



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105037502 A

(43) 申请公布日 2015. 11. 11

(21) 申请号 201510295826. X

A61P 3/04(2006. 01)

(22) 申请日 2010. 06. 07

A61P 3/00(2006. 01)

(30) 优先权数据

61/184, 929 2009. 06. 08 US

(62) 分案原申请数据

201080024349. 9 2010. 06. 07

(71) 申请人 帕拉丁科技公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 施亦群 舒布赫·D·夏尔马

约翰·H·多德 杨炜 新·陈

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理

有限公司 11262

代理人 王思琪 郑霞

(51) Int. Cl.

C07K 7/56(2006. 01)

C07K 7/60(2006. 01)

A61K 38/12(2006. 01)

权利要求书2页 说明书97页

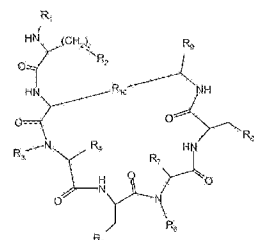
序列表2页

(54) 发明名称

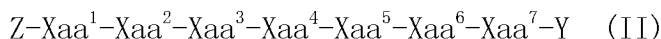
黑皮质素受体特异性肽

(57) 摘要

下式的黑皮质素受体特异性环肽, 其中  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_7$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{10}$  和  $z$  在说明书中被定义, 包括前式的肽的组合物和制剂, 以及预防、改善或治疗黑皮质素受体介导的疾病、适应症、病症和综合征的方法。



1. 一种式 (II) 的环七肽



或其药学上可接受的盐, 其中:

Z 是 H 或 N 端基团;

Xaa<sup>1</sup>是具有侧链的氨基酸, 所述侧链包括至少一个伯胺、胍或脲基团;

Xaa<sup>2</sup>和 Xaa<sup>7</sup>是氨基酸, 其中它们的侧链形成含内酰胺的环桥;

Xaa<sup>3</sup>是 Pro, 任选地被羟基、卤素、氨磺酰、烷基、-O-烷基、芳基、烷基-芳基、烷基-O-芳基、烷基-O-烷基-芳基或 -O-芳基取代, 或 Xaa<sup>3</sup>是具有侧链的氨基酸, 该侧链包括至少一个伯胺、仲胺、烷基、环烷基、环杂烷基、芳基、杂芳基、醚、硫化物或羧基;

Xaa<sup>4</sup>是具有侧链的氨基酸, 该侧链包括未取代的苯基或萘基;

Xaa<sup>5</sup>是 Pro, 或 Xaa<sup>5</sup>是具有侧链的氨基酸, 该侧链包括至少一个伯胺、仲胺、胍、脲、烷基、环烷基、环杂烷基、芳基、杂芳基或醚;

Xaa<sup>6</sup>是具有侧链的氨基酸, 该侧链包括至少一个任选地被一个或多个环的取代基取代的芳基或杂芳基, 并且当一个或多个环的取代基存在时, 该一个或多个环的取代基是相同或不同的, 且独立地是羟基、卤素、氨磺酰、烷基、-O-烷基、芳基、或 -O-芳基; 且

Y 是 C 端基团;

但是排除如下环肽: 其中 Z 是 Ac, Xaa<sup>1</sup>是 Arg, Xaa<sup>2</sup>和 Xaa<sup>7</sup>一起是 Glu...Orn, Orn...Glu, 或 Asp...Lys, Xaa<sup>3</sup>是 Pro 或 Ser(Bzl), Xaa<sup>4</sup>是 D-Phe, Xaa<sup>5</sup>是 Arg, Xaa<sup>6</sup>是 Trp, 且 Y 是 -OH 或 -NH<sub>2</sub>。

2. 如权利要求 1 所述的环七肽, 其中 Xaa<sup>1</sup>是 Dap、Dab、Orn、Lys、Cit 或 Arg。

3. 如权利要求 1 所述的环七肽, 其中 Xaa<sup>4</sup>是 D-Phe。

4. 如权利要求 1 所述的环七肽, 其中 Xaa<sup>2</sup>和 Xaa<sup>7</sup>中的一个为 Asp、hGlu 或 Glu, 且 Xaa<sup>2</sup>和 Xaa<sup>7</sup>中的另一个为 Lys、Orn、Dab 或 Dap。

5. 如权利要求 1 所述的环七肽, 其中所述 N 端基团是 C<sub>1</sub>到 C<sub>7</sub>酰基基团, 直链或支链的 C<sub>1</sub>到 C<sub>17</sub>烷基、芳基、杂芳基、烯、烯基或芳烷基的链, 或 N 酰化的直链或支链的 C<sub>1</sub>到 C<sub>17</sub>烷基、芳基、杂芳基、烯、烯基或芳烷基的链。

6. 如权利要求 1 所述的环七肽, 其中所述 C 端基团是羟基, 酰胺, 或被下列中的一个或两个取代的酰胺: 直链或支链的 C<sub>1</sub>到 C<sub>17</sub>烷基、环烷基、芳基、烷基环烷基、芳烷基、杂芳基、烯、烯基或芳烷基的链。

7. 如权利要求 1 所述的环七肽, 其中:

Z 是 H 或乙酰基 -C(=O)-CH<sub>3</sub>;

Xaa<sup>1</sup>是 Arg;

Xaa<sup>2</sup>和 Xaa<sup>7</sup>选自由 Asp 和 Lys、Glu 和 Orn 及 hGlu 和 Dab 组成的对;

Xaa<sup>3</sup>是 Asn;

Xaa<sup>4</sup>是 D-Phe;

Xaa<sup>5</sup>是 Arg;

Xaa<sup>6</sup>是 Trp 或 NaI 2; 并且

Y 是 -OH 或 -NH<sub>2</sub>。

8. 如权利要求 1 所述的环七肽, 其中:

Z 是 H 或 C<sub>1</sub> 到 C<sub>7</sub> 酰基；

Xaa<sup>1</sup> 是 Arg 或 D-Arg；

Xaa<sup>2</sup> 和 Xaa<sup>7</sup> 选自由 Asp 和 Lys、Glu 和 Orn、hGlu 和 Dab 及 Glu 和 Dab 组成的对；

Xaa<sup>3</sup> 是 Gln 或 Asn；

Xaa<sup>4</sup> 是 D-Phe；

Xaa<sup>5</sup> 是 Arg；

Xaa<sup>6</sup> 是 Trp 或 Nal<sub>2</sub>；并且

Y 是 -OH 或 -NH<sub>2</sub>。

9. 如权利要求 1 所述的环七肽，其中：

Z 是 H 或 C<sub>1</sub> 到 C<sub>7</sub> 酰基；

Xaa<sup>1</sup> 是 Arg 或 D-Arg；

Xaa<sup>2</sup> 和 Xaa<sup>7</sup> 选自由 Asp 和 Lys、Glu 和 Orn、hGlu 和 Dab 及 Glu 和 Dab 组成的对；

Xaa<sup>3</sup> 是 His；

Xaa<sup>4</sup> 是 D-Phe；

Xaa<sup>5</sup> 是 Arg；

Xaa<sup>6</sup> 是 Trp 或 Nal<sub>2</sub>；并且

Y 是 -OH 或 -NH<sub>2</sub>。

10. 如权利要求 1 所述的环七肽，其中：

Z 是 H 或 C<sub>1</sub> 到 C<sub>7</sub> 酰基；

Xaa<sup>1</sup> 是 Arg、D-Arg、Lys、D-Lys、Orn 或 Cit；

Xaa<sup>2</sup> 和 Xaa<sup>7</sup> 选自由 Asp 和 Lys、Glu 和 Orn、hGlu 和 Dab 及 Glu 和 Dab 组成的对；

Xaa<sup>3</sup> 是 Ser、Ala、Phe、Phe(2-C(=O)-NH<sub>2</sub>)、Phe(3-C(=O)-NH<sub>2</sub>)、Phe(4-C(=O)-NH<sub>2</sub>)、Tyr、Leu、Nle、Thr、Thr(Bzl)、Hyp(Bzl)、Val、Aic、Pro(4R-Bzl)、Pro(4R-NH<sub>2</sub>)、Pro(4R-2-Cl-Bzl)、Pro(4R-3-Cl-Bzl)、Pro(4R-4-Cl-Bzl)、Arg、Ile、Trp、Ala、Lys、Orn、Orn(乙酰基)、Dap、Dap(β Pro)、Dab、Dab(乙酰基)、Sar、Met(O<sub>2</sub>)、Met(=O)、Hyp 或 Cit；

Xaa<sup>4</sup> 是 D-Phe、D-(α-Me)Phe、D-Nal<sub>1</sub> 或 D-Nal<sub>2</sub>；

Xaa<sup>5</sup> 是 Arg、Lys 或 Cit；

Xaa<sup>6</sup> 是 Trp、D-Trp、Nal<sub>2</sub> 或 D-Nal<sub>2</sub>；并且

Y 是 -OH、-NH<sub>2</sub> 或 NH- 直链或支链的 C<sub>1</sub> 到 C<sub>17</sub> 烷基、环烷基或烷基环烷基。

11. 如权利要求 10 所述的环七肽，其中 Z 是选自由环己酰基、环戊基乙酰基、环己基乙酰基和苯基乙酰基组成的组的 C<sub>1</sub> 到 C<sub>7</sub> 酰基。

12. 一种药物组合物，所述药物组合物包含权利要求 1 所述的环七肽和药学上可接受的载体。

13. 一种用于在人或非人哺乳动物中治疗黑皮质素受体介导的疾病、适应症、病症或综合征的方法，所述方法包括施用权利要求 12 所述的药物组合物的步骤。

14. 一种用于在人或非人哺乳动物中治疗响应于黑皮质素受体功能改变的病症的方法，所述方法包括施用权利要求 12 所述的药物组合物的步骤。

15. 如权利要求 1 所述的环七肽，所述环七肽是乙酸盐。

16. 如权利要求 1 所述的环七肽，所述环七肽是三氟乙酸盐。

## 黑皮质素受体特异性肽

[0001] 本申请是申请号为“201080024349.9”，申请日为“2010年6月7日”，发明名称为“黑皮质素受体特异性肽”的申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求2009年6月8日提交的题目为“Melanocortin Receptor-Specific Peptides(黑皮质素受体特异性肽)”的美国临时专利申请系列第61/184,929号的提交的优先权和权益，并且该专利申请的说明书及其权利要求书通过引用并入本文。

[0004] 发明背景

[0005] 发明领域(技术领域)：

[0006] 本发明涉及可用于治疗黑皮质素受体介导的疾病、适应症、病症和综合征的黑皮质素受体特异性环肽。

[0007] 相关技术描述：

[0008] 下面的讨论按作者和公布年份提到了大量出版物，并且由于公布日期接近，某些出版物不被认为是关于本发明的现有技术。本文的这些出版物的讨论是为了使背景更完整而给出的，并且不得将其解释为承认这些出版物是用于确定专利性的目的的现有技术。

[0009] 已经鉴定了一个黑皮质素受体类型和亚型家族，包括在正常人黑色素细胞和黑素瘤细胞上表达的黑皮质素-1受体(MC1-R)、在肾上腺细胞中表达的ACTH(促皮质素)的黑皮质素-2受体(MC2-R)、主要在下丘脑、中脑和脑干的细胞中表达的黑皮质素-3和黑皮质素-4受体(MC3-R和MC4-R)以及在广泛分布的外周组织中表达的黑皮质素-5受体(MC5-R)。已表明MC1-R与头发和皮肤的色素沉着以及炎症有关，据信MC2-R介导类固醇合成，已表明MC3-R与能量稳态、食物摄入和炎症有关，据信MC4-R控制摄食行为、能量稳态和性功能(例如，勃起功能)，并且已表明MC5-R参与外分泌腺系统。

[0010] 已经进行了大量工作来确定黑皮质素受体的结构，包括编码该受体的核酸序列和构成该受体的氨基酸序列二者。MC4-R是G蛋白偶联的7-跨膜受体，据信它主要在脑中表达。

[0011] 已显示MC4-R失活导致肥胖(Hadley, 1999, Ann N Y Acad Sci, 885:1-21)。野灰蛋白相关蛋白(AgRP)是一种内源性化合物，其已显示为MC拮抗剂或对MC4-R的反向激动剂。据信 $\alpha$ -促黑激素( $\alpha$ -MSH)是主要的内源性MC4-R激动剂。

[0012] 位于外周的MC4-R受体也表明参与能量稳态的控制，并且MC4-R在迷走神经中的信号传导作用及其与治疗肥胖和糖尿病的相关性被Gautron等人, The Journal of Comparative Neurology, 518:6-24(2010)讨论。

[0013] 据信MC4-R特异性的肽以及其次的MC3-R特异性的肽可用于调节哺乳动物能量稳态，包括用作减少食物摄入和体重增加的剂。据信MC4-R激动剂肽可用于治疗包括雄性勃起功能障碍的性功能障碍，并用于减少食物摄入和体重增加，诸如用于治疗肥胖。这种肽还可用于减少自主的乙醇消耗、治疗药瘾以及类似作用。MC4-R激动剂肽以及MC3-R激动剂肽还可用于治疗循环休克、局部缺血、失血性休克、炎症疾病和相关疾病、适应症、病症和综合征。相反，据信MC4-R拮抗剂肽可用于帮助体重增加，诸如用于治疗

恶病质、肌肉衰减综合征 (sarcopenia)、消耗综合征 (wasting syndrome) 或疾病,以及食欲缺乏。这种肽还可用于治疗抑郁和相关疾患。(Wikberg 等人, Nature Reviews, Drug Discovery, 7, 307, (2008); Adan 等人, British J. Pharm., 149, 815-827 (2006); Nogueiras 等人, J. Clin. Invest, 117(11):3475-3488 (2007); Maaser 等人, Ann. N. Y. Acad. Sci., 1072, 123-134 (2006); Giuliani 等人, British J. Pharm., 150, 595-603 (2007); Balbani, Expert Opin. Ther. Patents, 17(3), 287-297 (2007); 和 Navarro 等人, Alcohol. Clin. Exp. Res., 29(6), 949-957 (2005))。

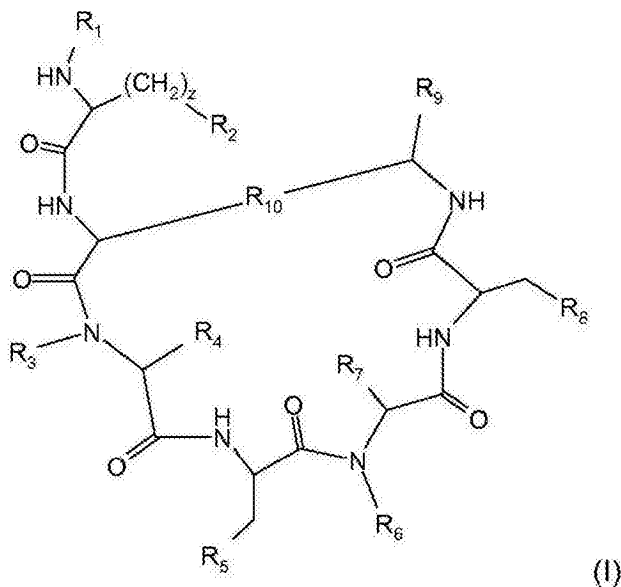
[0014] 黑皮质素受体特异性环肽包括环状  $\alpha$ -促黑激素 (“ $\alpha$ -MSH”) 类似物肽, 例如 Ac-Nle-环(-Asp-His-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub> (参见美国专利第 5,674,839 号和第 5,576,290 号) 和 Ac-Nle-环(-Asp-His-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-OH (参见美国专利第 6,579,968 号和第 6,794,489 号)。这些和其他黑皮质素受体特异性肽一般含有天然  $\alpha$ -MSH 的中心四肽序列, His<sup>6</sup>-Phe<sup>7</sup>-Arg<sup>8</sup>-Trp<sup>9</sup> (SEQ ID NO:1), 或其模拟物或变体, 诸如用 D-Phe 取代 Phe<sup>7</sup>。被确定对一种或多种黑皮质素受体具有特异性的其他肽或肽样化合物公开于美国专利第 5,731,408 号、第 6,054,556 号、第 6,350,430 号、第 6,476,187 号、第 6,600,015 号、第 6,613,874 号、第 6,693,165 号、第 6,699,873 号、第 6,887,846 号、第 6,951,916 号、第 7,008,925 号、第 7,176,279 号和第 7,517,854 中; 美国公开的专利申请公开第 2001/0056179 号、第 2002/0143141 号、第 2003/0064921 号、第 2003/0105024 号、第 2003/0212002 号、第 2004/0023859 号、第 2005/0130901 号、第 2005/0187164 号、第 2005/0239711 号、第 2006/0105951 号、第 2006/0111281 号、第 2006/0293223 号、第 2007/0027091 号、第 2007/0105759 号、第 2007/0123453 号、第 2007/0244054 号、第 2008/0004213 号、第 2008/0039387 号和第 2008/0305152 号中; 以及国际专利申请第 WO 98/27113 号、第 WO 99/21571 号、第 WO 00/05263 号、第 WO 99/54358 号、第 WO 00/35952 号、第 WO 00/58361 号、第 WO 01/30808 号、第 WO 01/52880 号、第 WO 01/74844 号、第 WO 01/85930 号、第 WO 01/90140 号、第 WO 02/18437 号、第 WO 02/26774 号、第 WO 03/006604 号、第 WO 2004/046166 号、第 WO 2004/099246 号、第 WO 2005/000338 号、第 WO 2005/000339 号、第 WO 2005/000877 号、第 WO 2005/030797 号、第 WO 2005/060985 号、第 WO 2006/012667 号、第 WO 2006/048449 号、第 WO 2006/048450 号、第 WO 2006/048451 号、第 WO 2006/048452 号、第 WO 2006/097526 号、第 WO 2007/008684 号、第 WO 2007/008704 号、第 WO 2007/009894 号、第 WO 2008/025094 号和第 WO 2009/061411 号中。在所述文献中公开的黑皮质素受体特异性环肽的环化通常通过由 Asp (天冬氨酸) 和 Lys (赖氨酸) 的侧链形成的内酰胺桥, 或可选择地通过由两个 Cys (半胱氨酸) 或其他含反应性硫醇的残基的侧链形成的二硫桥。

[0015] 尽管科学文献中的大量文章以及大量专利申请和授权专利证明了对黑皮质素受体特异性肽的强烈的科学关注和药学关注, 但是还没有黑皮质素受体特异性肽被批准为用于任何治疗性适应症的药物。事实上, 还没有对用于任何治疗性适应症的任何黑皮质素受体特异性肽已发展到通过 II 期临床试验的报告。仍存在对用于药学应用的黑皮质素受体特异性肽的显著的和大量的需要。本发明是在这种背景下进行的。

[0016] 发明简述

[0017] 在一个方面, 本发明涉及结构式 (I) 的环肽:

[0018]



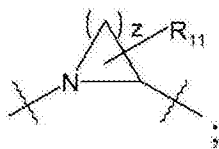
[0019] 包括其所有的对映异构体、立体异构体或非对映异构体,或任一种前述物质的药学上可接受的盐,

[0020] 其中:

[0021]  $R_1$ 是H-或 $C_1$ 到 $C_7$ 酰基,其中 $C_1$ 到 $C_7$ 包括直链或支链的烷基或环烷基或直链烷基和环烷基二者;

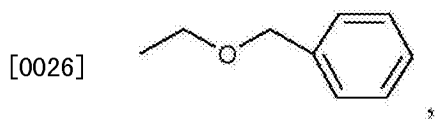
[0022]  $R_2$ 是 $-N(R_{15a})(R_{15b})$ 、 $-NH-(CH_2)_z-N(R_{15a})(R_{15b})$ 、 $NH-C(=NH)-N(R_{15a})(R_{15b})$ 、 $C(=O)-N(R_{15a})(R_{15b})$ 或 $NH-C(=O)-N(R_{15a})(R_{15b})$ ;

[0023]  $R_3$ 是H-、 $-CH_3$ 或 $-CH_2-$ ,并且如果 $R_3$ 是 $-CH_2-$ ,则与 $R_4$ 形成以下通用结构的环:



[0024]  $R_4$ 是H-,如果 $R_3$ 是 $-CH_2-$ ,则 $R_4$ 是 $-(CH_2)_z-$ ,并且如果 $R_4$ 是 $-(CH_2)_z-$ ,则与 $R_3$ 形成环,条件是:如果 $R_{11}$ 不是H,那么与 $R_{11}$ 结合的碳原子是 $-CH-$ ,或 $R_4$ 是 $-(CH_2)_w-R_{12}-(CH_2)_w-R_{13}$ ,其中在任一个 $(CH_2)_w$ 中的任何H任选地被 $-(CH_2)_w-CH_3$ 取代,但是,如果 $R_1$ 是 $CH_3-C(=O)-$ , $R_5$ 是未取代的苯基, $R_6$ 是H, $R_7$ 是 $-(CH_2)_3-NH-C(=NH)-NH_2$ , $R_8$ 是吡啶,并且 $R_9$ 是 $C(=O)-OH$ 或 $C(=O)-NH_2$ ,那么 $R_4$ 排除:

[0025]  $-(CH_2)_2-$ ,但仅当 $R_3$ 是 $-CH_2-$ ,并且 $R_4$ 与 $R_3$ 形成未取代的吡咯烷环,并且 $R_{10}$ 是 $-CH_2-C(=O)-NH-(CH_2)_4-$ 、 $-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_3$ 或 $-(CH_2)_3-NH-C(=O)-(CH_2)_2$ 时,



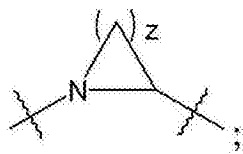
[0026] 但仅当 $R_{10}$ 是 $-CH_2-C(=O)-NH-(CH_2)_4-$ 、 $-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_3$ 或 $-(CH_2)_3-NH-C(=O)-(CH_2)_2$ 时,和



[0027] 但仅当 $R_{10}$ 是 $-CH_2-C(=O)-NH-(CH_2)_3-$ 、 $-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_3$ 、 $-CH_2-C(=O)-NH-(CH_2)_4$ 或 $-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_4$ 时;

[0028]  $R_5$ 是未取代的苯基或萘基；

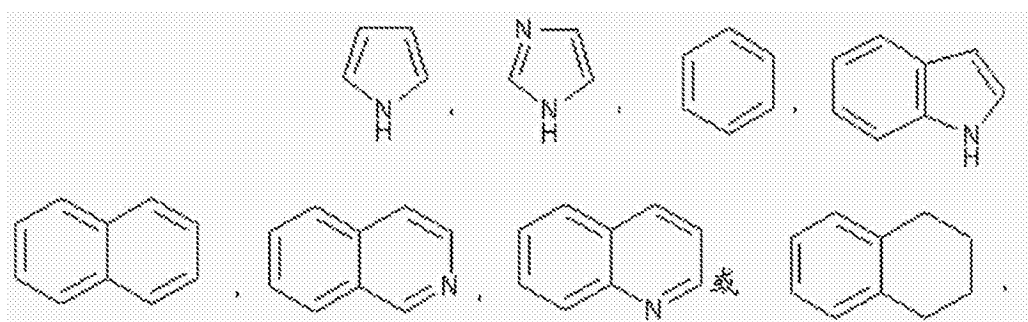
[0029]  $R_6$ 是  $-H$ 、 $-CH_3$ 或  $-CH_2-$ ，并且如果  $R_6$ 是  $-CH_2-$ ，则与  $R_7$ 形成以下通用结构的环：



[0030] 如果  $R_6$ 是  $-CH_2-$ ，则  $R_7$ 是  $-(CH_2)_z-$ ，并且如果  $R_7$ 是  $-(CH_2)_z-$ ，则与  $R_6$ 形成环，或  $R_7$ 是  $-(CH_2)_w-R_{14}$ ；

[0031]  $R_8$ 是

[0032]



[0033] 它们任选地被一个或多个环的取代基 (ring substituents) 取代，并且当一个或多个环的取代基存在时，该一个或多个环的取代基是相同或不同的，并且独立地是羟基、卤素、氨磺酰、烷基、-O- 烷基、芳基或 -O- 芳基；

[0034]  $R_9$ 是  $H$ 、 $-C(=O)-OH$ 、 $-C(=O)-N(R_{15a})(R_{15b})$ 、 $-C(=O)-(CH_2)_w$ - 环烷基或  $-C(=O)-R_{16}$ ；

[0035]  $R_{10}$ 是

[0036]  $-(CH_2)_x-C(=O)-NH-(CH_2)_y-$ 、

[0037]  $-(CH_2)_x-NH-C(=O)-(CH_2)_y-$ 、

[0038]  $-(CH_2)_x-C(=O)-(CH_2)_z-C(=O)-(CH_2)_y-$ 、

[0039]  $-(CH_2)_x-C(=O)-NH-C(=O)-(CH_2)_y-$  或

[0040]  $-(CH_2)_x-NH-C(=O)-NH-(CH_2)_y-$ ；

[0041]  $R_{11}$ 是  $-H$  或  $-R_{12}-(CH_2)_w-R_{13}$ ；

[0042]  $R_{12}$ 是任选地存在的，且如果存在的话是

[0043]  $-O-$ 、

[0044]  $-S-$ 、

[0045]  $-NH-$ 、

[0046]  $-S(=O)_2-$ 、

[0047]  $-S(=O)-$ 、

[0048]  $-S(=O)_2-NH-$ 、

[0049]  $-NH-S(=O)_2-$ 、

[0050]  $-C(=O)-$ 、

[0051]  $-C(=O)-O-$ 、

[0052]  $-O-C(=O)-$ 、

[0053]  $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-$ 、

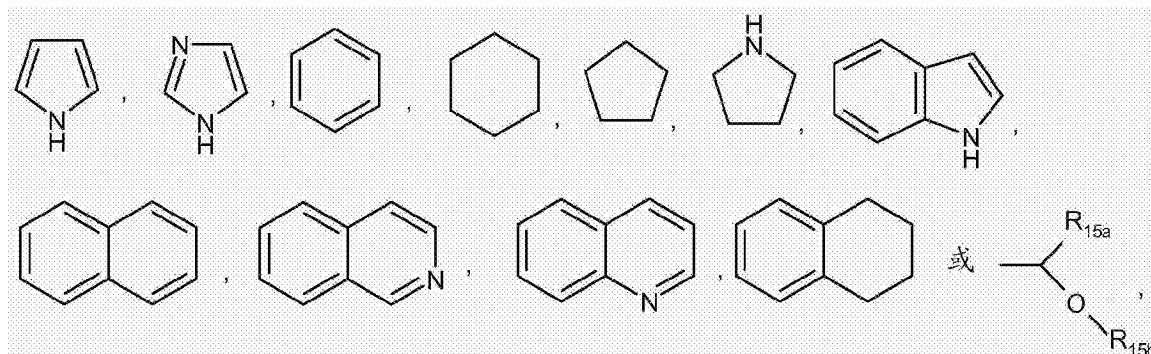
[0054]  $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$ 、

[0055]  $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$  或

[0056]  $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$ ；

[0057]  $\text{R}_{13}$  是  $\text{H}$ 、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{N}(\text{R}_{15a})(\text{R}_{15b})$ 、 $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_z-\text{N}(\text{R}_{15a})(\text{R}_{15b})$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}(=\text{NH})-(\text{R}_{15a})(\text{R}_{15b})$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}(=\text{O})-\text{N}(\text{R}_{15a})(\text{R}_{15b})$ 、 $-\text{O}(\text{R}_{15a})$ 、 $-(\text{R}_{15a})(\text{R}_{15b})$ 、 $-\text{S}(=\text{O})_2(\text{R}_{15a})$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-(\text{R}_{15a})$ 、

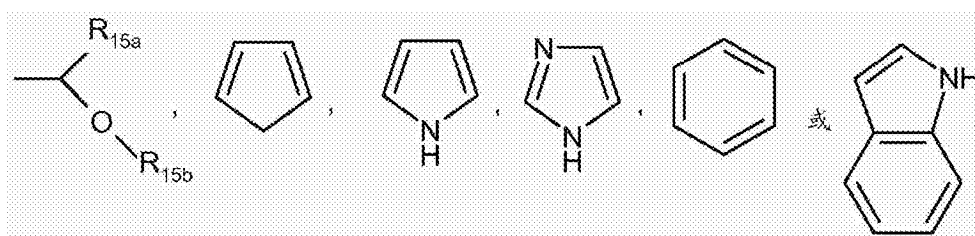
[0058]



[0059] 其中  $\text{R}_{13}$  中的任一个环任选地被一个或多个环的取代基取代，并且当一个或多个环的取代基存在时，该一个或多个环的取代基是相同或不同的，并且独立地是羟基、卤素、氨基磺酰基、烷基、 $-\text{O}-$  烷基、芳基、 $-\text{O}-$  芳基、 $\text{C}(=\text{O})-\text{OH}$  或  $\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{R}_{15a})(\text{R}_{15b})$ ；

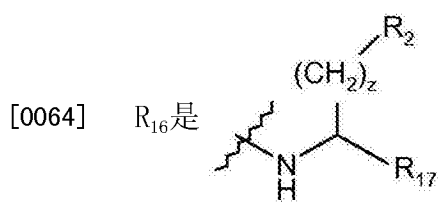
[0060]  $\text{R}_{14}$  是  $\text{H}$ 、 $-\text{N}(\text{R}_{15a})(\text{R}_{15b})$ 、 $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_z-\text{N}(\text{R}_{15a})(\text{R}_{15b})$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}(=\text{NH})-\text{N}(\text{R}_{15a})(\text{R}_{15b})$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}(=\text{O})-\text{N}(\text{R}_{15a})(\text{R}_{15b})$ 、 $-\text{O}(\text{R}_{15a})$ 、直链或支链的  $\text{C}_1$  到  $\text{C}_{17}$  烷基链、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{R}_{15a})(\text{R}_{15b})$ 、 $-\text{S}(=\text{O})_2(\text{R}_{15a})$ 、

[0061]



[0062] 其中任一个环任选地被一个或多个任选的环的取代基取代，并且当一个或多个任选的环的取代基存在时，该一个或多个任选的环的取代基是相同或不同的，并且独立地是羟基、卤素、氨基磺酰基、烷基、 $-\text{O}-$  烷基、芳基、芳烷基、 $-\text{O}-$  芳烷基或  $-\text{O}-$  芳基；

[0063]  $\text{R}_{15a}$  和  $\text{R}_{15b}$  各自独立地是  $\text{H}$  或  $\text{C}_1$  到  $\text{C}_4$  直链或支链的烷基链；



[0065]  $\text{R}_{17}$  是  $\text{H}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{OH}$  或  $-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{R}_{15a})(\text{R}_{15b})$ ；

[0066]  $w$  在每种情况下独立地是 0 到 5；

[0067]  $x$  是 1 到 5；

[0068]  $y$  是 1 到 5 ; 且

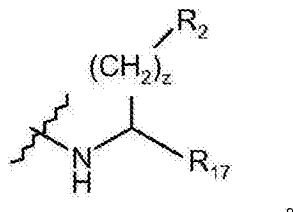
[0069]  $z$  在每种情况下独立地是 1 到 5。

[0070] 在另一个方面, 提供了式 (I) 的环肽, 其中  $R_{10}$  是  $-(CH_2)_x-C(=O)-NH-(CH_2)_y-$ , 其中  $x$  是 4 且  $y$  是 3, 其中  $x$  是 3 且  $y$  是 2, 或其中  $x$  是 2 且  $y$  是 1。在可选的方面, 提供了式 (I) 的环肽, 其中  $R_{10}$  是  $-(CH_2)_x-NH-C(=O)-(CH_2)_y-$ , 其中  $x$  是 1 且  $y$  是 2, 其中  $x$  是 2 且  $y$  是 3, 或其中  $x$  是 3 且  $y$  是 4。

[0071] 在另一个方面, 提供了式 (I) 的环肽, 其中  $z$  是三, 且  $R_2$  是  $NH-C(=NH)-NH_2$ 。

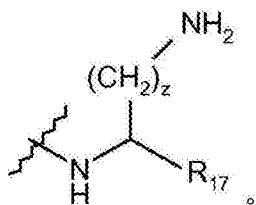
[0072] 在另一个方面, 提供了式 (I) 的环肽, 其中  $R_{16}$  是

[0073]



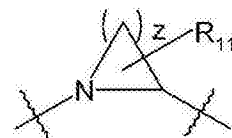
[0074] 在另一个方面, 提供了式 (I) 的环肽, 其中  $R_{16}$  是

[0075]



[0076] 在这个环肽中,  $R_{17}$  可以任选地是  $-C(=O)-OH$  或  $-C(=O)-NH_2$ 。

[0077] 在另一个方面, 提供了式 (I) 的环肽, 其中  $R_3$  与  $R_4$  形成通用结构



的环, 其中  $z$  是 3。

[0078] 在另一个方面, 提供了一种药物组合物, 所述药物组合物包含如上所定义的式 (I) 的环肽和药学上可接受的载体。

[0079] 在另一个方面, 提供了一种用于在人或非人哺乳动物中治疗黑皮质素受体介导的疾病、适应症、病症或综合征的方法, 所述方法包括施用如上所述的药物组合物的步骤。

[0080] 在另一个方面, 提供了一种用于在人或非人哺乳动物中治疗响应于黑皮质素受体功能改变的病症的方法, 所述方法包括施用如上所述所述的药物组合物的步骤。

[0081] 在另一个方面, 提供了式 (II) 的环七肽

[0082]  $Z-Xaa^1-Xaa^2-Xaa^3-Xaa^4-Xaa^5-Xaa^6-Xaa^7-Y$  (II)

[0083] 或其药学上可接受的盐, 其中:

[0084]  $Z$  是 H 或 N 端基团;

[0085]  $Xaa^1$  是具有侧链的氨基酸, 该侧链包括至少一个伯胺、胍或脲基团;

[0086]  $Xaa^2$  和  $Xaa^7$  是氨基酸, 其中它们的侧链形成含内酰胺的环桥;

[0087]  $Xaa^3$  是 Pro, 任选地被羟基、卤素、氨磺酰、烷基、-O-烷基、芳基、烷基-芳基、烷

基 -O- 芳基、烷基 -O- 烷基 - 芳基或 -O- 芳基取代, 或 Xaa<sup>3</sup>是具有侧链的氨基酸, 该侧链包括至少一个伯胺、仲胺、烷基、环烷基、环杂烷基、芳基、杂芳基、醚、硫化物或羧基;

[0088] Xaa<sup>4</sup>是具有侧链的氨基酸, 该侧链包括未取代的苯基或萘基;

[0089] Xaa<sup>5</sup>是 Pro 或 Xaa<sup>5</sup>是具有侧链的氨基酸, 该侧链包括至少一个伯胺、仲胺、胍、脲、烷基、环烷基、环杂烷基、芳基、杂芳基或醚;

[0090] Xaa<sup>6</sup>是具有侧链的氨基酸, 该侧链包括至少一个任选地被一个或多个环的取代基取代的芳基或杂芳基, 并且当一个或多个环的取代基存在时, 该一个或多个环的取代基是相同或不同的, 且独立地是羟基、卤素、氨磺酰、烷基、-O- 烷基、芳基或 -O- 芳基; 且

[0091] Y 是 C 端基团;

[0092] 但是排除如下环肽: 其中 Z 是 Ac, Xaa<sup>1</sup>是 Arg, Xaa<sup>2</sup>和 Xaa<sup>7</sup>一起是 Glu...Orn, Orn...Glu, 或 Asp...Lys, Xaa<sup>3</sup>是 Pro 或 Ser (Bzl), Xaa<sup>4</sup>是 D-Phe, Xaa<sup>5</sup>是 Arg, Xaa<sup>6</sup>是 Trp, 且 Y 是 -OH 或 -NH<sub>2</sub>。

[0093] 在另一个方面, 提供了式 (II) 的环肽, 其中 Xaa<sup>1</sup>是 Dap、Dab、Orn、Lys、Cit 或 Arg。

[0094] 在另一个方面, 提供了式 (II) 的环肽, 其中 Xaa<sup>4</sup>是 D-Phe。

[0095] 在另一个方面, 提供了式 (II) 的环肽, 其中 Xaa<sup>2</sup>和 Xaa<sup>7</sup>中的一个为 Asp、hGlu 或 Glu, 且 Xaa<sup>2</sup>和 Xaa<sup>7</sup>中的另一个为 Lys、Orn、Dab 或 Dap。

[0096] 在另一个方面, 提供了式 (II) 的环肽, 其中 N- 端基团是 C<sub>1</sub>到 C<sub>7</sub>酰基基团, 直链或支链的 C<sub>1</sub>到 C<sub>17</sub>烷基、芳基、杂芳基、烯、烯基或芳烷基的链, 或 N 酰化的直链或支链的 C<sub>1</sub>到 C<sub>17</sub>烷基、芳基、杂芳基、烯、烯基或芳烷基的链。

[0097] 在另一个方面, 提供了式 (II) 的环肽, 其中 Y 是羟基、酰胺、被下列中的一个或两个取代的酰胺: 直链或支链的 C<sub>1</sub>到 C<sub>17</sub>烷基、环烷基、芳基、烷基环烷基、芳烷基、杂芳基、烯、烯基或芳烷基的链。

[0098] 在另一个方面, 本发明提供用于治疗黑皮质素受体介导的疾病、适应症、病症和综合征的基于黑皮质素受体特异性肽的药物组合物。

[0099] 在另一个方面, 本发明提供用于治疗性功能障碍和其他 MC4-R 相关疾患的基于肽的黑皮质素受体特异性药物, 其中所述肽是选择性的 MC4-R 配体。

[0100] 在另一个方面, 本发明提供对黑皮质素受体 MC4-R 特异性的, 并且是激动剂的肽。

[0101] 在另一个方面, 本发明提供用于治疗肥胖、调整摄食行为和其他能量稳态疾患的基于肽的黑皮质素受体特异性药物。

[0102] 在另一个方面, 本发明提供在大的剂量范围内有效的特异性 MC4-R 环肽。

[0103] 本发明的其他方面和新颖特征以及其他应用范围将部分在下面的详述中描述, 并且部分在本领域技术人员检查了下文之后变得明显, 或者可以由本发明的实践而得知。本发明的方面可以借助于具体由所附的权利要求书所提出的手段和组合来实现和获得。

[0104] 发明详述

[0105] 1.0 定义。

[0106] 在进行本发明的描述之前, 如本文所述定义某些术语。

[0107] 在给出的根据本发明的肽的序列中, 氨基酸残基具有 Manual of Patent Examining Procedure (美国专利审查程序手册), 第 8 版的第 2400 章中所给出的它们的常规意思。因此, “Ala”是丙氨酸, “Asn”是天冬酰胺, “Asp”是天冬氨酸, “Arg”是精氨酸,

“Cys”是半胱氨酸,“Gly”是甘氨酸,“Gln”是谷氨酰胺,“Glu”是谷氨酸,“His”是组氨酸,“Ile”是异亮氨酸,“Leu”是亮氨酸,“Lys”是赖氨酸,“Met”是蛋氨酸,“Phe”是苯丙氨酸,“Pro”是脯氨酸,“Ser”是丝氨酸,“Thr”是苏氨酸,“Trp”是色氨酸,“Tyr”是酪氨酸,且“Val”是缬氨酸,等等。应理解“D”异构体通过在三字母代码或氨基酸名称之前的“D”指示,因此例如 D-Phe 是 D- 苯丙氨酸。上文未涵盖的氨基酸残基具有下列定义:

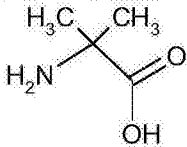
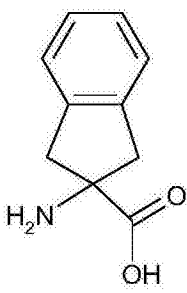
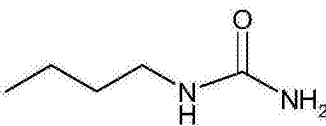
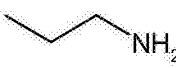
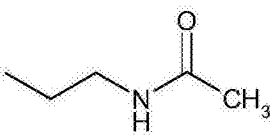
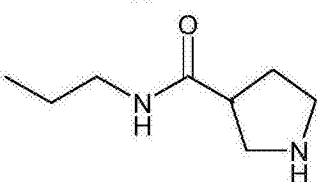
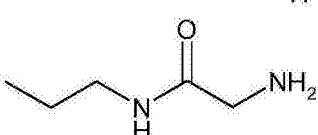
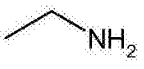
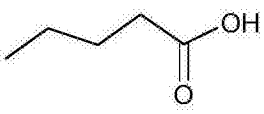
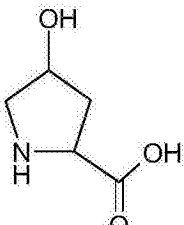
[0108]

缩写

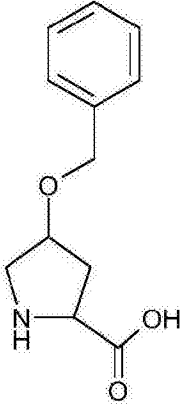
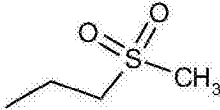
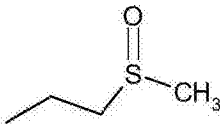
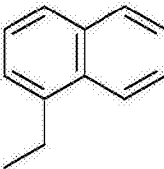
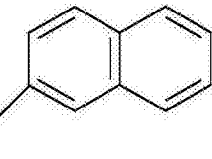
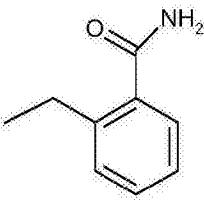
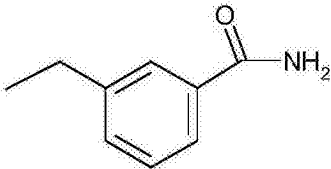
常用名

侧链或氨基酸结构残基

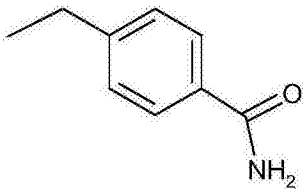
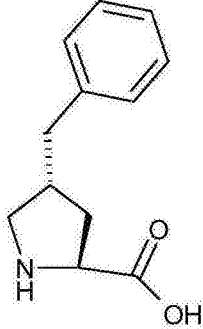
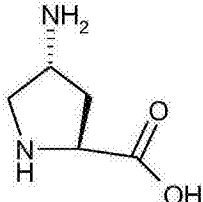
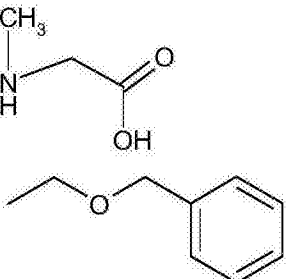
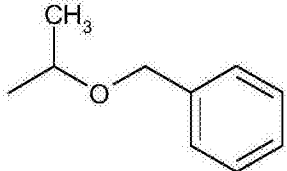
[0109]

| 缩写                | 常用名                         | 侧链或氨基酸结构残基                                                                           |
|-------------------|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Aib               | $\alpha$ -氨基异丁酸             |    |
| Aic               | 2-氨基茚满-2-羧酸                 |    |
| Cit               | 瓜氨酸                         |    |
| Dab               | 二氨基丁酸                       |    |
| Dab(乙酰基)          | 2-氨基, 4-乙酰基氨基丁酸             |    |
| Dab( $\beta$ Pro) | 2-氨基, 4-( $\beta$ -脯氨酰)氨基丁酸 |   |
| Dab(甘氨酸)          | 2-氨基, 4-(甘氨酸)氨基丁酸           |  |
| Dap               | 二氨基丙酸                       |  |
| hGlu              | 高谷氨酸                        |  |
| Hyp               | 羟基脯氨酸                       |  |

[0110]

| 缩写                            | 常用名         | 侧链或氨基酸结构残基                                                                           |
|-------------------------------|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Hyp(Bzl)                      | O-苄基-羟脯氨酸   |    |
| Met(O <sub>2</sub> )          | 蛋氨酸砜        |    |
| Met(=O)                       | 蛋氨酸亚砜       |    |
| Nal 1                         | 3-(1-萘基)丙氨酸 |   |
| Nal 2                         | 3-(2-萘基)丙氨酸 |  |
| Nle                           | 正亮氨酸        |  |
| Orn                           | 鸟氨酸         |  |
| Phe(2-C(=O)-NH <sub>2</sub> ) | 2-氨甲酰基-苯丙氨酸 |  |
| Phe(3-C(=O)-NH <sub>2</sub> ) | 3-氨甲酰基-苯丙氨酸 |  |
| Phe(4-C(=O)-NH <sub>2</sub> ) | 4-氨甲酰基-苯丙氨酸 |                                                                                      |

[0111]

| 缩写                       | 常用名         | 侧链或氨基酸结构残基                                                                           |
|--------------------------|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Pro(4R-Bzl)              | 4(R)-苄基-脯氨酸 |    |
| Pro(4R-NH <sub>2</sub> ) | 4(R)-氨基-脯氨酸 |    |
| Sar                      | 肌氨酸         |    |
| Ser(Bzl)                 | O-苄基-丝氨酸    |   |
| Thr(Bzl)                 | O-苄基-苏氨酸    |  |

[0112] “ $\alpha, \alpha$ -二取代的氨基酸”表示在 $\alpha$ 位中具有另外的取代基的任何 $\alpha$ -氨基酸，所述取代基可以与该 $\alpha$ -氨基酸的侧链部分相同或不同。除了该 $\alpha$ -氨基酸的侧链部分以外，适合的取代基包括 $C_1$ 到 $C_6$ 直链或支链的烷基。Aib是 $\alpha, \alpha$ -二取代的氨基酸的实例。尽管可利用传统的L-异构体和D-异构体参照指示 $\alpha, \alpha$ -二取代的氨基酸，应理解这些参照是为了便利，并且如果在 $\alpha$ 位的取代基不同，适当时，这些氨基酸可以被互换地称为衍生自具有指定的氨基酸侧链部分的残基的L-异构体或D-异构体的 $\alpha, \alpha$ -二取代的氨基酸。因而，(S)-2-氨基-2-甲基-己酸可以被称为衍生自L-Nle的 $\alpha, \alpha$ -二取代的氨基酸或衍生自D-Ala的 $\alpha, \alpha$ -二取代的氨基酸。类似地，Aib可以被称为衍生自Ala的 $\alpha, \alpha$ -二取代的氨基酸。无论何时提供 $\alpha, \alpha$ -二取代的氨基酸，均应理解为包括其全部的(R)和(S)构型。无论何时本文的权利要求书或说明书提到“氨基酸”，这种称谓包括但不限于“ $\alpha, \alpha$ -二取代的氨基酸”。

[0113] “N-取代的氨基酸”表示其中氨基酸侧链部分与骨架氨基共价键合的任何氨基酸，

任选地包括在  $\alpha$ -碳位没有非 H 的取代基的情况。肌氨酸是 N- 取代的氨基酸的实例。举例而言,肌氨酸可以被称为 Ala 的 N- 取代的氨基酸衍生物,因为肌氨酸和 Ala 的氨基酸侧链部分是相同的,为甲基。无论何时本文的权利要求书或说明书提到“氨基酸”,这种称谓包括但不限于“N- 取代的氨基酸”。

[0114] 术语“烷”包括直链或支链的饱和烃。直链烷基团的实例包括甲烷、乙烷、丙烷以及类似基团。支链或取代的烷基团的实例包括甲基丁烷或二甲基丁烷、甲基戊烷、二甲基戊烷或三甲基戊烷,以及类似基团。一般来说,任何烷基基团可以是烷的取代基。

[0115] 术语“烯”包括含一个或多个碳-碳双键的不饱和烃。这些烯基团的实例包括乙烯、丙烯以及类似基团。

[0116] 术语“烯基”包括含至少一个双键的两个到六个碳原子的直链单价烃基或三个到六个碳原子的支链单价烃基;烯基的实例包括乙烯基、2- 丙烯基,以及类似基团。

[0117] 本文说明的“烷基”基团包括具有指定长度的直链或支链构型的烷基。这些烷基的实例包括甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、异戊基、己基、异己基,以及类似基团。

[0118] 术语“炔”包括含至少一个三键的两个到六个碳原子的直链单价烃基或三个到六个碳原子的支链单价烃基;炔的实例包括乙炔、丙炔、丁炔,以及类似基团。

[0119] 术语“芳基”包括具有 6 到 12 个环原子且任选独立地被选自以下的一个或多个取代基取代的单环或双环芳族烃基:烷基、卤代烷基、环烷基、烷氧基、烷硫基、卤代、硝基、酰基、氰基、氨基、单取代的氨基、二取代的氨基、羟基、羧基或烷氧基羰基。芳基基团的实例包括苯基、联苯基、萘基、1- 萘基和 2- 萘基,其衍生物,以及类似基团。

[0120] 术语“芳烷基”包括基团  $-R^aR^b$ , 其中  $R^a$  是亚烷基(二价烷基)基团且  $R^b$  是如上所定义的芳基基团。芳烷基的实例包括苄基、苯乙基、3-(3- 氯苯基)-2- 甲基戊基,以及类似基团。

[0121] 术语“脂肪族(aliphatic)”包括具有烃链的化合物,诸如例如,烷、烯、炔以及它们的衍生物。

[0122] 术语“酰基”包括基团  $R(C=O)-$ , 其中 R 是有机基团,诸如烷基、芳基、杂芳基、碳环基或杂环基。因而,当本文提到取代的酰基基团时,表示所述有机基团(R) 被取代。本文称作“Ac”的乙酰基  $CH_3-C(=O)-$  是酰基的非限制性实例。

[0123] 当以上所定义的烷基或取代的烷基基团通过一个或多个羰基  $\{-(C=O)-\}$  基团键合时,肽或脂肪族部分是“酰化的”。肽大多数情况下通常在 N 端酰化。

[0124] “ $\omega$  氨基脂肪链”包括具有末端氨基的脂肪族部分。 $\omega$  氨基脂肪链的实例包括氨基庚酰,以及鸟氨酸和赖氨酸的氨基酸侧链部分。

[0125] 术语“杂芳基”包括含 1 到 4 个杂原子的单环和双环的芳环,所述杂原子选自氮、氧和硫。5 元或 6 元杂芳基是单环的杂芳环;其实例包括噻唑、噁唑、噻吩、呋喃、吡咯、咪唑、异噻唑、吡唑、三唑、噻二唑、四唑、噁二唑、吡啶、哒嗪、嘧啶、吡嗪以及类似物。双环杂芳环包括但不限于苯并噻二唑、吡啶、苯并噻吩、苯并呋喃、苯并咪唑、苯并异噻唑、苯并噻唑、喹啉、苯并三唑、苯并噁唑、异喹啉、呋喃并吡啶和噻吩并吡啶。

[0126] 如本文所用,术语“酰胺”包括具有与羰基连结的三价氮的化合物,即  $-C(=O)-NH_2$  (即伯酰胺),  $-C(=O)-NHR_c$  和  $-C(=O)-NR_cR_d$ , 其中  $R_c$  和  $R_d$  中的每一个独立地

代表有机基团。当本文提到取代的酰胺基时,表示所述有机基团 ( $R_c$  和  $R_d$ ) 中的至少一个被取代。酰胺的实例包括甲基酰胺、乙基酰胺、丙基酰胺,以及类似基团。

[0127] “胺”包括氨基 ( $-NH_2$ )、 $-NHR_a$  和  $-NR_aR_b$ , 其中  $R_a$  和  $R_b$  中的每一个独立地代表有机基团。当本文提到取代的胺基时,表示所述有机基团 ( $R_a$  和  $R_b$ ) 中的至少一个被取代。

[0128] “酰亚胺”包括含亚胺基 ( $-C(=O)-NH-C(=O)-$ ) 的化合物。

[0129] “腈”包括含与有机基团结合的 ( $-CN$ ) 基的化合物。

[0130] 术语“卤素”旨在包括卤原子氟、氯、溴和碘,以及包括一个或多个卤原子的基团,诸如  $-CF_3$  以及类似基团。

[0131] 如药物组合物中的术语“组合物”旨在涵盖包含一种或多种活性成分和一种或多种构成载体的惰性成分的产品,以及直接或间接由下列过程产生的任何产品:任何两种或更多种所述成分的组合、复合或聚集;或所述成分的一种或多种的解离;或所述成分的一种或多种的其他类型的反应或相互作用。因此,本发明中所用的药物组合物涵盖通过混合活性成分和一种或多种药学上可接受的载体而制备的任何组合物。

[0132] 黑皮质素受体“激动剂”意指可以与黑皮质素受体相互作用并启动药理学反应的内源性物质、药物物质或化合物,包括诸如本发明的肽的化合物,所述药理学反应包括但不限于腺苷酸环化酶激活,其是黑皮质素受体的特征。对于本发明,为黑皮质素-4 受体 (MC4-R) 的激动剂的黑皮质素受体激动剂是优选的,但是对于某些应用,为 MC4-R 和黑皮质素-1 受体 (MC1-R) 二者的激动剂的黑皮质素受体激动剂是优选的,并且对于其他应用,为 MC1-R、黑皮质素-3 受体 (MC3-R)、MC4-R 和黑皮质素-5 受体 (MC5-R) 中的一个或多个的激动剂的黑皮质素受体激动剂是优选的。

[0133] “ $\alpha$ -MSH”指肽 Ac-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:2) 及其类似物和同系物,包括但不限于 NDP- $\alpha$ -MSH。

[0134] “NDP- $\alpha$ -MSH”指肽 Ac-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> 及其类似物和同系物。

[0135] “EC<sub>50</sub>”指产生对激动剂的最大可能反应的 50% 的该激动剂摩尔浓度,所述激动剂包括部分激动剂。举例而言,如在 MC4-R 细胞表达系统中的 cAMP 测定所测得的,72nM 的浓度下产生对测试化合物的最大可能反应的 50% 的该测试化合物具有 72nM 的 EC<sub>50</sub>。除非另外指明,否则与 EC<sub>50</sub> 测定相关的摩尔浓度以纳摩尔/升 (nM) 计。

[0136] “Ki (nM)”意指平衡抑制解离常数,它表示在不存在放射性配体或其他竞争剂的条件下与平衡时结合受体结合位点的一半的竞争性化合物的摩尔浓度。一般地说, Ki 的数值与化合物对受体的亲和力反相关,以致如果 Ki 低,则亲和力高。Ki 可以使用 Cheng 和 Prusoff 的公式确定 (Cheng Y., Prusoff W.H., Biochem. Pharmacol. 22:3099-3108, 1973):

[0137]

$$K_i = \frac{EC_{50}}{1 + \frac{[配体]}{K_0}}$$

[0138] 其中“配体”是放射性配体的浓度,并且  $K_0$  是放射性配体产生 50% 受体占有率的该放射性配体的受体亲和力的倒数。除非另外指明,否则与 Ki 测定相关的摩尔浓度以 nM 计。Ki 可以关于特定受体 (例如, MC1-R、MC3-R、MC4-R 或 MC5-R) 和特定配体 (例如,  $\alpha$ -MSH 或

NDP- $\alpha$ -MSH) 而表示。

[0139] “抑制”意指在竞争性抑制测定中与已知的标准物相比受体结合的百分比减弱或减少。因此,“1  $\mu$ M 的抑制 (NDP- $\alpha$ -MSH)”意指在诸如下文所述的测定条件下,由添加确定量的待测化合物如 1  $\mu$ M 测试化合物引起的 NDP- $\alpha$ -MSH 结合的百分比减少。举例而言,不抑制 NDP- $\alpha$ -MSH 结合的测试化合物具有 0% 的抑制,而完全抑制 NDP- $\alpha$ -MSH 结合的测试化合物具有 100% 的抑制。通常,如下文所描述的,使用放射性测定进行竞争性抑制测定,如用  $I^{125}$ - 标记的 NDP- $\alpha$ -MSH;或者使用镧系螯合荧光测定,如用 Eu-NDP- $\alpha$ -MSH。然而,测试竞争性抑制的其他方法是已知的,包括使用非放射性同位素的标记或标签系统,并且通常,本发明可采用用于测试竞争性抑制的本领域中已知的任何方法。因此,可以看到“抑制”是确定测试化合物是否减弱  $\alpha$ -MSH 与黑皮质素受体的结合的一个量度。

[0140] “结合亲和力”意指化合物或药物结合其生物靶的能力,在本文表示为  $K_i$  (nM)。

[0141] “内在活性”意指在指定的黑皮质素受体表达细胞系统中化合物可达到的最大功能活性,例如,腺苷酸环化酶的最大刺激。将  $\alpha$ -MSH 或 NDP- $\alpha$ -MSH 达到的最大刺激指定为内在活性为 1.0 (或 100%) 并且将能够刺激  $\alpha$ -MSH 或 NDP- $\alpha$ -MSH 的半数最大活性的化合物指定为具有 0.5 (或 50%) 的内在活性。将在本文所述的测定条件下具有 0.7 (70%) 或更高的内在活性的本发明化合物归类为激动剂,具有 0.1 (10%) 和 0.7 (70%) 之间的内在活性的化合物归类为部分激动剂,并且将具有低于 0.1 (10%) 的内在活性的化合物归类为无活性的或不具有内在活性。在一个方面,本发明的环肽一般可以被表征为关于  $\alpha$ -MSH 或 NDP- $\alpha$ -MSH 的 MC4-R 的部分激动剂。

[0142] 一般地,“功能活性”是受体在被化合物激活后信号传导的量度,或受体相关的信号传导改变的量度,所述受体诸如黑皮质素受体并且尤其是 MC4-R 或 hMC4-R。黑皮质素受体通过激活异源三聚体 G 蛋白启动信号转导。在一个方面,黑皮质素受体经  $G_{\alpha_s}$  传导信号, $G_{\alpha_s}$  通过腺苷酸环化酶催化 cAMP 的产生。因此,腺苷酸环化酶的刺激的测定如腺苷酸环化酶的最大刺激的测定是功能活性的一种量度,并且是本文所例示的主要量度。然而,应理解,可以采用功能活性的替代性量度来实践本发明,并且所述替代性测量特定地被涵盖在并包括在本发明的范围内。因此,在一个实例中,可以测量细胞内的游离钙,诸如通过并使用下列文献中所公开的方法来报道:Mountjoy K.G 等人, Melanocortin receptor-mediated mobilization of intracellular free calcium in HEK293 cells (HEK293 细胞中黑皮质素受体介导的细胞内游离钙动员). *Physiol Genomics* 5:11-19, 2001; 或 Kassack M.U. 等人, Functional screening of G protein-coupled receptors by measuring intracellular calcium with a fluorescence microplate reader (通过用荧光酶标仪测量细胞内钙进行 G 蛋白偶联受体的功能筛选). *Biomol Screening* 7:233-246, 2002。还可通过测量磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸酯的肌醇三磷酸酯或二酰甘油生成来测量激活,例如通过使用放射性测定。又一种功能活性量度是调节途径激活所导致的受体内化,诸如使用 Nickolls S.A. 等人, Functional selectivity of melanocortin 4 receptor peptide and nonpeptide agonists: evidence for ligand specific conformational states (黑皮质素 4 受体肽和非肽激动剂的功能选择性:配体特异性构象状态的证据). *J Pharm Exper Therapeutics* 313:1281-1288, 2005 中所公开的方法。又一种功能活性量度是与 G 蛋白受体激活相关的核苷酸的交换和交换率,

例如 G 蛋白  $\alpha$  亚基上的 GDP(鸟苷二磷酸) 交换成 GTP(鸟苷三磷酸), 这可以通过许多方法测量, 包括使用鸟苷 5'-( $\gamma$ -[ $^{35}$ S] 硫代)-三磷酸的放射性测定, 如在 Manning D. R., Measures of efficacy using G proteins as endpoints: differential engagement of G proteins through single receptors(使用 G 蛋白为终点的功效测量: 通过单个受体的 G 蛋白差异衔接). Mol Pharmacol 62:451-452, 2002 中公开的。已经开发了多种基于基因的测定来测量 G 偶联蛋白的激活, 例如在下列文献中公开的那些: Chen W. 等人, A colorimetric assay from measuring activation of Gs-and Gq-coupled signaling pathways(测量 Gs- 和 Gq- 偶联的信号传导途径激活的比色测定). Anal Biochem 226:349-354, 1995; Kent T. C. 等人, Development of a generic dual-reporter gene assay for screening G-protein-coupled receptors(用于筛选 G 蛋白偶联受体的通用双报道基因测定的开发). Biomol Screening, 5:437-446, 2005; 或 Kotarsky K. 等人, Improved receptor gene assays used to identify ligands acting on orphan seven-transmembrane receptors(用于鉴定作用于孤儿七跨膜受体的配体的改良受体基因测定). Pharmacology&Toxicology 93:249-258, 2003。已经将 Chen 等人的比色测定修改用于测量黑皮质素受体激活, 如在 Hruby V. J. 等人, Cyclic lactam  $\alpha$ -melanocortin analogues of Ac-Nle<sup>4</sup>-cyclo[Asp<sup>5</sup>, D-Phe<sup>7</sup>, Lys<sup>10</sup>]  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone-(4-10)-NH<sub>2</sub> with bulky aromatic amino acids at position 7 shows high antagonist potency and selectivity at specific melanocortin receptors(7 位具有大的芳族氨基酸的 Ac-Nle<sup>4</sup>- 环 [Asp<sup>5</sup>, D-Phe<sup>7</sup>, Lys<sup>10</sup>]  $\alpha$ -促黑激素-(4-10)-NH<sub>2</sub> 的环状内酰胺  $\alpha$ -黑皮质素类似物显示出对特定黑皮质素受体的高的拮抗效价和选择性). J Med Chem 38:3454-3461, 1995 中公开的。一般地, 可以通过任何方法测量功能活性, 包括测定 G- 偶联受体的激活和 / 或信号传导的方法, 并且还包括可能在以后开发或报道的方法。上述文章和本文所公开的方法的每一种均如同完整描述一样通过引用并入本文。

[0143] 如本文所用的术语“治疗 (treat)”、“治疗 (treating)”和“治疗 (treatment)”涵盖在患者患指定的疾病或疾患时发生的降低该疾病或疾患的严重程度的作用。

[0144] 如本文所用的术语“药理学有效量”(包括“治疗有效量”)意指足以引起期望的治疗作用或生物学作用的根据本发明的肽的量。

[0145] 如本文所用的术语“治疗有效量”意指在被医生或其他临床医师治疗的哺乳动物中引发生物学反应或医学反应的化合物的量, 所述化合物包括本发明的肽。

[0146] 如本文所用, 术语“预防有效的”或“防止的”意指将防止或抑制患有医学病症的哺乳动物的痛苦或减轻患有医学病症的哺乳动物的痛苦的化合物的量, 所述化合物包括本发明的肽, 所述医学病症在患者开始患所指定的疾病或疾患之前医生或其他临床医师已试图防止、抑制或减轻。

[0147] 术语“肥胖”意指过多体脂(脂肪组织)的病症, 举例而言包括依据用于成人的美国国立卫生研究院联邦肥胖临床指南(National Institutes of Health Federal Obesity Clinical Guidelines), 从而以千克计的体重除以以米计的身高的平方而计算出的体重指数等于或大于二十五(25), 并且还包括超重病症以及儿童中的明显的肥胖和超重病症。

[0148] 术语“糖尿病”包括: 1 型糖尿病和 2 型糖尿病, 1 型糖尿病是根据糖尿病的诊断与分类专家委员会报告(Report of the Expert Committee on the Diagnosis and

Classification of Diabetes Mellitus) (Diabetes Care, 24 卷, 增刊 1, 2001 年 1 月) 公布的标准、通过空腹血糖水平大于或等于 126 毫克每分升而诊断的胰岛素依赖性糖尿病, 且对于 1 型糖尿病主要原因是胰腺  $\beta$  细胞的破坏; 2 型糖尿病是根据糖尿病的诊断与分类专家委员会报告公布的标准、通过空腹血糖水平在大于或等于 126 毫克每分升而诊断的非胰岛素依赖性糖尿病, 且是成人隐匿性自身免疫糖尿病 (LADA)。

[0149] 术语“代谢综合征”是指代谢疾患, 尤其是葡萄糖和脂质调节性疾患, 包括胰岛素抵抗和胰腺  $\beta$  细胞引起的胰岛素分泌缺陷, 并且还可以包括如下病症和状态: 如腹部肥胖、血脂障碍、高血压、葡萄糖耐受不良或血栓前状态 (prothrombotic state), 并且还可导致如下疾患: 如高脂血症、肥胖、糖尿病、胰岛素抵抗、葡萄糖耐受不良、高血糖和高血压。

[0150] “性功能障碍”意指抑制或削弱正常性功能的任何病症, 所述正常性功能包括性交。该术语不限于生理病症并且包括心理病症或没有病理或疾患的正式诊断的察觉的削弱。性功能障碍包括雄性哺乳动物中的勃起功能障碍和雌性哺乳动物中的雌性性功能障碍。

[0151] “勃起功能障碍”是包括雄性哺乳动物无法达到功能勃起、射精或二者的疾患。因此勃起功能障碍与阳痿同义, 并且包括不能够获得或维持坚硬至足以性交的勃起。勃起功能障碍的症状包括不能够达到或维持勃起、射精失败、早泄或不能达到性高潮。勃起功能障碍的增加通常与年龄相关并且可以由身体疾病引起或作为药物治疗的副作用引起。

[0152] “雌性性功能障碍”是包括性唤起障碍的疾患。术语“性唤起障碍”包括持续或复发的无法获得或维持润滑-膨胀性兴奋反应, 直至性活动完成。雌性性功能障碍还可以包括抑制的性高潮和性交困难, 性交困难是疼痛或困难的性交。雌性性功能障碍包括但不限于大量的疾病、病症和疾患种类, 包括机能减退的性欲障碍、性快感缺乏、性唤起障碍、性交困难和阴道痉挛。机能减退的性欲障碍包括其中性幻想和对性活动的渴望持续性或复发性地减少或消失, 从而引起显著的痛苦或交际困难的疾患。机能减退的性欲障碍可能由长期关系中的厌倦或不幸福、抑郁、对酒精或精神活性药物的依赖、处方药物的副作用或激素缺乏引起。性快感缺乏包括性活动中快感较少或消失。性快感缺乏可能由抑郁、药物或人际因素引起。性唤起障碍可能由减少的雌激素、疾病或使用利尿药物、抗组胺剂、抗抑郁剂或抗高血压剂的治疗引起。性交困难和阴道痉挛是由插入所导致的疼痛表征的性交疼痛疾病, 并且可能由例如减少润滑的药物、子宫内膜异位症、盆腔炎症性疾病、炎性肠病或尿道问题引起。

[0153] “循环休克”意指受治疗者身体的器官和/或组织不接收充分的血流的一般医学病症, 所述受治疗者可以是人或动物。循环休克包括诸如低血容量性休克、心源性休克、血管扩张性休克等病症。这些循环病症或功能障碍进而可具有不同的原因, 诸如细菌血液感染 (脓毒性休克或感染性休克)、严重变态反应 (过敏性休克)、创伤 (创伤性休克)、严重出血或失血 (失血性休克)、引起血管异常开放的神经功能障碍 (神经源性休克) 或内分泌相关 (内分泌性休克)。循环休克还可导致缺血和对躯体器官、组织、细胞或部分的缺血性损害。在再灌注或恢复血流后, 可发生缺血-再灌注损伤, 也导致对躯体器官、组织或细胞的损害。

[0154] “炎性疾病”有时也称为“炎性病症”, 意指部分地以炎症机制为特征的疾病或病症, 所述炎症机制诸如引起炎性细胞的募集和内源性介质化学物质 (包括但不限于细胞因

子) 的特异性 T 淋巴细胞反应或抗体 - 抗原相互作用, 所述介质化学物质包括但不限于一种或多种提高的 NF- $\kappa$ B 活性、提高的 TNF- $\alpha$  产生、提高的 IL-1 产生和提高的 IL-6 产生。

[0155] “I 期休克”有时也称为“代偿性休克”或“非进行性休克”, 意指当身体检测到血流减少或灌注并开始激活几种反应机制中的一种或多种来恢复灌注或引导血液到大部分重要器官时发生的病症。I 期休克可以是无症状的, 但也可以包括但不限于如下症状: 如低血流或灌注、心率快或心率增大、浅呼吸或不规则呼吸、低血压、高血压、苍白和发绀。

[0156] “II 期休克”有时也称为“失代偿性休克”或“进行性休克”, 意指当身体的代偿机制开始失效且器官灌注不能被恢复到正常或维持时发生的病症。II 期休克的症状包括但不限于: 意识错乱、焦虑、定向障碍和其他表明大脑缺氧、胸痛、心率增大、少尿、多器官功能障碍、血压下降(低血压)、呼吸快、衰弱和瞳孔扩大的精神障碍。

[0157] “III 期休克”, 有时也称为“不可逆性休克”, 意指在灌注或血流降低的状态已存在至身体的器官和组织受永久影响的程度后发生的病症。这些症状包括但不限于: 多器官衰竭、肾衰竭、昏迷、四肢血液滞积(blood pooling in the extremities) 及死亡。

[0158] 2.0 临床适应症和效用。

[0159] 本文所公开的组合物和方法可用于医学应用和动物饲养或兽医应用。通常, 所述方法用于人, 但是也可用于其他哺乳动物。术语“患者”旨在表示哺乳动物个体, 并且在整个说明书和权利要求书中如此使用。本发明的主要应用包括人类患者, 但是本发明可应用于实验室动物、农场动物、动物园动物、野生动物、宠物、运动动物(sport animal) 或其他动物。临床适应症和特定效用包括以下:

[0160] 2.1 肥胖和相关代谢综合征

[0161] 已发现式(I) 和式(II) 的肽是 MC4 受体的配体。据信这些肽可用于治疗响应于 MC4-R 功能的调节、更特别是 MC4-R 的激活的疾病、疾患和 / 或病症, 即, 将受益于对 MC4-R 的激动作用(包括完全或部分的激动作用) 的疾病、疾患和 / 或病症, 包括能量稳态和代谢相关的疾病、疾患和 / 或病症(如糖尿病, 特别是 2 型糖尿病; 血脂障碍; 脂肪肝; 高胆固醇血症; 高甘油三脂血症; 高尿酸血症; 葡萄糖耐量受损; 空腹血糖受损; 胰岛素抵抗综合征; 和代谢综合征)、食物摄入相关的疾病、疾患和 / 或病症(如饮食过量; 暴饮暴食; 食欲过盛; 和强迫进食) 和 / 或能量平衡及体重相关的疾病、疾患和 / 或病症, 更特别是以体重超标和 / 或食物摄入过量为特征的那些疾病、疾患和病症。

[0162] 特别相信这些肽可用于治疗以体重超标为特征的体重相关的疾病、疾患和 / 或病症, 包括肥胖和超重(通过促进重量减轻、保持重量减轻和 / 或防止重量增加, 包括药物引起的重量增加或戒烟后重量增加), 以及与肥胖和 / 或超重相关的疾病、疾患和 / 或病症, 如胰岛素抵抗; 葡萄糖耐量受损; 2 型糖尿病; 代谢综合征; 血脂障碍(包括高脂血症); 高血压; 心脏疾患(例如, 冠心病、心肌梗塞); 心血管疾患; 非酒精性脂肪肝疾病(包括非酒精性脂肪性肝炎); 关节疾患(包括继发性骨关节炎); 胃食管返流; 睡眠呼吸暂停; 动脉硬化; 中风; 大血管病和微血管病; 脂肪变性(例如, 在肝内); 胆结石; 和胆囊疾患。

[0163] 应理解存在医学上接受的肥胖和超重的定义。可以通过例如测量体重指数(BMI) (通过以千克计的体重除以以米计的身高的平方而计算) 并且将结果与定义进行比较来鉴定患者。被成人超重和肥胖的鉴定、评估和治疗专家组(Expert Panel on the Identification, Evaluation and Treatment of Overweight and Obesity in Adults)

采用且被领先的健康专业机构承认的人 BMI 推荐分类如下:体重过轻  $<18.5\text{kg/m}^2$ , 正常体重  $18.5\text{--}24.9\text{kg/m}^2$ , 超重  $25\text{--}29.9\text{kg/m}^2$ , 肥胖 (1 级)  $30\text{--}34.9\text{kg/m}^2$ , 肥胖 (2 级)  $35\text{--}39.9\text{kg/m}^2$ , 极度肥胖 (3 级)  $\geq 40\text{kg/m}^2$  (成人超重和肥胖的鉴定、评估和治疗实践指导 (Practical Guide to the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults), 北美肥胖研究协会 (The North American Association for the Study of Obesity, NAASO) 和美国国家心脏、肺和血液研究所 (National Heart, Lung and Blood Institute, NHLBI) 2000)。这种分类的修改可用于特定的种族群体。用于评价超重和肥胖的另一种替代方法是借助测量腰围。存在几种提出的分类和基于种族群体的截止值差异。例如, 根据国际糖尿病联合会 (International Diabetes Federation) 的分类, 具有高于 94cm (欧罗巴人种 (europids) 的截止值) 腰围的男性和具有高于 80cm (欧罗巴人种的截止值) 腰围的女性处于以下疾病的较高风险之下: 糖尿病、血脂障碍、高血压和过量腹部脂肪所致的心血管疾病。另一种分类是基于成人治疗组第三次报告 (Adult Treatment Panel III) 的推荐, 其中推荐的截止值是男性 102cm 和女性 88cm。然而, 式 (I) 的肽也可以用于减少自诊断的超重和降低由于生活方式、基因考虑、遗传和 / 或其他因素而变肥胖的风险。

#### [0164] 2.2 性功能障碍。

[0165] 本发明的肽、组合物和方法可用于治疗性功能障碍, 包括雄性勃起功能障碍和雌性性功能障碍二者。在一个具体实施方案中, 本发明的肽、组合物和方法用于雄性患者以增加勃起机能, 包括但不限于增加勃起机能以便容许阴道交合。在另一具体实施方案中, 本发明的肽、组合物和方法用于治疗雌性性功能障碍, 包括但不限于性唤起成功率的增加、性欲成功率的增加和性唤起和性欲水平的增加。对于雌性性功能障碍, 终点可以但不必须由大量被验证的手段的任一种来确定, 所述手段包括但不限于: 雌性性压抑量表 (Female Sexual Distress Scale)、雌性性接触概况 (Female Sexual Encounter Profile)、雌性性功能指数 (Female Sexual Function Index) 和总体评定问卷 (Global Assessment Questionnaire)。被治疗雌性性功能障碍的患者可以是绝经前的女性或绝经后的女性。

#### [0166] 2.3. 循环休克和相关疾病、适应症、病症和综合征。

[0167] 本发明的肽、组合物和方法可用于在受治疗者中治疗循环休克。可利用本文提供的组合物和方法治疗 I 期休克、II 期休克或 III 期休克。在一具体实施方案中, 使用本发明的方法来治疗初期休克, 初期休克的特征为不足以满足身体代谢需要的心输出量, 但是也没有另外低至足以产生显著症状。患者可能是焦虑的和警觉的, 且呼吸增加。

[0168] 本发明提供了供使用的组合物和治疗或预防患者的失血性休克的方法, 所述方法包括向被诊断为失血的患者施用包含一种或多种本发明的肽的组合物。失血可以但不必须被测量为受治疗者血容量的百分比, 诸如, 例如, 大于约 15% 总血容量或大于受治疗者总容量的 20%、25%、30%、35%、40% 或 50% 的失血。可选择地, 失血可以但必须按足以在具体受治疗者中引起失血性休克的任何量的血容量的下降来测量, 诸如, 例如在人受治疗者中损失约 750mL、1000mL、约 1500mL、或约 2000mL 或更多。失血也可以按收缩压的下降来测量, 诸如, 例如, 比受治疗者正常收缩压低约 20mm Hg、30mm Hg、40mm Hg、50mm Hg、60mm Hg、70mm Hg、80mm Hg、90mm Hg 或 100mm Hg 或大于 100mm Hg 的收缩压下降。在具体实施方案中, 受治疗者正进行或已进行医疗程序, 诸如但不限于外科手术、输血或分娩。在其他具体实施方案中, 受治疗者遭受了创伤性损伤, 诸如但不限于由机动车事故、工伤或枪伤产生的

创伤性损伤。

[0169] 在本发明另外的实施方案中,利用所述组合物和方法治疗心源性休克、低血容量性休克和血管扩张性休克,其中每种可以处于前述休克期的任何一种。在本发明一具体实施方案中,可使用所述方法治疗心源性休克。心源性休克一般来说是由心脏不泵出充足血液的心脏机能障碍引起的低血流或灌注。原因可包括妨碍心室充盈或排空的任何病症,诸如但不限于栓塞、缺血、回流和瓣膜机能障碍。在本发明的另一具体实施方案中,使用所述方法来治疗血管扩张性休克。血管扩张性休克的原因是严重的静脉或微动脉扩张,其导致血流不足。几种已知原因造成血管扩张性休克,包括但不限于:脑外伤、药物或毒物的毒性、过敏反应、肝衰竭、菌血症和败血症。在本发明的另一更具体的实施方案中,使用所述方法治疗由败血症或菌血症产生的休克。在更加具体的实施方案中,使用所述组合物和方法治疗处于 I 期、II 期或 III 期的败血症性休克或菌血症性休克。又在另一实施方案中,使用本发明的组合物和方法治疗低血容量性休克。低血容量性休克一般来说是减少的血管内容量,该血管内容量的减少可以是相对的或绝对的。源自诸如但不限于溃疡、胃肠损伤、创伤、事故、外科手术和动脉瘤的病症的出血,可引起低血容量性休克;但损失其他体液也可以引起低血容量性休克。例如,肾积液损失、血管内液体损失、水或其他腹膜液体损失可造成低血容量性休克。在本发明一具体实施方案中,使用所述组合物和包括施用一种或多种本发明的肽的方法治疗低血容量性休克。在甚至更具体的实施方案中,使用所述组合物和方法治疗处于 I 期、II 期或 III 期的低血容量性休克。

[0170] 循环休克,包括失血性休克,也可以由患者的一个或多个内部器官或血管内部分受控或不受控的出血而产生。出血可源于任何原因,举例而言包括破裂性动脉瘤、夹层撕开动脉壁(dissected aorta)、溃疡、创伤或其他胃肠出血。在一些情况下,患者表现出循环休克或血容量过低的体征,其可包括低血压,但内部出血源是未知的。

[0171] 在一个实施方案中,本发明涉及使用一种或多种本发明的肽来保护患者的心脏、脑或其他器官免受循环休克引起的损伤的方法。针对循环休克的保护作用即使发生,或在施用包含一种或多种本发明的肽的组合物后短时间内,优选在施用后至少约 40 分钟内,更优选在 1-20 分钟内,更优选在 1-15 分钟内,且最优选在约 1-10 分钟内发生。

[0172] 2.4. 缺血和相关疾病、适应症、病症和综合征

[0173] 缺血是指在血液向任何躯体器官、组织、细胞或部分的血液供应的任何减少或停止,尤其是如果这种减少或停止导致或将可能导致对所述躯体器官、组织、细胞或部分的缺血性损害。“缺血发作”是指任何暂时性或永久性的缺血阶段。缺血可产生于血管系统的任何狭窄或阻塞,或可源于循环休克,如失血性休克、低血容量性休克等。血流的减少或缺乏导致到达受影响的身体部分的氧的减少或缺乏,并且还可以导致炎性疾病介质化学物质如各种细胞因子和其他物质的增加。在某些外科手术程序如心脏外科手术和器官移植过程中,血流被暂时停止然后被继续(再灌注),导致缺血-再灌注损伤。在心脏病发作期间,供应心脏的血液被停止,也导致能够发展成梗塞的缺血。目前缓解心脏病发作的治疗方法需要心脏缺血区域的再灌注,诸如通过使用血栓溶解药物或冠状动脉血管成形术。

[0174] 本发明在以下方面具有特别应用:防止由于肾缺血而导致的损伤(包括继发于肾缺血的肺损伤)、防止或限制心肌梗塞后的缺血性心脏损伤、防止或限制心血管损伤后的缺血性脑损伤,所述心血管损伤包括但不限于心肌梗塞、中风等。通过向患有脑缺血或中风的

患者,特别是并发低血压的患者施用本发明的组合物提供了神经保护。本发明在防止或限制器官移植中的缺血性器官损伤上具有另外的特别应用,所述器官移植包括心脏、肾、肝、肺、胰腺或小肠的移植。在一个方面,本发明的药物组合物可用于移植器官的灌注,该灌注可以在器官移植之前、过程中或之后。

[0175] 在一个实施方案中,本发明涉及使用一种或多种本发明的肽来保护患者的心脏、脑或其他器官免受由缺血引起的损伤的方法。针对缺血的保护作用即使发生,或在施用包含一种或多种本发明的肽的组合物后短时间内,优选在施用后至少约 40 分钟内,更优选在 1-20 分钟内,更优选在 1-15 分钟内,且最优选在约 1-10 分钟内发生。

[0176] 缺血也可以源于多种疾病或病症中的任何一种,并且在一个实施方案中,本发明涉及使用一种或多种本发明的肽来保护患者的器官免受由缺血引起的损伤的方法,所述缺血由疾病或病症所引起。举例来说,这种疾病或病症可包括且不限于:动脉硬化疾病如伴有血栓的动脉粥样化(atheromata)、来自心脏或来自任何器官的血管的栓塞、血管痉挛、心脏病所致低血压、包括感染或变态反应在内的全身性疾病所致低血压,或由一种或多种毒性化合物或药物的施用、摄入或其他暴露形式而产生的低血压。缺血还可以是继发性缺血,并且在另一实施方案中,本发明涉及使用一种或多种本发明的肽来保护患者的器官免受由继发性缺血引起的损伤的方法。这种继发性缺血可以继发于如下疾病或病症:糖尿病、高脂血症、高脂蛋白血症、血脂障碍、Buerger 病(也称为血栓闭塞性血管炎)、高安氏动脉炎、颞动脉炎、川崎病(也称为淋巴结综合征)、粘膜皮肤淋巴结病(mucocutaneous node disease)、婴儿型多动脉炎、心血管梅毒以及各种结缔组织疾病和疾患。

[0177] 2.5. 缺血-再灌注损伤和相关疾病、适应症、病症和综合征

[0178] 缺血-再灌注是中断血流至躯体组织,并且随后并通常突然使血流恢复至该组织。尽管在缺血后血流的恢复对于保存功能性组织是必要的,但再灌注本身已知对组织有害。缺血和再灌注已知均是组织坏死的重要原因。几种机制在缺血-再灌注损伤相关的组织损害的产生中显示出起成因作用。

[0179] 已描述了限制再灌注损伤的多种方法,如低温麻醉、受控性再灌注和缺血预适应。低温麻醉(Induced hypothermia)是适度低温的诱导,认为其抑制与再灌注损伤有关的许多化学反应。受控性再灌注是指通过利用已被改变为高渗的、碱中毒的和底物富集的血液以低压再灌注组织来控制初始再灌注阶段。缺血预处理是有目的的引起短缺血事件,以在较长的缺血事件过程中通过减缓细胞代谢来起到保护作用。尽管这些处理可用于外科手术环境(例如,在计划的肝脏外科手术之前或之后),但它们在急症环境中是不可能的。

[0180] 本发明在以下方面具有特别应用:防止或限制肾再灌注损伤(包括继发于肾再灌注的肺损伤)的严重性、防止或限制心肌梗塞后的再灌注心脏损伤、防止或限制心血管损伤后的再灌注脑损伤,所述心血管损伤包括但不限于心肌梗塞、中风等。本发明在防止或限制器官移植中的再灌注器官损伤上具有另外的特别应用,所述器官移植包括心脏、肾、肝、肺、胰腺或小肠的移植。在一个方面,本发明的药物组合物可用于移植器官的灌注,该灌注可以在器官移植之前、过程中或之后。

[0181] 在一个实施方案中,本发明涉及使用一种或多种本发明的肽来保护患者的心脏、脑或其他器官免受由缺血-再灌注损伤引起的损伤的方法,所述由缺血-再灌注损伤引起的损伤包括由再灌注引起的或者在再灌注过程中引起的损伤。针对缺血-再灌注损伤的保

护作用即使发生,或在施用包含一种或多种本发明的肽的组合物后短时间内,优选在施用后至少约 40 分钟内,更优选在 1-20 分钟内,更优选在 1-15 分钟内,且最优选在约 1-10 分钟内发生。

[0182] 2.6. 与增加的细胞因子表达相关的疾病及相关疾病、适应症、病症和综合征。

[0183] 各种细胞因子的表达在炎症过程中增加,所述炎症过程包括继发于循环休克、缺血、再灌注损伤等的炎症过程。TNF- $\alpha$  是主要由巨噬细胞产生且也由其他细胞类型产生的多效细胞因子。其他在炎症过程中增加的细胞因子包括 IL-1 和 IL-6,所述炎症过程包括继发于循环休克、缺血、再灌注损伤等的炎症过程。尽管细胞因子诸如 TNF- $\alpha$  在许多情况下具有有益作用,但显著增加的水平,诸如继发于循环休克、缺血、再灌注损伤等,可具有病理作用。在一个方面,含氧量低的或缺血的组织(如继发于循环休克的含氧量低)的再灌注导致炎症反应,包括增加的细胞因子表达。

[0184] 在一个实施方案中,本发明涉及使用一种或多种本发明的肽来降低促炎症细胞因子的产生和表达的方法,所述降低促炎症细胞因子的产生和表达包括降低继发于循环休克、缺血、再灌注损伤等的促炎症细胞因子的产生和表达。降低促炎症细胞因子的产生和表达(包括但不限于 TNF- $\alpha$ 、IL-1 和 IL-6 中的一种或多种)即时发生,或在施用包含一种或多种本发明的肽的组合物后短时间内,优选在施用后至少约 40 分钟内,更优选在 1-20 分钟内,更优选在 1-15 分钟内,且最优选在约 1-10 分钟内发生。

[0185] 在一相关实施方案中,本发明涉及使用一种或多种本发明的肽来提高抗炎症细胞因子的产生和表达的方法。提高抗炎症细胞因子的产生和表达(包括但不限于 IL-10)即时发生,或在施用包含一种或多种本发明的肽的组合物后短时间内,优选在施用后至少约 40 分钟内,更优选在 1-20 分钟内,更优选在 1-15 分钟内,且最优选在约 1-10 分钟内发生。

[0186] 2.7. 用于血液透析。

[0187] 本发明的组合物和方法可用于在受治疗者进行血液透析时,通过防止或最小化过量液体的除去所继发的低血压,作为在血液透析过程中过量细胞外液的除去的助剂防止低血压,可用于通过除去过量细胞外液在血液透析处理之间稳定高血压,且可用于类似和相关的适应症。在血液透析中,血液通过透析器的血液隔室(blood compartment)被泵入,使其暴露于半透膜。然后净化过的血液经由该环路返回身体。超滤借助提高跨透析器膜之间的静水压力而发生,一般是借助于将负压施加至透析器的透析液隔室(dialysate compartment)。这种压力梯度促使水和溶解的溶质从血液移至透析液,并容许在通常 3 到 5 小时的处理过程中除去高达几升的过量细胞外液。

[0188] 长期血液透析的患者除去过量细胞外液是至关重要的,因为过量液体的长期体积膨胀的存在导致高血压。然而,由于透析中(在透析过程中)低血压,通常不可能在血液透析过程中除去所有积累的过量液体。透析中低血压被定义为收缩压下降 $\geq 20$ mm Hg 或平均动脉压下降 10mm Hg 多。透析中低血压伴有如下症状:如腹部不适、恶心、呕吐、肌肉痉挛、头晕或昏厥,以及焦虑。透析中低血压可引起心律失常并且使受治疗者容易经受冠状动脉缺血事件或脑缺血事件。

[0189] 估计所有血液透析阶段的约 25%至 50%发生透析中低血压。据信透析中低血压的主要原因是在血液透析过程中快速除去循环量,导致血流动力学不稳定(hemodynamic instability)。目前最常见的透析内低血压的治疗法是降低液体除去速率或注入液体,但

两种方法都导致透析不足和结果产生的体积过载。已考虑药理学干预,如  $\alpha$ -类肾上腺素能药米多君的使用。然而,这伴随许多副作用,包括引起仰卧性收缩期高血压 (supine systolic hypertension)。此外,多种加压素受体激动剂已考虑用于这种适用症,如在 2007 年 2 月 27 日授权的美国专利第 7,183,255 号中公开的。

[0190] 2.8. 继发于外科手术急性失血和相关适应症、病症和综合征。

[0191] 本发明的药物组合物和方法可用于在外科手术过程中发生急性失血的受治疗者。在一个实施方案中,受治疗者可正进行能够引起急性失血的外科手术。在另一实施方案中,受治疗者可计划进行能够引起急性失血的外科手术。在另一实施方案中,受治疗者可由于遗传因素(例如,家族病史)和/或环境因素(例如,饮食)而倾向于需要能够引起急性失血的外科手术或具有需要能够引起急性失血的外科手术的高风险。

[0192] 如本文所用,术语“外科手术 (surgery)”与术语“手术 (operation)”可互换使用。引起急性失血的外科手术可涉及任何类型的细胞(例如,体细胞、生殖细胞、胚胎细胞、干细胞),组织(例如,骨、肌肉、结缔组织、血液)和/或器官(例如,脑、肾、肺、心脏、胰腺、前列腺、卵巢、子宫、胃肠道)。能够引起急性失血的外科手术的实例包括但不限于选择性外科手术 (elective surgery)。

[0193] 存在许多不同类型的外科手术,包括但不限于:非必需手术 (optional surgery) 或选择性外科手术 (elective surgery)、必需手术 (required surgery) 以及紧急或急诊手术。许多外科手术程序伴随高出血或失血风险。这些包括心脏外科手术、冠状动脉旁路移植外科手术、腹部的子宫切除术、大脑淀粉样血管病、脑动脉瘤修复、动静脉畸形的放射外科手术、后动脉瘤 (posterior aneurysms) 或循环动脉瘤的血管内治疗、增生性玻璃体视网膜病变、脂肪瘤切除和鼻窦外科手术。这样,受治疗者可以是正进行、计划进行或已经进行前述外科手术程序之一或任何其他具有出血或失血高风险的外科手术程序、或任何其他存在术中或术后出血、失血、血容量过低或低血压的外科手术程序的受治疗者。

[0194] 在一个方面,本发明的组合物和方法在心脏外科手术如冠状动脉旁路移植外科手术中具有特别的应用。在美国每年进行超过 500,000 例旁路外科手术,但是没有批准的用于减少术后心血管事件的心脏保护药物。另外,大部分的旁路患者在外科手术前或外科手术过程中血压过低,并且目前被施用常规的血管加压药物。

[0195] 可借助本发明的方法在外科手术之前、过程中和/或之后向受治疗者施用包含一种或多种本发明的肽的组合物。施用给患者的包含一种或多种本发明的肽的组合物的时间和数量可由熟练的开业医师利用普通技能,考虑例如受治疗者的失血程度来选择。

[0196] 2.9. 继发于创伤的急性失血和相关适应症、病症和综合征

[0197] 本发明的药物组合物和方法可用于继发于创伤的急性失血受治疗者。在一个实施方案中,受治疗者正遭受或被诊断具有能够引起急性失血的创伤。在另一实施方案中,受治疗者可由于遗传因素(例如,三 X 综合征)和/或环境因素(例如,生活在高犯罪率区域)而倾向于遭受引起急性失血的创伤或具有遭受引起急性失血的创伤的风险。

[0198] 如本文所用,术语“创伤”与术语“损伤”可互换使用。引起急性失血的创伤可涉及任何类型的细胞(例如,体细胞、生殖细胞、胚胎细胞、干细胞),组织(例如,骨、肌肉、结缔组织、血液)和/或器官(例如,脑、肾、肺、心脏、胰腺、前列腺、卵巢、子宫、胃肠道)。能够引起急性失血的创伤的实例包括但不限于烧伤、枪伤和刺伤。

[0199] 存在许多类型的创伤,包括但不限于事故损伤和犯罪损伤。事故损伤是在任何类型事故中存有的损伤(例如,车辆事故损伤、鞭伤、溺水、跌落、运动损伤、烧伤、机械事故、窒息、自然事故、意外眼损伤、职业损伤、玩具相关损伤)。犯罪损伤是由犯罪活动(例如,虐待儿童、攻击)引起的损伤,且尤其是枪伤和刺伤。

[0200] 创伤包括战场创伤。战场创伤包括枪击或爆炸装置引发的创伤,包括但不限于火箭弹、迫击炮、地雷、简易爆炸装置等。不受控制的出血是可防止的战争相关死亡的主要原因。这些死亡绝大多数发生在可将伤员运送到治疗点之前的野外。据估计在战场上可防止的死亡的最常见的一点原因产生于肢体伤口的流血。躯干伤口的流血是可防止的死亡的另一原因。战场创伤还包括穿入头部的伤口和损伤。

[0201] 可借助本发明的方法向受治疗者施用包含一种或多种本发明的肽的组合物,这种施用可以在病症的症状开始前或症状开始后,所述病症如低血容量性休克、创伤性休克或失血性休克。施用的组合物的时间和数量可由熟练的开业医师利用普通技能,考虑例如受治疗者的失血程度来选择。

[0202] 2. 10. 眼部疾病和相关适应症、病症和综合征。

[0203] 干眼病是一种影响约 10-20% 人口的眼部疾病。这种疾病随时间增长进行性地影响更大百分比的人口,其中这些患者大多数是女性。此外,几乎每个人不时在某些情况下都经历过眼部刺激或作为病症的干眼症状和 / 或体征,所述情况如长时间视觉任务(例如,用计算机工作),在干燥环境中,施用导致眼部干燥的药物等等。在患有干眼的个体中,正常保护眼表面的保护性泪层被损坏,结果是一种或多种泪组分产生不足或不健康地产生。这能够导致眼表面的暴露,最终促进表面细胞的干燥和损害。干眼的体征和症状包括但不限于角膜炎、结膜和角膜染色、发红、视力模糊、泪膜破裂时间减少(decreased tear film break-up time),泪生成、泪量及泪流的减少、结膜发红增加、泪膜中碎屑过多、眼部干燥、眼部砂感(ocular grittiness)、眼部烧伤、眼中异物感、流泪过多、畏光、眼部蜇刺、屈光受损、眼部敏感和眼部刺激。患者可能经历这些症状中的一种或多种。过多的流泪反应可能看上去是反直觉的,但它是对由于眼引起的刺激和异物感的自然反射反应。一些患者还可能经历由眼部变态反应和干眼的症状组合所致的眼痒。

[0204] 存在许多能够影响患者的干眼体征或症状的可能的变量,包括循环激素水平、多种自身免疫疾病(例如, Sjogren 综合征和全身性红斑狼疮)、眼部外科手术包括 PRK 和 LASIK、许多药物、环境条件、视觉任务如计算机使用、眼疲劳、隐形眼镜磨损,以及机械影响如角膜敏感性,部分眼睑闭合,表面不规则(例如,翼状胬肉),以及眼睑不规则(例如,下垂、睑内翻 / 睑外翻、睑裂斑)。低湿度环境如引起脱水的环境能够加重或引起干眼症状,如坐在带有除霜器的汽车中或居住在干燥气候区。此外,视觉任务能够加重症状。能够大大影响症状的任务包括长时间看电视或使用计算机,此时眨眼率降低。

[0205] 葡萄膜炎是一种涉及眼的中层或葡萄膜的炎症的眼部疾病,并且还可以将其理解成包括涉及眼内部的任何炎性过程。葡萄膜炎包括前葡萄膜炎、中间葡萄膜炎、后葡萄膜炎和全葡萄膜炎形式,大多数葡萄膜炎病例位于前部,涉及虹膜和前房的炎症。这种病症可作为一种偶发事件发生并且随适当的治疗而消退,或者可以呈现复发或慢性性质。症状包括红眼、结膜充血、疼痛和视力下降。体征包括睫状体血管扩张(dilated ciliary vessel)、前房中存在细胞和闪光(flare),以及在角膜后表面上的角膜后沉着

物 (keratic precipitate)。中间葡萄膜炎包括炎症且在玻璃体腔中存在炎症细胞,并且后葡萄膜炎包括视网膜和脉络膜的炎症。葡萄膜炎可继发于许多疾病和疾患中的任何一种,包括急性后极部多发性鳞状色素上皮病变 (acute posterior multifocal placoid pigment epitheliopathy)、强直性脊柱炎、白塞病、鸟枪弹样视网膜脉络膜病变 (birdshot retinochoroidopathy)、布鲁氏菌病、单纯疱疹、带状疱疹、炎性肠病、幼年型类风湿性关节炎、川崎病、钩端螺旋体病、莱姆病、多发性硬化、银屑病关节炎、Reiter 综合征、结节病、梅毒、全身性红斑狼疮、弓蛔虫病、弓形体病、结核病、Vogt-Koyanagi-Harada 综合征、惠普尔病或结节性多动脉炎。

#### [0206] 2.11. 炎性疾病、适应症、病症和综合征

[0207] 本发明的肽、组合物和方法还涉及受治疗者中炎性疾病和炎性病症的治疗。存在许多可待如此治疗的炎性疾病和炎性病症。在一个方面,炎性病症产生于包括关节炎形式的疾病,包括但不限于:骨关节炎、类风湿性关节炎、脓毒性关节炎、痛风和假痛风、幼年特发性关节炎、斯蒂尔病和强直性脊柱炎,以及继发于其他疾病的关节炎,如继发于红斑狼疮的关节炎、亨诺-许兰紫癜 (Henoch-Schönlein purpura)、银屑病关节炎、反应性关节炎、血色病、肝炎、韦格纳肉芽肿、血管炎综合征、莱姆病、家族性地中海热、阵发性回归热的血免疫球蛋白过多症 (hyperimmunoglobulinemia D with recurrent fever)、TNF 受体相关的周期性综合征以及包括克罗恩病和溃疡性结肠炎的炎性肠病。在另一个方面,炎性病症产生于包括炎性肠病疾病形式的疾病:如克罗恩病、溃疡性结肠炎、胶原性结肠炎、淋巴细胞性结肠炎、缺血性结肠炎、改道性结肠炎 (diversion colitis)、Behçet 综合征、传染性结肠炎和未确定型结肠炎。在另一个方面,炎性病症源于自身免疫疾病,包括但不限于:全身性综合征,如全身性红斑狼疮、Sjögren 综合征、硬皮病、类风湿性关节和多发性肌炎,或仅影响局部身体系统的综合征,如内分泌系统 (1 型糖尿病、桥本甲状腺炎、爱迪生病等等),皮肤系统 (寻常型天疱疮),血液系统 (自身免疫性溶血性贫血),或神经系统 (多发性硬化)。因而,自身免疫疾病除了以上讨论的一般综合征之外还包括如下这些疾病和病症:急性播散性脑脊髓炎、爱迪生病、强直性脊柱炎、抗磷脂抗体综合征、再生障碍性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性卵巢炎、乳糜泻、克罗恩病、妊娠类天疱疮、古德帕斯彻综合征、格雷夫斯病、格-巴二氏综合征、桥本氏病、原发性血小板减少性紫癜、川崎病、红斑狼疮、混合结缔组织病、多发性硬化、重症肌无力、眼阵挛-肌阵挛综合征、视神经炎、Ord 甲状腺炎、天疱疮、恶性贫血、原发性胆汁性肝硬变、Reiter 综合征、Sjögren 综合征、高安动脉炎、颞动脉炎、自身免疫性溶血性贫血和韦格纳肉芽肿。

[0208] 在另一个方面,炎性病症源于或涉及慢性阻塞性肺病 (COPD),其也被称为慢性阻塞性呼吸道疾病,包括但不限于以呼吸道气流的不完全可逆的病理学限制为特征的疾病,诸如例如,慢性支气管炎、肺气肿、尘肺、肺肿瘤和其他肺部疾患。其他炎性病症包括上呼吸道或下呼吸道的疾病和疾患,诸如过敏性哮喘、非过敏性哮喘、过敏性鼻炎、血管运动性鼻炎、过敏性结膜炎、非过敏性结膜炎等等,以及与外部毒素或物质有关的呼吸道疾病,诸如各种形式的尘肺 (煤工尘肺、石棉肺、硅肺病、铁矾土纤维化、铍中毒或铁尘肺),棉尘肺或过敏性肺炎 (农民肺或饲鸟者肺)。

[0209] 又在另一个方面,炎性病症源于或涉及某种形式的移植物相关的病症或综合征,

如移植物抗宿主病,超急性排斥、急性排斥或慢性排斥。移植物抗宿主病是一种同种异体骨髓移植的常见并发症,但可发生于其他移植,并且尤其是移植物中存在 T 细胞的那些移植,这些 T 细胞作为污染物或者被有意引入。超急性、急性或慢性排斥能够发生于躯体器官,如肾、肝、胰腺、脾、子宫、心脏或肺,以及骨、角膜、脸、手、阴茎或皮肤的移植。在一个实施方案中,包含一种或多种本发明的肽的药物组合物被预防性给予以限制或防止移植物相关的病症或综合征,如在体液、器官或部分移植之前、过程中或之后立即给予。在另一实施方案中,被移植的体液、器官或部分灌注了包含一种或多种本发明的肽的药物组合物的溶液。又在另一实施方案中,一种或多种本发明的肽与一种或多种其他用于移植排斥的剂结合、共同或按顺序施用,所述其他用于移植排斥的剂如包括环孢素或他克莫司的钙依赖磷酸酶抑制剂,包括西罗莫司或依维莫司的 mTOR 抑制剂,包括硫唑嘌呤或霉酚酸的抗增殖剂,包括泼尼松龙或氢化可的松的皮质类固醇,抗体如单克隆抗 IL-2R $\alpha$  受体抗体、巴利昔单抗或达利珠单抗,或多克隆抗 T 细胞抗体如抗胸腺细胞球蛋白或抗淋巴细胞球蛋白。

[0210] 2.12. 成瘾相关疾病、适应症、病症和综合征。

[0211] 在一个方面,一种或多种本发明的肽可用于抑制酒精消耗,或用于减少酒精消耗,或用于治疗或防止酒精中毒,或用于治疗或防止酒精滥用,或用于治疗或防止酒精相关疾患。在另一相关方面,本发明一种或多种肽可用于抑制滥用药物的消耗,或用于减少滥用药物的消耗,或用于治疗或防止药物滥用,或用于治疗或防止药物滥用相关疾患。滥用药物通常是受控制的物质。这些包括受控制的天然衍生的药物,如海洛英、吗啡、阿片、可卡因、大麻 (marijuana) 等,以及合成制备的药物,如 Vicodin<sup>®</sup>、Lortab<sup>®</sup>、Lorcet<sup>®</sup>、Percocet<sup>®</sup>、Percodan<sup>®</sup>、Tylox<sup>®</sup>、氢可酮、OxyContin<sup>®</sup>、美沙酮、曲马多、多种甲基苯丙胺以及其他镇定剂、兴奋剂、或已知被滥用的镇静剂,以及没有确立药物可用性的药物,如迷魂药 (ecstasy)、LSD 或 PCP。

[0212] 3.0 某些适应症的组合治疗。

[0213] 本发明的肽、组合物和方法可以通过与一种或多种其他药物活性化合物组合施用来用于治疗任何上述疾病、适应症、病症或综合征,或黑皮质素受体介导的任何疾病、适应症、病症或综合征。这种组合施用可以借助于单一剂型,所述单一剂型包括本发明的肽和一种或多种其他药物活性化合物二者,这种单一剂型包括片剂、胶囊、喷雾剂、吸入粉末、注射液或类似物。可选择地,组合施用可以借助于两种不同剂型的施用,一种剂型含有本发明的肽并且另一种剂型包含另一药物活性化合物。在这种情况下,剂型可以是相同的或不同的。下文示例了可以采用的某些组合治疗,但不旨在限制组合治疗。

[0214] 3.1 肥胖和相关代谢综合征的组合治疗

[0215] 一种或多种本发明的肽可与可用于治疗多种体重和进食相关疾患(如肥胖和/或超重)的一种或多种其他药理学活性剂组合,尤其是影响能量消耗、糖酵解、糖原异生、糖原分解、脂解、脂肪生成、脂肪吸收、脂肪储存、脂肪排泄、饥饿和/或饱腹感和/或口渴机制、食欲/动机 (appetite/motivation)、食物摄入或胃肠蠕动的其他抗肥胖药物。减少能量摄入的药物部分地包括多种药理学剂,称为食欲减退药物,它们用作体重减轻计划中行为治疗的助剂。

[0216] 一般来说,以下所述的肥胖控制剂或药物的总剂量在与一种或多种本发明的肽组

合使用时,可以单一剂量 1 或 2-4 个分开的剂量在 0.1 到 3,000mg/天,优选约 1 到 1,000mg/天且更优选约 1 到 200mg/天的范围内。然而,精确的剂量由主治医师确定并且取决于如下因素:施用的化合物的效力、患者的年龄、体重、病症和反应。

[0217] 一种或多种本发明的肽可以与一种或多种其他可用于治疗糖尿病的药理学活性剂如其他抗糖尿病药物组合。

[0218] 一种或多种本发明的肽可另外或可选择地进一步与可用于治疗与肥胖和/或超重有关的疾病、疾患和/或病症的一种或多种其他药理学活性剂组合,所述与肥胖和/或超重有关的疾病、疾患和/或病症例如胰岛素抵抗;葡萄糖耐量受损;2 型糖尿病;代谢综合征;血脂障碍(包括高脂血症);高血压;心脏疾患(例如;冠心病、心肌梗塞);心血管疾病;非酒精性脂肪肝疾病(包括非酒精性脂肪性肝炎);关节疾患(包括继发性骨关节炎);胃食管返流;睡眠呼吸暂停;动脉硬化;中风;大血管病和微血管病;脂肪变性(例如,在肝内);胆结石;和胆囊疾患。

[0219] 根据本发明另一个方面,提供了组合治疗,包括施用药理学有效量的根据本发明的肽或其药学上可接受的盐,任选地连同药学上可接受的稀释剂或载体,并同时、相继或分别施用选自以下的一种或多种剂:

[0220] - 胰岛素和胰岛素类似物;

[0221] - 胰岛素促分泌剂,包括磺酰脲(例如,格列吡嗪)和膳食葡萄糖调节剂(有时称作“短效促分泌剂”)诸如氯茴苯酸(例如,瑞格列奈和那格列奈);

[0222] - 改进肠促胰岛素作用的剂,例如二肽基肽酶 IV(DPP-4)抑制剂(例如,维格列汀(vildagliptin)、沙格列汀(saxagliptin)和西他列汀(sitagliptin)),以及胰胰高血糖素样肽-1(GLP-1)激动剂(例如,艾塞那肽(exenatide));

[0223] - 胰岛素增敏剂(insulin sensitising agent),包括过氧化物酶体增植物激活受体  $\gamma$  (PPAR  $\gamma$ ) 激动剂,诸如噻唑烷二酮(例如,吡格列酮和罗格列酮),和具有 PPAR  $\alpha$  活性、PPAR  $\gamma$  活性和 PPAR  $\theta$  活性的任意组合的剂;

[0224] - 调整肝葡萄糖平衡的剂,例如双胍(例如,二甲双胍)、果糖 1,6-二磷酸酶抑制剂、糖原磷酸化酶抑制剂、糖原合酶激酶抑制剂和葡糖激酶活化剂;

[0225] - 设计减少/减缓从小肠吸收葡萄糖的剂,诸如  $\alpha$ -糖苷酶抑制剂(例如,米格列醇和阿卡波糖);

[0226] - 拮抗胰高血糖素的作用或减少胰高血糖素的分泌的剂,诸如糊精类似物(例如,普兰林肽);

[0227] - 防止葡萄糖被肾重吸收的剂,诸如钠依赖性葡萄糖转运蛋白 2(SGLT-2)抑制剂(例如,dapagliflozin);

[0228] - 设计治疗持续性高血糖的并发症的剂,诸如醛糖还原酶抑制剂(例如,依帕司他和雷尼司他(ranirestat));和用于治疗微血管病相关并发症的剂;

[0229] - 抗血脂障碍剂,诸如 HMG-CoA 还原酶抑制剂(他汀类,例如罗苏伐他汀)和其他降胆固醇剂;PPAR  $\alpha$  激动剂(贝特,例如吉非贝齐和非诺贝特);胆汁酸多价螯合剂(例如,消胆胺);胆固醇吸收抑制剂(例如,植物甾醇(plant sterol)(即植物甾醇(phytosterol))、合成抑制剂);胆固醇酯转移蛋白(CETP)抑制剂;回肠胆汁酸运输系统抑制剂(IBAT 抑制剂);胆汁酸结合树脂;烟酸(尼克酸)及其类似物;抗氧化剂,诸如普罗布

考;和  $\omega$ -3 脂肪酸;

[0230] - 抗高血压剂,包括肾上腺素能受体拮抗剂,诸如  $\beta$  阻断剂(例如,阿替洛尔), $\alpha$  阻断剂(例如,多沙唑嗪),和混合的  $\alpha/\beta$  阻断剂(例如,拉贝洛尔);肾上腺素能受体激动剂,包括  $\alpha$ -2 激动剂(例如,可乐定);血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂(例如,赖诺普利),钙通道阻断剂,诸如二氢吡啶类(例如,硝苯地平),苯烷基胺类(例如,维拉帕米)和苯并噻氮卓类(例如,地尔硫卓);血管紧张素 II 受体拮抗剂(例如,坎地沙坦);醛甾酮受体拮抗剂(例如,依普利酮);中枢性作用肾上腺素能药物,诸如中枢性  $\alpha$  激动剂(例如,可乐定);和利尿剂(例如,呋塞米);

[0231] - 止血调节物,包括抗血栓药,诸如纤维蛋白溶解活化剂;凝血酶拮抗剂;VIIa 因子抑制剂;抗凝血剂,诸如维生素 K 拮抗剂(例如,华法林),肝素及其低分子量类似物,Xa 因子抑制剂和直接凝血酶抑制剂(例如,阿加曲班);抗血小板剂,诸如环氧合酶抑制剂(例如,阿司匹林),腺苷二磷酸(ADP)受体抑制剂(例如,氯吡格雷),磷酸二酯酶抑制剂(例如,西洛他唑),糖蛋白 IIB/IIA 抑制剂(例如,替罗非班)和腺苷再摄取抑制剂(例如,双嘧达莫);

[0232] - 抗肥胖剂,诸如食欲抑制剂(例如,麻黄碱),包括去甲肾上腺素能剂(例如,苯丁胺)和 5-羟色胺能剂(例如,西布曲明),胰脂酶抑制剂(例如,奥利司他),微粒体转移蛋白(MTP)调节物,二酰基甘油酰基转移酶(DGAT)抑制剂和大麻素(CB1)受体拮抗剂(例如,利莫那班);

[0233] - 摄食行为改性剂,诸如食欲素受体调节物和黑色素浓集激素(MCH)调节物;

[0234] - 胰高血糖素样肽-1(GLP-1)受体调节物;

[0235] - 神经肽 Y(NPY)/NPY 受体调节物;

[0236] - 丙酮酸脱氢酶激酶(PDK)调节物;

[0237] - 5-羟色胺受体调节物;

[0238] - 瘦素/瘦素受体调节物;

[0239] - 生长素释放肽/生长素释放肽受体调节物;或

[0240] - 单胺传递调节剂,诸如选择性 5-羟色胺再摄取抑制剂(SSRI)(例如,氟西汀),去甲肾上腺素再摄取抑制剂(NARI),去甲肾上腺素 5-羟色胺再摄取抑制剂(SNRI),三单胺再摄取阻断剂(例如,特索芬辛(tesofensine))和单胺氧化酶抑制剂(MAOI)(例如,托洛沙酮和阿米夫胺),

[0241] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、此类盐的溶剂化物或前体药物,任选地连同药学上可接受的载体,于需要此种治疗性疗法的哺乳动物,诸如人。

[0242] 根据本发明另外其他的方面提供了组合治疗,包括施用药理学上有效量的根据本发明的化合物或其药学上可接受的盐,任选地连同药学上可接受的载体,并同时、相继或分别施用极低热量饮食(VLCD)或低热量饮食(LCD)。

[0243] 3.2 性功能障碍的组合治疗

[0244] 还有可能并且涵盖了使用与诸如用于治疗性功能障碍的其他药物或剂组合的本发明的环肽。这些其他药物和剂可以包括诱导勃起活动的剂,包括磷酸二酯酶-5(PDE-5)抑制剂、睾酮、前列腺素以及类似物。在本发明的优选实施方案中,本发明的环肽与治疗有效量的环-GMP 特异性磷酸二酯酶抑制剂或  $\alpha$ -肾上腺素能受体拮抗剂组合使用。题目为

“Multiple Agent Therapy for Sexual Dysfunction(性功能障碍的多药剂治疗)”的美国专利申请号美国专利号 7, 235, 625 的教导和公开内容通过引用并入本文, 如同完整列出。

[0245] 因此, 本发明提供治疗性功能障碍的方法, 所述方法包括向具有性功能障碍或具有性功能障碍风险的患者施用治疗有效量的本发明的环肽与治疗有效量的第二性功能障碍药剂的组合的步骤。本发明的环肽可以在治疗有效量的第二性功能障碍药剂施用的同时、之前或之后施用。优选地, 在施用治疗有效量的第二性功能障碍药剂的一小时内, 优选小于半小时之内施用本发明的肽。然而, 对于某些形式的组合治疗, 诸如与治疗有效量的激素或激素相关性功能障碍药剂的组合, 所述激素或激素相关性功能障碍药剂可以独立的方案施用, 以致在本发明的肽和所述激素和激素相关性功能障碍药剂施用之间没有固定的或特定的时间关系。因此, 例如, 当患者希望或需要时, 激素或激素相关性功能障碍药剂可以每日或以其他剂量或借助于贴剂或其他连续施用方案, 与本发明的肽的施用一起施用。

[0246] 因此, 本发明提供治疗性功能障碍的方法, 所述方法包括向具有性功能障碍或具有性功能障碍风险的患者施用治疗有效量的本发明的环肽与可用于治疗性功能障碍的另一化合物的组合的步骤。在组合治疗的优选实施方案中, 性功能障碍是雌性性功能障碍。在组合治疗的尤其优选的实施方案中, 性功能障碍是勃起功能障碍。

[0247] 本发明还提供了包含本发明的环肽和可用于治疗性功能障碍的第二化合物的药物组合物。在组合物的实施方案中, 可用于治疗性功能障碍的其他化合物优选选自但不限于由下列组成的组: 磷酸二酯酶抑制剂; 环-GMP- 特异性磷酸二酯酶抑制剂; 前列腺素; 阿朴吗啡; 催产素调节剂;  $\alpha$ -肾上腺素能拮抗剂; 雄激素; 选择性雄激素受体调节剂 (SARM); 安非他酮 (bupropion); 血管活性肠肽 (VIP); 中性内肽酶抑制剂 (NEP); 和神经肽 Y 受体拮抗剂 (NPY)。

[0248] 在方法和组合物的实施方案中, 第二性功能障碍药剂是睾酮。

[0249] 在组合治疗的另一实施方案中, 第二性功能障碍药剂是 V 型磷酸二酯酶 (PDE-5) 抑制剂。例如, PDE-5 抑制剂可以是 **Viagra<sup>®</sup>**, 昔多芬的商标; **Levitra<sup>®</sup>**, 伐地那非一盐酸盐的商标; 或 **Cialis<sup>®</sup>**, 他达拉非 (tadalafil) 的商标。其他 PDE-5 抑制剂公开于 2007 年 6 月 22 日授权的并且题目为“Multiple Agent Therapy for Sexual Dysfunction(性功能障碍的多药剂治疗)”的美国专利第 7, 235, 625 号中, 通过引用并入本文。

[0250] 在上述组合物的另一实施方案中, 可用于治疗性功能障碍的化合物是雌激素激动剂/拮抗剂。在一个实施方案中, 雌激素激动剂/拮抗剂是 (-)-顺-6-苯基-5-[4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯基]-5, 6, 7, 8-四氢-萘-2-醇 (还称为拉索昔芬) 或其光学异构体或几何异构体; 药学上可接受的盐、N-氧化物、酯、季铵盐; 或其前体药物。更优选地, 雌激素激动剂/拮抗剂是 D-酒石酸盐的形式。

[0251] 在上述组合物的又一实施方案中, 雌激素激动剂/拮抗剂选自由下列组成的组: 他莫昔芬、4-羟基他莫昔芬、雷洛昔芬、屈洛昔芬、托瑞米芬、森可曼 (centchroman)、碘昔芬、6-(4-羟基-苯基)-5-[4-(2-哌啶-1-基-乙氧基)-苄基]-萘-2-醇、{4-[2-(2-氮杂-二环[2.2.1]庚-2-基)-乙氧基]-苯基}-[6-羟基-2-(4-羟基-苯基)-苯并[b]噻吩-3-基]-甲酮、EM-652、EM-800、GW 5368、GW 7604、TSE-424 或其光学异构体或几何异构体; 以及药学上可接受的盐、N-氧化物、酯、季铵盐; 及其前体药物。

[0252] 在又一实施方案中,本发明的环肽可以与任何已知的机械辅助设备或装置组合使用。

[0253] 本发明还提供用于治疗性功能障碍(包括勃起功能障碍)的药盒,所述药盒包括:包含本发明的环肽的第一药物组合物;包含可用于治疗性功能障碍的第二化合物的第二药物组合物;以及用于第一组合物和第二组合物的容器。

#### [0254] 4.0 施用和使用方法

[0255] 施用和使用的方法依据本发明的具体的肽的特征、待治疗的疾病、适应症、病症或综合征、以及本领域中已知的其他因素而变化。一般地,本领域中已知的或以后开发的任何施用和使用方法可用于本发明的肽。不限制上文,下列施用和使用方法具有对指定适应症的特定应用。

#### [0256] 4.1 用于肥胖和相关代谢综合征的施用和使用方法

[0257] 可以通任何肥胖和代谢性综合征的合适的治疗手段施用包含一种或多种本发明的肽的组合物,所述治疗包括肥胖和代谢性综合征的预防性治疗。在一个方面,所述组合物用于皮下注射,且皮下注射每天被给予一次或多次,优选在用餐之前,更优选在用餐之前约1小时到约3小时之间。在另一个方面,将所述组合物配制为可注射的持续释放制剂。在一个实施方案中,将本发明的肽与诸如聚乙二醇 3350 的聚乙二醇和任选的一种或多种另外的赋形剂和防腐剂一起配制,所述赋形剂和防腐剂包括但不限于诸如盐、聚山梨酸酯 80、调节 pH 的氢氧化钠或盐酸等的赋形剂。在另一实施方案中,本发明的肽可以与聚(原酸酯)和任选的一种或多种另外的赋形剂一起配制,所述聚(原酸酯)可以是自催化的聚(原酸酯),在聚合物骨架中具有任何可变百分比的乳酸。在一个实施方案中,采用聚(D, L- 丙交酯-共-乙交酯)聚合物(PLGA 聚合物),优选具有亲水端基的 PLGA 聚合物,如来自 Boehringer Ingelheim, Inc. (Ingelheim, Germany) 的 PLGA RG502H。这些制剂的制备可例如在适合的混合条件下在反应器中将适合溶剂如甲醇中的本发明的肽与 PLGA 的二氯甲烷溶液合并,并且向其添加聚乙烯醇的连续相溶液。一般地,大量可注射的和可生物降解的聚合物的任一种可用于持续释放可注射制剂中,所述可注射的和可生物降解的聚合物优选还是粘性聚合物。美国专利第 4,938,763 号、6,432,438 号和 6,673,767 号的教导以及其中所公开的可生物降解的聚合物和配制方法通过引用并入本文。制剂可以是依据肽的浓度和量、聚合物的生物降解率和本领域的那些技术人员已知的其他因素而需要每周一次、每月一次或基于其他间隔而的注射剂。

[0258] 包含一种或多种本发明的肽的组合物可以以诸如片剂或胶囊的单剂型口服施用。在一个优选的方面,单剂型包括肠溶衣和任选的一种或多种增加摄入、降低蛋白酶降解、增加细胞透性等的剂。

#### [0259] 4.2 用于性功能障碍的施用和使用方法

[0260] 对于性功能障碍,在优选的方面,一种或多种本发明的肽被配制为使得它可以根据需要在诸如预期的性活动之前约小于1小时、小于2小时或小于约4小时施用。在一个实施方案中,将组合物配制为用于皮下注射。在另一实施方案中,将组合物配制用于多种经皮施用途的任一种,包括含服施用、鼻施用、吸入施用以及类似途径。特别优选如下实施方案:其中将组合物配制用于鼻施用,例如借助于递送约20至约200  $\mu$ L 体积的含水组合物的计量喷雾装置,所述含水组合物包含多种其他剂的任一种,包括透性增强剂。

[0261] 4.3 用于循环休克和相关疾病、适应症、病症和疾病的施用和使用方法

[0262] 又在另一个方面,本发明包括如下方法:所述方法任选地包括在施用包含一种或多种本发明的肽的药物组合物之前和之后都,监测受治疗者的循环休克症状。因此,可以在受治疗者遭受可能引起循环休克的损伤之后但在表现心血管休克的明显症状之前(包括在表现 I 期、II 期或 III 期循环休克之前)借助本发明方法之一将一种或多种本发明的肽施用于受治疗者。

[0263] 治疗或防止本文所述的休克的方法包括向受治疗者施用治疗有效量的一种或多种本发明的肽。如本文所用,术语“施用(administer)”和“施用(administering)”用来表示将一种或多种本发明的肽导入到患者中。当施用是为了治疗目的时,在休克症状开始时或开始后,提供一种或多种本发明的肽。一种或多种本发明的肽的治疗性施用用来减弱任何症状或防止产生另外的症状。当施用是为了防止休克的目的时(“预防性施用”),在任何可见或可检测的症状之前提供一种或多种本发明的肽。一种或多种本发明的肽的预防性施用用来削弱随后产生的症状或防止多种症状一起产生。一种或多种本发明的肽的施用途径包括但不限于:局部、经皮、鼻内、阴道、直肠、口服、皮下、静脉内、动脉内、肌肉、骨内、腹膜内、硬膜外和鞘内。

[0264] 此外,本发明的治疗或防止循环休克的方法还涉及除了一种或多种本发明的肽之外向受治疗者共施用一种或多种物质。术语“共施用”表示在其中各自的生物活性或生物作用时间段重叠的时间范围内施用至少两种化合物中的每一种。因此,该术语包括相继施用以及同时施用其中一种化合物是一种或多种本发明的肽的化合物。如果多于一种化合物被共施用,则两种或更多种化合物的施用途径不需要相同。本发明的范围不受可能被共施用的化合物的身份限制。例如,一种或多种本发明的肽可与以下物质共施用:雄烯三醇、雄烯二醇或其衍生物,各种加压素激动剂,或其他药学活性物质,如儿茶酚胺类或其他  $\alpha$  肾上腺素能激动剂,  $\alpha_2$  肾上腺素能激动剂,  $\beta$  肾上腺素能激动剂或  $\beta_2$  肾上腺素能激动剂,包括但不限于肾上腺素、去甲肾上腺素、多巴胺、异丙肾上腺素、加压素和多巴酚丁胺。可选择地,一种或多种本发明的肽可与能够减轻、减弱、防止或消除受治疗者的症状的液体或其他物质共施用,所述受治疗者患有低血容量性休克、血管扩张性休克或心源性休克,表现这些病的症状,或具有患这些病的风险。可与一种或多种本发明的肽共施用的液体类型应该是对患有休克、表现休克的症状或具有患休克的风险的特定受治疗者周围的环境特异性的。例如,可与一种或多种本发明的肽共施用的液体包括但不限于盐溶液—诸如氯化钠和碳酸氢钠—以及全血、合成血液代用品、血浆、血清、血清白蛋白和胶体溶液。胶体溶液包括但不限于含羟乙基淀粉、白蛋白或血浆的溶液。在本发明的一个具体实施方案中,将液体诸如一种或多种盐溶液、胶体溶液、全血、合成血液代用品、血浆或血清与一种或多种本发明的肽共施用于患有低血容量性休克如失血性休克或表现其症状的患者。

[0265] 本发明的共施用方法的具体实施方案包括在受治疗者中进行输血的方法,其中所述输血方法包括向受治疗者提供包括一种或多种本发明的肽的血液或合成血液代用品。在输血方法中使用的血液可以是全血、合成血液代用品或任何的全血分离部分,如血浆、血清或红细胞。

[0266] 4.4 用于循环休克和相关疾病、适应症、病症和综合症的预防性治疗的施用和使用方法

[0267] 本发明还涉及通过在最初的休克症状开始前或刚开始时向受治疗者施用治疗有效量的一种或多种本发明的肽来防止具有患休克风险的受治疗者的休克或防止休克的进展的方法。如本文所用,术语“防止”涉及休克时,表示将本发明的物质施用于受治疗者来阻止一种或多种休克症状可检测地出现或减弱一种或多种休克症状的效应。术语“防止”还包括完全地阻止休克或其任何相关症状可检测地出现。因此,受治疗者可以是“预防治疗的”,诸如外科手术环境中的受治疗者,通过使用本发明的物质防止休克出现。短语“防止进展”涉及休克时,用来表示被设计来阻止一种或多种另外的休克症状在已表现一种或多种休克症状的患者中可检测的出现的程序,并且还用来表示阻止受治疗者的既有休克症状恶化。本发明的防止性方法中包括的休克症状包括但不限于诸如本文强调的休克症状,如心动过速、浅呼吸或游走呼吸 (erratic breathing) 以及死亡。“具有休克风险”的受治疗者可以根据受治疗者周围的特定情况来识别。例如,已受伤并开始失血的外科手术患者或受治疗者将具有休克风险。类似地,具有细菌感染并表现发烧或低血压的患者还可能具有休克或炎性疾病或病症的风险。

[0268] 在本发明另外的实施方案中,所述方法用于防止心源性休克、低血容量性休克和血管扩张性休克,所述休克每一种都可以处于前述三种休克期的任何一种。在本发明的一个具体实施方案中,所述方法用于防止心源性休克。在本发明的另一具体实施方案中,所述方法用于防止血管扩张性休克。在本发明的另一更具体的实施方案中,所述方法用于防止由败血症或菌血症产生的休克。在更加具体的实施方案中,所述方法用于防止处于 I 期、II 期或 III 期的脓毒性休克或菌血性休克。又在另一个实施方案中,本发明的方法用于防止低血容量性休克。在本发明的一个具体实施方案中,所述方法用于防止失血性休克。在更加具体的实施方案中,所述方法用于防止处于 I 期、II 期或 III 期的失血性休克。

[0269] 与治疗本文所述的休克的方法相似,本发明的防止休克的方法的一个实施方案包括共施用另一物质与一种或多种本发明的肽或其衍生物。本发明的范围不受可与一种或多种本发明的肽共施用来防止休克的物质的身份限制。例如,一种或多种本发明肽可与以下物质共施用来防止休克:雄烯三醇、雄烯二醇或其衍生物、各种加压素激动剂或其他药理学活性物质,如儿茶酚胺类或其他  $\alpha$  肾上腺素能激动剂,  $\alpha_2$  肾上腺素能激动剂,  $\beta$  肾上腺素能激动剂或  $\beta_2$  肾上腺素能激动剂,包括但不限于肾上腺素、去甲肾上腺素、多巴胺、异丙肾上腺素、加压素和多巴酚丁胺。

[0270] 可选择地,一种或多种本发明的肽可与能够防止或消除受治疗者的症状的液体或其他物质共施用,所述受治疗者具有患低血容量性休克、血管扩张性休克或心源性休克的风险。可与一种或多种本发明的肽共施用来防止休克的液体类型应该是对具有患休克的风险的特定受治疗者周围的环境特异性的。例如,可与一种或多种本发明的肽共施用的液体包括但不限于盐溶液——诸如氯化钠和碳酸氢钠——以及全血、合成血液代用品、血浆、血清、血清白蛋白和胶体溶液。胶体溶液包括但不限于含羟乙基淀粉、白蛋白或血浆的溶液。在本发明的一个具体实施方案中,将包括一种或多种盐溶液、胶体溶液、全血、合成血液代用品、血浆或血清的液体与一种或多种本发明的肽或其衍生物共施用于具有患低血容量性休克如失血性休克的风险的患者。

[0271] 4.5 用于炎症相关应用、疾病、适应症、病症和综合征的施用和使用方法

[0272] 又在另一个方面,本发明包括如下方法:所述方法任选地包括在施用一种或多种

本发明的肽之前和之后均监测受治疗者的炎症、炎性疾病或炎性病征的体征或症状。因此，可以在受治疗者被诊断患有有可能引起炎症反应的病症、疾病或综合征之后但在表现炎症、炎性疾病或炎性病征的明显症状之前，借助本发明方法之一将一种或多种本发明的肽施用于受治疗者。治疗或防止本文所述的炎症、炎性疾病或炎性病征的方法包括向受治疗者施用治疗有效量的一种或多种本发明的肽。如本文所用，术语“施用 (administer)”和“施用 (administering)”用来表示将至少一种化合物导入到受治疗者中。当施用是为了治疗目的时，在炎症、炎性疾病或炎性病征的体征或症状开始时或开始后提供所述物质。这种物质的治疗性施用用来减弱任何症状或防止另外的症状产生。当施用是为了防止或限制炎症、炎性疾病或炎性病征的目的的预防性施用时，在任何可见或可检测的症状之前提供包含一种或多种本发明的肽的药物组合物。一种或多种本发明的肽的预防性施用用来削弱随后产生的症状或防止多种症状一起产生。一种或多种本发明的肽的施用途径包括但不限于：局部、经皮、鼻内、阴道、直肠、口服、皮下、静脉内、动脉内、肌内、骨内、腹膜内、硬膜外和鞘内。

#### [0273] 4.6 用于眼部疾病、适应症、病症和综合征的施用和使用方法

[0274] 对于眼部应用，在一个方面，一种或多种本发明的肽被配制为眼用剂型，并且以滴眼剂、洗眼剂的形式或借助其他眼部递送系统施用。

#### [0275] 4.7. 用于失血性休克或创伤性休克施用的装置

[0276] 在某些方面，可提供专门装置用于递送和施用包含一种或多种本发明的肽的药物组合物。因此在一个方面，预装填的注射器可能适于在用于战场条件下急症治疗的军事应用中使用，诸如用于治疗战场创伤，或者被照顾创伤受害者的随行医务人员使用。预装填的注射器可包括含一种或多种本发明的肽的冻干组分以及水性溶解组分，以使得该药物组合物可在使用前直接重新构建。所得的重新构建的药物组合物可以是等渗或高渗溶液。在相关方面，预装填的注射器可包括溶液中的一种或多种本发明的肽，且药物组合物含一种或多种防腐剂或稳定剂，以使得该预装填的注射器可在环境温度（如室温）下储存指定时间，而没有实质性降解。

#### [0277] 5.0 制备方法

[0278] 一般地，本发明的肽可以通过固相合成来合成，并根据本领域中已知的方法纯化。可以使用采用多种树脂和试剂的大量公知程序的任一种来制备本发明的肽。

[0279] 可以通过用于形成氨基酸之间的肽键的已知常规程序来容易地合成本发明的环肽。这种常规程序包括：例如，容许具有在其羧基和其他反应性基团被保护的氨基酸或其残基的游离  $\alpha$  氨基与具有其氨基或其他反应性基团被保护的另一氨基酸或其残基的游离伯羧基之间进行缩合的任何液相程序。在优选的常规程序中，本发明的环肽可以通过固相合成来合成，并根据本领域中已知的方法纯化。可以使用采用多种树脂和试剂的大量公知程序的任一种来制备本发明的肽。

[0280] 合成环肽的方法的进行可以通过其中将期望序列中的每个氨基酸一次一个连续添加至另一氨基酸或其残基的程序，或者通过其中具有首先常规合成具有期望的氨基酸序列的肽片段，然后缩合以提供期望的肽的程序。然后将所得肽环化以产生本发明的环肽。

[0281] 固相肽合成方法是在本领域中公知的并实践的。在这种方法中，本发明的肽的合成可以根据固相方法的一般原则通过将期望的氨基酸残基一次一个顺序掺入到增长的肽链中进行。这些方法公开于大量参考文献中，包括 Merrifield, R. B., Solid phase

synthesis(Nobel lecture)(固相合成(诺贝尔讲座)).Angew Chem 24:799-810(1985) 以及 Barany 等人, The Peptides, Analysis, Synthesis and Biology(肽、分析、合成和生物学), 第2卷, Gross, E. 和 Meienhofer, J., 编辑. Academic Press 1-284(1980)。

[0282] 在肽的化学合成中, 用合适的保护基保护多个氨基酸残基的反应性侧链基团, 所述保护基保护该位点不发生化学反应直到该保护基被移除。还常见的是在实体在羧基处反应时保护氨基酸残基或片段的  $\alpha$  氨基, 随后选择性移除  $\alpha$  氨基保护基以容许在该位点发生后续反应。特异性保护基已经被公开并且是固相合成方法和液相合成方法中已知的。

[0283] 可以用合适的保护基保护  $\alpha$  氨基, 包括尿烷型保护基, 例如苄氧羰基 (Z) 和取代的苄氧羰基, 如对氯苄氧羰基、对硝基苄氧羰基、对溴苄氧羰基、对联苯基异丙氧羰基、9-苄基甲氧羰基 (Fmoc) 和对甲氧基苄氧羰基 (Moz); 以及脂肪族尿烷型保护基, 例如叔丁氧羰基 (Boc)、二异丙基甲氧羰基、异丙氧羰基和烯丙氧羰基 (Alloc)。Fmoc 优选用于  $\alpha$  氨基保护。

[0284] 可以用下列合适的保护基保护胍基: 例如, 硝基、对甲苯磺酰基 (Tos)、Z、五甲基色烷磺酰基 (Pmc)、金刚烷基氧基羰基、五甲基二氢苯并呋喃-5-磺酰基 (Pbf) 和 Boc。Pbf 和 Pmc 是 Arg 的优选保护基。

[0285] 本文所述的本发明的肽是使用固相合成制备的, 例如借助于 Symphony Multiplex Peptide Synthesizer(Rainin Instrument Company) 自动化肽合成仪, 使用如厂家提供的编程模块, 并根据厂家的手册中所描述的方案进行。

[0286] 固相合成是通过将被保护的  $\alpha$  氨基偶联至合适的树脂上而从肽的 C 端开始的。如下制备这种起始材料: 经由酯键将  $\alpha$  氨基被保护的氨基酸附连到对苄氧基苄醇 (Wang) 树脂、2-氯三苯甲基氯树脂或酞树脂上; 通过 Fmoc-连接物如 对-[(R,S)- $\alpha$ -[1-(9H-苄-9-基)甲氧基甲酰氨基]-2,4-二甲氧基苄基]-苄氧乙酸 (Rink 连接物) 与二苯甲胺 (BHA) 树脂之间的酰胺键; 或者通过本领域中公知的其他方法。Fmoc-连接物-BHA 树脂载体是商购获得的, 并且在可行时通常使用。通过按需要顺序添加氨基酸的重复循环加载树脂。在碱性条件下移除  $\alpha$  氨基 Fmoc 保护基。在 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) 中的哌啶、哌嗪、二乙胺或吗啉 (20-40% v/v) 可用于这种目的。

[0287] 在移除  $\alpha$  氨基保护基之后, 以期望顺序逐步偶联后续的被保护的氨基酸以获得中间体, 被保护的肽-树脂。在肽的固相合成中用于偶联氨基酸的激活试剂是本领域中公知的。在肽合成后, 如果期望, 可以使用本领域中公知的方法移除被正交保护的侧链保护基以便进一步衍生肽。

[0288] 通常, 正交保护基在适当时使用。例如, 本发明的肽含有多个具有含氨基侧链的氨基酸。在一个方面, Allyl-Alloc 保护方案用于通过氨基酸的侧链形成内酰胺桥的氨基酸并且在不同的反应条件下可裂解的正交保护基用于具有含氨基侧链的其他氨基酸。因此, 例如 Fmoc-Lys(Alloc)-OH、Fmoc-Orn(Alloc)-OH、Fmoc-Dap(Alloc)-OH、Fmoc-Dab(Alloc)-OH、Fmoc-Asp(OA11)-OH 或 Fmoc-Glu(OA11)-OH 氨基酸可用于环化后形成内酰胺桥的位置, 而具有含氨基侧链的其他氨基酸具有不同的正交保护基, 例如具有 Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Lys(Pbf)-OH、Fmoc-Dab(Pbf)-OH 或类似保护基。可以类似地采用其他保护基, 例如但不限于: Mtt/OPp(4-甲基三苯甲基/2-苯基异丙基) 可用于在环化后形成内酰胺桥的侧链, 正交保护基用于不可以使用适于 Mtt/OPp 裂解的条件裂解的其他

位置。

[0289] 可以在固相合成期间或在从树脂上移除之后选择性地修饰肽中的反应性基团。例如,可以在位于树脂上时,修饰肽以获得 N 端修饰,如乙酰化,或者肽可以使用裂解剂从树脂上移除,然后修饰。类似地,用于修饰氨基酸侧链的方法是肽合成的领域中的那些技术人员所公知的。对肽上所存在的反应性基团进行的修饰的选择将部分地由肽中所期望的特征所确定。

[0290] 在本发明的肽中,在一个实施方案中,N 端基团是通过引入 N-乙酰基而修饰的。在一个方面,采用如下的方法:其中在移除 N 端的保护基之后,使树脂结合的肽在存在诸如吡啶或二异丙基乙胺的有机碱的条件下与在 DMF 中的乙酸酐反应。N 端乙酰化的其他方法是本领域中已知的,包括液相乙酰化,并且可以采用这些方法。

[0291] 在一个实施方案中,可以在从肽树脂上裂解之前将肽环化。对于通过反应性侧链部分的环化,将期望的侧链脱保护,并将肽悬浮于合适的溶剂中并添加环化偶联剂。合适的溶剂包括:例如 DMF、二氯甲烷 (DCM) 或 1-甲基-2-吡咯酮 (NMP)。合适的环化偶联剂包括:例如,2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基四氟硼酸脲 (TBTU)、2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基六氟磷酸脲 (HBTU)、苯并三唑-1-基-氧基-三(二甲氨基)六氟磷酸磷 (BOP)、苯并三唑-1-基-氧基-三(吡咯烷基)六氟磷酸磷 (PyBOP)、2-(7-氮杂-1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基四氟硼酸脲 (TATU)、2-(2-氧代-1(2H)-吡啶基)-1,1,3,3-四甲基四氟硼酸脲 (TPTU) 或 N,N'-二环己基碳二亚胺 /1-羟基苯并三唑 (DCCI/HOBt)。偶联常规上是通过使用如下的合适的碱启动的,例如 N,N-二异丙基乙胺 (DIPEA)、2,4,6-三甲基吡啶 (sym-collidine) 或 N-甲基吗啉 (NMM)。

[0292] 对于具有非内酰胺环桥的肽,诸如含以下桥的肽:

[0293]  $-(CH_2)_x-NH-C(=O)-(CH_2)_z-C(=O)-NH-(CH_2)_y-$ ,

[0294] 其中 x、y 和 z 各自独立地为 1 到 5,这些肽可以使用固相合成来制备,所述固相合成在待环化位置采用侧链受保护的二胺氨基酸。在这些位置中特别优选 Dap、Dab 或 Lys,优选具有胺保护基如 Alloc、Mtt、Mmt(甲氧基三苯甲基)、Dde(1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代环己-1-亚基))乙基)、ivDde(1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代环己-1-亚基)-3-甲基丁基)或任何其他可正交裂解的保护基。通常,一个侧链保护基被首先除去,诸如使用二氯甲烷中的 2% TFA 除去 Mtt。在洗涤树脂后,将所得树脂结合的未受保护的胺酰化,诸如用环酐如琥珀酸酐或戊二酸酐在二氯甲烷/吡啶 1:1 中的 0.5M 溶液。在另外的洗涤步骤后,使第二个二氨基氨基酸的可正交裂解的保护基裂解,诸如使用二氯甲烷中的四(三苯膦)钯(0)和苯基硅烷除去 Alloc。在用二氯甲烷和 DMF 洗涤后,利用标准偶联试剂如 TBTU 和碱环化该树脂结合的肽。可选择地,可利用 5% 胍的 DMF 溶液将 ivDde 保护的树脂结合的二氨基氨基酸脱保护,并且在用 DMF 洗涤后,所得树脂结合的胺可用环酐酰化或者可用树脂结合的羧酸环化。

[0295] 然后可以使用如下的任何合适试剂将环化的肽从固相上裂解:诸如,在 DCM 中的乙胺,或诸如三氟乙酸 (TFA)、三异丙基硅烷 (TIS)、二甲氧基苯 (DMB)、水以及类似物等的剂的多种组合。干燥所得的粗肽并且若存在剩余的氨基酸侧链保护基,则使用如下的任何合适的试剂将其裂解,例如(在存在水的条件下的 TFA、TIS、2-巯基乙烷 (2-mercaptopethane, ME) 和 / 或 1,2-乙烷二硫醇 (EDT)。通过添加冷的乙醚沉淀终产物

并且通过过滤收集。通过反相高效液相色谱 (RP-HPLC) 使用诸如 C<sub>18</sub> 柱的合适的柱进行最终的纯化, 或者还可以采用分离或纯化的其他方法, 例如基于肽的大小或电荷的方法。纯化后, 可以通过许多方法表征肽, 例如高效液相色谱 (HPLC)、氨基酸分析、质谱以及类似方法。

[0296] 对于具有 C 端取代的酰胺衍生物或 N- 烷基的本发明的肽来说, 可通过固相合成进行合成, 所述固相合成借助于将受保护的  $\alpha$  氨基酸偶联于适合的树脂的该肽的 C 末端开始。本领域已描述这些用于在固相上制备取代的酰胺衍生物的方法。参见, 例如, Barn D.R. 等人, Synthesis of an array of amides by aluminum chloride assisted cleavage on resin bound esters(在树脂结合的酯上借助于氯化铝辅助的裂解来合成一系列酰胺). Tetrahedron Letters, 37:3213-3216(1996); DeGrado W.F. 和 Kaiser E.T., Solid-phase synthesis of protected peptides on a polymer bound oxime: Preparation of segments comprising the sequences of a cytotoxic 26-peptide analogue(受保护的肽在聚合物结合的肟上的固相合成: 包含细胞毒性 26-肽类似物的序列的片段的制备). J. Org. Chem., 47:3258-3261(1982)。这种原料的制备可通过将  $\alpha$  氨基受保护的氨基酸借助酯键连接至对苄氧基苄醇 (Wang) 树脂或借助公知手段连接至肟树脂。用期望的氨基酸序列延长肽链, 将肽环化并且用适当胺 (如甲胺、二甲胺、乙胺等等) 的溶液处理肽-树脂。可借助 DCM 中的氯化铝将采用对苄氧基苄醇 (Wang) 树脂的肽从树脂上裂解, 并且可借助 DCM 将采用肟树脂的肽裂解。

[0297] 尽管主要参考固相 Fmoc 化学法描述了合成, 但是应理解可以采用其他化学方法和合成方法来制备本发明的环肽, 例如但不限于: 采用 Boc 化学、液相化学和其他化学和合成的方法。

#### [0298] 6.0 制剂

[0299] 包含一种或多种本发明的环肽的组合物的制剂可以依据期望的施用途径而变化。因此, 制剂可以适于皮下注射、或静脉内注射、用于局部应用、用于眼部应用、用于鼻喷雾应用、用于吸入应用、用于其他经皮应用和类似应用。

#### [0300] 6.1 本发明的环肽的盐形式

[0301] 本发明的环肽可以呈任何药学上可接受的盐的形式。术语“药学上可接受的盐”是指由药学上可接受的无毒性碱或酸制备的盐, 所述药学上可接受的无毒性碱或酸包括无机碱或有机碱和无机酸或有机酸。由无机碱衍生的盐包括: 铝盐、铵盐、钙盐、铜盐、铁盐、亚铁盐、锂盐、镁盐、锰盐、亚锰盐、钾盐、钠盐、锌盐以及类似盐。尤其优选的是: 铵盐、钙盐、锂盐、镁盐、钾盐和钠盐。由药学上可接受的有机无毒性碱衍生的盐包括下列物质的盐: 伯胺、仲胺和叔胺、包括天然存在的取代的胺的取代的胺、环状胺、和碱性离子交换树脂, 如精氨酸、甜菜碱、咖啡因、胆碱、N, N'-二苄基乙二胺、二乙胺、2-二乙氨基乙醇、2-二甲氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基-吗啉、N-乙基哌啶、葡萄糖胺、氨基葡萄糖、组氨酸、海巴胺 (hydrabamine)、异丙胺、赖氨酸、甲基葡萄糖胺、吗啉、哌嗪、哌啶、聚胺树脂、普鲁卡因、嘌呤、可可碱、三乙胺、三甲胺、三丙胺、氨基丁三醇以及类似物。

[0302] 当本发明的环肽是碱性时, 可以由药学上可接受的无毒性酸制备酸加成盐, 所述无毒性酸包括无机酸和有机酸。这种酸包括: 乙酸、苯磺酸、苯甲酸、樟脑磺酸、羧酸、柠檬酸、乙磺酸、甲酸、富马酸、葡萄糖酸、谷氨酸、氢溴酸、盐酸、羟乙磺酸、乳酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、甲磺酸、丙二酸、粘酸、硝酸、扑酸、泛酸、磷酸、丙酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸、对甲苯

磺酸、三氟乙酸以及类似酸。本发明的肽的酸加成盐在该肽和过量的酸的合适的溶剂中制备：所述酸例如盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、乙酸、三氟乙酸、柠檬酸、酒石酸、马来酸、琥珀酸或甲磺酸。乙酸盐、乙酸铵和三氟乙酸盐形式是尤其有用的。如果本发明的肽包含酸性部分，合适的药学上可接受的盐可以包括碱金属盐，如钠盐或钾盐；或碱土金属盐，如钙盐或镁盐。应理解，式 (I) 的某些肽可以溶剂化形式以及非溶剂化形式存在，所述溶剂化形式包括游离肽的溶剂化物或该化合物的盐的溶剂化物。术语“溶剂化物”在本文用于描述包含本发明的化合物和一种或多种药学上可接受的溶剂分子如乙醇的分子复合物。在所述溶剂是水时，使用术语“水合物”。应理解所有的多晶型物，包括不同多晶型物的混合物，被包括在所述要求保护的肽的范围之内。

#### [0303] 6.2 药物组合物

[0304] 本发明提供包含本发明的环肽和药学上可接受的载体的药物组合物。载体可以是液体制剂，并且优选是缓冲溶液、等渗溶液、水溶液。如下文所描述的，药学上可接受的载体还包括诸如稀释剂、载体等的赋形剂；和诸如稳定剂、防腐剂、增溶剂、缓冲剂等添加剂。

[0305] 如可能期望的，可以将本发明的环肽组合物配制成或组合成包含至少一种本发明的环肽以及一种或多种药学上可接受的载体的药物组合物，所述药学上可接受的载体包括诸如稀释剂、载体等的赋形剂和诸如稳定剂、防腐剂、增溶剂、缓冲剂等添加剂。制剂的赋形剂可以包括聚乙烯吡咯酮、明胶、羟丙基纤维素、阿拉伯胶、聚乙二醇、甘露醇、氯化钠和柠檬酸钠。对于注射或其他液体施用制剂，含至少一种或多种缓冲组分的水是优选的，并且还可以采用稳定剂、防腐剂和增溶剂。对于固体施用制剂，可以采用多种增稠添加剂、填充添加剂、膨胀添加剂和载体添加剂的任一种，例如淀粉、糖、纤维素衍生物、脂肪酸和类似物。对于局部施用制剂，可以采用多种乳剂、软膏、凝胶、洗剂以及类似形式的任一种。对于大多数药物制剂，按重量或体积计，非活性成分将组成制剂的较大部分。对于药物制剂，还涵盖了可采用多种控释 (measured-release)、缓释或持续释放制剂的任一种和添加剂，以致该制剂可以被配制为提供本发明的肽在一段时间内递送。

[0306] 一般地，施用于患者的本发明的环肽的实际量将依据施用模式、使用的制剂以及期望的反应而在相当广泛的范围内变化。

[0307] 在实际应用中，可以根据常规的药物组合技术，将本发明的环肽作为活性成分以混合物形式与药物载体组合。载体可以依据期望用于施用的制剂形式而采取多种形式，例如，口服、肠胃外（包括静脉内）、尿道、阴道、鼻、含服、舌下或类似形式。在制备用于口服剂型的组合物中，可以采用任何常见的药物介质，诸如，在口服液体制剂诸如例如悬浮液、酏剂和溶液情况下的水、二醇、油、醇、调味剂、防腐剂、着色剂以及类似物；或在口服固体剂型诸如例如粉剂、硬胶囊和软胶囊以及片剂情况下的载体，例如淀粉、糖、微晶纤维素、稀释剂、粒化剂、润滑剂、粘合剂、崩解剂以及类似物。

[0308] 由于片剂和胶囊易于施用，所以它们代表了便利的口服剂量单位形式。如果需要，可以通过标准的水或非水技术包衣片剂。在这种治疗上有用的组合物中活性肽的量使得将获得有效剂量。在另一剂量单位形式中，可以采用舌下构建物，例如薄片、糯米纸饅剂、片剂或类似物。

[0309] 片剂、丸剂、胶囊以及类似形式还可以含有粘合剂，例如聚维酮、黄蓍胶、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶；稀释剂；填充剂，如微晶纤维素；赋形剂，例如磷酸二钙；崩解剂，例如

玉米淀粉、马铃薯淀粉或海藻酸；防腐剂；着色剂；润滑剂，例如硬脂酸镁；以及增甜剂，例如蔗糖、乳糖或糖精。当剂量单位形式是胶囊时，除了上述类型的材料外它还可以含有液体载体，如脂肪油。

[0310] 可以采用多种其他材料作为包衣或用于改变剂量单位的物理形式。例如，片剂可以用虫胶、糖或二者来包衣。除了活性成分外，糖浆或酏剂可以含有：作为增甜剂的蔗糖、作为防腐剂的羟苯基甲酸甲酯和羟苯基甲酸丙酯、染料和如樱桃味调味剂或橙味调味剂的调味剂。

[0311] 还可以肠胃外施用环肽。可以在水中与诸如羟丙基纤维素的表面活性剂适当混合而制备这些活性肽的溶液或悬浮液。还可以在甘油、液体聚乙二醇和它们在油中的混合物中制备分散液。这些制剂可以任选地含有防腐剂以防止微生物的生长。

[0312] 适于注射使用的药物形式包括无菌水溶液或分散液以及用于临时制备无菌注射溶液或分散液的无菌粉末。在所有情况下，所述形式必须是无菌的并且必须是流动的，流动的程度为可以通过注射器施用的程度。所述形式必须在制造和储存的条件下是稳定的，并且必须保存在抵抗诸如细菌和真菌等微生物的污染作用的条件下。载体可以是含有下列物质的溶剂或分散介质，例如水；乙醇；多元醇，例如甘油、丙二醇或液体聚乙二醇；它们的合适混合物以及植物油。

[0313] 可以借助于鼻施用而治疗性地应用本发明的环肽。“鼻施用”表示任何本发明的环肽的鼻内施用的任何形式。肽可以在水溶液中，例如包含盐水、柠檬酸盐或其他常见赋形剂或防腐剂的溶液。肽还可以呈干燥制剂或粉末制剂形式。

[0314] 本发明的环肽可以与增加药物的有效的鼻吸收的多种剂的任一种一起配制，所述药物包括肽药物。这些剂应增加鼻吸收而没有不可接受的对粘膜的损伤。美国专利第 5,693,608 号、第 5,977,070 号和第 5,908,825 号以及其他专利教导了可以采用的大量药物组合物，所述药物组合物包含吸收促进剂，并且上述专利和其中引用的所有参考文献和专利的每一个的教导均通过引用并入。

[0315] 如果是在水溶液中，则可以借助于盐水、乙酸盐、磷酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐或可以在任何生理上可接受的 pH 的其他缓冲剂适当地缓冲环肽，所述生理上可接受的 pH 一般为约 pH 4 至约 pH 7。还可以采用缓冲剂的组合，例如磷酸盐缓冲盐水、盐水和乙酸盐缓冲剂等。在盐水的情况下，可以采用 0.9% 盐水溶液。在乙酸盐、磷酸盐、柠檬酸盐等的情况下，可以采用 50mM 溶液。除了缓冲剂外，可以采用合适的防腐剂来防止或限制细菌和其他微生物生长。可以采用的一种此类防腐剂是 0.05% 苯扎氯铵。

[0316] 在可选择的实施方案中，可以将本发明的环肽直接施用至肺中。可以借助于计量剂量吸入器来进行肺内施用，计量剂量吸入器是容许在吸气期间被患者启动时自我施用本发明的肽的计量推注的装置。在这种实施方案的一个方面，环肽可以呈干燥的颗粒形式，例如在约 0.5 和 6.0  $\mu\text{m}$  之间的粒子，以便使粒子具有足以停留在肺表面并且不会被呼出的质量，但是还足够小以使它们不会在到达肺之前沉积在呼吸道表面上。可以使用多种不同技术的任一种来制备干粉微粒，包括但不限于：微研磨、喷雾干燥和快速冷冻气溶胶然后冻干。经由微粒，可以将肽沉积到深肺，从而能够快速和有效地吸收到血流中。另外，经由这种方法，不需要在经皮、经鼻或口服粘膜递送途径的情况中有时需要的渗透促进剂。可以采用多种吸入器的任一种，包括基于推进剂的气溶胶、喷雾器、单剂量干粉吸入器和多剂量干

粉吸入器。目前使用的常见装置包括计量的剂量吸入器,它用于递送用于治疗哮喘、慢性阻塞性肺病以及类似疾病的药物。优选的装置包括被设计为形成粒度通常小于约  $6.0\ \mu\text{m}$  的细粉的雾或气溶胶的干粉吸入器。

[0317] 可以借助于制备方法来控制微粒大小,包括平均大小分布。对于微研磨,研磨头的大小、转子的速度、加工时间以及类似参数控制微粒大小。对于喷雾干燥,喷嘴大小、流速、干燥器热度以及类似参数控制微粒大小。对于借助于快速冷冻气溶胶、然后冻干的制备,喷嘴大小、流速、气溶胶溶液的浓度以及类似参数控制微粒大小。可以采用这些参数和其他参数来控制微粒大小。

[0318] 本发明的环肽可以借助于注射持续释放制剂来治疗性地施用。在一个实施方案中,本发明的环肽与诸如聚乙二醇 3350 的聚乙二醇和任选的一种或多种另外的赋形剂和防腐剂一起配制,用于制剂例如在臀肌或三角肌中的深度肌肉注射,所述赋形剂和防腐剂包括但不限于诸如盐、聚山梨酸酯 80、调节 pH 的氢氧化钠或盐酸以及类似物等赋形剂。在另一实施方案中,本发明的环肽可以与聚(原酸酯)和任选的一种或多种另外的赋形剂一起配制,所述聚(原酸酯)可以是自催化的聚(原酸酯),在聚合物骨架中具有任何可变百分比的乳酸。在一个实施方案,采用聚(D, L-丙交酯-共-乙交酯)聚合物。一般地,大量可注射的和可生物降解的聚合物的任一种可用于持续释放的可注射制剂中,所述可注射的和可生物降解的聚合物优选还是粘性聚合物。可选择地,可采用其他持续释放制剂,包括容许皮下注射的制剂,所述其他制剂可包括一种或多种纳米球(nanosphere)/微球(诸如包含 PLGA 聚合物的组合物)、脂质体、乳剂(诸如油包水乳剂)、凝胶、不溶性盐或油中的悬浮液。制剂可以是依据环肽的浓度和量、所采用的材料的持续释放率以及本领域的那些技术人员已知的其他因素而需要基于以每天、每周、每月或其他间隔而注射的制剂。

### [0319] 6.3 本发明的肽的口服制剂

[0320] 在一个方面,将本发明的肽配制为用于口服递送。优选将肽配制和制备为使得其包装在肠道推进剂中,更优选使得其在片剂或胶囊经过胃并且任选还经过小肠的一部分之前不被释放。在这种应用的上下文中,应理解,术语肠溶衣或材料是指将基本上完整地通过胃但是在小肠中迅速崩解释放活性药物的包衣或材料。可以使用的一种肠溶衣溶液包含乙酸邻苯二甲酸纤维素和任选的其他成分,例如氢氧化铵、三醋汀、乙醇、亚甲蓝和纯化水。乙酸邻苯二甲酸纤维素是已经将用于制药工业中以用于肠溶衣包衣单剂型,例如片剂和胶囊,并且其在小于约 5.8 的 pH 下不溶于水的聚合物。包含乙酸邻苯二甲酸纤维素的肠溶衣提供抵抗胃的酸性环境的保护,但是在十二指肠的环境(pH 为约 6-6.5)中开始溶解,并且在剂型到达回肠(pH 为约 7-8)之时完全溶解。除了乙酸邻苯二甲酸纤维素之外,其他肠溶衣材料是已知的并且可用于本发明的肽,包括但不限于琥珀酸羟丙基甲基乙基纤维素、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素、聚乙酸乙烯邻苯二甲酸酯和甲基丙烯酸-甲基丙烯酸甲酯共聚物。所采用的肠溶衣促进剂型主要在胃外的部位溶解,并且可以选择其使得肠溶衣在约至少 6.0 的 pH 下溶解,更优选在约 6.0 至约 8.0 的 pH 下溶解。在一个优选的方面,肠溶衣在接近回肠处溶解并分解。

[0321] 可以采用多种渗透促进剂的任一种来增加肠溶衣溶解后在肠中的摄入。在一个方面,渗透促进剂增强细胞旁或跨细胞运输系统。细胞旁运输的增强是通过打开细胞的紧密连接达到的;跨细胞运输的增强可通过增加细胞膜的流动性达到。这种渗透促进剂的代表

性非限制实例包括钙螯合剂、胆汁盐（例如胆酸钠）和脂肪酸。本发明的肽可以在肠溶衣单剂型中，该单剂型在肠溶衣胶囊中包含脂肪酸以增加细胞旁运输的肠溶衣单剂型，所述脂肪酸例如油酸盐、棕榈酸盐、硬脂酸盐、癸酸钠或共轭亚油酸。

[0322] 在一个方面，诸如片剂或胶囊的单剂型任选还包含已知的常见大小和量的下列物质：诸如聚维酮的常见药物粘合剂、稀释剂、助流剂、诸如微晶纤维素的填充剂、诸如硬脂酸镁的润滑剂、诸如交联羧甲基纤维素钠的崩解剂、防腐剂、着色剂以及类似物。在一些实施方案中，进一步添加充当肠蛋白酶底物的肽或多肽。

#### [0323] 6.4 眼用制剂

[0324] 在一个实施方案中，眼部疾病、适应症、病症和综合征诸如例如干眼病或葡萄膜炎可用包含一种或多种本发明的肽的眼用剂型治疗。所述眼用剂型可包括除一种或多种本发明的肽之外的一种或多种活性成分，诸如例如，人造泪组分、局部皮质类固醇、非甾体抗炎药或钙依赖磷酸酶抑制剂，诸如环孢素 A (Restasis® -Allergan)。在一相关实施方案中，可将一种化合物或另外的化合物可与一种或多种本发明的肽分开给予，诸如分别施用包含人造泪组分的眼用剂型、局部皮质类固醇、非甾体抗炎药、钙依赖磷酸酶抑制剂如环孢素 A 或前述任何一种的组合物。

#### [0325] 6.5 施用途径

[0326] 如果包含本发明的一种或多种的肽的组合物是通过注射施用的，则注射可以是静脉内的、皮下的、肌内的、腹膜内的或本领域中已知的其他方式。本发明的肽可以通过本领域中已知的任何方式配制，包括但不限于如下制剂：片剂、胶囊、锭剂、悬浮液、粉剂、冻干制品、栓剂、滴眼剂、皮肤贴剂、口服可溶性制剂、喷雾、气溶胶以及类似制剂，并且本发明的肽可以与缓冲剂、粘合剂、赋形剂、稳定剂、抗氧化剂和本领域中已知的其他剂一起混合和配制。一般地，可以采用将本发明的肽跨细胞的表皮层引入的任何施用途径。因此施用方式可以包括通过粘膜施用、含服施用、口服施用、皮肤施用、吸入施用、鼻施用、尿道施用、阴道施用等。

#### [0327] 6.6 治疗有效量

[0328] 一般地，施用给患者的本发明的环肽的实际量将依据施用模式、使用的制剂以及期望的反应而在相当广泛的范围内变化。用于治疗的剂量是足以带来期望的治疗效果的量的通过上述方式的任一种或本领域中已知的任何其他方式施用。因此，治疗有效量包括足以治疗性地减轻患者的性功能障碍或预防或延缓性功能障碍的发病或复发的本发明的肽或药物组合物的量。

[0329] 一般地，本发明的环肽是高活性的。例如，环肽可以依据所选择的具体肽、期望的治疗反应、施用途径、制剂和本领域中的那些技术人员已知的其他因素，以约 0.1、0.5、1、5、50、100、500、1000 或 5000  $\mu\text{g/kg}$  体重施用。

#### [0330] 7.0 本发明的肽

[0331] 在一个方面，本发明提供了环七肽，该环七肽在环部分内包含衍生自 His-Phe-Arg-Trp 的核心序列，并且其中在第一位的氨基酸在该环部分的外部且具有包括至少一个伯胺、胍或脲基的侧链。可以在该第一位的代表性氨基酸包括但不限于 Dap、Dab、Orn、Lys、Cit 或 Arg。

[0332] 衍生自 His-Phe-Arg-Trp 的核心序列在 Phe 位置中将包括未取代的 D-Phe、D-Nal

1 或 D-Nal 2, 但通常, 多种氨基酸可用于该核心序列中的剩余氨基酸。一般地, His 位可以是取代或未取代的 Pro, 或者可以是具有侧链的氨基酸, 所述侧链包括至少一个伯胺、仲胺、烷基、环烷基、环杂烷基、芳基、杂芳基、醇、醚、硫化物、砜、亚砜、甲酰基 (carbonyl) 或羧基。Arg 位可以是取代或未取代的 Pro, 或者可以是具有侧链的氨基酸, 所述侧链包括至少一个伯胺、仲胺、胍、脲、烷基、环烷基、环杂烷基、芳基、杂芳基或醚。Trp 位可以是具有侧链的氨基酸, 所述侧链包括至少一个取代或未取代的芳基或杂芳基。

[0333] 式 (I) 和式 (II) 中所包含的肽含有一个或多个不对称组成, 例如立构中心、立体轴以及类似物, 以致使式 (I) 中所包含的肽可以以不同的立体异构形式存在。对于包括式 (I) 和式 (II) 中包含的肽在内的具体的肽和一般性描述的肽来说, 在所有的手性中心或其他异构中心的所有异构体形式都旨在涵盖在本文中, 所述异构体形式包括对映体和非对映体。本发明的肽每种包含多个手性中心, 并且除了在对映体纯的制剂中的本发明肽的使用外, 还可以作为外消旋混合物或对映体富集的混合物使用。通常, 使用诸如指定的 L- 氨基酸或 D- 氨基酸的手性纯的试剂采用使得能保持异构体纯度的试剂、条件和方法来合成本发明的肽, 但是还可能且涵盖可以制备外消旋混合物。任选地可以使用公知的技术来分离这种外消旋混合物, 并且可以单独地使用各对映体。在其中肽可以以互变异构形式存在的情况下和其中肽可以以互变异构形式存在的温度、溶剂和 pH 的具体条件下, 各互变异构形式无论呈平衡形式还是主要呈一种形式都被涵盖在本发明中。因此光学活性形式的式 (I) 的肽的单个对映体的获得可以通过不对称合成、由光学上纯的前体合成或通过外消旋体拆分。

[0334] 本发明还旨在包括本发明肽的前体药物, 所述前体药物在施用后通过代谢过程进行化学转化, 然后变为活性的药理肽。一般地, 这种前体药物是本发明肽的官能化衍生物, 它在体内易于转化为式 (I) 或式 (II) 的肽。前体药物是在体内释放式 (I) 或式 (II) 的活性母体肽药物的任何共价键合的化合物。用于选择和制备合适的前体药物衍生物的常规程序描述于例如 Design of Prodrugs (前体药物设计), 编辑 H. Bundgaard, Elsevier, 1985 中。前体药物的典型实例在官能部分具有生物学不稳定的保护基, 例如通过羟基、羧基或氨基官能团的酯化。因此例如但不限于, 前体药物包括其中采用酯前体药物形式的式 (I) 肽, 诸如, 式 (I) 的 R 基团的低级烷基酯, 例如其中 R 是 -OH, 所述低级烷基酯在烷基中可以包括 1-8 个碳; 或者在芳烷基中具有 6-12 个碳的芳烷基酯。泛泛地说, 前体药物包括可以在体内被氧化、还原、胺化、脱氨化、羟化、脱羟基化、水解、脱水、烷化、脱烷基化、酰化、脱酰化、磷酸化、脱磷酸化而产生式 (I) 的活性母体肽药物的化合物。

[0335] 本发明还包括与式 (I) 中所描述的肽相同, 但具有如下事实的肽: 式 (I) 中描绘的一个或多个原子被原子质量或质量数与天然常见的原子质量或质量数不同的原子代替。可以掺入本发明的化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮和氧的同位素, 例如分别为  $^2\text{H}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$ 、 $^{18}\text{O}$  和  $^{17}\text{O}$ 。含有上述同位素和 / 或其他原子的其他同位素的本发明的肽和所述化合物的药学上可接受的盐或溶剂化物在本发明的范围内。某些同位素标记的本发明的化合物, 例如掺入了诸如  $^3\text{H}$  和  $^{14}\text{C}$  的放射性同位素的那些化合物, 可能在多种测定中 useful, 例如在药物和 / 或底物组织分布测定中。较重的同位素的取代, 例如用氘 ( $^2\text{H}$ ) 取代一个或多个氢原子, 可以在某些情况下提供药理优点, 包括增加的代谢稳定性。同位素标记的式 (I) 肽一般可以通过用同位素标记的试剂代替非同位素标记的试剂来制备。

[0336] 8.0 在本发明的肽的评估中所采用的测试和测定

[0337] 可以通过测定结合、功能状态和功效的多种测定系统和动物模型来测试该发明的本发明的黑皮质素受体特异性肽。

[0338] 8.1 使用  $[I^{125}]$ -NDP- $\alpha$ -MSH 的竞争性抑制测定

[0339] 竞争性抑制结合测定使用由表达重组的 hMC4-R、hMC3-R 或 hMC5-R 的 HEK-293 细胞制备的膜匀浆和由 B-16 小鼠黑素瘤细胞 (含有内源 MC1-R) 制备的膜匀浆进行。在一些情况下,采用表达重组 hMC1-R 的 HEK-293 细胞。在下面的实例中,所有的 MC3-R、MC4-R 和 MC5-R 值是针对人重组受体。MC1-R 值是针对 B-16 小鼠黑素瘤细胞,除非标题是“hMC1-R”,在这种情况下该值是针对人重组 MC1-R。在预涂覆 0.5% 牛血清白蛋白 (Fraction V) 的 96 孔 GF/B Millipore 多重筛选滤板 (Millipore multiscreen filtration plate) (MAFB NOB10) 中进行测定。用在缓冲液中的 0.2nM (对于 hMC4-R)、0.4nM (对于 MC3-R 和 MC5-R) 或 0.1nM (对于小鼠 B16 MC1-R 或 hMC1-R)  $[I^{125}]$ -NDP- $\alpha$ -MSH (Perkin Elmer) 和递增浓度的本发明的环肽孵育膜匀浆,所述缓冲液包含具有 100mM NaCl、2mM  $CaCl_2$ 、2mM  $MgCl_2$ 、0.3mM 1,10-菲咯啉和 0.2% 牛血清白蛋白的 25mM HEPES 缓冲液 (pH 7.5)。在 37°C 孵育 60 分钟后,过滤该测定混合物并用冰冷的缓冲液洗涤膜三次。干燥滤器并在伽玛计数器中计数结合的放射性。通过在存在 1  $\mu$ M NDP- $\alpha$ -MSH 的情况下抑制  $[I^{125}]$ -NDP- $\alpha$ -MSH 的结合来测量非特异性结合。最大的特异性结合 (100%) 定义为在不存在和存在 1  $\mu$ M NDP- $\alpha$ -MSH 的情况下与细胞膜结合的放射性 (cpm) 之差。将在存在测试化合物的条件下获得的放射性 (cpm) 相对于 100% 特异性结合而标准化以测定  $[I^{125}]$ -NDP- $\alpha$ -MSH 结合的百分比抑制。一式三份进行各测定并且记述实际的平均值,将小于 0% 的结果报道为 0%。使用 Graph-Pad Prism® 曲线拟合软件测定本发明的测试肽的  $K_i$  值。

[0340] 8.2 使用 Eu-NDP- $\alpha$ -MSH 的竞争性结合测定

[0341] 可选择地,采用 Eu-NDP- $\alpha$ -MSH (PerkinElmer Life Sciences 目录号 AD0225) 通过镧系螯合物的时间分辨荧光测定法 (TRF) 测定来进行竞争性抑制结合测定。在与  $[I^{125}]$ -NDP- $\alpha$ -MSH 的比较研究中,获得了在实验误差范围内的百分比抑制和  $K_i$  的相同值。通常,测定  $K_i$  值的竞争实验通过将由表达重组 hMC4-R 的 HEK-293 细胞制备的膜匀浆与的 9 种不同浓度的关注的测试化合物和 2nM Eu-NDP- $\alpha$ -MSH 在含有下列物质的溶液中一起孵育而进行:具有 100mM NaCl、2mM  $CaCl_2$ 、2mM  $MgCl_2$  和 0.3mM 1,10-菲咯啉的 25mM HEPES 缓冲液。在 37°C 孵育 90 分钟后,通过经由 AcroWell96 孔滤板 (Pall Life Sciences) 的过滤终止反应。用 200  $\mu$ L 冰冷的磷酸盐缓冲盐水洗涤滤板 4 次。添加 DELFIA 增强液 (PerkinElmer Life Sciences) 至各孔。将板在振荡器上孵育 15 分钟并在 340nm 激发波长和 615nm 发射波长下读数。一式两份进行每个测定并采用平均值。通过用 Graph-Pad Prism® 软件使用单点固定斜率竞争结合模型 (one-site fixed-slope competition binding model) 测定  $K_i$  值。

[0342] 8.3 使用  $[I^{125}]$ -AgRP (83-132) 的竞争性结合测定

[0343] 使用  $[I^{125}]$ -AgRP (83-132) 的竞争性结合研究使用从表达 hMC4-R 的细胞分离的膜匀浆进行。在预涂覆 0.5% 牛血清白蛋白 (Fraction V) 的 96 孔 GF/B Millipore 多重筛选滤板 (MAFB NOB10) 中进行测定。该测定混合物包含具有下列物质的 25mM HEPES 缓冲液 (pH 7.5):100mM NaCl、2mM  $CaCl_2$ 、2mM  $MgCl_2$ 、0.3mM 1,10-菲咯啉、0.5% 牛血清白蛋白、膜

匀浆、放射性配体 [ $I^{125}$ ]-AgRP (83-132) (Perkin Elmer) 和总体积为 200  $\mu$ L 的递增浓度的本发明的肽。在 0.2nM 的放射性配体浓度下测量结合。在 37°C 孵育 1 小时后,过滤反应混合物并用含有 500mM NaCl 的测定缓冲液洗涤。从板上冲压出干燥的圆片 (disc) 并在伽玛计数器上计数。使用 Graph-Pad **Prism**® 曲线拟合软件测定本发明的测试肽的  $K_i$  值。

#### [0344] 8.4 激动剂活性的测定

[0345] 检验细胞内 cAMP 的积累,将其作为本发明的肽在表达 MC4-R 的 HEK-293 细胞中引发功能反应的能力的量度。通过在不含酶的细胞解离缓冲液中孵育,使表达重组 hMC4-R 的汇合的 HEK-293 细胞从培养板分离。将分散的细胞悬浮在含有下列物质的 Earle 平衡盐溶液中:10mM HEPES (pH 7.5)、1mM  $MgCl_2$ 、1mM 谷氨酰胺、0.5% 白蛋白和 0.3mM 3-异丁基-1-甲基-黄嘌呤 (IBMX)、磷酸二酯酶抑制剂。将细胞以  $0.5 \times 10^5$  个细胞/孔的密度在 96 孔板中铺板并预孵育 10 分钟。在 37°C 下将细胞暴露于本发明的肽 15 分钟,所述本发明的肽以 0.05-5000nM 的浓度范围溶解在 DMSO 中 (DMSO 终浓度为 1%),总测定体积 200  $\mu$ L。使用 NDP- $\alpha$ -MSH 作为参照激动剂。通过来自 Cisbio Bioassays 的 **HTRF**® cAMP 基于细胞的测定系统利用穴状化合物标记的抗 cAMP 和 d2 标记的 cAMP 测定 cAMP 的水平,用 Perkin-Elmer Victor 读板器在 665nm 和 620nm 读板。通过用 Graph-Pad **Prism**® 软件的非线性回归分析进行数据分析。将本发明的测试肽的最大功效与参照黑皮质素激动剂 NDP- $\alpha$  MSH 所达到的最大功效进行比较。

#### [0346] 8.5 食物摄入和体重的改变

[0347] 对于通过静脉内 (IV) 或皮下注射途径施用的选择的肽进行了食物摄入和体重的改变的评估。雄性 SD (Sprague-Dawley) 大鼠自 Hilltop Lab Animals, Inc. (Scottsdale, PA) 或其他卖主获得。将动物单个地圈养在常规的聚苯乙烯吊笼中并保持受控的 12 小时开/关光周期。随意提供水和颗粒状食物。向大鼠静脉内给药媒介物或选择的肽 (0.3 至 1.0mg/kg),或皮下给药媒介物或选择的肽 (最多 30mg/kg 的剂量)。在给药后 24 小时的时间内测定体重和食物摄入的改变。还测量了给药后 48 小时和 72 小时的内的体重和食物摄入的改变,以测定出体重和食物摄入效应的改变回复至基线水平的逆转。

#### [0348] 8.6 阴茎勃起的诱导。

[0349] 用选择的肽评估了本发明的肽诱导雄性大鼠阴茎勃起 (PE) 的能力。在具有随意的食物和水的条件下,将重量为 250-300g 的雄性 SD 大鼠保持在 12 小时开/关光周期中。所有的行为研究均在上午 9 点至下午 4 点之间进行。经由静脉内途径给 6-8 只大鼠的组施用多种剂量的肽。处理后,立即将大鼠放置在单独的聚苯乙烯笼 (27cm 长,16cm 宽且 25cm 高) 中进行行为观察,通常通过远程录像监测。观察大鼠 1 小时,以 10 分钟仓 (bin) 记录打哈欠、理毛行为发生次数和 PE 的次数。

#### [0350] 9.0 实施例。

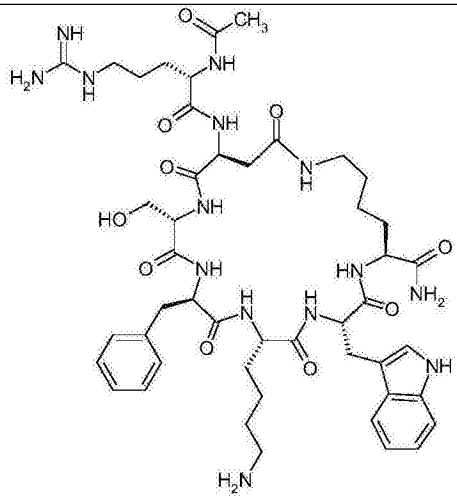
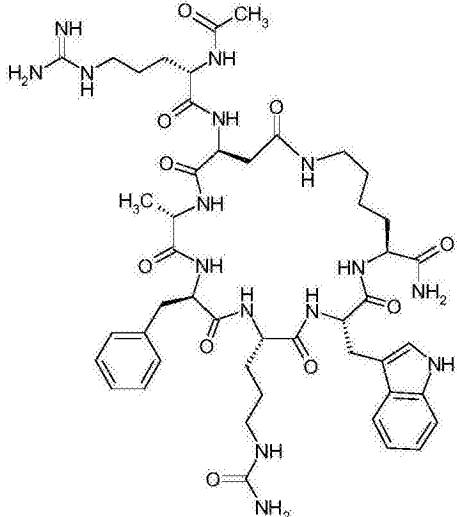
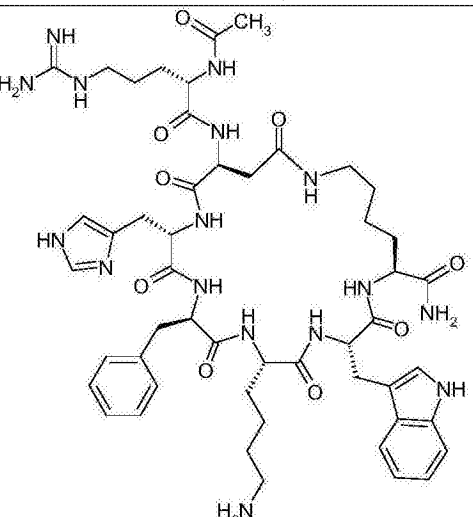
[0351] 还借助下列非限制性实例举例说明本发明:

[0352] 9.1 通过以上所述的一般方法合成下列结构的肽,并且如所示测定了肽的平均 MC4-R $K_i$  值。所有的  $K_i$  值使用 [ $I^{125}$ ]-NDP- $\alpha$ -MSH 测定,除非标有 "\*",在标 "\*" 的事件中使用 Eu-NDP- $\alpha$ -MSH 测定这些值。标 "ND" 的  $K_i$  值未被测定。

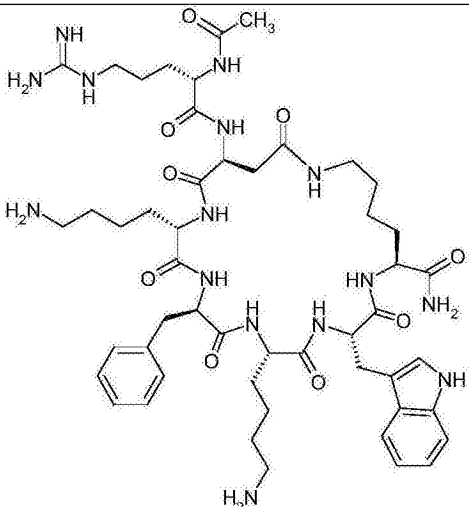
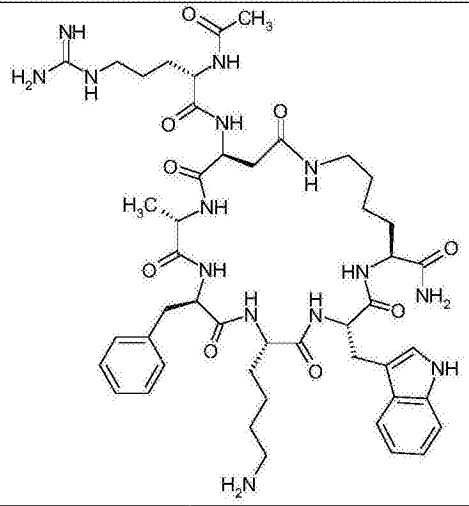
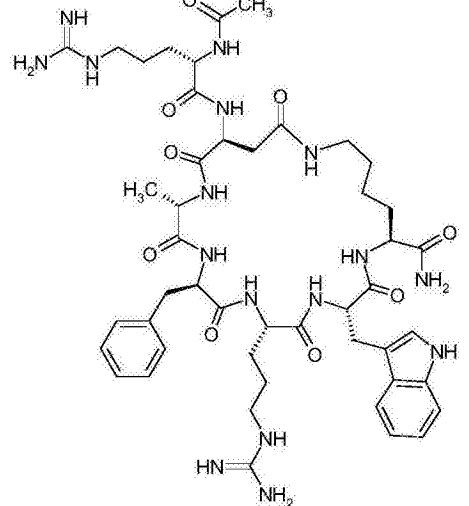
[0353]

| 编号 | 结构 | 氨基酸序列                                                       | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|----|-------------------------------------------------------------|------------------|
| 1  |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-His-D-Phe-Arg-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 2                |
| 2  |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Lys-D-Phe-Arg-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 30               |
| 3  |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Ser-D-Phe-Arg-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 172              |

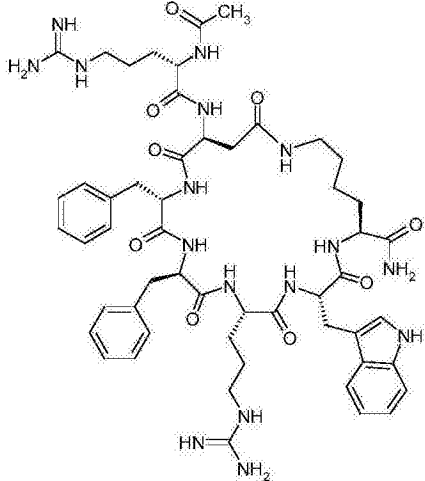
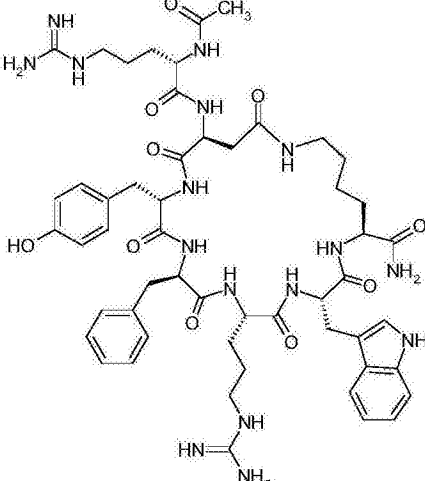
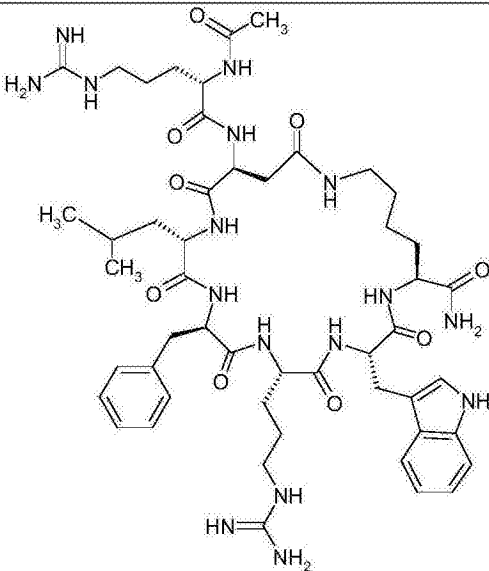
[0354]

| 编号 | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                       | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|------------------|
| 4  |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Ser-D-Phe-Lys-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 4293             |
| 5  |   | Ac-Arg-环<br>(Asp-Ala-D-Phe-Cit-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 2048*            |
| 6  |  | Ac-Arg-环<br>(Asp-His-D-Phe-Lys-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 533*             |

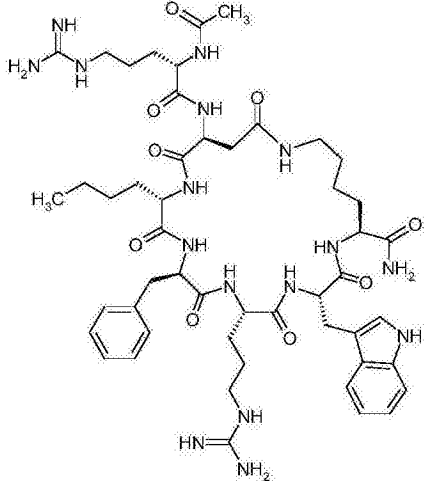
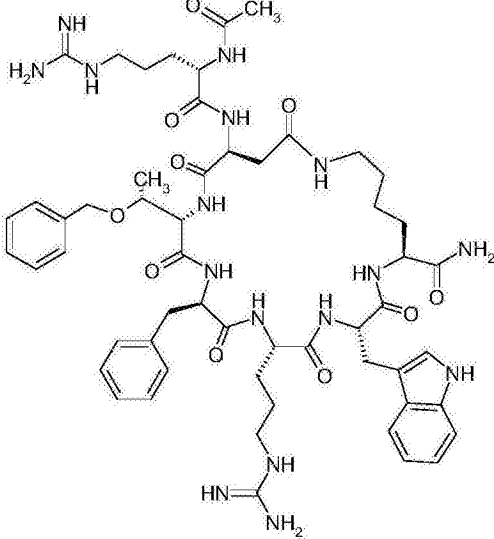
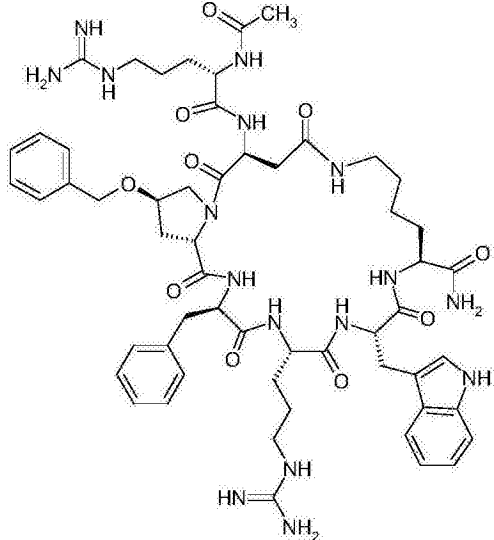
[0355]

| 编号 | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                       | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|------------------|
| 7  |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Lys-D-Phe-Lys-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 2957*            |
| 8  |   | Ac-Arg-环<br>(Asp-Ala-D-Phe-Lys-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 3018*            |
| 9  |  | Ac-Arg-环<br>(Asp-Ala-D-Phe-Arg-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 19*              |

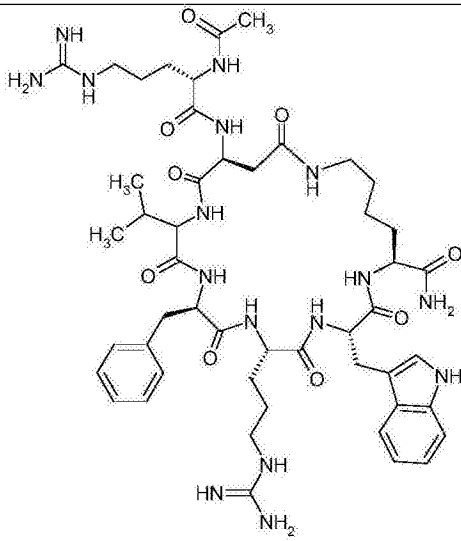
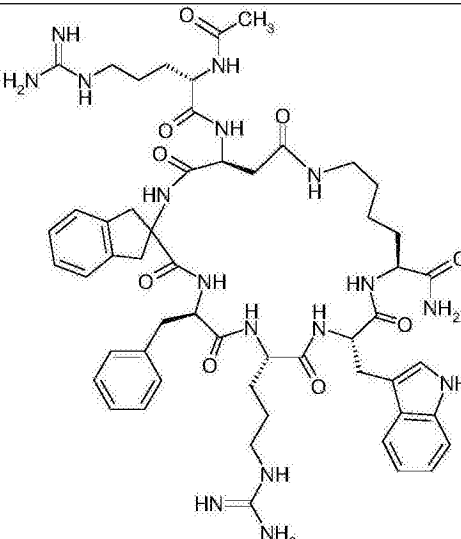
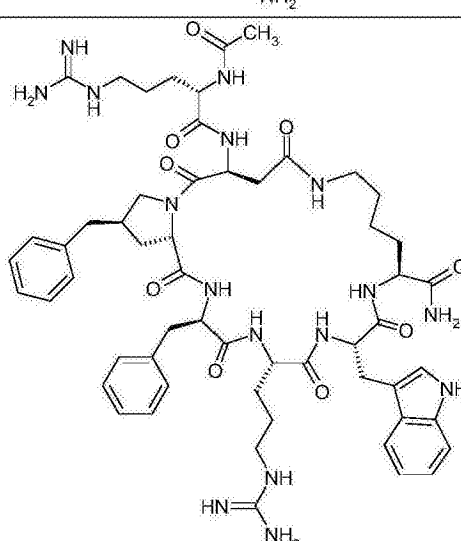
[0356]

| 编号 | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                        | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|------------------|
| 10 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Phe-D-Phe-Arg-<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 51*              |
| 11 |   | Ac-Arg-环<br>(Asp-Tyr-D-Phe-Arg-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>  | 43*              |
| 12 |  | Ac-Arg-环<br>(Asp-Leu-D-Phe-Arg-<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 33*              |

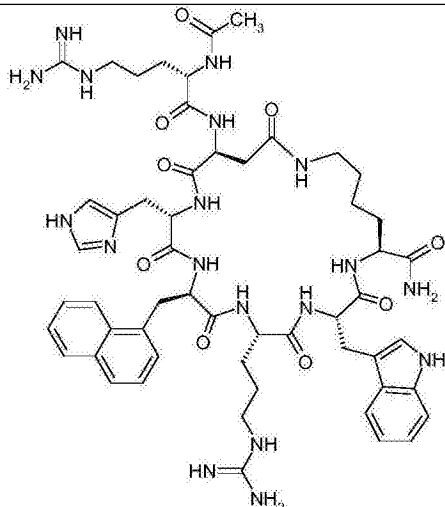
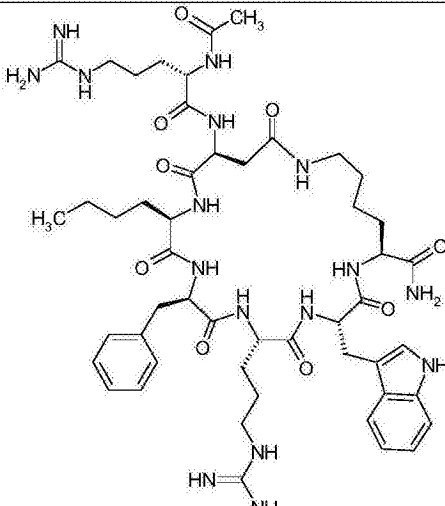
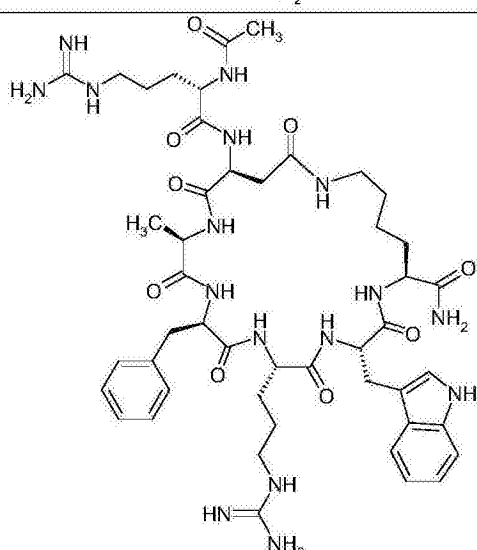
[0357]

| 编号 | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                             | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|------------------|
| 13 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Nle-D-Phe-Arg-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>       | 30*              |
| 14 |   | Ac-Arg-环<br>(Asp-Thr(Bzl)-D-Phe<br>-Arg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>  | 1                |
| 15 |  | Ac-Arg-环<br>(Asp-Hyp(Bzl)-D-Phe<br>e-Arg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 0.7*             |

[0358]

| 编号 | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                                   | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 16 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Val-D-Phe-Arg-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>             | 23               |
| 17 |   | Ac-Arg-环<br>(Asp-Aic-D-Phe-Arg-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>             | NA               |
| 18 |  | Ac-Arg-环<br>(Asp-Pro(4R-Bzl)-D-<br>Phe-Arg-Trp-Lys)-N<br>H <sub>2</sub> | 3*               |

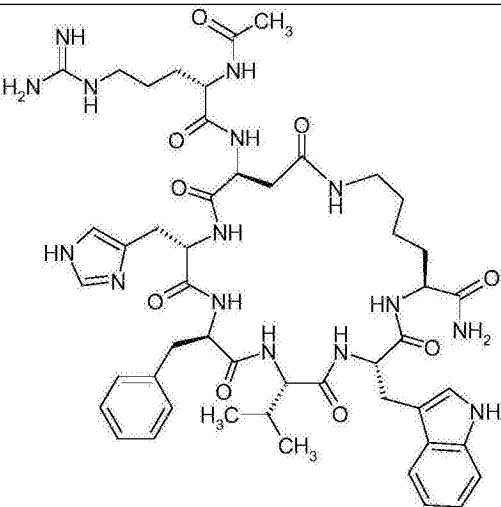
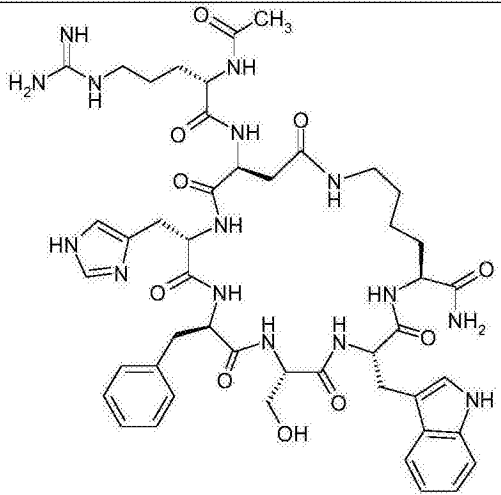
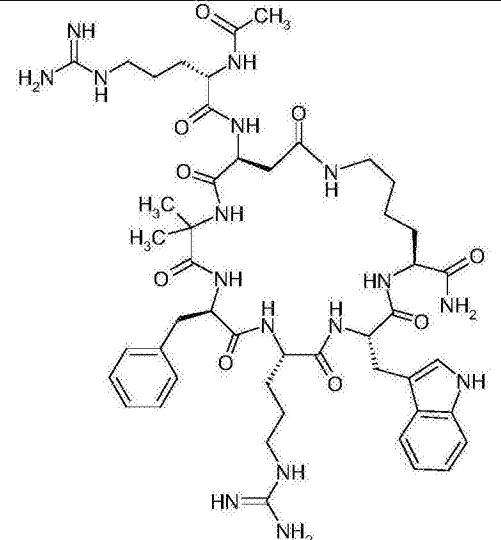
[0359]

| 编号 | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                         | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|------------------|
| 19 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-His-D-Nal<br>1-Arg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>  | 3                |
| 20 |   | Ac-Arg-环<br>(Asp-D-Nle-D-Phe-A<br>rg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | NA               |
| 21 |  | Ac-Arg-环<br>(Asp-D-Ala-D-Phe-A<br>rg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | NA               |

[0360]

| 编号 | 结构 | 氨基酸序列                                                     | MC4-R Ki (nM) |
|----|----|-----------------------------------------------------------|---------------|
| 22 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-D-Ser-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | NA            |
| 23 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-His-D-Phe-Ala-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>   | NA            |
| 24 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-His-D-Phe-Nle-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>   | NA            |

[0361]

| 编号 | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                       | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|------------------|
| 25 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-His-D-Phe-Val-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | NA               |
| 26 |   | Ac-Arg-环<br>(Asp-His-D-Phe-Ser-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | NA               |
| 27 |  | Ac-Arg-环<br>(Asp-Aib-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | NA               |

[0362]

| 编号 | 结构 | 氨基酸序列                                                       | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|----|-------------------------------------------------------------|------------------|
| 28 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Arg-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 4*               |
| 29 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Asn-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 32*              |
| 30 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Asp-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | NA               |

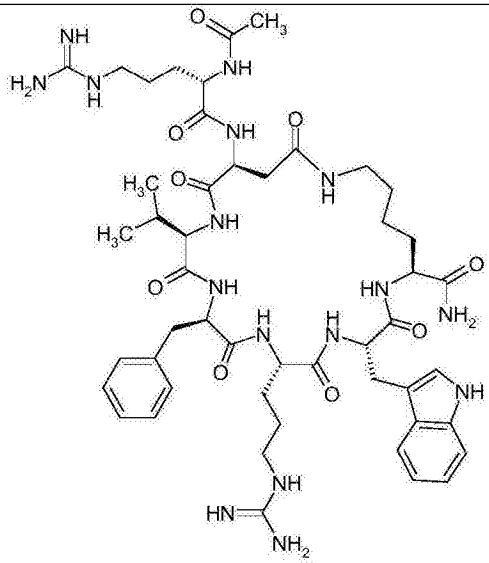
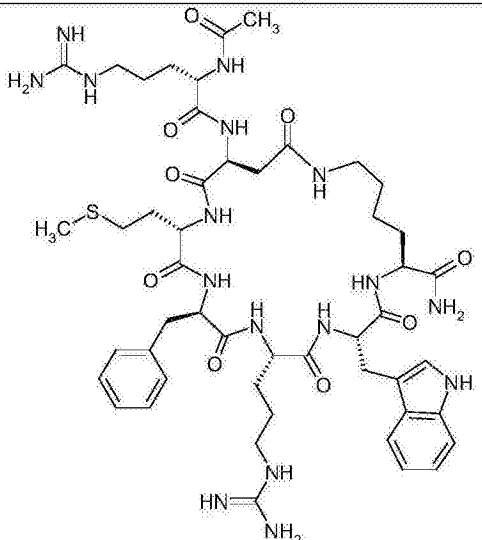
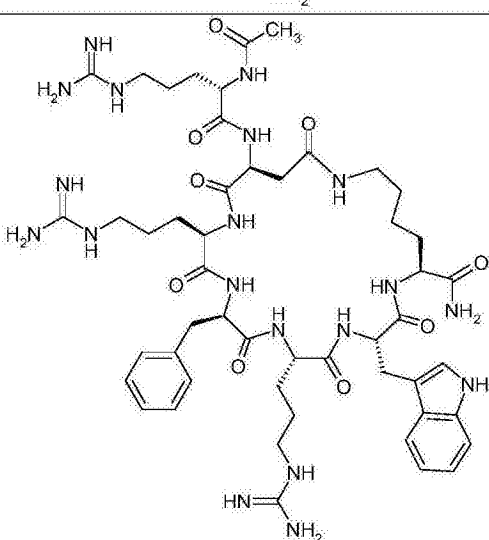
[0363]

| 编号 | 结构 | 氨基酸序列                                                       | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|----|-------------------------------------------------------------|------------------|
| 31 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Glu-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | NA               |
| 32 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Gln-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 13               |
| 33 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Gly-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | NA               |

[0364]

| 编号 | 结构 | 氨基酸序列                                                       | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|----|-------------------------------------------------------------|------------------|
| 34 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Ile-D-Phe-Arg-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 19*              |
| 35 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Thr-D-Phe-Arg-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 140*             |
| 36 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Trp-D-Phe-Arg-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 37*              |

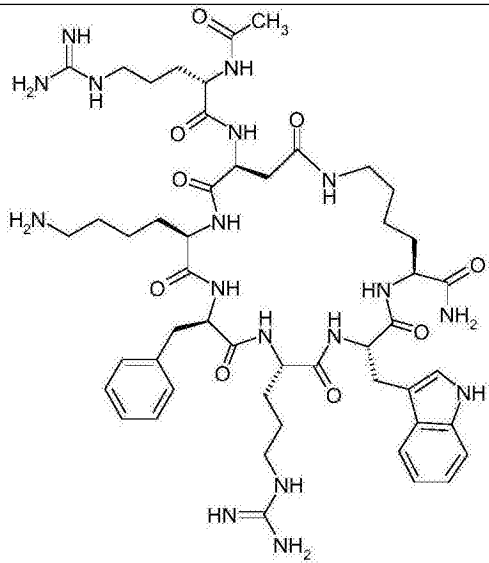
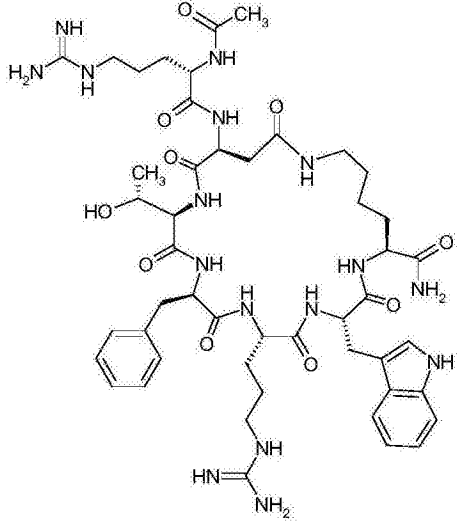
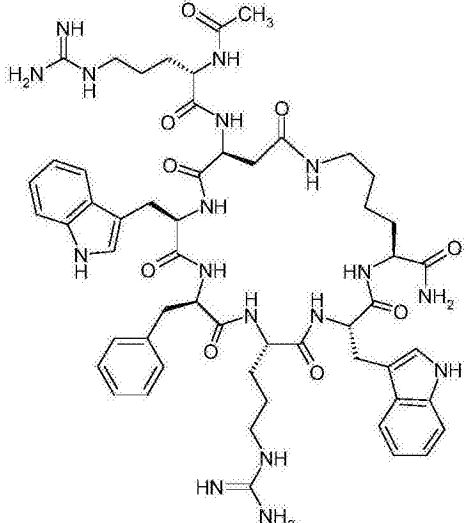
[0365]

| 编号 | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                     | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|------------------|
| 37 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-D-Val-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | NA               |
| 38 |   | Ac-Arg-环<br>(Asp-Met-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>   | 35*              |
| 39 |  | Ac-Arg-环<br>(Asp-D-Arg-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | NA               |

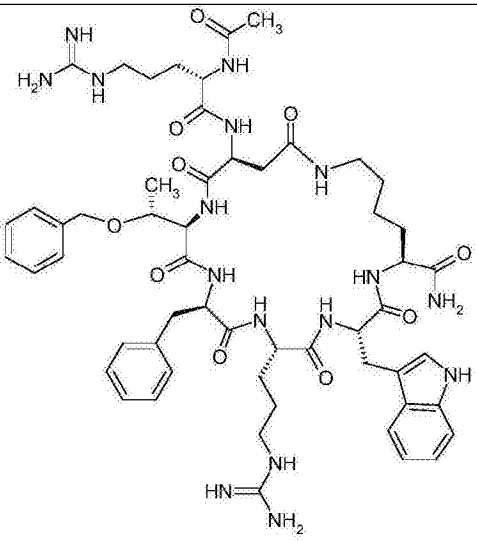
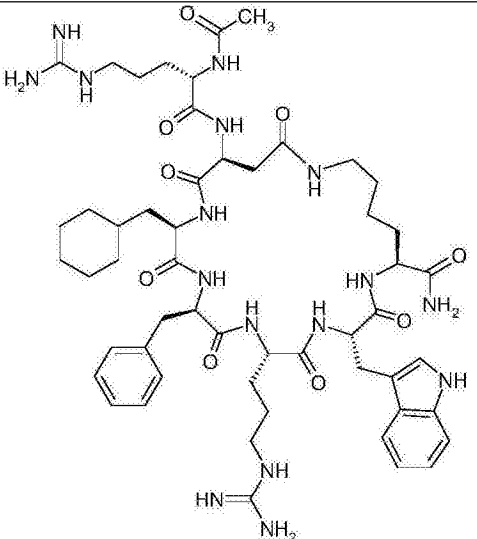
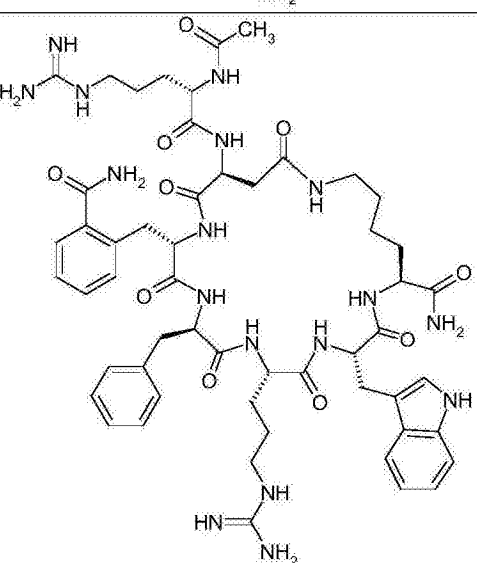
[0366]

| 编号 | 结构 | 氨基酸序列                                                         | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|----|---------------------------------------------------------------|------------------|
| 40 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-D-Asp-D-Phe-<br>Arg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | NA               |
| 41 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-D-His-D-Phe-A<br>rg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 95*              |
| 42 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-D-Leu-D-Phe-A<br>rg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | NA               |

[0367]

| 编号 | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                         | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|------------------|
| 43 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-D-Lys-D-Phe-A<br>rg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | NA               |
| 44 |   | Ac-Arg-环<br>(Asp-D-Thr-D-Phe-A<br>rg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | NA               |
| 45 |  | Ac-Arg-环<br>(Asp-D-Trp-D-Phe-A<br>rg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | NA               |

[0368]

| 编号 | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                                             | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 46 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-D-Thr(Bzl)-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>                    | NA               |
| 47 |   | Ac-Arg-环<br>(Asp-D-Cha-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>                         | NA               |
| 48 |  | Ac-Arg-环<br>(Asp-Phe(2-C(=O)-NH <sub>2</sub> )-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 23               |

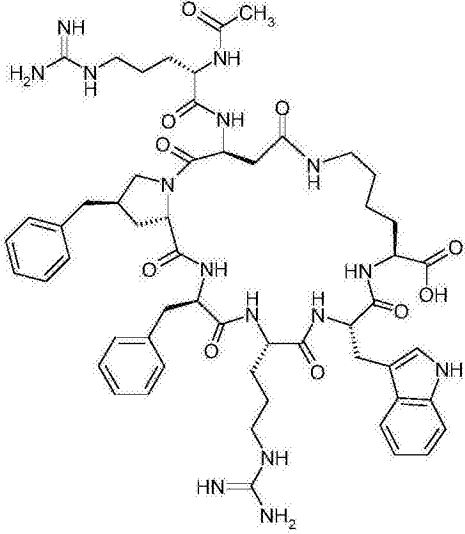
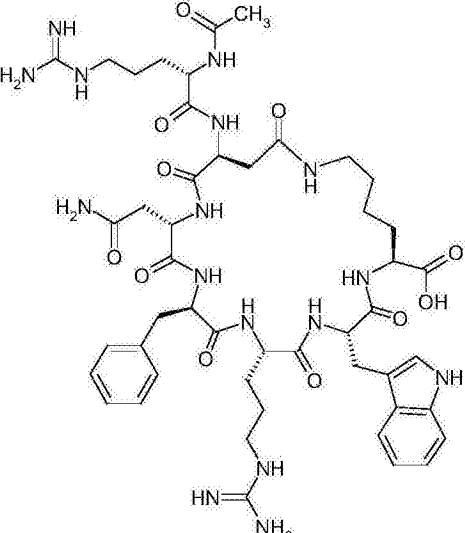
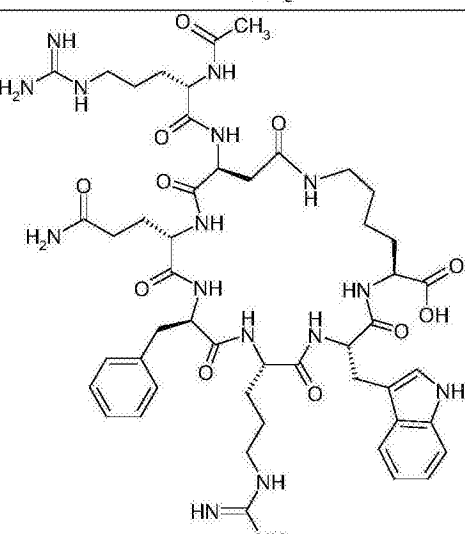
[0369]

| 编号 | 结构 | 氨基酸序列                                                                                        | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|----|----------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 49 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Phe-(3-(C(=O)-<br>NH <sub>2</sub> ))-D-Phe-Arg-Tr<br>p-Lys)-NH <sub>2</sub> | 15               |
| 50 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Phe(4-(C(=O)-<br>NH <sub>2</sub> ))-D-Phe-Arg-Tr<br>p-Lys)-NH <sub>2</sub>  | 30               |
| 51 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-His-D-Phe-Arg-<br>Trp-Lys)-OH                                               | 22*              |

[0370]

| 编号 | 结构 | 氨基酸序列                                               | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|----|-----------------------------------------------------|------------------|
| 52 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Ala-D-Phe-Arg-<br>Trp-Lys)-OH      | 144*             |
| 53 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-His-D-Phe-Cit-<br>Trp-Lys)-OH      | 214*             |
| 54 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Hyp(Bzl)-D-Ph<br>e-Arg-Trp-Lys)-OH | 3                |

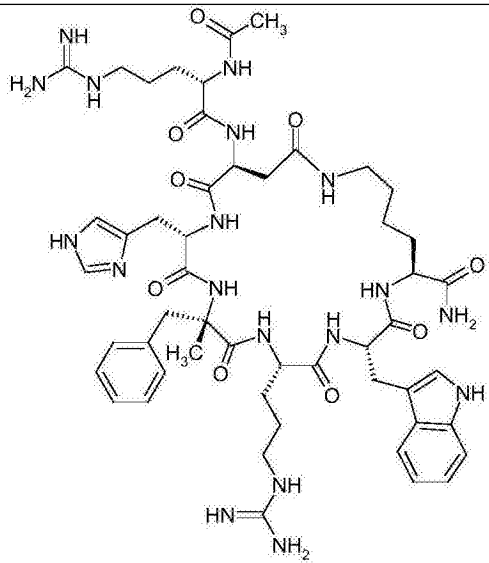
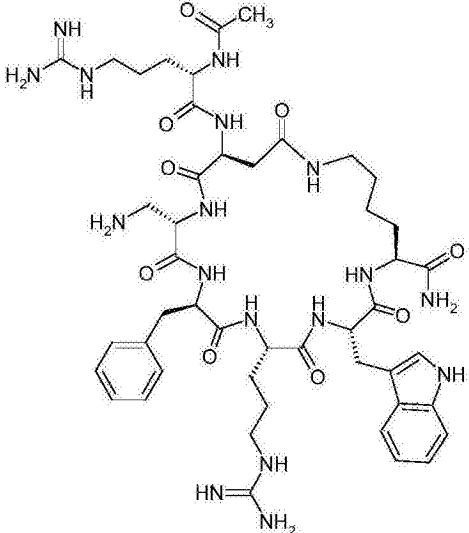
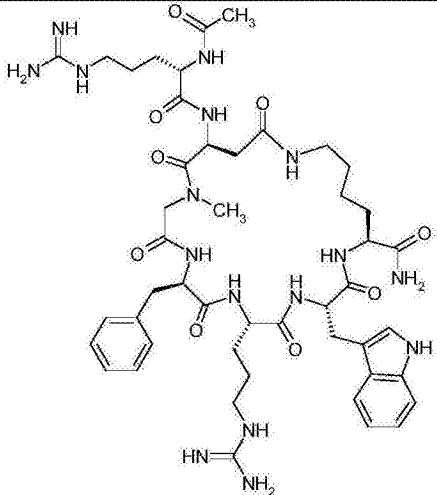
[0371]

| 编号 | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                              | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|------------------|
| 55 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Pro(Bn)-D-Phe-<br>Arg-Trp-Lys)-OH | 12               |
| 56 |   | Ac-Arg-环<br>(Asp-Asn-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-OH     | 100              |
| 57 |  | Ac-Arg-环<br>(Asp-Gln-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-OH     | 115              |

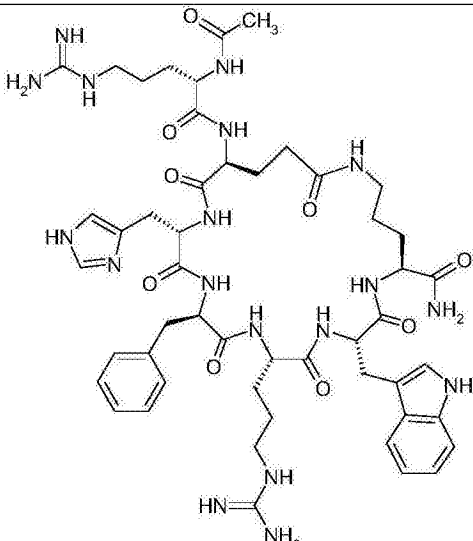
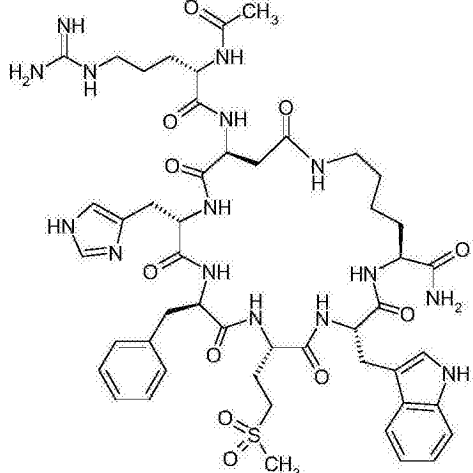
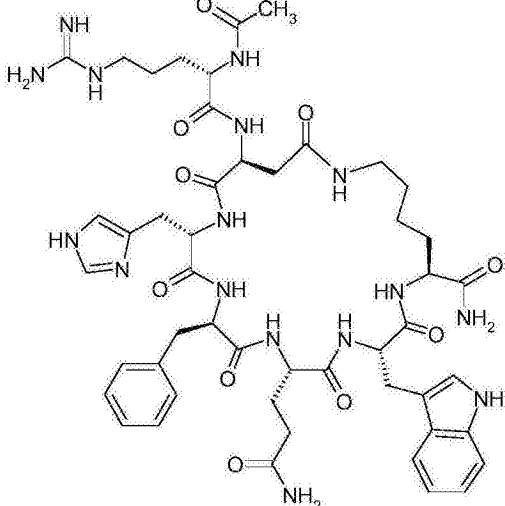
[0372]

| 编号 | 结构 | 氨基酸序列                                                                          | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|----|--------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 58 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Orn-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-OH                                 | 23               |
| 59 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Dap-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>                    | NA               |
| 60 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-His-D-( $\alpha$ -Me)P<br>he<br>-Arg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 47*              |

[0373]

| 编号 | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                            | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------|
| 61 |    | Ac-Arg-环(Asp-His-<br>(α-Me)-Phe-Arg-Trp-<br>Lys)-NH <sub>2</sub> | NA               |
| 62 |   | Ac-Arg-环<br>(Asp-Dap-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>      | 80*              |
| 63 |  | Ac-Arg-环<br>(Asp-Sar-D-Phe-Arg-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>      | 15               |

[0374]

| 编号 | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                                        | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 64 |    | Ac-Arg-环<br>(Glu-His-D-Phe-Arg-<br>Trp-Orn)-NH <sub>2</sub>                  | 1*               |
| 65 |   | Ac-Arg-环<br>(Asp-His-D-Phe-Met(<br>O <sub>2</sub> )-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | NA               |
| 66 |  | Ac-Arg-环<br>(Asp-His-D-Phe-Gln-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>                  | NA               |

[0375]

| 编号 | 结构 | 氨基酸序列                                                         | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|----|---------------------------------------------------------------|------------------|
| 67 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Orn-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>   | 7*               |
| 68 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-His-D-Phe-D-N<br>le-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | NA               |
| 69 |    | Ac-D-Arg-环<br>(Asp-His-D-Phe-Arg-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 8*               |

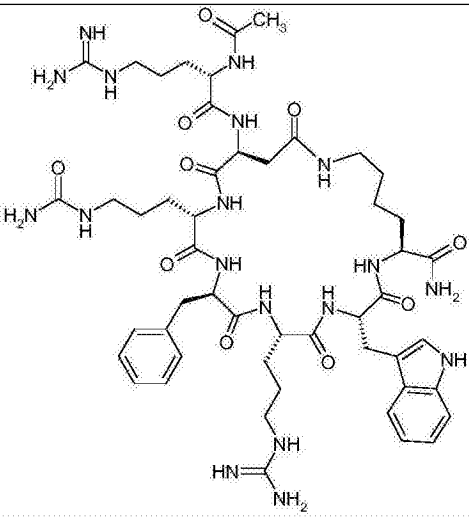
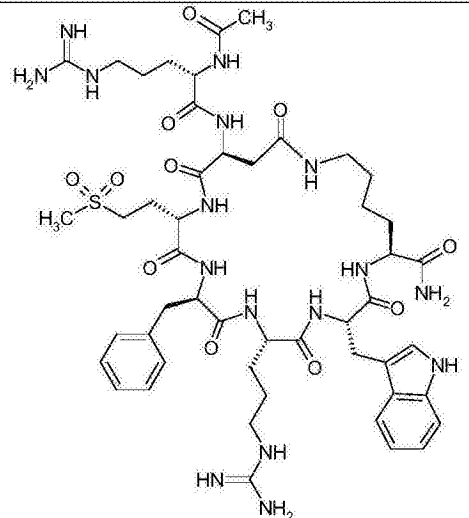
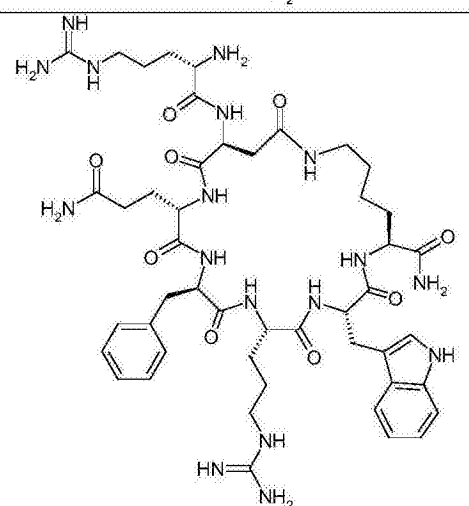
[0376]

| 编号 | 结构 | 氨基酸序列                                                                     | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|----|---------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 70 |    | Ac-D-Arg-环<br>(Asp-Ala-D-Phe-Arg-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>             | 46*              |
| 71 |    | Ac-D-Arg-环<br>(Asp-Gln-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>             | 45               |
| 72 |    | Ac-D-Arg-环<br>(Asp-Pro(4R-Bzl)-D-<br>Phe-Arg-Trp-Lys)-N<br>H <sub>2</sub> | 2*               |

[0377]

| 编号 | 结构 | 氨基酸序列                                                       | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|----|-------------------------------------------------------------|------------------|
| 73 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Arg-D-Phe-Arg-<br>-Trp-Lys)-OH             | 60*              |
| 74 |    | Ac-Arg-环<br>(Glu-Gln-D-Phe-Arg-<br>Trp-Orn)-NH <sub>2</sub> | 3                |
| 75 |    | Ac-Arg-环<br>(Orn-His-D-Phe-Arg-<br>Trp-Glu)-NH <sub>2</sub> | 0.6              |

[0378]

| 编号 | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                                         | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 76 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Arg-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>                   | 14               |
| 77 |   | Ac-Arg-环<br>(Asp-Met-(O <sub>2</sub> )-D-Phe<br>-Arg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 7                |
| 78 |  | Ac-Arg-环<br>(Asp-Gln-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>                   | 86*              |

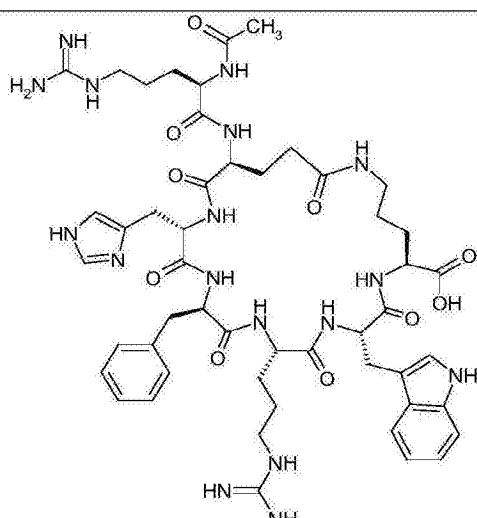
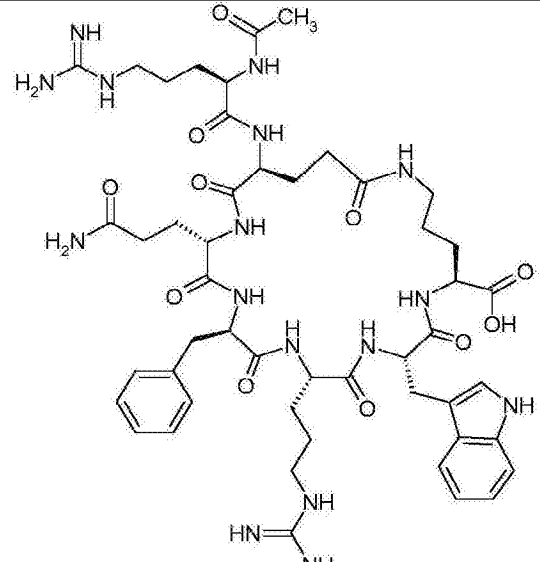
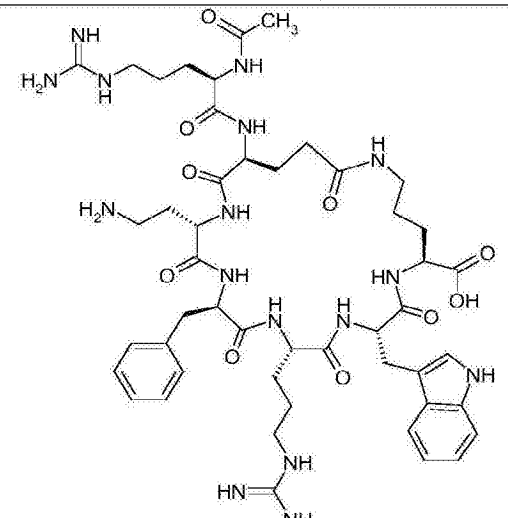
[0379]

| 编号 | 结构 | 氨基酸序列                                                                                | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|----|--------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 79 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Hyp-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>                          | 4                |
| 80 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Pro(4R-NH <sub>2</sub> )-D<br>-Phe-Arg-Trp-Lys)-N<br>H <sub>2</sub> | 5                |
| 81 |    | Ac-Arg-环<br>(Glu-Gln-D-Phe-Arg-<br>Trp-Orn)-OH                                       | 43               |

[0380]

| 编号 | 结构 | 氨基酸序列                                          | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|----|------------------------------------------------|------------------|
| 82 |    | Ac-Arg-环<br>(Glu-His-D-Phe-Arg-<br>Trp-Orn)-OH | 4                |
| 83 |    | Ac-Arg-环<br>(Orn-Gln-D-Phe-Arg-<br>Trp-Glu)-OH | NA               |
| 84 |    | Ac-Arg-环<br>(Orn-His-D-Phe-Arg-<br>Trp-Glu)-OH | 12*              |

[0381]

| 编号 | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                             | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|------------------|
| 85 |    | Ac-D-Arg-环<br>(Glu-His-D-Phe-Arg-<br>Trp-Orn)-OH  | 40*              |
| 86 |   | Ac-D-Arg-环<br>(Glu-Gln-D-Phe-Arg-<br>Trp-Orn)-OH  | 66*              |
| 87 |  | Ac-D-Arg-环<br>(Glu-Dab-D-Phe-Arg-<br>-Trp-Orn)-OH | 171*             |

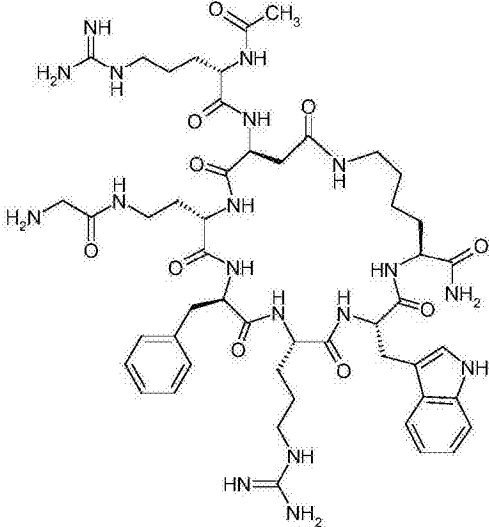
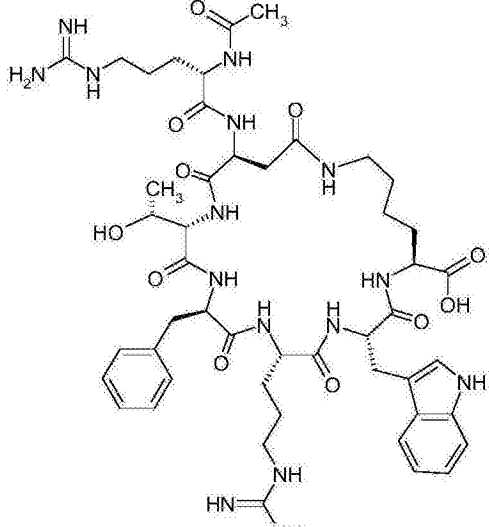
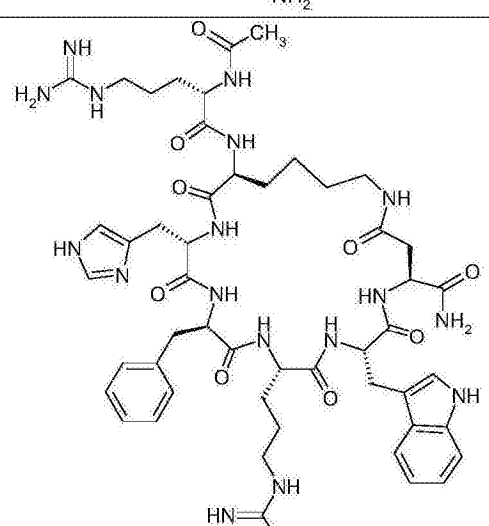
[0382]

| 编号 | 结构 | 氨基酸序列                                          | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|----|------------------------------------------------|------------------|
| 88 |    | Ac-Arg-环<br>(Glu-Arg-D-Phe-Arg-<br>Trp-Orn)-OH | 37*              |
| 89 |    | Ac-Arg-环<br>(Glu-Lys-D-Phe-Arg-<br>Trp-Orn)-OH | 113*             |
| 90 |    | Ac-Arg-环<br>(Glu-Orn-D-Phe-Arg-<br>Trp-Orn)-OH | 9                |

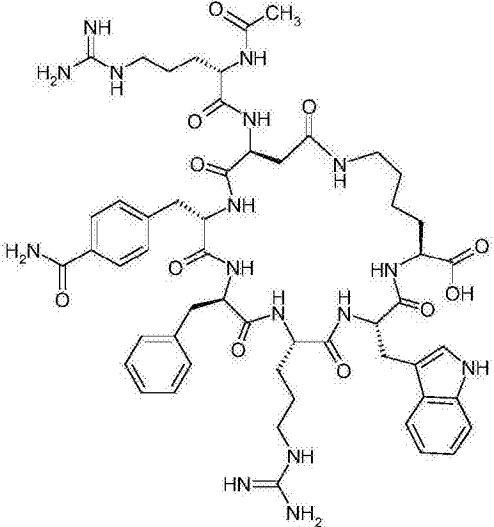
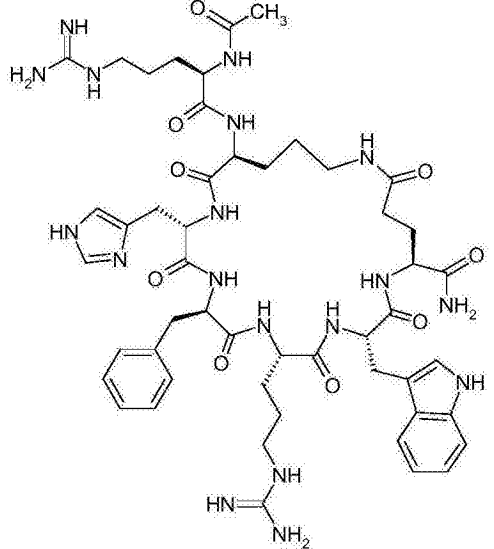
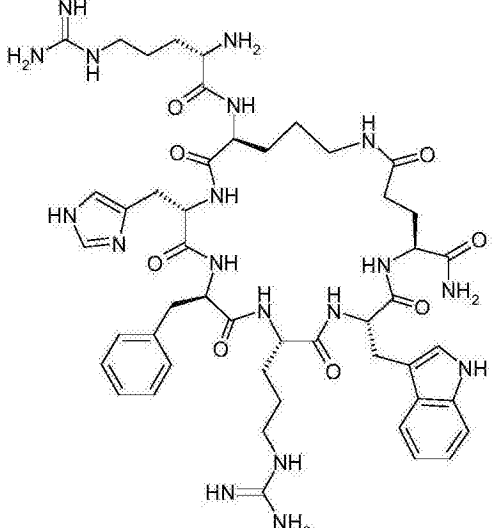
[0383]

| 编号 | 结构 | 氨基酸序列                                                                | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|----|----------------------------------------------------------------------|------------------|
| 91 |    | Ac-Arg-环<br>(Glu-Asn-D-Phe-Arg-<br>-Trp-Orn)-OH                      | 167              |
| 92 |    | Ac-Arg-环<br>(Glu-Cit-D-Phe-Arg-<br>Trp-Orn)-OH                       | 184*             |
| 93 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Dab(乙酰<br>基)-D-Phe-Arg-Trp-L<br>ys)-NH <sub>2</sub> | 33               |

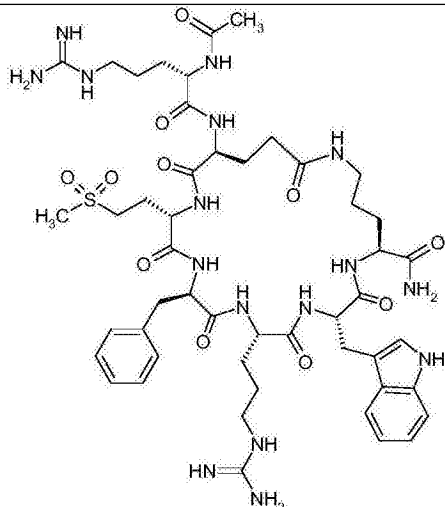
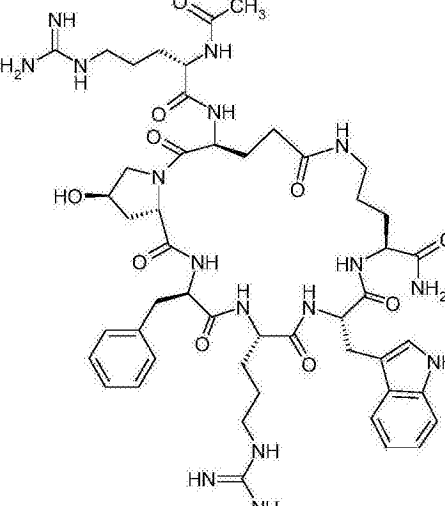
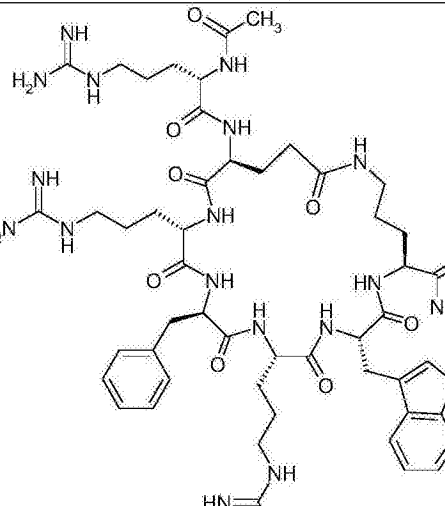
[0384]

| 编号 | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                        | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|------------------|
| 94 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Dab(甘氨酸)-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 110*             |
| 95 |   | Ac-Arg-环<br>(Asp-Thr-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>      | NA               |
| 96 |  | Ac-Arg-环<br>(Lys-His-D-Phe-Arg-Trp-Asp)-NH <sub>2</sub>      | 1*               |

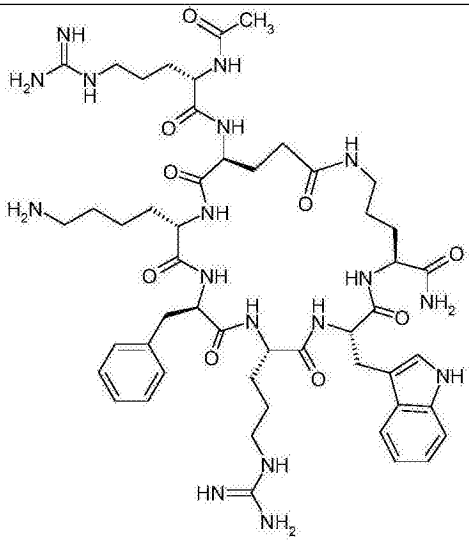
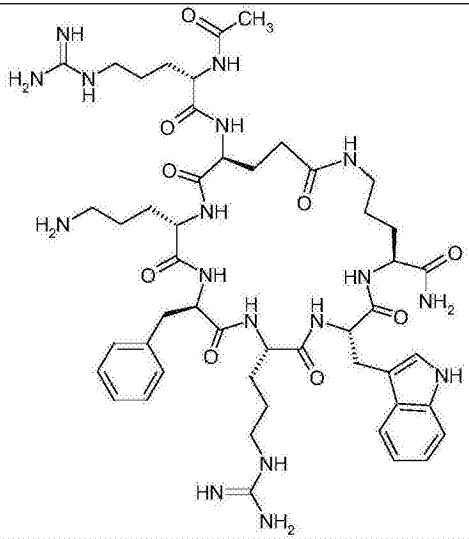
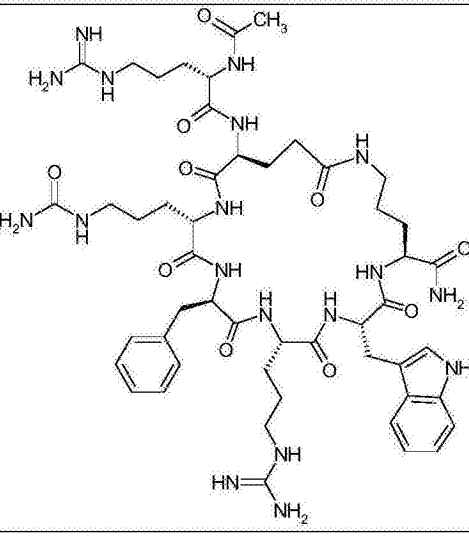
[0385]

| 编号 | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                                          | MC4-R<br>Ki (nM) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 97 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Phe(4-(C(=O)-<br>NH <sub>2</sub> ))-D-Phe-Arg-Tr<br>p-Lys)-OH | NA               |
| 98 |   | Ac-D-Arg-环<br>(Orn-His-D-Phe-Arg-<br>Trp-Glu)-NH <sub>2</sub>                  | 4*               |
| 99 |  | Arg-环<br>(Orn-His-D-Phe-Arg-<br>Trp-Glu)-NH <sub>2</sub>                       | 6                |

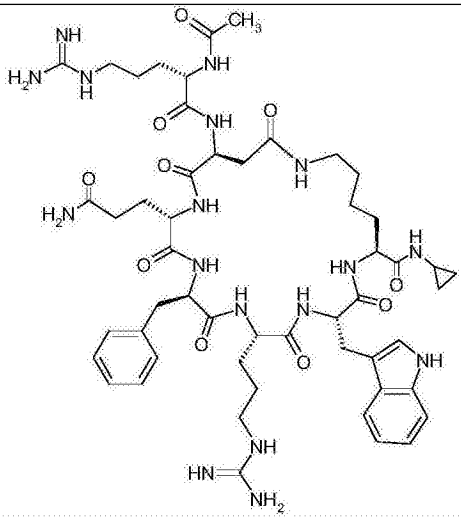
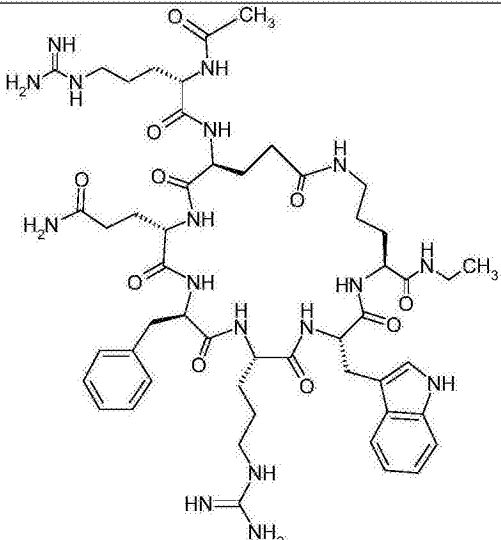
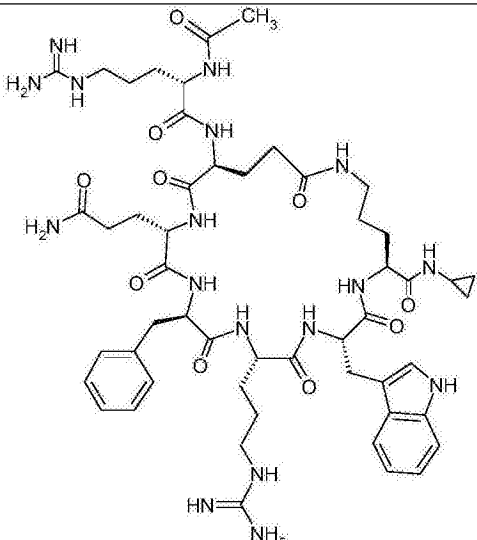
[0386]

| 编号  | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                                        | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 100 |    | Ac-Arg-环<br>(Glu-Met(O <sub>2</sub> )-D-Phe-<br>Arg-Trp-Orn)-NH <sub>2</sub> | 8                |
| 101 |   | Ac-Arg-环<br>(Glu-Hyp-D-Phe-Arg<br>-Trp-Orn)-NH <sub>2</sub>                  | 3                |
| 102 |  | Ac-Arg-环<br>(Glu-Arg-D-Phe-Arg-<br>Trp-Orn)-NH <sub>2</sub>                  | 0.7              |

[0387]

| 编号  | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                       | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|------------------|
| 103 |    | Ac-Arg-环<br>(Glu-Lys-D-Phe-Arg-<br>Trp-Orn)-NH <sub>2</sub> | 15               |
| 104 |   | Ac-Arg-环<br>(Glu-Orn-D-Phe-Arg-<br>Trp-Orn)-NH <sub>2</sub> | 9*               |
| 105 |  | Ac-Arg-环<br>(Glu-Cit-D-Phe-Arg-<br>Trp-Orn)-NH <sub>2</sub> | 6                |

[0388]

| 编号  | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                  | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|------------------|
| 106 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Gln-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH-环丙<br>基 | 64*              |
| 107 |   | Ac-Arg-环<br>(Glu-Gln-D-Phe-Arg-<br>Trp-Orn)-NH-Et      | 34*              |
| 108 |  | Ac-Arg-环<br>(Glu-Gln-D-Phe-Arg-<br>Trp-Orn)-NH-环丙基     | 26*              |

[0389]

| 编号  | 结构 | 氨基酸序列                                                           | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|----|-----------------------------------------------------------------|------------------|
| 109 |    | Ac-Arg-环<br>(Glu-His-D-Phe-Arg-<br>Trp-Orn)-NH-Et               | 6*               |
| 110 |    | Ac-Arg-环<br>(Glu-His-D-Phe-Arg-<br>Trp-Orn)-NH-环丙基              | 1*               |
| 111 |    | Ac-Arg-环<br>(Glu-Met(=O)-D-Phe<br>-Arg-Trp-Orn)-NH <sub>2</sub> | 9                |

[0390]

| 编号  | 结构 | 氨基酸序列                                                                                | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|----|--------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 112 |    | Ac-Arg-环<br>(Glu-Pro(4R-NH <sub>2</sub> )-D<br>-Phe-Arg-Trp-Orn)-N<br>H <sub>2</sub> | 6                |
| 113 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Thr(Bzl)-D-Phe<br>-Arg-Trp-Lys)-OH                                  | NA               |
| 114 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Dab(乙酰<br>基)-D-Phe-Arg-Trp-L<br>ys)-NH <sub>2</sub>                 | 88*              |

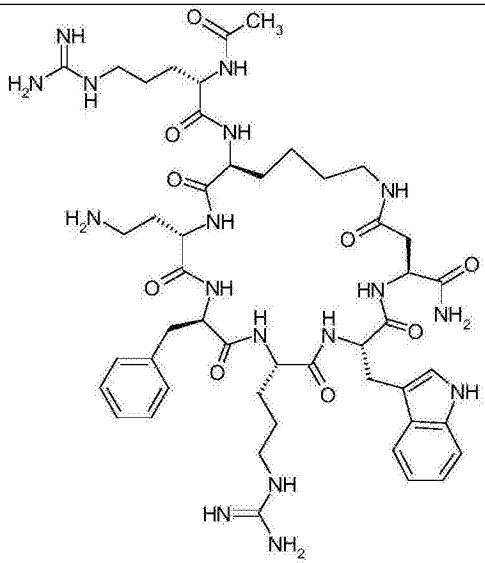
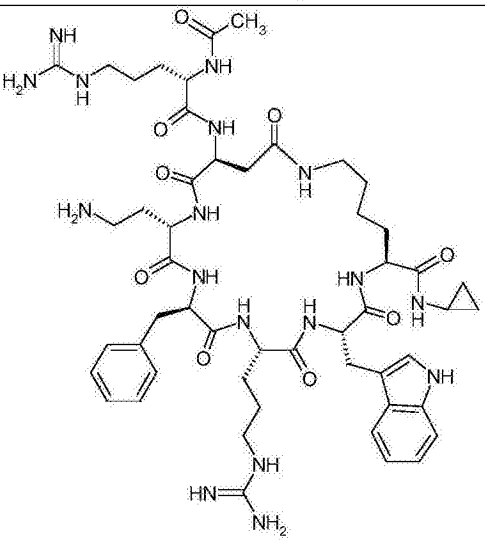
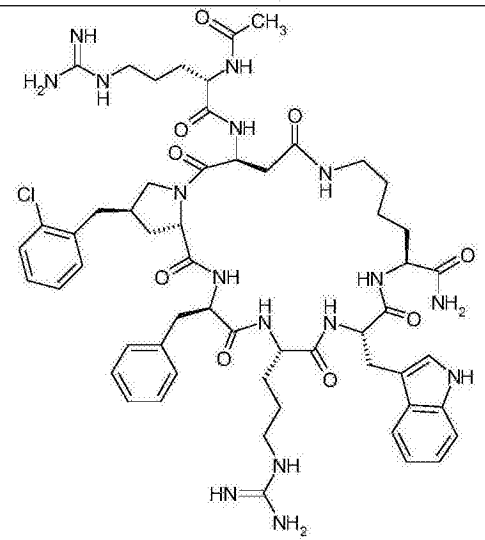
[0391]

| 编号  | 结构 | 氨基酸序列                                                       | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|----|-------------------------------------------------------------|------------------|
| 115 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-His-D-Phe-Cit-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 87               |
| 116 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Lys-D-Phe-Cit-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 873              |
| 117 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Ser-D-Phe-Cit-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 1446             |

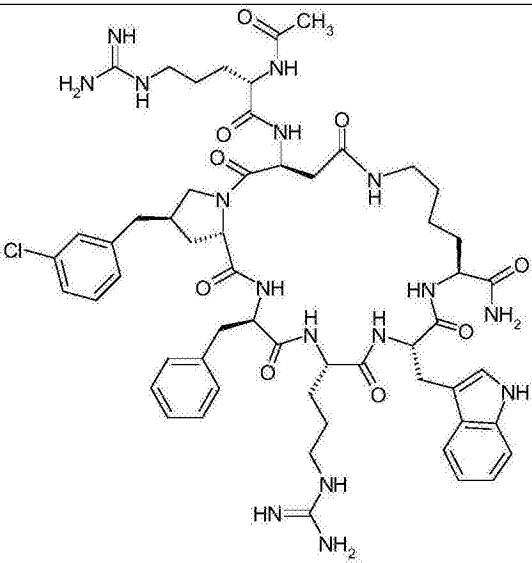
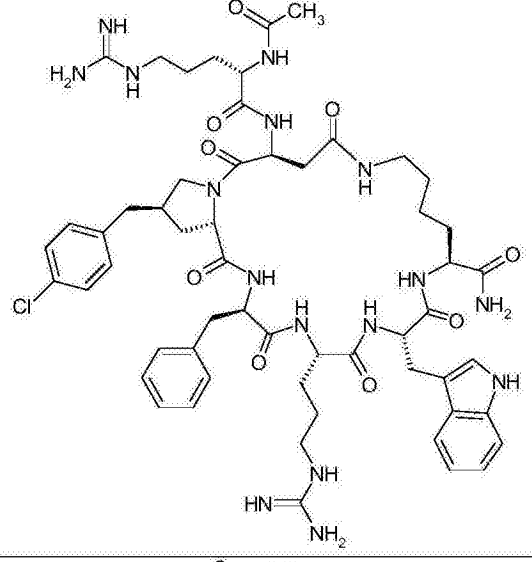
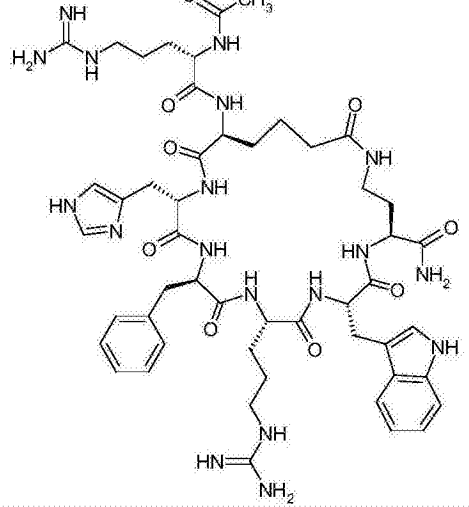
[0392]

| 编号  | 结构 | 氨基酸序列                                                         | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|----|---------------------------------------------------------------|------------------|
| 118 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Dap(βPro)-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 145*             |
| 119 |    | Ac-Arg-环<br>(Orn-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Glu)-NH <sub>2</sub>       | 3*               |
| 120 |    | Ac-Arg-环<br>(Orn-Ala-D-Phe-Arg-Trp-Glu)-NH <sub>2</sub>       | 19*              |

[0393]

| 编号  | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                                        | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 121 |    | Ac-Arg-环<br>(Lys-Dab-D-Phe-Arg<br>-Trp-Asp)-NH <sub>2</sub>                  | 0.4              |
| 122 |   | Ac-Arg-环<br>(Asp-Dab-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH-环丙<br>基                       | 3                |
| 123 |  | Ac-Arg-环<br>(Asp-Pro(4R-2-Cl-Bz<br>l)-D-Phe-Arg-Trp-Ly<br>s)-NH <sub>2</sub> | 8*               |

[0394]

| 编号  | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                                        | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 124 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Pro(4R-3-Cl-Bz<br>l)-D-Phe-Arg-Trp-Ly<br>s)-NH <sub>2</sub> | 19*              |
| 125 |   | Ac-Arg-环<br>(Asp-Pro(4R-4-Cl-Bz<br>l)-D-Phe-Arg-Trp-Ly<br>s)-NH <sub>2</sub> | 24*              |
| 126 |  | Ac-Arg-环<br>(hGlu-His-D-Phe-Arg<br>-Trp-Dab)-NH <sub>2</sub>                 | 1*               |

[0395]

| 编号  | 结构 | 氨基酸序列                                                          | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|----|----------------------------------------------------------------|------------------|
| 127 |    | Ac-Arg-环<br>(hGlu-Dab-D-Phe-Arg-<br>g-Trp-Dab)-NH <sub>2</sub> | 2*               |
| 128 |    | Ac-Arg-环<br>(Dab-His-D-Phe-Arg-<br>Trp-hGlu)-NH <sub>2</sub>   | 2*               |
| 129 |    | Ac-Arg-环<br>(Dab-Dab-D-Phe-Arg-<br>-Trp-hGlu)-NH <sub>2</sub>  | 4*               |

[0396]

| 编号  | 结构 | 氨基酸序列                                                       | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|----|-------------------------------------------------------------|------------------|
| 130 |    | Ac-Arg-环<br>(Orn-Dab-D-Phe-Arg<br>-Trp-Glu)-OH              | 25               |
| 131 |    | Ac-Arg-环<br>(Lys-Dab-D-Phe-Arg<br>-Trp-Asp)-OH              | 35               |
| 132 |    | Ac-Lys-环<br>(Orn-His-D-Phe-Arg-<br>Trp-Glu)-NH <sub>2</sub> | 3*               |

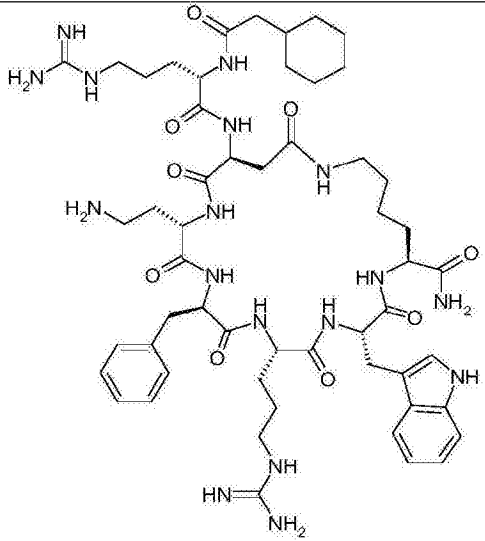
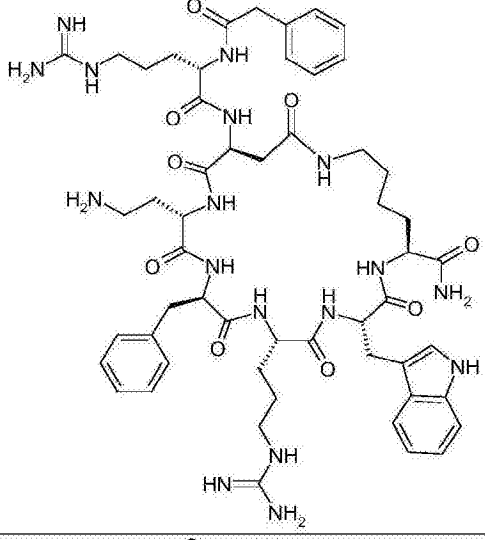
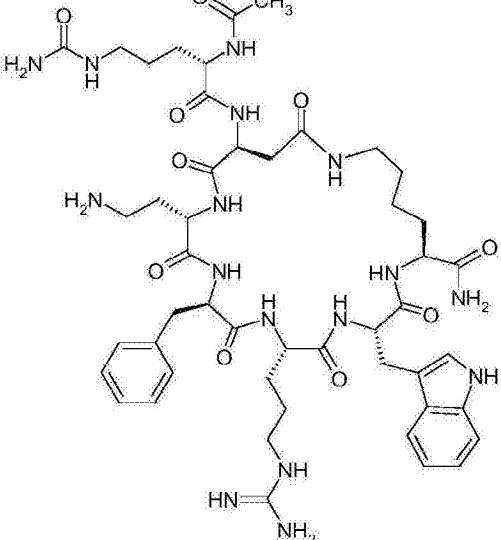
[0397]

| 编号  | 结构 | 氨基酸序列                                                         | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|----|---------------------------------------------------------------|------------------|
| 133 |    | Ac-D-Lys-环<br>(Orn-His-D-Phe-Arg-<br>Trp-Glu)-NH <sub>2</sub> | 8*               |
| 134 |    | Arg-环<br>(Asp-Ser(Bzl)-D-Phe<br>-Arg-Trp-Lys)-OH              | 30               |
| 135 |    | Ac-Lys-环<br>(Asp-His-D-Phe-Arg-<br>Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>   | 9*               |

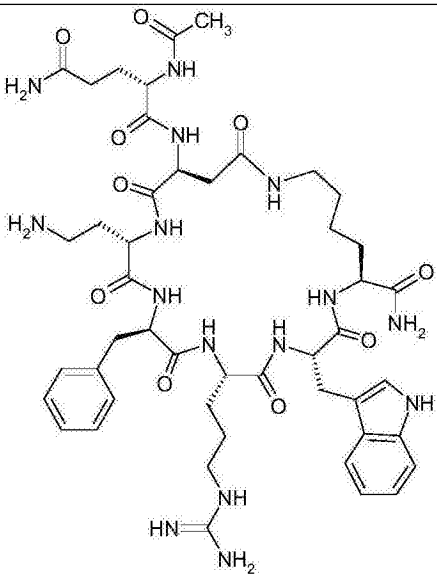
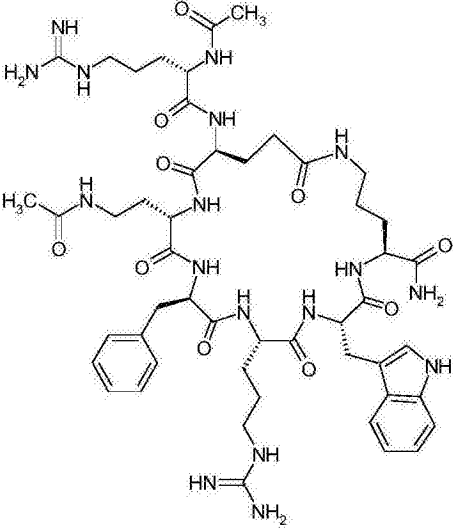
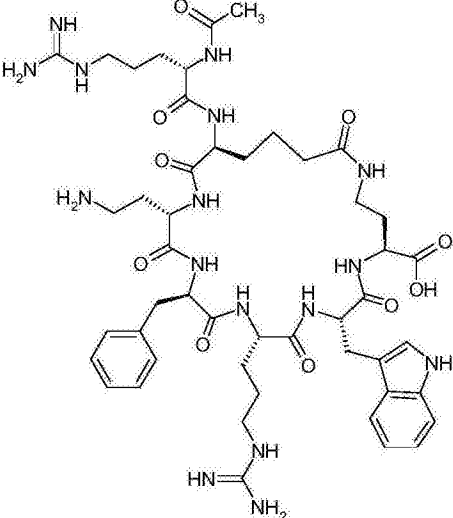
[0398]

| 编号  | 结构 | 氨基酸序列                                                           | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|----|-----------------------------------------------------------------|------------------|
| 136 |    | Ac-Arg-环<br>(Dab-Dab-D-Phe-Arg<br>-Trp-hGlu)-OH                 | 35               |
| 137 |    | 环己酰-Arg-环<br>(Asp-Dab-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>    | 0.4              |
| 138 |    | 环戊基乙酰基-Arg-环<br>(Asp-Dab-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 0.8              |

[0399]

| 编号  | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                               | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|------------------|
| 139 |    | 环己基乙酰基-Arg-<br>环<br>(Asp-Dab-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 1                |
| 140 |   | 苯基乙酰基-Arg-环<br>(Asp-Dab-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>      | 2                |
| 141 |  | Ac-Cit-环<br>(Asp-Dab-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>         | 9                |

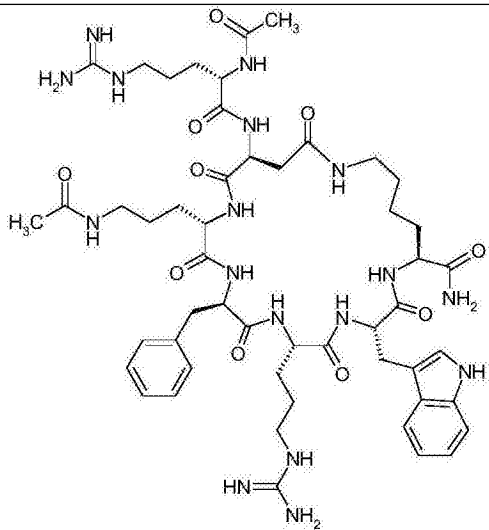
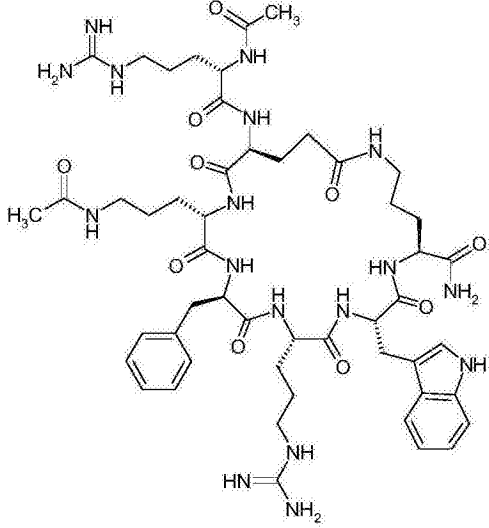
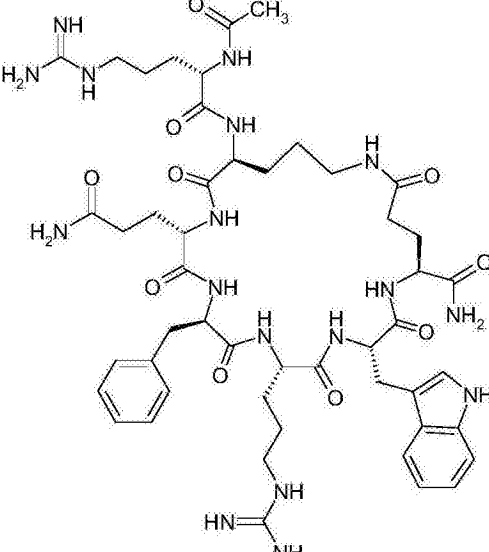
[0400]

| 编号  | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                                | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|------------------|
| 142 |    | Ac-Gln-环<br>(Asp-Dab-D-Phe-Arg<br>-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub>          | 15               |
| 143 |   | Ac-Arg-环<br>(Glu-Dab(乙酰<br>基)-D-Phe-Arg-Trp-<br>Orn)-NH <sub>2</sub> | 13               |
| 144 |  | Ac-Arg-环<br>(hGlu-Dab-D-Phe-Ar<br>g-Trp-Dab)-OH                      | 45               |

[0401]

| 编号  | 结构 | 氨基酸序列                                                                     | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|----|---------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 145 |    | Ac-Arg-环<br>(hGlu-Met(O <sub>2</sub> )-D-Phe-Arg-Trp-Dab)-NH <sub>2</sub> | 4                |
| 146 |    | Ac-Arg-环<br>(hGlu-Hyp-D-Phe-Arg-Trp-Dab)-NH <sub>2</sub>                  | 3                |
| 147 |    | Ac-Arg-环<br>(hGlu-Gln-D-Phe-Arg-Trp-Dab)-NH <sub>2</sub>                  | 20               |

[0402]

| 编号  | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                        | MC4-R Ki (nM) |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|---------------|
| 148 |    | Ac-Arg-环<br>(Asp-Orn(乙酰基)-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH <sub>2</sub> | 573           |
| 149 |   | Ac-Arg-环<br>(Glu-Orn(乙酰基)-D-Phe-Arg-Trp-Orn)-NH <sub>2</sub> | 7             |
| 150 |  | Ac-Arg-环<br>(Orn-Gln-D-Phe-Arg-Trp-Glu)-NH <sub>2</sub>      | 5             |

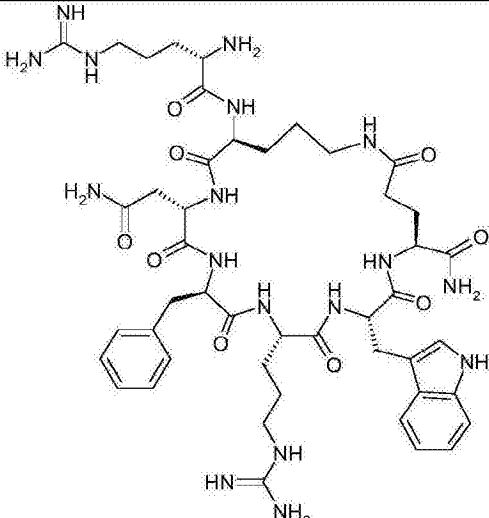
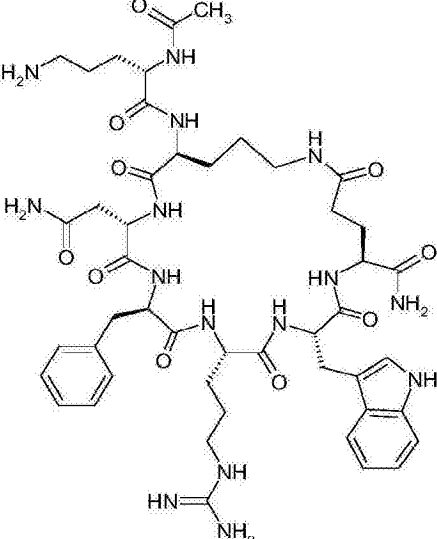
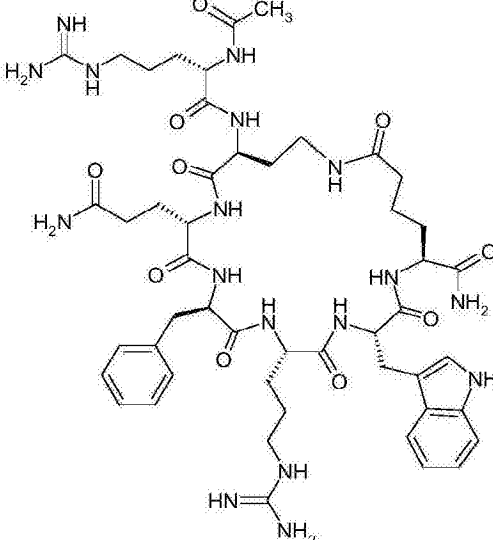
[0403]

| 编号  | 结构 | 氨基酸序列                                                                                    | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|----|------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 151 |    | Ac-Arg-环<br>(Lys-Gln-D-Phe-Arg-<br>Trp-Asp)<br>-NH <sub>2</sub>                          | 4                |
| 152 |    | Ac-D-Arg-环<br>(Orn-Gln-D-Phe-Arg-<br>Trp-Glu)-NH <sub>2</sub>                            | 6                |
| 153 |    | n-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> -CO-环<br>(Glu-His-D-Phe-Arg-<br>Dab)-Trp-NH <sub>2</sub> | 365              |

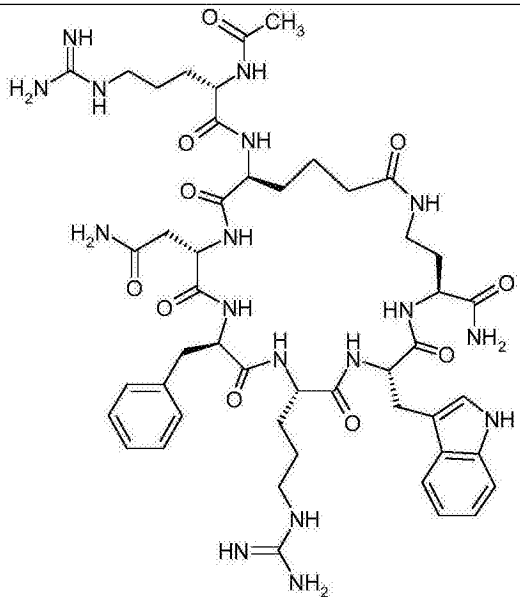
[0404]

| 编号  | 结构 | 氨基酸序列                                                         | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|----|---------------------------------------------------------------|------------------|
| 154 |    | Ac-Arg-环<br>(Orn-Asn-D-Phe-Arg<br>-Trp-Glu)-NH <sub>2</sub>   | 15               |
| 155 |    | Ac-Arg-环<br>(Lys-Asn-D-Phe-Arg-<br>Trp-Asp)-NH <sub>2</sub>   | 7                |
| 156 |    | Ac-D-Arg-环<br>(Orn-Asn-D-Phe-Arg<br>-Trp-Glu)-NH <sub>2</sub> | 28               |

[0405]

| 编号  | 结构                                                                                  | 氨基酸序列                                                        | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|------------------|
| 157 |    | Arg-环<br>(Orn-Asn-D-Phe-Arg<br>-Trp-Glu)-NH <sub>2</sub>     | 42               |
| 158 |   | Ac-Orn-环<br>(Orn-Asn-D-Phe-Arg<br>-Trp-Glu)-NH <sub>2</sub>  | 50               |
| 159 |  | Ac-Arg-环<br>(Dab-Gln-D-Phe-Arg<br>-Trp-hGlu)-NH <sub>2</sub> | 4                |

[0406]

| 编号  | 结构                                                                                | 氨基酸序列                                                    | MC4-R<br>Ki (nM) |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|------------------|
| 160 |  | Ac-Arg-环<br>(hGlu-Asn-D-Phe-Arg-Trp-Dab)-NH <sub>2</sub> | ND               |

[0407] 9.2 在功能测定中测试编号 126 到 129 的肽。确定 126 号肽为 MC4-R 的激动剂, 具有对 MC4-R 101% 的内在活性 (其中 NDP- $\alpha$ -MSH 为 100%), 并且具有 0.047nM 的 EC<sub>50</sub> (三个研究的平均)。确定 127 号肽为 MC4-R 的激动剂, 具有对 MC4-R 98% 的内在活性 (其中 NDP- $\alpha$ -MSH 为 100%), 并且具有 0.06nM 的 EC<sub>50</sub> (两个研究的平均)。确定 128 号肽为 MC4-R 的激动剂, 具有对 MC4-R 95% 的内在活性 (其中 NDP- $\alpha$ -MSH 为 100%), 并且具有 0.073nM 的 EC<sub>50</sub> (三个研究的平均)。确定 129 号肽为 MC4-R 的激动剂, 具有对 MC4-R 96% 的内在活性 (其中 NDP- $\alpha$ -MSH 为 100%), 并且具有 0.065nM 的 EC<sub>50</sub> (两个研究的平均)。因此对于该系列中的这四种肽来说, EC<sub>50</sub> 值比 Ki 值小 1.5 倍到 2 倍数量级。

[0408] 9.3 在使用 Eu- 标记的 NDP- $\alpha$ -MSH 的竞争性研究中评估 1 号肽对 MC1-R、MC3-R 和 MC4-R 的结合, 并发现 1 号肽具有对 MC4-R 的 4nM 的 Ki 值 (六个研究的平均)、对 MC1-R 的 4nM 的 Ki 值 (四个研究的平均)、以及对 MC3-R 的 103nM 的 Ki 值 (五个研究的平均)。在使用 [<sup>125</sup>I]-NDP- $\alpha$ -MSH 的竞争性研究中, 发现 1 号肽具有对 MC4-R 的 2nM 的 Ki 值 (一个研究)、对 MC3-R 的 25nM 的 Ki 值 (一个研究)、以及对 MC1-R 的 3nM 的 Ki 值 (一个研究)。在功能研究中, 确定 1 号肽为激动剂, 具有对 MC4-R 91% 的内在活性 (其中 NDP- $\alpha$ -MSH 为 100%), 并且具有 1nM 的 EC<sub>50</sub> (三个研究的平均)。

[0409] 在大鼠进食研究中, 使用布雷默浪丹 (bremelanotide) (式 Ac-Nle-环 (Asp-His-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-OH) 的非特异性 MC4-R 激动剂) 作为阳性对照, 发现 1 号肽减少了食物摄入并降低了体重变化率。使用上述的方法, 8 只大鼠的组每只大鼠接受 1mg/kg 布雷默浪丹、0.3mg/kg 的 1 号肽、1mg/kg 的 1 号肽或媒介物对照。对于 0-2、0-4 和 0-20 小时的时间段, 在接受 0.3mg/kg 或 1mg/kg 的 1 号肽的大鼠中食物消耗的降低与对照相比是统计学显著的。对于接受 1mg/kg 的 1 号肽的组来说, 0-20 小时的体重百分比变化与对照相比也是统计学显著的。

[0410] 在大鼠阴茎勃起研究中, 再次使用布雷默浪丹作为阳性对照, 发现 1 号肽当以 0.3mg/kg 或 1mg/kg 的剂量静脉内施用与媒介物相比, 引起观察到的自发勃起的统计学

显著的增加。

[0411] 9.4 在使用 Eu- 标记的 NDP- $\alpha$ -MSH 的竞争性研究中评估 16 号肽对 MC1-R、MC3-R 和 MC4-R 的结合, 并发现 16 号肽具有对 MC4-R 的 25nM 的  $K_i$  值 (两个研究的平均)、对 MC1-R 的 323nM 的  $K_i$  值 (一个研究)、以及对 MC3-R 的 1055nM 的  $K_i$  值 (一个研究)。在功能研究中, 确定 16 号肽为部分激动剂, 具有对 MC4-R 42% 的内在活性 (其中 NDP- $\alpha$ -MSH 为 100%), 并且具有 40nM 的  $EC_{50}$  (五个研究的平均)。

[0412] 在大鼠进食研究中, 使用布雷默浪丹作为阳性对照, 发现 16 号肽减少了食物摄入并降低了体重变化率。使用上述的方法, 8 只大鼠的组中每只大鼠接受 1mg/kg 布雷默浪丹、0.3mg/kg 的 16 号肽、1mg/kg 的 16 号肽或媒介物对照。对于 0-2、0-4 和 0-20 小时的时间段, 在接受 1mg/kg 的 16 号肽的大鼠中食物消耗的降低与对照相比是统计学显著的, 且对于 0-2 和 0-4 小时的时间段, 在接受 0.3mg/kg 的 16 号肽的大鼠中食物消耗的降低与对照相比是统计学显著的。对于接受 1mg/kg 的 16 号肽的组来说, 0-20 小时的体重百分比变化与对照相比也是统计学显著的。

[0413] 9.5 在使用 Eu- 标记的 NDP- $\alpha$ -MSH 的竞争性研究中评估 32 号肽对 MC1-R 和 MC4-R 的结合, 并发现 32 号肽具有对 MC4-R 的 24nM 的  $K_i$  值 (六个研究的平均) 和对 MC1-R 的 673nM 的  $K_i$  值 (三个研究的平均)。在使用 [ $I^{125}$ ]-NDP- $\alpha$ -MSH 的竞争性研究中, 发现 32 号肽具有对 MC4-R 的 13nM 的  $K_i$  值 (两个研究)、对 MC3-R 340nM 的  $K_i$  值 (一个研究) 以及对 MC1-R 的 133nM 的  $K_i$  值 (两个研究)。在功能研究中, 确定 32 号肽为激动剂, 具有对 MC4-R 98% 的内在活性 (其中 NDP- $\alpha$ -MSH 为 100%), 并且具有 17nM 的  $EC_{50}$  (八个研究的平均)。

[0414] 在大鼠阴茎勃起研究中, 再次使用布雷默浪丹作为阳性对照, 但是皮下施用 32 号肽, 观察到 32 号肽当以 1mg/kg、3mg/kg 或 10mg/kg 的剂量施用导致观察到的自发勃起增加, 但是少于以 1.0mg/kg 布雷默浪丹静脉内施用所观察到的自发勃起。

[0415] 尽管具体参考这些优选的实施方案详细描述了本发明, 但是其他实施方案可以达到相同的结果。本发明的改变和修改对于本领域的那些技术人员来说是明显的并且本发明旨在涵盖所有这些修改和等同物。上文所引用的所有参考文献、申请、专利和出版物的整个公开内容均通过引用并入本文。

[0001]

## 序列表

<110> 帕拉丁科技公司  
施亦群  
舒布赫·D·夏尔马  
约翰·H·多德  
杨炜  
新·陈

<120> 黑皮质素受体特异性肽

<130> 1006-124

<160> 2

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 源自人  $\alpha$ -MSH 的合成黑皮质素结合肽

<400> 1

His Phe Arg Trp  
1

<210> 2  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 源自人  $\alpha$ -MSH 的合成黑皮质素结合肽

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1) .. ( 1)  
<223> 乙酰化

<220>

[0002]

<221> MOD\_RES

<222> (13) .. (13)

<223> 酰胺化

<400> 2

Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val

1 5 10