(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。Int. Cl.[7]
A61K 38/26
A61K 38/00

(11) 공개번호 10-2004-0098063
(43) 공개일자 2004년11월18일

(21) 출원번호 10-2004-7016025
(22) 출원일자 2004년10월08일
번역문 제출일자 2004년10월08일
(86) 국제출원번호 PCT/US2003/008457
(87) 국제공개번호 WO 2003/087139
(86) 국제출원출원일자 2003년03월27일
(87) 국제공개일자 2003년10월23일

(30) 우선권주장 60/371,650 2002년04월10일 미국(US)

(71) 출원인 일라이 릴리 앤드 캄파니
미국 46285 인디애나주 인디애나폴리스 릴리 코포레이트 센터

(72) 발명자 자쿠보우스키,조셉,안토니
미국 46208 인디애나주 인디애나폴리스 거버너스 로드 3740

맥킨니,투르만,드와이트
미국 46278 인디애나주 인디애나폴리스 로한 코트 8914

(74) 대리인 장수길
김영

심사청구 : 있음

(54) 위마비의 치료

요약

본 발명은 위마비를 치료하기 위한 글루카곤 유사 펩티드(GLP-1) 화합물의 용도에 관한 것이다. 위마비 환자는 일반적으로 위 배출의 지연을 경험한다. GLP-1 화합물을 사용하여 이들 환자의 위 배출을 조절할 수 있다.

색인어

위마비, 글루카곤 유사 펩티드, GLP-1, 위 배출, 당뇨병

명세서

기술분야

본 발명은 위마비를 치료하기 위한 글루카곤 유사 펩티드(GLP-1) 화합물의 용도에 관한 것이다.

배경기술

무력한 위를 뜻하는 위마비는 위장관(GI)계의 마비이다. 이것은 자율신경계의 기능장애 또는 기능이상을 일으켜 식사를 섭취한 후 위 배출을 지연시키는 신경병의 한 유형이다. 위는 두 부분을 갖는다. 근위부 또는 위저부라고 불리는 상부 부분은 삼켜진 음식물 및 액체가 모이는 곳이다. 원위부 또는 전정부라고 불리는 하부 부분은 음식물이 작은 파편으로 나눠진 다음 소장의 처음 부분인 십이지장으로 배출될 때까지 음식물이 앞뒤로 휘저어지는 곳이다. 고체상 배출은 전정부의 강력한 원형 수축에 의해 결정된다. 정상적인 개체에서는, 고체 식사의 섭취 후에 협조된 활성파가 전정부를 가로질러 1분에 약 3회 지나가 위를 수축시킨다. 위마비를 앓고 있는 개체에서는, 전파가 느리게 되고 위 수축 빈도가 낮아지며, 때때로 음식물을 위안에 머물게 하는 힘이 더 약하다.

위마비는 몸을 매우 쇠약하게 할 수 있다. 증상으로는 오심, 구토, 조기 포만감, 복부 팽창, 상복부통 또는 상복부 화끈거림 및 식욕부진이 있다. 위마비는 비당뇨병 환자에서 일어나지만, 1형 및 2형 당뇨병 환자에서도 상당히 흔하다. 당뇨병의 약 75%가 일부 유형의 위장관 기능부전을 경험하고 당뇨병의 약 25 내지 35%가 위마비를 경험한다. 이 질환이 당뇨병 집단에서 왜 그렇게 높은 비율로 유행하는지는 분명하지 않지만, 고혈당증이 위 배출을 지연시키고 이 질환과 관련된 증상을 악화시키기 때문에 당 조절이 중요한 것으로 보인다.

현재 이용가능한 치료법은 전적으로 효과적이지는 않으며 종종 바람직하지 않은 부작용을 수반한다. 예를 들어, 운동촉진제 및 진토제를 투여하여 위 배출 지연을 치료할 수 있다. 맥칼럼(McCallum, R.) 등의 문헌[*Diabetic and nondiabetic gastroparesis: current treatment options* 1 Gastroenterology 1-7(1998)]. 정맥내 에리트로마이신은 종종 질환의 중증도 또는 다른 문제로 인해 경구 약을 복용할 수 없는 환자가 선택하는 치료법이다. 그러나, 에리트로마이신은 GI 독성, 이독성, 가막성 대장염 및 내성 세균 균주의 도입을 일으킬 수 있다. 경구 약을 복용할 수 있는 환자의 경우, 시사프라이드(Cisapride)가 대개 가장 효능있다. 시사프라이드의 부작용으로는 복부 거북함 및 장 운도 빈도 증가가 있다. 또한, 심장 부정맥을 일으킬 수 있는 중요한 약물 상호반응이 있으므로, 이 약물은 미국에서의 그의 입수가능성이 엄격히 제한된다. 이 질환의 치료에 관하여 충족되지 않은 의학적 요구가 분명히 있다.

당뇨병에서, 위마비 및 수반되는 증상의 중증도는 엄격한 인슐린 치료 처방으로 어느 정도 개선되어 혈당 조절을 개선시킬 수 있다. 그러나, 위마비 및 관련된 위 배출 지연은 인슐린 또는 경구 약으로 치료된 당뇨병 환자의 저혈당 및 고혈당 모두의 위험을 증가시킨다. 소장으로의 음식물 전달이 위마비로 인해 방해될 때, 저혈당의 위험이 증가된다. 식후에 혈당의 정상적인 상승이 지연되어, 혈당량이 여전히 낮을 때 식사전 투여된 인슐린이 최고 농도에 도달하게 된다. 혈당량은 결국 수시간 후에 상승하지만, 이때 인슐린 농도는 인슐린이 더 이상 이 저혈당증과 반작용하기에 충분하지 않게 감소하기 시작한다. 따라서, 보통 내지 위중한 위마비를 앓고 있는 당뇨병 환자에서는, 혈당량이 식사 후 언제 증가할지를 예상할 수 없기 때문에 효과적인 혈당 조절이 거의 불가능하게 된다.

GLP-1 화합물을 사용하는 위마비의 치료법은 효과가 없고 위중한 부작용이 있는 화합물의 투여와 관련된 문제를 해결한다. 또한, GLP-1은 인슐린 분비 활성을 가지지만, 저혈당증을 일으키지는 않으므로, GLP-1은 당뇨병 환자에서 위마비를 치료할 뿐만 아니라, 이들 환자의 인슐린 또는 경구 제제에 의한 치료 후 비효과적인 당 조절과 관련된 문제를 극복시킨다.

GLP-1 유사체 및 유도체는 주로 2형 당뇨병을 치료하기 위해 개발되고 있다. GLP-1의 인슐린 분비 효과는 잘 보고되어 있지만, 이 펩티드는 래트에서 위 배출을 지연시키고 소장 운동을 저해함을 포함한 추가의 중요한 생리 효과가 있다 (이메리우즈(Imeryuz, N.) 등의 문헌[*Glucagon-like peptide-1 inhibits gastric emptying via vagal afferent-mediated central mechanisms* , 273 Am. J. Physiol., G920-G927(1997)]; 윌름스(Willms, B.) 등의 문헌[*Gastric emptying, glucose responses, and insulin secretion after a liquid test meal: Effects of exogenous glucagons-like peptide-1(GLP-1)-(7-36) Amide in type 2(noninsulin dependent) diabetic patients,* 81 J. Clin. Endocrinology, 327-332(1996)]; 웨터 그렌(Wettergren, A.) 등의 문헌[*The inhibitory effect of glucagons-like peptide-1(GLP-1) 7-36 amide on gastric acid secretion in humans depends on an intact vagal innervation,* 40 Gut 597-601(1997)]; 톨레사(Tolessa, T.) 등의 문헌[*Inhibitory effect of glucagons-like peptide-1 on small bowel motility,* 102 J. Clin, Invest., 764-774(1998)]). 또한, GLP-1은 과민성 장 증후군(IBS) 및 기능성 소화불량의 치료용으로 시사된 바 있다. 미국 특허 제6,348,447 B1호를 참조한다.

IBS 및 일부 유형의 기능성 소화불량은 위마비와 상당히 다르다. 기능성 소화불량은 일반적으로 복부에 집중되는 만성 또는 재발성 동통과 관련있다. IBS는 배변 활동에 영향을 주고 물의 혼합 및 흡수를 촉진할 수 있는 대장의 이상 수축으로부터 유래한다. 소장의 과잉운동도 또한 발견되고 경련성 복통이 동통의 주 원인이다. 위장관 운동 기능은 몇몇 사건들간에 완전히 이해되지 않는 복잡한 상호관계를 포함하지만, IBS 혹은 일부 유형의 기능성 소화불량은 하부 GI관의 문제와 관련되는 반면에 위마비는 위 배출 지연으로 인한 상부 GI 문제와 관련되는 것으로 보인다. GLP-1이 실제적으로 위 배출 지연을 일으키고 평활근 수축을 저해하는 것으로 나타났다면, 이 펩티드를 사용하여 수축성 감소 및 위 배출 지연에 의해 초래되는 것으로 생각되는 장애인 위마비를 치료할 수 있음을 놀라운 일이다. GLP-1의 인슐린 분비 작용이 당 의존성이라면, 이것은 특히 고무적인 발견이다. 인슐린의 투여와는 달리, GLP-1의 투여와 관련된 저혈당증의 위험은 없다. 따라서, GLP-1 유사체, GLP-1 유도체, 및 GLP-1 수용체의 효능제를 비롯한 GLP-1 화합물을 당뇨병 에 사용하여 혈당을 정상화할 수 있고, 당뇨병 및 비당뇨병 모두에서 위마비를 치료할 수 있다.

발명의 상세한 설명

본 발명은 위마비를 앓고 있는 환자에게 유효량의 GLP-1 화합물을 투여함을 포함하는, 위마비 환자의 위마비를 치료하는 방법, 또는 위마비 치료를 위한 약제의 제조를 위한 GLP-1 화합물의 용도를 포함한다. 위마비 환자는 비당뇨병 또는 당뇨병 환자일 수 있다. GLP-1 화합물은 당업자에게 공지된 임의의 방법에 의해 투여될 수 있다. 바람직하게는, GLP-1 화합물은 피하 주사에 의해, 경구적으로 투여되거나, 또는 구강 막을 통해 흡수된다.

도 1은 2형 당뇨병 환자에게 위약(기저선), Val ^{8} -GLP-1(7-37)OH 2.5㎎(1군) 및 3.5㎎(2군)을 1일 1회 투여한 후의 평균(±SEM) 당 농도를 나타내는 그래프이다.

도 2는 2형 당뇨병 환자에게 위약(기저선), Val ^{8} -GLP-1(7-37)OH 4.5㎎(3군 및 4군)을 1일 1회 투여한 후의 평균(±SEM) 당 농도를 나타내는 그래프이다.

GLP-1 화합물을 사용하는 방법 및 조성물은 위마비의 치료에 효과적이다. 위마비는 위의 조절곤란 및 유문 수축성과 관련된 위 배출 결함과 관련되어 있다. GLP-1 화합물은 위 및(또는) 유문 수축성을 조절하도록 작용하여 위 배출 지연을 감소시키거나 제거한다.

환자의 40%에서, 위마비는 원인 불명이다. 그러나, 이 질환은 당뇨병 환자 중 약 25% 내지 35%에서 발생하고, 한 연구에서는 이 장애가 59% 정도로 매우 널리 퍼져있음을 밝혀냈다 (소이칸(Soykan, I.) 등의 문헌[*Demography, clinical characteristics, psychological and abuse profile, treatment and long term follow-up of patients with gastroparesis,* II Dig. Dis. Sci. 2398-2404(1998)]; 히바(Hiba, R.)의 문헌[*Is there a difference in the prevalence of gastrointestinal symptoms between type 1 and type 2 diabetics?* 4 Gastroenterology A79(1999)]).

위마비의 증상으로는 오심, 구토, 복부 팽창, 상복부통, 식욕부진 및 조기 포만감이 있다. 더 위중한 경우에서, 환자는 수시간 전에 먹은 소화되지 않은 음식물을 구토할 수 있고, 체중 감소, 탈수 및 영양실조의 신호와 함께 양성의 타진 신호를 나타낼 수 있다. 위마비의 전신적 원인은 환자를 진성 당뇨병, 갑상선 기능저하증, 코르티솔(cortisol) 결핍증, 칼슘과잉혈증 및 임신에 대하여 시험하여 평가한다. 바륨 조영 검사, 내시경 검사 및 상부 GI 조영술로 소화성 궤양 및 위 출구 폐색을 배제할 수 있다. 위로부터의 바륨 배출이 불량하다는 것은 위 배출이 느리다는 것을 나타낼 수 있다. 그러나, 위 섬광조영술은 위마비의 적절한 진단을 위한 유용한 기준이다. 이 시험에서는, 환자에게 99-M 테크네튬(TC) 황 콜로이드 또는 다른 방사성 리간드로 표지된 금속을 섭취하도록 요구한다. 그 다음, 감마 카메라를 사용하여 위 영역에서 방사활성을 측정한다. 액체 식사를 배출하는 것은 실제 위 배출을 나타내지 않기 때문에, 식사는 고체이어야 한다. 시험의 결과는 식사의 50%를 배출하는 시간 또는 특정 시간 간격에서의 배출 비율로서 기록할 수 있다 (톰포드(Thomforde, G. M.) 등의 문헌[*Evaluation of an inexpensive screening scintigraphic test of gastric emptying,* 36 J. Nucl. Med. 93(1995)]). 위 배출을 측정하기 위하여 13-탄소 표지된 음식물을 사용한 호흡 시험도 또한 이용할 수 있다. C ^{13} 은 소장에 도달하면 흡수되고, 호흡 기체내에서의 그 측정치는 위 배출을 나타낼 수 있다 (구스(Ghoos, Y. S.) 등의 문헌[104 Gastroenterology 1640-1647(1993)]). 심전도에 사용되는 것과 유사한 피부 전극으로 피부 활성을 측정하는 위전도기록(EGG)도 또한 위마비의 진단에 이용할 수 있다 (스턴(Stern, R. N.) 등의 문헌[*EGG: Common issues in validation and methodology,* 24 Psychophysiology 55-64(1987)]).

위가 정상적으로 기능한다면, 고체 음식물이 위에 도달할 때, 위저부가 이완하여 섭취된 음식물을 수용한다. 위 수축에 의해 전정부에서 음식물이 혼합 및 분쇄된다. 전정부 수축은 음식물 입자의 크기가 3㎜ 미만이 될 때까지 음식물 입자를 혼합하고 휘저으며, 이 과정은 30 내지 40분이 소요된다(지체기). 전정부 수축과 협조적으로 이루어지는 유문 수축에 의해 입자를 십이지장으로 이동시킨다. 이러한 복잡한 순서의 협조적 사건은 뇌 및 척수로부터의 외부 신경 공급, 위 및 소장 벽내의 복잡한 신경 네트워크, 및 위 근육 세포의 흥분성을 변화시키는 아민 및 펩티드와 같은 국소 방출된 전달물질의 효과에 의해 제어된다. 임의의 이들 네트워크에 이상이 생기면, 비정상적인 위 배출 및 위마비가 초래될 수 있다.

천연 GLP-1이 인간에게 투여될 때 나타나는 위 배출 지연을 증명하는 다수의 문헌을 고려하면, 위마비를 치료하는 GLP-1 화합물의 능력은 놀라운 일이다 (예컨 대, 윌름스의 문헌[*Gastric emptying, glucose responses, and insulin secretion after a liquid test meal: effects of exogenous glucagons-like peptide(GLP-1)-(7-36) amide in type 2(noninsulin dependent) diabetic patients,* 81 J. Clin. Endocrinology Metabolism, 327-332(1996)]) 참조). 도 1 및 도 2에 묘사된 연구는 증후성 위마비를 앓고 있지 않는 2형 당뇨병 환자에게 GLP-1 화합물을 투여하면 위약에 비하여 위 배출을 지연시키지 않음을 나타낸다. 고체 식사의 섭취 후 최고 당 농도에 이르는 시간은 대조군을 비롯한 각각의 군에 있어서 동일하였다. GLP-1 화합물은 위 배출을 지연시키지 않을 수 있고, 대신에 환자가 더 이상 위마비와 관련된 증상을 하나 이상 겪지 않도록 위 배출을 정상화할 수 있다.

산화질소(NO)는 위 및 유문의 기능 발휘에 영향을 주는 신경전달물질로서 시사된 바 있다. 또한, 동물 실험 결과, NO의 생성을 담당하는 효소인 뉴런성 NO 합성효소(nNOS)의 조절곤란이 위장관 문제가 있는 당뇨병에서 발생하는 것

으로 나타났다 (왓킨스(Watkins) 등의 문헌[*Insulin restores neuronal nitric oxide synthase expression and function that is lost in diabetic gastropathy,* 106 J. Clin. Invest. 373-384(2000)]). nNOS의 발현과 관련된 분자적 메카니즘은 밝혀지지 않았다. 그러나, GLP-1 화합물은 산화질소(NO) 발현을 간접적으로 조절함으로써 위마비의 치료에 작용할 수 있다. 또한, GI 기능에 대한 몇몇 GLP-1 효과는 미주신경이 절단된 인간에서는 없어지기 때문에, GLP-1은 신경 경로를 통해 작용한다. 여기에는 구심성 미주신경, 중추신경 부위 또는 구심성 미주신경에서의 전달과 관련된 GLP-1 수용체가 관여할 수 있다. 또한, GLP-1 수용체는 GI관, 주로 위 및 소장에서 확인되었다.

GLP-1 화합물을 사용하여 비당뇨병 환자의 위마비를 치료할 수도 있지만, 이 화합물은 당뇨병 환자의 위마비를 치료하기에 매우 적합하다. GLP-1 화합물은 저혈당증을 일으키지 않으면서 인슐린 분비를 증가시키고 인슐린 감수성을 증진시킴으로써 혈당량을 조절할 수 있다. 따라서, GLP-1 화합물은 위마비를 앓고 있는 당뇨병 환자의 혈당량을 정상화하는데 더욱 효과적인데, 이는 이 화합물이 상기 환자의 위 배출을 조절할 뿐만 아니라, 화합물이 저혈당증을 유발하지 않아서 위마비와 관련된 임의의 예상치 못한 위 배출의 지연으로 인해 환자가 저혈당증의 위험에 노출될 가능성이 높아지지 않기 때문이다.

본 발명에 사용하기에 적당한 GLP-1 화합물로는 GLP-1, GLP-1 유사체, GLP-1 유도체, 엑센딘(Exendin)-4, 엑센딘-4 유사체, 엑센딘-4 유도체, 및 GLP-1 수용체의 다른 효능제가 있다.

본 발명에 포함되는 GLP-1 유사체는 이 화합물이 GLP-1 수용체에 결합하여 신호전달 유도 경로를 개시함으로써 위마비와 관련된 하나 이상의 증상을 개선시키는 능력을 갖도록 GLP-1(7-37)OH 또는 GLP-1(7-37)OH의 단편에 대하여 충분한 상동성을 갖는다. GLP-1 화합물이 본 발명에 포함되는 방법에 적합한지를 결정하기 위하여, 시험관내 신호전달 분석법을 이용할 수 있다. 실시예 3은 GLP-1 수용체 신호전달을 검출하는 분석법에 의해 측정된 시험관내 활성을 갖는 다수의 GLP-1 유사체를 기재한 표를 제공한다. 구체적으로, GLP-1 화합물이 GLP-1 수용체에 생산적으로 결합하면, 2차 전령인 cAMP가 활성화된다. 그 다음, 루시퍼라제 또는 베타 락타마제와 같은 리포터(reporter) 유전자의 발현을 유도하는 cAMP 반응 요소를 사용하여 cAMP 수준의 유도 정도를 측정할 수 있다.

이 분석법을 이용하여 단일 투여량-반응 실험에서 50% 활성을 일으키는 GLP-1 화합물의 유효 농도인 EC50 효능도를 측정할 수 있다. 이 분석법은 인간 GLP-1 수용체를 안정하게 발현하는 HEK-293 오로라(Aurora) CRE-BLAM 세포를 사용하여 수행된다. 이 HEK-293 세포에는 β-락타마제(BLAM) 유전자의 발현을 유도하는 cAMP 반응 요소(CRE)를 갖는 DNA 벡터가 안정하게 통합되어 있다. GLP-1 효능제와 수용체의 상호작용에 의해, cAMP 반응 요소의 활성화 및 후속 β-락타마제 발현을 일으키는 신호가 개시된다. 그 다음, β-락타마제(오로라 바이오사이언시스 코포레이션(Aurora Biosciences Corp.)사)에 의해 절단시 형광을 방출하는 β-락타마제 CCF2/AM 기질을, 소정량의 GLP-1 효능제에 노출시킨 세포에 첨가하여 GLP-1 효능제의 효능도 측정치를 얻을 수 있다. 이 분석법은 즐로카니크(Zlokarnik) 등의 문헌[Science 279:84-88 (1998)]에 추가로 기술되어 있다(또한 실시예 3 참조).

본 발명의 GLP-1 화합물은 Val^{8}-GLP-1(7-37)OH의 시험관내 효능도보다 10배 이하, 바람직하게는 5배 이하, 더 바람직하게는 3배 이하로 낮은 시험관내 효능도를 갖는 것이 바람직하다. 가장 바람직하게는, GLP-1 화합물은 Val^{8}-GLP-1(7-37)OH의 시험관내 효능도보다 낮지 않은 시험관내 효능도를 갖는다.

생물활성 형태의 천연 GLP-1은 GLP-1(7-37)OH 및 GLP-1(7-36)아미드로서 알려진 두 절단(truncated) 펩티드이다. 이러한 두 천연 절단 GLP-1 펩티드는 식 I(서열 1)로 나타낸다:

```
7   8   9   10  11  12  13  14  15  16  17
His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-
18  19  20  21  22  23  24  25  26  27  28
Ser-Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-
29  30  31  32  33  34  35  36  37
Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-Arg-Xaa
```

식 I (서열 1)

상기 식에서, 37번 위치의 Xaa는 Gly 또는 $-NH_2$이다.

바람직하게는, GLP-1 화합물은 서열 1의 아미노산 서열을 가지거나, 또는 서열 1과 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개의 아미노산이 다르도록 변경된다.

당업계에 공지된 몇몇 GLP-1 화합물의 예로는 GLP-1(7-34) 및 GLP-1(7-35), GLP-1(7-36), Gln^{9}-GLP-1(7-37), D-Gln^{9}-GLP-1(7-37), Thr^{16}-Lys^{18}-GLP-1(7-37), 및 Lys^{18}-GLP-1(7-37)이 있다. GLP-1(7-34) 및 GLP-1(7-35)와 같은 GLP-1 화합물은 미국 특허 제5,118,666호에 개시되어 있다. 다른 공지의 생물학적 활성 GLP-1 유사체는 미국 특허 제5,977,071호, 미국 특허 제5,545,618호, 미국 특허 제5,705,483호, 미국 특허 제5,977,

071호, 미국 특허 제6,133,235호, 아델호스트(Adelhorst) 등의 문헌[J. Biol. Chem. 269:6275(1994)] 및 시아오(Xiao, Q.) 등의 문헌[Biochemistry 40:2860-2869(2001)]에 개시되어 있다.

GLP-1 화합물은 또한 하나 이상의 아미노산이 GLP-1(7-37)OH의 N-말단 및(또는) C-말단에 부가된 폴리펩티드, 또는 그의 단편 또는 유사체를 포함한다. 바람직하게는, 1개 내지 8개의 아미노산이 GLP-1(7-37)OH의 C-말단에 부가된다. 이러 한 유형의 GLP-1 화합물은 약 39개 이하의 아미노산을 갖는 것이 바람직하다. '연장된' GLP-1 화합물의 아미노산은 GLP-1(7-37)OH 내의 상응하는 아미노산과 동일한 번호로 나타낸다. 예를 들어, GLP-1(7-37)OH의 N-말단에 2개의 아미노산을 부가하여 얻어진 GLP-1 화합물의 N-말단 아미노산은 5번 위치이고, GLP-1(7-37)OH의 C-말단에 1개의 아미노산을 부가하여 얻어진 GLP-1 화합물의 C-말단 아미노산은 38번 위치이다. 연장된 GLP-1 화합물의 38-45번 아미노산은 바람직하게는 엑센딘-3 또는 엑센딘-4의 상응하는 위치의 아미노산과 동일하거나 또는 그의 보존성 치환이다. 엑센딘-3 및 엑센딘-4의 아미노산 서열은 식 II(서열 2)로 나타낸다:

서열 2

```
7   8   9   10  11  12  13  14  15  16  17
His-Xaa-Xaa-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-
18  19  20  21  22  23  24  25  26  27  28
Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-
29  30  31  32  33  34  35  36  37  38  39
Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-
40  41  42  43  44  45
Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser
```

상기 식에서,

8번 위치의 Xaa는 Ser 또는 Gly이고;

9번 위치의 Xaa는 Asp 또는 Glu이고;

45번 위치의 Ser는 Ser 또는 Ser-NH_2 이다.

엑센딘-3은 8번 위치에 Ser을 갖고 9번 위치에 Asp를 갖는다. 엑센딘-4는 8번 위치에 Gly을 갖고 9번 위치에 Glu를 갖는다.

가장 바람직한 GLP-1 화합물은 GLP-1 유사체를 포함하며, 이때 이러한 유사체 또는 단편의 골격은 8번 위치에 알라닌이 아닌 아미노산을 함유한다(8번 유사체). 바람직한 8번 위치의 아미노산은 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌, 또는 메티오닌이고, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신이다.

다른 바람직한 GLP-1 화합물은 8번 위치의 아미노산이 바람직하게는 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌 또는 메티오닌, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신인 것과, 22번 위치의 아미노산이 글루탐산, 리신, 아스파르트산 또는 아르기닌, 더 바람직하게는 글루탐산 또는 리신인 것을 제외한, GLP-1(7-37)OH의 서열을 갖는 GLP-1 유사체이다.

다른 바람직한 GLP-1 화합물은 8번 위치의 아미노산이 바람직하게는 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌 또는 메티오닌, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신인 것과, 30번 위치의 아미노산이 글루탐산, 아스파르트산, 세린 또는 히스티딘, 더 바람직하게는 글루탐산인 것을 제외한, GLP-1(7-37)OH의 서열을 갖는 GLP-1 유사체이다.

다른 바람직한 GLP-1 화합물은 8번 위치의 아미노산이 바람직하게는 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌 또는 메티오닌, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신인 것과, 37번 위치의 아미노산이 히스티딘, 리신, 아르기닌, 트레오닌, 세린, 글루탐산, 아스파르트산, 트립토판, 티로신, 페닐알라닌, 더 바람직하게는 히스티딘인 것을 제외한, GLP-1(7-37)OH의 서열을 갖는 GLP-1 유사체이다.

다른 바람직한 GLP-1 화합물은 8번 위치의 아미노산이 바람직하게는 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌 또는 메티오닌, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신인 것과, 22번 위치의 아미노산이 글루탐산, 리신, 아스파르트산 또는 아르기닌, 더 바람직하게는 글루탐산 또는 리신인 것과, 27번 위치의 아미노산이 알라닌, 리신, 아르기닌, 트립토판, 티로신, 페닐알라닌 또는 히스티딘, 더 바람직하게는 알라닌인 것을 제외한, GLP-1(7-37)OH의 서열을 갖는 GLP-1 유사체이다.

GLP-1 화합물을 기술하기 위해 본원에 사용된 명명법에서, 치환 아미노산 및 그의 위치는 모 구조 앞에 나타낸다. 예를 들어 Val ^{8} -GLP-1(7-37)OH는 GLP-1(7-37)OH(식 I, 서열 1)의 8번 위치에서 일반적으로 발견되는 알라닌이 발린으로 치환된 GLP-1 화합물을 나타낸다.

다른 바람직한 GLP-1 화합물로는

Val^{8}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-GLP-1(7-37)OH, Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Asp^{22}-GLP-1(7-37)OH, Arg^{22}-GLP-1(7-37)OH, Lys^{22}-GLP-1(7-37)OH, Cys^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Asp^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Arg^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Lys^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Cys^{22}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Asp^{22}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Arg^{22}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Lys^{22}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Cya^{22}-GLP-1(7-37)OH, Glu^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Asp^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Arg^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Lys^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Cys^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Val^{8}-Glu^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Val^{8}-Asp^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Val^{8}-Arg^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Val^{8}-Lys^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Val^{8}-Cys^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Gly^{8}-Glu^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Gly^{8}-Asp^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Gly^{8}-Arg^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Gly^{8}-Lys^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Gly^{8}-Cys^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Lys^{23}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Lys^{23}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Lys^{23}-GLP-1(7-37)OH, His^{24}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-His^{24}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-His^{24}-GLP-1(7-37)OH, Lys^{24}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Lys^{24}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Lys^{24}-GLP-1(7-37)OH, Glu^{30}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{30}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Glu^{30}-GLP-1(7-37)OH, Asp^{30}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Asp^{30}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Asp^{30}-GLP-1(7-37)OH, Gln^{30}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Gln^{30}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Gln^{30}-GLP-1(7-37)OH, Tyr^{30}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Tyr^{30}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Tyr^{30}-GLP-1(7-37)OH, Ser^{30}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Ser^{30}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Ser^{30}-GLP-1(7-37)OH, His^{30}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-His^{30}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-His^{30}-GLP-1(7-37)OH, Glu^{34}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{34}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Glu^{34}-GLP-1(7-37)OH, Ala^{34}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Ala^{34}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Ala^{34}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{34}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Gly^{34}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Gly^{34}-GLP-1(7-37)OH, Ala^{35}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Ala^{35}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Ala^{35}-GLP-1(7-37)OH, Lys^{35}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Lys^{35}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Lys^{35}-GLP-1(7-37)OH, His^{35}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-His^{35}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-His^{35}-GLP-1(7-37)OH, Pro^{35}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Pro^{35}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Pro^{35}-GLP-1(7-37)OH, Glu^{35}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{35}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Glu^{35}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Ala^{27}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-His^{37}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{22}-Lys^{23}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{22}-Glu^{23}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{22}-Ala^{27}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Gly^{34}-Lys^{35}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-His^{37}-GLP-1(7-37)OH, 및 Gly^{8}-His^{37}-GLP-1(7-37)OH

가 있다.

더 바람직한 GLP-1 화합물은

Val^{8}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-GLP-1(7-37)OH, Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Lys^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Lys^{22}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Lys^{22}-GLP-1(7-37)OH, Glu^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Lys^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Val^{8}-Glu^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Val^{8}-Lys^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Gly^{8}-Glu^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Gly^{8}-Lys^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Val^{8}-His^{37}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-His^{37}-GLP-1(7-37)OH, Arg^{34}-GLP-1(7-36)NH_2, 및 Arg^{34}-GLP-1(7-37)OH

이다.

다른 바람직한 GLP-1 화합물로는

Val^{8}-Tyr^{12}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Tyr^{12}-GLP-1(7-36)NH_2, Val^{8}-Trp^{12}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Leu^{16}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Tyr^{16}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Leu^{25}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{30}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-His^{37}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Tyr^{12}-Tyr^{16}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Trp^{12}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Tyr^{12}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Tyr^{16}-Phe^{19}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Tyr^{16}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Trp^{16}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Leu^{16}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Ile^{16}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Phe^{16}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Trp^{18}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Tyr^{18}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Phe^{18}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Ile^{18}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Lys^{18}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Trp^{19}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Phe^{19}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Phe^{20}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{22}-Leu^{25}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{22}-Ile^{25}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{22}-Val^{25}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{22}-Ile^{27}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{22}-Ala^{27}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{22}-Ile^{33}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{22}-His^{37}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Asp^{9}-Ile^{11}-Tyr^{16}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Tyr^{16}-Trp^{19}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Trp^{16}-Glu^{22}-Val^{25}-Ile^{33}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Trp^{16}-Glu^{22}-Ile^{33}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{22}-Val^{25}-Ile^{33}-GLP-1(7-37)OH, 및 Val^{8}-Trp^{16}-Glu^{22}-Val^{25}-GLP-1(7-37)OH

가 있다.

GLP-1 화합물은 또한 천연 GLP-1, 엑센딘-4, 또는 GLP-1 또는 엑센딘-4 유사체의 아미노산 서열을 갖지만 그의 아미노산 측쇄기, α-탄소 원자, 말단 아미노기, 또는 말단 카르복실산 기중 하나 이상이 추가로 화학 개질된 분자로서 정의되는 'GLP-1 유도체'를 포함한다. 화학 개질에는 화학 잔기의 부가, 신규 결합의 생 성 및 화학 잔기의 제거가 포함되지만, 이들에 제한되지는 않는다.

아미노산 측쇄기의 개질에는 리신 ε-아미노기의 아실화; 아르기닌, 히스티딘 또는 리신의 N-알킬화; 글루탐산 또는 아스파르트산의 카르복실산 기의 알킬화; 및 글루타민 또는 아스파라긴의 디아미드화가 포함되지만, 이들에 제한되지는 않는다. 말단 아미노기의 개질에는 데스-아미노, N-저급 알킬, N-디-저급 알킬, 및 N-아실 개질이 포함되지만, 이들에 제한되지는 않는다. 말단 카르복시기의 개질에는 아미드, 저급 알킬 아미드, 디알킬 아미드, 및 저급 알킬 에스테르 개질이 포함되지만, 이들에 제한되지는 않는다. 또한, 하나 이상의 측쇄기 또는 말단기는 통상의 단백질 화학자에게 공지된 보호기에 의해 보호될 수 있다. 아미노산의 α-탄소는 모노- 또는 디-메틸화될 수 있다.

바람직한 GLP-1 유도체는 아실화를 통해 얻어진다. 지방산 유도체화의 원리를 이용하여, GLP-1 작용은 혈액 및 말초 조직내 알부민의 지방산 결합 부위에 대한 지방산 잔기의 회합을 통해 혈장 알부민에 대한 결합을 촉진함으로써 연장된다. 바람직한 GLP-1 유도체는 Arg^{34} Lys^{26}-(N-ε-(γ-Glu(N-α-헥사데카노일)))-GLP-1(7-37)이다. GLP-1 유도체 및 이 유도체의 제조 방법은 누드센(Knudsen) 등의 문헌[*J. Med. Chem.* 43:1664-1669(2000)]에 개시되어 있다. 또한, 다수의 특허출원 공개공보에 GLP-1의 유도체, GLP-1 유사체, 엑센딘-4, 및 엑센딘-4 유사체가 기술되어 있다. 미국 특허 제5,512,540호, 미국 특허 제6,268,343호, WO 96/29342호, WO 98/08871호, WO 99/43341호, WO 99/43708호, WO 99/43707호, WO 99/43706호 및 WO 99/43705호를 참조한다.

내생성 프로테아제인 디펩티딜-펩티다제 IV(DPP-IV)에 의한 분해로부터 보호되는 GLP-1 화합물이 가장 바람직하다. DPP-IV는 천연의 절단된 GLP-1의 N-말단 히스티딘 잔기 다음을 절단하여 분자를 불활성화시킨다. 천연 GLP-1은 DPP-IV에 의한 빠른 불활성화로 인하여 약 5 내지 10분의 반감기를 갖는다. DPP-IV에 대한 특정 GLP-1 화합물의 내성은 인간 혈장내에서 GLP-1 화합물을 인큐베이션함으로써 측정된다. 예를 들어, 인간 혈장을 GLP-1 화합물의 300pM 용액과 함께 37℃에서 6시간 이하동안 인큐베이션한다. 그 다음, 상기 용액을 디콘(Deacon) 등의 문헌[80 *J. Clin. Endocrinol, Metab.* 952-957(1995)]에 따라 역상 HPLC 및 RIA에 적용한다. 큰 부피의 아실기로 인해 DPP-IV가 유사체의 N-말단에 결합하는 것을 방지하는 아실화 GLP-1 유사체와 같은 몇몇 GLP-1 유도체에서와 같이, 8번 위치 유사체는 DPP-IV 활성으로부터 보호된다.

GLP-1 화합물은 당업계에 공지된 다양한 방법, 예를 들어 고상 합성 화학, 천연 공급원으로부터의 GLP-1 분자의 정제, 재조합 DNA 기술, 또는 이들 방법을 조합한 방법에 의해 제조할 수 있다. 예를 들어, GLP-1 화합물을 제조하는 방법은 미국 특허 제5,118,666호, 제5,120,712호, 제5,512,549호, 제5,977,071호 및 제6,191,102호에 기술되어 있다.

본 발명의 GLP-1 화합물은 제약상 허용되는 조성물로서 제제화될 수 있다. '제약상 허용되는'이란 인간에게 투여하기에 적합함을 뜻한다. 제약상 허용되는 제제는 독성 요소, 바람직하지 않은 오염물질 등을 함유하지 않으며, 그 안의 활성 화합물의 활성을 방해하지 않는다. 본 발명의 제약상 허용되는 조성물은, 예를 들 어 분말, 과립, 정제, 당의정,

캡슐, 시럽, 좌제, 주사액, 흡입용 제제, 비강 투여용 제제, 또는 구강 투여용 제제와 같은 다양한 형태를 취할 수 있다. GLP-1 화합물을 포함하는 제약상 허용되는 조성물의 형태에 따라, 이러한 조성물은 다양한 경로에 의해, 예를 들어 경구, 비강 투여, 구강 투여, 흡입 또는 비경구적으로 투여될 수 있다. 비경구 투여의 예로는 근육내, 정맥내, 피하 또는 복강내 주사와 같은 전신 투여가 있을 수 있다 (구트니악(Gutniak) 등의 문헌[*GLP-1 tablet in type 2 diabetes in fasting and postprandial conditions,* 20 Diabetes Care 1874-1879(1997)]; 구트니악 등의 문헌[*Potential therapeutic levels of glucagon-like peptide I achieved in humans by a buccal tablet,* 19 Diabetes Care 843-848 (1996)] 참조).

제약상 허용되는 약물 제품은 제약상 허용되는 완충제와 혼합된 GLP-1 화합물을 포함할 수 있으며, 이때 pH는 비경구 투여에 적합하고, 허용가능한 안정성 및 용해도 특성을 제공하도록 조정된다. 제약상 허용되는 항미생물제도 또한 첨가될 수 있다. 메타크레졸 및 페놀이 제약상 허용되는 바람직한 항미생물제이다. 또한, 1종 이상의 제약상 허용되는 염을 첨가하여 이온 강도 또는 장성을 조정할 수 있다. 1종 이상의 부형제를 첨가하여 제제의 등장성을 추가로 조정할 수 있다. 글리세린은 등장성-조정 부형제의 한 예이다.

GLP-1 화합물은 필요한 경우에 투여될 수도, 또는 만성적으로 투여될 수도 있다. 필요한 경우란 급성 투여 또는 요구시 투여함을 가리킨다. 예를 들어, 특히 위마비를 앓고 있는 비당뇨병 환자에서, 식사 직전 또는 직후에 비교적 단기간 작용하는 GLP-1 화합물을 투여하여 위마비와 관련된 증상을 감소시키거나 제거하는 것이 바람직할 수 있다. 또한, 위마비 및 관련 증상은 하루중 특정한 시간에 악화될 수 있거나, 또는 질환 및 관련 증상의 중증도가 나날이, 주마다 또는 다달이 변할 수 있다. 따라서, 환자는 필요한 경우에, 예를 들어 증상이 불편할 때에만 GLP-1 화합물을 투여받을 수 있다.

위마비를 앓고 있는 당뇨병 환자의 경우, GLP-1 화합물을 만성적으로 투여하는 것이 바람직할 수 있다. '만성'이란 일반적으로 장기간 동안, 바람직하게는 1일 4회 이하, 가장 바람직하게는 1일 2회 또는 3회 이하, 더욱 더 바람직하게는 1일 1회 이하로 규칙적으로 투여하는 것을 뜻한다. 그러나, 본원에 사용된 만성 투여는 1일 투여 뿐만 아니라 다른 처방을 포함할 수 있다. 예를 들어, 만성 투여는 충분한 치료 혈장 수준을 규칙적으로 제공하는 서방성 제제의 투여를 포함한다. 이러한 투여는 주 1회, 월 1회 또는 훨씬 덜 빈번하게 투여함을 포함할 수 있다.

특히 만성 치료를 위하여, GLP-1 화합물이 연장된 작용 프로파일을 가지도록 상기 화합물을 유도체화하거나 제제화하는 것이 바람직하다. 예를 들어, 8번 위치 유사체와 같은 GLP-1 유사체는 DPP-IV에 의해 절단되지 않으며 연장된 작용 프로파일을 갖는다. 또한, 아실화된 GLP-1 유도체는 그의 알부민 결합 특성으로 인하여 연장된 작용 프로파일을 갖는다. GLP-1 유사체는 아연 및(또는) 프로타민과 착화되고 현탁액으로서 제제화되어 연장된 작용 프로파일을 제공할 수 있다. 예를 들어, GLP-1 화합물의 결정화 조건이 기술된 WO 99/30731호를 참조한다.

'유효량'의 GLP-1 화합물은 대상체에게 투여되었을 때 허용불가능한 부작용 을 일으키지 않으면서 원하는 효과를 유발시키는 양이다. 원하는 효과는 위마비와 관련된 증상의 개선을 포함할 수 있다. 특히, 원하는 효과는 위마비가 제거되도록 위 배출을 조절하는 것이다. 만성 투여에 있어서, 부작용을 최소화하면서 효능을 얻기 위하여, GLP-1 화합물의 혈장 수준은 치료 과정시 일단 정상 상태 수준에 도달하면 심하게 변동되지 않아야 한다. 일단 정상 상태 수준에 도달한 후에 치료 과정 전반에 걸쳐 혈장 수준이 본원에 기술된 범위내로 유지되는 경우가 심하게 변동되지 않는 것이다. 가장 바람직하게는, Val^{8}-GLP-1(7-37)OH의 효능도와 유사하거나 2배 이내의 효능도를 지닌 GLP-1 화합물의 혈장 수준은, 일단 정상 상태 수준에 도달하면 치료 과정 전반에 걸쳐 약 30pM 내지 약 200pM, 바람직하게는 약 60pM 내지 약 150pM로 유지된다.

Val^{8}-GLP-1(7-37)OH 및 유사한 효능도의 GLP-1 화합물에 적당한 혈장 수준의 최적 범위는, 다른 효능도를 지닌 엑센딘-3 및 엑센딘-4를 비롯한 다른 GLP-1 화합물에도 적용될 수 있다. 유사한 효능도의 GLP-1 화합물로는 실시예 3에 기술된 시험관내 효능도 분석에 의해 측정시 Val^{8}-GLP-1(7-37)OH 활성의 2배 이내인 화합물이 포함된다.

엑센딘-4는 Val^{8}-GLP-1(7-37)OH보다 약 5배정도 높은 효능도를 가지며, 따라서 엑센딘-4의 최적 혈장 수준은 Val^{8}-GLP-1(7-37)OH 및 유사한 효능도의 화합물에 적당한 수준보다 약 5배정도 낮을 것이다. 이는 약 6pM 내지 약 40pM, 바람직하게 는 약 12pM 내지 약 30pM 범위의 혈장 수준에 상응할 것이다. 효능도가 증가된 GLP-1 화합물의 다른 예로는, Val^{8}-GLP-1(7-37)OH보다 약 3배정도 높은 효능도를 지닌 Val^{8}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH가 있다. 따라서, 이 화합물의 최적 혈장 수준은 Val^{8}-GLP-1(7-37)OH에 대하여 결정된 수준보다 약 3배정도 낮을 것이다.

또한, 본 발명은 용기; 소정량의 GLP-1 화합물, 예를 들어 GLP-1 유사체 또는 유도체를 포함하는 투여 형태; 및 투여 형태의 투여가 위마비와 관련된 증상을 완화시키거나 위마비의 치료에 효과적임을 알려주는 포장 삽입물을 포함하는, 인간 제약 용도를 위한 제품을 포함한다.

'용기'란 약품의 보관, 선적, 분배 및(또는) 취급에 적합한 임의의 저장소 및 폐쇄물을 뜻한다.

'포장'이란 편리한 투여를 가능하게 하는 소비자에게 친숙한 장치 및(또는) 전달, 교육 및(또는) 투여를 돕는 보조 장치를 뜻한다. 포장은 환자에 대한 GLP-1 화합물 투여를 개선시키고(시키거나), 환자에 대한 교육 지도 시간을 줄이거나 개선시키고(시키거나), 개선된 건강 경제 연구를 위한 기반을 제공하고(하거나), 분배 채널 작업량을 제한할 수 있다. 또한, 포장에는 종이 기재의 포장, 수축 포장, 상부 투시형 포장, 트라이얼-유즈 쿠폰(trial-use coupon), 교육 재료, 보조 공급물 및(또는) 전달 장치가 포함될 수 있으나, 이들에 제한되지는 않는다.

'포장 삽입물'이란 의사, 약사 및 환자가 정보에 근거하여 제품의 사용에 관해 결정하는데 필요한 안전성 및 효능 데이터, 및(또는) 환자 교육 정보와 함께, 제품을 투여하는 방법에 대한 설명을 제공하는, 제품에 동반되는 정보를 뜻한다. 포장 삽입물은 일반적으로 약품의 '라벨(label)'로서 간주된다.

따라서, 본 발명은 위마비를 치료하기 위한 투여 형태의 투여를 포함하는 치료 처방을 기술하는 포장 삽입물 및 용기를 포함하는, 인간 제약 용도를 위한 제품을 포함한다. 위마비의 효과적인 치료는 위마비와 관련된 하나 이상의 증상의 완화 또는 제거, 또는 위마비와 관련된 모든 증상의 제거를 포함한다. 위마비의 효과적인 치료는 또한 식사 후 위 배출을 비롯한 위 기능의 정상화를 포함한다.

본 발명의 제품에 사용되는 용기는 약학 분야에서 통상적이다. 일반적으로, 용기는 바이알 또는 카트리지(일반적으로 유리 제품임), 및 여기에 동반되는 뚜껑, 폐쇄물, 비드, 플런저(plunger), 격벽 및(또는) 밀봉체(seal), 또는 환자 또는 약사가 사용하기에 적합한 이러한 다른 제품으로 구성된다. 별법으로, 용기는 건조 분말을 함유하는 카트리지와 적당한 희석제로 미리 충전된 주사기로 이루어진 키트의 일부이다. 다른 사양으로는 재구성이 요구될 때까지 희석액 및 건조 분말을 서로 분리시켜 유지하는 우회로를 갖는 이중 챔버 카트리지로 이루어지는 용기가 있다. 재구성시, 이중 챔버 카트리지는 희석액이 건조 분말로 흐르도록 한다. 바람직하게는, 용기는 0.1 내지 100㎖, 바람직하게는 0.5 내지 25㎖, 더 바람직하게는 5 내지 10㎖, 더욱 더 바람직하게는 1.5 내지 3㎖ 체적을 수용하는 크기이다. 별법으로, 용기는 발포제, 캡슐 또는 발포 디스크이다. 용기의 다른 사양으로는 경피 패치, 이식성 장치, 미소구 운반체 및 다른 데포(depot) 전달 시스템이 있다.

삽입물은 의사가 GLP-1 화합물의 특정 혈장 수준을 발생시키는 여러가지 투 여량를 선택하게 할 수 있다. 바람직한 범위는 본원에 기술되어 있다. 바람직하게는, 삽입물은 의사에게 본원에 기술된 범위내의 GLP-1 화합물의 혈장 수준을 발생시키는 1회 투여량을 제공할 것이다.

포장 삽입물은 의사, 약사 및 환자가 정보에 근거하여 제품의 사용에 관해 결정하는데 필요한 안전성 및 효능 데이터와 함께, 약품을 투여하는 방법에 대한 설명을 제공한다. 포장 삽입물은 일반적으로 약품의 라벨로서 간주된다.

포장 삽입물은 하기 지시 또는 라벨 설명의 일부 또는 전부를 제공할 수 있다: a) 위마비를 앓고 있는 환자에서의 사용; b) 위마비를 앓고 있는 당뇨병 환자에서의 사용; c) 위마비를 앓고 있는 당뇨병 환자에서의 개선된 혈당 조절; 및 d) 위마비와 관련된 하나 이상의 증상의 중증도를 제거하거나 감소시키기에 유효한 투여량에서의 증후성 저혈당증이 없음.

실시예

실시예 1 - 2형 당뇨병에서의 임상 연구

각각의 군이 8명의 2형 당뇨병 환자로 이루어진 4개 군을 Val^{8}-GLP-1(7-37)OH의 지속 작용성 제제로 처치하였다. 처음 세 군에게는 2.5 또는 3.5 또는 4.5㎎을 1일 1회로 6일동안 피하 주사하였다. 4번째 군에게는 4.5㎎을 1일 1회로 21일동안 피하 주사하였다. 연구 하루 전날, 각각의 환자에게 위약으로서 식염수를 주사하였다. 혈당치는 13시간동안 추적하였다. 평가일 내내 모든 식사는 엄격하게 표준화하였다. 환자는 6일째 및 21일째에 24시간에 걸쳐 평가하는 것을 제외 하고는 외래 진료하였다. 1일째 주사 후, 4시간동안 혈장의 당 및 Val^{8}-GLP-1(7-37)OH 수준을 측정하기 위하여 혈액 샘플을 채취하였다. 환자에게 매일 아침 투여하였다. 투여 6일째에(및 4군의 경우 21일째에도), 혈당치 및 Val^{8}-GLP-1(7-37)OH 혈장 수준의 측정을 위하여 투여 후 26시간까지 샘플을 채취하였다. 당 수준은 도 1 및 도 2에 나타낸다.

실시예 2 - Val^{8}-GLP-1(7-37)OH 혈장 수준의 측정

천연 GLP-1 펩티드 및 DPP-IV에 의한 분해 생성물(예: GLP-1(9-37)OH)의 내생 농도의 존재로 인하여, 온전한 Val^{8}-GLP-1(7-37)OH의 농도는 전장의 비분해된 Val^{8}-GLP-1(7-37)OH가 특이적으로 인식되는 ELISA 분석을 이용하여 측정하였다. 면역반응성 Val^{8}-GLP-1(7-37)OH는 마이크로타이터(microtiter) 플레이트에 고정된 N-말

단 항-Val ^{8} -GLP-1(7-37)OH 특이적 항혈청에 의해 혈장으로부터 포획된다. 이 항혈청은 Val ^{8} -GLP-1(7-37)OH의 N-말단에 매우 특이적이다. GLP-1의 C-말단에 특이적인 알칼리성-포스파타제 접합 항체를 첨가하여 '샌드위치(sandwich)'를 완성한다. 검출은 알칼리성 포스파타제에 대한 발색 기질인 pNPP를 사용하여 완결한다. 생성된 색의 양은 샘플내에 존재하는 면역반응성 Val ^{8} -GLP-1(7-37)OH의 농도에 정비례한다. 인간 혈장내 Val ^{8} -GLP-1(7-37)OH의 정량은, 기준 표준물질로서 Val ^{8} -GLP-1(7- 37)OH를 사용한 표준 곡선으로부터 내삽할 수 있다. 데이터는 가중 4-변수 논리 연산법을 이용하여 컴퓨터 프로그램에 의해 분석하였다. 시험 샘플내 면역반응성 Val ^{8} -GLP-1(7-37)OH의 농도는 표준 곡선을 이용하여 측정하였다.

실시예 3 - 시험관내 효능도 분석

인간 GLP-1 수용체를 발현하는 HEK-293 오로라 CRE-BLAM 세포를 96웰 검정 투명 바닥 플레이트에 20,000 내지 40,000세포/웰/100㎕로 시딩하였다. 시딩 다음날, 배지를 무혈장 배지로 대체하였다. 시딩 후 3일째에, 상이한 농도의 GLP-1 효능제를 함유하는 무혈장 배지 20㎕를 각각의 웰에 첨가하여 투여량 반응 곡선을 생성하였다. 일반적으로, 3nM 내지 30nM의 GLP-1 화합물을 함유하는 14개의 희석물을 사용하여 EC_{50} 값을 결정할 수 있는 투여량 반응 곡선을 생성하였다. GLP-1 화합물과 인큐베이션한 지 5시간 후, β-락타마제 기질(CCF2-AM-오로라 바이오사이언시스사-제품 코드 100012호) 20㎕를 첨가하여 인큐베이션을 1시간동안 계속하고, 이 시점에서 사이토플라우어(cytoflour)에서 형광을 측정하였다.

[표 1a]

화합물	Val^{8}-GLP-1(7-37)OH 에 대한 EC_{50}
Val^{8}-GLP-1(7-37)OH	1.0
Gly^{8}-GLP-1(7-37)OH	1.7
Val^{8}-Tyr^{12}-GLP-1(7-37)OH	1.7
Val^{8}-Tyr^{12}-GLP-1(7-36)NH_2	1.1
Val^{8}-Trp^{12}-GLP-1(7-37)OH	1.1
Val^{8}-Leu^{16}-GLP-1(7-37)OH	1.1
Val^{8}-Tyr^{16}-GLP-1(7-37)OH	2.5
Gly^{8}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH	2.2
Val^{8}-Leu^{25}-GLP-1(7-37)OH	0.5
Val^{8}-Glu^{30}-GLP-1(7-37)OH	0.7
Val^{8}-His^{37}-GLP-1(7-37)OH	1.2
Val^{8}-Tyr^{12}-Tyr^{16}-GLP-1(7-37)OH	1.5
Val^{8}-Trp^{12}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH	1.7
Val^{8}-Tyr^{12}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH	2.7
Val^{8}-Tyr^{16}-Phe^{19}-GLP-1(7-37)OH	2.8
Val^{8}-Tyr^{16}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH	3.6,3.8
Val^{8}-Trp^{16}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH	4.9,4.6
Val^{8}-Leu^{16}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH	4.3
Val^{8}-Ile^{16}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH	3.3
Val^{8}-Phe^{16}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH	2.3
Val^{8}-Trp^{18}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH	3.2,6.6
Val^{8}-Tyr^{18}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH	5.1,5.9
Val^{8}-Phe^{18}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH	2.0
Val^{8}-Ile^{18}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH	4.0
Val^{8}-Lys^{18}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH	2.5
Val^{8}-Trp^{19}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH	3.2
Val^{8}-Phe^{19}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH	1.5
Val^{8}-Phe^{20}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH	2.7
Val^{8}-Glu^{22}-Leu^{25}-GLP-1(7-37)OH	2.8

[표 1b]

Val^{8}-Glu^{22}-Ile^{25}-GLP-1(7-37)OH	3.1
Val^{8}-Glu^{22}-Val^{25}-GLP-1(7-37)OH	4.7,2.9
Val^{8}-Glu^{22}-Ile^{27}-GLP-1(7-37)OH	2.0
Val^{8}-Glu^{22}-Ala^{27}-GLP-1(7-37)OH	2.2
Val^{8}-Glu^{22}-Ile^{33}-GLP-1(7-37)OH	4.7,3.8,3.4
Val^{8}-Glu^{22}-His^{37}-GLP-1(7-37)OH	4.7
Val^{8}-Asp^{9}-Ile^{11}-Tyr^{16}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH	4.3
Val^{8}-Tyr^{16}-Trp^{19}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH	3.5
Val^{8}-Trp^{16}-Glu^{22}-Val^{25}-Ile^{33}-GLP-1(7-37)OH	5.0
Val^{8}-Trp^{16}-Glu^{22}-Ile^{33}-GLP-1(7-37)OH	4.1
Val^{8}-Glu^{22}-Val^{25}-Ile^{33}-GLP-1(7-37)OH	4.9,5.8,6.7
Val^{8}-Trp^{16}-Glu^{22}-Val^{25}-GLP-1(7-37)OH	4.4

(57) 청구의 범위

청구항 1.
위마비 환자에게 유효량의 글루카곤 유사 펩티드(GLP-1) 화합물을 투여함을 포함하는, 위마비를 앓고 있는 환자의 위마비를 치료하는 방법.

청구항 2.
제1항에 있어서, 환자가 또한 당뇨병도 앓고 있는 방법.

청구항 3.
제2항에 있어서, 환자가 2형 당뇨병을 앓고 있는 방법.

청구항 4.
제1항 내지 제3항중 어느 한 항에 있어서, GLP-1 화합물이 GLP-1(7-36)아미드, GLP-1(7-37), GLP-1 유사체 및 GLP-1 유도체로 이루어진 군에서 선택되는 방법.

청구항 5.
제1항 내지 제3항중 어느 한 항에 있어서, GLP-1 화합물이 엑센딘(Exendin)-4, 엑센딘-4 유사체 및 엑센딘-4 유도체로 이루어진 군에서 선택되는 방법.

청구항 6.
제1항 내지 제3항중 어느 한 항에 있어서, GLP-1 화합물이 GLP-1 수용체의 효능제인 방법.

청구항 7.
제1항 내지 제3항중 어느 한 항에 있어서, GLP-1 화합물이 디펩티딜-펩티다 제 IV(DPP-IV) 내성 유사체인 방법.

청구항 8.
제7항에 있어서, GLP-1 화합물이 22번 위치에 글루탐산을 갖는 GLP-1 유사체 또는 유도체인 방법.

청구항 9.
제7항에 있어서, GLP-1 화합물이 8번 위치에 발린 또는 글리신을 갖는 GLP-1 유사체인 방법.

청구항 10.
제1항 내지 제3항중 어느 한 항에 있어서, GLP-1 화합물이 GLP-1 유도체인 방법.

청구항 11.
제10항에 있어서, GLP-1 유도체가 아실화된 GLP-1 유사체인 방법.

청구항 12.
제11항에 있어서, GLP-1 유도체가 Arg^{34} Lys^{26}-(N-ε-(γ-Glu(N-α-헥사데카노일)))-GLP-1(7-37)인 방법.

청구항 13.
제1항 내지 제12항중 어느 한 항에 있어서, GLP-1 화합물이 피하 주사에 의해 투여되는 방법.

청구항 14.
제1항 내지 제12항중 어느 한 항에 있어서, GLP-1 화합물이 경구 투여되는 방법.

청구항 15.
제1항 내지 제12항중 어느 한 항에 있어서, GLP-1 화합물이 구강 투여에 의해 투여되는 방법.

청구항 16.
위마비의 치료를 위한 약제의 제조에서의 GLP-1 화합물의 용도.

청구항 17.
제1항 내지 제15항중 어느 한 항에 청구된 방법을 위한 약제의 제조에서의 GLP-1 화합물의 용도.

SEQUENCE LISTING

<110> Joseph A. Jakubowski, et al.

<120> TREATMENT OF GASTROPARESIS

<130> X-15632

<150> P15632

<151> 2002-04-10

<160> 2

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 31

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (30)..(30)

<223> Xaa at position 30 is Arg-NH2 when Xaa at position 31
is absent or is Arg

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(31)

<223> Xaa at position 31 is absent or is Gly

when Xaa at 30 is Arg

<400> 1

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly

1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Xaa Xaa

20 25 30

<210> 2

<211> 39

<212> PRT

<213> Heloderma sp.

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa at position 2 is Ser or Gly

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (39)..(39)

<223> Xaa at position 39 is Ser or Ser-NH2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa at position 3 is Asp or Glu

<400> 2

His Xaa Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Xaa
35