

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **PI0708943-0 A2**

(22) Data de Depósito: 16/03/2007
(43) Data da Publicação: 14/06/2011
(RPI 2110)



(51) *Int.Cl.:*
C07K 14/43 2006.01
C07K 14/47 2006.01

(54) Título: **AGONISTA DO RECEPTOR DE NEUROMIDINA U, MÉTODOS PARA PRODUÇÃO DE UM AGONISTA DO RECEPTOR DE NEUROMIDINA U E PARA O TRATAMENTO DE UM DISTÚRBIO METABÓLICO EM UM INDIVÍDUO, USO DO AGONISTA DO RECEPTOR DE NEUROMEDINA U, E, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA**

(57) Resumo: AGONISTA DO RECEPTOR DE NEUROMIDINA U, MÉTODOS PARA A PRODUÇÃO DE UM AGONISTA DO RECEPTOR DE NEUROMIDINA U E PARA O TRATAMENTO DE UM DISTÚRBIO METABÓLICO EM UM INDIVÍDUO, USO DO AGONISTA DO RECEPTOR DE NEUROMEDINA U, E, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA Agonistas do receptor de neuromedina U para o uso no tratamento de distúrbios metabólicos, tais como obesidade e diabetes são divulgados.

(30) Prioridade Unionista: 20/03/2006 US 60/783933

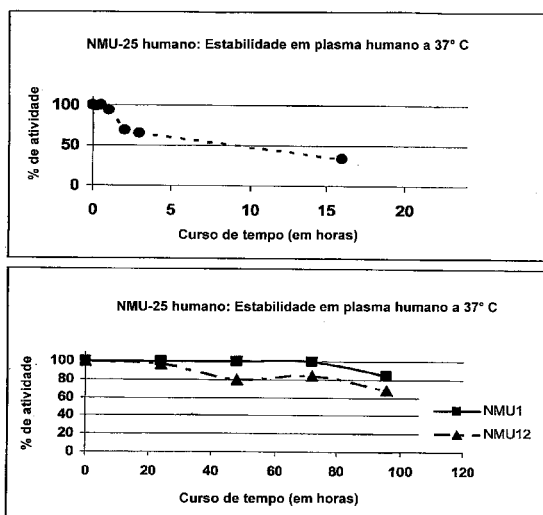
(73) Titular(es): Instituto Di Ricerche Di Biologia Molecolare P. Angeletti S.P.A., Merck & CO., Inc

(72) Inventor(es): Andrea M. Peier, Antonello Pessi, Donald J. Marsh, Elisabetta Bianchi, Maria A. Bednarek, Paolo Ingallinella

(74) Procurador(es): Momsen, Leonardos & CIA.

(86) Pedido Internacional: PCT US2007006635 de 16/03/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/109135 de 27/09/2007





PI0708943-0

1

“AGONISTA DO RECEPTOR DE NEUROMIDINA U, MÉTODOS PARA
A PRODUÇÃO DE UM AGONISTA DO RECEPTOR DE NEUROMIDINA
U E PARA O TRATAMENTO DE UM DISTÚRBIO METABÓLICO EM
UM INDIVÍDUO, USO DO AGONISTA DO RECEPTOR DE
5 NEUROMEDINA U, E, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA”
PEDIDOS RELACIONADOS

Este pedido reivindica o benefício do Pedido Condicional U.
S. Nº 60/783.933 depositado em 20 de março de 2006.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

10 (1) Campo de Invenção

A presente invenção diz respeito a agonistas do receptor de
neuromedina U para o uso no tratamento de distúrbios metabólicos tais como
obesidade.

(2) Descrição da técnica Relacionada

15 A Neuromedina U (NMU) foi originalmente isolada da medula
espinal porcina com base em sua capacidade de contrair músculo liso uterino
de rato e visto que foi implicado em uma variedade de outros processos
fisiológicos, incluindo tensão, nocicepção, inflamação, função cardiovascular
e homeostase de energia. A caracterização de NMU identificou três peptídeos
20 com bioatividade similar, NMU de comprimento total, (um (NMU-25) de 25-
mer) em humanos, porcos e cães, um (NMU-23) de 23-mer em ratos e
camundongos e um (NMU-8) de 8-mer. O NMU-8 é derivado da clivagem de
NMU de comprimento total e divide um terminal C idêntico com o precursor
de comprimento total. NMU-8 é altamente conservado entre os vertebrados,
25 contendo sete resíduos de terminal C que são idênticos em todas as espécies
que foram examinadas; estes resíduos são críticos para a bioatividade
(Brighton *et al.*, Pharmacol. Rev. 56: 231-248 (2004)).

O papel de NMU na regulação da homeostase de energia é
suportado tanto por dados farmacológicos quanto genéticos. As propriedades

de NMU incluem a inibição da entrada de alimento e aumento no gasto de energia visto quando a substância é administrada (Howard *et al.*, Nature 406: 70-74 (2000); Nakazato *et al.*, Biochem. Biophys. Res. Comm. 277: 191-194 (2000); Ivanov *et al.*, Endocrinol. 143: 3813-3821 (2002); and Wren *et al.*,
 5 Endocrinol., 143: 4227-4234 (2002)). Os camundongos deficientes em camundongos deficientes em NMU desenvolvem obesidade caracterizada pela hiperfagia e gasto de energia reduzido (Hanada *et al.*, Nat. Med., 10: 1067-1073 (2004)) e camundongos transgênicos que super-expressam NMU são magros e hipofágicos (Kowalski *et al.*, J. Endocrinol. 185: 151-164
 10 (2005)). A condição de energia interna de um animal também afeta a expressão e liberação de NMU (Wren *et al.*, *ibid.*).

Dois receptores de NMU de alta afinidade, NMUR1 (Pedido de Patente Intl. N° PCT/US99/15941) e NMUR2 (Patente U. S. N° 7163799), foram identificados. O NMUR1 é predominantemente expressado na
 15 periferia, onde o NMUR2 é primariamente expressado no cérebro.

Os experimentos farmacológicos serviram para definir melhor os efeitos de curto e de longo período de NMU na homeostase de energia e para identificar quais receptores de NMU estão envolvidos na mediação destas ações. Foi mostrado que as administrações agudas de NMU, central ou
 20 periféricamente reduzem a entrada de alimento em camundongos de uma maneira dependente da dose. As ações anoréticas de NMU centralmente administrado estão ausentes em camundongos deficientes em NMUR2 (*Nmur2^{-/-}*) mas estão presentes em camundongos deficientes em NMUR1 (*Nmur1^{-/-}*). Em contraste, as ações anoréticas de NMU periféricamente
 25 administrado estão ausentes em camundongos *Nmur1^{-/-}* e presentes em camundongos *Nmur2^{-/-}*. Adicionalmente, a administração periférica aguda de NMU dependente de dose aumenta a temperatura do corpo do núcleo em camundongos, sugerindo que o NMUR1 também pode modular o gasto de energia. A administração crônica de NMU reduz central ou periféricamente a

entrada de alimento, peso do corpo e adiposidade em camundongos, novamente em uma maneira dependente de dose. Em camundongos transgênicos *Nmur2^{-/-}*, peso corporal, composição corporal, temperatura corporal e entrada de alimento são amplamente não afetados pela administração central crônica de NMU-23 de rato. Em camundongo transgênico *Nmur1^{-/-}*, peso corporal, composição corporal e entrada de alimento são amplamente não afetados pela administração periférica crônica de NMU-23 de rato.

Por causa disso, os locais de ação de eficácia mediada por NMUR1 vs. NMUR2 diferem e parecem ser independentes um do outro, mas tem um papel na obesidade, é sugerido que tanto os agonistas seletivos de NMUR1 quanto de NMUR2 e agonistas não seletivos de NMUR1/2 podem ser úteis para o tratamento de obesidade. Portanto, existe uma necessidade de agonistas do receptor de neuromedina U úteis no tratamento de distúrbios metabólicos.

BREVE SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção fornece agonistas do receptor de neuromedina U. Em um aspecto, os agonistas do receptor de neuromedina U são específicos para um subtipo de receptor, em um outro aspecto, os agonistas do receptor de neuromedina U são capazes de ligar e estimular tanto o receptor de NMUR1 quanto de NMUR2. Em outros aspectos, os agonistas do receptor de neuromedina U foram derivados para permitir que os agonistas do receptor de neuromedina U cruzem a barreira sangue-cérebro e interage com os receptores de NMU no cérebro. Os agonistas do receptor de neuromedina U podem ser usados terapêuticamente e como ferramentas de pesquisa.

As aplicações terapêuticas dos agonistas do receptor de neuromedina U incluem a administração dos agonistas do receptor de neuromedina U a um indivíduo para o tratamento de um distúrbio metabólico

que aflige o indivíduo. Tais distúrbios incluem, mas não são limitados a, obesidade, síndrome metabólica ou síndrome X e o diabetes tipo II. As complicações de diabetes, tais como retinopatia também podem ser positivamente afetadas deste modo. Obesidade é uma co-morbidez e também

5 pode contribuir para tais estados de doença como diabetes, hipertensão, dislipidemias, doença, cálculos biliares, osteoartrite e certas formas de cânceres. A administração de um ou mais dos agonistas do receptor de neuromedina U divulgados neste afetam a perda de peso em um indivíduo também pode ser útil na prevenção de tais doenças e como parte da terapia

10 para qualquer uma das condições citadas acima bem como outras. Em outras formas de realização, é fornecido um método para tratar uma doença metabólica em um indivíduo que compreende administrar ao indivíduo um ou mais dos agonistas do receptor de neuromedina U descritos acima. A doença metabólica pode ser selecionada do grupo que consiste de diabetes, síndrome

15 metabólica, hiperglicemia e obesidade e pode ser administrado por intermédio de uma via periférica ao cérebro, tal como uma via oral, mucosal, bucal, sublingual, nasal, retal, subcutânea, transdérmica, intravenosa, intramuscular ou intraperitoneal. Finalmente, os agonistas do receptor de neuromedina U podem ser administrados a um indivíduo para realizar uma redução na entrada

20 de alimento pelo indivíduo, para realizar uma redução no ganho de peso no indivíduo, para evitar o ganho de peso no indivíduo, para afetar a perda de peso no indivíduo e/ou para evitar o reganho de peso no indivíduo.

Conseqüentemente, a presente invenção fornece um agonista do receptor de neuromedina U isolado, que tem a fórmula (I)

25
$$Z^1\text{-peptídeo-Z}^2$$

em que o peptídeo tem a sequência de aminoácido $X^1\text{-X}^2\text{-X}^3\text{-X}^4\text{-X}^5\text{-X}^6\text{-X}^7\text{-X}^8\text{-X}^9\text{-X}^{10}\text{-X}^{11}\text{-X}^{12}\text{-X}^{13}\text{-X}^{14}\text{-X}^{15}\text{-X}^{16}\text{-X}^{17}\text{-X}^{18}\text{-X}^{19}\text{-X}^{20}\text{-X}^{21}\text{-X}^{22}\text{-X}^{23}\text{-X}^{24}\text{-X}^{25}$ (SEQ ID N°: 27), em que os aminoácidos de 1 a 17 podem ser qualquer aminoácido ou ausentes; em que o aminoácido X^{18} está ausente, Y,

W, F, um des-aminoácido ou um grupo acila; aminoácido X^{19} é A, W, Y, F ou um aminoácido alifático; aminoácido X^{20} está ausente, L, G, sarcosina (Sar), D-Leu, NMe-Leu, D-Ala ou A; aminoácido X^{21} é F, NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A ou W; X^{22} é R, K, A ou L; aminoácido X^{23} é P, Sar, A ou L; aminoácido X^{24} é R, Harg ou K e o aminoácido X^{25} é N, qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle ou A.; e Z^1 é um grupo de proteção opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo amino de terminal N e Z^2 é NH_2 ou um grupo de proteção opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo carboxi de terminal C e seus sais farmacologicamente aceitáveis.

Em aspectos particulares do agonista do receptor de neuromedina U, o peptídeo tem a sequência de aminoácido $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7-X^8-X^9-X^{10}-X^{11}-X^{12}-X^{13}-X^{14}-X^{15}-X^{16}-X^{17}-X^{18}-F-L-F-R-P-R-N$ (SEQ ID N°: 1), em que os aminoácidos de 1 a 17 podem ser qualquer aminoácido ou ausentes, que em aspectos particulares tem uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste de SEQ ID N°: 2, SEQ ID N°: 3, SEQ ID N°: 4, SEQ ID N°: 5 e SEQ ID N°: 6. Em aspectos correntemente preferidos, o peptídeo tem uma sequência de aminoácido mostrada na SEQ ID N°: 2.

Em um outro aspecto do agonista do receptor de neuromedina U, o peptídeo compreende a sequência de aminoácido $F-R-V-D-E-E-F-Q-S-P-F-A-S-Q-S-R-G-X^{18}-X^{19}-X^{20}-X^{21}-X^{22}-X^{23}-X^{24}-X^{25}$ (SEQ ID N°: 7) em que o aminoácido X^{18} está ausente, Y, W, F, um des-aminoácido ou um grupo acila; aminoácido X^{19} é A, W, Y, F ou um aminoácido alifático; aminoácido X^{20} está ausente, G, sarcosina (Sar), D-Leu, NMe-Leu, D-Ala ou A; aminoácido X^{21} é NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A ou W; aminoácido X^{22} é K, A ou L; o aminoácido X^{23} é Sar, A ou L; aminoácido X^{24} é Harg ou K e o aminoácido X^{25} é qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle ou A, que em aspectos particulares tem a sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste de SEQ ID N°: 14, SEQ ID N°: 15, SEQ

ID N°: 22, SEQ ID N°: 23, SEQ ID N°: 24 e SEQ ID N°: 25.

Ainda, em um outro aspecto do agonista do receptor de neuromedina U, o peptídeo compreende a seqüência de aminoácido X¹-X²-X³-X⁴-X⁵-X⁶-X⁷-X⁸ (SEQ ID N°: 8) em que o aminoácido X¹ está ausente, Y, W, F, um des-aminoácido ou um grupo acila; aminoácido X² é A, W, Y, F ou um aminoácido alifático; aminoácido X³ está ausente, G, sarcosina (Sar), D-Leu, NMe-Leu, D-Ala ou A; aminoácido X⁴ é NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A ou W; aminoácido X⁵ é K, A ou L; aminoácido X⁶ é Sar, A ou L; aminoácido X⁷ é Harg ou K e o aminoácido X⁸ é qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle, ou A, que em aspectos particulares tem a seqüência de aminoácido selecionada do grupo que consiste de SEQ ID N°: 9, SEQ ID N°: 10, SEQ ID N°: 11, SEQ ID N°: 12, SEQ ID N°: 13, SEQ ID N°: 16, SEQ ID N°: 17, SEQ ID N°: 18, SEQ ID N°: 19, SEQ ID N°: 20 e SEQ ID N°: 21.

Em outros aspectos dos agonistas do receptor de neuromedina U acima, o aminoácido de terminal N é covalentemente unido a uma ou mais moléculas selecionadas do grupo que consiste de PEG, colesterol, N-etilmaleimidila e palmitoíla. Ainda em outros aspectos do agonista do receptor de neuromedina U, o peptídeo ainda inclui um resíduo de cisteína no terminal N do peptídeo em que um grupo de proteção está opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo amino de terminal N do resíduo de cisteína. Em aspectos particulares do agonista do receptor de neuromedina U, o grupo tiol do resíduo de cisteína no terminal N é covalentemente unido a uma ou mais moléculas selecionadas do grupo que consiste de PEG, colesterol, N-etilmaleimidila e palmitoíla. Em uma forma de realização correntemente preferida, os agonistas do receptor de neuromedina U tem o aminoácido da SEQ ID N°: 2, que ainda inclui um resíduo de cisteína no terminal N do peptídeo em que está presente um grupo de proteção unido ao grupo amino de terminal N do resíduo de cisteína e uma molécula PEG unida

ao grupo tiol.

O agonista do receptor de neuromedina U ainda pode incluir um grupo ligador tendo uma extremidade distal e uma extremidade proximal. O grupo ligador é covalentemente unido a sua extremidade distal ao terminal N do peptídeo e é covalentemente ligado na extremidade proximal ao terminal carboxila de um resíduo de cisteína, em que um grupo de proteção está
 5 N do peptídeo e é covalentemente ligado na extremidade proximal ao terminal carboxila de um resíduo de cisteína, em que um grupo de proteção está opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo amino de terminal N do resíduo de cisteína. Em aspectos particulares, em que o grupo tiol do resíduo de cisteína é covalentemente unido a uma ou mais moléculas
 10 selecionadas do grupo que consiste de PEG, colesterol, N-etilmaleimidila e palmitoíla.

A presente invenção ainda fornece o uso de qualquer uma ou mais das formas de realização e aspectos do agonista do receptor de neuromedina U na fabricação de um medicamento para o tratamento de um
 15 distúrbio metabólico. Os distúrbios incluem, mas não são limitados a, obesidade, síndrome metabólica ou síndrome X e diabetes do tipo II. As complicações de diabetes, tais como retinopatia também podem ser positivamente afetadas deste modo. A obesidade é uma co-morbididade de, e também pode contribuir para tais estados de doença como o diabetes,
 20 hipertensão, dislipidemias, doenças cardiovasculares, cálculos biliares, osteoartrite e certas formas de câncer. Desta maneira, a presente invenção fornece uma composição farmacêutica que compreende um ou mais de qualquer um dos agonistas do receptor de neuromedina U acima e um carreador farmacêuticamente aceitável.

25 A presente invenção ainda fornece um método para produzir um agonista do receptor de neuromidina U que pode cruzar a barreira sangue-cérebro que compreende unir covalentemente ao peptídeo uma ou mais moléculas de PEG em que a uma ou mais moléculas de PEG tornam o peptídeo capaz de cruzar a barreira sangue-cérebro. Portanto, em aspectos

particulares, o agonista do receptor de neuromidina U tem a fórmula (I)



em que o peptídeo tem a seqüência de aminoácido $X^1\text{-X}^2\text{-X}^3\text{-X}^4\text{-X}^5\text{-X}^6\text{-X}^7\text{-X}^8\text{-X}^9\text{-X}^{10}\text{-X}^{11}\text{-X}^{12}\text{-X}^{13}\text{-X}^{14}\text{-X}^{15}\text{-X}^{16}\text{-X}^{17}\text{-X}^{18}\text{-X}^{19}\text{-X}^{20}\text{-X}^{21}\text{-X}^{22}\text{-}$

5 $X^{23}\text{-X}^{24}\text{-X}^{25}$ (SEQ ID N°: 27), em que os aminoácidos de 1 a 17 podem ser qualquer aminoácido ou ausentes; em que o aminoácido X^{18} está ausente, Y, W, F, um des-aminoácido ou um grupo acila; aminoácido X^{19} é A, W, Y, F ou um aminoácido alifático; aminoácido X^{20} está ausente, L, G, sarcosina (Sar), D-Leu, NMe-Leu, D-Ala ou A; aminoácido X^{21} é F, NMe-Phe, um
10 aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A ou W; X^{22} é R, K, A ou L; aminoácido X^{23} é P, Sar, A ou L; aminoácido X^{24} é R, Harg ou K e o aminoácido X^{25} é N, qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle, A e Z^1 é um grupo de proteção opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo amino de terminal N e Z^2 é NH_2 ou um grupo de proteção opcionalmente
15 presente que, se presente, é unido ao grupo carbóxi de terminal C e seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

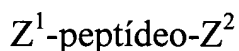
Ainda é fornecido um método para a produção de um agonista do receptor de neuromidina U que compreende todo ou uma porção do peptídeo NMU-25 que é específico para um subtipo do receptor de
20 neuromedina U que compreende modificar um ou mais dos sete aminoácidos no terminal C do polipeptídeo a um aminoácido ou análogo de aminoácido que não é natural ao peptídeo NMU-25 humano.

Portanto, em um aspecto, o peptídeo compreende a seqüência de aminoácido $\text{F-R-VD-E-E-F-Q-S-P-F-A-S-Q-S-R-G-X}^{18}\text{-X}^{19}\text{-X}^{20}\text{-X}^{21}\text{-X}^{22}\text{-}$
25 $X^{23}\text{-X}^{24}\text{-X}^{25}$ (SEQ ID N°: 7) em que o aminoácido X^{18} está ausente, Y, W, F, um des-aminoácido ou um grupo acila; aminoácido X^{19} é A, W, Y, F ou um aminoácido alifático; aminoácido X^{20} está ausente, G, sarcosina (Sar), D-Leu, NMe-Leu, D-Ala ou A; aminoácido X^{21} é NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A ou W; aminoácido X^{22} é K, A ou L; aminoácido

X^{23} é Sar, A ou L; aminoácido X^{24} é Harg ou K e o aminoácido X^{25} é qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle, ou A, que em aspectos particulares tem a sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste de SEQ ID N°: 14, SEQ ID N°: 15, SEQ ID N°: 22, SEQ ID N°: 23, SEQ ID N°: 24 e SEQ ID N°: 25.

Em um outro aspecto do agonista do receptor de neuromedina U, o peptídeo compreende a sequência de aminoácido X^1 X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8 (SEQ ID N°: 8) em que o aminoácido X^1 está ausente, Y, W, F, um des-aminoácido ou um grupo acila; aminoácido X^2 é A, W, Y, F ou um aminoácido alifático; aminoácido X^3 está ausente, G, sarcosina (Sar), D-Leu, NMe-Leu, D-Ala ou A; aminoácido X^4 é NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A ou W; aminoácido X^5 é K, A ou L; aminoácido X^6 é Sar, A ou L; aminoácido X^7 é Harg ou K e o aminoácido X^8 é qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle, ou A, que em aspectos particulares tem a sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste de SEQ ID N°: 9, SEQ ID N°: 10, SEQ ID N°: 11, SEQ ID N°: 12, SEQ ID N°: 13, SEQ ID N°: 16, SEQ ID N°: 17, SEQ ID N°: 18, SEQ ID N°: 19, SEQ ID N°: 20 e SEQ ID N°: 21.

Ainda é fornecido um método para o tratamento de um distúrbio metabólico em um indivíduo que compreende administrar ao indivíduo a quantidade terapeuticamente eficaz de um agonista do receptor de neuromidina U que tem a fórmula (I)



em que o peptídeo tem a sequência de aminoácido X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8 - X^9 - X^{10} - X^{11} - X^{12} - X^{13} - X^{14} - X^{15} - X^{16} - X^{17} - X^{18} - X^{19} - X^{20} - X^{21} - X^{22} - X^{23} - X^{24} - X^{25} (SEQ ID N°: 27), em que os aminoácidos de 1 a 17 podem ser qualquer aminoácido ou ausente; em que o aminoácido X^{18} está ausente, Y, W, F, um des-aminoácido ou um grupo acila; aminoácido X^{19} é A, W, Y, F ou um aminoácido alifático; aminoácido X^{20} está ausente, L, G, sarcosina (Sar),

D-Leu, NMe-Leu, D-Ala ou A; aminoácido X^{21} é F, NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A ou W; X^{22} é R, K, A ou L; aminoácido X^{23} é P, Sar, A ou L; aminoácido X^{24} é R, Harg ou K e o aminoácido X^{25} é N, qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle, A e Z^1 é um grupo de proteção opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo amino de terminal N e Z^2 é NH_2 ou um grupo de proteção opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo carboxi de terminal C, para tratar o distúrbio metabólico.

O método é particularmente útil para o tratamento de um distúrbio metabólico selecionado do grupo que consiste de obesidade, síndrome metabólica ou síndrome X, diabetes do tipo II, complicações da diabetes, hipertensão, dislipidemias, doenças cardiovasculares, cálculos biliares, osteoartrite e certas formas de câncer.

Em aspectos particulares do método, o peptídeo tem a sequência de aminoácido $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7-X^8-X^9-X^{10}-X^{11}-X^{12}-X^{13}-X^{14}-X^{15}-X^{16}-X^{17}-X^{18}-F-L-F-R-P-R-N$ (SEQ ID N°: 1), em que os aminoácidos de 1 a 17 podem ser qualquer aminoácido ou ausentes, que em aspectos particulares tem uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste de SEQ ID N°: 2, SEQ ID N°: 3, SEQ ID N°: 4, SEQ ID N°: 5 e SEQ ID N°: 6. Em aspectos correntemente preferidos, o peptídeo tem uma sequência de aminoácido mostrada na SEQ ID N°: 2.

Em um outro aspecto do método, o peptídeo compreende a sequência de aminoácido $F-R-V-D-E-E-F-Q-S-P-F-A-S-Q-S-R-G-X^{18}-X^{19}-X^{20}-X^{21}-X^{22}-X^{23}-X^{24}-X^{25}$ (SEQ ID N°: 7) em que o aminoácido X^{18} está ausente, Y, W, F, um des-aminoácido ou um grupo acila; aminoácido X^{19} é A, W, Y, F ou um aminoácido alifático; aminoácido X^{20} está ausente, G, sarcosina (Sar), D-Leu, NMe-Leu, D-Ala ou A; aminoácido X^{21} é NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A ou W; aminoácido X^{22} é K, A ou L; aminoácido X^{23} é Sar, A ou L; aminoácido X^{24} é Harg ou K e o

aminoácido X²⁵ é qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle, ou A, que em aspectos particulares tem a seqüência de aminoácido selecionada do grupo que consiste de SEQ ID N°: 14, SEQ ID N°: 15, SEQ ID N°: 22, SEQ ID N°: 23, SEQ ID N°: 24 e SEQ ID N°: 25.

5 Ainda, em um outro aspecto do método, o peptídeo compreende a seqüência de aminoácido X¹-X²-X³-X⁴-X⁵-X⁶-X⁷-X⁸ (SEQ ID N°: 8) em que o aminoácido X¹ está ausente, Y, W, F, um des-aminoácido ou um grupo acila; aminoácido X² é A, W, Y, F ou um aminoácido alifático; aminoácido X³ está ausente, G, sarcosina (Sar), D-Leu, NMe-Leu, D-Ala ou
10 A; aminoácido X⁴ é NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A ou W; aminoácido X⁵ é K, A ou L; aminoácido X⁶ é Sar, A ou L; aminoácido X⁷ é Harg ou K e o aminoácido X⁸ é qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle, ou A, que em aspectos particulares tem a seqüência de aminoácido selecionada do grupo que consiste de SEQ ID N°: 9,
15 SEQ ID N°: 10, SEQ ID N°: 11, SEQ ID N°: 12, SEQ ID N°: 13, SEQ ID N°: 16, SEQ ID N°: 17, SEQ ID N°: 18, SEQ ID N°: 19, SEQ ID N°: 20 e SEQ ID N°: 21.

Em outros aspectos do método acima, o aminoácido de terminal N é covalentemente unido a uma ou mais moléculas selecionadas do
20 grupo que consiste de PEG, colesterol, N-etilmaleimidila e palmitoíla. Ainda em outros aspectos do agonista do receptor de neuromedina U, o peptídeo ainda inclui um resíduo de cisteína no terminal N do peptídeo em que um grupo de proteção está opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo amino de terminal N do resíduo de cisteína. Em aspectos particulares
25 do método, o grupo tiol do resíduo de cisteína no terminal N é covalentemente unido a uma ou mais moléculas selecionadas do grupo que consiste de PEG, colesterol, N-etilmaleimidila e palmitoíla. Em uma forma de realização correntemente preferida, os agonistas do receptor de neuromedina U tem o aminoácido da SEQ ID N°: 2, que ainda inclui um resíduo de cisteína no

terminal N do peptídeo em que está presente um grupo de proteção unido ao grupo amino de terminal N do resíduo de cisteína e uma molécula PEG unida ao grupo tiol.

O agonista do receptor de neuromedina U ainda pode incluir um grupo ligador tendo uma extremidade distal e uma extremidade proximal é covalentemente unido a sua extremidade distal ao terminal N do peptídeo e a extremidade proximal do grupo ligador é covalentemente ligado ao terminal carboxila de um resíduo de cisteína em que um grupo de proteção está opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo amino de terminal N do resíduo de cisteína. Em aspectos particulares, em que o grupo tiol do resíduo de cisteína é covalentemente unido a uma ou mais moléculas selecionadas do grupo que consiste de PEG, colesterol, N-etilmaleimidila e palmitoíla. Em uma forma de realização correntemente preferida do método, agonista do receptor de neuromidina U tem a fórmula Ac-C2-peptídeo-CONH₂ em que Ac é um grupo acetila, C2 é Cys(PEG)240 kDa e o peptídeo tem a seqüência de aminoácido mostrada na SEQ ID N°: 2.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A Figura 1A demonstra que a administração periférica de agonista H reduz a entrada de alimento e estas ações anoréticas são mediadas por NMUR1. Camundongos *Nmur1*^{+/+} e *Nmur1*^{-/-} obesos induzidos à dieta foram dosados ip com veículo (água), composto H em 3,25 mmoles/kg, ou hNMU-25 em 3,25 mmoles/kg ~30 minutos antes do início da fase de escuro e a entrada de alimento foi medida em torno de 2 e 18 horas (Durante a noite) mais tarde, respectivamente. *, P < 0,05 vs. Veículo, n = 11 a 12 por grupo de tratamento.

A Figura 1B mostra a mudança durante a noite no peso corporal dos camundongos na Figura 1A.

A Figura 2A mostra que a administração aguda periférica do agonista H seletivo de NMUR1 reduziu significativamente a entrada de

alimento em camundongos do tipo selvagem, mas não em camundongos de nocaute *Nmurl*, demonstrando que o NMUR1 é requerido para as ações anoréticas de agonista H. Adicionalmente, estes dados demonstram que o agonismo seletivo de NMUR1 é suficiente para recapitular as ações anoréticas do NMU do agonista de NMUR1/2 total.

A Figura 2B mostra que a administração aguda periférica do NMU13 do agonista seletivo de NMUR1 também reduziu significativamente a entrada de alimento em camundongos do tipo selvagem, mas não em camundongos de nocaute *Nmur1*, demonstrando que o NMUR1 também é requerido para as ações anoréticas deste agonista. Adicionalmente, estes dados demonstram que o agonismo seletivo de NMUR1 é suficiente para recapitular as ações anoréticas do NMU do agonista de NMUR1/2 total.

A Figura 3A mostra que a administração subcutânea de NMU PEGuilado reduz a entrada de alimento por três dias pós-dose. Consistente com o perfil metabólico *in vitro* e *in vivo* dos análogos PEGuilados, o NMU1 apresenta eficácia maior na redução, durante a noite, da entrada de alimento em comparação com hNMU-25 e reduções na entrada de alimento são observadas por três dias após a dose. Reduções significantes no peso corporal também foram observadas (Figura 3B).

A Figura 3B mostra a mudança no peso corporal dos camundongos em Figura 3A.

Figura 4A mostra que o NMU12 também é um peptídeo anorético eficaz. Similar ao NMU1, uma redução significativa na entrada de alimento e peso corporal (Figura 4B) foi observada por três dias após uma administração subcutânea simples dos agonistas.

A Figura 4B mostra uma mudança no peso corporal nos camundongos da Figura 4A.

A Figura 5A mostra que os efeitos anoréticos de NMU12 são mediados pelos receptores de NMUR1 e NMUR2. A administração aguda de

NMU12 foi altamente eficaz em animais do tipo selvagem mas nenhum efeito foi observado em animais de nocaute duplo NMUR1/NMUR2.

A Figura 5B mostra uma mudança diária no peso corporal dos camundongos em Figura 5A.

5 A Figura 6A mostra um efeito anorético de NMU12
PEGuilado são mediados tanto pelos receptores NMUR1 quanto NMUR2. As
reduções na entrada de alimento e de peso corporal (Figura 6B) foram
observadas por dois dias pós-dose nos animais de nocaute NMUR1.
Entretanto, apenas durante a noite os efeitos foram observados nos animais de
10 nocaute NMUR2. Isto está em contraste com os efeitos anoréticos de hNMU-
25, que é mediado unicamente por NMUR1, demonstrando que o hNMU-25 e
NMU12 tem mecanismo distintos de ação.

A Figura 6B mostra uma mudança no peso corporal dos camundongos na Figura 6A por quatro dias.

15 A Figura 7A mostra que a administração crônica de NMU12
pode reduzir a entrada de alimento e o peso corporal. O NMU12 foi dosado
todo dia (QD), dia sim dia não (Q2D) ou a cada três dias (Q3D). A Figura
mostra uma mudança cumulativa no peso corporal por nove dias após o
começo do tratamento. A última dose foi administrada no dia quatro do
20 estudo e as medições foram feitas no dia nove.

A Figura 7B mostra que a entrada cumulativa de alimento dos camundongos na Figura 7A foi significativamente reduzida em todos os paradigmas de dosagem para NMU12. A entrada de alimento foi reduzida de 12 a 27 % nestas doses com relação ao grupo tratado com veículo.

25 A Figura 7C mostra que a faixa cumulativa no peso corporal
dos camundongos em Figura 7A variou de uma perda de 3,3 % a tanto quanto
7,3 % com relação ao grupo de controle de veículo.

A Figura 8 mostra uma comparação da estabilidade *in vitro* de hNMU-25 e NMU1 e NMU12 de agonista PEGuilado em plasma com

experimentos de perfuração. A PEGuilação forneceu estabilidade maior em plasma humano. A vida média de hNMU-25 em plasma humano foi menor do que 16 horas, visto que os agonistas PEGuilados apresentaram uma vida média maior do que 3 dias em plasma humano incubado a 37° C.

5 A Figura 9 mostra uma comparação das propriedades farmacocinéticas de hNMU-25 e NMU12 de agonista PEGuilado em camundongos. A PEGuilação forneceu estabilidade metabólica maior *in vivo*. Os animais foram dosados subcutaneamente com 10 mg/kg de hNMU-25 ou NMU12. O plasma foi coletado em vários pontos de tempo pós dose e medido
10 no Bioensaio. A linha pontilhada indica os limites de detecção para o ensaio (LOD).

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A presente invenção fornece o agonista do receptor de neuromidina U. O agonista do receptor de neuromedina U descrito neste atua
15 em receptores de NMU, liga os receptores de NMU e estimula a atividade de receptor de NMU. Em um aspecto, os agonistas do receptor de neuromedina U são específicos para um subtipo de receptor, em que tal especificidade é definida como tendo um valor de IC50 que é menor do que cerca de 200 nM no ensaio de ligação de receptor de NMUR1 ou NMUR2. A seletividade é
20 com base na atividade funcional ou as razões de EC50 em NMUR2 humano/NMUR1 humano para peptídeos seletivos de NMUR1e em NMUR1 humano/NMUR2 humano para peptídeos seletivos de NMUR2. Além disso, os agonistas seletivos do receptor de neuromedina U descritos neste variam de cerca de 21 a 909 vezes o para NMUR1 e de cerca de 2 a 200 vezes seletivas
25 para NMUR2. Em um outro aspecto, os agonistas do receptor de neuromedina U são capazes de ligar e estimular tanto os receptores de NMUR1 e NMUR2 e foram derivados para permitir os agonistas do receptor de neuromedina U cruzem a barreira sangue-cérebro e interajam com os receptores de NMU no cérebro. Os agonistas do receptor de neuromedina U podem ser usados

terapeuticamente e como ferramentas de pesquisa.

Um ou mais dos agonistas do receptor de neuromedina U podem ser administrados a um indivíduo para tratar um distúrbio metabólico que aflige o indivíduo. Tais distúrbios incluem, mas não são limitados a, 5 obesidade, síndrome metabólica ou síndrome X e diabetes do tipo II. As complicações de diabetes, tais como retinopatia também podem ser positivamente afetadas deste modo. A obesidade é uma comorbidez de, e também pode contribuir para tais estados de doença como o diabetes, hipertensão, dislipidemias, doenças cardiovasculares, cálculos biliares, 10 osteoartrite e certas formas de câncer. A administração de um ou mais dos agonistas do receptor de neuromedina U divulgados neste causa a perda de peso em um indivíduo também pode ser útil na prevenção de tais doenças e como parte da terapia para qualquer uma das condições citadas acima, bem como outros. Em outras formas de realização, é fornecido um método para 15 tratar uma doença metabólica em um indivíduo que compreende administrar ao indivíduo um ou mais dos agonistas do receptor de neuromedina U descrito acima. A doença metabólica pode ser selecionada do grupo que consiste de diabetes, síndrome metabólica, hiperglicemia e obesidade e pode ser administrado por intermédio de uma via periférica ao cérebro, tal como uma 20 via oral, mucosal, bucal, sublingual, nasal, retal, subcutânea, transdérmica, intravenosa, intramuscular ou intraperitoneal. Em formas de realização particular, os agonistas do receptor de neuromedina U podem ser usados para o tratamento de distúrbios múltiplos em um indivíduo. Como estará evidente para uma pessoa de habilidade comum na técnica em vista da divulgação 25 neste, os agonistas do receptor de neuromedina U podem ser administrados a um indivíduo para realizar uma redução na entrada de alimento pelo indivíduo, para realizar uma redução no ganho de peso no indivíduo, para evitar o ganho de peso no indivíduo, para afetar a perda de peso no indivíduo e/ou para evitar o reganho de peso no indivíduo.

O uso de ferramentas de pesquisa pode envolver o uso de um agonista do receptor de neuromidina U e a presença de um receptor de NMU ou fragmento deste. Os exemplos de usos de ferramentas de pesquisa incluem a avaliação de compostos ativos em receptores de NMU, determinando a presença de receptores de NMU em uma amostra ou preparação e examinando o papel e o efeito de NMU. Adicionalmente, os agonistas do receptor de neuromedina U podem ser usados para a avaliação de Compostos de ligação de NMU (agonistas ou antagonistas) usando-se uma agonista do receptor de neuromidina U em um experimento de competição com compostos de teste.

Os agonistas do receptor de neuromedina U da presente invenção compreendem a fórmula geral (I)



em que o peptídeo tem a seqüência de aminoácido $X^1\text{-X}^2\text{-X}^3\text{-X}^4\text{-X}^5\text{-X}^6\text{-X}^7\text{-X}^8\text{-X}^9\text{-X}^{10}\text{-X}^{11}\text{-X}^{12}\text{-X}^{13}\text{-X}^{14}\text{-X}^{15}\text{-X}^{16}\text{-X}^{17}\text{-X}^{18}\text{-X}^{19}\text{-X}^{20}\text{-X}^{21}\text{-X}^{22}\text{-X}^{23}\text{-X}^{24}\text{-X}^{25}$ (SEQ ID N°: 27) em que os aminoácidos de 1 a 17 podem ser qualquer aminoácido ou ausentes, em que o aminoácido X^{18} está ausente, Y, W, F, um des-aminoácido ou um grupo acila; aminoácido X^{19} é A, W, Y, F ou um aminoácido alifático; aminoácido X^{20} está ausente, L, G, sarcosina (Sar), D-Leu, NMe-Leu, D-Ala ou A; aminoácido X^{21} é F, NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A ou W; X^{22} é R, K, A ou L; aminoácido X^{23} é P, Sar, A ou L; aminoácido X^{24} é R, Harg ou K e o aminoácido X^{25} é N, qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle, A e Z^1 é um grupo de proteção opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo amino de terminal N; e Z^2 é NH_2 ou um grupo de proteção opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo carbóxi de terminal C e seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

Em formas de realização particular, o peptídeo compreende a seqüência de aminoácido $X^1\text{-X}^2\text{-X}^3\text{-X}^4\text{-X}^5\text{-X}^6\text{-X}^7\text{-X}^8\text{-X}^9\text{-X}^{10}\text{-X}^{11}\text{-X}^{12}\text{-X}^{13}$ -

$X^{14}-X^{15}-X^{16}-X^{17}-X^{18}-F-L-F-R-P-R-N$ (SEQ ID N°: 1) em que os aminoácidos de 1 a 17 podem ser qualquer aminoácido ou ausentes. As seqüências de aminoácido de agonistas do receptor de neuromedina U particulares tendo a seqüência de aminoácido acima são mostrados na Tabela 1.

5 Em outras formas de realização, o peptídeo compreende a seqüência de aminoácido $F-R-V-DE-E-F-Q-S-P-F-A-S-Q-S-R-G-X^{18}-X^{19}-X^{20}-X^{21}-X^{22}-X^{23}-X^{24}-X^{25}$ (SEQ ID N°: 7) em que o aminoácido X^{18} está ausente, Y, W, F, um des-aminoácido ou um grupo acila; aminoácido X^{19} é A, W, Y, F ou um aminoácido alifático; aminoácido X^{20} está ausente, G, sarcosina (Sar), D-Leu, NMe-Leu, D-Ala ou A; aminoácido X^{21} é NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A ou W; aminoácido X^{22} é K, A ou L; aminoácido X^{23} é Sar, A ou L; aminoácido X^{24} é Harg ou K e o aminoácido X^{25} é qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle, ou A. Os exemplos de peptídeos tendo a seqüência de aminoácido acima são mostrados na Tabela 2.

Ainda, em uma outra forma de realização, o peptídeo compreende a seqüência de aminoácido $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7-X^8$ (SEQ ID N°: 8) em que o aminoácido X^1 está ausente, Y, W, F, um des-aminoácido ou um grupo acila; aminoácido X^2 é A, W, Y, F ou um aminoácido alifático; aminoácido X^3 está ausente, G, sarcosina (Sar), D-Leu, NMe-Leu, D-Ala ou A; aminoácido X^4 é NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A ou W; aminoácido X^5 é K, A ou L; aminoácido X^6 é Sar, A ou L; aminoácido X^7 é Harg ou K e o aminoácido X^8 é qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle, ou A. Os exemplos de peptídeos tendo a seqüência de aminoácido acima são mostrados na Tabela 2.

Em aspectos particulares, o agonista do receptor de neuromidina U opcionalmente inclui um grupo de proteção covalentemente unido ao grupo amino de terminal N. Um grupo de proteção covalentemente unido ao grupo amino de terminal N dos agonistas do receptor de

neuromedina U eduz a reatividade do terminal amino sob condições *in vivo*. Os grupos de proteção amino incluem alquila C1-10, alquila C1-C10 substituída, alquenila -C2-10, alquenila -C2-10 substituída, arila, alquil arila C1-6, -C(O)-(CH₂)₁₋₆-COON, -C(O)-alquila C1-6, -C(O)-arila, -C(O)-O-

5 alquila alquila C1-6 ou -C(O)-O-arila. Em formas de realização particular, o grupo de proteção de terminal amino é selecionado do grupo que consiste de acetila, propila, succinila, benzila, benziloxycarbonila e t-butiloxycarbonila. A desaminação do aminoácido de terminal N é uma outra modificação que é considerada para a redução da reatividade do terminal amino sob condições *in*

10 *vivo*.

As composições quimicamente modificadas dos agonistas do receptor de neuromedina U em que os derivados de agonista do receptor de neuromidina U são ligados a um polímero também estão incluídos dentro do escopo da presente invenção. O polímero selecionado usualmente modificado

15 para ter um grupo reativo simples, tal como um éster ativo para a acilação ou um aldeído para a alquilação, de modo que o grau de polimerização possa ser controlado como fornecido nos presente métodos. Incluído dentro do escopo de polímeros está uma mistura de polímeros. Preferivelmente, para o uso terapêutico da preparação de produto final, o polímero será

20 farmaceuticamente aceitável.

O polímero ou mistura deste podem ser selecionados do grupo que consiste de; por exemplo, polietileno glicol (PEG), monometóxi-polietileno glicol, dextrano, celulose ou outros polímeros com base em carboidrato, poli-(N-vinil pirrolidona) polietileno glicol, homopolímeros de

25 propileno glicol, um co-polímero de óxido de polipropileno oxideletileno, polióis polioxietilados (por exemplo, glicerol) e álcool polivinílico.

Ainda, em outras formas de realização, os agonistas do receptor de neuromedina U são modificados por PEGuilação, colesteroilção ou palmitoilção. A modificação pode ser a qualquer resíduo de aminoácido

no agonista do receptor de neuromidina U, entretanto, nas formas de realização correntemente preferidas, a modificação é ao aminoácido de terminal N do agonista do receptor de neuromedina U, diretamente ao aminoácido de terminal N ou por meio de ligação ao grupo tiol de um resíduo de cisteína adicionado ao terminal N ou A ligador adicional ao terminal N tal como Ttds. Em outras formas de realização, o terminal N do agonista do receptor de neuromedina U compreende um resíduo de cisteína ao qual um grupo de proteção é ligado ao grupo amino de terminal N do resíduo de cisteína e o grupo de tiolato de cisteína é derivado com N-etilmaleimida, grupo PEG, grupo colesterol ou grupo palmitoíla. Ainda, em outras formas de realização, um resíduo de cisteína acetilado é adicionado ao terminal N dos agonistas do receptor de neuromedina U e o grupo tiol da cisteína é derivado com N-etilmaleimida, grupo PEG, grupo colesterol ou grupo palmitoíla.

É conhecido que as propriedades de certas proteínas podem ser moduladas pela ligação de polímeros de polietileno glicol (PEG), que aumenta o volume hidrodinâmico da proteína e, desse modo, diminui sua pureza pela filtração pelo rim. (Ver, por exemplo, Clark *et al.*, J. Biol. Chem. 271: 21969-21977 (1996)). Portanto, é previsto que os resíduos de peptídeo de núcleo podem ser PEGuilados para fornecer os benefícios terapêuticos intensificados, tais como, por exemplo, eficácia aumentada estendendo-se a vida média *in vivo*. Os inventores verificaram que o incluindo um grupo PEG no terminal N do agonista do receptor de neuromedina U, não estende apenas a vida média do soro do agonista PEGuilado do receptor de neuromidina U em comparação com o peptídeo NMU-25 natural mas também permite agonistas do receptor de neuromedina U particulares tais como NMU12 cruzem a barreira sangue-cérebro e interajam com os receptores de NMUR2 no cérebro. No geral, após a administração intravenosa, o NMU-25 natural é rapidamente purificado a partir da circulação sistêmica. Como mostrado na Figura 7, a 37 ° C, a vida média de NMU-25 (NMU1) humano intacto é

significativamente aumentado pela ligação covalente de uma molécula de polietileno glicol ao grupo amino no resíduo de fenilalanina de terminal N da molécula ou ao grupo tiol de um resíduo de cisteína covalentemente unido por uma ligação de amida ao resíduo de fenilalanina de terminal N de NMU-25 (NMU12). Desta maneira, a PEGuilação dos agonistas do receptor de neuromedina U melhorarão a farmacocinética e a farmacodinâmica dos agonistas do receptor de neuromedina U.

Os métodos de PEGuilação de peptídeo são bem conhecidos na literatura e descritos na seguinte referência, cada um dos quais é incorporado neste por referência: Lu *et al.*, Int. J. Pept. Protein Res.43: 127-38 (1994); Lu *et al.*, Pept. Res. 6: 140-6 (1993); Felix *et al.*, Int. J. Pept. Protein Res. 46: 253-64 (1995); Gaertner *et al.*, Bioconjug. Chem. 7: 38-44 (1996); Tsutsumi *et al.*, Thromb. Haemost. 77: 168-73 (1997); Francis *et al.*, Int. J. Hematol. 68: 1-18 (1998); Roberts *et al.*, J. Pharm. Sci. 87: 1440-45 (1998); e Tan *et al.*, Protein Expr. Purif. 12: 45-52 (1998). Polietileno glicol ou PEG é entendido abranger qualquer uma das formas de PEG que foram usadas para derivar outras proteínas, que incluem, mas não limitam-se a, mono-alcóxi (C1-10) ou arilóxi-polietileno glicol. As porções de PEG adequadas incluem, por exemplo, 40 kDa de metóxi poli(etileno glicol) propionaldeído (Dow, Midland, Michigan); 60 kDa de metóxi poli(etileno glicol) propionaldeído (Dow, Midland, Michigan); 40 kDa de metóxi poli(etileno glicol) maleimido-propionamida (Dow, Midland, Michigan); 31 kDa de alfa-metil-w-(3-oxopropóxi), polioxietileno (NOF Corporation, Tokyo); mPEG2-NHS-40k (Nektar); mPEG2-MAL-40k (Nektar), SUNBRIGHT GL2-400MA ((PEG)240 kDa) (NOF Corporation, Tokyo), SUNBRIGHT ME-200MA (PEG20 kDa) (NOF Corporation, Tokyo). Os grupos PEG são, no geral, ligados aos agonistas do receptor de neuromedina U via acilação ou alquilação redutiva através de um grupo reativo na porção PEG (por exemplo, um aldeído, amino, tiol ou grupo éster) a um grupo reativo no agonista do

receptor de neuromidina U (por exemplo, um aldeído, amino, tiol ou grupo éster).

As moléculas de PEG podem ser covalentemente ligadas a quaisquer resíduos Lys, Cys ou K(CO(CH₂)₂SH) em qualquer posição no agonista do receptor de neuromidina U. Os agonistas do receptor de neuromedina U descritos neste podem ser PEGuilados diretamente a qualquer aminoácido no terminal N por meio do grupo amino de terminal N. Um "braço ligador" pode ser ligado ao agonista do receptor de neuromidina U para facilitar a PEGuilação. A PEGuilação na cadeia secundária de tiol de cisteína foi amplamente relatada (Ver, por exemplo, Caliceti & Veronese, Adv. Drug Deliv. Rev. 55: 1261-77 (2003)). Se não existir resíduo de cisteína no peptídeo, um resíduo de cisteína pode ser introduzido através da substituição ou pela adição de uma cisteína ao aminoácido de terminal N. Aqueles agonistas do receptor de neuromedina U, que foram PEGuilados, foram PEGuilados através das cadeias secundárias de um resíduo de cisteína adicionado ao aminoácido de terminal N.

Alternativamente, as moléculas de PEG podem ser covalentemente ligadas a um grupo amida no terminal C do agonista do receptor de neuromedina U. No geral, existe pelo menos uma molécula de PEG covalentemente ligado ao agonista do receptor de neuromidina U. Em aspectos particulares, a molécula de PEG é ramificada, enquanto, em outros aspectos, a molécula de PEG pode ser linear. Em aspectos particulares, a molécula de PEG está entre 1 kDa e 100 kDa em peso molecular. Em outros aspectos, a molécula de PEG é selecionada de 10, 20, 30, 40, 50 e 60 kDa. Ainda em outros aspectos, é selecionado de 20, 40 ou 60 kDa. Quando existem duas moléculas PEG covalentemente ligadas ao agonista do receptor de neuromidina U da presente invenção, cada um é de 1 a 40 kDa e em aspectos particulares, estes tem pesos moleculares de 20 e 20 kDa, 10 e 30 kDa, 30 e 30 kDa, 20 e 40 kDa ou 40 e 40 kDa. Em aspectos particulares, os

agonistas do receptor de neuromedina U contém mPEG-cisteína. O mPEG em mPEG-cisteína pode ter vários pesos moleculares. A faixa do peso molecular é preferivelmente de 5 kDa a 200 kDa, mais preferivelmente de 5 kDa a 100 kDa e ainda preferivelmente de 20 kDa a 60 kDa. O mPEG pode ser linear ou ramificado.

Correntemente, é preferível que os agonistas do receptor de neuromedina U são PEGuilados através das cadeias secundárias de uma cisteína adicionada ao aminoácido de terminal N. Correntemente, os agonistas preferivelmente contém mPEG-cisteína. A mPEG em mPEG-cisteína pode ter vários pesos moleculares. A faixa do peso molecular é preferivelmente 5 kDa a 200 kDa, mais preferivelmente 5 kDa a 100 kDa e ainda preferivelmente 20 kDa a 60 kDa. O mPEG pode ser linear ou ramificado.

Uma estratégia útil para a PEGuilação de agonistas sintéticos do receptor de neuromedina U consiste da combinação, através da formação de uma ligação conjugada na solução, um peptídeo e uma porção PEG, cada um carregando uma funcionalidade especial que é mutuamente reativo com reação ao outro. Os agonistas do receptor de neuromedina U podem ser facilmente preparados com a síntese de fase sólida convencional. O agonista do receptor de neuromedina U é "pré-ativado" com um grupo funcional apropriado em um local específico. Os precursores são purificados e totalmente caracterizados antes da reação com a porção de PEG. A conjugação do polipeptídeo com PEG usualmente acontece e pode ser facilmente monitorada pela HPLC analítica de fase reversa. O agonista PEGuilado do receptor de neuromidina U pode ser facilmente purificado pela cromatografia trocadora de cátion ou HPLC preparativa caracterizados pela HPLC analítica, análise de aminoácidos e espectrometria de massa por dessorção a laser.

O agonista do receptor de neuromedina U pode compreender outras modificações que não de seqüência, por exemplo, glicosilação,

lipidação, acetilação, fosforilação, carboxilação, metilação ou qualquer outra manipulação ou modificação, tal como conjugação com um componente de rotulação. Enquanto isso, em aspectos particulares, o agonista do receptor de neuromidina U aqui, utiliza aminoácidos de ocorrência natural ou isoformas

5 D de aminoácidos de ocorrência natural, substituições com aminoácidos de ocorrência não natural (por exemplo, sulfóxido de metionina, metionina metilsulfônio, norleucina, ácido épsilon-aminocaprílico, ácido 4-aminobutanóico, ácido tetraidroisoquinolino-3-carboxílico, ácido 8-aminocaprílico, ácido 4-aminobutírico, Lys(N(épsilon)-trifluoroacetila) ou

10 análogos sintéticos, por exemplo, ácido o-aminoisobutírico, p ou y-aminoácidos e análogos cíclicos. Ainda em outros aspectos, os agonistas do receptor de neuromedina U compreendem uma proteína de fusão que tem uma primeira porção, que é um agonista do receptor de neuromidina U e uma segunda porção, que é um peptídeo heterólogo.

15 O agonista do receptor de neuromedina U pode ser modificado por uma variedade de técnicas químicas para a produção de derivados tendo essencialmente a mesma atividade como o agonista do receptor de neuromidina U não modificado e/ou tendo outras propriedades desejáveis. Um grupo de proteção covalentemente unido ao grupo carbóxi de terminal C

20 reduz a reatividade do terminal carbóxi sob condições *in vivo*. Por exemplo, grupos de ácido carboxílico do polipeptídeo, terminal carboxila ou cadeia secundária, podem ser fornecidos na forma de um sal de um cátion farmacologicamente aceitável ou esterificado para formar um éster C1-6 ou convertido a uma amida da fórmula NRR_2 em que R e R_2 são, cada um, H ou

25 alquila C1-6 ou combinados para formar um anel heterocíclico, tal como um anel de 5 ou 6 membros. O grupo de proteção de terminal carbóxi é preferivelmente ligado ao grupo α -carbonila do último aminoácido. Os grupos de proteção de terminal carbóxi incluem, mas não são limitados a, amida, metilamida e etilamida. Os grupos amino do polipeptídeo, terminal

amino ou a cadeia secundária, podem estar na forma de um sal de adição ácida farmacologicamente aceitável, tal como HCl, HBr, acético, benzoico, tolueno sulfônico, maleico, tartárico e outros sais orgânicos ou podem ser modificados a alquila C1-6 ou dialquil amino ou ainda convertido a uma amida.

Os grupos hidroxila do agonista da cadeia secundária de receptor de neuromedina U podem ser convertidos a alcóxi C1-6 ou a um éster C1-6 usando-se técnicas bem reconhecidas. Fenila e anéis fenólicos da cadeia secundária de polipeptídeo podem ser substituídos por um ou mais átomos halogênicos, tais como flúor, cloro, bromo ou iodo ou com alquila C1-6, alcóxi C1-6, ácidos carboxílicos e ésteres destes; ou amidas de tais ácidos carboxílicos. Os grupos metileno dos agonistas de cadeia secundária de receptor de neuromedina U podem ser estendidos a alquilenos C2-4 homólogos. Os tióis podem ser protegidos com qualquer um de diversos grupos de proteção bem reconhecidos, tais como grupos acetamida. Aqueles habilitados na técnica também reconhecerão métodos para a introdução de estruturas cíclicas nos peptídeos desta invenção para selecionar e fornecer restrição conformacional para a estrutura que resulta em estabilidade intensificada. Por exemplo, um resíduo de cisteína de terminal carbóxi ou de terminal amino pode ser adicionado ao peptídeo, de modo que quando oxidado o peptídeo conterà uma ligação de bissulfeto, desse modo gerando um peptídeo cíclico. Outros métodos de ciclização de peptídeo inclui a formação de tioéteres e de amidas de terminal carboxila e amino e ésteres.

Os polímeros de polissacarídeo são um outro tipo de polímero que pode ser usado para a modificação de proteína. Os dextranos são polímeros de polissacarídeo compreendidos de subunidades individuais de glicose predominantemente ligado por ligações α 1-6. O dextrano, por si só está disponível em muitas faixas de peso molecular e está facilmente disponível em pesos moleculares de cerca de 1 kDa a cerca de 70 kDa. O

dextrano é um polímero solúvel em água adequado para o uso como um veículo por si só ou em combinação com um outro veículo (Ver, por exemplo, WO 96/11953 e WO 96/05309). O uso de dextrano conjugado com imunoglobulinas terapêuticas ou diagnósticas foi relatado; ver, por exemplo, 5 Publicação de Patente Européia N° 0 315 456. Dextrano de cerca de 1 kDa a cerca de 20 kDa é preferido quando o dextrano é usado como um veículo de acordo com a presente invenção.

Como descrito acima, a presença de um grupo "ligador" é opcional. Quando presente, sua estrutura química não é crítica, visto que esta 10 serve primariamente como um espaçador. Entretanto, em certas formas de realização, o ligador pode, por si só fornecer propriedades melhoradas às composições da presente invenção. O ligador é preferivelmente feito de aminoácidos ligados juntos pelas ligações de peptídeo. Desta maneira, em formas de realização particulares, o ligador é feito de 1 a 20 aminoácidos 15 ligados por ligações de peptídeo, em que os aminoácidos são selecionados dos 20 aminoácidos de ocorrência natural. Alguns destes aminoácidos podem ser glicosilados, como é bem entendido por aqueles na técnica. Em uma forma de realização mais preferida, os 1 a 20 aminoácidos são selecionados de glicina, alanina, prolina, asparagina, glutamina e lisina. Ainda mais preferivelmente, 20 um ligador é feito de uma maioria de aminoácidos que são estericamente não impedidos, tais como glicina e alanina. Desta maneira, os ligadores preferidos são poliglicinas (particularmente (Gly)₄, (Gly)₅, poli(Gly-Ala), e polialaninas. Outros exemplos específicos de ligadores são (Gly)₃Lys(Gly)₄; (Gly)₃AsnGlySer(Gly)₂; (Gly)₃Cys(Gly)₄ e GlyProAsnGlyGly.

25 Os ligadores que não de peptídeo também podem ser usados. Por exemplo, ligadores de alquila, tais como -NH-(CH₂)_s-C(O)-, em que s = 2 a 20 podem ser usados. Estes ligadores de alquila ainda podem ser substituídos por qualquer grupo não estericamente impedido, tal como, alquila inferior (por exemplo, C1-6) acila inferior, halogênio (por exemplo, Cl, Br),

CN, NH₂, fenila e outros. Um ligador não peptídico exemplar é um ligador PEG, em que n é, tal que o ligador tem um peso molecular de 100 a 5000 kD, preferivelmente de 100 a 500 kD. Os ligadores de peptídeo podem ser alterados para a formação de derivados da mesma maneira como descrito.

- 5 Outros ligadores incluem Ttds (ácido 1-amino-4,7,10-trioxa-13-tridecanamino succinímico).

A presente invenção inclui diastereômeros, bem como suas formas enantiomericamente puras racêmicas e resolvidas. Os agonistas do receptor de neuromedina U podem conter D-aminoácidos, L-aminoácidos ou
 10 uma combinação destes. No geral, os aminoácidos estão na forma de L com aminoácidos particulares na forma D. Como é conhecido na técnica, os aminoácidos individuais podem ser representados como segue:
 A=Ala=Alanina; C=Cys=Cisteína; D=Asp=Ácido aspártico; E=Glu=Ácido glutâmico; F=Phe=Fenilalanina; G=Gly=Glicina; H=His=Histidina;
 15 I=Ile=Isoleucina; K=Lys=Lisina; L=Leu=Leucina; M=Met=Metionina; N=Asn=Asparagina; P=Pro=Prolina; Q=Gln=Glutamina; R=Arg=Arginina; S=Ser=Serina; T=Thr=Treonina; V=Val=Valina; W=Trp=Triptofano e Y=Tyr=Tirosina.

Os exemplos de agonistas do receptor de neuromedina U da
 20 presente invenção compreendem a sequência de aminoácido X¹-X²-X³-X⁴-X⁵-X⁶-X⁷-X⁸-X⁹-X¹⁴-X¹¹-X¹²-X¹³-X¹⁴-X¹⁵-X¹⁶-X¹⁷-X¹⁸-F-L-F-R-P-R-N (SEQ 1D N^o: 1) em que os aminoácidos de 1 a 17 podem ser qualquer aminoácido ou ausentes são mostrados na Tabela 1. Os agonistas do receptor de neuromedina U são protegidos no terminal C com um grupo amino e nenhum terminal N
 25 com um grupo acetila (exceto para o agonista do receptor de neuromidina U NMU1). Com a exceção do agonista do receptor de neuromidina U NMU2, os agonistas do receptor de neuromedina U ainda incluem um resíduo de cisteína no terminal N ao qual o grupo acetila está covalentemente ligado ao grupo amino do resíduo de cisteína. Como mostrado na tabela, para muitos dos

agonistas do receptor de neuromedina U, o grupo tiol do resíduo de cisteína é reagido com um segundo grupo. Por exemplo, para agonistas do receptor de neuromedina U na tabela mostrada com um C₁ no terminal N, o agonista do receptor de neuromidina U tem um resíduo de cisteína N-acetilado no terminal N do agonista do receptor de neuromedina U ligado por meio de seu grupo tiol à N-etilmaleimidila; para agonistas do receptor de neuromedina U na tabela mostrada com um C₂ no terminal N, o agonista do receptor de neuromedina U tem um resíduo de cisteína N-acetilado no terminal N do agonista do receptor de neuromedina U ligado por meio de seu grupo tiol a um (PEG)240 kDa; para agonistas do receptor de neuromedina U mostrado com um C₄ no terminal N do agonista do receptor de neuromidina U, o agonista do receptor de neuromidina U tem um resíduo de cisteína N-acetilado no terminal N do agonista do receptor de neuromedina U ligado por meio de seu grupo tiol a um (PEG)20 kDa; para os agonistas do receptor de neuromedina U mostrados com um C₅ no terminal N do agonista do receptor de neuromidina U, o agonista do receptor de neuromidina U tem um resíduo de cisteína N-acetilado no terminal N do agonista do receptor de neuromedina U ligado por meio de seu grupo tiol a um (PEG)220 kDa; para agonistas do receptor de neuromedina U mostrados com um C₆ no terminal N do agonista do receptor de neuromidina U, o agonista do receptor de neuromidina U tem um resíduo de cisteína N-acetilado no terminal N do agonista do receptor de neuromedina U ligado por meio de seu grupo tiol a um (PEG)40 kDa; para agonistas do receptor de neuromedina U mostrados com um C₃ no terminal N do agonista do receptor de neuromidina U, o agonista do receptor de neuromidina U tem um resíduo de cisteína N-acetilado no terminal N do agonista do receptor de neuromedina U ligado por meio de seu grupo tiol ao colesterol.

Tabela 1		
SEQ ID NO.	peptídeos	seqüências de agonista do receptor de neuromidina U
2	NMU	FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
2	NMU1	P ₁ -FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
2	NMU2	Ac-FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
4	NMU3	GYFLFRPRN-CONH ₂
28	NMU4	FRVDEEFQSPFASQSRPYFLFRPRN-CONH ₂
28	NMU5	Ac-FRVDEEFQSPFASQSRPYFLFRPRN-CONH ₂
4	Pre-1	Ac-CGYFLFRPRN-CONH ₂
4	NMU6	Ac-C ₁ GYFLFRPRN-CONH ₂
4	NMU7	Ac-C ₂ GYFLFRPRN-CONH ₂

4	NMU11	Ac-C ₃ GYFLFRPRN-CONH ₂
2	Pre-2	Ac-CFRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
2	NMU8	Ac-C ₁ FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
2	NMU9	Ac-C ₂ FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
2	NMU12	Ac-C ₂ FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
2	NMU10	Ac-C ₃ FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
2	NMU21	Ac-C ₄ FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
2	NMU26	Ac-C ₅ FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
25	Pre-3	Ac-CFRVDEEFQSPFASQSRGYFaWRPRN-CONH ₂
25	NMU13	Ac-C ₁ FRVDEEFQSPFASQSRGYFaWRPRN-CONH ₂
25	NMU14	Ac-C ₂ FRVDEEFQSPFASQSRGYFaWRPRN-CONH ₂
5	Pre-4	Ac-C-Ttds-FLFRPRN-CONH ₂
5	NMU15	Ac-C ₁ -Ttds-FLFRPRN-CONH ₂
5	NMU16	Ac-C ₂ -Ttds-FLFRPRN-CONH ₂
3	Pre-5	Ac-CASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
3	NMU17	Ac-C ₁ ASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
3	NMU18	Ac-C ₂ ASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
6	Pre-6	Ac-CFQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
6	NMU19	Ac-C ₁ FQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
6	NMU20	Ac-C ₂ FQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
2	Pre-7	Ac-C-C-FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
2	NMU22	Ac-C ₁ -C ₁ -FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
2	NMU23	Ac-C ₄ -C ₄ -FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
2	Pre-8	Pam-CFRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
2	NMU24	Pam-C ₁ FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
2	NMU25	Pam-C ₂ FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
2	NMU27	Ac-C ₆ FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-CONH ₂
4	Pre-9	Ac-C-Ttds-GYFLFRPRN-CONH ₂
4	NMU28	Ac-C ₁ -Ttds-GYFLFRPRN-CONH ₂
4	NMU29	Ac-C ₂ -Ttds-GYFLFRPRN-CONH ₂
28	NMU30	Ac-C ₁ FRVDEEFQSPFASQSRPYFLFRPRN-CONH ₂
28	NMU31	Ac-C ₂ FRVDEEFQSPFASQSRPYFLFRPRN-CONH ₂

C = cisteína; **P1** = (PEG)240 kDa; **C₁** = Cys(N-etilmaleimidila), **C₂** = Cys(PEG)240 kDa, **C₄** = Cys(PEG)20 kDa, **C₅** = Cys(PEG)220 kDa, **C₆** = Cys(PEG)40 kDa cada um correspondendo a um resíduo de cisteína PEGuilado por intermédio do tiol de cadeia lateral com um PEG ramificado [(PEG)2] ou um PEG linear do MW indicado; **C₃** = Cys(Colesteróila), correspondente a um resíduo de cisteína ligado ao colesterol por intermédio do tiol de cadeia secundária; **Ttds**, ácido 1-amino-4,7,10-trioxa-13-tridecanamino succinímico; **a**, D-Alanina; **Ac** = acetila; **Pam** = palmitoila.

Os agonistas do receptor de neuromedina U mostrados na Tabela 1, com a exceção daqueles agonistas do receptor de neuromedina U que compreendem a sequência de aminoácido da SEQ ID N°: 25, são biespecíficos em que estes podem ligar e ativar receptores de NMUR1 ou NMUR2. Os agonistas do receptor de neuromedina U que compreendem SEQ ID N°: 25 foram observados ser específicos de NMUR1. A PEGuilação dos agonistas do receptor de neuromedina U mostrada na tabela 1 parece estender a vida média do soro dos agonistas do receptor de neuromedina U e significativamente, tornar os agonistas do receptor de neuromedina U particulares tais como NMU12 capazes de cruzar a barreira sangue-cérebro. Por exemplo, como mostrado no Exemplo 4 e Figuras 6A e 6B, NMU12 foi mostrado ser capaz de reduzir a entrada de alimento e reduzir o ganho de peso em camundongos de nocaute *Nmurl*. Os resultados indicam que os NMU12 de peptídeo PEGuilados administrados periféricamente foram capazes de cruzar a barreira sangue-cérebro. A PEGuilação pareceu estender a vida média do soro de NMU1, NMU9 e NMU20 por três dias e NMU11 e NMU18 por dois dias. O NMU9 e o NMU12 diferem pela fonte de (PEG)240 kDa covalentemente unida ao grupo tiol do resíduo de cisteína de terminal N.

Os exemplos de agonistas do receptor de neuromedina U da presente invenção que compreende a sequência de aminoácido F-R-V-D-E-E-F-Q-S-P-F-A-S-Q-S-R-G-X¹⁸-X¹⁹-X²⁰-X²¹-X²²-X²³-X²⁴-X²⁵ (SEQ ID N°: 7) ou X¹-X²-X³-X⁴-X⁵-X⁶-X⁷-X⁸ (SEQ ID N°: 8) em que o aminoácido X¹⁸ ou X¹ está ausente, Y, W, F, um des-aminoácido ou um grupo acila; aminoácido X¹⁹ ou X² é A, W, Y, F ou um aminoácido alifático; aminoácido X²⁰ ou X³ está ausente, G, sarcosina (Sar), D-Leu, NMe-Leu, D-Ala ou A; aminoácido

5 X²¹ ou X⁴ é NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A ou W; aminoácido X²² ou X⁵ é K, A ou L; aminoácido X²³ ou X⁶ é Sar, A ou L; aminoácido X²⁴ ou X⁷ é Harg ou K e o aminoácido X²⁵ ou X⁸ é qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle, ou A. Os exemplos de peptídeos tendo a
 10 seqüência de aminoácido acima são mostrados na Tabela 2. No geral, o peptídeos que compreende SEQ ID N°: 7 ou SEQ ID N°: 8 são específicos para o receptor de NMUR1; entretanto, como mostrado nos Exemplos, os agonistas do receptor de neuromedina U N, O e P são biespecíficos.

Tabela 2		
SEQ ID NO.	Peptídeos	Sequências de agonista do receptor de neuromidina U
9	A	YFWRPRN-CONH ₂
10	B	YF-(D-L)-WRPRN-CONH ₂
11	C	YFGWRPRN-CONH ₂
12	D	YF-(D-A)-WRPRN-CONH ₂
26	E	Ac-F-(D-L)-WRPRN-CONH ₂
13	F	Ac-FFRPRN-CONH ₂
14	G	FRVDEEFQSPFASQSRGYFWRPRN-CONH ₂
15	H	FRVDEEFQSPFASQSRGYF-(D-L)-WRPRN-CONH ₂
16	I	FWLFRP-(Harg)-N-CONH ₂

17	J	FWLFRA-(Harg)-N-CONH ₂
18	K	WFLFRAR-(D-Nle) -CONH ₂
19	L	FWLFRARN-CONH ₂
20	M	WALFRARN-CONH ₂
21	N	FALFRPRN-CONH ₂
22	O	FRVDEEFQSPFASQSRGFWLFRP-(Harg)-N-CONH ₂
23	P	FRVDEEFQSPFASQSRGFWLFRA-(Harg)-N-CONH ₂
24	Q	FRVDEEFQSPFASQSRGFWLFRPR-(D-Nle)-CONH ₂

10 Ainda são fornecidas composições farmacêuticas que compreendem uma quantidade terapeuticamente eficaz de um ou mais dos agonistas do receptor de neuromedina U divulgados neste para o tratamento de um distúrbio metabólico em um indivíduo. Tais distúrbios incluem, mas não são limitados a, obesidade, síndrome metabólica ou síndrome X, diabetes do tipo II, complicações de diabetes, tais como retinopatia, hipertensão,
 15 dislipidemias, doenças cardiovasculares, cálculos biliares, osteoartrite e certas

formas de câncer. Os distúrbios relacionados com obesidade aqui, são associados com, causados por ou resultado de obesidade.

"Obesidade" é uma condição em que existe um excesso de gordura corporal. A definição operacional de obesidade é fundamentada no Índice de Massa Corporal (BMI), calculado como peso corporal ou altura em metros quadrados (kg/m^2). "Obesidade" refere-se a uma condição pela qual, um paciente de outra maneira saudável tem um Índice de Massa Corporal (BMI) maior do que ou igual a 30 kg/m^2 ou uma condição pela qual um paciente com pelo menos uma co-morbidez tem um BMI maior do que ou igual a 27 kg/m^2 . Um "paciente obeso" é um paciente de outra maneira saudável com um Índice de Massa Corporal (BMI) maior do que ou igual a 30 kg/m^2 ou um paciente com pelo menos uma co-morbidez com um BMI maior do que ou igual a 27 kg/m^2 . Um "paciente em risco de obesidade" é um paciente de outra maneira saudável com um BMI de 25 kg/m^2 a menos do que 30 kg/m^2 ou um paciente com pelo menos uma co-morbidez com um BMI de 25 kg/m^2 a menos do que 27 kg/m^2 .

Os riscos aumentados associados com obesidade ocorrem em um Índice de Massa Corporal (BMI) menor em asiáticos. Em países da Ásia, incluindo o Japão, "obesidade" refere-se a uma condição em que um paciente com pelo menos uma co-morbidez induzida por obesidade ou relacionada com a obesidade que requer redução de peso que deve ser melhorada pela redução de peso, tem um BMI maior do que ou igual a 25 kg/m^2 . Em países asiáticos, incluindo o Japão, um "paciente obeso" refere-se a um paciente com pelo menos uma co-morbidez induzida por obesidade ou relacionada com a obesidade que requer a redução de peso ou que deve ser melhorado pela redução de peso, com um BMI maior do que ou igual a 25 kg/m^2 . Em países asiáticos, um "paciente em risco de obesidade" é um paciente com a BMI maior do que 23 kg/m^2 a menos do que 25 kg/m^2 .

Como usado neste, o termo "obesidade" é entendido abranger

todas as definições acima de obesidade.

Co-morbidez induzida por obesidade ou relacionada com obesidade incluem, mas não são limitados a, diabetes, diabetes melito não dependente de insulina – tipo 2, tolerância à glicose prejudicada, glicose em jejum prejudicada, síndrome de resistência à insulina, dislipidemia, hipertensão, hiperuricacidemia, gota, doença da artéria coronária, infarto do miocárdio, angina do peito, síndrome da apnéia do sono, síndrome de Pickwickian, fígado gorduroso; infarto cerebral, trombose cerebral, ataque isquêmico transitório, distúrbios ortopédicos, artrite deformante, lombodinia, emeniopatia e infertilidade. em particular, co-morbididades incluem: hipertensão, hiperlipidemia, dislipidemia, intolerância à glicose, doenças cardiovasculares, apnéia do sono, diabetes melito e outras condições relacionadas com a obesidade.

"Tratamento" (de obesidade e distúrbios relacionados com a obesidade) refere-se à administração dos compostos da presente invenção para reduzir ou manter peso corporal de um paciente obeso. Uma resposta do tratamento pode ser a redução do peso corporal de paciente obeso com relação àquele peso corporal do paciente imediatamente antes da administração dos compostos da presente invenção. Uma outra resposta de tratamento pode ser a prevenção do reganho do peso corporal peso corporal previamente perdido como o resultado de uma dieta, exercício ou farmacoterapia. Uma outra resposta de tratamento pode ser a diminuição da ocorrência de e/ou da gravidade das doenças relacionadas com a obesidade. O tratamento pode resultar adequadamente em uma redução na entrada de alimento ou caloria pelo paciente, incluindo uma redução na entrada de alimento total ou uma redução de entrada de componentes específicos a dieta, tais como carboidratos ou gorduras e/ou a inibição de absorção de nutriente e/ou a inibição da redução da taxa metabólica e na redução de peso em pacientes em necessidade deste. O tratamento também pode resultar em uma alteração da

taxa metabólica, tal como um aumento na taxa metabólica, em vez disso ou além de uma inibição na redução da taxa metabólica e/ou na minimização da resistência metabólica que normalmente resulta da perda de peso.

- "Prevenção" (de obesidade e distúrbios relacionados com a
- 5 obesidade) refere-se à administração dos compostos da presente invenção para reduzir ou manter o peso corporal de um paciente em risco de obesidade. Uma resposta de prevenção pode ser a redução do peso corporal de um paciente em risco de obesidade com relação àquele peso corporal do paciente imediatamente antes da administração dos compostos da presente invenção.
- 10 Uma outra resposta de prevenção pode ser a prevenção do peso corporal reganho de peso corporal previamente perdido como um resultado de uma dieta, exercício ou farmacoterapia. Uma outra resposta de prevenção pode ser prevenir que a obesidade ocorra se o tratamento foi administrado antes do início da obesidade em um paciente em risco de obesidade. Uma outra
- 15 resposta de prevenção pode ser a diminuição da ocorrência e/ou gravidade de distúrbios relacionados com a obesidade se o tratamento for administrado antes do início da obesidade em um paciente em risco de obesidade. Além disso, se o tratamento ou começado em pacientes já obesos, tal tratamento pode evitar a ocorrência, progressão ou gravidade de distúrbios relacionados
- 20 com a obesidade, tais como, mas não limitados a, arteriosclerose, Diabetes do tipo II, doença ovariana policística, doenças cardiovasculares, osteoartrite, distúrbios dermatológicos, hipertensão, resistência à insulina, hipercolesterolemia, hipertrogliceridemia e colelitíase.

- Os distúrbios relacionados com obesidade aqui, são associados
- 25 com, causados por ou resulta de obesidade. Os exemplos de distúrbios relacionados com a obesidade incluem superalimentação e bulimia, hipertensão, diabetes, concentrações de insulina no plasma elevadas e resistência à insulina, dislipidemias, hiperlipidemia, câncer endometrial, mama, próstata e de cólon, osteoartrite, apnéia do sono obstrutiva, colelitíase,

cálculos biliares, doença cardíaca, ritmos e arritmias cardíacas anormais, infarto do miocárdio, insuficiência cardíaca congestiva, doença cardíaca coronária, morte súbita, acidente vascular cerebral, doença ovariana policística, craniofaringioma, síndrome de Prader-Willi, síndrome de Frohlich, pacientes deficientes de GH, estatura curta variante normal, síndrome de Turner e outras condições patológicas que apresentam atividade metabólica reduzida ou uma diminuição no gasto de energia em repouso como uma porcentagem de massa livre gordurosa total, por exemplo, crianças com leucemia linfoblástica aguda. Outros exemplos de distúrbios relacionados com a obesidade são síndrome metabólica, também conhecido como síndrome X, síndrome de resistência à insulina, disfunção sexual e reprodutiva, tal como infertilidade, hipogonadismo em machos e hirsutismo em fêmeas, distúrbios de motilidade gastrointestinal, tais como refluxo gastroesofágico relacionado com a obesidade, distúrbios respiratórios, tais como síndrome de obesidade-hipoventilação (síndrome de Pickwickian), distúrbios cardiovasculares, inflamação, tais como inflamação sistêmica da vasculatura, arteriosclerose, hipercolesterolemia, hiperuricemia, dor lombar, doença da vesícula biliar, gota e câncer renal. Os compostos da presente invenção também são úteis para a redução do risco de respostas secundárias à obesidade, tais como a redução do risco de hipertrofia ventricular esquerda.

O termo "diabete," como usado neste, inclui tanto diabete melito dependente de insulina (IDDM, também conhecido como diabete do tipo I) e diabete melito não dependente de insulina (NIDDM, também conhecido como diabete do tipo II). Diabete do tipo I ou diabete dependente de insulina, é o resultado de uma deficiência absoluta de insulina, o hormônio que regula a utilização da glicose. O diabete do tipo II ou diabete independente de insulina (isto é, diabete melito não dependente de insulina), também ocorre na face de níveis normais ou ainda elevados de insulina e parece ser o resultado da incapacidade dos tecidos responderem

apropriadamente à insulina. A maioria dos diabéticos do tipo II também são obesos. Os compostos da presente invenção são úteis para tratar diabetes tanto do tipo I quanto do tipo II. Os compostos são especialmente eficazes para o tratamento de diabetes do tipo II. Os compostos da presente invenção também são úteis para tratar e/ou evitar diabetes melito gestacional.

Os agonistas do receptor de neuromedina U divulgados neste podem ser usados em uma composição farmacêutica quando combinados com um carreador farmacêuticamente aceitável. Tais composições compreendem uma quantidade terapeuticamente eficaz do agonista do receptor de neuromedina U e um carreador farmacêuticamente aceitável. Uma tal composição também pode ser compreendida de (além do agonista do receptor de neuromedina U e um carreador) diluentes, enchedores, sais, tampões, estabilizadores, solubilizadores e outros materiais bem conhecidos na técnica. As composições que compreendem os agonistas do receptor de neuromedina U podem ser administrados, se desejado, na forma de sais contanto que os sais sejam farmacêuticamente aceitáveis. Os sais podem ser preparados usando-se os procedimentos padrão conhecidos por aqueles habilitados na técnica de química orgânica sintética.

O termo "indivíduo" é entendido incluir seres humanos e animais de companhia e domesticados, tais como cães, gatos, cavalos e outros. Portanto, as composições que compreendem a fórmula I também são úteis para tratar ou prevenir obesidade e distúrbios relacionados com a obesidade em cães e gatos. Como tal, o termo "mamífero" inclui animais de companhia, tais como cães e gatos.

O termo "sais farmacêuticamente aceitáveis" refere-se a sais preparados a partir de bases e ácidos não tóxicos farmacêuticamente aceitáveis incluindo as bases orgânicas ou inorgânicas e ácidos inorgânicos ou orgânicos. Os sais derivados de bases inorgânicos incluem sais de alumínio, amônio, cálcio, cobre, férrico, ferroso, lítio, magnésio, mangânicos,

manganosos, potássio, sódio, zinco e outros. Particularmente preferidos são os sais de amônio, cálcio, magnésio, potássio e sódio. Os sais derivados de bases não tóxicas orgânicas farmaceuticamente aceitáveis incluem sais de amins primárias secundárias e terciárias, amins substituídas incluindo amins substituídas de ocorrência natural, amins cíclicas e resinas trocadoras básicas, tais como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenziletilenodiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilenodiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina e outros. O termo "sal farmaceuticamente aceitável" ainda inclui todos os sais farmaceuticamente aceitáveis, tais como acetato, lactobionato, benzenossulfonato, laurato, benzoato, malato, bicarbonato, maleato, bissulfato, mandelato, bitartarato, mesilato, borato, brometo de metila, brometo, nitrato de metila, edetato de cálcio, sulfato de metila, camsilato, mucato, carbonato, napsilato, cloreto, nitrato, clavulanato, N-metilglucamina, citrato, sal de amônio, dicloridreto, oleato, edetato, oxalato, edisilato, pamoato (embonato), estolato, palmitato, esilato, pantotenato, fumarato, fosfato/difosfato, gluceptato, poligalacturonato, gluconato, salicilato, glutamato, estearato, glicolilarsanilato, sulfato, hexilresorcinato, subacetato, hidrabamina, succinato, bromidreto, tanato, cloridreto, tartarato, hidroxinaftoato, teoclato, iodeto, tosilato, isotionato, trietiodeto, lactato, panoato, valerato e outros que podem ser usados como uma forma de dosagem para modificar as características de solubilidade ou hidrólise ou podem ser usados nas formulações de liberação ou de pró-medimento. Será entendido que, como usado neste, as referências aos agonistas do receptor de neuromedina U da fórmula geral (I) também são entendidos incluir os sais farmaceuticamente

aceitáveis.

Como utilizados neste, o termo "farmaceuticamente aceitável" significa um material não tóxico que não interfere com a eficácia da atividade biológica dos ingredientes ativos, aprovados pela agência reguladora do governo federal ou de um estado ou listado na U.S. Pharmacopoeia ou, no geral, outra farmacopéia utilizada para o uso em animais e, mais particularmente em seres humanos. O termo "carreador" refere-se a um diluente, adjuvante, excipiente ou veículo com o qual o terapêutico é administrado e inclui, mas não é limitado a tais líquidos estéreis como água e óleos. As características do carreador dependerão da via de administração. O agonista do receptor de neuromedina U pode estar em multímeros (por exemplo, heterodímeros ou homodímeros) ou complexos por si próprios ou com outros peptídeos. Como um resultado, as composições farmacêuticas da invenção podem compreender um ou mais agonistas do receptor de neuromedina U em tal forma multimérica ou complexada.

Como usado neste, o termo "quantidade terapeuticamente eficaz" significa a quantidade total de cada componente ativo da composição farmacêutica ou método que é suficiente para mostrar um benefício significativo do paciente, isto é, tratamento, cura, prevenção ou melhora da condição médica relativa ou um aumento na taxa de tratamento, cura, prevenção ou melhora de tais condições. Quando aplicado a um ingrediente ativo individual, administrado sozinho, o termo refere-se apenas àquele ingrediente. Quando aplicado a uma combinação, o termo refere-se a quantidades combinadas dos ingredientes ativos que resultam no efeito terapêutico, administrados em combinação, serial ou simultaneamente.

A composição farmacológica pode compreender um ou mais agonistas do receptor de neuromedina U; um ou mais agonistas do receptor de neuromedina U e um ou mais outros agentes para o tratamento de um distúrbio metabólico ou a composição farmacológica que compreende os um

ou mais agonistas do receptor de neuromedina U podem ser usados
concorrentemente com a composição farmacológica que compreende um
agente para o tratamento de um distúrbio metabólico. Tais distúrbios incluem,
mas não são limitados a, obesidade, síndrome metabólica ou síndrome X,
5 diabetes do tipo II, complicações da diabetes, hipertensão, dislipidemias,
doenças cardiovasculares, cálculos biliares, osteoartrite e certas formas de
câncer.

Quando a composição farmacológica compreende um outro
agente para o tratamento de um distúrbio metabólico ou o tratamento inclui
10 uma segunda composição farmacológica que compreende um agente para o
tratamento de um distúrbio metabólico, o agente inclui, mas não são limitados
a, antagonistas receptores de canabinóide (CB1), agonistas do receptor de
(GU-1) peptídeo 1 semelhante ao glucagon, inibidores de lipase, leptina,
tetraidrolipstatina, 2-4-dinitrofenol, acarbose, sibutramina, fentamina,
15 bloqueadores de absorção graxos, simvastatina, mevastatina, ezetimiba,
atorvastatin, sitagliptin, metformin, orlistat, Qnexa, topiramato, naltrexona,
bupriopiona, fentermina, losartan, losartan com hidroclorotiazida e outros.

Os agentes adequados de uso em combinação com um
composto da presente invenção, incluem, mas não são limitados
20 a:

(a) agentes anti-diabéticos tais como (1) agonistas PPAR- γ tais
como glitazonas (por exemplo, ciglitazona; darglitazona; englitazona;
isaglitazona (MCC-555); pioglitazona (ACTOS); rosiglitazona (AVANDIA);
troglitazona; rivoglitazona, BRL49653; CLX-0921; 5-BTSD, GW-0207, LG-
25 100641, R483 e LY-300512 e outros e compostos divulgados em WO
97/10813, 97/27857, 97/28115, 97/28137, 97/27847, 03/000685, e 03/027112
e SPPARMS (moduladores de PPAR gama seletivos) tais como T131
(Amgen), FK614 (Fujisawa), netoglitazona e metaglidasen; (2) biguanidas
tais como buformin; metformin e fenformin e outros; (3) inibidores de

proteína tirosina fosfatase-1B (PTP-1B), tais como ISIS 113715, A-401674, A-364504, IDD-3, IDD 2846, KP-40046, KR61639, MC52445, MC52453, C7, OC-060062, OC-86839, OC29796, TTP-277BC1 e aqueles agentes divulgados em WO 04/041799, 04/050646, 02/26707, 02/26743, 04/092146, 5 03/048140, 04/089918, 03/002569, 04/065387, 04/127570 e US 2004/167183; (4) sulfoniluréias, tais como acetoxamida; clorpropamida; diabinese; glibenclamida; glipizida; gliburida; glimepirida; gliclazida; glipentida; gliquidona; glisolamida; tolazamida e tolbutamida e outros; (5) meglitinida, tais como repaglinida, metiglinida (GLUFAST) e nateglinida e 10 outros; (6) inibidores da alfa glucosida hidrolase, tais como acarbose; adiposina; camiglibose; emiglitato; miglitol; voglibose; pradimicin-Q; salbostatina; CKD-711; MDL-25,637; MDL-73,945 e MOR 14 e outros; (7) inibidores de alfa-amilase, tais como tendamistat, trestatin, e A1-3688 e outros; (8) secretagogos de insulina, tais como linoglririda, nateglinida, 15 mitiglinida (GLUFAST), D1101 A-4166 e outros; (9) inibidores da oxidação de ácido graxo, tais como clornoxir e etomoxir e outros; (10) antagonistas de A2, tais como midaglizol; isaglidol; deriglidol; idazoxan; earoxan e fluparoxan e outros; (11) insulina ou miméticos de insulina, tais como biota, LP-100, novarapid, insulina detemir, insulina lispro, insulina glargina, 20 suspensão de zinco de insulina (lente e ultralente); Lys-Pro insulina, GLP-1 (17-36), GLP-1 (73-7) (insulintropina); GLP-1 (7-36)-NH₂) exenatida/Exendin-4, Exenatida LAR, Linaglutida, AVE0010, CJC 1131, BIM51077, CS 872, THO318, BAY-694326, GPO10, ALBUGON (GLP-1 fundido à albumina), HGX-007 (agonista Epac), S-23521, e compostos 25 divulgados em WO 04/022004, WO 04/37859 e outros; (12) não-tiazolidinodionas, tais como JT-501 e farglitazar (GW-2570/GI-262579) e outros; (13) agonistas duplos PPAR α/γ tais como AVE 0847, CLX-0940, GW-1536, GW1929, GW-2433, KRP-297, L-796449, LBM 642, LR-90, LY510919, MK-0767, ONO 5129, SB 219994, TAK-559, TAK-654, 677954

(GlaxoSmithkline), E-3030 (Eisai), LY510929 (Lilly), AK109 (Asahi), DRF2655 (Dr. Reddy), DRF8351 (Dr. Reddy), MC3002 (Maxocore), TY51501 (ToaEiyo), naveglitazar, muraglitazar, peliglitazar, tesaglitazar (GALIDA), reglitazar (JTT-501), chiglitazar e aqueles divulgados em WO 99/16758, WO 99/19313, WO 99/20614, WO 99/38850, WO 00/23415, WO 00/23417, WO 00/23445, WO 00/50414, WO 01/00579, WO 01/79150, WO 02/062799, WO 03/033481, WO 03/033450, WO 03/033453 e (14) outros medicamentos sensibilizadores de insulina; (15) agonistas do receptor de VPAC2; (16) moduladores de GLK, tais como PSN105, RO 281675, RO 274375 e aqueles divulgados no WO 03/015774, WO 03/000262, WO 03/055482, WO 04/046139, WO 04/045614, WO 04/063179, WO 04/063194, WO 04/050645 e outros; (17) moduladores de retinóide tais como aqueles divulgados no WO 03/000249; (18) inibidores de GSK 3beta/GSK 3 tais como 4-[2-(2-bromofenil)-4-(4-fluorofenil-1H-imidazol-5-il)]piridina, CT21022, CT20026, CT-98023, SB-216763, SB410111, SB-675236, CP-70949, XD4241 e aqueles compostos divulgados em WO 03/037869, 03/03877, 03/037891, 03/024447, 05/000192, 05/019218 e outros; (19) inibidores de glicogeno fosforilase (HGLPa), tais como AVE 5688, PSN 357, GPi-879, aqueles divulgados em WO 03/037864, WO 03/091213, WO 04/092158, WO 05/013975, WO 05/013981, US 2004/0220229 e JP 2004-196702 e outros; (20) promotores do consumo de ATP, tais como aqueles divulgados em WO 03/007990; (21) combinações fixadas de antagonistas de PPAR γ e metformina, tais como AVANDAMET; (22) agonistas de PPAR pan tais como GSK 677954; (23) GPR40 (receptor ligado à proteína G 40) também denominado SNORF 55, tal como BG 700 e aqueles divulgados em WO 04/041266, 04/022551, 03/099793; (24) GPR119 (também denominado RUP3; SNORF 25) tal como RUP3, HGPRBMY26, PFI 007, SNORF 25; (25) antagonistas do receptor de adenosina 2B, tais como ATL-618, AT1-802, E3080 e outros; (26) inibidores de carnitina palmitoil transferase, tais como

ST 1327 e ST 1326 e outros; (27) inibidores de frutose 1,6-bisfosfatase, tais como CS-917, MB7803 e outros; (28) antagonistas de glucagon, tais como AT77077, BAY 694326, GW 4123X, NN2501 e aqueles divulgados em WO 03/064404, WO 05/00781, US 2004/0209928, US 2004/029943 e outros; (30) inibidores de glicose-6-fosfase; (31) inibidores de fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK); (32) ativadores da piruvato desidrogenase quinase (PDK); (33) agonistas de RXR, tais como MC1036, CS00018, JNJ 10166806, e aqueles divulgados em WO 04/089916, US 6759546 e outros; (34) inibidores de SGLT tais como AVE 2268, KGT 1251, T1095/RWJ 394718; (35) BLX-1002;

(b) agentes redutores de lipídeo, tais como (1) sequestrantes de ácido bílico, tais como colestiramina, colesevelem, colestipol, dialquilaminoalquila de um dextrano reticulado; Colestid®; LoCholest® e Questran® e outros; (2) inibidores de HMG-CoA redutase, tais como atorvastatin, itavastatin, pitavastatin, fluvastatin, lovastatin, pravastatin, rivastatin, rosuvastatin, simvastatin, rosuvastatin (ZD-4522) e outros, particularmente simvastatin; (3) inibidores da HMG-CoA sintase; (4) inibidores da absorção de colesterol, tais como FMVP4 (Forbes Medi-Tech), KT6-971 (Kotobuki Pharmaceutical), FM-VA12 (Forbes Medi-Tech), FM-VP-24 (Forbes Medi-Tech), estanol ésteres, beta-sitosterol, esterol glicosidas, tais como tiquesida e azetidinonas tais como ezetimibe e aqueles divulgados em WO 04/005247 e outros; (5) inibidores de acil coenzima A -colesterol acil transferase (ACAT) tais como avasimibe, eflucimibe, pactimibe (KY505), SMP 797 (Sumitomo), SM32504 (Sumitomo) e aqueles divulgados em WO 03/091216 e outros; (6) inibidores de CETP tais como JTT 705 (Japan Tobacco), torcetrapib, CP 532,632, BAY63-2149 (Bayer), SC 591, SC 795 e outros; (7) inibidores de esqualeno sintase; (8) anti-oxidantes, tais como probucol e outros; (9) agonistas de PPARα, tais como beclofibrato, benza-fibrato, ciprofibrato, clofibrato, etofibrato, fenofibrato, gemcabeno e

gemfibrozil, GW 7647, BM 170744 (Kowa), LY518674 (Lilly), GW590735 (GlaxoSmithkline), KRP-101 (Kyorin), DRF10945 (Dr. Reddy), NS-220/R1593 (Nippon Shinyaku/Roche), ST1929 (Sigma Tau) MC3001/MC3004 (MaxoCore Pharmaceuticals, gemcabeno cálcio outros

5 derivados de ácido fibríco, tais como Atromid®, Lopid® e Tricor® e aqueles divulgados em US 6.548.538 e outros; (10) moduladores de receptor de FXR, tais como GW 4064 (GlaxoSmithkline), SR 103912, QRX⁴01, LN-6691 (Lion Bioscience) e aqueles divulgados em WO 02/064125, WO 04/045511 e outros; (11) moduladores do receptor de LXR, tais como GW 3965

10 (GlaxoSmithkline), T9013137 e XTC0179628 (X-Ceptor Therapeutics/Sanyo) e aqueles divulgados em WO 03/031408, WO 03/063796, WO 04/072041 e outros; (12) inibidores da síntese de lipoproteína, tais como niacina; (13) inibidores do sistema renina angiotensina; (14) agonistas parciais de PPAR α , tais como aqueles

15 divulgados em WO 03/024395; (15) inibidores da reabsorção de ácido bílico, tais como BARI 1453, SC435, PHA384640, S8921, AZD7706 e outros e sequestrantes de ácido bílico, tais como colesvelam (WELCHOL/CHOLESTAGEL), (16) os agonistas PPAR γ tais como GW 501516 (Ligand, GSK), GW 590735, GW-0742 (GlaxoSmithkline), T659 (Amgen/Tularik),

20 LY934 (Lilly), NNC610050 (Novo Nordisk) e aqueles divulgados em WO 97/28149, WO 01/79197, WO 02/14291, WO 02/46154, WO 02/46176, WO 02/076957, WO 03/016291, WO 03/033493, WO 03/035603, WO 03/072100, WO 03/097607, WO 04/005253, WO 04/007439 e JP10237049 e outros; (17) inibidores da síntese de triglicerídeo; (18) inibidores do transporte

25 microssômico (MTTP), tais como implitapide, LAB687, JTT130 (Japan Tobacco), CP346086 e aqueles divulgados em WO 03/072532 e outros; (19) moduladores de transcrição; (20) inibidores da esqualeno epoxidase; (21) indutores do receptor de lipoproteína de densidade baixa (LDL); (22) inibidores da agregação de plaquetas; (23) inibidores de 5-LO ou FLAP e (24)

agonistas do receptor de niacina incluindo agonistas do receptor de HM74A; (25) moduladores de PPAR tais como aqueles divulgados em WO 01/25181, WO 01/79150, WO 02/79162, WO 02/081428, WO 03/016265, WO 03/033453; (26) cromo ligado à niacina, como divulgado no WO 03/039535; 5 (27) derivados de ácido substituídos divulgados no WO 03/040114; (28) HDL infuso, tal como LUV/ETC-588 (Pfizer), APO-A1 Milano/ETC216 (Pfizer), ETC-642 (Pfizer), ISIS301012, D4F (Bruin Pharma), ApoA1 trimérico sintético, Bioral Apo A1 alvejado a células de espuma e outros; (29) inibidores de IBAT, tais como BARI143/HMR145A/HMR1453 (Sanofi- 10 Aventis, PHA384640E (Pfizer), S8921 (Shionogi) AZD7806 (AstrZeneca), AK105 (Asah Kasei) e outros; (30) inibidores de Lp-PLA2, tais como SB480848 (GlaxoSmithkline), 659032 (GlaxoSmithkline), 677116 (GlaxoSmithkline) e outros; (31) outros agentes que afetam a composição lípica incluindo ETC1001/ESP31015 (Pfizer), ESP-55016 (Pfizer), AGI1067 15 (AtheroGenics), AC3056 (Amylin), AZD4619 (AstrZeneca) e

(c) agentes anti-hipertensivos, tais como (1) diuréticos, tais como tiazidas, incluindo clortalidona, clortiazida, diclorofenamida, hidroflumetiazida, indapamida e hidroclorotiazida; diuréticos de arco, tais como bumetanida, ácido etacrínico, furosemida e torsemida; agentes esparsos 20 de potássio, tais como amilorida e triamtereno e antagonistas de aldosterona, tais como espironolactona, epirenona e outros; (2) bloqueadores beta-adrenérgicos, tais como acebutolol, atenolol, betaxolol, bevantolol, bisoprolol, bopindolol, carteolol, carvedilol, celiprolol, esmolol, indenolol, metaprolol, nadolol, nebivolol, penbutolol, pindolol, propanolol, sotalol, tertatolol, 25 tilisolol e timolol e outros; (3) bloqueadores do canal de cálcio, tais como amlodipina, aranidipina, azelnidipina, barnidipina, benidipina, bepridil, cinaldipina, clevidipina, diltiazem, efonidipina, felodipina, gallopamil, isradipina, lacidipina, lemildipina, lercanidipina, nicardipina, nifedipina, nilvadipina, nimodepina, nisoldipina, nitrendipina, manidipina, pranidipina e

verapamila e outros; (4) inibidores de enzimas convertedoras de angiotensina (ACE), tais como benazeprila; captoprila; cilazaprila; delaprila; enalaprila; fosinoprila; imidaprila; losinoprila; moexiprila; quinaprila; quinaprilat; ramiprila; perindoprila; perindroprila; quaniprila; spiraprila; tenocaprila; 5 trandolaprila e zofenoprila e outros; (5) inibidores da endopeptidase neutra, tais como omapatrilat, cadoxatril e ecadotril, fosidotril, sampatrilat, AVE7688, ER4030 e outros; (6) antagonistas de endotelina, tais como tezosentan, A308165 e YM62899 e outros; (7) vasodilatadores, tais como hidralazina, clonidina, minoxidila e álcool nicotínico e outros; (8) 10 antagonistas do receptor de angiotensina II, tais como candesartan, eprosartan, irbesartan, losartan, prazosartan, tasosartan, telmisartan, valsartan e EXP-3137, FI6828K e RNH6270 e outros; (9) bloqueadores α/β adrenérgicos como nipradilol, arotinolol e amosulalol e outros; (10) bloqueadores alfa 1, tais como terazosin, urapidil, prazosin, bunazosin, trimazosin, doxazosin, 15 naftopidil, indoramin, WHIP 164 e XEN010 e outros; (11) agonistas alfa 2, tais como lofexidina, tiamenidina, moxonidina, rilmenidine e guanobenz e outros; (12) inibidores de aldosterona e outros; (13) agentes de ligação de angiopoietina-2 tais como aqueles divulgados em WO 03/030833 e

(d) agentes anti-obesidade, tais como (1) inibidores do 20 transportador de 5HT (serotonina), tais como paroxetina, fluoxetina, fenfluramina, fluvoxamina, sertralina e imipramina e aqueles divulgados em WO 03/00663, bem como inibidores da reentrada de serotonina/noradrenalina, tais como sibutramina (MERIDIA/REDUCTIL) e inibidor da entrada de dopamina/inibidores da entrada de norepinefrina, tais 25 como cloridreto de radafaxina, 353162 (GlaxoSmithkline) e outros; (2) inibidores do transportador de NE (norepinefrina), tais como GW 320659, despiramina, talsupram e nomifensina; (3) antagonistas de CB 1 (receptor de canabinóide-1)/agonistas inversos, tais como rimonabant (ACCOMPLIA Sanofi Synthelabo), SR-147778 (Sanofi Synthelabo), AVE1625 (Sanofi-

Aventis), BAY 65-2520 (Bayer), SLV 319 (Solvay), SLV326 (Solvay), CP945598 (Pfizer), E-6776 (Esteve), 01691 (Organix), ORG1448I (Organon), VER24343 (Vernalis), NESS0327 (Univ of Sassari/Univ of Cagliari) e aqueles divulgados em Patentes U.S. N° 4,973,587, 5,013,837, 5,081,122, 5,112,820, 5,292,736, 5,532,237, 5,624,941, 6,028,084 e 6,509,367; e WO 96/33159, WO 97/29079, WO 98/31227, WO 98/33765, WO 98/37061, WO 98/41519, WO 98/43635, WO 98/43636, WO 99/02499, WO 00/10967, WO 00/10968, WO 01/09120, WO 01/58869, WO 01/64632, WO 01/64633, WO 01/64634, WO 01/70700, WO 01/96330, WO 02/076949, WO 03/006007, WO 03/007887, WO 03/020217, WO 03/026647, WO 03/026648, WO 03/027069, WO 03/027076, WO 03/027114, WO 03/037332, WO 03/040107, WO 04/096763, WO 04/111039, WO 04/111033, WO 04/111034, WO 04/111038, WO 04/013120, WO 05/000301, WO 05/016286, WO 05/066126 and EP-658546 e outros; (4) agonistas/antagonistas de grelina, tais como BVT81-97 (BioVitrurn), RC1291 (Rejuvenon), SRD-04677 (Sumitomo), grelina não acilada (TheraTechnologies) e aqueles divulgados em WO 01/87335, WO 02/08250, WO 05/012331 e outros; (5) antagonistas/agonistas inversos de H3 (histamina H3), tais como tioperamida, 3-(1H-imidazol-4-il)propil N-(4-pentenil)carbamato, clobenpropit, iodofenpropit, imoproxifan, GT2394 (Gliatech) e A331440 e aqueles divulgados em WO 02/15905; e O-[3-(1H-imidazol-4-il)propanol]carbamatos (Kiec-Kononowicz, K. et al., Pharmazie, 55: 349-55 (2000)), antagonistas de receptor de histamina H3 contendo piperidina (Lazewska, D. et al., Pharmazie, 56: 927-32 (2001), derivados de benzofenona e compostos relacionados (Sasse, A. et al., Arch. Pharm.(Weinheim) 334: 45-52 (2001)), N-fenilcarbamatos substituídos (Reidemeister, S. et al., Pharmazie, 55: 83-6 (2000)) e derivados de proxifano (Sasse, A. et al., J. Med. Chem.. 43: 3335-43 (2000)) e moduladores do receptor de histamina H3 receptor tais como aqueles divulgados em WO 03/024928 e WO 03/024929; (6) antagonistas do receptor de hormônio 1

concentrador de melanina (MCH1R), tais como T-226296 (Takeda), T71 (Takeda/Amgen), AMGN-608450, AMGN-503796 (Amgen), 856464 (GlaxoSmithkline), A224940 (Abbott), A798 (Abbott), ATC0175/AR224349 (Arena Pharmaceuticals), GW803430 (GlaxoSmithkline), NBI-1A (Neurocrine Biosciences), NGX-1 (Neurogen), SNP-7941 (Synaptic), SNAP9847 (Synaptic), T-226293 (Schering Plough), TPI-1361-17 (Saitama Medical School/University of California Irvine) e aqueles divulgados WO 01/21169, WO 01/82925, WO 01/87834, WO 02/051809, WO 02/06245, WO 02/076929, WO 02/076947, WO 02/04433, WO 02/51809, WO 02/083134, WO 02/094799, WO 03/004027, WO 03/13574, WO 03/15769, WO 03/028641, WO 03/035624, WO 03/033476, WO 03/033480, WO 04/004611, WO 04/004726, WO 04/011438, WO 04/028459, WO 04/034702, WO 04/039764, WO 04/052848, WO 04/087680 e Pedido de Patente Japonês N° JP 13226269, JP 1437059, JP2004315511 e outros; (7) agonistas/antagonistas de MCH2R (hormônio concentrador de melanina 2R); (8) antagonistas de NPY1 (neuropeptídeo Y Y1), tais como BMS205749, B1BP3226, J-115814, BIBO 3304, LY-357897, CP-671906 e GI-264879A e aqueles divulgados na Patente U.S. N° 6.001.836 e WO 96/14307, WO 01/23387, WO 99/51600, WO 01/85690, WO 01/85098, WO 01/85173, e WO 01/89528; (9) antagonistas de NPY5 (neuropeptídeo Y Y5), tais como 152,804, S2367 (Shionogi), E-6999 (Esteve), GW-569180A, GW-594884A (GlaxoSmithkline), GW-587081X, GW-548118X; FR 235,208; FR226928, FR 240662, FR252384; 1229U91, GI-264879A, CGP71683A, C-75 (Fasgen) LY-377897, LY366377, PD-160170, SR-120562A, SR-120819A, S2367 (Shionogi), JCF-104 e H409/22; e aqueles compostos divulgados em Patentes U.S. N° 6,140,354, 6,191,160, 6,258,837, 6,313,298, 6,326,375, 6,329,395, 6,335,345, 6,337,332, 6,329,395 e 6,340,683 e EP-01010691, EP-01044970 e FR252384 e Publicações PCT N°. WO 97/19682, WO 97/20820, WO 97/20821, WO 97/20822, WO 97/20823, WO 98/27063,

WO 00/107409, WO 00/185714, WO 00/185730, WO 00/64880, WO 00/68197, WO 00/69849, WO 01/09120, WO 01/14376, WO 01/85714, WO 01/85730, WO 01/07409, WO 01/02379, WO 01/02379, WO 01/23388, WO 01/23389, WO 01/44201, WO 01/62737, WO 01/62738, WO 01/09120, WO 02/20488, WO 02/22592, WO 02/48152, WO 02/49648, WO 02/051806, WO 02/094789, WO 03/009845, WO 03/014083, WO 03/022849, WO 03/028726, WO 05/014592, WO 05/01493 e Norman et al., J. Med. Chem. 43: 4288-4312 (2000); (10) leptina, tal como leptina humana recombinante (PEG-OB, Hoffman La Roche) e leptina humana de metionila recombinante (Amgen); (11) derivados de leptina, tais como aqueles divulgados nas Patentes Nº 5,552,524; 5,552,523; 5,552,522; 5,521,283; e WO 96/23513; WO 96/23514; WO 96/23515; WO 96/23516; WO 96/23517; WO 96/23518; WO 96/23519; e WO 96/23520; (12) antagonistas de opióides, tais como nalmefeno (Revex®), 3-metoxinaltrexona, naloxona e naltrexona e aqueles divulgados em WO 00/21509; (13) antagonistas de orexina, tal como SB-334867-A (GlaxoSmithkline) e aqueles divulgados em WO 01/96302, 01/68609, 02/44172, 02/51232, 02/51838, 02/089800, 02/090355, 03/023561, 03/032991, 03/037847, 04/004733, 04/026866, 04/041791, 04/085403 e outros; (14) agonistas de BRS3 (receptor de bombesina subtipo 3); (15) agonistas de CCK-A (colecistocinina-A), tais como AR-R 15849, GI 181771, JMV-180, A-71378, A-71623, PD170292, PD 149164, SR146131, SR125180, butabindida e aqueles divulgados em US 5,739,106; (16) CNTF (fatores neurotróficos ciliares), tais como GI-181771 (Glaxo-SmithKline); SR146131 (Sanofi Synthelabo); butabindida e PD170,292, PD 149164 (Pfizer); (17) derivados de CNTF, tais como axokine (Regeneron) e aqueles divulgados em WO 94/09134, WO 98/22128, e WO 99/43813; (18) agonistas de GHS (receptor do secretagogo do hormônio de crescimento), tais como NN703, hexarelina, MX-0677, SM-130686, CP-424,391, L-692,429 e L-163,255 e aqueles divulgados em Patente U. S. Nº. 6358951, Pedido de

patente U. S. N° 2002/049196 e 2002/022637 e WO 01/56592 e WO 02/32888; (19) agonistas de 5HT_{2c} (receptor de serotonina 2c), tais como APD3546/ARIOA (Arena Pharmaceuticals), ATH88651 (Athersys), ATH88740 (Athersys), BVT933 (Biovitrum/GSK), DPCA37215 (BMS),

5 IK264; LY448100 (Lilly), PNU 22394; WAY 470 (Wyeth), WAY629 (Wyeth), WAY161503 (Biovitrum), R-1065, VR1065 (Vernalis/Roche) YM 348 e aqueles divulgados em Patente U.S. N° 3,914,250 e publicações PCT 01/66548, 02/36596, 02/48124, 02/10169, 02/44152; 02/51844, 02/40456, 02/40457, 03/057698, 05/000849 e outros; (20) agonistas Mc_{3r} (receptor de

10 melanocortina 3); (21) agonistas de Mc_{4r} (receptor de melanocortina 4), tais como CHIR86036 (Chiron), CHIR915 (Chiron); ME-10142 (Melacure), ME-10145 (Melacure), HS-131 (Melacure), NBI72432 (Neurocrine Biosciences), NNC 70-619 (Novo Nordisk), TTP2435 (Transtech) e aqueles divulgados em PCT Publications WO 99/64002, 00/74679, 01/991752, 01/0125192,

15 01/52880, 01/74844, 01/70708, 01/70337, 01/91752, 01/010842, 02/059095, 02/059107, 02/059108, 02/059117, 02/062766, 02/069095, 02/12166, 02/11715, 02/12178, 02/15909, 02/38544, 02/068387, 02/068388, 02/067869, 02/081430, 03/06604, 03/007949, 03/009847, 03/009850, 03/013509, 03/031410, 03/094918, 04/028453, 04/048345, 04/050610, 04/075823,

20 04/083208, 04/089951, 05/000339 e EP 1460069 e US 2005049269 e JP2005042839 e outros; (22) inibidores da reentrada de monoamina, tais como sibutramina (Meridia ®/Reductil®) e seus sais e aqueles compostos divulgados em Patentes U.S. N° 4,746,680, 4,806,570 e 5,436,272 e Publicação de Patente U.S. N° 2002/0006964, e WO 01/27068, e WO

25 01/62341; (23) inibidores da reentrada de serotonina, tais como dexfenfluramina, fluoxetina e aqueles em Patentes U.S. N° 6,365,633, e WO 01/27060, e WO 01/162341; (24) agonistas de GLP-1 (peptídeo semelhante ao glucagon 1); (25) Topiramato (Topimax®); (26) composto fitofarma 57 (CP 644,673); (27) inibidores de ACC2 (acetil-CoA carboxilase-2); (28)

agonistas de β_3 (receptor beta adrenérgico 3), tal como rafebergron/AD9677/TAK677 (Dainippon/ Takeda), CL-316,243, SB 418790, BRL-37344, L-796568, BMS-196085, BRL-35135A, CGP12177A, BTA-243, GRC1087 (Glenmark Pharmaceuticals) GW 427353 (cloridreto de solabegron), Trecadrina, Zeneca D7114, N-5984 (Nisshin Kyorin), LY-377604 (Lilly), KT07924 (Kissei), SR 59119A e aqueles divulgados em Patentes U.S. N°. 5,705,515, US 5,451,677; e WO94/18161, WO95/29159, WO97/46556, WO98/04526 WO98/32753, WO 01/74782, WO 02/32897, WO 03/014113, WO 03/016276, WO 03/016307, WO 03/024948, WO 03/024953, WO 03/037881, WO 04/108674 e outros; (29) inibidores de DGAT1 (diacilglicerol aciltransferase 1); (30) inibidores de DGAT2 (diacilglicerol aciltransferase 2); (31) inibidores de FAS (sintase de ácido graxo), tais como Cerulenina e C75; (32) inibidores de PDE (fosfodiesterase), tais como teofilina, pentoxifilina, zaprinast, sildenafil, amrinona, milrinona, cilostamida, rolipram e cilomilast, bem como aqueles descritos em WO 03/037432, WO 03/037899; (33) agonistas β de hormônio de tireóide, tais como KB-2611 (KaroBioBMS) e aqueles divulgados em WO 02/15845 e Pedido de Patente Japonês No. JP 2000256190; (34) ativadores de UCP-1 (proteína não ligadora 1), 2 ou 3, tais como ácido fitânico, ácido 4-[(E)-2-(5,6,7,8-tetrahidro-5,5,8,8-tetrametil-2-naptalenil)-1-propenil]benzóico (TTNPB) e ácido retinóico e aqueles divulgados em WO 99/00123; (35) acil-estrogênios, tais como oleoil-estrona, divulgado em del Mar-Grasa, M. *et al.*, Obesity Research, 9: 202-9 (2001); (36) antagonistas do receptor de glicocorticóide, tais como CP472555 (Pfizer), KB 3305 e aqueles divulgados em WO 04/000869, WO 04/075864 e outros; (37) inibidores de 11β HSD-1 (11-beta hidróxi esteróide desidrogenase tipo 1) tais como BVT 3498 (AMG 331), BVT 2733, 3-(1-adamantil)-4-etil-5-(etiltio)-4H-1,2,4-triazol, 3-(1-adamantil)-5-(3,4,5-trimetoxifenil)-4-metil-4H-1,2,4-triazol, 3-adamantanil-4,5,6,7,8,9,10,11,12,3a-decaidro-1,2,4-triazolo[4,3-a][11]anuleno e aqueles

compostos divulgados em WO 01/90091, 01/90090, 01/90092, 02/072084, 04/011410, 04/033427, 04/041264, 04/027047, 04/056744, 04/065351, 04/089415, 04/037251 e outros; (38) inibidores de SCD-1 (estearoil-CoA desaturase-1); (39) inibidores de dipeptidil peptidase IV (DPP-4), tais como

5 isoleucina tiazolidida, valino pirrolidida, sitagliptin, saxagliptin, NVP-DPP728, LAF237 (vildagliptin), P93/01, TSL 225, TMC-2A/2B/2C, FE 999011, P9310/K364, VIP 0177, SDZ 274-444, GSK 823093, E 3024, SYR 322, TS021, SSR 162369, GRC 8200, K579, NN7201, CR 14023, PHX¹⁰04, PHX¹¹49, PT-630, SK-0403 e os compostos divulgados no WO 02/083128,

10 WO 02/062764, WO 02/14271, WO 03/000180, WO 03/000181, WO 03/000250, WO 03/002530, WO 03/002531, WO 03/002553, WO 03/002593, WO 03/004498, WO 03/004496, WO 03/005766, WO 03/017936, WO 03/024942, WO 03/024965, WO 03/033524, WO 03/055881, WO 03/057144, WO 03/037327, WO 04/041795, WO 04/071454, WO 04/0214870, WO

15 04/041273, WO 04/041820, WO 04/050658, WO 04/046106, WO 04/067509, WO 04/048532, WO 04/099185, WO 04/108730, WO 05/009956, WO 04/09806, WO 05/023762, US 2005/043292 e EP 1 258 476; (40) inibidores de lipase, tais como tetraidrolipstatina (orlistat/XENICAL), ATL962 (Alizyme/Takeda), GT389255 (Genzyme/Peptimmune) Triton WR1339,

20 RHC80267, lipstatin, teasaponin e dietilumbeliferil fosfato, FL-386, WAY-121898, Bay-N-3176, valilactona, esteracina, ebelactona A, ebelactona B e RHC 80267 e aqueles divulgados em WO 01/77094, WO 04/111004 e Patentes U.S. Nº 4,598,089, 4,452,813, 5,512,565, 5,391,571, 5,602,151, 4,405,644, 4,189,438 e 4,242,453 e outros; (41) inibidores do transportador de

25 ácido graxo; (42) inibidores do transportador de dicarboxilato; (43) inibidores do transportador de glicose e (44) inibidores do transportador de glicose; (45) compostos bicíclicos anoréticos tais como 1426 (Aventis) e 1954 (Aventis) e os compostos divulgados em WO 00/18749, WO 01/32638, WO 01/62746, WO 01/62747 e WO 03/015769; (46) agonistas de peptídeo YY e PYY tais

como PYY336 (Nastech/Merck), AC162352 (IC Innovations/Curis/Amylin), TM30335/TM30338 (7TM Pharma), PYY336 (Emisphere Technologies), peptídeos PEGuilados YY3-36, aqueles divulgados em WO 03/026591, 04/089279 e outros; (47) moduladores do metabolismo de lipídeo, tais como

5 ácido maslínico, eritrodiol, uvaol de ácido ursólico, ácido betulínico, betulina e outros e compostos divulgados em WO 03/011267; (48) moduladores do fator de transcrição tais como aqueles divulgados em WO 03/026576; (49) moduladores de McSr (receptor de melanocortina 5), tais como aqueles divulgados em WO 97/19952, WO 00/15826, WO 00/15790, US

10 20030092041 e outros; (50) fator neurotrópico derivado do cérebro (BDNF), (51) Mclr (moduladores do receptor 1 de melanocortina, tais como LK-184 (Proctor & Gamble) e outros; (52) antagonistas de 5HT6 tais como BVT74316 (BioVitrum), BVT5182c (BioVitrum), E-6795 (Esteve), E-6814 (Esteve), SB399885 (GlaxoSmithkline), SB271046 (GlaxoSmithkline), RO-

15 046790 (Roche) e outros; (53) proteína do transporte de ácido graxo 4 (FATP4); (54) inibidores de acetil-CoA carboxilase (ACC), tais como CP640186, CP610431, CP640188 (Pfizer); (55) fragmentos do hormônio de crescimento de terminal C, tais como AOD9604 (Monash Univ/Metabolic Pharmaceuticals) e outros; (56) oxintomodulina; (57) antagonistas do receptor

20 de neuropeptídeo FF tais como aqueles divulgados em WO 04/083218 e outros; (58) agonistas de amilina, tais como Symlin/pramlintida/AC137 (Amylin); (59) extratos de Hoodia e tricomaulon; (60) BVT74713 e outros supressores de apetite de lipídeo de intestino; (61) agonistas de dopamina tais como bupropion (WELLBUTRIN/GlaxoSmithkline); (62) zonisamida

25 (ZONEGRAN/Dainippon/Elan) e outros.

Os compostos específicos que podem ser usados em combinação com os agonistas de receptor de neuromedina U incluem antagonistas/agonistas inversos de CBI específicos incluem aqueles descritos em WO03/077847, N-[3-(4-clorofenil)-2(S)-fenil-1(S)-metilpropil]-2-(4-

trifluorometil-2-pirimidilóxi)-2-metilpropanamida, N-[3-(4-clorofenil)-2-(3-cianofenil)-1-metilpropil]-2-(5-trifluorometil-2-piridilóxi)-2-metilpropanamida, N-[3-(4-clorofenil)-2-(5-cloro-3-piridil)-1-metilpropil]-2-(5-trifluorometil-2-piridilóxi)-2-metilpropanamida e seus sais

5 farmaceuticamente aceitáveis; bem como aqueles em WO 05/000809, que inclui o seguinte: 3-{1-[bis(4-clorofenil)metil]azetidin-3-ilideno}-3-(3,5-difluorofenil)-2,2-dimetilpropanenitrila, 1-{1-[1-(4-clorofenil)pentil]azetidin-3-il}-1-(3,5-difluorofenil)-2-metilpropan-2-ol, 3-((S)-(4-clorofenil){3-[(1S)-1-(3,5-difluorofenil)-2-hidróxi-2-metilpropil]azetidin-1-il}metil)benzonitrila,

10 3-((S)-(4-clorofenil){3-[(1S)-1-(3,5-difluorofenil)-2-fluoro-2-metilpropil]-azetidin-1-il}metil)benzonitrila, 3-((4-clorofenil){3-[1-(3,5-difluorofenil)-2,2-dimetilpropil]azetidin-1-il}metil)benzonitrila, 3-((1S)-1-{1-[(S)-(3-cianofenil)(4-cianofenil)metil]azetidin-3-il}-2-fluoro-2-metilpropil)-5-fluorobenzonitrila, 3-[(S)-(4-clorofenil)(3-((1S)-2-fluoro-1-[3-fluoro-5-(4H-

15 1,2,4-triazol-4-il)fenil]-2-metilpropil}azetidin-1-il)metil]benzonitrila e 5-((4-clorofenil){3-[(1S)-1-(3,5-difluorofenil)-2-fluoro-2-metilpropil]azetidin-1-il}metil)tiofeno-3-carbonitrila e seus sais farmaceuticamente aceitáveis; bem como: 3-[(S)-(4-clorofenil)(3-((1S)-2-fluoro-1-[3-fluoro-5-(5-oxo-4,5-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil]-2-metilpropil}azetidin-1-il)metil]benzonitrila, 3-

20 [(5')-(4-clorofenil)(3-((1S)-2-fluoro-1-[3-fluoro-5-(1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil]-2-metilpropil}azetidin-1-il)metil]benzonitrila, 3-[(S)-(3-((1S)-1-[3-(5-amino-1,3,4-oxadiazol-2-il)-5-fluorofenil]-2-fluoro-2-metilpropil}azetidin-1-il)(4-clorofenil)metil]benzonitrila, 3-[(S)-(4-cianofenil)(3-((1S)-2-fluoro-1-[3-fluoro-5-(5-oxo-4,5-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil]-2-

25 metilpropil}azetidin-1-il)metil]benzonitrila, 3-[(S)-(3-((1S)-1-[3-(5-amino-1,3,4-oxadiazol-2-il)-5-fluorofenil]-2-fluoro-2-metilpropil)azetidin-1-il)(4-cianofenil)metil]benzonitrila, 3-((S)-(4-cianofenil)(3-((1S)-2-fluoro-1-[3-fluoro-5-(1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil]-2-metilpropil}azetidin-1-il)metil]benzonitrila, 3-[(S)-(4-clorofenil)(3-((1S)-2-fluoro-1-[3-fluoro-5-

(1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]-2-metilpropil}azetidin-1-il)metil]benzonitrila, 3-(1S)-1-(1-((S)-(4-cianofenil)[3-(1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]-metil}azetidin-3-il)-2-fluoro-2-metilpropil]-5-fluorobenzonitrila, 5-(3-{1-[1-(difenilmetil)azetidin-3-il]-2-fluoro-2-metilpropil}-5-fluorofenil)-1H-tetrazol, 5-(3-{1-[1-(difenilmetil)azetidin-3-il]-2-fluoro-2-metilpropil}-5-fluorofenil)-1-metil-1H-tetrazol, 5-(3-{1-[1-(difenilmetil)azetidin-3-il]-2-fluoro-2-metilpropil}-5-fluorofenil)-2-metil-2H-tetrazol, 3-[(4-clorofenil)(3-{2-fluoro-1-[3-fluoro-5-(2-metil-2H-tetrazol-5-il)fenil]-2-metilpropil}azetidin-1-il)metil]benzonitrila, 3-[(4-clorofenil)(3-{2-fluoro-1-[3-fluoro-5-(1-metil-1H-tetrazol-5-il)fenil]-2-metilpropil}azetidin-1-il)metil]benzonitrila, 3-[(4-cianofenil)(3-{2-fluoro-1-[3-fluoro-5-(1-metil-1H-tetrazol-5-il)fenil]-2-metilpropil}azetidin-1-il)metil]benzonitrila, 3-[(4-cianofenil)(3-{2-fluoro-1-[3-fluoro-5-(2-metil-2H-tetrazol-5-il)fenil]-2-metilpropil}azetidin-1-il)metil]benzonitrila, 5-{3-[(S)-{3-[(1S)-1-(3-bromo-5-fluorofenil)-2-fluoro-2-metilpropil]azetidin-1-il}(4-clorofenil)metilfenil}-1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ona, 3-[(1S)-1-(1-((S)-(4-clorofenil)[3-(5-oxo-4,5-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil]metil}azetidin-3-il)-2-fluoro-2-metilpropil]-5-fluorobenzonitrila, 3-[(1S)-1-(1-((S)-(4-cianofenil)[3-(5-oxo-4,5-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil]metil}azetidin-3-il)-2-fluoro-2-metilpropil]-5-fluorobenzonitrila, 3-[(1S)-1-(1-((S)-(4-cianofenil)[3-(1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil]metil}azetidin-3-il)-2-fluoro-2-metilpropil]-5-fluorobenzonitrila, 3-[(1S)-1-(1-((S)-(4-clorofenil)[3-(1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil]metil}azetidin-3-il)-2-fluoro-2-metilpropil]-5-fluorobenzonitrila, 3-((1S)-1-{1-[(S)-[3-(5-amino-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil](4-clorofenil)metil]azetidin-3-il}-2-fluoro-2-metilpropil)-5-fluorobenzonitrila, 3-((1S)-1-{1-[(S)-[3-(5-amino-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenil](4-cianofenil)metil]azetidin-3-il}-2-fluoro-2-metilpropil)-5-fluorobenzonitrila, 3-[(1S)-1-(1-((S)-(4-cianofenil)[3-(1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]metil}azetidin-3-il)-2-fluoro-2-metilpropil]-5-fluorobenzonitrila, 3-[(1S)-1-(1-((S)-(4-clorofenil)[3-(1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]metil}azetidin-3-

il)-2-fluoro-2-metilpropil]-5-fluorobenzonitrila, 5-[3-((S)-(4-clorofenil){3-
 [(1S)-1-(3,5-difluorofenil)-2-fluoro-2-metilpropil]azetidin-1-il}metil)fenil]-
 1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ona, 5-[3-((S)-(4-clorofenil){3-[(1S)-1-(3,5-
 difluorofenil)-2-fluoro-2-metilpropil]azetidin-1-il}metil)fenil]-1,3,4-
 5 oxadiazol-2(3H)-ona, 4-{(S)-{3-[(1S)-1-(3,5-difluorofenil)-2-fluoro-2-
 metilpropil]azetidin-1-il}{3-(5-oxo-4,5-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-
 il)fenil]metil}-benzonitrila, ACOMPLIA (rimonabant, N-(1-piperidinil)-5-(4-
 clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metilpirazol-3-carboxamida, SR141716A),
 3-(4-clorofenil-N'-(4clorofenil)sulfonil-N-metil-4-fenil-4,5-diidro-1H-pirazol-
 10 1-carboxamida (SLV-319), taranabant, N-[(1S, 2S)-3-(4-Clorofenil)-2-(3-
 cianofenil)-1-metilpropil]-2-metil-2-[[5-(trifluorometil)-2-
 piridinil]óxi]propanamida e seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

Os antagonistas de NPY5 específicos que podem ser usados
 em combinação com os agonistas do receptor de neuromedina U incluem: 3-
 15 oxo-N-(5-fenil-2-pirazinil)-espiro[isobenzofuran-1(3H),4'-piperidino]-1'-
 carboxamida, 3-oxo-N-(7-trifluorometilpirido[3,2-b]piridin-2-il)espiro-
 [isobenzofuran-1(3H),4'-piperidino]-1-carboxamida, N-[5-(3-fluorofenil)-2-
 pirimidinil]-3-oxoespiro-[isobenzofuran-1(3N),4'-piperidina]-1'-carboxamida,
 trans-3'-oxo-N-(5-fenil-2-pirimidinil)espiro [ciclohexano-1,1' (3'H)-
 20 isobenzofuran]-4-carboxamida, trans-3'-oxo-N-[1-(3-quinolil)-4-
 imidazolil]espiro[ciclohexano-1,1'(3'H)-isobenzofuran]-4-carboxamida, trans-
 3-oxo-N-(5-fenil-2-pirazinil)espiro[4-azaiso-benzofuran-1(3H),1'-
 cicloexano]-4'-carboxamida, trans-N-{5-(3-fluorofenil)-2-pirimidinil}-3-
 oxospiro[5-azaisobenzofuran-1(3H),1'-cicloexano]-4'-carboxamida, trans-N-
 25 [5-(2-fluorofenil)-2-pirimidinil]-3-oxospiro[5-azaisobenzofuran-1(3H),1'-
 cicloexano]-4'-carboxamida, trans-N-[1-(3,5-difluorofenil)-4-imidazolil]-3-
 oxospiro[7-azaisobenzofuran-1(3H),1'-cicloexano]-4'-carboxamida, trans-3-
 oxo-N-(1 -fenil-4-pirazolil)espiro[4-azaisobenzofuran-1(3H),1'-cicloexano]-4'-
 carboxamida, trans-N-[1-(2-fluorofenil)-3-pirazolil]-3-oxospiro[6-

azaisobenzofuran-1(3H),1'-cicloexano]-4'-carboxamida, trans-3-oxo-N-(1-fenil-3-pirazolil)espiro[6-azaisobenzofuran-1(3H),1'-cicloexano]-4'-carboxamida, trans-3-oxo-N-(2-fenil-1,2,3-triazol-4-il)espiro[6-azaisobenzofuran-1(3H),1'-cicloexano]-4'-carboxamida e sais farmaceuticamente aceitáveis e éteres destes.

Os inibidores ACC-1/2 específicos que podem ser usados em combinação com os agonistas do receptor de neuromedina U incluem: 1'-[(4,8-dimetoxiquinolin-2-il)carbonil]-6-(1H-tetrazol-5-il)espiro[croman-2,4'-piperidin]-4-ona; (5-{1'-[(4,8-dimetoxiquinolin-2-il)carbonil]-4-oxospiro[croman-2,4'-piperidin]-6-il}-2H-tetrazol-2-il)metil pivalato; ácido 5-{1'-[(8-ciclopropil-4-metoxiquinolin-2-il)carbonil]-4-oxospiro[croman-2,4'-piperidin]-6-il}nicotínico; 1'-(8-metóxi-4-morfolin-4-il-2-naftoil)-6-(1H-tetrazol-5-il)espiro[croman-2,4'-piperidin]-4-ona e 1'-[(4-etóxi-8-etilquinolin-2-il)carbonil]-6-(1H-tetrazol-5-il)espiro[croman-2,4'-piperidin]-4-ona e sais farmaceuticamente aceitáveis e éteres destes. MK-3887, L-001738791.

Os compostos antagonistas de MCH1R específicos que podem ser usados em combinação com os agonistas do receptor de neuromedina U incluem: 1-{4-[(1-etilazetidin-3-il)óxi]fenil}-4-[(4-fluorobenzil)óxi]piridin-2(1H)-ona, 4-[(4-fluorobenzil)óxi]-1-{4-[(1-isopropilazetidin-3-il)óxi]fenil}piridin-2(1H)-ona, 1-[4-(azetidin-3-ilóxi)fenil]-4-[(5-cloropiridin-2-il)metóxi]piridin-2(1H)-ona, 4-[(5-cloropiridin-2-il)metóxi]-1-{4-[(1-etilazetidin-3-il)óxi]fenil}piridin-2(1H)-ona, 4-[(5-cloropiridin-2-il)metóxi]-1-{4-[(1-propilazetidin-3-il)óxi]fenil}piridin-2(1H)-ona e 4-[(5-cloropiridin-2-il)metóxi]-1-(4-{[(2S)-1-etilazetidin-2-il]metóxi}fenil)piridin-2(1R)-ona ou um sal farmaceuticamente aceitável deste.

Um inibidor de DP-IV específico que pode ser usado em combinação com os agonistas do receptor de neuromedina U é 7-[(3R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(trifluorometil)-5,6,7,8-tetrahidro-1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazina ou um sal farmaceuticamente aceitável destes.

Os antagonistas/agonistas inversos de H3 específicos (histamina H3) que podem ser usados em combinação com os agonistas do receptor de neuromedina U incluem: aqueles descritos no WO05/077905, incluindo:

3-{4-[(1-ciclobutil-4-piperidinil)óxi]fenil}-2-etilpirido[2,3-d]-
 5 pirimidin-4(3H)-ona, 3-{4-[(1-ciclobutil-4-piperidinil)óxi]fenil}-2-
 metilpirido[4,3-d]pirimidin-4(3H)-ona, 2-etil-3-(4-{3-[(3 S)-3-metilpiperidin-
 1-il]propóxi}fenil)pirido[2,3-d]pirimidin-4(3H)-ona, 2-metil-3-(4-{3-[(3S)-3-
 metilpiperidin-1-il]propóxi}-fenil)pirido[4,3-d]pirimidin-4(3H)-ona, 3-{4-[(1-
 10 ciclobutil-4-piperidinil)óxi]fenil}-2,5-dirmetil-4(3H)-quinazolinona, 3-{4-[(1-
 ciclobutil-4-piperidinil)óxi]fenil}-2-metil-5-trifluorometil-4(3H)-
 quinazolinona, 3-{4-[(1-ciclobutil-4-piperidinil)óxi]fenil}-5-metóxi-2-metil-
 4(3H)-quinazolinona, 3-{4-[(1-ciclobutilpiperidin-4-il)óxi]fenil}-5-fluoro-2-
 metil-4(3H)-quinazolinona, 3-{4-[(1-ciclobutilpiperidin-4-il)óxi]fenil}-7-
 fluoro-2-metil-4(3H)-quinazolinona, 3-{4-[(1-ciclobutil-piperidin-4-
 15 il)óxi]fenil}-6-metóxi-2-metil-4(3H)-quinazolinona, 3-{4-[(1-
 ciclobutilpiperidin-4-il)óxi]fenil}-6-fluoro-2-metil-4(3H)-quinazolinona, 3-
 {4-[(1-ciclobutilpiperidin-4-il)óxi]fenil}-8-fluoro-2-metil-4(3H)-
 quinazolinona, 3-{4-[(1-ciclopentil-4-piperidinil)óxi]fenil}-2-metilpirido[4,3-
 d]pirimidin-4(3H)-ona, 3-{4-[(1-ciclobutilpiperidin-4-il)óxi]fenil}-6-fluoro-2-
 20 metilpirido[3,4-d]pirimidin-4(3H)-ona, 3-{4-[(1-ciclobutil-4-
 piperidinil)óxi]fenil}-2-etilpirido[4,3-d]pirimidin-4(3H)-ona, 6-metóxi-2-
 metil-3-{4-[3-(1-piperidinil)propóxi]fenil}pirido[3,4-d]pirimidin-4(3H)-ona,
 6-metóxi-2-metil-3-{4-[3-(1-pirrolidinil)propoxi]fenil}pirido[3,4-d]pirimidin-
 4(3H)-ona, 2,5-dirmetil-3-{4-[3-(1-pirrolidinil)propóxi]fenil}-4(3H)-
 25 quinazolinona, 2-metil-3-{4-[3-(1-pirrolidinil)propóxi]fenil}-5-trifluorometil-
 4(3H)-quinazolinona, 5-fluoro-2-metil-3-{4-[3-(1-piperidinil)propóxi]fenil}-
 4(3H)-quinazolinona, 6-metóxi-2-metil-3-{4-[3-(1-piperidinil)propóxi]fenil}-
 4(3H)-quinazolinona, 5-metóxi-2-metil-3-(4-{3-[(3S)-3-metilpiperidin-1-
 il]propóxi}fenil)-4(3H)-quinazolinona, 7-metóxi-2-metil-3-(4-{3-[(3S)-3-

metilpiperidin-1-il]propóxi} fenil)-4(3H)-quinazolinona, 2-metil-3-(4-{3-
 [(3S)-3-metilpiperidin-1-il]propóxi} fenil)pirido[2,3-d]pirimidin-4(3H)-ona, 5-
 fluoro-2-metil-3-(4-{3-[(2R)-2-metilpirrolidin-1-il]propóxi} fenil)-4(3H)-
 quinazolinona, 2-metil-3-(4-{3-[(2R)-2-metilpirrolidin-1-
 5 il]propóxi} fenil)pirido[4,3-d]pirimidin-4(3H)-ona, 6-metóxi-2-metil-3-(4-{3-
 [(2R)-2-metilpirrolidin-1-il]propóxi} fenil)-4(3H)-quinazolinona, 6-metóxi-2-
 metil-3-(4-{3-[(2S)-2-metilpirrolidin-1-il]propóxi} fenil)-4(3H)-quinazolinona
 e seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

Os agonistas de CCK1R específicos para o uso em
 10 combinação dos agonistas do receptor de neuromedina U incluem: ácido 3-(4-
 {[1-(3-etoxifenil)-2-(4-metilfenil)-1H-imidazol-4-il]carbonil}-1-piperazinil)-
 1-naftóico; ácido 3-(4-{[1-(3-etoxifenil)-2-(2-fluoro-4-metilfenil)-1H-
 imidazol-4-il]carbonil}-1-piperazinil)-1-naftóico; ácido 3-(4-{[1-(3-
 etoxifenil)-2-(4-fluorofenil)-1H-imidazol-4-il]carbonil}-1-piperazinil)-1-
 15 naftóico; ácido 3-(4-{[1-(3-etoxifenil)-2-(2,4-difluorofenil)-1H-imidazol-4-
 il]carbonil}-1-piperazinil)-1-naftóico e ácido 3-(4-{[1-(2,3-dihidro-1,4-
 benzodioxin-6-il)-2-(4-fluorofenil)-1H-imidazol-4-il]carbonil}-1-piperazinil)-
 1-naftóico e sais farmaceuticamente aceitáveis destes. MK-8406

Os agonistas de MC4R específicos de uso em combinação com
 20 os agonistas do receptor de neuromedina U incluem: 1) (5S)-1'-{[(3R,4R)-1-
 terc-butil-3-(2,3,4-trifluorofenil)piperidin-4-il]carbonil}-3-cloro-2-metil-5-[1-
 metil-1-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)etil]-5H-espiro[furo[3,4-b]piridina-7,4'-
 piperidina]; 2) (5R)-1'-{[(3R,4R)-1-terc-butil-3-(2,3,4-trifluorofenil)-
 piperidin-4-il]carbonil}-3-cloro-2-metil-5-[1-metil-1-(1-metil-1H-1,2,4-
 25 triazol-5-il)etil]-5H-espiro[furo[3,4-b]piridina-7,4'-piperidina]; 3) 2-(1'-
 {[(3S,4R)-1-terc-butil-4-(2,4-difluorofenil)pirrolidin-3-il]carbonil}-3-cloro-2-
 metil-5H-espiro[furo[3,4-b]piridina-7,4'-piperidin]-5-il)-2-
 metilpropanenitrila; 4) 1'-{[(3S,4R)-1-terc-butil-4-(2,4-
 difluorofenil)pirrolidin-3-il]carbonil}-3-cloro-2-metil-5-[1-metil-1-(1-metil-

1H-1,2,4-triazol-5-il)etil]-5H-espiro[furo[3,4-b]piridina-7,4'-piperidina]; 5)
 N-[(3R,4R)-3-({3-cloro-2-metil-5-[1-metil-1-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-
 il)etil]-1'H,5H-espiro[furo-[3,4-b]piridina-7,4'-piperidin]-1'-il}carbonil)-4-
 (2,4-difluorofenil)-ciclopentil]-N-metiltetraidro-2H-piran-4-amina; 6) 2-[3-
 5 cloro-1'-({(1R,2R)-2-(2,4-difluorofenil)-4-[metil(tetrahidro-2H-piran-4-
 il)amino]-ciclopentil}-carbonil)-2-metil-5H-espiro[furo[3,4-b]piridina-7,4'-
 piperidin]-5-il}-2-metil-propano-nitrila e os sais farmaceuticamente aceitáveis
 destes.

Adicionalmente, outros análogos de peptídeos e miméticos do
 10 peptídeo semelhante ao glucagon do hormônio de incretina 1 (GLP-1),
 também podem ser de uso em combinação com os agonistas do receptor de
 neuromedina U.

Os métodos de administrar as composições farmacológicas que
 compreendem os um ou mais agonistas do receptor de neuromedina U a um
 15 indivíduo inclui, mas não são limitados a, vias intradérmicas, intramusculares,
 intraperitoneais, intravenosas, subcutâneas, intranasais, epidurais e orais. As
 composições podem ser administradas por uma via conveniente, por exemplo,
 pela infusão ou injeção de bolo, pela absorção através dos revestimentos
 epiteliais ou mucocutâneos (por exemplo, mucosa oral, mucosa retal e
 20 intestinal e outros), oculares e outros e podem ser administrados juntos com
 outros agentes biologicamente ativos. A administração pode ser sistêmica ou
 local. Além disso, pode ser vantajoso administrar a composição no sistema
 nervoso central por qualquer via adequada, incluindo injeção intraventricular
 e intratecal. A injeção intraventricular pode ser facilitada por um cateter
 25 intraventricular ligado a um reservatório (por exemplo, um reservatório de
 Ommaya). A administração pulmonar também pode ser utilizada pelo uso de
 um inalador ou nebulizador e formulação com um agente de aerossolização.
 Também pode ser desejado administrar os um ou mais agonistas do receptor
 de neuromedina U localmente na área em necessidade de tratamento; isto

pode ser atingido, por exemplo, e não apenas por meio de limitação, infusão local durante cirurgia, aplicação tópica, por injeção, por meio de um catéter, por meio de um supositório ou por meio de um implante.

Vários sistemas de liberação são conhecidos e podem ser
5 usados para a administração dos agonistas do receptor de neuromedina U que incluem, mas não limitam-se a, encapsulação em lipossomas, micropartículas, microcápsulas; minicélulas; polímeros; cápsulas; tabletes e outros. Em uma forma de realização, o agonista do receptor de neuromidina U pode ser liberado em uma vesícula, em particular uma lipossoma. Em uma lipossoma,
10 o agonista do receptor de neuromidina U é combinada, além de outros carreadores farmacologicamente aceitáveis, com agentes anfipáticos tais como lipídeos que existem na forma agregada como micelas, monocamadas insolúveis, cristais líquidos ou camadas lamelares em solução aquosa. Os lipídeos adequados para a formulação lipossômica incluem, sem limitação,
15 monoglicerídeos, diglicerídeos, sulfatidas, lisolecitina, fosfolipídeos, saponina, ácidos bilícos e outros. A preparação de tais formulações lipossômicas está dentro do nível de habilidade na técnica como divulgado, por exemplo, na Patente U.S. Nº 4,837,028 e Patente U.S. Nº 4,737,323. Ainda, em uma outra forma de realização, o agonista do receptor de
20 neuromidina U pode ser liberado em um sistema de liberação controlado que inclui, mas não limita-se à bomba de liberação (ver, por exemplo, Saudek, *et al.*, New Engl. J. Med. 321: 574 (1989) um material polimérico semi-permeável (Ver, por exemplo, Howard, *et al.*, J. Neurosurg. 71: 105 (1989)). Adicionalmente, o sistema de liberação controlada pode ser colocado em
25 proximidade do alvo terapêutico (por exemplo, o cérebro), desta maneira requerindo apenas uma fração da dose sistêmica. Ver, por exemplo, Goodson, em: *Medical Applications of Controlled Release*, 1984. (CRC Press, Boca Raton, Fla.).

As quantidades das composições que compreendem o agonista

do receptor de neuromidina U que serão eficazes no tratamento de um distúrbio ou condição particulares dependerão da natureza do distúrbio ou condição e podem ser determinadas pelas técnicas clínicas padrão por aqueles de habilidade dentro da técnica. Além disso, os ensaios *in vitro* podem ser

5 opcionalmente utilizados para ajudar a identificar as faixas de dose ótimas. A dose precisa a ser utilizada na formulação também dependerá da via de administração e da seriedade total da doença ou distúrbio e deve ser decidido de acordo com o julgamento do médico e com as circunstâncias do paciente. Ultimamente, o médico atendente decidirá a quantidade da composição com a

10 qual tratar cada paciente individual. Inicialmente, o médico atendente administrará doses baixas da composição e observará a resposta do paciente. Doses maiores da composição podem ser administradas até o efeito terapêutico ótimo ser obtido para o paciente e naquele ponto a dosagem ainda não é aumentada. No geral, a faixa de dose diária está dentro da faixa de cerca

15 de 0,001 mg a cerca de 100 mg por kg peso corporal de um mamífero, preferivelmente 0,01 mg a cerca de 50 mg por kg e mais preferivelmente 0,1 a 10 mg por kg em doses simples ou divididas. Por outro lado, pode ser necessário usar dosagens fora destes limites em alguns casos. Entretanto, as faixas de dosagens adequadas para a administração intravenosa das

20 composições que compreende o agonista do receptor de neuromidina U são, no geral, de cerca de 5 a 500 microgramas (μg) do composto ativo por quilograma (Kg) de peso corporal. As faixas de dosagem adequadas para a administração intranasal são, no geral, de cerca de 0,01 pg/kg de peso corporal a 1 mg/kg de peso corporal. As doses eficazes podem ser

25 extrapoladas a partir das curvas de resposta de dose derivadas de sistemas de teste de modelo *in vitro* ou animal. Os supositórios, no geral, contém ingrediente ativo na faixa de 0,5 % a 10 % em peso; as formulações orais preferivelmente contém de 10 % a 95 % de ingrediente ativo. Ultimamente, o médico atendente decidirá a duração apropriada da terapia usando-se

composições que compreendem o agonista do receptor de neuromidina U da presente invenção. A dosagem também variará de acordo com a idade, peso e resposta do paciente individual.

Ainda é fornecido um pacote ou conjunto farmacêuticos, que
5 compreende um ou mais recipientes enchidos com um ou mais dos ingredientes das composições farmacêuticas e agonistas do receptor de neuromedina U. Opcionalmente associados com tais recipientes podem estar uma aviso na forma prescrita por uma agência governamental que regula a fabricação, o uso ou a venda de produtos farmacêuticos e biológicos, cujo
10 aviso reflete a aprovação pela agência de fabricação, uso ou venda para a administração humana.

Os seguintes exemplos são pretendidos promover um entendimento adicional da presente invenção.

EXEMPLO 1

15 Geração de linhas celulares que expressam NMUR1 ou NMUR2 humano ou de roedor

CDNAs de humanos, camundongo ou rato que codificam NMUR1 ou NMUR2 (como descrito em Howard et al. Nature 406: 70 a 74 (2000) foram sub-clonados em pcDNA5 (Invitrogen) e transfectados em
20 células FLP-In CHO e células HEK-293 FLP-In adquirido a partir de Invitrogen (Carlsbad, CA) usando lipofectamina (Invitrogen). O sistema FLP-In permite a integração e expressão de um gene particular de interesse em uma localização genômica específica que utiliza a FLP recombinase da levedura. As células transfectadas foram selecionadas pelo desenvolvimento
25 em meio contendo 200 µg/mL de higromicina (Invitrogen). As populações foram congeladas em números de passagem precoces, e estes estoques foram usados para estudos adicionais. Os clones estáveis que expressam os mRNAs foram identificados funcionalmente pelo FLIPR bem como pelo RT-PCR. Com base no banco de dado genômico público, os receptores NMUR1 de

roedores não parecem ter a metionina tradicional (ATG) como o códon de partida para tradução mas contém um códon de partida substituto (TTG para rato e CTG para camundongo). Duas linhas celulares NMUR1 de roedores diferentes foram desta maneira gerados: um com o códon como predito a partir do banco de base genômico e uma outra linha celular com uma metionina projetado (ATG) como o códon de partida. Adicionalmente, as linhas celulares estáveis que expressam os receptores humanos foram gerados em células HEK-293/aeq17 que expressam estavelmente o gene aequirin sob o promotor CMV. O NMUR2 cDNA humano foi clonado em pCDNA3,1 e NMUR1 humano foi subclonado em pIRES-puro (Clontech, Mountain View, CA), após as células transfectadas foram selecionadas em meio contendo G418 e higromicina (NMUR2) ou puromicina (NMUR1).

EXEMPLO 2

Ensaio funcionais in vitro

O sinal dos receptores de NMU primeiramente através de proteínas $G\alpha_q/11$; portanto ensaios de mobilização de cálcio podem ser utilizados para atividade funcional.

Ensaio FLIPR

As linhas celulares estáveis que expressam receptores NMUR2 humano ou NMUR1 de roedor ou humano foram colocados em uma densidade de 12,000 células por reservatórios durante a noite em placas de parede negra de 384 reservatórios revestidas por poli-lisina. O dia seguinte, o meio foi removido a partir de placas e as células foram subsequenteamente carregadas com Fluo-3 (Molecular Probes), uma matriz sensível ao cálcio, diluído em tampão FLIPR (1X de solução salina tamponada de Hank contendo 20 mM de HEPES, 0,1 % de BSA, 2,5 mM de probenecid (Sigma) e 1,6 mM de TR40). Todos os reagentes são de Invitrogen a não ser de uma outra maneira notada. Os estoques de peptídeos foram recolocados em suspensão no DMSO em uma concentração de estoque de 2 mM e diluído em

tampão FLIPR no dia do experimento em uma solução de estoque de trabalho de 4 μ M.

Após uma incubação de 90 minutos em temperatura ambiente, as placas celulares foram carregadas em um FLIPR (Molecular Devices) para monitorar a fluorescência celular (excitação = 488 nM; emissão = 540 nM) antes e após a adição de composto/peptídeo. A resposta de dose de oito a doze pontos foram testados em linhas celulares NMUR que expressam o uso de FLIPR com 1 μ M de peptídeo como a dose mais alta. A resposta após a adição de peptídeo foi tomada como as unidades de fluorescência máximas menos a fluorescência imediata antes da estimulação para cada reservatório. Os valores EC_{50} foram calculados usando software GraphPad Prism (San Diego, CA).

As respostas in vitro de agonistas do receptor de neuromedina U (NMU1 a NMU25) no ensaio FLIPR por NMUR1 humano (Tabela 3), camundongo (Tabela 4) e rato (Tabela 5) e NMUR2, os EC_{50} s são relatados nos valores nM. A atividade percentual refere-se à resposta máxima a 1 μ M comparado à resposta hNMU-25 na mesma concentração. NT = não testado. As tabelas mostram que a maioria dos agonistas do receptor de neuromedina U são biespecíficos e ligarão tanto o receptor NMUR1 quanto o NMU2.

Tabela 3

Agonista	NMUR1 humano		NMUR2 humano	
	EC50	% Atividade	EC50	% Atividade
NMU1	81,4	83,7	64,8	85,0
NMU2	5,5	99,0	2,6	97,4
NMU3	5,6	98,9	1,9	100
NMU4	7,2	97,0	2,6	100
NMU5	6,1	98,1	2,5	98,1
NMU6	3,5	96,7	1,5	100
NMU7	79,6	91,4	36,1	91,8
NMU8	10,7	99,1	5,2	100
NMU9	50,6	94,4	91,1	94,3
NMU10	1000	26,6	1000	31,3
NMU11	1000	20,6	1000	37,3
NMU12	58,6	92,9	119,0	89,0

NMU13	4,8	100	>1000	0,0
NMU14	103,9	95,7	>1000	0,0
NMU15	7,7	91,5	4,2	101
NMU16	1000	74,0	1000	75,0
NiVIU17	5,0	100	1,5	99,8
NMU18	68,1	97,1	65,695	101
NMU19	38,9	95,9	11,5	105
NMU20	16,4	100	13,001	100
NMU21	14,5	93,2	24,2	97,9
NMU22	10,2	95,6	6,5	105
NIVIU23	300,2	66,9	1000	71,7
NMU24	1000	34,4	1000	63,9,
NMU25	167,7	83,0	44,1	98,8

Tabela 4

Agonista	NMUR1-ATG de camundongo		NMUR1-CTG de camundongo		NMUR2 de camundongo	
	EC ₅₀	% Atividade	EC ₅₀	% Atividade	EC ₅₀	% Atividade
NMU1	NT		NT		31,0	95,7
NMU2	2,1	100	8,3	100	1,2	100
NMU3	2,9	100	4,7	100	1,0	100
NMU4	3,6	100	11,6	100	1,2	100
NMU5	3,3	100	11,9	100	1,0	100
NMU6	1,0	100	2,0	100	0,7	100
NMU8	6,4	100	15,5	100	1,8	100
NMU9	45,7	95,0	1000	71,7	19,0	100
NMU10	172,6	76,8	1000	69,2	1000	70,5
NMU11	,1000	81,3	600,5	65,0	1000	70,5
NMU12	72,0	98,4	407,2	68,5	19,1	94,1
NMU13	35,8	98,6	141,5	73,6	>1000	0,0
NMU14	584,3	60,8	>1000	24,8	>1000	0,0
NMU15	1,5	100	4,0	100	0,6	100
NMU16	24,1	100	651,2	57,2	137,5	97,4
NMU17	1,2	100	2,9	116,6	0,5	100
NMU18	15,2	100	692,9	57,7	50,2	100
NMU19	7,9	100	22,5	110,8	5,6	100
NMU20	12,7	100	480,4	65,4	14,8	100
NMU21	9,1	100	56,3	90,8	1,6	100
NMU22	6,2	100	43,5	100	6,9	100

NMU23	14,0	100	770,5	50,9	21,3	100
NMU24	1000	81,4	591,3	56,1	1000	82,4
NMU25	10,2	100	60,3	100,0	18,8	100

Tabela 5						
	NMURI-ATG de rato		NMURI-TTG de rato		NMUR2 de rato	
Agonista	EC ₅₀	% Atividade	EC ₅₀	% Atividade	EC ₅₀	% Atividade
NMU1	718,0	59,3	NT		71,7	87,1
NMU2	3,3	89,2	NT		2,2	100
NMU3	0,7	100	NT		1,8	100
NMU4	3,8	100	NT		2,9	100
NMU5	3,6	100	NT		2,3	100
NMU6	1,0	100	NT		1,5	100
NMU8	36,7	97,2	NT		45,1	94,7
NMU9	9,7	100	NT		4,5	100
NMU10	201,4	80,1	NT		41,5	97,4
NMU11	315,6	50,9	NT		1000	33,2
NMU12	1000	52,7	NT		1000	43,4
NMU14	239,5	75,7	NT		54,3	97,0
NMU13	9,5	100	114,7	94,6	>1000	0,0
NMU14	132,9	87,7	>1000	36,7	>1000	0,0
NMU15	4,2	100	24,6	107,5	2,2	100
NMU16	417,6	75,4	1000	34,6	314,7	86,9
NMU17	0,9	100	4,9	105,3	1,2	100
NMU18	28,6	95,9	105	90,7	63,0	96,7
NMU19	6,8	100	12,8	100	8,7	100
NMU20	7,2	100	24,4	93,8	16,9	100
NMU21	19,5	99,9	220,4	77,5	7,0	99,2
NMU22	14,0	100	39,1	96,4	17,1	98,8
NMU23	127,4	76,4	1000	39,8	47,4	90,2
NMU24	236,4	80,8	221,8	67,7	986,4	52,2
NMU25	20,1	99,6	81,0	93,5	37,8	96,4

Aequorin

Além disso para FLIPR, a função do receptor NMU também pode ser avaliado usando um ensaio aequorin. As linhas celulares estáveis que expressam o gene de água via aequorin pode ser usado para relatar a ativação de GPCRs pelo monitoramento de mobilização de cálcio intracelular. O objetivo é para identificar os compostos que especificamente estimula a

bioluminescência aequorin. A luminescência dependente do cálcio é gerado pelo tratamento de células com a luciferina de celenterado, celenterazina. Resumidamente, as monocamadas aderentes de células HEK-293/aeq 17 que expressam hNMUR1 ou hNMUR2 são “carregadas” com de celenterazina (Molecular Probes, Carlsbad, CA). Os frascos T75 aderentes são enxaguados com meio contendo 300 μ M de glutathione e 0,1 % de FBS. As células são incubadas a 37° C por uma hora em meio de 8 mL, 0,1 % de FBS, 300 μ M de glutathione, e 20 μ M de celenterazina. Os frascos T75 são subsequentemente enxaguados com 6 mL de tampão ECB (140 mM de NaCl, 20 mM de KCl, 20 mM de HEPES, 5 mM de glicose, 1 mM de MgCl, 1 mM de CaCl₂, 0,1 mg/mL de BSA, PH 7,3 a 7,4). As células foram removidas a partir do frasco em tampão ECB, granulado, e recolocado em suspensão em uma densidade de 2×10^5 células/mL. Os agonistas são adicionados às células e a atividade é determinada usando um luminômetro.

Ensaio IP1

Além disso para medições diretas de cálcio, a atividade receptora NMU pode ser determinada pelas medições de fosfato de mio-inositol 1 (IP1), um dos maiores produtos da cascata de fosfatidil inositol, que justamente correlacionam a atividade ligada por Gq. Um equipamento de ensaio (IPOne) de Cisbio (Bedford, MA) é disponível para o uso de HTRF (período homogêneo de fluorescência resolvida) para medir níveis de IP1. Os seguintes ensaios das direções dos fabricantes. Resumidamente, as células são colocadas durante a noite em uma densidade de 30.000 células por reservatórios em placas de parede branco de 384 reservatórios. O meio do dia seguinte é removido das células, e agonista de 10 μ L é adicionado pelo qual é diluído em tampão de estimulação (10mM de HEPES, 1 mM de CaCl₂, 0,5 mM de MgCl₂, 4,2 mM de KCL, 146 mM de NaCl, 5,5 mM de glicose, 50 mM de LiCl, pH 7,4). As células são incubadas por 1 hora a 37° C com agonista. As moléculas de detecção são adicionadas, O conjugado IP1-d2 e

criptato anti-IP1 (preparado por protocolos do fabricante), e as células são incubadas em 1 hora em temperatura ambiente. A fluorescência é medida em uma máquina Envision e os resultados são calculados a partir das razões de fluorescência a partir da leitura do instrumento.

5 Medições substitutas da Atividade receptora NMU

Dados adicionais sugerem que a sinalização receptora NMU pode ocorrer por intermédio da atividade ligada por $G\alpha_i$. A ativação do hNMUR1 ou hNMUR2 tem mostrado o resultado na inibição da acumulação cAMP estimulado por forskolina (10 μ M). Para medir a sinalização ligada por G_i , a inibição de cAMP induzido por forskolina pode ser medido. Resumidamente, as células são colocadas 24 horas antes da realização do experimento. O agonista do receptor de neuromidina U é adicionado às células e incubado por 10 minutos, seguido pela adição de 10 μ M de forskolina. Após uma incubação de 10 minutos, o cAMP é extraído das células e medido pelo ensaio radioreceptor. Os níveis de base de cAMP e níveis estimulados por forskolina de cAMP são medidos com e sem tratamento de agonista.

Um resumo do dado funcional ou de ligação por agonistas receptores de neuromedina U seletivos do subtipo NMUR1 específicos para espécies cruzadas de NMUR1 é mostrado nas Tabelas 6 e 7. Calculado a atividade percentual que é relativa as respostas hNMRU naturais.

Tabela 6				
Respostas <i>In vitro</i> em peptídeo H seletivo de NMUR1				
Espécies/ Receptor	IC ₅₀ (nM)	% Atividade	IC ₅₀ (nM)	% de inibição de Ligação de NMU-25
R1 humano	1,25 (0,2)	90%	1,1 (0,14)	93%
R2 humano	>1000 (0,8)	0	782 (0,056)	7%
R1-ATG de camundongo	25 (0,9)	90%	66 (0,4)	77%
R2 de camundongo	>1000 (0,2)	40%	>1000 (0,2)	20%
R1-CTG de camundongo	66 (2,9)	77	25 (0,15)	83
R1-ATG de rato	31,1 (1,3)	95%	15,9 (1,2)	100%
R2 de rato	>1000 (1,6)	42%	>1000 (0,6)	0
R1-TTG de rato	152,8 (1,0)	91%	11 (0,2)	100%

() indica valores por NMU-25 humano com 100 % de atividade.

Tabela 7				
Respostas <i>In vitro</i> em peptídeo NMU13 seletivo de NMUR1				
Espécie/ Receptor	IC ₅₀ [nM]	% Atividade	IC ₅₀ (nM)	% inibição de Ligação de NMU- 25
R1 humano	1,7 (0,2)	91%	4,3 (0,14)	100%
R2 humano	>1000 (0,8)	0	>1000 (0,056)	48%
R1-ATG de camundongo	7,8 (0,9)	96%	5,4 (0,4)	100%
R2 de camundongo	>1000 (0,2)	27%	>1000 (0,2)	30%
R1-CTG de camundongo	14 (2,9)	88%	3,5 (0,15)	100%
R1-ATG de rato	15,8 (1,3)	92%	1,6 (1,2)	100%
R2 de rato	>1000 (1,6)	24%	>1000 (0,6)	0
R1-TTG de rato	107,4 (1,0)	94%	3,24 (0,2)	100%

() indica valores por NMU-25 humano com 100 % de atividade.

EXEMPLO 3

Ensaio de ligação

5 Preparação da membrana:

As camadas celulares aderentes que expressam os receptores de NMU (as células HEK descritas acima) foram coletadas com solução salina tamponada por fosfato, coletado pela centrifugação, e recolocado em suspensão no tampão de membrana (50 mM de TrisCl pH 7,4, 5 mM de MgCl₂, 1X de coquetel inibidor de protease, 10 µM de fosforamidona). Após as células granuladas serem homogeneizadas, a solução foi centrifugada a 18,000 rpm por 20 minutos a 4° C. O grânulo foi recolocado em suspensão no tampão de membrana para render uma concentração final de 0,5 a 5 µg/µL da membrana e armazenada a -80° C.

15 Ensaio de Ligação ¹²⁵I-hNMU-25:

Os experimentos foram realizados em tampão de ensaio (25 mM de TrisCl, pH 7,4, 10 mM de MgCl₂, 2mM de EDTA, 1 X de coquetel inibidor de protease, 100 µg/mL de Bacitricina, 10 µM de fosforamidona) em volumes de 200 µL em um formato de 96 reservatórios usando 2 a 5 µg da

membrana e 0,1 nM ^{125} I-hNMU-25 (cerca de 12.000 cpm/reservatório). Para ligação não específica, 1 μ M de hNMU-25 foi adicionado. Cerca de 5 μ L dos peptídeos foram adicionados para medir a atividade antagonista, e a reação total foi incubada em temperatura ambiente com agitação por 80 minutos. A reação foi terminada pela filtração rápida através de placas de filtro de 96 reservatórios Millipore pré-encharcadas com poli-etilenimina 0,3% e lavadas com tampão gelado (5 mM de TrisCl pH 7,4, 10 mM de $MgCl_2$, 2,5 mM de EDTA, 0,04 % de Triton X-100). As placas foram secadas por ar durante a noite em temperatura ambiente e recuperadas pela radioatividade, e será determinada pela contagem de cintilação padrão. O valor de IC_{50} foram determinados usando software GraphPad Prism.

Análise de dados:

Curvas de concentração-resposta e radio ligando-dado de ligação foram adequados usando Prism (GraphPad Software). Os resultados são resumidos abaixo nas Tabelas 8 e 9.

Tabela 8								
Agonista	HEK-hR1				HEK-hR2			
	IC_{50} (nM)	% atividade	IC_{50} [nM]	% atividade	IC_{50} (nM)	% atividade	IC_{50} [nM]	% atividade
A	2,7	92	10	94	>1000	0	>100	0
B	9	103	14	96	>1000	0	>1000	35
C	1,1	87	0,42	100	>1000	0	>1000	0
D	1,5	96	2,6	100	>1000	0	>1000	0
E	1,9	100	75	93	>1000	1,8	>1000	5
F	42	96	>1000	30	870	96	>1000	12
G	8,4	91	2,1	97	>1000	14	31	33
H	19	88	1,1	93	>1000	0	780	7

Tabela 9								
Agonista	HEK-hR1				HEK-hR2			
	EC50 (nM)	% atividade	IC50 (nM)	% atividade	EC50 (nM)	% atividade	IC50 (nM)	% atividade
I	>1000	7	>1000	23	10	99	9,1	90
J	>1000	0	>1000	34	160	59	150	63
K	400	61	>1000	25	2	100	13	100
L	>1000	74	>1000	0	6,2	100	37	100

M	>1000	0	>1000	0	33	93	180	71
N	53	87	>1000	38,4	3,9	100	22	100
O	420	35	400	64	16	67	3	92
P	46	11	>1000	1	25	100	150	81
Q	>1000	0	>1000	16	18,3	97	12	89
NMU-25	5,5	100	0,47	100	1,5	100	0,19	100
NMU-8	1,36	100	2,4	100	2,9	104	0,3	100

EXEMPLO 4

Síntese de agonistas receptores de Neuromedina U

Agonistas do receptor de neuromedina U podem ser produzidos usando técnicas bem conhecidas na técnica. Por exemplo, uma região de polipeptídeo de um análogo NMU truncado pode ser químico ou bioquimicamente sintetizado e, se desejado, modificado para produzir um terminal N bloqueado e/ou terminal C bloqueado. As técnicas para síntese química dos polipeptídeos são bem conhecidos na técnica. (ver por exemplo., Vincent, in Peptide and Protein Drug Delivery, New York, N.Y., Dekker, 1990) Exemplos de técnicas para a síntese bioquímica envolve a introdução de um ácido nucléico na célula e expressão de ácidos nucléicos são fornecidos em Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley, 1987-1998, and Sambrook, et al., in Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2^o Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

1.1. Substituições de aminoácido e modificações

O agonista do receptor de neuromedina U NMU1 é um peptídeo PEGuilado em que um PEG ramificado de 40 kDa é ligado ao terminal N do peptídeo Neuromedina U humano natural. O grupo do terminal N do peptídeo foi acilado com um análogo de (PEG)₂40K N-hidroxisuccinimida ramificado (por exemplo, mPEG2-NHS-40k; Nektar, San Carlos, CA; Cat# 2Z3Y0T01). Este foi projetado para criar um agonista do receptor de neuromidina U com perfil farmacológico melhorado. O peptídeo precursor, a seqüência de tipo selvagem de NMU, foi atuado com um derivado de N-hidroxisuccinimida de um PEG ramificado de 40 kDa. A PEGuilação com este reagente ocorre especificamente no grupo amino de

terminal N do peptídeo, como este é apenas como um grupo amino disponível no peptídeo.

O agonista do receptor de neuromedina U NMU2 é o peptídeo NMU natural que é acetilado no terminal N. Foi projetado para estudar o impacto de acetilação, ou mais geralmente, acilação no terminal N em atividade. Com base na resíduos de rotação da seqüência ativa mínima 19 a 25, as seqüências de peptídeos foram modificadas nestes resíduos 17 a 25 pela adição de um resíduo de cisteína acetilada adicional no terminal N. O grupo tiolado de cisteína ainda foi derivado com (a) N-etilmaleimida para obter NMU6, um peptídeo de controle para a conjugação; (b) (PEG)₂ 40 kDa para obter NMU7, um análogo PEGuilado projetado para ter um perfil farmacológico in vivo melhorado; ou (c) um grupo colesterol para obter NMU11, um análogo lipidado projetado para ter um perfil farmacológico in vivo melhorado.

Outras seqüências de peptídeos foram projetados de partida da seqüência NMU natural de adição de um resíduo de cisteína acetilado no terminal N. Por exemplo, um grupo tiolado de cisteína foi derivado com (a) N-etilmaleimida para obter NMU8, um peptídeo de controle para a conjugação; (b) (PEG)₂ 40 kDa de Nektar (mPEG2-MAL-40k, Cat# 2D3Y0T01) para obter NMU9, ou (PEG)₂ 40 kDa de NOF Corporation, Japan (SUNBRIGHT GL2-400MA) para obter NMU12; (c) a grupo colesterol para obter NMU10; (d) (PEG)₂₀ kDa para obter NMU21; (e) (PEG)₂ 40 kDa para obter NMU26; ou (f) (PEG)₄₀ kDa para obter NMU27, Todos estes agonistas receptores de Neuromedina U foram projetados para ter um perfil farmacológico in vivo melhorado.

Em outro exemplo de peptídeo, o resíduo de aminoácido NMU-25 natural na posição 20 foi mudado por D-Alanina e o resíduo de aminoácido na posição 21 por triptofano. Estas mutações conferem adicionar seletivamente para o receptor NMUR1 e ter um resíduo de cisteína acetilada

adicional no terminal N. O grupo tiolado de cisteína foi derivado com (a) N-etilmaleimida para obter NMU13, um peptídeo de controle; ou (b) (PEG)₂ 40 kDa para obter NMU14, um análogo PEGuilado projetado para ter um perfil farmacológico in vivo melhorado.

5 Os peptídeos NMU15 e 16 foram projetados para obter um peptídeo PEGuilado com base na seqüência ativa mínima que compreende
resíduos de aminoácido 19 a 25. As seqüências foram modificadas pela
10 introdução no terminal N de um grupo Ttds (ácido de 1-amino-4,7,10-trioxa-
13-tridecanamina succínico) como um espaçador e um resíduo de cisteína
acetilado. O espaçador foi introduzido para minimizar o impacto em atividade
na seqüência de lista mínima devido à adição da porção de PEG. O grupo
tiolado de cisteína foi derivado com (a) N-etilmaleimida para obter NMU15,
um peptídeo de controle para conjugação; ou (b) (PEG)₂ 40 kDa para obter
NMU16, um análogo PEGuilado projetado para ter um perfil farmacológico
15 in vivo melhorado.

Os peptídeos NMU 17 e 18 foram projetados para obter
peptídeos PEGuilados com base na seqüência truncada do terminal N 12 a 25.
Os peptídeos tendo um resíduo de cisteína acetilada adicional no terminal N.
O grupo tiolado de cisteína foi derivado com (a) N-etilmaleimida para obter
20 NMU17, um peptídeo de controle para conjugação; ou (b) (PEG)₂ 40 kDa
para obter NMU18, um análogo PEGuilado projetado para ter um perfil
farmacológico in vivo melhorado.

Os peptídeos NMU 19 e 20 foram projetados para obter um
peptídeo PEGuilado com base na seqüência truncada do terminal N 7 a 25. Os
25 peptídeos tendo um resíduo de cisteína acetilada adicional no terminal N. o
grupo tiolado de cisteína foi derivado com (a) N-etilmaleimida para obter
NMU19, um peptídeo de controle para conjugação; ou (b) (PEG)₂ 40 kDa
para obter NMU20, um análogo PEGuilado projetado para ter um perfil
farmacológico in vivo melhorado.

Os peptídeos NMU 22 e 23 foram projetados de partida da sequência NMU natural de adição dois resíduos de cisteína no terminal N. Os polipeptídeos do terminal N foram acetilados. Os grupos tiolados de cisteína foram derivados com (a) N-etilmaleimida para obter NMU22, um peptídeo de controle para conjugação; ou (b) (PEG)₂₀ kDa para obter NMU23, um análogo PEGuilado projetado para ter um perfil farmacológico in vivo melhorado.

Os peptídeos NMU 24 e NMU 25 são com base na sequência NMU natural ao que um resíduo de cisteína palmitoilado no terminal N foi adicionado. Estes foram projetados para estudar o impacto em atividade de (1) palmitolação do terminal N, ou mais geralmente acilação com uma cadeia de ácido graxo; e (2) o efeito combinado tanto da PEGuilação quanto da lipidação. O grupo tiolado de cisteína foi derivado com (a) N-etilmaleimida para obter NMU24, um análogo lipidado projetado para ter um perfil farmacológico in vivo melhorado e também para atuar como um peptídeo de controle para conjugação; ou (b) (PEG)₂ 40 kDa para obter NMU25, estes análogos lipidados e PEGuilados foram projetados para ter um perfil farmacológico in vivo melhorado.

Os peptídeos NMU 28 e 29 span, resíduos 17 a 25 do NMU natural. Um resíduo de cisteína acetilado foi adicionado ao terminal N bem como um grupo Ttds para atuar como um espaçador. O espaçador foi introduzido para minimizar o impacto da atividade na sequência devido à adição da porção de PEG. O grupo tiolado de cisteína foi derivado com (a) N-etilmaleimida para obter NMU28, um peptídeo de controle para a conjugação; ou (b) (PEG)₂ 40 kDa para obter NMU29, um análogo PEGuilado projetado para ter um perfil farmacológico in vivo melhorado.

1.2. PEGuilação e/ou Colesteroilação

Os locais de PEGuilação nos agonistas do receptor de neuromedina U da presente invenção foram escolhidos levando em conta a

estrutura de NMU e estas interações com os receptores de NMU. Conseqüentemente, a PEGuilação é preferivelmente de local específico. A PEGuilação no grupo amino de terminal N do peptídeo NMU é possível visto que este é apenas o grupo amino disponível na seqüência. Por exemplo o

5 grupo do terminal N do peptídeo foi acilado com um análogo ((PEG)₂ 40 kDa N-hidroxisuccinimida ramificado (por exemplo, mPEG2-NHS-40k, Nektar, Cat# 2Z3Y0T01).

1.3. Síntese de agonistas do receptor de Neuromedina U

O agonista receptor de Neuromedina U (ver Tabela 1) foram

10 sintetizados pela fase sólida usando química Fmoc/tBu em um peptídeo sintetizado por AB1433A (Applied Biosystems). Para cada peptídeo 0,75 g de um ligador Fmoc de resina AM-Champion, 1 % reticulado (Biosearch Technologies, Inc., Novato, CA) e uma resina com base em PEG-PS derivada com um ligador Rink modificado por ácido p-[(R,S)- α -[9H-Fluoren-9-il-

15 metoxiformamido]-2,4-dimetoxibenzil]-fenoxiacético (Rink, Tetrahedron Lett. 28: 3787-3789 (1987); Bernatowicz, et al., Tetrahedron Lett. 30: 4645-4667 (1989)) foi usado. As reações de acilação foram realizados por 60 minutos com excesso de quatro vezes do aminoácido ativado durante os grupos amino livre de resina. Os aminoácidos foram ativados com quantidades

20 equimolares de HBTU (2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio hexafluorofosfato) e um excesso molar de 2 vezes de DIEA (N,N-diisopropiletilamina) em DMF.

Alternativamente, os peptídeos foram sintetizados pela fase sólida usando química Fmoc/t-Bu em um sintetizador de peptídeo Pioneer

25 (Applied Biosystems). Neste caso, todas as reações de acilação foram realizadas por 60 minutos com um excesso de quatro vezes do aminoácido ativado durante os grupos amino livres de resina seguindo a extremidade da reunião de peptídeo no sintetizador. O grupo de cadeia secundária de proteção foi: terc-butila para Asp, Glu, Ser e Tyr; tritila para Asn, Cys e Gln; 2,2,4,6,7-

pentametildiidrobenzofuran-5-sulfonila para Arg. A reação de acetilação do terminal N foi realizado na extremidade da reunião do polipeptídeo pela reação com um excesso de 10 vezes de anidrido acético em DMF. A palmitolação da reação do terminal N (por NMU24 e NMU25) foi realizado na extremidade da reunião do polipeptídeo pela reação com um excesso de quatro vezes do palmítico ativado durante os grupos amino livres de resina. O ácido palmítico foi ativado com quantidades equimolares de DIPC (1,3 Diisopropilcarbodiimida) e HOBt (Hidroxibenzotriazol) em DMF.

Na extremidade da síntese, os peptídeos-resinas secos foram individualmente tratados com 20 mL da mistura de clivagem, 88 % de TFA, 5 % de fenol, 2 % de triisopropilsilano e 5 % de água (Sole and Barany, J. Org. Chem. 57: 5399-5403 (1992)) por 2,5 horas em temperatura ambiente. Cada resina foi filtrada e a solução foi adicionada ao éter metil-t-butilico frio a fim de precipitar o peptídeo. Após a centrifugação, os grânulos de peptídeo foram lavados com éter metil-t-butilico frio fresco para remover os descontaminantes orgânicos. O processo foi repetido duas vezes. Os grânulos finais foram secos, recolocados em suspensão em H₂O, 20 % de acetonitrila, e liofilizado.

Os peptídeos brutos foram purificados por HPLC de fase reversa usando-se cartuchos semi-preparativos Waters RCM Delta-PakTM C₄ ou C₁₈ (40 x 200 mm, 15 µm) e usando como eluentes (A) 0,1 % de TFA em água e (B) 0,1 % de TFA em acetonitrila, taxa de fluxo 80 mL/minuto. O HPLC analítico foi realizado em uma coluna Phenomenex, Jupiter C4 (150 x 4,6 mm, 5 µm) ou coluna ReproSil-Pur 300 C4 (150 x 4,6 mm, 5 µm) (Dr. Maisch GmbH) ou Beckman, coluna Ultrasphere C18 (250 x 4,6 mm, 5 µm), uma taxa de fluxo de mL/minuto. O peptídeo purificado foi caracterizado pela espectrometria de massa por eletropulverização em uma plataforma Micromass LCZ.

A síntese de peptídeo NMU6 foi realizada por dissolver o tiol

contendo peptídeo precursor NMU em HEPES 0,1M pH 7,3, EDTA 4mM. Um excesso molar de 1,5 de N-etilmaleimida foi adicionado. Após uma hora de incubação, o peptídeo foi purificado por HPLC.

5 A síntese de peptídeo NMU8 foi realizada por dissolver o tiol contendo peptídeo precursor NMU em HEPES 0,1M pH 7,3, EDTA 4mM. Um excesso molar de 1,5 de N-etilmaleimida foi adicionado. Após uma hora de incubação, o peptídeo foi purificado por HPLC.

10 A síntese de peptídeo NMU13 foi realizada por dissolver o tiol contendo peptídeo precursor NMU em HEPES 0,1M pH 7,3, uréia 8M, EDTA 4mM. Um excesso molar de 1,5 de N-etilmaleimida foi adicionado. Após uma hora de incubação, o peptídeo foi purificado por HPLC.

15 A síntese de peptídeo NMU15 foi realizada por dissolver o tiol contendo peptídeo precursor NMU em HEPES 0,1M pH 7,3, EDTA 4mM. Um excesso molar de 1,5 de N-etilmaleimide foi adicionado. Após uma hora de incubação, o peptídeo foi purificado por HPLC.

A síntese de peptídeo NMU17 foi realizada por dissolver o tiol contendo peptídeo precursor NMU em HEPES 0,1M pH 7,3, EDTA 4mM. Um excesso molar de 1,5 de N-etilmaleimida foi adicionado. Após uma hora de incubação, o peptídeo foi purificado por HPLC.

20 A síntese de peptídeo NMU19 foi realizada por dissolver o tiol contendo peptídeo precursor NMU em fosfato de sódio 0,1M pH 6,5, uréia 4M, EDTA 4mM. Um excesso molar de 1,5 de N-etilmaleimida foi adicionado. Após uma hora de incubação, o peptídeo foi purificado por HPLC.

25 A síntese de peptídeo NMU22 foi realizada por dissolver o tiol contendo peptídeo precursor NMU em fosfato de sódio 0,2M pH 6,5, uréia 8M, EDTA 4mM. Um excesso de três molaes de N-etilmaleimida foi adicionado. Após uma hora de incubação, o peptídeo foi purificado por HPLC.

A síntese de peptídeo NMU24 foi realizada por dissolver o tiol contendo peptídeo precursor NMU em fosfato de sódio 0,2M pH 6,5, uréia 8M, EDTA 4mM. Um excesso de três molares de N-etilmaleimida foi adicionado. Após uma hora de incubação, o peptídeo foi purificado por HPLC.

A síntese de peptídeo NMU28 foi realizado por dissolver o tiol contendo peptídeo precursor NMU em HEPES 0,1M pH 7,3, EDTA 4mM. Um excesso molar de 1,5 de N-etilmaleimida foi adicionado. Após uma hora de incubação, o peptídeo foi purificado por HPLC.

1.4. PEGuilação de análogos de Neuromedina U (NMU)

As reações de PEGuilação foram realizadas sob condições permitindo a formação de ligação de amida (NMU1) ou ligação de tioéter. Os peptídeos PEGuilados NMU foram então isolados usando cromatografia trocadora de cátion (IXC) e cromatografia de exclusão de tamanho (SEC). A cromatografia trocadora de cátion (WC) foi realizada em coluna TSK SP-5PW (Tosoh) (16 x 100 nun) com um gradiente linear de NaCl (0 a 1M) em volumes de coluna 3,5 em 0,2% de ácido fórmico, um carregamento de taxa de fluxo mL/minuto, eluição de gradiente 2 mL/minuto. A cromatografia de exclusão de tamanho (SEC) foi realizada em coluna TSK-HW50 (Tosoh) (21 x 700 mm) em 0,1% de ácido acético (p/v), 30 % de acetonitrila, uma taxa de fluxo mL/minuto. Os análogos NMU PEGuilados foram caracterizados usando espectrometria de massa RP-HPLC, HPLC-SEC e MALDI-Tof.

O peptídeo NMU1 foi sintetizado a partir do peptídeo precursor NMU natural para produzir um derivado com PEG covalentemente ligado por intermédio de uma ligação amida.

Síntese de NMU1

8,7 mg de peptídeo precursor (2,8 μ moles) foram dissolvidos em 1,5 mL de 0,2 M de HEPES, pH 7,3. Então 360 mg de mPEG2-NHS-40k (NEKTAR, 2Z3Y0t01) (8,6 μ moles) dissolvido em 3,5 mL de água (1: 3

mol/razão molar de peptídeo ao PEG) foi adicionado por esta solução. Após 18 horas de incubação, a solução de peptídeo PEGuilado foi acidificado por 1 % de ácido fórmico e purificado pela cromatografia trocadora de cátion (IXC). O peptídeo PEGuilado purificado por DCC ainda foi purificado por SEC caracterizado pela RP-HPLC e MALDI-Tof.

Os peptídeos NMU7, NMU9, NMU12, NMU14, NMU16, NMU18, NMU20, NMU21, NMU23, NMU25, NMU26, NMU27 e NMU29 foram sintetizados a partir do peptídeo precursores NMU contendo tiol para produzir derivados com PEG covalentemente ligado por intermédio de uma ligação de tioéter.

Síntese de NMU7

10 mg de peptídeo precursor (7,6 μ moles) foram dissolvidos em 1 mL de 0,2 M de HEPES, pH 7,3, 4 mM de EDTA. Então 340 mg de mPEG2-MAL-40k (NEKTAR, 2D3Y0T01) (8,4 μ moles) dissolvido em três mL de água (1: 1,1 mol/razão molar do peptídeo por PEG) foi adicionado por esta solução. Após uma hora de incubação, a solução de peptídeo PEGuilado foi acidificado por 1 % de ácido fórmico e purificado pela cromatografia trocadora de cátion (IXC). O peptídeo PEGuilado purificado por IXC ainda foi purificado pelo SEC caracterizado pela RP-HPLC e MALDI-Tof.

Síntese de NMU9

15 mg de peptídeo precursor (4,6 μ moles) foram dissolvidos em 1 mL de 0,2 M de fosfato de sódio, pH 6,5, uréia 8M, 4 mM de EDTA. Então 204 mg de mPEG2-MAL-40k (NEKTAR, 2D3Y0T01) (5,1 μ moles) dissolvido em dois mL de água (1: 1,1 mol/razão molar do peptídeo por PEG) foi adicionado por esta solução. Após uma hora de incubação, a solução de peptídeo PEGuilado foi acidificado por 1 % de ácido fórmico e purificado pela cromatografia trocadora de cátion (IXC). O peptídeo PEGuilado purificado por IXC ainda foi purificado pelo SEC caracterizado pela RP-HPLC e MALDI-Tof.

Síntese de NMU12

8 mg de peptídeo precursor (2,5 μ moles) foram dissolvidos em 1 mL de 0,1 M de HEPES, pH 7,3, uréia 8M, 4 mM de EDTA. Então 115 mg de SUNBRIGHT GL2-400MA (NOF Corp.) (2,7 μ moles) dissolvido em dois mL de água (1: 1,1 mol/razão molar do peptídeo por PEG) foi adicionado por esta solução. Após uma hora de incubação, a solução de peptídeo PEGuilado foi acidificado por 1 % de ácido fórmico e purificado pela cromatografia trocadora de cátion (IXC). O peptídeo PEGuilado purificado por IXC ainda foi purificado pelo SEC caracterizado pela RP-HPLC e MALDI-Tof.

Síntese de NMU14

10 mg de peptídeo precursor (3,1 μ moles) foram dissolvidos em 1 mL de 0,1 M de HEPES, pH 7,3, uréia 8M, 4 mM de EDTA. Então 145 mg de SUNBRIGHT GL2-400MA (NOF Corp.) (3,4 μ moles) dissolvido em dois mL de água (1: 1,1 mol/razão molar do peptídeo por PEG) foi adicionado por esta solução. Após uma hora de incubação, a solução de peptídeo PEGuilado foi acidificado por 1 % de ácido fórmico e purificado pela cromatografia trocadora de cátion (LXC). O peptídeo PEGuilado purificado por DCC ainda foi purificado pelo SEC caracterizado pela RP-HPLC e MALDITof.

Síntese de NMU16

8,3 mg de peptídeo precursor (6,0 μ moles) foram dissolvidos em 1 mL de 0,1 M de HEPES, pH 7,3, 4 mM de EDTA. Então 280 mg de SUNBRIGHT GL2-400MA (NOF Corp.) (6,6 μ moles) dissolvido em dois mL de água (1: 1,1 mol/razão molar do peptídeo por PEG) foi adicionado por esta solução. Após uma hora de incubação, a solução de peptídeo PEGuilado foi acidificado por 1 % de ácido fórmico e purificado pela cromatografia trocadora de cátion (IXC). O peptídeo PEGuilado purificado por DCC ainda foi purificado pelo SEC caracterizado pela RP-HPLC e MALDI-Tof.

Síntese de NMU18

10 mg de peptídeo precursor (5,4 μ moles) foram dissolvidos em 1 mL de 0,1 M de HEPES, pH 7,3, 4 mM de EDTA. Então 250 mg de SUNBRIGHT GL2-400MA (NOF Corp.) (5,9 μ moles) dissolvido em dois mL de água (1: 1,1 mol/razão molar do peptídeo por PEG) foi adicionado por esta solução. Após uma hora de incubação, a solução de peptídeo PEGuilado foi acidificado por 1 % de ácido fórmico e purificado pela cromatografia trocadora de cátion (DCC). O peptídeo PEGuilado purificado por IXC ainda foi purificado pelo SEC caracterizado pela RP-HPLC e MALDI-Tof.

Síntese de NMU20

10 mg de peptídeo precursor (4,1 μ moles) foram dissolvidos em 1 mL de 0,1 M de fosfato de sódio, pH 7,3, uréia 4M, 4 mM de EDTA. Então 174 mg de SUNBRIGHT GL2-400MA (NOF Corp.) (4,1 μ moles) dissolvido em dois mL de água (1: 1 mol/razão molar do peptídeo por PEG) foi adicionado por esta solução. Após uma hora de incubação, a solução de peptídeo PEGuilado foi acidificado por 1 % de ácido fórmico e purificado pela cromatografia trocadora de cátion (IXC). O peptídeo PEGuilado purificado por DCC ainda foi purificado pelo SEC caracterizado pela RP-HPLC e MALDI-Tof.

Síntese de NMU21

10 mg de peptídeo precursor (3,1 μ moles) foram dissolvidos em 1 mL de 90 mM de fosfato de sódio, pH 6,6, uréia 4M, 4 mM de EDTA. Então 65 mg de SUNBRIGHT ME-200MA (NOF Corp.) (3,1 μ moles) dissolvido em um mL de água (1: 1 mol/razão molar do peptídeo por PEG) foi adicionado por esta solução. Após uma hora de incubação, a solução de peptídeo PEGuilado foi acidificado por 1 % de ácido fórmico e purificado pela cromatografia trocadora de cátion (IXC). O peptídeo PEGuilado purificado por DCC ainda foi purificado pelo SEC caracterizado pela RP-HPLC e MALDI-Tof.

Síntese de NMU23

10 mg de peptídeo precursor (3,0 μ moles) foram dissolvidos em 1 mL de 90 mM de fosfato de sódio, pH 7,1, uréia 8M, 4 mM de EDTA. Então, 157 mg de SUNBRIGHT ME-200MA (NOF Corp.) (7,5 μ moles) dissolvido em dois mL de água (1: 2,5 moles/razão molar do peptídeo por PEG) foi adicionado por esta solução. Após uma hora de incubação, a solução de peptídeo PEGuilado foi acidificado por 1 % de ácido fórmico e purificado pela cromatografia trocadora de cátion (IXC). O peptídeo PEGuilado purificado por IXC ainda foi purificado pelo SEC caracterizado pela RP-HPLC e MALDI-Tof.

10 Síntese de NMU25

10 mg de peptídeo precursor (2,9 μ moles) foram dissolvidos em 1 mL de 90mM de fosfato de sódio, pH 7,1, uréia 8M, 4 mM de EDTA. Então, 125 mg de SUNBRIGHT GL2-400MA (NOF Corp.) (2,9 μ moles) dissolvido em dois mL de uréia 8M (1: 1 mol/razão molar do peptídeo por PEG) foi adicionado por esta solução. Após uma hora de incubação, a solução de peptídeo PEGuilado foi acidificado por 1 % de ácido fórmico e purificado pela cromatografia trocadora de cátion (DCC). O peptídeo PEGuilado purificado por DCC ainda foi purificado pelo SEC caracterizado pela RP-HPLC e MALDITof.

20 Síntese de NMU26

10 mg de peptídeo precursor (3,1 μ moles) foram dissolvidos em 1 mL de 90 mM de fosfato de sódio, pH 7,1, uréia 8M, 4 mM de EDTA. Então 70 mg de SUNBRIGHT GL2-200MA (NOF Corp.) (3,1 μ moles) dissolvido em dois mL de água (1: 1 mol/razão molar do peptídeo por PEG) foi adicionado por esta solução. Após uma hora de incubação, a solução de peptídeo PEGuilado foi acidificado a 1 % de ácido fórmico e purificado pela cromatografia trocadora de cátion (IXC). O peptídeo PEGuilado purificado por DCC ainda foi purificado pelo SEC caracterizado pela RP-HPLC e MALDI-Tof

Síntese de NMU27

10 mg de peptídeo precursor (3,1 μ moles) foram dissolvidos em 1 mL de 90 mM de fosfato de sódio, pH 7,1, uréia 8M, 4 mM de EDTA. Então 136 mg de mPEG-maleimida-40 kDa (DOWpharma, 008-016) (3,4 μ moles) dissolvido em dois mL de água (1: 1,1 mol/razão molar do peptídeo por PEG) foi adicionado por esta solução. Após uma hora de incubação, a solução de peptídeo PEGuilado foi acidificado por 1 % de ácido fórmico e purificado pela cromatografia trocadora de cátion (IXC). O peptídeo PEGuilado purificado por IXC ainda foi purificado pelo SEC caracterizado pela RPHPLC e MALDI-Tof.

Síntese de NMU29

8 mg de peptídeo precursor (5,1 μ moles) foram dissolvidos em 1 mL de 0,1 M de HEPES, pH 7,3, 4 mM de EDTA. Então 217 mg de SUNBRIGHT GL2-400MA (NOF Corp.) (5,1 μ moles) dissolvido em dois mL de água (1: 1 mol/razão molar do peptídeo por PEG) foi adicionado por esta solução. Após uma hora de incubação, a solução de peptídeo PEGuilado foi acidificado por 1 % de ácido fórmico e purificado pela cromatografia trocadora de cátion (IXC). O peptídeo PEGuilado purificado por IXC ainda foi purificado pelo SEC caracterizado pela RP-HPLC e MALDI-Tof

20 1.5. Colesterilação de análogos de Neuromedina U (NMU)

Derivações com colesterol foram realizadas sob condições que permite a formação de ligação de tioéter. Os agonistas colesterilados do receptor de neuromedina U foram então purificados pelo RPHPLC caracterizado pela espectrometria de massa de eletropulverização.

25 Síntese de NMU10

18 mg de peptídeo precursor (5,6 μ moles) foram dissolvidos em 1 mL de DMF. Então três mg de bromoacetato de colessterila (14 μ moles), dissolvido em 70 μ L de THF (1: 1,1 mol/razão molar do peptídeo por bromoacetato de colessterila), e 5 μ L de DIEA (N,N-diisopropiletilamina)

(excesso molar de 2,5 vezes durante o peptídeo) foram adicionados para esta solução. Após uma hora de incubação, o peptídeo colesterilado foi purificado por RP-HPLC caracterizado pela espectrometria de massa de eletropulverização.

5 Síntese de NMU11

17 mg de peptídeo precursor (12,9 μ moles) foram dissolvidos em 1 mL de DMF. Então 7,2 mg de bromoacetato de colesterila (14 μ moles), dissolvido em 0,17 mL de THF (1: 1,1 mol/razão molar do peptídeo por bromoacetato de colesterila), e 11,7 μ L de DIEA (excesso molar de 5 vezes durante o peptídeo) foram adicionados por esta solução. Após uma hora de incubação, o peptídeo colesterilado foi purificado por RP-HPLC caracterizado pela espectrometria de massa de eletropulverização.

EXEMPLO 5

Estudo da alimentação com NMU e análogos destes

15 Camundongo de nocaute NMUR1 (Nmur1^{-/-}) foi gerado usando técnicas de recombinação homóloga padrão. Os camundongos Nmur1 transferidos ao Taconic Farms onde estes foram mantidos em uma prática genética mista de 75 % C57BL/6 x 25 % 129S6/SvEv ou seis gerações cruzadas novamente com C57BL/6, os camundongos nocautes NMUR2
20 (Nmur2^{-/-}) foram licenciados por Deltagen Inc., San Mateo, CA e subsequentemente transferidos por Taconic Farms onde estes foram mantidos em uma prática genética mista de 75 % C57BL/6 x 25 % 129/OlaHsd ou sete gerações cruzadas novamente com C57BL/6, os camundongos nocautes NMUR1 e NMUR2 duplos (Nmur1&2^{-/-}) foram gerados pelo cruzamento dos
25 camundongos N6 Nmur1^{-/-} pelos camundongos N7 Nmur2^{-/-}. Os camundongos foram individualmente alojados em gaiolas Tecniplast em uma facilidade SPF convencional. Os camundongos foram inicialmente mantidos em uma dieta de comida regular e então prematuramente na sua vida mudados para uma dieta rico em gordura (D12492: 60 % kcal de gordura; Research

Diets, Inc., New Brunswick, NJ) com *ad libitum* à água em um ciclo de 12 horas de luz /12 horas de escuro.

Os camundongos obesos induzidos por dieta machos alimentados *ad libitum* foram pesados e dosados i.p. ou s.c. cerca de 30 minutos antes do começo da fase do escuro do ciclo de luz e fornecido com uma alíquota pré-pesada de dieta de gordura alta D12492 que foi então pesado 2 horas e 18 horas (dia 1), 42 horas (dia 2), 66 horas (dia 3), e 90 horas (dia 4) após o começo da fase escura inicial. Os camundongos foram pesados nos pontos de tempo 18, 42, 66 e 90 horas. Os dados mostrados do resultado do estudo da alimentação (todos os valores são relatados como significam $\pm$ SEM e os dados foram analisados usando um teste t de Student que não em par de duas caudas; valores $p \leq 0,05$ foram relatados como significante e são denotados com um asterisco).

Como mostrado nas Figuras 2A e 2B, administração periférica aguda dos peptídeos seletivos NMUR1, agonista do receptor H de neuromidina U e NMU13, significativamente reduzido pela entrada de alimento em camundongos do tipo selvagem, mas não em camundongos nocaute *Nmur1*, demonstrando que NMUR1 é requerido para as ações anoréticas destes análogos. Adicionalmente, estes dados demonstram que agonismo seletivo NMUR1 é suficiente para recapitular as ações anoréticas do agonista NMU NMUR1/2 total.

As Figuras 3A e 3B ilustram a descoberta da administração subcutânea aguda do NMU PEGuilado reduzindo a entrada de alimento por três dias pós-dose. Consistente com o perfil metabólico *in vitro* e *in vivo* dos análogos PEGuilados, NMU1 exibe maior eficácia na redução durante a noite da entrada de alimento quando comparado ao hNMU-25 e reduções na entrada de alimento são observados por três dias pós-dose. Reduções significantes no peso corporal também foram observadas.

As Figuras 4A e 4B demonstram que NMU12 também é um

peptídeo anorético efetivo. Similar a NMU1, uma redução significativa na entrada de alimento e peso corporal são observados por três dias seguindo uma administração subcutânea simples de peptídeo.

Ainda, as Figuras 5A e 5B ilustram que os efeitos anoréticos do NMU12 são mediados pelos receptores NMUR1 e NMUR2. A administração aguda de NMU12 foi altamente eficaz em animais do tipo selvagem mas nenhum efeito foi observado nos animais nocautes duplos NMUR1/NMUR2. Visto que o efeito no receptor NMUR2 ocorre principalmente no cérebro, o resultado indica que NMU12 é capaz de cruzar a barreira sangue-cérebro. Os efeitos de NMUR2 para reduzir a entrada de alimento e peso corporal requer exposição central, considerando aquele NMUR1 que requer exposição periférica.

As Figuras 6A e 6B mostram que o termo mais longo dos efeitos anoréticos de NMU12 PEGuilado são mediados tanto pelos receptores NMUR1 e quanto NMUR2. As reduções na entrada de alimento e peso corporal são observados por dois dias pós-dose nos animais nocaute NMUR1. Entretanto, apenas durante a noite os efeitos são observados nos animais nocaute NMUR2. Este é em contraste com os efeitos anoréticos de hNMU-25 que são mediados unicamente por NMUR1, demonstrando que hNMU-25 e NMU12 tendo mecanismos distintos de ação.

As Figuras 7A a 7C demonstram que administração crônica de NMU12 pode reduzir a entrada de alimento e peso corporal. O NMU12 foi dosado todos os dias (QD), todos os outros dias (Q2D) ou a cada três dias (Q3D). O painel A mostra uma mudança cumulativa no peso corporal por nove dias após o começo do tratamento. A última dose foi administrada no dia quatro do estudo e as medições foram feitas no dia nove. A entrada de alimento crescente (B) e peso corporal (C) foi significativamente reduzido em todos os paradigmas de dosagem para NMU12, a entrada de alimento foi reduzido 12 a 27 % nestas doses com relação ao grupo tratado com veículo.

Da mesma maneira, a mudança crescente no peso corporal variou de uma perda de 3,3 % a tanto quanto uma de 7,3 % com relação ao grupo de controle de veículo.

Um resumo das reduções percentuais na entrada de alimento e mudança do peso corporal a partir dos experimentos in vivo com análogos hNMU-25 e NMU são mostrados na Tabela 10, os cálculos são baseados em resposta dos veículos.

Tabela 10							
Agonista	Dose	% de reduções da entrada de alimento (FI)			Mudanças no Peso do corpo (em gramas) (com relação ao veículo)(BW)		
		Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 1	Dia 2	Dia 3
hNMU-25	10 mg/kg	21			-0,6		
NMU1	10 mg/kg	57	56	22	-1,4	-1,7	-0,4
NMU2	3 mg/kg	25			-0,7		
NMU4	3 mg/kg	12			-0,3		
NIVIU5	3 mg/kg	26			-0,5		
NMU7	10 mg/1(g	44			-1,7		
NMU9	10 mg/kg	56	57	18	-2,0	-1,2	-0,2
NMU10	10 mg/kg	24			-1,2		
NIVIU1 1	10 mg/kg	54	30		-1,8	-0,7	
NMU12	10 mg/kg	51	50	15	-1,8	-1,3	-0,2
NMU14	30 mg/kg						
	50 mg/kg	14			-0,1		
NMU16	10 mg/kg	11			-0,3		
	30 mg/kg	25			-0,9		
NMU18	10 mg/kg	71	40		-2,6	-0,2	
NIVIU20	10 mg/kg	67	65	23	-2,2	-1,1	+ 0,3

EXEMPLO 6

Experimentos de Estabilidade de Plasma

Para determinar a estabilidade de NMU12 e NMU1 em plasma a partir de espécies diferentes, os experimentos de perfuração in vitro foram realizados. NMU12, NMU1, ou hNMU-25 foram adicionados ao plasma (adquirido a partir de Bioreclamation) em uma concentração final de 1 μ M e incubados em várias temperaturas (temperatura ambiente, 4° C e 37° C). as alíquotas destas amostras de plasma foram retiradas em vários pontos de tempo, congelados a -80° C, e subsequenteemente realizado no ensaio FLIPR com a expressão da linha celular NMUR1 humano para determinar o

percentual do peptídeo ativo que permanece após vários pontos de tempo de incubação. A atividade percentual de peptídeo remanescente na amostra foi calculado com base na resposta FLIPR para a amostra no período de tempo de partida ($T = 0$) antes de qualquer mudança de temperatura ser calada com a amostra de peptídeo. Em $T = 0$ a recuperação esperada é de 100 %.

A Figura 8 ilustra a estabilidade in vitro de hNMU-25 e agonistas NMU1 e NMU12 PEGuilados do receptor de neuromedina U em plasma humano com experimentos de perfuração, indicando que a PEGuilação de NMU fornece maior estabilidade em plasma humano. A vida média de hNMU-25 em plasma humano é menor do que 16 horas portanto os análogos PEGuilados NMU1 (hNMU-25 PEGuilado) e NMU12 exibiu um aumento na vida média do que três dias em plasma humano incubado a 37° C.

EXEMPLO 7

Análise Farmacocinética de peptídeos usando o bioensaio

O agonista do receptor NMU12 de neuromidina U expõe níveis em animais dosados que foram medidos usando o bioensaio e comparados com hNMU-25 de níveis de exposição. Os animais foram dosados subcutaneamente com 10 mg/kg NMU12 ou hNMU-25 e o plasma foi coletado em vários pontos de tempo pós-dose. O bioensaio foi um ensaio com base em a FLIPR, que foi realizado essencialmente como descrito acima com as seguintes modificações. A preparação das amostras antes do ensaio foi realizado em gelo para minimizar a degradação das amostras de plasma. O ensaio foi realizado com 4 % de plasma como na concentração final. Uma titulação de três pontos foi calada com o plasma dosado e testado em linhas celulares NMU1 humanas que expressam o uso de FLIPR. Uma resposta após adição da amostra foi tomada como as unidades de fluorescência máxima menos a fluorescência imediata antes da estimulação para cada reservatório. Além disso para uma titulação de três pontos de amostras de plasma dosado, uma titulação de 16 pontos do polipeptídeo (hNMU-25 ou

NMU12) foi realizado em 4 % de plasma (plasma simples) para servir como o padrão. A concentração do polipeptídeo em plasma foi calculado com base em extrapolações do padrão apropriado usando o software GraphPad Prism.

A Figura 9 mostra as propriedades farmacocinéticas de hNMU-25 e NMU12 PEGuilado em camundongos, indicando que a PEGuilação de NMU fornece maior estabilidade metabólica in vivo. A linha tracejada indica que os limites da detecção para o ensaio (LOD). Estes experimentos demonstram que a PEGuilação de NMU intensifica a estabilidade metabólica tanto in vitro quanto in vivo.

Enquanto a presente invenção é descrita neste com referência as formas de realização ilustradas, será entendido que a invenção não é limitada a isto. Aquele tendo uma habilidade comum na técnica e acesso as explicações destes reconhecerão as modificações adicionais e formas de realização dentro do escopo deste. Portanto, a presente invenção é limitada apenas pelas reivindicações ligadas neste.

SEQUENCE LISTING

<110> Merck & Co., Inc.
 Marsh, Donald J.
 Pessi, Antonello
 Bednarek, Maria A.
 Bianchi, Elisabetta
 Ingallinella, Paolo
 Peier, Andera M.

<120> AGONISTAS DO RECEPTOR DE NEUROMEDINA U E SEUS USOS

<130> PCT-21984Y

<150> 60/783,933
 <151> 2006-03-20

<160> 28

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Seqüência Artificial

<220>
 <223> Peptídeo Agonista NMU

<223> Xaa Pode ser qualquer aminoácido ou está ausente

<400> 1
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15
 Xaa Xaa Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn
 20 25

<210> 2
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Seqüência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU-25

<400> 2
 Phe Arg Val Asp Glu Glu Phe Gln Ser Pro Phe Ala Ser Gln Ser Arg
 1 5 10 15
 Gly Tyr Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn
 20 25

<210> 3
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Seqüência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU (12-25)

<400> 3

Ala Ser Gln Ser Arg Gly Tyr Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn
1 5 10

<210> 4

<211> 9

<212> PRT

<213> Seqüência Artificial

<220>

<223> Agonista NMU (17-25)

<400> 4

Gly Tyr Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn
1 5

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Seqüência Artificial

<220>

<223> Agonista NMU (19-25)

<400> 5

Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn
1 5

<210> 6

<211> 19

<212> PRT

<213> Seqüência Artificial

<220>

<223> Agonista NMU (7-25)

<400> 6

Phe Gln Ser Pro Phe Ala Ser Gln Ser Arg Gly Tyr Phe Leu Phe Arg
1 5 10 15
Pro Arg Asn

<210> 7

<211> 25

<212> PRT

<213> Seqüência Artificial

<220>

<223> Agonista NMU

<221> VARIANT

<222> 18

<223> Xaa é Y, W, F, uma des-aminoácido ou um grupo acila, ou está ausente

<221> VARIANT

<222> 19

<223> Xaa é A, W, Y, F, ou um aminoácido alifático

<221> VARIANT
 <222> 20
 <223> Xaa é G, sarcosina (Sar), D-leu, NMe-Leu, D-Ala, A, ou está ausente

<221> VARIANT
 <222> 21
 <223> Xaa é NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A, ou W

<221> VARIANT
 <222> 22
 <223> Xaa é K, A, ou L

<221> VARIANT
 <222> (23)...(23)
 <223> Xaa é Sar, A, ou L

<221> VARIANT
 <222> (24)...(24)
 <223> Xaa é Harg ou K

<221> VARIANT
 <222> (25)...(25)
 <223> Xaa é qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle, ou A

<400> 7
 Phe Arg Val Asp Glu Glu Phe Gln Ser Pro Phe Ala Ser Gln Ser Arg
 1 5 10 15
 Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25

<210> 8
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Seqüência Artificial

<220>
 <223> NMU Agonist

<221> VARIANT
 <222> 1
 <223> Xaa é A, W, Y, F, um aminoácido alifático, ou está ausente

<221> VARIANT
 <222> 2
 <223> Xaa é A, W, Y, F, ou um aminoácido alifático

<221> VARIANT
 <222> 3
 <223> Xaa é L, F, G, Sar, D-Leu, NMe-Leu, D-Ala, A, ou está ausente

<221> VARIANT
 <222> 4
 <223> Xaa é NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A, ou W

<221> VARIANT
 <222> 5
 <223> Xaa é R, F, K, A, ou L

<221> VARIANT
 <222> (6)...(6)
 <223> Xaa é P, Sar, A, ou L

<221> VARIANT
 <222> (7)...(7)
 <223> Xaa é R, Harg, ou K

<221> VARIANT
 <222> (8)...(8)
 <223> Xaa é qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle, ou A

<400> 8
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5

<210> 9
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Seqüência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<400> 9
 Tyr Phe Trp Arg Phe Arg Asn
 1 5

<210> 10
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Seqüência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<221> VARIANT
 <222> 3
 <223> Xaa is D-Leu

<400> 10
 Tyr Phe Xaa Trp Arg Pro Arg Asn
 1 5

<210> 11
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Seqüência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<400> 11
 Tyr Phe Gly Trp Arg Pro Arg Asn
 1 5

<210> 12
 <211> 8

<212> PRT
 <213> Sequência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<221> VARIANT
 <222> (0)...(0)
 <223> Xaa é D-Ala

<400> 12
 Tyr Phe Xaa Trp Arg Pro Arg Asn
 1 5

<210> 13
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<400> 13
 Phe Phe Trp Arg Pro Arg Asn
 1 5

<210> 14
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<400> 14
 Phe Arg Val Asp Glu Glu Phe Gln Ser Pro Phe Ala Ser Gln Ser Arg
 1 5 10 15
 Gly Tyr Phe Trp Arg Pro Arg Asn
 20

<210> 15
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<221> VARIANT
 <222> 20
 <223> Xaa é D-Leu

<400> 15
 Phe Arg Val Asp Glu Glu Phe Gln Ser Pro Phe Ala Ser Gln Ser Arg
 1 5 10 15
 Gly Tyr Phe Xaa Leu Trp Arg Pro
 20

<210> 16

<211> 8
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<221> VARIANT
 <222> 7
 <223> Xaa é Harg

<400> 16
 Phe Trp Leu Phe Arg Pro Xaa Asn
 1 5

<210> 17
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<221> VARIANT
 <222> 7
 <223> Xaa é Harg

<400> 17
 Phe Trp Leu Phe Arg Ala Xaa Asn
 1 5

<210> 18
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<221> VARIANT
 <222> 8
 <223> Xaa é D-Nle

<400> 18
 Trp Phe Leu Phe Arg Pro Arg Xaa
 1 5

<210> 19
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<400> 19
 Phe Trp Leu Phe Arg Ala Arg Asn
 1 5

<210> 20
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Seqüência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<400> 20
 Tyr Ala Leu Phe Arg Ala Arg Asn
 1 5

<210> 21
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Seqüência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<400> 21
 Phe Ala Leu Phe Arg Pro Arg Asn
 1 5

<210> 22
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Seqüência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<221> VARIANT
 <222> 24
 <223> Xaa é Harg

<400> 22
 Phe Arg Val Asp Glu Glu Phe Gln Pro Phe Ala Ser Gln Ser Arg Gly
 1 5 10 15
 Phe Trp Leu Phe Arg Pro Xaa Asn
 20

<210> 23
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Seqüência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<221> VARIANT
 <222> 24
 <223> Xaa é Harg

<400> 23
 Phe Arg Val Asp Glu Glu Phe Gln Ser Pro Phe Ala Ser Gln Ser Arg
 1 5 10 15
 Gly Phe Trp Leu Phe Arg Ala Xaa Asn
 20 25

<210> 24
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<221> VARIANT
 <222> 25
 <223> Xaa é D-Nle

<400> 24
 Phe Arg Val Asp Glu Glu Phe Gln Ser Pro Phe Ala Ser Gln Ser Arg
 1 5 10 15
 Gly Phe Trp Leu Phe Arg Pro Arg Xaa
 20 25

<210> 25
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<221> VARIANT
 <222> 20
 <223> Xaa é D-Ala

<400> 25
 Phe Arg Val Asp Glu Glu Phe Gln Ser Pro Phe Ala Ser Gln Ser Arg
 1 5 10 15
 Gly Tyr Phe Xaa Trp Arg Pro Arg Asn
 20 25

<210> 26
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<221> VARIANT
 <222> 2
 <223> Xaa é D-Leu

<400> 26
 Phe Xaa Trp Arg Pro Arg Asn
 1 5

<210> 27
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial

<220>
 <223> Agonista NMU

<221> VARIANT
 <222> (1)...(17)
 <223> Xaa é qualquer aminoácido ou está ausente

<221> VARIANT
 <222> 18
 <223> Xaa é Y, W, F, um des-aminoácido ou um acila

<221> VARIANT
 <222> 19
 <223> Xaa é F, A, W, or um aminoácido alifático

<221> VARIANT
 <222> 20
 <223> Xaa é L, G Sar, D-Leu, NMe-Leu, D-Ala, D, ou está ausente

<221> VARIANT
 <222> 21
 <223> Xaa é F, NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A, ou W

<221> VARIANT
 <222> (22)...(22)
 <223> Xaa é R, K, A, ou L

<221> VARIANT
 <222> (23)...(23)
 <223> Xaa é P, Sar, A, ou L

<221> VARIANT
 <222> (24)...(24)
 <223> Xaa é R, Harg, ou K

<221> VARIANT
 <222> (25)...(25) D- or L-amino acid, Nle ou Dle, ou A

<400> 27
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25

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

<220>
 <223> Agonista NMU

<400> 28
 Phe Arg Val Asp Glu Glu Phe Gln Ser Pro Phe Ala Ser Gln Ser Arg
 1 5 10 15
 Pro Tyr Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn
 20 25

REIVINDICAÇÕES

1. Agonista do receptor de neuromidina U, caracterizado pelo fato de que tem a fórmula



5 em que o peptídeo tem a sequência de aminoácido $X^1\text{-X}^2\text{-X}^3\text{-X}^4\text{-X}^5\text{-X}^6\text{-X}^7\text{-X}^8\text{-X}^9\text{-X}^{10}\text{-X}^{11}\text{-X}^{12}\text{-X}^{13}\text{-X}^{14}\text{-X}^{15}\text{-X}^{16}\text{-X}^{17}\text{-X}^{18}\text{-X}^{19}\text{-X}^{20}\text{-X}^{21}\text{-X}^{22}\text{-X}^{23}\text{-X}^{24}\text{-X}^{25}$ (SEQ ID N°: 27), em que os aminoácidos de 1 a 17 podem ser qualquer aminoácido ou ausentes; em que o aminoácido X^{18} está ausente, Y, W, F, um des-aminoácido ou um grupo acila; aminoácido X^{19} é A, W, Y, F ou
 10 um aminoácido alifático; aminoácido X^{20} está ausente, L, G, sarcosina (Sar), D-Leu, NMe-Leu, D-Ala ou A; aminoácido X^{21} é F, NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A ou W; X^{22} é R, K, A ou L; aminoácido X^{23} é P, Sar, A ou L; aminoácido X^{24} é R, Harg ou K e o aminoácido X^{25} é N, qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle, A; e Z^1 é
 15 um grupo de proteção opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo amino de terminal N e Z^2 é NH_2 ou um grupo de proteção opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo carboxi de terminal C e seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

2. Agonista do receptor de neuromedina U de acordo com a
 20 reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o aminoácido de terminal N é covalentemente unido a uma ou mais moléculas selecionadas do grupo que consiste de PEG, colesterol, N-etilmaleimidila e palmitoíla.

3. Agonista do receptor de neuromedina U de acordo com a
 reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que o peptídeo ainda inclui um
 25 resíduo de cisteína no terminal N do peptídeo em que um grupo de proteção está opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo amino de terminal N do resíduo de cisteína.

4. Agonista do receptor de neuromedina U de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que o grupo tiol do resíduo de

cisteína no terminal N é covalentemente unido a uma ou mais moléculas selecionadas do grupo que consiste de PEG, colesterol, N-etilmaleimidila e palmitoíla.

5 5. Agonista do receptor de neuromedina U de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o grupo tiol do resíduo de cisteína no terminal N é covalentemente ligado a uma molécula de PEG.

10 6. Agonista do receptor de neuromedina U de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que um grupo ligador tendo uma extremidade distal e uma extremidade proximal é covalentemente unido a sua extremidade distal ao terminal N do peptídeo e a extremidade proximal do grupo ligador é covalentemente ligada ao terminal carboxila de um resíduo de cisteína em que um grupo de proteção está opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo amino de terminal N do resíduo de cisteína.

15 7. Agonista do receptor de neuromedina U de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que o grupo tiol do resíduo de cisteína é covalentemente unido a uma ou mais moléculas selecionadas do grupo que consiste de PEG, colesterol, N-etilmaleimidila e palmitoíla.

20 8. Agonista do receptor de neuromedina U de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o peptídeo tem a seqüência de aminoácido $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7-X^8-X^9-X^{10}-X^{11}-X^{12}-X^{13}-X^{14}-X^{15}-X^{16}-X^{17}-X^{18}$ -F-L-F-R-P-R-N (SEQ ID N°: 1), em que os aminoácidos de 1 a 17 podem ser qualquer aminoácido ou ausentes.

25 9. Agonista do receptor de neuromedina U de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o peptídeo tem uma seqüência de aminoácido selecionada do grupo que consiste de SEQ ID N°: 2, SEQ ID N°: 3, SEQ ID N°: 4, SEQ ID N°: 5 e SEQ ID N°: 6.

10. Agonista do receptor de neuromedina U de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o peptídeo tem uma seqüência de aminoácido mostrada na SEQ ID N°: 2.

11. Agonista do receptor de neuromedina U de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o agonista tem a fórmula Ac-C₂-peptídeo-CONH₂ em que Ac é um grupo acetila, C₂ é Cys(PEG)240 kDa e o peptídeo tem a seqüência de aminoácido mostrada na SEQ ID N°: 2.

5 12. Agonista do receptor de neuromedina U de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o peptídeo compreende a seqüência de aminoácido F-R-V-D-E-E-F-Q-S-P-F-A-S-Q-S-R-G-X¹⁸-X¹⁹-X²⁰-X²¹-X²²-X²³-X²⁴-X²⁵ (SEQ ID N°: 7) em que o aminoácido X¹⁸ está ausente, Y, W, F, um des-aminoácido ou um grupo acila; aminoácido X¹⁹ é A,
10 W, Y, F ou um aminoácido alifático; aminoácido X²⁰ está ausente, G, sarcosina (Sar), D-Leu, NMe-Leu, D-Ala ou A; aminoácido X²¹ é NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A ou W; aminoácido X²² é K, A ou L; aminoácido X²³ é Sar, A ou L; aminoácido X²⁴ é Harg ou K e o aminoácido X²⁵ é qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle, ou A.

15 13. Agonista do receptor de neuromedina U de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que o peptídeo compreende a seqüência de aminoácido selecionada do grupo que consiste de SEQ ID N°: 14, SEQ ID N°: 15, SEQ ID N°: 22, SEQ ID N°: 23, SEQ ID N°: 24 e SEQ ID N°: 25.

20 14. Agonista do receptor de neuromedina U de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o peptídeo compreende a seqüência de aminoácido X¹-X²-X³-X⁴-X⁵-X⁶-X⁷-X⁸ (SEQ ID N°: 8) em que o aminoácido X¹ está ausente, Y, W, F, um des-aminoácido ou um grupo acila; aminoácido X² é A, W, Y, F ou um aminoácido alifático; aminoácido
25 X³ está ausente, G, sarcosina (Sar), D-Leu, NMe-Leu, D-Ala ou A; aminoácido X⁴ é NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A ou W; aminoácido X⁵ é K, A ou L; aminoácido X⁶ é Sar, A ou L; aminoácido X⁷ é Harg ou K e o aminoácido X⁸ é qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle, ou A.

5

10

15

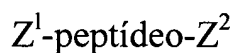
20

25

18. Método para a produção de um agonista do receptor de neuromidina U compreendendo todo ou uma porção do peptídeo de NMU-25 que é específico para um subtipo de receptor de neuromedina U, caracterizado pelo fato de que compreende modificar um ou mais dos sete aminoácidos no terminal C do polipeptídeo a um aminoácido ou análogo de aminoácido que não é natural ao peptídeo NMU-25 humano.

19. Método para o tratamento de um distúrbio metabólico em um indivíduo, caracterizado pelo fato de que compreende:

administrar ao indivíduo a quantidade terapeuticamente eficaz de um agonista do receptor de neuromidina U que tem a fórmula



em que o peptídeo tem a sequência de aminoácido $X^1\text{-X}^2\text{-X}^3\text{-X}^4\text{-X}^5\text{-X}^6\text{-X}^7\text{-X}^8\text{-X}^9\text{-X}^{10}\text{-X}^{11}\text{-X}^{12}\text{-X}^{13}\text{-X}^{14}\text{-X}^{15}\text{-X}^{16}\text{-X}^{17}\text{-X}^{18}\text{-X}^{19}\text{-X}^{20}\text{-X}^{21}\text{-X}^{22}\text{-X}^{23}\text{-X}^{24}\text{-X}^{25}$ (SEQ ID N°: 27), em que os aminoácidos de 1 a 17 podem ser

quaisquer aminoácidos ou ausentes; em que o aminoácido X^{18} está ausente, Y, W, F, um des-aminoácido ou um grupo acila; aminoácido X^{19} é A, W, Y, F ou um aminoácido alifático; aminoácido X^{20} está ausente, L, G, sarcosina (Sar), D-Leu, NMe-Leu, D-Ala ou A; aminoácido X^{21} é F, NMe-Phe, um aminoácido alifático, um aminoácido aromático, A ou W; X^{22} é R, K, A ou L; aminoácido X^{23} é P, Sar, A ou L; aminoácido X^{24} é R, Harg ou K e o aminoácido X^{25} é N, qualquer D- ou L-aminoácido, Nle ou D-Nle, A; e Z^1 é um grupo de proteção opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo amino de terminal N e Z^2 é NH_2 ou um grupo de proteção opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo carboxi de terminal C, para o tratamento do distúrbio no indivíduo e seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

20. Método de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que o distúrbio metabólico é selecionado do grupo que consiste de obesidade, síndrome metabólica ou síndrome X, diabetes do tipo II, complicações da diabetes, hipertensão, dislipidemias, doenças

cardiovasculares, cálculos biliares, osteoartrite e certas formas de câncer.

21. Método de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que o distúrbio metabólico é obesidade.

22. Método de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que o peptídeo tem a sequência de aminoácido $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7-X^8-X^9-X^{10}-X^{11}-X^{12}-X^{13}-X^{14}-X^{15}-X^{16}-X^{17}-X^{18}-F-L-F-R-P-R-N$ (SEQ ID N°: 1), em que os aminoácidos de 1 a 17 podem ser qualquer aminoácido ou ausentes.

23. Método de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo fato de que o peptídeo tem uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste de SEQ ID N°: 2, SEQ ID N°: 3, SEQ ID N°: 4, SEQ ID N°: 5 e SEQ ID N°: 6.

24. Método de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de que o peptídeo tem uma sequência de aminoácido mostrada na SEQ ID N°: 2.

25. Método de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que o aminoácido de terminal N é covalentemente unido a uma ou mais moléculas selecionadas do grupo que consiste de PEG, colesterol, N-etilmaleimidila e palmitoíla.

26. Método de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que o peptídeo ainda inclui um resíduo de cisteína no terminal N do peptídeo em que um grupo de proteção está opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo amino de terminal N do resíduo de cisteína.

27. Método de acordo com a reivindicação 26, caracterizado pelo fato de que o grupo tiol do resíduo de cisteína no terminal N é covalentemente unido a uma ou mais moléculas selecionadas do grupo que consiste de PEG, colesterol, N-etilmaleimidila e palmitoíla.

28. Método de acordo com a reivindicação 26, caracterizado pelo fato de que o grupo tiol do resíduo de cisteína no terminal N é covalentemente ligado a uma molécula PEG.

29. Método de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que um grupo ligador tendo uma extremidade distal e uma extremidade proximal é covalentemente unida a sua extremidade distal ao terminal N do peptídeo e a extremidade proximal do grupo ligador é covalentemente ligado ao terminal carboxila de um resíduo de cisteína em que um grupo de proteção está opcionalmente presente que, se presente, é unido ao grupo amino de terminal N do resíduo de cisteína.

30. Método de acordo com a reivindicação 29, caracterizado pelo fato de que o grupo tiol do resíduo de cisteína é covalentemente unido a uma ou mais moléculas selecionadas do grupo que consiste de PEG, colesterol, N-etilmaleimidila e palmitoíla.

31. Método de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que o agonista tem a fórmula $\text{Ac-C}_2\text{-peptídeo-CONH}_2$, em que Ac é um grupo acetila, C_2 é Cys(PEG)240 kDa e o peptídeo tem a seqüência de aminoácido mostrada SEQ ID N°: 2.

32. Uso do agonista do receptor de neuromedina U como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 15, caracterizado pelo fato de ser na fabricação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio metabólico.

33. Uso do agonista do receptor de neuromedina U como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 15, caracterizado pelo fato de ser na fabricação de um medicamento para o tratamento de obesidade.

34. Uso do agonista do receptor de neuromedina U como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 15, caracterizado pelo fato de ser na fabricação de um medicamento para o tratamento de diabete do tipo II.

35. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende o agonista do receptor de neuromidina U como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 15 e um carreador farmacêuticamente aceitável.

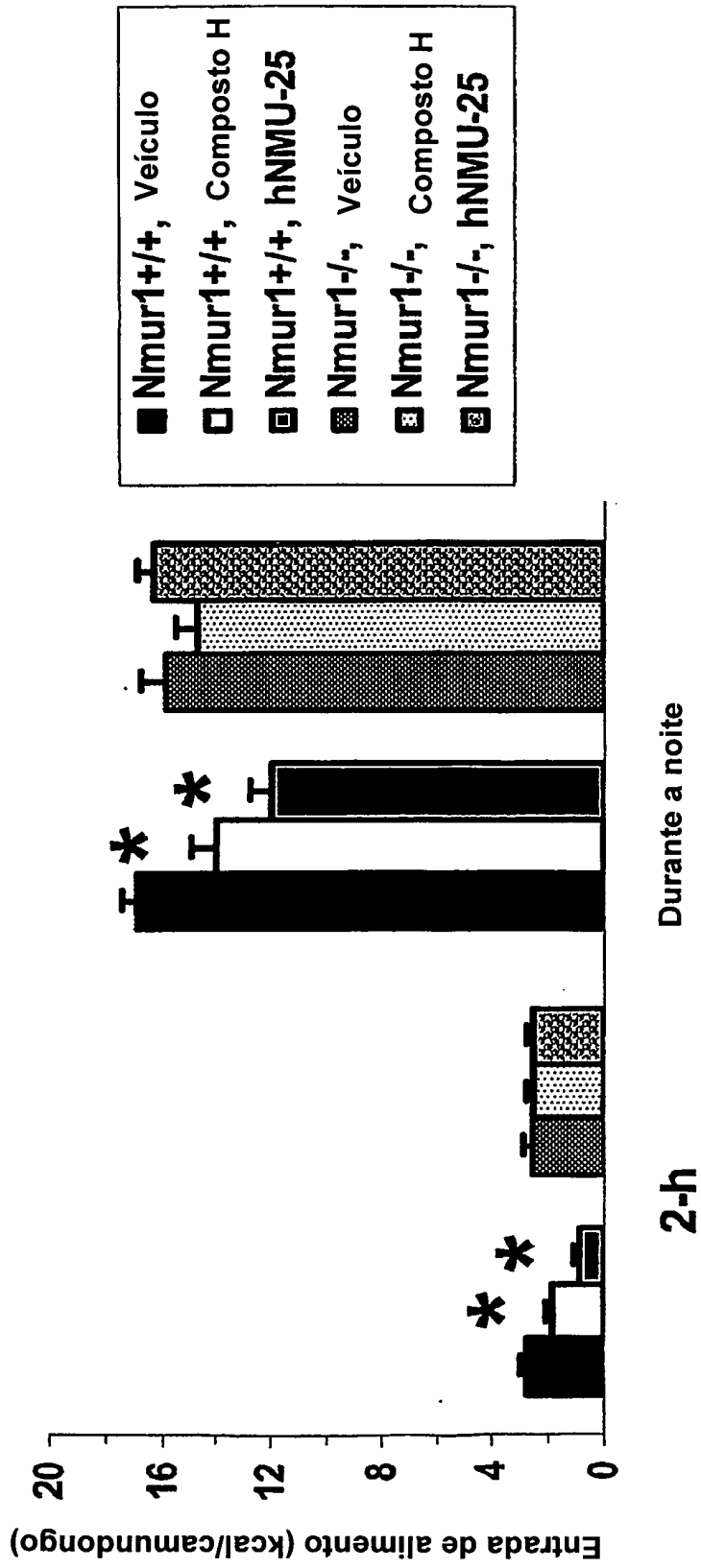


Figura 1A

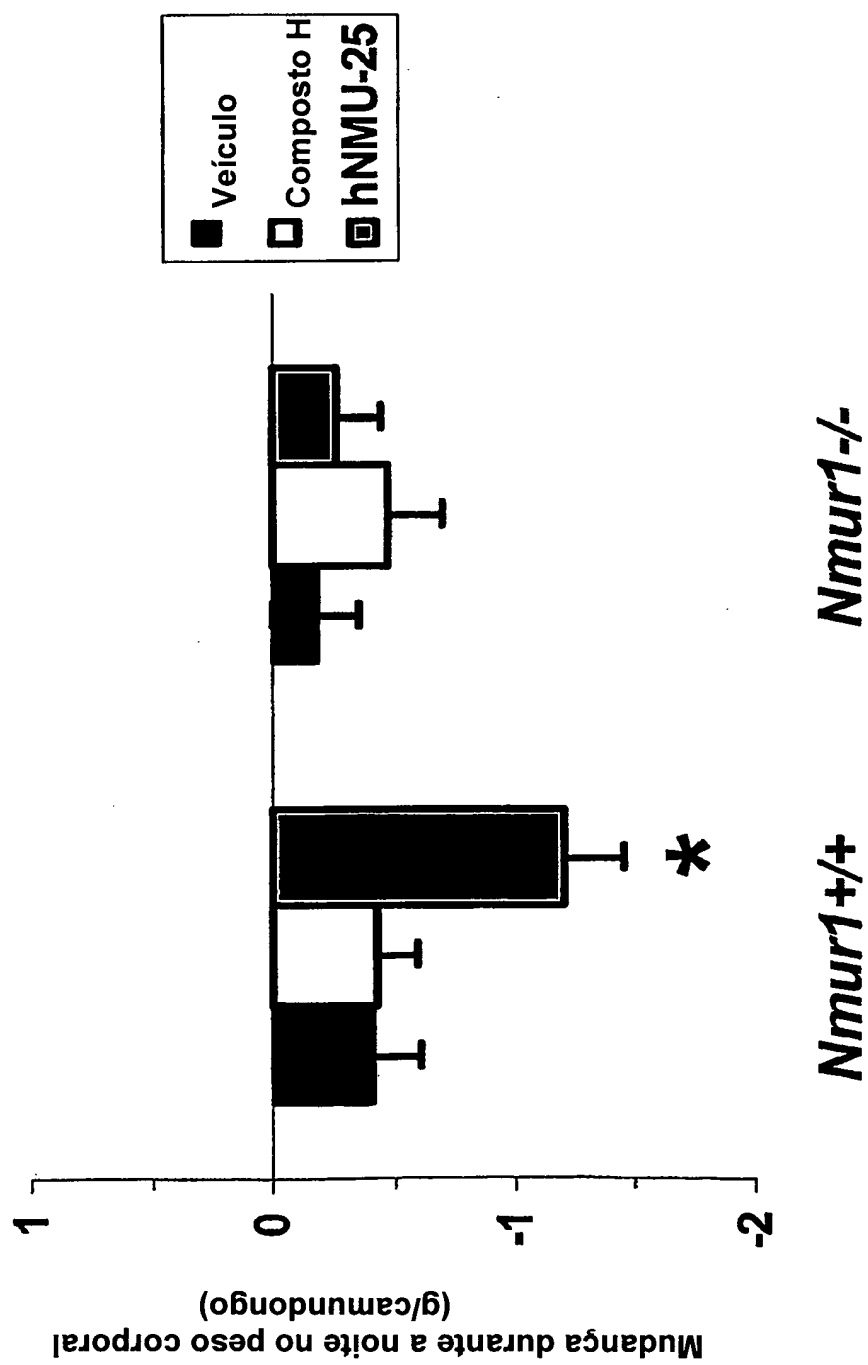


Figura 1B

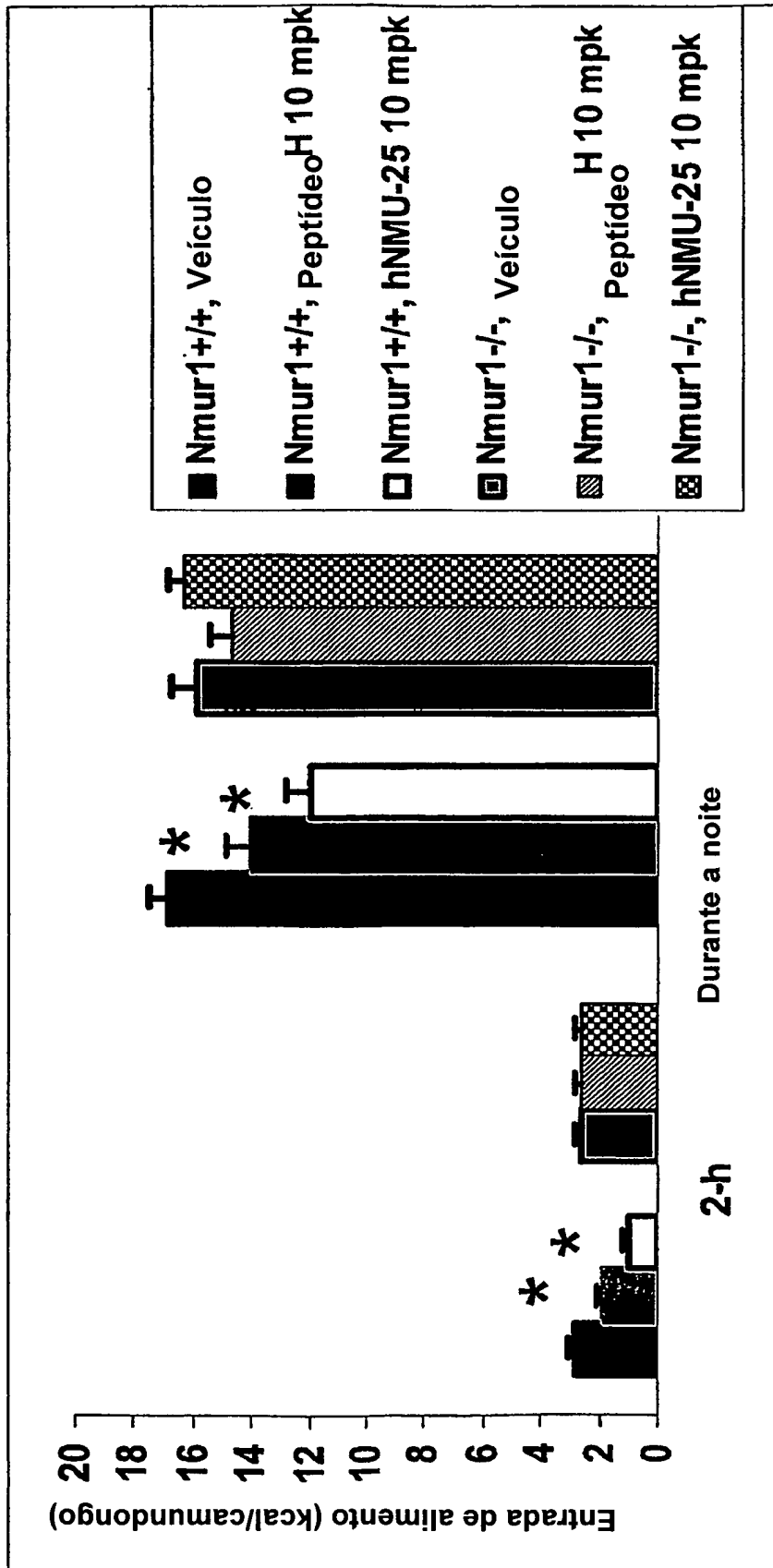


Figura 2A

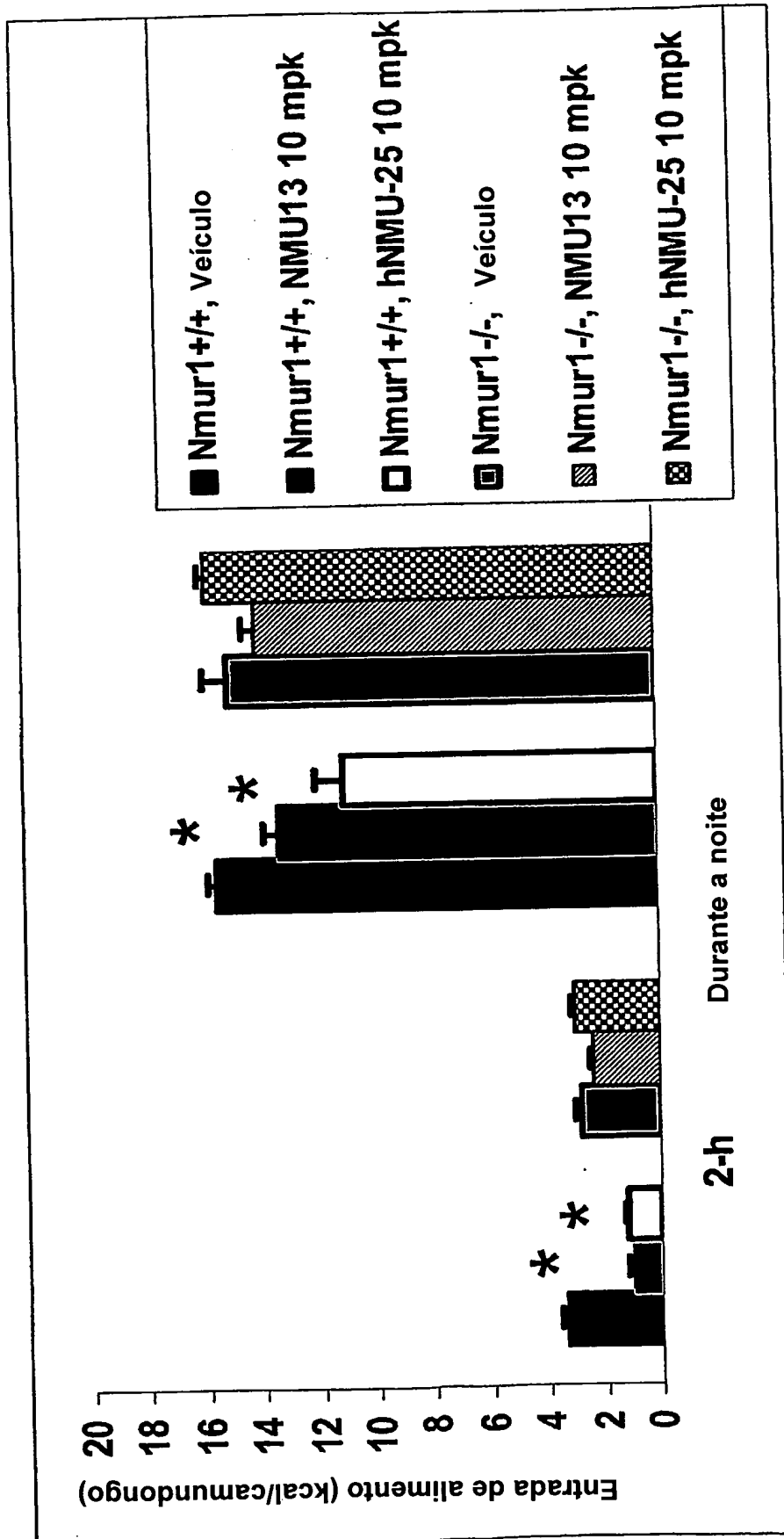


Figura 2B

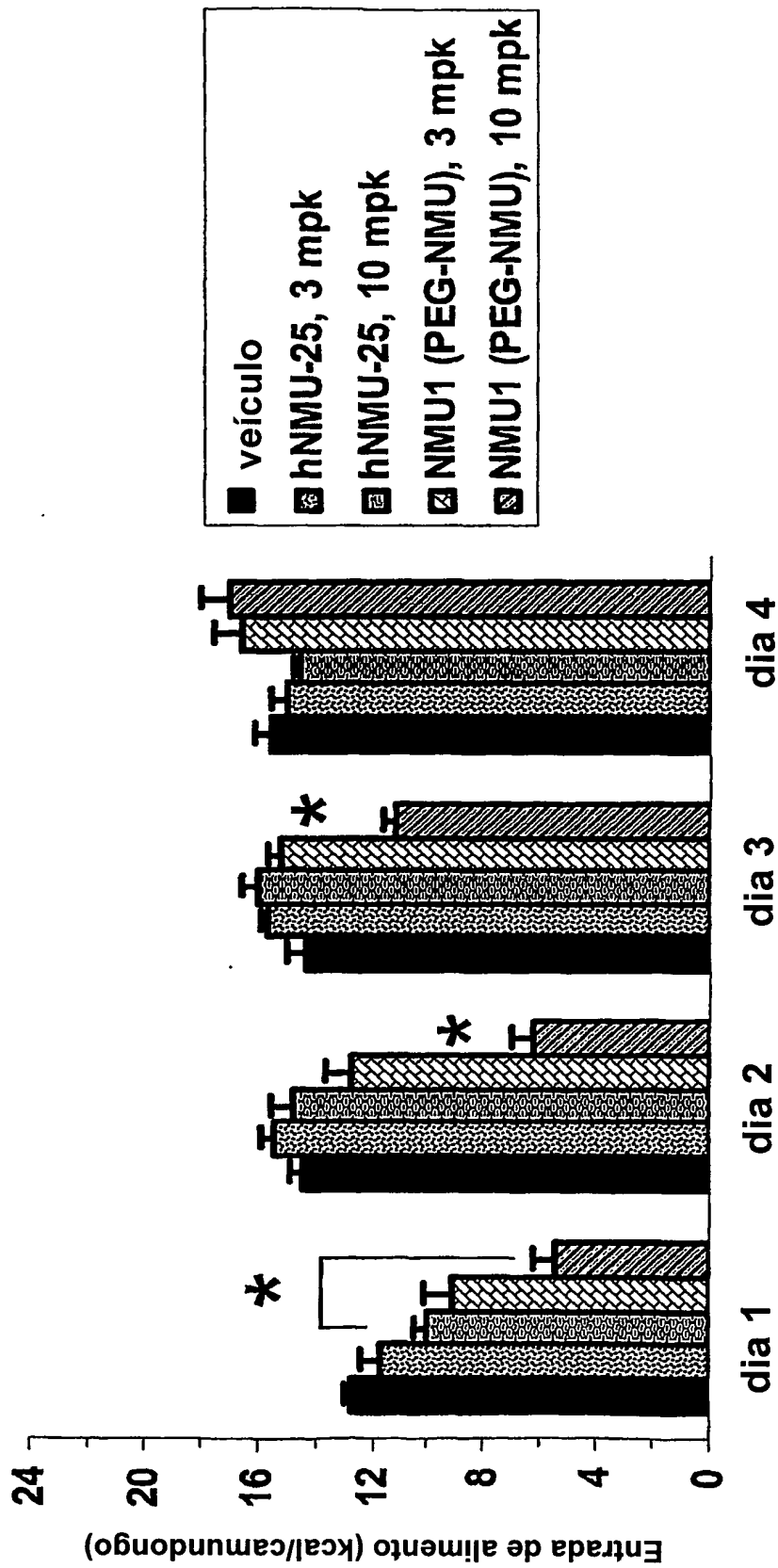


Figura 3A



Figura 3B

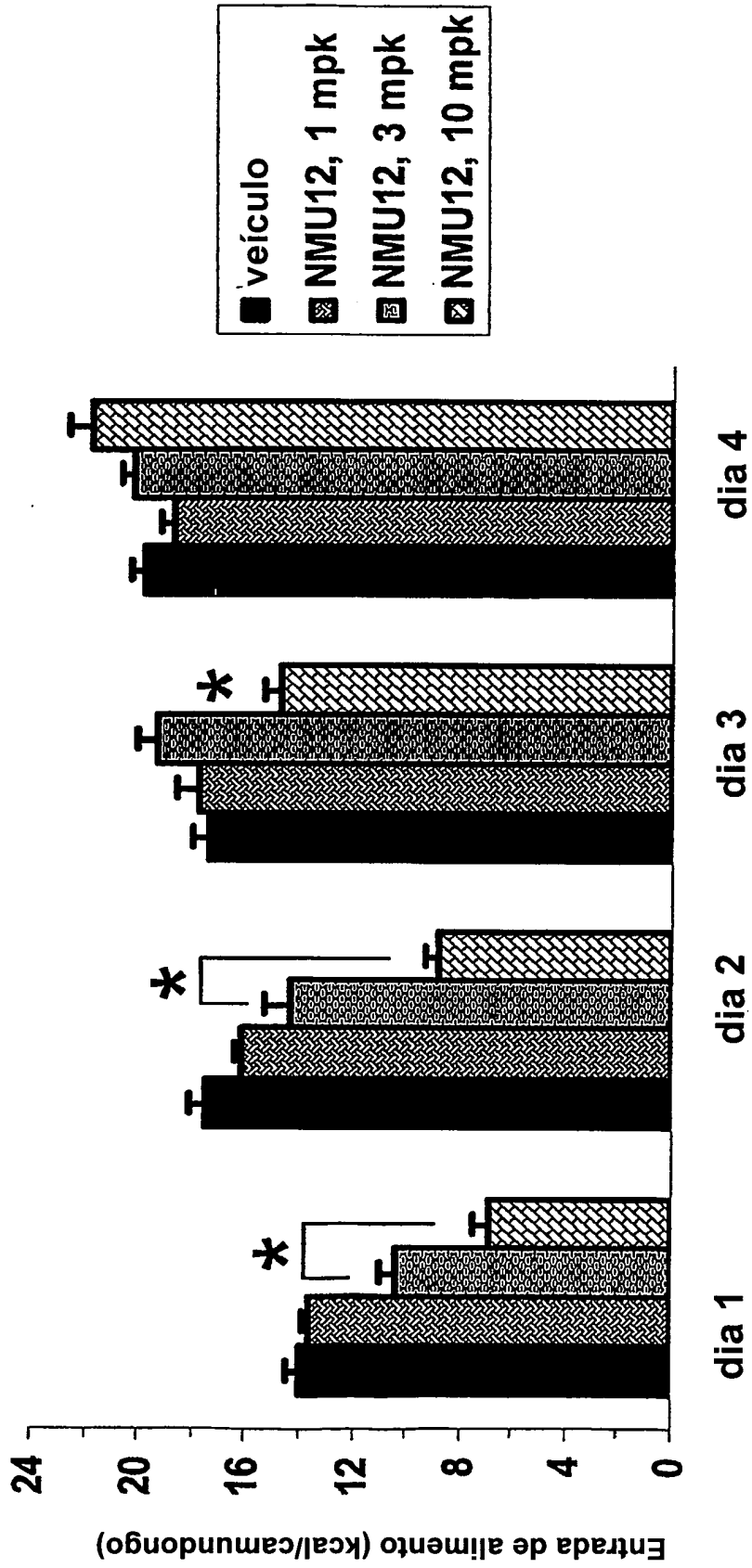


Figura 4A

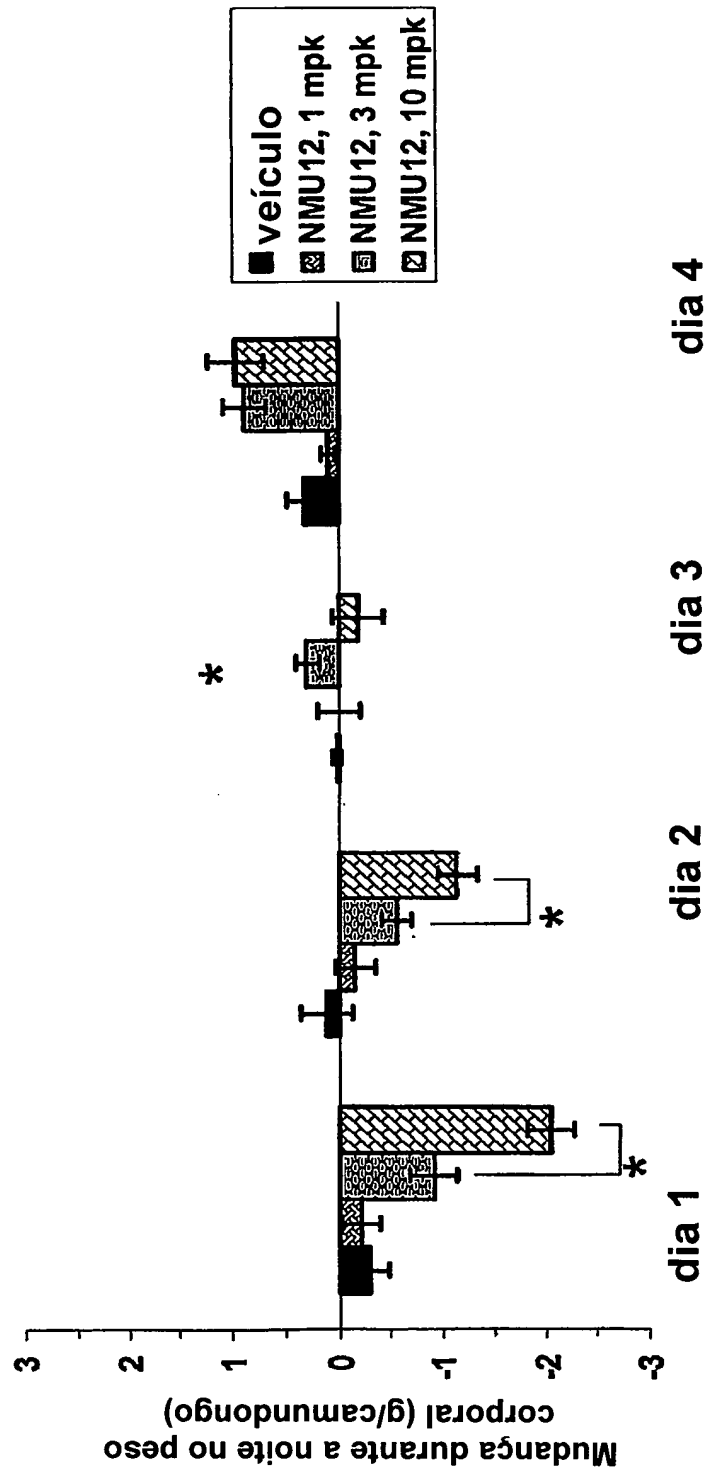


Figura 4B

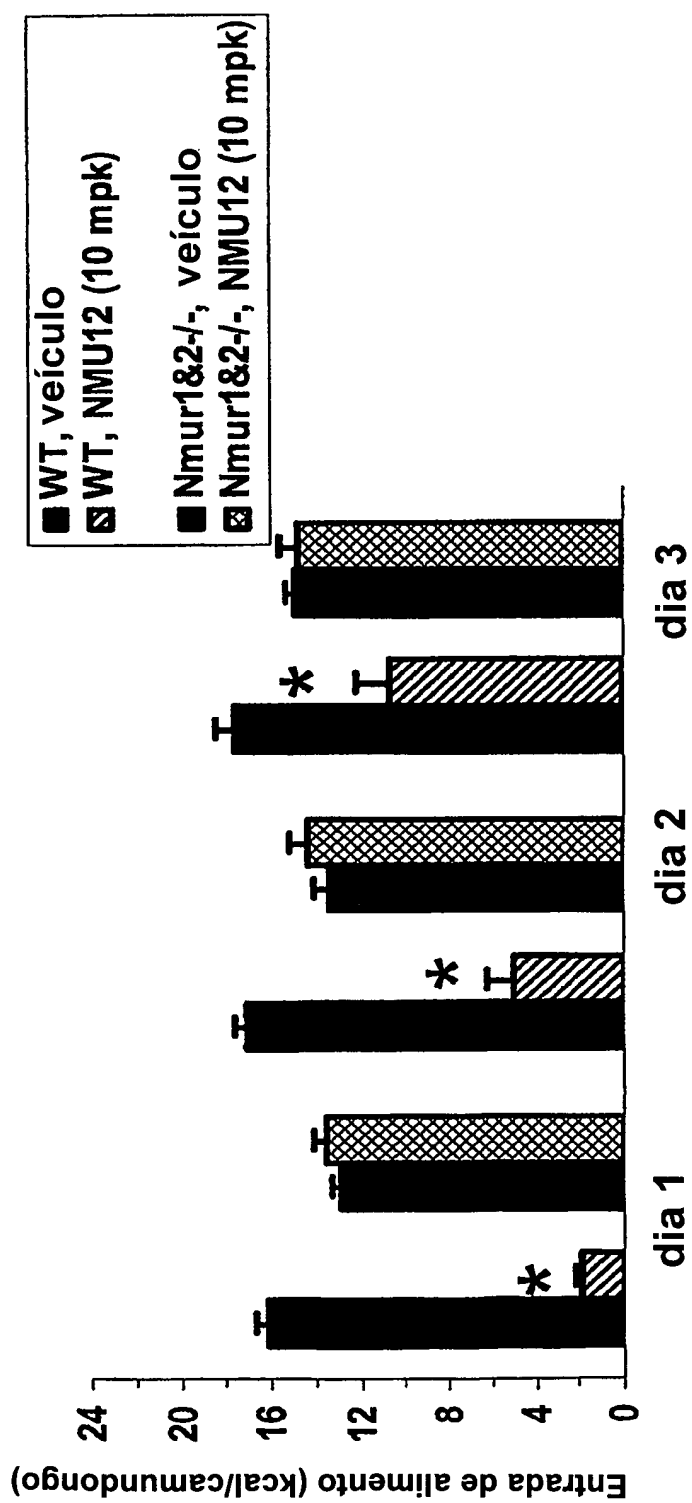


Figura 5A

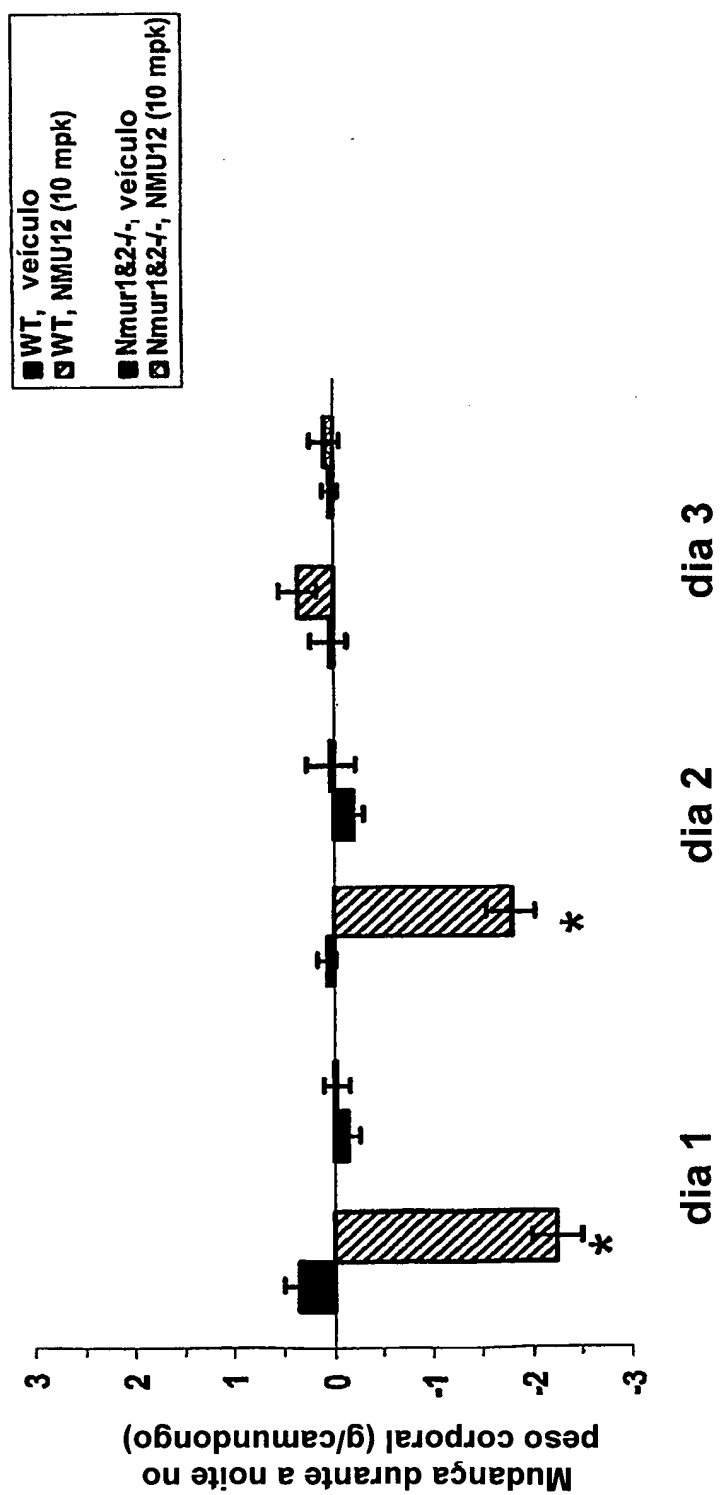


Figura 5B

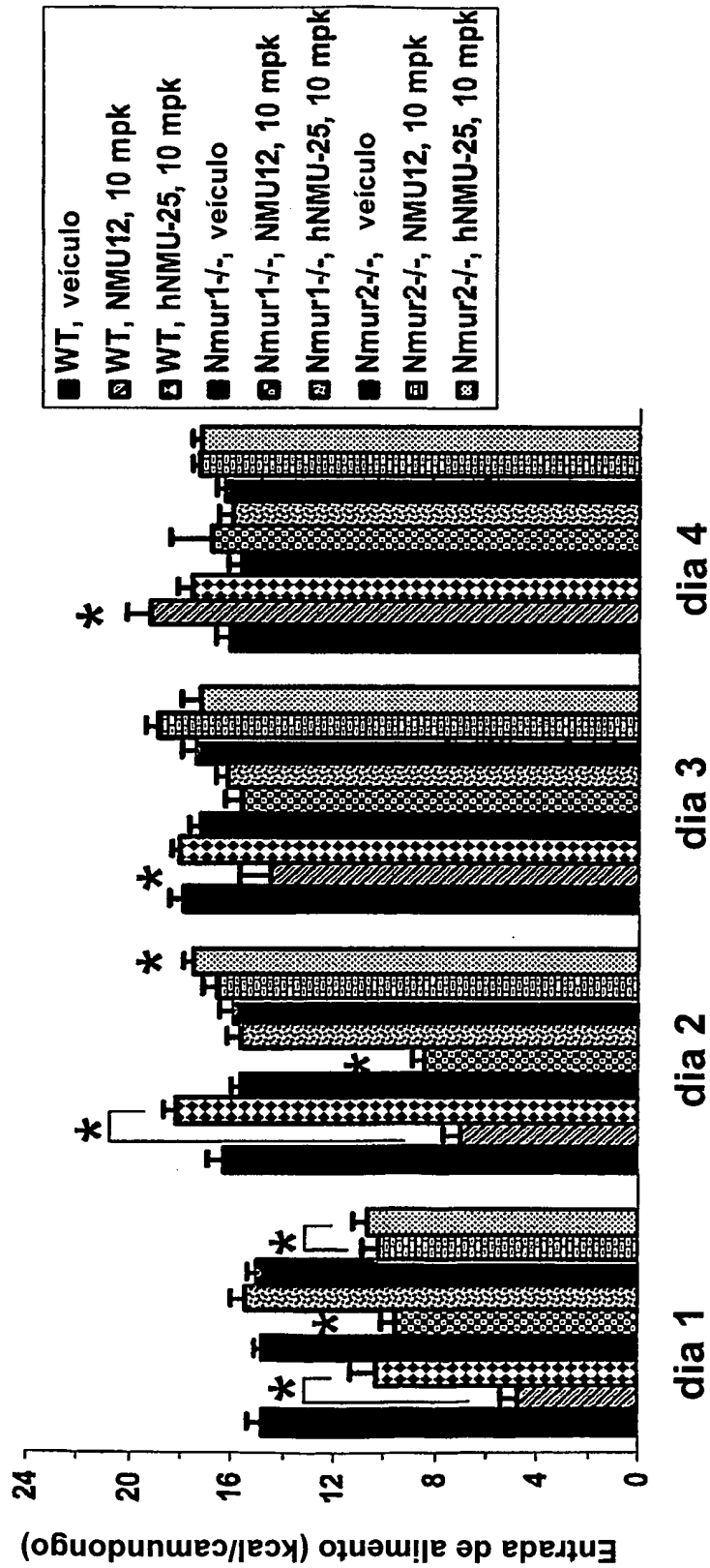


Figura 6A

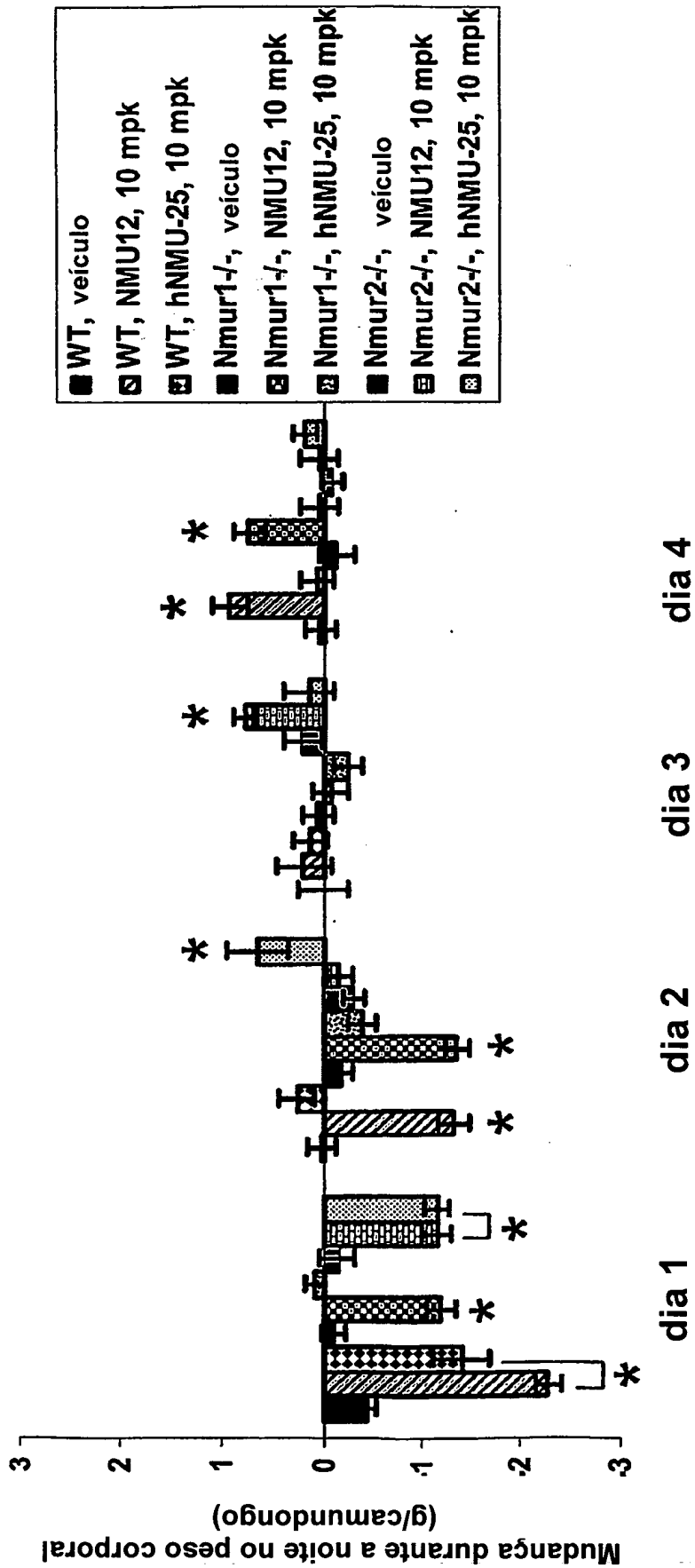


Figura 6B

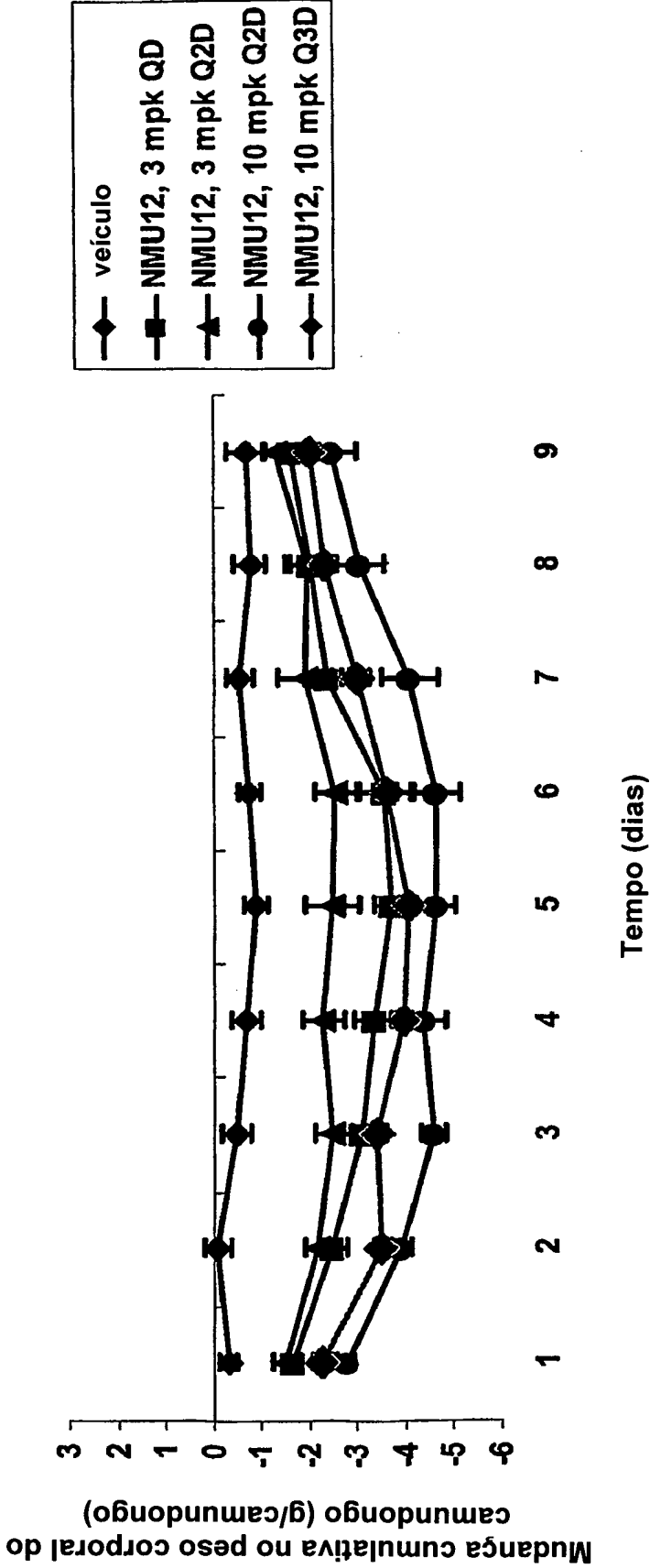


Figura 7A

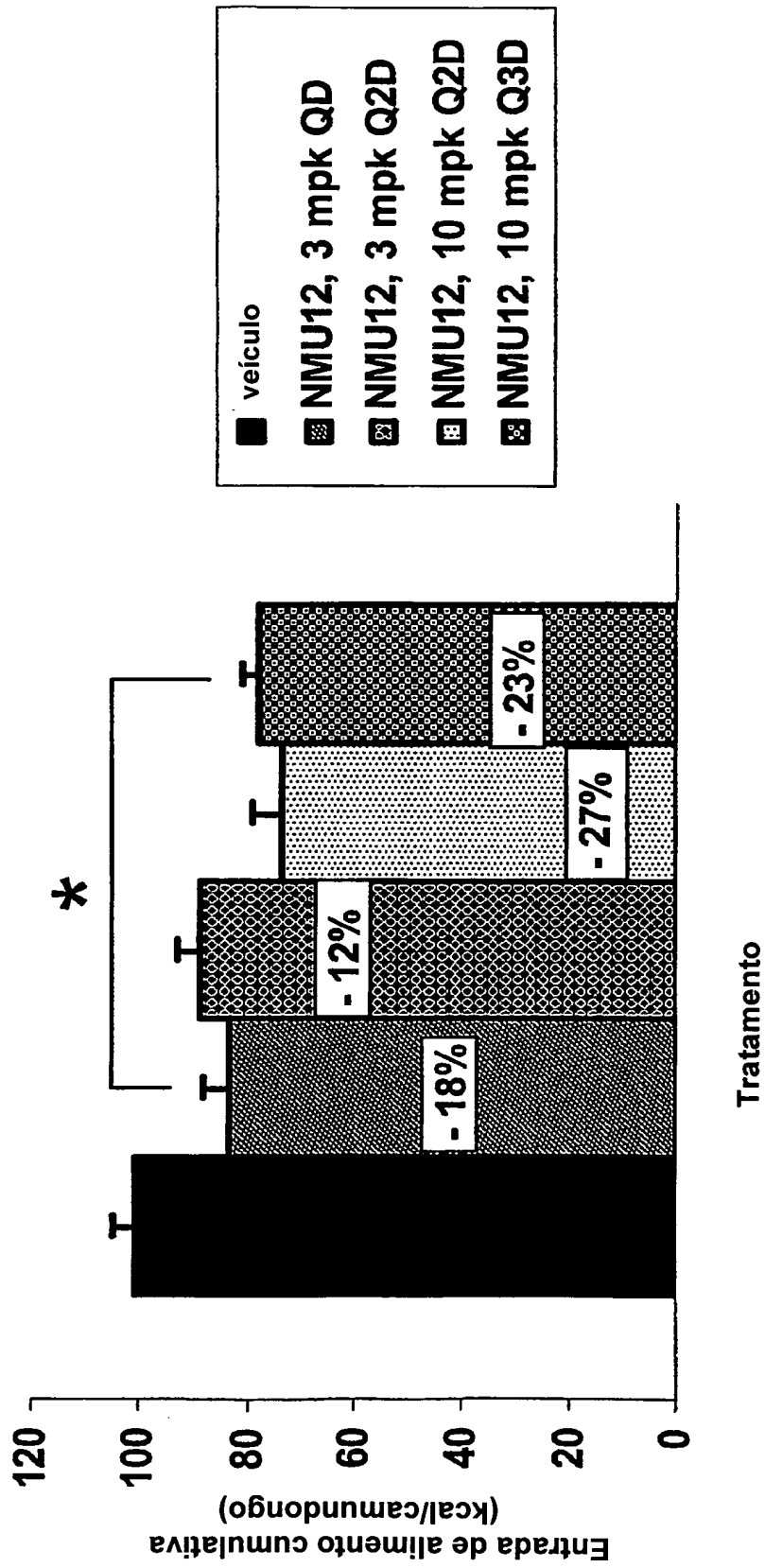


Figura 7B

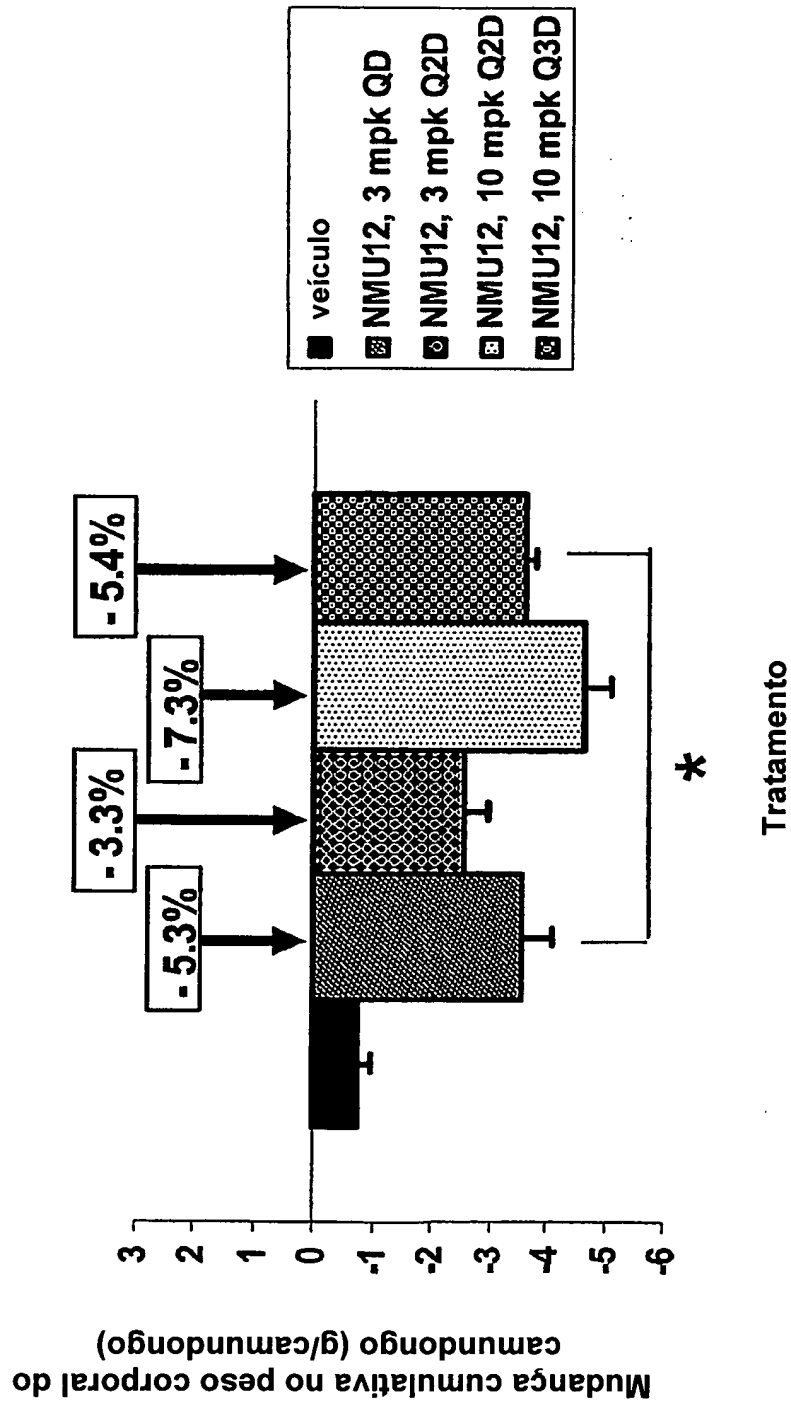


Figura 7C

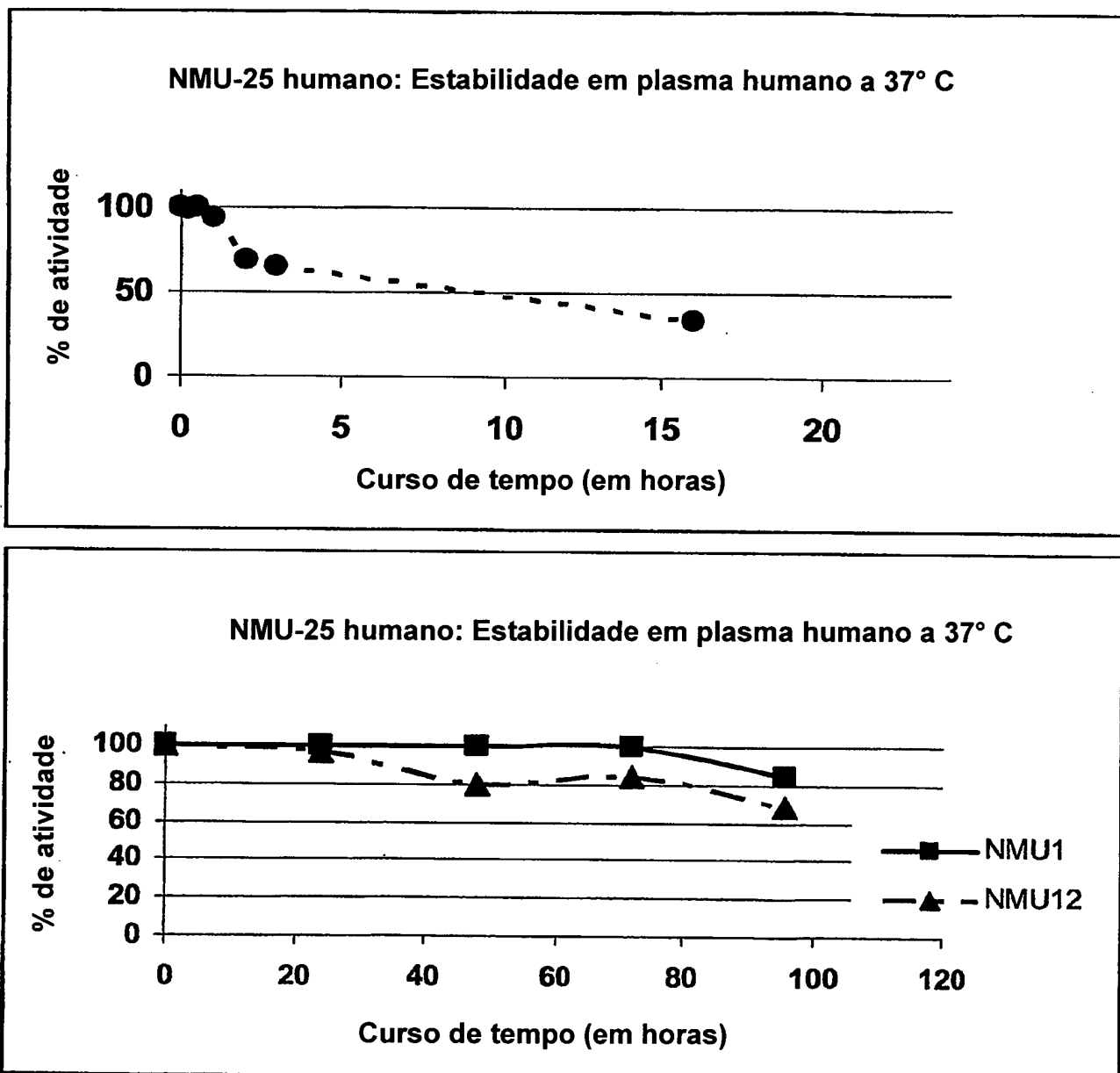
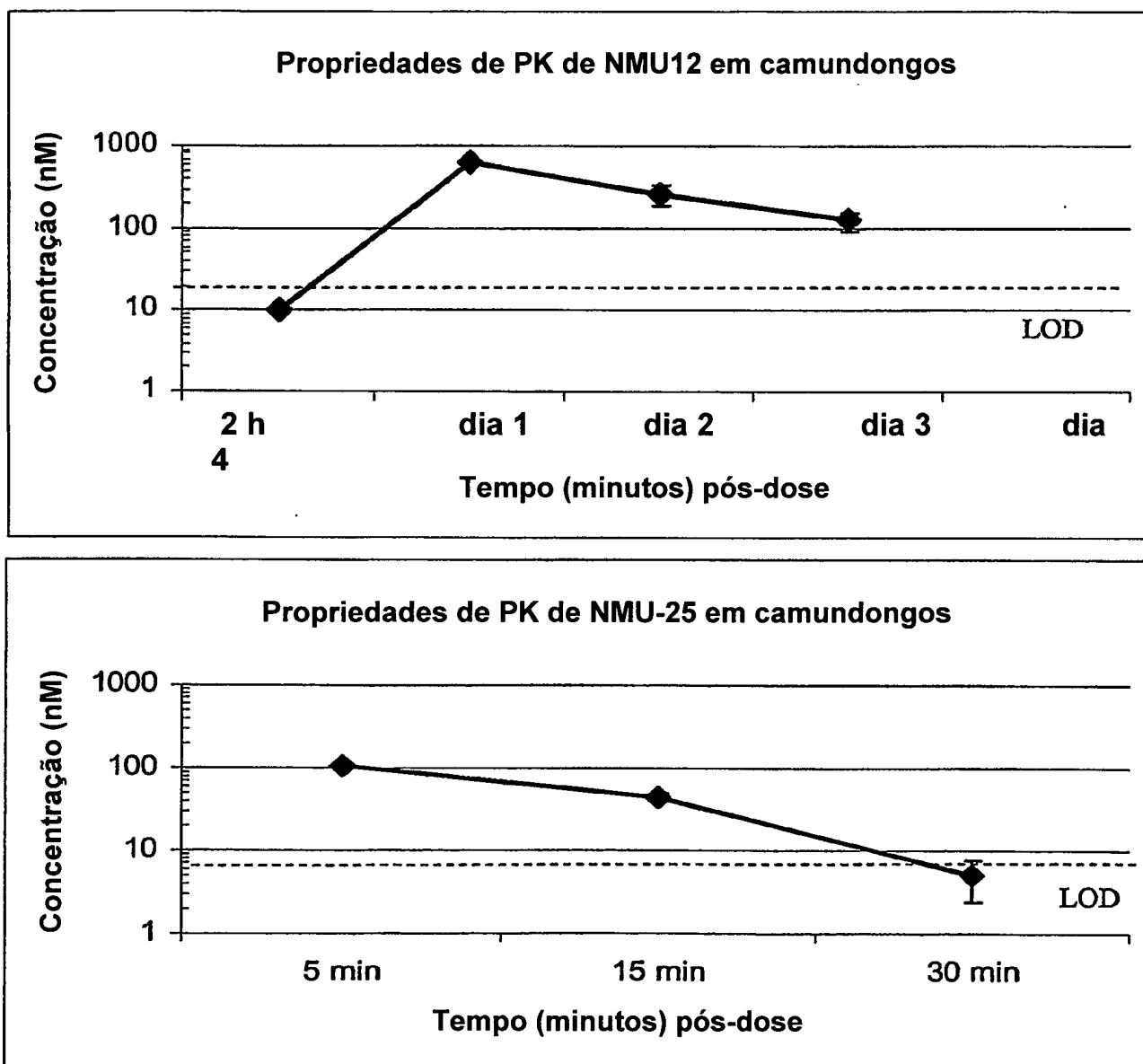


Figura 8

**Figura 9**

RESUMO

“AGONISTA DO RECEPTOR DE NEUROMIDINA U, MÉTODOS PARA
A PRODUÇÃO DE UM AGONISTA DO RECEPTOR DE NEUROMIDINA
U E PARA O TRATAMENTO DE UM DISTÚRBIO METABÓLICO EM
5 UM INDIVÍDUO, USO DO AGONISTA DO RECEPTOR DE
NEUROMEDINA U, E, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA”

Agonistas do receptor de neuromedina U para o uso no
tratamento de distúrbios metabólicos, tais como obesidade e diabetes são
divulgados.