



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101189021 B

(45) 授权公告日 2011.12.14

(21) 申请号 200680019223.6

(22) 申请日 2006.03.31

(30) 优先权数据

60/667,335 2005.03.31 US

60/666,681 2005.03.31 US

60/675,441 2005.04.28 US

60/760,583 2006.01.20 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2007.11.30

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2006/011768 2006.03.31

(87) PCT申请的公布数据

W02006/105345 EN 2006.10.05

(73) 专利权人 安米林药品公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 C·魏尔 K·D·劳格罗

C·M·马克 D·G·帕克斯

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

72001

代理人 刘健 梁谋

(51) Int. Cl.

A61K 38/00 (2006.01)

(56) 对比文件

Morley J E 等. Effects of Amylin on Appetite Regulation and Memory.

《Canadian Journal of Physiology and

Pharmacology》. 1995, 第 73 卷全文.

Paul A Rushing 等. Inhibition of Central Amylin Signaling Increases Food Intake and Body Adiposity in Rats. 《Endocrinology》. 2001, 第 142 卷 (第 11 期), 全文.

Paul A. Rushing 等. Amylin: A Novel Action in the Brain to Reduce Body Weight. 《Endocrinology》. 2000, 第 141 卷 (第 2 期), 全文.

Jason C.G. Halford, Gillian D. Cooper 等. The Psychopharmacology of Appetite: Targets for Potential Anti-Obesity Agents. 《Current Medicinal Chemistry - Central Nervous System Agents》. 2003, 第 3 卷 (第 4 期), 292.

ROBERT E. RATNER, LAURA L. WANT, 等. Adjunctive Therapy with the Amylin Analogue Pramlintide Leads to a Combined Improvement in Glycemic and Weight Control in Insulin-Treated Subjects with Type 2 Diabetes. 《Diabetes Technology & Therapeutics》. 2002, 第 4 卷 (第 1 期), 52.

审查员 李康琦

权利要求书 1 页 说明书 62 页 附图 15 页

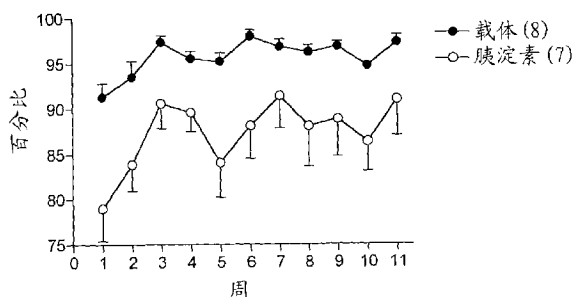
(54) 发明名称

用于控制、预防和治疗肥胖和进食障碍的组合物和方法

(57) 摘要

提供了防止、治疗或控制与肥胖、饮食和营养相关的病症或失调的组合物和方法。提供的方法概括地包括为了防止、治疗或控制与肥胖、饮食和营养相关的病症和失调,将胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。

%高脂肪摄入



CN 101189021 B

1. 胰淀素或胰淀素激动剂在制备用于控制患者暴食的药物中的应用,其中所述胰淀素激动剂是普兰林肽 (SEQ ID NO :6),其中情绪上苦恼时所述患者进行暴食和 / 或其中所述患者已经诊断为焦虑症。

2. 根据权利要求 1 的应用,其中所述药物包含以与胰淀素或胰淀素激动剂给药不存在下的 BES 总分相比较降低患者暴食等级 (BES) 总分的有效量的胰淀素或胰淀素激动剂。

3. 根据权利要求 1 的应用,其中所述药物包含以与胰淀素或胰淀素激动剂给药不存在下的 BES 类别相比较改变患者暴食等级 (BES) 类别的有效量的胰淀素或胰淀素激动剂,其中 BES 类别从严重改变成中度,从严重改变成轻微或从中度改变成轻微。

4. 胰淀素或胰淀素激动剂在制备用于减轻患者对高脂肪食物和甜脂肪食物渴求的药物中的应用,其中所述胰淀素激动剂是普兰林肽 (SEQ ID NO :6)。

5. 根据权利要求 4 的应用,其中所述患者是在应激条件下。

6. 根据权利要求 4 的应用,其中所述药物包含减轻患者对高脂肪食物渴求的有效量的胰淀素或胰淀素激动剂。

7. 根据权利要求 4 的应用,其中所述药物包含降低患者对甜脂肪食物渴求的有效量的胰淀素或胰淀素激动剂。

用于控制、预防和治疗肥胖和进食障碍的组合物和方法

[0001] 相关申请的交叉参考

[0002] 本申请要求 2005 年 3 月 31 日申请的 U. S. 临时专利申请号 60/667, 335, 2005 年 3 月 31 日申请的 U. S. 临时专利申请号 60/666, 681, 2005 年 4 月 28 日申请的 U. S. 临时专利申请号 60/675, 441, 和 2006 年 1 月 20 日申请的 U. S. 临时专利申请号 60/760, 583, 在此将每篇的全部内容引入用于所有目的。

技术领域

[0003] 本发明涉及药物领域, 特别涉及健康、饮食和营养领域。本发明涉及肽的用途, 更特别地涉及胰淀素 (amylin) 和胰淀素激动剂的用途。

[0004] 发明背景

[0005] 包括胰淀素、降钙素、降钙素基因相关肽 (CGRP)、肾上腺髓质素 (ADM) 和促黑激素 (也称为“AFP-6”) 的肽激素的胰淀素家族, 是通常涉及代谢病症和失调的肽激素家族。已经报道了通常通过结合两个密切相关类型 IIG- 蛋白结合的受体, 降钙素受体 (CTR) 和降钙素受体样受体 (CRLR), 来介导胰淀素家族肽激素的生物作用。克隆和功能研究已经显示出, CGRP、ADM 和胰淀素与 CTR 或 CRLR 和受体活性修饰蛋白 (RAMP) 的不同组合相互作用。认为需要 RAMP 和 CTR 或 CRLR 的共同表达来产生降钙素、CGRP、ADM 和胰淀素的功能受体。还没有报道过 AFP-6 的特异性受体; 然而, 结合研究表明 AFP-6 结合所有胰淀素家族的已知受体。

[0006] 总的说来, 胰淀素调节胃排空, 并抑制胰高血糖素分泌和食物摄入, 因此调节循环中葡萄糖出现的速率。在人类试验中, 胰淀素类似物, 普兰林肽, 已经显示出降低体重或体重增加。胰淀素在治疗代谢病症如糖尿病和肥胖中是有效的。胰淀素还用于治疗疼痛、骨病、胃炎, 调节脂质, 特别是甘油三酯, 或影响身体组成如优选损耗脂肪和保持瘦组织。参见, 例如, U. S. 专利 No. 5, 175, 145, 5, 677, 279, 5, 405, 831, 6, 114, 304 和 U. S. 专利申请公开 No. 2002-0010133, 2003-0130177, 2004-0022807 和 2005-0197287。

[0007] 激素命名为降钙素 (CT) 是因为其应答诱导的血钙过多而分泌以及其快速的降血钙 (hypocalcemic) 效果。CT 对血浆钙水平具有作用并抑制破骨细胞功能, 并广泛用于治疗骨质疏松。在治疗上, 鲑鱼 CT (sCT) 看来似乎提高了骨密度并降低了骨折率, 具有最小的副作用。在过去 25 年内 CT 还成功用作骨的佩吉特氏病的治疗, 这是一种可以导致一个或多个骨骼部位扩大或畸形骨的慢性骨骼病。CT 还广泛使用是因为其对骨质疏松过程中经受的骨疼痛的效果, 尽管对于该效果的机理还没有得到清楚的了解。

[0008] 降钙素基因相关肽 (CGRP) 是一种神经肽, 其受体广泛分布于体内, 包括神经系统和心血管系统。这种肽似乎能调节感官神经传递且是迄今为止发现的最有效内源血管扩张肽的一种。对于 CGRP 报道的生物效果包括: 炎症中物质 P 的调节, 神经肌肉接头处的烟碱受体活性, 胰腺酶分泌的刺激, 胃酸分泌的降低, 外周血管扩张, 心跳加速, 神经调节, 钙代谢的调节, 生骨刺激, 胰岛素分泌, 体温提高和食物摄入降低 (Wimalawansa (1997) Crit Rev Neurobiol. 11:167-239)。

[0009] 肾上腺髓质素 (ADM) 几乎处处表达, 含有肽的组织比不含的多得多。Hinson 等 (2000) *Endocrine Reviews* 21 :138-167 详细描述了 ADM 对心血管系统, 细胞生长, 中枢神经系统和内分泌系统的作用, 具有各种生物作用, 包括, 血管扩张, 细胞生长, 激素分泌的调节, 和尿钠排泄。

[0010] AFP-6 (即, 促黑激素) 的表达主要在垂体和胃肠道。在体内研究中, AFP-6 给药导致正常和自发高血压大鼠中的血压下降且小鼠中的 AFP-6 体内给药导致胃排空和食物摄入的抑制 (Roh 等, (2004) *J. Biol. Chem.* 279 :7264-7274)。

[0011] 估计约 64% 美国人超重或肥胖 (大概约 97 百万成人), 通常认为这些数量正在递增。肥胖或超重实质性地提高了以下疾病的死亡率风险: 高血压; 血脂异常; 2 型糖尿病; 冠心病; 中风; 膀胱病; 胆囊病; 骨关节炎; 睡眠窒息和呼吸问题; 和子宫内膜、乳房、前列腺和结肠癌。较高的体重还与所有原因死亡率的提高相关。此外, 肥胖或超重可以导致人对其自身具有消极的自我形象。

[0012] 在人类中, 认为超重或肥胖的患者是具有等于或高于 25 的身体质量指数 (BMI) 的那些。BMI 是表示体重与身高的关系 (或比例) 的常用测量。这是其中以公斤计的人体重除以以米计的身高的平方 (即, $\text{wt}/(\text{ht})^2$) 的数学式。认为具有 25 至 29.9 BMI 的个体是超重的, 同时认为 30 至 39.9 BMI 的个体是肥胖的, 认为具有 40 或更大 BMI 的个体是病态肥胖的。根据对成人超重和肥胖的鉴定、评价和治疗的 NIH 临床准则, 认为具有 25 或更大 BMI 的所有成人 (18 岁或更大) 作为超重和肥胖的结果处于早死和残废的风险中。随着个体肥胖严重程度的提高, 这些健康风险更加提高。

[0013] 出于这些原因, 对治疗肥胖存在各种关注。现有治疗包括标准饮食和锻炼, 非常低热饮食, 行为治疗, 包括食欲抑制剂、生热药物、食物吸收抑制剂的药物治疗, 机械装置, 如 jaw wiring、腰带和气球, 以及外科手术, 如胃旁路。Jung 等 (1991) *Clinical Endocrinology* 35 :11-20 ;Bray (1992) *Am. J. Clin. Nutr.* 55 :538S-544S。

[0014] 通常, 然而, 尽管消耗脂肪是理想的, 消耗瘦身体质量 (蛋白质) 不是。瘦身体质量在代谢和生理上是高度活性的, 并且大小通常是在遗传上限定和维持的。瘦身体质量含有所有身体蛋白质。不存在真实的蛋白质存储, 因为每个蛋白质分子在维持体内平衡中具有作用。认为身体蛋白质的损耗对个体的健康是有害的。瘦身体质量中的大部分蛋白质在骨骼肌肉块中。瘦身体质量是 50-60% 重量的肌肉质量, 剩余的是骨和腱。蛋白质构成肌肉、内脏、红细胞和结缔组织中的关键细胞结构。控制代谢的酶和维持免疫功能的抗体也是蛋白质。因此, 理想的是防止或最小化瘦身体物质的损耗, 即使同时减少身体脂肪。

[0015] 热量限制, 与其形式无关, 可以引起身体蛋白质的分解代谢并产生负的氮平衡。因此, 补充蛋白质的饮食具有提高的流行性, 作为热量限制过程中降低氮损耗的方法。已经报道了改进的保持蛋白质的禁食在体重减轻中是有效的。Lee 等 (1992) *Clin. Pediatr.* 31 : 234-236。然而, 这些饮食只产生适度的氮保持。存在促进脂肪损耗但保持瘦身体质量或最小化其损耗的有效途径的需要。

[0016] 通过许多因素, 包括食欲, 食物利用率, 家族, 同辈和文化习惯, 来控制进食, 并在自愿控制下尝试。目前的流行趋势, 特定食物的促销活动以及一些活动和职业高度促进了为瘦于健康需要的体重的节食。进食障碍涉及各种进食行为的严重紊乱, 如食物摄入的极端和不健康的降低或严重的暴食, 以及体型或体重的苦恼感或极端关注。研究者正在研究

怎样和为什么最初自愿行为,如进食比通常更小或更大量的食物,在一些人中在某些点超过对照并发展成进食障碍。对食欲控制的基础生物学的研究和通过长期暴食或饥饿的改变具有未揭示的大量复杂性,但是从长远看来具有形成用于进食障碍的新药物治疗的潜能。

[0017] 进食障碍的主要类型是神经性厌食和神经性暴食。第三种,暴食障碍,已经提出但还未批准为正式的精神病诊断。进食障碍通常在青春期或成人期早期过程产生,但是一些报道表明它们的发作可能在儿童期或成人期后期过程中发生。进食障碍通常与其他精神障碍如抑郁、物质滥用和焦虑症共同发生。此外,患有进食障碍的人可以经受各种身体健康并发症,包括严重的心脏病和肾衰竭,这些疾病可能导致死亡。因此,进食障碍作为真实和可治疗疾病的认识是至关重要的。

[0018] 仍然存在对改变身体组成以及控制、预防或治疗肥胖症和进食障碍以及相关病症和障碍的有效方法和组合物的需要。

[0019] 在此引用的所有专利、专利申请和出版物因此以其整体引入作为参考。

[0020] 概述

[0021] 一方面中,提供的方法包括胰淀素或胰淀素激动剂,包括胰淀素类似物和胰淀素衍生物,在控制患者暴食的方法中的用途。一个实施方案中,提供了控制暴食的方法,其中该方法包括将控制或降低患者暴食有效量的胰淀素或胰淀素激动剂给药于需要的患者。一个实施方案中,提供了控制患者暴食的方法,包括在一天内患者最可能暴食的时间将有效量的胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。一个实施方案中,提供了控制患者暴食的方法,进一步包括给药于患者至少一种抑制一天内患者不可能暴食时间饥饿的其他药物。一些实施方案中,至少一种抑制饥饿的其他药物是西布茶明、奥利司他、PYY 或 PYY 类似物、CB-1 拮抗剂如利莫那班 (rimonabant)、瘦素或瘦素类似物或苯丁胺。一些实施方案中,至少一种抑制饥饿的其他药物具有比胰淀素更长的体内半衰期。

[0022] 一个实施方案中,提供了控制暴食的方法,其中该方法包括将控制或降低患者应答刺激条件的暴食有效量的胰淀素或胰淀素激动剂给药于需要的患者。另一个实施方案中,提供了控制暴食的方法,其中该方法包括将控制或降低患者不应答应激条件的暴食有效量的胰淀素或胰淀素激动剂给药于需要的患者。

[0023] 在一些其中患者需要控制暴食的实施方案中,暴食的控制包括暴食情况频率的降低,暴食情况持续时间的降低,暴食情况过程中消耗的总量的降低,抵抗暴食情况发作困难的降低,或其任意组合。在一些其中患者需要控制暴食的实施方案中,身体不饥饿时患者进食大量食物,患者进食直至不舒服的饱足,情绪上苦恼时患者进食,患者已经诊断为焦虑症如强迫症,所述患者已经诊断为患有冲动控制问题,患者已经诊断为物质滥用者如药物滥用者或酒精滥用者,或其任意组合。

[0024] 一方面中,提供的方法包括胰淀素或胰淀素激动剂,包括胰淀素类似物和胰淀素衍生物,用于改变患者偏食的用途。一个实施方案中,提供了改变患者偏食的方法,包括将与给药不存在下患者的偏食相比较改变患者偏食有效量的胰淀素或胰淀素激动剂给药于渴望改变偏食的患者。

[0025] 一些实施方案中,偏食的改变包括对高脂肪食物偏好的降低、高脂肪食物摄入的降低、对甜食偏好的降低、甜食摄入的降低、对巧克力食物偏好的降低、巧克力食物摄入的降低、对咸食偏好的降低、咸食摄入的降低,或其任意组合。在一些实施方案中,偏食的改变

包括对低脂食物偏好的提高、低脂食物摄入的增加,或两者。

[0026] 在一个实施方案中,提供了改变患者偏食的方法,包括将改变患者应答应激条件的偏食的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于渴望改变偏食的患者。在一个实施方案中,提供了改变患者偏食的方法,包括将改变患者未应答应激条件的偏食的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于渴望改变偏食的患者。

[0027] 一方面中,提供的方法包括胰淀素或胰淀素激动剂,包括胰淀素类似物和胰淀素衍生物,用于治疗、降低或防止患者食物渴求 (foodcravings) 的用途。在一个实施方案中,提供了用于治疗、降低或防止患者食物渴求的方法,包括将治疗、降低或防止患者食物渴求有效量的胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。一些实施方案中,患者渴求甜食、巧克力、咸味食物、咸食、脂肪食物或其任意组合。一些实施方案中,患者食物渴求的治疗包括对特定食物渴求频率的降低、对特定食物渴求持续时间的降低、对特定食物渴求的强度降低、抵抗对特定食物渴求难度的降低、食用特定食物的频率降低或其任意组合。

[0028] 在一方面中,提供的方法包括胰淀素或胰淀素激动剂,包括胰淀素类似物和胰淀素衍生物,用于降低患者中与降低的热量摄入相关的应激的用途。一个实施方案中,提供了用于降低患者中与降低的热量摄入相关的应激的方法,包括将降低患者与降低的热量摄入相关的应激有效量的胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在一个实施方案中,患者与降低的热量摄入相关的应激呈现为抑郁。

[0029] 一方面中,提供的方法包括胰淀素或胰淀素激动剂,包括胰淀素类似物和胰淀素衍生物,用于降低患者服用减轻体重药物引起的压力的用途。在一个实施方案中,提供了降低患者服用减轻体重药物引起的压力的方法,包括将降低患者服用减轻体重药物引起的压力的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在一个实施方案中,服用引起体重减轻的药物引起的患者压力是由靶向大脑的药物引起的,如西布茶明和利莫那班 (rimonabant)。

[0030] 一方面中,提供的方法包括胰淀素或胰淀素激动剂,包括胰淀素类似物和胰淀素衍生物,在调节患者代谢速率的方法中的用途。在一个实施方案中,提供了提高患者代谢速率的方法,包括将提高患者代谢速率的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在另一个实施方案中,提供了保持患者代谢速率的方法,包括将保持患者代谢速率的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在另一个实施方案中,提供了方法减轻患者代谢速率降低的方法,包括将减轻患者代谢速率降低的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在一些实施方案中,患者这样的代谢速率降低可能是由于降低热量的饮食、限制饮食或减肥引起的。

[0031] 在另一个实施方案中,提供了降低至少一个代谢平台期 (metabolicplateau) 的方法,包括将降低患者至少一个代谢平台期的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在一些实施方案中,代谢平台期的降低是代谢平台期持续时间的降低、代谢平台期频率的降低、代谢平台期开始的延迟或其任意组合。

[0032] 在其中患者的代谢速率得到调节或患者的代谢平台期得到降低的一些实施方案中,患者的代谢速率提高至少约 5%,与其他相同的患者在相同的时间段在基本上相似或相同的条件且没有给药胰淀素或胰淀素激动剂下相比较。

[0033] 在其中患者的代谢速率得到调节或患者的代谢平台期得到降低的一些实施方案中,患者食用降低热量的饮食、限制饮食、已经减肥、正在减肥、正在开始降低热量的饮食或

正在开始限制饮食。在其中患者的代谢速率得到调节或患者的代谢平台期得到降低的一些实施方案中,随着胰淀素或胰淀素激动剂的给药,患者的瘦组织质量没有减少或瘦组织质量增加。在一些实施方案中,患者处于产生降低的代谢速率的风险中。在其中患者正在开始降低热量的饮食或限制饮食的一些实施方案中,在降低热量的饮食或限制饮食开始时或之前开始胰淀素或胰淀素激动剂的给药。在其中患者代谢速率提高的一些实施方案中,患者已经诊断为精神障碍,如边缘性人格障碍或抑郁。

[0034] 在另一个概括的方面中,提供的方法包括胰淀素或胰淀素激动剂,包括胰淀素类似物和胰淀素衍生物,用于改变患者的脂肪组成或分布的用途。在一个实施方案中,提供了通过提高代谢速率降低患者脂肪组织的方法,包括将提高患者代谢速率的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在其中通过代谢速率提高降低患者脂肪组织的一些实施方案中,随着胰淀素或胰淀素激动剂的给药,患者的瘦组织质量没有降低、得到保持或增加。在其中通过代谢速率提高降低患者脂肪组织的一些实施方案中,脂肪组织作为总身体质量的百分比降低,例如,降低至少 1% 的总身体质量。在其中通过代谢速率提高降低患者脂肪组织的一些实施方案中,患者食用降低热量的饮食或限制饮食。

[0035] 在一个实施方案中,提供了改变患者脂肪分布的方法,包括将改变患者脂肪分布的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在一个实施方案中,提供了在患者中产生更理想脂肪分布的方法,包括将在患者中产生更理想脂肪分布的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在一个实施方案中,提供了预防或降低患者异位脂肪分布的方法,包括将预防或降低患者异位脂肪分布的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在另一个实施方案中,提供了降低患者内脏脂肪含量的方法,包括将降低患者内脏脂肪的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。

[0036] 在其中患者的脂肪分布得到改变的一些实施方案中,该方法降低了产生代谢紊乱的风险,代谢紊乱选自多囊卵巢综合征、代谢综合症和心血管疾病。在其中患者的脂肪分布得到改变的一些实施方案中,该方法导致较高的皮下脂肪比内脏脂肪的比例,与患者相比较在胰淀素或胰淀素激动剂给药时。在其中患者的脂肪分布得到改变的一些实施方案中,该方法导致皮下脂肪与内脏脂肪较高比例的。在其中患者的脂肪分布得到改变的一些实施方案中,该方法导致异位脂肪的降低或内脏脂肪的降低或其组合。在其中患者的脂肪分布得到改变的一些实施方案中,该方法进一步导致瘦身体质量的增加,例如,作为肌肉细胞质量增加的结果。在其中患者的脂肪分布得到改变的一些实施方案中,内脏脂肪或异位脂肪或两者以高于皮下脂肪的速率得到代谢。

[0037] 在另一个方面中,提供的方法包括胰淀素或胰淀素激动剂,包括胰淀素类似物和胰淀素衍生物,用于减轻病态肥胖患者体重的用途。在一个实施方案中,提供了降低病态肥胖患者重量的方法,包括将所述患者体重降低至低于病态肥胖并将进一步降低患者重量的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在一个实施方案中,提供的方法包括最初在给予胰淀素或胰淀素激动剂之前,将患者的 BMI 降低至低于 40 的水平。在其中病态肥胖患者的重量得到减轻的一些实施方案中,病态肥胖患者具有 40 或更高的身体质量指数。在一个实施方案中,提供了减轻具有 40 以下 BMI 的患者的体重的方法,包括将降低患者体重的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。

[0038] 在其中在给药胰淀素或胰淀素激动剂之前病态肥胖患者的体重得到降低的一些

实施方案中,通过降低热量摄入、增加身体活动、药物治疗、肥胖外科手术或其任意组合来减轻患者的重量。在一个实施方案中,肥胖外科手术是胃旁路外科手术。在一些实施方案中,该方法进一步包括给药有效量的至少一种第二种减肥剂,例如,西布茶明、奥利斯他、瘦素或利莫那班。在一些实施方案中,胰淀素或胰淀素激动剂与至少第二种减肥剂一起给药,同时或按次序。

[0039] 在另一个方面中,提供的方法包括给予患者胰淀素或胰淀素激动剂,包括胰淀素类似物和胰淀素衍生物,单次剂量,一天一次或多次,用于患者减轻重量。在一些实施方案中,胰淀素或胰淀素激动剂和至少一种已知导致体重减轻的其他药物一起给药,同时或按次序。在一些实施方案中,给药的至少一种已知导致体重减轻的其他药物作为单次剂量或作为连续剂量来给药。

[0040] 在另一个方面中,提供的方法包括给予患者胰淀素或胰淀素激动剂,包括胰淀素类似物和胰淀素衍生物,连续剂量,用于减轻患者体重。在一些实施方案中,胰淀素或胰淀素激动剂与至少一种已知导致体重减轻的其他药物一起给药,同时或按次序。在一些实施方案中,给药的至少一种已知导致体重减轻的其他药物作为单次剂量或作为连续剂量来给药。

[0041] 在另一个方面中,提供的方法包括胰淀素或胰淀素激动剂的用途,包括胰淀素类似物和胰淀素衍生物,用于治疗已经进行肥胖外科手术患者的骨质丢失。在一个实施方案中,提供降低已经进行肥胖外科手术患者骨质丢失的方法,包括将降低患者骨质丢失的有效量的胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在其中用胰淀素或胰淀素激动剂治疗骨质丢失的一些实施方案中,该方法进一步包括给药至少一种已知能有效治疗骨质丢失的其他药物,例如,利塞膦酸盐、阿仑膦酸盐、雷洛昔芬、降钙素或特拉帕肽。

[0042] 在另一个方面中,提供的方法包括胰淀素或胰淀素激动剂,包括胰淀素类似物和胰淀素衍生物,用于提高患者生热作用的用途。在一个实施方案中,提供了提高患者生热作用的方法,包括将提高患者生热作用的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。

[0043] 在另一个方面中,提供的方法包括胰淀素或胰淀素激动剂,包括胰淀素类似物和胰淀素衍生物,用于提高患者氧化代谢的用途。在一个实施方案中,提供了提高患者氧化代谢的方法,包括将提高患者氧化代谢的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。

[0044] 本发明还涉及肥胖、进食障碍和相关病症、障碍和疾病的控制、治疗和预防,以及胰淀素或胰淀素激动剂和本发明的组合物用于制造治疗这些病症药物的用途。

[0045] 附图简述

[0046] 图 1A-1D 是描绘了胰淀素对应激和非应激条件下偏食的效果的图。在这些图中,R 表示接受束缚应激的动物和 C 表示未接受束缚应激的对照动物。图 1A 描绘了作为基准百分比的平均蔗糖对食物的比例,图 1B 描绘了总的食物消耗,图 1C 描绘了所消耗的平均总千卡,图 1D 描绘了所消耗的平均蔗糖千卡。

[0047] 图 2 是描绘了胰淀素对来自高脂肪食物的热量摄入百分比的作用的图。

[0048] 图 3 是描绘了胰淀素对来自高脂肪和低脂食物的总热量摄入的作用的图。

[0049] 图 4 是描绘了偏食研究中胰淀素对总体重增加的作用的图。

[0050] 图 5 是描绘了偏食研究中胰淀素对身体组成的作用的图。

[0051] 图 6 是描绘了胰淀素对暴食等级平均总分的作用的图。空心条表示所有安慰剂接

受者 (n = 53)、实心条表示普兰林肽 T1D 接受者 (n = 59), 带有阴影线的条表示普兰林肽 CSI 接受者 (n = 47)。

[0052] 图 7 是描绘了从基准开始暴食等级平均总分改变的图。

[0053] 图 8 是描绘了 D10 大鼠 28 天的累积食物摄入的图, D10 大鼠接受载体 (圆圈) 或胰淀素 (三角形) 1-14 天, 此后只接受载体。

[0054] 图 9 是描绘了 D10 大鼠百分比体重 (载体校准的) 改变的图, D10 大鼠接受载体 (圆圈) 或胰淀素 (三角形) 1-14 天, 此后只接受载体。

[0055] 图 10A 和 10B 是描绘了给药载体或胰淀素 1-14 天和只给药载体 15-28 天对体重作用的图。图 10A 是描绘了对身体脂肪作用的图, 图 10B 是描绘了对身体蛋白质作用的图。

[0056] 图 11 是描绘了过夜禁食小鼠食物消耗对示例化合物, 化合物 2 的剂量剂量依赖性降低的图。

[0057] 图 12A 和 12B 是描绘了胰淀素激动剂对饮食诱导肥胖 (DIO) 大鼠的热量摄入 (图 12A) 和体重 (图 12B) 作用的图。

[0058] 图 13 是描绘了示例化合物对身体组成作用的图。

[0059] 图 14A 和 14B 是描绘了示例化合物 (化合物 1) 对胃排空 (图 14A) 和血钙过少 (图 14B) 的图。

[0060] 图 15 是描绘了胰淀素, 单独或结合西布茶明, 对 D10 大鼠体重的作用的图。实心方块表示载体, 实心圆圈表示西布茶明单独, 空心三角形表示胰淀素单独, 和实心三角形表示胰淀素和西布茶明的组合。

[0061] 图 16A 和 16B 是描绘了在两周内单独或结合给药西布茶明 (3mg/kg/天) 和胰淀素 (100 μ g/kg/天) 对体重的作用的图。图 16A 是描绘了对身体脂肪作用的图, 图 16B 是描绘了对身体蛋白质作用的图。

[0062] 图 17 是描绘了给药各种剂量 CB-1 拮抗剂, 单独或结合胰淀素 (100 μ g/kg/天), 对体重作用的图。圆圈部位中结合的时间过程描绘于图 18A 和 18B 中。

[0063] 图 18A 和 18B 是描绘了给药 CB-1 拮抗剂和胰淀素, 单独或结合, 对体重作用的图。图 18A 描绘了给药 CB-1 拮抗剂 (1mg/kg/天) 和胰淀素 (100 μ g/kg/天) 的作用, 单独或结合, 图 18B 描绘了给药 CB-1 拮抗剂 (3mg/kg/天) 和胰淀素 (100 μ g/kg/天) 的作用, 单独或结合。

[0064] 发明详述

[0065] 我们已经发现了用于控制、治疗和预防肥胖、进食障碍以及相关病症和障碍的各种方法和组合物。在一个方面中, 提供了减轻渴望或需要的患者的体重的方法和治疗或预防与体重减轻相关的病症, 如代谢速率和生热作用的改变。在另一个方面中, 提供了减轻病态肥胖患者体重的方法, 包括给药有效量的胰淀素或胰淀素激动剂。还提供了减轻肥胖外科手术相关的骨质丢失的方法。在另一个方面中, 提供了用于控制、预防或治疗与进食相关的病症或障碍, 如暴食、食物渴求和食物相关应力障碍。

[0066] 本公开还涉及令人惊讶的发现: 胰淀素和胰淀素激动剂能够改变患者在应激和非应激条件下的偏食。因此, 在另一个方面中, 提供了改变偏食的方法。偏食的改变包括对特定食物类型偏好的改变, 特定食物类型摄入量的改变, 渴求频率、渴求持续时间、渴求强度、抵抗渴求的难度的改变及其任意组合。在一些实施方案中, 偏食包括对甜食、巧克力食物、

咸食及其任意组合的偏好。

[0067] 在此所述的方法使用胰淀素或胰淀素激动剂的给药,用于控制、预防或治疗这样的病症或障碍。

[0068] 尽管“肥胖”通常定义为身体质量指数超过 30,出于本发明的目的,任何患者,包括身体质量指数低于 30 但需要或希望减轻体重或防止体重增加的那些,包括于“肥胖”的范围中。因此,具有低于 30 和 25 和以上(认为超重)或低于 25BMI 的患者也包括于本发明的患者中。病态肥胖指的是 40 或更高的 BMI。在一个实施方案中,“需要的患者”是肥胖的。胰岛素抵抗、葡萄糖不耐受性或具有任何形式糖尿病(例如,1 型、2 型或妊娠糖尿病)的患者可以得益于这种方法。在另一个实施方案中,患者可能患有或易于患有与进食相关的病症如暴食或食物渴求。

[0069] “患者”可以包括任何哺乳动物,包括人。“患者”还可以包括宠物(例如,狗、猫、马),以及其他动物(例如,牛、绵羊、猪、山羊)。得益于在此公开的方法的患者可以是超重或肥胖的;然而,他们也可以是瘦的。得益于在此所公开方法的患者可以是渴望减轻体重的或可能具有进食障碍,如暴食,或进食病症,如食物渴求。得益于在此公开的方法的患者可能渴望改变偏食。除了这些病症以外,他们可能具有代谢紊乱或病症。示例性代谢紊乱包括糖尿病、代谢综合症、胰岛素抵抗和血脂异常。患者可以是任何年龄。因此,这些障碍可以在年轻人和成人(在此定义为 65 岁或以下的那些)以及婴儿、儿童、青少年和老年人(在此定义为超过 65 岁)中发现。实际上,特定部分的人群可能特别倾向于患有特定病症,如青少年和年轻人的进食障碍。

[0070] “代谢速率”意思是每单位时间释放/消耗的能量。可以通过食物消耗、作为热量释放的能量或代谢过程中使用的氧来估算每单位时间的代谢。想要减轻体重时通常理想的是具有较高的代谢速率。例如,具有高代谢速率的人比对于该活动具有低代谢速率的人能够消耗更多的能量(身体燃烧更多的热量)来进行活动。

[0071] 如在此所用的,“瘦组织质量”或“瘦身体质量”指的是肌肉和骨。瘦身体质量不必定指的是无脂肪质量。瘦身体质量在中枢神经系统(脑和脊髓)、骨髓和内脏内含有少量(大概 3%)脂肪。根据密度来测量瘦身体质量。测量脂肪质量和瘦组织质量的方法包括,但不限于,水下称重、空气置换测热法、x-射线、双重能量 x-射线吸收测量(DEXA)扫描、MRI 和 CT 扫描。在一个实施方案中,使用水下称重测量脂肪质量和瘦组织质量。

[0072] “脂肪分布”意思是体内脂肪堆积的位置。这样的脂肪堆积位置包括皮下、内脏和异位脂肪存储。

[0073] “皮下脂肪”意思就在皮肤表面下的脂质存储。使用测量皮下脂肪可用的任何方法来测量患者的皮下脂肪含量。测量皮下脂肪的方法是本领域已知的,例如, U. S. 专利 No. 6, 530, 886 中所述的那些,在此将其整体引入作为参考。

[0074] “内脏脂肪”意思是作为腹部内脂肪组织的脂肪堆积。内脏脂肪围绕内脏并可以通过肝脏代谢来产生血液胆固醇。内脏脂肪与提高的病症风险相关,这些病症如多囊卵巢综合症、代谢综合症和心血管疾病。

[0075] “异位脂肪存储”意思是构成瘦身体质量的组织和器官(例如,骨骼肌、心脏、肝脏、胰腺、肾脏、血管)内或周围的脂质堆积。通常,异位脂肪存储是体内传统脂肪组织存储外的脂质累积。

[0076] 如在此所用的,以及本领域充分理解的,“治疗”是用于获得有益或所需结果,包括临床结果的方法。“治疗”或“减轻”疾病、障碍或病症意思是与未治疗障碍相比较,症状的程度、不利的临床呈现或两者,障碍或病态的程度,不利临床呈现减轻和/或时间过程进展减缓或延长。对于在此公开的方法的目的,有益或所需的临床结果包括,但不限于,一种或多种症状的减轻或缓解,疾病程度的消除,病态的稳定(即没有恶化),疾病进展的延迟或减缓,疾病的缓解或减轻以及好转(不管是部分或全部)不管是可检测的或不可检测的。“治疗”还可以意思是延长存活,与如果没有接受治疗预期的存活相比较。此外,通过给药一剂药时不必定发生治疗,但是给药一系列药剂时通常发生。因此,可以以一次或多次给药来给药治疗有效量,这是足以减轻疾病、障碍或病症的含量,或足以治疗疾病、障碍或病症的含量。

[0077] 如在此所用的,单数形式“一个”、“一种”和“这个”包括复数指代物除非另外指出或从文中明显看出。例如,从文中可以明显看出,“一种”胰淀素激动剂可以包括一种或多种胰淀素激动剂。

[0078] 在一方面中,在此提供的方法用于提高患者的代谢速率,降低患者代谢速率的降低,或保持患者的代谢速率。在一个实施方案中,代谢速率可以涉及超过瘦身体组织优选使用身体脂肪作为能量源。在一个方面中,给药胰淀素或胰淀素激动剂后瘦身体质量没有降低。在另一个方面中,给药胰淀素或胰淀素激动剂后减少或防止了瘦身体质量的降低。再一方面中,给药胰淀素或胰淀素激动剂后增加了瘦身体质量。可以通过比较脂肪组织与瘦身体组织的含量,该含量通过在治疗阶段开始和结束时测量总体重和脂肪含量来确定,来测定这种对于脂肪作为能量源的优先选择。代谢速率提高是患者在一定的时间段内使用热量或另一种能量源的较高水平,与患者在另一个时间段内在没有给药胰淀素或胰淀素激动剂的基本相似或相同条件下的热量或其他能量源的使用水平相比较。在一些实施方案中,患者的代谢速率提高,即使与胰淀素或胰淀素激动剂给药不存在下相比较患者的热量摄入降低。与胰淀素或胰淀素激动剂给药不存在下相比较,可以降低热量摄入,例如,由于降低热量的饮食、限制饮食或提高的饱腹感或降低饥饿。在一个实施方案中,患者代谢速率提高至少约5%,在其他实施方案中,患者的代谢速率提高至少约10%、15%、20%、25%、30%或35%,与患者在另一个时间段在没有给药胰淀素或胰淀素激动剂的基本上相似或相同条件下的热量或其他能量源的使用水平相比较。使用呼吸热量计测量代谢速率的增加。该实施方案中所用的胰淀素或胰淀素激动剂的有效量为有效提高患者代谢速率的含量。

[0079] 在另一个实施方案中,提供了降低患者代谢速率降低的方法。这样的代谢速率降低可以是任何导致代谢速率降低的病症或营养或物理疗法的结果,例如由于降低热量的饮食、限制饮食或体重减轻。限制饮食包括对饮食中允许的食物类型或食物含量或两者的容许或禁止,或两者,不必定基于热量。例如,作为单独的饮食,具有降低代谢速率的身体补偿基于较低的热量摄入。本质上,身体下调对食物的需求,因此依靠较少的食物生活。随着饮食持续,降低了热量摄入的极限。结束饮食时,由于降低的热量摄入极限和较低的基础代谢速率,个体通常增加体重同时进食正常的饮食(NIH Technology Assessment Conference Panel (1992) Ann. Intern. Med. 116 :942-949 ;Wadden (1993) Ann. Intern. Med. 119 : 688-693)。在一个方面中,提供了降低患者代谢速率损耗的方法,其中代谢速率损耗是降低热量的饮食或体重减轻的结果。使用这样的方法,患者中患者代谢速率降低至少减轻约

10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或95%。对于这样的方法,在导致代谢速率损耗或降低的病症或营养或物理疗法开始时给药胰淀素或胰淀素激动剂是理想的。然而,还考虑到在病症或营养或物理疗法开始之前开始胰淀素或胰淀素给药。在一种情况中,使用呼吸热量计测量代谢速率。该实施方案中所用的胰淀素或胰淀素激动剂的有效量是有效降低患者代谢速率降低的含量。

[0080] 在另一个方面中,提供了降低代谢平台期的方法,其中该方法包括将有效量的胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在一个实施方案中,患者正在减肥,或已经减肥,例如,由于降低热量的饮食、增加锻炼或其结合。“代谢平台期”意思是身体调整来改变热量或能量输入时稳定代谢速率的时间间隔。热量输入或消耗的改变可以是,例如,降低热量的饮食或增加的身体活动的结果。例如,可以在减肥方案过程中体重减轻减缓或停止时观察到这样的平台期。在一个实施方案中,本发明的方法降低了患者代谢平台期的持续时间,与其他相同患者在相同时间段内在没有给药胰淀素或胰淀素激动剂的基本相似或相同条件下的代谢平台期的持续时间相比较。在另一个实施方案中,提供的方法降低了代谢平台期的频率,与在其他相同患者中在相同时间段内在没有给药胰淀素或胰淀素激动剂的基本相似或相同条件下的代谢平台期的频率相比较。再一实施方案中,提供的方法延迟了代谢平台期的开始,与其他相同患者在相同时间段内在没有给药胰淀素或胰淀素激动剂的基本相似或相同条件下的代谢平台期的开始相比较。在一个实施方案中,通过绘制降低或没有体重减轻的时间段来鉴定代谢平台期。在一个实施方案中,降低至少一个代谢平台期。在其他实施方案中,降低至少两、三、四、五、六、七、八、九或十个代谢平台期。在另一个方面中,与相同或相似条件下没有给药胰淀素或胰淀素激动剂的患者相比较延迟代谢平台期一天。在其他方面中,患者的代谢平台期延迟2天、3天、4天、5天、6天、1周、10天、2周或3周。

[0081] 再一实施方案中,提供了保持患者代谢速率的方法。在一个实施方案中,患者处于损耗代谢速率的风险中,例如,由于降低热量的饮食、限制饮食或预期体重减轻的开始。代谢速率的保持是患者在一个时间段内的热量或另一种能量源使用水平的维持,与其他相同患者在相同时间段内在没有给药胰淀素或胰淀素激动剂的基本相似或相同条件下的热量或其他能量源的使用水平相比较。在一方面中,代谢速率维持在导致代谢速率降低事件开始之前的患者代谢速率的15%内。在其他方面中,将代谢速率维持在患者代谢速率10%内、7%内、5%内、3%内或更少。一方面中,在降低热量的饮食、限制饮食或锻炼方案开始时给药胰淀素或胰淀素激动剂。

[0082] 可以使用测定这样速率的任何可用方法来测定代谢速率,例如通过使用呼吸热量计。这样用于测量代谢速率的方法和装置是本领域已知的并描述于,例如, U. S. 专利 No. 4, 572, 208, 4, 856, 531, 6, 468, 222, 6, 616, 615, 6, 013, 009 和 6, 475, 158。或者,可以通过测量饮食阶段后动物分解代谢的瘦组织对脂肪组织的含量来测定动物的代谢速率。因此,可以在饮食阶段结束时测量总体重和脂肪含量。在大鼠中,测定总身体脂肪通常使用的方法是外科手术取出并称重腹膜后脂肪垫,这是位于腹膜后的身体脂肪,腹膜后是后腹壁和后体壁腹膜之间的区域。认为垫的重量与动物的百分比身体脂肪直接相关。因为大鼠的体重和身体脂肪之间的相关性是线性的,肥胖动物具有相应较高百分比的身体脂肪和腹膜后脂肪垫重量。

[0083] 在另一个方面中,提供了通过提高患者代谢速率降低脂肪质量的方法,其中该方

法包括将通过提高患者代谢速率降低脂肪质量的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。脂肪质量可以表示为总身体质量的百分比。在一些方面中,脂肪质量在治疗过程中降低至少 1%、至少 5%、至少 10%、至少 15%、至少 20%或至少 25%。在一方面中,患者的瘦组织质量在治疗过程中没有降低。在另一方面中,患者的瘦组织质量在治疗过程中维持或增加。在另一方面中,患者食用降低热量的饮食或限制饮食。“降低热量的饮食”意思是患者每天摄入较少的热量,与相同患者的正常饮食相比较。在一种情况中,患者每天消耗至少低 50 卡路里。在其他情况中,患者每天消耗至少低 100、150、200、250、300、400、500、600、700、800、900、1000 卡路里。

[0084] 在一个实施方案中,提供了改变患者脂肪分布的方法,其中该方法包括将改变患者脂肪分布的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在一个方面中,改变由患者提高的内脏脂肪或异位脂肪或两者的代谢引起。在一些实施方案中,该方法涉及内脏脂肪或异位脂肪或两者以高于皮下脂肪至少约 5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%或 50%的速率代谢。在一方面中,该方法导致有利的脂肪分布。在一个实施方案中,有利的脂肪分布是提高的皮下脂肪对内脏脂肪、异位脂肪或两者的比例。在一个方面中,该方法涉及瘦身体质量的增加,例如,作为肌肉细胞质量增加的结果。

[0085] 在另一个实施方案中,提供了降低患者皮下脂肪含量的方法,其中该方法包括将降低患者皮下脂肪的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于需要的患者。在一个实施方案中,患者皮下脂肪的含量降低至少约 5%。在其他实施方案中,皮下脂肪的含量降低至少约 10%、15%、20%、25%、30%、40%或 50%,与给药胰淀素或胰淀素激动剂之前的患者相比较。

[0086] 在此所述的方法可以用于降低患者的内脏脂肪含量。在一种情况中,患者皮下脂肪降低至少约 5%。在其他情况中,患者的皮下脂肪降低至少约 10%、15%、20%、25%、30%、40%或 50%,与给药胰淀素或胰淀素激动剂之前的患者相比较。可以通过测定患者内脏脂肪含量的任何可用方式来测量内脏脂肪。这样的方法包括,例如,通过 CT 扫描和 MRI 的腹部层析 X 射线摄影法。测定内脏脂肪的其他方法描述于,例如,U. S. 专利 No. 6, 864, 415、6, 850, 797 和 6, 487, 445。

[0087] 在一个实施方案中,提供了防止患者异位脂肪累积或降低异位脂肪含量的方法,其中该方法包括将防止患者异位脂肪累积或降低异位脂肪含量的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于需要的患者。在一种情况中,患者异位脂肪的含量降低至少约 5%,与给药胰淀素或胰淀素激动剂之前的患者相比较。在其他情况中,异位脂肪的含量降低至少约 10%、15%、20%、25%、30%、40%或 50%。或者,异位脂肪的含量与患者皮下脂肪相比较,按比例降低 5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或 100%。使用任何可用于测量异位脂肪的方法来测量患者的异位脂肪。

[0088] 在另一个实施方案中,提供了在患者中产生更有利脂肪分布的方法,其中该方法包括将产生有利脂肪分布的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在一个实施方案中,胰淀素或胰淀素激动剂的给药降低了患者内脏脂肪或异位脂肪或两者的含量。在一个实施方案中,该方法优先降低内脏或异位脂肪或两者组合的含量,超过皮下脂肪的降低。这样的方法导致较高比例的皮下脂肪对内脏脂肪或异位脂肪。这样提高的比例可以导致降低的产生心血管疾病、多囊卵巢综合征、代谢综合症或其任意组合的风险。在一个实施方案

中,以高于皮下脂肪 5%的速率代谢异位或内脏脂肪。在其他实施方案中,以高于皮下脂肪至少 10%、15%、20%、25%、30%、50%、60%、70%、80%、90%或 100%的速率代谢异位或内脏脂肪。

[0089] 再一方面中,提供的方法包括治疗有效量的胰淀素或胰淀素激动剂结合糖皮质激素的使用。糖皮质激素具有提高脂肪质量和降低瘦肉质量的不利作用。因此,考虑到胰淀素或胰淀素激动剂可以在糖皮质激素使用有益条件下结合糖皮质激素使用。

[0090] 在另一个实施方案中,提供了改变人体测量参数(例如腰围、臀围、腰臀比例)的方法。腰围是腹部肥胖的测量。在一个实施方案中,提供了减小患者腰围的方法,其中该方法包括将减小患者腰围的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于需要的患者。在一个实施方案中,患者的腰围减小至少约 1%。在其他实施方案中,患者的腰围减小至少约 2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或 10%,与给药胰淀素或胰淀素激动剂之前的患者相比较。在一个实施方案中,患者的腰围减小至少约 1cm。在其他实施方案中,患者的腰围减小至少约 2cm、3cm、4cm、5cm 或 6cm,与给药胰淀素或胰淀素激动剂之前的患者相比较。

[0091] 在另一个实施方案中,提供了减小患者臀围的方法,其中该方法包括将减小患者臀围的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于需要的患者。在一个实施方案中,患者的臀围减小至少约 1%。在其他实施方案中,患者的腰围减小至少约 2%、3%、4%、5%或 6%,与给药胰淀素或胰淀素激动剂之前的患者相比较。在一个实施方案中,患者等腰围减小至少约 1cm。在其他实施方案中,患者的腰围减小至少约 2cm、3cm、4cm、5cm 或 6cm,与给药胰淀素或胰淀素激动剂之前的患者相比较。

[0092] 还提供了减轻病态肥胖患者重量的方法,首先将患者的重量降低至低于病态肥胖的水平,然后给药有效量的胰淀素或胰淀素激动剂来进一步减轻患者重量。将患者重量减轻至低于病态肥胖的方法包括减少热量摄入、增加身体活动、药物治疗、肥胖外科手术,如胃旁路外科手术,或前述方法的任意组合。在一个方面中,给药胰淀素或胰淀素激动剂进一步减轻患者的重量。在另一个实施方案总,提供了降低具有 40 或更低 BMI 患者的身体质量指数(BMI)的方法,通过给药进一步减轻患者重量的有效量胰淀素或胰淀素激动剂。

[0093] 在另一个方面中,提供了降低产生代谢紊乱的风险的方法,其中该方法包括将降低患者重量的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。

[0094] 在另一个方面中,提供了控制或改变进食行为的方法,其中该方法包括将控制或改变患者进食行为的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于需要的患者。在一个实施方案中,提供了控制暴食的方法,其中该方法包括将控制或制止患者暴食的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于需要的患者。在一个实施方案中,在一天中患者最可能暴食的时间给药胰淀素或胰淀素激动剂。在一方面中,暴食的特征在于 1) 在分开的时间段(例如,在任何 2- 小时的时间段内),进食明显大于大部分人在相似时间段和相似环境下食用的食物量和 2) 在事件过程中缺乏对进食的控制感(例如,不能停止进食或控制吃什么或吃多少的感觉)。在一个实施方案中,用于控制暴食的胰淀素激动剂包括体内半衰期比胰淀素长的激动剂。

[0095] 在一个实施方案中,提供了减轻暴食的方法,其中该方法包括将减轻患者暴食的有含量胰淀素或胰淀素激动剂给药于需要的患者。暴食的减轻包括暴食情况的频率、暴食情况的持续时间、暴食情况过程中消耗的总量、抵抗暴食情况发作的难度的降低及其任意

组合,与胰淀素或胰淀素激动剂给药不存在下的频率、持续时间、含量和抵抗力相比较。因此,例如,在一个实施方案中,该方法包括暴食情况频率的降低。在另一个实施方案中,该方法包括暴食情况持续时间的减少。再一实施方案中,该方法包括暴食情况过程中消耗的总量的降低。再一实施方案中,该方法可以包括抵抗暴食情况发作难度的降低。

[0096] 在一些实施方案中,暴食特别地是暴食甜食、巧克力食物、咸食、高脂肪食物,或其任意组合,在应激或非应激条件下。在一个实施方案中,暴食特别地是暴食咸食,包括高脂肪食物。在一个实施方案中,暴食特别地是暴食甜食,在应激和非应激条件下。

[0097] 可以使用调查表和暴食等级 (BES) 来测定或测量暴食。基于总的 BES 分数 (通过总合每个单独项目的分数来计算),可以将暴食严重程度分成三类 (轻微、中度和严重)。因此,提供了降低患者 BES 分数的方法,包括将降低患者 BES 分数的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于需要的患者。在一些实施方案中,胰淀素或胰淀素激动剂的给药改变了患者的 BES 类别,例如,从严重改变至中度、从严重改变至轻微或从中度改变至轻微。

[0098] 暴食的一些信号包括身体不饥饿时食用大量食物、快速进食、因为对于他或她吃了多少感觉困窘而藏匿食物、进食直至不舒服的饱腹感,或其任意组合。许多暴食者是情绪食者,即,他们的暴食是由他们的情绪状态引发的 (例如,一些暴食者在伤心时进食,一些在开心时进食,一些在压力下进食)。大量暴食者患有焦虑症,如强迫症;冲动控制问题;或人格障碍,如边缘性人格障碍或抑郁症。在一个实施方案中,暴食应答应激条件。其他暴食者是物质滥用者,如药物滥用者或酒精滥用者。不是每个患有暴食症的人都是超重的,如诊断为易饿症的那些暴食者。

[0099] 暴食患者通常在一天中的特定时间暴食,因此应当根据患者什么时候最可能暴食来调整治疗。例如,如果患者大部分在晚上 7 点后暴食,患者应当在 7 点或 7 点前不久给药胰淀素或胰淀素激动剂。在一个实施方案中,在他们易于暴食的时间将胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在其他实施方案中,在患者易于暴食的至少约 15 分钟、至少约 30 分钟、至少约 45 分钟、至少约 1 小时、至少约 1 小时 10 分钟或至少约 2 小时前将胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。

[0100] 该实施方案中胰淀素或胰淀素激动剂的有效量是有效制止或控制患者暴食欲望的含量。因此,胰淀素或胰淀素激动剂的有效量将根据患者和他们渴望暴食的水平而改变。此外,如果患者在一天中的一个点渴望暴食比另一个点的低,因此调整剂量,在患者具有较低暴食欲望的时间提供较低的剂量,和在患者具有较高暴食欲望的时间提供较高剂量。在一个实施方案中,在他们具有高暴食欲望的时间将峰剂量的胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在其他实施方案中,在他们具有高暴食欲望之前至少约 15 分钟、至少约 30 分钟、至少约 45 分钟、至少约 1 小时、至少约 1 小时 30 分钟或至少约 2 小时将峰剂量的胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在一些实施方案中,胰淀素或胰淀素激动剂剂量为 25 μ g 至 240 μ g,或可以更高或更低。

[0101] 在控制暴食和其他进食行为的特定方法中,胰淀素或胰淀素激动剂是治疗过程中给药于患者的仅有的抗肥胖或减肥剂。

[0102] 在控制暴食的其他方法中,患者可以进一步给药至少一种其他已知抑制饥饿或控制食欲的药物。这样的药物包括,但不限于,利莫那班、西布茶明、奥利司他、exendin 或其类似物, PYY 或其类似物、CB-1、瘦素和苯丁胺。

[0103] 在另一实施方案中,提供了改变患者偏食的方法,其中方法包括将改变患者偏食的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于需要的患者。如在此所述的,本发明的方法包括改变应激条件下的偏食,以及改变非应激条件下的偏食。在一个实施方案中,偏食包括对甜食、巧克力食物、咸食、高脂肪食物、低脂食物及其任意组合的偏好。因此,例如,在一个实施方案中,提供了改变患者偏好甜食的方法,所述方法包括将有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于希望改变偏好甜食的患者。在另一个实施方案中,提供了改变偏好巧克力食物的方法。在另一个实施方案中,提供了改变偏好咸食的方法。在另一个实施方案中,提供了改变偏好高脂肪食物的方法。在另一个实施方案中,提供了改变偏好低脂食物的方法。

[0104] 偏食的改变包括对该食物偏好的降低,该食物摄入量的降低,一种食物类型超过另一种食物类型偏好的提高,渴望该食物频率、渴望该食物的持续时间、渴望该食物的强度、抵抗对该食物渴望的难度、应答该食物渴望进食的频率的改变及其任意组合,与胰淀素或胰淀素激动剂给药不存在下的频率、持续时间、强度或抵抗力相比较。

[0105] 再一实施方案中,方法包括降低患者对甜食的偏好。再一实施方案中,方法包括降低患者对巧克力食物的偏好。再一实施方案中,方法包括降低患者对咸食的偏好。再一实施方案中,方法包括降低患者对高脂肪食物的偏好。再一实施方案中,方法包括降低患者对低脂食物的偏好。再一实施方案中,方法包括提高患者对咸食的偏好超过巧克力食物。再一实施方案中,方法包括提高患者对低脂食物的偏好超过高脂食物。

[0106] 在另一个实施方案中,提供了治疗、降低或预防食物渴求的方法,该方法包括将治疗、降低或防止患者食物渴求的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。食物渴求意思是患者对特定类型食物的渴望。最常见的食物渴求包括对甜食如巧克力的渴求,对咸食如咸点心和脂肪点心的渴求。可以使用本领域已知的或是研究食物渴求的人员创造的调查表来测量食物渴望。这样的调查表优选基于数量等级将食物渴求水平分级,如果不具有食物渴求,患者标为 0,如果患者具有严重食物渴求,标为 10(如果基于 1-10 的等级)。调查表优选还包括关于患者渴求哪种食物类型的问题。

[0107] 在一个实施方案中,方法包括降低患者对甜食、巧克力食物、咸食、高脂肪食物等的渴求频率。在另一个实施方案中,方法包括降低患者对甜食、巧克力食物、咸食、高脂肪食物等的渴求持续时间。再一实施方案中,方法包括降低患者对甜食、巧克力食物、咸食、高脂肪食物等的渴求强度。再一实施方案中,方法包括降低患者抵抗甜食、巧克力食物、咸食、高脂肪食物等渴求的难度。再一实施方案中,方法包括降低患者应答甜食、巧克力食物、咸食、高脂肪食物等渴求的进食频率。再一实施方案中,方法包括降低患者的甜食摄入。再一实施方案中,方法包括降低患者的巧克力食物摄入。再一实施方案中,方法包括降低患者的咸食摄入。再一实施方案中,方法包括降低患者高脂肪食物的摄入。

[0108] 用于治疗食物渴求的胰淀素或胰淀素的有效量是有效降低患者对特定类型食物渴求的含量。因此,根据待治疗的患者和他们对特定食物渴望的强度,有效量是不同的。例如,遭受压力的人比没有遭受压力的人更渴望甜食,因此需要更高剂量的胰淀素或胰淀素激动剂。此外,患有多囊卵巢综合症的人渴求高碳水化合物的食物,因此需要更高剂量的胰淀素或胰淀素激动剂。

[0109] 另一个实施方案中,提供了降低患者中与降低热量摄入相关的压力的方法,该方法包括将降低与降低的热量摄入相关的压力的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于需要

的患者。与降低的热量摄入相关的压力意思是患者消耗的热量降低而引起的抑郁或焦虑的感觉。降低压力意思是改善患者的抑郁状态（通过提高他们保持良好状态和情绪的整体感觉）或降低患者的焦虑感。用于降低与降低的热量摄入相关压力的方法的胰淀素或胰淀素激动剂的有效量是有效改善患者抑郁（或保持良好状态或情绪的感觉）的含量或有效降低焦虑感的含量。因此，根据待治疗的患者以及他们由降低的热量摄入引起的抑郁或焦虑的强度，有效量是不同的。

[0110] 减轻重量意思是患者在治疗过程中（不管治疗过程是天、周、月或年）失去部分总体重。或者，可以将减轻重量定义为脂肪重量对瘦肉重量比例的降低（换句话说，患者失去脂肪质量，但是维持或增加了瘦肉质量，不必定对应于总体重的损耗）。该实施方案中给药的胰淀素或胰淀素激动剂的有效量是有效减轻患者在治疗过程中的体重的含量，或者，有效减少患者在治疗过程中的脂肪重量百分比的含量。在特定的实施方案中，在治疗过程中，患者体重减轻至少约 1%、至少约 5%、至少约 10%、至少约 15% 或至少约 20%。或者，在治疗过程中，患者的脂肪质量百分比降低至少 1%、至少 5%、至少 10%、至少 15%、至少 20% 或至少 25%。

[0111] 在特定的实施方案中，提供了降低患者重量的方法，包括将有效量的胰淀素或胰淀素激动剂以单次剂量在一天内一次或多次给药于患者。单次剂量是药物的间歇剂量（与连续灌注相对）。患者每天可以给药一个或多个单次剂量。单次剂量无论何时给药于患者，可以是相同的，或可以调整使得患者在一天中的特定时间与其他时间相比较给药较大的单次剂量。特定制剂例如持续释放制剂中胰淀素或胰淀素激动剂的给药，单次剂量可以给药较少频率，例如，每三天一次，一周一次，一个月两次，每个月一次。此外，单次剂量之间的时间优选足够长来使前次单次剂量中给药的药物来清除患者的血流。一些实施方案中，给药半衰期长于胰淀素的胰淀素激动剂。

[0112] 在其他实施方案中，提供了减轻患者重量的方法，包括将有效量的胰淀素或胰淀素激动剂以连续剂量给药于患者。连续剂量意思是药物的连续灌注，例如，通过静脉内注射或经皮贴剂。或者，连续剂量可以以将药物在一定的时间段内释放至患者全身的受控释放胶囊或片剂的形式口服给药。通过连续剂量给药时，在约 1 小时的时间段内释放药物，更优选在约 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18 或 24 小时的时间段内释放药物。

[0113] 在一些实施方案中，提供了减轻体重的方法，其中胰淀素或胰淀素激动剂没有与一种已知引起体重减轻的其他药物共同给药。在其他实施方案中，提供了减轻体重的方法，其中将至少一种已知引起体重减轻的其他药物与胰淀素或胰淀素激动剂共同给药于患者。这样的其他药物通过任一种方式具有这种体重减轻效果，包括但不限于，抑制饥饿、控制食欲、提高代谢等。在一个实施方案中，将至少一种已知引起体重减轻的其他药物与胰淀素或胰淀素激动剂共同给药。“共同给药”意思是作为和第二种减肥化合物的单次给药来给药胰淀素或胰淀素激动剂，作为分开的药剂同时给药或按序给药。按序给药指的是在已知引起重量减轻的第二种药物之前或之后给药胰淀素或胰淀素激动剂。在一方面中，在至少一种已知引起重量减轻的其他药物之前或之后约 30 分钟，更优选在至少一种已知引起重量减轻的其他药物之前或之后约 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 或 12 小时，给药胰淀素或胰淀素激动剂。至少一种已知引起重量减轻的其他药物可以作为单次剂量或作为连续剂量来给药。

[0114] 胰淀素和胰淀素激动剂降低或保护对抗应激及其影响，并具有抗焦虑、抗抑郁和

抗精神病效果,如共有的 U. S. 专利申请 60/667, 335 和 60/760, 583 和 2006 年 3 月 31 日申请的 PCT 申请代理编号 no. 0110-PCT-0 中所述的,在此将每篇引入作为参考。

[0115] 在另一个实施方案中,提供了降低服用引起重量减轻药物相关压力的方法,该方法包括将降低服用引起重量减轻药物相关压力的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于需要的患者。服用引起重量减轻药物相关的压力确定意思是患者消耗的热量降低而引起的抑郁或焦虑感。降低压力意思是改善抑郁状态(通过提高他们保持良好状态和情绪的整体感觉)或减轻焦虑感。

[0116] 出售的或临床研究下的通过靶向大脑控制食欲的药物,如利莫那班和西布茶明,可以使服用的患者具有抑郁或焦虑感。利莫那班靶向大脑中的内源性大麻素受体,以及脂肪组织中的受体,已知其在食物渴求中起作用。认为西布茶明通过提高大脑中去甲肾上腺素和 5-羟色胺的活性来起作用。胰淀素和胰淀素激动剂通过改善患者的抑郁状态和/或降低患者的焦虑感来改善患者由使用这样的药物引起的抑郁或焦虑感。

[0117] 用于降低服用引起重量减轻药物引起压力的方法的胰淀素或胰淀素激动剂的有效量是有效改善抑郁(或保持良好状态或情绪的感觉)的含量或有效降低焦虑感的含量。因此,根据待治疗的患者和使用引起重量减轻药物引起的抑郁或焦虑的强度,有效量是不同的。

[0118] 在另一个方面中,提供了减轻已经进行过肥胖外科手术患者的骨质丢失的方法,该方法包括将降低患者骨质丢失的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于需要的患者。骨质丢失意思是与患者外科手术前的骨密度相比较,骨密度的降低。降低骨质丢失的意思是与已经进行过肥胖外科手术但没有通过本发明的方法治疗的相似患者相比较,防止任何骨质丢失或降低骨质丢失的含量。可以通过任何已知方法来测量骨质丢失,包括使用 DEXA 骨光密度分析法来测量骨密度。肥胖外科手术包括,但不限于, Sapala-Wood Micropouch roux-en-Y 胃旁路外科手术、可调节性束胃带捆扎术、垂直束带造形术、roux-en-Y 胃旁路、胆胰绕道手术和十二指肠转位手术。

[0119] 用于降低已经进行过肥胖外科手术患者骨质丢失方法的胰淀素或胰淀素激动剂的有效量是有效防止或减缓骨吸收的含量。除了胰淀素或胰淀素激动剂,患者可以给药本领域已知防止或减缓骨质丢失的其他药物。这样的药物包括,但不限于,利塞膦酸盐、阿仑膦酸盐、雷洛昔芬、降钙素和特拉帕肽。

[0120] 在另一个实施方案中,提供了提高患者生热作用的方法,该方法包括将提高患者生热作用的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于需要的患者。生热作用是通过提高身体代谢速率以热释放热量的过程。通过几种机制,包括补充剂、营养、锻炼和暴露于寒冷来激活生热作用。

[0121] 在另一个实施方案中,提供了提高患者氧化代谢的方法,该方法包括将提高患者氧化代谢的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。氧化代谢是通过其使用氧从碳水化合物(糖)制造能量的过程。

[0122] 在另一个方面中,提供了诱导饱腹感的方法,其中该方法包括将诱导患者饱感或饱腹感的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于需要或渴望的患者。在一个实施方案中,提供了诱导患者饱腹感的方法,包括将患者已经食用比给药不存在下诱导饱感或饱腹感少的食物后诱导患者饱感或饱腹感的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于需要或渴望的患者。

在一些实施方案中,胰淀素或胰淀素激动剂的给药诱导患者食用至少约少 5% 食物,至少约少 10% 食物,至少约少 15% 食物,至少约少 20% 食物,或至少约少 25% 食物后的饱感或饱腹感。

[0123] 再一方面中,提供了控制患者饥饿的方法,其中方法包括将控制患者饥饿的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。

[0124] 再进一步的方面中,提供了延长患者饱腹感的方法,其中该方法包括将延长患者饱腹感的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。

[0125] 再一方面中,提供了降低、缓解或防止患者偏食的方法,其中该方法包括将降低、缓解或防止患者偏食的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。

[0126] 在进一步的方面中,提供了降低患者热量摄入的方法,其中该方法包括将有效量的胰淀素或胰淀素激动剂作为患者食物或点心的替代给药于患者。再进一步的方面中,提供了通过减少饭量降低热量摄入的方法,其中该方法包括将降低患者摄入食量的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于所述患者。

[0127] 另一个方面中,提供了控制食物摄入的方法,其中该方法包括将导致患者控制或停止食物摄入的有含量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。再一方面中,提供了确保或有助于顺从降低热量或限制饮食的方法,其中该方法包括将有效量的胰淀素或胰淀素激动剂给药于所述患者。另一个实施方案中,提供了控制患者热量摄入的方法,其中方法包括将有效量的胰淀素或胰淀素激动剂在一天中患者更可能暴食或吃甜食或咸食的特定时间给药于患者。

[0128] 再一方面中,提供了调节患者设定值 (set point) 的方法使得身体对体内平衡的倾向调节至更健康的设定值,其中该方法包括将有效量的胰淀素或胰淀素激动剂给药于所述患者。在另一个实施方案中,提供了维持体重减轻或维持已经减轻的体重的方法,其中该方法包括将维持患者重量减轻或患者已经减轻的体重的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在一个实施方案中,通过重新设定患者的设定值来维持重量减轻。

[0129] 在另一个实施方案中,提供了改善、调节或防止患者减肥剂副作用的方法,该方法包括将改善、调节或防止患者服用减肥剂副作用的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在另一个实施方案中,提供了改善、调节或防止患者减肥剂不利生理副作用的方法,该方法包括将缓解、调节或防止减肥剂不利生理副作用的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。

[0130] 在另一个实施方案中,提供了改善、调节或防止患者减肥剂的不利胃肠道副作用的方法,该方法包括将改善、调节或防止患者服用减肥剂的不利胃肠道副作用的有效量胰淀素或胰淀素激动剂给药于患者。在这样的实施方案中,胰淀素或胰淀素激动剂具有胃肠保护效果。

[0131] 此外,在此所述的本发明的任一方面中,其中胰淀素或胰淀素激动剂与至少一种其他减肥(或抗-肥胖)或减轻体重药物共同给药,胰淀素或胰淀素激动剂结合至少一种其他减肥(或抗-肥胖)或减轻体重药物的使用导致协同效果。

[0132] 在此所述的实施方案中,其中胰淀素或胰淀素激动剂与至少一种其他减肥(或抗肥胖)或体重减轻药物共同给药,胰淀素或胰淀素激动剂结合至少一种其他减肥(或抗肥胖)或重量减轻药物的使用导致对于至少一种化合物需要较低的剂量,而具有相同的效

果。

[0133] 在另一个方面中,还可以结合用于在此所述方法中的胰淀素或胰淀素激动剂,和一种或多种用于控制、防止或治疗肥胖或进食障碍或病症的活性成分。例如,在一个实施方案中,提供了降低具有 40 或更低 BMI 患者的 BMI 的方法,通过给药胰淀素或胰淀素激动剂结合至少第二种降低患者 BMI 有效量的减肥剂。这样的第二种减肥化合物包括西布茶明、奥利司他、瘦素和利莫那班。例如,胰淀素或胰淀素激动剂可以结合一种或多种其他化合物,以单一剂型,或分开剂型,用于同时或按序给药于需要的患者。在一个实施方案中,胰淀素或胰淀素激动剂与第二种减肥化合物共同给药,例如,作为与第二种减肥化合物的单次给药,作为分开的药剂同时给药,或按序给药,其中化合物的给药可以在时间上以秒、分钟或小时分开。按序给药还可以包括第一个过程的减肥剂例如胰淀素或胰淀素激动剂的给药,接着至少一个过程的另一种减肥剂的给药。治疗过程可以重叠或不重叠。

[0134] 按序给药时,可以以两次或多次给药来给药组合物。在可替换的实施方案中,可以通过不同的途径给药一种或多种胰淀素或胰淀素激动剂和一种或多种其它活性成分。本领域技术人员还将认识到各种活性成分可以结合胰淀素或胰淀素激动剂给药,可以用来增大或协同提高肥胖或进食障碍或病症的控制、防止、改善、减轻或治疗。

[0135] 根据在此提供的方法,与至少一种其他减肥(或抗肥胖)或减轻重量药物共同给药时,胰淀素或胰淀素激动剂可以是:(1) 在复合的制剂中共同配制和给药或同时传送;(2) 作为分开的制剂通过交替或平行传送;或(3) 通过本领域已知的任何其他联合治疗方案。当以交替治疗传送时,提供的方法可以包括按序给药或传送活性成分,例如,在分开的溶液、乳浊液、悬浮液、片剂、丸剂或胶囊中,或通过分开注射器中的不同注射。通常,在交替治疗过程中,按序即连续给药每种活性成分的有效剂量,而在连续治疗中,一起给药两种或多种活性成分的有效剂量。还可以使用各种顺序的间歇联合治疗。

[0136] 在特定的实施方案中,在此提供的化合物可以结合其他可购得的减肥助剂或其他减肥剂使用,如例如,PYY 和 PYY 激动剂、GLP-1 和 GLP-1 激动剂、DPP-IV 抑制剂、CCK 和 CCK 激动剂、exendin 和 exendin 激动剂、GIP 和 GIP 激动剂以及瘦素和瘦素激动剂。用于提供的方法中的正在研发中的其他抗肥胖剂在本发明的方法中也是所关注的。其他抗肥胖剂包括苯丁胺、芬氟拉明、西布茶明、利莫那班和奥利司他。

[0137] 因此,在一方面中,胰淀素或胰淀素激动剂可以用作联合治疗的一部分,用于控制、防止或治疗肥胖或进食障碍或病症。用作治疗肥胖或减轻重量的联合治疗一部分的优选化合物包括,但不限于,影响神经递质或神经离子通路的中枢神经系统药剂,包括抗抑郁剂(安非他酮)、去甲肾上腺素再吸收抑制剂(GW320659)、选择性 5-羟色胺 2c 受体激动剂、选择性 5HT_{2c} 受体激动剂、antiseizure 剂(topiramate、唑尼沙胺)、一些多巴胺拮抗剂和大麻素-1 受体拮抗剂(CB-1 受体拮抗剂)(利莫那班);瘦素/胰岛素/中枢神经系统通路药剂,包括瘦素类似物、瘦素转运和/或瘦素受体启动子、纤毛神经营养因子(Axokine)、神经肽 Y 和 agouti- 相关肽拮抗剂、阿黑皮素原和可卡因和苯丙胺调节的转录启动子、 α -黑素细胞刺激激素类似物、melanocortin-4 受体激动剂和影响胰岛素代谢/活性的药剂,其包括蛋白质-酪氨酸磷酸酶-1B 抑制剂、过氧化物酶增殖子激活的受体- γ 受体拮抗剂、短效溴隐亭(ergoset)、促生长素抑制素激动剂(octreotide)和 adiponectin/Acrp30(Famoxin 或脂肪酸代谢氧化诱导剂);胃肠-神经通路药剂,包括提高缩胆囊肽活

性 (CCK)、PYY 活性、NPY 活性和 PP 活性,提高胰高血糖素 - 样肽 1 活性 (exendin4、二肽肽酶 IV 抑制剂) 的那些和降低 ghrelin 活性的那些,以及胰淀素类似物 (普兰林肽);可以提高静止代谢速率的药剂 (选择性 β -3 刺激剂 / 激动剂、解偶联蛋白同系物和甲状腺受体激动剂);其它更多不同的药剂,包括黑色素浓缩激素拮抗剂、植物甾醇类似物、功能油、P57、淀粉酶抑制剂、生长激素片段、脱氢表雄甾酮硫酸盐的合成类似物、脂肪细胞 11B- 羟基类固醇脱氢酶 1 型活性的拮抗剂、促肾上腺皮质激素释放激素激动剂、脂肪酸合成的抑制剂 (cerulenin 和 C75)、羧基肽酶抑制剂、茛菪满酮 / 茛菪满醇、氨基类固醇 (trodusquemine / trodulamine) 和其他胃肠脂酶抑制剂 (ATL962);苯丙胺,如右旋苯丙胺;其它类交感神经肾上腺素剂,包括苯丁胺、甲基苯异丙基苄胺、苯二甲吗啉、马吲哚和 diethylpropion。

[0138] 其他优选的化合物包括 ecopipam;oxyntomodulin(OM);葡萄糖 - 依赖性促胰岛素多肽 (GIP) 的抑制剂;促胃液素 - 释放肽;neurodyninB;enterostatin;安非布他酮、SR-58611;CP-045598;AOD-0604;QC-BT16;rGLP-1;1426(HMR-1426);N-5984;ISIS-113715;solabegron;SR-147778;Org-34517;美拉诺坦 -II;西替利司他;c-2735;c-5093;c-2624;APD-356;radafaxine;fluasterone;GP-389255;856464;S-2367;AVE-1625;T-71;油酰 - 雌酮;肽 YY[3-36] 鼻内;雄激素受体激动剂;PYY3-36;DOV-102677;塔格糖;SLV-319;1954(AventisPharma AG);oxyntomodulin, Thiakis;溴麦角隐亭, PLIVA;糖尿病 / 高脂血症治疗, Yissum;CKD-502;甲状腺受体 β 激动剂; β -3 adrenoceptor 激动剂;CDK-A 激动剂;galanin 拮抗剂;多巴胺 D1/D2 激动剂;melanocortin 调节剂;verongamine;神经肽 Y 拮抗剂;黑色素浓缩激素受体拮抗剂;双 PPAR α / γ 激动剂;GGEN-P-4;激酶抑制剂;人 MCH 受体拮抗剂;GHS-R 拮抗剂;ghrelin 受体激动剂;DG70 抑制剂;cotinine;CRF-BP 抑制剂;urocortin 激动剂;UCL-2000;impentamine; β -3 肾上腺素受体;五肽 MC4 激动剂;trodusquemine;GT-2016;C-75;CPOP;MCH-1 受体拮抗剂;RED-103004;氨基固醇;orxin-1 拮抗剂;神经肽 Y5 受体拮抗剂;DRF-4158;PT-15;PTPase 抑制剂;A37215;SA-0204;糖脂代谢物;MC-4 激动剂;produlestan;PTP-1B 抑制剂;GT-2394;神经肽 Y5 拮抗剂;黑素皮质素受体调节剂;MLN-4760;PPAR γ / δ 双激动剂;NPY5RA-972;5-HT_{2C} 受体激动剂;神经肽 Y5 受体拮抗剂 (苯基脲类似物);AGRP/MC4 拮抗剂;神经肽 5 拮抗剂 (苯并咪唑);糖皮质激素拮抗剂;MCHR1 拮抗剂;乙酰 -CoA 羧化酶抑制剂;R-1496;HOB1 调节剂;NOX-B11;肽 YY3-36 (eligen);5-HT₁ 调节剂;胰腺脂酶抑制剂;GRC-1087;CB-1 拮抗剂;MCH-1 拮抗剂;LY-448100;bombesin BRS3 激动剂;ghrelin 拮抗剂;MC4 拮抗剂;硬脂酰 -CoA 去饱和酶调节剂;H3 组胺拮抗剂;PPARpan 激动剂;EP-01492;激素 - 敏感脂酶抑制剂;脂肪酸结合蛋白 4 抑制剂;硫代内酯衍生物;蛋白质酪氨酸磷酸酶 1B 抑制剂;MCH-1 拮抗剂;P-64;PPAR γ 配体;黑色素浓缩激素拮抗剂;噻唑 gastroprokinetics;PA-452;T-226296;A-331440;免疫药物疫苗;糖尿病 / 肥胖治疗剂 (Bioagency, Biofrontera Discovery GmbH);P-7 (Genfit);DT-011M;PTP1B 抑制剂;抗 - 糖尿病肽缀合物;KATP 激动剂;肥胖治疗剂 (Lexicon);5-HT₂ 激动剂;MCH-1 受体拮抗剂;GMAD-1/GMAD-2;STG-a-MD;神经肽 Y 拮抗剂;血管生成抑制剂;G- 蛋白 - 缀合的受体激动剂;盐碱酸治疗剂 (ChemGenex);抗 - 肥胖剂 (Abbott);神经肽 Y 调节剂;黑色素浓缩激素;GW-594884A;MC-4R 激动剂;组胺 H3 拮抗剂;orphanGPCR 调节剂;MITO-3108;NLC-002;HE-2300;IGF/IBP-2-13;5-HT_{2C} 激动剂;ML-22952;神经肽 Y 受体拮抗剂;AZ-40140;

抗-肥胖治疗剂 (Nisshin Flour) ;GNTI ;黑素皮质素受体调节剂 ; α -淀粉酶抑制剂 ;神经肽 Y1 拮抗剂 ; β -3adrenoceptor 激动剂 ;ob 基因产物 (Eli Lilly&Co.) ;SWR-0342-SA ; β -3 adrenoceptor 激动剂 ;SWR-0335 ;SP-18904 ;口服胰岛素模拟物 ; β -3 adrenoceptor 激动剂 ;NPY-1 拮抗剂 ; β -3 激动剂 ;肥胖治疗剂 (7TM Pharma) ;11 β -羟基类固醇脱氢酶 (HSD)1 抑制剂 ;ORX-431 ;E-6776 ;RI-450 ;黑素皮质素-4 拮抗剂 ;黑素皮质素-4 受体激动剂 ;肥胖治疗剂 (CuraGen) ;瘦素模拟物 ;A-74498 ;第二代瘦素 ;NBI-103 ;CL-314698 ;CP-114271 ; β -3 adrenoceptor 激动剂 ;NMI-8739 ;UCL-1283 ;BMS-192548 ;CP-94253 ;PD-160170 ;烟碱酸激动剂 ;LG-100754 ;SB-226552 ;LY-355124 ;CKD-711 ;L-751250 ;PPAR 抑制剂 ;G-蛋白质治疗剂 ;肥胖治疗剂 (胰淀素 Pharmaceuticals Inc.) ;BW-1229 ;单克隆抗体 (ObeSys/CAT) ;L-742791 ;(S)-sibutramine ;MBU-23 ;YM-268 ;BTS-78050 ;tubby-样蛋白质基因 ;染色体组 (进食障碍 ;Allelix/Lilly) ;MS-706 ;GI-264879A ;GW-409890 ;FR-79620 类似物 ;肥胖治疗剂 (Hybrigenics SA) ;ICI-198157 ;ESP-A ;5-HT_{2C} 激动剂 ;PD-170292 ;AIT-202 ;LG-100641 ;GI-181771 ;抗-肥胖治疗剂 (Genzyme) ;瘦素调节剂 ;GHRH 模拟物 ;肥胖治疗剂 (Yamanouchi Pharmaceutical Co.Ltd.) ;SB-251023 ;CP-331684 ;BIBO-3304 ;cholsten-3-酮 ;LY-362884 ;BRL-48962 ;NPY-1 拮抗剂 ;A-71378 ; \textcircled{R} -didesmethylsibutramine ;酰胺衍生物 ;肥胖治疗剂 (Bristol-Myers Squibb Co.) ;肥胖治疗剂 (LigandPharmaceuticals Inc.) ;LY-226936 ;NPY 拮抗剂 ;CCK-A 激动剂 ;FPL-14294 ;PD-145942 ;ZA-7114 ;CL-316243 ;SR-58878 ;R-1065 ;BIBP-3226 ;HP-228 ;talibegron ;FR-165914 ;AZM-008 ;AZM-016 ;AZM-120 ;AZM-090 ;犁鼻素 ;BMS-187257 ;D-3800 ;AZM-131 ;基因发现 (Axys/Glaxo) ;BRL-26830A ;SX-013 ;ERR 调节剂 ;adipsin ;AC-253 ;A-71623 ;A-68552 ;BMS-210285 ;TAK-677 ;MPV-1743 ;肥胖治疗剂 (Modex) ;GI-2485573 ;AZM-134 ;AZM-127 ;AZM-083 ;AZM-132 ;AZM-115 ;exopipam ;SSR-125180 ;肥胖治疗剂 (MelacureTherapeutics AB) ;BRL-35135 ;SR-146131 ;P-57 ;AZM-140 ;CGP-71583A ;RF-1051 ;BMS-196085 ;manifaxine ; β -3 激动剂 ;DMNJ (韩国生物科学和生物技术研究所) ;BVT-5182 ;LY-255582 ;SNX-024 ;galanin 拮抗剂 ;神经激肽-3 拮抗剂 ;dexfenfluramine ;mazindol ;diethylpropion ;phendimetrazine ;benzphetamine ;amfebutmone ;舍曲林 ;metformin ;AOD-9604 ;ATL-062 ;BVT-933 ;GT389-255 ;SLV319 ;HE-2500 ;PEG-akokine ;L-796568 和 ABT-239。

[0139] 在一些实施方案中,结合胰淀素或胰淀素激动剂使用的化合物包括利莫那班、西布茶明、奥利司他、PYY 或其类似物、CB-1 拮抗剂、瘦素、苯丁胺和 exendin 类似物。示例剂量范围包括苯丁胺树脂 (早晨 30mg)、fenflutamine 盐酸盐 (一天三次 20mg) 以及苯丁胺树脂 (早晨 15mg) 和 fenflutamine 盐酸盐 (晚餐前 30mg) 和西布茶明 (10-20mg) 的组合。Weintraub 等 (198)Arch. Intern. Med. 144 :1143-1148。

[0140] 在其他实施方案中,提供的方法包括结合至少一种其他抗肥胖剂给药胰淀素或胰淀素激动剂,附加条件是至少一种其他抗肥胖剂不是 NPY1 受体拮抗剂、NPY5 受体拮抗剂、NPY2 受体拮抗剂、NPY4 受体拮抗剂、瘦素、瘦素衍生物、瘦素激动剂、CNTF、CNTF 激动剂 / 调节剂、CNTF 衍生物、MCH1R 拮抗剂、MCH2R 拮抗剂、黑素皮质素 4 激动剂、MC4 受体激动剂、大麻素受体 (CB-1) 拮抗剂 / 反向激动剂、ghrelin 拮抗剂、5HT_{2c} 激动剂、5-羟色胺再吸收抑制剂、5-羟色胺转运抑制剂、DPP-IV 抑制剂、阿片拮抗剂、orexin 拮抗剂、代谢型谷氨酸盐

亚型 5 受体拮抗剂、组胺 3 拮抗剂 / 反向激动剂或 topiramate。在特定的实施方案中,提供的方法包括结合至少一种其他抗肥胖剂给药胰淀素或胰淀素激动剂,附加条件是至少一种其他抗肥胖剂不是苯丁胺、利莫那班或西布茶明。

[0141] 胰淀素和胰淀素激动剂还可以结合用于治疗代谢综合症的化合物给药,如葡萄糖依赖性促胰岛素多肽 (GIP) 类似物。在其他的实施方案中,在此提供的化合物可以和其他止痛药、免疫抑制剂或其他抗炎剂一起使用。

[0142] 用于在此公开的方法内容中的化合物包括胰淀素和胰淀素激动剂。通常,胰淀素和胰淀素激动剂包括胰淀素家族肽激素如胰淀素、肾上腺髓质素 (“ADM”)、降钙素 (“CT”)、降钙素基因相关肽 (“CGRP”)、促黑激素 (也称为“AFP-6”) 和相关肽。天然胰淀素家族肽激素是本领域已知的,激动剂肽类似物和衍生物也是如此。在此所述了特定的天然肽,激动剂肽类似物和衍生物,然而应当认为任何已知的具有在此所述特性的胰淀素家族肽可以结合使用在此公开的方法。

[0143] 如本领域技术人员将认识到的,胰淀素家族肽激素在生理上表达时,通常在 C-端是酰胺化的,但是对于在此提供的方法和组合物的目的是不需要的。换句话说,这些肽的 C-端可以具有游离 -OH 或 NH_2 - 基团。如在此所述的,这些肽还可以具有其他翻译后修饰。

[0144] “胰淀素”意思是称为胰淀素并从胰腺的 β -细胞分泌的人肽激素,及其物种变体,其实例描述于 U. S. 专利 No. 5, 234, 906 中,其内容在此引入作为参考。更具体地,胰淀素是通常应答营养摄入而通过胰腺 β -细胞和胰岛素一起分泌的 37-氨基酸多肽激素 (参见,例如, Koda 等 (1992) Lancet 339 :1179-1180)。在这种认识下,“胰淀素”,“野生型胰淀素”和“天然胰淀素”,即,未修饰的胰淀素,可以交替使用。胰淀素有时候还称为“LAPP”。

[0145] “激动剂”意思是引发胰淀素生物活性的化合物,例如,通过本领域已知的测量,如在此所讨论的受体结合 / 竞争研究评价时,具有高于胰淀素的功效,或与胰淀素相比较,在五个数量级功效内 (加或减),例如,4, 3, 2 或 1 个数量级。例如,胰淀素激动剂可以具有比天然胰淀素高 3、5、10、50、100、500、1000 倍或更高的活性。或者,例如,激动剂可以具有比天然胰淀素低 2、5、10、15 或 20 倍的活性。

[0146] 在一个实施方案中,术语激动剂指的是引发与天然胰淀素相似的生物效果的化合物,例如化合物 (1) 具有与天然人参照肽相似的如在此所述的改变偏食的活性,和 / 或 (2) 具有与天然人参照肽相似的如在此所述的改变代谢速率的活性。术语激动剂指的是引发与天然胰淀素相似的生物效果的化合物,例如化合物具有与天然人参照肽相似的如在此所述的控制、预防或治疗肥胖或进食障碍或病症的活性。在一个实施方案中,术语激动剂指的是引发与天然胰淀素相似的生物效果的化合物,例如化合物 (1) 在食物摄入、胃排空、胰腺分泌或体重减轻测试中具有与天然人参照肽相似的活性 (PCT 申请 No. PCT/US2005/004631, 2005 年 2 月 11 日申请,并引入作为参考),和 / 或 (2) 其在参照受体测试或竞争性结合测试中与胰淀素特异性结合。在一个实施方案中,在这样的测试中激动以高于 $1 \mu\text{M}$ 的亲性和剂结合,在另一个实施方案中,具有高于 $1-5\text{nM}$ 的亲性和。这样的激动剂可以包括含有胰淀素活性片段的多肽或小化学分子。一些实施方案中,激动剂是肽,不是小化学分子。然而,考虑到在特定的实施方案中,可以使用限制性语言将鲑鱼降钙素,降钙素, CGRP 和 / 或其受体类似物排除在胰淀素激动剂范围之外。在特定的实施方案中,胰淀素激动剂不是小化学分子,可以使用限制性语言将小化学分子排除在胰淀素激动剂范围之外。

[0147] “类似物”意思是这样的肽：其序列源自胰淀素，包括插入，置换，延伸和 / 或删除，与胰淀素或胰淀素肽的片段具有至少一些氨基酸同一性。类似物与天然胰淀素具有至少 50 或 55% 氨基酸序列同一性，或与天然胰淀素具有至少 70%，80%，90% 或 95% 氨基酸序列同一性。在一个实施方案中，这样的类似物包括保守或非保守氨基酸置换（包括非天然氨基酸以及 L 和 D 型）。类似物包括具有激动剂活性的化合物和具有拮抗剂活性的化合物。胰淀素激动剂类似物是在此所述的类似物并作为胰淀素激动剂。类似物，如在此所定义的，也包括衍生物。

[0148] “衍生物”定义为具有天然胰淀素或类似物的氨基酸序列，但是另外具有一个或多个氨基酸侧基， α -碳原子，末端氨基或末端羧基团化学修饰的分子。化学修饰包括，但不限于，添加化学部分，形成新键和除去化学部分。氨基酸侧基的修饰包括，但不限于，赖氨酸 ϵ -氨基的酰化，精氨酸、组氨酸或赖氨酸的 N-烷化，谷氨酸或天冬氨酸羧基的烷化和谷氨酰胺或天冬酰胺的脱酰胺。末端氨基的修饰包括，但不限于，脱氨基，N-低级烷基，N-二-低级烷基，限定烷基（例如，支链，环状，稠合，金刚烷基）和 N-芳基修饰。末端羧基修饰包括，但不限于，酰胺，低级烷基酰胺，限定烷基（支链，环状，稠合，金刚烷基）烷基，二烷基酰胺和低级烷基酯修饰。低级烷基是 C1-C4 烷基。此外，一个或多个侧基，或末端基团，可以通过合成化学领域技术人员已知的保护基团来保护。氨基酸的 α -碳可以是单-或二甲基化的。

[0149] 通常，关于氨基酸序列，术语“修饰”包括置换、插入、延伸、删除和衍化，单独或结合。在一些实施方案中，肽包括一个或多个“非必需”氨基酸残基的修饰。在该内容中，“非必需”氨基酸残基是可以改变例如删除或置换而新的氨基酸序列没有消除或实质性降低肽（例如，类似物肽）活性（例如，激动剂活性）的残基。在一些实施方案中，肽可以包括一个或多个“必需”氨基酸残基的修饰。在该内容中，“必需”氨基酸残基是改变例如删除或置换时新的氨基酸序列中参照肽活性基本上降低或消除的残基。在其中必需氨基酸残基得到改变的实施方案中，修饰的肽可以具有用于提供的方法中的胰淀素的活性。置换、插入或删除可以在 N-端或 C-端，或可以在成分肽激素的内部。例如，肽可以包括 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多个置换，在整个肽分子中以连续的方式或是间隔的。单独或结合置换，肽包括 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多个插入，在整个肽分子中还是以连续的方式或是间隔的。单独或结合置换和 / 或插入，肽还可以包括 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多个删除，在整个肽分子中还是以连续的方式或是间隔的。单独或结合置换、插入和 / 或删除，肽还可以包括 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多个氨基酸添加。

[0150] 置换包括保守氨基酸置换。“保守氨基酸置换”是其中氨基酸残基由具有相似侧链或生理化学特征（例如，静电、氢键合、电子等排、疏水性）的氨基酸残基置换。氨基酸可以是天然产生的或非天然的（人造的）。具有相似侧链的氨基酸残基家族是本领域已知的。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸（例如，赖氨酸、精氨酸、组氨酸）、酸性侧链（例如，天冬氨酸、谷氨酸）、不带电的极性侧链（例如，甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、甲硫氨酸、半胱氨酸）、非极性侧链（例如，精氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、色氨酸）、 β -分支侧链（例如，苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸）和芳香族侧链（例如，酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸）。置换还可以包括非保守改变。

[0151] “氨基酸”或“氨基酸残基”意思是天然氨基酸、非天然氨基酸和修饰的氨基酸。除

非所述的相反,通过概括或特异性名称对氨基酸的任何提及,如果它们的结构允许这样的立体异构形式,包括提及 D 和 L 立体异构体。天然氨基酸包括丙氨酸 (Ala)、精氨酸 (Arg)、天冬酰胺 (Asn)、天冬氨酸 (Asp)、半胱氨酸 (Cys)、谷氨酰胺 (Gln)、谷氨酸 (Glu)、甘氨酸 (Gly)、组氨酸 (His)、异亮氨酸 (Ile)、亮氨酸 (Leu)、赖氨酸 (Lys)、甲硫氨酸 (Met)、苯丙氨酸 (Phe)、脯氨酸 (Pro)、丝氨酸 (Ser)、苏氨酸 (Thr)、色氨酸 (Trp)、酪氨酸 (Tyr) 和缬氨酸 (Val)。非天然氨基酸包括,但不限于,同型赖氨酸、同型精氨酸、同型丝氨酸、吡啶羧酸、2-氨基己二酸、3-氨基己二酸、 β -丙氨酸、氨基丙酸、2-氨基丁酸、4-氨基丁酸、6-氨基己二酸、2-氨基庚酸、2-氨基异丁酸、3-氨基异丁酸、2-氨基庚二酸、叔-丁基甘氨酸、2,4-二氨基异丁酸、锁链素、2,2'-二氨基庚二酸、2,3-二氨基庚二酸、N-乙基甘氨酸、N-乙基天冬酰胺、同型脯氨酸、羟基赖氨酸、同分异构的-羟基赖氨酸、3-羟基脯氨酸、4-羟基脯氨酸、异锁链素、同分异构的-异亮氨酸、N-甲基丙氨酸、N-甲基甘氨酸、N-甲基异亮氨酸、N-甲基戊基甘氨酸、N-甲基缬氨酸、naphthalanine、正缬氨酸、正亮氨酸、鸟氨酸、戊基甘氨酸、庚二酸、焦谷氨酸盐和硫代脯氨酸。其他非天然氨基酸包括修饰的氨基酸残基,其是化学上阻断的,可逆或不可逆,或在 N-端氨基或侧链基团上化学修饰的,例如, N-甲基化的 D 和 L 氨基酸或残基,其中侧链官能团在化学上修饰成另一个官能团。例如,修饰的氨基酸包括甲硫氨酸亚砷;甲硫氨酸砷;天冬氨酸(β -甲酯)、天冬氨酸的修饰氨基酸;N-乙基甘氨酸,甘氨酸的修饰氨基酸;或丙氨酸氨甲酰,丙氨酸的修饰氨基酸。可以引入的其他残基描述于 Sandberg 等 (1998) *J. Med. Chem.* 41 :2481-2491。

[0152] 应当注意到在整个申请中以马库什基团书写可替换物,例如,每个含有多于一个可能氨基酸的氨基酸位置。特意考虑到马库什基团应当分开考虑,因此包括另一个实施方案,且不当把马库什基团认为单个基团。

[0153] “序列同一性”,如本领域公知的,是两个或多个多肽序列或两个或多个多核苷酸序列之间的关系,如通过比较序列所测定的。在本领域中,“同一性”还表示多肽或多核苷酸序列之间的序列相关性的程度,如通过这样序列链之间的配对所测定的。可以通过已知的方法容易地计算同一性,包括但不限于,描述于 *Computational Molecular Biology* (计算机分子生物学), Lesk, A. M. 等, Oxford University Press, New York (1988); *Biocomputing: Informatics and Genome Projects* (生物计算:信息学和基因组计划), Smith, D. W. 编辑, Academic Press, New York, 1993; *Computer Analysis of Sequence Data* (序列数据的计算分析), 第 I 部分, Griffin, A. M 和 Griffin, H. G. 编辑, Humana Press, New Jersey (1994); *Sequence Analysis in Molecular Biology* (分子生物学中的序列分析), von Heinje, G., Academic Press (1987); *Sequence Analysis Primer* (序列分析引物), Gribskov, M. 和 Devereux, J. 编辑, Stockton Press, New York (1991); 和 Carillo, H. 和 Lipman, D., *SIAMJ Applied Math*, 48:1073 (1988) 中的那些。设计测定同一性的方法来获得测试序列之间最大的匹配。此外,测定同一性的方法以公众可获得的程序来编撰。可以用来测定两个序列之间同一性的计算机程序包括但不限于, GCG (Devereux 等 (1984) *Nucleic Acids Research* 12:387; 一组五个 BLAST 程序,三个设计用于核苷酸序列探询 (BLASTN、BLASTX 和 TBLASTX),两个设计用于蛋白质序列探询 (BLASTP 和 TBLASTN) (Coulson (1994) *Trends in Biotechnology* 12:76-80; Birren 等 (1997) *Genome Analysis* 1:543-559)。BLAST X 程序可从 NCBI 和其他来源公开获得 (BLAST Manual, Altschul, S. 等, NCBI NLM NIH, Bethesda,

MD 20894 ;Altschul 等 (1990) J. Mol. Biol. 215 :403-410)。公知的 Smith Waterman 算法也可以用来测定同一性。

[0154] 用于多肽序列比较的参数通常包括以下的：算法：Needleman 和 Wunsch(1970) J. Mol. Biol. 48 :443-453；比较矩阵：来自 Hentikoff 和 Hentikoff(1992) 的 BLOSSUM62(1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA89 :10915-10919；Gap Penalty :12；Gap Length Penalty :4。可以使用这些参数的程序作为“gap”程序可从 Genetics Computer Group(“GCG”), Madison, WI 公开获得。上述参数连同没有 panalty 的末端 gap 是用于肽比较的缺省参数。在一个实施方案中,NCBI 的 BLASTP 程序使用无组成调节的缺省参数,除了 10 的值,3 个子长,BLOSUM62 基质,11 的 gap 延伸值,1 的末端 gap 延价值,用于 blast 延伸的 dropoff(X) (以 bit 计)7,用于 gapped 算法的 Xdropoff 值 (以 bit 计)15,和用于 gapped 算法的最终 X dropoff 值 (以 bit 计)25。

[0155] 用于核酸分子序列比较的参数包括以下的：算法：Needleman 和 Wunsch(1970) J. Mol. Biol. 48 :443-453；比较矩阵：配对 +10；错配 = 0；Gap Penalty :50；Gap Length Penalty :3。如在此所用的,使用作为核酸分子序列比较的缺省参数的上述参数和来自 GCG 的版本 10.2 的“gap”程序来测定“%同一性”。

[0156] 贯穿该说明书,氨基酸序列指的是邻接参照肽的位置 a 至位置 b 的氨基酸。例如,人胰淀素 (SEQ ID NO :1) (该实施例中的参照肽) 的 1-7h 胰淀素指的是从位置 1 至位置 7 的氨基酸序列,包括端点。作为邻接修饰的修饰位置来显示参照肽的修饰。例如,(2Asp 7Lys)1-7h 胰淀素表示人胰淀素的氨基酸序列位置 1 至 7,在位置 2 具有 Cys 至 Asp 的修饰和位置 7 的 Cys 至 Lys 的修饰。对于另一个实施例,¹⁸Arg^{25,28}Pro-h-胰淀素表示人胰淀素的氨基酸序列,在位置 18 具有 His 至 Arg 的修饰,位置 25 Ala 至 Pro 的修饰,和位置 28 Ser 至 Pro 的修饰。

[0157] 人胰淀素 (h 胰淀素或 h-胰淀素) 具有以下氨基酸序列:Lys-Cys-Asn-Thr-Ala-Thr-Cys-Ala-Thr-Gln Arg-Leu-Ala-Asn-Phe-Leu-Val-His-Ser-Ser-Asn-Asn-Phe-Gly-Ala-Ile-Leu-Ser-Ser-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Asn-Thr-Tyr (SEQ ID NO :1)。大鼠胰淀素 (r 胰淀素) 具有以下序列:KCNTATCATQRLANFLVRSSNGLPVLPTNVGSNTY (SEQ ID NO :2)。包括来自任何物种的胰淀素的使用。

[0158] 在此公开的方法中使用的胰淀素激动剂包括描述于 U. S. 专利 No. 5,686,411, 6,114,304 和 6,410,511 和 PCT 申请公开 No. W093/10146 中的那些,其内容在此以其整体引入作为参考。这样的化合物包括具有通式 I 的那些:¹A₁-X-Asn-Thr-⁵Ala-Thr-Y-Ala-Thr-¹⁰Gln-Arg-Leu-B₁-Asn-¹⁵Phe-Leu-C₁-D₁-E₁-²⁰F₁-G₁-Asn-H₁-Gly-²⁵I₁-J₁-Len-K₁-L₁-³⁰Thr-M₁-Val-Gly-Ser-³⁵Asn-Thr-Tyr (SEQ ID NO :3)。

[0159] 其中 A₁ 是 Lys, Ala, Ser 或氢；

[0160] B₁ 是 Ala, Set 或 Thr；

[0161] C₁ 是 Val, Leu 或 Ile；

[0162] D₁ 是 His 或 Arg；

[0163] E₁ 是 Ser 或 Thr；

[0164] F₁ 是 Ser, Thr, Gln 或 Asn；

[0165] G₁ 是 Asn, Gln 或 His；

[0166] H_1 是 Phe, Leu 或 Tyr ;

[0167] I_1 是 Ala 或 Pro ;

[0168] J_1 是 He, Val, Ala 或 Leu ;

[0169] K_1 是 Ser, Pro, Leu, Ile 或 Thr ;

[0170] L_1 是 Ser, Pro 或 Thr ;

[0171] M_1 是 Asn, Asp 或 Gln ;

[0172] X 和 Y 独立地选自具有化学上彼此结合形成分子内连接的侧链的氨基酸残基。

[0173] C-端部分可以是氨基, 烷基氨基, 二烷基氨基, 环烷基氨基, 芳氨基, 芳烷基氨基, 烷氧基, 芳氧基, 芳烷氧基或羧基。对于 X 和 Y 合适的侧链包括源自可以形成二硫键的烷基巯基的基团; 可以形成环内酰胺的烷基酸和烷基胺; 可以稠合并还原形成烷基胺桥的烷基醛或烷基卤和烷基胺; 或可以连接形成烷基, 烯基, 炔基, 醚或硫醚键的侧链。优选的烷基侧链包括具有约 1 至约 6 个碳原子的低级烷基。

[0174] 另外一个方面, 在此提供用途的组合物和方法涉及 SEQ ID NO :3 的激动剂类似物, 其不是桥接的, 且其中 X 和 Y 独立地选自 Ala, Ser, Cys, Val, Leu 和 Ile 或 Ser 或 Cys 的烷基、芳基或芳烷基酯和醚。

[0175] 示例化合物包括, 但不限于, des⁻¹Lys-h-胰淀素 (SEQ ID NO :4), ²⁸Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :5), ^{25,28,29}Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :6), ¹⁸Arg^{25,28}Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :7) 和 des⁻¹Lys¹⁸Arg^{25,28}Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :8), 所有在治疗的测试动物中显示出体内胰淀素活性, (例如, 引起高血糖症后显著的 hyperlactemia)。除了具有胰淀素的活性特征, 还已经发现在此提供的特定化合物与人胰淀素相比较, 具有更理想的溶解性和稳定性特征。这些化合物的实例包括 ²⁵Pro²⁶Val^{28,29}Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :9), ^{25,28,29}Pro-h-胰淀素, 和 ¹⁸Arg^{25,28}Pro-h-胰淀素。

[0176] 其他化合物包括 ¹⁸Arg^{25,28,29}Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :10), des⁻¹Lys¹⁸Arg^{25,28,29}Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :11), des⁻¹Lys^{25,28,29}Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :12), ²⁵Pro²⁶Val^{28,29}Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :13), ²³Leu²⁵Pro²⁶Val^{28,29}Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :14), ²³Leu²⁵Pro²⁶Val²⁸Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :15), des⁻¹Lys²³Leu²⁵Pro²⁶Val²⁸Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :16), ¹⁸Arg²³Leu²⁵Pro²⁶Val²⁸Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :17), ¹⁸Arg²³Leu^{25,28,29}Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :18), ¹⁸Arg²³Leu^{25,28}Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :19), ¹⁷Ile²³Leu^{25,28,29}Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :20), ¹⁷Ile^{25,28,29}Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :21), des⁻¹Lys¹⁷Ile²³Leu^{25,28,29}Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :22), ¹⁷Ile¹⁸Arg²³Leu-h-胰淀素 (SEQ ID NO :23), ¹⁷Ile¹⁸Arg²³Leu²⁶Val²⁹Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :24), ¹⁷Ile¹⁸Arg²³Leu²⁵Pro²⁶Val^{28,29}Pro-h-胰淀素 (SEQ ID NO :25), ¹³Thr²¹His²³Leu²⁶Ala²⁸Leu²⁹Pro³¹Asp-h-胰淀素 (SEQ ID NO :26), ¹³Thr²¹His²³Leu²⁶Ala²⁹Pro³¹Asp-h-胰淀素 (SEQ ID NO :27), des⁻¹Lys¹³Thr²¹His²³Leu²⁶Ala²⁸Pro³¹Asp-h-胰淀素 (SEQ ID NO :28), ¹³Thr¹⁸Arg²¹His²³Leu²⁶Ala²⁹Pro³¹Asp-h-胰淀素 (SEQ ID NO :29), ¹³Thr¹⁸Arg²¹His²³Leu^{28,29}Pro³¹Asp-h-胰淀素 (SEQ ID NO :30), 和 ¹³Thr¹⁸Arg²¹His²³Leu²⁵Pro²⁶Ala^{28,29}Pro³¹Asp-h-胰淀素 (SEQ ID NO :31)。

[0177] 在此公开的方法中所用的胰淀素激动剂包括促黑激素或 AFP-6 肽。“促黑激素”或“AFP-6”意思是人肽激素及其物种变体, 以任何生理形式。天然 AFP-6 是本领域已知的, 如功能性 AFP-6 肽类似物、衍生物和混合物。任何呈现本领域已知生物活性的本领域已知的

任何 AFP-6 肽、类似物或衍生物可以结合使用在此公开的组合物和方法。在一个实施方案中,AFP-6 肽、类似物和衍生物具有至少一种天然 AFP-6 的激素活性。在特定的实施方案中,AFP-6 肽、类似物、衍生物和混合物是天然 AFP-6 能够特异性结合的受体的激动剂。

[0178] 在此公开的方法中所用的胰淀素激动剂包括 AFP-6 类似物,如 US 临时申请 No. 60/617,468 和 PCT 申请 No. PCT/US05/036456 中所述的,在此以其整体引入作为参考。成熟 AFP-6,也称为促黑激素,具有以下氨基酸序列 TQAQLLRVGCVLGTCQVQNLSHRLWQLMGPAGR QDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :32)。AFP-6 或 AFP-6 类似物在 C-端可以是或不是酰胺化的。这样的 AFP-6 类似物包括具有通式 II 的那些: $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-QVQNLSHRLWQL-X_{21}-X_{22}-X_{23}-X_{24}-X_{25}-X_{26}-X_{27}-X_{28}-SAPV-X_{33}-PSSPHSY$ (SEQ ID NO :33),其中 X_1 不存在, TQAQLLRVG (SEQ ID NO :34), SEQ ID NO :34 的一个或多个连续氨基酸中的任何一个,具有选自 C1-C18 烷基,取代的烷基或杂芳基部分取代基的 N-芳基或 N-酰基;

[0179] X_2 是 M, S, C, 取代的 L, K, D 或 E,其中可以通过酰胺键连接侧链,或可以与 X_8 形成键例如二硫键或酰胺键的任何氨基酸;

[0180] X_3 是 V, D, L, G, N, A 或 S;

[0181] X_4 是 V, D, L, G, N, A, S 或 T;

[0182] X_5 是 V, D, L, G, N, A 或 S;

[0183] X_6 是 V, D, L, G, N, A, S 或不存在;

[0184] X_7 是 T, S, Hse (同型 SER), Ahb ((S)-2-氨基-3-羟基-3-甲基丁酸) 或 (Ahp) (2R,3R)-2-氨基-3-羟基-4-甲基戊酸;

[0185] X_8 是 M, S, C, 取代的 L, K, D 或 E,或可以与 X_2 形成键例如二硫键或酰胺键的任何氨基酸;

[0186] X_{21} 是 M, G, P, A 或不存在;

[0187] X_{22} 是 M, G, P, A 或不存在;

[0188] X_{23} 是 M, G, P, A 或不存在;

[0189] X_{24} 是 M, G, P, A 或不存在;

[0190] X_{25} 是 M, G, P, A 或不存在;

[0191] X_{26} 是 R 或不存在,其中 X_{26} 不存在时, X_{27} 不存在;

[0192] X_{27} 是 Q 或不存在,其中 X_{27} 不存在时, X_{26} 不存在;

[0193] X_{28} 是 D 或 E;

[0194] X_{33} 是 D 或 E;

[0195] 及其生物活性片段。

[0196] 其他实施方案中,AFP-6 类似物包括,或其活性片段包括,具有通式 (III) 的氨基酸序列的化合物: $X_1-X_2-QNLSHRLWQL-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}-X_{19}-X_{20}-SAPV-X_{25}-PSSPHSY$ (SEQ ID NO :35),其中:

[0197] X_1 是 Q 或不存在;

[0198] X_2 是 V 或不存在;

[0199] X_{13} 是 M, G, P, A 或不存在;

[0200] X_{14} 是 M, G, P, A 或不存在;

[0201] X_{15} 是 M, G, P, A 或不存在;

- [0202] X_{16} 是 M, G, P, A 或不存在的 ;
- [0203] X_{17} 是 M, G, P, A 或不存在的 ;
- [0204] X_{18} 是 R 或不存在的, 其中 X_{18} 不存在时, X_{19} 不存在 ;
- [0205] X_{19} 是 Q 或不存在的, 其中 X_{19} 不存在时, X_{18} 不存在
- [0206] X_{20} 是 D 或 E ;
- [0207] X_{25} 是 D 或 E ;
- [0208] 及其生物活性片段。
- [0209] 用于公开方法中的示例 AFP-6 类似物的氨基酸序列包括 :
- [0210] RVGCVLGTCCVQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :36)
- [0211] GCVLGTCCVQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :37)
- [0212] CVLGTCCVQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :38)
- [0213] QVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :39)
- [0214] VQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :40)
- [0215] VQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :41)
- [0216] TQAQLLRVGCVLGTCCVQVQNLSHRLWQLRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :42)
- [0217] TQAQLLRVGCVLGTCCVQVQNLSHRLWQLRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :43)
- [0218] VGCVLGTCCVQVQNLSHRLWQLRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :44)
- [0219] CVLGTCCVQVQNLSHRLWQLRQESAPVEPSSPHSY (SEQ ID NO :45)
- [0220] TQAQLLRVGCNLSTCCVQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :46)
- [0221] TQAQLLRVGCNTATCCVQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :47)
- [0222] RVGCGNLSTCCVQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :48)
- [0223] TQAQLLRVGCNTATCCVQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :49)
- [0224] TQAQLLRVGCNLSTCCVQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :50)
- [0225] TQAQLLRVGMVLGTMQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :51)
- [0226] GMVLGTMQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :52)
- [0227] VGMVLGTMQVQNLSHRLWQLRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :53)
- [0228] RVGCGNLSTCCVQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :54)
- [0229] VGCNLSTCCVQVQNLSHRLWQLRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :55)
- [0230] VCNTATCCVQVQNLSHRLWQLRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :56)
- [0231] GCNTATCCVQVQNLSHRLWQLRQDSAPVDPSSPHSY (SEQ ID NO :57)
- [0232] TQAQLLRVGCVLGTCCVQVQNLSHRLWQLMGPAGRQESAPVEPSSPHSY (SEQ ID NO :58)
- [0233] TQAQLLRVGCVLGTCCVQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVEPSSPHSY (SEQ ID NO :59)
- [0234] GTMQVQNLSHRLWQLRQDSAPVEPSSPHSY (SEQ ID NO :60)
- [0235] VGCVLGTCCVQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVEPSSPHSY (SEQ ID NO :61)
- [0236] VGCVLGTCCVQVQNLSHRLWQLRQDSAPVEPSSPHSY (SEQ ID NO :62)
- [0237] GCNTATCCVQVQNLSHRLWQLRQDSAPVEPSSPHSY (SEQ ID NO :63)
- [0238] GCSNLSTCCVQVQNLSHRLWQLRQDSAPVEPSSPHSY (SEQ ID NO :64)
- [0239] GCGNLSTCCVQVQNLSHRLWQLRQDSAPVEPSSPHSY (SEQ ID NO :65)
- [0240] GCVLGTCCVQVQNLSHRLWQLRQESAPVEPSSPHSY (SEQ ID NO :66)。

[0241] 其他示例 AFP-6 类似物和衍生物描述于 U. S. 专利 No. 6, 965, 013 和 PCT 申请公开 No. WO2004/048547 中, 在此将每篇引入作为参考。

[0242] 在此公开的方法中所用的胰淀素激动剂包括 US 专利 No. 6, 087, 334 中鉴定的类似物, 其公开内容在此引入作为参考。这样有用的胰淀素激动剂包括通式 IV 的类似物: $X_1-X_{a_1}-X_2-X_{aa_2}-X_3-X_{aa_3}-X_4-X_{aa_4}-X_5-X_{aa_5}-X_6$ (SEQ ID NO :67), 其中

[0243] X_1 是 Lys, Arg 或不存在;

[0244] X_2 是 $X_{aa_6}X_{aa_7}X_{aa_8}X_{aa_9}$ (SEQ ID NO. 68) 或 $Z-X_{aa_{10}}SerThr$, 如果 X_2 是 $Z-X_{aa_{10}}SerThr$, 那么 X_1 和 X_{aa_1} 都不存在;

[0245] X_3 是 AlaThr, AlaSer, SerMet, GluThr 或 ValThr;

[0246] X_4 是 ArgLeuAla, HisLeuAla, ArgIleAla, LysIleAla, ArgMetAla, HisMetAla, LysMetAla 或 ArgLeuThr;

[0247] X_5 是 PheLeu, PheIle, PheMet, TyrLeu, TyrIle, TyrMet, TrpIle 或 TrpMet;

[0248] X_6 是 ArgSerSerGlyTyr (SEQ ID NO :69), LysSerSerGlyTyr (SEQ ID NO :70), HisSerSerGlyTyr (SEQ ID NO :71), ProSerSerGlyTyr (SEQ ID NO :72), ArgSerArgGlyTyr (SEQ ID NO :73), ArgThrSerGlyTyr (SEQ ID NO :74), ArgAlaSerGlyTyr (SEQ ID NO :75), AlaSerSerGlyTyr (SEQ ID NO :76), ArgSerAlaGlyTyr (SEQ ID NO :77), HisSerAlaGlyTyr (SEQ ID NO :78), ArgSerGlyTyr (SEQ ID NO :79), ArgSer, LysSer, HisSer, ArgThr, ProSer 或 Arg;

[0249] X_{aa_1} 是 Cys 或不存在;

[0250] X_{aa_2} 是 Cys 或 Ala;

[0251] X_{aa_3} 是 Gln, Ala 或 Asn;

[0252] X_{aa_4} 是 Asn, Ala 或 Gln;

[0253] X_{aa_5} 是 Val, Ala, Ile, Met, Leu, 戊基 Gly 或丁基 Gly;

[0254] X_{aa_6} 是 Asn, Gln 或 Asp;

[0255] X_{aa_7} 是 Thr, Ser, Met, Val, Leu 或 Ile;

[0256] X_{aa_8} 是 Ala 或 Val;

[0257] X_{aa_9} 是 Thr 或 Ser;

[0258] $X_{aa_{10}}$ 是 Leu, Val, Met 或 Ile;

[0259] Z 是约 1 至约 8 个碳原子的烷酰基或不存在;

[0260] 及其药物学上可接受的盐。

[0261] 在此公开的方法中使用的胰淀素激动剂包括胰淀素家族肽, 类似物和衍生物 (在此称为 LHC (环螺旋 C-端) 肽), 描述于 U. S. 专利申请 No. 60/543, 275 和 PCT 申请 No. PCT/US2005/004631 中, 在此将每篇以其整体引入作为参考。

[0262] 所提供方法中使用的 LHC 肽作为降钙素、胰淀素、CGRP 或在此公开的三种的任意组合的至少一种生物效应的激动剂或结合胰淀素、降钙素或 CGRP 的至少一种受体。示例 LHC 肽的受体结合活性和生物活性描述于 U. S. 专利申请 No. 60/543, 275 和 PCT 申请 No. PCT/US2005/004631 中。在一个概括的方面中, 这些多肽激动剂具有胰淀素或降钙素及其类似物的至少一个环片段, 降钙素或其类似物的 α 螺旋片段的至少一部分的 α 螺旋片段或具有胰淀素 α 螺旋片段和降钙素 α 螺旋片段或其各自类似物的一部分的 α 螺旋片

段,和胰淀素或降钙素或其类似物的 C- 端尾,附加条件是降钙素或降钙素类似物的 C- 端尾不是脯氨酸 (Pro), 羟脯氨酸 (Hyp), 同型丝氨酸 (Hse) 或 Hse 的衍生物。

[0263] 在特定实施方案中,这些 LHC 肽具有胰淀素或胰淀素类似物环片段,至少一部分降钙素或降钙素类似物 α 螺旋片段,和胰淀素或胰淀素类似物 C- 端尾。在其他实施方案中,这些 LHC 肽具有降钙素或降钙素类似物环片段,至少一部分降钙素或降钙素类似物 α 螺旋片段,和胰淀素或胰淀素类似物 C- 端尾。更多其他的实施方案中,这些 LHC 肽具有胰淀素或胰淀素类似物环片段,至少一部分胰淀素或胰淀素类似物的 α 螺旋片段和至少一部分降钙素或降钙素类似物的 α 螺旋片段,和胰淀素或胰淀素类似物 C- 端尾。再多其他的实施方案中,这些 LHC 肽具有降钙素或降钙素类似物环片段,至少一部分胰淀素或胰淀素类似物的 α 螺旋片段和至少一部分降钙素或降钙素类似物的 α 螺旋片段,和胰淀素或胰淀素类似物 C- 端尾。仍然其他实施方案中,这些 LHC 肽具有胰淀素或胰淀素类似物环片段,一部分降钙素或降钙素类似物的 α 螺旋片段或至少一部分胰淀素或胰淀素类似物的 α 螺旋片段和至少一部分降钙素或降钙素类似物的 α 螺旋片段和降钙素或降钙素类似物 C- 端尾。

[0264] 在特定的实施方案中,这些 LHC 肽的环片段进一步包括不超过一个、两个、三个或四个修饰,包括从胰淀素或降钙素环及其类似物的置换、插入或删除。进一步考虑到这些 LHC 肽可以在环的 N- 端部分具有另外的修饰,包括 N- 帽片段,可以具有疏水或亲水特征如乙酰、异己酰、36- 二氧辛酸或 1- 氨基 -4, 7, 10- 三氧杂 -13- 十三烷胺琥珀酸。修饰可以进一步包括一个、两个、三个或多个其他的氨基酸。这是允许许多修饰的方面,这些修饰太多以致不能提及,但是本领域技术人员基于本申请中进一步举例说明的可以理解。

[0265] 这样有用的胰淀素激动剂包括 LHC 肽,包括通式 V 的氨基酸序列 :Xaa₁ X Xaa₃ Xaa₄ Xaa₅ Xaa₆ Y Xaa₈ Xaa₉ Xaa₁₀ Xaa₁₁ Xaa₁₂ Xaa₁₃Xaa₁₄ Xaa₁₅ Xaa₁₆ Xaa₁₇ Xaa₁₈ Xaa₁₉ Xaa₂₀ Xaa₂₁ Xaa₂₂ Xaa₂₃ Xaa₂₄ Xaa₂₅Xaa₂₆ Xaa₂₇ Xaa₂₈ Xaa₂₉ Xaa₃₀ Xaa₃₁ Xaa₃₂ (SEQ ID NO :80), 其中

[0266] Xaa₁ 是 A, C, hC (同型 Cys), D, E, F, F, I, K, hK (同型 Lys), R, hR (同型 Arg), S, Hse (同型 Ser), T, G, Q, N, M, Y, W, P, Hyp (羟基 Pro), H, V 或不存在 ;

[0267] Xaa₃ 是 A, D, E, N, Q, G, V, R, K, hK, hR, H, I, L, M 或不存在 ;

[0268] Xaa₄ 是 A, I, L, S, Hse, T, V, M 或不存在 ;

[0269] Xaa₅ 是 A, S, T, Hse, Y, V, I, L 或 M ;

[0270] Xaa₆ 是 T, A, S, Hse, Y, V, I, L 或 M ;

[0271] Xaa₈ 是 A, V, I, L, F 或 M ;

[0272] Xaa₉ 是 L, T, S, Hse, V, I 或 M ;

[0273] Xaa₁₀ 是 G, H, Q, K, R, N, hK 或 hR ;

[0274] Xaa₁₁ 是 K, R, Q, N, hK, hR 或 H ;

[0275] Xaa₁₂ 是 L, I, V, F, M, W 或 Y ;

[0276] Xaa₁₃ 是 A, F, Y, N, Q, S, Hse 或 T ;

[0277] Xaa₁₄ 是 A, D, E, G, N, K, Q, R, H, hR 或 hK ;

[0278] Xaa₁₅ 是 A, D, E, F, L, S, Y, I, V 或 M ;

[0279] Xaa₁₆ 是 L, F, M, V, Y 或 I ;

[0280] Xaa₁₇ 是 H, Q, N, S, Hse, T 或 V ;

- [0281] Xaa₁₈ 是 K, hK, R, hR, H, u(Cit) 或 n(Orn) ;
- [0282] Xaa₁₉ 是 F, L, S, Hse, V, I, T 或不存在 ;
- [0283] Xaa₂₀ 是 H, R, K, hR, hK, N, Q 或不存在 ;
- [0284] Xaa₂₁ 是 T, S, Hse, V, I, L, Q, N 或不存在 ;
- [0285] Xaa₂₂ 是 F, L, M, V, Y 或 I ;
- [0286] Xaa₂₃ 是 P 或 Hyp ;
- [0287] Xaa₂₄ 是 P, Hyp, R, K, hR, hK 或 H ;
- [0288] Xaa₂₅ 是 T, S, Hse, V, I, L, F 或 Y ;
- [0289] Xaa₂₆ 是 N, Q, D 或 E ;
- [0290] Xaa₂₇ 是 T, V, S, F, I 或 L ;
- [0291] Xaa₂₈ 是 G 或 A ;
- [0292] Xaa₂₉ 是 S, Hse, T, V, I, L 或 Y ;
- [0293] Xaa₃₀ 是 E, G, K, N, D, R, hR, hK, H 或 Q ;
- [0294] Xaa₃₁ 是 A, T, S, Hse, V, I, L, F 或 Y ;和
- [0295] Xaa₃₂ 是 F, P, Y, Hse, S, T 或 Hyp ;
- [0296] 其中 X 和 Y 能够形成键并独立地选自具有化学上彼此结合形成分子内连接如二硫键的侧链的残基 ;酰胺键 ;可以形成环内酰胺的烷氨酸和烷基胺 ;可以稠合并还原形成烷基胺或桥的烷基醛或烷基卤和烷基胺 ;或可以连接形成烷基、烯基。炔基、醚或硫醚键的侧链。
- [0297] 烷基链可以包括具有约 1 至约 6 个碳原子的低级烷基。在特定的实施方案中,分子间键可以是二硫键、酰胺、亚胺、胺、烷基或烯基键。在特定实施方案中, X 和 Y 独立地选自 Ser, Asp, Glu, Lys, Orn 或 Cys。在特定实施方案中, X 和 Y 是 Cys 和 Cys。在其他实施方案中, X 和 Y 是 Ser 和 Ser。仍然其他实施方案中, X 和 Y 是 Asp 和 Lys 或 Lys 和 Asp。
- [0298] 有用的胰淀素激动剂还可以包括含有氨基酸序列通式 VI 的类似物 :Xaa₁ Xaa₂ Xaa₃ Xaa₄ Xaa₅ Xaa₆ Xaa₇ Xaa₈ Xaa₉ Xaa₁₀ Xaa₁₁ Xaa₁₂ Xaa₁₃Xaa₁₄ Xaa₁₅ Xaa₁₆ Xaa₁₇ Xaa₁₈ Xaa₁₉ Xaa₂₀ Xaa₂₁ Xaa₂₂ PXaa₂₄ T N Xaa₂₇ GS Xaa₃₀ Xaa₃₁ Xaa₃₂(SEQ ID NO :81), 其中
- [0299] Xaa₁ 是 A, C, D, F, I, K, S, T 或不存在 ;
- [0300] Xaa₂ 是 C, D, S 或不存在 ;
- [0301] Xaa₃ 是 A, D, N 或不存在 ;
- [0302] Xaa₄ 是 A, L, T 或不存在 ;
- [0303] Xaa₅ 是 A 或 S ;
- [0304] Xaa₆ 是 T, A, S 或 V ;
- [0305] Xaa₇ 是 C, K 或 A ;
- [0306] Xaa₈ 是 A, V, L 或 M ;
- [0307] Xaa₉ 是 L 或 T ;
- [0308] Xaa₁₀ 是 G, H, 或 Q ;
- [0309] Xaa₁₁ 是 K, R, Q 或不存在 ;
- [0310] Xaa₁₂ 是 L, W 或 Y ;
- [0311] Xaa₁₃ 是 A, F, N, Q, S 或 T ;

- [0312] Xaa₁₄ 是 A, D, E, G, N, K, Q 或 R ;
- [0313] Xaa₁₅ 是 A, D, E, F, L, S 或 Y ;
- [0314] Xaa₁₆ 是 L 或 F ;
- [0315] Xaa₁₇ 是 H, Q, S 或 V ;
- [0316] Xaa₁₈ 是 K, R, hArg, u(Cit) 或 n(Orn) ;
- [0317] Xaa₁₉ 是 F, L, S 或不存在 ;
- [0318] Xaa₂₀ 是 H, Q 或不存在 ;
- [0319] Xaa₂₁ 是 T, N 或不存在 ;
- [0320] Xaa₂₂ 是 F, L, M, V 或 Y ;
- [0321] Xaa₂₄ 是 P 或 R ;
- [0322] Xaa₂₇ 是 T 或 V ;
- [0323] Xaa₃₀ 是 E, G, K 或 N ;
- [0324] Xaa₃₁ 是 A 或 T ;和
- [0325] Xaa₃₂ 是 F, P 或 Y。
- [0326] 有用的胰淀素激动剂还可以包括含有氨基酸序列通式 VII 的类似物 :Xaa₁ Xaa₂ Xaa₃ Xaa₄ Xaa₅ T Xaa₇ Xaa₈ Xaa₉ Xaa₁₀ Xaa₁₁ L Xaa₁₃ Xaa₁₄Xaa₁₅ L Xaa₁₇ Xaa₁₈ Xaa₁₉ Xaa₂₀ Xaa₂₁ Xaa₂₂ P Xaa₂₄ T N Xaa₂₇ G S Xaa₃₀Xaa₃₂, (SEQ ID NO :82), 其中
- [0327] Xaa₁ 是 A, C, F, I, K, S 或不存在 ;
- [0328] Xaa₂ 是 C, D 或 S ;
- [0329] Xaa₃ 是 A, D 或 N ;
- [0330] Xaa₄ 是 A, L 或 T ;
- [0331] Xaa₅ 是 A 或 S ;
- [0332] Xaa₇ 是 C 或 K ;
- [0333] Xaa₈ 是 A 或 V ;
- [0334] Xaa₉ 是 L 或 T ;
- [0335] Xaa₁₀ 是 G, H 或 Q ;
- [0336] Xaa₁₁ 是 K, R 或 hArg ;
- [0337] Xaa₁₃ 是 A, F, N, S 或 T ;
- [0338] Xaa₁₄ 是 A, D, E, G, N, Q 或 R ;
- [0339] Xaa₁₅ 是 A, E, F, L, S 或 Y ;
- [0340] Xaa₁₇ 是 H, S 或 V ;
- [0341] Xaa₁₈ 是 K, R, hArg, u(Cit) 或 n(Orn) ;
- [0342] Xaa₁₉ 是 F, L 或 S ;
- [0343] Xaa₂₀ 是 H 或 Q ;
- [0344] Xaa₂₁ 是 T 或 N ;
- [0345] Xaa₂₂ 是 F, L, M, V 或 Y ;
- [0346] Xaa₂₄ 是 P 或 R ;
- [0347] Xaa₂₇ 是 T 或 V ;
- [0348] Xaa₃₀ 是 E, G, K 或 N ;

- [0349] Xaa₃₁ 是 A 或 T ;和
- [0350] Xaa₃₂ 是 F, P 或 Y。
- [0351] 有用的胰淀素激动剂还可以包括含有氨基酸序列通式 VIII 的类似物 :Xaa₁ Xaa₂ Xaa₃ Xaa₄ Xaa₅ Xaa₆ Xaa₇ Xaa₈ Xaa₉ Xaa₁₀ Xaa₁₁ Xaa₁₂ Xaa₁₃Xaa₁₄ Xaa₁₅ Xaa₁₆ Xaa₁₇ Xaa₁₈ Xaa₁₉ Xaa₂₀ Xaa₂₁ Xaa₂₂ P Xaa₂₄ T N Xaa₂₇ GS Xaa₃₀ Xaa₃₁ Xaa₃₂ (SEQ ID NO :83), 其中
- [0352] Xaa₁ 是 A, C, D, F, K, T 或不存在 ;
- [0353] Xaa₂ 是 A, C, D, S 或不存在 ;
- [0354] Xaa₃ 是 A, D, N 或不存在 ;
- [0355] Xaa₄ 是 A, L, T 或不存在 ;
- [0356] Xaa₅ 是 A 或 S ;
- [0357] Xaa₆ 是 A, S, T 或 V ;
- [0358] Xaa₇ 是 A, C 或 K ;
- [0359] Xaa₈ 是 A, L, M 或 V ;
- [0360] Xaa₉ 是 L 或 T ;
- [0361] Xaa₁₀ 是 G, H 或 Q ;
- [0362] Xaa₁₁ 是 K, Q 或 R ;
- [0363] Xaa₁₂ 是 L, W 或 Y ;
- [0364] Xaa₁₃ 是 A, N, Q, S 或 T ;
- [0365] Xaa₁₄ 是 A, D, E, G, K, N, Q 或 R ;
- [0366] Xaa₁₅ 是 A, D, E, F, L, S 或 Y ;
- [0367] Xaa₁₆ 是 F 或 L ;
- [0368] Xaa₁₇ 是 H、Q、S 或 V ;
- [0369] Xaa₁₈ 是 K 或 R ;
- [0370] Xaa₁₉ 是 F, L, S 或不存在 ;
- [0371] Xaa₂₀ 是 H, K, Q 或不存在 ;
- [0372] Xaa₂₁ 是 Q, T 或不存在 ;
- [0373] Xaa₂₂ 是 F, L 或 Y ;
- [0374] Xaa₂₄ 是 P 或 R ;
- [0375] Xaa₂₇ 是 T 或 V ;
- [0376] Xaa₃₀ 是 E, K 或 N ;
- [0377] Xaa₃₁ 是 A 或 T ;和
- [0378] Xaa₃₂ 是 F, Y 或不存在。
- [0379] 在概括的方面中, 通式 V、VI、VII 或 VIII 的序列进一步包括 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 或更多置换、插入、删除、延伸和 / 或衍化的修饰。在特定的实施方案中, 通式 V、VI、VII 或 VIII 包括位置 24 的删除。在特定的实施方案中, 通式 V、VI 或 VII 的序列包括氨基酸位置 22 和 23 之间插入的 Val。在其他实施方案中, 通式 V、VI 或 VII 的序列包括位置 22 和 23 之间插入的 Gln。仍然其他实施方案中, 通式 V、VI 或 VII 的序列包括位置 22 和 23 之间的序列 Gln-Thr-Tyr。仍然其他实施方案中, 通式 V、VI 或 VII 的序列包括位置 22 和 23 之间的序列 Leu-Gln-Thr-Tyr (SEQ ID NO :84)。另一个概括的方面中, 通式 V、VI 或

VII 的修饰可以在 N- 端。在特定的实施方案中, 通式 V、VI 或 VII 的 N- 端部分具有添加的辛基甘氨酸。其他实施方案中, 通式 V、VI 或 VII 的 N- 端部分具有添加的 isocap。其他实施方案描述于 PCT 申请 No. PCT/US2005/004631 中, 并引入作为参考。

[0380] 参照人胰淀素 (SEQ ID NO :1 ;h 胰淀素)、大鼠胰淀素 (SEQ IDNO :2 ;r 胰淀素) 和鲑鱼降钙素 (sCT)CSNLSTCVLGKLSQELHKLQTYPRNTGSGTP (SEQ ID NO :85) 描述的在所示位置带有修饰的示例性化合物包括,

- [0381] (1-7h 胰淀素) (¹⁸Arg 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :86) ;
- [0382] (1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg²²Leu 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :87) ;
- [0383] (1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg²⁴Pro 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :88) ;
- [0384] (1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-24sCT) (30-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :89) ;
- [0385] (1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-21sCT) (27-37r 胰淀素) (SEQ ID NO :90) ;
- [0386] (⁸Val⁹Leu¹⁰Gly 1-15h 胰淀素) (¹⁸Arg 16-27sCT) (31-37h 胰淀素) (SEQ IDNO :91) ;
- [0387] (¹Ala 1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :92) ;
- [0388] (³Ala 1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :93) ;
- [0389] (⁴Ala 1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :94) ;
- [0390] (⁶Ala 1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :95) ;
- [0391] (²Ala^{11,18}Arg 1-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :96) ;
- [0392] (Isocap-⁷Ala^{11,18}Arg 5-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :97) ;
- [0393] (⁴Ala^{11,18}Arg 1-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :98) ;
- [0394] (⁵Ala^{11,18}Arg 1-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :99) ;
- [0395] (⁶Ala^{11,18}Arg 1-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :100) ;
- [0396] (1-7h 胰淀素) (¹¹Arg 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :101) ;
- [0397] (¹³Ser¹⁴Gln¹⁵Glu 1-16h 胰淀素) (¹⁷Arg³⁰Asn³²Tyr 17-32sCT) (SEQ IDNO :102) ;
- [0398] (³Ala^{11,18}Arg 1-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :103) ;
- [0399] (乙酰基 -^{2,7}Agy^{11,18}Arg 1-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :104) ;
- [0400] (乙酰基 -^{2,7}Agy 1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ IDNO :105) ;
- [0401] (Isocap-⁷Ala¹⁰Aib¹¹Lys (For)¹⁷Aib¹⁸Lys (For)5-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :106) ;
- [0402] (Isocap-⁷Ala¹⁰Aib¹¹Lys (For)¹⁷Aib¹⁸Lys (For)5-24sCT) (30-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :107) ;
- [0403] (Isocap-⁷Ala¹⁰Aib¹¹Lys (For)¹⁷Aib¹⁸Lys (For)5-22sCT) (^{28,29}Pro 28-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :108) ;
- [0404] (Isocap-⁷Ala¹⁰Aib¹¹Lys (For)¹⁷Aib¹⁸Lys (For)5-21sCT) (^{28,29}Pro 27-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :109) ;
- [0405] (1-7h 胰淀素) (LLQQWQKLLQKQ (SEQ ID NO :110)) (²⁸Pro²⁹Arg³²Thr27-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :111) ;
- [0406] (1-7h 胰淀素) (LLQLQKLLQKQY (SEQ IDNO :112)) (²⁸Pro²⁹Arg³²Thr 28-37h 胰淀

- 素) (SEQ ID NO :113) ;
- [0407] (⁶Ser1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :114) ;
- [0408] (⁶Val1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :115) ;
- [0409] (1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-18sCT) (²⁸Pro²⁹Arg³²Thr 27-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :116) ;
- [0410] (1-7h 胰淀素) (¹¹Arg 8-17sCT) (²⁸Pro²⁹Arg³²Thr 27-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :117) ;
- [0411] (1-7h 胰淀素) (¹¹Arg 8-16sCT) (²⁷Tyr²⁸Pro²⁹Arg³²Thr 27-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :118) ;
- [0412] (1-7h 胰淀素) (¹¹Arg 8-15sCT) (²⁷Tyr²⁸Pro²⁹Arg³²Thr 27-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :119) ;
- [0413] (1-7h 胰淀素) (¹¹Arg 8-14sCT) (²⁷Tyr²⁸Pro²⁹Arg³²Thr 27-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :120) ;
- [0414] (1-7h 胰淀素) (^{11,18}Lys(For)8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :121) ;
- [0415] (⁶D-Thr 1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :122) ;
- [0416] (乙酰基-1-7h 胰淀素) (^{11,18}Lys(PEG5000)8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :123) ;
- [0417] (乙酰基-¹Ala 1-7h 胰淀素) (¹¹Lys(PEG5000)¹⁸Arg 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :124) ;
- [0418] (乙酰基-¹Ala 1-7h 胰淀素) (¹¹Arg¹⁸Lys(PEG5000)8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :125) ;
- [0419] (1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-21sCT) (19-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :126) ;
- [0420] (1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-21sCT) (¹⁸Leu 18-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :127) ;
- [0421] (1-7h 胰淀素) (8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :128) ;
- [0422] (⁵Ser 1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :129) ;
- [0423] (1-12h 胰淀素) (¹⁸Arg 13-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :130) ;
- [0424] (1-12h 胰淀素) (¹⁸Arg 13-24sCT) (30-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :131) ;
- [0425] (⁵Ser¹⁵Glu¹⁸Arg 1-18h 胰淀素) (19-24sCT) (30-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :132) ;
- [0426] (⁶Hse 1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :133) ;
- [0427] (⁶Ahb 1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :134) ;
- [0428] (⁶Ahp 1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :135) ;
- [0429] (⁶Thr(OPO₃H₂) 1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :136) ;
- [0430] (⁷Ala^{11,18}Arg 5-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :137) ;
- [0431] (1-7h 胰淀素) (^{11,18}Orn 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :138) ;
- [0432] (1-7h 胰淀素) (^{11,18}Cit 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :139) ;
- [0433] (1-7h 胰淀素) (^{11,18}homoLys 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :140) ;
- [0434] (L-辛基甘氨酸-1-7h 胰淀素) (^{11,18}Arg 8-27sCT) (33-37h 胰淀素) (SEQ ID NO :141) ;

- [0435] (N-3,6-二氧杂辛酰基-1-7-h 胰淀素)^(11,18Arg 8-27sCT)(33-37h 胰淀素)(SEQ ID NO:142);
- [0436] (环(1-7)-¹Asp⁷Lys^{11,18}Arg 1-27sCT)(33-37h 胰淀素)(SEQ ID NO:143);
- [0437] (环(2-7)-²Asp⁷Lys 1-7h 胰淀素)^(11,18Arg 8-27sCT)(33-37h 胰淀素)(SEQ ID NO:144);
- [0438] (环(2-7)h 胰淀素)^(11,18Arg 8-27sCT)(33-37h 胰淀素)(SEQ ID NO:145);
- [0439] (1-7h 胰淀素)^(11,18Arg 8-27sCT)(33-37h 胰淀素-9Anc)(SEQ IDNO:146);
- [0440] (1-7h 胰淀素)^(11,18Arg 8-27sCT)(33-37h 胰淀素-L-辛基甘氨酸)(SEQ IDNO:147);
- [0441] (N-异己酰基-1-7-h 胰淀素)^(11,18Arg 8-27sCT)(33-37h 胰淀素)(SEQ IDNO:148);
- [0442] (1-7h 胰淀素)^(11,18homoArg 8-27sCT)(33-37h 胰淀素)(SEQ IDNO:149);
- [0443] (¹Phe 1-7h 胰淀素)^(11,18Arg 8-27sCT)(33-37h 胰淀素)(SEQ ID NO:150);
- [0444] (1-7h 胰淀素)^(11,18Arg 8-24sCT)(³²Thr 30-37h 胰淀素)(SEQ IDNO:151);
- [0445] (1-7h 胰淀素)^(11,18Arg 8-27sCt)(33-37h 胰淀素 lin)(SEQ ID NO:152);
- [0446] (¹⁵Glu¹⁸Arg 1-18h 胰淀素)(19-24sCT)(30-37h 胰淀素)(SEQ IDNO:153);
- [0447] (¹³Ala¹⁴Asp¹⁵Phe 1-18h 胰淀素)(19-23sCT)(30-37h 胰淀素)(SEQ IDNO:154);和
- [0448] (2-18h 胰淀素)(19-23sCT)(30-36h 胰淀素)(SEQ ID NO:155)。
- [0449] 在此提供的组合物和方法中有用的肽,如以上那些,可以是酸或酰胺形式。
- [0450] 也可以用于在此提供的组合物和方法中的示例性肽包括:
- [0451] KCNTATCVLGKLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY(SEQ ID NO:156)
- [0452] KCNTATCVLGRLSQELHRLQTLPTNTGSNTY(SEQ ID NO:157)
- [0453] KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPPTNTGSNTY(SEQ ID NO:158)
- [0454] KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNVGSNTY(SEQ ID NO:159)
- [0455] KCNTATCVLGRLSQELHRLQTLPTNVGSNTY(SEQ ID NO:160)
- [0456] KCNTATCVLGRLANFLHRLQTYPRTNTGSNTY(SEQ ID NO:161)
- [0457] ACNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY(SEQ ID NO:162)
- [0458] KCNAATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY(SEQ ID NO:163)
- [0459] KCNTAACVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY(SEQ ID NO:164)
- [0460] CANLSTCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY(SEQ ID NO:165)
- [0461] 异己酰基-STAVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY(SEQ IDNO:166)
- [0462] CSNASTCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY(SEQ ID NO:167)
- [0463] CSNLATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY(SEQ ID NO:168)
- [0464] CSNLSACVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY(SEQ ID NO:169)
- [0465] KCNTATCVLGRLSQELHKLQTYPRTNTGSNTY(SEQ ID NO:170)
- [0466] KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSGTP(SEQ ID NO:171)
- [0467] CSALSTCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY(SEQ ID NO:172)
- [0468] Ac-(Agy)SNLST(Agy)VLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY(SEQ IDNO:173)
- [0469] Ac-K(Agy)NTAT(Agy)VLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY(SEQ IDNO:174)

- [0470] 异己酰基 -STAVL(Aib)RLSQELRLQTYPRNTGSGTP (SEQ ID NO :175)
- [0471] 异己酰基 -STAVLG[K(For)]LSQELH[K(For)]LQTYPRNTGSGTP (SEQ ID NO :176)
- [0472] 异己酰基 -
- [0473] STAVL(Aib)[K(For)]LSQEL(Aib)[K(For)]LQTYPRNTGSNTY (SEQ ID NO :177)
- [0474] 异己酰基 -
- [0475] STAVL(Aib)[K(For)]LSQEL(Aib)[K(For)]LQTYPRNTVGSNTY (SEQ ID NO :178)
- [0476] KCNTATCLLQQLQKLLQKLLQKYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :179)
- [0477] KCNTASCVLGRLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :180)
- [0478] KCNTAVCVLGRSLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :181)
- [0479] KCNTATCVLGRSLSQELHRYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :182)
- [0480] KCNTATCVLG[K(For)]LSQELH[K(For)L]QTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :183)
- [0481] KCNTA(d-Thr)CVLGRSLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :184)
- [0482] KCNTA(dAh)CVLGRSLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :185)
- [0483] Ac-ACNTATCVLGRSLSQELHK(PEG5000)LQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :186)
- [0484] KCNTATCVLGRSLSQELHRLQTLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :187)
- [0485] KCNTATCVLGRSLSQELHRLQTLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :188)
- [0486] KCNTATCVLGKLSQELHKLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :189)
- [0487] KCNTSTCVLGRSLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :190)
- [0488] KCNTATCATQRSLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :191)
- [0489] KCNTATCATQRSLSQELHRLQTYPRNTVGSNTY (SEQ ID NO :192)
- [0490] KCNTSTCATQRLANELVRLQTYPRNTVGSNTY (SEQ ID NO :193)
- [0491] KCNTA(Hse)CVLGRSLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :194)
- [0492] KCNTA(Ahb)CVLGRSLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :195)
- [0493] KCNTA(Ahp)CVLGRSLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :196)
- [0494] KCNTAT(OPO₃H₂)CVLGRSLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :197)
- [0495] KCNTATCVLG(Orn)LSQELH(Orn)LQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :198)
- [0496] KCNTATCVLG(Cit)LSQELH(Cit)LQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :199)
- [0497] KCNTATCVLG(hK)LSQELH(hK)LQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :200)
- [0498] L- 辛基甘氨酸 KCNTATCVLGRSLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :201)
- [0499] N-3,6- 二氧杂辛酰基 -CNTATCVLGRSLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :202)
- [0500] KCNTATCMLGRYTQDFHRLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :203)
- [0501] DSNLSTKVLGRSLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :204)
- [0502] KDNTATKVLGRSLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :205)
- [0503] CNTATCVLGRSLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :206)
- [0504] KCNTATCVLGRSLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY(9Anc) (SEQ ID NO :207)
- [0505] KCNTATCVLGRSLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY(L- 辛基甘氨酸) (SEQ ID NO :208)
- [0506] N- 异己酰基 -KCNTATCVLGRSLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :209)
- [0507] KCNTATCVLG(hr)LSQELH(hr)LQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :210)
- [0508] FCNTATCVLGRSLSQELHRLQTYPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :211)

- [0509] KCNTATCVLGRLSQELH(Cit)LQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :212)
- [0510] KCNTATCVLGRLSQELH(Orn)LQTYPRTNTGSNTY (SEQ IDNO :213)
- [0511] ICNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :214)
- [0512] 1- 辛基甘氨酸 -CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQID NO :215)
- [0513] 异己酰基 -CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ IDNO :216)
- [0514] KCNTATCVLG(Cit)LSQELHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :217)
- [0515] KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY (4ABU) (SEQ IDNO :218)
- [0516] 异己酰基 -KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY (4ABU) (SEQ ID NO :219)
- [0517] KCNTSTCATQRLANELVRLQTYPRTNVGSEAF (SEQ ID NO :220)
- [0518] KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPTNVGSEAF (SEQ ID NO :221)
- [0519] KCNTATCVLGRLSRSLHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :222)
- [0520] KCNTATCVTHRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :223)
- [0521] KCNTATCVLGRLADFLHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :224)
- [0522] CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNT (SEQ ID NO :225)
- [0523] KCNTATCVLGRLSQELHRLQNFVPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :226)
- [0524] KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSETF (SEQ ID NO :227)
- [0525] ACDTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :228)
- [0526] KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSKAF (SEQ ID NO :229)
- [0527] KCDTATCVTHRLAGLLSRSQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :230)
- [0528] KCNTATCVLGRLADALHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :231)
- [0529] KCNTATCVLGRLA AFLHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :232)
- [0530] SCNTATCVLGRLADFLHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :233)
- [0531] KCNTATCVLGRLSQELHRLQTMPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :234)
- [0532] KCNTATCVLGRLSQELHRLQTVPRNTNTGSNTY (SEQ ID NO :235)
- [0533] KCNTATCVLGRLENYLHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :236)
- [0534] SCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :237)
- [0535] KCNTATCVLGRLEFLHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :238)
- [0536] KCNTATCVLGRLEAFLHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :239)
- [0537] KCNTATCVLGRLETDYLHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :240)
- [0538] KCNTATCVLGRLEAFLHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :241)
- [0539] KCNTATCVLGRLEADFLHRFQTFPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :242)
- [0540] KCNTATCVLGRLEADFLHRFHTFPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :243)
- [0541] KCNTATCVLGRLEADFLHRFQTFPRTNTGSGTP (SEQ ID NO :244)
- [0542] CNTATCVLGRLEADFLHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :245)
- [0543] KCDTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :246)
- [0544] KCNTATCVLGRLEDFLHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :247)
- [0545] KCNTATCVLGRLEAALHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :248)
- [0546] TCDTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY (SEQ ID NO :249)
- [0547] CSNLSTCATQRLANELVRLQTYPRTNVGSNTY (SEQ ID NO :250)

[0548] KCNTATCATQRLANELVRLQTYPRNTVGSNTY (SEQ ID NO :251)

[0549] CSNLSTCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY (SEQ ID NO :252)

[0550] KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY (SEQ ID NO :253)。

[0551] 一些实施方案中,包括氨基酸序列

[0552] KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY (SEQ ID NO :253) 的化合物在公开的方法中特别有用。

[0553] 如在此所述的,用于在此公开的组合物和方法中的胰淀素家族肽激素还包括肾上腺髓质素 (ADM) 肽。“肾上腺髓质素”或“ADM”意思是人肽激素及其物质变种。ADM 通过连续酶分裂和酰胺化产自 185 个氨基酸前激素原。该过程结束于 52 个氨基酸生物活性肽的释放。任何呈现本领域已知生物活性的已知 ADM 肽,类似物,或衍生物可以用于在此公开的组合物和方法。在一个实施方案中,ADM 肽、类似物和衍生物具有至少一种天然 ADM 肽的激素活性。在特定的实施方案中,ADM 肽、类似物和衍生物是天然 ADM 能够特异性结合的受体的激动剂。

[0554] 如在此所述的,用于在此公开的组合物和方法中的胰淀素家族肽激素还包括降钙素 (CT) 肽。“降钙素”或“CT”意思是人肽激素及其物种变体,包括鲑鱼降钙素 (sCT)。CT 是分离自较大前激素原的 32 个氨基酸肽。它含有单个二硫键,其导致氨基端呈现环状。天然 CT 肽是本领域已知的,功能性 CT 肽类似物、衍生物和混合物也是已知的。任何呈现本领域已知生物活性的本领域已知的 CT 肽、类似物或衍生物可以用于在此公开的组合物和方法中。在一个实施方案中,CT 肽、类似物和衍生物具有至少一种天然 CT 肽的激素活性。在特定的实施方案中,CT 肽、类似物和衍生物是天然 CT 能够特异性结合的受体的激动剂。CT 肽类似物、衍生物和混合物可以是酰胺化的,如本领域所知的,或可以是酸形式。示例 CT 类似物和衍生物包括,但不限于,描述于 U. S. 专利 No. 4, 652, 627、4, 606, 856、4, 604, 238、4, 597, 900、4, 537, 716、4, 497, 731、4, 495, 097、4, 444, 981、4, 414, 149、4, 401, 593 和 4, 397, 780, 在此引入作为参考。

[0555] 如在此所述的,用于在此公开的组合物和方法中的胰淀素家族肽激素还包括降钙素基因相关肽 (CGRP)。“降钙素基因相关肽”或“CGRP”意思是人肽激素及其物种变体,以任何生理形式。CGRP 是 37 个氨基酸肽并从降钙素前-mRNA 的可替换拼接得到编码和表达。任何呈现本领域已知生物活性的本领域已知的 CGRP、CGRP 类似物或 CGRP 衍生物可以用于在此公开的组合物和方法中。在一个实施方案中,CGRP 肽、类似物和衍生物具有至少一种天然 CGRP 的激素活性。在特定的实施方案中,CGRP 肽、类似物和衍生物是天然 CGRP 能够特异性结合的受体的激动剂。CGRP 肽、类似物和衍生物可以酰胺化,如本领域已知的,或可以是酸形式。示例 CGRP 类似物和衍生物包括,但不限于,U. S. 专利 No. 4, 697, 002 和 4, 687, 839 中公开的那些,在此将其引入作为参考。

[0556] 激动剂和类似物的衍生物也包括在提供的方法内,其中单个氨基酸的立体化学可以是在一个或多个特异性位点从 (L)/S 翻转成 (D)/R。提供的方法内还包括由 Asn、Ser 和 / 或 Thr 残基的糖基化修饰的激动剂和类似物。在提供的方法中有用的化合物还可以是在此所述的肽 (天然的、激动剂、类似物和衍生物) 的生物活性片段。

[0557] 含有较少肽特征的胰淀素的激动剂和类似物包括在提供的方法内。这样的肽模拟物可以包括,例如,以下一个或多个 --CO--NH-- 酰胺键的取代:depsipeptide 肽

(--CO--O--)、亚氨基亚甲基(--CH₂--NH--)、反式-烯烃(--CH=CH--)、β-烯氨基腈(--C(=CH--CN)--NH--)、硫代酰胺(--CS--NH--)、硫代亚甲基(-S--CH₂--或--CH₂-S-)、亚甲基(--CH₂--C₂--)和 retro- 酰胺(--NH--CO--)。

[0558] 提供的方法中使用的化合物与各种无机和有机酸和碱形成盐。这样的盐包括用有机和无机酸制备的盐,例如,HCl、HBr、H₂SO₄、H₃PO₄、三氟醋酸、醋酸、蚁酸、甲磺酸、甲苯磺酸、苹果酸、富马酸和樟脑磺酸。用碱制备的盐包括,例如,铵盐、碱金属盐(如钠和钾盐)和碱土金属盐(如钙和镁盐)。在特定的实施方案中,化合物形成醋酸盐、盐酸盐和三氟醋酸盐。

[0559] 在此提供的组合物和方法中有用的胰淀素激动剂还可以包括如上所述的胰淀素及其类似物的片段以及描述于 EP289287 中的那些,其内容在此引入作为参考。胰淀素激动剂类似物还可以是具有与 SEQ IDNO :1 或在此特异描述的具有胰淀素活性的任一种胰淀素类似物至少 60、65、70、75、80、85、90、95 或 99% 氨基酸序列同一性的化合物。胰淀素激动剂还包括小化学分子和非肽分子,例如,基于小分子化学的那些。一些实施方案中,胰淀素激动剂不是小化学分子。

[0560] 胰淀素家族肽或类似物的衍生物也是本领域已知的。这样的衍生物包括缀合一种或多种水溶性聚合物分子的胰淀素家族肽激素及其类似物,聚合物如聚乙二醇(PEG)或各种长度的脂肪酸链(例如,硬脂酰、棕榈酰、辛酰等),或通过添加聚氨基酸,如聚-his、聚-arg、聚-lys、聚-ala 和聚氨基酸的组合,如聚-his-ala、聚-arg-ala 和聚-lys-ala。肽或其类似物的修饰还可以包括小分子取代基,如短烷基和限制的烷基(例如,支链、环状、稠合、金刚烷基)和芳香族基团。如在此所述的,这样的聚合物-缀合和小分子取代修饰可以在 N- 或 C- 端或肽内氨基酸残基的侧链单个发生。或者,沿着肽存在多个衍化位点。用赖氨酸、天冬氨酸、谷氨酸或半胱氨酸的一个或多个氨基酸的取代可以提供其他用于衍化的位点。参见,例如,U. S. 专利 No. 5, 824, 784 和 5, 824, 778。在一些实施方案中,肽可以缀合一个、两个或三个聚合物分子。

[0561] 示例水溶性聚合物分子具有约 500 至 20,000 道尔顿的分子量范围。在一些情况中,水溶性聚合物分子连接氨基、羧基或巯基,并可以通过 N 或 C 端连接,或在赖氨酸、天冬氨酸、谷氨酸或半胱氨酸的侧链连接。或者,水溶性聚合物分子可以连接二胺和二羧基。在一些实施方案中,肽连接通过赖氨酸上的 ε-氨基一个、两个或三个 PEG 分子。

[0562] 衍生物还包括具有一个或多个氨基酸残基化学改变的胰淀素家族肽激素或类似物。这样的化学改变包括酰胺化、糖基化、酰化、硫化、磷酸化、乙酰化和环化。化学改变可以单个发生在 N- 或 C- 端或肽序列内氨基酸残基的侧链。在一个实施方案中,这些肽的 C 端具有游离 -OH 或 -NH₂ 基团。在另一个实施方案中,N- 端可以加帽异丁基氧羰基、异己酰基(isocap)、辛基、辛基甘氨酸基团(G(Oct))或 8-氨基辛酸基团。在一个实施方案中,环化可以通过二硫桥接的形成。或者,沿着肽存在多个化学改变位点。

[0563] 如在此所用的“胰淀素活性”可以包括至少一种以下所述的本领域已知的活性。胰淀素活性还包括胰淀素改变偏食、改变暴食、改变食物渴求或其任何组合的能力。通常,认为胰淀素激动剂或胰淀素激动剂类似物指的是直接或间接地与一个或多个受体相互作用或结合一个或多个受体、模拟胰淀素作用的化合物。还将它们称为胰淀素模拟物。

[0564] 可以通过进行各种筛选测试或通过诱导哺乳动物血钙过少或降低餐后高血糖的能力来证实和定量作为胰淀素激动剂和 / 或类似物的活性,筛选测试包括伏隔核受体结合

测试、比目鱼肌测试、胃排空测试。测试胰淀素活性化合物的方法是本领域已知的。用于测试胰淀素激动剂的示例筛选方法和测试描述于 U. S. 专利 No. 5, 264, 372 和 5, 686, 411 中, 在此将其引入作为参考。

[0565] 受体结合测试, 测量化合物特异性结合膜结合胰淀素受体的能力的竞争测试。测试中使用的膜制剂的优选来源是基底前脑, 其包括来自依伏神经核和周围部分的膜。测试的化合物与 ^{125}I Bolton Hunter 大鼠胰淀素竞争结合这些受体制剂。竞争曲线, 其中将结合的含量 (B) 作为配体浓度的 \log 函数作曲线, 通过计算机分析, 使用通过非线性回归 4- 参数逻辑等式 (INPLOT 程序, GraphPAD Software, San Diego, CA) 或 Delean 等的 ALLFIT 程序 (ALLFIT, 2.7 版本 (NIH, Bethesda, Md. 20892)) 的分析。Munson 等 (1980) Anal. Biochem. 107 :220-239。

[0566] 可以使用之前所述的方法 (Leighton 等 (1988) Nature 3 35 :632-635 ;Cooper 等 (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85 :7763-7766) 进行比目鱼肌中胰淀素激动剂 / 类似物的生物活性的测试, 其中可以通过测量胰岛素刺激的糖原合成的抑制来测定胰淀素激动剂活性。简而言之, 示例性方法包括从 12-h 禁食的雄性 Wistar 大鼠制得比目鱼肌条。在连接不锈钢芯片之前连接肌肉的腱。将肌肉条在含有 3.5ml Krebs-Ringer 碳酸氢盐缓冲剂、7mM N-2- 羟乙基 - 哌嗪 -N'-2- 乙烷 - 磺酸, pH7.4 和 5.5mM 丙酮酸盐的锥形烧瓶中预孵育。将烧瓶密封并以 19 : 1 比例 (v/v) 的 O_2 和 CO_2 连续充气。肌肉在该介质中在 37°C 振动水浴中预孵育 30 分钟后, 将肌肉条转移至含有相同介质 (除了丙酮酸盐) 的相似的瓶中, 含有添加的 $[\text{U}-^{14}\text{C}]$ 葡萄糖 ($0.5 \mu\text{Ci/ml}$) 和胰岛素 ($100 \mu\text{U/ml}$)。将烧瓶密封并在 1-h 孵育的最初 15 分钟中再次充气。在孵育阶段结束时, 将肌肉吸干并快速冷冻于液氮中。可以通过分光光度计测定孵育介质中乳酸盐的浓度并测量糖原中引入的 $[\text{U}-^{14}\text{C}]$ 葡萄糖。

[0567] 测量胃排空速率的方法描述于, 例如, Young 等 (1995) Diabetologia 38 :642-648 中。在苯酚红方法中, 有意识的大鼠通过管饲接受含有甲基纤维素和苯酚红指示剂的 acoloric 凝胶。管饲后二十分钟, 使用氟烷将动物麻醉, 暴露胃并在幽门和下食道括约肌处夹紧, 取出并打开放入碱性溶液中。胃内含物源自碱性溶液中的苯酚红强度, 通过在 560nm 波长处的吸收值测量。在氘化葡萄糖方法中, 将有意识的大鼠管饲水中氘化的葡萄糖。通过尾巴将大鼠温和地限制, 使用利多卡因将其尖端麻醉。在各个时间点收集从尾部血液分离的血浆中的氘并在 β - 计数器中检测。通常在管饲前约一分钟给予测试化合物。

[0568] 胰淀素激动剂化合物在受体结合测试中呈现出大约低于约 1 至 5nM 的活性, 在一些实施方案中低于约 1nM, 在一些实施方案中低于约 50pM。在比目鱼肌测试中, 胰淀素激动剂化合物显示出大约低于约 1 至 10 微摩尔的 EC_{50} 值。在胃排空测试中, 胰淀素激动剂化合物显示出大约低于 $100 \mu\text{g}$ / 大鼠的 ED_{50} 值。

[0569] 可以使用本领域已知的化学肽合成技术来制备在此所述的肽, 例如, 使用自动化或半自动化肽合成仪, 标准重组技术, 或两者。同样, 可以使用标准化学、生化或体内方法来产生肽的衍生物。

[0570] 根据常规技术可以在溶液或固体支持物上合成肽。各种自动化合成仪是可购得的并可以根据已知方案来使用。参见, 例如, Stewart 等 (1984) Solid Phase Peptide Synthesis (固相肽合成), 第 2 版, Pierce Chemical Co. ; Tam 等 (1983) J. Am. Chem. Soc. 105 :6442 ; Merrifield (1986) Science 232 :341-347 ; 和 Barany 等 (1979) The

Peptides(肽), Gross 等编辑, Academic Press, NY, 1-284。可以使用自动化或半自动化肽合成仪进行固相肽合成。通常,使用这样的技术,在室温在惰性溶剂如二甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮或二氯甲烷中,在偶联剂如二环己基碳二亚胺和 1-羟基苯并三唑存在下,在碱基如二异丙基乙胺存在下, α -N-氨基甲酰保护的氨基酸和树脂上连接生长中肽链的氨基酸结合。使用试剂如三氟醋酸或哌啶从所得到的肽-树脂除去 α -N-氨基甲酰保护基团,并且用下一个待添加至肽链的所需 N-保护氨基酸重复偶联反应。合适的 N-保护基团是本领域公知的,例如,叔丁氧基羰基 (tBoc) 和芴基甲氧基羰基 (Fmoc)。例如,可以使用自动化肽合成仪(例如, Model 430A, Applied Biosystems Inc., Foster City, CA) 进行固相肽合成,使用 NMP/HOBt(选项 1) 系统和 tBoc 或 Fmoc 化学物质,使用加帽(参见, Applied Biosystems User's Manual for the ABI430A Peptide Synthesizer, 1.3B 版本, 1988 年 7 月 1 日, 部分 6:49-70)。还可以使用 Advanced ChemTech Synthesizer (Model MPS 350, Louisville, KY) 装配肽。可以通过 RP-HPLC(制备性和分析)纯化肽,使用,例如, Waters [®] DELTA-PREP[™]3000 系统 (Waters Corp., Milford, MA) 和 C4、C8 或 C18 制备性柱 (10 μ , 2.2 \times 25cm; Grace Vydac, Hesperia, CA)。肽可以容易地合成,然后在设计来鉴定具有特定活性的肽的测试中筛选。合成和纯化肽的其他方法是本领域技术人员已知的。

[0571] 或者,可以通过本领域公知的重组技术来产生在此公开的肽。参见,例如, Sambrook 等 (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual (分子克隆:实验室手册), 第 2 版, Cold Spring Harbor, NY。通过重组技术产生的肽可以从多核苷酸表达。本领域技术人员将认识到可以从野生型 cDNA 获得编码这样的肽的各个片段多核苷酸,包括 DNA 和 RNA,考虑密码使用的简并性,或可以如所需的工程化。这些多核苷酸序列可以引入有助于 mRNA 在微生物宿主中转录和翻译的密码子。可以根据本领域公知的方法容易地构建这样的制造序列。以上的多核苷酸还可以任选编码 N-端甲二酰残基。以上的多核苷酸还任选编码 C-端甘氨酸残基,用于正确的酰胺形成。可以通过本领域已知的方法来制备用于在此提供的组合和方法中的非肽化合物。例如,可以使用本领域已知的方法制备含磷酸盐的氨基酸和含有这样氨基酸的肽。参见,例如, Bartlett 等 (1986) Bioorg. Chem. 14:356-377。

[0572] 各种细胞类型可以用于含有和表达肽编码序列,包括,例如,细菌、酵母、藻类、昆虫细胞、植物细胞和动物细胞,如哺乳动物和鸟类细胞。可以使用各种表达载体/宿主系统,包括,但不限于,微生物,如用重组噬菌体、质粒或粘粒 DNA 表达载体转化的细菌;用酵母表达载体转化的酵母;用病毒表达载体(例如,杆状病毒)转染的昆虫细胞系统;用病毒表达载体(例如,花菜花叶病毒 (CaMV) 转染的植物细胞系统;烟草花叶病毒 (TMV) 或用细菌表达载体(例如, Ti 或 pBR322 质粒)转化的;或动物细胞系统。用于重组蛋白产生的哺乳动物细胞和细胞系包括,但不限于, VERO(非洲绿猴肾脏)细胞、HeLa 细胞、中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞系、COS 细胞(如 COS-7)、WI38(人肺成纤维细胞)、幼仓鼠肾脏 (BHK) 细胞、HepG2、3T3、RIN、Madin-Darby 犬肾脏上皮 (MDCK) 细胞、A549、PC12、K562 和 293 细胞。用于重组表达多肽的示例方案是本领域公知的。

[0573] 可以选择宿主细胞株加工所表达的肽或产生特定用于提供肽活性的翻译后修饰的特定能力。这样的多肽修饰包括,但不限于,乙酰化、羧化、糖基化、磷酸化、脂化、酰化和酰胺化,例如,羧基-端酰胺化。翻译后加工,其分裂多肽的“prepro”形式,对于正确的插入、折叠和/或功能也是重要的。不同的宿主细胞,如 CHO、HeLa、MDCK、293、WI38 等,具有

特定的细胞机械和特征机制,用于这样的翻译后活性,并可以选择来确保引入的外源蛋白的正确修饰和加工。

[0574] 可以使用自动化肽合成和重组技术的结合来产生在此所述的肽。例如,肽可以含有修饰的组合,包括删除、置换和通过 PEG 化的插入。这样的肽可以分阶段产生。例如,在第一阶段中,可以通过如所述的重组技术产生含有删除、置换、插入及其任意组合的中间产物肽。然后,在任选纯化步骤后,通过化学修饰用合适的 PEG 化剂将中间产物肽 PEG 化(例如,来自 Nektar Therapeutics, San Carlos, CA)来产生所需的肽。肽的酰胺化也可以分阶段进行。本领域技术人员将认识到可以概括上述程序来运用至含有选自删除、置换、插入、衍化和本领域公知的并在此考虑的其他修饰方式的修饰组合的肽。

[0575] 还可以使用本领域已知的化学连接方案产生在此所述的肽,包括那些描述于,例如, U. S. 申请公开 No. 2003-0191291、2003-0208046 和 2004-0115774。化学连接指的是涉及两个化学部分共价连接的化学选择性反应,每个部分带有唯一地和另一个功能团能够形成不可逆共价键的相互反应的官能团。第一和第二成分上存在的独特的、相互反应的官能团可以用于呈现连接反应化学选择性。例如,肽和多肽的化学连接涉及带有相容的独特的相互反应的 C-端和 N-端氨基酸残基的肽或多肽片段的化学选择性反应。化学连接包括(1)带有独特反应性 C-端基团的第一个肽或多肽和(2)带有独特反应性 N-端基团的第二个肽或多肽的共价连接,其中 C-端和 N-端反应性基团在其中形成不可逆的共价键。还可以包括 N-端至 N-端和 C-端至 C-端连接。特别地,化学连接包括可以用于连接未保护肽片段的任何化学选择性反应化学物质。几个不同化学物质已经用于该目的,其实例包括天然化学连接、肟形成化学连接、硫酯形成连接(Schnolzer 等(1992) *Science* 256 :221-225 ;Gieselman 等(2001) *Org. Lett.* 3 :1331-1334)、硫醚形成连接(Englebretsen 等(1995) *Tot. Leffs.* 36 :8871-8874)、脞形成连接(Gaertner 等(1994) *Bioconj. Chem.* 5 :333-338)以及噻唑烷形成连接和哌啶烷形成连接(Zhang 等(1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95 :9184-9189 ;PCT 公开 No. W095/00846 ;U. S. 专利 No. 5, 589, 356) ;和 Staudinger 酰胺形成化学连接(Saxon 等(2000) *Org. Lett.* 2 :2141-2143)。

[0576] 通常选择用于给定连接化学物质的反应条件来维持用于连接的肽或多肽片段所需的相互作用。例如,可以改变 pH 和温度、连接成分的水溶性、第一个片段与第二个片段的比例、含水量和反应混合物的组成来最佳化连接。溶解连接片段至不同程度的试剂的添加或排除可以进一步用于控制所需连接反应的特异性和速率,即,通过维持肽或多肽片段的稳定性来控制反应基团的暴露和保持。通过测试与一个或多个内部和/或外部对照相比较的所需化学选择性反应产物容易地测定反应条件。已经证明这些方法为用于在连接位点产生天然酰胺键的强有力方法。

[0577] 结合肽的设计,构建用于合成多肽主链的肽或多肽片段。用于肽和多肽主链合成的方法描述于,例如, U. S. 申请公开 No. 2004-0138412(延伸的天然化学连接), 2003-0208046(假-天然化学连接), 2005-0261473(用于化学连接中酸性 C-端氨基酸的羧基保护策略来除去不利副产物的形成), 2005-0064538 和 2005-0113563(具有提高的连接效率的天然化学连接和具有三个或多个成分的化学连接);PCT 申请公开 No. W02004/105685(使用可替换连接物的水-相容性固相化学连接)和 W02004/060925(使用水溶性聚合保护基团的多元聚合物连接以及用所需加合物的替代);和 U. S. 专

利 No. 6, 307, 018 和 6, 184, 344(天然化学连接), 6, 326, 468(固相天然化学连接), 6, 217, 873(聚脲化合物), 6, 174, 530(同源聚脲组合物), 6, 001, 364(杂-聚脲化合物) 和 6, 451, 543(脂质-基质辅助合成)。通常, 通过化学连接的肽或多肽主链的合成涉及合适连接为点的选择, 基于以下来选择: 选择用于装配各种多肽主链片段, 选择用于目标肽的可逆(或可分裂)聚合物连接化学物质, 和特定的聚合物连接位点。使用天然化学连接时, 通过扫描目标多肽主链氨基酸序列测定半胱氨酸连接位点, 用于合适的天然产生半胱氨酸残基。使用“延伸的天然化学连接”时, 可以通过扫描目标多肽主链氨基酸序列选择连接位点, 用于允许强有力连接的合适天然产生连接位点汇合。因为延伸的天然化学连接不限于半胱氨酸残基的连接, 许多残基可以作为连接位点连接。在一些情况中, 天然和延伸的天然化学连接的组合可以是设计的一部分。

[0578] 在一个实施方案中, 天然化学连接用于产生部分或全部全长多肽链。天然产生肽主链中存在的半胱氨酸可以用作化学连接位点。或者, 其中所需连接汇合缺乏合适的半胱氨酸, 可以用半胱氨酸替换该位置的非-半胱氨酸氨基酸或可以插入半胱氨酸使得允许在该位点天然化学连接。如果需要, 新引入的半胱氨酸可以转化成对应于该位置最初氨基酸的假氨基酸残基。通过天然化学连接位点的半胱氨酸转化的假氨基酸形成称为“假天然化学连接”。或者, 将半胱氨酸引入用于聚合物保护基团修饰的位点时, 可以开发侧链硫醇用于连接硫醇反应水溶性聚合物构建体, 只要保护不希望修饰的目标多肽中的所有其他半胱氨酸。在另一个实施方案中, 延伸的天然化学连接可以用于产生部分或全部全长多肽。用于硫酯介导的连接如用于天然化学连接的肽, 也可以根据标准方案形成, 例如参见 U. S. 专利 No. 6, 307, 018 和 6, 184, 344。

[0579] 如在此所用的, 术语“纯化的肽”确定指的是从其他成分分离的组合物, 其中肽纯化至相对于其天然获得状态的任何程度。因此纯化的肽还指的是从其天然产生的环境中分离出来的肽。通常, “纯化的”指的是已经接受分级来除去各种其他成分的肽组合物, 并且该组合物基本上保持生物活性。使用术语“基本上纯化的”时, 该术语指的是其中肽形成组合物主要成分的组合物, 如构成组合物中约 50%, 约 60%, 约 70%, 约 80%, 约 90%, 约 95% 或更多的肽。

[0580] 纯化通过在此所述的方法产生的肽是理想的。肽纯化技术也是本领域技术人员公知的。这些技术涉及, 在一个水平, 细胞环境粗分级至多肽和非多肽部分。已经从其他蛋白质分离多肽后, 可以使用色谱和电泳技术进一步纯化目标多肽来获得部分或完全纯化(或纯化至均一)。纯化技术包括, 例如, 用硫酸铵、PEG、抗体等沉淀; 热变性, 接着离心; 色谱步骤, 如离子交换, 凝胶过滤, 反相、羟磷灰石和亲和色谱; 等电点聚焦; 凝胶电泳; 以及这样的和其他技术的组合。特别适于纯肽制备的分析方法是离子交换色谱、排阻色谱、聚丙烯酰胺凝胶电泳和等电点聚焦。特别有效的纯化肽的方法是反相 HPLC, 接着通过液相色谱/质谱(LC/MS) 和基质辅助激光吸收离子化(MALDI) 质谱来表征纯化产物。通过测定氨基酸分析来获得纯度的其他证实。如本领域通常所知的, 认为进行各种纯化步骤的次序可以改变, 或特定步骤可以省略, 并且仍然形成合适的用于制备基本上纯化的蛋白质或肽的方法。

[0581] 不存在通常以其最纯的状态提供肽的一般要求。实际上, 考虑到较少实质性纯化的产物在特定的实施方案中具有实用性。可以通过使用较少纯化步骤结合或利用相同一般纯化方案的不同形式实现部分纯化。例如, 认识到使用 HPLC 装置进行阳离子交换柱色谱,

通常比利用低压色谱系统的相同技术形成更大“倍数”的纯化。呈现较低程度相对纯化的方法在蛋白质产物的总回收或维持肽的活性中具有优势。在一些实施方案中,阴离子交换和免疫亲和色谱的结合可以用于产生在此所述的纯化肽组合物。

[0582] 胰淀素、胰淀素激动剂、胰淀素类似物和胰淀素衍生物(在该部分中在此称为“胰淀素”化合物)可以单独或结合药物学上可接受载体或赋形剂给药,以单剂量或多剂量。因此,提供的药物组合物包括治疗或预防有效量的至少一种胰淀素化合物或其药物学上可接受的盐,和药物学上可接受的稀释剂、防腐剂、稳定剂、乳化剂、佐剂和/或用于胰淀素化合物传送的载体。可以用药物学上可接受的载体或稀释剂以及任何其它已知佐剂和赋形剂根据常规技术来配制这些药物化合物,如公开于 Remington's Pharmaceutical Science E. W. Martin 中的那些技术。请参阅 Wang 等 (1988) Journal of Parenteral Science and Technology Technical Report No. 10, 增补 42 ;2S。用于胰淀素或胰淀素激动剂的示例制剂可以在 U. S 专利 No. 6, 410, 511 和 U. S. 专利申请公开 No. 2003-0092606 中找到,在此将其引入作为参考。

[0583] 在此提供的一个示例用途是外周给药这样的胰淀素化合物,用于治疗或预防暴食。在此提供的另一个示例用途是外周给药这样的胰淀素化合物,用于改变偏食或食物渴求。在此提供的另一个示例用途是外周给药这样的胰淀素化合物,用于改变患者的代谢速率。

[0584] 通常,可以将化合物配制成稳定而安全的药物组合物,用于给药于患者。考虑用于在此所述方法中的药物制剂可以包括大约 0.01 至 6.0% (w/v), 或 0.05 至 1.0% 的化合物; 大约 0.02 至 0.5% (w/v) 的醋酸盐、磷酸盐、柠檬酸盐或谷氨酸盐缓冲剂,使最终组合物的 pH 为约 3.0 至约 7.0; 大约 1.0 至 10% (w/v) 的碳酸盐或多羟基醇张力剂 (tonicifier), 任选, 大约 0.005 至 1.0% (w/v) 选自间甲酚, 苯甲醇, 甲基-、乙基-、丙基-和丁基-对羟基苯甲酸和苯酚的防腐剂。如果配制的肽包括于多用途产物中, 通常包括这样的防腐剂。

[0585] 在特定的实施方案中, 药物制剂可以含有各种浓度的化合物, 例如, 该实施方案中约 0.01% 至约 98% (w/v), 或约 1 至约 98% (w/v), 或 80% 至 90% (w/v), 或约 0.01 至约 50% (w/v), 或约 10% 至约 25% (w/v)。足量用于注射的水可以用来获得所需的溶液浓度。

[0586] 如果需要, 可以存在其它张力调节剂如氯化钠, 以及其它已知的赋形剂。在一些情况中, 这样的赋形剂用于维持制剂的整体张力。赋形剂可以以各种浓度包括在本发明所述的制剂中。例如, 可以以约 0.02% 至约 20% (w/w), 约 0.02 至 0.5% (w/w), 约 0.02 至约 10% (w/w), 或约 1% 至约 20% (w/w) 的浓度包括赋形剂。此外, 与本发明制剂本身相似, 可以以固体(包括粉末状的)、液体、半固体或凝胶形式包括赋形剂。

[0587] 如在此所述的, 各种液体载体适用于本发明的肽制剂中, 例如, 水或水/有机溶剂混合物或悬浮液。药物制剂可以构成各种形式, 例如, 固体、半固体或液体。术语“固体”, 如在此所用的, 意思是包括该术语所有形式的用途, 包括例如, 粉末和冻干制剂。本发明描述的制剂可以是冻干的。

[0588] 术语缓冲剂、缓冲剂溶液和缓冲溶液, 当关于氢离子浓度或 pH 使用时, 指的是系统特别是水溶液在添加酸或碱时或用溶剂稀释时抵抗 pH 改变的能力。在添加酸或碱时经历小的 pH 改变的缓冲溶液的特征, 是弱酸和弱酸盐, 或弱碱和弱碱盐的存在。上述系统的实例是醋酸和醋酸钠。pH 的改变是轻微的, 只要添加的水合氢离子或羟基离子含量没有超

过缓冲系统中中和它的能力。在一些实施方案中,胰淀素化合物悬浮于含水载体中,例如,约 3.0 至约 8.0 的 pH,约 3.5 至约 7.4pH,约 3.5 至约 6.0pH,或约 3.5 至约 5.0pH 的等渗压缓冲溶液。在特定的实施方案中,制剂的 pH 维持在约 3.5 至约 5.0 的范围内,或约 3.5 至约 6.5,或约 3.7 至约 4.3,或约 3.8 至约 4.2。特定的 pH 可以为约 4.0。尽管不希望受到理论的限制,在此理解为,在一些实施方案中,其中药物制剂的 pH 超过 5.5,可以加速肽的化学降低,使得保质期低于约两年。

[0589] 有用的缓冲剂包括柠檬酸钠 / 柠檬酸,和磷酸钠 / 磷酸以及醋酸钠 / 醋酸缓冲剂。在特定的实施方案中,和胰淀素化合物的缓冲剂是醋酸盐缓冲剂(例如,约 1-5mM 的制剂终浓度,例如,1.5mM,至约 60mM)、磷酸盐缓冲剂(例如,约 1-5mM 的制剂终浓度,例如,1.5mM,至约 30mM)或谷氨酸盐缓冲剂(例如,约 1-5mM 的制剂终浓度,例如,1.5mM,至约 60mM)。在一些实施方案中,缓冲剂是醋酸盐(例如,约 5mM 至约 30mM 的制剂终浓度)。

[0590] 稳定剂可以包括于本发明的制剂中,但是重要地,不是必需的。然而,如果包括,本发明制剂实践中有用的稳定剂是碳水化合物或多元醇。本发明方法实践中有用的合适稳定剂是大约 1.0 至 10% (w/v) 碳水化合物或多元醇。多元醇和碳水化合物在它们的主链中具有相同的特征,即, -CHOH-CHOH-, 这负责稳定蛋白质。多元醇包括这样的化合物,如山梨糖醇、甘露醇、甘油和聚乙二醇 (PEG)。这些化合物是直链分子。碳水化合物,如甘露糖、核糖、蔗糖、果糖、麦芽糖、肌醇和乳糖,另一方面,是环状分子,可以含有酮或醛基。已经证明这两类化合物在稳定蛋白质对抗由升高的温度和冻-融或冻干处理引起的变性是有效的。在其中患者患有糖尿病的实施方案中,合适的碳水化合物包括:半乳糖、阿拉伯糖、乳糖或对糖尿病患者不具有副作用的任何其他碳水化合物,即,碳水化合物不代谢形成血液中不可接受的大浓度葡萄糖。适用于糖尿病的合适碳水化合物是本领域公知的。蔗糖和果糖适用于非糖尿病患者的化合物中。(例如,治疗肥胖或暴食)。

[0591] 在特定的实施方案中,如果包括稳定剂,用多元醇来稳定化合物,如山梨糖醇、甘露醇、肌醇、甘油、木糖醇和聚丙二醇 / 乙二醇共聚物,以及分子量 200、400、1450、3350、4000、6000 和 8000 的各种 PEG。甘露醇是特定多元醇的实例。在此所述的冻干制剂的另一种有用特征是用用来维持稳定性的相同制剂成分来维持冻干制剂的张力。甘露醇是用于该目的特定多元醇。

[0592] 美国药典 (USP) 主张必须将杀细菌或杀真菌浓度的抗微生物剂加入多剂量容器中含有的制剂中。它们在使用时必须以合适的浓度存在以防止用皮下注射器针头和注射器或使用其他入侵传送方式如笔式注射器取出部分内含物时不适当引入制剂中的微生物的繁殖。应当评价抗微生物剂来确保与制剂的所有其他成分相容,以及应当评价它们在全制剂中的能力来确保在一种制剂中有效的特定物质在另一种中不是无效的。特定抗微生物剂在一种制剂中有效而在另一种制剂中无效是不常见的发现。

[0593] 在常用的药物意义中,防腐剂是防止或抑制微生物生长并且为了该目的加入药物制剂中来避免随后通过微生物的制剂变质的物质。尽管防腐剂的含量不是很大,不管怎样可以影响肽的整体稳定性。可以通过各种抗细菌和抗真菌剂,例如,对羟基甲苯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、水杨乙汞等。尽管用于药物组合物中的防腐剂可以为 0.005 至 1.0% (w/v), 每种防腐剂的常用范围,单独或结合其他的,为:苯甲醇 (0.1-1.0%)、orm- 甲酚 (0.1-6.0%) 或苯酚 (0.1-0.8%) 或甲基-(0.05-0.25%) 和乙基-或丙基-或丁

基-(0.005% -0.03%) 对羟基苯甲酸酯的组合物。对羟基苯甲酸酯是对羟基苯甲酸的低级烷基酯。每种防腐剂的详细描述列于“Remington's Pharmaceutical Sciences”(雷明顿药物科学)以及Pharmaceutical Dosage Forms:Parenteral Medication(药物剂型:非肠道药物), Vol. 1, 第2版, Avis 等编辑, Marcel Dekker, New York, N. Y. (1992)。

[0594] 尽管不希望受到限制, 普兰林肽,^{25,28,29}Pro-h-胰淀素, 以液体形式时不具有吸收至玻璃容器中玻璃上的趋势, 因此, 不需要表面活性剂来进一步稳定药物制剂。然而, 关于液体形式时具有该趋势的化合物, 在它们的制剂中应当使用表面活性剂。然后将这些制剂冻干。表面活性剂通常引起蛋白质的变性, 通过疏水性破坏和通过盐桥分离。由于表面活性剂部分和蛋白质上的反应性位点之间强烈的相互作用, 相对低浓度的表面活性剂发挥有效的变性活性。然而, 这种相互作用的明智使用可以稳定蛋白质来对抗界面或表面变性。可以进一步稳定肽的表面活性剂可以任选存在, 以约 0.001 至 0.3% (w/v) 总制剂的范围, 并包括聚山梨酸酯 80 (即, 聚氧乙烯 (20) 山梨聚糖单油酸酯)、CHAPS[®] (即, 3-[3-胆酰胺丙基)二甲氨基]1-丙磺酸内盐)、BRIJ[®] (例如, Bri135, 其是 (聚氧乙烯 (23) 月桂酰酯)、泊洛沙姆或另一种非离子表面活性剂。

[0595] 加入氯化钠或其他盐来调节药物制剂的张力也是理想的, 取决于选定的张力调节剂。然而, 这是任选的并取决于选定的特定制剂。非肠道制剂通常是等渗的或基本上等渗的。

[0596] 用于非肠道产品的合适载体是水。通过渗滤或反相渗透来制备用于非肠道给药的合适质量的水。注射用水是用于可注射药物制剂中的优选含水载体。

[0597] 可能的是其他成分可以存在于药物制剂中。这样的其他成分可以包括, 例如, 润湿剂、乳化剂、油、抗氧化剂、填充剂、张力调节剂、螯合剂、金属离子、油质载体、蛋白质 (例如, 人血清白蛋白、明胶或蛋白质) 和两性离子 (例如, 氨基酸, 如甜菜碱、牛磺酸、精氨酸、甘氨酸、赖氨酸和组氨酸)。此外, 聚合物溶液, 或与聚合物的混合物提供了肽受控释放的机会。当然, 这样的其他成分应当没有不利影响在此提供的药物制剂的整体稳定性。

[0598] 容器也是注射制剂的整体一部分并可以认为是一种成分, 因为没有容器是完全惰性的, 或在某些方面没有影响其含有的液体, 特别是如果液体是含水的。因此, 用于特定注射的容器的选择必须基于容器以及溶液组成和待接受处理的考虑。如果需要, 也可以使用硼硅酸盐玻璃, 例如, I 型玻璃 #33 (Wheaton 型 1-33) 或其等价物 (Wheaton GlassCo.) 来最小化肽至瓶子玻璃表面的吸收。相似的硼硅酸盐玻璃瓶和针筒适于制造的其他厂商包括 Kimbel Class Co., West Co., Bunder GlasGMBH 和 Forma Vitrum。可以通过在 Wheaton 型 1-33 硼硅酸盐血清瓶中在 5% 甘露醇和 0.02% 吐温 80 存在下配制并冻干至 0.1mg/ml 和 10.0mg/ml 终浓度的化合物来稳定化合物的生物和化学特征。

[0599] 为了允许从皮下注射器将针引入多剂量小瓶中并在针取出时尽可能快地提供再封死, 每个小瓶的开口端通常用橡皮塞密封, 在合适位置通过铝带来保持。用于玻璃瓶的塞子, 如, West 4416/50、4416/50 (特富龙表面的) 和 4406/40、Abbott 5139 或任何等价的塞子可以用作注射药物的密封。这些塞子与肽以及制剂的其他成分相容。使用患者使用模式测试时, 这些塞子通过塞子完整性测试, 例如, 塞子经得住至少约 100 次注射。或者, 肽在小瓶、注射器或针筒中可以是冻干的, 用于随后的重建。可以将在此提供的液体制剂填入一或两室针筒, 或一或两室注射器中。

[0600] 上述药物制剂的每种成分是本领域已知的并描述于 Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medication (药物剂型: 非肠道给药) 中, Vol. 1, 第 2 版, Avis 等编辑, Marcel Dekker, New York, N. Y. 1992, 在此以其整体引入作为参考。

[0601] 上述液体制剂的制备过程通常包括混合、无菌过滤和装填步骤。混合方法包括将成分以特定的次序溶解(例如, 防腐剂, 接着为稳定剂/张力调节剂, 缓冲剂和肽)或同时溶解。

[0602] 可替换的制剂, 例如, 非肠道的, 不需要灭菌。然而, 如果灭菌是理想的或必需的, 任何合适的灭菌方法可以用于生产在此提供的肽药物制剂。通常的灭菌方法包括过滤、蒸汽(湿热)、干热、气体(例如, 乙烯氧、甲醛、二氧化氯、环氧丙烷等)、暴露于辐射源和无菌操作。过滤是用于在此所述的液体制剂的示例灭菌方法。无菌过滤包括通过可以串联的 $0.45\ \mu\text{m}$ 和 $0.22\ \mu\text{m}$ (1 或 2) 的过滤。过滤后, 将溶液装入合适的小瓶或容器中。

[0603] 在一个实施方案中, 确定液体药物制剂用于非肠道给药。合适的给药途径包括肌肉内、静脉内、皮下、皮内、动脉内、鞘内等。皮下给药途径是一种特别的途径。粘膜传送也特别合适。这些粘膜途径包括, 但不限于, 口、鼻、舌下、肺部和脸颊途径, 其可以包括液体、半固体或固体形式肽的给药。通过这些途径的给药基本上需要更多的肽来获得所需的生物效果, 由于与非肠道传送相比较降低的生物利用率。此外, 通过形成聚合的微胶囊、基质、溶液、植入物和装置并将它们非肠道或通过外科手术方式给药可以获得非肠道受控释放传送。受控释放制剂的实例描述于 U. S. 专利 No. 6, 368, 630、6, 379, 704 和 5, 766, 627 中, 在此将其引入作为参考。由于一些肽捕获在聚合物基质或装置中, 这些剂型具有较低的生物利用率。参见, 例如, U. S. 专利 No. 6, 379, 704、6, 379, 703 和 6, 296, 842。

[0604] 可以以剂量单位形式提供胰淀素化合物, 该剂量单位形式含有在一个或多个治疗或帮助治疗需要的患者剂量中有效含量的化合物。可以用最初弹丸接着连续灌输来维持药品的治疗循环水平来进行非肠道给药。可以使用贮物器或“贮藏器”缓慢释放制剂形式, 使得治疗有效量的制剂在经皮注射或传送后很多小时或很多天内传送至血流。本领域技术人员将容易地最佳化有效量和给药方案, 如通过良好的医学实践和个体患者的临床情况所测定, 考虑, 例如, 患者的年龄和体重、患者的身体状况和待治疗的病症。

[0605] 通常, 使用约 $0.001\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/天至约 $1000\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/天的剂量, 但熟练的从业者将认识到可以使用更多或更少。通常的剂量含有每天约 $0.5\ \mu\text{g}$ 、 $1\ \mu\text{g}$ 、 $5\ \mu\text{g}$ 、 $10\ \mu\text{g}$ 、 $50\ \mu\text{g}$ 至 $100\ \mu\text{g}$ 药物化合物的下限至约 $100\ \mu\text{g}$ 、 $500\ \mu\text{g}$ 、 1mg 、 5mg 、 10mg 、 50mg 或 100mg 的上限。还考虑到其他剂量范围, 如每剂 $0.1\ \mu\text{g}$ 至 1mg 化合物。因此, 示例性剂量可以为每剂 30 、 60 、 120 、 240 或 $360\ \mu\text{g}$ 化合物。每天的剂量可以以分开的单位剂量传送或在 24 小时阶段或 24 小时阶段的任何部分连续提供。每天的剂量数量为 1 至约 4 剂量每天, 尽管可以更多。剂量可以是每日一次或多次, 或更低频率, 如一周一次或多次获每月一次或多次, 并且可以结合在此所述的其他组合物。应当注意到本发明的方法和组合物不限于在此引用的剂量。

[0606] 在一些实施方案中, 对于 50kg 的患者, 有效剂量通常为 0.5 至 $30\ \mu\text{g}$ 至约 $5\text{mg}/\text{天}$, 约 10 至 $30\ \mu\text{g}$ 至约 $2\text{mg}/\text{天}$, 约 5 至 $100\ \mu\text{g}$ 至约 $1\text{mg}/\text{天}$, 或约 $5\ \mu\text{g}$ 至约 $500\ \mu\text{g}/\text{天}$, 以单次或分开剂量给药。在一些实施方案中, 剂量为 0.01 至约 $100\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 剂。其他实施方案中, 组合物是使得传送 $1\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 至 $100\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/天剂量或 $0.1\text{mg}/\text{kg}$ 至约 $50\text{mg}/\text{kg}$ 体重

/ 天剂量胰淀素化合物的制剂。对于特定途径的剂量,例如口服,可以提高来弥补降低的生物利用率,例如,提高约 5-100 倍。

[0607] 连续传送可以是连续灌注的形式。示例剂量和灌注速率包括每个分开的剂量 0.005nmol/kg 至约 20nmol/kg 或连续灌注中约 0.01/pmol/kg/min 至约 10pmol/kg/min。这些剂量和灌注可以通过静脉内给药 (i. v.) 或皮下给药 (s. c.) 来传送。示例 i. v. 给予的药物组合物总剂量 / 传送可以约 2 μ g 至约 8mg 每天,而 s. c. 给予的药物组合物总剂量 / 传送可以约 6 μ g 至约 16 或 24mg 每天。

[0608] 提供以下实施例来说明但非限制本发明。

[0609] 实施例

[0610] 实施例 1. 降低热量摄入的多肽的合成

[0611] 可以使用标准多肽合成方法合成胰淀素和胰淀素肽激动剂。以下和 U. S. 专利 No. 6, 610, 824 和 5, 686, 411 中描述了这样的方法,在此将其整体引入作为参考。

[0612] 多肽是在 4-(2'-4'-二甲氧基苯基)-Fmoc 氨基甲基苯氧基乙酰胺正亮氨酸 MBHA 树脂 (Novabiochem, 0.55mmole/g) 上装配的,使用 Fmoc-保护的氨基酸 (Applied Biosystems, Inc)。通常,在整个合成中使用单-偶联循环,并使用 Fast Moc (HBTU 激活) 化学物质。然而,在一些位置偶联可能比比预期的效率低,并且需要双偶联。使用哌啶的生长中肽链的去保护 (Fmoc 基团除去) 通常同样不怎么有效,并需要双去保护。使用三乙基硅烷 (0.2mL)、乙烷二硫酚 (0.2mL)、茴香醚 (0.2mL)、水 (0.2mL) 和三氟醋酸 (15mL) 的混合物根据标准方法 (Introduction to Cleavage Techniques, Applied Biosystems, Inc.) 实现完成的肽树脂的最后去保护。在醚 / 水 (50mL) 中沉淀肽并离心。将沉淀物在冰醋酸中重建并冻干。将冻干的肽溶解于水中,然后测定粗略的纯度。在纯化和分析步骤中使用溶剂 A (水中 0.1% TFA) 和溶剂 B (ACN 中 0.1% TFA)。将含有各种多肽的溶液施加至制备性 C-18 柱并纯化 (溶剂 A 中 10% 至 40% 的溶剂 B, 40 分钟)。使用 C-18 分析柱 isocratically 测定级分的纯度。收集提供以上鉴定的肽的纯级分。冻干肽的分析 RP-HPLC (溶剂 A 中梯度 30% 至 60% 的溶剂 B, 30 分钟) 来测定保留时间。

[0613] 例如,可以使用 Rink 酰胺树脂 (Novabiochem) 在 Symphony 肽合成仪上 (Protein Technologies, Inc.) 装配胰淀素和胰淀素肽激动剂,使用 0.050-0.100mmol 的 0.43-0.49mmol/g 的装载。以 0.10M 浓度将 Fmoc 氨基酸 (5.0eq, 0.250-0.500mmol) 残基溶解于 1-甲基-2-吡咯烷酮中。所有其他试剂 (HBTU, 1-羟基苯并三唑水合物和 N,N-二异丙基乙胺) 制成 0.55M 二甲基甲酰胺溶液。然后使用 HBTU (2.0eq, 0.100-0.200mmol)、1-羟基苯并三唑水合物 (1.8eq, 0.090-0.18mmol)、N,N-二异丙基乙胺 (2.4eq, 0.120-0.240mmol) 将 Fmoc 保护的氨基酸连接结合树脂的氨基酸 2 小时。最后一个氨基酸结合后,使用二甲基甲酰胺中 20% (v/v) 的哌啶去保护 1 小时。一旦肽序列完成,将 Symphony 肽合成仪编程来分离树脂。使用 93% TFA、3% 苯酚、3% 水和 1% 三异丙基硅烷进行肽从树脂的三氟醋酸 (TFA) 分离 1 小时。使用叔-丁基甲基酯沉淀分裂的肽,通过离心沉淀并冻干。将沉淀物重新溶解于水 (10-15mL) 中,过滤并通过反相 HPLC 使用 C18 柱和含有 0.1% TFA 的乙腈 / 水梯度纯化。通过反相 HPLC 将所得到的肽纯化至均一并通过 LCMS 来证实纯度。

[0614] 使用脂肪酸 (例如,辛酸和硬脂酸) 用于本发明肽 N-加帽的一般程序如下:将 rink 酰胺树脂上的肽 (0.1mmol) 悬浮于 NMP (5mL) 中。在分开的瓶中,将 HBTU (0.3mmol)、

HOBt (0.3mmol) 溶解于 DMF (5mL) 中,接着加入 DIEA (0.6mmol)。将该溶液加入树脂中并将该悬浮液震荡 2 小时。过滤溶剂并用 NMP (5mL×4) 和 CH₂Cl₂ (20mL) 彻底洗涤,干燥并接受 TFA 分离 1hr。分离和纯化后所需肽的产量大约为 40mg。可以在溶液中使用可购得的活化 PEG 酯对赖氨酸的游离 ε-氨基或纯化肽的末端氨基进行 PEG 修饰。通过反相 HPLC 将所得到的 PEG 化衍生物纯化至均一并通过 LC/MS 和 MALDI-MS 来证实纯度。

[0615] 实施例 2. 胰淀素对蔗糖偏食的作用

[0616] 在动物模型中检测胰淀素改变偏食的能力。将雄性 Sprague-Dawley[®] 大鼠接受糖停止模式并观察应激对糖摄入的作用。简而言之,给大鼠植入含有载体或大鼠胰淀素 (300 μg/kg/d) 的 ALZET[®] 渗透泵。所有大鼠提供随机标准食物、水和 30%蔗糖饮料。随后,除去蔗糖饮料并将一半大鼠每日接受 3h 温和束缚应激,连续 3 天。3 天后,提供蔗糖并测量 4 天中的每日平均消耗。还在停止和应激的 3 天中以及蔗糖再次引入的随后 4 天中测量了食物摄入。在蔗糖再次引入的 4 天过程中没有使用束缚。该测试的结果显示与图 1(A-D) 中,其中通过 AVONA 和 Fisher LSD post-hoc 分析,* 是 P < 0.05。

[0617] 在该模型中,慢性应激刺激了作为糖的总热量摄入的比例(美味进食)。如图 1A 中所示的,束缚诱导的应激显著提高平均蔗糖对食物的消耗比例(作为基准的%)(盐水, R) 超过没有应激诱导的对照消耗(盐水, C)。图 1A 还显示了胰淀素给药防止了预期作为束缚诱导应激结果的平均蔗糖对食物消耗比例的提高。比较给药胰淀素应激诱导大鼠(胰淀素, R) 和给药胰淀素无应激对照大鼠(胰淀素, C) 之间的蔗糖对食物的比例(表示为基准的百分比)。还比较了给药胰淀素应激诱导大鼠(胰淀素, R) 和给药对照载体(盐水) 应激诱导大鼠(盐水, R) 之间蔗糖对食物的比例。如所示的,胰淀素给药降低了这种应激诱导的美味进食应答。

[0618] 图 1B 和 1C 描绘了各自来自食物消耗和总热量的不同观察的束缚应激测试的相同结果。图 1B 和 1C 显示出食物摄入和总卡路里的整体应激诱导的降低在治疗组中不太明确,与对照组相比较。图 1D 证明了胰淀素降低应激和非应激条件下的蔗糖摄入,与载体处理的对照相比较。总而言之,认为应激通常改变了富含单糖或美味的饮食与单糖和脂肪相对低的饮食(例如,标准大鼠食物)之间的平衡。没有胰淀素给药的应激显著降低经受束缚应激动物中的食物消耗(图 1B),一种对应激的典型应答。然而,使用胰淀素给药的处理组似乎显示出应激和非应激条件下的蔗糖特异性降低。

[0619] 实施例 3:胰淀素对高脂肪食物偏食的作用

[0620] 在动物模型中检测了胰淀素改变偏食的能力。通过麻醉下在肩胛间部位皮下植入的渗透泵(#2M14, Durect Corporation, Cupertino, CA) 用大鼠胰淀素 (300 μg/kg/d) 将成年雄性大鼠 (490g) 处理 11 周。动物进食低脂肪食物 (6%脂肪 kcal, 54%玉米淀粉 kcal; #7012, Harlan Teklad, Madison, WI) 和高脂肪食物(“美味食物”) (58%脂肪 kcal 和 26%蔗糖 kcal; #D12311, Research Diets, New Brunswick, NJ)。每周测量食物摄入和体重。就在处理之前,和在处理结束时,通过 MRI(用于大鼠的 Echo MRI, EchoMRI, Houston, TX) 测量脂肪和瘦肉组织的含量(表示为每 100g 体重的组织 g 数)。

[0621] 来自这些实验结果呈现于图 2-5 中,其中数据呈现为平均 ±SEM,且每组中的患者数量显示于括号中。如图 2 中所示的,胰淀素处理的大鼠在整个 11 周处理中消耗较比对照比例小的来自高脂肪食物的总热量(载体 = 6315 ± 111kcal vs. 胰淀素 =

5309±202kcal ($P's < 0.05$)。就总食物摄入而言,胰淀素处理的大鼠从高脂肪食物获得较少的热量,更多的热量来自低脂肪食物,与载体处理的大鼠相比较,如图 3 中所示的。对于低脂肪食物的主要效果为载体 = 271±42kcal vs. 胰淀素 = 633±145kcal,对于百分比总热量的主要效果为载体 = 4.3±0.6% vs. 胰淀素 = 12.2±3.2% ($P's < 0.05$)。

[0622] 在整个处理阶段,用胰淀素处理降低了体重增加,如图 4 中所示的(载体 = 126±10g vs. 胰淀素 = 50±11g ($P's < 0.05$))。检测了处理前后脂肪和瘦组织的改变。如图 5 中所示的,胰淀素给药降低了脂肪质量,但是对瘦组织质量没有影响。对于脂肪质量,总质量百分比的改变为使用载体 3.7±0.9%,使用胰淀素 -3.6±1.0% ($P < 0.05$)。对于瘦组织,总质量百分比的改变为使用载体 -0.53±0.21%,使用胰淀素 0.08±0.23% (不显著)。

[0623] 胰淀素给药还提高了动物的能量消耗。使用 OxyMax 动物监控系统 (Columbus Instruments, Columbus, OH) 测定能量消耗来测量随着时间的氧消耗和二氧化碳产生。从这些测量看,计算热量(以 kcal 计)并测定能量消耗。在 11 周时,胰淀素提高 24h 能量消耗(亮阶段提高 = 9.7%,暗阶段提高 = 6.6%, $P's < 0.05$),与对照相比较。

[0624] 用胰淀素激动剂进行的相同研究证明了胰淀素激动剂在总热量摄入降低中比胰淀素更有效。用胰淀素激动剂的来自美味食物的热量摄入与用胰淀素的大概相等,来自低脂肪食物的热量摄入低于用胰淀素的。

[0625] 就偏食而言,胰淀素处理的大鼠与对照相比较在整个研究中消耗更多来自低脂肪食物的热量和更大百分比的总热量。这些结果表明降低的热量摄入,对低脂肪食物 vs. 美味食物相对低的偏好和提高了的能量消耗有助于胰淀素的降低体重特征。

[0626] 实施例 4:胰淀素激动剂对饱食和暴食的效果

[0627] 在人患者中检测了胰淀素激动剂普兰林肽控制或影响进食行为的能力。为了测试,在单盲安慰剂对照的研究中测量 24 小时食物摄入 (FI, 随机进食)、体重、饥饿和饱腹感以及暴食(暴食等级, BES)。将没有暴食症的肥胖患者 (50/50% 女性 / 男性; BMI 35.61±3.98kg/m², 平均 ±SD) 随机接受六周普兰林肽或安慰剂处理。在进食之前每天皮下给药三次 (TID) Pramlintide (180 μg), 持续 6 周, 没有提供生活方式干预 (TID 可评价 N = 59, 安慰剂可评价 N = 25)。在研究的另一个分支中,通过连续皮下灌输 (CSI) 以 50 μg/h 给药普兰林肽,持续 6 周,没有提供生活方式干预 (CSI 可评价 N = 53, 安慰剂可评价 N = 22)。在处理停止后进行患者的继续评价四周。除了食物摄入和体重的测量,还测定患者处理前一天、处理的第一天和第 43 天的 12- 小时观察阶段中的饥饿和饱腹感。在研究过程中,基于总 BES 分数通过轻微、中度或严重的暴食严重程度将患者分类。

[0628] 6 周后,用普兰林肽 TID 处理的患者的 24- 小时食物摄入 (-489±183kcal ; $P < 0.01$) 和体重 (2.2±0.5% ; $P < 0.0001$) 经历从基准的显著安慰剂校正的降低。通常,每个处理组(普兰林肽 TID, 普兰林肽 CSI 和集合的安慰剂)内在处理前一天、处理第一天和第 43 天的平均饥饿和饱腹速率特征相似,在处理组之间也是相似的。饥饿和饱腹速率相似,尽管存在以下事实:与集合的安慰剂组相比较,普兰林肽 TID 患者的平均总热量摄入在处理第一天降低大约 17% 和在第 43 天 15% 和普兰林肽 CSI 患者在处理第一天大约 22% 和在第 43 天 7%。因此,普兰林肽处理的患者需要较少的食物摄入来抑制与安慰剂处理患者中那些相似的饥饿和诱导饱腹感水平。因此,普兰林肽提高了饮食的饱足效果。

[0629] 普兰林肽处理的患者还经历了平均总 BES 分数从基准的降低和显著安慰剂校正的降低,以平均 BES 分数表示 ($-45 \pm 13\%$; $P < 0.01$),如图 6 和 7 中所示的。存在暴食严重程度的显著改变 ($P < 0.05$),比安慰剂处理患者比例更大的普兰林肽 - 处理患者改变成较低暴食严重程度类别 (24.6% vs. 12.5%)。TID 处理 6 周后,83.1%的普兰林肽 - 处理的患者和 56.0%安慰剂处理的患者分类为轻微 (各自与基准的 64.4%和 52.0%相比较)。参见表 1 对于暴食等级严重程度分类,基于研究的 TID 和 CSI 分支的总分数。普兰林肽处理停止后四周,总 BES 分数从基准的降低不再是统计学差异 (图 7)。这些结果表明胰淀素激动剂提供了提高的暴食行为的控制,特别是进食行为的 compulsory 方面。

[0630] 表 1. 暴食等级严重程度分类

[0631]

调查 总 BES 分数	所有安慰剂 (N = 53)	普兰林肽 TID (N = 59)	普兰林肽 CSI (N = 47)
基准 (第 1 天)	n (%)	n (%)	n (%)
≤ 17 (轻微)	33 (62.3)	38 (64.4)	24 (51.1)
> 17 至 < 27 (中度)	16 (30.2)	14 (23.7)	16 (36.2)
≥ 27 (严重)	3 (5.7)	5 (8.5)	6 (12.8)
n	52	57	47
第 42 天			
≤ 17 (轻微)	35 (66.0)	49 (83.1)	35 (74.5)
> 17 至 < 27 (中度)	13 (24.5)	7 (11.9)	8 (17.0)
≥ 27 (严重)	4 (7.5)	3 (5.1)	4 (8.5)
n	52	52	52
第 72 天			
≤ 17 (轻微)	36 (67.9)	45 (76.3)	30 (63.8)
> 17 至 < 27 (中度)	11 (20.8)	8 (13.6)	7 (14.9)
≥ 27 (严重)	4 (7.5)	3 (5.1)	4 (8.5)
n	51	56	41

[0632] 百分比是基于每个处理中可评价患者的数量。

[0633] 实施例 5. 胰淀素对人体测量参数的作用

[0634] 在人患者中检测了胰淀素激动剂普兰林肽影响体重和人体测量参数如腰围和臀围的能力。在随机的双盲安慰剂对照研究中,测定了应答肥胖 ($BMI \geq 30\text{kg}/\text{m}^2$ 至 $\leq 50\text{kg}/\text{m}^2$) 非糖尿病患者和非胰岛素治疗的 2 型糖尿病肥胖个体的普兰林肽给药的体重和人体测量参数的改变,以及 glycemc 对照的指示剂 (例如, HbA1c),血清脂质和葡萄糖耐受性。该研究包括 204 名患者,120 μg 、180 μg 或 240 μg 普兰林肽 TID 的普兰林肽剂量,1 周安慰剂引入 (lead-in) 阶段,16 周药物阶段,和 8 周没有药物的继续阶段的研究阶段。

[0635] 总而言之,处理 16 周后,统计学显著性,经历了安慰剂校正的最初体重 3.52kg (3.6%) 的平均体重减轻 ($p < 0.0001$,可评价人群),和 31%患者失去 $\geq 5\%$ 体重,与用安慰剂处理那些的只有 2%相比较 ($p < 0.0001$,可评价人群)。体重减轻在非糖尿病

患者和患有 2 型糖尿病患者中是明显的。在所有肥胖类别的患者中获得显著的体重减轻，最显著体重减轻在患有 I 型肥胖患者中 ($BMI < 35\text{kg}/\text{m}^2$)。肥胖分类患者中安慰剂校正的体重减轻如下：对于具有 $BMI < 35\text{kg}/\text{m}^2$ 的那些为 $4.24 \pm 0.91\text{kg}$ ($4.78 \pm 1.0\%$, $p < 0.0001$)，对于 $BMI \geq 35\text{kg}/\text{m}^2$ 至 $< 40\text{kg}/\text{m}^2$ 的那些为 2.84 ± 1.45 ($2.63 \pm 1.39\%$, $p < 0.05$)，对于 $BMI \geq 40\text{kg}/\text{m}^2$ 的那些为 1.36 ± 1.30 ($1.29 \pm 1.09\%$, $p < 0.05$)。通过基准 BMI 阶层获得 $> 5\%$ 基准体重减轻的患者百分比（可评价人群 $N = 145$ ）显示于表 2 中。

[0636] 表 2

[0637]

基准 BMI 类别	安慰剂 (N = 48)	普兰林肽 (N = 97)
I 类 ($BMI < 35\text{kg}/\text{m}^2$) n 百分比	18 0%	43 39.5%
II 类 ($BMI \geq 35\text{kg}/\text{m}^2$ 至 $< 40\text{kg}/\text{m}^2$) n 百分比	10 0%	25 28.0%
II 类 ($BMI \geq 40\text{kg}/\text{m}^2$) n 百分比	20 5.0%	29 20.7%

[0638] 普兰林肽组中观察到的渐进性体重减轻伴随腰围的渐进性减小，腰围是腹部肥胖的一种测量。16 周治疗后，普兰林肽组具有安慰剂校正的腰围减小 $2.69 \pm 1.08\text{cm}$ ($p < 0.01$)，和安慰剂校正的臀围减小 $2.69 \pm 0.82\text{cm}$ ($p < 0.01$)（最小的方块平均 \pm SE）。因此，用普兰林肽处理获得肥胖个体的显著体重减轻和腰围和臀围的显著降低。

[0639] 实施例 6：胰淀素对身体组成的作用

[0640] Sprague-Dawley 大鼠中的饮食诱导肥胖 (DIO) 是用于肥胖研究和调节能量体内平衡的有价值的模型。来自 Charles River Laboratoris, Inc. (Wilmington, MA) ($n = 6/\text{组}$) 的近交 DIO (Levin) Prone 大鼠用于研究胰淀素给药的效果。在药物处理之前用中度高脂肪饮食 (32% kcal 来自脂肪; Research Diets D1226B) 将大鼠随意饲养大约 6 周。在养肥阶段结束时，它们具有 $\sim 550\text{g}$ 的平均体重。将所有大鼠单独图养在鞋盒笼中， 22°C ，12/12- 小时亮暗循环。通过皮下渗透迷你泵 (Durect Corp, CA) 来给药胰淀素。将大鼠胰淀素 (Peptisyntha, Torrance, CA) 溶解于 50% DMSO 无菌水中并以 $100 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$ 的速率灌输 ($\sim 23\text{nmol}/\text{kg}/\text{d}$)。在第 1-4 天，取出迷你泵并替换含有载体的泵。对于身体组成，在药物处理之前和实验结束时在专门的啮齿动物 NMR 机器中 (Echo Medical Systems) 扫描大

鼠,其能够计算脂肪和瘦肉组成的百分比改变(例如,处理后的%身体脂肪-%身体脂肪基准=以%身体脂肪计的改变)。

[0641] 如图 8 和 9 中所示的,在药物处理的过程中,胰淀素显著降低了累积食物摄入和体重(2-14 天; $p < 0.05$ vs. 载体对照)。用只含有载体的泵冲洗阶段的过程中,食物摄入和体重快速恢复至载体对照水平。研究结束时的身体组成的分析揭示尽管相似的体重(在第 28 天),已经用胰淀素处理的动物(1-14 天)仍然比那些没有接受胰淀素的动物具有较低百分比的身体脂肪(图 10A)。此外,用胰淀素处理的动物比那些只接受载体的动物还具有较高比例的瘦身体质量(图 10B)。

[0642] 实施例 7. 胰淀素对食物渴求的作用

[0643] 可以如下研究胰淀素和胰淀素激动剂对食物渴求的作用。使用随机的盲安慰剂对照的研究设计。在研究中登记了大约 180 名肥胖人患者,三分之一随机接受安慰剂,三分之二随机接受胰淀素类似物激动剂,如普兰林肽。研究包括最初一周患者内(in-patient)阶段来评价基准食物摄入、进餐模式、饱腹感/饥饿感、食物享乐、食物渴求、体重、身体组成等。然后研究转向五周患者外(out-patient)阶段,在该时间过程中,体重、身体组成和进食控制的调查问卷可以用于测定各种参数。然后结束研究的活动处理阶段,用 2-3 天的患者内(in-patient)阶段来评价继续食物摄入、进餐模式、饱腹感/饥饿感、食物享乐、食物渴求、暴食、体重、身体组成等。通常,在整个研究中,没有诱导应激条件,且没有进行生活方式和/或饮食改变或束缚。待监控的研究终点可以包括体重、身体组成(例如,腰围、脂肪质量、无脂肪质量)、食物摄入、饥饿/饱腹感、食物渴求、饱腹效率、暴食等。

[0644] 在这样的研究中,令人惊讶地发现,研究患者在通过注射和灌输的整个给药过程中经历了食物渴求的频率和强度的降低。还发现患者报告在通过注射和灌输的整个给药过程中抵抗食物渴求难度以及应答食物渴求的进食频率的降低。研究患者还报告在通过注射和灌输的整个给药过程中渴求咸食的降低,尽管至较低的程度。这些研究结果证明了令人惊讶的发现:胰淀素和胰淀素激动剂改变偏食,特别是对甜食、巧克力和咸食的偏食。

[0645] 实施例 8. 受体结合测试

[0646] 最初,多肽可以用于测试中来测定与胰淀素、降钙素和 CGRP 受体的结合能力。用于测定与胰淀素-受体、降钙素-受体和 CGRP 受体相互作用的结合测试描述于例如 U. S. 专利 No. 5, 264, 372 中,在此将其整体引入作为参考。

[0647] 更详细地,可以如下进行本发明的化合物与胰淀素受体的结合评价。¹²⁵I-大鼠胰淀素(在 N-端赖氨酸标记的 Bolton-Hunte)购自 Amersham Corporation(Arlington Heights, IL)。未标记的肽获自 BACHEM Inc.(Torrance, CA)和 Peninsula Laboratories(Belmont, CA)。

[0648] 通过断头来牺牲雄性 Spargue-Dawley® 大鼠(200-250)克。取出大脑至冷的磷酸盐-缓冲盐水中(PBS)。从腹部表面,从吻骨至下丘脑形成切口,通过嗅束横向结合并从这些束 45 角中间延伸。将该含有伏隔核和周围部分的基础前脑组织称重,并在冰冷的 20mM HEPES 缓冲剂(20mM HEPES 酸,用 23°C NaOH 将 pH 调节至 7.4)中均质。通过在 48000xg 离心 15 分钟将膜在新鲜缓冲剂中洗涤三次。将最终的膜沉淀物重悬浮于含有 0.2mM 苯甲基磺酰氟化物(PMSF)的 20mMHEPES 缓冲剂中。

[0649] 为了测量¹²⁵I-胰淀素结合,用含有 05mg/ml 杆菌肽、05mg/ml 牛血清白蛋白和

0.2mM PMSF 的 20mM HEPES 缓冲剂中的 12-16pM 的 ^{125}I -胰淀素孵育来自 4mg 最初湿重组织的膜。将溶液在 2°C 孵育 60 分钟。通过 GF/B 玻璃纤维滤器过滤 (Whatman Inc., Clifton, N. J.) 来终止孵育, 为了降低放射性标记的肽的非特异性结合, 已经在 0.3% 聚乙撑亚胺中预浸 4 小时。在过滤之前立刻用 5ml 冷的 PBS 洗涤滤器, 过滤后立即用 15ml 冷的 PBS 洗涤滤器。除去滤器并在 77% 计数效率的 γ -计数器中测定放射性。通过测量 10^{-12} 至 10^{-6}M 未标记的测试化合物存在下的结合来产生竞争曲线并使用 4-参数逻辑等式 (Inplot program; GraphP AD Software, San Diego, CA) 通过非线性回归来分析。

[0650] 在该测试中, 纯化的人胰淀素在测量的约 50pM 的 IC_{50} 结合其受体。本发明测试化合物的结果列于表 3 中, 显示出每种化合物具有显著的受体结合活性。

[0651] 本发明的化合物与 CGRP 受体的结合的评价实质上对于胰淀素所述的一样, 除了使用 ^{125}I hCGRP 和从已知表达 CGRP 受体的 SK-N-MC 细胞制得的膜 (Muff 等 (1992) Ann N Y Acad Sci. 657 :106-116)。如对于胰淀素所述的进行结合测试, 除了使用 13,500cpm ^{125}I -hCGRP/孔或 21.7pM/孔。

[0652] 可以使用也表达降钙素受体的 CHO 细胞或 T47D 细胞研究与降钙素受体的结合 (Muff 等 (1992) Ann N Y Acad Sci. 657 :106-116 和 Kuestner 等 (1994) Mol. Pharmacol. 46 : 246-255), 如本领域所知的。

[0653] 表 3. 多肽的 EC_{50} 值 (nM)

[0654]

化合物	胰淀素	降钙素	CGRP
1 (3236)	0.028	0.029	2.342
2 (3235)	0.047	0.052	33.988
3 (3150)	0.023	0.020	0.490
4 (164161)	0.035	0.019	8.500
5 (164163)	0.022	0.018	2.600
6 (1166)	0.030	nt	nt
7 (2749)	0.057	nt	7.540
8 (3318)	8.070	0.478	175.665
9 (164370)	0.043	0.014	1.600

[0655] nt 表示未测试

[0656] 实施例 9 多肽对食物摄入的活性

[0657] 将雌性 NIH/Swiss 小鼠 (8-14 周大) 成组圈养, 用 12 : 12 小时亮 : 暗循环。水和标准丸状小鼠食物饮食随意可获得, 除非标出。在大约 1500hr, 实验前 1 天, 使动物开始禁食。

[0658] 在时间 = 0min, 所有动物以 200uL/ 小鼠的体积给予腹膜内注射载体或多肽并立即给予预先称重含量 (10-15g) 的标准食物。除去食物并在 30、60、120 和 180 分钟称重来测定所消耗的食物含量。处理对食物摄入的效果表示为相对于对照的 % 改变。

[0659] 如图 11 中所示的, 化合物 2, 以 25-300nmol/kg 的剂量, 剂量依赖性地降低注射后 30 分钟的食物摄入。表 4 描述了以 25nmol/kg 的剂量外周给药 (腹膜内注射) 多肽降低的食物摄入。时间点 30、60、120 和 180 分钟的数据表示与载体相比较累积食物摄入的百分比降低。

[0660] 表 4. 累积食物摄入

[0661]

化合物	30min	60min	120min	180min
1(3236)	-58	-46	-33	-22
2(3235)	-58	-54	-52	nt
3(3150)	-58	-52	-37	-33
4(164161)	-42	-31	-35	-30
5(164163)	-66	-53	-29	-27
6(1166)	-48	-45	-23	nt

[0662]

化合物	30min	60min	120min	180min
7(2749)	-60	-52	-23	nt
8(3318)	-6	-15	-25	-28
9(164370)	-80	-64	-43	nt
10(999)	-19	-20	-35	nt
11(164161)	-52	-47	-38	-35
12(164162)	-43	-39	-37	-32
13(164164)	-40	-33	-25	-24
14(164166)	-52	-36	-28	-33
15(164174)	-67	-59	-37	-30
16(164175)	-26	-29	-30	-27

17(164176)	-42	-30	-30	-25
18(164177)	-2	-7	-16	-21
19(167178)	-25	-25	-35	-31
20(164179)	-9	-21	-30	-31
21(164188)	9	-5	-18	-18
22(164189)	-11	-20	-31	-30
23(164190)	8	0	-19	-12
24(164191)	-40	-34	-35	-35
25(164205)	-29	-34	-45	nt
26(164283)	-29	-36	-47	nt
27(164284)	-12	-11	-32	nt
28(164285)	-8	-16	-28	nt
29(164286)	4	-1	-25	nt
30(164287)	-1	-2	-19	nt
31(164289)	-11	-18	-23	nt
32(164289)	-15	-21	-31	nt
33(164290)	-7	-10	-15	nt
34(164291)	-11	-6	-16	nt
35(164307)	-20	-16	-18	nt
36(164308)	-34	-22	-24	-25
37(164309)	-3	-2	-16	nt
38(164331)	-24	-13	-8	nt
39(164346)	7	-14	-23	nt
40(164352)	-11	-5	-2	nt

41(164353)	-4	-9	-12	nt
42(164354)	-11	-18	-32	nt
43(164355)	-4	-7	-18	nt

[0663]

化合物	30min	60min	120min	180min
44(164356)	-6	-13	-25	nt
45(164366)	-13	-7	-3	nt
46(164368)	-6	-11	-16	nt
47(164369)	-5	-13	-27	nt
48(164371)	-54	-51	-36	nt
49(164393)	-33	-26	-25	nt
50(164394)	-70	-62	-48	nt
51(164395)	-44	-39	-35	nt
52(164396)	-29	-24	-23	nt
53(164397)	-92	-89	-36	nt
54(164410)	1	-4	-10	nt
55(164411)	9	-5	-12	nt
56(164412)	4	-13	-16	nt
57(164427)	-18	-24	-23	nt
58(164428)	-62	-51	-29	nt
59(164429)	-81	-77	-50	nt
60(164430)	-43	-40	-26	nt
61(164468)	-23	-27	-32	nt
62(164469)	-14	-22	-38	nt

63(164482)	-19	-22	-28	nt
64(164486)	-65	-58	-44	nt
65(164491)	-33	-29	-32	nt
66(164493)	-13	-15	-28	nt
67(164494)	-10	-11	-12	nt
68(164496)	-10	-13	-21	nt
69(164497)	-29	-31	-45	nt
70(164523)	-76	-64	-47	nt
71(164531)	-7	-13	-22	-18
72(164532)	0	-8	-13	-19
73(164533)	-51	-31	-23	-28
74(164552)	-42	-32	-31	nt
75(164563)	-60	-52	-38	nt
76(164569)	-25	-29	-40	nt
77(164570)	-46	-43	-44	nt
78(164571)	-57	-44	-44	nt
79(164586)	-49	-40	-33	nt
80(164587)	-32	-28	-22	nt

[0664]

化合物	30min	60min	120min	180min
81(164590)	-28	-24	-33	nt
82(164594)	-7	-13	-16	-19
83(164595)	-7	-13	-22	-12
84(164644)	-53	-40	-20	nt

85(164645)	3	-16	-16	nt
86(164646)	-44	-26	-16	nt
87(164647)	-43	-32	-21	nt
88(164648)	-64	-61	-39	-22
89(164666)	-6	-13	-22	-20
90(164671)	-55	-41	-24	-15
91(164689)	-59	-47	-26	-24
92(164690)	-31	-29	-30	-27
93(164698)	-43	-30	-27	-29
94(164704)	-62	-42	-36	-31
95(164705)	-81	-69	-34	-31
96(164706)	-49	-38	-19	-23
97(164713)	-78	-76	-60	-40
98(164721)	-18	-13	-5	-1
99(164726)	-57	-55	-50	nt
100(164727)	-60	-52	-41	nt
101(164728)	-52	-48	-35	nt
102(164731)	-58	-53	-45	nt
103(164739)	-50	-44	-30	nt
104(164772)	-69	-67	-54	nt
105(164773)	-83	-82	-52	nt
106(164774)	-58	-54	-39	nt
107(164776)	-84	-78	-47	nt
108(164777)	-70	-66	-38	nt

109(164778)	-61	-54	-43	nt
110(164779)	-80	-72	-59	nt
111(164780)	-39	-37	-32	nt
112(164781)	-62	-65	-50	nt
113(164792)	-79	-86	-55	nt
114(164793)	-17	-20	-25	nt
115(2604)	6	-3	-25	-25
116(2621)	5	5	3	nt
117(2725)	-13	-11	-3	nt

[0665]

化合物	30min	60min	120min	180min
118(2744)	-4	0	13	nt
119(3234)	6	-8	-11	nt
120(3319)	-3	1	-6	-7
121(3358)	5	2	-1	3
122(3536)	-6	-12	-23	-21
123(3894)	1	-13	-17	-13
124(3909)	4	-4	-15	-16
125(3981)	10	-1	-6	nt
126(4000)	5	-10	-20	nt
127(4027)	-5	-14	-12	-12

[0666] nt = 未进行

[0667] 实施例 10. 本发明的化合物对体重减轻和热量摄入的活性

[0668] 用高脂肪饮食 (58% kcal 来自脂肪) 将单独圈养的雄性 Spargue-Dawley[®] 大鼠 (350g ;12-h 亮 / 暗循环) 饲养 4 周。在养肥阶段结束时, 在麻醉下将 14- 天渗透泵 (Durect Corp.) 在肩胛间植入。大鼠接受连续传送载体 (50% DMSO) 或 2.9nmol/kg/ 天剂量的多肽

的泵。每周获得食物摄入和体重测量。图 12A 和 12B 各自显示出多肽化合物 3、化合物 4 或化合物 5 在整个 14- 天测试阶段中产生热量摄入和体重增加的降低（与各自的载体 - 高脂肪组相比较, *P < 0.05）。表 5 表示 1 和 2 周时对于几种化合物的百分比体重减轻。

[0669] 表 5. 给药本发明的示例化合物后的体重减轻

[0670]

化合物	1 周	2 周
1 (3236)	8.3*	10.5*
2 (3235)	9.8*	9.4*
3 (3150)	5.9*	6.7*
4 (164161)	6.8*	9.2*
5 (164163)	8.6*	11.3*
6 (1166)	2.9*	3.8*
7 (2749)	10.0*	11.4*
8 (3318)	2.3	2.5
9 (164370)	4.9*	4.9*

[0671] *P < 0.05, 与对照相比较

[0672] 实施例 11. 身体组成

[0673] 用高脂肪饮食 (58% kcal 来自脂肪) 将单独圈养的雄性 Spargue-Dawley ® 大鼠 (420g ;12-h 亮 / 暗循环) 饲养 4 周。在养肥阶段结束时, 在麻醉下将 14- 天渗透泵 (Durect Corp.) 在肩胛间植入。大鼠接受连续传送载体 (50% DMSO) 或 70nmol/kg/ 天剂量的化合物 1 的泵。在第 12 天将动物牺牲。将尸体立即冷冻并通过化学分析 (Covance Laboratories, Madison, WI) 测量身体组成 (脂肪和蛋白质)。图 13 显示, 作为总身体质量的百分比, 用化合物 1 处理的大鼠中, 与对照相比较, 脂肪含量降低。此外, 化合物 1 提高了瘦肉质量的百分比。

[0674] 实施例 12. 胃排空和离子钙

[0675] 通过测量管饲滴定葡萄糖血浆中的现象来监控胃排空。患者是有意识的雄性 Spargue-Dawley ® 大鼠 (7-9 周大, 12 : 12h 亮 : 暗循环), 随意进食和饮水直至实验开始。在给药前, 移去食物和水。在 t = -5min, 皮下给药肽或载体 (200 µl 盐水)。在 t = 0min, 通过口咽管给予 1ml 含有 5 µCi D-[3-3H] 葡萄糖 (Dupont, Wilmington, DE) 的无菌水溶液。在 t = 20min, 对尾尖实行局部麻醉 (Hurricane ®, 20% 苯坐卡因液体)。在 t = 40min, 用解剖刀将尾尖结扎并将 ~ 250 µl 血液至肝素化试管中。然后使用 Ciba/Coring 634Ca/pH 分析仪 (Ciba/Coring, Inc., Medfield, MA) 立即测试血浆的离子化钙。将 10 µl 血浆样品

移至预备的闪烁瓶中 (0.5ml 水 +2ml 闪烁混合物 (Ecolite scintillation cocktail IICN, Costa Mesa, CA)), 涡旋和在 β -计数器 (1209 Rack-beta; LKB-Wallac, Caithersbrug, MD) 对 1 分钟 / 小瓶计数。

[0676] 在图 14A 中, 点表示 6 只大鼠 (喂养, 有意识的) 的平均 \pm sd。在 $t = 0$ 皮下注射所示剂量的肽。35 分钟后收集血液用于 cpm 分析。* 所有点 $p < 0.001$ vs. 盐水对照; ANOVA, Dunnet's 测试。从非线性回归看: ED50 = 2.3 μ g/kg。底部 = 25cpm/10 μ l; 顶端 = 328cpm/10 μ l。血浆 cpm 的最大降低: -92%。适合度: $r^2 = 0.9992$ 。

[0677] 在图 14B 中, 点表示 6 只大鼠 (喂养的, 有意识的) 的平均 \pm sd。在 $t = 0$ 皮下注射所示剂量的肽。35 分钟后收集血液用于 cpm 分析。* $p < 0.001$ vs. 盐水对照; ANOVA, Dunnet's 测试。从非线性回归看: ED50 = 1.1 μ g/kg。底部 = 1.2cpm/10 μ l; 顶端 = 1.3cpm/10 μ l。血浆 iCa 的最大降低: -14%。适合度: $r^2 = 0.9936$ 。

[0678] 实施例 13. 联合治疗: 胰淀素 + 西布茶明

[0679] 从 Charles Rivers Labs 获得近交 D10 倾向大鼠。这些大鼠产自食用相对高脂肪和能量的饮食时倾向变成肥胖的 Cr1:CD[®] (SD)BR 大鼠系 (Levin, 1997)。将大鼠单独圈养在鞋盒笼里, 22°C, 12/12- 小时亮暗循环。在药物处理之前用中等高脂肪饮食 (32% kcal 来自脂肪; Research Diets D1226B) 将大鼠随意饲养 6 周。在养肥阶段结束时, 它们通常具有平均体重 500g。然后将大鼠分成几个处理组并植入两个皮下迷你泵 (Durect Corp)。一个泵含有载体 (水中 50% DMSO) 或胰淀素 (100 μ g/kg/ 天), 而另一个泵含有无菌水或西布茶明 (3mg/kg/ 天)。

[0680] 如图 15 中所示的, 观察到用胰淀素单独或西布茶明单独的体重大约改变 5% (载体校正的), 而胰淀素和西布茶明的组合产生大约 12% 的体重改变 (载体校正的)。用胰淀素单独或西布茶明单独处理的脂肪质量减轻也是明显的, 胰淀素和两者结合给药时获得协同效果 (图 16A)。胰淀素单独给药时, 瘦肉 (蛋白质) 质量增加, 同时西布茶明单独给药或结合胰淀素给药时 (图 16B), 瘦肉 (蛋白质) 质量相对未改变。

[0681] 实施例 14. 联合治疗: 胰淀素 + CB-1 拮抗剂

[0682] 将 D10 倾向大鼠 (从 Charles Rivers Labs 获得) 单独圈养在鞋盒笼里, 22°C, 12/12- 小时亮暗循环。在药物处理之前用中等高脂肪饮食 (32% kcal 来自脂肪; Research Diets D1226B) 随意饲养大鼠 6 周。在养肥阶段结束时, 它们通常具有 500g 的平均体重。然后将大鼠分成几个处理组, 植入一个皮下迷你泵 (Durect Corp) 并插入口服管饲。迷你泵含有载体 (水中 50% DMSO) 或胰淀素 (100 μ g/kg/ 天), 而口服管饲给药无菌水或各种剂量的 CB-1 拮抗剂 (0.1、0.3、1.0、3.0、10.0mg/kg/ 天)。2 周后的体重改变描绘于图 17 中, 且这些组合中的两种 (环状) 在更详细的图 18A 和 18B 中高亮显示。

[0683] 尽管之前的描述公开了本发明, 以及为说明的目的提供的实施例, 可以理解本发明的实践包括在所要求的发明范围内的所有常规变化、改进或修饰。因此, 描述和实施例不应当认为是限制本发明的范围。

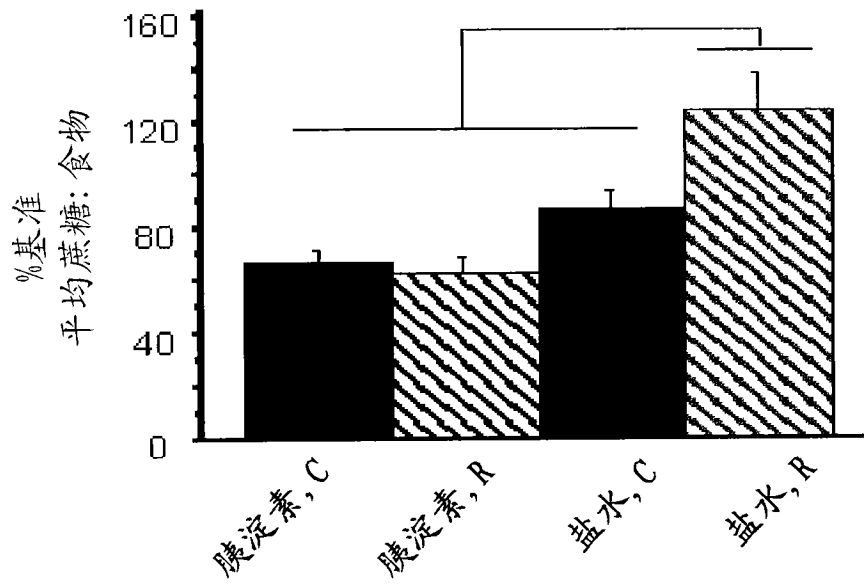


图 1A

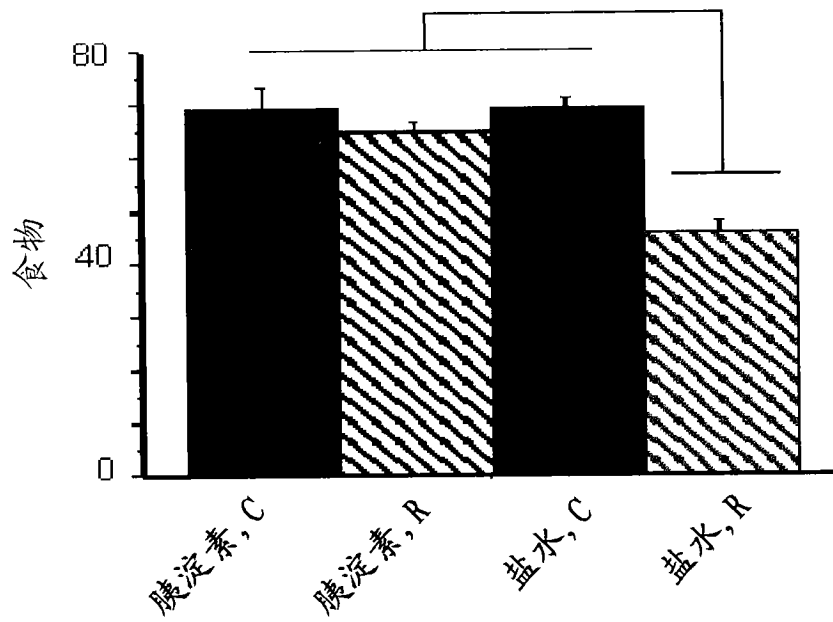


图 1B

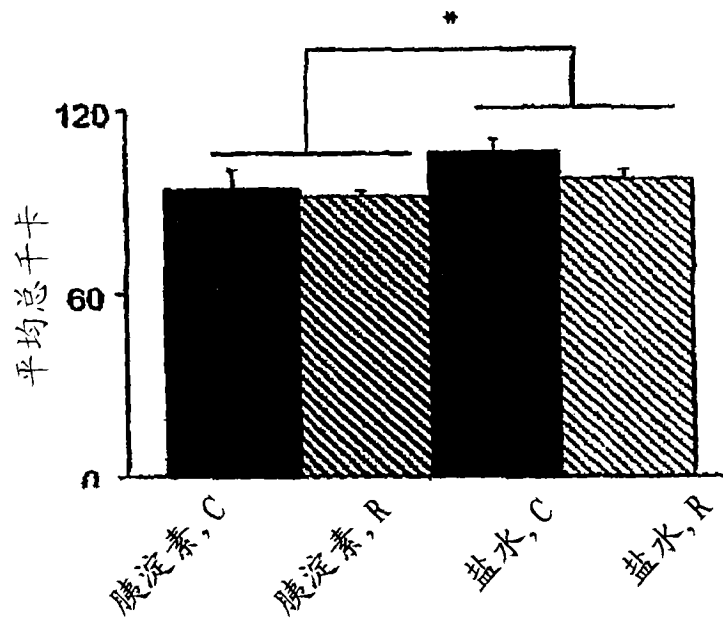


图 1C

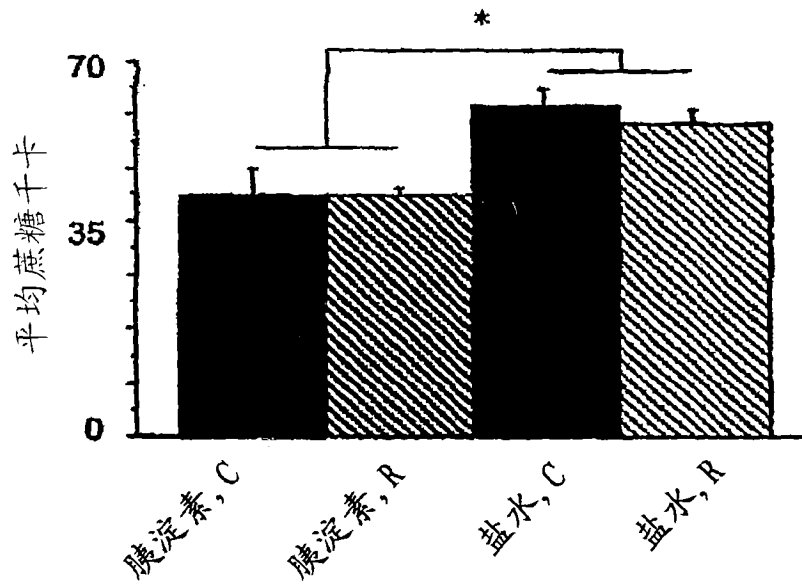


图 1D

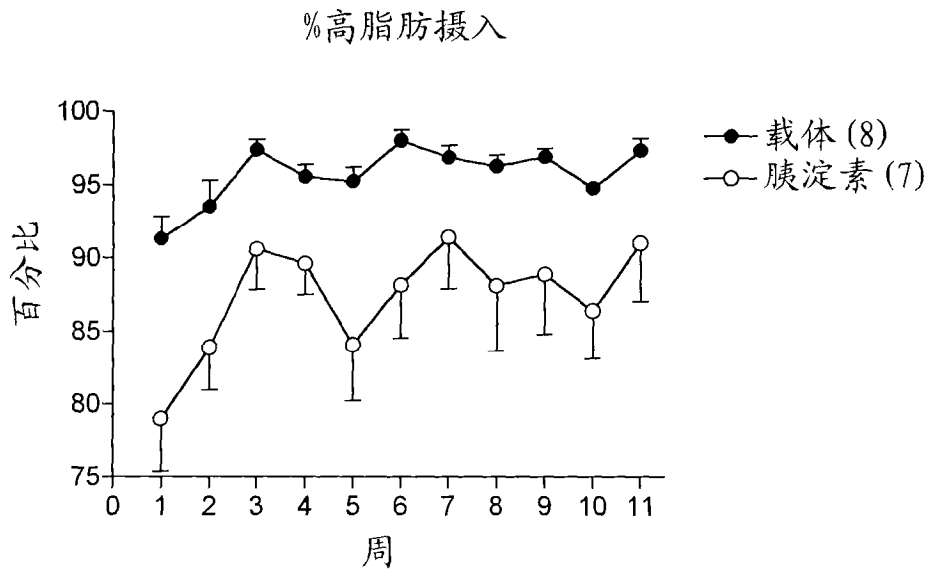


图 2

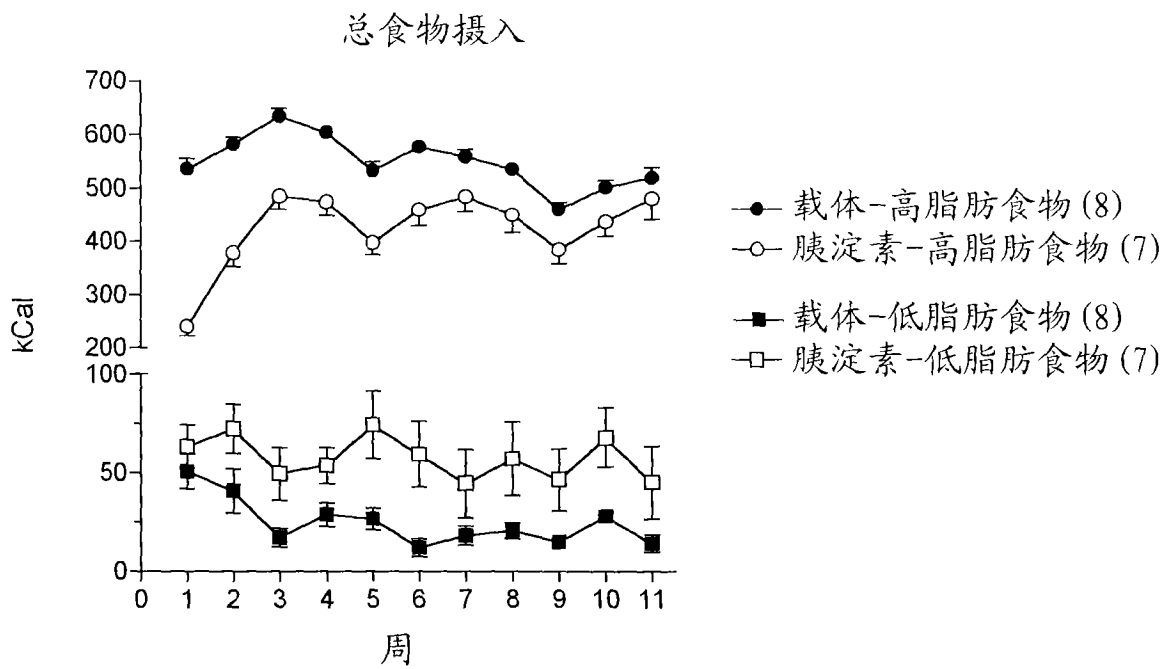


图 3

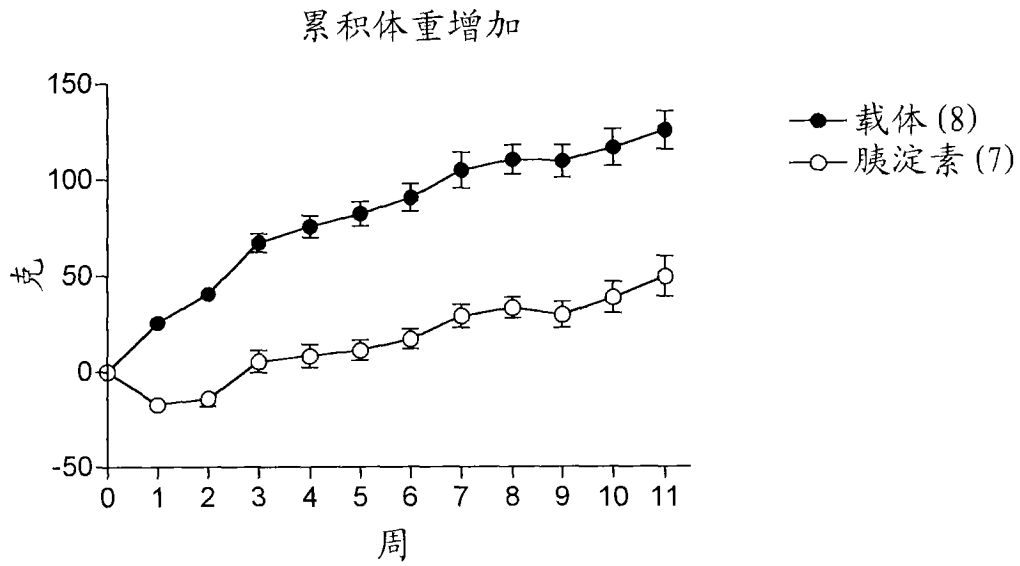


图 4

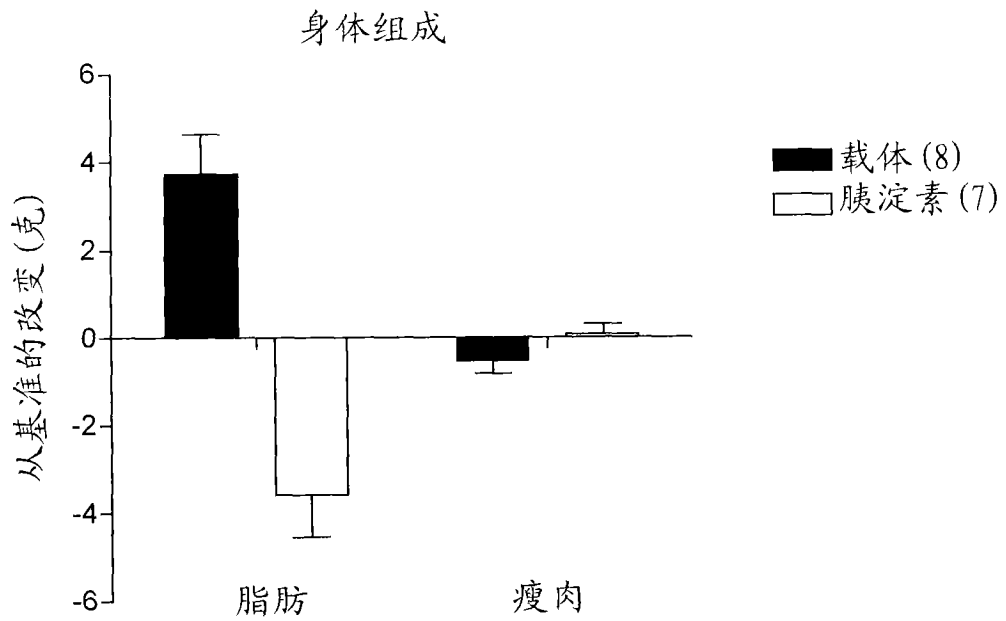


图 5

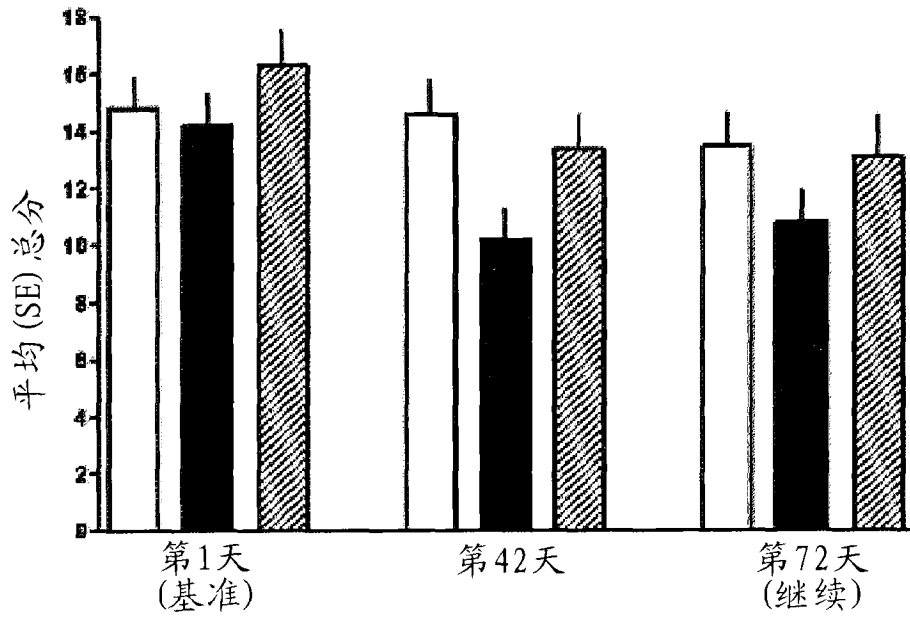


图 6

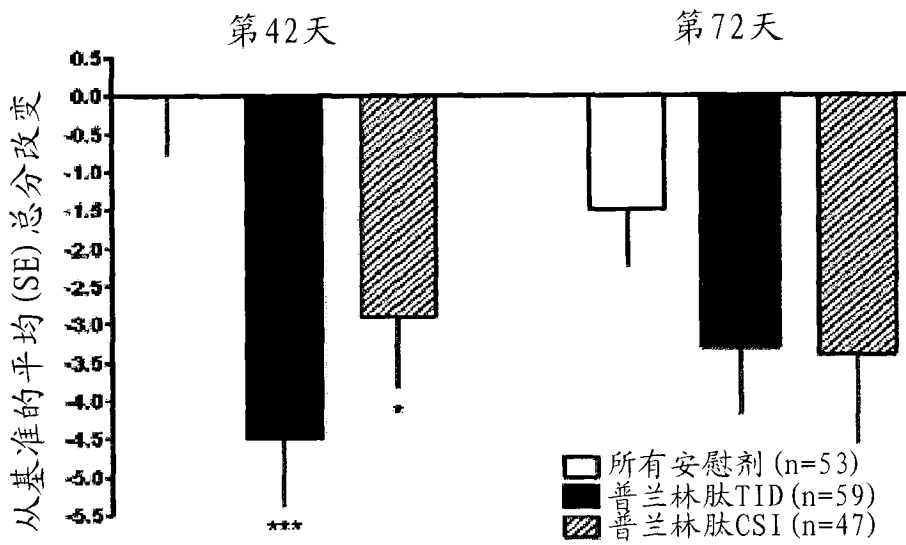


图 7

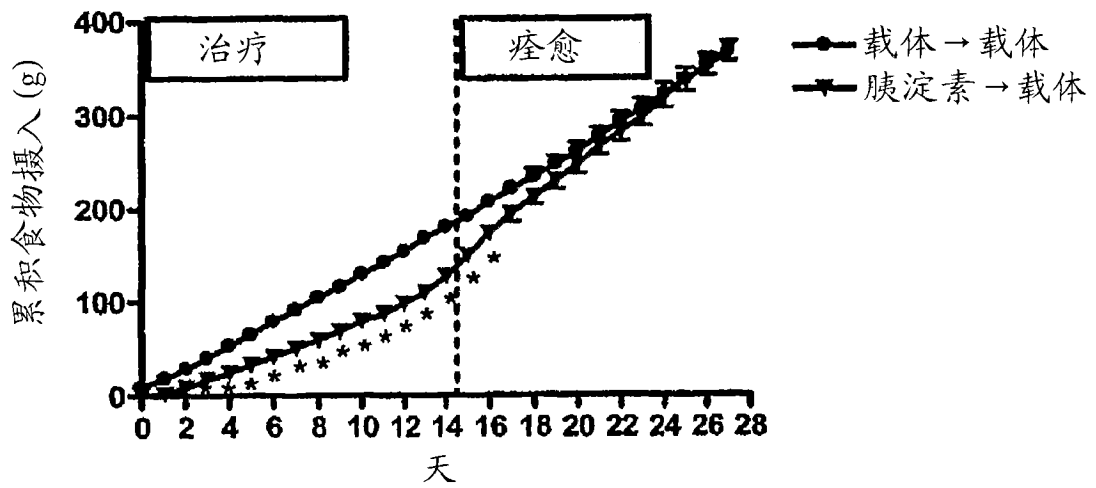


图 8

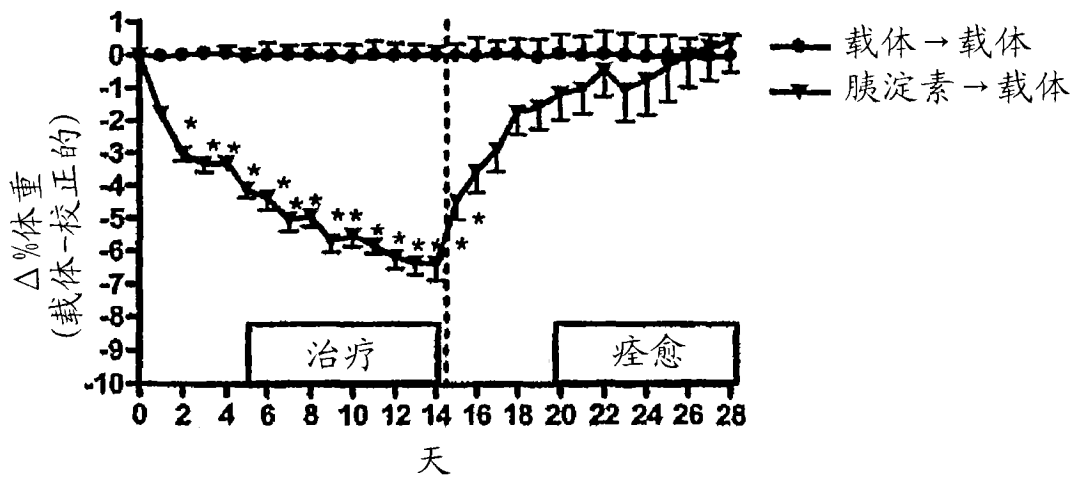


图 9

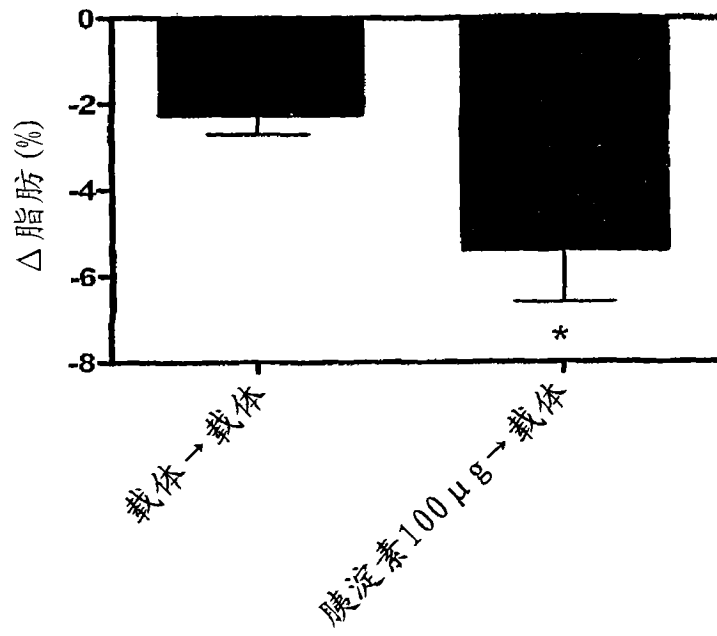


图 10A

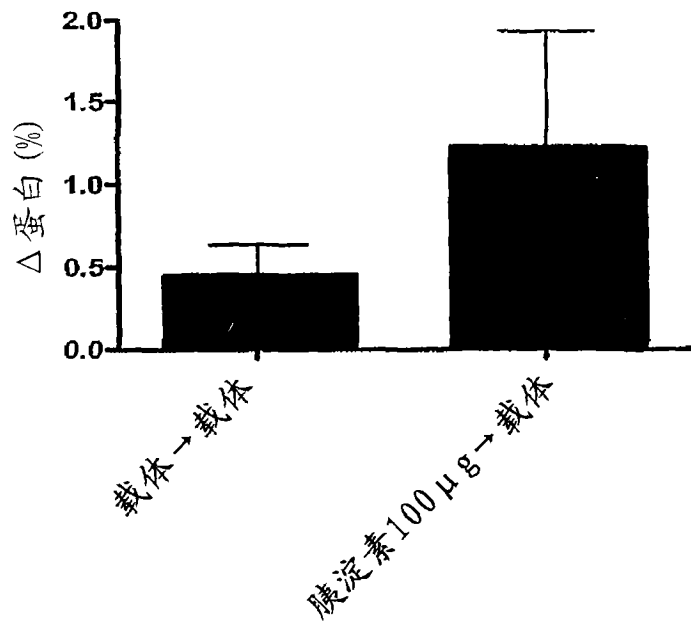


图 10B

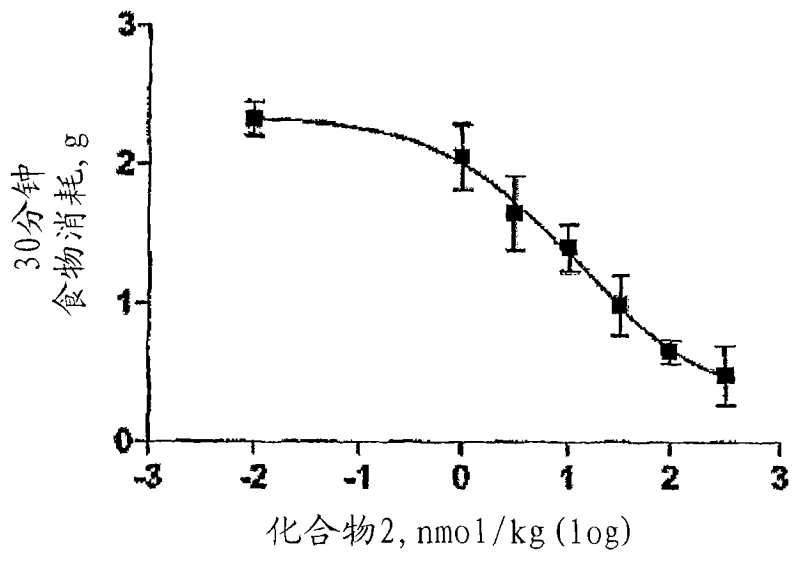


图 11

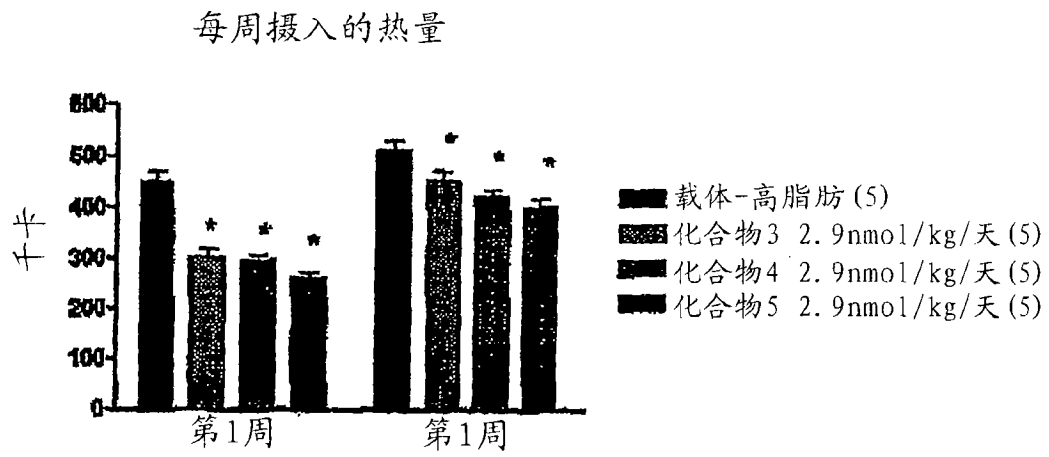


图 12A

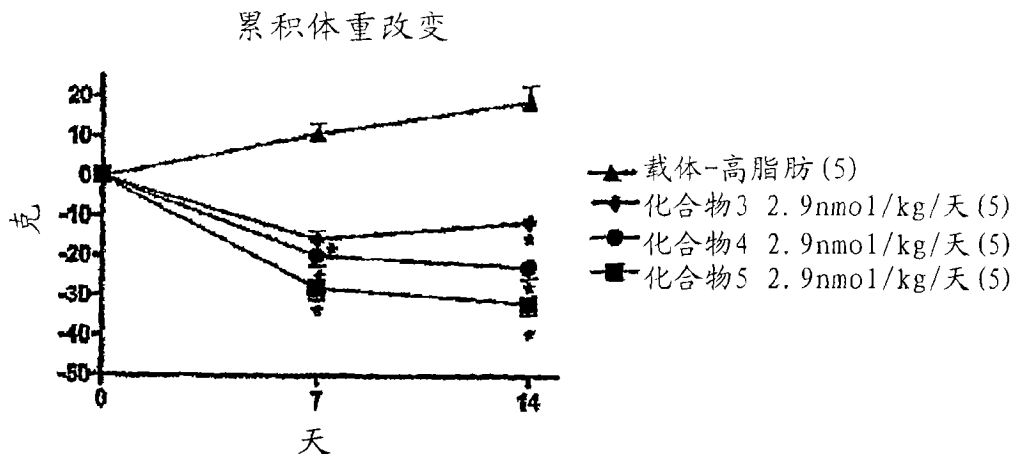


图 12B

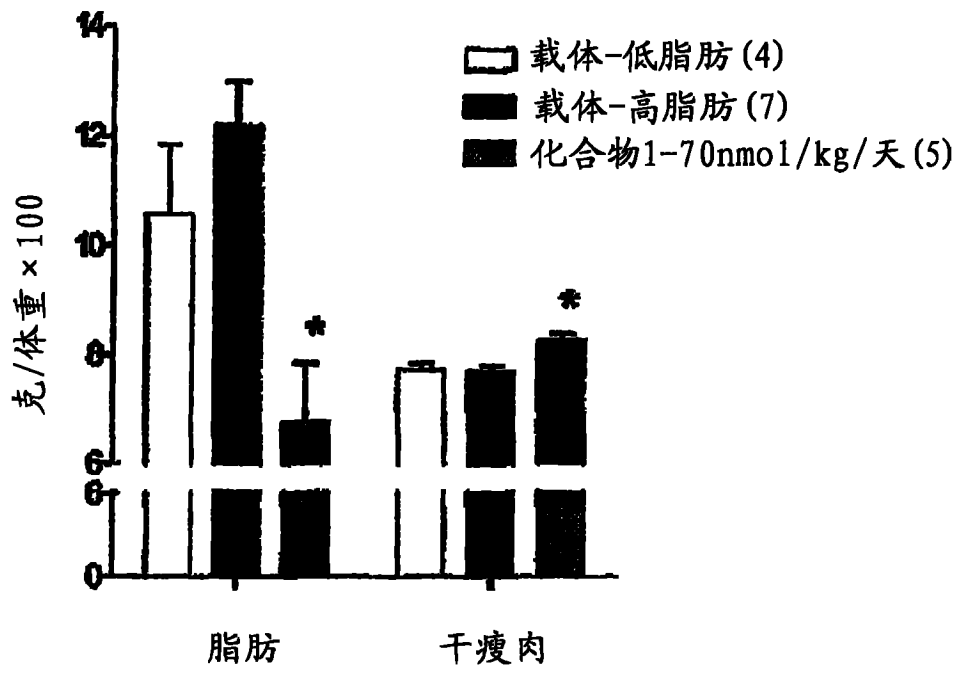


图 13

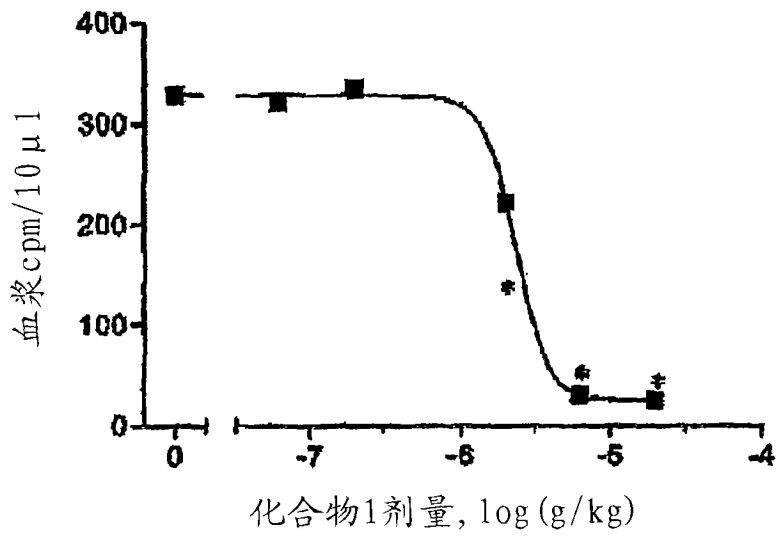


图 14A

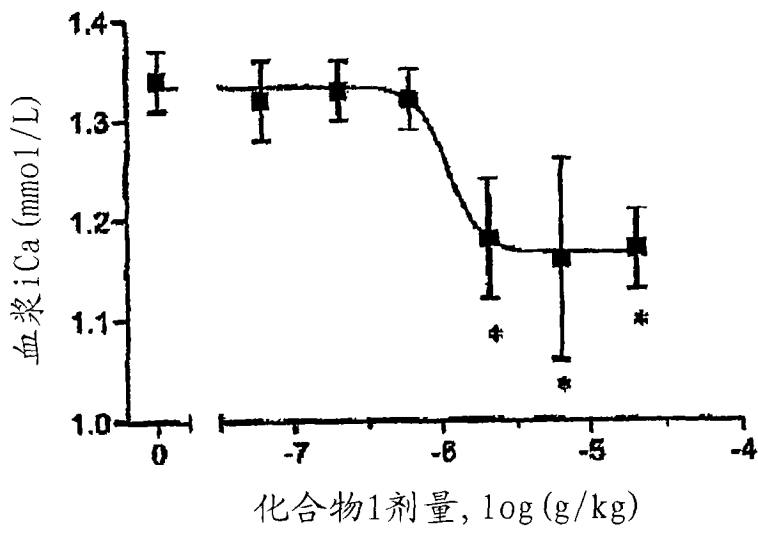


图 14B

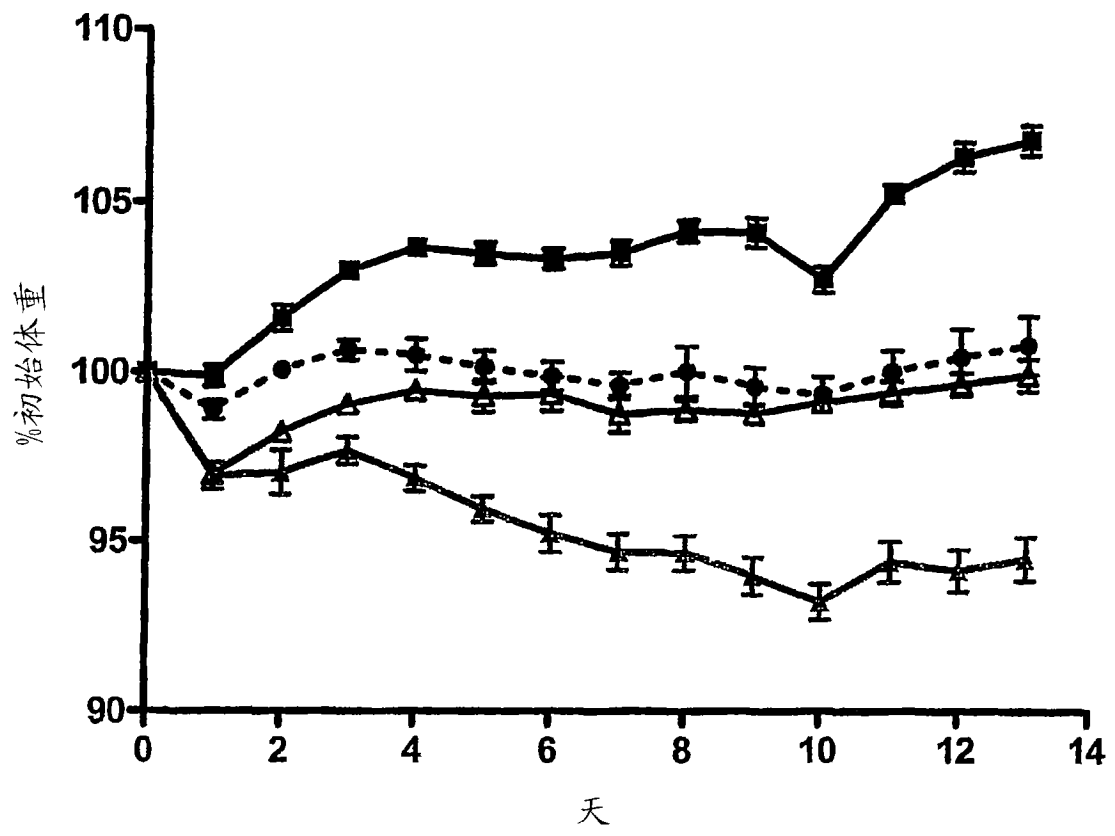


图 15

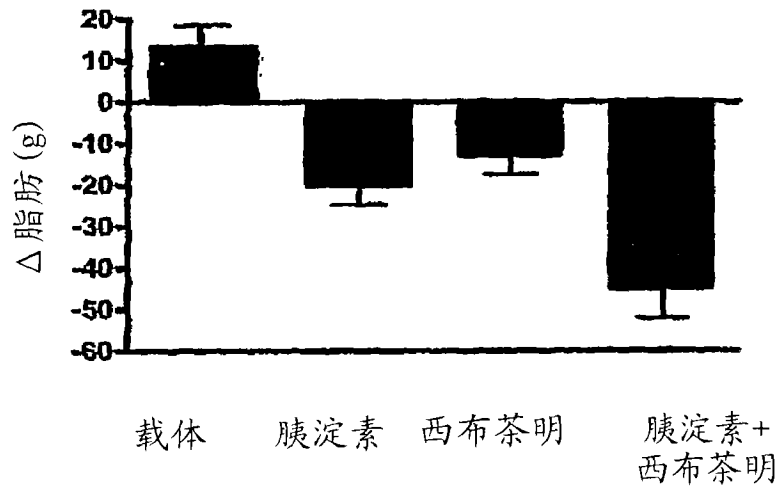


图 16A

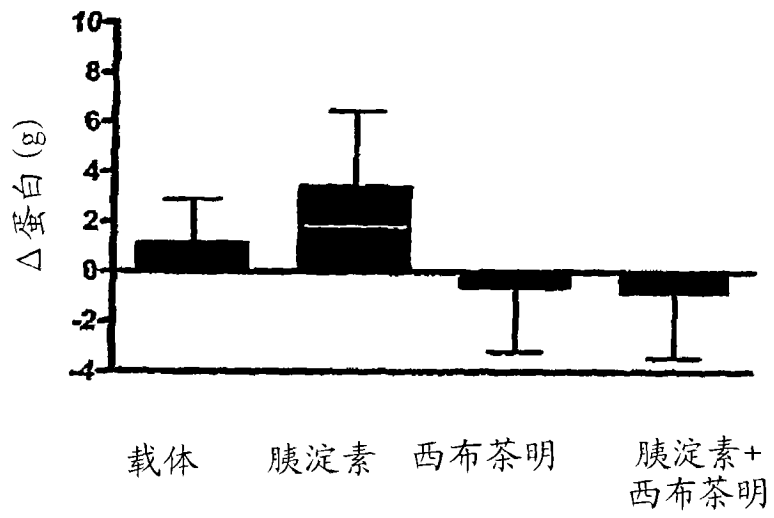


图 16B

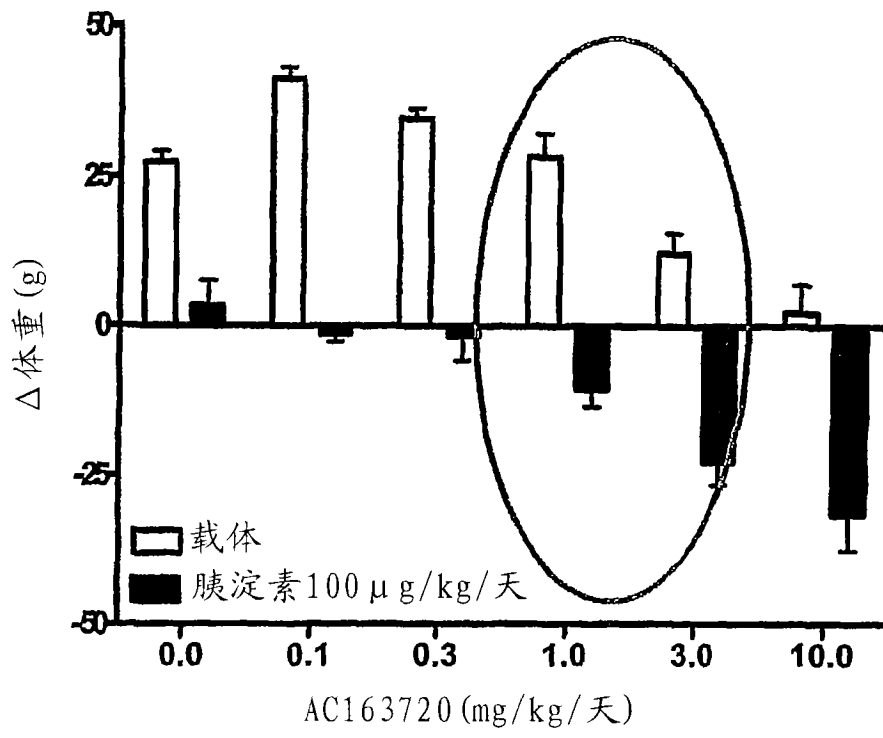


图 17

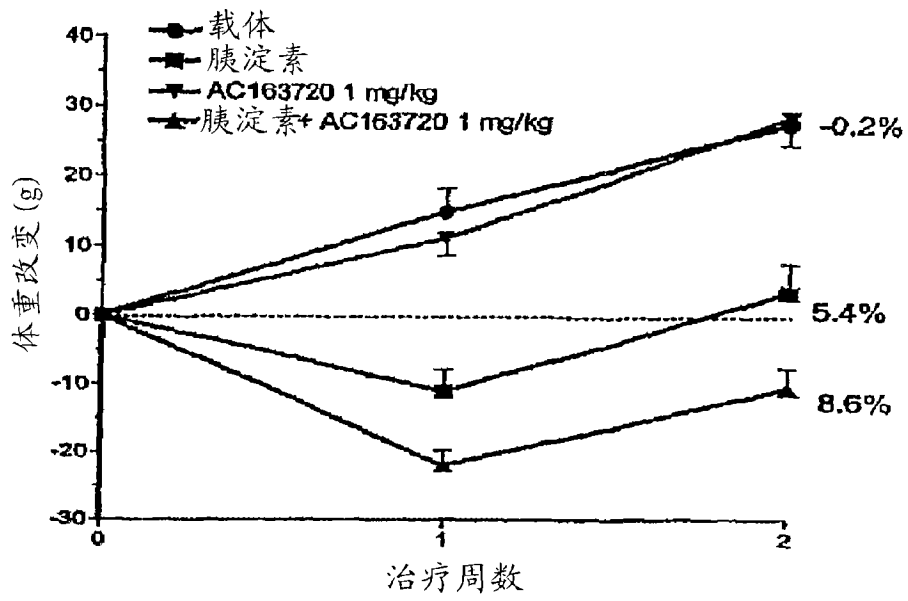


图 18A

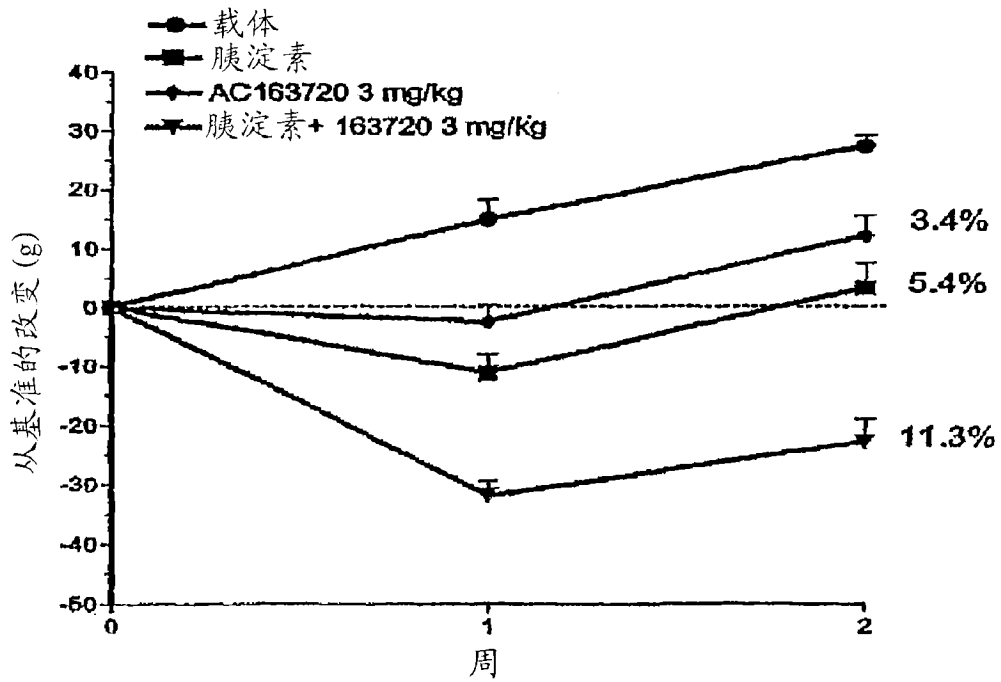


图 18B