



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0159403
(43) 공개일자 2023년11월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/435 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2023.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/43522 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7030953
(22) 출원일자(국제) 2022년03월22일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년09월11일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2022/057533
(87) 국제공개번호 WO 2022/200374
국제공개일자 2022년09월29일
(30) 우선권주장
21164384.6 2021년03월23일
유럽특허청(EPO)(EP)
21213431.6 2021년12월09일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
질랜드 파마 에이/에스
덴마크 디케이-2860 쇠보르 슈마큰 11
(72) 발명자
몽크 헨리크 피셔
덴마크 2860 쇠보르 슈마큰 11 질랜드 파마 에이/에스
(74) 대리인
리앤목특허법인

전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 Kv1.3 차단제

(57) 요약

본 발명은 칼륨 채널 Kv1.3의 신규한 차단제, 그를 코딩하는 폴리뉴클레오티드, 및 그의 제조 및 사용 방법을 제공한다.

(52) CPC특허분류

A61P 29/00 (2023.02)

명세서

청구범위

청구항 1

서열 QMDMRCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR(서열번호 1)의 변이체를 포함하는, Kv1.3 억제제 활성을 갖는 이온 채널 차단제, 또는 그의 약학적으로 허용되는 염으로서,

상기 변이체는 서열번호 1과 총 10개 이하의 치환, 삽입 또는 결실에 의해 상이하고,

서열번호 1의 위치 7, 8, 9, 10 또는 11의 적어도 하나의 아미노산은 양전하 측쇄를 갖는 아미노산 및/또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환되고,

상기 변이체는 하기 서열을 포함하지 않는 것인 이온 채널 차단제:

NMDMRCKASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR	서열번호 2
NMDMRCSASRECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR	서열번호 3
N[Nie]D[Nie]RCRASVECKQKCLKAIGSIFGKC[Nie]NKKCKCYPR	서열번호 4
N[Nie]D[Nie]RCSHSVECKQKCLKAIGSIFGKC[Nie]NKKCKCYPR	서열번호 5
N[Nie]D[Nie]RCSAKECKQKCLKAIGSIFGKC[Nie]NKKCKCYPR	서열번호 6
P[Nie]E[Nie]RCFASVECKQKCLAAIGSIFGKC[Nie]NKKCKCYPR	서열번호 7
P[Nie]E[Nie]RCSYSVECKQKCLAAIGSIFGKC[Nie]NKKCKCYPR	서열번호 8
P[Nie]E[Nie]RCSAFVECKQKCLAAIGSIFGKC[Nie]NKKCKCYPR	서열번호 9

청구항 2

선행하는 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 서열번호 1의 변이체에서 치환 또는 결실은 서열번호 1의 위치 1-5, 7-11, 13-15, 17-23, 25, 28-31, 33 및 35-37로부터 선택된 아미노산 위치, 바람직하게는 서열번호 1의 위치 1-5, 7-11, 13, 15, 18, 28 및 30에서 선택된 아미노산 위치에 있는 것인 이온 채널 차단제.

청구항 3

선행하는 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이온 채널 차단제는 50 nM 이하, 예를 들어, 20 nM 이하, 10 nM 이하, 5 nM 이하, 2 nM 이하, 1 nM 이하, 0.5 nM 이하, 0.4 nM 이하, 0.3 nM 이하, 0.2 nM 이하인 인간 Kv1.3 칼륨 채널에 대한 IC₅₀을 갖는 것인 이온 채널 차단제.

청구항 4

선행하는 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양전하 측쇄를 갖는 아미노산은 H, K, hK, R, Orn, 2,3-디아미노프로파노일, 2,4-디아미노부타노일, 2-아미노-3-구아니디노프로피오닐 및 4-아미노-페닐알라닌(F(4-NH₂))으로 구성된 군, 바람직하게는 H, K, R, Orn, 2,3-디아미노프로파노일, 2-아미노-3-구아니디노프로피오닐 및 2,4-디아미노부타노일로부터 선택되고; 및/또는

상기 방향족 측쇄를 갖는 아미노산은 F, W 및 Y로 구성된 군으로부터 선택되거나, 바람직하게는 Y인 것인 이온 채널 차단제.

청구항 5

선행하는 항 중 어느 한 항에 있어서,

서열번호 1의 위치 7의 아미노산은 양전하 측쇄 또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산, 바람직하게는 H, K, R, Orn, 2,3-디아미노프로파노일, 2-아미노-3-구아니디노프로피오닐, 2,4-디아미노부타노일 또는 Y로 치환되고;

서열번호 1의 위치 8의 아미노산은 양전하 측쇄 또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환되거나, 상기 변이체의 8번 위치의 아미노산이 서열번호 1의 8번 위치와 동일한 아미노산, 즉, A이고;

서열번호 1의 위치 9의 아미노산은 양전하 측쇄 또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산, 바람직하게는 K, Orn 또는

2,3-디아미노프로파노일로 치환되고;

서열번호 1의 위치 10의 아미노산은 양전하 측쇄 또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산, 바람직하게는 R로 치환되고; 및/또는

서열번호 1의 위치 11의 아미노산은 양전하 측쇄 또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산, 바람직하게는 R로 치환되는 것인 이온 채널 차단제.

청구항 6

선행하는 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 서열번호 1의 변이체에서,

위치 1의 아미노산이 N, P 또는 Q이거나, 결실되고,

위치 2의 아미노산이 M 또는 Nle이거나, 결실되며,

위치 3의 아미노산이 D 또는 E이거나, 결실되고,

위치 4의 아미노산이 M 또는 Nle이거나, 결실되며,

위치 5의 아미노산이 R이거나, 결실되고,

위치 13의 아미노산이 A 또는 K이고,

위치 15의 아미노산이 K 또는 S이고,

위치 18의 아미노산이 A 또는 K이고,

위치 28의 아미노산이 M 또는 Nle이고, 및/또는

위치 30의 아미노산은 G 또는 K인 것인 이온 채널 차단제.

청구항 7

선행하는 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 서열번호 1의 변이체에서,

위치 1-5의 아미노산은 아미노산 서열 P[Nle]E[Nle]R로 구성되고,

위치 13의 아미노산은 A 또는 K이며,

위치 15의 아미노산은 K 또는 S이고,

위치 18의 아미노산은 A이며,

위치 28의 아미노산은 Nle이고, 및

위치 30의 아미노산은 G 또는 K인 것인 이온 채널 차단제.

청구항 8

선행하는 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 서열번호 1의 변이체는 하기 서열 중 하나를 포함하거나 그로 구성되는 것인 이온 채널 차단제:

서열	서열 번호
P[Nie]E[Nie]RC[2,4- 디아미노부타노일]ASVECKQKCLAAIGSIFGKC[Nie]NKKCKCYPR	10
P[Nie]E[Nie]RC[Orn]ASVECKQKCLAAIGSIFGKC[Nie]NKKCKCYPR	11
P[Nie]E[Nie]RC[2-아미노-3- 구아니디노프로피오닐]ASVECKQKCLAAIGSIFGKC[Nie]NKKCKCYPR	12
P[Nie]E[Nie]RCHASVECKQKCLAAIGSIFGKC[Nie]NKKCKCYPR	13
P[Nie]E[Nie]RCYASVECKQKCLAAIGSIFGKC[Nie]NKKCKCYPR	14
P[Nie]E[Nie]RCSA[Orn]VECKQKCLAAIGSIFGKC[Nie]NKKCKCYPR	15
P[Nie]E[Nie]RC[2,3- 디아미노프로파노일]ASVECKQKCLAAIGSIFGKC[Nie]NKKCKCYPR	16
P[Nie]E[Nie]RCSA[2,3- 디아미노프로파노일]VECKQKCLAAIGSIFGKC[Nie]NKKCKCYPR	17
P[Nie]E[Nie]RC[2,4- 디아미노부타노일]ASVECAQSCCLAAIGSIFGKC[Nie]NGKCKCYPR	18
P[Nie]E[Nie]RCRASVECAQSCCLAAIGSIFGKC[Nie]NGKCKCYPR	19
P[Nie]E[Nie]RCSASRECAQSCCLAAIGSIFGKC[Nie]NGKCKCYPR	20

청구항 9

선행하는 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 변이체가 하기 화합물 중 하나를 포함하거나 그로 구성되는 것인 이온 채널 차단제:

Cpd No.	서열	서열 번호
1	H-P[Nie]E[Nie]RC(1)[2,4- 디아미노부타노일]ASVEC(2)KQKC(3)LAAIGSIFGKC(1)[Nie]NKKC(2)KC(3)Y PR-OH	10
2	H- P[Nie]E[Nie]RC(1)[Orn]ASVEC(2)KQKC(3)LAAIGSIFGKC(1)[Nie]NKKC(2)KC (3)YPR-OH	11
3	H-P[Nie]E[Nie]RC(1)[2-아미노-3- 구아니디노프로피오닐]ASVEC(2)KQKC(3)LAAIGSIFGKC(1)[Nie]NKKC(2)KC (3)YPR-OH	12
4	H- P[Nie]E[Nie]RC(1)HASVEC(2)KQKC(3)LAAIGSIFGKC(1)[Nie]NKKC(2)KC(3) YPR-OH	13
5	H- P[Nie]E[Nie]RC(1)YASVEC(2)KQKC(3)LAAIGSIFGKC(1)[Nie]NKKC(2)KC(3) YPR-OH	14
6	H- P[Nie]E[Nie]RC(1)SA[Orn]VEC(2)KQKC(3)LAAIGSIFGKC(1)[Nie]NKKC(2)KC (3)YPR-OH	15
7	H-P[Nie]E[Nie]RC(1)[2,3- 디아미노프로파노일]ASVEC(2)KQKC(3)LAAIGSIFGKC(1)[Nie]NKKC(2)KC(3) YPR-OH	16
8	H-P[Nie]E[Nie]RC(1)SA[2,3- 디아미노프로파노일]VEC(2)KQKC(3)LAAIGSIFGKC(1)[Nie]NKKC(2)KC(3)Y PR-OH	17
9	H-P[Nie]E[Nie]RC(1)[2,4- 디아미노부타노일]ASVEC(2)AQSC(3)LAAIGSIFGKC(1)[Nie]NGKC(2)KC(3)Y PR-OH	18
10	H-P[Nie]E[Nie]RC(1)[2,4- 디아미노부타노일]ASVEC(2)AQSC(3)LAAIGSIFGKC(1)[Nie]NGKC(2)KC(3)Y PR-[NH ₂]	18
11	H- P[Nie]E[Nie]RC(1)RASVEC(2)AQSC(3)LAAIGSIFGKC(1)[Nie]NGKC(2)KC(3) YPR-[NH ₂]	19
12	H- P[Nie]E[Nie]RC(1)SASREC(2)AQSC(3)LAAIGSIFGKC(1)[Nie]NGKC(2)KC(3) YPR-[NH ₂]	20

청구항 10

선행하는 항 중 어느 한 항에 정의된 이온 채널 차단제를 코딩하는 핵산.

청구항 11

청구항 10에 따른 핵산을 포함하는 발현 벡터.

청구항 12

청구항 10에 따른 핵산 또는 청구항 11에 따른 발현 벡터를 포함하고, 청구항 1 내지 9 중 어느 한 항에 정의된 이온 채널 차단제를 발현할 수 있는 숙주 세포.

청구항 13

청구항 1 내지 9 중 어느 한 항에 따른 이온 채널 차단제를 합성하는 방법으로서, 상기 방법은:

(a) 고상 또는 액상 펩티드 합성 방법에 의해 상기 이온 채널 차단제를 합성하고, 그에 의해 수득된 펩티드를 회수하는 단계;

(b) 상기 이온 채널 차단제를 코딩하는 핵산 구조체로부터 상기 이온 채널 차단제를 발현시키고, 발현 산물을 회수하는 단계; 또는

(c) 전구체 펩티드 서열을 코딩하는 핵산 구조체로부터 전구체 펩티드를 발현시키고, 발현 산물을 회수하고, 상기 전구체 펩티드를 변형시켜 상기 이온 채널 차단제를 생성시키는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 14

청구항 1 내지 9 중 어느 한 항에 따른 이온 채널 차단제 또는 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 약학적 조성물.

청구항 15

의학적 치료, 바람직하게는 염증 상태 또는 장애의 치료 방법에 사용하기 위한, 선행하는 청구항 중 어느 한 항에 따른 이온 채널 차단제, 약학적으로 허용되는 염 또는 약학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 칼륨 채널 Kv1.3의 신규한 차단제, 그를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 및 그의 제조 및 사용 방법을 제공한다.

배경 기술

[0002] 이온 채널은 생물학적 막에 막공(pore)을 형성하여, 관련 막을 통한 이온의 흐름을 허용하는(및 조절하는) 막 단백질이다. 다수의 상이한 종류의 이온 채널이 있으며, 이들은 다양한 방식으로, 예를 들면, 그들이 통로를 제공하는 이온 중, 이온의 통로가 조절되거나 또는 "개폐되는(gated)" 방식 (예를 들면, "리간드-의존성(ligand-gated)", 또는 "전압-의존성(voltage-gated)", 및 그들의 세포 또는 세포내(sub-cellular) 국재화에 의해 분류될 수 있다.

[0003] 칼륨 채널은 4개의 주요한 클래스, 즉, 전압-의존성 칼륨 채널, 칼슘-활성화 칼륨 채널(calcium-activated potassium channel), 내부 정류 칼륨 채널(inwardly rectifying potassium channel), 및 텐덤 막공 도메인 칼륨 채널(tandem pore domain potassium channel)로 분류된다.

[0004] 다른 전압-의존성 채널처럼, 전압-의존성 칼륨 채널은 막관통 전압(transmembrane voltage)에 반응하여 개방되거나 또는 폐쇄된다. 그들은 신경전달물질 분비, 심박수, 인슐린 분비, 뉴런 흥분성(neuronal excitability), 상피 전해질 수송(epithelial electrolyte transport), 평활근 수축 및 세포 용적(cell volume)의 조절을 포함한 다양한 생물학적 기능을 갖는 복합 패밀리에 해당한다.

[0005] Kv1.3 (칼륨 전압-의존성 채널 서브패밀리 A 일원 3(potassium voltage-gated channel subfamily A member 3)) 채널은 T 세포 상에서 발현되고, T 세포 활성화의 조절에서 역할을 수행한다. Kv1.3의 차단제는 인 비트로에서 활성화된 T 세포의 증식을 억제하고(Cahalan and Chandy, Immunol. Rev. 231:59-87, 2009에서 리뷰됨), 실험적 자가면역 뇌척수염(Experimental autoimmune encephalomyelitis: EAE), 실험적 관절염(experimental arthritis), 지연형 과민증(delayed-type hypersensitivity: DTH), 알레르기성 접촉성 피부염 및 사구체신염을

포함한 자가면역 질환의 다양한 실험 모델에서 T-세포 의존적 질병 진행을 억제하는 것으로 확인되었다, 예를 들면, Rangaraju et al. (Expert Opin. Ther. Targets 13:909-24, 2009); Beeton et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 103:17414-9, 2006); Koo et al. (J. Immunol. 158:5120-8, 1997); Hyodo et al. (Am. J. Physiol. Renal Physiol. 299: F1258-69, 2010) 참조. WO 2016/112208은 피부 및 점막 염증의 치료를 위한 Kv1.3 차단제의 국소 적용을 기술한다.

- [0006] 따라서, Kv1.3 차단제는 자가면역 질환을 포함한, 염증성 질환의 치료에서의 사용을 위한 상당한 잠재력을 갖는다.
- [0007] WO 2015/013330은 안과 질환, 예를 들면, 쇼그렌 증후군과 같은 자가면역 질환에 의해 유발되는 경우를 포함한, 건성안 및 포도막염의 치료를 위한 Kv1.3 차단제 펩티드의 용도를 제시한다.
- [0008] Kv1.3의 차단제는 또한 유용한 대사 효과, 예를 들면, 에너지 항상성, 체중 조절, 및 당 조절(glucose control)과 관련한 유용한 대사 효과를 갖는다. Kv1.3 녹아웃(Kv1.3(-/-)) 마우스는 대조군 한배 새끼(control littermate) 대비 고지방 식이에 반응하여 체중 증가 감소, 더 높은 인슐린 민감성, 및 혈당 감소를 보인다(Xu et al., Hum. Mol. Genet. 12:551-9, 2003). 또한, Kv1.3 차단제는 골격근 및 지방 조직에서 글루코오스 수송체 4(glucose transporter 4) (GLUT4)의 발현을 증가시키고, 정상 및/또는 ob/ob 비만 마우스에서 인슐린 민감성을 증가시키며, 인 비트로에서 일차 지방세포에서 포도당 흡수를 증가시키는 것으로 확인되었다(Xu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:3112-7, 2004). 인간에서, Kv1.3 유전자 중 SNP(single nucleotide polymorphism)가 또한 인슐린 민감성 저하 및 내당능 장애(impaired glucose tolerance)와 연관되었다(Tschritter, Clin Endocrinol Metab 91: 654-8, 2006).
- [0009] Kv1.3은 또한 증식하는 인간 및 마우스 평활근 세포에서 발현된다. Kv1.3의 차단제는 재협착증과 같은, 평활근 증식성 질환, 예를 들면, 혈관 수술(예를 들면, 혈관 형성술) 후 환자에서의 재협착증에서 효과적일 수 있다. Kv1.3 차단제는 칼슘 유입을 억제하고, 평활근 세포 이동을 감소시키며, 엑스 비보 인간 정맥 시료에서 신생내막 이상증식(neointimal hyperplasia)을 억제하는 것으로 확인되었다(Cheong et al., Cardiovasc. Res. 89:282-9, 2011).
- [0010] 추가적 증거는 Kv1.3 채널이 종양 세포(Bielanska et al., Curr. Cancer Drug Targets 9:904-14, 2009), 미세아교 세포(Khanna et al., Am. J. Physiol. Cell Physiol. 280 : C796-806, 2001)를 포함한 다양한 종류의 세포의 활성화 및/또는 증식, 및 뉴런 전구세포(neuronal progenitor cell)의 분화(Wang et al., J. Neurosci. 30:5020-7, 2010)에 관련된다는 것을 시사한다. 따라서, Kv1.3 차단제는 신경염증성 및 신경퇴행성 질환 및 암의 치료에서 유용할 수 있다.
- [0011] Kv1.3은 Kv1.1 내지 Kv1.8로 지정된, 밀접하게 관련된 칼륨 채널의 서브-패밀리의 일부이다. 큰 상동 패밀리를 다룰 때, 차단제가 원하는 표적에 대해 최대한 선택적이고 특이적이며, 효능 및 안전성을 개선하고, 원치않는 오프-타겟(off-target) 효과를 방지하는 것은 언제나 바람직하다. 현재까지 확인된 가장 특이적 Kv1.3 차단제는 다양한 종류의 독이 있는(venomous) 개체, 예를 들면, 뱀, 거미류(예를 들면, 전갈 및 거미), 말미잘 등에서 유래된 베놈(venome) 펩티드이다. 그러한 Kv1.3 차단제는 Chandy et al., Trends in Pharmacol. Sci. 25:280-9, 2004에서 리뷰된, 펩티드 ShK, Oskl, MgTX(margatoxin) 및 KTX(kalimotoxin)를 포함한다. 또한, Abdel-Mottaleb et al., Toxicon 51:1424-30, 2008, 및 Mouhat et al., Biochem. J. 385(Pt 1):95-104, 2005를 참조한다.
- [0012] 특이성 또는 효능을 포함한, 특정한 특성을 위해 독소 펩티드를 조작하는 다양한 시도가 예를 들면, WO2006/002850, WO2006/042151, WO2008/088422, WO2006/116156, WO2010/105184 및 WO2014/116937에 기재되었다. 국제 특허 출원 PCT/EP2020/076187도 Kv1.3 차단제를 개시했다.
- [0013] 그러나, 대안적인 Kv1.3 차단제에 대한 요구가 존재한다. 안정성 및 효능과 같은 다른 특성들의 개선도 유용할 수 있으나, 공지된 차단제 대비 개선된 특이성을 갖는 차단제가 특히 바람직할 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0014] 발명의 요약

- [0015] 본 발명은 전갈 (파라부투스 트랜스바알리쿠스(*Parabuthus transvaalicus*))의 독소 펩티드로부터 유도된 이온

채널 차단제에 관한 것이다. 상기 독소 펩티드는 아미노산 서열 QMDMRCASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKYPR(서열 번호 1)을 갖는다.

[0016] 다른 바람직한 특성 중에서, 이 분자 및 그의 유도체 또는 변이체는 다른 전압-의존성 칼륨 채널에 비해 Kv1.3 칼륨 이온 채널에 대해 매우 선택적인 차단제인 것으로 밝혀졌으며, 일반적으로 Kv1.3 채널을 차단하는 데 높은 효능을 갖는다.

[0017] 따라서, 본 발명은 서열 QMDMRCASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKYPR(서열번호 1)의 변이체를 포함하는 Kv1.3 억제제 활성을 갖는 이온 채널 차단제 또는 그의 약학적으로 허용되는 염으로서, 서열번호 1의 위치 7, 8, 9, 10 또는 11에 있는 적어도 하나의 아미노산은 양전하 측쇄를 갖는 아미노산 및/또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환되고, 상기 변이체는 다음 서열 중 어느 것도 포함하지 않는 것인 이온 채널 차단제 또는 그의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다:

NMDMRCKASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKYPR	서열번호 2
NMDMRCASRECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKYPR	서열번호 3
N[N1e]D[N1e]RCRASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKYPR	서열번호 4
N[N1e]D[N1e]RCSHSVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKYPR	서열번호 5
N[N1e]D[N1e]RCSAKECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKYPR	서열번호 6
P[N1e]E[N1e]RCFASVECKQKCLAAIGSIFGKC[N1e]NKKCKYPR	서열번호 7
P[N1e]E[N1e]RCSYSVECKQKCLAAIGSIFGKC[N1e]NKKCKYPR	서열번호 8
P[N1e]E[N1e]RCSAFVECKQKCLAAIGSIFGKC[N1e]NKKCKYPR	서열번호 9

[0018]

[0019] 일 양태에서, 본 발명은 서열 QMDMRCASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKYPR(서열 번호 1)의 변이체를 포함하는 Kv1.3 억제제 활성을 갖는 이온 채널 차단제 또는 그의 약학적으로 허용되는 염으로서, 서열번호 1의 위치 7, 8, 9, 10 또는 11의 적어도 하나의 아미노산은, 양전하 측쇄를 갖는 아미노산 및/또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환된 것인 이온 채널 차단제 또는 그의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다.

[0020] 기타 양태에서, 본 발명은 본 발명의 이온 채널 차단제를 코딩하는 핵산, 본 발명의 핵산을 포함하는 발현 벡터, 및 본 발명의 핵산 또는 본 발명의 발현 벡터를 포함하고, 본 발명의 이온 채널 차단제를 발현을 수행할 수 있는 숙주 세포를 제공한다.

[0021] 본 발명은 또한 본 발명의 이온 채널 차단제 또는 약학적으로 허용되는 염의 합성 방법을 제공한다.

[0022] 본 발명은 본 발명의 이온 채널 차단제 또는 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 약학적 조성물을 추가로 제공한다.

[0023] 본 발명은 또한 본 발명의 이온 채널 차단제, 약학적으로 허용되는 염 또는 약학적 조성물의 의약 용도 및 본 발명의 이온 채널 차단제, 약학적으로 허용되는 염 또는 약학적 조성물을 사용하여 질병을 치료하는 방법을 제공한다.

과제의 해결 수단

[0024] 이온 채널 차단제

[0025] 본 발명은 이온 채널 차단제를 제공한다.

[0026] 본 발명의 이온 채널 차단제는 약학적으로 허용되는 염의 형태일 수 있다. 본원에서 "이온 채널 차단제"에 대한 모든 언급은 "약학적으로 허용되는 염"이 명시적으로 인용되는지 여부와 상관없이, 그의 임의의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 것으로 간주되어야 한다.

[0027] 용어 "이온 채널 차단제(ion channel blocker)"는 일반적으로 이온 채널로의 결합에 의해, 이온 채널에 대한 억제제(차단하는) 활성을 갖는, 즉, 개별적인 이온 채널을 통한 이온 흐름을 억제하거나 또는 제거할 수 있는 화합물을 표시하기 위해 사용된다. 유사하게, 용어 "Kv1.3 억제제(Kv1.3 inhibitor)" 및 "Kv1.3 억제제 성분(Kv1.3 inhibitor component)"은 일반적으로 Kv1.3 채널로의 결합에 의해, Kv1.3 이온 채널을 통한 이온 흐름을 억제하거나 또는 제거할 수 있는 펩티드를 의미한다. 그러나, 용어 "차단제(blocker)" 및 "억제제(inhibitor)"는 특정한 작용 메커니즘 또는 이온 채널 자체와의 상호작용의 특정한 모드를 암시하는 것으로 받

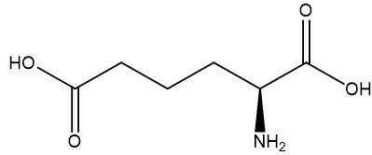
아들여져서는 안 된다.

- [0028] 용어 Kv1.3은 KCNA3, HPCN3, HGK5, HuKIII 및 HLK3이라고도 하는 칼륨 전압-의존성 채널 서브패밀리 A 구성원 3을 의미한다. "서브패밀리 A"는 또한 "셰이커-관련 서브패밀리(shaker-related family)"로 지칭될 수 있다. 인간 아미노산 서열은 UniProt 수탁 번호 P22001, 버전 P22001.3(Q5VWN2)으로 제공된다.
- [0029] Kv1.3 채널은 T 및 B 림프구에서 발현되고 T 세포 활성화에 관련되었다. 다수의 그룹이 면역 반응의 억제 및 다양한 기타 적응증을 위해 Kv1.3 차단제의 개발을 추진하였다. 그러나, Kv1.3 채널은 상이한 생리적 역할을 갖는, Kv1.1, Kv1.2 및 Kv1.6 채널을 포함한, 관련된 이온 채널의 복합 패밀리의 일부이다. 결과적으로, Kv1.3 억제제는 다른 이온 채널, 특히, 다른 전압-의존성 칼륨 채널, 예를 들면, Kv1.1, Kv1.2, Kv1.4, Kv1.5, Kv1.6, Kv1.7 및 Kv1.8에 우선하여 Kv1.3에 대해 가능한 한 선택적인 것이 바람직하다.
- [0030] 본 발명의 이온 채널 차단제 또는 약학적으로 허용되는 염은 Kv1.3 억제제 활성을 갖는다. 즉, 본 발명의 이온 채널 차단제(및 분리된 이온 채널 차단제의 펩티드 성분)는 Kv1.3 이온 채널에서 억제제 또는 차단제 활성을 가지며, 즉, Kv1.3 채널을 통한 이온 흐름을 억제할 수 있다.
- [0031]
- [0032] IC_{50} 값
- [0033] IC_{50} 값은 억제제 (또는 차단제) 활성 또는 효능의 척도로서 이용될 수 있다. IC_{50} 값은 주어진 분석에서 해당 화합물에 의한 이온 채널 활성의 최대 억제의 50%를 달성하기 위해 요구되는 억제제의 농도의 척도이다. 특정한 이온 채널에서 기준 화합물보다 더 낮은 IC_{50} 을 갖는 화합물은 기준 화합물보다 활성이 높은 억제제 또는 더 강력한 억제제로 간주될 수 있다. 용어 "활성(activity)" 및 "효능(potency)"은 호환적으로 사용된다.
- [0034] IC_{50} 값은 이온 흐름(ion flux)(예를 들면, 탈륨 이온 흐름)을 측정하는 형광-기반 분석 및 패치-클램프 분석(patch-clamp assay)과 같은 적절한 분석을 이용하여 결정될 수 있다. 그들은 하기 실시예에 기재된 바와 같이 수행될 수 있다. 패치 클램프 분석, 예를 들면, QPatch® 시스템을 이용한 분석이 바람직할 수 있다.
- [0035] 일부 구체예에서, 본 발명의 이온 채널 차단제는 50 nM 이하, 예컨대 20 nM 이하, 예컨대 10 nM 이하, 예컨대 5 nM 이하, 예컨대 2 nM 이하, 예컨대 1 nM 이하, 예컨대 0.5 nM 이하, 예컨대 0.4 nM 이하, 예컨대 0.3 nM 이하, 예컨대 0.2 nM 이하의 인간 Kv1.3 칼륨 채널에 대한 IC_{50} 을 갖는다. 바람직하게는, 본 발명의 이온 채널 차단제는 0.5 nM 이하, 가장 바람직하게는 0.2 nM 이하의 인간 Kv1.3 칼륨 채널에 대한 IC_{50} 을 갖는다.
- [0036] 본 발명의 이온 채널 차단제는 본원에 기술된 바와 같은 화합물 1-12를 포함하고, 이들은 본원의 실시예 2에서 인간 Kv1.3 칼륨 채널에 대해 50 nM 이하의 IC_{50} 을 갖는 것으로 나타난다. 본 발명의 이온 채널 차단제는 본원에 기재된 바와 같은 화합물 1-5 및 7-12를 포함하며, 이들은 본원의 실시예 2에서 인간 Kv1.3 칼륨 채널에 대해 5 nM 이하의 IC_{50} 을 갖는 것으로 나타난다. 본 발명의 이온 채널 차단제는 본원에 기재된 바와 같은 화합물 1-5, 7, 8 및 10-12를 포함하며, 이들은 본원의 실시예 2에서 인간 Kv1.3 칼륨 채널에 대해 0.5 nM 이하의 IC_{50} 을 갖는 것으로 나타난다. 본 발명의 이온 채널 차단제는 본원에 기재된 바와 같은 화합물 1-5, 7, 8 및 11을 포함하며, 이들은 본원의 실시예 2에서 인간 Kv1.3 칼륨 채널에 대해 0.3 nM 이하의 IC_{50} 을 갖는 것으로 나타난다. 본 발명의 이온 채널 차단제는 본원에 기재된 바와 같은 화합물 1-5를 포함하며, 이들은 본원의 실시예 2에서 인간 Kv1.3 칼륨 채널에 대해 0.2 nM 이하의 IC_{50} 을 갖는 것으로 나타난다.
- [0037] 반감기
- [0038] 일부 구체예에서, 본 발명의 이온 채널 차단제는 적어도 1시간, 예를 들면, 적어도 1.5시간, 예를 들면, 적어도 2시간, 예를 들면, 적어도 2.5시간의 생체내 반감기(*in vivo* half-life)를 갖는다.
- [0039] 이온 채널 차단제의 반감기($T_{1/2}$)는 본원의 실시예 3에 기술된 것과 같은 당업계에 공지된 분석법을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0040]
- [0041] 선택도(Selectivity)

- [0042] 본 발명의 이온 채널 차단제는 Kv1.3에 대해 선택적이다. 일 구체예에서, 본 발명의 이온 채널 차단제는 Kv1.1, Kv1.2, Kv1.4, Kv1.5, Kv1.6, Kv1.7 및 Kv1.8 대비 Kv1.3에 대해 선택적이다. 특히, 본 발명의 이온 채널 차단제는 Kv1.1, Kv1.2 및 Kv1.6 중 하나 이상 대비 Kv1.3에 대해 선택적이다.
- [0043] 예를 들어, 그들은 Kv1.1보다 Kv1.3에 대해 선택적이거나; Kv1.2보다 Kv1.3에 대해 선택적이거나; Kv1.6보다 Kv1.3에 대해 선택적이거나; Kv1.1 및 Kv1.2보다 Kv1.3에 대해 선택적이거나; Kv1.1 및 Kv1.6보다 Kv1.3에 대해 선택적이거나; Kv1.2 및 Kv1.6보다 Kv1.3에 대해 선택적이거나; 또는 Kv1.1, Kv1.2 및 Kv1.6보다 Kv1.3에 대해 선택적일 수 있다. 일반적으로, 이온 채널 차단제는 Kv1.1보다 Kv1.3에 대해 선택적이다. 그들은 추가로 Kv1.2 및/또는 Kv1.6보다 Kv1.3에 대해 선택적일 수 있다.
- [0044] 이 문맥에서 "선택적(selective)"은 상기 이온 채널 차단제가 각각의 Kv1.1, Kv1.2 및 Kv1.6 각각에 대한 것보다 Kv1.3에 대해 더 높은 억제제 활성을 갖는다는 것을 의미한다. 따라서, Kv1.3에 대한 IC₅₀은 일반적으로 각각의 다른 이온 채널 또는 채널들에 대한 IC₅₀보다 낮다.
- [0045] 따라서, 다른 이온 채널 X 대비 Kv1.3에 대한 선택도는 각각의 IC₅₀ 값의 비율, 예를 들면, IC₅₀[X]/IC₅₀[Kv1.3]로 표현될 수 있다.
- [0046] 따라서, 본 발명의 이온 채널 차단제는 적어도 10, 적어도 100, 적어도 1000 또는 적어도 10000의 Kv1.1 대비 Kv1.3에 대한 선택도를 가질 수 있고, 최대 100000 또는 그 이상일 수 있다. 전형적으로, 본 발명의 이온 채널 차단제는 적어도 100 또는 적어도 1000의 Kv1.1 대비 Kv1.3에 대한 선택도를 갖는다.
- [0047] 따라서, 본 발명의 이온 채널 차단제는 적어도 10, 적어도 100, 적어도 1000 또는 적어도 10000의 Kv1.2 대비 Kv1.3에 대한 선택도를 가질 수 있고, 최대 100000 또는 훨씬 더 높을 수 있다. 전형적으로, 그들은 적어도 10, 바람직하게는 적어도 50 또는 적어도 100 또는 적어도 1000의 Kv1.2 대비 Kv1.3에 대한 선택도를 갖는다.
- [0048] 따라서, 본 발명의 이온 채널 차단제는 적어도 10, 적어도 100, 적어도 1000 또는 적어도 10000의 Kv1.6 대비 Kv1.3에 대한 선택도를 가질 수 있고, 최대 100000 또는 그 이상일 수 있다. 일반적으로, 그들은 100 이상, 400 이상 또는 1000 이상의 Kv1.6 대비 Kv1.3에 대한 선택도를 갖는다.
- [0049] 본 발명의 이온 채널 차단제는 ShK, Mokal(Mokatoxin), Vm24, Odk2 또는 Osk1과 같은 공지된 이온 채널 차단제보다 더 높은 선택도를 가질 수 있다. 따라서, 본 발명의 이온 채널 차단제는 이온 채널 X에 비해 Kv1.3에 대해 더 높은 선택도, 즉, IC₅₀[X]/IC₅₀[Kv1.3]를 가질 수 있고, 이는 비교 분자의 선택도보다 더 크다. 두 개의 이온 채널 차단제의 선택도는 직접 비교가 가능하도록, 각 이온 채널에 대해 동일한 조건에서 결정될 것이다. 전술된 바와 같이, 형광-기반 이온 흐름 분석(fluorescence-based ion flux assay) 및 패치 클램프 분석과 같은 적절한 분석이 이용될 수 있다.
- [0050] 본 발명의 이온 채널 차단제는 임의의 또는 모든 Kv1.1, Kv1.2 및/또는 Kv1.6에서 공지된 이온 채널 차단제(예컨대 Odk2 또는 Osk1)보다 더 낮은 절대 억제제 활성(absolute inhibitor activity)(즉, 더 높은 IC₅₀)을 가질 수 있다. 그러나, Kv1.3에 대한 선택도가 비교 화합물의 선택도보다 높은 한, 이러한 이온 채널 모두에서 그들이 더 높은 절대 억제제 활성을 갖는 것이 허용될 수 있다. 그러나, 일반적으로 본 발명의 화합물은 Kv1.3에 대한 높은 특이도와 높은 효능을 결합한다.
- [0051] **펩티드**
- [0052] 본 발명의 이온 채널 차단제는 펩티드 서열 QMDMRCASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR(서열번호 1)의 변이체를 포함한다.
- [0053] 서열번호 1은 진갈 파라부투스 트랜스바알리쿠스(*Parabuthus transvaalicus*)의 독소 펩티드의 아미노산 서열이다. 본원에 기재된 바와 같이, 이 펩티드는 선택적 Kv1.3 칼륨 이온 채널 억제제이다.
- [0054] **아미노산**
- [0055] 본 명세서 및 청구항 전체에서, 천연 아미노산에 대한 통상적인 3문자 및 1문자 코드, 즉,
- [0056] A(Ala), G(Gly), L(Leu), I(Ile), V(Val), F(Phe), W(Trp), S(Ser), T(Thr), Y(Tyr), N(Asn), Q(Gln), D(Asp), E(Glu), K(Lys), R(Arg), H(His), M(Met), C(Cys) 및 P(Pro); 및
- [0057] 다른 α-아미노산에 대한 일반적으로 허용되는 코드, 예를 들면, 사르코신 (Sar), 노르루이신(Nle), α-아미노

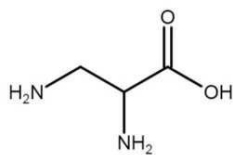
이소부티르산(Aib), 2,3-디아미노프로판산(Dap), 2,4-디아미노부탄산(Dab), 2,5-디아미노펜탄산(오르니틴 또는 Orn), 알파-아미노부티르산(Abu, 호모-알라닌이라고도 함), hK(hLys 또는 호모-Lys(호모-리신)이라고도 함), hQ(hGln 또는 호모-Gln(호모-글루타민, 6-옥솔리신으로도 알려짐)), L-5-카르바모일노르발린, 6-아미노-6-옥소노르루이신, 5-(아미노카르보닐)노르발린, F(4-F)(4-플루오로-페닐알라닌), F(4-NH₂)(4-아미노-페닐알라닌), F(4-NO₂)(4-니트로-페닐알라닌) 및 F(4-CH₃)(4-메틸-페닐알라닌)이 사용된다.

[0058] 명칭 (designation) [2-아미노-5-카르복시펜타노일]은 2-아미노-5-카르복시펜타노산의 펩티드 잔기를 나타내며, 하기 구조에 표시된 바와 같이, 글루탐산과 유사하나, 추가적인 메틸렌기를 갖는다:



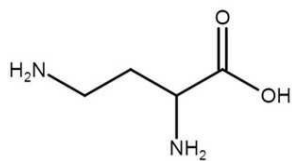
[0059]

[0060] 명칭 [2,3-디아미노프로파노일]은 2,3-디아미노프로파노산의 펩티드 잔기를 나타내고, 하기 구조를 갖는다:



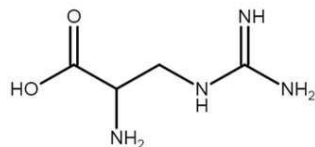
[0061]

[0062] 명칭 [2,4-디아미노부타노일]은 2,4-디아미노부타노산의 펩티드 잔기를 나타내고, 하기 구조를 갖는다:



[0063]

[0064] 명칭 [2-아미노-3-구아니디노프로피오닐]은 2-아미노-3-구아니디노프로피온산의 펩티드 잔기를 나타내고, 하기 구조를 갖는다:



[0065]

[0066] 이러한 다른 α-아미노산은 본 명세서에서 일반식 또는 서열에 사용될 때, 특히 화학식 또는 서열의 나머지 부분이 단일 문자 코드로 표시될 때, 대괄호 "[]" (예를 들면, "[Nle]") 내에 표시될 수 있다. 달리 명시되지 않는 한, 본 발명의 펩티드 내의 아미노산 잔기는 L-배열이다. 그러나, D-배열 아미노산이 포함될 수 있다. 본 문맥에서, 소문자로 기재된 아미노산 코드는 상기 아미노산의 D-배열을 나타내며, 예를 들어 "k"는 라이신(K)의 D-배열을 나타낸다.

[0067] 서열번호 1의 변이체는 6개의 시스테인(C) 잔기를 포함하고, 이들은 잔기 6C와 27C, 잔기 12C와 32C, 잔기 16C와 34C 사이의 3개의 이황화 결합을 형성한다.

[0068] 이황화 결합은 서열번호 1을 참조하여 다음과 같이 도표로 나타낼 수 있다:

[0069] QMDMRC(1)SASVEC(2)KQKC(3)LKAIGSIFGKC(1)MNKKC(2)KC(3)YPR

[0070] 여기서 이황화 결합에 함께 참여하는 한 쌍의 시스테인 잔기는 괄호 안에 동일한 숫자로 표시된다. 유사한 표기법이 본 출원에서 다른 서열에도 적용될 수 있다. 문맥상 달리 요구되는 경우를 제외하고, 활성 억제제 화합물은 적절한 이황화 결합을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0071] 치환 또는 삽입에 의해 서열번호 1의 변이체에 다른 시스테인 잔기가 도입되지 않는 것이 바람직할 수 있다. 따라서, 일부 구체예에서, 상기 변이체는 서열번호 1의 위치 6, 12, 16, 27, 32 및 34에 상응하는 위치에 있는 시

스테인 잔기를 제외한 다른 시스테인 잔기를 함유하지 않는다. 일부 구체예에서, 서열번호 1의 변이체에서 임의의 치환 또는 결실은 서열번호 1의 아미노산 위치 6, 12, 16, 27, 32 및 34에 있지 않다.

[0072] **변이체**

[0073] 본 발명의 이온 채널 차단제는 서열번호 1의 변이체를 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 이온 채널 차단제는 서열번호 1의 변이체로 구성된다. 서열번호 1의 변이체는 서열번호 1의 펩티드와 다른 하나 이상의 아미노산(즉, 서열번호 1과 비교하여 하나 이상의 아미노산 변화)을 포함하는 펩티드이다. 이러한 변이체는 또한 "유도체", "변이체 펩티드", "펩티드" 또는 "화합물"로 지칭될 수 있다.

[0074] 서열번호 1의 변이체는 서열번호 1의 하나 이상의 아미노산이 결실되고 및/또는 서열번호 1의 하나 이상의 아미노산이 다른 아미노산으로 치환되고 및/또는 하나 이상의 아미노산이 서열번호 1의 서열에 삽입된다는 점에서 서열번호 1과 다를 수 있다. 아미노산은 서열번호 1의 내부 위치, 서열번호 1의 N-말단 또는 서열번호 1의 C-말단에 삽입될 수 있다. 따라서, 서열번호 1의 변이체는 하나 이상의 치환, 삽입 및/또는 결실을 포함한다.

[0075] 달리 언급되지 않는 한, "치환"은 서열번호 1에서 단일 아미노산의 치환(즉, 대체)을 의미한다. 따라서, 예를 들어, 서열번호 1에서 3개의 인접한 아미노산의 치환은 단일 치환이 아닌 3개의 치환을 구성한다. 마찬가지로, "삽입"은 단일 아미노산을 서열번호 1(내부, N-말단 및/또는 C-말단일 수 있음)에 삽입하는 것을 의미하므로, 예를 들어, 서열번호 1의 3개의 인접한 아미노산은 단일 삽입이 아닌 3개의 삽입을 구성한다. "결실"은 서열번호 1로부터 단일 아미노산의 결실을 의미하므로, 예를 들어, 서열번호 1에서 3개의 인접한 아미노산의 결실은 단일 결실이 아닌 3개의 결실을 구성한다.

[0076] 특히 바람직한 구체예에서, 서열번호 1의 변이체는 총 최대 10개의 치환, 삽입 또는 결실에 의해 서열번호 1과 상이하다. 이러한 일부 구체예에서, 변이체는 서열번호 1과 비교하여 총 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개의 치환, 삽입 또는 결실을 포함한다. 바람직하게는, 상기 변이체는 서열번호 1의 서열과 비교하여 총 7개의 치환, 삽입 또는 결실에 의해 서열번호 1과 상이하다.

[0077] **번호부여(Numbering)**

[0078] 서열번호 1의 아미노산 잔기는 통상적인 N-말단에서 C-말단 방향으로 1부터 37까지 번호가 부여된다. 본 명세서 전체에서, 서열번호 1의 변이체 내의 아미노산 위치는 서열번호 1과 최적으로 정렬될 때 서열번호 1의 해당 위치에 따라 번호가 부여된다. 따라서, 특히 서열번호 1과 비교하여 하나 이상의 삽입 또는 결실을 포함하는 변이체의 경우, 임의의 주어진 잔기의 번호부여는 서열번호 1의 상응하는 잔기를 반영하고, 반드시 변이체의 서열에서 1차원 위치(linear position)를 반영하는 것은 아니다.

[0079] 특정 위치에 존재하는 잔기는 존재하는 잔기에 대한 단일 문자 코드 또는 3문자 코드와 함께 해당 위치의 번호로 표시될 수 있다. 따라서, 1Q 또는 Q1(2가지 포맷이 호환적임)은 위치 1의 글루타민(Q) 잔기를 나타내고, 2Nle, 2[Nle], Nle2 또는 [Nle]2는 위치 2의 노르루이신 잔기를 나타낸다.

[0080] 별표는 서열번호 1의 서열에 대한 결실의 위치를 나타내기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, "1*"은 서열번호 1과 비교하여 위치 1의 잔기의 결실을 나타낸다.

[0081] 삽입은 단일 위치에서 일련의 연속 잔기로 표시될 수 있다. 예를 들어 "1QA"는 위치 1에서 글루타민(Q) 잔기 뒤에 알라닌(A) 잔기의 삽입을 나타낸다.

[0082] 일부 구체예에서, 서열번호 1과 비교하여 임의의 치환은 보존적 치환이다. 그러나, 하기에 제공된 일반적인 식에 열거된 모든 치환은 해당 위치에 도입될 수 있다.

[0083] 일부 구체예에서, 서열번호 1의 변이체에서 임의의 치환 또는 결실은 서열번호 1의 위치 1-5, 7-11, 13-15, 17-23, 25, 28-31, 33 및 35-37로부터 선택된 아미노산 위치에 있다. 바람직하게는, 서열번호 1의 변이체에서 임의의 치환 또는 결실은 서열번호 1의 위치 1-5, 7-11, 13, 15, 18, 28 및 30으로부터 선택된 아미노산 위치에 있다.

[0084] **말단 기(Terminal groups)**

[0085] 서열의 N-말단에 있는 "H"(또는 "Hy-") 잔기는 N-말단의 유리 1차 또는 2차 아미노기의 존재에 해당하는, 수소 원자(즉, R^1 = 수소)를 나타낸다. 대안적으로, 변이체 펩티드는 대안적인 N-말단기(즉, N-말단 변형)를 포함할 수 있다.

- [0086] 따라서, 본 발명의 이온 채널 차단제 또는 약학적으로 허용되는 염의 일부 구체예에서, 펩티드는 N-말단에 C₁₋₄ 알킬, 아세틸(Ac), 포르밀, 벤조일 및 트리플루오로아세틸로부터 선택되는 기를 포함한다.
- [0087] 서열의 C-말단에 있는 "-OH" 모이어티는 분자의 C-말단의 카르복시(COOH) 기의 일부로서 히드록시기(OH)의 존재를 나타낸다. 서열의 C-말단에 있는 "-NH₂" 모이어티는 분자의 C-말단에 있는 아미도(CONH₂)기의 일부로서 아미노기(NH₂)의 존재를 나타낸다. C-말단의 "CH₂OH" 잔기는 분자의 C-말단에서 알킬기에 연결된 히드록실기의 존재를 나타낸다.
- [0088] 따라서, 본 발명의 이온 채널 차단제 또는 약학적으로 허용되는 염의 일부 구체예에서, 펩티드는 C-말단에 아미노기(-NH₂), 히드록실기(-OH) 또는 히드록시메틸기(-CH₂OH), 바람직하게는 아미노기(-NH₂) 또는 히드록실기(-OH)를 포함한다.
- [0089] **서열 동일성 (Sequence identity)**
- [0090] 일부 구체예에서, 상기 변이체는 서열번호 1과 적어도 60%의 서열 동일성, 예컨대 적어도 65%의 서열 동일성, 예컨대 적어도 70%의 서열 동일성, 예컨대 적어도 75%의 서열 동일성, 적어도 80% 서열 동일성, 예컨대 적어도 85% 동일성, 예컨대 적어도 90% 서열 동일성, 예컨대 적어도 95% 서열 동일성, 예컨대 적어도 96% 서열 동일성, 예컨대 적어도 97% 서열 동일성, 예컨대 적어도 98% 서열 동일성, 예컨대 적어도 99% 서열 동일성, 예컨대 100% 서열 동일성을 갖는다.
- [0091] 본원에서 펩티드 서열에 대한 "퍼센트(%) 아미노산 서열 동일성"은 서열을 정렬하고 필요한 경우 갭을 도입하여 최대 서열 동일성 백분율을 달성하고, 임의의 보존적 치환을 서열 동일성의 일부로 고려하지 않은, 야생형 독소 펩티드 서열 서열번호 1의 아미노산과 동일한 후보 서열의 아미노산 백분율로 정의된다. 서열 정렬은 예를 들어 BLAST, BLAST2 또는 Align 소프트웨어와 같은 공개적으로 이용 가능한 소프트웨어를 사용하여 당업계에 잘 알려진 기술을 사용하여 당업자에 의해 수행될 수 있다. 예를 들어, Altschul 등, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996) 또는 Pearson 등, Genomics 46: 24-36, 1997을 참조한다.
- [0092] 본 발명의 맥락에서 본원에서 사용되는 백분율 서열 동일성은 이들 프로그램을 디폴트 설정으로 이용하여 결정될 수 있다. 보다 일반적으로, 당업자는 비교되는 서열의 전체 길이에 걸쳐 최대 정렬을 달성하는 데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하여, 정렬을 결정하기 위한 적절한 파라미터를 쉽게 결정할 수 있다.
- [0093] **특정 펩티드 변이체**
- [0094] **위치 7-11**
- [0095] 본 발명의 이온 채널 차단제 또는 약학적으로 허용되는 염은 서열 QMDMRCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR(서열번호 1)의 변이체를 포함하고, 상기 변이체에서 서열번호 1의 위치 7, 8, 9, 10 또는 11의 적어도 하나의 아미노산은 양전하 측쇄를 갖는 아미노산 및/또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환된다.
- [0096] 일부 구체예에서, 서열번호 1의 위치 7, 8, 9, 10 또는 11의 적어도 하나의 아미노산은 양전하 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환된다. 일부 구체예에서, 양전하 측쇄를 갖는 아미노산은 H, K, hK, R, Orn, 2,3-디아미노프로파노일, 2,4-디아미노부타노일, 2-아미노-3-구아니디노프로피오닐, 및 4-아미노-페닐알라닌(F(4-NH₂))으로 구성된 군으로부터 선택된다. 바람직하게는, 양전하 측쇄를 갖는 아미노산은 H, K, R, Orn, 2,3-디아미노프로파노일, 2-아미노-3-구아니디노프로피오닐 및 2,4-디아미노부타노일로부터 선택된다. 바람직하게는, 양전하 측쇄를 갖는 아미노산은 H, R, Orn, 2,3-디아미노프로파노일, 2-아미노-3-구아니디노프로피오닐 및 2,4-디아미노부타노일로부터 선택된다.
- [0097] 일부 구체예에서, 서열번호 1의 위치 7, 8, 9, 10 또는 11의 적어도 하나의 아미노산은 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환된다. 일부 구체예에서, 방향족 측쇄를 갖는 아미노산은 F, W 및 Y로 구성된 군으로부터 선택된다. 바람직하게는, 방향족 측쇄를 갖는 아미노산은 Y이다.
- [0098] 일부 구체예에서, 본 발명의 이온 채널 차단제 또는 약학적으로 허용되는 염은 서열 QMDMRCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR(서열번호 1)의 변이체를 포함하고, 상기 변이체에서 서열번호 1의 위치 7, 9 또는 10의 적어도 하나의 아미노산은 양전하 측쇄를 갖는 아미노산 및/또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환된다.
- [0099] 일부 구체예에서, 서열번호 1의 위치 7, 9 또는 10의 적어도 하나의 아미노산은 양전하 측쇄를 갖는 아미노산으로

로 치환된다. 일부 구체예에서, 양전하 측쇄를 갖는 아미노산은 H, K, hK, R, Orn, 2,3-디아미노프로파노일, 2,4-디아미노부타노일, 2-아미노-3-구아니디노프로피오닐, 및 4-아미노-페닐알라닌(F(4-NH₂))으로 구성된 군으로부터 선택된다. 바람직하게는, 양전하 측쇄를 갖는 아미노산은 H, K, R, Orn, 2,3-디아미노프로파노일, 2-아미노-3-구아니디노프로피오닐 및 2,4-디아미노부타노일로부터 선택된다. 바람직하게는, 양전하 측쇄를 갖는 아미노산은 H, R, Orn, 2,3-디아미노프로파노일, 2-아미노-3-구아니디노프로피오닐 및 2,4-디아미노부타노일로부터 선택된다.

[0100] 일부 구체예에서, 서열번호 1의 위치 7, 9 또는 10의 적어도 하나의 아미노산은 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환된다. 일부 구체예에서, 방향족 측쇄를 갖는 아미노산은 F, W 및 Y로 구성된 군으로부터 선택된다. 바람직하게는, 방향족 측쇄를 갖는 아미노산은 Y이다.

[0101] 본 발명의 이온 채널 차단제의 일부 구체예에서, 서열번호 1의 위치 7, 8, 9, 10 또는 11에서 정확히 하나의 아미노산이 양전하 측쇄 또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환된다. 본 발명의 이온 채널 차단제의 일부 구체예에서, 서열번호 1의 위치 7, 9 또는 10에서 정확히 하나의 아미노산이 양전하 측쇄 또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환된다.

[0102] 일부 구체예에서, 서열번호 1의 위치 7에 있는 아미노산은 양전하 측쇄 또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환된다. 바람직하게는, 서열번호 1의 7번 위치의 아미노산은 H, K, R, Orn, 2,3-디아미노프로파노일, 2-아미노-3-구아니디노프로피오닐, 2,4-디아미노부타노일 또는 Y로 치환된다. 바람직하게는, 서열번호 1의 7번 위치의 아미노산은 H, R, Orn, 2,3-디아미노프로파노일, 2-아미노-3-구아니디노프로피오닐, 2,4-디아미노부타노일 또는 Y로 치환된다.

[0103] 일부 구체예에서, 서열번호 1의 위치 8에 있는 아미노산은 양전하 측쇄 또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환된다. 일부 구체예에서, 서열번호 1의 위치 8의 아미노산은 서열번호 1의 위치 8(즉, A)과 동일한 아미노산이다.

[0104] 일부 구체예에서, 서열번호 1의 위치 9에 있는 아미노산은 양전하 측쇄 또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환된다. 바람직하게는, 서열번호 1의 9번 위치의 아미노산은 K, Orn 또는 2,3-디아미노프로파노일로 치환된다. 바람직하게는, 서열번호 1의 9번 위치의 아미노산은 Orn 또는 2,3-디아미노프로파노일로 치환된다.

[0105] 일부 구체예에서, 서열번호 1의 위치 10에 있는 아미노산은 양전하 측쇄 또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환된다. 바람직하게는, 서열번호 1의 위치 10의 아미노산은 R로 치환된다.

[0106] 일부 구체예에서, 서열번호 1의 위치 11에 있는 아미노산은 양전하 측쇄 또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환된다. 바람직하게는, 서열번호 1의 위치 11의 아미노산은 R로 치환된다. 일부 구체예에서, 서열번호 1의 위치 11의 아미노산은 서열번호 1의 위치 11과 동일한 아미노산(즉, E)이다.

[0107] 기타 위치

[0108] 일부 구체예에서, 위치 1의 잔기는 Q가 아니다. 글루타민(Q) 잔기는 인 비보 또는 인 비트로에서, 예를 들어 수용액에 저장하는 동안, 불안정할 수 있으며, 유리 측쇄가 유리 알파 아미노기와 입체적으로 상호 작용할 수 있어서, 피로글루타메이트로 탈수되므로, 이는 글루타민 잔기가 분자의 N-말단에 위치할 때 특히 관련있을 수 있다. 바람직하게는, 위치 1의 아미노산은 N 또는 P이거나 결실된다(즉, 서열번호 1의 변이체는 1N, 1P 또는 1^{*}를 포함할 수 있다).

[0109] 일부 구체예에서, 위치 2, 4 및 28에 있는 아미노산 중 1개, 2개 또는 3개 모두는 M이 아니고, 이는 메티오닌(M) 잔기가 산화되기 쉽기 때문이다. 바람직하게는, 위치 2, 4 및 28에서 1개, 2개 또는 3개 모두의 메티오닌 아미노산은 비산화성 측쇄(non-oxidisable side chain)를 갖는 잔기로 개별적으로 치환되거나 결실된다. 비산화성 측쇄를 갖는 임의의 적합한 잔기가 사용될 수 있으며, Nle, I, V 및 L이 특히 적합하다. 바람직하게는, 위치 2, 4 및 28의 아미노산은 모두 Nle이다.

[0110] 본 발명의 이온 채널 차단제의 일부 구체예에서, 서열번호 1의 변이체에서,

[0111] 위치 1의 아미노산은 N, P 또는 Q이거나 결실되고,

[0112] 위치 2의 아미노산은 M 또는 Nle이거나 결실되며,

[0113] 위치 3의 아미노산은 D 또는 E이거나 결실되고,

- [0114] 위치 4의 아미노산은 M 또는 Nle이거나 결실되며,
- [0115] 위치 5의 아미노산은 R이거나 결실되고,
- [0116] 위치 13의 아미노산은 A 또는 K이며,
- [0117] 위치 15의 아미노산은 K 또는 S이고,
- [0118] 위치 18의 아미노산은 A 또는 K이며,
- [0119] 위치 28의 아미노산은 M 또는 Nle이고, 및/또는
- [0120] 위치 30의 아미노산은 G 또는 K이다.
- [0121] 본 발명의 이온 채널 차단제의 일부 구체예에서, 상기 변이체의 위치 1-5는 NMDMR(서열번호 108), N[Nle]D[Nle]R(서열번호 109), N[Nle]E[Nle]R(서열번호 110) 및 P[Nle]E[Nle]R(서열번호 111)로부터 선택된 아미노산 서열로 구성되거나, 또는 위치 1-5의 아미노산이 모두 결실된다. 바람직하게는, 상기 변이체의 위치 1-5는 아미노산 서열 P[Nle]E[Nle]R로 구성된다.
- [0122] 본 발명의 이온 채널 차단제의 일부 구체예에서, 서열번호 1의 변이체에서,
- [0123] 위치 1-5의 아미노산은 아미노산 서열 P[Nle]E[Nle]R로 구성되고,
- [0124] 위치 13의 아미노산은 A 또는 K이고,
- [0125] 위치 15의 아미노산은 K 또는 S이며,
- [0126] 위치 18의 아미노산은 A이고,
- [0127] 위치 28의 아미노산이 Nle이며, 및
- [0128] 위치 30의 아미노산은 G 또는 K이다.
- [0129] 본 발명의 이온 채널 차단제의 일부 구체예에서, 위치 5, 6, 12, 14, 16, 17, 19-27, 29 및 31-37 중 하나 이상은 서열번호 1의 상응하는 위치와 동일한 아미노산이다. 바람직하게는, 위치 5, 6, 12, 14, 16, 17, 19-27, 29 및 31-37는 모두 서열번호 1의 상응하는 위치와 동일한 아미노산이다. 본 발명의 이온 채널 차단제의 일부 구체예에서, 위치 5, 6, 8, 11, 12, 14, 16, 17, 19-27, 29 및 31-37 중 하나 이상은 서열번호 1의 상응하는 위치와 동일한 아미노산이다. 바람직하게는, 위치 5, 6, 8, 11, 12, 14, 16, 17, 19-27, 29 및 31-37 위치는 모두 서열번호 1의 상응하는 위치와 동일한 아미노산이다.
- [0130] **서열번호 21의 변이체**
- [0131] 일부 구체예에서, 본 발명의 이온 채널 차단제는 서열 P[Nle]E[Nle]RCSASVECKQKCLAAIGSIFGKC[Nle]NKKCKCYPR(서열번호 21)의 변이체를 포함하거나 그로 구성되고,
- [0132] 상기 변이체는 서열번호 21과 4, 3, 2 또는 1개의 치환에 의해 상이하고,
- [0133] 서열번호 21의 위치 7, 8, 9, 10 또는 11의 적어도 하나의 아미노산은 양전하 측쇄를 갖는 아미노산 및/또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환된다.
- [0134] 서열번호 21은 서열번호 1의 특정 변이체이다. 따라서, 서열번호 21의 변이체는 본원에 기재된 바와 같은 서열번호 1의 변이체라는 것을 이해할 것이다.
- [0135] 즉, 일부 구체예에서, 서열번호 1의 변이체는 서열 P[Nle]E[Nle]RCSASVECKQKCLAAIGSIFGKC[Nle]NKKCKCYPR(서열번호 21)의 변이체를 포함하거나 그로 구성되고,
- [0136] 상기 변이체는 서열번호 21과 4, 3, 2 또는 1개의 치환에 의해 상이하고,
- [0137] 서열번호 21의 위치 7, 8, 9, 10 또는 11의 적어도 하나의 아미노산은 양전하 측쇄를 갖는 아미노산 및/또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환된다.
- [0138] 따라서, 본원에 기재된 서열번호 1의 변이체 구체예의 모든 특징은 서열번호 21의 변이체에 적용될 수 있다.
- [0139] 일부 구체예에서, 상기 변이체는 서열번호 21과 4개의 치환 또는 1개의 치환에 의해 상이하다. 일부 구체예에서, 상기 변이체는 서열번호 21과 1개의 치환에 의해 상이하다.

- [0140] 일부 구체예에서, 서열번호 21의 위치 7, 9 또는 10의 적어도 하나의 아미노산은 양전하 측쇄를 갖는 아미노산 및/또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환된다. 일부 구체예에서, 서열번호 21의 위치 7, 9 또는 10에서 정확히 하나의 아미노산은 양전하 측쇄를 갖는 아미노산 및/또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환된다.
- [0141] 일부 구체예에서, 임의의 치환은 서열번호 21의 위치 7, 9, 10, 13, 15 및 30으로부터 선택된 아미노산 위치에 있다.
- [0142] 일부 구체예에서, 상기 변이체는:
- [0143] (i) 서열번호 21과 1개의 치환이 상이하고, 여기서 서열번호 21의 위치 7 또는 9에 있는 아미노산이 양전하 측쇄를 갖는 아미노산 및/또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환되거나, 또는
- [0144] (ii) 서열번호 21과 4개의 치환에 의해 상이하며, 여기서 서열번호 21의 위치 7 또는 10에 있는 정확히 하나의 아미노산이 양전하 측쇄를 갖는 아미노산 및/또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환된다.
- [0145] 일부 구체예에서, 상기 변이체는:
- [0146] (i) 서열번호 21과 1개의 치환에 의해 상이하고, 여기서 서열번호 21의 위치 7 또는 9에 있는 아미노산이 양전하 측쇄를 갖는 아미노산 및/또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환되거나, 또는
- [0147] (ii) 서열번호 21과 4개의 치환에 의해 상이하며, 여기서 서열번호 21의 위치 7 또는 10에 있는 정확히 하나의 아미노산이 양전하 측쇄를 갖는 아미노산 및/또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환되고, 3개의 나머지 치환은 서열번호 21의 위치 13, 15 및 30에 있다.
- [0148] 일부 구체예에서, 상기 변이체는:
- [0149] (i) 서열번호 21과 1개의 치환에 의해 상이하고, 여기서 서열번호 21의 위치 7 또는 9에 있는 아미노산은 양전하 측쇄를 갖는 아미노산 및/또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환되거나, 또는
- [0150] (ii) 서열번호 21과 4개의 치환에 의해 상이하고,
- [0151] 여기서 서열번호 21의 위치 7 또는 10에서 정확히 하나의 아미노산이 양전하 측쇄를 갖는 아미노산 및/또는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환되고,
- [0152] 여기서 3개의 나머지 치환은 서열번호 21의 위치 13, 15 및 30에 있고,
- [0153] (a) 위치 13의 아미노산이 A이고; 및/또는
- [0154] (b) 위치 15의 아미노산이 S이고; 및/또는
- [0155] (c) 위치 30의 아미노산이 G이다.
- [0156] 일부 구체예에서, 상기 변이체는:
- [0157] (i) 서열번호 21과 1개의 치환에 의해 상이하고, 여기서 서열번호 21의 위치 7 또는 9의 아미노산은 H, R, Orn, 2,3-디아미노프로판노일, 2,4-디아미노부타노일, 2-아미노-3-구아니디노프로피오닐 및 Y로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산으로 치환되거나, 또는
- [0158] (ii) 서열번호 21과 4개의 치환에 의해 상이하며, 여기서 서열번호 21의 위치 7 또는 10에서 정확히 하나의 아미노산이 R 및 2,4-디아미노부타노일로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산으로 치환된다.
- [0159] 일부 구체예에서, 상기 변이체는:
- [0160] (i) 서열번호 21과 1개의 치환에 의해 상이하고, 여기서 서열번호 21의 위치 7에 있는 아미노산은 H, R, Orn, 2,3-디아미노프로판노일, 2,4-디아미노부타노일, 2-아미노-3-구아니디노프로피오닐 및 Y로 구성된 그룹으로부터 선택된 아미노산으로 치환되거나, 또는 서열번호 21의 위치 9의 아미노산이 Orn으로 치환되거나, 또는
- [0161] (ii) 서열번호 21과 4개의 치환에 의해 상이하며, 여기서 서열번호 21의 위치 7에서 정확히 하나의 아미노산이 R 및 2,4-디아미노부타노일로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산으로 치환되거나, 서열번호 21의 위치 10에서 정확히 하나의 아미노산이 R로 치환된다.
- [0162] 서열

[0163] 바람직한 구체예에서, 본 발명의 이온 채널 차단제는 하기 서열 중 하나를 포함하거나 그로 구성된다:

서열	서열 번호
P[N1e]E[N1e]RC[2,4-디아미노부타노일]ASVECKQKCLAAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR	10
P[N1e]E[N1e]RC[Orn]ASVECKQKCLAAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR	11
P[N1e]E[N1e]RC[2-아미노-3-구아니디노프로피오닐]ASVECKQKCLAAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR	12
P[N1e]E[N1e]RCHASVECKQKCLAAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR	13
P[N1e]E[N1e]RCYASVECKQKCLAAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR	14
P[N1e]E[N1e]RCSA[Orn]VECKQKCLAAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR	15
P[N1e]E[N1e]RC[2,3-디아미노프로파노일]ASVECKQKCLAAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR	16
P[N1e]E[N1e]RCSA[2,3-디아미노프로파노일]VECKQKCLAAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR	17
P[N1e]E[N1e]RC[2,4-디아미노부타노일]ASVECAQSCLAAIGSIFGKC[N1e]NGKCKCYPR	18
P[N1e]E[N1e]RCRASVECAQSCLAAIGSIFGKC[N1e]NGKCKCYPR	19
P[N1e]E[N1e]RCSASRECAQSCLAAIGSIFGKC[N1e]NGKCKCYPR	20

[0164]

[0165] 바람직한 구체예에서, 본 발명의 이온 채널 차단제는 서열번호 10 또는 서열번호 12를 포함한다. 바람직한 구체예에서, 본 발명의 이온 채널 차단제는 서열번호 10 또는 서열번호 12로 구성된다.

[0166] 화합물

[0167] 바람직한 구체예에서, 본 발명의 이온 채널 차단제는 하기 화합물 중 하나를 포함하거나 그로 구성된다:

Cpd 번호	서열	서열 번호
1	HP[N1e]E[N1e]RC (1) [2,4-디아미노부타노일]ASVEC (2) KQKC (3) LAAIGSIFGKC (1) [N1e]NKKC (2) KC (3) YPR-OH	10
2	HP[N1e]E[N1e]RC (1) [Orn]ASVEC (2) KQKC (3) LAAIGSIFGKC (1) [N1e]NKKC (2) KC (3) YPR-OH	11
3	HP[N1e]E[N1e]RC (1) [2-아미노-3-구아니디노프로피오닐]ASVEC (2) KQKC (3) LAAIGSIFGKC (1) [N1e]NKKC (2) KC (3) YPR-OH	12
4	HP[N1e]E[N1e]RC (1) HASVEC (2) KQKC (3) LAAIGSIFGKC (1) [N1e]NKKC (2) KC (3) YPR-OH	13
5	HP[N1e]E[N1e]RC (1) YASVEC (2) KQKC (3) LAAIGSIFGKC (1) [N1e]NKKC (2) KC (3) YPR-OH	14
6	HP[N1e]E[N1e]RC (1) SA[Orn]VEC (2) KQKC (3) LAAIGSIFGKC (1) [N1e]NKKC (2) KC (3) YPR-OH	15
7	HP[N1e]E[N1e]RC (1) [2,3-디아미노프로파노일]ASVEC (2) KQKC (3) LAAIGSIFGKC (1) [N1e]NKKC (2) KC (3) YPR-OH	16
8	HP[N1e]E[N1e]RC (1) SA[2,3-디아미노프로파노일]VEC (2) KQKC (3) LAAIGSIFGKC (1) [N1e]NKKC (2) KC (3) YPR-OH	17
9	HP[N1e]E[N1e]RC (1) [2,4-디아미노부타노일]ASVEC (2) AQSC (3) LAAIGSIFGKC (1) [N1e]NGKC (2) KC (3) YPR-OH	18
10	HP[N1e]E[N1e]RC (1) [2,4-디아미노부타노일]ASVEC (2) AQSC (3) LAAIGSIFGKC (1) [N1e]NGKC (2) KC (3) YPR-[NH ₂]	18
11	HP[N1e]E[N1e]RC (1) RASVEC (2) AQSC (3) LAAIGSIFGKC (1) [N1e]NGKC (2) KC (3) YPR-[NH ₂]	19
12	HP[N1e]E[N1e]RC (1) SASREC (2) AQSC (3) LAAIGSIFGKC (1) [N1e]NGKC (2) KC (3) YPR-[NH ₂]	20

[0168]

[0169] 바람직한 구체예에서, 본 발명의 이온 채널 차단제는 Cpd No. 1 또는 Cpd No. 3을 포함한다. 바람직한 구체예에서, 본 발명의 이온 채널 차단제는 Cpd No. 1 또는 Cpd No. 3으로 구성된다.

[0170] 참고사항 (Disclaimer)

[0171] 국제 특허 출원 PCT/EP2020/076187은 서열번호 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9(PCT/EP2020/076187에서 각각, 서열번호 25, 27, 42, 47, 63, 143, 144 및 145)의 서열을 포함하거나 그로 구성된 이온 채널 차단제를 개시하였다.

[0172] 국제 특허 출원 PCT/EP2020/076187은 또한 하기 화합물을 개시하였다:

PCT/EP2020/ 076187에서 Cpd 번호	화합물 서열	현재 서열 번호	현재 Cpd 번호
25	H-NMDMRCKASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	2	29
27	H-NDMMRCSASRECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	3	31
42	HN[N1e]D[N1e]RCRASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	4	46
47	HN[N1e]D[N1e]RCSHSVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	5	51
63	HN[N1e]D[N1e]RCSAKECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	6	63
143	HP[N1e]E[N1e]RCFASVECKQKCLAAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-OH	7	없음
144	HP[N1e]E[N1e]RCSYSVECKQKCLAAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-OH	8	없음
145	HP[N1e]E[N1e]RCSAFVECKQKCLAAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-OH	9	없음

[0173]

[0174] 국제 특허 출원 PCT/EP2020/076187은 서열번호 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9의 서열을 포함하거나 그로 구성된 임의의 다른 특정 화합물을 개시하지 않았다. 예를 들어, PCT/EP2020/076187은 C-말단 히드록실기(-OH)를 갖는 서열번호 2, 3, 4, 5 또는 6, 또는 C-말단 아미노기(-NH₂)를 갖는 서열번호 7, 8 또는 9를 개시하지 않았다.

[0175] 따라서, 본 발명의 이온 채널 차단제는 서열번호 1의 변이체를 포함하며, 상기 변이체는 하기 서열 중 어느 것도 포함하지 않는다:

NMDMRCKASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR	서열번호 2
NMDMRCSASRECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR	서열번호 3
N[Nle]D[Nle]RCRASVECKQKCLKAIGSIFGKC[Nle]NKKCKCYPR	서열번호 4
N[Nle]D[Nle]RCSHSVECKQKCLKAIGSIFGKC[Nle]NKKCKCYPR	서열번호 5
N[Nle]D[Nle]RCSAKECKQKCLKAIGSIFGKC[Nle]NKKCKCYPR	서열번호 6
P[Nle]E[Nle]RCFASVECKQKCLAAIGSIFGKC[Nle]NKKCKCYPR	서열번호 7
P[Nle]E[Nle]RCSYSVECKQKCLAAIGSIFGKC[Nle]NKKCKCYPR	서열번호 8
P[Nle]E[Nle]RCSAFVECKQKCLAAIGSIFGKC[Nle]NKKCKCYPR	서열번호 9

[0176]

[0177] 본 발명의 이온 채널 차단제는 국제 특허 출원 PCT/EP2020/076187에 개시된 화합물 25, 27, 42, 47, 63, 143, 144 또는 145 중 어느 것도 아니다.

[0178] 본 발명의 이온 채널 차단제의 일부 구체예에서, 서열번호 1의 변이체는 서열번호 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9의 서열을 포함하거나 그로 구성되지 않는다. 일부 구체예에서, 본 발명의 이온 채널 차단제는 국제 특허 출원 PCT/EP2020/076187에 개시된 서열을 포함하지 않는다. 일부 구체예에서, 본 발명의 이온 채널 차단제는 국제 특허 출원 PCT/EP2020/076187에 개시된 화합물 중 어느 것도 아니다.

[0179] 이온 채널 차단제를 합성하는 방법

[0180] 본 명세서에 기재된 이온 채널 차단제는 고상 또는 액상 펩티드 합성 방법에 의해 합성될 수 있다. 이에 대해, WO 98/11125 및 특히, Fields, G.B. et al., 2002, "Principles and practice of solid-phase peptide synthesis". In: Synthetic Peptides (2nd Edition), 및 본 명세서 중 실시예가 참조될 수 있다.

[0181] 대안적으로, 본 명세서에 기재된 이온 채널 차단제는 재조합 기법에 의해, 또는 재조합 기법과 펩티드 화학의 조합에 의해 합성될 수 있다.

[0182] 따라서, 일 양태에서, 본 발명은 본 발명의 이온 채널 차단제를 합성하는 방법을 제공하고, 상기 방법은

[0183] (a) 고상- 또는 액상 펩티드 합성 방법에 의해 상기 펩티드를 합성하고, 그에 의해 수득된 펩티드를 회수하는 단계;

[0184] (b) 상기 펩티드를 코딩하는 핵산 구조체로부터 상기 펩티드를 발현시키고, 발현 산물을 회수하는 단계; 또는

[0185] (c) 전구체 펩티드 서열을 코딩하는 핵산 구조체로부터 전구체 펩티드를 발현시키고, 발현 산물을 회수하고, 상기 전구체 펩티드를 변형시켜 상기 이온 채널 차단제를 생산하는 단계를 포함한다.

[0186] 상기 전구체 펩티드는 하나 이상의 비-단백질생성(non-proteinogenic) 아미노산 (예를 들면, Nle)의 도입, 적절한 말단기 R¹ 및 R²의 도입 등에 의해 변형될 수 있다.

[0187] 상기 펩티드 또는 전구체 펩티드를 코딩하는 핵산으로부터 상기 펩티드 또는 전구체 펩티드의 발현은 그러한 핵산을 포함하는 세포 또는 세포-불포함(cell-free) 발현 시스템에서 수행될 수 있다. 그러한 발현은 일반적으로 펩티드 또는 전구체 펩티드가 전적으로 단백질생성 아미노산(즉, 표준 유전 코드에 의해 코딩된 20개의 아미노산)으로 구성되는 것을 필요로 한다.

[0188] 재조합 발현을 위해, 전구체 펩티드를 코딩하는 핵산 단편은 일반적으로 클로닝 또는 발현 벡터를 형성하기 위해 적절한 벡터에 삽입될 것이다. 벡터는 목적 및 적용 타입에 따라, 플라스미드, 파아지, 코스미드, 미니-염색체(mini-chromosome), 또는 바이러스의 형태일 수 있으나, 일부 세포에서 일시적으로만 발현되는 노출(naked) DNA도 중요한 벡터이다. 바람직한 클로닝 및 발현 벡터 (플라스미드 벡터)는 자가복제가 가능하고, 그에 의해 후속 클로닝을 위한 고수준 발현 또는 고수준 복제의 목적을 위해 높은 카피수를 가능하게 한다.

[0189] 개괄적으로, 발현 벡터는 5'→3' 방향으로, 작동가능한 결합으로 하기 특징을 포함한다: 핵산 단편의 발현을 작

동시키는 프로모터, 선택적으로, (세포외 상(extracellular phase), 또는 적용가능한 경우, 주변세포질로의) 분비를 가능하게 하는 리더 펩티드를 코딩하는 핵산 서열, 전구체 펩티드를 코딩하는 핵산 단편 및 선택적으로, 종결 부위(terminator)를 코딩하는 핵산 서열. 그들은 선택성 마커 및 복제 원점과 같은 추가적인 특징을 포함할 수 있다. 프로듀서 스트레인(producer strain) 또는 세포주에서 발현 벡터를 이용하여 작동되는 경우, 벡터가 숙주 세포 계통 내로 통합될 수 있는 것이 바람직할 수 있다. 당업자는 적절한 벡터에 매우 익숙하며, 그들의 특정한 요건에 따라 벡터를 설계할 수 있다.

[0190] 본 발명의 벡터는 펩티드 또는 전구체 펩티드를 생산하도록 숙주 세포를 형질전환시키기 위해 이용된다. 그러한 형질전환된 세포는 핵산 단편 및 벡터의 증식(propagation) 및/또는 전구체 펩티드의 재조합형 생산을 위해 사용되는 배양된 세포 또는 세포주일 수 있다.

[0191] 바람직한 형질전환 세포는 미생물, 예를 들면, 박테리아 [예를 들면, 에스케리시아(*Escherichia*)(예를 들면, *E. coli*), 바실러스 (*Bacillus*) (예를 들면, 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*), 살모넬라(*Salmonella*), 또는 마이코박테리움(*Mycobacterium*)(바람직하게는, 비-병원성, 예를 들면, *M. bovis* BCG)], 효모 (예를 들면, 사카로마이세스 세레비시애(*Saccharomyces cerevisiae*) 및 피키아 파스토리스(*Pichia pastoris*)), 및 원생동물이다. 대안적으로, 형질전환 세포는 다세포 개체로부터 유래될 수 있고, 즉, 균류 세포, 곤충 세포, 조류(algal) 세포, 식물 세포, 또는 동물 세포, 예를 들면, 포유동물 세포일 수 있다. 클로닝 및/또는 최적화된 발현의 목적을 위해, 형질전환 세포가 본 발명의 핵산 단편을 복제할 수 있는 것이 바람직하다. 상기 핵산 단편을 발현하는 세포는 본 발명의 펩티드의 소량 또는 대량 생산을 위해 이용될 수 있다.

[0192] 형질전환 세포에 의해 펩티드 또는 전구체 펩티드의 생산 시, 필수적인 것은 아니나, 발현 산물이 배양 배지 내로 발현되는 것이 편리하다.

[0193] 약학적 조성물

[0194] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 이온 채널 차단제 또는 그의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 약학적 조성물은 본 발명의 이온 채널 차단제 또는 그의 약학적으로 허용되는 염 및 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 비히클을 포함한다.

[0195] 본 발명의 이온 채널 차단제는 약학적으로 허용되는 염의 형태일 수 있다. 본원에서 "본 발명의 이온 채널 차단제"에 대한 모든 언급은 "약학적으로 허용되는 염"이 명시적으로 언급되는지 여부와 관계없이 그의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 것으로 간주되어야 한다. 상기 이온 채널 차단제는 또한 용질(본 발명에 따른 펩티드 또는 그의 약학적으로 허용되는 염)과 용매 사이에 형성된 정의된 화학양론의 복합체를 의미하는 "용매화물"로 지칭될 수 있다. 이와 관련하여 용매는 예를 들어 물, 에탄올 또는 다른 약학적으로 허용되는, 전형적으로 소분자 유기 중, 예를 들어 아세트산 또는 락트산일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 해당 용매가 물인 경우, 그러한 용매화물은 일반적으로 수화물로 지칭된다.

[0196] 따라서, 본 발명의 화합물, 또는 그의 염, 특히, 그의 약학적으로 허용되는 염은 보관 또는 투여를 위해 제조되고, 본 발명의 화합물 또는 그의 염의 치료 유효량을 포함하는, 조성물 또는 약학적 조성물로 제제화될 수 있다.

[0197] 염기에 의해 형성된 적절한 염은 금속 염, 예를 들면, 알칼리 금속 염 또는 알칼리 토금속 염, 예를 들면, 소듐 염, 칼륨염, 또는 마그네슘염; 암모니아염 및 유기 아민 염, 예를 들면, 모르폴린, 티오모르폴린, 피페리딘, 피롤리딘, 또는 저급(lower) 모노-, 디-, 또는 트리-알킬아민 (예를 들면, 에틸-터트-부틸-, 디에틸-, 디이소프로필-, 트리에틸-, 트리부틸-, 또는 디메틸프로필아민), 또는 저급 모노-, 디- 또는 트리-(히드록시알킬)아민 (예를 들면, 모노-, 디-, 또는 트리에탄올아민)에 의해 형성된 염을 포함한다. 내부 염(internal salts)도 형성될 수 있다. 유사하게, 본 발명의 화합물이 염기성 모이어티를 포함하는 경우, 유기 산 또는 무기 산을 이용하여 염이 형성될 수 있다. 예를 들면, 하기 산으로부터 염이 형성될 수 있다: 포름산, 아세트산, 프로피온산, 부티르산, 발레르산, 카프로산, 옥살산, 락트산, 시트르산, 타르타르산, 숙신산, 푸마르산, 말레산, 말론산, 만델산, 말산, 프탈산, 염화수소산, 브롬화수소산, 인산, 질산, 황산, 벤조산, 탄산, 요산, 메탄술폰산, 나프탈렌술폰산, 벤젠술폰산, 톨루엔술폰산, p-톨루엔술폰산(즉, 4-메틸벤젠-술폰산), 캄포르술폰산, 2-아미노에탄술폰산, 아미노메틸포스폰산, 및 트리플루오로메탄술폰산 (후자는 또한, 트리플산(triglic acid)로도 표시됨), 및 기타 공지된 약학적으로 허용가능한 산. 아미노산, 예를 들면, 라이신, 글리신, 또는 페닐알라닌에 의해 아미노산 부가염도 형성될 수 있다.

[0198] 일부 구체예에서, 본 발명의 약학적 조성물은 화합물이 약학적으로 허용가능한 산 부가염의 형태인 것인 약학적

조성물이다.

- [0199] 의학 분야의 당업자에게 자명할 바와 같이, 본 발명의 화합물 또는 약학적 조성물의 "치료 유효량 (therapeutically effective amount)"은 특히, 치료 대상 개체(환자)의 연령, 체중 및/또는 성별에 따라 변할 것이다. 관련될 수 있는 기타 인자들은 고려 중인 특정 환자의 신체적 특징, 환자의 식이, 병용투여 (concurrent) 약물의 속성, 사용되는 특정한 화합물, 특정한 투여 방식, 원하는 약리적 효과 및 특정한 치료 적 응증을 포함한다. 이러한 인자들 및 치료적 유효량의 결정에서 그들의 관계는 의학 분야에서 잘 알려져 있기 때문에, 원하는 치료 효과를 달성하기 위한 치료적 유효 용량의 결정은 당업자의 범위 내에 속할 것이다.
- [0200] 본 명세서에서 사용된, 용어 "치료 유효량(a therapeutically effective amount)"은 주어진 질병 또는 병리의 증상을 경감시키고, 바람직하게는 그 질병 또는 병리를 갖는 개체에서 생리적 반응을 정상화시키는 양을 의미한다. 증상의 경감 또는 생리적 반응의 정상화는 당해 분야에서 관용적인 방법을 이용하여 결정될 수 있고 주어진 질병 또는 병리에 따라 다를 수 있다. 일 양태에서, 본 발명의 화합물, 또는 약학적 조성물의 치료 유효량은 측정가능한 생리적 파라미터를 대상 질병 또는 병리를 갖지 않는 개체에서의 파라미터의 실질적으로 동일한 값(바람직하게는 그 값의 30% 내, 보다 바람직하게는 20% 내, 및 훨씬 더 바람직하게는 10% 내)으로 복귀시키는 양이다.
- [0201] 본 발명의 일 구체예에서, 본 발명의 화합물 또는 약학적 조성물의 투여는 낮은 용량 수준에서 시작하고, 용량 수준을 관련된 의학적 적응증의 예방/치료의 원하는 효과가 달성될 때까지 증가시킨다. 이것이 치료 유효량을 정의할 것이다. 본 발명의 화합물의 경우, 단독으로, 또는 약학적 조성물의 일부로서, 활성 화합물의 인간에 대한 이러한 용량은 약 0.01 pmol/kg 내지 500 μ mol/kg 체중, 약 0.01 pmol/kg 내지 300 μ mol/kg 체중, 0.01 pmol/kg 내지 100 μ mol/kg 체중, 0.1 pmol/kg 내지 50 μ mol/kg 체중, 1 pmol/kg 내지 10 μ mol/kg 체중, 5 pmol/kg 내지 5 μ mol/kg 체중, 10 pmol/kg 내지 1 μ mol/kg 체중, 50 pmol/kg 내지 0.1 μ mol/kg 체중, 100 pmol/kg 내지 0.01 μ mol/kg 체중, 0.001 μ mol/kg 내지 0.5 μ mol/kg 체중, 0.05 μ mol/kg 내지 0.1 μ mol/kg 체중 일 수 있다.
- [0202] 유효한 용량 및 치료 프로토콜은, 통상적 수단에 의해 실험 동물에서의 저용량으로부터 시작하여, 효과를 모니터링하면서 용량을 증가시키고, 체계적으로 투여 용법(dosage regimen)도 변화시키면서 결정될 수 있다. 주어진 개체에 대한 최적 용량을 결정할 때, 다수의 인자들이 임상시에 의해 고려될 수 있다. 그러한 고려사항은 당업자에게 알려져 있다.
- [0203] **의학 용도 및 치료 방법**
- [0204] 추가 양태에서, 본 발명은 의학적 치료 방법에 사용하기 위한 본 발명의 이온 채널 차단제 또는 약학적으로 허용되는 염을 제공한다. 즉, 본 발명은 본 발명의 이온 채널 차단제 또는 약학적으로 허용되는 염을 개체에게 투여하는 것을 포함하는 의학적 치료 방법을 제공한다.
- [0205] 본 발명의 이온 채널 차단제 또는 약학적으로 허용되는 염의 의학 용도가 본원에 기재되어 있다. 모든 경우에, 기술된 의학 용도는 또한 본 발명의 이온 채널 차단제 또는 약학적으로 허용되는 염을 치료를 필요로 하는 개체에게 투여하는 것을 포함하는 치료 방법으로 표현될 수 있다.
- [0206] 용어 "환자", "대상" 및 "개체"는 본원에서 상호 교환적으로 사용될 수 있고, 인간 또는 비인간 동물을 의미할 수 있다. 이러한 용어에는 인간, 영장류, 가축 동물(예: 소 및 돼지), 반려 동물(예: 개 및 고양이) 및 설치류(예: 생쥐 및 쥐)와 같은 포유류가 포함된다.
- [0207] 앞서 검토된 바와 같이, Kv1.3의 차단제는 활성화된 T 세포의 증식을 억제하고 다양한 질병의 실험 모델에서 유용한 효과를 갖는 것으로 확인되었다. 이론에 의해 한정되기를 원치 않으면서, Kv1.3 채널을 통한 칼륨의 세포 유출(efflux)이 T-세포 활성화를 위해 요구되는 칼슘 유입(influx)을 지속시키기 위해 요구되는 것으로 사료된다.
- [0208] Kv1.3은 타입 1 당뇨병의 신규 발병을 갖는 환자로부터의 Gad5/인슐린-특이적 T 세포, MS 환자로부터의 수초(myelin)-특이적 T 세포, 및 류마티스 관절염 환자의 활액막으로부터의 T 세포 (Beeton et al., Proc Natl Acad Sci USA 103:17414-9, 2006), 유방암 환자 치료 (Abdul et al., Anticancer Res 23:3347, 2003) 및 전립선암 세포주 (Fraser et al., Pflugers Arch 446:559, 2003)에서 과발현된다.
- [0209] Kv1.3 차단제에 의한 동물 모델에서의 긍정적 결과가 오브알부민 및 테타누스 독소에 대한 과민증 모델 (Beeton et al., Mol Pharmacol 67:1369, 2005; Koo et al., Clin Immunol 197:99, 1999), 다발성 경화증 모델, 예를

들면, 랫트 AT-EAE(adoptive-transfer experimental autoimmune encephalomyelitis) 모델 (Beeton et al., Proc Natl Acad Sci USA 103:17414-9, 2006), 염증성 골 흡수 모델(inflammatory bone resorption model) (Valverde et al., J Bone Mineral Res 19:155, 2004), 관절염 모델 (Beeton et al., Proc Natl Acad Sci 103: 17414, 2006; Tarcha et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 342: 642, 2012) 및 비만, 당뇨 및 대사 장애 모델 (Xu et al., Hum Mol Genet 12:551, 2003; Xu et al., Proc Natl Acad Sci 101 : 3112, 2004)에서 기술되었다.

[0210] Kv1.3 차단제의 국소 적용이 피부 및 점막 염증의 치료를 위해 제안되었다.

[0211] **염증 치료**

[0212] 일부 구체예에서, 본 발명은 염증을 억제 또는 감소시키는 방법에 사용하기 위한 본 발명의 이온 채널 차단제 또는 약학적으로 허용되는 염을 제공한다.

[0213] 일부 구체예에서, 본 발명은 염증 상태 또는 장애의 치료에 사용하기 위한 이온 채널 차단제 또는 약학적으로 허용되는 염을 제공한다.

[0214] 염증 상태 또는 장애는 염증의 감소가 바람직한 임의의 상태 또는 장애, 예를 들어 염증이 증상 또는 병인에 기여하는 경우일 수 있다.

[0215] 일부 구체예에서, 염증 상태 또는 장애는 자가면역 장애, 알레르기 또는 과민증, 동종이식 거부 또는 이식편대숙주병이다.

[0216] 일부 구체예에서, 염증 상태 또는 질환은 건초열, 천식, 아나필락시스, 알레르기성 비염, 두드러기, 습진, 원형 탈모증, 피부근염, 봉입체 근염, 다발성 근염, 강직성 척추염, 혈관염, 관절염(류마티스성 관절염, 골관절염, 건선성 관절염 포함), 쇼그렌 증후군, 전신성 홍반루푸스(SLE), 포도막염, 염증성 섬유증(예를 들면, 경피증, 폐 섬유증, 간경화), 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 간염, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증, 염증성 장 질환, 대장염(예를 들면, 크론병 및 궤양성 대장염), 홍반, 갑상선염, 건선, 아토피성 피부염, 알레르기성 접촉 피부염, 경피증, 사구체신염, 염증성 골흡수, 다발성 경화증, 제1형 당뇨병, 이식 거부 또는 이식편대숙주병이다.

[0217] **대사성 효과(Metabolic effects)**

[0218] Kv1.3의 차단제는 또한 유용한 대사성 효과, 예를 들면, 에너지 항상성, 체중 조절, 및 당 조절에 대한 대사성 효과를 가질 수 있다.

[0219] 본 명세서에 기재된 이온 채널 차단제는 따라서, 체중 증가를 억제하거나, 체중 감소를 촉진하거나, 과체중을 경감시키거나 또는 (예를 들면, 식욕, 급식, 식품 섭취, 열량 섭취 및/또는 에너지 소비의 조절에 의해) 비만을 치료하기 위해, 및, 비만 연관 염증, 비만 연관 담낭 질환 또는 비만 유도 수면 무호흡증을 포함한 관련 질환 및 건강 상태의 치료에서 사용될 수 있다.

[0220] 체중에 대한 효과는 치료적 또는 미용적일 수 있다.

[0221] 상기 이온 채널 차단제는 또한, 대사 증후군, 인슐린 저항성, 포도당 과민증, 전당뇨, 공복 혈당 증가, 및 타입 2 당뇨병을 포함한, 당 조절 장애에 의해 유발되거나 또는 그와 연관된 질환의 치료에서 사용될 수 있다. 이러한 질환 중 일부는 비만과 연관될 수 있다. 이러한 질환에 대한 그들의 효과는 전적으로 또는 부분적으로 체중에 대한 효과를 통해서 매개될 수 있거나, 또는 그와 독립적일 수 있다.

[0222] **증식하는 세포 및 암의 치료**

[0223] Kv1.3은 또한 증식하는 인간 및 마우스 평활근 세포에서 발현된다. Kv1.3의 차단제는 재협착증, 예를 들면, 혈관 수술(예를 들면, 혈관형성술) 후 환자에서의 재협착증과 같은 평활근 증식 장애에서 효과적일 수 있다.

[0224] 일부 구체예에서, 본 발명은 평활근 증식성 장애의 치료에 사용하기 위한 본 발명에 따른 이온 채널 차단제 또는 약학적으로 허용되는 염을 제공한다. 일부 구체예에서 장애는 재협착증이다.

[0225] 추가적인 증거가 Kv1.3 채널이 종양 세포 (Bielanska et al., Curr. Cancer Drug Targets 9:904-14, 2009), 미세아교세포 (Khanna et al., Am. J. Physiol. Cell Physiol. 280 : C796-806, 2001)를 포함한 다양한 종류의 세포의 활성화 및/또는 증식 및 신경원 전구 세포의 분화 (Wang et al., J. Neurosci. 30:5020-7, 2010)에 관련된다는 것을 시사한다. Kv1.3 차단제는 따라서, 알츠하이머병, 다발성 경화증(MS), 파킨슨병 및 근위축성 측

삭경화증(ALS)(예를 들면, 바이러스 감염 후)과 같은, 신경염증성 및 신경퇴행성 질환의 치료에서 유용할 수 있다.

[0226] 일부 구체예에서, 본 발명은 암의 치료에 사용하기 위한 본 발명의 이온 채널 차단제 또는 약학적으로 허용되는 염을 제공한다. 일부 구체예에서, 암은 유방암, 전립선암 또는 림프종이다. 일부 구체예에서, 림프종은 비호지킨 림프종(NHL)이다. 비호지킨 림프종은 T-세포 NHL 및 B-세포 NHL을 포함한다. **B-세포 NHL의 형태**는 미만성 거대 B-세포 림프종, 소포성 림프종, 버킷 림프종, 면역아세포성 거대 세포 림프종, 전구 B세포-림프구성 림프종, 및 외투 세포 림프종을 포함한다. **T-세포 NHL의 형태**는 군상 식육종, 악성 거대세포 림프종, 말초성 T-세포 림프종, 전구 T 세포-림프구성 림프종, 및 세자리 증후군을 포함한다.

[0227] **특허 용어**

[0228] 본 명세서에서 달리 정의되지 않으면, 본 출원에서 사용된 과학 및 기술 용어는 당해 기술 분야에서 통상의 기술자에 의해 일반적으로 이해되는 의미를 가질 것이다. 일반적으로, 본 명세서에 기재된, 화학, 분자 생물학, 세포 및 암 생물학, 면역학, 미생물학, 약리학, 및 단백질 및 핵산 화학과 관련되어 사용된 명명법 및 기술은 당해 기술 분야에서 잘 알려지고 일반적으로 사용되는 것들이다.

[0229] 본 출원에서 언급된 모든 특허, 특허 출원 공개, 및 비-특허 문헌은 본 명세서에서 참조에 의해 구체적으로 포함된다. 상충의 경우, 그의 구체적 정의를 포함한, 본 명세서가 지배할 것이다.

[0230] 본 명세서에 기재된 본 발명의 각 구체예는 단독으로 취해지거나 또는 본 발명의 하나 이상의 다른 구체예와 함께 취해질 수 있다.

[0231] 본 개시는 본 명세서에 개시된 예시적인 방법 및 재료에 의해 제한되지 않으며, 본 명세서에 기재된 것과 유사하거나 등가인 임의의 방법 및 재료가 본 개시의 실시 또는 테스트에 사용될 수 있다. 수치 범위에는 범위를 정의하는 숫자가 포함된다. 달리 표시되지 않는 한, 모든 핵산 서열은 5'에서 3' 방향으로 왼쪽에서 오른쪽으로 기재되고, 아미노산 서열은 아미노에서 카르복시 방향으로 왼쪽에서 오른쪽으로 기재된다.

[0232] 단수형("a," "an," 및 "the")은 문맥상 명확하게 달리 지시하지 않으면, 복수를 포함한다.

[0233] 본 명세서 전체에서, 용어 "포함한다(comprise)" 및 그의 문법적 변형, 예를 들면, "포함하다(comprises)" 또는 "포함하는(comprising)"은 기재된 정수, 또는 성분, 또는 정수 또는 성분의 그룹의 내포를 암시하나, 임의의 다른 정수 또는 성분, 또는 정수 또는 성분의 그룹의 배제를 암시하는 것은 아닌 것으로 이해될 것이다. 본 명세서에서 사용된 용어 "포함하는(comprising)", "포함하다" 및 "구성하는(compried of)"은 "포함하는(including)", "포함하다" 또는 "함유하다"와 동의어이며, 포괄적이거나 제한이 없고, 추가적인, 기재되지 않은(non-recited) 구성원, 요소 또는 방법 단계를 배제하지 않는다. 용어 "포함하는", "포함하다", 및 "구성하는"은 또한 용어 "구성된(consisting of)"을 포함한다. 용어 "포함하는"은 "포함하지만 이에 한정되지 않는"을 의미하는 데 사용된다. 용어 "포함하는(including)"은 "포함하나, 그에 한정되지 않는(including but not limited to)"을 의미하도록 사용된다. "포함하는"과 "포함하나, 그에 한정되지 않는"은 호환적으로 사용될 수 있다.

[0234] 본 명세서에서 논의된 간행물은 본 출원의 출원일 이전의 개시를 위해서만 제공된다. 본원의 어느 것도 그러한 간행물이 본원에 첨가된 양태에 대한 선행 기술을 구성한다는 것을 인정하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0235] 본 발명은 이제 실시예에 의해 더 설명될 것이고, 이는 본 발명을 수행하는 데 있어 당업자를 돕기 위한 것이며 어떠한 방식으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것으로 의도되지 않는다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0236] 실시예 1: 일반 펩티드 합성

[0237] 약어 및 공급자 목록은 아래 표에 나와 있다.

	약어	명칭	브랜드 / 공급업체
수지	없음	TentaGel™ PHB AA(Proct)-Fmoc	Rapp Polymere
	없음	TentaGel™ SRAM	Rapp Polymere
아미노산	없음	슈도프롤린(예: QT, AT, FS)	Jupiter Bioscience Ltd.
	없음	Fmoc-L-AA-OH	Senn Chemicals AG
커플링 시약	COMU	(1-시아노-2-에톡시-2-옥소에틸리덴아미노옥시)디메틸아미노-모폴리노-카르베늄 헥사플루오로포스페이트	Watson International Ltd.
	DIC	디이소프로필카르보디이미드	Fluka / Sigma Aldrich Co.
	HATU	N-[(디메틸아미노)-1H-1,2,3-트리아졸[4,5-b]피리딘-1-일메틸렌]-N-메틸메탄아미늄 헥사플루오로포스페이트 N-옥시드	ChemPep Inc.
	HOBt	히드록시벤조트리아졸	Sigma Aldrich Co.
용매 시약	Boc ₂ O	디-tert-부틸 피로카보네이트	Advanced ChemTech
	DCM	디클로로메탄	Prolabo (VWR)
	DIPEA	디이소프로필에틸아민	Fluka / Sigma Aldrich Co.
	DMF	N,N-디메틸포름아미드	Taminco
	DODT	3,6-디옥사-1,8-옥탄디올	Sigma Aldrich Co.
	Et ₂ O	디에틸 에테르	Prolabo (VWR)
	EtOH	에탄올	CCS Healthcare AB
	없음	포름산(HPLC)	Sigma Aldrich Co.
	H ₂ O	물, Milli-Q 수	Millipore
	MeCN	아세토니트릴(HPLC)	Sigma Aldrich Co.
	MeOH	메탄올	Sigma Aldrich Co.
	NMP	N-메틸피롤리돈	Sigma Aldrich Co.
	없음	피페리딘	Jubliant Life Sciences Ltd.
	TFA	트리플루오로아세트산(HPLC)	Chemicals Raw Materials Ltd.
	TIS	트라이소프로필실란	Sigma Aldrich Co.

[0238]

[0239] 장치 및 합성 전략

[0240] N-α-아미노 보호기로서 9-플루오레닐메틸옥시카르보닐 (Fmoc) 및 측쇄 관능기를 위한 적절한 일반적인 보호기를 이용하여, 고상 펩티드 합성 절차에 따라 CEM Liberty Peptide Synthesizer 또는 Symphony X Synthesizer와 같은 펩티드 합성기에서 회분 방식으로(batchwise) 펩티드를 합성했다.

[0241] 폴리머 지지 기반 수지로서, 예를 들면, TentaGel™을 사용하였다. 사용 전에 DMF 중에서 팽창시킨 수지를 합성기에 로딩했다.

[0242] 커플링

[0243] CEM Liberty Peptide Synthesizer

[0244] Fmoc-보호 아미노산의 용액 (4 당량(equiv.))을 커플링 시약 용액 (4 당량) 및 염기(base) 용액 (8 당량)과 함께 수지에 첨가했다. 수득된 혼합물을 마이크로파 유닛(microwave unit)에 의해 70-75℃까지 가열하고 5분 동안 커플링시키거나 또는 가열 없이 60분 동안 커플링시켰다. 커플링 동안, 상기 혼합물 내로 질소를 주입시켜 기포를 발생시켰다(bubbled).

[0245] Symphony X Synthesizer

[0246] 커플링 용액을 하기 순서로 반응 용기 내에 전달했다: 아미노산 (4 당량), HATU (4 당량) 및 DIPEA (8 당량). 커플링 시간은 달리 기재되지 않으면, 실온 (RT)에서 10분이었다. 수지를 DMF로 세척했다 (5 x 0,5분). 반복된

커플링의 경우, 모든 경우에 커플링 시간은 RT에서 45분이었다.

[0247] **탈보호(Deprotection)**

[0248] CEM Liberty Peptide Synthesizer

[0249] Fmoc 기를 DMF 또는 기타 적절한 용매 중 피페리딘을 이용하여 탈보호시켰다. 탈보호 용액을 반응 용기에 첨가하고, 혼합물을 30초 동안 가열하여, 약 40℃에 도달시켰다. 반응 용기를 비우고(drain), 신선한 탈보호 용액을 첨가하고 뒤이어 3분 동안 70-75℃까지 가열시켰다. 반응 용기를 비운 후에, 수지를 DMF 또는 기타 적절한 용매로 세척했다.

[0250] Symphony X Synthesizer

[0251] DMF 중 40% 피페리딘을 이용하여 2,5분 동안 Fmoc 탈보호를 수행하고, 동일한 조건을 이용하여 반복했다. 수지를 DMF로 세척했다 (5 x 0,5 분).

[0252] **절단(cleavage)**

[0253] 건조된 펩티드 수지를 TFA 및 적절한 스캐빈저(scavenger)로 약 2시간 동안 처리했다. 여과액의 부피를 감소시키고 디에틸에테르의 첨가 후에 조 펩티드(crude peptide)를 침전시켰다. 조 펩티드 침전물을 디에틸에테르로 수회 세척하고 최종적으로 건조시켰다.

[0254] **조 펩티드의 HPLC 정제**

[0255] 조(crude) 펩티드를 통상적인 HPLC 장치, 예를 들면, 5 x 25 cm Gemini NX 5u C18 110A 컬럼과 같은 컬럼을 구비한 이원 구배(binary gradient) 적용을 위한 331/332 펌프 조합 및 분별 수집기(fraction collector)를 갖춘 Gilson GX-281을 이용하여 완충액 A (0.1% 포름산, aq.) 또는 A (0.1% TFA, aq.) 및 완충액 B (0.1% 포름산, 90% MeCN, aq.) 또는 B (0.1% TFA, 90% MeCN, aq.)의 적절한 구배에 의한 유속 20-40 ml/분을 이용한 프랩 역상 HPLC에 의해 정제했다. 분획을 분석용 HPLC 및 MS에 의해 분석하고 선택된 분획을 모아서 동결건조시켰다. 최종 산물을 HPLC 및 MS에 의해 동정했다(characterized).

[0256] **이황화결합(disulphide) 형성**

[0257] 6개의 시스테인을 갖는 조 선형 펩티드 또는 부분적으로 정제된 선형 펩티드를 약 0.1 mg/ml 또는 25 μM의 최종 농도로 탄산수소나트륨 (NaHCO₃) 또는 아세트산 암모늄 (NH₄Ac)과 같은 완충액에 용해시켰다. 완충액의 pH는 pH 8.0으로 조정하고 실온에서 대기에 개방된 상태에서 자기 교반 하에 교반시켰다. 반응의 진행을 HPLC에 의해 측정했고 일반적으로 밤새 완료되는 것으로 평가되었다. 아세트산 또는 트리플루오로아세트산과 같은 유기 산에 의해 용액의 pH(pH < 4)를 낮추는 것에 의해 용액을 퀸칭시켰다(quench). 수득된 용액을 여과시키고 정제를 위해 프랩-HPLC 컬럼에 직접 로딩시켰다.

[0258]

[0259] **분석 HPLC**

[0260] 오토 샘플러, 탈기기(degasser), 20 μl 플로우 셀(flow cell), 및 Chromeleon 소프트웨어가 구비된 분석 HPLC (Agilent 1100/1200 series)에 의해 최종 순도를 측정했다. HPLC를 Kinetex 2.6 μm XB-C18 100A 100x4,6 mm 컬럼과 같은 분석용 컬럼을 이용하여 40℃에서 1.2 ml/분의 유속으로 운전시켰다. 215 nm에서 화합물을 검출하고 정량하였다. 완충액 A (0.1% TFA, aq.) 및 완충액 B (0.1% TFA, 90% MeCN, aq.)를 이용하였다.

[0261] **질량 분광분석법(Mass spectroscopy)**

[0262] 통상적인 질량 분광분석기, 예를 들면, lock-mass 교정 및 MassLynx 소프트웨어에 의한 전자분무 검출기를 갖춘 Waters Xevo G2 ToF에서 최종 MS 분석을 수행했다. 크로마토그램에 특정된 바와 같이, 직접 주입 및 15V (1 TOF), 30 V (2 TOF) 또는 45 V (3 TOF)의 콘 전압(cone voltage)을 이용하여 포지티브 모드에서 운전시켰다. 정밀도(precision)는 일반적인 15,000-20,000의 해상도로 5 ppm이었다.

[0263] **화합물**

[0264] 합성된 화합물을 표 1에 나타내었다.

표 1

[0265]

Cpd 번호	서열	서열 번호
1	HP[N1e]E[N1e]RC(1)[2,4-디아미노부타노일]ASVEC(2)KQKC(3)LAAIGSIFGKC(1)[N1e]NKKC(2)KC(3)YPR-OH	10
2	HP[N1e]E[N1e]RC(1)[Orn]ASVEC(2)KQKC(3)LAAIGSIFGKC(1)[N1e]NKKC(2)KC(3)YPR-OH	11
3	HP[N1e]E[N1e]RC(1)[2-아미노-3-구아니디노프로피오닐]ASVEC(2)KQKC(3)LAAIGSIFGKC(1)[N1e]NKKC(2)KC(3)YPR-OH	12
4	HP[N1e]E[N1e]RC(1)HASVEC(2)KQKC(3)LAAIGSIFGKC(1)[N1e]NKKC(2)KC(3)YPR-OH	13
5	HP[N1e]E[N1e]RC(1)YASVEC(2)KQKC(3)LAAIGSIFGKC(1)[N1e]NKKC(2)KC(3)YPR-OH	14
6	HP[N1e]E[N1e]RC(1)SA[Orn]VEC(2)KQKC(3)LAAIGSIFGKC(1)[N1e]NKKC(2)KC(3)YPR-OH	15
7	HP[N1e]E[N1e]RC(1)[2,3-디아미노프로파노일]ASVEC(2)KQKC(3)LAAIGSIFGKC(1)[N1e]NKKC(2)KC(3)YPR-OH	16
8	HP[N1e]E[N1e]RC(1)SA[2,3-디아미노프로파노일]VEC(2)KQKC(3)LAAIGSIFGKC(1)[N1e]NKKC(2)KC(3)YPR-OH	17
9	HP[N1e]E[N1e]RC(1)[2,4-디아미노부타노일]ASVEC(2)AQSC(3)LAAIGSIFGKC(1)[N1e]NGKC(2)KC(3)YPR-OH	18
10	HP[N1e]E[N1e]RC(1)[2,4-디아미노부타노일]ASVEC(2)AQSC(3)LAAIGSIFGKC(1)[N1e]NGKC(2)KC(3)YPR-[NH ₂]	18
11	HP[N1e]E[N1e]RC(1)RASVEC(2)AQSC(3)LAAIGSIFGKC(1)[N1e]NGKC(2)KC(3)YPR-[NH ₂]	19
12	HP[N1e]E[N1e]RC(1)SASREC(2)AQSC(3)LAAIGSIFGKC(1)[N1e]NGKC(2)KC(3)YPR-[NH ₂]	20

[0266]

다음 화합물도 기준 화합물(reference compound)로 사용하기 위해 합성하였다:

표 2

[0267]

Cpd 번호	PCT/EP2020/07 6187 중 Cpd 번호	서열	서열번호
13	98	HP[N1e]E[N1e]RC(1)SASVEC(2)KQKC(3)LAAIGSIFGKC(1)[N1e]NKKC(2)KC(3)YPR-[NH ₂]	21
14	97	HP[N1e]E[N1e]RC(1)SASVEC(2)KQKC(3)LAAIGSIFGKC(1)[N1e]NKKC(2)KC(3)YPR-OH	21
15	1	H-QMDMRCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-OH	1
16	2	H-QMDMRCSASVECKQKCLKAIGRFGKCMNKKCKCYPR-OH	22
17	3	H-NDMDRCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-OH	23
18	5	H-MDMRCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-OH	24
19	8	H-NIDMRCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-OH	25
20	12	H-NMEMRCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-OH	26
21	16	H-NDMDRCSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	27
22	17	H-NDMDRCSASVECKVKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	28
23	18	H-NDMMRCSASVECKQLCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	29
24	19	H-NDMMRCSASVECKQKCKKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	30
25	20	H-NDMMRCSASVECKQKCLDAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	31
26	21	H-NDMDRCSASVECKQKCLKAIRSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	32
27	22	H-NDMMRCSASVECKQKCLKAIESIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	33
28	23	H-NDMDRCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPRRTA-NH ₂	34
29	25	H-NMDMRCKASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	2
30	26	H-NMDMRCSISVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	35
31	27	H-NDMMRCSASRECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	3
32	28	H-NDMDRCSASVQCKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	36
33	29	H-NDMMRCSASVECLQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	37
34	30	H-NDMMRCSASVECAQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	38
35	31	H-NDMDMRCSASVECKEKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	39
36	32	H-NDMDMRCSASVECKLKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	40

37	33	H-NDMMRCSASVECKQKCLKAHSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	41
38	34	H-NDMMRCSASVECKQKCLKAIGSKFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	42
39	35	H-NDMDMRCSASVECKQKCLKAIGSRFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	43
40	36	H-NDMDMRCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNGKCKCYPR-NH ₂	44
41	37	H-NDMDMRCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCHCYPR-NH ₂	45
42	38	H-NDMDMRCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKVCYPR-NH ₂	46
43	39	HN[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	47
44	40	HN[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	48
45	41	HP[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	49
46	42	HN[N1e]D[N1e]RCRASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	4
47	43	HN[N1e]D[N1e]RCSASVECEQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	50
48	44	HN[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	51
49	45	HN[N1e]D[N1e]RCSASVECKKKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	52
50	46	HN[N1e]S[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	53
51	47	HN[N1e]D[N1e]RCSHSVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	5
52	48	HN[N1e]D[N1e]RCSASVECKQSCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	54
53	49	HN[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	55
54	50	H-NDMMRCSASVECKQKCYKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	56
55	51	H-NDMDMRCSASVECKQKCRKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	57
56	52	H-NDMMRCSASVECKQKCLAAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	58
57	53	H-NDMMRCSASVECKQKCLYAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	59
58	54	H-NDMMRCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	60
59	55	H-NDMMRCSASVECKQKCLKYIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	61
60	56	H-NDMDMRCSASVECKQKCLKRIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	62
61	58	H-NDMMRCSASVECKQKCLKAYGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	63
62	62	HN[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSPFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	64
63	63	HN[N1e]D[N1e]RCSAKECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	6
64	64	HH[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	65
65	65	HY[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	66
66	66	HS[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	67
67	67	HV[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	68
68	68	HS[N1e]D[N1e]RCSA[아부]VECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	69
69	69	HS[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFG[호모-Lys]CMNKKCKCYPR-NH ₂	70
70	70	HS[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKC[F(4-NH ₂)]PR-NH ₂	71
71	71	HS[N1e]D[N1e]RCSASVECGQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	72
72	72	HS[N1e]D[N1e]RCSASVECVQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	73
73	73	HS[N1e]D[N1e]RCSASVECK[2-아미노-5-카르복시펜타노일]KCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	74
74	74	HS[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYQ-NH ₂	75
75	75	HS[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCRCYPR-NH ₂	76
76	76	HS[N1e]DERCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	77
77	78	HS[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLVAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	78
78	79	HS[N1e]D[N1e]RCSASVECAQSCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	79
79	80	HS[N1e]D[N1e]RCSASVECAQKCLAAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-NH ₂	80
80	82	HS[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-OH	67
81	83	HP[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGCIFGKC[N1e]NKKCKCYPC-NH ₂	81
82	84	HS[N1e]D[N1e]RCSASVECKEKCLQAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	82

83	85	HP[N1e]D[N1e]RCSASVECKEKCL[호모-Gln]AIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	83
84	86	H-CSASVECKQKCLKAIGCIFGKC[N1e]NKKCKCYPC-NH ₂	84
85	87	HS[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLAAIGCIFGKC[N1e]NKKCKCYPC-NH ₂	85
86	88	HP[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGCIFGKC[N1e]NKKCKCYPC-OH	81
87	91	HS[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKC[F(4-F)]PR-NH ₂	86
88	92	HS[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKC[F(4-NO ₂)]PR-NH ₂	87
89	93	HS[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKC[F(4-CH ₃)]PR-NH ₂	88
90	94	H-[N1e]D[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-OH	89
91	95	H-NID[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-OH	90
92	96	H-PIE[N1e]RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-OH	91
93	99	HP[N1e]E[N1e]RCSASVECKQKCLLAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-OH	92
94	100	H-PIDRCSASVECKQKCLAAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-OH	93
95	101	H-PIE[N1e]RCSASVECKQKCLAAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-OH	94
96	102	HP[N1e]D[N1e]RCSASVECAQKCLAAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-OH	95
97	103	HP[N1e]E[N1e]RCSASVECAQKCLAAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-OH	96
98	104	H-CSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	97
99	105	Ac-CSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	97
100	106	H-RCSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	98
101	107	Ac-SKCSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	99
102	108	Ac-LRCSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-NH ₂	100
103	114	H-LRCSASVECKQKCLKAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-OH	100
104	115	Ac-LRCSASVECKQKCLAAIGSIFGKC[N1e]NKKCKCYPR-OH	101
105	116	Ac-LRCSASVECKQKCLAAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-OH	102
106	117	H-CSASVECKQKCLKAIGSIFGKCMNKKCKCYPR-OH	103
ShK	-	H-RSCIDTIPKSRCTAFQCKHSMKYRLLSFCRKTCGTC-OH	104
ShK-186	-	H-[포스포타로실][8-아미노-3,6-디옥사옥타노일]RSCIDTIPKSRCTAFQCKHSMKYRLLSFCRKTCGTC-NH ₂	105
Moka1	-	H-INVKCSLPQQCIKPKCDAGMRFGKCMNKKCRYS-OH	106
VM24	-	H-AAAI SCVGSPECPKPCRAQGCKNGKCMNRKCKCYC-NH ₂	107

[0268] 실시예 2: FLIPR 탈륨 분석에서 Kv1.3 차단제 활성

[0269] 인간 Kv1.3 전압-의존성 K⁺ 채널 세포주를 Perkin Elmer로부터 구입했다(TDS-AX-010-C-1). 상기 세포주는 인간 Kv1.3 전압-의존성 K⁺ 채널로 안정적으로 형질감염된 CHO-DUKX 세포에 기반한다.

[0270] 상기 세포주를 뉴클레오티드, GlutaMAX (Gibco # 32571028), 10% 우태아 혈청 (FBS), 0.4 mg/ml 게네티신 (Geneticin), 100 units/ml 페니실린, 및 100 µg/ml 스트렙토마이신을 포함하는 MEM α에서 증식시키고 블랙 폴리-D-라이신-코팅 96 웰 플레이트에 10,000개 세포/웰로 접종했다.

[0271] FluxOR™ Potassium Ion Channel Assay (Invitrogen # F10016)를 이용하여 세포막의 탈분극화를 유발하는 자극 완충액에 의한 Kv1.3 활성화에 대한 반응으로서, 채널 활성화에 비례적으로 형광 신호를 생성하는, 세포 내로의 탈륨 이온의 흐름을 정량하였다. 분석은 상기 분석 키트 제조사에 의해 설명된 바와 같이, 0.2X FluxOR™ 염화물-불포함 완충액에 해당하는 최종 자극 완충액 조성물, 5 mM K₂SO₄, 1 mM Tl₂SO₄을 사용한 세포막 탈분극 전에 소 우유에서 추출한 0.02% w/v 카제인을 함유하는 분석 완충액(Sigma #C4765)에서 화합물 사전 인큐베이션 단계 (30분, 37℃, 5% CO₂)를 포함하여 수행하였다. FLIPR® Tetra High Throughput Screening System(Molecular Devices, Inc.)을 사용하여 형광 반응을 기록하고 정량화했다(50초, 37℃에서 최대 반응).

[0272] 세포로의 탈륨 플럭스의 억제를 유발하는 시험 화합물로부터의 데이터를 양성(ShK, 10 nM) 및 음성 대조군(비히클)에 대해 정규화하여 4-파라미터 로지스틱(4PL) 비선형을 사용하여 농도 반응 곡선으로부터 IC₅₀을 계산했습니다. 공식 $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\text{LogIC}_{50} - X) * \text{HillSlope}))})$ 에 기초한 농도 반응 모델, 여기서 Y는

억제율이고 X 는 화합물 농도이고 Top, Bottom, Hill Slope , 및 IC50은 맞춤 매개변수이다. 결과는 표 3에 제시되어 있다($n \geq 2$). IC50은 각각의 화합물에 대한 억제 효능의 측정치로 간주될 수 있다. IC50 값은 주어진 분석에서 해당 화합물의 최대 이온 채널 활성 억제의 절반을 달성하는 데 필요한 억제제 농도의 척도이다. 참조 화합물보다 특정 이온 채널에서 더 낮은 IC50 값을 갖는 화합물은 참조 화합물보다 더 활성인 억제제 또는 더 강력한 억제제로 간주될 수 있다.

표 3

Cpd 번호	IC ₅₀ (nM)
1	0.12
2	0.12
3	0.13
4	0.15
5	0.18
6	33
7	0.28
8	0.26
9	4.6
10	0.33
11	0.22
12	0.45
13	0.11
14	0.15
15	0.24

실시예 3: 약동학적 특성 규명

방법

Sprague Dawley(체중 약 250-350g의 수컷)에게 테스트할 각 펩티드를 단일 피하(sc) 주사로 투여했다.

선택된 화합물의 s.c. 투여(용량 100 nmol/kg, 투여량 2 mL/kg) 후, 혈액 샘플을 투여 후 5분, 15분, 30분, 60분, 2시간, 3시간, 4시간, 6시간, 8시간에 채취했다. 각 샘플링 시점에, 랫트로부터 샘플을 설하 채혈로 채취했다. 마지막 샘플링 후, 랫트를 O₂/CO₂ 마취로 희생시켰다. 투여 비히클은 10 mM 인산염, 0.8% NaCl, 0.05% 폴리소르베이트 20(pH 6.0)이었다.

혈장 샘플은 고체상 추출(SPE) 후에 액체 크로마토그래피 질량 분석법(LC-MS/MS)에 분석하였다. 평균 혈장 농도를 이용하여 Phoenix WinNonlin 6.4 또는 이후 버전에서 비구획 접근법(non-compartmental approach)을 사용하여 약동학 매개변수를 계산하였다. 혈장 말기 제거 반감기(plasma terminal elimination half-life)($T_{1/2}$)는 $\ln(2)/\lambda_z$ 로 결정되었으며, 여기서 λ_z 는 말기(terminal phase) 동안 로그 농도 대 시간 프로파일의 로그 선형 회귀 기울기의 크기이다. AUC_{inf}는 무한대로 외삽된 혈장 농도 - 시간 곡선 아래의 면적이다($AUC_{inf} = AUC_{last} + C_{last}/\lambda_z$, 여기서 C_{last} 는 마지막으로 관찰된 혈장 농도임). C_{max}는 T_{max}에 나타나는, 관찰된 최대 농도이다. 선택한 화합물에 대한 결과는 표 4에 표시된다.

표 4

Cpd. 번호	용량(nmol/kg)	AUC _{INF} (hr*nmol/L)	C _{max} (nmol/L)	T _{1/2} (시간)
1	100	152	90.8	1.7
4	100	138	91.8	2.7
14	100	183	103	1.0

국제 특허 출원 PCT/EP2020/076187의 실시예 6에 기재된 방법에 따라 화합물 14의 약동학적 특성화를 수행하였다. 화합물 13에 대한 결과는 하기 표 5에 나타내었다.

표 5

[0281]

Cpd. 번호	용량(nmol/kg)	AUC _{INF} (hr*nmol/L)	C _{max} (nmol/L)	T _{1/2} (시간)
13	70	26.8	16.5	1.7

[0282]

실시예 4: 패치 클램프 분석에서의 Kv1.3 선택성

[0283]

각 칼륨 이온 채널의 외인성 인간 α-서브유닛을 안정적으로 발현하는 CHO(Chinese Hamster Ovary) 세포주를 표준 배양 조건에서 증식시키고 계대시켰다.

[0284]

이온 전류를 정량하기 위해, 자동화된, 칩-기반 평면 패치 클램프 장치(automated, chip-based planar patch clamp device) QPatch®를 이용했다. 모든 기록은 기가오hm 씬(gigaohm seal)의 확립 후에 통상적인 전-세포 배열(whole-cell configuration)에서 수행했다. 외부 기록 용액(External recording solution)은 (150 mM NaCl, 10 mM KCl, 10 mM HEPES, 1 mM MgCl₂, 3 mM CaCl₂, 10 mM 글루코오스, NaOH로 7.4로 조정된 pH)를 포함했고, 내부 기록 용액(Internal recording solution)은 (20 mM KCl, 120 mM KF, 10 mM HEPES, 10 mM EGTA, 5 mM NaATP, KOH로 7.2로 조정된 pH)를 포함했다. 실험 동안, 모든 외부 기록 용액에 0.1% (v/v) BSA를 비히클로 포함시켰다. 15s마다 500 ms 동안 전압을 30 mV로 전환시키는 전압 프로토콜을 이용하여, -80 mV의 유지 전위차(holding potential)로부터 전류를 유도했다.

[0285]

화합물 적용당 2분의 기록 기간(recording period)으로, 개별적인 세포에 테스트 시료의 7개의 점증하는 농도를 누적적으로 적용하여 농도-반응 관계를 확립하였다.

[0286]

커서(cursor) 위치로부터 각 농도 적용 기간의 종료시 마지막 3개의 스위프(sweep)에 대한 평균 전하(charge)로서 효능(efficacy)을 결정했다. 각 테스트 용량 적용 기간에 대한 퍼센트 억제(억제를 비히클 기간의 종료 시 측정된 커서 값 대비 평균 커서 값 (전하)의 감소로 계산하고, 농도 반응 곡선으로부터 IC₅₀을 계산하기 위해 이용했다.

[0287]

결과가 표 6에 표시된다.

표 6

[0288]

Cpd 번호	효능 IC ₅₀ (nM)				선택도 비율		
	Kv1.1	Kv1.2	Kv1.3	Kv1.6	Kv1.1/Kv1.3	Kv1.2/Kv1.3	Kv1.6/Kv1.3
1	>3000	480	0.028	>3000	>100000	17000	>100000
3	>3000	380	0.064	>3000	>46000	6000	>46000

[0289]

화합물 1 및 3 모두 Kv1.1, Kv1.2 및 Kv1.6에 대한 선택도 비율이 6000 이상으로 관찰됨에 따라 Kv1.3에 대해 매우 높은 선택도를 나타낸다. 따라서, 화합물 1 또는 3의 치료 관련 농도(therapeutically relevant concentration)에서 이러한 이온 채널의 감지 가능한 억제가 예상되지 않는다.

[0290]

기준 화합물의 선택도도 동일한 방법을 이용하여 결정하였다. 결과가 표 7에 표시된다.

표 7

[0291]

Cpd 번호	효능 IC ₅₀ (nM)				선택도		
	Kv1.1	Kv1.2	Kv1.3	Kv1.6	Kv1.1/Kv1.3	Kv1.2/Kv1.3	Kv1.6/Kv1.3
15	>3000	518	0.38	>3000	>7900	1364	>7900
16	>3000	97	1.50	1810	>2000	65	1204
17	>3000	409	0.27	>3000	>11300	1540년	>11300
18	>3000	285	0.38	>3000	>7900	747	>7900
19	>3000	376	0.44	>3000	>6800	857	>6800
20	>3000	228	0.11	>3000	>27600	2093	>27600
21	>3000	133	0.24	2460	>12600	561	10360

22	>3000	66	0.42	912	>7200	159	2182
23	>3000	256	0.24	>3000	>12700	1080	>12700
24	>3000	45	0.22	435	>13500	202	1955년
25	>3000	99	0.21	2527	>14300	471	12045
26	>3000	57	0.22	626	>13700	259	2851
27	>3000	181	0.29	>3000	>10200	615	>10200
28	626	28	0.15	215	4280	191	1472
29	>3000	67	0.09	363	>34200	761	4144
30	>3000	43	0.26	>3000	>11800	169	>11800
31	>3000	11	0.12	206	>25900	94	1778
32	>3000	16	0.20	252	>15200	83	1272
33	>3000	874	0.40	>3000	>7400	2163	>7400
34	>3000	666	0.14	>3000	>22000	4897	>22000
35	>3000	179	0.28	>3000	>10800	648	>10800
36			0.38				
38	>3000	100	0.42	207	>7100	237	490
39	>3000	18	0.20	192	>15000	88	963
40	>3000	439	0.31	>3000	>9700	1422	>9700
41	>3000	338	0.19	>3000	>16100	1816	>16100
43			0.15				
44	>3000	113	0.26	1829	>11600	436	7073
45	>3000	939	0.18	>3000	>17100	5362	>17100
46	>3000	109	0.16	316	>18600	674	1954
49	>3000	257	0.75	>3000	>4000	343	>4000
50	>3000	302	0.32	1395	>9400	943	4359
51	>3000	772	0.54	609	>5600	1438	1134
52	>3000	>3000	0.37	>3000	>8200	>8200	>8200
53	>3000	164	1.34	946	>2200	123	707
54			0.27				
55			0.25				
56	>3000	88	0.11	>3000	>27500	803	>27500
57	>3000	149	0.29	>3000	>10300	514	>10300
58	>3000	291	2.41	>3000	>1200	121	>1200
59			0.12				
60	>3000	57	0.30	932	>9900	187	3062
61	>3000	145	0.34	>3000	>8800	426	>8800
62	>3000	449	0.26	2349	>11600	1740	9102
63	>3000	184	0.31	1231	>9600	587	3929
64			0.25				
65			0.14				
66			0.18				
67			0.32				
70	>3000	423	0.25	>3000	>12200	1720	>12200
71	>3000	373	0.11	>3000	>27700	3438	>27700
75			0.13				
76	>3000	122	0.28	>3000	>10600	430	>10600
78	>3000	1149	0.21	>3000	>14600	5596	>14600
79			0.16				
81	>3000	624	0.63	1222	>4800	995	1949
90	>3000	1859	0.17	>3000	>17800	11034	>17800
91	>3000	2063	0.27	>3000	>11300	7756	>11300

92	>3000	1758	0.39	>3000	>7800	4561	>7800
14	>3000	1117	0.33	>3000	>9100	3384	>9100
13	>3000	311	0.18	>3000	>16200	1689	>16200
95	>3000	1968	0.35	>3000	>8600	5630	>8600
97	>3000	>3000	0.55	>3000	>5500	5500	>5500
98	>3000	>3000	0.43	>3000	>7000	>7000	>7000
99	>3000	384	0.24	>3000	>12400	1591	>12400
100	>3000	280	0.40	1302	>7600	708	3290
101	>3000	196	1.00	1451	>3000	196	1451
102	>3000	122	0.35	2456	>8700	352	7096
106	>3000	1832	2.09	>3000	>1400	878	>1400
ShK	0.0021	11	0.017	0.19	0.12	644	11
ShK-186	0.31	43	0.095	0.45	4.9	682	7.4
Moka1	>3000	275	9.0	>3000	>300	31	>300
VM24	0.097	4.7	0.15	21	0.65	31	139

[0292] 실시예 5a: 인간 PBMC에 대한 Kv1.3 차단제 기준 화합물의 억제 활성

[0293] 인간 말초혈액 단핵세포(PBMC)를 이용하여, 항-CD3에 의한 자극 후 IL-2 (사이토카인) 분비에 의해 측정되는 T-세포 활성화에 대한 Kv1.3 차단제 기준 화합물의 효과를 평가했다.

[0294] 인간 PBMC는 Precision for Medicine (Frederick, MD)으로부터 수득했다. 5명의 공여자로부터의 세포를 이용했다. PBMC 시료(preparation) 중 벌크 T 세포를 자극하기 위해 플레이트-결합(plate-bound) 항-CD3을 이용했다. 요약하면, 96-웰 플레이트를 1xPBS에 희석시킨 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 항-CD3 용액 50 μL 를 이용하여 37°C에서 2시간 동안 항-CD3 항체로 코팅했다. 그 후, 플레이트를 2회 세척했다.

[0295] 표 8에 표시된 Kv1.3 차단제를 배지 (10 % v/v Fetal Bovine Serum, 1 % v/v 페니실린-스트렙토마이신 용액을 함유한 Glutamax-I를 포함하는 RPMI 1640)에 희석하고 0.01 pM 내지 100 nM 범위의 농도(10배 희석물(tenfold dilutions))에서 100 μL 의 양으로 첨가했다. 사이클로스포린 A (1 $\mu\text{g/mL}$) 및 Vm24 펩티드 (100 nM)를 양성 대조군으로 이용했다. 최종적으로, 각 웰에 100 μL 의 부피로 1×10^5 PBMC를 첨가하여, 웰당 200 μL 의 최종 부피가 되게 했다. 플레이트를 37°C/5% CO₂ 인큐베이터에서 20-24시간 동안 인큐베이션시켰다. 플레이트의 원심분리 후에, 25 μL 상층액을 IL-2 검출 플레이트 (MSD Human IL-2 Tissue Culture Kit, cat# K151AHB-2)로 옮기고, 제조사 (Meso Scale Discovery, Rockville, Maryland, USA)가 기술한 바와 같이 IL-2를 측정했다.

[0296] 결과가 항-CD3 자극 인간 PBMC 분석으로부터 수득된 IC₅₀ 값의 기하 평균으로 표 8에 표시된다. 모든 값들은 4회 이상의 반복 수행으로부터 유래된다.

표 8

화합물	항-CD3 PBMC/ IL-2 IC ₅₀ [nM]
ShK-186	0.07
21	0.05
22	0.4
25	0.1
39	0.1

[0298] 항-CD3 항체 활성화된 hPBMC와의 인큐베이션 및 Kv1.3 차단제의 첨가는 IL-2 분비의 용량-의존적 감소를 가져왔다. 평균적으로, 테스트 화합물의 IC₅₀ 값 (IL-2 분비로부터 계산됨)은 0.05 nM 내지 0.4 nM의 범위였다. 이는 ShK186 (IC₅₀은 0.07 nM임)으로 관찰된 IC₅₀과 유사했고, IL-2 분비의 억제에서 덜 강력한 Moka1의 IC₅₀보다 약 10-100배 낮았다.

- [0299] 테스트 화합물과 ShK186 간에 유의성 있는 차이는 없다. ShK186과 테스트 화합물은 모두 Moka1보다 유의성있게 더 낮았다.
- [0300] 사이클로스포린은 모든 실험에서 CD3 유도 IL-2 방출을 완전히 차단했다.
- [0301] **실시예 5b: 인간 PBMC에 대한 Kv1.3 차단제 기준 화합물의 억제 활성**
- [0302] 인간 말초혈액 단핵세포(PBMC)를 이용하여, 항-CD3에 의한 자극 후 IL-2 분비에 의해 측정되는 T-세포 활성화에 대한 Kv1.3 차단제 기준 화합물의 효과를 평가했다.
- [0303] 인간 PBMC는 Precision for Medicine (Frederick, MD)으로부터 수득했다. 5명의 공여자로부터의 세포를 이용했다. PBMC 시료 중 벌크 T 세포를 자극하기 위해 플레이트-결합 항-CD3를 이용했다. 요약하면, 96-웰 플레이트를 PBS에 희석시킨 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 항-CD3 용액 50 μl 를 이용하여 5°C에서 약 16시간 동안 항-CD3 항체로 코팅했다. 그 후, 플레이트를 2회 세척했다.
- [0304] Kv1.3 차단제를 배지 (10 % v/v Fetal Bovine Serum, 1 % v/v 페니실린-스트렙토마이신 용액을 함유한 Glutamax-I를 포함하는 RPMI 1640)에 희석하고 50 μl 의 양으로 첨가했다. 0.3 pM 내지 1000 nM 범위의 농도(하프-로그(half-log) 희석, 출발 농도는 다양함)로 표 9에 표시된 화합물을 첨가했다. 사이클로스포린 A (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 및 Vm24 펩티드 (100 nM)를 양성 대조군으로 이용했다.
- [0305] 최종적으로, 각 웰에 50 μl 의 부피로 동일한 배지 중 50,000개의 PBMC를 첨가하여, 웰당 100 μl 의 최종 부피가 되게 했다. 플레이트를 37°C/5% CO₂ 인큐베이터에서 20-24시간 동안 인큐베이션시켰다. 플레이트의 원심분리 후에, 25 μl 상층액을 IL-2 검출 플레이트 (MSD Human IL-2 Tissue Culture Kit, cat# K151AHB-2)로 옮기고, 제조사 (Meso Scale Discovery, Rockville, Maryland, USA)가 기술한 바와 같이 IL-2를 측정했다.
- [0306] 결과가 항-CD3 자극 인간 PBMC 분석으로부터 수득된 IC₅₀ 값의 기하 평균으로 표 9에 표시된다. 모든 값들은 6회 이상의 반복 수행으로부터 유래된다.

표 9

[0307]

화합물	항-CD3 PBMC/IL-2 IC50 [nM]
ShK-186	0.04
17	0.06
15	0.09
45	0.03
28	0.06
52	0.07

- [0308] 항-CD3 항체 활성화된 hPBMC와의 인큐베이션 및 본 발명의 화합물의 첨가는 IL-2 분비의 용량-의존적 감소를 가져왔다.
- [0309] 테스트 화합물의 평균 IC₅₀ 값 (IL-2 분비로부터 계산됨)은 표 9에 표시된 바와 같이, 0.01 nM 내지 0.09 nM의 범위였다. 이는 ShK186 (IC₅₀은 0.05 nM임)에 의해 관찰된 IC₅₀과 유사했다. 이 분석은 실시예 5a에서 사용된 시료의 공여자와 다른 공여자들로부터의 시료를 이용해 수행하였고, 따라서, 이 두 세트의 실험에서 Shk-186에 대한 동일한 값이 예상되지 않았다.
- [0310] 사이클로스포린은 모든 실험에서 항-CD3 유도 IL-2 방출을 완전히 차단했다.
- [0311] **실시예 6: 랫트 전혈에서 Kv1.3 차단제 기준 화합물의 억제 활성**
- [0312] 랫트 전혈을 이용하여 탐시가르긴(thapsigargin)에 의한 자극 후 IL-17A 분비에 의해 결정되는 T-세포 활성화에 대한 Kv1.3 차단제 기준 화합물의 효능을 평가했다. 탐시가르긴의 첨가는 Kv1.3 이온 채널이 핵심적인 역할을 수행하는, T 세포 증식 및 사이토카인 생산의 활성화를 가져오는 신호전달 캐스캐이드의 활성화를 가져오고, 따라서, 일차 세포에서 Kv1.3 차단제의 활성이 이 실험 시스템에 의해 측정될 수 있다.
- [0313] 랫트 전혈은 수집을 위해 Sodium Heparin 혈액 샘플링 튜브를 이용하여 심장으로부터 정기적으로 채혈된

(terminally bleed), 건강하고, 순수한(naive) Lewis 또는 Sprague-Dawley 랫트로부터 수득했다. 테스트 화합물을 분석 완충액(DMEM+GlutaMAX)에 4x 최종 테스트 농도로 희석시켰다. GlutaMAX는 25 mM HEPES 완충액, 1 mM 소듐 피루베이트, 100 units/ml 페니실린, 100 μ g/ml 스트렙토마이신 및 0.05% 우유 유래 카세인 (Sigma-Aldrich)이 보충된 3.97 mM L-알라닌-L-글루타민 (Gibco Cat# 61965026)을 포함하는 배지임이다. GlutaMAX 25 μ l를 96 웰 플레이트의 웰에 첨가했다. 그 후, 50 μ l의 랫트 전혈을 첨가하고, 실온에서 최소 5분 동안 인큐베이션시켜서 화합물 결합이 일어나게 했다. 그 후, 분석 완충액에 희석시킨 40 μ M 탭시가르긴 25 μ l를 분석 플레이트의 모든 웰에 첨가하여 세포를 활성화시키고, 뒤이어 습도 유지(humidified) 박스에서 37°C/5% CO₂에서 24시간 동안 인큐베이션시켰다. 분석 플레이트를 4°C에서 300 g로 10분 동안 원심분리하고, 상층액을 새로운 플레이트로 옮겼다. 상층액으로 방출된 IL-17A의 농도를 제조사가 권장한 바에 따라 Rat IL-17A ELISA Kit (Abcam Cat# ab214028)를 이용하여 측정했다. 20 μ l의 상층액을 검출 키트로부터의 완충액 75BS 30 μ l를 포함하는 ELISA 플레이트 상의 웰로 옮겨서 시료를 2.5배 희석시켰다.

[0314] IL-17A의 억제를 유발하는 테스트 화합물로부터의 데이터를 완전한 탭시가르긴 활성화 (차단체 첨가 없음) 및 비활성화 대조군(탭시가르긴 대신 분석 완충액 첨가) 대비 정규화시켜서 농도 반응 곡선으로부터 IC₅₀을 계산했다.

[0315] 표준편차 (IC₅₀_SD)와 함께, IC₅₀으로 표현된 결과가 표 10에 표시된다. 모든 값은 2회 이상의 반복 실험으로부터 유래된다. 엑스 비보 생물학적 효과는 화합물의 효능과 상관관계를 보인다.

표 10

[0316]

Cpd 번호	IC ₅₀	IC ₅₀ _SD
15	0.17	0.036
17	1.0	0.31
22	0.88	0.32
23	3.2	0.017
24	0.56	0.2
25	1.2	0.72
26	0.82	0.81
27	2.8	2.5
28	0.57	0.24
30	0.61	0.33
31	0.68	0.47
32	0.53	0.21
33	0.76	0.23
34	0.41	0.021
35	0.86	0.31
36	0.75	0.24
37	0.70	0.40
38	2.1	0.89
39	2.5	2.1
40	1.2	0.7
41	0.77	0.56
42	2.8	1.8
45	0.98	0.60
46	0.91	0.26
47	0.99	0.24
48	1.1	0.47
49	1.4	0.64
50	0.79	0.28
51	0.83	0.4
52	0.63	0.039

53	1.0	0.65
56	0.69	0.21
62	0.44	0.080
63	0.68	0.19
64	1.2	0.71
65	1.1	0.011
66	0.47	0.35
67	0.98	0.076
68	0.93	0.72
69	2.7	0.54
70	0.79	0.15
71	0.30	0.11
72	0.47	0.086
73	0.52	0.019
74	1.6	1.1
75	0.86	0.13
76	0.55	0.25
77	0.39	0.28
80	0.52	0.059
81	0.81	0.13
82	0.69	0.38
83	1.4	1.1
84	1.1	1.3
85	0.73	0.28
86	1.1	1.2
87	0.34	0.07
88	1.3	1.0
89	0.54	0.31
90	0.55	0.42
91	1.2	0.57
92	1.8	1.2
14	0.43	0.42
13	0.34	0.21
93	0.5	0.37
94	0.87	0.84
95	0.61	0.34
96	0.32	0.22
97	1.2	1.5
98	1.6	0.94
99	0.88	0.011
100	0.52	0.34
101	0.36	0.13
102	0.37	0.049
103	2.1	2.5
104	0.9	0.3
105	0.36	0.24
106	1.9	1

[0317] 실시예 7: 랫트에서 KLH(keyhole limpet hemocyanin) 귀 염증 모델에서 Kv1.3 차단제 기준 화합물 처리의 효과

[0318] 랫트의 한쪽 귀에서 고전적인 DTH(delayed-type hypersensitivity) 반응을 유발시켰다. 요약하면, 8-10주령의

수컷 Lewis 랫트를 -7일차에 완전 프로인트 아췌반트 (CFA)(Difco, cat.no. 263810)에 유화시킨 KLH(keyhold limpet hemocyanin)(Sigma, cat.no. H7017) (4 mg/mL) 200 μ l를 꼬리의 기부에서 피하로(SC) 투여하여 면역화시켰다. 0일차에, 랫트에 왼쪽 귀에 40 μ l KLH/NaCl 0.9 % (2 mg/mL)를 피내 접종했다. 귀 접종(ear challenge) 후에, 랫트는 왼쪽의 KLH 접종된 귀에서 T-세포 의존적 염증을 발병한다. 오른쪽 귀는 무염증(uninflamed) 상태로 유지되고, 대조군으로 작용한다.

[0319] Kv1.3 차단제 참조 화합물의 처리가 DTH 귀 부종 반응을 경감시키는 능력을 비히클로 처리된 랫트 (n=8-10/gr)에서의 반응과 Kv1.3 차단제로 처리된 랫트에서의 반응을 비교하는 것에 의해 조사했다. 비히클 또는 비히클에 용해시킨 Kv1.3 차단제를 KLH 귀 접종 24시간 전에 SC (2 mL/kg) 투여했다. Kv1.3 차단제의 테스트 용량은 50, 70 또는 100 nmol/kg이었다. 테스트 비히클은 10 mM 포스페이트, 0.8% w/v NaCl, 0.05% w/v 폴리소르베이트 20, pH 6이었다. 모든 실험에서, 사이클로스포린 (CsA)을 양성 연구 대조군으로 포함시켰다. 사이클로스포린 (Sandimmune Neooral® 100 mg/mL 경구 용액, Novartis)은 KLH 귀 접종 전 1시간차 및 KLH 귀 접종 후 6시간차에 os (10 mg/kg)당 투여했다.

[0320] 효능의 주요한 판독(primary read-out)으로, 귀 DTH 반응의 유도 후 0-48 시간에 각 동물에 대해 Δ 귀 두께(mm)의 곡선하 면적 (AUC)를 계산했고, 이 때 변화 (D)는 왼쪽 귀 두께 - 오른쪽 귀 두께로 계산했다. 그 후, 이 결과를 이용하여 Kv1.3 차단제 처리에 의한 귀 두께의 % 억제를 계산했다: % 억제: $((1 - (\text{개별 } \Delta\text{AUC Kv1.3 차단제} / \text{평균 } \Delta\text{AUC 비히클 군})) \times 100$. 결과는 % 억제 $\pm$ 표준편차 (SD)로 계산되었고, 표 11 및 표 12에 표시된다.

표 11

실험	용량(nmol/kg)	Cpd. 17	Cpd. 45	Cpd. 56	CsA*
#1	70	38.8(+/-9.7)	46.9(+/-10.9)		71.4(+/-4.8)
#2	70	25.0(+/-12.5)	27.7(+/-11.5)		76.8(+/-13.4)
#3	50	37.3(+/-13.8)	22.2(+/-11.1)		65.1(+/-4.5)
#4	100		41.9(+/-12.5)	25.1(+/-6.3)	63.4(+/-5.9)

표 12

실험	용량(nmol/kg)	Cpd. 91	Cpd. 14	Cpd. 95	Cpd. 97	CsA
#5	100	39.6 (+/-8.3)				67.1 (+/-7.9)
#6	100		42.5 (+/-14.0)	44.5 (+/-5.2)		55.3 (+/-5.5)
#7	100				48.9 (+/-8.6)	67.9 (+/-5.4)
#8	100		37.7 (+/-10.0)			57.8 (+/-2.8)

[0323] 전술된 명세서에서 언급된 모든 간행물은 본원에 참조로 포함된다. 본 발명의 기술된 방법 및 시스템의 다양한 수정 및 변형은 본 발명의 범위 및 원리를 벗어나지 않고 당업자에게 명백할 것이다. 본 발명이 특정된 바람직한 구체예와 관련하여 설명되었지만, 청구된 발명을 이러한 특정 구체예에 과도하게 한정해서는 안 된다는 것을 이해해야 한다. 실제로, 생화학, 분자 생물학 또는 관련 분야의 숙련자에게 명백한 본 발명을 수행하기 위한 기술된 방식의 다양한 변형은 하기 청구 범위 내에 있는 것으로 의도된다.

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Zealand Pharma A/S

<120> Kv1.3 Blockers

<130> P121988PCT

<150> EP21164384.6

<151> 2021-03-23

<150> EP21213431.6

<151> 2021-12-09

<160> 111

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 37

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Parabuthus transvaalicus toxin

<400> 1

Gln Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 2

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 2

Asn Met Asp Met Arg Cys Lys Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 3

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 3

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Arg Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 4

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 4

Asn Xaa Asp Xaa Arg Cys Arg Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 5

<211> 37
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Modified SEQ ID NO: 1
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (28)..(28)
 <223> Xaa is norleucine
 <400> 5
 Asn Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser His Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys
 1 5 10 15
 Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30
 Lys Cys Tyr Pro Arg
 35

<210> 6
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Modified SEQ ID NO: 1
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (28)..(28)
 <223> Xaa is norleucine

<400> 6

Asn Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Lys Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 7

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 7

Pro Xaa Glu Xaa Arg Cys Phe Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 8

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 8

Pro Xaa Glu Xaa Arg Cys Ser Tyr Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 9

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 9

Pro Xaa Glu Xaa Arg Cys Ser Ala Phe Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 10

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is 2,4-diaminobutanoyl

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 10

Pro Xaa Glu Xaa Arg Cys Xaa Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 11

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is ornithine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 11

Pro Xaa Glu Xaa Arg Cys Xaa Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

 20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

 35

<210> 12

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is 2-amino-3-guanidinopropionyl

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 12

Pro Xaa Glu Xaa Arg Cys Xaa Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 13

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 13

Pro Xaa Glu Xaa Arg Cys His Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 14

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 14

Pro Xaa Glu Xaa Arg Cys Tyr Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

 20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

 35

<210> 15

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is ornithine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 15

Pro Xaa Glu Xaa Arg Cys Ser Ala Xaa Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 16

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is 2,3-diaminopropanoyl

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 16

Pro Xaa Glu Xaa Arg Cys Xaa Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 17

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is 2,3-diaminopropanoyl

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 17

Pro Xaa Glu Xaa Arg Cys Ser Ala Xaa Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 18

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is 2,4-diaminobutanoyl

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 18

Pro Xaa Glu Xaa Arg Cys Xaa Ala Ser Val Glu Cys Ala Gln Ser Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Gly Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 19

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 19

Pro Xaa Glu Xaa Arg Cys Arg Ala Ser Val Glu Cys Ala Gln Ser Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Gly Lys Cys
 20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 20

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 20

Pro Xaa Glu Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Arg Glu Cys Ala Gln Ser Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Gly Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 21

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 21

Pro Xaa Glu Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 22

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 22

Gln Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Arg Gly Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 23

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 23

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys
20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg
35

<210> 24

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 24

Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys Leu

1 5 10 15

Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys Lys
20 25 30

Cys Tyr Pro Arg
35

<210> 25

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 25

Asn Ile Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys
20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg
35

<210> 26

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 26

Asn Met Glu Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 27

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 27

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 28

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 28

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Val Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 29

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 29

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Leu Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 30

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 30

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Lys Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 31

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 31

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Asp Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 32

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 32

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Arg Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 33

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 33

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Glu Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 34

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 34

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg Arg Arg Thr Ala

35 40

<210> 35

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 35

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ile Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 36

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 36

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 37

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 37

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Leu Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 38

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 38

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Ala Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 39

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 39

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Glu Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 40

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 40

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Leu Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 41

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 41

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile His Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 42

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 42

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15
 Leu Lys Ala Ile Gly Ser Lys Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys
 20 25 30
 Lys Cys Tyr Pro Arg

35
 <210> 43
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Modified SEQ ID NO: 1
 <400> 43

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

35
 <210> 44
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1
 <400> 44

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

35
 <210> 45
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 45

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15
Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys
20 25 30
His Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 46

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 46

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15
Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Val Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 47

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<400> 47

Asn Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15
Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

 20 25 30
Lys Cys Tyr Pro Arg

 35
<210> 48
<211> 37
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Modified SEQ ID NO: 1
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> Xaa is norleucine
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Xaa is norleucine
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (28)..(28)
<223> Xaa is norleucine
<400> 48

Asn Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys
1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys
 20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg
 35
<210> 49
<211> 37
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Modified SEQ ID NO: 1
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 49

Pro Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 50

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 50

Asn Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Glu Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 51

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 51

Asn Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Gln Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 52

<211>

37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 52

Asn Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Lys Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 53

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 53

Asn Xaa Ser Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 54

<211> 37
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Modified SEQ ID NO: 1
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (28)..(28)
 <223> Xaa is norleucine
 <400> 54

Asn Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Ser Cys

1	5	10	15
Leu	Lys	Ala	Ile
Gly	Ser	Ile	Phe
Gly	Lys	Cys	Xaa
Asn	Lys	Lys	Cys
20	25	30	
Lys	Cys	Tyr	Pro
Arg			
35			

<210> 55
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Modified SEQ ID NO: 1
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (27)..(27)

<223> Xaa is norleucine

<400> 55

Asn Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys Lys

20 25 30

Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 56

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 56

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Tyr Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 57

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 57

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Arg Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 58

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 58

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 59

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 59

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Tyr Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 60

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 60

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys Lys

20 25 30

Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 61

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 61

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Tyr Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 62

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 62

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Arg Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 63

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 63

Asn Met Asp Met Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15
 Leu Lys Ala Tyr Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys
 20 25 30
 Lys Cys Tyr Pro Arg

35
 <210> 64
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Modified SEQ ID NO: 1
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (28)..(28)
 <223> Xaa is norleucine
 <400> 64

Asn Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys
 1 5 10 15
 Leu Lys Ala Ile Gly Ser Pro Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30
 Lys Cys Tyr Pro Arg
 35

<210> 65
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Modified SEQ ID NO: 1
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 65

His Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 66

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 66

Tyr Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 67

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 67

Ser Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 68

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 68

Val Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 69

<211>

37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is alpha-aminobutyric acid

<400> 69

Ser Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Xaa Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 70

<211> 37
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Modified SEQ ID NO: 1
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(26)
 <223> Lys is homo-lysine
 <400> 70
 Ser Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys
 1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys
 20 25 30
 Lys Cys Tyr Pro Arg
 35

<210> 71
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Modified SEQ ID NO: 1
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (35)..(35)
 <223> Xaa is 4-amino-phenylalanine

<400

> 71

Ser Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Xaa Pro Arg

35

<210> 72

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<400> 72

Ser Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Gly Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 73

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa is norleucine
 <400> 73
 Ser Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Val Gln Lys Cys
 1 5 10 15
 Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys
 20 25 30
 Lys Cys Tyr Pro Arg
 35
 <210> 74
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa is 2-amino-5-carboxypentanoyl
 <400> 74
 Ser Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Xaa Lys Cys
 1 5 10 15
 Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys
 20 25 30
 Lys Cys Tyr Pro Arg
 35
 <210> 75

<211> 36
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Modified SEQ ID NO: 1
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa is norleucine
 <400> 75
 Ser Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys
 1 5 10 15
 Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys
 20 25 30

 Lys Cys Tyr Gln
 35
 <210> 76
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Modified SEQ ID NO: 1
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa is norleucine
 <400> 76
 Ser Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys
 1 5 10 15
 Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys
 20 25 30

Arg Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 77

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<400> 77

Ser Xaa Asp Glu Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 78

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<400> 78

Ser Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Val Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 79

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<400> 79

Ser Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Ala Gln Ser Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 80

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<400> 80

Ser Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Ala Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 81

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 81

Pro Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Cys Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Cys

35

<210> 82

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 82

Ser Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Glu Lys Cys

1 5 10 15

Leu Gln Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 83

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (18)..(18)

<223> Gln is homo-glutamine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 83

Pro Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Glu Lys Cys

1 5 10 15

Leu Glu Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 84

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (23)..(23)

<223> Xaa is norleucine

<400> 84

Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys Leu Lys Ala Ile Gly

1 5 10 15

Cys Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys Lys Cys Tyr Pro Cys

20 25 30

<210> 85

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 85

Ser Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Cys Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Cys

35

<210> 86

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is 4-fluoro-phenylalanine

<400> 86

Ser Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Xaa Pro Arg

35

<210> 87

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is 4-nitro-phenylalanine

<400> 87

Ser Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Xaa Pro Arg

35

<210> 88

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is 4-methyl-phenylalanine

<400> 88

Ser Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Xaa Pro Arg

35

<210> 89

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(27)

<223> Xaa is norleucine

<400> 89

Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys Leu

1 5 10 15

Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys Lys

20 25 30

Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 90

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223>

> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 90

Asn Ile Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 91

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<400> 91

Pro Ile Glu Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Lys Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Asn Leu Glu Asn Lys

20 25 30

Lys Cys Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 92

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 92

Pro Xaa Glu Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Leu Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 93

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 93

Pro Ile Asp Glu Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 94

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 94

Pro Ile Glu Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 95

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<400> 95

Pro Xaa Asp Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Ala Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 96

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is norleucine

<400> 96

Pro Xaa Glu Xaa Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Ala Gln Lys Cys

1 5 10 15

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys

20 25 30

Lys Cys Tyr Pro Arg

35

<210> 97

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (23)..(23)

<223> Xaa is norleucine

<400> 97

Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys Leu Lys Ala Ile Gly

1 5 10 15

Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys Lys Cys Tyr Pro Arg

20 25 30

<210> 98

<211> 33

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is norleucine

<400> 98

Arg Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys Leu Lys Ala Ile

1 5 10 15

Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys Lys Cys Tyr Pro

20 25 30

Arg

<210> 99

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (25)..(25)

<223> Xaa is norleucine

<400> 99

Ser Lys Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys Leu Lys Ala

1 5 10 15

Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys Lys Cys Tyr

20 25 30

Pro Arg

<210> 100

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (25)..(25)

<223> Xaa is norleucine

<400> 100

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

1 5 10 15

Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys Lys Cys Tyr

20 25 30

Pro Arg

<210> 101

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (25)..(25)

<223> Xaa is norleucine

<400> 101

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

1 5 10 15

Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Xaa Asn Lys Lys Cys Lys Cys Tyr

20 25 30

Pro Arg

<210> 102

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 102

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

1 5 10 15

Ile Gly Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys Lys Cys Tyr

20 25 30

Pro Arg

<210> 103

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Modified SEQ ID NO: 1

<400> 103

Cys Ser Ala Ser Val Glu Cys Lys Gln Lys Cys Leu Lys Ala Ile Gly

1 5 10 15

Ser Ile Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys Lys Cys Tyr Pro Arg

20 25 30

<210> 104

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ShK

<400> 104

Arg Ser Cys Ile Asp Thr Ile Pro Lys Ser Arg Cys Thr Ala Phe Gln

1 5 10 15

Cys Lys His Ser Met Lys Tyr Arg Leu Ser Phe Cys Arg Lys Thr Cys

20 25 30

Gly Thr Cys

35

<210> 105

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ShK-186

<220><221> MISC_FEATURE

<222

> (1)..(1)

<223> Xaa is phosphotyrosyl

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is 8-Amino-3,6-dioxooctanoyl

<400> 105

Xaa Xaa Arg Ser Cys Ile Asp Thr Ile Pro Lys Ser Arg Cys Thr Ala

1 5 10 15

Phe Gln Cys Lys His Ser Met Lys Tyr Arg Leu Ser Phe Cys Arg Lys

20 25 30

Thr Cys Gly Thr Cys

35

<210> 106

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Moka1

<400> 106

Ile Asn Val Lys Cys Ser Leu Pro Gln Gln Cys Ile Lys Pro Cys Lys

1 5 10 15

Asp Ala Gly Met Arg Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys Arg Cys

20 25 30

Tyr Ser

<210> 107

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Vm24

<400> 107

Ala Ala Ala Ile Ser Cys Val Gly Ser Pro Glu Cys Pro Pro Lys Cys

1 5 10 15

Arg Ala Gln Gly Cys Lys Asn Gly Lys Cys Met Asn Arg Lys Cys Lys

20 25 30

Cys Tyr Tyr Cys

35

<210> 108
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Positions 1-5 sequence embodiment
 <400> 108
 Asn Met Asp Met Arg
 1 5

<210> 109
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Positions 1-5 sequence embodiment
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa is norleucine
 <400> 109

Asn Xaa Asp Xaa Arg
 1 5
 <210> 110
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Positions 1-5 sequence embodiment
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa is norleucine
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa is norleucine
 <400> 110

Asn Xaa Glu Xaa Arg

1 5

<210> 111

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220><223> Positions 1-5 sequence embodiment

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is norleucine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is norleucine

<400> 111

Pro Xaa Glu Xaa Arg

1 5