

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2012-523434

(P2012-523434A)

(43) 公表日 平成24年10月4日(2012.10.4)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02 Z N A	4 C 0 8 4
A 6 1 P 3/04 (2006.01)	A 6 1 P 3/04	
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 88 頁)

(21) 出願番号 特願2012-504907 (P2012-504907) (86) (22) 出願日 平成22年4月9日 (2010.4.9) (85) 翻訳文提出日 平成23年11月30日 (2011.11.30) (86) 国際出願番号 PCT/US2010/030625 (87) 国際公開番号 W02010/118384 (87) 国際公開日 平成22年10月14日 (2010.10.14) (31) 優先権主張番号 61/168,317 (32) 優先日 平成21年4月10日 (2009.4.10) (33) 優先権主張国 米国 (US)	(71) 出願人 598133654 アミリン・ファーマシューティカルズ、インコーポレイテッド AMYLIN PHARMACEUTICALS, INC. アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92121, サンディエゴ, タウン センター ドライブ 9360 9360 Towne Centre Drive, San Diego, CA 92121 USA (74) 代理人 100081422 弁理士 田中 光雄 (74) 代理人 100084146 弁理士 山崎 宏 最終頁に続く
--	---

(54) 【発明の名称】 エストロゲン欠乏哺乳類のためのアミリンアゴニスト化合物

(57) 【要約】

本発明は、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物またはアミリンアゴニスト化合物を含む医薬組成物を投与することによって、処置を必要とする哺乳類においてエストロゲン欠乏症を処置する方法を提供する。本発明の方法は、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物またはアミリンアゴニスト化合物を含む医薬組成物を投与することによって、エストロゲン欠乏哺乳類における血糖管理を改善することをさらに含み得る。血糖管理の改善には、血糖値の低下、ヘモグロビン A 1 c (H b A 1 c) 値の低減などが含まれる。一実施形態では、エストロゲン欠乏哺乳類は 2 型糖尿病などの糖尿病を有し、かつ、過体重または肥満である。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

処置を必要とする哺乳類においてエストロゲン欠乏症を処置する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 2】

エストロゲン欠乏哺乳類において肥満を処置する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 3】

エストロゲン欠乏哺乳類において過体重を処置する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

10

【請求項 4】

エストロゲン欠乏哺乳類において体重を低減する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 5】

エストロゲン欠乏哺乳類において体脂肪を低減する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 6】

エストロゲン欠乏哺乳類において除脂肪筋肉量を維持しながら体脂肪を低減する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

20

【請求項 7】

エストロゲン欠乏哺乳類において除脂肪筋肉量を維持しながら体重および / または体脂肪を低減する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 8】

エストロゲン欠乏哺乳類において体重を維持する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 9】

エストロゲン欠乏哺乳類において胃内容排出を遅延させる方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

30

【請求項 10】

エストロゲン欠乏哺乳類において胃運動を低減する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 11】

エストロゲン欠乏哺乳類において食欲を減退させる方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 12】

エストロゲン欠乏哺乳類において満腹感を増大させる方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

40

【請求項 13】

雌哺乳類において卵巣摘出後の体重増加を低減する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 14】

雌哺乳類において卵巣摘出後の肥満および / または過体重を処置する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 15】

雌哺乳類において閉経期の体重増加および / または体脂肪を低減する方法であって、閉経期の雌哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方

50

法。

【請求項 16】

雌哺乳類において除脂肪筋肉量を維持しながら閉経期の体重増加および／または体脂肪を低減する方法であって、閉経期の雌哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 17】

雌哺乳類において閉経後の体重増加および／または体脂肪を低減する方法であって、閉経後の雌哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 18】

雌哺乳類において除脂肪筋肉量を維持しながら閉経後の体重増加および／または体脂肪を低減する方法であって、閉経後の雌哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 19】

雌哺乳類において閉経期前後の体重増加および／または体脂肪を低減する方法であって、閉経期前後の雌哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 20】

雌哺乳類において除脂肪筋肉量を維持しながら閉経期前後の体重増加および／または体脂肪を低減する方法であって、閉経期前後の雌哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 21】

雌哺乳類において閉経期の肥満または過体重を処置する方法であって、閉経期の雌哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 22】

雌哺乳類において閉経後の肥満または過体重を処置する方法であって、閉経後の雌哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 23】

雌哺乳類において閉経期前後の肥満または過体重を処置する方法であって、閉経期前後の雌哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 24】

B d n f レベルの増大を必要とするエストロゲン欠乏哺乳類において B d n f レベルを増大させる方法であって、B d n f レベルの増大を必要とするエストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 25】

B d n f レベルの増大を必要とする哺乳類において B d n f レベルを増大させる方法であって、B d n f レベルの増大を必要とする哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 26】

有効量のレプチンまたはレプチン類似体を投与することをさらに含む、請求項 1 ～ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 27】

有効量のメトレレプチンを投与することをさらに含む、請求項 1 ～ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

有効量の G L P - 1 受容体アゴニストもしくはその類似体；P Y Y もしくはその類似体；G I P もしくはその類似体；または C C K もしくはその類似体を投与することをさらに含む、請求項 1 ～ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 29】

G L P - 1 受容体アゴニストが G L P - 1 (7 - 3 7) またはエキセンディン 4 である

10

20

30

40

50

、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

哺乳類がヒト女性である、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 31】

アミリンアゴニスト化合物が式 (I) の化合物である、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 32】

アミリンアゴニスト化合物が式 (II) の化合物である、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 33】

アミリンアゴニスト化合物が式 (III) の化合物である、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 34】

アミリンアゴニスト化合物が式 (IV) の化合物である、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 35】

アミリンアゴニスト化合物が式 (V) の化合物である、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 36】

アミリンアゴニスト化合物が式 (VI) の化合物である、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 37】

アミリンアゴニスト化合物が配列番号 1 ~ 139 のいずれか 1 つのアミノ酸配列またはその薬学上許容される塩を含む、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 38】

アミリンアゴニスト化合物が配列番号 1 ~ 139 のいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 90 % の配列同一性を有する、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 39】

アミリンアゴニスト化合物が配列番号 1 ~ 11、20 ~ 39、138 および 139 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 40】

アミリンアゴニスト化合物が配列番号 1 ~ 11、20 ~ 39、138 および 139 のいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 90 % の配列同一性を有する、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 41】

アミリンアゴニスト化合物が配列番号 20 のアミノ酸配列またはその薬学上許容される塩を含む、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 42】

アミリンアゴニスト化合物が配列番号 40 ~ 137 のいずれか 1 つのアミノ酸配列またはその薬学上許容される塩を含む、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 43】

アミリンアゴニスト化合物が配列番号 40 ~ 137 のいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 90 % の配列同一性を有する、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 44】

アミリンアゴニスト化合物が配列番号 137 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 45】

アミリンアゴニスト化合物が哺乳類に末梢投与される、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 46】

50

アミリンアゴニスト化合物が哺乳類に非経口投与される、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 47】

アミリンアゴニスト化合物が哺乳類に皮下投与される、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 48】

アミリンアゴニスト化合物が哺乳類に静脈内投与される、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 49】

アミリンアゴニスト化合物が哺乳類に筋肉内投与される、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 50】

アミリンアゴニスト化合物が哺乳類に動脈内投与される、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 51】

アミリンアゴニスト化合物が哺乳類に鼻腔投与される、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 52】

アミリンアゴニスト化合物がアミリン受容体結合アッセイにおいて約 200 またはそれ未満の IC_{50} を有する、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 53】

アミリンアゴニスト化合物がアミリン受容体結合アッセイにおいて約 100 またはそれ未満の IC_{50} を有する、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 54】

アミリンアゴニスト化合物がアミリン受容体結合アッセイにおいて約 50 またはそれ未満の IC_{50} を有する、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 55】

アミリンアゴニスト化合物がヒラメ筋検査において約 20 またはそれ未満の EC_{50} を有する、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 56】

アミリンアゴニスト化合物がヒラメ筋検査において約 15 またはそれ未満の EC_{50} を有する、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 57】

アミリンアゴニスト化合物がヒラメ筋検査において約 5 またはそれ未満の EC_{50} を有する、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 58】

アミリンアゴニスト化合物がペプチド、炭水化物、糖、ポリエチレングリコール、アルブミン、脂肪酸、ポリアミノ酸、デキストラン、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、N - (2 - ヒドロキシプロピル) - メタクリルアミド、またはその 2 つ以上の組合せと結合されている、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 59】

アミリンアゴニスト化合物がペプチド、炭水化物、糖、ポリエチレングリコール、アルブミン、脂肪酸またはポリアミノ酸と結合されている、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 60】

ペプチドがエキセンディン、エキセンディン類似体、GLP - 1、GLP - 1 類似体、CCK、CCK 類似体、PYY、PYY 類似体、GIP または GIP 類似体である、請求項 58 または 59 に記載の方法。

【請求項 61】

アミリンアゴニスト化合物が 1 つ、2 つ、3 つまたは 4 つのアミノ酸残基でグリコシル

50

化されている、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 2】

哺乳類にホルモン補充療法が施されない、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 3】

哺乳類が閉経期前後である、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 4】

哺乳類が閉経期である、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 5】

哺乳類が閉経後である、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 6 6】

哺乳類が卵巢機能不全であるか、または卵巢摘出(overectomy)もしくは子宮摘出を受けている、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 7】

ヒト女性が約 3 0 またはそれ未満のエストラジオールレベルおよび約 3 0 またはそれを超える卵胞刺激ホルモンレベルを有する、請求項 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 8】

アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $1 \mu\text{g} \sim 5 \text{mg}$ である、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 9】

アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $1 \mu / \text{日} \sim 5 \text{mg} / \text{日}$ である、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 7 0】

アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $1 \mu\text{g} / \text{週} \sim 5 \text{mg} / \text{週}$ である、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 1】

アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $1 \mu\text{g} / \text{月} \sim 5 \text{mg} / \text{月}$ である、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 2】

アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $10 \mu\text{g} \sim 3 \text{mg}$ である、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 7 3】

アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $10 \mu\text{g} / \text{日} \sim 3 \text{mg} / \text{日}$ である、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 4】

アミリンアゴニスト類似体の治療上有効な量が $10 \mu\text{g} / \text{週} \sim 3 \text{mg} / \text{週}$ である、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 5】

アミリンアゴニスト類似体の治療上有効な量が $10 \mu\text{g} / \text{月} \sim 3 \text{mg} / \text{月}$ である、請求項 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 7 6】

アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $50 \mu\text{g} \sim 2 \text{mg}$ である、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 7】

アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $50 \mu\text{g} / \text{日} \sim 2 \text{mg} / \text{日}$ である、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 8】

アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $50 \mu\text{g} / \text{週} \sim 2 \text{mg} / \text{週}$ である、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 9】

50

アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $50 \mu\text{g}/\text{月} \sim 2 \text{mg}/\text{月}$ である、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 80】

アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $100 \mu\text{g} \sim 1 \text{mg}$ である、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 81】

アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $100 \mu\text{g}/\text{日} \sim 1 \text{mg}/\text{日}$ である、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 82】

アミリンアゴニスト類似体の治療上有効な量が毎日一用量または分割用量で投与される、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 83】

アミリンアゴニスト類似体の治療上有効な量が $100 \mu\text{g}/\text{週} \sim 1 \text{mg}/\text{週}$ である、請求項 1 ~ 60 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 84】

アミリンアゴニスト類似体の治療上有効な量が $100 \mu\text{g}/\text{月} \sim 1 \text{mg}/\text{月}$ である、請求項 1 ~ 60 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 85】

アミリンアゴニスト類似体の治療上有効な量が少なくともアミリンアゴニスト化合物の治療上有効な最小血漿レベルをもたらす、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 86】

アミリンアゴニスト化合物が式 (VII) の化合物である、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 87】

アミリンアゴニスト化合物が式 (VIII) の化合物である、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 88】

アミリンアゴニスト化合物が式 (IX) の化合物である、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 89】

アミリンアゴニスト化合物が式 (X) の化合物である、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 90】

アミリンアゴニスト化合物がヒト・アミリンアミノ酸配列の断片、ラットアミノ酸配列の断片、サケ・カルシトニンアミノ酸配列の断片、ヒト・カルシトニン配列の断片またはその 2 つ以上の組合せを含む、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 91】

アミリンアゴニスト化合物が (a) ループ領域； (b) α ラセンループ I 型；および (c) C 末端テールを含む、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 92】

アミリンアゴニスト化合物が (i) アミリンペプチド断片および (ii) カルシトニンペプチド断片を含む、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 93】

アミリンがヒト・アミリンまたはラット・アミリンであり、カルシトニンがヒト・カルシトニンまたはサケ・カルシトニンである、請求項 92 に記載の方法。

【請求項 94】

哺乳類が糖尿病を有している、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 95】

血糖管理の改善を必要とするエストロゲン欠乏哺乳類において血糖管理を改善することをさらに含む、請求項 1 ~ 14 および 94 のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 96】

血糖管理を改善する方法が血糖値を低下させるまたはヘモグロビン A1c (HbA1c) 値を低減する方法である、請求項 95 に記載の方法。

【請求項 97】

血糖管理の改善を必要とする閉経期、閉経後または閉経期前後の雌哺乳類において血糖管理を改善することをさらに含む、請求項 15 ~ 24 および 94 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 98】

血糖管理を改善する方法が血糖値を低下させるまたはヘモグロビン A1c (HbA1c) 値を低減する方法である、請求項 97 に記載の方法。

10

【請求項 99】

アミリンアゴニスト化合物が配列番号 142 のアミノ酸配列またはその薬学上許容される塩を含む、請求項 1 ~ 98 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本願は 2009 年 4 月 10 日に出願された米国仮特許出願番号 61/168,317 の利益を主張するものであり、その全開示内容は目的によらず、引用することにより本明細書の一部とされる。

20

【0002】

技術分野

本開示は、エストロゲン欠乏哺乳類を処置するためのアミリンアゴニスト化合物の使用を含む医学分野にある。

【背景技術】

【0003】

閉経は女性が排卵を止め、月経が停止した際に起こる。エストロゲンは排卵を担う女性の性ホルモンである。エストロゲンは体脂肪分布に影響を及ぼすことが分かっている。多くの医学研究の結果が、閉経が体重の漸増および体脂肪の腹部領域への再分布に関連することを示している。動物試験では、エストロゲンの欠如が過剰な体重増加をもたらすことが示されている。

30

【0004】

妊娠可能年齢の女性は下半身に脂肪を蓄える傾向にあるが、男性および閉経後の女性は腹部の周りに蓄える。ヒトの過体重はそれだけでリスク因子であるが、脂肪組織の再分布は心血管疾患および糖尿病のリスクをさらに高める。閉経後の女性は、1 つには、エストロゲン生産の低下、それと同時に総リポタンパク質 (LDL) コレステロールレベルおよび低密度リポタンパク質コレステロールレベルの上昇のために冠動脈心疾患のリスクが高い。肥満、体重増加、ならびに体脂肪分布および組成の有害な変化はこの現象の一部である。さらに、LDL コレステロールレベルの上昇および他の冠動脈心疾患リスク因子 (例えば、高血圧、高総コレステロールおよびトリグリセリドレベル、インスリン抵抗性) の発症も体重増加によって直接的な影響を受ける。最大のエストロゲン欠乏は卵巣が除去された際または手術もしくは疾患によって傷つけられた際に起こる。よって、これらの女性の多くは重大な体重の問題を抱える。これは被っているテストステロンおよびエストロゲン双方の欠乏に関連していると思われる。

40

【0005】

閉経後の女性の生活の質を改善するため、エストロゲン欠乏に関連する症状を緩和するため、およびエストロゲン欠乏に関連する疾患の進行を遅くするためにホルモン補充療法が用いられてきた。閉経に関連する有害な身体的および生理的变化を緩和する助けとするために様々なホルモン補充療法が利用できる。このような治療計画には、エストロゲンなどの単剤療法、およびエストラジオールとプロゲステロン/プロゲスチンなどの併用療法

50

が含まれる。

【 0 0 0 6 】

何十年という間、閉経期および閉経後の女性は一般にホルモン補充療法で処置されていた。しかしながら、女性の健康イニシアチブ(Women's Health Initiative) (W H I) と呼ばれる大規模臨床試験により、ホルモン補充療法は女性の乳癌および心疾患リスクを高め得ることが報告された。Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators, JAMA, 288(3):321-333 (2002)。W H I の終了3年後、臨床試験中にホルモン補充療法を受けた女性は、なお浸潤性乳癌の高いリスクを示した。Heiss et al, JAMA, 299(9):1036-1045 (2008)。これらの報告に述べられたリスクを考慮して、多くの医師が自分達の女性患者にホルモン補充療法を指示するのを止め、多くの女性がホルモン補充療法を見合わせることを選択した。

10

【 0 0 0 7 】

エストロゲンは、摂食行動および代謝に対する影響を通じてエネルギーバランスおよび体重の恒常性に影響を及ぼすことが広く知られている(1、2)。例えば卵巣の実験的除去(O V X)によりエストロゲンが存在しないと、カロリー消費が増し、次いで、体重および脂肪量の増加が加速される(3、4)。齧歯類では、O V X後の過食および急速な体重増加の誘導はエストロゲン補充によって逆転させることができる(3、4)。脂肪組織の分布および代謝に対するエストロゲンのよく確立された効果の他、無傷な齧歯類とO V X齧歯類の、神経ホルモンシグナルに対する反応性を比較する薬理学的および神経生物学的研究は、エストロゲンがエネルギーバランスの中枢的制御を調節する機構を解明した。急性試験は、エストロゲンの存在が満腹感の短期シグナル(例えば、C C K (5、6))、脂肪蓄積の長期シグナル(例えば、レプチン、インスリン(4、7))の食欲不振特性を増強する一方で食欲促進シグナル(例えば、メラニン凝集ホルモン、ニューロペプチドY、グレリン(8~11))の効力を低下させることを暗示する。上述の神経ホルモンシグナルの多くは、可能性のある抗肥満標的として追跡されてきた、または現在追跡されており、閉経後の女性はこれらの薬剤が最終的に処方される肥満集団の高いパーセンテージを占めることから、これらの前臨床的所見は潜在的に臨床的重要性を持つ(12)。

20

【 0 0 0 8 】

この点で十分に探求されて来なかった1つの神経ホルモンシグナルが、強力な満腹シグナルとして売り込まれてきた膵臓ホルモンのアミリンである(13)。栄養摂取にตอบสนองしてインスリンとともに分泌されると、アミリンは脳幹の最後野(A P)で、その受容体を介して胃内容排出および食物摂取を阻害する働きをする(14)。しかしながら、C C Kとは異なり、食事性肥満(D I D)ラットにアミリンの持続的末梢注入を行うと、脂肪特異的様式で食物摂取および体重が低下する(15)。合成アミリン類似体であるブラムリンチドのヒト被験体への投与も同様に食物摂取および体重を低下させた(16、17)。これらのデータを考え合わせると、アミリンはエネルギーバランスに対する短期効果と長期効果の双方を発揮し得ることを示す。見た限りでは、エストロゲンは、体重調節に中心的結果を持つ多くの神経ホルモンシグナルの有効性/効力に影響を及ぼし得る。

30

【 0 0 0 9 】

よって、当技術分野ではとりわけ、閉経およびエストロゲン欠乏症の他の原因に関連する体重増加、過体重および肥満を処置するために、エストロゲンなどのホルモンを用いることなく使用できる新規化合物および組成物の必要がある。

40

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 1 0 】

本明細書では、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物またはアミリンアゴニスト化合物を含む医薬組成物を投与することによって、処置を必要とする哺乳類においてエストロゲン欠乏症を処置する方法が提供される。本明細書に記載される例示的方法は、(i)エストロゲン欠乏哺乳類において肥満を処置すること；(i i)エストロゲン欠乏哺乳類において過体重を処置すること；(i i i)エストロゲン欠

50

乏哺乳類において体重を低減すること；(i v) エストロゲン欠乏哺乳類において体脂肪を低減すること；(v) エストロゲン欠乏哺乳類において除脂肪筋肉量を維持しながら体脂肪を低減すること；(v i) エストロゲン欠乏哺乳類において満腹感を増大させること；(v i i) エストロゲン欠乏哺乳類において食欲を減退させること；(v i i i) エストロゲン欠乏哺乳類において胃内容排出を遅延させること；(i x) エストロゲン欠乏哺乳類において胃運動を低減すること；(x) 雌哺乳類において卵巣摘出後の体重増加および／または体脂肪を低減すること；(x i) 雌哺乳類において卵巣摘出後の肥満または過体重を処置すること；(x i i) ヒト女性において閉経期の体重増加および／または体脂肪を低減すること；(x i i i) ヒト女性において除脂肪筋肉量を維持しながら閉経期の体重増加および／または体脂肪を低減すること；(x i v) ヒト女性において閉経後の体重増加および／または体脂肪を低減すること；(x v) ヒト女性において除脂肪筋肉量を維持しながら閉経後の体重増加および／または体脂肪を低減すること；(x v i) ヒト女性において閉経期前後の体重増加および／または体脂肪を低減すること；(x v i i) ヒト女性において除脂肪筋肉量を維持しながら閉経後の体重増加および／または体脂肪を低減すること；(x v i i i) ヒト女性において閉経期の肥満を処置すること；(x i x) ヒト女性において閉経期前後の肥満を処置すること；(x x) ヒト女性において閉経後の肥満を処置すること；(x x i) ヒト女性において閉経期の体重増加を処置すること；(x x i i) ヒト女性において閉経期前後の体重増加を処置すること；(x x i i i) ヒト女性において閉経後の体重増加を処置すること；および(x x i v) エストロゲン欠乏哺乳類において脳由来神経栄養因子(B d n f)のレベルを増大させることを含む。治療上有効な量は好ましくは、哺乳類において少なくともアミリンアゴニスト化合物の最小の治療上有効な血漿レベルをもたらす。

【0011】

本明細書に記載されている方法は、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物またはアミリンアゴニスト化合物を含む医薬組成物を投与することによって、エストロゲン欠乏哺乳類における血糖管理を改善することをさらに含み得る。血糖管理の改善には、血糖値の低下、ヘモグロビンA 1 c (H b A 1 c) 値の低減などが含まれる。一実施形態では、エストロゲン欠乏哺乳類は2型糖尿病などの糖尿病を有し、かつ、過体重または肥満である。

【0012】

本明細書に記載されている方法の他の実施形態では、エストロゲン欠乏哺乳類は、有効量のレプチンまたはレプチン類似体をさらに投与してもよい。レプチンまたはレプチン類似体(メトレレプチンなど)はアミリンアゴニスト化合物と同じ医薬組成物で投与することもできるし、あるいは別の医薬組成物で投与することもできる。

【0013】

本明細書に記載されている方法の他の実施形態では、エストロゲン欠乏哺乳類は、有効量のGLP-1受容体アゴニストまたはその類似体(例えば、GLP-1(7-37)またはその類似体；エキセンディン-4またはその類似体)；PYYまたはその類似体；GIPまたはその類似体をさらに投与してもよい。これらの化合物はアミリンアゴニスト化合物と同じ医薬組成物で投与することもできるし、あるいは別の医薬組成物で投与することもできる。

【0014】

本明細書に記載されている他の方法としては、アミリンアゴニスト化合物を投与することによって、脳由来神経栄養因子(B d n f)のレベルの増大を必要とする患者において脳由来神経栄養因子(B d n f)のレベルを増大させることを含む。患者はヒトなどの哺乳類であり得る。ヒトは男性または女性であり得る。この方法に関して、患者はエストロゲン欠乏症を有する必要はない。脳由来神経栄養因子のレベルの増大を必要とする患者はWAGR症候群を持ち得る。

【0015】

本明細書に記載されている方法では、アミリンアゴニスト化合物は当技術分野で公知で

あるか、または²⁵, ²⁸, ²⁹Pro__ヒト__アミリン(配列番号20)もしくはその薬学上許容される塩、KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY(配列番号137)もしくはその薬学上許容される塩など、本明細書に記載されている。アミリンアゴニスト化合物は薬学上許容される塩の形態であってよく、かつ/またはアミド化されていてもよい。

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1A - 1C】ラット・アミリン(配列番号15)で処置した3群の食事性肥満(DIO)雌ラットに対する効果を示す。アミリンで処置した卵巣摘出(OVX)雌ラット(図1B)は、アミリンで処置した無傷な雌ラット(図1A)ならびにアミリンおよびエストロゲンで処置したOVX雌ラット(図1C)よりも約2倍大きい持続的体重減少を示した。ビヒクル対照に対して $* p < 0.05$ 。

10

【図2A - 2C】ラット・アミリン(配列番号15)で処置した3群のDIO雌ラットの食物摂取に対する効果を示す。アミリンで処置したOVX雌ラット(図2B)は、アミリンで処置した無傷な雌ラット(図2A)ならびにアミリンおよび17-βエストラジオールで処置したOVX雌ラット(図2C)よりも約2倍大きい食物摂取の持続的低減を示した。ビヒクル対照に対して $* p < 0.05$ 。

【図3A - 3C】脂肪蓄積変化(図3Aおよび3B)ならびにビヒクルまたはラット・アミリン(配列番号15)で処置したDIO雌ラットの除脂肪率%変化(図3C)を示す。図3Aは、ビヒクル補正後の脂肪蓄積変化を示す。アミリンで処置したOVX雌ラットは、アミリンで処置した無傷な雌ラット(Sham)ならびにアミリンおよびエストロゲンで処置したOVX雌ラット(OVX+E)よりも約40%大きい、ビヒクル補正後の脂肪蓄積変化を示した。図3Bは、図3Aに示される脂肪蓄積データセットの変化のビヒクル補正前を示す。黒い棒 = アミリン; 白い棒 = ビヒクル。ビヒクル対照に対して $* p < 0.05$ 。

20

【図4A - 4C】偽手術ラットおよびOVX雌ラットの体重に対する、さらに3つの例示的アミリンアゴニストの効果を示す。図4Aは、示された動物が配列番号20の $50 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$ 注入で処置される場合の効果を示す。図4Bは、示された動物が配列番号137の $2 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$ 注入で処置される場合の効果を示す。図4Cは、示された動物が配列番号142の $5 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$ 注入で処置される場合の効果を示す。ビヒクル対照に対して $* p < 0.05$ 。

30

【図5A - 5F】エストロゲン欠乏DIOラットにおけるアミリンにより誘導される代謝変化を強調して示す。ビヒクルまたはラット・アミリン($50 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$)のいずれかを連続注入したDIO偽手術(SHAM)対照または卵巣摘出(OVX)ラットに関して、酸素消費率(図5Aおよび5B)、基質利用(図5Cおよび5D)およびX軸における運動活性(図5Eおよび5F)を~48時間にわたって縦型で示す(図5A、5Cおよび5E)か、または明期および暗期の平均値として示す(図5B、5Dおよび5F)。代謝率のマーカである酸素消費率 VO_2 、呼吸商RQ。影を付けたグレーの領域は暗期を示す。グラフを見やすくするために、縦型で示されるデータからエラーバーを除いた。SHAM - ビヒクルに対して $* p < 0.05$ 、SHAM - アミリンに対して $\# p < 0.05$ 、OVX - ビヒクルに対して $^{\wedge} p < 0.05$ 。

40

【図6A - 6F】食物摂取の低下でOVXラットの体重に対するアミリンの効果の全てを説明することはできないことを示す。ビヒクルもしくはラット・アミリン($50 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$)のいずれかを連続注入した、またはアミリン処置動物の平均食物摂取に制限して(ヨークフィード(yoked-fed))ビヒクルを連続注入したDIO OVXラットに関して、酸素消費率(図6Aおよび6B)、基質利用(図6Cおよび6D)およびX軸における運動活性(図6Eおよび6F)を~120時間にわたって縦型で示す(図6A、6Cおよび6E)か、または全体の平均値として示す(図6B、6Dおよび6F)。代謝率のマーカである酸素消費率 VO_2 、呼吸商RER。影を付けたグレーの領域は暗期を示す。グラフを見やすくするために、示されるデータからエラーバーを除いた。OVX - ビヒク

50

ルに対して $^* p < 0.05$ 、OVX - アミリンに対して $^{\wedge} p < 0$ 。

【図7A - 7J】ビヒクルまたはラット・アミリン ($50 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{d}$) のいずれかを連続注入したOVX動物 (図7A、7C、7Bおよび7D) およびSHAM (図7E、7G、7Fおよび7H) 動物の最後野 (図7A、7C、7Eおよび7G; 倍率10倍) または孤束核 (図7B、7D、7Fおよび7H; 倍率20倍) におけるBrdU染色。AP (図7I) またはNTS (図7J) における平均細胞総数。SHAMビヒクルに対して $^* p < 0.05$ 、SHAMアミリン、SHAMビヒクルおよびOVXビヒクルに対して $^{\wedge} p < 0.05$ 。NTSの数は片側のみ。

【図8A - 8C】海馬におけるBrdU染色結果を示す。図8Aは、OVX / アミリン処置動物の海馬におけるDABによるBrdU染色を示す (倍率10倍)。図8Bは、ビヒクルまたはラット・アミリン ($50 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{d}$) のいずれかを連続注入したOVX動物およびSHAM動物のDAB染色による海馬の平均細胞総数を示す; OVXビヒクルに対して $^* p < 0.05$ 。海馬の細胞総数は全て片側だけである。図8Cは、OVX / アミリン処置動物の海馬におけるBrdU / NeuN染色 (倍率20倍) を示し、BrdU標識は緑であり、NeuN標識は赤であり、同時局在細胞は黄色に見える。

【図9A - 9H】エストロゲン欠乏ZDFラットにおけるアミリンにより媒介される体重減少の増進を示す。ビヒクルまたはラット・アミリン ($50 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{d}$) のいずれかを4週間連続注入した肥満で糖尿病の偽手術 (SHAM) もしくは卵巣摘出 (OVX) ZDFラット (図9A、9C、9Eおよび9G)、または無傷な痩せ型ZDF対照 (図9B、9D、9Fおよび9H) の、ビヒクル補正後のパーセント (図9Aおよび9B)、または全体的な体重変化 (図9Cおよび9D)、累積食物摂取 (図9Eおよび9F) および体成分パラメーターの変化 (図9Gおよび9H)。SHAM - ビヒクルに対して (または痩せ型ラットではビヒクル対照に対して) $^* p < 0.05$ 、SHAM - アミリンに対して $\# p < 0.05$ 、OVX - ビヒクルに対して $^{\wedge} p < 0.05$ 。

【0017】

詳細な説明

「エストロゲン欠乏症」とは、生殖齢にある同種の典型的な健常雌よりも血中に循環しているエストロゲンが少ない哺乳類を表す。エストロゲン欠乏症は閉経、閉経前後、閉経後、卵巣機能不全、卵巣摘出、子宮摘出などによって起こり得る。エストロゲン欠乏症は一般に、ヒト女性では、エストラジオールレベルが約30またはそれ未満であり、卵巣刺激ホルモン (FSH) レベルが約30またはそれを超える場合に診断が下される。閉経後の雌哺乳類は全てエストロゲン欠乏症を持つと考えられる。閉経期前後の雌哺乳類も、エストロゲンレベルの変動および卵巣機能の停止によって引き起こされるエストロゲン欠乏症を持ち得る。

【0018】

「エストロゲン」とは、例えば、エストラジオール、エストロン、エストリオールおよびその2以上の組合せを含む。

【0019】

「ホルモン補充療法」とは、閉経期または閉経後の雌などのエストロゲン欠乏哺乳類に対するホルモンの投与を表す。これらのホルモンは、エストロゲン (その類似体および誘導体を含む)、プロゲステロン (その類似体および誘導体を含む)、テストステロン (その類似体および誘導体を含む) およびその2以上の組合せを含み得る。ホルモン補充療法は、単剤療法および併用療法を含む。治療上有効な量のホルモン補充療法を投与された哺乳類はエストロゲン欠乏ではなくなく。

【0020】

「肥満」および「過体重」とは、あるべき体重より重い体重を持つ哺乳類を表し、例えば、身体的外観、体格指数 (BMI)、腹囲 / 臀囲比、皮下脂肪厚および腹囲によって判定することができる。米国疾病管理予防センターは、過体重をBMIが25 ~ 29.9の成人と定義し、肥満をBMIが30以上の成人と定義している。BMIは、その人の性別、体重および身長に基づいて計算される。米国疾病管理予防センターは、ウエスト / ヒップ

10

20

30

40

50

ブ比が 1.0 より大きい人が過体重であるとしている。

【0021】

「除脂肪体重」または「除脂肪量」とは脂肪を除いた体重を表し、すなわち、全体重 - (マイナス) 体脂肪重が除脂肪体重である。除脂肪体重は水中体重測定法、コンピューターチャンパー、二重 X 線吸収骨塩定量、皮膚キャリパー、磁気共鳴画像法 (MRI) および生体電気インピーダンス法 (BIA) などの方法によって測定することができる。

【0022】

「体脂肪」または「全体脂肪」とは、体の至る所に現れ、または見出される際の、沈着した脂質を意味する。

【0023】

「脂肪分布」、「体脂肪分布」または「全体脂肪分布」とは、体に沈着した脂肪の場所を意味する。このような脂肪沈着の場所としては、例えば、皮下、内臓および異所性の脂肪貯蔵所が含まれる。

【0024】

「皮下脂肪」とは、皮膚表面の直下の脂質沈着を意味する。エストロゲン欠乏哺乳類における皮下脂肪の量は、皮下脂肪の測定に利用できるいずれの方法によっても測定可能である。皮下脂肪の測定方法は、例えば、全開示内容が引用することにより本明細書の一部とされる米国特許第 6,530,886 号に記載されているものなど、当技術分野で公知である。

【0025】

「内臓脂肪」とは、腹腔内脂肪組織としての脂肪の貯蔵所を意味する。内臓脂肪は生命維持に必要な臓器を取り囲み、肝臓によって代謝されて血中コレステロールを生成することができる。

【0026】

内臓脂肪は多嚢胞性卵巣症候群、代謝症候群および心血管疾患などの症状のリスクの増大との関連が見出されている。

【0027】

「異所性脂肪貯蔵」とは、除脂肪体重を構成する組織および臓器 (例えば、骨格筋、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、血管) 内およびその周囲の脂肪沈着を意味する。一般に、異所性脂肪貯蔵は、体内の従来の脂肪組織貯蔵所の外側での脂質の蓄積である。

【0028】

「哺乳類」とは、一般に毛皮または毛髪を有し、後代を出生させ、後代を乳で育てる温血動物を表す。哺乳類にはヒト女性; 伴侶動物 (例えば、イヌ、ネコ); 農用動物 (例えば、ウシ、ウマ、ヒツジ、ブタ、ヤギ); 野生動物などが含まれる。一実施形態では、該哺乳類は雌である。一実施形態では、該哺乳類はヒト女性である。一実施形態では、該哺乳類はネコまたはイヌである。一実施形態では、該哺乳類は糖尿病哺乳類、例えば、2 型糖尿病を有するヒト女性である。一実施形態では、該哺乳類は肥満で糖尿病の哺乳類、例えば、2 型糖尿病を有する肥満のヒト女性である。

【0029】

「栄養素利用度の低下」とは、体が脂肪として貯蔵するために体が利用可能な栄養素を減らすいずれの手段も含むものとする。言い換えれば、栄養素利用度の低下は、限定されるものではないが、食欲の減退、満腹感の増大、食物選択 / 食味忌避への働きかけ、代謝の増大および / または食物吸収の低減もしくは抑制を含む手段によるものであり得る。働きかけを受け得る例示的機構としては、胃内容排出の遅延または腸における食物吸収の低減が含まれる。

【0030】

「栄養素利用度の増大」とは、体が脂肪として貯蔵するために体が利用可能な栄養素を増やすいずれの手段も含むものとする。言い換えれば、栄養素利用度の増大は、限定されるものではないが、食欲の増進、満腹感の減退、食物選択への作用、食味忌避の軽減、代謝の低減および / または食物吸収の増大を含む手段によるものであり得る。働きかけを受

10

20

30

40

50

け得る例示的機構としては、胃運動低下の軽減または腸における食物吸収の増大が含まれる。

【0031】

「アミリンアゴニスト化合物」とは、天然アミリンペプチド、アミリン類似体ペプチドおよびアミリンアゴニスト活性を有するその他の化合物（例えば、小分子）を含む。「アミリンアゴニスト化合物」は、天然源に由来してもよいし、合成することもでき、または組換えDNA技術から得ることもできる。アミリンアゴニスト化合物はアミリンアゴニスト受容体結合活性を有し、アミノ酸（例えば、天然、非天然またはそれらの組合せ）、ペプチドミメティクス、化学部分などを含み得る。当業者は、アミリン受容体結合アッセイを用いて、またはヒラメ筋検査においてアミリンアゴニスト活性を測定することによってアミリンアゴニスト化合物を認識するであろう。一実施形態では、アミリンアゴニスト化合物は、本明細書、米国特許第5,686,411号および米国特許公開第2008/0176804号（これらの開示内容は引用することにより本明細書の一部とされる）に記載されているものなどのアミリン受容体結合アッセイにおいて、約200またはそれ未満、約100またはそれ未満または約50またはそれ未満のIC₅₀を有する。一実施形態では、アミリンアゴニスト化合物は、本明細書および米国特許第5,686,411号に記載されているものなどのヒラメ筋検査において約20またはそれ未満、約15またはそれ未満、約10またはそれ未満または約5またはそれ未満のEC₅₀を有する（その開示内容は引用することにより本明細書の一部とされる）。一実施形態では、アミリンアゴニスト化合物は、²⁵, ²⁸, ²⁹Pro__ヒト__アミリン（配列番号20）と少なくとも90%または100%の配列同一性を有する。一実施形態では、アミリンアゴニスト化合物は、アミリン（例えば、ヒト・アミリン（配列番号1）、ラット・アミリン（配列番号15）など）およびカルシトニン（例えば、ヒト・カルシトニン（配列番号140）、サケ・カルシトニン（配列番号141）などのペプチドキメラである。一実施形態では、アミリンアゴニスト化合物は、配列番号137と少なくとも90%または100%の配列同一性を有する。好適な例示的アミリンアゴニスト化合物はまた、米国特許公開第2008/0274952（その開示内容は引用することによりそのまま本明細書の一部とされる）に記載される。

【0032】

本明細書において「類似体」とは、親化合物と同等またはそれより良好な特性を有する化合物を意味する。該類似体は優れた安定性、溶解度、有効性、半減期などを持ち得る。一実施形態では、類似体は、親化合物と少なくとも75%の配列同一性、親化合物と少なくとも80%の配列同一性、少なくとも85%の配列同一性、少なくとも90%の配列同一性または少なくとも95%の配列同一性を有する化合物である。例えば、レプチン類似体はヒト・レプチンと少なくとも75%の配列同一性を持ち、エキセンディン類似体はエキセンディン-4と少なくとも75%の配列同一性を持ち、GLP-1（7-37）類似体はGLP-1（7-37）と少なくとも75%の配列同一性を持ち得るなどである。

【0033】

本明細書に記載される化合物の命名法は、（1）そのアミノ酸配列が基にしているペプチド、および（2）そのアミノ酸配列に対して行われた改変を示すために用いられている。上付き数字が前に付いたアミノ酸は、その名称のアミノ酸が、そのアミノ酸配列の特定のアミノ酸位置に本来存在するアミノ酸に取って代わっていることを示す。例えば、¹⁸Arg²⁵, ²⁸Pro__h__アミリン（配列番号25）は、ヒト・アミリン（すなわち、h-アミリン）のアミノ酸配列に基づき、かつ、下記の置換を有する、すなわち、Argがh-アミリンの18番においてHisに取って代わり、Proがh-アミリンの25番においてAlaに取って代わり、Proがh-アミリンの28番においてSerに取って代わっているペプチドを表す。des-¹Lys-h-アミリン（配列番号2）とは、h-アミリンの1番のLys（すなわち、¹Lys）がアミノ酸配列から欠失されている（すなわち、des-）こと以外はヒト・アミリン（すなわち、h-アミリン）のアミノ酸配列に基づくペプチドを表す。

10

20

30

40

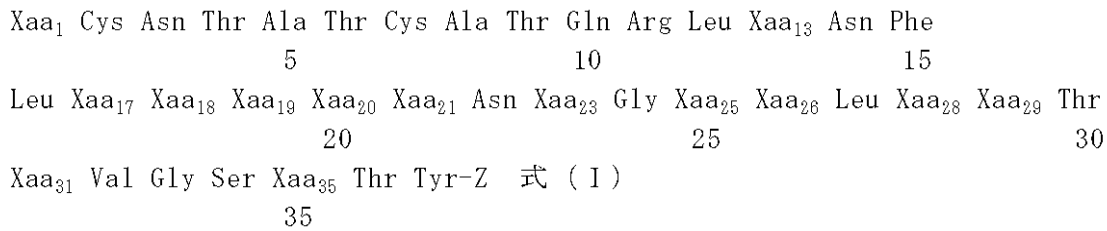
50

【 0 0 3 4 】

－実施形態では、アミリンアゴニストペプチドは式（ I ）：

【 0 0 3 5 】

【 化 1 】



10

[式中、² C y s および ⁷ C y s はジスルフィド結合を形成し；X a a ₁ は L y s または水素であり；X a a ₁₃ は A l a または T h r であり；X a a ₁₇ は I l e または V a l であり；X a a ₁₈ は A r g または H i s であり；X a a ₁₉ は T h r または S e r であり；X a a ₂₁ は H i s または A s n であり；X a a ₂₀ は A s n または S e r であり；X a a ₂₃ は L e u または P h e であり；X a a ₂₅ は P r o、A l a または T h r であり；X a a ₂₆ は I l e、V a l または A l a であり；X a a ₂₈ は P r o、S e r または L e u であり；X a a ₂₉ は P r o または S e r であり；X a a ₃₁ は A s p または A s n であり；X a a ₃₅ は A s n または A s p であり；かつ Z は O H または N H₂ である]

20

の化合物またはその薬学上許容される塩

【 0 0 3 6 】

式（ I ）の化合物の一実施形態では、X a a ₂₅、X a a ₂₈ および X a a ₂₉ の少なくとも1つはプロリンである。式（ I ）の化合物の一実施形態では、X a a ₂₅、X a a ₂₈ および X a a ₂₉ の少なくとも2つはプロリンである。

【 0 0 3 7 】

式（ I ）の例示的化合物としては、ヒト・アミリン（配列番号1）；d e s - ¹ L y s - h - アミリン（配列番号2）；¹ ⁷ I l e ¹ ⁸ A r g ² ³ L e u - h - アミリン（配列番号3）；¹ ⁷ I l e ¹ ⁸ A r g ² ³ L e u ² ⁶ V a l ² ⁹ P r o __ h __ アミリン（配列番号4）；² ⁵ P r o - h - アミリン（配列番号5）；² ⁸ P r o __ h __ アミリン（配列番号6）；² ⁹ P r o - h - アミリン（配列番号7）；¹ ³ T h r ¹ ⁸ A r g ² ¹ H i s ² ³ L e u ² ⁶ A l a ² ⁹ P r o ³ ¹ A s p __ h - アミリン（配列番号8）；¹ ³ T h r ² ¹ H i s ² ³ L e u ² ⁶ A l a ² ⁸ L e u ² ⁹ P r o ³ ¹ A s p __ h __ アミリン（配列番号9）；¹ ³ T h r ² ¹ H i s ² ³ L e u ² ⁶ A l a ² ⁹ P r o ³ ¹ A s p __ h __ アミリン（配列番号10）；d e s - ¹ L y s - ¹ ³ T h r ² ¹ H i s ² ³ L e u ² ⁶ A l a ² ⁹ P r o ³ ¹ A s p __ h __ アミリン（配列番号11）；およびこれらのペプチドのいずれかの薬学上許容される塩が含まれる。

30

【 0 0 3 8 】

式（ I ）の他の例示的化合物としては、サル・アミリン（配列番号12）；ネコ・アミリン（配列番号13）；イヌ・アミリン（配列番号14）；ラット・アミリン（配列番号15）；マウス・アミリン（配列番号16）；ハムスター・アミリン（配列番号17）；モルモット・アミリン（配列番号18）；デグー・アミリン（配列番号19）；およびこれらの化合物のいずれかの薬学上許容される塩が含まれる。

40

【 0 0 3 9 】

－実施形態では、アミリンアゴニストペプチドは式（ I I ）：

【 0 0 4 0 】

Xaa₁ Xaa₂ Asn Thr Ala Thr Xaa₇ Ala Thr Gln Arg Leu Xaa₁₃ Asn Phe
5 10 15
Leu Xaa₁₇ Xaa₁₈ Xaa₁₉ Xaa₂₀ Xaa₂₁ Asn Xaa₂₃ Gly Pro Xaa₂₆ Leu Pro Pro Thr
20 25 30
Xaa₃₁ Val Gly Ser Asn Thr Tyr-Z 式 (I I)
35

20

30

40

50

【 0 0 4 3 】

式 (I I) の他の例示的化合物としては、 $\text{des-}^1\text{Lys-}^{25, 28, 29}\text{Pro-h}$ アミリン (配列番号 2 1) ; $^1\text{Arg}^{25, 28, 29}\text{Pro-h}$ アミリン (配列番号 2 2) ; $\text{des-}^1\text{Lys-}^1\text{Arg}^{25, 28, 29}\text{Pro-h}$ アミリン (配列番号 2 3) ; $^{25}\text{Pro}^{26}\text{Val}^{28, 29}\text{Pro-h}$ アミリン (配列番号 2 4) ; $^1\text{Ile}^{25, 28, 29}\text{Pro-h}$ アミリン (配列番号 2 5) ; $^{23}\text{Leu}^{25}\text{Pro}^{26}\text{Val}^{28, 29}\text{Pro-h}$ アミリン (配列番号 2 6) ; $^1\text{Arg}^{23}\text{Leu}^{25, 28, 29}\text{Pro-h}$ アミリン (配列番号 2 7) ; $^1\text{Ile}^{23}\text{Leu}^{25, 28, 29}\text{Pro-h}$ アミリン (配列番号 2 8) ; $\text{des-}^1\text{Lys-}^1\text{Ile}^{23}\text{Leu}^{25, 28, 29}\text{Pro-h}$ - アミリン (配列番号 2 9) ; $^1\text{Ile}^1\text{Arg}^{23}\text{Leu}^{25}\text{Pro}^{26}\text{Val}^{28, 29}\text{Pro-h}$ アミリン (配列番号 3 0) ; $^1\text{Thr}^1\text{Arg}^{21}\text{His}^{23}\text{Leu}^{25}\text{Pro}^{26}\text{Ala}^{28, 29}\text{Pro}^{31}\text{Asp-h}$ - アミリン (配列番号 3 1) ; およびこれらのペプチドの薬学上許容される塩が含まれる。当業者は、これらの例示的化合物は場合により 2 番と 7 番の C y s アミノ酸残基間に分子内ジスルフィド結合を有していてもよいことを認識するであろう。

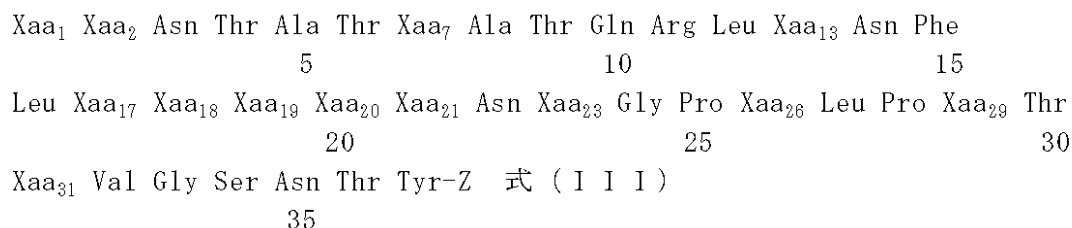
10

【 0 0 4 4 】

一実施形態では、アミリンアゴニストペプチドは式 (I I I) :

【 0 0 4 5 】

【 化 3 】



20

30

40

[式中、X a a ₁ は L y s、A l a、S e r または水素 (好ましくは、L y s または水素) であり ; X a a ₂ は S e r、A s p、G l u、L y s、O r n または C y s であり、ここで、このアミノ酸は場合により X a a ₇ のアミノ酸と連結して分子内結合を形成してもよく (例えば、C y s は X a a ₇ の C y s とジスルフィド結合を形成し ; S e r は X a a ₇ の S e r と結合を形成し ; A s p または L y s は X a a ₇ のそれぞれ L y s または A s p と結合を形成する) ; X a a ₇ は S e r、A s p、G l u、L y s、O r n または C y s であり、ここで、このアミノ酸は場合により X a a ₂ のアミノ酸と連結して分子内結合を形成してもよく (例えば、C y s は X a a ₂ の C y s とジスルフィド結合を形成し ; S e r は X a a ₂ の S e r と結合を形成し ; A s p または L y s は X a a ₂ のそれぞれ L y s または A s p と結合を形成する) ; X a a ₁₃ は A l a、S e r または T h r (好ましくは、T h r または A l a、より好ましくは、A l a) であり ; X a a ₁₇ は V a l、L e u または I l e (好ましくは、V a l または I l e) であり ; X a a ₁₈ は H i s または A r g であり ; X a a ₁₉ は S e r または T h r (好ましくは、S e r) であり ; X a a ₂₀ は S e r、T h r、G l n または A s n (好ましくは、S e r または A s n、より好ましくは、S e r) であり ; X a a ₂₁ は A s n、G l n または H i s (好ましくは、A s n または H i s、より好ましくは、A s n) であり ; X a a ₂₃ は P h e、L e u または T y r (好ましくは、P h e または L e u) であり ; X a a ₂₆ は I l e、V a l、A l a または L e u (好ましくは、V a l または I l e) であり ; X a a ₂₉ は S e r または T h r であり ; X a a ₃₁ は A s n、A s p または G l n (好ましくは、A s n または A s p) であり ; かつ、Z は O H または N H ₂ (好ましくは、N H ₂) である] の化合物またはその薬学上許容される塩である。

【 0 0 4 6 】

一実施形態では、X a a ₂ および X a a ₇ は、ジスルフィド結合 ; アミド結合 ; 環状ラクタムを形成し得るアルキル酸およびアルキルアミン ; アルキルアルデヒドまたはアルキルハリドおよび縮合され還元されてアルキルアミン架橋もしくはイミン架橋を形成し得る

50

10

20

30

40

50

Xaa₁ Xaa₂ Asn Thr Ala Thr Xaa₇ Ala Thr Gln Arg Leu Xaa₁₃ Asn Phe
5 10 15
Leu Xaa₁₇ Xaa₁₈ Xaa₁₉ Xaa₂₀ Xaa₂₁ Asn Xaa₂₃ Gly Ala Xaa₂₆ Leu Pro Pro Thr
20 25 30
Xaa₃₁ Val Gly Ser Asn Thr Tyr-Z 式 (I V)
35

[式中、X a a₁ はL y s、A l a、S e rまたは水素（好ましくは、L y sまたは水素）であり；X a a₂ はS e r、A s p、G l u、L y s、O r nまたはC y sであり、ここで、このアミノ酸は場合によりX a a₇ のアミノ酸と連結して分子内結合を形成してもよく（例えば、C y sはX a a₇ のC y sとジスルフィド結合を形成し；S e rはX a a₇ のS e rと結合を形成し；A s pまたはL y sはX a a₇ のそれぞれL y sまたはA s pと結合を形成する）；X a a₇ はS e r、A s p、G l u、L y s、O r nまたはC y sであり、ここで、このアミノ酸は場合によりX a a₂ のアミノ酸と連結して分子内結合を形成してもよく（例えば、C y sはX a a₂ のC y sとジスルフィド結合を形成し；S e rはX a a₂ のS e rと結合を形成し；A s pまたはL y sはX a a₂ のそれぞれL y sまたはA s pと結合を形成する）；X a a₁₃ はA l a、S e rまたはT h r（好ましくは、T h rまたはA l a、より好ましくは、A l a）であり；X a a₁₇ はV a l、L e uまたはI l e（好ましくは、V a lまたはI l e）であり；X a a₁₈ はH i sまたはA r gであり；X a a₁₉ はS e rまたはT h r（好ましくは、S e r）であり；X a a₂₀ はS e r、T h r、G l nまたはA s n（好ましくは、S e rまたはA s n、より好ましくは、S e r）であり；X a a₂₁ はA s n、G l nまたはH i s（好ましくは、A s nまたはH i s、より好ましくは、A s n）であり；X a a₂₃ はP h e、L e uまたはT y r（好ましくは、P h eまたはL e u）であり、X a a₂₆ はI l e、V a l、A l aまたはL e u（好ましくは、V a l、I l eまたはA l a、より好ましくは、V a lまたはI l e）であり；X a a₃₁ はA s n、A s pまたはG l n（好ましくは、A s nまたはA s p、より好ましくは、A s n）であり；かつ、ZはO HまたはN H₂（好ま

の化合物またはその薬学上許容される塩である。

一実施形態では、X a a₂ および X a a₇ は、ジスルフィド結合；アミド結合；環状ラクタムを形成し得るアルキル酸およびアルキルアミン；アルキルアルデヒドまたはアルキルハリドおよび縮合され還元されてアルキルアミン架橋もしくはイミン架橋を形成し得るアルキルアミン；または連結してアルキル結合、アルケニル結合、アルキニル結合、エーテル結合もしくはチオエーテル結合を形成し得る側鎖などの分子内結合を形成し得る。アルキル鎖は、約1～約6個の炭素原子を有する低級アルキル基を含み得る。特定の実施形態では、分子内結合はジスルフィド結合、アミド結合、イミン結合、アミン結合、アルキル結合およびアルケン結合であり得る。特定の実施形態では、X a a₂ および X a a₇ は独立に S e r、A s p、G l u、L y s、O r n または C y s から選択される。特定の実施形態では、X a a₂ および X a a₇ は C y s および C y s である。他の実施形態では、X a a₂ および X a a₇ は S e r および S e r である。さらに他の実施形態では、X a a₂ および X a a₇ は A s p および L y s または L y s および A s p である。一実施形態では、X a a₂ および X a a₇ のアミノ酸残基は分子内結合を形成しない。

式（ⅠⅤ）の例示的化合物としては、¹³ T h r ¹⁸ A r g ²¹ H i s ²³ L e u ²⁸ , ²⁹ P r o ³¹ A s p _ h _ アミリン（配列番号３９）、²⁸ , ²⁹ P r o _ h _ アミリン（配列番号１３８）およびその薬学上許容される塩が含まれる。当業者は、これらの例示的化合物は２番と７番の C y s アミノ酸残基間に分子内ジスルフィド結合を有することを認識するであろう。

一実施形態では、アミリンアゴニストペプチドは式（V）：

【化 5】

Xaa₁ Xaa₂ Asn Thr Ala Thr Xaa₇ Ala Thr Gln Arg Leu Xaa₁₃ Asn Phe
5 10 15
Leu Xaa₁₇ Xaa₁₈ Xaa₁₉ Xaa₂₀ Xaa₂₁ Asn Xaa₂₃ Gly Pro Xaa₂₆ Leu Xaa₂₈ Pro Thr
20 25 30
Xaa₃₁ Val Gly Ser Asn Thr Tyr-Z 式 (V)
35

[式中、X a a₁ は L y s、A l a、S e rまたは水素（好ましくは、L y sまたは水素）であり；X a a₂ はS e r、A s p、G l u、L y s、O r nまたはC y sであり、ここで、このアミノ酸は場合によりX a a₇ のアミノ酸と連結して分子内結合を形成してもよく（例えば、C y sはX a a₇ のC y sとジスルフィド結合を形成し；S e rはX a a₇ のS e rと結合を形成し；A s pまたはL y sはX a a₇ のそれぞれL y sまたはA s pと結合を形成する）；X a a₇ はS e r、A s p、G l u、L y s、O r nまたはC y sであり、ここで、このアミノ酸は場合によりX a a₂ のアミノ酸と連結して分子内結合を形成してもよく（例えば、C y sはX a a₂ のC y sとジスルフィド結合を形成し；S e rはX a a₂ のS e rと結合を形成し；A s pまたはL y sはX a a₂ のそれぞれL y sまたはA s pと結合を形成する）；X a a₁₃ はA l a、S e rまたはT h r（好ましくは、T h rまたはA l a、より好ましくは、A l a）であり；X a a₁₇ はV a l、L e uまたはI l e（好ましくは、V a lまたはI l e）であり；X a a₁₈ はH i sまたはA r gであり；X a a₁₉ はS e rまたはT h r（好ましくは、S e r）であり；X a a₂₀ はS e r、T h r、G l nまたはA s n（好ましくは、S e rまたはA s n）であり；X a a₂₁ はA s n、G l nまたはH i s（好ましくは、A s nまたはH i s、より好ましくは、A s n）であり；X a a₂₃ はP h e、L e uまたはT y r（好ましくは、P h eまたはL e u）であり；X a a₂₆ はI l e、V a l、A l aまたはL e u（好ま

しくは、Val、IleまたはAla、より好ましくは、ValまたはIle)であり；Xaa₂₈はSerまたはThrであり；Xaa₃₁はAsn、AspまたはGln(好ましくは、AsnまたはAsp、より好ましくは、Asn)であり；かつ、ZはOHまたはNH₂(好ましくは、NH₂)である]

の化合物またはその薬学上許容される塩である。

【0054】

一実施形態では、Xaa₂およびXaa₇は、ジスルフィド結合；アミド結合；環状ラクタムを形成し得るアルキル酸およびアルキルアミン；アルキルアルデヒドまたはアルキルハリドおよび縮合され還元されてアルキルアミン架橋もしくはイミン架橋を形成し得るアルキルアミン；または連結してアルキル結合、アルケニル結合、アルキニル結合、エーテル結合もしくはチオエーテル結合を形成し得る側鎖などの分子内結合を形成し得る。アルキル鎖は、約1～約6個の炭素原子を有する低級アルキル基を含み得る。特定の実施形態では、分子内結合はジスルフィド結合、アミド結合、イミン結合、アミン結合、アルキル結合およびアルケン結合であり得る。特定の実施形態では、Xaa₂およびXaa₇は独立にSer、Asp、Glu、Lys、OrnまたはCysから選択される。特定の実施形態では、Xaa₂およびXaa₇はCysおよびCysである。他の実施形態では、Xaa₂およびXaa₇はSerおよびSerである。さらに他の実施形態では、Xaa₂およびXaa₇はAspおよびLysまたはLysおよびAspである。一実施形態では、Xaa₂およびXaa₇のアミノ酸残基は分子内結合を形成しない。

10

【0055】

一実施形態では、式(V)のアミリンアゴニスト化合物は、²⁵,²⁹Pro__h__アミリン(配列番号139)またはその薬学上許容される塩である。

20

【0056】

一実施形態では、アミリンアゴニストペプチドは式(VI)：

【0057】

【化6】

Xaa₁ Cys Asn Thr Ala Thr Cys Xaa₈ Xaa₉ Xaa₁₀ Arg Leu Xaa₁₃ Xaa₁₄ Xaa₁₅
5 10 15

Leu Xaa₁₇ Xaa₁₈ Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Xaa₂₆ Val Gly Ser Xaa₃₀
20 25 30

30

Thr Tyr-Z 式(VI)

[式中、²Cysおよび⁷Cysはジスルフィド結合を形成し；Xaa₁はLys、Serまたは不在であり；Xaa₈はAlaまたはValであり；Xaa₉はLeuまたはThrであり；Xaa₁₀はGlnまたはGlyであり；Xaa₁₃はAla、ThrまたはSerであり；Xaa₁₄はAsnまたはGlnであり；Xaa₁₅はPheまたはGluであり；Xaa₁₇はIle、ValまたはHisであり；Xaa₁₈はArgまたはHisであり；Xaa₂₆はAsp、AsnまたはThrであり；Xaa₃₀はAsnまたはAspであり；かつ、ZはOHまたはNH₂である]

の化合物またはその薬学上許容される塩である。

40

【0058】

式(VI)の例示的化合物は配列番号40～137である。一実施形態では、式(VII)の化合物はKCNATC VLGRLS QELHRLQTYPATNTGSNTY(配列番号137)(場合によりアミド化されていてもよい)またはその薬学上許容される塩である。

【0059】

一実施形態では、アミリンアゴニストペプチドは、配列番号137のアミノ酸配列と少なくとも87%の配列同一性を有する。このようなアミリンアゴニストペプチドには、配列番号51、52、76、88および117が含まれる。一実施形態では、アミリンアゴニストペプチドは、配列番号137のアミノ酸配列と少なくとも90%の配列同一性を有

50

する。このようなアミリンアゴニストペプチドとしては、配列番号 44、45、49、58、66、71、75、86、108、110、113、115、116、120、122、123、124、131または132が含まれる。一実施形態では、アミリンアゴニストペプチドは、配列番号 137のアミノ酸配列と少なくとも93%の配列同一性を有する。このようなアミリンアゴニストペプチドとしては、配列番号 55、67、70、73、82、83、84、89、94、100、103、106、107、111、112、125および133が含まれる。一実施形態では、アミリンアゴニストペプチドは、配列番号 137のアミノ酸配列と少なくとも96%の配列同一性を有する。このようなアミリンアゴニストペプチドとしては、配列番号 40、42、43、46、47、48、54、64、65、68、69、74、78、79、80、81、85、90、91、92、93、95、96、97、98、99、101、102、109、118、119、121、130および137が含まれる。

10

【0060】

一実施形態では、アミリンアゴニストペプチドは配列番号 40～137もしくはその薬学上許容される塩、または配列番号 40～137のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも87%、90%、93%または96%の配列同一性を有するアミリンアゴニストペプチドもしくはその薬学上許容される塩であり得る。アミリンアゴニストペプチドは場合によりアミド化されていてもよい。

【0061】

配列番号 40～137のアミリンアゴニストペプチドは、

20

配列番号 40 KCNTATCVLGKLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

配列番号 41 KCNTATCVLGRLSQELHRLQTLPRNTGSENTY

配列番号 42 KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPPNTGSENTY

配列番号 43 KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTVGSNTY

配列番号 44 KCNTATCVLGRLSQELHRLQTLPPNTVGSNTY

配列番号 45 KCNTATCVLGRLANFLHRLQTYPRNTGSENTY

配列番号 46 ACNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

配列番号 47 KCNAATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

配列番号 48 KCNTAACVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

配列番号 49 CANLSTCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

30

配列番号 50 イソカプロイル-STAVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

配列番号 51 CSNASTCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

配列番号 52 CSNLATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

配列番号 53 CSNLSACVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

配列番号 54 KCNTATCVLGRLSQELHKLQTYPRNTGSENTY

配列番号 55 KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSGTP

配列番号 56 CSALSTCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

配列番号 57 Ac-(Agy)SNLST(Agy)VLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

配列番号 58 Ac-K(Agy)NTAT(Agy)VLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

配列番号 59 イソカプロイル-STAVL(Aib)RLSQELRLQTYPRNTGSGTP

40

配列番号 60 イソカプロイル-STAVLG[K(For)]LSQELH[K(For)]LQTYPRNTGSGTP

配列番号 61 イソカプロイル-STAVL(Aib)[K(For)]LSQEL(Aib)[K(For)]LQTYPRNTGSENTY

配列番号 62 イソカプロイル-STAVL(Aib)[K(For)]LSQEL(Aib)[K(For)]LQTYPRNTVGSNTY

配列番号 63 KCNTATCLLQQLQKLKQYPRNTGSENTY

配列番号 64 KCNTASCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

配列番号 65 KCNTAVCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

配列番号 66 KCNTATCVLGRLSQELHRYPRNTGSENTY

配列番号 67 KCNTATCVLGK(For)LSQELHK(For)LQTYPRNTGSENTY

配列番号 68 KCNTA(d-Thr)CVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

配列番号 69 KCNTA(dAh)CVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

50

配列番号 7 0	Ac-ACNTATCVLGRLSQELHK(PEG5000)LQTYPRNTGSENTY	
配列番号 7 1	KCNTATCVLGRLSQELHRLQTLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 7 2	KCNTATCVLGRLSQELHRLQTLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 7 3	KCNTATCVLGKLSQELHKLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 7 4	KCNTSTCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 7 5	KCNTATCATQRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 7 6	KCNTATCATQRLSQELHRLQTYPRNTVGSNTY	
配列番号 7 7	KCNTSTCATQRLANELVRLQTYPRNTVGSNTY	
配列番号 7 8	KCNTA(Hse)CVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 7 9	KCNTA(Ahb)CVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY	10
配列番号 8 0	KCNTA(Ahp)CVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 8 1	KCNTAT(OP03H2)CVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 8 2	KCNTATCVLG(Orn)LSQELH(Orn)LQTYPRNTGSENTY	
配列番号 8 3	KCNTATCVLG(Cit)LSQELH(Cit)LQTYPRNTGSENTY	
配列番号 8 4	KCNTATCVLG(homoK)LSQELH(homoK)LQTYPRNTGSENTY	
配列番号 8 5	L-オクチルグリシンKCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 8 6	N-3,6-ジオキサオクタノイル-CNTATCVLGRLSQELHRLQTVPRNTGSENTY	
配列番号 8 7	KCNTATCMLGRYTQDFHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 8 8	DSNLSTKVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 8 9	KDNTATKVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY	20
配列番号 9 0	CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 9 1	KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY(9Anc)	
配列番号 9 2	KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY(L-オクチルグリシン)	
配列番号 9 3	N-イソカプロイル-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 9 4	KCNTATCVLG(homoR)LSQELH(homoR)LQTYPRNTGSENTY	
配列番号 9 5	FCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 9 6	KCNTATCVLGRLSQELH(Cit)LQTYPRNTGSENTY	
配列番号 9 7	KCNTATCVLGRLSQELH(Orn)LQTYPRNTGSENTY	
配列番号 9 8	ICNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 9 9	1-オクチルグリシン-CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY	30
配列番号 1 0 0	イソカプロイル-CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 1 0 1	KCNTATCVLG(Cit)LSQELHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 1 0 2	KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY(4ABU)	
配列番号 1 0 3	イソカプロイル-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY(4ABU)	
配列番号 1 0 4	KCNTSTCATQRLANELVRLQTYPRNTVNGSEAF	
配列番号 1 0 5	KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPTNVNGSEAF	
配列番号 1 0 6	KCNTATCVLGRLSRSLHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 1 0 7	KCNTATCVTHRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 1 0 8	KCNTATCVLGRLADFLHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 1 0 9	CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENT	40
配列番号 1 1 0	KCNTATCVLGRLSQELHRLQNFVPRNTGSENTY	
配列番号 1 1 1	KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSETF	
配列番号 1 1 2	ACDTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 1 1 3	KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSKAF	
配列番号 1 1 4	KCDTATCVTHRLAGLLSRSQTYPRNTGSENTY	
配列番号 1 1 5	KCNTATCVLGRLADALHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 1 1 6	KCNTATCVLGRLAAFLHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 1 1 7	SCNTATCVLGRLADFLHRLQTYPRNTGSENTY	
配列番号 1 1 8	KCNTATCVLGRLSQELHRLQTMPRTNTGSENTY	
配列番号 1 1 9	KCNTATCVLGRLSQELHRLQTVPRNTGSENTY	50

配列番号 1 2 0 KCNTATCVLGRLNEYLHRLQTYPRNTGSENTY
 配列番号 1 2 1 SCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY
 配列番号 1 2 2 KCNTATCVLGRLTEFLHRLQTYPRNTGSENTY
 配列番号 1 2 3 KCNTATCVLGRLAEFLHRLQTYPRNTGSENTY
 配列番号 1 2 4 KCNTATCVLGRLTDYLHRLQTYPRNTGSENTY
 配列番号 1 2 5 KCNTATCVLGRLAQFLHRLQTYPRNTGSENTY
 配列番号 1 2 6 KCNTATCVLGRLADFLHRFQTFPRNTGSENTY
 配列番号 1 2 7 KCNTATCVLGRLADFLHRFHFTFPRNTGSENTY
 配列番号 1 2 8 KCNTATCVLGRLADFLHRFQTFPRNTGSGTP
 配列番号 1 2 9 CNTATCVLGRLADFLHRLQTYPRNTGSENTY
 配列番号 1 3 0 KCDTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY
 配列番号 1 3 1 KCNTATCVLGRLFDLHRLQTYPRNTGSENTY
 配列番号 1 3 2 KCNTATCVLGRLAAALHRLQTYPRNTGSENTY
 配列番号 1 3 3 TCDTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY
 配列番号 1 3 4 CSNLSTCATQRLANELVRLQTYPRNTVGSNTY
 配列番号 1 3 5 KCNTATCATQRLANELVRLQTYPRNTVGSNTY
 配列番号 1 3 6 CSNLSTCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY
 配列番号 1 3 7 KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

である。

【 0 0 6 2 】

本明細書に記載されているアミノ酸配列に関して、A c はアセチルであり；A g y は (S) - 2 - アミノ - 2 - メチル - ペント - 4 - エン酸であり；A i b は α - メチルアラニンであり；4 A b u は 4 - アミノ酪酸であり；d A h は (R) - 2 - アミノ - 3 - ヒドロキシ - 3 - メチル - 酪酸であり；A h p は (S) - 2 - アミノ - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルペンタン酸であり；A h b は (S) - 2 - アミノ - 3 - ヒドロキシ - 3 - メチル - 酪酸であり；H s e はホモセリンであり；C i t はシトルリンであり；O r n はオルニチンであり；9 A n c は $H_2N(CH_2)_8CONH_2$ であり；P E G 5 0 0 0 は約 5 , 0 0 0 の分子量を有するポリエチレングリコールである。

【 0 0 6 3 】

他の実施形態では、本明細書に記載されている方法において有用なアミリンアゴニスト化合物は、少なくともループ領域、らせん領域およびC末端テールを含む。ループ領域は、式 X - (X a a₁ 配列) - Y { 式中、X および Y は結合を形成することができ、かつ、互いに化学的に結合して、ジスルフィド結合；アミド結合；環状ラクタムを形成し得るアルキル酸およびアルキルアミン；アルキルアルデヒドまたはアルキルハリドおよび縮合され還元されてアルキルアミン架橋もしくはイミン架橋を形成し得るアルキルアミンなどの分子内結合を形成する側鎖；または連結してアルキル結合、アルケニル結合、アルキニル結合、エーテル結合もしくはチオエーテル結合を形成し得る側鎖を有する、独立に選択される残基である } を含むアミノ配列を含む。アルキル鎖は約 1 ~ 約 6 個の炭素原子を有する低級アルキル基を含み得る。特定の実施形態では、分子内結合はジスルフィド結合、アミド結合、イミン結合、アミン結合、アルキル結合およびアルケン結合であり得る。特定の実施形態では、X および Y は独立に S e r 、 A s p 、 G l u 、 L y s 、 O r n または C y s から選択される。特定の実施形態では、X および Y は C y s および C y s である。他の実施形態では、X および Y は S e r および S e r である。さらに他の実施形態では、X および Y は A s p および L y s または L y s および A s p である。

【 0 0 6 4 】

X a a₁ 配列は、X と Y の間に 3 、 4 、 5 または 6 アミノ酸のアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、X a a₁ 配列は、Y に隣接して 1 以上の置換または非置換ヒドロキシル含有残基を有する領域を有するアミノ酸配列を含む。例えば、ヒドロキシル含有残基領域は、S e r または T h r のいずれかである Y に隣接する 3 個のアミノ酸のうち少なくとも 2 個を持ち得る。X a a₁ 配列中の他のアミノ酸はいずれのアミノ酸であってもよい。

特定の実施形態では、X a a₁ 配列は3アミノ酸である。他の実施形態では、X a a₁ 配列は4アミノ酸である。さらに他の実施形態では、X a a₁ 配列は5アミノ酸である。さらに他の実施形態では、X a a₁ 配列は6アミノ酸である。よって、X a a₁ は、X a a₂ X a a₃ X a a₄ X a a₅ X a a₆ X a a₇ により表すことができる。特定の実施形態では、X a a₂、X a a₃ および/またはX a a₄ は不在であってもよい。特定の実施形態では、X a a₅、X a a₆ およびX a a₇ はヒドロキシ含有残基領域を含む。従って、3個のアミノ酸のうち少なくとも2個はSer、hSer、Thr、alloThr、d-Thrまたは他の、その非天然類似体であり得る。X a a₂ は任意のアミノ酸であるか、または不在であってもよく、X a a₃ は任意のアミノ酸であるか、または不在であってもよく、X a a₄ は任意のアミノ酸であるか、または不在であってもよく、X a a₅ は、X a a₆ がSerまたはThrであり、かつ、X a a₇ がSerまたはThrである場合にはいずれのアミノ酸であってもよく、X a a₆ は、X a a₅ がSerまたはThrであり、かつ、X a a₇ がSerまたはThrである場合にはいずれのアミノ酸であってもよく、X a a₇ は、X a a₅ がSerまたはThrであり、かつ、X a a₆ がSerまたはThrである場合にはいずれのアミノ酸であってもよい。よって、ある特定の実施形態では、X a a₁ は、X a a₂ は不在；X a a₃ はAla、Gly、Ser、Aspまたは不在；X a a₄ はAsn、Ala、Asp、Glyまたは不在；X a a₅ はAla、Leu、ThrまたはSer；X a a₆ はAla、SerまたはThr；かつ、X a a₇ はAla、Ser、Val、Hse、(S)-2-アミノ(amio)-3-ヒドロキシメチルブタン酸(Ahb)、(2S,3R)-2-アミノ-3ヒドロキシ-メチルペンタン酸(Ahp)、D-Thr、Thrまたはその誘導体として表すことができる。他の実施形態では、X a a₁ は、X a a₂ は不在、X a a₃ はSer、Glyまたは不在；X a a₄ はAsnまたはAsp；X a a₅ はAla、Ser、ThrまたはLeu；X a a₆ はAla、ThrまたはSer；かつ、X a a₇ はSer、D-Thr、alloThrまたはThrとして表すことができる。特定の実施形態では、ループ領域は、X a a₃ がAlaであるか、X a a₃ がSerであるか、またはX a a₃ がGlyである場合の上記のX a a₁ 表現を含む。その代わりにまたはその上に、ループ領域は、X a a₄ がAlaであるか、X a a₄ がAsnであるか、X a a₄ がAspであるか、またはX a a₄ がGlyである場合の上記のX a a₁ 表現を含む。その代わりにまたはその上に、ループ領域は、X a a₅ がAlaであるか、X a a₅ がThrであるか、またはX a a₅ がLeuである場合の上記のX a a₁ 表現を含む。その代わりにまたはその上に、ループ領域は、X a a₆ がSerであるか、またはX a a₆ がAlaである場合の上記のX a a₁ 表現を含む。その代わりにまたはその上に、ループ領域は、X a a₇ がThrであるか、またはX a a₇ がD-Thrである場合の上記のX a a₁ 表現を含む。さらに、このループ領域には置換、挿入、欠失および/または誘導体化などの1以下、2以下または3以下の修飾が行えると考えられる。

【0065】

ループ領域の例としては、限定されるものではないが、C-N-T-A-T-C；C-A-T-A-T-C；C-D-T-A-T-C；C-G-T-A-T-C；C-N-A-A-T-C；C-N-T-S-T-C；C-N-T-A-dThr-C；C-N-T-A-T(OPO₃H₂)-C；C-N-T-A-S-C；C-N-T-A-A-C；C-N-T-A-V-C；C-N-T-A-Hse-C；C-N-T-A-Ahb-C；C-N-T-A-Ahp-C；C-S-N-L-S-T-C；C-G-N-L-S-T-C；C-A-N-L-S-T-C；C-S-A-L-S-T-C；C-S-N-A-S-T-C；C-S-N-L-A-T-C；およびC-S-N-L-S-A-Cが挙げられる。従前に示したように、さらに、このループ領域には置換、挿入、欠失および/または誘導体化などの1以下、2以下または3以下の修飾が行えると考えられる。

【0066】

ループ領域はさらに、N末端に修飾または付加的アミノ酸をさらに含んでもよい。このような修飾としては、Lys、Ala、Phe、Ile、Ser、オクチルグリシン、I

10

20

30

40

50

s o c a p、F m o c - 3 , 6 - ジオキシオクタン酸、F m o c - 1 - アミノ - 4 , 7 , 10 - トリオキサ - 13 - トリデカンアミンスクシニミック酸(tridecanamine succinimic acid)、アセチルなどの化合物および/または溶解度、送達、シグナル伝達に関わる基の付加が含まれる。例示的修飾ループとしては、X a a₁ の配列への L y s の付加または X a a₁ の配列への I l e の付加が含まれる。例えば、修飾ループ領域は K - C - N - T - A - T - C であり得る。特定の実施形態では、ループ領域の N 末端における付加および/または修飾はループ領域を変化させ得る。例えば、ループ領域は次のように修飾することができる: シクロ(2, 7)1 - 7 h アミリン、シクロ(A s p² L y s⁷)1 - 7 h アミリン、N - イソカプロイル1 - 7 h アミリン、N - 3, 6 ジオキサオクタノイル1 - 7 h アミリン、L - オクチルグリシン1 - 7 h アミリン、アセチル(A g y², A g y⁷)1 - 7 h アミリン(ここで、A g y はアシルグリシンである)、アセチル(A l a¹)1 - 7 h アミリン、(T h r¹, A s p³)1 - 7 h アミリン、I s o c a p(A l a⁷)5 - 7 s C T、アセチル(A g y², A g y⁷)1 - 7 s C T およびシクロ(1, 7)(A s p¹, L y s⁷)1 - 7 s C T。従って、I s o c a p(7 A l a)5 - 7 s C T の例を考慮すれば、特定の実施形態は、アミノ酸 X a a₂ ~ X a a₅ が不在であるようなループ領域の N 末端における修飾を含む。

10

【0067】

本願を通して、アミノ酸配列は、参照ペプチドの隣に位置 a - b のアミノ酸として表すことができる。本願では、参照ペプチドはヒト・アミリン(h アミリン)(配列番号1); ラット・アミリン(r アミリン)(配列番号15); サケ・カルシトニン(s C T) C S N L S T C V L G K L S Q E L H K L Q T Y P R T N T G S G T P (配列番号141); およびヒト・カルシトニン(h C T) C G N L S T C M L G T Y T Q D F N K F H T F P Q T A I G V G A P (配列番号140)である。例えば前段で、1 - 7 h アミリンは、ヒト・アミリン(配列番号1)の1番~7番(含む)のアミノ酸配列を表す。参照ペプチドに対する修飾は、修飾の次に修飾の位置として示すことができる。例えば、(A s p², L y s⁷)1 - 7 h アミリンは、2番に C y s から A s p への修飾、そして7番に C y s から L y s への修飾を有するヒト・アミリンの1~7番のアミノ酸配列を表す。

20

【0068】

化合物のαらせん領域は約8~23アミノ酸長であり得る。特定の実施形態では、αらせん領域は両親媒性(amphiphatic)である。特定の実施形態では、αらせん領域は約3~6回のらせんターンを含む。特定の実施形態では、αらせん領域は、3、4、5または6回のらせんターンを含む。他の実施形態では、αらせん領域は、約3、4、5または6回のらせんターンに相当する強固な構造である。理想的ならせんの例は L L Q Q L Q K L L Q K L K Q Y である。特定の実施形態では、αらせんは両親媒性(ampliphatic)構造である。よって、この種の構造を提供する望ましいアミノ酸の特性を選択すればよい。

30

【0069】

カルシトニンαらせん領域、アミリンとカルシトニンαらせん領域の組合せ、もしくはその一部、および/またはいくつかの C G R P エlement が本ペプチドのαらせん領域に望ましいことが判明している。ループ領域の場合と同様に、αらせん領域は任意のアミリンまたはカルシトニンおよびそれらの類似体に由来し得ると考えられる。よって、特定の実施形態では、αらせん領域は、カルシトニンまたはカルシトニン類似体のαらせん領域の少なくとも一部である。他の実施形態では、αらせん領域は、カルシトニンまたはカルシトニン類似体のαらせん領域の少なくとも一部、およびアミリンまたはアミリン類似体のαらせん少なくとも一部である。さらに他の実施形態では、新規化合物のαらせん領域は C G R P エlement を含む。さらに、置換、挿入、欠失および/または誘導体化などの1以下、2以下、3以下、4以下または5以下のさらなる修飾を含み得ると考えられる。

40

【0070】

特定の実施形態では、αらせん領域は、s C T の8番~s C T の18、19、20、21、22、23、24、25、26または27番のアミノ酸を含み得る。さらに、αらせん領域は、同種または異種のカルシトニンまたはカルシトニン類似体αらせん領域の2以

50

上の位置、例えば、8 - 21sCT 19 - 27sCT；8 - 21sCT 18 - 27sCT；または8 - 16hCT 17 - 27sCT；または(Arg^{1 1}) 8 - 16hCT (Arg^{1 8}) 17 - 27sCTを含み得る。その代わりにまたはその上に、上記8 - 18sCT 8 - 27sCTのαらせんは、(Aib₁₀)、(Arg₁₁)、(Orn^{1 1})、(hArg^{1 1})、(Cit^{1 1})、(hLys^{1 1})、(Lys (for)^{1 1})、(Aib^{1 7})、(Arg^{1 8})、(Orn^{1 8})、(hArg^{1 8})、(Cit^{1 8})、(hLys^{1 8})、(Lys (for)^{1 8})、(Lys (PEG5000)^{1 8})、(Leu^{2 2})、(Pro24)またはその任意の組合せのうち1以上の置換をさらに含み得る。

【0071】

一実施形態では、αらせん領域は、(αらせん領域I型) R¹ - Val Leu Xaa₁₀ Xaa₁₁ Leu Ser Gln Xaa₁₅ Leu Xaa₁ Xaa₁₈ Leu Gln Thr Xaa₂₂ Pro Xaa₂₄ Thr Asn Thr - R₁ (ここで、Xaa₁₀はGlyまたはAibであり；Xaa₁₁はLys、Arg、Orn、hArg、Cit、hLysまたはLys (for)であり；Xaa₁₅はGluまたはPheであり；Xaa₁₇はHisまたはAibであり；Xaa₁₈はLys、Arg、Orn、hArg、Cit、hLys、Lys (for)、Lys (PEG5000)であり；Xaa₂₂はTryまたはLeuであり；Xaa₂₄はArgまたはProであり；あるいはR₁は不在であるか、または1～4個の付加的アミノ酸を含む)により表すことができる。

【0072】

αらせん領域I型の例としては、8 - 18sCT、8 - 21sCT、8 - 24sCT、8 - 27sCT、(Arg^{1 1}) 8 - 18sCT、(Arg^{1 8}) 8 - 18sCT、(Arg^{1 1} Arg^{1 8}) 8 - 18sCT、(11Orn 18Orn) 8 - 18sCT、(Arg^{1 1} 18Cit) 8 - 18sCT、(11hArg 18hArg) 8 - 18sCT、(Arg^{1 1} Orn^{1 8}) 8 - 18sCT、(^{1 1}Cit Arg^{1 8}) 8 - 18sCT、(11Cit 18Cit) 8 - 18sCT、(11hLys 18hLys) 8 - 18sCT、(10Aib 11Arg 17Aib Arg^{1 8}) 8 - 18sCT、(11Lys (for) 18Lys (for)) 8 - 18sCT、(10Aib 11Lys (for) 17Aib 18Lys (for)) 8 - 18sCT、(Arg^{1 1} 18Lys (PEG5000)) 8 - 18sCT、(Arg^{1 1}) 8 - 21sCT、(Arg^{1 8}) 8 - 21sCT、(Arg^{1 1} 18Arg) 8 - 21sCT、(11Orn 18Orn) 8 - 21sCT、(Arg^{1 1} 18Cit) 8 - 21sCT、(11hArg 18hArg) 8 - 21sCT、(Arg^{1 1} 18Orn) 8 - 21sCT、(11Cit Arg^{1 8}) 8 - 21sCT、(11Cit 18Cit) 8 - 21sCT、(11hLys 18hLys) 8 - 21sCT、(10Aib Arg^{1 1} 17Aib Arg^{1 8}) 8 - 21sCT、(11Lys (for) 18Lys (for)) 8 - 21sCT、(10Aib 11Lys (for) 17Aib 18Lys (for)) 8 - 21sCT、(Arg^{1 1} 18Lys (PEG5000)) 8 - 21sCT、(Arg^{1 1}) 8 - 24sCT、(Arg^{1 8}) 8 - 24sCT、(Arg^{1 1} Arg^{1 8}) 8 - 24sCT、(Arg^{1 1} Arg^{1 8} 22Leu) 8 - 24sCT、(Arg^{1 1} Arg^{1 8} 24Pro) 8 - 24sCT、(11Orn 18Orn) 8 - 24sCT、(Arg^{1 1} 18Cit) 8 - 24sCT、(11hArg 18hArg) 8 - 24sCT、(Arg^{1 1} 18Orn) 8 - 24sCT、(11Cit Arg^{1 8}) 8 - 24sCT、(11Cit 18Cit) 8 - 24sCT、(11hLys 18hLys) 8 - 24sCT、(10Aib 11Arg 17Aib Arg^{1 8}) 8 - 24sCT、(11Lys (for) 18Lys (for)) 8 - 24sCT、(10Aib 11Lys (for) 17Aib 18Lys (for)) 8 - 24sCT、(Arg^{1 1} 18Lys (PEG5000)) 8 - 24sCT、(Arg^{1 1}) 8 - 27sCT、(Arg^{1 8}) 8 - 27sCT、(Arg^{1 1} Arg^{1 8}) 8 - 2

10

20

30

40

50

7 s C T、(A r g ^{1 1} A r g ^{1 8} 2 2 L e u) 8 - 2 7 s C T、(A r g ^{1 1} A r g ^{1 8} 2 4 P r o) 8 - 2 7 s C T、(1 1 O r n 1 8 O r n) 8 - 2 7 s C T、(A r g ^{1 1} 1 8 C i t) 8 - 2 7 s C T、(1 1 h A r g 1 8 h A r g) 8 - 2 7 s C T、(A r g ^{1 1} 1 8 O r n) 8 - 2 7 s C T、(1 1 C i t A r g ^{1 8}) 8 - 2 7 s C T、(1 1 C i t 1 8 C i t) 8 - 2 7 s C T、(1 1 h L y s 1 8 h L y s) 8 - 2 7 s C T、(1 0 A i b A r g ^{1 1} 1 7 A i b A r g ^{1 8}) 8 - 2 7 s C T、(1 1 L y s (f o r) 1 8 L y s (f o r)) 8 - 2 7 s C T、(1 0 A i b 1 1 L y s (f o r) 1 7 A i b 1 8 L y s (f o r)) 8 - 2 7 s C T、(A r g ^{1 1} 1 8 L y s (P E G 5 0 0 0)) 8 - 2 7 s C T、(A r g ^{1 1} A r g ^{1 8}) 8 - 2 1 s C T - 1 9 - 2 7 s C T および (A r g ^{1 1} A r g ^{1 8}) 8 - 2 1 s C T - (1 8 L e u) 1 8 - 2 7 s C T が挙げられる。

10

【 0 0 7 3 】

特定の実施形態では、αらせん領域は、アミリンまたはアミリン類似体のαらせん領域の一部とカルシトニンまたはカルシトニン類似体のαらせん領域の一部を含み得る。αらせん領域は、hアミリンの8番～hアミリンの11、12、13、14、15、16、17、18または19番のアミノ酸と、s C Tの13、14、15、16、17、18および19番～s C Tの18、19、20、21、22、23、24、25、26または27番のアミノ酸を含み得る。その代わりにまたはその上に、上記のアミリンおよびカルシトニンのαらせん領域は、(8 V a l)、(9 L e u)、(9 M e t)、(1 0 G l y)、(1 0 H i s)、(1 2 T h r)、(1 3 T h r)、(1 3 A s n)、(1 3 P h e)、(1 3 T y r)、(1 4 A r g)、(1 4 A l a)、(1 4 A s p)、(1 4 G l u)、(1 4 G l n)、(1 4 T h r)、(1 4 G l y)、(1 5 L e u)、(1 5 S e r)、(1 5 G l u)、(1 5 A l a)、(1 5 T y r)、(1 6 A s p)、(1 7 S e r)、(1 7 P h e)、(1 7 A r g)、(1 7 A i b)、(A r g ^{1 8})、(1 8 O r n)、(1 8 h A r g)、(1 8 C i t)、(1 8 h L y s)、(1 8 L y s (f o r))、(1 8 L y s (P E G 5 0 0 0))、(1 9 P h e)、(2 0 H i s)、(2 1 A s n)、(2 2 M e t)、(2 2 V a l)、(2 2 P h e)、(2 2 L e u)、(2 4 P r o) またはその任意の組合せの1以上の置換をさらに含み得る。特定の実施形態では、αらせん領域のアミノ酸数は少なくとも10である。他の実施形態では、αらせん領域のアミノ酸数は11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22または23である。他の実施形態では、αらせん領域のアミノ酸数は24以上である。

20

30

【 0 0 7 4 】

一実施形態では、αらせん領域は、(αらせん領域 I I 型) R ₁ - X a a ₈ X a a ₉ X a a ₁₀ R X a a ₁₂ X a a ₁₃ X a a ₁₄ X a a ₁₅ X a a ₁₆ X a a ₁₇ X a a ₁₈ X a a ₁₉ X a a ₂₀ X a a ₂₁ X a a ₂₂ P X a a ₂₄ T N T - R ₁ (ここで、X a a ₈ は A l a または V a l であり；X a a ₉ は T h r、M e t または L e u であり；X a a ₁₀ は G l n、G l y、H i s であり；X a a ₁₂ は L e u または T h r であり；X a a ₁₃ は A l a、T h r、A s n、P h e、T y r、S e r または T h r であり；X a a ₁₄ は A s n、A r g、A l a、A s p、G l u、G l n、T h r または G l y であり；X a a ₁₅ は P h e、L e u、S e r、G l u、A l a、A s p または T y r であり；X a a ₁₆ は L e u または A s p であり；X a a ₁₇ は V a l、H i s、S e r、P h e または A i b であり；X a a ₁₈ は H i s、A r g、L y s、O r n、h A r g、C i t、h L y s、L y s (f o r) または L y s (P E G 5 0 0 0) であり；X a a ₁₉ は L e u、S e r または P h e であり；X a a ₂₀ は G l n または H i s であり；X a a ₂₁ は T h r または A s n であり；X a a ₂₂ は T y r、V a l、P h e、L e u または M e t であり；X a a ₂₄ は A r g または P r o であり；かつ、R ₁ は不在であるか、または1～4個の付加的アミノ酸を含む) により表すことができる。

40

【 0 0 7 5 】

I I 型 αらせん領域の例としては、限定されるものではないが、(8 V a l 9 L e u

50

10 Gly) 11 - 15 hアミリン 16 - 27 sCT、(8 Val 9 Leu 10 Gly) 11 - 15 hアミリン (18 Arg) 16 - 27 sCT、8 - 12 hアミリン (18 Arg) 13 - 27 sCT、8 - 18 hアミリン 19 - 23 sCT、8 - 18 hアミリン 19 - 27 sCT、(15 Glu 18 Arg) 8 - 18 hアミリン 19 - 24 sCT、(14 Arg 15 Ser) 8 - 18 hアミリン 19 - 22 sCT、(13 Ala 14 Ala 15 Ala) 8 - 18 hアミリン 19 - 27 sCT、(13 Ala 14 Asp 15 Ala) 8 - 18 hアミリン 19 - 22 sCT、(13 Ala 14 Asp) 8 - 18 hアミリン 19 - 23 sCT、(13 Ala 14 Asp) 8 - 18 hアミリン 19 - 27 sCT、(13 Ala 14 Ala) 8 - 18 hアミリン 19 - 22 sCT、(13 Ala 14 Glu) 8 - 18 hアミリン 19 - 22 sCT、(13 Thr 14 Asp 15 Tyr) 8 - 18 hアミリン 19 - 22 sCT、(13 Ala 14 Glu) 8 - 18 hアミリン 19 - 27 sCT、(13 Phe 14 Asp) 8 - 18 hアミリン 19 - 27 sCT、(13 Ala 14 Asp) 8 - 18 hアミリン (15 Glu 18 Arg) 8 - 18 hアミリン 19 - 24 sCT、(19 Phe 22 Phe) 19 - 27 sCT、(13 Ala 14 Asp) 8 - 18 hアミリン (19 Phe 22 Phe) 19 - 27 sCT、(9 Thr 10 His) 8 - 18 hアミリン 19 - 22 sCT、(9 Thr 10 His 14 Gly 15 Leu 17 Ser 18 Arg) 8 - 19 hアミリン 20 - 23 sCT、8 - 18 hアミリン (21 Asn 22 Phe 23 Val) 19 - 23 sCT、8 - 18 hアミリン (22 Met) 19 - 27 sCT、8 - 18 hアミリン (22 Val) 19 - 27 sCT、(9 Met 12 Thr 13 Tyr 14 Thr 15 Glu 16 Asp 17 Phe) 8 - 17 hアミリン (18 Arg) 18 - 20 sCT) が挙げられる。他の実施形態では、新規化合物は、sCTの22、23、24、25、26または27番に相当する位置で終わるαらせんを有する上記例示的化合物の変種を含む。言い換えれば、化合物8 - 18 hアミリン 19 - 24 sCTは、特に、この化合物が単に24番の位置までに末端切断された上記の8 - 18 hアミリン 19 - 27 sCTであるとも言える。別の例として、化合物(13 Ala 14 Asp 15 Ala) 8 - 18 hアミリン 19 - 23は、特に、(13 Ala 14 Asp 15 Ala) 8 - 18 hアミリン 19 - 22に上記の言葉を当てはめて記載される。

【0076】

特定の実施形態では、C末端テールは、hアミリンの27、28、29、30、31、32または33番～36または37番のアミノ酸を含む。他の実施形態では、C末端テールは、sCTの27または28番～32番のアミノ酸を含むが、ループ領域がカルシトニンまたはカルシトニン類似体に由来し、かつ、αらせん領域がカルシトニンまたはカルシトニン類似体に由来する場合には、C末端テールの最後の位置はPro、Hyp、ホモセリン(Hse)またはHseの誘導体ではない。その代わりにまたはその上に、上記のアミリンおよびカルシトニンのαらせんは、(27 Tyr) hアミリン、(29 Arg) hアミリン、(32 Val) hアミリン、(32 Thr) hアミリン、(34 Glu) hアミリン、(35 Lys) hアミリン、(36 Phe) hアミリン、(36 Ala) hアミリン、(37 Phe) hアミリン、(30 Asn) sCT、(32 Tyr) sCTまたはその任意の組合せの1以上の置換をさらに含み得る。

【0077】

一実施形態では、C末端テールは、Xaa₂₈ Xaa₂₉ Xaa₃₀ Xaa₃₁ Xaa₃₂ Xaa₃₃ G Xaa₃₅ Xaa₃₆ Xaa₃₇ Xaa₃₈により表すことができ、ここで、Xaa₂₈はLys、Tyrまたは不在であり；Xaa₂₉はSer、Proまたは不在であり；Xaa₃₀はSer、Pro、Argまたは不在であり；Xaa₃₁はThrまたは不在であり；Xaa₃₂はAsnまたは不在であり；Xaa₃₃はVal、Thrまたは不在であり；Xaa₃₅はSer、Gluであり；Xaa₃₆はAsn、LysまたはGlyであり；Xaa₃₇はThr、PheまたはAl

aであり；Xaa₃₈はTyr、Phe、Proまたは不在であり；ただし、ループ領域がカルシトニンまたはカルシトニン類似体に由来し、かつ、αらせん領域がカルシトニンまたはカルシトニン類似体に由来する場合には、C末端テールの最後の位置はPro、Hyp、ホモセリン(Hse)またはHseの誘導体ではない。

【0078】

C末端テールの例としては、限定されるものではないが、27-37rアミリン、(27Tyr 29Arg 32Thr)27-37rアミリン、(29Arg 32Thr)28-37rアミリン、30-37hアミリン、(32Thr)30-37hアミリン、(35Lys 36Ala 37Phe)30-37hアミリン、30-36hアミリン、(32Val)30-36hアミリン、(34Glu 36Phe)30-36hアミリン、31-37hAmyin、31-36hアミリン、33-36hアミリン、33-7hアミリン、28-32sCT、(30Asn 32Tyr)28-32sCTおよび27-32sCTが挙げられる。他の実施形態では、C末端テールはアミノ酸配列KSNFVPTNまたはSNFVPTNVを含む。

【0079】

さらに、前段に記載されているようにC末端テールには置換、挿入、欠失および/または誘導体化などの1以下、2以下または3以下の修飾を行えると考えられる。新規化合物のC末端テールは、C末端に修飾または付加的アミノ酸をさらにも含んでもよい。このような修飾としては、Lys、4個までのLys、L-オクチルグリシン、4ABU(4アミノ酪酸)、9Anc(9-アミノノナン酸(9-amiononanoic acid))などの化合物および/または溶解度、安定性または送達に関わる基の付加が含まれる。例としては、33-37hアミリンL-オクチルグリシン、33-37hアミリン4ABUおよび33-37hアミリン9Ancが挙げられる。

【0080】

さらに別の態様では式(VII)：Xaa₁ Xaa₃ Xaa₄ Xaa₅ Xaa₆ Y Xaa₈ Xaa₉ Xaa₁₀ Xaa₁₁ Xaa₁₂ Xaa₁₃ Xaa₁₄ Xaa₁₅ Xaa₁₆ Xaa₁₇ Xaa₁₈ Xaa₁₉ Xaa₂₀ Xaa₂₁ Xaa₂₂ Xaa₂₃ Xaa₂₄ Xaa₂₅ Xaa₂₆ Xaa₂₇ Xaa₂₈ Xaa₂₉ Xaa₃₀ Xaa₃₁ Xaa₃₂ [式中、Xaa₁はA、C、hC、D、E、F、I、L、K、hK、R、hR、S、Hse(ホモSER)、T、G、Q、N、M、Y、W、P、Hyp(ヒドロキシプロリン)、H、Vまたは不在であり；Xaa₃はA、D、E、N、Q、G、V、R、K、hK、hR、H、I、L、Mまたは不在であり；Xaa₄はA、I、L、S、Hse、T、V、Mまたは不在であり；Xaa₅はA、S、T、Hse、Y、V、I、LまたはMであり；Xaa₆はT、A、S、Hse、Y、V、I、LまたはMであり；Xaa₈はA、V、I、L、FまたはMであり；Xaa₉はL、T、S、Hse、V、IまたはMであり；Xaa₁₀はG、H、Q、K、R、N、hKまたはhRであり；Xaa₁₁はK、R、Q、N、hK、hRまたはHであり；Xaa₁₂はL、I、V、F、M、WまたはYであり；Xaa₁₃はA、F、Y、N、Q、S、HseまたはTであり；Xaa₁₄はA、D、E、G、N、K、Q、R、H、hRまたはhKであり；Xaa₁₅はA、D、E、F、L、S、Y、I、VまたはMであり；Xaa₁₆はL、F、M、V、YまたはIであり；Xaa₁₇はH、Q、N、S、Hse、TまたはVであり；Xaa₁₈はK、hK、R、hR、H、u(Cit)またはn(Orn)であり；Xaa₁₉はF、L、S、Hse、V、I、Tまたは不在であり；Xaa₂₀はH、R、K、hR、hK、N、Qまたは不在であり；Xaa₂₁はT、S、Hse、V、I、L、Q、Nまたは不在であり；Xaa₂₂はF、L、M、V、YまたはIであり；Xaa₂₃はPまたはHypであり；Xaa₂₄はP、Hyp、R、K、hR、hKまたはHであり；Xaa₂₅はT、S、Hse、V、I、L、FまたはYであり；Xaa₂₆はN、Q、DまたはEであり；Xaa₂₇はT、V、S、F、IまたはLであり；Xaa₂₈はGまたはAであり；Xaa₂₉はS、Hse、T、V、I、LまたはYであり；Xaa₃₀はE、G、K、N、D、R、hR、hK、HまたはQであり；X

$a a_{31}$ は A、T、S、H s e、V、I、L、F または Y であり；かつ、 $X a a_{32}$ は F、P、Y、H s e、S、T または H y p であり；X と Y は結合を生じることができ、互いに化学的に結合して、ジスルフィド結合；アミド結合；環状ラクタムを形成し得るアルキル酸およびアルキルアミン；アルキルアルデヒドまたはアルキルハリドおよび縮合され還元されてアルキルアミン架橋もしくはイミン架橋を形成し得るアルキルアミンなどの分子内結合を形成する側鎖；または連結してアルキル結合、アルケニル結合、アルキニル結合、エーテル結合もしくはチオエーテル結合を形成し得る側鎖を有する、独立に選択される残基である] のアミノ酸配列を含むペプチドを含む以下のペプチドが本明細書に記載されている方法において使用可能である。アルキル鎖は約 1 ～ 約 6 個の炭素原子を有する低級アルキル基を含み得る。特定の実施形態では、分子内結合はジスルフィド結合、アミド結合、イミン結合、アミン結合、アルキル結合およびアルケン結合であり得る。特定の実施形態では、X および Y は独立に S e r、A s p、G l u、L y s、O r n または C y s から選択される。特定の実施形態では、X および Y は C y s および C y s である。他の実施形態では、X および Y は S e r および S e r である。さらに他の実施形態では、X および Y は A s p および L y s または L y s および A s p である。

10

20

30

50

【0081】

さらに別の態様では、該ペプチドは、式 (V I I I) : $X a a_1$ $X a a_2$ $X a a_3$ $X a a_4$ $X a a_5$ $X a a_6$ $X a a_7$ $X a a_8$ $X a a_9$ $X a a_{10}$ $X a a_{11}$ $X a a_{12}$ $X a a_{13}$ $X a a_{14}$ $X a a_{15}$ $X a a_{16}$ $X a a_{17}$ $X a a_{18}$ $X a a_{19}$ $X a a_{20}$ $X a a_{21}$ $X a a_{22}$ $X a a_{23}$ $X a a_{24}$ $X a a_{25}$ $X a a_{26}$ $X a a_{27}$ $X a a_{28}$ S e r $X a a_{30}$ $X a a_{31}$ $X a a_{32}$ [式中、 $X a a_1$ は A、C、D、F、I、K、S、T または不在であり； $X a a_2$ は C、D、S または不在であり； $X a a_3$ は A、D、N または不在であり； $X a a_4$ は A、L、T または不在であり； $X a a_5$ は A または S であり； $X a a_6$ は T、A、S または V であり； $X a a_7$ は C、K または A であり； $X a a_8$ は A、V、L または M であり； $X a a_9$ は L または T であり； $X a a_{10}$ は G、H または Q であり； $X a a_{11}$ は K、R、Q または h A r g であり； $X a a_{12}$ は L、W または Y であり； $X a a_{13}$ は A、F、N、Q、S または T であり； $X a a_{14}$ は A、D、E、G、N、K、Q または R であり； $X a a_{15}$ は A、D、E、F、L、S または Y であり； $X a a_{16}$ は L または F であり； $X a a_{17}$ は H、Q、S または V であり； $X a a_{18}$ は K、R、h A r g、u (C i t) または n (O r n) であり； $X a a_{19}$ は F、L、S または不在であり； $X a a_{20}$ は H、Q または不在であり； $X a a_{21}$ は T、N または不在であり； $X a a_{22}$ は F、L、M、V または Y であり； $X a a_{23}$ は P であり； $X a a_{24}$ は P または R であり； $X a a_{25}$ は T であり； $X a a_{26}$ は N であり； $X a a_{27}$ は T または V であり； $X a a_{28}$ は G であり； $X a a_{30}$ は E、G、K または N であり； $X a a_{31}$ は A または T であり；かつ、 $X a a_{32}$ は F、P または Y である] のアミノ酸配列を含み得る。

【0082】

さらに別の態様では、化合物は、式 (I X) : $X a a_1$ $X a a_2$ $X a a_3$ $X a a_4$ $X a a_5$ $X a a_6$ $X a a_7$ $X a a_8$ $X a a_9$ $X a a_{10}$ $X a a_{11}$ L e u $X a a_{13}$ $X a a_{14}$ $X a a_{15}$ L e u $X a a_{17}$ $X a a_{18}$ $X a a_{19}$ $X a a_{20}$ $X a a_{21}$ $X a a_{22}$ P r o $X a a_{24}$ T h r A s n $X a a_{27}$ G l y S e r $X a a_{30}$ $X a a_{31}$ $X a a_{32}$ [式中、 $X a a_1$ は A、C、F、I、K、S または不在であり； $X a a_2$ は C、D または S であり； $X a a_3$ は A、D または N であり； $X a a_4$ は A、L または T であり； $X a a_5$ は A または S であり； $X a a_6$ は T であり； $X a a_7$ は C または K であり； $X a a_8$ は A または V であり； $X a a_9$ は L または T であり； $X a a_{10}$ は G、H または Q であり； $X a a_{11}$ は K、R または h A r g であり； $X a a_{13}$ A、F、N、S または T であり； $X a a_{14}$ は A、D、E、G、N、Q または R であり； $X a a_{15}$ は A、E、F、L、S または Y であり； $X a a_{17}$ は H、S または V であり； $X a a_{18}$ は K、R、h A r g、u (C i t) または n (O r n) であり； $X a a_{19}$ は F、L または S であり； $X a a_{20}$ は H または Q であり

40

50

； $X a a_{21}$ は T または N であり； $X a a_{22}$ は F、L、M、V または Y であり； $X a a_{24}$ は P または R であり； $X a a_{27}$ は T または V； $X a a_{30}$ は E、G、K または N であり； $X a a_{31}$ は A または T であり； かつ、 $X a a_{32}$ は F、P または Y である] のアミノ酸配列を含む。

【0083】

一般的態様において、式 (VII)、(VII I) または (IX) の配列は、置換、挿入、欠失、延長および / または誘導体化の 1、2、3、4、5 またはそれを超える修飾をさらに含む。特定の実施形態では、式 I、II または III の配列は、22 番と 23 番のアミノ酸間に挿入された Val を含む。他の実施形態では、式 I、II または III の配列は、22 番と 23 番のアミノ酸間に挿入された Gl n を含む。さらに他の実施形態では、式 I、II または III の配列は、22 番と 23 番のアミノ酸間に配列 Gl n Thr Tyr を含む。さらに他の実施形態では、式 I、II または III の配列は、22 番と 23 番のアミノ酸間に配列 Le u - Gl n - Thr - Tyr を含む。別の一般的態様では、式 I、II または III の修飾は N 末端におけるものであり得る。特定の実施形態では、式 I、II または III の N 末端部分はオクチルグリシンの付加を有する。他の実施形態では、式 I、II または III の N 末端部分は i s o c a p の付加を有する。

10

【0084】

さらに別の態様では、好適なペプチドは、式 (X) : $X a a_1$ $X a a_2$ $X a a_3$ $X a a_4$ $X a a_5$ $X a a_6$ $X a a_7$ $X a a_8$ $X a a_9$ $X a a_{10}$ $X a a_{11}$ $X a a_{12}$ $X a a_{13}$ $X a a_{14}$ $X a a_{15}$ $X a a_{16}$ $X a a_{17}$ $X a a_{18}$ $X a a_{19}$ $X a a_{20}$ $X a a_{21}$ $X a a_{22}$ Pro $X a a_{24}$ Thr As n $X a a_{27}$ Gly Ser $X a a_{30}$ $X a a_{31}$ $X a a_{32}$ [式中、 $X a a_1$ は A、C、D、F、K、T または不在であり； $X a a_2$ は A、C、D、S または不在であり； $X a a_3$ は A、D、N または不在であり； $X a a_4$ は A、L、T または不在であり； $X a a_5$ は A または S であり； $X a a_6$ は A、S、T または V であり； $X a a_7$ は A、C または K であり； $X a a_8$ は A、L、M または V であり； $X a a_9$ は L または T であり； $X a a_{10}$ は G、H または Q であり； $X a a_{11}$ は K、Q または R であり； $X a a_{12}$ は L、W または Y であり； $X a a_{13}$ は A、N、Q、S または T であり； $X a a_{14}$ は A、D、E、G、K、N、Q または R であり； $X a a_{15}$ は A、D、E、F、L、S または Y であり； $X a a_{16}$ は F または L であり； $X a a_{17}$ は H、Q、S または V であり； $X a a_{18}$ は K または R であり； $X a a_{19}$ は F、L、S または不在であり； $X a a_{20}$ は H、K、Q または不在であり； $X a a_{21}$ は Q、T または不在であり； $X a a_{22}$ は F、L または Y であり； $X a a_{24}$ は P または R であり； $X a a_{27}$ は T または V であり； $X a a_{30}$ は E、K または N であり； $X a a_{31}$ は A または T であり； $X a a_{32}$ は F、Y または不在である] のアミノ酸配列を含む。

20

30

【0085】

さらに別の態様では、好適なペプチドは、(a) $X a a_1$ を含むループ領域；(b) α ラせんループ I 型；および (c) C 末端テールを含むアミノ酸配列を含み、

ここで、 X_1 は、 X $X a a_2$ $X a a_3$ $X a a_4$ $X a a_5$ $X a a_6$ $X a a_7$ Y のアミノ配列を含み、 $X a a_2$ は任意のアミノ酸または不在であり； $X a a_3$ は Ala、Gly、Ser、As p または不在であり； $X a a_4$ は As n、Ala、As p、Gly または不在であり； $X a a_5$ は Ala、Le u、Thr または Ser であり； $X a a_6$ は Ala、Ser または Thr であり； かつ、 $X a a_7$ は Ala、Ser、Val、H s e、(S) - 2 - アミノ (amio) - 3 - ヒドロキシ - メチルブタン酸 (A h b)、(2 S, 3 R) - 2 - アミノ - 3 ヒドロキシメチルペンタン酸 (A h p)、D - Thr、Thr またはその誘導体であり； X と Y は結合を生じることができ、互いに化学的に結合して、ジスルフィド結合；アミド結合；環状ラクタムを形成し得るアルキル酸およびアルキルアミン；アルキルアルデヒドまたはアルキルハリドおよび縮合され還元されてアルキルアミン架橋もしくはイミン架橋を形成し得るアルキルアミンなどの分子内結合を形成する側鎖；または連結してアルキル結合、アルケニル結合、アルキニル結合、エーテル結合もしくは

40

50

はチオエーテル結合を形成し得る側鎖を有する、独立に選択される残基であり；

αらせん領域Ⅰ型は、配列 R₁ - Val Leu Xaa₁₀ Xaa₁₁ Leu Ser Gln Xaa₁₅ Leu Xaa₁₇ Xaa₁₈ Leu Gln Thr Xaa₂₂ Pro Xaa₂₄ Thr Asn Thr - R₁ を含み、ここで、Xaa₁₀ は Gly または Aib であり；Xaa₁₁ は Lys、Arg、Orn、hArg、Cit、hLys または Lys (for) であり；Xaa₁₅ は Glu または Phe であり；Xaa₁₇ は His または Aib であり；Xaa₁₈ は Lys、Arg、Orn、hArg、Cit、hLys、Lys (for)、Lys (PEG5000) であり；Xaa₂₂ は Try または Leu であり；Xaa₂₄ は Arg または Pro であり；または R₁ は不在であるか、もしくは 1 ~ 4 個の付加的アミノ酸を含み；かつ、

C 末端テールは、配列 Xaa₂₈ Xaa₂₉ Xaa₃₀ Xaa₃₁ Xaa₃₂ Xaa₃₃ Gly Xaa₃₅ Xaa₃₆ Xaa₃₇ Xaa₃₈ を含み、ここで、Xaa₂₈ は Lys、Tyr または不在であり；Xaa₂₉ は Ser、Pro または不在であり；Xaa₃₀ は Ser、Pro、Arg または不在であり；Xaa₃₁ は Thr または不在であり；Xaa₃₂ は Asn または不在であり；Xaa₃₃ は Val、Thr または不在であり；Xaa₃₅ は Ser または Glu であり；Xaa₃₆ は Asn、Lys または Gly であり；Xaa₃₇ は Thr、Phe または Ala であり；Xaa₃₈ は Tyr、Phe、Pro または不在であり；ただし、ループ領域がカルシトニンまたはカルシトニン類似体に由来し、かつ、αらせん領域がカルシトニンまたはカルシトニン類似体に由来する場合には、C 末端テールの最後の位置は Pro、Hyp、ホモセリン (Hse) または Hse の誘導体ではない。

【0086】

さらに別の態様では、好適なペプチドは、(a) Xaa₁ を含むループ領域；(b) αらせんループⅡ型；および (c) C 末端テールを含むアミノ酸配列を含み、

ここで、ループ領域 Xaa₁ は、X Xaa₂ Xaa₃ Xaa₄ Xaa₅ Xaa₆ Xaa₇ Y のアミノ酸配列を含み、Xaa₂ は任意のアミノ酸または不在であり；Xaa₃ は Ala、Gly、Ser、Asp または不在であり；Xaa₄ は Asn、Ala、Asp、Gly または不在であり；Xaa₅ は Ala、Leu、Thr または Ser であり；Xaa₆ は Ala、Ser または Thr であり；かつ、Xaa₇ は Ala、Ser、Val、Hse、(S) - 2 - アミオ(amio) - 3 - ヒドロキシ - メチルブタン酸 (Ahb)、(2S, 3R) - 2 - アミノ - 3 ヒドロキシ - メチルペンタン酸 (Ahp)、D - Thr、Thr またはその誘導体であり；X と Y は結合を生じることができ、互いに化学的に結合して、ジスルフィド結合；アミド結合；環状ラクタムを形成し得るアルキル酸およびアルキルアミン；アルキルアルデヒドまたはアルキルハリドおよび縮合され還元されてアルキルアミン架橋もしくはイミン架橋を形成し得るアルキルアミンなどの分子内結合を形成する側鎖；または連結してアルキル結合、アルケニル結合、アルキニル結合、エーテル結合もしくはチオエーテル結合を形成し得る側鎖を有する、独立に選択される残基であり；

αらせん領域Ⅱ型は、配列 R₁ - Xaa₈ Xaa₉ Xaa₁₀ R Xaa₁₂ Xaa₁₃ Xaa₁₄ Xaa₁₅ Xaa₁₆ Xaa₁₇ Xaa₁₈ Xaa₁₉ Xaa₂₀ Xaa₂₁ Xaa₂₂ P Xaa₂₄ TNT - R₁ を含み、ここで、Xaa₈ は Ala または Val であり；Xaa₉ は Thr、Met または Leu であり；Xaa₁₀ は Gln、Gly、His であり；Xaa₁₂ は Leu または Thr であり；Xaa₁₃ は Ala、Thr、Asn、Phe、Tyr、Ser または Thr であり；Xaa₁₄ は Asn、Arg、Ala、Asp、Glu、Gln、Thr または Gly であり；Xaa₁₅ は Phe、Leu、Ser、Glu、Ala、Asp または Tyr であり；Xaa₁₆ は Leu または Asp であり Xaa₁₇ は Val、His、Ser、Phe または Aib であり；Xaa₁₈ は His、Arg、Lys、Orn、hArg、Cit、hLys、Lys (for) または Lys (PEG5000) であり；Xaa₁₉ は Leu、Ser または Phe であり；Xaa₂₀ は Gln または His であり；Xa

a_{21} は Thr または Asn であり; Xaa_{22} は Tyr、Val、Phe、Leu または Met であり; Xaa_{24} は Arg または Pro であり; かつ、 R_1 は不在であるか、または 1 ~ 4 個の付加的アミノ酸を含み; かつ、

C 末端テールは、配列 Xaa_{28} Xaa_{29} Xaa_{30} Xaa_{31} Xaa_{32} Xaa_{33} G Xaa_{35} Xaa_{36} Xaa_{37} Xaa_{38} を含み、ここで、 Xaa_{28} は Lys、Tyr または不在であり; Xaa_{29} は Ser、Pro または不在であり; Xaa_{30} は Ser、Pro、Arg または不在であり; Xaa_{31} は Thr または不在であり; Xaa_{32} は Asn または不在であり; Xaa_{33} は Val、Thr または不在であり; Xaa_{35} は Ser または Glu であり; Xaa_{36} は Asn、Lys または Gly であり; Xaa_{37} は Thr、Phe または Ala であり; かつ、 Xaa_{38} は Tyr、Phe、Pro または不在である。

10

【0087】

本明細書に記載されている化合物は、種々の無機酸、有機酸および塩基を伴って薬学上許容される塩を形成することができる。有機酸および無機酸で作製される例示的塩としては、HCl、HBr、 H_2SO_4 、 H_3PO_4 、トリフルオロ酢酸、酢酸、ギ酸、メタンスルホン酸、トルエンスルホン酸、マレイン酸、フマル酸、カンファースルホン酸などが挙げられる。塩基で作製される例示的塩としては、アンモニウム塩、アルカリ金属塩（ナトリウム塩およびカリウム塩など）およびアルカリ土類金属塩（カルシウム塩およびマグネシウム塩）が挙げられる。一実施形態では、薬学上許容される塩は酢酸塩、塩酸塩またはトリフルオロ酢酸塩である。薬学上許容される塩は、遊離の酸または塩基の形態の化合物を 1 当量以上の適当な塩基または酸と、その塩が可溶性溶媒もしくは媒体中、後に真空でもしくは凍結乾燥によって除去される水などの溶媒中で反応させることによる、あるいは既存の塩のイオンを好適なイオン交換樹脂上の別のイオンと交換することによる常法によって形成することができる。

20

【0088】

本明細書に記載されているペプチドは、当技術分野で公知の慣例のカップリング反応を用いて作製することができる。例えば、該ペプチドは成長中のペプチド鎖に所望のアミノ酸を連続的に付加することによって作製することができる。一般に、 α -N-カルバモイルで保護されたアミノ酸および樹脂支持体上の成長中のペプチド鎖と結合しているアミノ酸を、室温にて、N-メチルピロリドン、ジメチルホルムアミドまたは塩化メチレンなどの不活性溶媒中、ジシクロヘキシルカルボジイミド 1-ヒドロキシベンゾトリアゾールなどのカップリング剤の存在下、ジイソプロピルエチルアミンなどの塩基の存在下で反応させる。得られたペプチドから、トリフルオロ酢酸またはピペリジンなどの試薬を用いて α -N-カルバモイル保護基を除去し、次の所望の N 保護アミノ酸を用いてカップリング反応を繰り返す。好適な N 保護基は当技術分野で公知であり、ここでは t-ブチルオキシカルボニルが好ましい。

30

【0089】

好適なカップリング条件としては、固相支持体の膨潤を最大にし、合成サイクル中のペプチド鎖の二次構造要素を最小にし、かつ、ペプチド間およびペプチド内水素結合を最小にする溶媒系の使用が含まれる。好ましくは、合成サイクルには、カップリング工程後に、ペプチド鎖の未反応の α -アミノ基が非反応性とするキャッピング工程が含まれる。この合成サイクルを、適当な保護 α -アミノ酸を用いて連続的に繰り返し、特定の配列のアミリンまたはアミリン類似体を得る。この連続的合成サイクルが完了した後に、これらのペプチドは固相支持体から切断される。ペプチド鎖のシステイン残基が選択的に脱保護され、ペプチド結合を固相支持体から切断する前に分子内ジスルフィド結合が形成されることが好ましい。

40

【0090】

ペプチドは、Waters Delta Prep 3000 システムを用いた RP-HPLC（分取および分析）により精製することができる。C4、C8 または C18 分取カラム（ 10μ 、 $2.2 \times 25\text{ cm}$; Vydac, Hesperia, Calif.）を用いてペプチドを単

50

離することができ、純度はC 4、C 8またはC 18分析カラム(5 μ 、0.46 $\times$ 25 cm; Vydac)を用いて測定することができる。溶媒(A = 0.1% TFA / 水およびB = 0.1% TFA / CH₃CN)を、分析カラムには流速1.0 ml / 分で、分取カラムには15 ml / 分で送り込んだ。アミノ酸分析はWaters Pico Tagシステムで行い、Maximaプログラムを用いて処理することができる。ペプチドは蒸気相酸加水分解(115、20~24時間)によって加水分解することができる。加水分解物は標準的な方法(Cohen, et al., The Pico Tag Method: A Manual of Advanced Techniques for Amino Acid Analysis, pp. 11-52, Millipore Corporation, Milford, Mass. (1989))によって誘導体化し、分析することができる。高速原子衝突分析はM-Scan, Incorporated (West Chester, Pa.)によって行うことができる。質量較正はヨウ化セシウムまたはヨウ化セシウム/グリセロールを用いて行うことができる。飛行時間検出を用いるプラズマ脱離イオン化分析はApplied Biosystems Bio-Ion 20質量分析計で行うことができる。

10

20

30

40

50

【0091】

本明細書に記載されている化合物は、米国特許第5,686,411号、同第5,424,394号および米国特許公開第2008/0274952号(これらの開示内容は引用することによりそのまま本明細書の一部とされる)に従って作製することができる。これらの方法は、各合成サイクルにおいて示されたアミノ酸が不溶性の樹脂支持体に結合された成長中のペプチド鎖が、その成長中のペプチド鎖の α -アミノ基と示されたアミノ酸の α -カルボキシルの間でペプチド結合を形成することによって付加される連続合成サイクルを用いたアミリンアゴニストペプチドの固相合成を提供し、ここで、各合成サイクルは、(i)成長中のペプチド鎖を α -アミノ脱保護条件下で処理して α -アミノ基を除去すること；(ii) α -アミノで保護された、示されたアミノ酸の α -カルボキシル基を活性化すること；(iii)成長中のペプチド鎖と示されたアミノ酸をカップリング条件下で接触させて、ペプチド鎖の遊離の α -アミノと示されたアミノ酸の活性化された α -カルボキシルの間にペプチド結合を形成させること；および(iv)必要に応じて工程(i)および(iii)を繰り返すことを含む。

【0092】

本明細書に記載されているペプチドはまた、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2d Ed., Cold Spring Harbor (1989)に記載されているものなど、今般当技術分野で公知の方法を用いた組換えDNA技術を用いて作製することもできる。

【0093】

本明細書の記載の化合物は、さらなる有益な生物学的特性を与えるために1以上のポリマーと結合させることもできる。このようなさらなる有益な生物学的特性としては、例えば、化合物に付加的治療活性を与えること；化合物のin vivo半減期を延長すること；腎臓による化合物の排泄率を低減すること；化合物の免疫原性を低減すること；化合物のタンパク質分解率を低減すること；または化合物の安定性を高めることが含まれる。アミリンアゴニスト化合物と結合させることができる例示的ポリマーとしては、ペプチド、糖、ポリエチレングリコール、アルブミン、脂肪酸、ポリアミノ酸、デキストラン、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、N-(2-ヒドロキシプロピル)-メタクリルアミドなどが含まれる。一実施形態では、アミリンアゴニスト化合物はペプチド、糖、ポリエチレングリコール、アルブミン、脂肪酸およびポリアミノ酸と結合される。

【0094】

一実施形態では、本明細書に記載されているアミリンアゴニスト化合物は、アミリンアゴニスト化合物とは異なる治療活性を有し、かつ/またはアミリンアゴニスト化合物とは異なる受容体を標的とするペプチドに結合される。例示的ペプチドとしては、GLP-1受容体アゴニスト(例えば、エキセンディン、エキセンディン類似体、GLP-1(7-37)、GLP-1(7-37)類似体)；PYY；PYY類似体；レプチン；レプチン類似体；GIP；GIP類似体などが含まれる。別のペプチドに(例えば、直接またはアミノ酸および/または化学部分リンカーを介して)結合されたアミリンアゴニスト化合物

はハイブリッドペプチドと呼ぶことができる。他の治療用ペプチドに結合されたアミリンアゴニストペプチドを含むハイブリッドペプチドの例は、例えば、WO 2005/077072 および WO 2007/022123（これらの開示内容は引用することによりそのまま本明細書の一部とされる）に記載されている。

【0095】

一実施形態では、本明細書に記載されている化合物は、糖（例えば、N - アセチル - ガラクトサミン、N - アセチル - グルコサミン、ガラクトース、シアル酸、グルコース、フコース、マンノースなど）に結合されてグリカンを形成している。このような化合物はグリコシル化ペプチドと呼ぶことができる。アミリンアゴニストペプチドは、例えば、Asn アミノ酸残基、Ser アミノ酸残基、Thr アミノ酸残基またはその2つ以上の組合せにおいてグリコシル化（例えば、N 結合グリコシル化、O 結合グリコシル化）することができる。アミノ酸のグリコシル化法は当技術分野で公知であり、例えば、米国特許第5,854,391号（その開示内容は引用することにより本明細書の一部とされる）に記載されている。

10

【0096】

一実施形態では、本明細書に記載されている化合物は、1または2つのポリエチレングリコール、好ましくは、1つのポリエチレングリコールに結合される。ポリエチレングリコールの分子量は約5,000ダルトン～約40,000ダルトンであり得る。一実施形態では、本明細書に記載されている化合物はポリアミノ酸と結合される。例示的ポリアミノ酸としては、ポリリシン（例えば、ポリ-D - リシンおよび/またはポリ-L - リシン）、ポリアスパラギン酸、ポリセリン、ポリグルタミン酸などが含まれる。一実施形態では、本明細書に記載されている化合物は脂肪酸と結合される。脂肪酸は、飽和または不飽和および分枝型または直鎖型のC4 - C28脂肪酸鎖であり得る。

20

【0097】

本明細書に記載されている化合物を1以上のポリマーと結合させる場合には、当技術分野で公知のいずれの架橋基を用いてもよい。架橋基はその化合物とポリマーを架橋するのに好適ないずれの化学基を含んでもよい。例示的架橋基としては、アミノ酸、マレイミド基、ジカルボン酸基、スクシンイミド基またはその2つ以上の組合せが含まれる。あるいは、化合物は架橋基を用いずに直接ポリマーに結合させることもできる。化合物と1以上のポリマーを架橋する方法は当技術分野で公知であり、例えば、米国特許第6,329,336号；同第6,423,685号；同第6,924,264号；WO 2007/022123；WO 2007/053946；WO 2008/058461；およびWO 2008/082274（これらの開示内容は引用することにより本明細書の一部とされる）に記載されている。

30

【0098】

他の実施形態では、該化合物は、化学部分の付加、新たな結合の生成および化学部分の除去に関わり得る他の化学修飾を有してもよい。アミノ酸側基における例示的修飾としては、リシンε - アミノ基のアシル化；アルギニン、ヒスチジンまたはリシンのN - アルキル化；グルタミン酸またはアスパラギン酸カルボン酸基のアルキル化；およびグルタミンまたはアスパラギンの脱アミド化が含まれる。末端アミノ基の例示的修飾としては、Des-Amino、N - 低級アルキル、N - ジ - 低級アルキルおよびN - アシル修飾、例えば、アルキルアシル、分枝アルキルアシル、アルキルアリール - アシルが含まれる。末端カルボキシ基の例示的修飾としては、アミド、低級アルキルアミド、ジアルキルアミド、アリールアミド、アルキルアリールアミドおよび低級アルキルエステル修飾が含まれる。低級アルキルはC₁ - C₄アルキルである。さらに、1以上の側基または末端基は当業者に既知の保護基によって保護され得る。アミノ酸のα - 炭素はモノメチル化またはジメチル化されてもよい。

40

【0099】

本明細書に記載されているアミリンアゴニスト化合物を含有する医薬組成物は、非経口投与（静脈内投与、動脈内投与、筋肉内投与、皮下投与を含む）、鼻腔投与または経口投

50

与を含む末梢投与に好適な溶液の形態で提供することができる。本明細書に記載されているアミリンアゴニスト化合物を含有する医薬組成物は、例えば、米国特許第5,998,367号および同第6,410,511号（これらの開示内容は引用することにより本明細書の一部とされる）の教示に従って製造することができる。例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences by MartinおよびWang et al, Journal of Parenteral Science and Technology, Technical Report No. 10, Supp. 42:2S (1988)（これらの開示内容は引用することにより本明細書の一部とされる）をはじめ、化合物を含有する医薬組成物の製造に関する他の参考文献も考えられる。

【0100】

これらの医薬製剤は中性pHで安定化され得る。アミリンアゴニスト化合物は両性であるので、遊離塩基、酸付加塩または金属塩として利用可能である。上記のように広範な薬学上許容される酸付加塩が利用可能である。これらには、有機酸および無機酸の双方から、好ましくは、無機酸から製造されるものが含まれる。例として記載することができる典型的な酸としては、酢酸、クエン酸、コハク酸、乳酸、塩酸および臭化水素酸が挙げられる。これらの生成物は当技術分野で周知の手順によって容易に製造される。

【0101】

アミリンアゴニスト化合物は通常、注射または注入用の非経口組成物として提供される。それらは例えば、不活性油、好適にはゴマ油、落花生油またはオリーブ油などの植物油に懸濁させることができる。あるいは、それらはpH約5.6~7.4の等張バッファースル溶液に懸濁させることができる。有用なバッファーとしては、クエン酸ナトリウム - クエン酸およびリン酸ナトリウム - リン酸が含まれる。持続性または「デポー」徐放性製剤の形態を用いて、非経口注射後何時間もまたは何日も血流中に治療上有効な量の製剤を送達してもよい。

【0102】

これらの製剤の所望の等張性は、塩化ナトリウム、またはデキストロース、ホウ酸、酒石酸ナトリウム、プロピレングリコール、ポリオール（マンニトールおよびソルビトールなど）または他の無機もしくは有機溶質などの他の薬学上許容される薬剤を用いて達成することができる。塩化ナトリウムはナトリウムイオンを含むバッファーに好ましい。

【0103】

所望により、上記組成物の溶液をメチルセルロースなどの増粘剤で増粘してもよい。それらは油中水または水中油いずれかの乳化形態で作製してもよい。例えば、アラビアガム粉末、非イオン界面活性剤またはイオン界面活性剤、例えば、アルカリポリエーテルアルコールスルフェートまたはスルホネートを含む広範な薬学上許容される乳化剤が使用可能である。

【0104】

医薬組成物は一般に認知されている手順に従って成分を混合することにより製造することができる。例えば、選択された成分を単にブレンダーまたはその他の標準的な装置で混合して濃縮混合物を作製し、次にそれを、水または増粘剤およびおそらくはpHを制御するためのバッファーまたは張度を制御するための付加的溶質を添加することにより最終の濃度および粘度に調節することができる。

【0105】

非経口製剤に用いるためのアミリンアゴニスト化合物の典型的な治療上有効な量は、約1μg~約5mg；約10μg~約3mg；約50μg~約2mg；または約100μg~約1mgである。これらの用量を毎日（例えば、BIDまたはTID）、毎週または毎月投与すればよい。アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量は製剤および投与頻度（例えば、即放、徐放）によって異なる。鼻腔または経口製剤で用いるためのアミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量は、非経口製剤で用いる量よりも約5倍~15倍高い。

【0106】

治療方法および使用

一般的態様では、処置を必要とする哺乳類において、そのエストロゲン欠乏哺乳類に治

10

20

30

40

50

療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物またはアミリンアゴニスト化合物を含む医薬組成物を投与することによってエストロゲン欠乏症を処置する方法が提供される。本明細書に記載されている例示的方法は、(i) エストロゲン欠乏哺乳類において肥満を処置すること；(i i) エストロゲン欠乏哺乳類において過体重を処置すること；(i i i) エストロゲン欠乏哺乳類において体重を低減すること；(i v) エストロゲン欠乏哺乳類において体脂肪を低減すること；(v) エストロゲン欠乏哺乳類において除脂肪筋肉量を維持しながら体脂肪を低減すること；(v i) エストロゲン欠乏哺乳類において満腹感を増大させること；(v i i) エストロゲン欠乏哺乳類において食欲を減退させること；(v i i i) エストロゲン欠乏哺乳類において胃内容排出を遅延させること；(i x) エストロゲン欠乏哺乳類において胃運動を低減すること；(x) 雌哺乳類において卵巣摘出後の体重増加および／または体脂肪を低減すること；(x i) 雌哺乳類において卵巣摘出後の肥満または過体重を処置すること；(x i i) ヒト女性において閉経期の体重増加および／または体脂肪を低減すること；(x i i i) ヒト女性において除脂肪筋肉量を維持しながら閉経期の体重増加および／または体脂肪を低減すること；(x i v) ヒト女性において閉経後の体重増加および／または体脂肪を低減すること；(x v) ヒト女性において除脂肪筋肉量を維持しながら閉経後の体重増加および／または体脂肪を低減すること；(x v i) ヒト女性において閉経期前後の体重増加および／または体脂肪を低減すること；(x v i i) ヒト女性において除脂肪筋肉量を維持しながら閉経後の体重増加および／または体脂肪を低減すること；(x v i i i) ヒト女性において閉経期の肥満を処置すること；(x i x) ヒト女性において閉経期前後の肥満を処置すること；(x x) ヒト女性において閉経後の肥満を処置すること；(x x i) ヒト女性において閉経期の体重増加を処置すること；(x x i i) ヒト女性において閉経期前後の体重増加を処置すること；(x x i i i) ヒト女性において閉経後の体重増加を処置すること；および(x x i v) エストロゲン欠乏哺乳類において脳由来神経栄養因子(B d n f) のレベルを増大させることを含む。治療上有効な量は好ましくは、哺乳類において少なくともアミリンアゴニスト化合物の最小の治療上有効な血漿レベルをもたらす。

10

20

30

40

50

【 0 1 0 7 】

本明細書に記載されている方法は、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物またはアミリンアゴニスト化合物を含む医薬組成物を投与することによって、エストロゲン欠乏哺乳類における血糖管理を改善することをさらに含み得る。血糖管理の改善には、血糖値の低下、ヘモグロビン A 1 c (H b A 1 c) 値の低減などが含まれる。一実施形態では、エストロゲン欠乏哺乳類は 2 型糖尿病などの糖尿病を有し、かつ、過体重または肥満である。

【 0 1 0 8 】

上述のエストロゲン欠乏症およびエストロゲン欠乏哺乳類を処置する方法に関して、本明細書に開示される方法は、エストロゲン欠乏哺乳類において代謝率を高めるため、エストロゲン欠乏哺乳類において代謝率の低下を軽減するため、またはエストロゲン欠乏哺乳類において代謝率を保持するために用いられる。特定の実施形態では、代謝率は、エネルギー源としての、除脂肪体組織よりも体脂肪の優先的使用に関わる。一態様において、除脂肪体重は、本明細書で提供されるアミリンアゴニストの投与後に低減されない。別の態様において、除脂肪体重の低減は、本明細書で提供されるアミリンアゴニストの投与後に弱まるか、または抑制される。さらに別の態様において、除脂肪体重は、本明細書で提供されるアミリンアゴニストの投与後に増大される。このようなエネルギー源としての脂肪の優先度は、処置期間の始めと終わりに全体重と脂肪含量を測定することにより確認される脂肪組織と除脂肪体組織の量を比較することによって決定することができる。代謝率の増大は、ある期間のエストロゲン欠乏哺乳類によるカロリーまたは他のエネルギー源の使用レベルが、本明細書で提供されるアミリンアゴニストを投与しない実質的に同等または同一の条件下での別の期間のそのエストロゲン欠乏哺乳類によるカロリーまたは他のエネルギー源の使用レベルに比べて高いことである。特定の実施形態では、代謝率はエストロゲン欠乏哺乳類において少なくとも約 5 % 増大され、他の実施形態では、代謝率はエスト

ロゲン欠乏哺乳類において、本明細書で提供されるアミリンアゴニストを投与しない実質的に同等または同一の条件下での別の期間のそのエストロゲン欠乏哺乳類によるカロリーまたは他のエネルギー源の使用レベルに比べて少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%または35%増大される。この代謝率の増大は例えば呼吸熱量計を用いて測定することができる。

【0109】

別の実施形態では、提供される方法は、エストロゲン欠乏哺乳類において代謝率の低下の軽減を惹起するのに有効である。このような代謝率の低下はエストロゲン欠乏哺乳類が受けているエストロゲン欠乏症の一次的結果であってもよく、あるいはまたこのようなエストロゲン欠乏哺乳類が携わっている、例えば、低カロリー食、制限食または減量により代謝率の低下をもたらす栄養的または運動的治療計画からの二次的な結果であってもよい。制限食は、必ずしもカロリーに基づくものではないが、食事に許容される食物の種類または食物の量またはその双方に対する許可または禁止またはその双方を含む。例えば、個々の食事と同様に、体は低いカロリー摂取に基づき低い代謝率で補う。本質において、体は食物要求を下方調節し、それにより少ない食物で生き延びる。ダイエットが続くと、カロリー摂取の閾値が低くなる。ダイエットが終わって通常食を食べると、カロリー摂取閾値の低下および基礎代謝率の低下のためにその個体は一般に体重が戻る(NIH Technology Assessment Conference Panel (1992) Ann. Intern. Med. 116:942-949; Wadden (1993) Ann. Intern. Med. 119:688-693)。一態様において、代謝率の低下が低カロリー食または減量の結果である場合に、エストロゲン欠乏哺乳類において代謝率の低下を軽減する方法が提供される。このような方法を用いることで、エストロゲン欠乏哺乳類の代謝率の低下は、少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%または95%軽減される。このような方法では、本明細書で提供されるアミリンアゴニストを、代謝率の低下または低減をもたらす条件的または栄養的または運動的治療計画を開始する時点で投与するのが望ましいと思われる。しかしながら、また、本明細書で提供されるアミリンアゴニストの投与を、条件的または栄養的または運動的治療計画を開始する前に開始することも考えられる。一例において、代謝率は呼吸熱量計を用いて測定される。

【0110】

別の態様において、エストロゲン欠乏哺乳類において代謝プラトーを低減する方法が提供され、ここで、方法は、有効量の本明細書で提供されるアミリンアゴニストをこのようなエストロゲン欠乏哺乳類に投与することを含む。特定の実施形態では、エストロゲン欠乏哺乳類は、例えば低カロリー食、運動の増加またはその組合せのために体重が減少中であるかまたは体重が減少したものである。「代謝プラトー」とは、カロリーまたはエネルギーの取り込みの変化に合わせて体が調節している安定な代謝率の期間を意味する。カロリーの取り込みまたは消費変化は、例えば、低カロリー食または身体活動の増加の結果であり得る。このようなプラトーは、減量計画中に例えば、体重減少が減速または停止した際に見られる。特定の実施形態では、本発明の方法は、エストロゲン欠乏哺乳類における代謝プラトーの持続期間を、本明細書で提供されるアミリンアゴニストを投与しない実質的に同等または同一の条件下で同じ期間において、それ以外の点では同一の被験体における代謝プラトーの持続期間に比べて短縮する。他の実施形態では、本発明の方法は、代謝プラトーの頻度を、本明細書で提供されるアミリンアゴニストを投与しない実質的に同等または同一の条件下で同じ期間において、それ以外の点では同一のエストロゲン欠乏哺乳類における代謝プラトーの頻度に比べて少なくする。さらに他の実施形態では、本発明の方法は、代謝プラトーの開始を、本明細書で提供されるアミリンアゴニストを投与しない実質的に同等または同一の条件下で同じ期間において、それ以外の点では同一のエストロゲン欠乏哺乳類における代謝プラトーの開始に比べて遅延させる。特定の実施形態では、代謝プラトーは体重減少の少ないまたは全くない期間を図示することによって特定される。特定の実施形態では、少なくとも1つの代謝プラトーが低減される。他の実施形態では、少なくとも2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つまたは10の代謝プラト

ーが低減される。別の態様において、代謝プラトーが、同一または同等の条件下で、本明細書で提供されるアミリンアゴニストが投与されないエストロゲン欠乏哺乳類に比べて1日遅延される。他の態様において、代謝プラトーが、エストロゲン欠乏哺乳類において2日、3日、4日、5日、6日、1週間、10日、2週間または3週間遅延される。

【0111】

さらに他の実施形態では、エストロゲン欠乏哺乳類において代謝率を保持する方法が提供される。特定の実施形態では、エストロゲン欠乏哺乳類は、例えば低カロリー食、制限食の開始または予想される体重減少によって代謝率を失うリスクがあり得る。代謝率の保存は、ある期間のエストロゲン欠乏哺乳類によるカロリーまたは他のエネルギー源の使用レベルが、本明細書で提供されるアミリンアゴニストを投与しない実質的に同等または同一の条件下で同じ期間において、それ以外の点では同一のエストロゲン欠乏哺乳類によるカロリーまたは他のエネルギー源の使用レベルに比べて維持されることである。一態様において、代謝率は、代謝率に低下をもたらす事象の開始前のエストロゲン欠乏哺乳類の代謝率の15%以内に維持される。他の態様において、代謝率は、エストロゲン欠乏哺乳類の代謝率の10%以内、7%以内、5%以内、3%以内またはそれ未満に維持される。一態様において、本明細書で提供されるアミリンアゴニストは、低カロリー食、制限食または運動計画の開始時に投与される。

【0112】

代謝率はこのような代謝率を決定するために利用可能ないずれかの方法を用いて、例えば呼吸熱量計を用いることによって評価することができる。代謝率をアッセイするためのこのような方法および装置は当技術分野で公知であり、例えば、米国特許第4,572,208号、同第4,856,531号、同第6,468,222号、同第6,616,615号、同第6,013,009号および同第6,475,158号に記載されている。あるいは、動物の代謝率は、食餌時間後に動物が異化した脂肪組織に対する除脂肪組織の量を測定することによって評価することができる。よって、全体重および脂肪含量を食餌時間の終了時に測定することができる。ラットでは、総体脂肪を測定するのによく用いられる方法は、後腹壁と後壁側腹膜の間の領域である腹膜後方に位置する脂肪体である腹膜後脂肪体を外科術で摘出して秤量することである。この脂肪体の重量はその動物の体脂肪率%と直接相関していると考えられる。ラットにおける体重と体脂肪の間の関係は直線的であるので、肥満動物は相応して高い体脂肪率%および腹膜後脂肪体重量を有する。

【0113】

本発明の別の態様において、エストロゲン欠乏哺乳類において代謝率を高めることによって脂肪量を低減する方法が提供され、該方法は、本明細書で提供されるアミリンアゴニストを、エストロゲン欠乏哺乳類の代謝率を高めることによって脂肪量を低減するのに有効な量で投与することを含む。脂肪量は、全体重のパーセンテージとして表すことができる。いくつかの態様において、脂肪量は処置の過程で少なくとも1%、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%または少なくとも25%低減される。一態様において、エストロゲン欠乏哺乳類の除脂肪量は処置の過程で低減されない。別の態様において、エストロゲン欠乏哺乳類の除脂肪量は、処置の過程で維持または増大される。別の態様において、エストロゲン欠乏哺乳類は低カロリー食または制限食中である。「低カロリー食」とは、エストロゲン欠乏哺乳類が、同じエストロゲン欠乏哺乳類の普通食に比べて少ない1日当たりのカロリーを摂取していることを意味する。一例では、エストロゲン欠乏哺乳類は1日当たり少なくとも50少ないカロリーを消費している。他の例では、エストロゲン欠乏哺乳類は1日当たり少なくとも100、150、200、250、300、400、500、600、700、800、900または1000少ないカロリーを消費している。

【0114】

本発明の特定の実施形態では、エストロゲン欠乏哺乳類において脂肪分布を変化させる方法が提供され、該方法は、本明細書で提供されるアミリンアゴニストを、エストロゲン欠乏哺乳類において脂肪分布を変化させるのに有効な量で投与することを含む。一態様に

において、その変化は、エストロゲン欠乏哺乳類における内臓脂肪または異所性脂肪またはその双方の代謝の増大から生じる。いくつかの実施形態では、該方法は、皮下脂肪よりも少なくとも約 5 %、10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、40 % または 50 % 高い内臓脂肪または異所性脂肪またはその双方の代謝に関わる。一態様において、該方法は好都合な脂肪分布をもたらす。特定の実施形態では、好都合な脂肪分布は内臓脂肪、異所性脂肪またはその双方に対する皮下脂肪の比率が高いものである。一態様において、該方法は、例えば筋肉細胞量の増加の結果としての除脂肪体重の増加に関わる。

【0115】

他の実施形態では、エストロゲン欠乏哺乳類において皮下脂肪の量を低減する方法が提供され、該方法は、投与を必要とするエストロゲン欠乏哺乳類に本明細書で提供されるアミリンアゴニストを、そのエストロゲン欠乏哺乳類の皮下脂肪の量を低減するのに有効な量で投与することを含む。一例では、皮下脂肪の量はエストロゲン欠乏哺乳類において少なくとも約 5 % 低減される。他の例では、皮下脂肪の量は、本明細書で提供されるアミリンアゴニストの投与前のエストロゲン欠乏哺乳類に比べて少なくとも約 10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、40 % または 50 % 低減される。

10

【0116】

本明細書に記載されている方法は、エストロゲン欠乏哺乳類において内臓脂肪の量を低減するために使用可能である。一例では、内臓脂肪は、エストロゲン欠乏哺乳類において少なくとも約 5 % 低減される。他の例では、エストロゲン欠乏哺乳類における内臓脂肪は、本明細書で提供されるアミリンアゴニストの投与前のエストロゲン欠乏哺乳類に比べて少なくとも約 10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、40 % または 50 % 低減される。内臓脂肪は、エストロゲン欠乏哺乳類において内臓脂肪の量を決定するのに利用可能ないずれの手段によって測定することもできる。このような方法としては、例えば、CT スキャンおよび MRI の手段による腹部断層撮影法が含まれる。内臓脂肪を決定する他の方法は、例えば、米国特許第 6,864,415 号、同第 6,850,797 号および同第 6,487,445 号に記載されている。

20

【0117】

特定の実施形態では、エストロゲン欠乏哺乳類において異所性脂肪の蓄積を予防する、または異所性脂肪の量を低減する方法が提供され、該方法は、投与を必要とするエストロゲン欠乏哺乳類に本明細書で提供されるアミリンアゴニストを、エストロゲン欠乏哺乳類において異所性脂肪の蓄積を予防するまたは異所性脂肪の量を低減するのに有効な量で投与することを含む。一例では、エストロゲン欠乏哺乳類における異所性脂肪の量は、本明細書で提供されるアミリンアゴニストの投与前のエストロゲン欠乏哺乳類に比べて少なくとも約 5 % 低減される。他の例では、エストロゲン欠乏哺乳類における異所性脂肪の量は、少なくとも約 10 %、または少なくとも約 15 %、20 %、25 %、30 %、40 % または 50 % 低減される。あるいは、異所性脂肪の量は、エストロゲン欠乏哺乳類の皮下脂肪に比べて、比例して 5 %、10 %、15 %、0 %、25 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 % または 100 % 低減される。異所性脂肪はエストロゲン欠乏哺乳類において、異所性脂肪を測定するのに利用可能ないずれの方法を用いて測定してもよい。

30

40

【0118】

他の実施形態では、エストロゲン欠乏哺乳類においてより好都合な脂肪分布を作り出す方法が提供され、該方法は、エストロゲン欠乏哺乳類に本明細書で提供されるアミリンアゴニストを好都合な脂肪分布を作り出すのに有効な量で投与することを含む。特定の実施形態では、本明細書で提供されるアミリンアゴニストの投与は、エストロゲン欠乏哺乳類において内臓脂肪または異所性脂肪またはその双方の量を低減する。このような方法は内臓脂肪または異所性脂肪に対する皮下脂肪の比率を高くする。このような比率の改善は、心血管疾患、多嚢胞性卵巣症候群、代謝症候群またはその任意の組合せの発生リスクの軽減をもたらす得る。特定の実施形態では、異所性または内臓脂肪は、皮下脂肪よりも 5 % 高い比率で代謝される。他の実施形態では、異所性または内臓脂肪は、皮下脂肪よりも少

50

なくとも 10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 % または 100 % 高い比率で代謝される。

【0119】

また、まず、エストロゲン欠乏哺乳類の体重を病的肥満に至らないレベルまで低減し、次いで、そのエストロゲン欠乏哺乳類本明細書で提供されるアミリンアゴニストをそのエストロゲン欠乏哺乳類の体重をさらに低減するのに有効な量で投与することによる、病的肥満対象において体重を低減する方法が提供される。エストロゲン欠乏哺乳類の体重を病的肥満には至らない体重まで低減する方法には、カロリー摂取の低減、身体活動の増加、薬物療法、胃バイパス手術などの肥満手術、または先に述べた方法の任意の組合せが含まれる。一態様において、本明細書で提供されるアミリンアゴニストを投与すると、エストロゲン欠乏哺乳類の体重がさらに低減される。他の実施形態では、体格指数が 40 以下のエストロゲン欠乏哺乳類において体格指数を低減する方法であって、本明細書で提供されるアミリンアゴニストをエストロゲン欠乏哺乳類の体重をさらに低減するのに有効な量で投与することによる方法が提供される。

10

20

30

40

50

【0120】

体重を低減するとは、処置の過程が数日であれ数週間であれ数ヶ月であれまたは数年であれ、エストロゲン欠乏哺乳類が処置の過程でその哺乳類の全体重の一部が失うことを意味する。あるいは、体重の低減は、除脂肪量に対する脂肪量の割合の低下と定義することができる（言い換えれば、そのエストロゲン欠乏哺乳類は、相当する全体重の低下を必要とせず、脂肪量を低減するが、除脂肪量を維持するかまたは増す。これらの実施形態において、有効量の本明細書で提供されるアミリンアゴニストは処置の過程でエストロゲン欠乏哺乳類の体重を低減するのに有効な量であるか、あるいはまた、処置の過程でエストロゲン欠乏哺乳類の脂肪量のパーセンテージを低下させるのに有効な量である。特定の実施形態では、エストロゲン欠乏哺乳類の体重は処置の過程で少なくとも約 1 %、少なくとも約 5 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 15 % または少なくとも約 20 % 低減される。あるいは、エストロゲン欠乏哺乳類の脂肪量のパーセンテージは処置の過程で、少なくとも 1 %、少なくとも 5 %、少なくとも 10 %、少なくとも 15 %、少なくとも 20 % または少なくとも 25 % 低減される。

【0121】

特定の実施形態では、エストロゲン欠乏哺乳類において栄養素利用度を低減する、例えば、体重を低減する方法は、エストロゲン欠乏哺乳類に有効量の本明細書で提供されるアミリンアゴニストを 1 日 1 回以上のボーラス用量で投与することを含む。ボーラス用量は、薬剤の間欠的投与である（連続注入とは対照的）。エストロゲン欠乏哺乳類は、1 日に 1 以上のボーラス用量で投与することができる。ボーラス用量は、エストロゲン欠乏哺乳類に投与される場合はいつも同じであってよく、あるいはエストロゲン欠乏哺乳類に、1 日の特定の時点に他の時点に比べて高いボーラス用量が投与されるように調節することもできる。例えば徐放性製剤などの特定の製剤の投与であるボーラス用量は、例えば、3 日おきに 1 回、1 週間に 1 回、1 か月に 2 回、毎月 1 回などの低頻度で投与することができる。さらに、ボーラス用間の時間は好ましくは、前のボーラス用量で投与された薬剤をエストロゲン欠乏哺乳類の血流から排除させるに十分な長さであることが好ましい。

【0122】

他の実施形態では、エストロゲン欠乏哺乳類において栄養素利用度を低減する、例えば、体重を低減する方法は、エストロゲン欠乏哺乳類に有効量の本明細書で提供されるアミリンアゴニストを連続用量で投与することを含む。連続用量とは、例えば静注または経皮パッチによる薬剤の連続注入を意味するものとする。あるいは、連続用量は、一定時間にわたってエストロゲン欠乏哺乳類の全身へ薬剤を放出する制御放出カプセルまたは錠剤の形態で経口投与することもできる。連続用量によって投与される場合、薬剤は約 1 時間の間放出され、場合によっては、薬剤は約 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18 または 24 時間の間放出される。

【0123】

本発明はさらにまた、エストロゲン欠乏哺乳類において酸化的代謝を増大させる方法も対象とし、該方法は投与を必要とするエストロゲン欠乏哺乳類に有効量の本明細書で提供されるアミリンアゴニストを投与することを含む。酸化的代謝は、炭水化物（糖）からエネルギーを作り出すために酵素が用いられるプロセスである。

【0124】

別の態様では、エストロゲン欠乏哺乳類において満腹感を誘導する方法が提供され、該方法は有効量の本明細書で提供されるアミリンアゴニストを該エストロゲン欠乏哺乳類に投与することを含む。

【0125】

さらに別の態様では、エストロゲン欠乏哺乳類において空腹を制御する方法が提供され、該方法は有効量の本明細書で提供されるアミリンアゴニストを該エストロゲン欠乏哺乳類に投与することを含む。

10

【0126】

なおさらなる態様では、エストロゲン欠乏哺乳類において満腹感を延長する方法が提供され、該方法は有効量の本明細書で提供されるアミリンアゴニストを該エストロゲン欠乏哺乳類に投与することを含む。

【0127】

なおさらなる態様では、食餌の大きさを減じることによってエストロゲン欠乏哺乳類のカロリー摂取を低減する方法が提供され、該方法は有効量の本明細書で提供されるアミリンアゴニストを該エストロゲン欠乏哺乳類に投与することを含む。

20

【0128】

別の態様において、エストロゲン欠乏哺乳類の食物摂取を制御する方法が提供され、該方法は有効量の本明細書で提供されるアミリンアゴニストを該エストロゲン欠乏哺乳類に投与することを含む。

【0129】

さらに別の態様では、エストロゲン欠乏哺乳の低カロリー食または制限食へのコンプライアンスを確保するまたは補助する方法が提供され、該方法は有効量の本明細書で提供されるアミリンアゴニストを該エストロゲン欠乏哺乳類に投与することを含む。

【0130】

さらなる態様において、恒常性に対する身体の傾向をより健康な設定値に調節するようにエストロゲン欠乏哺乳類の設定値を調節する方法が提供され、該方法は有効量の本明細書で提供されるアミリンアゴニストを該エストロゲン欠乏哺乳類に投与することを含む。

30

【0131】

なおさらなる態様では、減量療法または減量計画を受けたことがあるまたは受けたまたは受けているエストロゲン欠乏哺乳類において体重減少を維持する、または減少した体重を維持する方法が提供され、該方法は有効量の本明細書で提供されるアミリンアゴニストを該エストロゲン欠乏哺乳類に投与することを含む。本発明のこの態様の他の実施形態では、体重減少エストロゲン欠乏哺乳類の設定値を再設定することにより維持される。

【0132】

特定の実施形態では、本発明の方法は、治療または予防を必要とするエストロゲン欠乏哺乳類において栄養素利用度の低減から利益を受ける代謝症状または障害を治療および／または予防するのに用いられる。よって、これらの方法は肥満、糖尿病（例えば、2型または非インスリン依存性糖尿病、1型糖尿病および妊娠性糖尿病）、摂食障害、インスリン抵抗性症候群および心血管疾患を治療および／または予防するのに有用であり得る。

40

【0133】

特定の実施形態では、エストロゲン欠乏哺乳類において脂肪分布の変更、脂肪量の低減またはその双方に用いられる方法が提供される。よって、体成分の変更が有益である対象もまた本方法から利益を受け得る。本明細書で意図される体成分の変更には、除脂肪体重の最小限の減少、維持または増加を伴う体脂肪の減少または維持が含まれる。このような状況においては、減少するばかりでなく増加することもある。よって、対象は痩せるか、

50

過体重または肥満となり得る（当技術分野ではこれらの用語が一般に用いられる）。本発明の方法はまた、除脂肪量を残しつつ、非脂肪組織の脂肪を低減することを含み得る。この方法の使用には、非アルコール性脂肪肝炎（NASH）または脂肪異栄養症などの疾患を処置することが含まれる。

【0134】

本明細書に記載されている方法の他の実施形態では、エストロゲン欠乏哺乳類（例えば、ヒト女性）には有効量のレプチンまたはレプチン類似体をさらに投与してもよい。レプチンまたはレプチン類似体は、アミリンアゴニスト化合物と同じ医薬組成物で投与してもよいし、あるいは別の医薬組成物で投与してもよい。一実施形態では、レプチンまたはレプチン類似体はメトレプチンである。本明細書で開示されている方法で使用可能なレプチンおよびレプチン類似体は、例えば、米国特許第5,594,101号、同第5,851,995号、同第5,691,309号、同第5,580,954号、同第5,554,727号、同第5,552,523号、同第5,559,208号、同第5,756,461号、同第6,309,853号およびPCT公開出願番号WO96/23517号、WO96/005309、WO2004/039832、WO98/55139、WO98/12224およびWO97/02004に記載されており、これらはそれぞれ、目的によらず引用することによりそのまま本明細書の一部とされる。当技術分野で公知のいずれのレプチンまたはレプチン類似体も、開示されている方法に従って使用可能である。ポリペプチドコンジュゲートおよび本明細書に記載されている方法での使用が意図される代表的レプチンとしては、下記のレプチンが含まれる。

【0135】

マウス・レプチン：

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHT-Xaa-SVSSKQKVLTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPQASGLETLES LGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC

（ここで、28番のXaaはQまたは不在である）（配列番号3）

【0136】

ブタ・レプチン：

VPIWRVQDDTKTLIKTIVTRISDI SHMQSVSSKQKVLTGLDFIPGLHPVLSLSKMDQTLAIYQQILTSLSRNVVIQISNDLENLRDLLHLLASSKSCPLPQARALETLES LGGVLEASLYSTEVALSRLQGALQDMLRQLDLSPGC（配列番号15）

【0137】

ウシ・レプチン：

VPICKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHT-Xaa-SVSSKQKVLTGLDFIPGLHPLL SLSKMDQTLAIYQQILTSLSRNVVVIQISNDLENLRDLLHLLAASKSCPLPQVRALESLES LGGVLEASLYSTEVALSRLQGSLQDMLRQLDLSPGC

（ここで、28番のXaaはQまたは不在である）（配列番号16）

【0138】

ヒト・レプチン：

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISH-Xaa-XaaSVSSKQKVLTGLDFIPGLHPILTLKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFSKSCHLPWASGLETLD SLGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC

（ここで、27番のXaaはTまたはAであり；28番のXaaはQまたは不在である）（配列番号2）

【0139】

アカゲザル・レプチン：

VPIQKVQSDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVLTGLDFIPGLHPVLTLSQMDQTLAIYQQILINLPSRNVVIQISNDLENLRDLLHLLAFSKSCHLPASGLETLES LGDVLEASLYSTEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC（配列番号17）

【0140】

ラット・レプチン：

VIPIHKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSARQKVLTGLDFIPGLHPILSLKMDQTLAVYQQILTSLSQNVLQIAHDL ENLRDLLHLLAFSKSCSLPQTRGLQKPESLDGVLEASLYSTEVALSRLQGSLQDILQQLDLSPGC（配列番号4）

【 0 1 4 1 】

カモノハシ・レプチン：成熟カモノハシ・レプチン配列は次の通り：

ISIEKIQADTKTLTKTIITRIIQLSTQNGVSTDQRVSGLDIFPGNQQFQNLADMDQTLAVYQQILSSLPMPDRTQISNDLENLRSLFALLATLKNCPFTRSDGLDIMEIWGGIVEESLYSTEVTLDRLRKSLKNIKQLDHIQG（配列番号 1 8）

2 1 残基 N 末端シグナル配列を含むカモノハシ・レプチンの全長配列は次の通り：

MRCILLYGFLCWQHLYYSHPIISIEKIQADTKTLTKTIITRIIQLSTQNGVSTDQRVSGLDIFPGNQQFQNLADMDQTLAVYQQILSSLPMPDRIISNDLENLRSLFALLATLKNCPFTRSDGLDIMEIWGGIVEESLYSTEVTLDRLRKSLKNIKQLDHIQG（配列番号 1 9）

【 0 1 4 2 】

メトレプチン（r m e t - H u - レプチン；A 1 0 0）：

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDIFPGLHPILTLKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFFSKSCHLPWASGLETLDLGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDMLWQLDLSPGC（配列番号 1）

【 0 1 4 3 】

レプチン A 2 0 0：レプチン A 2 0 0 は、当技術分野で知られているように、F c 抗体フラグメントとレプチンとの融合産物である。例えば、Lo et al., 2005, Protein Eng. Design & Selection, 18:1-10 参照。（配列番号 7）

【 0 1 4 4 】

レプチン A 3 0 0：レプチン A 3 0 0 は、置換 W 1 0 1 Q および W 1 3 9 Q を有するメトレプチンである（N 末端の * M e t を残基 1 として数える）：

MVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLDIFPGLHPILTLKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFFSKSCHLPQASGLETLDLGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC（配列番号 6）

【 0 1 4 5 】

レプチン A 5 0 0：本発明者らを含む多数の発明者による研究が、レプチンにおける残基置換の、凝集に対する影響に焦点を当ててきた。例えば、目的によらず、引用することにより本明細書の一部とされる Ricci et al., 2006. "Mutational approach to improve physical stability of protein therapeutics susceptible to aggregation: Role of altered conformation in irreversible precipitation," Book Chapter. In: Misbehaving Proteins: Protein (Mis)Folding, Aggregation, and Stability. Murphy RM, Tsai AM, Eds. New York. Springer, pp. 331-350 を参照。よって、下記の配列を有するレプチン A 5 0 0 を本明細書に記載の化合物および方法で用いた。

VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQKVTGLEIFPGLHPILTLKMDQTLAVYQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLAFFSKSCHLPQASGLETLES LGGVLEASGYSTEVALSRLQGSLQDMLQQLDLSPGC（配列番号 5）

【 0 1 4 6 】

他の例示的レプチンおよびレプチン類似体および関連分子が下記の公報に報告されているが、報告されているいずれの化合物も、その活性に関しては示されていない：米国特許第 5, 5 2 1, 2 8 3 号；同第 5, 5 2 5, 7 0 5 号；同第 5, 5 3 2, 3 3 6 号；同第 5, 5 5 2, 5 2 2 号；同第 5, 5 5 2, 5 2 3 号；同第 5, 5 5 2, 5 2 4 号；同第 5, 5 5 4, 7 2 7 号；同第 5, 5 5 9, 2 0 8 号；同第 5, 5 6 3, 2 4 3 号；同第 5, 5 6 3, 2 4 4 号；同第 5, 5 6 3, 2 4 5 号；同第 5, 5 6 7, 6 7 8 号；同第 5, 5 6 7, 8 0 3 号；同第 5, 5 6 9, 7 4 3 号；同第 5, 5 6 9, 7 4 4 号；同第 5, 5 7 4, 1 3 3 号；同第 5, 5 8 0, 9 5 4 号；同第 5, 5 9 4, 1 0 1 号；同第 5, 5 9 4, 1 0 4 号；同第 5, 6 0 5, 8 8 6 号；同第 5, 6 1 4, 3 7 9 号；同第 5, 6 9 1, 3 0 9 号；同第 5, 7 1 9, 2 6 6 号；P C T 公開番号 W O 9 6 / 2 3 5 1 3；W O 9 6 / 2 3 5 1 4；W O 9 6 / 2 3 5 1 5；W O 9 6 / 2 3 5 1 6；W O 9 6 / 2 3 5 1 7；W O 9 6 / 2 3 5 1 8；W O 9 6 / 2 3 5 1 9；W O 9 6 / 3 4 1 1 1；W O 9 6 / 3 7 5 1 7；W O 9 6 / 2 7 3 8 5；W O 9 7 / 0 0 8 8 6；W O 9 7 / 2 0 9 3 3；W O 9 7 / 1 6 5 5 0；W O 9 6 / 3 5 7 8 7；W O 9 6 / 3 4 8 8 5；W O 9 7 / 4 6 5 8 5

10

20

30

40

50

; WO 96 / 22308 ; 欧州特許公開番号 EP 725078 ; EP 725079 ; EP 744408 ; EP 745610 ; EP 835879 ; EP 736599 ; EP 741187。

【0147】

さらなる実施形態：

実施形態1 処置を必要とする哺乳類においてエストロゲン欠乏症を処置する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【0148】

実施形態2 エストロゲン欠乏哺乳類において肥満を処置する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

10

【0149】

実施形態3 エストロゲン欠乏哺乳類において過体重を処置する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【0150】

実施形態4 エストロゲン欠乏哺乳類において体重を低減する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

20

【0151】

実施形態5 エストロゲン欠乏哺乳類において体脂肪を低減する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【0152】

実施形態6 エストロゲン欠乏哺乳類において除脂肪筋肉量を維持しながら体脂肪を低減する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【0153】

実施形態7 エストロゲン欠乏哺乳類において除脂肪筋肉量を維持しながら体重および/または体脂肪を低減する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

30

【0154】

実施形態8 エストロゲン欠乏哺乳類において体重を維持する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【0155】

実施形態9 エストロゲン欠乏哺乳類において胃内容排出を遅延させる方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

40

【0156】

実施形態10 エストロゲン欠乏哺乳類において胃運動を低減する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【0157】

実施形態11 エストロゲン欠乏哺乳類において食欲を減退させる方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【0158】

実施形態12 エストロゲン欠乏哺乳類において満腹感を増大させる方法であって、エス

50

トロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【0159】

実施形態13 雌哺乳類において卵巢摘出後の体重増加を低減する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【0160】

実施形態14 雌哺乳類において卵巢摘出後の肥満および/または過体重を処置する方法であって、エストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

10

【0161】

実施形態15 雌哺乳類において閉経期の体重増加および/または体脂肪を低減する方法であって、閉経期の雌哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【0162】

実施形態16 雌哺乳類において除脂肪筋肉量を維持しながら閉経期の体重増加および/または体脂肪を低減する方法であって、閉経期の雌哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【0163】

実施形態17 雌哺乳類において閉経後の体重増加および/または体脂肪を低減する方法であって、閉経後の雌哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

20

【0164】

実施形態18 雌哺乳類において除脂肪筋肉量を維持しながら閉経後の体重増加および/または体脂肪を低減する方法であって、閉経後の雌哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【0165】

実施形態19 雌哺乳類において閉経期前後の体重増加および/または体脂肪を低減する方法であって、閉経期前後の雌哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

30

【0166】

実施形態20 雌哺乳類において除脂肪筋肉量を維持しながら閉経期前後の体重増加および/または体脂肪を低減する方法であって、閉経期前後の雌哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【0167】

実施形態21 雌哺乳類において閉経期の肥満または過体重を処置する方法であって、閉経期の雌哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【0168】

実施形態22 雌哺乳類において閉経後の肥満または過体重を処置する方法であって、閉経後の雌哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

40

【0169】

実施形態23 雌哺乳類において閉経期前後の肥満または過体重を処置する方法であって、閉経期前後の雌哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【0170】

実施形態24 Bdnfレベルの増大を必要とするエストロゲン欠乏哺乳類においてBdnfレベルを増大させる方法であって、Bdnfレベルの増大を必要とするエストロゲン欠乏哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

50

【 0 1 7 1 】

実施形態 2 5 B d n f レベルの増大を必要とする哺乳類において B d n f レベルを増大させる方法であって、B d n f レベルの増大を必要とする哺乳類に治療上有効な量のアミリンアゴニスト化合物を投与することを含む、方法。

【 0 1 7 2 】

実施形態 2 6 有効量のレプチンまたはレプチン類似体を投与することをさらに含む、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 7 3 】

実施形態 2 7 有効量のメトレプチンを投与することをさらに含む、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 7 4 】

実施形態 2 8 有効量の G L P - 1 受容体アゴニストもしくはその類似体 ; P Y Y もしくはその類似体 ; G I P もしくはその類似体 ; または C C K もしくはその類似体を投与することをさらに含む、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 7 5 】

実施形態 2 9 G L P - 1 受容体アゴニストが G L P - 1 (7 - 3 7) またはエキセンデイン 4 である、実施形態 2 8 に記載の方法。

【 0 1 7 6 】

実施形態 3 0 哺乳類がヒト女性である、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 7 7 】

実施形態 3 1 アミリンアゴニスト化合物が式 (I) の化合物である、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 7 8 】

実施形態 3 2 アミリンアゴニスト化合物が式 (I I) の化合物である、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 7 9 】

実施形態 3 3 アミリンアゴニスト化合物が式 (I I I) の化合物である、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 8 0 】

実施形態 3 4 アミリンアゴニスト化合物が式 (I V) の化合物である、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 8 1 】

実施形態 3 5 アミリンアゴニスト化合物が式 (V) の化合物である、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 8 2 】

実施形態 3 6 アミリンアゴニスト化合物が式 (V I) の化合物である、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 8 3 】

実施形態 3 7 アミリンアゴニスト化合物が配列番号 1 ~ 1 3 9 のいずれか 1 つのアミノ酸配列またはその薬学上許容される塩を含む、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 8 4 】

実施形態 3 8 アミリンアゴニスト化合物が配列番号 1 ~ 1 3 9 のいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 9 0 % の配列同一性を有する、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 8 5 】

実施形態 3 9 アミリンアゴニスト化合物が配列番号 1 ~ 1 1、2 0 ~ 3 9、1 3 8 および 1 3 9 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

10

20

30

40

50

【 0 1 8 6 】

実施形態 4 0 アミリンアゴニスト化合物が配列番号 1 ~ 1 1、2 0 ~ 3 9、1 3 8 および 1 3 9 のいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 9 0 % の配列同一性を有する、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 8 7 】

実施形態 4 1 アミリンアゴニスト化合物が配列番号 2 0 のアミノ酸配列またはその薬学上許容される塩を含む、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 8 8 】

実施形態 4 2 アミリンアゴニスト化合物が配列番号 4 0 ~ 1 3 7 のいずれか 1 つのアミノ酸配列またはその薬学上許容される塩を含む、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

10

【 0 1 8 9 】

実施形態 4 3 アミリンアゴニスト化合物が配列番号 4 0 ~ 1 3 7 のいずれか 1 つのアミノ酸配列と少なくとも 9 0 % の配列同一性を有する、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 9 0 】

実施形態 4 4 アミリンアゴニスト化合物が配列番号 1 3 7 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 9 1 】

実施形態 4 5 アミリンアゴニスト化合物が哺乳類に末梢投与される、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

20

【 0 1 9 2 】

実施形態 4 6 アミリンアゴニスト化合物が哺乳類に非経口投与される、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【 0 1 9 3 】

実施形態 4 7 アミリンアゴニスト化合物が哺乳類に皮下投与される、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 9 4 】

実施形態 4 8 アミリンアゴニスト化合物が哺乳類に静脈内投与される、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

30

【 0 1 9 5 】

実施形態 4 9 アミリンアゴニスト化合物が哺乳類に筋肉内投与される、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 9 6 】

実施形態 5 0 アミリンアゴニスト化合物が哺乳類に動脈内投与される、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 9 7 】

実施形態 5 1 アミリンアゴニスト化合物が哺乳類に鼻腔投与される、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 1 9 8 】

実施形態 5 2 アミリンアゴニスト化合物がアミリン受容体結合アッセイにおいて約 2 0 0 またはそれ未満の IC_{50} を有する、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

40

【 0 1 9 9 】

実施形態 5 3 アミリンアゴニスト化合物がアミリン受容体結合アッセイにおいて約 1 0 0 またはそれ未満の IC_{50} を有する、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 2 0 0 】

実施形態 5 4 アミリンアゴニスト化合物がアミリン受容体結合アッセイにおいて約 5 0 またはそれ未満の IC_{50} を有する、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 2 0 1 】

実施形態 5 5 アミリンアゴニスト化合物がヒラメ筋検査において約 2 0 またはそれ未満

50

の EC₅₀ を有する、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

【0202】

実施形態 56 アミリンアゴニスト化合物がヒラメ筋検査において約 15 またはそれ未満の EC₅₀ を有する、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

【0203】

実施形態 57 アミリンアゴニスト化合物がヒラメ筋検査において約 5 またはそれ未満の EC₅₀ を有する、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

【0204】

実施形態 58 アミリンアゴニスト化合物がペプチド、炭水化物、糖、ポリエチレングリコール、アルブミン、脂肪酸、ポリアミノ酸、デキストラン、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、N - (2 - ヒドロキシプロピル) - メタクリルアミド、またはその 2 つ以上の組合せと結合されている、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

10

【0205】

実施形態 59 アミリンアゴニスト化合物がペプチド、炭水化物、糖、ポリエチレングリコール、アルブミン、脂肪酸またはポリアミノ酸と結合されている、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

【0206】

実施形態 60 ペプチドがエキセンディン、エキセンディン類似体、GLP - 1、GLP - 1 類似体、CCK、CCK 類似体、PYY、PYY 類似体、GIP または GIP 類似体である、実施形態 58 または 59 に記載の方法。

20

【0207】

実施形態 61 アミリンアゴニスト化合物が 1 つ、2 つ、3 つまたは 4 つのアミノ酸残基でグリコシル化されている、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

【0208】

実施形態 62 哺乳類にホルモン補充療法が施されない、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

【0209】

実施形態 63 哺乳類が閉経期前後である、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

30

【0210】

実施形態 64 哺乳類が閉経期である、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

【0211】

実施形態 65 哺乳類が閉経後である、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

【0212】

実施形態 66 哺乳類が卵巢機能不全であるか、または卵巢摘出(overectomy)もしくは子宮摘出を受けている、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

【0213】

実施形態 67 ヒト女性が約 30 またはそれ未満のエストラジオールレベルおよび約 30 またはそれを超える卵胞刺激ホルモンレベルを有する、実施形態 30 のいずれか一つに記載の方法。

40

【0214】

実施形態 68 アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が 1 μ g ~ 5 mg である、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

【0215】

実施形態 69 アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が 1 μ / 日 ~ 5 mg / 日である、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

【0216】

実施形態 70 アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が 1 μ g / 週 ~ 5 mg / 週である、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

50

【 0 2 1 7 】

実施形態 7 1 アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $1 \mu\text{g} / \text{月} \sim 5 \text{mg} / \text{月}$ である、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 2 1 8 】

実施形態 7 2 アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $10 \mu\text{g} \sim 3 \text{mg}$ である、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 2 1 9 】

実施形態 7 3 アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $10 \mu\text{g} / \text{日} \sim 3 \text{mg} / \text{日}$ である、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 2 2 0 】

実施形態 7 4 アミリンアゴニスト類似体の治療上有効な量が $10 \mu\text{g} / \text{週} \sim 3 \text{mg} / \text{週}$ である、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 2 2 1 】

実施形態 7 5 アミリンアゴニスト類似体の治療上有効な量が $10 \mu\text{g} / \text{月} \sim 3 \text{mg} / \text{月}$ である、請求項 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【 0 2 2 2 】

実施形態 7 6 アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $50 \mu\text{g} \sim 2 \text{mg}$ である、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 2 2 3 】

実施形態 7 7 アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $50 \mu\text{g} / \text{日} \sim 2 \text{mg} / \text{日}$ である、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 2 2 4 】

実施形態 7 8 アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $50 \mu\text{g} / \text{週} \sim 2 \text{mg} / \text{週}$ である、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 2 2 5 】

実施形態 7 9 アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $50 \mu\text{g} / \text{月} \sim 2 \text{mg} / \text{月}$ である、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 2 2 6 】

実施形態 8 0 アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $100 \mu\text{g} \sim 1 \text{mg}$ である、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 2 2 7 】

実施形態 8 1 アミリンアゴニスト化合物の治療上有効な量が $100 \mu\text{g} / \text{日} \sim 1 \text{mg} / \text{日}$ である、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 2 2 8 】

実施形態 8 2 アミリンアゴニスト類似体の治療上有効な量が毎日一用量または分割用量で投与される、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 2 2 9 】

実施形態 8 3 アミリンアゴニスト類似体の治療上有効な量が $100 \mu\text{g} / \text{週} \sim 1 \text{mg} / \text{週}$ である、実施形態 1 ~ 6 0 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 2 3 0 】

実施形態 8 4 アミリンアゴニスト類似体の治療上有効な量が $100 \mu\text{g} / \text{月} \sim 1 \text{mg} / \text{月}$ である、実施形態 1 ~ 6 0 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 2 3 1 】

実施形態 8 5 アミリンアゴニスト類似体の治療上有効な量が少なくともアミリンアゴニスト化合物の治療上有効な最小血漿レベルをもたらす、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 2 3 2 】

実施形態 8 6 アミリンアゴニスト化合物が式 (V I I) の化合物である、実施形態 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

【 0 2 3 3 】

10

20

30

40

50

実施形態 87 アミリンアゴニスト化合物が式 (V I I I) の化合物である、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

【0234】

実施形態 88 アミリンアゴニスト化合物が式 (I X) の化合物である、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

【0235】

実施形態 89 アミリンアゴニスト化合物が式 (X) の化合物である、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

【0236】

実施形態 90 アミリンアゴニスト化合物がヒト・アミリンアミノ酸配列の断片、ラットアミノ酸配列の断片、サケ・カルシトニンアミノ酸配列の断片、ヒト・カルシトニン配列の断片またはその 2 つ以上の組合せを含む、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

10

【0237】

実施形態 91 アミリンアゴニスト化合物が (a) ループ領域; (b) α らせんループ I 型; および (c) C 末端テールを含む、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

【0238】

実施形態 92 アミリンアゴニスト化合物が (i) アミリンペプチド断片および (i i) カルシトニンペプチド断片を含む、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

【0239】

実施形態 93 アミリンがヒト・アミリンまたはラット・アミリンであり、カルシトニンがヒト・カルシトニンまたはサケ・カルシトニンである、実施形態 92 に記載の方法。

20

【0240】

実施形態 94 哺乳類が糖尿病を有している、実施形態 1 ~ 25 のいずれか一つに記載の方法。

【0241】

実施形態 95 血糖管理の改善を必要とするエストロゲン欠乏哺乳類において血糖管理を改善することをさらに含む、実施形態 1 ~ 14 および 94 のいずれか一つに記載の方法。

【0242】

実施形態 96 血糖管理を改善する方法が血糖値を低下させるまたはヘモグロビン A 1 c (H b A 1 c) 値を低減する方法である、実施形態 95 に記載の方法。

30

【0243】

実施形態 97 血糖管理の改善を必要とする閉経期、閉経後または閉経期前後の雌哺乳類において血糖管理を改善することをさらに含む、実施形態 15 ~ 24 および 94 のいずれか一つに記載の方法。

【0244】

実施形態 98 血糖管理を改善する方法が血糖値を低下させるまたはヘモグロビン A 1 c (H b A 1 c) 値を低減する方法である、実施形態 97 に記載の方法。

【0245】

実施形態 99 アミリンアゴニスト化合物が配列番号 142 のアミノ酸配列またはその薬学上許容される塩を含む、実施形態 1 ~ 98 のいずれか一つに記載の方法。

40

【発明を実施するための形態】

【0246】

実施例

下記の実施例は単に例示を目的とし、本開示または特許請求の範囲を限定するものではない。

【0247】

実施例 1

アミリン受容体結合アッセイ、すなわち、膜に結合されたアミリン受容体と特異的に結合する化合物の能力を測定する競合アッセイは、米国特許第 5,686,411 号 (例え

50

ば、実施例 18) に記載されており、その開示内容は引用することにより本明細書の一部とされる。このアッセイに用いられる膜調製物の好ましい供給源は、側座核および周囲領域に由来する膜を含む前脳基底部である。アッセイされる化合物は、これらの受容体調製物との結合をめぐって 1251 Bolton Hunter ラット・アミリンと競合する。結合量 (B) をリガンド濃度の対数の関数としてプロットした競合曲線を、4 パラメーターロジスティック方程式に対する非線形回帰 (Inplot program; GraphPAD Software, San Diego, Calif.) または DeLean らの ALLFIT プログラム (ALLFIT, Version 2.7 (NIH, Bethesda, Md. 20892)) による分析を用い、コンピューターによって分析する。Munson and Rodbard, Anal. Biochem. 107:220-239 (1980)。

【0248】

10

実施例 2

ヒラメ筋におけるアミリンアゴニスト化合物の生物活性のアッセイは、その開示内容が引用することにより本明細書の一部とされる米国特許第 5,686,411 号 (例えば、実施例 19) に記載されている方法を用いて行うことができ、そこでは、アミリンアゴニスト活性をインスリンにより刺激されるグリコーゲン合成の阻害を測定することによって評価することができる。要するに、例示的方法は、12 時間絶食させた雄ウイスターラットから調製したヒラメ筋帯を含む。これらの筋肉の腱を連結した後、ステンレス製のクリップにつなぐ。筋肉帯を、3.5 ml Krebs-Ringer 重炭酸バッファー、7 mM N-2-ヒドロキシエチル-ペペラジン-N'-2-エタン-硫酸、pH 7.4 および 5.5 mM ピルビン酸塩の入ったエルレンマイヤーフラスコ中でブレインキュベートする。フラスコを密封し、19:1 (v/v) 比の O₂ および CO₂ ガスを絶えず送る。振動水浴内で、この媒体中、37°C で 30 分間、筋肉のブレインキュベーションを行った後、筋肉帯を、[U-¹⁴C] グルコース (0.5 μCi/ml) およびインスリン (100 μU/ml) を加えた同一の媒体 (ピルビン酸塩は除く) の入った同様のバイアルに移す。これらのフラスコを密封し、1 時間のインキュベーションのうち最初の 15 分間に再びガスを送り込む。インキュベーション期間の終了時に、筋肉をプロットし、液体窒素中で急速冷凍する。インキュベーション媒体中の乳酸塩濃度は分光光度の測定により決定することができ、グリコーゲンにおける [U-¹⁴C] グルコースの組み込みを測定することができる。

20

【0249】

30

以下の実施例に記載されている研究は全て、動物福祉法のガイドラインに従って、Amylin Pharmaceuticals, Inc. の所内動物実験委員会 (Institutional Animal Care and Use Committee) により認可されたものである。動物は標準的なケージにて 22°C、12 時間明期、12 時間暗期の周期で飼育した。さらに、データは全て、それぞれ Neuman-Kuel's または Bonferroni post hoc 分析による一元配置または二元配置分散分析 (ANOVA) を用いて分析した。統計的有意性は $p < 0.05$ で仮定した。グラフはウィンドウズ用 Prism 4 (Graphpad Software, San Diego, CA) を用いて作成した。データは全て平均値 ± SEM で表す。

【0250】

40

実施例 3

材料および方法

雌肥満傾向ラット (n = 36; CRLCD-OP, Charles River, Wilmington, MA) をおよそ 4 か月間、32% kcal/脂肪精製高脂肪食 (D12366B, Research Diets, New Brunswick, NJ) で予め太らせ、このモデルにおいて肥満を誘導した。次に、ラットの体重を合わせ (平均体重 311 ± 4 g)、両側卵巣摘出手術 (OVX; n = 24) または偽手術 (SHAM; n = 12) のいずれかを施した。ラットをおよそ 3 週間放置して手術から回復させ、回復 1 週間後に OVX 群のコホート (n = 12) にエストロゲン補充を開始した (OVX + E; 4 日おきに落花生油中 2 μg β-エストラジオール (Sigma-Aldrich, St Louis, MO) を皮下に)。手術後およそ 3 週間目に、各群の半数に、ビヒクル (無菌水中 50% ジメチルスルホキシド) またはラット・アミリン (50 μg/kg/d, Am

50

ulin Pharmaceuticals, Inc., San Diego, CA) のいずれかを 28 日間送り出す単一の浸透圧ミニポンプ (Alzet モデル 2ML4; Durect Corporation, Cupertino, CA) を移植した。食物摂取および体を毎週測定した。体成分を - 1 日目および最終日に NMR (Echo Medical Systems, Houston, TX) により測定した。28 日目に過剰用量のイソフルランによって動物を安楽死させ、心血液を採集した。

【0251】

結果

偽処置雌ラット (SHAM) では、ラット・アミリン (配列番号 15) の持続的注入 ($50 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$ 、4 週間) は、 $5.1 \pm 1.1\%$ の持続的なビヒクル補正体重減少を誘導し (図 1A)、この用量および時点での雄 DIO ラットにおけるこれまでの研究と一致していた。12 匹の両側卵巣摘出 (OVX) 雌ラットの群では、ラット・アミリン (配列番号 15) の持続的注入 ($50 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$ 、4 週間) は $11.2 \pm 1.1\%$ の持続的体重減少を誘導したが、OVX ラットにおける同用量のアミリンの体重減少の誘導は $-11.2 \pm 1.1\%$ であった (2 ~ 4 週間で SHAM に対して $p < 0.001$; 図 1B)。4 週間ラット・アミリン (配列番号 15) ($50 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{日}$) の持続的注入投与に加えて、4 日おきに $2 \mu\text{g}$ (SC) の用量での $17-\beta$ エストラジオールの持続的注入で処置した 12 匹の OVX ラットの第 2 群 (OVX-E) は、 $6.3 \pm 1.6\%$ の持続的体重減少を誘導し (3 ~ 4 週目で OVX 群に対して $p < 0.01$; いずれの時点でも SHAM に対して ns ; 図 1C); 従って、OVX ラットにおけるエストロゲンの補充 (OVX+E) は、エストロゲンを投与しなかった OVX ラットにおいて見られたアミリン注入による効果を排除した。

【0252】

上記のエストロゲン欠乏状態において見られた体重に対するアミリンの効果は、肥満の増長に対する OVX 手術自体の影響を考慮することによってより良く理解される。28 日の処理期間にわたる体重増加 (g) は、SHAM - ビヒクルで $18.5 \pm 2.3 \text{ g}$; OVX - ビヒクルで $30.2 \pm 3.3 \text{ g}$; そして OVX+E - ビヒクルで $22.2 \pm 4.2 \text{ g}$ であった (4 週目において SHAM に対する OVX では $p < 0.05$ であるが、OVX+E はそうではない; 示されていない)。アミリン処置群では、体重変化 (g) は、SHAM - アミリンで $2.4 \pm 2.1 \text{ g}$; OVX - アミリンで $-7.7 \pm 3.6 \text{ g}$; そして OVX+E で $3.6 \pm 4.4 \text{ g}$ であった (4 週目において OVX+E に対する OVX では $p < 0.05$ であるが、SHAM はそうではない; 示されていない)。これらのデータは、肥満 OVX ラットは処置期間の間、体重増加に感受性を示すが、アミリン注入はこの傾向を打ち消すだけでなく、基準レベルを下回る体重減少を能動的に誘導したことを示唆する。

【0253】

これらのラットにおけるアミリン注入は、全ての手術群で、ビヒクル対照よりも累積食物摂取が少ないことと関連していた。具体的には、アミリン注入を施した SHAM ラットは、累積食物摂取において、ビヒクルのみを施した SHAM ラットに比べて $10.9 \pm 3.4\%$ の低下を受け (図 2A)、アミリン注入を施した OVX ラットは、累積食物摂取において、ビヒクルのみを施した OVX ラットに比べて $23.0 \pm 2.0\%$ の低下を受け (図 2B)、そして、アミリン注入を施した OVX+E ラットは、累積食物摂取において、ビヒクルのみを施した OVX+E ラットに比べておよそ 15% の低下を受けた (図 2C)。アミリンにより誘導される累積食物摂取の低下は、OVX 群では、SHAM 群または OVX+E 群のいずれに比べても増強されていなかった。さらに、OVX ビヒクル処置動物は 4 週目 SHAM ビヒクル処置動物および OVX+E ビヒクル処置動物の双方よりも多くの食物を消費したが (SHAM ビヒクル処置動物では $329 \pm 7 \text{ g}$; OVX ビヒクル処置動物では $354 \pm 11 \text{ g}$; OVX+E ビヒクル処置動物では $326 \pm 7 \text{ g}$; 4 週目において SHAM および OVX+E 群に対する OVX で $p < 0.05$); アミリン処置群間では累積食物摂取に差はなかった。

【0254】

アミリン処置はまた、図 3A (ビヒクル補正後) および 3B (ビヒクル補正前) に示さ

れるように、脂肪蓄積（脂肪量％）における有意な低下と関連していた。OVX雌ラットでは、アミリン注入は脂肪蓄積においてビヒクルに比べて約7.5±0.6％の低下を誘導した。OVX+E雌ラットでは、アミリン注入は、脂肪蓄積においてビヒクルに比べて約4.7％の低下を誘導した。データをビヒクルに関して補正せずに見た場合（図3B）、図3Bの場合のようにデータセットの非ビヒクル補正值で表されるように、OVX-ビヒクル対照に増加傾向（図3Bの黒いバー参照）があるにもかかわらず、手術の影響、または薬剤と手術の間の相互作用の影響、または脂肪蓄積の変化の影響は無いと思われる（図3Bの白い棒を比較）。また、除脂肪率％の変化に対しても薬剤または手術の影響はなかった（図3C）。

【0255】

10

このように、以下の表1で一部をまとめたように、4週間のアミリン処置の後に見られた結果は、OVX雌ラットは、偽処置雌ラット（SHAM）およびエストロゲンを投与したOVX雌ラット（OVX+E）と比較した場合、優れた体重減少、優れた食物摂取の低下および優れた脂肪蓄積の低下を受けたことを示した。OVX雌ラットの体重減少、累積食物摂取の低下および脂肪蓄積の低下の誘導におけるアミリンの有効性における、およそ2倍と見られる増加は、17-βエストラジオールを投与したOVX雌ラットでは、SHAMラットで見られるものと同等のレベルにまで戻った。

【0256】

【表1】

表1

20

アミリン投与 50 μg/kg/d	4週間後の 持続的体重減少	食物摂取の低下	脂肪蓄積の低下 （ビヒクル補正後）
Shamラット	5.1±1.1％	10.9±3.4％	4.6±0.5％
OVXラット	11.2±1.9％	23.0±2.0％	7.5±0.6％
OVX+Eラット	6％	15％	4.7％

（全群に対して $p < 0.05$ ）

【0257】

脂肪蓄積の低下は、全てのアミリン処置群においてレプチンレベルの有意な低下と関連していた。アミリンはまた、全ての群でインスリンを減少させる傾向があり、SHAMではグルコースを減少させたが、OVXまたはOVX+Eラットでは減少させなかった。食欲促進ホルモングレリンのレベルは28日目においてアミリン処置による変化はなかった。

30

【0258】

外因性アミリンがSHAMまたはOVX+E動物に比べてOVX状態において体重減少の増進を惹起した中枢機構を探求するために、内側基底視床下部の遺伝子発現を調べた。視床下部腹内側部で発現の高い食欲促進ニューロペプチドとして働き得る重要な神経向性因子である脳由来神経栄養因子（Bdnf）mRNAのレベルは、アミリン処置OVXラットではSHAMまたはOVX+E動物に比べて高かった（1.7倍）。重要なニューロペプチドであるプロオピオメラノコルチン（Pomc）、ニューロペプチドY（Npy）もしくは痛風関連ペプチド（AgRP）の発現、またはエストロゲン受容体-α（ERα）の発現に差は見られなかった。これらのデータは、Bdnf機能が関わり得る機構であるアミリンシグナル伝達の調節におけるエストロゲンの役割を暗示する。

40

【0259】

実施例4

SHAM、OVXおよびOVX+Eラットのセットをもう1つ作出するために、雌肥満傾向ラットを実施例3で上記したように処置した。各群のラットにビヒクルか、または下記のアミリンアゴニスト：50 μg/kg/日の配列番号20、2 μg/kg/日の配列番号137、もしくは5 μg/kg/日の配列番号142のうち1つのいずれかを投与し

50

た。図 4 A、4 B および 4 C に示される結果は、これらの各供試アミリンアゴニストは O V X ラットに投与した場合、S H A M ラットに投与した場合に見られる体重減少に比べて、高いか同等の体重減少を示す（データ点の標準偏差を考慮）。従って、実施例 3 に記載されている所見と一致して、これらの例示的アミリンアゴニストは少なくともエストロゲン欠乏症に関連する典型的な体重増加を弱め、さらには、エストロゲン欠乏症の状態において、正常なエストロゲンレベルを持つ S H A M 対照 (SHAM controls) に比べて高い体重減少さえ惹起することができる。

【0260】

実施例 5

アミリン注入によって誘導された高い体重減少は O V X ラットにおける代謝の改善と関連している

材料および方法

O V X 状態においてアミリンにより媒介される体重減少に対する感受性の明確な増強をさらに特徴付けるために、処置期間 1 ~ 4 日の間にビヒクルまたはアミリンで処置した S H A M または O V X ラットの代謝をモニタリングした。

【0261】

実施例 3 および 4 に記載されているものと同様の実験計画に従った。雌 C R L : C D - O P ラット ($n = 24$) をおよそ 4 ヶ月間予め太らせ（平均体重 295 ± 3 g）、その後、S H A M 手術 ($n = 12$) または O V X 手術 ($n = 12$) のいずれかを施した。術後およそ 3 週間で、ラットに、ビヒクル ($n = 6$ / 手術群) またはアミリン ($50 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{d}$; $n = 6$ / 手術群) のいずれかを送り出す単一の浸透圧ミニポンプ (A l z e t モデル 2 M L 2、Durect Corporation) を移植した。動物はポンプ移植術の前日に 3 時間代謝ケージに馴化させ、ポンプ移植術後の午前中に同じチャンバーへ戻した。ラットをこれらの代謝チャンバーで 2 晩飼育し、高速 O x y m a x 間接熱量測定システム (Columbus Instruments, Columbus, OH) を用いて、代謝率の代用としての酸素消費率 (VO_2) と二酸化炭素の生産 (VCO_2) を測定した。代謝率は動物の最初の体重に対してノーマライズした。呼吸商 (R Q) は $\text{VCO}_2 / \text{VO}_2$ として算出した。また、試験中、X 軸における全身体活動 (レーザー光のとぎれ) を測定した。自動給餌システム装置により、食物摂取の正確な連続的モニタリングを可能とした。2 晩の後、ラットをホームケージに戻し、神経発生の評価に用いた (下記)。

【0262】

ヨークフィード対照群に比べた場合の、O V X ラットへのアミリン注入の、エネルギー代謝に対する効果も評価した。この研究では、雌 C R L : C D - O P ラット ($n = 24$) をおよそ 4 ヶ月間予め太らせ（平均体重 348 ± 4 g）、その後、O V X 手術を施した。術後およそ 2 週間で、ラットに、ビヒクル ($n = 16$) またはアミリン ($50 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{d}$; $n = 8$) のいずれかを送り出す単一の浸透圧ミニポンプ (A l z e t モデル 2 M L 2、Durect Corporation) を移植した。動物はポンプ移植の前日に 3 時間代謝ケージに馴化させ、ポンプ移植術後の午前中に同じチャンバーへ戻した。ラットこれらの代謝チャンバーで 5 晩飼育し、高速 O x y m a x 間接熱量測定システム (Columbus Instruments) を用いて、 VO_2 と VCO_2 を測定し、最初の体重に対してノーマライズした。また、X 軸における全身体活動 (レーザー光のとぎれ) を測定した。自動給餌システムにより食物量をビヒクル群の半分になるように制限して、30 分おきにアミリン処置動物が消費する食物の平均量をそれらが消費するようにした。従って、実際、この対照群は、与えられた後すぐに動物が 1 日の食物分配を消費する従来のペアフィード (pair-fed) よりもむしろ、試験 (アミリン処置) 群とほぼ同時に同量の食物を消費することから、真に食物が対応した群、またはヨークフィード群である。

【0263】

結果

代謝チャンバー内での期間中、各群の体重変換は、S H A M - ビヒクルで 9.8 ± 4.7 g; S H A M - アミリンで 5.4 ± 3.0 g; O V X - ビヒクルで 9.2 ± 5.4 g;

O V X - アミリンで 6.4 ± 1.4 g であった (群間で有意さは無かった)。これらの初期の時点では、体重はベースラインから有意にかけ離れてはいなかった。本発明者らは、本試験期間、代謝率 (VO_2 として)、基質利用 (RQ として) および X 軸における身体活動 (光線のとぎれとして) を連続的にモニタリングすることができる。代謝率は、SHAM 処置 DIO 雌ラットにおいては、アミリン投与によって変化せず、雄 DIO ラットの代謝におけるアミリンの効果 (15) と一致していた。しかしながら、O V X 手術は、明期および暗期の双方で VO_2 を有意に低下させた (図 5 A および 5 B)。O V X - ビヒクル対照は、SHAM - ビヒクル群および SHAM - アミリン群の双方に比べて低い VO_2 を示した。O V X 雌に対するアミリンの投与は、SHAM 群に比べ、 VO_2 を有意に増加させたが、代謝率は低いままであった (図 5 B)。RQ 値は SHAM 動物でアミリンの投与によって有意に引き下げられ (図 5 C および 5 D)、脂肪利用の優先性を示唆する。O V X 手術は、両 SHAM 群よりも RQ に増加をもたらしたが、アミリン処置はまたこの O V X 状態において RQ を引き下げ、明期では、RQ は SHAM - アミリン群の RQ をさらに超えて引き下げた (図 5 D)。明期では、群間で身体活動に差は無かったが、活性が総じて著しく高かった暗期では、SHAM 状態および O V X 状態の双方でアミリン処置が高い活性と関連していた (図 5 E および 5 F)。これらのことを考え合わせると、O V X は SHAM 対照と比較した場合に代謝率の低下および脂肪利用の優先性の低下に関連しており、O V X 雌へのアミリン投与は、代謝率および脂肪酸化、ならびに身体活動の増加を含む、このモデルにおいて見られる、総じて高い体重減少の一因であると思われる代謝促進結果を示した。

10

20

【0264】

次に、処理期間 1 ~ 6 日の、ビヒクル対照ならびにヨークフィード対照 (O V X - Y F) に比べた場合の、O V X 雌 DIO ラットへのアミリン投与の代謝結果を調べた。代謝チャンパー内での期間中、食物摂取は O V X - アミリン (50.1 ± 6.7 g) および O V X - Y F 群 (43.4 ± 0.9 g; 双方とも O V X ビヒクル対照 82.0 ± 3.9 g に対して $p < 0.05$) の間で一致しており、体重はアミリン処置およびヨークフィーディングによって低減された: O V X - ビヒクルで 25.0 ± 2.4 g; O V X - アミリンで 4.5 ± 6.6 g; O V X - Y F で -3.2 ± 2.3 g (ビヒクルに対するアミリンおよび Y F 群で $p < 0.05$)。これまでの試験と同様に、アミリン投与には VO_2 レベルに対する有意な効果は無かったが、O V X - Y F ラットは、O V X - ビヒクル群および O V X - アミリン群に比べて低い VO_2 を示した (図 6 A および 6 B)。ここでも RQ の著しい低下はアミリン処置ラットおよび Y F ラットの双方で明らかであり、これは O V X - アミリンよりも有意に低いが大きくはなかった (図 6 C および 6 D)。全身体活動レベルはアミリン処置によってビヒクル対照に比べて高まり、O V X - Y F ラットもまた同等の高い活性を示した (図 3 E および 3 F)。

30

【0265】

実施例 6

エストロゲン欠乏肥満ラットにおけるアミリンにより媒介される過大な体重減少の基礎にある中枢機構

材料および方法

40

急性アミリン投与後の DIO エストロゲン欠乏ラットにおけるニューロン活性化の評価
20 匹の雌ラットに、上記の実施例に記載されているように O V X または偽手術のいずれかを施した。2 週間回復させた後、明期に入って 2 時間目の最初に、動物にアミリン ($10 \mu\text{g} / \text{kg}$ IP; Peptisyntha, Torrance, CA; O V X も SHAM も $n = 5$) または生理食塩水 (O V X も SHAM も $n = 5$) を注射した。2 時間後、ラットに全身麻酔をかけ、生理食塩水、次いで冷 4 % P F A を灌流させた。組織を一晚、後固定し、30 % スクロース中で 24 時間、凍結保護を行った。脳をドライアイス上で凍結させ、凍結ミクロームにて、5 系列の $30 \mu\text{m}$ 厚切片を取る切片化まで - 80 °C で保存した。

【0266】

浮遊切片に対して免疫組織化学的方法を行った。c - F o s については 1 % ウシ血清ア

50

ルブミン (B S A) でブロッキングを行った。F o s B、F r a - 1 および F r a - 2 と交差反応しないヒト c - F o s タンパク質のアミノ酸 2 1 0 ~ 3 3 5 に対するウサギポリクローナル抗体 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) を 1 : 4 , 0 0 0 希釈で用いた。切片を 4 で一晩インキュベートした。翌日、組織を暗所で 2 時間、P B S / T r i t o n 中、ヤギ抗ウサギ A l e x a - F l u o r 4 8 8 二次抗体 (1 : 2 5 0、Molecular Probes, Eugene, OR) とともにインキュベートした。P B S で洗浄した後、組織をすぐにスライドにのせ、V e c t a s h i e l d P r o l o n g G o l d 退色防止剤 (Molecular Probes, Eugene, OR) を用いてカバーガラスをかけ、- 2 0 で保存した。L e i c a L S M 7 1 0 共焦顕微鏡および Z e n 2 0 0 8 ソフトウェアを用い、蛍光画像を取り込んだ。各領域における陽性細胞の分析は盲検研究者により行い、c - F o s 陽性核の計数を手作業で行った。結果は動物当たり 3 切片についての平均細胞数で表す。

10

【 0 2 6 7 】

D I O エストロゲン欠乏ラットにおける神経発生の評価

代謝分析後、S H A M - ビヒクル、S H A M - アミリン、O V X - ビヒクルおよび O V X アミリンラット (各群 $n = 6$)、をホームケージに戻し、ポンプ移植後 5 ~ 1 2 日目に、1 日 2 回、1 2 時間空けてプロモデオキシウリジン (B r d U ; 7 5 m g / k g) の i . p . 注射を行った。1 4 日目に動物にイソフルランで全身麻酔をかけ、生理食塩水、次いで冷 4 パラホルムアルデヒドを灌流させた。脳を一晩、後固定し、3 0 % スクロース中で 2 4 時間、凍結保護を行った後、ドライアイス上で凍結させ、切片化まで - 8 0 で保存した。凍結ミクロトームにて、5 系列の 3 0 ミクロン厚切片を取った。

20

【 0 2 6 8 】

染色は浮遊切片に対して行った。P B S で洗浄した後、切片を 6 5 で 2 時間、5 0 % ホルムアミド中でインキュベートした。3 7 、3 0 分間、2 N H C l で DNA を変性させた後、この酸を 0 . 1 M ホウ酸バッファーで中和した。P B S で洗浄した後、組織を P B S / T r i t o n / B S A でブロッキングし、次いで、4 で一晩、ラットモノクローナ抗 B r d U (1 : 1 0 0、Accurate Chemical) とともにインキュベートした。翌日、組織を暗所で 2 時間、P B S / T r i t o n 中、ヤギ抗ラット A l e x a - F l u o r 4 8 8 二次抗体 (1 : 2 5 0、Molecular Probes, Eugene, OR) とともにインキュベートした。P B S で洗浄した後、組織をすぐにスライドにのせ、V e c t a s h i e l d P r o l o n g G o l d 退色防止剤 (Molecular Probes, Eugene, OR) を用いてカバーガラスをかけ、- 2 0 で保存した。上記のように蛍光画像を取り込んだ。

30

【 0 2 6 9 】

次に、これらのラットからの組織を、細胞のタイプが正確に決定できるように、成熟ニューロンのマーカーである N e u N とともに B r d U に対して二重標識した。プロトコールは、切片をまたマウスモノクローナル一次抗 N e u N (1 : 1 0 0、Chemicon International)、次いでヤギ抗マウス A l e x a - F l u o r 5 9 4 二次抗体 (1 : 2 5 0、Molecular Probes) とともにインキュベートすること以外は、上記と同じであった。

【 0 2 7 0 】

結果

まず、S H A M ラットに対する O V X ラットの脳幹の c - F o s を調べた。A P においてはアミリン処置群間 (O V X = $9 0 \pm 4$ 細胞、S H A M = $7 1 \pm 5$ 細胞) またはビヒクル処置群間 (O V X = 3 ± 1 細胞、S H A M = 2 ± 1 細胞) に、N T S においてはアミリン処置群間 (O V X = $3 0 \pm 1$ 細胞、S H A M = $3 4 \pm 2$ 細胞) またはビヒクル処置群間 (O V X = 4 ± 1 細胞、S H A M = 1 ± 0 細胞) に有意差は無かった。従って、S H A M ラットに対する O V X の、アミリン後に見られる体重減少および食物摂取の差はアミリンシグナル伝達の短期の増大とは相関せず、むしろ、経時的に進展する長期機構によって媒介される。

40

【 0 2 7 1 】

卵巣摘出は海馬における神経発生を低下させることが知られており、この欠陥はエストロゲン補充で矯正することができる (1 8)。アミリン、エストロゲンおよび神経発生の

50

間の潜在的関係を探求するために、BrdU - 免疫反応性を、自発的神経発生を示すことが知られている (19、20) 特異的な脳領域としての最後野 (AP)、孤束核 (NTS) および海馬内で測定した。陽性対照領域であると考えられる海馬では、予期されたように、OVX 処置は神経発生をベースラインより下に引き下げ、アミリンの持続的注入はそれを回復させることができた ($p < 0.05$) (図 8 B のグラフで定量的に示す; OVX / アミリン処置動物の海馬 (hippocampus) における DAB による BrdU 染色を図 8 A に示し、別の OVX / アミリン処置動物の海馬における BrdU / NeuN 染色を図 8 C に示す)。

【0272】

AP では、SHAM 対照に比べ、OVX はこの場合にもビヒクル処置動物の神経発生を有意に低下させ ($p < 0.01$)、OVX 動物においてアミリン処置はこの効果を逆転させることができ、さらには、ベースラインレベルを超えて、神経発生を高めることができた ($p < 0.001$) (図 7 J のグラフで定量的に示す; 例えば、図 7 A、7 C、7 E および 7 G 参照)。さらに、BrdU + ニューロン特異的マーカー NeuN に対する二重標識は、AP においては、BrdU 陽性細胞のおよそ 60% が NeuN に関しても陽性であり、従って、成熟ニューロンであった (示されていない) が、海馬においては、BrdU 陽性ニューロンの 38% が NeuN に関して陽性であったことを示した (図 8 A ~ 8 C)。

【0273】

NTS では、アミリンは、OVX - ビヒクル群および両 SHAM 群よりも BrdU 陽性細胞の数を有意に増した ($p < 0.05$) (図 7 I のグラフで定量的に示す; 例えば、図 7 B、7 D、7 F および 7 H 参照)。

【0274】

NTS において群間に他の有意な差は無く、BrdU 染色は脳の他の領域には存在しなかった。

【0275】

実施例 7

エストロゲン欠乏ラットにおけるアミリンの改善された有効性のメディエーターとしてのレプチン感受性のアミリン依存的増大に関する役割の検討

材料および方法

痩せ型または肥満型の糖尿病 ZDF ラットへのアミリン注入

肥満型糖尿病雌 ZDF ラット (Charles River Laboratories) を 32% kcal / 脂肪精製食でおよそ 6 週間維持し、10 週齢時に 2 つの体重対応群へ選別した。1 つの群に両側卵巢摘出 ($n = 12$) または偽手術 ($n = 12$) を施した。術後 2 週間目に、各手術群の半数に、ビヒクルまたはラット・アミリン ($50 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{d}$) のいずれかを 28 日間送り出す単一の浸透圧ミニポンプ (Alzet モデル 2ML4; Durect Corporation) を移植した。痩せ型 (平均体重 $22.6 \pm 3 \text{ g}$) ZDF 対照 (Charles River) は標準的な実験用齧歯類飼料 (LM - 485、5% kcal / 脂肪; Harlan Teklad) で維持し、体重対応群に選別し、ビヒクル ($n = 9$) またはラット・アミリン ($50 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{d}$; $n = 9$) のいずれかを 28 日間送り出す単一の浸透圧ミニポンプ (Alzet モデル 2ML4; Durect Corporation) を移植した。両研究とも、食物摂取および体重を毎週モニタリングし、ベースライン時と終了時に、NMR (Echo Medical Systems) を用いて体成分を評価した。28 日後、ラットを過剰量のイソフルランで安楽死させ、心血液を採集した。

【0276】

血漿代謝産物分析

末端血漿インスリン (Crystal Chem Inc., Downer's Grove, IL) およびレプチン、総アディポネクチンおよび総グレリン (Millipore, Billerica, MD) レベルは、市販の ELISA を用いて測定した。血漿グルコース、トリグリセリドおよび総コレステロールレベルは、オリンパス・バイオアナライザー (Olympus America Diagnostics, Center Valley, PA) を用いて測定した。血漿アミリンレベルは、内部 IEMA を用いて測定した。

【0277】

結果

O V X 状態は、体重ならびに体脂肪量および対応する血漿レプチンレベルを著しく増大させることが知られている。O V X ラットにおける過大な体重減少が少なくとも一部には、O V X 術後の末梢レプチンレベルの上昇に感受性のあるアミリンによるものであるかどうか調べるため、肥満かつ非機能的レプチン受容体による糖尿病である Z D F ラットへのアミリン注入の効果を調べた。S H A M Z D F ラットへの持続的アミリン注入は、28日間、体重を有意に減少させなかった(図9A)。同用量でのO V X Z D F ラットへのアミリン注入は、他の全ての群に比べて体重を有意に減少させた(図9A)。しかしながら、体重生値の変化を分析したところ、これらの差はO V X 術後のZ D F ラットの著しい体重増加によるところが大きいことが明らかになった。従って、アミリン薬理学は実際の体重減少をそれほど誘導せず、むしろ、O V X Z D F ラットの体重増加を有意に弱めるものであった(図9C)。体重増加傾向はアミリンで処置されたO V X Z D F ラットでさえ明白であり、それらは4週間後にS H A M - ビヒクル対照に比べて有意に大きな体重増加を示した(図9C)。体重の変化は食物摂取の抑制と関連があった(図9E)。アミリンはS H A M Z D F ラットの体重を減少させずに、4週間後の食物摂取をビヒクル対照に比べて抑制したが、O V X Z D F - ビヒクルラットは1~4週に他の全てのラットよりも多い食物を消費した(図9E)。Z D F O V X ラットはまた、有意に高い脂肪量を示し、これはアミリン投与により弱められ、除脂肪量の減少と一致していた(図9G)。

10

【0278】

S H A M Z D F ラットへのアミリン注入は、D I O ラットに比べて体重の減少に効果的でないと思われるので、系統特異的な効果を除外するために、Z D F ラットと同じバックグラウンド系統にある痩せ型ラットへのアミリン投与の影響を調べた。痩せ型対照においては、D I O ラットの場合と同様に、アミリン注入は体重を有意に減少させ、真の体重減少として反映され(図9Bおよび9D)、食物摂取を抑制し(図9F)、特に脂肪量を減少させた(図9H)。

20

【0279】

血漿アミリンレベルを分析したところ、Z D F ラットの高アミリン血症がこのモデルにおけるアミリンの低い有効性によるものであり得ることが明らかになった。全てのアミリン処置ラットが同等のアミリン循環レベルを有していたが(表3)、Z D F ラットは、外科手術の状態に関係なく、痩せ型対照に比べて有意に高いアミリンレベルを示した(表2)。従って、アミリンの薬理レベルは痩せ型ラットより~50倍高いが、Z D F ラットでは、血漿アミリンは~12倍の増加に過ぎないことが明らかであった。Z D F かつ痩せ型のラットでは、血漿グルコースレベルに対する手術または薬理学の効果は無く、インスリンはZ D F O V X かつ痩せ型の対照ラットにおいてアミリン処置により有意に減少した(表3)。O V X ラットの血漿トリグリセリドはS H A M Z D F 対照に比べて減少し、アミリン注入が血漿トリグリセリドを減少させた痩せ型動物とは異なり、アミリンの効果はなかった(表3)。総コレステロールレベルはS H A M Z D F ラットでは低下したが、総じてO V X によって増大し、痩せ型動物では変化がなかった(表3)。

30

【0280】

【表 2】

表 2 4 週間ビヒクルまたはラット・アミリン ($50 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{d}$) のいずれかを連続注入した D I O 偽手術 (S H A M) 対照、卵巣摘出 (O V X) ラット、または O V X + エストロゲン (O V X + E) ラットの血漿パラメーター

	SHAM- ビヒクル	SHAM- アミリン	OVX- ビヒクル	OVX- アミリン	OVX+E- ビヒクル	OVX+E- アミリン
グルコース (mg/dL)	153±4	139±3	149±7	155±8	135±7	131±6
インスリン (ng/mL)	1.1±0.3	0.7±0.1	1.6±0.5	0.8±0.1	0.8±0.1	0.5±0.1
トリグリセリド (mg/dL)	294±59	161±13	176±24	162±35	351±93	138±23*
総コレステロール (mg/dL)	89±3	89±6	100±4	104±8	116±15	93±7
レプチン (ng/mL)	13.9±2.3	6.0±0.8*	16.7±2.2	9.0±1.3*	8.9±1.4 ^b	5.1±0.9
アディポネクチン ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	200±22	185±13	297±29 ^a	230±35*	175±16 ^b	155±4
グレリン (ng/mL)	1.9±0.2	2.0±0.1	1.4±0.2	1.9±0.3	2.0±0.2	1.8±0.1

10

20

* 外科手術群内でビヒクル対照に対して $p < 0.05$; ^a 薬剤処置内で S H A M に対して $p > 0.05$; ^b 処置内で O V X に対して $p < 0.05$

【0281】

【表 3】

表 3 4 週間ビヒクルまたはラット・アミリン ($50 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{d}$) のいずれかを連続注入した偽手術 (S H A M) または卵巣摘出 (O V X) Z D F ラットまたは痩せ型対照の血漿パラメーター

30

	ZDF SHA M-ビヒクル	ZDF SHA M-アミリン	ZDF OVX -ビヒクル	ZDF OVX -アミリン	痩せ型- ビヒクル	痩せ型- アミリン
グルコース (mg/dL)	267±81	198±60	155±7	174±15	143±3	145±3
インスリン (ng/mL)	10.4±1.9	8.1±0.7	13.2±2.2	7.5±1.0*	1.3±0.1	0.6±0.1*
トリグリセリド (mg/dL)	1352±171	1611±183	619±118 ^{a, b}	584±29 ^{a, b}	202±16	101±19*
総コレステロール (mg/dL)	289±29	209±24*	319±18 ^b	320±25 ^b	108±3	106±4
アミリン (pg/mL)	292±62	3452±401*	256±43	3279±430*	60.9±34 ^{a, c}	3425±392*

40

* 外科手術群または痩せ型群内でビヒクル対照に対して $p < 0.05$; ^a S H A M - ビヒクルに対して $p > 0.05$; ^b S H A M - アミリンに対して $p < 0.05$; ^c O V X - ビ

50

ヒクルに対して $p > 0.05$

【0282】

実施例3～7の考察

摂食行動および全体的なエネルギーの恒常性に対するエストロゲンシグナル伝達の影響は長年広く知られていた(1、2)。食物摂取を弱め、体重を減少させるというエストロゲン自体の特異な作用に加え、実験的に誘導されたエストロゲン欠乏症は過食および有意な体重増加をもたらす(1、3、21)。OVXにより媒介される肥満は脂肪組織、特に内臓脂肪の著しい増加と関連し(4)、エストロゲンが局部的脂肪沈着に影響を及ぼし得ると提案されている(22)。エストロゲンまたはエストロゲンの不在がこのような明白なエネルギーバランスへの効果を媒介する機構が多く、研究の主題となっている。包括的な体重制御がシグナル伝達経路の複数の収束、推定されるエネルギー貯蔵の短期および長期シグナルの組み込みによって調節される(23)という認識の高まりは、エストロゲンシグナル伝達がその効果を媒介するために1以上のレベルでこれらの系とオーバーラップしている可能性があることを暗示する。エストロゲンの状態がNPY(10、11)、レプチン(4、7)およびCCK(5、6)などのエネルギーバランスの重要なレギュレーターに対する感受性を変化させるという所見は、この仮説を追認する。満腹感シグナルとしての膵臓ペプチドアミリンの役割を裏付ける証拠が蓄積され続けているが(13、15)、アミリンにより媒介される食物摂取および体重調節に対するエストロゲンの影響はまだ探求されていない。

10

20

【0283】

アミリンにより誘導される体重減少がエストロゲンシグナル伝達とは独立に起こったならば、本発明者らは、体重減少はSHAMまたはOVXラット間でほぼ等しいと予測したのであろう。しかしながら、本発明者らは、OVXラットにおいて同用量のアミリンにより媒介される体重減少はSHAM動物のおよそ2倍大きいことを見出した。OVXラットへのエストロゲン補充は明らかにアミリンの体重減少能を弱め、実際にアミリン応答を正常化した。OVX手術はそれ自体、有意な体重(SHAM対照よりも~40%大きい)および脂肪量の増加を誘導したが、アミリン処置OVXラットは、処置期間中、負の体重変化を伴った「真の」体重減少を示した。この点で、アミリンシグナル伝達に対するOVXの影響は、OVX動物においては効力の低下を、そしてエストロゲン投与後は効力の増強を示すCCKなどの他のサティオゲニックニューロペプチド(satiogenic neuropeptides)の場合とは反対であると思われる(5、6、24)。このユニークな減少を説明できる、あり得る機構を探求するため、本発明者らは、1)SHAMおよびOVXDIOラットにおけるアミリン投与の末梢代謝結果；2)アミリン依存的レプチン作用の増強の寄与；および3)エストロゲン欠乏症に対する中心的応答のアミリン調節、具体的には、後脳神経発生に対するOVXおよびその後のアミリン注入の影響、の3つの主要領域に焦点を当てた。

30

【0284】

本発明者らのグループおよび他のグループからのこれまでの報告によれば、アミリンの潜在能力は食欲不振による体重減少にもかかわらずエネルギー消費/代謝率を維持する(15、25)。従って、本発明者らは、OVXDIOラットにおいてアミリンにより媒介される体重減少の増進の代謝成分を、間接熱量測定を用いて特徴付けた。この分析により、OVX動物におけるアミリンに対する有意に高い代謝促進機能が明らかになった。SHAM対照に比べ、OVXラットは低い代謝率および高いRQを示すが、これは代謝効率またはより多くのカロリーを保存および貯蔵する能力が高いことを示唆する。これは、およそ3週間後、自由に食餌を摂らせたOVXラットのエネルギー消費がSHAM対照に比べて低い傾向にあり、また、どの時点でもRQに差が無いことだけを報告したこれまでの研究(26)とは対照的である。これらの差は、本発明者らが肥満ラットにおいてOVXの結果を調べたのに対し、Chen & Heimanは正常体重の動物において24時間の周期的熱量測定だけを検討した(26)という事実によって説明することができる。エストロゲン欠乏症の代謝結果は、OVXにより誘導される正のエネルギーバランスがSHAMに比べ

40

50

て影響が大きいと思われる場合の肥満の状態は、全ての動物が体重を増やす傾向がより高いと思われる痩せ型の動物の場合よりも顕著であり得る。実際、最近の研究では、痩せ型の動物は、術後最初の3週間において、肥満型ラットよりも高いOVX後食物効率（食物摂取に対する体重）を示すが、これは有意に高い体重増加率を表すのではなかった（27）。さらに、OVXは、一般的な代謝マーカーである脱共役タンパク質-1 mRNAの、褐色脂肪組織での発現の低さに関連が見られているが、これは代謝率がOVXにより抑制されていたことを示唆する（28）。OVXラットにおける代謝および脂肪利用の低下は、このモデルにおける総じて高い体重および脂肪組織の増加に有意に寄与し得る。DIO雄ラットでこれまでに報告されたように（15）、SHAMラットに対するアミリンの促進作用は代謝率を維持したが引き上げることはなく、RQを引き下げた。また、暗期には、X軸身体活動の有意な増加も見られた。しかしながら、OVXラットでは、アミリンは代謝率を有意に引き上げたが完全に正常化することとはなく、また、RQを引き下げ、暗期の運動活性を増した。これらを考え合わせると、OVXラットへのアミリン注入により誘導された体重減少の増進は有意な代謝促進効果と関連していることが明らかである。食物摂取が対応する対照OVX動物とアミリン処置OVXラットを比較したところ、体重減少がこれらの利益の全てではないにしてもいくつかを説明できることが明らかになった。ヨークフィードOVXラットは等しく低いRQを示したが、カロリー制限に対する正常な生理学的応答である代謝率の低下を示した。従って、アミリンにより誘導される体重減少は、このモデルにおける基質利用上の利益を説明することができるものの、アミリン促進作用の明確な代謝寄与を説明することはできない。

10

20

【0285】

エストロゲンシグナル伝達とレプチン生理学の間には強い関連がある（29）。OVXのより誘導される体重増加は、おそらくは増加した脂肪量による循環レプチンの増加と関連があり、ある程度の中枢レプチン抵抗性を誘導すると提案されてきたが（10）、いくつかの報告では、レプチンはOVXに誘導される体重および脂肪の増加を防ぐ/弱めることができることが示唆されている（26、30）。最近になって、アミリンはレプチンと相乗作用して、DIOラットの体重を著しく減少させることが示された。有効用量のアミリンと組み合わせても体重減少に有効でないレプチンの用量（～5%体重減少）が、DIOラットでは～15%の体重減少をもたらす（31、32）。相乗的体重減少は脂肪特異的であり、これまでのレプチン抵抗性モデルにおけるレプチン感受性の再捕捉、すなわち、ペアフィード対照に比べて高い代謝率、高い脂肪利用および高い脂肪減少を反映する（32）。本発明者らは、アミリンが、非機能的なレプチン受容体のために肥満症候群を示すSHAMまたはOVX ZDFラットにアミリンを注入することによって内因性レプチンに対する感受性を高めることにより、OVXラットにおいてより高い程度で体重を減少させたという可能性を探求した。本発明者らは、このモデルではレプチンの全面的なシグナル伝達能が破壊されるので、体重減少効果は、間接的レプチン成分を除き、単にアミリン促進作用によるものであるという仮説を立てた。本発明者らは、ZDFラットにおいて、DIO Sprague Dawleyラットと同様に、アミリン注入は体重減少におよそ2倍の効力があつた。このモデルでは、「真の」体重減少は見られず、むしろ、アミリンはOVXに関連した著しい体重増加を防いだ。興味深いことに、SHAM ZDFラットへのアミリン注入もまた、おそらくはZDF動物の先天性の高アミリン血症のために、同じバックグラウンド系統の痩せ型動物に比べて効果は低かった。総じて、一貫して見られたレプチンシグナル伝達を欠いたOVX動物での体重減少に対するアミリンの有効性の増大は、これがレプチン経路の動員によるものではなかったことを暗示する。

30

40

【0286】

エストロゲン欠乏状態における高いアミリンにより媒介される体重減少の末梢結果の他、本発明者らは、これらの効果が媒介され得るいくつかの中枢機構を探求した。海馬における成体での神経発生は、学習および記憶（33）、ストレスの調節（34）および数種の抗鬱薬のプラスの効果（35）重要である可能性があると考えられている。OVXはストレス（34）、グルココルチコイドなどのストレスホルモン（36）、加齢（37）お

50

よび睡眠不足（３６）を伴って神経発生を低下させることが分かっているいくつかの実験的操作の１つである。エストロゲン補充はOVX動物におけるこの低下を逆転させることができる（１８、３８）。しかしながら、これまでに発表されている報告は海馬内での観察に限られており、他の脳領域での神経発生に対するエストロゲンの影響は報告されていない。最近の研究では、APおよび孤束核（NTS）を含むいくつかの後脳領域に、海馬で見られるものと同様の自発的神経発生が存在すること見出された（２０）。本発明者らは、OVXがまた後脳の自発的神経発生も弱めるかどうか、そしてアミリンがこの効果を逆転させるかどうかを決定したいと考えた。本発明者らは、OVXがAP/NTSならびに海馬における神経発生を減少させること、そしてアミリンがこの欠乏を正すことができたことを見出した。さらに、OVXラットにおいて、アミリンはビヒクルおよびアミリン処置の双方の後にSHAM動物で見られたレベルを超えて神経発生を増大させると思われた。従って、アミリン処置後のAPにおける新たなニューロンの多大な増加はOVX動物においてアミリンにより媒介される著しい体重減少をもたらす可能性があるが、この仮説はまだ試験されていない。OVXラットとSHAMラットの間で急性のアミリンにより誘導されるc-Fosレベルには差がないという所見は、APにおけるアミリンの異なる効果が時間的または薬理的に独立であり得ることを示唆する。長期のアミリン処置後にAPにおける新たなニューロンがアミリン応答性であるかどうか、またはOVX動物においてアミリン処置後に見られる高い体重減少を、神経発生が生じないようにされる場合には弱めることができるかどうかを決定することは重要であろう。さらに、APならびに他の後脳領域においてエストロゲン受容体とアミリン応答性ニューロンの同時局在パターンを調べることにより確認することができるものなどの、アミリンシグナル伝達とエストロゲンシグナル伝達の間より直接的な結合はまだ決定されていない。APにおけるアミリンにより誘導されるc-Fosとエストロゲン受容体との同時局在、ならびにアミリンアンタゴニストがエストロゲンにより誘導される食物摂取の低下を阻害するかどうかの検討は、このような直接的関連が存在するかどうかを確認する助けとなるであろう。

【０２８７】

運動は海馬の神経発生を増大させることが示されており（３７）、一方、OVXは自発的運動の減少との関連が見出されている（３９）。また、カロリー制限も海馬において神経発生を増大させる（４０）。カロリー制限と運動が後脳の神経発生を増大させ得る程度はまだ探求されておらず、その上、直接的なアミリンシグナル伝達よりもむしろ、後脳の神経発生の促進に対する体重減少自体の役割は、これらの研究から詳細に示すことができない。DIOラットは、痩せ型ラットに比べて、述べられている脳領域の全てで有意に低い神経発生レベルを示す（本発明者らの未発表の所見）。また、後脳の神経発生におけるアミリンまたは体重減少により媒介される変化が同様に、前提となるその動物の体重の状態によって影響を受けるかどうかはまだ明らかでない。全体的に見て、肥満に関連するエストロゲン欠乏症の状態における、アミリンにより媒介される高い体重減少に関する高い後脳ニューロン成長生理学的結果はまだ完全に特徴付けられていない。

【０２８８】

本開示を詳細に示したが、当業者ならば、その主旨および範囲から逸脱することなく、変更および改変を行えることが分かるであろう。

【０２８９】

配列表

配列番号 1

KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFGAIISSSTNVGSNTY

ここで、²Cysおよび⁷Cysはジスルフィド結合によって連結され；かつ、³⁷Tyrは場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 2

CNTATCATQRLANFLVHSSNNFGAIISSSTNVGSNTY

ここで、¹Cysおよび⁶Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていてもよく；かつ、³⁷Tyrは場合によりアミド化されていてもよい。

10

20

30

40

50

配列番号 3

KCNTATCATQRLANFLIRSSNNLGAILSSSTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 4

KCNTATCATQRLANFLIRSSNNLGAVLSPTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 5

KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFGPILSSSTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

10

配列番号 6

KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFGAILPSTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 7

KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFGAILSPTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

20

配列番号 8

KCNTATCATQRLTNFLVRSSHNLGAALSPTDVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 9

KCNTATCATQRLTNFLVHSSHNLGAALLPTDVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 10

KCNTATCATQRLTNFLVHSSHNLGAALSPTDVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

30

配列番号 11

CNTATCATQRLTNFLVHSSHNLGAALSPTDVGSNTY

ここで、¹Cys および ⁶Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 12

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Arg His Ser Ser
Asn Asn Phe Gly Thr Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val Gly Ser Asp Thr Tyr

ここで、²Cys および ⁷Cys はジスルフィド結合によって連結され；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

40

配列番号 13

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Ile Arg Ser Ser
Asn Asn Leu Gly Ala Ile Leu Ser Pro Thr Asn Val Gly Ser Asn Thr Tyr

ここで、²Cys および ⁷Cys はジスルフィド結合によって連結され；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 14

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val Arg Thr Ser
Asn Asn Leu Gly Ala Ile Leu Ser Pro Thr Asn Val Gly Ser Asn Thr Tyr

ここで、²Cys および ⁷Cys はジスルフィド結合によって連結され；かつ、³⁷Tyr

50

r は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 1 5

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val Arg Ser Ser
Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly Ser Asn Thr Tyr

ここで、²Cys および ⁷Cys はジスルフィド結合によって連結され；かつ、³⁷Tyr
r は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 1 6

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val Arg Ser Ser
Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly Ser Asn Thr Tyr

ここで、²Cys および ⁷Cys はジスルフィド結合によって連結され；かつ、³⁷Tyr
r は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 1 7

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val Arg Ser Ser
Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Ser Pro Thr Asn Val Gly Ser Asn Thr Tyr

ここで、²Cys および ⁷Cys はジスルフィド結合によって連結され；かつ、³⁷Tyr
r は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 1 8

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Thr Asn Phe Leu Val Arg Ser Ser
His Asn Leu Gly Ala Ala Leu Leu Pro Thr Asn Val Gly Ser Asn Thr Tyr

ここで、²Cys および ⁷Cys はジスルフィド結合によって連結され；かつ、³⁷Tyr
r は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 1 9

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Thr Asn Phe Leu Val Arg Ser Ser
Asn Asn Leu Gly Ala Ala Leu Leu Pro Thr Lys Val Gly Ser Asn Thr Tyr

ここで、²Cys および ⁷Cys はジスルフィド結合によって連結され；かつ、³⁷Tyr
r は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 2 0

KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFGPILPPTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されてい
てもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 2 1

CNTATCATQRLANFLVHSSNNFGPILPPTNVGSNTY

ここで、¹Cys および ⁶Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されてい
てもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 2 2

KCNTATCATQRLANFLVRSSNNFGPILPPTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されてい
てもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 2 3

CNTATCATQRLANFLVRSSNNFGPVLPTNVGSNTY

ここで、¹Cys および ⁶Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されてい
てもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 2 4

KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFGPILPPTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されてい
てもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 2 5

KCNTATCATQRLANFLIHSSNNFGPILPPTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されてい
てもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 2 6

KCNTATCATQRLANFLVHSSNNLGPVLPPTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 2 7

KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPILPPTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 2 8

KCNTATCATQRLANFLIHSSNNLGPILPPTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 2 9

CNTATCATQRLANFLIHSSNNLGPILPPTNVGSNTY

ここで、¹Cys および ⁶Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 3 0

KCNTATCATQRLANFLIRSSNNRGPVLPPTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 3 1

KCNTATCATQRLTNFLVRSSHNLGPALPPTDVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 3 2

KCNTATCATQRLANFLVRSSNNFGPILPSTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 3 3

CNTATCATQRLANFLVRSSNNFGPILPSTNVGSNTY

ここで、¹Cys および ⁶Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 3 4

KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPILPSTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 3 5

KCNTATCATQRLANFLVHSSNNLGPVLPSTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 3 6

CNTATCATQRLANFLVHSSNNLGPVLPSTNVGSNTY

ここで、¹Cys および ⁶Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 3 7

KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPSTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 3 8

KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFGPILPSTNVGSNTY

10

20

30

40

50

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 3 9

KCNTATCATQRLTNFLVRSSHNLGAILPPTDVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 4 0

KCNTATCVLGKLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

10

配列番号 4 1

KCNTATCVLGRLSQELHRLQTLPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 4 2

KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPPTNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 4 3

KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

20

配列番号 4 4

KCNTATCVLGRLSQELHRLQTLPPTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 4 5

KCNTATCVLGRLANFLHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

30

配列番号 4 6

ACNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 4 7

KCNAATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 4 8

KCNTAACVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

40

配列番号 4 9

CANLSTCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 5 0

イソカプロイル-STAVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

50

配列番号 5 1

CSNASTCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

ここで、²C y s および ⁷C y s は場合によりジスルフィド結合によって連結されていてもよく；かつ、³²T y r は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 5 2

CSNLATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

ここで、²C y s および ⁷C y s は場合によりジスルフィド結合によって連結されていてもよく；かつ、³²T y r は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 5 3

CSNLSACVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

ここで、²C y s および ⁷C y s は場合によりジスルフィド結合によって連結されていてもよく；かつ、³²T y r は場合によりアミド化されていてもよい。

10

配列番号 5 4

KCNTATCVLGRLSQELHKLQTYPRNTGSENTY

ここで、²C y s および ⁷C y s は場合によりジスルフィド結合によって連結されていてもよく；かつ、³²T y r は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 5 5

KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSGTP

ここで、²C y s および ⁷C y s は場合によりジスルフィド結合によって連結されていてもよく；かつ、³²P r o は場合によりアミド化されていてもよい。

20

配列番号 5 6

CSALSTCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

ここで、¹C y s および ⁶C y s は場合によりジスルフィド結合によって連結されていてもよく；かつ、³²T y r は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 5 7

Ac-(Agy)SNLST(Agy)VLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

ここで、C 末端 T y r は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 5 8

Ac-K(Agy)NTAT(Agy)VLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

ここで、C 末端 T y r は場合によりアミド化されていてもよい。

30

配列番号 5 9

イソカプロイル-STAVL(Aib)RLSQELRLQTYPRNTGSGTP

ここで、C 末端 P r o は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 6 0

イソカプロイル-STAVLG[K(For)]LSQELH[K(For)]LQTYPRNTGSGTP

ここで、C 末端 P r o は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 6 1

イソカプロイル-STAVL(Aib)[K(For)]LSQEL(Aib)[K(For)]LQTYPRNTGSENTY

ここで、C 末端 T y r は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 6 2

イソカプロイル-STAVL(Aib)[K(For)]LSQEL(Aib)[K(For)]LQTYPRTNVGSNTY

ここで、C 末端 T y r は場合によりアミド化されていてもよい。

40

配列番号 6 3

KCNTATCLLQQLQKLLQKQYPRTNTGSENTY

ここで、²C y s および ⁷C y s は場合によりジスルフィド結合によって連結されていてもよく；かつ、³²T y r は場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 6 4

KCNTASCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

ここで、²C y s および ⁷C y s は場合によりジスルフィド結合によって連結されていてもよく；かつ、³²T y r は場合によりアミド化されていてもよい。

50

配列番号 6 5

KCNTAVCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 6 6

KCNTATCVLGRLSQELHRYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、²⁹Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 6 7

KCNTATCVLGK(For)LSQELHK(For)LQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、C 末端 Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 6 8

KCNTA(d-Thr)CVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 6 9

KCNTA(dAh)CVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 7 0

Ac-ACNTATCVLGRLSQELHK(PEG5000)LQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 7 1

KCNTATCVLGRLSQELHRLQTLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁵Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 7 2

KCNTATCVLGRLSQELHRLQTLLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁵Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 7 3

KCNTATCVLGKLSQELHKLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 7 4

KCNTSTCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 7 5

KCNTATCATQRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 7 6

KCNTATCATQRLSQELHRLQTYPRTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 7 7

KCNTSTCATQRLANELVRLQTYPRTNVGSNTY

10

20

30

40

50

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 7 8

KCNTA(Hse)CVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 7 9

KCNTA(Ahb)CVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

10

配列番号 8 0

KCNTA(Ahp)CVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 8 1

KCNTAT(OP03H2)CVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 8 2

KCNTATCVLG(Orn)LSQELH(Orn)LQTYPRNTGSNTY

20

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 8 3

KCNTATCVLG(Cit)LSQELH(Cit)LQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 8 4

KCNTATCVLG(homoK)LSQELH(homoK)LQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

30

配列番号 8 5

L-オクチルグリシンKCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 8 6

N-3,6-ジオキサオクタノイル-CNTATCVLGRLSQELHRLQTVPRNTGSNTY

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 8 7

KCNTATCMLGRYTQDFHRLQTYPRNTGSNTY

40

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 8 8

DSNLSTKVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 8 9

KDNATKVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 9 0

CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

50

ここで、¹Cysおよび⁶Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³¹Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 9 1

KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY(9Anc)

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 9 2

KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY(L-オクチルグリシン)

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

10

配列番号 9 3

N-イソカプロイル-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 9 4

KCNTATCVLG(homoR)LSQELH(homoR)LQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 9 5

FCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

20

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 9 6

KCNTATCVLGRLSQELH(Cit)LQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 9 7

KCNTATCVLGRLSQELH(Orn)LQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

30

配列番号 9 8

ICNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 9 9

1-オクチルグリシン-CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 1 0 0

イソカプロイル-CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

40

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 1 0 1

KCNTATCVLG(Cit)LSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 1 0 2

KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY(4ABU)

ここで、²Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyrは場合によりアミド化されていてよい。

50

配列番号 1 0 3

イソカプロイル-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY(4ABU)

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 1 0 4

KCNTSTCATQRLANELVRLQTYPRNTVGSEAF

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Phe は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 1 0 5

KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPTNVGSEAF

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Phe は場合によりアミド化されているもよい。

10

配列番号 1 0 6

KCNTATCVLGRLSRSLHRLQTYPRNTGSENTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 1 0 7

KCNTATCVTHRLSSELHRLQTYPRNTGSENTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

20

配列番号 1 0 8

KCNTATCVLGRGLADFLHRLQTYPRNTGSENTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 1 0 9

CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENT

ここで、¹Cys および ⁶Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁰Thr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 1 1 0

KCNTATCVLGRLSQELHRLQNFVPRNTGSENTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

30

配列番号 1 1 1

KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSETF

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Phe は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 1 1 2

ACDTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

40

配列番号 1 1 3

KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSKAF

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Phe は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 1 1 4

KCDTATCVTHRLAGLLSRSQTYPRNTGSENTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 1 1 5

KCNTATCVLGRGLADALHRLQTYPRNTGSENTY

50

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 1 1 6

KCNTATCVLGRLLAAFLHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 1 1 7

SCNTATCVLGRLLADFLHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

10

配列番号 1 1 8

KCNTATCVLGRLLSQELHRLQTMPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 1 1 9

KCNTATCVLGRLLSQELHRLQTVPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 1 2 0

KCNTATCVLGRLLNEYLHRLQTYPRNTGSNTY

20

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 1 2 1

SCNTATCVLGRLLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 1 2 2

KCNTATCVLGRLLTEFLHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

30

配列番号 1 2 3

KCNTATCVLGRLLAEFLHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 1 2 4

KCNTATCVLGRLLTDYLHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 1 2 5

KCNTATCVLGRLLAQFLHRLQTYPRNTGSNTY

40

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 1 2 6

KCNTATCVLGRLLADFLHRFQTFPRNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

配列番号 1 2 7

KCNTATCVLGRLLADFLHRFHTFPRTNTGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されていて
もよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されていてよい。

50

配列番号 1 2 8

KCNTATCVLGRLADFLHRFQTFPRTNTGSGTP

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Ph e は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 1 2 9

CNTATCVLGRLADFLHRLQTYPRNTGSENTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 1 3 0

KCDTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

10

配列番号 1 3 1

KCNTATCVLGRLFDLHRLQTYPRNTGSENTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 1 3 2

KCNTATCVLGRLAAALHRLQTYPRNTGSENTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

20

配列番号 1 3 3

TCDTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 1 3 4

CSNLSTCATQRLANELVRLQTYPRTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 1 3 5

KCNTATCATQRLANELVRLQTYPRTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

30

配列番号 1 3 6

CSNLSTCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 1 3 7

KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSENTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³²Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

40

配列番号 1 3 8

KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFGA I LPPTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 1 3 9

KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFGP I LSPTNVGSNTY

ここで、²Cys および ⁷Cys は場合によりジスルフィド結合によって連結されているもよく；かつ、³⁷Tyr は場合によりアミド化されているもよい。

配列番号 1 4 0

CGNLSTCMLGTYTQDFNKFHTFPQTA I GVGAP

50

ここで、¹Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていてもよく；かつ、³²Proは場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 141

CSNLSTCVLGKLSQELHKLQTYPRNTGSGTP

ここで、¹Cysおよび⁷Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていてもよく；かつ、³²Proは場合によりアミド化されていてもよい。

配列番号 142

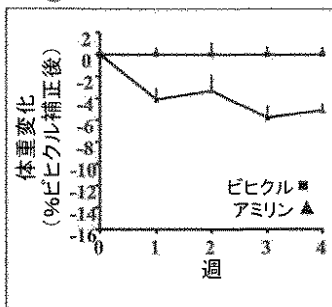
HGEGTFTSDLSKQLEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSGGKCNATATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY

ここで、⁴⁴Cysおよび⁴⁹Cysは場合によりジスルフィド結合によって連結されていてもよく；かつ、³²Proは場合によりアミド化されていてもよい。

10

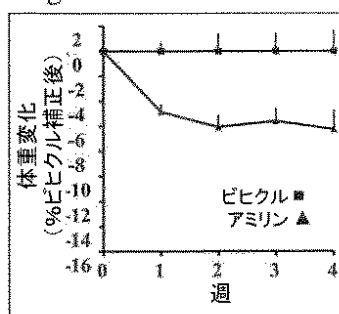
【図 1 A】

Figure 1A



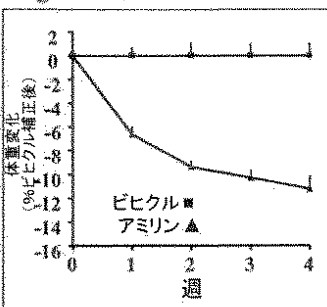
【図 1 C】

Figure 1C



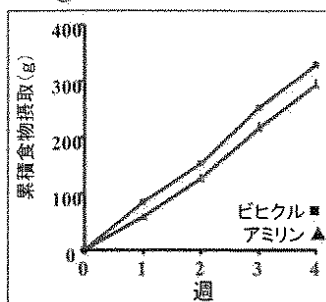
【図 1 B】

Figure 1B



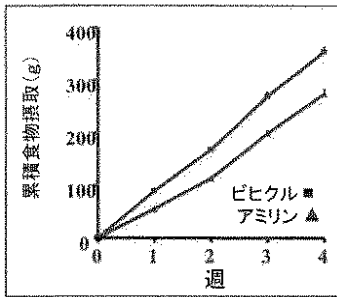
【図 2 A】

Figure 2A



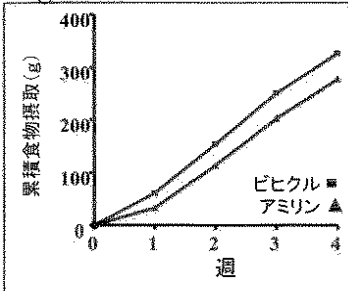
【図 2 B】

Figure 2B



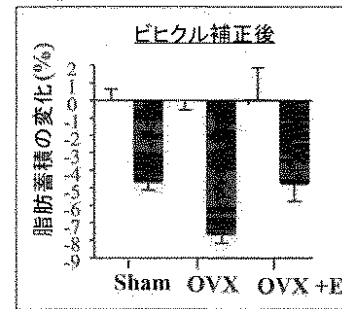
【図 2 C】

Figure 2C



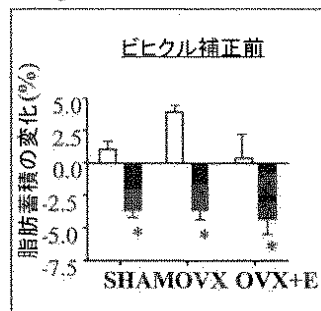
【図 3 A】

Figure 3A



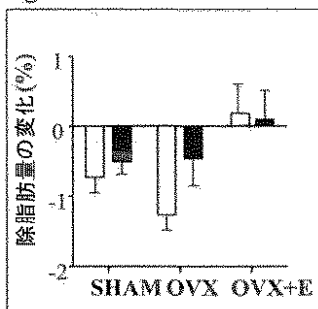
【図 3 B】

Figure 3B



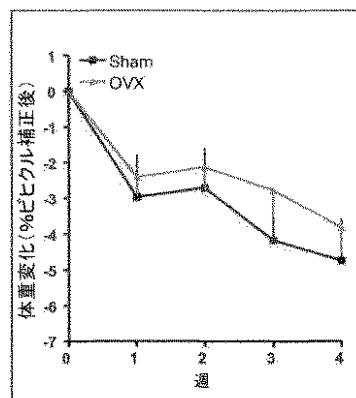
【図 3 C】

Figure 3C



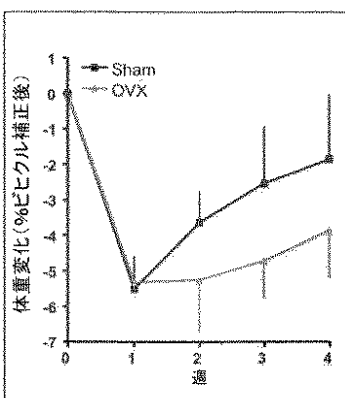
【図 4 B】

Figure 4B



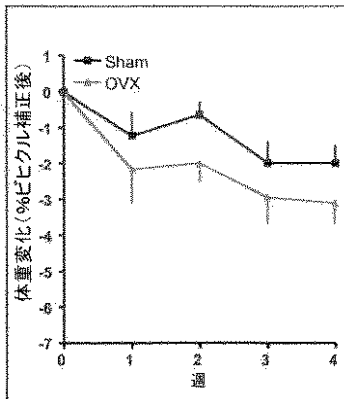
【図 4 A】

Figure 4A



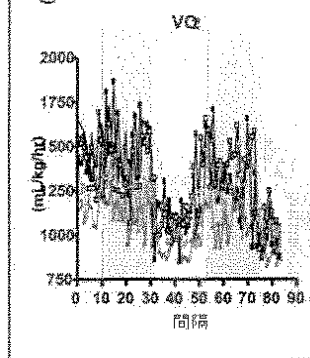
【図 4 C】

Figure 4C



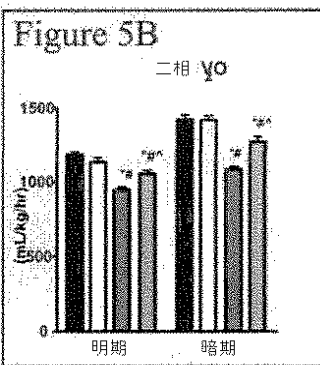
【図 5 A】

Figure 5A



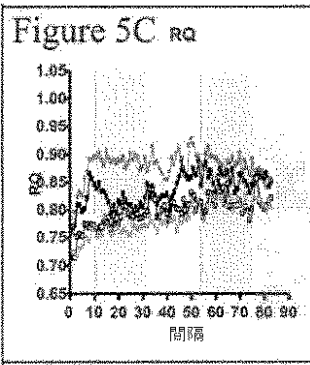
SHAM・ビヒクル
 SHAM・アミリン
 OVX・ビヒクル
 OVX・アミリン

【図 5 B】



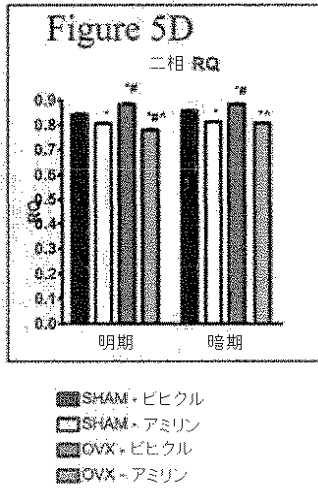
SHAM・ビヒクル
 SHAM・アミリン
 OVX・ビヒクル
 OVX・アミリン

【図 5 C】

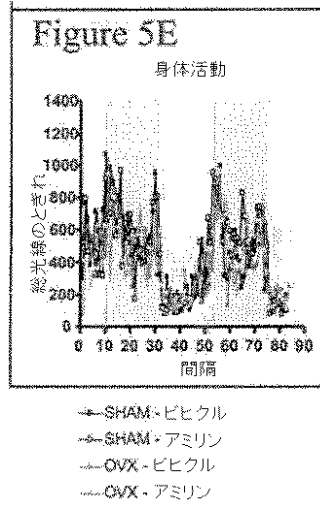


SHAM・ビヒクル
 SHAM・アミリン
 OVX・ビヒクル
 OVX・アミリン

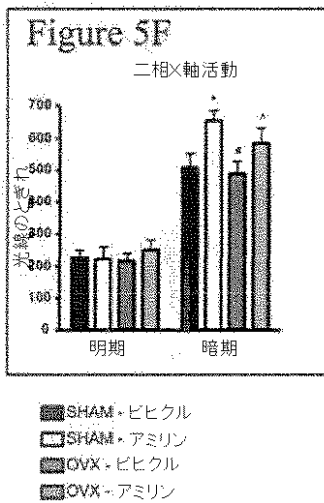
【図 5 D】



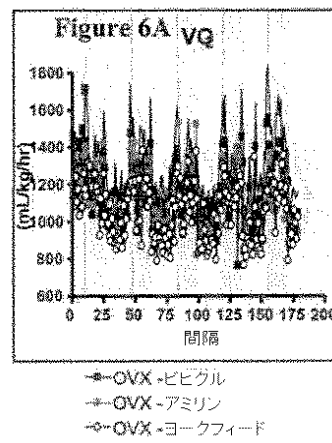
【図 5 E】



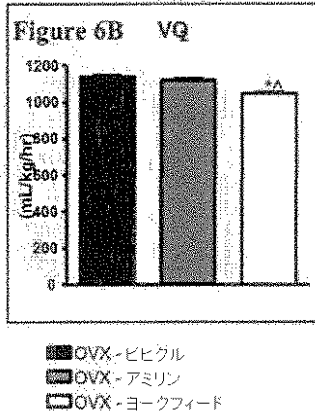
【図 5 F】



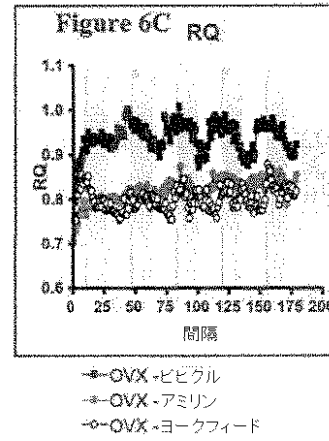
【図 6 A】



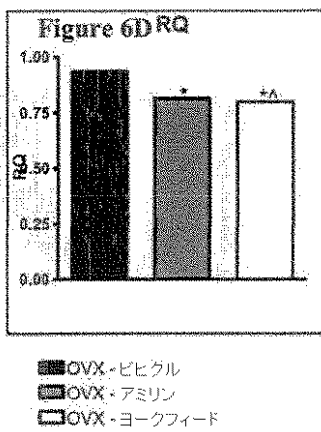
【図 6 B】



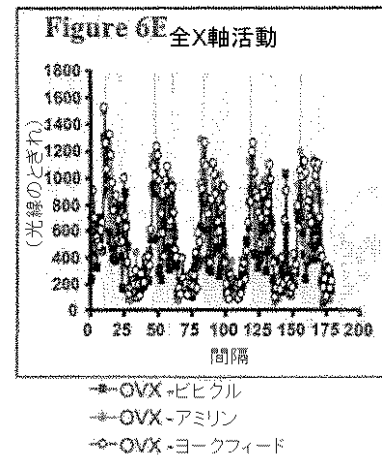
【図 6 C】



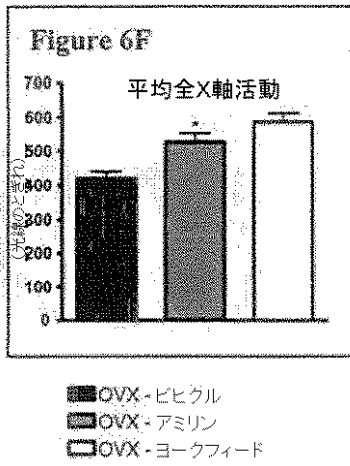
【図 6 D】



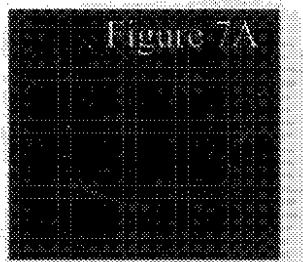
【図 6 E】



【図 6 F】



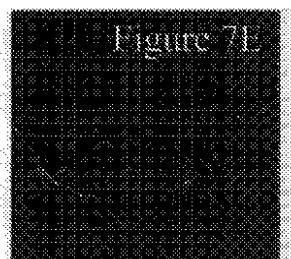
【図 7 A】



【図 7 D】



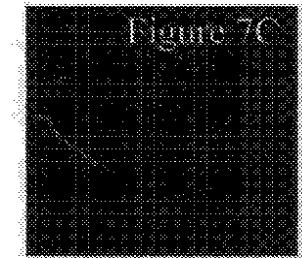
【図 7 E】



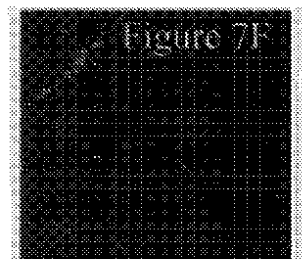
【図 7 B】



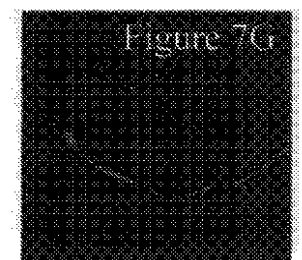
【図 7 C】



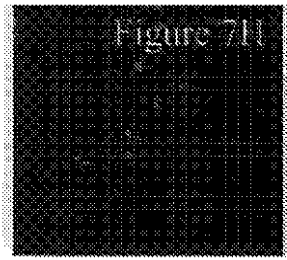
【図 7 F】



【図 7 G】

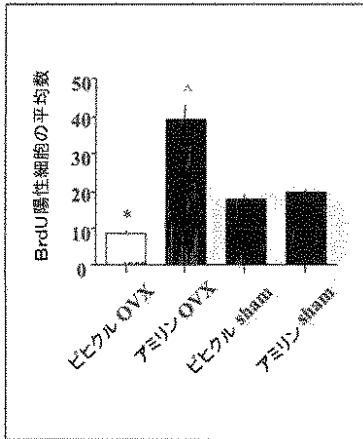


【図 7 H】



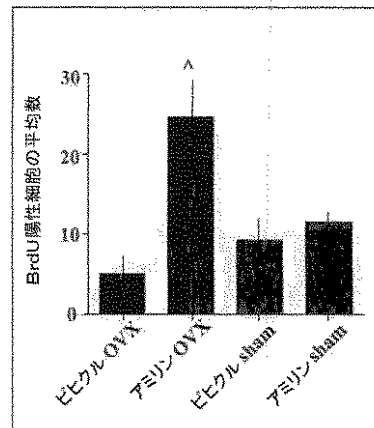
【図 7 I】

Figure 7I

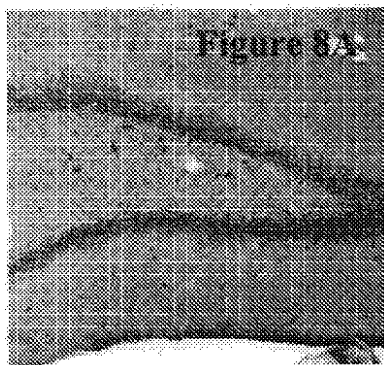


【図 7 J】

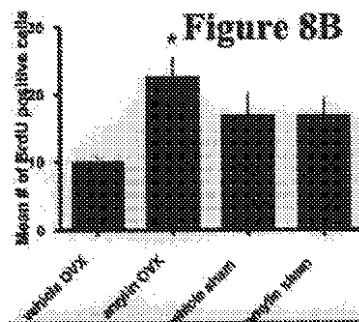
Figure 7J



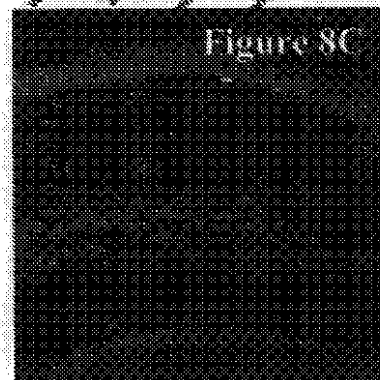
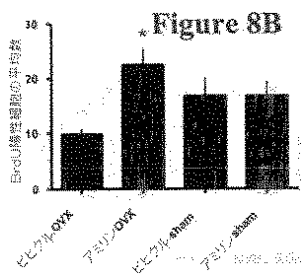
【図 8 A】



【図 8 C】

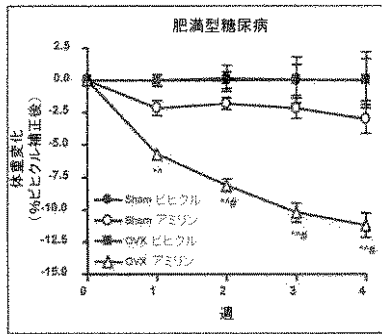


【図 8 B】



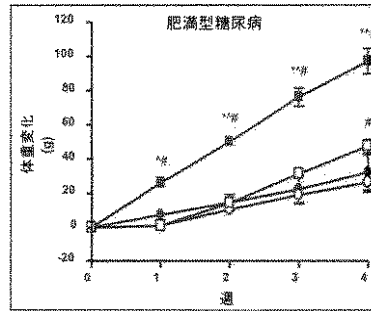
【図 9 A】

Figure 9A



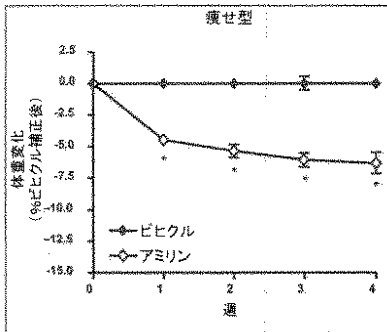
【図 9 C】

Figure 9C



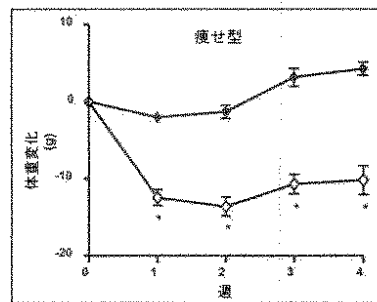
【図 9 B】

Figure 9B



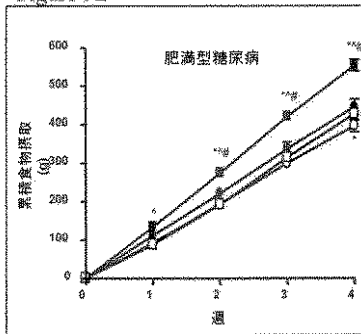
【図 9 D】

Figure 9D



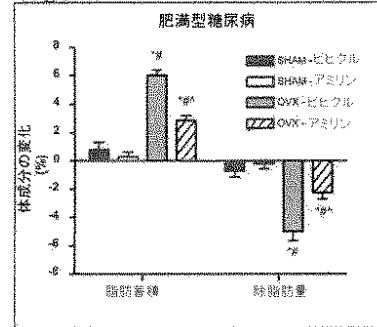
【図 9 E】

Figure 9E



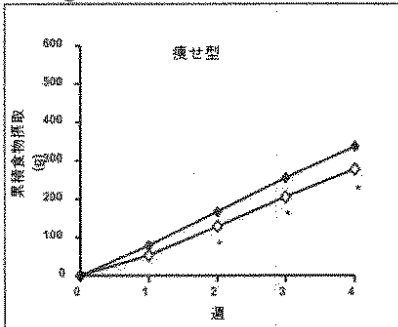
【図 9 G】

Figure 9G



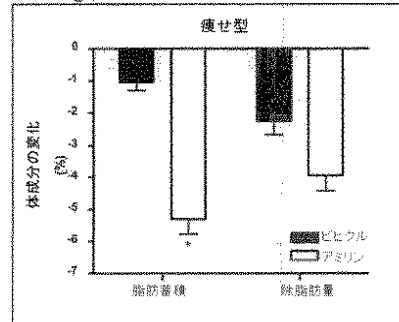
【図 9 F】

Figure 9F



【図 9 H】

Figure 9H



【配列表】

2012523434000001.xml

【手続補正書】

【提出日】平成23年11月30日(2011.11.30)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2012523434000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 10/30625

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 38/00; A61K 38/28 (2010.01) USPC - 514/12; 514/4, 530/324 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8) - A61K 38/00; A61K 38/28 (2010.01) USPC - 514/12; 514/4, 530/324 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC - 514/3, 514/866, 514/2, 514/864 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PubWEST (PGPB,USPT,USOC,EPAB,JPAB), Google Scholar: amyloid peptide, amylin, diabetes-associated peptide, obes\$, obesity, upregulat\$, regulat\$ or agonis\$, promot\$, enhanc\$, increas\$, activat\$, analog, estrogen, hormone, low, reduc\$, insulf\$, defic\$ osteop\$, bone, overweight, body fat, \$menopausal, perimen\$. GenCore 6.3: SEQ ID NO: 1, 20		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	Horcajada-Molteni et al. Amylin inhibits ovariectomy-induced bone loss in rats. Journal of Endocrinology 2000, 165 (3):663; abstract, pg 664, 1st para	1 13-14
X — Y	US 2009/0030036 A1 (DALTON et al.) 29 January 2009 (29.01.2009) para [0048]; [0258]; [0260]; [0262]; [0265]; [0286]; [0287]; [0293]; [0303]; [0328]; [0358]; [0386]; [0387]; [0413]; [0425]; [0426]; [0488]; [0490]; [0521]; [0523]; [0547]; [0584]; [0588]; [0594]; [0597]; [0598]; [0608]; [0671]; [0672]	2-8, 11-12, 15-23, 26-30, 45-51, 62-66, 82, 94 9-10, 13-14, 24, 31-32, 37-41, 52-59, 61, 67-81, 85, 90-93
X — Y	US 2006/0035847 A1 (FUJIKURA et al.) 16 February 2006 (16.02.2006) para [0012]; [0013]; [0047]; [0048]; [0054]; [0055]; [0065]; [0077]; abstract	25 24
Y	US 2008/0207512 A1 (ROTH et al.) 28 August 2008 (28.08.2008) para [0010]; [0011]; [0060]; [0062]; [0066]; [0073]; [0083]; [0126]; [0190]; [0191]; [0238]; [0242]; [0484]	9-10, 58-59, 85, 92-93
Y	US 2004/0038900 A1 (GAETA et al.) 26 February 2004 (26.02.2004) para [0028]; [0030]; [0037]; [0039]; [0066]; [0067]; [0087]; [0091]; abstract; SEQ ID NOs: 1, 9, 41	31-32, 37-41, 52-57, 61, 68-81, 90-91
Y	US 2009/0054383 A1 (LABRIE F.) 26 February 2009 (26.02.2009) para [0026]; [0285]; abstract; Fig 13	67
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 16 November 2010 (16.11.2010)		Date of mailing of the international search report 22 NOV 2010
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT Q&P: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 10/30625

***** Supplemental Box *****

continuation of Box No. III: Observations where unity of invention is lacking

The inventions listed as Group I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The inventions of Group I+ share the technical feature of a method for treating estrogen deficiency in a mammal in need thereof comprising administering to the estrogen-deficient mammal a therapeutically effective amount of an amylin agonist compound. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art. Specifically, a paper titled "Amylin Inhibits ovariectomy-induced bone loss in rats" by Horcajada-Molteni et al. (Journal of Endocrinology 2000, 165(3):663) discloses a method for treating estrogen deficiency in a mammal in need thereof comprising administering to the estrogen-deficient mammal a therapeutically effective amount of an amylin agonist compound (abstract). As said method was known at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

Another technical feature of the inventions listed as Group I+ is the specific amylin agonist compound. The inventions do not share a special technical feature, because US 2002/0068814 A1 to Smith, et al. discloses the claimed amylin agonist, polypeptide of SEQ ID NO:1 (Smith, et al., SEQ ID NO: 16), and no significant novel structural similarities can readily be ascertained among the amino acid sequences. Without a shared special technical feature, the inventions lack unity with one another.

The inventions of Group I+ therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 10/30625

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing filed or furnished:

a. (means)

☐

on paper

☒

in electronic form

b. (time)

☐

in the international application as filed

☒

together with the international application in electronic form

☐

subsequently to this Authority for the purposes of search

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

GenCore 6.3: SEQ ID NO: 1, 20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 10/30625

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 60, 83-84, 95-99
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1.

Group I+: claims 1-59, 61-82, 85-94, drawn to a method for treating estrogen deficiency in a mammal in need thereof comprising administering to the estrogen-deficient mammal a therapeutically effective amount of an amylin agonist compound. The first invention encompasses a method comprising administering an amylin agonist compound of SEQ ID NO:1. Due to the number of sequences in this application, an additional invention(s) of Group I+ will be defined as necessary depending on Applicant's ultimate payment of additional fees. The additional sequences will be searched if applicant pays for each additional sequence or shows that the sequences share a special technical feature, i.e. a common structure or feature that defines a contribution over the prior art. Note that each additional sequence to be searched must be specified by the Applicant in the response to this invitation and must either (1) have an additional invention fee paid or (2) have a showing that the sequences share a common structure or feature that defines a contribution over the prior art. The exact claims searched will depend on the specifically elected SEQ ID NO(s).

[Claims 33-36, 42-44, 60, 86-89 were excluded from the search, because they are drawn to a non-elected subject matter.]

***** See Supplemental Box to continue *****

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☒ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
Claims 1-32, 37-41, 45-59, 61-82, 85, 90-94, restricted to sequences SEQ ID NO: 1 and 20.
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

１．ウィンドウズ

(74)代理人 100156122

弁理士 佐藤 剛

(74)代理人 100165892

弁理士 坂田 啓司

(72)発明者 ジョナサン・ディ・ロス

アメリカ合衆国 9 2 1 2 1 カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ 9 3 6 0 番、インテレクチュアル・プロパティ・グループ、アミリン・ファーマシューティカルズ、インコーポレイテッド内

(72)発明者 ジェイムス・エル・トレバスキス

アメリカ合衆国 9 2 1 2 1 カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ 9 3 6 0 番、インテレクチュアル・プロパティ・グループ、アミリン・ファーマシューティカルズ、インコーポレイテッド内

(72)発明者 デイビッド・ジー・パークス

アメリカ合衆国 9 2 1 2 1 カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ 9 3 6 0 番、インテレクチュアル・プロパティ・グループ、アミリン・ファーマシューティカルズ、インコーポレイテッド内

F ターム(参考) 4C084 AA02 BA01 BA19 CA53 MA55 MA59 MA66 NA14 ZA702 ZC352