



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl. A61K 38/17 (2006.01)	(45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자	2007년02월01일 10-0675711 2007년01월23일
---	-------------------------------------	--

(21) 출원번호	10-2001-7008904	(65) 공개번호	10-2001-0086165
(22) 출원일자	2001년07월13일	(43) 공개일자	2001년09월08일
심사청구일자	2005년01월14일		
변역문 제출일자	2001년07월13일		
(86) 국제출원번호	PCT/US2000/000902	(87) 국제공개번호	WO 2000/41546
국제출원일자	2000년01월14일	국제공개일자	2000년07월20일

(81) 지정국

국내특허 : 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르기스스탄, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크멘, 터키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 아랍에미리트, 코스타리카, 도미니카, 모로코, 탄자니아, 남아프리카, 그라나다, 가나, 감비아, 크로아티아, 인도네시아, 인도, 시에라리온, 세르비아 앤 몬테네그로, 짐바브웨,

AP ARIPO특허 : 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 짐바브웨, 가나, 케냐, 감비아, 시에라리온, 탄자니아,

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기스스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘,

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴, 핀란드, 사이프러스,

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기니, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고, 기니 비사우,

(30) 우선권주장	60/116,380	1999년01월14일	미국(US)
	60/175,365	2000년01월10일	미국(US)

(73) 특허권자

아밀린 파마슈티칼스, 인크.
미국 92121 캘리포니아주 샌 디에고 타운센터 드라이브 9360

(72) 발명자

영, 앤드류
미국 92166 캘리포니아주 포인트 로마 피.오. 박스 60591

리탈리엔, 제임스, 제이.
미국 92014 캘리포니아주 델 마르 카미니토 칸테라스 15752

콜터만, 오르빌

미국 92064 캘리포니아주 포웨이 히든 밸리 드라이브 15793

(74) 대리인 주성민
 김영

심사관 : 임혜준

전체 청구항 수 : 총 39 항

(54) 신규 엑센딘 아고니스트 제제 및 이의 투여 방법

(57) 요약

신규 엑센딘 및 엑센딘 아고니스트 화합물 제제, 및 이의 투여량과 투여 방법을 제공한다. 이러한 조성물 및 방법은 당뇨병의 치료 및 혈장 글루코스 농도를 저하시키거나 위의 공복을 지연시키고(거나) 늦추고, 또는 음식물 섭취를 감소시키는 것이 유리한 상태의 치료에 유용하다.

특허청구의 범위

청구항 1.

삭제

청구항 2.

삭제

청구항 3.

삭제

청구항 4.

삭제

청구항 5.

삭제

청구항 6.

삭제

청구항 7.

삭제

청구항 8.

삭제

청구항 9.

삭제

청구항 10.

삭제

청구항 11.
삭제

청구항 12.
삭제

청구항 13.
삭제

청구항 14.
삭제

청구항 15.
삭제

청구항 16.
삭제

청구항 17.
삭제

청구항 18.
삭제

청구항 19.
삭제

청구항 20.
삭제

청구항 21.
삭제

청구항 22.
삭제

청구항 23.
삭제

청구항 24.
삭제

청구항 25.
삭제

청구항 26.
삭제

청구항 27.
삭제

청구항 28.

삭제

청구항 29.

삭제

청구항 30.

삭제

청구항 31.

삭제

청구항 32.

삭제

청구항 33.

삭제

청구항 34.

삭제

청구항 35.

삭제

청구항 36.

삭제

청구항 37.

삭제

청구항 38.

삭제

청구항 39.

삭제

청구항 40.

삭제

청구항 41.

삭제

청구항 42.

삭제

청구항 43.

삭제

청구항 44.

삭제

청구항 45.
삭제

청구항 46.
삭제

청구항 47.
삭제

청구항 48.
삭제

청구항 49.
삭제

청구항 50.
삭제

청구항 51.
삭제

청구항 52.
삭제

청구항 53.
삭제

청구항 54.
삭제

청구항 55.
삭제

청구항 56.
삭제

청구항 57.
삭제

청구항 58.
삭제

청구항 59.
삭제

청구항 60.
삭제

청구항 61.
삭제

청구항 62.

삭제

청구항 63.

삭제

청구항 64.

삭제

청구항 65.

삭제

청구항 66.

삭제

청구항 67.

삭제

청구항 68.

삭제

청구항 69.

삭제

청구항 70.

삭제

청구항 71.

삭제

청구항 72.

삭제

청구항 73.

삭제

청구항 74.

삭제

청구항 75.

삭제

청구항 76.

약 0.005 % 내지 약 0.4 % (w/v)의 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트 유사체, 완충제, 등삼투물농도 조절제, 및 m-크레졸, 페놀, 알콜, 메틸 파라벤, 에틸 파라벤, 프로필 파라벤 및 부틸 파라벤 및 이들의 임의의 조합물로 구성된 군에서 선택된 약 0.005 % 내지 약 1.0 % (w/w)의 방부제를 포함하며 pH가 약 3.0과 약 7.0 사이인, 다회 사용 투여용으로 적합한 제약 조성물.

청구항 77.

제76항에 있어서, 상기 엑센딘이 엑센딘-4를 포함하는 제약 조성물.

청구항 78.

제76항에 있어서, 상기 엑센딘이 엑센딘-3을 포함하는 제약 조성물.

청구항 79.

제76항에 있어서, 상기 엑센딘 아고니스트 유사체가 하기하는 아미노산 서열을 포함하는 제약 조성물:

Xaa₁ Xaa₂ Xaa₃ Gly Thr Xaa₄ Xaa₅ Xaa₆ Xaa₇ Xaa₈ Ser Lys Gln Xaa₉ Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Xaa₁₀ Xaa₁₁
Xaa₁₂ Xaa₁₃ Leu Lys Asn Gly Gly Xaa₁₄ Ser Ser Gly Ala Xaa₁₅ Xaa₁₆ Xaa₁₇ Xaa₁₈-Z

상기 식에서,

Xaa₁은 His, Arg 또는 Tyr이고,

Xaa₂는 Ser, Gly, Ala 또는 Thr이고,

Xaa₃은 Asp 또는 Glu이고,

Xaa₄는 Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌이고,

Xaa₅은 Thr 또는 Ser이고,

Xaa₆은 Ser 또는 Thr이고,

Xaa₇는 Asp 또는 Glu이고,

Xaa₈은 Leu, Ile, Val, 펜틸글리신 또는 Met이고,

Xaa₉는 Leu, Ile, 펜틸글리신, Val 또는 Met이고,

Xaa₁₀은 Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌이고,

Xaa₁₁은 Ile, Val, Leu, 펜틸글리신, tert-부틸글리신 또는 Met이고,

Xaa₁₂는 Glu 또는 Asp이고,

Xaa₁₃는 Trp, Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌이고,

Xaa₁₄, Xaa₁₅, Xaa₁₆ 및 Xaa₁₇은 독립적으로 Pro, 호모프롤린, 3Hyp, 4Hyp, 티오프롤린, N-알킬글리신, N-알킬펜틸글리신 또는 N-알킬알라닌이고,

Xaa₁₈은 Ser, Thr 또는 Tyr이며,

Z는 -OH 또는 -NH₂이다.

청구항 80.

제76항에 있어서, 상기 엑센딘 아고니스트 유사체가 하기하는 아미노산 서열을 포함하는 제약 조성물:

Xaa₁ Xaa₂ Xaa₃ Gly Xaa₅ Xaa₆ Xaa₇ Xaa₈ Xaa₉ Xaa₁₀ Xaa₁₁ Xaa₁₂ Xaa₁₃ Xaa₁₄ Xaa₁₅ Xaa₁₆ Xaa₁₇ Ala Xaa₁₉ Xaa₂₀
Xaa₂₁ Xaa₂₂ Xaa₂₃ Xaa₂₄ Xaa₂₅ Xaa₂₆ Xaa₂₇ Xaa₂₈-Z₁

상기 식에서,

Xaa₁은 His, Arg 또는 Tyr이고,

Xaa₂는 Ser, Gly, Ala 또는 Thr이고,

Xaa₃은 Ala, Asp 또는 Glu이고,

Xaa₅는 Ala 또는 Thr이고,

Xaa₆은 Ala, Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌이고,

Xaa₇은 Thr 또는 Ser이고,

Xaa₈은 Ala, Ser 또는 Thr이고,

Xaa₉는 Asp 또는 Glu이고,

Xaa₁₀은 Ala, Leu, Ile, Val, 펜틸글리신 또는 Met이고,

Xaa₁₁은 Ala 또는 Ser이고,

Xaa₁₂는 Ala 또는 Lys이고,

Xaa₁₃은 Ala 또는 Gln이고,

Xaa₁₄는 Ala, Leu, Ile, 펜틸글리신, Val 또는 Met이고,

Xaa₁₅는 Ala 또는 Glu이고,

Xaa₁₆은 Ala 또는 Glu이고,

Xaa₁₇은 Ala 또는 Glu이고,

Xaa₁₉는 Ala 또는 Val이고,

Xaa₂₀은 Ala 또는 Arg이고,

Xaa₂₁은 Ala 또는 Leu이고,

Xaa₂₂는 Ala, Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌이고,

Xaa₂₃은 Ile, Val, Leu, 펜틸글리신, tert-부틸글리신 또는 Met이고,

Xaa₂₄는 Ala, Glu 또는 Asp이고,

Xaa₂₅는 Ala, Trp, Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌이고,

Xaa₂₆은 Ala 또는 Leu이고,

Xaa₂₇은 Ala 또는 Lys이고,

Xaa₂₈은 Ala 또는 Asn이며,

Z₁은 -OH,

-NH₂

Gly-Z₂,

Gly Gly-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala Xaa₃₆-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala Xaa₃₆ Xaa₃₇-Z₂ 또는

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala Xaa₃₆ Xaa₃₇ Xaa₃₈-Z₂

(여기서, Xaa₃₁, Xaa₃₆, Xaa₃₇ 및 Xaa₃₈은 독립적으로 Pro, 호모프롤린, 3Hyp, 4Hyp, 티오프롤린, N-알킬글리신, N-알킬펜틸글리신 또는 N-알킬알라닌이고, Z₂는 -OH 또는 -NH₂임)인데,

단, Xaa₃, Xaa₅, Xaa₆, Xaa₈, Xaa₁₀, Xaa₁₁, Xaa₁₂, Xaa₁₃, Xaa₁₄, Xaa₁₅, Xaa₁₆, Xaa₁₇, Xaa₁₉, Xaa₂₀, Xaa₂₁, Xaa₂₄, Xaa₂₅, Xaa₂₆, Xaa₂₇ 및 Xaa₂₈ 중 3 개 이하만이 Ala이다.

청구항 81.

제76항에 있어서, 상기 엑센딘 아고니스트 유사체가 하기하는 아미노산 서열을 포함하는 제약 조성물:

Xaa₁ Xaa₂ Xaa₃ Xaa₄ Xaa₅ Xaa₆ Xaa₇ Xaa₈ Xaa₉ Xaa₁₀ Xaa₁₁ Xaa₁₂ Xaa₁₃ Xaa₁₄ Xaa₁₅ Xaa₁₆ Xaa₁₇ Ala Xaa₁₉
Xaa₂₀ Xaa₂₁ Xaa₂₂ Xaa₂₃ Xaa₂₄ Xaa₂₅ Xaa₂₆ Xaa₂₇ Xaa₂₈-Z₁

상기 식에서,

Xaa₁은 His, Arg, Tyr, Ala, Norval, Val 또는 Norleu이고,

Xaa₂는 Ser, Gly, Ala 또는 Thr이고,

Xaa₃은 Ala, Asp 또는 Glu이고,

Xaa₄는 Ala, Norval, Val, Norleu 또는 Gly이고,

Xaa₅는 Ala 또는 Thr이고,

Xaa₆은 Ala, Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌이고,

Xaa₇은 Thr 또는 Ser이고,

Xaa₈은 Ala, Ser 또는 Thr이고,

Xaa₉는 Ala, Norval, Val, Norleu, Asp 또는 Glu이고,

Xaa₁₀은 Ala, Leu, Ile, Val, 펜틸글리신 또는 Met이고,

Xaa₁₁은 Ala 또는 Ser이고,

Xaa₁₂는 Ala 또는 Lys이고,

Xaa₁₃은 Ala 또는 Gln이고,

Xaa₁₄는 Ala, Leu, Ile, 펜틸글리신, Val 또는 Met이고,

Xaa₁₅는 Ala 또는 Glu이고,

Xaa₁₆은 Ala 또는 Glu이고,

Xaa₁₇은 Ala 또는 Glu이고,

Xaa₁₉는 Ala 또는 Val이고,

Xaa₂₀은 Ala 또는 Arg이고,

Xaa₂₁은 Ala 또는 Leu이고,

Xaa₂₂는 Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌이고,

Xaa₂₃은 Ile, Val, Leu, 펜틸글리신, tert-부틸글리신 또는 Met이고,

Xaa₂₄는 Ala, Glu 또는 Asp이고,

Xaa₂₅는 Ala, Trp, Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌이고,

Xaa₂₆은 Ala 또는 Leu이고,

Xaa₂₇은 Ala 또는 Lys이고,

Xaa₂₈은 Ala 또는 Asn이며,

Z₁은 -OH,

-NH₂

Gly-Z₂,

Gly Gly-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala Xaa₃₆-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala Xaa₃₆ Xaa₃₇-Z₂ 또는

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala Xaa₃₆ Xaa₃₇ Xaa₃₈-Z₂

(여기서, Xaa₃₁, Xaa₃₆, Xaa₃₇ 및 Xaa₃₈은 독립적으로 Pro, 호모프롤린, 3Hyp, 4Hyp, 티오프롤린, N-알킬글리신, N-알킬펜틸글리신 또는 N-알킬알라닌이고, Z₂는 -OH 또는 -NH₂임)인데,

단, Xaa₃, Xaa₄, Xaa₅, Xaa₆, Xaa₈, Xaa₉, Xaa₁₀, Xaa₁₁, Xaa₁₂, Xaa₁₃, Xaa₁₄, Xaa₁₅, Xaa₁₆, Xaa₁₇, Xaa₁₉, Xaa₂₀, Xaa₂₁, Xaa₂₄, Xaa₂₅, Xaa₂₆, Xaa₂₇ 및 Xaa₂₈ 중 3 개 이하만이 Ala이며, Xaa₁이 His, Arg 또는 Tyr인 경우, Xaa₃, Xaa₄ 및 Xaa₉ 중의 하나 이상이 Ala이다.

청구항 82.

제79항에 있어서, 상기 엑센딘 아고니스트 유사체의 아미노산 서열이 Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala Xaa₃₆ Xaa₃₇ Xaa₃₈-Ser-Z₂ (여기서, Xaa₃₁, Xaa₃₆, Xaa₃₇ 및 Xaa₃₈은 독립적으로 Pro, 호모프롤린, 3Hyp, 4Hyp, 티오프롤린, N-알킬글리신, N-알킬헨틸글리신 또는 N-알킬알라닌이고, Z₂는 -OH 또는 -NH₂임)를 추가로 포함하는 제약 조성물.

청구항 83.

제76항에 있어서, 상기 엑센딘 아고니스트 유사체가 서열 6, 서열 7, 서열 8, 서열 9, 서열 40 및 서열 41 중 어느 하나에 따른 아미노산 서열을 포함하는 제약 조성물.

청구항 84.

제76항에 있어서, 상기 엑센딘 아고니스트 유사체가 서열 9 내지 서열 39 중 어느 하나에 따른 아미노산 서열을 포함하는 제약 조성물.

청구항 85.

제76항에 있어서, 상기 엑센딘 아고니스트 유사체가 서열 40 내지 서열 188 중 어느 하나에 따른 아미노산 서열을 포함하는 제약 조성물.

청구항 86.

제76항에 있어서, 상기 엑센딘 아고니스트 유사체가 서열 9, 서열 10, 서열 21, 서열 22, 서열 23, 서열 26, 서열 28, 서열 34, 서열 35 또는 서열 39 중 어느 하나에 따른 아미노산 서열을 포함하는 제약 조성물.

청구항 87.

제76항에 있어서, pH가 약 4.0과 약 6.0 사이인 제약 조성물.

청구항 88.

제76항에 있어서, pH가 약 4.0과 약 5.0 사이인 제약 조성물.

청구항 89.

제76항에 있어서, 상기 완충제가 아세트산염 완충제, 글루탐산염 완충제, 시트르산염 완충제, 인산염 완충제 및 이들의 임의의 조합물로 구성된 군에서 선택된 제약 조성물.

청구항 90.

제89항에 있어서, 상기 완충제가 아세트산염 완충제를 포함하는 제약 조성물.

청구항 91.

제89항에 있어서, 상기 완충제가 글루탐산염 완충제를 포함하는 제약 조성물.

청구항 92.

제89항에 있어서, 상기 완충제가 시트르산염 완충제를 포함하는 제약 조성물.

청구항 93.

제76항에 있어서, 상기 완충제의 농도가 약 0.02 % 내지 약 0.5 % (w/v)인 제약 조성물.

청구항 94.

제76항에 있어서, 상기 등삼투물농도 조절제가 탄수화물, 다가알콜 또는 이들의 조합물이고, 약 1 % 내지 약 10 % (w/v) 농도인 제약 조성물.

청구항 95.

제94항에 있어서, 상기 다가알콜이 소르비톨, 만니톨, 이노시톨, 글리세롤, 크실리톨, 폴리에틸렌 글리콜 및 이들의 임의의 조합물로 구성된 군에서 선택된 제약 조성물.

청구항 96.

제94항에 있어서, 상기 탄수화물이 갈락토스, 아라비노스, 락토스 및 이들의 임의의 조합물로 구성된 군에서 선택된 제약 조성물.

청구항 97.

제94항에 있어서, 상기 등삼투물농도 조절제가 만니톨, 소르비톨 또는 이들의 조합물인 제약 조성물.

청구항 98.

제94항에 있어서, 상기 등삼투물농도 조절제가 만니톨을 포함하는 제약 조성물.

청구항 99.

제94항에 있어서, 상기 등삼투물농도 조절제가 소르비톨을 포함하는 제약 조성물.

청구항 100.

제76항에 있어서, 상기 방부제가 m-크레졸을 포함하는 제약 조성물.

청구항 101.

제76항에 있어서, 상기 방부제가 페놀을 포함하는 제약 조성물.

청구항 102.

제76항에 있어서, 계면활성제를 추가로 포함하는 제약 조성물.

청구항 103.

제102항에 있어서, 상기 계면활성제가 비이온성 세정제를 포함하는 제약 조성물.

청구항 104.

제102항에 있어서, 상기 계면활성제가 약 0.1 % 내지 약 1.0 % (w/v) 농도로 존재하는 제약 조성물.

청구항 105.

제76항에 있어서, 상기 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트 유사체가 약 0.005 % 내지 약 0.05 % (w/v) 농도로 존재하는 제약 조성물.

청구항 106.

제76항에 있어서, 상기 엑센딘 아고니스트 유사체 약 0.1 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 0.5 $\mu\text{g/kg}$ 의 투여량을 달성하는 주사 투여에 적합한 제약 조성물.

청구항 107.

제76항에 있어서, 상기 엑센딘 아고니스트 유사체 약 0.005 $\mu\text{g/kg}$ 내지 약 0.2 $\mu\text{g/kg}$ 의 투여량을 달성하는 주사 투여에 적합한 제약 조성물.

청구항 108.

제76항에 있어서, 상기 엑센딘 아고니스트 유사체 약 1 $\mu\text{g/일}$ 내지 약 1 mg/일의 투여량을 달성하는 주사 투여에 적합한 제약 조성물.

청구항 109.

제76항에 있어서, 상기 엑센딘 아고니스트 유사체 약 1 μg /일 내지 약 50 μg /일의 투여량을 달성하는 주사 투여에 적합한 제약 조성물.

청구항 110.

제76항에 있어서, 단일 또는 분할 투여량으로 상기 엑센딘 아고니스트 유사체 약 500 μg /일 내지 약 12,000 μg /일의 투여량을 달성하는 경구 투여에 적합한 제약 조성물.

청구항 111.

제76항에 있어서, 단일 또는 분할 투여량으로 상기 엑센딘 아고니스트 유사체 약 100 μg /일 내지 약 12,000 μg /일의 투여량을 달성하는 폐 투여에 적합한 제약 조성물.

청구항 112.

제76항에 있어서, 단일 또는 분할 투여량으로 상기 엑센딘 아고니스트 유사체 약 10 μg /일 내지 약 12,000 μg /일의 투여량을 달성하는 비내 (nasal) 투여에 적합한 제약 조성물.

청구항 113.

제76항에 있어서, 단일 또는 분할 투여량으로 상기 엑센딘 아고니스트 유사체 약 100 μg /일 내지 약 12,000 μg /일의 투여량을 달성하는 협측(頰側) (buccal) 투여에 적합한 제약 조성물.

청구항 114.

제76항에 있어서, 단일 또는 분할 투여량으로 상기 엑센딘 아고니스트 유사체 약 10 μg /일 내지 약 8,000 μg /일의 투여량을 달성하는 설하 투여에 적합한 제약 조성물.

명세서

기술분야

본 발명은 생물활성이고 주사 경로 및 비주사 경로 (예를 들면, 호흡관, 입, 및 장)를 통해 전달가능한 신규 엑센딘 및 펩티드 엑센딘 아고니스트 제제, 투여량, 및 투여 제제에 관한 것이다. 상기 제제, 투여량 및 투여 방법은 제1형 및 제2형 당뇨병을 비롯한 당뇨병의 치료, 혈장 글루코스 농도를 저하시키는 작용제를 사용하면 유익할 장애의 치료, 및 위의 공복을 지연시키고(거나) 늦추고, 음식물 섭취를 감소시키는데 유용한 작용제를 투여하면 유익할 장애의 치료에 유용하다.

배경기술

다음의 기재 내용은 본 발명을 이해하는데 유용할 수 있는 정보를 포함하고 있다. 본원에 제공된 어떠한 정보가 본원에 청구된 발명에 대해 선행 기술이나 그와 관련된 것임을 시인하는 것은 아니며, 구체적으로 또는 암시적으로 언급된 문헌도 모두 선행 기술임을 인정하는 것은 아니다.

엑센딘은 원산지가 아리조나와 북멕시코인 과충류인 멕시코산 구슬 도마뱀 및 아메리카 독도마뱀의 타액 분비물에서 발견되는 펩티드이다. 엑센딘-3 (서열 1: His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser-NH₂)은 헬로더마 호리돔

(*Heloderma horridum*) (멕시코산 구슬 도마뱀)의 타액 분비물에 존재하고, 엑센딘-4 (서열 2: His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser-NH₂)는 헬로더마 서스펙툼 (*Heloderma suspectum*) (아메리카 독도마뱀)의 타액 분비물에 존재한다 (Eng, J., et al., J. Biol. Chem., 265:20259-62, 1990; Eng, J., et al., J. Biol. Chem., 267:7402-05, 1992). 엑센딘-3의 아미노산 서열이 도 1에 제시되어 있다. 엑센딘-4의 아미노산 서열은 도 2에 제시되어 있다. 엑센딘-4는 처음에는 독액 (venom)의 (강력한 독성인) 성분인 것으로 생각되었다. 현재에는, 엑센딘-4에 독성이 없고, 이는 대신 아메리카 독도마뱀의 타액선에서 만들어지는 것으로 보인다.

엑센딘은 글루카곤 유사 펩티드 족의 몇몇 구성원과 약간의 서열 유사성을 나타내는데, GLP-1(7-36)NH₂ (서열 189)과 가장 높은 상동성 (53 %)을 나타낸다 (Goke, et al., J. Biol. Chem., 268:19650-55, 1993). GLP-1(7-36)NH₂은 또한 프로글루카곤 (78-107)로 알려져 있거나 또는 본원에서 가장 빈번하게 사용된 바와 같이 간단히 "GLP-1"로도 알려져 있다. GLP-1은 췌장 베타-세포로부터의 인슐린 분비를 자극하는 인슐린항성 효과 (insulinotropic effect)를 갖는다. GLP-1은 또한 췌장 알파-세포로부터의 글루카곤 분비를 억제하는 것으로 보고된 바 있다 (Orsov, et al., Diabetes, 42:658-61, 1993; D'Alessio, et al., J. Clin. Invest., 97:133-38, 1996). GLP-1의 아미노산 서열은 도 3에 나타나 있다. GLP-1는 위의 공복을 억제하고 (Willms B, et al., J. Clin Endocrinol Metab 81 (1):327-32, 1996; Wettergren A, et al., Dig Dis Sci 38 (4): 665-73, 1993) 위산 분비를 억제하는 것으로 보고되었다 (Schjoldager BT, et al., Dig Dis Sci 34 (5): 703-8, 1989; O'Halloran DJ, et al., J Endocrinol 126 (1): 169-73, 1990; Wettergren A, et al., Dig Dis Sci 38 (4): 665-73, 1993). 카르복시 말단에 추가의 글리신 잔기를 지니고 있는 GLP-1(7-37)도 사람에게서 인슐린 분비를 자극한다 (Orskov, et al., Diabetes, 42:658-61, 1993). GLP-1의 인슐린항성 효과에 대해 적어도 부분적으로 책임이 있는 것으로 회자되는 막횡단 G-단백질 아데닐레이트-시클라제-커플링된 수용체가 베타-세포주로부터 클로닝된 것으로 보고된 바 있다 (Thorens, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:8641-45, 1992).

GLP-1는 자극된 인슐린 생산 증폭, (Byrne MM, Goke B. Lessons from human studies with glucagon-like peptide-1: Potential of the gut hormone for clinical use. In: Fehmann HC, Goke B. Insulinotropic Gut Hormone Glucagon-Like Peptide 1. Basel, Switzerland: Karger, 1997:219-33), 위의 공복의 억제 (Wettergren A, et al., Truncated GLP-1 (proglucagon 78-107-amide) inhibits gastric and pancreatic functions in man, Dig. Dis. Sci. 1993 Apr; 38 (4):665-73), 글루카곤 분비의 억제 (Creutzfeldt WOC, et al., Glucagonostatic actions and reduction of fasting hyperglycemia by exogenous glucagon-like peptide I (7-36) amide in type I diabetic patients, Diabetes Care 1996; 19 (6):580-6), 및 식욕 조절 취지의 역할 (Truton MD, et al., A role for glucagon-like peptide-1 in central regulation of feeding, Nature 1996 Jan; 379 (6560): 69-72) 등의 작용이 보고되면서 최근 수 년 동안 중요한 연구 대상이 되어 왔다. GLP-1는 또한 늙은 래트에서 도(島, islet) 글루코스 감수성을 복원시켜, 그 래트의 글루코스 내성을 보다 어린 래트의 글루코스 내성 수준으로 복원시키는 것으로 보고되었다 (Egan JM, et al., Glucagon-like peptide-1 restores acute-phase insulin release to aged rats, Diabetologia 1997 June; 40 (Suppl 1):A130). 생체내에서 GLP-1의 생물학적 작용 기간이 짧다는 것이, 이를 치료제로서 개발하는데 있어서 방해가 되는 상기 펩티드의 한 가지 특징이다.

약리학적 연구들은 엑센딘-4와 GLP-1 사이의 유사점 및 차이점 둘 다를 증명해왔다. 엑센딘-4는 인슐린을 분비하는 βTC1 세포상의 GLP-1 수용체, 기니아 피그 췌장으로부터의 분산된 설포세포(腺胞細胞), 및 위벽 세포에 기능할 수 있다고 보고 되었다. 상기 펩티드는 또한 소마토스타틴 방출을 자극하고 분리된 위(胃)에서 가스트린 방출을 억제하는 것으로 보고되었다 (Goke, et al., J. Biol. Chem. 268:19650-55, 1993; Schepp, et al., Eur. J. Pharmacol., 69:183-91, 1994; Eissele, et al., Life Sci., 55:629-34, 1994). 보고된 바에 따르면, 엑센딘-3 및 엑센딘-4는 췌장 설포세포(腺胞細胞)에서의 cAMP 생성과 이 세포로부터의 아밀라제 방출을 자극하는 것으로 밝혀졌다 (Malhotra, R., et al., Regulatory Peptides, 41:149-56, 1992; Raufman, et al., J. Biol. Chem. 267:21432-37, 1992; Singh, et al., Regul. Pept. 53:47-59, 1994). 또한, 엑센딘-4는 GLP-1보다 작용 기간이 상당히 더 길다. 예를 들면, 한 실험에서는, 당뇨병에 걸린 마우스에서의 엑센딘-4에 의한 글루코스 저하가 수 시간 동안 지속되었으며, 투여량에 따라서 24 시간까지 지속된 것으로 보고 되었다 (Eng J., Prolonged effects of exendin-4 on hyperglycemia of db/db mice, Diabetes 1996 May; 45 (Suppl 2):152A (abstract 554)). 엑센딘-3과 엑센딘-4의 인슐린항성 활성화에 근거하여, 진성당뇨병을 치료하고 과혈당증을 예방하기 위해 엑센딘-3과 엑센딘-4를 사용하는 것이 제안되었다 (Eng, 미국 특허 제5,424,286호).

엑센딘-4(9-39)와 같이 C 말단이 절단된 엑센딘 펩티드, 카르복시아미드화된 분자, 및 아미노산 3-39 내지 아미노산 9-39의 단편은 GLP-1의 강력하고 선택적인 길항제임이 보고된 바 있다 (Goke, et al., J. Biol. Chem., 268:19650-55, 1993; Raufman, J. P., et al., J. Biol. Chem., 266:2897-902, 1991; Schepp, W., et al., Eur. J. Pharm. Chem., 269:183-91, 1994; Montrose-Rafizadeh, et al., Diabetes, 45 (Suppl. 2):152A, 1996). 엑센딘-4(9-39)는 생체내에서 내인성 GLP-1을 차단하여 인슐린 분비를 감소시킨다고 보고되어 있다 (Wang, et al., J. Clin. Invest., 95:417-21, 1995;

D'Alessio, et al., J. Clin. Invest., 97:133-38, 1996). 래트에서 GLP-1의 인슐린항성 효과에 대한 관여할 것으로 보이는 수용체가 래트의 췌장도(膵臟島) 세포로부터 클로닝되었음이 보고되었다 (Thorens, B., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:8641-8645, 1992). 엑센딘 및 엑센딘-4(9-39)는 클로닝된 래트 GLP-1 수용체 (래트 췌장 β세포 GLP-1 수용체 (Fehmann HC, et al., Peptides 15 (3):453-6, 1994)) 및 인간 GLP-1 수용체 (Thorens B, et al., Diabetes 42 (11):1678-82, 1993)에 결합한다고 보고되어 있다. 클로닝된 GLP-1 수용체로 형질감염된 세포에서, 엑센딘-4가 아고니스트 (즉, cAMP를 증가시킴)로 보고된 반면, 엑센딘(9-39)는 길항제 (즉, 엑센딘-4 및 GLP-1의 자극성 작용을 차단)로 작용함이 밝혀졌다 (위와 같은 문헌).

또한, 엑센딘-4(9-39)는 엑센딘-3 및 엑센딘-4에 의한 췌장 선포세포(腺泡細胞)의 자극을 억제하는 전장 엑센딘의 길항제로도 작용함이 보고되었다 (Raufman, et al., J. Biol. Chem. 266:2897-902, 1991; Raufman, et al., J. Biol. Chem. 266:21432-37, 1992). 또한, 엑센딘(9-39)은 엑센딘-4에 의한 혈장 인슐린 농도의 증가를 억제하고, 엑센딘-4 및 GLP-1의 소마토스타틴 방출 자극 활성 및 가스트린 방출 억제 활성을 억제하는 것으로 보고되었다 (Kollings, F., et al., Diabetes, 44:16-19, 1995; Eissele, et al., Life Sciences, 55:629-34, 1994). 엑센딘(9-39)은 음식물 섭취 조절에서 중추적인 GLP-1과의 생리적 관련성을 연구하는데 사용되어 왔다 (Turton, M.D. et al., Nature 379:69-72, 1996). 래트에게 뇌실내(腦室內) 주사로 투여된 GLP-1은 음식물 섭취를 억제한다. 뇌실내로 전달된 GLP-1의 포만 유도 효과는 엑센딘(9-39)의 뇌실내 주사에 의해 억제됨이 보고되어 있다 (Turton, 상기 문헌). 그러나, 마우스에게 말초 주사로 투여되는 경우, GLP-1은 음식물 섭취를 억제하지 않는 것으로 보고되었다 (Turton, M. D., Nature 379:69-72, 1996; Bhavsar, S. P., Soc. Neurosci. Abstr. 21:460 (188.8), 1995).

엑센딘이 포유동물 GLP-1의 중 동족체인지에 관한 연구 결과가, 아메리카 독도마뱀으로부터 엑센딘 유전자를 클로닝한 첸 (Chen)과 드러커 (Drucker)에 의해 보고되었다 (J. Biol. Chem. 272 (7):4108-15 (1997)). 아메리카 독도마뱀이 엑센딘보다는 포유류 프로글루카곤과 더 유사한 프로글루카곤 (이로부터 GLP-1이 프로세싱됨)에 대한 별개의 유전자도 가지고 있다는 관찰 결과는, 엑센딘이 GLP-1의 중 동족체가 아님을 나타낸다.

위의 공복을 지연시키는 작용을 하는 작용제는 위장내 방사선의학적 검사시의 진단 보조제로서 의학 분야에서 자리 매김하는 것으로 밝혀졌다. 예를 들면, 글루카곤은 췌장 랑게르한스섬의 알파 세포에 의해 생성되는 폴리펩티드 호르몬이다. 이는 간의 글리코겐 분해 반응을 활성화시킴으로써 글루코스를 이동시키는 과혈당제이다. 이는 췌장 인슐린 분비를 보다 덜한 정도로 자극할 수 있다. 글루카곤은, 예를 들면, 글루코스를 정맥내 투여하는 것이 가능하지 않는 경우에 인슐린-유도된 저혈당증의 치료에 사용된다. 그러나 글루카곤은 위장관의 운동성을 저하시키기 때문에, 이는 위장내 방사선의학적 검사시 진단 보조제로서 사용되기도 한다. 글루카곤은 또한 경추과 연관된 통증있는 각종 위장 장애를 치료하기 위한 몇몇 연구에 사용되어 왔다. 문헌 (Daniel, et al., Br. Med. J., 3:720, 1974)에는 진통제 또는 진경제로 치료를 받은 환자와 비교하여 글루카곤으로 치료를 받은 환자에게서는 급성 게실염 (diverticulitis)의 증상 경감이 보다 신속하게 이루어졌다고 보고되어 있다. 문헌 (Glauser, et al., J. Am. Coll. Emergency Physns, 8:228, 1979)에는 글루카곤 요법에 따른 급성의 식도 음식 폐쇄증의 경감이 기재되어 있다. 또다른 연구에서는, 글루카곤이, 위약으로 치료를 받은 22 명의 환자와 비교해서, 담도 질병에 걸린 21 명의 환자에서 통증과 통각을 상당히 경감시켰다 (M.J. Stower, et al., Br. J. Surg., 69:591-2, 1982).

아밀린 아고니스트를 사용하여 위장내 운동성을 조절하는 방법이 본원과 동일 명의인의 PCT 출원 번호 제PCT/US94/10225호 (1995년 3월 16일자 공개)에 기재되어 있다.

엑센딘 아고니스트를 사용하여 위장내 운동성을 조절하는 방법이, 1996년 8월 8일자로 출원된 미국 특허 출원 제08/694,954호의 부분 연속 출원인, "Methods for Regulating Gastrointestinal Motility,"란 발명의 명칭으로 1997년 8월 8일에 출원된, 본원과 동일 명의인의 미국 특허 출원 제08/908,867호에 기재되어 있다.

엑센딘 아고니스트를 사용하여 음식물 섭취량을 감소시키는 방법이, 1997년 1월 7일자로 출원된 미국 가출원 번호 제60/034,905호, 1997년 8월 7일자로 출원된 미국 가출원 번호 제60/055,404호, 1997년 11월 14일자로 출원된 미국 가출원 번호 제60/065,442호 및 1997년 11월 14일자로 출원된 미국 가출원 번호 제60/066,029호의 이점을 청구하고 있는, "Use of Exendin and Agonists Thereof for the Reduction of Food intake"란 방법의 명칭으로 1998년 1월 7일에 출원된, 본원과 동일 명의인의 미국 특허 출원 제09/003,869호에 기재되어 있다.

또한, 엑센딘에는 1998년 2월 13일자로 출원된 미국 가출원 제60/075,122호의 이점을 청구하고 있는 1999년 2월 5일자로 출원된, 본원과 동일 명의인의 PCT 출원 제PCT/US99/02554호에 개시된 바와 같이, 근수축성 효과 및 이뇨(利尿) 효과도 있음이 보고 되었다.

신규 엑센딘 아고니스트 화합물이, 1997년 8월 8일자로 출원된 미국 가출원 번호 제60/055,404호의 이점을 청구하고 있는 "Novel Exendin Agonist Compounds"이란 발명의 명칭으로 1998년 8월 6일에 출원된, 본원과 동일 명의인의 PCT 출원 제PCT/US98/16387호에 기재되어 있다.

기타 신규 엑센딘 아고니스트가, 1997년 11월 14일자로 출원된 미국 가출원 번호 제60/065,442호의 이점을 청구하고 있는 "Novel Exendin Agonist Compounds"이란 발명의 명칭으로 1998년 11월 13일에 출원된, 본원과 동일 명의인의 PCT 출원 제PCT/US98/24210호에 기재되어 있다.

또한, 기타 다른 신규 엑센딘 아고니스트는, 1997년 11월 14일자로 출원된 미국 가출원 번호 제60/066,029호의 이점을 청구하고 있는 "Novel Exendin Agonist Compounds"이란 발명의 명칭으로 1998년 11월 13일에 출원된, 본원과 동일 명의인의 PCT 출원 제PCT/US98/24273호에 기재되어 있다.

유전공학으로 제조된 최초의 치료 활성 펩티드 및 단백질이 등장한 이래, 이러한 약물을 비경구 이외의 경로로 전달할 수 있게 하는 것에 대한 요구가 높아져왔다. 그러나 이러한 요구는, 오늘날 널리 사용되고 있는 작은 약물 분자로부터 펩티드 및 단백질을 구별되게 하는 펩티드 및 단백질의 바로 그 성질 때문에 받아들여지지 못했다. 이러한 특성들에는 분자 크기, 단백질분해성 절단에 대한 감수성, 혈장에서의 빠른 제거, 독특한 투여량-반응 곡선, 면역원성, 생체적합성, 및 펩티드 및 단백질의 응집, 흡수 및 변성되려는 경향 등이 있다.

피하 및 정맥내 주사, 또는 정맥내 주입 이외의 경로에 의한 펩티드 약물의 투여는 예를 들면, 경구 투여의 경우, 위장관에서 효소적 분해 및 비흡수 둘다로 인해 종종 실제적이지 못한 것으로 일반적으로 이해된다. 그러므로, 펩티드 약물 (예를 들면, 상기 언급된 엑센딘 및 펩티드 엑센딘 아고니스트 유사체)을 투여하기 위해서 불편하고 때로는 통증이 있는 주사에 대한 대안적인 방법을 발전시켜야 할 필요성이 여전히 존재한다. 또한, 엑센딘 및 엑센딘 아고니스트의 주사 투여에 유용한 제제 및 투여량뿐 아니라, 상기의 문제점들을 해결하고 엑센딘 및 엑센딘 아고니스트 치료 유효량의 비주사 전달에 유용한 제제, 투여 제제, 및 방법이 본원에서 설명되고 청구된다.

상기 확인된 문헌, 특허 및 특허 출원, 및 본원에서 언급되거나 인용된 기타 모든 문헌의 내용은 본 명세서에 언급됨으로써 도입된다. 출원인은 상기 모든 문헌, 특허 및 특허 출원, 또는 본원에서 언급되거나 인용된 기타 문헌으로부터의 임의의 또한 모든 물질 및 정보를 본 출원에 물리적으로 삽입할 권리를 확보하고 있다.

발명의 요약

한 측면에 따라서, 본 발명은 신규 엑센딘 및 엑센딘 아고니스트 화합물 제제를 제공하며, 이것들이 위의 공복을 늦추고 혈장 글루코스 농도 저하 효과 등 유리한 특성을 보이는 투여량을 제공한다. 그러므로, 본 발명의 이러한 측면에는 완충제 (바람직하게는 아세트산염 완충제), 등삼투물농도 조절제 (바람직하게는 만니톨)와 혼합된 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트를 포함하고, 경우에 따라서는 방부제 (바람직하게는 m-크레졸)를 포함하며, pH가 약 3.0과 약 7.0 사이 (바람직하게는 약 4.0과 약 5.0 사이)인 엑센딘 및 엑센딘 아고니스트 제제가 포함된다. "엑센딘 아고니스트"란 예를 들면, 엑센딘에 의한 하나 이상의 효과를 일으키는 수용체에 결합하거나, 또는 엑센딘에 의한 하나 이상의 효과를 초래하는 신호 캐스케이드를 활성화하는 등, 엑센딘의 효과를 하나 이상 모방하는 화합물을 의미한다. 엑센딘 아고니스트에는 엑센딘-3 및 엑센딘-4의 유사체 및 유도체 등, 엑센딘의 목적 활성을 하나 이상 갖는 엑센딘 아고니스트 펩티드가 포함된다. 다양한 엑센딘 아고니스트 유사체가 본원에서 확인되거나 언급된다.

본 발명의 범위에 드는 추가의 엑센딘 및 엑센딘 아고니스트 제제에는 비경구용 액체 투여 형태, 동결건조된 단위 투여량 형태, 동결건조된 다회 사용 투여량 형태, 및 엑센딘 및 엑센딘 아고니스트의 경구, 비내, 협측(頰側) (buccal), 설하, 기관 내 및 폐 전달에 유용한, 상기 투여 형태의 변형 형태가 포함된다.

그러므로, 본 발명에는 수성계 중에 활성 성분을 약 0.005 내지 약 0.4 %, 더욱 구체적으로는 약 0.005 내지 약 0.02 %, 또는 약 0.005 내지 약 0.05 % (w/v)로 포함하고, 최종 조성물의 pH가 약 3.0 내지 7.0, 더욱 구체적으로는 약 4.0 내지 약 6.0, 또는 약 4.0 내지 5.0이 되게 하는 약 0.02 내지 0.5 % (w/v)의 아세트산염, 인산염, 시트르산염 또는 글루탐산염 또는 유사한 완충제를 단독으로 또는 조합물로 포함하며, 또한 수성 연속상의 등장액 또는 등삼투물농도 용액이 되도록 하는, 약 1.0 내지 10 % (w/v)의 탄수화물 또는 다가알콜 등삼투물농도 조절제 (바람직하게는 만니톨) 또는 약 0.9 % 이하의 염수 중 어느 하나 또는 이 둘의 조합물을 포함하는 비경구용 액체 투여 형태가 포함된다. 또한, 제제가 다회 사용 용기로 포장되는 경우에는, m-크레졸, 벤질 알콜, 메틸, 에틸, 프로필, 부틸 파라벤, 및 페놀로 구성된 군에서 선택된, 약 0.005 내지 1.0 % (w/v)의 항균 방부제도 존재한다. 주사에 충분한 양의 물을 첨가하여 원하는 농도의 용액을 얻는다. 필요하다면,

염화나트륨 및 다른 부형제도 존재할 수 있다. 그러나 상기 부형제들은 활성 성분의 전체적 안정성을 유지해야 한다. 유용한 다가알콜에는 소르비톨, 만니톨, 글리세롤, 및 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 등의 화합물이 포함된다. 또한, 다가알콜 및 탄수화물은 단백질을 승온 및 냉동-해동 또는 동결-건조 과정에 의한 변성에 대해 안정화시키는 데도 효과적인 것이다. 적합한 탄수화물에는 갈락토스, 아라비노스, 락토스 또는 임의의 다른 탄수화물 등이 있으며, 그러한 탄수화물은 당뇨병 환자에게 사용되는 경우라면 해로운 영향을 주지 않는 것, 즉, 그 탄수화물이 대사되었을 때 혈중 글루코스 농도를 높이지 않는 것이다. 바람직하게는, 본 발명의 펩티드는 소르비톨, 만니톨, 이노시톨, 글리세롤, 크실리톨 등의 다가알콜 및 폴리프로필렌/에틸렌 글리콜 공중합체뿐 아니라 분자량이 200, 400, 1450, 3350, 4000, 6000, 및 8000인 각종 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)과 부가혼합된다. 바람직한 다가알콜은 만니톨이다.

또한, 본 발명의 동결건조된 단위 투여량 제제는 안정하지만, 이것이 등장성 및(또는) 등삼투물농도일 필요는 없다. 이들은 활성 성분(들), 케이크 형성을 용이하게 하는 증량제 (이는 또한 재구성 (reconstitution) 직후에 등장화제 및(또는) 등삼투물농도 조절제로도 작용하여 활성 성분의 안정성을 촉진하고(거나) 주사시의 통증을 감소시킬 수 있음)를 포함하며, 또한 케이크에 이로운 특성을 부여하고(거나) 재구성을 용이하게 하는 계면활성제도 포함할 수 있다. 본 발명의 동결건조된 단위 투여량 제제는 활성 성분을 약 0.005 내지 약 0.4 %, 더욱 구체적으로는 약 0.005 내지 약 0.02 %, 또는 약 0.005 내지 약 0.05 % (w/v)로 포함한다. 재구성된 활성 성분이 안정한 기간 동안 용기의 내용물을 소비하고자 하는 경우에는 제제에 완충제를 포함시키고(거나) 완충제를 써서 동결건조물을 재구성할 필요가 없을 수 있다. 완충제를 사용하는 경우, 동결건조물 또는 재구성 용매 중에 포함시킬 수 있다. 그러므로, 제제 및(또는) 재구성 용매는 개별적으로 또는 전체적으로 약 0.02 내지 0.5 % (w/v)의 아세트산염, 인산염, 시트르산염 또는 글루탐산염 완충제를 단독으로 또는 조합물을 포함하여 최종 조성물의 pH가 약 3.0 내지 7.0, 더욱 구체적으로는 약 4.0 내지 약 6.0, 또는 약 4.0 내지 5.0이 되게 할 수 있다. 또한, 증량제는 상기 제제가 재구성된 수성 연속상의 등장액 또는 등삼투물농도 용액이 되도록 하는, 약 1.0 내지 10 % (w/v)의 탄수화물 또는 다가알콜 등삼투물농도 조절제 (상기 기재된 바와 같음)와 0.9 % 이하의 염수 중 어느 하나 또는 이들의 조합물로 구성될 수 있다. 계면활성제, 바람직하게는 약 0.1 내지 약 1.0 % (w/v)의 폴리소르베이트 80, 또는 기타의 비이온성 세정제가 포함될 수 있다. 또한, 상기 나타낸 바와 같이, 필요하다면 염화 나트륨 및 기타의 부형제도 동결건조된 단위 투여량 제제에 포함될 수 있다. 동결건조 전의 본 발명의 액체 제제는 실질적으로 등장성 및(또는) 등삼투물농도여서 동결건조 전이나 재구성 후에 등장성 및(또는) 등삼투물농도의 용액의 형성이 가능할 것이다.

또한 본 발명은 동결건조된 다중 투여량 제제 및 액체 다중 투여량 제제를 포함한다. 상기 기재된 비경구용 액체 및 동결건조 단위 투여량 제제와 같이, 동결건조된 다중 단위 투여량 형태는 케이크 형성을 용이하게 하는 증량제를 포함하고 있어야 한다. 환자가 용이하게 여러번 사용할 수 있도록 방부제가 포함된다. 이러한 투여 형태는 활성 성분을 약 0.005 내지 약 0.4 %, 더욱 구체적으로는 약 0.005 내지 약 0.02 %, 또는 약 0.005 내지 약 0.05 % (w/v)로 포함한다.

완충제를 사용하는 경우, 동결건조물 또는 재구성 용매 중에 포함시킬 수 있고, 제제 및(또는) 재구성 용매는 개별적으로 또는 전체적으로 약 0.02 내지 0.5 % (w/v)의 아세트산염, 인산염, 시트르산염 또는 글루탐산염 완충제를 단독으로 또는 조합물을 포함하여 최종 조성물의 pH가 약 3.0 내지 7.0, 더욱 구체적으로는 약 4.0 내지 약 6.0, 또는 약 4.0 내지 5.0이 되게 할 수 있다. 또한, 증량제는 상기 제제가 재구성된 수성 연속상의 등장액 또는 등삼투물농도 용액이 되도록 하는, 약 1.0 내지 10 % (w/v)의 탄수화물 또는 다가알콜 등삼투물농도 조절제 (바람직하게는 만니톨)와 0.9 % 이하의 염수 중 어느 하나 또는 이들의 조합물로 구성될 수 있다. 계면활성제, 바람직하게는 약 0.1 내지 약 1.0 % (w/v)의 폴리소르베이트 80, 또는 기타의 비이온성 세정제가 포함될 수 있다.

또한, 제제가 다회 사용 용기로 포장되는 경우에는, m-크레졸, 벤질 알콜, 메틸, 에틸, 프로필, 부틸 파라벤, 및 페놀로 구성된 군에서 선택된, 약 0.005 내지 1.0 % (w/v)의 항균 방부제 (바람직하게는 m-크레졸)도 존재한다. 필요하다면 염화 나트륨 및 기타의 부형제도 포함될 수 있다. 본 발명의 액체 제제는 실질적으로 등장성 및(또는) 등삼투물농도여서 동결건조 전이나 재구성 후에 등장성 및(또는) 등삼투물농도의 용액의 형성이 가능할 것이다.

또한, 본 발명은 경구, 협측, 설하, 기관내, 비내 및 폐 전달에 유용한 고체 투여 형태를 포함한다. 폐 및(또는) 기관내 투여 형태를 가장 잘 지지하는 제제는 방부제 처리 또는 비처리 액체 제제 및(또는) 건조 분말 제제일 수 있다. 방부제 처리 또는 비처리 액체 제제는 본질적으로 방부제 처리 또는 비처리 액체 비경구용 제제에 대해 상기 기재한 제제와 동일할 것이다. 용액의 pH는 약 3.0 내지 7.0, 더욱 구체적으로는 약 4.0 내지 약 6.0, 또는 약 4.0 내지 5.0이어야 하며, 기관지수축의 가능성을 줄이기에 가장 바람직한 pH는 약 5.0 이상이다. 건조 분말 제제는 입자 크기 형성 및 입자 크기 분포를 용이하게 하는 증량제 및(또는) 염을 포함할 수 있다. 또한, 계면활성제 및(또는) 염은 입자 형태에 이로운 특성을 부여하고(거나) 조직에 의한 활성 성분의 흡수를 용이하게 할 수 있다. 건조 분말 투여 형태는 활성 성분이 1 % 내지 100 % (w/w) 범위일 수 있다. 입자 크기 형성 및(또는) 분포를 용이하게 하는 증량제 및(또는) 염을 포함할 필요가 없을 수 있다. 증량제 및(또는) 염은 약 0 내지 99 % (w/w)의 탄수화물 또는 다가알콜과 약 0 내지 99 %의 염 중 어느 하나 또는 이들의 조합물로 구성

되어 바람직한 입자 크기 및 분포를 유도할 수 있다. 계면활성제, 바람직하게는 약 0.1 내지 약 1.0 % (w/v)의 폴리소르베이트 80, 또는 기타의 비이온성 세정제가 포함될 수 있다. 필요하다면, 염화나트륨 및 기타의 부형제도 존재할 수 있다. 그러나 상기 부형제들은 활성 성분의 전체적 안정성을 유지하고 적당한 정도의 수화를 용이하게 할 것이다.

또한, 본 발명의 범위내에는 방부제가 있거나 없으며, 만니톨 및 30 mM 아세트산염 완충제 (pH는 약 4.5) 중에 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트를 50 mg/ml 이하로 포함하는 제제가 포함된다.

또한, 본 발명의 범위내에는 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트의 주사 투여, 및 다른 경로로의 투여시의 바람직한 투여량이 포함된다. 그러므로, 필적하는 역가(力價)를 갖는 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트 제제가 주사 투여용으로 제조되면, 하루에 1 번 내지 3 번 제공되는 kg당 약 0.1 내지 약 0.5 μg 를 포함한다. 전형적으로, 체중이 약 70 kg (제1형 당뇨병 환자의 평균 체중) 내지 약 90 kg (제2형 당뇨병 환자의 평균 체중)인 당뇨병 환자에게는 예를 들면, 하루에 단일 투여량 또는 분할 투여량으로의 총 투여량이 약 10 내지 약 120 μg 이 될 것이다. 분할 투여량으로 투여하는 경우, 그 투여량은 바람직하게는 하루에 2 번 또는 3 번 투여되고, 더욱 바람직하게는 하루에 2 번 투여된다.

바람직한 주사 방법에서, 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트는 비경구로, 더욱 바람직하게는 주사 (예를 들면, 말초 주사)로 투여된다. 바람직하게는, 하루에 약 1 μg -30 μg 내지 약 1 mg의 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트가 투여된다. 더욱 바람직하게는, 하루에 약 1 μg -30 μg 내지 약 500 μg , 또는 약 1 μg -30 μg 내지 약 50 μg 의 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트가 투여된다. 가장 바람직하게는, 환자의 체중 및 투여되는 화합물의 역가에 따라서, 하루에 약 3 μg 내지 약 50 μg 의 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트가 투여된다. 대략 엑센딘-4의 역가를 갖는 화합물의 바람직한 투여량은 환자의 체중을 기준으로 1 투여량 당 약 0.005 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 약 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 범위이다. 더욱 바람직하게는, 대략 엑센딘-4의 역가를 갖는 화합물의 투여량은 환자의 체중을 기준으로 1 투여량 당 약 0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 약 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 범위이다. 가장 바람직하게는, 대략 엑센딘-4의 역가를 갖는 화합물의 투여량은 1 투여량 당 환자의 체중을 기준으로 약 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 약 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 범위이다. 이러한 투여량은 하루에 1 내지 4 번, 바람직하게는 하루에 1 내지 2 번 투여된다. 연속 주입으로 투여되는 경우, 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트의 투여량은 일반적으로 더 낮을 것이다. 비주사 방법, 예를 들면, 경구, 흡착, 설하, 비내, 폐 또는 피부 패취 (patch) 전달로 투여되는 경우, 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트의 투여량은 일반적으로 더 높을 것이다.

본 발명에 따른 경구 투여량은 활성 성분을 약 50 내지 약 100 배, 예를 들어 단일 투여량 또는 분할 투여량으로 하루에 약 500 내지 약 12,000 μg , 바람직하게는 하루에 약 500 내지 약 5,000 μg 을 포함할 것이다. 본 발명에 따른 폐 투여량은 활성 성분을 약 10 내지 약 100 배, 예를 들어 단일 투여량 또는 분할 투여량으로 하루에 약 100 내지 약 12,000 μg , 바람직하게는 하루에 약 500 내지 약 1,000 μg 을 포함할 것이다. 또한, 본 발명에 따른 비내, 흡착 및 설하 투여량은 활성 성분을 약 10 내지 약 100 배, 예를 들어 단일 투여량 또는 분할 투여량으로 하루에 약 100 내지 약 12,000 μg 을 포함할 것이다.

비내 투여를 위한 바람직한 투여량은 하루에 약 10-1000 내지 약 1200-12,000 μg 이며, 흡착 투여를 위한 바람직한 투여량은 하루에 약 10-1000 내지 약 1200-12,000 μg 이며, 설하 투여를 위한 바람직한 투여량은 하루에 약 10-1000 내지 약 1200-8,000 μg 이다. 설하 투여량은 흡착 투여량보다 적은 것이 바람직하다. 역가가 엑센딘-4보다 낮거나 높은 엑센딘 아고니스트의 투여량은 경우에 따라서 상기 및 본원의 다른 부분에 기재된 투여량보다 많거나 적다.

또한, 본 발명의 범위에는 상기 신규 엑센딘 아고니스트 화합물 제제의 투여 방법 및 예를 들어, 비내 전달, 폐 전달, 경구 전달, 기관내 전달, 설하 전달, 및 흡착 전달 등을 비롯한 피하 주사 또는 정맥내 주입에 대한 적절한 전달 수단에 따른 투여량이 포함된다.

다른 측면에 따라서, 본 발명은 신규 엑센딘 아고니스트 화합물 제제와 투여량, 및 그의 투여 방법을 제공하며, 이는 당뇨병 (제1형 및 제2형 당뇨병을 포함함), 비만, 및 위의 공복을 늦추고 혈장 글루코스 농도를 저하시키고, 음식물 섭취량을 줄일 수 있는 요법으로 유익하게 될 기타의 상태 치료에 유용하다.

또한, 본 발명은 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트의 투여로 인슐린 감수성을 증가시켜 환자를 치료하는 방법을 포함한다. 본원에 기재된 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트 제제 및 투여량은 내인성 또는 외인성 인슐린에 대한 환자의 감수성을 증가시키는 데 사용될 수 있다.

바람직한 한 측면에서, 본 발명의 방법에 사용되는 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트는 엑센딘-3 (서열 1)이다. 또하나의 바람직한 실시양태에서, 상기 엑센딘은 엑센딘-4 (서열 2)이다. 다른 바람직한 엑센딘 아고니스트에는 엑센딘-4(1-30) (서열 6: His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly), 엑센딘-4(1-30)아미드 (서열 7: His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly-NH₂), 엑센딘-4(1-28)아미드 (서열 40: His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂), ¹⁴Leu, ²⁵Phe 엑센딘-4 (서열 9: His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser-NH₂), ¹⁴Leu, ²⁵Phe 엑센딘-4 (1-28)아미드 (서열 41: His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂), 및 ¹⁴Leu, ²²Ala, ²⁵Phe 엑센딘-4(1-28)아미드 (서열 8: His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Ala Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂) 등이 포함된다.

본 발명의 다른 특징 및 이점은 본 발명의 바람직한 실시양태에 관한 다음의 설명 및 청구의 범위로부터 명백할 것이다.

달리 명백하게 언급되지 않는 한, 다음 용어는 본 발명에 따라서, 그리고 본원에서 사용된 바와 같이 다음의 의미를 갖는 것으로 정의된다. "제약상 허용가능한 염"이란 본 발명의 화합물 및 유기산 또는 무기산의 조합물에서 유도된, 본 발명의 화합물의 염들을 포함하는 것이다. 실제로 사용되는 염의 형태는 염기 형태이다. 본 발명의 화합물은 유리 염기 및 염 형태 둘다 유용하며, 이 두 가지 형태 모두가 본 발명의 범위내에 있는 것으로 간주된다.

발명의 상세한 설명

엑센딘 및 엑센딘 아고니스트

엑센딘-3 및 엑센딘-4는 아메리카 독도마뱀 및 멕시코산 구슬 도마뱀의 타액 분비물로부터 단리된 천연 펩티드이다. 엑센딘-4의 동물 실험에서는 엑센딘-4의 혈중 글루코스 저하능이 수 시간 동안 지속되는 것으로 밝혀졌다. 39 개 아미노산 폴리펩티드인 엑센딘-4는 본원에 기재된 바와 같이 고상 합성법으로 합성되며, 이 합성 물질은 천연 엑센딘-4와 동일하다.

엑센딘-4의 비임상 약리학적 여러 측면들이 연구되어 왔다. 뇌에서, 엑센딘-4는 주로 후뇌의 최후영역 및 고속핵(孤束核) 영역, 및 전뇌의 뇌궁하기관(腦弓下器官)에 결합한다. 엑센딘-4 결합은 래트와 마우스의 뇌 및 신장에서 관찰된 바 있다. 신장에 결합한 엑센딘-4의 구조는 알려져 있지 않다.

다수의 실험들로 엑센딘-4와 GLP-1의 생물학적 작용을 비교하여 엑센딘-4에게 더 유리한 특성 범위를 밝혀냈다. db/db (당뇨성) 마우스 및 ob/ob (당뇨성 비만) 마우스에서 엑센딘-4의 단일 피하 투여량은 혈장 글루코스를 최고 40 % 저하시켰다. 당뇨성 지방 당질 (Diabetic Fatty Zucker (ZDF)) 래트에서 엑센딘-4의 5 주간의 처치는 HbA_{1c} (혈장 글루코스 농도 평가에 이용되는, 글리코실화된 헤모글로빈의 측정치)를 최고 41 % 저하시켰다. 또한, 인슐린 감수성도 비만 ZDF 래트에서의 5 주간의 처치 이후에 최고 76 %까지 개선되었다. 또한, 글루코스 비허용 영양류에서도, 투여량에 따라 혈장 글루코스가 감소함이 관찰되었다. 또한, 글루코스로 자극된 인슐린 방출을 증폭시키는데 엑센딘이 GLP-1보다 더 강력하고(거나) 효과적임을 나타내는 실험 결과를 기재한 실시예 6을 참고한다. 또한, 실시예 8은 엑센딘-4의 생체내 글루코스 저하능이 GLP-1보다 3430 배 더 강력함을 보인 실험을 기재한다.

또한, 엑센딘-4의 인슐린항성 작용이 설치류에서도 관찰되었는데, 이는 굶기지 않은 할란 스프라그 돌리 (Harlan Sprague Dawley; HSD) 래트에서는 글루코스에 대한 인슐린 반응을 100 % 초과로 개선시켰으며, 굶기지 않은 db/db 마우스에서는 대략 10 배까지 개선시켰다. 처치 전에 혈장 글루코스 농도가 보다 높은 것과 글루코스 저하 효과가 보다 큰 것과는 관련이 있었다. 따라서, 관찰된 엑센딘-4의 글루코스 저하 효과는 글루코스에 의존적인 것으로 여겨지며, 동물이 이미 정상혈당인 경우에는 최소이다. 또한, 실시예 9 및 13에 기재된 바와 같이 엑센딘-4의 처치는 혈당 지수 및 인슐린 감수성의 개선과도 관련되어 있다.

엑센딘-4는 HSD 래트에서 이의 투여량에 의존적으로 위의 공복을 늦추었으며, 이러한 작용에 대해서는 GLP-1보다 약 90 배 정도 더 강력하였다. 또한, 엑센딘-4를 NIH/Sw (스위스산) 마우스에게 말초 투여하면 음식물 섭취량이 감소되는 것으로 밝혀졌으며, 이러한 작용에 대해서는 GLP-1보다 1000 배 이상 더 강력하였다. 엑센딘-4는 마취시킨 ZDF 래트에서는 인슐린과잉 상태 (과혈당 클램프 상태) 동안 혈장 글루카곤 농도를 대략 40 % 감소시켰지만, 정상 래트에서 정상혈당을 나타내는 동안에는 혈장 글루카곤 농도에 영향을 주지 않았다. 실시예 4를 참조한다. 엑센딘-4는 비만 ZDF 래트에서 투여량 의존적으로 체중을 감소시키는 것으로 밝혀진 반면, 야윈 ZDF 래트에서 관찰된 체중 감소는 일시적인 것으로 여겨진다.

엑센딘-4는 인슐린 분비를 증가 및 회복시키고 글루카곤 분비를 억제하는 효과가 있기 때문에 인슐린 분비능을 보유한 제2형 당뇨병 환자들에게 유용할 것이다. 또한, 엑센딘-4는 음식물 섭취, 위의 공복, 영양분 흡수를 조정하는 다른 메카니즘, 및 글루카곤 분비에도 영향을 미치므로 예를 들어, 비만, 제1형 당뇨병, 및 인슐린 분비가 감소된 제2형 당뇨병 환자의 치료에서 엑센딘-4의 유용성은 높아질 것이다.

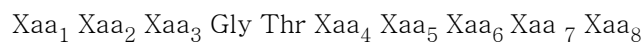
엑센딘-4의 독성학을 마우스, 래트 및 원숭이에서의 단일 투여량 연구, 래트 및 원숭이에서의 반복적 투여량 (최장 28 일 동안 연속해서 매일 투여함) 연구, 및 돌연변이 유발성 및 염색체 변형 여부를 알아보기 위한 시험관내 시험으로 연구하였다. 지금까지 어떠한 사망도 일어나지 않았으며, 혈액학, 임상 화학, 또는 육안이나 현미경으로 살펴본 조직 변화에 있어서 처치와 관련된 어떠한 변화도 관찰되지 않았다. 엑센딘-4는 돌연변이 유발성이 아니며, 시험된 농도 (5000 $\mu\text{g/ml}$ 이하)에서 염색체 변이를 야기하지 않는 것으로 입증되었다.

엑센딘-4의 비임상 약리학(藥力學)과 대사 과정에 관한 연구를 뒷받침하기 위해서 수많은 면역분석법이 개발되었다. 민감도가 제한된 (약 100 pM) 방사선면역 분석법을 초기 약리학 연구에 사용하였다. 그 다음에는, 정량 하한선이 15 pM인 2 부위 IRMA 분석법이 엑센딘-4에 대해 유효한 것으로 확인되었다. 실시예 5 및 7을 참조한다. 피하 투여된 엑센딘-4의 생체이용률은 방사선면역 분석법을 이용한 경우에 대략 50 내지 80 %인 것으로 밝혀졌다. 이는 복강내 투여 후에 관찰된 것 (48 내지 60 %)과 유사하다. 최고 혈장 농도 (C_{max})는 30 분과 43 분 사이 (T_{max})에 발생하였다. C_{max} 와 AUC 값은 둘다 일률적으로 투여량과 관련이 있다. 피하 투여된 엑센딘-4의 뚜렷한 말기 반감기는 대략 90 내지 110 분이였다. 이는 정맥내 투여 후에 관찰된 14 내지 41 분보다 훨씬 더 긴 것이었다. IRMA 분석법을 사용하여 유사한 결과를 얻었다. 엑센딘-4를 이용한 분해 연구는 GLP-1과 비교해 볼 때, 엑센딘-4가 분해에 대해 상대적으로 저항성이 있음을 나타낸다.

구조 활성 관계 (SAR)의 연구를 통해 엑센딘의 항당뇨병 활성과 관련될 수 있는 구조를 대사에 대한 안정성 및 물리적 특성의 개선 (특히 그것이 펩티드 안정성 및 대체 전달계에 대한 수용력에 관한 것일 경우)과 관련하여 평가함으로써 엑센딘 아고니스트 펩티드 화합물을 발견하게 되었다. 엑센딘 아고니스트에는 하나 이상의 천연 아미노산이 결실되거나 다른 아미노산(들)로 대체된 엑센딘 펩티드 유사체가 포함된다.

바람직한 엑센딘 아고니스트는 엑센딘-4의 아고니스트 유사체이다. 특히 바람직한 엑센딘 아고니스트에는 하기 화학식 I (서열 3)의 화합물이 포함되며, 1997년 8월 8일자로 출원된 미국 가출원 번호 제60/055,404호의 이점을 청구하고 있는, "Novel Exendin Agonist Compounds"이란 발명의 명칭으로 1998년 8월 6일에 출원된 국제 출원 제PCT/US98/16387 호에 기재된 것들이 포함된다.

화학식 I



Ser Lys Gln Xaa₉ Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu

Xaa₁₀ Xaa₁₁ Xaa₁₂ Xaa₁₃ Leu Lys Asn Gly Gly Xaa₁₄

Ser Ser Gly Ala Xaa₁₅ Xaa₁₆ Xaa₁₇ Xaa₁₈-Z

상기 식에서,

Xaa₁은 His, Arg 또는 Tyr이고,

Xaa₂는 Ser, Gly, Ala 또는 Thr이고,

Xaa₃은 Asp 또는 Glu이고,

Xaa₄는 Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌이고,

Xaa₅은 Thr 또는 Ser이고,

Xaa₆은 Ser 또는 Thr이고,

Xaa₇는 Asp 또는 Glu이고,

Xaa₈은 Leu, Ile, Val, 페닐글리신 또는 Met이고,

Xaa₉는 Leu, Ile, 페닐글리신, Val 또는 Met이고,

Xaa₁₀은 Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌이고,

Xaa₁₁은 Ile, Val, Leu, 페닐글리신, tert-부틸글리신 또는 Met이고;

Xaa₁₂는 Glu 또는 Asp이고,

Xaa₁₃는 Trp, Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌이고,

Xaa₁₄, Xaa₁₅, Xaa₁₆ 및 Xaa₁₇은 독립적으로 Pro, 호모프롤린, 3Hyp, 4Hyp, 티오프롤린, N-알킬글리신, N-알킬페닐글리신 또는 N-알킬알라닌이고,

Xaa₁₈은 Ser, Thr 또는 Tyr이며,

Z는 -OH 또는 -NH₂인데,

단, 상기 화합물은 엑센딘-3 또는 엑센딘-4는 아니다.

N-알킬글리신, N-알킬페닐글리신 및 N-알킬알라닌에 바람직한 N-알킬기에는 바람직하게는 탄소 원자수가 1 내지 약 6 개, 더욱 바람직하게는 1 내지 4 개인 저급 알킬기가 포함된다. 적당한 화합물에는 서열 9 내지 39의 아미노산 서열을 갖는, 도 1에 기재된 화합물이 포함된다.

바람직한 엑센딘 아고니스트 화합물에는 Xaa₁이 His 또는 Tyr인 것이 포함된다. Xaa₁이 His인 것이 더욱 바람직하다.

Xaa₂가 Gly인 화합물이 바람직하다.

Xaa₉가 Leu, 페닐글리신 또는 Met인 화합물이 바람직하다.

Xaa₁₃이 Trp 또는 Phe인 화합물이 바람직하다.

또한, Xaa₄가 Phe 또는 나프틸알라닌이고, Xaa₁₁이 Ile 또는 Val이며,

Xaa₁₄, Xaa₁₅, Xaa₁₆ 및 Xaa₁₇이 독립적으로 Pro, 호모프롤린, 티오프롤린 또는 N-알킬알라닌 중에서 선택되는 것인 화합물이 바람직하다. 바람직하게는 N-알킬알라닌은 탄소 원자수가 1 내지 약 6 개인 N-알킬기를 포함한다.

특히 바람직한 측면에서, Xaa₁₅, Xaa₁₆ 및 Xaa₁₇은 동일한 아미노산 잔기이다.

바람직하게는 Xaa₁₈은 Ser 또는 Tyr, 더욱 바람직하게는 Ser이다.

바람직하게는 Z는 -NH₂이다.

한 측면에 따르면, 바람직한 화학식 I의 화합물은 Xaa₁이 His 또는 Tyr, 더욱 바람직하게는 His이고; Xaa₂가 Gly이고; Xaa₄가 Phe 또는 나프틸알라닌이고; Xaa₉가 Leu, 펜틸글리신 또는 Met이고; Xaa₁₀이 Phe 또는 나프틸알라닌이고; Xaa₁₁이 Ile 또는 Val이고; Xaa₁₄, Xaa₁₅, Xaa₁₆ 및 Xaa₁₇이 독립적으로 Pro, 호모프롤린, 티오프롤린 또는 N-알킬알라닌이고; Xaa₁₈이 Ser 또는 Tyr, 더욱 바람직하게는 Ser인 화합물이다. 더욱 바람직하게는, Z가 -NH₂이다.

특히 바람직한 측면에 따르면, 특히 바람직한 화합물에는 Xaa₁이 His 또는 Arg이고; Xaa₂가 Gly이고; Xaa₃이 Asp 또는 Glu이고; Xaa₄가 Phe 또는 나프틸알라닌이고; Xaa₅가 Thr 또는 Ser이고; Xaa₆이 Ser 또는 Thr이고; Xaa₇이 Asp 또는 Glu이고; Xaa₈이 Leu 또는 펜틸글리신이고; Xaa₉가 Leu 또는 펜틸글리신이고; Xaa₁₀이 Phe 또는 나프틸알라닌이고; Xaa₁₁이 Ile, Val 또는 t-부틸글리신이고; Xaa₁₂가 Glu 또는 Asp이고; Xaa₁₃이 Trp 또는 Phe이고; Xaa₁₄, Xaa₁₅, Xaa₁₆ 및 Xaa₁₇이 독립적으로 Pro, 호모프롤린, 티오프롤린, 또는 N-메틸알라닌이고; Xaa₁₈이 Ser 또는 Tyr이며; Z는 -OH 또는 -NH₂인데, 단, 서열 1 또는 서열 2의 화학식을 갖는 화합물은 아닌 화학식 I의 화합물이 포함된다. 더욱 바람직하게는, Z는 -NH₂이다. 특히 바람직한 화합물에는 서열 9, 10, 21, 22, 23, 26, 28, 34, 35 및 39의 아미노산 서열을 갖는 화합물들이 포함된다.

특히 바람직한 측면에 따르면, Xaa₉가 Leu, Ile, Val 또는 펜틸글리신, 더욱 바람직하게는 Leu 또는 펜틸글리신이고, Xaa₁₃이 Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌, 더욱 바람직하게는 Phe 또는 나프틸알라닌인 화합물이 제공된다. 이 화합물들은 유리한 작용 지속 기간을 가질 것이며, 시험관내 및 생체내에서 뿐 아니라 이 화합물들의 합성 중에도 산화적 분해가 덜 일어난다.

엑센딘 아고니스트 화합물에는 또한 하기 화학식 II (서열 4)의 화합물을 포함하여, 1997년 11월 14일자로 출원된 미국 가출원 번호 제60/065,442호의 이점을 청구하고 있는, "Novel Exendin Agonist Compounds"이란 발명의 명칭으로 1998년 11월 13일에 출원된 국제 출원 번호 제PCT/US98/24210호에 기재된 것들이 포함된다.

화학식 II

Xaa₁ Xaa₂ Xaa₃ Gly Xaa₅ Xaa₆ Xaa₇ Xaa₈ Xaa₉ Xaa₁₀

Xaa₁₁ Xaa₁₂ Xaa₁₃ Xaa₁₄ Xaa₁₅ Xaa₁₆ Xaa₁₇ Ala Xaa₁₉ Xaa₂₀

Xaa₂₁ Xaa₂₂ Xaa₂₃ Xaa₂₄ Xaa₂₅ Xaa₂₆ Xaa₂₇ Xaa₂₈-Z₁

상기 식에서,

Xaa₁은 His, Arg 또는 Tyr이고,

Xaa₂는 Ser, Gly, Ala 또는 Thr이고,

Xaa₃은 Ala, Asp 또는 Glu이고,

Xaa₅는 Ala 또는 Thr이고,

Xaa₆은 Ala, Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌이고,

Xaa₇은 Thr 또는 Ser이고,

Xaa₈은 Ala, Ser 또는 Thr이고,

Xaa₉는 Asp 또는 Glu이고,

Xaa₁₀은 Ala, Leu, Ile, Val, 펜틸글리신 또는 Met이고,

Xaa₁₁은 Ala 또는 Ser이고,

Xaa₁₂는 Ala 또는 Lys이고,

Xaa₁₃은 Ala 또는 Gln이고,

Xaa₁₄는 Ala, Leu, Ile, 펜틸글리신, Val 또는 Met이고,

Xaa₁₅는 Ala 또는 Glu이고,

Xaa₁₆은 Ala 또는 Glu이고,

Xaa₁₇은 Ala 또는 Glu이고,

Xaa₁₉는 Ala 또는 Val이고,

Xaa₂₀은 Ala 또는 Arg이고,

Xaa₂₁은 Ala 또는 Leu이고,

Xaa₂₂는 Ala, Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌이고,

Xaa₂₃은 Ile, Val, Leu, 펜틸글리신, tert-부틸글리신 또는 Met이고,

Xaa₂₄는 Ala, Glu 또는 Asp이고,

Xaa₂₅는 Ala, Trp, Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌이고,

Xaa₂₆은 Ala 또는 Leu이고,

Xaa₂₇은 Ala 또는 Lys이고,

Xaa₂₈은 Ala 또는 Asn이며,

Z₁은 -OH,

-NH₂

Gly-Z₂,

Gly Gly-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala Xaa₃₆-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala Xaa₃₆ Xaa₃₇-Z₂ 또는

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala Xaa₃₆ Xaa₃₇ Xaa₃₈-Z₂

(여기서, Xaa₃₁, Xaa₃₆, Xaa₃₇ 및 Xaa₃₈은 독립적으로 Pro, 호모프롤린, 3Hyp, 4Hyp, 티오프롤린, N-알킬글리신, N-알킬헨틸글리신 또는 N-알킬알라닌이고, Z₂는 -OH 또는 -NH₂임)인데,

단, Xaa₃, Xaa₅, Xaa₆, Xaa₈, Xaa₁₀, Xaa₁₁, Xaa₁₂, Xaa₁₃, Xaa₁₄, Xaa₁₅, Xaa₁₆, Xaa₁₇, Xaa₁₉, Xaa₂₀, Xaa₂₁, Xaa₂₄, Xaa₂₅, Xaa₂₆, Xaa₂₇ 및 Xaa₂₈ 중 3 개 이하만이 Ala이다.

N-알킬글리신, N-알킬헨틸글리신 및 N-알킬알라닌에 바람직한 N-알킬기에는 바람직하게는 탄소 원자수가 1 내지 약 6 개, 더욱 바람직하게는 1 내지 4 개인 저급 알킬기가 포함된다.

바람직한 엑센딘 아고니스트 화합물에는 Xaa₁이 His 또는 Tyr인 것이 포함된다. Xaa₁이 His인 것이 더욱 바람직하다.

Xaa₂가 Gly인 화합물이 바람직하다.

Xaa₁₄가 Leu, 헨틸글리신 또는 Met인 화합물이 바람직하다.

Xaa₂₅가 Trp 또는 Phe인 화합물이 바람직하다.

Xaa₆이 Phe 또는 나프틸알라닌이고, Xaa₂₂가 Phe 또는 나프틸알라닌이며, Xaa₂₃이 Ile 또는 Val인 화합물이 바람직하다.

Xaa₃₁, Xaa₃₆, Xaa₃₇ 및 Xaa₃₈이 독립적으로 Pro, 호모프롤린, 티오프롤린 및 N-알킬알라닌 중에서 선택되는 것인 화합물이 바람직하다.

바람직하게는, Z₁이 -NH₂이다.

바람직하게는, Z₂가 -NH₂이다.

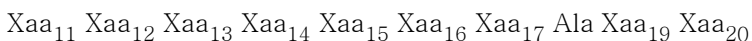
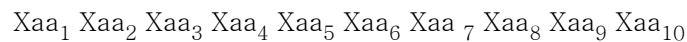
한 측면에 따르면, 바람직한 화학식 II의 화합물은 Xaa₁이 His 또는 Tyr, 더욱 바람직하게는 His이고; Xaa₂가 Gly이고; Xaa₆이 Phe 또는 나프틸알라닌이고; Xaa₁₄가 Leu, 헨틸글리신 또는 Met이고; Xaa₂₂가 Phe 또는 나프틸알라닌이고; Xaa₂₃이 Ile 또는 Val이고; Xaa₃₁, Xaa₃₆, Xaa₃₇ 및 Xaa₃₈이 독립적으로 Pro, 호모프롤린, 티오프롤린 또는 N-알킬알라닌 중에서 선택되는 것인 화합물이다. 더욱 바람직하게는, Z₁이 -NH₂이다.

특히 바람직한 측면에 따르면, 특히 바람직한 화합물에는 Xaa₁이 His 또는 Arg이고; Xaa₂가 Gly 또는 Ala이고; Xaa₃가 Ala, Asp 또는 Glu이고; Xaa₅가 Ala 또는 Thr이고; Xaa₆이 Ala, Phe 또는 나프틸알라닌이고; Xaa₇이 Thr 또는 Ser이고; Xaa₈이 Ala, Ser 또는 Thr이고; Xaa₉가 Asp 또는 Glu이고; Xaa₁₀이 Ala, Leu 또는 펜틸글리신이고; Xaa₁₁이 Ala 또는 Ser이고; Xaa₁₂가 Ala 또는 Lys이고; Xaa₁₃이 Ala 또는 Gln이고; Xaa₁₄가 Ala, Leu 또는 펜틸글리신이고; Xaa₁₅가 Ala 또는 Glu이고; Xaa₁₆이 Ala 또는 Glu이고; Xaa₁₇이 Ala 또는 Glu이고; Xaa₁₉가 Ala 또는 Val이고; Xaa₂₀이 Ala 또는 Arg이고; Xaa₂₁이 Ala 또는 Leu이고; Xaa₂₂가 Phe 또는 나프틸알라닌이고; Xaa₂₃이 Ile, Val 또는 tert-부틸글리신이고; Xaa₂₄가 Ala, Glu 또는 Asp이고; Xaa₂₅가 Ala, Trp 또는 Phe이고; Xaa₂₆이 Ala 또는 Leu이고; Xaa₂₇이 Ala 또는 Lys이고; Xaa₂₈이 Ala 또는 Asn이며; Z₁이 -OH, -NH₂, Gly-Z₂, Gly Gly-Z₂, Gly Gly Xaa₃₁-Z₂, Gly Gly Xaa₃₁ Ser-Z₂, Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser-Z₂, Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly-Z₂, Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala-Z₂, Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala Xaa₃₆-Z₂, Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala Xaa₃₆ Xaa₃₇-Z₂, 또는 Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala Xaa₃₆ Xaa₃₇ Xaa₃₈-Z₂ (여기서, Xaa₃₁, Xaa₃₆, Xaa₃₇ 및 Xaa₃₈은 독립적으로 Pro, 호모프롤린, 티오프롤린 또는 N-메틸알라닌이며; Z₂가 -OH 또는 -NH₂임)인데, 단, Xaa₃, Xaa₅, Xaa₆, Xaa₈, Xaa₁₀, Xaa₁₁, Xaa₁₂, Xaa₁₃, Xaa₁₄, Xaa₁₅, Xaa₁₆, Xaa₁₇, Xaa₁₉, Xaa₂₀, Xaa₂₁, Xaa₂₄, Xaa₂₅, Xaa₂₆, Xaa₂₇ 및 Xaa₂₈ 중 3 개 이하만이 Ala인 화학식 II의 화합물이 포함된다. 특히 바람직한 화합물에는 서열 40 내지 61의 아미노산 서열을 갖는 화합물들이 포함된다.

특히 바람직한 측면에 따르면, Xaa₁₄가 Leu, Ile, Val 또는 펜틸글리신, 더욱 바람직하게는 Leu 또는 펜틸글리신이고, Xaa₂₅가 Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌, 더욱 바람직하게는 Phe 또는 나프틸알라닌인 화합물이 제공된다. 이들 화합물은 시험관내 및 생체내에서 뿐 아니라 이 화합물들의 합성 중에도 산화적 분해가 덜 일어난다.

엑센딘 아고니스트 화합물에는 또한 하기 화학식 III (서열 5)의 화합물을 포함하여, 1997년 11월 14일자로 출원된 미국 가출원 번호 제60/066,029호의 이점을 청구하고 있는, "Novel Exendin Agonist Compounds"이란 발명의 명칭으로 1998년 11월 13일에 출원된 국제 특허 출원 번호 제PCT/US98/24273호에 기재된 것들이 포함된다.

화학식 III



상기 식에서,

Xaa₁은 His, Arg, Tyr, Ala, Norval, Val 또는 Norleu이고,

Xaa₂는 Ser, Gly, Ala 또는 Thr이고,

Xaa₃은 Ala, Asp 또는 Glu이고,

Xaa₄는 Ala, Norval, Val, Norleu 또는 Gly이고,

Xaa₅는 Ala 또는 Thr이고,

Xaa₆은 Ala, Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌이고,

Xaa₇은 Thr 또는 Ser이고,

Xaa₈은 Ala, Ser 또는 Thr이고,

Xaa₉는 Ala, Norval, Val, Norleu, Asp 또는 Glu이고,

Xaa₁₀은 Ala, Leu, Ile, Val, 펜틸글리신 또는 Met이고,

Xaa₁₁은 Ala 또는 Ser이고,

Xaa₁₂는 Ala 또는 Lys이고,

Xaa₁₃은 Ala 또는 Gln이고,

Xaa₁₄는 Ala, Leu, Ile, 펜틸글리신, Val 또는 Met이고,

Xaa₁₅는 Ala 또는 Glu이고,

Xaa₁₆은 Ala 또는 Glu이고,

Xaa₁₇은 Ala 또는 Glu이고,

Xaa₁₉는 Ala 또는 Val이고,

Xaa₂₀은 Ala 또는 Arg이고,

Xaa₂₁은 Ala 또는 Leu이고,

Xaa₂₂는 Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌이고,

Xaa₂₃은 Ile, Val, Leu, 펜틸글리신, tert-부틸글리신 또는 Met이고,

Xaa₂₄는 Ala, Glu 또는 Asp이고,

Xaa₂₅는 Ala, Trp, Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌이고,

Xaa₂₆은 Ala 또는 Leu이고,

Xaa₂₇은 Ala 또는 Lys이고,

Xaa₂₈은 Ala 또는 Asn이며,

Z₁은 -OH,

-NH₂

Gly-Z₂,

Gly Gly-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala Xaa₃₆-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala Xaa₃₆ Xaa₃₇-Z₂,

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala Xaa₃₆ Xaa₃₇ Xaa₃₈-Z₂ 또는

Gly Gly Xaa₃₁ Ser Ser Gly Ala Xaa₃₆ Xaa₃₇ Xaa₃₈ Xaa₃₉-Z₂

(여기서, Xaa₃₁, Xaa₃₆, Xaa₃₇ 및 Xaa₃₈은 독립적으로 Pro, 호모프롤린, 3Hyp, 4Hyp, 티오프롤린, N-알킬글리신, N-알킬헨틸글리신 또는 N-알킬알라닌이고, Z₂는 -OH 또는 -NH₂임)인데,

단, Xaa₃, Xaa₄, Xaa₅, Xaa₆, Xaa₈, Xaa₉, Xaa₁₀, Xaa₁₁, Xaa₁₂, Xaa₁₃, Xaa₁₄, Xaa₁₅, Xaa₁₆, Xaa₁₇, Xaa₁₉, Xaa₂₀, Xaa₂₁, Xaa₂₄, Xaa₂₅, Xaa₂₆, Xaa₂₇ 및 Xaa₂₈ 중 3 개 이하만이 Ala이며, Xaa₁이 His, Arg 또는 Tyr인 경우, Xaa₃, Xaa₄ 및 Xaa₉ 중의 하나 이상이 Ala이다.

화합물의 제조

본 발명의 투여물 및 제제의 활성 성분을 구성하는 화합물은 표준 고상 펩티드 합성 기술, 바람직하게는 자동화 또는 반자동화 펩티드 합성기를 사용하여 제조될 수 있다. 엑센딘-3 및 엑센딘-4의 제조 방법은 하기 실시예 1 및 2에 기재되어 있다. 추가의 엑센딘 아고니스트 펩티드 유사체의 제조 방법은 하기 실시예 13 내지 198에 기재되어 있다.

전형적으로, 이러한 자동화 또는 반자동화 펩티드 합성 기술을 사용하여, α-N-카르바모일로 보호된 아미노산 및 수지에서 신장되고 있는 펩티드 사슬에 부착된 아미노산을, 실온하에 디이소프로필에틸아민 등의 염기가 존재하고, 디시클로헥실카르보디이미드 및 1-히드록시벤조트리아졸 등의 커플링제가 존재하는 상태에서 디메틸포름아미드, N-메틸피롤리딘 또는 메틸렌 클로라이드 등의 불활성 용매 중에서 커플링시킨다. 이로써 생성된 펩티드-수지로부터 상기 α-N-카르바모일 보호기를 트리플루오로아세트산 또는 피페리딘과 같은 시약을 써서 제거하고, 펩티드 사슬에 부가될 그 다음의 원하는 N-보호된 아미노산으로 상기 커플링 반응을 반복한다. 적합한 N-보호기는 당업계에 널리 공지되어 있는데, 본원에서는 t-부틸옥시카르보닐 (tBoc) 및 플루오레닐메톡시카르보닐 (Fmoc)이 바람직하다.

펩티드 합성기에 사용된 용매, 아미노산 유도체 및 4-메틸벤조히드릴-아민 수지는 바이오시스템스 인크 (Applied Biosystems Inc.) (미국 캘리포니아주 포스터 시티)로부터 구입할 수 있다. 다음의 측쇄-보호된 아미노산도 바이오시스템스 인크 (Applied Biosystems Inc.)로부터 구입할 수 있다: Boc-Arg (Mts), Fmoc-Arg (Pmc), Boc-Thr (Bzl), Fmoc-Thr (t-Bu), Boc-Ser (Bzl), Fmoc-Ser (t-Bu), Boc-Tyr (BrZ), Fmoc-Tyr (t-Bu), Boc-Lys (Cl-Z), Fmoc-Lys (Boc), Boc-Glu (Bzl), Fmoc-Glu (t-Bu), Fmoc-His (Trt), Fmoc-Asn (Trt) 및 Fmoc-Gln (Trt). Boc-His (BOM)는 어플라이드 바이오시스템스 인크. (Applied Biosystems Inc.) 또는 바켄 인크. (Bachem Inc.) (미국 캘리포니아주 토란스)으로부터 구입할 수 있다. 아니솔, 디메틸설포드, 페놀, 에탄디티올 및 티오아니솔은 알드리치 케미칼 컴파니 (Aldrich

Chemical Company) (미국 위스콘신주 밀워키)로부터 구입할 수 있다. 에어 프로덕츠 앤드 케미칼스 (Air Products and Chemicals) (미국 펜실바니아주 알렌타운)는 HF를 시판한다. 에틸 에테르, 아세트산 및 메탄올은 피셔 사이언티픽 (Fisher Scientific) (미국 펜실바니아주 피츠버그)으로부터 구입할 수 있다.

고체 상 펩티드 합성은 캡핑을 사용하는 NMP/HOBt (Option 1) 시스템 및 tBOC 또는 Fmoc 화학 (Applied Biosystems User's Manual for the ABI 430A Peptide Synthesizer, Version 1.3B July 1, 1998, section 6, pp.49-70 참조, Applied Biosystems, Inc. (미국 캘리포니아주 포스터 시티))을 사용하는 자동 펩티드 합성기 (Model 430A, Applied Biosystems, Inc. 제품, (미국 캘리포니아주 포스터 시티))로 수행할 수 있다. Boc-펩티드-수지를 HF로 절단시킬 수 있다 (-5 °C 내지 0 °C, 1 시간). 물과 아세트산을 교대로 사용하여 이 펩티드를 수지로부터 추출할 수 있으며, 여액을 동결건조시킨다. Fmoc-펩티드 수지를 표준 방법(Introduction to Cleavage Techniques, Applied Biosystems, Inc., 1990, pp. 6-12)에 따라 절단할 수 있다. 또한, 어드밴스드 켐 테크 합성기 (Advanced Chem Tech Synthesizer) (Model MPS 350, 미국 켄터키주 루이스빌)를 사용하여 펩티드를 조립할 수도 있다.

워터스 델타 프랩 3000 시스템 (Waters Delta Prep 3000 system)을 사용하는 RP-HPLC (정제용 및 분석용)로 펩티드를 정제할 수 있다. C4, C8 또는 C18 정제용 컬럼 (10 μ , 2.2 x 2.5 cm; 비닥 (Vydac) 제품, 미국 캘리포니아주 헤스페리아)을 사용하여 펩티드를 분리할 수 있으며, C4, C8 또는 C18 분석용 컬럼 (5 μ , 0.46 x 25 cm; 비닥 제품)을 사용하여 순도를 측정할 수 있다. 용매 (A = 0.1 % TFA/물 및 B = 0.1 % TFA/CH₃CN)를 1.0 ml/분의 유속으로 분석용 컬럼에 전달하고 15 ml/분의 유속으로 정제용 컬럼에 전달할 수 있다. 아미노산 분석을 워터스 피코 태그 시스템 (Waters Pico Tag system) 상에서 수행하고, 맥시마 (Maxima) 프로그램을 사용하여 처리할 수 있다. 펩티드를 증기상 산 가수분해 (115 °C, 20-24 시간)하여 가수분해시킬 수 있다. 가수분해물을 유도체화시키고, 표준 방법 (Cohen, et al., The Pico Tag Method: A Manual of Advanced Techniques for Amino Acid Analysis, pp. 11-52 (1989), 미국 매사추세츠주 밀포드에 소재하는 밀리포어 코포레이션 (Millipore Corporation))으로 분석할 수 있다. 고속 원자 충격 분석은 엠-스캔, 인코포레이티드 (M-Scan, Incorporated) (미국 펜실바니아주 웨스트 체스터)에 의해 수행될 수 있다. 질량 보정은 요오드화 세슘 또는 요오드화 세슘/글리세롤을 사용하여 수행할 수 있다. 비상 시간 검출 (time of flight detection)을 이용한 질량 분석은 어플라이드 바이오시스템스 바이오-이온 20 (Applied Biosystems Bio-Ion 20) 질량 분광계 상에서 수행할 수 있다. 전기분무 질량 분광법을 VG-트리오 기기 (VG-Trio machine) 상에서 수행할 수 있다.

또한, 본 발명의 제제 및 투여물에 유용한 펩티드 활성 성분 화합물은 현재 당분야에 공지된 방법을 써서 재조합 DNA 기술을 통해 제조할 수 있다 (예를 들면, Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2d Ed., Cold Spring Harbor (1989) 참조).

유용성

본원에 기재된 제제 및 투여물은 이들의 약리학적 특성상 유용하다. 특히, 본 발명의 제제 및 투여물은 엑센딘 및 엑센딘 아고니스트로서 효과적이며, 포유동물에서 식후의 글루코스 농도 저하능으로 증명되는 바와 같이, 혈중 글루코스를 저하시키고, 위의 운동성을 조절하며, 위의 공복을 늦추는 작용제로서의 활성을 갖는다.

제제화 및 투여

본 발명의 엑센딘 및 엑센딘 아고니스트 제제 및 투여물은 이들의 엑센딘 유사 효과라는 관점에서 유용하고, 편리하게는 비경구 (정맥내, 근육내 및 피하 포함) 투여용으로 적합한 제제 형태로 제공될 수 있다. 또한, 경구, 비내, 협측, 설하 및 폐를 포함한 또다른 전달 경로에 유용한 제제 및 투여물도 본원에 기재되어 있다.

본 발명에 유용한 화합물은 주사 또는 주입용 비경구 조성물로 제공될 수 있다. 일반적으로, 이들은 예를 들면, 불활성 오일, 적합하게는 식물성 오일, 예를 들면, 참기름, 땅콩유, 올리브유 또는 기타 허용가능한 담체에 현탁시킬 수 있다. 바람직하게는, 이들을 수성 담체, 예를 들면, pH가 약 3.0 내지 약 7.0, 더욱 구체적으로는 약 4.0 내지 6.0, 및 바람직하게는 약 4.0 내지 약 5.0인 등장 완충 용액 중에 현탁시킨다. 상기 조성물은 통상적인 멸균 기술로 멸균시키거나, 또는 멸균 여과시킬 수 있다. 필요에 따라, 상기 조성물에는 생리적 상태와 비슷하게 만드는, 제약상 허용가능한 보조 물질 (예를 들면, pH 완충제)이 포함될 수 있다. 유용한 완충제로는, 예를 들면, 아세트산 나트륨염/아세트산염 완충제가 있다. 목적하는 등장성은 염화나트륨 또는 기타의 제약상 허용가능한 제제, 예를 들면, 텍스트로스, 붕산, 타르타르산 나트륨, 프로필렌 글리콜, 폴리올 (예를 들면, 만니톨 및 소르비톨), 또는 기타 무기 또는 유기 용질을 사용하여 달성될 수 있다. 염화 나트륨이 나트륨 이온을 포함하는 완충제에 특히 바람직하다.

엑센딘 및 엑센딘 아고니스트 화합물은 또한 이의 제약상 허용가능한 염 (예를 들면, 산 부가염) 및(또는) 착물로서 제제화될 수 있다. 제약상 허용가능한 염은 이들이 투여된 농도에서 비독성인 염이다. 이러한 염의 제조는 해당 조성물에 의한 생리적 효과 발휘에 대한 방해 없이, 이 조성물의 물리-화학적 특성을 변화시켜 이의 약리학적 사용을 촉진시킬 수 있다. 유용한 물리적 특성 변화의 예에는 경점막 투여 촉진을 위한 용점 저하 및 보다 높은 농도로의 약물 투여 촉진을 위한 용해도 증가가 포함된다.

제약상 허용가능한 염에는 황산염, 염산염, 인산염, 술폰산염, 아세트산염, 시트르산염, 락트산염, 타르타르산염, 메탄술폰산염, 에탄술폰산염, 벤젠술폰산염, p-톨루엔술폰산염, 시클로헥실술폰산염 및 퀴닌산염 등의 산 부가 염이 포함된다. 제약상 허용가능한 염은 염산, 황산, 인산, 술폰산, 아세트산, 시트르산, 락트산, 타르타르산, 말론산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산, 시클로헥실술폰산 및 퀴닌산 등의 산으로부터 수득할 수 있다. 이러한 염은 예를 들면, 생성물의 유리 산 또는 염기 형태를 염이 불용성인 용매 또는 매질, 또는 후에 진공 또는 동결건조에 의해 제거되는 물 등의 용매 중에서 1 당량 이상의 적당한 염기 또는 산과 반응시키거나, 또는 현존하는 염의 이온을 적합한 이온 교환 수지 상에서 다른 이온으로 교환시킴으로써 제조될 수 있다.

일반적으로, 담체 또는 부형제를 사용하여 본 발명의 투여물의 투여를 촉진시킬 수도 있다. 담체 및 부형제의 예로는 탄산칼슘, 인산칼슘, 각종 당 (예를 들면, 락토스), 또는 각종 유형의 전분, 셀룰로스 유도체, 젤라틴, 식물성 오일, 폴리에틸렌 글리콜 및 생리적으로 적합한 용매가 있다.

필요하다면, 상기 투여 조성물의 용액을 메틸셀룰로스 등의 증점제로 증점시킬 수 있다. 이들은 유-중-수 또는 수-중-유의 유화된 형태로 제조될 수 있다. 예를 들면, 아카시아 분말, 비이온성 계면활성제 (예를 들면, 트윈) 또는 이온성 계면활성제 (예를 들면, 알칼리 폴리에테르 알코올 황산염 또는 술폰산염 (예를 들면, 트리톤)) 등을 비롯한, 매우 다양한 제약상 허용가능한 유화제 중 어느 것이라도 사용할 수 있다.

일반적으로, 본 발명의 제제 및 투여 조성물은 통상 실시되는 과정에 따라 성분들을 혼합함으로써 제조한다. 예를 들면, 선택된 성분들을 블렌더 또는 기타 표준 디바이스에서 간단히 혼합하여 농축된 혼합물을 생성시킨 다음, 물 또는 증점제 및 가능하게는 pH를 조절하기 위한 완충제 또는 강도를 조절하기 위한 추가의 용질을 첨가하여 최종 농도 및 점도로 조절할 수 있다.

기타의 제약상 허용가능한 담체 및 이들의 제제화는 표준 제제화 보고서 (예를 들면, E. W. Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences)에 기재되어 있다. 또한, 문헌 (Wang, Y.J. and Hanson, M.A. "Parenteral Formulations of Proteins and Peptides: Stability and Stabilizers", Journal of Parenteral Science and Technology, Technical Report No. 10, Supp. 42:2S (1988))도 참조한다.

의사가 사용하기 위해서, 상기 화합물은 다른 치료제 (예를 들면, 글루코스 저하제, 위의 공복 조정제, 지질 저하제, 또는 음식물 섭취 억제제)를 포함하거나 포함하지 않는 일정량의 엑센딘 아고니스트를 포함하는 투여 단위 형태로 제공될 것이다. 혈중 글루코스를 조절하거나 위의 공복을 조절하고, 위의 공복을 늦추거나 조절하는 것이 유리한 상태에 사용하기 위한 엑센딘 아고니스트의 치료 유효량은 식후 혈중 글루코스 농도를 바람직하게는 약 8 또는 9 mM 이하로 감소시키거나 혈중 글루코스 농도를 원하는 만큼 저하시키는 양이다. 당뇨병에 걸렸거나 글루코스 불내성인 개인에서는 혈장 글루코스 농도가 정상인보다 높다. 이러한 개인들에게서는, 식후 혈중 글루코스 농도를 저하시키거나 "가라앉히는 것"이 유리하게 이루어질 수 있다. 당업자에 의해 인지된 바와 같이, 치료제의 유효량은 환자의 신체 상태, 혈중 당 농도 또는 획득하고자 하는 위의 공복 억제 수준, 원하는 만큼의 음식물 섭취량 감소 수준 및 기타 요인을 포함한 수많은 요인들에 따라 다양할 것이다.

이러한 제약 조성물은 환자에게서 인슐린 감수성을 증가시키는데 유용하고, 인슐린에 대한 감수성이 증가되는 것이 유리한, 당뇨병 등의 장애에 사용될 수도 있다.

저장소(貯藏所) 또는 "저류물(貯留物)" 형태의 서방출형 제제는 치료 유효량의 상기 제제가 경피 주사 또는 다른 형태로 전달된 후에는 수 시간 또는 수 일에 걸쳐 혈류 내로 전달되도록 하는데 사용될 수 있다.

화합물들의 효과적인 일일 투여량이 기재되어 있다. 투여될 정확한 투여량은 담당 임상가에 의해 결정될 수 있고, 사용된 특정 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트 화합물의 효능 및 그 개인의 연령, 체중 및 상태에 따라서도 달라질 수 있다. 환자에 대한 본 출원의 화합물의 최적 투여 양태는 특정 질병 또는 장애, 원하는 효과 및 환자의 유형과 같이 당분야에 공지된 요

인에 따라 달라진다. 상기 화합물이 전형적으로 사람인 환자를 치료하는데 사용될 것이긴 하지만, 이들 화합물은 또한 기타 영장류, 가축 (예를 들면, 돼지, 소 및 가금류), 및 경기용 동물 및 애완용 동물 (예를 들면, 말, 개 및 고양이) 등의 기타 척추동물에서의 유사하거나 동일한 질환을 치료하는데 사용될 수도 있다.

본 발명은 완충제 (바람직하게는 아세트산염 완충제), 등삼투물농도 조절제 (바람직하게는 만니톨)와 혼합된 액센딘 및 액센딘 아고니스트를 포함하고, 경우에 따라서는 방부제 (바람직하게는 m-크레졸)를 포함하며, pH가 약 3.0과 약 7.0 사이 (바람직하게는 약 4.0과 약 5.0 사이)인 액센딘 및 액센딘 아고니스트 제제를 포함한다.

비경구용 액체 투여 형태를 가장 잘 지지하는 제제는 그 제품의 의도된 저장 기간 동안 용액의 pH를 유지하는 적절한 완충력을 가지며, 그 안의 활성 성분(들)이 안정한 것이다. 활성 성분의 안정성을 촉진하거나 주사시의 통증을 감소시키기 위해서, 또는 이 둘 모두를 위해서는 투여 형태가 등장성 및(또는) 등삼투물농도 용액이어야 한다. 그러나 매우 적은 부피의 주사물을 전달하는 디바이스에서는 그 제제가 등장성 및(또는) 등삼투물농도일 필요가 없을 수 있다. 투여 형태가 단위 투여량으로 포장된 것이라면, 방부제가 첨가될 수도 있지만 꼭 필요한 것은 아니다. 그러나 투여 형태가 다회 사용 용기에 포장되는 경우라면, 방부제가 필요하다.

이러한 투여 형태는 수성계 중에 활성 성분을 약 0.005 내지 약 0.4 %, 더욱 구체적으로는 약 0.005 내지 약 0.02 %, 또는 약 0.005 내지 약 0.05 % (w/v)로 포함하고, 최종 조성물의 pH가 약 3.0 내지 7.0, 더욱 구체적으로는 약 4.0 내지 약 6.0, 또는 약 4.0 내지 5.0이 되게 하는 약 0.02 내지 0.5 % (w/v)의 아세트산염, 인산염, 시트르산염 또는 글루탐산염 또는 유사한 완충제를 단독으로 또는 조합물로 포함하며, 또한 수성 연속상의 등장액 또는 등삼투물농도 용액이 되도록 하는, 약 1.0 내지 10 % (w/v)의 탄수화물 또는 다가알콜 등삼투물농도 조절제 (바람직하게는 만니톨) 또는 약 0.9 % 이하의 염수 중 어느 하나 또는 이 둘의 조합물을 포함한다. 또한, 제제가 다회 사용 용기로 포장되는 경우에는, m-크레졸, 벤질 알콜, 메틸, 에틸, 프로필, 부틸 파라벤, 및 페놀로 구성된 군에서 선택된, 약 0.005 내지 1.0 % (w/v)의 항균 방부제도 존재한다. 주사에 충분한 양의 물을 첨가하여 원하는 농도의 용액을 얻는다. 필요하다면, 염화나트륨 및 다른 부형제도 존재할 수 있다. 그러나 상기 부형제들은 활성 성분의 전체적 안정성을 유지해야 한다.

다가 알콜 및 탄수화물은 공통적으로 그 백본에 동일한 특징, 즉, $-CHOH-CHOH-$ 가 있다. 다가 알콜에는 소르비톨, 만니톨, 글리세롤, 및 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 등의 화합물이 포함된다. 이 화합물들은 직쇄 분자들이다. 한편, 만노스, 리보스, 트레할로스, 말토스, 글리세롤, 이노시톨, 글루코스 및 락토스 등의 탄수화물은 케토 또는 알데히드기를 포함할 수 있는 고리형 분자이다. 이러한 두 클래스의 화합물들은 또한 단백질을 승온, 및 냉동-해동 또는 동결-건조 과정에 의한 변성에 대해 안정화시키는 데도 효과적일 것이다. 적당한 탄수화물에는 갈락토스, 아라비노스, 락토스 또는 당뇨병 환자에게 해로운 영향을 주지 않는 탄수화물 (즉, 대사되어 혈중 글루코스 농도를 높이는 탄수화물이 아닌 임의의 다른 탄수화물) 등이 포함된다. 이런 탄수화물은 당뇨병에 적절한 것으로 당업계에 잘 공지되어 있다.

바람직하게는, 본 발명의 펩티드는 소르비톨, 만니톨, 이노시톨, 글리세롤, 크실리톨 등의 다가알콜 및 폴리프로필렌/에틸렌 글리콜 공중합체뿐 아니라 분자량이 200, 400, 1450, 3350, 4000, 6000, 및 8000인 각종 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)과 부가혼합된다. 바람직한 다가알콜은 만니톨이다.

본 발명의 액체 제제는 실질적으로 등장성이고(거나) 등삼투물농도여야 한다. 등장성 용액이란 이것이 도입되는 곳 (예를 들어, 그 제제를 비경구 주사하는 경우라면 포유동물의 조직)의 삼투압과 동등한 삼투압을 발휘할 농도로 전해질, 또는 전해질과 비전해질의 조합물을 그 안에 포함하고 있는 용액으로 정의될 수 있다. 유사하게, 등삼투물농도 용액이란 이것이 도입되는 곳의 삼투압과 동등한 삼투압을 발휘할 농도로 비전해질을 그 안에 포함하고 있는 용액으로 정의될 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, "실질적으로 등장성"이란 등장의 $\pm 20\%$, 바람직하게는 $\pm 10\%$ 내에 있음을 의미한다. 본원에서 사용된 바와 같이 "실질적으로 등삼투물농도"란 등삼투물농도의 $\pm 20\%$, 바람직하게는 $\pm 10\%$ 내에 있음을 의미한다. 주사용으로 제제화된 제품은 용기, 전형적으로는 예를 들어, 바이알, 카트리지, 사전 충전 (prefilled) 실린지 또는 일회용 펜 안에 들어있다.

동결건조된 비경구용 단위 투여량 투여 형태를 가장 잘 지지하는 제제는 이것의 재구성 제품의 의도된 저장 기간 동안 용액의 pH를 유지하는 적절한 완충력이 있거나 없으며, 그 안의 활성성분이 적당히 안정한 것이다. 이러한 투여 형태는 케이크 형성을 용이하게 하는 증량제를 포함해야 한다. 증량제는 또한 재구성 시에 등장화제 및(또는) 등삼투물농도 조절제로도 작용하여 활성 성분의 안정성을 촉진하고(거나) 주사시의 통증을 감소시킬 수 있다. 그러나 상기 기재한 바와 같이, 매우 적은 부피의 주사물을 전달하는 디바이스에서는 그 제제가 등장성 및(또는) 등삼투물농도일 필요가 없을 수 있다. 또한, 계면활성제는 케이크에 이로울 특성을 부여할 수 있고(거나) 재구성을 용이하게 할 수 있다.

이러한 투여 형태는 활성 성분을 약 0.005 내지 약 0.4 %, 더욱 구체적으로는 약 0.005 내지 약 0.02 %, 또는 약 0.005 내지 약 0.05 % (w/v)로 포함한다. 재구성된 활성 성분이 안정한 기간 동안 용기의 내용물을 소비하고자 하는 경우에는 제제에 완충제를 포함시키고(거나) 완충제를 써서 동결건조물을 재구성할 필요가 없을 수 있다. 완충제를 사용하는 경우, 동결건조물 또는 재구성 용매 중에 포함시킬 수 있다. 그러므로, 제제 및(또는) 재구성 용매는 개별적으로 또는 전체적으로 약 0.02 내지 0.5 % (w/v)의 아세트산염, 인산염, 시트르산염 또는 글루탐산염 완충제를 단독으로 또는 조합물을 포함하여 최종 조성물의 pH가 약 3.0 내지 7.0, 더욱 구체적으로는 약 4.0 내지 약 6.0, 또는 약 4.0 내지 5.0이 되게 할 수 있다. 또한, 증량제는 상기 제제가 재구성된 수성 연속상의 등장액 또는 등삼투물농도 용액이 되도록 하는, 약 1.0 내지 10 % (w/v)의 탄수화물 또는 다가알콜 등삼투물농도 조절제 (상기 기재된 바와 같음)와 0.9 % 이하의 염수 중 어느 하나 또는 이들의 조합물로 구성될 수 있다. 계면활성제, 바람직하게는 약 0.1 내지 약 1.0 % (w/v)의 폴리소르베이트 80, 또는 기타의 비이온성 세정제가 포함될 수 있다. 또한, 상기 나타낸 바와 같이, 필요하다면 염화 나트륨 및 기타의 부형제도 동결건조된 단위 투여량 제제에 포함될 수 있다. 그러나 상기 부형제들은 활성 성분의 전체적 안정성을 유지해야 한다. 제제는 활성 성분의 안정성을 유지하는 것으로 확인된 유효 (validation) 파라미터에서 동결건조 될 것이다.

동결건조 전의 본 발명의 액체 제제는 실질적으로 등장성 및(또는) 등삼투물농도여서 동결건조 전이나 재구성 후에 등장성 및(또는) 등삼투물농도의 용액의 형성이 가능해야 한다. 제제는 동결건조 형태로 있을 때와 재구성 후 둘 다에 있어서, 저장 기간 연구로 수립해 놓은 기간 내에 사용되어야 한다. 동결건조된 제품은 용기, 전형적으로는 예를 들어 바이알 안에 들어 있다. 카트리지, 사전 충전 실린지 또는 일회용 펜 등과 같은 다른 용기가 사용되는 경우, 재구성 용매도 포함될 수 있다.

상기 기재한 비경구용 액체 및 동결건조된 단위 투여량 제제와 같이, 동결건조된 비경구용 다중 투여량 형태를 가장 잘 지지하는 제제는 이것의 재구성 제품의 의도된 "사용중" 저장 기간 동안 용액의 pH를 유지하는 적절한 완충력을 가지며, 그 안의 활성 성분이 적당히 안정한 것이다. 이러한 투여 형태는 케이크 형성을 용이하게 하는 증량제를 포함해야 한다. 증량제는 또한 재구성 직후에 등장화제 및(또는) 등삼투물농도 조절제로도 작용하여 활성 성분의 안정성을 촉진하고(거나) 주사시의 통증을 감소시킬 수 있다. 다시, 매우 적은 부피의 주사물을 전달하는 디바이스에서는 그 제제가 등장성 및(또는) 등삼투물농도일 필요가 없을 수 있다. 그러나 환자에 의한 다회 사용을 용이하게 하기 위해서 방부제가 필요하다.

이러한 투여 형태는 활성 성분을 약 0.005 내지 약 0.4 %, 더욱 구체적으로는 약 0.005 내지 약 0.02 %, 또는 약 0.005 내지 약 0.05 % (w/v)로 포함한다. 재구성된 활성 성분이 안정한 기간 동안 용기의 내용물을 소비하고자 하는 경우에는 제제에 완충제를 포함시키고(거나) 완충제를 써서 동결건조물을 재구성할 필요가 없을 수 있다. 완충제를 사용하는 경우, 동결건조물 또는 재구성 용매 중에 포함시킬 수 있다. 그러므로, 제제 및(또는) 재구성 용매는 개별적으로 또는 전체적으로 약 0.02 내지 0.5 % (w/v)의 아세트산염, 인산염, 시트르산염 또는 글루탐산염 완충제를 단독으로 또는 조합물을 포함하여 최종 조성물의 pH가 약 3.0 내지 7.0, 더욱 구체적으로는 약 4.0 내지 약 6.0, 또는 약 4.0 내지 5.0이 되게 할 수 있다. 또한, 증량제는 상기 제제가 재구성된 수성 연속상의 등장액 또는 등삼투물농도 용액이 되도록 하는, 약 1.0 내지 10 % (w/v)의 탄수화물 또는 다가알콜 등삼투물농도 조절제 (바람직하게는 만니톨)와 0.9 % 이하의 염수 중 어느 하나 또는 이들의 조합물로 구성될 수 있다. 계면활성제, 바람직하게는 약 0.1 내지 약 1.0 % (w/v)의 폴리소르베이트 80, 또는 기타의 비이온성 세정제가 포함될 수 있다.

또한, 제제가 다회 사용 용기로 포장되는 경우에는, m-크레졸, 벤질 알콜, 메틸, 에틸, 프로필, 부틸 파라벤, 및 페놀로 구성된 군에서 선택된, 약 0.005 내지 1.0 % (w/v)의 항균 방부제 (바람직하게는 m-크레졸)도 존재한다. 필요하다면, 염화 나트륨 및 다른 부형제도 존재할 수 있다. 그러나 다시, 상기 부형제들은 활성 성분의 전체적 안정성을 유지해야 한다. 제제는 활성 성분의 안정성을 유지하는 것으로 확인된 유효 (validation) 파라미터에서 동결건조될 것이다. 본 발명의 액체 제제는 실질적으로 등장성 및(또는) 등삼투물농도여서 동결건조 전이나 재구성 후에 등장성 및(또는) 등삼투물농도의 용액의 형성이 가능해야 한다. 제제는 동결건조 형태로 있을 때와 재구성 후 둘 다에 있어서, 저장 기간 연구로 수립해 놓은 기간 내에 사용되어야 한다. 동결건조된 제품은 용기, 전형적으로는 예를 들어 바이알 안에 들어 있어야 한다. 카트리지, 사전 충전 실린지 또는 일회용 펜 등과 같은 다른 용기가 사용되는 경우, 재구성 용매도 포함될 수 있다.

경구, 비내, 폐 및(또는) 기관내 투여 형태를 가장 잘 지지하는 제제는 방부제 처리 또는 비처리 액체 제제 및(또는) 건조 분말 제제일 수 있고, 또는 경구 투여를 위해서라면 고체 제제일 수 있다. 방부제 처리 또는 비처리 액체 제제는 본질적으로 방부제 처리 또는 비처리 액체 비경구용 제제에 대해 상기 기재한 제제와 동일할 것이다. 용액의 pH는 약 3.0 내지 7.0이어야 하며, 기관지수축의 가능성을 줄이기에 가장 바람직한 pH는 약 5.0 이상이다. 건조 분말 제제는 입자 크기 형성 및 입자 크기 분포를 용이하게 하는 증량제 및(또는) 염을 포함할 수 있다. 또한, 계면활성제 및(또는) 염은 입자 형태에 이로인 특성을 부여하고(거나) 조직에 의한 활성 성분의 흡수를 용이하게 할 수 있다.

이러한 건조 분말 투여 형태는 활성 성분이 1 % 내지 100 % (w/w) 범위일 수 있다. 입자 크기 형성 및 입자 크기 분포를 용이하게 하는 증량제 및(또는) 염을 포함할 필요가 없을 수 있다. 증량제 및(또는) 염은 약 0 내지 99 % (w/w)의 탄수화물 또는 다가알콜 또는 약 0 내지 99 %의 염 또는 이 모두의 조합물로 구성되어 바람직한 입자 크기 및 분포를 유도할 수 있다. 계면활성제, 바람직하게는 약 0.1 내지 약 1.0 % (w/v)의 폴리소르베이트 80, 또는 기타의 비이온성 세정제가 포함될 수 있다. 필요하다면, 염화나트륨 및 기타의 부형제도 존재할 수 있다. 그러나 상기 부형제들은 활성 성분의 전체적 안정성을 유지하고 적당한 정도의 수화를 용이하게 할 것이다.

비내 및(또는) 기관내 투여 형태를 가장 잘 지지하는 제제는 상기 기재된 방부제 처리 또는 비처리 액체 제제 및(또는) 건조 분말 제제일 수 있다.

협착 전달을 용이하게 하기 위해서 용해가능한 겔 및(또는) 패치가 사용될 수 있다. 겔은 다양한 유형의 전분 및(또는) 셀룰로스 유도체로부터 제조될 수 있다.

설하 전달은 그 투여 형태가 등장성 및(또는) 등삼투물농도 용액일 필요가 없다는 점을 제외하면 재구성 후에 상기 비경구용 액체 또는 비경구용 동결건조된 제제에 대해 상기 기재한 바와 유사한 액체 제제에 의해 가장 잘 지지될 수 있다. 고체 투여 형태는 혀 밑에서 쉽게 용해될 수 있어야 한다는 점을 제외하면 경구 고체 투여 형태와 유사할 수 있다.

경구 전달은 그 용액이 좀더 농축될 수 있고 소장에 의한 활성 성분의 흡수를 촉진시키기 위해 추가의 첨가제가 포함될 수 있다는 점을 제외하면 비경구용 제제와 유사한 액체 (겔 캡) 제제에 의해 가장 잘 지지될 수 있다. 고체 투여 형태는 정제 형성을 촉진시키기 위해서 불활성 성분을 활성 성분과 함께 포함할 것이다. 이 성분들에는 폴리헤드랄 (polyhedral) 알콜 (예를 들어, 만니톨), 탄수화물, 또는 여러 유형의 전분, 셀룰로스 유도체, 및(또는) 기타 생리적으로 적합한 불활성 물질 등이 있을 수 있다. 정제를 장용성 코팅하여 위에서의 소화를 최소화함으로써 소화관을 따라서 더 용이하게 용해되고 흡수되도록 할 수 있다.

또한, 본 발명은 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트의 주사 투여, 및 다른 경로로의 투여시의 바람직한 투여량을 포함한다. 그러므로, 필적하는 역가(力價)를 갖는 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트 제제가 주사 투여용으로 제조되면, 하루에 1 번 내지 3 번 제공되는 kg당 약 0.1 내지 약 0.5 μg 를 포함한다. 전형적으로, 체중이 약 70 kg (제1형 당뇨병 환자의 평균 체중) 내지 약 90 kg (제2형 당뇨병 환자의 평균 체중)인 당뇨병 환자에게는 예를 들면, 하루에 단일 투여량 또는 분할 투여량으로의 총 투여량이 약 10 내지 약 120 μg 이 될 것이다. 분할 투여량으로 투여하는 경우, 그 투여량은 바람직하게는 하루에 2 번 또는 3 번 투여되고, 더욱 바람직하게는 하루에 2 번 투여된다.

바람직한 주사 방법에서, 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트는 비경구로, 더욱 바람직하게는 주사 (예를 들면, 말초 주사)로 투여된다. 바람직하게는, 하루에 약 1 μg -30 μg 내지 약 1 mg의 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트가 투여된다. 더욱 바람직하게는, 하루에 약 1 μg -30 μg 내지 약 500 μg , 또는 약 1 μg -30 μg 내지 약 50 μg 의 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트가 투여된다. 가장 바람직하게는, 환자의 체중 및 투여되는 화합물의 역가에 따라서, 하루에 약 3 μg 내지 약 50 μg 의 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트가 투여된다. 대략 엑센딘-4의 역가를 갖는 화합물의 바람직한 투여량은 환자의 체중을 기준으로 1 투여량 당 약 0.005 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 약 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 범위이다. 더욱 바람직하게는, 대략 엑센딘-4의 역가를 갖는 화합물의 투여량은 환자의 체중을 기준으로 1 투여량 당 약 0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 약 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 범위이다. 가장 바람직하게는, 대략 엑센딘-4의 역가를 갖는 화합물의 투여량은 1 투여량 당 환자의 체중을 기준으로 약 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 약 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 범위이다. 이러한 투여량은 하루에 1 내지 4 번, 바람직하게는 하루에 1 내지 2 번 투여된다. 연속 주입으로 투여되는 경우, 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트의 투여량은 일반적으로 더 낮을 것이다. 비주사 방법, 예를 들면, 경구, 협착, 설하, 비내, 폐 또는 피부 패취 (patch) 전달로 투여되는 경우, 엑센딘 또는 엑센딘 아고니스트의 투여량은 일반적으로 더 높을 것이다.

본 발명에 따른, 경구 투여량은 활성 성분을 약 50 내지 약 100 배, 즉, 단일 투여량 또는 분할 투여량으로 하루에 약 500 내지 약 12,000 μg , 바람직하게는 하루에 약 500 내지 약 5,000 μg 을 포함할 것이다. 본 발명에 따른, 폐 투여량은 활성 성분을 약 10 내지 약 100 배, 즉, 단일 투여량 또는 분할 투여량으로 하루에 약 100 내지 약 12,000 μg , 바람직하게는 하루에 약 500 내지 약 1,000 μg 을 포함할 것이다. 또한, 본 발명에 따른 비내, 협착 및 설하 투여량은 활성 성분을 약 10 내지 약 100 배, 즉, 단일 투여량 또는 분할 투여량으로 하루에 약 100 내지 약 12,000 μg 을 포함할 것이다.

비내 투여를 위한 바람직한 투여량은 하루에 약 10-1000 내지 약 1200-12,000 μg 이며, 협착 투여를 위한 바람직한 투여량은 하루에 약 10-1000 내지 약 1200-12,000 μg 이며, 설하 투여를 위한 바람직한 투여량은 하루에 약 10-1000 내지 약 1200-8,000 μg 이다. 설하 투여량은 협착 투여량보다 적은 것이 바람직하다. 역가가 엑센딘-4보다 낮거나 높은 엑센딘 아고니스트의 투여량은 경우에 따라서 상기 및 본원의 다른 부분에 기재된 투여량보다 많거나 적다.

임상 연구

하기 실시예 10에서 기재한 바와 같이, 건강한 지원자에서 피하 엑센딘-4의 안전성, 허용가능성, 및 약력학을 시험하는, 단일 투여량을 점진적으로 증가시킨 이중 맹검 위약-대조군 연구를 완료하였다. 공복 상태의 건강한 남성 지원자 40 명에게 엑센딘-4의 5 가지 단일 피하 투여량 (0.01, 0.05, 0.1, 0.2 또는 0.3 $\mu\text{g/kg}$)을 연구하였다. 투여 후 1 시간과 2 시간 사이에 최고 혈장 엑센딘-4 농도가 달성되었고, 이는 시험된 투여량마다 거의 차이가 없었다. 데이터를 검토하여 C_{max} 가 투여량 의존적으로 증가함을 알아내었다. 이 연구에서 심각한 부작용은 전혀 보고되지 않았다.

이 연구에 참여한 건강한 남성 지원자들에게서 엑센딘-4가 0.1 $\mu\text{g/kg}$ 이하로 포함된 피하 투여량은 잘 허용되었다. 또한, 이 투여량에서는 혈장 글루코스 농도의 감소가 관찰되었다. 0.2 $\mu\text{g/kg}$ 이상의 투여량에서 가장 공통적으로 관찰되는 부작용은 두통, 구역(嘔逆), 구토(嘔吐), 현기(眩氣), 및 체위성저혈압증(體位性低血壓症)이었다. 0.05 $\mu\text{g/kg}$ 이상의 투여량을 투여한 후에는 혈장 글루코스 농도의 일시적 감소가 있었다.

하기의 실시예 12는 투여량이 0.1 $\mu\text{g/kg}$ 미만인 엑센딘-4와 글루코스 저하 효과와의 투여량-반응 관계에 관한 추가의 연구를 기술한다. 식사 ±경구 혈당저하제를 처치한 14 명의 제2형 당뇨병 환자들 (평균 ($\pm\text{SE}$) 연령 55 ± 2 , 평균 BMI ($30.2 \pm 1.6 \text{ kg/m}^2$))에게 10 내지 14 일 동안 경구 작용제를 금지한 후, 연구하였다. 각기 다른 날에 밤새 굶게 한 후에, 위약, 및 엑센딘-4 (0.01, 0.02, 0.05 및 0.1 $\mu\text{g/kg}$)를 무작위로 피하 주사하여 측정하였다. 주사 직후, 표준화된 서스타칼 (Sustacal) (등록상표) 가루 (7 kcal/kg)를 섭취하게 한 다음, 그 후의 300 분 동안 빈번한 시간 간격마다 혈장 글루코스 샘플을 모았다.

5 시간 동안 시간에 따른 혈장 글루코스 농도의 평균 ($\pm\text{SE}$) 변화량으로 혈당 반응을 정량화하였다. 반응의 범위는 위약에 대해서는 공복시의 글루코스 농도보다 + 42.0 $\pm 7.9 \text{ mg/dL}$ 증가한데 대해 0.1 $\mu\text{g/kg}$ 의 엑센딘-4의 경우에는 공복시 글루코스 농도보다 30.5 $\pm 8.6 \text{ mg/dL}$ 가 감소했다.

이러한 글루코스 저하 효과에 대한 ED_{50} 은 0.038 $\mu\text{g/kg}$ 이었다. 엑센딘-4 투여량이 0.1 $\mu\text{g/kg}$ 미만이면 글루코스 저하 효과만 나타나고 위장의 부작용은 없는 것으로 여겨졌다. 실시예 12는 제2형 당뇨병 환자들에게 0.1 $\mu\text{g/kg}$ 미만의 엑센딘-4 투여가 잘 허용될 뿐 아니라 이 투여량에서 식후 혈장 글루코스 농도가 실질적으로 저하됨 (ED_{50} 은 0.038 $\mu\text{g/kg}$)을 나타낸다.

다른 전달 경로

순환계내의 엑센딘-4를 측정하면서 생물학적 반응 (예를 들면, 당뇨병 동물에게 투여한 후의 혈장 글루코스 저하)을 관찰함으로써 다른 경로로 엑센딘-4를 전달할 수 있는 지가 연구되어 왔다. 엑센딘-4는 여러 표면, 호흡관 (비내, 기관, 및 폐 경로), 및 장 (설하, 가바즈 (gavage) 및 십이지장내 경로)을 통과함이 조사되었다. 호흡관을 경유하게 되는 각각의 투여 경로, 및 위장관을 경유하게 되는 설하 및 가바즈된 펩티드를 사용하여 혈중 엑센딘-4의 존재 및 생물학적 효과를 관찰해 왔다.

기관내 투여: 본원에서 기재한 바와 같이, 굶긴 래트에게 엑센딘-4를 기관내 투여 (20 $\mu\text{g}/50 \mu\text{l}$ /동물)하면 평균 혈장 엑센딘-4의 농도가 투여한 지 5 내지 10 분 이내에 $2060 \pm 960 \text{ pg/ml}$ 로 증가하였다. 증가된 혈장 엑센딘-4의 농도는 점적주입(點滴注入)후 1 시간 이상 유지되었다 (도 4 참조). 당뇨병 db/db 마우스에게 엑센딘-4 (1 μg /동물)를 기관내 점적주입(點滴注入)했을 때, 처치한 지 1.5 시간 후의 혈장 글루코스 농도가 30 % 저하된 반면, 비히클을 사용한 대조군의 경우에는 41 % 증가되었다. 이 동물들에서, 처치한 지 4.5 시간 후 평균 혈장 엑센딘-4 농도는 $777 \pm 365 \text{ pg/ml}$ 이었다 (도 5의 A 및 5의 B 참조).

당뇨성 ob/ob 마우스에게 엑센딘-4 (1 μg /동물)를 기관내 점적주입(點滴注入)했을 때, 4 시간 후의 혈장 글루코스 농도는 처치 전 수준의 43 %로 감소된 반면, 비히클을 사용한 대조군의 경우에는 변하지 않았다 (도 6의 A 및 6의 B 참조).

밤새 굶긴 스프라그 돌리 래트 수컷 9 마리 (생후 96 내지 115일, 체중 365 내지 395 g (평균 385 g))를 할로탄으로 마취시켜 기관절개하고 대퇴동맥으로 카테터를 삽입하였다. 0 분 ($t=0$)에서는 엑센딘-4가 2.1 μg ($n=3$), 21 μg ($n=3$) 또는 210 μg ($n=3$) 용해되어 있는 염수 30 μl 를 삽관법(插管法)으로 기관내에 점적주입(點滴注入)했다. 5 분, 10 분, 20 분, 30 분, 60 분, 90 분, 120 분, 150 분, 180 분, 240 분, 300 분 및 360 분 후에 혈액 샘플을 취해 원심분리하고, 무손상 엑센딘

-4 분자의 N-말단 및 C-말단 에피토프에 대한 그 후의 면역방사능계측(IRMA) 분석법에 사용하기 위해 혈장을 -20 °C에 저장하였다. 기관내 투여한 지 5 분 이내에, 최고 혈장 농도의 61 내지 74 %가 관찰 되었다. T_{max} 는 투여한 지 20 분과 30 분 사이에 있었다. AUC 및 C_{max} 는 투여량에 비례하였다. 투여량이 2.1 μg (1.5 nmol/kg)일때, 나타나는 혈장 농도는 약 50 pM (사람의 경우에는 이 농도에서 글루코스 저하 효과가 관찰됨)였고, 생체이용률은 7.3 %였다. 변동 계수(coefficient of variation, CV)는 44 %였다. 더 높은 투여량에서 생체이용률은 다소 더 낮고, CV는 더 높았다 (도 7의 A 및 7의 B 참조). 기관 투여 경로에서는 $t_{1/2}$ (혈장의 C_{max} 가 절반 (50 %) 아래로 떨어지는 시간으로 실용적으로 정의됨)이 최저 투여량에서 30 내지 60 분이었고, 두 가지 더 높은 투여량에서는 60 내지 90 분이었다. 요약하면, 엑센딘-4의 생물학적 유효량이 기관을 통해 빠르게 흡수되었고 뚜렷한 호흡곤란은 초래되지 않았다. 호흡곤란은 엑센딘-4의 투여 가능한 경로이다.

폐 투여: 에어로졸화된 엑센딘-4에 노출시킨 래트에서 혈장 엑센딘-4의 농도 증가가 확인되었다. 래트를 대기 1 ml당 약 8 ng의 에어로졸화된 엑센딘-4에 10 분 동안 노출시키면, 처치한 지 5 분 후에 최고 혈장 엑센딘-4 농도가 300 내지 1900 pg/ml인 것으로 나타났다 (도 8 참조). 유사하게 당뇨병 db/db 마우스를 에어로졸화된 엑센딘-4에 노출시키면 1 시간 후에 혈장 글루코스 농도가 33 % 감소하였고, 이때의 평균 혈장 엑센딘-4 농도는 170 ± 67 pg/ml로 검출되었다. 대조군의 당뇨병 db/db 마우스를 에어로졸화된 염수에 노출시켰을 때는 혈장 글루코스에서 아무런 변화가 없음이 기록되었다 (도 9의 A 및 9의 B 참조).

비내 투여: 엑센딘-4를 래트의 비강(鼻腔)에 적용시키면 혈장내 농도가 증가하였다. 2 μl 의 염수에 엑센딘-4를 1 μg 및 100 μg 용해시켜 투여한 지 10 분 후에, 최고값이 각각 300 pg/ml 및 6757 pg/ml인 것으로 검출되었다 (도 10 참조).

장을 경유하게 되는 투여: 수컷 db/db 마우스 (체중은 약 50 g)를 염수 또는 엑센딘-4 (엑센딘-4)를 위내 투여하기 전후로 2 시간 동안 굶겼다. 처치한 지 1 시간 후의 혈장 글루코스 농도는, 1 mg/200 μl /동물로 처치한 경우에는 9 % 감소되었고, 3 mg/200 μl /동물로 처치한 경우에는 15 % 감소되는데 비해 대조군에서는 10 % 증가되었음이 관찰되었다 (도 11 참조).

설하 투여: 당뇨병 db/db 마우스에게 엑센딘-4 (100 μg /5 μl /동물)를 설하 도포하면, 처치한 지 1 시간 후에 혈장 글루코스 농도가 15 % 감소되었다. 염수로 처치한 대조군에서는 30 % 증가되었음이 관찰되었다. 60 분일 때의 평균 혈장 엑센딘-4 농도는 4520 ± 1846 pg/ml이었다 (도 12A, 12B, 및 12C 참조).

메토판으로 잠시 마취시킨 스프라그 돌리 래트 8 마리 (약 300 g)의 허밀에 10 μg /3 μl (n=4) 또는 100 μg /3 μl (n=4)를 포함하는 용액을 파이펫으로 적용하였다. 그 후, 국소 마취된 꼬리에서 혈액 샘플을 모아 IRMA로 엑센딘-4에 대해 분석하였다. 투여한 지 3 분 후부터 혈장내 농도가 증가하기 시작했고, 투여한 지 10 분 및 30 분 후 (각각 투여량이 10 μg 및 100 μg 일 때임)에는 최고치에 다다랐다. 그 후 혈장 엑센딘-4 농도는 5 시간 이상 정량 하한선 (lower limit of quantitation (LLOQ))보다 높게 유지되었다. 각각의 실험이 끝날 때까지의 곡선하면적 (area under the curve, AUC)은 부등사변형 방법으로 계산되었다. 두 개의 숫자가 유도되었는데, 하나는 총 면역반응성에서 유도된 것이고, 다른 하나는 t=0일 때의 0 아닌 (non-zero) 값보다 높은 증가분으로부터 유도된 것이다. 이 값들을 동일한 동물 모델에서 정맥내 볼러스(bolus)를 사용해 얻었던 실제 데이터와 비교하여 각각 생체이용률의 높고 낮은 추정치를 구했다. 투여량 10 μg 의 설하 생체이용률은 3.1-9.6 %였고, 투여량 100 μg 의 설하 생체이용률은 더 낮은 1.3-1.5 %였다. AUC의 변동률은 투여후 처음 1 시간 동안이 가장 높았다 (투여량이 10 μg 및 100 μg 일 때의 CV는 74 % 및 128 %임). 5 시간 동안에 통합한 AUC 변동 계수는 각각 20 % 및 64 %였다. 설하 투여 후, 최고 혈장 농도 (C_{max})에 다다른 시간은 피하 투여 때만큼 빨랐다 (T_{max} 약 30 분). 10 μg 의 엑센딘-4를 설하 투여한 후의 C_{max} 는 정맥내 볼러스 투여 후 C_{max} 의 1.5 %였지만, 피하 볼러스 투여 후 C_{max} 의 14.5 %였다. 100 μg 의 엑센딘-4를 설하 투여한 후의 C_{max} 는 정맥내 볼러스 투여 후 C_{max} 의 0.29 %에 불과했지만, 피하 볼러스 투여 후 C_{max} 의 6.1 %로 관찰되었다 (도 12D 및 12E 참조). 그러므로, 엑센딘-4는 설하 경로를 통해 생물유효 투여량으로 전달될 수 있다. 최저 설하 투여량에서, 생체이용률 및 C_{max} 는 최고였고, T_{max} 는 가장 짧았으며, 이용률의 변동률은 최저였다. 최저 설하 투여량으로 인한 혈장내 농도는 인간에서 글루코스 저하에 효과적이라고 예측되는 농도 (약 50 내지 100 pM)와 유사하였다.

본 발명에 관한 이해를 돕기 위해서, 하기 실시예는 일련의 실험 결과들에 대한 설명을 포함한다. 물론, 본 발명과 관련된 실험들은 본 발명을 구체적으로 제한하는 것으로 간주되어서는 안되며, 지금 알려지거나 후에 개발될 본 발명의 이러한 변형법은 당업자에게 명백할 것이며, 본원에서 설명되고 청구되는 바와 같이 본 발명의 범위내에 있는 것으로 간주된다.

<실시예 1: 엑센딘-3의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser-NH₂ (서열 1)

상기 아미드화된 펩티드는 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc.)을 사용하여 조립했다. 일반적으로는 합성 전과정에 걸쳐 한번의 커플링 주기가 사용되었고 Fast Moc (HBTU 활성화) 화학이 이용되었다. 신장되는 펩티드 사슬은 피페리딘을 사용하여 탈보호 (Fmoc기 제거)시켰다. 완성된 펩티드 수지의 최종 탈보호는 표준 방법 (Introduction to Cleavage Techniques, Applied Biosystems, Inc.)에 따라 트리에틸실란 (0.2 ml), 에탄디티올 (0.2 ml), 아니솔 (0.2 ml), 물 (0.2 ml) 및 트리플루오로아세트산 (15 ml)의 혼합물을 사용하여 수행하였다. 펩티드를 에테르/물 (50 ml) 중에 침전시키고 원심분리하였다. 침전물을 빙초산 중에서 재구성 (reconstitution)하고 동결건조했다. 동결건조된 펩티드를 물에 용해시켰다. 조순도는 약 75 %였다.

실시에 1 및 2의 정제 단계 및 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다.

펩티드를 함유하는 용액을 정제용 C-18 컬럼에 가하여 정제하였다 (40 분에 걸쳐 용매 A 중의 10 % 내지 40 % 용매 B를 사용). 분획들의 순도는 C-18 분석용 컬럼을 사용하여 등용매로 측정하였다. 상기 펩티드를 포함하는 순수한 분획들을 모았다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 19.2 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다.

<실시에 2: 엑센딘-4의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser-NH₂ (서열 2)

상기 아미드화된 펩티드는 실시에 1에 기재한 엑센딘-3의 제조와 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc.)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 36 % 내지 46 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 14.9 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4186.6, 측정값 8186.0 내지 4186.8 (4 개 측정).

<실시에 3: 아메리카 독도마뱀의 순환계에 존재하는 식사 관련 펩티드 엑센딘-4>

이 실험으로 엑센딘-4 자체가 아메리카 독도마뱀에서 대사적인 역할을 하는 지 여부를 조사하였다. 엑센딘-4가 음식물 섭취에 반응하여 아메리카 독도마뱀의 혈액에 나타나는가를 조사하기 위해서, 7 주 동안 굶긴 아메리카 독도마뱀 1 마리에게 작은 래트를 먹이고, 먹기 전과 먹은 지 30 분 후에 혈액 샘플을 취했다. 엑센딘-4의 N-말단 및 C-말단 에피토프에 대한 모노클로날 항체 쌍들을 사용한 면역방사능계측 분석법으로 전장 엑센딘-4에 대해서 혈장을 분석하였다. 공복시에 혈장 엑센딘-4의 농도는 정량 하한선에 가까운 76 pg/ml이었다. 먹이를 먹은 후에는, 이 값이 300 배 증가하여 23,120 pg/ml이었다.

제2의 실험에서, 5 주 동안 굶긴 아메리카 독도마뱀 2 마리에게 1 또는 2 마리의 작은 래트 (47-49 g)를 먹이고, 먹기 전과 먹은 지 30 분 후에 일련의 샘플을 취했다. 먹이를 먹은 직후에, 혈장 엑센딘-4의 농도는 23 배 내지 36 배 증가하였고 (4860 내지 8340 pg/ml), 이는 엑센딘-4가 타액선(唾液腺)에서 혈액으로 바로 분비되었을 때의 농도와 일치한다. 두번째의 래트를 먹은 후 (t=30 분)에는, 한 마리의 아메리카 독도마뱀의 혈장 엑센딘-4의 농도가 27,209 pg/ml로 더욱 증가하

였다. 혈장 엑센딘-4 농도는 감소하며 이때 $t_{1/2}$ 은 각각 5.00 및 5.33 시간이었다. 결론적으로, 아메리카 독도마뱀의 타액선(唾液腺)에서 생성되는 것으로 알려진 엑센딘-4는 아메리카 독도마뱀이 먹이를 먹은 직후에 혈액 중에서 높은 농도로 나타나는 것으로 보인다. 이것은 더이상 먹는 것을 억제하고 영양분 저장을 촉진하는 식사 관련 신호일 수 있다.

<실시예 4: 당뇨병 지방 당질 래트에서 엑센딘-4에 의한, 과혈당 클램프 동안의 글루카곤 분비 감소>

절대적 또는 상대적 글루카곤과잉혈증은 종종 제1형 및 제2형 진성당뇨병의 특징이며, 과도한 글루카곤 분비 억제는 글루카곤 억제제 (glucagonostatic agent)를 사용하는 요법에 잠재적으로 유익하다. 이 실시예에서는, 마취된 당뇨병 지방 당질 (ZDF) 래트 수컷에서 엑센딘-4가 글루카곤 분비에 미치는 영향을 조사하였다. 인슐린과잉 과혈당 클램프 프로토콜을 사용하여 글루카곤 분비에 영향을 줄 수 있는 인자들을 일정하게 유지시켰다. 염수 (n=7) 또는 엑센딘-4 ($0.21 \mu\text{g} + 2.1 \mu\text{g/ml/시간}$, n=7)의 정맥내 주입을 시작하기 60 분 전에 클램프한 혈장 글루코스는 약 34 mM였다. 주입 전에 측정된 혈장 글루카곤 농도는 두 개의 군 모두에서 유사했다 (각각 $306 \pm 30 \text{ pM}$ 및 $252 \pm 32 \text{ pM}$, 도시하지 않음).

클램프의 최종 60 분 동안, 엑센딘-4를 주입한 래트의 평균 혈장 글루카곤 농도는 염수를 주입한 래트의 평균 혈장 글루카곤 농도의 거의 절반이었다 (각각 $165 \pm 18 \text{ pM}$ 및 $298 \pm 26 \text{ pM}$, $P < 0.002$). 과혈당 클램프 프로토콜은 또한 인슐린 감수성의 측정도 가능하게 했다. 클램프 동안의 글루코스 주입 속도는 대조군 래트에 비해 엑센딘-4를 처치한 래트에서 $111 \pm 7 \%$ 증가했다 ($P < 0.001$). 즉, 엑센딘-4는 과혈당 클램프 연구 동안 ZDF 래트에서 글루카곤 억제 효과 (glucagonostatic effect)를 보였고, 이러한 효과는 당뇨병을 앓는 인간의 치료에 유익할 것이다.

<실시예 5: 래트에게 엑센딘-4를 정맥내, 피하 및 복강내 투여한 후, 엑센딘-4의 약력학>

이 실시예는 래트 (각각 약 350 g 체중)에게 정맥내 볼러스, 피하 투여 및 복강내 투여 ($2.1, 21, 210 \mu\text{g/래트}$), 및 정맥내 주입 ($2.1, 21, 210 \mu\text{g/시간/래트}$, 3 시간) 후에 래트에서의 혈장 엑센딘-4의 약력학을 규정하는 작업을 설명한다. 검증된 면역방사능계측 분석법 (IRMA)을 사용하여 일련의 혈장 샘플 (약 $120 \mu\text{l}$)를 분석했다. 이러한 샌드위치 형태의 분석법에서는 엑센딘-4와 반응하지만 GLP-1, 또는 엑센딘-4 또는 GLP-1의 시험된 대사물질과는 반응하지 않는, 마우스에서 유도한 모노클로날 항체를 사용한다. 정량 하한선은 15 pM (63 pg/ml)이었다. 엑센딘-4에 대해 추정된 $t_{1/2}$ 는 정맥내 볼러스의 경우에는 18-41 분, 정맥내 연속 투여의 경우에는 28-49 분, 피하 투여의 경우에는 90-216 분, 및 복강내 주사의 경우에는 125-174 분이었다. 피하 투여 및 복강내 주사의 경우, 생체이용률은 65-76 %였다. 정맥내 주입으로부터 측정된 제거율은 4-8 ml/분이었다. 각각의 투여 경로에서 C_{max} 및 AUC는 모두 투여량에 비례하였다. 분포 부피는 457-867 ml이었다. 제거율 및 생체이용률은 투여량 의존적이지 아니었다. C_{max} (또는 정상 상태의 혈장 농도, C_{ss})를 하기의 표에 나타내었다.

C_{max} 또는 C_{ss} (nM)				
경로	정맥내 볼러스	정맥내 주입	피하	복강내
투여량				
$2.1 \mu\text{g}$	2.9 ± 0.4	1.1 ± 0.1	0.56 ± 0.12	0.26 ± 0.04
$21 \mu\text{g}$	70 ± 3	19 ± 1.9	4.1 ± 1.5	3.9 ± 1
$210 \mu\text{g}$	645 ± 12	262 ± 60	28 ± 4	35 ± 6

<실시예 6: 래트에서 정맥내 글루코스 투여 동안 엑센딘-4 및 글루카곤 유사 펩티드-1 (GLP-1)의 인슐린항성 작용 비교>

이 실험은 래트에게 정맥내 글루코스를 투여 (challenge)한 후, 합성 엑센딘-4와 GLP-1의 생체내 인슐린항성 작용을 비교한다. 스프라그 돌리 래트 (약 400 g)을 할로탄으로 마취시키고 대퇴동맥과 복재정맥(伏在靜脈)을 통해 캐놀라를 삽입하였다. 90 분간의 회복 기간이 지난 후에, 염수 또는 펩티드 (각각 30 pmol/kg/분)를 정맥내 투여하였다 (1 ml/시간 의 속도로 2 시간 동안, 각 군당 n=4-5). 주입하기 시작한 지 30 분 후에, D-글루코스 (5.7 mmol/kg , 0.8 ml)를 정맥내 주사하였다. 염수로 처치한 래트, 엑센딘-4로 처치한 래트, 및 GLP-1로 처치한 래트에서, 혈장 글루코스 농도는 주사 전에도 유사했고 ($9.3 \pm 0.3, 9.7 \pm 0.3, 10.3 \pm 0.4 \text{ mM}$), 글루코스 주사 후에도 비슷하게 증가하여 ($21.7, 21.3, 23.7 \text{ mM}$), 결국 60 분 글루코스 AUC도 유사했다 (각각 $987 \pm 39, 907 \pm 30, 1096 \pm 68 \text{ mM}\cdot\text{분}$). 즉, 혈당 자극은 각각의 처치 군에서 유사했다. 염수로 처치한 래트에 글루코스를 투여하면, 혈장 인슐린 농도가 3.3 배 증가하였다 (230 ± 53 내지 최고 $765 \pm 188 \text{ pM}$). 엑센딘-4를 주입하면, 혈장 인슐린 농도가 6.8 배 증가하였다 (363 ± 60 내지 $2486 \pm 365 \text{ pM}$). GLP-1을 주입하면, 혈장 인슐린 농도가 2.9 배 증가하였으며 (391 ± 27 내지 $1145 \pm 169 \text{ pM}$), 이는 염수로 처치한 래트에서 얻어진

혈장 인슐린 농도와 유사했다. 60 분 동안의 인슐린 AUC는 염수로 처치한 래트에서 24 ± 6 nM·분이었고, 엑센딘으로 처치한 래트에서는 2.8 배 증가하였으며 (67 ± 8 nM·분, 염수 처치한 경우에 비하면 $P < 0.003$, GLP-1 처치한 경우에 비하면 $P < 0.02$), GLP-1로 처치한 래트에서는 20 % 증가하였다 (염수로 처치한 경우에 비한 값은 나타내지 않음). 또한, 엑센딘-4에 의한, 글루코스로 자극된 인슐린 방출의 증폭도 3 및 300 pmol/kg/분의 주입 속도에서 시험되었고, 투여량 의존적인 것으로 나타났다. 그러므로, 무손상 래트에서 엑센딘-4가 GLP-1보다 더 강력하고(거나) 더 효과적으로 글루코스로 자극된 인슐린 방출을 증폭시킨다.

<실시예 7: 혈장중의 엑센딘-4 정량화, 및 임상 평가전의 독성 및 제1상 임상 평가에 이를 적용하기 위한 면역방사능계측 분석법 (IRMA)의 개발 및 검증>

혈장 엑센딘-4 농도를 정량하기 위해 합성 엑센딘-4를 면역원으로 사용하는 민감하고 특이적인 샌드위치 형태의 면역방사능계측 (IRMA) 분석법을 개발하였다. 마우스에서 유도된 하나의 모노클로날 항체는 엑센딘-4의 C-말단 에피토프를 인식 (포획(捕獲) (capture) 항체)하지만, GLP-1과 교차반응하지는 않는다. 두번째 항체 (125 I로 표지된 검출 항체)는 엑센딘-4 및 GLP-1 상의 N-말단 에피토프를 인식하며, 결합하기 위해서는 말단 히스티딘이 필요하다. 그러므로, 분석법은 전체적으로 GLP-1(7-36)NH₂, GLP-1(7-36)COOH 또는 엑센딘(3-39)를 검출하지 못한다. 래트, 원숭이, 개, 토끼 및 인간 혈장에서의 분석법 검증은 분석간 및 분석내 변동 계수가 각각 $< 20\%$ 및 $< 10\%$ 이며, 표적을 저 (low), 중 (mid), 및 고 (high)로 조절하였을 때의 정확성은 $\pm 15\%$ 이며, 정량의 하한선과 상한선은 각각 62.8 및 2512 pg/ml임을 나타내었다. 래트 및 원숭이, 및 정상적인 피험자에서의 제1상 임상 연구에서 28 일 동안 엑센딘-4의 피하 독성을 평가한 혈장 샘플을 IRMA를 사용하여 평가하였다. 동물 연구에서의 C_{max} 값은 하기 표에 나타나 있다. 인간에게 0.05, 0.1, 0.2 및 0.3 μ g/kg 을 피하 투여하여 얻은 샘플에서 산출된 C_{max} 값은 90, 224, 370 및 587 pg/ml이었다.

C _{max} (pg/ml)			
투여량 (μ g/kg)	10	100	1,000
래트	7,000	127,000	1,180,000
원숭이	20,000	170,000	1,890,000

<실시예 8: GLP-1 및 엑센딘-4의 GLP-1 수용체와의 결합/활성화 및 글루코스 저하 효과의 비교>

엑센딘-4를 고상 펩티드 합성 기술로 합성하였고, 이를 GLP-1 수용체와의 시험관 내 결합 및 활성화, 및 당뇨성 db/db 마우스에서 생체내 혈장 글루코스를 저하시키는 측면에서 합성 GLP-1과 비교하였다. GLP-1 수용체를 발현하는, 래트의 인슐린종 세포주 (RINm5f)의 혈장 막 정제물에서 상기 펩티드들의 이에 대한 결합력을 분석하였고, 방사선표지된 GLP-1로 대체하여 cAMP의 생성 자극력을 분석하였다. 결합 역가의 상대적인 순서는 GLP-1 > 엑센딘-4인 것으로 확인되었다. 시클라제 활성화의 상대적인 순서는 GLP-1 = 엑센딘-4였다. 하기의 표에 나타난 바와 같이, 친화성은 4 내지 5 배 범위에서 차이가 난다. 반대로, 생체내 글루코스 저하 역가는 3430 배 범위에 걸쳐 차이가 났다. 엑센딘-4가 GLP-1보다 3430 배 더 강력했다. 엑센딘-4의 생체내 역가는 GLP-1 수용체에서 역가와 매치되지 않아, 응집 특성이 너무 클 수 있다.

	결합 IC50 (nM)	시클라제 EC50 (nM)	글루코스 저하 ED50 (μ g)
GLP-1	0.15	0.28	20.6
엑센딘-4	0.66	0.30	0.006

<실시예 9: 짝을 지어 먹인 (pair-fed) ZDF 래트 및 엑센딘-4로 처치한 ZDF 래트에서 혈당 지수 및 인슐린 감수성의 비교>

이 실시예는 ZDF 래트에서 엑센딘-4의 유익한 효과가 음식물 섭취 변화에 종속적인가 여부를 시험한다. 엑센딘-4를 사용해 얻어진 효과를 염수 처치한, 짝을 이루는 동물 (10 μ g의 엑센딘-4가 하루에 2 번씩 피하주사된 ZDF 래트가 먹는 음식물의 양과 동일하게 먹임)에서 관찰된 효과와 비교한다. 혈장 글루코스 및 HbA1c를 6 주 동안 매주 측정하였다. 마지막으로 처치한 지 하루 뒤에, 동물들을 할로탄으로 마취시키고, 인슐린과잉 (50 mU/kg/분) 정상혈당 클램프하였다. 6 주에 걸친 HbA1c의 변화량은 처치 군마다 달라서 ($P < 0.001$ ANOVA), 마음껏 먹이를 먹은 래트 (n=5) 및 짝을 지어 먹인 래트 (n=5)의 경우에는 증가하였지만, 엑센딘-4로 처치한 래트 (n=5)의 경우에는 감소하였다. 유사하게, 혈장 글루코스의 변화량도 처치 군마다 달라서 ($P < 0.002$ ANOVA), 마음껏 먹이를 먹은 ZDF 래트 및 짝을 지어 먹인 ZDF 래트의 경우에는 증가하였지만, 엑센딘-4로 처치한 ZDF 래트의 경우에는 감소하였다. 3 시간 동안의 클램프 프로토콜 중에서 마지막 한 시간 동안에는, 엑센딘-4로 처치한 래트에게 글루코스를 주입하는 속도가 짝을 지어 먹인 대조구 (+ 105 %) 및 마음껏 먹이를

먹은 대조구 (+ 20 %) 각각에서보다 빨라졌다 (10.14 ± 1.43 mg/kg/분 ($n=5$), 8.46 ± 0.87 mg/kg/분 ($n=4$), 4.93 ± 2.02 mg/kg/분 ($n=3$), 도시하지 않음, $P=0.09$ ANOVA). 인슐린 감수성의 또다른 지수인 혈장 락트산염 농도도 처치 군마다 현저하게 달라서 ($P < 0.02$ ANOVA), 엑센딘-4로 처치한 래트의 경우에 가장 낮았다. 그러므로 엑센딘-4의 처치는 혈당 지수 및 인슐린 감수성의 개선과 관련이 있으며, 이는 부분적으로는 (전체적으로가 아님) 동일한 양의 먹이를 먹은 대조구와 매치된다. 이는 ZDF 래트에서 엑센딘-4를 사용하는 경우의 대사 조절 개선은 적어도 부분적으로는 열량 제한에 관한 메카니즘 때문임을 나타낸다.

<실시예 10: 밤새 굶은 건강한 지원자들에서 피하의 합성 엑센딘-4에 의한 내인성 인슐린 분비의 자극 및 임상 연구>

건강한 남성 지원자들에게 피하 주사용으로 제제화된 엑센딘-4인 합성 엑센딘-4의 안전성, 허용가능성, 및 약력학을 시험하기 위한, 단일 투여량을 점진적으로 증가시킨 이중 맹검 위약-대조군 임상 시도를 수행하여 혈장 글루코스 및 인슐린 농도에 미치는 영향을 평가하였다. 공복 상태의 건강한 남성 지원자 40 명에게 엑센딘-4의 5 가지 단일 피하 투여량 (0.01, 0.05, 0.1, 0.2 또는 0.3 μ g/kg)을 연구하였다. 투여 후 1 시간과 2 시간 사이에 엑센딘-4의 최고 혈장 농도가 달성되었고, 이는 시험된 투여량마다 거의 차이가 없었다. 데이터를 검토하여 C_{max} 가 투여량 의존적으로 증가함을 알아내었다. 이 연구에서 심각한 부작용은 전혀 보고되지 않았고, 이 연구에 참여한 건강한 남성 지원자들에게 엑센딘-4가 0.1 μ g/kg 이하로 포함된 피하 투여량은 잘 허용되었다. 또한, 이 투여량에서는 혈장 글루코스 농도의 감소가 관찰되었다. 0.2 μ g/kg 이상의 투여량에서 가장 공통적으로 관찰되는 부작용은 두통, 구역(嘔逆), 구토(嘔吐), 현기(眩氣), 및 체위성저혈압증(體位性低血壓症)이었다. 0.05 μ g/kg 이상의 투여량을 투여한 후에는 혈장 글루코스 농도의 일시적 감소가 있었다.

18 내지 40 살의 40 명의 건강하지만 야윈 (평균 BMI (\pm SE) 22.7 ± 1.2) 피험자들을 랜덤하게 5 개의 군으로 나누었다. 8 명으로 구성된 각 군에서, 6 명에게는 엑센딘-4를 할당하였고, 2 명에게는 위약 (PBO)을 할당하였다. 피험자들을 밤새 굶긴 다음, 엑센딘-4 (0.01, 0.05, 0.1, 0.2 또는 0.3 μ g/kg) 또는 위약을 투여하고, 이의 안전성과 허용가능성 및 혈장 엑센딘-4, 글루코스 및 인슐린 농도를 모니터링하였다. 안전성의 문제는 전혀 없었다. 0.1 μ g/kg 이하의 투여량은 PBO에서 만큼 잘 허용되었으나 0.2 및 0.3 μ g/kg의 투여량에서는 구역(嘔逆) 및 구토(嘔吐)가 투여량 의존적으로 유발되었다. 엑센딘-4의 최고 혈장 농도는 투여량 의존적으로 증가하여 0.1 μ g/kg을 투여한 후에는 엑센딘-4의 면역반응성이 360 분 동안 지속되었다. 혈장 글루코스는 0.01 μ g/kg를 제외한 모든 투여량에서 감소하여 30 분 후에는 최하점에 다다랐다가 180 분 내에 기준선으로 돌아왔다. 0.3 μ g/kg을 투여받은 피험자들은 투여한 지 30 분 후에 열량 음료를 마셨기 때문에 이러한 데이터를 비교할 수 없었다. 혈장 글루코스에서의 평균 변화량 (0-180 분)은 PBO, 0.01, 0.05, 0.1, 및 0.2 μ g/kg 각각에 대해서 0.03 ± 0.07 , -0.07 ± 0.08 , -0.38 ± 0.14 , -0.85 ± 0.13 및 -0.83 ± 0.23 mmol/L였고, PBO의 경우에 비하면 $P \leq 0.02$ 였다. 기록된 최하 혈장 글루코스는 3.4 mmol/L였다. 이에 상응하는, 혈장 인슐린에서의 평균 변화량 (0-120 분)은 0.43 ± 0.59 , 2.37 ± 0.58 , 2.28 ± 0.66 , 4.91 ± 1.23 및 14.00 ± 3.34 uU/ml이었고, 0.1 및 0.2 μ g/kg 군에서 PBO의 경우에 비하면 $P \leq 0.01$ 이었다. 그러므로, 밤새 굶긴 건강한 지원자들에게 엑센딘-4를 피하 주사하면 (1) 안정성의 문제점은 전혀 없고, (2) 0.1 μ g/kg 이하의 투여량에서는 잘 허용되며, (3) 최대 6 시간 동안 혈장 엑센딘-4의 면역반응성이 유지되고, (4) 투여량 의존적인 방식으로 혈장 인슐린을 증가시키고, 혈장 글루코스를 저하시키며, 저혈당증을 유도하지 않았다.

<실시예 11: 설치류에서 엑센딘-4의 다른 전달법의 효율성>

이 실시예는 주사가 아닌 다른 수단에 의한 엑센딘-4의 전달을 시험하고, 생물학적 효과를 발휘하는 충분한 양에서 점막 표면에 대한 횡단력을 조사하였다. 합성 엑센딘-4를 다른 투여량으로 포함하고 있는 염수 용액을 기관을 통해, 에어로졸 분무 (폐)를 통해, 가바즈 (경구)를 통해, 및 혀 밑 (설하)을 통해 투여한 db/db 마우스에서 혈장 글루코스 및 무손상의 합성 엑센딘-4의 농도가 변함이 관찰되었다 (2 부위 면역방사능측 분석법). 래트에서는 상기와 동일한 투여 경로뿐 아니라 십이지장내 및 비대를 통해서도 시험하였고, 예를 들면, 설하 및 기관내 경로에 대해서 생체이용률을 계산하였다. 마우스에서 상기 경로 각각을 통해서 투여된 엑센딘-4는 투여한 지 1 내지 4 시간 후에 현저한 글루코스 저하 활성을 나타내었다 (db/db 마우스의 기관내 투여 $P < 0.02$, ob/ob 마우스의 기관내 투여 $P < 0.0002$, db/db 마우스의 에어로졸 투여 $P < 0.0001$, 가바즈 투여 $P < 0.002$, 설하 투여 $P < 0.02$). 혈장 엑센딘-4 농도에서의 투여량 의존적 증가는 최고 777 ± 365 pg/ml (db/db 마우스의 기관내 투여), 170 ± 67 pg/ml (db/db 마우스의 에어로졸 투여), 4520 ± 1846 pg/ml (db/db 마우스의 설하 투여)였다. 유사하게, 래트에서의 엑센딘-4 농도는 최고 $68,682 \pm 38,661$ pg/ml (기관내), 1900 pg/ml (폐), 6757 pg/ml (비대), $3,862 \pm 2,844$ pg/ml (설하)였지만, 십이지장내로 전달된 경우에는 명백한 흡수 또는 생물학적 활성은 전혀 없었다. 기관을 통해 전달될 때, 염수 중의 엑센딘-4의 생체이용률은 더 낮은 투여량에서 약 7.3 %였고, 이 경우, 5 분 이내에 C_{max} 의 61-74 %가 관찰되었다. 그 후의 역학은 피하 투여 후에 관찰되는 것과 유사하였다. 혀 밑에 전달된 염수 중의 엑센딘-4의 생체이용률은 더 낮은 투여량에서 3.1-9.6 %였다. 이러한 연구는 편리한 비주사 경로를 통해 생물학적 유효량의 엑센딘-4 및 그의 펩티드 아고니스트 유사체의 전달을 지지한다.

<실시예 12: 제2형 진성당뇨병 환자들에게 피하 주사로 투여된 투여량 범위 내의 합성 엑센딘-4가 대사에 미치는 영향에 관한, 단일 맹검 위약 대조군 연구>

이 실시예는 제2형 진성당뇨병을 앓는 환자들에게 피하 경로로 투여된 투여량 범위 내의 합성 엑센딘-4가 대사에 미치는 영향을 조사한, 2 부 단일 맹검 위약 대조군 연구 결과를 설명한다. 이 연구에 참여한 환자들은 제2형 진성당뇨병을 앓는 것으로 진단되어 식사 및(또는) 경구용 혈당저하제 (OHA)로 조절 중인 사람들이었으며 방문 스크리닝 (screening visit) 시의 HbA_{1C} 농도가 7.0 % 이상 12.0 % 이하였다.

연구는 방문 스크리닝으로 시작하였고, 그 후 OHA를 복용한 환자들에게 이 의약 복용을 중단하고 약 14 일 후, OHA의 효과가 사라지면 다시 진료소로 돌아올 것을 지시하였다. 제1부에 참여하는 환자들은 첫 투여 전 정오에 진료소에 도착하였고, 스케줄에 따라 3 또는 4 일간의 투여가 시작되었다. 각각의 투여는 24 시간씩 간격을 두도록 스케줄화되었다.

동의를 받고 스크리닝한 후에, 환자들을 합성 엑센딘-4 또는 위약 투여로 랜덤하게 할당하였다. 이 연구의 앞부분에서는, 6 명의 환자를 3 내지 4 일 동안 환자용 임상 연구실 (in-patient clinical research unit)에 격리시키고, 4 가지 처치 순서 중 하나를 할당하여 다음의 각각을 투여받게 했다: 위약, 또는 0.1 또는 0.01, 또는 가능하다면 0.001 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 합성 엑센딘-4. 환자들을 밤새 굶긴 다음에 상기 양을 투여하였다. 상기 연구 의약을 주사한 지 15 분 후에 표준화 액체 식사가 주어졌다. 하기의 표는 제1부의 투여 스케줄을 나타낸다.

	제1일	제2일	제3일	제4일*
환자 1	위약	0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.001 $\mu\text{g}/\text{kg}$
환자 2	위약	0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.001 $\mu\text{g}/\text{kg}$
환자 3	0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	위약	0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.001 $\mu\text{g}/\text{kg}$
환자 4	0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	위약	0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.001 $\mu\text{g}/\text{kg}$
환자 5	0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$	위약	0.001 $\mu\text{g}/\text{kg}$
환자 6	0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$	위약	0.001 $\mu\text{g}/\text{kg}$
*는 제3일에 글루코스에 미치는 효과가 관찰된 경우에만 실시될 것임				

제1부가 끝난 지 약 3 일 후에 실시된 제2부 연구에서도, 8 명의 환자를 4 일 동안 환자용 임상 연구실에 격리시켰다. 이 환자들은 제1부에 참여한 환자들과는 다른 사람들이었다. 제2부 동안 수행된 연구 방법 및 스케줄은 제1부와 일치했다. 제1부에서 글루코스에 미치는 효과를 분석한 후에, 투여량을 결정하였다.

제1부에서, 0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로는 현저한 효과가 전혀 없었기 때문에, 제2부에서는 다음의 스케줄에 따라 투여하였다.

	제1일	제2일	제3일	제4일
군 A	위약	0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$
군 B	0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	위약	0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$
군 C	0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$	위약	0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$
군 D	0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$	위약

제1부의 데이터를 검토한 후, 동일한 방식으로 제2부에 참여한 환자들에게 투여를 시작하였다. 모든 환자들은 안전성 재평가를 위해서 환자실에서 나온 지 4 내지 6 일 후에 진료소에 돌아왔다.

이 연구에 사용된 합성 엑센딘-4는 맑고 무색인 피하 주사용 멸균 용액이며 아세트산나트륨 완충제 (pH 4.5) 중에서 제제화되고, 등삼투몰농도 조절제로 4.3 % 만니톨을 포함하는 것이었다. 합성 엑센딘-4의 주사 농도는 0.1 mg/ml이었다. 용액 1 ml은 고무 마개가 있는 3 ml 바이알에 담겨 제공되었다. 위약 용액은 약물 물질인 합성 엑센딘-4 없이, 동일한 멸균 제제로 제조되었다.

연구 결과는 도 16 및 17에 나타나있다. 이는 엑센딘-4의 여러가지 다른 투여량 (0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 및 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$)이 제2형 당뇨병 환자들에서 혈중 글루코스 저하능이 있음을 나타낸다.

<실시예 13>

이 실시예는 당뇨병 지방 당질 래트에서 엑센딘-4 및 그의 아고니스트에 의한 인슐린 감수성화 효과의 투여량-반응 측정 실험을 설명한다. 이 연구에 사용된 엑센딘-4는 바켄 (Bachem) (미국 캘리포니아주 토란스, 카탈로그번호 H8730, 제품번호 506189), 아메리칸 펩티드 (American Peptide) (미국 캘리포니아주 선니발, 카탈로그번호 301577, 제품번호 K1005ITI) 및 사내(社内) 고상 합성법 (제품번호 AR1374-11; 펩티드 함량 93.3 %)으로부터 얻었다. 39 마리의 수컷 당뇨병 지방 당질 래트 (ZDF)/GmiTM-(fa/fa) (생후 116 ± 20 일, 체중 441 ± 39 g)를 다음의 5 개의 처치 군에 할당하였다: 염수만 주사하는 군 (n=9), 0.1, 1, 10 또는 100 µg의 엑센딘-4를 주사하는 군 (각각 n=9, 10, 6, 5). 이 중에서 35 마리의 래트를 인슐린과잉 정상혈당 클램프 연구에 사용하였다 (각각 n=9, 7, 9, 5, 5). 헤모글로빈 A_{1C}의 분석 (DCA2000 라텍스 면역응집 억제, Bayer Diagnostics 제품, 미국 뉴욕주 테리타운)을 위해서 처치 전 래트를 의식이 있는 채로 밤새 굶긴 때와 처치 중에 5 주 동안 1 주일 간격으로 래트의 국소 마취된 꼬리 끝에서 혈액 샘플을 취하였다 (20 % 국소 벤조카인 용액의 허리케인 (Hurricane) 브랜드, Beutlich 제품, 미국 일리노이주 와우케간). 체중은 매일 측정하였다.

6 주 동안의 처치 후, 마지막 엑센딘-4 (또는 염수)를 투여한 지 약 16 시간이 지난 후, 및 밤새 굶긴 후, 래트를 할로탄으로 마취시켜 인슐린과잉 정상혈당 클램프를 수행하였다 (DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R; Glucose clamp technique; a method for quantifying insulin secretion and resistance. Amer J Physiol 237:E214-23, 1979). 래트를 체온조절하고 기관절개하여 복재정맥(伏在靜脈)을 통해 카테터를 삽입하여 20 % D-글루코스 및 인슐린을 주입하였고, 대퇴동맥을 통해 카테터를 삽입하여 혈액 샘플을 취하고 혈압을 모니터링하였다 (P23XL 변환기, Spectramed 제품, 미국 캘리포니아주 옥스나르드; 만능 증폭기, Gould 제품, 미국 오하이오주 벨리 뷰; A/D 전환기, DataTlanslation 제품, 미국 델라웨어주 윌밍톤). t=-30 분에 인슐린 (휴물린-R, Eli Lilly 제품, 미국 인디애나주 인디애나폴리스)을 50 mU/kg/분으로 주입하기 시작하여 t= + 180 분까지 계속하였다. 글루코스를 다양한 속도로 주입하여 정상혈당을 유지하도록 하였고, 5 분 간격으로 샘플을 취해 글루코스를 측정하고 분석하였다 (고정화 글루코스 옥시다제 방법; YSI 2300-스태트 애널라이저, 미국 오하이오주 옐로 스프링스). 클램프 동안의 평균 혈장 글루코스는 103.9 mg/dL (평균 변동 계수는 5.8 %였음)였다. 글루코스 주입 속도 데이터를 반응이 정상 상태에 도달해 있던 t=60-80 분에서 얻어 분석하였다. 또한, 글루코스 분석기에 장착되어 있는 고정화 락트산 옥시다제 센서에서 얻어진 혈장 락트산 데이터를 모았다.

월요일부터 금요일까지는 오전 8시 즈음과 오후 4시 즈음에, 토요일과 일요일에는 오전 10시 즈음에 복강내 주사하였다.

중요도로 P<0.05를 사용하는 스튜던트 t-검정 루틴 (인스태트 v3.0, 그래프패드 소프트웨어, 미국 캘리포니아주 샌디에고)으로 쌍별 (pairwise) 통계 분석을 수행하였다. 투여량-반응 분석은 4-파라미터 로지스틱 회귀 (回歸)를 사용하였고, 일반적인 효과는 일방 ANOVA (프리즘 v3.0, 그래프패드 소프트웨어, 미국 캘리포니아주 샌디에고)를 써서 시험하였다.

당뇨성 지방 당질 래트에게 6 주 동안 다른 투여량의 엑센딘-4를 처치하면, 투여량 의존적으로 음식물 섭취 감소 (ED50 0.14 µg ± 0.15 로그, 도 13A 참조), 및 최고 27 ± 2 g의 체중 감소 (ED50 0.42 µg ± 0.15 로그, 도 13B 참조)가 있었으며, 이는 염수를 주사한 대조구에 비해 체중이 5.6 ± 0.5 % 감소했음을 나타낸다.

처음에는 헤모글로빈 A_{1C}가 모든 군에서 증가했기 때문에 상기 군의 래트에게 당뇨과정이 진행되는 것이라 여겨졌다. 그럼에도 불구하고 엑센딘-4를 주사하면 투여량 의존적으로 헤모글로빈 A_{1C}의 이러한 증가를 정지시키고 감소시키는 것으로 보였다 (도 13 C 참조). 처치의 마지막 2 주 동안 측정된, 헤모글로빈 A_{1C}에 미치는 엑센딘-4의 투여량-반응 효과는 일반적으로 현저했고 (P=0.05 ANOVA), 특히 투여량이 1 µg과 100 µg일 때 현저했다 (각각 P<0.005, P<0.02). 처치의 마지막 2 주 동안에는 공복시 혈장 트리글리세리드와 관련된 유사한 양상이 관찰되어, 혈장 농도는 모든 투여량에서 51 %와 65 % 사이 만큼 현저하게 감소하였다 (P<0.002 ANOVA).

39 마리의 래트 중에서 35 마리는 마지막 처치한 지 약 16 시간이 지난 후에 인슐린과잉 정상혈당 클램프로 진행된 연구에 사용되었다. 초기의 공복 상태에서의 혈장 글루코스 농도는 엑센딘으로 처치한 래트에서보다 염수로 처치한 래트의 경우가 더 높았고 (489 ± 28 mg/dL), 인슐린을 주입함에 따라 감소하여 그 후에는 혈장 글루코스 농도가 유사하게 클램프되었다 (60-180 분일때, 105.6 mg/dL, 평균 변동 계수 4.6 %, 도 14A 참조). 정상혈당 유지에 필요한 글루코스 주입 속도는 엑센딘-4 처치 전에 투여량 의존적으로 증가했다 (ED50 1.0 µg ± 0.41 로그, 도 14B 참조). 엑센딘-4 처치는 염수를 처치한 대조구에 비해 글루코스 주입 속도를 최고 48 %까지 증가시켰다.

클램프 방법 전 및 클램프 방법 동안의 혈장 락트산염 농도는 엑센딘-4를 처치하기 전에 투여량 의존적으로 감소하였다 (ED50 4 µg ± 0.25 로그, 도 14C 참조). 이 효과는 클램프하는 60 분과 180 분 사이에 평균 혈장 락트산염 농도가 최고

42 % 감소했음을 나타내는데, 이는 주로 클램프 전 (기준) 락트산염 농도의 감소에 기인하는 것으로 보이며, 인슐린과잉증 동안의 혈장 락트산염의 증가분은 모든 처치 군에서 유사했다. 클램프 방법 전 또는 및 클램프 방법 동안 측정된 평균 동맥 압은 처치와 관련된 어떤 변화도 없었다.

엑센딘-4의 만성 투여 후에 인슐린 감수성이 약 50 % 증가함이 관찰된 것은 엑센딘-4가 시험관내 인슐린 감수성 조직에 급성 효과를 전혀 주지 못한다는 관찰 (즉, 방사선표지된 글루코스의 글리코겐 (분리된 가자미근 (soleus muscle)에서) 또는 지질 (분리된 지방세포에서)로의 기준 또는 인슐린 자극된 혼입량에 아무 영향을 주지 않음; Pittner et al., 비출간)이 있었던 것으로 볼 때, 중요하고도 놀라운 것이었다. 인슐린 감수성의 증가가 부분적으로는 혈당 조절을 개선하고, 글루코스의 독성을 감소시킬 수 있다는 가능성이 묵과될 수는 없지만, 인슐린 감수성화로 분류되지 않는 각종 항당뇨성 요법에 의한 인슐린 감수성 증가는 변동이 매우 심하며, GLP-1을 사용한 급성 처치는 인간에서 인슐린 감수성을 즉시 변화시키는 것이 아님이 보고된 바 있다 (Orskov L, Holst JJ, Moller J, Orskov C, Moller N, Alberti KG, Schmitz O: GLP-1 does not acutely affect insulin sensitivity in healthy man. *Diabetologia* 39:1227-32, 1996; Ahren B, Larsson B, Holst JJ: Effects of glucagon-like peptide-1 on islet function and insulin sensitivity in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 82:473-8, 1997; UK Prospective Diabetes Study Group: Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 352: 837-53, 1998). 그러므로 엑센딘-4의 만성 투여는 티아졸리딘디온 및 메트포르민 등과 같은 인슐린 감수성화 약물의 사용을 포함하는, 다른 요법들의 경우 관찰된 것 이상으로 인슐린 감수성의 증가를 수반하는 것으로 보인다.

<실시예 14: 서열 9를 갖는 아미드화된 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc.)을 사용하여 조립하였다. 일반적으로는 합성 전과정에 걸쳐 한번의 커플링 주기가 사용되었고 Fast Moc (HBTU 활성화) 화학이 이용되었다. 그러나, 몇몇 위치에서는 커플링이 기대치보다 덜 효과적이어서 이중 커플링이 필요했다. 특히 잔기 Asp₉, Thr₇ 및 Phe₆ 모두에게 이중 커플링이 필요했다. 피페리딘을 사용한, 신장되는 펩티드 사슬의 탈보호 (Fmoc기 제거)가 언제나 효과적인 것은 아니었다. Arg₂₀, Val₁₉ 및 Leu₁₄ 위치에서는 이중 탈보호가 필요했다. 완성된 펩티드 수지의 최종 탈보호는 표준 방법 (Introduction to Cleavage Techniques, Applied Biosystems, Inc.)에 따라 트리에틸실란 (0.2 ml), 에탄디티올 (0.2 ml), 아니솔 (0.2 ml), 물 (0.2 ml) 및 트리플루오로아세트산 (15 ml)의 혼합물을 사용하여 수행하였다. 펩티드를 에테르/물 (50 ml) 중에 침전시키고 원심분리하였다. 침전물을 빙초산 중에서 재구성하고 동결건조했다. 동결건조된 펩티드를 물에 용해시켰다. 조순도는 약 55 %였다.

정제 단계 및 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다.

펩티드를 포함하는 용액을 정제용 C-18 컬럼에 가하여 정제하였다 (40 분에 걸쳐 용매 A 중의 10 % 내지 40 % 용매 B를 사용). 분획들의 순도는 C-18 분석용 컬럼을 사용하여 등용매로 측정하였다. 상기 펩티드를 포함하는 순수한 분획들을 모았다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 14.5 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4131.7, 측정값 4129.3.

<실시예 15: 서열 10을 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc.)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 25 % 내지 75 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 21.5 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4168.6, 측정값 4171.2.

<실시예 16: 서열 11을 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc.)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 %

TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 17.9 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4147.6, 측정값 4150.2.

<실시예 17: 서열 12를 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc.)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 35 % 내지 65 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 19.7 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4212.6, 측정값 4213.2.

<실시예 18: 서열 13을 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc.)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 50 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 16.3 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4262.7, 측정값 4262.4.

<실시예 19: 서열 14를 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc.)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4172.6.

<실시예 20: 서열 15를 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4224.7.

<실시예 21: 서열 16을 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4172.6.

<실시예 22: 서열 17을 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의

0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4186.6.

<실시예 23: 서열 18을 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4200.7.

<실시예 24: 서열 19를 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4200.7.

<실시예 25: 서열 20을 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4202.7.

<실시예 26: 서열 21을 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4145.6.

<실시예 27: 서열 22를 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4184.6.

<실시예 28: 서열 23을 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의

0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4145.6.

<실시예 29: 서열 24를 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4224.7.

<실시예 30: 서열 25를 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4172.6.

<실시예 31: 서열 26을 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4115.5.

<실시예 32: 서열 27을 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4188.6.

<실시예 33: 서열 28을 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4131.6.

<실시예 34: 서열 29를 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의

0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4172.6.

<실시예 35: 서열 30을 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4145.6.

<실시예 36: 서열 31을 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 티오프롤린 위치 38, 37, 36 및 31에서는 추가의 이중 커플링이 필요했다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4266.8.

<실시예 37: 서열 32를 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 티오프롤린 위치 38, 37, 및 36에서는 추가의 이중 커플링이 필요했다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4246.8.

<실시예 38: 서열 33을 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 호모프롤린 위치 38, 37, 36 및 31에서는 추가의 이중 커플링이 필요했다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4250.8.

<실시예 39: 서열 34를 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 호모프롤린 위치 38, 37, 및 36에서는 추가의 이중 커플링이 필요했다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4234.8.

<실시예 40: 서열 35를 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 티오프롤린 위치 38, 37, 36

및 31에서는 추가의 이중 커플링이 필요했다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4209.8.

<실시예 41: 서열 36을 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 호모프롤린 위치 38, 37, 36 및 31에서는 추가의 이중 커플링이 필요했다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4193.7.

<실시예 42: 서열 37을 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. N-메틸알라닌 위치 38, 37, 36 및 31에서는 추가의 이중 커플링이 필요했다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3858.2.

<실시예 43: 서열 38을 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. N-메틸알라닌 위치 38, 37, 및 36에서는 추가의 이중 커플링이 필요했다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3940.3.

<실시예 44: 서열 39를 갖는 펩티드의 제조>

상기 확인된 펩티드는 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. N-메틸알라닌 위치 38, 37, 36 및 31에서는 추가의 이중 커플링이 필요했다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3808.1.

<실시예 45: 상기 C-말단 아미드 서열에 상응하는 C-말단 카르복실산 펩티드의 제조>

실시예 1 내지 30의 상기 펩티드들은 실시예 14에 기재한 것과 유사한 방법으로, 일명 왕 (Wang) 수지 (p-알콕시벤질알라콜 수지 (Bachem 제품, 0.54 mmole/g) 상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광법으로 실험적 측정값 (M)을 얻었다.

<실시예 46: 서열 7을 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly-

NH₂ (서열 7)

상기 아미드화된 펩티드는 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립했다. 일반적으로는 합성 전과정에 걸쳐 한번의 커플링 주기가 사용되었고 Fast Moc (HBTU 활성화) 화학이 이용되었다. 신장되는 펩티드 사슬은 피페리딘을 사용하여 탈보호 (Fmoc기 제거)시켰다. 완성된 펩티드 수지의 최종 탈보호는 표준 방법 (Introduction to Cleavage Techniques, Applied Biosystems, Inc.)에 따라 트리에틸실란 (0.2 ml), 에탄디티올 (0.2 ml), 아니솔 (0.2 ml), 물 (0.2 ml) 및 트리플루오로아세트산 (15 ml)의 혼합물을 사용하여 수행하였다. 펩티드를 에테르/물 (50 ml) 중에 침전시키고 원심분리하였다. 침전물을 빙초산 중에서 재구성하고 동결건조했다. 동결건조된 펩티드를 물에 용해시켰다. 조순도는 약 75 %였다.

정제 단계 및 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 펩티드를 함유하는 용액을 정제용 C-18 컬럼에 적용하여 정제하였다 (40 분에 걸쳐 용매 A 중의 10 % 내지 40 % 용매 B를 사용). 분획들의 순도는 C-18 분석용 컬럼을 사용하여 등용매로 측정하였다. 상기 펩티드를 포함하는 순수한 분획들을 모았다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 내지 50 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 18.9 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3408.0, 측정값 3408.9.

<실시예 47: 서열 40을 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 40)

상기 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 40 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 17.9 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3294.7, 측정값 3294.8.

<실시예 48: 서열 41을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 41)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 29 % 내지 36 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 20.7 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3237.6, 측정값 3240.

<실시예 49: 서열 42를 갖는 펩티드의 제조>

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 42)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산

(Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 36 % 내지 46 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 15.2 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3251.6, 측정값 3251.5.

<실시예 50: 서열 43을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Ala Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu

Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 43)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 36 % 내지 46 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 13.1 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3207.6, 측정값 3208.3.

<실시예 51: 서열 44를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Ala Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 44)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 35 % 내지 45 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 12.8 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3161.5, 측정값 3163.

<실시예 52: 서열 45을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ala Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 45)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 36 % 내지 46 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 15.2 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3221.6, 측정값 3222.7.

<실시예 53: 서열 46을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Ala Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 46)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산

(Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 34 % 내지 44 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 14.3 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3195.5, 측정값 3199.4.

<실시예 54: 서열 47을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ala Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 47)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 38 % 내지 48 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 15.7 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3221.6, 측정값 3221.6.

<실시예 55: 서열 48을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Ala Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 48)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 38 % 내지 48 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 18.1 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3180.5, 측정값 3180.9.

<실시예 56: 서열 49를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Ala Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 49)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 36 % 내지 46 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 17.0 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3180.6, 측정값 3182.8.

<실시예 57: 서열 50을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 50)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산

(Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 32 % 내지 42 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 14.9 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3195.5, 측정값 3195.5.

<실시예 58: 서열 51을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Ala

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 51)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 37 % 내지 47 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 17.9 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3179.6, 측정값 3179.0.

<실시예 59: 서열 52를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Ala Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 52)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 37 % 내지 47 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 14.3 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3179.6, 측정값 3180.0.

<실시예 60: 서열 53을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Ala Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 53)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 37 % 내지 47 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 13.7 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3179.6, 측정값 3179.0.

<실시예 61: 서열 54를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Ala Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 54)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산

(Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 35 % 내지 45 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 14.0 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3209.6, 측정값 3212.8.

<실시예 62: 서열 55를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Ala Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 55)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 38 % 내지 48 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 14.3 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3152.5, 측정값 3153.5.

<실시예 63: 서열 56을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Ala Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 56)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 35 % 내지 45 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 12.1 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3195.5, 측정값 3197.7.

<실시예 64: 서열 57을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Ala Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 57)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 38 % 내지 48 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 10.9 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3179.6, 측정값 3180.5.

<실시예 65: 서열 58을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Ala Leu Lys Asn-NH₂ (서열 58)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산

(Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 32 % 내지 42 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 17.5 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3161.5, 측정값 3163.0.

<실시예 66: 서열 59를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Ala Lys Asn-NH₂ (서열 59)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 32 % 내지 42 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 19.5 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3195.5, 측정값 3199.

<실시예 67: 서열 60을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Ala Asn-NH₂ (서열 60)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 38 % 내지 48 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 14.5 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3180.5, 측정값 3183.7.

<실시예 68: 서열 61을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Ala-NH₂ (서열 61)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 34 % 내지 44 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 22.8 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3194.6, 측정값 3197.6.

<실시예 69: 서열 62를 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro-NH₂ (서열 62)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4099.6.

<실시예 70: 서열 63을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro-NH₂ (서열 63)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4042.5.

<실시예 71: 서열 64를 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro-NH₂ (서열 64)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4002.4.

<실시예 72: 서열 65를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro-NH₂ (서열 65)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3945.4.

<실시예 73: 서열 66을 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala Pro-NH₂ (서열 66)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3905.3.

<실시예 74: 서열 67을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala Pro-NH₂ (서열 67)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3848.2.

<실시예 75: 서열 68을 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala-NH₂ (서열 68)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3808.2.

<실시예 76: 서열 69를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala-NH₂ (서열 69)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3751.1.

<실시예 77: 서열 70을 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly-NH₂ (서열 70)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3737.1.

<실시예 78: 서열 71을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly-NH₂ (서열 71)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3680.1.

<실시예 79: 서열 72를 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser-NH₂ (서열 72)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A

(물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3680.1.

<실시예 80: 서열 73을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser-NH₂ (서열 73)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3623.0.

<실시예 81: 서열 74을 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser-NH₂ (서열 74)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3593.0.

<실시예 82: 서열 75를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser-NH₂ (서열 75)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3535.9.

<실시예 83: 서열 76을 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro-NH₂ (서열 76)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3505.94

<실시예 84: 서열 77을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly

Pro-NH₂ (서열 77)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3448.8.

<실시예 85: 서열 78을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly

-NH₂ (서열 78)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3351.7.

<실시예 86: 서열 79를 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly-NH₂

(서열 79)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산

(Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3351.8.

<실시예 87: 서열 80을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly-NH₂

(서열 80)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3294.7.

<실시예 88: 서열 81을 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

tPro Ser Ser Gly Ala tPro tPro tPro-NH₂ (서열 81)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 잔기 37, 36 및 31 에서는 이중 커플링이 필요했다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4197.1.

<실시예 89: 서열 82를 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala tPro tPro tPro-NH₂ (서열 82)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 잔기 37, 36 및 31 에서는 이중 커플링이 필요했다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4179.1.

<실시예 90: 서열 83을 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

NMeala Ser Ser Gly Ala Pro Pro-NH₂ (서열 83)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 잔기 36 및 31에서는 이중 커플링이 필요했다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3948.3.

<실시예 91: 서열 84를 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

NMeala Ser Ser Gly Ala NMeala Nmeala-NH₂ (서열 84)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 잔기 36 및 31에서는 이중 커플링이 필요했다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3840.1.

<실시예 92: 서열 85를 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

hPro Ser Ser Gly Ala hPro hPro-NH₂ (서열 85)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 잔기 36 및 31에서는 이중 커플링이 필요했다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4050.1.

<실시예 93: 서열 86을 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

hPro Ser Ser Gly Ala hPro-NH₂ (서열 86)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산

(Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 잔기 31에서는 이중 커플링이 필요했다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3937.1.

<실시예 94: 서열 87을 갖는 펩티드의 제조>

Arg Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala-NH₂ (서열 87)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3827.2.

<실시예 95: 서열 88을 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly-

NH₂ (서열 88)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3394.8.

<실시예 96: 서열 89를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Naphthylala Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln

Leu Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-

NH₂ (서열 89)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3289.5.

<실시예 97: 서열 90을 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 90)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3280.7.

<실시예 98: 서열 91을 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 91)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3294.7.

<실시예 99: 서열 92를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Gln Met Ala

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 92)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3250.7.

<실시예 100: 서열 93을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp pentylgly Ser Lys Gln

Leu Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-

NH₂ (서열 93)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3253.5.

<실시예 101: 서열 94를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Naphthylala Ile Glu Phe Leu Lys Asn-

NH₂ (서열 94)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3289.5.

<실시예 102: 서열 95를 갖는 펩티드의 제조>

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

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe tButylgly Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂

(서열 95)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3183.4

<실시예 103: 서열 96을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Asp Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 96)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3237.6.

<실시예 104: 서열 97을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Ala Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser-NH₂ (서열 97)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산

(Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3637.9.

<실시예 105: 서열 98을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Ala Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly-NH₂

(서열 98)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g) 상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3309.7.

<실시예 106: 서열 99를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Ala Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

hPro Ser Ser Gly Ala hPro hPro-NH₂ (서열 99)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g) 상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 잔기 36 및 31에서는 이중 커플링이 필요했다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3711.1.

<실시예 107: 상기 서열 7, 40-61, 68-75, 78-80 및 87-98의 C-말단 아미드 서열에 상응하는 C-말단 카르복실산 펩티드의 제조>

서열 7, 40-61, 68-75, 78-80 및 87-98을 갖는 펩티드들은 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 일명 왕 (Wang) 수지 (p-알콕시벤질알라콜 수지 (Bachem 제품, 0.54 mmole/g) 상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광법으로 실험적 측정값 (M)을 얻었다.

<실시예 108: 상기 서열 62-67, 76, 77, 81-86 및 99의 C-말단 아미드 서열에 상응하는 C-말단 카르복실산 펩티드의 제조>

서열 62-67, 76, 77, 81-86 및 99를 갖는 펩티드들은 실시예 46에 기재한 것과 유사한 방법으로, 2-클로로트리틸클로라이드 수지 (200-400 메쉬), 2 % DVB (Novabiochem 제품, 0.4-1.0 mmole/g) 상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A

(물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광법으로 실험적 측정값 (M)을 얻었다.

<실시예 109: 서열 100을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 100)

상기 아미드화된 펩티드는 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립했다. 일반적으로는 합성 전과정에 걸쳐 한번의 커플링 주기가 사용되었고 Fast Moc (HBTU 활성화) 화학이 이용되었다. 신장되는 펩티드 사슬은 피페리딘을 사용하여 탈보호 (Fmoc기 제거)시켰다. 완성된 펩티드 수지의 최종 탈보호는 표준 방법 (Introduction to Cleavage Techniques, Applied Biosystems, Inc.)에 따라 트리에틸실란 (0.2 ml), 에탄디티올 (0.2 ml), 아니솔 (0.2 ml), 물 (0.2 ml) 및 트리플루오로아세트산 (15 ml)의 혼합물을 사용하여 수행하였다. 펩티드를 에테르/물 (50 ml) 중에 침전시키고 원심분리하였다. 침전물을 빙초산 중에서 재구성하고 동결건조했다. 동결건조된 펩티드를 물에 용해시켰다. 조순도는 약 75 %였다.

분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다.

펩티드를 함유하는 용액을 정제용 C-18 컬럼에 적용하여 정제하였다 (40 분에 걸쳐 용매 A 중의 10 % 내지 40 % 용매 B를 사용). 분획들의 순도는 C-18 분석용 컬럼을 사용하여 등용매로 측정하였다. 상기 펩티드를 포함하는 순수한 분획들을 모았다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 19.2 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3171.6, 측정값 3172.

<실시예 110: 서열 101을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Ala Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 101)

상기 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 36 % 내지 46 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 14.9 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3179.6, 측정값 3180.

<실시예 111: 서열 102를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Ala Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 102)

상기 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 37 % 내지 47 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 12.2 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3251.6, 측정값 3253.3.

<실시예 112: 서열 103을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Ala Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 103)

상기 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 35 % 내지 45 % 용매 B 구배를 사용)로 체류 시간이 16.3 분으로 관찰된 생성물 펩티드를 얻었다. 전기 분무 질량 분광 (M): 계산값 3193.6, 측정값 3197.

<실시예 113: 서열 104를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 104)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3228.6.

<실시예 114: 서열 105를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Ala Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 105)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3234.7.

<실시예 115: 서열 106을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Ala Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 106)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3308.7.

<실시예 116: 서열 107을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Ala Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 107)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3250.7.

<실시예 117: 서열 108을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Ala Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 108)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3252.6.

<실시예 118: 서열 109를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 109)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3200.6.

<실시예 119: 서열 110을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 110)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3143.5.

<실시예 120: 서열 111을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 111)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3214.6.

<실시예 121: 서열 112를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 112)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3157.5.

<실시예 122: 서열 113을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Ala Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 113)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3184.6.

<실시예 123: 서열 114를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Ala Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 114)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3127.5.

<실시예 124: 서열 115를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr NaphthylAla Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln

Met Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-

NH₂ (서열 115)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3266.4.

<실시예 125: 서열 116을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr NaphthylAla Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln

Leu Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-

NH₂ (서열 116)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3209.4.

<실시예 126: 서열 117을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Ser Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 117)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3200.6.

<실시예 127: 서열 118을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Ser Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 118)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A

(물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3143.5.

<실시에 128: 서열 119를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ala Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 119)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3198.6.

<실시에 129: 서열 120을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ala Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 120)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3141.5.

<실시에 130: 서열 121을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Ala Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 121)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3170.6

<실시에 131: 서열 122를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Ala Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 122)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A

(물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3113.5.

<실시에 132: 서열 123을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 123)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3228.6.

<실시에 133: 서열 124를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 124)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3171.6.

<실시에 134: 서열 125를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Ala Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 125)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3172.5.

<실시에 135: 서열 126을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Ala Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 126)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A

(물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3115.4.

<실시에 136: 서열 127을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Pentylgly Ser Lys Gln

Met Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-

NH₂ (서열 127)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3230.4.

<실시에 137: 서열 128을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Pentylgly Ser Lys Gln

Leu Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-

NH₂ (서열 128)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3198.6.

<실시에 138: 서열 129를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ala Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 129)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3141.5.

<실시에 139: 서열 130을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ala Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 130)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3157.5.

<실시예 140: 서열 131을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Ala Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 131)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3100.4.

<실시예 141: 서열 132를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Ala Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 132)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3157.6.

<실시예 142: 서열 133을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Ala Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 133)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3100.5.

<실시예 143: 서열 134를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Ala Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 134)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3100.5.

<실시예 144: 서열 135를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 135)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3154.5.

<실시예 145: 서열 136을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 136)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3115.5.

<실시예 146: 서열 137을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln

Pentylgly Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu

Lys Asn-NH₂ (서열 137)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3212.4.

<실시예 147: 서열 138을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln

Pentylgly Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu

Lys Asn-NH₂ (서열 138)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3173.4.

<실시예 148: 서열 139를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Ala

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 139)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3156.6.

<실시예 149: 서열 140을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Ala

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 140)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3099.5.

<실시예 150: 서열 141을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Ala Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 141)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3156.6.

<실시예 151: 서열 142를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Ala Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 142)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3099.5.

<실시예 152: 서열 143을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Ala Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 143)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3156.6.

<실시예 153: 서열 144를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Ala Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 144)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3099.5.

<실시예 154: 서열 145를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Ala Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 145)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3186.6.

<실시예 155: 서열 146을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Ala Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 146)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3129.5.

<실시예 156: 서열 147을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Ala Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 147)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3129.5.

<실시예 157: 서열 148을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Ala Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 148)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3072.4.

<실시예 158: 서열 149를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Ala Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 149)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3172.5.

<실시예 159: 서열 150을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Ala Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 150)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3115.5.

<실시예 160: 서열 151을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Naphthylala Ile Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 151)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3266.4.

<실시예 161: 서열 152를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Naphthylala Ile Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 152)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3209.4.

<실시예 162: 서열 153을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Val Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 153)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A

(물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3200.6.

<실시에 163: 서열 154를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Val Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 154)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3143.5.

<실시에 164: 서열 155를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe tButylgly Glu Trp Leu Lys Asn-NH₂

(서열 155)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3216.5.

<실시에 165: 서열 156을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe tButylgly Glu Phe Leu Lys Asn-NH₂

(서열 156)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3159.4.

<실시에 166: 서열 157을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Asp Trp Leu Lys Asn-NH₂ (서열 157)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3200.6.

<실시예 167: 서열 158을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Asp Phe Leu Lys Asn-NH₂ (서열 158)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3143.5.

<실시예 168: 서열 159를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Ala Leu Lys Asn-NH₂ (서열 159)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3099.5.

<실시예 169: 서열 160을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Ala Leu Lys Asn-NH₂ (서열 160)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3081.4.

<실시예 170: 서열 161을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Ala Lys Asn-NH₂ (서열 161)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3172.5.

<실시예 171: 서열 162를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Ala Lys Asn-NH₂ (서열 162)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3115.5.

<실시예 172: 서열 163을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Ala Asn-NH₂ (서열 163)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3157.5.

<실시예 173: 서열 164를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Ala Asn-NH₂ (서열 164)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3100.4.

<실시예 174: 서열 165를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Ala-NH₂ (서열 165)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3171.6.

<실시예 175: 서열 166을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Ala-NH₂ (서열 166)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3114.5.

<실시예 176: 서열 167을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro-NH₂ (서열 167)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4033.5.

<실시예 177: 서열 168을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Ala Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro-NH₂ (서열 168)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3984.4.

<실시예 178: 서열 169를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Ala Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro-NH₂ (서열 169)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4016.5.

<실시예 179: 서열 170을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Ala Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala Pro-NH₂ (서열 170)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3861.3.

<실시예 180: 서열 171을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Ala Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala Pro-NH₂ (서열 171)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3746.1.

<실시예 181: 서열 172를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala-NH₂ (서열 172)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3742.1.

<실시예 182: 서열 173을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Ala Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala-NH₂ (서열 173)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3693.1.

<실시예 183: 서열 174를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Ala Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly-NH₂ (서열 174)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3751.2.

<실시예 184: 서열 175를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Ala Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser-NH₂ (서열 175)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3634.1.

<실시예 185: 서열 176을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser-NH₂ (서열 176)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3526.9.

<실시예 186: 서열 177을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Ala Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser-NH₂ (서열 177)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3477.9.

<실시예 187: 서열 178을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Ala Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro-NH₂ (서열 178)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3519.9.

<실시예 188: 서열 179를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Ala Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly-

NH₂ (서열 179)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3307.7.

<실시예 189: 서열 180을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly-NH₂

(서열 180)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3186.5.

<실시예 190: 서열 181을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Ala Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

tPro Ser Ser Gly Ala tPro tPro tPro-NH₂ (서열 181)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 잔기 37, 36 및 31에서는 이중 커플링이 필요하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4121.1.

<실시예 191: 서열 182를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Ala Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala tPro tPro tPro-NH₂ (서열 182)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 잔기 37, 36 및

31에서는 이중 커플링이 필요하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4173.2.

<실시에 192: 서열 183을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Ala Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

NMeala Ser Ser Gly Ala NMeala NMeala-NH₂ (서열 183)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 잔기 36 및 31에서는 이중 커플링이 필요했다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3796.1.

<실시에 193: 서열 184를 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

hPro Ser Ser Gly Ala hPro-NH₂ (서열 184)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 잔기 31에서는 이중 커플링이 필요했다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3871.1.

<실시에 194: 서열 185를 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Ala Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala-NH₂ (서열 185)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3750.2.

<실시에 195: 서열 186을 갖는 펩티드의 제조>

His Gly Asp Ala Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly-

NH₂ (서열 186)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 3408.8.

<실시예 196: 서열 187을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Ser-NH₂ (서열 187)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4120.6.

<실시예 197: 서열 188을 갖는 펩티드의 제조>

Ala Gly Ala Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly

Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser-NH₂ (서열 188)

상기 확인된 아미드화된 펩티드는 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 4-(2'-4'-디메톡시페닐)-Fmoc 아미노메틸 페녹시 아세트아미드 노르루이신 MBHA 수지 (Novabiochem 제품, 0.55 mmole/g)상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광 (M): 계산값 4005.5.

<실시예 198: 상기 서열 100-166, 172-177, 179-180 및 185-188을 갖는 펩티드의 C-말단 아미드 서열에 상응하는 C-말단 카르복실산 펩티드의 제조>

서열 100-166, 172-177, 179-180 및 185-188을 갖는 아미드화된 펩티드들에 상응하는 C-말단 카르복실산 펩티드들은 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 일명 왕 (Wang) 수지 (p-알콕시벤질알라콜 수지 (Bachem 제품, 0.54 mmole/g) 상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광법으로 실험적 측정값 (M)을 얻었다.

<실시예 199: 상기 서열 167-171, 178 및 181-184을 갖는 펩티드의 C-말단 아미드 서열에 상응하는 C-말단 카르복실산 펩티드의 제조>

서열 167-171, 178 및 181-184를 갖는 아미드화된 펩티드들에 상응하는 C-말단 카르복실산 펩티드들은 실시예 109에 기재한 것과 유사한 방법으로, 2-클로로트리틸클로라이드 수지 (200-400 메쉬), 2 % DVB (Novabiochem 제품, 0.4-1.0 mmole/g) 상에서 Fmoc으로 보호된 아미노산 (Applied Biosystems, Inc. 제품)을 사용하여 조립하고, 수지로부터 절단하여 탈보호하고 정제하였다. 분석에는 용매 A (물 중의 0.1 % TFA) 및 용매 B (ACN 중의 0.1 % TFA)를 사용하였다. 그 후, 동결건조된 펩티드의 분석용 RP-HPLC (30 분에 걸쳐 용매 A 중의 30 % 내지 60 % 용매 B 구배를 사용)를 수행하여 생성물 펩티드의 체류 시간을 측정하였다. 전기분무 질량 분광법으로 실험적 측정값 (M)을 얻었다.

실시예 A 내지 E

사용된 시약

GLP-1(7-36)NH₂ (GLP-1)은 바켄 (Bachem) (미국 캘리포니아주 토란스)으로부터 구입하였다. 그 외의 모든 펩티드들은 본원에 기재된 방법과 같은 합성 방법으로 제조하였다. 모든 화학물질들은 최고 시판 등급으로 구입하였다. cAMP SPA 면역분석법은 아머샴 (Amersham)에서 구입하였다. 방사선리간드는 뉴 잉글랜드 뉴클리어 (New England Nuclear) (미국 메사추세츠주 보스턴)에서 구입하였다. RINm5f 세포 (아메리칸 타입 티슈 컬렉션 (American Type Tissue Collection), 미국 메릴랜드주 록빌)를 10 % 소 태아 혈청 및 2 mM L-글루타민을 포함하는 DMF/F12 배지에서 배양하였다. 세포는 37 °C 및 5 % CO₂/95 % 습도의 대기에서 배양되었고, 배지는 2 내지 3 일 마다 갈아주었다. 세포가 전면생장할 때까지 배양한 다음에 수거하여 폴리트론 파쇄기 상에서 균질화시켰다. 세포 균질물은 사용될 때까지 -70 °C에 언 상태로 저장하였다.

<실시예 A: GLP-1 수용체 결합 연구>

수용체 결합을 RINm5f 막에서 [¹²⁵I]GLP-1 또는 [¹²⁵I]엑센딘(9-39)의 치환을 측정하여 평가하였다. 분석 완충액에는 5 µg/ml의 베타타닌, 1 µg/ml의 포스포라미돈, 1 mg/ml의 소 혈청 알부민 (분획 V), 1 mg/ml의 박시트라신, 및 20 mM HEPES (pH 7.4) 중의 1 mM MgCl₂가 포함되었다. 결합을 측정하기 위해 96 웰 플레이트 (Nagel Nunc 제품, 미국 뉴욕주 로체스터)에서 30 µg의 막 단백질 (브래트포드 단백질 분석법)을 분석 완충액 200 µl 중에 재현탁하고, 60 pM의 [¹²⁵I]GLP-1 또는 [¹²⁵I]엑센딘(9-39) 및 표지되지 않은 펩티드를 넣고, 23 °C에서 120 분 동안 인큐베이션했다. 톰테크 마하 (Tomtec Mach) II 플레이트 수거기 (harvester) (Wallac Inc. 제품, 미국 메릴랜드주 가이더스버그)를 사용하여 저온 인산염완충염수 (pH 7.4)로 폴리에틸렌이민 처리된 GF/B 유리 섬유 필터 (Wallac Inc 제품, 미국 메릴랜드주 가이더스버그)에 빠르게 여과시켜 인큐베이션을 종결했다. 필터를 건조하고, 신틸런트 (scintillant)와 합하여 베타플레이트 액체 섬광 계수기 (Wallac Inc. 제품)에서 방사능을 측정하였다.

펩티드 샘플이 농도 범위 10⁻⁶ M 내지 10⁻¹² M 사이가 되도록 2 개씩 6 가지로 희석하여 분석하고 반응 곡선을 만들었다. 샘플의 생물학적 활성은 4-파라미터 로지스틱 방정식 (Prizm, GraphPAD Software)을 사용하는 반복적인 곡선-피팅 (curve-fitting) 프로그램을 사용하여 초기 데이터로부터 계산되는 IC₅₀ 값으로 표현된다.

<실시예 B: 시클라제 활성화 연구>

분석 완충액에는 50 mM HEPES (pH 7.4) 중의 1 µM의 IBMX, 10 µM의 GTP, 0.75 mM의 ATP, 2.5 mM의 MgCl₂, 0.5 mM의 포스포크레아틴, 12.5 U/ml의 크레아틴 키나제, 0.4 mg/ml의 아프로티닌이 포함되었다. 막과 펩티드들을 바닥에 필터가 있는 96 웰 플레이트 (Millipore Corp. 제품, 미국 메사추세츠주 베드포드)에서 100 ml의 분석 완충액 중에 한데 모았다. 37 °C에서 20 분 동안 인큐베이션 한 다음, 밀리포어 진공 매트폴드 (Millipore vacuum manifold)를 사용하여, 여과에 의해 상층액을 신선한 96 웰 플레이트로 옮겨 분석을 종결했다. 상층액 중의 cAMP 함량을 SPA 면역분석법으로 정량화하였다. 펩티드 샘플이 농도 범위 10⁻⁶ M 내지 10⁻¹² M 사이가 되도록 3 개씩 7 가지로 희석하여 분석하고 반응 곡선을 만들었다. 특정 샘플의 생물학적 활성은 상기 기재된 바와 같이 계산되는 EC₅₀ 값으로 표현된다.

<실시예 C: db/db 마우스에서 혈중 글루코스 농도의 측정>

생후 3 달 이상 된 C57BLKS/J-m-db 마우스를 이 연구에 사용하였다. 마우스는 잭슨 연구실 (Jackson Laboratory)에서 얻었고, 사용 전에 일주일 이상 적응시켰다. 마우스를 10 마리씩의 군으로 나누고, 오전 6 시부터 밝게 하는, 12 시간 켜의 명암주기를 사용하는 22 °C ±1 °C에 가둬두었다. 모든 동물들을 2 시간 동안 굶긴 다음에 기준량 (baseline) 혈액 샘플을 취하였다. 메토판으로 가볍게 마취시킨 다음, 각 마우스의 눈의 천자(穿刺)에서 약 70 μ l씩 채혈하였다. 혈장 글루코스 농도를 측정하기 위해 기준량 혈액 샘플을 모은 다음에, 모든 동물에게 비히클 (10.9 % NaCl), 비히클 중의 엑센딘-4 또는 시험 화합물 (1 μ g)을 피하 주사하였다. 주사한 지 정확히 1 시간 후, 동일한 방법으로 다시 혈액 샘플을 취하여 혈장 글루코스 농도를 측정하였다. 각각의 동물에 대하여, 혈장 값의 기준값으로부터의 % 변화량을 계산하였다.

<실시예 D: db/db 마우스에서 혈중 글루코스 농도의 투여량-반응 측정>

생후 3 달 이상 된 C57BLKS/J-m-db/db 마우스를 이 연구에 사용하였다. 마우스는 잭슨 연구실 (Jackson Laboratory)에서 얻었고, 사용 전에 일주일 이상 적응시켰다. 마우스를 10 마리씩의 군으로 나누고, 오전 6 시부터 밝게 하는, 12 시간 켜의 명암주기를 사용하는 22 °C ±1 °C에 가둬두었다. 모든 동물들을 2 시간 동안 굶긴 다음에 기준량 혈액 샘플을 취하였다. 메토판으로 가볍게 마취시킨 다음, 각 마우스의 눈의 천자(穿刺)에서 약 70 μ l씩 채혈하였다. 혈장 글루코스 농도를 측정하기 위해 기준량 혈액 샘플을 모은 다음에, 모든 동물에게 비히클, 기재한 농도의 엑센딘-4 또는 시험 화합물을 피하 주사하였다. 주사한 지 정확히 1 시간 후, 동일한 방법으로 다시 혈액 샘플을 취하여 혈장 글루코스 농도를 측정하였다. 각각의 동물에 대하여, 혈장 값의 기준값으로부터의 % 변화량을 계산하였고, 그래프패드 프리즘 (Graphpad PrismTM) 소프트웨어를 사용하여 투여량 의존적 관계를 평가하였다.

<실시예 E: 위의 공복>

다음의 연구는 래트에서 엑센딘-4 및(또는) 엑센딘 아고니스트 화합물의 위의 공복에 미치는 영향을 시험하기 위해 수행될 수 있으며, 그렇게 수행되었다. 이 실험은 문헌 (Scarpignato, et al., Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 246:286-94, 1980)의 방법을 변형시켜 수행되었다. 수컷 할란 스프라그 돌리 (HSD) 래트를 사용하였다. 모든 동물들을 12 시간 켜의 명암주기를 사용하는 22.7 °C ±0.8 °C에 가둬두었고 (실험은 명(明)주기일 때 수행됨), 먹이 (Diet LM-485, 미국 위스콘신주 매디슨 테크래드)와 물을 마음대로 먹을 수 있게 했다. 엑센딘-4는 표준 펩티드 합성 방법에 따라 합성되었다. 엑센딘-4의 제조 방법은 실시예 14에 기재되어 있다. 하기에 기재된 방법에 의한 위의 공복 측정은 위 안에 분광광도흡수측정법을 방해할 미즙 (chyme)이 전혀 없도록 약 20 시간 동안 굶긴 다음에 수행되었다.

의식이 있는 래트에게 가바즈 (gavage)를 통해 1.5 % 메틸셀룰로스 (M-0262, Sigma Chemical Co 제품, 미국 미주리주 세인트 루이스) 및 0.05 % 페놀 적색 지시약을 포함하는, 무열량 겔 1.5 ml을 주입했다. 가바즈한 지 20 분이 지난 후에, 5 % 할로탄을 사용하여 래트를 마취시키고, 위를 노출시켜 동맥검자(動脈鉗子)로 유문부(幽門部) 및 식도의 아랫쪽 괄약근에서 클램프했고, 고정된 부피의 알칼리성 용액 증으로 절개해 냈다. 위의 내용물은 알칼리성 용액 중 페놀 적색 염료의 강도로 유도되므로, 560 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 7 마리의 래트에 행해진 별개의 실험들에서, 위 및 소장 모두를 잘라내서 알칼리성 용액 증으로 절개해 냈다. 가바즈한 지 20 분 이내에 위장관 상부에서 회수될 수 있었던 페놀 적색의 양은 89 ±4 %였고, 장의 내강 표면에 회수불가능하게 부착한 것으로 보이는 염료는 잔량 때문이다. 최고 염료 회수율이 100 % 미만이기 때문에, 20 분 후에 남아있는 위의 내용물의 비율을 동일 실험에서 가바즈 직후에 회생시킨 대조구 래트에서 회수된 위의 내용물의 비율로 표현하였다. 남아있는 위의 내용물의 비율 = (20 분에서의 흡광도)/(0 분에서의 흡광도) × 100.

당업자라면 본원에서 나타내고 기재한 것 이외에도 상기 설명으로부터 본 발명의 여러가지 변형법이 명백할 것이고, 이러한 변형법도 하기 청구의 범위에 속한다.

도면의 간단한 설명

도 1은 엑센딘-3의 아미노산 서열 (서열 1)을 도시한다.

도 2는 엑센딘-4의 아미노산 서열 (서열 2)을 도시한다.

도 3은 GLP-1(7-36)NH₂ (GLP-1)의 아미노산 서열 (서열 189)을 도시한다.

도 4는 래트에게 엑센딘-4의 기관내 투여 후의 혈장 엑센딘-4 농도를 도시한다.

도 5의 A는 db/db 마우스에서 엑센딘-4의 기관내 점적주입(點滴注入) 후의 혈장 엑센딘-4 농도를 도시한다.

도 5의 B는 db/db 마우스에서 엑센딘-4의 기관내 투여가 혈장 글루코스에 미치는 영향을 도시한다.

도 6의 A 및 6의 B는 ob/ob 마우스에서 엑센딘-4의 기관내 투여가 혈장 글루코스에 미치는 영향을 도시한다.

도 7의 A는 래트에게 기관내 점적주입(點滴注入)한 후의 혈장 엑센딘-4 농도를 도시한다.

도 7의 B는 래트에게 기관내 투여한 후의 혈장 엑센딘-4 생체이용률을 도시한다.

도 8은 에어로졸화된 엑센딘-4에 노출된 래트의 혈장 엑센딘-4 농도를 도시한다.

도 9의 는 db/db 마우스에서 에어로졸화된 엑센딘-4의 10 분간의 노출이 혈장 글루코스에 미치는 영향을 도시한다.

도 9의 B는 에어로졸화된 엑센딘-4에 10 분간 노출된 db/db 마우스의 혈장 엑센딘-4 농도를 도시한다.

도 10은 래트에게 엑센딘-4의 비내 투여 후의 혈장 엑센딘-4 농도를 도시한다.

도 11은 db/db 마우스에서 엑센딘-4의 위내(胃内) 투여가 혈장 글루코스에 미치는 영향을 도시한다.

도 12A는 db/db 마우스에게 엑센딘-4의 설하 투여 후의 혈장 엑센딘-4 농도를 도시한다.

도 12B는 db/db 마우스에서 엑센딘-4의 설하 투여가 혈장 글루코스에 미치는 영향을 도시한다.

도 12C는 래트에게 엑센딘-4의 설하 투여 후의 혈장 엑센딘-4 농도를 도시한다.

도 12D는 엑센딘-4의 설하 투여 후의 엑센딘-4 생체이용률을 도시한다.

도 12E는 래트에서 설하 엑센딘-4의 C_{max} 를 도시한다.

도 13은 하루에 2 번 복강내 투여된 엑센딘-4의 (A) 음식물 섭취에 대한 영향, (B) 체중 변화 (처음의 체중은 441 ± 39 g)에 대한 영향, (C) 헤모글로빈 A_{1C} 변화 (0 주째에서는 7.68 ± 0.20 %)에 대한 영향을 도시한다. 투여량-반응 (오른쪽 패널)은 6 주 동안의 처치 기간 중 마지막 2 주 동안의 평균이다.

도 14는 미리 엑센딘-4의 특정 투여량을 6 주 동안 처치 (하루에 2 번 복강내 투여)한 ZDF 래트에게 수행한 클램프 방법에서 (A) 혈장 글루코스 농도, (B) 정상혈당 유지에 필요한 글루코스 주입 속도, 및 (C) 혈장 락트산염 농도를 도시한다. 글루코스 주입 속도 및 혈장 락트산염 농도에 대한 투여량-반응은 클램프 방법을 수행한 60 분과 180 분 사이에 얻어진 평균 값을 기준으로 한다.

도 15는 본 발명에 유용한 특정 엑센딘 아고니스트 화합물의 아미노산 서열 (서열 9-39)을 도시한다.

도 16 및 17은 실시예 12에서 설명한 임상 연구의 글루코스 저하 결과를 도시한다.

도면

도면1

엑센딘-3

His	Ser	Asp	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	Ser	$_2$ NH								
			35												

도면2

엑센딘-4

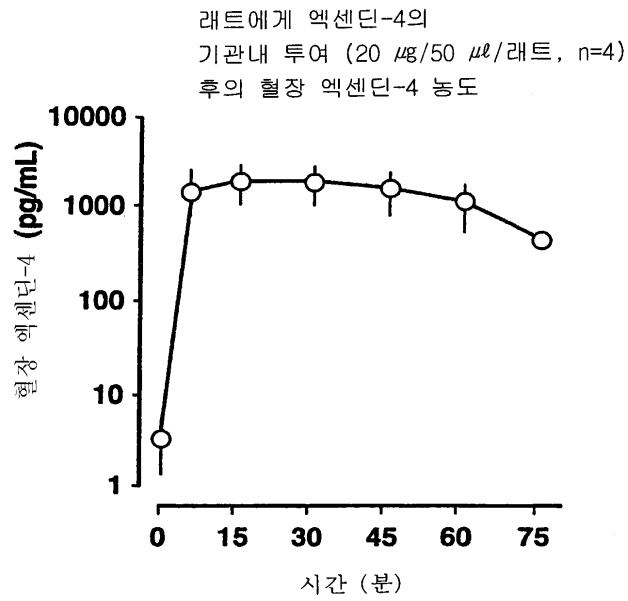
His	Gly	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Met	Glu	Glu
				5					10					15	
Glu	Ala	Val	Arg	Leu	Phe	Ile	Glu	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		
Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	-NH $_2$								
			35												

도면3

GLP-1 (GLP-1[7-36] NH $_2$)

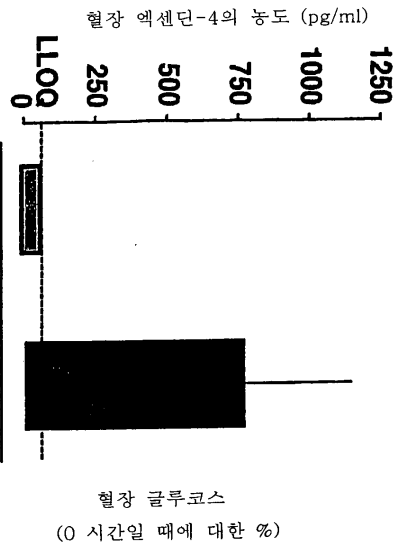
His	Ala	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Val	Ser	Ser	Tyr	Leu	Glu	Gly
				5					10					15	
Gln	Ala	Ala	Lys	Glu	Phe	Ile	Ala	Trp	Leu	Val	Lys	Gly	Arg	-NH $_2$	
			20					25					30		

도면4

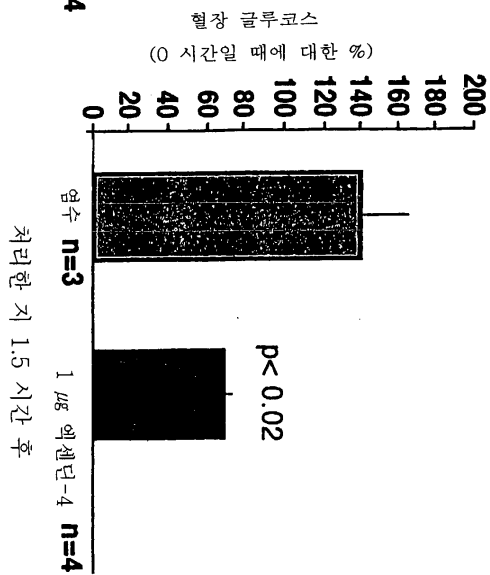


밤새 굶긴 수컷 랫트 (350-400 g)를 마취시켜 기관 및 대퇴동맥에 캐눌라를 삽입했다. $50 \mu\text{l}$ 의 염수 중에 용해시킨 $20 \mu\text{g}$ 의 엑센딘-4를 각 랫트의 기관에 투여하기 전과 투여한 후 (5, 15, 30, 45, 60 및 75 분)에 동맥선 (arterial line)에서 채혈했다. 혈장 엑센딘-4 농도를 면역방사능계측 분석법으로 측정하였다.

엑센딘-4의 기관내 점적주입(點滴注入)(1 μ g/20 μ l/마우스)
후의 혈장 엑센딘-4 농도



db/db 마우스에서 엑센딘-4의
기관내 투여 (1 μ g/20 μ l/마우스)가
혈장 글루코스에 미치는 영향



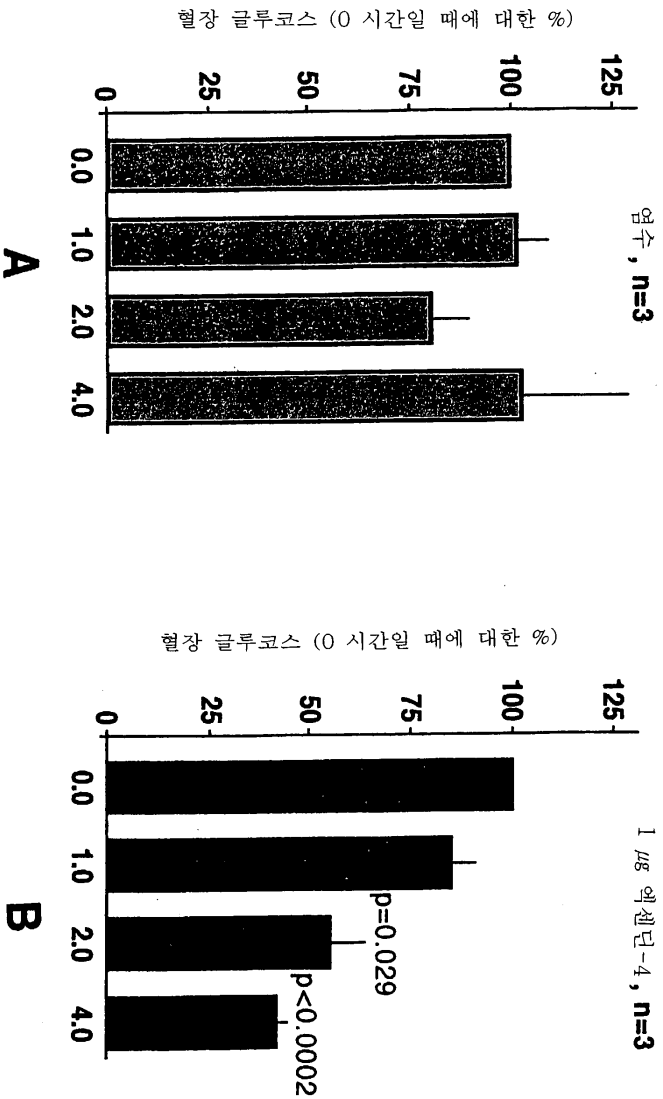
A

B

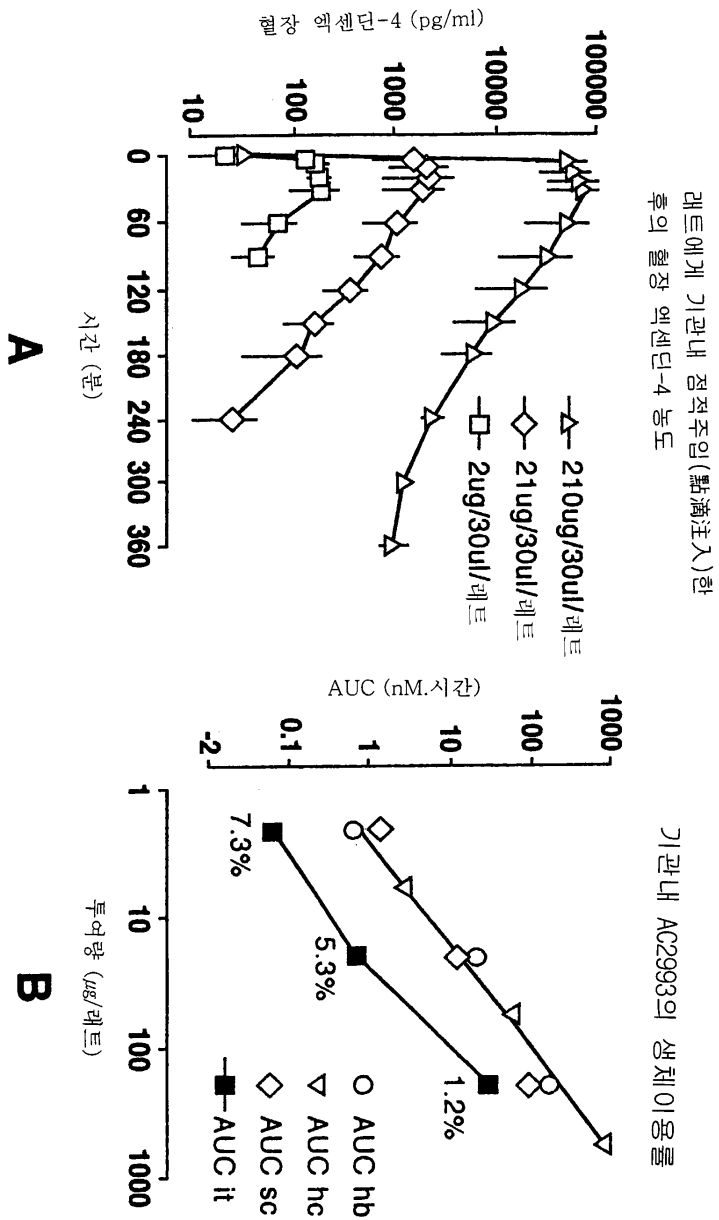
수컷 db/db 마우스 (약 50 g)를 2 시간 동안 굶긴 후에, 마취시켜 기관에 삽관(挿管)하였다. 동물의 기관에
염수 20 μ l 또는 염수 중에 용해시킨 1 μ l의 엑센딘-4를 투여하기 전과 투여 후에 각 동물로부터 채혈했다
(75 μ l 안와(眼窩)의 정맥동(靜脈洞)).

도면5

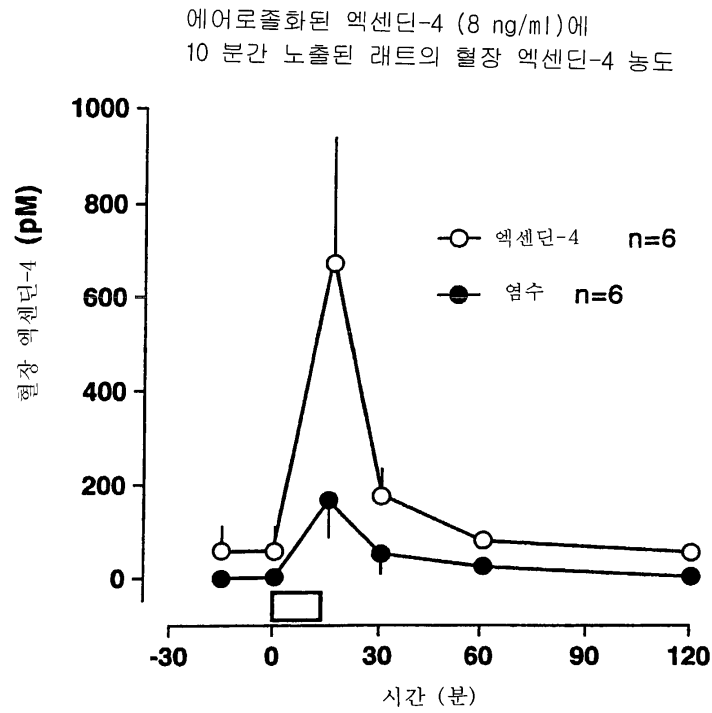
도면6



도면7



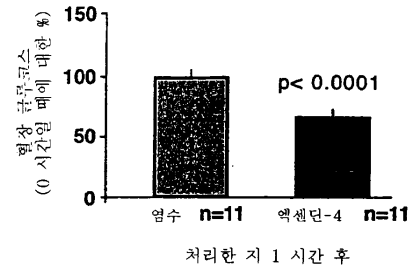
도면8



밤새 굶긴 수컷 래트 (각각 약 350 g)를 2 L 챔버에 넣고 에어로졸화된 액센딘-4에 10 분 동안 노출시켰다. 액센딘-4는 유속 5 L/분으로 하여 0.2 mg/ml의 속도로 연무되었다. 실험 중에 챔버 공기의 샘플을 취해 에어로졸화된 액센딘-4의 농도를 측정하였다.

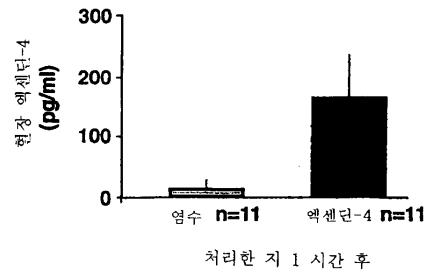
도면9

db/db 마우스에서 에어로졸화된 엑센딘-4 ($8 \mu\text{g}/\text{ml}$)의 10 분간의 노출이 혈장 글루코스에 미치는 영향



A

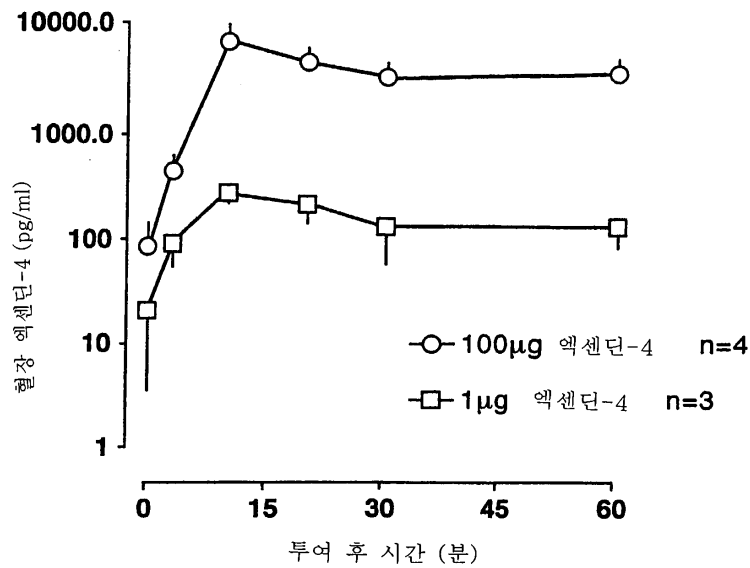
에어로졸화된 염수 또는 엑센딘-4 ($8 \text{ ng}/\text{ml}$ 대기)의 10 분간의 노출 후, 혈장 엑센딘-4 농도



B

도면10

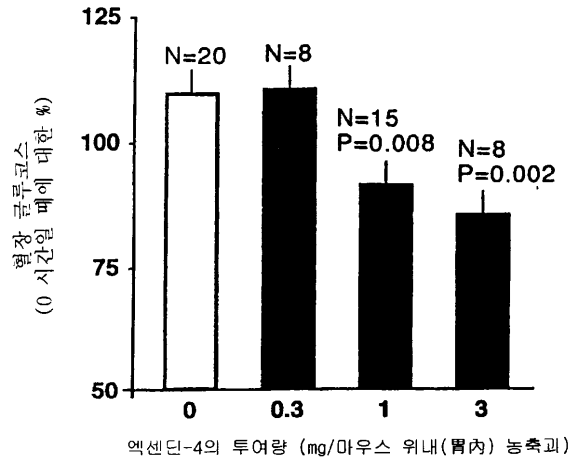
염수 $2 \mu\text{l}$ 중의 비내(鼻內) 투여



할란 스프라그 돌리 (HSD) 래트 (311-365 g, 굶기지 않음)의 비공(鼻孔)으로 염수 $2 \mu\text{l}$ 중에 용해시킨 엑센딘-4를 0, 1 및 $100 \mu\text{g}$ 으로 투여하였다. 투여한 지 0, 3, 10, 20, 30, 및 60 분 마다 마취시킨 (허리케인 (Hurricane) 사용) 꼬리 끝에서 혈액 샘플을 모으고, IRMA로 혈장 엑센딘-4 농도를 측정하였다.

도면11

당뇨성 db/db 마우스에서 엑센딘-4의 위내(胃内) 투여가 혈장 글루코스에 미치는 영향

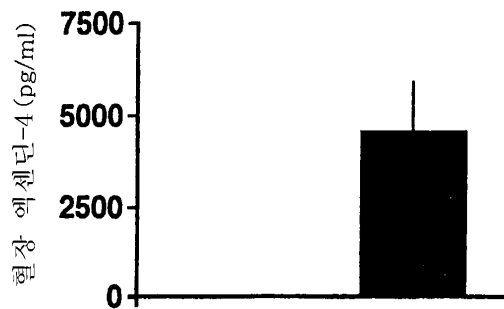


수컷 db/db 마우스 (약 50 g)를 2 시간 동안 굶기고, 염수 중에 용해시킨 엑센딘-4 또는 염수 200 μ l를 각 동물에게 위내 투여하기 전과 투여한 지 1 시간 후에 채혈하였다 (40 μ l, 안와(眼窩)의 정맥동(靜脈洞)).

설하(舌下) 투여: 당뇨성 db/db 마우스에게 엑센딘-4 (100 μ g/5 μ l/동물)를 설하(舌下) 도포한 지 1 시간 후에 혈장 글루코스 농도가 15 % 감소되었다. 염수를 사용한 대조군에서는 30 % 증가되었음이 관찰되었다. 60 분에서의 평균 엑센딘-4 혈장 수준은 4520 ± 1846 pg/ml이었다 (도 8 참조).

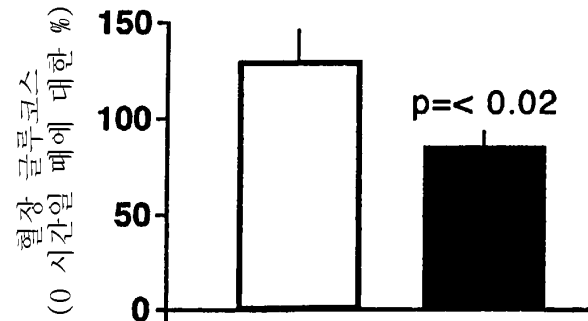
도면12A

db/db 마우스에서 엑센딘-4 (5 μ l 농축액 중 100 μ g)의 설하(舌下) 투여 후의 혈장 엑센딘-4 농도



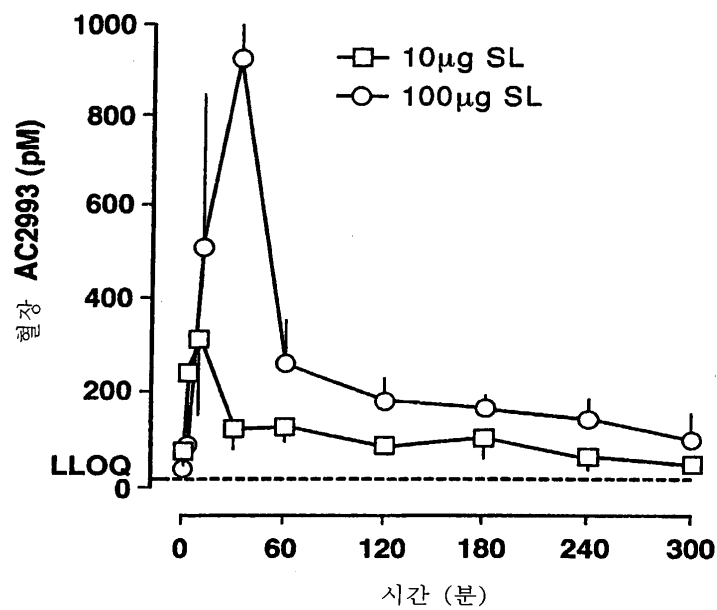
도면12B

db/db 마우스에서 엑센딘-4 ($5 \mu\text{l}$ 농축액 중 $100 \mu\text{g}$)의 설하(舌下) 투여가 혈장 글루코스에 미치는 영향



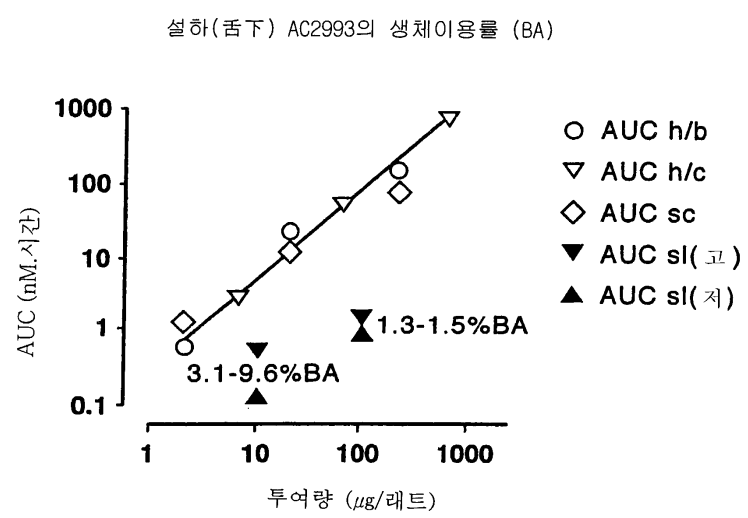
도면12C

랫트에서 AC2993의 설하(舌下) 투여 후의 혈장 AC2993 농도

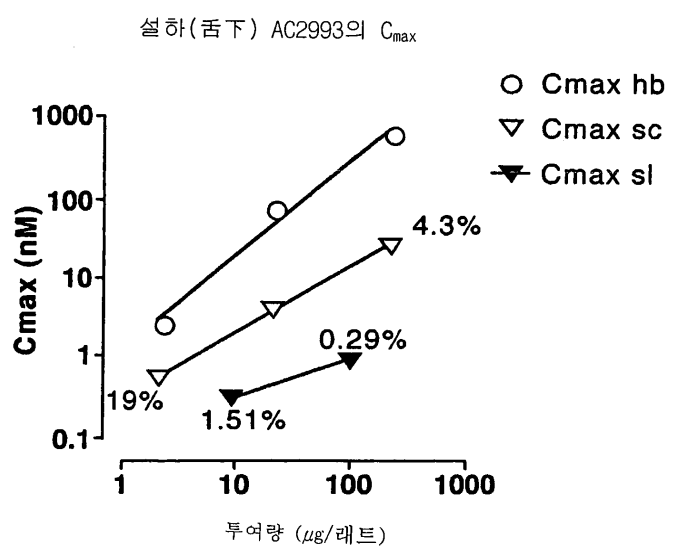


염수 $3 \mu\text{l}$ 중에 용해시킨 AC2993을 메토판으로 잠시 마취시킨 HSD 래트 (약 300 g)의 혀 밑에 투여했다.

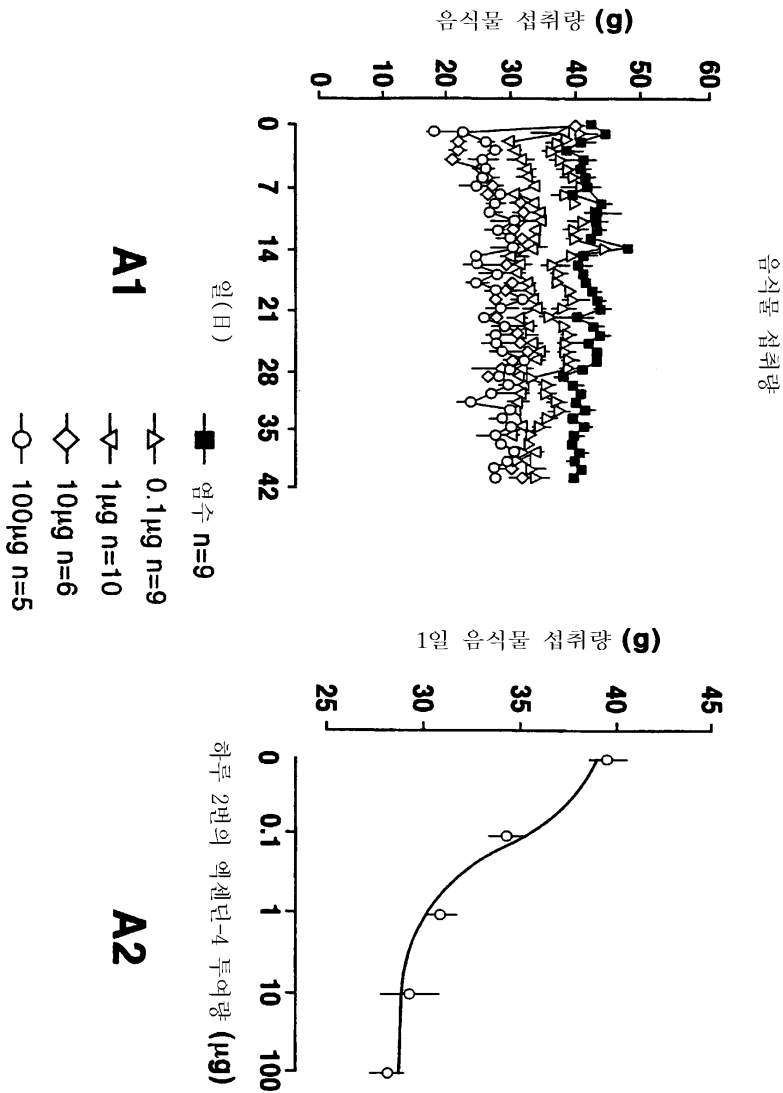
도면12D



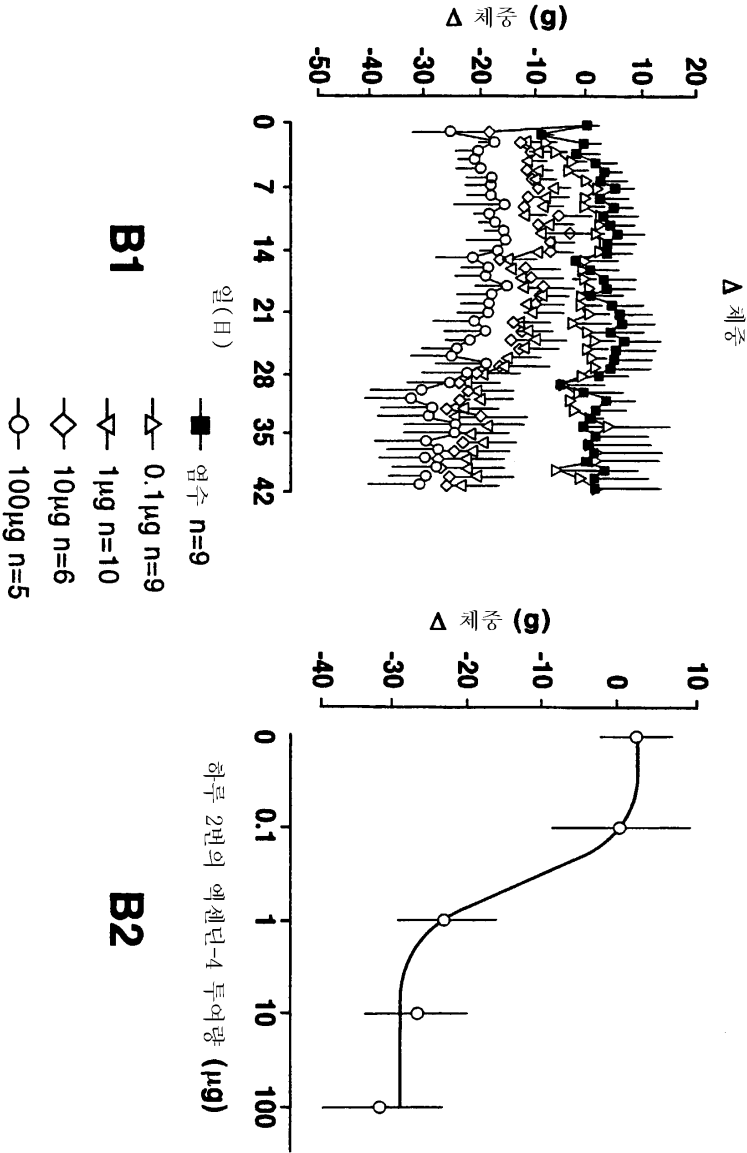
도면12E



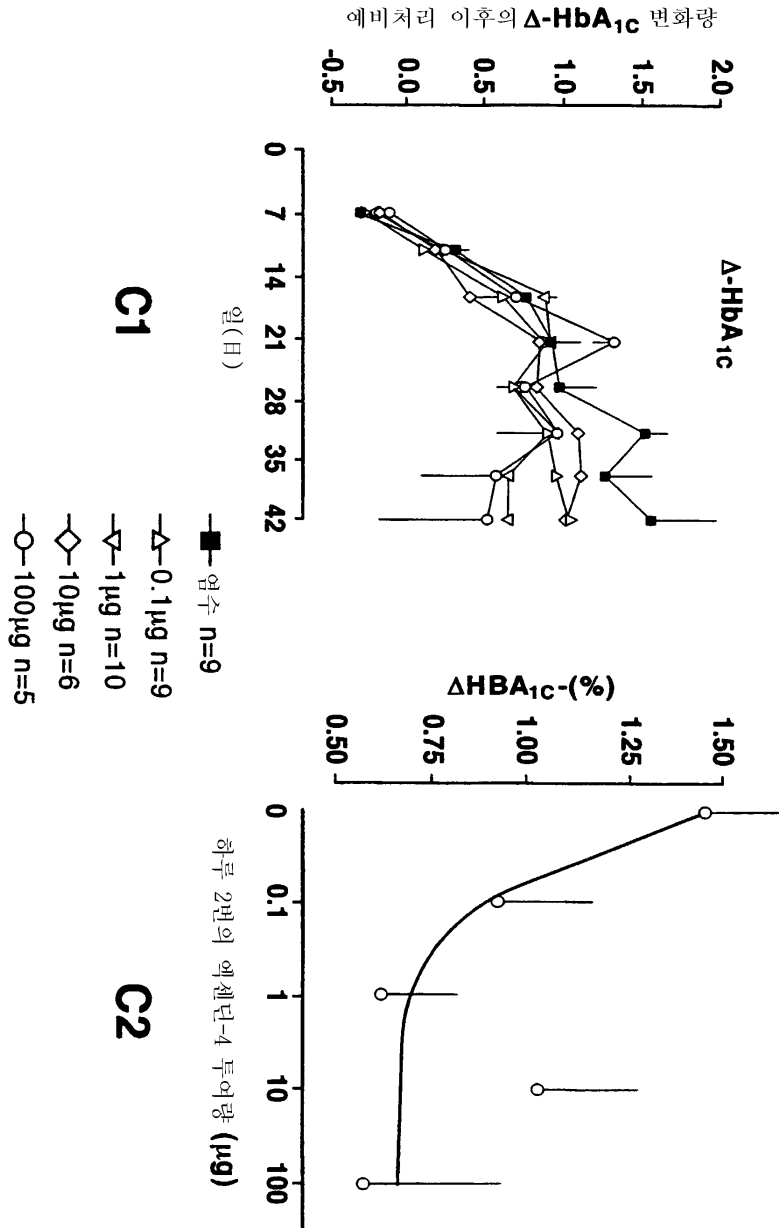
도면13A



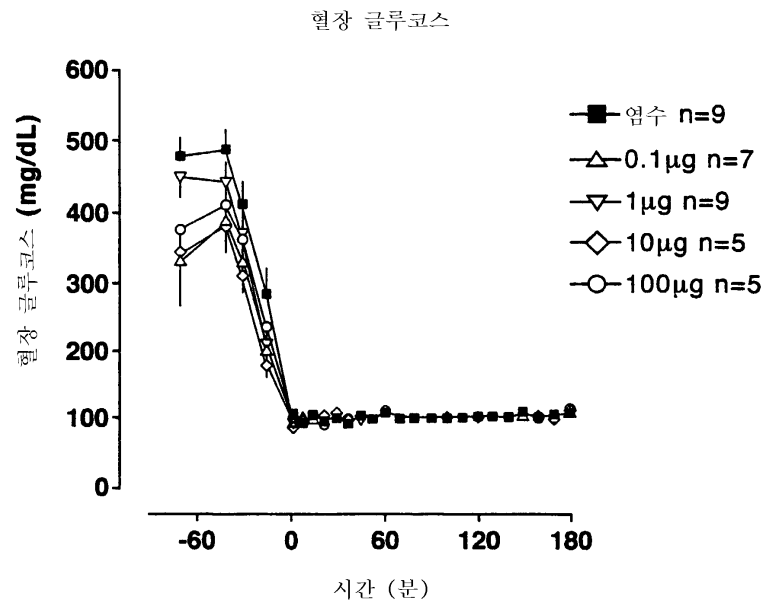
도면13B



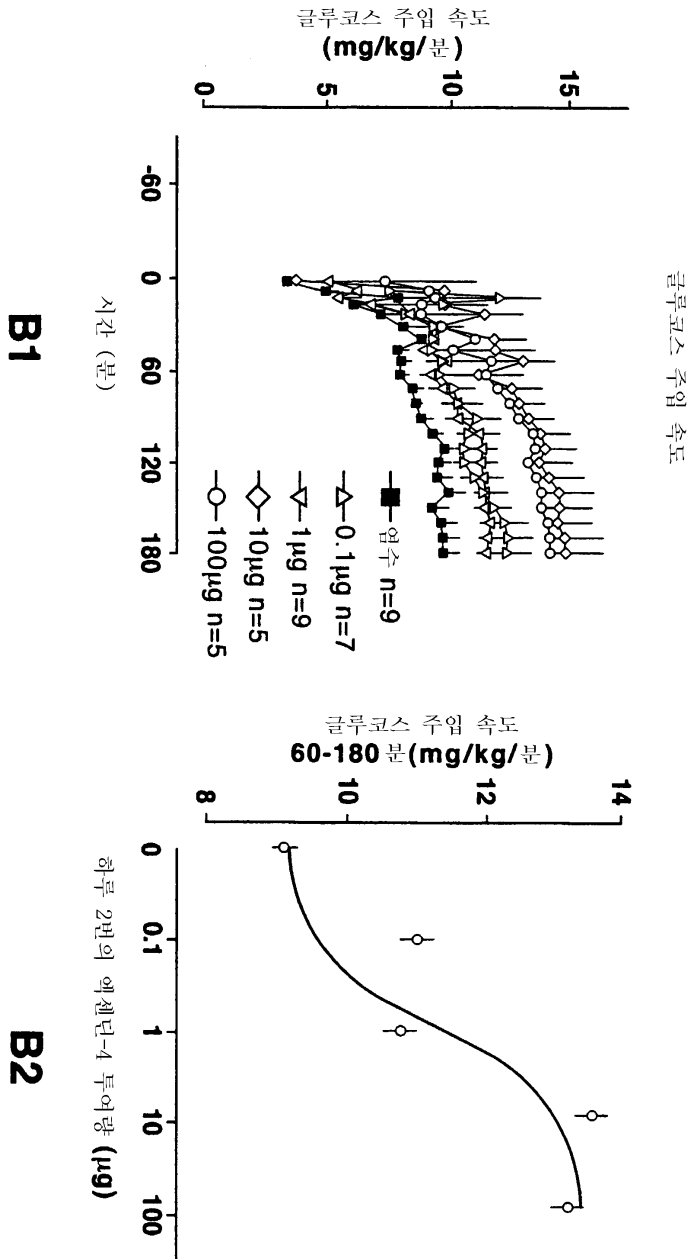
도면13C



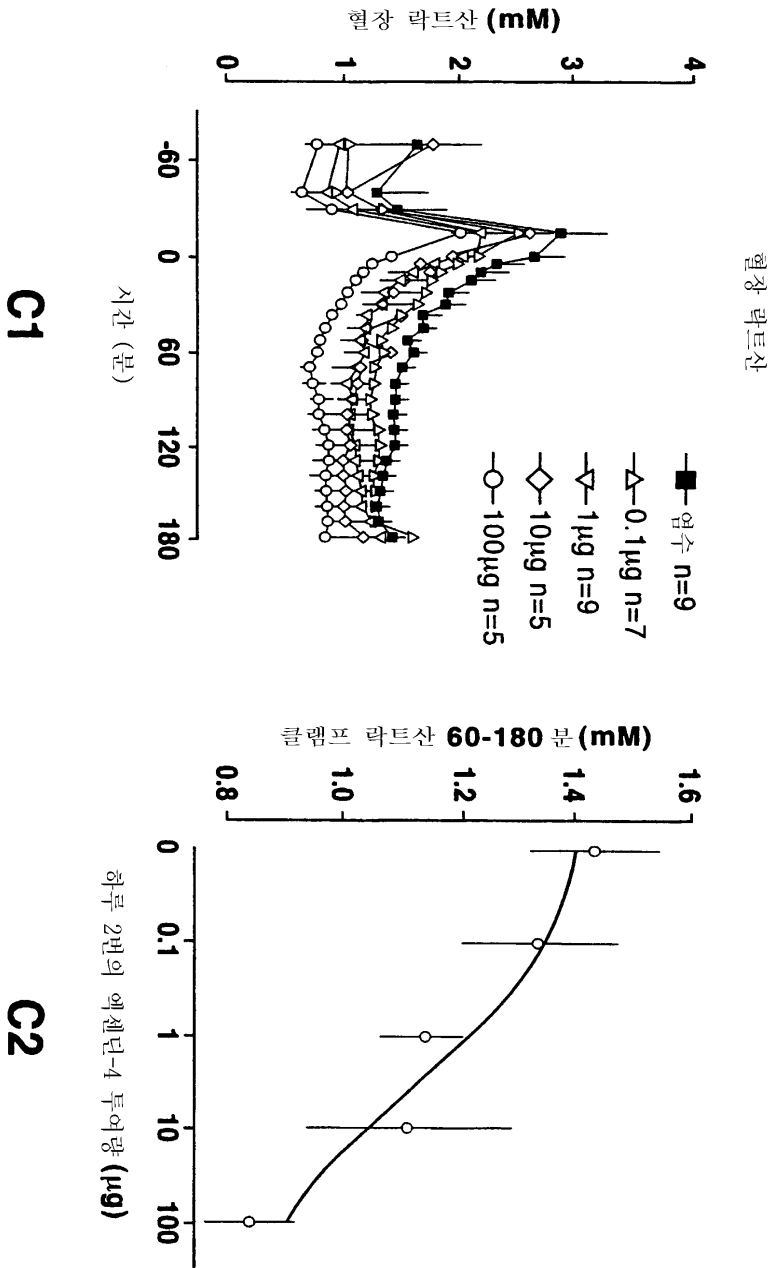
도면14A



도면14B



도면14C



도면15A

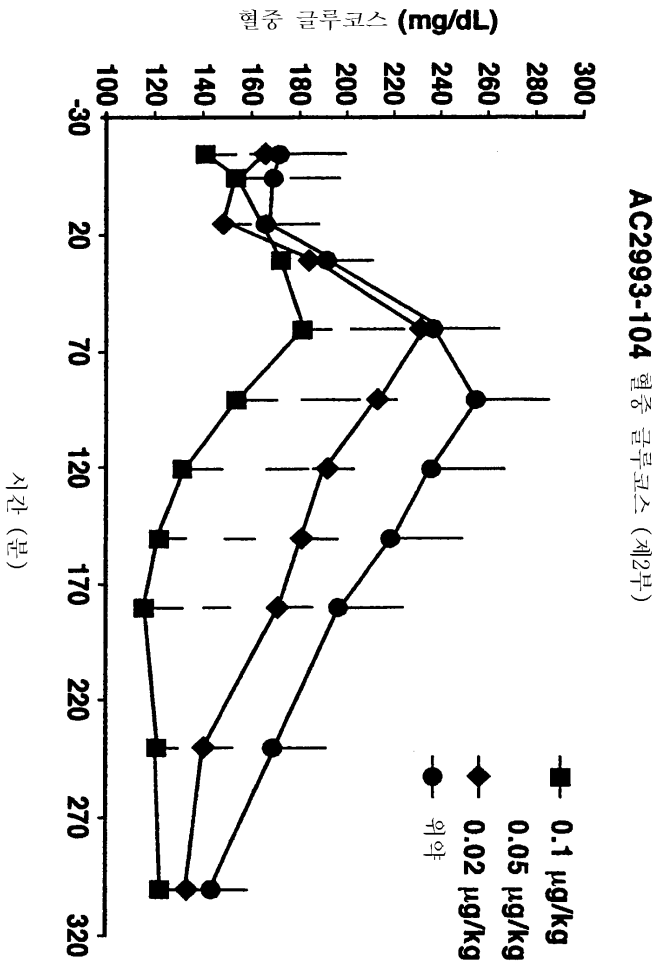
1
Xaa₁Xaa₂Xaa₃Gly Thr Xaa₄Xaa₅Xaa₆Xaa₇Xaa₈Ser Lys Gln Xaa₉Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu
25
Xaa₁₀Xaa₁₁Xaa₁₂Xaa₁₃Leu Lys Asn Gly Gly Xaa₁₄Ser Ser Gly Ala Xaa₁₅Xaa₁₆Xaa₁₇Xaa₁₈-Z
30
35
15
20

서열	Xaa ₁	Xaa ₂	Xaa ₃	Xaa ₄	Xaa ₅	Xaa ₆	Xaa ₇	Xaa ₈	Xaa ₉	Xaa ₁₀	Xaa ₁₁	Xaa ₁₂	Xaa ₁₃	Xaa ₁₄	Xaa ₁₅	Xaa ₁₆	Xaa ₁₇	Xaa ₁₈
9	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Leu	Phe	Ile	Glu	Phe	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
10	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Leu	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
11	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Phe	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
12	Tyr	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
13	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Tyr
14	His	Gly	Asp	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
15	His	Gly	Glu	naph	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
16	His	Gly	Glu	Phe	Ser	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
17	His	Gly	Glu	Phe	Ser	Thr	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
18	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Thr	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
19	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Glu	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
20	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	pGly	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
21	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	pGly	Leu	Phe	Ile	Glu	Phe	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
22	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	pGly	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
23	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	pGly	Phe	Ile	Glu	Phe	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
24	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	naph	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
25	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Val	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser

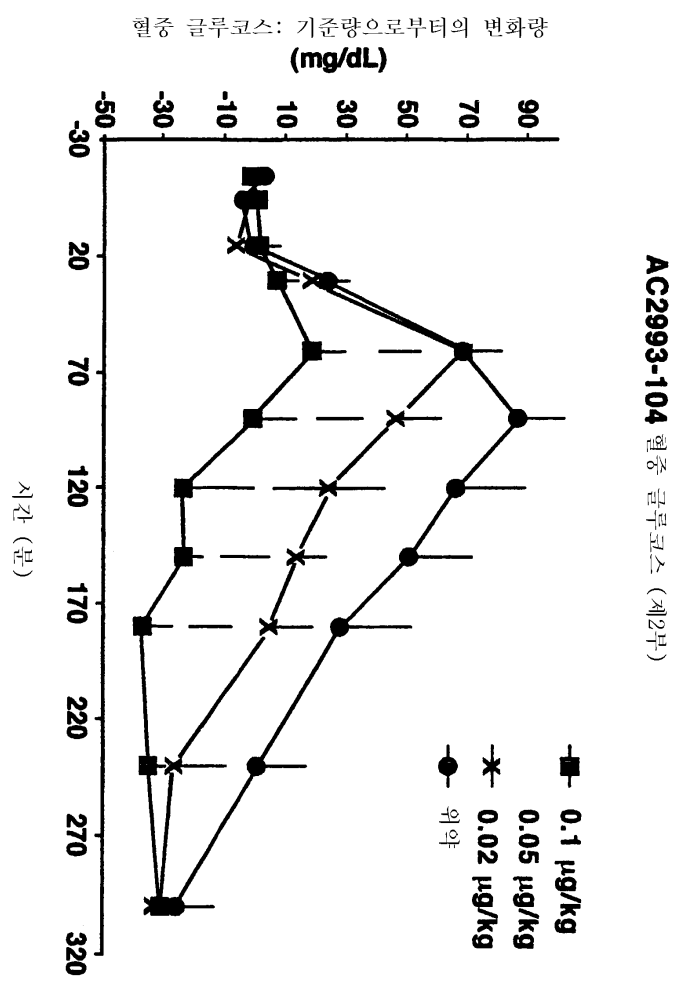
도면15B

[서열]	Xaa ₁	Xaa ₂	Xaa ₃	Xaa ₄	Xaa ₅	Xaa ₆	Xaa ₇	Xaa ₈	Xaa ₉	Xaa ₁₀	Xaa ₁₁	Xaa ₁₂	Xaa ₁₃	Xaa ₁₄	Xaa ₁₅	Xaa ₁₆	Xaa ₁₇	Xaa ₁₈
26	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Leu	Phe	Val	Glu	Phe	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
27	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	tBul	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
28	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Leu	Phe	tBul	Glu	Phe	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
29	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Asp	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
30	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Phe	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser
31	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	tPro	tPro	tPro	tPro	Ser
32	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	tPro	tPro	tPro	Ser
33	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	hPro	hPro	hPro	hPro	Ser
34	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	hPro	hPro	hPro	Ser
35	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Leu	Phe	Ile	Glu	Phe	tPro	tPro	tPro	tPro	Ser
36	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Leu	Phe	Ile	Glu	Phe	hPro	hPro	hPro	hPro	Ser
37	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	MeAla	MeAla	MeAla	MeAla	Ser
38	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	MeAla	MeAla	MeAla	Ser
39	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Leu	Phe	Ile	Glu	Phe	MeAla	MeAla	MeAla	MeAla	Ser

도면16



도면17



서열목록

- <110> KOLTERMAN, ORVILLE G.
YOUNG, ANDREW A.
- <120> NOVEL EXENDIN AGONIST FORMULATIONS AND METHODS OF ADMINISTRATION
THEREOF
- <130> 249/146US
- <140> 09/889,330
- <141> 2001-12-27
- <150> PCT/US00/00902
- <151> 2000-01-14
- <150> US 60/116,380
- <151> 1999-01-14
- <150> US 60/175,365
- <151> 2000-01-10
- <160> 189
- <170> PatentIn Ver. 3.2
- <210> 1
- <211> 39

<212> PRT
 <213> Heloderma horridum
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)
 <223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
 <400> 1
 His Ser Asp 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 Ser
 35
 <210> 2
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Heloderma suspectum
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)
 <223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
 <400> 2
 His Gly Glu 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 Ser
 35
 <210> 3
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic construct
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)
 <223> His, Arg or Thr
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (2)
 <223> Ser, Gly, Ala or Thr
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (3)
 <223> Asp or Glu
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (6)
 <223> Phe, Tyr or naphthalanine
 <220>
 <221> VARIANT

<222> (7)
 <223> Thr or Ser
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (8)
 <223> Ser or Thr
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (9)
 <223> Asp or Glu
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (10)
 <223> Leu, Ile, Val, pentylglycine or Met
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (14)
 <223> Leu, Ile, pentylglycine, Val or Met
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (22)
 <223> Phe, Tyr or naphthalanine
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (23)
 <223> Ile, Val, Leu, pentylglycine, tert-butylglycine or Met
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (24)
 <223> Glu or Asp
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (25)
 <223> Trp, Phe, Tyr or naphthylalanine
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (31)
 <223> independently Pro, homoproline, 3-hydroxyproline,
 4-hydroxyproline, thioproline, N-alkylglycine,
 N-alkylpentylglycine or N-alkylalanine
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (36)..(38)
 <223> independently Pro, homoproline, 3-hydroxyproline,
 4-hydroxyproline, thioproline, N-alkylglycine,
 N-alkylpentylglycine or N-alkylalanine
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (39)
 <223> Ser, Thr or Tyr
 <220>
 <223> c-term is -OH or NH₂, with the proviso that the compound

does not have the formula of either SEQ ID NOS 1 or 2

<400> 3

Xaa	Xaa	Xaa	Gly	Thr	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Ser	Lys	Gln	Xaa	Glu	Glu
1				5					10					15	
Glu	Ala	Val	Arg	Leu	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Leu	Lys	Asn	Gly	Gly	Xaa	Ser
			20					25					30		
Ser	Gly	Ala	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa									
			35												

<210> 4

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic construct

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)

<223> His, Arg, or Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)

<223> Ser, Gly, Ala or Thr

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)

<223> Asp or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)

<223> Ala or Thr

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)

<223> Ala, Phe, Tyr or naphthylalanine

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)

<223> Thr or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> (8)

<223> Ala, Ser or Thr

<220>

<221> VARIANT

<222> (9)

<223> Asp or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> (10)

<223> Ala, Leu, Ile, Val, pentylglycine or Met

<220>

<221> VARIANT

<222> (11)
 <223> Ala or Ser
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (12)
 <223> Ala or Lys
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (13)
 <223> Ala or Gln
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (14)
 <223> Ala, Leu, Ile, pentylglycine, Val or Met
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (15) .. (17)
 <223> Ala or Glu
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (19)
 <223> Ala or Val
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (20)
 <223> Ala or Arg
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (21)
 <223> Ala or Leu
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (22)
 <223> Ala, Phe, Tyr or naphthylalanine
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (23)
 <223> Ile, Val, Leu, pentylglycine, tert-butylglycine or Met
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (24)
 <223> Ala, Glu or Asp
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (25)
 <223> Ala, Trp, Phe, Tyr or naphthylalanine
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (26)
 <223> Ala or Leu
 <220>
 <221> VARIANT

<222> (27)
 <223> Ala or Lys
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (28)
 <223> Ala or Asn
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (31)
 <223> Pro, homoproline, 3Hyp, 4Hyp, thioproline, N-alkylglycine,
 N-alkylpentylglycine or N-alkylalanine
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (36)..(38)
 <223> Pro, homoproline, 3Hyp, 4Hyp, thioproline, N-alkylglycine,
 N-alkylpentylglycine or N-alkylalanine
 <220>
 <223> residues 29-38 may or may not be present according to the
 specification as filed; c-term is -OH or NH2
 <400> 4
 Xaa Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15
 Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Gly Xaa Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Xaa Xaa Xaa
 35
 <210> 5
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic construct
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)
 <223> His, Arg, Tyr, Ala, norvaline, Val, or norleucine
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (2)
 <223> Ser, Gly, Ala, or Thr
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (3)
 <223> Ala, Asp, or Glu
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (4)
 <223> Ala, norvaline, Val, norleucine or Gly
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (5)
 <223> Ala or Thr

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (6)
 <223> Phe, Tyr or naphthylalanine
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (7)
 <223> Thr or Ser
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (8)
 <223> Ala, Ser or Thr
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (9)
 <223> Ala, Norvaline, Val, Norleucine, Asp or Glu
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (10)
 <223> Ala, Leu, Ile, Val, pentylglycine or Met
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (11)
 <223> Ala or Ser
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (12)
 <223> Ala or Lys
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (13)
 <223> Ala or Gln
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (14)
 <223> Ala, Leu, Ile, pentylglycine, Val or Met
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (15)..(17)
 <223> Ala or Glu
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (19)
 <223> Ala or Val
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (20)
 <223> Ala or Arg
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (21)
 <223> Ala or Leu

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (22)
 <223> Phe, Tyr or naphthylalanine
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (23)
 <223> Ile, Val, Leu, pentylglycine, tert-butylglycine or
 Met
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (24)
 <223> Ala, Glu or Asp
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (25)
 <223> Ala, Trp, Phe, Tyr or naphthylalanine
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (26)
 <223> Ala or Leu
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (27)
 <223> Ala or Lys
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (28)
 <223> Ala or Asn
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (31)
 <223> Pro, homoproline, 3Hyp, 4Hyp, thioproline, N-alkylglycine,
 N-alkylpentylglycine or N-alkylalanine
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (36)..(39)
 <223> Pro, homoproline, 3Hyp, 4Hyp, thioproline, N-alkylglycine,
 N-alkylpentylglycine or N-alkylalanine
 <220>
 <223> residues 29-38 may or may not be present according to the
 specification as filed; c-term is -OH or NH₂
 <400> 5
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15
 Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Gly Xaa Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Xaa Xaa Xaa Xaa
 35
 <210> 6
 <211> 30
 <212> PRT

```

<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic construct
<400> 6
His Gly Glu 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
      20             25             30

<210> 7
<211> 30
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (30)
<223> AMIDATION, Position 30 is Gly-NH2
<400> 7
His Gly Glu 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
      20             25             30

<210> 8
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 8
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
  1             5             10             15
Glu Ala Val Arg Leu Ala Ile Glu Phe Leu Lys Asn
      20             25

<210> 9
<211> 39
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (39)
<223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
<400> 9
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
  1             5             10             15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser

```


20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

35

<210> 10

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (39)

<223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2

<400> 10

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu 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 Ser

35

<210> 11

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (39)

<223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2

<400> 11

His Gly Glu 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 Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser

20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

35

<210> 12

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (39)

<223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2

<400> 12

Tyr Gly Glu 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 Ser

35

<210> 13

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (39)

<223> AMIDATION, Position 39 is Tyr-NH2

<400> 13

His Gly Glu 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 Tyr

35

<210> 14

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (39)

<223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2

<400> 14

His Gly Asp 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 Ser

35

<210> 15

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (39)

<223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)

<223> Xaa is naphthylalanine

<400> 15

His Gly Glu Gly Thr Xaa 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 Ser
35

<210> 16

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (39)

<223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2

<400> 16

His Gly Glu Gly Thr Phe Ser 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 Ser
35

<210> 17

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (39)

<223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2

<400> 17

His Gly Glu Gly Thr Phe Ser Thr 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 Ser
35

<210> 18

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (39)

<223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2

<400> 18

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Thr 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 Ser
35
<210> 19
<211> 39
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (39)
<223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
<400> 19
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu 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 Ser
35
<210> 20
<211> 39
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (39)
<223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
<220>
<221> VARIANT
<222> (10)
<223> Xaa is pentylglycine
<400> 20
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Xaa 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 Ser
35
<210> 21
<211> 39
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (39)
<223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (10)
 <223> Xaa is pentyglycine
 <400> 21
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Xaa Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35
 <210> 22
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)
 <223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (14)
 <223> Xaa is pentyglycine
 <400> 22
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa 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 Ser
 35
 <210> 23
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)
 <223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (14)
 <223> Xaa is pentyglycine
 <400> 23
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

35

<210> 24
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)
 <223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (22)
 <223> Xaa is naphthylalanine
 <400> 24
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Xaa Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

35

<210> 25
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)
 <223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
 <400> 25
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Val Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

35

<210> 26
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)
 <223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
 <400> 26
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Val Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30
Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35
<210> 27
<211> 39
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (23)
<223> Xaa at Position 23 is tertiary-butylglycine
<220>
<221> MOD_RES
<222> (39)
<223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
<400> 27
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Xaa Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30
Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35
<210> 28
<211> 39
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (23)
<223> Xaa at position 23 is tertiary-butylglycine
<220>
<221> MOD_RES
<222> (39)
<223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
<400> 28
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Xaa Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30
Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35
<210> 29
<211> 39
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)
 <223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
 <400> 29
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Asp Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35
 <210> 30
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)
 <223> AMIDATION, position 39 is Ser-NH2
 <400> 30
 His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35
 <210> 31
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (31)
 <223> Xaa at position 31 is thioproline
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (36)..(38)
 <223> Xaa at positions 36, 37, and 38 is thioproline
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)
 <223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
 <400> 31
 His Gly Glu 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 Xaa Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Xaa Xaa Xaa Ser

35

<210> 32
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (36)..(38)
 <223> Xaa at positions 36, 37, and 38 is thioproline
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)
 <223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
 <400> 32

His	Gly	Glu	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	Xaa	Xaa	Xaa	Ser									

35

<210> 33
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (31)
 <223> Xaa at position 31 is homoproline
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (36)..(38)
 <223> Xaa at positions 36, 37, and 38 is homoproline
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)
 <223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
 <400> 33

His	Gly	Glu	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	Xaa	Ser
			20					25						30	
Ser	Gly	Ala	Xaa	Xaa	Xaa	Ser									

35

<210> 34
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>

<223> Synthetic construct
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (36)..(38)
 <223> Xaa at positions 36, 37, and 38 is homoproline
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)
 <223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
 <400> 34
 His Gly Glu 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 Xaa Xaa Xaa Ser
 35
 <210> 35
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (31)
 <223> Xaa at position 31 is thioproline
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (36)..(38)
 <223> Xaa at positions 36, 37, and 38 is thioproline
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)
 <223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
 <400> 35
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Xaa Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Xaa Xaa Xaa Ser
 35
 <210> 36
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (31)
 <223> Xaa at position 31 is homoproline
 <220>

<221> VARIANT
 <222> (36)..(38)
 <223> Xaa at positions 36, 37, and 38 is homoproline
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)
 <223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
 <400> 36
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Xaa Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Xaa Xaa Xaa Ser
 35
 <210> 37
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (31)
 <223> Xaa at position 31 is N-methylalanine
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (36)..(38)
 <223> Xaa at positions 36, 37, and 38 is N-methylalanine
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)
 <223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
 <400> 37
 His Gly Glu 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 Xaa Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Xaa Xaa Xaa Ser
 35
 <210> 38
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (36)..(38)
 <223> Xaa at positions 36, 37, and 38 is N-methylalanine
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)

```

<223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
<400> 38
His Gly Glu 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 Xaa Xaa Xaa Ser
      35
<210> 39
<211> 39
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (31)
<223> Xaa at position 31 is N-methylalanine
<220>
<221> VARIANT
<222> (36)..(38)
<223> Xaa at positions 36, 37, and 38 is N-methylalanine
<220>
<221> MOD_RES
<222> (39)
<223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
<400> 39
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
  1           5           10           15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Xaa Ser
      20           25           30
Ser Gly Ala Xaa Xaa Xaa Ser
      35
<210> 40
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 40
His Gly Glu 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
      20           25
<210> 41
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

```

<220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 41
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
 20 25
 <210> 42
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 42
 His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
 20 25
 <210> 43
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 43
 His Gly Glu Gly Ala Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
 20 25
 <210> 44
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 44

His Gly Glu Gly Thr Ala Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
20 25
<210> 45
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 45
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ala Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
20 25
<210> 46
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 46
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Ala Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
20 25
<210> 47
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 47
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ala Lys Gln Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
20 25
<210> 48
<211> 28
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 48
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Ala Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
 20 25
 <210> 49
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 49
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Ala Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
 20 25
 <210> 50
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 50
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
 20 25
 <210> 51
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2

<400> 51
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Ala Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
 20 25

<210> 52

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (28)

<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2

<400> 52

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

<210> 53

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (28)

<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2

<400> 53

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

<210> 54

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (28)

<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2

<400> 54

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

<210> 55

<211> 28


```

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 55
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Ala Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
          20          25

<210> 56
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 56
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Ala Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
          20          25

<210> 57
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 57
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Ala Phe Leu Lys Asn
          20          25

<210> 58
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)

```

<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 58
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Ala Leu Lys Asn
 20 25
 <210> 59
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 59
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Ala Lys Asn
 20 25
 <210> 60
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 60
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Ala Asn
 20 25
 <210> 61
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Ala-NH2
 <400> 61
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Ala
 20 25
 <210> 62

```

<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)
<223> AMIDATION, Position 38 is Pro-NH2
<400> 62
His Gly Glu 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
          35
<210> 63
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)
<223> AMIDATION, Position 38 is Pro-NH2
<400> 63
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
          20          25          30
Ser Gly Ala Pro Pro Pro
          35
<210> 64
<211> 37
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (37)
<223> AMIDATION, Position 37 is Pro-NH2
<400> 64
His Gly Glu 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
          35
<210> 65
<211> 37

```

```

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (37)
<223> AMIDATION, Position 37 is Pro-NH2
<400> 65
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
          20          25          30
Ser Gly Ala Pro Pro
          35
<210> 66
<211> 36
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (36)
<223> AMIDATION, Position 36 is Pro-NH2
<400> 66
His Gly Glu 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
          35
<210> 67
<211> 36
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (36)
<223> AMIDATION, Position 36 is Pro-NH2
<400> 67
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
          20          25          30
Ser Gly Ala Pro
          35
<210> 68
<211> 35
<212> PRT

```

<213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (35)
 <223> AMIDATION, Position 35 is Ala-NH2
 <400> 68
 His Gly Glu 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
 35
 <210> 69
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (35)
 <223> AMIDATION, Position 35 is Ala-NH2
 <400> 69
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala
 35
 <210> 70
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (34)
 <223> AMIDATION, Position 34 is Gly-NH2
 <400> 70
 His Gly Glu 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
 <210> 71
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>

```

<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (34)
<223> AMIDATION, Position 34 is Gly-NH2
<400> 71
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
          20          25          30
Ser Gly
<210> 72
<211> 33
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (33)
<223> AMIDATION, Position 33 is Ser-NH2
<400> 72
His Gly Glu 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
<210> 73
<211> 33
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (33)
<223> AMIDATION, Position 33 is Ser-NH2
<400> 73
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
          20          25          30
Ser
<210> 74
<211> 32
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (32)

```

<223> AMIDATION, Position 32 is Ser-NH2
 <400> 74
 His Gly Glu 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
 <210> 75
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (32)
 <223> AMIDATION, Position 32 is Ser-NH2
 <400> 75
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30
 <210> 76
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (31)
 <223> AMIDATION, Position 31 is Pro-NH2
 <400> 76
 His Gly Glu 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
 20 25 30
 <210> 77
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (31)
 <223> AMIDATION, Position 31 is Pro-NH2
 <400> 77
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro
 20 25 30
 <210> 78

<211> 30
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (30)
 <223> AMIDATION, Position 30 is Gly-NH2
 <400> 78
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly
 20 25 30
 <210> 79
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)
 <223> AMIDATION, Position 29 is Gly-NH2
 <400> 79
 His Gly Glu 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
 20 25
 <210> 80
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)
 <223> AMIDATION, Position 29 is Gly-NH2
 <400> 80
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly
 20 25
 <210> 81
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> VARIANT


```

<222> (31)
<223> Xaa is thioproline
<220>
<221> VARIANT
<222> (36)..(38)
<223> Xaa is thioproline
<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)
<223> AMIDATION, Position 38 is thioproline-NH2
<400> 81
His Gly Glu 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 Xaa Ser
          20          25          30
Ser Gly Ala Xaa Xaa Xaa
          35
<210> 82
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (36)..(38)
<223> Xaa is thioproline
<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)
<223> AMIDATION, Position 38 is thioproline-NH2
<400> 82
His Gly Glu 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 Xaa Xaa Xaa
          35
<210> 83
<211> 37
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (31)
<223> Xaa is N-methylalanine
<220>
<221> MOD_RES
<222> (37)
<223> AMIDATION, Position 37 is Pro-NH2

```

<400> 83
 His Gly Glu 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 Xaa Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Pro Pro
 35

<210> 84
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (31)
 <223> Xaa is N-methylalanine
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (36)..(37)
 <223> Xaa is N-methylalanine
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (37)
 <223> AMIDATION, Position 37 is N-methylalanine-NH2
 <400> 84

His Gly Glu 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 Xaa Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Xaa Xaa
 35

<210> 85
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (31)
 <223> Xaa is homoproline
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (36)..(37)
 <223> Xaa is homoproline
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (37)
 <223> AMIDATION, Position 37 is homoproline-NH2
 <400> 85

His Gly Glu 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 Xaa Ser
 20 25 30
Ser Gly Ala Xaa Xaa
 35

```

<210> 86
<211> 36
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (31)
<223> Xaa is homoproline
<220>
<221> VARIANT
<222> (36)
<223> Xaa is homoproline
<220>
<221> MOD_RES
<222> (36)
<223> AMIDATION, Position 36 is homoproline-NH2
<400> 86

```

His Gly Glu 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 Xaa Ser
20 25 30
Ser Gly Ala Xaa
35

```
<210> 87
<211> 35
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)
<223> AMIDATION, Position 35 is Ala-NH2
<400> 87
```

Arg Gly Glu 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
35

```
<210> 88
<211> 30
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
```

<223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (30)
 <223> AMIDATION, Position 30 is Gly-NH2
 <400> 88
 His Gly Asp 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
 20 25 30
 <210> 89
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (6)
 <223> Xaa is naphthylalanine
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 89
 His Gly Glu Gly Thr Xaa Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
 20 25
 <210> 90
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 90
 His Gly Glu Gly Thr Phe Ser 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
 20 25
 <210> 91
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES

```

<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 91
His Gly Glu Gly Thr Phe Ser Thr Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1           5           10           15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
          20           25

<210> 92
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 92
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Gln Met Ala Glu
1           5           10           15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
          20           25

<210> 93
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (10)
<223> Xaa is pentylglycine
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 93
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Xaa Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1           5           10           15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
          20           25

<210> 94
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (22)
<223> Xaa is naphthylalanine
<220>

```

```

<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 94
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1           5           10           15
Glu Ala Val Arg Leu Xaa Ile Glu Phe Leu Lys Asn
           20           25

<210> 95
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (23)
<223> Xaa is tertiary-butylglycine
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 95
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1           5           10           15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Xaa Glu Trp Leu Lys Asn
           20           25

<210> 96
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 96
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1           5           10           15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Asp Phe Leu Lys Asn
           20           25

<210> 97
<211> 33
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (33)
<223> AMIDATION, Position 33 is Ser-NH2

```

<400> 97
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Ala Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30
Ser
<210> 98
<211> 29
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)
<223> AMIDATION, Position 29 is Gly-NH2
<400> 98
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Ala Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly
20 25
<210> 99
<211> 37
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (31)
<223> Xaa is homoproline
<220>
<221> VARIANT
<222> (36)..(37)
<223> Xaa is homoproline
<220>
<221> MOD_RES
<222> (37)
<223> AMIDATION, Position 37 is homoproline-NH2
<400> 99
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Ala Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Xaa Ser
20 25 30
Ser Gly Ala Xaa Xaa
35
<210> 100
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct

```

<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 100
Ala Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
          20          25

<210> 101
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 101
His Gly Ala Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
          20          25

<210> 102
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 102
His Gly Glu Ala Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
          20          25

<210> 103
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 103
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Ala Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15

```


Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
20 25

<210> 104
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 104

Ala Gly Glu 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
20 25

<210> 105
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 105

His Gly Ala 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
20 25

<210> 106
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 106

His Gly Glu Ala 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
20 25

<210> 107
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>

```

<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 107
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Ala Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
          20          25
<210> 108
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 108
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Ala Ser Lys Gln Met Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
          20          25
<210> 109
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 109
Ala Ala Glu 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
          20          25
<210> 110
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 110
Ala Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu

```

```

1             5             10             15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
          20             25

<210> 111
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 111
Ala Gly Asp 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
          20             25

<210> 112
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 112
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1             5             10             15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
          20             25

<210> 113
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 113
Ala Gly Asp Gly Ala 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
          20             25

<210> 114
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

```

<220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 114
 Ala Gly Asp Gly Ala Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
 20 25
 <210> 115
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (6)
 <223> Xaa is naphthylalanine
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 115
 Ala Gly Asp Gly Thr Xaa 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
 20 25
 <210> 116
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (6)
 <223> Xaa is naphthylalanine
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 116
 Ala Gly Asp Gly Thr Xaa Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
 20 25
 <210> 117
 <211> 28
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 117
 Ala Gly Asp Gly Thr Phe Ser 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
 20 25
 <210> 118
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 118
 Ala Gly Asp Gly Thr Phe Ser Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
 20 25
 <210> 119
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 119
 Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ala Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
 20 25
 <210> 120
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2

<400> 120
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ala Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
20 25

<210> 121
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2

<400> 121
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Ala Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
20 25

<210> 122
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2

<400> 122
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Ala Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
20 25

<210> 123
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2

<400> 123
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
20 25

<210> 124
<211> 28

```

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 124
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
          20          25

<210> 125
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 125
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Ala Ser Lys Gln Met Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
          20          25

<210> 126
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 126
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Ala Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
          20          25

<210> 127
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (10)

```

```

<223> Xaa is pentylglycine
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 127
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Xaa Ser Lys Gln Met Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
          20          25
<210> 128
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (10)
<223> Xaa is pentylglycine
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 128
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Xaa Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
          20          25
<210> 129
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 129
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ala Lys Gln Met Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
          20          25
<210> 130
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES

```


<222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 130
 Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ala Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
 20 25
 <210> 131
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 131
 Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Ala Gln Met Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
 20 25
 <210> 132
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 132
 Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Ala Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
 20 25
 <210> 133
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 133
 Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Ala Met Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
 20 25

```

<210> 134
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 134
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Ala Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
          20          25

<210> 135
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 135
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
          20          25

<210> 136
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 136
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Ala Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
          20          25

<210> 137
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>

```

```

<221> VARIANT
<222> (14)
<223> Xaa is pentylglycine
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 137
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
          20          25

<210> 138
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (14)
<223> Xaa is pentylglycine
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 138
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
          20          25

<210> 139
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 139
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Ala Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
          20          25

<210> 140
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct

```

```

<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 140
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Ala Glu
1           5           10           15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
           20           25

<210> 141
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 141
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Ala
1           5           10           15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
           20           25

<210> 142
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 142
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Ala
1           5           10           15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
           20           25

<210> 143
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 143
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1           5           10           15

```

Ala Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
20 25

<210> 144
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 144

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1 5 10 15

Ala Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
20 25

<210> 145
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 145

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

Glu Ala Ala Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
20 25

<210> 146
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 146

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Ala Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
20 25

<210> 147
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>

```

<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 147
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Ala Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
          20          25
<210> 148
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 148
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Ala Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
          20          25
<210> 149
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 149
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Ala Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
          20          25
<210> 150
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 150
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu

```

```

1             5             10             15
Glu Ala Val Arg Ala Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn
      20             25

<210> 151
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (22)
<223> Xaa is naphthylalanine
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 151
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1             5             10             15
Glu Ala Val Arg Leu Xaa Ile Glu Trp Leu Lys Asn
      20             25

<210> 152
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (22)
<223> Xaa is naphthylalanine
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 152
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1             5             10             15
Glu Ala Val Arg Leu Xaa Ile Glu Phe Leu Lys Asn
      20             25

<210> 153
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 153

```

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Val Glu Trp Leu Lys Asn
20 25
<210> 154
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 154
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Val Glu Phe Leu Lys Asn
20 25
<210> 155
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (23)
<223> Xaa is tertiary-butylglycine
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 155
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Xaa Glu Trp Leu Lys Asn
20 25
<210> 156
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (23)
<223> Xaa is tertiary-butylglycine
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2

<400> 156
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Xaa Glu Phe Leu Lys Asn
20 25

<210> 157
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2

<400> 157
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Asp Trp Leu Lys Asn
20 25

<210> 158
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2

<400> 158
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Asp Phe Leu Lys Asn
20 25

<210> 159
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2

<400> 159
Ala Gly Asp 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 Ala Leu Lys Asn
20 25

<210> 160
<211> 28

```

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 160
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Ala Leu Lys Asn
          20          25
<210> 161
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 161
Ala Gly Asp 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 Ala Lys Asn
          20          25
<210> 162
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)
<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
<400> 162
Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Ala Lys Asn
          20          25
<210> 163
<211> 28
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)

```

<223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 163
 Ala Gly Asp 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 Ala Asn
 20 25
 <210> 164
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Asn-NH2
 <400> 164
 Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Ala Asn
 20 25
 <210> 165
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Ala-NH2
 <400> 165
 Ala Gly Asp 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 Ala
 20 25
 <210> 166
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)
 <223> AMIDATION, Position 28 is Ala-NH2
 <400> 166
 Ala Gly Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Ala
 20 25
 <210> 167

```

<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)
<223> AMIDATION, Position 38 is Pro-NH2
<400> 167
Ala Gly Glu 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
          35
<210> 168
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)
<223> AMIDATION, Position 38 is Pro-NH2
<400> 168
His Gly Ala Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
          20          25          30
Ser Gly Ala Pro Pro Pro
          35
<210> 169
<211> 37
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (37)
<223> AMIDATION, Position 37 is Pro-NH2
<400> 169
His Gly Glu Ala 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
          35
<210> 170
<211> 36

```

```

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (36)
<223> AMIDATION, Position 36 is Pro-NH2
<400> 170
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Ala 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
          35
<210> 171
<211> 36
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (36)
<223> AMIDATION, Position 36 is Pro-NH2
<400> 171
Ala Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Ala Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
          20          25          30
Ser Gly Ala Pro
          35
<210> 172
<211> 35
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (35)
<223> AMIDATION, Position 35 is Ala-NH2
<400> 172
Ala Gly Glu 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
          35
<210> 173
<211> 35
<212> PRT

```

<213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (35)
 <223> AMIDATION, Position 35 is Ala-NH2
 <400> 173
 His Gly Ala Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala
 35
 <210> 174
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (34)
 <223> AMIDATION, Position 34 is Gly-NH2
 <400> 174
 His Gly Glu Ala 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
 <210> 175
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (33)
 <223> AMIDATION, Position 33 is Ser-NH2
 <400> 175
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Ala 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
 <210> 176
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct

```

<220>
<221> MOD_RES
<222> (32)
<223> AMIDATION, Position 32 is Ser-NH2
<400> 176
Ala Gly Glu 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

<210> 177
<211> 32
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (32)
<223> AMIDATION, Position 32 is Ser-NH2
<400> 177
His Gly Ala Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
          20          25          30

<210> 178
<211> 31
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (31)
<223> AMIDATION, Position 31 is Pro-NH2
<400> 178
His Gly Glu Ala 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
          20          25          30

<210> 179
<211> 30
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (30)
<223> AMIDATION, Position 30 is Gly-NH2
<400> 179
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Ala Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1          5          10          15

```

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

<210> 180
<211> 29
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)
<223> AMIDATION, Position 29 is Gly-NH2
<400> 180

Ala Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly
20 25

<210> 181
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (31)
<223> Xaa is thioproline
<220>
<221> VARIANT
<222> (36)..(38)
<223> Xaa is thioproline
<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)
<223> AMIDATION, Position 38 is thioproline-NH2
<400> 181

His Gly Ala 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 Xaa Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Xaa Xaa Xaa
35

<210> 182
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (36)..(38)
<223> Xaa is thioproline


```

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)
<223> AMIDATION, Position 38 is thioproline-NH2
<400> 182
His Gly Glu Ala 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 Xaa Xaa Xaa
          35
<210> 183
<211> 37
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (31)
<223> Xaa is N-methylalanine
<220>
<221> VARIANT
<222> (36)..(37)
<223> Xaa is N-methylalanine
<220>
<221> MOD_RES
<222> (37)
<223> AMIDATION, Position 37 is N-methylalanine-NH2
<400> 183
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Ala 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 Xaa Ser
          20          25          30
Ser Gly Ala Xaa Xaa
          35
<210> 184
<211> 36
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic construct
<220>
<221> VARIANT
<222> (31)
<223> Xaa is homoproline
<220>
<221> VARIANT
<222> (36)
<223> Xaa is homoproline
<220>
<221> MOD_RES

```

<222> (36)
 <223> AMIDATION, Position 36 is homoproline-NH2
 <400> 184
 Ala Gly Glu 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 Xaa Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Xaa
 35
 <210> 185
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (35)
 <223> AMIDATION, Position 35 is Ala-NH2
 <400> 185
 His Gly Ala 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
 35
 <210> 186
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (30)
 <223> AMIDATION, Position 30 is Gly-NH2
 <400> 186
 His Gly Asp Ala 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
 20 25 30
 <210> 187
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic construct
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)
 <223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2
 <400> 187

Ala Gly Glu 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 Ser

<210> 188

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic constructArtificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<221> MOD RES

<222> (39)

<223> AMIDATION, Position 39 is Ser-NH2

<400> 188

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

<210> 189

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> GLP-1 [7-36] NH2 peptide

 $\langle 220 \rangle$

<223> c-term amidated

<400> 189

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 Arg
20 25 30