



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102292346 B

(45) 授权公告日 2015. 12. 02

(21) 申请号 201080005151. 6

(22) 申请日 2010. 01. 22

(30) 优先权数据

61/205, 750 2009. 01. 22 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2011. 07. 21

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2010/021872 2010. 01. 22

(87) PCT国际申请的公布数据

W02010/085700 EN 2010. 07. 29

(73) 专利权人 关键生物科学有限公司

地址 瑞士施坦斯

(72) 发明人 诺泽·M·梅赫塔 艾米·施蒂默尔

威廉·斯特恩 詹姆斯·P·吉利根

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司

11227

代理人 顾晋伟 彭鲲鹏

(51) Int. Cl.

C07K 14/585(2006. 01)

A61K 38/00(2006. 01)

(56) 对比文件

JP 2000290295 A, 2000. 10. 17, 序列 1.

CN 1980954 A, 2007. 06. 13,

CN 1120549 A, 1996. 04. 17, 全文.

CN 1424399 A, 2003. 06. 18, 全文.

审查员 蔡苗

权利要求书1页 说明书7页

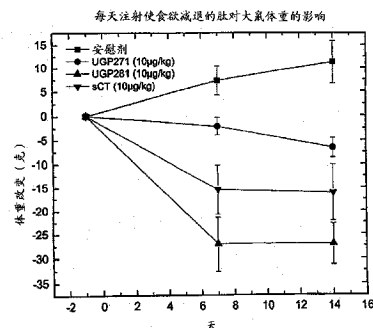
序列表7页 附图6页

(54) 发明名称

肥胖的治疗

(57) 摘要

本发明提供用于食欲抑制和体重控制的肽及其药物组合物。优选的肽为降钙素类似物, 优选具有特定氨基酸改变以使所述肽更像胰淀素。



当注射2周时, 肌肉内注射sCT或UGP281的大鼠表现出显著的体重减轻; 同时, 注射相同剂量UGP271的大鼠表现出适中的体重减轻。UGP281和UGP271具有相同的氨基酸序列, 只是UGP281的N-末端用乙酸酐乙酰化。

1. 一种肽,其氨基酸序列如 SEQ ID NO:1 所示:
CSNLSTCVLGKLSQELHKLQTYPRTX¹X²GX³NTY,
其中 X¹是天冬酰胺或天冬氨酸, X²是苏氨酸或缬氨酸,且 X³是丝氨酸或丙氨酸,
并且其中所述肽第 1 位半胱氨酸已被修饰以减少其正电荷。
2. 权利要求 1 的肽,其中残基 26 是天冬酰胺,且残基 29 是丝氨酸。
3. 权利要求 1 的肽,其中残基 27 是缬氨酸。
4. 权利要求 1 的肽,其氨基酸序列如 SEQ ID NO:3 所示。
5. 权利要求 1 的肽,其氨基酸序列如 SEQ ID NO:4 所示。
6. 权利要求 1 的肽,其氨基酸序列如 SEQ ID NO:12 所示。
7. 权利要求 1 的肽,其氨基酸序列如 SEQ ID NO:13 所示。
8. 权利要求 1 的肽,其氨基酸序列如 SEQ ID NO:14 所示。
9. 权利要求 1 至 8 中任一项的肽,其通过用乙酰基或丙酰基对 N 末端半胱氨酸进行取代对所述 N 末端半胱氨酸进行修饰以降低其正电荷。
10. 一种药物组合物,其包含权利要求 1 的肽以及药学可接受的赋形剂、稀释剂或载体。

肥胖的治疗

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2009 年 1 月 22 日由 Nozer M. Mehta 等提交的名为“肥胖的治疗”的美国临时申请序号 No. 61/205,750 的优先权,其公开内容通过引用并入本文。

[0003] 发明背景

技术领域

[0004] 本发明涉及抑制食欲的肽(和包含所述肽的药物组合物),及其在易感温血动物(包括人)中治疗和/或预防超重状态或肥胖的用途。具体来说,本发明涉及某些降钙素类似物。

背景技术

[0005] 超重状态或肥胖是多种疾病(例如心血管疾病、高血压和糖尿病)的公知风险因素。另外,个人外表在很多人的整体幸福中起重要作用。超重状态也可减少或限制个体参与期望体力活动的能力。

[0006] 通常的治疗和预防方案包括多种饮食(包括限制食物的饮食)、减肥方案和运动,这些方案提供不同程度的成功,但对很多人却尚未证实其是足够的。现有技术中已经尝试了很多药物组合物,有时具有显著的不良副作用。

[0007] 频繁伴随摄入减少而增加的天然食欲使得难以合意地减少食物摄入。这导致患者显著地不顺从涉及减少食物摄入的治疗方案。因此,现有技术中需要安全且有效的食欲抑制剂。

[0008] 已知降钙素抑制食欲,但降钙素是强大的骨抗重吸收剂(bone anti-resorptive agents)。因而,其作为食欲抑制剂的应用,因其对骨的作用而受到限制,使其不能理想地更一般地用于体重控制方案中。

[0009] 发明概述

[0010] 因此,本发明的一个目的是提供降钙素类似物,其保留显著的食欲抑制活性,但与降钙素相比却是较低强度的骨抗重吸收剂。

[0011] 本发明的另一个目的是提供用作食欲抑制剂的新肽(以及包含所述肽的药物组合物)。

[0012] 本发明的另一个目的是提供抑制食欲的方法。

[0013] 本发明的另一个目的是提供治疗和/或预防超重状态和/或肥胖的方法。

[0014] 在一个实施方案中,本发明提供氨基酸序列与鲑鱼或鳗鱼降钙素的氨基酸序列具有至少 84%一致性的肽,其中所述肽的至少一个氨基酸残基不同于鲑鱼和鳗鱼降钙素中的对应氨基酸残基,而与人胰淀素(amylin)的对应氨基酸残基相一致。

[0015] 在另一个实施方案中,本发明提供氨基酸序列与 SEQ ID NO:1 至少 93%一致的肽,其中所述肽不是鳗鱼或鲑鱼降钙素或者人胰淀素。

[0016] 在另一个实施方案中,本发明提供氨基酸序列与 SEQ ID NO:2 至少 93%一致的

肽,其中所述肽不是鳗鱼或鲑鱼降钙素或人胰淀素。

[0017] 在另一个实施方案中,本发明提供具有 SEQ ID NO :1 所示氨基酸序列的肽,其中

[0018] (i) 残基 26 可为天冬酰胺或天冬氨酸,

[0019] (ii) 残基 29 可为丝氨酸或丙氨酸,和

[0020] (iii) 残基 30 不是甘氨酸或者残基 32 不是脯氨酸。

[0021] 在另一个实施方案中,本发明提供具有 SEQ ID NO :3 所示氨基酸序列的肽。

[0022] 在另一个实施方案中,本发明提供具有 SEQ ID NO :4 所示氨基酸序列的肽。

[0023] 在另一个实施方案中,本发明提供具有 SEQ ID NO :2 所示氨基酸序列的肽,其中:

[0024] (i) 残基 25 可为天冬酰胺或天冬氨酸,

[0025] (ii) 残基 28 可为丝氨酸或丙氨酸,和

[0026] (iii) 残基 29 不是甘氨酸或者残基 31 不是脯氨酸。

[0027] 在另一个实施方案中,本发明提供具有 SEQ ID NO :3 所示氨基酸序列的肽,只是略去了 16 位的亮氨酸(因而产生 SEQ ID NO :5)。

[0028] 在另一个实施方案中,本发明提供具有 SEQ ID NO :4 所示氨基酸序列的肽,只是略去了 16 位的亮氨酸(因而产生 SEQ ID NO :6)。

[0029] 在另一个实施方案中,本发明提供具有 SEQ ID NO :7 所示氨基酸序列的肽。

[0030] 在另一个实施方案中,本发明提供具有 SEQ ID NO :8 所示氨基酸序列的肽。

[0031] 在另一个实施方案中,本发明提供具有 SEQ ID NO :12 所示氨基酸序列的肽。

[0032] 在另一个实施方案中,本发明提供具有 SEQ ID NO :13 所示氨基酸序列的肽。

[0033] 在另一个实施方案中,本发明提供具有 SEQ ID NO :14 所示氨基酸序列的肽。

[0034] 在另一个实施方案中,本发明提供一种药物组合物,其包含本文所述本发明任何肽以及药学可接受的赋形剂、稀释剂或载体。

[0035] 在另一个实施方案中,本发明提供治疗或预防超重状态或肥胖的方法,所述方法包括给需要这种预防或治疗的患者施用有效抑制食欲之量的本文所述本发明的任何肽(或其药物组合物)。

[0036] 在另一个实施方案中,本发明提供抑制食欲的方法,所述方法包括给需要这种抑制的患者施用有效量的本文所述本发明的任何肽(或其药物组合物)。

[0037] 在另一个实施方案中,本发明提供治疗糖尿病的方法,所述方法包括给需要这种治疗的患者施用治疗有效量的本文所述本发明的任何肽(或其药物组合物)。

[0038] 在另一个实施方案中,本发明提供治疗糖尿病的方法,所述方法包括给需要这种治疗的患者施用治疗有效量的本文所述本发明的任何肽(或其药物组合物)。

[0039] 有多种现有技术中公认的考虑多种因素(如性别、年龄和身高)的正常体重范围的标准。需要本文所示治疗或预防方案的患者包括体重超过公认标准的患者,或者因为遗传、环境因素或其它公认的风险因素,与一般人群相比,超重或肥胖之风险更高的人。根据本发明,还包括设想本发明可用于治疗糖尿病,其中体重控制是其治疗的一个方面。

[0040] 本文所使用的“百分比一致性(percent identity)”是指不考虑给定氨基酸是否被额外取代基(而非额外氨基酸)修饰的氨基酸序列。例如,用于此目的时,半胱氨酸被认为与乙酰半胱氨酸相一致。同样,用于此目的时,与其它半胱氨酸形成二硫键桥的半胱氨酸被认为与未形成这种桥的半胱氨酸相一致。“百分比一致性”也考虑肽大小的差异。例如,

(除了一个额外氨基酸)与 33 残基肽相一致的 34 残基肽,在本文中被认为与所述 33 残基肽具有 97%一致性。

[0041] 如本领域技术人员所理解,具有多个半胱氨酸残基的肽经常在两个半胱氨酸残基之间形成二硫键桥。本文中提出的所有的此类肽被定义为任选地包含一个或更多个这样的二硫键桥。

[0042] 现有技术中已知的肽如Davalintide和普兰林肽(Pramlintide)被排除在本发明保护范围之外。

[0043] 除非另有说明,本发明活性化合物用于治疗 and 预防目的的优选剂量是相同的。所需剂量在下文中更详细地讨论,并依施用方式而有所不同。

[0044] 除非另有注明或在上下文中显而易见,本文中剂量是指活性化合物的重量,不受药用赋形剂、稀释剂、载体或其它成分所影响,尽管如本文实施例中所示那样,希望包含这些附加成分。制药工业中经常用于递送肽活性剂的任何剂型(胶囊、片剂、注射剂等)也适用于本文,而术语“赋形剂”、“稀释剂”或“载体”包括本行业中一般与活性成分一起使用于这类剂型中的非活性成分。下文中更详细地讨论了优选的口服剂型,但不能认为这是施用本发明活性剂的惟一方式。

[0045] 通过如下参照附图对若干优选实施方案的非限制性描述,本发明的其他特征和优点会变得更加明显。

附图说明

[0046] 图1图解说明了来自生物测定的数据,所述生物测定比较了本发明肽 SEQ ID NO : 3 与重组鲑鱼降钙素的 cAMP 应答。

[0047] 图2图解说明了在比格犬研究中,相对于安慰剂和两种已知的食欲抑制剂,SEQ ID NO :3 所提供的对食物消耗的作用。

[0048] 图3图解说明了在比格犬研究中,相对于安慰剂和两种已知的食欲抑制剂,SEQ ID NO :3 对体重的作用。

[0049] 图4图解说明了,在测量与 T47D 细胞上降钙素受体之结合的测定中,与鲑鱼降钙素相比较,本发明三种肽的降钙素样特性。本发明的三种肽是 UGP269(SEQ ID NO :12)、UGP 271(SEQ ID NO :13) 和 UGP281(SEQ ID NO :14)。

[0050] 图5图解说明了,通过给大鼠每天注射相同剂量的安慰剂、UGP269(SEQ ID NO :12) 或 UGP 271(SEQ ID NO :13),在注射方案开始后第 7 和 14 天时大鼠的相对体重改变。

[0051] 图6图解说明了,通过给大鼠每天注射相同剂量的安慰剂、鲑鱼降钙素、UGP 271(SEQ ID NO :13) 或 UGP 281(SEQ ID NO :14),在注射方案开始后第 7 和 14 天时大鼠的相对体重改变。

[0052] 发明优选实施方案的详细描述

[0053] 本发明的优选肽与鲑鱼或鳗鱼降钙素具有显著的氨基酸一致性。优选地,与鳗鱼或鲑鱼降钙素至少 84%一致,在一些实施方案中可以高达 87%、90%、93%或 96%一致。优选地,相对于鲑鱼和鳗鱼降钙素,至少一个氨基酸被修饰,目的是降低本发明肽对骨的作用(相对于鲑鱼或鳗鱼降钙素对骨的作用)。

[0054] 在一些实施方案中,鲑鱼和鳗鱼降钙素第 16 位亮氨酸被缺失,由此产生了 31 个氨

基酸的肽。相对于天然的鲑鱼或鳗鱼降钙素,预计该缺失很可能理想地降低所产生肽结合肾和破骨细胞的能力。

[0055] 尽管本发明的肽可以以游离酸形式存在,优选将 C-末端氨基酸酰胺化。申请人预期这种酰胺化能够有助于所述肽的有效性和/或生物利用度。

[0056] 在一些优选实施方案中,本发明的肽,无论其是否包含鲑鱼或鳗鱼降钙素的亮氨酸-16,在第1-5位可以具有不同于鲑鱼和鳗鱼降钙素之对应氨基酸的氨基酸。本文所用表述“鲑鱼或鳗鱼降钙素的对应氨基酸”意为,鲑鱼或鳗鱼降钙素中与使用该表述之处所讨论本发明肽具有相同氨基酸位置编号(相对于其氨基末端)的氨基酸残基,但该表述被用于亮氨酸-16缺失的实施方案除外,在这种情况下,在本发明的肽中任何位置编号超过15时,鲑鱼或鳗鱼降钙素的“对应”氨基酸编号比本发明肽的编号高出一个位置。

[0057] 本发明肽不同于鳗鱼和鲑鱼降钙素的优选位置是,例如,第8、11、27、30和32位。在亮氨酸-16已缺失的本发明肽中,相对于天然鲑鱼或鳗鱼降钙素,前述优选的改变位置是第8、11、26、29和/或31位(对应于天然鲑鱼或鳗鱼降钙素的第8、11、27、30和/或32位)。在这些优选位置或其他位置的一个或多个改变,被认为降低所述肽本来对骨所具有的作用,在与食欲抑制和/或对超重状态或肥胖的治疗相联系时不期望这种作用。

[0058] 不打算受理论的约束,认为本发明肽所提供的食欲抑制作用是通过本发明肽结合到胰淀素受体上所介导的。因此,在一些优选的实施方案中,希望本发明肽是胰淀素受体的超激动剂,但与降钙素受体的结合降低。在一些优选的实施方案中,不同于鲑鱼和/或鳗鱼降钙素之对应位置的本发明肽的位置上优选使用人胰淀素在该位置处的对应氨基酸。本文所用表述“人胰淀素的对应氨基酸”意为,人胰淀素的氨基酸编号,与所讨论本发明肽之氨基酸编号相同的人胰淀素的氨基酸编号,但当所讨论本发明肽的氨基酸残基编号高于24时除外,在这种情况下所述人胰淀素的“对应”氨基酸残基编号比本发明肽的氨基酸编号高5。例如,本发明的氨基酸24对应于人胰淀素的氨基酸编号24,而本发明的氨基酸25对应于人胰淀素的氨基酸编号30。在本发明的一些略去亮氨酸-16的实施方案中,在前15个残基中本发明和人胰淀素的对应编号相同,残基16-23(对应于人胰淀素的残基17-24)相差为一,而从本发明肽的残基编号24(对应于人胰淀素的残基30)开始相差为6。

[0059] 本发明的一种肽(肽 SEQ ID NO:3)在第30位为天冬酰胺,在第32位为酪氨酸(对应于胰淀素的天冬酰胺-35和酪氨酸-37),而不是鳗鱼或鲑鱼降钙素在第30和32位处的氨基酸残基。优选肽 SEQ ID NO:3与鲑鱼降钙素在除第30和32位之外的所有其他位置具有相同的氨基酸序列,这两处差异使得所述肽更像胰淀素。根据本发明的另一个优选方案,SEQ ID NO:3在酪氨酸-32处酰胺化。

[0060] 以 SYMLIN 商标市售的普兰林肽(Pramlintide)是胰淀素的类似物,与胰淀素的不同之处在于它抵抗聚集体的形成(这是胰淀素的问题所在)。因此,本发明考虑普兰林肽可以以与本文应用胰淀素相同的方式来应用。同样,依降钙素(elcatonin)(鳗鱼降钙素的类似物)可以以与本文应用鳗鱼降钙素相同的方式来应用。

[0061] SEQ ID NO:4所示肽是与 SEQ ID NO:3相似的本发明的另一种肽,除了在27位含有缬氨酸之外与 SEQ ID NO:3所示肽相同。缬氨酸-27使得 SEQ ID NO:4更像胰淀素(即,对应于人胰淀素中的缬氨酸-32)。缬氨酸-27也使得 SEQ ID NO:4与鳗鱼降钙素更加类似(但与鲑鱼降钙素相反),所述鳗鱼降钙素在27位也具有缬氨酸。

[0062] 在另一个实施方案中,本发明的肽可与 SEQ ID NO :3 和 SEQ ID NO :4 相一致,但缺失亮氨酸-16。

[0063] 在另一个实施方案中,本发明的肽可具有 SEQ ID NO :7 或 SEQ ID NO :8 所示氨基酸序列。

[0064] 为了方便比较,天然鲑鱼和鳗鱼降钙素的氨基酸序列分别表示在 SEQ ID NO :9 或 SEQ ID NO :10 中。人胰淀素的氨基酸序列表示在 SEQ ID NO :11 中。

[0065] 在一些实施方案中,上文所讨论肽的 N- 末端侧被修饰以减少第一个氨基酸的正电荷。例如,乙酰基或丙酰基可取代到半胱氨酸-1 上。如图 6 所示,通过这种乙酰基取代提高了有效性。减少正电荷的替代方法包括但不限于以聚乙二醇为基础的聚乙二醇化;或在 N- 末端添加另一个氨基酸如谷氨酸或天冬氨酸。或者,在上文所讨论肽的 N- 末端添加其他氨基酸可适宜地降低通过降钙素受体的信号转导。这种所添加的氨基酸包括但不限于赖氨酸、甘氨酸、甲酰甘氨酸、亮氨酸、丙氨酸、乙酰丙氨酸和二丙氨酸 (dialanyl)。

[0066] 在一些实施方案中,上文所讨论肽还可通过将给定氨基酸残基取代为人胰淀素的对应氨基酸来进行修饰。

[0067] 尽管也可使用现有技术中的其他技术,本发明肽的重组生产被认为比这些其他技术更具成本效益。尽管也考虑游离酸的形式,本发明的肽优选地在其 C- 末端酰胺化。生产本发明肽的酰胺化版本的一种优选技术是,根据已知技术,在肽酰甘氨酸 α - 酰胺化单加氧酶存在下使前体 (在期望酰胺化产物的 C 末端氨基位置处具有甘氨酸) 发生反应,其中,所述前体在所述反应中被转化为酰胺化产物,例如见美国专利 No. 4, 708, 934 和欧洲专利公开 No. 0308067 和 0382403。对于所述前体以及催化前体转化为鲑鱼降钙素的所述酶,都优选重组生产。这样的重组生产在 *Biotechnology*, Vol. 11 (1993) 64-70 页中讨论,其中进一步地描述了前体向酰胺化产物的转化。所报道的重组产物与天然的鲑鱼降钙素以及用溶液和固相化学肽合成法所生产的鲑鱼降钙素相一致。酰胺化产物的生产也可使用下文所示的方法和酰胺化酶来实施:Consalvo 等,美国专利公开 No. 2006/0127995;Miller 等,美国专利公开 No. 2006/0292672;Ray 等,2002, *Protein Expression and Purification*, 26 : 249-259;和 Mehta, 2004, *Biopharm. International*, 7 月, 44-46 页。

[0068] 优选酰胺化肽的生产例如可以如下实施:作为与谷胱甘肽-S- 转移酶融合的可溶性蛋白在大肠杆菌 (*E. coli*) 中生产甘氨酸- 延伸的前体来进行,或根据美国专利 No. 6, 103, 495 所述技术直接表达所述前体。这样的甘氨酸延伸的前体具有与期望酰胺化产物相一致的分子结构,只是 C- 末端不同 (其中所述产物以 $-X-NH_2$ 终止,而所述前体以 $-X-gly$ 终止, X 为所述产物的 C- 末端氨基酸残基)。在上述公开出版物中描述的 α - 酰胺化酶催化前体转化为产物。所述酶优选重组地生产,例如,像在上边引用的 *Biotechnology and Biopharm.* 的文章中描述的那样在中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞中生产。

[0069] 本发明肽活性剂的游离酸形式可以以类似方式生产,只是所述“前体”上不包括 C- 末端甘氨酸,相反所述前体就是最终的肽产物而不包括酰胺化步骤。

[0070] 患者的治疗

[0071] 本发明的肽优选以充足的剂量施用以维持患者中所述肽的血清水平在 5 至 500pg/mL 之间,优选在 10 至 250pg/mL 之间。所述血清水平可通过现有技术已知的放射免疫测定技术来测量。主治医师可监测患者的反应,并可随后依据个体患者的代谢和反应而

略微改变剂量。

[0072] 虽然可以使用其他的递送方法,本发明的肽优选以本领域已知的方式配制成用于口服给药,例如,见美国专利 No. 6, 086, 018 或美国专利公开 No. 2009/0317462。根据本发明的一种优选口服剂型列于下表 1 中:

[0073] 表 1. 固体剂型的组成

[0074]

活性剂或赋形剂	功能
SEQ ID NO :3 的肽	抑制食欲的活性剂

[0075]

包被的柠檬酸	蛋白酶抑制剂
月桂酰肉碱	吸收增强剂
非离子聚合物	内层包衣
Eudragit L30D-55	肠溶包衣

[0076] 当每个剂型只使用 100-2000 μg 活性肽 (在该实施例中为 SEQ ID NO :3), 优选 200-800 μg 时, 该类型的口服剂型可达到的生物利用度预期足以达到上述的优选血液水平。当使用这类口服制剂和活性成分的浓度时, 200 至 4000 $\mu\text{g}/\text{天}$ 的活性肽剂量 (不包括所有其他组分的重量), 优选 400 至 1600 $\mu\text{g}/\text{天}$, 很可能达到目标血液水平。

[0077] 可每天单剂量或多剂量提供这些用量。不论施用的是何种活性剂, 优选每次施用时使用单个剂型 (例如, 单个胶囊或片剂), 因为单个胶囊或片剂最佳地提供肽活性剂、pH-降低剂和吸收增强剂的同时释放。这是高度期望的, 因为当酸与活性剂在时间上紧密接近释放时, 酸能够最佳地降低对肽活性组分不想要的蛋白水解攻击。

[0078] 最好是通过以单个药片/丸或胶囊施用本发明的所有组分来达到近乎同时的释放。然而, 本发明也包括, 例如, 分割所需量的活性成分为两个或更多个片或胶囊, 它们可一起施用以使其一起提供必要量的所有成分。本文中使用的“药物组合物”包括但不限于适于给患者特别施用的完全剂量, 无论给定施用推荐的是一个或更多个片或胶囊 (或其他剂型)。

[0079] 根据本发明的肽也可通过本行业中其他常用技术来给药, 随施用方式不同伴有正常的剂量变化。例如, 当注射施用时, 优选的剂量范围是 5 至 100 $\mu\text{g}/\text{天}$ (优选 10 至 50 $\mu\text{g}/\text{天}$, 最优选 15 至 35 $\mu\text{g}/\text{天}$)。

[0080] 在注射用的药物组合物中, 本发明的所述肽活性剂优选以 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 至 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度存在。

[0081] 不打算受理论的约束, 据认为作用机制涉及瘦素。在一些实施方案中, 瘦素可以添加到本发明的药物组合物中, 或分开提供。

[0082] 功效数据

[0083] 为了测试本发明的氨基酸替换是否将鲑鱼降钙素转化为与降钙素受体结合亲和

力更低的类似物（或以其他方式降低不期望的激活降钙素受体的能力），将 SEQ ID NO :3 所示氨基酸序列的肽进行生物测定，以比较所述肽和鲑鱼降钙素的 cAMP 应答（降钙素受体激活的指标）。如图 1 所示，数据提示，当与降钙素受体结合时，与天然的鲑鱼降钙素相比，本发明的降钙素类似物（SEQ ID NO :3）的结合强度理想地更低。

[0084] 在用比格犬进行的有安慰剂对照的交叉研究中研究了 SEQ ID NO :3 肽对食物摄取的作用。用肽 SEQ ID NO :3、以及鲑鱼降钙素（sCT）和 PYY (3-36)NH₂ 配制成肠溶胶囊用于口服给药。所述胶囊也包含抑制蛋白酶和增强肽吸收的赋形剂。安慰剂胶囊包含相同的赋形剂，但没有肽。给药之前、之中和之后每天监控食物和水的摄取，以及犬的体重。每天 8 小时允许犬接近已知量的食物，不限制地供水。如图 2 所示，在同等剂量下，在整个给药的周中，SEQ ID NO :3 和 sCT 显著地降低食物摄取，而 PYY 表现出较低的作用。给以安慰剂的犬的食物摄取保持不变。

[0085] 如图 3 所示，在给药期间，给以 SEQ ID NO :3 和 sCT 的犬表现出虽小但显著的体重降低，而接受相同剂量 PYY 的犬则表现出非常小的体重变化（每天 0.05%）。给以安慰剂胶囊的犬表现出轻微的体重增加。

[0086] 最后，尽管给药期间的摄水量也降低，但与摄食量的降低相比，降低的量很小。给药后之后的一周退出期中，摄食量和摄水量都恢复到了给药前的水平。

[0087] 图 1-3 提供的证据表明，SEQ ID NO :3 通过降低食物消耗而提供影响摄食行为的能力，其作用与骨抗吸收肽 sCT 的作用强度相当。

[0088] 同样，图 4 说明，与鲑鱼降钙素相比，UGP269 (SEQ ID NO :12)、UGP 271 (SEQ ID NO :13) 和 UGP281 (SEQ ID NO :14) 对降钙素受体具有更低的结合亲和力。

[0089] 图 5 和图 6 说明，UGP269 (SEQ ID NO :12)、UGP 271 (SEQ ID NO :13) 和 UGP281 (SEQ ID NO :14) 在体重控制中的良好效果。图 6 提供了在 UGP281 (SEQ ID NO :14) 半胱氨酸 -1 上的乙酰基显著增强疗效的证据。

[0090] 尽管通过结合具体实施方案描述了本发明，但对于本领域技术人员来说，很多其他的变化和修饰以及其他应用是很明显的。因此，本发明仅受限于权利要求，而不受限于本文中具体的公开内容。

[0001]

<110> Mehta, Nozer M
Sturmer, Amy M
Stern, William
Gilligan, James P.

<120> 肥胖的治疗

<130> P/546-503

<150> 61/205,750

<151> 2009-01-22

<160> 14

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 修饰的降钙素

<220>

<221> misc_feature

<222> (26)..(27)

<223> Xaa可为任何天然氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (29)..(30)

<223> Xaa可为任何天然氨基酸

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (32)..(32)

<223> Xaa可为任何天然氨基酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (32)..(32)

<223> 任选地酰胺化

<400> 1

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu
1 5 10 15

His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Thr Xaa
20 25 30

<210> 2

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

[0002]

<223> 任选地酰胺化

<220>

<221> misc_feature

<222> (25)..(26)

<223> Xaa可为任何天然氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (28)..(29)

<223> Xaa可为任何天然氨基酸

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(31)

<223> Xaa可为任何天然氨基酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (31)..(31)

<223> 任选地酰胺化

<400> 2

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu His
1 5 10 15

Lys Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Thr Xaa
20 25 30

<210> 3

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 修饰的降钙素

<220>

<221> MOD_RES

<222> (32)..(32)

<223> 酰胺化

<400> 3

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu
1 5 10 15

His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr
20 25 30

<210> 4

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

[0003]

<223> 修饰的降钙素

<220>

<221> MOD_RES

<222> (32)..(32)

<223> 酰胺化

<400> 4

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu
1 5 10 15

His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Asn Thr Tyr
20 25 30

<210> 5

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 修饰的降钙素

<220>

<221> MOD_RES

<222> (31)..(31)

<223> 酰胺化

<400> 5

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu His
1 5 10 15

Lys Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr
20 25 30

<210> 6

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 修饰的降钙素

<220>

<221> MOD_RES

<222> (31)..(31)

<223> 酰胺化

<400> 6

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu His
1 5 10 15

Lys Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Asn Thr Tyr

[0004]

20 25 30

<210> 7
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 酰胺化

<220>
<221> MOD_RES
<222> (31)..(31)
<223> 酰胺化

<400> 7

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Ala Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu His
1 5 10 15

Lys Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asp Val Gly Ala Asn Thr Tyr
20 25 30

<210> 8
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 酰胺化

<220>
<221> MOD_RES
<222> (31)..(31)
<223> 酰胺化

<400> 8

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Ala Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu His
1 5 10 15

Lys Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ala Asn Thr Tyr
20 25 30

<210> 9
<211> 32
<212> PRT
<213> 鲑鱼

<220>
<221> MOD_RES
<222> (32)..(32)
<223> 酰胺化

<400> 9

[0005]

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu
1 5 10 15

His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Gly Thr Pro
20 25 30

<210> 10
<211> 32
<212> PRT
<213> 鳗鱼

<220>
<221> MOD_RES
<222> (32)..(32)
<223> 酰胺化

<400> 10

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu
1 5 10 15

His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asp Val Gly Ala Gly Thr Pro
20 25 30

<210> 11
<211> 37
<212> PRT
<213> 人

<220>
<221> MOD_RES
<222> (37)..(37)
<223> 酰胺化

<400> 11

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1 5 10 15

Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val
20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr
35

<210> 12
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 修饰的降钙素

[0006]

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 连接到CYS-7的二硫键桥

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> 连接到CYS-1的二硫键桥

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (32)..(32)
 <223> 酰胺化

<400> 12

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu
 1 5 10 15

His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr
 20 25 30

<210> 13
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 修饰的降钙素

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 连接到CYS-7的二硫键桥

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> 连接到CYS-1的二硫键桥

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (32)..(32)
 <223> 酰胺化

<400> 13

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu
 1 5 10 15

His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asp Val Gly Ala Asn Thr Tyr
 20 25 30

<210> 14
 <211> 32
 <212> PRT

[0007]

<213> 人工的

<220>

<223> 修饰的降钙素

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Xaa可为任何天然氨基酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> 乙酰基

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> 连接到CYS-1的二硫键桥

<220>

<221> MOD_RES

<222> (32)..(32)

<223> 酰胺化

<400> 14

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu
1 5 10 15

His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asp Val Gly Ala Asn Thr Tyr
20 25 30

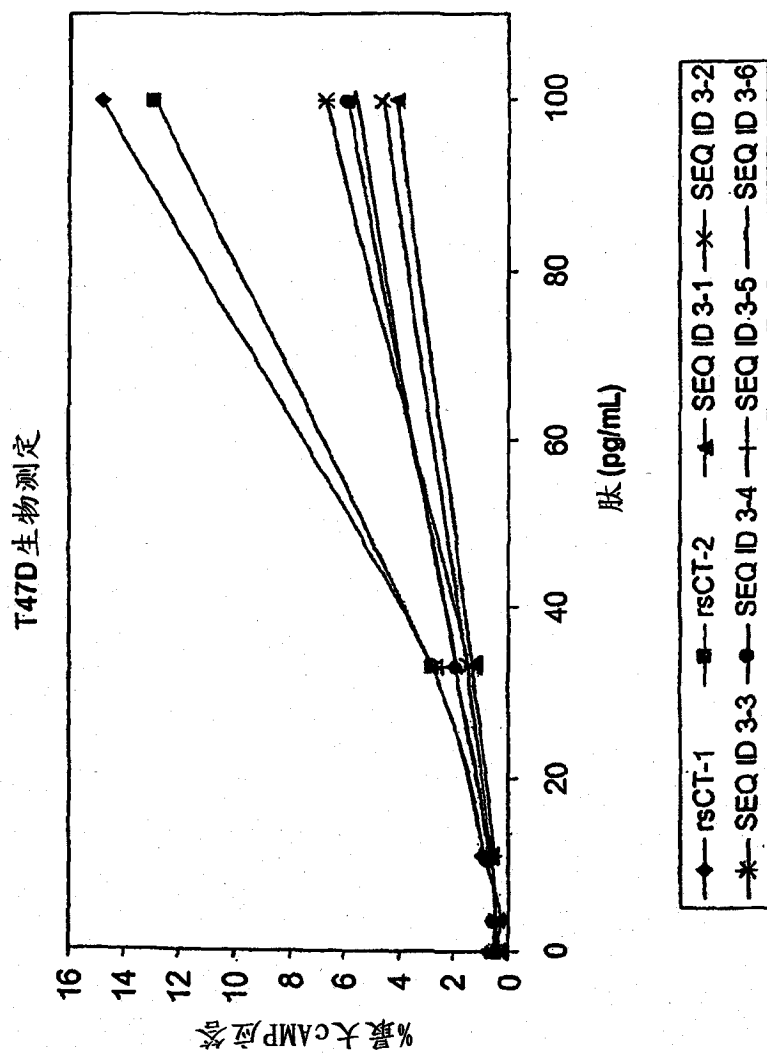


图 1

进行两次重复的生物测定实验，用T47D细胞测量cAMP应答。
每次实验中，将SEQ ID 3的三个样品与rsCT的样品进行比较。

给比格犬施用包含各种剂量的sCT、PYY或SEQ ID3的口服胶囊4-7天之后，平均每天的食物消耗变化。

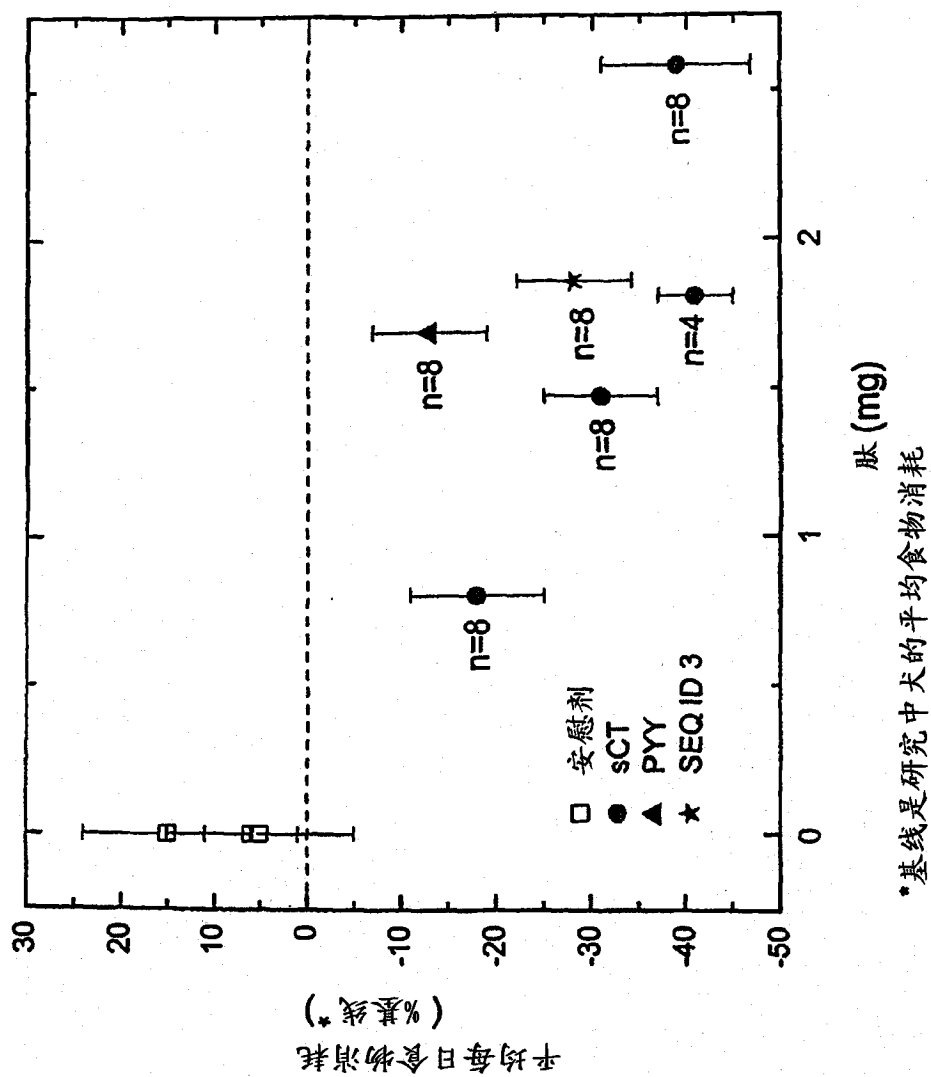


图 2

给比格犬施用包含各种剂量的sCT、PYY或SEQ ID3的口服胶囊4-7天之后，平均每天的体重变化。

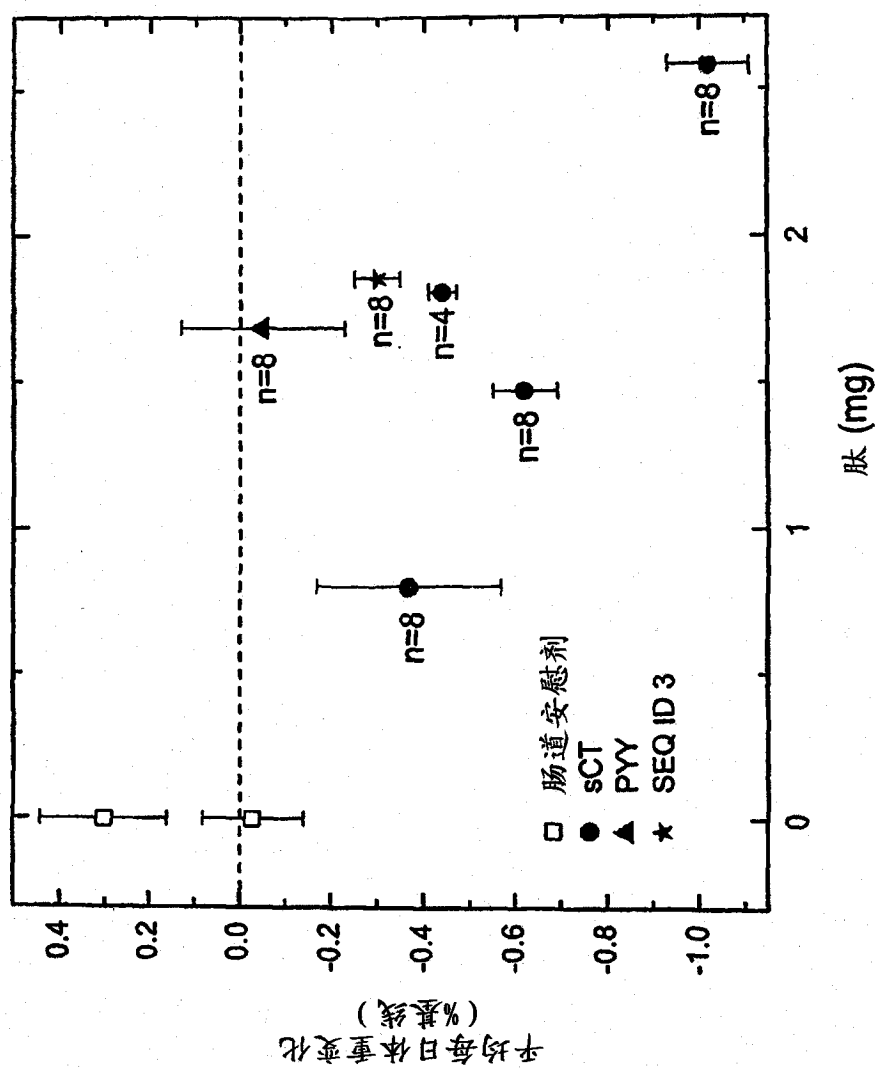
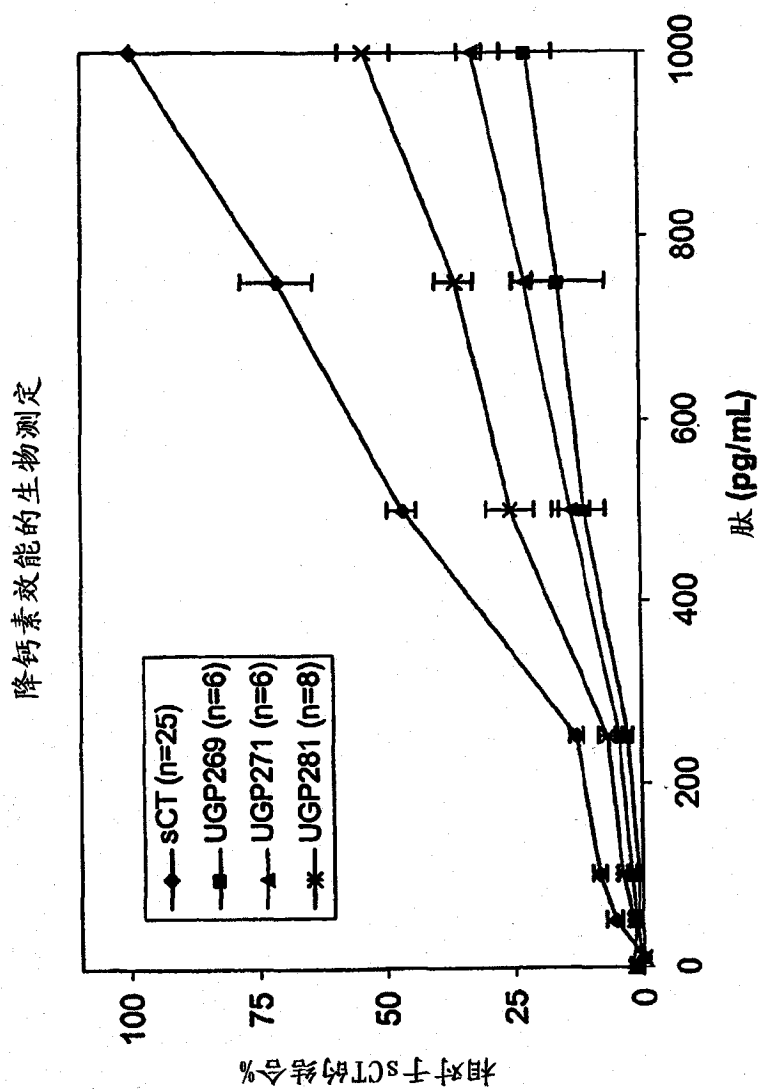
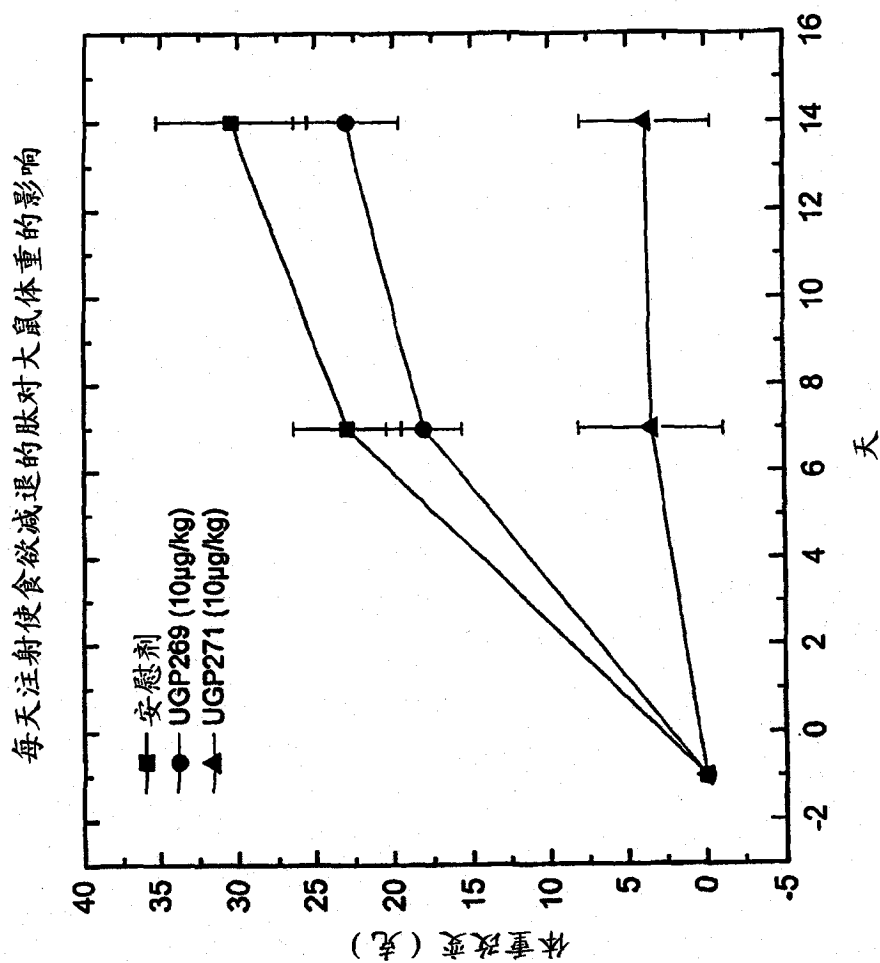


图 3



与sCT相比, UGP269、UGP271和UGP281表现出对sCT受体更低的结合。

图 4



两周内, 与注射安慰剂的大鼠相比, 注射UGP269的大鼠表现出较低的体重增长。注射相同剂量UGP271的大鼠未表现出体重增长。UGP271包含与UGP269几乎相同的氨基酸序列, 只是替换了26、27和29位的3个氨基酸。

图 5

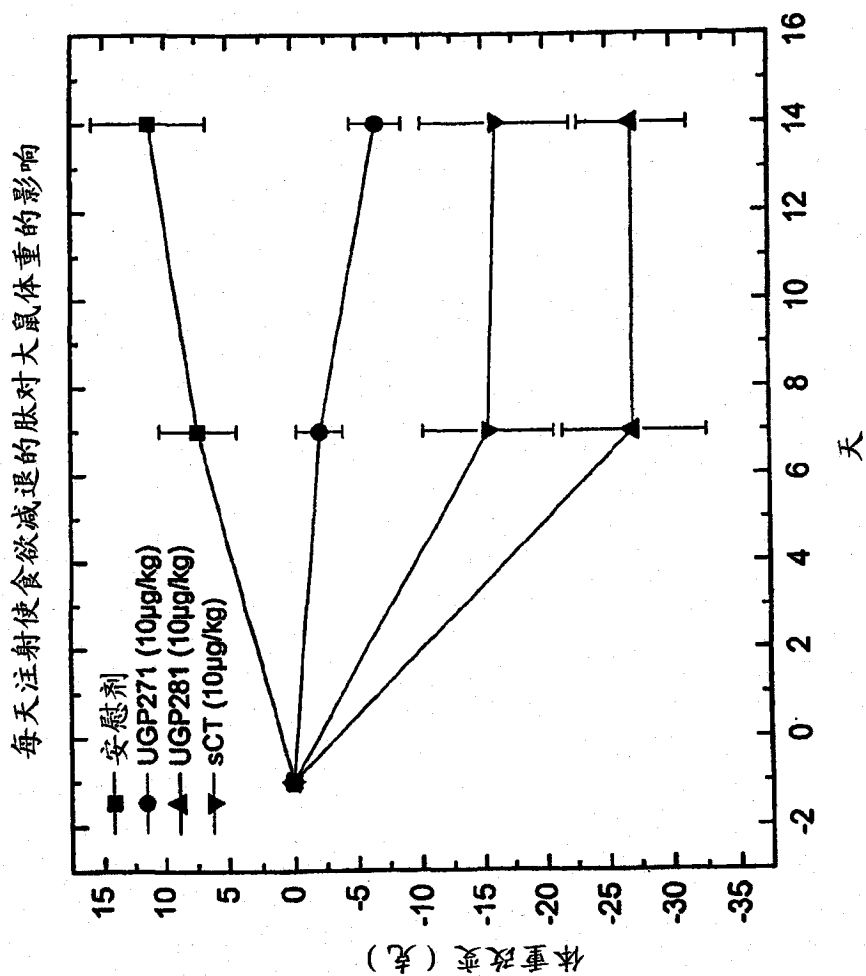


图 6

当注射2周时，肌肉内注射sCT或UGP281的大鼠表现出显著的体重减轻；同时，注射相同剂量UGP271的大鼠表现出适中的体重减轻。UGP281和UGP271具有相同的氨基酸序列，只是UGP281的N-末端用乙酸酯乙酰化。