



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2012년11월15일
(11) 등록번호 10-1201055
(24) 등록일자 2012년11월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/60 (2006.01) C07K 14/00 (2006.01)
A61K 38/25 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2008-7024810
(22) 출원일자(국제) 2007년03월09일
심사청구일자 2012년03월09일
(85) 번역문제출일자 2008년10월10일
(65) 공개번호 10-2008-0113406
(43) 공개일자 2008년12월30일
(86) 국제출원번호 PCT/US2007/006189
(87) 국제공개번호 WO 2007/108990
국제공개일자 2007년09월27일
(30) 우선권주장
60/781,860 2006년03월13일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
US20030186844 A1
WO2005014032 A2

(73) 특허권자
민쯔, 리아트
미국 08816 뉴저지주 이스트 브룬스윅 컬레싸
코트 2
(72) 발명자
민쯔, 리아트
미국 08816 뉴저지주 이스트 브룬스윅 컬레싸
코트 2
(74) 대리인
허용록

전체 청구항 수 : 총 6 항

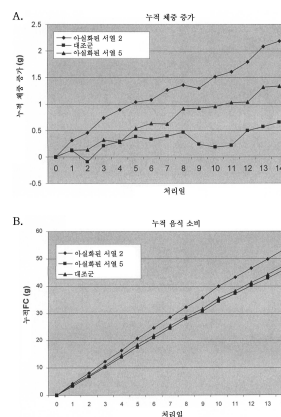
심사관 : 안규정

(54) 발명의 명칭 악액질 및/또는 식욕감퇴 및/또는 식욕감퇴-악액질 및/또는 영양장애 및/또는 지방이영양증
및/또는 근육 쇠약 및/또는 식욕-자극의 치료를 위한 그렐린 스플라이스 변이체의 용도

(57) 요약

본원은 한 측면에서 체중 및 체지방의 손실의 치료 및/또는 예방, 악액질의 예방 또는 치료, 식욕의 자극, 음식 섭취의 자극, 체중 증가의 자극, 또는 체지방량 증가 또는 체체지방량 증가 중 하나 이상을 위한 의약의 제조를 위한, 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그의 유사체의 용도에 관한 것이다. 다른 측면은 암 악액질의 치료를 필요로 하는 개체에서 암 악액질의 예방 또는 치료용 의약의 제조를 위한, 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 용도에 관한 것이다. 다른 측면은 개체에게 악액질의 예방 또는 치료용 의약의 피하 투여량을 투여함으로써 개체에서 악액질의 예방 또는 치료용 의약의 제조를 위한, 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 용도에 관한 것이다. 추가 측면은 개체에게 식욕 자극용 의약의 피하 투여량을 투여함으로써 개체에서 식욕 자극용 의약의 제조를 위한, 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염의 용도에 관한 것이다. 추가 측면은 많은 신규 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물 및 그의 용도, 뿐만 아니라 신규 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 포함하는 약학 조성물 및 의학적 패키지에 관한 것이다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물로서,

상기 화합물은 서열번호 2로 규정되는 아미노산 서열 및 서열번호 4로 규정되는 아미노산 서열로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

제 1 항에 있어서,

상기 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 N-히드록시숙신이미드 (NHS), N-히드록시-술포숙신이미드 (술포-NHS), 말레이미드-벤조일-숙신이미드 (MBS), 감마-말레이미도-부티릴옥시 숙신이미드 에스테르 (GMBS) 및 말레이미도프로피온산 (MPA)으로 구성된 군으로부터 선택되는 화학적 반응기로 변형된 것을 특징으로 하는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물.

청구항 21

삭제

청구항 22

제 1 항에 따른 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 포함하는 약액질을 치료하거나 예방하기 위한 약학 조성물.

청구항 23

제 1 항에 따른 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 포함하는 지방이영양증을 치료하거나 예방하기 위한 약학 조성물.

청구항 24

제 1 항에 따른 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 포함하는 근위축증을 치료하거나 예방하기 위한 약학 조성물.

청구항 25

삭제

청구항 26

제 1 항에 있어서,

상기 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 두 번째 또는 세 번째 아미노산은 옥타노일기로 변형된 것을 특징으로 하는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물.

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

명세서

[0001] 관련 출원에 대한 교차 참고

[0002] 본 출원은 2006년 3월 13일자로 출원된 미국 가출원 제60/781,860호를 우선권으로 청구하며, 상기 문헌은 그 전문이 본원에 참고로 도입된다.

기술 분야

[0003] 본 출원은 악액질 및/또는 지방이영양증 및/또는 근육 쇠약 및 이에 관련된 상태의 치료 또는 예방용 화합물에 관한 것이다.

배경 기술

[0004] 그렐린(ghrelin)은 설치류에서 음식 섭취, 체중 증가 및 지방과다증을 유도하는 생물활성 펩티드이다 (문헌 [Tschop M. et al., Nature 407:908-13 (2000)]; [Wren A.M. et al., Diabetes 50:2540-47 (2001)]). 그렐린의 급성 투여는 건강한 남성 및 여성에서 (문헌 [Wren A.M. et al., J. Clin. Endocrinol. Metab. 86:5992-95 (2001)]; [Druce M.R. et al., Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 29:1130-36 (2005)]) 뿐만 아니라 식욕 감퇴가 있는 암 환자에서 (문헌 [Neary N.M. et al., J. Clin. Endocrinol. Metab. 89:2832-36 (2004)]) 음식 섭취를 유도한다. 그렐린의 반복된 투여는 만성 폐쇄성 폐질환 (COPD)이 있는 악액질 환자에서 체지방량, 체중 및 음식 섭취를 증가시키고 (문헌 [Nagaya N. et al., Chest 128:1187-93 (2005)]), 만성 심부전이 있는 환자에서 근육 쇠약을 개선시켰다 (문헌 [Nagaya N. et al., Circulation 110:3674-79 (2004)]). 유사한 효과가 또한 마우스 모델에서 나타났다 (문헌 [Hanada T. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 301:275-79 (2003)]).

[0005] 종양 성장은 최종증 대사 및 신경화학 변경과 관련되어 있으며, 이는 식욕감퇴-악액질 증후군의 발병을 유발할 수 있다. 식욕감퇴는 식사에 대한 욕구의 손실로서 정의되는 반면, 악액질은 골격근량의 진행성 쇠약으로부터 유래하고, 더 적은 정도의 지방 조직을 야기하며, 심지어 체중 손실이 명백하게 되기 전에 발병한다. 암 식욕감퇴-악액질 증후군은 암 환자 사이에서 매우 두드러지며, 이환율 및 사망률에 크게 영향을 미치고, 환자의 삶의 질에 영향을 미친다. 그러나, 그의 임상적 관련성은 종종 간과되며, 치료는 통상적으로 질환의 진행성 단계 중에만 시도된다 (문헌 [Laviano A. et al., Nat. Clin. Pract. Oncol. 3:158-65 (2005)]).

[0006] 그렐린은 식사전 1 내지 2시간에 시작하여 식사전 상황에서 분비되어, 식사전에 그렐린의 혈장 수준의 급격하고 짧은 지속시간의 급상승을 가져오며, 식사 개시 후에 짧게 지속된다. 그렐린은 공지된 말초-생성 식욕유

발 (식욕-촉진) 물질이기 때문에, 그렐린의 혈장 수준의 증가는 식사의 개시에 중요하다고 여겨진다.

- [0007] 식욕의 중요한 개시체로서의 그의 역할에서, 위장관 (GI tract)의 점막에서의 내분비 세포로부터 방출된 그렐린은 암 악액질과 관련된 부분에서 하기 논의된 바와 같이, 측분비 물질로서 국소적으로 작용하고, 호르몬으로서 중추적으로 작용할 수 있다.
- [0008] GHRL (그렐린) 유전자는 대안적으로 스플라이싱된 전사체, 프리프로펩티드의 절단의 여러 유형, 및 여러 번역 후 변형으로부터 얻어진 여러 생성물을 코딩한다 (문헌 [Kojima M. & Kangawa M., *Physiol. Rev.* 85:495-522 (2005)]; [Zhang J.V. et al., *Science* 310:996-99 (2005)]). 또한, 여러가지 분해 생성물은 여러 조직에 의해 생성된다 (문헌 [De Vries C. et al., *Endocrinology* 145:4997-5005 (2004)]). 이들 GHRL 생성물 중 몇몇은 본원에 기재되어 있다.
- [0009] 그렐린은 제3 세린 상에 n-옥타노일 측쇄를 보유하는 28개의 아미노산 펩티드이며, 117개의 아미노산 프리프로그렐린으로부터의 신호 및 프로펩티드의 절단 및 아실화 사건으로부터 생긴다. 그렐린의 아실화된 N-말단은 내분비 기능에 필수적이다 (문헌 [Kojima M. et al., *Nature* 402:656-60 (1999)]; [Bednarek M.A. et al., *J. Med. Chem.* 43:4370-76 (2000)]). 내분비 기능이 결핍된 데스-아실 그렐린은 시험관내에서 글루코스 생산에 대한 그렐린의 효과에 대해 길항 효과를 갖는 것으로 나타났다 (문헌 [Gauna C. et al., *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89:5035-42 (2004)]). 대안적으로-스플라이싱된 그렐린 mRNA는 116개의 아미노산 프리프로펩티드를 코딩하며, 이는 데스-Gln14-그렐린 및 27개의 아미노산 프로세싱된 펩티드로 추가로 프로세싱된다 (문헌 [Hosoda H. et al., *J Biol. Chem.* 275:21995-22000 (2000)]). 다른 펩티드, 오베스타틴은 프리프로그렐린으로부터 절단되고, 프로세싱된 그렐린 펩티드와 서열 중첩이 없다. 이 펩티드는 음식 섭취 및 체중 증가를 억제하는, 아실화된 그렐린에 대한 소정의 길항 효과를 갖는 것으로 나타났다 (문헌 [Zhang J.V. et al., *Science* 310:996-99 (2005)]). 또다른 펩티드, 프리프로그렐린의 66개의 아미노산 C-말단은 또한 관능성일 수 있다 (문헌 [Pemberton C. et al., *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 310:567-73 (2003)]). 상이한 스플라이스 변이체에 의해 코딩된 이소형을 비롯한 여러 이소형은 다른 단백질, 예를 들어 혈관 내피 성장 인자 (VEGF)로 공지되어 있으며, 상이한 이소형은 혈관형성으로서의 역할을 공유하는 반면, 몇몇 다른 특징, 예컨대 결합 친화성은 상이하다 (문헌 [Neufeld G. et al., *FASEB J.* 13:9-22 1999]). 따라서, GHRL 유전자의 여러 생성물은 그렐린 이소형의 내분비 및 측분비 작용의 유사하게 복잡한 조절을 반영할 수 있다.
- [0010] 이전에, 270분 동안의 5 pmol/kg/min 용량의 연속적인 주입에 의한 그렐린의 투여는 건강한 인간에서 음식 섭취를 증가시키는 것으로 나타났다 (문헌 [Wren A.M. et al., *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86:5992-95 (2001)]). 또한, 90분 동안의 그렐린의 주입은 암 악액질 환자에서 음식 섭취를 30%만큼 증가시킬 수 있는 것으로 나타났다 (문헌 [Abstract P09, Digestive Hormones, Appetite and Energy Balance, Baylis and Starling meeting, London, June 2003]). 최근, 본래 식사전 상황에 밀접한 모방을 확실하게 하는, 식사전 아실화된 그렐린 3.6 nmol/kg의 피하 주사가 에너지 섭취를 27%만큼 증가시킨 것으로 나타났다. 그렐린은 또한 제공된 음식의 지각된 맛좋음을 향상시키는 것으로 보인다 (문헌 [Druce M.R. et al., *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 29:1130-36 (2005)]).
- [0011] 이들 연구는 그렐린의 비경구 투여가 정상 대상체 및 식욕이 손실된 환자 둘 모두에서 식욕을 증가시킬 수 있는 것으로 나타났다. 또한, 출원인은 신규 그렐린 스플라이스 변이체를 대상체에게 투여시, 특히 식사전에 피하로 투여시 (이에 의해, 본래 식사전 상황의 밀접한 모방을 확실하게 함) 체중 증가의 유의한 효과 및 음식 소비의 유의한 증가를 얻는 것이 가능하다는 것을 밝혀내었다 (본원에 참고로 도입된, 공동소유의 공동계류중인 공개된 미국 특허 출원 제2005/0059015호 참조). 체중 증가에 대한 그렐린의 효과는 주로 지방량에 대한 것인 반면, 출원인의 신규 그렐린 스플라이스 변이체의 체중 증가 효과는 주로 제지방량에 대한 것이다.
- [0012] <발명의 요약>
- [0013] 한 측면은 화학식 Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2 (여기서, Z1은 임의로 존재하는 보호기이고; X1은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고; X2는 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 상기 아미노산은 용적이 큰 (bulky) 소수성기로 변형되고; X3은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 여기서 하나 이상의 X1 및 X3은 임의로 용적이 큰 소수성기로 변형될 수 있고; Z2는 임의로 존재하는 보호기이고; m은 1 내지 10 범위의 정수이고; n은 4 내지 92 범위의 정수이되; 단, 화학식 Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2에 따른 화합물은 길이가 15 내지 94개의 아미노산이고, 서열 1과의 상동성이 80% 이상임)을 갖는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물이다.
- [0014] 다른 측면은 화학식 Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2 (여기서, Z1은 임의로 존재하는 보호기이고; X1은 각각 독립적으

로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고; X2는 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 상기 아미노산은 용적이 큰 소수성기로 변형되고; X3은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 여기서 하나 이상의 X1 및 X3은 임의로 용적이 큰 소수성기로 변형될 수 있고; Z2는 임의로 존재하는 보호기이고; m은 1 내지 10 범위의 정수이고; n은 4 내지 92 범위의 정수이되; 단, 화학식 Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2에 따른 화합물은 길이가 15 내지 94개의 아미노산이고, 서열 1과의 상동성이 80% 이상임을 갖는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 포함하는 약학 조성물이다.

[0015] 추가 측면은 약학적으로 허용되는 양의 (a) 그렐린 스플라이스 변이체; (b) 화학식 Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2 (여기서, Z1은 임의로 존재하는 보호기이고; X1은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고; X2는 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 상기 아미노산은 용적이 큰 소수성기로 변형되고; X3은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 여기서 하나 이상의 X1 및 X3은 임의로 용적이 큰 소수성기로 변형될 수 있고; Z2는 임의로 존재하는 보호기이고; m은 1 내지 10 범위의 정수이고; n은 4 내지 92 범위의 정수이되; 단, 화학식 Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2에 따른 화합물은 길이가 15 내지 94개의 아미노산이고, 서열 1과의 상동성이 80% 이상임을 갖는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물; 또는 (c) 이들의 혼합물을 약액질의 치료를 필요로 하는 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 약액질의 치료 방법이다.

[0016] 추가 측면은 약학적으로 허용되는 양의 (a) 그렐린 스플라이스 변이체; (b) 화학식 Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2 (여기서, Z1은 임의로 존재하는 보호기이고; X1은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고; X2는 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 상기 아미노산은 용적이 큰 소수성기로 변형되고; X3은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 여기서 하나 이상의 X1 및 X3은 임의로 용적이 큰 소수성기로 변형될 수 있고; Z2는 임의로 존재하는 보호기이고; m은 1 내지 10 범위의 정수이고; n은 4 내지 92 범위의 정수이되; 단, 화학식 Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2에 따른 화합물은 길이가 15 내지 94개의 아미노산이고, 서열 1과의 상동성이 80% 이상임을 갖는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물; 또는 (c) 이들의 혼합물을 약액질의 예방을 필요로 하는 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 약액질의 예방 방법이다.

[0017] 추가 측면은 약학적으로 허용되는 양의 (a) 그렐린 스플라이스 변이체; (b) 화학식 Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2 (여기서, Z1은 임의로 존재하는 보호기이고; X1은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고; X2는 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 상기 아미노산은 용적이 큰 소수성기로 변형되고; X3은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 여기서 하나 이상의 X1 및 X3은 임의로 용적이 큰 소수성기로 변형될 수 있고; Z2는 임의로 존재하는 보호기이고; m은 1 내지 10 범위의 정수이고; n은 4 내지 92 범위의 정수이되; 단, 화학식 Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2에 따른 화합물은 길이가 15 내지 94개의 아미노산이고, 서열 1과의 상동성이 80% 이상임을 갖는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물; 또는 (c) 이들의 혼합물을 식욕, 음식 섭취 및/또는 체중 증가의 자극을 필요로 하는 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 식욕, 음식 섭취 및/또는 체중 증가의 자극 방법이다.

[0018] 다른 측면은 약학적으로 허용되는 양의 (a) 그렐린 스플라이스 변이체; (b) 화학식 Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2 (여기서, Z1은 임의로 존재하는 보호기이고; X1은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고; X2는 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 상기 아미노산은 용적이 큰 소수성기로 변형되고; X3은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 여기서 하나 이상의 X1 및 X3은 임의로 용적이 큰 소수성기로 변형될 수 있고; Z2는 임의로 존재하는 보호기이고; m은 1 내지 10 범위의 정수이고; n은 4 내지 92 범위의 정수이되; 단, 화학식 Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2에 따른 화합물은 길이가 15 내지 94개의 아미노산이고, 서열 1과의 상동성이 80% 이상임을 갖는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물; 또는 (c) 이들의 혼합물을 지방이영양증의 치료를 필요로 하는 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 지방이영양증의 치료 방법이다.

[0019] 추가 측면은 약학적으로 허용되는 양의 (a) 그렐린 스플라이스 변이체; (b) 화학식 Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2 (여기서, Z1은 임의로 존재하는 보호기이고; X1은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고; X2는 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 상기 아미노산은 용적이 큰 소수성기로 변형되고; X3은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 여기서 하나 이상의 X1 및 X3은 임의로 용적이 큰 소수성기로 변형될 수 있고; Z2는 임의로 존재하는 보호기이고; m은 1 내지 10 범위의 정수이고; n은 4 내지 92 범위의 정수이되; 단, 화학식 Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2에 따른 화합물은 길이가 15 내지 94개의 아미노산이고, 서열 1과의 상동성이 80% 이상임을 갖는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물; 또는 (c) 이들의 혼합물을 지방이영양증의 예방을 필요로 하는 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 지방이영양증의 예방 방법이다.

- [0020] 다른 측면은 약학적으로 허용되는 양의 (a) 그렐린 스피라이스 변이체; (b) 화학식 $Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2$ (여기서, Z1은 임의로 존재하는 보호기이고; X1은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고; X2는 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 상기 아미노산은 용적이 큰 소수성기로 변형되고; X3은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 여기서 하나 이상의 X1 및 X3은 임의로 용적이 큰 소수성기로 변형될 수 있고; Z2는 임의로 존재하는 보호기이고; m은 1 내지 10 범위의 정수이고; n은 4 내지 92 범위의 정수이되; 단, 화학식 $Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2$ 에 따른 화합물은 길이가 15 내지 94개의 아미노산이고, 서열 1과의 상동성이 80% 이상임)을 갖는 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물; 또는 (c) 이들의 혼합물을 근육 쇠약의 치료를 필요로 하는 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 근육 쇠약의 치료 방법이다.
- [0021] 추가 측면은 약학적으로 허용되는 양의 (a) 그렐린 스피라이스 변이체; (b) 화학식 $Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2$ (여기서, Z1은 임의로 존재하는 보호기이고; X1은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고; X2는 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 상기 아미노산은 용적이 큰 소수성기로 변형되고; X3은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 여기서 하나 이상의 X1 및 X3은 임의로 용적이 큰 소수성기로 변형될 수 있고; Z2는 임의로 존재하는 보호기이고; m은 1 내지 10 범위의 정수이고; n은 4 내지 92 범위의 정수이되; 단, 화학식 $Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2$ 에 따른 화합물은 길이가 15 내지 94개의 아미노산이고, 서열 1과의 상동성이 80% 이상임)을 갖는 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물; 또는 (c) 이들의 혼합물을 근육 쇠약의 예방을 필요로 하는 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 근육 쇠약의 예방 방법이다.
- [0022] 추가 측면은 약학적으로 허용되는 양의 (a) 그렐린 스피라이스 변이체; (b) 화학식 $Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2$ (여기서, Z1은 임의로 존재하는 보호기이고; X1은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고; X2는 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 상기 아미노산은 용적이 큰 소수성기로 변형되고; X3은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 여기서 하나 이상의 X1 및 X3은 임의로 용적이 큰 소수성기로 변형될 수 있고; Z2는 임의로 존재하는 보호기이고; m은 1 내지 10 범위의 정수이고; n은 4 내지 92 범위의 정수이되; 단, 화학식 $Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2$ 에 따른 화합물은 길이가 15 내지 94개의 아미노산이고, 서열 1과의 상동성이 80% 이상임)을 갖는 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물; 또는 (c) 이들의 혼합물을 포함하는 분비촉진제를 약액질 및/또는 식욕감퇴 및/또는 식욕감퇴-약액질 및/또는 영양장애 및/또는 지방이영양증 및/또는 식욕-자극의 치료를 필요로 하는 포유동물에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 치료는 약액질의 예방 또는 치료, 지방이영양증의 예방 또는 치료, 식욕의 자극, 음식 섭취의 자극, 체중 증가의 자극, 체지방량의 증가, 체지방량의 증가, 또는 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택된 것인, 약액질 및/또는 식욕감퇴 및/또는 식욕감퇴-약액질 및/또는 영양장애 및/또는 지방이영양증 및/또는 식욕-자극의 치료 방법이다.
- [0023] 추가 측면은 (a) 약학적으로 허용되는 양의 (1) 그렐린 스피라이스 변이체; (2) 화학식 $Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2$ (여기서, Z1은 임의로 존재하는 보호기이고; X1은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고; X2는 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 상기 아미노산은 용적이 큰 소수성기로 변형되고; X3은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 여기서 하나 이상의 X1 및 X3은 임의로 용적이 큰 소수성기로 변형될 수 있고; Z2는 임의로 존재하는 보호기이고; m은 1 내지 10 범위의 정수이고; n은 4 내지 92 범위의 정수이되; 단, 화학식 $Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2$ 에 따른 화합물은 길이가 15 내지 94개의 아미노산이고, 서열 1과의 상동성이 80% 이상임)을 갖는 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물; 또는 (3) 이들의 혼합물을 포함하는 투여 형태; 및 (b) 임의로, (a)의 투여에 대한 지시사항을 포함하는, 그렐린 스피라이스 변이체 또는 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물 투여용 키트이다.
- [0024] 다른 측면은 (a) 상기 기재된 바와 같은 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 cDNA를 제공하는 단계; (b) cDNA가 프로모터에 작동가능하게 연결되도록 상기 cDNA를 발현 벡터에 삽입하는 단계; (c) 숙주 세포가 상기 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물을 생성하도록 상기 발현 벡터를 상기 숙주 세포에 도입하는 단계; 및 (d) 임의로 단계 (c)에서 생성된 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물을 회수하는 단계를 포함하는, 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물의 제조 방법이다.
- [0025] 다른 목적 및 이점은 하기 발명의 상세한 설명을 참조하여 당업자에게 명백하게 될 것이다.
- [0026] <서열의 간단한 설명>
- [0027] 서열 1은 신호전달 서열 후 인간 프리프로 그렐린 스피라이스 변이체를 나타낸다.

- [0028] 서열 2는 22개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체를 나타낸다.
- [0029] 서열 3은 24개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체를 나타낸다.
- [0030] 서열 4는 24개의 아미노산 변형된 인간 그렐린 스플라이스 변이체를 나타낸다.
- [0031] 서열 5는 29개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체를 나타낸다.
- [0032] 서열 6은 전장 인간 그렐린 스플라이스 변이체의 단편을 나타낸다.
- [0033] 서열 7은 신호전달 서열 후 마우스 프리프로 그렐린 스플라이스 변이체를 나타낸다.
- [0034] 서열 8은 신호전달 서열 후 래트 프리프로 그렐린 스플라이스 변이체를 나타낸다.

발명의 상세한 설명

- [0039] 출원인은 본원에 모든 인용된 참고문헌의 전문을 구체적으로 도입한다. 또한, 양, 농도, 또는 다른 값 또는 파라미터가 범위, 바람직한 범위, 또는 상부의 바람직한 값 및 하부의 바람직한 값의 목록으로서 주어지는 경우, 이는 범위가 별도로 개시되는 것과 상관없이 임의의 범위 상한 또는 바람직한 값 및 임의의 범위 하한 또는 바람직한 값의 임의의 쌍으로부터 형성된 모든 범위를 구체적으로 개시하는 것으로 이해되어야 한다. 수치의 범위가 본원에서 언급되는 경우, 다른 언급이 없는 한 범위는 범위의 종점, 및 범위 내의 모든 정수 및 분수를 포함하는 것으로 의도된다. 본 발명의 범위가 범위를 정의할 때 언급된 특정 값으로 제한되는 것으로 의도되지 않는다.
- [0040] 본원의 문맥에서 수많은 용어가 사용될 수 있다.
- [0041] 본원에서 사용되는 "친화성"은 수용체와 그의 리간드 사이의 결합, 예를 들어 항체와 그의 항원 사이의 결합의 강도를 의미한다.
- [0042] 본원에서 사용되는 "아미노산 잔기"는 펩티드 결합에서 폴리펩티드의 화학적 소화 (가수분해)시 형성된 아미노산을 의미한다. 본원에 기재된 아미노산 잔기는 바람직하게는 "L" 이성질체 형태이다. 그러나, 아미노산은 원하는 기능적 특성이 폴리펩티드에 의해 보유되는 한, 모든 아미노산, 예컨대 L-아미노산, D-아미노산, 알파-아미노산, 베타-아미노산, 감마-아미노산, 천연 아미노산 및 합성 아미노산 등을 포함한다. NH₂는 폴리펩티드의 아미노 말단에 존재하는 유리 아미노기를 지칭한다. COOH는 폴리펩티드의 카르복시 말단에 존재하는 유리 카르복시기를 지칭한다. 아미노산 잔기에 대한 표준 폴리펩티드 약어는 하기 표 1에 나타낸다.

표 1

1-글자 코드	3-글자 코드	아미노산
A	Ala	알라닌
B	Asx, Asn 및/또는 Asp	아스파르트산 및/또는 아스파라긴
C	Cys	시스테인
D	Asp	아스파르트산
E	Glu	글루탐산
F	Phe	페닐알라닌
G	Gly	글리신
H	His	히스티딘
I	Ile	이소류신
K	Lys	리신
L	Leu	류신
M	Met	메티오닌
N	Asn	아스파라긴
P	Pro	프롤린
Q	Gln	글루타민
R	Arg	아르기닌
S	Ser	세린
T	Thr	트레오닌
V	Val	발린
W	Trp	트립토판
X	Xaa	비공지된 또는 기타

Y	Tyr	티로신
Z	Glx, Gln 및/또는 Glu	글루탐산 및/또는 글루타민
---	Dpr	2,3-디아미노프로피온산

- [0044] 본원에 화학식에 의해 나타낸 모든 아미노산 잔기 서열은 카르복시 말단에 대한 아미노 말단의 통상적인 방향에서 좌측에서 우측으로의 배향을 갖는다는 것을 주목해야 한다. 또한, 어구 "아미노산 잔기"는 광범위하게는 표 1에 나열된 아미노산 및 변형된 및 비천연 아미노산을 포함하는 것으로 정의된다. 또한, 아미노산 잔기 서열의 시작 또는 끝에서의 대시(-)는 하나 이상의 아미노산 잔기의 추가 서열로의 펩티드 결합, 또는 NH₂ 또는 아세틸과 같은 아미노-말단기, 또는 COOH와 같은 카르복시-말단기로의 공유 결합에 대한 펩티드 결합을 나타낸다는 것을 주목해야 한다.
- [0045] 본원에서 사용되는 "항신생물 치료"는 개체에서 비정상적인 조직 성장 (예컨대, 신생물)의 정지 또는 감소를 목표로 하는 치료를 의미한다. 이러한 치료의 예로는 암 치료요법, 예컨대 방사선요법 또는 화학요법을 들 수 있다.
- [0046] 개체에 관한 "식욕"은 섭취된 음식의 양의 측정에 의해, 및 개체의 식사에 대한 욕구의 분석에 의해 분석한다. 본원에서, 식욕 (즉, 시장기)은 전형적으로 1주마다 수회의 무작위를 기초로 개체에 주어진 짧은 질문서로 분석한다. 전형적으로, 대상체는 1 (전혀 아님) 내지 5 (극히 그러함) 범위의 아날로그 척도를 사용하여 질문에 답함으로써 그의 시장기, 음식에 대한 집착, 및 더 많은 양의 음식 및 여러가지 유형의 음식을 먹고자하는 욕구를 등급매긴다.
- [0047] "체질량 지수" 또는 "BMI"는 개체의 체중에 대한 키의 비율의 측정치이다. BMI는 체중 (kg)을 키 (m)의 제곱으로 나누어 계산하여 결정된다. BMI "정상" 범위는 18.5 내지 25이다.
- [0048] "체지방량"은 예를 들어 지방 주름 기술에 의해 측정될 수 있다. 지방 주름 기술에서, 협격(pincer)-유형 캘리퍼는 체내의 대표적인 부위에서 피부 주름 두께의 결정에 의해 피하 지방을 측정하는데 사용된다. 그 후, 이들 피부 주름 측정치는 여러 측정으로부터의 점수를 합하고, 이 값을 개체 사이의 비만의 상대적인 정도의 표시로서 사용함으로써, 또는 체지방 %를 예측하기 위해 개발된 수학적식에서 상기 측정치를 사용함으로써 체지방을 계산하는데 사용된다 (문헌 [Fogelholm M. & van Marken Lichtenbelt W., Eur. J. Clin. Nutr. 51:495-503 (1997)]).
- [0049] 본원에서 사용되는 "등가 농도"는 그렐린 스플라이스 변이체의 투여량-반응 곡선으로부터 평가된 바와 같이 시험관내 및/또는 생체내 동일한 반응을 갖는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 등가 투여량을 의미한다.
- [0050] "해리 상수" 또는 "Kd"는 수용체와 그의 리간드, 예를 들어 항체와 그의 항원 사이의 결합의 강도 (또는 친화성 또는 결합성)를 기재하는 측정치이다. Kd가 작을수록 결합은 더 강하다.
- [0051] "융합 폴리펩티드"는 2종 이상의 폴리펩티드, 및 2개의 폴리펩티드를 하나의 연속적인 폴리펩티드로 작동가능하게 연결하는 연결 서열로 구성된 폴리펩티드이다. 융합 폴리펩티드에 연결된 2개의 폴리펩티드는 전형적으로 2종의 독립적인 공급원으로부터 유래되며, 그러므로 융합 폴리펩티드는 자연계에서 연결된 것으로 통상적으로 발견되지 않는 2개의 연결된 폴리펩티드를 포함한다.
- [0052] 본원에서 사용되는 "인간 그렐린"은 진뱅크(GenBank)[®] 접속 번호 NP_057446 또는 스위스-Prot 확인번호 GHRL_HUMAN에 기재된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드이다. 인간 그렐린 전단백질은 117개의 아미노산을 갖는다. 이 전단백질은 후속적 번역후 프로세싱을 거친다. 신호 펩티드 (아미노산 1-23)는 제거되고, 남은 94개의 아미노산은 프로테아제에 의해 절단되어, 성숙 28개의 아미노산 그렐린 (아미노산 24-51) 또는 성숙 27개의 아미노산 그렐린 (아미노산 24-50) 및 성숙 23개의 아미노산 오베스타틴 (아미노산 76-98)을 제공한다. 27 또는 28개의 아미노산 성숙 그렐린 펩티드는 전단백질의 위치 26의 세린에서 0-옥타노일기 또는 0-테카노일기에 의해 추가로 변형될 수 있다. 오베스타틴 성숙 펩티드는 아미드기에 의해 전단백질의 위치 98의 리신에서 추가로 변형될 수 있다. 추가의 그렐린 전단백질이 공지되어 있으며, 이는 전단백질의 위치 37에서 글루타민이 결핍되어 있다.
- [0053] "그렐린 스플라이스 변이체"는 서열 1에 기재된 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드, 또는 번역후 변형에 의한

또는 의하지 않은 서열 1로부터의 15개 이상의 아미노산의 임의의 펩티드, 또는 서열 7 또는 서열 8에 기재된 바와 같은 임의의 서열 1 상동체, 및/또는 번역후 변형에 의한 또는 의하지 않은 서열 7 또는 서열 8로부터의 15개 이상의 아미노산의 임의의 펩티드이다.

[0054] 본원에서 사용되는 "그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물"은 그렐린 스플라이스 변이체, 특히 인간 그렐린 스플라이스 변이체의 기능, 특히 본원에 기재된 원하는 치료 효과, 예컨대 식욕의 자극 및/또는 악액질의 치료 및/또는 예방을 유발하는 그렐린 스플라이스 변이체 기능을 모방하고, 하기 화학식 I에 의해 정의된 임의의 화합물을 지칭한다. 바람직한 실시양태에서, 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 길이가 22 내지 29 개의 아미노산이다.

화학식 I

[0055] $Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2$

[0056] 여기서, Z1은 임의로 존재하는 보호기이고; X1은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고; X2는 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 상기 아미노산은 용적이 큰 소수성기로 변형되고; X3은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 여기서 하나 이상의 X1 및 X3은 임의로 용적이 큰 소수성기로 변형될 수 있고; Z2는 임의로 존재하는 보호기이고; m은 1 내지 10 범위의 정수이고; n은 4 내지 92 범위의 정수이되; 단, 화학식 $Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2$ 에 따른 화합물은 길이가 15 내지 94개의 아미노산이고, 서열 1과의 상동성이 80% (또는, 대안적 실시양태에서, 85%, 90%, 93%, 95%, 97%, 98%, 99%, 100%) 이상이다.

[0057] "면역학적으로 상이한"은 하나의 폴리펩티드에 특이적으로 결합하고 다른 하나의 폴리펩티드에 특이적으로 결합하지 않는 항체의 능력에 대해 2개의 폴리펩티드를 구별하는 능력을 지칭한다.

[0058] "개체"는 본원에서 정의된 바와 같은 상태, 특히 악액질 상태에 민감한 동물 또는 인간이다. 바람직한 실시양태에서, 개체는 인간 및 비인간 포유동물, 예컨대 개, 고양이, 돼지, 소, 양, 염소, 말, 래트 및 마우스를 비롯한 포유동물이다. 가장 바람직한 실시양태에서, 개체는 인간이다.

[0059] "단리된"은 그의 천연 환경의 성분으로부터 확인되고 분리되고/거나 회수된, 여러 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물, 즉 본원에 개시된 폴리펩티드 및 뉴클레오티드를 기재하는데 사용된다. 자연 환경의 오염 성분은 전형적으로 폴리펩티드에 대한 진단적 또는 치료적 사용을 방해하는 물질이며, 효소, 호르몬, 및 다른 단백질성 또는 비-단백질성 용질을 포함할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물이 정제될 것이다.

[0060] 본원에서 사용되는 "변형된 아미노산"은 그의 임의의 기가 화학적으로 변형된 아미노산이다.

[0061] 본원에서 사용되는 "비-표준 아미노산"은 20개의 표준 아미노산에 속하지 않는 아미노산이다. 비-표준 아미노산은 통상적으로 표준 아미노산에 대한 화학적 변형을 통해 형성된다. 이들은 또한 대사 경로의 중간체 성분으로서 자연적으로 형성되거나, 또는 미생물 및/또는 식물에 의해 형성될 수 있다.

[0062] 여러 문법적 형태의 "모노클로날 항체"는 특정 항원과 면역반응할 수 있는 항체 결합 부위의 하나의 종만을 함유하는 항체 분자의 집단을 지칭한다.

[0063] "비-아실화된 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물"은 그의 구성요소 아미노산 중 임의의 아미노산에 부착된 아실기를 함유하지 않는, 본원에서 정의된 바와 같은 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물이다.

[0064] "완화 치료"는 치유 효과는 없으나 질환 또는 장애의 증상을 경감시키거나 또는 완화시키는 치료이다.

[0065] "폴리클로날 항체"는 특정 주어진 항원을 인식하는 항체 분자의 혼합물이며; 따라서, 폴리클로날 항체는 상기 항원 내의 여러가지 에피토프를 인식할 수 있다.

[0066] "폴리펩티드"는 인접한 아미노산 잔기 사이에 아마이드 결합 외에는 결합을 함유하지 않는 아미노산 잔기를 포함하는 분자를 지칭한다.

[0067] "프로세싱된 그렐린"은 27개 또는 28개의 아미노산 잔기의 아실화된 그렐린 (각각 116개 및 117개의 아미노산 잔기 길이의 프리프로그렐린의 절단 및 아실화의 번역후 생성물)을 의미한다 (예를 들어, 스위스-PROT Q9UBU3 GHRL_HUMAN)).

[0068] "수용체"는 특이적으로 (비-무작위로) 다른 분자에 결합할 수 있는 분자, 예컨대 단백질, 당단백질 등이다.

- [0069] "분비촉진제"는 성장 호르몬 방출을 자극하는 물질, 예컨대 그렐린 또는 그렐린-유사 화합물이다. 본원에 따른 분비촉진제는 예를 들어 L-692-429 및 L-692-585 (벤조엘락탐 화합물; 미국 뉴저지주 화이트하우스 스테이션 소재의 머크 앤드 캄파니, 인크.(Merck & Co, Inc.)로부터 시판됨), MK677 (스피로인다나; 머크로부터 시판됨) G-7203, G-7039, G-7502 (이소니페코트산 펩티드모방체; 미국 캘리포니아주 사우쓰 샌 프란시스코 소재의 제네테크, 인크.(Genentech, Inc.)로부터 시판됨), NN703 (미국 뉴저지주 프린스턴 소재의 노보 노르디스크 인크.(Novo Nordisk Inc.)), 또는 이파모렐린에서 선택될 수 있다. 특히, 분비촉진제는 29개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체, 24개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체, 또는 22개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체 (예를 들어, 서열 2, 서열 3, 서열 4 또는 서열 5)를 비롯한 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물이다. 성장 호르몬 분비촉진제는 한 실시양태에서 비-아실화될 수 있으며, 예를 들어 그렐린 스플라이스 변이체의 비-아실화된 형태, 또는 비-아실화된 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물이다.
- [0070] "계면활성제 분자"는 소수성 부분 및 친수성 부분을 포함하는 분자; 즉 친유성 상과 친수성 상 사이의 상간에 존재할 수 있는 분자이다.
- [0071] 적응증
- [0072] 본원은 상태, 예를 들어 a) 악액질의 예방 또는 치료, 및/또는 b) 지방이영양증의 예방 또는 치료, 및/또는 c) 식욕의 자극, 및/또는 d) 음식 섭취의 자극, 및/또는 e) 체중 증가의 자극, 및/또는 f) 체지방량의 증가, 및/또는 g) 체지방량의 증가를 비롯한, 병리적 체중 손실 또는 체지방량 및/또는 지방량 손실과 관련된 상태의 치료 또는 예방에서의 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 용도에 관한 것이다. 특히, 본원은 악액질의 치료 또는 예방 및/또는 식욕의 자극, 맛중음의 자극, 삶의 질 증가, 가장 바람직하게는 악액질의 예방 또는 치료에 관한 것이다.
- [0073] 악액질
- [0074] 악액질은 개체에게서 그의 에너지, 안녕의 느낌, 삶의 질을 박탈하고, 타인에 대한 의존성을 증가시키는 암과 같은 여러 중증 질환의 가장 괴롭고 파괴적인 증상 중 하나이다. 악액질은 종종 체중, 위, 식도, 폐 및 장의 악성종양을 동반한다.
- [0075] 악액질의 주요한 징후는 지방 조직 뿐만 아니라 근육 조직 및 심지어 골 조직의 중량 손실이다. 이러한 비-지방 조직은 또한 "체지방량"이라고 공지되어 있다. 또한, 식욕의 손실 (식욕감퇴), 약화 (무력증) 및 헤모글로빈 수준의 강하 (빈혈)가 있다.
- [0076] 악액질의 치료는 단순히 식사를 더 많이 하는 것의 문제만이 아니다. 개체가 식사를 원하는 경우에도, 개체가 식사하려고 하는 경우에도, 개체가 위 튜브를 통해 또는 정맥내로 영양소를 투여받는 경우에도, 상태는 정상으로 전환되지 않을 것이다.
- [0077] 최근 연구는 상기 상태가 이제 내재하는 질환의 존재에 대한 신체의 반응의 부분으로서 간주된다는 것을 밝혔다 (문헌 [Laviano A. et al., Nat. Clin. Pract. Oncol. 2:158-65 (2005)]). 최근 연구는 또한 몇몇 경우에 종양 그자체가 악액질을 유도하는 물질을 생성한다는 것을 나타내었다 (문헌 [Esper D.H. & Harb W.A., Nutr. Clin. Pract. 20:369-76 (2005)]).
- [0078] 악액질 (또는 쇠약이라고도 지칭될 수 있음)은 여러 질환, 예컨대 AIDS, 암, 고관절부 골절후, 만성 심부전, 만성 폐질환, 예컨대 COLD (만성 폐쇄성 폐질환) 및 COPD (만성 폐쇄성 폐질환), 간 경화증, 신부전, 자가면역 질환, 예컨대 류머티스성 관절염 및 전신성 루푸스, 폐혈증, 결핵, 낭성 섬유증, 크론병 및 중증 감염과 함께 관찰된다. 또한, 쇠약은 노화에서도 관찰된다.
- [0079] 악액질이 이러한 환자에서 관찰되는 복합 대사 증후군을 나타내지만, 지방 조직 및 골격근의 숙주 예비력의 고갈이 있는 진행성 체중 손실로서 통상적으로 인식된다.
- [0080] 암 악액질
- [0081] 암 악액질 증후군의 핵심은 진행성 종양 성장의 문제점 및 통상적인 항신생물 치료요법의 이화작용 부작용에 관한 것이다. 이들 두가지 현상은 신경-내분비계의 변경, 여러 프로염증 사이토카인의 생성, 및 암-특이적 악액질 인자의 방출을 유발한다. 다시, 이들 매개인자는 음식 섭취의 감소, 대사의 비정상성 또는 이들 두가지의 조합을 유발한다.
- [0082] 암 악액질은 모든 암 환자의 약 절반에서 발생하고 암 사망의 20% 초과와 관련되어 있다고 보고되었다 (문헌 [Tisdale M.J., Nat. Rev. Cancer 2:862-71 (2002)]). 상태는 종종 진행성 암 도중에, 특히 전이성 종양이

체내에 존재할 때 발생한다. 악액질은 또한 어린이 및 노령 환자에서 보다 흔하다. 암 악액질의 빈도가 특히 높은 특정 암이 또한 일치되게 확인되었다: 상부 GI 암 (췌장, 위, 식도 및 간 포함) (문헌 [Bruera E., Br. Med. J. 315:1219-22 (1997)]; [Palesty J.A. et al., Dig. Dis. 21:198-213 (2003)]); 폐암, 특히 소세포 폐암; 두경부암; 결장직장 암; 다른 고형 종양 (문헌 [Bruera E., Br. Med. J. 315:1219-22 (1997)]). IWL (무의식적 체중 손실)은 생존율의 대략 50% 강화와 관련되어 있으며, 암 치료요법의 허용능을 감소시킨다 (문헌 [Laviano A. et al., Nat. Clin. Pract. Oncol. 2:158-65 (2005)]). 체중 손실에 대한 가장 큰 위험과 관련된 암 부위는 호흡소화관 (폐, 두경부 및 식도) 및 위장관계, 특히 췌장, 위 및 간에 영향을 미치는 부위이다. 또한, 진단시 상부 위장관의 암이 있는 모든 환자의 80% 및 폐암이 있는 모든 환자의 60%는 이미 실질적인 체중 손실을 경험하였다 (문헌 [Bruera E., Br. Med. J. 315:1219-22 (1997)]). 평균적으로, 악액질의 유병률은 사망전 50%로부터 80% 초과까지 증가되고, 환자의 20% 초과에서 악액질은 사망의 주요 원인이다 (문헌 [Bruera E., Br. Med. J. 315:1219-22 (1997)]).

[0083] 암 악액질의 검출

[0084] 영양 상태는 임상적 평가, 인체계측법 시험 (체중, 피부 주름 두께 및 중간팔 둘레) 및 영상 (DEXA 스캔, MR 스캔, CT 스캔 및 생물전기 임피던스 측정)의 조합으로 평가된다. 악액질은 일반적으로 발병전 체중의 5% 초과와 무의식적 체중 손실이 6개월의 기간 내에 관찰되는 경우, 특히 근육 쇠약과 조합된 경우 의심된다.

[0085] 가장 통상적으로 사용되는 실험실 파라미터는 혈청 알부민이다. 그러나, 이는 비특이적 파라미터이다. 다른 마커는 짧은 반감기를 갖는 단백질이며; 트랜스페린 및 트랜스티레틴이 또한 사용된다.

[0086] 악액질의 다른 마커는 IGF-1, IGFBP-3, ALP (알칼리 포스파타제) 및 테스토스테론이다.

[0087] 암 및 암 악액질 사이의 관계

[0088] 암은 하기 기재된 바와 같은 식욕감퇴의 유도 및/또는 대사의 증가 또는 변화를 비롯한 여러 메카니즘을 통해 악액질을 유발할 수 있다:

[0089] 식욕감퇴

[0090] 에너지 섭취는 체중이 감소된 암 환자에서 실질적으로 감소된 것으로 나타났다. 암 환자는 종종 위장관의 물리적 폐쇄증, 통증, 우울증, 변비, 흡수장애, 약질 또는 치료의 부작용 (예를 들어, 아편제제에 의한 치료, 방사선요법 또는 화학요법)을 앓을 수 있으며, 이들 모두는 음식 섭취를 감소시킬 수 있다 (문헌 [Barber M.D. et al., Surg. Oncol. 8:133-41 (1999)]). 암-관련 과칼슘혈증은 또한 오심, 구토 및 식욕 손실을 유도할 수 있다.

[0091] 그러나, 많은 암 환자가 감소된 음식 섭취의 명백한 임상적 원인이 없는 상태로 남아있다.

[0092] 암-유도된 식욕감퇴 및 악액질의 중요 메카니즘은 복잡하며, 암 세포에 의해 생성되는 많은 여러가지 사이토카인, 호르몬 및 다른 인자가 포함된다.

[0093] 렙틴

[0094] 정상적인 생리적 상황에서, 렙틴은 기아에 대한 적응적 반응을 촉발하는데 중요한 역할을 하며, 이는 체중 손실이 체지방의 손실과 비례하여 렙틴 수준을 저하시키기 때문이다. 그러나, 암 환자에서, 암 세포에 의해 생성된 사이토카인 (예를 들어, IL-1, IL-6, TNF- α , INF- γ)의 증가된 수준은 렙틴의 발현 및/또는 방출을 자극할 수 있다. 사이토카인의 다른 가능한 메카니즘은 이들이 렙틴으로부터의 과잉의 음성 되먹임 신호전달의 시상하부 효과를 모방하여, 음식 섭취 및 체중과 관련된 정상적인 보상 메카니즘의 방지를 유발하는 것이다.

[0095] NPY (신경펩티드 Y)

[0096] 시상하부 NPY 시스템은 IL-1 또는 다른 사이토카인에 의해 유도된 식욕감퇴 및 암에서 파괴된 중요한 신경 경로 중 하나이다. 사이토카인은 NPY에 대한 민감성을 감소시킨다. NPY가 종양 세포 증식 또는 세포자멸 (apoptosis)의 자가분비 활성화에 의해 및 혈관형성에 의해 작용하는 신경내분비 종양에 대한 성장-조절 인자 인 것으로 나타났다 (문헌 [Kitlinska J et al., Cancer Res. 65:1719-28 (2005)]). 또한, Y1 및 Y2 수용체는 종양 세포 및 종양-관련 혈관 모두에서 유방 암종, 부신 및 관련 종양, 신장 세포 암종, 및 난소암에서 발현되는 것으로 밝혀졌다. 암 세포에서의 그의 광범위한 발현은 이들이 종양 세포 증식 및 종양 혈액 공급에 대한 NPY 효과를 매개하도록 한다 (문헌 [Koerner M & Reubi JC, Peptides 28:419-25 (2007)] 참조).

[0097] 멜라노코르틴

- [0098] 비정상적 멜라노코르틴 신호전달은 식욕감퇴 및 악액질 모두에서 기여 인자일 수 있다. 에너지 저장을 보존하는 방법으로 식욕감퇴 멜라노코르틴 신호전달 시스템을 하향조절하는 것으로 통상적으로 기대되는 체중의 현저한 손실에도 불구하고, 멜라노코르틴 시스템은 암-유도된 악액질 동안 활성으로 유지된다. AgRP (아구티-관련 펩티드) 또는 다른 길항제에 의한 중추 멜라노코르틴 차단은 동물 모델에서 식욕감퇴 및 악액질을 전환시키며, 이는 이 시스템의 병리적 역할을 제안한다 (문헌 [Wisse B.E. et al., Ann. N. Y. Acad. Sci. 994:275-81 (2003)]). 또한, 최근 실험은 멜라노코르틴 MC(4) 수용체에 대한 길항제를 사용한 멜라노코르틴 신호전달의 차단이 암 및 신부전의 설치류 모델에서 질환-관련 식욕감퇴 및 쇠약을 감소시킨다는 것을 나타낸다 (문헌 [DeBoer MD & Marks DL, Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab. 2:459-66 (2006)]).
- [0099] 대사
- [0100] 대사항진은 남은 에너지 소모 (REE)의 증가로서 정의되며, 악액질의 기본적인 특성이다. 총 에너지 소모는 REE (대략 70%) 및 자발적인 에너지 소모 (대략 25%) 및 소화에서의 에너지 소모 (5%)를 포함한다. 자발적인 에너지 소모는 임상적으로 무관심, 피로 및 우울증으로서 표시될 수 있는 악액질에서 감소될 수 있다.
- [0101] 식욕유발 및 식욕감퇴 신호는 각각 교감 신경 활성화의 감소 및 증가로 공지되어 있으며, 이는 미토콘드리아 비커플링 단백질 (UCP)의 유도를 통해 설치류의 갈색 지방 조직 및 가능하게 인간의 근육에서 열발생의 활성화에 의해 REE를 조절한다 (문헌 [Alvarez R et al., J. Biol. Chem. 270:5666-73 (1995)]). 사이토카인에 의한 근육 및 백색 지방 조직에서의 UCP의 활성화가 열 생성의 증가 및 근육 쇠약의 기초가 되는 분자 메커니즘 중 하나일 수 있다는 것이 제안되었다 (문헌 [Inui A., CA Cancer J. Clin. 52:72-91 (2002)]; [Fearon K.C. & Moses A.G., Int. J. Cardiol. 85:73-81 (2002)]).
- [0102] 변경된 영양 대사는 또한 암 환자에서 기술되었다. 고형 종양은 다량의 락테이트를 생성하며, 이는 다량의 ATP를 사용하는 프로세스를 통해 다시 글루코스로 전환되며, 이는 매우 에너지 비효율적이고, 따라서 추가로 에너지 소모를 증가시킨다. 또한, 종양-유래 지질 동원 인자 (LMF)는 지방세포에 직접 작용하고, 증가된 지질분해를 유발하여, 유리 지방산 및 글리세롤의 방출을 야기하고 (문헌 [Islam-Ali B. et al., Br. J. Cancer 85:758-63 (2001)]), 종양 세포에서 자유 라디칼 독성을 감소시키는 (문헌 [Sanders PM & Tisdale MJ, Br. J. Cancer 90:1274-78 (2004)]) 것으로 나타났다.
- [0103] 또한, 증가된 수준의 사이토카인은 근육 복구 프로세스에 영향을 미침으로써 간접적으로 근육 단백질 이화작용을 유도할 수 있다는 것이 제안되었다 (문헌 [Islam-Ali B. et al., Br. J. Cancer 85:758-63 (2001)]).
- [0104] 암 악액질의 치료에서 분비촉진제 사용에 대한 이론적 근거
- [0105] 이론에 얽매이지 않고, 분비촉진제, 특히 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물에 의한 치료에 대한 이론적 근거는 아래를 기초로 한다: 위장관의 점막에서 내분비 세포로부터 방출된 그렐린 스플라이스 변이체는 측면 비 물질로서 국소적으로 및 호르몬으로서 중추적으로 작용할 수 있다. 국소적으로, 그렐린 스플라이스 변이체는 예를 들어, 구심성 미주신경 뉴런에서 구심성 활성화의 개시체로서 작용할 수 있다. 이러한 뉴런은 식욕 및 에너지 항상성 조절 중추, 예컨대 시상하부의 신피핵 및 궁상 핵과 추가로 의사소통하는 고립로핵 (NTS)과 같은 CNS의 중추에 대한 그렐린 스플라이스 변이체 자극에 의존할 것이다. 호르몬으로서, 그렐린 스플라이스 변이체는 중추 식욕 조절 POMC (프로오피오멜라노코르틴) 및 NPY/AgRP 뉴런에 작용하며, 이는 그렐린 스플라이스 변이체 수용체를 발현하는 것으로 여겨진다.
- [0106] 최근, 그렐린이 혈액 뇌 장벽을 통과하여 이동한다는 것이 기재되었다 (문헌 [Banks W.A. et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 302:822-27 (2002)]). 중심성 식욕 조절 중추에서, 예를 들어 NPY/AgRP 뉴런에서, 즉 식욕 조절의 자극 분지체에서 제1 수준 뉴런에서 자극 그렐린 수용체를 통해 작용하는 그렐린이 말초로부터 공지된 바로 그 자극 주입이라는 것을 주목하는 것이 중요하다. 모든 다른 공지된 호르몬 및 신경전달물질, 예를 들어 렙틴, 인슐린, PYY3-36, a-MSH 등은 이 중요한 "식욕 관리" 중추에서 NPY/AgRP 뉴런에 대한 억제제로서 작용한다. NPY 시스템이 암-유도된 악액질 동안에 하향조절되기 때문에, 이 시스템의 그렐린 자극이 상태를 정상화하는 것이 가능할 수 있다. 유사하게, 암-유도된 악액질 동안에 활성인 멜라노코르틴은 AgRP의 자극을 통해 그렐린 및 그렐린 스플라이스 변이체에 의해 억제될 수 있다.
- [0107] 그렐린 농도의 증가는 또한 얻어진 코르티솔 수준의 증가와 함께 ACTH (부신피질자극 호르몬)을 증가시키는 것으로 나타났다. 이 작용은 악액질의 치료를 위한 중요한 이로운 관계를 가질 수 있으며, 이는 코르티솔이 사이토카인 (예를 들어, IL-1, IL-6, TNF-a, IFN-a)의 수준을 감소시키기 때문이다. 글루코코르티코이드의 투여는 암과 관련된 증상을 위한 완화 설정에서 이미 광범위하게 사용되고 있다 (문헌 [Inui A., CA Cancer

J. Clin. 52:72-91 (2002)]). 또한, 그렐린의 ICV 주사가 설치류의 심부 체온을 감소시키며, 이는 REE의 감소를 지시하는 것으로 나타났다 (문헌 [Lawrence C.B. et al., Endocrinology 143:155-62 (2002)]). 다시, 이론에 얽매이지 않고, 야생형 그렐린과 유사한 그렐린 스플라이스 변이체가 REE의 증가를 복귀시킬 것이라는 것이 예상되며, 이는 상기 기재된 바와 같은 악액질의 중요한 특성이다.

[0108] 분비촉진제, 특히 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 예상되는 암 진행의 지식 뿐만 아니라 항신생물 치료요법 투약법을 고려하면서 임의의 적합한 요법을 사용하여 투여될 수 있다.

[0109] 한 실시양태에서, 본원에 따라, 분비촉진제가 암 악액질의 성공적 치료, 감소 또는 예방을 위해, 병인과는 상관없이 임의의 암 유형을 앓고 있는 임의의 개체에게 투여될 수 있다는 것이 직시된다.

[0110] 따라서, 한 바람직한 실시양태에서, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물에 의한 개체의 처치는 예를 들어 하나 이상의 하기 암 유형에 의해 유발된 암 악액질의 치료 또는 예방을 위한 것이다: 급성 림프모세포성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 부신피질 암종, AIDS-관련 암, AIDS-관련 림프종, 항문암, 성상세포종, 아동기 소뇌 성상세포종, 아동기 대뇌 기저 세포 암종, 간외 담관암, 방광암, 골암, 골육종/악성 섬유성 조직구종, 뇌줄기 신경교종, 뇌 종양, 유방암, 수컷 기관지 선종/카르시노이드, 버킷 림프종, 카르시노이드 종양, 비공지된 원발성 암종, 중추 신경계 림프종, 원발성 대뇌 성상세포종/악성 신경교종, 자궁경부암, 아동기 암, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 골수증식성 장애, 결장암, 피부 T-세포 림프종, 자궁내막암, 상의세포종, 아동기 식도암, 유잉 가족 종양, 두개의 배세포 종양, 아동기 고환외 배세포 종양, 눈암, 안내 흑색종 눈암, 망막모세포종, 담낭암, 위암(gastric cancer, stomach cancer), 위장 카르시노이드 종양, 임신 영양모세포 종양, 신경교종, 모발상 세포 백혈병, 두경부암, 간세포 (간) 암, 호지킨 림프종, 하인두암, 시상하부 및 시각 경로 신경교종, 안내 흑색종 섬세포 암종 (내분비 췌장), 카포시 육종 신장 (신장 세포) 암, 후두암, 입술 및 구강 암, 폐암, 비-소세포 폐암, 소세포 림프종, AIDS-관련 림프종, 피부 T-세포 림프종, 비호지킨 마크로글로불린혈증, 골의 발덴스트림 악성 섬유성 조직구종/골육종, 수질모세포종, 아동기 흑색종 메르켈 세포 암종, 중피종, 성인 악성 중피종, 잠복 원발성 다발성 내분비 신생물 증후군이 있는 아동기 전이성 편평 경부암, 아동기 다발성 골수종/혈장 세포 신생물, 근상식육종, 골수이형성 증후군, 골수이형성/골수증식성 질환, 골수종, 다발성 만성 골수증식성 장애, 비강 및 부비동 암, 비인두암, 아동기 신경모세포종, 구인두암, 골육종/골의 악성 섬유성 조직구종, 난소암, 아동기 난소 상피 암, 난소 배세포 종양, 난소 저악성 잠재 종양, 췌장암, 부비동 및 비강 암, 부갑상선암, 노인성 암, 크롬친화세포종, 송과체모세포종 및 천막상 원시 신경외배엽 종양, 아동기 뇌하수체 종양, 흉막폐부 모세포종, 전립선암, 신장 골반 및 요관 암, 이행세포암, 망막모세포종, 횡문근육종, 아동기 타액선암, 성인-발병 연질 조직 육종, 육종, 아동기 자궁 육종, 세자리 증후군, 피부암 (비-흑색종), 피부 암종, 메르켈 세포 소장암, 천막상 원시 신경외배엽 종양, 아동기 피부 T-세포 림프종, 고환암, 흉선종 및 흉선 암종, 갑상선암, 신장 골반 및 요관의 이행세포암, 영양모세포 종양, 임신 요관 및 신장 골반 암, 이행세포암, 요도암, 자궁내막 자궁암, 자궁 육종, 질암, 시각 경로 및 시상하부 신경교종, 아동기 발덴스트림 마크로글로불린혈증, 윌름 종양.

[0111] 상기 논의된 바와 같이, 암 악액질은 진행성 종양 성장으로부터 또는 항암 치료요법의 이화작용 부작용으로부터 기인하는, 상기 기재된 바와 같은 이화작용 장애, 예를 들어 대사항진 상태로 인해 유발될 수 있다. 그러나, 암 악액질은 또한 암에 걸린 개체가 식욕이 없거나, 종양의 위치가 음식 섭취를 감소시키거나 또는 방지하는 경우와 같은 식욕감퇴 장애로 인해 유발될 수 있다.

[0112] 따라서, 한 실시양태는 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물에 의한, 이화작용 장애에 의해 유발된 암 악액질의 치료 또는 예방이다. 이는 암이 위장관암, 특히 상부 위장관암 (본원에서 용어 "상부 위장관암"은 또한 췌장암을 포함하는 것으로 이해됨), 폐암 (특히, 소세포 폐암), 및/또는 간암 (본원에서 용어 "간암"은 또한 간의 전이성 암 프로세스를 포함하는 것으로 이해됨)인 경우에 특히 적합하다.

[0113] 다른 실시양태는 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물에 의한, 식욕감퇴 장애에 의해 유발된 암 악액질의 치료 또는 예방이다.

[0114] 또다른 실시양태는 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물에 의한, 암 악액질 (암이 어떻게 악액질을 유도하는가와 독립적으로) 뿐만 아니라 이화작용 장애 및 식욕감퇴 장애의 조합에 의해 유발된 암 악액질의 치료 또는 예방이다.

[0115] 바람직한 실시양태에서, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 고형 종양에 의해 유발된 암 악액질의 치료 또는 예방에서 사용된다.

- [0116] 암의 다른 하위군은 적게 식사하는 다른 가능한 이유가 배제된, 시상하부의 중심성 식욕 조절 중추의 조절곤란에 의해 유발된 식욕감퇴가 있는 암이다.
- [0117] 추가 암 치료가 불가능한 말기 암 상태의 특정 개체에서, 그렐린 스피글라이스 변이체 치료가 음식 섭취의 증가, 소화의 개선 및 대사의 개선을 위한 완화 치료로서 이롭다는 것이 증명될 수 있다. 따라서, 다른 측면은 이를 필요로 하는 개체, 예컨대 진행성-단계 암, 특히 말기 암을 앓고 있는 개체에서 음식 섭취의 증가, 소화의 개선 및 대사의 개선을 위한 완화 치료에 관한 것이다.
- [0118] 상기에 따라, 본원에 개시된 화합물은 하기 호흡소화관 암 형태를 앓고 있는 개체에서 악액질의 치료 또는 예방에 특히 적합하다: 췌장암; 상부 위장관의 암, 예컨대 위암 및/또는 식도암; 두경부암, 특히 갑상선암 또는 타액선암; 및 폐암, 특히 소세포 폐암.
- [0119] 다른 바람직한 실시양태에서, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피글라이스 변이체 또는 그렐린 스피글라이스 변이체-유사 화합물은 하부 GI 암, 예컨대 결장직장암, 특히 결장암에 의해 유발된 암 악액질의 치료 또는 예방에서 사용된다.
- [0120] 다른 바람직한 실시양태에서, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피글라이스 변이체 또는 그렐린 스피글라이스 변이체-유사 화합물은 내분비암, 즉 개체의 신체의 내분비 기관의 암에 의해 유발된 암 악액질의 치료 또는 예방에서 사용된다.
- [0121] 본원에 개시된 화합물은 또한 난소암 또는 유방암을 앓고 있는 개체의 치료에 유용하다.
- [0122] 추가 바람직한 실시양태에서, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피글라이스 변이체 또는 그렐린 스피글라이스 변이체-유사 화합물은 항암 치료, 예컨대 화학요법 또는 방사선요법 또는 이들의 조합에 의해 전체 또는 부분적으로 유발된 암 악액질의 치료 또는 예방에서 사용된다.
- [0123] 한 바람직한 실시양태에서, 암 악액질이 치료되는 개체는 고령, 예컨대 60 내지 120세, 예컨대 70 내지 120세, 예컨대 80 내지 120세, 예컨대 90 내지 120세이다. 상기 개체가 아동, 예컨대 0 내지 20세, 예컨대 0 내지 15세, 예컨대 0 내지 10세, 예컨대 0 내지 5세, 예컨대 0 내지 1세, 예컨대 2개월 미만의 신생아인 실시양태가 동일하게 바람직하다.
- [0124] 한 실시양태에서, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피글라이스 변이체-유사 화합물이 악액질 상태의 예방을 위해 예방적으로 투여되는 것이 바람직하다. 이 실시양태에서, 치료는 임의의 항신생물 치료가 개시되기 전에 개시될 수 있다. 분비촉진제는 항신생물 치료 중에 연속적으로 투여되거나, 또는 간격을 두고, 예를 들어 항신생물 치료요법에 의한 기간 사이에 투여될 수 있다. 항신생물 치료요법 도중에 및 특히 항신생물 치료요법의 기간 사이에 투여함으로써, 치료된 개체가 감염 및/또는 다른 합병증을 얻을 위험은 개체의 우수한 건강 상태로 인해 감소될 수 있다.
- [0125] 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피글라이스 변이체 또는 그렐린 스피글라이스 변이체-유사 화합물을 사용하는 암 악액질의 치료는 당분야에 공지된 임의의 투여 방법을 사용하여 성취될 수 있다. 바람직하게는, 치료는 본원에 기재된 임의의 투여 방법을 사용하여, 보다 바람직하게는 정맥내 또는 피하 투여를 사용하여, 가장 바람직하게는 피하 투여 방법을 사용하여 성취될 수 있다.
- [0126] 지방이영양증
- [0127] 다른 측면에서, 본원은 지방이영양증 증후군의 치료를 위한, 또는 지방이영양증 증후군의 치료용 의약의 제조를 위한, 상기 정의된 바와 같은 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피글라이스 변이체 또는 그렐린 스피글라이스 변이체-유사 화합물의 용도에 관한 것이다. 지방이영양증 증후군은 지방 조직 저류부의 부분적 또는 전신적 손실을 특징으로 하는 희귀한 장애의 이종 군을 포함한다 (문헌 [Garg A., Am. J. Med. 108:143-52 (2000)]). 여러 상이한 유형의 지방이영양증이 있으며, 지방 손실의 정도는 매우 적은 약화된 구역부터 지방 조직의 거의 완전한 부재까지 다양할 수 있다. 몇몇 환자는 미용상의 문제점만을 가질 수 있으나, 다른 환자는 또한 중증 대사 합병증, 예컨대 이상지혈증, 간지방증 및 중증 인슐린 내성을 가질 수 있다 (문헌 [Reitman M.L. et al., Trends Endocrinol. Metab. 11:410-16 (2000)]). 이들 장애는 유전되거나 (가족성 또는 유전성 지방이영양증), 또는 여러 유형의 질병 또는 약물에 대해 이차적으로 발병할 수 있다 (후천성 지방이영양증). 유전성 지방이영양증은 유전자의 돌연변이에 의해 유발된다.
- [0128] 여러가지 유형의 유전성 지방이영양증의 원인이 되는 여러 유전자가 확인되었다. 이들은 선천성 전신성 지방이영양증 (CGL)에서 AGPAT2 (1-아실글리세롤-3-포스페이트-0-아실트랜스퍼라제 2), BSCL2 (베라르디넬리-세이

프 선천성 지방이영양증 2), 가족성 부분적 지방이영양증 두니간 변종 (가족성 부분적 지방이영양증)에서 라민 A/C (LMNA) 유전자, 및 가족성 부분적 지방이영양증에서 PPARG (퍼록시솜 증식인자-활성화된 수용체 감마) 유전자를 포함한다. 여러 다른 후보 유전자는 현재 유전성 지방이영양증의 다른 변종에 대한 연구하에 있다.

[0129] 후천성 지방이영양증은 예를 들어, HIV-감염된 환자 (LD-HIV)에서 HAART (고활성 항레트로바이러스 치료요법)/HIV-유도된 지방이영양증, 후천성 전신성 지방이영양증 (AGL), 후천성 부분적 지방이영양증 (APL) 및 국소 지방이영양증이다. 후천성 지방이영양증은 직접적인 유전자 기초를 갖지 않는다. 오히려, 많은 메커니즘이 포함될 수 있다. 이러한 한 메커니즘은 정상적인 지방 세포를 파괴하는 자가면역 반응일 수 있다 (문헌 [Misra A. et al., Medicine (Baltimore) 83:18-34 (2004)]).

[0130] HAART/HIV-유도된 지방이영양증은 전신성 지방이영양증의 가장 흔한 후천성 형태가 되었다. 이들 물리적 비정상성의 전반적인 발병률은 프로테아제 억제제에 의한 치료요법의 12 내지 18개월 후 약 50%이다. 현재 보고 사이의 차이점은 혼동되는 인자, 예컨대 레트로바이러스 치료요법의 유형 및 지속시간으로 인해 18% 내지 83%의 범위이다. 프로테아제 억제제와 관련된 지방이영양증 증후군이 지질 및 지방세포 조절 단백질과, 프로테아제 억제제가 결합하는 HIV-1 프로테아제의 촉매 부위 사이의 부분적 상사성으로 인한 것일 수 있다는 것이 제안되었다 (문헌 [Carr A. et al., Lancet 351:1881-83 (1998)]).

[0131] 국소 지방이영양증은 작은 구역 또는 사지의 부분으로부터의 피하 지방의 국소 손실로서 정의된다. 피하 지방의 손실에 상응하는 약화된 구역을 특징으로 하는, 단일 또는 다발성 병변이 있을 수 있다. 몇몇 경우에, 이는 피부의 약한 통증성 단괴와 관련될 수 있다. 통상적으로, 당뇨병 환자에서 인슐린 주사의 부위에서 유발된다. 몇몇 환자에서, 지방 손실은 종종 압력이 가해지는 구역으로부터 유발된다 (예를 들어, 메이크업 테이블에 대한 넓적다리의 가압).

[0132] 지방이영양증의 발병기전은 널리 공지되어 있지 않다. 그러나, 축적된 증거는 지방세포에서 세포자멸의 증가된 유도에 대한 인자의 하나로서 미토콘드리아 결함을 지적하였다 (문헌 [Misra A. et al., Medicine (Baltimore) 83:18-34 (2004)]). HIV-1에 의해 코딩된 여러 단백질은 미토콘드리아 막의 투과성의 유도에 의해 세포자멸을 촉발한다. HIV-1의 치료에서 임상적으로 사용되는 여러 뉴클레오시드 유사체는 미토콘드리아 DNA (mtDNA)의 복제를 억제하고/거나 mtDNA 돌연변이의 빈도를 증가시킨다. 이들 인자 둘 모두는 종종 미토콘드리아병증을 유발할 수 있으며, 지방이영양증에 기여할 수 있다. 지방세포의 세포자멸을 억제할 수 있는 치료는 지방이영양증, 특히 HIV/HAART에서 유도된 지방이영양증의 발병에 매우 유용한 치료이며, 특히 예방될 수 있다.

[0133] 지방이영양증의 대사 결과는 전신 건강 및 생존에 매우 중요하다. 인슐린 내성 및 당뇨병으로의 결과적 진행이 비만 또는 지방이영양증으로부터 유발될 수 있다는 사실은 탄수화물 및 지질 대사에서 지방 조직의 중요한 역할을 반영한다. 적절한 지방세포 용량의 부재시, 과잉의 칼로리는 그의 정상적인 저장 저류부로 분산될 수 없으며; 대신에, 이는 간, 골격근 및 심근, 및 췌장 β 세포에서 증가된 트리글리세리드 저장물로서 축적된다. 아직 불명확한 수단을 통한 이 과잉 지방 지질 축적은 손상된 인슐린 작용 및 종종 당뇨병과 관련된다.

[0134] 저장 저류부로서의 그의 수동적인 역할 외에도, 정상적인 지방세포는 인슐린 민감성 및/또는 에너지 균형에 영향을 미칠 수 있는 많은 펩티드 ("아디포카인")를 분비한다 (문헌 [Kahn B.B. & Flier J.S., J. Clin. Invest. 106:473-81 (2000)]; [Berg A.H. et al., Trends Endocrinol. Metab. 13:84-89 (2002)]). 이들은 잠재적 인슐린 감작제, 예컨대 렙틴 및 Acrp30 (또한 아디포넥틴으로서 공지됨), 및 인슐린 길항제, 예를 들어 TNF- α , IL-6, 및 가능하게 레시스틴을 포함한다. 그러므로, 지방이영양증의 인슐린 내성은 교란된 지질 유출 및/또는 아디포카인 분비의 비정상성의 결과일 수 있다.

[0135] rhGH에 의한 치료요법은 소수의 환자에서 "버팔로 혹" 및 몸통 지방의 크기의 감소를 유발하는 것으로 보고되었다. 그러나, 지방 손실 및 지질 비정상성은 개선되지 않았고, 혈액 글루코스 조절은 악화되었다 (문헌 [Lo J.C. et al., J. Clin. Endocrinol. Metab. 86:3480-87 (2001)]).

[0136] 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 사용하는 지방이영양증의 치료는 당분야에 공지된 임의의 투여 방법을 사용하여 성취될 수 있다. 바람직하게는, 치료는 본원에 기재된 임의의 투여 방법을 사용하여, 보다 바람직하게는 정맥내 또는 피하 투여를 사용하여, 가장 바람직하게는 피하 투여 방법을 사용하여 성취될 수 있다.

[0137] 삶의 질

- [0138] 모든 실시양태에서, 본원의 치료 방법 및/또는 약학 조성물 및/또는 화합물이 개체에게 제공될 수 있고, 그러므로 개선된 삶의 질 (QOL) (예를 들어, 개선된 식욕 및/또는 체중 및/또는 영양 상태 및/또는 물리적 기능에 의해 증명됨)이 치료되는 것이 바람직하다. 따라서, 한 측면은 상기 정의된 바와 같은 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피라이스 변이체 또는 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물을 사용하는 삶의 질의 개선에 관한 것이다.
- [0139] 다른 실시양태에서, 개체의 QOL의 상기 개선은 당업자에게 공지되어 있는 바와 같은 "삶의 질" 질문서를 사용하여 평가된다.
- [0140] 본원에 개시된 화합물의 투여에 의해 유발된 바와 같은 개선된 QOL의 평가에 사용하기에 바람직한 2개의 유효한 삶의 질 조사는 다음과 같다: (i) 의학적 성과 연구 짧은-형태 건강 조사 (SF-36) 및 (ii) EORTC QLQ-C30 (+3) 질문서. SF-36은 환자의 QOL의 8개의 측면을 평가하는 36개의 질문을 포함한다: 물리적 기능 (PF), 역할-물리적 기능 (RP), 신체 통증 (BP), 전신 건강 (GH), 활기 (VT), 사회적 기능 (SF), 역할 감정적 기능 (RE), 및 정신적 건강 (MH). 설명서 및 설명 안내서에 따라, 0 (불량한 건강 상태를 나타냄) 내지 100 (최적의 건강 상태를 나타냄) 범위의 스코어를 기준화하기 위해 척도 내의 질문에 대한 답을 합하고 선형으로 전환한다. 스웨덴 버전을 유효화하고, 표준 데이터를 일반적인 스웨덴 집단에게 제공하였다 (문헌 [Sullivan M. et al., "Haelsöenkaet: Svensk Manual och Tolkningsguide" (SF-36 Health survey, Swedish Manual and Interpretation Guide), Goeteborg, Sahlgrenska University Hospital, 1994]).
- [0141] EORTC QLQ-C30 (버전 3.0)은 환자 중 QOL의 평가를 의도한 30개의 항목 핵심 질문서이다 (EORTC 삶의 질 연구 그룹에 의해 개발됨). 국립보건원 웹사이트를 참조하고, 예를 들어 EORTC QLQ-C30의 표본 (버전 3.0, EORTC 웹사이트에서 이용가능하고, 본원에 참고로 도입됨)을 참조한다. 제1 버전은 암 환자에서 유효하며, 일반적인 집단으로부터의 기준 데이터는 공개되었다. 질문서는 5개의 기능 척도를 포함한다: 물리적 기능 (5개의 질문), 역할 기능 (2개의 질문), 감정적 기능 (4개의 질문), 인식 기능 (2개의 질문) 및 사회적 기능 (2개의 질문). 3개의 증상 척도가 있다: 피로 (3개의 질문), 오심 및 구토 (2개의 질문), 및 통증 (2개의 질문). 호흡곤란, 불면증, 식욕 손실, 변비, 설사 및 경제적 곤란함에 대한 6개의 단일 항목이 있다. 환자의 건강 상태 및 전반적인 QOL에 대해 2개의 종합적 질문을 묻는다. 모든 척도 및 단일-항목 측정치는 0 내지 100의 스코어의 범위이다. 기능 척도 및 종합적 건강 상태 및 QOL에 대한 높은 스코어는 기능/건강 상태 및 QOL의 높은 수준을 나타낸다. 증상/항목 척도에 대한 높은 스코어는 증상/문제점의 높은 수준을 나타낸다. QOL 스코어는 EORTC QLQ-C 30 스코어 설명서에 따라 계산할 수 있다.
- [0142] 하나 이상의 분비촉진제 화합물에 의한 치료 후 환자의 개선된 삶의 질의 평가에 바람직한 질문서는 하기 실시예 9에 주어진다.
- [0143] 바람직한 실시양태에서, 본원에 기재된 상태(들)를 갖는 환자의 치료는 환자의 QOL의 유의한 개선을 가져온다. 바람직하게는, 치료는 상기 언급된 질문서, 예를 들어 QOL 스코어(들), 또는 복합 QOL 스코어, 적절하게는 개체 측정 도구에 대한 스코어의 증가, 또는 증상 및/또는 문제점과 관련된 스코어(들)의 감소 각각을 포함하나 이에 제한되지 않는 QOL의 시험을 위한 임의의 방법을 사용하여 측정된 바와 같은 QOL의 유의한 증가를 가져온다.
- [0144] 이 증가 또는 감소는 각각 바람직하게는 치료 개시 전에 얻어진 스코어보다 1% 초과, 보다 바람직하게는 2% 초과, 보다 더 바람직하게는 치료전 스코어보다 5% 초과, 예컨대 10%, 보다 더 바람직하게는 20%, 50% 또는 75% 초과이다. 다른 실시양태에서, 치료는 QOL 스코어의 측정가능한 증가를 가져오며, 이에 의해 치료 후 스코어가 비교가능한 건강한 대상체 집단에서 발견된 평균 스코어와 동일하게 하거나, 또는 이러한 "정상" 스코어에 근접하게, 즉 스코어의 50% 초과, 보다 더 바람직하게는 스코어의 60%, 또는 보다 바람직하게는 스코어의 75%로 근접하게 한다. 추가로, 다른 실시양태에서, 치료는 치료 개시 전에 스코어(들)의 1% 이상, 보다 바람직하게는 3%, 보다 더 바람직하게는 5% 또는 보다 바람직하게는 10%, 20%, 30% 또는 50%의 증상 및/또는 문제점과 관련된 스코어(들)의 감소를 가져온다. 이들 증가 또는 감소는 각각 적절하게는 개체 QOL 측정 도구, 또는 복합 스코어의 측면의 하나, 여러개 또는 모두를 지칭할 수 있다.
- [0145] 식욕, 음식 섭취, 체중 증가, 체지방량의 증가, 체지방량의 증가의 자극
- [0146] 상기 논의된 바와 같이, 체중 증가의 촉진 또는 체중 유지의 촉진, 특히 병리적 체중 손실을 앓고 있는 개체에서의 상기 촉진은 식욕 및/또는 음식 섭취의 자극의 문제만이 아니라, 오히려 에너지 섭취 및 에너지 소비 사이의 불균형, 즉 총 신체 대사의 불균형의 수정이다. 그러나, 몇몇 개체, 특히 병리적 프로세스가 저하된 식욕에 이르게 한 개체는 식욕의 자극으로부터 여전히 이로울 것이며, 상기 저하된 식욕은 자연적으로 건강치

못한 체중 손실에 이르게 할 것이다. 따라서, 한 측면은 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물의 투여에 의한 식욕의 자극에 관한 것이다. 식욕의 자극은 예를 들어 식욕, 시장기의 느낌 또는 포만 수준의 측정용 시각적 아날로그 척도를 사용하여 측정될 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 자극은 치료 전과 비교하여 5% 이상, 예컨대 10% 높고, 보다 바람직하게는 20% 높거나, 또는 보다 더 바람직하게는 30%, 40% 또는 50% 높다.

[0147] 식욕의 자극이 필수적으로 음식 섭취의 증가에 이르게 하는 것은 아니며, 따라서 본원은 추가로 다른 측면에 관한 것이다: 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물의 투여에 의한 음식 섭취의 자극.

[0148] 음식 섭취는 예를 들어, 일기 또는 질문서를 사용하는 자가 보고, 섭취된 음식의 중량측정, 또는 음식의 쌍을 형성한 양의 중량측정 및 분석을 사용한, 뷔페 식사로부터의 칼로리-섭취의 측정을 비롯한 다수의 기술을 사용하여 측정될 수 있다. 음식 섭취는 식사를 기준으로, 1일 기준으로, 1주 기준으로 또는 1개월 기준으로 측정될 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 치료는 음식 섭취의 1% 증가, 예컨대 2% 증가, 보다 바람직하게는 3%, 또는 5% 또는 7% 증가를 가져오며, 보다 더 바람직하게는 치료의 개시전 평균 음식 섭취보다 10% 초과를 가져온다. 다른 실시양태에서, 치료는 음식 섭취의 변화에 상관없이 칼로리 섭취의 증가에 이르게 하며, 이는 여러 음식 항목, 예컨대 지방, 탄수화물 및 단백질이 음식량 당 상이한 양의 칼로리를 함유하기 때문에 섭취된 음식의 양이 섭취된 칼로리 섭취와 직접 관련될 수 없기 때문이다. 바람직한 실시양태에서, 치료는 칼로리 섭취의 1% 증가, 예컨대 2% 증가, 보다 바람직하게는 3%, 또는 5% 또는 7% 증가, 및 보다 더 바람직하게는 칼로리 섭취의 10% 증가를 가져온다.

[0149] 다른 측면은 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물의 투여에 의한, 체중 증가의 자극 또는 안정한 체중의 유지에 관한 것이다.

[0150] 바람직하게는, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물은 음식 섭취 및 체중 증가의 자극에 유용하다. 보다 바람직하게는, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물은 체중 증가의 자극 또는 안정한 체중의 유지에 유용하다.

[0151] 하기 논의된 바와 같이, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물은 식사전에, 예컨대 식사전 180분내에, 예컨대 식사전 150분내에, 예컨대 식사전 120분내에, 예컨대 식사전 100분내에, 예컨대 식사전 80분내에, 예컨대 식사전 60분내에, 예컨대 식사전 45분내에, 예컨대 식사전 30분내에, 예컨대 식사전 15분내에 투여되는 것이 바람직하다. 또한, 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물은 피하로 투여되는 것이 바람직하다.

[0152] 또한, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물은 예를 들어 주요 수술, 예컨대 고관절 인공삽입물의 삽입, 절단, 골 골절, 및 개방 심장 수술로부터 회복하는 개체에서 물리적 기능의 유지의 촉진, 및/또는 물리적 기능의 복구의 촉진을 위해 투여될 수 있다.

[0153] 특히, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물은 체중미달 대상체의 치료, 또는 체중미달의 단계로의 체중 손실의 예방에 유용하다. 체중미달 대상체는 "정상" 체중 범위 또는 BMI의 하한보다 약 3%, 5% 이하, 10% 이하, 20% 이하, 또는 30% 이하 적은 체중을 갖는 대상체를 포함한다. "정상" 체중 범위는 당분야에 익히 공지되어 있으며, 환자 연령, 키 및 신체 유형과 같은 인자를 고려한다. 또한, 본원에 개시된 화합물은 치료의 개시 전에 무의식적 체중-손실, 예컨대 1개월 당 1%의 체중-손실, 1개월 당 2% 이하, 또는 6개월 당 5% 이하의 체중-손실을 경험한 환자의 치료에 적합하다.

[0154] 체중 또는 식욕의 증가는 체중 또는 식욕에 영향을 미치는 치료를 받거나 질환이 있는 환자에게 유용할 수 있다. 또한, 예를 들어, 농장 동물, 예컨대 돼지, 소 및 닭이 체중의 증가를 위해 처리될 수 있다.

[0155] 개체의 체지방량의 증가는 많은 공지된 기술을 사용하여 당업자에 의해 용이하게 평가될 수 있다. 한 실시양태는 개체의 전반적 체중의 증가가 없는 체지방량의 증가에 관한 것이다. 바람직한 실시양태는 치료 개시전과 비교하여 2%의 체지방의 증가, 보다 바람직하게는 치료전 값보다 4%, 예컨대 5%, 및 8% 및 10%, 보다 더 바람직하게는 20% 또는 40% 높은 체지방의 증가를 유발한다.

[0156] 본원에 따라 치료가능한 개체의 추가 상태는 신경성 폭식증, 식욕감퇴, 남성 발기 기능장애, 여성 성기능장애, 허혈 신경 또는 근육 손상, 뿐만 아니라 전신성 홍반성 루푸스의 완화이다.

[0157] 피하 투여

[0158] 그렐린 및 그렐린 스피라이스 변이체가 GHS 수용체 및 추가로 앞으로 확인될 수용체를 활성화시킨다는 것을

주목하는 것이 중요하다. 이들 수용체는 GH 생성 세포 상에서, 식욕 조절을 위한 시상하부 중추에서, 및 유기체의 많은 추가 위치에서 발견된다. CNS에서, 이들 수용체는 국소 그렐린 스피라이스 변이체-함유 뉴런으로부터 신호를 수용하도록 조정된다. 말초로-분비된 또는 인공적으로-투여된 그렐린 스피라이스 변이체는 이러한 부위에 도달할 것이며, 혈액 뇌 장벽을 통과하여, 특이적으로 적절한 수용체를 활성화하고 특정 경로를 촉발할 것이다. 그러나, 작은 유기 화합물, 예컨대 MK-0677 (머크) (일반적으로 GHS 수용체에 결합하도록 표적됨)인 현재 이용가능한 "소위" GH 분비촉진제는 혈액 뇌 장벽을 통과하고 또한 이들 부위에 도달하여, 여러 GHS 수용체 관련 경로를 활성화시키고, 결과적으로 원치않는 부작용, 예컨대 현기증, 오심, 강하, 증가된 공복 혈청 글루코스 및 인슐린, 및 흐린 시력을 유발하는 위험을 가질 것이다. 따라서, 예를 들어 경구로 활성화된 이점을 갖는 이러한 화합물은 식사전 본래의 그렐린 스피라이스 변이체의 식욕-유도 급상승의 모방에 최적이지 아닐 것이며, 이는 상기 화합물이 비특이적으로 체내의 모든 GHS 수용체 관련 경로를 활성화시킬 것이기 때문이다. 대조적으로, 바람직한 실시양태에서, 천연 펩티드, 그렐린 스피라이스 변이체 자체, 또는 그의 상동체를 사용하고, 및 이를 말초로 투여함으로써, 관련 식욕-조절 그렐린 스피라이스 변이체 수용체 및 경로에만 도달되고 자극되는 것이 확실하게 된다.

[0159] 정상적으로 식사전 상황에서 말초-생성 그렐린 스피라이스 변이체에 대한 표적인 그렐린 스피라이스 변이체 수용체가 시스템의 탈감작화를 유발하지 않으면서 강하고 적절한 식욕 자극을 확실하게 하는 그렐린 스피라이스 변이체의 생물활성 형태의 충분한 수준으로 노출되는 것을 확실하게 하는 임의의 비경구 투여 형태가 본원의 실시양태의 부분일 수 있다. 그러나, 가능하게 치료되는 개체가 장기간, 예컨대 수주 또는 수개월 동안 치료를 받아야 할 것을 고려하여, 투여 형태가 이에 잘 조화되는 것이 바람직하다. 따라서, 다가오는 식사전에 수용체에 도달하기 위해, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물이 그렐린 스피라이스 변이체의 생물활성 형태, 즉 아실화된 형태의 충분한 수준을 허용하는 양으로 피하로 투여되는 것이 바람직하다.

[0160] 본원은 바람직하게는 생리상 식사전 상황을 가능하게 가깝게 모방하는 방법으로 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피라이스 변이체를 투여하여, 증가된 음식 섭취의 필요가 있는 환자, 예를 들어 허약한 노령의 수술후 환자, 및/또는 악액질, 예를 들어 암, 심장 질환 등에 의해 촉진된 악액질의 일부로서 손실된 식욕을 갖는 환자에게 그의 식욕-조절 그렐린 스피라이스 변이체 수용체에 대한 충분한 과잉의 자극성 자극주입 (식사전 상황에서 그렐린 스피라이스 변이체에 의해 정상적으로 도달됨)을 제공하는 방법에 관한 것이다.

[0161] 볼루스 투여

[0162] 또한, 분자 약리학적 관점에서, 그렐린 수용체, 및 그러므로 그렐린 스피라이스 변이체 수용체가 정상적으로 그렐린 농도에서 짧은 지속시간의 급상승에 노출되는 것이 밝혀진 것을 주목하는 것이 중요하다. GHS-R 1a 수용체 (성장 호르몬 분비촉진제 수용체 1a)는 G 단백질 커플링된 수용체 또는 7TM 수용체의 부류에 속하며, 이는 효능제(agonist)에 연속적으로 노출시 탈감작되고, 내부화되고 하향조절될 것이다. 전반적인 신호 형질 도입 시스템에 고유한 이들 메카니즘은 프로세스, 예컨대 수용체 인산화 (그 자체로 효능제에 대한 수용체의 친화성을 감소시킴) 및 억제 단백질, 예컨대 아레스틴 (신호 형질도입 분자, 예컨대 G 단백질의 결합을 입체적으로 차단함)의 결합을 포함한다. 효능제-매개 탈감작화 프로세스의 다른 부분은 수용체 내부화 (즉, 효능제에 결합할 수 있는 세포 표면으로부터의 수용체의 물리적 제거) 뿐만 아니라 수용체 하향조절 (즉, 수용체의 감소된 생성/발현)이다. 수용체 내부화 다음에는 효능제로의 수용체의 짧은 지속시간의 노출 후 수용체가 탈인산화되고, 다시 사용되기 위해 세포 표면으로 재순환되는 재감작화 프로세스가 따라올 수 있다. 이론에 얽매이지 않고, 예를 들어 효능제의 장시간 지속적 연속적인 주입 중에 일어나는 연장된 자극시, 수용체 하향조절 프로세스는 표적 세포가 이 상황에 대한 그의 신호 형질도입 시스템에서 조절되는 것을 확실하게 할 것이라고 여겨진다.

[0163] 최적의 투여

[0164] 본원은 또한 최대 반응을 얻고 예를 들어 탈감작화 메카니즘을 회피하기 위해 환자에게 그렐린 스피라이스 변이체의 최적의 투여 방법을 제공한다.

[0165] 따라서, 한 측면은 볼루스로, 바람직하게는 각 주요 식사 전에 볼루스로 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물의 투여에 관한 것이다. 선행 기술의 연장된 투여 방법과는 대조적으로, 볼루스 투여가 식욕의 자극 뿐만 아니라 영양 섭취의 자극 및 보다 상당한 체중 증가의 자극에 이르게 한다는 것이 밝혀졌다. 이론에 얽매이지 않고, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피라이스 변이체 또는 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물의 적절한 용량의 식사전 피하 주사, 정맥내 주사 또는 짧은 지속시간의 주입은, 강한 식욕-유도

그렐린 스피라이스 변이체 수용체의 자극이 예를 들어, 환자의 운동성에 대한 최소 구속으로 얻어질 것을 확실하게 할 것이라고 여겨진다. 따라서, 예를 들어, 고관절부 골절이 있는 환자는 수술후 상황에서 식사전 기간 및 필요하다면 식사 중에 치료될 수 있으므로, 중요한 수술후 주변을 이동하고 물리치료요법에 관여하는 것이 자유롭다. 한 바람직한 실시양태에서, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피라이스 변이체 또는 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물은 체중 kg 당 10 μ g과 등가량으로 볼루스로서 투여된다.

[0166] 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물

[0167] 임의의 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피라이스 변이체 또는 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물은 본원에 개시된 방법에서 사용될 수 있다. 본원에 기재된 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물의 한 바람직한 유형은 화학식 I: $Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2$ (여기서, Z1은 임의로 존재하는 보호기이고; X1은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고; X2는 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 상기 아미노산은 용적이 큰 소수성기로 변형되고; X3은 각각 독립적으로 천연 아미노산 및 합성 아미노산에서 선택되고, 여기서 하나 이상의 X1 및 X3은 임의로 용적이 큰 소수성기로 변형될 수 있고; Z2는 임의로 존재하는 보호기이고; m은 1 내지 10 범위의 정수이고; n은 4 내지 92 범위의 정수이되; 단, 화학식 $Z1-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2$ 에 따른 화합물은 길이가 15 내지 94개의 아미노산이고, 서열 1과의 상동성이 80% (또는, 대안적 실시양태에서, 85%, 90%, 93%, 95%, 97%, 98%, 99%, 100%) 이상임)에 의해 정의된 구조를 포함하는 화합물이다. 바람직한 실시양태에서, 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물은 길이가 22 내지 29개의 아미노산이다.

[0168] 따라서, 용어 "분비촉진제"는 천연 29개의 아미노산 인간 그렐린 스피라이스 변이체, 서열 5에 나타난 아미노산 서열, 뿐만 아니라 천연 22개의 아미노산 인간 그렐린 스피라이스 변이체, 서열 2에 나타난 아미노산 서열, 및 천연 24개의 아미노산 인간 그렐린 스피라이스 변이체, 서열 3에 나타난 서열을 포함한다.

[0169] 본원은 부분입체이성질체 뿐만 아니라 그의 라세미 및 분할된 거울상이성질체상 순수한 형태를 포함한다. 분비촉진제는 D-아미노산, L-아미노산, 알파-아미노산, 베타-아미노산, 감마-아미노산, 천연 아미노산 및/또는 합성 아미노산 등 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물에 존재하는 아미노산은 L-거울상이성질체이다.

[0170] 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물은 바람직하게는 용적이 큰 소수성기로 변형된 아미노산을 포함한다. 변형된 아미노산에 대한 아미노산 N-말단의 수는 바람직하게는 1 내지 9의 범위내에 있다. 따라서, m은 바람직하게는 1 내지 9, 예컨대 1 내지 8, 예컨대 1 내지 7, 예컨대 1 내지 6, 예컨대 1 내지 5, 예컨대 1 내지 4, 예컨대 1 내지 3, 예컨대 1 내지 2, 예컨대 2의 범위내의 정수이다.

[0171] 변형된 아미노산에 대한 아미노산 N-말단의 수가 낮은 것, 예컨대 1 내지 3, 예컨대 1 내지 2인 것이 보다 바람직하다. 가장 바람직하게는, 2개의 아미노산이 변형된 아미노산에 대한 N-말단에 위치한다.

[0172] 바람직한 실시양태에서, $(X1)_m$ 은 서열의 N-말단 부분에 Gly 잔기를 갖는다. 따라서, 바람직한 실시양태에서, $(X1)_m$ 은 서열: Gly, Gly-Ser, Gly-Cys, Gly-Lys, Gly-Asp, Gly-Glu, Gly-Arg, Gly-His, Gly-Asn, Gly-Gln, Gly-Thr 및 Gly-Tyr에서 선택된다. 보다 바람직하게는, $(X1)_m$ 은 Gly-Ser 및 Gly-Cys에서 선택되고; 가장 바람직하게는 $(X1)_m$ 은 Gly-Ser이다.

[0173] 다시 말해서, 바람직한 실시양태에서, 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물은 $Z1-Gly-(X1)_m-(X2)-(X3)_n-Z2$ (화학식 II), $Z1-Gly-Ser-(X2)-(X3)_n-Z2$ (화학식 III) 및 $Z1-Gly-(X2)-(X3)_n-Z2$ (화학식 IV)에서 선택된다. 보다 바람직하게는, 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물은 화학식 III을 갖는다.

[0174] 상기 기재된 바와 같이, X2는 용적이 큰 소수성기로 변형된 임의의 아미노산일 수 있다. 특히, X2는 변형된 Ser, 변형된 Cys, 변형된 Asp, 변형된 Lys, 변형된 Trp, 변형된 Phe, 변형된 Ile 및 변형된 Leu으로 구성된 군에서 선택된다. 보다 바람직하게는, X2는 변형된 Ser, 변형된 Cys 및 변형된 Lys으로 구성된 군에서 선택되고; 가장 바람직하게는 X2는 변형된 Ser이다.

[0175] 또한, $(X1)_m-(X2)$ 는 바람직하게는 $Gly-Xaa-Ser^*$ 또는 $Gly-Xaa-Cys^*$ 이고, 여기서 Xaa는 임의의 아미노산이고, 보다 바람직하게는 $(X1)_m-(X2)$ 는 $Gly-Ser-Ser^*$ 또는 $Gly-Ser-Cys^*$ 이고, 여기서 $*$ 는 아미노산 잔기가 용적이 큰 소수성기로 변형된 것을 나타낸다.

[0176] $(X3)_n$ 은 바람직하게는 그렐린 스피라이스 변이체, 예컨대 인간 그렐린 스피라이스 변이체의 단편인 서열을 포함한다. 따라서, $(X3)_n$ 은 바람직하게는 하기 서열 (서열 6)의 단편을 포함한다:

Phe Leu Ser Pro

**Glu His Gln Arg Val Gln Val Arg Pro Pro His Lys Ala Pro His Val Val Pro Ala Leu Pro
Leu Ser Asn Gln Leu Cys Asp Leu Glu Gln Gln Arg His Leu Trp Ala Ser Val Phe Ser
Gln Ser Thr Lys Asp Ser Gly Ser Asp Leu Thr Val Ser Gly Arg Thr Trp Gly Leu Arg
Val Leu Asn Arg Leu Phe Pro Pro Ser Ser Arg Glu Arg Ser Arg Arg Ser His Gln Pro
Ser Cys Ser Pro Glu Leu.**

[0177]

[0178]

바람직한 실시양태에서, 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 길이는 프로세싱된 인간 그렐린의 길이, 즉 29개의 아미노산과 실질적으로 유사하다. 따라서, n은 바람직하게는 4 내지 25, 예컨대 4 내지 24, 예컨대 4 내지 22, 예컨대 4 내지 15, 예컨대 4 내지 10, 예컨대 10 내지 25, 예컨대 10 내지 24, 예컨대 15 내지 25, 예컨대 15 내지 24의 범위의 정수이다. 가장 바람직하게는, 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 29개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체, 서열 5에 나타난 아미노산 서열이거나; 또는 22개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체, 서열 2에 나타난 아미노산 서열이거나; 또는 24개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체, 서열 3에 나타난 아미노산 서열이거나; 또는 제3 위치에 2,3-디아미노프로피온산 (Dpr) 잔기를 갖는 24개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체, 서열 4에 나타난 아미노산 서열이다.

[0179]

관능성

[0180]

본원에 기재된 분비촉진제는 상기 기재된 바와 같은 GHS에 대한 수용체, 즉 수용체 GHS-R 1a에서 활성이다. 상기 화합물은 GHS-R 1a에 결합할 수 있고, 바람직하게는 수용체 활성을 자극할 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 상기 화합물은 다른 수용체에 결합할 수 있고, 임의로 그의 활성을 자극할 수 있다.

[0181]

수용체 활성은 상이한 기술을 사용하여, 예컨대 수용체의 세포내 형태, G-단백질 커플링된 활성, 및/또는 세포내 전달자의 변화를 검출하여 측정될 수 있다. 그렐린 스플라이스 변이체 수용체를 활성화시키는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 능력의 단순한 한 측정은 그의 EC50, 즉 화합물이 화합물의 최대 효과의 절반으로 수용체의 신호전달을 활성화시킬 수 있는 용량을 측정하는 것이다. 예를 들어 EC50의 측정시, 수용체는 원발성 세포 배양물, 예를 들어 뇌하수체 세포 상에서 내인성으로 발현되거나, 또는 그렐린 수용체에 의해 형질감염된 세포 상에 이중으로 발현될 수 있다. 전체 세포 분석, 또는 이들 세포 유형으로부터 제조된 막을 사용하는 분석이 분석의 유형에 따라 의존적으로 사용될 수 있다.

[0182]

수용체가 일반적으로 Gq 신호전달 경로에 주로 커플링된 것으로 여겨지기 때문에, Gq/G11 신호전달 경로에서 활성을 모니터링하는 임의의 적합한 분석이 사용될 수 있다. 예를 들어:

[0183]

1) 예를 들어, 신호를 소음 비율로 증가시키기 위해 예를 들어, 항-G-알파-q 또는 -11 항체 침전과 조합된 GTPγS 결합의 측정에 의해 수행되는 Gq/G11의 활성화를 측정하는 분석. 이 분석은 또한 Gq/11보다 다른 G-단백질으로의 커플링을 검출할 수 있다.

[0184]

2) 예를 들어, PLC의 생성물 중 하나인 이노시톨 포스페이트의 축적의 측정에 의해 경로에서 제1 하류 이펙터 분자 중 하나인 포스포리파제 C (PLC)의 활성을 측정하는 분석.

[0185]

3) 신호전달 캐스케이드에서 보다 하류는 세포내 저장부로부터의 칼슘의 동원이며, 이는 당업자에게 공지된 임의의 방법에 의해 측정될 수 있다.

[0186]

4) 보다 더 하류, 신호전달 분자, 예컨대 여러가지 종류의 MAP 키나제 (p38, jun 등), NFκB 전위 및 CRE 구동 유전자 전사의 활성이 또한 측정될 수 있다.

[0187]

5) 활성화된 그렐린 수용체에 대한 형광-태그된 아레스틴의 결합.

[0188]

분비촉진제 기능의 결정에 사용하기 위한 적합한 프로토콜의 예는 하기 실시예 4에 주어진다.

[0189]

한 실시양태에서, 수용체 GHS-R 1a로의 화합물의 결합은 상기 본원에 기재된 분석의 사용에 의해 측정될 수 있다.

[0190]

그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 바람직하게는 상기 본원에 기재된 분석을 사용하여 결정된 바와 같이 28개의 아미노산 인간 야생형 그렐린에 상대적으로 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상 또는 약 90% 이상의 기능적 활성을 갖고/거나, 약 1,000 초과, 약 100 초과, 또는 약 50 초과, 또는 약 10 초과 EC50을 갖는다. 수치가 더 큰 효력은 결합 억제제를 성취하는데 더 적은 양이 필요하다는 것을 나타낸다.

[0191]

한 실시양태에서, 화합물은 500 nM 미만의 GHS-R 1a에 대한 효력 (EC50)을 갖는다. 다른 실시양태에서, 화합

물은 100 nM 미만, 예컨대 80 nM 미만, 예컨대 60 nM 미만, 예컨대 40 nM 미만, 예컨대 20 nM 미만, 예컨대 10 nM 미만, 예컨대 5 nM 미만, 예컨대 1 nM 미만, 예컨대 0.5 nM 미만, 예컨대 0.1 nM 미만, 예컨대 0.05 nM 미만, 예컨대 0.01 nM 미만의 GHS-R 1a에 대한 효력 (EC50)을 갖는다.

[0192] 추가 실시양태에서, 화합물의 해리 상수 (Kd)는 500 nM 미만이다. 다른 추가 실시양태에서, 리간드의 해리 상수 (Kd)는 100 nM 미만, 예컨대 80 nM 미만, 예컨대 60 nM 미만, 예컨대 40 nM 미만, 예컨대 20 nM 미만, 예컨대 10 nM 미만, 예컨대 5 nM 미만, 예컨대 1 nM 미만, 예컨대 0.5 nM 미만, 예컨대 0.1 nM 미만, 예컨대 0.05 nM 미만, 예컨대 0.01 nM 미만이다.

[0193] 결합 분석은 상이한 환경에서 존재하는, 재조합으로 생성된 수용체 폴리펩티드를 사용하여 수행될 수 있다. 이러한 환경은 예를 들어, 재조합 핵산 또는 천연 핵산으로부터 발현된 수용체 폴리펩티드를 함유하는 세포 추출물 및 정제된 세포 추출물을 포함하며, 또한 예를 들어 재조합 수단에 의해, 또는 상이한 환경에 도입된 천연 핵산으로부터 생성된, 정제된 GHS 수용체 폴리펩티드의 사용을 포함한다.

[0194] 재조합으로 발현된 GHS 수용체를 사용하는 것은 여러 이점, 예컨대 한정된 세포 시스템에서 수용체를 발현하는 능력을 제공하여, 수용체에서의 화합물에 대한 반응이 더 용이하게 다른 수용체에서의 반응과 구별될 수 있게 한다. 예를 들어, 수용체는 통상적으로 발현 벡터에 의해 수용체를 발현하지 않는 세포주, 예컨대 HEK 293, COS 7 및 CHO에서 발현될 수 있으며, 여기서 발현 벡터가 없는 동일한 세포주는 대조군으로서 작용할 수 있다.

[0195] 동일성 및 상동성

[0196] 용어 "동일성" 또는 "상동성"은 필요하다면 전체 서열에 대한 최대 퍼센트 동일성을 성취하기 위해 임의의 보존적 치환을 서열 동일성의 부분으로서 고려하지 않고, 서열의 정렬 및 갭의 도입 후 비교되는 서열에 상응하는 서열의 잔기와 동일한 후보 서열 중 아미노산 잔기의 퍼센트를 의미하는 것으로 해석될 것이다. N- 또는 C-말단 연장 및 삽입은 동일성 또는 상동성을 감소시키는 것으로 해석되지 않을 것이다. 정렬을 위한 방법 및 컴퓨터 프로그램은 당분야에 익히 공지되어 있다. 서열 동일성은 서열 분석 소프트웨어 (예를 들어, 서열 분석 소프트웨어 팩키지, 위스콘신주 매디슨 소재의 제네틱스 컴퓨터 그룹, 유니버시티 오브 위스콘신 바이오 테크놀로지 센터)를 사용하여 측정될 수 있다. 이 소프트웨어는 여러 치환, 결실 및 다른 변형에 대한 상동성의 정도를 부여함으로써 유사한 서열을 매칭한다.

[0197] 본원에서 구체화된 하나 이상의 서열의 그렐린 스플라이스 변이체 상동체는 정의된 서열과 비교하여 하나 이상의 아미노산이 다양할 수 있으나, 동일한 기능을 수행할 수 있다, 즉 상동체는 예정된 서열의 기능적 등가로서 고안될 수 있다.

[0198] 그렐린 스플라이스 변이체 상동체는 바람직하게는 상기 정의된 바와 같은 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물이다.

[0199] 상기 기재된 바와 같이, 본원에서 예정된 서열 중 임의의 서열의 상동체는 i) 항체에 의해 인식될 수 있는 아미노산 서열을 포함하는 상동체 (여기서, 상기 항체는 또한 22개의 아미노산 및/또는 24개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체 및/또는 29개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체, 바람직하게는 아실화된 22개의 아미노산 및/또는 24개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체 및/또는 29개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체를 인식함), 및/또는 ii) GHS-R 1a에 선택적으로 결합할 수 있는 아미노산 서열을 포함하는 상동체, 및/또는 iii) 22개의 아미노산 및/또는 24개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체 및/또는 29개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체, 바람직하게는 아실화된 22개의 아미노산 및/또는 24개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체 및/또는 29개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체 및/또는 29개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체보다 GHS-R 1a에 대해 실질적으로 유사한 또는 더 높은 결합 친화성을 갖는 상동체로서 정의될 수 있다 (22개의 아미노산 및/또는 24개의 아미노산 및/또는 29개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체는 서열 2, 서열 3, 서열 4 또는 서열 5에 나타난 서열을 가질 수 있으며, 아실화되는 경우 위치 3에서 아실화됨).

[0200] 본원에서 사용되는 항체는 그렐린 스플라이스 변이체의 N-말단 영역 또는 그렐린 스플라이스 변이체의 C-말단 영역, 바람직하게는 N-말단 영역에 결합하는 항체일 수 있다. 항체는 문헌 [Ariyasu H. et al., Endocrinology 143:3341-50 (2002)]에 기재된 바와 같은 항체일 수 있다.

[0201] 예시적인 상동체는 예정된 아미노산의 동일한 군내의 하나 이상의 보존적 아미노산 치환, 또는 다수의 보존적 아미노산 치환을 비롯한 하나 이상의 보존적 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 보존적 치환은 각각 예정된 아미노산의 상이한 군내의 치환에 의해 생성된다. 그러므로, 상동체는 서로 독립적인 보존적 치환을 포함할

수 있으며, 여기서 상기 상동체의 하나 이상의 글리신 (Gly)은 Ala, Val, Leu 및 Ile로 구성된 아미노산의 군에서 선택된 아미노산으로 치환되며, 독립적으로 그의 상동체에서 상기 상동체의 하나 이상의 알라닌 (Ala)은 Gly, Val, Leu 및 Ile로 구성된 아미노산의 군에서 선택된 아미노산으로 치환되며; 독립적으로 그의 상동체에서 상기 상동체의 하나 이상의 발린 (Val)은 Gly, Ala, Leu 및 Ile로 구성된 아미노산의 군에서 선택된 아미노산으로 치환되며; 독립적으로 그의 상동체에서 상기 상동체의 하나 이상의 류신 (Leu)은 Gly, Ala, Val 및 Ile로 구성된 아미노산의 군에서 선택된 아미노산으로 치환되며; 독립적으로 그의 상동체에서 상기 상동체의 하나 이상의 이소류신 (Ile)은 Gly, Ala, Val 및 Leu로 구성된 아미노산의 군에서 선택된 아미노산으로 치환되며; 독립적으로 그의 상동체에서 상기 상동체의 하나 이상의 아스파르트산 (Asp)은 Glu, Asn 및 Gln로 구성된 아미노산의 군에서 선택된 아미노산으로 치환되며; 독립적으로 그의 상동체에서 상기 상동체의 하나 이상의 페닐알라닌 (Phe)은 Tyr, Trp, His 및 Pro로 구성된 아미노산의 군에서 선택되고, 바람직하게는 Tyr 및 Trp로 구성된 아미노산의 군에서 선택된 아미노산으로 치환되며; 독립적으로 그의 상동체에서 상기 상동체의 하나 이상의 티로신 (Tyr)은 Phe, Trp, His 및 Pro로 구성된 아미노산의 군에서 선택되고, 바람직하게는 Phe 및 Trp로 구성된 아미노산의 군에서 선택된 아미노산으로 치환되며; 독립적으로 그의 상동체에서 상기 상동체의 하나 이상의 아르기닌 (Arg)은 Lys 및 His로 구성된 아미노산의 군에서 선택된 아미노산으로 치환되며; 독립적으로 그의 상동체에서 상기 상동체의 하나 이상의 리신 (Lys)은 Arg 및 His로 구성된 아미노산의 군에서 선택된 아미노산으로 치환되며; 독립적으로 그의 상동체에서 상기 상동체의 하나 이상의 아스파라긴 (Asn)은 Asp, Glu 및 Gln로 구성된 아미노산의 군에서 선택된 아미노산으로 치환되며; 독립적으로 그의 상동체에서 상기 상동체의 하나 이상의 글루타민 (Gln)은 Asp, Glu 및 Asn로 구성된 아미노산의 군에서 선택된 아미노산으로 치환되며; 독립적으로 그의 상동체에서 상기 상동체의 하나 이상의 프롤린 (Pro)은 Phe, Tyr, Trp 및 His로 구성된 아미노산의 군에서 선택된 아미노산으로 치환되며; 독립적으로 그의 상동체에서 상기 상동체의 하나 이상의 시스테인 (Cys)은 Asp, Glu, Lys, Arg, His, Asn, Gln, Ser, Thr 및 Tyr로 구성된 아미노산의 군에서 선택된 아미노산으로 치환된다.

[0202] 보존적 치환은 바람직한 예정된 서열의 임의의 위치에서 도입될 수 있다. 그러나, 또한 비보존적 치환 (특히, 임의의 하나 이상의 위치에서의 비보존적 치환에 제한되지 않음)을 도입하는 것이 바람직할 수 있다.

[0203] 본원에서 서열의 기능적 등가 상동체의 형성에 이르게 하는 비보존적 치환은 예를 들어 i) 예를 들어 극성 측쇄를 갖는 잔기, 예컨대 Ser, Thr, Cys, Tyr, Asn 또는 Gln 또는 대전된 아미노산, 예컨대 Asp, Glu, Arg 또는 Lys가 치환된 비극성 측쇄를 갖는 잔기 (Ala, Leu, Pro, Trp, Val, Ile, Gly, Leu, Phe 또는 Met), 또는 비극성 잔기를 대전된 또는 극성 잔기로 치환하여 극성이 실질적으로 상이하고/거나; ii) 다른 잔기에 의한 Pro 또는 Gly의 치환과 같은 폴리펩티드 주쇄 배향에 대한 효과가 실질적으로 상이하고/거나; iii) 음성으로 대전된 잔기, 예컨대 Glu 또는 Asp에 의한 양성으로 대전된 잔기, 예컨대 Lys, His 또는 Arg의 치환 (및 반대로)과 같이 전기적 하전이 실질적으로 상이하고/거나; iv) 용적이 큰 잔기, 예컨대 His, Trp, Phe 또는 Tyr에 의한 작은 측쇄를 갖는 아미노산, 예를 들어 Ala, Gly 또는 Ser의 치환 (및 반대로)과 같이 입체적 부피가 실질적으로 상이할 것이다.

[0204] 아미노산의 치환은 한 실시양태에서 하전, 크기 등을 비롯해 아미노산 측쇄 치환체의 소수성 및 친수성 값 및 상대적인 유사성에 기초하여 행해질 수 있다. 여러가지 상기 특징을 고려하는 예시적인 아미노산 치환은 당업자에게 익히 공지되어 있으며, 예를 들어, 아르기닌 및 리신; 글루타메이트 및 아스파르테이트; 세린 및 트레오닌; 글루타민 및 아스파라긴; 및 발린, 류신 및 이소류신을 포함한다.

[0205] 바람직한 실시양태에서, 결합 도메인은 서열 1과의 상동성이 60% 이상인 아미노산 서열을 갖는 상동체를 포함한다. 보다 바람직하게는, 서열 1과의 상동성은 65% 이상, 예컨대 70% 이상의 상동성, 예컨대 75% 이상의 상동성, 예컨대 80% 이상의 상동성, 예컨대 85% 이상의 상동성, 예컨대 90% 이상의 상동성, 예컨대 95% 이상의 상동성, 예컨대 98% 이상의 상동성이다. 보다 바람직한 실시양태에서, 언급된 상기 퍼센트는 서열 1과 비교하여 상동체의 서열의 동일성에 관한 것이다. 서열 1에 대한 상동체는 22개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체 (서열 2), 24개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체 (서열 3), 또는 29개의 아미노산 인간 그렐린 스플라이스 변이체 (서열 5)일 수 있다. 다른 상동체는 본원에 참고로 도입된 제EP 1 197 496호 (칸가와(Kangawa))에 기재된 변이체이다.

[0206] 용적이 큰 소수성기

[0207] 본원에 개시된 분비촉진제의 용적이 큰 소수성기는 데스-아실화된 28개의 아미노산 인간 야생형 그렐린 또는 그의 유사체에게 GHS-R 1a 및/또는 GS-R-1b에 대한 결합 친화성을 제공할 수 있는 임의의 용적이 큰 소수성기이다. 임의의 적합한 아미노산은 임의의 적합한 용적이 큰 소수성기에 의해 변형될 수 있다. 바람직한 실시

양태에서, Ser 잔기 (바람직하게는, 그렐린 스플라이스 변이체 아미노산 쇠에서 아미노산 번호 3)는 용적이 큰 소수성기에 의해 변형된다. 변형되는 아미노산이 예를 들어 그의 측쇄에 치환기로서 -OH, -SH, -NH 또는 -NH₂를 함유하는 경우, 이러한 치환기의 아실화에 의해 형성된 기가 바람직하다. 따라서, 결합의 방식은 에스테르, 에테르, 티오에스테르, 티오에테르, 아마이드 및 카르바미드로 구성된 군에서 선택될 수 있다. 예를 들어, 변형된 아미노산이 세린, 트레오닌, 티로신 또는 옥시프로린인 경우, 아미노산은 측쇄에 히드록실기를 갖는다. 변형된 아미노산이 시스테인인 경우, 아미노산은 측쇄에 머캅토기를 갖는다. 변형된 아미노산이 리신, 아르기닌, 히스티딘, 트립토판, 프롤린 또는 옥시프로린인 경우, 아미노산은 측쇄에 아미노기 또는 이미노기를 갖는다.

[0208] 그러므로, 상기 기재된 히드록실기, 머캅토기, 아미노기 및 이미노기는 화학적으로 변형될 수 있다. 즉, 히드록실기 또는 머캅토기는 예를 들어 에테르화, 에스테르화, 티오에테르화 또는 티오에스테르화될 수 있다. 이미노기는 예를 들어 이미노에테르화, 이미노티오에테르화 또는 알킬화될 수 있다. 아미노기는 예를 들어 아마이드화, 티오아מיד화 또는 카르바미드화될 수 있다. 추가로, 머캅토기는 예를 들어 디설피드화될 수 있고; 이미노기는 예를 들어 아마이드화 또는 티오아מיד화될 수 있고; 아미노기는 예를 들어 알킬화 또는 티오카르바미드화될 수 있다.

[0209] 바람직한 실시양태에서, 변형된 아미노산은 소수성기에 대한 에스테르 결합을 통해 커플링된 Ser이거나, 또는 다른 바람직한 실시양태에서, 변형된 아미노산은 소수성기에 대한 아마이드 결합을 통해 커플링된 Dpr이다.

[0210] 소수성기는 하나 이상의 탄소 원자를 함유하는 포화 또는 불포화 알킬 또는 아실기를 갖는 임의의 기일 수 있다. 한 실시양태에서, 용적이 큰 소수성기는 유기 카르복실산, 유기 술폰산 또는 유기 인산으로부터 히드록실기를 제거함으로써 형성된 기를 비롯한 아실기이다. 관능성 카르복실산은 예를 들어 지방산을 포함하며, 그의 탄소 원자의 수는 바람직하게는 1 내지 35이다. 유기 술폰산 또는 유기 인산에서, 그의 탄소 원자의 수는 바람직하게는 1 내지 35이다.

[0211] 따라서, 아실기는 바람직하게는 C₁-C₃₅ 아실기, 예컨대 C₁-C₂₀ 아실기, 예컨대 C₁-C₁₅ 아실기, 예컨대 C₆-C₁₅ 아실기, 예컨대 C₆-C₁₂ 아실기, 예컨대 C₈-C₁₂ 아실기에서 선택된다. 보다 바람직하게는, 아실기는 C₇ 아실기, C₈ 아실기, C₉ 아실기, C₁₀ 아실기, C₁₁ 아실기 및 C₁₂ 아실기로 구성된 군에서 선택된다. 이러한 아실기는 옥탄산 (바람직하게는 카프릴산), 데칸산 (바람직하게는 카프르산), 또는 도데칸산 (바람직하게는 라우르산), 뿐만 아니라 그의 모노엔 또는 폴리엔 지방산으로부터 형성될 수 있다.

[0212] 또한, 변형된 아미노산은 기가 본원에 참고로 도입된 제EP 1 197 496호 (칸가와)에 기재된 바와 같이 변형된 임의의 아미노산일 수 있다.

[0213] 보호기

[0214] 본원에 따른 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 N-말단 또는 C-말단 또는 둘 모두에 보호기를 포함할 수 있다. N-말단 아미노기에 공유결합으로 연결된 보호기는 생체내 조건하에서 아미노 말단의 반응성을 감소시킨다. 아미노 보호기에는 예를 들어, C₁-C₁₀ 알킬, C₁-C₁₀ 치환된 알킬, C₂-C₁₀ 알케닐, C₂-C₁₀ 치환된 알케닐, 아릴, C₁-C₆ 알킬 아릴, C(O)-(CH₂)-(C₁-C₆ 알킬)-COOH, C(O)-(C₁-C₆ 알킬), C(O)-아릴, C(O)-O-(C₁-C₆-알킬) 또는 C(O)-O-아릴이 포함된다. 바람직하게는, 아미노 말단 보호기는 아세틸, 프로필, 숙시닐, 벤질, 벤질옥시카르보닐 또는 t-부틸옥시카르보닐이다.

[0215] C-말단 카르복시기에 공유결합으로 연결된 보호기는 생체내 조건하에서 카르복시 말단의 반응성을 감소시킨다. 카르복시 말단 보호기는 바람직하게는 최종 아미노산의 α-카르보닐기에 부착된다. 카르복시 말단 보호기에는 예를 들어 아마이드, 메틸아מיד 및 에틸아מיד가 포함된다.

[0216] 접합체

[0217] 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 분비촉진제 접합체, 즉 다른 실체에 접합된 분비촉진제를 포함하는 분자의 형태로 제공될 수 있다. 다른 실체는 분비촉진제에 개선된 특성, 예를 들어 개선된 안정성, 반감기 등을 부여할 수 있는 임의의 물질일 수 있다. 적합한 실체의 예는 하기 기재되어 있다. 예를 들어, 분비촉진제는 펩티드, 예컨대 통각 수용체 ORL1에 대한 효과를 갖는 펩티드에 접합될 수 있다. 한 실시양태에서, 접합체는 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그의 유사체 또는 상동체, 및 ORL1에 대한 효과를 갖는 펩티드, 예를 들어 펩티드 Ac-RYY (RK) (WI) RK)-NH₂ (여기서, 괄호는 아미노산 잔기의 허용가능한 다양

성을 나타냄)의 접합체이다. 다른 적합한 펩티드의 예는 공개된 미국 특허 출원 제2003/040472호 및 제 2002/004483호, 및 미국 특허 제5,869,046호에 기재되어 있으며, 상기 문헌들은 각각 본원에 참고로 도입된다.

[0218] 다른 실시양태에서, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피라이스 변이체 또는 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물은 중합체 분자에 접합된다. 중합체 분자는 임의의 적합한 중합체 분자, 예컨대 천연 또는 합성 중합체, 전형적으로 약 1 내지 100 kDa, 예컨대 약 3 내지 20 kDa, 예컨대 5 내지 10 kDa의 범위의 분자량을 갖는 중합체일 수 있다. 중합체는 분비촉진제 상에 존재하는 반응기, 예를 들어 아민기 또는 티올기에 부착된다. 적합한 중합체 분자의 예는 폴리알킬렌 옥사이드 (PAO), 예를 들어 폴리알킬렌 글리콜 (PAG), 예컨대 선형 또는 분지된 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 및 폴리프로필렌 글리콜 (PPG); 폴리-비닐 알콜 (PVA); 폴리-카르복실레이트; 폴리-(비닐피롤리돈); 폴리에틸렌-코-말레산 무수물; 폴리스티렌-코-말레산 무수물; 및 텍스트란, 예를 들어 카르복시메틸-텍스트란으로 구성된 군에서 선택된 중합체 분자를 들 수 있다. 바람직하게는, 중합체 분자는 PEG 분자, 특히 일관성 PEG, 예컨대 메톡시폴리에틸렌 글리콜 (mPEG)이다. 적합한 활성화된 PEG 분자는 예를 들어, 넥타르 세라퓨틱스 인크.(Nektar Therapeutics Inc.) (미국 앨라배마주 헨즈빌 소재) 또는 발렌티스, 인크.(Valentis, Inc.) (미국 캘리포니아주 버링게임 소재)로부터 시판된다. 대안적으로, 중합체 분자는 당분야에 공지된 통상적인 방법, 예를 들어 본원에 참고로 도입된 제WO 90/13540호에 개시된 바와 같은 방법에 의해 활성화될 수 있다. 활성화된 PEG 중합체의 특정 예로는 하기 선형 PEG를 들 수 있다: NHS-PEG (예를 들어, SPA-PEG, SSPA-PEG, SBA-PEG, SS-PEG, SSA-PEG, SC-PEG, SG-PEG 및 SCM-PEG), NOR-PEG, BTC-PEG, EPOX-PEG, NCO-PEG, NPC-PEG, CDI-PEG, ALD-PEG, TRES-PEG, VS-PEG, IODO-PEG, 및 MAL-PEG, 및 분지된 PEG, 예컨대 PEG2-NHS 및 미국 특허 제5,932,462호 및 제5,643,575호에 개시된 PEG (상기 문헌들은 본원에 참고로 도입됨).

[0219] PEG화 (즉, 분비촉진제 폴리펩티드 및 활성화된 중합체 분자의 접합)는 확립된 절차, 예를 들어 하기 참고문헌 (중합체 분자의 활성화에 적합한 방법을 또한 기재함)에 기재된 절차에 따라 수행된다: 문헌 [R.F. Taylor, (1991), "Protein Immobilization. Fundamentals and Applications", Marcel Dekker, N. Y.]; [S.S. Wong, (1992), "Chemistry of Protein Conjugation and Crosslinking", CRC Press, Boca Raton]; [G.T. Hermanson et al., (1993), "Immobilized Affinity Ligand Techniques", Academic Press, N. Y.].

[0220] 또한, 본원에 따라 링커를 통해 분비촉진제로 중합체 분자를 커플링시키는 것이 고려된다. 적합한 링커는 당업자에게 익히 공지되어 있다. 바람직한 예는 염화시아노산이다 (문헌 [Abuchowski A. et al., J. Biol. Chem. 252:3578-81 (1977)]; 미국 특허 제4,179,337호; 문헌 [Shafer et al., J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed. 24:375-78 (1986)]).

[0221] 또다른 실시양태에서, 분비촉진제는 올리고사카라이드 분자, 예컨대 텍스트란, 글리칸, 트라세페린 등에 접합된다. 이러한 접합은 확립된 기술, 예를 들어 네오스 테크놀로지스, 인크.(Neose Technologies, Inc.) (미국 펜실베이니아주 호르삼 소재)로부터 시판되는 기술에 따라 성취될 수 있다.

[0222] 또다른 실시양태에서, 분비촉진제는 IgG 분자의 Fc 영역에, 전형적으로 융합 단백질의 형태로 접합된다. 예를 들어, IgG의 Fc 영역의 셀비지 수용체 결합 에피토프 (즉, 이소타입 IgG의 이뮤노글로불린의 Fc 부분)는 그의 순환 반감기를 증가시키거나, 그의 생물학적 활성을 손실하지 않도록 분비촉진제로 혼입된다. 이는 임의의 수단, 예컨대 Fc 영역을 모방하는 분비촉진제에서 적절한 영역의 돌연변이에 의해, 또는 펩티드 태그 (이는 그 후 말단에서 또는 중간 부분에서 분비촉진제로 융합됨)로의 에피토프의 혼입에 의해, 또는 DNA 또는 펩티드 합성에 의해 실시할 수 있다.

[0223] 셀비지 수용체 결합 에피토프는 당업자에게 공지된 임의의 적합한 이러한 에피토프이며, 그의 성질은 예를 들어 변형되는 분비촉진제의 유형에 의존적일 것이다. 에피토프는 분비촉진제로 도입되어, 분비촉진제의 생물학적 활성이 유지된다, 즉 에피토프는 분비촉진제의 형태에 유해한 영향을 미치지거나, 또는 그의 생물학적 활성을 부여하는 리간드에 대한 그의 결합에 영향을 미치지 않는다.

[0224] 접합체의 형태로 분비촉진제를 제공하는 것의 대안으로, 분비촉진제는 적합한 반응기를 포함하도록 변형될 수 있으며, 이에 의해 따라서 변형된 분비촉진제는 (개체로 투여된 후) 혈액 성분 상에 이용가능한 반응성 관능기와의 공유 결합을 통해 생체내에서 접합체를 형성할 수 있다. 본원은 또한 이러한 변형된 분비촉진제, 및 그의 사용 방법에 관한 것이다. 또한, 본원은 상기 기재된 바와 같은 변형된 분비촉진제 및 혈액 성분 사이에서 시험관내에서 형성된 접합체에 관한 것이다. 이 실시양태에 따라 형성된 접합체는 상응하는 비-변형된 분비촉진제와 비교하여 증가된 생체내 반감기를 갖는 것으로 고려된다.

- [0225] 이 실시양태에 따라, 분비촉진제는 화학적 반응기 (반응성 실체)에 의해 변형된다. 반응성 실체는 예를 들어 광범위한 활성 카르복실기, 특히 에스테르에서 선택될 수 있으며, 여기서 히드록실 잔기는 생리상 허용된다. 이러한 기는 N-히드록시숙신이미드 (NHS), N-히드록시-술포숙신이미드 (술포-NHS), 말레이미드-벤조일-숙신이미드 (MBS), 감마-말레이미도-부티릴옥시 숙신이미드 에스테르 (GMBS) 및 말레이미도프로피온산 (MPA)으로 구성된 군에서 선택될 수 있다. 실체의 이 기에 대한 주요 표적은 혈액 성분 상의 일차 아민이다. 활성 실체의 다른 기는 말레이미도-함유 기, 예컨대 MPA 및 감마-말레이미드-부티릴아미드 (GMBA)에 의해 구성된다. 이러한 기는 혈액 성분 상에 존재하는 티올기와 반응한다 (문헌 [Lee V.H.L. in "Peptide and Protein Drug Delivery", New York, N. Y., M. Dekker, 1990]).
- [0226] 변형된 분비촉진제가 반응하도록 고안된 혈액 성분은 이용가능한 표적 기, 예를 들어 아민 또는 티올기를 갖는 임의의 혈액 성분일 수 있으며, 생체내 변형된 분비촉진제와의 결합에서 담체로서 적합하며, 이에 의해 그의 순환 반감기를 연장시킨다. 이러한 혈액 성분의 예는 혈청 알부민 및 IgG이다.
- [0227] 상기 언급된 바와 같이, 혈액 성분으로의 변형된 분비촉진제의 공유 결합은 환자에게 직접 변형된 분비촉진제를 투여함으로써 생체내에서 성취될 수 있다. 투여는 임의의 적합한 형태, 예컨대 볼루스의 형태로 행해질 수 있거나, 또는 계량된 흐름 등을 사용하는 주입에 의해 시간에 걸쳐 천천히 도입될 수 있다. 대안적으로, 분비촉진제/혈액 성분 접합체는 또한 혈액을 변형된 분비촉진제와 합하고, 혈액 성분 상의 반응성 관능기로 변형된 분비촉진제를 공유 결합시킨 후, 접합된 혈액을 개체로 회수하거나 또는 투여함으로써 생체외에서 제조될 수 있다.
- [0228] 또한, 상기는 먼저 개체 혈액 성분 또는 제한된 수의 성분, 예컨대 적혈구, 이뮤노글로불린, 혈청 알부민 등을 정제하고, 성분 또는 성분들을 생체외에서 화학적으로 반응성 분비촉진제와 합함으로써 성취될 수도 있다.
- [0229] 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 생성
- [0230] 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 당분야에 익히 공지된 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 폴리펩티드 영역은 화학적으로 또는 생화학적으로 합성되고 변형될 수 있다. 폴리펩티드의 화학적 합성 기술은 당분야에 익히 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Lee V.H.L. in "Peptide and Protein Drug Delivery", New York, N. Y., M. Dekker, 1990] 참조). 세포로의 핵산의 도입 및 핵산의 발현을 포함하는 생화학적 합성 기술의 예는 문헌 [Ausubel F.M. et al., "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley, 1987-1998], 및 [Sambrook J. et al., "Molecular Cloning, A Laboratory Manual", 2d Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989]에 제공되며, 상기 문헌 각각은 본원에 참고로 도입된다. 본원에 참고로 도입된 미국 특허 제5,304,489호에 기재된 다른 예시적인 기술은 트랜스제닉 포유동물의 우유에서의 합성된 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 생성 및 분비를 가져오는, 유선-표적 돌연변이를 갖는 트랜스제닉 포유동물의 사용이다.
- [0231] 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 또한 당분야에 공지된 통상적인 발현 방법을 사용하여 재조합으로 제조될 수 있다. 원하는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 코딩하는 폴리뉴클레오티드는 임의의 편리한 숙주에 적합한 발현 벡터로의 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 진핵 및 원핵 숙주 시스템 둘 모두는 재조합 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 생성에 사용된다. 그 후, 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 용해된 세포로부터 또는 배양 배지로부터 분리되고, 그의 의도된 사용을 위해 필요한 정도로 정제된다.
- [0232] 결과적으로, 추가 실시양태는 (a) 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 cDNA를 제공하는 단계; (b) cDNA가 프로모터에 작동가능하게 연결되도록 상기 cDNA를 발현 벡터에 삽입하는 단계; 및 (c) 숙주 세포가 상기 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 생성하도록 상기 발현 벡터를 상기 숙주 세포에 도입하는 단계를 포함하는, 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 제조 방법이다.
- [0233] 이 실시양태의 한 측면에서, 상기 방법은 단계 (c)에서 생성된 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 회수하는 단계를 추가로 포함한다. 다른 실시양태는 상기 단락에 기재된 방법에 의해 얻어질 수 있는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물이다. 발현 벡터는 당분야에 공지된 임의의 포유동물, 효모, 곤충 또는 박테리아 발현 시스템이다. 시판되는 벡터 및 발현 시스템은 제네틱스 인스티튜트(Genetics Institute) (미국 매사추세츠주 캄브리지 소재), 스트라타젠(Stratagene) (미국 캘리포니아주 라호야 소재), 프로메가(Promega) (미국 위스콘신주 매디슨 소재), 및 인비트로젠(Invitrogen) (미국 캘리포니아주 샌디에고 소재)을 비롯한 여러 공급자로부터 입수가 가능하다. 원한다면, 발현을 향상시키고 적합한 단백질 폴딩을 촉진하기 위해, 서열의 코

돈 내용 및 코돈 쌍형성은 미국 특허 제5,082,767호에 설명된 바와 같이 발현 벡터가 도입된 특정 발현 유기체에 대해 최적화되며, 상기 특허는 그 전문이 본원에 참고로 도입된다.

- [0234] 다른 실시양태에서, 재조합 폴리뉴클레오타이드에 분비 또는 리더 서열, 프로서열을 코딩하는 추가 뉴클레오타이드 서열(들), 정제를 보조하는 서열, 예컨대 다중 히스티딘 잔기, 또는 재조합 생성 중에 안정성을 위한 추가 서열을 첨가하는 것이 종종 이롭다.
- [0235] 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 숙주 세포로 도입하는 것은 인산칼슘 형질감염, DEAE-텍스트란 매개된 형질감염, 양이온성 지질-매개 형질감염, 전기천공, 형질도입, 감염 또는 다른 방법에 의해 수행될 수 있다. 이러한 방법은 많은 표준 실험실 설명서, 예컨대 문헌 [Davis et al., (1986) Basic Methods in Molecular Biology, ed., Elsevier Press, NY]에 기재되어 있으며, 상기 문헌은 그 전문이 본원에 참고로 도입된다. 본원에 개시된 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물이 사실 재조합 벡터가 결핍된 숙주 세포에 의해 발현되거나 또는 세포에 의해 자연적으로 생성될 수 있다는 것이 구체적으로 고려된다.
- [0236] 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 시차 추출, 황산암모늄 또는 에탄올 침전, 산 추출, 음이온 또는 양이온 교환 크로마토그래피, 포스포셀룰로스 크로마토그래피, 소수성 상호작용 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피, 히드록실아파타이트 크로마토그래피 및 액틴 크로마토그래피를 비롯한 익히 공지된 방법에 의해 재조합 세포 배양물로부터 회수되고 정제될 수 있다 (예를 들어, 단백질의 여러 정제 방법에 대해서는 문헌 ["Methods in Enzymology: Aqueous Two-Phase Systems", Walter H et al. (eds.), Academic Press (1993)] (본원에 참고로 도입됨) 참조). 한 실시양태에서, 고성능 액체 크로마토그래피 ("HPLC")가 정제를 위해 사용된다. 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 재조합으로 생성된 버전은 본원에 기재된 기술 또는 당분야에 공지된 기술을 사용하여, 예를 들어 문헌 [Smith & Johnson, Gene 67:31 40 (1988)] (그 전문이 본원에 참고로 도입됨)에 기재된 일단계 방법에 의해 실질적으로 정제될 수 있다. 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 또한 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물, 예컨대 본원에 기재된 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물에 대해 지정한 항체를 사용하여 재조합 공급원으로부터 당분야에 공지된 단백질 정제 방법에 의해 정제될 수 있다.
- [0237] 한 실시양태에서, 재조합으로 발현된 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 표준 면역크로마토그래피 기술을 사용하여 정제한다. 이러한 절차에서, 관심 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 함유하는 용액, 예컨대 배양 배지 또는 세포 추출물을, 크로마토그래피 매트릭스에 부착된 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물에 대한 항체를 갖는 컬럼에 적용한다. 재조합 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 면역크로마토그래피 컬럼에 결합하게 한다. 그 후, 컬럼을 세척하여, 비특이적으로 결합된 단백질을 제거한다. 그 후, 특이적으로 결합된 분비된 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 컬럼으로부터 방출하고, 표준 기술을 사용하여 회수한다.
- [0238] 재조합 생성 과정에서 사용된 숙주에 따라, 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 글리코실화하거나 또는 비글리코실화할 수 있다. 또한, 본 발명의 폴리펩티드는 또한 몇몇 경우에 숙주-매개 프로세스의 결과로서 초기 변형된 메티오닌 잔기를 포함할 수 있다. 따라서, 번역 개시 코돈에 의해 코딩된 N-말단 메티오닌이 일반적으로 모든 진핵 세포에서 번역후 임의의 단백질로부터 높은 효율로 제거된다는 것은 당분야에 익히 공지되어 있다. 대부분의 단백질 상의 N-말단 메티오닌이 또한 대부분의 원핵생물에서 효율적으로 제거되는 반면, 몇몇 단백질의 경우 N-말단 메티오닌이 공유결합으로 연결된 아미노산의 성질에 따라 이 원핵 제거 프로세스는 비효율적이다.
- [0239] 약학 조성물
- [0240] 본원의 화합물 또는 염은 원료 화합물질로서 투여되는 것이 가능하지만, 이는 약학 조성물의 형태로 제공하는 것이 바람직하다. 따라서, 한 측면은 화학식 I에 정의된 바와 같은 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.
- [0241] 다른 실시양태는 2종 이상의 상이한 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 혼합물, 예컨대 C₈ 아실에 의해 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물 및 C₁₀ 아실에 의해 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 혼합물을 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다. 이론에 얽매이지 않고, 이러한 혼합물은 혈장에서 더 긴 반감기를 가질 것으로 여겨진다.
- [0242] 또다른 실시양태에서, 약학 조성물은 임의로 데스아실화된 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물과

조합하여, 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물, 임의로 바람직하게는 C₇ 아실기, C₉ 아실기 및 C₁₁ 아실기로 구성된 군에서 선택된 상이한 아실 쇠 길이를 갖는 화합물을 포함한다.

[0243] 다른 측면은 상기 정의된 바와 같은 임의의 분비촉진제, 예컨대 임의의 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 및 약학적으로 허용되는 담체, 비히클 및/또는 부형제를 포함하고, 추가로 수송 분자를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다. 수송 분자는 주로 아실화된 화합물의 반감기를 증가시키고, 조기 데스-아실화를 방지하기 위해 첨가되는데, 이는 데스-아실화된 그렐린 스플라이스 변이체가 GHS-R 1a에서 활성이 아닐 수 있기 때문이다.

[0244] 수송 분자는 본원에 개시된 화합물에 혼입되거나 또는 수송 분자가 상기 화합물에 고정됨으로써 작용한다. 당업자에게 공지된 임의의 적합한 수송 분자가 사용될 수 있다. 수송 분자의 예는 상기 접합체 부분에 기재된 바와 같다. 다른 바람직한 예는 리포솜, 미셀 및/또는 미세구이다.

[0245] 통상적인 리포솜은 전형적으로 인지질 (중성 또는 음성 전하) 및/또는 콜레스테롤로 구성된다. 리포솜은 수성 구획을 둘러싸는 지질 이중층을 기초로 하는 수포 구조이다. 이는 그의 물리화학적 특성, 예컨대 크기, 지질 조성물, 표면 하전 및 수, 및 인지질 이중층의 유동성에서 다양할 수 있다. 리포솜 형성을 위해 가장 흔히 사용되는 지질은 1,2-디라우로일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (DLPC), 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (DMPC), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (DPPC), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (DSPC), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (DOPC), 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (DMPE), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (DPPE), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (DOPE), 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스페이트 (일나트륨 염) (DMPA), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스페이트 (일나트륨 염) (DPPA), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스페이트 (일나트륨 염) (DOPA), 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세롤)] (나트륨 염) (DMPG), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세롤)] (나트륨 염) (DPPG), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세롤)] (나트륨 염) (DOPG), 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-[포스포-L-세린] (나트륨 염) (DMPS), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-[포스포-L-세린] (나트륨 염) (DPPS), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-[포스포-L-세린] (나트륨 염) (DOPS), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(글루타릴) (나트륨 염) 및 1,1',2,2'-테트라미리스토일 카르디올리핀 (암모늄 염)이다. 다른 지질 또는 리포솜의 개질제와 조합하여 DPPC로 구성된 제형이 예를 들어 콜레스테롤 및/또는 포스파티딜콜린과 조합하여 바람직하다.

[0246] 장기간 순환하는 리포솜은 혈관 벽의 투과성이 증가된 신체 부위에서 혈관외유출하는 그의 능력을 특징으로 한다. 장기간 순환하는 리포솜을 제조하는 바람직한 방법은 친수성 중합체 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 공유 결합으로 리포솜의 외부 표면에 부착하는 것이다. 몇몇 바람직한 지질은 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)-2000] (암모늄 염), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)-5000] (암모늄 염), 1,2-디올레오일-3-트리메틸암모늄-프로판 (클로라이드 염) (DOTAP)이다.

[0247] 리포솜에 적용될 수 있는 가능한 지질은 아반티 폴라 리피즈, 인크.(Avanti Polar Lipids, Inc.) (미국 앨라배마주 알라바스터 소재)에 의해 공급된다. 또한, 리포솜 현탁액은 저장시 자유-라디칼 및 지질-과산화성 손상으로부터 지질을 보호하는 지질-보호제를 포함할 수 있다. 친유성 자유-라디칼 켄처(quencher), 예컨대 알파-토코페롤 및 수용성 철-특이적 킬레이터, 예컨대 페리옥시아닌이 바람직하다.

[0248] 예를 들어, 문헌 [Szoka F. & Papahadjopolous D., Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9:467-508 (1980)]; 미국 특허 제4,235,871호, 제4,501,728호 및 제4,837,028호에 기재된 바와 같이, 리포솜의 제조를 위해 여러 방법이 이용가능하며, 상기 문헌들은 모두 본원에 참고로 도입된다. 다른 방법은 불균일한 크기의 다중라멜라 소포를 생성한다. 이 방법에서, 소포-형성 지질을 적합한 관능성 용매 또는 용매 시스템에 용해하고, 진공하에 또는 불활성 기체하에 건조하여, 얇은 지질 필름을 형성한다. 원한다면, 필름을 적합한 용매, 예컨대 삼차부탄올에 재용해한 후, 동결건조하여, 더 균일한 지질 혼합물을 형성할 수 있으며, 이는 더 쉽게 수화되는 분말-유사 형태이다. 이 필름을 표적 약물 및 표적 성분의 수용액으로 덮고, 교반하면서 전형적으로 15 내지 60분의 기간에 걸쳐 수화되도록 한다. 얻어진 다중라멜라 소포의 크기 분포는 더 격렬한 교반 조건하에 지질을 수화함으로써 또는 가용화 세정제, 예컨대 테옥시콜레이트를 첨가함으로써 더 작은 크기를 향해 이동할 수 있다.

[0249] 미셀은 수용액에서 계면활성제 (소수성 부분 및 하나 이상의 이온성 또는 달리 강한 친수성 기를 함유하는 분자)에 의해 형성된다. 고체 계면활성제의 농도가 증가하기 때문에, 공기/물 또는 유리/물 계면에서 흡착된

그의 단층은 단단하게 패키징되어, 추가 점유는 2개의 단층에 이미 계면활성제 분자의 과잉의 압축을 요구한다. 상기 농도를 넘어서는 용해된 계면활성제의 양의 추가 증량은 신규 분자가 미셀로 응집하는 양과 등가의 양을 유발한다. 이 프로세스는 소위 "임계 미셀 농도"라고 지칭되는 특징적 농도에서 시작한다.

[0250] 회석 계면활성제 용액에서 형성된 미셀의 형상은 대략 구형이다. 계면활성제 분자의 극성 헤드 기는 외부 구형 쉘(shell)에서 배열되는 반면, 그의 탄화수소 쇄는 중심을 향해 배향하여, 미셀에 대한 구형 코어를 형성한다. 탄화수소 쇄는 무작위로 코일링되고 얹히고, 미셀의 내부는 비극성의 액체-유사 특징을 갖는다. 폴리옥시에틸화 비이온성 세정제의 미셀에서, 폴리옥시에틸렌 잔기는 외부를 향해 배향되고, 물에 의해 투과된다. 친수성 헤드 기가 물과 접촉하고, 탄화수소 잔기가 수성 매질로부터 제거되고, 극성 헤드 기에 의해 물과의 접촉부가 부분적으로 차폐되기 때문에, 이 배열이 에너지상 바람직하다. 미셀의 내부에 위치된 계면활성제 분자의 탄화수소 꼬리는 약한 반 데르 발스 힘에 의해 서로 상호작용한다.

[0251] 미셀의 크기 또는 그의 응집 수는 기하학적 인자에 의해 크게 좌우된다. 탄화수소 코어의 반지름은 계면활성제 분자의 연장된 탄화수소 쇄의 길이를 초과할 수 없다. 그러므로, 쇄 길이의 증가 또는 상동성 시리즈의 상승은 구형 미셀의 응집 수를 증가시킨다. 계면활성제 농도가 수 퍼센트 넘어 증가되고, 전해질을 첨가하거나 (이온성 계면활성제의 경우), 또는 온도가 상승하면 (비이온성 계면활성제의 경우), 미셀은 크기가 증가한다. 이들 조건하에, 미셀은 구형을 유지하기에는 너무 커서, 타원형, 원통형 또는 최종적으로 층판의 형상이 된다.

[0252] 당업자에게 익히 공지된 통상적인 계면활성제가 본원의 미셀에 사용될 수 있다. 적합한 계면활성제로는 나트륨 라우레에이트, 나트륨 올레에이트, 나트륨 라우릴 술페이트, 옥타옥시에틸렌 글리콜 모노도데실 에테르, 옥톡시놀 9 및 PLURONIC® F-127 (미국 뉴저지주 플로럼 파크 소재의 바스프 코퍼레이션(BASF Corp.))이 포함된다. 바람직한 계면활성제는 정맥내 주사에 적합한 비이온성 폴리옥시에틸렌 및 폴리옥시프로필렌 세정제, 예컨대, TWEEN®-80, PLURONIC® F-68, n-옥틸-베타-D-글루코피라노사이드 등이다. 또한, 인지질, 예컨대 리포솜의 제조에서의 사용에 대해 기재된 인지질이 또한 미셀 형성을 위해 사용될 수 있다.

[0253] 다른 바람직한 실시양태에서, 본원에 개시된 화합물은 협측 전달, 설하 전달, 경피 전달, 흡입 및 바늘-비함 유 주사 (예컨대, 파우더제트(Powder jet)에 의해 개발된 방법을 사용함)에서 선택된 투여 경로를 위해 문헌에 기재된 바와 같이 제제화된다.

[0254] 흡입을 위해, 본원에 개시된 화합물은 당업자에게 공지된 방법, 예를 들어 에어로졸, 건조 분말 또는 가용화, 예컨대 미세액적, 바람직하게는 이러한 전달을 위해 의도된 장치에서 가용화 (예컨대, 아라딤 코퍼레이션 (Aradigm Corp.) (미국 캘리포니아주 헤이워드 소재), 알커메스, 인크.(Alkermes, Inc.) (미국 매사추세츠주 캠브리지 소재), 또는 넥타르 세라퓨틱스 (미국 캘리포니아주 샌 카를로스 소재)로부터 시판됨)를 사용하여 제제화될 수 있다.

[0255] 투여

[0256] 본원의 여러 화합물 및 방법에 적합한 투여 요법은 바람직하게는 예를 들어, 투여되는 대상체의 유형; 대상체의 연령, 체중, 성별 및 의학적 상태; 투여 경로; 대상체의 신장 및 간 기능; 원하는 효과; 및 사용되는 특정 화합물을 비롯한 당분야에 익히 공지된 인자를 고려하여 결정된다. 바람직하게는, 조성물은 본원에 개시된 분비촉진제 약 0.5% 내지 75 중량%를, 적합한 제약 부형제로 구성된 나머지와 함께 포함할 것이다.

[0257] 독성 없이 효능을 얻는 범위 내의 약물의 농도를 성취하기에 최적의 정확성은 표적 부위에 대한 약물의 이용율의 동역학을 기초로 하는 요법을 필요로 한다. 이는 약물의 분포, 평형 및 제거에 대한 고려를 포함한다.

[0258] 상기 기재된 바와 같이, 한 측면에서, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 피하로 투여된다.

[0259] 다른 측면에서, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 식사전 볼루스로서 투여되며, 여기서 투여 형태는 임의의 적합한 비경구 형태일 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 식사전 볼루스로서 피하로 투여된다.

[0260] 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 또한 볼루스로서 식사 중에 투여될 수 있다. 식사중 투여 방식으로는 피하 투여, 예컨대 피하로 투여된 볼루스가 포함된다.

- [0261] 비경구 투여용 약학 조성물은 멸균 수성 및 비수성 주사가 가능한 용액, 분산액, 현탁액 또는 에멀전, 뿐만 아니라 사용전에 멸균 주사가 가능한 용액 또는 분산액에 재구성되는 멸균 분말을 포함한다. 다른 적합한 투여 형태로는 좌제, 스프레이, 연고, 크림, 젤, 흡입제, 피부 패치, 임플란트, 환제, 정제, 로젠지제 및 캡슐이 포함된다.
- [0262] 전형적인 투여량은 체중 kg 당 그렐린 스피글라이스 변이체 10 ng 내지 10 mg과 등가인 농도이다. 본원에서 농도 및 양은 그렐린 스피글라이스 변이체의 양의 등가로 주어지며, 여기서 그렐린 스피글라이스 변이체는 22개의 아미노산 인간 그렐린 스피글라이스 변이체 (서열 2) 및/또는 29개의 아미노산 인간 그렐린 스피글라이스 변이체 (서열 5) 및/또는 24개의 아미노산 인간 그렐린 스피글라이스 변이체 (서열 3) 및/또는 제3 위치에서 Dpr 잔기를 갖는 24개의 아미노산 인간 그렐린 스피글라이스 변이체 (서열 4)이다. 등가는 상기 부제 "기능" 부분에 기재된 바와 같이 시험될 수 있다.
- [0263] 바람직한 실시양태에서, 의약은 체중 kg 당 그렐린 스피글라이스 변이체 0.1 μ g 내지 1 mg, 예컨대 체중 kg 당 그렐린 스피글라이스 변이체 0.5 μ g 내지 0.5 mg, 예컨대 체중 kg 당 그렐린 스피글라이스 변이체 1.0 μ g 내지 0.1 mg, 예컨대 체중 kg 당 그렐린 스피글라이스 변이체 1.0 μ g 내지 50 μ g, 예컨대 체중 kg 당 그렐린 스피글라이스 변이체 1.0 μ g 내지 10 μ g과 등가인 농도로 투여된다.
- [0264] 상기 기재된 바와 같이, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피글라이스 변이체 또는 그렐린 스피글라이스 변이체-유사 화합물은 바람직하게는 볼루스로서 투여된다. 따라서, 한 실시양태에서, 의약은 식사전 볼루스로서 투여되며, 상기 볼루스는 그렐린 스피글라이스 변이체 0.3 μ g 내지 600 mg과 등가인 분비촉진제 또는 그의 염의 양을 포함한다. 보다 바람직하게는, 의약은 식사전 볼루스로서 투여되며, 상기 볼루스는 그렐린 스피글라이스 변이체 2.0 μ g 내지 200 mg, 예컨대 그렐린 스피글라이스 변이체 5.0 μ g 내지 100 mg, 예컨대 그렐린 스피글라이스 변이체 10 μ g 내지 50 mg, 예컨대 그렐린 스피글라이스 변이체 10 μ g 내지 5 mg, 예컨대 그렐린 스피글라이스 변이체 10 μ g 내지 1.0 mg과 등가인 분비촉진제 또는 그의 염의 양을 포함한다.
- [0265] 식사전에 일어나는 정상적인 그렐린 스피글라이스 변이체-유사 반응이 그렐린 스피글라이스 변이체의 혈장 농도의 짧은 지속시간의 급상승이고, 펩티드의 상대적으로 짧은 반감기로 인해, 그렐린 스피글라이스 변이체의 정맥내 주사는 그렐린 스피글라이스 변이체 농도에 대해 유사한 짧은 지속시간의 피크가 얻어질 수 있도록 확실하게 할 것이라는 것을 주목해야 한다. 투여 경로는 펩티드의 비-분해된 생물활성 형태가 순환에서 우세한 형태일 것이며, 이는 그렐린 스피글라이스 변이체 수용체에 도달하고 자극할 것이라는 것을 확실하게 해야 한다.
- [0266] 따라서, 의약의 최대 효과를 얻기 위해, 바람직하게는 1일마다 1회 내지 3회 투여되며, 투여 각각은 식사 45분 내, 예컨대 식사 30분 내, 예컨대 식사 25분 내, 예컨대 식사 20분 내, 예컨대 식사 15분 내, 예컨대 식사 10분 내, 예컨대 식사 5분 내에 행해진다. 보다 바람직하게는, 의약은 각 주요 식사 전에 투여되며, 예컨대 1일마다 3회 투여된다.
- [0267] 본원에 개시된 화합물은 또한 비측 투여를 위해 제제화될 수 있다. 용액 또는 현탁액을 통상적인 수단, 예를 들어 점적기, 피펫 또는 스프레이에 의해 비강에 직접 적용한다. 조성물은 단일 또는 다중용량 형태로 제공될 수 있다. 점적기 또는 피펫의 후자의 경우, 이는 용액 또는 현탁액의 적절한 예정된 부피를 투여하는 환자에 의해 성취될 수 있다. 스프레이의 경우, 이는 예를 들어 계량 분사 스프레이 펌프에 의해 성취될 수 있다.
- [0268] 본원에 개시된 화합물은 에어로졸 투여, 특히 기도 투여 및 비강내 투여를 위해 제제화될 수 있다. 화합물은 일반적으로 작은 입자 크기, 예를 들어 약 5 μ m 이하의 크기를 가질 것이다. 이러한 입자 크기는 당분야에 공지된 수단, 예를 들어 미세화에 의해 얻어질 수 있다. 활성 성분은 적합한 분사제, 예컨대 히드로플루오로알칸 (HFA), 예를 들어 히드로플루오로알칸-134a 및 히드로플루오로알칸-227, 이산화탄소 또는 다른 적합한 기체에 의해 가압된 액으로 제공된다. 에어로졸은 편리하게는 또한 계면활성제, 예컨대 레시틴을 함유할 수 있다. 약물의 용량은 계량된 밸브에 의해 조절될 수 있다. 대안적으로, 활성 성분은 건조 분말, 예를 들어 적합한 분말 기재, 예컨대 락토스, 전분, 전분 유사체, 예컨대 히드록시프로필메틸 셀룰로스 및 폴리비닐피롤리돈 (PVP) 중 화합물의 분말 혼합물의 형태로 제공될 수 있다. 분말 담체는 비강에서 젤을 형성할 것이다. 분말 조성물은 분말을 흡입기에 의해 투여할 수 있는 단위 용량 형태, 예를 들어 젤라틴의 캡슐 또는 카트리지 또는 블리스터 팩으로 제공될 수 있다.
- [0269] 에어로졸에 의해 투여된 조성물은 예를 들어 염수 중 용액으로서, 벤질 알콜 또는 다른 적합한 보존제, 생체이용율을 향상시키는 흡수 촉진제를 사용하여, 플루오로탄소를 사용하고/거나 다른 가용화제 또는 분산제를

사용하여 제조될 수 있다.

[0270] 본원에 개시된 화합물은 또한 카트리지된 성장 호르몬 (GH) 또는 인슐린과 유사한 방법으로 주사펜에 의한 투여를 위해 제제화될 수 있다. 카트리지는 용매에 본원에 개시된 화합물을 함유한다. 기본적으로 하나의 물진으로 바늘, 시린지 및 바이알인 펜은 돌려서 작동되며, 상이한 용량이 투여되게 한다. 이 장치는 화합물 전달을 위해 단순함, 편리성 및 향상된 안전성을 제공한다. 이는 단순한 장치 고안, 여러 투여 단계 및 일단계 다이알-돌림 용량 손잡이를 제공한다. 이러한 주사펜은 당분야에 공지된 수단에 의해 얻어질 수 있다. 예를 들어, 여러 제조자가 약물 개발 화합물과 함께 사용되는 약물 개발 주사펜을 제공한다 (BD - 의료 - 파마슈티컬 시스템즈, 인크.(Pharmaceutical Systems, Inc.); 오웬 뎀포드 인크.(Owen Mumford Inc.) 등).

[0271] 경구 투여용 조성물

[0272] 경구 투여후 개체에서 생물학적으로 활성인 상태로 유지할 수 있는 분비촉진제 유형 (예를 들어, 소분자 및 짧은 펩티드)가 광범위한 경구 투여 형태로 제제화될 수 있다. 약학 조성물 및 투여 형태는 활성 성분으로서 본원에 개시된 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 그의 결정 형태를 포함할 수 있다.

[0273] 약학적으로 허용되는 담체는 고체 또는 액체일 수 있다. 고체 형태 제제로는 분말제, 정제, 환제, 캡슐제, 카세제, 좌제 및 분산가능한 파립제가 포함된다. 고체 담체는 또한 희석제, 향미제, 가용화제, 윤활제, 현탁화제, 결합제, 보존제, 습윤제, 정제 봉해제 또는 캡슐화 물질로서 작용할 수 있는 하나 이상의 물질일 수 있다.

[0274] 경구 투여를 위한 이러한 부형제로는 예를 들어, 제약 등급의 만니톨, 락토스, 전분, 스테아르산마그네슘, 나트륨 사카린, 활석, 셀룰로스, 글루코스, 젤라틴, 수크로스, 탄산마그네슘 등이 포함된다.

[0275] 분말제에서, 담체는 미분된 활성 성분과의 혼합물인 미분된 고체이다. 정제에서, 활성 성분은 적합한 비율로 필수적인 결합 용량을 갖는 담체와 혼합되고, 원하는 형상 및 크기로 압축된다. 분말제 및 정제는 바람직하게는 활성 화합물을 1 내지 약 70 퍼센트 함유한다. 적합한 담체는 탄산마그네슘, 스테아르산마그네슘, 활석, 당, 락토스, 펙틴, 텍스트린, 전분, 젤라틴, 트라가칸트, 메틸셀룰로스, 나트륨 카르복시메틸셀룰로스, 저융점 왁스, 코코아 버터 등이다. 용어 "제제"는 담체의 존재 또는 비존재하에 활성 성분이 담체에 의해 둘러싸이고 담체와 혼합된 캡슐을 제공하는 담체로서 캡슐화 물질과 함께 본원에 개시된 활성 화합물을 포함하는 조성물을 포함하도록 의도된다. 유사하게, 카세제 및 로젠지제가 포함된다.

[0276] 정제, 분말제, 캡슐제, 환제, 카세제 및 로젠지제는 경구 투여에 적합한 고체 형태일 수 있다.

[0277] 점적제는 멸균 또는 비멸균의 수성 또는 유성 용액 또는 현탁액을 포함할 수 있으며, 임의로 살균제 및/또는 살진균제 및/또는 임의의 다른 적합한 보존제를 포함하고, 임의로 계면활성제를 포함하는 적합한 수용액에 활성 성분을 용해함으로써 제조될 수 있다. 그 후, 얻어진 용액은 여과에 의해 정제되고, 적합한 용기로 이동되어, 그 후 밀봉되고 오토클레이브하거나 또는 30분 동안 98 내지 100°C에서 유지함으로써 멸균화될 수 있다. 대안적으로, 용액은 여과에 의해 멸균화되고, 무균상태로 용기로 이동될 수 있다. 점적제에 포함하기에 적합한 살균제 및 살진균제의 예는 페닐수은 니트레이트 또는 아세테이트 (0.002%), 벤잘코늄 클로라이드 (0.01%) 및 클로르헥시딘 아세테이트 (0.01%)이다. 유성 용액의 제조에 적합한 용매로는 글리세롤, 희석 알콜 및 프로필렌 글리콜이 포함된다.

[0278] 사용 직전에 경구 투여용 액체 형태 제제로 전환되도록 의도된 고체 형태 제제가 또한 포함된다. 이러한 액체 형태로는 용액, 현탁액 및 에멀전이 포함된다. 이들 제제는 활성 성분 이외에 착색제, 향미료, 안정화제, 완충제, 인공 및 천연 감미료, 분산제, 증점제, 가용화제 등을 함유할 수 있다.

[0279] 경구 투여에 적합한 다른 형태로는 에멀전, 시럽, 엘릭시르, 수용액, 수성 현탁액, 치약, 젤 치마분, 츄잉 껌을 비롯한 액체 형태 제제, 또는 사용 직전에 액체 형태 제제로 전환되도록 의도된 고체 형태 제제가 포함된다. 에멀전은 수성 프로필렌 글리콜 용액 중 용액으로 제조될 수 있거나, 또는 유화제, 예컨대 레시틴, 소르비탄 모노올레이트 또는 아카시아를 함유할 수 있다. 수용액은 물에 활성 성분을 용해시키고, 적합한 착색제, 향미료, 안정화제 및 증점제를 첨가함으로써 제조될 수 있다. 수성 현탁액은 점성 물질, 예컨대 천연 또는 합성 검, 수지, 메틸셀룰로스, 나트륨 카르복시메틸셀룰로스, 및 다른 익히 공지된 현탁화제와 함께 물에 미분된 활성 성분을 분산함으로써 제조될 수 있다. 고체 형태 제제는 용액, 현탁액 및 에멀전을 포함하며, 활성 성분 이외에, 착색제, 향미료, 안정화제, 완충제, 인공 및 천연 감미료, 분산제, 증점제, 가용화제 등을 함유할 수 있다.

[0280] 비경구 투여용 조성물

[0281] 본원에 개시된 화합물은 비경구 투여 (예를 들어, 주사, 예를 들어 볼루스 주사 또는 연속적인 주입에 의함)를 위해 제제화될 수 있으며, 첨가된 보존제와 함께 앰플, 예비충진된 시린지, 작은 부피 주입에 단위 용량 형태로 또는 다중용량 용기로 제공될 수 있다. 조성물은 유성 또는 수성 비히클 중 현탁액, 용액 또는 에멀전, 예를 들어 수성 폴리에틸렌 글리콜 중 용액과 같은 형태를 취할 수 있다. 유성 또는 비수성 담체, 희석제, 용매 또는 비히클의 예로는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성유 (예를 들어, 올리브유), 및 주사가 가능한 유기 에스테르 (예를 들어, 에틸 올레에이트)를 들 수 있으며, 제제화제, 예컨대 보존제, 습윤제, 유화제 또는 현탁화제, 안정화제 및/또는 분산제를 함유할 수 있다. 대안적으로, 활성 성분은 멸균 고체의 무균 단리에 의해, 또는 적합한 비히클, 예를 들어, 멸균의 발열원-비함유 물에 의해 사용전 구성하기 위한 용액으로부터의 동결건조에 의해 얻어지는 분말 형태일 수 있다. 수용액은 필요하다면 적합하게 완충되어야 하며, 액체 희석제는 먼저 충분한 염수 또는 글루코스에 의해 등장성이 부여되어야 한다. 수용액은 정맥내, 근육내, 피하 및 복강내 투여에 특히 적합하다. 사용되는 멸균 수성 매질은 모두 당업자에게 공지된 표준 기술에 의해 용이하게 이용가능하다.

[0282] 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 (및 예를 들어 항원성 에피토프 및 프로테아제 억제제)의 용액은 물 또는 염수에서 제조되고, 임의로 비독성 계면활성제와 혼합될 수 있다. 정맥내 또는 동맥내 투여용 조성물은 완충제, 리포솜, 희석제 및 다른 적합한 첨가제를 또한 함유할 수 있는 멸균 수용액을 포함할 수 있다.

[0283] 비경구 조성물에 유용한 오일로는 석유, 동물성유, 식물성유 또는 합성 오일이 포함된다. 이러한 조성물에 유용한 오일의 특정 예로는 땅콩유, 대두유, 참기름, 면실유, 옥수수유, 올리브유, 바셀린 및 광유가 포함된다. 비경구 조성물에 사용하기에 적합한 지방산으로는 올레산, 스테아르산 및 이소스테아르산이 포함된다. 에틸 올레에이트 및 이소프로필 미리스테이트가 적합한 지방산 에스테르의 예이다.

[0284] 비경구 조성물에 사용하기에 적합한 비누로는 지방 알칼리 금속, 암모늄 및 트리에탄올아민 염이 포함되며, 적합한 세정제로는 (a) 양이온성 세정제, 예를 들어 디메틸 디알킬 암모늄 할라이드, 및 알킬 피리디늄 할라이드; (b) 음이온성 세정제, 예를 들어 알킬, 아릴, 및 올레핀 술포네이트, 알킬, 올레핀, 에테르, 및 모노글리세리드 술페이트 및 술포숙시네이트; (c) 비이온성 세정제, 예를 들어 지방 아민 옥시드, 지방산 알칸올아미드, 및 폴리옥시에틸렌폴리프로필렌 공중합체; (d) 양쪽성 세정제, 예를 들어 알킬-베타-아미노프로피오네이트, 및 2-알킬-이미다졸린 사차 암모늄 염; 및 (e) 이들의 혼합물이 포함된다.

[0285] 비경구 조성물은 전형적으로 용액 중 활성 성분 약 0.5 내지 약 25 중량%를 함유할 것이다. 보존제 및 완충제가 사용될 수 있다. 주사 부위에서의 자극을 최소화하거나 또는 제거하기 위해, 이러한 조성물은 약 12 내지 약 17의 친수성-친유성 균형 (HLB)을 갖는 하나 이상의 비이온성 계면활성제를 함유할 수 있다. 이러한 조성물 중 계면활성제의 양은 전형적으로 약 5 내지 약 15 중량%의 범위일 것이다. 적합한 계면활성제로는 폴리에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르, 예컨대 소르비탄 모노올레에이트, 및 프로필렌 글리콜과 프로필렌 옥시드의 축합에 의해 형성된, 소수성 기재와의 에틸렌 옥시드의 고분자량 부가물이 포함된다. 비경구 조성물은 단위-용량 또는 다중-용량 밀봉된 용기, 예컨대 앰플 및 바이알로 제공될 수 있으며, 사용 직전 멸균 액체 부형제, 예를 들어 주사용수의 첨가만을 필요로 하는, 동결-건조된 (동결건조) 상태로 저장될 수 있다. 즉각 투여용 주사 용액 및 현탁액은 이전에 기재된 종류의 멸균 분말, 과립 및 정제로부터 제조될 수 있다.

[0286] 주사 또는 주입에 적합한 제약 투여 형태는 리포솜에 캡슐화에 의한 투여에 적합한 활성 성분을 포함하는 멸균 수용액 또는 분산액을 포함할 수 있다. 모든 경우에, 궁극적인 투여 형태는 멸균의 유체이어야 하고, 제조 및 저장 조건하에 안정해야 한다.

[0287] 멸균 주사가 가능한 용액은 적절한 용매에 요구되는 양의 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염을 상기 나열된 여러 다른 성분과 혼합한 후, 필요하다면 예를 들어 필터 멸균함으로써 제조된다.

[0288] 국소 투여용 조성물

[0289] 본원에 개시된 화합물은 또한 국소적으로 전달될 수 있다. 국소 투여를 위한 영역으로는 피부 표면, 및 직장, 코, 입 및 인후의 점막 조직이 또한 포함된다. 피부 및 점막을 통한 국소 투여용 조성물은 자극, 예컨대 종창 또는 발적의 징후를 유발하지 않아야 한다.

[0290] 국소 조성물은 국소 투여에 적합한 약학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 따라서, 조성물은 예를 들

어 현탁액, 용액, 연고, 로션, 크림, 포움, 에어로졸, 스프레이, 좌제, 임플란트, 흡입제, 정제, 캡슐, 건조 분말, 시럽, 발삼 또는 로젠지제의 형태를 취할 수 있다. 이러한 조성물의 제조 방법은 제약 산업에 익히 공지되어 있다.

[0291] 본원에 개시된 화합물은 연고, 크림 또는 로션으로서, 또는 경피 패치로서 표피로의 국소 투여를 위해 제제화될 수 있다. 연고 및 크림은 예를 들어 적합한 증점제 및/또는 겔화제의 첨가에 의해 수성 또는 유성 기재로 제제화될 수 있다. 로션은 수성 또는 유성 기재로 제제화될 수 있으며, 일반적으로 또한 하나 이상의 유화제, 안정화제, 분산제, 현탁화제, 증점제 또는 착색제를 함유할 것이다. 임의로의 국소 투여에 적합한 조성물로는 향미 기재, 통상적으로 수크로스 및 아카시아 또는 트라가칸트에 활성제를 포함하는 로젠지제; 불활성 기재, 예컨대 젤라틴 및 글리세린 또는 수크로스 및 아카시아에 활성 성분을 포함하는 파스틸; 및 적합한 액체 담체에 활성 성분을 포함하는 구강세척제가 포함된다.

[0292] 본원에 따른 크림, 연고 또는 페이스트는 활성 성분을 포함하는 외부 적용을 위한 반고체 조성물이다. 이는 미분된 또는 분쇄된 형태의 활성 성분을 적합한 기구의 도움으로 단독으로 또는 수성 또는 비수성 유체 중 용액 또는 현탁액에서 유지성 또는 비유지성 기재와 혼합함으로써 제조될 수 있다. 기재는 탄화수소, 예컨대 경질, 연질 또는 액체 파라핀, 글리세롤, 밀랍, 금속성 비누; 점질물; 천연 기원의 오일, 예컨대 편도유, 옥수수유, 낙화생유, 피마자유 또는 올리브유; 모지방 또는 그의 유사체; 또는 알콜, 예컨대 프로필렌 글리콜 또는 마크로겔과 함께 지방산, 예컨대 스테아르산 또는 올레산을 포함할 수 있다. 조성물은 임의의 적합한 계면활성제, 예컨대 음이온성, 양이온성 또는 비이온성 계면활성제, 예컨대 그의 소르비탄 에스테르 또는 폴리옥시에틸렌 유사체를 혼입할 수 있다. 현탁화제, 예컨대 천연 검, 셀룰로스 유사체 또는 무기 물질, 예컨대 규산성 실리카, 및 다른 성분, 예컨대 라놀린이 또한 포함될 수 있다.

[0293] 본원에 따른 로션은 피부 또는 눈으로의 적용에 적합한 로션을 포함한다. 눈 로션은 임의로 살균제를 함유하는 멸균 수용액을 포함할 수 있으며, 점적제의 제조와 유사한 방법에 의해 제조될 수 있다. 피부로의 적용을 위한 로션 또는 리니먼트제는 또한 건조시 경화되고 피부를 차갑게 하는 작용제, 예컨대 알콜 또는 아세톤, 및/또는 보습제, 예컨대 글리세롤 또는 피마자유 또는 낙화생유와 같은 오일을 포함할 수 있다.

[0294] 본원에 기재된 화합물은 경피로 투여될 수 있다. 경피 투여는 전형적으로 환자의 전신 순환으로의 약물의 경피 통과를 위한 제약 작용제의 전달을 포함한다. 피부 부위로는 약물의 경피 투여를 위한 해부학적 영역이 포함되며, 전완, 복부, 흉부, 배부, 둔부, 유양돌기 구역 등이 포함된다.

[0295] 경피 전달은 연장된 기간 동안 환자의 피부로 활성 화합물의 공급원을 노출함으로써 성취된다. 경피 패치는 신체로의 화합물 복합체의 제어 전달을 제공하는 추가 이점을 갖는다 (문헌 [Transdermal Drug Delivery: Developmental Issues and Research Initiatives, Hadgraft and Guy (eds.), Marcel Dekker, Inc., (1989)]; [Controlled Drug Delivery: Fundamentals and Applications, Robinson and Lee (eds.), Marcel Dekker Inc., (1987)]; 및 [Transdermal Delivery of Drugs, Vols. 1-3, Kydonieus and Berner (eds.), CRC Press, (1987)] 참조). 이러한 투여 형태는 적합한 배지, 예컨대 엘라스토머성 매트릭스 물질에 본원에 개시된 화합물을 용해, 분산 또는 달리 혼입함으로써 제조될 수 있다. 피부를 통한 화합물의 유입을 증가시키기 위해 흡수 증진제가 또한 사용될 수 있다. 이러한 유입의 속도는 속도-제어 막의 제공에 의해 또는 중합체 매트릭스 또는 겔로의 화합물의 분산에 의해 제어될 수 있다.

[0296] 여러 유형의 경피 패치가 본원에 기재된 방법에서 사용될 것이다. 예를 들어, 단순한 접착제 패치는 배킹 물질 및 아크릴레이트 접착제로부터 제조될 수 있다. 활성 화합물 및 임의의 증진제는 접착제 주형 용액으로 제제화되고, 충분히 혼합되도록 한다. 용액을 배킹 물질 상에 직접 주조하고, 주형 용매를 오븐에서 증발시켜, 접착제 필름을 남긴다. 시스템을 완전하게 하기 위해 방출 라이너를 부착할 수 있다.

[0297] 대안적으로, 본원에 개시된 화합물의 전달을 위해 폴리우레탄 매트릭스 패치를 사용할 수 있다. 이 패치의 층은 배킹, 폴리우레탄 약물/증진제 매트릭스, 막, 접착제 및 방출 라이너를 포함한다. 폴리우레탄 매트릭스는 실온 경화 폴리우레탄 예비중합체를 사용하여 제조된다. 예비중합체로의 물, 알콜 및 복합체의 첨가는 배킹 물질만을 직접 주조할 수 있는 점성이 있는 단단한 엘라스토머의 형성을 가져온다.

[0298] 추가 실시양태는 히드로겔 매트릭스 패치를 사용할 것이다. 전형적으로, 히드로겔 매트릭스는 알콜, 물, 약물 및 여러 친수성 중합체를 포함할 것이다. 이 히드로겔 매트릭스는 배킹 및 접착제 층 사이에 경피 패치로 혼입될 수 있다.

[0299] 액체 저류층 패치가 또한 본원에 기재된 방법에서 사용될 것이다. 이 패치는 불투과성 또는 반투과성, 열 밀

봉성 배킹 물질, 열 밀봉성 막, 아크릴레이트 기재 감압성 피부 접착제, 및 실리콘처리된 방출 라이너를 포함한다. 배킹은 막으로 열 밀봉되어, 그 후 복합체, 증진제, 겔화제 및 다른 부형제의 용액으로 충전될 수 있는 저류층을 형성한다.

[0300] 포움 매트릭스 패치는 겔화된 제약 작용제-화학적 개질제 용액이 포움 박층, 전형적으로 폴리우레탄으로 구속된 것을 제외하고는, 액체 저류층 시스템과 고안 및 성분이 유사하다. 이 포움 층은 패치의 말초에서 열 밀봉된 막 및 배킹 사이에 위치한다.

[0301] 수동적 전달 시스템에 대해, 방출 속도는 전형적으로 단일체 장치로부터의 확산에 의해, 또는 전달 시스템에서 속도-제어 장벽으로서 작용하는 피부 자체에 의해 저류층 및 피부 사이에 위치한 막에 의해 제어된다 (본원에 참고로 도입된, 미국 특허 제4,816,258호; 제4,927,408호; 제4,904,475호; 제4,588,580호, 제4,788,062호 등 참조). 약물 전달의 속도는 막의 성질에 부분적으로 의존할 것이다. 예를 들어, 체내 막을 통한 약물 전달의 속도는 피부 장벽을 통한 속도보다 일반적으로 높다. 활성 화합물이 장치로부터 막으로 전달되는 속도는 저류층 및 피부 사이에 위치한 속도-결정 막의 사용에 의해 가장 이롭게 제어된다. 피부가 활성 화합물에 대해 충분히 투과성이라고 가정하면 (즉, 피부를 통한 흡수는 막을 통한 통과 속도보다 큼), 막은 환자에 의해 경험된 투여량 속도를 제어하도록 작용할 것이다.

[0302] 적합한 투과성 막 물질은 원하는 정도의 투과성, 활성 화합물의 성질 및 장치의 구축과 관련된 기계적 고려를 기초로 선택될 수 있다. 예시적인 투과성 막 물질로는 광범위한 천연 및 합성 중합체, 예컨대 폴리디메틸실록산 (실리콘 고무), 에틸렌비닐아세테이트 공중합체 (EVA), 폴리우레탄, 폴리우레탄-폴리에테르 공중합체, 폴리에틸렌, 폴리이미드, 폴리비닐클로라이드 (PVC), 폴리프로필렌, 폴리카르보네이트, 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE), 셀룰로스성 물질, 예를 들어, 셀룰로스 트리아세테이트 및 셀룰로스 니트레이트/아세테이트, 및 히드로겔, 예를 들어, 2-히드록시에틸메타크릴레이트 (HEMA)가 포함된다.

[0303] 다른 항목, 예컨대 치료 생성물의 다른 통상적인 성분이 원하는 장치 특징에 의존적으로 장치에 함유될 수 있다. 예를 들어, 본원에 개시된 조성물은 또한 하나 이상의 보존제 또는 정균제, 예를 들어, 메틸 히드록시벤조에이트, 프로필 히드록시벤조에이트, 클로로크레졸, 벤잘코늄 클로라이드 등을 포함할 수 있다. 이들 약학 조성물은 또한 다른 활성 성분, 예컨대 항미생물제, 특히 항생제, 마취제, 진통제 및 항소양제를 함유할 수 있다.

[0304] 좌제로서 투여하기 위한 조성물

[0305] 본원에 개시된 화합물은 좌제로서 투여하기 위해 제제화될 수 있다. 전형적인 좌제는 저융점 왁스, 예컨대 지방산 글리세리드 또는 코코아 버터의 혼합물을 제공하고, 이를 먼저 용융하고, 여기에 활성 성분을 예를 들어 교반에 의해 균일하게 분산시킴으로써 제조된다. 용융된 균일한 혼합물을 그 후 편리한 크기의 금형에 붓고, 냉각시키고 고정화한다.

[0306] 활성 화합물은 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 담체 (예를 들어, PEG 1000 [96%] 및 PEG 4000 [4%])에 배치된, 본원에 개시된 화합물 약 0.5% 내지 약 50%를 포함하는 좌제로 제제화될 수 있다.

[0307] 제형

[0308] 바람직한 측면은 본원에 기재된 치료 방법의 실시예에 유용한 약학 조성물을 고려한다. 약학 조성물은 활성 성분으로서 용해되거나 또는 분산된, 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 종의 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스프라이스 변이체 또는 그렐린 스프라이스 변이체-유사 화합물과 함께 생리상 허용되는 담체를 함유할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 약학 조성물은 면역 반응을 유도하는 것이 목적이 아닌 한, 치료 목적을 위해 인간 개체에게 투여시 면역원성이 아니다.

[0309] 한 측면은 하나 이상의 분비촉진제, 예컨대 화학식 I에 상기 정의된 바와 같은 그렐린 스프라이스 변이체 또는 그렐린 스프라이스 변이체-유사 화합물을 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다. 바람직한 실시양태에서, 약학 조성물은 치료 효과의 증가를 위해 화학식 I에 상기 정의된 바와 같은 2종 이상의 상이한 그렐린 스프라이스 변이체-유사 화합물을 포함한다. 차이점은 예를 들어 상기 논의된 바와 같이 상이한 아실화를 갖는 화합물일 수 있다.

[0310] 본원에서 사용되는, 용어 "약학적으로 허용되는", "생리상 허용되는" 및 그의 문법적 변형체는 조성물, 담체, 희석제 및 시약을 언급하는 경우에 상호교환적으로 사용되며, 이는 원치않는 생리적 효과, 예컨대 오심, 현기증, 급성 위연동 이상항진 등의 발생 없이 물질이 인간에게 투여될 수 있다는 것을 나타낸다.

- [0311] 용해되거나 또는 분산된 활성 성분을 함유하는 약리학적 조성물의 제제는 당분야에서 잘 이해된다. 전형적으로, 이러한 조성물은 수성 또는 비수성 액체 용액 또는 현탁액으로서 멸균 주사가능하게 제조되나; 사용전 액체인 용액 또는 현탁액에 적합한 고체 형태가 또한 제조될 수 있다. 제제는 또한 유회될 수 있다.
- [0312] 활성 성분은 약학적으로 허용되고 활성 성분과 상용가능하고 본원에 기재된 치료 방법에서 사용하기에 적합한 양으로 부형제와 혼합될 수 있다. 적합한 부형제는 예를 들어, 물, 염수, 텍스트로스, 글리세롤, 에탄올 등 및 이들의 조합이다. 또한, 원하는 경우, 조성물은 활성 성분의 효과를 향상시키는 소량의 보조 물질, 예컨대 습윤제 또는 유화제, pH 완충제 등을 함유할 수 있다. 제형이 3.5 내지 8의 범위, 예컨대 4.5 내지 7.5의 범위, 예컨대 5.5 내지 7의 범위, 예컨대 6 내지 7.5의 범위, 가장 바람직하게는 대략 7.3의 pH를 갖는 것이 바람직하다. 그러나, 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, pH 범위는 치료되는 개체 및 투여 과정에 따라 조절될 수 있다. 예를 들어, 특정 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피라이스 변이체 및 그렐린 스피라이스 변이체 상동체는 더 낮은 pH에서 용이하게 안정화될 수 있으며; 따라서, 다른 바람직한 실시양태에서, 제형은 3.5 내지 7의 범위, 예컨대 4 내지 6의 범위, 예컨대 5 내지 6의 범위, 예컨대 5.3 내지 5.7의 범위, 예컨대 5.5의 pH를 갖는다.
- [0313] 본원에 개시된 약학 조성물은 화합물의 약학적으로 허용되는 염을 포함할 수 있다. 이들 염은 제약적 용도에 대해 그의 사용이 허용되는 염일 것이며, 이는 염이 모 화합물의 생물학적 활성을 유지할 것이며, 염이 질환의 치료에서의 그의 적용 및 사용에서 부적당한 또는 유해한 효과를 가지지 않을 것이라는 것을 의미한다.
- [0314] 약학적으로 허용되는 염은 표준 방식으로 제조된다. 모 화합물이 염기인 경우, 이는 적합한 용매에서 과량의 유기산 또는 무기산으로 처리된다. 모 화합물이 산인 경우, 이는 적합한 용매에서 무기 염기 또는 유기 염기로 처리된다.
- [0315] 본원에 개시된 화합물은 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제와 공동으로, 동시에 또는 함께 그의 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염의 형태로, 특히 및 바람직하게는 유효량으로 예를 들어 경구, 직장 또는 또는 비경구 (피하 포함) 경로에 의해 그의 약학 조성물의 형태로 투여될 수 있다.
- [0316] 본 발명의 약학 조성물에서 사용하기 위한 약학적으로 허용되는 산 부가염의 예로는 광산, 예를 들어 염산, 브롬화수소산, 인산, 메타인산, 질산 및 황산, 및 유기산, 예를 들어 타르타르산, 아세트산, 시트르산, 말산, 락트산, 푸마르산, 벤조산, 글리콜산, 글루콘산, 숙신산, p-톨루엔술폰산 및 아릴술폰산으로부터 유도된 염이 포함된다.
- [0317] 다른 적합한 약학적으로 허용되는 염으로는 산 부가염 (폴리펩티드의 유리 아미노기에 의해 형성됨)이 포함된다. 염의 다른 예로는 약학적으로 허용되는 산 부가염, 약학적으로 허용되는 금속 염, 암모늄 염 및 알킬화 암모늄 염이 포함된다. 산 부가염으로는 무기산 뿐만 아니라 유기산의 염이 포함된다. 적합한 무기산의 대표적인 예로는 염산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 인산, 황산 및 질산 등이 포함된다. 적합한 유기산의 대표적인 예로는 포름산, 아세트산, 트리클로로아세트산, 트리플루오로아세트산, 프로피온산, 벤조산, 신남산, 시트르산, 푸마르산, 글리콜산, 락트산, 말레산, 말산, 말론산, 만델산, 옥살산, 피크르산, 피루브산, 살리실산, 숙신산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, 타르타르산, 아스코르브산, 파모산, 비스메틸렌 살리실산, 에탄디술폰산, 글루콘산, 시트라콘산, 아스파르트산, 스테아르산, 팔미트산, 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA), p-아미노벤조산, 글루탐산, 벤젠술폰산 및 p-톨루엔술폰산 등이 포함된다. 약학적으로 허용되는 무기산 또는 유기산 부가염의 추가 예로는 본원에 참고로 도입된 문헌 [Berge S.M. et al., J. Pharm. Sci. 66:1-19 (1977)]에 나열된 약학적으로 허용되는 염이 포함된다. 금속 염의 예로는 리튬, 나트륨, 칼륨 및 마그네슘 염 등이 포함된다.
- [0318] 암모늄 및 알킬화 암모늄 염의 예로는 암모늄, 메틸암모늄, 디메틸암모늄, 트리메틸암모늄, 에틸암모늄, 히드록시에틸암모늄, 디에틸암모늄, 부틸암모늄 및 테트라메틸암모늄 염 등이 포함된다.
- [0319] 유리 카르복실기에 의해 형성된 염은 또한 무기 염기, 예를 들어 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘 또는 철 히드록시드, 및 이러한 유기 염기, 예컨대 이소프로필아민, 트리메틸아민, 2-에틸아미노 에탄올, 히스티딘, 프로카인 등으로부터 유도될 수 있다.
- [0320] 또한, 그의 임의의 수화물 (수화물 형태)이 본원의 문맥에서 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 산 부가염의 범위내에 포함된다.
- [0321] 비경구 투여를 위해, 멸균 수용액, 수성 프로필렌 글리콜 또는 참기름 또는 땅콩유 중 본 화합물의 용액이 사용될 수 있다. 이러한 수용액은 필요하다면 적합하게 완충되어야 하며, 액체 희석제는 먼저 충분한 염수 또

는 글루코스에 의해 등장성이 부여된다. 수용액이 정맥내, 근육내, 피하 및 복강내 투여에 특히 적합하다. 사용되는 멸균 수성 매질은 모두 당업자에게 공지된 표준 기술에 의해 용이하게 이용가능하다.

[0322] 액체 조성물은 또한 물의 첨가 및 배제의 액체상을 함유할 수 있다. 이러한 추가 액체상의 예는 글리세린, 식물성유, 예컨대 면실유, 유기 에스테르, 예컨대 에틸 올레에이트, 및 수-유 에멀전이다.

[0323] 적합한 제약 담체로는 불활성 고체 희석제 또는 충전제, 멸균 수용액 및 여러 유기 용매가 포함된다. 고체 담체의 예는 락토스, 백도토, 수크로스, 시클로텍스트린, 활석, 젤라틴, 한천, 펙틴, 아카시아, 스테아르산마그네슘, 스테아르산 또는 셀룰로스의 저급 알킬 에테르이다. 액체 담체의 예는 시럽, 땅콩유, 올리브유, 인지질, 지방산, 지방산 아민, 폴리옥시에틸렌 또는 물이다. 비측 에어로졸 또는 흡입 제형은 벤질 알콜 또는 다른 적합한 보존제, 생체이용율을 향상시키는 흡수 증진제의 사용, 플루오로탄소의 사용, 및/또는 다른 가용 화제 또는 분산제의 사용에 의해 예를 들어 염수 중 용액으로서 제조될 수 있다.

[0324] 본원에 개시된 화합물 및 약학적으로 허용되는 담체를 함함으로써 형성된 약학 조성물은 그 후 개시된 투여 경로에 적합한 여러 투여 형태로 용이하게 투여된다. 제형은 제약 업계에 공지된 방법에 의해 단위 투여 형태로 편리하게는 제공될 수 있다.

[0325] 바람직한 실시양태에서, 제형은 분비촉진제 또는 그의 염을 동결건조물로서 포함하며, 제형은 추가로 용매를 포함하며, 여기서 상기 동결건조물 및 상기 용매는 투여할 때까지 별개 구획에 있다. 다른 실시양태에서, 제형은 분비촉진제 또는 그의 염의 용액이다. 실시양태에서, 용매는 임의의 적합한 용매, 예컨대 본원에 기재된 용매일 수 있으며, 바람직하게는 용매는 염수이다.

[0326] 다른 측면은 화학식 I에서 상기 정의된 바와 같은 하나 이상의 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물을 생리상 허용되는 담체와 혼합하는 것을 포함하는, 본원에 개시된 화합물을 포함하는 의약 또는 약학 조성물의 제조 방법에 관한 것이다. 추가 측면은 활성 성분으로서 화학식 I에서 상기 정의된 바와 같은 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염을 약학적으로-허용되는 담체와 함께 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다. 따라서, 제형은 상기 기재된 바와 같은 수송 분자를 추가로 포함할 수 있다.

[0327] 조합 치료

[0328] 추가 측면에서, 본 화합물은 추가 약리상 활성 물질 또는 다른 약리상 활성 물질과 조합하여 투여될 수 있고/거나 다른 치료 방법과 조합하여 투여될 수 있다. 본원에서 어구 "다른 물질(들) 및/또는 치료 방법(들)과 조합하여"는 상기 다른 물질(들) 및/또는 치료 방법(들)이 분비촉진제에 의한 개체의 치료 전에, 중에 (공동 치료를 포함) 및/또는 후에 개체에게 투여되고 따라서 치료된다는 것을 의미한다. 본원에 기재된 조합 치료의 모든 경우에, 조합은 부분 중 키트 시스템의 형태일 수 있으며, 여기서 조합된 활성 물질은 동시, 순차적 또는 개별 투여에 사용될 수 있다. 모든 경우에, 본원에서 언급된 임의의 의약은 제약 유효량으로 투여되는 것이 바람직하다, 즉 용이하게 환자에게 이점을 나타내는데 충분한 방법으로 의약 또는 약학 조성물의 활성 성분 각각의 총량을 포함하는 투여가 바람직하다.

[0329] 하기 섹션에서, 바람직한 실시양태에서 사용하기 위한 조합 치료요법은 아래와 같이 그룹화된다:

[0330] 1) 모든 활성 성분이 식욕-조절제, 또는 약액질 및/또는 지방이영양증의 치료에 유용한 다른 방법인 조합.

[0331] 본원에 따른 분비촉진제(들)는 1종 이상의 유형의 성장 호르몬 분비촉진제, 예컨대 다른 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물, 예컨대 본원에 기재된 화학식 I에 의해 정의된 구조를 포함하는 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물을 비롯한 다른 식욕-조절제와 조합하여 투여될 수 있다. 다른 분비촉진제 화합물과의 조합 투여에 적합한 다른 분비촉진제는 본원에 기재된 임의의 분비촉진제 화합물이다. 한 바람직한 실시양태에서, 그렐린 스피라이스 변이체 (가장 바람직하게는 인간 그렐린 스피라이스 변이체)는 상이한 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물과 조합하여 투여된다 - 이 조합은 그렐린 수용체에 대한 분비촉진제의 효과를 향상시키고/거나 연장시키는 것으로 고려된다. 유사한 방법으로, 여러 상이한 분비촉진제, 예컨대 2종 초과 상이한 분비촉진제 유형, 예컨대 3종, 예컨대 4종, 예컨대 5종, 예컨대 6종, 예컨대 7종, 예컨대 8종 초과 상이한 분비촉진제 유형이 그렐린 수용체에 대한 효능을 증가시키기 위해 개체에게 투여될 수 있다. 본원에 따른 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피라이스 변이체 또는 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물(들)은 또한 hGH를 비롯한 성장 호르몬의 제약 유효량과 조합하여 투여될 수 있다.

[0332] 한 바람직한 실시양태에서, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피라이스 변이체 또는 그렐린 스피라이스 변이체-유사 화합물은 IGF-1, IGFBP-3 또는 ALP, 바람직하게는 IGF-1과 조합하여 투여될 수 있다. 이 조합 치료의 이

론적 근거는 악액질 개체에서 낮은 것으로 밝혀진 IGF-1, IGFBP-3 및/또는 ALP의 수준을 증가시키는 것이다.

- [0333] 추가 실시양태에서, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 식욕을 자극시키는 것으로 공지된 화합물, 예컨대 그렐린, 멜라노코르틴 수용체 길항제, 신경펩티드 Y 수용체의 개별 하위유형에 대해 선택적인 효능제, 랩틴 또는 랩틴 수용체 효능제를 비롯한 신경펩티드 Y 수용체 효능제, 마리후아나 및 마리후아나 유사체를 비롯한 카나비노이드, 항정신병약, 특히 비전형적인 항정신병약, 예컨대 세르틴돌, 수프피리드, 클로자핀, 리스페리돈, 케티아핀, 아미술프리드, 지프라스돈 및 올란자핀과 조합하여 투여될 수 있다.
- [0334] 2) 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물에 의해 치료되는 질환 또는 상태와 관련되거나 또는 이에 의해 유발되는 질환에 대해 활성인 성분 또는 치료요법과, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 조합.
- [0335] 특히 암 악액질에 관해, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 투여는 항신생물 화학요법, 방사선요법 및 수술 치료를 비롯한 임의의 항암 치료요법과 조합하여 수행될 수 있다. 특히, 화학요법 및 방사선요법과 조합하여 사용된다. 따라서, 한 실시양태는 유효량의 방사선요법 및 유효량의 본원에 따른 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법에 관한 것이다. 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물에 의한 치료는 방사선요법 치료가 시작되기 전에 개시될 수 있다. 이는 방사선요법 동안 연속적으로 투여되거나, 또는 간격을 두고, 예를 들어 방사선요법 치료요법의 기간 사이에 투여될 수 있다.
- [0336] 다른 실시양태는 유효량의 항신생물 화학요법 및 유효량의 본원에 따른 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물을 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법에 관한 것이다. 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물에 의한 치료는 화학요법 치료가 시작되기 전에 개시될 수 있다. 이는 화학요법 동안 연속적으로 투여되거나, 또는 간격을 두고, 예를 들어 화학요법 치료요법의 기간 사이에 투여될 수 있다.
- [0337] 또한, 조합 치료는 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물, 및 항신생물 화학요법의 공동-제형일 수 있다.
- [0338] 본원에 따른 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 또한 제약 유효량의 글루코코르티코이드 스테로이드 및 전통의학 치료 뿐만 아니라 암 치료요법에 사용되는 다른 치료와 조합하여 투여될 수 있다. 따라서, 다른 바람직한 실시양태에서, 본원에 따른 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 제약 유효량의 하나 이상의 황체호르몬성 약물, 예컨대 메가스트롤 및/또는 시프로헵타딘 (및/또는 다른 5-HT 수용체 길항제); 및/또는 분지쇄 아미노산; 및/또는 옥산드랄린; 및/또는 항-TNF- α 작용제, 예컨대 인플릭시맙, 에타네르셉트 또는 아달리무맙; 및/또는 테스토스테론; 및/또는 면역영양 약물, 항산화제 및 COX2 억제제를 포함하는 "각태일"; 및/또는 카나비노이드; 및/또는 에이코사펜타엔산; 및/또는 펠라토닌; 및/또는 탈리도미드; 및/또는 β 2 아드레날린성 약물; 가장 바람직하게는 악액질, 예컨대 암 악액질의 치료를 위한 약물과 조합하여 투여된다.
- [0339] 또다른 실시양태에서, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물은 소염 화합물, 바람직하게는 NSAID, 예컨대 인도메타신, 및 COX1 억제제 또는 COX2 억제제; 및/또는 항-TNF- α 화합물, 예컨대 인플릭시맙, 에타네르셉트 또는 아달리무맙과 조합하여 투여된다. 다른 조합은 에리트로포이에틴/EPO과 조합될 수 있다. 다른 조합은 안지오텐신 II 저하제, 예컨대 비토르와 조합될 수 있다. 다른 조합은 선택적 안드로겐 수용체 조절인자(들)와 조합될 수 있다. 다른 조합은 하나 이상의 랩틴, 레닌-안지오텐신 시스템의 효능제, 오피오이드 수용체 효능제 또는 퍼록시슘 증식인자-활성화된 수용체 감마 효능제와 조합될 수 있다.
- [0340] 지방이영양증의 치료에 관해, 다른 실시양태는 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체, 보다 바람직하게는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물이 지방이영양증 치료, 예컨대 지방이영양증 증후군의 치료에 적합한 본원에 기재된 하나 이상의 치료 또는 화합물과 조합하여 투여되는 치료에 관한 것이다.
- [0341] 따라서, 본원의 방법에서 상기 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물과 조합하여 투여될 수 있는 다른 약리상 활성 물질은 하기를 포함한다:
- [0342] (a) 랩틴: 랩틴은 지방이영양증과 관련된 대사 비정상성에 대한 양성 효과를 갖는 것으로 나타났다 (문헌 [Oral E.A. et al., J. Clin. Endocrinol. Metab. 91:621-28 (2006)]). 이 치료는 랩틴의 낮은 혈장 수준을 앓는 환자 및 정상적인 수준을 갖는 환자 둘 모두에게 이로운 것으로 입증되었다.

- [0343] (b) 퍼옥시솜 증식인자-활성화된 수용체 (PPAR- γ) 효능제: PPAR- γ 는 여러 연구에서 지방세포 대사 및 대사 증후군에 중요한 것으로 입증되었으며, PPAR- γ 효능제가 지방이영양증의 증상을 감소시킬 것이라고 제안된다 (문헌 [Semple R.K. et al., J. Clin. Invest. 116:581-89 (2006)]).
- [0344] (c) 레닌-안지오텐신 시스템의 효능제: HAART에 의한 치료는 T-세포에서 ACE의 활성을 증가시키며, 이는 레닌-안지오텐신 시스템의 효능제가 HAART 유도된 지방이영양증을 개선시킬 수 있음을 나타내었다 (문헌 [Hegele R.A. & Leff T., J. Clin. Invest. 114:163-65 (2004)]).
- [0345] (d) 오피오이드 수용체 길항제: 오피오이드 수용체 길항제, 예컨대 날록손 및 날트렉손은 지방이영양증의 제 1 증상의 발병에 대한 프로테아제 억제제 치료로부터 기간을 연장시키는 것으로 나타났다 (문헌 [AIDS Patient Care STDS 14:283 (2000)]).
- [0346] (e) 데스-아실 그렐린 스플라이스 변이체: 데스-아실 그렐린 스플라이스 변이체와 조합된 그렐린 스플라이스 변이체는 인슐린 내성을 감소시키는 것으로 나타났으며, 이는 지방이영양증 증후군의 중요한 특성이다 (문헌 [Koutkia P. et al., Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 286:E296-303 (2004)]).
- [0347] (f) 인슐린 내성이 병태생리적 메카니즘인 인슐린 내성 및 질환의 치료 및/또는 예방용 다른 화합물을 비롯한 아디포넥틴 및 항-당뇨병 치료.
- [0348] (g) rhGH에 의한 치료요법은 "버팔로 혹", 몸통 지방의 크기의 감소를 유발하고 적은 수의 환자에서 체지방량을 증가시키는 것으로 보고되었다 (문헌 [Lo J.C. et al., J. Clin. Endocrinol. Metab. 86:3480-87 (2001)]). 그러나, 지방 손실 및 지질 비정상성은 개선되지 않았고 혈액 글루코스 조절은 악화되었다. hGH에 의해 치료된 증후군의 예로는 HIV, AIDS 및 암이 포함된다. 이론에 얽매이지 않고, 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그의 유사체에 의한 치료는 hGH에 의해 치료되는 환자에서 체지방을 유지하고/거나 증가시키고, 이에 의해 hGH에 의해 유발된 지방이영양증을 효과적으로 반대작용하거나 적어도 감소시키는 것으로 여겨진다. 따라서, 한 바람직한 실시양태는 성장 호르몬과 조합된 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 용도, 바람직하게는 HIV 또는 AIDS 및/또는 암 악액질을 앓고 있는 개체에서의 용도에 관한 것이다. 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그의 유사체에 의한 상기 치료는 개체가 성장 호르몬에 의해 치료되기 전에 및/또는 중에 및/또는 후에 행해질 수 있다. 상기 성장 호르몬은 바람직하게는 hGH이다.
- [0349] (h) 상기 그룹 1)하에 상기 기재된 바와 같은 상이한 분비촉진제의 조합에 의한 치료.
- [0350] 3) 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물에 의해 치료되는 질환 또는 상태와 관련된 증상에 대해 활성인 성분 또는 치료요법과, 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 또는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 조합.
- [0351] 한 측면은 조합의 성분 중 하나가 악액질을 앓고 있는 개체에서 경험할 수 있는 증상 또는 상태의 치료에 사용되는 조합 치료에 관한 것이다. 따라서, 본원에 따른 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물의 투여를 포함하는 조합 치료 및 용도는 또한 하기 하나 이상과 조합된 치료를 포함할 수 있다:
- [0352] a) 조합 치료가 항우울제, 그의 전구약물, 또는 상기 항우울제 또는 상기 전구약물의 약학적으로 허용되는 염을 투여하는 것을 추가로 포함하는, 임상적 우울증의 예방 및/또는 경감 및/또는 치료. 상기 조합 치료에서, 항우울제는 바람직하게는 노르에피네프린 재흡수 억제제 (NERI), 선택적인 세로토닌 재흡수 억제제 (SSRI), 모노아민 옥시다제 억제제 (MAO), 조합된 NERI/SSRI, 또는 비전형적인 항우울제, 상기 항우울제의 전구약물, 또는 상기 항우울제 또는 상기 전구약물의 약학적으로 허용되는 염이다. 바람직한 항우울제는 SSRI, 그의 전구약물, 또는 상기 SSRI 또는 상기 전구약물의 약학적으로 허용되는 염이다. SSRI는 바람직하게는 시탈로프람, 에스시탈로프람, 페록세틴, 플루옥세틴, 플루복사민, 인달핀, 인텔록사진, 밀나시프란, 파록세틴, 세르트랄린, 시부트라민 또는 지렐딘, 상기 SSRI의 전구약물, 또는 상기 SSRI 또는 상기 전구약물의 약학적으로 허용되는 염이다. 상기 중, 시탈로프람 및 에스시탈로프람, 그의 전구약물 또는 약학적으로 허용되는 염이 조합 치료의 특정 실시양태에서 바람직하다.
- [0353] b) 조합 치료가 진토제, 그의 전구약물, 또는 상기 진토제 또는 상기 전구약물의 약학적으로 허용되는 염을 투여하는 것을 추가로 포함하는, 오심 및 구토를 비롯한 구토 상태의 예방 및/또는 경감 및/또는 치료. 본원에 따른 조합 치료에 사용되는 바람직한 진토제로는 메클리진 히드로클로라이드, 프로클로르페라진, 프로메타진, 트리메토펙사미드 히드로클로라이드 및 온단세론 히드로클로라이드가 포함된다. 특히, 구토는 항암 치료 또는 상기과 같은 암 질환에 의해, 암에 의해 유발될 수 있다.

- [0354] c) 조합 치료가 항정신병제, 그의 전구약물 또는 상기 항정신병제 또는 상기 전구약물의 약학적으로 허용되는 염을 투여하는 것을 추가로 포함하는, 정신병 상태의 예방 및/또는 경감 및/또는 치료. 본원에 따른 조합 치료에 사용되는 바람직한 항정신병제로는 클로르프로마진, 할로페리돌, 클로자핀, 옥사핀, 몰린돈 히드로클로라이드, 티오틱센, 올란자핀, 지프라시돈, 지프라시돈 히드로클로라이드, 프로클로르페라진, 페페나진, 트리플루오페라진 히드로클로라이드 및 리스페리돈이 포함된다.
- [0355] d) 조합 치료가 항불안제, 그의 전구약물 또는 상기 항불안제 또는 상기 전구약물의 약학적으로 허용되는 염을 투여하는 것을 추가로 포함하는, 우울증의 예방 및/또는 경감 및/또는 치료. 본원에 따른 조합 치료에 사용되는 바람직한 항불안제로는 알프라졸람, 클로나제팜, 로라제팜, 옥사제팜, 클로르디아제폭시드 히드로클로라이드, 디아제팜, 부스피론 히드로클로라이드, 독세핀 히드로클로라이드, 히드록시진 파모에이트 및 클로나제팜이 포함된다.
- [0356] 물론, 상기 그룹 (1 내지 3)의 조합이 또한 본원의 범위내에 포함된다.
- [0357] 의학적 패키지
- [0358] 본원에 개시된 화합물은 단독으로 또는 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제와 조합하여 단일 또는 다중 용량으로 투여될 수 있다.
- [0359] 제형은 편리하게 당업자에게 공지된 방법에 의해 단위 투여 형태로 제공될 수 있다.
- [0360] 본원에 따른 화합물이 키트로 제공되는 것이 바람직하다. 이러한 키트는 전형적으로 투여를 위한 투여 형태로 활성 화합물을 함유한다. 투여 형태는 충분한 양의 활성 화합물을 함유하여, 바람직하게는 1일마다 1회 이상의 식사전, 보다 바람직하게는 각 주요 식사전, 예컨대 1일 이상의 기간 동안 1일마다 3회 대상체에게 투여시 바람직한 효과가 얻어질 수 있다. 따라서, 의학적 패키지가 관련 투여량 요법에 상응하는 투여량 단위의 양을 포함하는 것이 바람직하다. 따라서, 한 실시양태에서, 의학적 패키지는 상기 정의된 바와 같은 화합물 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 및 약학적으로 허용되는 담체, 비히클 및/또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 포함하며, 상기 패키지는 7 내지 21 투여량 단위, 또는 그의 다중 단위를 갖고, 이에 의해 1주의 투여 또는 수주의 투여 동안의 투여량 단위를 갖는다.
- [0361] 한 실시양태에서, 의학적 패키지는 1주에 1일마다 1회 투여를 위한 것이며, 7개의 투여량 단위를 포함하고, 다른 실시양태에서, 의학적 패키지는 1일마다 2회 투여를 위한 것이며, 14개의 투여량 단위를 포함한다. 또 다른 보다 바람직한 실시양태에서, 의학적 패키지는 1일마다 3회 투여를 위한 것이며, 21개의 투여량 단위를 포함한다.
- [0362] 투여량 단위는 상기 정의된 바와 같다, 즉 투여량 단위는 바람직하게는 그렐린 스플라이스 변이체 0.3 μg 내지 600 mg, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 2.0 μg 내지 200 mg, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 5.0 μg 내지 100 mg, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 10 μg 내지 50 mg, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 10 μg 내지 5 mg, 예컨대 그렐린 스플라이스 변이체 10 μg 내지 1.0 mg과 등가인 양의 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물 또는 그의 염을 포함한다.
- [0363] 의학적 패키지는 비경구, 특히 피하 투여에 적합한 임의의 형태일 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 패키지는 카트리지, 예컨대 주사펜, 예컨대 인슐린 치료로부터 또는 hGH 치료로부터 공지된 주사펜을 위한 카트리지의 형태이다.
- [0364] 의학적 패키지가 하나 이상의 투여량 단위를 포함하는 경우, 의학적 패키지에는 하나의 투여량 단위만을 투여하기 위해 각각 조절되는 메카니즘이 제공되는 것이 바람직하다.
- [0365] 바람직하게는, 키트는 투여 형태의 사용이 바람직한 영향을 성취하고 투여 형태의 양이 특정 기간에 걸쳐 취해지는 것을 나타내는 지시사항을 함유한다. 따라서, 한 실시양태에서, 의학적 패키지는 약학 조성물의 투여에 대한 지시사항을 포함한다. 특히, 상기 지시사항은 식사 중에, 또는 바람직하게는 식사전 최대 45분에, 예컨대 식사전 최대 30분에, 예컨대 식사전 최대 25분에, 예컨대 식사전 최대 20분에, 예컨대 식사전 최대 15분에, 예컨대 식사전 최대 10분에, 예컨대 식사전 최대 5분에 상기 약학 조성물을 투여하는 것에 대한 지시사항을 포함할 수 있다.
- [0366] 그렐린 스플라이스 변이체 및/또는 그렐린 스플라이스 변이체-유사 화합물에 의한 치료 효과의 모니터링 방법
- [0367] 다른 측면은 하나 이상의 마커, 특히 GH, IGF-1, IGFBP-3, ALP (산성 포지됨), 갑상선 호르몬, 성호르몬 및 알부민에서 선택된 마커; 보다 바람직하게는 IGF-I, IGFBP-3, ALP (산성 포지됨)에서 선택된 마커; 보다 더

바람직하게는 IGF-1의 측정을 포함하는 본원의 방법에서, 본원에 개시된 분비촉진제, 예컨대 그렐린 스피클라이스 변이체-유사 화합물의 투여 효과의 모니터링 방법에 관한 것이다. 이들 마커 모두는 악액질 환자에서 낮으며, 그렐린 스피클라이스 변이체에 의한 치료 후 증가할 것으로 예상된다. 그렐린 스피클라이스 변이체에 의한 치료 후 증가할 것으로 예상되는 다른 마커는 혈액 GH 수준 및 체중이다. 또한, 신체 조성은 변화할 것으로 예상되며, 체지방량은 증가할 것으로 예상된다. 신체 조성 변화는 MRI 또는 NMR을 사용함으로써 평가될 수 있다.

[0368] 따라서, 한 실시양태는 본원에 기재된 분비촉진제에 의한 개체의 임의의 치료 효과의 모니터링 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 (i) IGF-1 및/또는 (ii) IGFBP-3 및/또는 (iii) ALP 및/또는 (iv) 하나 이상의 갑상선 호르몬 및/또는 (v) 하나 이상의 성호르몬 및/또는 (vi) 알부민 중 하나 이상, 또는 보다 바람직하게는 (i) IGF-1 및/또는 (ii) IGFBP-3 및/또는 (iii) ALP 및/또는 (iv) GH 및/또는 (v) 체중 및/또는 (vi) 신체 조성 중 하나 이상의 상기 개체의 혈액 수준을 측정하는 것을 포함한다.

[0369] 개체의 혈액 수준에서의 물질의 측정 방법은 당분야에 익히 공지되어 있다. 예로서, 단리된 혈액 샘플은 웨스턴 블롯팅 또는 효소-결합 분석 (ELISA)과 같은 방법에 의해 시험될 수 있다.

실시예

[0370] 본원은 하기 실시예에서 추가로 정의된다. 이들 실시예는 바람직한 실시양태를 나타내지만, 예시만을 위해 주어진 것으로 해석되어야 한다. 상기 논의 및 이들 실시예로부터 당업자는 본원의 바람직한 특성을 확인할 수 있으며, 본원의 취지 및 범위에서 벗어나지 않고 본 발명을 여러 용도 및 상태로 적응시키기 위해 여러 변화 및 변형을 할 수 있다.

[0371] 실시예 2, 5, 6, 7, 8 및 9는 작업 실시예이다. 실시예 1, 3, 4, 10 및 11은 예언적 실시예이다.

[0372] 실시예 1

[0373] 경쟁 결합 분석

[0374] 방사성 리간드의 5-8% 결합을 목표로 웰 당 1×10^5 세포의 밀도에서 형질감염후 1일에 형질감염된 COS-7 세포를 배양 플레이트로 이동하였다. 형질감염후 2일에, 25 pM의 [^{125} I]그렐린 (지이 헬스케어(GE Healthcare), 미국 뉴저지주 피스캐터웨이 소재)을 사용하여 3시간 동안 4°C에서 경쟁 결합 실험을 수행하였다. 1 mM CaCl_2 , 5 mM MgCl_2 , 및 0.1% (w/v) 소 혈청 알부민, 40 $\mu\text{g/ml}$ 박시트라신이 보충된 pH 7.4의 50 mM 헤페스 완충액 0.5 ml에서 결합 분석을 수행하였다. 비표지된 그렐린 스피클라이스 변이체 1 마이크로몰의 존재하 결합으로서 비특이적 결합을 결정하였다. 세포를 빙냉 완충액 0.5 ml에서 2회 세척하고, 용해 완충액 (8 M 우레아, 3 M 아세트산 중 2% NP40) 0.5 내지 1 ml를 첨가하고, 결합된 방사성을 계수하였다. 2중으로 결정하였다.

[0375] 실시예 2

[0376] 그렐린 스피클라이스 변이체-유사 화합물의 합성 제조

[0377] 아미노산 유사체 및 합성 시약은 상업적 공급원으로부터 얻을 수 있었다. 펩티드 쇠 연장은 퍼킨 엘머 (Perkin Elmer)에 의해 제조된 응용된 바이오시스템 433A 합성기를 사용하여 수행할 수 있으며, 보호된 펩티드 유사체-수지는 Boc 또는 Fmoc 방법에 의해 구축할 수 있었다. Boc 방법에 의해 얻은 보호된 펩티드 수지는 p-크레졸의 존재하에 무수 불소화수소 (HF)로 탈보호하였으며, 이에 의해 펩티드를 방출하고, 그 후 이를 정제하였다. Fmoc 방법에 의해 얻은 보호된 펩티드 수지는 트리플루오로아세트산 (TFA) 또는 여러 스캐빈저를 함유하는 묽은 TFA로 탈보호하였으며, 방출된 펩티드를 정제하였다. 정제는 C4 또는 C18 컬럼 상의 역상 HPLC에서 수행하였다. 정제된 생성물의 순도는 역상 HPLC에 의해 확인할 수 있었으며, 그의 구조는 아미노산 조성물 분석 및 질량분석법에 의해 확인할 수 있었다.

[0378] 본원에 개시된 펩티드는 통상적인 펩티드 합성 방법에 의해 제조할 수 있었다. 구체적으로, 아실화된 또는 알킬화된 펩티드의 합성은 하기와 같이 예시한다.

[0379] 약어: "HMP 수지"는 4-히드록시메틸-페녹시메틸 수지를 의미하고; "Fmoc 아미드 수지"는 4-(2',4'-디메톡시페닐-Fmoc-아미노메틸) 페녹시아세트아미도-에틸 수지를 의미하고; "PAM 수지"는 페닐아세토아미도메틸 수지를 의미하고; "HBTU"는 2-(1H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트를 의미

하고; "TBTU"는 2-(1H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 테트라플루오로보레이트를 의미하고; "HOBT"는 1-히드록시벤조트리아졸을 의미하고; "DCC"는 디시클로헥실카르보디이미드를 의미하고; "DIPCI"는 디이소프로필카르보디이미드를 의미하고; "TFA"는 트리플루오로아세트산을 의미하고; "DIPEA"는 디이소프로필에틸아민을 의미하고; "TIPS"는 트리이소프로필란을 의미하고; "Fmoc"는 플루오레닐메톡시카르보닐을 의미하고; "Boc"는 t-부틸옥시카르보닐을 의미하고; "Trt"는 트리틸을 의미하고; "Bu"는 t-부틸을 의미하고; "Pmc"는 2,2,5,7,8-펜타메틸크로만-6-술포닐을 의미하고; "Pr1"은 프로피오닐을 의미하고; "PhPr1"은 페닐프로피오닐을 의미하고; "Bzl"은 벤질을 의미하고; "Bom"은 벤질옥시메틸을 의미하고; "Tos"는 톨루엔술포닐을 의미하고; "Cl-Z"는 2-클로로-벤질옥시카르보닐을 의미하고; "Pis"는 2-페닐이소프로필을 의미하고; "Mtt"는 4-메틸트리틸을 의미하고; "DMF"는 N,N-디메틸포름아미드를 의미하고; "NMP"는 N-메틸피롤리돈을 의미하고; "DMAP"는 4-디메틸아미노피리딘을 의미하고; "HOSu"는 N-히드록시숙신이미드를 의미하고; "Adod"는 2-아미노도데칸산을 의미하고; "Aib"는 2-아미노이소부틸산을 의미하고; "Ape"는 5-아미노펜탄산을 의미하고; "Cha"는 시클로헥실알라닌을 의미하고; "Dap"은 2,3-디아미노프로피온산을 의미하고; "Nal"은 나프틸알라닌을 의미하고; "Nie"는 노르류신을 의미한다.

[0380] 합성 Fmoc 방법에서 사용될 수 있는 보호 아미노산: Boc-Gly, Fmoc-Gly, Fmoc-Ser (Bu), Fmoc-Ser (Trt), Fmoc-Glu (OBu), Fmoc-His (Boc), Fmoc-Gln (Trt), Fmoc-Arg (Pmc), Fmoc-Lys (Boc), Fmoc-Pro, Fmoc-Leu, Fmoc-Ala, Fmoc-Val, Fmoc-Phe, Fmoc-Phe, Fmoc-Ser (n-C₈H₁₇), Fmoc-Ser (n-C₈H₁₇), Fmoc-Cys (n-C₈H₁₇), Fmoc-Asp (OPis), Fmoc-Ser (Bzl), Fmoc-Cys (Trt), Fmoc-Dap (옥타노일), Fmoc-2-Nal, Fmoc-2-Nal, Fmoc-Nle, Fmoc-Lys (Mtt), Fmoc-Aib-OH, Fmoc-Asp (O-C₇H₁₅). Boc 방법: Boc-Gly, Boc-Ser (Bzl), Boc-Ser (Ac), Boc-Ser (Pr1), Boc-Glu (OBzl), Boc-His (Bom), Boc-Gln, Boc-Arg (Tos), Boc-Lys (Cl-Z), Boc-Pro, Boc-Leu, Boc-Ala, Boc-Val, Boc-Phe, Boc-Cys (n-C₈H₁₇), Boc-Ape, Boc-Ser (n-C₈H₁₇)

[0381] 사용된 단위:

[0382] (a) 분석용 HPLC 시스템 단위: 시마주(Shimadzu) LC-10A 시스템; 컬럼: YMC 단백질-RP (4.6 mm × 150 mm); 컬럼 온도: 40℃; 용리액: 0.1% 트리플루오로아세트산 중 20분 동안 0 내지 50% 아세트오니트릴의 선형 기울기; 유속: 1 mL/min; 검출: UV (210 nm); 주사 부피: 10 내지 100 μL.

[0383] (b) 정제용 HPLC 시스템 단위: 워터즈 600 다중용매 전달 시스템; 컬럼: YMC-팩-ODS-A (5 μm, 20 mm × 250 mm) YMC-팩-단백질-RP (5 μm, C₄, 10 mm × 250 mm) YMC-팩 단백질-RP (5 μm, C₄, 20 mm × 250 mm) YMC 단백질-RP (4.6 mm × 150 mm); 용리액: 0.1% 트리플루오로아세트산 중 아세트오니트릴 농도의 적합한 선형 기울기; 유속: 10 mL/min. (20 mm의 내부 직경의 컬럼에 대해), 3 mL/min. (10 mm의 내부 직경의 컬럼에 대해), 1 mL/min. (4.6 mm의 내부 직경의 컬럼에 대해); 검출: 210 nm, 260 nm; 주사: 10 내지 2000 μL (2000 μL 이상이 펌프를 통해 주사됨)

[0384] (c) 질량 분석기 단위: 피니건(Finnigan) MAT TSQ700; 이온 공급원: ESI; 검출 이온 방식: 양성 스프레이; 전압: 4.5 kV; 모세관 온도: 250℃; 이동상: 0.2% 아세트산 및 메탄올 (1:1)의 혼합물; 유속: 0.2 mL/min; 스캔 범위: m/z 300 내지 1,500

[0385] (d) 아미노산 서열 단위의 분석: 퍼킨 엘머에 의해 제조된 응용된 바이오시스템 477A, 492 모델 서열분석기

[0386] (e) 아미노산 조성물 단위의 분석: 히타치, 캄파니, 리미티드(Hitachi, Co., Ltd.)에 의해 제조된 L-8500 모델 아미노산 분석기; 샘플: 다른 특징이 없는 한, 샘플은 밀봉된 튜브에서 24시간 동안 110℃에서 6 M HCl에 의해 가수분해함

[0387] 아실 세린을 갖는 유사체 (Fmoc 방법, 카르복실-말단 아미드 유사체) 그랜된 스플라이스 변이체의 합성의 실험

[0388] Fmoc-Ser (Bu)-Ser (Trt)-Phe-Leu-Ser (tBu)-Pro-Glu (OBu)-His (Boc)-Gln (Trt)-Arg (Pmc)-Val-Gln-Val (Trt)-Arg (Pmc)-Pro-Pro-His (Boc)-Lys (Boc)-Ala (Boc)-Pro (Boc)-Pro-His (Pmc)-수지를 순차적으로 구축하기 위해, GSS (CO-C₇H₁₅) FLSPEHQVRPPHKAPH Fmoc-His (Pmc)-HMP-수지 (403 mg, 0.25 mmol, 에이비아이 캄파니, 리미티드(ABI Co., Ltd.))를 20분 동안 20% 피페라진으로 처리하고, 반복적으로 HBTU/HOBT에 의한 Fmoc-아미노산의 도입 및 피페라진에 의한 Fmoc의 제거를 처리하였다. Boc-Gly를 DCC/HOBT에 의해 최종적으로 도입한 후, 얻어진 보호된 펩티드 수지 (1.3 g)를 30분 동안 1% TFA-5% TIPS-메틸렌 클로라이드 용액 (15 mL)으로 처리하였다.

[0389] 펩티드 수지를 여과에 의해 회수하고, 메틸렌 클로라이드 (30 mL)로 수회 세척하고, 5% DIEA (10 mL)로 세척한 후, 메틸렌 클로라이드 (30 mL)로 세척하였다. 얻어진 de-Trt 펩티드 수지 (약 1.3 g)를 NMP (10 mL)로 팽윤시키고, 옥탄산 (144.2 mg, 1.0 mmol) 및 DIPCI (126.2 mg, 1.0 mmol)를 DMAP (61.1 mg, 0.5 mmol)의 존재하에 첨가하고, 8시간 동안 반응시켰다. 수지를 여과에 의해 회수하고, NMP로 세척한 후, 메틸렌 클로라이드로 세척한 다음, 진공하에 건조시켜, 보호된 펩티드 수지 약 1.2 g을 얻었다 (제3 세린의 측쇄는 옥타노일화됨). 이 생성물에 88% TFA-5% 페놀-2% TIPS-5% H₂O로 구성된 탈보호 시약 (10 mL)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 수지를 여과에 의해 제거하고, 여과물을 농축한 후, 에테르를 얻어진 잔류물에 첨가하여 침전물을 형성시켰다. 침전물을 여과에 의해 회수하고, 건조시켜, 조 펩티드 약 550 mg을 얻었다. 이 생성물 200 mg을 물 10 mL에 용해하고, YMC-팩 단백질-RP (C4, 20 mm × 250 mm)에 적용하고, 60분 동안 0.1% 트리플루오로아세트산 중 0 내지 54% 아세토니트릴의 선형 기울기로 용리하였다 (유속: 10 mL/min). 원하는 분획을 수집하고, 동결건조시켜, 원하는 생성물 약 120 mg을 얻었다.

[0390] 아실 세린을 갖는 유사체 (Fmoc 방법, 카르복실-말단 아미드 화합물) 그렐린 스플라이스 변이체 (1-22)-NH₂의 합성의 실시예

[0391] Fmoc-Ser (Bu)-Ser (Trt)-Phe-Leu-Ser (Bu)-Pro-Glu (OBu)-His (Boc)-Gln (Trt)-Arg (Pmc)-Val-Gln-Val (Trt)-Arg (Pmc)-Pro-Pro-His (Boc)-Lys (Boc)-Ala (Boc)-Pro (Boc)-Pro-His (Boc)-수지를 순차적으로 구축하기 위해, GSS (CO-C₇H₁₅) FLSPEHQRVQVRPHKAPH-NH₂ Fmoc-아미드-수지 (403 mg, 0.25 mmol, 에이비아이 캄파니, 리미티드)를 20분 동안 20% 피페라진으로 처리하고, 반복적으로 HBTU/HOBt에 의한 Fmoc-아미노산의 도입 및 피페라진에 의한 Fmoc의 제거를 처리하였다. Boc-Gly를 DCC/HOBt에 의해 최종적으로 도입한 후, 얻어진 보호된 펩티드 수지 (약 550 mg)를 30분 동안 1% TFA-5% TIPS-메틸렌 클로라이드 용액 (10 mL)으로 처리하였다. 펩티드 수지를 여과에 의해 회수하고, 메틸렌 클로라이드 (30 mL)로 수회 세척하고, 5% DIEA (10 mL)로 세척한 후, 메틸렌 클로라이드 (30 mL)로 세척하였다. 얻어진 de-Trt 펩티드 수지 (약 750 mg)를 NMP (10 mL)로 팽윤시키고, 옥탄산 (144.2 mg, 1.0 mmol) 및 DIPCI (126.2 mg, 1 mmol)를 DMAP (61.1 mg, 0.5 mmol)의 존재하에 첨가하고, 4시간 동안 반응시켰다. 수지를 여과에 의해 회수하고, NMP로 세척한 후, 메틸렌 클로라이드로 세척한 다음, 진공하에 건조시켜, 보호된 펩티드 수지 약 800 mg을 얻었다 (제3 세린의 측쇄는 옥타노일화됨). 이 생성물에 TFA (10 mL)을 첨가하고, 실온에서 30분 동안 교반하였다. 수지를 여과에 의해 제거하고, 여과물을 농축한 후, 에테르를 얻어진 잔류물에 첨가하여 침전물을 형성시켰다. 침전물을 여과에 의해 회수하고, 건조시켜, 조 펩티드 약 250 mg을 얻었다. 이 생성물 200 mg을 30% 수성 아세트산 10 mL에 용해하고, YMC-팩 단백질-RP (C4, 20 mm × 250 mm)에 적용하고, 60분 동안 0.1% 트리플루오로아세트산 중 0 내지 54% 아세토니트릴의 선형 기울기로 용리하였다 (유속: 10 mL/min). 원하는 분획을 수집하고, 동결건조시켜, 원하는 생성물 약 150 mg을 얻었다.

[0392] 아실 세린을 갖는 유사체 (Boc 방법) [Ser3 (프로피오닐)]-그렐린 스플라이스 변이체 (1-22)의 합성의 실시예

[0393] GSS (CO-CH₂CH₃) FLSPEHQRVQVRPHKAPH 보호된 그렐린 스플라이스 변이체 수지 (4-22)를 Boc 화학에 의해 Boc-His (Tos)-Pam 수지 (0.75 g, 0.5 mmol)로부터 구축하고, Boc-Ser (CO-CH₂CH₃)-OH, Boc-Ser (Bzl)-OH 및 Boc-Gly-OH를 수지의 절반 (1.4 g)으로 축합하였다. 그 후, 얻어진 수지 1.5 g을 0°C에서 1시간 동안 HF 및 p-크레졸 (8.5 mL:1.5 mL)의 혼합물로 처리하고, HF를 증발시켰다. 에테르를 잔류물에 첨가하고, 이에 의해 조 펩티드 671 mg을 얻었다. 그 후, 이 샘플을 50% 아세트산 (AcOH)에 용해하고, 정제용 컬럼 YMC-팩-ODS-A (5 μm, 20 mm × 250 mm)에 적용하고, 75분 동안 0.1% TFA 용액 중 0 내지 95% 아세토니트릴 농도의 기울기에 의해 10 mL/min의 속도로 용리하였다. 원하는 생성물을 함유하는 분획들을 동결건조시켜, 조 펩티드 대략 135.8 mg을 얻었다. 이 생성물의 부분 (0.5 mg)을 YMC-A-302 컬럼 (C18, 4.6 mm × 150 mm)에 적용하고, 15 내지 19% 농도 아세토니트릴의 기울기에 의해 1 mL/min의 유속으로 용리하였다. 그 후, 이 정제 과정을 반복하고, 원하는 분획을 합하여, 원하는 생성물 대략 0.41 mg을 얻었다.

[0394] 본원에 따른 다른 화합물을 마찬가지로 제조할 수 있다.

[0395] 아실화된 및 비-아실화된 서열 2, 서열 4 및 서열 5의 합성을 위해 상기 방법을 사용하였다.

[0396] 실시예 3

[0397] 건강한 대상체에서 3개의 상이한 단일 용량에서 정맥내로 투여된 그렐린 스플라이스 변이체 및 피하로 투여된 그렐린 스플라이스 변이체의 절대 생체이용율의 연구를 위한, 무작위 단일 기관의 4-기간 교차 시험

- [0398] 목적:
- [0399] 일차: 단일 정맥내 및 피하 용량으로서 투여된 그렐린 스플라이스 변이체의 3개의 상이한 용량의 절대 생체이용율의 연구
- [0400] 이차:
- [0401] 1) 상승적 용량의 용량 선형성 (용량 비례성)의 연구.
- [0402] 2) 치료 사이의 약동학 프로파일의 연구 및 비교.
- [0403] 3) 안전성 및 국소적 허용성의 평가.
- [0404] 시험 고안: 건강한 대상체에서 3개의 상이한 단일 용량으로 정맥내 투여된 그렐린 스플라이스 변이체 및 피하로 투여된 그렐린 스플라이스 변이체 사이의 절대 생체이용율의 연구를 위한, 무작위 단일 기관의 불균형 차단 고안 4-기간 교차 시험. 3개의 용량은 저용량, 중용량 및 고용량의 각 투여 방법으로 사용하였다. 개체 각각에 대한 투여 수를 감소시켜 시험의 길이를 감소시키기 위해, 대상체 각각은 총 6개의 용량 중 오직 4개의 용량, 즉 정맥내 및 피하로 각각 투여된 2개의 용량 수준을 투여받았다. 불균형 차단 고안은 모든 대상체가 모든 용량 수준을 투여받는 것은 아니지만 모든 3개의 용량 수준이 이 방법으로 포함될 것이라는 것을 확실하게 하였다. 개체 투여 기간 사이에 충분한 세척 기간이 있었다.
- [0405] 종료점:
- [0406] 그렐린 스플라이스 변이체의 약력학: AUC_{0-t} , AUC , C_{max} , t_{max} , t , $C_{1/f}$, $V_{z/f}$, C_l , V_z , $t_{1/z}$
- [0407] MRT 약동학: GH: AUC , C_{max} 및 t_{max} 심장 박출량, 시장기의 평가, 음식/에너지 섭취, 음식 섭취와 관련된 즐거움의 정도, 체질량, 에너지 소모, DEXA.
- [0408] 안전성: 안전성 및 국소 허용성은 임상적 평가 (물리적 시험 및 생체 징후), 심전도 및 실험실 시험 (혈액화 및 임상적 화학)에 의한 연구를 통해 평가하였다.
- [0409] 시험 집단 및 힘 계산: 19 내지 26 kg/m²의 체질량 지수 (BMI)를 갖는 18세 내지 45세의 건강한 남성 대상체 (둘 모두 포함).
- [0410] 이 연구의 일차 목적은 정맥내 및 피하 투여를 통해 투여된 그렐린 스플라이스 변이체의 절대 생체이용율의 연구이다. 시험 기간의 감소 및 대상체 당 투여 횟수의 감소를 위해 불균형 차단 고안을 적용하였다. 용량 수준 당 절대 생체이용율의 통계적 분석 뿐만 아니라 용량 사이의 용량 선형성의 분석을 수행하는데 필요한 대상체의 수는 존재하는 문헌 데이터를 기준으로 계산하였다.
- [0411] 시험 생성물: 정맥내 및 피하 투여를 위한 그렐린 스플라이스 변이체
- [0412] 실시예 4
- [0413] 그렐린 수용체에 대한 기능 시험
- [0414] 10% 소 태아 혈청, 2 mM 글루타민 및 0.01 mg/ml 겐타마이신이 보충된 돌베코(Dulbecco) 변형된 이글(Eagle) 배지 1885에서 형질감염 및 조직 배양-COS-7 세포를 성장시켰다. 이전에 기재된 바와 같이 클로로퀸 첨가에 의한 인산칼슘 침전 방법을 사용하여 세포를 형질감염하였다 (문헌 [Holst B. et al., Mol. Pharmacol. 53:166-175 (1998)]). 유전자 용량 실험을 위해, 다양한 양의 DNA를 사용하였다. 최대 신호전달에서 얻어진 cDNA의 양 (20 μ g/75 cm²)을 용량 반응 곡선에 대해 사용하였다. 10% 소 태아 혈청, 2 mM 글루타민 및 0.01 mg/ml 겐타마이신이 보충된 고농도의 글루코스를 함유하는 D-MEM, 돌베코 변형된 이글 배지 31966에서 HEK-293 세포를 성장시켰다. 세포를 리포펙타민(Lipofectamine)TM 2000 (미국 캘리포니아주 칼스배드 소재의 인비트로젠 코포레이션(Invitrogen Corp.))으로 형질감염하였다.
- [0415] 포스파티딜이노시톨 턴오버: 형질감염 후 1일에, 웰 당 10% 소 태아 혈청, 2 mM 글루타민 및 0.01 mg/ml 겐타마이신이 보충된 배지 1 ml 중 [3H]-myo-이노시톨 (미국 뉴저지주 피스캐터웨이 소재의 지이 헬스케어) 5 μ Ci에 의해 24시간 동안 COS-7 세포를 인큐베이션하였다. 140 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM MgSO₄, 1 mM CaCl₂, 10 mM 글루코스, 0.05% (w/v) 소 혈청이 보충된 완충액 20 mM 헤페스 (pH 7.4)에서 세포를 2회 세척하고; 37 °C에서 30분 동안 10 mM LiCl이 보충된 완충액 0.5 ml에서 인큐베이션하였다. 37°C에서 45분 동안 여러 농도의 펩티드에 의한 자극 후, 세포를 10% 빙냉 과염소산에 의해 추출한 다음, 얼음 상에서 30분 동안 인큐베이션

선하였다. 얻어진 상등액을 헤페스 완충액에서 KOH에 의해 중화하고, 생성된 [3H]-이노시톨 포스페이트를 제조자의 지시사항에 따라 Bio-Rad AG 1-X8 음이온-교환 수지 (미국 캘리포니아주 헤르쿨레스 소재의 바이오-라드 레보러토리즈(Bio-Rad Laboratories)) 상에서 정제하였다. 이중으로 결정하였다.

[0416] CRE, SRE 및 NF- κ -B 리포터 분석: 96-웰 플레이트에 시딩된 HEK293 세포 (30,000개 세포/웰)를 일시적으로 형질감염하였다. CRE 리포터 분석의 경우, pFA2-CREB 및 pFR-Luc 리포터 플라스미드 (PathDetect CREB 트랜스-리포팅 시스템, 스트라타젠, 미국 캘리포니아주 라호야 소재) 또는 SRE-Luc (PathDetect SRE 시스템, 스트라타젠, 미국 캘리포니아주 라호야 소재) 및 지시된 양의 수용체 DNA의 혼합물에 의해 세포를 형질감염하였다. 형질감염 후, 실험에 걸쳐 낮은 혈청 (2.5%)에서 세포를 유지하고, 세포내 신호전달 경로의 억제제 각각에 의해 처리하였다. 형질감염 후 1일에, 5시간 동안 분석 부피의 100 μ l 배지에서 각 리간드에 의해 세포를 처리하였다. PBS에 의해 세포를 2회 세척하고, 루시퍼라제[®] 분석 시약 (루크라이트 (LucLite)[®], 미국 매사추세츠주 웰리슬리 소재의 퍼킨엘머, 인크.(PerkinElmer, Inc.)) 100 μ l를 첨가함으로써 분석을 종결시켰다. 5초 동안 탑카운터(TopCounter) (탑 카운트 NETT, 미국 코네티컷주 메리덴 소재의 패카드 인스트루먼트 컴파니(Packard Instrument Co.))에서 발광을 측정하였다. 발광 값은 상대적인 빛 단위 (RLU)로서 제공하였다.

[0417] MAP 키나제 분석: COS 7 세포 (시딩 밀도 150,000개 세포/웰)를 분석 플레이트에서 형질감염하였다. 형질감염 후 2일에, 지시된 농도의 리간드를 임의의 혈청이 없는 분석 배지에 첨가하고, 10분 동안 37°C에서 인큐베이션하였다. 배지의 제거 및 빙냉 PBS에 의한 2개의 세척 단계에 의해 반응을 종결시켰다. 세포를 샘플 완충액에서 용해하고, 문헌 [Laemmli U.K., Nature 227:680-85 (1970)]에 따라 10% SDS-PAGE 상에서 분리하였다. 단백질을 니트로셀룰로스 상으로 이동시키고, 마우스 모노클로날 항포스포-ERK1/2 항체 (미국 캘리포니아주 산타 크루즈 소재의 산타 크루즈 바이오테크놀로지, 인크.(Santa Cruz Biotechnology, Inc.))의 1:5000 희석물을 사용하여 웨스턴 블롯팅 분석을 수행하였다. 항-ERK 항체 (미국 캘리포니아주 산타 크루즈 소재의 산타 크루즈 바이오테크놀로지, 인크.)의 1:10000 희석물을 사용하여 총 ERK 단백질을 결정하였다. 블롯을 항-마우스 양고추냉이 퍼옥시다제-접합된 이차 항체에 의해 프로빙하고, 향상된 화학발광 시약 (미국 뉴저지주 피스캐터웨이 소재의 지이 헬스케어)을 사용하여 시각화하고, 농도계측 분석에 의해 정량하였다. 총 ERK1/2에 대한 포스포ERK1/2의 비율로서 데이터를 표현함으로써 단백질의 로딩에 따라 ERK1/2 인산화를 표준화하였다. 결과는 비-자극된 모의 형질감염된 세포에서 얻은 값의 퍼센트로서 표현하였다.

[0418] 실시예 5

[0419] 체중 증가 및 음식 소비에 대한 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체의 피하 투여의 효능

[0420] 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체 (20 μ g (도 1A 및 1B) 또는 180 μ g (도 2A 및 2B)) 또는 비히클 (1.6% 만니톨)을, n=10 (도 1A 및 1B) 또는 n=8 (도 2A 및 2B) 129Sv 수컷 마우스를 포함하는 군에게 피하 (SC) 경로를 통해 연속적인 14일 (도 1A 및 1B) 또는 연속적인 7일 (도 2A 및 2B) 동안 1일마다 1회 투여하였다. 전체 연구 기간에 걸쳐 어떠한 동물에서도 치사성이 나타나지 않았다. 전체 연구 기간에 걸쳐 어떠한 동물에서도 임상적 징후가 관찰되지 않았다. 모든 동물을 안락사 직전에 CO₂ 마취 하에 말단 출혈로 처리하였다. 말단 혈액 수집을 군 당으로서가 아니라 동물수 당으로서 일련으로 수행하였다.

[0421] 생화학: 생화학 분석을 위한 혈액을 비-코팅된 예비표지된 튜브로 수집하였다. 튜브를 예비표지하고, 하기 정보를 포함시켰다: 연구 번호, 군 번호, 동물 번호 및 일자. 응혈 후, 동물 각각으로부터의 혈액을 원심분리하고, 혈청을 2개의 예비표지된 튜브에 수집하고, 하기와 같이 분석을 위해 제출하였다: 혈청 250 μ l를 분석까지 2 내지 8°C에서 유지시켰다. 샘플을 히타치(Hitachi) 917 시스템을 사용하여 하기 나열된 시험으로 처리하였다: 크레아티닌, 총 빌리루빈, 글루코스, 트리글리세리드, 콜레스테롤, HDL, LDL, 총 단백질, 글로불린, 알부민, 우레아, 칼슘, 인, 칼슘, 나트륨, 클로라이드, sGOT, sGPT, ALP.

[0422] 요검사: 안락사 전에 및/또는 후에 뇨를 모든 동물 (가능하다면)로부터 예비표지된 튜브 (상기와 같음)로 수집하였다. 모든 생존 동물에 대해, 뇨 수집을 군 당으로서가 아니라 동물수 당으로서 일련으로 수행하였다. 하기 나열된 시험을 수행하기 위해 가능한 최대량을 얻도록 시도하였다. 뇨 샘플에 적용되는 상업적 시험 막대 (바이엘(Bayer), 멀티스틱스(Multistix)[®] 10SG)를 사용하고, 하기 파라미터를 평가하여 요검사를 수행하였다: 글루코스, 케톤, pH 값, 백혈구, 혈액, 밀도, 니트라이트, 빌리루빈, 우로빌리노젠 및 단백질.

[0423] 부검 절차 및 거시적 시험: 모든 동물을 완전히 상세한 부검으로 처리하였다. 모든 생존 동물에 대해, 부검을 군 당으로서가 아니라 동물수 당으로서 일련으로 수행한 직후, 예정된 말단 출혈로 처리하였다.

부검에서, 철저한 시험을 수행하고, 조직 및/또는 기관의 임의의 비정상성 또는 육안의 병리적 변화를 관찰하고 기록하였다.

[0424] 기관/조직 수집: 하기 기관 및 조직을 절제하고, 부착된 지방 및 다른 연결 조직의 절제 및 제거 후 가능한 빨리 습윤상태에서 중량을 측정하였다: 뇌, 간, 신장, 위, 췌장, 폐, 비장, 심장, 부고환 WAT, 후복막 WAT, 견갑간 BAT. 하나의 동물로부터 모든 기관을 하기 정보로 예비표지된 하나의 용기로 수집하였다: 연구 번호, 군 번호, 동물 번호 및 일자.

[0425] 신체 조성 평가: 체지방량 또는 체지방량의 변화의 분석을 위해 치료 NMR의 첫번째 날 및 마지막 날의 조성을 사용하였다 (도 4).

[0426] 결과: 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체-처리된 129Sv 마우스의 누적 체중 증가는 비히클-처리된 대조군 (각각 2.2 g 및 0.7 g)보다 유의하게 높았다 ($p = 6E^{-05}$). 도 1A를 참조한다. 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체-처리된 129Sv 마우스의 누적 음식 소비는 비히클-처리된 대조군 (각각 53.2 g 및 47.21 g)보다 유의하게 높았다 ($p = 0.04$). 도 1B를 참조한다. 전체 연구 기간에 걸쳐 어떠한 시험 동물 중에서도 치사성 발병을 및 치료에 대한 반응에서 명백한 임상적 징후로서 증거가 주목되지 않았다. 상기 연구 결과를 기초로, 인간 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체는 체중 증가 및 음식 소비를 유의하게 촉진시켰다.

[0427] 실시예 6

[0428] GH 방출에 대한 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체의 피하 투여의 효과

[0429] 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체 (20 μ g) 또는 비히클 (1.6% 만니톨)을 5마리의 마우스 각각에게 피하 볼루스 주사 (0.3 μ mol/kg에 상응함)에 의해 투여하였다. 주사후 10분 및 20분에 혈액을 샘플링하였다. 혈청 샘플을 -70°C에서 저장하고, DSL-10-72100 ACTIVE® 마우스/랫 성장 호르몬 ELISA 키트 (미국 텍사스주 웹스터 소재의 디아그노스틱 시스템즈 레보로터리즈, 인크.(Diagnostic Systems Laboratories, Inc.))에 의해 분석하였다.

[0430] 결과: 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체 또는 비히클의 피하 투여후 10분에 혈청 성장 호르몬 농도는 비히클 군과 비교하여 그렐린 스플라이스 변이체 군에서 2 내지 14배 높았다 (도 3 참조).

[0431] 실시예 7

[0432] 랫로의 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체 거리계의 약리학

[0433] 각각 0.1, 0.5 및 2 mg/ml의 농도에 상응하는 0.5, 2.5 및 10 mg/kg의 3개의 용량 수준, 및 5 ml/kg의 일정한 부피 투여량에서 그렐린 스플라이스 변이체의 피하 투여를 수행하였다. 0.1 mg/ml의 농도에 상응하는 0.5 mg/kg의 1개의 용량 수준, 및 5 ml/kg의 일정한 부피 투여량에서 정맥내 주사를 수행하였다. 연구는 용량 수준 및 투여 경로 당 9마리의 수컷 및 9마리의 암컷 스프라그-다울리(Sprague-Dawley)™ (SD™) 래트를 포함하였다.

[0434] 출혈 샘플링 고안은 각각 용량 수준에 대해 9개의 출혈 시점으로 한정하였다: 투여전, 투여후 5분, 15분, 30분, 60분 및 90분, 3시간, 5시간 및 24시간. 군 각각을 3개의 하위군으로 분배하였으며, 각 하위군에게는 3개의 개체 샘플/시점/군 (총 27개의 개체 샘플/군)을 수용하기 위해, 3개의 특정 출혈 시점을 부여하였다. 연구의 개시에서 평균 군 체중 값은 모든 군 중에서 유사하였으며, 성별 당 평균 체중의 $\pm 20\%$ 를 초과하지 않았다. 전체 혈액 샘플을 혈액 수집의 시점부터 원심분리의 시점까지 얼음에서 유지하였다. 얻어진 혈장 샘플은 액체 질소에서 플래시 건조시키고, -70°C로 제거까지 건조 얼음에서 유지하였다.

[0435] 혈장 중 시험 항목의 농도를 LC/MS/MS (액체 크로마토그래피/질량분석법/질량분석법)에 의해 결정하였다. 그렐린 스플라이스 변이체의 약리학 분석은 컴퓨터 소프트웨어 "PK 솔루션스 2.0" (미국 콜로라도주 소재의 서미트 리써치 서비스(Summit Research Services))의 사용에 의해 제조된, 비-구획 약리학 분석에 의해 얻은 바와 같이, 용량 군 각각에 대한 평균 혈장 농도 시간 프로파일을 기초로 하였다.

[0436] SC 경로를 위한 약리학 분석은 $AUC_{0-\infty}$ 값이 저용량 (각각 6.1 및 5.2 mcg $\cdot$ min/ml) 및 중용량 (각각 18.8 및 20.8 mcg $\cdot$ min/ml)이 투여된 수컷 및 암컷에서 유사하다는 것을 나타내었다. 고용량에서, 암컷의 AUC 값은 수컷의 값 (79.2 mcg $\cdot$ min/ml)보다 실질적으로 낮았다 (49.1 mcg $\cdot$ min/ml). T_{max} 는 모든 용량 군에 대해 투여후 5분에서 나타났다. $T_{1/2}$ 값은 수컷 래트에 대해 17.4 내지 26.4분의 범위이고, 암컷 래트에 대해 10.7 내

지 28.9분의 범위이었다.

[0437] 실시예 8

[0438] 래트에서 독성에 대한 아실화된 그렐린 스피라이스 변이체의 단일 용량 급성 피하 투여의 효과

[0439] 아실화된 그렐린 스피라이스 변이체 (2.5; 15 및 75 μg) 또는 비히클 (염수)을 n=6 스프라그-다울리™ (SD™) 래트를 포함하는 군에게 피하 (SC) 경로를 통해 1회 투여하였다. 전체 연구 기간에 걸쳐 어떠한 동물에서도 치사성이 나타나지 않았다. 전체 연구 기간에 걸쳐 어떠한 동물에서도 임상적 징후가 관찰되지 않았다. 모든 동물을 안락사 직전에 CO₂ 마취하에 말단 출혈로 처리하였다.

[0440] 임상적 징후:

[0441] 투여후 처음 30분 동안 1회 이상, 처음 4시간 동안 특별한 주의를 기울여, 처음 24시간 동안 주기적으로 동물을 개별적으로 관찰하고, 임상적 징후를 기록하였다. 그 후, 동물을 검사하고, 임상적 징후를 총 14일 동안 1일마다 1회 기록하였다. 관찰은 피부, 털, 눈, 점막, 분비 및 배설 (예를 들어, 설사)의 발생 및 자율신경 활성 (예를 들어, 눈물흘림, 침흘림, 털세움, 동공 크기, 비정상적 호흡 패턴)의 변화를 포함하였다. 보행, 자세 및 취급에 대한 반응의 변화, 뿐만 아니라 괴이한 행동, 진전, 경련, 수면 및 혼수의 존재를 또한 포함하였다.

[0442] 체중:

[0443] 그렐린 스피라이스 변이체 투여 (0일), 투여후 2, 7 및 14일 직전에 동물의 개체 체중을 결정하였다. 공복 체중 측정은 부검 직전에 수행하였다.

[0444] 임상적 병리상태:

[0445] 예정된 안락사 전에 모든 생존 동물로부터 하기 나열된 혈액학, 생화학 및 응고 파라미터를 결정하였다.

[0446] 혈액학: 밤새 음식 박탈 후에 혈액 샘플을 얻었다. 혈액 샘플 (전체 혈액의 500 μL 이상)을 하기 정보를 포함하는 예비표지된 EDTA 코팅된 튜브로 수집하였다: 연구 번호, 군 번호, 동물 번호 및 일자. 샘플을 2 내지 8℃에서 분석할 때까지 유지하였다. ADVIA 120 혈액학 시스템 (바이엘)을 사용하여 시험된 혈액학 파라미터는 WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, 혈소판, 시차 계수이었다. 망상적혈구를 수동으로 계수하였다.

[0447] 생화학: 생화학 분석을 위한 혈액을 비-코팅된 예비표지된 튜브로 수집하였다. 튜브를 예비표지하고, 하기 정보를 포함시켰다: 연구 번호, 군 번호, 동물 번호 및 일자. 응혈 후, 동물 각각으로부터의 혈액을 원심분리하고, 혈청 300 μL 를 2개의 예비표지된 튜브에 수집하고, 분석까지 2 내지 8℃에서 유지시키면서 분석을 위해 제출하였다. 샘플을 히타치 MODULAR P-800 시스템을 사용하여 하기 나열된 시험으로 처리하였다: 크레아티닌, 칼슘, 글루코스, 콜레스테롤, 총 단백질, 글로불린, LDH, 칼륨, 아스파르테이트, 아미노트랜스퍼라제 (AST), CPK, 인, 우레아, 알부민, 총 빌리루빈, 알라닌, 아미노트랜스퍼라제 (ALT), 나트륨, γ -글루타밀 트랜스펩티다제 (GGT), 클로라이드, 트리글리세리드, 고밀도 지단백질 (HDL), 저밀도 지단백질 (LDL), 알칼리 포스파타제 (ALP).

[0448] 응고 파라미터: 응고 분석을 위한 혈액을 안와후 동 출혈에 의해 시트르산삼나트륨 코팅된 튜브로 CO₂ 마취하에 수집하였다. 혈액 수집의 완료 후, 모든 혈액 및 혈청 샘플을 추가 분석까지 2 내지 8℃에서 유지시켰다. 샘플을 시스맥스(Sysmex) CA-1500 시스템을 사용하여 하기 나열된 시험으로 처리하였다: PT, APTT.

[0449] 요검사:

[0450] 예정된 연구 종결전에 또는 동물 복지 이유로 연구로부터 제거하는 경우 희생시키기 전에, 방광에 걸친 복부 구역을 가압함으로써, 또는 배뇨된 뇨를 수집함으로써, 이와 달리 방광천자에 의해 방광으로부터 직접 수집함으로써, 배뇨된 뇨의 개체 샘플을 모든 동물 (가능하다면)로부터 수집하였다. 뇨 샘플의 배뇨에 적용되는 상업적 시험 키트 (바이엘 멀티스틱스® 10 SG)를 사용하고, 하기 파라미터를 평가하여 분석을 수행하였다: 글루코스, 케톤, pH, 백혈구, 혈액, 밀도, 니트라이트, 빌리루빈, 우로빌리노겐 및 단백질.

[0451] 부검 절차 및 거시적 시험:

[0452] 예정된 안락사 후 육안 부검으로 모든 동물을 처리하였다. 부검에서, 모든 동물을 신체의 외부 표면, 모든 구멍, 두개강, 흉강 및 복강 및 그의 내용물을 비롯하여, 철저한 시험으로 처리하였다. 조직 및/또는 기관의 임의의 비정상성 또는 육안의 병리적 변화를 관찰하고 기록하였다. 육안의 병리적 비정상성이 주사 부위에

또는 주사 부위 근처에 위치된 외부 신체 표면 상에 발병한 경우를 주목하였다. 거시적 비정상성을 비롯한 하기 조직 및/또는 기관을 4% 포르말데히드 용액에서 보존하였다: 부신, 흉대동맥, 뇌, 맹장, 결장, 십이지장, 부고환, 눈, 하더선(Harderian gland), 심장, 대퇴골 및 무릎 관절, 회장, 공장, 신장, 눈물샘, 간, 폐, 림프절 - 표재 자궁경부, 림프절 - 창자간막, 유선 + 피부, 식도, 시신경, 난소, 췌장, 뇌하수체, 전립선, 직장, 타액선, 좌골 신경, 정낭, 골격근 (넓적다리), 피부 - 주사 부위, 비장, 척수 (자궁경부, 흉부, 허리), 흉골 (골수), 위, 고환, 흉선, 갑상선 (가능하다면 부갑상선 포함), 혀, 기관, 방광, 자궁경부, 질이 있는 자궁.

[0453] 기관/조직 중량측정 및 기관/조직 고정:

[0454] 기관/조직 중량측정 및 고정을 모든 동물에 대해 수행하였다. 상기 나열된 기관을 부착된 지방 및 연결 조직의 절개 및 제거 후 가능한 빨리 습윤상태에서 중량을 측정하였다 (대립 기관의 경우, 개체 체중을 결정하나, 평균 기관 체중으로서 제공함). 그 후, 모든 기관/조직을 고정하고, 조직 전달 전에 48시간 이상의 고정 기간 동안 4% 포르말데히드 용액에서 (데이비드슨 용액에 고정된 눈, 시신경 및 하더선을 제외함) 보존하였다. 또한, 육안의 거시적 변화가 있는 임의의 다른 기관/조직을 4% 포르말데히드 용액에 마찬가지로 보존하였다. 동물 당 기관/조직을 용기 각각이 연구 번호, 군 번호, 동물 번호 & 부검 일자에 의해 확인되는 플라스틱 용기에 패키징하였다. 단일 대퇴골로부터 골수를 얻고, 적절한 도말을 위해 소 태아 혈청에 의해 습윤화하고, 제 2 유리 슬라이드를 사용하여 깨끗하고 표지된 유리 슬라이드 상에 도말하였다. 그 후, 슬라이드를 개방 공기에 방치하여 건조시키고, 적절한 고정을 위해 약 5분 동안 메탄올에 침지하였다. 2개 이상의 슬라이드/동물을 제조하였다.

[0455] 결과: 전체 연구 기간에 걸쳐 어떠한 시험 동물에서도 치사성 발병률 및 치료에 대한 반응에서 명백한 임상적 징후로서 증거가 주목되지 않았다.

[0456] 실시예 9

[0457] 미니피그에서 독성 및 독성동역학에 대한 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체의 단일 용량 급성 피하 투여의 효과

[0458] 허용되지 않는 독성을 유발하는 최고 용량 또는 최대 가능한 용량 (MFP)을 나타내는 최대 허용 용량 (MTD)의 확립을 위해, 예비 시험 군의 2마리의 미니피그 Siwine/HsdScr:Sinclair에게 최대 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체 75 mg/kg까지 점진적인 용량을 투여하였다. 예비 시험에서 관찰된 효과를 기초로, 적절하게 선택된 최고 단일 용량을 선택하고, 피하 (SC) 경로를 통해 주요 연구 동물에게, n=2 미니피그를 포함하는 군에게 투여하였다. 생물분석 분석을 위한 1일(투여일)에 혈액 샘플을 총 9개의 시점에서 수집하였다: '0' - 시험전 기준선, 투여후 5분, 15분, 30분, 60분, 90분, 3시간, 5시간 및 24시간. 표준 PK 파라미터 (C_{max} , T_{max} , $T_{1/2}$, AUC)의 데이터 평가를 얻었다. 추가 14일 관찰 기간 동안 미니피그를 추가로 관찰하였다.

[0459] 모든 약력학 파라미터를 얻었으며, 전체 연구 기간에 걸쳐 어떠한 동물에서도 치사성이 나타나지 않았다. 전체 연구 기간에 걸쳐 어떠한 동물에서도 임상적 징후가 관찰되지 않았다. 모든 동물을 안락사 직전에 CO₂ 마취 하에 말단 출혈을 처리하였다.

[0460] 임상적 징후:

[0461] 투여후 처음 30분 동안 1회 이상, 처음 4시간 동안 특별한 주의를 기울여, 처음 24시간 동안 주기적으로 동물을 개별적으로 관찰하고, 임상적 징후를 기록하였다. 그 후, 동물을 검사하고, 임상적 징후를 총 14일 동안 1일마다 1회 기록하였다. 관찰은 피부, 털, 눈, 점막, 분비 및 배설 (예를 들어, 설사)의 발생 및 자율신경 활성 (예를 들어, 눈물흘림, 침흘림, 털세움, 동공 크기, 비정상적 호흡 패턴)의 변화를 포함하였다. 보행, 자세 및 취급에 대한 반응의 변화, 뿐만 아니라 괴이한 행동, 진전, 경련, 수면 및 혼수의 존재를 또한 포함하였다.

[0462] 체중:

[0463] 시험 항목 투여 (0일), 투여후 2, 7 및 14일 전에 동물의 개체 체중을 결정하였다. 공복 체중 측정은 부검 직전에 수행하였다. 사체의 경우, 사망에 가능한 근접하여 체중을 결정하였다.

[0464] 임상적 병리상태:

[0465] 예정된 안락사 전에 모든 생존 동물로부터 하기 나열된 혈액학, 생화학 및 응고 파라미터를 결정하였다.

- [0466] 혈액학: 밤새 음식 박탈 후에 혈액 샘플을 얻었다. 혈액 샘플 (전체 혈액의 500 μ l 이상)을 하기 정보를 포함하는 예비표지된 EDTA 코팅된 튜브로 수집하였다: 연구 번호, 군 번호, 동물 번호 및 일자. 샘플을 2 내지 8℃에서 전달 및 분석까지 유지하였다. ADVIA 120 혈액학 시스템 (바이엘)을 사용하여 시험된 혈액학 파라미터는 WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, 혈소판, 시차 계수이었다. 망상적혈구를 수동으로 계수하였다.
- [0467] 생화학: 생화학 분석을 위한 혈액을 비-코팅된 예비표지된 튜브로 수집하였다. 튜브를 예비표지하고, 하기 정보를 포함시켰다: 연구 번호, 군 번호, 동물 번호 및 일자. 응혈 후, 동물 각각으로부터의 혈액을 원심분리하고, 혈청 300 μ l 이상을 2개의 예비표지된 튜브에 수집하고, 분석까지 2 내지 8℃에서 유지시키면서 분석을 위해 제출하였다. 샘플을 히타치 MODULAR P-800 시스템을 사용하여 하기 나열된 시험으로 처리하였다: 크레아티닌, 칼슘, 글루코스, 콜레스테롤, 총 단백질, 글로불린, LDH, 칼륨, 아스파르테이트, 아미노트랜스퍼라제 (AST), CPK, 인, 우레아, 알부민, 총 빌리루빈, 알라닌, 아미노트랜스퍼라제 (ALT), 나트륨, γ -글루타미트 트랜스펩티다제 (GGT), 클로라이드, 트리글리세리드, 고밀도 지단백질 (HDL), 저밀도 지단백질 (LDL), 알칼리 포스파타제 (ALP).
- [0468] 응고 파라미터: 응고 분석을 위한 혈액을 안와후 동 출혈에 의해 시트르산삼나트륨 코팅된 튜브로 CO₂ 마취하에 수집하였다. 혈액 수집의 완료 후, 모든 혈액 및 혈청 샘플을 추가 분석까지 2 내지 8℃에서 유지시켰다. 샘플을 시스맥스 CA-1500 시스템을 사용하여 하기 나열된 시험으로 처리하였다: PT, APTT.
- [0469] 요검사: 예정된 연구 종결전에 또는 동물 복지 이유로 연구로부터 제거하는 경우 희생시키기 전에, 방광에 걸친 복부 구역을 가압함으로써, 또는 배뇨된 뇨를 수집함으로써, 이와 달리 방광천자에 의해 방광으로부터 직접 수집함으로써, 배뇨된 뇨의 개체 샘플을 모든 동물 (가능하다면)로부터 수집하였다. 뇨 샘플의 배뇨에 적용되는 상업적 시험 키트 (바이엘 멀티스틱스® 10 SG)를 사용하고, 하기 파라미터를 평가하여 분석을 수행하였다: 글루코스, 케톤, pH, 백혈구, 혈액, 밀도, 니트라이트, 빌리루빈, 우로빌리노젠 및 단백질.
- [0470] 부검 절차 및 거시적 시험:
- [0471] 예정된 안락사 후 육안 부검으로 모든 동물을 처리하였다. 부검에서, 모든 동물을 신체의 외부 표면, 모든 구멍, 두개강, 흉강 및 복강 및 그의 내용물을 비롯하여, 철저한 시험으로 처리하였다. 조직 및/또는 기관의 임의의 비정상성 또는 육안의 병리적 변화를 관찰하고 기록하였다. 육안의 병리적 비정상성이 주사 부위에 또는 주사 부위 근처에 위치한 외부 신체 표면 상에 발병한 경우를 주목하였다. 거시적 비정상성을 비롯한 하기 조직 및/또는 기관을 4% 포름알데히드 용액에서 보존하였다: 부신, 흉대동맥, 뇌, 맹장, 결장, 십이지장, 부고환, 눈, 하더선, 심장, 대퇴골 및 무릎 관절, 회장, 공장, 신장, 눈물샘, 간, 폐, 림프절 - 표재 자궁경부, 림프절 - 장간막, 유선 + 피부, 식도, 시신경, 난소, 췌장, 뇌하수체, 전립선, 직장, 타액선, 좌골 신경, 정낭, 골격근 (넓적다리), 피부 - 주사 부위, 비장, 척수 (자궁경부, 흉부, 허리), 흉골 (골수), 위, 고환, 흉선, 갑상선 (가능하다면 부갑상선 포함), 혀, 기관, 방광, 자궁경부, 질이 있는 자궁.
- [0472] 기관/조직 중량측정 및 기관/조직 고정:
- [0473] 기관/조직 중량측정 및 고정을 모든 동물에 대해 수행하였다. 상기 나열된 기관을 부착된 지방 및 연결 조직의 절개 및 제거 후 가능한 빨리 습윤상태에서 중량을 측정하였다 (대립 기관의 경우, 개체 체중을 결정하나, 평균 기관 체중으로서 제공함). 그 후, 모든 기관/조직을 고정하고, 조직 전달 전에 48시간 이상의 고정 기간 동안 4% 포름알데히드 용액에서 (데이비드슨 용액에 고정된 눈, 시신경 및 하더선을 제외함) 보존하였다. 또한, 육안의 거시적 변화가 있는 임의의 다른 기관/조직을 4% 포름알데히드 용액에 마찬가지로 보존하였다. 동물 당 기관/조직을 용기 각각이 연구 번호, 군 번호, 동물 번호 & 부검 일자에 의해 확인되는 플라스틱 용기에 패키징하였다. 단일 대퇴골로부터 골수를 얻고, 적절한 도말을 위해 소 태아 혈청에 의해 습윤화하고, 제 2 유리 슬라이드를 사용하여 깨끗하고 표지된 유리 슬라이드 상에 도말하였다. 그 후, 슬라이드를 개방 공기에 방치하여 건조시키고, 적절한 고정을 위해 약 5분 동안 메탄올에 침지하였다. 2개 이상의 슬라이드/동물을 제조하였다.
- [0474] 결과: 전체 연구 기간에 걸쳐 어떠한 시험 동물에서도 치사성 발병률 및 치료에 대한 반응에서 명백한 임상적 징후로서 증거가 주목되지 않았다.
- [0475] 실시예 10
- [0476] 래트/개/미니피그에서 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체의 7일, 10일, 28일 또는 3개월, 6개월, 9개월 반복

용량 피하 투여의 실시예

[0477] 여러 용량 (100 μ l 비히클 중 0.2, 1.0 및 5 μ mol/kg)의 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체 또는 비히클 (염수)를 여러 길이의 연속적인 일 (7일, 10일, 28일 또는 3개월, 6개월, 9개월) 동안 1일마다 1회 피하 (SC) 경로를 통해 약액질이 있는 n=10 래트 또는 비글 개 또는 인간 대상체를 포함하는 군에게 투여하였다. 음식 섭취, 체중 증가 및 자발적 운동 활성을 주사후 20시간 동안 측정하였다.

[0478] 실시예 11

[0479] 환자 삶의 질을 평가하는 일기/질문서의 실시예

[0480] A) EORTC QLQ-C30 (문헌 [Aaronson et al., J. Natl. Cancer Inst. 85: 365-76 (1993)]), 국립보건원 웹사이트를 참조하고, 예를 들어, EORTC 웹사이트 상에서 이용가능한 EORTC QLQ-C30 (버전 3.0)의 표본을 참조한다 (본원에 참고로 도입됨).

[0481] 우리는 당신과 당신의 건강에 관한 정보에 관심이 있습니다. 당신에게 가장 맞는 번호를 선택하여 하기 질문에 답하여 주시기 바랍니다. "옳은" 또는 "잘못된" 답은 없습니다. 이 정보는 비밀유지로 처리될 것입니다.

[0482] 질문: EORTC 웹사이트 상에서 이용가능한 EORTC QLQ-C30 (버전 3.0)의 표본을 참조한다 (본원에 참고로 도입됨).

[0483] 실시예 12

[0484] 본원에서 사용하기 위한 약학 조성물의 제조를 위한 적합한 제형의 실시예

[0485] 최종 농도 40 mg/ml를 성취하기 위해 주사용수에 D-만니톨을 용해함으로써 4% 만니톨 용액을 제조하였다. 4% 만니톨 용액 10 ml에 TFA 염 또는 아세테이트 (5 mg)의 그렐린 스플라이스 변이체를 용해함으로써 그렐린 스플라이스 변이체 스톱 용액을 제조하고, 분취액으로 분배하고, 사용시까지 동결상태를 유지하였다 (-70°C).

[0486] 그렐린 스플라이스 변이체 투여 용액: 투여일 각각에 시험 항목 각각의 요구량을 해동하고, 생리식염수로 농도 0.2 mg/ml까지 희석하였다.

[0487] 대조군 항목 투여 용액: 투여일 각각에 생리식염수로 그렐린 스플라이스 변이체 투여 용액과 동일한 비율로 4% 만니톨 용액을 희석함으로써 제조하였다.

[0488] 환자: 기록으로 입증된 암 약액질이 있는 환자 및 상기 기간에서 유의한 체중-손실 및 감소된 식욕을 갖는 기록으로 입증된 암 약액질이 있는 환자. 약액질은 예를 들어, 식도, 폐, 유방, 위, 췌장, 신경 및 요로, 골, 조혈계, 생식관, 외분비선, 내분비선, 다발성 내분비성 신생물, 고환, 전립선, 신장, 피부, 갑상선, 간 및 결장을 비롯한 임의의 유형의 암에 의해 유발될 수 있다.

[0489] 그렐린 스플라이스 변이체 작용의 효능은 임상적 평가에 따라 평가하였다:

[0490] (1) 급성 음식 섭취: 주입 도중에 영양학-평가된 음식 섭취.

[0491] (2) 만성 음식 섭취: 하루동안 소비된 음식의 양의 1일 보고, 및 음식 섭취와 관련된 즐거움의 평가. 이는 4일 식이 일기를 기준으로 요 질소 배설에 의해 확인하였다.

[0492] (3) 체중: 표준 및 눈금 척도를 병원에서 사용하였다.

[0493] (4) 휴식 에너지 소모 (REE)는 매우 중요한 측정치이며, 이는 질환 상태 및 신체 크기에 의해 영향을 받기 때문이다.

[0494] (5) 운동 시험: 악티그래프 웹사이트에 기재된 표준 프로토콜에 따라 악티그래프(Actigraph)를 사용하였다.

[0495] (6) 상기 기재된 바와 같은 표준 형태를 사용하는 건강-관련 QOL

[0496] (7) 부차적 임상적 평가:

[0497] (i) 뇨 중 질소 배설: 보고된 음식 섭취의 확인으로서 24시간 뇨 수집을 사용해야 했다.

[0498] (ii) 혈장 글루코스, 혈장 FFA, 혈장 트리글리세리드, 혈장 글리세롤 및 혈장 아미노산: 보고된 음식 섭취의 확인을 위해 측정된 혈장 기질은 음식 섭취의 흡수량에 따른 것이었다.

[0499] (iii) 신체 조성의 측정으로서 TSF 두께 및 중간팔 둘레에 의해 평가된 체지방량 및 지방량

- [0500] (iv) 총 체지방 (및 체지방)을 루나(lunar) DPX-L에 대한 소프트웨어 1.31 (스웨덴 헬싱보르그 소재의 스캔 엑스퍼트 메디칼(Scanexport Medical))을 사용하는 DEXA 스캔으로 평가하였다.
- [0501] (v) 혈장 렙틴: 렙틴은 지방 세포에 의해 생성되고 지방 세포로부터 분비된다. 렙틴의 혈장 수준은 총 지방 세포 존재량의 예상치를 제공하였다.
- [0502] (vi) 혈장 그렐린: 기초 그렐린 수준은 악액질 환자에서 증가하는 경향이 있었다.
- [0503] (vii) 혈장-GH: 이전 연구에서, GH는 그렐린 투여의 효과를 위한 대조군으로서 측정하였다 (문헌 [Enomoto M. et al., Clin. Sci. (Lond). 105:431-35 (2003)]).
- [0504] (viii) IGF-I: IGF-I의 단일 결정은 GH 분비의 24시간을 요약하였다. 이는 순환하는 IGF-I의 수준이 자발적 GH 분비와 상관관계를 나타내는 건강한 지원자에서 입증하였다 (문헌 [Rose S.R. et al., N. Engl. J. Med. 319:201-07 (1988)]). IGF-I는 또한 개선된 영양 상태에 의해 GH 증가와 독립적으로 증가할 수 있다.
- [0505] (ix) IGFBP-3: IGF-I에 대한 담체 단백질 중 하나. 이는 IGF-I와 평행하게 증가하나 더 느린 반응 속도로 증가한다.
- [0506] (x) 알부민: 영양 상태의 지표.
- [0507] (xi) 전알부민: 알부민보다 변경에 대한 더 빠르게 반응하는 영양 상태의 지표.
- [0508] (xii) 코르티솔: 그렐린 투여는 혈청 코르티솔 수준을 증가시키는 것으로 나타났다 (문헌 [Broglia F. et al., J. Clin. Endocrinol. Metab. 88:1537-42 (2003)]). 코르티코스테로이드는 유의한 항-오심 효과를 가지며, 무력증 및 통증 조절을 개선시키는 것으로 나타났으며, 이는 악액질 암 환자에게 이로울 수 있다. 그러나, 코르티솔은 악액질 암 환자에서 체중을 증가시키는 것으로 나타나지 않았다.
- [0509] (xiii) CRP 및 ESR: 급성기 단백질 및 ESR은 종종 암 프로세스와 관련된 전신성 염증의 양호한 지표이다 (문헌 [Inui A., CA Cancer J. Clin. 52:72-91 (2002)]).
- [0510] 실시예 13
- [0511] 암-관련 식욕감퇴/악액질이 있는 환자의 치료
- [0512] 식욕감퇴/악액질 증후군 (ACS)을 앓는 진행성 암이 있는 환자, 예컨대 임의의 유형의 진행성 악성 암이 있는 환자는 개선된 삶의 질, 증가된 식욕, 증가된 음식 섭취, 체중의 유지 또는 증가, 음식 즐거움, 및/또는 지방 침착의 측면에서 본원으로부터 이점을 얻을 것으로 여겨진다.
- [0513] 환자에게 10 μ g/kg 용량의 그렐린 스플라이스 변이체 및 플라시보를 피하 투여하였다. 밤새 공복 후 08.00 시에 프로토콜을 개시하였다. 혈액 샘플링을 위해 전주 정맥으로 22-게이지 카테터를 삽입하였다. 30분의 평형 기간 후, 그렐린 스플라이스 변이체 (10 μ g/kg) 또는 플라시보 (0.9% 염수)를 피하로 투여하였다.
- [0514] 연구적 치료: 그렐린 스플라이스 변이체는 스위스 소재의 바켄 아게(BACHEM AG) 또는 미국 소재의 네오엠펜에스 인크.(NeoMPS Inc.)로부터 제조된 10 μ g/kg의 바이알에 GMP-품질로 이용가능하였다. 플라시보는 생리식염수 (또는 연구 물질을 용해하는데 사용된 비히클)로 구성되었으며, 이는 병원 약국에 의해 제공되었다. 그렐린 스플라이스 변이체를 염수에 용해하고, 10 μ g/kg의 용량의 그렐린 스플라이스 변이체를 환자에게 투여하였다.
- [0515] 효능의 평가:
- [0516] (1) 식사 관련 증상: "식욕 및 악액질 치료요법의 기능 평가" (FAACT) 질문서; EORTC-QLQ-30 식욕감퇴/악액질 질문서 (예를 들어, EORTC 웹사이트에서 이용가능한 EORTC QLQ-C30 (버전 3.0)의 표본 (본원에 참고로 도입됨) 참조); NCCTG-식욕감퇴/악액질 질문서 (국립보건원 웹사이트 참조) 및/또는 에드몬톤(Edmonton) 증상 평가 척도 (문헌 [Bruera E et al., J. Palliat. Care 7:6-9 (1991)] 참조)의 적응된 버전을 사용하여 평가함.
- [0517] (2) 삶의 질: EORTC-QLQ-C30 질문서 (실시예 9 참조)를 사용하여 평가함.
- [0518] (3) 영양 섭취 및 음식 기호: 환자에 의해 각 식사마다 소비된 음식 제품의 퍼센트 계산에 의해 음식 섭취를 측정하고, 임상적 영양학은 그의 통상적인 평가의 부분으로서 음식 기호를 평가함.
- [0519] (4) 음식 즐거움: 확립된 앵커에 따라 시각적 아날로그 척도를 사용하여 점심후 평가함.

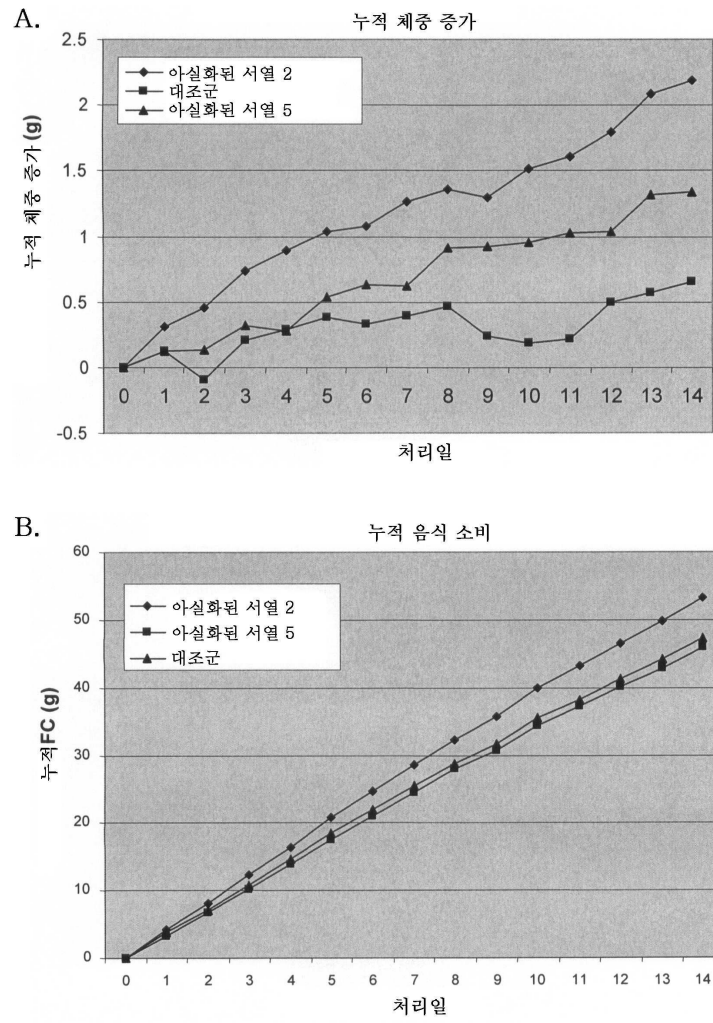
- [0520] (5) 지각된 식욕, 시장기, 오심 및 포만: 확립된 앵커에 따라 시각적 아날로그 척도를 사용하여 아침, 주입전, 및 점심전 및 점심후 평가함. 출원인은 또한 짧은 ad hoc 미각 질문서를 사용하였다.
- [0521] (6) 성장 호르몬 (GH): GH가 그렐린 주사 후 GH의 급속한 증가에 의해 그렐린의 생물학적 기능을 직접 반영하기 때문에, 출원인은 또한 그렐린과 동일한 시점에서 GH 수준을 모니터링하였다. 표준 그렐린 분석을 사용하였다.
- [0522] (7) 신체 조성: 신체 조성을 BMI, 생물임피던스 분석 및 이중 광자 흡수계측법/이중 에너지 x선 흡수계측법 (DEXA)에 의해 평가하였다.
- [0523] (8) 알부민 및 트라스페린 수준을 영양 상태에 대한 파라미터로서 결정하였다.
- [0524] (9) 심혈관 자율신경기능: 자율신경장애의 스크리닝을 위해, 20분 홀터(Holter) EKG를 수행하고, SDNN 값을 결정하였다.
- [0525] (10) 원발성 식욕감퇴/악액질 증후군의 매개인자: 프로염증 반응 (CRP, IL-6, TNF- α), 활성화된 대사 (유리 지방산, 트리글리세리드, 인슐린, 글루코스, 렙틴), 장-뇌 축 (그렐린), 및 체세포친화성 축 (IGF-1, 유리 테스토스테론)의 매개인자를 첫번째 주에 기준선으로서 결정하였다. 뇨 샘플을 단백질용해-유도 인자 (PIF), 부신생물 식욕감퇴/악액질 증후군의 매개인자의 평가를 위해 보존하였다.

도면의 간단한 설명

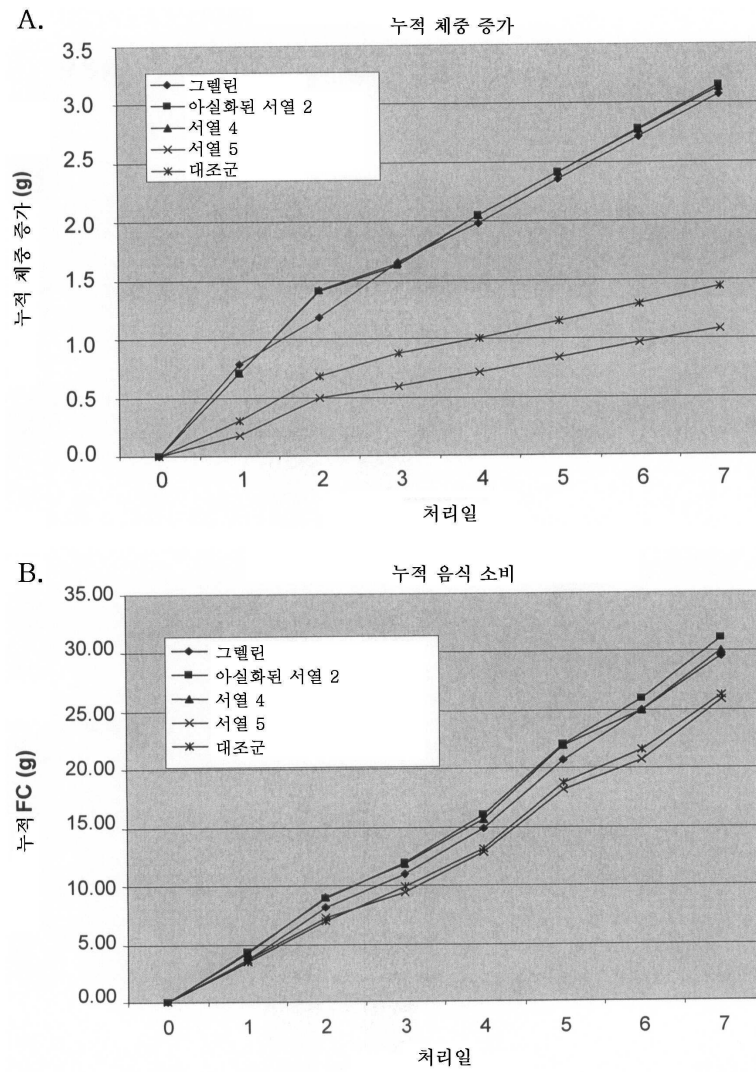
- [0035] 도 1A는 비히클-처리된 대조군과 비교하여, 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체-처리된 (서열 2 및 5) 129Sv 마우스의 누적 체중 증가를 나타내는 선 그래프이다. 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체는 수컷 야생형 마우스 (군 당 $n = 10$, $P = 0.0001$)에서 체중 증가를 유도한다. 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체 (0.8 mg/kg, 피하로)에 의해 2주 동안 1일마다 1회 처리된 마우스에서, 서열 2 군의 누적 체중 증가는 비히클-주사된 대조군 동물보다 3.4배 컸다. 아실화된 서열 5 군의 누적 체중 증가는 비히클-주사된 대조군 동물보다 2배 컸다. 도 1B는 비히클-처리된 대조군과 비교하여, 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체-처리된 (서열 2 및 5) 129Sv 마우스의 누적 음식 소비를 나타내는 선 그래프이다. 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체 처리는 야생형 마우스에서 음식 소비를 증가시켰다. 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체 (0.8 mg/kg, 피하로)에 의해 2주 동안 1일마다 1회 처리된 마우스는 비히클-주사된 대조군 동물 (군 당 $n = 10$, $P = 0.004$)보다 13% 더 먹었다.
- [0036] 도 2A는 비히클-처리된 대조군과 비교하여, 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체-처리된 (서열 2 및 4) 129Sv 마우스 및 비아실화된 서열 5의 누적 체중 증가를 나타내는 선 그래프이다. 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체는 수컷 야생형 마우스 (군 당 $n = 8$, $P = 0.0001$)에서 체중 증가를 유도한다. 아실화된 또는 비아실화된 그렐린 스플라이스 변이체 (7.2 mg/kg, 피하로)에 의해 7일 동안 1일마다 1회 처리된 마우스에서, 서열 2 및 서열 4 군의 누적 체중 증가는 비히클-주사된 대조군 동물보다 2.2배 컸다. 비아실화된 서열 5 군의 누적 체중 증가는 비히클-주사된 대조군 동물보다 25% 적었다. 도 2B는 비히클-처리된 대조군과 비교하여, 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체-처리된 (서열 2 및 4) 129Sv 마우스 및 비아실화된 서열 5의 누적 음식 소비를 나타내는 선 그래프이다. 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체 처리는 야생형 마우스에서 음식 소비를 증가시켰다. 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체 (7.2 mg/kg, 피하로)에 의해 7일 동안 1일마다 1회 처리된 마우스는 비히클-주사된 대조군 동물 (군 당 $n = 8$)보다 18% 더 먹었다. 서열 5 (7.2 mg/kg, 피하로)에 의해 7일 동안 1일마다 1회 처리된 마우스는 비히클-주사된 대조군 동물 (군 당 $n = 8$)보다 2% 덜 먹었다.
- [0037] 도 3은 비히클-투여된 대조군과 비교하여, 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체 (서열 2, 4, 5) 및 비아실화된 서열 5의 피하 투여 후 혈청 성장 호르몬 농도를 나타내는 막대 그래프이다. 야생형 마우스 (군 당 $n = 5$)에서 주사 후 10분 및 20분에 혈장 성장 호르몬에 대한 염수 또는 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체 (0.8 mg/kg, 피하로)의 효과를 나타낸다.
- [0038] 도 4는 비히클 및 그렐린-처리된 대조군과 비교하여, 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체-처리된 (서열 2 및 4) 129Sv 마우스 및 비아실화된 서열 5 처리된 마우스의 신체 조성의 변화를 나타내는 막대 그래프이다. NMR에 의해 측정된, 체지방량 및 체제지방량에 대한 염수, 그렐린 또는 아실화된 그렐린 스플라이스 변이체 (7.2 mg/kg, 피하로)에 의한 7일 동안 1일마다 피하 처리의 효과를 나타낸다.

도면

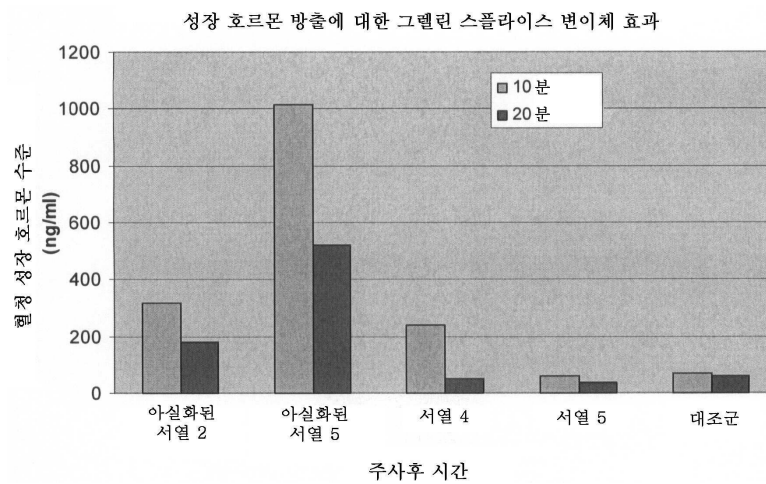
도면1



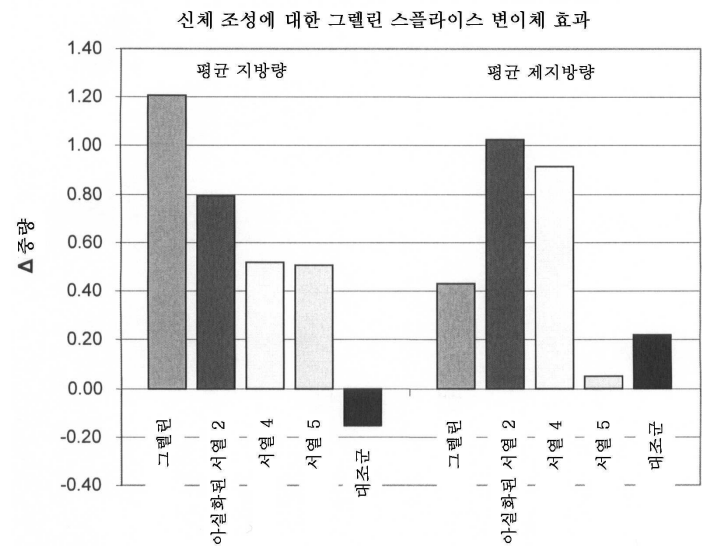
도면2



도면3



도면4



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> Mintz, Liat
- <120> Use of Ghrelin Spline Variant for Treating Cachexia and/or Anorexia and/or Anorexia/Cachexia and/or Malnutrition and/or Lipodystrophy and/or Muscle Wasting and/or Appetite-Stimulation
- <130> 28238-022
- <150> US 60/781,860
- <151> 2006-03-13
- <160> 8
- <170> PatentIn version 3.3
- <210> 1
- <211> 94
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 1

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Arg Val Gln Val Arg Pro
1 5 10 15

Pro His Lys Ala Pro His Val Val Pro Ala Leu Pro Leu Ser Asn Gln
20 25 30

Leu Cys Asp Leu Glu Gln Gln Arg His Leu Trp Ala Ser Val Phe Ser
35 40 45

Gln Ser Thr Lys Asp Ser Gly Ser Asp Leu Thr Val Ser Gly Arg Thr
50 55 60

Trp Gly Leu Arg Val Leu Asn Gln Leu Phe Pro Pro Ser Ser Arg Glu
65 70 75 80

Arg Ser Arg Arg Ser His Gln Pro Ser Cys Ser Pro Glu Leu
85 90

<210> 2
<211> 22
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Arg Val Gln Val Arg Pro
1 5 10 15

Pro His Lys Ala Pro His
20

<210> 3
<211> 24
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 3

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Arg Val Gln Val Arg Pro
1 5 10 15

Pro His Lys Ala Pro His Val Val
20

<210> 4
<211> 24
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa is Dpr

<400> 4

Gly Ser Xaa Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Arg Val Gln Val Arg Pro
1 5 10 15

Pro His Lys Ala Pro His Val Val
20

<210> 5
<211> 29
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 5

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Arg Val Gln Val Arg Pro
1 5 10 15

Pro His Lys Ala Pro His Val Val Pro Ala Leu Pro Leu
20 25

<210> 6
<211> 91
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 6

Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Arg Val Gln Val Arg Pro Pro His Lys
1 5 10 15

Ala Pro His Val Val Pro Ala Leu Pro Leu Ser Asn Gln Leu Cys Asp
20 25 30

Leu Glu Gln Gln Arg His Leu Trp Ala Ser Val Phe Ser Gln Ser Thr
35 40 45

Lys Asp Ser Gly Ser Asp Leu Thr Val Ser Gly Arg Thr Trp Gly Leu
50 55 60

Arg Val Leu Asn Gln Leu Phe Pro Pro Ser Ser Arg Glu Arg Ser Arg
65 70 75 80

Arg Ser His Gln Pro Ser Cys Ser Pro Glu Leu
85 90

<210> 7
<211> 181
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 7

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Ala Gln Val Ser Gln
1 5 10 15

Ser Val Ser Leu Ser Pro His Ile Tyr Pro Asp Leu Cys Val Cys Val
20 25 30

Arg Glu Arg Glu Arg Glu Pro Ser Phe Pro Phe Gln Gln Arg Lys Glu
35 40 45

Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg Ala Leu Glu Gly Trp
50 55 60

Leu His Pro Glu Asp Arg Gly Gln Ala Glu Glu Thr Glu Glu Glu Leu
65 70 75 80

Glu Ile Arg Val Cys Thr Gln Ala Pro Ala Cys Ser Tyr Asn Ser Lys
85 90 95

Gly Val Gly Val Trp Arg Val Ser His Met Leu Ala Phe Gln Ala Thr
100 105 110

Gln Gly Leu Glu Ser Ser Thr Asn Ser Ser Thr Arg Gly Ser Glu Ser
115 120 125

Pro Ser Gln Glu Val Thr Val Ser Arg Val Ala Arg Glu Gln Gln Thr
130 135 140

Cys Ala Gln Lys Thr Lys Gln Ile Glu Gly Ser Gln Glu Pro Gly Ser
145 150 155 160

Thr Asp Gly Tyr Arg Asn Arg Arg Lys Pro Cys Leu Ser Gln Asp Leu
165 170 175

Ser Gly Leu Pro Trp
180

<210> 8
<211> 90
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 8

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Ala Gln Val Ser Leu
1 5 10 15

Ser Pro Gln Val Pro His Leu Ser Trp Ser Val Val Cys Ser Phe Pro
20 25 30

Phe Gln Gln Arg Lys Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro
 35 40 45

Arg Ala Leu Glu Gly Trp Leu His Pro Glu Asp Arg Gly Gln Ala Glu
 50 55 60

Glu Ala Glu Glu Glu Leu Glu Ile Arg Val Gly Pro Arg Ala Pro Ala
 65 70 75 80

Tyr Ser Cys Asn Ser Lys Gly Phe Gly Val
 85 90