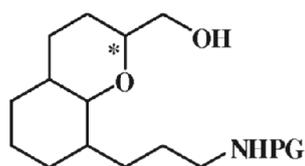
T129a [(R)-isómero]
 T129b [(S)-isómero]



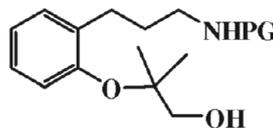
T130a [(2R,9R)-isómero]
 T130b [(2S,9S)-isómero]
 T130c [(2R,9S)-isómero]
 T130d [(2S,9R)-isómero]



T131a [(R)-isómero]
 T131b [(S)-isómero]



T132a [(R*)-isómero]
 T132b [(S*)-isómero]



T133

C. Técnicas en fase sólida y de solución

5 Técnicas en fase sólida específicas para la síntesis de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento se han descrito en los documentos WO 01/25257, WO 2004/111077, WO 2005/012331 y WO 2005/012332. Las vías de síntesis en fase de solución, que incluyen procedimientos susceptibles a fabricación a gran escala, se describieron en las publicaciones de solicitud de patente de EE.UU. 2006/025566 y US 2007/0021331.

10 En ciertos casos, sin embargo, la labilidad de los grupos protectores excluyó el uso del medio básico estándar para la ciclación en la estrategia de tioéster tratada anteriormente. En estos casos, cualquiera de los dos procedimientos ácidos se empleó para proporcionar la macrociclación en condiciones ácidas. Un procedimiento utilizó HOAc, mientras que el otro procedimiento empleó HOAt (Esquema 2).

15 Después de ejecutar la desprotección del grupo Ddz o Boc en el conector, la resina se lavó secuencialmente con DCM (2x), DCM-MeOH (1:1, 2x), DCM (2x) y DIPEA-DCM (3:7, 1x). La resina se secó a vacío durante 10 min, luego se añadió inmediatamente a una solución de HOAc en DMF desgasificada (5 % v/v). La mezcla de reacción se agitó a 50-70 °C durante la noche. La resina se filtró, se lavó con THF, y the filtrado combinado y los lavados se evaporaron a presión reducida (aspirador de agua, luego bomba de aceite) para proporcionar el macrociclo.

Esquema 2: Metodologías de ciclación alternativas

(continuación)

Compuesto	AA ₁	AA ₂	AA ₃	Conector
854	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T75a
855	Bts-Ile	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T33a
856	Bts-Ile	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T75a
857	Bts-Val	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T33a
858	Bts-Nva	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe	Boc-T33a
859	Bts-Nva	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe	Boc-T33b
860	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-Me)	Boc-T9
862	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-Cl)	Boc-T33a
863	Bts-Nva	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-Cl)	Boc-T33a
864	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-Cl)	Boc-T69
865	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe	Boc-T69
866	Bts-Nva	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Tyr(OMe)	Boc-T33a
867	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Tyr(OMe)	Boc-T33a
869	Bts-Val	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T9
870	Bts-Val	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe	Boc-T33b
871	Bts-Val	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe	Boc-T33a
872	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(2-Cl)	Boc-T9
873	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(3-Cl)	Boc-T9
874	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe	Boc-T100
876	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe	Boc-T75a
877	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-Cl)	Boc-T75a
878	Bts-Ile	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-Cl)	Boc-T33a
923	Bts-Ile	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe	T133 mediante RCM
934	Bts-Ile	Ddz-(D)NMeSer(But)	Boc-(D)Phe	Boc-T9
935	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T109a
936	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-Cl)	Boc-T109a
937	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T110a
938	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-Cl)	Boc-T110a
939	Bts-Ile	Ddz-(D)NMeSer(But)	Boc-(D)Phe	Boc-T33a
944	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T110a
945	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-Cl)	Boc-T110a
946	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T100
947	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-Cl)	Boc-T100

(continuación)

Compuesto	AA ₁	AA ₂	AA ₃	Conector
950	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T112a
951	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-Cl)	Boc-T112a
954	Bts-Ile	Boc-(D)NMe(β -F)Ala	Boc-(D)Phe	Boc-T9
965	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe	Boc-T116a
966	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-Cl)	Boc-T116a
968	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T33a
969	Bts-Ile	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T33a
972	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)2Pal	Boc-T33a
973	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)3Pal	Boc-T109a
974	Bts-Ile	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)3Pal	Boc-T109a
975	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)3Pal	Boc-T33a
976	Bts-Ile	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)3Pal	Boc-T33a
977	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)4Pal	Boc-T33a
978	Bts-Ile	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)4Pal	Boc-T33a
979	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T109a
981	Bts-Ile	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T109a
982	Bts-Chg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T33a
986	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T11
987	Bts-Ile	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T11
988	Bts-Cpg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T11
989	Bts-Cpg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T33a
991	Bts-Cpg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T109a
992	Bts-Ile	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T11
993	Bts-Ile	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T33a
994	Bts-Ile	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T109a
995	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)2-Thi	Boc-T11
996	Bts-Ile	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)2-Thi	Boc-T11
997	Bts-Thr(OMe)	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T11
998	Bts-Thr(OMe)	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T33a
999	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T103a
1000	Bts-Ile	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T103a
1003	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T108
1005	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T114a

(continuación)

Compuesto	AA ₁	AA ₂	AA ₃	Conector
1006	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T115a
1007	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T115a
1008	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Cpa	Boc-T33a
1009	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T100a
1010	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T101a
1011	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T101c
1014	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Tle	Boc-T33a
1015	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T100b
1016	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T100b
1017	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T118a/c
1018	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)(β -RMe)Phe(4-F)	Boc-T33a
1019	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T105
1020	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T105
1021	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T119
1022	Bts-Ile	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T119
1023	Bts-Cpg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T103a
1024	Bts-Cpg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T100b
1025	Bts-Cpg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T105
1026	Bts-Ile	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T103a
1027	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T103a
1028	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe	Boc-T103a
1029	Bts-Ile	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T103a
1030	Bts-Ile	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe	Boc-T103a
1031	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe	Boc-T119
1032	Bts-Thr(OMe)	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T103a
1033	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T114c
1034	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(β -SMe)(D)Phe(4F)	Boc-T33a
1035	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(β -diMe)(D)Phe(4F)	Boc-T33a
1036	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Asp	Boc-T33a
1038	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-CF ₃)	Boc-T33a
1039	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(2,4diCl)	Boc-T33a
1040	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(3,4diF)	Boc-T33a
1041	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(3,4,5-triF)	Boc-T33a

(continuación)

Compuesto	AA ₁	AA ₂	AA ₃	Conector
1042	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(pentaF)	Boc-T33a
1043	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)(tBuAla)	Boc-T33a
1044	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Tle	Boc-T109a
1045	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Cha	Boc-T33a
1046	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Chg	Boc-T33a
1047	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(DL)(ciclopentil)Ala	Boc-T33a
1048	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Cpg	Boc-T33a
1049	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(DL)Tyr(3-F)	Boc-T33a
1050	Bts-Cpg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Thr(But)	Ddz-T33a
1052	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4-F)	Boc-T102
1053	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Tyr(3,5diBr)	Boc-T33a
1058	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(2R,3R)(b-OH)Leu	Boc-T33a
1061	Bts-Chg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T103a
1062	Bts-Chg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Tyr	Boc-T103a
1065	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(DL)Tyr(3-F, OAc)	Boc-T33a
1066	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Tyr(3,5diBr, OAc)	Boc-T33a
1068	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(β -SMe)(D)Tyr	Boc-T33a
1069	Bts-Cpg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T122a
1071	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4F)	Boc-T123a
1072	Bts-Cpg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T124d
1074	Bts-Cpg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T131a
1075	Bts-Cpg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T131a
1076	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(β -SMe)(D)Tyr	Boc-T131a
1078	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(DL)Tyr(3F)	Boc-T11
1079	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)mTyr	Boc-T103a
1080	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(β -SMe)(D)Tyr	Boc-T11
1081	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(β -RMe)(D)Tyr	Boc-T103a
1082	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(β -SMe)(D)Tyr	Boc-T103a
1083	Bts-Cpg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T125b
1084	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T125b
1085	Bts-Cpg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T125a
1086	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T125a
1087	Bts-Cpg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T126c

(continuación)

Compuesto	AA ₁	AA ₂	AA ₃	Conector
1088	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T126c
1089	Bts-Cpg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T126a
1090	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Asp(OMe)	Boc-T33a
1098	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(β -SMe)(D)Tyr	Boc-T126c
1099	Bts-Chg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T33a
1100	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4F)	Boc-T85
1101	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(DL) α Tyr	Boc-T33a
1103	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phg(40H)	Boc-T33a
1104	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Tyr(3F)	Boc-T33a
1105	Bts-Chg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T100a
1106	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T104
1107	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T130c
1108	Bts-Chg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T33a
1109	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Phe(4F)	Boc-T87
1110	Bts-Cpg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T87
1111	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T87
1112	Bts-Chg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T69
1113	Bts-Chg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T69
1114	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(DL)CiclopentilAla	Boc-T102
1115	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(DL) α Tyr	Boc-T102
1116	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(D)Leu	Boc-T132a
1118	Bts-Cpg	Ddz-(D)NMeAla	Ddz-(D)Tyr(But)	Ddz-T104
1119	Bts-Cpg	Boc-(D)NMeAla	Boc-(β -SMe)(D)Tyr	Boc-T101c

La siguiente tabla presenta datos analíticos para los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento.

Datos analíticos para los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento

Compuesto N.º	Fórmula molecular	MW calc (g/moles)	EM [(M+H)+] hallado
801	C ₃₁ H ₄₈ N ₄ O ₄	540,7	541
802	C ₂₈ H ₄₂ N ₄ O ₄	498,7	499
803	C ₃₁ H ₄₀ N ₄ O ₅	548,7	549
807	C ₂₈ H ₄₄ N ₄ O ₄	500,7	501
808	C ₃₁ H ₄₂ N ₄ O ₅	550,7	551
809	C ₂₉ H ₃₇ N ₄ O ₅ F	540,6	541

(continuación)

Compuesto N.º	Fórmula molecular	MW calc (g/moles)	EM [(M+H)+] hallado
810	C ₂₆ H ₃₉ N ₄ O ₄ F	490,6	491
813	C ₂₆ H ₃₉ N ₄ O ₄ F	490,6	491
816	C ₂₆ H ₃₈ N ₄ O ₄ F ₂	508,6	509
818	C ₂₉ H ₃₆ N ₄ O ₅ F ₂	558,6	559
819	C ₂₈ H ₄₄ N ₄ O ₄	500,7	501
820	C ₃₁ H ₄₂ N ₄ O ₅	550,7	551
822	C ₂₇ H ₄₁ N ₄ O ₄ F	504,6	505
825	C ₂₇ H ₄₈ N ₄ O ₄	492,7	493
826	C ₃₀ H ₄₆ N ₄ O ₅	542,7	543
828	C ₃₀ H ₅₄ N ₄ O ₄	534,8	535
829	C ₃₃ H ₅₂ N ₄ O ₅	584,8	585
831	C ₃₀ H ₅₂ N ₄ O ₄	532,8	533
832	C ₃₀ H ₄₅ N ₄ O ₅ F	560,7	561
833	C ₂₈ H ₅₀ N ₄ O ₄	506,7	507
851	C ₃₀ H ₄₀ N ₄ O ₄	520,7	521
853	C ₃₀ H ₄₁ N ₄ O ₄ F	540,7	541
854	C ₃₀ H ₃₈ N ₄ O ₄ F ₂	556,6	557
855	C ₃₁ H ₄₃ N ₄ O ₄ F	554,7	555
856	C ₃₁ H ₄₂ N ₄ O ₄ F ₂	572,7	573
857	C ₃₀ H ₄₁ N ₄ O ₄ F	540,7	541
858	C ₃₀ H ₄₂ N ₄ O ₄	522,7	523
859	C ₃₀ H ₄₂ N ₄ O ₄	522,7	523
860	C ₃₀ H ₄₀ N ₄ O ₄	520,7	521
862	C ₃₀ H ₃₉ N ₄ O ₄ Cl	555,1	555
863	C ₃₀ H ₄₁ N ₄ O ₄ Cl	557,1	557
864	C ₂₉ H ₃₆ N ₄ O ₄ FCl	559,1	559
865	C ₂₉ H ₃₇ N ₄ O ₄ F	524,6	525
866	C ₃₁ H ₄₄ N ₄ O ₅	552,7	553
867	C ₃₁ H ₄₂ N ₄ O ₅	550,7	551
869	C ₂₉ H ₃₉ N ₄ O ₄ Cl	543,1	543
870	C ₃₀ H ₄₂ N ₄ O ₄	522,7	523
871	C ₃₀ H ₄₂ N ₄ O ₄	522,7	523
872	C ₂₉ H ₃₇ N ₄ O ₄ Cl	541,1	541

(continuación)

Compuesto N.º	Fórmula molecular	MW calc (g/moles)	EM [(M+H)+] hallado
873	C ₂₉ H ₃₇ N ₄ O ₄ Cl	541,1	541
874	C ₃₁ H ₄₀ N ₄ O ₄	532,7	533
876	C ₃₀ H ₃₉ N ₄ O ₄ F	538,7	539
877	C ₃₀ H ₃₈ N ₄ O ₄ FCI	573,1	573
878	C ₃₁ H ₄₃ N ₄ O ₄ Cl	571,2	571
923	C ₃₂ H ₄₆ N ₄ O ₄	550,7	551
934	C ₃₀ H ₄₂ N ₄ O ₅	538,7	539
935	C ₃₀ H ₃₈ N ₄ O ₄ F ₂	556,6	557
936	C ₃₀ H ₃₈ N ₄ O ₄ FCI	573,1	573
937	C ₃₀ H ₃₈ N ₄ O ₄ F ₂	556,6	557
938	C ₃₀ H ₃₈ N ₄ O ₄ FCI	573,1	573
939	C ₃₁ H ₄₄ N ₄ O ₅	552,7	553
944	C ₃₀ H ₃₈ N ₄ O ₄ FCI	573,1	573
945	C ₃₀ H ₃₈ N ₄ O ₄ Cl ₂	589,6	589
946	C ₃₁ H ₃₉ N ₄ O ₄ F	550,7	551
947	C ₃₁ H ₃₉ N ₄ O ₄ Cl	567,1	567
950	C ₃₀ H ₃₇ N ₄ O ₄ F ₃	574,6	575
951	C ₃₀ H ₃₇ N ₄ O ₄ F ₂ Cl	591,1	591
954	C ₃₀ H ₄₁ N ₄ O ₄ F	540,7	541
965	C ₃₂ H ₄₃ N ₄ O ₄ F	566,7	567
966	C ₃₂ H ₄₂ N ₄ O ₄ FCI	601,2	601
968	C ₂₇ H ₄₂ N ₄ O ₄	486,6	487
969	C ₂₈ H ₄₆ N ₄ O ₄	502,7	503
972	C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₄	521,7	522
973	C ₂₉ H ₃₈ N ₅ O ₄ F	539,6	540
974	C ₃₀ H ₄₂ N ₅ O ₄ F	555,7	556
975	C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₄	521,7	522
976	C ₃₀ H ₄₃ N ₅ O ₄	537,7	538
977	C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₄	521,7	522
978	C ₃₀ H ₄₃ N ₅ O ₄	537,7	538
979	C ₂₇ H ₄₁ N ₄ O ₄ F	504,6	505
981	C ₂₈ H ₄₅ N ₄ O ₄ F	520,7	521
982	C ₃₃ H ₄₅ N ₄ O ₄ F	580,7	581

(continuación)

Compuesto N.º	Fórmula molecular	MW calc (g/moles)	EM [(M+H)+] hallado
986	C25H39N5O4	473,6	474
987	C26H43N5O4	489,7	490
988	C28H37N5O5	523,6	524
989	C30H40N4O5	536,7	537
991	C30H39N4O5F	554,7	555
992	C29H41N5O5	539,7	540
993	C31H44N4O5	552,7	553
994	C31H43N4O5F	570,7	571
995	C26H35N5O4S	513,7	514
996	C27H39N5O4S	529,7	530
997	C30H41N4O5F	556,7	557
998	C28H38N5O	543,6	544
999	C26H41N5O4	487,6	488
1000	C27H45N5O4	503,7	504
1003	C31H41N4O4F	552,7	553
1005	C31H41N4O4F	552,7	553
1006	C27H41N4O4Cl	521,1	521
1007	C30H38N4O4FCl	573,1	573
1008	C27H39N4O4F	502,6	503
1009	C31H39N4O4F	550,7	551
1010	C31H41N4O4F	552,7	553
1011	C31H41N4O4F	552,7	553
1014	C27H42N4O4	486,6	487
1015	C28H42N4O4	498,7	499
1016	C31H39N4O4F	550,7	551
1017	C31H41N4O4F	552,7	553
1018	C31H41N4O4F	552,7	553
1019	C27H40N4O4	484,6	485
1020	C30H37N4O4F	536,6	537
1021	C25H39N5O4	473,6	474
1022	C26H43N5O4	489,7	490
1023	C29H39N5O5	537,7	538
1024	C31H40N4O5	548,7	549

(continuación)

Compuesto N.º	Fórmula molecular	MW calc (g/moles)	EM [(M+H)+] hallado
1025	C30H38N4O5	534,6	535
1026	C30H43N5O5	553,7	554
1027	C29H38N5O4F	539,6	540
1028	C29H39N5O4	521,7	522
1029	C30H42N5O4F	555,7	556
1030	C30H43N5O4	537,7	538
1031	C28H37N5O4	507,6	508
1032	C29H40N5O5F	557,7	558
1033	C31H41N4O4F	552,7	553
1034	C31H41N4O4F	552,7	553
1035	C32H43N4O4F	566,7	567
1036	C25H36N4O6	488,6	489
1038	C31H39N4O4F3	588,7	589
1039	C30H38N4O4Cl2	589,6	589
1040	C30H38N4O4F2	556,6	557
1041	C30H37N4O4F3	574,6	575
1042	C30H35N4O4F5	610,6	611
1043	C28H44N4O4	500,7	501
1044	C27H41N4O4F	504,6	505
1045	C30H46N4O4	526,7	527
1046	C29H44N4O4	512,7	513
1047	C29H44N4O4	512,7	513
1048	C26H38N4O4	470,6	471
1049	C30H39N4O5F	554,7	555
1050	C25H38N4O5	474,6	475
1052	C30H45N4O4F	544,7	545
1053	C30H38N4O5Br2	694,5	695*
1058	C27H42N4O5	502,6	503
1061	C29H47N5O4	529,7	530
1062	C32H45N5O5	579,7	580
1065	C32H41N4O6F	596,7	597
1066	C32H40N4O6Br2	736,5	737*
1068	C31H42N4O5	550,7	551

(continuación)

Compuesto N.º	Fórmula molecular	MW calc (g/moles)	EM [(M+H)+] hallado
1069	C31H42N4O5	550,7	551
1071	C32H43N4O4F	566,7	567
1072	C31H42N4O5	550,7	551
1074	C30H39N5O5	549,7	550
1075	C27H41N5O4	499,6	500
1076	C31H41N5O5	563,7	564
1078	C28H36N5O5F	541,6	542
1079	C29H39N5O5	537,7	538
1080	C29H39N5O5	537,7	538
1081	C30H41N5O5	551,7	552
1082	C30H41N5O5	551,7	552
1083	C30H40N4O5	536,7	537
1084	C27H42N4O4	486,6	487
1085	C30H40N4O5	536,7	537
1086	C27H42N4O4	486,6	487
1087	C30H41N5O5	551,7	552
1088	C27H43N5O4	501,7	502
1089	C30H41N5O5	551,7	552
1090	C26H38N4O6	502,6	503
1098	C31H43N5O5	565,7	566
1099	C30H48N4O4	528,7	529
1100	C29H35N4O4F3	560,6	561
1101	C30H40N4O5	536,7	537
1103	C29H38N4O5	522,6	523
1104	C30H39N4O5F	554,7	555
1105	C34H46N4O5	590,8	591
1106	C26H46N4O4	478,7	479
1107	C28H50N4O4	506,7	507
1108	C33H46N4O5	578,7	579
1109	C29H36N4O4F2	542,6	543
1110	C29H37N4O5F	540,6	541
1111	C26H39N4O4F	490,6	491
1112	C29H45N4O4F	532,7	533

(continuación)

Compuesto N.º	Fórmula molecular	MW calc (g/moles)	EM [(M+H)+] hallado
1113	C32H43N4O5F	582,7	583
1114	C29H50N4O4	518,7	519
1115	C30H46N4O5	542,7	543
1116	C28H48N4O4	504,7	505
1117	C30H39N6O4F	566,7	567
1118	C29H44N4O5	528,7	529
1119	C32H44N4O5	564,7	565
Notas * [(M+2+H)+] 1. Las fórmulas moleculares y pesos moleculares se calculan automáticamente a partir de la estructura mediante el software ActivityBase (ID Business Solutions, Ltd., Guildford, Surrey, RU). 2. M+H obtenido a partir del análisis de CL-EM usando procedimientos convencionales. 3. Todos los análisis se realizaron en el material después de la purificación preparativa.			

3. Procedimientos biológicos

Los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento se evaluaron para su capacidad para interactuar en el receptor de la grelina humana. Puede emplearse un ensayo de unión a radioligando competitiva, ensayo de fluorescencia o ensayo funcional de aequorina. Tales procedimientos pueden realizarse en un modo de alta resolución para permitir la evaluación simultánea de muchos compuestos.

Se conocen procedimientos de ensayo específicos para los receptores de GHS humano (GHS-R1a), de cerdo y de rata (patente de EE.UU. N.º 6.242.199, solicitudes de patente internacional N.º WO 97/21730 y 97/22004), además del receptor de GHS canino (patente de EE.UU. N.º 6.645.726), y su uso en generalmente identificar agonistas y antagonistas de los mismos.

Procedimientos apropiados para determinar la actividad funcional e *in vivo* de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento que interactúan en el receptor de la grelina humana también se describen más adelante. Además, pueden usarse procedimientos establecidos en la materia para determinar otros parámetros importantes para su uso como agentes farmacéuticos, tales como farmacocinética, permeabilidad de Caco-2, unión a proteínas del plasma.

A. Ensayo de unión a radioligando competitivo (receptor de la grelina)

Puede llevarse a cabo un ensayo de unión competitiva en el receptor del secretagogo de la hormona de crecimiento humana (hGHS-R1a) análogamente a los ensayos descritos en la bibliografía (Bednarek, M.A.; et al. J. Med. Chem. 2000, 43, 4370-4376; Palucki, B.L.; et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2002, 11, 1955-1957). Véanse también las solicitudes de patente de EE.UU. N.º de serie 11/149.512 y 11/149.731. La actividad de unión en el receptor de la grelina para compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento se muestra en los ejemplos más adelante.

B. Ensayo funcional de aequorina (receptor de la grelina)

La actividad funcional de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento que se encontró que se unían al receptor de GHS-R1a puede determinarse usando los procedimientos descritos en la bibliografía, que también pueden usarse como cribado primario para la actividad del receptor de la grelina en un modo de alto rendimiento. Véanse también las solicitudes de patente de EE.UU. N.º de serie 11/149.512 y 11/149.731 (LePoul, E.; et al. J. Biomol. Screen. 2002, 7, 57-65; Bednarek, M.A.; et al. J. Med. Chem. 2000, 43, 4370-4376; Palucki, B.L.; et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2001, 11, 1955-1957). La actividad funcional en el receptor de la grelina para compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento se presenta en los ejemplos.

C. Ensayo funcional de IP1 (receptor de la grelina)

La potencia funcional *in vitro* de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento como activadores de la vía de señalización mediada por el receptor de la grelina también puede determinarse usando células HEK-293 que expresan establemente GHS-R1a humano.

Procedimientos

Se usó una línea celular HEK-293 que expresa establemente el receptor de la grelina humana para probar los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento. La activación del receptor se monitorizó mediante la formación de mio-inositol-1-fosfato (IP1), un metabolito de la vía de Gq-proteína/fosfolipasa C vía, tras 30 min de incubación de las células a 37 °C con múltiples concentraciones, normalmente 7-8, en el intervalo de 0,001-1000 nM. La incubación se detuvo mediante la adición de tampón de lisis. Se dejó que los lisados se incubaran a temperatura ambiente durante 1 h con IP1-d2 y anti-IP1-criptato antes de la lectura de la fluorescencia. Cada punto de datos representa la media \pm DE de cuatro experimentos independientes. Se cuantificó mio-inositol-1-fosfato (IP1) por medio del ensayo IP-One HTRF® (CisBio, Bedford, MA, EE.UU.). Esta prueba constituyó un inmunoensayo competitivo basado en el uso de MAb anti-IP1 marcado con criptato e IP1 marcado con d2 como reactivos indicadores. En ausencia de IP1 endógeno, interaccionan el criptato-Mab e IP-d2 y producen una señal de FRET cuantificable (transferencia de energía de fluorescencia).

Resultados

Los resultados de este ensayo para dos compuestos se muestran en la Figura 1.

15 D. Análisis farmacocinético de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento

El comportamiento farmacocinético de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento puede determinarse por procedimientos muy conocidos para aquellos expertos en la materia (Wilkinson, G. R. "Pharmacokinetics: The Dynamics of Drug Absorption, Distribution, and Elimination" en Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Décima Edición, Hardman, J.G.; Limbird, L.E., Eds., McGraw Hill, Columbus, OH, 2001, Capítulo 1). Se usó el siguiente procedimiento para investigar los parámetros farmacocinéticos (semivida de eliminación, eliminación en plasma total, etc.) para administración intravenosa, subcutánea y por vía oral de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento. Véanse también las solicitudes de patente de EE.UU. N.º de serie 11/149.512 y 11/149.731 y la solicitud de patente internacional N.º PCT/US2007/017905. Los datos de la biodisponibilidad oral para los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento se presentan en los ejemplos más adelante.

E. Vaciamiento gástrico en el modelo de rata en ayunas

Para examinar los efectos de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento en un modelo para gastroparesia, los compuestos se evaluaron para posibles efectos sobre el vaciamiento gástrico en ratas en ayunas. Este modelo se usa para determinar el potencial de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento para promover la motilidad en ratas en ayunas.

Procedimientos

1. A ratas que ayunaron durante la noche (macho, Wistar, 200 g, n = 5/grupo) se les dio comida (2 ml) de metilcelulosa (2 %) por sonda intragástrica. La comida se marcó con rojo de fenol (0,05 %).
2. Los artículos de prueba (dosificados a diversas concentraciones, normalmente 1, 3, 10, 30 mg/kg), el vehículo y el control positivo (metoclopramida, un ligando de 5-HT y agente procinético actualmente recetado para el tratamiento de trastornos GI, que incluyen la gastroparesia) se administraron por sonda nasogástrica oral inmediatamente después de la comida (tiempo = 0).
3. Los animales se sacrificaron 15 minutos después; el estómago se extrajo inmediatamente y se homogeneizó en NaOH 0,1 N y se centrifugó.
4. El rojo de fenol total restante en el estómago se cuantificó por un procedimiento colorimétrico a 560 nm.
5. Un 30 % o más de aumento en el vaciamiento gástrico (en comparación con el control de vehículo) se consideró significativo.
6. Se aplicó ANOVA unilateral, prueba estadística a posteriori de Dunnet

Resultados

Los efectos de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento sobre el vaciamiento gástrico usando este modelo de rata se presentan en los ejemplos más adelante.

F. Vaciamiento gástrico y tránsito intestinal en el modelo de rata de íleo postoperatorio

Este modelo clínicamente relevante para POI está adaptado de aquel de Kalff. (Kalff, J.C.; Schraut, W.H.; Simmons, R.L.; Bauer, A.J. Ann. Surg. 1998, 228, 652-663). También pueden usarse otros modelos conocidos para estudiar el efecto de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento (Trudel, L.; Bouin, M.; Tomasetto, C.; Eberling, P.; St-Pierre, S.; Bannon, P.; L'Heureux, M.C.; Poitras, P. Peptides 2003, 24, 531-534; (b) Trudel, L.; Tomasetto, C.; Rio, M.C.; Bouin, M.; Plourde, V.; Eberling, P.; Poitras, P. Am. J. Physiol. 2002, 282, G948-G952).

Animales

1. Rata, Sprague-Dawley, macho, ~300 g.

2. En ayunas durante la noche antes del estudio.

Inducción de ileo postoperatorio (POI)

1. Anestesia con isoflurano en condiciones estériles.
2. Incisión abdominal en la línea media.
3. Se evisceran los intestinos y el ciego y se mantienen húmedos con solución salina.
4. Los intestinos y el ciego se manipulan a lo largo de su longitud entera con aplicadores de algodón húmedo análogos al 'recorrido del intestino' en los parámetros clínicos. Este procedimiento se cronometró para durar durante 10 min.
5. Los intestinos se vuelven a colocar suavemente en el abdomen y la herida abdominal se cierra por sutura en condiciones estériles.

Dosis

1. Se deja recuperar la rata de la anestesia con isoflurano.
2. Los compuestos de prueba (o vehículo) se administran por vía intravenosa mediante el catéter yugular previamente implantado.
3. Sonda intragástrica inmediata de metilcelulosa (2 %) marcada con ^{99m}Tc radiactivo, $t = 0$.

Experimental

1. A $t = 15$ min, el animal se sacrifica con CO_2 .
2. El estómago y secciones de 10 cm a lo largo del intestino delgado se ligan inmediatamente, se cortan y se ponen en tubos para medir ^{99m}Tc en el contador gamma.
3. Se miden el vaciamiento del estómago y el tránsito del intestino delgado por cálculo de la media geométrica.

$$\text{Media geométrica} = \Sigma (\% \text{ de radiactividad total} \times \text{número de segmento}) / 100$$

G. Respuesta de la hormona de crecimiento a los compuestos de prueba

Los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento pueden probarse asimismo en varios modelos animales para su efecto sobre la liberación de GH. Por ejemplo, ratas (Bowers, C.Y.; Momany, F.; Reynolds, G.A.; Chang, D.; Hong, A.; Chang, K. *Endocrinology* 1980, 106, 663-667), perros (Hickey, G.; Jacks, T.; Judith, F.; Taylor, J.; Schoen, W.R.; Krupa, D.; Cunningham, P.; Clark, J.; Smith, R.G. *Endocrinology* 1994, 134, 695-701; Jacks, T.; Hickey, G.; Judith, F.; Taylor, J.; Chen, H.; Krupa, D.; Feeney, W.; Schoen, W.R.; Ok, D.; Fisher, M.; Wyratt, M.; Smith, R. J. *Endocrinology* 1994, 143, 399-406; Hickey, G.J.; Jacks, T.M.; Schleim, K.D.; Frazier, E.; Chen, H.Y.; Krupa, D.; Feeney, W.; Nargund, R.P.; Patchett, A.A.; Smith, R.G. *J. Endocrinol.* 1997, 152, 183-192) y cerdos (Chang, C.H.; Rickes, E.L.; Marsilio, F.; McGuire, L.; Cosgrove, S.; Taylor, J.; Chen, H.Y.; Feighner, S.; Clark, J.N.; Devita, R.; Schoen, W.R.; Wyratt, M.; Fisher, M.; Smith, R.G.; Hickey, G. *Endocrinology* 1995, 136, 1065-1071; (b) Peschke, B.; Hanse, B.S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1999, 9, 1295-1298) se han utilizado todos satisfactoriamente para el estudio *in vivo* de los efectos de GHS y asimismo se aplicarían para la investigación del efecto de los agonistas de la grelina sobre los niveles de GH. La medición de grelina de niveles de GH en plasma después de la administración apropiada de compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento puede realizarse usando radioinmunoensayo mediante procedimientos convencionales conocidos para los expertos en la materia (Deghenghi, R.; et al. *Life Sciences* 1994, 54, 1321-1328). La unión a tejido puede estudiarse usando la autorradiografía de cuerpo entero después de la dosificación de un animal con sustancia de prueba que contiene una marca radiactiva (Ahnfelt-Rønne, I.; Nowak, J.; Olsen, U.B. Do growth hormone-releasing peptides act as ghrelin secretagogues? *Endocrine* 2001, 14, 133-135).

El siguiente procedimiento se emplea para determinar el patrón y la magnitud temporal de la respuesta de la hormona de crecimiento (GH) a compuestos de prueba, administrados tanto sistémicamente como centralmente. Pueden usarse procedimientos análogos para otros modelos animales apropiados, tales como perros y monos cinomolgos.

Procedimientos de dosificación y muestreo para estudios *in vivo* de liberación de GH

Se compran ratas Sprague-Dawley macho adultas (225-300 g) de Charles River Canada (St. Constant, Canadá) y se alojan individualmente en un ciclo de 12 de luz, 12 h de oscuridad (luces encendidas, hora: 0600-1800) en una sala de temperatura (22 ± 1 °C) y humedad controladas. Está libremente disponible pienso para ratas de Purina (Ralston Purina Co., St. Louis, MO) y agua de grifo. Para estos estudios, se implantan cánulas venosas intracerebroventriculares (icv) e intracardíacas crónicas bajo anestesia con pentobarbital sódico (50 mg/kg, ip) usando técnicas conocidas. La colocación de la cánula iv se verifica por tanto una respuesta positiva al beber de inyección de carbacol icv (100 ng/10 μl) el día después de la cirugía como por colorante azul de metileno en el momento del sacrificio. Después de la cirugía, las ratas se ponen directamente en cámaras de prueba de aislamiento con comida y agua libremente disponible hasta que el peso corporal vuelva a niveles preoperatorios (normalmente en el plazo de 5-7 d). Durante este tiempo, las ratas se manipulan diariamente para minimizar cualquier estrés asociado a la manipulación el día del experimento. El día de la prueba, se retira la comida 1,5 h

antes del comienzo del muestreo y se devuelve al final. Se administraron muestras de prueba a diversos niveles de dosificación o solución salina normal tanto por vía intravenosa como por vía oral en dos momentos de tiempo diferentes durante un periodo de muestreo de 6 h. Se eligen los tiempos 1100 y 1300 debido a que reflejan periodos pico y de depresión típicos de la secreción de GH, como se ha documentado previamente. El péptido grelina humana (5 µg, Phoenix Pharmaceuticals, Inc., Belmont, CA) se usa como control positivo en los experimentos y se diluyó en solución salina normal justo antes de uso. Para evaluar las acciones centrales de los compuestos de prueba sobre la liberación pulsada de GH, una dosis 10 veces más baja de la muestra de prueba o solución salina normal se administra icv en los mismos momentos de tiempo, 1100 y 1300. Se toman muestras de sangre (0,35 ml) cada 15 min durante el periodo de muestreo de 6 h (tiempo: 1000-1600) de todos los animales. Para documentar la rapidez de la respuesta de GH al compuesto de prueba, se obtiene una muestra de sangre adicional 5 min después de cada inyección. Todas las muestras de sangre se centrifugan inmediatamente, y el plasma se separa y se guarda a -20 °C para el posterior ensayo de GH. Para evitar la alteración hemodinámica, los glóbulos rojos se resuspenden en solución salina normal y se devuelven al animal después de extraer la siguiente muestra de sangre. Todos los estudios en animales se realizan bajo procedimientos aprobados por un comité de vigilancia para el cuidado animal.

15 **Procedimiento de ensayo de GH**

Se miden las concentraciones de GH en plasma por duplicado por RIA de anticuerpo doble usando materiales suministrados por el programa de distribución de hormonas NIDDK (Bethesda, MD). Los valores de GH promedio en plasma para 5-6 ratas por grupo se informan en términos de la preparación de referencia de GH de rata. Todas las muestras con valores por encima del intervalo de interés se vuelven a ensayar a diluciones que oscilan de 1:2 a 1:10.

20 **Resultados**

Los efectos de un compuesto macrocíclico descrito en el presente documento sobre la secreción de la hormona de crecimiento en monos cinomolgos después de la administración tanto intravenosa como por vía oral se presentan en la Figura 2.

25 **H. Modelo de ratón de caquexia por cáncer**

La caquexia por tumor se considera el principal motivo de mortalidad, reduciendo rápidamente la calidad de vida y la limitación de terapia en pacientes con tumor avanzado. Como el agonismo del receptor de la grelina se ha asociado a un consumo elevado de alimentos y la generación de un equilibrio de la energía global positivo, los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento tienen aplicaciones para el tratamiento de este trastorno. El siguiente procedimiento se diseñó para investigar los efectos de los compuestos de prueba en comparación con el péptido grelina sobre la caquexia por tumor en el modelo de melanoma G361 cultivado como un xenoinjerto subcutáneo en ratones BALB/c *nu/nu* (Mori M, Yamaguchi K, Honda S, et al: Cancer Res. 1991, 51, 6656-6659). Se conocen modelos adicionales en la técnica (Emery, P.W. Nutrition 1999, 15, 600-603).

Para el procedimiento, 60 ratones portadores de tumor se aleatorizan 12 días después de la inoculación en dos conjuntos de 5 grupos que contienen 6 animales cada uno. Al inicio del tratamiento, se determina la pérdida de peso corporal promedio de los animales del Conjunto 1 y Conjunto 2 con respecto al peso corporal promedio inicial. El tratamiento de los animales del Conjunto 1 y 2 comienza los días 12 y 16, después de la inoculación del tumor, respectivamente. Los Grupos 1 y 6 reciben vehículo i.v. s.c. o por vía oral (dependiendo del modo de administración del compuesto de prueba) bid solo, mientras que los Grupos 5 y 10 se administraron con el péptido grelina de rata s.c. (1 mg/kg; bid, separados 6 h) como control positivo. Los compuestos de prueba se administran i.v., s.c. o por vía oral dos veces al día, separados 6 h, a tres niveles de dosis (por ejemplo, 3, 10, 30 mg/kg) durante 20-40 días consecutivos. Los ratones se sacrifican durante el estudio según criterios predeterminados que incluyen >15 % de pérdida de peso corporal inicial y/o volumen del tumor superior a 2000 mm³ y/o presentación de signos clínicos graves.

Los pesos corporales se miden, junto con la cantidad de consumo de comida y agua. Además, se determinan los niveles en plasma de colesterol, triglicérido, ácidos grasos no esterificados y glucosa en sangre durante el transcurso del tratamiento para proporcionar medidas adicionales de los efectos de los compuestos de prueba sobre la salud global del animal.

45 **I. Evaluación de la potencia *ex vivo* sobre el fondo del estómago de la rata**

Este procedimiento se emplea para evaluar la potencia de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento como agente procinético por tratamiento de tiras del fondo del estómago de la rata en un baño de órganos *ex vivo* en presencia o ausencia de estimulación por campo eléctrico (EFS) usando el péptido grelina como referencia.

50 **Procedimientos**

55 Se cortaron tiras del fondo (aproximadamente 0,4 x 1 cm) del estómago de ratas Wistar macho adultas paralelas a las fibras musculares circulares. Se colocaron entre dos electrodos de anillo de platino, separadas 1 cm (Radnoti,

ADInstruments, EE.UU.) en baños de tejido de 10 ml que contenían solución de Krebs burbujeada con 5 % de CO₂ en O₂ y mantenida a 37 °C. Los tejidos se suspendieron bajo tensión de reposo de 1,5 g. Se midieron los cambios en la tensión isométricamente con transductores de fuerza y se registraron con un sistema de adquisición de datos PowerLab 8/30 (ADInstruments, EE.UU.). Se dejó que los tejidos se equilibraran durante 60 min, tiempo durante el cual se cambiaron las soluciones del baño cada 15 min.

Se logró EFS aplicando pulsos de 0,5 ms, 5 Hz de frecuencia, a un voltaje eficaz máximo de 70 V. La EFS se aplicó durante 30 s a intervalos de 3 min para un periodo inicial de 30 min. Este periodo inicial se separó por un intervalo de 5 min con lavado de la solución del baño. Entonces, se empezó un segundo periodo de estimulación. Después de obtener contracciones provocadas por EFS consistentes (después de tres o cuatro estimulaciones de 30 s), se estudiaron los efectos de los compuestos de prueba de grelina a diversas concentraciones (por ejemplo, 0,01-10 µM), L-NAME (300 µM, como control) o sus vehículos respectivos, aplicados no acumulativamente, sobre las respuestas a EFS durante un periodo de 30 min. Se midieron las respuestas a los agentes y se expresaron como el % de la media de tres o cuatro respuestas pre-fármaco a EFS. Todos los compuestos se disolvieron a 1 mM en agua destilada o MeOH, como soluciones madre.

Resultados

Los valores de CE₅₀ para la contractilidad fueron 5 nM para el péptido grelina, 300 nM para el compuesto 801 y 150 nM para el compuesto 807, que indica una potencia más baja de los agonistas de la grelina macrocíclicos sintéticos en relación con el sistema del fondo de estómago de la rata aislado.

J. Unión a proteínas del plasma

Las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de los fármacos son en gran medida una función de la unión reversible de fármacos a las proteínas del plasma o del suero tales como albúmina y α₁-glucoproteína ácida. En general, solo el fármaco sin unir está disponible para la difusión o transporte a través de las membranas celulares, y para interacción en la diana farmacológica. Por otra parte, los fármacos con baja unión a proteínas del plasma generalmente tienen grandes volúmenes de distribución y rápida eliminación, ya que solo el fármaco sin unir está disponible para la filtración glomerular y, en algunos casos, la eliminación hepática. Así, el grado de unión a proteínas del plasma puede influir en la eficacia, distribución y eliminación. El intervalo ideal para la unión a proteínas del plasma está en el intervalo del 87-98 % para la mayoría de los medicamentos.

Se realizaron estudios de unión a proteínas usando plasma humano. Brevemente, se usaron microplacas de 96 pocillos para incubar diversas concentraciones del artículo de prueba durante 60 min a 37 °C. Las fracciones unidas y sin unir se separan por diálisis en equilibrio, donde la concentración que queda en la fracción sin unir se cuantifica por análisis de CL-EM o CL-EM-EM. Se usaron fármacos con valores de unión a proteínas del plasma conocidos tales como quinina (~35 %), warfarina (~98 %) y naproxeno (~99,7 %) con controles de referencia.

Los resultados para los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento se resumen en los ejemplos.

K. Ensayo para la inhibición de citocromo P450

Las enzimas citocromo P450 participan en el metabolismo de fase I de los fármacos. La mayoría de las interacciones fármaco-fármaco están basadas en el metabolismo y, además, estas interacciones normalmente implican la inhibición de citocromo P450s. Seis enzimas CYP450 (CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3A4) parecen ser comúnmente responsables del metabolismo de la mayoría de los fármacos y las interacciones fármaco-fármaco asociadas. Ensayos para determinar la unión de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento a las diversas isoformas metabólicamente importantes de las enzimas matabolizantes del citocromo P450 están comercialmente disponibles, por ejemplo, NoAb BioDiscoveries (Mississauga, ON, Canadá) y Absorption Systems (Exton, PA, EE.UU.). También se han descrito o revisado varios procedimientos apropiados en la bibliografía (White, R.E. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2000, 40, 133-157; Li, A.P. Drug. Disc. Today 2001, 6, 357-366; Turpeinen, M.; Korhonen, L.E. Tolonen, A.; et al. Eur. J. Pharm. Sci. 2006, 29, 130-138.)

Los aspectos clave del procedimiento experimental fueron los siguientes:

1. El ensayo se realizó en microsomas (Supersomes[®], BD Gentest, Becton-Dickinson) preparados a partir de células de insecto que expresan subtipos de CYP-450 humanos individuales, específicamente:

- Subtipos de CYP: 1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4

- Normalmente se prueban dos sustratos para CYP-3A4 ya que esta enzima presenta cinética de inhibición compleja

2. Los ensayos monitorizaron, mediante la detección de fluorescencia, la formación de un metabolito fluorescente tras la incubación de los microsomas con un sustrato de CYP específico.

3. Los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento se probaron en muestras por duplicado a

ocho concentraciones de prueba usando diluciones sucesivas triples (intervalo de concentración de 0,0457 a 100 μM).

4. Para cada enzima CYP-450, se probó un inhibidor específico por duplicado a ocho concentraciones como control positivo.
5. La concentración del inhibidor o compuesto de prueba que inhibió la formación de metabolito el 50 % (CI50) se calculó por análisis de regresión no lineal de la curva del % de inhibición frente al log de la concentración (M).

Los resultados para los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento se resumen en los ejemplos.

L. Determinación de la permeabilidad de Caco-2

La línea celular Caco-2, derivada de un carcinoma colorrectal humano, se ha convertido en un modelo *in vitro* establecido para la predicción de la absorción de fármaco a través del intestino humano (Sun, D.; Yu, L.X.; Hussain, M.A.; Wall, D.A.; Smith, R.L.; Amidon, G.L. *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* 2004, 7, 75-85; Bergstrom, C.A. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2005, 96, 156-61; Balimane, P.V.; Han, Y.H.; Chong, S. *AAPS J.* 2006, 8, E1-13; Shah, P.; Jogani, V.; Bagchi, T.; Misra, A. *Biotechnol. Prog.* 2006, 22, 186-198). Cuando se cultiva sobre membranas semi-permeables, las células Caco-2 se diferencian en una barrera epitelial altamente funcionalizada con sorprendente similitud morfológica y bioquímica con el epitelio columnar del intestino delgado. Pueden usarse monocapas de células completamente diferenciadas para evaluar las propiedades de transporte de la membrana de compuestos novedosos. Además, se ha mostrado que los coeficientes de permeabilidad aparentes (P_{ap}) obtenidos de estudios del transporte de células Caco-2 se correlacionan razonablemente con la absorción intestinal humana.

Ensayos para determinar la permeabilidad de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento que utilizan células Caco-2 están comercialmente disponibles, por ejemplo, NoAb BioDiscoveries (Mississauga, ON, Canada) y Absorption Systems (Exton, PA, EE.UU.).

Alternativamente, pueden utilizarse ensayos de permeabilidad de membranas artificiales en paralelo (PAMPA) para evaluar la permeabilidad intestinal (Avdeef, A. *Expert Opin. Drug. Metab. Toxicol.* 2005, 1, 325-42.)

Procedimiento

Se determinó la permeabilidad a través de la capa de células Caco-2 cultivando las células sobre una membrana dispuesta entre dos cámaras (donante y aceptor). Los candidatos a fármaco normalmente se añaden al lado apical (A) de la capa de células y su aspecto en el lado basolateral (B) se mide durante el tiempo de incubación. La permeabilidad en esta dirección representa la absorción intestinal. La permeabilidad también puede determinarse desde el lado basolateral hasta el apical de las células Caco-2. Una mayor P_{ap} de apical a basolateral, en comparación con la P_{ap} de basolateral a apical, es indicativa de transporte mediado por vehículo. Se sugiere transporte mediado por P-gp cuando se observa una mayor P_{ap} de basolateral a apical con respecto a la P_{ap} de apical a basolateral.

Se probó la permeabilidad (10 μM) para los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento en la dirección apical a basolateral y basolateral a apical por duplicado. Se recogerán muestras de las cámaras de donante y aceptor al principio (0 min) y tras 60 min de incubación a 37 °C y se guardarán congeladas a -70 °C hasta el bioanálisis. Se analizaron adicionalmente muestras para cada compuesto de prueba generadas a partir del ensayo de permeabilidad de Caco-2 por CL-EM-EM. Se determinaron la permeabilidad de [^3H]-manitol y [^3H]-propranolol en paralelo como controles.

El coeficiente de permeabilidad (P_{ap}) de cada compuesto y patrón radiomarcado se determinó usando la siguiente ecuación:

$$P_{ap} = \frac{dQ}{dT} \times \frac{1}{C_i} \times \frac{1}{A}$$

donde dQ/dT representa la tasa de permeabilidad, C_i indica la concentración inicial en el compartimento del donante, y A representa el área superficial del filtro. C_i se determina a partir de la concentración media de muestras por duplicado tomadas antes de la adición al compartimento del donante. Las tasas de permeabilidad se calcularon representando la cantidad acumulada de compuesto medido en el compartimento del aceptor con el tiempo y determinando la pendiente de la línea por análisis de regresión lineal. Se informaron el duplicado y la P_{ap} apical a basolateral y basolateral a apical media para cada compuesto y patrón.

Los resultados para los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento se resumen en los ejemplos.

M. Perfil de activación-desensibilización

Es muy sabido que los agonistas de los receptores acoplados a la proteína G pueden inducir la desensibilización o taquifilaxia, limitando así el potencial de agentes que actúan en el receptor como terapéuticos para uso crónico (Luttrell, L.M. *Methods Mol. Biol.* 2006, 332, 3-49; Kenakin, T. *Ann. Rev. Pharmacol Toxicol.* 2002, 42, 349-379; Kenakin, T. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2002, 1, 103-110; Ferguson, S.S. *Pharmacol Rev.* 2001, 53, 1-24). Este

procedimiento se usa para evaluar el perfil de activación-desensibilización de receptores de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento con respecto a agonistas de referencia usando células HEK293 que expresan establemente hGHS-R1a.

Procedimientos

- 5 1. Se usaron grelina, GHRP-6 y capromorelina como agonistas de referencia
2. Se midieron flujos de Ca^{+2} inducidos por agonista después de carga con el indicador de Ca^{+2} Fluo-4-AM.
3. Se calculó el logaritmo negativo de la concentración de agonista que causa el 50 % de la máxima estimulación de hGHS-R1a (pEC_{50})
- 10 4. Se calculó el logaritmo negativo de la concentración pre-incubación que reduce la máxima respuesta a grelina al 50 % de su valor de control (pDC_{50})
5. Para comparar el perfil de activación-desensibilización relativo de los agonistas de la grelina, se calcularon la diferencia entre los valores de pCE_{50} y pDC_{50} para compuestos individuales, esperando que los números positivos más altos tuvieran menos potencial de desensibilización y, por lo tanto, fueran adecuados para aplicaciones crónicas como terapéuticos.

15

Resultados

Compuesto	Δ (actividad-desensibilización) (pCE_{50} - pDC_{50})
Grelina	0,85
GHRP-6	0,60
Capromorelina	0,91
801	3,30
807	3,08
826	1,90

La diferencia de potencia de 100 a 1000 veces entre la activación y la desensibilización del receptor sugiere que los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento deben ser comparativamente menos susceptibles a inducir la desensibilización del receptor de grelina tras exposición repetida.

20 4. Composiciones farmacéuticas

Los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento o sales farmacológicamente aceptables de los mismos según la invención pueden formularse en composiciones farmacéuticas de diversas formas de dosificación. Para preparar las composiciones farmacéuticas, uno o más compuestos, que incluyen isómeros ópticos, enantiómeros, diaestereómeros, racematos o mezclas estereoquímicas de los mismos, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se mezclan como el principio activo íntimamente con vehículos y aditivos apropiados según técnicas conocidas para aquellos expertos en la materia de las formulaciones farmacéuticas.

Una sal farmacéuticamente aceptable se refiere a una forma de sal de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento con el fin de permitir su uso o formulación como productos farmacéuticos y que retiene la eficacia biológica de los ácidos libres y bases del compuesto especificado y que no es biológicamente o de otro modo no deseable. Ejemplos de tales sales se describen en Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, Wermuth, C.G. and Stahl, P.H. (eds.), Wiley-Verlag Helvetica Acta, Zürich, 2002 [ISBN 3-906390-26-8]. Ejemplos de tales sales incluyen sales de metales alcalinos y sales de adición de ácidos libres y bases. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables, sin limitación, incluyen sulfatos, piro-sulfatos, bisulfatos, sulfitos, bisulfitos, fosfatos, monohidrogenofosfatos, dihidrogenofosfatos, metafosfatos, pirofosfatos, cloruros, bromuros, yoduros, acetatos, propionatos, decanoatos, caprilatos, acrilatos, formiatos, isobutiratos, caproatos, heptanoatos, propiolatos, oxalatos, malonatos, succinatos, suberatos, sebacatos, fumaratos, maleatos, butino-1,4-dioatos, hexino-1,6-dioatos, benzoatos, clorobenzoatos, metilbenzoatos, dinitrobenzoatos, hidroxibenzoatos, metoxibenzoatos, ftalatos, xilenosulfonatos, fenilacetatos, fenilpropionatos, fenilbutiratos, citratos, lactatos, γ -hidroxibutiratos, glicolatos, tartratos, metanosulfonatos, etanosulfonatos, propanosulfonatos, toluenosulfonatos, naftaleno-1-sulfonatos, naftaleno-2-sulfonatos, y mandelatos.

Si un compuesto macrocíclico es una base, puede prepararse una sal deseada por cualquier procedimiento adecuado conocido para aquellos expertos en la materia, que incluye tratamiento de la base libre con un ácido inorgánico, tal como, sin limitación, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, yodhídrico, ácido carbónico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y similares, o con un ácido orgánico, que incluye, sin limitación, ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido maleico, ácido succínico, ácido mandélico, ácido fumárico, ácido malónico, ácido

pirúvico, ácido oxálico, ácido esteárico, ácido ascórbico, ácido glicólico, ácido salicílico, ácido piranosídlico, tal como ácido glucurónico o ácido galacturónico, alfa-hidroxiácido, tal como ácido cítrico o ácido tartárico, aminoácido, tal como ácido aspártico o ácido glutámico, ácido aromático, tal como ácido benzoico o ácido cinámico, ácido sulfónico, tal como ácido p-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido ciclohexil-aminosulfónico o similares.

Si un compuesto macrocíclico es un ácido, puede prepararse una sal deseada por cualquier procedimiento adecuado conocidos en la técnica, que incluye tratamiento del ácido libre con una base inorgánica u orgánica, tal como una amina (primaria, secundaria, o terciaria); un hidróxido de metal alcalino o de metal alcalinotérreo; o similares. Ejemplos ilustrativos de sales adecuadas incluyen sales orgánicas derivadas de aminoácidos tales como glicina, lisina y arginina; amoniaco; aminas primarias, secundarias y terciarias tales como etilendiamina, N,N'-dibenciletilendiamina, dietanolamina, colina y procaína, y aminas cíclicas, tales como piperidina, morfolina y piperazina; además de sales inorgánicas derivadas de sodio, calcio, potasio, magnesio, manganeso, hierro, cobre, cinc, aluminio y litio.

Los vehículos y aditivos usados para tales composiciones farmacéuticas pueden tomar una variedad de formas dependiendo del modo esperado de administración. Así, las composiciones para administración por vía oral pueden ser, por ejemplo, preparaciones sólidas tales como comprimidos, comprimidos recubiertos de azúcar, cápsulas duras, cápsulas blandas, gránulos, polvos y similares, con vehículos adecuados y aditivos que son almidones, azúcares, aglutinantes, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, agentes disgregantes y similares. Debido a su facilidad de uso y mayor cumplimiento del paciente, los comprimidos y cápsulas representan las formas de dosificación oral más ventajosas para muchas afecciones médicas.

Similarmente, composiciones para preparaciones líquidas incluyen soluciones, emulsiones, dispersiones, suspensiones, jarabes, elixires, y similares, con vehículos adecuados y aditivos que son agua, alcoholes, aceites, glicoles, conservantes, aromatizantes, agentes colorantes, agentes de suspensión, y similares. Preparaciones típicas para administración parenteral comprenden el principio activo con un vehículo tal como agua estéril o aceite parenteralmente aceptable que incluye polietilenglicol, polivinilpirrolidona, lecitina, aceite de cacahuete o aceite de sésamo, también pueden incluirse otros aditivos para ayudar en la solubilidad o preservación. En el caso de una solución, puede liofilizarse dando un polvo y entonces reconstituirse inmediatamente antes de uso. Para dispersiones y suspensiones, vehículos y aditivos apropiados incluyen gomas acuosas, celulosas, silicatos o aceites.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento incluyen aquellas adecuadas para superficies orales, rectales, tópicas, inhalación (por ejemplo, mediante un aerosol), bucales (por ejemplo, sublinguales), vaginales, tópicas (es decir, tanto la piel como la mucosa, que incluye superficies de las vías respiratorias), administración transdérmica y parenteral (por ejemplo, subcutánea, intramuscular, intradérmica, intrarticular, intrapleural, intraperitoneal, intratecal, intracerebral, intracraneal, intraarterial, o intravenosa), aunque la vía más adecuada en cualquier caso dado dependerá de la naturaleza y gravedad de la afección que está tratándose y de la naturaleza del agente activo particular que está siendo usado.

Composiciones para inyección incluirán el principio activo junto con vehículos adecuados que incluyen propilenglicol-alcohol-agua, agua isotónica, agua estéril para inyección (USP), emulPhor™-alcohol-agua, cremophor-EL™ u otros vehículos adecuados conocidos para aquellos expertos en la materia. Estos vehículos pueden usarse solos o en combinación con otros agentes solubilizantes convencionales tales como etanol, propilenglicol, u otros agentes conocidos para aquellos expertos en la materia.

Si los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento van a aplicarse en forma de soluciones o inyecciones, los compuestos pueden usarse disolviendo o suspendiendo en cualquier diluyente convencional. Los diluyentes pueden incluir, por ejemplo, solución salina fisiológica, solución de Ringer, una solución acuosa de glucosa, una solución acuosa de dextrosa, un alcohol, un éster de ácido graso, glicerol, un glicol, un aceite derivada de fuentes vegetales o animales, una parafina y similares. Estas preparaciones pueden prepararse según cualquier procedimiento convencional conocido para aquellos expertos en la materia.

Las composiciones para administración nasal pueden formularse como aerosoles, gotas, polvos y geles. Las formulaciones en aerosol normalmente comprenden una solución o suspensión fina del principio activo en un disolvente acuoso o no acuoso fisiológicamente aceptable. Tales formulaciones normalmente se presentan en cantidades individuales o de multidosis en una forma estéril en un envase sellado. El envase sellado puede ser un cartucho o relleno para su uso con un dispositivo atomizador. Alternativamente, el envase sellado puede ser un dispositivo dispensador unitario tal como un inhalador nasal de un solo uso, atomizador de bomba o un dispensador de aerosol dotado de un conjunto de válvula dosificadora para administrar una cantidad terapéuticamente eficaz, que está previsto para ser desechado una vez se ha usado completamente el contenido. Cuando la forma de dosificación comprende un dispensador de aerosol, contendrá un propulsor tal como un gas comprimido, aire como un ejemplo, o un propulsor orgánico que incluye un fluoroclorohidrocarburo o fluorohidrocarburo.

Composiciones adecuadas para administración bucal o sublingual incluyen comprimidos, pastillas para chupar y pastillas, en las que el principio activo se formula con un vehículo tal como azúcar y goma arábiga, tragacanto o gelatina y glicerina.

Composiciones para administración rectal incluyen supositorios que contienen una base de supositorio convencional tal como manteca de cacao.

Composiciones adecuadas para administración transdérmica incluyen pomadas, geles y parches.

5 Otras composiciones conocidas para aquellos expertos en la materia también pueden aplicarse para administración percutánea o subcutánea, tal como escayolas.

Además, en la preparación de tales composiciones farmacéuticas que comprenden el principio activo o componentes en mezcla con componentes necesarios para la formulación de las composiciones, pueden incorporarse otros aditivos farmacológicamente aceptables convencionales, por ejemplo, excipientes, estabilizadores, antisépticos, agentes humectantes, agentes emulsionantes, lubricantes, edulcorantes, agentes colorantes, aromatizantes, agentes de isotonicidad, agentes de tamponamiento, antioxidantes y similares. Como aditivos, pueden mencionarse, por ejemplo, almidón, sacarosa, fructosa, dextrosa, lactosa, glucosa, manitol, sorbitol, carbonato cálcico precipitado, celulosa cristalina, carboximetilcelulosa, dextrina, gelatina, goma arábiga, EDTA, estearato de magnesio, talco, hidroxipropilmetilcelulosa, metabisulfito de sodio, y similares.

15 Los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento pueden administrarse en combinación con un agente terapéutico usado para prevenir y/o tratar trastornos metabólicos y/o endocrinos, trastornos gastrointestinales, trastornos cardiovasculares, obesidad y trastornos asociados a la obesidad, trastornos del sistema nervioso central, trastornos óseos, trastornos genéticos, trastornos hiperproliferativos y trastornos inflamatorios. Agentes a modo de ejemplo incluyen analgésicos (incluyendo analgésicos opioides), anestésicos, antifúngicos, antibióticos, antiinflamatorios (incluyendo agentes antiinflamatorios no esteroideos), antihelmínticos, antieméticos, antihistamínicos, antihipertensores, antipsicóticos, antiartríticos, antitusivos, antivirales, fármacos cardioactivos, catárticos, agentes quimioterapéuticos (tales como agentes interactivos con ADN, antimetabolitos, agentes interactivos con tubulina, agentes hormonales, y agentes tales como asparaginasa o hidroxiourea), corticoides (esteroides), antidepresivos, depresores, diuréticos, hipnóticos, minerales, suplementos nutricionales, parasimpatomiméticos, hormonas (tal como hormona liberadora de corticotropina, adrenocorticotropina, hormona liberadora de la hormona de crecimiento, hormona de crecimiento, hormona liberadora de tirotrópina y hormona estimulante tiroidea), sedantes, sulfonamidas, estimulantes, simpatomiméticos, tranquilizantes, vasoconstrictores, vasodilatadores, vitaminas y derivados de xantina.

30 Sujetos adecuados que van a tratarse incluyen, pero no se limitan a, sujetos aviares y mamíferos, y son preferentemente mamíferos. Los mamíferos incluyen, pero no se limitan a, caninos, felinos, bovinos, caprinos, equinos, ovinos, porcinos, roedores (por ejemplo, ratas y ratones), lagomorfos, primates, seres humanos, y similares, y mamíferos en el útero. Cualquier sujeto mamífero en necesidad de ser tratado es adecuado. Se prefieren sujetos humanos. Pueden tratarse sujetos humanos de ambos sexos y en cualquier etapa de desarrollo (es decir, neonatos, lactantes, jóvenes, adolescentes, adultos).

35 Aviares ilustrativos incluyen pollos, patos, pavos, gansos, codornices, faisanes, ratites (por ejemplo, avestruz) y aves domesticadas (por ejemplo, loros y canarios), y aves en el huevo.

La presente divulgación se refiere principalmente al tratamiento de sujetos humanos, pero los procedimientos descritos en el presente documento también pueden llevarse a cabo en sujetos animales, particularmente sujetos mamíferos tales como ratones, ratas, perros, gatos, ganado y caballos para fines veterinarios, y para la selección de fármacos y fines de desarrollo de fármacos.

40 En uso terapéutico para el tratamiento de afecciones en mamíferos (es decir, seres humanos o animales) para los que un modulador, tal como un agonista, de receptor de la grelina es eficaz, los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento o una composición farmacéutica apropiada de los mismos puede administrarse en una cantidad eficaz. Como la actividad de los compuestos y el grado del efecto terapéutico varían, la dosificación actual administrada se determinará basándose en factores generalmente reconocidos tales como la edad, afección del sujeto, vía de administración y peso corporal del sujeto. La dosificación puede ser de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg/kg, administrada por vía oral 1-4 veces por día. Además, los compuestos pueden administrarse mediante inyección a aproximadamente 0,01 - 20 mg/kg por dosis, con administración 1-4 veces por día. El tratamiento podría continuar durante semanas, meses o más. La determinación de dosificaciones óptimas para una situación particular está dentro de las capacidades de aquellos expertos en la materia.

50 **5. Procedimientos de uso**

Los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento pueden usarse para la prevención y el tratamiento de una variedad de afecciones médicas que incluyen, pero no se limitan a, trastornos metabólicos y/o endocrinos, trastornos gastrointestinales, trastornos cardiovasculares, obesidad y trastornos asociados a la obesidad, trastornos del sistema nervioso central, trastornos óseos, trastornos genéticos, trastornos hiperproliferativos, trastornos inflamatorios y combinaciones de los mismos, donde el trastorno puede ser el resultado de múltiples enfermedades subyacentes. En realizaciones particulares, la enfermedad o trastorno es síndrome del intestino irritable (EII), dispepsia no ulcerosa, enfermedad de Crohn, trastornos de reflujo gastroesofágico, estreñimiento, colitis ulcerosa, pancreatitis, estenosis pilórica hipertrófica infantil, síndrome

carcinoide, síndrome de malabsorción, diarrea, diabetes que incluye diabetes mellitus (diabetes tipo II), obesidad, colitis atrófica, gastritis, estasis gástrica, síndrome de evacuación gastrointestinal rápida, síndrome postgastroenterectomía, celiaquía, un trastorno de la alimentación u obesidad. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedad cardíaca isquémica o enfermedad cardíaca crónica. En otras realizaciones más, la enfermedad o trastorno es osteoporosis y/o debilidad, insuficiencia cardíaca congestiva, aceleración de la reparación de fracturas óseas, síndrome metabólico, atenuación de la respuesta catabólica de proteínas, caquexia, pérdida de proteínas, cicatrización alterada o riesgo de cicatrización alterada, recuperación alterada o riesgo de recuperación alterada de quemaduras, recuperación alterada o riesgo de recuperación alterada de cirugía, fuerza muscular alterada o riesgo de fuerza muscular alterada, movilidad alterada o riesgo de movilidad alterada, espesor de piel alterado o riesgo de espesor de piel alterado, homeostasis metabólica alterada o riesgo de homeostasis metabólica alterada u homeostasis renal alterada o riesgo de homeostasis renal alterada. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno implica facilitar el desarrollo neonatal, estimular la liberación de la hormona de crecimiento en seres humanos, mantenimiento de la fuerza y función muscular en seres humanos, inversión o prevención de debilidad en seres humanos, prevención de efectos secundarios catabólicos de los glucocorticoides, tratamiento de osteoporosis, estimulación y aumento en la masa muscular y fuerza muscular, estimulación del sistema inmunitario, aceleración de la cicatrización, aceleración de la reparación de fracturas óseas, tratamiento de insuficiencia renal o insuficiencia que produce el retraso del crecimiento, tratamiento de talla baja, tratamiento de obesidad y retraso del crecimiento, aceleración de la recuperación y reducción de la hospitalización de pacientes con quemaduras, tratamiento de retraso del crecimiento intrauterino, tratamiento de displasia esquelética, tratamiento de hipercortisolismo, tratamiento de síndrome de Cushing, inducción de la liberación pulsada de la hormona de crecimiento, sustitución de la hormona de crecimiento en pacientes con estrés, tratamiento de osteocondrodisplasias, tratamiento de síndrome de Noonan, tratamiento de esquizofrenia, tratamiento de depresión, tratamiento de enfermedad de Alzheimer, tratamiento de vómitos, tratamiento de pérdida de la memoria, tratamiento de trastornos de la reproducción, tratamiento de cicatrización retardada, tratamiento de privación psicosocial, tratamiento de disfunción pulmonar, tratamiento de dependencia de respirador; atenuación de la respuesta catabólica de proteínas, reducción de caquexia y pérdida de proteínas, tratamiento de hiperinsulinemia, tratamiento auxiliar para la inducción de la ovulación, estimulación del desarrollo tímico, prevención de la disminución de la función tímica, tratamiento de pacientes inmunodeprimidos, mejora en la movilidad muscular, mantenimiento del espesor de piel, homeostasis metabólica, homeostasis renal, estimulación de osteoblastos, estimulación de la remodelación ósea, estimulación del crecimiento de cartílago, estimulación del sistema inmunitario en animales de compañía, tratamiento de trastornos del envejecimiento en animales de compañía, promoción del crecimiento en ganado, y/o estimulación del crecimiento de la lana en ovejas. Otras realizaciones se refieren a procedimientos de tratamiento de trastornos inflamatorios, que incluyen colitis ulcerosa, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, pancreatitis, artritis reumatoide, osteoartritis, asma, vasculitis, psoriasis, rinitis alérgica, enfermedad de úlcera péptica, septicemia intrabdominal postoperatoria, lesión por isquemia-reperusión, daño pancreático y hepático, septicemia y choque séptico, daño gástrico producido por ciertos fármacos, daño gástrico inducido por el estrés, daño gástrico producido por *H. pylori*, dolor inflamatorio, enfermedad renal crónica e inflamación intestinal.

También se describe en el presente documento un procedimiento para el tratamiento de íleo postoperatorio, caquexia (síndrome consuntivo), tal como la producida por cáncer, SIDA, enfermedad cardíaca y enfermedad renal, gastroparesia, tal como la resultante de diabetes de tipo I o tipo II, otros trastornos gastrointestinales, deficiencia de hormona de crecimiento, pérdida ósea, y otros trastornos relacionados con la edad en un paciente humano o animal que sufre las mismas, procedimiento que comprende administrar a dicho paciente una cantidad eficaz de al menos un miembro seleccionado de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento que tiene la capacidad de modular el receptor de la grelina. Otras enfermedades y trastornos tratados por los compuestos desvelados en el presente documento incluyen síndrome del intestino corto, síndrome de evacuación gastrointestinal rápida, síndrome postgastroenterectomía, celiaquía y trastornos hiperproliferativos tales como tumores, cánceres y trastornos neoplásicos, además de trastornos hiperproliferativos premalignos y no neoplásicos o no malignos. En particular, tumores, cánceres y tejido neoplásico que pueden tratarse incluyen, pero no se limitan a, trastornos malignos tales como cánceres de mama, osteosarcomas, angiosarcomas, fibrosarcomas y otros sarcomas, leucemias, linfomas, tumores de los senos, cánceres de ovario, uretra, vejiga, próstata y otros genitourinarios, cánceres de colon, esófago y de estómago y otros cánceres gastrointestinales, cánceres de pulmón, mielomas, cánceres pancreáticos, cánceres de hígado, cánceres de riñón, cánceres endocrinos, cánceres de piel y tumores del cerebro o del sistema nervioso central (SNC) y periférico, malignos o benignos, que incluyen gliomas y neuroblastomas.

Los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento pueden usarse para tratar íleo postoperatorio. Los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento pueden usarse para tratar gastroparesia. Los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento pueden usarse para tratar gastroparesia diabética. Los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento pueden usarse para tratar disfunción intestinal inducida por opioides. Los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento pueden usarse para tratar pseudo-obstrucción intestinal crónica.

Los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento pueden usarse para tratar íleo postoperatorio, gastroparesia, disfunción intestinal inducida por opioides, pseudo-obstrucción intestinal crónica, pseudo-obstrucción

5 colónica aguda (síndrome de Ogilvie), síndrome del intestino corto, vómitos, síndrome del intestino irritable (EII) predominante en estreñimiento, estreñimiento crónico, síndrome de dispepsia asociada al cáncer, vaciamiento gástrico retardado, disfunción gastrointestinal o vaciamiento gástrico retardado en pacientes con enfermedad de Parkinson, disfunción gastrointestinal o vaciamiento gástrico retardado en distrofia muscular miotónica, disfunción gastrointestinal o vaciamiento gástrico retardado en pacientes con escleroderma, enfermedad por reflujo gastroesofágico (GERD), úlceras gástricas o enfermedad de Crohn.

También en el presente documento se describen procedimientos de tratamiento de un caballo o canino para un trastorno gastrointestinal que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un modulador que es un compuesto macrocíclico descrito en el presente documento. El trastorno gastrointestinal puede ser íleo o cólico.

10 Como se usa en el presente documento, "tratamiento" no significa necesariamente la implicación de cura o abolición completa del trastorno o síntomas asociados al mismo.

15 Los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento pueden utilizarse adicionalmente para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una variedad de afecciones médicas que incluyen, pero no se limitan a, trastornos metabólicos y/o endocrinos, trastornos gastrointestinales, trastornos cardiovasculares, trastornos del sistema nervioso central, obesidad y trastornos asociados a la obesidad, trastornos genéticos, trastornos óseos, trastornos hiperproliferativos y trastornos inflamatorios.

Realizaciones adicionales de la presente invención se describirán ahora con referencia a los siguientes ejemplos. Debe apreciarse que estos ejemplos son para los fines de ilustrar realizaciones de la presente invención, y no limitan el alcance de la invención.

20 EJEMPLOS

Ejemplo 1

Actividad de unión

La siguiente tabla presenta la actividad de unión en el receptor de la grelina humana para los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento.

Compuesto N.º	K _i (nM) ^a	Compuesto N.º	K _i (nM) ^a
801	A	1008	C
802	C	1009	A
803	C	1010	B
807	B	1011	B
808	C	1014	D
809	C	1015	D
810	C	1016	C
813	B	1017a	C
816	B	1017b	D
818	B	1018	C
819	B	1019a	D
820	C	1019b	E
822	C	1020a	C
825	B	1020b	C
826	C	1021	E
828	A	1022	D
829	A	1023	C

(continuación)

Compuesto N.º	K _i (nM) ^a	Compuesto N.º	K _i (nM) ^a
831	A	1024	C
832	A	1025	D
833	B	1026	C
851	C	1027	C
853	C	1028	C
854	C	1029	B
855	C	1030	C
856	D	1031	C
857	D	1032	D
858	D	1033	C
859	D	1034	C
860	B	1035	C
862	B	1036	E
863	C	1038	C
864	B	1039	C
865	C	1040	C
866	C	1041	C
867	C	1042	C
869	C	1043	C
870	D	1044	D
871	D	1045	C
872	B	1046	C
873	C	1047	C
874	C	1048	E
876	C	1049	C
877	C	1050	E
878	C	1052	A
923	C	1053	C
934a	C	1058	C
934b	E	1061	C
935	C	1062	B
936	C	1065	C

(continuación)

Compuesto N.º	K _i (nM) ^a	Compuesto N.º	K _i (nM) ^a
937	D	1066	C
938	C	1068	C
939	C	1069	C
944	D	1071	D
945	D	1072	D
946	B	1074	C
947	B	1075	C
950	D	1076	C
951	D	1078	C
954	D	1079	C
965	D	1080	C
966	D	1081	E
968	C	1082	D
969a	C	1083	C
969b	C	1084	C
972	C	1085a	C
973a	C	1085b	C
973b	E	1086	C
974	C	1087a	D
975	C	1087b	C
976	C	1088	D
977	D	1089a	C
978	C	1089b	D
979	C	1090	D
981	B	1098a	D
982	A	1098b	C
986	E	1099	A
987	D	1100	B
988	C	1101	D
989	C	1103	E
991	C	1104	C
992	C	1105	A
993	C	1106	C

(continuación)

Compuesto N.º	K _i (nM) ^a	Compuesto N.º	K _i (nM) ^a
994	C	1107	C
995	C	1108	A
996a	B	1109	B
996b	D	1110	C
997	D	1111	C
998	C	1112	A
999a	E	1113	A
999b	D	1114	A
1000	D	1115	D
1003	C	1116	C
1005	C	1118	B
1006	D	1119	C
1007	C		

^a Actividad de unión determinada usando el procedimiento convencional A, los valores de K_i se expresan del siguiente modo: A ≤ 1 nM, B ≤ 10 nM, C ≤ 100 nM, D ≤ 500 nM, E > 500 nM.

Ejemplo 2**Actividad funcional**

5 La siguiente tabla presente la actividad funcional en el receptor de la grelina humana para los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento.

Compuesto	CE ₅₀ (nM)
807	A
877	A
968	C
969a	C
969b	C
973a	C
973b	C
975	D
976	C
982	A
802	B
1009	A
1018	C

(continuación)

Compuesto	CE ₅₀ (nM)
1033	B
1043	B
1058	B
1061	B
1062	A
^b Actividad funcional determinada usando el procedimiento convencional B, los valores de CE ₅₀ se expresan del siguiente modo: A ≤ 50 nM, B ≤ 100 nM, C ≤ 400 nM, D > 400 nM	

Ejemplo 3**Farmacocinética oral**

- 5 La siguiente tabla presenta los datos de biodisponibilidad oral y de semivida de eliminación en la rata para los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento. Los parámetros se determinaron por HPLC-EM después de la administración por vía oral de una dosis de 8 mg/kg de compuesto, excepto para el compuesto 822 donde se usó una dosis de 2 mg/kg.

Compuesto	Semivida de eliminación (t _{1/2} , rata, min)	Biodisponibilidad oral (rata, % de F)
801	42	4
802	160	26
803	151	9
807	197	23
808	238	18
810	116	15
813	31	4
819	116	12
820	137	18
822	65	51
825	101	37
826	77	29
829	45	8
831	120	15
854	223	22
862	77	22
877	255	15
935	42	11
968	103	26

(continuación)

Compuesto	Semivida de eliminación ($t_{1/2}$, rata, min)	Biodisponibilidad oral (rata, % de F)
979	34	11
989	138	7
999	122	9
1011	268	22
1027	46	6
1061	23	4
1069	128	32

Además, se proporcionan los perfiles de concentración plasmática frente al tiempo para los compuestos 802, 807, 810, 819, 822, 825, 831, 854, 877, 968, 1011 y 1069 en las Figuras 3-8.

5 **Ejemplo 4**

Perfil de interacción en los subtipos de enzima citocromo P450

Inhibición de isozimas CYP P450 por los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento.

Compuesto	CI50 (μM)									
	3A4 (BQ)	3A4 (BFC)	1A2	2A6	2B6	2C8	2C9	2C19	2D6	2E1
803	11,5	-	>100	>100	53,6	54,6	>100	>100	>100	>100
807	6,1	23,3	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
809	1,53	6,61	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
810	1,08	7,42	69	>100	102	>100	>100	>100	>100	>100
816	1,36	5,85	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
820	13,8	47,4	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
822	4,15	14,2	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
825	6,7	93,4	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
826	4,5	47,5	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
828	8,9	18,7	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100

Ejemplo 5

10 **Ensayos de permeabilidad**

La siguiente tabla presenta los datos del ensayo de permeabilidad de Caco-2 para los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento.

Compuesto	$P_{ap} A \text{ a } B \text{ cm/s } \times 10^{-6}$	$P_{ap} B \text{ a } A \text{ cm/s } \times 10^{-6}$	B a A/A a B
801	163	110	0,672
803	12,1	67,3	5,59
811	125	198	1,59
825	113	123	1,08

(continuación)

Compuesto	P _{ap} A a B cm/s x10 ⁻⁶	P _{ap} B a A cm/s x10 ⁻⁶	B a A/A a B
826	11,2	46,9	4,18

Ejemplo 6**Unión a proteínas**

- 5 La siguiente tabla presenta los datos de unión a proteínas para los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento en tanto plasma humano como de rata.

Compuesto	Concentración de prueba (µg/ml)	Unión a proteínas de plasma humano (%)	Unión a proteínas de plasma de rata (%)
801	3	88,4	nd
802	1	93,4	99,8
803	1	97,8	99,1
807	5	99,3	84,0
808	5	99,9	89,2
809	3	88,4	92,8
810	3	78,9	nd
819	3	95,2	98,2
820	3	99,0	98,8
822	3	93,0	99,1
825	1	83	96,6
825	5	70	73
826	3	94,3	97,2
828	3	76,8	nd
829	3	91,6	nd
832	3	88,9	97,3
833	3	77,4	94,0
1118	3	92,8	95,5
nd = no determinado			

Ejemplo 7**Modelo de vaciamiento gástrico**

- 10 Los efectos de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento en el modelo de vaciamiento gástrico de rata descrito en el procedimiento convencional E se proporcionan en la siguiente tabla. En los casos en los que un experimento se realizó múltiples veces, se presenta el promedio de los resultados individuales.

Aumento del porcentaje en el vaciamiento gástrico después de la administración por vía oral

Compuesto	Dosis (mg/kg)			
	1	3	10	30

(continuación)

Compuesto	Dosis (mg/kg)			
	801	-	27	31
802	12	11	26	-
807	17	31	41	-
808	18	37	40	-
809	-	5	-	-
813	-	11	-	-
818	-	11	-	-
819	9	21	18	-
820	6	20	22	-
822	-	6	-	-
826	19	12	30	-
828	-	24	-	-
829	-	28	-	-
831	-	32	-	-
832	-	13	-	-
833	-	6	-	-
metoclopramida	-	-	-	35
- indica no determinado				

5 Con las semividas relativamente largas presentadas por algunos de estos compuestos como se muestra en el Ejemplo 3, podría esperarse que sus efectos sobre el vaciamiento gástrico pudieran prolongarse. De hecho, esto se confirmó para el compuesto 807, donde las tasas de vaciamiento gástrico siguieron elevadas (18-23 %) hasta 24 h después de la dosis.

10 También es de mención la eficacia del compuesto 801 en la promoción del vaciamiento gástrico aún cuando su biodisponibilidad oral fuera solo del 4 % (Ejemplo 3). Esto sugiere que el compuesto y ciertos otros de la invención poseen actividad pro-motilidad localmente en el sistema GI, mientras que limitan la exposición sistémica. Una característica tal podría conducir a efectos secundarios reducidos en su uso como agente farmacéutico.

Ejemplo 8

Íleo postoperatorio

Efecto del compuesto representativo en el tratamiento de íleo postoperatorio en rata.

Procedimientos

- 15 1. Modelo adaptado de Kälff et al. (1998), Ann Surg 228:652-63.
2. Ratas (macho, Sprague-Dawley, 250-300 g) se implantan con catéteres de la vena yugular para acomodar la dosificación de artículos de prueba.
3. Las ratas ayunan durante la noche, se anestesian con isoflurano y se someten a cirugía abdominal.
- 20 4. Tras una incisión abdominal, se evisceran el intestino delgado, el ciego y el intestino grueso durante un periodo de 15 min y se mantienen húmedos con solución salina.
5. Se realiza un "recorrido del intestino", una manipulación clínicamente relevante de los intestinos caracterizada por pellizcar primero el intestino delgado superior y continuar esta manipulación hacia abajo a través del intestino grueso.
- 25 6. Se permite una recuperación de 15 min de las ratas empezando después de la desaparición de cualquier efecto de la anestesia con isoflurano.

7. Las ratas se dosifican con vehículo o compuesto de prueba a niveles de dosis apropiados (por ejemplo, 30, 100, o 300 µg/kg, i.v., N=6/gp) seguido de comida por sonda intragástrica de ^{99m}Tc-metilcelulosa (2 %).

8. Después de 15 min, las ratas se sacrifican y se aíslan el estómago y segmentos de 10 cm consecutivos del intestino. Se mide la radiactividad (^{99m}Tc) en cada aislado de tejido como una forma de medir el tránsito de la comida.

Ejemplo 9

Vaciamiento gástrico retardado por opioides

Efecto del compuesto representativo sobre el vaciamiento gástrico y el tránsito gastrointestinal en un modelo de vaciamiento gástrico retardado por opioides.

Los analgésicos opioides, tales como la morfina, son muy conocidos por retardar el tránsito gastrointestinal, que es un efecto secundario importante para esta clase de fármacos. El término clínico para este síndrome es la disfunción intestinal por opioides (OBD). Y, lo que es más importante, pacientes que se recuperan de cirugía abdominal experimentan íleo postoperatorio que se agrava adicionalmente por la terapia con opioides simultánea para el dolor post-quirúrgico. El objetivo de este procedimiento es determinar si los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento pueden tener utilidad terapéutica en el tratamiento de OBD.

Procedimientos

1. Ratas (macho, Sprague-Dawley, 250-300 g) se implantan con catéteres de la vena yugular para acomodar la dosificación de artículos de prueba.

2. Las ratas en ayunas durante la noche se administran con morfina (3 mg/kg s.c.).

3. Después de 30 min, las ratas se dosifican con vehículo o compuesto de prueba a niveles de dosis apropiados (por ejemplo, 300 o 1000 µg/kg, i.v., n = 4-to-6/gp), seguido de comida por sonda nasogástrica de ^{99m}Tc-metilcelulosa (2 %).

4. Después de 15 min, las ratas se sacrifican y se aíslan el estómago y segmentos de 10 cm consecutivos del intestino. Se mide la radiactividad (^{99m}Tc) en cada aislado de tejido como una forma de medir el tránsito de la comida.

Ejemplo 10

Modelo animal de gastroparesia

Las comidas ricas en calorías son muy conocidas por impedir el vaciamiento gástrico. Esta observación se ha explotado recientemente por Megens, A.A.; et al. (sin publicar) para desarrollar un modelo de rata para vaciamiento gástrico retardado como se experimenta en gastroparesia.

Materiales

1. Ratas Wistar, macho, 200-250 g

2. Comida de prueba de chocolate: 2 ml de Clinutren ISO® (1,0 kcal/ml, Nestle SA, Vevey, Suiza)

Procedimiento

La comida de prueba se administra a los sujetos por sonda nasogástrica oral a tiempo = 0. Después de 60 min, los sujetos se sacrifican, se extirpan los estómagos y se pesa el contenido.

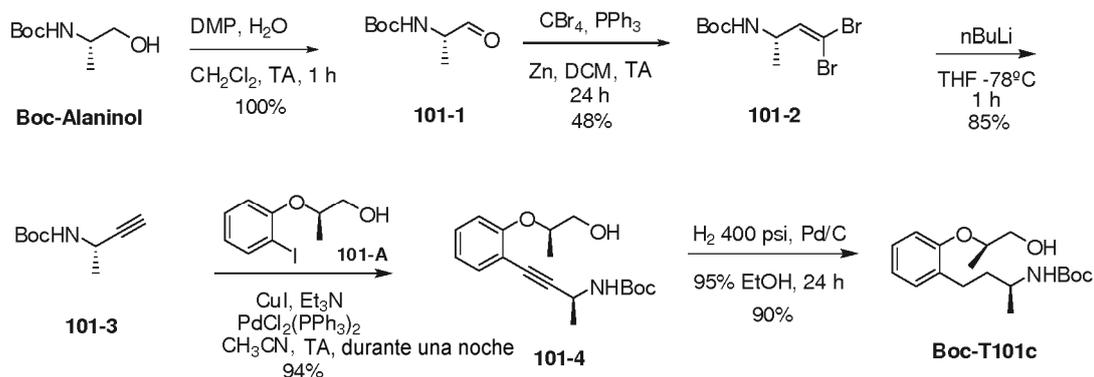
Los compuestos de prueba se administran por vía intravenosa como soluciones acuosas, o soluciones en solución salina normal, a tiempo = 0 a los tres niveles de dosis (0,08 mg/kg; 0,30-0,31 mg/kg, 1,25 mg/kg). Cuando fuera necesario, se añadió ciclodextrina (CD) para solubilizar el material. Los compuestos de prueba que van a examinarse utilizando inyección subcutánea se administran en el tiempo = -30 min. Se probaron cuatro a cinco (4-5) ratas por grupo, excepto en el caso del control de ciclodextrina en el que diez (10) ratas comprenden el grupo.

Los resultados van a informarse como el porcentaje con respecto al peso del estómago para la inyección solo de disolvente como control para ilustrar la capacidad de vaciamiento gástrico de los compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento.

Ejemplo 11

Síntesis de conectores

A. Procedimiento convencional para la síntesis del conector T101



Etapa T101-1: Síntesis del aldehído 101-1 (Meyer, S.D. y S.L. Schreiber J. Org. Chem 1994, 59, 7549-7552): A una solución de Boc-alaninol (29,5 g, 168 mmoles, 1,0 eq) en DCM (1 l) se añadió peryodinato de Dess-Martin (100 g, 236 mmoles, 1,4 eq). Alternativamente pueden usarse IBX y pir-SO₃ para la oxidación. Se añadió H₂O (4,25 ml, 1,4 eq) con un embudo de goteo durante 0,5 horas con agitación vigorosa. Se añadió Et₂O y la solución se filtró, luego se concentró por evaporador rotatorio. El residuo se disolvió en Et₂O y la solución se lavó secuencialmente con NaHCO₃ saturado: 10 % de tiosulfato de sodio (1:1), agua, salmuera. Algunas veces se necesitan lavados adicionales con la primera mezcla para eliminar el ácido acético formado por el reactivo DMP. Las fases acuosas combinadas se retro-extrajeron una vez con Et₂O y las fases orgánicas combinadas se secaron con MgSO₄, se filtraron y se concentraron por evaporador rotatorio para proporcionar 29 g (100 %) de 101-1 como un sólido blanco que se destiló azeotrópicamente suavemente con tolueno (3x). Este material se usó normalmente inmediatamente después de la preparación.

CCF: R_f = 0,3 (hexano/EtOAc, 1/4)

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 9,56 (s, 1H), 5,07 (s a, 1H) 4,29-4,17 (m, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,34 (d, 3H, J = 7,4 Hz).

Etapa T101-2: Síntesis del dibromuro 101-2: A polvo de Zn (20,9 g, 320 mmoles, 2,0 eq) activado [lavado con HCl 0,5 N (3x), H₂O (3x), MeOH (3x), Et₂O (3x) y secado en bomba de vacío] y CBr₄ (106 g, 320 mmoles, 2,0 eq) en DCM (1 l) a 0 °C se añadió, en tres porciones durante 5 min para controlar la reacción exotérmica, PPh₃ (83,9 g, 320 mmoles, 2,0 eq). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 24 h, tiempo durante el cual el color vira de amarillo a rosa. Se añadió 101-1 recién preparado (27,7 g, 160 mmoles, 1,0 eq) en DCM (100 ml). La solución vira a violeta oscuro durante las siguientes 24 h. La solución se concentró por evaporador rotatorio y a continuación se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (hexano/EtOAc, 10/1) proporcionando 25,5 g (48 %) de 101-2 como un sólido blanco.

CCF: R_f = 0,67 (EtOAc/hexanos, 3/7)

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 6,34 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 4,53 (s a, 1H), 4,341-4,27 (m, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,24 (d, 3H, J = 6,8 Hz).

Etapa T101-3: Síntesis del alquino 101-3: A una solución de 101-2 (25,5 g, 77,5 mmoles, 1,0 eq) en THF seco (1,2 L) a -78 °C se añadió gota a gota una solución recién valorada de n-BuLi en hexanos (2,0 M, 116 ml, 232,5 mmoles, 3,0 eq). La solución se agitó a -78 °C durante 1,0 h. Entonces se añadió una solución de NaOH 0,01 N (300 ml) y la mezcla se calentó hasta temperatura ambiente. La fase acuosa se extrajo con Et₂O (2 x 300 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 300 ml), se secaron sobre MgSO₄, se concentraron por evaporador rotatorio, luego se purificaron por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (hexanos/EtOAc, 4/1) proporcionando 11,1 g (85 %) de 101-3 como un sólido blanco.

CCF: R_f = 0,57 (Et₂O/hexano, 2/3)

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 4,68 (s a, 1H), 4,55-4,41 (m, 1H), 2,24 (d, 1H, J = 2,3 Hz), 1,45 (s, 9H), 1,40 (d, 3H, J = 6,9 Hz).

Etapa T101-4: Síntesis del alquino 101-4: A una solución de 101-3 (10,0 g, 62,1 mmoles, 1,0 eq) y yodo-alcohol [101-A, 22,5 g, 80,7 mmoles, 1,3 eq, preparado como se describe previamente para T33 (documentos WO 2004/111077; WO 2005/012331; WO 2006/009674)] en CH₃CN (460 ml) se burbujeó argón durante 20 min. Se añadió Et₃N recién destilado (se sometió a reflujo durante 4 h sobre CaH₂, luego se destiló, 31 ml, 224 mmoles, 3,6 eq) y se burbujeó argón durante 10 min. Entonces se añadieron CuI recristalizado (355 mg, 1,9 mmoles, 0,03 eq) y PdCl₂(PPh₃)₂ (1,33 g, 1,9 mmoles, 0,03 eq). La reacción se agitó bajo atmósfera de argón durante la noche a temperatura ambiente con monitorización por CCF. Los volátiles se eliminaron por evaporador rotatorio y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (DCM/EtOAc, 4/1) proporcionando 18,6 g (94 %) de 101-4 como un sólido naranja.

CCF: R_f = 0,13 (Et₂O/hexano, 1/4)

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7,37 (dd, 1H, J = 1,8, 7,8 Hz), 7,28-7,23 (m, 1H), 6,94 (dtd, 2H, J = 1,1, 3,5, 4,6 Hz), 4,87 (s a, 1H), 4,78-4,65 (m, 1H), 4,52-4,41 (m, 1H), 3,74 (dd, 2H, J = 2,2, 5,0 Hz), 1,49 (d, 3H, J = 6,8 Hz), 1,46 (s, 9H), 1,32 (d, 3H, J = 6,2 Hz)

El estereoisómero (2R,9R) de 101-4 correspondiente se prepara análogamente a partir de Boc-D-alaninol con rendimiento similar.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7,37 (dd, 1H, J = 1,7, 7,8 Hz), 7,26 (dd, 1H, J = 1,7, 15,8 Hz), 6,98-6,92 (m, 2H),

4,98 (s a, 1H), 4,79-4,64 (m, 1H), 4,47 (d p, 1H, $J = 3,5, 6,3$ Hz), 3,73 (dq, 2H, $J = 5,0, 11,8$ Hz), 1,48 (d, 3H, $J = 6,9$ Hz), 1,46 (s, 9H), 1,31 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz)

Etapa T101-5: Hidrogenación: Al alquino 101-4 (1,87 g, 5,86 mmoles, 1,0 eq) se añadió 10 % de Pd/C (280 mg, 15 % en peso) y 95 % de EtOH (150 ml). La mezcla se dispuso en un aparato de hidrogenación (Parr por ejemplo) bajo una presión de 400 psi de hidrógeno durante 24 h. La monitorización puede realizarse por CL-EM. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite®, luego se concentró por evaporador rotatorio para proporcionar 1,7 g (90 %) de Boc-T101c como un aceite incoloro.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7,18-7,10 (m, 2H), 6,90-6,82 (m, 2H), 4,58-4,46 (m, 2H), 3,79 (d, 2H, $J = 5,2$ Hz), 3,74-3,60 (m, 1H), 2,61 (dtd, 2H, $J = 5,4, 12,9, 23,5$ Hz), 1,92-1,85 (m, 2H), 1,44 (s, 9H), 1,26 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz), 1,16 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz). CL-EM (Grado B4) t_R : 12,62 min

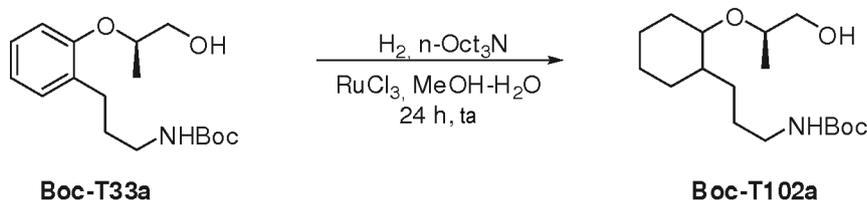
Se prepara Boc-T101a similarmente a partir del isómero (2R,9R) de 101-4.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7,19-7,11 (m, 2H), 6,91-6,84 (m, 2H), 4,58-4,48 (m, 2H), 3,87-3,79 (m, 1H), 3,74 (dd, 1H, $J = 6,3, 11,8$ Hz), 3,69-3,55 (m, 1H), 2,64 (t, 2H, $J = 7,4$ Hz), 1,85-1,61 (m, 2H), 1,45 (s, 9H), 1,29 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz), 1,15 (d, 3H, $J = 6,6$ Hz).

CL-EM (Grado B4) t_R : 12,57 min

Pueden aplicarse síntesis análogas a partir de uno o ambos de los materiales de partida enantioméricos, Boc-D-alaninol y la Boc-(R)-metilpropargilamina (101-3), para proporcionar los otros posibles estereoisómeros.

B. Procedimiento convencional para la síntesis del conector T102



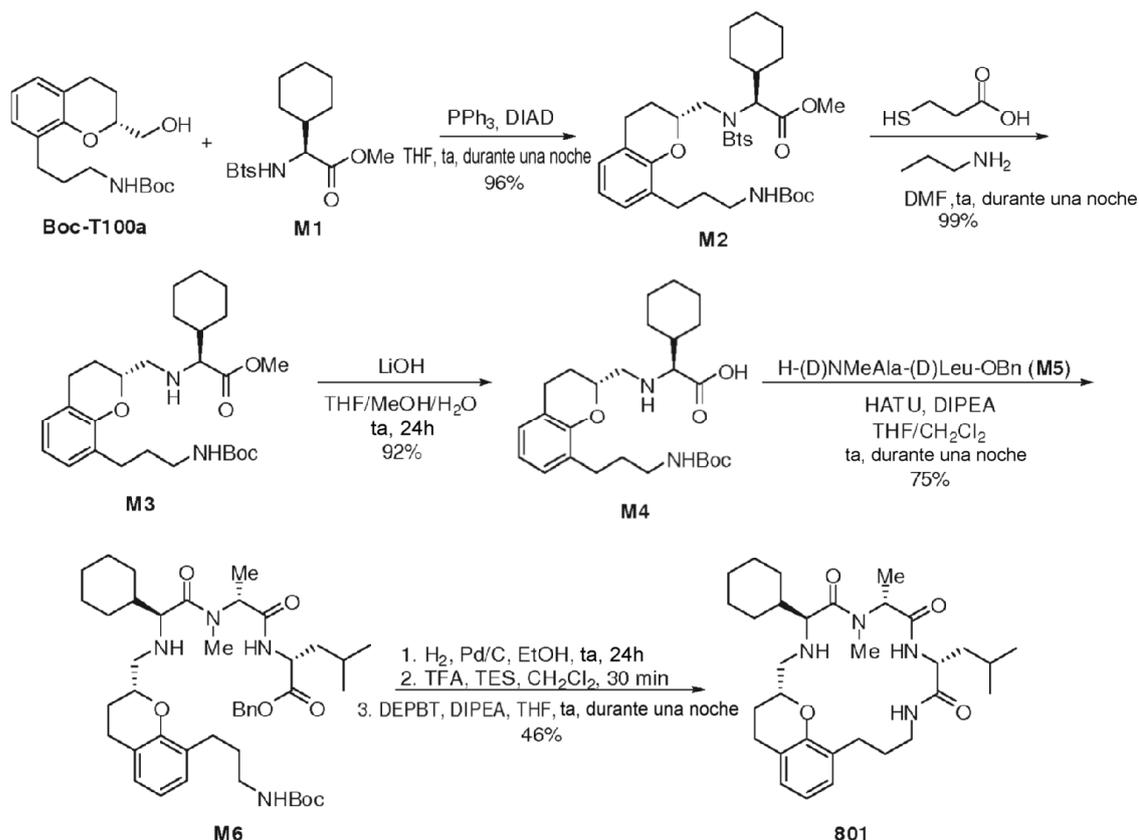
Se obtiene el precursor Boc-T33a como se describe previamente (documentos WO 2004/111077; WO 2005/012331). Se disolvieron Boc-T33a (39 mmoles), trioctilamina (1,2 ml, 3,28 mmoles) y RuCl_3 (0,936 mmoles, 195 mg) en 59 ml de $\text{MeOH-H}_2\text{O}$ (70:30, v/v) y se agitaron bajo 750 psi de H_2 durante 24 h a temperatura ambiente. La mezcla se filtró, luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (3/7, AcOEt/hexanos) proporcionando Boc-T102a con un rendimiento del 80-90 %. Puede sintetizarse Boc-T102b análogamente a partir de Boc-T33b.

CL-EM (Grado B4) t_R : 7,62 y 8,12 min (mezcla diaestereomérica alrededor de los átomos de C del anillo); EM: 315

Ejemplo 12

Síntesis de macrociclos

A. Procedimiento convencional para la síntesis del compuesto 801



Etapa A-1: A una solución de Boc-T100a (35,04 g, 112 mmoles, 1,1 eq) y M1 (37,46 g, 102 mmoles, 1,0 eq) en THF (205 ml) se añadió PPh₃ (29,4 g, 112 mmoles, 1,1 eq). La solución se enfrió a 0 °C y se añadió DIAD (22 ml, 112 mmoles, 1,1 eq) durante un periodo de 5 min. El baño de hielo se dejó en su lugar y la reacción se agitó durante la noche. Los disolventes se evaporaron a vacío y el residuo se purificó sobre cromatografía en columna de relleno seca (5 % de acetona/tolueno) dando M2 (73 g, 96 %).

Etapa A-2: A una solución de M1 (73,0 g, 109 mmoles, 1,0 eq) en DMF (550 ml) se añadieron ácido mercaptopropiónico (47 ml, 545 mmoles, 5 eq) y *n*-propilamina (45 ml, 545 mmoles, 5 eq). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Entonces se añadió agua (1000 ml) y la mezcla se extrajo con Et₂O (4 x 500 ml). La fase orgánica combinada se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (2 x 500 ml) y salmuera (500 ml), se secó con MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna de relleno seco (25 % de AcOEt/hexanos) dando M3 (52,2 g, >99 %).

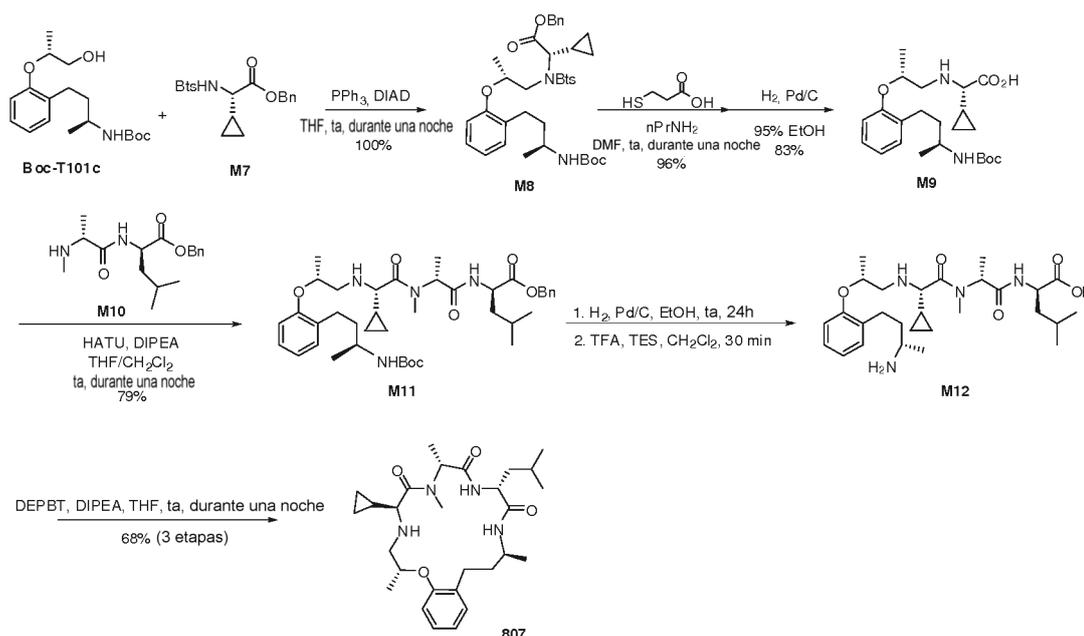
Etapa A-3: A una solución de M3 en THF/MeOH/agua (1:1:1) (1050 ml) se añadió LiOH (22,9 g, 545 mmoles, 5 eq). La reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Entonces se añadió otra porción de LiOH (22,9 g, 545 mmoles, 5 eq) y la solución se agitó durante otras 5 h. Los volátiles se evaporaron a vacío, el residuo resultante se filtró sobre un medio de filtro de vidrio fritado y se lavó con agua (3 x 100 ml) y MTBE (2 x 100 ml). El sólido blanco se dejó secar al aire durante 4 d dando M4 (50 g). Para recuperar material adicional del filtrado, se añadió MTBE (100 ml) y las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo con MTBE (100 ml), se saturó con LiCl y se extrajo otra vez con AcOEt (5 x 300 ml). La fase orgánica combinada se secó con MgSO₄, se filtró y se evaporó a vacío dando M4 adicional (3 g). Las muestras de M4 se combinaron y se destilaron azeotrópicamente con tolueno (3x). El producto se secó a alto vacío (bomba de aceite) dando M4 (46,6 g, 92 %).

Etapa A-4: A una solución de M4 (46,6 g, 99,9 mmoles, 1,05 eq) y dipéptido M5 (32,6 g, 95,1 mmoles, 1,0 eq) en THF/CH₂Cl₂ (1:1) (1000 ml) se añadió DIPEA (83 ml, 476 mmoles, 5 eq) y HATU (39,9 g, 105 mmoles, 1,1 eq). La suspensión se volvió bastante densa y difícil de agitar, así se añadió THF/CH₂Cl₂ (1:1) (1000 ml). La reacción se agitó durante la noche. Entonces, el disolvente se evaporó y el residuo se disolvió en AcOEt (2000 ml) y tampón citrato 1 M (300 ml). Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó secuencialmente con tampón citrato 1 M (300 ml), NaHCO₃ saturado (2 x 300 ml) y salmuera (500 ml). La fase orgánica se secó con MgSO₄, se filtró y se evaporó dando un residuo que se purificó sobre cromatografía en columna de relleno seco (25 % -> 50 % -> 75 % de AcOEt/hexanos) dando M6 (71,1 g, 74,6 %).

Etapa A-5: Se purgó una solución de M6 (53,2 g, 71 mmoles, 1,0 eq) en 95 % de EtOH (1400 ml) con nitrógeno. Entonces se añadió catalizador de paladio (10 % en peso/peso sobre carbón, húmedo al 50 %, 3,02 g, 1,42 mmoles, 0,02 eq) y se burbujó H₂ en la reacción durante la noche. La mezcla de reacción se purgó con nitrógeno, se añadió otra porción de catalizador (12 g, 5,6 mmoles, 0,08 eq) y se burbujó H₂ a través de la mezcla durante otras 5 h. La reacción se filtró entonces sobre una almohadilla de Celite® y se aclaró con 95 %

de EtOH y AcOEt. Los disolventes se evaporaron a vacío y el residuo se destiló azeotrópicamente con tolueno. El producto en bruto así obtenido se disolvió en CH₂Cl₂ (500 ml) y TES (25 ml), entonces se añadió TFA (250 ml). La solución se agitó durante 30 min, se evaporó a vacío y se destiló azeotrópicamente con tolueno (3 x 500 ml). El residuo se disolvió en THF (1400 ml) bajo nitrógeno y se añadió DIPEA (62 ml, 355 mmoles, 5 eq). La solución se agitó durante 5 min y entonces se añadió DEPBT (27,6 g, 92,3 mmoles, 1,3 eq). La reacción se agitó durante la noche y se evaporó a vacío. Se añadió una solución de Na₂CO₃ 1 M (1000 ml), la mezcla se agitó 5 min, entonces se añadió AcOEt (400 ml). Se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con AcOEt (3 x 500 ml). La fase orgánica combinada se lavó con una solución de Na₂CO₃ 1 M (250 ml), entonces salmuera (2 x 250 ml), se secó con MgSO₄, se filtró y se evaporó a vacío proporcionando 801 (17,5 g, 45,5 %, rendimiento global del 30 %).

B. Procedimiento convencional para la síntesis del compuesto 807



Utilizando una secuencia de reacción similar a como se describe para el compuesto 801, el compuesto 807 se ensambló a partir de T101c, el derivado de ciclopropilglicina protegido (M7) y el dipéptido protegido (M10) con un rendimiento global del 45 %.

RMN ¹H (CD₃CN, 300 MHz): δ 0,24-0,46 (m), 0,88 (d, J=6,1 Hz), 0,93 (d, J=6,3 Hz), 0,91-1,00 (m), 1,06 (d, J=6,6 Hz), 1,16 (d, J=6,0 Hz), 1,47 (d, J=7,5 Hz), 1,41-1,52 (m), 1,52-1,61 (m), 1,68-1,87 (m), 2,16 (dt, J=4,2, 12,5 Hz), 2,61-2,78 (ddd, J=5,6, 11,2, 19,7 Hz), 2,89 (dt, J=4,4, 12,6 Hz), 3,14 (s), 3,55 (d, J=6,4 Hz), 4,00 (m), 4,08-4,19 (m), 4,25 (q, J=7,5 Hz), 4,51-4,62 (m), 6,36 (d, J=7,4 Hz), 6,83 (dt, J=1,0, 7,4 Hz), 6,91 (d, J=8,0 Hz), 7,09-7,16 (m), 7,29 (d, J=8,9 Hz). RMN ¹³C (CD₃CN, 75 MHz): δ 1,3, 2,7, 14,4, 14,9, 17,7, 21,5, 22,0, 23,4, 25,6, 29,4, 33,5, 39,2, 41,3, 46,7, 53,8, 55,9, 59,0, 60,1, 73,4, 113,2, 121,3, 127,9, 131,4, 132,8, 155,8, 172,3, 172,5, 177,7

Los rendimientos globales para los otros compuestos macrocíclicos descritos en el presente documento preparados usando el enfoque general descrito para 801 y 807 se presentan en la siguiente tabla.

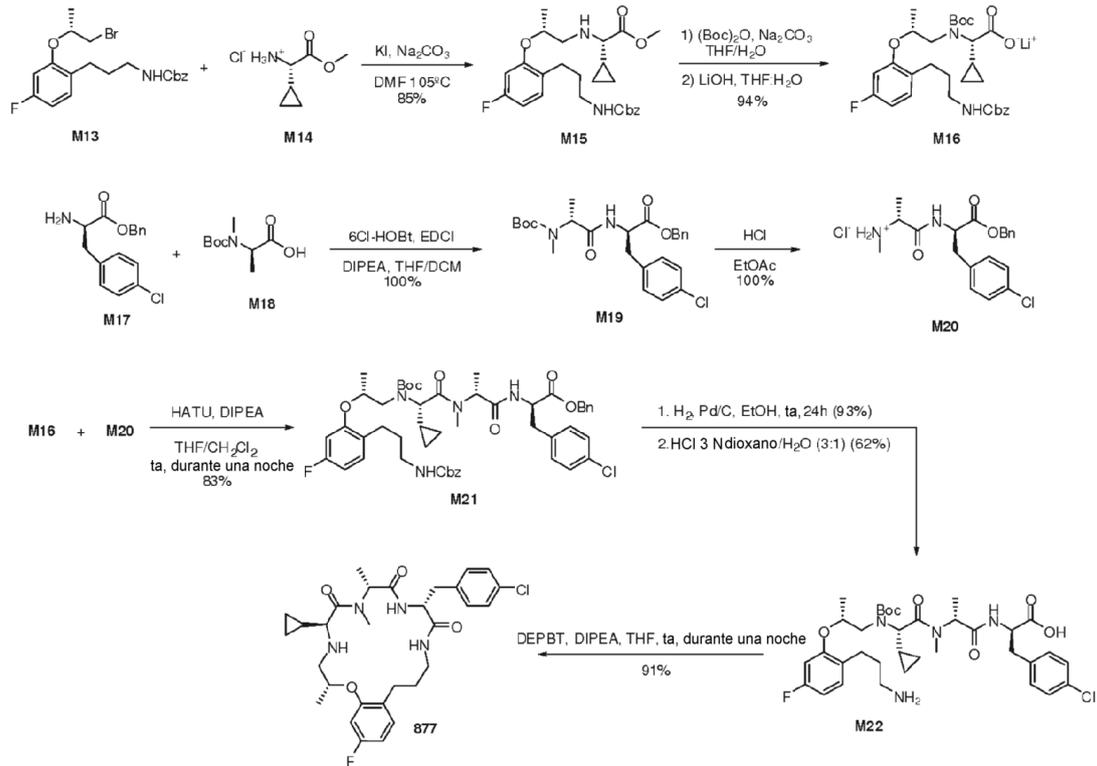
Rendimientos de macrociclos representativos adicionales

Compuesto	Rendimiento global
808	38,2 %
809	36,3 %
810	42,5 %
820	5,6 %
825	56,5 %
826	27,5 %

(continuación)

Compuesto	Rendimiento global
1003	7,8 %
1005	15,1 %
1006	4,2 %
1007	5,6 %
1010	43,5 %
1011	52,6 %
1017	35,3 %
1018	38,5 %
1033	25,0 %
1034	9,6 %
1055	19,9 %
1069	9,9 %
1072	10,5 %
1084	28,9 %
1087	38,1 %
1088	17,2 %
1089	24,4 %
1098	20,3 %
1106	49,1 %
1107	65,5 %
1118	33,0 %

C. Procedimiento convencional para la síntesis del compuesto 877

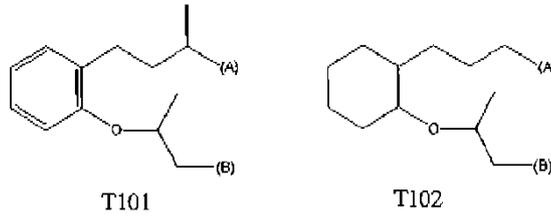


5 También puede emplearse una secuencia de reacción ligeramente modificada a la descrita para los compuestos 801 y 807 para ensamblar la región estructural macrocíclica. En este enfoque, la alquilación inicial se hace mediante un desplazamiento SN2 en vez de una reacción de Mitsunobu. Esto se ilustra para la síntesis del compuesto 877 a partir del bromuro derivado del conector Boc-T75a (M13), éster metílico de ciclopropilglicina (M14) y el dipéptido protegido (M20) con un rendimiento global del 35 %.

Lo anterior es ilustrativo de la presente invención, y no debe interpretarse como limitante de la misma. La invención se define por las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula HO-T-NRPG, en la que -T- tiene una de las siguientes estructuras:



o un isómero óptico, enantiómero o diaestereómero del mismo, en las que:

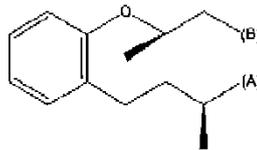
- 5 (A) indica donde T se une al grupo NRPG;
 (B) indica donde T se une al grupo OH;

PG está seleccionado del grupo que consiste en hidrógeno y un grupo protector para un grupo funcional amina seleccionado del grupo que consiste en ftalimido, tricloroacetilo, benciloxicarbonilo, *tert*-butoxicarbonilo, adamantiloxicarbonilo, aliloxicarbonilo, 9-fluorenilmetoxicarbonilo y α,α -dimetil-3,5-dimetoxibenciloxicarbonilo; y

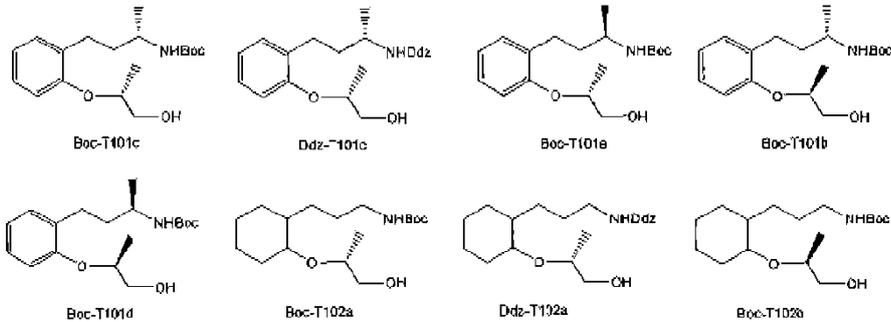
10 R es hidrógeno.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el grupo protector para un grupo funcional amina es *tert*-butoxicarbonilo o α,α -dimetil-3,5-dimetoxibenciloxicarbonilo.

3. El compuesto de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que -T- tiene la estructura:

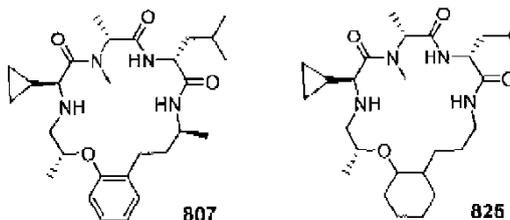


15 4. El compuesto de la reivindicación 1, que es el compuesto seleccionado del grupo que consiste en:

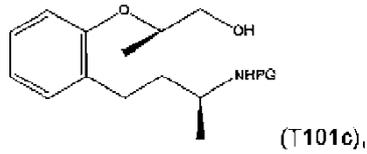


o un diaestereómero de uno cualquiera de los compuestos Boc-T102a, Ddz-T102a y Boc-T102b.

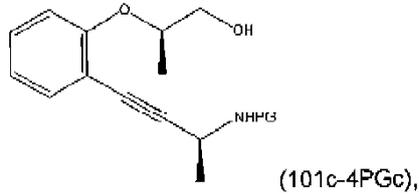
20 5. Uso de un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en la fabricación de un macrocíclico conformacionalmente definido de fórmula 807 o 825:



6. Un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula T101c:



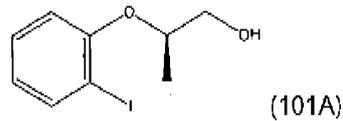
que comprende hidrogenar un compuesto de fórmula 101c-4PG;



en la que:

5 PG es como se define en la reivindicación 1 o la reivindicación 2.

7. El procedimiento de la reivindicación 6, en el que el compuesto de fórmula 101c-4PG se prepara haciendo reaccionar un compuesto de fórmula 101A



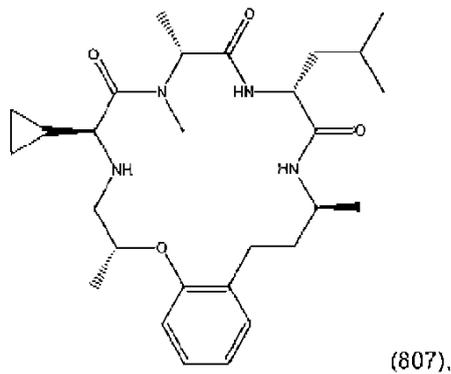
con un compuesto de fórmula 101c-3PG



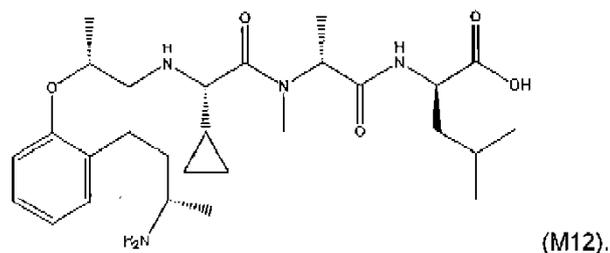
10

8. El procedimiento de la reivindicación 6 o la reivindicación 7, en el que PG es *tert*-butoxicarbonilo.

9. Un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula 807:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende ciclar un compuesto de fórmula M12:



15

10. El procedimiento de la reivindicación 9, en el que el ciclado comprende el uso de 3-(dióxifosforilo)-1,2,3-benzotrazin-4(3H)-ona.