
| | | |
|--|--|---------------------------|
| | (19) 대한민국특허청(KR) | (11) 공개번호 10-2014-0100947 |
| | (12) 공개특허공보(A) | (43) 공개일자 2014년08월18일 |
| (51) 국제특허분류(Int. Cl.) <i>C07K 14/00</i> (2006.01) <i>C07K 19/00</i> (2006.01) <i>A61K 47/48</i> (2006.01) <i>A61P 3/10</i> (2006.01) | (71) 출원인 질랜드 파마 에이/에스 덴마크 디케이-2600 글로스트룹 스메델란드 36 | |
| (21) 출원번호 10-2014-7015223 | (72) 발명자 톨보르 야콥 린 덴마크 헤를레우 디케이-2730 부데루프바이 5 | |
| (22) 출원일자(국제) 2012년11월02일 심사청구일자 없음 | 네에루프 트리네 스코우룬 뤼게 덴마크 프레데릭순 디케이 3600 뷔게알레 27 (뒷면에 계속) | |
| (85) 번역문제출일자 2014년06월03일 | (74) 대리인 장준 | |
| (86) 국제출원번호 PCT/EP2012/071766 | | |
| (87) 국제공개번호 WO 2013/064669 국제공개일자 2013년05월10일 | | |
| (30) 우선권주장 61/555,435 2011년11월03일 미국(US) | | |

전체 청구항 수 : 총 48 항

(54) 발명의 명칭 G L P-1 수용체 효능제 웹타이드 가스트린 접합체들

(57) 요 약

본 발명은, 특히, 특정의 웹타이드 접합체들, 및 당뇨병(제1형 및/또는 제2형) 및 당뇨병-관련된 질병들 또는 질환들을 포함하는 각종 질병들 또는 질환들을 치료하는데 있어서 당해 접합체들의 용도에 관한 것이다.

(72) 발명자

포스게라우 켈

덴마크 뢰도우레 디케이-2720 렇홀름바이 45

외스테를룬 토르벤

스웨덴 룬드 에스-224 72 오르케스테르베겐 28

알름홀트 도르테 렌네르트 크리스텐센

덴마크 그레베 디케이-2670 고드스케파르켄 111

라르센 론 프로스트

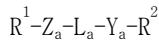
덴마크 샤를로텐룬 디케이-2920 썬며바이 14

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 I의 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:

[화학식 I]



상기 화학식 I에서,

R^1 은 H, C₁₋₄ 알킬, 아세틸, 포르밀, 벤조일 또는 트리플루오로아세틸이고;

R^2 은 OH 또는 NH₂이며;

Z_a는 화학식 His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Z9-Leu-Ser-Z12-Z13-Z14-Glu-Z16-Glu-Ala-Val-Z20-Leu-Phe-Ile-Z24-Z25-Leu-Z27-Z28 (Ia)[여기서,

Z9는 Asp 및 Glu 중에서 선택되고;

Z12는 Lys, Arg 및 Orn 중에서 선택되며;

Z13은 Gln 및 Tyr 중에서 선택되고;

Z14는 Met 및 Leu 중에서 선택되며;

Z16은 Glu, Cys, Arg, Orn 및 Lys 중에서 선택되고;

Z20은 Arg, Lys 및 Orn 중에서 선택되며;

Z24는 Lys, Arg, Orn 및 Glu 중에서 선택되고;

Z25는 Trp, Lys, Cys 및 Phe 중에서 선택되며;

Z27은 Lys, Arg 및 Orn 중에서 선택되고;

Z28은 Asn 및 Asp 중에서 선택되거나 부재한다]의 웨타이드 서열이고;

L_a는 화학식 L1-L2-L3-L4 (Ib)[여기서,

L1은 Orn, 8Ado, Cys, Lys 및 Gln 중에서 선택되거나 부재하고;

L2는 Orn, 8Ado, Cys, Lys 및 Gln 중에서 선택되거나 부재하며;

L3은 Orn, 8Ado, Cys, Lys 및 Gln 중에서 선택되거나 부재하고;

L4는 Orn, 8Ado, Cys, Lys 및 Gln 중에서 선택되거나 부재한다]의 웨타이드 서열이고;

Y_a는 화학식 Y12-Y13-Y14-Y15-Asp-Y17 (Ic)[여기서,

Y12는 Tyr 및 Ala 중에서 선택되거나 부재하고;

Y13은 Gly 및 Ala 중에서 선택되거나 부재하며;

Y14는 Trp, 1NaI 및 Phe 중에서 선택되고;

Y15는 Met, Leu, Nle, Thr 및 Phe 중에서 선택되며;

Y17은 Phe 및 3-(3-피리딜)-알라닌 중에서 선택된다]의 웨타이드 서열이며;

여기서, 화학식 Ia 및 Ib에서 Lys, Orn 또는 Cys 중의 적어도 하나는 친지성 및/또는 비오티닐 치환체에 추가로 접합되고/되거나 폐길화된다.

청구항 2

제1항에 있어서,

Z_a가 화학식 His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Z9-Leu-Ser-Lys-Z13-Z14-Glu-Z16-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Z25-Leu-Lys-Z28 (IIa)[여기서,

Z9는 Glu 및 Asp 중에서 선택되고;

Z13은 Gln 및 Tyr 중에서 선택되며;

Z14는 Met 및 Leu 중에서 선택되고;

Z16은 Glu, Cys 및 Lys 중에서 선택되며;

Z25는 Lys, Phe, Cys 및 Trp 중에서 선택되고;

Z28은 Asn 및 Asp 중에서 선택되거나 부재한다]의 웨타이드 서열이고;

L_a가 위에서 기술한 바와 같은 화학식 Ib의 웨타이드 서열이며;

Y_a가 화학식 Tyr-Gly-Trp-Y15-Asp-Phe (IIc)[여기서,

Y15는 Leu 및 Thr 중에서 선택된다]의 웨타이드 서열이고;

여기서, 상기 화학식 IIa 또는 상기 화학식 IIb의 위치 Z16 또는 Z25에서 Lys 또는 Cys 중의 적어도 하나는 친지성 및/또는 비오티닐 치환체에 추가로 접합되고/되거나 폐길화되는,

화학식 I의 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 화학식 I의 웨타이드의 서열이 다음 중에서 선택되는, 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:

H-HGETFTSDLSKQLEEEAVRLFIEWLKN-8Ado-K(헥사데카노일-이소Glu)-8Ado-YGWLDF-NH₂

H-HGETFTSDLSKQLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-이소Glu)-LKN-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂

H-HGETFTSDLSKQLE-K(헥사데카노일-이소Glu)-EAVRLFIEWLKN-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂

H-HGETFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKN-8Ado-C(비오티닐-Mal)-8Ado-YGWLDF-NH₂

H-HGETFTSDLSKQLE-C(비오티닐-Mal)-EAVRLFIEWLKN-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂

H-HGETFTSELSKYLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-이소Glu)-LK-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂ 및

H-HGETFTSELSKYLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-이소Glu)-LK-8Ado-QQYGWLDF-NH₂.

청구항 4

하기 화학식 III의 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:

[화학식 III]

R¹-Z_b-L_b-Y_b-R²

상기 화학식 III에서,

R¹은 H, C₁₋₄ 알킬, 아세틸, 포르밀, 벤조일 또는 트리플루오로아세틸이고;

R²는 OH 또는 NH₂이며;

Z_b 는 화학식 IIIa의 웨타이드 서열이고:

[화학식 IIIa]

His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Glu-Leu-Ser-Lys-Tyr-Leu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Z25-Leu-Lys-Z28

[상기 화학식 IIIa에서,

Z25는 Phe 및 Trp 중에서 선택되고;

Z28은 Asn 및 Asp 중에서 선택되거나 부재한다];

L_b 는 화학식 IIIb의 웨타이드 서열이고:

[화학식 IIIb]

L5-L6-L7-L8

[상기 화학식 IIIb에서,

L5는 8Ado, 8Aoc, Ala, Gly 및 Gln 중에서 선택되거나 부재하고;

L6은 8Ado, 8Aoc, Ala, Gly 및 Gln 중에서 선택되거나 부재하고;

L7은 8Ado, 8Aoc, Ala, Gly 및 Gln 중에서 선택되거나 부재하며;

L8은 8Ado, 8Aoc, Ala, Gly 및 Gln 중에서 선택되거나 부재한다];

Y_b 는 화학식 IIIc의 웨타이드 서열이고:

[화학식 IIIc]

Y10-Y11-Tyr-Gly-Trp-Y15-Asp-Phe

[여기서,

Y10은 Glu이거나 부재하고;

Y11은 Ala이거나 부재하며;

Y15는 Leu 및 Thr 중에서 선택된다]의 웨타이드 서열이며;

단, 화학식 III은

H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLK-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂;

H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKYGWLDLDF-NH₂; 및

H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLK-8Ado-YGWLDF-NH₂가 아니다.

청구항 5

제4항에 있어서,

Z_b 가 화학식 His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Glu-Leu-Ser-Lys-Tyr-Leu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Z25-Leu-Lys-Asn (IVa)[여기서,

Z25는 Phe 및 Trp 중에서 선택된다]의 웨타이드 서열이고;

L_b 가 위에서 기술한 바와 같은 화학식 IIIb의 웨타이드 서열이며;

Y_b 가 화학식 Tyr-Gly-Trp-Y15-Asp-Phe (IVc)[여기서, Y15는 Leu 및 Thr 중에서 선택된다]의 웨타이드 서열인,

화학식 III의 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

청구항 6

제4항 또는 제5항에 있어서, 다음 중에서 선택되는 화학식 III의 웹타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKQQYWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLQQEAYWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLK-8Ado-QQYWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKDYGWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKAAAYWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKGGGYWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLK-8Aoc-YGWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKNYGWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKAYWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKN-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKD-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKNYGWTDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKDYGWTDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEWLKNYGWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEWLKDYGWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKEAYWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKN-K(헥사데카노일-아소Glul)-YGWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKN-K(헥사데카노일-아소Glul)-WLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLE-K(헥사데카노일-아소Glul)-EAVRLFIEFLKNYGWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLE-K(헥사데카노일-아소Glul)-EAVRLFIEFLKNWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLK-K(헥사데카노일-아소Glul)-YGWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLK-K(헥사데카노일-아소Glul)-WLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLE-K(헥사데카노일-아소Glul)-EAVRLFIEFLKYWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLE-K(헥사데카노일-아소Glul)-EAVRLFIEFLKWLDLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-아소Glul)-LK-8Ado-YGWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-아소Glul)-LKQQYWLDF-NH₂;

H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-아소Glul)-LK-Orn-Orn-YGWLDF-NH₂;

H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-이소Glu)-LKNYGWLDF-NH₂;

H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-이소Glu)-LKDYGWLDF-NH₂;

H-HGEGTFTSDLSKQLEEEAVRLFIEC(PEG5K)LKN-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂;

H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEC(PEG10K)LK-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂;

H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEC(PEG20K)LK-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂;

H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEC(PEG40K)LK-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂;

H-HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNYGWTDF-OH; 및

H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKN-8Ado-8Ado-YGWTDF-NH₂.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중의 어느 한 항에 있어서, Z_a 또는 Z_b가 천연의 헬로데르마 수스펙툼(*Heloderma suspectum*) 엑센틴-4에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95%의 동일성을 갖는, 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

청구항 8

제1항 내지 제6항 중의 어느 한 항에 있어서, Y_a 또는 Y_b가 천연의 사람 가스트린17 및/또는 가스트린6에 대해 적어도 70%, 80%, 83%, 85%, 90%, 94% 또는 95%의 동일성을 갖는, 펩타이드 접합체.

청구항 9

의약으로서 사용하기 위한, 제1항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 따른 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

청구항 10

제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병, 전-당뇨병(pre-diabetes), 인슐린 내성 증후군, 손상된 당 내성(IGT), 상승된 혈당 수준과 관련된 질병 병태들, 고혈당증, 고혈압, 죽상경화성 이상지질혈증, 동맥경화증(예를 들면, 죽상경화증), 관상동맥심질환, 말초동맥 질환, 뇌졸중, 미세혈관병, 위장병, 대사 증후군, 암(예를 들면, 결장암), 염증성 장자병(IBD), 자극성 장 증후군(IBS), 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신장증, 및 신부전 중에서 선택된 질병 또는 질환의 치료용 약제로서 사용하기 위한, 제9항에 따른 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

청구항 11

제9항에 있어서, 췌장 베타 세포 및/또는 췌도 조작재생 유도를 필요로 하는 대상체에서 췌장 베타 세포 및/또는 췌도 조작재생 유도용 의약으로서 사용하기 위한, 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

청구항 12

제9항에 있어서, 췌도 β -세포들의 생존 유도를 필요로 하는 대상체에서 췌도 β -세포들의 생존 유도용 의약으로서 사용하기 위한, 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

청구항 13

제9항에 있어서, 췌도 속에서 β -세포 세포자멸사 및/또는 괴사 방지를 필요로 하는 대상체에서 췌도 속에서 β -세포 세포자멸사 및/또는 괴사 방지용 의약으로서 사용하기 위한, 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

청구항 14

제9항에 있어서, 췌도 속에서 β -세포 증식 유도를 필요로 하는 대상체에서 췌도 속에서 β -세포 증식 유도용 의약으로서 사용하기 위한, 웹타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

청구항 15

제9항에 있어서, 췌도 속에서 β -세포 조직재생, 췌도 조직재생, β -세포 생존, β -세포 증식의 어떠한 조합의 유도 및/또는 β -세포 세포자멸사 및/또는 괴사 방지를 필요로 하는 대상체에서 췌도 속에서 β -세포 조직재생, 췌도 조직재생, β -세포 생존, β -세포 증식의 어떠한 조합의 유도용 및/또는 β -세포 세포자멸사 및/또는 괴사 방지용 의약으로서 사용하기 위한, 웹타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

청구항 16

제9항 내지 제15항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 사람인, 웹타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

청구항 17

대상체에서, 제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병, 전-당뇨병, 인슐린 내성 증후군, 손상된 당 내성(IGT), 상승된 혈당 수준과 관련된 질병 병태들, 고혈당증, 고혈압, 죽상경화성 이상지질혈증, 동맥경화증(예를 들면, 죽상경화증), 대혈관병, 관상동맥심질환, 말초동맥 질환, 뇌졸중, 미세혈관병, 위장병, 대사 증후군, 암(예를 들면, 결장암), 염증성 창자병(IBD), 자극성 장 증후군(IBS), 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신장증, 및 신부전으로 이루어진 그룹 중에서 선택된 질병 또는 질환의 치료 방법으로서, 상기 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료학적 유효량의 제1항 내지 제16항 중의 어느 한 항에 따른 웹타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 투여함을 포함하는, 치료 방법.

청구항 18

대상체에서, 제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병, 전-당뇨병, 인슐린 내성 증후군, 손상된 당 내성(IGT), 상승된 혈당 수준과 관련된 질병 병태들, 고혈당증, 고혈압, 죽상경화성 이상지질혈증, 동맥경화증(예를 들면, 죽상경화증), 대혈관병, 관상동맥심질환, 말초동맥 질환, 뇌졸중, 미세혈관병, 위장병, 대사 증후군, 암(예를 들면, 결장암), 염증성 창자병(IBD), 자극성 장 증후군(IBS), 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신장증, 및 신부전으로 이루어진 그룹 중에서 선택된 질병 또는 질환의 예방 방법으로서, 상기 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료학적 유효량의 제1항 내지 제16항 중의 어느 한 항에 따른 웹타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 투여함을 포함하는, 예방 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 대상체가 사람인, 방법.

청구항 20

제1항 내지 제16항 중의 어느 한 항에 따른 웹타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 및 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 비히클을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 21

제19항에 있어서, 제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병, 전-당뇨병, 인슐린 내성 증후군, 손상된 당 내성(IGT), 상승된 혈당 수준과 관련된 질병 병태들, 고혈당증, 고혈압, 죽상경화성 이상지질혈증, 동맥경화증(예를 들면, 죽상경화증), 대혈관병, 관상동맥심질환, 말초동맥 질환, 뇌졸중, 미세혈관병, 위장병, 대사 증후군, 암(예를 들면, 결장암), 염증성 창자병(IBD), 자극성 장 증후군(IBS), 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신장증, 및 신부전의 치료에 사용하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 22

제19항에 있어서, 제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병, 전-당뇨병, 인슐린 내성 증후군, 손상된 당 내성(IGT), 상승된 혈당 수준과 관련된 질병 병태들, 고혈당증, 고혈압, 죽상경화성 이상지질혈증, 동맥경화증(예를 들면, 죽상경

화증), 대혈관병, 관상동맥심질환, 말초동맥 질환, 뇌졸중, 미세혈관병, 위장병, 대사 증후군, 암(예를 들면, 결장암), 염증성 창자병(IBD), 자극성 장 증후군(IBS), 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신장증, 및 신부전의 예방에 사용하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 23

제19항에 있어서, 체중 증가를 방지하거나 체중 감소를 촉진하는데 사용하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 24

순환하는 당 수준의 개선 방법, 당 내성의 개선 방법 및/또는 순환하는 콜레스테롤 수준의 개선 방법, 순환하는 LDL 수준의 저하 방법, HDL/LDL 비의 증가 방법 및 이들 방법의 조합 중에서 선택된 방법에서 사용하기 위한, 제1항 내지 제16항 중의 어느 한 항에 따른 웹타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

청구항 25

과다 체중으로 유발되거나 이로써 특징화되는 병태의 치료 또는 예방 방법에서 사용하기 위한, 제1항 내지 제16항 중의 어느 한 항에 따른 웹타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

청구항 26

체중 증가를 방지하거나 체중 감소를 촉진하는 것을 필요로 하는 개인에서 체중 증가를 방지하거나 체중 감소를 촉진하기 위한, 제1항 내지 제16항 중의 어느 한 항에 따른 웹타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 용도.

청구항 27

하기 방법을 필요로 하는 개인에서의, 순환하는 당 수준, 당 내성 및/또는 순환하는 콜레스테롤 수준을 개선시키고/시키거나, 순환하는 LDL 수준을 저하시키고/시키거나, HDL/LDL 비를 증가시키는 방법에 있어서의 제1항 내지 제16항 중의 어느 한 항에 따른 웹타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 용도.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물이 당뇨병, 비만, 이상지질혈증, 또는 고혈압을 치료하거나 예방하기 위해 양성자 펌프 억제제 또는 제제와의 조합 치료요법의 일부로서 투여되는, 웹타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 용도 또는 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 당뇨병을 치료하거나 예방하기 위한 제제가 메트포르민, 설포닐우레아, 글리니드, DPP-IV 억제제, 글리타존, 인슐린 또는 인슐린 유사체인, 웹타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 용도 또는 방법.

청구항 30

제28항에 있어서, 상기 비만을 치료하거나 예방하기 위한 제제가 글루카곤-유사 웹타이드 수용체 1 효능제, 웹타이드 YY 또는 이의 유사체, 칸나비노이드 수용체 1 길항제, 리파제 억제제, 멜라노코르틴 수용체 4 효능제, 또는 멜라닌 농축 호르몬 수용체 1 길항제인, 웹타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 용도 또는 방법.

청구항 31

제28항에 있어서, 상기 고혈압을 치료하거나 예방하기 위한 제제가 안지오텐신-전환 효소 억제제, 안지오텐신 II 수용체 차단제, 이뇨제, 베타-차단제, 또는 칼슘 채널 차단제인, 웹타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 용도 또는 방법.

청구항 32

제28항에 있어서, 상기 이상지질혈증의 치료 또는 예방용 제제가 스타틴, 피브레이트, 니아신 및/또는 콜레스테롤 흡수 억제제인, 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 용도 또는 방법.

청구항 33

제28항에 있어서, 공지된 유형의 단백질 펌프 억제제(즉, 억제제 H^+/K^+ -ATPase로서 약리학적 활성을 지닌 약제학적 제제)가 벤즈이미다졸 유도체 유형의 제제 또는 이미다조피리딘 유도체 유형의 제제를 포함하나, 이에 한정되지 않는, 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 용도 또는 방법.

청구항 34

제1항 내지 제16항 중의 어느 한 항에 따른 펩타이드 접합체를 합성적으로 제조하는 방법.

청구항 35

제1항 내지 제16항 중의 어느 한 항에 따른 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 재조합적으로 제조하는 방법.

청구항 36

상기 방법을 필요로 하는 개인에서의, 약물 휴지기 용량 용법(drug holiday dosage regimen)을 사용하고, 순환하는 당 수준의 개선, 당 내성의 개선 및/또는 순환하는 콜레스테롤 수준의 개선, 순환하는 LDL 수준의 저하, HDL/LDL 비의 증가 및 이들의 조합 중에서 선택된 방법에 있어서의, 제1항 내지 제16항 중의 어느 한 항에 따른 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 용도.

청구항 37

제1항 내지 제36항 중의 어느 한 항에 따른 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 제조 방법.

청구항 38

제1항 내지 제16항 중의 어느 한 항에 따른 하나 이상의 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염들 또는 용매화물과 조합된, 제1항 내지 제16항 중의 어느 한 항에 따른 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 비히클과 함께 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 39

하기 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 대상체에게 전달하기 위한, 제1항 내지 제16항 중의 어느 한 항에 따른 적어도 하나의 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 포함하는 장치(device).

청구항 40

제1항 내지 제16항 중의 어느 한 항에 따른 적어도 하나의 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 및 포장 용기(packaging) 또는 사용을 위한 지시서를 포함하는, 키트(kit).

청구항 41

의약을 제조하기 위한, 제1항 내지 제16항 중의 어느 한 항에 따른 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 용도.

청구항 42

제9항에 있어서, 상기 의약이, 하기 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서의, 제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병, 전-당뇨병, 인슐린 내성 증후군, 순상된 당 내성(IGT), 상승된 혈당 수준과 관련된 질병 병태들, 고혈당증, 고혈압, 즉상경화성 이상지질혈증, 동맥경화증(예를 들면, 즉상경화증), 대혈관병, 관상동맥심질환, 말초동맥 질환, 뇌졸중, 미세혈관병, 위장병, 대사 증후군, 암(예를 들면, 결장암), 염증성 창자병(IBD), 자극성 장 증후군

(IBS), 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신장증, 및 신부전으로 이루어진 그룹 중에서 선택된 질병 또는 질환의 치료 또는 예방에 사용되는, 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 용도.

청구항 43

제41항에 있어서, 상기 의약이 췌장 베타 세포 및/또는 췌도 조직재생을 유도하는 것을 필요로 하는 대상체에서 췌장 베타 세포 및/또는 췌도 조직재생을 유도하는데 사용되는, 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 용도.

청구항 44

제41항에 있어서, 상기 의약이 췌도 β -세포의 생존률을 향상시키는 것을 필요로 하는 대상체에서 췌도 β -세포의 생존률을 향상시키는데 사용되는, 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 용도.

청구항 45

제41항에 있어서, 상기 의약이 췌도 속의 β -세포 세포자멸사 및/또는 괴사를 방지하는 것을 필요로 하는 대상체에서 췌도 속의 β -세포 세포자멸사 및/또는 괴사를 방지하는데 사용되는, 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 용도.

청구항 46

제41항에 있어서, 상기 의약이 췌도 β -세포의 증식을 유도하는 것을 필요로 하는 대상체에서 췌도 β -세포의 증식을 유도하는데 사용되는, 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 용도.

청구항 47

제41항 내지 제46항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 사람인, 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 용도.

청구항 48

제21항에 있어서, 과다 체중에 의해 유발되거나 이로써 특징화되는 병태가 비만, 병적 비만증, 비만-관련된 염증, 비만-관련된 담낭병, 비만-유도된 수면성 무호흡, 대사 증후군, 전-당뇨병 중에서 선택되고, 상기 방법이 대상체에게 치료학적 유효량의 제23항에 따른 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 투여함을 포함하는, 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은, 특히, 특정의 웨타이드 접합체들, 및 당뇨병(제1형 및/또는 제2형) 및 당뇨병-관련된 질병들 또는 질환들을 포함하는, 각종 질병들 또는 질환들의 치료 및/또는 예방에 있어서 상기 접합체들의 용도에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 당뇨병, 특히 제1형 및 제2형 당뇨병은, 제2형 당뇨병의 발생에 있어서 주요 원인 요소인 것으로 여겨지는, 비만과 함께, 주요한 및 심지어 증가하는 전세계적인 보건 문제를 구성한다. 당뇨병의 결과로서 발생할 수 있는 질병들 또는 질환들은 심혈관 및 말초 혈관병, 미세- 및 대혈관 합병증들, 뇌졸중 및 가능하게는 특정 형태들의 암을 포함한다.

[0003] 당뇨병은 혈당 수준의 결함이 있는 생리학적 조절을 특징으로 한다. 당뇨병을 초래할 수 있는 근본적인 병태들 중에는, 췌장 β -세포 덩어리 및 기능에 있어서의 감소들 또는 이의 손실과, 내인성 인슐린 생산, 및/또는 인슐린 내성(인슐린에 대한 감소된 민감성)에 있어서 수반된 감소 또는 이의 손실, 즉, 혈당 수준의 대략적으로 적절한 조절을 초래하는 내인성 인슐린의 능력에 있어서의 감소 또는 이의 손실이 있다.

- [0004] 혈당 수준을 저하시키는 다수의 호르몬들은 위 속의 영양물들의 존재 및 흡수에 대한 반응 시 위장 점막에 의해 분비된다. 이들은 글루카곤-유사 펩타이드-1(GLP-1), 글루코즈-의존성 인슐린분비성 펩타이드(GIP), 가스트린, 및 세크레틴을 포함한다.
- [0005] GLP-1[참조: 예를 들면, Ørskov, *Diabetologia* 35: 701-711(1992)]은 프로글루카곤, 즉 180개 아미노산 펩타이드의 조직 프로세싱에 의해 생산된다[참조: 예를 들면, Drucker, *Diabetes* 47: 159-169(1998)]. 프로글루카곤의 전체 서열은 글루카곤의 29개 아미노산 서열, GLP-1의 36 또는 37번 아미노산 서열, 및 글루카곤-유사 펩타이드-2(GLP-2; 장영양성 펩타이드(intestinotrophic peptide)]의 34번 아미노산 서열을 함유한다.
- [0006] 혈당 수준을 저하시키는 펩타이드들의 다른 그룹을 구성하는, 소위 엑센딘들은 GLP-1(7-36)에 대해 일부 서열 동일성(53%)[참조: 예를 들면, Goke et al., *J. Biol. Chem.* 268: 19650-19655(1993)]을 갖는다. 엑센딘들은 헬로데르마티다에(Helodermatidae) 종들[독도마뱀들(beaded lizards)]의 타액속에서 발견된다. 엑센딘-3은 헬로데르마 호리둠(*Heloderma horridum*)(멕시코 독도마뱀)의 타액 속에 존재하는 반면, 엑센딘-4는 헬로데르마 수스펙툼(*Heloderma suspectum*)[미국 독도마뱀(Gila monster)]의 타액 속에 존재한다. 2개 및 3개의 위치들에서 엑센딘-3의 아미노산 서열과 상이한, 엑센딘-4의 아미노산 서열은 HGETFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS-NH₂이다.
- [0007] 엑센딘-4는 분리된 랫트 인슐린종 세포들에서 강력한 GLP-1 수용체 효능제인 것으로 보고되어 왔다(참조: Goke et al., loc. cit.). 제WO 99/07404호는, 전신계로 투여된 엑센딘-4가 당뇨병 db/db 마우스들에서 혈당 수준을 40%까지 강하시킴을 기재하고 있으며, 당뇨병 ob/ob 마우스들에서 엑센딘-4의 1일 1회 복강내 주사의 장기간 지속되는 혈당 저하 효과가 또한 보고되어 왔다[참조: Grieg et al., *Diabetologia* 42: 45-50(1999)].
- [0008] 미국 특허 제5,424,286호 및 제WO 98/05351호는, 엑센딘-3, 엑센딘-4 및 엑센딘 효능제들이 당뇨병을 치료하고, 위 운동을 감소시키며 위 배출(gastric emptying)을 지연시키고, 과혈당증을 예방하기 위해 사용될 수 있음을 기재하고 있으며, 제WO 98/30231호는, 이들이 식품 섭취를 감소시키는데 사용될 수 있음을 추가로 기재하고 있다.
- [0009] 펩타이드 호르몬 가스트린은 위 점막 속의 세포들로부터 및 십이지장 속의 G 세포들로부터 분비되며, 사람들에서 호르몬의 주요 생리학적 역할들 중에서 위산(즉, HC1)의 분비를 자극하고 위 운동을 보조한다. 가스트린은 섬 조직재생(islet neogenesis), 즉 췌도(pancreatic islet)에서 인슐린을 분비하는 β -세포 성장의 자극에 있어 중요한 역할을 할 수 있으므로[참조: 예를 들면, Korc, M., *J. Clin. Invest.*, 92: 1113-1114(1993); Rooman et al. *Diabetes* 51: 686-690(2002)], 혈당의 조절에 기여할 수 있다는 증거들이 존재한다.
- [0010] 가스트린은 다른 위장 펩타이드 호르몬인, 콜레시스토카닌(CCK)과 수용체들을 공유한다. 수용체들 CCK-A R 및 CCK-B R은 가스트린 및 CCK 변이체들에 대해 상이한 친화성들을 갖는다. CCK-A R(또는 CCK R1)은 활화된 CCK에 대한 수용체로서 주로 작용하는 반면, CCK-B R(또는 CCK R2)은 CCK 및 가스트린 둘 다에 균등하게 잘 결합한다. CCK-B R은 혈장 속에서 CCK와 비교하여 가스트린의 보다 높은 수준으로 인하여 "가스트린 수용체"인 것으로 고려된다[참조: Foucaud et al. *Reg. Peptides* 145: 17-23(2008)].
- [0011] CCK-B R은 CCK의 다양한 생리학적 역할들에 대한 이유인 것으로 고려되는, 리간드의 결합 시 수개의 세포내 경로들을 개시할 수 있다. CCK-B R의 하부의 주요 경로는 MAPK(유사분열물질 활성화된 단백질 키나제들) 또는 ERK(세포외 조절된 키나제들) 경로이며, 이는 또한 수개의 성장 호르몬들에 의해 활성화된다. CCK-B R은 췌장 속에서 발현되므로, 위는 당해 조직 속에서 세포 증식 및 섬 재생(islet regeneration)에 기여할 수 있다.
- [0012] 사람들에서, 가스트린은 주로 3개의 형태들, 즉, 가스트린34, 가스트린17 및 가스트린14(해당 서열내 아미노산들의 총 수를 참조하여)로 나타난다. 가스트린6이 또한 확인되어 왔다. 보다 짧은 형태들은 C-말단 아미드화된 가스트린34의 절단에 의해 생성되므로; 가스트린17은 가스트린34의 마지막 17개의 C-말단 잔기들[프로가스트린(progastrin)(55-71)에 상응]로 이루어지고, 가스트린14는 가스트린34의 마지막 14개의 C-말단 잔기들[프로가스트린(58-71)에 상응]로 이루어지며, 가스트린6은 가스트린34의 단지 마지막 6개의 C-말단 잔기들[프로가스트린(66-71)에 상응]로 이루어진다. 사람 가스트린17에서 N-말단 아미노산 잔기는 피로글루탐산(PyroGlu) 잔기이다. 아미드화된 C-말단 6개의 아미노산들은 가스트린의 주요 수용체-결합 잔기들이다.

발명의 내용

발명의 요약

- [0014] 본 발명에 이르러, 2개의 공유결합적으로 커플링되거나 연결된 웨타이드 잔기들을 포함하는 특정의 접합체 (conjugate)들은, 해당하는 2개의 개개 웨타이드들의 조합의 치료학적 활성을 비교함에 의해, 예를 들면, 당뇨병(제1형 및/또는 제2형 당뇨병), 또는 각종의 다른 당뇨병-관련된 질병들 또는 질환들의 치료시 예상치못하게 높은 치료학적 활성을 나타낼 수 있음이 발견되었다.
- [0015] 광범위한 국면에서, 본 발명은, GLP-1 수용체 효능제와, 가스트린, 특히 가스트린17에서 15번 위치(가스트린6에서 4번 위치에 상응)에서 Leu, Nle, Phe 및 Thr로부터 선택된 치환을 지닌 가스트린파의 웨타이드 접합체를 제공한다. 보다 특히, 본 발명은 액센딘-4와 가스트린파의 웨타이드 접합체들을 제공한다.
- [0016] 일부 양태들에서, 본 발명은 하기 화학식 I의 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매 화물을 제공한다:
- [0017] [화학식 I]
- [0018] $R^1-Z_a-L_a-Y_a-R^2$
- [0019] 상기 화학식 I에서,
- [0020] R^1 은 H, C₁₋₄ 알킬, 아세틸, 포르밀, 벤조일 또는 트리플루오로아세틸이고;
- [0021] R^2 는 OH 또는 NH₂이며;
- [0022] Z_a는 화학식 His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Z9-Leu-Ser-Z12-Z13-Z14-Glu-Z16-Glu-Ala-Val-Z20-Leu-Phe-Ile-Z24-Z25-Leu-Z27-Z28 (Ia)[여기서,
- [0023] Z9는 Asp 및 Glu 중에서 선택되고;
- [0024] Z12는 Lys, Arg 및 Orn 중에서 선택되며;
- [0025] Z13은 Gln 및 Tyr 중에서 선택되고;
- [0026] Z14는 Met 및 Leu 중에서 선택되며;
- [0027] Z16은 Glu, Cys, Arg, Orn 및 Lys 중에서 선택되고;
- [0028] Z20은 Arg, Lys 및 Orn 중에서 선택되며;
- [0029] Z24는 Lys, Arg, Orn 및 Glu 중에서 선택되고;
- [0030] Z25는 Trp, Lys, Cys 및 Phe 중에서 선택되며;
- [0031] Z27은 Lys, Arg 및 Orn 중에서 선택되고;
- [0032] Z28은 Asn 및 Asp 중에서 선택되거나 부재한다]의 웨타이드 서열이고;
- [0033] L_a는 화학식 L1-L2-L3-L4 (Ib)[여기서,
- [0034] L1은 Orn, 8Ado, Cys, Lys 및 Gln 중에서 선택되거나 부재하고;
- [0035] L2는 Orn, 8Ado, Cys, Lys 및 Gln 중에서 선택되거나 부재하며;
- [0036] L3은 Orn, 8Ado, Cys, Lys 및 Gln 중에서 선택되거나 부재하고;
- [0037] L4는 Orn, 8Ado, Cys, Lys 및 Gln 중에서 선택되거나 부재한다]의 웨타이드 서열이고;
- [0038] Y_a는 화학식 Y12-Y13-Y14-Y15-Asp-Y17 (Ic)[여기서,
- [0039] Y12는 Tyr 및 Ala 중에서 선택되거나 부재하고;
- [0040] Y13은 Gly 및 Ala 중에서 선택되거나 부재하며;
- [0041] Y14는 Trp, 1Nal 및 Phe 중에서 선택되고;
- [0042] Y15는 Met, Leu, Nle, Thr 및 Phe 중에서 선택되며;

- [0043] Y17은 Phe 및 3-(3-파리딜)-알라닌 중에서 선택된다]의 웨타이드 서열이며;
- [0044] 여기서, 화학식 Ia 및 화학식 Ib에서 Lys, Orn 또는 Cys 중의 적어도 하나는 친지성 및/또는 비오티닐 치환체에 추가로 접합되고/되거나 폐길화된다.
- [0045] 추가의 양태들에서, 본 발명은
- [0046] Z_a가 화학식 His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Z9-Leu-Ser-Lys-Z13-Z14-Glu-Z16-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Z25-Leu-Lys-Z28 (IIa)[여기서,
- [0047] Z9는 Glu 및 Asp 중에서 선택되고;
- [0048] Z13은 Gln 및 Tyr 중에서 선택되며;
- [0049] Z14는 Met 및 Leu 중에서 선택되고;
- [0050] Z16은 Glu, Cys 및 Lys 중에서 선택되며;
- [0051] Z25는 Lys, Phe, Cys 및 Trp 중에서 선택되고;
- [0052] Z28은 Asn 및 Asp 중에서 선택되거나 부재한다]의 웨타이드 서열이고;
- [0053] L_a가 위에서 기술한 바와 같은 화학식 Ib의 웨타이드 서열이며;
- [0054] Y_a가 화학식 Tyr-Gly-Trp-Y15-Asp-Phe (IIc)[여기서,
- [0055] Y15는 Leu 및 Thr 중에서 선택된다]의 웨타이드 서열이고;
- [0056] 여기서, 화학식 IIa의 Z16 및 Z25의 위치에서 Lys 잔기들 중의 적어도 하나는 친지성 및/또는 비오티닐 치환체에 추가로 접합되고/되거나 폐길화되는 화학식 I의 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 제공한다.
- [0057] 특정 양태들에서, 본 발명은 하기 화학식의 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물에 관한 것이다:
- [0058] H-HGEGTFTSDLSKQLEEEAVRLFIEWLKN-8Ado-K(헥사데카노일-이소Glu)-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 1)
- [0059] H-HGEGTFTSDLSKQLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-이소Glu)-LKN-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 2)
- [0060] H-HGEGTFTSDLSKQLE-K(헥사데카노일-이소Glu)-EAVRLFIEWLKN-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 3)
- [0061] H-HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKN-8Ado-C(비오틴-Mal)-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 4)
- [0062] H-HGEGTFTSDLSKQLEEEAVRLFIE-C(비오틴-Mal)-LKN-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 5)
- [0063] H-HGEGTFTSDLSKQLE-C(비오틴-Mal)-EAVRLFIEWLKN-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 6)
- [0064] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-이소Glu)-LK-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 7)
- [0065] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-이소Glu)-LK-8Ado-QQYGWDF-NH₂(화합물 8).
- [0066] 다른 양태들에서, 본 발명은 화학식 III의 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 제공한다:
- [0067] [화학식 III]
- [0068] R¹-Z_b-L_b-Y_b-R²
- [0069] 상기 화학식 III에서,
- [0070] R¹은 H, C₁₋₄ 알킬, 아세틸, 포르밀, 벤조일 또는 트리플루오로아세틸이고;

- [0071] R^2 는 OH 또는 NH_2 이며;
- [0072] Z_b 는 화학식 His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Glu-Leu-Ser-Lys-Tyr-Leu-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Z25-Leu-Lys-Z28 (IIIa)[여기서,
- [0073] Z25는 Phe 및 Trp 중에서 선택되고;
- [0074] Z28은 Asn 및 Asp 중에서 선택되거나 부재한다]의 펩타이드 서열이고;
- [0075] L_b 는 화학식 L5-L6-L7-L8 (IIIb)[여기서,
- [0076] L5는 8Ado, 8Aoc, Ala, Gly 및 Gln 중에서 선택되거나 부재하고;
- [0077] L6은 8Ado, 8Aoc, Ala, Gly 및 Gln 중에서 선택되거나 부재하고;
- [0078] L7은 8Ado, 8Aoc, Ala, Gly 및 Gln 중에서 선택되거나 부재하며;
- [0079] L8은 8Ado, 8Aoc, Ala, Gly 및 Gln 중에서 선택되거나 부재한다]의 펩타이드 서열이며;
- [0080] Y_b 는 화학식 Y10-Y11-Tyr-Gly-Trp-Y15-Asp-Phe (IIIc)[여기서,
- [0081] Y10은 Glu이나 부재하고;
- [0082] Y11은 Ala이나 부재하며;
- [0083] Y15는 Leu 및 Thr 중에서 선택된다]의 펩타이드 서열이며;
- [0084] 단, 화학식 III은
- [0085] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLK-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂;
- [0086] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKYGYWLDF-NH₂; 및
- [0087] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLK-8Ado-YGWLDF-NH₂가 아니다.
- [0088] 추가의 양태들에서, 본 발명은
- [0089] Z_b 가 화학식 His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Glu-Leu-Ser-Lys-Tyr-Leu-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Z25-Leu-Lys-Asn (IVa)[여기서,
- [0090] Z25는 Lys, Phe 및 Trp 중에서 선택된다]의 펩타이드 서열이고;
- [0091] L_b 가 위에서 기술한 바와 같은 화학식 IIIb의 펩타이드 서열이며;
- [0092] Y_b 가 화학식 Tyr-Gly-Trp-Y15-Asp-Phe (IVc)[여기서,
- [0093] Y15는 Leu 및 Thr 중에서 선택된다]의 펩타이드 서열인 화학식 III의 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 제공한다.
- [0094] 특정 양태들에서, 본 발명은 하기 화학식의 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물에 관한 것이다:
- [0095] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKQQYGYWLDF-NH₂(화합물 9)
- [0096] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKQQEAYGYWLDF-NH₂(화합물 10)
- [0097] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLK-8Ado-QQYGYWLDF-NH₂(화합물 11)
- [0098] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKDYGWLDF-NH₂(화합물 12)
- [0099] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKAAAYGYWLDF-NH₂(화합물 13)

- [0100] H-HGEGTFTSELSKYLEEEEAVRLFIEFLKGGGYWLDF-NH₂(화합물 14)
- [0101] H-HGEGTFTSELSKYLEEEEAVRLFIEFLK-8Aoc-YGWLDF-NH₂(화합물 15)
- [0102] H-HGEGTFTSELSKYLEEEEAVRLFIEFLKNYGWLDF-NH₂(화합물 16)
- [0103] H-HGEGTFTSELSKYLEEEEAVRLFIEFLKAYGWLDL-NH₂(화합물 17)
- [0104] H-HGEGTFTSELSKYLEEEEAVRLFIEFLKN-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 18)
- [0105] H-HGEGTFTSELSKYLEEEEAVRLFIEFLKD-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 19)
- [0106] H-HGEGTFTSELSKYLEEEEAVRLFIEFLKNYGWTDF-NH₂(화합물 20)
- [0107] H-HGEGTFTSELSKYLEEEEAVRLFIEFLKDYGWTDF-NH₂(화합물 21)
- [0108] H-HGEGTFTSELSKYLEEEEAVRLFIEWLKNYGWLDF-NH₂(화합물 22)
- [0109] H-HGEGTFTSELSKYLEEEEAVRLFIEWLKDYGWLDF-NH₂(화합물 23).
- [0110] 특정 양태들에서, 본 발명의 웨타이드 접합체들은 표준 합성 방법들에 의해, 재조합체 발현 시스템들의 사용에 의해, 또는 어떠한 다른 적합한 방법에 의해 제조될 수 있다. 따라서, 당해 접합체들은 예를 들면,
- [0111] (a) 표준 고체-상 또는 액체-상 방법론에 의해, 단계별로 또는 단편 조립에 의해 웨타이드 접합체를 합성하고, 최종의 웨타이드 접합체 생성물을 분리하여 정제하거나;
- [0112] (b) 숙주 세포 속에서 웨타이드 접합체를 암호화하는 핵산 작제물을 발현시키고 숙주 세포 배양물로부터 발현 생성물을 회수하거나;
- [0113] (c) 웨타이드 접합체를 암호화하는 핵산 작제물의 세포-유리된 시험관내 발현을 수행하고, 발현 생성물을 회수하거나; 또는
- [0114] (a), (b) 또는 (c)의 방법들의 어떠한 조합에 의해 웨타이드 접합체의 단편들을 수득한 다음, 당해 단편들을 연결시켜 웨타이드 접합체를 수득하고, 웨타이드 접합체를 회수함을 포함하는 다수의 방법들로 합성할 수 있다.
- [0115] 본 발명의 추가의 양태들 중에는 당뇨병(제1형 및 제2형)을 포함하는 각종의 병태들, 질병들 또는 질환들 및 각종의 당뇨병-관련 병태들, 질병들 또는 질환들의 치료 방법들이 있다. 이들 양태들은 본 발명의 웨타이드 접합체(유리 형태 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 형태), 및 또한 본 발명의 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 포함하는 약제학적 조성물들의 투여를 포함한다.
- [0116] 일부 양태들에서, 본 발명의 웨타이드 접합체들은 인슐린 내성, 당 과민증(glucose intolerance), 전-당뇨병(pre-diabetes), 대사 증후군, 상승된 절식 당 수준, 상승된 혈당 수준과 관련된 질병 병태들, 고혈당증, 제1형 및/또는 제2형 당뇨병, 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신장증, 신부전, 고혈압 및/또는 이상지질혈증(이들 대사 및 심혈관 위험 인자들의 조합), 즉상경화증, 동맥경화증, 대혈관병(macrovascular disease), 미세혈관병(microvascular disease), 관상동맥심질환, 말초동맥 질환 및 뇌졸중의 치료용 약제학적 제제로서 유용할 수 있다. 이들은 또한 체중 증가를 방지하고/하거나, 체중 감소를 촉진하고/하거나, 과체중을 감소시키고/시키거나 병적 비만증을 포함하는 비만, 및 또한 비만-관련된 염증, 비만-관련된 담낭병 및 비만-유도된 수면 성 무호흡을 포함하는 관련 질병들, 질환들 및 건강 상태들을 치료(예를 들면, 식욕, 급식, 식품 섭취, 열량 섭취 및/또는 에너지 소비의 조절에 의해)하는데 유용할 수 있다. 이들 상태들에 있어서 본 발명의 웨타이드 접합체들의 효과들은 체중에 있어서의 효과를 통해 전적으로 또는 부분적으로 조정될 수 있거나, 이와 독립적으로 이루어질 수 있다.
- [0117] 본 발명의 추가의 양태들 중에서는 당뇨병(제1형 및 제2형)을 포함하는 각종 병태들, 질병들 또는 질환들 및 각종 당뇨병-관련된 병태들, 질병들 또는 질환들의 예방 방법들이 있다. 이들 양태들은 본 발명의 웨타이드 접합체(유리된 형태 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 형태), 및 또한 본 발명의 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 포함하는 약제학적 조성물들의 투여를 포함한다.
- [0118] 일부 양태들에서, 본 발명의 웨타이드 접합체들은 인슐린 내성, 당 과민증, 전-당뇨병, 대사 증후군, 상승된 절

식 당 수준, 상승된 혈당 수준과 관련된 질병 병태들, 고혈당증, 제1형 및/또는 제2형 당뇨병, 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신장증, 신부전, 고혈압 및/또는 이상지질혈증(또는 이들 대사 및 심혈관 위험 인자들의 조합), 죽상경화증, 동맥경화증, 대혈관병, 미세혈관병, 관상동맥심질환, 말초동맥 질환 및 뇌졸중의 예방용 약제학적 제제들로서 유용할 수 있다. 이들은 또한 체중 증가를 방지하고/하거나, 체중 감소를 촉진하고/하거나, 과체중을 감소시키고/시키거나, 병적 비만증을 포함하는 비만, 및 또한 비만-관련된 염증, 비만-관련된 담낭병 및 비만-유도된 수면성 무호흡을 포함하나 이에 한정되지 않는 관련 질병들, 질환들 및 건강 상태들을 치료(예를 들면, 식욕, 급식, 식품 섭취, 열량 섭취 및/또는 에너지 소비의 조절에 의해)하는데 유용할 수 있다. 이들 상태들에 있어서 본 발명의 웨타이드 접합체들의 효과들은 체중에 있어서의 효과를 통해 전적으로 또는 부분적으로 매개될 수 있거나, 이와는 독립적일 수 있다.

[0119] 본 발명의 추가의 국면들은 하기 기재내용으로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0120] 도 1. 3주 치료 후 절식된 혈당 수준

db/db 마우스들에서 3주 치료 후 절식된 혈당 수준에 있어서 비히클, 리라글루타이드(100 nmol/kg/일), 및 화합물 18(30 및 100 nmol/kg/일)의 1일 1회 피하 투여의 효과. 데이터는 평균값들과 SEM으로 제공된다.

통계학: 데이터는 비히클 또는 리라글루타이드에 대해 1-방식 ANOVA에 이어 Bonferroni's MC 시험에 의해 비교하였다: 비히클에 대해 ***p<0.001, 리라글루타이드에 대해 ##p<0.01.

도 2. 4주의 치료 후 1주의 약물 휴지기 이후 절식된 혈당 수준. db/db 마우스들에서 4주의 치료에 이은 1주의 휴지기 후 절식된 혈당 수준에 있어서 비히클, 리라글루타이드(100 nmol/kg/일), 및 화합물 18(30 및 100 nmol/kg/일)의 1일 1회 피하 투여의 효과. 데이터는 평균값들과 SEM으로 제공된다.

통계학: 데이터는 비히클 또는 리라글루타이드에 대해 1-방식 ANOVA에 이어 Bonferroni's MC 시험에 의해 비교하였다: 비히클에 대해 **p<0.01, 리라글루타이드에 대해 #p<0.05.

도 3. 3주 치료 후 OGTT, AUC

db/db 마우스들에서 3주 치료 후 당 내성에 있어서 비히클, 리라글루타이드(100 nmol/kg/일), 및 화합물 18(30 및 100 nmol/kg/일)의 1일 1회 피하 투여의 효과. 데이터는 곡선하 면적(AUC)과 SEM으로 나타낸다.

통계학: 데이터는 비히클 또는 리라글루타이드에 대해 1-방식 ANOVA에 이어 Bonferroni's MC 시험에 의해 비교하였다: 비히클에 대해 ***p<0.001, 리라글루타이드에 대해 ###p<0.001.

도 4. 4주의 치료 + 1주의 휴지기 후 OGTT, AUC

db/db 마우스들에서 4주 치료에 이은 1주 약물 휴지기(비히클 치료) 후 당 내성에 있어서 비히클, 리라글루타이드(100 nmol/kg/일), 및 화합물 18(30 및 100 nmol/kg/일)의 1일 1회 피하 투여의 효과. 데이터는 곡선하 면적(AUC)과 SEM으로 나타낸다.

통계학: 데이터는 비히클 또는 리라글루타이드에 대해 1-방식 ANOVA에 이어 Bonferroni's MC 시험에 의해 비교하였다: 비히클에 대해 *p<0.05, ***p<0.001, 리라글루타이드에 대해 ###p<0.001.

도 5. 4주 치료 후 엘타-체중

db/db 마우스들에서 4주 치료 후 엘타(말기-개시) 체중에 있어서 비히클, 리라글루타이드(100 nmol/kg/일), 및 화합물 18(30 및 100 nmol/kg/일)의 1일 1회 피하 투여의 효과. 데이터는 평균값들과 SEM으로 제공된다.

통계학: 데이터는 비히클 또는 리라글루타이드에 대해 1-방식 ANOVA에 이어 Bonferroni's MC 시험에 의해 비교하였다: 비히클에 대해 ***p<0.001, 리라글루타이드에 대해 ##p<0.01.

도 6. 5주 치료 후 절식 혈당 수준

ZDF 랫트들에서 5주 치료 후 절식 혈당 수준에 있어서 비히클, 리라글루타이드(2x40 nmol/kg/일), 및 화합물 18(2x10 및 2x40 nmol/kg/일)의 1일 2회 피하 투여의 효과. 데이터는 평균값들과 SEM으로 제공된다.

통계학: 데이터는 비히클 또는 리라글루타이드에 대해 1-방식 ANOVA에 이어 Bonferroni's MC 시험에 의해 비교

하였다: 비히클에 대해 $** p<0.01$, $*** p<0.001$, 리라글루타이드에 대해 $###p<0.001$.

도 7. 5주 치료 후 OGTT, AUC

db/db 마우스들에서 5주 치료 후 당 내성에 있어서 비히클, 리라글루타이드(2×40 nmol/kg/일), 및 화합물 18(2×10 및 2×40 nmol/kg/일)의 1일 1회 피하 투여의 효과. 데이터는 곡선화 면적(AUC)과 SEM으로 나타낸다.

통계학: 데이터는 비히클 또는 리라글루타이드에 대해 1-방식 ANOVA에 이어 Bonferroni's MC 시험에 의해 비교하였다: 비히클에 대해 $*** p<0.001$, 리라글루타이드에 대해 $###p<0.001$.

도 8. 6주 치료 후 HbA1c 수준

ZDF 랫들에서 6주 치료 후 HbA1c 수준에 있어서 비히클, 리라글루타이드(2×40 nmol/kg/일), 및 화합물 18(2×10 및 2×40 nmol/kg/일)의 1일 2회 피하 투여의 효과. 데이터는 평균값들과 SEM으로 제공된다.

통계학: 데이터는 비히클 또는 리라글루타이드에 대해 1-방식 ANOVA에 이어 Bonferroni's MC 시험에 의해 비교하였다: 비히클에 대해 $*** p<0.001$, 리라글루타이드에 대해 $#p<0.05$.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0121] 위에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 하나의 국면은 하기 화학식의 웹타이드 접합체에 관한 것이다:

[0122] H-HGEGTFTSDLSKQLEEEAVRLFIEWLKN-8Ado-K(헥사데카노일-이소Glu)-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 1)

[0123] H-HGEGTFTSDLSKQLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-이소Glu)-LKN-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 2)

[0124] H-HGEGTFTSDLSKQLE-K(헥사데카노일-이소Glu)-EAVRLFIEWLKN-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 3)

[0125] H-HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKN-8Ado-C(비오틴-Mal)-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 4)

[0126] H-HGEGTFTSDLSKQLEEEAVRLFIE-C(비오틴-Mal)-LKN-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 5)

[0127] H-HGEGTFTSDLSKQLE-C(비오틴-Mal)-EAVRLFIEWLKN-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 6)

[0128] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-이소Glu)-LK-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 7)

[0129] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-이소Glu)-LK-8Ado-QQYGWLDLDF-NH₂(화합물 8)

[0130] 또한, 다른 국면에서 본 발명은 하기 화학식의 웹타이드 접합체에 관한 것이다:

[0131] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKQQYGWLDLDF-NH₂(화합물 9)

[0132] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKQQEAYGWLDLDF-NH₂(화합물 10)

[0133] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLK-8Ado-QQYGWLDLDF-NH₂(화합물 11)

[0134] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKDYGWLDF-NH₂(화합물 12)

[0135] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKAAAYGWLDLDF-NH₂(화합물 13)

[0136] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKGGGYGWLDLDF-NH₂(화합물 14)

[0137] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLK-8Aoc-YGWLDF-NH₂(화합물 15)

[0138] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKNYGWLDF-NH₂(화합물 16)

[0139] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKAYGWLDLDF-NH₂(화합물 17)

[0140] H-HGEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKN-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 18)

- [0141] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKD-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 19)
- [0142] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKNYGTDF-NH₂(화합물 20)
- [0143] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKDYGWTDF-NH₂(화합물 21)
- [0144] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEWLKNYWLDF-NH₂(화합물 22)
- [0145] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEWLKDYGWLDF-NH₂(화합물 23)
- [0146] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKEAYWLDF-NH₂(화합물 24).
- [0147] 여전히 다른 국면에서, 본 발명은 하기 화학식의 웹타이드 접합체에 관한 것이다:
- [0148] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKN-K(헥사데카노일-이소Glu)-YGWLDF-NH₂(화합물 25)
- [0149] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKN-K(헥사데카노일-이소Glu)-WLDF-NH₂(화합물 26)
- [0150] H-HEGTFTSELSKYLE-K(헥사데카노일-이소Glu)-EAVRLFIEFLKNYWLDF-NH₂(화합물 27)
- [0151] H-HEGTFTSELSKYLE-K(헥사데카노일-이소Glu)-EAVRLFIEFLKNWLDF-NH₂(화합물 28)
- [0152] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLK-K(헥사데카노일-이소Glu)-YGWLDF-NH₂(화합물 29)
- [0153] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLK-K(헥사데카노일-이소Glu)-WLDF-NH₂(화합물 30)
- [0154] H-HEGTFTSELSKYLE-K(헥사데카노일-이소Glu)-EAVRLFIEFLKYWLDF-NH₂(화합물 31)
- [0155] H-HEGTFTSELSKYLE-K(헥사데카노일-이소Glu)-EAVRLFIEFLKWLDL-NH₂(화합물 32)
- [0156] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-이소Glu)-LK-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 33)
- [0157] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-이소Glu)-LKQQYWLDF-NH₂(화합물 34)
- [0158] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-이소Glu)-LK-Orn-Orn-YGWLDF-NH₂(화합물 35)
- [0159] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-이소Glu)-LKNYWLDF-NH₂(화합물 36)
- [0160] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIE-K(헥사데카노일-이소Glu)-LKDYWLDF-NH₂(화합물 37).
- [0161] 추가의 국면에서, 본 발명은 하기 화학식의 웹타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물에 관한 것이다:
- [0162] H-HEGTFTSDLSKQLEEEAVRLFIEC(PEG5K)LKN-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 38)
- [0163] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEC(PEG10K)LK-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 39)
- [0164] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEC(PEG20K)LK-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 40)
- [0165] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEC(PEG40K)LK-8Ado-8Ado-YGWLDF-NH₂(화합물 41)
- [0166] H-HEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNYGTDF-OH(화합물 42)
- [0167] H-HEGTFTSELSKYLEEEAVRLFIEFLKN-8Ado-8Ado-YGWTDF-NH₂(화합물 43).
- [0168] 약어들 8Ado, 8Aoc, 헥사데카노일, 이소Glu, Orn, 및 비오틴-Mal은 각각 다음의 비-천연적으로 존재하는 아미노산 잔기들을 나타낸다:
- [0169] 8Ado(또는 Peg3): -NH-CH₂-CH₂-O-CH₂-CH₂-O-CH₂-C(O)-(8-아미노-3,6-디옥사옥타노산으로부터 기원함);

- [0170] 8Aoc: $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-(8\text{-아미노옥타노산으로부터 기원함});$
- [0171] 헥사데카노일: $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{C}(\text{O})-$;
- [0172] 이소Glu: $-\text{NH}-\text{CH}(\text{COOH})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-$;
- [0173] Orn: 오르니틴; 및
- [0174] 비오틴-Mal: 비오틴-말레이미드.
- [0175] 본 발명의 펩타이드 접합체내 링커 잔기의 배향과 관련하여, 링커 잔기 $-8\text{Ado}-8\text{Ado}-$ 는, 예를 들면, 화학 잔기: $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-$ 를 나타내며,
- [0176] 해당 링커 잔기의 말단에서 $-\text{NH}-\dots$ 잔기는 해당 펩타이드 접합체의 GLP-1 효능제(예를 들면, 엑센딘-4 기원함) 잔기에 공유결합으로 부착되어 있고, 해당 링커 잔기의 우측에 대해 $\dots-\text{C}(\text{O})-$ 잔기는 해당 펩타이드 접합체의 가스트린-기원한 잔기에 부착되어 있다.
- [0177] 위에서 나열한, 본 발명의 펩타이드 접합체들에서, 엑센딘-4(1-28) 펩타이드 서열 잔기는 헬로데르마 수스펙툼 (*Heloderma suspectum*) 엑센딘-4 서열의 서열로부터 기원하거나 이의 유사체이다.
- [0178] 본 발명의 내용에서 용어 "엑센딘-4 유사체"는 천연의 엑센딘-4 서열의 특정 치환들, 트렁케이션들 (truncations), 결실들, 첨가들 또는 접합들로부터 기원한 펩타이드 서열로 정의된다. 이는 본 발명의 치환들을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.
- [0179] 마찬가지로, 접합체들내 [Leu4]가스트린6 잔기들은 사람 가스트린으로부터 합성적으로 유도된다.
- [0180] 또한 마찬가지로, 접합체들내 [Leu15]가스트린17 잔기들은 사람 가스트린으로부터 합성적으로 유도된다.
- [0181] 개별적으로 상기 펩타이드 접합체들 1-41 중 각각 하나, 즉 화합물 1 또는 화합물 2 또는 화합물 3...(등., 화합물 41까지) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물은 본 발명의 추가의 개개 국면을 구성한다.
- [0182] 본 발명의 내용에서, 아미노산들이 이들의 완전한 명칭(예를 들면, 알라닌, 아르기닌 등)에 의해 언급되지 않는다면, 이들은 이들의 3-문자 및/또는 1-문자 약어들(예를 들면, 알라닌의 경우 Ala 또는 A, 아르기닌의 경우 Arg 또는 R 등)로 나타낸다.
- [0183] 본 발명의 내용에서 용어 "펩타이드 접합체"는, 제1의 펩타이드 잔기가, 직접 또는 연결하는[즉, 브릿징 (bridging) 또는 스페이싱(spacing)] 화학 잔기를 통해, 제2의 펩타이드 잔기에 대해 공유결합성 화학 결합에 의해 부착된 문자를 말한다.
- [0184] 본 발명의 펩타이드 접합체들에서, 엑센딘-4 또는 Z(Z_a 또는 Z_b)는 천연의 에이치. 수스펙툼 (*H. suspectum*) 엑센딘-4에 대해 적어도 75%의 동일성, 예를 들면 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 가질 수 있다.
- [0185] 본 발명의 펩타이드 접합체들에서, 가스트린 또는 Y(Y_a 또는 Y_b)는 천연의 사람 가스트린17 및/또는 가스트린6에 대해 적어도 70%의 동일성, 예를 들면, 가능한 경우, 적어도 75%, 80%, 83%, 85%, 90%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 동일성을 가질 수 있다.
- [0186] 일부 양태들에서, 본 발명의 폴리펩타이드들은 화합물 번호: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 및 41 중 어느 하나로 설정된 아미노산 서열 또는 가능한 경우, 인용된 서열들 중 하나 이상에 대해 적어도 약 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 99.5%의 동일한 이의 기능성 단편 또는 변이체를 포함할 수 있다. 아미노산 치환들은 예를 들면, 보존적 치환들일 수 있다.
- [0187] 본원에 사용된 것으로서 용어 "보존적 치환"은, 하나 이상 아미노산들이 다른, 생물학적으로 유사한 잔기로 대체되어 있음을 나타낸다. 실시예들은 유사한 특징들을 지닌 아미노산 잔기들, 예를 들면, 작은 아미노산들, 산성 아미노산들, 극성 아미노산들, 염기성 아미노산들, 소수성 아미노산들 및 방향족 아미노산들의 치환을 포함한다. 예를 들면, 본 발명의 바람직한 양태에서, Met 잔기들은 Met에 대해서 등배전자(bioisostere)이지만, Met-에 대해 반대되는 것으로서 용이하게 산화되지 않는, 노르류신(Nle)으로 치환된다. 내인성의 포유동물 펩타이드들 및 단백질들에서 일반적으로 발견되지 않은 잔기와의 보존적 치환의 또 다른 예는 Arg 또는 Lys의, 예

를 들면, 오르니틴, 카나바닌, 아미노에틸시스테인 또는 다른 염기성 아미노산으로의 보존적 치환일 수 있다. 웨타이드들 및 단백질들에서 표현형적으로 사일런트성 치환들(silent substitutions)에 관한 추가의 정보에 대해서는, 예를 들면, 문헌(Bowie et.al. *Science* 247, 1306-1310, 1990)을 참조한다. 아미노산들의 보존적 치환들은 물리화학적 특성들에 의해 그룹화되었다. I: 중성, 친수성, II: 산들 및 아미드들, III: 염기성, IV: 소수성, V: 방향족, 거대 아미노산들.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| I | I | I | I | V |
| I | I | V | | |
| I | | | | |
| A | N | H | M | F |
| S | D | R | L | Y |
| T | E | K | I | W |
| P | Q | | V | |
| G | | | C | |

[0188]

[0189] 일부 양태들에서, 본 발명의 폴리웨타이드는 인용된 서열들 중 하나 이상과 비교하여 최대 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1개의 아미노산 치환들을 갖는 이의 기능성 단편들 또는 변이체들을 포함할 수 있다. 본 발명의 폴리웨타이드는 또한 시그널 서열을 가지거나 가지지 않을 수 있다.

[0190]

일부 양태들에서, 본 발명의 폴리웨타이드들의 하나 이상 시스테인은 세린과 같은 다른 잔기들로 치환될 수 있다.

[0191]

일부 양태들에서, 본 발명의 폴리웨타이드들은 화합물 번호: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 및 41 중 어느 하나에 대해 적어도 99% 아미노산 서열 동일성을 공유한다.

[0192]

본 발명의 내용에서 용어 "약제학적으로 허용되는 염"(본 발명의 웨타이드 접합체의 약제학적으로 허용되는 염)은, 해당 염이 투여되는 환자 또는 피검자에게 유해하지 않은 염을 나타내는 것으로 의도된다. 이는 적합하게는 예를 들면 산 부가 염들 및 염기성 염들 중에서 선택된 염일 수 있다. 산 부가염들의 예들은 클로라이드 염들, 시트레이트 염들 및 아세테이트 염들을 포함한다. 염기성 염들의 예들은, 양이온이 나트륨 또는 칼륨 이온들과 같은 알칼리 금속 양이온들, 칼슘 또는 마그네슘 이온들과 같은 알칼리 토금속 양이온들, 및 또한 $N(R^1)(R^2)(R^3)(R^4)^+$ (여기서, R^1 , R^2 , R^3 및 R^4 는 독립적으로 수소, 임의 치환된 C_{1-6} -알킬 또는 임의 치환된 C_{2-6} -알케닐을 전형적으로 나타낼 것이다) 유형의 이온들과 같은 치환된 암모늄 이온들 중에서 선택된 염들을 포함한다. 관련된 C_{1-6} -알킬 그룹들의 예들은 메틸, 에틸, 1-프로필 및 2-프로필 그룹들을 포함한다. 가능한 관련성의 C_{2-6} -알케닐 그룹들의 예들은 에테닐, 1-프로페닐 및 2-프로페닐을 포함한다. 약제학적으로 허용되는 염들의 다른 예들은 문헌[참조: "Remington's Pharmaceutical Sciences", 17th edition, Alfonso R. Gennaro(Ed.), Mark Publishing Company, Easton, PA, USA, 1985(및 이의 보다 최근의 판), in the "Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology", 3rd edition, James Swarbrick(Ed.), Informa Healthcare USA(Inc.), NY, USA, 2007, 및 in *J. Pharm. Sci.* 66: 2 (1977)]에 기술되어 있다.

[0193]

본 발명의 내용에서 용어 "용매화물"은 용질(예를 들면, 본 발명에 따른 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염)과 용매 사이에 형성된 정의된 화학량론의 복합체를 말한다. 이와 관련하여 용매는 예를 들면, 물, 에탄올 또는 다른 약제학적으로 허용되는, 전형적으로 소-분자 유기 종들(small-molecular organic species), 예를 들면, 아세트산 또는 락트산일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 해당 용매가 물인 경우, 이러한 용매화물은 일반적으로 수화물로 언급된다.

[0194]

본 발명의 일부 양태들은 의약으로서 또는 의약의 생산 또는 제조를 위한 본 발명에 따른 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 각종 질병들 또는 조건들, 예를 들면: 제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병, 전-당뇨병, 인슐린 내성 증후군, 손상된 당 내성(IGT), 상승된 혈당 수준과 관련된 질병 병태들, 고혈당증, 고혈압, 죽상경화성 이상지질혈증, 동맥경화증(예를 들면, 죽상경화증), 대혈관병, 관상동맥심질환, 말초동맥 질환, 뇌졸중, 미세혈관병, 위장병, 대사 증후군, 암(예를 들면, 결장암), 염증성 창자병(IBD), 자극성 장 증후군(IBS), 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신장증, 및 신부전을 치료하거나 예방하는 방법들에서 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염들의 용도에 관한 것이다.

[0195]

이와 관련하여 가능한 관련성의 추가의 질병들 또는 질환들은 비만, 병적 비만증, 비만-관련된 염증, 비만-관련

된 방광병 및 비만-유도된 수면성 무호흡을 포함한다.

[0196] 일부 양태들에서, 본 발명의 의약은 이를 필요로 하는 대상체를 치료하는데 있어서 사용하기 위한 의약이다.

[0197] 추가의 양태들에서, 본 발명의 의약은 이를 필요로 하는 대상체에서 췌도 조직재생(예를 들면, 췌장들의 섬들에서 새로운 β -세포들의 형성을 촉진하기 위한)을 유도하기 위한 의약이다.

[0198] 추가의 양태들에서, 본 발명의 의약은 이를 필요로 하는 대상체에서, 췌도에서 β -세포들의 생존을 유도하기 위한(예를 들면, 췌도에서 β -세포들의 손실을 방지하기 위한) 의약이다.

[0199] 추가의 양태들에서, 본 발명의 의약은 이를 필요로 하는 대상체에서, 췌도 내 β -세포들의 증식을 유도하기 위한(예를 들면, 췌도 내에서 기존의 β -세포들의 증식을 촉진하기 위한) 의약이다.

[0200] 추가의 양태들에서, 본 발명의 의약은 이를 필요로 하는 대상체에서, 위에서 언급한 공정들의 어떠한 조합, 즉, 췌도 조직재생, 췌도 내 β -세포들의 생존, 및/또는 췌도 내 β -세포들의 증식을 유도하기 위한 의약이다.

[0201] 특히 청구범위의 청구항 제39항에 따른 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 용도(여기서, 당해 의약은 이를 필요로 하는 대상체에서 췌도 β -세포들의 생존률을 증진시키는데 사용된다).

[0202] 여전히 다른 양태들에서, 본 발명의 의약은 이를 필요로 하는 대상체에서, 췌도에서 β -세포 세포자멸사 및/또는 괴사를 방지(예를 들면, 췌도에서 β -세포들의 손실을 방지)하는데 사용하기 위한 의약이다.

[0203] 추가의 양태들에서, 본 발명의 의약은 이를 필요로 하는 대상체에서, 혈중 혼모글로빈 b1Ac(글리코실화된 혼모글로빈; HbA1c) 수준을 감소시키는데 사용하기 위한 의약이다.

[0204] 본 발명의 추가의 국면은 이를 필요로 하는 대상체에서, 본원에 기재된 병태들 중 하나 이상의 치료를 위한 의약의 생산 또는 제조시 본 발명의 웨타이드 접합체의 용도에 관한 것이다.

[0205] 본 발명의 웨타이드 접합체는:

[0206] 이를 필요로 하는 대상체에서 췌도 조직재생을 유도하기 위한 의약의 제조;

[0207] 이를 필요로 하는 대상체에서 췌도 내 β -세포 세포자멸사를 예방하기 위한 의약의 제조;

[0208] 이를 필요로 하는 대상체에서 췌도 내 β -세포들의 생존을 유도하는데 사용하기 위한 의약의 제조;

[0209] 이를 필요로 하는 대상체에서 췌장의 β -세포들 증식을 유도하기 위한 의약의 제조;

[0210] 이를 필요로 하는 대상체의 혈중 혼모글로빈 b1Ac(글리코실화된 혼모글로빈; HbA1c) 수준을 감소시키기 위한 의약의 제조; 및/또는 이들의 어떠한 조합들에서 추가로 사용될 수 있다.

[0211] 본 발명의 관련된, 추가의 국면들 중에는 본원에 기재된 것들 중에서 병태들, 질병들 또는 질환들의 상응하는 치료 방법들이 존재한다. 따라서, 본 발명의 하나의 이러한 추가의 국면은 이를 필요로 하는 대상체에서 본원에 기재된 질병, 질환 또는 병태들 중의 하나 이상의 치료 방법,

[0212] 대상체에게 본 발명에 따른 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 치료학적 유효량을 투여함을 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0213] 본 발명의 추가의 양태들은 이를 필요로 하는 대상체에게 본 발명에 따른 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 치료학적 유효량을 투여함을 포함하여, 당해 대상체에서 췌도 조직재생을 유도하는 방법에 관한 것이다.

[0214] 본 발명의 추가의 양태들은 이를 필요로 하는 대상체에게 본 발명에 따른 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 치료학적 유효량을 투여함을 포함하여, 당해 대상체에서 췌도 내 β -세포 생존을 촉진하는 방법에 관한 것이다.

[0215] 본 발명의 추가의 양태들은 이를 필요로 하는 대상체에게 본 발명에 따른 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 치료학적 유효량을 투여함을 포함하여, 당해 대상체에서 췌도 내 β -세포 세포자멸사 및/또는 괴사를 감소시키거나 방지하는 방법에 관한 것이다.

[0216] 본 발명의 추가의 양태들은 이를 필요로 하는 대상체에게 본 발명에 따른 웨타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 치료학적 유효량을 투여함을 포함하여, 당해 대상체에서 췌도 내 β -세포 증식을 유도하는 방법에 관한 것이다.

- [0217] 본 발명의 추가의 양태들은 이를 필요로 하는 대상체에게 본 발명에 따른 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 치료학적 유효량을 투여함을 포함하여, 당해 대상체에서 위에서 언급한 공정들, 즉, 췌도 조작재생, 췌도 내 β -세포들의 생존, 및/또는 췌도 내 β -세포들의 증식의 어떠한 조합도 유도시키는 방법에 관한 것이다.
- [0218] 본 발명의 다른 양태들은 이를 필요로 하는 대상체에게 본 발명에 따른 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 치료학적 유효량을 투여함을 포함하여, 당해 대상체의 혈중 헤모글로빈 b1Ac (글리코실화된 헤모글로빈; HbA1c) 수준을 감소시키기 위한 방법에 관한 것이다.
- [0219] 본 발명의 여전히 추가의 양태들은 다음에 관한 것이다:
- [0220] 이를 필요로 하는 대상체에서, 상승된 혈당 수준과 관련된 질병 병태의 치료 방법;
- [0221] 이를 필요로 하는 대상체에서 혈당 수준의 저하 방법;
- [0222] 이를 필요로 하는 대상체에서 인슐린 방출을 자극하는 방법;
- [0223] 이를 필요로 하는 대상체에서 위 배출을 조절하는 방법;
- [0224] 이를 필요로 하는 대상체에서 혈장 지질 수준을 저하시키는 방법;
- [0225] 이를 필요로 하는 대상체에서 혈압을 저하시키는 방법; 및
- [0226] 이를 필요로 하는 대상체에서 체중을 저하시키는 방법.
- [0227] 본 발명의 후자의 방법들 각각에서, 당해 방법은 대상체에게 본 발명에 따른 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 치료학적 유효량을 투여함을 포함한다.
- [0228] 본 발명에 따른 위에서 기술한 치료 방법들 또는 다른 치료학적 중재와 관련하여 사용된 것으로서 용어 "치료학적 유효량"은 예를 들면, 확립된 임상 종점들(established clinical endpoints) 또는 다른 생마커들(확립되거나 실험적임)에 의해 측정된 것으로서 해당 치료 대상 또는 다른 치료학적 중재 대상인 특수 질병, 질환 또는 병태의 임상적 정후들을 치유하거나, 경감시키거나, 완화시키거나 부분적으로 정지시키는데 충분한 양을 말한다. 치료학적으로 관련된 양은, 치료학적으로 관련된 양이 투여되는 대상체 및 치료되거나 예방되는 증상을 기준으로 하여 당해 분야의 숙련가가 실험적으로 측정할 수 있다. 예를 들면, 숙련가는 본원에 기술된 생활성의 임상적으로 관련된 지시인자들, 예를 들면, 혈당 수준, 인슐린 방출, 및 혈장 지질 수준 중 하나 이상을 측정할 수 있다. 숙련가는 시험판내 또는 생체내 측정들을 통해 임상적으로 관련된 양을 측정할 수 있다. 다른 예시적인 측정들은 체중 증가, 체중 감소, 및 혈압에 있어서의 변화를 포함한다.
- [0229] 이들 효과들 중 어느 것 또는 모두를 달성하기에 적절한 양은 치료학적 유효량으로 정의된다. 투여된 양 및 투여 방법은 최적의 효능을 달성하기 위해 조정될 수 있다. 주어진 목적에 효과적인 양은 특히, 특수 치료 또는 다른 치료학적 중재의 대상인 질병, 질환 또는 병태의 중증도, 해당 대상체의 체중 및 일반적인 상태, 식이, 가능한 현재의 의약, 및 의약 분야에서 숙련가들에게 잘 공지된 다른 인자들에 의존할 것이다. 본 발명에 따른 펩타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 사람에게 투여하기에 가장 적절한 투여 요법(dosing regimen) 및 적절한 용량 크기의 결정은 본 발명에 의해 수득된 결과들에 의해 안내될 수 있으며, 적절하게 설계된 임상 시험들에서 확인할 수 있다. 유효 용량 및 치료 프로토콜은 실험실 동물들에서 저 투여량으로 시작한 후 효과들을 모니터링하면서 용량을 증가시키고, 용량 요법을 또한 전신적으로 변화시키는, 통상의 수단들로 확인할 수 있다. 주어진 대상체를 위한 최적의 용량을 결정하는 경우 다수의 인자들이 임상의에 의해 고려될 수 있다. 이러한 고려사항들은 숙련가에게 잘 공지되어 있다.
- [0230] 당해 내용에서 사용된 것으로서 용어들 "치료" 및 이의 문법적 변화들(예를 들면, "치료된", "치료하는", "치료하다")은 유리하거나 바람직한 임상 결과들을 수득하기 위한 시도를 말한다. 본 발명의 목적들을 위해, 유리하거나 바람직한 임상 결과들은 검출가능하거나 검출가능하지 않은 것에 상관없이, 증상들의 완화, 질병 정도의 축소, 질병 병태의 안정화(즉, 악화가 아님), 질병 진행의 지체 또는 지연, 질병 병태의 완화 또는 일시적 완화, 및 회복(부분적으로나 또는 전체적으로나 상관없이)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. "치료"는 치료를 받지 않은 경우 예측된 생존 시간에 대해 생존을 연장시킴을 또한 의미할 수 있다. 치료를 필요로 하는 대상체(예를 들어, 사람)는, 따라서, 해당 질병 또는 질환으로 이미 고생하는 대상체일 수 있다. 용어 "치료"는 치료의 부재에 대해 병리학적 상태 또는 증상들(예를 들면, 체중 증가 또는 고혈당증)의 중증도에 있어서의 증가의 억제 또는 감소를 포함하며 관련 질병, 질환 또는 병태의 완전한 정지를 내포함을 필수적으로 의미하지 않

는다.

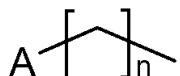
- [0231] 본 내용에서 사용된 것으로서 용어들 "예방하는" 및 이의 문법적 변화들(예를 들면, "예방된", "예방하는", "예방하다")은 병태, 질병 또는 질환의 발생을 예방하거나 이의 병리학을 변경시키기 위한 시도를 말한다. 따라서, "예방"은 예방적 또는 방지적 조처들을 말할 수 있다. 본 발명의 목적들을 위해, 유리하거나 바람직한 임상 결과들은 검출가능하거나 검출가능하지 않은 것에 상관없이, 질병의 증상들, 진행 또는 발생을 예방하거나 치연시킴을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 예방이 요구되는 대상체(예를 들어, 사람)는 따라서, 해당 질병 또는 질환으로 아직 고생하지 않는 대상체일 수 있다. 따라서, 용어 "예방"은 치료의 부재와 관련한 질병의 발생을 치연시킴을 포함하며, 관련 질병, 질환 또는 병태의 영구적인 방지를 내포함을 필수적으로 의미하지는 않는다.
- [0232] 본 발명의 내용에서 사용된 것으로서 용어 "효능제"는 해당 수용체 유형을 활성화시키는 물질(리간드)을 말한다.
- [0233] 본 발명의 내용에서 사용된 것으로서 용어 "GLP-1 수용체 효능제"(때때로 또한 "GLP-1 효능제"로 언급됨)는 사람 GLP-1 수용체와 같이 GLP-1 수용체를 활성화시키는 물질(리간드)을 말한다. 사람 GLP-1 수용체를 활성화시키는 물질들은 천연의 GLP-1 웨პ타이드 호르몬들 GLP-1(7-37), GLP-1(7-36)아미드, 옥신토모둘린, 엑센딘-3, 엑센딘-4, 글루카곤, 위장 억제성 폴리웨პ타이드(GIP), 및 이의 기능성 웨პ타이드 유사체들 및 유도체들을 포함한다.
- [0234] 본 발명의 내용에서 사용된 것으로서 용어 "길항제"는 해당 수용체 유형에 대한 효능제로서 기능하는 다른 물질(리간드)의 효과를 차단하거나, 중화시키거나 역작용하는 물질(리간드)을 말한다.
- [0235] 본 발명의 일부 양태들에서, 위에서 기술한 본 발명의 각종 국면들과 관련하여 언급된 특수 치료 또는 다른 치료학적 중재를 필요로 하는 대상체는 포유동물이다. 추가의 양태들에서, 포유동물은 사람이다.
- [0236] 본 발명의 추가의 양태들은 본 발명에 따른 웨პ타이드 접합체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물과 함께, 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 비허클을 포함하는 약제학적 조성물들에 관한 것이다.
- [0237] 웨პ타이드 접합체들의 합성
- [0238] 본 발명의 웨პ타이드 접합체들은 표준 합성 방법들에 의해, 재조합체 발현 시스템들의 사용에 의해, 또는 어떠한 다른 적합한 방법에 의해 제조할 수 있다. 따라서, 접합체들은 예를 들면,
- [0239] (a) 웨პ타이드 접합체를 표준 고체-상 또는 액체-상 방법론에 의해, 단계별로 또는 단편 조립으로 합성한 후 최종의 웨პ타이드 접합체 생성물을 분리하여 정제하거나;
- [0240] (b) 숙주 세포내에서 웨პ타이드 접합체를 암호화하는 핵산 작제물을 발현시키고 숙주 세포 배양물로부터 발현 생성물을 회수하거나;
- [0241] (c) 웨პ타이드 접합체를 암호화하는 핵산 작제물의 세포-유리된 시험관내 발현을 수행하고, 발현 생성물을 회수하거나; 또는
- [0242] (a), (b) 또는 (c)의 방법들의 어떠한 조합에 의해 웨პ타이드 접합체의 단편들을 수득한 다음, 당해 단편들을 연결시켜 웨პ타이드 접합체를 수득하고, 웨პ타이드 접합체를 회수함을 포함하는, 다수의 방법들로 합성할 수 있다.
- [0243] 고체-상 또는 액체-상 웨პ타이드 합성을 사용하여 본 발명의 접합체들을 합성하는 것이 바람직할 수 있다. 이와 관련하여, 문헌[참조: WO 98/11125 또는 특히, Fields, G.B. et al., "Principles and Practice of Solid-Phase Peptide Synthesis"; in: *Synthetic Peptides*, Gregory A. Grant(ed.), Oxford University Press(2nd edition, 2002)] 및 본원의 합성 실시예들을 참조할 수 있다.
- [0244] 본 발명의 화합물에서 아미노산 측쇄들 중 하나 이상은 친지성 치환체에 추가로 접합될 수 있다. 친지성 치환체는 아미노산 측쇄에서 원자에 공유결합적으로 결합할 수 있거나, 달리는 스페이서(spacer)에 의해 아미노산 측쇄에 접합될 수 있다. 아미노산은 웨პ타이드 Z의 부분, 또는 웨პ타이드 L의 부분일 수 있다.
- [0245] 이론에 얹메이지 않고, 친지성 치환체는 헬류 속에서 알부민에 결합함으로써 화합물들의 반감기를 증진시킬 수 있는 효소적 분해로부터 본 발명의 화합물들을 차폐시키는 것으로 고려된다. 스페이서는, 존재하는 경우, 화합물과 친지성 치환체 사이에 스페이싱(spacing)을 제공할 수 있다.
- [0246] 친지성 치환체는 에스테르, 설포닐 에스테르, 티오에스테르, 아미드 또는 설폰아미드를 통해 아미노산 측쇄 또

는 스페이서에 부착될 수 있다. 따라서, 일부 양태들에서, 친지성 치환체는 에스테르, 설포닐 에스테르, 티오에스테르, 아미드 또는 설폰아미드의 부분을 형성하는 아실 그룹, 설포닐 그룹, N 원자, O 원자 또는 S 원자를 포함한다.

[0247] 바람직하게는, 친지성 치환체 속의 아실 그룹은 아미노산 측쇄 또는 스페이서와 함께 아미드 또는 에스테르의 부분을 형성한다.

[0248] 친지성 치환체는, 4개 내지 30개의 탄소 원자들, 예를 들면 적어도 8개 또는 12개의 탄소 원자, 및 바람직하게는 24개 이하의 탄소 원자들 또는 20개 이하의 탄소 원자들을 갖는 탄화수소 쇄를 포함할 수 있다. 탄화수소 쇄는 직쇄 또는 측쇄일 수 있으며 포화되거나 불포화될 수 있다. 탄화수소 쇄는 아미노산 측쇄 또는 스페이서에 대해 부착 부분을 형성하는 잔기, 예를 들면 아실 그룹, 설포닐 그룹, N 원자, O 원자 또는 S 원자로 바람직하게 치환된다. 가장 바람직하게는 탄화수소 쇄는 아실 그룹으로 치환되며, 따라서 탄화수소 쇄는 알카노일 그룹의 부분, 예를 들면 팔미토일, 카프로일, 라우로일, 미리스토일 또는 스테아로일의 부분일 수 있다.

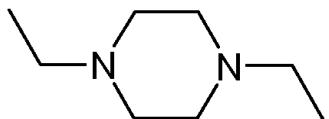
[0249] 따라서, 친지성 치환체는 하기 나타낸 화학식을 가질 수 있다:



[0250]

[0251] A는, 예를 들면, 아실 그룹, 설포닐 그룹, NH, N-알킬, O 원자 또는 S 원자, 바람직하게는 아실일 수 있다. n은 3 내지 29의 정수이다. 일부 양태들에서, n은 적어도 7 또는 적어도 11이다. 일부 양태들에서, n은 23 이하이다. 일부 양태들에서, n은 19 이하이다.

[0252] 탄화수소 쇄는 추가로 치환될 수 있다. 예를 들면, 이는 NH₂, OH 및 COOH 중에서 선택된 3개 이하의 치환체들로 추가로 치환될 수 있다. 탄화수소 쇄가 추가로 치환되는 경우, 바람직하게는 이는 단지 하나의 치환체로 추가로 치환된다. 달리는 또는 추가로, 탄화수소 쇄는 예를 들면 하기 나타낸 바와 같이, 사이클로알칸 또는 헤테로사이클로알칸을 포함할 수 있다:



[0253]

[0254] 일부 양태들에서, 사이클로알칸 또는 헤테로사이클로알칸은 6-원 환이다. 특정의 바람직한 양태들에서, 이는 피페리딘이다.

[0255] 달리는, 친지성 치환체는 부분적으로 또는 완전히 불포화되거나, 포화될 수 있는, 사이클로펜타노페난트렌 골격을 기본으로 할 수 있다. 당해 골격내 탄소 원자들 각각은 Me 또는 OH로 치환될 수 있다. 예를 들면, 친지성 치환체는 콜릴, 데옥시콜릴 또는 리토콜릴일 수 있다.

[0256] 위에 나타낸 바와 같이, 친지성 치환체는 스페이서에 의해 아미노산 측쇄에 접합될 수 있다. 존재하는 경우, 스페이서는 친지성 치환체 및 아미노산 측쇄에 부착된다. 스페이서는 에스테르, 설포닐 에스테르, 티오에스테르, 아미드 또는 설폰아미드에 의해 독립적으로 친지성 치환체 및 아미노산 측쇄에 부착될 수 있다. 따라서, 이는 아실, 설포닐, N 원자, O 원자 또는 S 원자 중에서 독립적으로 선택된 2개의 잔기들을 포함할 수 있다. 스페이서는 화학식:



[0257]

[0258] 을 가질 수 있으며, 여기서, B 및 D는 아실, 설포닐, NH, N-알킬, O 원자 또는 S 원자, 바람직하게는 아실 및 NH로부터 서로 독립적으로 선택된다. 바람직하게는, n은 1 내지 10, 예를 들면, 1 내지 5의 정수이다. 스페이서는 임의로 C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 알킬 아민, C₁₋₆ 알킬 하이드록시 및 C₁₋₆ 알킬 카복실 중에서 선택된 하나 이상의 치

환체들로 추가로 치환될 수 있다.

[0259] 달리는, 스페이서는 상기 화학식의 2개 이상의 반복 단위들을 가질 수 있다. B, D 및 n은 각각의 반복 단위에 대해 독립적으로 각각 선택된다. 인접한 반복 단위들은 이들의 각각의 B 및 D 잔기들을 통해 서로 공유결합적으로 부착될 수 있다. 예를 들면, 인접한 반복 단위들의 B 및 D 잔기들은 함께 에스테르, 설포닐 에스테르, 티오에스테르, 아미드 또는 설폰아미드를 형성할 수 있다. 스페이서의 각각의 말단에서 유리된 B 및 D 단위들은 위에서 기술한 바와 같이 아미노산 측쇄 및 친지성 치환체에 부착된다.

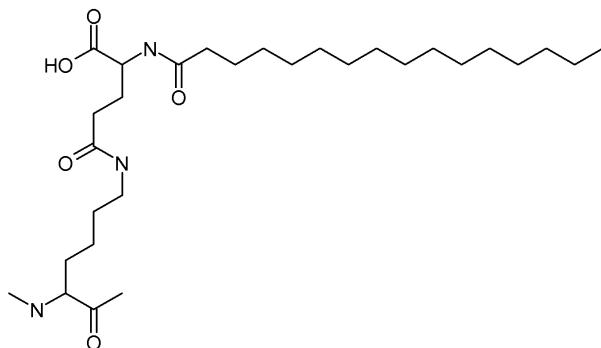
[0260] 바람직하게는, 스페이서는 5개 이하, 4개 이하 또는 3개 이하의 반복 단위들을 갖는다. 가장 바람직하게는, 스페이서는 2개의 반복 단위들을 가지거나, 단일 단위이다.

[0261] 스페이서(또는 반복 단위들을 갖는 경우 스페이서의 반복 단위들 중 하나 이상)는 예를 들면, 천연 또는 비천연 아미노산일 수 있다. 기능성화된 측쇄들을 갖는 아미노산들의 경우, B 및/또는 D는 아미노산의 측쇄내 잔기일 수 있음이 이해될 것이다. 스페이서는 어떠한 천연적으로 존재하거나 비천연적인 아미노산일 수 있다. 예를 들면, 스페이서(또는 반복 단위들을 갖는 경우, 스페이서의 반복 단위들 중 하나 이상)는 Gly, Pro, Ala, Val, Leu, Ile, Met, Cys, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Gln, Asn, α -Glu, γ -Glu, Asp, Ser, Thr, Gaba, Aib, bAla, 5-아미노펜타노일, 6-아미노헥사노일, 7-아미노헵타노일, 8-아미노옥타노일, 9-아미노나노일 또는 10-아미노데카노일일 수 있다.

[0262] 예를 들면, 스페이서는 γ -Glu, Gaba, b-Ala 및 α -Gly 중에서 선택된 단일 아미노산일 수 있다.

[0263] 친지성 치환체는 본 발명의 화합물들내 어떠한 아미노산 측쇄에도 접합될 수 있다. 바람직하게는, 아미노산 측쇄는 스페이서 또는 친지성 치환체와 함께 에스테르, 설포닐 에스테르, 티오에스테르, 아미드 또는 설폰아미드를 형성하기 위한 카복시, 하이드록실, 티올, 아미드 또는 아민 그룹을 포함한다. 예를 들면, 친지성 치환체는 Asn, Asp, Glu, Gln, His, Lys, Arg, Ser, Thr, Tyr, Trp, Cys 또는 Dbu, Dpr 또는 Orn에 접합될 수 있다. 바람직하게는, 친지성 치환체는 Lys 또는 Cys에 접합된다. 그러나, 본원에 제공된 화학식들에서 Lys로 나타낸 어떠한 아미노산도 Dbu, Dpr 또는 Orn으로 대체될 수 있으며, 여기서, 친지성 치환체가 가해진다.

[0264] 친지성 치환체 및 스페이서의 예는 하기 화학식에서 나타낸다:



[0265]

[0266] 여기서, 본 발명의 화합물로부터(예를 들면, X로부터)의 Lys는 아미드 잔기를 경유함으로써 γ -Glu(스페이서)에 공유결합적으로 부착된다. 팔미토일은 아미드 잔기를 경유하여 γ -Glu 스페이서에 공유결합적으로 부착된다.

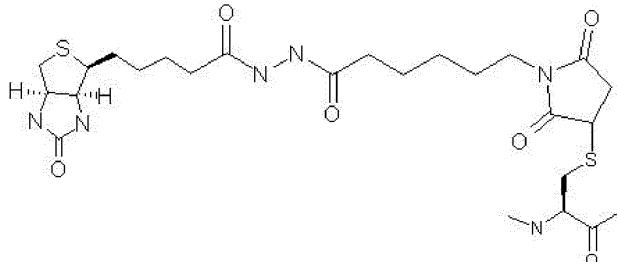
[0267] 달리는 또는 부가적으로, 본 발명의 화합물내 아미노산 측쇄들 중 하나 이상은 비오티닐 치환체에 추가로 접합될 수 있다. 비오티닐 치환체는 아미노산 측쇄내 원자에 공유결합적으로 결합될 수 있거나, 달리는 스페이서에 의해 아미노산 측쇄에 접합될 수 있다. 아미노산은 웨타이드 Z의 부분, 또는 웨타이드 L의 부분일 수 있다.

[0268] 이론에 얹메이지 않고, 비오티닐 치환체는 혈류 속의 알부민과 결합함으로써 화합물들의 반감기를 향상시킬 수 있는 효소적 분해로부터 본 발명의 화합물들을 차폐하는 것으로 고려된다. 스페이서는, 존재하는 경우, 화합물과 비오티닐 치환체 사이에 공간을 제공하기 위해 사용된다.

[0269] 비오티닐 치환체는 말레이미드 에스테르, 설포닐 에스테르, 티오에스테르, 아미드 또는 설폰아미드를 경유하여 아미노산 측쇄 또는 스페이서에 부착될 수 있다. 따라서, 바람직하게는 비오티닐 치환체는, 에스테르, 설포닐 에스테르, 티오에스테르, 아미드 또는 설폰아미드의 부분을 형성하는 말레이미도 그룹, 아실 그룹, 설포닐 그룹, N 원자, O 원자 또는 S 원자를 포함하는 것으로 이해될 것이다.

[0270] 바람직한 양태들에서, 비오틴 잔기는, 스페이서가 펩타이드에 커플링되기 전에 스페이서에 우선 커플링된다. 라이신들 또는 시스테인들의 측쇄들에 대한 커플링을 허용할 스페이서 기능성을 지닌 다수의 비오틴-스페이서 접합체들은 시판되고 있다. 보다 바람직한 양태들에서, 비오틴-스페이서 접합체는 시스테인 측쇄에서 설프하이드릴 그룹에 선택적으로 커플링할 수 있는 말레이이미드 기능성을 함유한다.

[0271] 본 발명에 따라 사용될 수 있는 비오틴 치환체들의 예들은 하기 화학식의 화합물을 포함한다:



[0272]

a)

[0274] 비오틴은 비타민 H 또는 보조효소 R로 공지되어 있으며 수용성 B-복합체 비타민(비타민 B7)이다. 이는 특정 약물들의 경구 흡수를 증가시키는 것으로 밝혀졌다.

[0275] 달리는 또는 부가적으로, 본 발명의 화합물내 하나 이상의 아미노산 측쇄들은 중합체성 잔기에 접합되어, 예를 들면, 생체내(예를 들면, 혈장내)에서 용해도 및/또는 반감기 및/또는 생이용능을 증가시킬 수 있다. 이러한 변형은 또한 치료학적 단백질들 또는 펩타이드들의 청소(clearance)(예를 들면, 신장 청소)를 감소시키는 것으로 알려져 있다.

[0276] 중합체성 잔기는 바람직하게는 수용성(양친매성 또는 친수성), 무독성, 및 약제학적으로 불활성이다. 적합한 중합체성 잔기들은 폴리에틸렌 글리콜(PEG), PEG의 단독- 또는 공중합체들, PEG의 모노메틸-치환된 중합체(mPEG), 또는 폴리옥시에틸렌 글리세롤(POG)을 포함한다[참조: 예를 들면, *Int. J. Hematology* 68:1(1998); *Bioconjugate Chem.* 6:150 (1995); 및 *Crit. Rev. Therap. Drug Carrier Sys.* 9:249 (1992)].

[0277] 다른 적합한 중합체성 잔기들은 폴리-라이신, 폴리-아스파르트산 및 폴리-글루탐산과 같은 폴리-아미노산들을 포함한다[참조: 예를 들면, Gombotz, et al. (1995), *Bioconjugate Chem.*, vol. 6 : 332-351; Hudecz, et al. (1992), *Bioconjugate Chem.*, vol. 3, 49-57; Tsukada, et al. (1984), *J. Natl. Cancer Inst.*, vol 73, : 721-729; 및 Pratesi, et al. (1985), *Br. J. Cancer*, vol. 52: 841-848].

[0278] 중합체성 잔기는 직쇄 또는 측쇄일 수 있다. 이는, 분자량이 500 내지 40,000Da, 예를 들면, 500 내지 10,000Da, 1000 내지 5000Da, 10,000 내지 20,000Da, 또는 20,000 내지 40,000Da일 수 있다.

[0279] 본 발명의 화합물은 2개 이상의 이러한 잔기들을 포함할 수 있으며, 이 경우 모든 이러한 잔기들의 총 분자량은 일반적으로 위에서 제공된 범위들 내에 속할 것이다.

[0280] 중합체성 잔기는 아미노산 측쇄의 아미노, 카복실 또는 티올 그룹에 커플링(공유결합성 연결에 의해)될 수 있다. 바람직한 예들은 Cys 잔기들의 티올 그룹 및 Lys 잔기들의 엡실론 아미노 그룹이며, Asp 및 Glu 잔기들의 카복실 그룹들이 또한 사용될 수 있다.

[0281] 숙련가는 커플링 반응을 수행하는데 사용될 수 있는 적합한 기술들을 잘 알 것이다. 예를 들면, 메톡시 그룹을 수반하는 PEG 잔기는 넥타 테라퓨틱스 에이엘(Nektar Therapeutics AL)에서 시판하는 시약들을 사용하여 말레이미도 연결에 의해 Cys 티올 그룹에 커플링될 수 있다[참조: 또한 제WO 2008/101017호, 및 적합한 화학의 세부사항들에 대해 위에 인용된 문현들].

[0282] 본 발명의 일부 양태에서, 말레이이미드 기능성화된 PEG는 시스테인의 측쇄 설프하이드릴 그룹에 접합된다.

[0283] 효능

[0284] 본 발명의 펩타이드 접합체는 엑센딘-4의 하나 이상의 생물학적 활성들 및 가스트린의 하나 이상의 생물학적 활성들을 갖는다.

- [0285] 가스트린-유사 성분 $Y(Y_a, Y_b)$ 및 특정의 링커 성분 $L(L_a, L_b)$ 의 부재하에서 펩타이드 $Z(Z_a, Z_b)$ 는 엑센딘-4의 하나 이상의 생물학적 활성들을 갖는다. 다시 말해서, 화합물 R^1-Z-R^2 는 엑센딘-4의 상기 하나 이상의 생물학적 활성들을 가질 수 있다.
- [0286] 엑센딘-4-유사 성분 $Z(Z_a, Z_b)$ 및 어떠한 링커 성분 $L(L_a, L_b)$ 의 부재하에서 펩타이드 $Y(Y_a, Y_b)$ 는 가스트린의 하나 이상의 생물학적 활성들을 갖는다. 다시 말해서, 화합물 R^1-Y-R^2 는 가스트린의 하나 이상의 생물학적 활성들을 가질 수 있다.
- [0287] 엑센딘-4의 생물학적 활성은 GLP-1 수용체에서 효능제 활성일 수 있다. 가스트린의 생물학적 활성은 CCK-B 수용체에서 효능제 활성일 수 있다.
- [0288] 바람직하게는, 효능제 활성은 사람 GLP-1 수용체 및/또는 사람 CCK-B 수용체에 존재한다. "효능제 활성"은 관련된 수용체에 대한 결합에 있어서 세포내 사이클릭 AMP(cAMP) 합성 또는 pERK 포스포릴화를 유도하는 능력을 포함할 수 있다.
- [0289] 따라서, GLP-1 또는 CCK-B 수용체들에 대한 관련 화합물들의 결합은 효능제 활성의 표시로 사용될 수 있지만, 일반적으로 관련 수용체에 대한 화합물의 결합에 의해 유발된 세포내 시그널링을 측정하는 생물학적 검정을 사용하는 것이 바람직하다. 예를 들면, 적합한 효능제에 의한 GLP-1 수용체의 활성화는 세포 cAMP 형성을 자극할 것이다. 유사하게, 적합한 효능제에 의한 CCK-B 수용체의 활성화는 세포 pERK 포스포릴화를 자극할 것이다. 따라서, 이들 2개의 수용체들 중 하나를 발현하는 적합한 세포들 속에서 cAMP의 생산 또는 ERK(pERK)의 포스포릴화를 사용하여 관련 수용체 활성을 모니터링할 수 있다. 따라서, 각각 하나의 수용체를 발현하지만 다른 것은 발현하지 않는, 세포 유형들의 적합한 쌍을 사용하여 수용체 유형들 둘 다에 대한 효능제 활성을 측정할 수 있다.
- [0290] 숙련가는 적합한 검정 양식들을 인식할 것이며, 예들은 하기에 제공한다. 검정들은 사람 GLP-1 수용체 (NP_002053.3 GI:166795283) 및/또는 사람 CCK-B 수용체(NM_176875.3 GI:356995851)를 사용할 수 있다. 전구체 단백질들의 서열들이 언급되는 경우, 이는 물론, 검정들이 시그널 서열을 결여하고 있는, 성숙한 단백질을 사용할 수 있는 것으로 이해되어야 한다.
- [0291] 바람직한 양태에서, 본 발명의 폴리펩타이드는, GLP1-R에 대해 EC_{50} 값이 0.1 nM 이하일 수 있다.
- [0292] 일부 양태들에서, 본 발명의 폴리펩타이드는, CCKB-R에 대해 EC_{50} 값이 100 nM 이하일 수 있다.
- [0293] 바람직한 양태에서, 본 발명의 폴리펩타이드는, CCKB-R에 대해 EC_{50} 값이 50 nM 이하일 수 있다.
- [0294] EC_{50} 값들은 실시예 4에 기술된 바와 같이 측정하여야 한다.
- [0295] 치료학적 용도들
- [0296] 본 발명의 펩타이드 접합체들의 용도들은 또한 이의 약제학적으로 허용되는 염들 또는 용매화물들의 용도들을 포함한다.
- [0297] 본 발명의 펩타이드 접합체들은 당뇨병, 특히 제1형 및/또는 제2형 당뇨병, 및 비만을 포함하는 대사 질병들 또는 질환들에 대한 매력적인 치료 선택을 제공할 수 있다.
- [0298] 당뇨병은 인슐린 분비, 인슐린 작용, 또는 이들 둘 다에 있어서의 결합들로부터 생성되는 고혈당증을 특징으로 하는 대사 질병들의 그룹을 포함한다. 당뇨병의 급성 신호들은 과도한 높 생산, 수득되는 보충적인 갈증 및 증가된 유체 섭취, 시력 저하, 설명되지 않는 체중 감소, 무기력, 및 에너지 대사에 있어서의 변화들을 포함한다. 당뇨병의 만성 고혈당증은 장기간의 손상, 기능장애, 및 일부 경우들에서 각종 기관들, 특히 눈들(주목할 만하게는 당뇨병성 망막증의 형태), 신장들(당뇨병성 신장증의 형태), 신경들(당뇨병성 신경병증의 형태), 심장 및 혈관들의 궁극적인 부전을 초래할 수 있는 거대- 및 미세혈관 합병증들과 관련되어 있다. 당뇨병은 병리학적 특성들을 기준으로 하여, 3개 부류들, 즉, 제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병 및 임신성 당뇨병으로 세분될 수 있다.
- [0299] 제1형 당뇨병은 모든 당뇨병 경우들의 5 내지 10%를 차지하며 인슐린을 분비하는 췌장 β -세포들의 자가-면역 파괴에 의해 유발된다.
- [0300] 제2형 당뇨병은 당뇨병 경우들의 90 내지 95%를 차지하며 대사 질환들의 복합 세트의 결과이다. 제2형 당뇨병

은 내인성 인슐린 생산의 결과 및/또는 진단적 한계점들(diagnostic thresholds) 이하의 혈당 수준을 유지하기에는 불충분하게 되는 전신 인슐린 민감성의 결과이다.

[0301] 임신성 당뇨병은 임신 동안에 확인된 당 과민증의 특정 정도를 말한다.

[0302] 전-당뇨병으로 공지된 병태 또한 인지된다. 이는 예를 들면, 상승된 절식 당 수준 및 손상된 당 내성을 포함하며, 일반적으로 혈당 수준이 상승되는 경우 발생하지만, 당뇨병에 대한 임상적 진단에 대해 확립되는 수준 이하인 상태들을 말한다.

[0303] 제2형 당뇨병 및 전-당뇨병을 지닌 대상체들의 많은 비율이 복부 비만(복부 내장 기관들 주변의 과도한 지방 조직), 죽상경화성 이상지질혈증(동맥 벽들내 플라크 축적(plaque build-up)을 조성하는 고 트리글리세라이드 수준, 저 HDL 콜레스테롤 수준 및/또는 고 LDL 콜레스테롤 수준을 포함하는 혈지방 질환들), 상승된 혈압(고혈압), 부혈전 병태(예를 들면, 혈액 속에서 고 피브리노겐 또는 플라스미노겐 활성인자 억제제-1 수준), 및 전염증 병태(예를 들면, 혈액 속에서 상승된 C-반응성 단백질 수준)를 포함하는 추가의 대사 위험 인자들의 높은 우세성으로 인하여 이환률(morbidity) 및 사망률의 위험이 증가되어 있다.

[0304] 역으로, 비만은 예를 들면, 전-당뇨병, 제2형 당뇨병, 특정 유형들의 암, 폐쇄성 수면 무호흡 및 방광병으로 발달하는 증가된 위험을 부여한다.

[0305] 이상지질혈증은 심혈관병의 증가된 위험과 관련되어 있다. 고밀도 지질단백질들(HDLs)은, 역 상관관계가 혈장 HDL 농도들과 죽상경화성 질병의 위험 사이에 존재하므로, 임상적으로 중요하다. 죽상경화성 플라크(plaque)들 속에 저장된 콜레스테롤의 대부분은 저밀도 지단백질들(LDL)로부터 기원하므로, LDL의 상승된 농도들은 죽상경화증과 밀접하게 관련되어 있다. HDL/LDL 비는 죽상경화증의 임상적 위험과 특히 관상 죽상경화증을 평가하기 위해 사용된 매개변수이다.

[0306] 어떠한 특수 이론에 얹메이지 않고, 본 발명의 웨타이드 접합체들은 GLP-1 수용체 효능제들의 생리학적 효과들을 상기 가스트린 웨타이드들의 효과들과, 관찰된 활성이 개개의 웨타이드 성분들의 상응하는 부가적인(접합되지 않은) 조합을 사용하는 경우 관찰된 것보다 유의적으로 더 클 수 있도록 하는 방식으로 예상치못하게 조합시킬 수 있는 것으로 여겨진다. 결과적으로, 본 발명의 웨타이드 접합체들은 췌도 β -세포 형성(섬 조직재생)을 촉진시킴으로써 혈당 농도들의 조절과 관련하여 유리하게 될, 인슐린 생산을 촉진하는 치료를 포함하는, 전-당뇨병, 당뇨병(주목할 만하게는 제1형 및/또는 제2형 당뇨병) 및 당뇨병-관련 병태들, 위에서 논의한 것들과 같은 질병들 또는 질환들의 치료에 특히 유리할 수 있는 것으로 여겨진다. 본 발명의 웨타이드 접합체들은 특히 제1형 및/또는 제2형 당뇨병에서 질병 진행을 제한하거나 정지시키는데 가치가 있을 수 있다.

[0307] 본 발명의 웨타이드들은 또한 췌도에서 β -세포들의 생존을 촉진하고 세포자멸사를 억제하는데 유용할 수 있다. GLP-1 및 가스트린의 효과들은 β -세포 증식 및 성숙에 있어서의 효과들뿐 아니라 β -세포 세포자멸사 및/또는 괴사의 예방 및 향상된 조직재생에서의 효과들도 포함하며, 따라서, 본 발명의 웨타이드들의 효과들은 이러한 효과들을 포함할 수 있고 개선된 인슐린 및 당 조절에 있어 이의 효과들을 포함할 수 있다.

[0308] 본 발명의 웨타이드 접합체들은 본원에 기술된 질병들, 질환들, 또는 병태들 중의 어느 하나의 치료를 위한 약제학적 제제들로서 유용할 수 있다. 예시적인 질병들, 질환들, 또는 병태들은 인슐린 내성, 당 과민증, 전-당뇨병, 상승된 혈당 수준(예를 들면, 상승된 절식 혈당 수준)들과 관련된 질병 병태들, 제1형 및/또는 제2형 당뇨병, 고혈당증, 위장병, 대사 증후군, 고혈압 및/또는 이상지질혈증(또는 이들 대사 위험 인자들의 조합), 죽상경화증, 동맥경화증, 관상심장병, 대혈관병들, 미세혈관병(microvascular disease), 말초동맥 질환, 뇌졸중, 암(예를 들면, 결장암), 염증성 창자병(IBD), 자극성 장 증후군(IBS), 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신장증, 및 신부전을 포함한다.

[0309] 예시적인 치료 효과들은 체중 증가를 방지하고/하거나, 체중 감소를 촉진하고/하거나, 과체중을 감소시키고/시키거나 복지 비만증을 포함하는 비만을 치료(예를 들면, 식욕, 금식, 식품 섭취, 열량 섭취 및/또는 에너지 소비의 조절에 의해), 및 또한, 비만-관련된 염증, 비만-관련된 담낭병 및 비만-유도된 수면성 무호흡을 포함하는 관련 질병들, 질환들 및 건강 상태들을 치료하는데 유용할 수 있다. 이들 상태들에 있어서 본 발명의 웨타이드 접합체들의 효과들은 체중에 있어서의 효과를 통해 전적으로 또는 부분적으로 조정될 수 있거나, 이와 독립적으로 이루어질 수 있다.

[0310] 약제학적 조성물들

[0311] 다음에서, 약제학적 조성물 속에 본 발명의 웨타이드 접합체 중의 하나 이상을 혼입시키는 것에 대한 참조는 또

한 본 발명의 웨타이드 접합체의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 혼입을 포함함이 이해될 것이다.

[0312] 본 발명의 웨타이드 접합체들은 저장과 함께 또는 저장없이 투여에 적합한 약제학적 조성물들로서 제형화될 수 있으며, 치료학적 유효량의 적어도 하나의 본 발명의 웨타이드 접합체와 함께 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 비히클(vehicle)을 전형적으로 포함한다.

[0313] 용어 "약제학적으로 허용되는 담체"는 표준 약제학적 담체들 중 어느 것을 포함한다. 치료학적 용도를 위한 약제학적으로 허용되는 담체들은 약제 분야에 잘 공지되어 있으며 예를 들면, 문헌[참조: "Remington's Pharmaceutical Sciences" 17th edition, Alfonso R. Gennaro(Ed.), Mark Publishing Company, Easton, PA, USA, 1985]에 기술되어 있다. 예를 들면, 약산성 또는 생리학적 pH에서의 멸균 염수 및 포스페이트-완충된 염수가 사용될 수 있다. 적합한 pH-완충제들은 예를 들면, 포스페이트, 시트레이트, 아세테이트, 트리스(하이드록시메틸)아미노메탄(TRIS), N-트리스(하이드록시메틸)메틸-3-아미노프로판설폰산(TAPS), 중탄산암모늄, 디에탄올아민, 히스티딘, 아르기닌, 라이신 또는 아세테이트(예를 들면, 아세트산나트륨), 또는 이들의 혼합물들일 수 있다. 당해 용어는 사람들을 포함하는, 동물들에서 사용하기 위한 미국 약전(US Pharmacopeia)에 나열된 어떠한 담체 제제들도 추가로 포함한다.

[0314] 본 발명의 약제학적 조성물은 단위 용량형일 수 있다. 이러한 형태에서, 당해 조성물은 활성 성분 또는 성분들의 적절한 양들을 함유하는 단위 투여량들로 분할될 수 있다. 단위 용량형은 포장된 제제로서 제공될 수 있으며, 당해 포장은 별도의 양들의 제제, 예를 들면, 바이알들 또는 앰플들 속의 포장된 정제들, 캡슐제들 또는 산제들을 함유한다. 단위 용량형은 또한 예를 들면, 캡슐제, 카쉐제(cachet) 또는 정제 자체일 수 있거나, 이는 적절한 수의 이를 포장된 형태들 중 어느 것일 수 있다. 단위 용량형은 또한 예를 들면, 액체 상(전형적으로 수성) 조성물을 함유하는 펜 장치(pen device)의 형태인 1회-투여량의 주사가능한 형태로 제공될 수 있다. 조성물들은 어떠한 적합한 경로 및 투여 수단을 위해서도 제형화될 수 있다. 약제학적으로 허용되는 담체들 또는 희석제들은 예를 들면, 경구, 유리체내, 직장, 질, 비강, 국소, 장 또는 비경구[피하(SC), 근육내(IM), 정맥내(IV), 피내 및 경피 포함] 투여 또는 흡입에 의한 투여에 적합한 제형들 속에 사용된 것들을 포함한다. 당해 제형들은 단위 용량형으로 편리하게 제공될 수 있으며 약제학적 제형 분야에 잘 공지된 방법들 중 어느 것에 의해서도 제조될 수 있다.

[0315] 피하 또는 경피 투여 방식들이 본 발명의 웨타이드 접합체들에 특히 적합할 수 있다.

[0316] 본 발명의 추가의 국면은 본 발명의 약제학적 제형들을 전달하는데 사용된 장치들, 용량형들 및 포장들에 관한 것이다. 따라서, 본원에 기술된 안정하거나 보존된 제형들 또는 액제들인 적어도 하나의 웨타이드 접합체 또는 명시된 일부 또는 변이체를 본 발명에 따라 환자에게 SC 또는 IM 주사; 경피, 폐, 경점막, 이식물, 삼투암 펌프, 카트리지(cartridge), 미세 펌프, 또는 당해 분야에 잘 공지된 것으로서, 숙련가에 의해 이식된 다른 수단을 포함하는 각종의 전달 방법들을 통해 투여될 수 있다.

[0317] 본 발명의 여전히 추가의 국면은 경구 제형들 및 투여에 관한 것이다. 경구 투여용 제형들은 장 벽(intestinal wall)들의 투과성을 인공적으로 증가시키기 위한 보조제들(예를 들면, 레소르시놀들 및, 폴리옥시에틸렌 올레일 에테르 및 n-헥사데실폴리에틸렌 에테르와 같은 비이온성 표면활성제들)의 동시-투여, 및 또한 효소적 분해를 억제하기 위한 효소 억제제들(예를 들면, 췌장 트립신 억제제들, 디이소프로필플루오로포스페이트(DFF) 및 트라실올)의 동시-투여에 의존할 수 있다. 경구 투여용 고체-형 용량형의 활성 성분 화합물은 슈크로즈, 락토즈, 셀룰로즈, 만니톨, 트레할로즈, 라피노즈, 말티톨, 엑스트란, 전분들, 아가(agar), 알기네이트들, 키틴들, 키토산들, 페틴들, 콜라겐, 카제인, 알부민, 합성 또는 반합성 중합체, 및 글리세라이드를 포함하는 적어도 하나의 침가제와 혼합될 수 있다. 이를 용량형들은 또한 다른 유형(들)의 침가제들, 예를 들면, 불활성 희석제, 스테아르산마그네슘과 같은 윤활제, 파라벤, 소르브산과 같은 방부제, 아스코르브산, 알파-토코페롤, 시스테인과 같은 항산화제들, 봉해제들, 결합제들, 증점제들, 완충제들, pH 조절제들, 감미제들, 풍미제들, 방향제들 등을 함유할 수 있다.

용량들

[0319] 본 발명의 내용에서 사용된 것으로서 본 발명의 웨타이드 접합체의 대표적인 용량은 1 내지 3회 용량들과 같은 하나 이상의 용량들로 투여된, 1일당 약 0.0001 내지 약 100 mg/kg의 체중, 예를 들면, 1일당 약 0.0005 내지 약 50 mg/kg의 체중, 예를 들면, 1일당 약 0.001 내지 약 10 mg/kg의 체중, 예를 들면, 1일당 약 0.005 내지 약 5 mg/kg의 체중, 예를 들면 1일당 약 0.01 내지 약 1 mg/kg의 체중, 예를 들면, 1일당 약 0.015 내지 약 0.1 mg/kg의 체중의 범위일 수 있다. 상기 일부 정도에 대해 이미 나타낸 바와 같이, 사용된 정확한 용량은 특

히 치료될 질병 또는 질환의 특성 및 중증도; 치료될 대상체의 성별, 연령, 체중 및 일반적인 상태; 치료중이거나 치료하게 될 가능하게는 다른, 수반된 질병 또는 질환; 및 또한 당해 분야의 의학적 숙련의에게 공지될 다른 인자들에 좌우될 것이다.

- [0320] 본 발명의 펩타이드 접합체는 동시에(예를 들면, 정맥내 투여 또는 다른 연속된 약물 투여 방법) 투여될 수 있거나, 대상체에게 간격을 두고, 전형적으로 일정 시간 간격들에서, 특수 대상체에 대해 숙련의가 선택한 바람직한 용량 및 약제학적 조성물에 따라 투여될 수 있다.
- [0321] 간격들을 두고 투여하는 정규의 투여는 특수 용량 제형, 생이용성, 및 펩타이드 접합체의 약력학적 프로파일에 따라서, 예를 들면, 1일 1회, 1일 2회, 매 2일, 3일, 4일, 5일 또는 6일마다 1회, 1주에 1회 또는 2회, 1개월에 1회 또는 2회, 또는 정규의 및 심지어 드문 투여 간격을 포함한다.
- [0322] 본 발명의 이러한 정규의 펩타이드 접합체 투여 요법들은 예를 들면, 만성의 장기간 투여 동안과 같은 특정 상황들하에서 유리하게는 시간 간격 동안 유리하게 중단함으로써 약물을 투여받는 대상체가 흔히, "약물 휴지기(drug holiday)"로 언급되는, 의약 섭취의 수준을 감소시키거나 중지하도록 할 수 있다. 약물 휴지기들은 예를 들면, 장기간의 만성 치료 동안 특히 약물에 대한 민감성을 유지하거나 회복하거나, 약물을 복용하는 대상체의 장기간의 만성 치료의 원치않는 부작용들을 감소시키는데 유용하다.
- [0323] 약물 휴지기의 시기조절은 정규의 투여 요법 및 약물 휴지기(예를 들면, 연속적인, 장기간 투여의 원치않는 부작용들을 감소시키고/시키거나 약물 민감성을 회복하기 위하여)를 고려할 목적의 시기조절에 의존한다. 일부 양태들에서, 약물 휴지기는 약물에 있어서의 감소(예를 들면, 특정 시간 간격 동안 치료학적 유효량 이하)일 수 있다. 다른 양태들에서, 약물의 투여는, 동시에 또는 상이한 투여 요법(예를 들면, 보다 낮거나 많은 투여량 및/또는 투여 빈도)에서, 투여가 다시 개시되기 전에 특정의 시간 간격 동안 중지된다.
- [0324] 따라서, 펩타이드 접합체는 각각의 약물 휴지기 상들에 의해 분리된 2개 이상의 투여 상들을 포함하는 투여 요법을 통해 전달될 수 있다.
- [0325] 각각의 투여 상 동안, 펩타이드 접합체는 수용 대상체에게 소정의 투여 방식에 따라 치료학적 유효량으로 투여된다. 투여 방식은 수용 대상체에게 투여 상의 기간에 걸쳐 약물의 연속적인 투여를 포함할 수 있다. 달리는, 투여 방식은 수용 대상체에게 펩타이드 접합체의 다수의 투여량들의 투여를 포함할 수 있으며, 여기서, 당해 투여량들은 투여 간격들에 의해 이격된다.
- [0326] 투여 방식은 투여 상 당 적어도 2회의 투여량들, 투여 상 당 적어도 5회의 투여량들, 투여 상 당 적어도 10회의 투여량들, 투여 상 당 적어도 20회의 투여량들, 투여 상 당 적어도 30회의 투여량들, 또는 그 이상을 포함할 수 있다.
- [0327] 상기 투여 간격들은 펩타이드 접합체의 특수 용량 제형, 생이용성, 및 약력학적 프로파일에 따라, 1일 1회, 1일 2회, 매 2일, 3일, 4일, 5일 또는 6일마다 1회, 주당 1회 또는 2회, 1개월당 1회 또는 2회, 또는 정규의 및 심지어 드문 빈도 투여량 간격을 포함하는, 위에서 설정된 바와 같을 수 있는, 정규의 투여 간격들일 수 있다.
- [0328] 투여 상은 적어도 2일, 적어도 1주, 적어도 2주, 적어도 4주, 적어도 1개월, 적어도 2개월, 적어도 3개월, 적어도 6개월 이상의 기간을 가질 수 있다.
- [0329] 투여 방식이 다수의 용량들을 포함하는 경우, 다음의 약물 휴지기 상의 기간은 이러한 투여 방식이 사용된 투여 간격보다 더 길다. 투여 간격이 불규칙적인 경우, 약물 휴지기 상의 기간은 투여 상의 과정에 걸쳐 투여량들 사이의 평균 간격보다 더 클 수 있다. 달리는, 약물 휴지기의 기간은 투여 상 동안의 연속된 투여들 사이의 최대로 긴 간격보다 더 길 수 있다.
- [0330] 약물 휴지기 상의 기간은 관련된 투여 간격의 기간(또는 이의 평균)보다 적어도 2배, 관련된 투여 간격의 기간 또는 이의 평균보다 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 10배, 또는 적어도 20배일 수 있다.
- [0331] 이들 제약(constraint)들내에서, 약물 휴지기 상은 앞선 투여상 동안 투여 방식에 따라 적어도 2일, 적어도 1주, 적어도 2주, 적어도 4주, 적어도 1개월, 적어도 2개월, 적어도 3개월, 적어도 6개월 이상의 기간을 가질 수 있다.
- [0332] 투여 요법은 적어도 2개의 투여 상들을 포함한다. 연속적인 투여 상들은 각각의 약물 휴지기 상들에 의해 분리된다. 따라서, 투여 요법은 각각의 약물 휴지기 상들에 의해 각각 분리된, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 10개, 적어도 15개, 적어도 20개, 적어도 25개, 또는 적어도 30개의 투여 상들, 또는 그 이상을 포

함할 수 있다.

[0333] 연속적인 투여 상들은, 비록 항상 바람직하거나 필수적이지 않다고 해도, 동일한 투여 방식을 이용할 수 있다. 그러나, 다른 약물들 또는 활성제들이 본 발명의 웹타이드 접합체와 함께 투여되는 경우, 전형적으로 약물들 또는 활성제들의 동일한 조합이 연속적인 투여 상들에서 제공된다. 특정 양태들에서, 수용 대상체는 사람이다.

조합 치료요법

[0335] 위에서 나타낸 바와 같이, 본 발명의 웹타이드 접합체에 대한 다음에서의 참조는 또한 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물 및 또한 본 발명의 하나 이상의 상이한 웹타이드 접합체를 포함하는 약제학적 조성물로 연장됨이 이해될 것이다.

[0336] 본 발명의 웹타이드 접합체는 해당 질병 또는 질환, 예를 들면 당뇨병, 비만, 대사 증후군, 이상지질혈증 또는 고혈압의 치료를 위한 다른 활성제와 함께 조합 치료요법의 부분으로서 투여될 수 있으며, 이러한 경우들에서, 2개의 활성제들은 함께 또는 별도로, 예를 들면, 동일한 약제학적 조성물 또는 제형 속의 성분들로서, 또는 별도의 제형들로서 제공될 수 있다.

[0337] 따라서, 본 발명의 웹타이드 접합체는 메트포르민, 설포닐우레아, 글리니드, DPP-IV 억제제, 글리타존, 또는 인슐린 또는 인슐린 유사체를 포함하나, 이에 한정되지 않는 공지된 유형의 항-당뇨병제와 함께 사용될 수 있다. 바람직한 양태에서, 본 발명의 웹타이드 접합체는 적절한 당 조절을 달성하기 위한, 인슐린 또는 이의 유사체, DPP-IV 억제제, 설포닐우레아 또는 메트포르민과 함께, 특히 설포닐우레아 또는 메트포르민과 함께 투여된다. 보다 바람직한 양태에서, 웹타이드 접합체는 적절한 당 조절을 달성하기 위한 인슐린 또는 인슐린 유사체와 함께 투여된다. 적절한 인슐린 유사체들의 예들은 LantusTM, NovorapidTM, HumalogTM, NovomixTM, ActraphaneTM HM, LevemirTM, DegludecTM 및 ApidraTM을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 이와 관련하여 다른 관련된 항-당뇨병제들은 GLP-1 수용체 효능제들, 예를 들면, 엑세나티드(ByettaTM; 엑센틴-4), 및 Byetta LARTM, 릭시세나티드(LyxumiaTM) 및 리라글루타이드(VictozaTM)를 포함한다.

[0338] 본 발명의 웹타이드 접합체는 웹타이드 YY 또는 이의 유사체, 뉴로웹타이드 Y(NPY) 또는 이의 유사체, 칸나비노이드 수용체 1 길항제, 리파제 억제제, 사람 프로슬렛 웹타이드(Human prosllet peptide: HIP), 멜라노코르틴 수용체 4 효능제, 리라글루티드, OrlistatTM 및 SibutramineTM 또는 멜라닌 농축 호르몬 수용체 1 길항제, CCK, 아밀린 또는 렙틴, 및 이의 유사체들을 포함하나, 이에 한정되지 않는 공지된 유형의 항-비만제와 함께 사용될 수 있다.

[0339] 본 발명의 웹타이드 접합체는 안지오텐신-전환 효소 억제제, 안지오텐신 II 수용체 차단제, 이뇨제, 베타-차단제 또는 칼슘 채널 차단제를 포함하나, 이에 한정되지 않는 공지된 유형의 항-고혈압제와 함께 추가로 사용될 수 있다.

[0340] 본 발명의 웹타이드 접합체는 스타틴, 피브레이트, 니아신 및/또는 콜레스테롤 흡수 억제제를 포함하나, 이에 한정되지 않는 공지된 유형의 항-이상지질혈증제와 함께 여전히 추가로 사용될 수 있다.

[0341] 본 발명의 웹타이드 접합체는 또한 OmeprazoleTM, LansoprazoleTM, DexlansoprazoleTM, EsomeprazoleTM, PantoprazoleTM, RabeprazoleTM, ZolpidemTM, AlpidemTM, SaripidemTM, 또는 NecopidemTM과 같은 벤즈이미다졸 유도체 유형 또는 이미다조피리딘 유도체 유형의 제제를 포함하나, 이에 한정되지 않는 공지된 유형의 단백질 펩트ide 억제제(즉, 억제제 H⁺/K⁺-ATPase로서 약리학적 활성을 지닌 약제학적 제제)와 함께 사용될 수 있다.

[0342] 본 발명의 웹타이드 접합체는 더욱이 베클로메타손, 메틸프레드니솔론, 베타메타손, 프레드니손, 텍사메타손, 및 하이드로코르티손과 같은 스테로이드들 및 코르티코스테로이드들;

[0343] 프로피온산 유도체들(예를 들면, 알미노프로펜, 베녹사프로펜, 부클록스산, 카르프로펜, 펜부펜, 페노프로펜, 플루프로펜, 플루르비프로펜, 이부프로펜, 인도프로펜, 케토프로펜, 미로프로펜, 나프록센, 옥사프로진, 피르프로펜, 프라노프로펜, 수프로펜, 티아프로펜산 및 티옥사프로펜); 아세트산 유도체들(예를 들면, 인도메타신, 아세메타신, 알클로페낙, 클리다낙, 디클로페낙, 펜클로페낙, 펜크로즈산, 펜티아작, 푸로페낙, 이부페낙, 이속세파, 옥스페낙, 술린낙, 티오피낙, 톨메틴, 지도메타신 및 조메피락); 폐남산 유도체들(예를 들면, 플루페남산, 메클로페남산, 메페남산, 니플룸산 및 톨페남산); 비페닐카르복실산 유도체들(예를 들면, 디플루니실 및 플루페

니살); 옥시캄들(예를 들면, 이속시캄, 피록시캄, 수독시캄 및 테녹시캄); 살리실레이트들(예를 들면, 아세틸살리실산 및 술파살라진); 및 피라졸론들(예를 들면, 아파존, 벤즈피페릴론, 페프라존, 메페부타존, 옥시펜부타존 및 페닐부타존)과 같은 비-스테로이드성 소염제들(NSAIDs);

[0344] 로페콕시브 및 셀레콕시브와 같은 COX II 억제제들; 인터페론 베타(예: 인터페론 베타-1a 또는 인터페론 베타-1b)의 제제들;

[0345] 및 5-아미노살리실산 및 전구약물들과 같은 특정의 다른 화합물들 및 이들의 약제학적으로 허용되는 염들을 포함하나, 이에 한정되지 않는 공지된 유형의 소염제와 함께 사용될 수 있다.

[0346] 메트포르민은 또한 소염 특성들을 가진 것으로 입증되어 왔으며[참조: Haffner et al., Diabetes 54: 1566-1572 (2005)] 자체로서 또한 본 발명의 내용에서 유용할 수 있다.

[0347] 다음 실시예들은 본 발명의 특정의 구체적인 양태들을 입증한다. 다음 실시예들은 달리 상세히 기술된 경우를 제외하고는, 잘 공지되어 있고 당해 분야의 숙련가들에게 통상적인 표준 기술들을 사용하여 수행하였다. 이들 실시예들은 단지 예시적인 목적들을 위한 것이며 본 발명의 조건들 또는 영역들로 전체적으로 한정하는 목적이 아님을 이해하여야 한다. 이와 같이, 이들은 어떠한 방식으로도 본 발명의 영역을 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다.

[0348] 실시예들에서 사용된 약어들은 다음을 포함한다:

[0349] NMP: N-메틸피롤리돈

[0350] DCM: 디클로로메탄

[0351] DMF: N,N-디메틸포름아미드

[0352] HATU: 2-(7-아자-1H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트

[0353] DIPEA: 디이소프로필에틸아민

[0354] EtOH: 에탄올

[0355] Et₂O: 디에틸 에테르

[0356] 8Ado: 8-아미노-3,6-디옥사옥타노일

[0357] 8Aoc: 8-아미노옥타노일

[0358] TFA: 트리플루오로아세트산

[0359] MeCN: 아세토니트릴

[0360] HPLC: 고 성능 액체 크로마토그래피

[0361] MS: 질량 분광분석법

[0362] IBMX: 3-이소부틸-1-메틸크산틴

[0363] BSA: 소 혈청 알부민

[0364] cAMP: 사이클릭 아데노신 모노포스페이트

[0365] DMEM: 둘째코 변형 이글 배지

[0366] FCS: 태아 소 혈청

[0367] HEPES: N-2-하이드록시에틸피페라진-N'-2-에탄설폰산

[0368] p-ERK: 포스포릴화된 세포외 조절된 키나제

[0369] PBS: 포스페이트-완충된 염수

[0370] Boc: t-부톡시카보닐

[0371] NEP: N-에틸피롤리돈

- [0372] 리라글루타이드: [Arg34, Lys26(헥사데카노일-아이소Glu)]GLP-1(7-37)
- [0373] **화합물들의 합성**
- [0374] **물질들 및 방법들**
- [0375] 달리 정의하지 않는 한, 다음에서 사용된 시약들 및 용매들은 표준 실험실 시약 또는 분석 등급으로 시판되었으며, 추가의 정제없이 사용하였다.
- [0376] 본 발명의 웨타이드 접합체들의 합성을 위한 일반적인 과정
- [0377] 고체 상 웨타이드 합성을 CEM 라이브러리 웨타이드 합성기에서 표준 Fmoc 화학을 사용하여 수행하였다. TentaGelTM S Ram 수지(1g; 0.25mmol/g)를 사용 전에 NEP(10ml) 속에 팽윤시키고 튜브와 반응 용기 사이에 DCM 및 NEP를 사용하여 이전시켰다. 적절한 경우, 웨타이드 합성 동안 응집을 최소화하기 위해 사용된 디웨타이드들인, 슈도프롤린들, 예를 들면, Fmoc-Phe-Thr(Ψ-Me,Me-Pro)-OH 및 Fmoc-Asp-Ser(Ψ-Me,Me-Pro)-OH를 사용하고, 비-천연 아미노산들(즉, Fmoc-8Ado-OH)을 일반적인 과정에 대해 어떠한 변화들없이 사용하였다.
- [0378] **커플링:**
- [0379] NEP/DMF/DCM(1:1:1; 0.2 M; 5 ml) 중 Fmoc-아미노산을 CEM 디스커버 극초단파 장치(Discover microwave unit) 속에서 HATU/DMF(0.5 M; 2 ml) 및 DIPEA/NEP (2.0M; 1ml)와 함께 수지에 가하였다. 커플링 혼합물을 75°C로 5분 동안 가열하면서 질소를 혼합물을 통해 버블링(bubbling)시켰다. 이후에, 수지를 NEP(4 x 10ml)로 세척하였다.
- [0380] **탈보호:**
- [0381] 피페리딘/NEP(1/4(4 파트들의 NEP에 대해 1 파트의 피페리딘을 나타냄); 10ml)를 초기 탈보호를 위해 수지에 가하고, 혼합물을 극초단파-가열(40°C; 30초)하였다. 반응 용기를 배수하고 피페리딘/NEP의 제2 부위(1/4; 10ml)를 가하고 다시 가열(75°C; 3분)하였다. 이후에, 수지를 NEP(6 x 10 ml)로 세척하였다.
- [0382] **분해:**
- [0383] 수지를 EtOH(3 x 10ml) 및 Et₂O(3 x 10ml)로 세척하고 실온(r.t.)에서 일정 중량으로 건조시켰다. 조 웨타이드를 수지로부터 TFA/TIS/H₂O(90/5/5; 40 ml; 2h; r.t.)로 처리하여 분해하였다. TFA의 대부분을 감압하에 제거하고, 조 웨타이드를 침전시키고 Et₂O로 3회 세척하여 실온에서 일정 중량으로 건조시켰다.
- [0384] **정제 및 특성화:**
- [0385] 조 웨타이드를 적합한 컬럼 및 분획 수집기가 장착되고 완충액 A(0.1% TFA, aq.) 및 완충액 B(0.1% TFA, 90% MeCN, aq.)의 구배를 사용하여 이동시키는 PerSeptive Biosystems VISION Workstation을 사용하는 제조 역 상 HPLC에 의해 90% 이상의 순도로 정제하였다.
- [0386] 분획들을 분석 HPLC 및 MS로 분석하고 관련된 분획들을 혼주(pooling)시키고 동결건조시켰다. 최종 생성물을 HPLC 및 MS에 의해 특성화하였다.
- [0387] **실시예 1: 화합물 2[Leu14,Lys25(헥사데카노일-아이소Glu)]액센딘-4(1-28)-8Ado-8Ado-[Leu4]가스트린6의 합성**
- [0388] [Leu14]액센딘-4(1-28)-8Ado-8Ado-[Leu4]가스트린6을 CEM 리버티 웨타이드 합성기에서 TentaGel S Ram 수지(1,13 g; 0.24 mmol/g) 및 Fmoc 화학을 사용하여 위에서 기술한 바와 같이 합성하였다. Fmoc-8-아미노-3,6-디옥사옥타노산(Fmoc-8Ado-OH) 및 또한 Fmoc-Lys(Dde)-OH를 아실화 부착점에서 사용하였다.
- [0389] 보호된 선형 웨타이드가 결합된 수지를 NMP(3x2분)로 세척하였다. 고체 상 부착된 웨타이드의 N-말단을 DCM(4ml) 중 Boc₂O(265mg) 및 DIPEA(47 μl)를 사용하여 Boc 보호하고 NMP(5x2min)로 세척하였다. 이후에, Dde 보호 그룹을 하이드라진 하이드레이트/NEP(4/96; 2x15min)를 사용하여 절단하고, 수지를 NMP(5x2min), DIEA/NMP (1/9; 3x5min) 및 NMP(8x2min)로 세척하였다. 합성을 위에서 기술한 바와 같은 CEM 리버티 웨타이드 합성기에서 Fmoc-Glu-OtBu 및 헥사데카노산을 사용하여 완료하였다.
- [0390] 웨타이드를 위에서 기술한 바와 같이 수지로부터 절단하고, 정제를 Gemini-NX 컬럼(5x25cm; 10 μm; C18) 위에서 완충액 A(0.1% TFA; aq.) 및 완충액 B(0.1% TFA; 90% MeCN; aq.)의 혼합물의 35 ml/분의 유동으로 수행하였다. 생성물을 30% 내지 65% 완충액 B로부터 47분에 걸쳐 선형 구배로 용출시키고, 분획들(9 ml)을 분획 수집기로 수

집하였다. 관련된 분획들을 분석적 HPLC 및 MS로 분석하고, 혼주시키고 동결건조시켜 백색 분말(39mg)을 수득하였고, 이는 분석적 HPLC에 의해 81% 순도인 것으로 분석되었다. 질량은 MS에 의해 측정한 것으로서 4655.53 Da(계산치: 4655.44 Da)이었다.

[0391] **실시예 2: 화합물 6[Cys16(비오틴-Mal),Leu14]엑센딘-4(1-28)-8Ado-8Ado-[Leu4]가스트린6의 합성**

[0392] [Cys16,Leu14]엑센딘-4(1-28)-8Ado-8Ado-[Leu4]가스트린6을 2 부위들의 TentaGel S Ram 수지(1.12 g; 0.25 mmol/g)를 사용하는 CEM 리버티 웨بت아이드 합성기 및 Fmoc-Phe-Thr(Ψ -Me,Me-Pro)-OH 및 Fmoc-8-아미노-3,6-디옥사옥타노산(Fmoc-8Ado-OH)을 사용하는 위에서 기술한 바와 같은 Fmoc 화학을 사용하여 합성하였다. 당해 웨بت아이드를 위에서 기술한 바와 같이 수지(부위 1번)로부터 절단하였다.

[0393] 정제 1번: 수지 1번으로부터 조 웨بت아이드를 완충액 A(0.1% TFA; aq.) 및 완충액 B(0.1% TFA; 90% MeCN; aq.)의 혼합물의 35 ml/min의 유동을 사용하는 Gemini-NX 컬럼(5x25 cm; 10 μ m; C18)에서 정제하였다. 생성물을 30% 내지 65% 완충액 B로부터의 선형 구배로 47분에 걸쳐 용출시키고, 분획들(9 ml)을 분획 수집기로 수집하였다. 관련된 분획들을 분석적 HPLC 및 MS로 분석하고, 혼주시키고 동결건조시켜 백색 분말(90 mg)을 수득하였고, 이는 분석적 HPLC에 의해 68% 순도인 것으로 분석되었다.

[0394] 정제 2번: 정제 1번으로부터의 생성물을 완충액 A(0.1% TFA; aq.) 및 완충액 B(0.1% TFA; 90% MeCN; aq.)의 혼합물의 4 ml/min의 유동을 사용하는 Gemini-NX 컬럼(10mm x 25cm; 5 μ m; C18)에서 정제하였다. 생성물을 30% 내지 60%의 완충액 B로부터의 선형 구배로 47분에 걸쳐 용출시키고, 분획들(2ml)을 분획 수집기로 수집하였다. 관련된 분획들을 분석적 HPLC 및 MS로 분석하고, 혼주시키고 동결건조시켜 백색 분말(25 mg)을 수득하였고, 이는 분석적 HPLC에 의해 91% 순도인 것으로 분석되었다.

[0395] 정제 3번: 수지 2번으로부터의 조 웨بت아이드를 완충액 A(0.1% TFA; aq.) 및 완충액 B(0.1% TFA; 90% MeCN; aq.)의 혼합물의 35ml/min의 유동을 사용하는 Gemini 컬럼(5 x 25cm; 10 μ m; C18)에서 정제하였다. 생성물을 30% 내지 65%의 완충액 B로부터의 선형 구배로 47분에 걸쳐 용출시키고, 분획들(9ml)을 분획 수집기로 수집하였다. 관련된 분획들을 분석적 HPLC 및 MS로 분석하고, 혼주시키고 동결건조시켜 백색 분말(129 mg)을 수득하였고, 이는 분석적 HPLC에 의해 74% 순도인 것으로 분석되었다.

[0396] 정제 4번: 정제 2번 및 3번으로부터의 조합된 생성물들을 완충액 A(0.1% TFA; aq.) 및 완충액 B(0.1% TFA; 90% MeCN; aq.)의 혼합물의 4 ml/min의 유동을 사용하는 Gemini-NX 컬럼(10mm x 25cm; 5 μ m; C18)에서 정제하였다. 생성물을 30% 내지 55%의 완충액 B로부터의 선형 구배로 47분에 걸쳐 용출시키고, 분획들(2ml)을 분획 수집기로 수집하였다. 관련된 분획들을 분석적 HPLC 및 MS로 분석하고, 혼주시키고 동결건조시켜, 분석적 HPLC에 의해 73% 순도인 것으로 분석된 백색 분말(32 mg) 및 분석적 HPLC에 의해 62% 순도인 것으로 분석된 또 다른 백색 분말(100mg)을 수득하였다.

[0397] 정제 5번: 정제 4번으로부터의 조합된 생성물들을 완충액 A(0.1% TFA; aq.) 및 완충액 B(0.1% TFA; 90% MeCN; aq.)의 혼합물의 4 ml/min의 유동을 사용하는 Gemini-NX 컬럼(10mm x 25cm; 5 μ m; C18)에서 정제하였다. 생성물을 30% 내지 55%의 완충액 B로부터의 선형 구배로 47분에 걸쳐 용출시키고, 분획들(2ml)을 분획 수집기로 수집하였다. 관련된 분획들을 분석적 HPLC 및 MS로 분석하고, 혼주시키고 동결건조시켜 백색 분말(30 mg)을 수득하였으며, 이는 분석적 HPLC에 의해 90% 순도인 것으로 분석되었다. 질량은 MS에 의해 측정된 것으로서 4320.24 Da(계산치: 4320.12 Da)이었다.

[0398] 접합: 정제 5번으로부터의 생성물을 PBS 완충액(6 ml; pH 7.4) 속에 용해시켜 혼탁한 용액(pH 6.2)을 수득하였다. 비오틴-말레이미드(10.7mg)를 DMSO(1.1ml) 속에 용해하고 웨بت아이드 용액에 가하였다. 반응을 분석적 HPLC로 모니터링하고 3시간 후 완충액 A(0.1% TFA; aq.) 및 완충액 B 60 55% 완충액 B의 혼합물의 4ml/min 유동으로 47분에 걸쳐 Gemini-NX 컬럼(10 mm x 25 cm; 5 μ m; C18)을 사용하여 정제하고, 분획들(2ml)을 분획 수집기로 수집하였다. 관련된 분획들은 분석적 HPLC 및 MS로 분석하고, 혼주시키며 동결건조시켜 백색 분말(18 mg)을 수득하였고, 이는 분석적 HPLC에 의해 84% 순도인 것으로 분석되었다. 질량은 MS에 의해 측정된 것으로서 4771.35 Da(계산치: 4771.31 Da)이었다.

[0399] **실시예 3: 화합물 9 [Glu9,Leu14,Phe25,Tyr13]엑센딘-4(1-27)-QQ-[Leu4]가스트린6의 합성**

[0400] 웨بت아이드를 TentaGel S Ram 수지(1.10g; 0.25mmol/g)를 사용하는 CEM 리버티 웨بت아이드 합성기 및 Fmoc-Phe-Thr(Ψ -Me,Me-Pro)-OH를 사용하는 위에서 기술한 바와 같은 Fmoc 화학으로 합성하였다. 웨بت아이드를 위에서 기술한 바와 같이 수지로부터 절단하였다. 조 웨بت아이드를 완충액 A(0.1% TFA; aq.) 및 완충액 B(0.1% TFA; 90% MeCN; aq.)의 혼합물의 35ml/min 유동으로 Gemini-NX 컬럼(5x25cm; 10 μ m; C18)에서 정제하였다. 생성물을 20%

내지 50% 완충액 B로부터의 선형 구배로 47분에 걸쳐 용출시키고, 분획들(9m1)을 분획 수집기로 수집하였다. 관련된 분획들을 분석적 HPLC 및 MS로 분석하고, 혼주시기며 동결건조시켜 백색 분말(137 mg)을 수득하였으며, 이는 분석적 HPLC에 의해 78% 순도인 것으로 분석되었다. 질량은 MS에 의해 측정된 것으로서 4208.11Da(계산치: 4208.09 Da)이었다.

[0401] 실시예 4: 본 발명의 펩타이드 접합체들에 의한 시험관내 GLP-1 수용체 및 가스트린 CCK-B 수용체의 활성화 (EC₅₀)

물질들 및 방법들

사람 GLP-1 수용체 (GLP-1R) 효능 검정:

본 발명의 펩타이드 접합체들의 시험관내 효과들은 GLP-1(7-36), 엑센딘-4(1-39) 또는 본 발명의 접합체들에 의한 수용체의 자극 후에 FlashPlate™ cAMP 키트(제조원: Perkin-Elmer)를 사용하여 cAMP의 유도를 측정함으로써 평가하였다. 요약하면, 사람 GLP-1R(GLP-1R에 대한 cDNA의 형질감염 및 안정한 클론들의 선택을 통해 생성된 안정한 세포주)을 발현하는 HEK293 세포들을 0.01% 폴리-L-라이신이 피복된 96-웰 미세역가플레이트들 속에서 40,000개의 세포들/웰(well)로 씨딩(seeding)하고, 100 μl의 성장 배지[DMEM, 10% FCS, 폐니실린(100 IU/ml), 스트렙토마이신(100 μg/ml)] 속의 배양물 속에서 1일 동안 성장시켰다. 분석 당일에, 성장 배지를 제거하고 세포들을 200 μl의 타이로드 완충액[타이로드 염들(9.6 g/l), 10mM HEPES, pH 7.4]으로 1회 세척하였다. 세포들을 증가하는 농도들의 시험 화합물들, 100 μM IBMX, 및 0.1% BSA를 함유하는 100 μl의 타이로드 완충액 속에서 37°C에서 15분 동안 항온처리하였다. 반응을 25 μl의 0.5M HC1을 첨가하여 중지시키고 냉장에서 60분 동안 항온처리하였다. 추가의 방법론적 세부사항들에 대해서는, 제WO 2008/152403호를 참조한다.

CCK-B 수용체 (CCK-B R) 효능 검정:

본 발명의 펩타이드 접합체들의 시험관내 효과들 및 대조군 가스트린17 유사체[Leu15]가스트린17을, 사람 CCK-B R(고친화성 가스트린 수용체; CCK-B R에 대한 cDNA의 형질감염 및 안정한 클론의 선택을 통해 생성된 안정한 세포주)을 안정하게 발현하는 HEK293 세포들 속에서 p-ERK(AlphaScreen™ SureFire p-ERK 검정을 사용함)를 측정함으로써 평가하였다. 가스트린 수용체 효능 검정들(AlphaScreen™ SureFire p-ERK 검정)을 다음과 같이 수행하였다: 1일째에, CCK-B R을 발현하는 세포들을 폴리-D-라이신으로 피복된 96-웰 플레이트 속에서 100 μl 성장 배지[DMEM, 10% FCS, 폐니실린(100 IU/ml), 스트렙토마이신(100 μg/ml)] 속에서 20,000개의 세포들/웰로 씨딩하였다. 세포들을 항온처리기(37°C, 5% CO₂) 속에서 2일 동안 항온처리하였다. 이후에, 성장 배지를 웰당 80 μl의 혈청-유리된 배지[DMEM, 폐니실린(100 IU/ml), 스트렙토마이신(100 μg/ml)]로 변경하고, 세포들의 항온처리를 항온처리기 속에서 밤새 지속하였다. 분석 당일에, 증가하는 농도들의 화합물들을 20 μl의 혈청 유리된 배지 속에 가하고, 세포들을 5분 동안 실온에서 항온처리하였다. 자극 배지를, 플레이트를 거꾸로 신속하게 엎어서 버리고, 60 μl의 1x 분해 완충액(SureFire 검정 키트로부터)을 웰당 가하였다. 추가의 세부사항들에 대해서는 제WO 2011/134471호를 참조한다.

본 발명의 펩타이드 접합체들을 위에서 기술한 검정들(즉, 사람 GLP-1 R 활성화 효능, 사람 CCK-B R 활성화 효능)에서 시험하였다.

엑센딘-4(1-39)를 사람 GLP-1 수용체(hGLP-1 R) 활성화 검정에서 양성 대조군으로 사용하고, h[Leu15]가스트린 17을 사람 CCK-B 수용체(hCCK-B R) 활성 검정에서 양성 대조군으로 사용하였다.

결과들(EC₅₀ 값들, nM)을 하기 표 1에 요약한다.

표 1

hGLP-1 R 및 hCCK-B R의 활성화시 본 발명의 화합물들(펩타이드 접합체들)의 시험관내 활성들(EC₅₀, nM).

| 화합물 번호 | hGLP-1 R EC ₅₀ (nM) | hCCK-B R EC ₅₀ (nM) |
|--------|--------------------------------|--------------------------------|
| | 0.017 | |
| | | 2.89 |
| 1 | 0.048 | 30 |
| 2 | 0.094 | 7.4 |
| 3 | 0.058 | 38 |

| | | |
|----|-------|-----|
| 4 | 0.14 | 10 |
| 5 | 0.024 | 5.0 |
| 6 | 0.038 | 5.8 |
| 7 | 0.88 | 29 |
| 8 | 0.80 | 21 |
| 9 | 0.093 | 18 |
| 10 | 0.069 | 13 |
| 11 | 0.098 | 59 |
| 12 | 0.13 | 23 |
| 13 | 0.29 | 75 |
| 14 | 0.11 | 28 |
| 15 | 0.17 | 30 |
| 16 | 0.11 | 45 |
| 17 | 0.19 | 85 |
| 18 | 0.062 | 18 |
| 19 | 0.045 | 13 |
| 21 | 0.052 | 94 |
| 22 | 0.085 | 31 |
| 23 | 0.094 | 18 |
| 38 | 0.037 | 61 |
| 40 | 0.37 | 133 |

[0411] 결과들

[0412] 상기 표 1에 요약한 결과들은, 본 발명의 펩타이드 접합체들이 해당하는 2개의 수용체들의 강력한 효능제들이며, 이들은 매우 유사한 수준의 활성을 나타냄을 나타낸다.

[0413] 실시예 5: 마우스들에서 선택된 화합물들의 약동학(PK)

[0414] 방법

[0415] C57BI L/6J 마우스들에게 시험할 각각의 펩타이드 100 nmol/kg의 1회 피하 투여량을 제공하였다. 혈액 시료들을 5분 및 30분 및 1, 2, 4, 6, 16 및 24 시간 후에 취하였다. 각각의 시점에서, 2마리의 마우스들로부터의 시료들을 취하였다. 마우스들을 혈액 시료채취 직후 경추 탈골에 의해 희생시켰다. 혈장 시료들을 고체 상 추출(SPE) 후 액체 크로마토그래피 질량 분광분석법(LC-MS/MS)으로 분석하였다.

표 2

[0416] 마우스들에서 100nmol/kg의 피하 투여 후 $T_{1/2}$

| 화합물 | $T_{1/2}(h)$ |
|-----|--------------|
| 7 | 6.2 |
| 12 | 5.0 |
| 18 | 4.1 |
| 19 | 2.4 |
| 22 | 8.2 |
| 23 | 6.7 |

[0417] 실시예 6: 생체내 db/db 마우스 연구에서 3주

[0418] db/db 마우스 모델을 미리 사용하여 잠재적인 치료학적 후보물들의 β -세포 보존 효과들을 평가하였다[참조: Rolin, B. et al., *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 283: E745-E752(2002)]. 수개의 연구들은 체장 인슐린 함량과 β -세포 질량 사이의 상관관계를 입증하여 왔다[참조: Rolin, B. et al. (loc.cit.); Suarez-Pinzon, W.L. et al., *Diabetes* 54: 2596-2601(2005); Suarez-Pinzon W.L. et al., *Diabetes* 57: 3281-3288(2008)].

[0419] 치료

[0420] Db/db 마우스들을 HbA1c 수준에 따라 다양한 치료 그룹들로 계층화하였다. 마우스들을 1일 1회 피하(SC) 주사들로 총 21일 동안 치료하였다. 주사 용적은 5 ml/kg이었다. 연구 동안에 체중들(BW)을 매일 기록하고 펩타이드의 체중 교정된 투여량들을 투여하는데 사용하였다.

[0421] OGTT

[0422] 16일째에, 경구 당 내성 시험을 동물들에서 수행하였다. 혈당을 당 투여 전($t = 0$ 에서, 기본선) 및 2시간 까지의 당 투여 후 측정하였다.

[0423] 종결

[0424] 혈당 수준을 측정한 말기에, 혈액 시료들을 HbA1c 수준에 대해 분석하였다.

[0425] 측정들

[0426] 전체 혈당 농도(mM)를 고정된 글루코스 옥시다제 방법[제조원: 덴마크 바이에르(Bayer) 소재의 Elite Autoanalyser]으로 측정하였다. 혈액 시료들을 HbA1c에 대해 Cobas c111 분석기[제조원: 독일 만하임(Mannheim) 소재의 Roche Diagnostics]를 사용하여 분석하였다.

[0427] 결과들

[0428] 엑센딘-가스트린 이중 효능제들 화합물 18 및 화합물 23 둘다는 16일 치료 후 절식 혈당 수준을 저하시켰다. 화합물 18은 절식 혈당 수준을 화합물 23보다 더 큰 정도로 저하시켰다. 화합물들 둘다는 화합물들 사이의 유의적인 차이없이 3주 치료 후 HbA1c의 혈장 수준을 저하시켰다[쌍을 이루지 않은 2-테일드 t-시험(un-paired two-tailed t-test)].

[0429] 화합물 18 및 화합물 23 둘다는 16일째 경구 당 챌린지(oral glucose challenge) 후 당 농도 곡선(AUC)하 영역을 저하시켰으며(표 3), 여기서, 화합물 18은 당 농도를 화합물 23보다 더 큰 정도로 저하시켰다.

[0430] 최종적으로, 화합물 18 및 화합물 23 둘다는 연구의 3주 과정 동안에 체중 증가를 저하시켰으며(표 3), 여기서, 화합물 18은 화합물 23보다 더 큰 정도로 체중 증가를 저하시켰다.

표 3

[0431] 3주간의 생체내 db/db 연구 결과들

| | 델타-HbA1c (%) | OGTT, AUC (nM [*] min) | 델타-BW (g) | 절식 BG 수준(mM) |
|--------|--------------|---------------------------------|-----------|--------------|
| 비히클 | - | - | - | - |
| 화합물 18 | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 화합물 23 | +++ | ++ | ++ | ++ |

[0432] 표 3에 대한 범례들:

[0433] **델타-HbA1c:** db/db 마우스들의 21일 치료 후 델타-HbA1c(%) 수준(연구 초기의 HbA1c의 수준으로부터 감한 말기의 HbA1c의 수준)에 있어서 비히클, 화합물 18(100 nmol/kg) 및 화합물 23(100 nmol/kg)의 효과. 데이터는 평균과 SEM(n=11/그룹)으로서 제공된다. (-)는 0.5% 초과의 델타-HbA1c 수준을 나타내고, (+)는 0.25% 내지 0.5% 사이의 델타-HbA1c 수준을 나타내며, (++)는 0% 내지 0.25% 사이의 델타-HbA1c 수준을 나타내고, (+++)는 0% 미만의 델타-HbA1c 수준을 나타낸다.

[0434] **곡선하 OGTT 면적(AUC):** 치료 16일 후 db/db 마우스들에서 당 부하(glucose load) 후 곡선하 면적(AUC)에 의해 측정된 것으로서 당 내성에 있어서 비히클, 화합물 18(100nmol/kg) 및 화합물 23(100nmol/kg)의 SC 투여의 효과. 데이터는 평균과 SEM(n=11/그룹)으로서 제공된다. (-)는 3000mM^{*} min 초과의 OGTT AUC를 나타내고, (+)는 2000 내지 3000 mM^{*} min 사이의 OGTT AUC를 나타내며, (++)는 1000 내지 2000M^{*} min 사이의 OGTT AUC를 나타내고, (+++)는 1000 mM^{*} min 미만의 OGTT AUC를 나타낸다.

[0435] **델타-BW:** db/db 마우스들의 21일 치료 후 델타-BW(g) 수준(연구 개시 시의 BW로부터 감한 말기에서의 BW)에 있어서 비히클, 화합물 18(100 nmol/kg) 및 화합물 23(100 nmol/kg)의 SC 투여의 효과. 데이터는 평균과

SEM(n=9-11/그룹)으로 나타낸다. (-)는 8g 초과의 델타 BW를 나타내고, (+)는 6 내지 8g 사이의 델타 BW를 나타내며, (++)는 4 내지 6g 사이의 델타 BW를 나타내고, (+++)는 4g 미만의 델타 BW를 나타낸다.

[0436] **절식된 BG:** db/db 마우스들의 16일 치료 후 절식 혈당(mM) 수준에 있어서 비히클, 화합물 18(100 nmol/kg) 및 화합물 23(100 nmol/kg)의 SC 투여의 효과. 데이터는 평균과 SEM(n=11/그룹)으로 제공된다. (-)는 12 mM 초과의 절식된 BG를 나타내고, (+)는 8 내지 12 mM 사이의 절식된 BG를 나타내며, (++)는 6 내지 8 mM 사이의 절식된 BG를 나타내고, (+++)는 6 mM 미만의 절식된 BG를 나타낸다.

[0437] **실시예 7: 생체내 db/db 마우스 연구: 4주 치료 후 2주의 약물 휴지기**

치료

[0439] Db/db 마우스들을 HbA1c 수준에 따른 각종 치료 그룹들로 계층화하였다. 마우스들을 1일 1회 피하(SC) 주사들로 총 4주 동안 치료한 후, 이들에게 비히클을 2주 동안 투여하였다. 주사 용적은 5 ml/kg이었다. 연구 동안 체중들(BW)을 매일 기록하고 펩타이드의 체중-교정된 투여량들을 투여하는데 사용하였다.

OGTT

[0441] 3주 및 5주 후, 경구 당 내성 시험을 동물들에서 수행하였다. 혈당을 당 투여 전(t = 0에서, 기본선) 및 2시간 까지 당 투여 후 측정하였다.

측정들

[0443] 전혈 당 농도(mM)를 고정된 글루코즈 옥시다제 방법(제조원: 덴마크 바이예르 소재의 Elite Autoanalyser)으로 측정하였다.

결과들

[0445] 엑센딘-가스트린 이종 효능제 화합물 18은 비히클과 비교하여 3주 치료 후 절식 혈당 수준을 저하시켰다. 화합물 18은 등물 투여량들에서 절식된 혈당 수준을 리라글루타이드보다 더 큰 정도로 저하시켰다(참조: 도 1). 4주 처리에 이은 1주의 약물 휴지기(비히클 투여) 후, 화합물 18은 비히클과 비교하여 절식 혈당 수준을 유의적으로 저하시켰다. 화합물 18은 등물 투여량들에서 절식된 혈당 수준을 리라글루타이드보다 더 큰 정도로 감소시켰다(참조: 도 2).

[0446] 화합물 18은 3주 치료 후 경구 당 챠린지 후 당 농도 곡선하 면적(AUC)을 저하시켰으며, 여기서, 화합물 18은 리라글루타이드가 했던 것보다 더 큰 정도로 당 농도 곡선(AUC)을 저하시켰다(참조: 도 3).

[0447] 4주 치료에 이은 1주 약물 휴지기(비히클 투여) 후에, 화합물 18은 비히클과 비교하여 경구 당 챠린지 후 당 농도 곡선하 면적(AUC)을 유의적으로 저하시켰다(참조: 도 4). 화합물 18은 등물 투여량들에서 리라글루타이드가 했던 것보다 더 큰 정도로 당 농도 곡선(AUC)을 저하시켰다.

[0448] 최종적으로, 화합물 18은 연구 4주 과정 동안 체중 증가를 감소시켰으며, 여기서, 화합물 18은 등물 투여량들에서 리라글루타이드보다 더 큰 정도로 체중을 감소시켰다(참조: 도 5).

[0449] **실시예 8: 생체내 ZDF 랫트 연구: 6주 치료**

치료

[0451] ZDF 랫트들을 HbA1c 수준에 따라 다양한 치료 그룹들로 계층화하였다. 랫트들을 총 6주 동안 1일에 2회씩 피하(SC) 주사들로 치료하였다. 주사 용적은 5 ml/kg이었다. 연구 동안, 체중들(BW)을 매일 기록하고 펩타이드의 체중-교정된 투여량들을 투여하는데 사용하였다.

OGTT

[0453] 5주 후, 경구 당 내성 시험을 동물들에서 수행하였다. 혈당을 당 투여 전(t = 0, 기본선) 및 2시간까지 당 투여 후 측정하였다.

종결

[0455] 종결 시 혈액 시료들을 HbA1c 수준에 대해 분석하였다.

측정들

[0457] 전혈 당 농도(mM)를 고정된 글루코즈 옥시다제 방법(제조원: 덴마크 바이예르 소재의 Elite Autoanalyser)으로

측정하였다.

[0458] 혈액 시료들을 HbA1c에 대해 Cobas c111 분석기(제조원: 독일 만하임 소재의 Roche Diagnostics)를 사용하여 분석하였다.

결과들

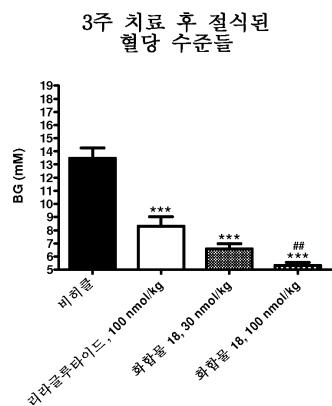
[0460] 엑센틴-가스트린 이중 효능제 화합물 18은 비히클과 비교하여 5주 치료 후 절식 혈당 수준을 저하시켰다. 화합물 18은 등몰 투여량들에서 리라글루타이드가 했던 것보다 더 큰 정도로 절식 혈당 수준을 저하시켰다(참조: 도 6).

[0461] 화합물 18은 5주 치료 후 경구 당 챌린지 후 당 농도 곡선하 면적(AUC)을 저하시켰으며, 여기서, 화합물 18은 리라글루타이드가 했던 것보다 더 큰 정도로 당 농도 곡선(AUC)을 저하시켰다(참조: 도 7).

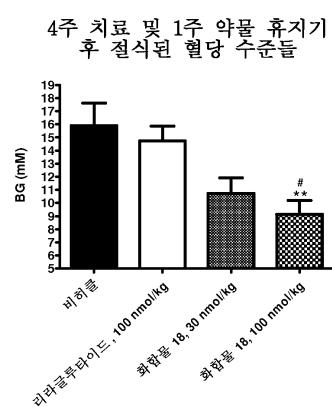
[0462] 6주 치료 후, 화합물 18은 비히클과 비교하여 HbA1c 수준을 유의적으로 저하시켰다. 화합물 18은 등몰 투여량들에서 리라글루타이드가 했던 것 보다 더 큰 정도로 HbA1c 수준을 저하시켰다(참조: 도 8).

도면

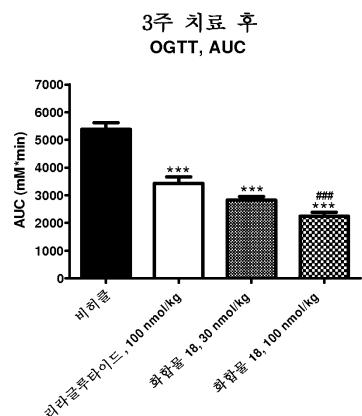
도면1



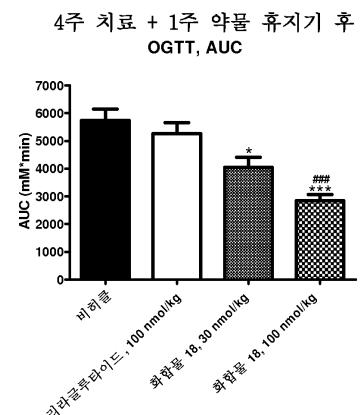
도면2



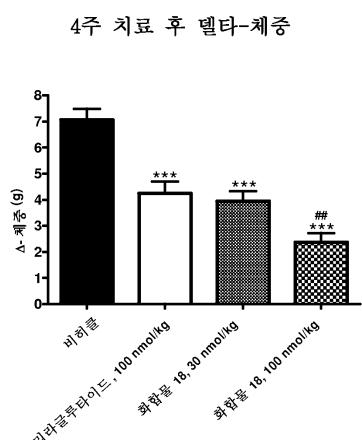
도면3



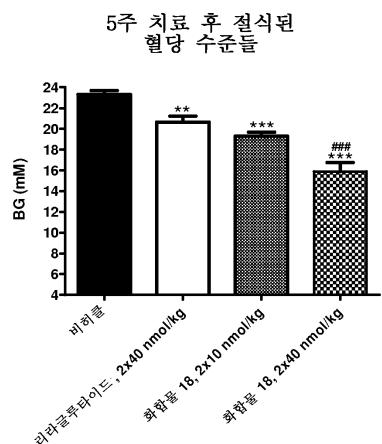
도면4



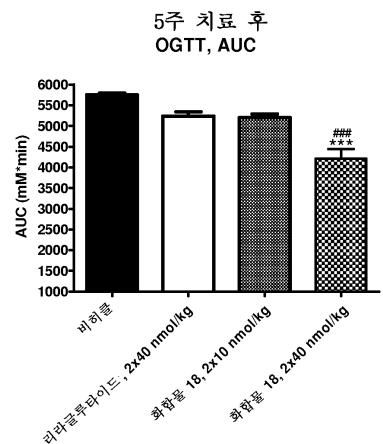
도면5



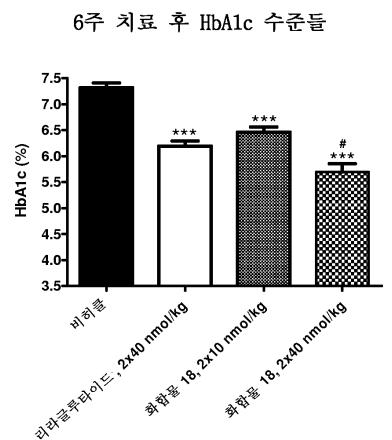
도면6



도면7



도면8



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> ZEALAND PHARMA A/S

<120> GLP-1 RECEPTOR AGONIST PEPTIDE GASTRIN CONJUGATES

<130> GRF/FP6855456

<150> US 61/555,435

<151> 2011-11-03

<160> 60

<170> Kopatent In 1.71

<210> 1

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula I of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> 29, 31

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<220><221> SITE

<222> (30)..(30)

<223> Lys(hexadecanoyl - isoGlu)

<400> 1

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

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Lys Xaa Tyr

20 25 30

Gly Trp Leu Asp Phe

35

<210> 2

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula I of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (25)..(25)

<223> Lys(hexadecanoyl - isoGlu)

<220><221> SITE

<222> (29)..(30)

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<400> 2

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Leu Asp Phe

35

<210> 3

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula I of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (16)..(16)

<223> Lys(hexadecanoyl - isoGlu)

<220><221> SITE

<222> (29)..(30)

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<400> 3

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Leu Asp Phe

35

<210> 4

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula I of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> 29, 31

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<220><221> SITE

<222> (30)..(30)

<223> Cys (Biotin-Mal)

<400> 4

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

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Cys Xaa Tyr

20 25 30

Gly Trp Leu Asp Phe

35

<210> 5

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula I of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (25)..(25)

<223> Cys (Biotin-Mal)

<220><221> SITE

<222> (29)..(30)

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<400> 5

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

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Cys Leu Lys Asn Xaa Xaa Tyr Gly

20 25 30

Trp Leu Asp Phe

35

<210> 6

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula I of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (16)..(16)

<223> Cys (Biotin-Mal)

<220><221> SITE

<222> (29)..(30)

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<400> 6

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

| | | | |
|---|---|----|----|
| 1 | 5 | 10 | 15 |
|---|---|----|----|

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

| | | |
|----|----|----|
| 20 | 25 | 30 |
|----|----|----|

Trp Leu Asp Phe

35

<210> 7

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula I of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (25)..(25)

<223> Lys(hexadecanoyl - isoGlu)

<220><221> SITE

<222> (28)..(29)

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<400> 7

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

| | | | |
|---|---|----|----|
| 1 | 5 | 10 | 15 |
|---|---|----|----|

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Lys Leu Lys Xaa Xaa Tyr Gly Trp

| | | |
|----|----|----|
| 20 | 25 | 30 |
|----|----|----|

Leu Asp Phe

35

<210> 8

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula I of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (25)..(25)

<223> Lys(hexadecanoyl - isoGlu)

<220><221> SITE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<400> 8

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Lys Leu Lys Xaa Gln Gln Tyr Gly

20 25 30

Trp Leu Asp Phe

35

<210> 9

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<400> 9

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Gln Gln Tyr Gly Trp

20 25 30

Leu Asp Phe

35

<210> 10

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<400> 10

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Gln Gln Glu Ala Tyr

20 25 30

Gly Trp Leu Asp Phe

35

<210> 11

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<400> 11

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Xaa Gln Gln Tyr Gly

20 25 30

Trp Leu Asp Phe

35

<210> 12

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<400> 12

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asp Tyr Gly Trp Leu

20 25 30

Asp Phe

<210> 13

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<400> 13

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Leu Asp Phe

35

<210> 14

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<400> 14

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Leu Asp Phe

35

<210> 15

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is 8-aminoctanoyl

<400> 15

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Xaa Tyr Gly Trp Leu

20 25 30

Asp Phe

<210> 16

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<400> 16

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Phe

<210> 17

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<400> 17

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Phe

<210> 18

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (29)..(30)

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<400> 18

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Leu Asp Phe

35

<210> 19

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (29)..(30)

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<400> 19

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asp Xaa Xaa Tyr Gly

20 25 30

Trp Leu Asp Phe

35

<210> 20

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<400> 20

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Phe

<210> 21

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<400> 21

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asp Tyr Gly Trp Thr

20 25 30

Asp Phe

<210> 22

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<400> 22

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Phe

<210> 23

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<400> 23

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

| | | | |
|---|---|----|----|
| 1 | 5 | 10 | 15 |
|---|---|----|----|

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asp Tyr Gly Trp Leu

| | | |
|----|----|----|
| 20 | 25 | 30 |
|----|----|----|

Asp Phe

<210> 24

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<400> 24

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

| | | | |
|---|---|----|----|
| 1 | 5 | 10 | 15 |
|---|---|----|----|

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

| | | |
|----|----|----|
| 20 | 25 | 30 |
|----|----|----|

Leu Asp Phe

35

<210> 25

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (29)..(29)

<223> Lys(hexadecanoyl - isoGlu)

<400> 25

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Asp Phe

35

<210> 26

<211> 33

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (29)..(29)

<223> Lys(hexadecanoyl - isoGlu)

<400> 26

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe

<210> 27

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220>

><221> SITE

<222> (16)..(16)

<223> Lys(hexadecanoyl - isoGlu)

<400> 27

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

<210> 28
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE
 <222> (16)..(16)
 <223> Lys(hexadecanoyl - isoGlu)
 <400> 28
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Lys
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Trp Leu Asp Phe
 20 25 30

<210> 29
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766
 <220><221> SITE

<222> (28)..(28)
 <223> Lys(hexadecanoyl - isoGlu)
 <400> 29
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Lys Tyr Gly Trp Leu
 20 25 30
 Asp Phe

<210> 30

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (28)..(28)

<223> Lys(hexadecanoyl - isoGlu)

<400> 30

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

| | | | |
|---|---|----|----|
| 1 | 5 | 10 | 15 |
|---|---|----|----|

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Lys Trp Leu Asp Phe

| | | |
|----|----|----|
| 20 | 25 | 30 |
|----|----|----|

<210> 31

<211> 33

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (16)..(16)

<223> Lys(hexadecanoyl - isoGlu)

<400> 31

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Lys

| | | | |
|---|---|----|----|
| 1 | 5 | 10 | 15 |
|---|---|----|----|

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Tyr Gly Trp Leu Asp

| | | |
|----|----|----|
| 20 | 25 | 30 |
|----|----|----|

Phe

<210> 32

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (16)..(16)

<223>

> Lys(hexadecanoyl - isoGlu)

<400> 32

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Lys

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Trp Leu Asp Phe

20 25 30

<210> 33

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (25)..(25)

<223> Lys(hexadecanoyl - isoGlu)

<220><221> SITE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<400> 33

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Lys Leu Lys Xaa Tyr Gly Trp Leu

20 25 30

Asp Phe

<210> 34

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (25)..(25)

<223> Lys(hexadecanoyl - isoGlu)

<400> 34

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Lys Leu Lys Gln Gln Tyr Gly Trp

20 25 30

Leu Asp Phe

35

<210> 35

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (25)..(25)

<223> Lys(hexadecanoyl - isoGlu)

<220><221> MOD_RES

<222> (28)..(29)

<223> Orn

<400> 35

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Lys Leu Lys Xaa Xaa Tyr Gly Trp

20 25 30

Leu Asp Phe

35

<210> 36

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223>

Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (25)..(25)

<223> Lys(hexadecanoyl - isoGlu)

<400> 36

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

| | | | |
|---|---|----|----|
| 1 | 5 | 10 | 15 |
|---|---|----|----|

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

| | | |
|----|----|----|
| 20 | 25 | 30 |
|----|----|----|

Asp Phe

<210> 37

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (25)..(25)

<223> Lys(hexadecanoyl - isoGlu)

<400> 37

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

| | | | |
|---|---|----|----|
| 1 | 5 | 10 | 15 |
|---|---|----|----|

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Lys Leu Lys Asp Tyr Gly Trp Leu

| | | |
|----|----|----|
| 20 | 25 | 30 |
|----|----|----|

Asp Phe

<210> 38

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (25)..(25)

<223> Cys (PEG5K)

<220><221> SITE

<222> (29)..(30)

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<400> 38

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

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Cys Leu Lys Asn Xaa Xaa Tyr Gly

20 25 30

Trp Leu Asp Phe

35

<210> 39

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (25)..(25)

<223> Cys (PEG10K)

<220><221> SITE

<222> (28)..(29)

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<400> 39

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Cys Leu Lys Xaa Xaa Tyr Gly Trp

20 25 30

Leu Asp Phe

35

<210> 40

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (25)..(25)

<223> Cys (PEG20K)

<220><221> SITE

<222> (28)..(29)

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<400> 40

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1

5

10

15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Cys Leu Lys Xaa Xaa Tyr Gly Trp

20

25

30

Leu Asp Phe

35

<210> 41

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (25)..(25)

<223> Cys (PEG40K)

<220><221> SITE

<222> (28)..(29)

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<400> 41

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1

5

10

15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Cys Leu Lys Xaa Xaa Tyr Gly Trp

20

25

30

Leu Asp Phe

35

<210> 42

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<400> 42

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Phe His

35

<210> 43

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide of Formula III of PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (29)..(30)

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<400> 43

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Thr Asp Phe

35

<210> 44

<211> 39

<212> PRT

<213> *Heloderma suspectum*

<400> 44

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

1 5 10 15

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

20

25

30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

35

<210> 45

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide Conjugate. Formula I of

PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (1)..(1)

<223> Attached to R1 where R1 is H, C1-4 alkyl, acetyl, formyl, benzoyl
or trifluoroacetyl

<220><221> VARIANT

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is selected from Asp and Glu

<220><221> VARIANT

<222> (12)..(12)

<223> Xaa is selected from Lys, Arg and Orn

<220><221> VARIANT

<222> (13)..(13)

<223> Xaa is selected from Gln and Tyr

<220><221> VARIANT

<222> (14)..(14)

<223> Xaa is selected from Met and Leu

<220><221> VARIANT

<222> (16)..(16)

<223> Xaa is selected from Glu, Arg, Orn, Cys and Lys

<220><221> VARIANT

<222> (20)..(20)

<223> Xaa is selected from Arg, Lys and Orn

<220><221> VARIANT

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is selected from Arg, Orn, Lys and Glu

<220><221> VARIANT

<222> (25)..(25)

<223> Xaa is selected from Trp, Lys, Cys and Phe

<220><221> VARIANT

<222> (27)..(27)

<223> Xaa is selected from Lys, Arg and Orn

<220><221> VARIANT

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is selected from Asn and Asp or is absent

<220><221> SITE

<222> (29)..(32)

<223> Peptide La. Formula Ib

<220><221> VARIANT

<222> (29)..(32)

<223> Xaa is selected from Orn, 8Ado, Cys, Lys and Gln or is absent

<220><221> SITE

<222> (33)..(38)

<223> Peptide Ya. Formula Ic

<220><221> VARIANT

<222> (33)..(33)

<223> Xaa is selected from Tyr and Ala or is absent

<220><221> VARIANT

<222> (34)..(34)

<223> Xaa is selected from Gly and Ala or is absent

<220><221> VARIANT

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is selected from Trp, 1Nal and Phe

<220><221> VARIANT

<222> (36)..(36)

<223> Xaa is selected from Met, Leu, Nle, Thr and Phe

<220><221> VARIANT

<222> (38)..(38)

<223> Xaa is selected from Phe and 3-(3-pyridyl)-alanine

<220><221> SITE

<222> (38)..(38)

<223> Attached to R2 where R2 is OH or NH2

<400> 45

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Xaa Leu Ser Xaa Xaa Xaa Glu Xaa

1 5 10 15

Glu Ala Val Xaa Leu Phe Ile Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Xaa

35

<210> 46

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide Za, having Formula Ia of PCT/EP2012/071766

<220><221> VARIANT

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is selected from Asp and Glu

<220><221> VARIANT

<222>

(12)..(12)

<223> Xaa is selected from Lys, Arg and Orn

<220><221> VARIANT

<222> (13)..(13)

<223> Xaa is selected from Gln and Tyr

<220><221> VARIANT

<222> (14)..(14)

<223> Xaa is selected from Met and Leu

<220><221> VARIANT

<222> (16)..(16)

<223> Xaa is selected from Glu, Arg, Orn, Cys and Lys

<220><221> VARIANT

<222> (20)..(20)

<223> Xaa is selected from Arg, Lys and Orn

<220><221> VARIANT

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is selected from Arg, Orn, Lys and Glu

<

220><221> VARIANT

<222> (25)..(25)

<223> Xaa is selected from Trp, Lys, Cys and Phe

<220><221> VARIANT

<222> (27)..(27)

<223> Xaa is selected from Lys, Arg and Orn

<220><221> VARIANT

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is selected from Asn and Asp or is absent

<400> 46

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Xaa Leu Ser Xaa Xaa Xaa Glu Xaa

1 5 10 15

Glu Ala Val Xaa Leu Phe Ile Xaa Xaa Leu Xaa Xaa

20 25

<210> 47

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide Conjugate. Formula I of

PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (1)..(1)

<223> Attached to R1 where R1 is H, C1-4 alkyl, acetyl, formyl, benzoyl
or trifluoroacetyl

<220><221> VARIANT

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is selected from Glu and Asp

<220><221> VARIANT

<222> (13)..(13)

<223> Xaa is selected from Gln and Tyr

<220><221> VARIANT

<222> (14)..(14)

<223> Xaa is selected from Met and Leu

<220><221> VARIANT

<222> (16)..(16)

<223> Xaa is selected from Glu, Cys and Lys

<220><221> VARIANT

<222> (25)..(25)

<223> Xaa is selected from Lys, Phe, Cys and Trp

<220><221> VARIANT

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is selected from Asn and Asp or is absent

<220><221> SITE

<222> (29)..(32)

<223> Peptide La. Formula Ib

<220><221> VARIANT

<222> (29)..(32)

<223> Xaa is selected from Orn, 8Ado, Cys, Lys and Gln or is absent

<220><221> SITE

<222> (33)..(38)

<223> Peptide Ya. Formula IIc, SEQ ID NO: 49

<220><221> VARIANT

<222> (36)..(36)

<223> Xaa is selected from Leu and Thr

<220><221> SITE

<222> (38)..(38)

<223> Attached to R2 where R2 is OH or NH2

<400> 47

His Glu Gly Thr Phe Thr Ser Xaa Leu Ser Lys Xaa Xaa Glu Xaa

| | | | |
|---|---|----|----|
| 1 | 5 | 10 | 15 |
|---|---|----|----|

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Xaa Leu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa

| | | |
|----|----|----|
| 20 | 25 | 30 |
|----|----|----|

Tyr Gly Trp Xaa Asp Phe

35

<210> 48

<

211> 28

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide Za, having Formula IIa of PCT/EP2012/071766

<220><221> VARIANT

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is selected from Glu and Asp

<220><221> VARIANT

<222> (13)..(13)

<223> Xaa is selected from Gln and Tyr

<220><221> VARIANT

<222> (14)..(14)

<223> Xaa is selected from Met and Leu

<220><221> VARIANT

<222> (16)..(16)

<223> Xaa is selected from Glu, Cys and Lys

<220><221> VARIANT

<222> (25)..(25)

<223> Xaa is selected from Lys, Phe, Cys and Trp

<220><221> VARIANT

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is selected from Asn and Asp or is absent

<400> 48

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Xaa Leu Ser Lys Xaa Xaa Glu Xaa

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Xaa Leu Lys Xaa

20 25

<210> 49

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Formula IIc of PCT/EP2012/071766

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is selected from Leu and Thr

<400> 49

Tyr Gly Trp Xaa Asp Phe

1 5

<210> 50

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide Conjugate. Formula III of

PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (1)..(1)

<223> Attached to R1 where R1 is H, C1-4 alkyl, acetyl, formyl, benzoyl
or trifluoroacetyl

<220><221> VARIANT

<222> (25)..(25)

<223> Xaa is selected from Phe and Trp

<220><221> VARIANT

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is selected from Asn and Asp or is absent

<220><221> SITE

<222> (29)..(32)

<223> Peptide Lb. Formula IIIb

<220><221> VARIANT

<222> (29)..(32)

<223> Xaa is selected from 8Ado, 8Aoc, Ala, Gly and Gln or is absent

<220><221> SITE

<222> (33)..(40)

<223> Peptide Yb. Formula IIIc, SEQ ID NO: 52

<220><221> VARIANT

<222> (34)

<223> Xaa is Glu or is absent

<220><221> VARIANT

<222> (35)

<223> Xaa is Ala or is absent

<220>

><221> VARIANT

<222> (38)

<223> Xaa is selected from Leu and Thr

<220><221> SITE

<222> (40)..(40)

<223> Attached to R2 where R2 is OH or NH2

<400> 50

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

| | | | |
|---|---|----|----|
| 1 | 5 | 10 | 15 |
|---|---|----|----|

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Xaa Leu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

| | | |
|----|----|----|
| 20 | 25 | 30 |
|----|----|----|

Xaa Xaa Tyr Gly Trp Xaa Asp Phe

| | |
|----|----|
| 35 | 40 |
|----|----|

<210> 51

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide Zb, having Formula IIIa of PCT/EP2012/071766

<220><221> VARIANT

<222> (25)..(25)

<223> Xaa is selected from Phe and Trp

<220><221> VARIANT

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is selected from Asn and Asp or is absent

<400> 51

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

| | | | |
|---|---|----|----|
| 1 | 5 | 10 | 15 |
|---|---|----|----|

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Xaa Leu Lys Xaa

20 25

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Formula IIIc of PCT/EP2012/071766

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Glu or is absent

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is Ala or is absent

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is selected from Leu and Thr

<400> 52

Xaa Xaa Tyr Gly Trp Xaa Asp Phe

1 5

<210> 53

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<220><221> SITE

<222> (28)..(29)

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<400> 53

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Xaa Xaa Tyr Gly Trp

20 25 30

Leu Asp Phe

35

<210> 54

<211> 33

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 54

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Tyr Gly Trp Leu Asp

20 25 30

Phe

<210> 55

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<220><221> SITE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl

<400> 55

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Xaa Tyr Gly Trp Leu

20 25 30

Asp Phe

<210> 56

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide Conjugate. Formula III of

PCT/EP2012/071766

<220><221> SITE

<222> (1)..(1)

<223> Attached to R1 where R1 is H, C1-4 alkyl, acetyl, formyl, benzoyl

or trifluoroacetyl

<220><221> VARIANT

<222> (25)..(25)

<223> Xaa is selected from Phe and Trp

<220><221> SITE

<222> (29)..(32)

<223> Peptide Lb. Formula IIIb

<220><221> VARIANT

<222> (29)..(32)

<223> Xaa is selected from 8Ado, 8Aoc, Ala, Gly and Gln or is absent

<220><221> SITE

<222> (33)..(38)

<223> Peptide Yb. Formula IVc, SEQ ID NO: 58

<220><221> VARIANT

<222> (36)..(36)

<223> Xaa is selected from Leu and Thr

<220><221> SITE

<222> (38)..(38)

<223>

> Attached to R2 where R2 is OH or NH2

<400> 56

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Gly Trp Xaa Asp Phe

35

<210> 57

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Peptide Zb, having Formula IVa of PCT/EP2012/071766

<220><221> VARIANT

<222> (25)..(25)

<223> Xaa is selected from Phe and Trp

<400> 57

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Glu Leu Ser Lys Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

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

20 25

<210> 58

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence: Formula IVc of PCT/EP2012/071766

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is selected from Leu and Thr

<400> 58

Tyr Gly Trp Xaa Asp Phe

1 5

<210> 59

<211> 463

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Met Ala Gly Ala Pro Gly Pro Leu Arg Leu Ala Leu Leu Leu Gly

1 5 10 15

Met Val Gly Arg Ala Gly Pro Arg Pro Gln Gly Ala Thr Val Ser Leu

20 25 30

Trp Glu Thr Val Gln Lys Trp Arg Glu Tyr Arg Arg Gln Cys Gln Arg

35 40 45

Ser Leu Thr Glu Asp Pro Pro Pro Ala Thr Asp Leu Phe Cys Asn Arg

50 55 60

Thr Phe Asp Glu Tyr Ala Cys Trp Pro Asp Gly Glu Pro Gly Ser Phe

65 70 75 80

Val Asn Val Ser Cys Pro Trp Tyr Leu Pro Trp Ala Ser Ser Val Pro

85 90 95

Gln Gly His Val Tyr Arg Phe Cys Thr Ala Glu Gly Leu Trp Leu Gln

100 105 110

Lys Asp Asn Ser Ser Leu Pro Trp Arg Asp Leu Ser Glu Cys Glu Glu

115 120 125

Ser Lys Arg Gly Glu Arg Ser Ser Pro Glu Glu Gln Leu Leu Phe Leu

130 135 140

Tyr Ile Ile Tyr Thr Val Gly Tyr Ala Leu Ser Phe Ser Ala Leu Val

145 150 155 160

Ile Ala Ser Ala Ile Leu Leu Gly Phe Arg His Leu His Cys Thr Arg

165 170 175

Asn Tyr Ile His Leu Asn Leu Phe Ala Ser Phe Ile Leu Arg Ala Leu

180 185 190

Ser Val Phe Ile Lys Asp Ala Ala Leu Lys Trp Met Tyr Ser Thr Ala

195 200 205

Ala Gln Gln His Gln Trp Asp Gly Leu Leu Ser Tyr Gln Asp Ser Leu

210 215 220

Ser Cys Arg Leu Val Phe Leu Leu Met Gln Tyr Cys Val Ala Ala Asn

225 230 235 240

Tyr Tyr Trp Leu Leu Val Glu Gly Val Tyr Leu Tyr Thr Leu Leu Ala

245 250 255

Phe Ser Val Leu Ser Glu Gln Trp Ile Phe Arg Leu Tyr Val Ser Ile

260 265 270

Gly Trp Gly Val Pro Leu Leu Phe Val Val Pro Trp Gly Ile Val Lys

275 280 285

Tyr Leu Tyr Glu Asp Glu Gly Cys Trp Thr Arg Asn Ser Asn Met Asn

| | | | |
|--|-----|-----|-----|
| 290 | 295 | 300 | |
| Tyr Trp Leu Ile Ile Arg Leu Pro Ile Leu Phe Ala Ile Gly Val Asn | | | |
| 305 | 310 | 315 | 320 |
| Phe Leu Ile Phe Val Arg Val Ile Cys Ile Val Val Ser Lys Leu Lys | | | |
| 325 | 330 | 335 | |
| Ala Asn Leu Met Cys Lys Thr Asp Ile Lys Cys Arg Leu Ala Lys Ser | | | |
| 340 | 345 | 350 | |
| Thr Leu Thr Leu Ile Pro Leu Leu Gly Thr His Glu Val Ile Phe Ala | | | |
| 355 | 360 | 365 | |
| Phe Val Met Asp Glu His Ala Arg Gly Thr Leu Arg Phe Ile Lys Leu | | | |
| 370 | 375 | 380 | |
| Phe Thr Glu Leu Ser Phe Thr Ser Phe Gln Gly Leu Met Val Ala Ile | | | |
| 385 | 390 | 395 | 400 |
| Leu Tyr Cys Phe Val Asn Asn Glu Val Gln Leu Glu Phe Arg Lys Ser | | | |
| 405 | 410 | 415 | |
| Trp Glu Arg Trp Arg Leu Glu His Leu His Ile Gln Arg Asp Ser Ser | | | |
| 420 | 425 | 430 | |
| Met Lys Pro Leu Lys Cys Pro Thr Ser Ser Leu Ser Ser Gly Ala Thr | | | |
| 435 | 440 | 445 | |
| Ala Gly Ser Ser Met Tyr Thr Ala Thr Cys Gln Ala Ser Cys Ser | | | |
| 450 | 455 | 460 | |
| <210> 60 | | | |
| <211> 2206 | | | |
| <212> DNA | | | |
| <213> Homo sapiens | | | |
| <400> 60 | | | |
| agaactcccg agccagggag ggggtgcaca gtcacctggc gggacagagg ctggcggagg 60 | | | |
| gacgggaacc caggcggggc gagccgcggg agagtggagg gcaggcgct gggctgggg 120 | | | |
| cggggaccag gcggggcagg gggcagggag aggagggcgg cgggagccctg agccggaatc 180 | | | |
| gcagcgtgag caggtggagc cgcgttggga gcccgcggg tcgagctgag taaggcggcg 240 | | | |
| ggctcggcgg gggccatgga gctgctaaag ctgaaccgga gcgtgcaggg aaccggaccc 300 | | | |

| | |
|---|------|
| ggccgggggg ctccctgtg ccgcccgggg ggcctctcc tcaacagcag cagtgtggc | 360 |
| aacctcagct gcgagcccc tcgcattcgc ggagccgga cacgagaatt ggagctggc | 420 |
| attagaatca ctcttacgc agtgatctc ctgatgagcg ttggaggaaa tatgctcatc | 480 |
| atcgtgtcc tggactgag ccgcgcctg aggactgtca ccaatgcctt cctcctca | 540 |
| ctggcagtca gcgacctct gctggctgtg gcttgcattc cttcacctt cctgccaat | 600 |
| | |
| ctcatggca cattcatctt tggcaccgtc atctgcaagg cggttccta cctcatggg | 660 |
| gtgtctgtga gtgtgtccac gctaagcctc gtggccatcg cactggagcg gtacagcgcc | 720 |
| atctggcac cactgcaggc acgagtgtgg cagacgcgtcccacgcgc tcgcgtatt | 780 |
| gtagccacgt ggctgctgtc cggactactc atggtgcctt accccgtgtt cactgtcg | 840 |
| caaccagtgg ggcctgtgt gtcgcgtgc gtgcattcgtt ggcccaagtgc ggggtccgc | 900 |
| cagacctggt ccgtactgtc gtttctgttca ttgttcttca tcccggtgtt ggttatggcc | 960 |
| gtggcctacg ggcttatctc tcgcgagctc tacttagggc ttgcatttga cggcagact | 1020 |
| | |
| gacagcgaca gccaaagcag ggtccgaaac caaggcgggc tgccagggc tgttcaccag | 1080 |
| aacggcggtt gccggctga gactggcgcg gttggcaag acagcgatgg ctgcgtacgt | 1140 |
| caacttccac gtccccggcc tgccctggag ctgacggcgc tgacggctcc tggccggga | 1200 |
| tccggctccc gccccaccca ggccaagctg ctggctaaaga agcgcgtggt gccaatgtt | 1260 |
| ctgggtatcg ttgtgtttt tttctgtgt tggttgcctt tttatagtgc caacacgtgg | 1320 |
| cgcgcctttt atggcccggtt tgccacaccga gcactctgg gtgcctctt ctccttatt | 1380 |
| cacttgcgtga gctacgcctc ggcctgtgtc aacccttgg tctactgtt catgcacccgt | 1440 |
| | |
| cgcttcgccc aggctgcct ggaaacttgc gtcgtgtct gccccggcc tccacgagct | 1500 |
| cgcggcaggc ctctcccgta tgaggaccct cccactccct ccattgttcc gctgtccagg | 1560 |
| cttagctaca ccaccatcg cacactggc cctggctgag gagtagaggg ggcgtgggg | 1620 |
| ttgaggcagg gcaaattgaca tgcactgacc cttccagaca tacgaaacac aaaccacaac | 1680 |
| tgacacagga aaccaacacc caaagcatgg actaaccctt acgcacagga aaaggtagct | 1740 |
| tacctgacac aagaggaata agaatggagc agtacatggg aaaggaggca tgcctctgat | 1800 |
| atgggactga gcctggccca tagaaacatg acactgaccc tggagagaca cagcgtccct | 1860 |
| | |
| agcagtgaac tatttctaca cagtggaaac tctgacaagg gctgacccgtc ctctcacaca | 1920 |
| catagattaa tggcactgat tggttttagag actatggagc ctggcacagg actgactctg | 1980 |
| ggatgctctt agtttgcactt cacagtgacc cttcccaatc agcactgaaa ataccatcg | 2040 |
| gcctaatttc atacctctga ccaacaggtt gttctgcactt gaaaagggtt ttcattccctt | 2100 |
| tccagttaa gaccgtggcc ctgcctctc cttccattacc caaaactgttc aagaataat | 2160 |

aaattgttg gtttcctcct gaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaa aaaaaaa

2206