

229

**SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES**

2020
Bogotá, D.C., (10/07/2007)

Abogado
JIMENA ESCOBAR URIBE
(Apoderado)
THE PROCTER AND GAMBLE COMPANY.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 03-021124- -00008-0000

Fecha: 2008-01-10 14:09:58 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 519 TRASLADOINFORME Folios: 1

ASUNTO	Radicación	03-21124
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	430
	Oficio	332
	Folios	

Como resultado del examen de fondo, realizado con fundamento en el artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica:

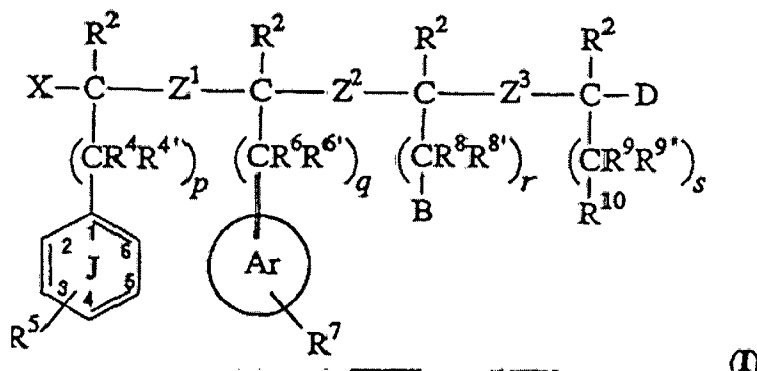
1. Documentos estudiados

- 1.1. Descripción: Folios: 11 a 177
- 1.2. Reivindicaciones: 1 a 19 folios 178 a 190 como se radicó inicialmente
- 1.3. Prioridad: US60/235.858 del 27 de septiembre de 2000.
- 1.4. Respuesta: Radicada el 27 de noviembre de 2007

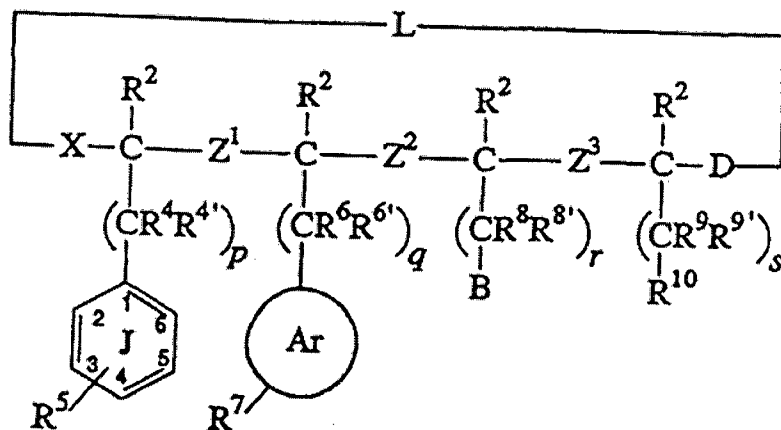
2. Objeto de la invención

- Título de la solicitud: Ligantes receptores melanocortinicos.

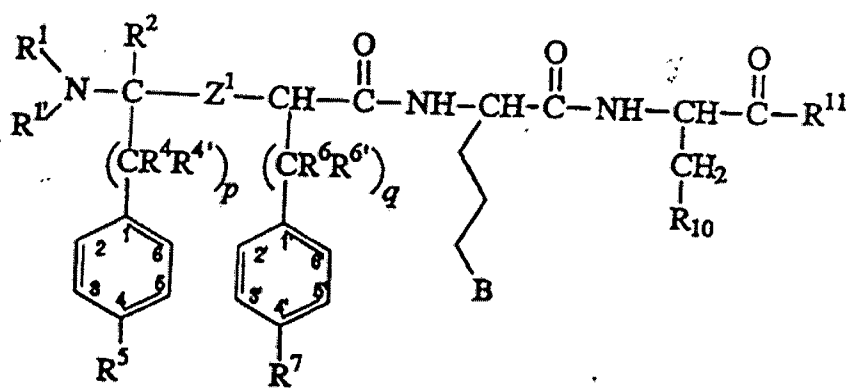
La presente solicitud se refiere a un compuesto que tiene la formula (I)



Adicionalmente se reclaman compuestos de formula (II)



O de formula A



Así mismo se reclama la composición farmacéutica que comprende el péptido cíclico análogo de cualquiera de las reivindicaciones anteriores y un excipiente farmacéuticamente aceptable, para ser usado en el tratamiento de un desorden consistente en resistencia a insulina, intolerancia a glucosa, etc...

3. De la solicitud de Patente (según el caso)

3.1. Descripción (artículo 28 D. 486)

Al estudiar nuevamente la descripción se encontró que en la pagina 49, contrario a la afirmación del solicitante, NO se demuestra que los compuestos representados por la formulas I, interactúan de manera selectiva con MC-3, MC-4. En dicha página solo se indica la forma como se puede evaluar la actividad funcional de los péptidos mediante técnicas convencionales, pero no se provee ni un solo ensayo cuyos resultados puedan sustentar la afirmación del solicitante.

En los ejemplos A a E, se menciona que 5 de los péptidos reivindicados llevarían a la reducción de peso de pacientes. A partir de lo anterior, este despacho tendría que asumir que la perdida de masa corporal se debe al agonismo de los receptores MC-3, MC-4; sin embargo, resulta imposible asegurar que todos los compuestos cobijados por la formula I, van a presentar la misma actividad de los compuestos de los ejemplos i) a v), mencionados a v).

3.2. Reivindicaciones (artículo 30 D 486)

En el concepto técnico 1029, en cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le requirió al solicitante que debía respuesta a dicha comunicación indicando claramente que en caso de no dar respuesta o si a pesar de la misma subsistieran los impedimentos para la concesión, **se denegaría la patente.**

Considerando que el solicitante no efectuó cambios en el capítulo reivindicatorio presentado originalmente **se mantienen todas las objeciones** en cuanto a incumplimiento de los requisitos del artículo 30, estipulados en el concepto técnico 1029.

Se reitera que no todos los compuestos que resultan de efectuar las sustituciones propuestas por el solicitante en las reivindicaciones 1 a 17 (radicales R1 a R9) se encuentran enteramente sustentados en la descripción, puesto que no es posible determinar su efecto técnico. No se puede asegurar que todos ellos presentan una mayor selectividad por los receptores de melanocortina MC-3 y MC-4 en comparación con su afinidad por MC-1, pues al efectuar los diferentes reemplazos se obtienen moléculas que presentan estereo isomería estructural diferente y que por ende podrían no ser bioisosteras (no es posible asegurar que presentan la misma actividad)

Los compuestos verdaderamente evaluados son: i)Ac-YfR-W-NH₂, ii)AcYfHW-NH₂, iii)Ac-Y(D-2fluoro-Phe)RW-NH₂.(ej 29), iv)Ac-(L-4-clorophe)fRW(N-ME-Gly)-NH₂.(ej 31),v) 3-(4OHPh)propanoil-(4-F-f)RW-NH₂.(ej.88) y estos ni siquiera están cobijados por la formula I, puesto que en ella se reclaman compuestos comprendiendo 4 residuos aminoácídicos, mientras que los péptidos evaluados solo comprenden 3 residuos de aminoácidos.

En este sentido es importante mencionar que la formula I reivindicada no es representativa de los pocos péptidos que presentan verdadero sustento.

Adicionalmente, al no existir evidencia de la actividad biológica de todos los péptidos reclamados en las clausulas 1 a 17, resulta que las mismas no se encuentran enteramente sustentadas por la descripción.

En consecuencia, siendo que se afirma en el capítulo reivindicatorio y en la respuesta del solicitante que la estructura de fórmula (I) caracteriza todos los compuestos de la invención, por la manera como se reivindican los compuestos de manera independiente, esta Dependencia reitera que la característica esencial no comprende todos los compuestos de la invención y que además ellos no encuentran sustento real en ensayos de actividad biológica.

Por lo anterior se conceptúa que las clausulas 1 a 17 mencionadas anteriormente y las reivindicaciones 18 y que comprenden los compuestos indeterminados de las reivindicaciones 1 a 17 no cumplen con los requisitos del artículo 30.

4. Unidad de invención (artículo 25 D 486)

Tal como se mencionó en el numeral anterior, la formula I no representa todos los posibles compuestos que resultan de efectuar las sustituciones propuestas. No

232

existe entonces una estructura que constituya el concepto común inventivo entre el sinnúmero de compuestos reclamados y por ende la materia reivindicada carece de unidad de invención.

Lo anterior se refuerza con el hecho que en el estado de la técnica ya se conocen péptidos cortos, similares a los reclamados, e incluso cíclicos (como la formula A) que presentan una mejor afinidad por los receptores de melanocortina MC3/MC4 respecto de su afinidad por MC1.

5. Excepción a la patentabilidad (artículo 20 D486 literal a)-d)) (según causal)

Una composición “no definida” caracterizada por las enfermedades a tratar puede entenderse como la intención de reivindicar un método de tratamiento exceptuado en el literal d) del artículo 20.

6. Determinación del Estado de la Técnica

Considerando que la fecha de presentación de la primera solicitud de patente de la cual se reivindica prioridad es:27 de septiembre de 2000, se buscaron documentos del estado de la técnica relacionados, con fecha de publicación anterior a esta.

N°	Documento	Título	Fecha de Publicación*
D1	WO99/21571	MELANOCORTIN RECEPTOR LIGANDS AND METHODS OF USING SAME	1999-05-06
D2	US20000229184P	CYCLIC PEPTIDES HAVING MELANOCORTIN-4 RECEPTOR AGONIST ACTIVITY - F. HOFFMANN-LA ROCHE AG	30/08/2000

*Si se trata de una solicitud colombiana esta fecha corresponde también a la fecha de presentación de la solicitud colombiana aún sin haber sido publicada o sin habersele cumplido el plazo previsto en el art.40.

7. Análisis de patentabilidad (según requisito) (artículo 14 D486)

7.1. Nivel inventivo (artículo18 D486)

Tal como se mencionó anteriormente los únicos compuestos cuya actividad biológica fue comprobada en la presente solicitud son: i)Ac-YfR-W-NH2, ii)AcYfHW-NH2, iii)Ac-Y(D-2fluoro-Phe)RW-NH2.(ej 29), iv)Ac-(L-4-clorophe)fRW(N-ME-Gly)-NH2.(ej 31),v) 3-(4OHPh)propanoil-(4-F-f)RW-NH2.

El documento D1 revela péptidos agonistas de los receptores de melanocortina de formula Ac-Nle-Gln-His-(p(l)-D-Phe)-Arg-(D-Trp)-Gly-NH2. En dicho documento también se divulgan peptidos de formula general A1- B2-C3-D4, en donde los aminoácidos de las posiciones 2 a 4 son similares a aquellos cobijados formula estructural I.

Comparando la estructura de los compuestos de la presente solicitud y aquellos divulgados en la anterioridad se encuentra que los aminoácidos FRW o RW son comunes entre los péptidos de las dos solicitudes. Ahora bien, teniendo en cuenta que ya se habían divulgado agonistas melanocortínicos presentando FRW o RW en su estructura, las pequeñas modificaciones que exhiben los péptidos de la presente solicitud, más específicamente en el primer aminoácido, puede no representar un salto cualitativo en la formulación de la regla técnica.

En la pagina 5 del capítulo descriptivo se presenta como solución al problema técnico la provisión de péptidos que exhiben una mayor selectividad por los receptores MC-3, y MC-4, en comparación con su afinidad MC1, útiles en el tratamiento de enfermedades moduladas por el receptor de melanocortina.

Sin embargo tras el análisis exhaustivo de la descripción, no se encontraron pruebas en la divulgación efectuada originalmente, que permitan inferir que los compuestos reivindicados presentan una mayor afinidad por MC-3 y MC-4, que por MC1. Es decir la solución al problema técnico no fue demostrada. De esta forma se establece que al no existir evidencia de un efecto inesperado de los péptidos de la presente solicitud respecto de los divulgados en la anterioridad D1, las modificaciones estructurales propuestas por el solicitante no representan un salto cualitativo en la formulación de la regla técnica y por lo tanto la materia reclamada en las cláusulas 1 a 17 y dependientes carecen de altura inventiva.

Por otra parte cabe mencionar que el documento US20000229184P de 30/08/2000 divulga péptidos cíclicos agonistas de melanocortina, similares a aquellos propuestos por la formula II. Dichos péptidos demostraron experimentalmente una mayor afinidad por MC4 en comparación con su selectividad MC1. Así pues que el concepto de desarrollar péptidos cortos, basados en moléculas naturales y seleccionar aquellos con una selectividad MC3/MC4 y una selectividad MC1 disminuida, ya era conocida en el estado de la técnica.

De acuerdo con lo anterior, la materia objeto de la presente solicitud no representa un aporte significativo al estado de la técnica, por lo que no cumpliría con el requisito de Nivel Inventivo.

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de sesenta días contados a partir de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

23A

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el artículo 8 de la resolución reglamentaria No. 00210 del 15 de enero de 2001, advirtiéndole que contra él no procede recurso alguno en la vía gubernativa.

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de División de Nuevas Creaciones.

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha
19 de FNE. 2008.

CONCEPTO TECNICO No. 2763	EXAMINADOR TECNICO 202063
-------------------------------------	-------------------------------------

PCTWORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION
International BureauDL
235

INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification ⁶ : A61K 38/00, 38/02, C07K 5/00, 7/00		A1	(11) International Publication Number: WO 99/21571
			(43) International Publication Date: 6 May 1999 (06.05.99)
(21) International Application Number: PCT/US98/03298			(81) Designated States: AU, CA, JP, KR, NO, European patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Published <i>With international search report.</i>
(22) International Filing Date: 20 February 1998 (20.02.98)			
(30) Priority Data: 60/063,622 27 October 1997 (27.10.97) US			
(71) Applicant: TREGA BIOSCIENCES, INC. [US/US]; 3550 General Atomics Court, San Diego, CA 92121 (US).			
(72) Inventors: DOOLEY, Colette, T.; 844 Sapphire Street, San Diego, CA 92109 (US). GIRTEN, Beverly, E.; Apartment 111, 5220 Fiore Terrace, San Diego, CA 92122 (US). HOUGHTEN, Richard, A.; 4939 Rancho Viejo, Del Mar, CA 92014 (US).			
(74) Agents: PERKINS, Susan, M. et al.; Campbell & Flores LLP, Suite 700, 4370 La Jolla Village Drive, San Diego, CA 92122 (US).			

(54) Title: MELANOCORTIN RECEPTOR LIGANDS AND METHODS OF USING SAME**(57) Abstract**

The invention provides ligands for melanocortin receptors. For example, the invention provides the melanocortin receptor peptide ligand Ac-Nle-Gln-His-(*p*(I)-D-Phē)-Arg-(D-Tip)-Gly-NH₂, where the iodo group is unlabeled or radioactively labeled. The invention additionally provides methods of assaying for melanocortin receptors in a cell or tissue such as brain. The invention also relates to pharmaceutical compositions comprising a pharmaceutically acceptable carrier and a melanocortin receptor ligand and to methods of administering the pharmaceutical composition to a subject. The invention further provides tetrapeptide ligands for melanocortin receptors and methods of altering melanocortin receptor activity.

236

MELANOCORTIN RECEPTOR LIGANDS AND METHODS OF USING SAMEClaims of **WO9921571**

Translate this text

We claim:

1. A peptide, comprising the sequence: Ac-Nle-Gln-His-(p (I)-D-Phe)-Arg-(D-Trp)-Gly-NH₂.
2. A composition of matter, comprising a peptide and a pharmaceutically acceptable carrier, said peptide comprising the sequence: Ac-Nle-Gln-His- (p (I)-D-Phe)-Arg- (D-Trp)-Gly-NH.
3. A radiolabeled peptide, comprising the sequence:
Ac-Nle-Gln-His- (p (125I)-D-Phe)-Arg- (D-Trp)
Gly-NH₂-
4. A method of assaying for the presence of a melanocortin receptor in a sample, comprising:
(a) contacting the sample with the radiolabeled peptide of claim 3;
(b) removing unbound radiolabeled peptide from said sample; and
(c) determining the binding of said radiolabeled peptide.
5. The method of claim 4, wherein said sample is a cell.
6. The method of claim 4, wherein said sample is a tissue homogenate.
7. The method of claim 6, wherein said tissue is brain.
8. A method of restraining a pathologically elevated cytokine activity in a subject, comprising administering to the subject an effective amount of the peptide of claim 1.
9. The method of claim 8, wherein said pathologically elevated cytokine activity is due to inflammation.
10. The method of claim 8, wherein said pathologically elevated cytokine activity is due to cachexia.
11. The method of claim 8, wherein said pathologically elevated cytokine activity is due to a patho-immunogenic disease.
12. A peptide, comprising the sequence:
A1-B2-C3-D4, wherein
A1 is aFmLys, L-hmP, His, L-Nal, Arg, D-Arg,e-Lys, Lys, D-pyrala, D-Lys, D-His,D-Ala, Thiopro, L-isoN or 3-2Met;
B2 is Arg, D-Thi,pCl-f, D-Phe, Arg, a-Orn, pF-F, D-His, D-Lys,e-Lys, 5-Orn, Thiopro, t4-benz, L-hmP or D-Cit;
C3 is Arg, L-Cha, D-Ile, D-Arg, pCl-F, D-Lys,a-Orn, pCl-f, D-Ser, L-hmP, L-pyrala, D-His, Npecot, cAca, D-Cit or Thiopro; and
D4 is D-Nal, D-Arg, D-His, e-Lys, Lys, D-Lys or D-Glu.
13. The peptide of claim 12, wherein the amino terminus is modified by acetylation.
14. The peptide of claim 12, wherein the carboxy terminus is modified by amidation.
15. The peptide of claim 12, wherein
A1 is aFmLys or His;
B2 is Arg, D-Thi, orpCl-f;
C3 is Arg, L-Cha, or D-Ile; and
D4 is D-Nal or D-Arg.

237

16. The peptide of claim 15, wherein the amino terminus is modified by acetylation.
17. The peptide of claim 15, wherein the carboxy terminus is modified by amidation.
18. The peptide of claim 15, having the structure selected from the group consisting of:
His- (pCl-f)- (L-Cha)- (D-Arg);
(aFmLys)- (pCl-f)-Arg- (Nal);
(aFmLys)-Arg- (L-Cha)- (Nal);
(aFmLys)-Arg- (L-Cha)- (D-Arg);
(aFmLys)- (D-Thi)-Arg- (Nal);
(aFmLys)-Arg-Arg- (Nal); and His- (pCl-f)-Arg- (D-Nal).
19. The peptide of claim 18, wherein the amino terminus is modified by acetylation.
20. The peptide of claim 18, wherein the carboxy terminus is modified by amidation.
21. The peptide of claim 15, having the structure His- (pCl-f)-Arg- (D-Nal).
22. The peptide of claim 21, wherein the amino terminus is modified by acetylation.
23. The peptide of claim 21, wherein the carboxy terminus is modified by amidation.
24. A composition of matter, comprising said peptide of claim 12 and a pharmaceutically acceptable carrier
25. A method of altering the activity of a melanocortin receptor in a subject, comprising administering to the subject an effective amount of the peptide of claim 12.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

PCT/EP 01/09630

REC'D 10 SEP 2001

WIPO

POT

PA 396823

7/3

THE UNITED STATES OF AMERICA

TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE

United States Patent and Trademark Office

April 23, 2001

THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED HERETO IS A TRUE COPY FROM THE RECORDS OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE OF THOSE PAPERS OF THE BELOW IDENTIFIED PATENT APPLICATION THAT MET THE REQUIREMENTS TO BE GRANTED A FILING DATE UNDER 35 USC 111.

APPLICATION NUMBER: 60/229,184

FILING DATE: August 30, 2000

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



By Authority of the
COMMISSIONER OF PATENTS AND TRADEMARKS

L. Edelen

L. EDELEN
Certifying Officer

U39

**SELECTIVE CYCLIC PEPTIDES WITH
MELANOCORTIN-4 RECEPTOR (MC4-R) AGONIST ACTIVITY**

10

Background of the Invention

Obesity is widely recognized as a serious health problem for the developed countries, and has reached epidemic status in the United States. More than 50% of the U.S. population is considered overweight, with >25% diagnosed as clinically obese and at considerable risk for heart disease, non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM), hypertension, and certain cancers. This epidemic presents a significant burden on the health care system as projected obesity treatment costs of more than \$70 billion annually are expected in the U.S. alone. Strategies for treating obesity include reducing food intake or enhancing the expenditure of energy.

20

It has been demonstrated that, when injected into the third ventricle of the brain or intraperitoneally, a cyclic heptapeptide analog of α -melanocyte stimulating hormone (α MSH) having melanocortin-4 receptor (MC4-R) agonist activity caused long lasting inhibition of food intake in mice. This effect was reversible when co-administered with a MC4-R antagonist. (Fan, et al., Nature (1997) 385: 165-168) Therefore, agonists of MC4-R activity would be useful in treating or preventing obesity.

There are five known melanocortin receptors based on sequence homology that ranges from 35-60% homology between family members ((Cone, et al., Rec. Prog. Hormone Res. (1996) 51: 287-318), but these receptors differ in their functions. For example, the MC1-R is a G-protein coupled receptor that regulates pigmentation in response to the α MSH, which is a potent agonist of MC1-R. (Cone, et al., *ibid.*). Agonism of the MC1-R receptor results in stimulation of the melanocytes which causes eumelanin and increases the risk for cancer of the skin. Agonism of MC1-R can also have neurological effects. Stimulation of MC2-R activity can result in carcinoma of

35

5 adrenal tissue. The effects of agonism of the MC3-R and MC5-R are not yet known. All
of the melanocortin receptors respond to the peptide hormone class of melanocyte
stimulating hormones (MSH). These peptides are derived from pro-opiomelanocortin
(POMC), a prohormone of 131 amino acids that is processed into three classes of
hormones; the melanocortins (α , β and γ), adrenocorticotropin hormone (ACTH), and
10 various endorphins (e.g. lipotropin) (Cone, et al., *ibid.*). Because of their different
functions, simultaneous agonism of the activities of multiple melanocortin receptors has
the potential of causing unwanted side effects. Therefore it is desirable that an agonist of
MC4-R be more selective for the MC4-R than for one or more of the other melanocortin
receptors.

15 Haskell-Luevano, et al. (Peptides (1996) 17(6): 995-1002) disclose peptides that
contain the tripeptide (D)Phe-Arg-Trp and exhibit melanotropic (skin darkening) activity
in the frog (*Rana pipiens*) skin bioassay. Haskell-Luevano, et al. (*ibid.*) do not disclose
any compound of formula I or II described below.

20 Bednarek, et al. (Peptides (1999) 20: 401-409) and Bednarek, et al. (Biochem.
Biophys. Res. Comm. (1999) 261: 209-213) disclose analogs of the cyclic peptide MT-II.
They do not disclose any compound of formula I or II described below.

25 Detailed Description

This invention provides a compound of the formula:

241

5 recentrifuged and the crude linear product was dried under vacuum to yield 180 mg of an off-white solid. The crude peptide was subjected to cyclization without purification. 180 mg of the crude linear peptides was dissolved in 220 ml of DMF, 500 μ L of N-methyl morpholine was added to have an apparent pH of 8.0. 280 mg of BOP was added and the cyclization was monitored by HPLC. Typically the cyclization was completed
10 within 18-24 hours. 10 ml of water was added to stop the reaction, DMF was evaporated in vacuum, and the resulting reaction mixture was purified by HPLC.

This crude cyclic material was purified by preparative HPLC on a Vydac C18-column (2.5 x 20 cm) and eluted with a linear gradient of 20-60% B (buffer A: 0.1%
15 TFA/H₂O, buffer B: 0.1% TFA/CH₃CN) in 90 min., flow rate 8 ml/min, detection 280 nm. The main peak was cut by analytical HPLC analysis of collected fractions, pooled and lyophilized to yield 40 mg (10%) of a white, amorphous powder. This compound was homogeneous by HPLC. LR-Electrospray C₅₅H₇₄N₁₂O₈ cal: 1031 observed: m/z (1032 M+H).

20

BIOLOGICAL ACTIVITY EXAMPLE:

Example A: Agonist Assay

25 Method

Description: HEK 293 cells transfected with either the MC-4 receptor or MC-1 receptor were grown in 96 well plates. The cells were stimulated with either 100nM NDP- α MSH or screening compounds. Cyclic AMP was extracted from the cells and concentrations were determined using a Biotrak-cAMP SPA assay. Agonists were identified as those
30 compounds causing an increase in cAMP.

Cell Culture: HEK 293 cells transfected with either the MC-4 receptor or MC-1 receptor were cultured in 75cm² flasks in D-MEM supplemented with 10% FCS and 500 μ g/ml G418. Cells were trypsinized and split 1:3 into 96 well flat-bottom tissue culture treated
35 plates. Cells were stimulated at confluence (day 2-4).

242

5 cAMP Response: Compounds serially diluted in 100% DMSO were further diluted 1:200
(2.5µl compound dilution + 500µl media) in D-MEM containing 10%FBS and 0.1mM
IBMX. For unstimulated cells, 2.5µl of DMSO was added to 500µl of media. For NDP-
αMSH stimulated cells, 2.5µl of 20µM NDP-αMSH in 100% DMSO was added to
500µl of media (final conc. 100nM). Final concentration of DMSO in all wells was
10 0.5%.

Note: Each sample was run in duplicate on separate plates

Culture medium was removed from confluent 96 well culture plates and replaced with
15 200µl of above dilutions into the appropriate wells. The plates were incubated for 1hr at
RT. The media was removed, and the plates were washed 1x with 200µl well of PBS.
CAMP was extracted by the addition of 60µl 70% ethanol (stored in the refrigerator).
After a 30min extraction period, 10µl ethanol extract was transferred to the cAMP assay
plate or samples were stored at -20°C until the cAMP assay was performed.

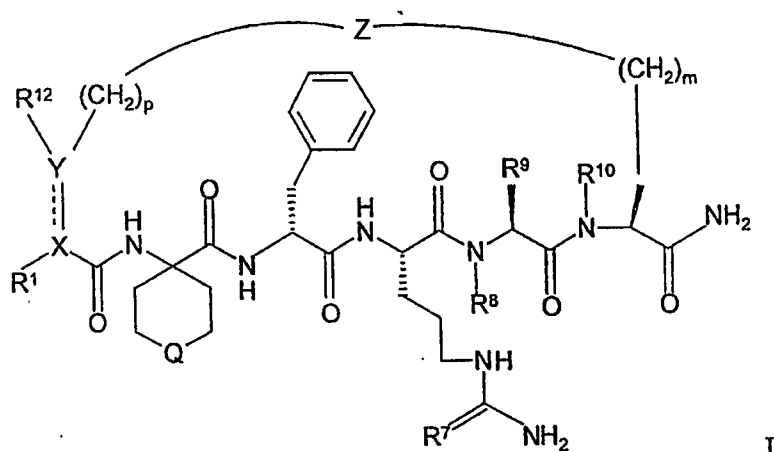
20 cAMP Assay: The extracted samples and all reagents included in the kit were brought to
room temperature. To a 96 well OptiPlate, 10µl ethanol extract, 40µl assay buffer, 50ul
[125I]cAMP, 50µl antiserum and 50µl SPA beads were added. The total well volume
after addition was 200µl. The plates were sealed and incubated for 15-20 hr at room
25 temperature. [125I]cAMP binding to the SPA beads was determined by counting each
plate for 2 minutes on a Packard TopCount™.

Note: Each plate contained samples of controls for unstimulated cells and NDP-αMSH
for stimulated cells.

30

5 What is claimed is:

1. A compound of the formula:

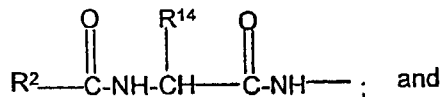
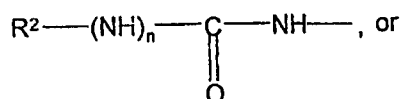


10

wherein

R^1 and R^{12} together with X and Y form a phenyl ring and X is C and Y is C, or

15 R^1 is hydrogen,



20

R^{12} is hydrogen, with either X and Y being each C and the bond between X and Y being a double bond, or with X and Y being each CH and the bond between X and Y being a single bond;

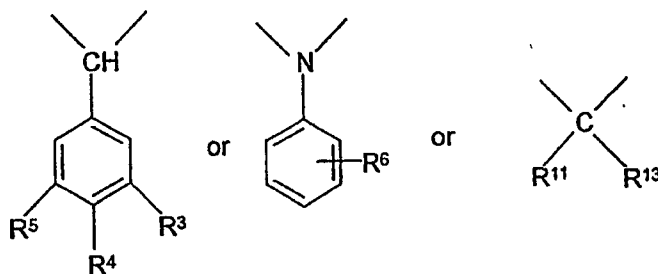
244

5 R^2 is alkyl having from 1 to 5 carbon atoms, alkenyl having from 2 to 5 carbon atoms, or alkynyl having from 2 to 5 carbon atoms ;

R^{14} is alkyl having from 1 to 5 carbon atoms;

n is 0 or 1; and

Q is



10

wherein R^3 , R^4 and R^5 are independently hydrogen, halo, alkyl having from 1 to 4 carbon atoms, hydroxy or alkoxy having from 1 to 4 carbon atoms, wherein when R^4 is not hydrogen, R^3 and R^5 are both hydrogen; and

15

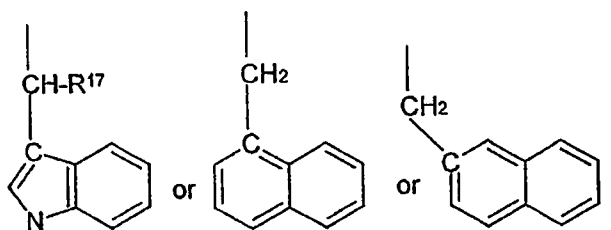
R^6 is hydrogen, alkyl having from 1 to 3 carbon atoms, alkoxy having from 1 to 3 carbon atoms, phenoxy, or halo;

R^{11} and R^{13} are each independently hydrogen, alkyl having 3 or 4 carbons, cycloalkyl having 5 or 6 carbon atoms, or R^{11} and R^{13} are both phenyl;

R^7 is O or NH;

R^8 is hydrogen or methyl;

20 R^9 is



R^{10} is hydrogen or methyl;

p is 0 or 1;

25 m is 0, 1, 2, or 3; and