



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101267830 B

(45) 授权公告日 2012. 02. 29

(21) 申请号 200680034836. 7

A61K 45/00(2006. 01)

(22) 申请日 2006. 07. 24

A61P 5/00(2006. 01)

(30) 优先权数据

A61P 1/00(2006. 01)

60/701, 729 2005. 07. 22 US

A61P 1/14(2006. 01)

G01N 33/68(2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

(56) 对比文件

2008. 03. 21

Michael Ankersen, et al. Growth hormone secretagogues derived from NN703 with hydrazides as c-terminal. 《Eur. J. Med. Chem. 》. 2000, 第 35 卷 487-497.

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2006/029002 2006. 07. 24

(87) PCT申请的公布数据

W02007/014258 EN 2007. 02. 01

Vincent Guerlavais, et al. New Active Series of Growth Hormone Secretagogues. 《J. Med. Chem. 》. 2003, 第 46 卷 1191-1203.

(73) 专利权人 益普生制药股份有限公司

地址 法国布洛涅-比扬古

审查员 张瑶

(72) 发明人 董正欣 J·S·埃耶昂 Y·舍恩

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 黄革生 贾士聪

(51) Int. Cl.

C07K 5/06(2006. 01)

C07K 14/72(2006. 01)

A61K 38/05(2006. 01)

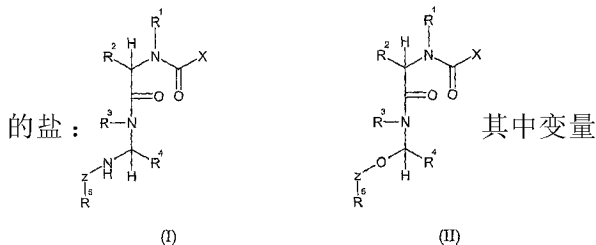
权利要求书 13 页 说明书 85 页

(54) 发明名称

生长激素促分泌物

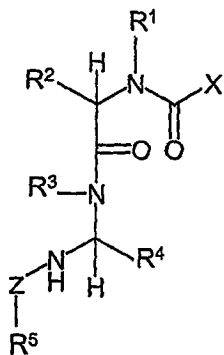
(57) 摘要

本发明涉及如下所示的式 (I) 或 (II) 的一族可用作 GHS 类似物的肽和拟肽化合物或其可药用



的定义如说明书中所述。

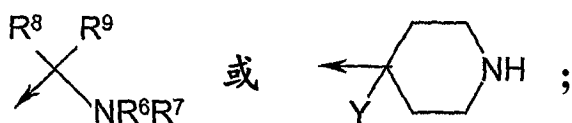
1. 式 (I) 的化合物或其可药用的盐,



(I),

其中

X 是

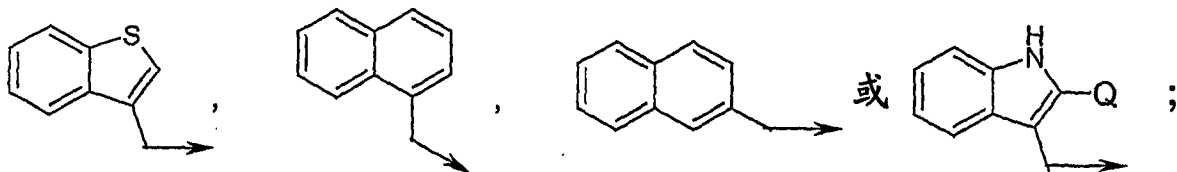


Y 是 H;

Z 是 -C(O)-;

R<sup>1</sup> 和 R<sup>3</sup> 各自独立地是 H;

R<sup>2</sup> 和 R<sup>4</sup> 各自独立地是

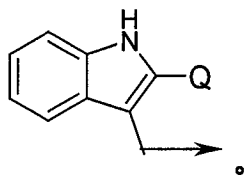


R<sup>5</sup> 是 H、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基;

R<sup>8</sup> 和 R<sup>9</sup> 各自独立地是 (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷基;

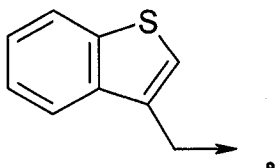
R<sup>6</sup> 和 R<sup>7</sup> 各自独立地是 H;且

Q 是 H;

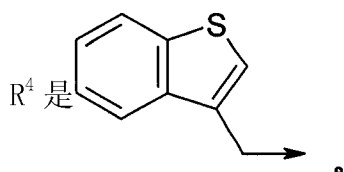
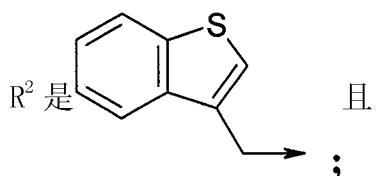


条件是在所述化合物中, R<sup>2</sup> 和 R<sup>4</sup> 不均是

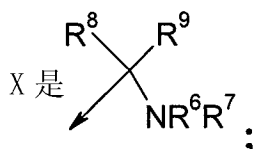
2. 根据权利要求 1 所述的化合物或其可药用的盐, 其中 R<sup>2</sup> 和 R<sup>4</sup> 中至少一个是



3. 根据权利要求 2 所述的化合物或其可药用的盐, 其中



4. 根据权利要求 3 所述的化合物或其可药用的盐, 其中



$R^6$  和  $R^7$  各自独立地是 H; 且

$R^8$  和  $R^9$  各自独立地是  $CH_3$ 。

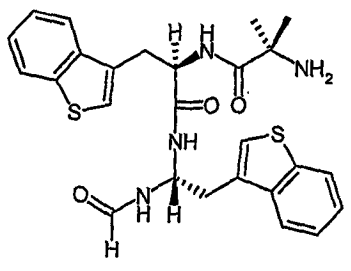
5. 根据权利要求 4 所述的化合物或其可药用的盐, 其中

$R^1$  是 H;

$R^3$  是 H; 且

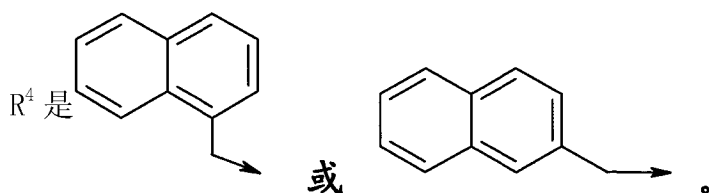
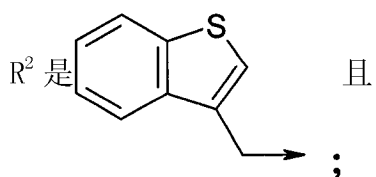
$R^5$  是 H、甲基、乙基、异丙基或叔-丁基。

6. 根据权利要求 3 所述的化合物, 其选自由下列化合物组成的组:

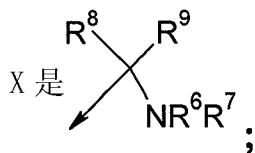


或其可药用的盐。

7. 根据权利要求 2 所述的化合物或其可药用的盐, 其中



8. 根据权利要求 7 所述的化合物或其可药用的盐, 其中



R<sup>6</sup> 和 R<sup>7</sup> 各自独立地是 H ; 且

R<sup>8</sup> 和 R<sup>9</sup> 各自独立地是 CH<sub>3</sub>。

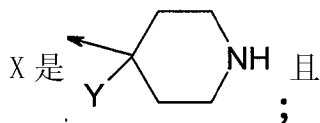
9. 根据权利要求 8 所述的化合物或其可药用的盐, 其中

R<sup>1</sup> 是 H ;

R<sup>3</sup> 是 H ; 且

R<sup>5</sup> 是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

10. 根据权利要求 7 所述的化合物或其可药用的盐, 其中



Y 是 H。

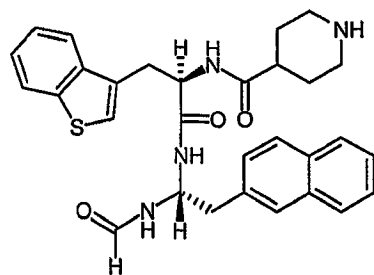
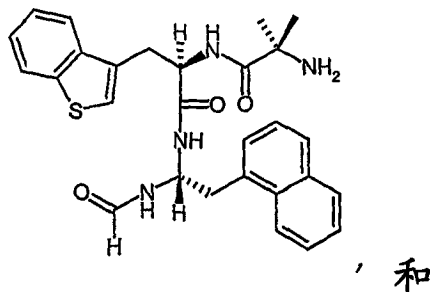
11. 根据权利要求 10 所述的化合物或其可药用的盐, 其中

R<sup>1</sup> 是 H ;

R<sup>3</sup> 是 H ; 且

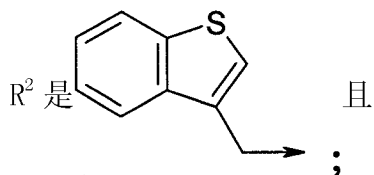
R<sup>5</sup> 是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

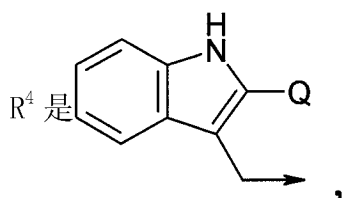
12. 根据权利要求 7 所述的化合物, 其选自由下列化合物组成的组 :



或其可药用的盐。

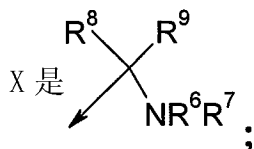
13. 根据权利要求 2 所述的化合物或其可药用的盐, 其中





其中 Q 是 H。

14. 根据权利要求 13 所述的化合物或其可药用的盐, 其中



$R^6$  和  $R^7$  各自独立地是 H; 且

$R^8$  和  $R^9$  各自独立地是  $\text{CH}_3$ 。

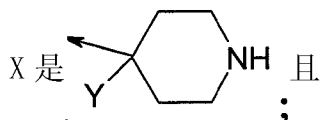
15. 根据权利要求 14 所述的化合物或其可药用的盐, 其中

$R^1$  是 H;

$R^3$  是 H; 且

$R^5$  是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

16. 根据权利要求 13 所述的化合物或其可药用的盐, 其中



Y 是 H。

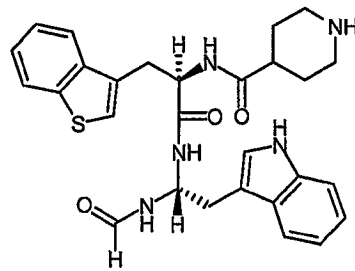
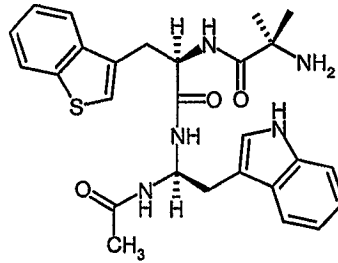
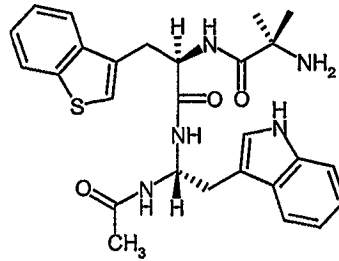
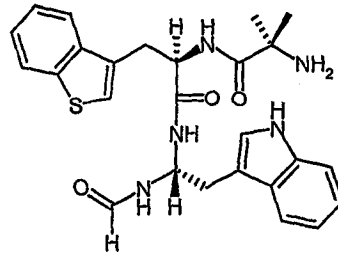
17. 根据权利要求 16 所述的化合物或其可药用的盐, 其中

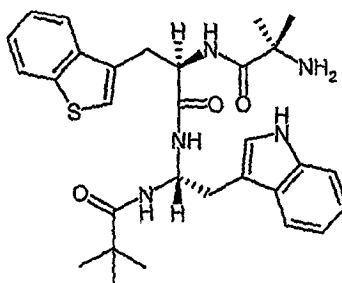
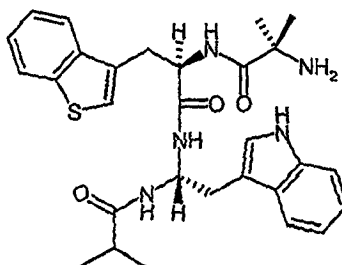
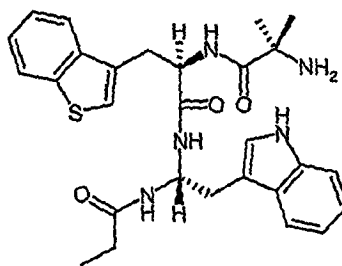
$R^1$  是 H;

$R^3$  是 H; 且

$R^5$  是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

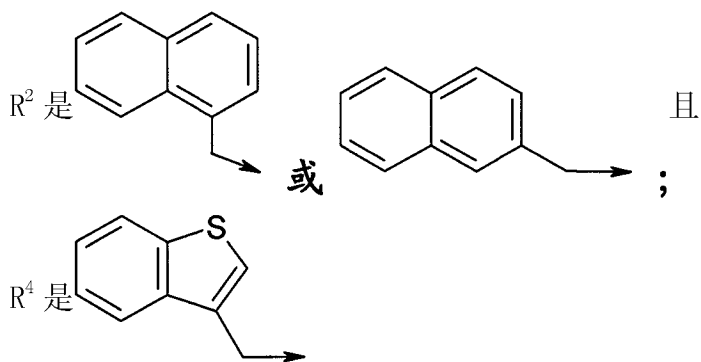
18. 根据权利要求 13 所述的化合物, 其选自由下列化合物组成的组:



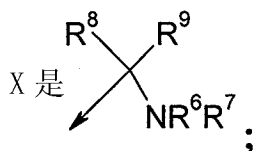


或其可药用的盐。

19. 根据权利要求 2 所述的化合物或其可药用的盐, 其中



20. 根据权利要求 19 所述的化合物或其可药用的盐, 其中



R<sup>6</sup> 和 R<sup>7</sup> 各自独立地是 H; 且

R<sup>8</sup> 和 R<sup>9</sup> 各自独立地是 CH<sub>3</sub>。

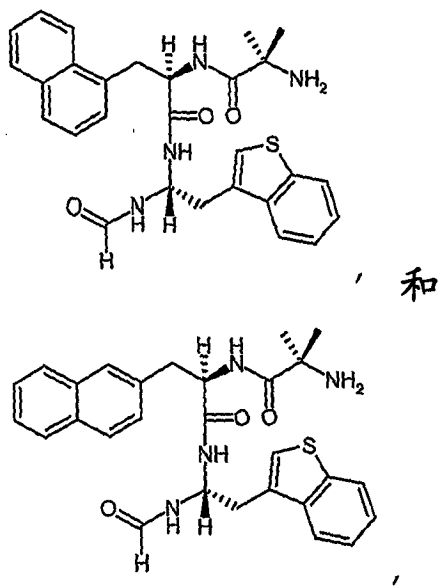
21. 根据权利要求 20 所述的化合物或其可药用的盐, 其中

R<sup>1</sup> 是 H;

R<sup>3</sup> 是 H; 且

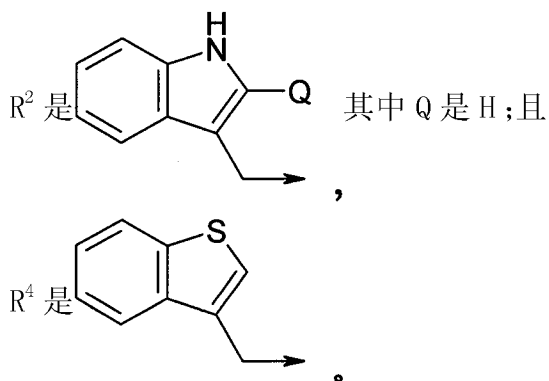
R<sup>5</sup> 是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

22. 根据权利要求 19 所述的化合物,其选自由下列化合物组成的组:

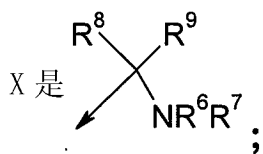


或其可药用的盐。

23. 根据权利要求 2 所述的化合物或其可药用的盐,其中



24. 根据权利要求 23 所述的化合物或其可药用的盐,其中



R<sup>6</sup> 和 R<sup>7</sup> 各自独立地是 H;且

R<sup>8</sup> 和 R<sup>9</sup> 各自独立地是 CH<sub>3</sub>。

25. 根据权利要求 24 所述的化合物或其可药用的盐,其中

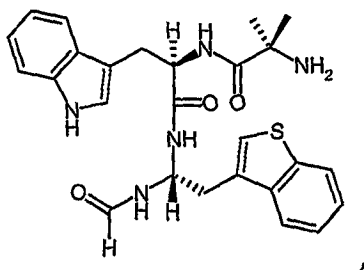
R<sup>1</sup> 是 H;

R<sup>3</sup> 是 H;且

R<sup>5</sup> 是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

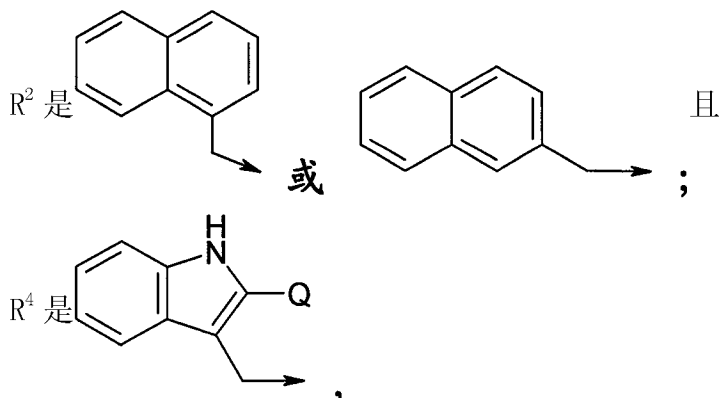
26. 根据权利要求 23 所述的化合物,其选自由下列化合物组成的组:





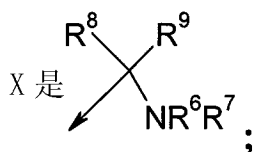
或其可药用的盐。

27. 根据权利要求 1 所述的化合物或其可药用的盐, 其中



其中 Q 是 H。

28. 根据权利要求 27 所述的化合物或其可药用的盐, 其中



$R^6$  和  $R^7$  各自独立地是 H ; 且

$R^8$  和  $R^9$  各自独立地是  $CH_3$ 。

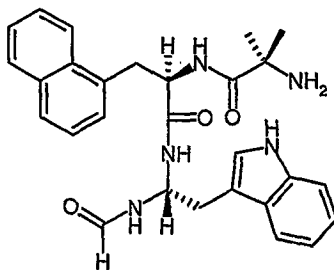
29. 根据权利要求 28 所述的化合物或其可药用的盐, 其中

$R^1$  是 H ;

$R^3$  是 H ; 且

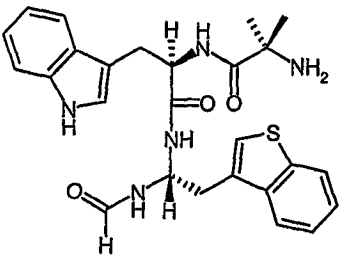
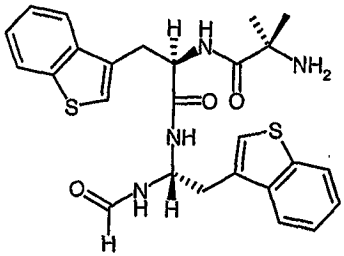
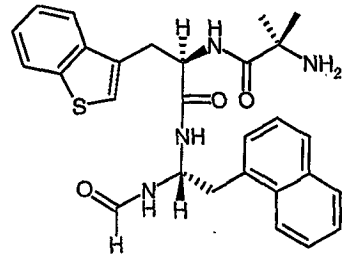
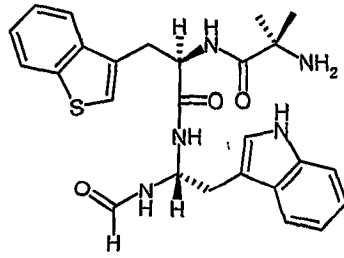
$R^5$  是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

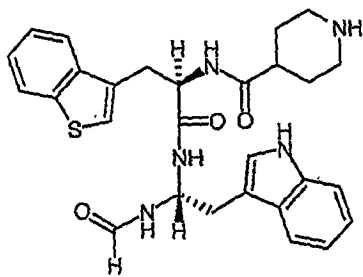
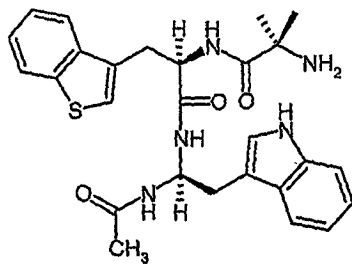
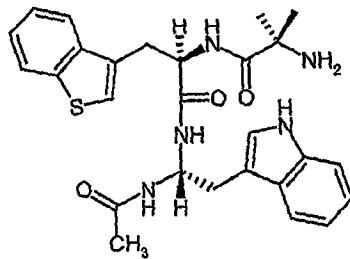
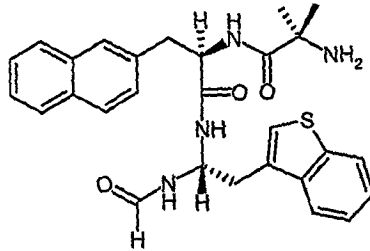
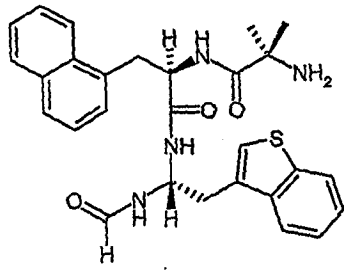
30. 根据权利要求 27 所述的化合物, 其选自由下列化合物组成的组 :



或其可药用的盐。

31. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中所述化合物是下式的化合物 :







的片段、包含所述受体的所述片段的多肽或所述多肽的衍生物结合的能力的步骤。

36. 用于非治疗目的的筛选葛瑞林激动剂的方法,所述方法包括在用供试化合物进行的竞争实验中使用权利要求 1-31 中任意一项所述的化合物或其可药用盐的步骤。

37. 用于非治疗目的的筛选葛瑞林拮抗剂的方法,所述方法包括使用权利要求 1-31 中任意一项所述的化合物或其可药用盐来产生 GHS 受体活性和然后测量供试化合物改变 GHS 受体活性的能力的步骤。

38. 有效量的权利要求 1-31 中任意一项所述的化合物或其可药用盐在制备药物中的用途,所述化合物是葛瑞林激动剂,所述药物用于在需要该类刺激的个体中刺激生长激素分泌,其中所述有效量是至少足以使生长激素分泌产生可察觉的增加的量。

39. 根据权利要求 38 所述的用途,其中所述有效量是足以在个体中取得有益作用的量。

40. 根据权利要求 38 所述的用途,其中所述的刺激生长激素分泌适合用于治疗生长激素不足的状态、用于增加肌肉质量、用于增加骨密度、用于男性或女性的性功能障碍、用于促进体重增加、用于帮助维持体重、用于帮助维持身体机能、用于帮助恢复躯体功能和 / 或促进食欲增加。

41. 根据权利要求 40 所述的用途,其中所述的促进体重增加、帮助维持体重和 / 或促进食欲增加适合用于患有伴有体重降低的疾病或障碍或者进行伴有体重降低的治疗的个体。

42. 根据权利要求 41 所述的用途,其中所述的伴有体重降低的疾病或障碍选自食欲缺乏、食欲过盛、AIDS、AIDS 消瘦、恶病质、心血管疾病、骨质疏松、关节炎、系统性红斑狼疮、炎症性肠病、克隆病、溃疡性结肠炎、慢性肾衰竭和体弱年老者的消瘦。

43. 根据权利要求 41 所述的用途,其中所述的伴有体重降低的疾病或障碍是癌症恶病质。

44. 根据权利要求 41 所述的用途,其中所述的伴有体重降低的治疗选自化疗、放疗、暂时或永久性固定和透析。

45. 有效量的权利要求 1-31 中任意一项所述的化合物或其可药用盐在制备药物中的用途,所述化合物是葛瑞林拮抗剂,所述药物用于在需要该类抑制的个体中抑制生长激素分泌,其中所述有效量是至少足以使生长激素分泌产生可察觉的降低的量。

46. 根据权利要求 45 所述的用途,其中所述有效量是足以在个体中取得有益作用的量。

47. 根据权利要求 45 所述的用途,其中所述的在需要该类抑制的个体中抑制生长激素分泌适合用于治疗以过度的生长激素分泌为特征的疾病或病症、用于促进体重降低、用于促进食欲降低、用于帮助维持体重、用于治疗肥胖、用于预防和 / 或治疗糖尿病、用于治疗包括视网膜病在内的糖尿病并发症和 / 或用于治疗心血管障碍。

48. 根据权利要求 47 所述的用途,其中所述的需要该类抑制的个体体重过重,所述体重过重是选自糖尿病、血脂障碍、心血管疾病、胆结石、骨关节炎、普 - 威综合征和癌症的疾病或病症的贡献因素。

49. 根据权利要求 48 所述的用途,其中所述的心血管疾病是高血压。

50. 根据权利要求 48 或 49 所述的用途,其中所述的促进体重降低降低该类疾病或病症的可能性。

51. 根据权利要求 48 或 49 所述的用途,其中所述的促进体重降低构成该类疾病或病症的至少一部分治疗。

52. 有效量的权利要求 1-31 中任意一项所述的化合物或其可药用盐在制备药物中的用途,所述化合物是葛瑞林激动剂,所述药物用于在个体中引起葛瑞林激动剂作用,其中所述有效量是至少足以使生长激素分泌产生可察觉的降低的量。

53. 根据权利要求 52 所述的用途,其中所述有效量是足以在个体中取得有益作用的量。

54. 有效量的权利要求 1-31 中任意一项所述的化合物或其可药用盐在制备药物中的用途,所述化合物是葛瑞林拮抗剂,所述药物用于在个体中引起葛瑞林拮抗剂作用,其中所述有效量是至少足以使生长激素分泌产生可察觉的降低的量。

55. 根据权利要求 54 所述的用途,其中所述有效量是足以在个体中取得有益作用的量。

56. 有效量的权利要求 1-31 中任意一项所述的化合物或其可药用盐在制备药物中的用途,所述化合物是葛瑞林拮抗剂,所述药物用于在需要其的个体中促进胃肠蠕动,其中所述有效量是至少足以促进胃肠蠕动的量。

57. 根据权利要求 56 所述的用途,其中所述有效量是足以在个体中取得有益作用的量。

58. 根据权利要求 56 所述的用途,其中所述的需要其的个体患有手术后肠梗阻或胃轻瘫,并且具有减少的胃肠蠕动。

59. 根据权利要求 58 所述的用途,其中所述的胃轻瘫是糖尿病发作所伴随的或者是由慢性糖尿病状态造成的。

## 生长激素促分泌物

### 背景技术

[0001] 生长激素由脑垂体生长激素细胞 (somatotrop) 中的脉冲释放是由两种下丘脑神经肽调节的:生长激素释放激素和促生长素抑制素。生长激素释放激素刺激生长激素的释放,而促生长素抑制素抑制生长激素的分泌。(Frohman 等人, *Endocrinology Review*, (1986), 7 :223-253 和 Strobi 等人, *Pharmacol. Review*, (1994), 46 :1-34)。

[0002] 生长激素释放肽 (GHRP) 也可控制生长激素由脑垂体生长激素细胞中的释放。发现该六肽 GHRP, His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys- 酰胺 (GHRP-6) 在包括人在内的多种种属中以剂量依赖性方式由生长激素细胞中释放生长激素 (Bowers 等人, *Endocrinology*, (1984), 114 :1537-45)。对 GHRP-6 进行的随后的化学研究鉴定了其它一些有效的生长激素促分泌物 (growth hormone secretagogue) 如 GHRP-I、GHRP-2 和海沙瑞林 (hexarelin) (Cheng 等人, *Endocrinology*, (1989), 124 :2791-8 ;Bowers, C. Y., 新型 GH- 释放肽 (Novel GH-Releasing Peptides), *Molecular and Clinical Advances in Pituitary Disorders*), 编辑:Melmed, S., *Endocrine Research and Education, Inc.*, Los Angeles, CA, USA, (1993), 153-7 和 Deghenghi 等人, *Life Science*, (1994), 54 :1321-8)。这三种生长激素促分泌物的结构如下所示:

[0003] GHRP-I Ala-His-D-(2')-Nal-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH<sub>2</sub> ;

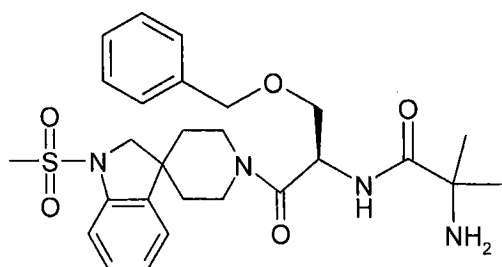
[0004] GHRP-2 D-Ala-D-(2')-Nal-Ala-Trp-D-Nal-Lys-NH<sub>2</sub> ;和

[0005] 海沙瑞林 His-D-2-MeTrp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH<sub>2</sub>。

[0006] GHRP-I、GHRP-2、GHRP-6 和海沙瑞林是合成的生长激素促分泌物 (在下文中统一称为“GHS”)。GHS 通过不同于生长激素释放激素的机理来刺激生长激素的分泌 (Bowers, C. Y. 等人, *Endocrinology*, (1984), 114 :1537-45 ;Cheng 等人, *Endocrinology*, (1989), 124 :2791-8 ;Bowers, C. Y., 新型 GH- 释放肽, *Molecular and Clinical Advances in Pituitary Disorders*, 编辑:Melmed, S., *Endocrine Research and Education, Inc.*, Los Angeles, CA, USA, (1993), 153-7 和 Deghenghi 等人, *Life Science*, (1994), 54 :1321-8)。

[0007] 这些肽基生长激素促分泌物的低口服生物利用度 (一般认为其 < 1%) 鼓励人们探索模拟脑垂体中 GHRP-6 作用的非肽类化合物。已经报道了多种苯并内酰胺类化合物和螺茛满类化合物 (spiroindanes) 在各种动物种属中和在人体内刺激生长激素释放 (Smith 等人, *Science*, (1993), 260 :1640-3 ;Patchett 等人, *Proceedings of the National Academy Science USA*, (1995), 92 :7001-5 ;和 Chen 等人, *Bioorganic Modern Chemistry Letter*, (1996), 6 :2163-9)。该类小螺茛满的一个具体实例是 MK-0677 (Patchett 等人, *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, (1995), 92 :7001-5), 其具有下面的结构:

[0008]



[0009] 上述 GHS(肽和非肽)的作用似乎是由特定的生长激素促分泌物受体(在下文中被统一称为“GHS 受体”)介导的(Howard 等人, *Science*, (1996), 273 :974-7 和 Pong 等人, *Molecular Endocrinology*, (1996), 10 :57-61)。在各种哺乳动物种属的脑垂体和下丘脑腺中发现的 GHS 受体 (GHSR1a) 不同于生长激素释放激素受体(在下文中被称为“GHRH 受体”)。在其它中枢神经组织和外周组织如肾上腺和甲状腺以及心、肺、肾和骨骼肌组织中也探测到了 GHS 受体 (Chen 等人, *Bioorganic Medical Chemistry Letter*, (1996), 6 :2163-9 ;Howard 等人, *Science*, (1996), 273 :974-7 ;Pong 等人, *Molecular Endocrinology*, (1996), 10 :57-61 ;Guan 等人, *Molecular Brain Research*, (1997), 48 :23-9 和 McKee 等人, *Genomics*, (1997), 46 :426-34)。还已经报道了截短形式的 GHSR1a。(Howard 等人, *Science*, (1996), 273 :974-7)。

[0010] GHS 受体是一种 G- 蛋白偶联受体。GHS 受体活化的作用包括钾通道的去极化和抑制、肌醇三磷酸 (IP3) 的细胞间浓度和细胞内钙浓度的增加,但是后者是短暂的 (Pong 等人, *Molecular Endocrinology*, (1996), 10 :57-61 ;Guan 等人, *Molecular Brain Research*, (1997), 48 :23-9 和 McKee 等人, *Genomics*, (1997), 46 :426-34)。

[0011] 葛瑞林 (ghrelin) 是一种天然存在的肽,认为其是 GHS 受体的内源性配体 (Kojima 等人, *Nature*, (1999), 402 :656-60)。多种哺乳动物和非哺乳动物种属的葛瑞林的天然结构是已知的 (Kaiya 等人, *Journal of Biological Chemistry*, (2001), 276 :40441-8 和国际专利申请 PCT/JP00/04907 [W001/07475])。存在于葛瑞林中的核心区是引起所观察到的对 GHS 受体的活性的原因。该核心区包含四个 N- 末端氨基酸,其中位于第三位上的丝氨酸通常被正 - 辛酸修饰。除了被正 - 辛酸酰化外,天然的葛瑞林还可以被正 - 癸酸酰化 (Kaiya 等人, *Journal of Biological Chemistry*, (2001), 276 :40441-8)。

[0012] GHS 分子如葛瑞林及其类似物具有许多不同的治疗用途 (Inui, A., *FASEB J.*, (2004), 18 :439-56 ;Muller 等人, *Neurobiology of Aging*, (2002), 23 :907-19 ;Casanueva, F. F. 等人, *TEM*, (1999), 10 :30-8 和 Ankerson, M. 等人, *DDT*, (1999) 4 :497-506) 和诊断用途。发现对 GHS 受体表现出激动作用的化合物促进生长激素分泌的刺激。因此,表明葛瑞林的类似物可改善生长激素不足的状态 (美国专利 No. 6, 861, 409 ;美国专利 No. 6, 967, 237 和 Casanueva, F. F. 等人, *TEM*, (1999), 10 :30-8)、增加肌肉质量 (美国专利 No. 6, 861, 409 和美国专利 No. 6, 967, 237) 和 / 或体力 (Ankerson, M. 等人, *DDT* (1999), 4 :497-506)、改善骨密度 (美国专利 No. 6, 861, 409、6, 967, 237 和 6, 251, 902 以及 Sibilis, V. 等人, *Growth Horm. IGF Res.*, (1999), 9 :219-27)、治疗骨质疏松 (WO 97/24369 ;WO 98/58947 ;Casanueva, F. F. 等人, *TEM*, (1999), 10 :30-8)、克服男性和女性性功能障碍 (美国专利 No. 6, 967, 237 ;Casanueva, F. F. 等人, *TEM*, (1999) 10 :30-8)、治疗心血管疾病 (WO97/24369 ;WO 98/58947 ;美国专利 No. 6, 251, 902 ;DeGennaro Colonna, V. 等人, *Eur.*



J. Pharmacol., (1997), 334 :201-7 和 Casanueva, F. F. 等人, TEM, (1999), 10 :30-8)、缓解关节炎疼痛 (Granado, M., AJP Endo., (2005), 288 :486-92) 和治疗系统性红斑狼疮或炎症性肠病 (例如克隆病或溃疡性结肠炎) (美国专利公开 2002/0013320)。葛瑞林的拮抗性类似物可促进体重增加 (美国专利 No. 6, 967, 237 ;Tschop, M. 等人, Endocrinology, (2002), 143 :558-68), 而体重增加又可用于维持所需体重 (美国专利 No. 6, 861, 409 和 6, 967, 237) 和 / 或恢复躯体功能 (physical function) (美国专利 No. 6, 967, 237 和 6, 251, 02 和 WO 97/24369)。

[0013] 葛瑞林还增加食欲 (美国专利 No. 6, 967, 237 和 Okada, K. 等人, Endocrinology, (1996), 137 :5155-8)。因此, 葛瑞林被用于治疗患有某些通常伴有不希望的体重降低的疾病或障碍的患者或正在经历通常伴有不希望的体重降低的医学方案的患者。该类疾病和障碍包括食欲缺乏 (美国专利 No. 6, 967, 237 ;Tschop, M. 等人, Endocrinology, (2002), 143 :558-68)、食欲过盛 (美国专利 No. 6, 967, 237)、恶病质 (美国专利 No. 6, 967, 237 和 6, 251, 902)、特别是癌症诱导的恶病质 (美国专利 No. 6, 967, 237 和 Tschop, M. 等人, Endocrinology, (2002), 143 :558-68)、AIDS (美国专利 No. 6, 861, 409 和 6, 967, 237 ; Tschop, M. 等人, Endocrinology, (2002), 143 :558-68)、体弱和 / 或年老者的消耗综合征 (wasting syndrome) (美国专利 No. 6, 861, 409 和 6, 967, 237 ;WO 97/24369 ;Ankerson, M. 等人, DDT, (1999), 4 :497-506) 和慢性肾衰竭 (Casanueva, F. F. 等人, TEM, (1999), 10 :30-8)。通常伴有体重降低的医学治疗包括化疗、放疗、暂时或永久性固定和 / 或透析 (美国专利 No. 6, 967, 237 和 6, 251, 902)。

[0014] 肥胖是糖尿病的主要风险因子并且很大一部分非胰岛素依赖型糖尿病 (或者被称为“NIDDM”) 患者均肥胖。两种情况的特征都在于循环的胰岛素水平升高和 GH 水平受到抑制。已经表明 GH- 不足的成年人 (Jorgensen, J. O. L., 等人, Lancet, (1989), 1 :1221)、肥胖的女性 (Richelsen, B., 等人, Am JPhysiol, (1994), 266 :E211) 和老年男性 (Rudman, D. 等人, Horm Res, (1991), 36(Suppl 1) :73) 的 GH 治疗增加瘦体重、肝和肌肉质量, 同时降低脂肪质量。因此, 除了 GH 的致糖尿病作用外, 施用葛瑞林激动剂对于肥胖而言是一种有吸引力的治疗 (美国专利 No. 6, 251, 902 ;Ankerson, M. 等人, DDT, (1999), 4 :497-506 和 Casanueva, F. F. 等人, TEM, (1999), 10 :30-8)。也可以间接用葛瑞林治疗糖尿病的并发症如视网膜病和 / 或心血管障碍 (美国专利 No. 6, 967, 237 ;美国专利申请公开 2003/0211967)。

[0015] 自相矛盾地, 葛瑞林激动剂可用于帮助肥胖个体的体重降低 (其中所述的肥胖不是由于患 NIDDM 而造成的) (美国专利 No. 6, 967, 237 和美国专利申请公开 2003/0211967) 以及多种其它已确定的适应征。对 GHS 受体表现出拮抗活性从而促进生长激素分泌的抑制的化合物例如葛瑞林的拮抗剂类似物适用于治疗过度的生长激素分泌 (美国专利申请公开 2002/0187938)、帮助不肥胖的人体重降低 (美国专利 No. 6, 967, 237)、维持理想体重和降低食欲 (美国专利 No. 6, 967, 237)。体重过重是许多疾病或病症如高血压、血脂障碍 (dyslipidemia) 和心血管疾病 (美国专利申请公布 2003/0211967 和美国专利 No. 6, 967, 237) 以及胆结石 (gall stones)、骨关节炎 (美国专利 No. 6, 967, 237)、某些癌症 (美国专利申请公开 2003/0211967 和 2004/0157227 以及美国专利 No. 6, 967, 237) 和普-威综合征 (美国专利 No. 6, 950, 707) 的贡献因素。因此, 用葛瑞林拮抗剂帮助体重降低的用

途将可用于降低该类疾病或病症的可能性和 / 或构成该类疾病或病症的至少一部分治疗。

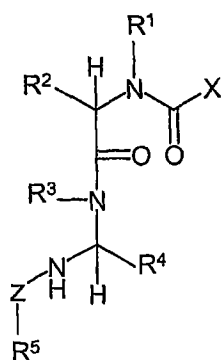
[0016] 生长激素促分泌物的类似物还已经用来促进胃肠蠕动,特别是患有由手术后肠梗阻或者糖尿病或慢性糖尿病状态伴随的胃轻瘫导致的胃肠蠕动减少的患者的胃肠蠕动(美国专利 No. 6, 548, 501)。

[0017] 考虑到生长激素促分泌物可提供的许多有益作用,在本领域中需要有效的激动剂或拮抗剂 GHS 分子。

[0018] 发明概述

[0019] 本发明的特点在于对 GHS 受体具有活性的肽基类似物。本发明的类似物可以与 GHS 受体结合,并且优选地引起信号转导。因此,第一个方面,本发明的特点在于式 (I) 化合物或其可药用的盐:

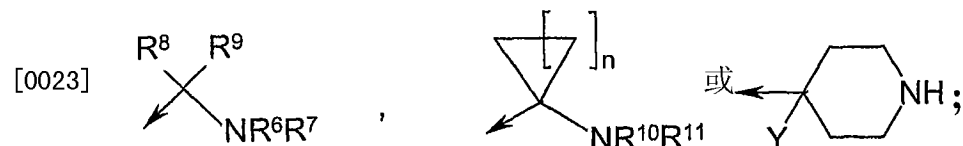
[0020]



(I)

[0021] 其中

[0022] X 是



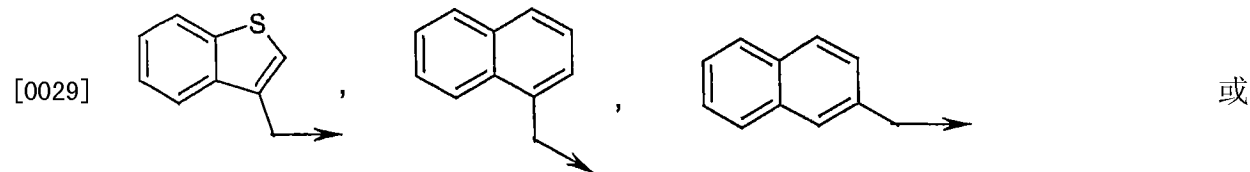
[0024] Y 是 H 或  $\text{NR}^{12}\text{R}^{13}$ ;

[0025] Z 是  $-\text{C}(\text{O})-$  或  $-\text{SO}_2-$ ;

[0026] n 每次出现时独立地是 1、2、3、4、5、6、7 或 8;

[0027]  $\text{R}^1$  和  $\text{R}^3$  每次出现时各自独立地是 H 或  $(\text{C}_1-\text{C}_4)$  烷基;

[0028]  $\text{R}^2$  和  $\text{R}^4$  每次出现时各自独立地是

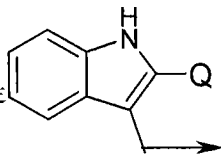


[0030]  $\text{R}^5$  是 H、 $(\text{C}_1-\text{C}_6)$  烷基、 $(\text{C}_2-\text{C}_6)$  烯基、 $(\text{C}_2-\text{C}_6)$  炔基、被取代的  $(\text{C}_1-\text{C}_6)$  烷基、被取代的  $(\text{C}_2-\text{C}_6)$  烯基、被取代的  $(\text{C}_2-\text{C}_6)$  炔基、芳基、烷基芳基、烷基芳基烷基或芳基烷基芳基;

[0031]  $R^8$  和  $R^9$  每次出现时各自独立地是  $(C_1-C_6)$  烷基或被取代的  $(C_1-C_6)$  烷基；

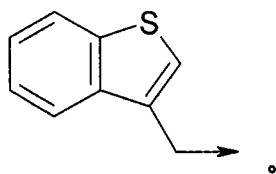
[0032]  $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^{10}$ 、 $R^{11}$ 、 $R^{12}$  和  $R^{13}$  每次出现时各自独立地是 H、 $(C_1-C_6)$  烷基或被取代的  $(C_1-C_6)$  烷基；和

[0033] Q 是 H 或  $(C_1-C_4)$  烷基；

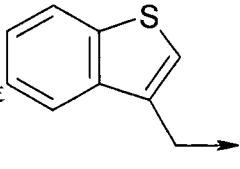
[0034] 条件是在同一个化合物中， $R^2$  和  $R^4$  不都是 

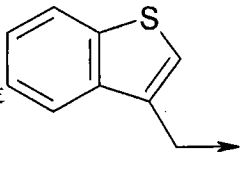
[0035] 在刚刚描述的上式化合物的一个优选的组中， $R^2$  和  $R^4$  中至少一个是：

[0036]

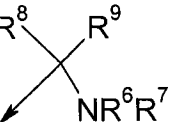


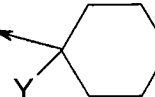
[0037] 被称为第 1 组化合物的优选的式 (I) 化合物或其可药用的盐是其中基团定义如下的式 (I) 化合物：

[0038]  $R^2$  是  ;

[0039]  $R^4$  是  ;

[0040] Z 是  $-C(O)-$ ；

[0041] X 是  , 其中  $R^6$  和  $R^7$  各自独立地是 H 且  $R^8$  和  $R^9$  各自独立地是  $CH_3$  ; 或

[0042] X 是  NH, 其中 Y 是 H ; 或

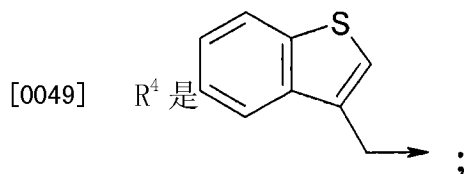
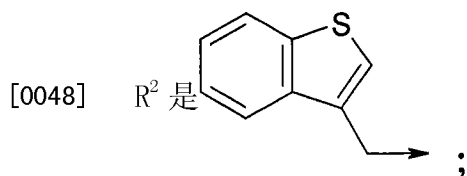
[0043] X 是  NH, 其中 Y 是  $NR^{12}R^{13}$  且  $R^{12}$  和  $R^{13}$  均各自独立地是 H ;

[0044]  $R^1$  是 H ;

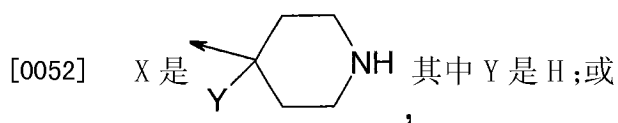
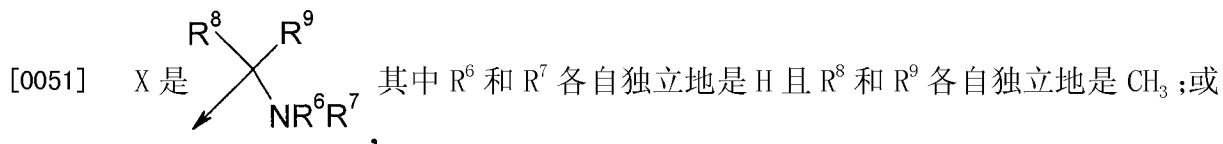
[0045]  $R^3$  是 H 或甲基 ; 且

[0046]  $R^5$  是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

[0047] 被称为第 1A 组化合物的优选的式 (I) 化合物或其可药用的盐是其中基团定义如下的式 (I) 化合物：



[0050] Z 是  $-SO_2-$  ;



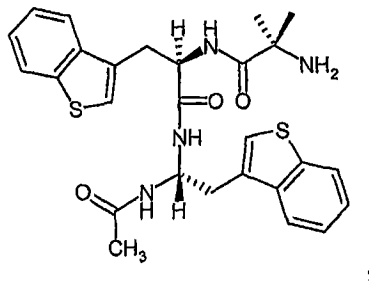
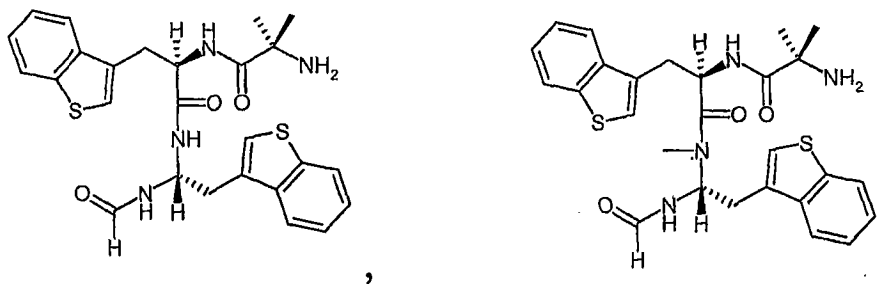
[0054]  $R^1$  是 H ;

[0055]  $R^3$  是 H 或甲基 ; 且

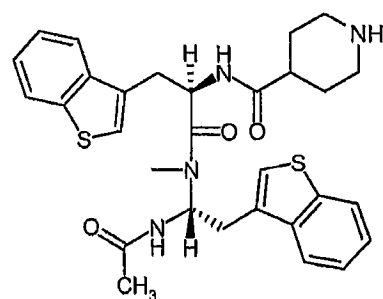
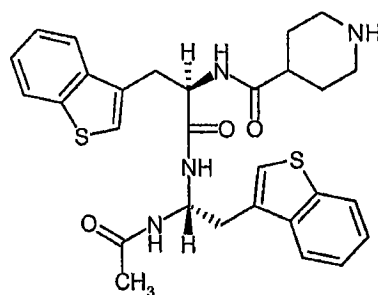
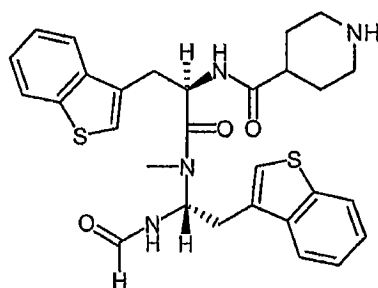
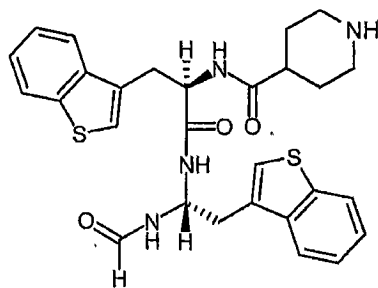
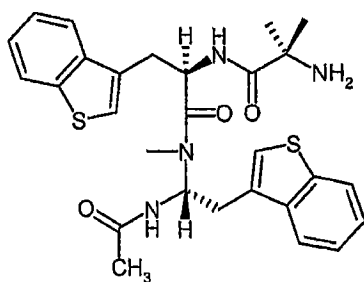
[0056]  $R^5$  是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

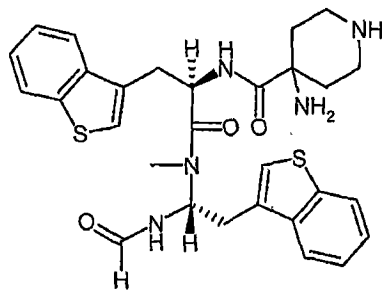
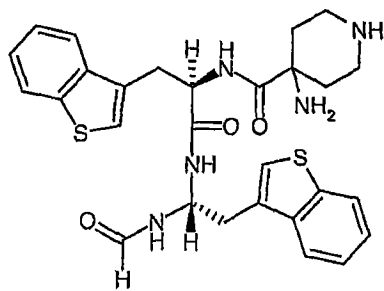
[0057] 更优选的第 1 组或第 1A 组的化合物是 :

[0058]

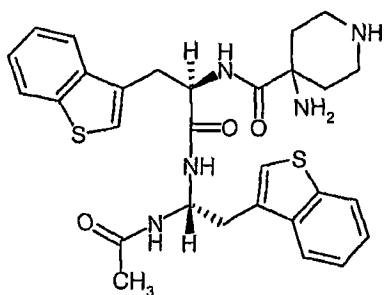


[0059]

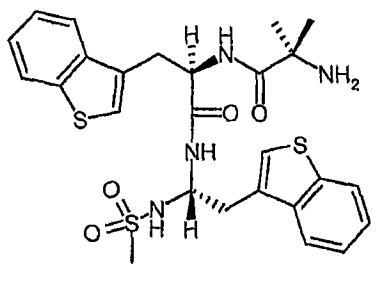
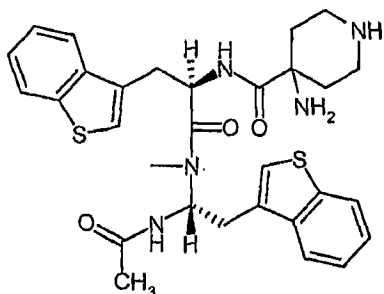




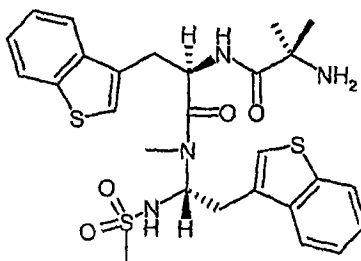
[0060]



和

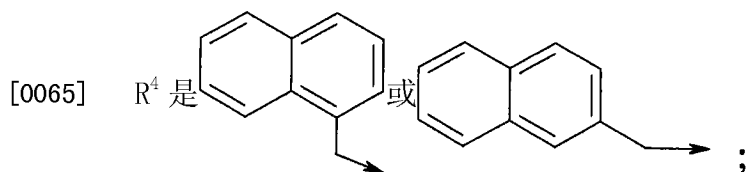
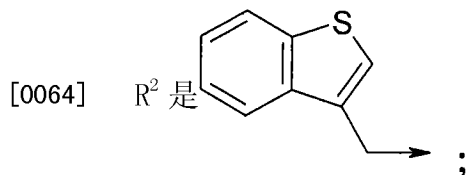


[0061]



[0062] 或其可药用的盐。

[0063] 被称为第 2 组化合物的优选的式 (I) 化合物或其可药用的盐是其中基团定义如下的式 (I) 化合物：



[0066] Z 是  $-C(O)-$  ;

[0067] X 是 , 其中  $R^6$  和  $R^7$  各自独立地是 H 且  $R^8$  和  $R^9$  各自独立地是  $CH_3$  ; 或

[0068] X 是 NH, 其中 Y 是 H ; 或

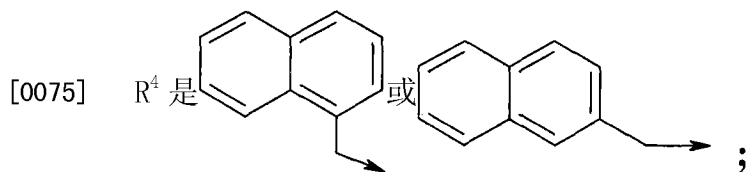
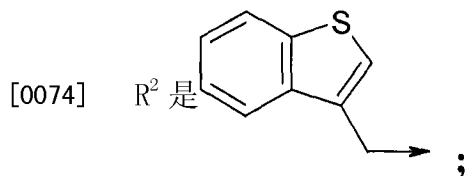
[0069] X 是 NH, 其中 Y 是  $NR^{12}R^{13}$  且  $R^{12}$  和  $R^{13}$  均各自独立地是 H ;

[0070]  $R^1$  是 H ;

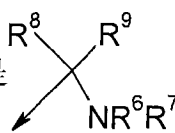
[0071]  $R^3$  是 H 或甲基 ; 且

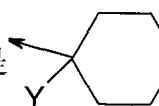
[0072]  $R^5$  是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

[0073] 被称为第 2A 组化合物的优选的式 (I) 化合物或其可药用的盐是其中基团定义如下的式 (I) 化合物：



[0076] Z 是  $-SO_2-$  ;

[0077] X 是  , 其中 R<sup>6</sup> 和 R<sup>7</sup> 各自独立地是 H 且 R<sup>8</sup> 和 R<sup>9</sup> 各自独立地是 CH<sub>3</sub> ; 或

[0078] X 是  NH, 其中 Y 是 H ; 或

[0079] X 是  NH, 其中 Y 是 NR<sup>12</sup>R<sup>13</sup> 且 R<sup>12</sup> 和 R<sup>13</sup> 均各自独立地是 H ;

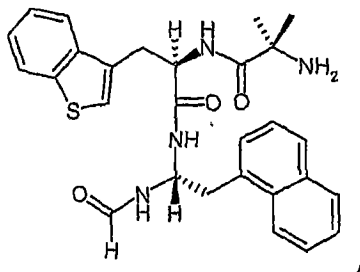
[0080] R<sup>1</sup> 是 H ;

[0081] R<sup>3</sup> 是 H 或甲基 ; 且

[0082] R<sup>5</sup> 是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

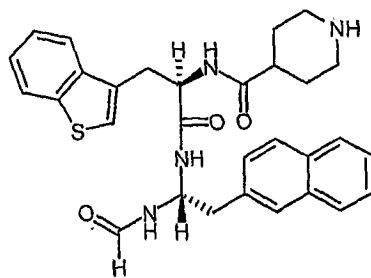
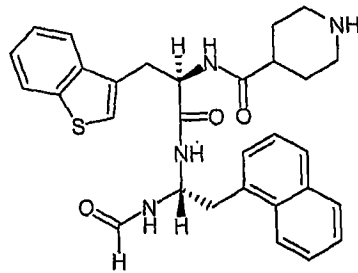
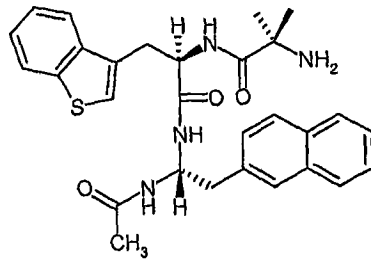
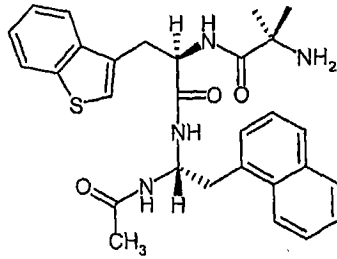
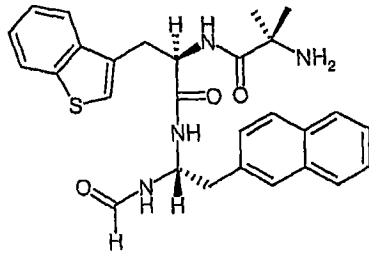
[0083] 更优选的第 2 组或第 2A 组的化合物是 :

[0084]

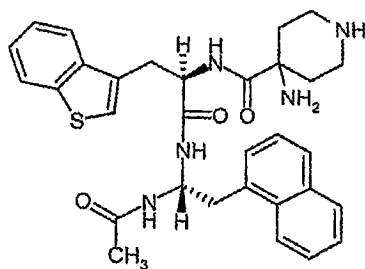
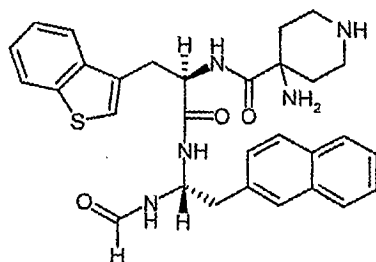
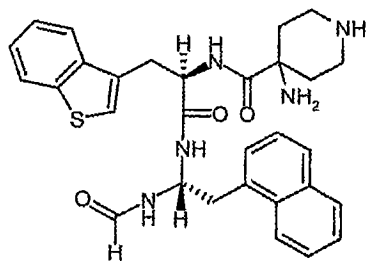
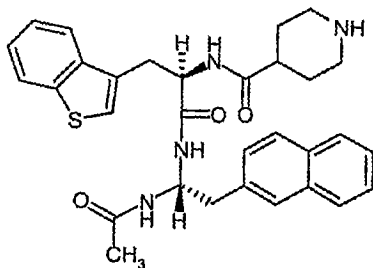
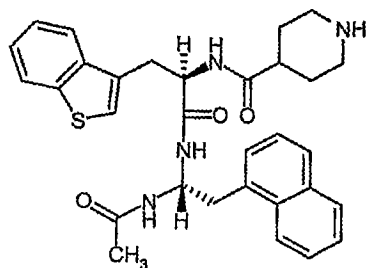


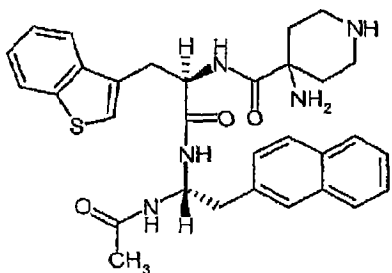
[0085]





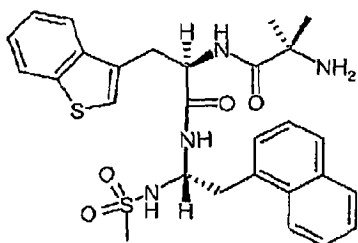
[0086]



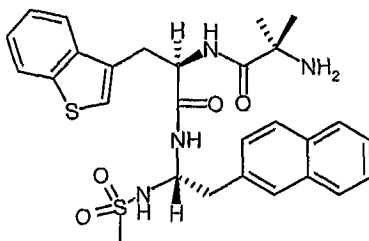


[0087]

和

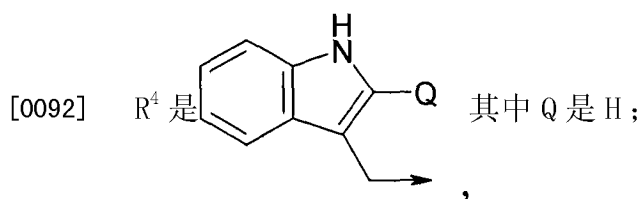
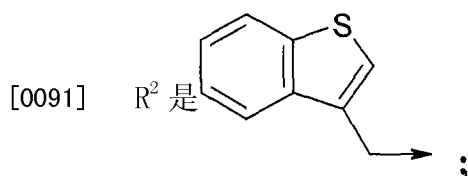
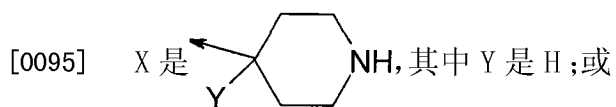
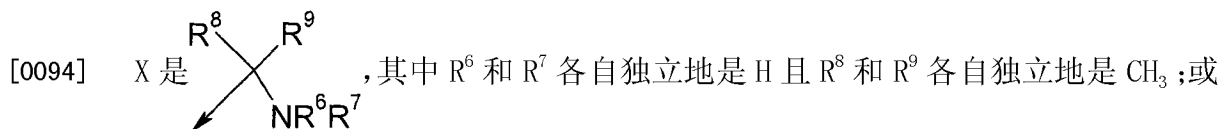


[0088]



[0089] 或其可药用的盐。

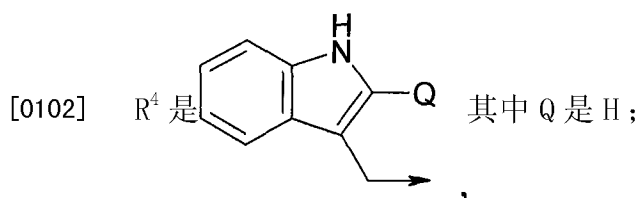
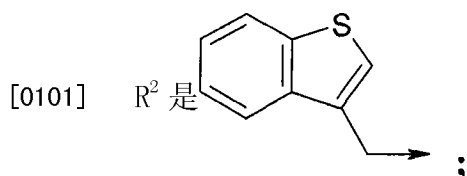
[0090] 被称为第3组化合物的优选的式(I)化合物或其可药用的盐是其中基团定义如下的式(I)化合物：

[0093] Z 是  $-C(O)-$  ;[0097]  $R^1$  是 H ;

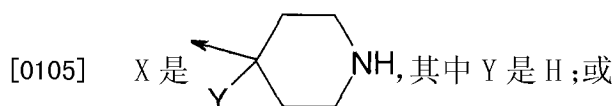
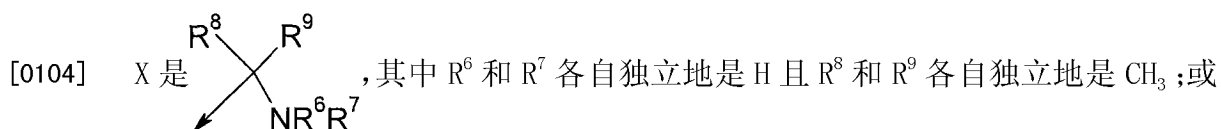
[0098]  $R^3$  是 H 或甲基 ; 且

[0099]  $R^5$  是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

[0100] 被称为第 3A 组化合物的优选的式 (I) 化合物或其可药用的盐是其中基团定义如下的式 (I) 化合物 :



[0103] Z 是  $-SO_2-$  ;



[0107]  $R^1$  是 H ;

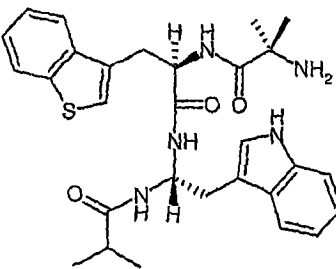
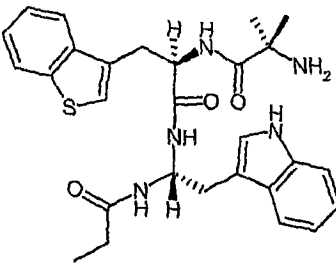
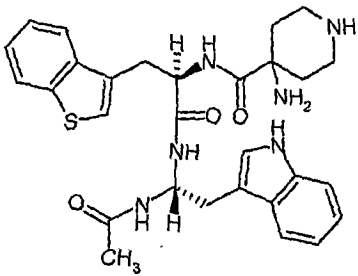
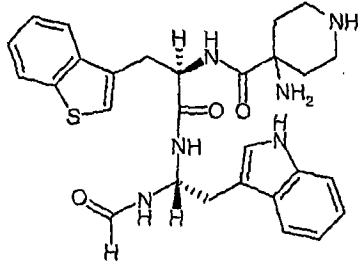
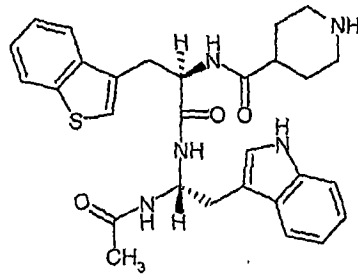
[0108]  $R^3$  是 H 或甲基 ; 且

[0109]  $R^5$  是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

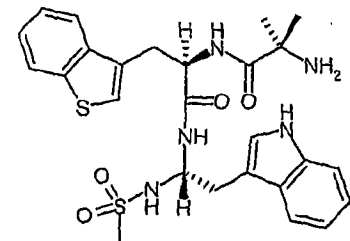
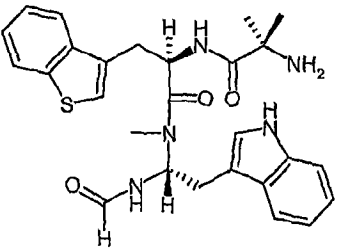
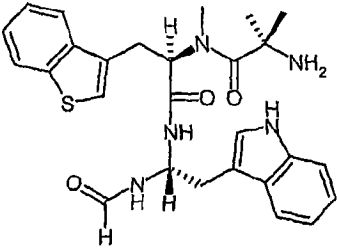
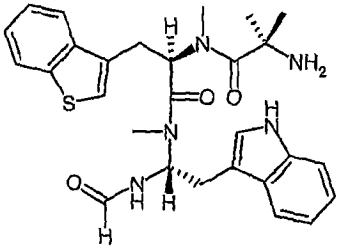
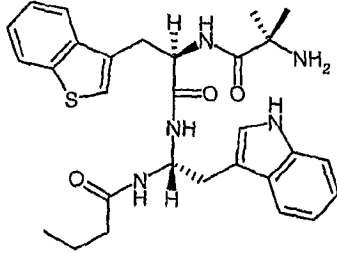
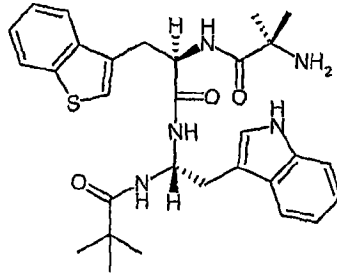
[0110] 更优选的第 3 组或第 3A 组的化合物是 :

[0111]





[0113]

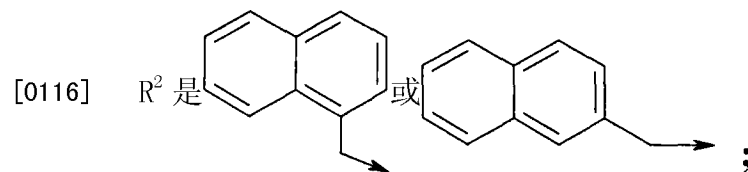


和

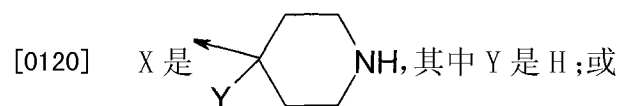
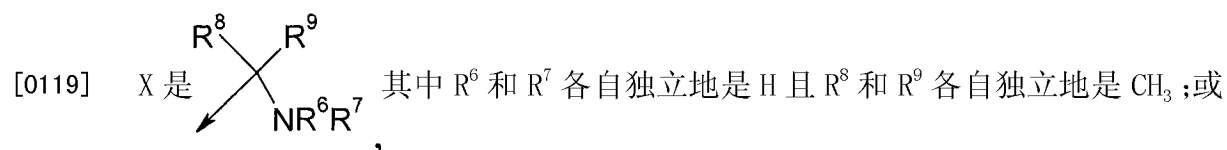
[0114] 或其可药用的盐。

[0115] 被称为第4组化合物的优选的式(I)化合物或其可药用的盐是其中基团定义如下

的式 (I) 化合物：



[0118] Z 是  $-C(O)-$  ；

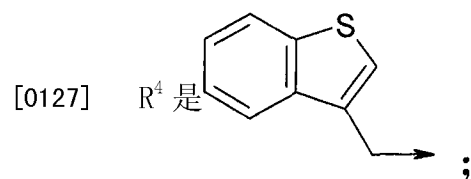
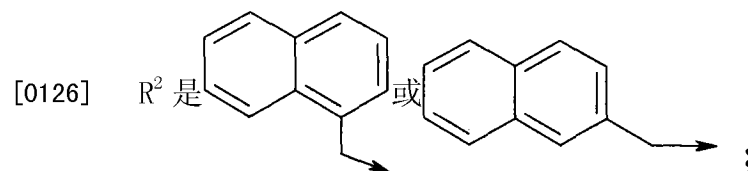


[0122]  $R^1$  是 H ；

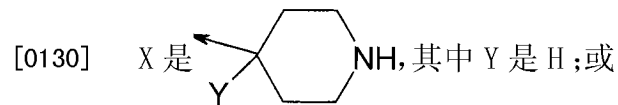
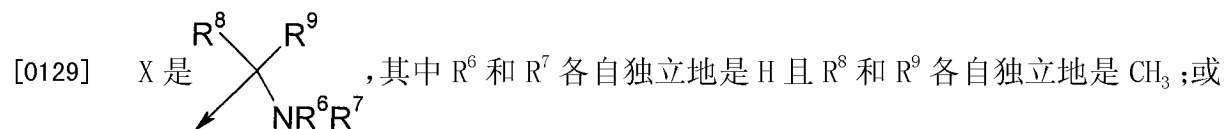
[0123]  $R^3$  是 H 或甲基 ；且

[0124]  $R^5$  是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

[0125] 被称为第 4A 组化合物的优选的式 (I) 化合物或其可药用的盐是其中基团定义如下的式 (I) 化合物：



[0128] Z 是  $-SO_2-$  ；





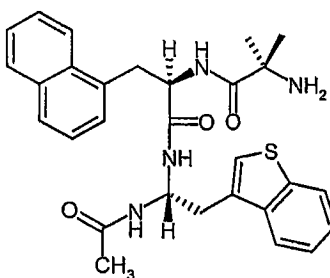
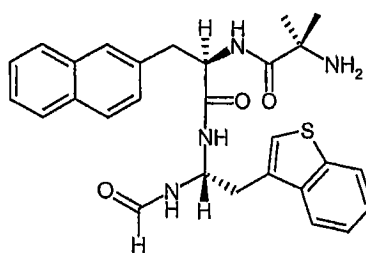
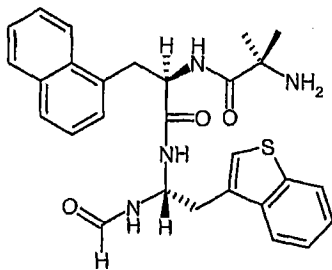
[0132] R<sup>1</sup> 是 H；

[0133] R<sup>3</sup> 是 H 或甲基；且

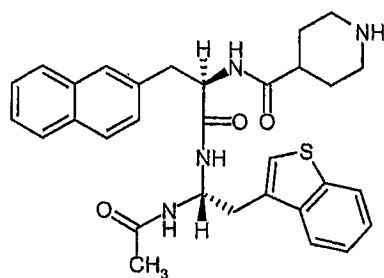
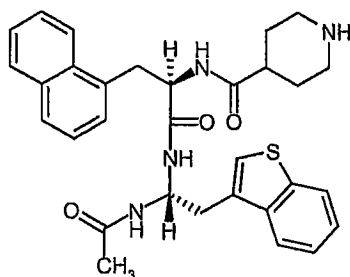
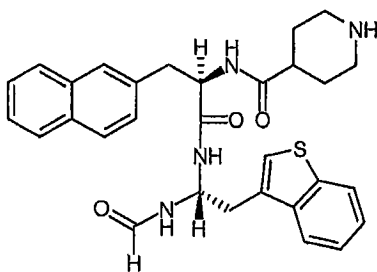
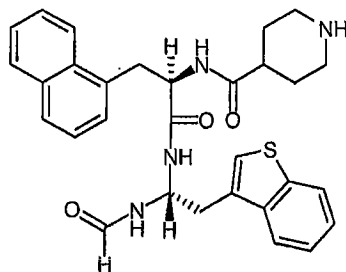
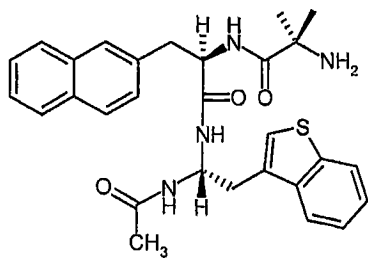
[0134] R<sup>5</sup> 是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

[0135] 更优选的第 4 组或第 4A 组的化合物是：

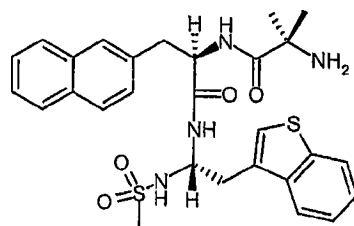
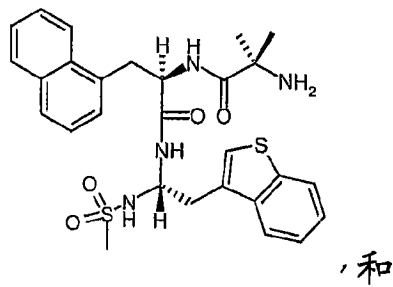
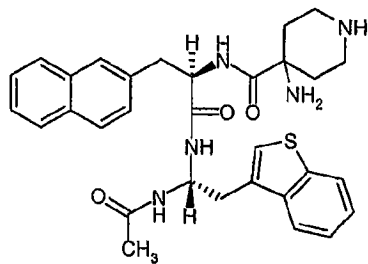
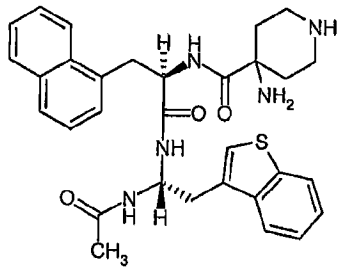
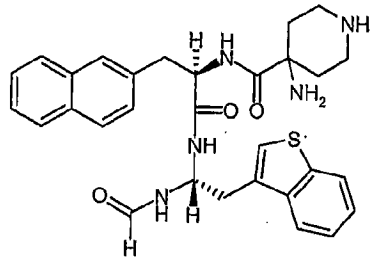
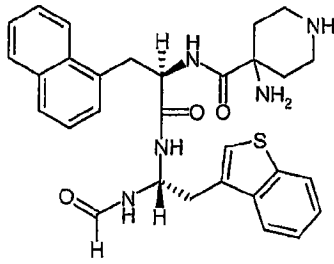
[0136]



[0137]



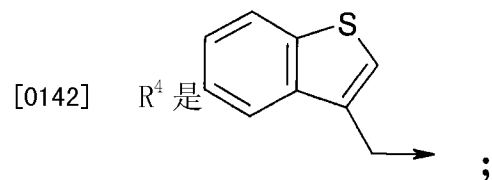
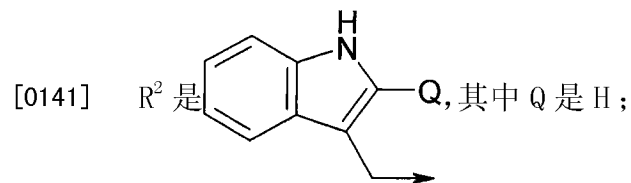
[0138]



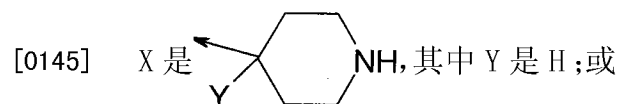
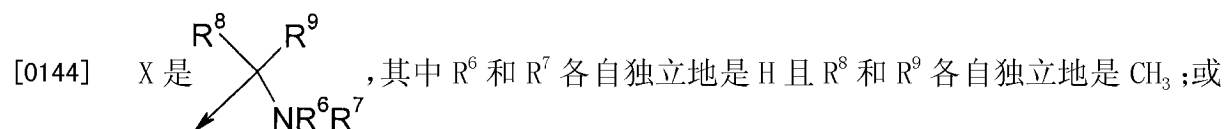
[0139] 或其可药用的盐。

[0140] 被称为第 5 组化合物的优选的式 (I) 化合物或其可药用的盐是其中基团定义如下

的式 (I) 化合物：



[0143] Z 是  $-C(O)-$ ；

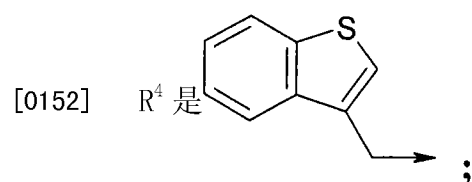
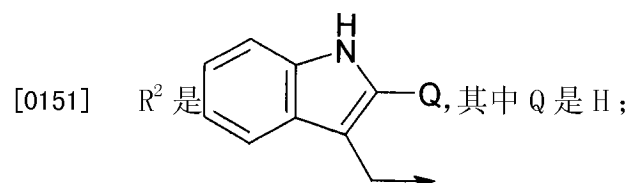


[0147]  $R^1$  是 H；

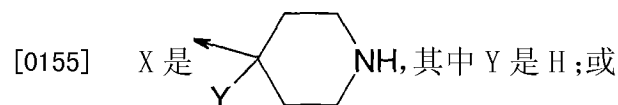
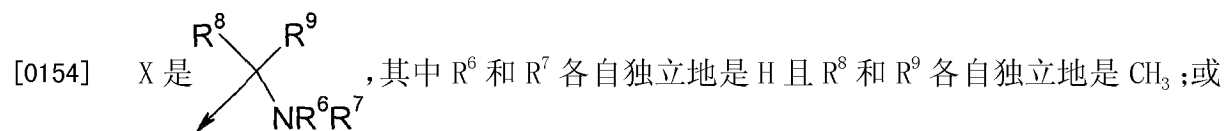
[0148]  $R^3$  是 H 或甲基；且

[0149]  $R^5$  是 H、甲基、乙基、异丙基或叔-丁基。

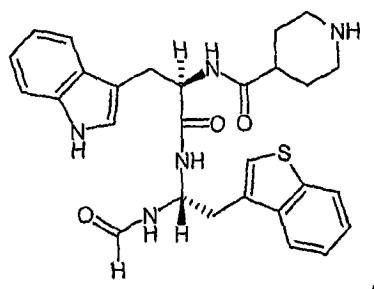
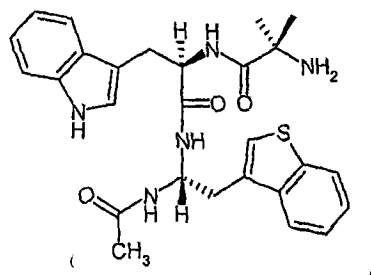
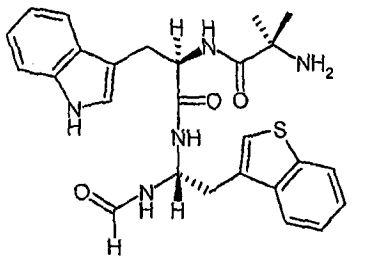
[0150] 被称为第 5A 组化合物的优选的式 (I) 化合物或其可药用的盐是其中基团定义如下的式 (I) 化合物：



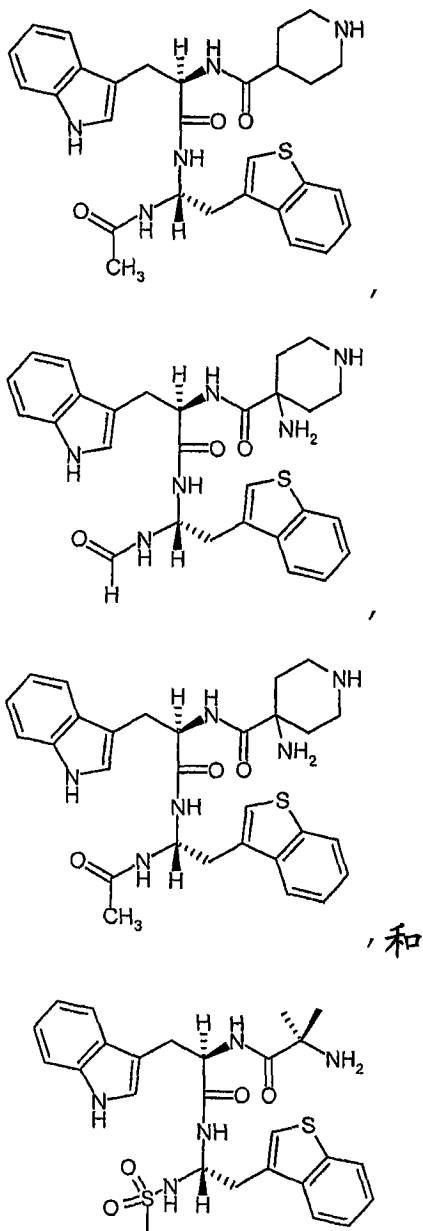
[0153] Z 是  $-SO_2-$ ；



- [0157]  $R^1$  是 H；  
[0158]  $R^3$  是 H 或甲基；且  
[0159]  $R^5$  是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。  
[0160] 更优选的第 5 组或 5A 组的化合物是：  
[0161]

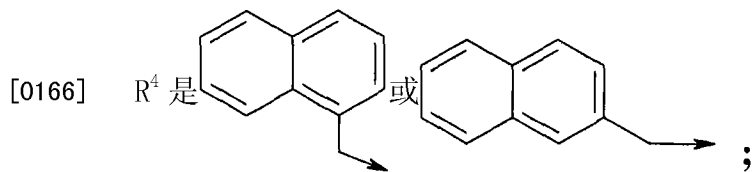
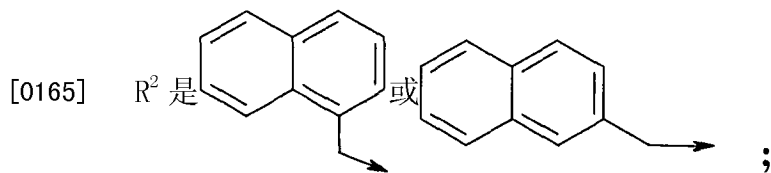


[0162]

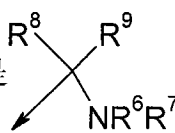



[0163] 或其可药用的盐。

[0164] 被称为第6组化合物的优选的式(I)化合物或其可药用的盐是其中基团定义如下的式(I)化合物：



[0167] Z 是  $-C(O)-$  ；

[0168] X 是  , 其中 R<sup>6</sup> 和 R<sup>7</sup> 各自独立地是 H 且 R<sup>8</sup> 和 R<sup>9</sup> 各自独立地是 CH<sub>3</sub> ; 或

[0169] X 是  , 其中 Y 是 H ; 或

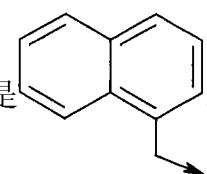
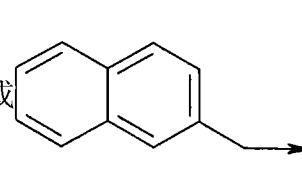
[0170] X 是  , 其中 Y 是 NR<sup>12</sup>R<sup>13</sup> 且 R<sup>12</sup> 和 R<sup>13</sup> 均各自独立地是 H ;

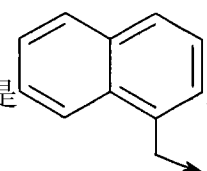
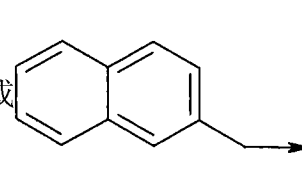
[0171] R<sup>1</sup> 是 H ;

[0172] R<sup>3</sup> 是 H 或甲基 ; 且

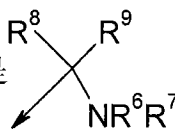
[0173] R<sup>5</sup> 是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

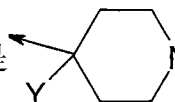
[0174] 被称为第 6A 组化合物的优选的式 (I) 化合物或其可药用的盐是其中基团定义如下的式 (I) 化合物 :

[0175] R<sup>2</sup> 是  或  ;

[0176] R<sup>4</sup> 是  或  ;

[0177] Z 是 -SO<sub>2</sub>- ;

[0178] X 是  , 其中 R<sup>6</sup> 和 R<sup>7</sup> 各自独立地是 H 且 R<sup>8</sup> 和 R<sup>9</sup> 各自独立地是 CH<sub>3</sub> ; 或

[0179] X 是  , 其中 Y 是 H ; 或

[0180] X 是  , 其中 Y 是 NR<sup>12</sup>R<sup>13</sup> 且 R<sup>12</sup> 和 R<sup>13</sup> 均各自独立地是 H ;

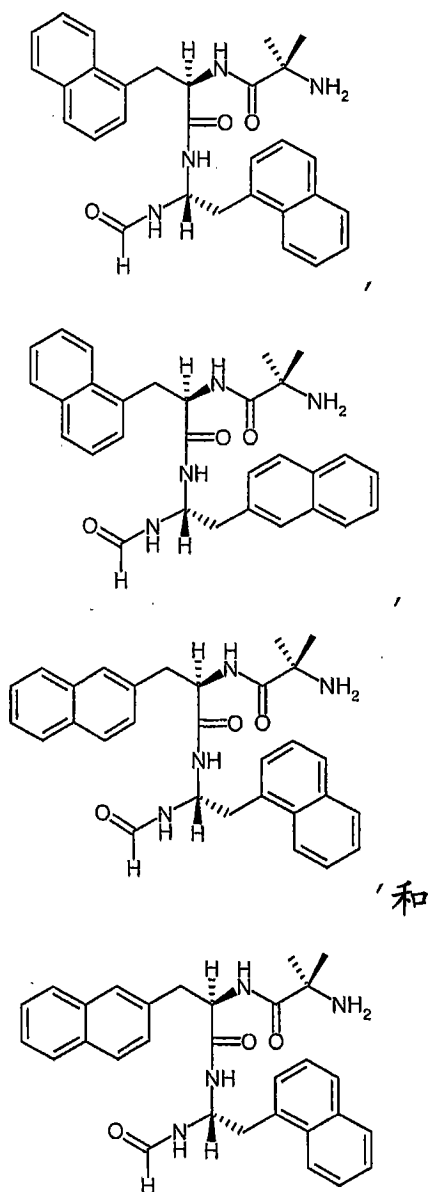
[0181] R<sup>1</sup> 是 H ;

[0182] R<sup>3</sup> 是 H 或甲基 ; 且

[0183] R<sup>5</sup> 是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

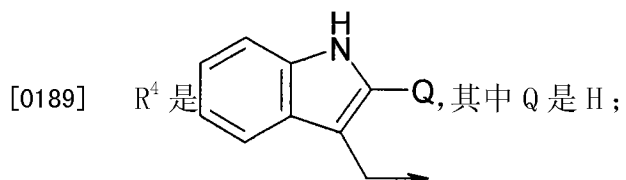
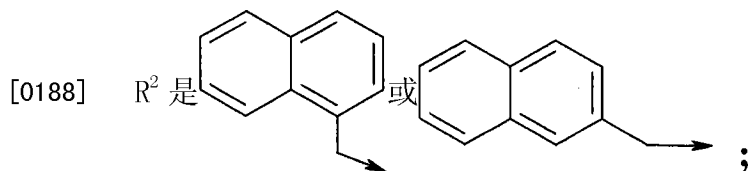
[0184] 更优选的第 6 组或第 6A 组的化合物是 :

[0185]



[0186] 或其可药用的盐。

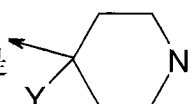
[0187] 被称为第 7 组化合物的优选的式 (I) 化合物或其可药用的盐是其中基团定义如下的式 (I) 化合物：



[0190] Z 是  $-C(O)-$  ;

[0191] X 是 , 其中  $R^6$  和  $R^7$  各自独立地是 H 且  $R^8$  和  $R^9$  各自独立地是  $CH_3$  ; 或



[0192] X 是  NH, 其中 Y 是 H; 或

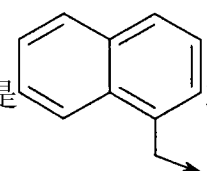
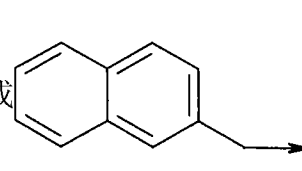
[0193] X 是  NH, 其中 Y 是  $\text{NR}^{12}\text{R}^{13}$  且  $\text{R}^{12}$  和  $\text{R}^{13}$  均各自独立地是 H;

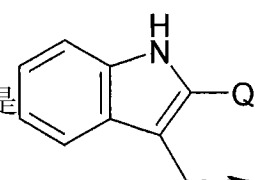
[0194]  $\text{R}^1$  是 H;

[0195]  $\text{R}^3$  是 H 或甲基; 且

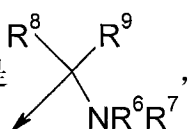
[0196]  $\text{R}^5$  是 H、甲基、乙基、异丙基或叔-丁基。


[0197] 被称为第 7A 组化合物的优选的式 (I) 化合物或其可药用的盐是其中基团定义如下的式 (I) 化合物:

[0198]  $\text{R}^2$  是  或  ;

[0199]  $\text{R}^4$  是  Q, 其中 Q 是 H;

[0200] Z 是  $-\text{SO}_2-$ ;

[0201] X 是  , 其中  $\text{R}^6$  和  $\text{R}^7$  各自独立地是 H 且  $\text{R}^8$  和  $\text{R}^9$  各自独立地是  $\text{CH}_3$ ; 或

[0202] X 是  NH, 其中 Y 是 H; 或

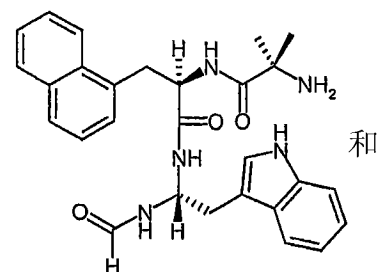
[0203] X 是  NH, 其中 Y 是  $\text{NR}^{12}\text{R}^{13}$  且  $\text{R}^{12}$  和  $\text{R}^{13}$  均各自独立地是 H;

[0204]  $\text{R}^1$  是 H;

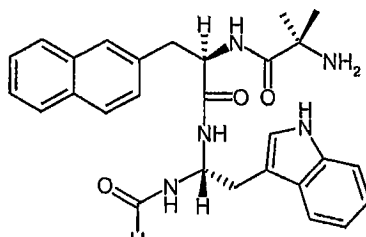
[0205]  $\text{R}^3$  是 H 或甲基; 且

[0206]  $\text{R}^5$  是 H、甲基、乙基、异丙基或叔-丁基。

[0207] 更优选的第 7 组或第 7A 组的化合物是:

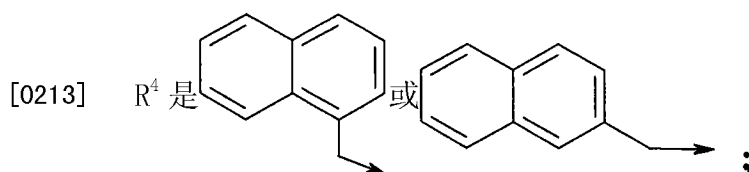
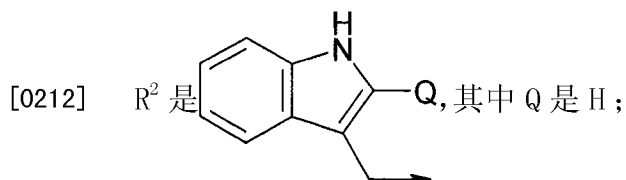
[0208]  和

[0209]

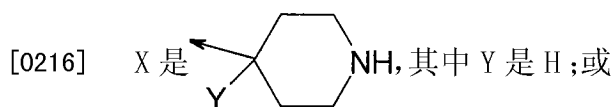
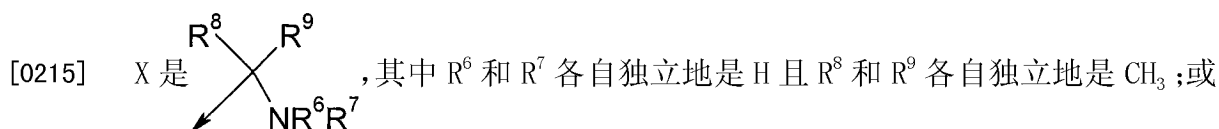


[0210] 或其可药用的盐。

[0211] 被称为第8组化合物的优选的式(I)化合物或其可药用的盐是其中基团定义如下所述的式(I)化合物：



[0214] Z 是  $-C(O)-$  ;

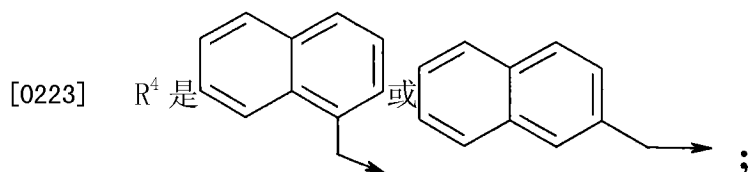
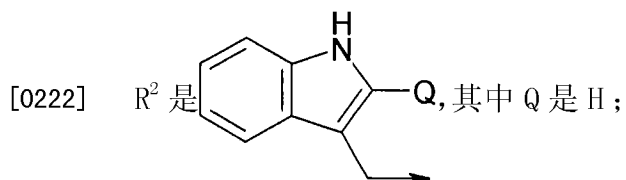


[0218]  $R^1$  是 H ;

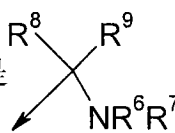
[0219]  $R^3$  是 H 或甲基 ; 且

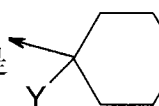
[0220]  $R^5$  是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

[0221] 被称为第8A组化合物的优选的式(I)化合物或其可药用的盐是其中基团定义如下所述的式(I)化合物：



[0224] Z 是  $-SO_2-$  ;

[0225] X 是  , 其中 R<sup>6</sup> 和 R<sup>7</sup> 各自独立地是 H 且 R<sup>8</sup> 和 R<sup>9</sup> 各自独立地是 CH<sub>3</sub> ; 或

[0226] X 是  NH, 其中 Y 是 H ; 或

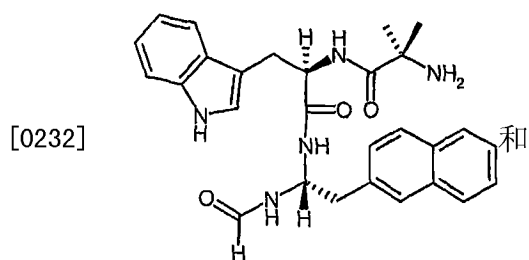
[0227] X 是  NH, 其中 Y 是 NR<sup>12</sup>R<sup>13</sup> 且 R<sup>12</sup> 和 R<sup>13</sup> 均各自独立地是 H ;

[0228] R<sup>1</sup> 是 H ;

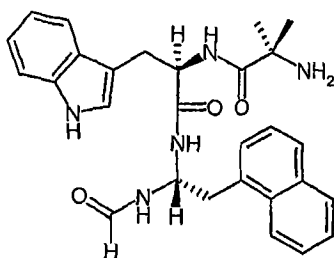
[0229] R<sup>3</sup> 是 H 或甲基 ; 且

[0230] R<sup>5</sup> 是 H、甲基、乙基、异丙基或叔 - 丁基。

[0231] 更优选的第 8 组或第 8A 组的化合物是 :



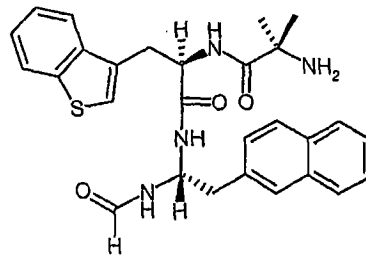
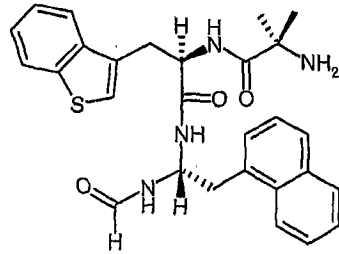
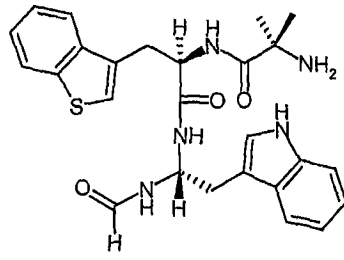
[0233]



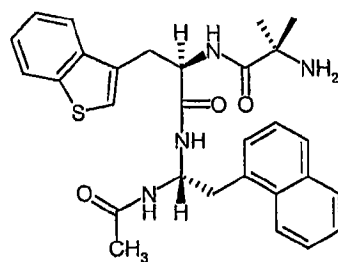
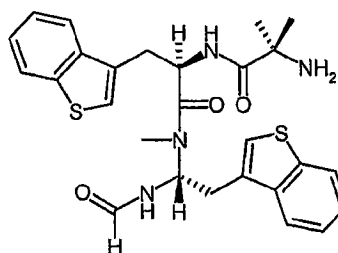
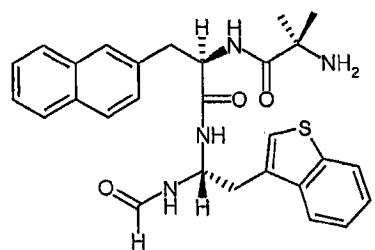
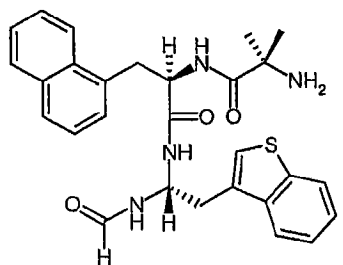
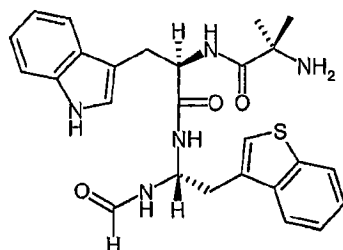
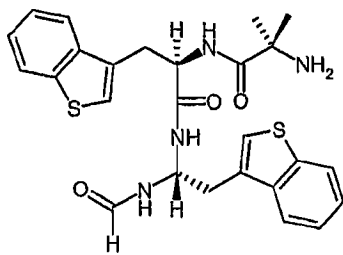
[0234] 或其可药用的盐。

[0235] 被称为第 9 组的另一组优选的式 (I) 化合物是下式的化合物 :

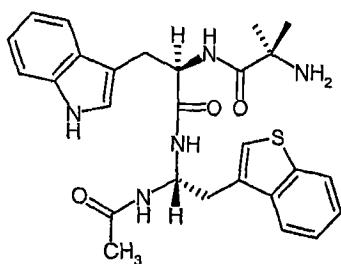
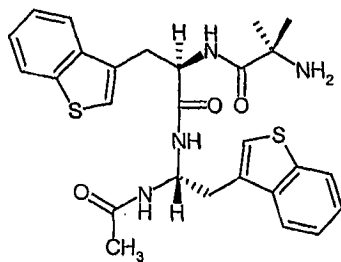
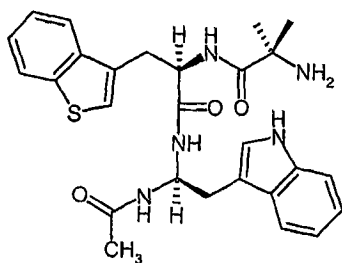
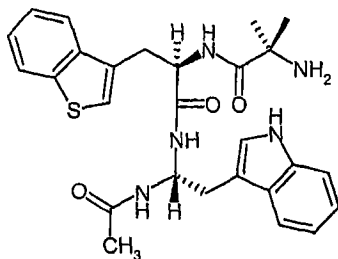
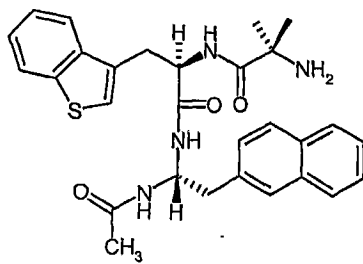
[0236]



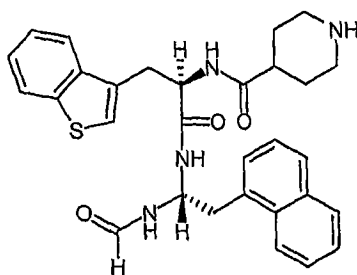
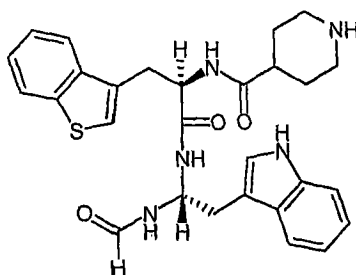
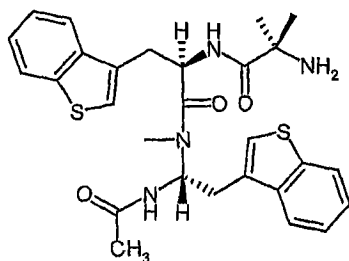
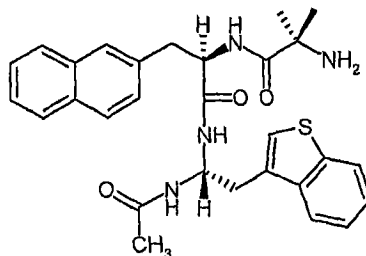
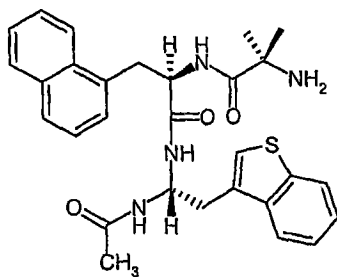
[0237]



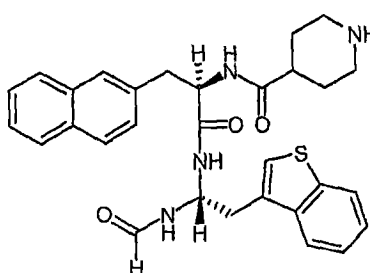
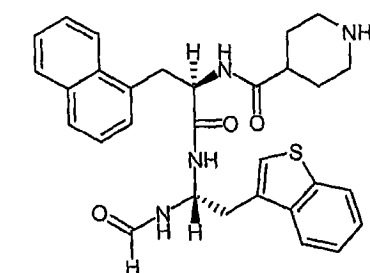
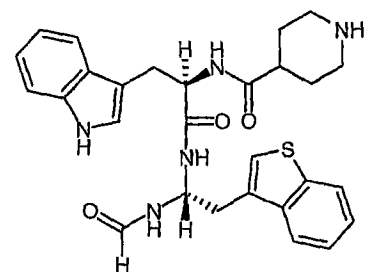
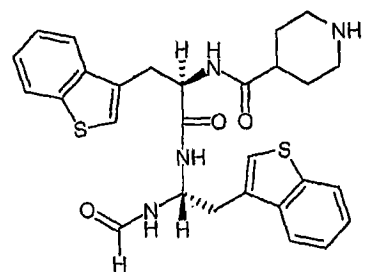
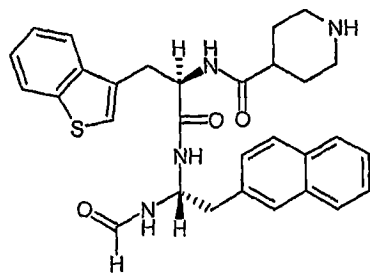
[0238]



[0239]

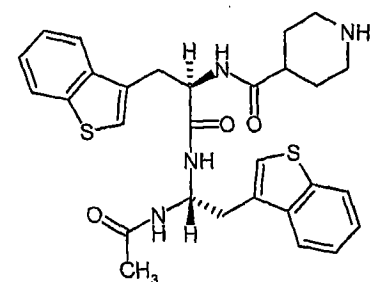
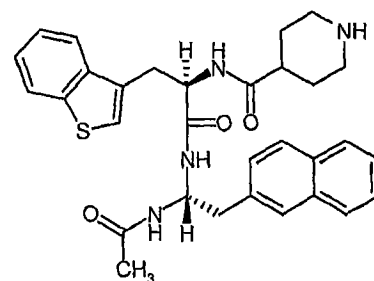
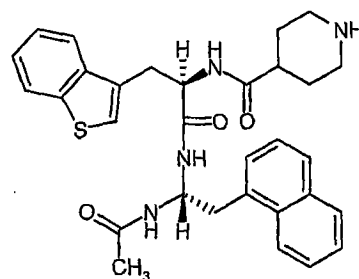
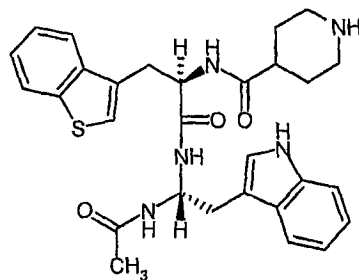
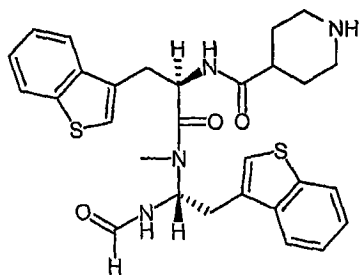


[0240]

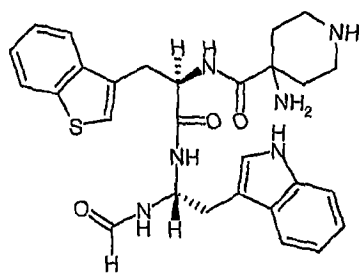
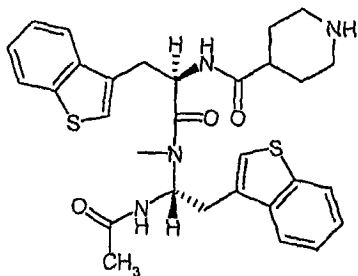
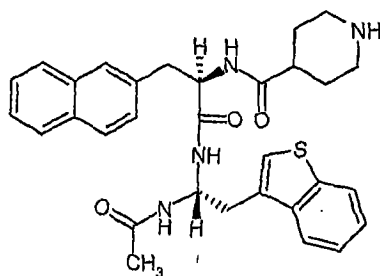
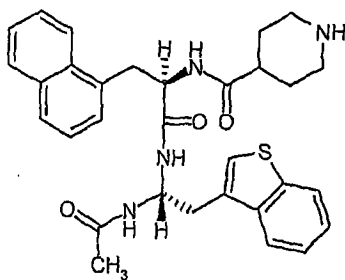
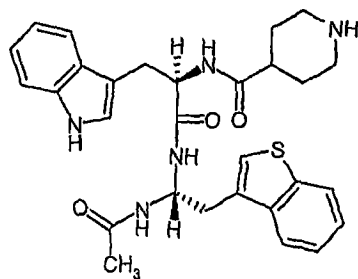


[0241]

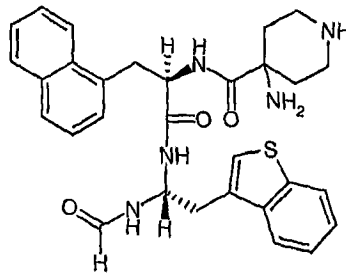
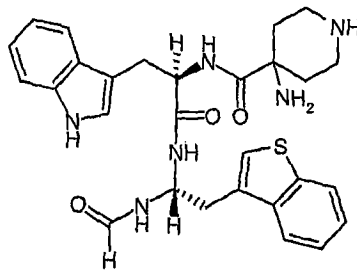
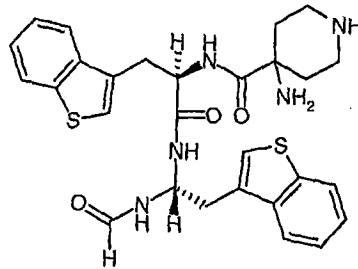
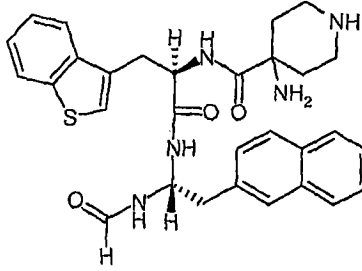
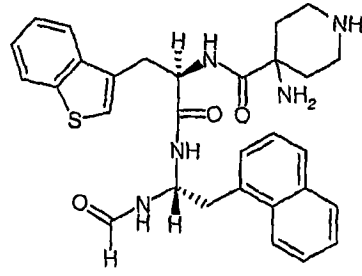




[0242]

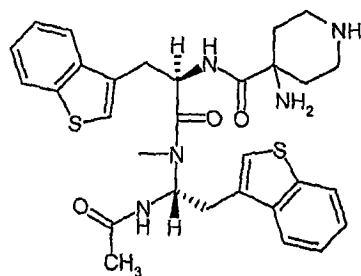
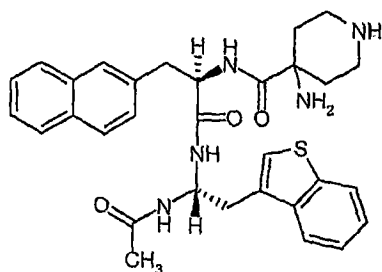
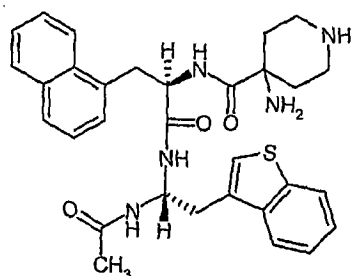
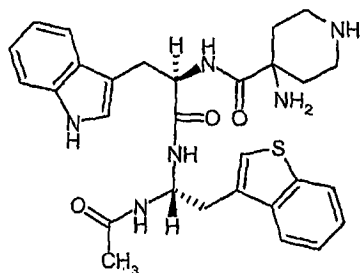
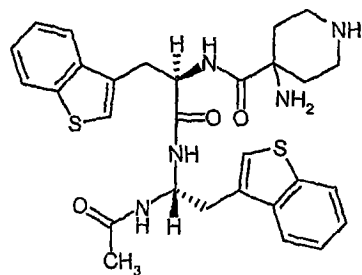


[0243]

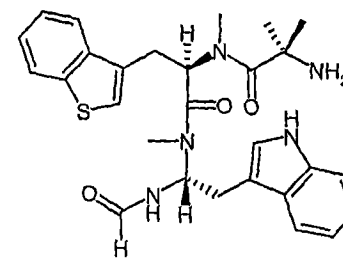
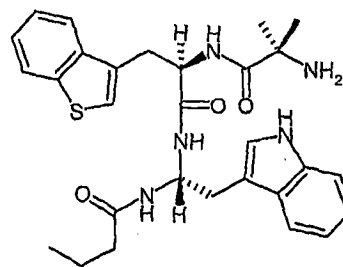
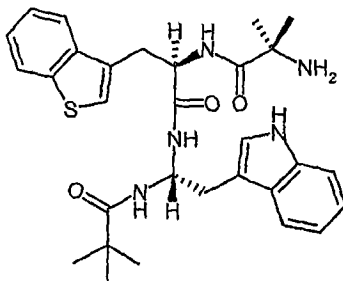
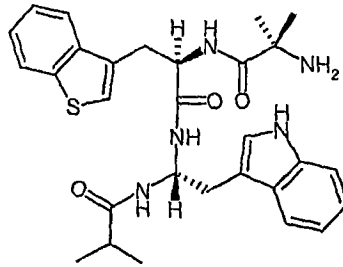
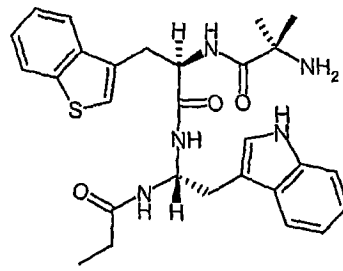


[0244]

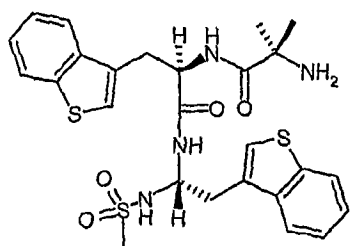
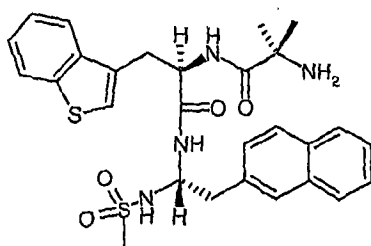
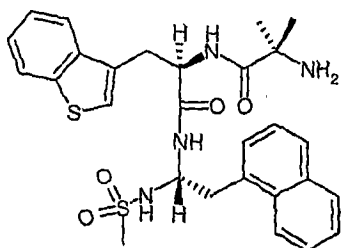
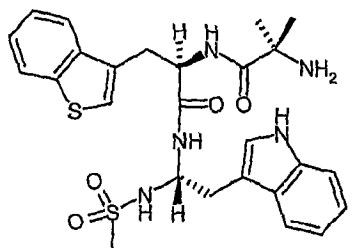
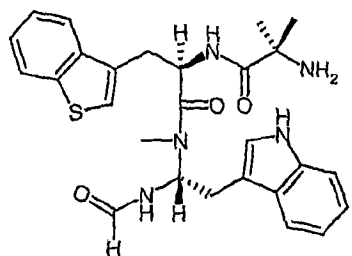
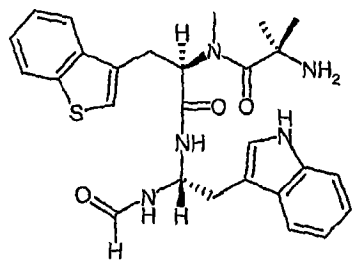




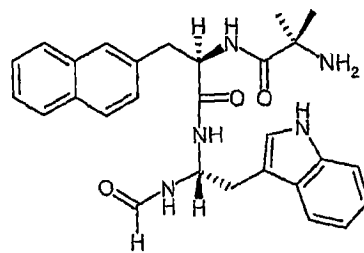
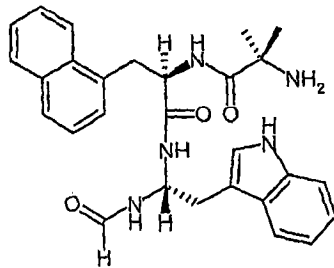
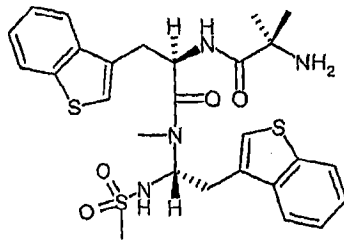
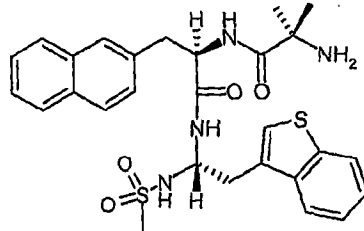
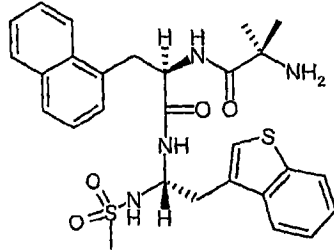
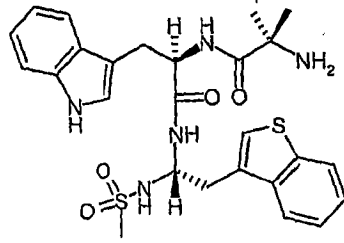
[0246]



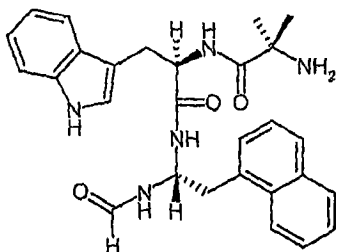
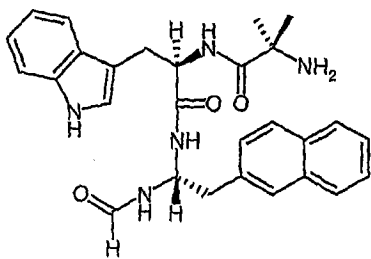
[0247]



[0248]

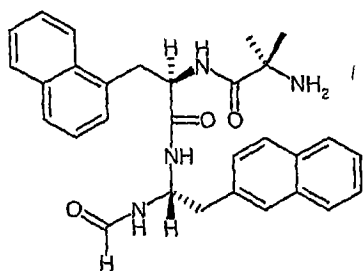
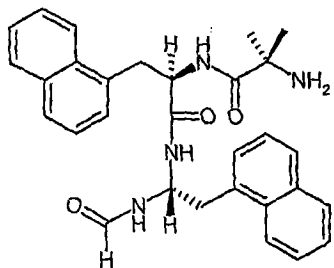




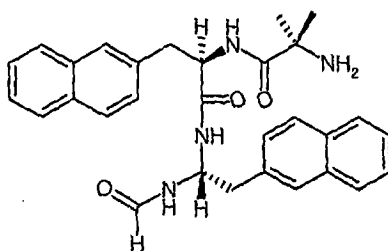


[0249]

和



[0250]

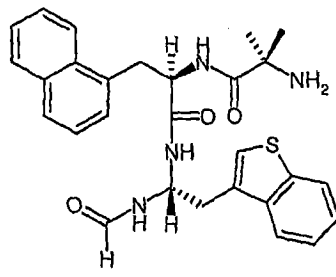
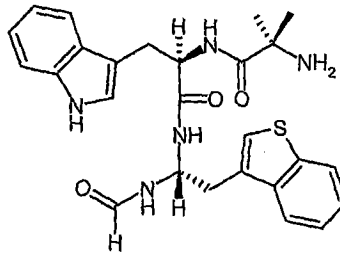
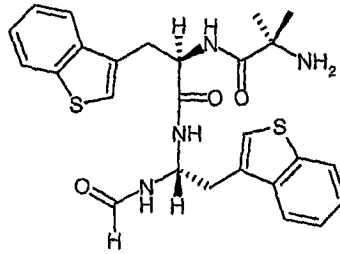
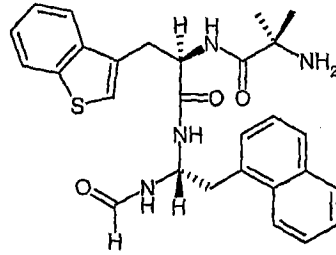
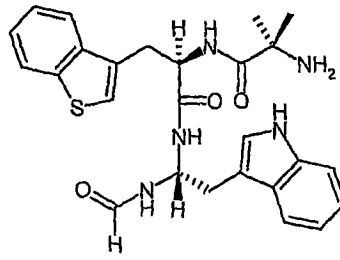


[0251] 或其可药用的盐。

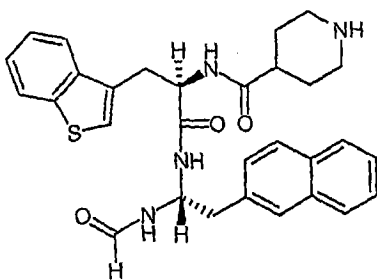
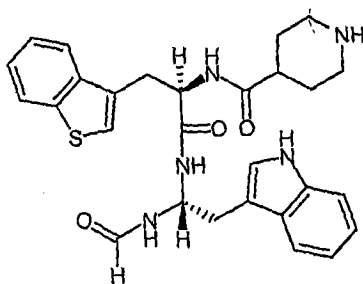
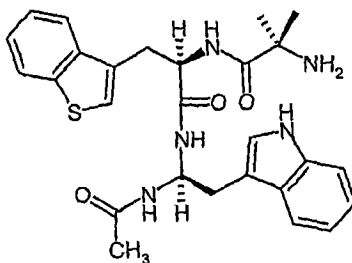
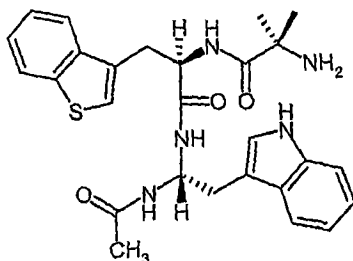
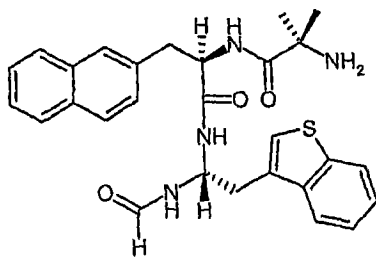
[0252] 优选含有上面刚刚所述的组的化合物和可药用载体的药物组合物。

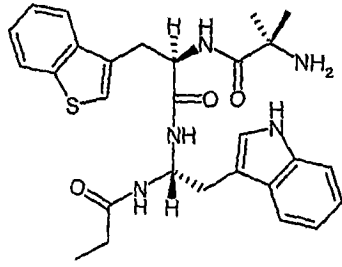
[0253] 优选的第 9 组的化合物是下式的第 9A 组的化合物：

[0254]

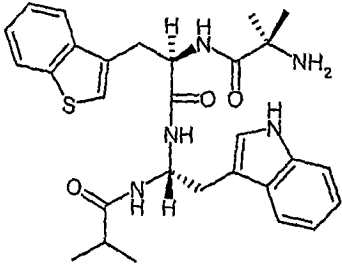


[0255]

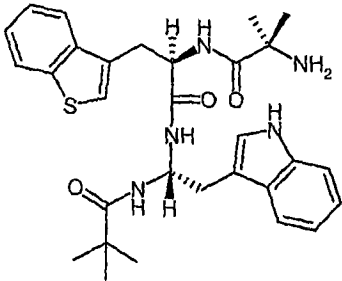




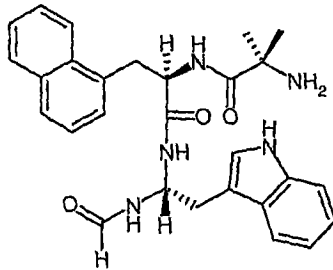
[0256]



, 和



[0257]

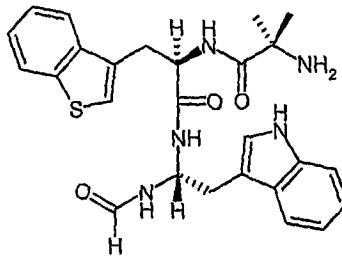


[0258] 或其可药用的盐。

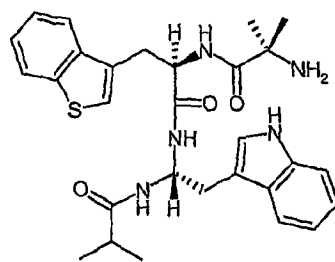
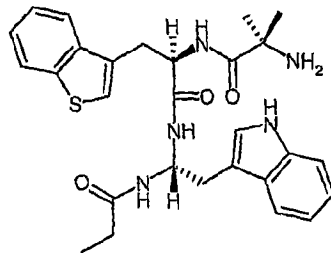
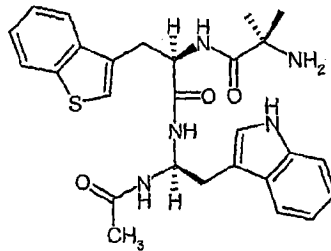
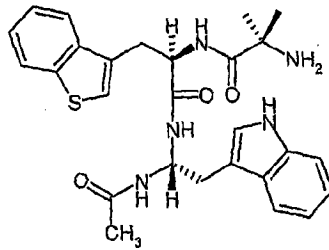
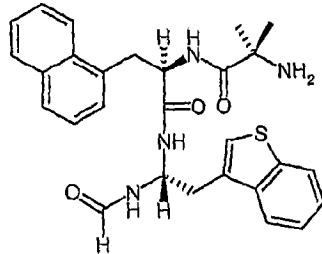
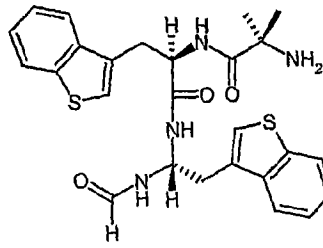
[0259] 优选含有上面刚刚所述的化合物和可药用载体的药物组合物。

[0260] 优选的第 9A 组的化合物是下式的第 9B 组的化合物：

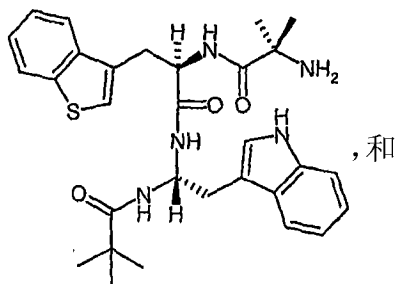
[0261]



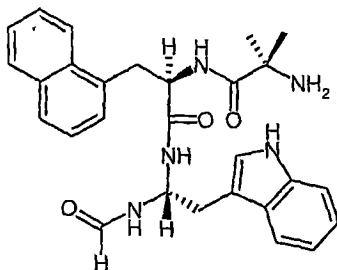
[0262]



[0263]



[0264]

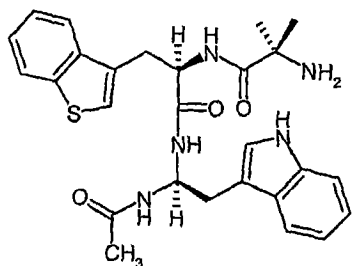
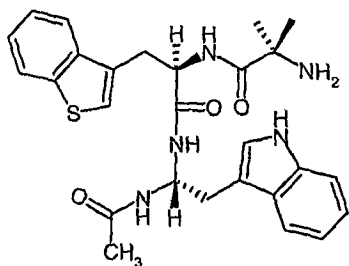
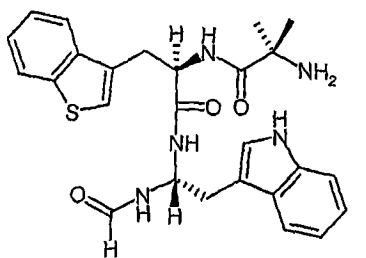


[0265] 或其可药用的盐。

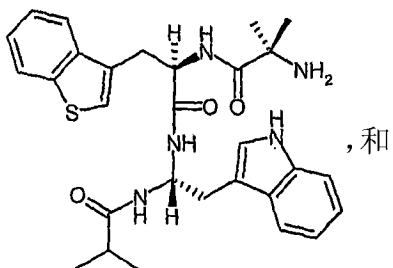
[0266] 优选含有上面刚刚所述的化合物和可药用载体的药物组合物。

[0267] 优选的第 9A 组的化合物是下式的第 9C 组的化合物：

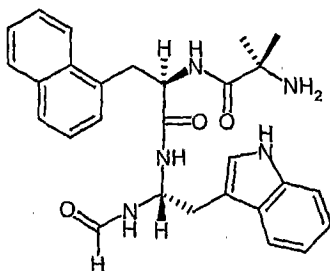
[0268]



[0269]



[0270]

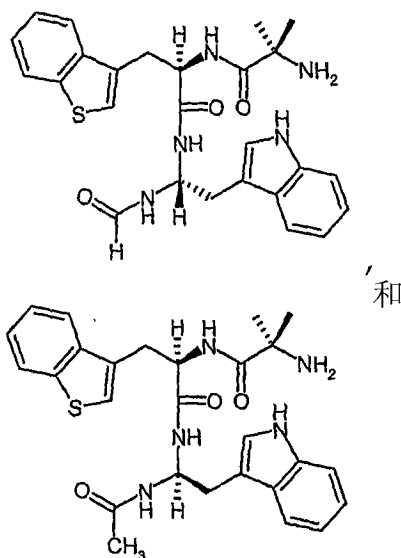


[0271] 或其可药用的盐。

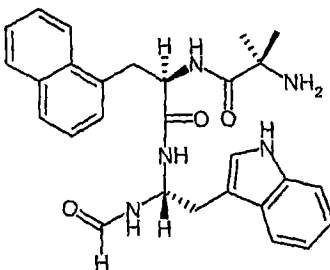
[0272] 优选含有上面刚刚所述的化合物和可药用载体的药物组合物。

[0273] 优选的第 9A 组的化合物是下式的第 9D 组的化合物：

[0274]



[0275]

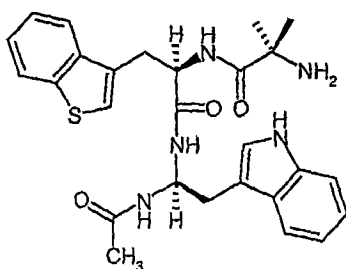


[0276] 或其可药用的盐。

[0277] 优选含有上面刚刚所述的化合物和可药用载体的药物组合物。

[0278] 优选的第 9D 组的化合物是下式的第 9E 组的化合物：

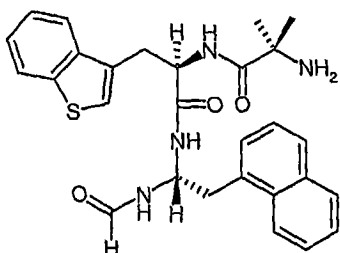
[0279]



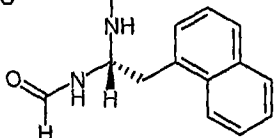
[0280] 或其可药用的盐。

[0281] 优选含有上面刚刚所述的化合物和可药用载体的药物组合物。

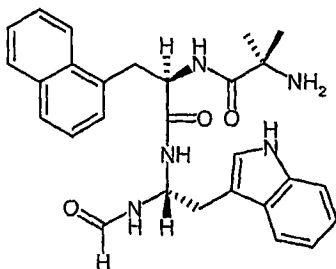
[0282] 优选的第 9 组的化合物是下式的第 9F 组的化合物：



[0283] 和



[0284]

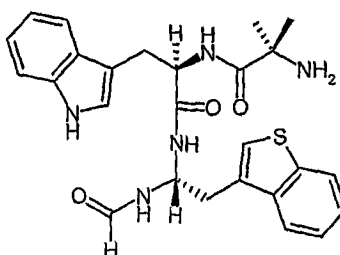
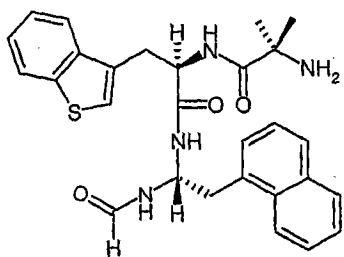


[0285] 或其可药用的盐。

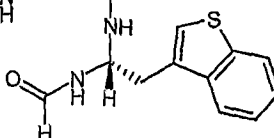
[0286] 优选含有上面刚刚所述的化合物和可药用载体的药物组合物。

[0287] 优选的第 9 组的化合物是下式的第 9G 组的化合物：

[0288]

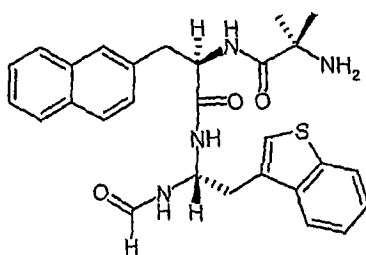


[0289] 和



[0290]



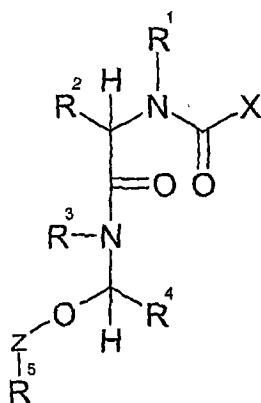


[0291] 或其可药用的盐。

[0292] 优选含有上面刚刚所述的化合物和可药用载体的药物组合物。

[0293] 第二个方面,本发明的特点在于式 (II) 化合物或其可药用的盐:

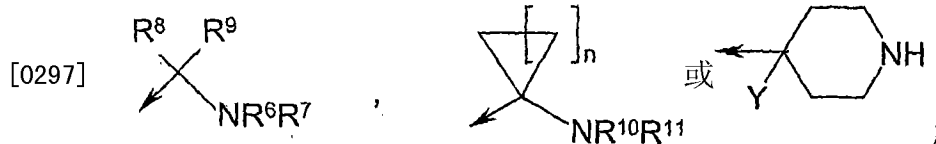
[0294]



(II),

[0295] 其中

[0296] X 是



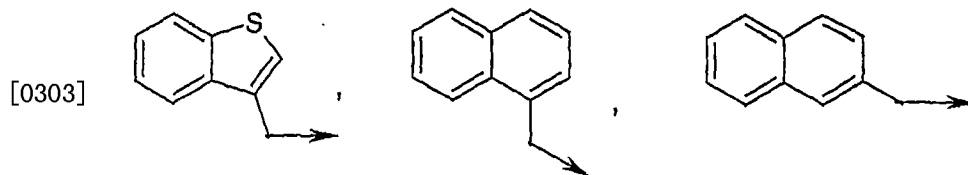
[0298] Y 是 H 或  $NR^{12}R^{13}$  ;

[0299] Z 是  $-C(O)-$  或  $-SO_2-$  ;

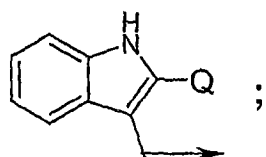
[0300] n 每次出现时独立地是 1、2、3、4、5、6、7 或 8 ;

[0301]  $R^1$  和  $R^3$  每次出现时各自独立地是 H 或  $(C_1-C_4)$  烷基 ;

[0302]  $R^2$  和  $R^4$  每次出现时各自独立地是



或

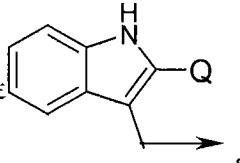


[0304]  $R^5$  是 H 或  $(C_1-C_6)$  卤代烷基 (alkylhalo),

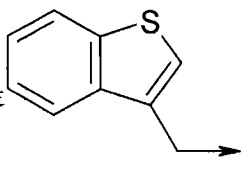
[0305]  $R^8$  和  $R^9$  每次出现时各自独立地是  $(C_1-C_6)$  烷基或被取代的  $(C_1-C_6)$  烷基 ;

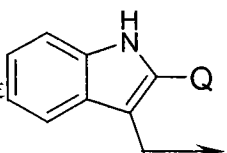
[0306]  $R^6, R^7, R^{10}, R^{11}, R^{12}$  和  $R^{13}$  每次出现时各自独立地是 H、 $(C_1-C_6)$  烷基或被取代的  $(C_1-C_6)$  烷基；且

[0307] Q 是 H 或  $(C_1-C_4)$  烷基；

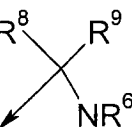
[0308] 条件是在同一个化合物中,  $R^2$  和  $R^4$  不能均是 。

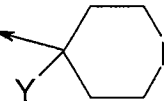
[0309] 被称为第 10 组化合物的优选的式 (II) 化合物或其可药用的盐是其中基团定义如下的式 (II) 化合物：

[0310]  $R^2$  是 ；

[0311]  $R^4$  是 ，其中 Q 是 H；

[0312] Z 是  $-C(O)-$ ；

[0313] X 是 ，其中  $R^6$  和  $R^7$  各自独立地是 H 且  $R^8$  和  $R^9$  各自独立地是  $CH_3$ ；或

[0314] X 是 NH，其中 Y 是 H；或

[0315] X 是 NH，其中 Y 是  $NR^{12}R^{13}$  且  $R^{12}$  和  $R^{13}$  均各自独立地是 H；

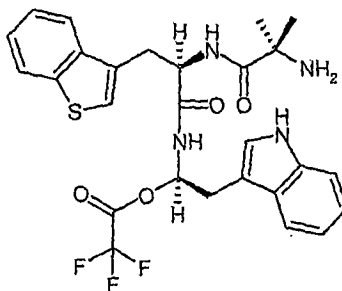
[0316]  $R^1$  是 H；

[0317]  $R^3$  是 H 或甲基；且

[0318]  $R^5$  是 H、甲基、乙基、异丙基或叔-丁基。

[0319] 被称为第 10A 组的更优选的第 10 组的化合物是：

[0320]



[0321] 或其可药用的盐。

[0322] 优选含有上面刚刚所述的化合物和可药用载体的药物组合物。

[0323] 本发明的化合物对 GHS 受体有活性。该化合物可以与该受体结合，并且优选地刺

激受体活性,因此本发明的化合物可用作功能性葛瑞林类似物,其可作为研究工具和/或治疗剂。研究工具应用一般涉及本发明的化合物的使用和GHS受体或其片段的存在。所述GHS受体可存在于不同的环境如哺乳动物个体、全细胞或细胞膜片段中。研究工具应用的实例包括筛选对GHS受体有活性的化合物、确定GHS受体在样品或制备物中的存在和检查葛瑞林的作用或效应。

[0324] 本发明的一个方面的特点在于一种测定化合物与GHS受体结合的能力的方法,所述方法包括测量化合物影响(effect)式(I)或(II)的化合物或者第1、1A、2、2A、3、3A、4、4A、5、5A、6、6A、7、7A、8、8A、9、9A、9B、9C、9D、9E、9F、9G、10和10A组中任何一组的化合物与所述受体、所述受体的片段、包含所述受体的所述片段的多肽或所述多肽的衍生物结合的能力的步骤。

[0325] 本发明的另一个方面的特点在于一种筛选葛瑞林激动剂和/或葛瑞林拮抗剂的方法。葛瑞林激动剂的筛选可以例如通过在用供试化合物进行的竞争实验中使用式(I)或(II)的化合物或者第1、1A、2、2A、3、3A、4、4A、5、5A、6、6A、7、7A、8、8A、9、9A、9B、9C、9D、9E、9F、9G、10和10A组中任何一组的化合物或其可药用的盐来进行。葛瑞林拮抗剂的筛选可以例如通过使用式(I)或(II)的化合物或者第1、1A、2、2A、3、3A、4、4A、5、5A、6、6A、7、7A、8、8A、9、9A、9B、9C、9D、9E、9F、9G、10和10A组中任何一组的化合物或其可药用的盐来产生GHS受体活性、然后测量供试化合物改变GHS受体活性的能力来进行。

[0326] 葛瑞林激动剂可用于在个体中取得有益作用。例如,葛瑞林在不刺激其它脑垂体激素释放的情况下以剂量依赖性方式诱导生长激素从脑垂体细胞原代培养物中释放。给麻醉的大鼠静脉内注射时,葛瑞林刺激生长激素的脉冲释放(Kojima等人, Nature, (1999), 402:656-60)。在一个方面,本发明的特点在于一种在个体中取得有益作用的方法,其包括给所述个体施用有效量的式(I)或(II)的化合物或者第1、1A、2、2A、3、3A、4、4A、5、5A、6、6A、7、7A、8、8A、9、9A、9B、9C、9D、9E、9F、9G、10和10A组中任何一组的化合物或其可药用的盐,其中所述的量可有效产生有助于治疗或预防疾病、病痛或病症的有益作用。“有助于治疗”的含义是治愈特定的疾病或障碍或者降低特定疾病或障碍的症状的严重程度。“有助于预防”的含义是降低特定疾病或障碍发作的可能性降低特定疾病或障碍的严重程度。

[0327] 在另一个方面,本发明的特点在于一种在需要该类刺激的个体中刺激生长激素分泌的方法,其包括给个体施用有效量的式(I)或(II)的葛瑞林激动剂或者第1、1A、2、2A、3、3A、4、4A、5、5A、6、6A、7、7A、8、8A、9、9A、9B、9C、9D、9E、9F、9G、10和10A组中任何一组的葛瑞林激动或其可药用盐的步骤,其中所述的有效量是至少足以使生长激素分泌产生可察觉的增加的量,并且优选地是足以在患者中取得有益作用的量。

[0328] 在上面刚刚所述的方面的一个实施方案中,所述的刺激生长激素分泌适合用于治疗生长激素不足的状态。其中可显示出该类有益作用的实例的非排他性列表包括:治疗生长激素不足的状态、增加肌肉质量和/或骨密度、克服性功能障碍、促进体重增加、维持理想体重、支持身体机能(physical functioning)、恢复躯体功能和/或增加降低的食欲。增加体重、维持某一体重和/或增加食欲对于患有伴有体重降低的疾病或障碍或者正在进行伴有体重降低的医学治疗的患者而言是特别有用的。更优选地,所述的伴有体重降低的疾病或障碍包括但不限于食欲缺乏、食欲过盛、恶病质、AIDS消瘦(AIDS wasting)和/或体弱年老者的消瘦(wasting in frail elderly)。另外优选地,所述的伴有体重降低的医学

治疗包括但不限于化疗、放疗、固定（即强制性卧床休息）和 / 或透析。

[0329] 葛瑞林拮抗剂也可用于在患者中取得有益作用。在另一个方面,本发明的特点在于一种在需要该类抑制的个体中抑制生长激素分泌的方法,其包括给个体施用有效量的式 (I) 或 (II) 的葛瑞林拮抗剂或者第 1、1A、2、2A、3、3A、4、4A、5、5A、6、6A、7、7A、8、8A、9、9A、9B、9C、9D、9E、9F、9G、10 和 10A 组中任何一组的葛瑞林拮抗剂或其可药用盐的步骤,其中所述的有效量是至少足以使生长激素分泌产生可察觉的降低的量,并且优选地是足以在患者中取得有益作用的量。

[0330] 在上面刚刚所述方面的一个实施方案中,所述的抑制生长激素分泌适合用于治疗以过度的生长激素分泌为特征的疾病或病症、用于促进体重降低、用于减轻食欲异常、用于维持所需体重、用于治疗肥胖、用于控制包括其并发症如视网膜病在内的糖尿病状态和 / 或用于预防心血管障碍。

[0331] 在上面刚刚所述方面的一个优选的实施方案中,所述的体重过重是一些疾病或病症的贡献因素,所述的疾病或病症包括但不限于肥胖、高血压、糖尿病、血脂障碍、心血管疾病、胆结石、骨关节炎、普 - 威综合征、关节炎和某些癌症。更优选地,所述的促进体重降低降低该类疾病或病症的可能性。还更优选地,所述的促进体重降低包括该类疾病或病症的至少部分治疗。

[0332] 在另一个更优选的实施方案中,本发明的化合物还可用于在需要其的个体中促进胃肠蠕动,其是通过给患有该类病症的个体施用有效量的一种或多种式 (I) 或 (II) 的化合物或者第 1、1A、2、2A、3、3A、4、4A、5、5A、6、6A、7、7A、8、8A、9、9A、9B、9C、9D、9E、9F、9G、10 和 10A 的化合物或其可药用盐来进行的,其中所述的有效量是至少足以促进胃肠蠕动的量,并且优选地是足以在患者中取得有益作用的量。

[0333] 在上面刚刚所述方法的一个优选的实施方案中,所述的胃肠蠕动减少发生于患有手术后肠梗阻、胃轻瘫、溃疡性结肠炎或炎症性肠病例如克隆病的个体。

[0334] 在上面刚刚所述方法的另一个更优选的实施方案中,所述的胃轻瘫是糖尿病或慢性糖尿病状态发作所伴随的。

[0335] 本发明的其它特点和优点通过本文所提供的包括不同实施例在内的另外一些描述而变得显而易见。所提供的实施例说明了可用于实施本发明的不同的组分和方法。实施例不限制所要求保护的发明。根据本申请的公开内容,本领域技术人员将能确定和使用可用于实施本发明的其它的组分和方法。

[0336] 发明详述

[0337] 本发明的特点在于对 GHS 受体有活性的肽基类似物。本发明的类似物能与 GHS 受体结合并且优选地造成信号转导。

[0338] 用于定义肽的命名法是本领域中常用的,其中位于 N-末端的氨基显然是左端,位于 C-末端的羧基显然是右端,即,代表了  $-\text{NH}-\text{C}(\text{R})(\text{R}')-\text{CO}-$  的结构,其中 R 和 R' 各自独立地是氢或氨基酸的侧链(例如,对于 A1a 而言,  $\text{R} = \text{CH}_3$  且  $\text{R}' = \text{H}$ ),或者 R 和 R' 可以连接形成环系。在氨基酸具有异构形式的情况下,除非另有明确说明,否则其是氨基酸的 L 形式。除非另有定义,否则本文所用的所有技术和科学术语均具有本发明所属领域普通技术人员通常所理解的含义。本文所提及的所有公开物、专利申请、专利和其它参考资料均引入参考。

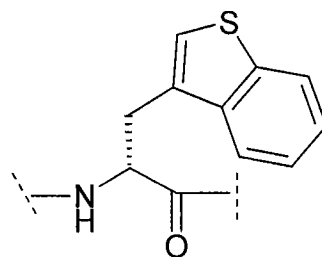
[0339] 命名和缩写

[0340] 符号 含义

[0341] Aib  $\alpha$ -氨基异丁酸

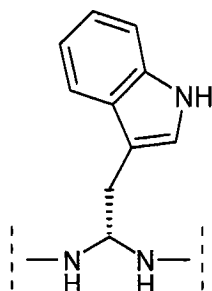
[0342] D-Bal 具有下列结构的 D-3- 苯并噻吩基丙氨酸：

[0343]



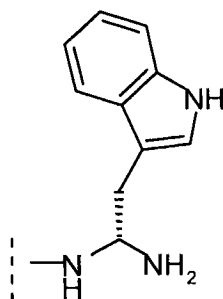
[0344] DgTrp 如下列结构所示：

[0345]



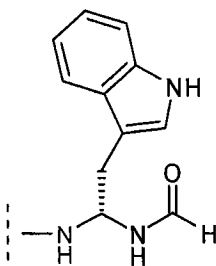
[0346] DgTrp-H 如下列结构所示：

[0347]



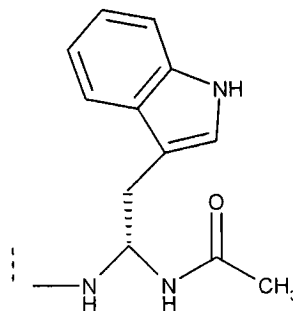
[0348] DgTrp-CHO 如下列结构所示：

[0349]



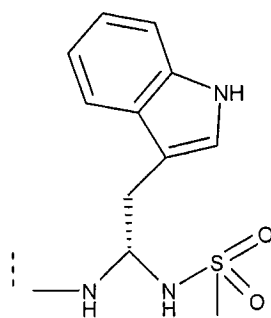
[0350] DgTrp-C(O)CH<sub>3</sub> 如下列结构所示：

[0351]



[0352] DgTrp-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> 如下列结构所示：

[0353]



[0354] D-Trp        D- 色氨酸

[0355] 本文所用的某些其它缩写的定义如下：

[0356] Ac :        乙酰基

[0357] AcOEt :     乙酸乙酯

[0358] Boc :        叔 - 丁氧基羰基

[0359] BSA :        牛血清白蛋白

[0360] BTIB :       双 ( 三氟乙酰氧基 ) 碘苯

[0361] Bzl :        苄基

[0362] DCM :        二氯甲烷

[0363] DIC :        N, N- 二异丙基碳二亚胺

[0364] DIEA :       异丙基乙基胺

[0365] Dmab :       4- { N- ( 1- ( 4, 4- 二甲基 - 2, 6- 二氧代亚环己基 ) - 3- 甲基丁基 ) - 氨基 }  
苄

[0366]            基

[0367] DMAP :       4- ( 二甲基氨基 ) 吡啶

[0368] DMF :        二甲基甲酰胺

[0369] DNP :        2, 4- 二硝基苯基

[0370] EDC :        1- [ 3- ( 二甲基氨基 ) 丙基 ] - 3- 乙基碳二亚胺盐酸盐

[0371] EDTA :       乙二胺四乙酸

[0372] Fmoc :        芴基甲氧基羰基

[0373] HBTU :       2- ( 1H- 苯并三唑 - 1- 基 ) - 1, 1, 3, 3- 四甲基脲鎓六氟磷酸盐

[0374] cHex :        环己基

[0375] HOAT :       0- ( 7- 氮杂苯并三唑 - 1- 基 ) - 1, 1, 3, 3- 四甲基脲鎓六氟磷酸盐

[0376] HOBT :       1- 羟基 - 苯并三唑

[0377] HOSu :       N- 羟基琥珀酰亚胺

[0378] HPLC :       高效液相色谱法

[0379] Mesh :       吗啉代乙磺酸水合物

[0380] Mmt :        4- 甲氧基三苯甲基

[0381] NMP :        N- 甲基吡咯烷酮

[0382] Pbf :        2, 2, 4, 6, 7- 五甲基二氢苯并呋喃 - 5- 磺酰基

[0383] tBu :        叔 - 丁基

[0384] TIS :        三异丙基硅烷

- [0385] TOS : 甲苯磺酰基  
 [0386] Trt : 三苯甲基  
 [0387] TFA : 三氟乙酸  
 [0388] TFFH : 四甲基氟代甲脒鎓六氟磷酸盐  
 [0389] (tetramethylfluoroformamidinium hexafluorophosphate)  
 [0390] Z : 苄氧基羰基

[0391] “烷基”指的是含有一个或多个碳原子的烃基,其中如果存在多个碳原子,则其通过单键相连。该烷基烃基可以是直链的或者可以含有一个或多个分支或者可以是环状基团。

[0392] “被取代的烷基”指的是其中烃基的一个或多个氢原子被一个或多个选自下组的取代基代替的烷基:卤素(即氟、氯、溴和碘)、-OH、-CN、-SH、-NH<sub>2</sub>、-NHCH<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、-OCH<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>-COOH 和 -C<sub>1-2</sub> 烷基,其本身可任选地被一个或多个取代基取代,所述取代基每次出现时独立地选自由卤素(即氟、氯、溴和碘)、-OH、-CN、-SH、-NH<sub>2</sub>、-NHCH<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、-OCH<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>-COOH 组成的组。在不同的实施方案中,存在 1 至 4 个取代基。存在 -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>-COOH 使得产生烷基酸。含有 -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>-COOH 或者由 -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>-COOH 组成的烷基酸的非限制性实例包括 2- 降冰片烷乙酸、叔-丁酸、3- 环戊基丙酸等。

[0393] “杂烷基”指的是其中烃基中的一个或多个碳原子被一个或多个下列基团代替的烷基:氨基、酰氨基、-O- 或羰基。在不同的实施方案中,存在一个或多个杂原子。

[0394] “被取代的杂烷基”指的是其中烃基的一个或多个氢原子被一个或多个选自下组的取代基代替的杂烷基:卤素(即氟、氯、溴和碘)、-OH、-CN、-SH、-NH<sub>2</sub>、-NHCH<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、-OCH<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>-COOH 和 -C<sub>1-2</sub> 烷基,其本身可以任选地被一个或多个取代基取代,所述取代基每次出现时独立地选自由卤素(即氟、氯、溴和碘)、-OH、-CN、-SH、-NH<sub>2</sub>、-NHCH<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、-OCH<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>-COOH。在不同的实施方案中,存在 1 至 4 个取代基。在不同的实施方案中,存在 1 至 4 个取代基。

[0395] “烯基”指的是其中存在一个或多个碳-碳双键的由两个或更多个碳组成的烃基。该烯基烃基可以是直链的或者可以含有一个或多个分支或者可以是环状基团。

[0396] “被取代的烯基”指的是其中一个或多个氢被一个或多个选自下组的取代基代替的烯基:卤素(即氟、氯、溴和碘)、-OH、-CN、-SH、-NH<sub>2</sub>、-NHCH<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、-OCH<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>-COOH 和 -C<sub>1-2</sub> 烷基,其本身可任选地被一个或多个取代基取代,所述取代基每次出现时独立地选自由卤素(即氟、氯、溴和碘)、-OH、-CN、-SH、-NH<sub>2</sub>、-NHCH<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、-OCH<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>-COOH 组成的组。在不同的实施方案中,存在 1 至 4 个取代基。在不同的实施方案中,存在 1 至 4 个取代基。

[0397] “炔基”指的是其中存在一个或多个碳-碳三键的由两个或更多个碳所组成的烃基。该炔基烃基可以是直链的或者可以含有一个或多个分支或者可以是环状基团。

[0398] “被取代的炔基”指的是其中一个或多个氢被一个或多个选自下组的取代基代替的炔基:卤素(即氟、氯、溴和碘)、-OH、-CN、-SH、-NH<sub>2</sub>、-NHCH<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、-OCH<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>-COOH 和 -C<sub>1-2</sub> 烷基,其本身可任选地被一个或多个取代基取代,所述取代基每次出现时独立地选自由卤素(即氟、氯、溴和碘)、-OH、-CN、-SH、-NH<sub>2</sub>、-NHCH<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、-OCH<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>-COOH 组成的组。在不同的实施方案中,存在 1 至 4 个取代基。在不同的实施方案

中,存在 1 至 4 个取代基。

[0399] “芳基”指的是含有至多两个轭合或稠合环系的具有轭合  $\pi$ -电子系统的具有至少一个环的任选地被取代的芳族基团。芳基包括但不限于碳环芳基、杂环芳基和联芳基。该芳基优选是五或六元环。杂环芳基的优选原子是一个或多个硫、氧和 / 或氮。芳基的非限制性实例包括苯基、1-萘基、2-萘基、吡啶、喹啉、2-咪唑和 9-蒽等。芳基取代基可以选自下组:卤素(即氟、氯、溴和碘)、-OH、-CN、-SH、-NH<sub>2</sub>、-NHCH<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、-OCH<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>-COOH 和 -C<sub>1-2</sub>烷基,其本身可任选地被一个或多个取代基取代,所述取代基每次出现时独立地选自自由卤素(即氟、氯、溴和碘)、-OH、-CN、-SH、-NH<sub>2</sub>、-NHCH<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、-OCH<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>-COOH 组成的组。在不同的实施方案中,存在 1 至 4 个取代基。在不同的实施方案中,芳基含有 0、1、2、3 或 4 个取代基。

[0400] “芳基烷基”或“烷基芳基”指的是与“芳基”相连的“烷基”。

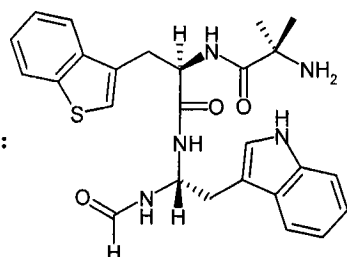
[0401] “酰基”指的是 X'-R"-C(O)-,其中 R"是烷基、被取代的烷基、杂烷基、被取代的杂烷基、烯基、被取代的烯基、炔基、被取代的炔基、芳基、烷基芳基或被取代的烷基芳基,X'是 H 或不存在。

[0402] 本发明包括非对映体以及它们的外消旋形式和拆分的对映异构体的形式。所要保护的类似物可含有 D-氨基酸、L-氨基酸或其组合。优选地,且除非另有说明,否则葛瑞林类似物中存在的氨基酸是 L-对映体。

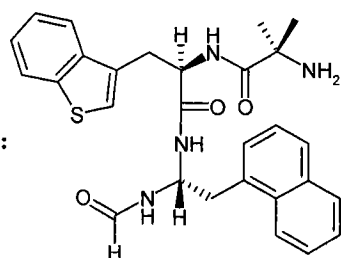
#### [0403] 实施例

[0404] 下面提供了一些实施例来对本发明的不同特点进一步进行说明。这些实施例也说明了用于实施本发明的有用方法。这些实施例不限制所要求保护的发明。

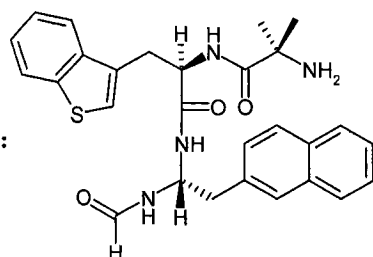
[0405] 实施例 1:



[0406] 实施例 2:

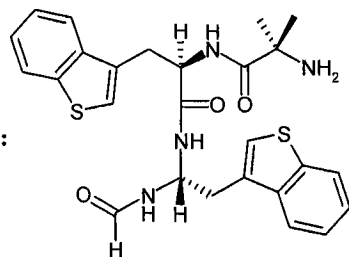


[0407] 实施例 3:

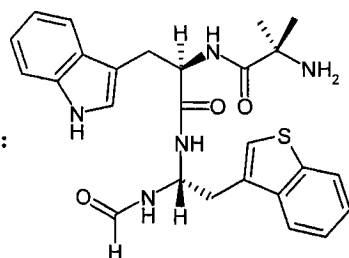




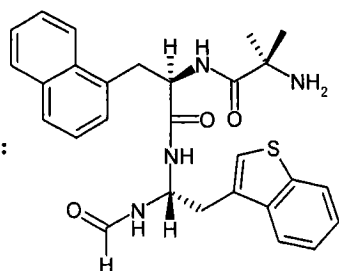
[0408] 实施例 4 :



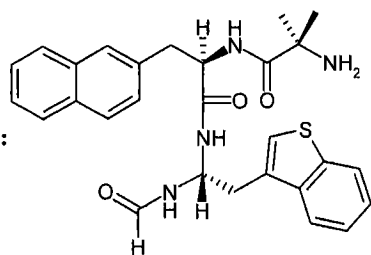
[0409] 实施例 5 :



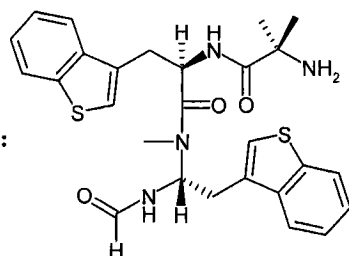
[0410] 实施例 6 :



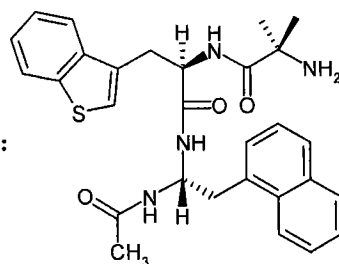
[0411] 实施例 7 :



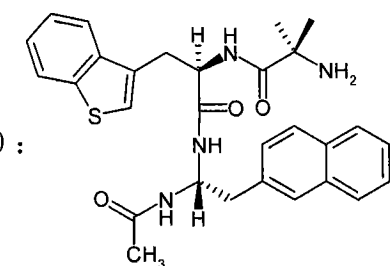
[0412] 实施例 8 :



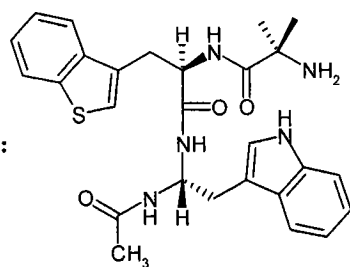
[0413] 实施例 9 :



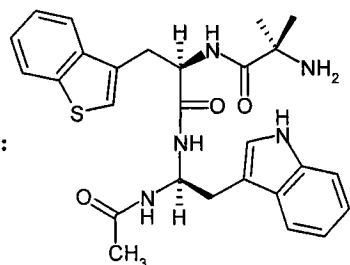
[0414] 实施例 10 :



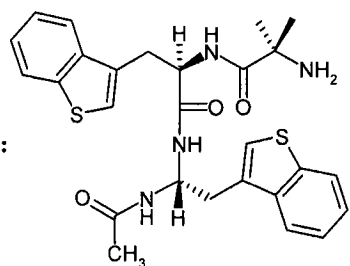
[0415] 实施例 11 :



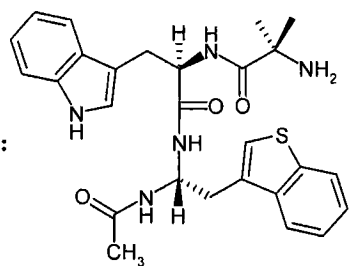
[0416] 实施例 12 :



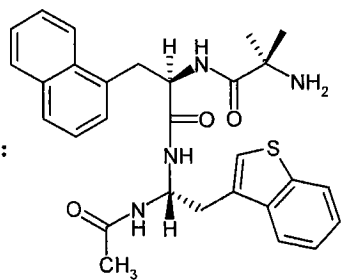
[0417] 实施例 13 :



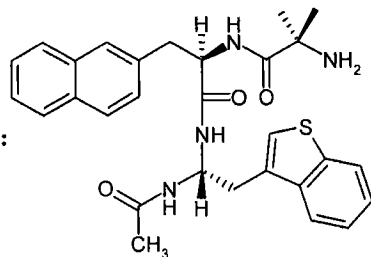
[0418] 实施例 14 :



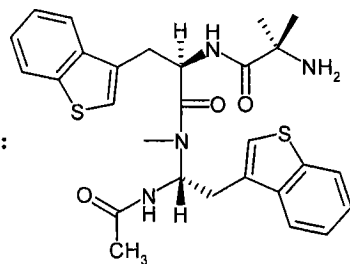
[0419] 实施例 15 :



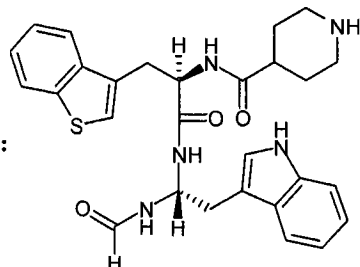
[0420] 实施例 16 :



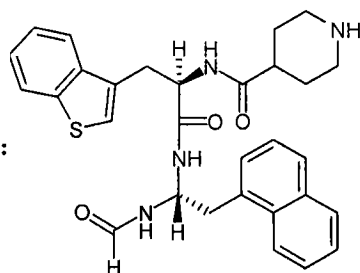
[0421] 实施例 17 :



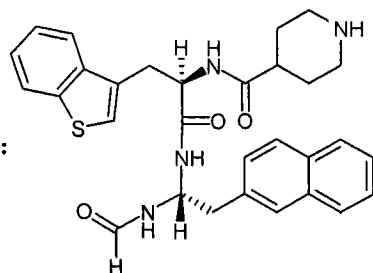
[0422] 实施例 18 :



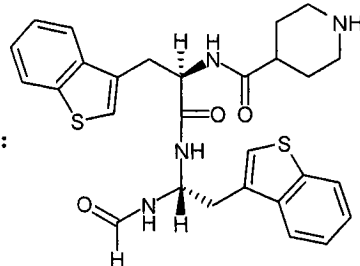
[0423] 实施例 19 :



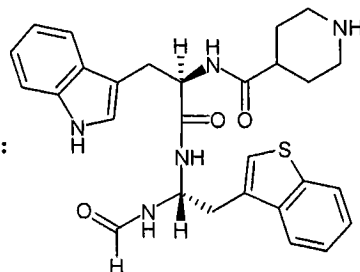
[0424] 实施例 20 :



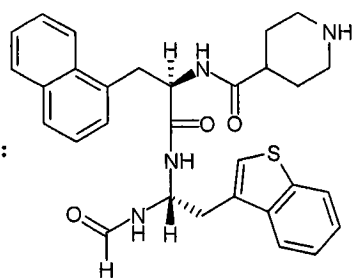
[0425] 实施例 21 :



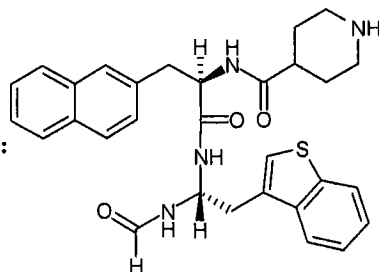
[0426] 实施例 22 :



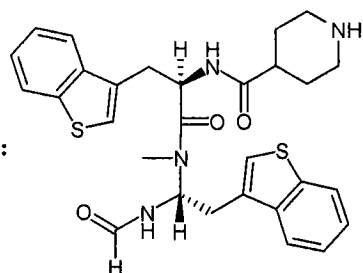
[0427] 实施例 23 :



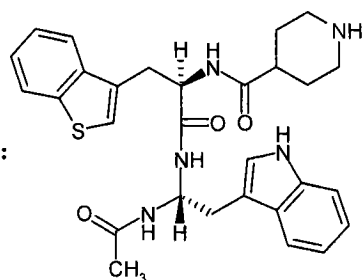
[0428] 实施例 24 :



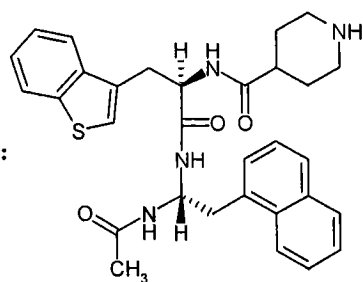
[0429] 实施例 25 :



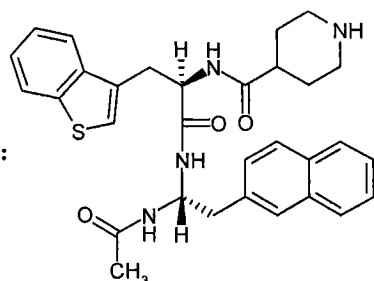
[0430] 实施例 26 :



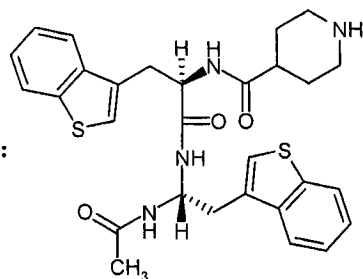
[0431] 实施例 27 :



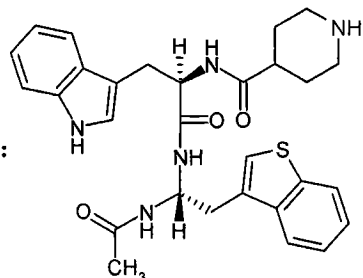
[0432] 实施例 28 :



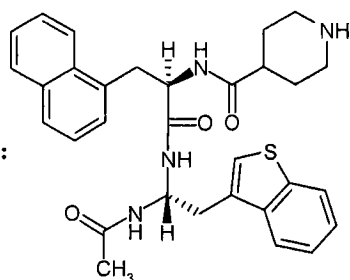
[0433] 实施例 29 :



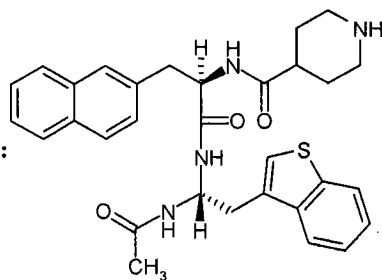
[0434] 实施例 30 :



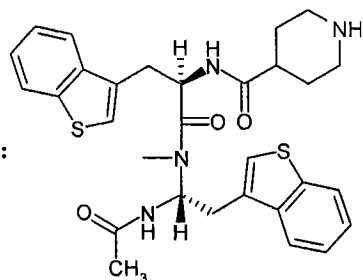
[0435] 实施例 31 :



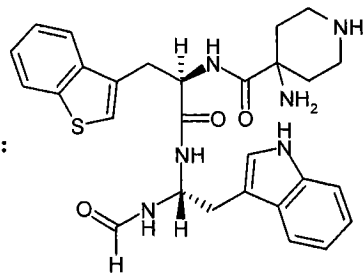
[0436] 实施例 32 :



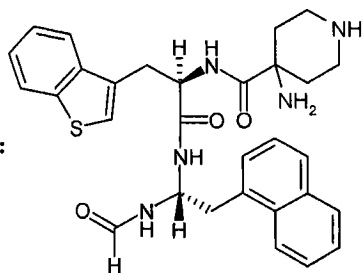
[0437] 实施例 33 :



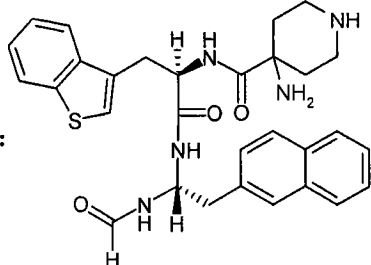
[0438] 实施例 34 :



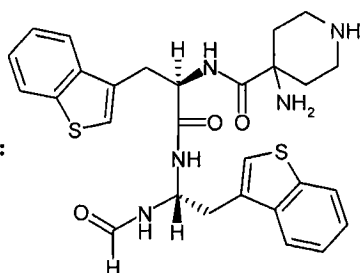
[0439] 实施例 35 :



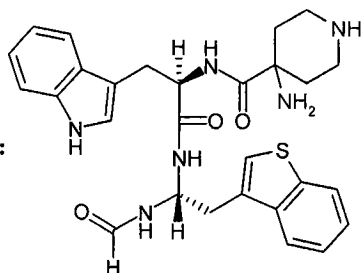
[0440] 实施例 36 :



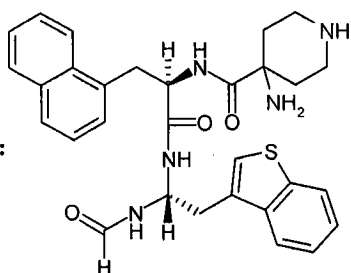
[0441] 实施例 37 :



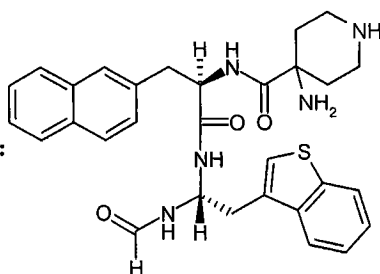
[0442] 实施例 38 :



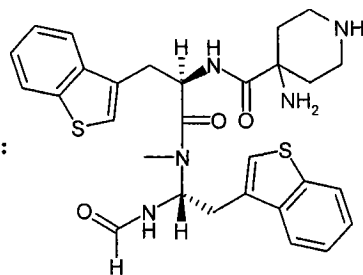
[0443] 实施例 39 :



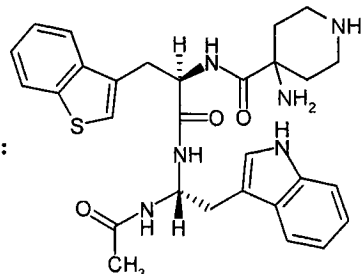
[0444] 实施例 40 :



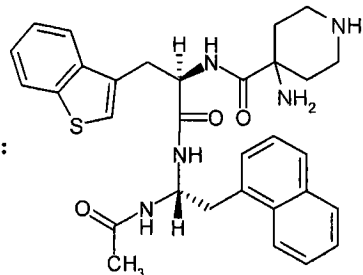
[0445] 实施例 41 :



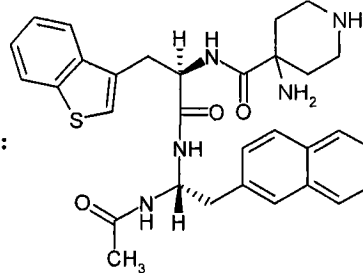
[0446] 实施例 42 :



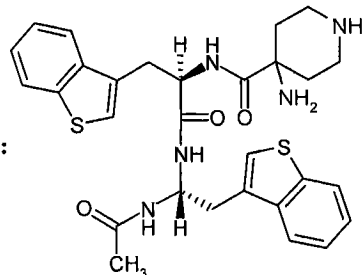
[0447] 实施例 43 :



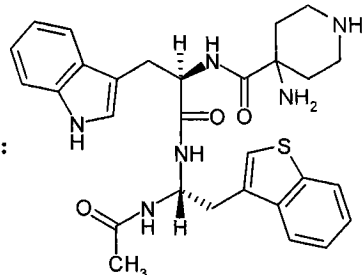
[0448] 实施例 44 :



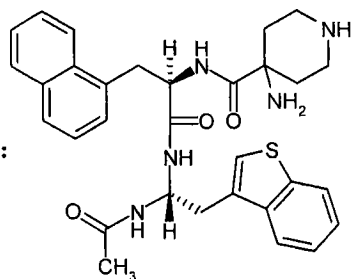
[0449] 实施例 45 :



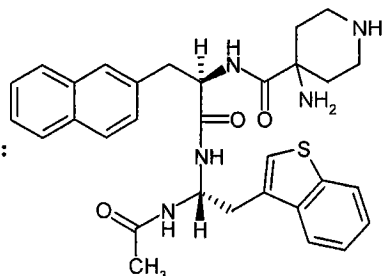
[0450] 实施例 46 :



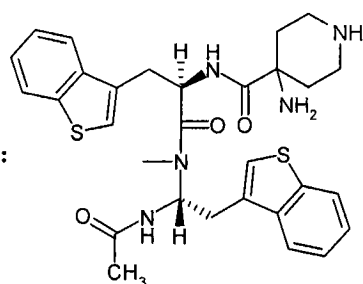
[0451] 实施例 47 :



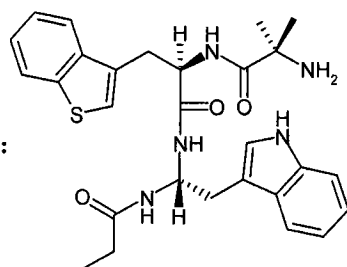
[0452] 实施例 48 :



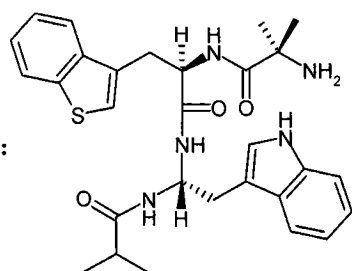
[0453] 实施例 49 :



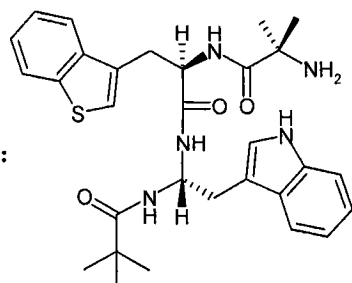
[0454] 实施例 50 :



[0455] 实施例 51 :

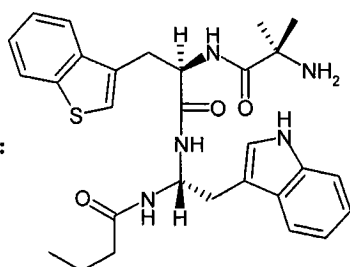


[0456] 实施例 52 :

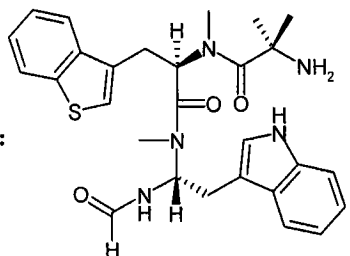




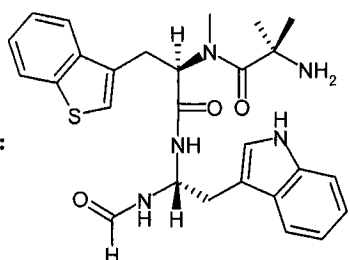
[0457] 实施例 53 :



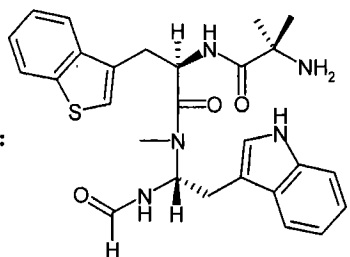
[0458] 实施例 54 :



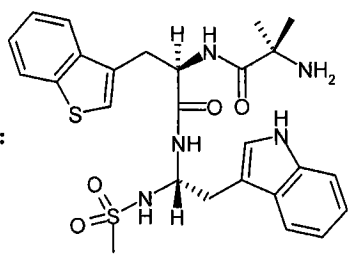
[0459] 实施例 55 :



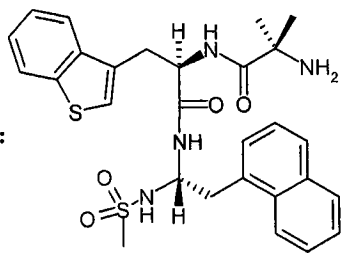
[0460] 实施例 56 :



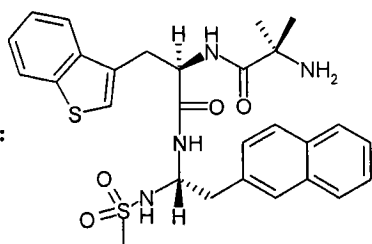
[0461] 实施例 57 :



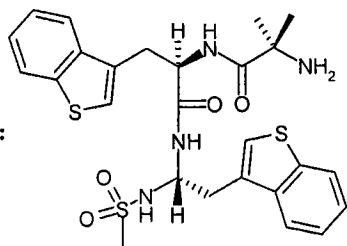
[0462] 实施例 58 :



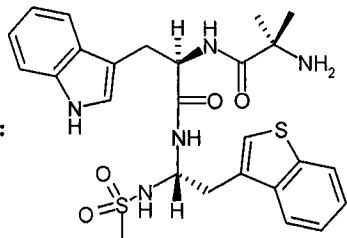
[0463] 实施例 59 :



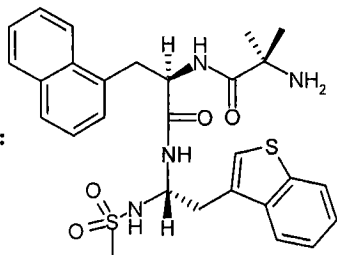
[0464] 实施例 60 :



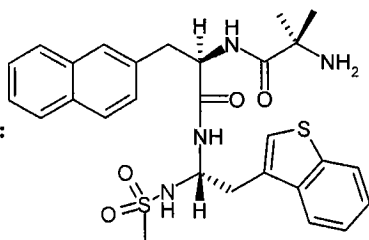
[0465] 实施例 61 :



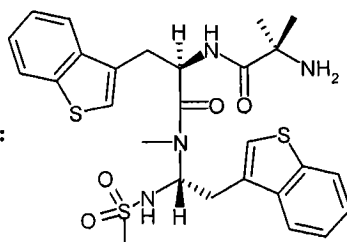
[0466] 实施例 62 :



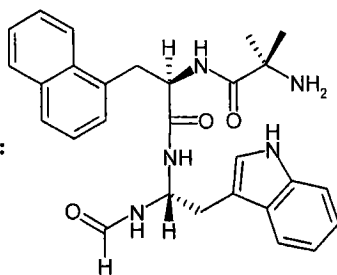
[0467] 实施例 63 :



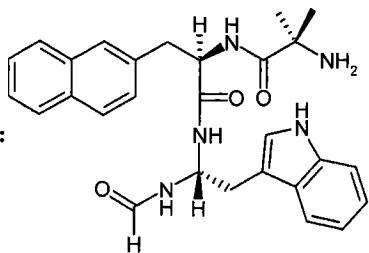
[0468] 实施例 64 :



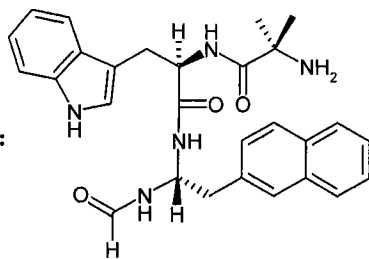
[0469] 实施例 65 :



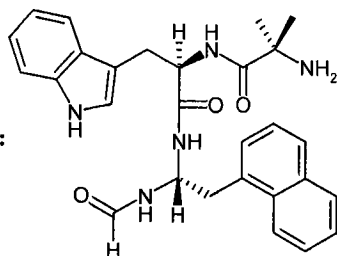
[0470] 实施例 66 :



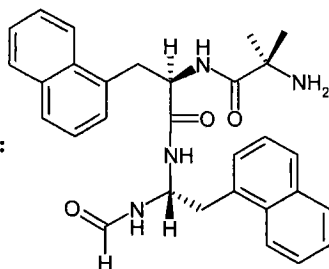
[0471] 实施例 67 :



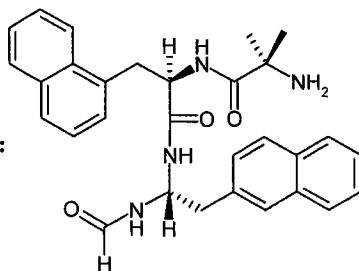
[0472] 实施例 68 :



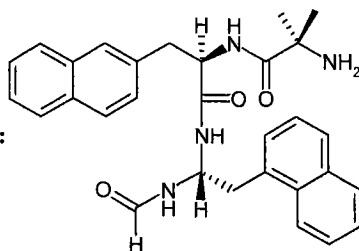
[0473] 实施例 69 :



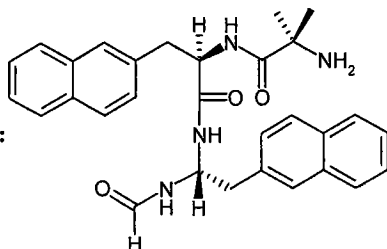
[0474] 实施例 70 :



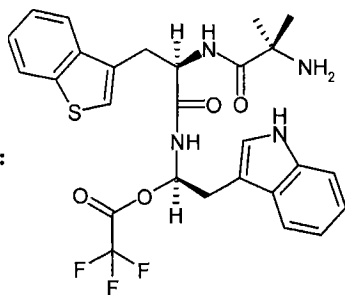
[0475] 实施例 71 :



[0476] 实施例 72 :



[0477] 实施例 73 :



[0478] 合成

[0479] 本发明的化合物可以用本文的实施例中所公开的技术以及本领域公知的技术来进行制备。例如, GHRP 类似物的多肽区域可以被化学或生物化学合成并且可以被修饰。在 Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley, 1987-1998 和 Sambrook 等人, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 第 2 版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989 中提供了涉及向细胞中引入核酸和表达核酸的生物化学合成技术的实例。用于多肽的化学合成的技术是本领域中公知的, 例如, Vincent, Peptide and Protein Drug Delivery, 纽约, N. Y., Dekker, 1990。例如, 本发明的肽可以用标准固相肽合成来进行制备 (见, 例如, Stewart, J. M., 等人, Solid Phase Synthesis (Pierce Chemical Co., 第 2 版, 1984))。

[0480] 可以用本领域已知的标准方法将上面式 (I) 的取代基  $R^1$  连接到 N-末端氨基酸的游离氨基上。例如, 可以用还原烷基化来连接烷基例如 ( $C_1-C_{30}$ ) 烷基。也可以用还原烷基化来连接羟基烷基例如 ( $C_1-C_{30}$ ) 羟基烷基, 其中游离羟基用叔-丁基酯进行保护。可以通过将游离酸例如  $E^1COOH$  与 N-末端氨基酸的游离胺偶联来连接酰基例如  $COE^1$ , 所述偶联是通过将完工的树脂 (completed resin) 与 3 摩尔当量的游离酸和二异丙基碳二亚胺在二氯甲烷中混合约 1 小时来进行的。如果游离酸含有游离羟基例如对-羟基苯基丙酸, 则该偶联应当用另外的 3 摩尔当量的 HOBt 进行。

[0481] 本发明的肽也可以并且已经以平行方式在 ACT 396 Multiple Biomolecular Synthesizer<sup>®</sup> (Advanced ChemTech<sup>®</sup>, Louisville, KY) (在下文被称为“合成器”) 上被合成。对该合成器编程以使其进行下列反应循环:

[0482] (1) 用二甲基甲酰胺 (DMF) 进行洗涤;

[0483] (2) 用 20% 哌啶的 DMF 溶液除去 Fmoc 保护基团, 一次 5 分钟, 第二次 25 分钟;

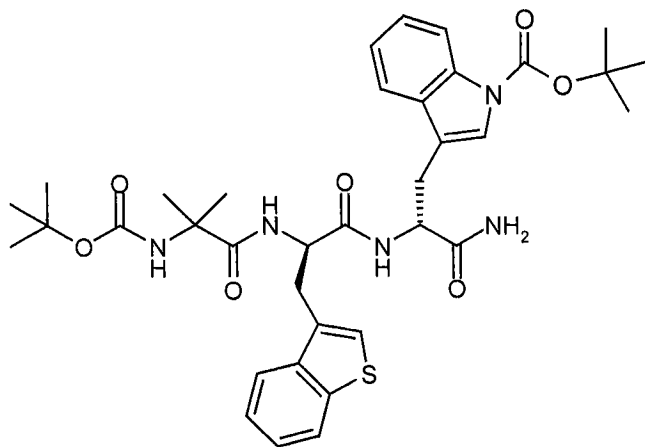
[0484] (3) 用 DMF 进行洗涤;

[0485] (4) 在存在二异丙基碳二亚胺 (DIC) 和 1-羟基苯并三唑 (HOBt) 的情况下在室温下与 Fmoc 氨基酸偶联 1 小时; 和

[0486] (5) 重复步骤 4。

[0487] 中间体 A : N- $\alpha$ -Boc-Aib-D-Bal-D-Trp(Boc)-NH<sub>2</sub>

[0488]



[0489] 标题化合物是在 ACT 396 合成器<sup>®</sup> (Advanced ChemTech<sup>®</sup>, Louisville, KY) 上通过使用芴基甲氧基羰基 (Fmoc) 化学而自动装配的。使用具有 0.44mmol/g 的取代的 Sieber 树脂 (对于每个反应孔而言, 50  $\mu$  mol 的规模, AnaSpec<sup>®</sup>, San Jose, CA)。Boc-Aib-OH 和 Fmoc-D-Trp(Boc)-OH 购自 Novabiochem<sup>®</sup> (San Diego, CA)。Fmoc-D-Bal-OH 购自 Chem-ImpexInternational, Inc.<sup>®</sup> (Wood Dale, IL)。将两个反应孔中的树脂首先用 25% 的哌啶的 DMF 溶液处理半小时以除去 Fmoc 保护基团, 然后用 1.5mL DMF 洗涤三次。用 DIC (0.4N DMF 溶液, 300  $\mu$  mol, 6 eq.) 和 HOBT (0.3N NMP 溶液, 300  $\mu$  mol, 6 eq.) 作为偶联剂并且用 NMP 作为溶剂将 Fmoc-D-Trp(Boc)-OH (300  $\mu$  mol, 6 eq.) 偶联到树脂上。以 1 小时的时间间隔进行两次双偶联。然后, 将树脂用 DMF 洗涤 (3  $\times$  1.5mL)。通过使用 Fmoc-D-Bal-OH 和 Boc-Aib-OH 保护的氨基酸来重复上面的去保护 / 洗涤 / 偶联 / 洗涤循环以添加 D-Bal 和 Boc-Aib 残基。在装配后, 将树脂用 DCM 洗涤并转移到位于振荡器上的反应容器中。将树脂与 1% TFA 的 DCM 溶液 (10mL) 一起振荡 10 分钟。将溶液排放到一个含有 10% 的位于 4mL Mesh 中的吡啶的烧瓶中。将该操作重复两次。然后, 将树脂用 Mesh 和 DCM 洗涤。合并滤液并减压浓缩。然后, 将所得的溶液:

[0490] 1). 用 50mL DCM 稀释;

[0491] 2). 用 20mL 饱和碳酸氢钠水溶液、20mL 1M 的硫酸氢钾水溶液和 20mL 饱和氯化钠水溶液洗涤;

[0492] 3). 用无水硫酸钠干燥;

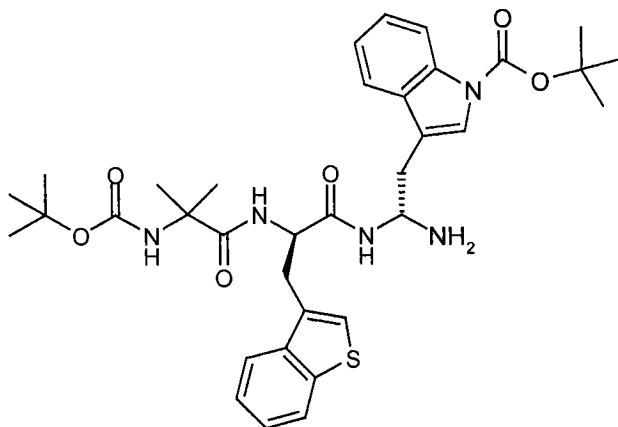
[0493] 4). 过滤; 和

[0494] 5). 在减压下蒸发至干。

[0495] 得到 57mg 白色粉末。电喷雾离子化质谱法 (ESI MS) 分析表明其分子量为 692.4 (与 691.9 的分子量计算值一致)。根据分析型 HPLC 分析测得终产物的纯度为 99%。

[0496] 中间体 B: N- $\alpha$ -Boc-Aib-D-Bal-DgTrp(Boc)-H

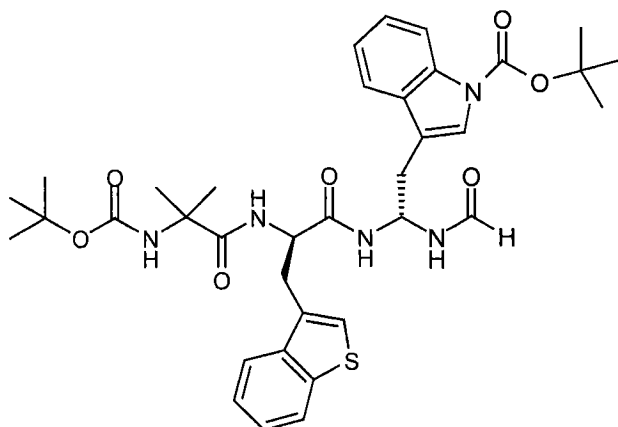
[0497]



[0498] 将 N- $\alpha$ -Boc-Aib-D-Bal-D-Trp(Boc)-NH<sub>2</sub> (中间体 A, 48.9mg, 62  $\mu$ mol)、吡啶 (136  $\mu$ mol, 2.2 eq.) 和双(三氟乙酰氧基)碘苯 (34.4mg, 1.1eq.) 在水和乙腈 (1 : 1) 中的溶液在室温下搅拌 45 分钟。在减压下除去溶剂。将残余物溶解于 10mL AcOEt 中并用 2mL 饱和 NaHCO<sub>3</sub> 洗涤 3 次、用 2mL 饱和 KHSO<sub>4</sub> 洗涤 3 次, 用 2mL 盐水洗涤 3 次。将有机层用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并在真空下蒸发至干。得到 47.3mg 所需产物。ESI-MS 分析表明其分子量为 664.0 (与 663.8 的分子量计算值一致)。根据分析型 HPLC 分析测得终产物的纯度为 99%。

[0499] 中间体 C :N- $\alpha$ -Boc-Aib-D-Bal-DgTrp(Boc)-CHO

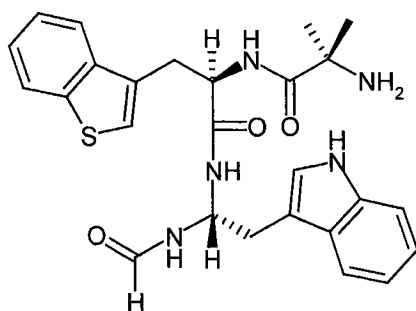
[0500]



[0501] 将 N- $\alpha$ -Boc-Aib-D-Bal-DgTrp(Boc)-H (中间体 B, 47.3mg, 71.2  $\mu$ mol)、HCOOCH<sub>3</sub> (10.3mL) 和 DIEA (100  $\mu$ L) 的混合物在 50 $^{\circ}$ C 加热过夜。将该混合物用 5mL 甲苯稀释并除去挥发性物质。将残余物溶解于 10mL 乙酸乙酯中并用 2mL 饱和 KHSO<sub>4</sub> 洗涤 3 次, 用 2mL 盐水洗涤 3 次。将有机层用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并在真空下除去溶剂。得到 40.5mg 所需产物。根据分析型 HPLC 分析测得终产物的纯度为 99%。ESI-MS 分析表明其分子量为 692.3 (与 691.9 的分子量计算值一致)。

[0502] 实施例 1 :Aib-D-Bal-DgTrp-CHO

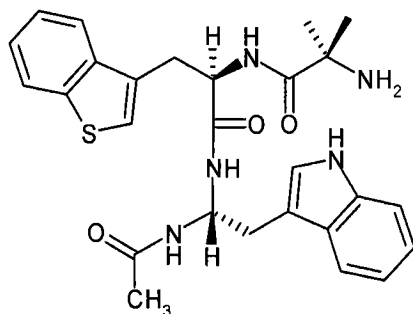
[0503]



[0504] 将 N- $\alpha$ -Boc-Aib-D-Bal-DgTrp(Boc)-CHO( 中间体 C, 35.5mg, 51.3  $\mu$ mol) 用 5mL TFA/ 茴香硫醚 / 茴香醚 (v/v/v :4/0.5/0.5) 的混合物在 0 $^{\circ}$ C 处理 1.5 小时。将溶液真空蒸发。将残余物用冷乙醚研磨并通过过滤收集沉淀。将粗产物用 HPLC 纯化, 使用 C18-(2) 的 Luna<sup>®</sup> 柱 (40 $\times$ 130mm) (Phenomenex<sup>®</sup>, Torrance, CA)。在 1 小时中, 用从 95% A 和 5% B 至 60% A 和 40% B 的线性梯度对该柱进行洗脱, 其中 A 是 0.1% TFA 的水溶液, B 是 0.1% TFA 的乙腈溶液。汇集含有产物的级分并冷冻干燥。得到所需化合物的重量为 8.4mg 的样品。根据分析型 HPLC 分析测得终产物的纯度为 99%。ESI-MS 分析表明其分子量为 491.4( 与 491.6 的分子量计算值一致)。

[0505] 实施例 11 :Aib-D-Bal-DgTrp-C(O)CH<sub>3</sub>

[0506]

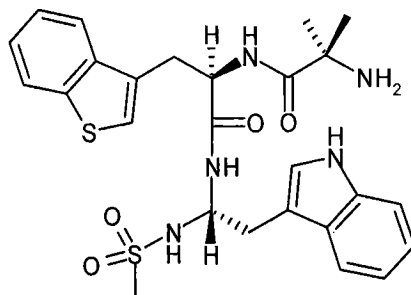


[0507] 将 N- $\alpha$ -Boc-Aib-D-Bal-DgTrp(Boc)-H( 中间体 B, 50.0 mg, 75.3  $\mu$ mol)、乙酸 (82.8  $\mu$ mol)、EDC (82.8  $\mu$ mol)、HOBt (82.8  $\mu$ mol) 和 DIEA (82.8  $\mu$ mol) 在 DCM(10mL) 中的混合物在室温下搅拌过夜。将该混合物用 15mL DCM 稀释, 用 5% NaHCO<sub>3</sub> 水溶液洗涤 2 次, 用 5% 柠檬酸水溶液洗涤 2 次, 用盐水洗涤 2 次, 用 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并减压浓缩, 得到 N- $\alpha$ -Boc-Aib-D-Bal-DgTrp(Boc)-C(O)CH<sub>3</sub>。将该中间体在不进行进一步纯化的情况下进行应用。

[0508] 将 N- $\alpha$ -Boc-Aib-D-Bal-DgTrp(Boc)-C(O)CH<sub>3</sub> (50.0  $\mu$ mol) 用 5mL TFA/ 茴香硫醚 / 茴香醚 (v/v/v :4/0.5/0.5) 的混合物在 0 $^{\circ}$ C 处理 1.5 小时。将该溶液真空蒸发。将残余物用冷乙醚研磨并通过过滤来收集沉淀。将粗产物用 HPLC 纯化, 使用 C18-(2) 的 Luna<sup>®</sup> 柱 (Phenomenex<sup>®</sup>, Torrance, CA)。在 1 小时中, 用从 95% A 和 5% B 至 60% A 和 40% B 的线性梯度对该柱进行洗脱, 其中 A 是 0.1% TFA 的水溶液, B 是 0.1% TFA 的乙腈溶液。汇集含有产物的级分并冷冻干燥, 得到所需化合物。根据分析型 HPLC 分析测得终产物的纯度为 99.3%。ESI-MS 分析表明其分子量为 505.5( 与 505.64 的分子量计算值一致)。

[0509] 实施例 57 :Aib-D-al-DgTrp-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>

[0510]



[0511] 将 N- $\alpha$ -Boc-Aib-D-Bal-DgTrp(Boc)-H( 中间体 B, 50.0 mg, 75.3  $\mu$ mol)、甲磺酰氯 (75.3  $\mu$ mol) 和 DIEA (82.8  $\mu$ mol) 在 10mL DCM 中的混合物在室温下搅拌过夜。将该混合物用 15mL DCM 稀释, 用 5% NaHCO<sub>3</sub> 水溶液洗涤 2 次, 用 5% 柠檬酸水溶液洗涤 2 次, 用盐水洗涤 2 次, 用 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并减压浓缩, 得到 N- $\alpha$ -Boc-Aib-D-Bal-DgTrp(Boc)-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>。将该中间体在不进行进一步纯化的情况下进行应用。

[0512] 将 N- $\alpha$ -Boc-Aib-D-Bal-DgTrp(Boc)-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (50.0  $\mu$ mol) 用 5mL TFA/ 茴香硫醚/ 茴香醚 (v/v/v : 4/0.5/0.5) 在 0°C 处理 1.5 小时。将该溶液真空蒸发。将残余物用冷乙醚研磨并通过过滤收集沉淀。将粗产物用 HPLC 纯化, 使用 C18-(2) 的 Luna<sup>®</sup> 柱 (40×130mm) (Phenomenex<sup>®</sup>, Torrance, CA)。在 1 小时中, 用从 95% A 和 5% B 至 60% A 和 40% B 的线性梯度对该柱进行洗脱, 其中 A 是 0.1% TFA 的水溶液, B 是 0.1% TFA 的乙腈溶液。汇集含有产物的级分并冷冻干燥, 得到所需化合物。

[0513] 本领域普通技术人员可以用与上文一般性公开的那些操作和 / 或与前面实施例中具体公开的那些操作类似的合成操作来制备本发明的其它肽, 如表 1 中所述的化合物。

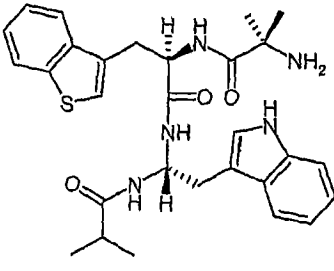
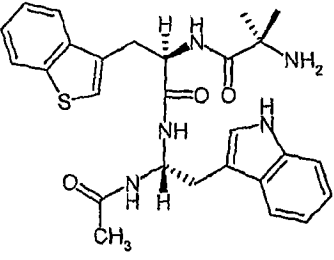
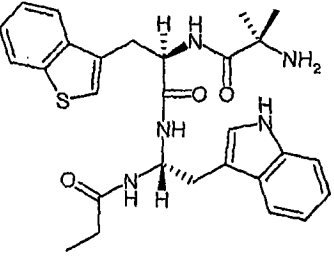
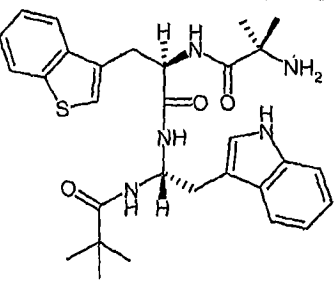
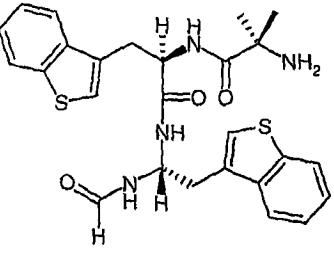
[0514] 表 1

[0515]

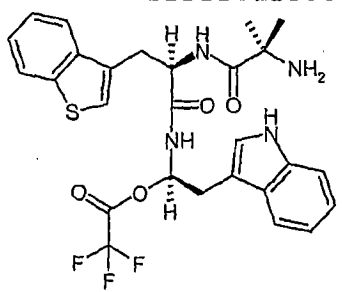
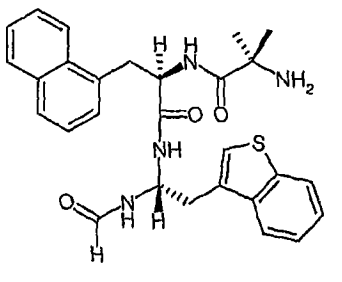
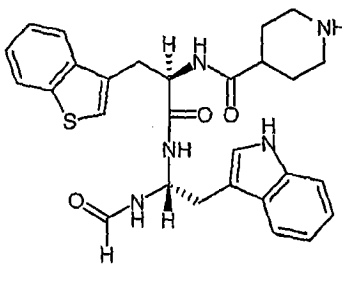
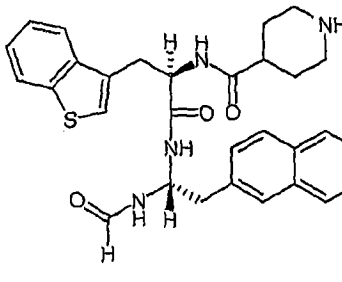
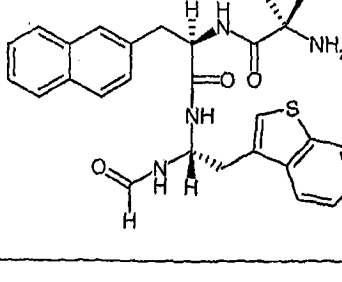


实施例	结构	分子量 (计算值)	分子量 (MS-ES)	纯度 (%)
#12		505.640	505.5000	97.40%
#1		491.6130	491.4000	94.10%
#65		485.5850	485.6000	95.00%

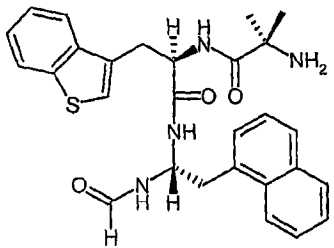
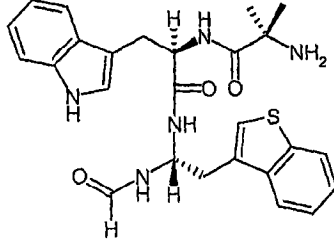
[0516]

实施例	结构	分子量 (计算值)	分子量 (MS-ES)	纯度 (%)
#51		533.6930	533.6000	99.40%
#11		505.6400	505.5000	99.30%
#50		519.6670	519.3000	99.30%
#52		547.7200	547.5000	99.70%
#4		508.6640	508.2000	95.00%

[0517]

实施例	结构	分子量 (计算值)	分子量 (MS-ES)	纯度 (%)
#73		560.5940	559.5000	99.90%
#6		502.6360	502.3000	95.00%
#18		517.6510	517.3000	95.00%
#20		528.6740	528.6000	95.00%
#7		502.6360	502.3000	95.00%

[0518]

实施例	结构	分子量 (计算值)	分子量 (MS-ES)	纯度 (%)
#2		502.6360	502.2000	95.00%
#5		491.6130	491.6000	95.00%

#### [0519] 生物学试验

[0520] 本发明的化合物对 GHS 受体的活性可以使用并且已经使用诸如下面所提供的实施例中所述的那些技术进行了测定。在不同的实施方案中,葛瑞林类似物在用下面所述的一种或多种功能活性试验进行测定时相对于天然葛瑞林而言具有至少约 50%、至少约 60%、至少约 70%、至少约 80%或至少约 90%的功能活性和/或当用下面所述的受体结合试验进行测定时具有大于约 1,000nM、大于约 100nM 或大于约 50nM 的  $IC_{50}$ 。就  $IC_{50}$  值而言,“大于”指的是效力并且因此表明产生结合抑制需要更低的量。

[0521] 测量化合物与 GHS 受体结合的能力的试验使用 GHS 受体、包含葛瑞林结合部位的该受体的片段、包含该类片段的多肽或该多肽的衍生物。优选地,所述试验使用 GHS 受体或其片段。包含结合葛瑞林的 GHS 受体片段的多肽还可含有一个或多个在 GHS 受体中不存在的多肽区域。该类多肽的衍生物包含结合葛瑞林的 GHS 受体片段和一种或多种非肽组分。

[0522] 可以用标记的葛瑞林或葛瑞林的结构或功能类似物和不同的受体片段来容易地确定结合所涉及的 GHS 受体氨基酸序列。可以用不同的策略来选择待测试的片段以缩小结合区域的范围。该类策略的实例包括测试从 N-末端开始长度为约 15 个氨基酸的连续片段和测试更长的片段。如果对长度更长的片段进行测试,则可以将结合葛瑞林的片段细分以进一步确定葛瑞林结合区域。可以用重组核酸技术产生用于结合研究的片段。

[0523] 可以用单个化合物或含有不同数目化合物的制备物来进行结合试验。可将含有不同数目的具有结合 GHS 受体能力的化合物的制备物分成较小的化合物组,可对其进行测试以确定与 GHS 受体结合的化合物。在本发明的一个实施方案中,在结合试验中使用含有至少 10 个化合物的测试制备物。

[0524] 可以用存在于不同环境中的重组制造的 GHS 受体多肽来进行结合试验。该类环境包括例如含有由重组核酸或天然存在的核酸表达的 GHS 受体多肽的细胞提取物和纯化的细胞提取物;并且还包括例如使用通过重组手段制造的或者由被引入到不同环境中的天然

存在的核酸制造的纯化的 GHS 受体多肽。

#### [0525] GHS 受体活性化合物的筛选

[0526] 用重组表达的受体来帮助进行 GHS 受体活性化合物的筛选。使用重组表达的 GHS 受体提供了多种优点,如在既定的细胞系统中表达该受体的能力,从而使得可以更容易地将对化合物在 GHS 受体上的响应与对在其它受体上的响应区分开来。例如,可以用表达载体在通常不表达该受体的细胞系如 HEK 293、COS 7 和 CHO 中表达 GHS 受体,其中没有表达载体的相同细胞系可用作对照。

[0527] 通过在试验中使用葛瑞林的功能类似物来帮助筛选降低 GHS 受体活性的化合物。在筛选试验中使用葛瑞林的功能类似物提供了 GHS 受体活性。可以测量供试化合物对该类活性的作用以确定例如变构调节剂和拮抗剂。

[0528] 可以用不同的技术来测量 GHS 受体活性,如检测 GHS 受体的细胞内构象的变化、G-蛋白偶联活性的变化和 / 或细胞内信史的变化。优选地,用诸如测量细胞内  $Ca^{2+}$  的那些技术来测量 GHS 受体活性。可用于测量  $Ca^{2+}$  的本领域公知的技术的实例包括使用染料如 Fura-2<sup>®</sup> 和使用  $Ca^{2+}$ -生物发光敏感性报告蛋白 (reporter protein) 如水母发光蛋白。

使用水母发光蛋白来测量 G-蛋白活性的细胞系的一个实例是 HEK293/aeq17 (Button 等人, CellCalcium, (1993), 14 :663-71 和 Feighner 等人, Science, (1999), 284 :2184-8)。

[0529] 也可以使用含有与不同 G-蛋白功能偶联的葛瑞林结合区域的嵌合受体来测量 GHS 受体活性。嵌合 GHS 受体含有 N-末端细胞外结构域 (由跨膜区域、细胞外环区域和细胞内环区域组成的跨膜结构域) 和细胞内羧基末端。用于制备嵌合受体和测量 G-蛋白偶联响应的技术在例如国际专利公开 No. WO 97/05252 和美国专利 No. 5, 264, 565 中有提供, 将这两个专利在此引入本文作为参考。

#### [0530] GHS 受体活性的刺激

[0531] 可以用葛瑞林的结构和 / 或功能类似物来刺激 GHS 受体活性。该类刺激可用于例如研究 GHS 受体调节的作用、研究生长激素分泌的作用、寻找或研究葛瑞林拮抗剂或在个体中取得有益作用。可取得的有益作用包括一种或多种下面的情况:治疗生长激素不足的状态、增加肌肉质量和 / 或骨密度、克服性功能障碍、促进体重增加、达到理想体重、恢复和 / 或维持正常身体机能和 / 或增加降低的食欲。

[0532] 增加体重和 / 或食欲可用于在体重不足的个体中或在患有影响体重或食欲的疾病和 / 或病症和 / 或正在进行影响体重或食欲的医学治疗的个体中达到和 / 或维持理想的体重、造成体重增加或食欲增加。此外,例如,还可以对农场动物如猪、牛和鸡进行处理以增加体重。体重不足的个体包括体重比“正常”体重范围或体重指数 (“BMI”) 的低端低约 10% 或 10% 以下、低 20% 或 20% 以下、低 30% 或 30% 以下的个体。BMI 测量了个体的身高 / 体重比,是通过用以公斤为单位的体重除以以米为单位的身高的平方来进行计算的。对于人而言,一般认为 BMI 的“正常”范围为 19-22。“正常”体重范围在本领域中是公知的并且将诸如个体的年龄、身高和 / 或身体类型等因素考虑在内。

#### [0533] 生物学试验 - 实施例

##### [0534] 1. 受体结合试验

##### [0535] A. 表达人重组 GHS 受体 -1a 的 CHO-K1 细胞的制备

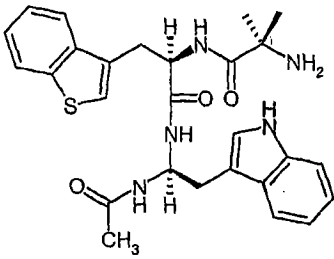
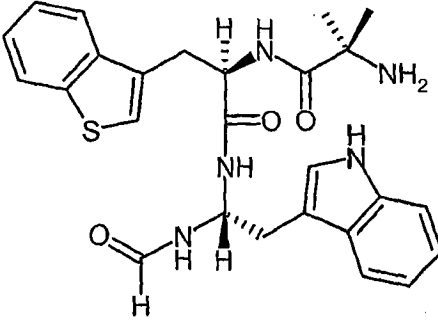
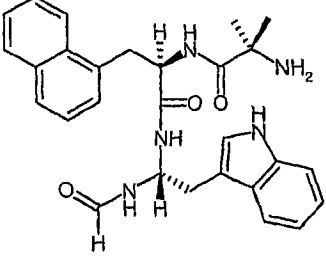
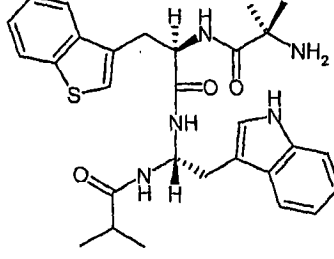
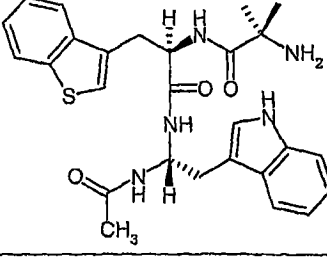
[0536] 使用作为模板的人脑 RNA (Clontech<sup>®</sup>, Palo Alto, CA)、与 hGHS-R1a 的全长编码序列侧接的基因特异性引物 (S:5' -ATGTGGAACGCGACGCCAGCGAAGAG-3' 和 AS:5' -TCATGTATTAATACTAGATTCTGTCCA-3' ) 和 Advantage 2 PCR Kit<sup>®</sup> (Clontech<sup>®</sup>) 通过聚合酶链反应 (PCR) 克隆人生长激素促分泌物受体 -1a (hGHS-R1a) 的 cDNA。用 Original TA Cloning Kit<sup>®</sup> (Invitrogen<sup>®</sup>, Carlsbad, CA) 将 PCR 产物克隆到 pCR2.1 载体中。将全长 hGHS-R1a 亚克隆到哺乳动物表达载体 pcDNA 3.1 (Invitrogen<sup>®</sup>, Carlsbad, CA) 中。用磷酸钙法 (Wigler, M 等人, Cell, (1977), 11:223) 将质粒转染到中国苍鼠卵巢细胞系 CHO-K1 (American Type Culture Collection<sup>®</sup>, Rockville, MD) 中。通过选择在补加了 10% 胎牛血清和含有 0.8mg/ml G418 (Gibco<sup>®</sup>, Grand Island, NY) 的 1mM 的丙酮酸钠的 RPMI 1640 培养基中以克隆环生长的转染细胞来获得稳定表达 hGHS-R1a 的单细胞克隆。

[0537] B. hGHS-R1a 结合试验:

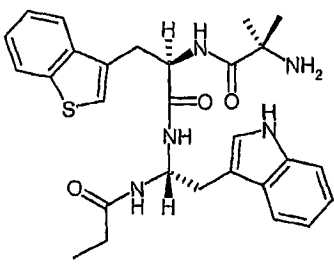
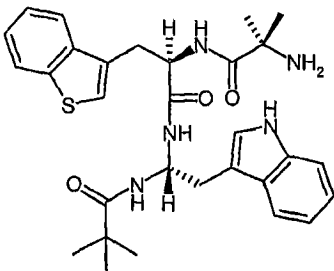
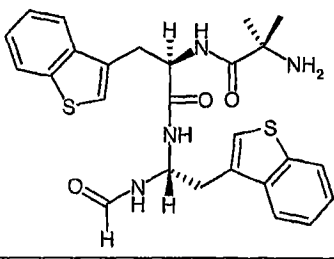
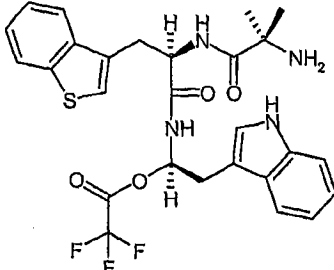
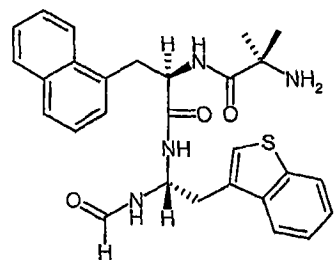
[0538] 用于放射配体结合研究的膜可以并且已经通过用 Brinkman Polytron<sup>®</sup> (Westbury, NY) 将表达 hGHS-R1a 的上述 CHO-K1 细胞在 20ml 冰冷的 50mM Tris-HCl 中进行匀化 (设定 6, 15 秒) 制备。通过离心将该匀浆洗涤两次 (39,000g/10min), 将最后的沉淀物重新混悬于含有 2.5mM MgCl<sub>2</sub> 和 0.1% BSA 的 50mM Tris-HCl 中。对于该试验而言, 在具有和不具有 0.05ml 未标记的本发明的竞争性供试化合物的情况下将等分试样 (0.4ml) 与 0.05nM (<sup>125</sup>I) 葛瑞林 (~ 2000Ci/mmol) (Perkin Elmer Life Sciences<sup>®</sup>, Boston, MA) 一起进行孵育。在 4°C 孵育 60 分钟后, 通过用 GF/C 过滤器 (Brandel<sup>®</sup>, Gaithersburg, MD) 快速过滤将结合的 (<sup>125</sup>I) 葛瑞林与游离的葛瑞林分离开, 所述过滤器预先在 0.5% 聚乙烯亚胺 / 0.1% BSA 中浸泡过。然后, 将该过滤器用 5-ml 冰冷的 50mM Tris-HCl 和 0.1% 牛血清白蛋白的等分试样洗涤 3 次, 用  $\gamma$  光谱测定法 (Wallac LKB<sup>®</sup>, Gaithersburg, MD) 对过滤器上所捕获的结合放射活性进行计数。特异性结合被定义为结合的总 (<sup>125</sup>I) 葛瑞林减去在存在 1000nM 葛瑞林 (Bachem<sup>®</sup>, Torrence, CA) 下结合的 (<sup>125</sup>I) 葛瑞林。

[0539] 表 2

[0540]

实施例	结构	Ki (nM)	SEM
#12		2.56	1.86
#1		15.01	4.20
#65		16.78	9.64
#51		20.18	10.63
#11		38.22	8.31

[0541]

实施例	结构	Ki (nM)	SEM
#50		61.51	13.74
#52		65.08	20.28
#4		92.14	15.60
#73		92.99	22.70
#6		100.30	22.08

[0542]



实施例	结构	Ki (nM)	SEM
#18		119.50	9.50
#20		132.67	5.70
#7		226.25	43.17
#2		235.88	88.10
#5		279.50	90.50

[0543] 2. GHS-R 功能活性试验

[0544] A. 体外 hGHS-R1a 介导的细胞内  $iCa^{2+}$  活动 (mobilization)

[0545] 用表达 hGHS-R1a 的细胞测试本发明的化合物刺激 hGHS-R1a 介导的细胞内  $iCa^{2+}$  活动的的能力。通过在 0.3% EDTA/磷酸盐缓冲的盐水溶液 (25°C) 中进行孵育来收获前述表达 hGHS-R1a 的 CHO-K1 细胞并通过离心将其洗涤两次。将进行了洗涤的细胞重新混悬于 Hank 缓冲盐水溶液 (HBSS) 中以荷载荧光  $Ca^{2+}$  指示剂 Fura-2AM。将浓度为约  $10^6$  个细胞/ml 的细胞混悬液与 2  $\mu$ M Fura-2AM 一起在约 25°C 培养约 30 分钟。通过在 HBBS 中离心两

次来除去未荷载的 Fura-2AM, 将最终的混悬液转移到一个配有磁力搅拌机械和温控试管夹持器的荧光分光光度计 (Hitachi<sup>®</sup> F-2000) 中。在平衡至 37°C 后, 加入本发明的化合物以测量细胞内 Ca<sup>2+</sup> 活动。激发波长和发射波长分别为 340 和 510nm。

#### [0546] B. 体内 GH 释放 / 抑制

[0547] 使用本领域公知的方法, 测试本发明的化合物体内刺激或抑制生长激素 (GH) 释放的能力 (Deghenghi, R., 等人, Life Sciences, (1994), 54 :1321-8 ;国际专利公开 No. WO 02/08250)。为了确定化合物体内刺激 GH 释放的能力, 将化合物以例如 300mg/kg 的预定剂量皮下注射到 10 天大的大鼠体内。在注射后约 15 分钟测量循环的 GH 并将其与用溶剂对照进行注射的大鼠体内的 GH 水平进行比较。

[0548] 类似地, 可以测试本发明的化合物体内拮抗葛瑞林 - 诱导的 GH 分泌的能力。可以将化合物以例如 300mg/kg 的预定剂量与葛瑞林一起皮下注射到 10 天大的大鼠体内。在注射后例如约 15 分钟测量循环的 GH 并将其与仅用葛瑞林进行注射的大鼠体内的 GH 水平进行比较。

#### [0549] 施用

[0550] 可将本发明的一种或多种化合物施用于个体。“个体”指的是哺乳动物或非哺乳动物, 例如包括但不限于人、大鼠、小鼠或农场动物。个体这一称谓不必然表示存在疾病或障碍, 因此, 术语“个体”进一步包括例如作为实验的一部分用葛瑞林类似物进行给药的哺乳动物或非哺乳动物、被治疗以帮助缓解疾病或障碍的哺乳动物或非哺乳动物和被预防性地治疗以延缓或防止疾病或障碍发作的哺乳动物或非哺乳动物。

[0551] “有益作用”指的是患有疾病或医学病症的个体中的任何改善。该类改善可包括但不限于个体症状严重程度的减轻、实际病痛的可观察到的降低和 / 或减轻如肿瘤大小的减小或骨密度的增加或者疾病或病症的实际逆转。

[0552] 可以使用本文所提供的指导和本领域中公知的技术来对本发明的化合物进行配制和将其施用于个体。优选的施用途径确保有效量的化合物达到靶标。在例如 Remington's Pharmaceutical Sciences 第 18 版, Gennaro 编辑, Mack Publishing, (1990) 和 Modern Pharmaceutics 第 2 版, Banker 和 Rhodes 编辑, Marcel Dekker, Inc., (1990) 中提供了药物施用的一般性指导, 将二者均在此引入作为参考。

[0553] 本发明的化合物可以被制备为酸性或碱性盐。可药用的盐 (水 - 或油 - 可溶或可分散产物的形式) 包括常规的无毒的盐或季铵盐, 其例如由无机或有机的酸或碱形成。该类盐的实例包括酸加成盐如乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、丁酸盐、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐 (digluconate)、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐 (glucoheptanoate)、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2- 羟基乙磺酸盐、乳酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、2- 萘磺酸盐、烟酸盐、草酸盐、双羟萘酸盐、果胶酯酸盐、过硫酸盐、3- 苯基丙酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐和十一烷酸盐; 和碱盐如铵盐、碱金属盐如钠盐和钾盐、碱土金属盐如钙盐和镁盐、与有机碱形成的盐如二环己基胺盐、N- 甲基 -D- 葡萄糖胺盐和与氨基酸如精氨酸和赖氨酸形成的盐。

[0554] 本发明的化合物可以通过注射和 / 或通过使用包括口服、鼻、透皮和穿粘膜在内的不同的途径被施用。以混悬剂形式被口服施用的活性成分可以根据药物制剂领域中公知

的技术来进行制备,可以含有作为无活性填充剂 (bulk) 的微晶纤维素、作为助悬剂的海藻酸或藻酸钠、作为增粘剂的甲基纤维素和作为甜味剂 / 矫味剂的糖类。就立即释放的片剂而言,包含本发明化合物的组合物可进一步含有微晶纤维素、磷酸二钙、淀粉、硬脂酸镁和乳糖和 / 或其它赋形剂、粘合剂、增量剂、崩解剂、稀释剂和润滑剂。

[0555] 鼻气雾剂或吸入制剂可以例如使用苊醇或其它适宜的防腐剂、用于增加生物利用度的吸收促进剂、碳氟化合物 (fluorocarbons) 和 / 或增溶剂或分散剂被制备为位于盐水中的溶液形式。

[0556] 本发明的化合物还可以被静脉内 (推注和滴注) 施用、腹膜内施用、皮下施用、在进行或不进行闭合情况下局部施用或肌肉施用。当通过注射施用时,可注射的溶液或混悬液可以用适宜的无毒的胃肠外可接受的稀释剂或溶剂如林格氏溶液或等张的氯化钠溶液或者适宜的分散剂或润湿剂和助悬剂如无菌的温和的不挥发油 (包括合成的单-和二甘油酯和脂肪酸 (包括油酸)) 来进行配制。

[0557] 优选在考虑本领域中公知的因素的情况下来确定适宜的给药方案,所述因素包括被给药的个体的种类、年龄、重量、性别和个体的医学病症;施用途径;个体的肾和肝功能;所需的作用;和所用的具体化合物。

[0558] 达到位于产生功效而不产生毒性的范围内的药物浓度的最佳精度需要一种以靶部位药物利用度的动力学为基础的方案。这涉及考虑药物的分布、平衡和消除。预期个体的日剂量为 0.01 至 1,000mg/ 个体 / 天。

[0559] 本发明的化合物可以以药盒的形式被提供。该类药盒通常含有用于施用的剂型形式的活性化合物。剂型含有足够量的活性化合物,以便当以规则的时间间隔如一天 1 至 6 次、在一天和多天期间被施用于个体时能获得所需的作用。优选地,药盒含有说明书,表明达到所需作用的剂型使用和历经规定的时间段使用的剂型量。

[0560] 已经以举例说明的方式对本发明进行了说明,应当清楚的是,所用术语的性质是说明而不是限制。显然,可以根据上面的教导对本发明进行许多修改和变化。因此,应当清楚的是,在所附权利要求书的范围内,可以以与具体描述的方式不同的方式来实施本发明。

[0561] 本文所提及的专利和科技文献代表了本领域技术人员可以获得的知识。在此将本文所引用的所有专利、专利公开物和其它公开物全文引入作为参考。

[0562] 其它实施方案

[0563] 应当清楚的是,虽然已经结合其详细描述对本发明进行了描述,但是上述描述是用于进行举例说明,并不是要限制本发明的范围,本发明的范围是由所附权利要求书的范围定义的。其它的方面、优点和变化均在权利要求范围内。