

(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2004-537581
(P2004-537581A)

(43) 公表日 平成16年12月16日(2004.12.16)

(51) Int.Cl. ⁷		F 1			テーマコード (参考)		
C07K	7/02	C 07 K	7/02	Z N A	4 C 08 4		
A61K	38/00	A 61 P	3/04		4 H 04 5		
A61P	3/04	A 61 P	15/00				
A61P	15/00	A 61 P	25/04				
A61P	25/04	A 61 P	25/18				
		審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 90 頁) 最終頁に続く					
(21) 出願番号	特願2003-518580 (P2003-518580)	(71) 出願人	390023526				
(86) (22) 出願日	平成14年8月2日 (2002.8.2)	メルク エンド カムパニー インコーポ					
(85) 翻訳文提出日	平成16年2月6日 (2004.2.6)	レーテッド					
(86) 國際出願番号	PCT/US2002/026796	M E R C K & C O M P A N Y I N C					
(87) 國際公開番号	W02003/013574	O P O R A T E D					
(87) 國際公開日	平成15年2月20日 (2003.2.20)	アメリカ合衆国、ニュージャージィ、ロー					
(31) 優先権主張番号	60/310,928	ウエイ、イースト リンカーン アヴェニ					
(32) 優先日	平成13年8月8日 (2001.8.8)	ュー 126					
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100062007				
(81) 指定国	EP (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,	弁理士 川口 義雄					
ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), CA, JP, U	S	(74) 代理人	100113332				
		弁理士 一入 章夫					
		(74) 代理人	100114188				
		弁理士 小野 誠					
最終頁に続く							

(54) 【発明の名称】 メラニン濃縮ホルモン拮抗物質

(57) 【要約】

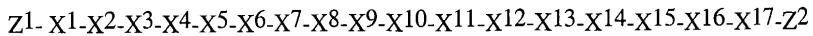
本発明は、MCH-1Rにおいて活性なMCH拮抗物質を対象とする。該拮抗物質は、MCH-1RでのMCHの作用を阻害することができる、場合により修飾されたペプチドである。MCH拮抗物質は、研究ツールとして使用すること及び被験対象において有益な作用を達成するために使用することを含む、様々な用途を有する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

次の構造：

【化 1】



[式中、 X^1 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり； 10]

X^2 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X^3 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり； 20]

X^4 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸若しくはノルロイシン、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X^5 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり； 30]

X^6 は、存在する場合は、アルギニン、アラニン、ロイシン、グリシン、リシン、プロリン、アスパラギン、セリン、ヒスチジン、ニトロアルギニン、ホモアルギニン、シトルリン、ホモシトルリン、ノルロイシン、D-アルギニン、デス-アミノ-アルギニン、4-グアニジノ酪酸、3-グアニジノプロピオン酸、グアニジノ酢酸若しくは3-グアニジノプロピオン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X^7 は、システイン、ホモシステイン、ペニシラミン若しくはD-システイン、又はその誘導体であり；

X^8 は、メチオニン、ノルロイシン、ロイシン、イソロイシン、バリン、メチオニンスルホキシド、-アミノ酪酸若しくはメチオニンスルホン、又はその誘導体であり； 40]

X^9 は、ロイシン、イソロイシン、バリン、アラニン、メチオニン、5-アミノペンタン酸、D-ノルロイシン、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸若しくは-アラニン、又はその誘導体であり；

X^{10} は、グリシン、アラニン、ロイシン、ノルロイシン、シクロヘキシリアラニン、5-アミノペンタン酸、アスパラギン、セリン、サルコシン、イソ酪酸、D-ノルロイシン、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸若しくは-アラニン、又はその誘導体であり；

X^{11} は、アルギニン、リシン、シトルリン、ヒスチジン若しくはニトロアルギニン、又はその誘導体であり；

X^{12} は、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン若しくはメチオニン、又はその誘 50]

導体であり；

X¹³は、フェニルアラニン、チロシン、D-(p-ベンゾイルフェニルアラニン)、トリプトファン、(1')-及び(2')-ナフチルアラニン、シクロヘキシルアラニン、若しくは各々の置換基がO-アルキル、アルキル、OH、NO₂、NH₂、F、I及びBrから成る群より独立して選択される一及び多置換フェニルアラニン、又はその誘導体であり；

X¹⁴は、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸、-アラニン又はシス-4-アミノ-1-シクロヘキサンカルボン酸であり；

X¹⁵は、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸、-アラニン又はシス-4-アミノ-1-シクロヘキサンカルボン酸であり；

X¹⁶は、システイン、ホモシステイン若しくはペニシラミン、又はその誘導体であり；

X¹⁷は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

Z¹は、存在する場合は、N-末端アミノ基に共有結合している、場合により存在する保護基であり；

Z²は、存在する場合は、C-末端カルボキシ基に共有結合している、場合により存在する保護基であり、

但し、下記：

X⁹及びX¹⁰は、各々5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸、-アラニン及びシス-4-アミノ-1-シクロヘキサンカルボン酸から成る群より独立して選択されること；及びX⁶は、5-グアニジノ吉草酸、D-アルギニン、4-グアニジノ酪酸、3-グアニジノプロピオン酸、グアニジノ酢酸又は3-グアニジノプロピオン酸であることのいずれか又は両方であることを条件とする】

を有する、場合により置換されたペプチド、又は前記ペプチドの標識誘導体、又は前記ペプチド若しくは前記標識誘導体の医薬適合性の塩。

【請求項2】

前記X⁶アミノ酸が存在し、及び下記：

X⁶は、デス-アミノ-アルギニン又はD-アルギニンであること、及び

X⁹及びX¹⁰は、各々5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸及び-アラニンから成る群より独立して選択されることのいずれか又は両方である、請求項1に記載のペプチド。

【請求項3】

X¹、X²、X³、X⁴、X⁵及びX¹⁷が存在しない、請求項2に記載のペプチド。

【請求項4】

X⁶はデス-アミノ-アルギニンである、請求項3に記載のペプチド。

【請求項5】

X⁷は、システインであり；

X⁸は、メチオニン又はノルロイシンであり；

X⁹は、ロイシン、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸又は-アラニンであり；

X¹⁰は、グリシン、D-ノルロイシン、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸又は-アラニンであり；

X¹¹は、アルギニンであり；

X¹²は、バリン又はアラニンであり；

X¹³は、チロシンであり；及び

X¹⁶は、システインである、請求項4に記載のペプチド。

【請求項6】

X¹⁴及びX¹⁵は各々5-アミノ吉草酸である、請求項5に記載のペプチド。

【請求項7】

10

20

30

40

50

X^{1-4} 及び X^{1-5} は各々 - アミノ酪酸である、請求項 5 に記載のペプチド。

【請求項 8】

X^{1-4} 及び X^{1-5} は各々 - アラニンである、請求項 5 に記載のペプチド。

【請求項 9】

Z^1 は - C (O) CH₃ であり、及び Z^2 は - NH₂ である、請求項 5 に記載のペプチド。

【請求項 10】

前記ペプチドが、配列番号 11、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 16、配列番号 20、配列番号 27、配列番号 33 又は医薬適合性のその塩である、請求項 1 に記載のペプチド。

10

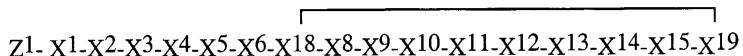
【請求項 11】

前記ペプチドが、配列番号 11、配列番号 27 又は医薬適合性のその塩である、請求項 1 0 に記載のペプチド。

【請求項 12】

次の構造：

【化 2】



[式中、 X^1 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X^2 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X^3 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X^4 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸若しくはノルロイシン、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X^5 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X^6 は、存在する場合は、アルギニン、アラニン、ロイシン、グリシン、リシン、プロリン、アスパラギン、セリン、ヒスチジン、ニトロアルギニン、ホモアルギニン、シトルリン、ホモシトルリン、ノルロイシン、D-アルギニン、デス-アミノ-アルギニン、4-グアニジノ酪酸、3-グアニジノプロピオン酸、グアニジノ酢酸若しくは3-グアニジノプロピオン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X^8 は、メチオニン、ノルロイシン、ロイシン、イソロイシン、バリン、メチオニンスル

20

30

40

50

ホキシド、 - アミノ酪酸若しくはメチオニンスルホン、又はその誘導体であり；
 X^9 は、ロイシン、イソロイシン、バリン、アラニン、メチオニン、5 - アミノペンタン酸、D - ノルロイシン、5 - アミノ吉草酸、 - アミノ酪酸若しくは - アラニン、又はその誘導体であり；

X^{10} は、グリシン、アラニン、ロイシン、ノルロイシン、シクロヘキシリアルアラニン、5 - アミノペンタン酸、アスパラギン、セリン、サルコシン、イソ酪酸、D - ノルロイシン、5 - アミノ吉草酸、 - アミノ酪酸又は - アラニン、若しくはその誘導体であり；
 X^{11} は、アルギニン、リシン、シトルリン、ヒスチジン若しくはニトロアルギニン、又はその誘導体であり；

X^{12} は、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン若しくはメチオニン、又はその誘導体であり；
10

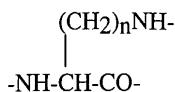
X^{13} は、フェニルアラニン、チロシン、D - (p - ベンゾイルフェニルアラニン)、トリプトファン、(1') - 及び(2') - ナフチルアラニン、シクロヘキシリアルアラニン、若しくは各々の置換基がO - アルキル、アルキル、OH、NO₂、NH₂、F、I及びBrから成る群より独立して選択される一及び多置換フェニルアラニンであるか、又はその誘導体であり；

X^{14} は、5 - アミノ吉草酸、 - アミノ酪酸、 - アラニン又はシス - 4 - アミノ - 1 - シクロヘキサンカルボン酸であり；

X^{15} は、5 - アミノ吉草酸、 - アミノ酪酸、 - アラニン又はシス - 4 - アミノ - 1 - シクロヘキサンカルボン酸であり；
20

X^{18} は、次の構造：

【化3】



[式中、nは、1、2、3、4又は5である]

を有する， - ジ - アミノ - カルボン酸であり；

X^{19} は、存在する場合は - カルボキシ - - アミノ酸である、場合により存在するアミノ酸であり；
30

Z^1 は、存在する場合は、N - 末端アミノ基に共有結合している、場合により存在する保護基であり；

但し、下記：

X^9 及び X^{10} は、各々5 - アミノ吉草酸、 - アミノ酪酸、 - アラニン及びシス - 4 - アミノ - 1 - シクロヘキサンカルボン酸から成る群より独立して選択されること；及び
 X^6 は、5 - グアニジノ吉草酸、D - アルギニン、4 - グアニジノ酪酸、3 - グアニジノプロピオン酸、グアニジノ酢酸又は3 - グアニジノプロピオン酸であることのいずれか又は両方であることを条件とする]

を有する、場合により置換されたペプチド、又は前記ペプチドの標識誘導体、又は前記ペプチド若しくは前記標識誘導体の医薬適合性の塩。
40

【請求項13】

X^1 、 X^2 、 X^3 、 X^4 及び X^5 が存在しない、請求項12に記載のペプチド。

【請求項14】

X^8 は、メチオニン又はノルロイシンであり；

X^9 は、ロイシン、5 - アミノ吉草酸、 - アミノ酪酸又は - アラニンであり；

X^{10} は、グリシン、D - ノルロイシン、5 - アミノ吉草酸、 - アミノ酪酸又は - アラニンであり；

X^{11} は、アルギニンであり；

X^{12} は、バリン又はアラニンであり；

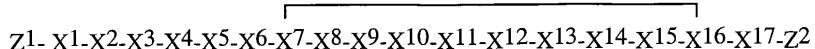
X^{13} は、チロシンであり；
50

X¹⁹ は、存在する場合は、アスパラギン酸、グルタミン酸又はアジピン酸であり；及びZ¹ は、 - C (O) CH₃ である、請求項 1 3 に記載のペプチド。

【請求項 1 5】

次の構造：

【化 4】



[式中、 X¹ は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X² は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X³ は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X⁴ は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸若しくはノルロイシン、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X⁵ は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X⁶ は、存在する場合は、アルギニン、アラニン、ロイシン、グリシン、リシン、プロリン、アスパラギン、セリン、ヒスチジン、ニトロアルギニン、ホモアルギニン、シトルリン、ホモシトルリン、ノルロイシン、D - アルギニン、デス - アミノ - アルギニン、4 - グアニジノ酪酸、3 - グアニジノプロピオン酸、グアニジノ酢酸若しくは3 - グアニジノプロピオン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X⁷ は、システイン、ホモシステイン、ペニシラミン若しくはD - システイン、又はその誘導体であり；

X⁸ は、メチオニン、ノルロイシン、ロイシン、イソロイシン、バリン、メチオニンスルホキシド、 - アミノ酪酸若しくはメチオニンスルホン、又はその誘導体であり；

X⁹ は、ロイシン、イソロイシン、バリン、アラニン、メチオニン、5 - アミノペンタン酸、D - ノルロイシン、5 - アミノ吉草酸、 - アミノ酪酸若しくは - アラニン、又はその誘導体であり；

X¹⁰ は、グリシン、アラニン、ロイシン、ノルロイシン、シクロヘキシリアルアニン、5 - アミノペンタン酸、アスパラギン、セリン、サルコシン、イソ酪酸、D - ノルロイシン、5 - アミノ吉草酸、 - アミノ酪酸若しくは - アラニン、又はその誘導体であり；

X¹¹ は、アルギニン、リシン、シトルリン、ヒスチジン若しくはニトロアルギニン、又はその誘導体であり；

10

20

30

40

50

$X^{1\ 2}$ は、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン若しくはメチオニン、又はその誘導体であり；

$X^{1\ 3}$ は、フェニルアラニン、チロシン、D-(p-ベンゾイルフェニルアラニン)、トリプトファン、(1')-及び(2')-ナフチルアラニン、シクロヘキシリアラニン、若しくは各々の置換基がO-アルキル、アルキル、OH、NO₂、NH₂、F、I及びBrから成る群より独立して選択される一及び多置換フェニルアラニンであるか、又はその誘導体であり；

$X^{1\ 4}$ は、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸、-アラニン又はシス-4-アミノ-1-シクロヘキサンカルボン酸であり；

$X^{1\ 5}$ は、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸、-アラニン又はシス-4-アミノ-1-シクロヘキサンカルボン酸であり； 10

$X^{1\ 6}$ は、システイン、ホモシステイン若しくはペニシラミン、又はその誘導体であり；

$X^{1\ 7}$ は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

Z^1 は、存在する場合は、N-末端アミノ基に共有結合している、場合により存在する保護基であり；

Z^2 は、存在する場合は、C-末端カルボキシ基に共有結合している、場合により存在する保護基であり。 20

但し、下記：

X^9 及び $X^{1\ 0}$ は、各々5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸、-アラニン及びシス-4-

-アミノ-1-シクロヘキサンカルボン酸から成る群より独立して選択されること；及び X^6 は、5-グアニジノ吉草酸、D-アルギニン、4-グアニジノ酪酸、3-グアニジノプロピオン酸、グアニジノ酢酸又は3-グアニジノプロピオン酸であることのいずれか又は両方が該当することを条件とする]

を有する、場合により置換されたペプチド、又は前記ペプチドの標識誘導体、又は前記ペプチド若しくは前記標識誘導体の医薬適合性の塩の有効量を被験対象に投与する段階を含む、前記被験対象においてMCH-1R活性を阻害する方法。 30

【請求項16】

前記 X^6 アミノ酸が存在し、及び下記：

X^6 は、デス-アミノ-アルギニン又はD-アルギニンであること、及び

X^9 及び $X^{1\ 0}$ は、各々5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸及び-アラニンから成る群より独立して選択されることのいずれか又は両方が該当する、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

X^1 、 X^2 、 X^3 、 X^4 、 X^5 及び $X^{1\ 7}$ が存在しない、請求項16に記載の方法。

【請求項18】

X^7 は、システインであり；

X^8 は、メチオニン又はノルロイシンであり； 40

X^9 は、ロイシン、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸又は-アラニンであり；

$X^{1\ 0}$ は、グリシン、D-ノルロイシン、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸又は-アラニンであり；

$X^{1\ 1}$ は、アルギニンであり；

$X^{1\ 2}$ は、バリン又はアラニンであり；

$X^{1\ 3}$ は、チロシンであり；及び

$X^{1\ 6}$ は、システインである、請求項17に記載の方法。

【請求項19】

X^6 はデス-アミノ-アルギニンである、請求項18に記載の方法。

【請求項20】

$X^{1\sim 4}$ 及び $X^{1\sim 5}$ は各々 5 - アミノ吉草酸である、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 1】

$X^{1\sim 4}$ 及び $X^{1\sim 5}$ は各々 - アミノ酪酸である、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 2】

$X^{1\sim 4}$ 及び $X^{1\sim 5}$ は各々 - アラニンである、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 3】

Z^1 は - C (O) CH₃ であり、及び Z^2 は - NH₂ である、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記ペプチドが、配列番号 1 1、配列番号 1 3、配列番号 1 4、配列番号 1 6、配列番号 2 0、配列番号 2 7、配列番号 3 0、配列番号 3 3 又は医薬適合性のその塩である、請求項 1 5 に記載の方法。 10

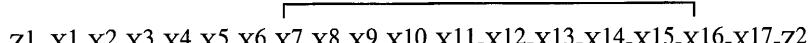
【請求項 2 5】

前記ペプチドが、配列番号 1 1、配列番号 2 7 又は医薬適合性のその塩である、請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 6】

次の構造：

【化 5】



20

[式中、 X^1 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X^2 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X^3 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X^4 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸若しくはノルロイシン、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X^5 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X^6 は、存在する場合は、アルギニン、アラニン、ロイシン、グリシン、リシン、プロリン、アスパラギン、セリン、ヒスチジン、ニトロアルギニン、ホモアルギニン、シトルリン、ホモシトルリン、ノルロイシン、D - アルギニン、デス - アミノ - アルギニン、4 - グアニジノ酪酸、3 - グアニジノプロピオン酸、グアニジノ酢酸若しくは3 - グアニジノプロピオン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

30

40

50

50

X⁷は、システイン、ホモシステイン、ペニシラミン若しくはD-システイン、又はその誘導体であり；

X⁸は、メチオニン、ノルロイシン、ロイシン、イソロイシン、バリン、メチオニンスルホキシド、-アミノ酪酸若しくはメチオニンスルホン、又はその誘導体であり；

X⁹は、ロイシン、イソロイシン、バリン、アラニン、メチオニン、5-アミノペンタン酸、D-ノルロイシン、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸若しくは-アラニン、又はその誘導体であり；

X¹⁰は、グリシン、アラニン、ロイシン、ノルロイシン、シクロヘキシリラニン、5-アミノペンタン酸、アスパラギン、セリン、サルコシン、イソ酪酸、D-ノルロイシン、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸若しくは-アラニン、又はその誘導体であり； 10

X¹¹は、アルギニン、リシン、シトルリン、ヒスチジン又はニトロアルギニン、若しくはその誘導体であり；

X¹²は、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン若しくはメチオニン、又はその誘導体であり；

X¹³は、フェニルアラニン、チロシン、D-(p-ベンゾイルフェニルアラニン)、トリプトファン、(1')-及び(2')-ナフチルアラニン、シクロヘキシリラニン、若しくは各々の置換基がO-アルキル、アルキル、OH、NO₂、NH₂、F、I及びBrから成る群より独立して選択される一及び多置換フェニルアラニンであるか、又はその誘導体であり；

X¹⁴は、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸、-アラニン又はシス-4-アミノ-1-シクロヘキサンカルボン酸であり；

X¹⁵は、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸、-アラニン又はシス-4-アミノ-1-シクロヘキサンカルボン酸であり；

X¹⁶は、システイン、ホモシステイン若しくはペニシラミン、又はその誘導体であり；

X¹⁷は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

Z¹は、存在する場合は、N-末端アミノ基に共有結合している、場合により存在する保護基であり； 30

Z²は、存在する場合は、C-末端カルボキシ基に共有結合している、場合により存在する保護基であり、

但し、下記：

X⁹及びX¹⁰は、各々5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸、-アラニン及びシス-4-アミノ-1-シクロヘキサンカルボン酸から成る群より独立して選択されること；及びX⁶は、5-グアニジノ吉草酸、D-アルギニン、4-グアニジノ酪酸、3-グアニジノプロピオン酸、グアニジノ酢酸又は3-グアニジノプロピオン酸であることのいずれか又は両方であることを条件とする】

を有する、場合により置換されたペプチド、又は前記ペプチドの標識誘導体、又は前記ペプチド若しくは前記標識誘導体の医薬適合性の塩の有効量を被験対象に投与する段階を含む、体重減少を達成する又は体重を維持するために前記被験対象を治療する方法。 40

【請求項27】

前記X⁶アミノ酸が存在し、及び下記：

X⁶は、デス-アミノ-アルギニン又はD-アルギニンであること、及び

X⁹及びX¹⁰は、各々5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸及び-アラニンから成る群より独立して選択されることのいずれか又は両方である、請求項26に記載の方法。

【請求項28】

X¹、X²、X³、X⁴、X⁵及びX¹⁷が存在しない、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

X⁷ は、システインであり；

X⁸ は、メチオニン又はノルロイシンであり；

X⁹ は、ロイシン、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸又は -アラニンであり；

X¹⁰ は、グリシン、D-ノルロイシン、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸又は -アラニンであり；

X¹¹ は、アルギニンであり；

X¹² は、バリン又はアラニンであり；

X¹³ は、チロシンであり；及び

X¹⁶ は、システインである、請求項28に記載の方法。

【請求項30】

X⁶ はデス-アミノ-アルギニンである、請求項29に記載の方法。

【請求項31】

X¹⁴ 及びX¹⁵ は各々5-アミノ吉草酸である、請求項29に記載の方法。

【請求項32】

X¹⁴ 及びX¹⁵ は各々 -アミノ酪酸である、請求項29に記載の方法。

【請求項33】

X¹⁴ 及びX¹⁵ は各々 -アラニンである、請求項29に記載の方法。

【請求項34】

Z¹ は-C(O)CH₃ であり、及びZ² は-NH₂ である、請求項29に記載の方法。

【請求項35】

前記ペプチドが、配列番号11、配列番号13、配列番号14、配列番号16、配列番号20、配列番号27、配列番号30、配列番号33又は医薬適合性のその塩である、請求項26に記載の方法。

【請求項36】

前記ペプチドが、配列番号11、配列番号27又は医薬適合性のその塩である、請求項35に記載の方法。

【請求項37】

前記方法が体重減少を引き起こす、請求項29に記載の方法。

【請求項38】

前記被験対象が肥満である、請求項29に記載の方法。

【請求項39】

請求項12、13又は14のいずれかに記載の、場合により置換されたペプチドの有効量を被験対象に投与する段階を含む、前記被験対象においてMCH-1R活性を阻害する方法。

【請求項40】

請求項12、13又は14のいずれかに記載の、場合により置換されたペプチドの有効量を被験対象に投与する段階を含む、体重減少を達成する又は体重を維持するために前記被験対象を治療する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願のクロスリファレンス)

本出願は、参照してここに組み込まれる、2001年8月8日出願の米国特許仮出願通し番号第60/310,928号による優先権を主張するものである。

【背景技術】

【0002】

視床下部に存在する神経ペプチドは、体重の調節を介する上で重要な役割を果たす。(Fliegerら、1998、Cell, 92、437-440。) 哺乳類において産生されるメラニン濃縮ホルモン(MCH)は、同様に神経ペプチドNEI及びNGEをコードする、視床下部内により大きなプレ-プロホルモン前駆体の一部として合成される環状19

10

20

30

40

50

アミノ酸神経ペプチドである。(Nahonら、1990、Mol. Endocrinology 1.4、632-637; Vaughanら、米国特許第5,049,655号; 及び Vaughanら、1989、Endocrinology 125、1660-1665。) MCHはサケの下垂体において最初に特定され、魚においてMCHはメラニンの凝集に影響を及ぼし、それ故皮膚の色素沈着に影響する。マス及びウナギでは、MCHはストレス誘導性又はCRF刺激性ACTH放出にも関与することが示された。(Kawauchiら、1983、Nature 305、321-323。)

ヒトでは、脳内で発現される、MCHをコードする2つの遺伝子が特定された。(Bretonら、1993、Mol. Brain Res. 18、297-310。) 哺乳類において、MCHは主として、外側視床下部及び不確帯の核周体を含む、食物摂取の制御に関わる視床下部の神経細胞体に局在した。(Kniggeら、1996、Peptides 17、1063-1073。)

薬理的及び遺伝的データは、MCHの主要作用機構は栄養補給を促進すること(食欲促進、orexiogenic)であると示唆している。MCH mRNAは、絶食マウス及びラット、ob/obマウス及び神経ペプチドY(NPY)に関する遺伝子を標的破壊したマウスにおいては、上方調節される。(Quら、1996、Nature 380、243-247及び Ericksonら、1996、Nature 381、415-418。) MCHの中枢注入(ICV)は食物摂取を刺激し、MCHは、メラニン細胞刺激ホルモン(MSH)で見られる摂食低下作用に拮抗する。(Quら、1996、Nature 380、243-247。) MCH欠損マウスは痩せて、摂食低下性であり、高い代謝率を有する。(Shimadaら、1998、Nature 396、670-673。) MCHの投与は、摂食行動、食欲若しくは体重の増加又は維持を促進するために有用であることが示唆されている。(Maratos-Flier、米国特許第5,849,708号。)

視床下部-下垂体-軸への作用が報告されているように、MCHの作用は食物摂取の調節に限定されない。(Nahon、1994、Critical Review in Neurobiology 8、221-262。) MCHはストレスが誘発する視床下部からのCRF放出及び下垂体からのACTH放出を調節することができるので、MCHはストレスに対する身体応答に関与すると考えられる。さらに、MCH神経系は生殖又は母性機能に関与すると考えられる。

【0003】

MCHは、少なくとも2つの異なる受容体：MCH-1R及びMCH-2Rに結合することができる。(Chambersら、1999、Nature 400、261-265; Saitoら、1999、Nature 400、265-269; Bachnerら、1999、FEBS Letters 457:522-524; Shimomuraら、1999、Biochemical and Biophysical Research Communications 261、622-626; Saillerら、Proc. Natl. Acad. Sci. 98:7564-7569, 2001。) MCH-2RとMCH-1Rの間のアミノ酸同一性は約38%である。(Saillerら、Proc. Natl. Acad. Sci. 98:7564-7569, 2001。)

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

本発明は、MCH-1Rにおいて活性なMCH拮抗物質を対象とする。該拮抗物質は、MCH-1RにおけるMCHの作用を阻害することができる、場合により修飾されたペプチドである。MCH拮抗物質は、研究ツールとしての使用及び被験対象において有益な作用を達成するための使用を含めて、様々な用途を備える。

【課題を解決するための手段】

【0005】

哺乳類MCHへの変更の様々な組合せが、MCH拮抗物質を生産するために有用であるこ

10

20

30

40

50

とをここで特定する。そのような変更の例は、(1) 9位及び10位が5-アミノ吉草酸であること及び(2) 6位が5-グアニジノ吉草酸又はD-アルギニンであることのいずれか又は両方と組み合わせた、6位から16位までを含み、その14位及び15位が5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸又は-L-アラニンである、トランケート哺乳類MCHを包含する。

【0006】

MCH拮抗物質を得るために有用なトランケート哺乳類MCHへの種々の変更の特定は、さらなるMCH拮抗物質を得るために使用できる指針を提供する。さらなるMCH拮抗物質は、様々で大きさをとることができ、様々な位置に様々な種類の変更を含みうる。化合物が拮抗物質として働く能力は、当技術分野において既知の手法を用いて評価することができる。10

【0007】

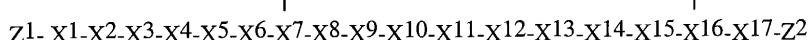
そこで、本発明の第一の局面はMCH拮抗物質を説明する。MCH拮抗物質は、ジスルフィド又はラクタム環を有する、場合により修飾された環状ペプチドである。構造Iはジスルフィド環を表わし、構造II及びIIIはラクタム環を示す。

【0008】

構造Iは次の通り。

【0009】

【化1】



20

[式中、 X^1 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X^2 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；30

X^3 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X^4 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸若しくはノルロイシン、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；40

X^5 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X^6 は、存在する場合は、アルギニン、アラニン、ロイシン、グリシン、リシン、プロリン、アスパラギン、セリン、ヒスチジン、ニトロアルギニン、ホモアルギニン、シトルリン、ホモシトルリン、ノルロイシン、D-アルギニン、デス-アミノ-アルギニン、50

グアニジノ酪酸、3-グアニジノプロピオン酸、グアニジノ酢酸若しくは3-グアニジノプロピオン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

X⁷は、システイン、ホモシステイン、ペニシラミン若しくはD-システイン、又はその誘導体であり；

X⁸は、メチオニン、ノルロイシン、ロイシン、イソロイシン、バリン、メチオニンスルホキシド、-アミノ酪酸若しくはメチオニンスルホン、又はその誘導体であり；

X⁹は、ロイシン、イソロイシン、バリン、アラニン、メチオニン、5-アミノペンタン酸、D-ノルロイシン、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸若しくは-アラニン、又はその誘導体であり；

X¹⁰は、グリシン、アラニン、ロイシン、ノルロイシン、シクロヘキシリアルアラニン、5-アミノペンタン酸、アスパラギン、セリン、サルコシン、イソ酪酸、D-ノルロイシン、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸若しくは-アラニン、又はその誘導体であり；

X¹¹は、アルギニン、リシン、シトルリン、ヒスチジン若しくはニトロアルギニン、又はその誘導体であり；

X¹²は、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン若しくはメチオニン、又はその誘導体であり；

X¹³は、フェニルアラニン、チロシン、D-(p-ベンゾイルフェニルアラニン)、トリプトファン、(1')-及び(2')-ナフチルアラニン、シクロヘキシリアルアラニン、若しくは各々の置換基がO-アルキル、アルキル、OH、NO₂、NH₂、F、I及びBrから成る群より独立して選択される一及び多置換フェニルアラニン、又はその誘導体であり；

X¹⁴は、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸、-アラニン又はシス-4-アミノ-1-シクロヘキサンカルボン酸であり；

X¹⁵は、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸、-アラニン又はシス-4-アミノ-1-シクロヘキサンカルボン酸であり；

X¹⁶は、システイン、ホモシステイン若しくはペニシラミン、又はその誘導体であり；

X¹⁷は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；

Z¹は、存在する場合は、N-末端アミノ基に共有結合している、場合により存在する保護基であり；

Z²は、存在する場合は、C-末端カルボキシ基に共有結合している、場合により存在する保護基であり、

但し、下記：

X⁹及びX¹⁰は、各々5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸、-アラニン及びシス-4-アミノ-1-シクロヘキサンカルボン酸から成る群より独立して選択されること；及びX⁶は、5-グアニジノ吉草酸、D-アルギニン、4-グアニジノ酪酸、3-グアニジノプロピオン酸、グアニジノ酢酸又は3-グアニジノプロピオン酸であることのいずれか又は両方であることを条件とする】

又は前記ペプチドの標識誘導体、又は前記ペプチド若しくは前記標識誘導体の医薬適合性の塩である。

【0010】

構造IIは次の通り。

【0011】

【化2】

Z1-X1-X2-X3-X4-X5-X6-X18-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X19

10

20

30

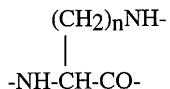
40

50

[式中、 X^1 、 X^2 、 X^3 、 X^4 、 X^5 、 X^6 、 X^8 、 X^9 、 X^{10} 、 X^{11} 、 X^{12} 、 X^{13} 、 X^{14} 、 X^{15} 及び Z^1 は、構造Iについて述べた通りであり； X^{18} は、次の構造：

【0012】

【化3】



[式中、nは1、2、3、4又は5である]

10

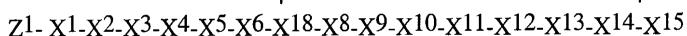
を有する，-ジ-アミノ-カルボン酸であり；及び X^{19} は、アスパラギン酸、グルタミン酸又はアジピン酸などの-カルボキシ-アミノ酸である]である。 X^{18} の，-ジ-アミノ-カルボン酸の-アミノ基は、 X^{19} のアミノ酸の-カルボキシ基に結合している。

【0013】

構造IIは次の通り。

【0014】

【化4】



20

[式中、 X^1 、 X^2 、 X^3 、 X^4 、 X^5 、 X^6 、 X^8 、 X^9 、 X^{10} 、 X^{11} 、 X^{12} 、 X^{13} 、 X^{14} 、 X^{15} 及び Z^1 は、構造IIについて述べた通りであり；及び X^{18} の，-ジ-アミノ-カルボン酸の-アミノ基は、位置15のカルボキシ基に結合している]

である。

【0015】

「アミノ酸」との言及は、天然に生じるアミノ酸及び変化したアミノ酸を含む。特に異なる記載がない限り、キラル中心を有するアミノ酸はL-鏡像異性体として提供される。「その誘導体」との言及は、対応するD-アミノ酸、N-アルキル-アミノ酸及び-L-アミノ酸を指す。

30

【0016】

本発明のもう1つの局面は、被験対象においてMCH-1R活性を阻害する方法を述べる。この方法は、MCH拮抗物質の有効量を被験対象に投与する段階を含む。

【0017】

「有効」量との言及は、所望効果を達成するのに十分な量を示す。本発明のこの局面では、有効量はMCH-1R活性を阻害するのに十分である。

【0018】

本発明のもう1つの局面は、体重減少を達成するため又は体重を維持するために被験対象を治療する方法を述べる。この方法は、MCH拮抗物質の有効量を被験対象に投与する段階を含む。

40

【0019】

本発明の他の特徴及び利点は、種々の実施例を含めてここで提供するさらなる説明から明白である。提供する実施例は、本発明を実施する上で有用な種々の成分及び方法を例示する。これらの実施例は、特許請求する本発明を限定するものではない。本開示に基づき、当業者は、本発明を実施するために有用な他の成分及び方法を特定し、利用することができる。

【0020】

(発明の詳細な説明)

MCH拮抗物質活性を提供する、哺乳類MCHへの種々の変更を特定する。そのような変

50

更は、MCH又はMCH様化合物を、MCH拮抗物質を生産するように変えることができる種類の変化を示す。

【0021】

好ましいMCH拮抗物質は約11アミノ酸の長さである。より小さなサイズのMCH拮抗物質は長いMCH拮抗物質に比べて、合成の容易さ及び/又は生理的緩衝液への高い溶解度などの利点を提供する。

【0022】

好ましいMCH拮抗物質は、MCH-1R活性を有意に阻害することができる。MCH-1R活性の有意の阻害は、MCH-1R及びこの受容体を活性化するMCH-1R作用物質を含むアッセイにおいて拮抗物質のIC₅₀を測定することによって評価できる。種々の実施形態では、機能的活性を測定するアッセイにおいて、MCH拮抗物質は約50nM未満、約10nM未満、及び約5nM未満のIC₅₀値を有する。そのようなアッセイの例を下記の実施例の中で提供する。

10

【0023】

本発明の1つの実施形態は、MCH-2RよりもMCH-1Rにおいて選択的に活性なMCH-1R拮抗物質を述べる。好ましい選択的拮抗物質はMCH-1Rを有意に阻害するが、MCH-2R活性は有意に阻害しない。化合物がMCH-2R活性を阻害する能力は、拮抗物質活性を評価することによって直接測定できる。選択的に、MCH-2R作用物質活性の測定を利用して、化合物がMCH-2RにおいてMCH拮抗物質として働きうるかどうかを判定することができる。

20

【0024】

MCH拮抗物質は、研究ツールとしての使用及び治療的使用を含む様々な用途を備える。研究ツール適用の例は、MCHの役割又は作用を検討すること及びMCH拮抗物質の役割又は作用を検討することを含む。

【0025】

MCH拮抗物質は、インビトロ又はインビボでMCH-1R活性を阻害するために使用できる。「阻害する」又は「阻害すること」への言及は、検出可能な低下を示す。阻害及び阻害することは、活性の完全な不在を必要としない。例えば、MCH-1RでのMCHの作用を阻害することができるMCH拮抗物質は、MCH-1RにおいてMCHによって引き起こされる1又はそれ以上の活性を検出可能な度合で低下させることができる。

30

【0026】

MCH拮抗物質は被験対象に投与することができる。「被験対象」は、例えばヒト、ラット、マウス又は家畜を含む哺乳類を指す。被験対象への言及は、必ずしも疾患又は障害の存在を示唆しない。被験対象の語は、例えば、実験の一部としてMCH拮抗物質を投与される哺乳類、疾患又は障害を軽減するのを助けるために治療される哺乳類、及び予防的に治療される哺乳類を含む。

【0027】

MCH拮抗物質は、患者において有益な作用を達成するために使用できる。例えば、MCH拮抗物質は、体重減少、食欲低下、体重維持、癌（例えば結腸癌又は乳癌）の治療、疼痛の軽減、ストレスの軽減及び/又は性機能障害の治療を促進するために使用できる。

40

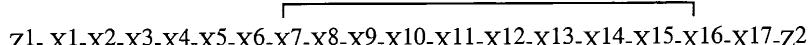
【0028】

（MCH拮抗物質）

説明するMCH拮抗物質は、構造I、II又はIIIの、場合により修飾されたペプチドを含む。構造Iは、次の通り。

【0029】

【化5】



[式中、X¹は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリ 50

ン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；好ましくは、存在する場合 X^1 はアスパラギン酸又はグルタミン酸であり；より好ましくは、存在する場合 X^1 はアスパラギン酸であり；及びより好ましくは、 X^1 は存在せず；

X^2 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；好ましくは、存在する場合 X^2 はフェニルアラニン又はチロシンであり；より好ましくは、存在する場合 X^2 はフェニルアラニンであり；及びより好ましくは、 X^2 は存在せず；

X^3 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；好ましくは、存在する場合 X^3 はアスパラギン酸又はグルタミン酸であり；より好ましくは、存在する場合 X^3 はアスパラギン酸であり；及びより好ましくは、 X^3 は存在せず；

X^4 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸若しくはノルロイシン、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；好ましくは、存在する場合 X^4 はメチオニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、アラニン又はノルロイシンであり；より好ましくは、存在する場合 X^4 はメチオニンであり；及びより好ましくは、 X^4 は存在せず；

X^5 は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；好ましくは、存在する場合 X^5 はロイシン、メチオニン、イソロイシン、バリン又はアラニンであり；より好ましくは、存在する場合 X^5 はロイシンであり；及びより好ましくは、 X^5 は存在せず；

X^6 は、存在する場合は、アルギニン、アラニン、ロイシン、グリシン、リシン、プロリン、アスパラギン、セリン、ヒスチジン、ニトロアルギニン、ホモアルギニン、シトルリン、ホモシトルリン、ノルロイシン、D-アルギニン、デス-アミノ-アルギニン、4-グアニジノ酪酸、3-グアニジノプロピオン酸、グアニジノ酢酸若しくは3-グアニジノプロピオン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；好ましくは、 X^6 は5-グアニジノ吉草酸、4-グアニジノ酪酸、3-グアニジノプロピオン酸、グアニジノ酢酸又は3-グアニジノプロピオン酸であり；より好ましくはD-アルギニン、デス-アミノ-アルギニンであり；より好ましくは、 X^6 はデス-アミノ-アルギニンであり；

X^7 は、システイン、ホモシステイン、ペニシラミン若しくはD-システイン、又はその誘導体であり；好ましくは、 X^7 はシステインであり；

X^8 は、メチオニン、ノルロイシン、ロイシン、イソロイシン、バリン、メチオニンスルホキシド、-アミノ酪酸若しくはメチオニンスルホン、又はその誘導体であり；好ましくは、 X^8 はメチオニン又はノルロイシンであり；

X^9 は、ロイシン、イソロイシン、バリン、アラニン、メチオニン、5-アミノペンタン酸、D-ノルロイシン、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸若しくは-アラニン、又は

10

20

30

40

50

その誘導体であり；好ましくは、 X^9 はロイシン、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸又は-アラニンであり；より好ましくは、 X^9 はロイシン又は5-アミノ吉草酸であり；より好ましくは、 X^9 は5-アミノ吉草酸であり；

X^{10} は、グリシン、アラニン、ロイシン、ノルロイシン、シクロヘキシリアルアニン、5-アミノペントン酸、アスパラギン、セリン、サルコシン、イソ酪酸、D-ノルロイシン、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸若しくは-アラニン、又はその誘導体であり；好ましくは、 X^{10} はグリシン、D-ノルロイシン又は5-アミノ吉草酸であり；より好ましくは、 X^{10} は5-アミノ吉草酸であり；

X^{11} は、アルギニン、リシン、シトルリン、ヒスチジン若しくはニトロアルギニン、又はその誘導体であり；好ましくは、 X^{11} はアルギニンであり；

X^{12} は、バリン、ロイシン、イソロイシン、アラニン若しくはメチオニン、又はその誘導体であり；好ましくは、 X^{12} はバリン又はアラニンであり；

X^{13} は、フェニルアラニン、チロシン、D-(p-ベンゾイルフェニルアラニン)、トリプトファン、(1')-及び(2')-ナフチルアラニン、シクロヘキシリアルアニン、若しくは各々の置換基がO-アルキル、アルキル、OH、NO₂、NH₂、F、I及びBrから成る群より独立して選択される一及び多置換フェニルアラニンであるか、又はその誘導体であり；好ましくは、 X^{13} はフェニルアラニン、(2')-ナフチルアラニン、p-フルオロ-フェニルアラニン、チロシン又はシクロヘキシリアルアニンであり；より好ましくは、 X^{13} はチロシンであり；

X^{14} は、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸、-アラニン又はシス-4-アミノ-1-シクロヘキサンカルボン酸であり；好ましくは、 X^{14} は5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸又は-アラニンであり；

X^{15} は、5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸、-アラニン又はシス-4-アミノ-1-シクロヘキサンカルボン酸であり；好ましくは、 X^{15} は5-アミノ吉草酸、-アミノ酪酸又は-アラニンであり；

X^{16} は、システイン、ホモシステイン若しくはペニシラミン、又はその誘導体であり；好ましくは、 X^{16} はシステイン又はD-システインであり；

X^{17} は、存在する場合は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸、又はその誘導体である、場合により存在するアミノ酸であり；好ましくは、存在する場合 X^{17} はチロシン又はトリプトファンであり；より好ましくは、 X^{17} は存在せず；

Z¹ は、存在する場合は、N-末端アミノ基に共有結合している、場合により存在する保護基であり；

Z² は、存在する場合は、C-末端カルボキシ基に共有結合している、場合により存在する保護基である】

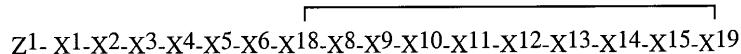
又は前記ペプチドの標識誘導体、又は前記ペプチド若しくは前記標識誘導体の医薬適合性の塩である。

【0030】

構造IIは次の通り。

【0031】

【化6】



[式中、 X^1 、 X^2 、 X^3 、 X^4 、 X^5 、 X^6 、 X^8 、 X^9 、 X^{10} 、 X^{11} 、 X^{12} 、 X^{13} 、 X^{14} 、 X^{15} 、 X^{16} 、 X^{17} 、 X^{18} 及びZ¹は、種々の実施形態を含めて構造Iについて述べた通りであり； X^{18} は、次の構造：

【0032】

10

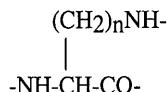
20

30

40

50

【化 7】



[式中、 n は 1、2、3、4 又は 5 である]

を有する，-ジ-アミノ-カルボン酸であり；及び $X^{1/9}$ は、アスパラギン酸、グルタミン酸又はアジピン酸などの-カルボキシ-アミノ酸である]
である。 $X^{1/8}$ の，-ジ-アミノ-カルボン酸の-アミノ基は、 $X^{1/9}$ のアミノ酸の-カルボキシ基に結合している。

10

[0 0 3 3]

構造 III は次の通り。

[0 0 3 4]

【化 8】

Z1-X1-X2-X3-X4-X5-X6-X18-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15

[式中、 X^1 、 X^2 、 X^3 、 X^4 、 X^5 、 X^6 、 X^8 、 X^9 、 X^{10} 、 X^{11} 、 X^{12} 、 X^{13} 、 X^{14} 、 X^{15} 、 X^{18} 及び Z^1 は、様々な実施形態を含めて構造IIについて述べた通りであり、及び X^{18} の-,ジ-アミノ-カルボン酸の-アミノ基は、15位のカルボキシ基に結合している]

である。

(0 0 3 5)

本発明は、ジアステレオマーならびにそれらのラセミ体及び分割された鏡像異性的に純粹な形態を包含することが意図されている。MCH抗体は、D-アミノ酸、L-アミノ酸又はこれらの組合せを含みうる。好ましくは、MCH抗体中に存在するアミノ酸はL-鏡像異性体である。

[0 0 3 6]

より好ましい実施形態は、種々の位置の各々に好ましい（又はより好ましい）基を含む。種々の実施形態において、MCH拮抗物質は、1又はそれ以上の異なる位置に1個の好ましい（又はより好ましい）基を含む； X^9 及び X^{10} は同じ基であり；及び / 又は X^{14} 及び X^{15} は同じ基である。

〔 0 0 3 7 〕

N - 末端アミノ基に共有結合した保護基は、インビボ条件下でアミノ末端の反応性を低下させる。アミノ保護基は、場合により置換された - C₁₋₁₀ アルキル、場合により置換された - C₂₋₁₀ アルケニル、場合により置換されたアリール、 - C₁₋₆ アルキル - 案により置換されたアリール、 - C(O) - (CH₂)₁₋₆ - COOH、 - C(O) - C₁₋₆ アルキル、 - C(O) - 案により置換されたアリール、 - C(O) - O - C₁₋₆ アルキル、又は - C(O) - O - 案により置換されたアリールを含む。好ましくは、アミノ末端保護基は、アセチル、プロピル、スクシニル、ベンジル、ベンジルオキシカルボニル又は t - プチルオキシカルボニルである。

【 0 0 3 8 】

C - 末端カルボキシ基に共有結合した保護基は、インビオ条件下でカルボキシ末端の反応性を低下させる。カルボキシ末端保護基は、好ましくは最後のアミノ酸の - カルボニル基に結合している。カルボキシ末端保護基は、アミド、メチルアミド及びエチルアミドを含む。

【 0 0 3 9 】

「アルキル」は、1個の炭素原子の炭化水素基、又は炭素-炭素単結合によって連結された炭化水素基を表わす。アルキル炭化水素基は、直鎖であるか又は1若しくはそれ以上の分枝又は環状基を含んでいてもよい。好ましくは、アルキル基は1個から4個の炭素の長

58

さである。アルキルの例は、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、シクロプロピル、ブチル及び t -ブチルを含む。アルキル基は、場合により、ハロゲン(好ましくは- F 又は- C_1)、- OH 、- CN 、- SH 、- NH_2 、- NO_2 、1個から6個のハロゲン(好ましくは- F 又は- C_1 、より好ましくは- F)で置換された- C_{1-2} アルキル、- CF_3 、- OCH_3 、又は- OCF_3 から成る群より選択される1又はそれ以上の置換基で置換されていてもよい。

【0040】

「アルケニル」は、1又はそれ以上の炭素-炭素二重結合を含む、場合により置換された炭化水素基を表わす。アルケニル炭化水素基は、直鎖であるか又は1若しくはそれ以上の分枝又は環状基を含んでいてもよい。好ましくは、アルケニル基は2-4個の炭素の長さである。アルケニル基は、場合により、ハロゲン(好ましくは- F 又は- C_1)、- OH 、- CN 、- SH 、- NH_2 、- NO_2 、1個から5個のハロゲン(好ましくは- F 又は- C_1 、より好ましくは- F)で置換された- C_{1-2} アルキル、- CF_3 、- OCH_3 、又は- OCF_3 から成る群より選択される1又はそれ以上の置換基で置換されていてもよい。

10

【0041】

「アリール」は、2個までの共役又は縮合環系を含む、共役電子系を有する少なくとも1個の環を備えた、場合により置換された芳香族基を表わす。アリールは、炭素環式アリール、ヘテロ環式アリール及びビアリール基を含む。好ましくは、アリールは5又は6員環であり、より好ましくはベンジルである。アリール置換基は、- C_{1-4} アルキル、- C_{1-4} アルコキシ、ハロゲン(好ましくは- F 又は- C_1)、- OH 、- CN 、- SH 、- NH_2 、- NO_2 、1個から5個のハロゲン(好ましくは- F 又は- C_1 、より好ましくは- F)で置換された- C_{1-2} アルキル、- CF_3 、又は- OCF_3 から成る群より選択される。

20

【0042】

標識誘導体は、検出可能な標識を有する基の変化を示す。検出可能な標識の例は、蛍光、酵素、及び放射能標識を含む。好ましい放射能標識は¹⁻²⁻⁵Iである。標識は、MCH受容体におけるMCH拮抗物質の活性を実質的に変化させないように選択し、位置を定めるべきである。MCH拮抗物質活性への特定標識の影響は、MCH活性を測定するアッセイを用いて判定することができる。

30

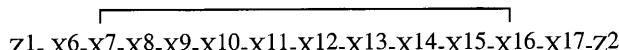
【0043】

好ましい実施形態では、場合により修飾されたペプチドは、構造IV、V又はVIに対応する、構造I、II又はIIIのトランケート型である：

【0044】

【化9】

構造IV

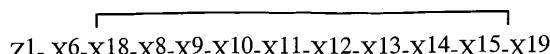


40

【0045】

【化10】

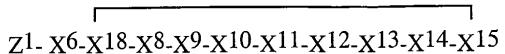
構造V



【0046】

【化11】

構造 VI



[式中、種々の基及び好ましい基は、前述した通りである]。

【0047】

さらなる実施形態では、該ペプチドは、配列番号11、12、13、14、16、18、19、20、21、25、27、29、30、32及び33から成る群より選択される配列を有するか、又くは前記ペプチドの標識誘導体、又は前記ペプチド若しくは前記標識誘導体の医薬適合性の塩である。好ましいペプチドは、より低いIC₅₀値を有することが示されたMCH拮抗物質である。好ましいMCH拮抗物質の例は、配列番号11、13、14、16、20、27、30及び33によって提供される。

【0048】

MCH拮抗物質は、当技術分野において周知の手法を用いて生産することができる。例えば、MCH拮抗物質のポリペプチド領域は、化学的又は生化学的に合成することができ、所望する場合は、ブロックN末端及び/又はブロックC末端を生じるように修飾することができる。ポリペプチドの化学合成のための手法は当技術分野において周知である。(例えば、Vincent, Peptide and Protein Drug Delivery, New York, N.Y., Dekker, 1990参照。)細胞への核酸の導入及び核酸の発現を含む生化学的合成のための手法の例は、Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley, 1987-1998、及びSambrookら、Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989の中で提供される。

【0049】

(MCH拮抗物質についてのスクリーニング)

MCH拮抗物質についてのスクリーニングは、組換え発現したMCH受容体を使用して容易に実施される。組換え発現MCH受容体を使用することの利点は、MCH受容体活性化合物への応答を他の受容体に対する応答からより容易に識別できるように、規定された細胞系において該受容体を発現できることを含む。例えば、発現ベクターを使用してHEK 293、COS 7及びCHOなどの細胞系にMCH受容体を導入することができ、その場合、発現ベクターを含まない同じ細胞系が対照として使用できる。

【0050】

MCH拮抗物質のスクリーニングは、アッセイにおけるMCH作用物質の使用を通して容易になる。スクリーニングアッセイでのMCH作用物質の使用はMCH受容体活性を提供する。そのような活性への被験化合物の作用を測定して、例えばその化合物がMCH受容体活性を阻害する能力を評価することができる。

【0051】

MCH受容体活性は、MCH受容体の細胞内コンフォメーションの変化、G_i又はG_q活性及び/又は細胞内メッセンジャーの変化を検出することなどの様々な手法を用いて測定することができる。G_i活性は、黒色素胞アッセイ、cAMP産生を測定するアッセイ、cAMP蓄積の阻害を測定するアッセイ、及び³⁵S-GTPの結合を測定するアッセイなどの当技術分野において周知の手法を用いて測定することができる。cAMPは、放射線免疫検定法などの種々の手法を用いて、及びcAMP応答性遺伝子レポータータンパク質によって間接的に測定することができる。

【0052】

G_q活性は、細胞内Ca²⁺を測定するなどの手法を用いて測定できる。Ca²⁺を測定するために使用できる当技術分野で周知の手法の例は、Fura-2などの染料の使用及びエクオリンなどのCa²⁺-生物発光感受性レポータータンパク質の使用を含む。Gタ

10

20

30

40

50

ンパク質活性を測定するためにエクオリンを使用する細胞系の一例は、HEK293/a eq17である。(どちらも参照してここに組み込まれる、Buttonら、1993、Cell Calcium 14, 663-671、及びFeighnerら、1999、Science 284, 2184-2188。)

(MCH拮抗物質の使用)

MCH拮抗物質は、被験対象において有益な作用を達成するため及び研究のための方法において使用できる。MCH拮抗物質の有益な作用は、次の事柄の1つ又はそれ以上を含む：体重減少、食欲低下、体重維持、癌（例えば結腸癌又は乳癌）の治療、疼痛の軽減、ストレスの軽減及び／又は性機能障害の治療。

【0053】

体重の維持又は体重減少を促進することは、過剰体重及び肥満の患者にとって特に有用である。過剰体重は、高血圧、高脂血症、心臓血管疾患、胆石、変形性関節症及びある種の形態の癌を含む様々な疾患に寄与する因子である。体重減少を生じさせることは、例えば、そのような疾患の可能性を低下させるため及びそのような疾患の治療の一部として、使用できる。

【0054】

過剰体重の患者は、「正常」体重範囲の上限又はボディマス指数（「BMI」）を約10%若しくはそれ以上、20%若しくはそれ以上、30%若しくはそれ以上、又は50%若しくはそれ以上上回る体重を有する患者を含む。「正常」体重範囲は当技術分野において周知であり、患者の年齢、身長及び体型などの因子を考慮に入れる。

【0055】

BMIは身長／体重の比率を測定する。キログラムで表わした体重をメーターで表わした身長の二乗で除して算定することによって決定される。BMIの「正常」範囲は19-22である。

【0056】

(投与)

MCH拮抗物質は、当技術分野で周知の手法と共にここで提供する手引きを使用して、製剤し、被験対象に投与することができる。好みの投与経路は、化合物の有効量が標的に達することを確実にする。一般に薬剤投与についてのガイドラインは、例えば、どちらも参照してここに組み込まれる、Remington's Pharmaceutical Sciences 第18版、Gennaro編集、Mack Publishing, 1990、及びModern Pharmaceutics 第2版、BankerとRhodes編集、Marcel Dekker, Inc., 1990に示されている。

【0057】

MCH拮抗物質は酸性又は塩基性塩として製造することができる。医薬適合性の塩（水溶性又は油溶性又は分散性生成物の形態）は、従来の非毒性塩又は、例えば無機又は有機酸又は塩基から生成される第四級アンモニウム塩を含む。そのような塩の例は、酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、硫酸水素塩、酪酸塩、クエン酸塩、ショウノウ酸塩、ショウノウスルホン酸塩、シクロペニタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタノスルホン酸塩、フマル酸塩、グルコヘプタン酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサン酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシエタンスルホン酸塩、乳酸塩、マレイン酸塩、メタンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、シユウ酸塩、バモイン酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、ピクリン酸塩、ビバル酸塩、プロピオン酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、チオシアノ酸塩、トシラート、及びウンデカン酸塩などの酸付加塩；及びアンモニウム塩などの塩基性塩、ナトリウム及びカリウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム及びマグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩、ジシクロヘキシリアミン塩などの有機塩基との塩、N-メチル-D-グルカミン、及びアルギニン及びリシンなどのアミノ酸との塩を含む。

【0058】

10

20

30

40

50

MCH拮抗物質は、経口、経鼻、注射、経皮及び経粘膜を含む様々な経路を用いて投与することができる。懸濁液として経口的に投与する有効成分は、医薬製剤の技術分野において周知の手法に従って調製することができ、かさを与えるための微結晶性セルロース、沈殿防止剤としてのアルギン酸又はアルギン酸ナトリウム、増粘剤としてのメチルセルロース、及び甘味料／香味料を含有しうる。即時放出性錠剤として、これらの組成物は、微結晶性セルロース、リン酸ジカルシウム、デンプン、ステアリン酸マグネシウム及びラクトース及び／又は他の賦形剤、結合剤、增量剤、崩壊剤、希釈剤及び潤滑剤を含有しうる。

【0059】

MCH拮抗物質はまた、静脈内経路（ボーラス及び注入）、腹腔内経路、皮下経路、閉鎖を伴う若しくは伴わない局所経路、又は筋肉内経路を利用して投与することもできる。注射によって投与するときは、リンガー溶液若しくは等張塩化ナトリウム溶液などの、適切な非毒性で非経口的に許容される希釈剤若しくは溶剤、又は合成モノ-又はジグリセリドを含む無菌で無刺激性の不揮発性油及びオレイン酸を含む脂肪酸などの、適切な分散剤又は湿潤剤と沈殿防止剤を使用して、注射用溶液又は懸濁液を製剤することができる。

10

【0060】

適切な投与プログラムは、好ましくは、投与される被験対象の種類；被験対象の年齢、体重、性別及び医学的状態；投与経路；被験対象の腎及び肝機能；所望効果；及び使用する特定化合物を含む、当技術分野で周知の因子を考慮に入れて決定される。

【0061】

毒性を伴わずに効力を生じる範囲内の薬剤の最適濃度を厳密に達成するには、標的部位への薬剤のアベイラビリティーの動態に基づく投与プログラムを必要とする。これは、薬剤の分布、平衡及び排出を考慮することを含む。被験対象についての一日量は、0.01mgから1,000mg／被験対象／日と予想される。

20

【0062】

MCH拮抗物質はキットとして提供することができる。そのようなキットは、典型的には、投与用剤型中に活性化合物を含有する。剤型は、1日当たり1回から6回などの規則正しい間隔で、1日又はそれ以上の日数の期間にわたって被験対象に投与したとき有益な作用が得られるような、十分な量の活性化合物を含有する。好ましくは、キットは、体重減少（例えば肥満を治療するため）又はストレスの軽減のための剤型の用法及び規定された期間にわたって服用すべき剤型の量を示す指示書を含む。

30

【0063】

（実施例）

本発明の種々の特徴をさらに説明するために実施例を下記に示す。これらの実施例はまた、本発明を実施するための有用な方法も例示する。これらの実施例は、特許請求する本発明を限定するものではない。

【実施例1】

【0064】

MCH拮抗物質の合成

MCH拮抗物質を製造するための手順の一例を下記に述べる。ペプチドを生産し、修飾するための他の手順は当技術分野において周知である。

40

【0065】

4-(2'、4'-ジメトキシフェニル-Fmoc-アミノメチル)-フェノキシ樹脂上のペプチジル鎖の伸長及び前記ペプチドのN-末端アミノ基のアセチル化を431A A B Iペプチドシンセイサイザーで実施した。N-メチルピロリドン(NMP)内のアミノ酸のヒドロキシベンゾトリアゾールエステルのカップリングのために、製造者が提供するプロトコールを適用した。フルオレニルメチルオキシカルボニル(Fmoc)基を半永久的-アミノ保護基として使用し、一方側鎖保護基は、アスパラギン酸及びチロシンについてはtert-ブチル、アルギニンについては2,2,4,6,7-ペンタメチルジヒドロベンゾフラン-5-スルホニル(Pbf)、及びシステインについてはトリチルであった。

50

【0066】

5%アニソールを含むTFAでペプチドを樹脂から開裂した。室温で2時間後、樹脂をろ過し、TFAで洗って、併合ろ液を真空中で蒸発乾固させた。その残留物をエーテルで粉碎し、形成された沈殿物をろ取して、エーテルで洗い、乾燥した。

【0067】

粗ペプチドを5%酢酸水溶液に溶解し、その溶液のpHを希薄水酸化アンモニウムで約8.2に調整した。その反応混合物を強く攪拌しながら、反応混合物が約5分間黄色のままになるまで0.05%フェリシアン化カリウム($K_3Fe(CN)_6$)水溶液を滴下した。さらに20分後、酢酸約1mlを加えて酸化を終了させ、その反応混合物を凍結乾燥した。

10

【0068】

粗凍結乾燥ペプチドを、自動Wisp 712インジェクター及び991 Photodiode Array検出器を備えるWaters 600Eシステムに接続したC18 Vydacカラムでの分析用逆相高圧液体クロマトグラフィー(RP HPLC)によって分析した。30分間で0%から100%緩衝液Bの標準勾配系を分析に使用した：緩衝液Aは0.1%トリフルオロ酢酸水溶液であり、緩衝液Bはアセトニトリル中0.1%トリフルオロ酢酸であった。HPLCプロフィールを210nm及び280nmで記録した。半分取用C18 RP Watersカラムを備えるWaters Delta Prep 4000システムで分取分離を実施した。60分間で20%から80%緩衝液Bの勾配において、上述した水とアセトニトリルの溶媒系を分離に使用した。クロマトグラフィーで均一な化合物をエレクトロスプレー質量分析法によって分析した。

20

【実施例2】

【0069】

エクオリン生物発光機能アッセイ

エクオリン生物発光アッセイを使用して、Gq及びG11から成るGタンパク質サブユニットファミリーを通して共役するGタンパク質共役受容体の活性を測定することができる。そのような共役は、ホスホリバーゼCの活性化、細胞内カルシウムの動員及びプロテインキナーゼCの活性化を導く。

【0070】

ラットMCH-1R及びヒトMCH-2R受容体活性の測定を、これらの受容体を発現する安定な細胞系を使用して、エクオリン発現安定レポーター細胞系293-AEQ17(Buttonら、Cell Calcium 14:663-671, 1993)において実施した。前記細胞中のアポ-エクオリンに、ECB緩衝液(NaCl 140mM、KCl 20mM、HEPES-NaOH [pH=7.4] 20mM、グルコース5mM、MgCl₂ 1mM、CaCl₂ 1mM、ウシ血清アルブミン0.1mg/ml)中、還元条件下で(還元グルタチオン300μM)、コエレンテラジン(10μM)を1時間充填した。

30

【0071】

前記細胞を採取し、ECB緩衝液中で1回洗って、500,000細胞/mlに再懸濁した。次に細胞懸濁液100μl(5×10⁴細胞に相当する)を、MCH又は被験化合物を含む試験平板に注入し、積算発光を0.5秒単位で30秒間にわたって記録した。次に溶解緩衝液(0.1%のTriton X-100最終濃度)20μLを注入し、その積算発光を0.5秒単位で10秒間にわたって記録した。Triton X-100溶解応答を含む総積算発光に対する初期誘発への積算応答の比率を考慮することにより、各々のウェルについての「分別応答」値を算定した。

40

【実施例3】

【0072】

結合アッセイ

ヒトMCH-1R又はヒトMCH-2Rへの結合を、MCH-1R又はMCH-2R受容体を安定に発現する細胞から調製した膜への[¹²⁵I]-ヒトMCH(Phe¹³, T

50

yr^{1-9} 置換) の結合を阻害する化合物の能力を測定することによって検定した。アッセイに使用したヒトMCH (Phe¹⁻³、Tyr¹⁻⁹置換) は、¹⁻⁹Tyrで¹⁻²⁻⁵Iにより~2000 Ci/mmolの比活性に放射能標識した (NEN Life Science Products, Boston, MA)。

【0073】

細胞膜を氷上で調製した。各々のT-75フラスコを無酵素細胞分離緩衝液 (Specialty Media, Lavallette, NJ) 10mlで2回洗い、室温で10分間インキュベートすることにより、さらなる10mlの無酵素細胞分離緩衝液中で細胞単層を分離した。分離した細胞を遠心分離し (500×g、4で10分間)、均質化緩衝液 (Tris-HCl 10 mM, pH 7.4, Pefabloc 0.01 mM, ホスホルアミドン 10 μM, バシトラシン 40 μg/ml) 5 mlに再懸濁して、その後ガラス製ホモジナイザー (10ストロークから15ストローク) を用いて均質化した。ホモジネートを10分間遠心分離した (4で1,000×g)。次に、生じた上清を38,700×g、4で15分間遠心分離した。ペレット化した膜を再懸濁し (25ゲージの針に5回通した)、液体窒素でスナップ凍結して、使用時まで -80 で保存した。

【0074】

MCH-1R又はMCH-2Rを発現する安定なCHO又はHEK-293細胞系からの細胞膜を使用して、96穴フィルター・アッセイ又はシンチレーションプロキシミティアッセイ (SPA) に基づく方式で結合を実施した。フィルター・アッセイについては、次のものを含む総容量 0.2 ml 中、20 で1時間反応を実施した：膜懸濁液 0.05 ml (~3 μg タンパク質)、[¹⁻²⁻⁵I]-ヒトMCH (Phe¹⁻³、Tyr¹⁻⁹置換；30 pM) 0.02 ml、競合物質 0.01 ml 及び結合緩衝液 (Tris-HCl 50 mM, pH 7.4, MgCl₂ 10 mM, EDTA 2 mM, バシトラシン 200 μg/ml、ホスホルアミドン 1 μM) 0.12 ml。

【0075】

結合した放射性リガンドを、1%ポリエチレンイミンで1時間、前処理したGF/Cフィルターを通して急速真空ろ過 (Packard Filtermate 96穴セルハーベスター) によって分離した。膜懸濁液をフィルターに適用したあと、フィルターを氷冷 Tris-HCl 50 mM, pH 7.4, MgCl₂ 10 mM, EDTA 2 mM, 0.04% Tween 20 の各々 3 ml で3回洗い、フィルター上の結合放射能をシンチレーション計数 (Top Count 装置) によって定量した。特異的結合 (> 総結合の 80%) を、総結合と、非標識ヒトMCH 100 nM の存在下で実施した非特異的結合の間の差として定義する。

【0076】

SPAに基づくアッセイについては、WGA-PVTビーズ (NEN Life Sciences Products) を、カルシウム及びマグネシウムを含むダルベッコPBSに再懸濁した (PBS 4 ml 中ビーズ 500 mg)。各々の96穴アッセイ平板について、ビーズ 0.18 ml を、MCH受容体CHO細胞膜 0.2 ml (~0.2-4 mg タンパク質) 及び SPAアッセイ緩衝液 (Tris-HCl 50 mM, pH 7.4, MgCl₂ 10 mM, EDTA 2 mM, 0.1% BSA, 12% グリセロール) 1.5 ml と混合することにより、MCH受容体で前被覆した。前記懸濁液を20分間静かに混合し、アッセイ緩衝液 12.3 ml 及びプロテアーゼ阻害因子を加えた (所与の最終濃度) : ロイペプチド 2 μg/ml、ホスホルアミドン 10 μM、バシトラシン 40 μg/ml、アプロチニン 5 μg/ml、Pefabloc 0.1 mM。

【0077】

被覆したビーズを使用時まで氷上に保持した。各々の穴について、ビーズ 0.145 ml をOptiplateアッセイ平板 (Packard 6005190) に加え、次いで競合物質 0.002 ml から 0.004 ml 及び [¹⁻²⁻⁵I]-ヒトMCH (Phe¹⁻³、Tyr¹⁻⁹置換；30 pM) 0.05 ml を加えた。室温で3時間、結合反応を進行させた。シンチレーション計数 (Top Count 装置) によって定量を実施した。

10

20

30

40

50

【実施例 4】

【0078】

拮抗物質アッセイ

化合物がMCH拮抗物質として働く能力を、ラットMCH-1Rを発現する、エクオリン発現安定レポーター細胞系293-AEQ17を使用して評価した。T75フラスコ中、10%FBS(Hyclone)、G418 500 µg/ml、ヒグロマイシン200 µg/ml及びHEPES 25 mMを補足したDMEM(高グルコース)において細胞を増殖させた。

【0079】

アッセイ自体は、コエレンテラジンcp(Molecular Probes, C-14 10 260)をアポエクオリンに充填することを含み、次のように実施した：

1. 集密なT75フラスコをHams F12培地12ml+グルタチオン300 µM+1%FBSで1回洗う。
2. Hams F12 8ml+1%FBS+グルタチオン300 µM+コエレンテラジン10 µMを加えて細胞に充填し、37°で1時間インキュベートする。
3. T75フラスコをECB(NaCl 140 mM、KCl 20 mM、HEPES 20 mM、グルコース5 mM、MgCl₂ 1 mM、CaCl₂ 1 mM、BSA 0.1 mg/ml pH 7.3-7.4)6mlで洗う。
4. ECB 6mlをフラスコに加え、先端がゴムのスクレイパーで分離して、2500 rpmで5分間遠心分離し、細胞ペレットをECB 5mlに再懸濁する。細胞を計数し、5×10⁵/mlに希釈する。

5. 2Xリガンド濃度0.1mlを含む96穴平板に50,000細胞/0.1mlを注入することにより、Luminoscan RTルミノメーターを使用してラットMCH-1RでのEC₅₀を測定する。

6. 結合アッセイにおいてIC₅₀<1000 nMを示す化合物の拮抗物質活性を、50,000/0.1ml充填細胞を化合物と共に10分間プレインキュベートし、その後2XEC₅₀濃度のMCH 0.1 mlを注入して反応を開始させることによって測定する。

【実施例 5】

【0080】

MCH活性

MCH-1R及びMCH-2Rでの種々の被験化合物の活性を表1に示す。MCH-1R及びMCH-2Rでの結合及び拮抗物質活性は、実施例2及び3で述べたように測定した。拮抗物質のIC₅₀は実施例4で述べたように測定した。K_bは、Trends in Pharmacol. Sci. 14: 237-239, 1993に述べられている手順を用いて測定した。

【0081】

表1の上部の構造を表の中で指示されているように修飾することにより、化合物2から36の構造を表1に示す。ヒトMCHは下記の構造を有する(「*」は環化(S-S)を示す)：

【0082】

【化12】

* *
Asp-Phe-Asp-Met-Leu-Arg-Cys-Met-Leu-Gly-Arg-Val-Tyr-Arg-Pro-Cys-
Trp-Gln-Val(配列番号. 1)

【0083】

【表1】

30

40

表 1

Ac-Arg ⁶ -Cys ⁷ -Met ⁸ -Leu ⁹ -Gly ¹⁰ -Arg ¹¹ -Val ¹² -Tyr ¹³ -Arg ¹⁴ -Pro ¹⁵ -Cys ¹⁶ -NH ₂								
配列番号	化合物	MCH-1R				MCH-2R		
		結合	作用物質		拮抗物質		結合	作用物質
IC ₅₀ (nM)	EC ₅₀ (nM)	活性化 %	IC ₅₀ (nM)	K _b (nM)	IC ₅₀ (nM)	EC ₅₀ (nM)	活性化 %	
1	hMCH	0.3	30.9	100		0.5	30.7	100
2		1.4	20	99		2	6.2	98
3	Ava ^{9,10}	3.7	587	82		350	>10000	
4	D-Arg ⁶ , Ava ^{9,10}	3.7	1080	72		5 %@1	>10000	7
5	Gva ⁶ , Ava ^{9,10}	6.3	380	10			>10000	31
6	Gva ⁶ , Ava ^{9,10} , ΔArg ¹⁴ ,Gly ¹⁵	>1000	>10000	0.1		28%@10	>10000	25
7	Acot ^{8,9,10}	>1000	>10000	0.1		51%@10	1040	27
8	Ava ^{14,15}	6.6	406	75		6%@2	>10000	
9	Δ(Ac-Arg ⁶), Ava ^{14,15}	550				40%@10		
10	D-Arg ⁶ , Ava ^{9,15}	19.5	1300	28		41 %@ 4	>10000	18
11	Gva ⁶ , Ava ^{9,15}	3	>10000	3	2.9	1.25	55%10	91
12	Gbu ⁶ , Ava ^{14,15}	8	>10000	6			4000	>10000
								14

表1

Ac-Arg ⁶ -Cys ⁷ -Met ⁸ -Leu ⁹ -Gly ¹⁰ -Arg ¹¹ -Val ¹² -Tyr ¹³ -Arg ¹⁴ -Pro ¹⁵ -Cys ¹⁶ -NH ₂								
配列番号	化合物	MCH-1R			MCH-2R			作用物質
		結合	EC ₅₀ (nM)	活性化%	拮抗物質	結合	EC ₅₀ (nM)	
13	Gva ⁶ , γAbu ^{14,15}	49	>10000	3.5	6.84	3	29%@10	>10000
14	Gva ⁶ , β-Ala ^{14,15}	176	>10000	3.6	6.8	3	43%@10	>10000
15	Gva ⁶ Gly ^{14,15}	920	>10000	3			>10000	6
16	Gva ⁶ Nle ⁸ , Ava ^{14,15}	11	>10000	3	13.8	6	79%@10	>10000
17	Gva ⁶ αAbu ⁸ , Ava ^{14,15}	830	>10000	3			>10000	7
18	Gva ⁶ , Ava ^{14,15} , OH	290	>10000	3.8	75.7	32.9	0%@10	>10000
19	Gva ⁶ Ala ⁸ , Ava ^{14,15}	140	>10000		67	29		>10000
20	Gva ⁶ Ala ¹² , Ava ^{14,15}	29	>10000	3.4	4.7	2	23%@10	>10000
21	ΔArg ⁶ , Ava ^{14,15}	180	>10000	3			5%@1	1100
22	Ala ⁸ ,Ava ^{14,15}	>1000	>10000	0.1			44%@10	1830
23	Gva ⁶ ΔLeu ⁹ , Ava ^{14,15}	>1000	>10000	0.1				>10000
24	D-Cys ⁹ , Ava ^{14,15}	350	>10000	3			50%@10	>10000
25	Gva ⁶ , D-Cys ⁷ , Ava ^{14,15}	66	>10000	0.1			61%@10	>10000
26	D-Nle ¹⁰ , Ava ^{14,15}	223	544	43			64%@10	>10000
27	Gva ⁶ , D-Nle ¹⁰ , Ava ^{14,15}	28	>10000	3	5.4	2.4	62%@10	>10000
28	D-Pro ¹⁰ , Ava ^{14,15}	700					5%@1	>10000
29	Gva ⁶ , CisAcy ^{14,15}	17	>10000				3000	
30	Ava ^{9,10} , Ava ^{14,15}	88	>10000	3	10.6	4.6	10%@1	>10000
31	β-Ala ^{9,10} , β-Ala ^{14,15}	76%@1 0	>10000	3				>10000
32	Gva ⁶ Ava ^{9,10} , Ava ^{14,15}	62	>10000	3	56	24	49%@10	>10000
33	D-Arg ⁶ , Ava ^{9,10} , Ava ^{14,15}	135	>10000	2	13.8	6	38%@10	>10000
34	Gva ⁶ Ala ⁸ ,	>1000	>10000	0.1			36%@10	>10000
								28

10

20

30

表 1

Ac-Arg ⁶ -Cys ⁷ -Met ⁸ -Leu ⁹ -Gly ¹⁰ -Arg ¹¹ -Val ¹² -Tyr ¹³ -Arg ¹⁴ -Pro ¹⁵ -Cys ¹⁶ -NH ₂								
配列番号	化合物	MCH-1R				MCH-2R		
		結合	作用物質 EC50 (nM)	活性化 %	拮抗物質 IC50 (nM)	K _b (nM)	結合	作用物質 EC50 (nM)
	Ala ¹² , Ava ^{9,10} , Ava ^{14,15} , acid	—						
35	Gva ⁶ ,Nle ⁸ , Ala ¹² , Ava ^{9,10} , Ava ^{14,15} , acid	>1000	>10000	0.1			40%@10	>10000
36	Gva ⁶ , Ava ^{9,10} , Ava ^{14,15}	>1000	>10000	0.1			34%@10	>10000
								24

「A v a」は5-アミノ吉草酸を表わし、「G b u」は4-グアニジノ酪酸を表わし、「A o c t」は8-アミノオクタン酸を表わし、「c i s A c x」はシス-4-アミノ-1-シクロヘキサンカルボン酸を表わし、「 α -A b u」は α -アミノ酪酸を表わし、「 γ -A b u」は γ -アミノ酪酸を表わし、及び「G v a」はデス-アミノ-アルギニン（5-グアニジノ-吉草酸としても知られる）を表わす。「O H」又は「酸」への言及はC末端カルボキシル基の存在を示す。

10

20

【 0 0 8 4 】

他の実施形態は本発明の特許請求の範囲内である。いくつかの実施形態を示し、説明したが、本発明の精神と範囲から逸脱することなく様々な修正を加えることができる。

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
20 February 2003 (20.02.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/013574 A1(51) International Patent Classification⁵: **A61K 38/12** A, [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065-0907 (US).

(21) International Application Number: PCT/US02/26796

(22) International Filing Date: 2 August 2002 (02.08.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/310,928 8 August 2001 (08.08.2001) US(71) Applicant (for all designated States except US): **MERCK & CO., INC.**, [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065-0907 (US).

A, [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065-0907 (US).

(74) Common Representative: **MERCK & CO., INC.**; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065-0907 (US).

(81) Designated States (national): CA, JP, US.

(84) Designated States (regional): European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EL, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR).

Published:

*with international search report
before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments*

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(72) Inventor; and

(75) Inventor/Applicant (for US only): **BEDNAREK, Maria,****WO 03/013574 A1**

(54) Title: MELANIN-CONCENTRATING HORMONE ANTAGONISTS

(57) **Abstract:** The present invention features MCH antagonists active at the MCH-1R. The antagonists are optionally modified peptides able to inhibit the effect of MCH at MCH-1R. MCH antagonists have a variety of uses including being used as a research tool and being used to achieve a beneficial effect in a subject.

WO 03/013574

PCT/US02/26796

TITLE OF THE INVENTION
MELANIN-CONCENTRATING HORMONE ANTAGONISTS

CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATIONS

- 5 The present application claims priority to provisional application U.S. Serial No. 60/310,928, filed August 8, 2001, hereby incorporated by reference herein.

BACKGROUND OF THE INVENTION

- Neuropeptides present in the hypothalamus play a major role in mediating the control of body weight. (Flier, *et al.*, 1998. *Cell*, 92, 437-440.) Melanin-concentrating hormone (MCH) produced in mammals is a cyclic 19-amino acid neuropeptide synthesized as part of a larger pre-prohormone precursor in the hypothalamus which also encodes neuropeptides NEI and NGE. (Nahon, *et al.*, 1990. *Mol. Endocrinol.* 4, 632-637; Vaughan, *et al.*, U.S. Patent No. 5,049,655; and 15 Vaughan, *et al.*, 1989. *Endocrinology* 125, 1660-1665.) MCH was first identified in salmon pituitary, and in fish MCH affects melanin aggregation thus affecting skin pigmentation. In trout and eels MCH has also been shown to be involved in stress induced or CRF-stimulated ACTH release. (Kawauchi, *et al.*, 1983. *Nature* 305, 321-323.)
- 20 In humans two genes encoding MCH have been identified that are expressed in the brain. (Breton, *et al.*, 1993. *Mol. Brain Res.* 18, 297-310.) In mammals MCH has been localized primarily to neuronal cell bodies of the hypothalamus which are implicated in the control of food intake, including perikarya of the lateral hypothalamus and zona incisa. (Knigge, *et al.*, 1996. *Peptides* 17, 25 1063-1073.)
- 25 Pharmacological and genetic evidence suggest that the primary mode of MCH action is to promote feeding (orexigenic). MCH mRNA is up regulated in fasted mice and rats, in the *ob/ob* mouse and in mice with targeted disruption in the gene for neuropeptide Y (NPY). (Qu, *et al.*, 1996. *Nature* 380, 243-247 and Erickson, 30 et al., 1996. *Nature* 381, 415-418.) Injection of MCH centrally (ICV) stimulates food intake and MCH antagonizes the hypophagic effects seen with α melanocyte stimulating hormone (α MSH). (Qu, *et al.*, 1996. *Nature* 380, 243-247.) MCH deficient mice are lean, hypophagic and have increased metabolic rate. (Shimada, *et al.*, 1998. *Nature* 396, 670-673.) The administration of MCH has been indicated to be

WO 03/013574

PCT/US02/26796

useful for promoting eating, appetite or the gain or maintenance of weight. (Maratos-Flier, U.S. Patent No. 5,849,708.)

MCH action is not limited to modulation of food intake as effects on the hypothalamic-pituitary-axis have been reported. (Nahon, 1994. *Critical Rev. in Neurobiol.* 8, 221-262.) MCH may be involved in the body response to stress as MCH can modulate the stress-induced release of CRF from the hypothalamus and ACTH from the pituitary. In addition, MCH neuronal systems may be involved in reproductive or maternal function.

MCH can bind to at least two different receptors: MCH-1R and MCH-2R. (Chambers, *et al.*, 1999. *Nature* 400, 261-265; Saito, *et al.*, 1999. *Nature* 400, 265-269; Bächner, *et al.*, 1999. *FEBS Letters* 457:522-524; Shimomura, *et al.*, 1999. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 261, 622-626; Sailer, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98:7564-7569, 2001.) The amino acid identity between MCH-2R and MCH-1R is about 38%. (Sailer, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98:7564-7569, 2001.)

SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention features MCH antagonists active at the MCH-1R. The antagonists are optionally modified peptides able to inhibit the effect of MCH at MCH-1R. MCH antagonists have a variety of uses including being used as a research tool and being used to achieve a beneficial effect in a subject.

Different combinations of alterations to a mammalian MCH are identified herein as useful for producing an MCH antagonist. Examples of such alterations include a truncated mammalian MCH containing positions 6 to 16 where positions 14 and 15 are either 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β -alanine, in combination with either or both (1) positions 9 and 10 being 5-aminovaleric acid and (2) position 6 being either 5-guanidinovaleric acid or D-arginine.

The identification of different alterations to a truncated mammalian MCH that are useful for obtaining an MCH antagonist provides guidance that can be used to obtain additional MCH antagonists. The additional MCH antagonists can be of varying sizes and can contain different types of alterations in different positions. The ability of a compound to act as an antagonist can be evaluated using techniques well known in the art.

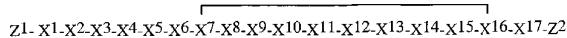
WO 03/013574

PCT/US02/26796

Thus, a first aspect of the present invention describes a MCH antagonist. The MCH antagonist is an optionally modified cyclic peptide having either a disulfide or lactam ring. Structure I illustrates the disulfide ring while Structures II and III illustrate a lactam ring.

5

Structure I is as follows:



10

wherein X¹ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;

15

X² is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;

20

X³ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid or glutamic acid, or a derivative thereof;

25

X⁴ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, glutamic acid, or norleucine, or a derivative thereof;

30

X⁵ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;

35

X⁶ is an optionally present amino acid that, if present is either arginine, alanine, leucine, glycine, lysine, proline, asparagine, serine, histidine, nitroarginine, homoarginine, citrulline, homocitrulline, norleucine, D-arginine, des-amino-arginine, 4-guanidinobutyric acid, 3-guanidino propionic acid, guanidinoacetic acid, or 3-guanidino propionic acid, or a derivative thereof,

WO 03/013574

PCT/US02/26796

- X⁷ is either cysteine, homocysteine, penicillamine, or D-cysteine, or a derivative thereof;
- X⁸ is either methionine, norleucine, leucine, isoleucine, valine, methioninesulfoxide, gamma-aminobutyric acid, or methioninesulfone, or a derivative thereof;
- X⁹ is either leucine, isoleucine, valine, alanine, methionine, 5-aminopentanoic acid, D-norleucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β-alanine, or a derivative thereof;
- X¹⁰ is either glycine, alanine, leucine, norleucine, cyclohexylalanine,
- 10 5-aminopentanoic acid, asparagine, serine, sarcosine, isobutyric, D-norleucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β-alanine, or a derivative thereof;
- X¹¹ is either arginine, lysine, citrulline, histidine, or nitroarginine, or a derivative thereof;
- X¹² is either valine, leucine, isoleucine, alanine, or methionine, or a derivative thereof;
- X¹³ is either phenylalanine, tyrosine, D-(*p*-benzoylphenylalanine), tryptophan, (1')- and (2')-naphthylalanine, cyclohexylalanine, or mono and multi-substituted phenylalanine wherein each substituent is independently selected from the group consisting of O-alkyl, alkyl, OH, NO₂, NH₂, F, I, and Br; or a derivative thereof;
- X¹⁴ is either 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, β-alanine, or cis-4-amino-1-cyclohexancarboxylic acid;
- X¹⁵ is either 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, β-alanine, or cis-4-amino-1-cyclohexancarboxylic acid;
- 25 X¹⁶ is either cysteine, homocysteine, or penicillamine, or a derivative thereof;
- X¹⁷ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;
- Z¹ is an optionally present protecting group that, if present, is covalently joined to the N-terminal amino group;
- Z² is an optionally present protecting group that, if present, is covalently joined to the C-terminal carboxy group;

WO 03/013574

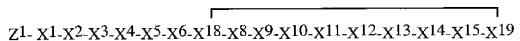
PCT/US02/26796

provided that one or both of the following applies:

- X⁹ and X¹⁰ are each independently selected from the group consisting of: 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, β -alanine, and cis-4-amino-1-cyclohexan carboxylic acid; and
- 5 X⁶ is either 5-guanidinovaleric acid, D-arginine, 4-guanidinobutyric acid, 3-guanidino propionic acid, guanidinoacetic acid or 3-guanidino propionic acid; or a labeled derivative of said peptide; or a pharmaceutically acceptable salt of said peptide or of said labeled derivative.

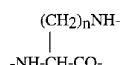
10

Structure II is as follows:



15

wherein X¹, X², X³, X⁴, X⁵, X⁶, X⁸, X⁹, X¹⁰, X¹¹, X¹², X¹³, X¹⁴, X¹⁵, and Z¹ is as described for Structure I; X¹⁸ is a α,ω -di-amino-carboxylic acid having the following structure:

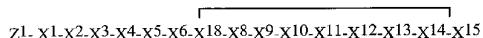


20

- where n is either 1, 2, 3, 4, or 5; and X¹⁹ is a ω -carboxy- α -amino acid, such as aspartic acid, glutamic acid, or adipic acid. The ω -amino group of the X¹⁸ α,ω -di-amino-carboxylic acid is coupled to the ω -carboxy group of the X¹⁹ amino acid.

25

Structure III is as follows:



30

- wherein X¹, X², X³, X⁴, X⁵, X⁶, X⁸, X⁹, X¹⁰, X¹¹, X¹², X¹³, X¹⁴, X¹⁵, X¹⁸ and Z¹ is as described for Structure II and the ω -amino group of the X¹⁸ α,ω -di-amino-carboxylic acid is coupled to the carboxy group at position 15.

WO 03/013574

PCT/US02/26796

Reference to "amino acid" includes naturally occurring amino acids and altered amino acids. Unless otherwise stated, those amino acids with a chiral center are provided in the L-enantiomer. Reference to "a derivative thereof" refers to the corresponding D-amino acid, N-alkyl-amino acid and β -amino acid.

- 5 Another aspect of the present invention describes a method of inhibiting MCH-1R activity in a subject. The method comprises the step of administering to the subject an effective amount of an MCH antagonist.

Reference to "effective" amount indicates an amount sufficient to achieve a desired effect. In this aspect of the invention, the effective amount is

- 10 sufficient to inhibit MCH-1R activity.
- Another aspect of the present invention describes a method of treating a subject to achieve a weight loss or to maintain weight. The method comprises the step of administering to the subject an effective amount of an MCH antagonist.

Other features and advantages of the present invention are apparent
15 from the additional descriptions provided herein including the different examples. The provided examples illustrate different components and methodology useful in practicing the present invention. The examples do not limit the claimed invention. Based on the present disclosure the skilled artisan can identify and employ other components and methodology useful for practicing the present invention.

20 DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

Different alterations to mammalian MCH are identified as providing for MCH antagonist activity. Such alterations illustrate the types of changes that can be made to MCH or an MCH-like compound to produce an MCH antagonist.

- 25 Preferred MCH antagonists are about 11 amino acids in length. The smaller size of an MCH antagonist offers advantages over a longer-length MCH antagonist such as ease of synthesis and/or increased solubility in physiological buffers.

- Preferred MCH antagonists can significantly inhibit MCH-1R activity.
30 Significant inhibition of MCH-1R activity can be evaluated by measuring the antagonist IC₅₀ in an assay involving the MCH-1R, and an MCH-1R agonist that activates the receptor. In different embodiments, the MCH antagonist has an IC₅₀ value less than about 50 nM, less than about 10 nM, and less than about 5 nM, in an assay measuring functional activity. An example of such an assay is provided in the
35 Examples below.

WO 03/013574

PCT/US02/26796

An embodiment of the present invention describes MCH-1R antagonists selectively active at the MCH-1R over the MCH-2R. Preferred selective antagonists significantly inhibit MCH-1R while not significantly inhibiting MCH-2R activity. The ability of a compound to inhibit MCH-2R activity can be directly measured by evaluating antagonist activity. Alternatively, measuring MCH-2R agonist activity can be used to determine if a compound may act as an MCH antagonist at the MCH-2R.

MCH antagonists have a variety of different uses including being used as a research tool and being used therapeutically. Examples of research tool applications include examining the role or effect of MCH, and examining the role or effects of MCH antagonists.

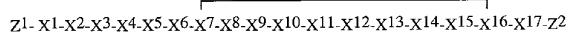
MCH antagonists can be used to inhibit MCH-1R activity *in vitro* or *in vivo*. Reference to "inhibit" or "inhibiting" indicates a detectable decrease. Inhibit and inhibiting do not require the complete absence of an activity. For example, an MCH antagonist able to inhibit the effect of MCH at MCH-1R can reduce to a detectable extent one or more activities caused by MCH at the MCH-1R.

MCH antagonists can be administered to a subject. A "subject" refers to a mammal including, for example, a human, a rat, a mouse, or a farm animal. Reference to subject does not necessarily indicate the presence of a disease or disorder. The term subject includes, for example, mammals being dosed with a MCH antagonist as part of an experiment, mammals being treated to help alleviate a disease or disorder, and mammals being treated prophylactically.

MCH antagonists can be used to achieve a beneficial effect in a patient. For example, a MCH antagonist can be used to facilitate weight loss, appetite decrease, weight maintenance, cancer (e.g., colon or breast) treatment, pain reduction, stress reduction and/or treatment of sexual dysfunction.

MCH Antagonists

MCH antagonists described include the optionally modified peptides of Structure I, II, or III. Structure I is as follows:



WO 03/013574

PCT/US02/26796

- wherein X¹ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof; preferably, X¹ if present is aspartic acid; more preferably, X¹ is not present;
- X² is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof; preferably, X² if present is phenylalanine or tyrosine; more preferably, X² if present is phenylalanine; and more preferably, X² is not present;
- X³ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof; preferably, X³ if present is aspartic acid or glutamic acid; more preferably, X³ if present is aspartic acid; and more preferably, X³ is not present;
- X⁴ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, glutamic acid, or norleucine, or a derivative thereof; preferably, X⁴ if present is methionine, leucine, isoleucine, valine, alanine or norleucine; more preferably, X⁴ if present is methionine; and more preferably, X⁴ is not present;
- X⁵ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof; preferably, X⁵ if present is leucine, methionine, isoleucine, valine or alanine; more preferably, X⁵ if present is leucine; and more preferably, X⁵ is not present;
- X⁶ is an optionally present amino acid that, if present is either arginine, alanine, leucine, glycine, lysine, proline, asparagine, serine, histidine, nitroarginine, homoarginine, citrulline, homocitrulline, norleucine, D-arginine, des-amino-arginine, 4-guanidinobutyric acid, 3-guanidino propionic acid, guanidinoacetic

WO 03/013574

PCT/US02/26796

- acid, or 3-guanidino propionic acid, or a derivative thereof; preferably X⁶ is either 5-guanidinovaleric acid, D-arginine, 4-guanidinobutyric acid, 3-guanidino propionic acid, guanidinoacetic acid or 3-guanidino propionic acid; more preferably D-arginine, des-amino-arginine; more preferably X⁶ is des-amino-arginine;
- 5 X⁷ is either cysteine, homocysteine, penicillamine, or D-cysteine, or a derivative thereof; preferably, X⁷ is cysteine;
- X⁸ is either methionine, norleucine, leucine, isoleucine, valine, methioninesulfoxide, gamma-aminobutyric acid, or methioninesulfone, or a derivative thereof; preferably, X⁸ is methionine or norleucine;
- 10 X⁹ is either leucine, isoleucine, valine, alanine, methionine, 5-aminopentanoic acid, D-norleucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β-alanine, or a derivative thereof; preferably, X⁹ is leucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β-alanine; more preferably X⁹ is leucine or 5-aminovaleric acid; more preferably X⁹ is 5-aminovaleric acid;
- 15 X¹⁰ is either glycine, alanine, leucine, norleucine, cyclohexylalanine, 5-aminopentanoic acid, asparagine, serine, sarcosine, isobutyric, D-norleucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β-alanine, or a derivative thereof; preferably, X¹⁰ is either glycine, D-norleucine, or 5-aminovaleric acid; more preferably X¹⁰ is 5-aminovaleric acid;
- 20 X¹¹ is either arginine, lysine, citrulline, histidine, or nitroarginine, or a derivative thereof; preferably, X¹¹ is arginine;
- X¹² is either valine, leucine, isoleucine, alanine, or methionine, or a derivative thereof; preferably, X¹² is valine or alanine;
- X¹³ is either phenylalanine, tyrosine, D-(*p*-benzoylphenylalanine), tryptophan, (1')- and (2')-naphthylalanine, cyclohexylalanine, or mono and multi-substituted phenylalanine wherein each substituent is independently selected from the group consisting of O-alkyl, alkyl, OH, NO₂, NH₂, F, I, and Br; or a derivative thereof; preferably, X¹³ is phenylalanine, (2')naphthylalanine, p-fluoro-phenylalanine, tyrosine, or cyclohexylalanine; more preferably X¹³ is tyrosine;
- 25 X¹⁴ is either 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, β-alanine, or cis-4-amino-1-cyclohexanecarboxylic acid; preferably, X¹⁴ is either 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β-alanine;
- 30 X¹⁴ is either 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, β-alanine, or cis-4-amino-1-cyclohexanecarboxylic acid; preferably, X¹⁴ is either 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β-alanine;

WO 03/013574

PCT/US02/26796

X15 is either 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, β -alanine, or cis-4-amino-1-cyclohexanecarboxylic acid; preferably, X15 is either 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β -alanine;

X16 is either cysteine, homocysteine, or penicillamine, or a derivative thereof; preferably, X16 is cysteine or D-cysteine;

X17 is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof; preferably, X17 if present is tyrosine or tryptophan; more preferably X17 is not present;

Z¹ is an optionally present protecting group that, if present, is covalently joined to the N-terminal amino group;

Z² is an optionally present protecting group that, if present, is covalently joined to the C-terminal carboxy group;

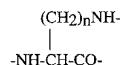
or a labeled derivative of said peptide;

or a pharmaceutically acceptable salt of said peptide or of said labeled derivative.

Structure II is as follows:

20 Z¹-X₁-X₂-X₃-X₄-X₅-X₆-X₈-X₉-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-X₁₄-X₁₅-X₁₉

wherein X₁, X₂, X₃, X₄, X₅, X₆, X₈, X₉, X₁₀, X₁₁, X₁₂, X₁₃, X₁₄, X₁₅, and Z¹ is as described for Structure I including the different embodiments; X₁₈ is a α,ω -di-amino-carboxylic acid having the following structure:



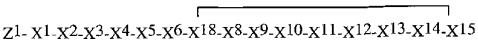
where n is either 1, 2, 3, 4, or 5; and X₁₉ is a ω -carboxy- α -amino acid, such as aspartic acid, glutamic acid, or adipic acid. The ω -amino group of the X₁₈ α,ω -di-amino-carboxylic acid is coupled to the ω -carboxy group of the X₁₉ amino acid.

30

WO 03/013574

PCT/US02/26796

Structure III is as follows:



5 wherein X1, X2, X3, X4, X5, X6, X8, X9, X10, X11, X12, X13, X14, X15, X18, and Z1 is as described for Structure II including the different embodiments and the X18 α,ω -di-amino-carboxylic acid is coupled to the carboxy group at position 15.

The present invention is meant to comprehend diastereomers as well as
10 their racemic and resolved enantiomerically pure forms. MCH antagonists can contain D-amino acids, L-amino acids or a combination thereof. Preferably, amino acids present in a MCH antagonist are the L-enantiomer.

More preferred embodiments contain preferred (or more preferred) groups in each of the different locations. In different embodiments, MCH antagonists
15 contain a preferred (or more preferred) group at one or more different locations; X9 and X10 are the same group; and/or X14 and X15 are the same group.

A protecting group covalently joined to the N-terminal amino group reduces the reactivity of the amino terminus under *in vivo* conditions. Amino protecting groups include optionally substituted -C₁₋₁₀alkyl, optionally substituted -C₂₋₁₀ alkenyl, optionally substituted aryl, -C₁₋₆ alkyl optionally substituted aryl, -C(O)-(CH₂)₁₋₆-COOH, -C(O)- C₁₋₆ alkyl, -C(O)-optionally substituted aryl, -C(O)-O-C₁₋₆ alkyl, or -C(O)-O-optionally substituted aryl. Preferably, the amino terminus protecting group is acetyl, propyl, succinyl, benzyl, benzyloxycarbonyl or *t*-butyloxycarbonyl.

25 A protecting group covalently joined to the C-terminal carboxy group reduces the reactivity of the carboxy terminus under *in vivo* conditions. The carboxy terminus protecting group is preferably attached to the α -carbonyl group of the last amino acid. Carboxy terminus protecting groups include amide, methylamide, and ethylamide.

30 "Alkyl" refers to a hydrocarbon group of one carbon atom, or a hydrocarbon group joined by carbon-carbon single bonds. The alkyl hydrocarbon group may be straight-chain or contain one or more branches or cyclic groups. Preferably, the alkyl group is 1 to 4 carbons in length. Examples of alkyl include methyl, ethyl, propyl, isopropyl, cyclopropyl, butyl, and *t*-butyl. The alkyl group may
35 be optionally substituted with one or more substituents selected from the group

WO 03/013574

PCT/US02/26796

consisting of halogen (preferably -F or -Cl) -OH, -CN, -SH, -NH₂, -NO₂, -C₁₋₂ alkyl substituted with 1 to 6 halogens (preferably -F or -Cl, more preferably -F), -CF₃, -OCH₃, or -OCF₃.

- "Alkenyl" refers to an optionally substituted hydrocarbon group containing one or more carbon-carbon double bonds. The alkenyl hydrocarbon group may be straight-chain or contain one or more branches or cyclic groups. Preferably, the alkenyl group is 2 to 4 carbons in length. The alkenyl group may be optionally substituted with one or more substituents selected from the group consisting of halogen (preferably -F or -Cl), -OH, -CN, -SH, -NH₂, -NO₂, -C₁₋₂ alkyl substituted with 1 to 5 halogens (preferably -F or -Cl, more preferably -F), -CF₃, -OCH₃, or -OCF₃.

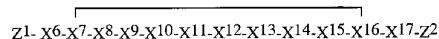
- "Aryl" refers to an optionally substituted aromatic group with at least one ring having a conjugated pi- electron system, containing up to two conjugated or fused ring systems. Aryl includes carbocyclic aryl, heterocyclic aryl and biaryl groups. Preferably, the aryl is a 5 or 6 membered ring, more preferably benzyl. Aryl substituents are selected from the group consisting of -C₁₋₄ alkyl, -C₁₋₄ alkoxy, halogen (preferably -F or -Cl), -OH, -CN, -SH, -NH₂, -NO₂, -C₁₋₂ alkyl substituted with 1 to 5 halogens (preferably -F or -Cl, more preferably -F), -CF₃, or -OCF₃.

- 20 A labeled derivative indicates the alteration of a group with a detectable label. Examples of detectable labels include luminescent, enzymatic, and radioactive labels. A preferred radiolabel is ¹²⁵I. Labels should be selected and positioned so as not to substantially alter the activity of the MCH antagonist at the MCH receptor. The effect of a particular label on MCH antagonist activity can be determined using assays measuring MCH activity.

25 In preferred embodiments the optionally modified peptide is a truncated version of Structure I, II, or III corresponding to Structures IV, V, or VI:

Structure IV

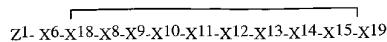
30



WO 03/013574

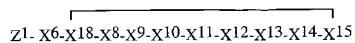
PCT/US02/26796

Structure V



5

Structure VI



10

wherein the different groups, and preferred groups, are as described above.

In additional embodiments the peptide has a sequence selected from the group consisting of SEQ. ID. NOS. 11, 12, 13, 14, 16, 18, 19, 20, 21, 25, 27, 29, 15 30, 32 and 33, a labeled derivative of said peptide or a pharmaceutically acceptable salt of said peptide or of said labeled derivative. Preferred peptides are MCH antagonists shown to have a lower IC₅₀ value. Examples of preferred MCH antagonists are provided by SEQ. ID. NOS. 11, 13, 14, 16, 20, 27, 30 and 33. MCH antagonists can be produced using techniques well known in the art. For example, a polypeptide region of a MCH antagonist can be chemically or biochemically synthesized and, if desired modified to produce a blocked N-terminus and/or blocked C-terminus. Techniques for chemical synthesis of polypeptides are well known in the art. (See e.g., Vincent, in *Peptide and Protein Drug Delivery*, New York, N.Y., Dekker, 1990.) Examples of techniques for biochemical synthesis 20 involving the introduction of a nucleic acid into a cell and expression of nucleic acids are provided in Ausubel, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley, 1987-25 1998, and Sambrook, et al., in *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

30 Screening for MCH Antagonists

Screening for MCH antagonists is facilitated using a recombinantly expressed MCH receptor. Advantages of using a recombinantly expressed MCH receptor include the ability to express the receptor in a defined cell system so that a response to MCH receptor active compounds can more readily be differentiated from 35 responses to other receptors. For example, an expression vector can be used to

WO 03/013574

PCT/US02/26796

introduce an MCH receptor into a cell line such as HEK 293, COS 7, and CHO, wherein the same cell line without the expression vector can act as a control.

- Screening for MCH antagonists is facilitated through the use of a MCH agonist in the assay. The use of a MCH agonist in a screening assay provides for
- 5 MCH receptor activity. The effect of a test compound on such activity can be measured to, for example, evaluate the ability of the compound to inhibit MCH receptor activity.
- MCH receptor activity can be measured using different techniques such as detecting a change in the intracellular conformation of the MCH receptor, Gi
- 10 or Gq activity, and/or intracellular messengers. Gi activity can be measured using techniques well known in the art such as a melonaphore assay, assays measuring cAMP production, inhibition of cAMP accumulation, and binding of ^{35}S -GTP. cAMP can be measured using different techniques such as a radioimmunoassay and indirectly by cAMP responsive gene reporter proteins.
- 15 Gq activity can be measured using techniques such as those measuring intracellular Ca^{2+} . Examples of techniques well known in the art that can be employed to measure Ca^{2+} include the use of dyes such as Fura-2 and the use of Ca^{2+} -bioluminescent sensitive reporter proteins such as aequorin. An example of a cell line employing aequorin to measure G-protein activity is HEK293/aeq17.
- 20 (Button, *et al.*, 1993. *Cell Calcium* 14, 663-671, and Feighner, *et al.*, 1999. *Science* 284, 2184-2188, both of which are hereby incorporated by reference herein.)

Uses of MCH Antagonists

- MCH antagonists can be used in methods to achieve a beneficial effect
- 25 in a subject and for research purposes. Beneficial effects of MCH antagonists include one of more of the following: weight loss, appetite decrease, weight maintenance, cancer (*e.g.*, colon or breast) treatment, pain reduction, stress reduction and/or treatment of sexual dysfunction.
- Facilitating weight maintenance or weight loss is particularly useful for
- 30 overweight and obese patients. Excessive weight is a contributing factor for different diseases including hypertension, diabetes, dyslipidemias, cardiovascular disease, gall stones, osteoarthritis and certain forms of cancers. Bringing about a weight loss can be used, for example, to reduce the likelihood of such diseases and as part of a treatment for such diseases.

WO 03/013574

PCT/US02/26796

Over weight patients include those having a body weight about 10% or more, 20% or more, 30% or more, or 50% or more, than the upper end of a "normal" weight range or Body Mass Index ("BMI"). "Normal" weight ranges are well known in the art and take into account factors such as a patient age, height, and body type.

5 BMI measures your height/weight ratio. It is determined by calculating weight in kilograms divided by the square of height in meters. The BMI "normal" range is 19-22.

Administration

10 MCH antagonists can be formulated and administered to a subject using the guidance provided herein along with techniques well known in the art. The preferred route of administration ensures that an effective amount of compound reaches the target. Guidelines for pharmaceutical administration in general are provided in, for example, *Remington's Pharmaceutical Sciences 18th Edition*, Ed. 15 Gennaro, Mack Publishing, 1990, and *Modern Pharmaceutics 2nd Edition*, Eds. Bunker and Rhodes, Marcel Dekker, Inc., 1990, both of which are hereby incorporated by reference herein.

MCH antagonists can be prepared as acidic or basic salts. Pharmaceutically acceptable salts (in the form of water- or oil-soluble or dispersible 20 products) include conventional non-toxic salts or the quaternary ammonium salts that are formed, e.g., from inorganic or organic acids or bases. Examples of such salts include acid addition salts such as acetate, adipate, alginic, aspartate, benzoate, benzenesulfonate, bisulfate, butyrate, citrate, camphorate, camphorsulfonate, cyclopentanepropionate, di gluconate, dodecylsulfate, ethanesulfonate, fumarate, 25 glucoheptanoate, glycerophosphate, hemisulfate, heptanoate, hexanoate, hydrochloride, hydrobromide, hydroiodide, 2-hydroxyethanesulfonate, lactate, maleate, methanesulfonate, 2-naphthalenesulfonate, nicotinate, oxalate, pamoate, pectinate, persulfate, 3-phenylpropionate, picrate, pivalate, propionate, succinate, tartrate, thiocyanate, tosylate, and undecanoate; and base salts such as ammonium 30 salts, alkali metal salts such as sodium and potassium salts, alkaline earth metal salts such as calcium and magnesium salts, salts with organic bases such as dicyclohexylamine salts, N-methyl-D-glucamine, and salts with amino acids such as arginine and lysine.

MCH antagonists can be administered using different routes including 35 oral, nasal, by injection, transdermal, and transmucosally. Active ingredients to be

WO 03/013574

PCT/US02/26796

- administered orally as a suspension can be prepared according to techniques well known in the art of pharmaceutical formulation and may contain microcrystalline cellulose for imparting bulk, alginic acid or sodium alginate as a suspending agent, methylcellulose as a viscosity enhancer, and sweeteners/flavoring agents. As
- 5 immediate release tablets, these compositions may contain microcrystalline cellulose, dicalcium phosphate, starch, magnesium stearate and lactose and/or other excipients, binders, extenders, disintegrants, diluents and lubricants.
- MCH antagonists may also be administered using an intravenous route (both bolus and infusion), an intraperitoneal route, a subcutaneous route, a topical
- 10 route with or without occlusion, or an intramuscular route. When administered by injection, the injectable solution or suspension may be formulated using suitable non-toxic, parenterally-acceptable diluents or solvents, such as Ringer's solution or isotonic sodium chloride solution, or suitable dispersing or wetting and suspending agents, such as sterile, bland, fixed oils, including synthetic mono- or diglycerides,
- 15 and fatty acids, including oleic acid.
- Suitable dosing regimens are preferably determined taking into account factors well known in the art including type of subject being dosed; age, weight, sex and medical condition of the subject; the route of administration; the renal and hepatic function of the subject; the desired effect; and the particular compound employed.
- 20 Optimal precision in achieving concentrations of drug within the range that yields efficacy without toxicity requires a regimen based on the kinetics of the drug's availability to target sites. This involves a consideration of the distribution, equilibrium, and elimination of a drug. The daily dose for a subject is expected to be between 0.01 and 1,000 mg per subject per day.
- 25 MCH antagonists can be provided in kit. Such a kit typically contains an active compound in dosage forms for administration. A dosage form contains a sufficient amount of active compound such that a beneficial effect can be obtained when administered to a patient during regular intervals, such as 1 to 6 times a day, during the course of 1 or more days. Preferably, a kit contains instructions indicating
- 30 the use of the dosage form for weight reduction (e.g., to treat obesity) or stress reduction, and the amount of dosage form to be taken over a specified time period.

WO 03/013574

PCT/US02/26796

Examples

Examples are provided below to further illustrate different features of the present invention. The examples also illustrate useful methodology for practicing the invention. These examples do not limit the claimed invention.

5

Example 1: Synthesis of MCH Antagonists

An example of procedures for producing MCH antagonists is described below. Other procedures for producing and modifying peptides are well known in the art.

10 Elongation of peptidyl chains on 4-(2',4'-dimethoxyphenyl-Fmoc-aminomethyl)-phenoxy resin and the acetylation of the N-terminal amino groups of the peptides was performed on a 431A ABI peptide synthesizer. Manufacture-supplied protocols were applied for coupling of the hydroxybenzotriazole esters of amino acids in N-methylpyrrolidone (NMP). The fluorenylmethyloxycarbonyl (Fmoc) group was used as a semipermanent alpha-amino protecting group, whereas the side chains protecting groups were: *tert*-butyl for aspartic acid and tyrosine, 2,2,4,6,7-pentamethylidihydrobenzofuran-5-sulfonyl (Pbf) for arginine, and trityl for cysteine.

15 Peptides were cleaved from the resin with TFA containing 5 % of anisole. After 2 hours at room temperature the resin was filtered, washed with TFA and the combined filtrates were evaporated to dryness in vacuo. The residue was triturated with ether, the precipitate which formed was filtered off, washed with ether, and dried.

20 Crude peptides were dissolved in 5 % acetic acid in water, and the pH of the solutions were adjusted to ca. 8.2 with diluted ammonium hydroxide. The reaction mixtures were stirred vigorously while 0.05 % solution of potassium ferricyanide ($K_3Fe(CN)_6$) in water was added dropwise till the reaction mixture remained yellow for about 5 minutes. After an additional 20 minutes oxidation was terminated with ca. 1 ml of acetic acid and the reaction mixtures were lyophilized.

25 Crude lyophilized peptides were analyzed by analytical reverse-phase high-pressure liquid chromatography (RP HPLC) on a C18 Vyda[®] column attached to a Waters 600E system with automatic Wisp 712 injector and 991 Photodiode Array detector. A standard gradient system of 0-100% buffer B in 30 minutes was used for analysis: buffer A was 0.1% trifluoroacetic acid in water and buffer B was 0.1% trifluoroacetic acid in acetonitrile. HPLC profiles were recorded at 210 nm and 280

WO 03/013574

PCT/US02/26796

nm. Preparative separations were performed on a Waters Delta Prep 4000 system with a semipreparative C18 RP Waters column. The above-described solvent system of water and acetonitrile, in a gradient of 20-80% buffer B in 60 minutes, was used for separation. The chromatographically homogenous compounds were analyzed by 5 electrospray mass spectrometry.

Example 2: Aequorin Bioluminescence Functional Assay

The aequorin bioluminescence assay can be used to measure the activity of G protein-coupled receptors that couple through the G α protein subunit 10 family consisting of Gq and G11. Such coupling leads to phospholipase C activation, intracellular calcium mobilization and protein kinase C activation.

Measurement of rat MCH-1R and human MCH-2R receptor activity 15 was performed using stable cell lines expressing these receptors in the aequorin-expressing stable reporter cell line 293-AEQ17 (Button *et al.*, *Cell Calcium* 14:663-671, 1993). The apo-aequorin in the cells was charged for 1 hour with coelenterazine (10 μ M) under reducing conditions (300 μ M reduced glutathione) in ECB buffer (140 mM NaCl, 20 mM KCl, 20 mM HEPES-NaOH [pH=7.4], 5 mM glucose, 1 mM MgCl₂, 1 mM CaCl₂, 0.1 mg/ml bovine serum albumin).

The cells were harvested, washed once in ECB buffer and resuspended 20 to 500,000 cells/ml. 100 μ l of cell suspension (corresponding to 5 \times 10⁴ cells) was then injected into the test plate containing MCH or test compounds, and the integrated light emission was recorded over 30 seconds, in 0.5 second units. 20 μ L of lysis buffer (0.1% final Triton X-100 concentration) was then injected and the integrated light emission recorded over 10 seconds, in 0.5 second units. The "fractional 25 response" values for each well were calculated by taking the ratio of the integrated response to the initial challenge to the total integrated luminescence including the Triton X-100 lysis response.

Example 3: Binding Assay

Binding to human MCH-1R or human MCH-2R was assayed by 30 measuring the ability of a compound to inhibit binding of [¹²⁵I]-human MCH (Phe¹³, Tyr¹⁹ substituted) to membranes prepared from cells stably expressing the MCH-1R or MCH-2R receptor. Human MCH (Phe¹³, Tyr¹⁹ substituted) used in the assay was radiolabeled with ¹²⁵I at ¹⁹Tyr to a specific activity of ~2000 Ci/mmol (NEN Life 35 Science Products, Boston, MA).

WO 03/013574

PCT/US02/26796

Cell membranes were prepared on ice. Each T-75 flask was rinsed twice with 10 ml of Enzyme-free Cell Dissociation Buffer (Specialty Media, Lavallette, NJ), and the cell monolayer was detached in an additional 10 ml of Enzyme-free Cell Dissociation Buffer by incubation at room temperature for 10 minutes. Dissociated cells were centrifuged (500 x g for 10 minutes at 4°C), resuspended in 5 ml homogenization buffer (10 mM Tris-HCl, pH 7.4, 0.01 mM Pefabloc, 10 µM phosphoramidon, 40 µg/ml bacitracin) and then homogenized using a glass homogenizer (10-15 strokes). The homogenate was centrifuged for 10 minutes (1,000 x g at 4°C). The resulting supernatant was then centrifuged at 38,700 x g for 15 minutes at 4°C. Pelleted membranes were resuspended (passed through 25 gauge needle 5 times), snap-frozen on liquid nitrogen, and stored at -80°C until use.

Binding was performed in a 96-well filter assay or Scintillation Proximity Assay (SPA)-based format using cell membranes from a stable CHO or HEK-293 cell line expressing MCH-1R or MCH-2R. For the filter assay, reactions were performed at 20°C for 1 hour in a total volume of 0.2 ml containing: 0.05 ml of membrane suspension (~3 µg protein), 0.02 ml of [¹²⁵I]-human MCH (Phe¹³, Tyr¹⁹ substituted; 30 pM), 0.01 ml of competitor and 0.12 ml of binding buffer (50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 10 mM MgCl₂, 2 mM EDTA, 200 µg/ml bacitracin, 1 µM phosphoramidon).

Bound radioligand was separated by rapid vacuum filtration (Packard Filtermate 96-well cell harvester) through GF/C filters pretreated for 1 hour with 1 % polyethylenimine. After application of the membrane suspension to the filter, the filters were washed 3 times with 3 ml each of ice-cold 50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 10 mM MgCl₂, 2 mM EDTA, 0.04 % Tween 20 and the bound radioactivity on the filters was quantitated by scintillation counting (TopCount device). Specific binding (>80 % of total) is defined as the difference between total binding and non-specific binding conducted in the presence of 100 nM unlabeled human MCH.

For the SPA-based assay, WGA-PVT beads (NEN Life Sciences Products) were resuspended in Dulbecco's PBS with calcium and magnesium (500 mg beads in 4 ml PBS). For each 96-well assay plate, 0.18 ml of beads was pre-coated with an MCH receptor by mixing with 0.2 ml MCH receptor CHO cell membranes (~ 0.2-4 mg protein) and 1.5 ml SPA assay buffer (50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 10 mM MgCl₂, 2 mM EDTA, 0.1 % BSA, 12 % glycerol). The suspension was mixed gently for 20 minutes, 12.3 ml of assay buffer and protease inhibitors were

WO 03/013574

PCT/US02/26796

added (final concentration given): 2 µg/ml leupeptin, 10 µM phosphoramidon, 40 µg/ml bacitracin, 5 µg/ml aprotinin, 0.1 mM Pefabloc.

Coated beads were kept on ice until use. For each well, 0.145 ml of beads were added to Optiplate assay plates (Packard 6005190), followed by 0.002-5 0.004 ml of competitor and 0.05 ml of [¹²⁵I]-human MCH (Phe¹³, Tyr¹⁹ substituted; 30 pM). Binding reactions were allowed to proceed at room temperature for 3 hours. Quantitation was performed by scintillation counting (TopCount device).

Example 4: Antagonist Assay

10 The ability of a compound to act as an MCH antagonist was evaluated using the aequorin-expressing stable reporter cell line 293-AEQ17 expressing the rat MCH-1R. Cells were grown in DMEM (high glucose) supplemented with 10% FBS (Hyclone), 500 µg/ml G418, 200 µg/ml hygromycin and 25 mM HEPES in T75 flasks.

15 The assay itself involved charging apoaequorin with coelenterazine cp(Molecular Probes, C-14260) and was performed as follows:

1. Confluent T75 flasks are rinsed 1X with 12 ml Hams F12 medium + 300 µM glutathione + .1% FBS.

2. The cells were charged by adding 8 ml Hams F12 + .1% FBS + 300

20 µM glutathione + 10 µM coelenterazine, incubate at 37° C for 1 hour.
3. T75 flasks are rinsed with 6 ml ECB (140 mM NaCl, 20 mM KCl, 20 mM HEPES, 5 mM glucose, 1 mM MgCl₂, 1 mM CaCl₂, 0.1 mg/ml BSA, pH 7.3 to 7.4).

25 4. ECB (6 ml) is added to the flask and the cells are dissociated with a rubber -tipped scraper, centrifuged for 5 minutes at 2500 rpm and the cell pellet resuspended in 5 ml ECB. The cells are counted and diluted to 5 x 10⁵/ml.

5. The EC₅₀ at the rat MCH-1R is determined using the Luminoscan RT luminometer by injecting 50,000 cells/0.1 ml into a 96 well plate containing 0.1 ml of 2X ligand concentration.

30 6. Antagonist activity of compounds exhibiting an IC₅₀ < 1000 nM in the binding assay are determined by preincubating 50,000/0.1 ml charged cells with compound for 10 minutes and then initiating the reaction by injecting 0.1 ml of 2 x EC₅₀ concentration of MCH.

WO 03/013574

PCT/US02/26796

Example 5: MCH Activity

The activity of different test compounds at MCH-1R and MCH-2R is shown in Table 1. Binding and agonist activity at the MCH-1R and MCH-2R was determined as described in Examples 2 and 3. Antagonist IC₅₀ was determined as 5 described in Example 4. K_B was determined using the procedures described in *Trends in Pharmacol. Sci.* 14:237-239, 1993.

Structures for compounds 2-36 are provided in Table 1 by modifying the structure at the top of the table as indicated in the table. Human MCH has the following structure ("**" indicates cyclization (S-S)):

10



TABLE 1

Ac-Arg ⁶ -Cys ⁷ -Met ⁸ -Leu ⁹ -Gly ¹⁰ -Arg ¹¹ -Val ¹² -Tyr ¹³ -Arg ¹⁴ -Pro ¹⁵ -Cys ¹⁶ -NH ₂								
SEQ. ID NO.	Compound	MCH-1R			MCH-2R			
		Binding IC ₅₀ (nM)	EC ₅₀ (nM)	Activation %	Antagonist IC ₅₀ (nM)	K _B (nM)	Binding IC ₅₀ (nM)	
1	hMCH	0.3	30.9	100			0.5	30.7 100
2		1.4	20	99			2	6.2 98
3	Ava ^{9,10}	3.7	587	82			350	>10000
4	D-Arv ⁵ Ava ^{9,10}	3.7	1080	72			5 %@1	>10000 7
5	Gva ⁶ Ava ^{9,10}	6.3	380	10				>10000 31
6	Gva ^{6,10} Ava ^{9,10} , ΔArg ¹⁴ ,Gly ¹⁵	>1000	>10000	0.1			28%@10	>10000 25
7	Aoc ^{8,10}	>1000	>10000	0.1			51%@10	1040 27
8	Ava ^{11,15}	6.6	406	75			6%@2	>10000
9	Δ (Ac-Arg ⁵), Ava ^{11,15}	550					40%@10	
10	D-Arv ⁵ Ava ^{9,10}	19.5	1300	28			41 %@ 4	>10000 18
11	Gva ⁶ Ava ^{11,15}	3	>10000	3	2.9	1.25	55%10	>10000 91
12	Gbv ⁶ Ava ^{11,15}	8	>10000	6			4000	>10000 14

TABLE 1

SEQ. ID. NO.	Compound	MCH-1R			MCH-2R		
		Binding		Agonist		Antagonist	
		IC ₅₀ (nM)	EC ₅₀ (nM)	Activation %	K _b (nM)	IC ₅₀ (nM)	EC ₅₀ (nM)
13	Gva ⁶ -Cys ⁷ -Met ⁸ -Leu ⁹ -Gly ¹⁰ -Arg ¹¹ -Val ¹² -Tyr ¹³ -Arg ¹⁴ -Pro ¹⁵ -Cys ¹⁶ -NH ₂	49	>10000	3.5	6.84	3	29%@10
14	Gva ⁶ - γ Abu ^{14,15} - β-Ala ^{14,15}	176	>10000	3.6	6.8	3	43%@10
15	Gva ⁶ -Gly ^{14,15}	920	>10000	3			6
16	Gva ⁶ -Nle ⁸ , Av _{14,15}	11	>10000	3	13.8	6	79%@10
17	Gva ⁶ -α-Abu ⁸ , Av _{14,15}	830	>10000	3			>10000
18	Gva ⁶ , Av _{14,15} -OH	290	>10000	3.8	75.7	32.9	0%@10
19	Gva ⁶ -Ala ⁸ , Av _{14,15}	140	>10000		67	29	>10000
20	Gva ⁶ -Ala ¹² , Av _{14,15}	29	>10000	3.4	4.7	2	23%@10
21	ΔArg ⁶ , Av _{14,15}	180	>10000	3		5%@1	1100
22	Ala ⁸ -Av _{14,15}	>1000	>10000	0.1		44%@10	1830
23	Gva ⁶ -Ala ⁹ , Av _{14,15}	>1000	>10000	0.1			>10000
24	D-Cys ⁷ , Av _{14,15}	350	>10000	3		50%@10	>10000
25	Gva ⁶ , D-Cys ⁷ , Av _{14,15}	66	>10000	0.1		61%@10	>10000
26	D-Nle ¹⁰ , Av _{14,15}	223	544	43		64%@10	>10000
27	Gva ⁶ , D-Nle ¹⁰ , Av _{14,15}	28	>10000	3	5.4	2.4	62%@10
28	D-Pro ¹⁰ , Av _{14,15}	700				5%@1	>10000
29	Gva ⁶ , CisAcyx ^{14,15}	17	>10000			3000	
30	Av _{14,15} ¹⁰ , Av _{14,15}	88	>10000	3	10.6	4.6	10%@1
31	β-Ala ^{9,15} , β-Ala ^{14,15}	76%@1 0	>10000	3			>10000
32	Gva ⁶ -Av _{14,15} ¹⁰ , Av _{14,15}	62	>10000	3	56	24	49%@10
33	D-Arg ⁶ , Av _{14,15} ¹⁰ , Av _{14,15}	135	>10000	2	13.8	6	38%@10
34	Gva ⁶ -Ala ⁸ ,	>1000	>10000	0.1		36%@10	>10000
							28

TABLE I

Ac-Arg ⁶ -Cys ⁷ -Met ⁸ -Leu ⁹ -Gly ¹⁰ -Arg ¹¹ -Val ¹² -Tyr ¹³ -Arg ¹⁴ -Pro ¹⁵ -Cys ¹⁶ -NH ₂								
SEQ. ID. NO.	Compound	MCH-IR			MCH-2R			Agonist: Activation %
		Binding IC ₅₀ (nM)	EC ₅₀ (nM)	Agonist Activation %	Antagonist IC ₅₀ (nM)	K _b (nM)	Binding IC ₅₀ (nM)	
	Ala ¹² , Ava ^{8,10} , Ava ^{4,5,acid}							
35	Gva ⁶ -Nle ⁸ , Ala ¹² , Ava ^{9,10} , Ava ^{14,15,acid}	>1000	>10000	0.1		40%@10	>10000	25
36	Gva ⁶ , Ava ^{8,9,10} , Ava ^{14,15}	>1000	>10000	0.1		34%@10	>10000	24

"Ava" refers to 5-aminovaleric acid, "Gbu" refers to 4-guanidinobutyric acid, "Aoc!" refers to 8-aminooctanoic acid, "cisAcx" refers to cis-4-amino-1-cyclohexanecarboxylic acid, " α -Abu" refers to α -aminobutyric acid, " γ -Abu" refers to γ -aminobutyric acid, and "Gva" refers to des-amino-arginine (also known as 5-guanidino-valeric acid). Reference to "OH" or "acid" indicates the presence of a C-terminal carboxyl group.

Other embodiments are within the following claims. While several embodiments have been shown and described, various modifications may be made without departing from the spirit and scope of the present invention.

WO 03/013574

PCT/US02/26796

WHAT IS CLAIMED IS:

1. An optionally substituted peptide having the structure:

5 $\overbrace{Z1-X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-Z2}$

wherein X₁ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;

10 X₂ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;

15 X₃ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid or glutamic acid, or a derivative thereof;

20 X₄ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, glutamic acid, or norleucine, or a derivative thereof;

25 X₅ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;

30 X₆ is an optionally present amino acid that, if present is either arginine, alanine, leucine, glycine, lysine, proline, asparagine, serine, histidine, nitroarginine, homoarginine, citrulline, homocitrulline, norleucine, D-arginine, des-amino-arginine, 4-guanidinobutyric acid, 3-guanidino propionic acid, guanidinoacetic acid, or 3-guanidino propionic acid, or a derivative thereof,

 X₇ is either cysteine, homocysteine, penicillamine, or D-cysteine, or a derivative thereof;

WO 03/013574

PCT/US02/26796

- X⁸ is either methionine, norleucine, leucine, isoleucine, valine, methioninesulfoxide, gamma-aminobutyric acid, or methioninesulfone, or a derivative thereof;
- X⁹ is either leucine, isoleucine, valine, alanine, methionine, 5-
- 5 aminopentanoic acid, D-norleucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β-alanine, or a derivative thereof;
- X¹⁰ is either glycine, alanine, leucine, norleucine, cyclohexylalanine, 5-aminopentanoic acid, asparagine, serine, sarcosine, isobutyric, D-norleucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β-alanine, or a derivative thereof;
- 10 X¹¹ is either arginine, lysine, citrulline, histidine, or nitroarginine, or a derivative thereof;
- X¹² is either valine, leucine, isoleucine, alanine, or methionine, or a derivative thereof;
- X¹³ is either phenylalanine, tyrosine, D-(*p*-benzoylphenylalanine),
- 15 tryptophan, (1')- and (2')-naphthylalanine, cyclohexylalanine, or mono and multi-substituted phenylalanine wherein each substituent is independently selected from the group consisting of O-alkyl, alkyl, OH, NO₂, NH₂, F, I, and Br; or a derivative thereof;
- X¹⁴ is either 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, β-
- 20 alanine, or cis-4-amino-1-cyclohexancarboxylic acid;
- X¹⁵ is either 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, β-
- alanine, or cis-4-amino-1-cyclohexancarboxylic acid;
- X¹⁶ is either cysteine, homocysteine, or penicillamine, or a derivative thereof;
- 25 X¹⁷ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;
- Z¹ is an optionally present protecting group that, if present, is
- 30 covalently joined to the N-terminal amino group;
- Z² is an optionally present protecting group that, if present, is covalently joined to the C-terminal carboxy group;
- provided that one or both of the following applies:

WO 03/013574

PCT/US02/26796

- X⁹ and X¹⁰ are each independently selected from the group consisting of: 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, β -alanine, and cis-4-amino-1-cyclohexanecarboxylic acid; and
- X⁶ is either 5-guanidinovaleric acid, D-arginine, 4-guanidinobutyric acid, 3-guanidino propionic acid, guanidinoacetic acid or 3-guanidino propionic acid;
- 5 or a labeled derivative of said peptide;
- or a pharmaceutically acceptable salt of said peptide or of said labeled derivative.
- 10 2. The peptide of claim 1, wherein said X⁶ amino acid is present and one or both of the following applies:
- X⁶ is either des-amino-arginine or D-arginine, and
- X⁹ and X¹⁰ are each independently selected from the group consisting of: 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, and β -alanine.
- 15 3. The peptide of claim 2, wherein X¹, X², X³, X⁴, X⁵, and X¹⁷ are not present.
- 20 4. The peptide of claim 3, wherein X⁶ is des-amino-arginine.
5. The peptide of claim 4, wherein
- X⁷ is cysteine;
- X⁸ is either methionine or norleucine;
- 25 X⁹ is either leucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β -alanine;
- X¹⁰ is either glycine, D-norleucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β -alanine;
- X¹¹ is arginine;
- 30 X¹² is valine or alanine;
- X¹³ is tyrosine; and
- X¹⁶ is cysteine.

WO 03/013574

PCT/US02/26796

6. The peptide of claim 5, wherein X¹⁴ and X¹⁵ are each 5-aminovaleric acid.
7. The peptide of claim 5, wherein X¹⁴ and X¹⁵ are each gamma-5-aminobutyric acid.
8. The peptide of claim 5, wherein X¹⁴ and X¹⁵ are each β-alanine.
- 10 9. The peptide of claim 5, wherein Z¹ is -C(O)CH₃ and Z² is -NH₂.
10. The peptide of claim 1, wherein said peptide is either SEQ. ID. NO. 11, SEQ. ID. NO. 13, SEQ. ID. NO. 14, SEQ. ID. NO. 16, SEQ. ID. NO. 20, SEQ. ID. NO. 27, SEQ. ID. NO. 33 or a pharmaceutically acceptable salt thereof.
- 15 11. The peptide of claim 10, wherein said peptide is either SEQ. ID. NO. 11, SEQ. ID. NO. 27 or a pharmaceutically acceptable salt thereof.
- 20 12. An optionally substituted peptide having the structure:
- Z¹-X₁-X₂-X₃-X₄-X₅-X₆-X₇¹⁸-X₈-X₉-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-X₁₄-X₁₅-X₁₉
- 25 wherein X¹ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;
- 30 X² is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;
- 35 X³ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine,

WO 03/013574

PCT/US02/26796

serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;

X⁴ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine,

5 serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, glutamic acid, or norleucine, or a derivative thereof;

X⁵ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine,

10 aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;

X⁶ is an optionally present amino acid that, if present is either arginine, alanine, leucine, glycine, lysine, proline, asparagine, serine, histidine, nitroarginine, homoarginine, citrulline, homocitrulline, norleucine, D-arginine, des-amino-arginine, 4-guanidinobutyric acid, 3-guanidino propionic acid, guanidinoacetic

15 acid, or 3-guanidino propionic acid, or a derivative thereof;

X⁸ is either methionine, norleucine, leucine, isoleucine, valine, methioninesulfoxide, gamma-aminobutyric acid, or methioninesulfone, or a derivative thereof;

19 X⁹ is either leucine, isoleucine, valine, alanine, methionine, 5-

20 aminopentanoic acid, D-norleucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β-alanine, or a derivative thereof;

X¹⁰ is either glycine, alanine, leucine, norleucine, cyclohexylalanine, 5-aminopentanoic acid, asparagine, serine, sarcosine, isobutyric, D-norleucine, 5-

25 aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β-alanine, or a derivative thereof;

X¹¹ is either arginine, lysine, citrulline, histidine, or nitroarginine, or a derivative thereof;

X¹² is either valine, leucine, isoleucine, alanine, or methionine, or a derivative thereof;

29 X¹³ is either phenylalanine, tyrosine, D-(*p*-benzoylphenylalanine),

30 tryptophan, (1')- and (2')-naphthylalanine, cyclohexylalanine, or mono and multi-substituted phenylalanine wherein each substituent is independently selected from the group consisting of O-alkyl, alkyl, OH, NO₂, NH₂, F, I, and Br; or a derivative thereof;

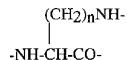
34 X¹⁴ is either 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, β-

35 alanine, or cis-4-amino-1-cyclohexancarboxylic acid;

WO 03/013574

PCT/US02/26796

X15 is either 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, β -alanine, or cis-4-amino-1-cyclohexanecarboxylic acid;
 X18 is a α,ω -di-amino-carboxylic acid having the following structure:



- 5 wherein n is either 1, 2, 3, 4, or 5;
 - X19 is an optionally present amino acid that, if present, is a ω -carboxy- α -amino acid;
 - Z1 is an optionally present protecting group that, if present, is covalently joined to the N-terminal amino group;
- 10 provided that one or both of the following applies:
 - X9 and X10 are each independently selected from the group consisting of: 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, β -alanine, and cis-4-amino-1-cyclohexanecarboxylic acid; and
 - X6 is either 5-guanidinovaleric acid, D-arginine, 4-guanidinobutyric acid, 3-guanidino propionic acid, guanidinoacetic acid or 3-guanidino propionic acid; or a labeled derivative of said peptide; or a pharmaceutically acceptable salt of said peptide or of said labeled derivative.
- 15 20 13. The peptide of claim 12,
 wherein X1, X2, X3, X4, and X5 are not present.
- 14. The peptide of claim 13, wherein
 X8 is either methionine or norleucine;
- 25 X9 is either leucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or
 β -alanine;
 X10 is either glycine, D-norleucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β -alanine;
 X11 is arginine;
- 30 X12 is valine or alanine;
 X13 is tyrosine;

WO 03/013574

PCT/US02/26796

X₁₉ if present is either aspartic acid, glutamic acid or adipic acid; and Z₁ is -C(O)CH₃.

15. A method of inhibiting MCH-1R activity in a subject
5 comprising the steps of administering to said subject an effective amount of an
optionally substituted peptide having the structure:

10 Z₁-X₁-X₂-X₃-X₄-X₅-X₆-X₇-X₈-X₉-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-X₁₄-X₁₅-X₁₆-X₁₇-Z₂

wherein X₁ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;
15 X₂ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;
X₃ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine,
20 valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;
X₄ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine,
25 serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, glutamic acid, or norleucine, or a derivative thereof;
X₅ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine,
30 aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;
X₆ is an optionally present amino acid that, if present is either arginine, alanine, leucine, glycine, lysine, proline, asparagine, serine, histidine, nitroarginine, homoarginine, citrulline, homocitrulline, norleucine, D-arginine, des-amino-arginine, 4-guanidinobutyric acid, 3-guanidino propionic acid, guanidinoacetic
35 acid, or 3-guanidino propionic acid, or a derivative thereof;

WO 03/013574

PCT/US02/26796

- X₇ is either cysteine, homocysteine, penicillamine, or D-cysteine, or a derivative thereof;
- X₈ is either methionine, norleucine, leucine, isoleucine, valine, methioninesulfoxide, gamma-aminobutyric acid, or methioninesulfone, or a derivative thereof;
- X₉ is either leucine, isoleucine, valine, alanine, methionine, 5-aminopentanoic acid, D-norleucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β-alanine, or a derivative thereof;
- X₁₀ is either glycine, alanine, leucine, norleucine, cyclohexylalanine, 5-aminopentanoic acid, asparagine, serine, sarcosine, isobutyric, D-norleucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β-alanine, or a derivative thereof;
- X₁₁ is either arginine, lysine, citrulline, histidine, or nitroarginine, or a derivative thereof;
- X₁₂ is either valine, leucine, isoleucine, alanine, or methionine, or a derivative thereof;
- X₁₃ is either phenylalanine, tyrosine, D-(*p*-benzoylphenylalanine), tryptophan, (1')- and (2')-naphthylalanine, cyclohexylalanine, or mono and multi-substituted phenylalanine wherein each substituent is independently selected from the group consisting of O-alkyl, alkyl, OH, NO₂, NH₂, F, I, and Br; or a derivative thereof;
- X₁₄ is either 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, β-alanine, or cis-4-amino-1-cyclohexancarboxylic acid;
- X₁₅ is either 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, β-alanine, or cis-4-amino-1-cyclohexancarboxylic acid;
- X₁₆ is either cysteine, homocysteine, or penicillamine, or a derivative thereof;
- X₁₇ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;
- Z¹ is an optionally present protecting group that, if present, is covalently joined to the N-terminal amino group;
- Z² is an optionally present protecting group that, if present, is covalently joined to the C-terminal carboxy group;

WO 03/013574

PCT/US02/26796

provided that one or both of the following applies:

X⁹ and X¹⁰ are each independently selected from the group consisting of: 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, β -alanine, and cis-4-amino-1-cyclohexanecarboxylic acid; and

5 X⁶ is either 5-guanidinovaleric acid, D-arginine, 4-guanidinobutyric acid, 3-guanidino propionic acid, guanidinoacetic acid or 3-guanidino propionic acid; or a labeled derivative of said peptide; or a pharmaceutically acceptable salt of said peptide or of said labeled derivative.

10

16. The method of claim 15, wherein said X⁶ amino acid is present and one or both of the following applies:

15 X⁶ is either des-amino-arginine or D-arginine, and X⁹ and X¹⁰ are each independently selected from the group consisting of: 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, and β -alanine.

20

17. The method of claim 16, wherein X¹, X², X³, X⁴, X⁵, and X¹⁷ are not present.

18. The method of claim 17, wherein X⁷ is cysteine; X⁸ is either methionine or norleucine; X⁹ is either leucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or 25 β -alanine; X¹⁰ is either glycine, D-norleucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β -alanine; X¹¹ is arginine; X¹² is valine or alanine; X¹³ is tyrosine; and X¹⁶ is cysteine.

30

19. The method of claim 18, wherein X⁶ is des-amino-arginine.

WO 03/013574

PCT/US02/26796

20. The method of claim 18, wherein X¹⁴ and X¹⁵ are each 5-aminovaleric acid.

21. The method of claim 18, wherein X¹⁴ and X¹⁵ are each 5-gamma-aminobutyric acid.

22. The method of claim 18, wherein X¹⁴ and X¹⁵ are each β-alanine.

10 23. The method of claim 18, wherein Z¹ is -C(O)CH₃ and Z² is -NH₂.

24. The method of claim 15, wherein said peptide is either SEQ. ID. NO. 11, SEQ. ID. NO. 13, SEQ. ID. NO. 14, SEQ. ID. NO. 16, SEQ. ID. NO. 20, 15 SEQ. ID. NO. 27, SEQ. ID. NO. 30, SEQ. ID. NO. 33 or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

25. The method of claim 21, wherein said peptide is either SEQ. ID. NO. 11, SEQ. ID. NO. 27 or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

20 26. A method of treating a subject to achieve a weight loss or to maintain weight comprising the step of administering to said subject an effective amount of an optionally substituted peptide having the structure:

25 Z¹-X¹-X²-X³-X⁴-X⁵-X⁶-X⁷-X⁸-X⁹-X¹⁰-X¹¹-X¹²-X¹³-X¹⁴-X¹⁵-X¹⁶-X¹⁷-Z²

30 wherein X¹ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;

35 X² is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;

WO 03/013574

PCT/US02/26796

- X³ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;
- 5 X⁴ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, glutamic acid, or norleucine, or a derivative thereof;
- X⁵ is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;
- 10 X⁶ is an optionally present amino acid that, if present is either arginine, alanine, leucine, glycine, lysine, proline, asparagine, serine, histidine, nitroarginine, homoarginine, citrulline, homocitrulline, norleucine, D-arginine, des-amino-arginine, 4-guanidinobutyric acid, 3-guanidino propionic acid, guanidinoacetic acid, or 3-guanidino propionic acid, or a derivative thereof;
- 15 X⁷ is either cysteine, homocysteine, penicillamine, or D-cysteine, or a derivative thereof;
- 20 X⁸ is either methionine, norleucine, leucine, isoleucine, valine, methioninesulfoxide, gamma-aminobutyric acid or methioninesulfone, or a derivative thereof;
- X⁹ is either leucine, isoleucine, valine, alanine, methionine, 5-aminopentanoic acid, D-norleucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β-alanine, or a derivative thereof;
- 25 X¹⁰ is either glycine, alanine, leucine, norleucine, cyclohexylalanine, 5-aminopentanoic acid, asparagine, serine, sarcosine, isobutyric, D-norleucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or β-alanine, or a derivative thereof;
- 30 X¹¹ is either arginine, lysine, citrulline, histidine, or nitroarginine, or a derivative thereof;
- X¹² is either valine, leucine, isoleucine, alanine, or methionine, or a derivative thereof;
- X¹³ is either phenylalanine, tyrosine, D-(*p*-benzoylphenylalanine), tryptophan, (1')- and (2')-naphthylalanine, cyclohexylalanine, or mono and multi-

WO 03/013574

PCT/US02/26796

substituted phenylalanine wherein each substituent is independently selected from the group consisting of O-alkyl, alkyl, OH, NO₂, NH₂, F, I, and Br; or a derivative thereof;

- X14 is either 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, β-alanine, or cis-4-amino-1-cyclohexan carboxylic acid;
- X15 is either 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, β-alanine, or cis-4-amino-1-cyclohexan carboxylic acid;
- X16 is either cysteine, homocysteine, or penicillamine, or a derivative thereof;
- X17 is an optionally present amino acid that, if present, is either alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, tryptophan, phenylalanine, methionine, glycine, serine, threonine, tyrosine, cysteine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid, or glutamic acid, or a derivative thereof;
- Z1 is an optionally present protecting group that, if present, is covalently joined to the N-terminal amino group;
- Z2 is an optionally present protecting group that, if present, is covalently joined to the C-terminal carboxy group;
- provided that one or both of the following applies:
- X9 and X10 are each independently selected from the group consisting of: 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, β-alanine, and cis-4-amino-1-cyclohexan carboxylic acid; and
- X6 is either 5-guanidinovaleric acid, D-arginine, 4-guanidinobutyric acid, 3-guanidino propionic acid, guanidinoacetic acid or 3-guanidino propionic acid; or a pharmaceutically acceptable salt of said peptide or of said labeled derivative.
27. The method of claim 26, wherein said X6 amino acid is present and one or both of the following applies:
- X6 is either des-amino-arginine or D-arginine, and
- X9 and X10 are each independently selected from the group consisting of: 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, and β-alanine.
28. The method of claim 27, wherein X1, X2, X3, X4, X5, and X17 are not present.

WO 03/013574

PCT/US02/26796

29. The method of claim 28, wherein
X⁷ is cysteine;
X⁸ is either methionine or norleucine;
X⁹ is either leucine, 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, or
5 β-alanine;
X¹⁰ is either glycine, D-norleucine, 5-aminovaleric acid, gamma-
aminobutyric acid, or β-alanine;
X¹¹ is arginine;
X¹² is valine or alanine;
10 X¹³ is tyrosine; and
X¹⁶ is cysteine.
30. The method of claim 29, wherein X⁶ is des-amino-arginine.
- 15 31. The method of claim 29, wherein X¹⁴ and X¹⁵ are each 5-
aminovaleric acid.
32. The method of claim 29, wherein X¹⁴ and X¹⁵ are each
gamma-aminobutyric acid.
- 20 33. The method of claim 29, wherein X¹⁴ and X¹⁵ are each β-
alanine.
34. The method of claim 29, wherein Z¹ is -C(O)CH₃ and Z² is
25 -NH₂.
35. The method of claim 26, wherein said peptide is either SEQ.
ID. NO. 11, SEQ. ID. NO. 13, SEQ. ID. NO. 14, SEQ. ID. NO. 16, SEQ. ID. NO. 20,
SEQ. ID. NO. 27, SEQ. ID. NO. 30, SEQ. ID. NO. 33 or a pharmaceutically
acceptable salt thereof.
- 30 36. The method of claim 35, wherein said peptide is either
SEQ. ID. NO. 11, SEQ. ID. NO. 27 or a pharmaceutically acceptable salt thereof.
- 35 37. The method of claim 29, wherein said method causes a weight
reduction.

WO 03/013574

PCT/US02/26796

38. The method of claim 29, wherein said subject is obese.

39. A method of inhibiting MCH-1R activity in a subject
5 comprising the steps of administering to said subject an effective amount of the
optionally substituted peptide of any one of claims 12, 13, or 14.

40. A method of treating a subject to achieve a weight loss or to
maintain weight comprising the step of administering to said subject an effective
10 amount of the optionally substituted peptide of any one of claims 12, 13, or 14.

WO 03/013574

PCT/US02/26796

SEQUENCE LISTING

<110> Merck & Co., Inc.
<120> MELANIN-CONCENTRATING HORMONE
ANTAGONISTS
<130> 20894 PCT
<150> 60/310,928
<151> 2001-08-08
<160> 36
<170> FastSEQ for Windows Version 4.0
<210> 1
<211> 19
<212> PRT
<213> Human
<220>
<221> DISULFID
<222> (7)...(16)
<400> 1
Asp Phe Asp Met Leu Arg Cys Met Leu Gly Arg Val Tyr Arg Pro Cys
1 5 10 15
Trp Gln Val
<210> 2
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> MCH Antagonists
<221> DISULFID
<222> (2)...(11)
<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)
<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)
<400> 2
Arg Cys Met Leu Gly Arg Val Tyr Arg Pro Cys
1 5 10
<210> 3
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

WO 03/013574

PCT/US02/26796

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (4)...(5)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 3
Arg Cys Met Xaa Xaa Arg Val Tyr Arg Pro Cys
1 5 10

<210> 4
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = D-arginine

<221> MOD_RES
<222> (4)...(5)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 4
Xaa Cys Met Xaa Xaa Arg Val Tyr Arg Pro Cys
1 5 10

<210> 5
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

WO 03/013574

PCT/US02/26796

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine

<221> MOD_RES
<222> (4)...(5)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 5
Xaa Cys Met Xaa Xaa Arg Val Tyr Arg Pro Cys
1 5 10

<210> 6
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(10)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (10)...(10)

<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine

<221> MOD_RES
<222> (4)...(5)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 6
Xaa Cys Met Xaa Xaa Arg Val Tyr Gly Cys
1 5 10

<210> 7
<211> 11

WO 03/013574

PCT/US02/26796

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (3)...(5)
<223> Xaa = 8-aminooctanoic acid

<400> 7
Arg Cys Xaa Xaa Xaa Arg Val Tyr Arg Pro Cys
1 5 10

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

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 8
Arg Cys Met Leu Gly Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10

<210> 9
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

WO 03/013574

PCT/US02/26796

<221> DISULFID
<222> (1)...(10)

<221> AMIDATION
<222> (10)...(10)

<221> MOD_RES
<222> (8)...(9)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 9
Cys Met Leu Gly Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10

<210> 10
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = D-arginine

<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 10
Xaa Cys Met Leu Gly Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10

<210> 11
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

WO 03/013574

PCT/US02/26796

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine

<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 11
Xaa Cys Met Leu Gly Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10

<210> 12
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = 4-guanidinobutyric acid

<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 12
Xaa Cys Met Leu Gly Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10

<210> 13
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

WO 03/013574

PCT/US02/26796

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)
<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)
<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)
<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine
<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = gamma-aminobutyric acid
<400> 13
Xaa Cys Met Leu Gly Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10
<210> 14
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> MCH Antagonists
<221> DISULFID
<222> (2)...(11)
<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)
<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)
<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine
<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = beta-alanine
<400> 14
Xaa Cys Met Leu Gly Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10
<210> 15
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

WO 03/013574

PCT/US02/26796

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine

<400> 15
Xaa Cys Met Leu Gly Arg Val Tyr Gly Gly Cys
1 5 10

<210> 16
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine

<221> MOD_RES
<222> (3)...(3)
<223> Xaa - Norleucine

<400> 16
Xaa Cys Xaa Leu Gly Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10

<210> 17
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

WO 03/013574

PCT/US02/26796

<223> MCH Antagonists
<221> DISULFID
<222> (2)...(11)
<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)
<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)
<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine
<221> MOD_RES
<222> (3)...(3)
<223> Xaa = alpha-aminobutyric acid
<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid
<400> 17
Xaa Cys Xaa Leu Gly Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10
<210> 18
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> MCH Antagonists
<221> DISULFID
<222> (2)...(11)
<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)
<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine
<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid
<400> 18
Xaa Cys Met Leu Gly Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10
<210> 19
<211> 11

WO 03/013574

PCT/US02/26796

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine

<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 19
Xaa Cys Ala Leu Gly Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 . 10

<210> 20
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine

<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 20
Xaa Cys Met Leu Gly Arg Ala Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 . 10

WO 03/013574

PCT/US02/26796

<210> 21
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (1)...(10)

<221> AMIDATION
<222> (10)...(10)

<221> MOD_RES
<222> (8)...(9)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 21
Cys Met Leu Gly Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10

<210> 22
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 22
Arg Cys Ala Leu Gly Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10

<210> 23
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

WO 03/013574

PCT/US02/26796

<221> DISULFID
<222> (2)...(10)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (10)...(10)

<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine

<221> MOD_RES
<222> (8)...(9)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 23
Xaa Cys Met Gly Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10

<210> 24
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (2)...(2)
<223> Xaa = D-cysteine

<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 24
Arg Xaa Met Leu Gly Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10

<210> 25
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

WO 03/013574

PCT/US02/26796

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine

<221> MOD_RES
<222> (2)...(2)
<223> Xaa = D-cysteine

<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 25
Xaa Xaa Met Leu Gly Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10

<210> 26
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (5)...(5)
<223> Xaa = D-norleucine

<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 26

WO 03/013574

PCT/US02/26796

Arg Cys Met Leu Xaa Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10

<210> 27
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine

<221> MOD_RES
<222> (5)...(5)
<223> Xaa = D-norleucine

<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 27
Xaa Cys Met Leu Xaa Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10

<210> 28
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (5)...(5)

WO 03/013574

PCT/US02/26796

<223> Xaa = D-proline
<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 28
Arg Cys Met Leu Xaa Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 S 10

<210> 29
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine

<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = cis-4-amino-1-cyclohexanecarboxylic acid

<400> 29
Xaa Cys Met Leu Gly Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 S 10

<210> 30
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

WO 03/013574

PCT/US02/26796

```
<221> MOD_RES
<222> (4)...(5)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 30
Arg Cys Met Xaa Xaa Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1           5          10

<210> 31
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (4)...(5)
<223> Xaa = B-alanine

<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = B-alanine

<400> 31
Arg Cys Met Xaa Xaa Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1           5          10

<210> 32
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)
```

WO 03/013574

PCT/US02/26796

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine

<221> MOD_RES
<222> (4)...(5)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 32
Xaa Cys Met Xaa Xaa Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10

<210> 33
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = D-arginine

<221> MOD_RES
<222> (4)...(5)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 33
Xaa Cys Met Xaa Xaa Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10

<210> 34
<211> 11

WO 03/013574

PCT/US02/26796

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine

<221> MOD_RES
<222> (4)...(5)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 34
Xaa Cys Ala Xaa Xaa Arg Ala Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10

<210> 35
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine

<221> MOD_RES
<222> (3)...(3)
<223> Xaa = norleucine

<221> MOD_RES
<222> (4)...(5)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<221> MOD_RES

WO 03/013574

PCT/US02/26796

<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 35
Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Arg Ala Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10

<210> 36
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> MCH Antagonists

<221> DISULFID
<222> (2)...(11)

<221> ACETYLATION
<222> (1)...(1)

<221> AMIDATION
<222> (11)...(11)

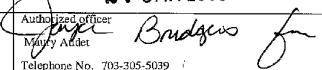
<221> MOD_RES
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = des-amino-arginine

<221> MOD_RES
<222> (3)...(5)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<221> MOD_RES
<222> (9)...(10)
<223> Xaa = 5-aminovaleric acid

<400> 36
Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Arg Val Tyr Xaa Xaa Cys
1 5 10

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/26796
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC(7) : A61K-38/12 US CL : 530/317		
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) U.S. : 530/317		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched On-Line Medical Dictionary		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EAST (USPTO), NPL-Medline, General Internet Search Engine (Yahoo)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	BEDNAREK, et al. Short segment of human melanin-concentrating hormone that is sufficient for full activation of human melanin-concentrating hormone receptors 1 and 2. Biochem. 07 August 2001; Vol. 40, No. 31, pages 9379-9386. Especially page 9380, core compound 19 MCH 6-16 (SEQ ID NO. 11, with Arg in position 6 (Arg-6), Arg-14, Pro-15, and Cys-16); page 9385 FN 3, citing Audinot dodecapeptide MCH 6-17.	1-40
Y	AUDINOT et al. Structure-activity relationship studies of melanin-concentrating hormone (MCH)-receptor peptide ligands at SLC-1, the human MCH receptor. J. Biol. Chem. 27 April 2001; Vol. 276 No. 17, pages 13554-13562. BEDNAREK, reported dodecapeptide MCH6-17 as smallest agonist activity at hMCH-1R. Abstract-future research implications in "design of short and stable MCH peptide antagonists". Page 13561 "Arg-14" residue as essential for agonistic activity, and substitutions destructive.	1-40
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		See patent family annex.
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent published on or after the international filing date which may throw doubts on priority claimed or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reasons (as specified)</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claimed or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reasons (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>		
<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with its application but cited to understand the principles or theory underlying the invention</p> <p>"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</p> <p>"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</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 28 December 2002 (28.12.2002)	Date of mailing of the international search report 27 JAN 2003	
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks 100 P. O. Box Washington, D.C. 20231 Facsimile No. 703-305-5039	 Authorized officer Marty Adjet Telephone No. 703-305-5039	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US02/26796

C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	MACDONALD et al. Molecular characterization of the melatonin-concentrating hormone/receptor complex. Identification of critical residues involved in binding and activation. Mol Pharmacol. July 2000; Vol. 58, 1, pgs. 217-25. Especially p. 223; Chemical modification of Arg residues to significant MCH activity reduction. Antagonist effect of [D-Arg ¹¹]-MCH (relevant to analogous substitution of Arg-6 or Arg-14). Also, truncation at either carboxy or amino terminus resulted in no loss of activity.	1-40
Y	CHIMANIA et al. Predominant GABA-B mediated dispersion of the isolated web melanophores of the Indian bull frog, <i>Rana tigrina</i> (Daud). Indian Journal of Pharmacology, 1995; Vol. 27, p. 241-244. Especially p. 244 "5-aminovaleric acid almost completely and significantly ($P < 0.001$) blocked the dispersal responses of frog melanophores" (melanophores-cell type in lower vertebrates that contain melatonin); as relevant to residue substitution of Arg-14 and Pro-15 (5-aminovaleric activity as antagonist).	1-40

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT	International application No. PCT/US02/26796
Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet) This international report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:	
1. <input type="checkbox"/> Claim Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely: 2. <input checked="" type="checkbox"/> Claim Nos.: Generally, 1-40, and more narrowly the species of 10, 11, 24, and 25 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: no chemical structure (i.e. invention) was distinctly claimed that could be searched for claims 1-40. 3. <input type="checkbox"/> Claim Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).	
Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet) This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows: Please See Continuation Sheet	
1. <input type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims. 2. <input type="checkbox"/> As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee. 3. <input type="checkbox"/> 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.: 4. <input checked="" type="checkbox"/> 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.: Please See Continuation Sheet	
Remark on Protest <input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest. <input type="checkbox"/> No protest accompanied the payment of additional search fees.	

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet(1)) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT	PCT/US02/26796
BOX II. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING Originally filed claims 1-40 directed to an infinite number of residue combinations, and claims 10, 11 and 24-25, directed to 8 separate and distinct SEQ ID NO.s 11, 13, 14, 16, 20, 27, 30, and 33. Applicant elected SEQ ID NO. 11, as chemical structure directed to claims 1-40, to be searched and later examined on the merits. No additional groups (i.e. SEQ ID NO.'s, chemical structure variants) has been paid for. Continuation of Box II Item 4: 1-40 (SEQ ID NO. 11), in whole or in part (i.e. optional residues at certain loci in some claims do not correspond with SEQ ID NO. 11, or constitute obvious variants thereof). See claim 2, wherein X9 and X10 are selected from the group 5-aminovaleric acid, gamma-aminobutyric acid, and B-alanine. SEQ ID NO. 11 is only directed to 5-aminovaleric acid, so claim 2 is directed to the elected SEQ ID NO. 11 'in part', unless an admission or submission of evidence is later submitted that the other members of the group are obvious variants of 5-aminovaleric acid.	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 25/18	A 6 1 P 29/02	
A 6 1 P 29/02	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 35/00	C 0 7 K 7/08	
C 0 7 K 7/08	A 6 1 K 37/02	

(74)代理人 100103920

弁理士 大崎 勝真

(74)代理人 100124855

弁理士 坪倉 道明

(72)発明者 ベドナレク, マリア・エイ

アメリカ合衆国、ニューヨーク・ジャージー・07065-0907、ローウエイ、イースト・リンカーン・アベニュー・126

F ターム(参考) 4C084 AA02 AA03 AA07 BA01 BA09 BA10 BA18 BA26 CA59 MA23
MA35 MA52 MA56 MA59 MA63 MA66 NA14 ZA082 ZA182 ZA702
ZA812 ZB262
4H045 AA10 AA30 BA17 BA32 BA34 EA20 FA34 FA58 FA59 FA60