



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103547591 A

(43) 申请公布日 2014. 01. 29

(21) 申请号 201280024235. 3

(22) 申请日 2012. 04. 17

(30) 优先权数据

61/477, 775 2011. 04. 21 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013. 11. 19

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/CA2012/050242 2012. 04. 17

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/142706 EN 2012. 10. 26

(71) 申请人 瑟瑞技术公司

地址 加拿大魁北克省

(72) 发明人 K·G·佩里 A·哈比

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 陈迎春 黄革生

(51) Int. Cl.

C07K 14/60 (2006. 01)

A61K 38/25 (2006. 01)

权利要求书5页 说明书34页

序列表34页

(54) 发明名称

生长激素释放因子 (GRF) 类似物及其用途

(57) 摘要

本文描述了缺失赖氨酸-21、亮氨酸-22 以及亮氨酸-23 的生长激素释放因子 (GRF) 类似物。这些类似物保留 GRF 活性。还描述了所述类似物例如作为 GRF 受体激动剂例如以诱导受试者或生物系统中的生长激素分泌的用途。

1. 一种生长激素释放因子 (GRF) 类似物, 其包含式 (I) 的域 (SEQ ID NO:1) :

X1-X2-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-X8-X9-Tyr-X11-X12-X13-Leu-X15-Gln-Leu-X18-X19-Arg-Gln-X22-X23-X24-X25-X26-X27-X28-X29-X30-X31-X32-X33 (I)

其中:

X1 是 Tyr 或 His;

X2 是 Ala、D-Ala、Ser、Leu、 α -氨基异丁酸 (Aib)、Val 或 Gly;

X8 是 Asn、Asp、Ala、Gln、Ser 或 Aib;

X9 是 Ser、Asp 或 Ala;

X11 是 Arg 或 L- 高精氨酸 (HoArg);

X12 是 Lys、L- 鸟氨酸 (Orn) 或 HoArg;

X13 是 Val 或 Ile;

X15 是 Gly 或 Ala;

X18 是 Lys、L- 鸟氨酸、L-2, 4- 二氨基丁酸、L-2, 3- 二氨基丙酸、或 Ser;

X19 是 Ala 或 Leu

X22 是 Asp 或 Glu;

X23 是 Ile 或 Leu;

X24 是 Met、Ile、Nle 或 Leu;

X25 是 Ser、Asn、Aib 或 Ala;

X26 是 Arg、D-Arg、HoArg 或 Lys;

X27 是 Ala 或不存在;

X28 是 Ala 或不存在;

X29 是 Arg 或不存在;

X30 是 Ala 或不存在;

X31 是 Ala 或不存在;

X32 是 Arg 或不存在;

X33 是 L- 高丝氨酸 (HoSer) 或不存在;

并且其中如果 X18 是 Ser, 那么 X27 至 X32 或 X27 至 X33 存在, 或其药学上可接受的盐。

2. 如权利要求 1 所述的 GRF 类似物, 其中 X1 是 Tyr。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的 GRF 类似物, 其中 X2 是 Ala 或 D-Ala。

4. 如权利要求 1 至 3 中任一项所述的 GRF 类似物, 其中 X8 是 Ala 或 Asp。

5. 如权利要求 4 所述的 GRF 类似物, 其中 X8 是 Asp。

6. 如权利要求 1 至 5 中任一项所述的 GRF 类似物, 其中 X9 是 Ser。

7. 如权利要求 1 至 6 中任一项所述的 GRF 类似物, 其中 X11 是 Arg。

8. 如权利要求 1 至 7 中任一项所述的 GRF 类似物, 其中 X12 是 Lys 或 HoArg。

9. 如权利要求 8 所述的 GRF 类似物, 其中 X12 是 Lys。

10. 如权利要求 1 至 9 中任一项所述的 GRF 类似物, 其中 X15 是 Ala。

11. 如权利要求 1 至 10 中任一项所述的 GRF 类似物, 其中 X18 是 Orn 或 Lys。

12. 如权利要求 11 所述的 GRF 类似物, 其中 X18 是 Lys。

13. 如权利要求 1 至 12 中任一项所述的 GRF 类似物, 其中 X22 是 Asp。

14. 如权利要求 1 至 13 中任一项所述的 GRF 类似物,其中 X23 是 Ile。
15. 如权利要求 1 至 14 中任一项所述的 GRF 类似物,其中 X24 是 Leu。
16. 如权利要求 1 至 15 中任一项所述的 GRF 类似物,其中 X25 是 Ala 或 Ser。
17. 如权利要求 16 所述的 GRF 类似物,其中 X25 是 Ala。
18. 如权利要求 1 至 17 中任一项所述的 GRF 类似物,其中 X26 是 Arg 或 D-Arg。
19. 如权利要求 18 所述的 GRF 类似物,其中 X26 是 Arg。
20. 如权利要求 1 至 19 中任一项所述的 GRF 类似物,其中 X27 是 Ala。
21. 如权利要求 1 至 20 中任一项所述的 GRF 类似物,其中 X28 是 Ala。
22. 如权利要求 1 至 21 中任一项所述的 GRF 类似物,其中 X29 是 Arg。
23. 如权利要求 1 至 22 中任一项所述的 GRF 类似物,其中 X30 是 Ala。
24. 如权利要求 1 至 23 中任一项所述的 GRF 类似物,其中 X31 是 Ala。
25. 如权利要求 1 至 24 中任一项所述的 GRF 类似物,其中 X32 是 Arg。
26. 如权利要求 1 至 25 中任一项所述的 GRF 类似物,其中 X33 是 HoSer。
27. 如权利要求 1 至 19 中任一项所述的 GRF 类似物,其中 X27 至 X33 中的至少一个不存在。
28. 如权利要求 27 所述的 GRF 类似物,其中 X27 至 X33 不存在。
29. 如权利要求 1 所述的 GRF 类似物,其中所述域是:
Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R(SEQ ID NO:2) ;
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r(SEQ ID NO:3) ;
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-aib-R(SEQ ID NO:4) ;
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r(SEQ ID NO:5) ;
Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r(SEQ ID NO:6) ;
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-S-r(SEQ ID NO:7) ;
Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(SEQ ID NO:8) ;
Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(SEQ ID NO:9) ;
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(SEQ ID NO:10) ;
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(SEQ ID NO:11) ;
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R(SEQ ID NO:12) ;
Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(SEQ ID NO:13) ;
Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R(SEQ ID NO:14) ;
Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(SEQ ID NO:15) ;
Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(SEQ ID

NO:16) ;

Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID

NO:17) ;

Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer (SEQ

ID NO:18) ;

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer (SEQ

ID NO:19) ;

其中 a=D-Ala, O=L- 鸟氨酸, Aib= α - 氨基异丁酸, HoSer=L- 高丝氨酸并且 r=D-Arg。

30. 如权利要求 1 至 28 中任一项所述的 GRF 类似物,其进一步包含 (i) 氨基末端修饰基团 ;(ii) 羧基末端修饰基团 ;或 (iii) (i) 和 (ii)。

31. 如权利要求 30 所述的 GRF 类似物,其中所述氨基末端修饰基团是直链的或支链的饱和 C_1-C_6 酰基或不饱和 C_3-C_6 酰基。

32. 如权利要求 31 所述的 GRF 类似物,其中所述氨基末端修饰基团是乙酰基 (Ac)。

33. 如权利要求 30 所述的 GRF 类似物,其中所述氨基末端修饰基团是反式 -3- 己烯酰基。

34. 如权利要求 30 至 33 中任一项所述的 GRF 类似物,其中所述羧基末端修饰基团是 NH_2 。

35. 如权利要求 1 所述的 GRF 类似物,其中所述 GRF 类似物是 :反式 -3- 己烯酰基

-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R- NH_2 (SEQ ID NO:20) ;

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r- NH_2 (SEQ ID NO:21) ;

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-aib-R- NH_2 (SEQ ID NO:22) ;

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r- NH_2 (SEQ ID NO:23) ;

反式 -3- 己烯酰基

-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r- NH_2 (SEQ ID NO:24) ;

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-S-r- NH_2 (SEQ ID NO:25) ;

反式 -3- 己烯酰基

-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R- NH_2 (SEQ ID NO:26) ;

反式 -3- 己烯酰基

-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R- NH_2 (SEQ ID NO:27) ;

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R- NH_2 (SEQ ID NO:28) ;

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R- NH_2 (SEQ ID NO:29) ;

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R- NH_2 (SEQ ID NO:30) ;

反式 -3- 己烯酰基

-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R- NH_2 (SEQ

ID NO:31) ;

反式 -3- 己烯酰基

-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:32) ;

Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:33) ;

Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:34) ;

Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:35) ;

Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH₂ (SEQ ID NO:36) ;或

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH₂ (SEQ ID NO:37) ;

其中 a=D-Ala, O=L- 鸟氨酸, Aib=α - 氨基异丁酸, HoSer=L- 高丝氨酸并且 r=D-Arg。

36. 如权利要求 35 所述的 GRF 类似物, 其中所述 GRF 类似物是 Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:28)。

37. 如权利要求 35 所述的 GRF 类似物, 其中所述 GRF 类似物是 Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:29)。

38. 如权利要求 35 所述的 GRF 类似物, 其中所述 GRF 类似物是 Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:30)。

39. 如权利要求 35 所述的 GRF 类似物, 其中所述 GRF 类似物是反式 -3- 己烯酰基
-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:31)。

40. 如权利要求 35 所述的 GRF 类似物, 其中所述 GRF 类似物是

反式 -3- 己烯酰基

-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:32)。

41. 一种药物组合物, 其包含如权利要求 1 至 40 中任一项所述的 GRF 类似物。

42. 如权利要求 41 所述的药物组合物, 其进一步包含一种或多种药学上可接受的载体、赋形剂和 / 或稀释剂。

43. 一种用于诱导有需要的受试者中的生长激素分泌的方法, 所述方法包括对所述受试者施用有效量的如权利要求 1 至 40 中任一项所述的 GRF 类似物或如权利要求 41 或 42 所述的药物组合物。

44. 如权利要求 43 所述的方法, 其中所述 GRF 类似物是以约 0.1mg 至约 20mg 的日剂量施用。

45. 如权利要求 43 或 44 所述的方法, 其中所述 GRF 类似物通过静脉内、口服、经皮、皮下、经粘膜、肌内、鼻内、肺内、肠胃外、直肠内或局部施用。

46. 如权利要求 45 所述的方法, 其中所述 GRF 类似物通过皮下施用。

47. 如权利要求 45 所述的方法,其中所述 GRF 类似物通过鼻内施用。

48. 如权利要求 45 所述的方法,其中所述 GRF 类似物通过经皮施用。

49. 如权利要求 1 至 40 中任一项所述的 GRF 类似物或如权利要求 41 或 42 所述的药物组合物的用途,其用于诱导受试者中的生长激素分泌。

50. 如权利要求 1 至 40 中任一项所述的 GRF 类似物或如权利要求 41 或 42 所述的药物组合物的用途,其用于制备用以诱导受试者中的生长激素分泌的药剂。

51. 如权利要求 49 或 50 所述的用途,其中所述 GRF 类似物是用于以约 0.1mg 至约 20mg 的日剂量施用。

52. 如权利要求 49 至 51 中任一项所述的用途,其中所述 GRF 类似物是用于静脉内、口服、经皮、皮下、经粘膜、肌内、鼻内、肺内、肠胃外、直肠内或局部施用。

53. 如权利要求 52 所述的用途,其中所述 GRF 类似物是用于皮下施用。

54. 如权利要求 52 所述的用途,其中所述 GRF 类似物是用于鼻内施用。

55. 如权利要求 52 所述的用途,其中所述 GRF 类似物是用于经皮施用。

56. 如权利要求 1 至 40 中任一项所述的 GRF 类似物或如权利要求 41 或 42 所述的药物组合物,其用于制备用以诱导受试者中的生长激素分泌的药剂。

57. 如权利要求 1 至 40 中任一项所述的 GRF 类似物或如权利要求 41 或 42 所述的药物组合物,其用于诱导受试者中的生长激素分泌。

58. 如权利要求 56 或 57 所述的 GRF 类似物,其中所述 GRF 类似物是用于以约 0.1mg 至约 20mg 的日剂量施用。

59. 如权利要求 56 至 58 中任一项所述的 GRF 类似物,其中所述 GRF 类似物是用于静脉内、口服、经皮、皮下、经粘膜、肌内、鼻内、肺内、肠胃外、直肠内或局部施用。

60. 如权利要求 59 所述的 GRF 类似物,其中所述 GRF 类似物是用于皮下施用。

61. 如权利要求 59 所述的 GRF 类似物,其中所述 GRF 类似物是用于鼻内施用。

62. 如权利要求 59 所述的 GRF 类似物,其中所述 GRF 类似物是用于经皮施用。

63. 如权利要求 1 至 40 中任一项所述的 GRF 类似物或如权利要求 41 或 42 所述的药物组合物的用途,其用作药剂。

64. 如权利要求 1 至 40 中任一项所述的 GRF 类似物或如权利要求 41 或 42 所述的药物组合物,其用作药剂。

生长激素释放因子 (GRF) 类似物及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于 2011 年 4 月 21 日提交的美国临时申请序列号 61/477,775 的权益, 所述申请以全文引用的方式并入本文。

技术领域

[0003] 本发明总体上涉及生长激素释放因子 (GRF) 受体的激动剂及其用途。具体地说, 本发明涉及 GRF 类似物及其用途。

背景技术

[0004] 生长激素 (GH) 在哺乳动物的垂体前叶腺的生长激素细胞中产生并且在整个生命中都分泌。生长激素主要由以下两种下丘脑肽在脑中进行控制: GRF, 其刺激生长激素的分泌和合成; 和生长素抑制素, 其抑制生长激素的分泌和合成。多种周围因子调节 GH 分泌。其中, 胰岛素样生长因子 1 (IGF-1) 代表重要的一种, 因为它是由肝响应于 GH 而产生并且作用于下丘脑以便对 GH 分泌施加负反馈。

[0005] 在人和动物中所证实的 GH 分泌随着年龄而减少有利于朝着分解代谢进行代谢转换, 所述分解代谢引发或参与生物体的老化。在老年人中所观察到的肌肉质量的损失、脂肪组织的累积、骨质脱钙、以及在损伤之后组织再生能力的损失与 GH 分泌的减少相关联。

[0006] GH 因此是在儿童的线性生长中所涉及的并且控制成人蛋白质代谢的生理合成代谢剂。

[0007] GRF (还被称为 GH 释放激素或 GHRH) 是由下丘脑分泌的 44 个氨基酸的肽, 所述 GRF 调节来自垂体前叶的生长激素细胞的 GH 的表达、合成以及释放 (Frohman LA 等, Endocrine Reviews 1986, 7:223-253)。由人 GRF 的前 29 个氨基酸组成的肽 (hGRF₍₁₋₂₉₎; 舍莫瑞林 (sermorelin)) 保留全长肽的生物活性 (Lance, V. A. 等, Biochemical and Biophysical Research Communications 1984, 119:265-272) 并且已经在临床上用于治疗儿童 GH 缺乏症 (Thorner, M. 等, Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1996, 81:1189-1196)。最近, 已经评估了 GRF 逆转生长激素细胞 GH-胰岛素样生长因子 (IGF)-I 轴的功能中年龄相关的衰退的潜力 (Khorram, O. 等, Clinical Obstetrics and Gynecology 2001, 44:893-901)。

[0008] hGRF₍₁₋₂₉₎ 的药物制剂已经可供用于临床使用 (**Geref®**, Laboratoires Serono S. A.)。然而, 它的药理学价值受它的短的半衰期 (在静脉注射后大约 12 分钟) 限制, 所述短的半衰期主要是由于它对快速酶降解的敏感性 (Frohman, L. A. 等, Journal of Clinical Investigation 1986, 78:906-913)。

[0009] 因此需要研发表现出对 GRF 受体或 GHRH 受体 (GHRHr) 的激动剂特性的新型的 GRF 类似物。

[0010] 本说明书参考多个文献, 所述文献的内容以全文引用的方式并入本文。

[0011] 发明概述

[0012] 本发明涉及 GRF 类似物及其用途。

[0013] 第一方面,本发明提供一种生长激素释放因子 (GRF) 类似物,其包含式 (I) 的域 (SEQ ID NO:1) :

[0014] X1-X2-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-X8-X9-Tyr-X11-X12-X13-Leu-X15-Gln-Leu-X18-X19-Arg-Gln-X22-X23-X24-X25-X26-X27-X28-X29-X30-X31-X32-X33 (I)

[0015] 其中:

[0016] X1 是 Tyr 或 His;

[0017] X2 是 Ala、D-Ala、Ser、Leu、 α -氨基异丁酸 (Aib)、Val 或 Gly;

[0018] X8 是 Asn、Asp、Ala、Gln、Ser 或 Aib;

[0019] X9 是 Ser、Asp 或 Ala;

[0020] X11 是 Arg 或 L- 高精氨酸;

[0021] X12 是 Lys、L- 鸟氨酸或 L- 高精氨酸;

[0022] X13 是 Val 或 Ile;

[0023] X15 是 Gly 或 Ala;

[0024] X18 是 Lys、L- 鸟氨酸、L-2, 4- 二氨基丁酸、L-2, 3- 二氨基丙酸或 Ser;

[0025] X19 是 Ala 或 Leu;

[0026] X22 是 Asp 或 Glu;

[0027] X23 是 Ile 或 Leu;

[0028] X24 是 Met、Ile、Nle 或 Leu;

[0029] X25 是 Ser、Asn、Aib 或 Ala;

[0030] X26 是 Arg、D-Arg、L- 高精氨酸或 Lys;

[0031] X27 是 Ala 或不存在;

[0032] X28 是 Ala 或不存在;

[0033] X29 是 Arg 或不存在;

[0034] X30 是 Ala 或不存在;

[0035] X31 是 Ala 或不存在;

[0036] X32 是 Arg 或不存在;

[0037] X33 是 HoSer 或不存在;

[0038] 并且其中如果 X18 是 Ser,那么 X27 至 X32 或 X27 至 X33 存在,

[0039] 或其药学上可接受的盐。

[0040] 在一个实施方案中,X1 是 Tyr。

[0041] 在一个实施方案中,X2 是 Ala 或 D-Ala。

[0042] 在一个实施方案中,X8 是 Ala 或 Asp,在另一个实施方案中是 Asp。

[0043] 在一个实施方案中,X9 是 Ser。

[0044] 在一个实施方案中,X11 是 Arg。

[0045] 在一个实施方案中,X12 是 Lys 或 L- 高精氨酸,在另一个实施方案中是 Lys。

[0046] 在一个实施方案中,X15 是 Ala。

[0047] 在一个实施方案中,X18 是 L- 鸟氨酸或 Lys,在另一个实施方案中是 Lys。

[0048] 在一个实施方案中,X22 是 Asp。

- [0049] 在一个实施方案中, X23 是 Ile。
- [0050] 在一个实施方案中, X24 是 Leu。
- [0051] 在一个实施方案中, X25 是 Ala 或 Ser, 在另一个实施方案中是 Ala。
- [0052] 在一个实施方案中, X26 是 Arg 或 D-Arg, 在另一个实施方案中是 Arg。
- [0053] 在一个实施方案中, X27 是 Ala。
- [0054] 在一个实施方案中, X28 是 Ala。
- [0055] 在一个实施方案中, X29 是 Arg。
- [0056] 在一个实施方案中, X30 是 Ala。
- [0057] 在一个实施方案中, X31 是 Ala。
- [0058] 在一个实施方案中, X32 是 Arg。
- [0059] 在一个实施方案中, X33 是 HoSer。
- [0060] 在另一个实施方案中, X27 至 X33 中的至少一个不存在。在另一个实施方案中, X27 至 X33 不存在。
- [0061] 在一个实施方案中, 上述域是:
- [0062] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R (SEQ ID NO:2);
- [0063] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r (SEQ ID NO:3);
- [0064] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-aib-R (SEQ ID NO:4);
- [0065] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r (SEQ ID NO:5);
- [0066] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r (SEQ ID NO:6);
- [0067] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-S-r (SEQ ID NO:7);
- [0068] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:8);
- [0069] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:9);
- [0070] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:10);
- [0071] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:11);
- [0072] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:12);
- [0073] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:13);
- [0074] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:14);
- [0075] Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:15);
- [0076] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:16);
- [0077] Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ

ID NO:17) ;

[0078] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer (SEQ ID NO:18) ;

[0079] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer (SEQ ID NO:19) ;

[0080] 其中 a=D-Ala, O=L- 鸟氨酸, Aib= α - 氨基异丁酸, HoSer=L- 高丝氨酸并且 r=D-Arg。

[0081] 在一个实施方案中,上述 GRF 类似物进一步包含 (i) 氨基末端修饰基团 ;(ii) 羧基末端修饰基团 ;或 (iii) (i) 和 (ii)。

[0082] 在另一个实施方案中,上述氨基末端修饰基团是直链的或支链的饱和 C_1 - C_6 酰基或不饱和 C_3 - C_6 酰基。在又一个实施方案中,上述氨基末端修饰基团是乙酰基 (Ac)。在另一个实施方案中,上述氨基末端修饰基团是反式 -3- 己烯酰基。

[0083] 在另一个实施方案中,上述羧基末端修饰基团是 NH_2 。

[0084] 在实施方案中,上述 GRF 类似物是 :

[0085] 反式 -3- 己烯酰基

[0086] -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R- NH_2 (SEQ ID NO:20) ;

[0087] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r- NH_2 (SEQ ID NO:21) ;

[0088] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-aib-R- NH_2 (SEQ ID NO:22) ;

[0089] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r- NH_2 (SEQ ID NO:23) ;

[0090] 反式 -3- 己烯酰基

[0091] -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r- NH_2 (SEQ ID NO:24) ;

[0092] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-S-r- NH_2 (SEQ ID NO:25) ;

[0093] 反式 -3- 己烯酰基

[0094] -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R- NH_2 (SEQ ID NO:26) ;

[0095] 反式 -3- 己烯酰基

[0096] -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R- NH_2 (SEQ ID NO:27) ;

[0097] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R- NH_2 (SEQ ID NO:28) ;

[0098] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R- NH_2 (SEQ ID NO:29) ;

[0099] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R- NH_2 (S

EQ ID NO:30) ;

[0100] 反式-3-己烯酰基

[0101] -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:31) ;

[0102] 反式-3-己烯酰基

[0103] -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:32) ;

[0104] Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:33) ;

[0105] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:34) ;

[0106] Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:35) ;

[0107] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH₂ (SEQ ID NO:36) ;或

[0108] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH₂ (SEQ ID NO:37) ;

[0109] 其中 a=D-Ala, O=L- 鸟氨酸, Aib=α-氨基异丁酸, 并且 r=D-Arg。

[0110] 在另一个实施方案中, 上述 GRF 类似物是

[0111] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:28)。

[0112] 在另一其它实施方案中, 上述 GRF 类似物是

[0113] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:29)。

[0114] 在另一其它实施方案中, 上述 GRF 类似物是

[0115] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:30)。

[0116] 在另一其它实施方案中, 上述 GRF 类似物是反式-3-己烯酰基-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:31)。

[0117] 在另一其它实施方案中, 上述 GRF 类似物是反式-3-己烯酰基-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:32)。

[0118] 另一方面, 本发明提供一种包含上述 GRF 类似物的药物组合物。

[0119] 在一个实施方案中, 上述药物组合物进一步包含一种或多种药学上可接受的载体、赋形剂和 / 或稀释剂。

[0120] 一方面, 本发明提供一种用于诱导有需要的受试者中的生长激素分泌的方法, 所述方法包括对所述受试者施用有效量的上述 GRF 类似物或药物组合物。

[0121] 另一方面, 本发明提供上述 GRF 类似物或药物组合物用于诱导受试者中的生长激素分泌的用途。

[0122] 另一方面, 本发明提供上述 GRF 类似物或药物组合物用于制备用以诱导受试者中

的生长激素分泌的药剂的用途。

[0123] 另一方面,本发明提供上述 GRF 类似物或药物组合物,其用于制备用以诱导受试者中的生长激素分泌的药剂。

[0124] 另一方面,本发明提供上述 GRF 类似物或药物组合物,其用于诱导受试者中的生长激素分泌。

[0125] 另一方面,本发明提供上述 GRF 类似物或药物组合物作为药剂的用途。

[0126] 另一方面,本发明提供上述 GRF 类似物或药物组合物,其用作药剂。

[0127] 在一个实施方案中,上述 GRF 类似物以约 0.1mg 至约 20mg 的日剂量施用或被适配来施用。

[0128] 在实施方案中,上述 GRF 类似物是通过静脉内、口服、经皮、皮下、经粘膜、肌内、鼻内、肺内、肠胃外、直肠内或局部,在其它实施方案中经皮或皮下施用或被适配来施用。

[0129] 本发明的其它目的、优点以及特征将在阅读其具体实施方案的以下非限制性描述时变得更明显。

[0130] 发明的公开内容

[0131] 本发明人已经发现了表现出对表达 GHRHr 的细胞的激动活性并且诱导动物模型中的 GH 分泌的新型的 GRF 类似物。

[0132] 天然人 GRF 是具有以下结构的 44 个氨基酸的肽:

[0133] Tyr-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Asn-Ser-Tyr-Arg-Lys-Val-Leu-Gly-Gln-Leu-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-Gln-Asp-Ile-Met-Ser-Arg-Gln-Gln-Gly-Glu-Ser-Asn-Gln-Glu-Arg-Gly-Ala-Arg-Ala-Arg-Leu (SEQ ID NO:38)。

[0134] 被称为 GRF₍₁₋₂₉₎ 的 GRF₍₁₋₄₄₎ 的 29 个氨基酸 N 末端片段已经显示表现出与 GRF₍₁₋₄₄₎ 类似的生物活性和效力。GRF₍₁₋₂₉₎ 具有以下序列:

[0135] Tyr-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Asn-Ser-Tyr-Arg-Lys-Val-Leu-Gly-Gln-Leu-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-Gln-Asp-Ile-Met-Ser-Arg (SEQ ID NO:39)。

[0136] GRF₍₁₋₂₉₎ 与 GRF₍₁₋₄₄₎ 之间的中间体形式(在长度上)也具有 GRF 活性,所述中间体形式即,具有 GRF₍₁₋₂₉₎ 的序列,在所述序列的 C 末端添加 1 至 14 个氨基酸,所述氨基酸对应于天然的人 GRF 的残基 30 至 43(或其它残基)。此外,已知在天然序列中具有一个或多个氨基酸取代的某些 GRF 变体具有 GRF 活性。

[0137] 本发明的 GRF 类似物是 GRF 的变体及其活性片段和/或其变体,其包含在对应于天然人 GRF₍₁₋₄₄₎ 的残基 21 至 23(以上所描绘的序列中加下划线的 Lys-Leu-Leu)的位置处的 3 个氨基酸残基缺失、其 N 末端片段 GRF₍₁₋₂₉₎、或以上所指出的中间体形式。本发明的 GRF 类似物可以进一步包含对应于位置 18(在以上所描绘的序列中的斜体字)的丝氨酸的改变,优选用 Lys、L- 鸟氨酸、L-2,4- 二氨基丁酸或 L-2,3- 二氨基丙酸取代天然人 GRF₍₁₋₄₄₎、其 N 末端片段 GRF₍₁₋₂₉₎、或以上所指出的中间体形式。这些 GRF 类似物表现出对表达 GHRHr 的细胞的激动活性,并且诱导动物模型中的 GH 分泌。

[0138] 术语“GRF 类似物”、“GRF 受体激动剂”、“GRF 肽”、“GRF 肽化合物”或“肽化合物”在本文可互换使用以指对表达 GHRHr 的细胞表现激动活性并且诱导动物模型中的 GH 分泌的本发明化合物,这些会在以下进一步详细地描述。

[0139] 术语“GRF”(生长激素释放因子)和“GHRH”(生长激素释放激素)在本文可互换

使用。类似地,术语“GRF 受体”、“GRFr”、“GHRH 受体”以及“GHRHr”在本文可互换使用。

[0140] 本发明提供一种生长激素释放因子 (GRF) 类似物,其包含式 (I) 的域 (SEQ ID NO:1) :

[0141] X1-X2-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-X8-X9-Tyr-X11-X12-X13-Leu-X15-Gln-Leu-X18-X19-Arg-Gln-X22-X23-X24-X25-X26-X27-X28-X29-X30-X31-X32-X33 (I)

[0142] 其中:

[0143] X1 是 Tyr 或 His;

[0144] X2 是 Ala、D-Ala、Ser、Leu、 α -氨基异丁酸 (Aib)、Val 或 Gly;

[0145] X8 是 Asn、Asp、Ala、Gln、Ser 或 Aib;

[0146] X9 是 Ser、Asp 或 Ala;

[0147] X11 是 Arg 或 L- 高精氨酸;

[0148] X12 是 Lys、L- 鸟氨酸或 L- 高精氨酸;

[0149] X13 是 Val 或 Ile;

[0150] X15 是 Gly 或 Ala;

[0151] X18 是 Lys、L- 鸟氨酸、L-2, 4- 二氨基丁酸、L-2, 3- 二氨基丙酸或 Ser;

[0152] X19 是 Ala 或 Leu

[0153] X22 是 Asp 或 Glu;

[0154] X23 是 Ile 或 Leu;

[0155] X24 是 Met、Ile、Nle 或 Leu;

[0156] X25 是 Ser、Asn、Aib 或 Ala;

[0157] X26 是 Arg、D-Arg、L- 高精氨酸或 Lys;

[0158] X27 是 Ala 或不存在;

[0159] X28 是 Ala 或不存在;

[0160] X29 是 Arg 或不存在;

[0161] X30 是 Ala 或不存在;

[0162] X31 是 Ala 或不存在;

[0163] X32 是 Arg 或不存在;

[0164] X33 是 HoSer 或不存在;

[0165] 并且其中如果 X18 是 Ser,那么 X27 至 X32 或 X27 至 X33 存在,或其药学上可接受的盐。

[0166] 本发明进一步提供一种生长激素释放因子 (GRF) 类似物,其包含式 (II) 的域 (SEQ ID NO:40) :

[0167] X1-X2-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-X8-X9-Tyr-X11-X12-X13-Leu-X15-Gln-Leu-X18-X19-Arg-Gln-X22-X23-X24-X25-X26-X27-X28-X29-X30-X31-X32-X33 (II)

[0168] 其中:

[0169] X1 是任何氨基酸,在一个实施方案中是 Tyr 或 His,在另一个实施方案中是 Tyr;

[0170] X2 是任何氨基酸,在一个实施方案中是 Ala、D-Ala、Ser、Leu、 α -氨基异丁酸 (Aib)、Val 或 Gly,在另一个实施方案中是 Ala 或 D-Ala;

[0171] X8 是任何氨基酸,在一个实施方案中是 Asn、Asp、Ala、Gln、Ser 或 Aib,在另一个

实施方案中是 Ala 或 Asp, 在另一个实施方案中是 Asp ;

[0172] X9 是任何氨基酸, 在一个实施方案中是 Ser、Asp 或 Ala, 在另一个实施方案中是 Ser ;

[0173] X11 是任何氨基酸, 在一个实施方案中是 Arg 或 L- 高精氨酸, 在另一个实施方案中是 Arg ;

[0174] X12 是任何氨基酸, 在一个实施方案中是 Lys、L- 鸟氨酸或 L- 高精氨酸, 在另一个实施方案中是 Lys 或 L- 高精氨酸, 在又一个实施方案中是 Lys ;

[0175] X13 是任何氨基酸, 在一个实施方案中是 Val 或 Ala, 在另一个实施方案中是 Val ;

[0176] X15 是任何氨基酸, 在一个实施方案中是 Gly 或 Ala, 在另一个实施方案中是 Ala ;

[0177] X18 是任何氨基酸, 在一个实施方案中是 Lys、L- 鸟氨酸、L-2, 4- 二氨基丁酸或 L-2, 3- 二氨基丙酸, 在另一个实施方案中是 Lys 或 L- 鸟氨酸, 在又一个实施方案中是 Lys ;

[0178] X19 是 Ala 或 Leu ;

[0179] X22 是任何氨基酸, 在一个实施方案中是 Asp 或 Glu, 在另一个实施方案中是 Asp ;

[0180] X23 是任何氨基酸, 在一个实施方案中是 Ile 或 Leu, 在另一个实施方案中是 Ile ;

[0181] X24 是任何氨基酸, 在一个实施方案中是 Met、Ile、Nle 或 Leu, 在另一个实施方案中是 Met 或 Leu, 在另一个实施方案中是 Leu ;

[0182] X25 是任何氨基酸, 在一个实施方案中是 Ser、Asn、Aib 或 Ala, 在另一个实施方案中是 Ala 或 Ser, 在又一个实施方案中是 Ala ;

[0183] X26 是任何氨基酸, 在一个实施方案中是 Arg、D-Arg、L- 高精氨酸或 Lys, 在另一个实施方案中是 Arg 或 D-Arg, 在又一个实施方案中是 Arg ;

[0184] X27 是任何氨基酸, 在一个实施方案中是 Ala, 或不存在 ;

[0185] X28 是任何氨基酸, 在一个实施方案中是 Ala, 或不存在 ;

[0186] X29 是任何氨基酸, 在一个实施方案中是 Arg, 或不存在 ;

[0187] X30 是任何氨基酸, 在一个实施方案中是 Ala, 或不存在 ;

[0188] X31 是任何氨基酸, 在一个实施方案中是 Ala 或不存在 ;

[0189] X32 是任何氨基酸, 在一个实施方案中是 Arg, 或不存在 ; 以及

[0190] X33 是任何氨基酸, 在一个实施方案中是 HoSer, 或不存在 ;

[0191] 并且其中如果 X18 是 Ser, 那么 X27 至 X32 或 X27 至 X33 存在, 或其药学上可接受的盐。

[0192] 如本文所用的术语“氨基酸”包括在肽化学法中用以制备肽的合成类似物的天然存在的氨基酸以及其它氨基酸 (例如, 天然存在的氨基酸、非天然存在的氨基酸、不是由核酸序列编码的氨基酸, 等) 的 L- 异构体和 D- 异构体。天然存在的氨基酸的实例是甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丝氨酸、苏氨酸, 等。

[0193] 其它氨基酸包括例如氨基酸的遗传编码的形式, 以及 L- 氨基酸的保守性取代。天然存在的遗传编码的氨基酸包括例如 β - 丙氨酸、3- 氨基 - 丙氨酸、2, 3- 二氨基丙氨酸、 α - 氨基异丁酸 (Aib)、4- 氨基 - 丁氨酸、N- 甲基甘氨酸 (肌氨酸)、羟基脯氨酸、鸟氨酸 (例如, L- 鸟氨酸)、瓜氨酸、叔丁基丙氨酸、叔丁基甘氨酸、N- 甲基异亮氨酸、苯基甘氨酸、环己基丙氨酸、正亮氨酸 (Nle)、正缬氨酸、2- 萘基丙氨酸、吡啶基丙氨酸、3- 苯并噻吩基丙氨酸、4- 氯苯基丙氨酸、2- 氟苯基丙氨酸、3- 氟苯基丙氨酸、4- 氟苯基丙氨酸、青霉胺、

1, 2, 3, 4- 四氢 - 异喹啉 -3- 甲酸、 β -2- 噻吩基丙氨酸、蛋氨酸亚砷、L- 高精氨酸 (Hoarg)、N- 乙酰基赖氨酸、2- 氨基丁酸、2- 氨基丁酸、2, 4- 二氨基丁酸 (D- 或 L-)、对氨基苯基甘氨酸、N- 甲基缬氨酸、高半胱氨酸、高丝氨酸 (HoSer)、半胱氨酸、 ϵ - 氨基己酸、 δ - 氨基戊酸、或 2, 3- 二氨基丁酸 (D- 或 L-)、等。这些氨基酸是生物化学 / 肽化学领域中熟知的。

[0194] 在实施方案中, 本发明的域或 GRF 类似物包括相对于上述域或 GRF 类似物具有含有功能上等效的氨基酸残基的取代的改变序列的多肽。例如, 所述序列内的一个或多个氨基酸残基可以被用作功能等效物的具有类似极性 (具有类似的物理化学特性) 的另一个氨基酸取代, 从而导致沉默改变。用于所述序列内的氨基酸的取代可以选自所述氨基酸所属的类的其它成员。例如, 带正电荷的 (碱性) 氨基酸包括精氨酸、赖氨酸以及组氨酸 (以及高精氨酸和鸟氨酸)。非极性 (疏水性) 氨基酸包括亮氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、脯氨酸、色氨酸以及蛋氨酸。不带电荷的极性氨基酸包括丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、天冬酰胺以及谷氨酰胺。带负电荷的 (酸性) 氨基酸包括谷氨酸和天冬氨酸。氨基酸甘氨酸可以包括于非极性氨基酸家族抑或不带电荷的 (中性) 极性氨基酸家族。氨基酸家族内所进行的取代通常被认为是保守性取代。

[0195] 上述域或 GRF 类似物可以包含所有 L- 氨基酸、所有 D- 氨基酸或 L- 氨基酸和 D- 氨基酸的混合物。在一个实施方案中, 上述域或 GRF 类似物包含至少一个 D- 氨基酸 (例如, 1、2、3、4、5 或更多个 D- 氨基酸)。在一个实施方案中, 上述域或 GRF 类似物包含至少一个 D-Ala 和 / 或 D-Arg 残基。在一个实施方案中, 所述至少一个 D- 氨基酸位于所述域或 GRF 类似物的 N 末端和 / 或 C 末端部分中 (例如, 在最后 2 或 3 个 N 末端和 / 或 C 末端残基内)。一个或多个 D- 氨基酸的存在通常产生由于对蛋白酶 / 肽酶裂解的敏感性降低而稳定性 (例如, 在体内) 提高但保留生物活性的肽。

[0196] 在实施方案中, 上述 GRF 类似物是呈盐, 例如药学上可接受的盐的形式。如本文所用, 术语“药学上可接受的盐”是指保留母体化合物的生物活性并且不在生物学上或其它方面不合意的化合物的盐。所述盐可以在所述类似物的最终分离和纯化期间原位制备或可以通过使游离碱官能团与适合的酸反应来单独地制备。由于存在氨基和 / 或羧基或与其类似的基团, 因此本文所公开的许多 GRF 类似物能够形成酸盐和 / 或碱盐。

[0197] 药学上可接受的酸加成盐可以从无机酸和有机酸制备。代表性酸加成盐包括但不限于乙酸盐、己二酸盐、海藻酸盐、柠檬酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、癸酸盐、二葡萄糖酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、富马酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2- 羟基乙磺酸盐 (异硫代硫酸盐)、乳酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、烟酸盐、2- 萘磺酸盐、辛酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3- 苯丙酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、丁二酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、磷酸盐、谷氨酸盐、碳酸氢盐、对甲苯磺酸盐以及十一烷酸盐。衍生自无机酸的盐包括盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等。衍生自有机酸的盐包括乙酸、丙酸、乙醇酸、丙酮酸、草酸、苹果酸、丙二酸、琥珀酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、肉桂酸、杏仁酸、甲烷磺酸、乙烷磺酸、对甲苯磺酸、水杨酸等。可以用于形成药学上可接受的酸加成盐的酸的实例包括例如无机酸, 例如盐酸、氢溴酸、硫酸以及磷酸; 和有机酸, 例如草酸、马来酸、琥珀酸以及柠檬酸。

[0198] 碱加成盐还可以通过使含有羧酸的部分与适合的碱如药学上可接受的金属阳离子的氢氧化物、碳酸盐、或碳酸氢盐或与氨或有机伯胺、仲胺或叔胺反应来制备。药学上可

接受的盐尤其包括但不限于基于碱金属或碱土金属,如锂、钠、钾、钙、镁、以及铝盐等的阳离子;和无毒性的季氨和胺阳离子,包括铵、四甲基铵、四乙基铵、甲基铵、二甲基铵、三甲基铵、三乙基铵、二乙基铵、以及乙基铵等。适用于形成碱加成盐的其它代表性有机胺包括例如乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌啶、哌嗪等。衍生自有机碱的盐包括但不限于伯胺、仲胺以及叔胺的盐。

[0199] 在一个实施方案中,在式 (I) 和 / 或 (II) 中, X30 至 X32 不存在。在另一个实施方案中, X30 至 X33 不存在。

[0200] 在一个实施方案中,在式 (I) 和 / 或 (II) 中, X27 至 X29 是如下:Ala-Ala-Arg。

[0201] 在另一个实施方案中,在式 (I) 和 / 或 (II) 中, X27 至 X32 不存在。在另一个实施方案中, X27 至 X33 不存在。

[0202] 在另一个实施方案中,在式 (I) 和 / 或 (II) 中, X18 是 Lys 并且 X27 至 X29、X27 至 X32 或 X27 至 X33 存在。在一个实施方案中, X27 至 X32 是如下:Ala-Ala-Arg-Ala-Ala-Arg (SEQ ID NO:41)。在一个实施方案中, X27 至 X33 是如下:Ala-Ala-Arg-Ala-Ala-Arg-HoSer (SEQ ID NO:42)。

[0203] 在一个实施方案中,上述 GRF 类似物包含如以上所定义的式 I 或 II 的一个域。在一个实施方案中,上述 GRF 类似物包含如以上所定义的式 I 或 II 的两个或更多个(例如, 2、3、4 或 5 个)域。

[0204] 在实施方案中,除以上所定义的式 I 或 II 的域之外,上述 GRF 类似物还可以包含共价连接至所述域的氨基末端和 / 或羧基末端的一个或多个氨基酸(天然存在的或合成的)。在一个实施方案中,上述 GRF 类似物在以上所定义的式 (I) 或 (II) 的域的 N 末端和 / 或 C 末端处包含多达 25 个另外氨基酸。在其它实施方案中,上述 GRF 类似物在以上所定义的式 (I) 或 (II) 的域的 N 末端和 / 或 C 末端处包含多达 20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、或 1 个另外氨基酸。在一个实施方案中,上述域或 GRF 类似物含有约 100 个残基或更少,在其它实施方案中约 90、80、70、60、50、40、或 35 个残基或更少。在一个实施方案中,上述域或 GRF 类似物含有约 26 个残基至约 100 个残基。在另一个实施方案中,上述域或 GRF 类似物含有约 26 个残基至约 50 个残基。在另一个实施方案中,上述 GRF 类似物含有约 26 个残基至约 45 个残基。在另一个实施方案中,上述 GRF 类似物含有约 26 个残基至约 40 个残基。在另一个实施方案中,上述 GRF 类似物含有约 26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38 或 39 个残基。

[0205] 在一个实施方案中,上述域或 GRF 类似物是肽模拟物。肽模拟物通常以保留它的肽等效物的极性、三维大小以及官能度(生物活性)为特征,但是其中肽键 / 肽键联中的一个或多个已经经常被更稳定的键联置换。一般来说,置换酰胺键的键(酰胺键替代物)保留酰胺键的许多或所有特性,例如构象、空间体积、静电性质、氢键结潜力等。典型的肽键置换包括酯、多胺和其衍生物以及取代的烷烃和烯烃,如氨甲基和酮亚甲基。例如,上述域或 GRF 类似物可以具有被如 $-\text{CH}_2\text{NH}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{S}-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-$ (顺式或反式)、 $-\text{CH}_2\text{SO}-$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ 或 $-\text{COCH}_2-$ 的键联置换的一个或多个肽键联。所述肽模拟物可以具有更大的化学稳定性、增强的生物学 / 药理学特性(例如,半衰期、吸收性、效力、效率,等)和 / 或相对于它的肽等效物减小的抗原性。

[0206] 在实施方案中,GRF 类似物由以上所定义的式 (I) 或 (II) 的域组成。

[0207] 在实施方案中,上述域包含以下序列中的一个:

[0208] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R (SEQ ID NO:2);

[0209] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r (SEQ ID NO:3);

[0210] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-aib-R (SEQ ID NO:4);

[0211] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r (SEQ ID NO:5);

[0212] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r (SEQ ID NO:6);

[0213] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-S-r (SEQ ID NO:7);

[0214] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:8);

[0215] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:9);

[0216] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:10);

[0217] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:11);

[0218] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:12);

[0219] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:13);

[0220] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:14);

[0221] Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:15);

[0222] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:16);

[0223] Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:17);

[0224] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer (SEQ ID NO:18);

[0225] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer (SEQ ID NO:19);

[0226] 其中 a=D-Ala, O=L- 鸟氨酸, Aib= α - 氨基异丁酸, HoSer=L- 高丝氨酸并且 r=D-Arg。

[0227] 在另一实施方案中,上述域包含以下序列中的一个:

[0228] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:8);

[0229] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:9);

[0230] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ

ID NO:10) ;

[0231] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:11) ;或

[0232] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:12) ;

[0233] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:13) ;或

[0234] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:14) ,

[0235] 其中 a=D-Ala。

[0236] 在实施方案中,上述域是(或由以下组成):

[0237] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R (SEQ ID NO:2) ;

[0238] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r (SEQ ID NO:3) ;

[0239] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-aib-R (SEQ ID NO:4) ;

[0240] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r (SEQ ID NO:5) ;

[0241] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r (SEQ ID NO:6) ;

[0242] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-S-r (SEQ ID NO:7) ;

[0243] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:8) ;

[0244] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:9) ;

[0245] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:10) ;

[0246] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:11) ;

[0247] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:12) ;

[0248] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:13) ;

[0249] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:14) ;

[0250] Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:15) ;

[0251] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:16) ;

[0252] Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:17) ;

[0253] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer (SEQ ID NO:18) ;

[0254] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer (SEQ ID NO:19) ;

[0255] 其中 a=D-Ala, O=L- 鸟氨酸, Aib= α - 氨基异丁酸, HoSer=L- 高丝氨酸并且 r=D-Arg。

[0256] 在其它实施方案中,上述域是(或由以下组成):

[0257] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:8) ;

[0258] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:9) ;

[0259] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:10) ;

[0260] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:11) ;或

[0261] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:12) ;

[0262] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:13) ;或

[0263] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:14) ,

[0264] 其中 a=D-Ala。

[0265] 在另一个实施方案中,上述域是

[0266] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:8) 。

[0267] 在另一个实施方案中,上述域是

[0268] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:9) 。

[0269] 在另一个实施方案中,上述域是

[0270] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:10) ,其中 a=D-Ala。

[0271] 在另一个实施方案中,上述域是

[0272] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:11) ,其中 a=D-Ala。

[0273] 在另一个实施方案中,上述域是

[0274] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:12) ,其中 a=D-Ala。

[0275] 在另一个实施方案中,上述域是

[0276] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:13) 。

[0277] 在另一个实施方案中,上述域是

[0278] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R (SEQ ID NO:14)。

[0279] 在实施方案中,上述 GRF 类似物或域的 N 末端和 / 或 C 末端氨基酸可以例如通过酰胺化、乙酰化、酰化或本领域已知的任何其它修饰来进行修饰。

[0280] 因此,另一方面,本发明提供一种式 (III) 的 GRF 类似物。

[0281] Z1-X1-X2-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-X8-X9-Tyr-X11-X12-X13-Leu-X15-Gln-Leu-X18-X19-Arg-Gln-X22-X23-X24-X25-X26-X27-X28-X29-X30-X31-X32-X33-Z2 (III)

[0282] 或

[0283] Z1-[式 I 或 II 的域]-Z2

[0284] 其中

[0285] X1、X2、X8、X9、X11 至 X13、X15、X18、X19 以及 X22 至 X33 是如以上所定义；

[0286] Z1 是氨基末端修饰或不存在；以及

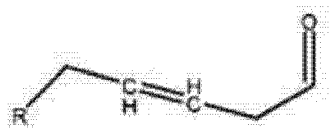
[0287] Z2 是羧基末端修饰或不存在。

[0288] 在一个实施方案中,GRF 类似物的氨基末端残基(即,在 N 末端处的游离氨基)例如通过部分 / 化学基团(Z1)的共价附接来进行修饰(例如,用于防止降解)。在一个实施方案中,氨基末端修饰(Z1)是 C_1-C_{16} 或 C_3-C_{16} 酰基(直链的或支链的,饱和的或不饱和的),在另一个实施方案中,是饱和的 C_1-C_6 酰基(直链的或支链的)或不饱和的 C_3-C_6 酰基(直链的或支链的),在另一个实施方案中是乙酰基(CH_3-CO- , Ac)。在另一个实施方案中,Z1 是附接至 X1 的一个或多个氨基酸(例如,1 至 25 个另外氨基酸,例如 20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、或 1 个氨基酸)的序列。在一个实施方案中,如果 Z1 不存在,那么 X2 是 D-Ala。

[0289] 在另一个实施方案中,氨基末端修饰(Z1)是包含 5 至 8 个原子的骨架的疏水性尾部;其中所述骨架可以被 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、或 C_{6-12} 芳基 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、或 C_{6-12} 芳基取代并且所述骨架包含连接至所述骨架的至少两个原子的至少一个固定部分;并且所述固定部分是双键、三键、饱和的或不饱和的 C_{3-9} 环烷基或 C_{6-12} 芳基。在另一个实施方案中,Z1 是

[0290] (i)

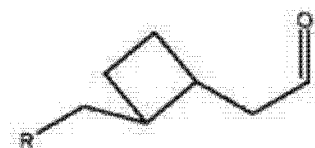
[0291]



[0292] 其中 R 是 H、 CH_3 或 CH_2CH_3 , 并且双键是顺式的或反式的;

[0293] (ii)

[0294]



[0295] 其中 R 是 H、 CH_3 或 CH_2CH_3 , 其中 X 呈顺式或反式构型, 并且其中所述 GRF 类似物是外消旋混合物或纯对映异构体;

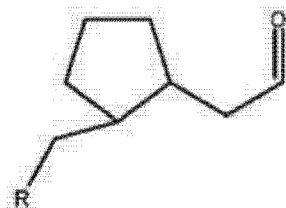
[0296] (iii)

[0297]

[0298] 其中 R 是 H、CH₃ 或 CH₂CH₃, 并且其中当 R 是 CH₃ 或 CH₂CH₃ 时, X 呈顺式或反式构型;

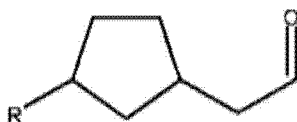
[0299] (iv)

[0300]

[0301] 其中 R 是 H、CH₃ 或 CH₂CH₃, 其中 X 呈顺式或反式构型, 并且其中所述 GRF 类似物是外消旋混合物或纯对映异构体;

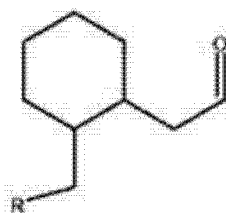
[0302] (v)

[0303]

[0304] 其中 R 是 H、CH₃ 或 CH₂CH₃, 其中当 R 是 CH₃ 或 CH₂CH₃ 时, X 呈顺式或反式构型, 并且其中所述 GRF 类似物是外消旋混合物或纯对映异构体;

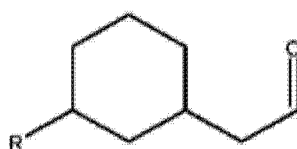
[0305] (vi)

[0306]

[0307] 其中 R 是 H、CH₃ 或 CH₂CH₃, 其中 X 呈顺式或反式构型, 并且其中所述 GRF 类似物是外消旋混合物或纯对映异构体;

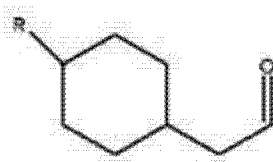
[0308] (vii)

[0309]

[0310] 其中 R 是 H、CH₃ 或 CH₂CH₃, 其中当 R 是 CH₃ 或 CH₂CH₃ 时, X 呈顺式或反式构型, 并且其中所述 GRF 类似物是外消旋混合物或纯对映异构体;

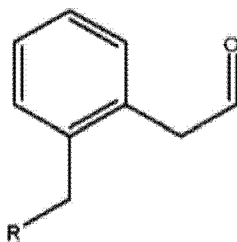
[0311] (viii)

[0312]

[0313] 其中 R 是 H、CH₃ 或 CH₂CH₃, 并且其中当 R 是 CH₃ 或 CH₂CH₃ 时, X 呈顺式或反式构型;

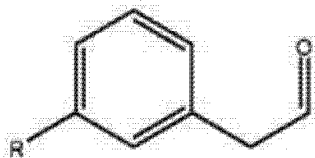
[0314] (ix)

[0315]

[0316] 其中 R 是 H、CH₃ 或 CH₂CH₃;

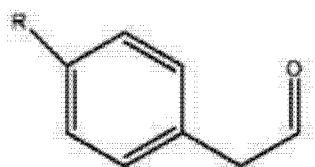
[0317] (x)

[0318]

[0319] 其中 R 是 H、CH₃ 或 CH₂CH₃;

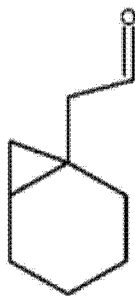
[0320] (xi)

[0321]

[0322] 其中 R 是 H、CH₃ 或 CH₂CH₃; 或

[0323] (xii)

[0324]

[0325] 在一个实施方案中, 氨基末端修饰 (Z1) 是反式 -CH₃-CH₂-CH=CH-CH₂-CO 或反式 -3- 己烯酰基。

[0326] 在一个实施方案中, 对 GRF 类似物的羧基末端残基 (即, 在所述肽的 C 末端处的游

离羧基)进行修饰(例如,用于防止降解)。在一个实施方案中,所述修饰是酰胺化(OH基团被NH₂基团置换),因此在这种情况下Z2是NH₂基团。在另一个实施方案中,Z2是一个或多个氨基酸(例如,1至25个另外氨基酸,例如20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、或1个氨基酸)的序列。

[0327] 本发明的GRF类似物可以进一步包含修饰,所述修饰对所述GRF类似物赋予另外生物学特性,如蛋白酶抗性、血浆蛋白质结合、增加的血浆半衰期、细胞内渗透,等。所述修饰包括例如脂肪酸(例如,C₆-C₁₈)共价附接至GRF类似物、附接至蛋白质,如白蛋白(参见例如美国专利号7,268,113);糖基化;生物素化或PEG化(参见例如美国专利号7,256,258和6,528,485)。GRF类似物的修饰的以上描述既不限所述方法的范围也不限制可以被工程改造的可能修饰。

[0328] 在实施方案中,上述GRF类似物是:

[0329] 反式-3-己烯酰基

[0330] -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-NH₂(SEQ ID NO:20);

[0331] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH₂(SEQ ID NO:21);

[0332] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-aib-R-NH₂(SEQ ID NO:22);

[0333] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH₂(SEQ ID NO:23);

[0334] 反式-3-己烯酰基

[0335] -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH₂(SEQ ID NO:24);

[0336] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-S-r-NH₂(SEQ ID NO:25);

[0337] 反式-3-己烯酰基

[0338] -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-NH₂(SEQ ID NO:26);

[0339] 反式-3-己烯酰基

[0340] -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(SEQ ID NO:27);

[0341] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(SEQ ID NO:28);

[0342] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(SEQ ID NO:29);

[0343] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(SEQ ID NO:30);

[0344] 反式-3-己烯酰基

[0345] -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(

SEQ ID NO:31) ;

[0346] 反式 -3- 己烯酰基

[0347] -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:32) ;

[0348] Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:33) ;

[0349] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:34) ;

[0350] Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:35) ;

[0351] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH₂ (SEQ ID NO:36) ;或

[0352] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH₂ (SEQ ID NO:37) ;

[0353] 其中 a=D-Ala, O=L- 鸟氨酸, Aib=α - 氨基异丁酸, r=D-Arg, 并且 HoSer=L- 高丝氨酸。

[0354] 在实施方案中, 上述 GRF 类似物是 :

[0355] 反式 -3- 己烯酰基

[0356] -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:26) ;

[0357] 反式 -3- 己烯酰基

[0358] -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:27) ;

[0359] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:28) ;

[0360] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:29) ;

[0361] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:30) ;

[0362] 反式 -3- 己烯酰基

[0363] -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:31) ;

[0364] 反式 -3- 己烯酰基

[0365] -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:32) ,

[0366] 其中 a=D-Ala。

[0367] 在另一个实施方案中, 上述 GRF 类似物是反式 -3- 己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:26) 。

[0368] 在另一个实施方案中, 上述 GRF 类似物是反式 -3- 己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-

Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:27)。

[0369] 在另一个实施方案中,上述 GRF 类似物是

[0370] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:28)。

[0371] 在另一个实施方案中,上述 GRF 类似物是

[0372] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:29)。

[0373] 在另一个实施方案中,上述 GRF 类似物是

[0374] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:30)。

[0375] 在另一个实施方案中,上述 GRF 类似物是反式-3-己烯酰基-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:31)。

[0376] 在另一个实施方案中,上述 GRF 类似物是反式-3-己烯酰基-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂ (SEQ ID NO:32)。

[0377] 在一个实施方案中,上述 GRF 类似物表现出类似于或显著高于包含天然序列(例如,人 GRF₍₁₋₄₄₎、GRF₍₁₋₂₉₎、中间体形式如 GRF₍₁₋₄₀₎、以及其 N 末端酰化和 C 末端酰胺化的形式)的 GRF 肽的生物活性和/或效力。在另一个实施方案中,上述生物活性和/或效力是体内生物活性和/或效力(例如,体内 GH 分泌活性和/或效力)。在另一个实施方案中,上述 GRF 类似物表现出显著高于(或相对于其显著增加)包含天然序列(例如,GRF₍₁₋₂₉₎)的 GRF 肽的生物活性和/或效力。所述生物活性和/或效力可以在动物模型、例如本文所描述的小鼠和大鼠模型中测量。如所用的显著更高的是指效力比包含天然序列(例如,GRF₍₁₋₄₄₎、GRF₍₁₋₂₉₎)的 GRF 肽的效力高至少两倍、三倍、四倍或五倍。在另一个实施方案中,上述 GRF 类似物表现出类似于或显著高于包含天然序列(例如,人 GRF₍₁₋₄₄₎、GRF₍₁₋₂₉₎、中间体形式如 GRF₍₁₋₄₀₎、以及其 N 末端酰化和 C 末端酰胺化的形式)的 GRF 肽的稳定性(例如,体内稳定性)。在另一个实施方案中,上述 GRF 类似物表现出显著高于(或相对于其显著增加)包含天然序列(例如,GRF₍₁₋₂₉₎)的 GRF 肽的体内稳定性(半衰期)。

[0378] 本发明的 GRF 类似物可以通过在包含编码所述 GRF 类似物的核酸的宿主细胞中表达(重组表达)或通过化学合成(例如,固相肽合成)来产生。肽可以通过本领域熟知的手动和自动固相工序容易地合成。适合的合成可以例如通过利用“T-boc”或“Fmoc”工序来进行。用于固相合成的技术和工序描述于例如由 IRL, Oxford University Press, 1989 出版的 E. Atherton 和 R. C. Sheppard 的 Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach 中。或者,所述肽可以通过区段缩合来制备,例如在 Liu 等, Tetrahedron Lett. 37:933-936, 1996; Baca 等, J. Am. Chem. Soc. 117:1881-1887, 1995; Tam 等, Int. J. Peptide Protein Res. 45:209-216, 1995; Schnolzer 和 Kent, Science 256:221-225, 1992; Liu 和 Tam, J. Am. Chem. Soc. 116:4149-4153, 1994; Liu 和 Tam, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:6584-6588, 1994; 以及 Yamashiro 和 Li, Int. J. Peptide Protein Res. 31:322-334, 1988 中所描述的。适用于合成所述肽的其它方法描述于 Nakagawa 等, J. Am. Chem. Soc. 107:7087-7092, 1985 中。

[0379] 包含由遗传密码编码的天然存在的氨基酸的肽和肽类似物还可以使用重组 DNA

技术使用标准方法来制备。通过重组技术产生的肽可以使用本领域熟知的方法进行修饰（例如，N 末端酰化 [例如，乙酰化]、C 末端酰胺化）。因此，在实施方案中，在本文所描述的 GRF 类似物含有由遗传密码编码的天然存在的氨基酸的情况下，所述 GRF 类似物可以使用重组方法来产生，并且在实施方案中可以经受例如刚提到的修饰（例如，酰化、酰胺化）。因此，另一方面，本发明进一步提供一种编码上述域或 GRF 类似物的核酸。本发明还提供一种包含上述核酸的载体。又一方面，本发明提供一种包含上述核酸和 / 或载体的细胞（例如，宿主细胞）。本发明进一步提供一种重组表达系统、载体以及宿主细胞，如以上所描述的那些，其用于使用例如本领域熟知的培养基、产生、分离以及纯化方法来表达 / 产生本发明的肽或 GRF 类似物。

[0380] 本发明的 GRF 类似物可以通过本领域熟知的许多肽纯化技术来纯化，如反相色谱法、高效液相色谱法 (HPLC)、离子交换色谱法、尺寸排阻色谱法、亲和色谱法、凝胶电泳等。用于纯化具体肽或肽类似物的实际条件将部分地取决于合成策略和如净电荷、疏水性、亲水性等因素，并且对于本领域普通技术人员将是明显的。对于亲和色谱法纯化，可以例如使用特异性结合所述肽或肽类似物的任何抗体。

[0381] 在一个实施方案中，上述 GRF 类似物是大致上纯的。当化合物从天然伴随它的组分分离时，它是“大致上纯的”。通常，当化合物是样品中总物质的至少 60 重量 %、更普遍地 75 重量 %、80 重量 % 或 85 重量 %、优选超过 90 重量 % 并且更优选超过 95 重量 % 时，它是大致上纯的。因此，例如，化学合成的或通过重组技术产生的多肽将通常大致上不含它的天然相伴的组分。当核酸分子不与在本发明的 DNA 的来源生物体的天然存在的基因组中通常邻接的编码序列直接邻接（即，共价连接）时，它是大致上纯的。大致上纯的化合物可以例如通过以下方式来获得：从天然来源提取；编码多肽化合物的重组核酸分子的表达；或化学合成。纯度可以使用任何适当的方法如柱色谱法、凝胶电泳、HPLC 等来测量。

[0382] 另一方面，本发明提供一种包含上述 GRF 类似物的组合物（例如，药物组合物）。在一个实施方案中，所述组合物进一步包含一种或多种药学上可接受的载体、赋形剂和 / 或稀释剂。

[0383] 如本文所用，“药学上可接受的”（或“生物学上可接受的”）是指特征为不存在（或受限的）体内毒性或不利生物作用的材料。它是指在合理医学判断的范围内适合用于与受试者（例如，人、动物）的生物流体和 / 或组织和 / 或器官相接触而无过度毒性、刺激性、过敏反应、或其它问题或并发症、与合理的益处 / 风险比相称的那些化合物、组合物和 / 或剂型。

[0384] 术语“药学上可接受的载体、赋形剂和 / 或稀释剂”是指在药物组合物的制备中通常使用的添加剂并且包括例如溶剂、分散介质、盐溶液、表面活性剂、增溶剂、润滑剂、乳化剂、涂层、抗菌剂和抗真菌剂、螯合剂、pH 调节剂、舒缓剂、缓冲剂、还原剂、抗氧化剂、等渗剂、吸收延迟剂等（参见例如 Rowe 等, Handbook of Pharmaceutical Excipients, Pharmaceutical Press; 第 6 版, 2009）。

[0385] 本发明的 GRF 类似物可以被配制用于经由任何常规途径施用，如静脉内、口服、经皮、腹腔内、皮下、经粘膜、肌内、鼻内、肺内、肠胃外或局部施用。所述制剂的制备是本领域熟知的（参见例如 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 第 21 版, 2005）。

[0386] 本发明的 GRF 类似物和组合物可以适用于诱导或刺激受试者中的 GH 的分泌。

[0387] 因此,另一方面,本发明提供一种用于诱导或增加有需要的受试者中的生长激素分泌的方法,所述方法包括对所述受试者施用有效量的上述 GRF 类似物或上述药物组合物。

[0388] 另一方面,本发明提供上述 GRF 类似物或上述药物组合物用于诱导或增加受试者中的生长激素分泌的用途。

[0389] 另一方面,本发明提供上述 GRF 类似物或上述药物组合物用于制备用以诱导或增加受试者中的生长激素分泌的药剂的用途。

[0390] 另一方面,本发明提供上述 GRF 类似物或上述药物组合物,其用于制备用以诱导或增加受试者中的生长激素分泌的药剂。

[0391] 另一方面,本发明提供上述 GRF 类似物或上述药物组合物,其用于在诱导或增加受试者中的生长激素分泌中使用。

[0392] 如本文所用的术语“刺激”、“增加”或“诱导”或这些术语的任何变化形式是指生物活性的可测量的增加。在实施方案中,所述增加是相对于对照物生物活性增加至少 10%、20%、40%、60%、80%、90%、95%、100%(2 倍)、200%(3 倍)。例如,与没有施用 GRF 类似物的受试者相比,当在将所述 GRF 类似物施用至受试者(例如,动物、人)之后测量到 GH 水平的增加时,发现所述 GRF 类似物刺激 GHRHr 活性。

[0393] 鉴于它们的 GHRHr 激动剂活性和 GH 释放特性,本发明的 GRF 类似物和组合物可以适用作药剂,用于需要刺激 GH/IGF-1 分泌的预防和/或治疗应用,例如用于与 GRF 和/或 GH 功能相关联的病状/病症/疾病的治疗或预防(例如,其中在所述疾病/病症的病因学中涉及 GH 和/或 GHRH 功能减小)。施用 GH、GRF 或 GRF 类似物/衍生物可能是有益的疾病和病状已经在本领域得到广泛描述(参见例如 W02009/009727、W02006/042408、W02005/037307、W02004/105789)。所述病状/病症/疾病包括例如与脂肪积累相关联的综合征、高胆固醇血症、肥胖症、综合征 X、脂肪增生(lipohypertrophy)、脂肪萎缩、脂肪营养不良(例如, HIV 相关联的脂肪营养不良综合征)、认知功能受损、白天警觉性受损、免疫系统功能衰退(例如,免疫缺乏症如 T 细胞缺乏症)、肌肉蛋白分解代谢、与肌肉消瘦相关联的疾病/病状如肌少症(sarcopenia)、虚弱、放射疗法和/或化学疗法相关的副作用(例如,感染 HIV 的患者和癌症患者中)、恶病质(cachexia)(例如,癌症患者中)、下丘脑垂体性矮小症(hypothalamic pituitary dwarfism)、烧伤、骨质疏松症、肾衰竭、不愈合骨折(non-union bone fracture)、急性/慢性衰弱性疾病或感染、伤口愈合、术后问题、泌乳衰竭(lactation failure)、妇女不育症、神经退行性病状、GRF 受体依赖性肿瘤、与衰老相关的病状、睡眠病症/障碍。

[0394] 因此,其它方面,本发明提供一种用于以下的方法:(1) 刺激例如与衰老、轻度认知损伤(MCI)、早期阿尔茨海默氏病综合征(pre-Alzheimer's symptom)(发病前阿尔茨海默氏病)、痴呆和/或睡眠障碍(例如,年龄相关的睡眠障碍)相关的病状中的白天警觉性和/或认知功能,(2) 改善/预防/治疗与脂肪积累和/或高胆固醇血症相关联的代谢病状(肥胖症、腹部肥胖、伴随代谢病症的腹部肥胖、伴随相对 GH 缺乏的腹部肥胖、代谢综合征或综合征 X、脂肪增生、脂肪萎缩、脂肪营养不良(例如, HIV 相关联的脂肪营养不良综合征)、血脂异常、高甘油三酯血症),(3) 改善分解代谢/消瘦病状中的合成代谢,如特别是

老年受试者中的急性或慢性肾衰竭（例如，急性或慢性肾衰竭消瘦）、慢性心力衰竭（例如慢性心力衰竭消瘦）、慢性阻塞性肺疾病（COPD）、囊性纤维变性（例如，成人囊性纤维变性消瘦）、虚弱、烧伤、感染（败血症）、肌肉萎缩症、充血性心力衰竭、神经退行性病状（阿尔茨海默氏病、早期阿尔茨海默氏病综合征、肌萎缩性侧索硬化（ALS）、AIDS、长期皮质类固醇疗法后、不愈合骨折、髌部骨折、创伤或大手术（术后问题）后蛋白质营养不良、骨质疏松症、长期不活动、癌症相关的恶病质、肌少症（例如，年龄相关的肌少症）、GI 吸收不良（短肠综合征（SBS）、克罗恩氏病（Crohn's disease））中所观察到的那些，例如以便增加肌肉质量和 / 或功能，(4) 改善免疫功能或如与衰老、HIV 感染 / AIDS 相关联或在高剂量化学疗法和 / 放射疗法（在感染 HIV 的患者和癌症患者中）后的免疫缺乏状态（例如，T 细胞免疫缺乏）的重建，(5) 改变脂质参数 ((a) 减少胆固醇；(b) 减少非 HDL 胆固醇；(c) 减少甘油三酸酯；和 / 或 (d) 降低总胆固醇 / HDL 胆固醇的比率)；(6) 改变身体组成参数 ((a) 增加瘦体质量；(b) 减少躯干部脂肪；(c) 减少内脏脂肪；(d) 减小腹围；(e) 减少内脏脂肪组织 (VAT)；和 / 或 (f) 降低 VAT / 皮下脂肪组织 (SAT) 比率)，(7) 增强生育力或治疗不育症（妇女中）、治疗泌乳衰竭，(8) 治疗 GH 缺乏症（例如，伴随腹部肥胖的 GH 缺乏症）、提供 GH 替代疗法（例如，在成人中）、治疗特发性矮小症 (ISS)，(9) 治疗 GRF 受体相关的肿瘤，(10) 治疗下丘脑垂体性矮小症，(11) 改善伤口愈合，(12) 治疗烧伤，(13) 治疗急性 / 慢性衰弱性疾病或感染，和 / 或 (14) 预防 / 治疗特征为骨形成不足或减少的病状（例如，骨质疏松症）；所述方法包括对有需要的受试者施用有效量的上述 GRF 类似物或其药学上可接受的盐或包含上述 GRF 类似物或其药学上可接受的盐（例如，连同药学上可接受的载体 / 赋形剂一起）的组合物。

[0395] 其它方面，本发明提供上述 GRF 类似物或其药学上可接受的盐或包含上述 GRF 类似物或其药学上可接受的盐（例如，连同药学上可接受的载体 / 赋形剂一起）的组合物的用途，其用于改善、预防和 / 或治疗以上所提到的病状、疾病或病症，或用于制备 / 制造用以改善、预防和 / 或治疗以上所提到的病状、疾病或病症的药剂。其它方面，本发明提供上述 GRF 类似物或其药学上可接受的盐或包含上述 GRF 类似物或其药学上可接受的盐（例如，连同药学上可接受的载体 / 赋形剂一起）的组合物，其用于改善、预防和 / 或治疗以上所提到的病状、疾病或病症，或用于制备 / 制造用以改善、预防和 / 或治疗以上所提到的病状、疾病或病症的药剂。

[0396] 如本文所用的术语“治疗”被定义为对受试者应用或施用上述 GRF 类似物或其药学上可接受的盐或上述组合物、或对自受试者分离的组织或细胞系应用或施用上述 GRF 类似物或其药学上可接受的盐或上述组合物（所述受试者患有病症、疾病、病症或疾病的症状）以达到治愈、愈合、减轻、缓解、改变、补救、改良、改善、减少进展或影响病症 / 疾病和 / 或病症 / 疾病的症状的目的。在一个实施方案中，所述治疗对血糖控制不产生或大致上不产生作用（例如，无临床上显著的作用）。

[0397] 如本文所用的术语“预防”被定义为对受试者应用或施用上述 GRF 类似物或其药学上可接受的盐或上述组合物、或对自受试者分离的组织或细胞系应用或施用上述 GRF 类似物或其药学上可接受的盐或上述组合物（所述受试者具有病症 / 疾病的倾向性或处于发展所述病症 / 疾病的风险）以达到当在疾病 / 病症或症状发作 / 出现之前施用，预防或延迟疾病 / 病症或症状的发作、或降低疾病 / 病症或症状的严重性的目的。

[0398] “有效量”是指在必需的剂量下和时间期间有效实现所需的生物活性（例如，诱导 GH 分泌）和 / 或预防 / 治疗结果（例如，预防和 / 或治疗以上所提到的疾病 / 病症）的量。“治疗有效量”是指在治疗情形下的有效量；“预防有效量”是指在预防情形下的有效量。本发明的化合物的有效量可以根据以下因素而不同：如个体的疾病状态、年龄、性别和体重、以及所述化合物在个体中引发所需反应的能力。可以调整剂量方案以便提供最优的预防 / 治疗反应。有效量还是预防 / 治疗有益作用超过化合物的任何毒性或有害作用的量。对于任何具体受试者，具体给药方案都可以随时间根据个体需要和施用或监督所述化合物的施用的人的专业判断进行调整。在一个实施方案中，GRF 类似物是以约 0.01mg 至约 30mg 的日剂量，在另一个实施方案中以约 0.1mg 至约 20mg 或 25mg，在另一个实施方案中以约 0.5mg 至约 20mg，在另一个实施方案中以约 1mg 至约 20mg 的日剂量施用。

[0399] 本发明的 GRF 类似物或其药学上可接受的盐或组合物可以通过任何常规途径施用或可以用于通过任何常规途径施用，所述途径如为静脉内、口服、经皮、腹腔内、皮下、经粘膜、肌内、鼻内、肺内、肠胃外或局部的。在一个实施方案中，所述 GRF 类似物或其药学上可接受的盐通过皮下途径施用或用于通过皮下途径施用。在另一个实施方案中，所述 GRF 类似物或其药学上可接受的盐通过经皮途径（例如，使用经皮递送系统如经皮贴片）施用或用于通过所述经皮途径施用。因此，另一方面，本发明提供一种包含上述 GRF 类似物（或其药学上可接受的盐）或药物组合物的经皮递送系统，如经皮贴片。用于经皮递送的方法和系统是本领域熟知的并且例如描述于 Transdermal Drug Delivery, 第 2 版, Marcel Dekker Inc., New York, 2003 和 Transdermal and Topical Drug Delivery, Adrian C Williams, Pharmaceutical Press, 2003 中。在另一个实施方案中，所述 GRF 类似物或其药学上可接受的盐通过口服途径施用或用于通过口服途径施用。在一个实施方案中，所述 GRF 类似物或其药学上可接受的盐通过鼻途径施用或用于通过鼻途径施用。

[0400] 在一个实施方案中，上述预防和 / 或治疗包括与一种或多种另外活性剂 / 治疗剂组合施用上述 GRF 类似物或其药学上可接受的盐或组合物。预防剂 / 治疗剂和 / 或组合物的组合可以以任何常规剂型施用或共同施用（例如，连续地、同时地、在不同时间）。在本发明的情形下，共同施用是指在协调治疗过程中施用一种以上治疗剂以实现改善的临床结果。所述共同施用还可以是同时存在的，即在重叠的时间段期间发生。例如，可以在施用第二活性剂之前、同时、之前和之后、或之后对患者施用第一药剂。所述药剂在一个实施方案中可以组合 / 配制于单个组合物中，因此同时施用。在一个实施方案中，本发明的一种或多种活性剂与目前用于预防或治疗所讨论的病症的一种或多种药剂组合使用 / 施用。

[0401] 如本文所用的术语“受试者”或“患者”用于意指温血动物，如哺乳动物，例如猫、狗、小鼠、豚鼠、马、奶牛 (bovine cow)、绵羊以及人。在一个实施方案中，受试者是哺乳动物。在另一个实施方案中，上述受试者是人。

[0402] 用于实现本发明的方式

[0403] 通过以下非限制性实施例进一步详细地说明本发明。

[0404] 在本文中使用以下缩写：

[0405] DMF :N, N- 二甲基甲酰胺

[0406] DIEA :二异丙基乙胺

[0407] HCTU :[2-(6- 氯代 -1H- 苯并三唑 -1- 基)-1, 1, 3, 3- 四乙基六氟磷酸铵]

[0408] COMU : (1- 氰基 -2- 乙氧基 -2- 氧代亚乙基氨基氧基) 二甲氨基 - 吗啉代 - 碳鎓六氟磷酸盐 (COMU)

[0409] TFA : 三氟乙酸

[0410] MALDI-TOF : 基质辅助激光解吸 / 电离质谱法。

[0411] HPLC : 高效液相色谱法

[0412] BHA : 二苯甲基胺树脂

[0413] Pbf : 2, 2, 4, 6, 7- 五甲基二氢苯并呋喃 -5- 磺酰基

[0414] Boc : 叔丁氧基羰基

[0415] t-Bu : 叔丁基

[0416] Trt : 三苯甲基

[0417] Aib : α - 氨基异丁酸

[0418] O : L- 鸟氨酸

[0419] Ac : 乙酰基

[0420] HoArg : L- 高精氨酸

[0421] HoSer : L- 高丝氨酸

[0422] a : D- 丙氨酸

[0423] r : D- 精氨酸

[0424] 在整个本申请中,天然存在的氨基酸可互换地使用单字母或三字母代码指定(对于它们之间的对应参见下表 I)。

[0425] 表 I : 氨基酸、单字母和三字母代码

[0426]

氨基酸	三字母代码	单字母代码
丙氨酸	Ala	A
精氨酸	Arg	R
天冬酰胺	Asn	N
天冬氨酸	Asp	D
半胱氨酸	Cys	C
谷氨酰胺	Gln	Q
谷氨酸	Glu	E
甘氨酸	Gly	G
组氨酸	His	H
异亮氨酸	Ile	I
亮氨酸	Leu	L

[0427]

赖氨酸	Lys	K
蛋氨酸	Met	M
苯丙氨酸	Phe	F
脯氨酸	Pro	P
丝氨酸	Ser	S
苏氨酸	Thr	T
色氨酸	Trp	W
酪氨酸	Tyr	Y
缬氨酸	Val	V

[0428] 实施例 1 :材料和方法

[0429] GRF 类似物的合成和制备。

[0430] 固相合成

[0431] 使用手动或自动固相肽合成方法、使用侧链被适当保护的苄基甲氧基羰基保护的 α -氨基酸和二苯甲基胺 (BHA) 树脂 (BACHEM AG) (负载是 0.75mmol/g) 来制备本发明的 GRF 类似物。在氨基酸偶联之前,将 6-氨基己酸和 Rink 接头偶联至所述树脂,然后使用 [2-(6-氯代-1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基六氟磷酸铵] (HCTU) 或 (1-氰基-2-乙氧基-2-氧代亚乙基氨基氧基) 二甲氨基-吗啉代-碳六氟磷酸盐 (COMU)、以及二异丙基乙胺 (DIEA) 在 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) 中偶联 Fmoc-[9H-苄基-9-基甲氧基羰基] 保护的氨基酸约 1 小时。使用含 20%(v/v) 哌啶的 DMF 进行 Fmoc 脱保护约 0.5 小时。使用乙酸酐和 DIEA 进行用乙酰基将本发明的肽 N 封端的一般工序。在合成完成之后,将肽从固相载体裂解,同时进行侧链脱保护。使用 0.1% 三氟乙酸 (TFA) 中的乙腈梯度通过 C18 柱制备型 RP-HPLC 进一步纯化粗的线性肽。将所述肽真空干燥以便去除乙腈并且从 0.1%TFA 冻干。通过分析型高效液相色谱法 (HPLC) 评估纯度并且使用 Voyager™ 仪器 (PerSeptive Biosystems Inc.) 通过基质辅助激光解吸/电离质谱法 (MALDI-TOF MS) 分析来测定质量。

[0432] 本发明的 GRF 类似物的活性的测定

[0433] 碱性磷酸酶 (AP) 测定

[0434] 在稳定转染以便表达人 GRF 受体和碱性磷酸酶报告基因的幼仓鼠肾 (BHK) 细胞上测试代表性 GRF 肽的活性。将细胞在刺激之前以 0.5×10^5 个细胞/孔的浓度在 96 孔板中培养 24 小时。在刺激之前,将细胞用 DPBS 洗涤两次并且在测定缓冲液 (补充有 20mM HEPES 和 1% 热失活胎牛血清 (FBS)、不含酚红的 (DMEM) 中孵育 10 分钟至 30 分钟。作 GRF 肽的 10^{-5} M 至 10^{-11} M 的肽浓度的 24 小时剂量反应曲线。收集上清液并且使用 Applied Biosystems 的碱性磷酸酶检测试剂盒进行碱性磷酸酶水平的分析。

[0435] 小鼠中的 GRF 类似物施用和样品收集

[0436] 从 Charles River Inc. 获得 CD-1 小鼠 (雌性,重 20g 至 25g)。根据动物护理委员会 (Animal Care Committee) 的协议以及加拿大动物护理委员会的实验动物护理和使用指南的原则 (Guide for the Care and Use of Experimental Animals of the Canadian Council on Animal Care) 使用动物。在 12:12 亮:暗周期下用标准实验室食物供养动物。将它们按每笼 4 只小鼠成组饲养。

[0437] 在实验当天,使小鼠接受 GRF 类似物 (10 微克/小鼠,溶解于 20mM 乙酸

钠 (AcONa)+5% 甘露醇中, pH5) 的皮下注射。在注射之后 10 分钟, 将小鼠用异氟烷 (isoflurane) 麻醉。通过心脏内穿刺获得血液样品 (500 μ l)。将血液放置到用 K₃EDTA 预处理的微量采血管 (microtainer) 中并且立即在台式离心机中以 13,000RPM 离心 2 分钟。收集血浆并且将其放置到螺帽 Eppendorf™ 管中并且在液氮中快速冷冻。然后将样品保持在 -80℃ 下直到测定为止。如以下所描述进行 GH 水平的测定。

[0438] 大鼠中的 GRF 类似物施用和样品收集

[0439] 从 Charles River Inc. 获得 Sprague-Dawley 大鼠 (雌性, 重 250g 至 300g)。根据动物护理委员会的协议以及加拿大动物护理委员会的实验动物护理和使用指南的原则使用动物。在 12:12 亮: 暗周期下用标准实验室食物饲养动物。将它们按每笼 4 只大鼠成组饲养。

[0440] 将所述动物用 2.5% 异氟烷麻醉。在颈部形成中段开口以便暴露颈动脉。将颈动脉用聚丙烯管 (PE-50) 插管以便允许血液抽取。在手术准备好之后, 使大鼠接受 GRF 类似物 (10 微克 / 大鼠, 溶解于 20mM AcONa+5% 甘露醇中, pH5) 的皮下注射。对于药效动力学研究, 每个时间点从每组 4 至 8 只动物收集血液样品 (400 μ L)。在药物注射之后 0 分钟、10 分钟、20 分钟、30 分钟、45 分钟以及 60 分钟时经由颈动脉导管收集血液样品 (400 μ l)。将血液放置到用 K₃EDTA 预处理的微量采血管中并且立即在台式离心机中以 13,000RPM 离心 2 分钟。收集血浆并且将其放置到螺帽 Eppendorf™ 中并且在液氮中快速冷冻。然后将样品保持在 -80℃ 下直到测定为止。如以下所描述进行 GH 水平的测定。

[0441] 血浆样品中 GH 水平的测定

[0442] 小心涡动大鼠和小鼠血浆样品并且在 4℃ 下以 9,000RPM 离心 2 分钟。使用 Millipore 的大鼠 / 小鼠生长激素 ELISA 试剂盒 (目录号 EZRMGH-45K) 进行 GH 水平的剂量。将样品上清液首先用 GH ELISA 测定缓冲液稀释 20 倍, 并且将 10 μ l 所述稀释液添加至含 90 μ l GH EIA 测定缓冲液的 ELISA 板。根据制造商的说明书进行所述工序的剩余部分, 并且使用软件 GraphPad Prism™ 来分析所获得的数据。

[0443] 实例 2 :GRF 类似物的 GHRHr 激动剂活性

[0444] 在表达人 GHRHr 的幼仓鼠肾 (BHK) 细胞上测试代表性 GRF 类似物的体内活性。结果展示于表 II 中。

[0445] 表 II :通过碱性磷酸酶 (AP) 诱导评估的本文所描述的代表性 GRF 类似物的 EC₅₀

[0446]

序列	EC ₅₀ (nM)	SD	N
Ac-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-K-L-L-Q-D-I-L-S-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 43) (具有 N 末端乙酰化、C 末端酰胺化、Asn(8)被 Asp(8)取代、Gly(15)被 Ala(15)取代并且 Met(27)被 Leu(27)取代的 GRF ₍₁₋₂₉₎ 类似物)	0.25	0.78	13
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-M-S-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 44)	9.73	1.41	3
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 45)	7.55	4.09	3
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (SEQ ID NO: 46)	15.1	4.38	3
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 20)	0.98	0.50	3
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (SEQ ID NO: 21)	2.47	0.81	2
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-a-ib-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 22)	0.72	0.00	1
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (SEQ ID NO: 23)	1.14	0.46	3
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (SEQ ID NO: 24);	1.18	0.90	3
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-S-r-NH ₂ (SEQ ID NO: 25)	2.35	0.00	1
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 26)	0.13	0.00	1
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 27)	0.19	0.07	3
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 28)	0.11	0.14	14
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 29)	0.08	0.00	1
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 30)	0.18	0.03	3
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 31)	0.10	0.04	4

[0447]	反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L -A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 32)	0.11	0.07	4
	Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L- A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 33)	0.25	0.00	1
	Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L- A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 34)	0.20	0.04	4
	Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L- A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 35)	2.52	0.67	2
	Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L- A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH ₂ (SEQ ID NO: 36)	0.20	0.03	5
	Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L- A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH ₂ (SEQ ID NO: 37)	0.20	0.00	1

[0448] Ac :乙酰基

[0449] a :D- 丙氨酸

[0450] r :D- 精氨酸

[0451] Aib :氨基异丁酸

[0452] O :L- 鸟氨酸

[0453] HoSer :L- 高丝氨酸

[0454] SD :标准偏差

[0455] N :实验的次数

[0456] 实例 3 :GRF 类似物的 GH 释放特性

[0457] 测试本文所描述的 GRF 类似物的诱导雌性小鼠和大鼠中 GH 释放的能力。还并行地测量由具有 N 末端乙酰化、C 末端酰胺化、Asn(8) 被 Asp(8) 取代、Gly(15) 被 Ala(15) 取代并且 Met(27) 被 Leu(27) 取代的天然 GRF₍₁₋₂₉₎ 肽的类似物 (SEQ ID NO:43) (其比天然 GRF₍₁₋₂₉₎ 更具活性) 诱导的 GH 释放, 以便对比。数据呈现于表 III(小鼠) 和表 IV-V(大鼠) 中。

[0458] 表 III :响应于本文所描述的代表性 GRF 类似物的施用的雌性小鼠中的生长激素分泌

[0459]

序列	GH 水平 10 分钟 (ng/ml)	SD	P 值	N
Ac-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-K-L-L-Q-D-I-L-S-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 43) (具有 N 末端乙酰化、C 末端酰胺化、Asn(8)被 Asp(8)取代、Gly(15)被 Ala(15)取代并且 Met(27)被 Leu(27)取代的 GRF ₍₁₋₂₉₎ 类似物)	277	57.4	NAP	7
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-M-S-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 44)	15.2	13.2	*	4
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 45)	102.1	72.3	*	4
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (SEQ ID NO: 46)	10.6	3.6	*	4
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 20)	307.7	48.1	*	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (SEQ ID NO: 21)	104.4	32.6	*	9
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-aib-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 22)	249.1	35.0	*	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (SEQ ID NO: 23)	269.9	123.4	*	11
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (SEQ ID NO: 24);	332.6	118.4	*	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-S-r-NH ₂ (SEQ ID NO: 25)	144.1	50.1	*	4
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 26)	484.6	105.7	*	4
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 27)	323.6	146.6	*	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 28)	449.7	169.8	*	8
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 29)	457.7	102.9	*	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 30)	493.3	187.0	*	8

[0460]	反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q -D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 31)	563.6	259.6	*	8
	反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q -D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 32)	401.6	200.9	*	8

[0461] Ac :乙酰基

[0462] a :D- 丙氨酸

[0463] r :D- 精氨酸

[0464] Aib :氨基异丁酸

[0465] O :L- 鸟氨酸

[0466] SD :标准偏差

[0467] NAP :不适用

[0468] * :根据单向方差 (One-way Anova) 测试、Dunnett 比较,与用 SEQ ID NO:43 所获得的值统计上不同的值

[0469] N :动物的数目

[0470] 表 IV :通过 GH 曲线下面积 (AUC, 随时间变化的 GH 浓度) 测定, 响应于本文所描述的代表性 GRF 类似物的施用的雌性大鼠中的积累性大鼠生长激素分泌

[0471]	序列	平均 AUC	SD	P 值	N
	Ac-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-K-L-L-Q-D-I-L-S-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 43) (具有 N 末端乙酰化、C 末端酰胺化、Asn(8) 被 Asp(8)取代、Gly(15)被 Ala(15)取代并且 Met(27)被 Leu(27)取代的 GRF ₍₁₋₂₉₎ 类似物)	2128	347.7 0	NAP	4
	反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-M-S-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 44)	984	284	NS	4

[0472]

反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R -Q-D-I-L-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 45)	1953	462	NS	4
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R -Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (SEQ ID NO: 46)	1453	372	NS	4
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R -Q-D-I-L-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 20)	966	109	NS	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R -Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (SEQ ID NO: 21)	3130	1250	NS	8
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R -Q-D-I-L-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 26)	8880	3110	*	4
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R -Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 27)	8350	3620	*	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R -Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 28)	17633	5338	*	8
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R -Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 29)	9442	541	*	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R -Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 30)	12282	3226	*	8
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R -Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 31)	9093	2606	*	8
反式-3-己烯酰基 -Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R -Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 32)	10500	5282	*	8
Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R -Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 33)	12467	743	NS	8
Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R -Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 34)	11046	5162	*	4
Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R -Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 35)	9144	4865	NS	4
Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R -Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH ₂ (SEQ ID NO: 36)	6211	3365	NS	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R -Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH ₂ (SEQ ID NO: 37)	14757	8617	*	3

[0473]

- [0474] Ac :乙酰基
- [0475] a :D- 丙氨酸
- [0476] r :D- 精氨酸
- [0477] Aib :氨基异丁酸
- [0478] O :L- 鸟氨酸
- [0479] HoSer :L- 高丝氨酸
- [0480] SD :标准偏差
- [0481] NAP :不适用
- [0482] NS :根据单向方差测试、Dunnett 比较,与用 SEQ ID NO:43 所获得的值无统计上不同的值
- [0483] * :根据单向方差测试、Dunnett 比较,与用 SEQ ID NO:43 所获得的值统计上不同的值
- [0484] N :动物的数目
- [0485] 表 V :响应于本文所描述的代表性 GRF 类似物的施用的雌性大鼠中的生长激素分泌的 C_{max} (GH 浓度随时间变化)

	序列	平均 C _{max} (ng/ml)	SD	P 值	N
[0486]	Ac-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-K-L-L-Q-D-I-L-S-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 43) (具有 N 末端乙酰化、C 末端酰胺化、Asn(8)被 Asp(8)取代、Gly(15)被 Ala(15)取代并且 Met(27)被 Leu(27)取代的 GRF ₍₁₋₂₉₎ 类似物)	83.6	14.1	NAP	4
	反式-3-己烯酰基	44.2	24.2	NS	4

[0487]	-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-M-S-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 44)				
	反式-3-己烯酰基				
	-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 45)	78.8	16.0	NS	4
	反式-3-己烯酰基				
	-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (SEQ ID NO: 46)	57.3	27.5	NS	4
	反式-3-己烯酰基				
	-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 20)	31.7	7.6	NS	4
	Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (SEQ ID NO: 21)	135.9	73.0	NS	8
	反式-3-己烯酰基				
	-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 26)	468.1	147.9	*	4
	反式-3-己烯酰基				
	-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 27)	455.6	210.4	*	4
	Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 28)	806.2	240.3	*	8
	Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 29)	466.7	124.3	*	4
	Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 30)	664.1	168.7	*	8
	反式-3-己烯酰基				
	-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 31)	459.9	175.5	*	8
	反式-3-己烯酰基				
	-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 32)	514.8	241.1	*	8
	Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 33)	499.0	12.7	NS	8
	Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 34) _{<0}	539.7	236.3	NS	4
	Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (SEQ ID NO: 35)	376.9	128.5	NS	4
	Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH ₂ (SEQ ID NO: 36)	373.5	207.4	NS	4
	Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH ₂ (SEQ ID NO: 37)	594.6	145.3	NS	3

[0488] Ac : 乙酰基

[0489] a : D- 丙氨酸

[0490] r : D- 精氨酸

[0491] Aib : 氨基异丁酸

[0492] O : L- 鸟氨酸

[0493] HoSer : L- 高丝氨酸

[0494] SD :标准偏差

[0495] NAP :不适用

[0496] NS :根据单向方差测试、Dunnett 比较,与用 SEQ ID NO:43 所获得的值无统计上不同的值

[0497] * :根据单向方差测试、Dunnett 比较,与用 SEQ ID NO:43 所获得的值统计上不同的值

[0498] N :动物的数目

[0499] 虽然上文已经通过本发明的具体实施方案描述了本发明,但是它可以在不背离如所附权利要求中所定义的本发明的精神和本质下进行修改。在权利要求中,将措词“包含”用作开放性术语,大致上等同于短语“包括但不限于”。除非上下文另外清楚地指明,否则单数形式“一个(种)”以及“所述”包括对应多个引用物。

[0001]

序列表

<110> 瑟瑞技术公司
K·G·佩里
A·哈比

<120> 生长激素释放因子(GRF)类似物及其用途

<130> 780/11718.313

<150> US 61/477,775

<151> 2011-04-21

<160> 46

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> 在位置 1 处的 Xaa 是 Tyr 或 His

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> 在位置 2 处的 Xaa 是 Ala、D-Ala、Ser、Leu、 α -氨基异丁酸(Aib)、Val 或 Gly

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> 在位置 8 处的 Xaa 是 Asn、Asp、Ala、Gln、Ser 或 Aib

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

[0002]

- <223> 在位置 9 处的 Xaa 是 Ser、Asp 或 Ala
- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (11).. (11)
- <223> 在位置 11 处的 Xaa 是 Arg 或 L-高精氨酸
- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (12).. (12)
- <223> 在位置 12 处的 Xaa 是 Lys、L-鸟氨酸 或 L-高精氨酸
- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (13).. (13)
- <223> 在位置 13 处的 Xaa 是 Val 或 Ile
- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (15).. (15)
- <223> 在位置 15 处的 Xaa 是 Gly 或 Ala;
- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (18).. (18)
- <223> 在位置 18 处的 Xaa 是 Lys、L-鸟氨酸、L-2,4-二氨基丁酸、L-2,3-二氨基丙酸或 Ser;
- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (18).. (18)
- <223> 如果在位置 18 处的 Xaa 是 Ser, 那么在位置 27 至 32 或 27 至 33 处的 Xaa 存在;
- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (19).. (19)
- <223> 在位置 19 处的 Xaa 是 Ala 或 Leu;
- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (22).. (22)
- <223> 在位置 22 处的 Xaa 是 Asp 或 Glu;
- <220>

[0003]

<221> MISC_FEATURE
<222> (23).. (23)
<223> 在位置 23 处的 Xaa 是 Ile 或 Leu;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (24).. (24)
<223> 在位置 24 处的 Xaa 是 Met、Ile、Nle 或 Leu;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (25).. (25)
<223> 在位置 25 处的 Xaa 是 Ser、Asn、Aib 或 Ala;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26).. (26)
<223> 在位置 26 处的 Xaa 是 Arg、D-Arg、L-高精氨酸 或 Lys;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (27).. (27)
<223> 在位置 27 处的 Xaa 是 Ala 或不存在;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (28).. (28)
<223> 在位置 28 处的 Xaa 是 Ala 或 不存在;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (29).. (29)
<223> 在位置 29 处的 Xaa 是 Arg 或不存在;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (30).. (30)
<223> 在位置 30 处的 Xaa 是 Ala 或不存在;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (31).. (31)
<223> 在位置 31 处的 Xaa 是 Ala 或不存在;

[0004]

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (32).. (32)
<223> 在位置 32 处的 Xaa 是 Arg 或不存在;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (33).. (33)
<223> 在位置 33 处的 Xaa 是 HoSer 或不存在;

<400> 1

Xaa	Xaa	Asp	Ala	Ile	Phe	Thr	Xaa	Xaa	Tyr	Xaa	Xaa	Xaa	Leu	Xaa	Gln
1				5					10					15	

Leu	Xaa	Xaa	Arg	Gln	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa
			20				25							30	

Xaa

<210> 2
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 2

Tyr	Ala	Asp	Ala	Ile	Phe	Thr	Asp	Ser	Tyr	Arg	Lys	Val	Leu	Ala	Gln
1				5					10					15	

Leu	Lys	Ala	Arg	Gln	Asp	Ile	Leu	Ala	Arg
			20				25		

<210> 3
<211> 26

[0005]

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> 在位置 2 处的 Xaa 是 D-Ala

<220>
<221> misc_feature
<222> (26)..(26)
<223> 在位置 26 处的 Xaa 是 D-Arg

<400> 3

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ser Xaa
20 25

<210> 4
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> 在位置 2 处的 Xaa 是 D-Ala

<220>
<221> MOD_RES
<222> (25)..(25)

[0006]

<223> Aib

<400> 4

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Xaa Arg
20 25

<210> 5

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> 在位置 2 处的 Xaa 是 D-Ala

<220>

<221> MOD_RES

<222> (18)..(18)

<223> Orn

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(26)

<223> 在位置 26 处的 Xaa 是 D-Arg

<400> 5

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Xaa Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ser Xaa
20 25

[0007]

<210> 6
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (18).. (18)
<223> 在位置 18 处的 Xaa 是 L-鸟氨酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26).. (26)
<223> 在位置 26 处的 Xaa 是 D-Arg

<400> 6

Tyr	Ala	Asp	Ala	Ile	Phe	Thr	Asp	Ser	Tyr	Arg	Lys	Val	Leu	Ala	Gln
I				5					10				15		

Leu	Xaa	Ala	Arg	Gln	Asp	Ile	Leu	Ser	Xaa
				20				25	

<210> 7
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2).. (2)
<223> 在位置 2 处的 Xaa 是 D-Ala;

[0008]

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(26)

<223> 在位置 26 处的 Xaa 是 D-Arg;

<400> 7

Tyr	Xaa	Asp	Ala	Ile	Phe	Thr	Asp	Ser	Tyr	Arg	Lys	Val	Leu	Ala	Gln
1				5					10				15		

Leu	Lys	Ala	Arg	Gln	Asp	Ile	Leu	Ser	Xaa
			20				25		

<210> 8

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 8

Tyr	Ala	Asp	Ala	Ile	Phe	Thr	Asp	Ser	Tyr	Arg	Lys	Val	Leu	Ala	Gln
1				5					10				15		

Leu	Lys	Ala	Arg	Gln	Asp	Ile	Leu	Ala	Arg	Ala	Ala	Arg
			20				25					

<210> 9

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 9

[0009]

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Ser Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
20 25 30

<210> 10
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> 在位置 2 处的 Xaa 是 D-Ala

<400> 10

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
20 25 30

<210> 11
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)

[0010]

<223> 在位置 2 处的 Xaa 是 D-Ala

<400> 11

Tyr	Xaa	Asp	Ala	Ile	Phe	Thr	Asp	Ser	Tyr	Arg	Lys	Val	Leu	Ala	Gln
1				5					10				15		

Leu	Lys	Leu	Arg	Gln	Asp	Ile	Leu	Ala	Arg	Ala	Ala	Arg	Ala	Ala	Arg
			20				25					30			

<210> 12

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2),. (2)

<223> 在位置 2 处的 Xaa 是 D-Ala

<400> 12

Tyr	Xaa	Asp	Ala	Ile	Phe	Thr	Asp	Ser	Tyr	Arg	Lys	Val	Leu	Ala	Gln
1				5					10				15		

Leu	Lys	Ala	Arg	Gln	Asp	Leu	Leu	Ala	Arg	Ala	Ala	Arg	Ala	Ala	Arg
			20				25					30			

<210> 13

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

[0011]

<400> 13

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
20 25 30

<210> 14

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 14

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Leu Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
20 25 30

<210> 15

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 15

Tyr Ser Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
20 25 30

[0012]

<210> 16
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 16

Tyr Gly Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
20 25 30

<210> 17
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 17

Tyr Leu Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
20 25 30

<210> 18
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

[0013]

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (33)..(33)

<223> 在位置 33 处的 Xaa 是 L-高丝氨酸

<400> 18

Tyr Gly Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
20 25 30

Xaa

<210> 19

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> 在位置 2 处的 Xaa 是 D-Ala

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (33)..(33)

<223> 在位置 33 处的 Xaa 是 L-高丝氨酸

<400> 19

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

[0014]

1	5	10	15
Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg			
20	25	30	

Xaa

<210> 20
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Tyr 残基连接至反式-3-己烯酰基部分

<220>
<221> MOD_RES
<222> (26)..(26)
<223> 酰胺化

<400> 20

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln			
1	5	10	15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg		
20	25	

<210> 21
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

[0015]

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> 在位置 2 处的 Xaa 是 D-Ala

<220>

<221> MOD_RES

<222> (26)..(26)

<223> 酰胺化

<220>

<221> misc_feature

<222> (26)..(26)

<223> 在位置 26 处的 Xaa 是 D-Arg

<400> 21

Tyr	Xaa	Asp	Ala	Ile	Phe	Thr	Asp	Ser	Tyr	Arg	Lys	Val	Leu	Ala	Gln
1				5					10				15		

Leu	Lys	Ala	Arg	Gln	Asp	Ile	Leu	Ser	Xaa
				20				25	

<210> 22

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> 在位置 2 处的 Xaa 是 D-Ala

[0016]

<220>

<221> MOD_RES

<222> (25).. (25)

<223> Aib

<220>

<221> MOD_RES

<222> (26).. (26)

<223> 酰胺化

<400> 22

Tyr	Xaa	Asp	Ala	Ile	Phe	Thr	Asp	Ser	Tyr	Arg	Lys	Val	Leu	Ala	Gln
1				5					10					15	

Leu	Lys	Ala	Arg	Gln	Asp	Ile	Leu	Xaa	Arg
			20					25	

<210> 23

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2).. (2)

<223> 在位置 2 处的 Xaa 是 D-Ala

<220>

<221> MOD_RES

<222> (18).. (18)

<223> Orn

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26).. (26)

<223> 在位置 26 处的 Xaa 是 D-Arg

[0017]

<220>

<221> MOD_RES

<222> (26).. (26)

<223> 酰胺化

<400> 23

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Xaa Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ser Xaa
20 25

<210> 24

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1).. (1)

<223> Tyr 残基连接至反式-3-己烯酰基部分

<220>

<221> MOD_RES

<222> (18).. (18)

<223> Orn

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26).. (26)

<223> 在位置 26 处的 Xaa 是 D-Arg

<400> 24

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

[0018]

Leu Xaa Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ser Xaa
20 25

<210> 25
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> 在位置 2 处的 Xaa 是 D-Ala;

<220>
<221> MOD_RES
<222> (26)..(26)
<223> 酰胺化

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(26)
<223> 在位置 26 处的 Xaa 是 D-Arg;

<400> 25

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ser Xaa
20 25

<210> 26
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

[0019]

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Tyr 残基连接至反式-3-己烯酰基部分

<220>

<221> MOD_RES

<222> (29)..(29)

<223> 酰胺化

<400> 26

Tyr	Ala	Asp	Ala	Ile	Phe	Thr	Asp	Ser	Tyr	Arg	Lys	Val	Leu	Ala	Gln
1				5					10				15		

Leu	Lys	Ala	Arg	Gln	Asp	Ile	Leu	Ala	Arg	Ala	Ala	Arg
			20				25					

<210> 27

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Tyr 残基连接至反式-3-己烯酰基部分

<220>

<221> MOD_RES

<222> (32)..(32)

<223> 酰胺化

<400> 27

[0020]

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Ser Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
20 25 30

<210> 28
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> 在位置 2 处的 Xaa 是 D-Ala

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

<400> 28

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
20 25 30

<210> 29
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

[0021]

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> 在位置 2 处的 Xaa 是 D-Ala

<220>

<221> MOD_RES

<222> (32)..(32)

<223> 酰胺化

<400> 29

Tyr	Xaa	Asp	Ala	Ile	Phe	Thr	Asp	Ser	Tyr	Arg	Lys	Val	Leu	Ala	Gln
1				5					10					15	

Leu	Lys	Leu	Arg	Gln	Asp	Ile	Leu	Ala	Arg	Ala	Ala	Arg	Ala	Ala	Arg
			20				25						30		

<210> 30

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> 在位置 2 处的 Xaa 是 D-Ala

<220>

<221> MOD_RES

<222> (32)..(32)

<223> 酰胺化

<400> 30

[0022]

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Leu Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
20 25 30

<210> 31
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Tyr 残基连接至反式-3-己烯酰基部分

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

<400> 31

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
20 25 30

<210> 32
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

[0023]

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Tyr 残基连接至反式-3-己烯酰基部分

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

<400> 32

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Leu Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
20 25 30

<210> 33
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

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

<400> 33

Tyr Ser Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
20 25 30

[0024]

<210> 34
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

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

<400> 34

Tyr Gly Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
20 25 30

<210> 35
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

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

<400> 35

Tyr Leu Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

[0025]

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
20 25 30

<210> 36
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (33).. (33)
<223> 在位置 33 处的 Xaa 是 L-高丝氨酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (33).. (33)
<223> 酰胺化

<400> 36

Tyr Gly Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
20 25 30

Xaa

<210> 37
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

[0026]

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> 在位置 2 处的 Xaa 是 D-Ala

<220>

<221> MOD_RES

<222> (33)..(33)

<223> 酰胺化

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (33)..(33)

<223> 在位置 33 处的 Xaa 是 L-高丝氨酸

<400> 37

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
20 25 30

Xaa

<210> 38

<211> 44

<212> PRT

<213> 智人

<400> 38

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asn Ser Tyr Arg Lys Val Leu Gly Gln
1 5 10 15

Leu Ser Ala Arg Lys Leu Leu Gln Asp Ile Met Ser Arg Arg Gln Gln

[0027]

20

25

30

Gly Glu Ser Asn Glu Arg Gly Ala Arg Ala Arg Leu

35

40

<210> 39

<211> 29

<212> PRT

<213> 智人

<400> 39

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asn Ser Tyr Arg Lys Val Leu Gly Gln

1

5

10

15

Leu Ser Ala Arg Lys Leu Leu Gln Asp Ile Met Ser Arg

20

25

<210> 40

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> 在位置 1 处的 Xaa 是任何氨基酸

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> 在位置 2 处的 Xaa 是任何氨基酸

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

[0028]

<223> 在位置 8 处的 Xaa 是任何氨基酸

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> 在位置 9 处的 Xaa 是任何氨基酸

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> 在位置 11 处的 Xaa 是任何氨基酸

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (12)..(12)

<223> 在位置 12 处的 Xaa 是任何氨基酸

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(13)

<223> 在位置 13 处的 Xaa 是任何氨基酸

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(15)

<223> 在位置 15 处的 Xaa 是任何氨基酸

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (18)..(18)

<223> 在位置 18 处的 Xaa 是任何氨基酸

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (18)..(18)

<223> 如果在位置 18 处的 Xaa 是 Ser, 那么在位置 27 至 32 或 27 至 33 处的 Xaa 存在;

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (19)..(19)

<223> 在位置 19 处的 Xaa 是任何氨基酸;

<220>

<221> MISC_FEATURE

[0029]

<222> (22).. (22)
<223> 在位置 22 处的 Xaa 是任何氨基酸;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (23).. (23)
<223> 在位置 23 处的 Xaa 是任何氨基酸;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (24).. (24)
<223> 在位置 24 处的 Xaa 是任何氨基酸;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (25).. (25)
<223> 在位置 25 处的 Xaa 是任何氨基酸;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26).. (26)
<223> 在位置 26 处的 Xaa 是任何氨基酸;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (27).. (27)
<223> 在位置 27 处的 Xaa 是任何氨基酸或不存在;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (28).. (28)
<223> 在位置 28 处的 Xaa 是任何氨基酸或不存在;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (29).. (29)
<223> 在位置 29 处的 Xaa 是任何氨基酸或不存在;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (30).. (30)
<223> 在位置 30 处的 Xaa 是任何氨基酸或不存在;

<220>

[0030]

<221> MISC_FEATURE
<222> (31).. (31)
<223> 在位置 31 处的 Xaa 是任何氨基酸或不存在;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (32).. (32)
<223> 在位置 32 处的 Xaa 是任何氨基酸或不存在;

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (33).. (33)
<223> 在位置 33 处的 Xaa 是任何氨基酸或不存在;

<400> 40

Xaa	Xaa	Asp	Ala	Ile	Phe	Thr	Xaa	Xaa	Tyr	Xaa	Xaa	Xaa	Leu	Xaa	Gln
1				5					10					15	

Leu	Xaa	Xaa	Arg	Gln	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa
			20				25						30		

Xaa

<210> 41
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 41

Ala	Ala	Arg	Ala	Ala	Arg
1				5	

<210> 42
<211> 7

[0031]

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> 在位置 7 处的 Xaa 是 L-高丝氨酸

<400> 42

Ala Ala Arg Ala Ala Arg Xaa
1 5

<210> 43
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 乙酰化

<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)..(29)
<223> 酰胺化

<400> 43

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Ser Ala Arg Lys Leu Leu Gln Asp Ile Leu Ser Arg

[0032]

20

25

<210> 44
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Tyr 残基连接至反式-3-己烯酰基部分

<220>
<221> MOD_RES
<222> (26)..(26)
<223> 酰胺化

<400> 44

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Ser Ala Arg Gln Asp Ile Met Ser Arg
20 25

<210> 45
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)

[0033]

<223> Tyr 残基连接至反式-3-己烯酰基部分

<220>

<221> MOD_RES

<222> (26).. (26)

<223> 酰胺化

<400> 45

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
1 5 10 15

Leu Ser Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg
20 25

<210> 46

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1).. (1)

<223> Tyr 残基连接至反式-3-己烯酰基部分

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26).. (26)

<223> 在位置 26 处的 Xaa 是 D-Arg

<220>

<221> MOD_RES

<222> (26).. (26)

<223> 酰胺化

<400> 46

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

[0034]

1	5	10	15
Leu Ser Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ser Xaa			
20	25		