



등록특허 10-2052983



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년12월06일
(11) 등록번호 10-2052983
(24) 등록일자 2019년12월02일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/22 (2006.01) *C07K 14/575* (2006.01)
C07K 14/585 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 38/225 (2013.01)
C07K 14/57527 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7016079(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2013년01월25일
심사청구일자 2018년01월24일
- (85) 번역문제출일자 2017년06월12일
- (65) 공개번호 10-2017-0071613
- (43) 공개일자 2017년06월23일
- (62) 원출원 특허 10-2014-7023782
원출원일자(국제) 2013년01월25일
심사청구일자 2016년06월28일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2013/023260
- (87) 국제공개번호 WO 2013/112912
국제공개일자 2013년08월01일
- (30) 우선권주장
61/591,236 2012년01월26일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
WO2006105527 A1
Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Vol.319(2):749-747 (2006. 11. 01.)
Journal of Medicinal Chemistry, Vol.46(12):2427-2435 (2003. 06. 05.)

- (73) 특허권자
소레스, 크리스토퍼, 제이.
미국 60044 일리노이주 레이크 블러프 오크 리지 코트 440
- (72) 발명자
소레스, 크리스토퍼, 제이.
미국 60044 일리노이주 레이크 블러프 오크 리지 코트 440
- (74) 대리인
특허법인에이아이피

전체 청구항 수 : 총 2 항

심사관 : 안규정

(54) 발명의 명칭 펩타이드 호르몬의 칼시토닌 CGRP 패밀리의 펩타이드 길항제 및 그의 용도

(57) 요약

본 구현예는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 또는 관련된 단백질 패밀리 멤버의 N-말단 단편으로서, 여기서 상기 N-말단 단편의 적어도 2 개의 잔기는 시스테인 (Cys)이고 적어도 하나의 아미노산은 트레오닌 (Thr) 잔기의 비-트레오닌 치환을 포함하는 N-말단 단편; α-나선을 포함하는 중앙 코어; 및 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 또는 C-말단 아마이드를 포함하는 관련된 단백질 패밀리 멤버의 C-말단 단편으로서, 여기서 상기 C-말단 단편의 적어도 하나의 아미노산은 페닐알라닌 (Phe), 프롤린 (Pro), 티로신 (Tyr) 또는 하이드록시프롤린 (Hyp)인 C-말단 단편을 포함하는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 길항제 또는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염, 뿐만 아니라 대상 펩타이드를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 본 구현예는 추가로, 편두통을 치료하는 방법을 포함하는 치료 방법을 제공하고, 상기 방법은 일반적으로 치료가 필요한 개체에게 효과적인 양의 대상 펩타이드 또는 조성물을 투여하는 것을 수반한다.

(52) CPC특허분류
C07K 14/585 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

효과적인 양의 식 1의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 두통 치료용 조성물:



여기서:

X^1 은 $X^{11}-X^{12}-X^{13}-X^{14}-X^{15}-X^{16}-X^{17}$ (서열번호: 16)를 포함하고, 여기서:

X^{11} 은 알라닌 (Ala), 시스테인 (Cys), 및 글리신 (Gly)으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고, X^{12} 는 시스테인 (Cys) 및 세린 (Ser)으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고, 단, X^{11} 과 X^{12} 중 어느 하나는 시스테인 (Cys)이고;

X^{13} 은 아르기닌 (Arg), 아스파라긴 (Asn), 아스파르트산 (Asp) 및 발린 (Val)로 이루어진 그룹으로부터 선택되고;

X^{14} 는 류신 (Leu), 페닐알라닌 (Phe), 및 트레오닌 (Thr)으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고;

X^{15} 는 알라닌 (Ala), 글리신 (Gly) 및 세린 (Ser)으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고;

X^{16} 은 알라닌 (Ala), 이소류신 (Ile), 류신 (Leu), 세린 (Ser) 및 발린 (Val)로 이루어진 그룹으로부터 선택되고;

X^{17} 은 시스테인 (Cys)이고; 그리고

Y^1 은 -Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn- (서열번호: 34)이고; 그리고

Z^1 은 -Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 46)이다.

청구항 2

삭제

청구항 3

효과적인 양의 식 1의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는, 비정상적인 수준의 CGRP와 연관된 병태의 치료용 조성물로, 상기 비정상적인 수준의 CGRP와 연관된 병태가 신경성 혈관확장, 신경성 염증, 군발성 두통, 열 손상, 순환 쇼크, 폐경기 홍조, 및 천식으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 치료용 조성물:



여기서:

X^1 은 $X^{11}-X^{12}-X^{13}-X^{14}-X^{15}-X^{16}-X^{17}$ (서열번호: 16)를 포함하고, 여기서:

X^{11} 은 알라닌 (Ala), 시스테인 (Cys), 및 글리신 (Gly)으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고, X^{12} 는 시스테인 (Cys) 및 세린 (Ser)으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고, 단, X^{11} 과 X^{12} 중 어느 하나는 시스테인 (Cys)이고;

X^{13} 은 아르기닌 (Arg), 아스파라긴 (Asn), 아스파르트산 (Asp) 및 발린 (Val)로 이루어진 그룹으로부터 선택되

고;

X¹⁴는 류신 (Leu), 페닐알라닌 (Phe), 및 트레오닌 (Thr)으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고;

X¹⁵는 알라닌 (Ala), 글리신 (Gly) 및 세린 (Ser)으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고;

X¹⁶은 알라닌 (Ala), 이소류신 (Ile), 류신 (Leu), 세린 (Ser) 및 발린 (Val)로 이루어진 그룹으로부터 선택되고;

X¹⁷은 시스테인 (Cys)이고; 그리고

Y¹은 -Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-(서열번호: 34)이고;
그리고

Z¹은 -Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 46)이다.

청구항 4

삭제

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 구현에는 웨타이드 호르몬의 칼시토닌/칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 (CT/CGRP) 패밀리의 웨타이드 길항제 및 그것의 치료적 용도에 관한 것이다.
- [0002] 관련 출원에 대한 교차참조
- [0003] 본원은 미국 가특허 출원 61/591,236 (2012년 1월 26일 출원) 및 명칭 "PEPTIDE ANTAGONISTS OF THE CALCITONIN CGRP FAMILY OF PEPTIDE HORMONES AND THEIR USE"을 우선권으로 주장하고, 그 전체는 참조로 본원에 편입되어 있다.
- [0004] 서열목록
- [0005] 본원은 전자 형태의 서열 목록과 함께 제출되어 있다. 서열목록은 파일명 CSOAR-001NP Substitute.txt (2014년 11월 18일 제작)으로서 제공되고, 그 파일의 크기는 대략 17 kb이다. 서열목록의 전자 형태의 정보는 그 전체가 참조로 본원에 편입되어 있다.

배경 기술

- [0006] CT/CGRP 웨타이드 패밀리는 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드(CGRP), 아드레노메톨린(ADM), 인터메딘(IM), 칼시토닌(CT) 및 아밀린을 포함한다. 이들 웨타이드의 생물학적 작용은 2개의 밀접하게 관련된 제II형 G 단백질-커플링된 수용체인 칼시토닌 수용체(CTR) 및 칼시토닌 수용체-유사 수용체(CRLR)로의 결합을 통해 매개된다 (Christopoulos, 등 1999, Mol. Pharmacol. 56:235-242; Poyner 등 2002 Pharmacol. Rev. 54:233-246). 칼시토닌 수용체가 칼시토닌 작용에 대한 주요 매개물질임에도 불구하고, 칼시토닌 수용체가 수용체 활성 변형 단백질(RAMP)과 결합할 때, 상기 수용체는 우선적으로 아밀린에 결합한다(예를 들면, Tilikaratne, 등 2000, J. Pharmacol. Exp. Ther. 294(1):61-72 참고). 클로닝 및 기능성 연구들은 CGRP, ADM, IM 및, 그보다 덜하지만 아밀린이 비슷하게 CRLR 및 세 가지 수용체 활성 변형 단백질들(RAMP-1, RAMP-2 및 RAMP-3)의 상이한 조합과 상호작용한다는 것을 보여왔다(예를 들면, McLatchie 등 1998, Nature 393:333-339 and Roh 등 2004, JBC 279(8):7264-7274 참고). 사실상, 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드(CGRP), 아드레노메톨린(ADM) 및 인터메딘(IM)을 위한 기능성 수용체를 생성하는데 칼시토닌 수용체-유사 수용체(CRLR) 및 수용체 활성-변형 단백질(RAMP)의 공동 발현이 필요하다. RAMP 및 CRLR 간의 이형이량체의 형성은 적절한 세포 표면 표적화 및 CGRP, ADM 및 IM 수용체들의 약리적 특징에 필수적이다. CRLR과 RAMP-1과의 공동 발현은 CGRP 수용체의 형성을 야기하는 반면, CRLR과 RAMP-2 및 RAMP-3과의 공동 발현은 각각 ADM 및 IM 수용체를 형성한다(Miret, 등 2002, JBC

277(9):6881-6887). IM은 세 가지 RAMP/CRLR 공-수용체 모두를 위한 비선택적 작용제인 것으로 나타났다.

[0007] CT/CGRP 패밀리 내의 호르몬 웨타이드들의 생리적 기능은 개별적인 리간드들 및 이들의 각 수용체들의 수용체-결합 특이성 및 조직 발현 프로파일에 의해 결정되며 심혈관 형태형성, 감각 신경전달, 염증성 반응, 통각성 거동 및 글루코오스 항상성과 관련되는 것으로 나타났다(예를 들면, Hay, 등 2001, Trends Pharmacol. Sci. 22:57-59; Shindo, 등 2001, Circulation 104:1964-1971; Zhang 등 2001, Pain 89:265-273; Salmon 등 (1999) Neuroreport 10:849-854; Salmon, 등 2001, Nat. Neurosci. 4: 357-358; and Mulder, 등 2000, Am. J. Physiol. 278:E684-E691 참고).

[0008] 웨타이드 호르몬의 CT/CGRP 패밀리에서 잘-연구된 웨타이드인 CGRP(칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드)는 미국 특히 제4,530,838호(Evans, 등)에 기재된 바와 같이 강력한 혈관확장 작용과 강심성 작용을 갖는 감각 신경웨타이드이다. CGRP는 중추 및 말초 신경계에 존재하며, 자율신경 입력과 연관된 제한된 양으로 배면각으로부터 감각 입력을 받는 몸의 상기 영역에 집중된다. 뇌에서, 상기 웨타이드는 감각 및 운동 뇌신경의 핵에 그리고 시상 하부, 시각교차앞구역(preoptic area), 복내측 시상, 해마 등에서 세포체 내에 존재한다(Poyner, D. 1992, Pharmac. Ther. 56:23-51).

[0009] CGRP에 대한 수용체 수준의 억제제는 과도한 CGRP 수용체 활성화가 일어나는 병리생리학적 병태에 유용한 것으로 가정된다. 이들 중 일부는 신경성 혈관확장, 신경성 염증, 편두통, 군발성 두통 및 다른 두통, 열 손상, 순환 쇼크, 폐경기 홍조, 및 천식을 포함한다. CGRP 수용체 활성화는 특히 편두통의 발병과 연관되어있다 (Edvinsson L. 2001, CNS Drugs 15(10):745-53; Williamson, D. J. 2001 Microsc. Res. Tech. 53:167-178.; Grant, A. D. 2002, Brit. J Pharmacol. 135:356-362). 편두통은 그 병리와 함께 뒤따르는 두통의 강도로 유명하다. 편두통과 관련된 두통은 편두통 사건과 관련된 극심한 대뇌 혈관확장으로부터 비롯되는 것으로 여겨진다. CGRP-함유 신경 섬유 신경들은, CGRP가 혈관확장을 연장하는 것으로 여겨지는 대뇌 및 경막 혈관을 자극한다 (Moskowitz 1992, Trends Pharmacol. Sci. 13:307-311). 또한, CGRP의 혈청 수준은 편두통 중 상승되고 (Goadsby, 등 1990, Ann. Neurol. 28:183-7), 항-편두통 약물을 이용한 치료는 CGRP 수준을 두통의 완화와 일치하는 정상으로 되돌린다(Gallai, 등 1995, Cephalgia 15:384-90). 편두통환자는 대조군과 비교하여 상승된 기저 CGRP 수준을 나타낸다(Ashina, 등, 2000, Pain 86(1-2):133-8). 정맥내 CGRP 주입은 편두통 환자에서 지속적인 두통을 야기한다(Lassen, 등 2002, Cephalgia 22(1):54-61). 따라서, CGRP 길항제는 뇌혈관 CGRP 수용체를 차단하여 편두통을 야기하는 혈관확장을 차단하는 방법으로서 최근 연구의 중심이 되어 왔다.

[0010] CGRP 수용체의 소분자 및 웨타이드 길항제가 공지되어 있다. 이들은, 예를 들면 각각 베링거인겔하임 (Boehringer Ingelheim) 및 머크 앤드 컴퍼니(Merck & Co., Inc.)에 의해 생산된 정맥내 올세게판트(BIBN4096 BS) 및 경구 텔카게판트(MK-0974)를 포함한다. 이들 소분자 CGRP 길항제 모두는 안전하고, 효과적이며 편두통의 급성 치료를 위한 초기 임상시험에서 내성이 좋았다(예를 들면, Tepper and Stillman, 2008, Headache 48(8):1259-1268; and Durham and Vause 2010, CNS Drugs 24(7):539-548). 그러나, 최근에 소분자 CGRP 길항제인 MK-3207의 편두통을 예방하는 용도에의 II상 조사는 확장된 I상 약리학 연구에서 일부 환자에게서 무증상 간 시험 이상이 관찰되어 머크 앤드 컴퍼니에 의해 중단되었다("Merck Updates Status of Clinical Development Programs for Investigational CGRP Receptor Antagonist Treatments for Acute Migraine; MK-3207 Clinical Development Discontinued." Sep. 10, 2009. Merck & Co., Inc. Web. June 1, 2011).

[0011] CGRP 수용체와 경쟁하는 것으로 알려진 다른 분자들은 CGRP의 서열을 포함하나 CGRP 아미노산 서열 중 적어도 처음 7개 아미노산이 부족한 웨타이드로서, 예를 들면, 비제한적으로, CGRP (8-37), CGRP (28-37), [Tyr⁹]CGRP (28-37), 및 CGRP (12-37)를 포함한다. 기타 CGRP 길항제는 h- α -CGRP (9-37), h- α -CGRP (10-37), h- α -CGRP (11-37)을 포함한다(Mimeault, M. 등, 1992, J. Med. Chem. 35:2163-2168). 또 다른 CGRP 길항제는 [Ala⁹]-h- α -CGRP (8-37), [Ala¹⁰]-h- α -CGRP (8-37), [Ala¹¹]-h- α -CGRP (8-37), 및 [Ala¹²]-h- α -CGRP (8-37)를 포함한다. 부가적인 CGRP 길항제는 h- α -CGRP (19-37), h- α -CGRP (23-37) 및 아세틸-h- α -CGRP (19-37)를 포함한다(Rovero, P. 등 1992, Peptides 13:1025-1027).

[0012] 수많은 CGRP 수용체 웨타이드 길항제가 시험관내에서 CGRP와 효과적으로 경쟁하는 것으로 나타났으나, 이들 길항제들은 편두통-유사 병리의 생체내 모델에서 잘 작동하지 않았다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드의 N-말단부 중 어떤 선택적인 아미노산은, 본원에서 개시되고 기재된 바와 같이, 웨타이드 작용제 활성에 책임이 있다는 것을 놀랍게도 발견했다. 게다가, 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드의 N-말단부에서 어떤 아미노산을 치환하는 것은 작용제로부터 길항제로 활성을 조정할 수 있다. 또한, 추가의 치환 또는 변형이 추가의 바람직한 특성을 본 발명의 길항제에 제공할 수 있다는 것을 발견했다.

과제의 해결 수단

[0014] 일부 구현예는 식 I의 구조를 갖는, 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염을 제공한다:

[0015] $X^1-Y^1-Z^1$

[0016] (I)

[0017] 여기서:

[0018] X^1 은 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드, 또는 적어도 5 내지 7 개의 아미노산 잔기를 포함하는 다른 CT/CGRP 웨타이드 패밀리 멤버의 N-말단 단편이고, 상기 N-말단 단편의 2 개의 아미노산 잔기는 시스테인 (Cys)이고, 여기서 최종 잔기는 Cys이고, 여기서 상기 최종 Cys 잔기 직전의 잔기는 트레오닌 (Thr) 잔기의 비-트레오닌 치환이고;

[0019] Y^1 은 15 내지 24 개 초과, 15 내지 24, 15 내지 22, 18-22, 또는 19-20 개의 잔기를 포함하는 중앙 코어이고, 상기 중앙 코어의 잔기의 적어도 일부는 생리적 조건 하에서 α -나선을 형성할 수 있고, 여기서 중앙 코어의 적어도 하나의 아미노산은 아르기닌 (Arg) 또는 라이신 (Lys)이고 상기 중앙 코어는 α -나선을 포함하고;

[0020] Z^1 은 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드, 또는 C-말단 아마이드와 함께 5 내지 7 개의 아미노산 잔기를 포함하는 다른 CT/CGRP 웨타이드 패밀리 멤버의 변형된 C-말단 단편이고, 상기 C-말단 단편의 적어도 하나의 아미노산 잔기는 페닐알라닌 (Phe), 티로신 (Tyr), 프롤린 (Pro) 또는 하이드록시프롤린 (Hyp)이다.

[0021] 일부 구현예는 하기를 포함하는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제를 제공한다:

[0022] 서열번호: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로서, 상기 웨타이드는 길항제 활성을 보유하는 아미노산 서열.

[0023] 일부 구현예는 약제학적으로 허용가능한 부형제 및 본원에서 개시되고 기재된 바와 같은 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0024] 일부 구현예는 비정상적인 수준의 CGRP와 연관된 병태를 치료하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 본원에서 개시되고 기재된 바와 같은 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제를 개체에게 투여하는 것을 포함하고, 상기 방법은 상기 개체에게 효과적인 양의 본원에서 개시되고 기재된 바와 같은 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제를 투여하는 것을 포함한다.

[0025] 일부 구현예는 표 1에서 열거된 하기의 웨타이드 서열로부터 선택된 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제를 제공한다.

표 1

$\text{NH}_2\text{-ACDTAACVLGRLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH}_2$;	(서열번호: 1)-NH ₂
$\text{NH}_2\text{-ACDTASCVLGRLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH}_2$;	(서열번호: 2)-NH ₂
$\text{NH}_2\text{-ACDTAVCVLGRLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH}_2$;	(서열번호: 3)-NH ₂
$\text{NH}_2\text{-ACNTAACVLGRLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH}_2$;	(서열번호: 4)-NH ₂
$\text{NH}_2\text{-ACVLGACVLGRLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH}_2$;	(서열번호: 5)-NH ₂
$\text{NH}_2\text{-ACRFGACVLGRLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH}_2$;	(서열번호: 6)-NH ₂

NH ₂ -ACNLSACVLGRLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH ₂ ;	(서열번호: 7)-NH ₂
NH ₂ -CSNTAACVLGRLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH ₂ ;	(서열번호: 8)-NH ₂
NH ₂ -ACD탈크VLGRLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH ₂ ;	(서열번호: 9)-NH ₂
NH ₂ -ACDTAICVLGRLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH ₂ ;	(서열번호: 10)-NH ₂
NH ₂ -ACNLSVCVLGRLSQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH ₂ ;	(서열번호: 11)-NH ₂
NH ₂ -CSNTAVCVLGRSLQELHRLQTYPRTNVGSKAF-NH ₂ ;	(서열번호: 12)-NH ₂
NH ₂ -ACNLSACVLGRLSQELHRLQTYPTNTGSGTP-NH ₂ ;	(서열번호: 13)-NH ₂
NH ₂ -ACVLGACVLGRLSQELHRLQTYPVDPSSPHSY-NH ₂ ; 또는 NH ₂ -ACDTAACVTHRLAGLLSRSGGVVKNNFVPTNVGSKAF-NH ₂	(서열번호: 14)-NH ₂
NH ₂ -ACDTAACVTHRLAGLLSRSGGVVKNNFVPTNVGSKAF-NH ₂	(서열번호: 15)-NH ₂

[0027] 일부 구현예는 치료제를 세포에 전달하는 방법을 제공한다. 본 치료제는 수용체 패밀리의 멤버에 선택적으로 결합하는, 본원에서 개시되고 기재된 바와 같은 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제에 연결된다.

[0028] 일부 구현예는 CGRP 수용체 패밀리의 멤버에 선택적으로 결합하는, 본원에서 개시되고 기재된 바와 같은 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제에 연결된 치료제를 포함하는 콘주케이트를 제공한다. 일부 구현예는 CGRP 수용체에 결합된 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제를 제공하고, 시험 화합물 또는 시험 화합물의 라이브러리를 제공하고, 상기 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제를 상기 CGRP 수용체로부터 분리 할 수 있는 화합물을 확인하여 CGRP 수용체 결합 리간드를 확인하는 방법을 제공한다. 이러한 방법에 의해 확인된 그와 같은 화합물은 선택적 CGRP 수용체 결합 리간드를 확인하기 위해서 다른 CGRP 수용체 및 CGRP 수용체 결합제에 대해 추가로 스크리닝될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0030] 일부 구현예는 식 I의 구조를 갖는, 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염을 제공한다:

[0031] X¹-Y¹-Z¹

[0032] (I)

[0033] 여기서:

[0034] X¹은 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 또는 5 내지 7 개의 아미노산 잔기를 포함하는 다른 CT/CGRP 웨타이드 패밀리 멤버의 변형된 N-말단 단편이고, 여기서 N-말단 단편의 2 개의 아미노산 잔기는 시스테인 (Cys)이고, 여기서 상기 단편의 C-말단 잔기는 Cys이고, 여기서 상기 단편의 C-말단 Cys 잔기 직전의 잔기는 트레오닌 (Thr) 잔기의 비-트레오닌 치환이고;

[0035] Y¹은 중앙 코어이고, 여기서 상기 중앙 코어의 적어도 하나의 아미노산은 아르기닌 (Arg) 또는 라이신 (Lys)이고 상기 중앙 코어는 α -나선을 포함하고;

[0036] Z¹은 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 또는 C-말단 아마이드와 함께 5 내지 7 개의 아미노산 잔기를 포함하는 다른 CT/CGRP 웨타이드 패밀리 멤버의 변형된 C-말단 단편이고, 여기서 상기 C-말단 단편의 적어도 하나의 아미노산은 페닐알라닌 (Phe), 티로신 (Tyr), 프롤린 (Pro) 또는 하이드록시프롤린 (Hyp)이다.

[0037] 일부 구현예에서, X1은, 4, 5 또는 6 개의 아미노산 위치까지 C-말단 시스테인보다 앞선 잔기가 또한 시스테인인 특성을 가지며, 이로써 2개의 상기 언급된 시스테인은 디설파이드 결합을 형성할 수 있다. 디설파이드 결합과 연루된 2개의 Cys 잔기 사이의 잔기는 서열에서 구속되지 않고, 단, 단편의 C-말단 Cys 잔기에 앞서는 잔기는 Thr여서는 안 되고, 상기에서 언급된 바와 같이, X1 단편의 C-말단 7 잔기에서 2 개 초과의 시스테인이 있을 수 없다. 상기 언급된 디설파이드 결합은 X1의 구조를 안정시키고, 이것은 이하의 Y1중 알파-나선의 형성, 및 X1의 CGRP와의 경쟁시 표적 수용체의 막 통과 성분에의 결합 둘 모두를 촉진한다.

- [0038] N-말단 바로 옆의 위치에 있는 Thr 이외의 잔기의 상기 X¹ 단편의 제2 시스테인에의 도입은 상기 위치에서 Thr 을 갖는 야생형 분자와 비교하여 CGRP 수용체 또는 수용체의 CT/CGRP 패밀리의 멤버와의 상호작용에서 분자의 활성화 활성의 손실을 야기할 수 있지만, 수용체에 대한 결합에 영향을 주지 않을 수 있다. 그 결과, 그와 같은 치환은 수용체를 차지하지만, 수용체가 신호-형질도입 작용제에 의해 결합에 이용될 수 없도록 하여 신호 전달 경로를 활성화하기 보다는 반대로 작용하는 분자를 산출한다.
- [0039] 잔기 N-말단의 X¹에의 부가는 일부 구현예에서 길항제의 활성에 영향을 줄 수 없다. 일부 구현예에서 잔기 N-말단의, X¹, 예를 들면 Ala, Glu, Gly, Pro, Ser 및 Thr을 포함하는 864 잔기 XTENS 서열에의 부가는 약물의 안정성에 영향을 줄 수 있다 (Schellenberger 등, 2009, *Nature Biotechnology* 27 (12):1186-1192). 일부 구현예에서 잔기 N-말단의 부가는 투여된 약물의 반감기를 증가시킬 수 있다. 이들 변화가 본원에서 고려되고; 당해분야의 숙련가는 이것을 어떻게 하는지를 알 것이다.
- [0040] 일부 구현예에서 본원에서 개시된 바와 같은 길항제는 15 내지 22 개의 잔기를 포함하는 중앙 코어 Y¹를 포함한다. 일부 구현예에서 본원에서 개시된 바와 같은 길항제는 24 초파, 15 내지 24, 15 내지 22, 18-22, 또는 19-20 개의 잔를 포함하는 중앙 코어 Y¹를 포함하고, 상기 중앙 코어의 잔기의 적어도 일부는 생리적 조건 하에서 α-나선을 형성할 수 있다. 이러한 중앙 코어의 N-말단으로부터의 4번째 잔기는 빈번하게 양으로 하전된 잔기, 아르기닌 (Arg) 또는 라이신 (Lys)이다. 18번째의 잔기는 빈번하게 아르기닌이다. 중앙 코어의 길이는 잔기 자체의 수에 의해서가 아니라 X¹ 및 Z¹가 배치될 필요가 있는 입체적 고려에 의해 구속되고, 이로써 CGRP와 경쟁하여 세포막 표면 및 세포외 도메인 각각에서 표적 수용체와 작용할 수 있다.
- [0041] Z¹은 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 또는 C-말단 아마이드와 함께 5 내지 7 개 이상의 아미노산 잔기를 포함하는 다른 CT/CGRP 웨타이드 패밀리 멤버의 변형된 C-말단 단편이고, 여기서 C-말단 단편의 적어도 하나의 아미노산은 페닐알라닌 (Phe), 프롤린 (Pro), 티로신 (Tyr), 또는 하이드록시프롤린 (Hyp)일 수 있다. 상기 Y¹ 와 마찬가지로, Z¹은 그것의 서열에 의해서가 아니라 관능성 요건에 의해 구속된다. Z¹의 경우에, 그 요건은 세포외 도메인 내의 부위에서 표적 수용체와 상호작용한다는 것이고 이로써 길항제가 CGRP와 경쟁하여 CGRP 수용체에 결합할 때, X¹은 배치되어 세포 표면에서 수용체와 상호작용하고 Z¹은 수용체의 RAMP 부분과 상호작용한다.
- [0042] 전체 웨타이드는 단독으로 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염으로서 전달될 수 있다.
- [0043] 일부 구현예는 하기를 포함하는 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제를 제공한다:
- [0044] 서열번호: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로서, 상기 웨타이드는 길항제 활성을 보유하는 아미노산 서열.
- [0045] 일부 구현예는 18-22 개의 잔기의 코어 영역을 갖는 길항제를 포함한다.
- [0046] 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제의 일부 구현예에서, N-말단 단편은 하기를 포함한다:
- [0047] X¹¹-X¹²-X¹³-X¹⁴-X¹⁵-X¹⁶-X¹⁷ (서열번호: 16), 여기서:
- [0048] X¹¹은 알라닌 (Ala), 시스테인 (Cys), 글리신 (Gly), 이소류신 (Ile), 류신 (Leu), 메티오닌 (Met), 페닐알라닌 (Phe), 프롤린 (Pro), 트립토판 (Trp), 및 발린 (Val)로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있고;
- [0049] X¹²은 시스테인 (Cys), 세린 (Ser), 및 티로신 (Tyr)로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있고;
- [0050] X¹³은 아르기닌 (Arg), 아스파라간 (Asn), 아스파르트산 (Asp), 시스테인 (Cys), 글루탐산 (Glu), 글루타민 (Gln), 히스티딘 (His), 라이신 (Lys), 세린 (Ser), 트레오닌 (Thr), 티로신 (Tyr), 및 발린 (Val)로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있고;
- [0051] X¹⁴은 아르기닌 (Arg), 아스파라간 (Asn), 아스파르트산 (Asp), 글루탐산 (Glu), 글루타민 (Gln), 히스티딘 (His), 류신 (Leu), 라이신 (Lys), 페닐알라닌 (Phe), 세린 (Ser), 트레오닌 (Thr), 티로신 (Tyr), 및 발린

(Val)로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있고;

[0052] X^{15} 은 알라닌 (Ala), 글리신 (Gly), 이소류신 (Ile), 류신 (Leu), 메티오닌 (Met), 페닐알라닌 (Phe), 세린 (Ser), 트립토판 (Typ), 및 발린 (Val)로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있고;

[0053] X^{16} 은 알라닌 (Ala), 글리신 (Gly), 이소류신 (Ile), 류신 (Leu), 메티오닌 (Met), 페닐알라닌 (Phe), 세린 (Ser), 트립토판 (Typ), 및 발린 (Val)로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있고;

[0054] X^{17} 은 시스테인 (Cys)이고, X^{11} , X^{12} , 또는 X^{13} 중 시스테인 잔기와 함께 디설파이드 결합을 형성할 수 있고;

[0055] 단, 추가로 X^1 (즉, X^{17} , 및 X^{11} , X^{12} , 및 X^{13} 중 단 하나) 중 단 2개의 잔기는 시스테인 잔기이다.

[0056] 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제의 일부 구현예에서, X^{11} 은 Ala, Cys, 및 Gly로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제의 일부 구현예에서, X^{12} 는 Cys 및 Ser로 이루어진 그룹으로부터 선택되고, 단, X^{11} 및 X^{12} 중 단 하나는 Cys일 수 있다. 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제의 일부 구현예에서, X^{13} 은 Arg, Asn, Asp, 및 Val로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제의 일부 구현예에서, X^{14} 는 Leu, Phe, 및 Thr로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제의 일부 구현예에서, X^{15} 은 Ala, Gly, 및 Ser로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제의 일부 구현예에서, X^{15} 은 Ala, Ile, Leu, Ser, 및 Val로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0057] 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제의 일부 구현예에서, $X^{11}-X^{12}-X^{13}-X^{14}-X^{15}-X^{16}-X^{17}$ 은 하기로 이루어진 그룹으로부터 선택된다: $\text{NH}_2\text{-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ala-Cys}$ (서열번호: 17), $\text{NH}_2\text{-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ser-Cys}$ (서열번호: 18), $\text{NH}_2\text{-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Val-Cys}$ (서열번호: 19), $\text{NH}_2\text{-Ala-Cys-Asn-Thr-Ala-Ala-Cys}$ (서열번호: 20), $\text{NH}_2\text{-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Ala-Cys}$ (서열번호: 21), $\text{NH}_2\text{-Ala-Cys-Arg-Phe-Gly-Ala-Cys}$ (서열번호: 22), $\text{NH}_2\text{-Ala-Cys-Asp-Leu-Ser-Ala-Cys}$ (서열번호: 23), $\text{NH}_2\text{-Ala-Cys-Asn-Leu-Ser-Ala-Cys}$ (서열번호: 24), $\text{NH}_2\text{-Cys-Ser-Asn-Thr-Ala-Ala-Cys}$ (서열번호: 25), $\text{NH}_2\text{-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Leu-Cys}$ (서열번호: 26), $\text{NH}_2\text{-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ile-Cys}$ (서열번호: 27), $\text{NH}_2\text{-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Leu-Cys}$ (서열번호: 28), $\text{NH}_2\text{-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ile-Cys}$ (서열번호: 29), $\text{NH}_2\text{-Ala-Cys-Asp-Leu-Ser-Val-Cys}$ (서열번호: 30), $\text{NH}_2\text{-Ala-Cys-Asp-Leu-Ser-Val-Cys}$ (서열번호: 31), $\text{NH}_2\text{-Ala-Cys-Asn-Leu-Ser-Val-Cys}$ (서열번호: 32), 및 $\text{NH}_2\text{-Cys-Ser-Asn-Thr-Ala-Val-Cys}$ (서열번호: 33).

[0058] 일부 구현예에서, 하나 이상의 잔기는 X^{11} 에 N-말단으로 융합되고, 그렇게 함으로써 X^1 에 대해 잔기의 N-말단 확대를 갖는 폴리웨타이드를 산출한다. 일부 구현예에서 이러한 확대는 투여 후 길항제의 안정성에 영향을 미친다.

[0059] 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제의 일부 구현예에서, 중앙 코어는 인간 또는 연어 칼시토닌의 단편을 포함한다. 일부 구현예에서, 인간 또는 연어 칼시토닌의 단편은 18 내지 21 개의 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서 인간 또는 연어 칼시토닌의 단편은 18 내지 20 개의 아미노산을 포함한다.

식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제의 일부 구현예에서, Y^1 은 19 내지 20 개의 아미노산을 포함한다. 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제의 일부 구현예에서, Y^1 은 $-\text{Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-}$ (서열번호: 34) 또는 $-\text{Val-Leu-Gly-Lys-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Lys-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-}$ (서열번호: 35)이다. 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제의 일부 구현예에서, Y^1 은 $-\text{Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-}$ (서열번호: 34) 또는 $-\text{Val-Leu-Gly-Lys-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Lys-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-}$ (서열번호: 35) 와 95% 서열 동일성을 갖는다.

[0060] 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 길항제의 일부 구현예에서, 중앙 코어는 임의의 범위의 종으로부터 칼시토닌의 단편을 포함한다. 일부 구현예에서, Y^1 은 서열번호 34 (Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-)의 Y^1 와 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95% 서열 동일성을 가질 수 있다. 식 I의 구조를 갖는 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 길항제의 일부 구현예에서, Y^1 은 -Val-Leu-Gly-Lys-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Lys-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn- (서열번호: 35) 또는 -Val-Leu-Gly-Lys-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Lys-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asp- (서열번호: 37) 또는 -Val-Leu-Gly-Lys-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Lys-Leu-Gln-Thr-Phe-Pro-Arg-Thr-Asn- (서열번호: 38) 또는 -Val-Leu-Gly-Lys-Leu-Ser-Gln-Asp-Ile-His-Lys-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn- (서열번호: 39) 또는 -Val-Leu-Gly-Lys-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Lys-Met-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asp- (서열번호: 40) 또는 -Leu-Leu-Gly-Lys-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Thr-Arg-Thr-Asp- (서열번호: 41) 또는 -Val-Leu-Gly-Lys-Leu-Ser-Gln-Asp-Leu-His-Lys-Leu-Gln-Thr-Phe-Pro-Arg-Thr-Asp- (서열번호: 42) 또는 -Met-Leu-Gly-Lys-Leu-Ser-Gln-Asp-Leu-His-Lys-Leu-Gln-Thr-Phe-Pro-Arg-Thr-Asp- (서열번호: 43) 또는 -Val-Leu-Gly-Lys-Leu-Ser-Gln-Asp-Ile-His-Lys-Leu-Gln-Thr-His-Pro-Arg-Thr-Asp- (서열번호: 44)일 수 있다. 일부 구현예에서, Y^1 은 상기 바로 옆의 서열의 임의의 Y^1 와 60% 또는 그 초과 서열 동일성을 가질 수 있다.

[0061] 일부 구현예는 상기 열거된 Y^1 폴리펩타이드 단편에 대해 하기를 갖는 Y^1 폴리펩타이드를 제공한다: 적어도 약 60% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 61% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 62% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 63% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 64% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 65% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 66% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 67% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 68% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 69% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 70% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 71% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 72% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 73% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 74% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 75% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 76% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 77% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 78% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 79% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 80% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 81% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 82% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 83% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 84% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 85% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 86% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 87% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 88% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 89% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 90% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 91% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 92% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 93% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 94% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 95% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 96% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 97% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 98% 아미노산 서열 동일성 및 대안적으로 적어도 약 99% 아미노산 서열 동일성.

[0062] 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 길항제의 일부 구현예에서, Z^1 은 $Z^{11}-Z^{12}-Z^{13}-Z^{14}-Z^{15}-Z^{16}$ (서열번호: 45)를 포함하고, 여기서:

[0063] Z^{11} 은 Ala, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, 및 Val로 이루어진 그룹으로부터 선택되고;

[0064] Z^{12} 는 Ala, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, 및 Val로 이루어진 그룹으로부터 선택되고;

[0065] Z^{13} 은 세린 (Ser), 및 티로신 (Tyr)로 이루어진 그룹으로부터 선택되고;

[0066] Z^{14} 는 Arg, Asn, Asp, Glu, Gln, His, Lys, Ser, Thr, 및 Tyr로 이루어진 그룹으로부터 선택되고;

[0067] Z^{15} 는 Ala, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, 및 Val로 이루어진 그룹으로부터 선택되고;

[0068] Z^{16} 은 Ala, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, 및 Val로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, Z^{11} 은 Val이다. 일부 구현예에서, Z^{12} 는 Gly이다. 일부 구현예에서, Z^{13} 은 Ser이다. 일부 구현예에서, Z^{14} 는 Lys이

다. 일부 구현예에서, Z^{15} 는 Ala이다. 일부 구현예에서, Z^{16} 은 Phe이다. 일부 구현예에서, $Z^{11}-Z^{12}-Z^{13}-Z^{14}-Z^{15}-Z^{16}$ 은 -Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe이고 이로써 폴리펩타이드의 C-말단은 카복시 모이어티 (서열번호: 46)이거나, -Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂이고, 이로써 폴리펩타이드의 C-말단은 카복사마이드 모이어티 (서열번호: 47)이다.

[0069] 일부 구현예에서 Z^1 의 C-말단 잔기는 페닐알라닌, 티로신, 프롤린 또는 하이드록시프롤린이다. 일부 구현예에서 Z^1 의 C-말단 잔기는 페닐알라닌이다.

[0070] 일부 구현예에서 Z^1 은 적어도 하나의 Phe 잔기를 포함한다.

[0071] 일부 구현예에서 Z^1 의 C-말단은 변형되고, 이로써 아미드화된 카복시 (-C(=O)NH₂) 모이어티에 의해 제한된다.

[0072] 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨بت아이드 길항제의 일부 구현예에서, X^1 은 NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ala-Cys- (서열번호: 17), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ser-Cys- (서열번호: 18), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Val-Cys- (서열번호: 19), NH₂-Ala-Cys-Asn-Thr-Ala-Ala-Cys- (서열번호: 20), NH₂-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Ala-Cys-, NH₂-Ala-Cys-Arg-Phe-Gly-Ala-Cys- (서열번호: 21), NH₂-Ala-Cys-Arg-Phe-Gly-Ala-Cys- (서열번호: 22), NH₂-Ala-Cys-Asp-Leu-Ser-Ala-Cys- (서열번호: 23), NH₂-Ala-Cys-Asn-Leu-Ser-Ala-Cys- (서열번호: 24), Cys-Ser-Asn-Thr-Ala-Ala-Cys- (서열번호: 25), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Leu-Cys- (서열번호: 26), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ile-Cys- (서열번호: 27), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Leu-Cys- (서열번호: 28), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ile-Cys- (서열번호: 29), NH₂-Ala-Cys-Asp-Leu-Ser-Val-Cys- (서열번호: 30), NH₂-Ala-Cys-Asp-Leu-Ser-Val-Cys- (서열번호: 31), NH₂-Ala-Cys-Asn-Leu-Ser-Val-Cys (서열번호: 32), 및 NH₂-Cys-Ser-Asn-Thr-Ala-Val-Cys- (서열번호: 33); Y^1 은 -Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn- (서열번호: 34) 또는 -Val-Leu-Gly-Lys-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Lys-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn- (서열번호: 35)로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; Z^1 은 카복시-말단 (서열번호: 46) 또는 -Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 47)를 갖는-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe일 수 있다.

[0073] 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨بت아이드 길항제의 일부 구현예에서, 길항제는 28 내지 35 개의 아미노산 잔기, 31 내지 37 개의 아미노산 잔기, 31 내지 33 개의 아미노산 잔기 또는 32 개의 아미노산 잔기를 포함한다.

[0074] 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨بت아이드 길항제의 일부 구현예에서, 길항제는 -Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-X¹⁶-Cys- (서열번호: 49) 모티프를 포함하고 여기서 X¹⁶은 Thr 이외의 임의의 아미노산 잔기이다.

[0075] 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨بت아이드 길항제의 일부 구현예에서, 길항제는 7 개 이하의 아미노산 잔기를 갖는 제1 웨بت아이드 단편을 포함하고, 여기서 상기 제1 웨بت아이드 단편은 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨بت아이드로부터의 서열을 갖는다. 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨بت아이드 길항제의 일부 구현예에서, 길항제는 7 개 이하의 아미노산 잔기를 갖는 제2 웨بت아이드 단편을 포함하고, 여기서 상기 제1 및 제2 웨بت아이드 단편은 비-인접하고 이를 각각은 독립적으로 칼시토닌 유전자-관련된 웨بت아이드로부터 변형될 수 있는 서열을 갖는다. 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨بت아이드 길항제의 일부 구현예에서, 길항제는 20 개 이하의 아미노산 잔기를 갖는 제3 웨بت아이드 단편을 포함하고, 여기서 상기 제3 웨بت아이드 단편은 연어 칼시토닌으로부터의 서열을 갖는다. 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨بت아이드 길항제의 일부 구현예에서, 제2 웨بت아이드 단편 및 제3 웨بت아이드 단편은 인접한다.

[0076] 일부 구현예에서, 길항제는 하기로 이루어진 구조의 목록으로부터 선택된 구조를 갖는다: NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 1), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ser-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 2), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Val-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-

Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 3), NH₂-Ala-Cys-Asn-Thr-Ala-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 4), NH₂-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 5), NH₂-Ala-Cys-Arg-Phe-Gly-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 6), NH₂-Ala-Cys-Asn-Leu-Ser-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 7), NH₂-Cys-Ser-Asn-Thr-Ala-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 8), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Leu-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 9), NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ile-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 10), NH₂-Ala-Cys-Asn-Leu-Ser-Val-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 11), NH₂-Cys-Ser-Asn-Thr-Ala-Val-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 12), 또는 NH₂-Ala-Cys-Asn-Leu-Ser-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 13), Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Val-Asp-Pro-Ser-Ser-Pro-His-Ser-Tyr-NH₂ (서열번호: 14), 또는 Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ala-Cys-Val-Thr-His-Arg-Leu-Ala-Gly-Leu-Leu-Ser-Arg-Ser-Gly-Gly-Val-Val-Lys-Asn-Asn-Phe-Val-Pro-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 15) 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염. 본 길항제는 상기 목록으로부터의 단일 화합물일 수 있다.

[0077] 일부 구현예에서, 길항제는 NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 1)의 구조, 또는 그의 약제학적 허용가능한 염을 갖는다. 일부 구현예에서, 길항제는 NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ser-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 2)의 구조, 또는 그의 약제학적 허용가능한 염을 갖는다. 일부 구현예에서, 길항제는 NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Val-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 3)의 구조, 또는 그의 약제학적 허용가능한 염을 갖는다. 일부 구현예에서, 길항제는 NH₂-Ala-Cys-Asn-Thr-Ala-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 4), 또는 그의 약제학적 허용가능한 염을 갖는다. 일부 구현예에서, 길항제는 NH₂-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 5)의 구조, 또는 그의 약제학적 허용가능한 염을 갖는다. 일부 구현예에서, 길항제는 NH₂-Ala-Cys-Arg-Phe-Gly-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 6)의 구조, 또는 그의 약제학적 허용가능한 염을 갖는다. 일부 구현예에서, 길항제는 NH₂-Ala-Cys-Asn-Leu-Ser-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 7)의 구조, 또는 그의 약제학적 허용가능한 염을 갖는다. 일부 구현예에서, 길항제는 NH₂-Cys-Ser-Asn-Thr-Ala-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 8)의 구조, 또는 그의 약제학적 허용가능한 염을 갖는다. 일부 구현예에서, 길항제는 NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Leu-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 9)의 구조, 또는 그의 약제학적 허용가능한 염을 갖는다. 일부 구현예에서, 길항제는 NH₂-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ile-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-

His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 10)의 구조, 또는 그의 약제학적 허용가능한 염을 갖는다. 일부 구현예에서, 길항체는 NH₂-Ala-Cys-Asn-Leu-Ser-Val-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 11)의 구조, 또는 그의 약제학적 허용가능한 염을 갖는다. 일부 구현예에서, 길항체는 NH₂-Cys-Ser-Asn-Thr-Ala-Val-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 12)의 구조, 또는 그의 약제학적 허용가능한 염을 갖는다. 일부 구현예에서, 길항체는 NH₂-Ala-Cys-Asn-Leu-Ser-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Thr-Asn-Thr-Gly-Ser-Gly-Thr-Pro-NH₂ (서열번호: 13)의 구조, 또는 그의 약제학적 허용가능한 염을 갖는다. 일부 구현예에서, 길항체는 Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Ala-Cys-Val-Leu-Gly-Arg-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Arg-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Val-Asp-Pro-Ser-Ser-Pro-His-Ser-Tyr-NH₂ (서열번호: 14)의 구조, 또는 그의 약제학적 허용가능한 염을 갖는다. 일부 구현예에서, 길항체는 Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Ala-Cys-Val-Thr-His-Arg-Leu-Ala-Gly-Leu-Leu-Ser-Arg-Ser-Gly-Gly-Val-Val-Lys-Asn-Asn-Phe-Val-Pro-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (서열번호: 15)의 구조, 또는 그의 약제학적 허용가능한 염을 갖는다. 본 개시내용의 길항체는 또한 상기 화합물들 중의 하나를 포함하는 약제학적 조성물일 수 있다. 약제학적 조성물은 개체의 두통을 치료하는 방법에서 사용될 수 있고, 상기 방법은 개체에게 효과적인 양의 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 길항체를 투여하는 것을 포함한다.

- [0078] 식 I의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 길항체의 일부 구현예에서, Y¹은 하기를 포함한다: -Ala-Glu-Ala-Ala-Ala-Ala-Lys-Glu-Ala-Ala-Ala-Lys-Glu-Ala-Ala-Ala-Lys-Ala- (서열번호: 50), -Ala-Lys-Ala-Ala-Ala-Glu-Lys-Ala-Ala-Ala-Glu-Lys-Ala-Ala-Ala-Glu-Ala- (서열번호: 51), -Ala-Glu-Ala-Ala-Lys-Ala-Glu-Ala-Ala-Lys-Ala-Glu-Ala-Ala-Lys-Ala- (서열번호: 52), 또는 -Ala-Lys-Ala-Ala-Glu-Ala-Lys-Ala-Ala-Glu-Ala-Lys-Ala- (서열번호: 53).
- [0079] 일부 구현예는 표 1의 펩타이드 서열의 구조를 갖는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 길항체를 제공한다.
- [0080] 일부 구현예는 하기를 포함하는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 길항체를 제공한다: 서열번호: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열로서, 상기 펩타이드는 길항체 활성을 보유하는 아미노산 서열. 일부 구현예에서, 아미노산 서열은 서열번호: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 가질 수 있고, 상기 펩타이드는 길항체 활성을 보유한다. 일부 구현예에서, 아미노산 서열은 서열번호: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 가질 수 있고, 상기 펩타이드는 길항체 활성을 보유한다. 일부 구현예에서, 아미노산 서열은 서열번호: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15의 아미노산 서열에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 가질 수 있다, 상기 펩타이드는 길항체 활성을 보유한다.
- [0081] 일부 구현예는 약제학적으로 허용가능한 부형제 및 본원에서 개시되고 기재된 바와 같은 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 길항체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0082] 일부 구현예는 개인의 두통을 치료하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 상기 개체에게 효과적인 양의 본원에서 개시되고 기재된 바와 같은 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 길항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 방법은 두통을 겪고 있는 대상체를 확인하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 두통은 편두통이다.
- [0083] 일부 구현예는 비정상적인 수준의 CGRP와 연관된 병태를 치료하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 본원에서 개시되고 기재된 바와 같은 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 길항체를 개체에게 투여하는 것을 포함하고, 상기 방법은 상기 개체에게 효과적인 양의 본원에서 개시되고 기재된 바와 같은 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 길항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 병태는 편두통이다.
- [0084] 일부 구현예는 CGRP 수용체 패밀리의 멤버에 선택적으로 결합하는, 본원에서 개시되고 기재된 바와 같은 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 길항체에 연결된 치료제를 포함하는 콘주케이트를 제공한다. 일부 구현예에서, 치료제는 조영제일 수 있다.

- [0085] 일부 구현예는 CGRP 수용체에 결합된 본 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제를 제공하고, 시험 화합물 또는 시험 화합물의 라이브러리를 제공하고, 상기 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제를 상기 CGRP 수용체로부터 분리할 수 있는 화합물을 확인하여 CGRP 수용체 결합 리간드를 확인하는 방법을 제공한다. 이러한 방법에 의해 확인된 그와 같은 화합물은 선택적 CGRP 수용체 결합 리간드를 확인하기 위해 다른 CGRP 수용체 및 CGRP 수용체 결합제에 대해 추가로 스크리닝될 수 있다.
- [0086] 본원의 일부 구현예에서 작용제의 서열을 보유하는 변형된 CGRP 길항제가 기재되어 있고, 상기 작용제는 세포막에서 및 그것의 C-말단에서 CGRP 수용체에 결합하고, 나선 구조 모티프인 디설파이드 결합 Y¹을 통해 나선을 개시하고 그것을 안정화시키는 N-말단 영역인 X¹; 및 작용제 서열로부터 하나의 잔기만큼 차이가 작은 C-말단 결합 영역인 Z¹를 포함한다. 바람직한 구현예에서, 연어 칼시토닌 유도된 나선은 본 길항제의 효능을 증가시키기 위해 사용된 구조의 일부이다.
- [0087] 정의
- [0088] 하기의 정의는 구현예를 기재하기 위해 사용된 다양한 용어들의 의미 및 범위를 설명하고 규정하기 위해 제시된다.
- [0089] 본원에서 사용된 바와 같이, "변형된"은 관련된 폴리웨타이드의 전체 구조를 보유하지만 관련된 폴리웨타이드로부터 적어도 하나의 잔기 정도 상이한 폴리웨타이드를 의미한다. 본원에서 사용된 바와 같이 "변형된 C-말단"은 표준 웨타이드 카복시 그룹 이외의 화학 구조를 갖는 폴리웨타이드의 C-말단이고, 그와 같은 변형된 C-말단의 예는 C-말단 카복사마이드이다.
- [0090] 본원에서 사용된 바와 같이, "작용제"는 그것의 상보적 생물학적 활성 수용체에 결합하고 후자를 활성화시켜 수용체에서 생물학적 반응을 야기하거나 수용체의 기존의 생물학적 활성을 향상시키는 생물학적 활성 리간드를 의미한다.
- [0091] 본원에서 사용된 바와 같이, "길항제"는 그것의 상보적 생물학적 활성 수용체에 결합하고 수용체의 생리적 반응을 억제하는 생물학적 활성 리간드를 의미한다.
- [0092] 본원에서 사용된 바와 같이, "약제학적으로 허용가능한 염"은 약제학적 산업에서 통상적으로 사용된 비-독성 알칼리 금속, 알칼리 토금속, 및 암모늄 염을 의미하고, 그 염은 나트륨, 칼륨, 리튬, 칼슘, 마그네슘, 바륨, 암모늄, 및 프로타민 아연 염을 포함하고, 이들은 당해분야에서 잘 알려진 방법에 의해 제조된다. 용어는 또한, 본원에서 개시된 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제를 적당한 유기 또는 무기산과 반응시켜서 일반적으로 제조된 비-독성 산 부가 염을 포함한다. 대표적인 염은 하기를 포함한다: 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 설페이트, 바이설페이트, 아세테이트, 옥살레이트, 밸레이트, 올레이트, 라우레이트, 보레이트, 벤조에이트, 락테이트, 포스페이트, 토실레이트, 시트레이트, 말레이트, 푸마레이트, 석시네이트, 타르트레이트, 나프실레이트, 등. 따라서, 용어는 유리 염기의 생물학적 유효성 및 특성을 보유하고 생물학적으로 또는 달리 바람직하지 않는 것이 아닌, 무기산 예컨대 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등, 및 유기산 예컨대 아세트산, 프로피온산, 글리콜산, 피루브산, 옥살산, 말산, 말론산, 석신산, 말레산, 푸마르산, 타르타르산, 시트르산, 벤조산, 신남산, 만델산, 멘тан 살폰산, 에탄살폰산, p-톨루엔살폰산, 살리실산 등으로 형성되는 염을 의미한다. 전구약물로서 약제학적으로 허용가능한 염을 설명하기 위해, Bundgaard, H. ed., 1985 Design of Prodrugs, Elsevier Science Publishers, Amsterdam을 참고한다.
- [0093] 본원에서 사용된 바와 같이, "약제학적으로 허용가능한 에스테르"는, 에스테르 결합의 가수분해시, 카복실산 또는 알코올의 생물학적 유효성 및 특성을 보유하고 생물학적으로 또는 달리 바람직하지 않는 것이 아닌 에스테르를 의미한다. 전구약물로서 약제학적으로 허용가능한 에스테르를 설명하기 위해, Bundgaard, H. ed. 1985 Design of Prodrugs, Elsevier Science Publishers, Amsterdam을 참고한다. 이들 에스테르는 상응하는 카복실산 및 알코올로부터 전형적으로 형성된다. 일반적으로, 에스테르 형성은 종래의 합성 기술을 통해 달성될 수 있다(참고, 예를 들면, March, 1992 Advanced Organic Chemistry, 4th Ed., John Wiley & Sons, New York, p.p. 393-396 및 본원에서 인용된 참조문헌, 및 Mark, 등 1980 Encyclopedia of Chemical Technology, John Wiley & Sons, New York). 에스테르의 알코올 성분은 일반적으로 하기를 포함할 것이다: (i) 하나 이상의 이중 결합을 함유할 수 있거나 없으며 분지된 탄소를 함유할 수 있거나 없는 C₂-C₁₂ 지방족 알코올 또는 (ii) C₇-C₁₂ 방향족 또는 헤테로방향족 알코올.
- [0094] 본원에서 사용된 바와 같이, "C-말단 아마이드"는 폴리웨타이드의 카복시-말단 예컨대 폴리웨타이드 말단에 보

통 존재하는 C-말단 하이드록실 모이어티를, C-말단 카복시 (즉 C(=O)-OH) 모이어티보다는 카복사마이드 (즉, C(=O)-NH₂로 대체하는 아마이드 모이어티를 의미한다. 전구약물로서 약제학적으로 허용가능한 아마이드를 설명하기 위해, Bundgaard, H. ed. 1985 Design of Prodrugs Elsevier Science Publishers, Amsterdam를 참고한다. 이들 아마이드는 상용하는 카복실산 및 아민으로부터 전형적으로 형성된다. 일반적으로, 아마이드 형성은 종래의 합성 기술을 통해 달성될 수 있다(참고, 예를 들면, March, 1992 Advanced Organic Chemistry, 4th Ed., John Wiley & Sons, New York, p. 393 및 Mark, 등 1980 Encyclopedia of Chemical Technology, John Wiley & Sons, New York).

- [0095] 본원에서 사용된 바와 같이, "약제학적으로 허용가능한 담체"는 활성 성분의 생물학적 활성의 유효성을 방해하지 않고 숙주 또는 환자에 대해 독성이 없는 담체 매체를 의미한다.
- [0096] 본원에서 사용된 바와 같이, "입체이성질체"는 다른 것과 동일한 분자량, 화학 조성물, 및 결합 순서를 갖지만, 하나 이상의 키랄 중심 주위의 공간에서 상이하게 그룹화된 그것의 원자를 갖는 독립체를 의미한다. 즉, 동일한 화학식의 입체이성질체는 적어도 하나의 키랄 중심 주위의 상이한 공간 배향으로 위치한 동일한 화학적 모이어티를 함유할 것이다. 순수할 때, 입체이성질체는 면-편광을 회전시키는 능력을 갖는다. 그러나 일부 순수한 입체이성질체는 존재하는 기기장치로 검출불가능한 정도로 약간인 광학적 회전을 가질 수 있다. 본원에서 개시된 바와 같은 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제는 하나 이상의 비대칭 탄소 원자를 가질 수 있고 따라서 다양한 입체이성질체를 포함한다. 모든 입체이성질체는 구현예의 범위 내에 포함된다.
- [0097] 본원에서 사용된 바와 같이, 본원에서 개시된 바와 같은 조성물에 적용되는 바와 같은 "치료적으로" 또는 "약제학적으로-효과적인 양"은 원하는 생물학적 결과를 유도하는데 충분한 조성물의 양을 의미한다. 그 결과는 질환의 정후, 증상, 또는 원인의 완화, 또는 생물학적 시스템의 임의의 다른 원하는 변경일 수 있다.
- [0098] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어들 "웨타이드 잔기" 및 "웨타이드 구조"는 자연 발생 L-아미노산 및 상용하는 D-아미노산을 포함하는 웨타이드, 뿐만 아니라 자연 발생 L-아미노산 구조의 웨타이드 유도체, 웨타이드 유사체 및 웨타이드모사체를 포함하는 것으로 의도된다. 웨타이드 유사체, 유도체 및 모사체의 설계에 대한 접근법은 당해기술에 공지되어 있다. 예를 들면, 하기를 참고한다: Farmer, P.S. in: Drug Design E.J. Ariens, ed. Academic Press, New York, 1980, vol. 10, pp. 119-143; Ball J.B. & Alewood, P.F. 1990 J. Mol. Recognition 3:55; Morgan, B.A. & Gainor, J.A. 1989 Ann. Rep. Med. Chem. 24:243; 및 Freidinger, R.M. 1989 Trends Pharmacol. Sci. 10:270; Luthman, 등 1996 A Textbook of Drug Design and Development, 14:386-406, 2nd Ed., Harwood Academic Publishers; Joachim Grante, Angew. 1994 Chem. Int. Ed. Engl. 33:1699-1720; Fauchere, J. 1986 Adv. Drug Res. 15:29; Veber and Freidinger 1985 TINS p. 392; Evans, 등 1987 J. Med. Chem. 30:229, 이들 모두는 그의 전체가 참고로 본원에 편입되어 있다. 치료적으로 유용한 웨타이드와 구조적으로 유사한 웨타이드모사체는 당해분야에서 공지되고 하기의 참조에서 추가로 기재된 방법에 의해 동등 또는 증대된 치료 또는 예방 효과를 얻기 위해 사용될 수 있다: Spatola, A.F. 1983 in: Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides, and Proteins, B. Weinstein, eds., Marcel Dekker, New York, p. 267; Spatola, A.F. 1983 Vega Data, Vol. 1, Issue 3, Peptide Backbone Modifications (총평); Morley, 1980 Trends. Pharm. Sci. pp. 463-468, (총평); Hudson, 등 1979 Int. J. Pept. Prot. Res. 14:177-185 (-CH₂NH-, CH₂CH₂-); Spatola, 등 1986 Life Sci. 38:1243-1249 (-CH₂-S); Hann, 1982 J. Chem. Soc. Perkin. Trans. I 307-314 (-CH-CH-, cis and trans); Almquist, 등 1980 J. Med. Chem. 23:1392-1398, (-COCH₂-); Jennings-White, 등 1982 Tetrahedron Lett. 23:2533 (-COCH₂-); Szelke, 등 1982 European Appln. EP 45665 (-CH(OH)CH₂-); Holladay, 등 1983 Tetrahedron Lett. 24:4401-4404 (-C(OH)CH₂-); 및 Hruby, 1982 Life Sci. 31:189-199 (-CH₂-S-); 이들 각각은 그 전체가 참조로 본원에 편입되어 있다.
- [0099] 동일한 유형의 D-아미노산 (예를 들면, L-라이신 대신 D-라이신)에 의한 공통 서열의 하나 이상의 아미노산의 체계적인 치환은 더 많은 안정한 웨타이드를 산출하기 위해 사용될 수 있다. 또한, 공통 서열 또는 실질적으로 동일한 공통 서열 변화를 포함하는 구속된 웨타이드는, 예를 들면, 웨타이드를 고리화하는 분자내 디설파이드 브릿지를 형성할 수 있는 내부 시스테인 잔기의 부가 또는 나선을 안정시키기 위한 아미노이소부티르산 (Aib) 잔기의 사용에 의해 당해분야에서 공지된 방법에 의해 산출될 수 있다 (Rizo, 등 1992 Ann. Rev. Biochem. 61:387, 그의 전체가 본원에 참조로 편입되어 있다).
- [0100] 합성 또는 비-자연 발생 아미노산은 생체 내에서 천연적으로 생기지 않지만 그럼에도 불구하고 본원에서 기재된 웨타이드 구조에 편입될 수 있는 아미노산을 의미한다.

- [0101] 본원에서 사용된 바와 같이, 화합물, 예를 들면 펩타이드 또는 아미노산의 "유도체"는, 화합물 중 하나 이상의 반응성 그룹이 치환체 그룹으로 유도된 화합물의 형태를 의미한다. 펩타이드 유도체의 예는 아미노산 측쇄, 펩타이드 골격, 또는 아미노- 또는 카복시-말단이 유도된 펩타이드를 포함한다 (예를 들면, 메틸화된 아미드 연결 또는 하이드록실화된 아미노산 또는 아미노산 잔기를 갖는 펩타이드 화합물).
- [0102] 본원에서 사용된 바와 같이 화합물의 "유사체"는 화합물의 관능적 활성에 필요한 참조 화합물의 화학 구조를 보유하지만 참조 화합물과 상이한 어떤 화학 구조를 또한 함유하는 화합물을 의미한다. 자연 발생 펩타이드의 유사체의 예는 하나 이상의 비-자연 발생 아미노산 또는 보존적 아미노산 치환, 예컨대, 예를 들면, 하기의 표 3에서 명시된 치환을 포함하는 펩타이드이다. 본원에서 사용된 바와 같이, 화합물의 "모사체"는, 화합물의 관능적 활성에 필요한 참조된 화합물의 화학 구조가, 참조된 화합물의 형태를 모사하는 다른 화학 구조로 대체된 화합물을 의미한다. 펩타이드 모사체의 예는 하기를 포함한다: 펩타이드 골격이 하나 이상의 벤조디아제핀 분자로 치환된 펩타이드 화합물 (참고, 예를 들면, James, G.L. 등 1993 *Science* 260:1937-1942, 이는 그 전체가 참조로 본원에 편입되어 있다), 모든 L-아미노산이 상응하는 D-아미노산으로 치환된 펩타이드 및 "레트로-인버소" 펩타이드 (참고, 미국 특허 번호 4,522,752 (Sisto), 이는 그 전체가 참조로 본원에 편입되어 있다), 추가로 하기에 기재된 것: James, G.L. 등 1993 *Science* 260:1937-1942, and Goodman 등 1981 *Perspectives in Peptide Chemistry* pp. 283-294, 이것은 그 전체가 참조로 편입되어 있다. 또한 하기를 참조한다: 미국 특허 번호 4,522,752 (Sisto), 이는 "레트로-인버소" 펩타이드의 추가 설명을 위해 그 전체가 참조로 본원에 편입되어 있다. 다른 유도체는 하기를 포함한다: C-말단 하이드록시메틸 유도체, O-변형된 유도체 (예를 들면, C-말단 하이드록시메틸 벤질 에테르) 및 치환된 아미드 예컨대 알킬아마이드 및 하이드라자이드를 포함하는 N-말단으로 변형된 유도체.
- [0103] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "아미노산 구조" (예컨대 "류신 구조", "페닐알라닌 구조" 또는 "글루타민 구조")는 아미노산, 뿐만 아니라 화합물의 관능적 활성을 보유하는 아미노산의 유사체, 유도체 및 모사체를 포함하는 것으로 의도된다. 예를 들면, 용어 "페닐알라닌 구조"는 페닐알라닌 뿐만 아니라 피리딜알라닌 및 호모페닐알라닌을 포함하는 것으로 의도된다. 용어 "류신 구조"는 류신, 뿐만 아니라 발린, 이소류신 또는 지방족 측쇄를 갖는 다른 천연 또는 비-천연 아미노산, 예컨대 노르류신에 의한 치환을 포함하는 것으로 의도된다.
- [0104] 본원에서 개시된 변형된 펩타이드 화합물의 아미노- 및/또는 카복시-말단은 대부분의 단백질에서 보여진 바와 같이 표준 아미노 및 카복시 말단일 수 있다. 대안적으로, 펩타이드 화합물의 아미노- 및/또는 카복시-말단은 유도체 그룹의 부가 또는 교체에 의해 화학적으로 변경될 수 있다. 펩타이드 화합물의 N-말단에 존재할 수 있고 (즉, Y1일 수 있는) 아미노-유도체 그룹은 아세틸, 아릴, 아랄킬, 아실, 에폭시석시닐 및 콜레스테릴 그룹을 포함한다. 펩타이드 화합물의 C-말단에 존재할 수 있고 (즉, Y2일 수 있는) 카복시-유도체 그룹은 알코올, 알데하이드, 에폭시석시네이트, 산 할로겐화물, 카보닐, 할로메탄, 디아조메탄 그룹 및 카복사마이드를 포함한다. 카복사마이드 가 바람직하다.
- [0105] 본원에서 사용된 바와 같이, "검출가능한 표지" 또는 "조영제"는, 화합물에 공유결합될 때, 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 길항제가 투여된 환자에서 생체내 검출을 비제한적으로 포함하는, 화합물의 검출을 허용하는 물질을 의미한다. 적당한 검출가능한 표지는 당해기술에 잘 알려져 있고, 예로써, 방사선동위원소, 형광 표지 (예를 들면, 플루오레신), 등을 포함한다. 이용된 특정한 검출가능한 라벨은 중요하지 않고 이용될 표지의 양 뿐만 아니라 이용된 표지의 양에서의 표지의 독성에 대해 선택된다. 그와 같은 인자에 대한 표지의 선택은 당해기술의 내에 있다.
- [0106] 펩타이드 또는 펩타이도모사체에 대한 검출가능한 표지의 공유 결합은 당해기술에서 잘 알려진 종래의 방법으로 달성된다. 예를 들면, ¹²⁵I 방사선동위원소가 검출가능한 라벨로서 이용될 때, 펩타이드 또는 펩타이도모사체에 대한 ¹²⁵I의 공유 결합은 아미노산 티로신을 펩타이드 또는 펩타이도모사체에 편입시키고 그 다음 펩타이드를 요오드화하여 달성될 수 있다 (참고, 예를 들면, Weener, 등 1994 *Synthesis and Applications of Isotopically Labelled Compounds*, pp. 137-140). 티로신이 펩타이드 또는 펩타이도모사체에서 존재하지 않으면, 펩타이드 또는 펩타이도모사체의 N 또는 C 말단에 대한 티로신의 편입은 공지된 화학으로 달성될 수 있다. 마찬가지로, ³²P는 종래의 화학을 사용하여 펩타이드 또는 펩타이도모사체 상의 예를 들면, 하이드록실 그룹을 통해 포스페이트 모이어티로서 펩타이드 또는 펩타이도모사체 상에 편입될 수 있다.
- [0107] 본원에서 사용된 바와 같이 용어 "치료제"는, 편두통 또는 통증 감소제를 비제한적으로 포함하는, 특이적 질환 치료에 대한 원하는 치료 효과를 갖는 제제를 의미한다.

[0108] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "α-나선"은 수용체 상의 X^1 및 Z^1 도메인의 유사한 위치선정을 야기하는 α-나선 단백질 구조 또는 임의의 다른 구조 유사체를 형성하는 구조적 성분을 의미한다.

[0109] **펩타이드 및 펩타이드모사체의 제조**

[0110] 1. 고체상 합성

[0111] 본원에서 기재된 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 길항제는, 예를 들면, 표준 고체상 기술을 사용하여 고전적 당해분야에서 공지된 방법으로 제조될 수 있다(참고, 예를 들면, Merrifield, 1963 J. Am. Chem. Soc. 85:2149, 이것은 그 전체가 참조로 포함되어 있다).

[0112] 이들 고체상 펩타이드 합성 절차는 당해기술에서 잘 알려져 있고 하기에 의해 추가로 기재되어 있다: J.M. Stewart and J.D. Young, 1984 Solid Phase Peptide Syntheses 2nd Ed., Pierce Chemical Company.

[0113] 2. 합성 아미노산

[0114] 이들 절차는, 20 개의 자연 발생, 유전적으로 인코딩된 아미노산 이외의 아미노산이 본원에서 개시된 바와 같은 임의의 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 길항제의 1, 2, 또는 그 초과의 위치에서 치환된 펩타이드를 합성하기 위해 또한 사용될 수 있다. 예를 들면, 나프탈알라닌은 트립토판 대신 치환될 수 있고, 이것은 합성을 용이하게 한다. 본 구현예의 펩타이드로 치환될 수 있는 다른 합성 아미노산은 L-하이드록시프로필, L-3, 4-디하이드록시-페닐알라닐, d 아미노산 예컨대 L-d-하이드록실리실 및 D-d-메틸알라닐, L-α-메틸알라닐, β-아미노산, 및 이소퀴놀릴을 포함한다. D 아미노산 및 비-자연 발생 합성 아미노산은 본 구현예의 펩타이드에 또한 편입될 수 있다(참고, 예를 들면, Roberts, 등 1983 Unusual Amino/Acids in Peptide Synthesis 5:341-449).

[0115] 일부 구현예에서, 20 개의 유전적으로 인코딩된 아미노산의 자연 발생 측쇄, 또는 본원에서 개시된 바와 같은 임의의 다른 측쇄는 펩타이드에서 전형적으로 발견되는 바와 같이 α-탄소 대신에 아미노산의 질소로 바꿀 수 있다.

[0116] 표 2: 표준적 아미노산에 대한 1글자 약어. 3글자 약어는 소괄호 안에 있다.

표 2

알라닌 (Ala)	A
글루타민 (Gln)	Q
류신 (Leu)	L
세린 (Ser)	S
아르기닌 (Arg)	R
글루탐산 (Glu)	E
라이신 (Lys)	K
트레오닌 (Thr)	T
아스파라긴 (Asn)	N
글리신 (Gly)	G
메티오닌 (Met)	M
트립토판 (Trp)	W
아스파르트산 (Asp)	D
히스티딘 (His)	H
페닐알라닌 (Phe)	F
티로신 (Tyr)	Y
시스테인 (Cys)	C
이소류신 (Ile)	I
프롤린 (Pro)	P
발린 (Val)	V

[0118] UPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN)에 의한 아미노산 및 펩타이드의 명명법 및 상징적 표현은 하기의 문서에서 공개되었다: Biochem. J., 1984, 219, 345-373; Eur. J. Biochem., 1984, 138, 9-5 37; 1985, 152, 1; 1993, 213, 2; Internat. J. Pept. Prot. Res., 1984, 24, following p 84; J. Biol. Chem., 1985, 260, 14-42; Pure Appl. Chem., 1984, 56, 595-624; Amino Acids and Peptides, 1985, 16, 387-

410; Biochemical Nomenclature and Related Documents, 2nd edition, Portland Press, 1992, pages 39-69.

[0119] 일부 구현예에서, 본 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제의 아미노산 서열은 서열번호: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15의 서열에 대해 변형될 수 있고, 이로써 변형은 효소 단백질분해에 대한 본 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제의 감수성을 감소시킨다. 일부 구현예에서 이러한 변형은 대상체에게 투여 후 단백질 안정성을 증가시키는 것으로 보여진 폴리웨타이드인 864 잔기 XTENS 폴리웨타이드의 모두 또는 일부를 포함하는 서열의 N-말단 부가를 포함할 수 있다(참고, 예를 들면, Schellenberger, 등, 2009, *Nature Biotechnology* 27(12): 1186-1192, 이것은 그 전체가 참조로 편입되어 있다).

[0120] 일부 구현예에서, 본 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제는 하나 이상의 D-아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제의 아미노산 서열은 서열번호: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15의 서열에 대해 변형될 수 있고, 이로써 변형은 상승하는 D-아미노산 잔기에 의한 하나 이상의 L-아미노산 잔기의 교체를 포함한다.

[0121] 일부 구현예에서, 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웨타이드 길항제의 아미노산 서열은 서열번호: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15의 서열에 대해 변형될 수 있고, 이로써 변형은 보존적 아미노산에 의한 치환을 포함한다.

[0122] 자연 발생 잔기는 공통의 측쇄 특성을 기반으로 하는 클래스로 나눌 수 있다:

[0123] 소수성: 노르류신 (Nor), Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0124] 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0125] 산성: Asp, Glu;

[0126] 염기성: His, Lys, Arg;

[0127] 사슬 배향에 영향을 주는 잔기: Gly, Pro; 및

[0128] 방향족: Trp, Tyr, Phe.

[0129] 보존적 아미노산 치환은 클래스의 멤버와 동일한 클래스의 또 하나의 멤버와의 교환을 수반할 수 있다. 보존적 아미노산 치환은 생물학적 시스템에서 합성에 의해서라기 보다는 화학적 웨타이드 합성에 의해 전형적으로 편입된 비-자연 발생 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 이들은 웨타이드모사체 및 다른 역전된 또는 반전된 형태의 아미노산을 포함한다.

[0130] 일부 구현예에서, 보존적 치환은 하나의 비-극성 (소수성) 아미노산 잔기 예컨대 이소류신, 발린, 류신, 노르류신, 알라닌, 또는 메티오닌의 또 하나의 잔기 대신의 치환, 하나의 극성 (친수성) 아미노산 잔기의 또 하나의 잔기 대신의 치환 예컨대 아르기닌과 라이신 사이, 글루타민과 아스파라긴 사이, 트레오닌과 세린 사이 대신의 치환, 하나의 염기성 아미노산 잔기 예컨대 라이신, 아르기닌 또는 히스티딘의 또 하나의 잔기 대신의 치환, 또는 하나의 산성 잔기, 예컨대 아스파르트산 또는 글루탐산의 또 하나의 잔기 대신의 치환을 포함할 수 있다. 구절 "보존적 아미노산 치환"은 또한 비-유도된 잔기 대신에 화학적으로 유도된 잔기의 사용을 포함하고, 단, 그와 같은 폴리웨타이드는 필수 길항제 활성을 드러낸다.

[0131] 표 3은 본 구현예에 따라 유용할 수 있는 아미노산 잔기 치환의 예를 제공한다.

표 3

최초 잔기	치환
Ala	Val, Leu, Ile, Aib
Arg	Lys, Gln, Asn, 호모아르기닌
Asn	Gln
Asp	Glu
Cys	Ser, Ala
Gln	Asn
Glu	Asp
Gly	Pro, Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, 노르류신

Leu	노르류신, Ile, Val, Met, Ala, Phe
Lys	Arg, 1,4-디아미노-부티르산, Gln, Asn, 오르니틴
Met	Leu, Phe, Ile
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr
Pro	Ala
Ser	Thr, Ala, Cys
Thr	Ser, Val, Ile
Trp	Tyr, Phe
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, 노르류신

- [0133] 일부 구현예에서, 아미노산 본원에서 개시된 바와 같은 아미노산의 염기성 모이어티, 예컨대 Arg의 구아니딘은 염기 생물학적 동족체에 의해 치환될 수 있다.
- [0134] "하이드록시프롤린"은 유리 아미노산이거나 폴리펩타이드에 편입된 프롤린의 임의의 및 모든 공지된 하이드록실화 동족을 의미한다. (2S,4R)-4-하이드록시프롤린, 뿐만 아니라 상이한 입체화학 또는 하이드록실화된 탄소를 갖는 프롤린 잔기를 포함한다.
- [0135] "0-카복시" 그룹은 "RC(=O)O-" 그룹을 의미하고, 여기서 R은 본원에서 규정된 바와 같이 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 사이클로알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로알리사이클릴, 아랄킬, 또는 (헤테로알리사이클릴)알킬일 수 있다. 0-카복시는 치환 또는 비치환될 수 있다.
- [0136] "C-카복시" 그룹은 "-C(=O)OR" 그룹을 의미하고, 여기서 R은 0-카복시에 대해 규정된 것과 동일 할 수 있다. C-카복시는 치환 또는 비치환될 수 있다.
- [0137] "C-아미도" 그룹은 "-C(=O)NR^AR^B" 그룹을 의미하고, 여기서 R^A 및 R^B는 동일하거나 그렇지 않을 수 있고 R이 0-카복시에 대해 규정된 바와 같이 규정될 수 있다. C-아미도는 치환 또는 비치환될 수 있다.
- [0138] "N-아미도" 그룹은 "RC(=O)NR^A" 그룹을 의미하고, 여기서 R 및 R^A는 동일하거나 그렇지 않을 수 있고 R이 0-카복시에 대해 규정된 바와 같이 규정될 수 있다. N-아미도는 치환 또는 비치환될 수 있다.
- [0139] 본원에서 사용된 바와 같이, "아마이드"는 "-C(=O)NR^AR^B" 그룹을 의미하고, 여기서 R^A 및 R^B는 동일하거나 그렇지 않을 수 있고 R이 0-카복시에 대해 규정된 바와 같이 규정될 수 있다. R^A 및 R^B는 일부 구현예에서 수소일 수 있다.
- [0140] 본원에서 사용된 바와 같이, "아민"은 "-NR^AR^B" 그룹을 의미하고, 여기서 R^A 및 R^B는 동일하거나 그렇지 않을 수 있고 R이 0-카복시에 대해 규정된 바와 같이 규정될 수 있다.
- [0141] 본원에서 사용된 바와 같이, "우레아"는 -NR^AC(=O)NR^B₂를 의미하고, 여기서 각각의 R^A 및 R^B는, R이 0-카복시에 대해 규정된 바와 같이 개별적으로 규정된다.
- [0142] 당업자는 인산화에 의해 본 구현예의 펩타이드를 또한 쉽게 변형시킬 수 있고 (참고, 예를 들면, W. Bannwarth, 등 1996 *Biorganic and Medicinal Chemistry Letters* 6:2141-2146), 본 구현예의 화합물의 펩타이드 유도체를 제조하는 다른 방법이 Hruby, 등 1990 *Biochem. J.* 268:249-262에서 기재되어 있다. 본원에서 개시된 바와 같은 펩타이드는 유사한 생물학적 활성을 갖는 펩타이드모사체를 제조하기 위한 기재로서 또한 쓰인다.
- [0143] 3. 말단 변형
- [0144] 당해분야의 숙련가는, 다양한 기술이 상응하는 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 길항제와 동일한 또는 유사한 원하는 생물학적 활성을 갖지만 용해도, 안정성, 및 가수분해 및 단백질분해에 대한 감수성에 대해 참조 펩타이드보다 더 호의적인 활성을 갖는 펩타이드모사체를 구성하는데 이용가능하다는 것을 인식한다(참고, 예를 들면, Morgan, 등 1989 *Ann. Rep. Med. Chem.* 24:243-252). 하기는 N-말단 아미노 그룹, C-말단 카복실 그룹에서 변형된 펩타이드모사체를 제조하고/거나 펩타이드 중 아미도 연결의 하나 이상을 비-아미도 연결로 변화시키는 방법을 기재하고 있다. 2 이상의 그와 같은 변형이 하나의 펩타이드모사체 구조에서 커플링될 수 있다는 것을 이해한다 (예를 들면, C-말단 카복실 그룹에서의 변형 및 펩타이드에서 2 개의 아미노산 사이의 -CH₂-카바메

이트 연결의 포함).

[0145] 1). N-말단 변형

[0146] 웹타이드는 유리산으로서 전형적으로 합성되지만, 상기에서 언급 바와 같이, 아마이드 또는 에스테르로서 쉽게 제조될 수 있었다. 당업자는 또한 웹타이드 화합물의 아미노 및/또는 카복시 말단을 변형시켜 다른 유용한 화합물을 생산할 수 있다. 아미노 말단 변형은 메틸화 (즉, $-\text{NHCH}_3$ 또는 $-\text{NH}(\text{CH}_3)_2$), 아세틸화, 벤질옥시카보닐 그룹의 부가, 또는 $\text{RCOO}-$ (여기서 R은 나프틸, 아크리디닐, 스테로이딜, 및 유사한 그룹으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다)에 의해 규정된 카복실레이트 관능기를 함유하는 임의의 차단 그룹으로 아미노 말단을 차단하는 것을 포함한다.

[0147] 아미노 말단 변형은 상기에서 인용되어 있고, 알킬화, 아세틸화, 카보벤조일 그룹의 부가, 석신이마이드 그룹의 형성 등을 포함한다. (참고, 예를 들면, Murray, 등 1995 1995 Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery 5th ed., Vol. 1, Manfred E. Wolf, ed., John Wiley 및 Sons, Inc., 이는 그 전체가 참조로 본원에 편입되어 있다).

[0148] N-말단은 적어도 하나의 잔기 N-말단의 X^1 단편에의 부가를 통해 또한 변형될 수 있다. 웹타이드에 대한 N-말단 확대의 영향을 평가하는 기술은 예를 들면 하기의 당해기술에 공지되어 있다: Schellenberger, 등, 2009, Nature Biotechnology 27(12): 1186-1192, 이것은 그 전체가 참조로 본원에 편입되어 있다.

[0149] 2). C-말단 변형

[0150] 카복시 말단 변형은 유리 산을 카복사마이드 그룹과 교환하거나 카복시 말단에서 사이클릭 락탐을 형성하여 구조적 구속을 도입하는 것을 포함한다. 상기 C-말단 카복실 그룹이 아마이드 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^3\text{R}^4$ 에 의해 대체되는 웹타이드모사체를 제조할 때, 벤즈하이드릴아민 수지는 웹타이드 합성을 위해 고형 지지체로서 사용된다. 합성의 완료시, 지지체로부터 웹타이드를 방출하기 위한 플루오르화수소 처리로 유리 웹타이드 아마이드 (즉, C-말단은 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 이다)가 직접적으로 생긴다. 대안적으로, 지지체로부터 측쇄 보호된 웹타이드를 절단하기 위해 암모니아와의 반응과 커플링된 웹타이드 합성 동안에 클로로메틸화된 수지의 사용으로 유리 웹타이드 아마이드를 생성하고 알킬아민 또는 디알킬아민과의 반응으로 측쇄 보호된 알킬아마이드 또는 디알킬아마이드 (즉, C-말단은 $-\text{C}(\text{O})\text{NRR}^1$ 이고 여기서 R 및 R^1 은 상기에서 규정된 바와 같다)를 생성한다. 그 다음 측쇄 보호는 플루오르화수소로 처리하여 통상적인 방식으로 제거되어 유리 아마이드, 알킬아마이드, 또는 디알킬아마이드를 얻는다.

[0151] 전술된 N-말단 변형에 추가하여, 웹타이드모사체를 포함하는, 본원에서 기재된 변형된 웹타이드 길항체는, 유익하게는 다양한 친수성 폴리머의 하나 이상으로 변형되거나 그것에 공유결합될 수 있다. 웹타이드 화합물이 친수성 폴리머로 유도될 때, 그의 용해도 및 순환 반감기는 증가되고 그의 면역원성은 감추어진다는 것을 발견했다. 아주 놀랍게도, 전술된 것은 그의 결합 활성의, 만약 있다면, 작은 약화와 함께 달성될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에서 개시되고 기재된 바와 같은 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 웹타이드 길항체는 하기에서 제시된 임의의 방법을 사용하여 그와 같은 폴리머로 유도되거나 그것에 커플링된다: Zallipsky, S. 1995 Bioconjugate Chem 6:150-165; Monfardini, C, 등 1995 Bioconjugate Chem 6:62-69; 미국 특허 번호 4,640,835; 4,496,689; 4,301,144; 4,670,417; 4,791,192; 4,179,337 또는 WO 95/34326, 이들 모두는 그 전체가 참조로 포함되어 있다.

[0152] 4. 골격 변형

[0153] 본 화합물의 웹타이드 유도체를 제조하는 다른 방법은 Hruby, 등 1990 Biochem. J. 268(2):249-262에서 기재되어 있고, 이것은 그 전체가 참조로 포함되어 있다. 따라서, 웹타이드 화합물은 유사한 생물학적 활성을 갖는 비-웹타이드 화합물에 대한 구조 모델로서 또한 쓰인다. 당해분야의 숙련가는, 다양한 기술이 선도 웹타이드 화합물과 동일한 또는 유사한 원하는 생물학적 활성을 갖지만 용해도, 안정성, 및 가수분해 및 단백질분해에 대한 감수성에 대해 상기 선도 화합물보다 더 호의적인 활성 화합물을 구성하는데 이용가능하다는 것을 인식한다(참조, Morgan, 등 1989 Ann. Rep. Med. Chem. 24:243-252, 이것은 그 전체가 참조로 포함되어 있다).

[0154] 5. 디설파이드 결합 형성

[0155] 화합물들은 시스테인의 티올 그룹들 간의 분자내 디설파이드 결합을 갖는 고리화된 형태로 존재할 수 있다.

[0156] 다른 구현예는 황 중 하나가 CH_2 그룹 또는 황에 대한 다른 등배전자체(isostere)로 치환된 이들 디설파이드 유

도체의 유사체를 포함한다. 이들 유사체들은 당해분야에서 공지된 방법을 이용하여, 분자내 또는 분자간 치환을 통해 제조될 수 있다.

[0157] 대안적으로, 펩타이드의 아미노 말단은 알파-치환된 아세트산으로 캡핑될 수 있고, 여기서 상기 알파 치환체는 α -할로아세트산, 예를 들면, α -클로로아세트산, α -브로모아세트산, 또는 α -아이오도아세트산과 같은 이탈 그룹이다. 본 구현예의 펩타이드는 시스테인 또는 호모시스테인 잔기의 황에 의한 이탈 그룹의 치환을 통해 고리화되거나 이량체화될 수 있다. 예를 들면, 각각은 그 전체가 참조로 본원에 통합되어 있는 문헌[Andreu, 등 1994, Meth. Mol. Bio. 35(7):91-169; Barker, 등 1992, J. Med. Chem. 35:2040-2048; and Or, 등 1991, J. Org. Chem. 56:3146-3149]을 참고한다.

[0158] 일부 구현예에서, 본원에 개시되고 기술된 바와 같은 변형된 칼시토닌 유전자-관련된 펩타이드 길항제들은 본 기술분야에 널리 알려진 재조합 DNA 기법에 의해 제조될 수도 있다.

[0159] 일부 구현예는 약제학적 담체 또는 희석제와 회합된 본원에 개시된 본 발명의 변형된 펩타이드, 또는 펩타이드 모사체 중 적어도 하나를 활성 성분으로서 포함하는 약제학적 조성물을 포함한다. 이들 약제학적 조성물은 당해 분야의 숙련가에게 공지된 임의의 수단에 의해 투여될 수 있고, 이는 비제한적으로, 경구, 폐, 비경구(근육내, 복강내, 정맥내, 또는 피하 주사), 흡입(미세 분말 제형, 또는 에어로졸을 통함), 경피, 비강내 또는 설하 투여 경로를 포함하며, 각 투여 경로에 적절한 복용 형태로 제형화될 수 있다. 예를 들면, 각각은 그 전체가 참조로 본원에 통합되어 있는 문헌[Bernstein, 등 1993년 12월 23일에 공개된 PCT 특허 공개 제WO 93/25221호; Pitt, 등 1994년 8월 18일에 공개된 PCT 특허 공개 제WO 94/17784호; 및 Pitt, 등 1994년 9월 7일에 공개된 유럽 특허 출원 제613,683호]을 참고한다. 화합물은 또한 미리 정해진 속도의 연장되고/거나 시간이 정해진 맥박 투여를 위해, 비제한적으로, 데포(depot) 주사, 삼투 펌프, 경피(전자수송을 포함함) 폐치 등을 포함하는, 지속된 또는 제어 방출 복용 형태로 투여될 수 있다.

[0160] 본 구현예의 약제학적 조성물은 공지된 방식으로, 예를 들면, 종래의 혼합, 용해, 과립화, 당의정-제조, 분말화, 애밀젼화, 캡슐화, 인트рап핑 또는 정제화 공정에 의해 제조될 수 있다.

[0161] 따라서 본 구현예에 따라 사용하기 위한 약제학적 조성물은 활성 화합물을 약제학적으로 사용될 수 있는 제제로 가공하는 것을 용이하게 하는 부형제 및 보조제를 포함하는 하나 이상의 허용가능한 담체를 이용하는 종래의 방식으로 제형화될 수 있다. 적절한 제형은 선택된 투여 경로에 좌우된다. 공지된 기술, 담체, 및 부형제 중 어느 것이 본 기술분야에서 적합하고 이해되는 것으로서 사용될 수 있다(예를 들면, 상기 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences] 참고).

[0162] 주사제는 액체 용액 또는 혼탁액으로서, 주사에 앞서 용액 또는 액체 중의 혼탁액에 적합한 고체 형태로서, 또는 유화액으로서, 종래 형태로 제조될 수 있다. 적당한 부형제는, 예를 들면, 물, 염수, 텍스트로스, 만니톨, 락토스, 레시틴, 알부민, 글루탐산나트륨, 시스테인 하이드로클로라이드 등이다. 또한, 원하는 경우, 주사가능한 약제학적 조성물은 습윤제, pH 완충제 등과 같은 소량의 비독성 보조 물질을 함유할 수 있다. 생리적으로 양립가능한 완충제는, 비제한적으로, 행크스 용액, 링거액, 또는 생리적 염수 완충제를 포함한다. 원하는 경우, 흡수 향상 제제(예를 들면, 리포좀)가 이용될 수 있다.

[0163] 경점막 투여의 경우, 침투될 막에 적절한 침투제가 제형에 사용될 수 있다.

[0164] 예를 들면, 볼리스 주사 또는 연속적 주입에 의한 비경구 투여용 약제학적 제형은, 수용성 형태의 활성 화합물의 수용액을 포함한다. 또한, 활성 화합물의 혼탁액은 적절한 오일성 주사 혼탁액으로서 제조될 수 있다. 적합한 친지질성 용매 또는 비히클은 참깨 오일과 같은 지방유, 또는 대두, 자몽 또는 아몬드유와 같은 다른 유기 오일, 또는 에틸 올레이트 또는 트리글리세라이드, 또는 리포좀과 같은 합성 지방산 에스테르를 포함한다. 수성 주사 혼탁액은 혼탁액의 점도를 증가시키는 물질, 예컨대 나트륨 카복시메틸 셀룰로오스, 소르비톨, 또는 텍스트란을 함유할 수 있다. 임의로, 상기 혼탁액은 또한 적합한 안정제 또는 본 발명의 화합물의 용해도를 증가시켜 고농축 용액의 제조를 가능하게 하는 제제를 함유할 수 있다. 주사용 제형은, 첨가된 보존제와 함께, 단위 복용 형태, 예를 들면, 앰풀 또는 다중-용량 용기 내에 제공될 수 있다. 상기 조성물은 혼탁액, 용액 또는 오일성 또는 수성 비히클 중의 유화액과 같은 형태를 취할 수 있으며, 혼탁제, 안정화제 및/또는 분산제와 같은 제형화제를 함유할 수 있다. 대안적으로, 활성 성분은 사용하기에 앞서 적합한 비히클, 예를 들면, 멸균 무발열물질 물을 이용하여 구성하기 위한 분말 형태일 수 있다.

[0165] 경구 투여의 경우, 본 발명의 화합물은 그 전체가 참조로 통합되어 있는 2010년 1월 21일에 공개된, 문헌[D. J. Sarubbi, Oral GLP-1 Formulations, 미국 특허출원 제2010/0016229호 A1]에 개시된 것과 같이, 활성 화합물을

약제학적으로 허용가능한 담체와 조합함으로써 제형화될 수 있다. 본원에서 논의된 바와 같이, 경구 투여는 약물과 혼합된 약제학적으로 허용가능한 담체의 정제 또는 캡슐의 형태를 취할 수 있다. 2009년 10월 22일에 공개된 문헌[Goldberg, 2009, Compositions for Delivering Parathyroid Hormone and Calcitonin, US 특허 출원 제2009/0264368호 A1](그 전체가 참조로 본원에 통합되어 있음)에 교시된 부가적인 적합한 전달제는 임의의 공지된 액체 또는 고체 복용 형태를 포함한다.

[0166] 흡입에 의한 투여의 경우, 본 구현예에 따라 사용하기 위한 본 발명의 화합물은 적당한 추진제, 예를 들면, 디클로로디플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 다른 적합한 가스를 사용하여, 가압된 팩 또는 분무기로부터 에어로졸 스프레이 제공의 형태로 편리하게 전달된다. 가압된 에어로졸의 경우, 복용량 단위는 정량을 전달하는 벨브를 제공함으로써 결정될 수 있다. 예를 들면, 흡입기 또는 취입기에 사용하기 위한 젤라틴의 캡슐 및 카트리지는 화합물과 락토오스 또는 전분과 같은 적합한 분말 베이스의 분말 믹스를 함유하도록 제형화될 수 있다. 예로서, 흡입에 의한 투여용 제제는 그 전체가 참조로 통합되어 있는 2010년 10월 12일에 발행된 문헌[Quay, 등, 미국 특허 제7,812,120호 B2]의 교시에 따라 제조될 수 있다.

[0167] 사용하기 위한 약제학적 분야에서 잘 알려진 다양한 약제학적 조성물들이 본원에 추가로 개시되며, 이들은 안구내, 비강내, 및 귀내 전달을 포함한다. 이들 사용을 위한 적합한 침투제는 일반적으로 본 기술분야에 공지되어 있다. 안구내 전달용 약제학적 조성물은 점안제 또는 젤란 검(Shedden 등, 2001, Clin. Ther., 23(3):440-50) 또는 하이드로겔 (Mayer 등, 1996, Ophthalmologica, 210(2):101-3)과 같은 수용성 형태의 활성 화합물의 수성 안과 용액; 안과 연고; 액체 담체 매질(Joshi, A., J. Ocul. Pharmacol., 1994 10(1):29-45), 지질-가용성 제형(Alm 등, 1989 Prog. Clin. Biol. Res., 312:447-58), 및 마이크로구형체(Mordenti, 1999, Toxicol. Sci., 52(1):101-6)에 혼탁된 약물-함유 소 폴리머 입자인 미세미립자와 같은 안과 혼탁액; 안구 삽입제를 포함한다. 전술한 참고문헌 모두는 그의 전체가 참고로 본원에 통합되어 있다. 그러한 적합한 약제학적 제형은 가장 자주 그리고 바람직하게는 안정성 및 편의를 위해 멸균이며 등장성이고, 완충되도록 제형화된다. 비강내 전달용 약제학적 조성물은 또한 정상적인 섬모 작용의 유지를 보장하기 위해, 많은 점에서, 비강 분비를 자극하도록 종종 제조된 액적 및 스프레이를 포함할 수 있고, 그러한 조성물은, 예를 들면 및 비제한적으로, 그 전체가 참조로 본원에 통합된, 1998년 3월 31일에 발행된 문헌[Azria, 등, 미국 특허 제5,733,569호]에 개시된 점비액을 포함한다. 본원에 그 전체가 참조로써 통합된 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (1990)]에 개시되고 당해분야의 숙련가에 의해 공지된 바와 같이, 적합한 제형은 가장 자주 그리고 바람직하게는 등장성이고, 5.5 내지 6.5의 pH를 유지하기 위해 약간 완충되며, 가장 자주 그리고 바람직하게는 항미생물 보존제 및 적절한 약물 안정제를 포함한다. 귀내 전달용 약제학적 제형은 귀에서의 국소 적용을 위한 혼탁액 및 연고를 포함한다. 그러한 귀내 제형을 위한 통상적인 용매는 글리세린 및 물을 포함한다.

[0168] 앞서 기술된 제형 외에도, 본 발명의 화합물은 또한 테포(depot) 제제로서 제형화될 수 있다. 그러한 지효성 제형은 이식(예를 들면 피하로 또는 근육내) 또는 근육내 주사에 의해 투여될 수 있다. 따라서, 예를 들면, 화합물은 적합한 중합체 또는 소수성 물질(예를 들면 허용가능한 오일 중의 혼탁액으로서) 또는 이온교환수지를 이용하여 제형화되거나, 또는 잘 녹지 않는 유도체로서, 예를 들면, 잘 녹지 않는 염으로서 제형화될 수 있다.

[0169] 치료 시약의 화학적 특성 및 생물학적 안정성에 따라, 펩타이드 안정화를 위한 추가 전략이 이용될 수 있다

[0170] 추가 치료제 또는 진단제가 약제학적 조성물 내로 통합될 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 약제학적 조성물은 다른 치료제 또는 진단제를 함유하는 다른 조성물과 조합될 수 있다.

[0171] 투여 방법의 비제한적인 예는, 그 중에서, (a) 그 전체가 참조로 본원에 통합된 2009년 10월 22일에 공개된 문헌[M. Goldberg, 공보 번호 US 2009/0264368 A1], 및 그 전체가 참조로 본원에 통합된 2010년 1월 21일에 공개된 문헌[D. Sarubbi, 공보 번호 US 2010/0016229 A1]에 기재된 것과 같은 경구 경로를 통한 투여; (b) 투여는 또한 안구내, 비강내 또는 귀내와 같은 비경구 경로를 통할 수 있으며, 이 투여는 수성 혼탁액, 오일성 제제 등으로서 또는 드립, 스프레이, 고약, 연고 등으로서의 투여를 포함한다; (c) 주입 펌프 전달을 포함하는, 주사, 피하, 복강내, 정맥내, 근육내, 진피내, 안와내 등을 통한 투여; (d) 직접 두개내 주사에 의해, 예를 들면, 데포 이식에 의해서와 같은 국소 투여; 뿐만 아니라 (e) 국소 투여를 포함하며, 이들은 본 구현예의 펩타이드를 살아있는 조직과 접촉시키는데 당해분야의 숙련가에게 적절하다고 간주된다. 비강 적용의 비제한적인 대표적인 예는 그 전체가 참조로 본원에 통합되어 있는 2010년 10월 12일에 발행된, 문헌[Quay, 등, 미국 특허 제7,812,120호 B2]에 기재되어 있다.

[0172] 본 구현예의 약제학적 조성물을 위한 정확한 제형, 투여 경로 및 복용량은 환자의 병태를 고려하여 개별 의사에

의해 선택될 수 있다(예를 들면, 1장, 1페이지와 특히 관련하여, 그 전체가 참조로 본원에 통합되어 있는, Fingl 등 1975, "The Pharmacological Basis of Therapeutics" 참고). 전형적으로, 환자에게 투여되는 조성물의 용량 범위는 환자의 체중의 약 0.000001 내지 100 mg/kg일 수 있다. 상기 복용량은 단일 복용량이거나, 환자가 필요로 할 때 하루 이상의 코스로 일련의 2회 이상 제공될 수 있다. 화합물에 대한 인간 복용량이 적어도 일부 병태에 대해 확립된 경우, 본 구현예는 상기 동일한 복용량, 또는 확립된 인간 복용량의 약 0.1% 및 500% 사이, 더 바람직하게는 약 25% 내지 250% 사이의 복용량을 사용할 것이다. 새롭게 발견된 약제학적 화합물의 경우에서와 마찬가지로, 인간 복용량이 확립되지 않은 경우, 적합한 인간 복용량은 동물에서의 독성 연구 및 효능 연구에 의해 정량화된 바와 같이, ED₅₀ 또는 ID₅₀ 값, 또는 시험관내 또는 생체내 연구로부터 유래된 다른 적절한 값으로부터 추론될 수 있다.

[0173] 주치의가 독성 또는 장기 기능장애로 인해 투여를 종료하거나 중지하거나 조절하는 방법 및 시기를 알 것임을 유의해야한다. 반대로, 주치의는 또한 임상적 반응이 충분치 않으면(독성을 막음), 치료를 더 높은 수준으로 조절하는 것을 알 것이다. 관심있는 장애의 관리에서 투여된 용량의 크기는 치료될 상태의 중증도 및 투여 경로에 따라 달라질 것이다. 병태의 중증도는, 예를 들면, 부분적으로, 표준 예후 평가 방법에 의해 평가될 수 있다. 게다가, 용량 및 아마도 투여량 빈도는 또한 개별 환자의 연령, 체중, 및 반응에 따라 달라질 것이다. 상기 논의된 것과 대등한 프로그램이 수의학에서 사용될 수 있다.

[0174] 정확한 복용량은 약물-대-약물에 기초하여 결정될 것이지만, 대부분, 복용량과 관련하여 일부 일반화가 이뤄질 수 있다. 성인 인간 환자를 위한 1일 복용량 요법은, 예를 들면, 0.001 mg 내지 100 mg의 예시적인 범위, 또는 0.005 mg 내지 5 mg의 예시적인 범위의 각 활성 성분의 정맥내, 피하, 또는 근육내 용량일 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 염의 투여의 경우, 복용량은 유리 염기로서 계산될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 조성물은, 예를 들면 통증, 예컨대 편두통과 연관된 통증을 개선하기 위해 1일당 1 내지 4회 또는 단일 급성 용량으로서 투여된다. 대안적으로 본원에 기재된 바와 같은 조성물은, 바람직하게는 1일당 최대 1000 mg의 각 활성 성분의 용량으로 연속적 정맥내 주입에 의해 투여될 수 있다. 당해분야의 숙련가에 의해 이해될 바와 같이, 소정의 경우에, 특히 공격성 질환 또는 감염을 효과적으로 그리고 공격적으로 치료하기 위해 상기 언급된 예시적인 복용량 범위를 초과하거나 훨씬 더 초과하는 양으로 본원에 개시된 펩타이드를 투여하는 것이 필요할 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 펩타이드는 연속적 요법의 기간 동안, 예를 들면 1주 이상 동안, 또는 수개월 또는 수년 동안, 투여될 것이다.

[0175] 복용량 및 간격은 효과 또는 최소 효과 농도(MEC)를 조절하는 것을 유지하는데 충분한 활성 모이어티의 혈장 수준을 제공하도록 개별적으로 조정될 수 있다. MEC는 각각의 화합물에 대해 달라질 것이지만 시험관내 데이터로부터 추정될 수 있다. MEC를 달성하는데 필요한 복용량은 개별적인 특성 및 투여 경로에 좌우될 것이다. 그러나, HPLC 분석 또는 생물검정이 혈장 농도를 결정하는데 사용될 수 있다.

[0176] 복용량 간격은 또한 MEC 값을 이용하여 결정될 수 있다. 조성물은 시간의 10-90%, 바람직하게는 30-90% 사이 및 가장 바람직하게는 50-90% 사이 동안 MEC를 초과하는 혈장 수준을 유지하는 요법을 이용하여 투여되어야 한다.

[0177] 국소 투여 또는 선택적 흡수의 경우, 약물의 효과적인 국소 농도는 혈장 농도와 관련이 없을 수 있다.

[0178] 투여되는 본 조성물의 양은 치료될 대상, 대상의 체중, 고통의 중증도, 투여 방식 및 처방의의 판단에 좌우될 수 있다.

[0179] 본원에 개시된 화합물은 공지된 방법을 이용하여 효능 및 독성이 평가될 수 있다. 예를 들면, 특정한 화합물, 또는 어떤 화학적 모이어티를 공유하는 화합물들의 하위집단의 독성학은 세포주, 예컨대 포유동물, 및 바람직하게는 인간 세포주에 대한 시험관내 독성을 결정함으로써 확립될 수 있다. 그와 같은 연구 결과는 종종 동물, 예컨대 포유동물, 또는 더 구체적으로, 인간에서 독성을 예측한다. 대안적으로, 동물 모델, 예컨대 마우스, 랫트, 토끼, 또는 원숭이에서 특정한 화합물의 독성을 공지된 방법을 이용하여 결정될 수 있다. 특정 화합물의 효능은 몇 가지 인식된 방법, 예컨대 시험관내 방법, 동물 모델, 또는 인간 임상시험을 이용하여 확립될 수 있다. 인식된 시험관내 모델은 비제한적으로 암, 심혈관 질환, 및 다양한 면역 기능장애를 포함하는, 거의 모든 클래스의 병태를 위해 존재할 수 있다. 유사하게, 허용가능한 동물 모델은 그러한 병태를 치료하는 화학물질의 효능을 확립하는데 사용될 수 있다. 효능을 결정하는 모델을 선택할 때, 숙련가는 적절한 모델, 용량, 및 투여 경로, 및 요법을 선택하는 최신 기술에 의해 가이드받을 수 있다. 물론, 인간 임상시험 역시 인간에서 화합물의 효능을 결정하는데 사용될 수 있다.

[0180] 본 조성물은, 원하는 경우, 활성 성분을 함유하는 하나 이상의 단위 복용 형태를 함유할 수 있는 팩 또는 분배

디바이스 내에서 제공될 수 있다.

[0181] 명세서 전반에 걸쳐, 특정한 화합물의 어떠한 언급은 상기 화합물 및 그의 어떤(다른) 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0182] 상기 화합물을 함유하는 본 조성물은 예방적 및/또는 치료적 치료를 위해 투여될 수 있다. 치료적 적용에서, 조성물은 질환 및 그의 합병증의 증상을 치료하거나 적어도 부분적으로 정지시키는데 충분한 양으로, 상기에서 기재된 바와 같은 질환을 이미 겪고 있는 환자에게 투여된다. 이것을 달성하는데 충분한 양은 "치료적유효량"로서 정의된다. 이 사용에 효과적인 양은 질환의 중증도 및 환자의 체중 및 일반적인 상태에 좌우될 것이다.

[0183] 본원에 기재된 조성물은 또한, 예를 들면 그 전체가 참조로 통합되어 있는 문헌[Tice 및 Bibi (in: Treatise on Controlled Drug Delivery, ed. A. Kydonieus, Marcel Dekker, N.Y. 1992, pp. 315-339)]의 방법에 의해 마이크로캡슐화될 수 있다.

[0184] 예방적 적용에서, 본원에 개시된 화합물을 함유하는 조성물은 특정한 질환에 민감하거나 상기 질환의 위험성에 있는 환자에게 투여된다. 그러한 양은 "예방적 유효량"인 것으로 정의된다. 이 사용에서, 정확한 양은 다시 환자의 건강 상태 및 체중에 좌우되며, 당해분야의 숙련가에 의해 쉽게 결정될 수 있다.

[0185] 효과적인 요법에 필요한 본 길항제의 양은 투여 방식, 표적 부위, 환자의 생리적 상태, 및 투여된 다른 약물을 포함하는 많은 상이한 인자에 좌우될 것이다. 따라서, 치료 복용량은 안전성 및 효능을 최적화하도록 적정되어야 한다. 전형적으로, 시험관 내에서 사용되는 복용량은 이들 시약의 원위치 투여에 유용한 양에 유용한 지침을 제공할 수 있다. 특정한 장애의 치료를 위한 유효량의 동물 시험은 인간 복용량의 추가 예측 표시를 제공할 것이다. 다양한 고려가 예를 들면, 각각 그 전체가 참조로 본원에 통합되어 있는 문헌[Gilman, 등 (eds.), 1990 Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics 8th ed., Pergamon Press; and Remington's Pharmaceutical Sciences, 7th Ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa. (1985)]에 기재되어 있다. 특히, 복용량은 근육내 주사, 피하 주사, 경구 전달 또는 피하, 길항제의 무비늘 도입과 같은 전달 방법에 부응하도록 조정되어야 한다.

[0186] 본원에서 기재된 길항제 펩타이드 및 펩타이드모사체는 예를 들면, 1일당 체중의 약 0.01 μg 내지 약 50 mg/kg 의 예시적인 복용량 범위로 투여될 때 CGRP 수용체 매개된 병태를 치료하는데 효과적이다. 상기 이용되는 특정 용량은 치료될 특정한 병태, 투여 경로 뿐만 아니라 인자 예컨대 병태의 중증도, 환자의 연령 및 전반적인 상태 등에 좌우되는 주치 임상의의 판단에 의해 조절된다. 그러한 용량은 당해분야의 숙련가에 의해 쉽게 결정될 수 있다.

[0187] 비경구 투여의 경우, 펩타이드는, 예를 들면, 약제학적으로 허용가능한 비경구 비히클과 화합되어 용액, 혼탁액, 유화액 또는 동결건조된 분말로 제형화될 수 있다. 그와 같은 비히클의 예는 물, 염수, 링거액, 텍스트로스 용액, 및 5% 인간 혈청 알부민이다. 리포좀 및 비수성 비히클, 예컨대 고정유가 또한 사용될 수 있다. 비히클 또는 동결건조된 분말은 등장성을 유지하는 첨가물(예를 들면, 염화나트륨, 만니톨) 및 화학적 안정성을 유지하는 첨가물(예를 들면, 완충제 및 보존제)을 함유할 수 있다. 상기 제형은 통상적으로 사용된 기술에 의해 멸균된다. 예를 들면, 주사에 의한 투여에 적합한 비경구 조성물은 0.9% 염화나트륨 용액에 1.5 중량%의 활성 성분을 용해시킴으로써 제조된다.

[0188] 본원에서 기재된 약제학적 조성물은 단일 용량 또는 다중 용량으로서 투여되고, 개별적인 치료제 또는 다른 치료제와 조합되어 투여되고, 종래의 치료용법과 조합될 수 있으며, 이는 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있다.

[0189] 화합물은 지속 방출 제형으로, 예를 들면 서방형 폴리머를 포함하는 조성물로 투여될 수 있다. 활성 화합물은 화합물이 속방되는 것을 막는 담체를 이용하여 제조될 수 있고, 예컨대 이식물 및 마이크로캡슐화된 전달 시스템을 포함하는 제어 방출 제형으로 제조될 수 있다. 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르, 폴리락트산 및 폴리락틱, 폴리글리콜 공중합체(PLG)와 같은 생분해성, 생체적합성 폴리머가 사용될 수 있다. 그와 같은 제형의 제조를 위한 많은 방법은 일반적으로 당해분야의 숙련가에게 공지되어 있다.

[0190] 본원에 기재된 화합물은 약제학적 조성물로 제형화될 수 있고, 여기서 상기 화합물은 그 안에 포함된 유일한 활성 물질이다. 대안적으로, 약제학적 조성물은 추가의 활성 물질을 함유할 수 있다. 또한, 펩타이드 화합물은 CGRP 수용체 활성에 대해 조절 효과를 갖는 하나 이상의 다른 제제와 조합될 수 있다.

[0191] 다른 유용성

본원에 기재된 화합물은 에프린 리간드의 생산 및 수용체 결합 공정에 영향을 미치고 영향을 받는 것으로 여겨지는 많은 인자들의 평가를 포함하는, CGRP 수용체의 생물학적 역할을 이해하기 위한 독특한 도구로서 시험관내에서 유용하다. 본 화합물은 또한 CGRP 수용체에 결합하고 이를 활성화시키는 다른 화합물의 개발에 유용한데, 본 화합물이 상기 개발을 용이하게 하는 구조 및 활성 사이의 관련성에 대한 중요한 정보를 제공하기 때문이다.

본 화합물은 또한 새로운 CGRP 수용체 길항제를 스크리닝하는 분석에서 경쟁적 결합제로서 유용하다. 그와 같은 분석 구현예에서, 본원에서 기재된 화합물은 변형 없이 사용될 수 있거나 또는 예를 들어, 검출가능한 신호를 직접 또는 간접적으로 제공하는 모이어티를 공유적으로 또는 비공유적으로 결합시키는 것과 같은, 라벨링에 의해 다양한 방식으로 변형될 수 있다. 이들 분석 중 어느 것에서, 물질은 직접적으로 또는 간접적으로 라벨링될 수 있다. 직접적인 라벨링을 위한 가능성은 ¹²⁵I와 같은 방사선라벨, 페록시다아제 및 알칼리성 포스파타제와 같은 효소(미국 특허 번호 제3,645,090호), 및 형광 세기, 파장 전이, 또는 형광 분극 변화를 관찰할 수 있는 형광 라벨(미국 특허 제3,940,475호)과 같은 라벨 그룹을 포함한다. 간접적인 라벨링을 위한 가능성은 하나의 구성요소를 바이오티닐화한 후 상기 라벨 그룹 중 하나에 커플링된 아비딘에 결합하는 것을 포함한다. 상기 화합물은 또한 본 화합물이 고형 지지체에 부착되는 경우 스페이서 또는 링커를 포함할 수 있다.

핵자기 공명(NMR) 분광계는 거대분자 구조를 규명하는 능력이 공지되어 있고, 표적 분자에 결합하는 리간드의 고정적 및 일시적 특징 모두를 조사하는 기술이다(Pellecchia, 등 2002 *Nature Rev Drug Disc* 1:211). NMR 분광계는 표적 분자에 대한 리간드의 결합을 결정하는 유용한 도구이며, 단백질 기능의 선행 지식을 요구하지 않으면서 높은 민감도로 상호작용을 검출하고 정량할 수 있는 이점이 있다. 더욱이, NMR 분광계는 약한 결합 히트(hit)를 고친화도 선도물질로 차후에 최적화하는 것을 돋는 표적 및 리간드에 대한 구조 정보를 제공할 수 있다.

균일하게 라벨링된 표적 생체분자로부터 제1 및 제2 핵자기 공명 상관관계 스펙트럼을 생성함으로써 표적 생체분자에 대한 리간드 화합물의 결합을 검출하는 방법이 미국 특허 제5,698,401호 및 제5,804,390호에 보고되어 있다. 제1 스펙트럼은 리간드의 부재시 표적 물질 상에서 수집된 테이타로부터 생성되고, 제2 스펙트럼은 하나 이상의 리간드의 존재시에 생성된다. 두 스펙트럼의 비교는 추정 리간드의 혼합물 내의 어떤 화합물이 표적 생체분자에 결합하는지 결정하는 것을 허용한다.

더욱이, 선택적으로 CGRP 수용체에 결합하는 그의 능력에 기초하여, 본원에서 기재된 웨타이드는 생체액, 조직, 균질물, 정제된, 천연 생물학적 물질 등에서 살아 있는 세포, 고정된 세포 상에서 CGRP 수용체를 선택적으로 검출하는 시약으로서 사용될 수 있다.

일부 구현예는 본원에서 개시된 바와 같은 전장 폴리웨타이드 서열(예를 들면, 서열번호: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15) 또는 본원에서 개시된 바와 같은 전장 폴리웨타이드 서열의 임의의 다른 명시적으로 규정된 단편에 대해 적어도 약 60% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 61% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 62% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 63% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 64% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 65% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 66% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 67% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 68% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 69% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 70% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 71% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 72% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 73% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 74% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 75% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 76% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 77% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 78% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 79% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 80% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 81% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 82% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 83% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 84% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 85% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 86% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 87% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 88% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 89% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 90% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 91% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 92% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 93% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 94% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 95% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 96% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 97% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 98% 아미노산 서열 동일성 및 대안적으로

적어도 약 99% 아미노산 서열 동일성을 갖는 변형된 펩타이드 길항제를 제공한다.

[0198]

본원에서 확인된 폴리펩타이드 서열과 관련하여 "퍼센트 (%) 아미노산 서열 동일성"은 최대 퍼센트 서열 동일성을 달성하기 위해, 필요한 경우, 서열을 정렬하고 캡을 도입하며 서열 동일성의 일부로서 임의의 보존적 치환을 고려하지 않은 후에, 특정 폴리펩타이드 서열에서 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열 내의 아미노산 잔기의 백분율로서 정의된다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정하기 위한 정렬은 본 기술분야의 기술 내에 속하는 다양한 방식, 예를 들면 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 Megalign(DNASTAR) 소프트웨어와 같이 공개적으로 이용가능한 컴퓨터 소프트웨어를 이용하여 달성될 수 있다. 당해분야의 숙련가는 비교될 서열의 전장에 대해 최대 정렬을 달성하는데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하는, 정렬을 측정하기 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다. 하지만, 본원에서의 목적을 위해, % 아미노산 서열 동일성 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2을 이용하여 산출되며, 여기서 ALIGN-2 프로그램을 위한 완전한 소스 코드는 본원에 기재된 바와 같이 이용가능하다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 제넨테크(Genentech, Inc.)에 의해 승인받았고 소스 코드는 미국 저작권청(Washington D.C., 20559)에서 사용자 서류로 제출되었으며, 미국 저작권 등록 번호 TXU510087 하에 등록되어 있다. ALIGN-2 프로그램은 제넨테크(Genentech, Inc., South San Francisco, California)를 통해 공개적으로 이용가능하거나 하기 표 4에 제공된 소드 코드로부터 편집될 수 있다. ALIGN-2 프로그램은 UNIX 작동 시스템, 바람직하게는 디지털 UNIX V4.0D에서의 사용을 위해 편집되어야 한다. 모든 서열 비교 파라미터들은 ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되어 있으며 달라지지 않는다.

[0199]

아미노산 서열 비교를 위해 ALIGN-2가 이용되는 경우, 주어진 아미노산 서열 B(대안적으로, 주어진 아미노산 서열 B에 대해 소정의 % 아미노산 서열 동일성을 갖거나 포함하는 주어진 아미노산 서열 A로서 표현될 수 있음)에 대한 주어진 아미노산 서열 A의 % 아미노산 서열 동일성은 하기와 같이 계산된다:

[0200]

100 × 분수 X/Y

[0201]

상기 식에서 X는 A 및 B의 상기 프로그램 정렬에서 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의해 동일한 일치로서 점수가 매겨진 아미노산 잔기의 수이고, Y는 B에서의 아미노산 잔기의 총수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 동일하지 않는 경우, B에 대한 A의 % 아미노산 서열 동일성은 A에 대한 B의 % 아미노산 서열 동일성과 동일하지 않을 것임이 인식될 것이다. 이 방법을 이용한 % 아미노산 서열 동일성 계산의 예로서, 지정된 아미노산 서열의 % 아미노산 서열 동일성을 계산하는 방법이 본원에서 입증된다. "비교 펩타이드"는 관심있는 폴리펩타이드가 비교될 폴리펩타이드의 아미노산 서열을 나타내고, "X", "Y" 및 "Z"는 각각 상이한 가상적인 아미노산 잔기를 나타낸다.

[0202]

달리 구체적으로 언급되지 않으면, 본원에 사용된 모든 % 아미노산 서열 동일성 값은 ALIGN-2 컴퓨터 프로그램을 이용하여 바로 앞에 있는 단락에 기재된 것으로서 수득된다. 그러나, % 아미노산 서열 동일성 값은 또한 WU-BLAST-2 컴퓨터 프로그램을 이용하여 하기에 기재된 대로 수득될 수 있다(Altschul 등, 1996, Methods in Enzymology, 266:460-480). WU-BLAST-2 조사 파라미터 대부분은 디폴트 값으로 설정되어 있다. 디폴트 값으로 설정되지 않은 것, 즉, 조정가능한 파라미터는 하기의 값으로 설정되어 있다: 오버랩 스팬(overlap span) = 1, 오버랩 분획 = 0.125, 워드 역치 (T) = 11, 및 평점 매트릭스 = BLOSUM62. WU-BLAST-2가 이용될 때, % 아미노산 서열 동일성 값은 (a) 폴리펩타이드로부터 유래된 서열을 갖는 관심있는 폴리펩타이드의 아미노산 서열 및 WU-BLAST-2에 의해 결정된 관심있는 비교 아미노산 서열 간의 동일한 일치하는 아미노산 잔기의 수를 (b) 관심있는 폴리펩타이드의 아미노산 잔기의 총수로 나눔으로써 결정된다. 예를 들면, 아미노산 서열 B에 대해 적어도 80% 아미노산 서열 동일성을 갖거나 가지고 있는 아미노산 서열 A를 포함하는 폴리펩타이드의 서술에서, 아미노산 서열 A는 관심있는 비교 아미노산 서열이고 아미노산 서열 B는 관심있는 폴리펩타이드의 아미노산 서열이다.

[0203]

퍼센트 아미노산 서열 동일성은 또한 서열 비교 프로그램 NCBI-BLAST2를 이용하여 결정될 수 있다(Altschul 등, 1997, Nucleic Acids Res., 25:3389-3402). 상기 NCBI-BLAST2 서열 비교 프로그램은 국립보건연구원(Bethesda, MD)으로부터 다운로드 받거나 수득될 수 있다. NCBI-BLAST2는 몇 가지 조사 파라미터를 이용하며, 상기 조사 파라미터 모두는 디폴트 값으로 설정되어 있고, 이는 예를 들면, 언마스크(unmask) = 예(yes), 스트랜드(strand) = 모두(all), 예측된 일(expected occurrences) = 10, 최소 낮은 복잡도 길이(minimum low complexity length) = 15/5, 멀티-패스 e-값(multi-pass e-value) = 0.01, 멀티 패스를 위한 상수(constant for multi-pass) = 25, 최종 캡 정렬에 대한 드롭오프(dropoff for final gapped alignment) = 25 및 평점 매트릭스(scoring matrix) = BLOSUM62를 포함한다.

[0204]

아미노산 서열 비교를 위해 NCBI-BLAST2가 이용되는 경우, 주어진 아미노산 서열 B(대안적으로, 주어진 아미노산 서열 B에 대해 소정의 % 아미노산 서열 동일성을 갖거나 포함하는 주어진 아미노산 서열 A로서 표현될 수 있

음)에 대한 주어진 아미노산 서열 A의 % 아미노산 서열 동일성은 하기와 같이 계산된다:

[0205] $100 \times \frac{\text{분수 X}}{\text{Y}}$

[0206] 상기 식에서, X는 A 및 B의 상기 프로그램의 정렬에서 서열 정렬 프로그램 NCBI-BLAST2에 의한 동일한 일치로서 점수가 매겨진 아미노산 잔기의 수이며, Y는 B에서 아미노산 잔기의 총수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 동일하지 않은 경우, B에 대한 A의 % 아미노산 서열 동일성은 A에 대한 B의 % 아미노산 서열 동일성과 동일하지 않을 것임이 인식될 것이다.

[0207] 본원에서 기재된 길항체 웹타이드의 서열 변화는, 예를 들면, 그 전체가 참조로 본원에 통합되어 있는 미국 특허 제5,364,934호(Drayna 등, 1994년 11월 15일에 발행됨)에 제시된 보존적 및 비-보존적 돌연변이를 위한 기술 및 지침 중 어느 것을 이용하여 이루어질 수 있다. 변화는 길항체 웹타이드를 인코딩하는 하나 이상의 코돈의 치환, 결실 또는 삽입일 수 있으며 이는 참조 서열 길항체 웹타이드와 비교하여 길항체 웹타이드의 아미노산 서열의 변화를 야기한다. 변화는 상기 표 3에 따를 수 있다.

[0208] 실시예

[0209] 하기의 실시예는 본 구현예를 더 설명하기 위해 제공된다. 이들은 본 구현예의 범위를 제한하고자 하는 것이 아니다.

[0210] 실시예 1

[0211] 칼슘 유동 분석을 이용하여, 아밀린 수용체, AMY1, CT(칼시토닌) 수용체/RAMP1(수용체-활성 변형 단백질) 복합체에 대한 본 발명의 웹타이드 길항체의 용량-의존적 억제 반응을 결정하였다. 재조합 세포주 CHO-K1/AMY1/G_{α15}(GenScript, Piscataway, NJ, Catalog No. M00475)를 상기 분석에 이용하였다. 웹타이드 길항체 활성을 1 μM로 개시하고 DMSO 중에 연속으로 5배 희석하여, 5개의 상이한 농도에서 반복하여 시험하였다. 공지된 아밀린 수용체 길항체인 AC187(서열번호: 55)(예를 들면 Tocris Bioscience, Minneapolis, MN, Catalog No. 3419로부터 이용가능함)을 상기 분석에서 양성 대조군으로 사용하였고, 공지된 아밀린 수용체 작용제인 인간 α-CGRP(서열 번호: 56)(예를 들면 Tocris Bioscience, Minneapolis, MN, Catalog No. 3012로부터 이용가능함)를 상기 분석에서 양성 대조군으로 사용하였다. FLIPR® 칼슘 4 분석 키트(Molecular Devices, Sunnyvale, CA)를 사용하였다.

[0212] 대조 시약

[0213] 아미노산 서열 NH₂-ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNFVPTNVGSKAF-NH₂(서열번호: 56)를 갖는 인간 α-CGRP 및 서열 VLGKLSQELHKLQTYPRNTGSNTY(서열번호: 55)를 갖는 AC187을 각각 음성 및 양성 대조군으로서 이용하였다. 스톡 용액을 HBSS-HEPES 완충제에서 추가 희석하여 5× 최종 대조군 용액을 제조하였다.

[0214] 표 4: 대조군 시약

표 4

참조 화합물	M.Wt (g/mol)	모액 (용매)	순도 (%)	보관 상태
α-CGRP	3787.32	2 mM (DMSO)	97.1	-20°C
AC187	2849.17	50mM (DMSO)	99.1	-20°C

[0216] 다른 시약

[0217] 검정에서 사용된 부가적인 물질들이 표 5에 제공되어 있다.

[0218] 표 5: 시약

표 5

명칭	공급원	카탈로그 번호	표적 단백질의 수납 번호
CHO-K1/AMY1/G _{α15}	Genscript	M00475	NM_005855, NM_001742
프로브necid	Sigma	P8761	N/A

FLIPR® 칼슘 4 검정 키트	Molecular Devices	R8141	N/A
-------------------	-------------------	-------	-----

[0220] 세포 배양물 제조

[0221] CHO-K1/AMY1/G α_{15} 세포를 실험일 20시간 전에 20 μ L의 성장 배지에 20,000 세포/웰의 밀도로 384-웰 검정벽, 투명 바닥 플레이트에 시딩(seeding)하고 37°C/5% CO₂에 유지시켰다.

[0222] 분석 프로토콜

[0223] 분석 키트 프로토콜에 따라, 염료-로딩 용액(2× 최종 농도)을 웰당 20 μ L로 분석 플레이트에 첨가하였다. 화합물 용액(5× 농도)을 웰당 10 μ L로 분석 플레이트에 첨가하였다. 분석 플레이트를 1시간 동안 37°C 배양기 안에 둔 다음, 실온에서 15분간 방치하였다. 작용제 플레이트(5×EC₈₀ 농도)를 소스(Source) 2에 두었다. 총 판독 시간은 120초였다. 기준선의 20초 판독 후 작용제를 첨가하고 또 다른 100초(21초 내지 120초) 동안 형광 신호를 캡처하였다.

[0224] 스크리닝시, 분석 완충제로 자극된 세포를 백그라운드로서 선택하였고, 작용제(EC₉₀ 농도)로 자극된 세포를 음성 대조군으로서 선택하였다.

[0225] 데이터 분석

[0226] 데이터를 FMD 파일로서 스크린워크(ScreenWorks, 버전 3.1)에 의해 기록하고 오프-라인 분석을 위해 진스크립트 (GenScript) 컴퓨터 네트워크 상에 저장하였다. 스크린워크(버전 3.1) 프로그램을 이용하여 데이터 취득 및 분석을 수행하고 엑셀로 내보냈다. 20초(1초 내지 20초) 판독의 평균값을 기준선 판독값으로서 계산하고 기준선 판독의 평균값을 뺀 최대 형광 단위(21초 내지 120초)를 이용하여 상대적 형광 단위(Δ RFU) 세기 값을 계산하였다.

[0227] AC187의 IC₅₀값은 8 μ M였다. 시험된 웨타이드 길항제의 억제 활성을 음성 대조군(AC187)을 이용하여 정규화하고 하기의 식으로부터 계산된, % 억제로서 보고하였다:

$$\% \text{ 억제} = (\Delta\text{RFU}_{\text{화합물}} - \Delta\text{RFU}_{\text{배경}}) / (\Delta\text{RFU}_{\text{음성 대조군}} - \Delta\text{RFU}_{\text{백그라운드}}) * 100 \%$$

[0228] 그리고 나서, 억제를 Y-축을 따라 그래프로 작성하였고, X-축 상에 시험 농도를 명시하였다. 사용된 웨타이드가 상기 표 1에 열거되어 있다. 이들 실험 결과들은 하기 표 7에 열거된 양성 대조군 값과 함께, 표 6에 제시되어 있다. 웨타이드를 표시된 농도에서 시험하고 32nM(EC₈₀) α -CGRP(평균 +/- SD, n=2)로 자극하였다. 상기 결과들은 놀랍게도 선택된 웨타이드의 높은 효능을 입증하며, 예를 들면, 많은 것들은 양성 대조군 AC187의 낮은 마이크로몰 범위 IC₅₀ 농도와 비교하여 낮은 나노몰 범위의 IC₅₀ 농도를 갖는다.

[0230] 표 6: 결과

표 6

서열번호	IC ₅₀ nM	% 억제 @ 최대 농도 (평균 +/- SD, n=2)
1	17	94.4 +/- 0.6
2	5	96.5
3	4	95.9 +/- 2.3
4	12	94.6 +/- 0.1
5	75	88.5 +/- 0.9
6	33	93.9 +/- 0.4
7	8	96.0 +/- 1.3
8	16	95.4 +/- 0.2
9	9	95.6 +/- 0.4
10	9	96.8 +/- 0.3
11	9	96.5 +/- 0.2
12	9	96.1 +/- 0.4

13	4	95.8 +/- 0.6
14	1024	51.9 +/- 3.3
15	1238	23.3 +/- 5.2

[0232]

표 7: 검정 양성 대조군

표 7

[0233]

펩타이드	IC ₅₀ nM
AC187	8152

[0234]

본 구현예가 명확성 및 이해를 위해 상당히 상세히 기재되었음에도 불구하고, 당해분야의 숙련가는 본 구현예의 실제 범위를 벗어나지 않으면서 형식 및 세부사항에서 다양한 변화가 이루어질 수 있다는 것을 인식할 것이다. 모든 도면, 표, 및 부록 뿐만 아니라 상기 언급된 특허들, 출원, 및 공보들은 본원에 그 전체가 참조로 포함되어 있다.

서 열 목 록

- <110> Soares, Christopher J.
- <120> PEPTIDE ANTAGONISTS OF THE CALCITONIN CGRP FAMILY OF PEPTIDE HORMONES AND THEIR USE
- <130> CSOAR.001NP
- <140> 13/821,936
- <141> 2013-03-08
- <150> 61/591,236
- <151> 2012-01-26
- <150> PCT/US2013/023260
- <151> 2013-01-25
- <160> 58
- <170> Kopatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 32
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> Synthetic peptide
- <400> 1

Ala Cys Asp Thr Ala Ala Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu

1

5

10

15

His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe

20

25

30

<210> 2
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 2

Ala Cys Asp Thr Ala Ser Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu

1 5 10 15

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

<210> 3
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 3

Ala Cys Asp Thr Ala Val Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu

1 5 10 15

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

<210> 4
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 4

Ala Cys Asn Thr Ala Ala Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu

1 5 10 15

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

<210> 5
 <211> 32
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 5

Ala Cys Val Leu Gly Ala Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu

1 5 10 15

His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe

20 25 30

<210> 6

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 6

Ala Cys Arg Phe Gly Ala Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu

1 5 10 15

His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe

20 25 30

<210> 7

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 7

Ala Cys Asn Leu Ser Ala Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu

1 5 10 15

His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe

20 25 30

<210> 8

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 8

Cys Ser Asn Thr Ala Ala Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu
 1 5 10 15
 His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe
 20 25 30

<210> 9
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 9

Ala Cys Asp Thr Ala Leu Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu
 1 5 10 15
 His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe
 20 25 30

<210> 10
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 10

Ala Cys Asp Thr Ala Ile Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu
 1 5 10 15
 His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe
 20 25 30

<210> 11
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 11

Ala Cys Asn Leu Ser Val Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu
 1 5 10 15
 His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe

20	25	30	
<210> 12			
<211> 32			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Synthetic peptide			
<400> 12			
Cys Ser Asn Thr Ala Val Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu			
1	5	10	15
His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe			
20	25	30	
<210> 13			
<211> 31			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Synthetic Peptide			
<400> 13			
Ala Cys Asn Leu Ser Ala Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu			
1	5	10	15
His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Thr Asn Thr Gly Ser Gly Thr Pro			
20	25	30	
<210> 14			
<211> 32			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Synthetic Peptide			
<400> 14			
Ala Cys Val Leu Gly Ala Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu			
5	9	14	19
His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Val Asp Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr			
24	29	34	
<210> 15			

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 15

Ala Cys Asp Thr Ala Ala Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu

1 5 10 15

Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val

20 25 30

Gly Ser Lys Ala Phe

35

<210> 16

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> VARIANT

<222> (1)

<223> Xaa is selected from the group consisting of Ala, Cys, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Tyr, and Val

<220><221> VARIANT

<222> (2)

<223> Xaa is selected from the group consisting of Cys, Ser, and Tyr

<220><221> VARIANT

<222> (3)

<223> Xaa is selected from the group consisting of Arg, Asn, Asp, Cys, Glu, Gln, His, Lys, Ser, Thr, Tyr, and Val

<220><221> VARIANT

<222> (4)

<223> Xaa is selected from the group consisting of Arg, Asn, Asp, Cys,

Glu, Gln, His, Leu, Lys, Phe, Ser, Thr, Tyr, and Val

<220><221> VARIANT

<222> (5)

<223> is selected from the group consisting of Ala, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Ser, Tyr, and Val

<220><221> VARIANT

<222> (6)

<223> Xaa is selected from the group consisting of Ala, Cys, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Val, Trp, and Tyr

<400> 16

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys

1 5

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 17

Ala Cys Asp Thr Ala Ala Cys

1 5

<210> 18

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 18

Ala Cys Asp Thr Ala Ser Cys

1 5

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 19

Ala Cys Asp Thr Ala Val Cys

1 5

<210> 20
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 20

Ala Cys Asn Thr Ala Ala Cys

1 5
 <210> 21
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 21

Ala Cys Val Leu Gly Ala Cys

1 5
 <210> 22
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 22

Ala Cys Arg Phe Gly Ala Cys

1 5
 <210> 23
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 23

Ala Cys Asp Leu Ser Ala Cys

1 5

<210> 24
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Peptide
 <400> 24

Ala Cys Asn Leu Ser Ala Cys

1 5
 <210> 25
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 25

Cys Ser Asn Thr Ala Ala Cys

1 5
 <210> 26
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 26

Ala Cys Asp Thr Ala Leu Cys

1 5
 <210> 27
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 27

Ala Cys Asp Thr Ala Ile Cys

1 5
 <210> 28
 <211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 28

Ala Cys Asp Thr Ala Leu Cys

1 5

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 29

Ala Cys Asp Thr Ala Ile Cys

1 5

<210> 30

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 30

Ala Cys Asp Leu Ser Val Cys

1 5

<210> 31

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> Synthetic Peptide

<400> 31

Ala Cys Asp Leu Ser Val Cys

1 5

<210> 32

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 32

Ala Cys Asn Leu Ser Val Cys

1 5

<210> 33

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 33

Cys Ser Asn Thr Ala Val Cys

1 5

<210> 34

<211> 19

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 34

Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro

1 5 10 15

Arg Thr Asn

<210> 35

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 35

Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro

1 5 10 15

Arg Thr Asn

<210>

> 36

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 36

Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro

1 5 10 15

Arg Thr Asn

<210> 37

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 37

Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro

1 5 10 15

Arg Thr Asp

<210> 38

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 38

Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu His Lys Leu Gln Thr Phe Pro

1 5 10 15

Arg Thr Asn

<210> 39

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 39

Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Asp Ile His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro

1 5 10 15

Arg Thr Asn

<210> 40

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 40

Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu His Lys Met Gln Thr Tyr Pro

1 5 10 15

Arg Thr Asp

<210> 41

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 41

Leu Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu His Arg Leu Gln Thr Tyr Thr

1 5 10 15

Arg Thr Asp

<210> 42

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 42

Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Asp Leu His Lys Leu Gln Thr Phe Pro

1 5 10 15

Arg Thr Asp

<210> 43
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Peptide
 <400> 43

Met Leu Gly Lys Leu Ser Gln Asp Leu His Lys Leu Gln Thr Phe Pro

1 5 10 15

Arg Thr Asp

<210> 44
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Peptide
 <400> 44

Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Asp Ile His Lys Leu Gln Thr His Pro

1 5 10 15

Arg Thr Asp

<210> 45
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <220><221> VARIANT
 <222> (1)
 <223> Xaa is selected from the group consisting of Ala, Gly, Ile, leu,

Met, Phe, Pro, Trp, and Val

<220><221> VARIANT

<222> (2)

<223> Xaa is selected from the group consisting of Ala, Gly, Ile, leu, Met, Phe, Pro, Trp, and Val

<220><221> VARIANT

<222> (3)

<223> Xaa is selected from the group consisting of Cys, Ser, and Tyr

<220><221> VARIANT

<222> (4)

<223> Xaa is selected from the group consisting of Arg, Asn, Asp, Glu, Gln, His, Lys, Ser, Thr, and Tyr

<220><221> VARIANT

<222> (5)

<223> Xaa is selected from the group consisting of Ala, Gly, Ile, leu,

Met, Phe, Pro, Trp, and Val

<220><221> VARIANT

<222> (6)

<223> Xaa is selected from the group consisting of Ala, Gly, Ile, leu, Met, Phe, Pro, Trp, and Val

<400> 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 46

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 46

Val Gly Ser Lys Ala Phe

1 5

<210> 47

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> Synthetic peptide

<400> 47

Val Gly Ser Lys Ala Phe

1 5

<210> 48

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 48

Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro

1 5 10 15

Arg Thr Asn

<210> 49

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 49

Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro

1 5 10 15

Arg Thr Asn

<210> 50

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> VARIANT

<222> (6)

<223> Xaa = any amino acid residue other than Thr

<400> 50

Ala Cys Asp Thr Ala Xaa Cys

1 5
 <210> 51
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 51
 Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys

1 5 10 15
 Ala

<210> 52
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 52
 Ala Lys Ala Ala Ala Glu Lys Ala Ala Ala Glu Lys Ala Ala Ala Glu

1 5 10 15
 Ala

<210> 53
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 53
 Ala Glu Ala Ala Lys Ala Glu Ala Ala Lys Ala Glu Ala Ala Lys Ala

1 5 10 15
 <210> 54
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 54

Ala Lys Ala Ala Glu Ala Lys Ala Ala Glu Ala Lys Ala Ala Glu Ala

1 5 10 15

<210> 55

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 55

Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro

1 5 10 15

Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr

20 25

<210> 56

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 56

Ala Cys Asp Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu

1 5 10 15

Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val

20 25 30

Gly Ser Lys Ala Phe

35

<210> 57

<211>

32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 57

Ala Cys Asp Leu Ser Ala Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu

1 5 10 15
His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe
20 25 30
<210> 58
<211> 32
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic peptide
<400> 58

Ala Cys Asp Leu Ser Val Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu

1 5 10 15
His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Lys Ala Phe
20 25 30