



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 698 39 423 T2 2009.06.04

(12)

## Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 0 981 360 B1

(21) Deutsches Aktenzeichen: 698 39 423.2

(86) PCT-Aktenzeichen: PCT/US98/09089

(96) Europäisches Aktenzeichen: 98 920 218.9

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 1998/050059

(86) PCT-Anmeldetag: 06.05.1998

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: 12.11.1998

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 01.03.2000

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: 30.04.2008

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 04.06.2009

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: A61K 38/10 (2006.01)

A61K 38/16 (2006.01)

A61K 38/22 (2006.01)

A61P 1/04 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

851965 06.05.1997 US

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:

Amylin Pharmaceuticals, Inc., San Diego, Calif., US

(72) Erfinder:

YOUNG, Andrew, San Diego, CA 92121, US;  
GEDULIN, Bronislava, San Diego, CA 92130, US;  
BEYNON, Gareth Wyn, Oxon OX10 0PX, GB

(74) Vertreter:

Uexküll & Stolberg, 22607 Hamburg

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR PREVENTION VON GASTRITIS UNTER VERWENDUNG VON AMYLIN ODER AMYLIN AGONISTEN

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelebt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

**Beschreibung**

**[0001]** Diese Anmeldung ist eine teilweise Fortsetzung von US Seriennummer 08/851,965, eingereicht am 6. Mai 1997, welche US 7,101,853 entspricht.

**GEBIET DER ERFINDUNG**

**[0002]** Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf Verfahren zur Behandlung oder Vorbeugung einer Gastritis oder einer Magenverletzung durch Verabreichung eines Amylins oder eines Amylin-Agonisten. Die vorliegende Erfindung bezieht sich auch auf die Behandlung von Schmerz, Fieber, Entzündung, Arthritis, Hyperkoagulabilität oder andere Zustände, bei denen ein nicht-steroidales anti-inflammatorisches Medikament indiziert wäre, welche die Verabreichung eines Amylins oder eines Amylin-Agonisten in Verbindung mit einem nicht-steroidalen anti-inflammatorischen Medikament umfasst. Pharmazeutische Zusammensetzungen, welche ein Amylin oder einen Amylin-Agonisten und ein nicht-steroidales anti-inflammatorisches Agens umfassen, werden durch die vorliegende Erfindung auch beschrieben.

**HINTERGRUND**

**[0003]** Alle Publikationen und andere Materialien, einschließlich Patente und Patentanmeldungen werden nur verwendet, um die Beschreibung zu erläutern.

**Amylin**

**[0004]** Die Struktur und Biologie von Amylin wurde bereits betrachtet. Siehe z. B. Rink et al., Trends in Pharmaceutical Science, 14:113–118 (1993); Gaeta und Rink, Med. Chem. Res., 3:483–490 (1994); und, Pittner et al., J. Cell. Biochem., 55S:19–28 (1994).

**[0005]** Amylin ist ein Proteinormon mit 37 Aminosäuren. Es wurde als Hauptkomponente von amyloiden Ablagerungen in den Pankreasinseln von humanen Typ II Diabetikern isoliert, aufgereinigt und chemisch charakterisiert (Cooper et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:8628–8632 (1987)). Das Amylin-Molekül weist zwei wichtige post-transkriptionale Modifikationen auf: der C-Terminus ist amidiert, was zu Tyrosinamid als 37. Aminosäurerest führt, die die Cysteine in Positionen 2 und 3 sind kreuzvernetzt, so dass sie einen Cystinrest und damit einen N-terminalen Bogen bilden. Die Sequenz des offenen Leserasters des menschlichen Amylin-Gens zeigt die Anwesenheit des Lys-Arg dibasischen Aminosäure-proteolytischen Spaltungssignals vor dem N-terminalen Codon für Lys, und das Gly vor dem Lys-Arg proteolytischen Signal in der C-terminalen Position, eine typische Sequenz zur Amidierung durch Protein-amidierendes Enzym (protein amidating enzyme), PAM (Cooper et al., Biochim. Biophys. Acta, 1014:247–258 (1989)). Amylin ist der Gegenstand der Patentanmeldung im Vereinigten Königreich Seriennummer 8709871, eingereicht am 27. April 1987, und des entsprechenden Patents, 5,367,052, erteilt am 22. November 1994 in den USA, und von EP-Patent Nr. 289 287.

**[0006]** Es wurde gezeigt, dass Amylin bei Typ I Diabetes defizient ist, und kombinierter Ersatz mit Insulin wurde als bevorzugte Behandlung gegenüber Insulin alleine bei allen Formen von Diabetes vorgeschlagen. Die Verwendung von Amylin und anderen Amylin-Agonisten zur Behandlung von Diabetes mellitus ist der Gegenstand von Patent Nr. 5,175,145 in den Vereinigten Staaten, erteilt am 29. Dezember 1992. Pharmazeutische Zusammensetzungen, welche Amylin und Amylin plus Insulin enthalten, werden in Patent Nr. 5,124,314 der Vereinigten Staaten, erteilt am 23. Juni 1992, beschrieben.

**[0007]** Amylin wird primär in Pankreas  $\beta$ -Zellen synthetisiert, und es wird als Antwort auf Nährstoffstimuli wie Glucose und Arginin sekretiert. Nährstoff-Sekretagoge so wie Glucose und Arginin stimulieren eine Freisetzung von Amylin genauso wie von Insulin. Das molare Verhältnis der sekretierten Proteine von Amylin zu Insulin unterscheidet sich zwischen Präparationen von etwa 0,01 bis 0,4, scheint sich jedoch mit akuten Stimuli in irgendeiner der Präparationen nicht viel zu unterscheiden. Während verlängerter Stimulation durch erhöhte Glucose kann sich jedoch das Verhältnis von Amylin zu Insulin progressiv steigern (Gedulin et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 180(1):782–789 (1991)). Damit werden Amylin und Insulin nicht immer in einem konstanten Verhältnis sekretiert.

**[0008]** Es wurde entdeckt und berichtet, dass bestimmte Wirkungen von Amylin ähnlich zu nicht-metabolischen Wirkungen von CGRP und Calcitonin sind, die metabolischen Wirkungen von Amylin, welche während Forschungen mit diesem kürzlich identifizierten Protein entdeckt wurden, scheinen jedoch seine primäre biologische Rolle widerzuspiegeln. Zumindest einige dieser metabolischen Wirkungen werden durch CGRP nach-

gemacht, jedoch bei Dosen, welche deutlich vasodilatorisch wirken (siehe z. B. Leighton et al., *Nature*, 335:632–635 (1988)); Molina et al., *Diabetes*, 39:260–265 (1990)).

**[0009]** Die erste entdeckte Wirkung von Amylin war die Reduktion von Insulin-stimuliertem Einbau von Glucose in Glycogen im Rattenskelettmuskel (Leighton et al., *Nature*, 335:632–635 (1988)); der Muskel wurde "Insulin-resistant" gemacht. Folgende Arbeiten mit Ratten Soleusmuskeln ex vivo und in vitro haben darauf hingewiesen, dass Amylin die Glycogensynthaseaktivität reduziert, Umbau von Glycogenphosphorylase aus der inaktiven b-Form in die aktive a-Form fördert, Nettoverlust von Glycogen fördert (in der Anwesenheit oder Abwesenheit von Insulin), Glucose-6-Phosphat-Spiegel steigert, und Laktatabgabe steigern kann (siehe z. B. Deems et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 181(1):116–120 (1991)); Young et al., *FEBS Letts.*, 281(1,2):149–151 (1991)). Amylin scheint den Glucosetransport per se nicht zu beeinträchtigen (z. B. Pittner et al., *FEBS Letts.*, 365(1):98–100 (1995)). Studien von Amylin- und Insulin-Dosiswirkungsbeziehungen zeigen, dass Amylin in Skelettmuskel als ein nicht-kompetitiver oder funktioneller Antagonist von Insulin wirkt (Young et al., *Am. J. Physiol.*, 263(2):E274–E281 (1992)). Es gibt keine Beweise, dass Amylin mit der Bindung von Insulin an seine Rezeptoren oder mit der folgenden Aktivierung von Insulinrezeptor-Tyrosinkinase interferiert (Follett et al., *Clinical Research*, 39(1):39A (1991)); Koopmans et al., *Diabetologia*, 34:218–224 (1991)).

**[0010]** Man glaubt, dass Amylin durch in Plasmamembranen vorliegende Rezeptoren wirkt. Studien von Amylin und CGRP und der Wirkung von selektiven Antagonisten schlagen vor, dass Amylin aber seinen eigenen Rezeptor wirkt (Beaumont et al., *Br. J. Pharmacol.*, 115(5):713–715 (1995); Wang et al., *FEBS Letts.*, 219:195–198 (1991 b)), im Gegensatz zu der Schlussfolgerung von anderen Forschern, dass Amylin primär an CGRP-Rezeptoren wirken könnte (z. B. Chantry et al., *Biochem. J.*, 277:139–143 (1991)); Galeazza et al., *Peptides*, 12:585–591 (1991)); Zhu et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 177(2):771–776 (1991)). Amylin-Rezeptoren und ihre Verwendung in Verfahren zum Screening und zum Testen auf Amylin-agonistische und antagonistische Verbindungen sind in Patent Nr. 5,264,372 der Vereinigten Staaten, erteilt am 23. November 1993, beschrieben.

**[0011]** Während Amylin deutliche Wirkung auf den Leberenergiestoffwechsel in vivo aufweist, gibt es keine allgemeine Übereinstimmung in Bezug darauf, welche Wirkungen von Amylin in isolierten Hepatozyten oder perfundierter Leber beobachtet werden. Die erhältlichen Daten unterstützen nicht die Idee, dass Amylin Glycogenolyse in der Leber fördert, d. h., es wirkt nicht wie Glucagon (z. B. Stephens et al., *Diabetes*, 40:395–400 (1991); Gomez-Foix et al., *Biochem J.*, 276:607–610 (1991)). Es wurde vorgeschlagen, dass Amylin auf die Leber wirken könnte, indem es eine Umwandlung von Laktat zu Glycogen fördert und die Menge von Glucose steigert, die von Glucagon freigesetzt werden kann (siehe Roden et al., *Diabetologia*, 35:116–120 (1992)). Es ist am wahrscheinlichsten, dass Amylin keine direkte Wirkung auf Leberzellen hat (Pittner, R.A., *Eur. J. of Pharm.* 325:189–197 (1997)).

**[0012]** In Fettzellen hat Amylin, im Gegensatz zu seiner Wirkung in Muskel, keine detektierbare Wirkungen auf Insulin-stimulierte Glucoseaufnahme, Einbau von Glucose in Triglycerid, CO<sub>2</sub>-Produktion (Cooper et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 85:7763–7766 (1988)), Adrenalin-stimulierte Lipolyse oder Insulin-Inhibition der Lipolyse (Lupien und Young, "Diabetes Nutrition and Metabolism – Clinical and Experimental," Band 6(1), S. 1318 (February 1993)). Amylin übt damit Gewebe-spezifische Wirkungen aus, mit direkter Wirkung auf Skelettmuskel und indirekten (über Bereitstellung von Substrat) Wirkungen auf die Leber, während Adipozyten gegenüber der Anwesenheit oder Abwesenheit von Amylin als „blind“ erscheinen.

**[0013]** Es wurde auch berichtet, dass Amylin deutliche Effekte auf eine Sekretion von Insulin haben kann (Young et al., *Mol. Cell. Endocrinol.*, 84:R1–R5 (1992)). Andere Forscher waren jedoch nicht dazu in der Lage, Wirkungen von Amylin auf isolierte  $\beta$ -Zellen, auf isolierte Inseln oder in dem ganzen Tier nachzuweisen (siehe Broderick et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 177:932–938 (1991), und darin zitierte Referenzen).

**[0014]** Amylin oder Amylina-Agonisten inhibieren stark das Entleeren des Magens in Ratten (Young et al., *Diabetologia* 38(6):642–648 (1995)), Hunden (Brown et al., *Diabetes* 43 (Anhang 1):172A (1994)) und Menschen (Macdonald et al., *Diabetologia* 38 (Anhang 1): A32 (Abstract 118) (1995)). Das Entleeren des Magens ist, wie berichtet, in Amylin-defizienten Typ I diabetischen BB-Ratten (Young et al., *Diabetologia*, oben; Notwak et al., *J. Lab. Clin. Med.*, 123(1):110–6 (1994)), und bei Ratten, welche mit dem selektiven Amylin-Antagonisten, AC187 (Gedulin et al., *Diabetologia*, 38 (Suppl. 1): A244 (1995)) behandelt wurden, beschleunigt. Verfahren zur Reduktion der gastrischen Motilität und Verlangsamung der Entleerung des Magens, umfassend die Verabreichung eines Amylin-Agonisten (einschließlich Amylin) sind der Gegenstand von PCT-Anmeldung Publikationsnummer WO 95/07098, veröffentlicht am 16. März 1995. Die Wirkung von Amylin auf die Entleerung des Magens scheint physiologisch zu sein (bei Konzentrationen einzutreten, die normal zirkulieren).

**[0015]** Supraphysiologische Spiegel von Amylin wurden, wie berichtet, auch in Bezug auf die Inhibition von Magensäuresekretion (Guidobono, F., et al., *Peptides* 15:699–702 (1995)) und in Bezug auf den Schutz vor Gastritis untersucht. (Guidobono et al., *Brit. J. Pharm.* 120:581–86 (1997)). Die letzteren Autoren berichteten, dass subkutane Injektionen von Amylin keinen Effekt auf mit Ethanol- oder Indomethacin-induzierte Gastritis in Ratten aufwiesen, obwohl intracerebroventrikuläre Injektionen eine Wirkung hatten. Die gleichen Autoren schlossen auch, dass jegliche gastroprotektiven Wirkungen von Amylin sich von Wirkungen unterschieden, um Säuresekretion zu inhibieren.

**[0016]** Nicht-metabolische Wirkungen von Amylin schließen vasodilatorische Wirkungen ein, welche durch Wechselwirkung mit CGRP vaskulären Rezeptoren vermittelt werden können. Berichtete in vivo-Tests schlagen vor, dass Amylin als Vasodilator mindestens etwa 100- bis 1000-mal weniger wirksam als CGRP ist (Brain et al., *Eur. J. Pharmacol.*, 183:2221 (1990); Wang et al., *FEBS Letts.*, 291:195–198 (1991)). Die Wirkung von Amylin auf regionale hämodynamische Aktionen einschließlich Nierenblutfluss in Ratten bei Bewusstsein wurde berichtet (Gardiner et al., *Diabetes*, 40:948–951 (1991)). Die Autoren stellten fest, dass eine Infusion von Ratten-Amylin mit einer größeren Nieren-Vasodilatation und geringerer mesenterischer Vasokonstriktion assoziiert war, als dies bei Infusion von humanem  $\alpha$ -CGRP beobachtet wird. Sie schlossen, dass durch die Förderung von renaler Hyperämie zu einem größeren Ausmaß als durch  $\alpha$ -CGRP, Ratten-Amylin eine weniger deutliche Stimulation des Renin-Angiotensin-Systems und damit eine geringere sekundäre durch Angiotensin II-vermittelte Vasokonstriktion bewirken könnte. Es wurde jedoch auch festgestellt, dass während einer gleichzeitigen Infusion von humanem  $\alpha$ <sup>8–37</sup>CGRP und Ratten-Amylin renale und mesenterische Vasokonstriktionen demaskiert wurden, wahrscheinlich wegen nicht-gehemmter vasokonstriktorischer Wirkungen von Angiotensin II, und dass dieser Befund ähnlich zu dem ist, was während Co-Infusion von humanem  $\alpha$ -CGRP und humanem  $\alpha$ <sup>8–37</sup>CGRP beobachtet wird (id. at 951).

**[0017]** In das Gehirn injiziert oder peripher verabreicht, wurde von Amylin berichtet, dass es die Aufnahme von Nahrung unterdrückt, z. B. Chance et al., *Brain Res.*, 539:352–354 (1991)), eine Wirkung, die es mit CGRP und Calcitonin teilt. Es wurde auch berichtet, dass Amylin Wirkungen sowohl auf isolierte Osteoclasten hat, wo es zum Ruhen der Zellen führte, als auch in vivo, wo berichtet wurde, dass es das Plasma-Calcium in Ratten, in Kaninchen und bei Menschen mit Paget's-Erkrankung um bis zu 20 senkt (siehe z. B. Zaidi et al., *Trends in Endocrinol. and Metab.*, 4:255–259 (1993)). Ausgehend von den erhältlichen Daten scheint Amylin bei diesen Wirkungen weniger stark als humanes Calcitonin zu sein. Interessanterweise wurde berichtet, dass Amylin die cAMP-Produktion von Osteoclasten zu steigern scheint, aber nicht zytosolisches  $Ca^{2+}$  zu steigern scheint, während Calcitonin beides tut (Alam et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 179(1):134–139 (1991)). Es wurde vorgeschlagen, aber nicht gezeigt, dass Calcitonin über zwei Rezeptortypen wirkt, und dass Amylin mit einem von diesen interagiert.

**[0018]** Es wurde auch entdeckt, dass Amylin, in Anbetracht seiner bereits beschriebenen renalen vasodilatorischen und anderen Eigenschaften überraschend, bei intakten Ratten deutlich die Plasma-Renin-Aktivität steigert, wenn es subkutan auf eine Art verabreicht wird, die jede Störung des Blutdrucks vermeidet. Der letztere Punkt ist wichtig, da verringelter Blutdruck ein starker Stimulus für Reninfreisetzung ist. Amylin-Antagonisten, sowie Amylin-Rezeptor-Antagonisten, einschließlich solcher, welche selektiv für Amylin-Rezeptoren verglichen zu CGRP und/oder Calcitonin-Rezeptoren sind, können verwendet werden, um die von Amylin hervorgerufene Steigerung von Plasma-Renin-Aktivität zu blockieren. Die Verwendung von Amylin-Antagonisten zur Behandlung von mit Renin in Beziehung stehenden Störungen wird in Patent Nr. 4,376,638 der Vereinigten Staaten, erteilt am 27. Dezember 1994, beschrieben.

**[0019]** Es wurde auch gefunden, dass Amylin und Amylin-Agonisten analgetische Effekte haben; Verfahren zur Behandlung von Schmerz umfassend die Verabreichung eines Amylins oder eines Amylin-Agonists mit oder ohne narkotische Analgetika oder anderen von Schmerz befreirende Agenzien sind in US-Patent Nr. 5,677,279, erteilt am 14. Oktober 1997, beschrieben.

**[0020]** Bei normalen Menschen wurden beim Fasten Amylin-Spiegel von 1 bis 10 pM und post-prandiale oder post-Glucose-Spiegel von 5 bis 20 pM berichtet (z. B. Hartter et al., *Diabetologia*, 34:52–54 (1991); Sanke et al., *Diabetologia*, 34:129–132 (1991); Koda et. al., *The Lancet*, 339:1179–1180 (1992)). Bei fettleibigen, Insulin-resistenten Individuen können Amylin-Spiegel nach Nahrungsaufnahme höher steigen, und bis zu etwa 50 pM reichen. Zum Vergleich sind die Werte für Insulin beim Fasten und post-prandial jeweils 20 bis 50 pM, und 100 bis 300 pM bei gesunden Menschen, mit etwa 3- bis 4-fach höheren Spiegeln bei Insulin-resistenten Leuten. Bei Typ I Diabetes, wo  $\beta$ -Zellen zerstört sind, sind die Amylin-Spiegel am oder unter dem Nachweisniveau, und steigen als Antwort auf Glucose nicht (Koda et al., *The Lancet*, 339:1179–1180 (1992)). Bei normalen Mäusen und Ratten wurden basale Amylin-Spiegel von 30 bis 100 pM berichtet, während Werte bis zu 600 pM in

bestimmten Insulin-resistenten diabetischen Stämmen von Nagern gemessen wurden (z. B. Huang et al., Hypertension, 19:1-101-I-109 (1991); Gill et al., Life Sciences, 48:703–710 (1991)).

### Gastritis

**[0021]** Gastritis ist eine Entzündung der Magen-Mucosa (gastrischen Mucosa). Der Zustand spiegelt keine einzelne Erkrankung wieder. Stattdessen ist er bei einer Gruppe von Störungen häufig, bei welchen inflammatorische Veränderungen in der Magen-Mucosa auftreten, die aber unterschiedliche klinische Merkmale, histologische Charakteristika und Pathogenese aufweisen können.

**[0022]** Die zwei Hauptformen von Gastritis, welche unterschiedliche klinische Einheiten darstellen, sind akute Gastritis und chronische Gastritis. Harrison's Principles of Internal Medicine (Wilson et al., Hrsg., 12. Auflage 1991, McGraw-Hill, Inc.) auf Seiten 1244–1248.

**[0023]** Die hauptsächliche und auf jeden Fall dramatischste Form von akuter Gastritis ist akute hämorrhagische Gastritis, welche auch als akute erosive Gastritis bezeichnet wird. Diese Bezeichnungen spiegeln die Blutung aus der gastrischen Mucosa, welche bei dieser Form von Gastritis fast unveränderlich gefunden wird, und den charakteristischen Verlust der Integrität der Magen-Mucosa (Erosion), welcher die inflammatorische Läsion begleitet, wieder. Es wurde geschätzt, dass erosive Gastritis bei bis zu 80 bis 90% von kritisch kranken, hospitalisierten Patienten auftritt. Sie wird am häufigsten bei Patienten in medizinischen oder chirurgischen Intensivstationen mit schwerem Trauma, schweren Operationen, Leber-, Nieren- oder Lungen-Versagen, Schock, massiven Verbrennungen oder schweren Infektionen mit Sepsis gefunden. Id.

**[0024]** Von verschiedenen Agenzien ist bekannt, dass sie die Magen-Mucosa verletzen. Diese schließen Aspirin und andere nicht-steroidale anti-inflammatoryische Medikamente oder Agenzien (NSAIDS), Gallensäuren, pankreatische Enzyme und Ethanol ein. Diese Agenzien stören die Magen-Mucosa-Barriere, welche unter normalen Bedingungen die Zurückdiffusion von Wasserstoff-Ionen aus dem Magenlumen in die Mucosa hemmt (trotz und gegen einen enormen H<sup>+</sup>-Konzentrationsgradienten). Der häufigste und sehr wichtige Grund von mit Medikamenten-assozierter akuter erosiver Gastritis ist der Verzehr von Aspirin oder anderen NSAIDS. Diese Medikamente inhibieren die Cyclooxygenaseaktivität der Magen-Mucosa und reduzieren damit die Synthese und die Gewebespiegel von endogenen Mucosa-Prostaglandinen, welche bei der Verteidigung der Mucosa wichtige Rollen zu spielen scheinen. Diese Reduktion von Gewebeprostaglandinen hält man für einen wichtigen, aber vielleicht nicht den einzigen Mechanismus, über den Aspirin und andere NSAIDS die Magen-Mucosa schädigen. Id.

**[0025]** Die zwei Hauptformen von chronischer Gastritis wurden basierend auf ihren Verteilungen in der Magen-Mucosa, gekoppelt mit einigen Implikationen in Bezug auf ihre Pathogenese, als Typ A und B klassifiziert. Typ A Gastritis ist die weniger häufige Form von chronischer Gastritis, sie bezieht charakteristischerweise den Körper und Fundus des Magens mit ein, wobei das Antrum relativ gesehen verschont wird. Typ B Gastritis ist die viel häufigere Form von chronischer Gastritis. Bei jüngeren Patienten wird bei Typ B Gastritis vor allem das Antrum einbezogen, während bei älteren Patienten der ganze Magen betroffen ist. Id.

### Nicht-steroidale anti-inflammatoryische Medikamente

**[0026]** Nicht-steroidale anti-inflammatoryische Medikamente oder Agenzien (NSAIDS) sind nützliche Analgetika, sie haben jedoch die Nebenwirkung, bei einem großen Anteil von Patienten verschiedene gastrische Effekte hervorzurufen, solche gastrischen Effekte schließen Gastritis, Magengeschwüre, epigastrischen Stress, Übelkeit, Übergeben und Blutergüsse ein ((Woodbury, D.M. und Fingl, E. Analgesic-antipyretics, anti-inflammatory agents, and drugs employed in the therapy of gout, in The Pharmacological Basis of Therapeutics (Goodman, L.S., und Gilman, A., Hrsg.) 325–43 (1975)). Die häufigste Nebenwirkung von NSAIDS ist eine Tendenz, Geschwürbildung im Magen oder in Eingeweide zu induzieren, die manchmal wegen des sich ergebenden Blutverlusts von Anämie begleitet ist. Patienten, die chronisch NSAIDS verwenden, haben, verglichen zu Nichtbenutzern, ein etwa dreifach größeres relatives Risiko von ernsten unerwünschten gastrointestinalen Ereignissen (Gabriel et al., "Risk for serious gastrointestinal complications related to the use of nonsteroidal antiinflammatory drugs. A meta analysis," Ann. Intern. Med. 115:1117–1125 (1991)). Magenschäden durch diese Agenzien können durch mindestens zwei unterschiedliche Mechanismen herbeigeführt werden: Diffusion von Säure in die Magen-Mucosa, was zu Gewebeschäden führt; und Interferenz mit der Biosynthese von Magen-Prostaglandinen, welche in der Magen-Mucosa als zytoprotektive Agenzien dienen. Diese Nebenwirkungen sind insbesondere bei Patienten ein Problem, die kontinuierlich NSAIDS einnehmen müssen, so wie Patienten mit chronischen inflammatoryen Zuständen wie rheumatoide Arthritis. NSAIDS schließen Salicyla-

te, p-Aminophenolderivate wie Acetominophen, Indometacin, Sulindac, Etodolac, Fenamate, Telmetin, Ketorolac, Diclofenac, propionische Derivate wie Ibuprofen, Naproxen, Naproxennatrium, Fenoprofen, Ketoprofen, Flurbiprofen und Oxaprozin, Piroxicam, Pyrazolonderivate wie Phenylbutazon und Apazon ein. Goodman & Gilman's, The Pharmacological Basis of Therapeutics, Kapitel 27 (9. Auflage), McGraw-Hill 1996.

#### ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

**[0027]** Wir haben entdeckt, dass unerwarteterweise Amyline und bestimmte Amylin-Agonisten gastroprotektive Eigenschaften haben und die Induktion von Gastritis verhindern können, und damit gastrische Verletzungen so wie Magengeschwüre behandeln oder verhindern können, wenn sie einem Subjekt über eine Route ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus subkutan, intravenös, nasal, oral, pulmonar, transdermal und bukkaler Verabreichung verabreicht werden. Die Bezeichnung „Amylin“ schließt verstandenermaßen Verbindungen wie solche ein, wie sie von Young und Cooper in US-Patent 5,234,906, erteilt am 10. August 1993 für „Hyperglycemic Compositions“ definiert sind. Zum Beispiel schließt die Bezeichnung humanes Amylin und Spezies-Variationen davon ein, die als Amylin bezeichnet werden und von den  $\beta$ -Zellen des Pankreas sekretiert werden. „Amylin-Agonist“ ist auch eine in der Technik bekannte Bezeichnung. Die Bezeichnung bezieht sich auf Verbindungen, welche Effekte von Amylin nachmachen. Amylin-Agonisten schließen „Analoga von Amylin-Agonisten“ ein, welche Derivate von Amylin sind, die als Amylin-Agonisten wirken. Amylin-Agonisten können wirken, indem sie an einen Amylin-Rezeptor oder andere Rezeptoren binden oder auf andere Weise direkt oder indirekt damit wechselwirken, mit denen Amylin selbst interagieren kann, um biologische Wirkungen von Amylin hervorzurufen. Zusätzlich zu den Amylin-Agonisten, die hierin beschrieben werden, sind andere nützliche Amylin-Agonisten in US-Patent Nr. 5,686,411, erteilt am 11. November 1997, identifiziert.

**[0028]** Damit wird in einem ersten Aspekt der Erfindung ein Verfahren zur Behandlung oder Vorbeugung von Gastritis oder der Bildung von Magengeschwüren in einem Subjekt bereitgestellt, welches eine Verabreichung einer therapeutisch effektiven Menge eines Amylins oder eines bestimmten Amylin-Agonisten an das Subjekt umfasst, auf einem Weg ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus subkutaner, intravenöser, nasaler, oraler, pulmonärer, transdermaler und bukkaler Verabreichung, wobei der Amylin-Agonist kein Calcitonin ist. Durch „Calcitonin“ wird das humane Peptidhormon Calcitonin und Spezies-Variationen davon bezeichnet, so wie Ratten-Calcitonin, Lachs-Calcitonin und Aal-Calcitonin. In einer Ausführungsform ist die Gastritis oder Bildung von Magengeschwüren assoziiert mit der Verabreichung eines nicht-steroidalen anti-inflammatorischen Medikaments.

**[0029]** In den Verfahren der vorliegenden Erfindung werden die gastroprotektiven Effekte von Amylin und Amylin-Agonisten die Tendenz von NSAIDS reduzieren, Gastritis und Geschwürbildung zu bewirken.

**[0030]** Damit wird in einem anderen Aspekt der Erfindung ein Verfahren zur Behandlung oder Vorbeugung eines Zustands zur Verfügung gestellt, bei dem ein NSAID indiziert wäre, umfassend die Verabreichung von einer therapeutisch effektiven Menge eines Amylins oder eines bestimmten Amylin-Agonisten und einer therapeutisch effektiven Menge eines nicht-steroidalen anti-inflammatorischen Agens an ein Subjekt, wobei der Amylin-Agonist kein Calcitonin ist, und dass Amylin oder der Amylin-Agonist auf einem Weg verabreicht wird ausgewählt aus einer Gruppe bestehend aus subkutaner, intravenöser, nasaler, oraler, pulmonärer, transdermaler und bukkaler Verabreichung. Bevorzugt ist das nicht-steroidale anti-inflammatorische Agens ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Salicylat, Acetominophen, Phenacetin, Naproxen, Phenylbutazon, Indometacin, Ibuprofen, Sulindac, Etodolac, Fenamate, Telmetin, Ketorolac, Diclofenac, Fenoprofen, Ketoprofen, Flurbiprofen, Oxaprozin, Piroxicam und Apazon.

**[0031]** Nach den Verfahren der vorliegenden Erfindung wird das Amylin oder der Amylin-Agonist oral, intravenös, subkutan, nasal, pulmonär, transdermal oder bukkal verabreicht. Intravenöse und subkutane Verabreichung sind besonders bevorzugt.

**[0032]** Das Subjekt kann jedes Tier sein, bevorzugt ein Säuger, und am meisten bevorzugt ein Mensch.

**[0033]** Es wird auch eine pharmazeutische Zusammensetzung beschrieben, welche (1) ein Amylin oder einen Amylin-Agonisten oder ein pharmazeutisch akzeptables Salz davon, wobei der Amylin-Agonist kein Calcitonin ist und (2) ein nicht-steroidales anti-inflammatorisches Agens in einem pharmazeutisch akzeptablen Träger und Dosis, umfasst.

**[0034]** Das nicht-steroidale anti-inflammatorische Agens ist ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus, z. B., Salicylat, Acetominophen, Phenacetin, Naproxen, Phenylbutazon, Indometacin, Ibuprofen, Sulindac, Etodo-

lac, Fenamate, Telmetin, Ketonolac, Diclofenac, Fenoprofen, Ketoprofen, Flurbiprofen, Oxaprozin, Piroxicam und Apazon.

**[0035]** In bevorzugten Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung ist der Amylin-Agonist <sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin, auch bekannt als Pramlintid. Pramlintid ist beschrieben und beansprucht in Patent Nr. 5,686,411 der Vereinigten Staaten, erteilt am 11. November 1997.

#### KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

**[0036]** Die Erfindung wird weiter unter Bezugnahme auf die begleitenden Zeichnungen beschrieben, in denen:

**[0037]** Fig. 1 die Wirkung von subkutanen Dosen von Ratten-Amylin zur Reduktion von Magenverletzungen zeigt, die bei Ratten durch Gabe von Ethanol durch eine Sonde induziert wurden.

#### DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

**[0038]** Amylin-Agonisten können durch Aktivität in den unten beschriebenen Gastro-Protektionstests identifiziert werden. Diese Verbindungen können auch durch Rezeptorbindung und Tests in Bezug auf die Entleerung des Magens, welche unten beschrieben werden, beurteilt werden.

**[0039]** Die Nomenklatur von verschiedenen agonistischen Amylin Verbindungen, die in der vorliegenden Erfindung nützlich sind, kann verwendet werden, um sowohl das Peptid anzugeben, auf dem die Sequenz basiert, als auch die Modifikationen, die gegenüber jeder grundlegenden Amylin-Peptidsequenz, wie z. B. humanem Amylin, eingeführt werden können. Eine Aminosäure, der eine hochgestellte Nummer vorangeht, weist darauf hin, dass die benannte Aminosäure die Aminosäure ersetzt, welche normalerweise an der Aminosäureposition der hochgestellten Schrift in der grundlegenden Aminosäuresequenz vorliegt. Zum Beispiel bezieht sich „<sup>18</sup>Arg<sup>25,28</sup>Pro-h-Amylin“ auf ein Peptid basierend auf der Sequenz von „h-Amylin“ oder „humanem Amylin“ mit den folgenden Änderungen: Arg ersetzt His an Rest 18, Pro ersetzt Ala an Rest 25 und Pro ersetzt Ser an Rest 28. Die Bezeichnung „des-<sup>1</sup>Lys-h-Amylin“ bezieht sich auf ein Peptid basierend auf der Sequenz von humanem Amylin, wobei die erste oder N-terminale Aminosäure deletiert ist.

**[0040]** Amylin-Agonisten schließen die folgenden agonistischen Amylin-Analoga ein:

i) ein Amylin oder ein agonistisches Analog von Amylin mit der Aminosäuresequenz:

<sup>1</sup>A<sub>1</sub>-X-Asn-Thr-<sup>5</sup>Ala-Thr-Y-Ala-Thr-<sup>10</sup>Gln-Arg-Leu-B<sub>1</sub>-Asn-<sup>15</sup>Phe-Leu-C<sub>1</sub>-D<sub>1</sub>-E<sub>1</sub>-<sup>20</sup>F<sub>1</sub>-G<sub>1</sub>-Asn-H<sub>1</sub>-Gly-<sup>25</sup>Pro-I<sub>1</sub>-L  
eu-Pro-J<sub>1</sub>-<sup>30</sup>Thr-K<sub>1</sub>-Val-Gly-Ser-<sup>35</sup>Asn-Thr-Tyr-Z  
aufweist, wobei

A<sub>1</sub> Lys, Ala, Ser oder Wasserstoff ist;

B<sub>1</sub> Ala, Ser oder Thr ist;

C<sub>1</sub> Val, Leu oder Ile ist;

D<sub>1</sub> His oder Arg ist;

E<sub>1</sub> Ser oder Thr ist;

F<sub>1</sub> Ser, Thr, Gln oder Asn ist;

G<sub>1</sub> Asn, Gln oder His ist;

H<sub>1</sub> Phe, Leu oder Tyr ist;

I<sub>1</sub> Ile, Val, Ala oder Leu ist;

J<sub>1</sub> Ser, Pro oder Thr ist;

K<sub>1</sub> Asn, Asp oder Gln ist;

X und Y unabhängig ausgewählte Reste mit Seitenketten sind, die chemisch miteinander verbunden sind, um eine intramolekulare Verbindung zu bilden, wobei die intramolekulare Verbindung eine Disulfidbrücke, ein Lactam oder eine Thioetherverbindung umfasst; und Z Amino, Alkylamino, Dialkylamino, Cycloalkylamino, Arylamino, Aralkylamino, Alkyloxy, Aryloxy oder Aralkyloxy ist, und, unter der Voraussetzung, dass A<sub>1</sub> Lys ist, B<sub>1</sub> Ala ist, C<sub>1</sub> Val ist, D<sub>1</sub> Arg ist, E<sub>1</sub> Ser ist, F<sub>1</sub> Ser ist, G<sub>1</sub> Asn ist, H<sub>1</sub> Leu ist, I<sub>1</sub> Val ist, J<sub>1</sub> Pro ist und K<sub>1</sub> Asn ist, dann eins oder mehr von A<sub>1</sub> bis K<sub>1</sub> eine D-Aminosäure ist und Z ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Alkylamino, Dialkylamino, Cycloalkylamino, Arylamino, Aralkylamino, Alkyloxy, Aryloxy oder Aralkyloxy.

ii) ein agonistisches Analog von Amylin mit der Aminosäuresequenz:

<sup>1</sup>A<sub>1</sub>-X-Asn-Thr-<sup>5</sup>Ala-Thr-Y-Ala-Thr-<sup>10</sup>Gln-Arg-Leu-B<sub>1</sub>-Asn-<sup>15</sup>Phe-Leu-C<sub>1</sub>-D<sub>1</sub>-E<sub>1</sub>-<sup>20</sup>F<sub>1</sub>-G<sub>1</sub>-Asn-H<sub>1</sub>-Gly-<sup>25</sup>Pro-I<sub>1</sub>-L  
eu-J<sub>1</sub>-Pro-<sup>30</sup>Thr-K<sub>1</sub>-Val-Gly-Ser-<sup>35</sup>Asn-Thr-Tyr-Z  
aufweist, wobei

A<sub>1</sub> Lys, Ala, Ser oder Wasserstoff ist;

B<sub>1</sub> Ala, Ser oder Thr ist;

C<sub>1</sub> Val, Leu oder Ile ist;

D<sub>1</sub> His oder Arg ist;

E<sub>1</sub> Ser oder Thr ist;

F<sub>1</sub> Ser, Thr, Gln oder Asn ist;

G<sub>1</sub> Asn, Gln oder His ist;

H<sub>1</sub> Phe, Leu oder Tyr ist;

I<sub>1</sub> Ile, Val, Ala oder Leu ist;

J<sub>1</sub> Ser, Pro, Leu, Ile oder Thr ist;

K<sub>1</sub> Asn, Asp oder Gln ist;

X und Y unabhängig ausgewählte Reste mit Seitenketten sind, welche chemisch miteinander verbunden sind, um eine intramolekulare Verbindung zu bilden, wobei die intramolekulare Verbindung eine Disulfidbrücke, ein Lactam oder eine Thioetherverbindung umfasst, und Z Amino, Alkylamino, Dialkylamino, Cycloalkylamino, Arylamino, Aralkylamino, Alkyloxy, Aryloxy oder Aralkyloxy ist, und dass, unter der Voraussetzung, dass

a) A<sub>1</sub> Lys ist, B<sub>1</sub> Ala ist, C<sub>1</sub> Val ist, D<sub>1</sub> Arg ist, E<sub>1</sub> Ser ist, F<sub>1</sub> Ser ist, G<sub>1</sub> Asn ist, H<sub>1</sub> Leu ist, I<sub>1</sub> Val ist, J<sub>1</sub> Pro ist und K<sub>1</sub> Asn ist; oder

b) A<sub>1</sub> Lys ist, B<sub>1</sub> Ala ist, C<sub>1</sub> Val ist, D<sub>1</sub> His ist, E<sub>1</sub> Ser ist, F<sub>1</sub> Asn ist, G<sub>1</sub> Asn ist, H<sub>1</sub> Leu ist, I<sub>1</sub> Val ist, J<sub>1</sub> Ser ist und K<sub>1</sub> Asn ist;

dann eins oder mehr von A<sub>1</sub> bis K<sub>1</sub> eine D-Aminosäure ist und Z ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Alkylamino, Dialkylamino, Cycloalkylamino, Arylamino, Aralkylamino, Alkyloxy, Aryloxy oder Aralkyloxy.

iii) ein agonistisches Analog von Amylin mit der Aminosäuresequenz:

<sup>1</sup>A<sub>1</sub>-X-Asn-Thr-<sup>5</sup>Ala-Thr-Y-Ala-Thr-<sup>10</sup>Gln-Arg-Leu-B<sub>1</sub>-Asn-<sup>15</sup>Phe-Leu-C<sub>1</sub>-D<sub>1</sub>-E<sub>1</sub>-<sup>20</sup>F<sub>1</sub>-G<sub>1</sub>-Asn-H<sub>1</sub>-Gly-<sup>25</sup>I<sub>1</sub>-J<sub>1</sub>-Leu-Pro-Pro-<sup>30</sup>Thr-K<sub>1</sub>-Val-Gly-Ser-<sup>35</sup>Asn-Thr-Tyr-Z

aufweist, wobei

A<sub>1</sub> Lys, Ala, Ser oder Wasserstoff ist;

B<sub>1</sub> Ala, Ser oder Thr ist;

C<sub>1</sub> Val, Leu oder Ile ist;

D<sub>1</sub> His oder Arg ist;

E<sub>1</sub> Ser oder Thr ist;

F<sub>1</sub> Ser, Thr, Gln oder Asn ist;

G<sub>1</sub> Asn, Gln oder His ist;

H<sub>1</sub> Phe, Leu oder Tyr ist;

I<sub>1</sub> Ala oder Pro ist;

J<sub>1</sub> Ile, Val, Ala oder Leu ist;

K<sub>1</sub> Asn, Asp oder Gln ist;

X und Y unabhängig ausgewählte Reste mit Seitenketten sind, welche chemisch miteinander verbunden sind, um eine intramolekulare Verbindung auszubilden, wobei die intramolekulare Verbindung eine Disulfidbrücke, ein Lactam oder eine Thioetherverbindung umfasst; und Z Amino, Alkylamino, Dialkylamino, Cycloalkylamino, Arylamino, Aralkylamino, Alkyloxy, Aryloxy oder Aralkyloxy ist, und dass, unter der Voraussetzung, dass A<sub>1</sub> Lys ist, B<sub>1</sub> Ala ist, C<sub>1</sub> Val ist, D<sub>1</sub> Arg ist, E<sub>1</sub> Ser ist, F<sub>1</sub> Ser ist, G<sub>1</sub> Asn ist, H<sub>1</sub> Leu ist, I<sub>1</sub> Pro ist, J<sub>1</sub> Val ist und K<sub>1</sub> Asn ist, dann eins oder mehr von A<sub>1</sub> bis K<sub>1</sub> eine D-Aminosäure ist und Z ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Alkylamino, Dialkylamino, Cycloalkylamino, Arylamino, Aralkylamino, Alkyloxy, Aryloxy oder Aralkyloxy.

iv) Ein agonistisches Analog von Amylin mit der Aminosäuresequenz:

<sup>1</sup>A<sub>1</sub>-X-Asn-Thr-<sup>5</sup>Ala-Thr-Y-Ala-Thr-<sup>10</sup>Gln-Arg-Leu-B<sub>1</sub>-Asn-<sup>15</sup>Phe-Leu-C<sub>1</sub>-D<sub>1</sub>-E<sub>1</sub>-<sup>20</sup>F<sub>1</sub>-G<sub>1</sub>-Asn-H<sub>1</sub>-Gly-<sup>25</sup>Pro-I<sub>1</sub>-Leu-Pro-Pro-<sup>30</sup>Thr-J<sub>1</sub>-Val-Gly-Ser-<sup>35</sup>Asn-Thr-Tyr-Z

wobei

A<sub>1</sub> Lys, Ala, Ser oder Wasserstoff ist;

B<sub>1</sub> Ala, Ser oder Thr ist;

C<sub>1</sub> Val, Leu oder Ile ist;

D<sub>1</sub> His oder Arg ist;

E<sub>1</sub> Ser oder Thr ist;

F<sub>1</sub> Ser, Thr, Gln oder Asn ist;

G<sub>1</sub> Asn, Gln oder His ist;

H<sub>1</sub> Phe, Leu oder Tyr ist;

I<sub>1</sub> Ile, Val, Ala oder Leu ist;

J<sub>1</sub> Asn, Asp oder Gln ist, wobei

X und Y unabhängig ausgewählte Reste mit Seitenketten sind, welche chemisch miteinander verbunden

sind, um eine intramolekulare Verbindung zu bilden, wobei die intramolekulare Verbindung eine Disulfidbindung, ein Lactam oder eine Thioetherverbindung umfasst; und Z Amino, Alkylamino, Dialkylamino, Cycloalkylamino, Arylamino, Aralkylamino, Alkyloxy, Aryloxy oder Aralkyloxy ist, und unter der Voraussetzung, dass, wenn A<sub>1</sub> Lys ist, B<sub>1</sub> Ala ist, C<sub>1</sub> Val ist, D<sub>1</sub> Arg ist, E<sub>1</sub> Ser ist, F<sub>1</sub> Ser ist, G<sub>1</sub> Asn ist, H<sub>1</sub> Leu ist, I<sub>1</sub> Val ist und J<sub>1</sub> Asn ist, dann eins oder mehr von A<sub>1</sub> bis K<sub>1</sub> eine D-Aminosäure ist und Z ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Alkylamino, Dialkylamino, Cycloalkylamino, Arylamino, Aralkylamino, Alkyloxy, Aryloxy oder Aralkyloxy.

**[0041]** Bevorzugte agonistische Amylin Verbindungen, des-<sup>1</sup>Lys-h-Amylin, <sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin, <sup>18</sup>Arg<sup>25,28</sup>Pro-h-Amylin und des-<sup>1</sup>Lys<sup>18</sup>Arg<sup>25,28</sup>Pro-h-Amylin zeigen alle in vivo in behandelten Testtieren eine Amylin-Aktivität. Zusätzlich dazu, dass sie für Amylin charakteristische Aktivitäten aufweisen, wurde bei bestimmten bevorzugten Verbindungen auch gefunden, dass sie, wenn man sie mit humanem Amylin vergleicht, eine mehr erwünschte Löslichkeit und Stabilitätscharakteristika aufweisen. Diese bevorzugten Verbindungen schließen <sup>25</sup>Pro<sup>26</sup>Val<sup>28,29</sup>Pro-h-Amylin, <sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin und <sup>18</sup>Arg<sup>25,28</sup>Pro-h-Amylin ein.

**[0042]** Die Verfahren der vorliegenden Erfindung nutzen ein Amylin oder einen Amylin-Agonisten, z. B. Amylin-Rezeptor-Agonisten wie <sup>18</sup>Arg<sup>25,28</sup>Pro-h-Amylin, des-<sup>1</sup>Lys<sup>18</sup>Arg<sup>25,28</sup>Pro-h-Amylin, <sup>18</sup>Arg<sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin, des-<sup>1</sup>Lys<sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin, <sup>25,28-29</sup>Pro-h-Amylin, des-<sup>1</sup>Lys<sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin und <sup>25</sup>Pro<sup>26</sup>Val<sup>28,29</sup>Pro-h-Amylin. Beispiele von anderen Amylin-Agonisten schließen ein:

<sup>23</sup>Leu<sup>25</sup>Pro<sup>26</sup>Val<sup>28,29</sup>Pro-h-Amylin,  
<sup>23</sup>Leu<sup>25</sup>Pro<sup>26</sup>Val<sup>28</sup>Pro-h-Amylin,  
des-<sup>1</sup>Lys<sup>23</sup>Leu<sup>25</sup>Pro<sup>26</sup>Val<sup>28</sup>Pro-h-h-Amylin,  
<sup>18</sup>Arg<sup>23</sup>Leu<sup>25</sup>Pro<sup>26</sup>Val<sup>28</sup>Pro-h-Amylin,  
<sup>18</sup>Arg<sup>23</sup>Leu<sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin,  
<sup>18</sup>Arg<sup>23</sup>Leu<sup>25,28</sup>Pro-h-Amylin,  
<sup>17</sup>Ile<sup>23</sup>Leu<sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin,  
<sup>17</sup>Ile<sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin,  
des-<sup>1</sup>Lys<sup>17</sup>Ile<sup>23</sup>Leu<sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin,  
<sup>17</sup>Ile<sup>18</sup>Arg<sup>23</sup>Leu-h-Amylin,  
<sup>17</sup>Ile<sup>18</sup>Arg<sup>23</sup>Leu<sup>26</sup>Val<sup>29</sup>Pro-h-Amylin,  
<sup>17</sup>Ile<sup>18</sup>Arg<sup>23</sup>Leu<sup>25</sup>Pro<sup>26</sup>Val<sup>28,29</sup>Pro-h-Amylin,  
<sup>13</sup>Thr<sup>21</sup>His<sup>23</sup>Leu<sup>26</sup>Ala<sup>28</sup>Leu<sup>29</sup>Pro<sup>31</sup>Asp-h-Amylin,  
<sup>13</sup>Thr<sup>21</sup>His<sup>23</sup>Leu<sup>26</sup>Ala<sup>29</sup>Pro<sup>31</sup>Asp-h-Amylin,  
des-<sup>1</sup>Lys<sup>13</sup>Thr<sup>21</sup>His<sup>23</sup>Leu<sup>26</sup>Ala<sup>28</sup>Pro<sup>31</sup>Asp-h-Amylin,  
<sup>13</sup>Thr<sup>18</sup>Arg<sup>21</sup>His<sup>23</sup>Leu<sup>26</sup>Ala<sup>29</sup>Pro<sup>31</sup>Asp-h-Amylin,  
<sup>13</sup>Thr<sup>18</sup>Arg<sup>21</sup>His<sup>23</sup>Leu<sup>28,29</sup>Pro<sup>31</sup>Asp-h-Amylin, und  
<sup>13</sup>Thr<sup>18</sup>Arg<sup>21</sup>His<sup>23</sup>Leu<sup>25</sup>Pro<sup>26</sup>Ala<sup>28,29</sup>Pro<sup>31</sup>Asp-h-Amylin.

**[0043]** Noch weitere Amylin-Agonisten, einschließlich Analoga von Amylin-Agonisten sind offenbart, und Verfahren zur Herstellung und Nutzung von Amylin-Agonisten sind weiter spezifiziert in dem gemeinsamen besessenen US-Patent Nr. 5,686,411, erteilt am 11. November 1997.

**[0044]** Die Aktivität von Amylin-Agonisten kann unter Verwendung bestimmter hierin beschriebener biologischer Assays evaluiert werden. Der Rezeptorbindungs-Test kann sowohl Kandidaten für Amylin-Agonisten als auch -Antagonisten identifizieren und kann zur Evaluation der Bindung genutzt werden, während der Test zur Entleerung des Ratten-Magens verwendet werden kann, um zwischen Amylin-Agonisten und -Antagonisten zu unterscheiden. Bevorzugt zeigen agonistische Verbindungen in dem Rezeptorbindungs-Test eine Aktivität in der Größenordnung von weniger als etwas 1 bis 5 nM und, mehr bevorzugt, von weniger als etwas 50 pM. Bei dem in vivo Magen-Entleerungs-Test zeigen diese Verbindungen bevorzugt ED<sub>50</sub>-Werte in der Größenordnung von weniger als etwa 100 bis 1000 µg/Ratte.

**[0045]** Der Rezeptorbindungs-Test ist in dem Patent 5,264,372 der Vereinigten Staaten, erteilt am 23. November 1993, beschrieben. Der Rezeptorbindungs-Test ist ein Kompetitionstest, der die Fähigkeit von Verbindungen misst, spezifisch an Membrangebundene Amylin-Rezeptoren zu binden. Eine bevorzugte Quelle von den in den Tests verwendeten Membran-Präparationen ist das basale Vorderhirn, welches Membranen aus dem Nukleus accumbens und umgebenden Regionen umfasst. Getestete Verbindungen kompetitieren um die Bindung an diese Rezeptorpräparationen mit <sup>125</sup>I Boulton Hunter Rattenamylin. Kompetitionskurven, bei denen die gebundene Menge (B) als Funktion des Logarithmus der Konzentration an Ligand aufgetragen ist, werden mit dem Computer analysiert, wobei Analysen durch nicht-lineare Regression bis zu einer 4-Parameter logischen Gleichung (Inplot-Programm; Graph-PAD Software, San Diego, Kalifornien) oder das ALLFIT-Programm von De-

Lean et al. (ALLFIT, Version 2.7 (NIH, Bethesda, MD 20892) verwendet werden. Munson P. und Rodbard, D., Anal. Biochem. 107: 220–239 (1980).

**[0046]** Amyline und Amylin-Agonisten können über ihre Wirkungen auf die Entleerung des Magens unter Verwendung der Verfahren, die z. B. in der PCT-Anmeldung mit Publikationsnummer WO 95/07098 beschrieben sind, identifiziert, evaluiert oder gescreent werden, oder mit anderen im Stand der Technik bekannten oder äquivalenten Verfahren zur Bestimmung der gastrischen Motilität. Ein solches Verfahren zur Verwendung bei der Identifizierung oder Evaluation der Fähigkeit einer Verbindung, die gastrische Motilität zu verlangsamen, umfasst: (a) das Zusammenbringen einer Testprobe und eines Testsystems, wobei die Testprobe eine oder mehrere Testverbindungen umfasst, und das Testsystem ein System zur Evaluation der gastrischen Motilität umfasst, wobei das System dadurch charakterisiert ist, dass es z. B. eine erhöhte Plasmamarkierung als Antwort auf die intragastrische Einführung der Markierung in das System zeigt; und (b) die Bestimmung der Anwesenheit oder der Menge einer Erhöhung der Plasmamarkierung in dem System. Positive und/oder negative Kontrollen können auch verwendet werden. Optional kann eine vorherbestimmte Menge eines Amylin-Antagonisten (z. B. <sup>8-32</sup>Lachscalcitonin zu dem Testsystem hinzugefügt werden.

**[0047]** Amylin-Agonisten wie die oben beschriebenen werden unter Verwendung von Standard-Festphase Peptidsynthese-Techniken und bevorzugt mit einem automatisierten oder semi-automatisierten Peptid-Synthesizer hergestellt. Typischerweise werden eine  $\alpha$ -N-Carbamoyl geschützte Aminosäure und eine Aminosäure, welche mit der wachsenden Peptidkette auf einem Harz verbunden ist, bei Raumtemperatur in einem inerten Lösungsmittel wie Dimethylformamid, N-Methylpyrrolidin oder Methylenchlorid in der Anwesenheit von Kopplungsmitteln wie Dicyclohexylcarbodiimid und 1-Hydroxybenzotriazol in der Anwesenheit einer Base wie Diisopropylethylamin gekoppelt. Die  $\alpha$ -N-Carbamoyl-Schutzgruppe wird von dem sich ergebenden Peptidharz unter Verwendung eines Reagenzes wie Trifluoressigsäure oder Piperidin entfernt, und die Kopplungsreaktion wird mit der nächsten gewünschten N-geschützten Aminosäure wiederholt, welche zu der Peptidkette hinzugefügt werden soll. Geeignete N-Schutzgruppen sind in der Technik gut bekannt, wobei t-Butyloxycarbonyl (tBoc) und Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) hierin bevorzugt sind.

**[0048]** Die Lösungsmittel, Aminosäurederivate und 4-Methylbenzhydryl-Aminharz, welche in dem Peptid-Synthesizer verwendet werden, werden von Applied Biosystems Inc. (Foster City, CA) erworben, wenn nicht anders angegeben. Die an den Seitenketten geschützten Aminosäuren werden von Applied Biosystems, Inc. Erworben, und schließen die folgenden ein: Boc-Arg(Mts), Fmoc-Arg(Pmc), Boc-Thr(Bzl), Fmoc-Thr(t-Bu), Boc-Ser(Bzl), Fmoc-Ser(t-Bu), Boc-Tyr(BrZ), Fmoc-Tyr(t-Bu), Boc-Lys(Cl-Z), Fmoc-Lys(Boc), Boc-Glu(Bzl), Fmoc-Glu(t-Bu), Fmoc-His(Trt), Fmoc-Asn(Trt) und Fmoc-Gln(Trt). Boc-His(BOM) wird von Applied Biosystems, Inc. oder Bachem Inc. (Torrance, CA) erworben. Anisol, Methylsulfid, Phenol, Ethandithiol und Thioanisol werden von Aldrich Chemical Company (Milwaukee, WI) erhalten. Air Products and Chemicals (Allentown, PA) liefert HF. Ethylether, Essigsäure und Methanol werden von Fisher Scientific (Pittsburgh, PA) erworben.

**[0049]** Eine Festphasen-Peptidsynthese wird mit einem automatischen Peptid-Synthesizer (Model 430A, Applied Biosystems Inc., Foster City, CA) unter Verwendung des NMP/HOBt (Option 1) Systems und tBoc- oder Fmoc-Chemie mit Capping durchgeführt (siehe Handbuch von Applied Biosystems für den ABI 430A Peptid-Synthesizer, Version 1.3B, 1. Juli 1988, Abschnitt 6, Seiten 49–70, Applied Biosystems, Inc., Foster City, CA). Boc-Peptid-Harze werden mit HF gespalten (−5°C bis 0°C, 1 Stunde). Das Peptid wird von dem Harz durch Abwechslung von Wasser und Essigsäure extrahiert, und die Filtrate werden lyophilisiert. Die Fmoc-Peptidharze werden gemäß Standardverfahren gespalten (Introduction to Cleavage Techniques, Applied Biosystems, Inc., 1990, Seiten 6–12). Einige Peptide werden auch unter Verwendung eines Advanced Chem Tech Synthesizers (Model MPS 350, Louisville, Kentucky) zusammengesetzt.

**[0050]** Peptide werden durch RP-HPLC (präparativ und analytisch) unter Verwendung eines Waters Delta Prep 3000 Systems gereinigt. Eine C4, C8 oder C18 präparative Säule (10  $\mu$ , 2,2 × 25 cm; Vydac, Hesperia, CA) wird zur Isolation von Peptiden verwendet, und Reinheit wird unter Bestimmung einer C4, C8 oder C18 analytischen Säule bestimmt (5  $\mu$ , 0,46 × 25 cm; Vydac). Lösungsmittel (A = 0,1% TFA/Wasser und B = 0,1% TFA/CH<sub>3</sub>CN) werden der analytischen Säule bei einer Flussrate von 1,0 ml/min und der präparativen Säule bei 15 ml/min zugeführt. Aminosäureanalysen werden mit dem Waters Pico Tag System durchgeführt und unter Verwendung des Maxima Programms prozessiert. Peptide werden durch Säurehydrolyse in der Dampfphase (115°C, 20–24 h) hydrolysiert. Hydrolysate werden mit Standardverfahren derivatisiert und analysiert (Cohen et al., The Pico Tag Method: A Manual of Advanced Techniques for Amino Acid Analysis, Seiten 11–52, Millipore Corporation, Milford, MA (1989)). Eine schnelle Atombombardmentanalyse (fast atom bombardment analysis) wird mit M-Scan, Incorporated durchgeführt (West Chester, PA). Eine Massenkalibration wird unter Verwendung von Cäsiumiodid oder Cäsiumiodid/Glycerol durchgeführt. Eine Plasmadesorptionsionisationsanaly-

se unter Verwendung eines Nachweises der Flugzeit (time of flight detection) wird mit einem Applied Biosystems Bio-Ion 20 Massenspektrometer durchgeführt.

**[0051]** Bei den beanspruchten Verfahren nützliche Peptidverbindungen können auch unter Verwendung von Gentechnik hergestellt werden, unter Verwendung von nun im Stand der Technik bekannten Methoden. Siehe z. B. Sambrook et al., Molecular Cloning; A Laboratory Manual, 2. Auflage, Cold Spring Harbor (1989).

**[0052]** Die oben in Bezug genommenen Verbindungen bilden Salze mit verschiedenen anorganischen und organischen Säuren und Basen. Solche Salze schließen Salze ein, welche mit organischen und anorganischen Säuren hergestellt wurden, z. B. HCl, HBr,  $H_2SO_4$ ,  $H_3PO_4$ , Trifluoressigsäure, Essigsäure, Ameisensäure, Methansulfonsäure, Toluensulfonsäure, Äpfelsäure, Fumarsäure und Campersulfonsäure. Mit Basen hergestellte Salze schließen Ammoniumsalze, Alkalimetallsalze, z. B. Natrium- und Kaliumsalze, und Erdalkalisalze, z. B. Calcium- und Magnesiumsalze, ein. Acetat-, Hydrochlorid- und Trifluoressigsäuresalze sind bevorzugt. Die Salze können mit konventionellen Mitteln gebildet werden, wie z. B. durch ein zur Reaktion Bringern der freien Säure- oder Baseformen des Produkts mit einem oder mehr Äquivalenten der geeigneten Base oder Säure in einem Lösungsmittel oder Medium, in dem das Salz unlöslich ist, oder in einem Lösungsmittel wie Wasser, welches dann im Vakuum oder durch Gefriertrocknung entfernt wird, oder durch Austauschen der Ionen eines bestehenden Salzes gegen ein anderes Ion mit einem geeigneten Ionenaustauschharz.

**[0053]** Es werden hierin auch Zusammensetzungen beschrieben, die bequemerweise in der Form von Formulierungen zur Verfügung gestellt werden, die zur parenteralen (einschließlich intravenösen, intramuskulären und subkutanen) oder nasalen oder transdermalen und/oder geeignet verkapselt oder auf andere Art mit einem anderen Verfahren zur oralen Verabreichung geeignet zubereitet sind. Ein geeignetes Format zur Verabreichung kann am besten für jeden Patienten individuell durch einen medizinischen Praktiker bestimmt werden. Geeignete pharmazeutisch akzeptable Träger und ihre Formulierung sind in Standardwerken zur Formulierung beschrieben, z. B. Remington's Pharmaceutical Sciences von E.W. Martin. Siehe auch Wang, Y.J. und Hanson, M.A. "Parenteral Formulations of Proteins and Peptides: Stability and Stabilizers," Journal of Parenteral Science and Technology, Technical Report Nr. 10, Supp. 42:2S (1988).

**[0054]** Hierin werden auch Verbindungen beschrieben, die als parenterale Zusammensetzungen zur Injektion oder Infusion zur Verfügung gestellt werden können. Bevorzugt sind sie in einem wässrigen Träger gelöst, z. B. in einer isotonischen Pufferlösung bei einem pH von etwa 4,3 bis 7,4. Diese Zusammensetzungen können durch konventionelle Sterilisierungstechniken sterilisiert werden, oder sie können sterilfiltriert werden. Die Zusammensetzungen können pharmazeutisch akzeptable Hilfssubstanzen enthalten, wie sie benötigt werden, um die Formulierung zu stabilisieren, wie den pH-Wert puffernde Agenzien. Nützliche Puffer schließen z. B. Natriumacetat/Essigsäure-Puffer ein. Eine Form von Vorrats- oder „Depot“-Zusammensetzung mit langsamer Freisetzung kann verwendet werden, so dass therapeutisch effektive Mengen der Zusammensetzung über mehrere Stunden oder Tage nach transdermaler Injektion oder Verabreichung in den Blutstrom freigesetzt werden.

**[0055]** Bevorzugt schließen diese parenteralen Dosierungsformen jeweils etwa 0,01 bis 0,5 w/v% eines Amyllins und/oder eines Amylin-Agonisten in einem wässrigen System zusammen mit etwa 0,02 bis 0,5 w/v% eines Acetat-, Phosphat-, Citrat- oder Glutamatpuffers ein, um einen pH der endgültigen Zusammensetzung von etwa 3,0 bis 6,0 (mehr bevorzugt 3,0 bis 5,5) zu erreichen, genau wie etwa 1,0 bis 10 w/v% eines Carbohydrat- oder polyhydrischen Alkohol-Tonifizierungsmittels in einer wässrigen kontinuierlichen Phase. Etwa 0,005 bis 1,0 w/v% eines antimikrobiellen Konservierungsstoffs ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus m-Cresol, Benzylalkohol, Methyl, Ethyl, Propyl und Butylparabenen und Phenol liegt auch in der bevorzugten Formulierung des Produkts vor, welches so entworfen ist, dass es dem Patienten erlaubt, multiple Dosen abzunehmen. Ein Stabilisierungsmittel ist in dieser Formulierung nicht nötig. Eine ausreichende Menge von Wasser zur Injektion wird verwendet, um die gewünschte Konzentration der Lösung zu erhalten. Natriumchlorid genau wie andere Hilfsstoffe kann wenn gewünscht auch vorliegen. Solche Hilfsstoffe müssen jedoch die Gesamtstabilität des Amyllins oder eines Amylin-Agonisten erhalten. Die flüssige Formulierung sollte isotonisch sein. Am meisten bevorzugt ist in den Formulierungen von Amylin und/oder Amylin-Agonist zur parenteralen Verabreichung der polyhydrische Alkohol Mannitol, der Puffer ist ein Acetatpuffer, der Konservierungsstoff ist etwa 0,1 bis 0,3 w/v m-Cresol und der pH ist etwa 3,7 bis 4,3.

**[0056]** Die erwünschte Isotonizität kann unter Verwendung von Natriumchlorid oder anderen pharmazeutisch akzeptablen Agenzien, zum Beispiel Dextrose, Borsäure, Natriumtartrat, Propylenglykol, Polyolen (zum Beispiel Mannitol und Sorbitol) oder anderen anorganischen oder organischen zu lösenden Substanzen erreicht werden. Natriumchlorid ist besonders für Puffer bevorzugt, welche Natriumionen enthalten.

**[0057]** Wenn gewünscht, können Lösungen der obigen Zusammensetzungen mit einem Verdickungsmittel wie Methylcellulose verdickt werden. Sie können in Emulsionsform, entweder Wasser-in-Öl oder Öl-in-Wasser, hergestellt werden. Jedes einer großen Vielzahl von pharmazeutisch akzeptablen emulsionsbildenden Agenten kann genutzt werden, einschließlich z. B. Akazienpuder, ein nicht-ionisches oberflächenaktives Mittel (so wie ein Tween) oder ein ionisches oberflächenaktives Mittel (so wie Alkalipolyetheralkoholsulfate oder -sulfonate, z. B. ein Triton)

**[0058]** Hierin offenbarte Zusammensetzungen, die gemäß der vorliegenden Erfindung über einen Weg verabreicht werden, der ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus subkutaner, intravenöser, nasaler, oraler, pulmonärer, transdermaler und bakkaler Verabreichung, werden hergestellt, indem man die Zutaten nach allgemein akzeptierten Verfahren mischt. Zum Beispiel können die ausgewählten Komponenten einfach in einem Mixer oder einer anderen Standardvorrichtung gemischt werden, um eine konzentrierte Mischung zu bilden, welche dann durch das Hinzufügen von Wasser oder Verdickungsmittel und eventuell eines Puffers zur Kontrolle des pH oder eines zusätzlichen Soluts zur Kontrolle der Tonizität an die Endkonzentration und -viskosität angepasst werden kann.

**[0059]** Zur Verwendung durch den Arzt werden die Verbindungen in Form von Dosiereinheiten bereitgestellt, welche eine Menge eines Amylin oder Amylin-Agonisten, zum Beispiel eines Amylin-Agonisten mit einem NSAID enthält, welche in einer oder vielfacher Dosis wirksam zu der Kontrolle von Schmerz, Entzündung, Körpertemperatur, Koagulabilität des Bluts, oder einer anderen als Ziel gewählten biologischen Antwort ist. Therapeutisch effektive Mengen eines Amylin oder Amylin-Agonisten sind solche, die das Ziel gewählte Symptom verbessern, oder das gewünschte Niveau an Kontrolle erreichen. Wie durch die in dem Gebiet Tätigen erkannt werden wird, wird eine effektive Menge an therapeutischem Agens von vielen Faktoren abhängen, einschließlich des Alters und des Gewichts des Patienten, des physischen Zustands des Patienten, der gewünschten Wirkung und anderer Faktoren.

**[0060]** Die therapeutisch effektive tägliche Dosis von Amylin oder Amylin-Agonisten zur Behandlung von Gastrotritis und Magengeschwüren, einschließlich h-Amylin,  $^{18}\text{Arg}^{25,28}\text{Pro-h-Amylin}$ , des- $^1\text{Lys}^{18}\text{Arg}^{25,28}\text{Pro-h-Amylin}$ ,  $^{18}\text{Arg}^{25,28,29}\text{Pro-h-Amylin}$ , des- $^1\text{Lys}^{18}\text{Arg}^{25,28,29}\text{Pro-h-Amylin}$ ,  $^{25,28,29}\text{Pro-h-Amylin}$ , des- $^1\text{Lys}^{25,28,29}\text{Pro-h-Amylin}$  und  $^{25}\text{Pro}^{26}\text{Val}^{28,29}\text{Pro-h-Amylin}$ , wird typischerweise in dem Bereich von 0,01 µg/kg/Tag bis etwa 10 µg/kg/Tag liegen, bevorzugt zwischen etwa 0,05 µg/kg/Tag bis etwa 6,0 µg/kg/Tag, mehr bevorzugt zwischen etwa 1–6 µg/kg/Tag und noch mehr bevorzugt zwischen etwa 0,5 µg/kg/Tag bis etwa 4,0 µg/kg/Tag, verabreicht in einer einzelnen oder aufgeteilten Dosen.

**[0061]** Die effektive tägliche Dosis eines Amylins oder eines Amylin-Agonisten in Kombination mit einem NSAID einschließlich h-Amylin,  $^{18}\text{Arg}^{25,28}\text{Pro-h-Amylin}$ , des- $^1\text{Lys}^{18}\text{Arg}^{25,28}\text{Pro-h-Amylin}$ ,  $^{18}\text{Arg}^{25-28,29}\text{Pro-h-Amylin}$ , des- $^1\text{Lys}^{18}\text{Arg}^{25,28,29}\text{Pro-h-Amylin}$ ,  $^{25,28,29}\text{Pro-h-Amylin}$ , des- $^1\text{Lys}^{25,28,29}\text{Pro-h-Amylin}$  und  $^{25}\text{Pro}^{26}\text{Val}^{28,29}\text{Pro-h-Amylin}$ , wird typischerweise in dem Bereich von 0,01 µg/kg/Tag bis etwa 10 µg/kg/Tag, bevorzugt zwischen etwa 0,05 µg/kg/Tag bis etwa 6,0 µg/kg/Tag, mehr bevorzugt zwischen etwa 1–6 µg/kg/Tag und noch mehr bevorzugt zwischen etwa 0,5 µg/kg/Tag bis etwa 4,0 µg/kg/Tag, verabreicht in einer einzigen oder aufgeteilten Dosen, liegen. Für diese Indikationen wird die effektive tägliche Dosis des NSAID von dem verwendeten Agens abhängen, und sie ist vergleichbar mit den Dosen, wenn NSAIDs alleine verwendet werden. Zum Beispiel liegen tägliche Dosen für Salicylat (Aspirin) bei 150 mg bis 3,5 g/Tag, für Phenylbutazon bei 100 mg bis 600 mg/Tag, für Indomethacin 50 mg bis 200 mg/Tag und für Acetaminophen 3 g bis 6 g/Tag.

**[0062]** Die effektive tägliche Dosis eines Amylins oder eines Amylin-Agonisten zur Reduktion der unerwünschten Magen-Wirkungen der Verabreichung eines NSAID, einschließlich h-Amylin,  $^{18}\text{Arg}^{25,28}\text{Pro-h-Amylin}$ , des- $^1\text{Lys}^{18}\text{Arg}^{25,28}\text{Pro-h-Amylin}$ ,  $^{18}\text{Arg}^{25-28,29}\text{Pro-h-Amylin}$ , des- $^1\text{Lys}^{18}\text{Arg}^{25,28,29}\text{Pro-h-Amylin}$ ,  $^{25,28,29}\text{Pro-h-Amylin}$ , des- $^1\text{Lys}^{25,28,29}\text{Pro-h-Amylin}$  und  $^{25}\text{Pro}^{26}\text{Val}^{28,29}\text{Pro-h-Amylin}$ , wird typischerweise in dem Bereich von 0,01 µg/kg/Tag bis etwa 10 µg/kg/Tag, bevorzugt zwischen etwa 0,05 µg/kg/Tag bis etwa 6,0 µg/kg/Tag, mehr bevorzugt zwischen etwa 1–6 µg/kg/Tag und noch mehr bevorzugt zwischen etwa 0,5 µg/kg/Tag bis etwa 4,0 µg/kg/Tag, verabreicht in einer einzigen oder aufgeteilten Dosen, liegen. Für diese Indikationen wird die effektive tägliche Dosis des NSAID von dem verwendeten Agens abhängen, und sie ist vergleichbar mit den Dosen, wenn NSAIDs alleine verwendet werden. Zum Beispiel liegen tägliche Dosen für Salicylat (Aspirin) bei 150 mg bis 3,5 g/Tag, für Phenylbutazon bei 100 mg bis 600 mg/Tag, für Indomethacin 50 mg bis 200 mg/Tag und für Acetaminophen 3 g bis 6 g/Tag.

**[0063]** Die exakte, für jede Indikation zu verabreichende Dosis wird durch den betreuenden Kliniker bestimmt und hängt davon ab, wo die besondere Verbindung in dem oben genannten Bereich liegt, genau wie von dem Alter, Gewicht und Zustand des Individuums. Fachleute werden erkennen, dass auch andere nicht-tägliche Do-

sen verabreicht werden können. Die Verabreichung sollte bei Gastritis oder Geschwüren bei dem ersten Zeichen von Symptomen beginnen, oder zu dem Zeitpunkt, an dem bestimmt wird, dass das Subjekt eine NSAID-Therapie beginnen soll. Eine Verabreichung ist bevorzugt durch intravenöse, subkutane oder intramuskuläre Injektion. Die Verabreichung kann auch nasal, transdermal oder bukkal sein. Oral aktive Verbindungen können oral gegeben werden, die Dosierungen sollten jedoch auf der Basis von ihrer Potenz und Bioverfügbarkeiten, wie angemessen, angepasst werden.

**[0064]** Die folgenden Beispiele sind illustrativ, aber nicht beschränkend für die Verfahren der vorliegenden Erfindung. Andere geeignete Amylins und Amylin-Agonisten, die zur Verwendung in den beanspruchten Verfahren angepasst werden können, sind auch angemessen und liegen im Geist und Rahmen der Erfindung.

#### BEISPIEL 1

##### Gastroprotektive Eigenschaften von Amylin

**[0065]** Die gastroprotektiven Eigenschaften von Amylin in einem Tiermodell der Gastritis – Ratten, denen über eine Magensonde Ethanol zugeführt wurde – sind in diesem Beispiel beschrieben.

**[0066]** Die Effekte von Amylin auf die Induktion von experimentellem Mucosa-Schaden bei Ratten durch Einflößen von 1 ml absolutem Ethanol durch eine Magensonde wurde untersucht. Mucosa-Schaden wurde durch gegenüber der Behandlung blinden Forschern zwischen 0 (kein Schaden) und 5 bewertet (100% des Magens bedeckt durch Hyperämie und Geschwüre). Ratten-Amylin in Salzlösung wurde subkutan in Dosierungen von 0, 0,001, 0,01, 0,1, 0, 3, 1, 3 oder 10 µg (jeweils n = 12, 5, 5, 5, 9, 9, 5, 6) fastenden männlichen Harlan Sprague Dawley-Ratten bei Bewusstsein 5 Minuten vor Sondierung injiziert. Mucosa-Schäden, berechnet als Prozent der Werte bei den mit Salzlösung behandelten Kontrollen, waren bei den obigen ansteigenden subkutanen Dosen jeweils: 100,0 ± 8,3%, 95,3 ± 15,2%, 76,6 ± 13,8%, 70,1 ± 10,7%\*, 33,9 ± 7,7%\*\*, 59,6 ± 5,8%\*\*, 35,6 ± 11,5%\*\*, 32,9 ± 8,3%\*\* (\*P < 0,05, \*\* P < 0,001 gegen Salzlösungskontrolle). Das heißt, Amylin induzierte den Verletzungswert um bis zu 67%, wie bei der 10 µg-Dosis beobachtet wird. Der ED<sub>50</sub> für die gastroprotektive Wirkung von Amylin in diesem experimentellen System war 0,036 µg/g/Ratte ± 0,4 log-Einheiten. Bei der 50% gastroprotektiven Dosis von Ratten-Amylin (0,036 µg/Ratte) wurde vorhergesagt, dass sie zirkulierende Amylin-Konzentrationen um 1,8 ± 0,4 pM erhöht. Diese Vorhersage wurde erhalten, indem man die veröffentlichte Beziehung zwischen injizierter subkutaner Dosis und maximaler Plasmakonzentration in Ratten anwendet. Young, A. A. et al., Drug Devel. Res. 37:231–48 (1996). Eine Veränderung in der Plasmakonzentration von Amylin von 1,8 pM liegt in dem Bereich von Fluktuationen, von denen berichtet wird, dass sie bei normalen Nagern auftreten, was darauf hinweist, dass endogenes zirkulierendes Amylin wahrscheinlich einen tonischen gastroprotektiven Effekt ausübt. Das Nachmachen dieses physiologischen Effekts wird wahrscheinlich nicht zu unerwünschten Nebenwirkungen führen, wie dies bei der Verabreichung von nicht-physiologischen Xenobiotika oft der Fall ist. Die Abwesenheit von Nebenwirkungen verstärkt die Nützlichkeit von Amylin-Agonisten, die für die hierin beschriebenen Zwecke in dieser Art verwendet werden.

#### BEISPIEL 2

##### Herstellung von <sup>25,28,29</sup>-Pro-h-Amylin

**[0067]** Eine Festphasesynthese von <sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin unter Verwendung von Methylbenzhydrylamin-Anker gebundenem Harz und N<sup>α</sup>-Boc/Benzyl-Seitenkettenschutz wurde mit Standard Peptidsyntheseverfahren durchgeführt. Das <sup>2,7</sup>-[Disulfid]amylin-MBHA-Harz wurde durch Behandlung von mit Acm geschützten Cysteinen mit Thallium(III)trifluoracetat in Trifluoressigsäure erhalten. Nachdem Cyclisierung erreicht wurde, wurden das Harz und die Seitenkettenschutzgruppen mit flüssigem HF in der Anwesenheit von Dimethylsulfid und Anisol gespalten. Das <sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin wurde durch präparative reversed-phase HPLC gereinigt. Mit analytischer HPLC und Kapillar-Elektrophorese wurde gefunden, dass das Peptid homogen war, und die Struktur wurde durch Aminosäureanalyse und Sequenzanalyse bestätigt. Das Produkt ergab die gewünschte Masse des Ions. FAB-Massenspektrometrie: (M+H)<sup>+</sup> = 3,949.

#### BEISPIEL 3

##### Herstellung von <sup>18</sup>Arg<sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin

**[0068]** Eine Festphasesynthese von <sup>18</sup>Arg<sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin unter Verwendung von Methylbenzhydrylamin-Anker gebundenem Harz und N<sup>α</sup>-Boc/Benzyl-Seitenkettenschutz wurde mit Standard Peptidsynthesever-

fahren durchgeführt. Das <sup>2,7</sup>-[Disulfid]amylin-MBHA-Harz wurde durch Behandlung von mit Acm geschützten Cysteinen mit Thallium(III)trifluoracetat in Trifluoressigsäure erhalten. Nachdem Cyclisierung erreicht wurde, wurden das Harz und die Seitenkettenenschutzgruppen mit flüssigem HF in der Anwesenheit von Dimethylsulfid und Anisol gespalten. Das <sup>18</sup>Arg<sup>25,28</sup>Pro-h-Amylin wurde durch präparative reversed-phase HPLC gereinigt. Mit analytischer HPLC und Kapillar-Elektrophorese wurde gefunden, dass das Peptid homogen war, und die Struktur wurde durch Aminosäureanalyse und Sequenzanalyse bestätigt. Das Produkt ergab die gewünschte Masse des Ions. FAB-Massenspektrometrie: (M+H)<sup>+</sup> = 3,971.

#### BEISPIEL 4

##### Herstellung von <sup>18</sup>Arg<sup>25,28</sup>Pro-h-Amylin

**[0069]** Eine Festphasesynthese von <sup>18</sup>Arg<sup>25,28</sup>Pro-h-Amylin unter Verwendung von Methylbenzhydrylamin-Anker gebundenem Harz und N<sup>a</sup>-Boc/Benzyl-Seitenkettenenschutz wurde mit Standard Peptidsyntheseverfahren durchgeführt. Das <sup>2,7</sup>-[Disulfid]amylin-MBHA-Harz wurde durch Behandlung von mit Acm geschützten Cysteinen mit Thallium(III)trifluoracetat in Trifluoressigsäure erhalten. Nachdem Cyclisierung erreicht wurde, wurden das Harz und die Seitenkettenenschutzgruppen mit flüssigem HF in der Anwesenheit von Dimethylsulfid und Anisol gespalten. Das <sup>18</sup>Arg<sup>25,28</sup>Pro-h-Amylin wurde durch präparative reversed-phase HPLC gereinigt. Mit analytischer HPLC und Kapillar-Elektrophorese wurde gefunden, dass das Peptid homogen war, und die Struktur wurde durch Aminosäureanalyse und Sequenzanalyse bestätigt. Das Produkt ergab die gewünschte Masse des Ions. FAB-Massenspektrometrie: (M+H)<sup>+</sup> = 3,959.

#### BEISPIEL 5

##### Rezeptorbindungsassay

**[0070]** Eine Evaluation der Bindung von Verbindungen an Amylin-Rezeptoren wurde wie folgt durchgeführt. <sup>125</sup>I-Ratten-Amylin (an dem N-terminalen Lysin mit Bolton-Hunter-Markierung) wurde von Amersham Corporation (Arlington Heights, IL) erworben. Spezifische Aktivitäten zum Zeitpunkt der Verwendung waren im Bereich von 1950 to 2000 Ci/mmol. Unmarkierte Peptide wurden von BACHEM Inc. (Torrance, CA) und Peninsula Laboratories (Belmont, CA) erhalten.

**[0071]** Männliche Sprague-Dawley-Ratten (200–250 g) wurden durch Köpfen geopfert. Die Gehirne wurden in kalte Phosphat-gepufferte Salzlösung (phosphate-buffered saline (PBS) transferiert. Aus der ventralen Oberfläche wurden Schnitte rostral gegenüber dem Hypothalamus gemacht, lateral begrenzt durch die olfaktorischen Trakte und sich in einem 45° Winkel medial von diesen Trakten ausdehnend. Dieses basale Vorhirngewebe, welches den Nukleus accumbens und umgebende Regionen enthielt, wurde gewogen und in 20 mM eiskaltem HEPES-Puffer (20 mM HEPES-Säure, pH angepasst auf 7,4 mit NaOH bei 23°C) homogenisiert. Die Membranen wurden dreimal durch Zentrifugation für 15 Minuten bei 48 00 × g in frischem Puffer gewaschen. Das endgültige Membranpellet wurde in 20 mM HEPES-Puffer resuspendiert, welcher 0,2 mM Phenylmethylsulfonylfluorid (PMSF) enthielt.

**[0072]** Zur Messung der Bindung von <sup>125</sup>I-Amylin wurden Membranen aus 4 mg ursprünglichem Nassgewicht des Gewebes mit <sup>125</sup>I-Amylin bei 12–16 pM in 20 mM HEPES-Puffer, welcher 0,5 mg/ml Bacitracin, 0,5 mg/ml bovines Serumalbumin und 0,2 mM PMSF enthielt, inkubiert. Lösungen wurden für 60 Minuten bei 23°C inkubiert. Die Inkubationen wurden durch Filtration durch GF/B-Glas-Fiberfilter (Whatman Inc., Clifton, NJ) beendet, welche vorher für 4 Stunden in 0,3 Polyethylenimin eingeweicht wurden, um nicht-spezifische Bindung von radiomarkierten Peptiden zu reduzieren. Die Filter wurden direkt vor der Filtration mit 5 ml kaltem PBS und sofort nach der Filtration mit 15 ml kaltem PBS gewaschen. Die Filter wurden entfernt und die Radioaktivität in einem Gammazähler bei einer Zähleffizienz von 77% beurteilt. Kompetitionskurven wurden erstellt, indem die Bindung in der Anwesenheit von 10<sup>-12</sup> bis 10<sup>-6</sup> M unmarkierter Testverbindung gemessen wurde, und sie wurden durch nicht-lineare Regression unter Verwendung einer 4-Parameter-logischen Gleichung (Inplot program; GraphPAD Software, San Diego) analysiert.

**[0073]** In diesem Assay bindet gereinigtes humanes Amylin an seinen Rezeptor mit einem gemessenen IC<sub>50</sub> von etwa 50 pM. Ergebnisse für Testverbindungen sind in Tabelle I angegeben, und sie zeigen, dass jede der Verbindungen eine signifikante Rezeptorbindungsaktivität aufweist.

## TABELLE I

EC <sub>50</sub> (nM)	Rezeptorbindungsassay IC <sub>50</sub> (pM)
1) <sup>28</sup> Pro-h-Amylin	15,0
2) <sup>25</sup> Pro <sup>26</sup> Val <sup>28,29</sup> Pro-h-Amylin	18,0
3) <sup>2-7</sup> Cyclo-[ <sup>2</sup> Asp, <sup>7</sup> Lys]-h-Amylin	310,0
4) <sup>2-37</sup> h-Amylin	236,0
5) <sup>1</sup> Ala-h-Amylin	148,0
6) <sup>1</sup> Ser-h-Amylin	33,0
7) <sup>29</sup> Pro-h-Amylin	64,0
8) <sup>25,28</sup> Pro-h-Amylin	26,0
9) des- <sup>1</sup> Lys <sup>25,28</sup> Pro-h-Amylin	85,0
10) <sup>18</sup> Arg <sup>25,28</sup> Pro-h-Amylin	32,0
11) des <sup>1</sup> Lys <sup>18</sup> Arg <sup>25,28</sup> Pro-h-Amylin	82,0
12) <sup>18</sup> Arg <sup>25,28,29</sup> Pro-h-Amylin	21,0
13) des <sup>1</sup> Lys <sup>18</sup> Arg <sup>25,28,29</sup> Pro-h-Amylin	21,0
14) <sup>25,28,29</sup> Pro-h-Amylin	10,0
15) des- <sup>1</sup> Lys <sup>25,28,29</sup> Pro-h-Amylin	14,0

## BEISPIEL 6

## PHENOLROT-TEST ZUR ENTLEERUNG DES MAGENS

**[0074]** Die Entleerung des Magens wurde unter Verwendung einer Modifikation (Plourde et al., Life Sci. 53:857-862 (1993)) des Originalverfahrens von Scarpignato et al. (Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 246:286-295 (1980)) gemessen. Kurz, Ratten bei Bewusstsein erhielten über eine Magensonde 1,5 ml eines acolorischen Gels, welches 1,5% Methylcellulose (M-0262, Sigma Chemical Co., St Louis, MO) und 0,05% Phenolrot-Indikator enthielt. 20 Minuten nach der Magensondierung wurden die Ratten unter Verwendung von 5% Halothan anästhesiert, der Magen freigelegt und unter Verwendung von Arterienzangen an den pylorischen und unteren Speiseröhrenschließmuskeln verschlossen, entfernt und in eine alkalische Lösung geöffnet, welche auf ein festes Volumen eingestellt wurde. Der Mageninhalt ergab sich aus der Intensität des Phenolrots in der alkalischen Lösung, gemessen durch Absorption bei einer Wellenlänge von 560 nm. Bei den meisten Experimenten war der Magen sauber. Bei anderen Experimenten wurden teilchenförmige Mageninhalte zentrifugiert, um die Lösung für Messungen der Absorption zu klären. Wenn die verdünnten Mageninhalte trübe blieben, wurde die spektroskopische Absorption, welche auf Phenolrot zurückzuführen war, als der Unterschied zwischen derjenigen erhalten, welche in alkalischer gegenüber angesäuerter Verdünnungslösung erhalten wurde. Bei getrennten Experimenten bei 7 Ratten wurden der Magen und der Dünndarm beide ausgeschnitten und in eine alkalische Lösung geöffnet. Die Menge an Phenolrot, welches aus dem oberen Gastrointestinaltrakt innerhalb von 29 Minuten nach Sondierung wiedergewonnen werden konnte, war  $89 \pm 4\%$ ; Farbstoff, welcher unwiderstehlich an die lumrale Oberfläche des Eingeweides zu binden schien, könnte den Rest ausgemacht haben. Um eine maximale Wiedergewinnung von weniger als 100% Farbstoff zu berücksichtigen, wurde der Prozentsatz von Mageninhalt, der nach 20 Minuten verblieb, als ein Anteil des Mageninhalts ausgedrückt, der von Kontroll-Ratten wiedergewonnen wurde, die in dem gleichen Experiment direkt nach der Sondierung geopfert wurden. Prozent Restmageninhalt = (Absorption nach 20 min)/(Absorption bei 0 min). Dosisantwortkurven zur Entleerung des Magens wurden unter Verwendung von einer iterativen Routine mit dem Minimum an Quadraten (least-squares iterative routine, ALLFIT, v2.7, NIH, Bethesda, MD) an ein logisches Modell mit 4 Parametern angepasst, um ED<sub>50</sub>s abzuleiten. Da ED<sub>50</sub> logarithmisch normalverteilt ist, wird es  $\pm$  Standardabweichung des Logarithmus ausgedrückt. Paarweise Vergleiche wurde unter Verwendung von Einwegeanalysen der Varianz und des Student-Newman-Keuls multiplen Vergleichstest (Instat v2.0, GraphPad Software, San Diego, CA) unter Verwendung von P < 0,05 als Signifikanzniveau durchgeführt.

**[0075]** In Dosisantwortstudien wurde Ratten-Amylin (Bachem, Torrance, CA) in 0,15 M Salzlösung gelöst, wurde als 0,1 ml subkutaner Bolus in Dosen von 0, 0,01, 0,1, 1, 10 oder 100 µg 5 Minuten vor Sondierung an Harlan Sprague Dawley (nicht-diabetische) Ratten, welche 20 Stunden gefastet hatten, und an diabetische BB-Ratten, welche 6 Stunden gefastet hatten, verabreicht. Wenn subkutane Amylin-Injektionen 5 Minuten vor Sondierung mit Phenolrot-Indikator gegeben wurden, gab es eine Dosis-abhängige Unterdrückung der Entleerung des Magens (Daten nicht gezeigt). Unterdrückung der Entleerung des Magens war bei normalen HSD-Ratten, welche 1 µg Amylin verabreicht bekamen, und bei diabetischen Ratten, welche 10 µg verabreicht bekamen, vollständig (P = 0,22; 0,14). Der ED<sub>50</sub> zur Inhibition der Entleerung des Magens bei normalen Ratten

war 0,43 µg (0,60 nmol/kg) ± 0,19 log-Einheiten, und er war 2,2 µ (2,3 nmol/kg) ± 0,18 log-Einheiten bei dia-betischen Ratten.

## BEISPIEL 7

### TRITIUM-GLUCOSE-TEST ZUR ENTLEERUNG DES MAGENS

**[0076]** Nicht-fastende Harlan Sprague Dawley Ratten bei Bewusstsein wurden am Schwanz festgehalten, dessen Spitze unter Verwendung von 2% Lidocain anästhetisiert wurde. Tritium im Plasma, welches aus Schwanzblut abgetrennt wurde, das 0, 15, 30, 60, 90 und 120 Minuten nach Sondierung entnommen wurde, wurde in einem Beta-Zähler nachgewiesen. Ratten bekamen 1 Minute vor Sondierung subkutan 0,1 ml Salzlösung injiziert, welche 0, 0,1, 0,3 1, 10 oder 100 µg Ratten-Amylin enthielt, (jeweils n = 8, 7,5,5,5,). Nach Sonnenfütterung von Ratten, die vorher Salzlösung injiziert bekamen, mit mit Tritium versehener Glucose nahm Tritium im Plasma schnell zu (t ½ von etwa 8 Minuten), bis zu einer Asymptote, die langsam abnahm. Subkutane Injektion von Amylin verlangsamte und/oder verzögerte die Absorption der Markierung Dosis-abhängig. Plasma-Tritiumaktivität wurde über 30 Minuten integriert, um die Region unter der Kurve geplottet als eine Funktion der Amylin-Dosis zu erhalten. Die aus der logischen Anpassung erhaltene ED<sub>50</sub> war 0,35 µg Amylin.

### Patentansprüche

1. Verwendung eines Amylins oder eines agonistischen Analogs von Amylin, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus

i) einem agonistischen Analog von Amylin oder einem Amylin mit der Aminosäuresequenz:

<sup>1</sup>A<sub>1</sub>-X-Asn-Thr-<sup>5</sup>Ala-Thr-Y-Ala-Thr-<sup>10</sup>Gln-Arg-Leu-B<sub>1</sub>-Asn-<sup>15</sup>Phe-Leu-C<sub>1</sub>-D<sub>1</sub>-E<sub>1</sub>-<sup>20</sup>F<sub>1</sub>-G<sub>1</sub>-Asn-H<sub>1</sub>-Gly-<sup>25</sup>Pro-I<sub>1</sub>-Leu-Pro-J<sub>1</sub>-<sup>30</sup>Thr-K<sub>1</sub>-Val-Gly-Ser-<sup>35</sup>Asn-Thr-Tyr-Z,

wobei

A<sub>1</sub> Lys, Ala, Ser oder Wasserstoff ist;

B<sub>1</sub> Ala, Ser oder Thr ist;

C<sub>1</sub> Val, Leu oder Ile ist;

D<sub>1</sub> His oder Arg ist;

E<sub>1</sub> Ser oder Thr ist;

F<sub>1</sub> Ser, Thr, Gln oder Asn ist;

G<sub>1</sub> Asn, Gln oder His ist;

H<sub>1</sub> Phe, Leu oder Tyr ist;

I<sub>1</sub> Ile, Val, Ala oder Leu ist;

J<sub>1</sub> Ser, Pro oder Thr ist;

K<sub>1</sub> Asn, Asp oder Gln ist;

X und Y unabhängig ausgewählte Reste mit Seitenketten sind, die chemisch miteinander verbunden sind, um eine intramolekulare Verbindung zu bilden, wobei die intramolekulare Verbindung eine Disulfidbrücke, ein Lactam oder eine Thioetherverbindung umfasst; und Z Amino, Alkylamino, Dialkylamino, Cycloalkylamino, Arylamino, Aralkylamino, Alkyloxy, Aryloxy oder Aralkyloxy ist, und dass, unter der Voraussetzung, dass A<sub>1</sub> Lys ist, B<sub>1</sub> Ala ist, C<sub>1</sub> Val ist, D<sub>1</sub> Arg ist, E<sub>1</sub> Ser ist, F<sub>1</sub> Ser ist, G<sub>1</sub> Asn ist, H<sub>1</sub> Leu ist, I<sub>1</sub> Val ist, J<sub>1</sub> Pro ist und K<sub>1</sub> Asn ist, dann eins oder mehr von A<sub>1</sub> bis K<sub>1</sub> eine D-Aminosäure ist und Z ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Alkylamino, Dialkylamino, Cycloalkylamino, Arylamino, Aralkylamino, Alkyloxy, Aryloxy oder Aralkyloxy.

ii) einem agonistischen Analog von Amylin mit der Aminosäuresequenz:

<sup>1</sup>A<sub>1</sub>-X-Asn-Thr-<sup>5</sup>Ala-Thr-Y-Ala-Thr-<sup>10</sup>Gln-Arg-Leu-B<sub>1</sub>-Asn-<sup>15</sup>Phe-Leu-C<sub>1</sub>-D<sub>1</sub>-E<sub>1</sub>-<sup>20</sup>F<sub>1</sub>-G<sub>1</sub>-Asn-H<sub>1</sub>-Gly-<sup>25</sup>Pro-I<sub>1</sub>-Leu-J<sub>1</sub>-Pro-<sup>30</sup>Thr-K<sub>1</sub>-Val-Gly-Ser-<sup>35</sup>Asn-Thr-Tyr-Z,

wobei

A<sub>1</sub> Lys, Ala, Ser oder Wasserstoff ist;

B<sub>1</sub> Ala, Ser oder Thr ist;

C<sub>1</sub> Val, Leu oder Ile ist;

D<sub>1</sub> His oder Arg ist;

E<sub>1</sub> Ser oder Thr ist;

F<sub>1</sub> Ser, Thr, Gln oder Asn ist;

G<sub>1</sub> Asn, Gln oder His ist;

H<sub>1</sub> Phe, Leu oder Tyr ist;

I<sub>1</sub> Ile, Val, Ala oder Leu ist;

J<sub>1</sub> Ser, Pro, Leu, Ile oder Thr ist;

K<sub>1</sub> Asn, Asp oder Gln ist;

X und Y unabhängig ausgewählte Reste mit Seitenketten sind, welche chemisch miteinander verbunden sind,

um eine intramolekulare Verbindung zu bilden, wobei die intramolekulare Verbindung eine Disulfidbrücke, ein Lactam oder eine Thioetherverbindung umfasst, und Z Amino, Alkylamino, Dialkylamino, Cycloalkylamino, Arylamino, Aralkylamino, Alkyloxy, Aryloxy oder Aralkyloxy ist, und dass, unter der Voraussetzung, dass a) A<sub>1</sub> Lys ist, B<sub>1</sub> Ala ist, C<sub>1</sub> Val ist, D<sub>1</sub> Arg ist, E<sub>1</sub> Ser ist, F<sub>1</sub> Ser ist, G<sub>1</sub> Asn ist, H<sub>1</sub> Leu ist, I<sub>1</sub> Val ist, J<sub>1</sub> Pro ist und K<sub>1</sub> Asn ist; oder

b) A<sub>1</sub> Lys ist, B<sub>1</sub> Ala ist, C<sub>1</sub> Val ist, D<sub>1</sub> His ist, E<sub>1</sub> Ser ist, F<sub>1</sub> Asn ist, G<sub>1</sub> Asn ist, H<sub>1</sub> Leu ist, I<sub>1</sub> Val ist, J<sub>1</sub> Ser ist und K<sub>1</sub> Asn ist;

dann eins oder mehr von A<sub>1</sub> bis K<sub>1</sub> eine D-Aminosäure ist und Z ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Alkylamino, Dialkylamino, Cycloalkylamino, Arylamino, Aralkylamino, Alkyloxy, Aryloxy oder Aralkyloxy.

iii) einem agonistischen Analog von Amylin mit der Aminosäuresequenz

<sup>1</sup>A<sub>1</sub>-X-Asn-Thr-<sup>5</sup>Ala-Thr-Y-Ala-Thr-<sup>10</sup>Gln-Arg-Leu-B<sub>1</sub>-Asn-<sup>15</sup>Phe-Leu-C<sub>1</sub>-D<sub>1</sub>-E<sub>1</sub>-<sup>20</sup>F<sub>1</sub>-G<sub>1</sub>-Asn-H<sub>1</sub>-Gly-<sup>25</sup>I<sub>1</sub>-J<sub>1</sub>-Leu-Pr-o-Pro-<sup>30</sup>Thr-K<sub>1</sub>-Val-Gly-Ser-<sup>35</sup>Asn-Thr-Tyr-Z

aufweist, wobei

A<sub>1</sub> Lys, Ala, Ser oder Wasserstoff ist;

B<sub>1</sub> Ala, Ser oder Thr ist;

C<sub>1</sub> Val, Leu oder Ile ist;

D<sub>1</sub> His oder Arg ist;

E<sub>1</sub> Ser oder Thr ist;

F<sub>1</sub> Ser, Thr, Gln oder Asn ist;

G<sub>1</sub> Asn, Gln oder His ist;

H<sub>1</sub> Phe, Leu oder Tyr ist;

I<sub>1</sub> Ala oder Pro ist;

J<sub>1</sub> Ile, Val, Ala oder Leu ist;

K<sub>1</sub> Asn, Asp oder Gln ist;

X und Y unabhängig ausgewählte Reste mit Seitenketten sind, welche chemisch miteinander verbunden sind, um eine intramolekulare Verbindung auszubilden, wobei die intramolekulare Verbindung eine Disulfidbrücke, ein Lactam oder eine Thioetherverbindung umfasst; und Z Amino, Alkylamino, Dialkylamino, Cycloalkylamino, Arylamino, Aralkylamino, Alkyloxy, Aryloxy oder Aralkyloxy ist, und dass, unter der Voraussetzung, dass A<sub>1</sub> Lys ist, B<sub>1</sub> Ala ist, C<sub>1</sub> Val ist, D<sub>1</sub> Arg ist, E<sub>1</sub> Ser ist, F<sub>1</sub> Ser ist, G<sub>1</sub> Asn ist, H<sub>1</sub> Leu ist, I<sub>1</sub> Pro ist, J<sub>1</sub> Val ist und K<sub>1</sub> Asn ist, dann eins oder mehr von A<sub>1</sub> bis K<sub>1</sub> eine D-Aminosäure ist und Z ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Alkylamino, Dialkylamino, Cycloalkylamino, Arylamino, Aralkylamino, Alkyloxy, Aryloxy oder Aralkyloxy; oder aus der Gruppe bestehend aus

<sup>18</sup>Arg<sup>25,28</sup>Pro-h-Amylin,

des-<sup>1</sup>Lys<sup>18</sup>Arg<sup>25,28</sup>Pro-h-Amylin,

<sup>18</sup>Arg<sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin,

des-<sup>1</sup>Lys<sup>18</sup>Arg<sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin

<sup>25,28-29</sup>Pro-h-Amylin,

des-<sup>1</sup>Lys<sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin,

<sup>25</sup>Pro<sup>26</sup>Val<sup>28,29</sup>Pro-h-Amylin,

<sup>23</sup>Leu<sup>25</sup>Pro<sup>26</sup>Val<sup>28,29</sup>Pro-h-Amylin,

<sup>23</sup>Leu<sup>25</sup>Pro<sup>26</sup>Val<sup>28</sup>Pro-h-Amylin,

des-<sup>1</sup>Lys<sup>23</sup>Leu<sup>25</sup>Pro<sup>26</sup>Val<sup>28</sup>Pro-h-Amylin,

<sup>18</sup>Arg<sup>23</sup>Leu<sup>25</sup>Pro<sup>26</sup>Val<sup>28</sup>Pro-h-Amylin,

<sup>18</sup>Arg<sup>23</sup>Leu<sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin,

<sup>18</sup>Arg<sup>23</sup>Leu<sup>25,28</sup>Pro-h-Amylin,

<sup>17</sup>Ile<sup>23</sup>Leu<sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin,

<sup>17</sup>Ile<sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin,

des-<sup>1</sup>Lys<sup>17</sup>Ile<sup>23</sup>Leu<sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amylin,

<sup>17</sup>Ile<sup>18</sup>Arg<sup>23</sup>Leu<sup>25</sup>Pro-h-Amylin,

<sup>17</sup>Ile<sup>18</sup>Arg<sup>23</sup>Leu<sup>25</sup>Pro<sup>26</sup>Val<sup>28,29</sup>Pro-h-Amylin,

<sup>13</sup>Thr<sup>21</sup>His<sup>23</sup>Leu<sup>26</sup>Ala<sup>28</sup>Leu<sup>29</sup>Pro<sup>31</sup>Asp-h-Amylin,

<sup>13</sup>Thr<sup>21</sup>His<sup>23</sup>Leu<sup>26</sup>Ala<sup>29</sup>Pro<sup>31</sup>Asp-h-Amylin,

des-<sup>1</sup>Lys<sup>13</sup>Thr<sup>21</sup>His<sup>23</sup>Leu<sup>26</sup>Ala<sup>28</sup>Pro<sup>31</sup>Asp-h-Amylin,

<sup>13</sup>Thr<sup>18</sup>Arg<sup>21</sup>His<sup>23</sup>Leu<sup>26</sup>Ala<sup>29</sup>Pro<sup>31</sup>Asp-h-Amylin,

<sup>13</sup>Thr<sup>18</sup>Arg<sup>21</sup>His<sup>23</sup>Leu<sup>28,29</sup>Pro<sup>31</sup>Asp-h-Amylin, und

<sup>13</sup>Thr<sup>18</sup>Arg<sup>21</sup>His<sup>23</sup>Leu<sup>25</sup>Pro<sup>26</sup>Ala<sup>28,29</sup>Pro<sup>31</sup>Asp-h-Amylin

zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung oder zur Vorbeugung gegen eine Gastritis oder eine Bildung von Magengeschwüren in einem Subjekt, wobei die pharmazeutische Zusammensetzung das Amylin oder das agonistische Analog von Amylin oder ein pharmazeutisch geeignetes Salz davon

in pharmazeutisch geeignetem Träger und Dosis umfasst, wobei diese Zusammensetzung über eine Route ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus subkutaner, intravenöser, nasaler, oraler, pulmonaler, transdermaler und bukkaler Verabreichung verabreicht wird.

2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Zusammensetzung einen Puffer oder einen Konservierungsstoff oder ein Verdickungsmittel umfasst.
3. Verwendung nach den Ansprüchen 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die pharmazeutische Zusammensetzung in Verbindung mit einem nicht-steroidalen anti-inflammatorischen Agens verwendet werden soll.
4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass das Subjekt ein Mensch ist.
5. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das agonistische Analog von Amylin<sup>25,28,29</sup> Pro-h-Amylin ist.
6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Gastritis durch die Verabreichung eines nicht-steroidalen anti-inflammatorischen Agens induziert ist.
7. Verwendung nach den Ansprüchen 3 oder 6, dadurch gekennzeichnet, dass das nicht-steroidale anti-inflammatorische Agens ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Salicylat, Phenylbutazon, Indomethacin, Acetominophen, Phenacetin, Naproxen, Ibuprofen, Sulandac, Etodolac, Fenamates, Telmetin, Ketoralac, Diclofenac, Fenoprofen, Ketoprofen, Flurbiprofen, Oxaproxin, Piroxicam und Apazon.
8. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass das Subjekt an Mageneffekten leidet, die durch ein nicht-steroidales anti-inflammatorisches Agens induziert sind, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus akuter erosiver Gastritis, Magen- oder Darmgeschwüren, epigastrischem Unwohlsein, Übelkeit, Übergeben oder Blutungen.

Es folgt ein Blatt Zeichnungen

## Anhängende Zeichnungen

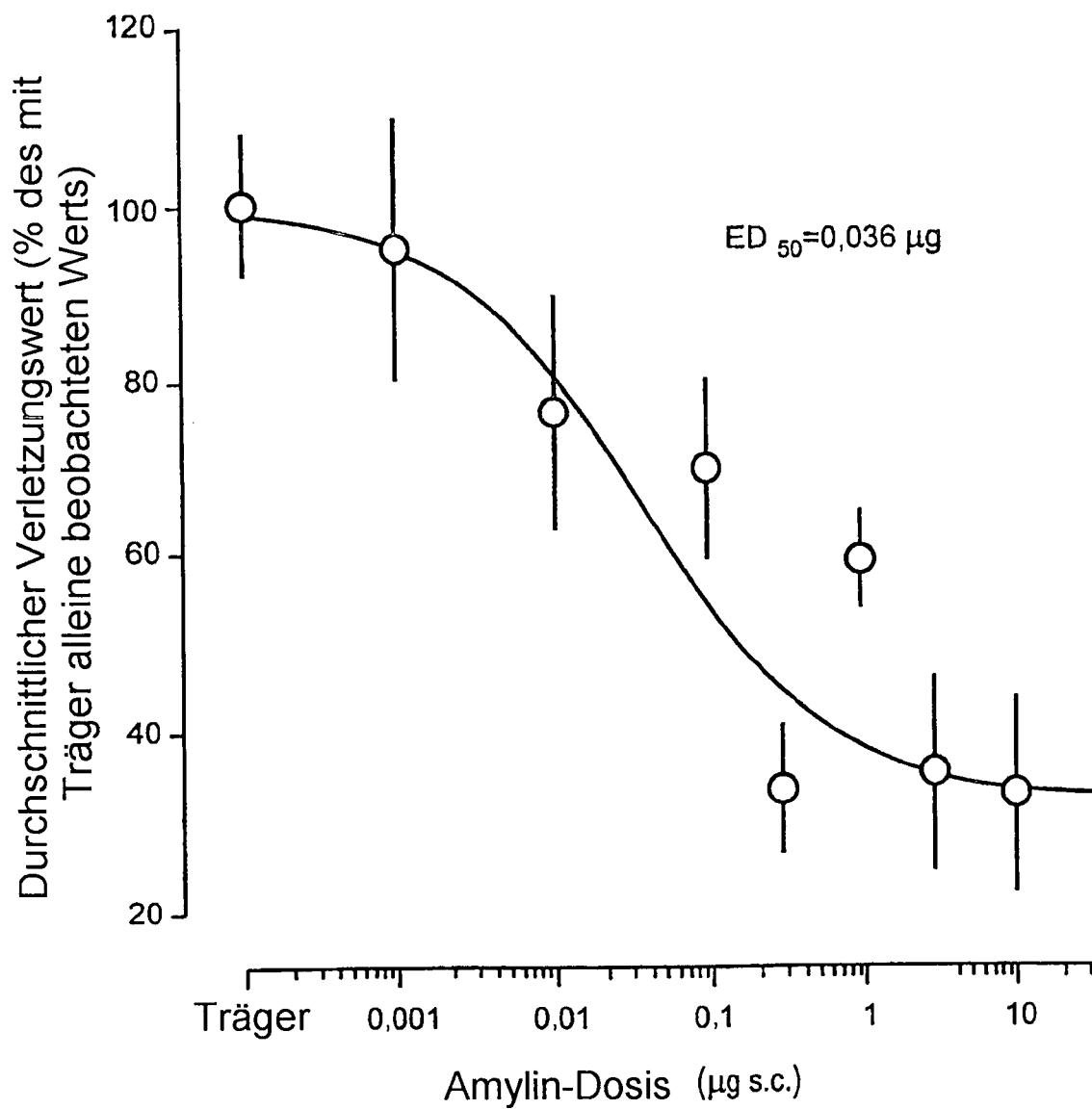


Fig. 1