(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0024263
(43) 공개일자 2020년03월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 9/12 (2006.01) *A61K 31/155* (2006.01)
A61K 38/26 (2006.01) *C07K 14/47* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 9/1205 (2013.01)
A61K 31/155 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7002727
(22) 출원일자(국제) 2018년06월29일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2020년01월29일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2018/067657
(87) 국제공개번호 WO 2019/002583
국제공개일자 2019년01월03일
(30) 우선권주장
17305843.9 2017년06월30일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
위니베르시떼 드 스트라스부르
프랑스공화국 에프-67000 스트라스부르, 뤼 블레즈 파스칼, 4
백신 피티와이 리미티드
호주, 사우쓰 오스트레일리아 5042, 애들레이드, 베드포드 파크 플린더스 메 디컬 센터
인쎄름 (엥스띠뛰 나씨오날 드 라 쌍떼 에 드 라 호쉐르슈 메디깔)
프랑스공화국, 에프-75013 빠리, 뤼 드 똘비악 101
(72) 발명자
마리옹, 뱅상
프랑스, 67640 립스하임, 뤼 드 로즈 17
페트로브스키, 니콜라이
오스트레일리아, 애들레이드 - 사우스 오스트레일리아 5046, 워클리 애비뉴 와라데일 11
(74) 대리인
김순웅

전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 **고혈당증의 치료 및 예방을 위한 펩타이드**

(57) 요 약

본 발명은 진성 당뇨병(diabetes mellitus) 및 연관된 장애의 치료 또는 예방을 위한 펩타이드에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류
A61K 38/26 (2013.01)
C07K 14/47 (2013.01)
C12Y 207/11013 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

인슐린-독립적 지방세포 글루코스 수송을 유도하는 펩타이드로서,

- 상기 펩타이드는 단백질 키나제 C(PKC)의 분절의 서열을 포함하며;

- 상기 펩타이드는 적어도 하나의 메티오닌, 하나의 프롤린 및 하나의 아르기닌을 포함하며;

- 상기 펩타이드는 적어도 8개 아미노산 내지 40개 미만의 아미노산 길이, 바람직하게는 적어도 10개 아미노산 내지 30개 미만의 아미노산 길이; 보다 바람직하게는 적어도 12개 아미노산 내지 25개 미만의 아미노산 길이를 가지고;

- 상기 펩타이드는 PKC의 분절의 상기 서열 내에 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함할 수 있는,

펩타이드.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 펩타이드는 바람직하게는, 알파 나선형 형태(conformation)를 채택하는, 펩타이드.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 펩타이드는 스테이플링(stapling)과 같은 화학적 가교에 의해 변형되는, 펩타이드.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 펩타이드 서열은 하기 식:

$M-(X)_m-P-(X)_n-R$ 또는 $M-(X)_m-R-(X)_n-P$ 또는 $P-(X)_m-M-(X)_n-R$ 또는 $P-(X)_m-R-(X)_n-M$ 또는 $R-(X)_m-P-(X)_n-M$ 또는 $R-(X)_m-M-(X)_n-P$

중 하나에 따른 서열을 포함하고,

상기 m 및 n은 1 내지 20의 정수이며, m + n은 30 미만이고, X는 임의의 아미노산인, 펩타이드.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 펩타이드는 하기 식:

$M-(X)_m-R-(X)_n-P$ 또는 $P-(X)_m-R-(X)_n-M$ 또는 $R-(X)_m-M-(X)_n-P$ 또는 $M-(X)_m-P-(X)_n-R$

중 하나에 따른 서열을 포함하고,

상기 m, n 및 X는 제2항에서 정의된 바와 같은, 펩타이드.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, m + n은 20 미만이고, m 및 n은 2 내지 15, 바람직하게는 2 내지 7의 정수인, 펩타이드.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PKC는 알파-PKC(αPKC), βI 및 βII PKC를 포함하는 베타-PKC(βPKC), 델타-PKC, 세타-PKC, 에타(eta)-PKC 및 입실론-PKC로 구성된 군으로부터 선택되는, 펩타이드.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 PKC는 서열 번호: 1의 αPKC인, 펩타이드.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 펩타이드 서열은

- MVEKRVLALLDKP(서열 번호: 2);
- PFLTQLHSCFQTVDRLYFVM(서열 번호: 3);
- RLYFVMEYVNGGDLMYHIQQVGKFKEP(서열 번호: 4);
- MYHIQQVGKFKEPQAVFYAAEISIGLFFLHKR(서열 번호: 5);
- PQAVFYAAEISIGLFFLHKRGIIYRDLKLDNVM(서열 번호: 6);
- MDGVTTRTFCGTP(서열 번호: 7); 및
- MTKHPAKR(서열 번호: 8)

로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함하고,

선택적으로, 상기 펩타이드 서열은 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함하는, 펩타이드.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 펩타이드 서열은

- MVEKRVLALLDKP(서열 번호: 2);
- MDGVTTRTFCGTP(서열 번호: 7);
- MTKHPAKR(서열 번호: 8)

로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함하고,

선택적으로, 상기 펩타이드 서열은 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함하는, 펩타이드.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 펩타이드 서열은

- VECTMVEKRVLALLDKPPFLTQLHS(서열 번호: 9);
- MCKEHMMDGVTTRTFCGTPD(서열 번호: 10);
- SICKGLMTKHPAKRLGCGPEG(서열 번호: 11);
- H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 21);
- H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-NH_2 (서열 번호: 22);
- H-CTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 23);
- H-M-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 24);
- Cbz-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 25);
- H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQL-OH(서열 번호: 26);
- H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLT-OH(서열 번호: 27);
- H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPF-OH(서열 번호: 28);
- H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKP-OH(서열 번호: 29);

- H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LD-OH(서열 번호: 30);

- H-VE(AAB)TM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 31);

- H-VECT(AAH)-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 32);

- H-VE(AAB)T(AAH)-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 33);

- H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH 수소화된(서열 번호: 34);

- H-VECTM-S5-EKR-S5-LALLDKPPFLTQLHS-OH (서열 번호: 35); 및

- H-LPHET-R8-RLSQKV-S5-TKLDCLMFVEPA-OH(서열 번호: 36)

로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함하거나 이러한 서열로 구성되고,

선택적으로, 상기 펩타이드 서열은 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함하는, 펩타이드.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 펩타이드는

- VECTM**V**EKRVLA**L**LDKPPFLTQLHS(서열 번호: 9);

- MC**K**EHMMDG**V**TTRTFCGTPD(서열 번호: 10); 및

- S**I**CKGLMT**K**HPAKRLGCGPEG(서열 번호: 11);

- H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 21);

- H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-NH_2 (서열 번호: 22);

- H-CTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 23);

- H-M-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 24);

- Cbz-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 25);

- H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQL-OH(서열 번호: 26);

- H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLT-OH(서열 번호: 27);

- H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPF-OH(서열 번호: 28);

- H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKP-OH(서열 번호: 29);

- H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LD-OH(서열 번호: 30);

- H-VE(AAB)TM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 31);

- H-VECT(AAH)-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 32);

- H-VE(AAB)T(AAH)-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 33);

- H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH 수소화된(서열 번호: 34);

- H-VECTM-S5-EKR-S5-LALLDKPPFLTQLHS-OH (서열 번호: 35); 및

- H-LPHET-R8-RLSQKV-S5-TKLDCLMFVEPA-OH(서열 번호: 36)

로 구성된 군으로부터 선택되는 서열로 구성되고,

볼드체로 되어 있고 밑줄이 그어진 잔기는 스테이플링을 수행하고, 선택적으로 상기 잔기는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함하는, 펩타이드.

청구항 13

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 펩타이드는 하이드록실 말단 기를 갖는, 펩타이드.

청구항 14

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 펩타이드는 메틸 말단 기를 갖는, 펩타이드.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 따른 펩타이드를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 16

진성 당뇨병, 고혈당, 인슐린 내성, 고지혈증, 관상심장병(coronary heart disease), 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 신장병증, 비만, 지질이영양증, 인슐린 결핍, 베타 세포 기능장애 또는 고인슐린혈증의 진행 또는 발병(onset)을 치료하거나 지연시키는 데 사용하기 위한, 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 따른 펩타이드 또는 제15항에 따른 약제학적 조성물의 용도.

청구항 17

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 펩타이드, 또는 제15항에 따른 약제학적 조성물, 또는 제16항의 용도에 있어서, 상기 펩타이드는 또 다른 항-당뇨병제, 바람직하게는 인슐린, 메트포르민, 설포닐우레아, 알파-글루코시다제 저해제, 티아졸리딘디온, 메글리티나이드(meglitinide), 인크레틴 모방체(incretin mimetic), 글루카곤-유사 펩타이드 유사체, 디펩티딜 펩티다제-4 저해제, 아밀린 유사체, 소듐 글루코스 수송체 저해제 및 이들의 임의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 또 다른 항-당뇨병제 (anti-diabetic agent) 와 조합되는, 펩타이드, 또는 약제학적 조성물, 또는 용도.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 의학 분야에 관한 것이다. 보다 특히, 본 발명은 진성 당뇨병(diabetes mellitus)의 치료에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 진성 당뇨병(당뇨병)은 대사 질환 중 하나이며, 진성 당뇨병에 해당하는 사람은 췌장이 충분한 인슐린을 생성하지 않거나 또는 세포가 생성되는 인슐린에 반응하지 않기 때문에 높은 혈당을 갖는다.

[0003] 2가지 주요 유형의 당뇨병이 존재한다:

[0004] - 1형은 신체가 인슐린을 생성하지 못해서 비롯된 것이고, 현재 사람은 인슐린을 주사받거나 인슐린 펌프를 착용(wear)하는 것을 필요로 한다.

[0005] - 2형은, 세포가 인슐린에 적절하게 반응하지 못하는 상태인 인슐린 내성으로 인한 것이다.

[0006] 2형 당뇨병의 비율(rate)은 1960년대부터 비만과 병행하여 두드러지게 증가하였으며: 2014년부터, 1985년에 약 3,000만명과 비교하여, 질병을 갖는 사람은 세계적으로 대략 4억 2,200만명이 존재하였다. 당뇨병으로 인한 장기간 합병증은 심장병, 뇌졸중, 당뇨병성 망막병증, 만성 신부전, 절단(amputation)을 초래하는 말초 혈관 질병을 포함한다.

[0007] 예상치 못하게도, 기존의 당뇨병 치료는 단기적으로는 혈중 글루코스 수준을 감소시킬 수 있는 한편, 일반적으로 보다 장기적으로는 정상혈당증(normoglycaemia)을 유지하는 데 실패하여, 환자의 혈당 수준의 조절을 노력하고 유지시키기 위해 환자의 치료에 더 많은 혈당강하제(hypoglycaemic agent)를 점진적으로 첨가하는 필요성을 초래할 수 있다. 그렇지만, 많은 당뇨병 환자는 다수의 혈당강하제를 조합해서 치료를 받더라도, 여전히 양호한 혈당 조절을 달성하지 못한다. 또한, 현재의 혈당강하제, 예컨대 설포닐우레아 또는 인슐린은 중증 저혈당증 또는 심지어 생명-위협 저혈당증의 위험을 증가시키며, 이로써 현재의 치료를 사용하여 이상적인 당뇨병 조절을 달성하는 것의 어려움을 증가시킨다.

[0008] 모든 양태의 당뇨병을 역전시키거나 이의 진행형 성질(progressive nature)을 예방할 수 있는 단일 약물이 현재로서는 존재하지 않는다. 2형 당뇨병의 진행형 성질은, 많은 환자가 결국에는, 가능하게는 인슐린 및/또는 인크레틴(incretin)계 주사와 함께 경구 저혈당성 약제의 조합을 필요로 할 것임을 의미한다. 2형 당뇨병에서 고혈

당증에 대응하기 위해, 인슐린 내성을 감소시키는 역할을 하거나(비구아니드(biguanide) 및 티아졸리딘디온) 또는 인슐린 분비를 증강시키는 역할을 하는(설포닐우레아, 글리니드(glinide), 디펩티딜펩티다제-4 저해제, 글루카곤-유사 펩타이드 1 수용체 효능제(agonist)) 항-당뇨병제가 개발되어 왔다. 그러나, 이들 약제 중 많은 것들은 저혈당증, 메스꺼움, 설사, 체중 증가, 말초 부종, 울혈성 심부전 및 골다공증성 골절을 포함하는 유해한 부작용을 갖는 것으로 제시되었다. 또한, 장기간 사용 시 현재의 혈당강하제의 효과 손실과 관련된 주요 문제점이 존재한다. 따라서, 당뇨병 및 관련된 질환의 치료를 위한 대안적인 보다 양호한 약제가 필요하다.

발명의 내용

[0009] 당업계가, 지방 조직이 단지 일일 글루코스 섭취 및 생성 중 20% 미만의 폐기를 책임진다고 교시하고 있음에도, 본 발명자들은, 지속된 인슐린-독립적 글루코스 수송을 유도하고 놀랍게도 당뇨병 개체에서 상승된 글루코스 수준 및 다른 대사 방해의 지속적인 감소를 제공하는 신규 펩타이드를 설계하였다.

[0010] 지방세포 내로의 인슐린-독립적 글루코스 흡수의 유도가 고혈당증 및 이의 다운스트림 대사 결과를 역전시킬 수 있다는 신규 및 놀라운 발견은, 인슐린-독립적 지방세포 글루코스 흡수를 특이적으로 표적화하는 신규 당뇨병 치료법의 설계를 가능하게 한다. 본 발명자들은 본 개시내용의 신규 펩타이드를 설계하였고, 지방 조직 내로의 이들 펩타이드의 주사는 저혈당증을 유도하지 않거나 체중을 변화시키지 않으면서 당뇨병 개체에서 정상혈당증을 회복시킬 수 있음을 보여주었다.

[0011] 이에, 본 발명은 특히 인슐린-독립적 지방세포 글루코스 흡수(uptake)의 유도를 통한, 진성 당뇨병, 인슐린 내성, 고지혈증, 관상 동맥 질병, 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 신장병증, 인슐린 내성, 고혈당, 비만, 지질이영양증, 인슐린 결핍, 베타 세포 기능장애, 고인슐린혈증 또는 이들의 조합의 치료 또는 예방을 위한 신규 펩타이드 조성물에 관한 것이다.

[0012] 제1 양태에서, 본 발명은 인슐린-독립적 지방세포 글루코스 수송을 유도하는 하나 이상의 펩타이드에 관한 것이며, 여기서:

[0013] - 펩타이드 서열은 PKC(단백질 키나제 C)의 분절의 서열을 포함하며;

[0014] - 상기 펩타이드는 적어도 하나의 메티오닌, 하나의 프롤린 및 하나의 아르기닌을 포함하며;

[0015] - 상기 펩타이드는 적어도 8개 아미노산 내지 40개 미만의 아미노산 길이, 바람직하게는 적어도 10개 아미노산 내지 30개 아미노산 미만의 길이, 보다 바람직하게는 적어도 12개 아미노산 내지 25개 미만의 아미노산 길이를 가지고;

[0016] - 상기 펩타이드는 PKC의 분절의 상기 서열 내에 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함할 수 있다.

[0017] 일 구현예에서, 펩타이드는 알파 나선형 형태를 채택한다.

[0018] 또 다른 구현예에서, 펩타이드는 스테이플링(stapling)과 같은 화학적 가교 공정에 의해 변형된다.

[0019] 보다 다른 구현예에서, 펩타이드 서열은 하기 식: M-(X)m-P-(X)n-R 또는 M-(X)m-R-(X)n-P 또는 P-(X)m-M-(X)n-R 또는 P-(X)m-R-(X)n-M 또는 R-(X)m-P-(X)n-M 또는 R-(X)m-M-(X)n-P, 바람직하게는 M-(X)m-R-(X)n-P 또는 P-(X)m-R-(X)n-M 또는 R-(X)m-M-(X)n-P 또는 M-(X)m-P-(X)n-R 중 하나에 따른 서열을 포함한다. 이들 서열에서, X는 임의의 아미노산이며, m 및 n은 1 내지 20, 바람직하게는 2 내지 15, 보다 더 바람직하게는 2 내지 7의 정수이고, m + n은 30 미만이며, 바람직하게는 m + n은 20 미만이다.

[0020] 일 구현예에서, 상기 PKC는 알파-PKC(αPKC), βI 및 βII PKC를 포함하는 베타-PKC(βPKC), 델타-PKC, 세타-PKC, 에타(eta)-PKC 및 입실론-PKC, 보다 바람직하게는 서열 번호: 1의 αPKC로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0021] 또 다른 구현예에서, 펩타이드 서열은 MVEKRVLALLDKP(서열 번호: 2), PFLTQLHSCFQTVDRLYFVM(서열 번호: 3), RLYFVMEYVNGGDLMYHIQQVGKFKEP(서열 번호: 4), MYHIQQVGK-FKEPQAVFYAAEISIGLFFLHKR(서열 번호: 5), PQAVFYAAEISIGLFFLHKRGIIYRDLK-LDNVM(서열 번호: 6), MDGVTTRTFCGTP(서열 번호: 7) 및 MTKHPAKR(서열 번호: 8)로 구성된 군으로부터 선택되는 서열, 바람직하게는 MVEKRVLALLDKP(서열 번호: 2), PFLTQ-LHSCFQTVDRLYFVM(서열 번호: 3), PQAVFYAAEISIGLFFLHKRGIIYRDLKLDNVM(서열 번호: 6), MDGVTTRTFCGTP(서열 번호: 7) 및 MTKHPAKR(서열 번호: 8)로 구성된 군으로부터 선택되는 서열, 보다 더 바람직하게는 MVEKRVLALLDKP(서열 번호: 2), MDGVT-TRTFCGTP(서열 번호: 7) 및 MTKHPAKR(서열 번호: 8)로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함한다. 선택적으로, 펩타이드는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는

이들의 혼합, 바람직하게는 1, 2 또는 3개의 치환(들)을 포함한다.

[0022] 보다 다른 구현예에서, 펩타이드 서열은 VECTMVEKRVLALLDKPPFLTQLHS(서열 번호: 9), MCKEHMMDGVTTRTFCGTPD(서열 번호: 10) 및 SICKGLMTKHPAKRLGCGPEG(서열 번호: 11)로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함하고, 선택적으로 펩타이드 서열은 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합, 바람직하게는 1, 2 또는 3개의 치환(들)을 포함한다. 특히, 펩타이드 서열은 VECTMVEKRVLALLDKPPFLTQLHS(서열 번호: 9), MCKEHMMDGVTT-RTFCGTPD(서열 번호: 10) 및 SICKGLMTKHPAKRLGCGPEG(서열 번호: 11)로 구성된 군으로부터 선택되는 서열로 구성될 수 있다.

[0023] 보다 다른 구현예에서, 본 개시내용의 펩타이드(들)는 스테이플링과 같은 화학적 가교에 의해 변형되며, 바람직하게는 스테이플드(stapled) 펩타이드 서열은 VECTMVEKRVLALLDKPPFLTQLHS(서열 번호: 9), MCKEHMMDGVTTRTFCGTPD(서열 번호: 10) 및 SICKGLMTKHPAKRLGCGPEG(서열 번호: 11)로 구성된 군으로부터 선택되는 서열로 구성되고, 여기서, 볼드체로 되어 있고 밑줄이 그어진 잔기는 스테이플링을 수행한다.

[0024] 제2 양태에서, 본 발명은 또한, 본 개시내용의 펩타이드(들)를 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 또한, 약물로서 사용하기 위한 본 개시내용의 펩타이드에 관한 것이다.

[0025] 제3 양태에서, 본 발명은 진성 당뇨병, 인슐린 내성, 고지혈증, 관상심장병(coronary heart disease), 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 신장병증, 인슐린 내성, 고혈당, 비만, 지질이영양증, 인슐린 결핍, 베타 세포 기능장애 또는 고인슐린혈증의 진행 또는 발병(onset)을 치료하거나 지연시키는 데 사용하기 위한, 바람직하게는 2형 진성 당뇨병의 진행 또는 발병을 치료하거나 지연시키는 데 사용하기 위한, 본 개시내용에 따른 펩타이드(들) 또는 본 개시내용에 따른 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0026] 일 구현예에서, 본 개시내용에 따른 펩타이드(들) 또는 본 개시내용에 따른 약제학적 조성물은 또 다른 항-당뇨병제(anti-diabetic agent) 또는 체중 감량제, 바람직하게는 인슐린, 메트포르민, 설포닐우레아, 예컨대 톨부타미드(tolbutamide), 아세토헥사미드(acetohexamide), 톨라자미드(tolazamide), 클로르프로파미드(chlorpropamide), 글리부리드(glyburide)(글리벤클라미드(glibenclamide))로도 지칭됨), 글리메피리드(glimepiride), 글리피지드(glipizide), 글리카지드(glicazide), 글리코피라미드(glycopyramide) 및 글리퀴돈(gliquidone), 알파-글루코시다제 저해제, 예컨대 아카보스(acarbose), 미글리톨(miglitol) 및 보글리보스(voglibose), 티아졸리딘디온, 예컨대 피오글리타존(pioglitazone) 및 로시글리타존(rosiglitazone), 메글리티나이드(meglitinide), 예컨대 레파글리니드 및 나테글리니드, 인크레틴 모방체(incretin mimetic), 글루카곤-유사 펩타이드 유사체 및 효능제, 예컨대 엑세노티드(exenotide), 타스포글루티드(taspoglutide) 및 리라글루티드(liraglutide), 디펩티딜 펩티다제-4 저해제, 예컨대 빌다글립틴(vildagliptin), 시타글립틴(sitagliptin), 삭사글립틴(saxagliptin), 리나글립틴(linagliptin), 알로글립틴(alloglipti) 및 셉타글립틴(septagliptin), 아밀린 유사체, 예컨대 팜린티드(pamlintide), 글리코수릭(glycosuric), 예컨대 카나글리플로진(canagliflozin), 다파글리플로진(dapagliflozin) 및 엠파글리플로진(empagliflozin) 또는 이들의 임의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 또 다른 항-당뇨병제 또는 체중 감량제와 조합된다.

[0027] 일부 구현예에서, 본 기술의 펩타이드는 H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 21); H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-NH_2(서열 번호: 22); H-CTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 23); H-M-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 24); Cbz-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 25); H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQL-OH(서열 번호: 26); H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLT-OH(서열 번호: 27); H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPF-OH(서열 번호: 28); H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKP-OH(서열 번호: 29); H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LD-OH(서열 번호: 30); H-VE(AAB)TM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 31); H-VECT(AAH)-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 32); H-VE(AAB)T(AAH)-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 33); H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH 수소화된(서열 번호: 34); H-VECTM-S5-EKR-S5-LALLDKPPFLTQLHS-OH(서열 번호: 35); 및 H-LPHET-R8-RLSQKV-S5-TKLDCLMFVEPA-OH(서열 번호: 36)로 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0028] 본원에 기재된 스테이플드 펩타이드에 대해, 스테이플링은 R8 및 S5 잔기 상에 위치한다.

도면의 간단한 설명

[0029] **도 1. FA 마우스의 대사 특징화**

(A) 6-월령 수컷 마우스의 평균 체중이다.

(B) 아디포-레드(Adipo-red)로 염색한, 6-월령 수컷 마우스의 내장 지방 조직이다. 기준자(scale bar): 25 μM.

(C) 6-월령 수컷 마우스로부터의 인슐린 관용 시험(ITT), 및 곡선 아래 면적(A.U.C.; area under the curve) $p<0.001$)을 보여주는 상응하는 히스토그램이다.

(D) 2-월령 수컷 마우스의 평균 체중이다.

(E) 아디포-레드로 염색한, 2-월령 수컷 마우스의 내장 지방 조직이다. 기준자: 25 μM.

(F) 2-월령 수컷 마우스의 ITT 및 A.U.C.를 보여주는 히스토그램이다.

(G) 2-월령 마우스의 상이한 기관에서 인슐린-자극 데옥시글루코스 흡수 수준의 측정이다: 간, 심장, 비복근, 비장근, EDL(장지신근(extensor digitorum longus muscle)), WAT(백색 지방 조직), vWAT(내장 WAT), 뇌(n = 1개 유전자형 당 6 내지 8 마리 마우스).

도 2: ALMS1(*Alms*$^{flin/flin}$)의 특이적인 지방 조직 재활성화의 발생 및 이의 대사 특징화

(A) ALMS 유전자의 인트론 영역에 도입되고 측면에 2개의 LoxP 부위를 갖는 네오마이신 유전자 (NEO box) 의 정지서열을 갖는 Cre 활성을 통해 표적화된 조직에서 ALMS 활성의 특이적인 재도입을 발생시키기 위한 클로닝 전략을 나타내는 도식도이다.

(B) Cre 활성 시, 플록세드(floxed) 영역은 제거되어, 단지 1개의 LoxP 부위만 남게 되며, 어떠한 정지 코돈도 ALMS 1 발현을 재활성화시키지 않는다.

(C) 지방세포 단독에 대한 아디포넥틴-Cre 마우스주(mouse line)의 특이성 평가이다. 아디포넥틴-Cre를 RosaTomatoeGFP 수용체주(reporter line)와 교차시킴으로써, 형광을 띄는 조직만 Cre 활성을 나타낸다.

(D) 주어진 유전자형을 갖는 상이한 표적 조직에서 Alms1 발현 수준의 정량적 PCR 분석이다. WT 마우스에서, 모든 시험된 조직은 ALMS1을 발현하고 있고, Alms1$^{flin/flin}$에서 어떠한 발현 수준도 검출되지 않는 반면, Alms1$^{flin/flin}$;아디포넥틴-Cre$^{+/-}$에서, 지방 조직만 ALMS1을 발현하고 있다.

(E) *Alms1*$^{flin/flin}$을 보여주는 지시된 유전자형을 갖고 있으며 비만이 되어 가고 있는 수컷 마우스에 대한 성장 곡선이다.

(F) 지시된 유전자형을 갖는 수컷 마우스에서 글루코스 관용 시험으로서, *Alms*$^{flin/flin}$이 글루코스 비관용(intolerant)이지만 지방 조직에서만 ALMS1을 회복시키는 것이 글루코스 관용을 회복시키기에 충분함을 도시한다.

도 3: 인간 αPKC 이소형(isoform) 유래의 잠재적인 펩타이드 서열의 식별과 함께 ALMS1 및 αPKC 결합의 인 실리코(In silico) 모델링이다.

(A) 3개의 주요 아미노산: 아르기닌, 메티오닌 및 프롤린의 식별과 함께 ALMS1 및 αPKC 결합의 인 실리코 모델링이다.

(B) 인간 αPKC 이소형 서열 유래 잠재적인 펩타이드의 식별이다. 이들 펩타이드는, **P**eptide of **A**PKC **T**argeting **A**LMS for **D**iavetes 의 약어로 **PATAD** 펩타이드로 지칭할 수 있다.

도 4: 펩타이드 서열의 글루코스 흡수 유발력에 대한, 2개의 펩타이드 서열의 시험관내 특징화이다.

(A) 인간 지방세포에서 FAM-표지 스테이플드 펩타이드 A(서열 번호: 9)와 B(서열 번호: 11)의 혼합물의 세포 진입 평가를 도시하는 대표적인 사진이다. DIC: 좌측 패널에서 살아 있는 세포 취득(acquisition)에 대한 차등 간섭 대비 모드(differential interference contrast mode)이다. 우측 패널에서, 표지된 형질막(PM)과 함께 FAM-표지 펩타이드의 형광 검출이다.

(B) 도 3에서 식별된 PATAD 펩타이드의 세포 흡수의 3D 이미지이다; 펩타이드 A(좌측 패널) 또는 펩타이드 B(우측 패널)로 처리된 지방세포는 상기 지방세포 내부에서 펩타이드 내부의 스팟을 보여준다.

(C) 스테이플드 펩타이드 A와 B의 조합을 이용한 치료 후, 지방세포에서 INS의 부재 하에 2-NBDG의 흡수를 보여주는 사진이다.

(D) 지시된 펩타이드 치료 후(1개 그룹 당 n = 8), 지방세포에서 INS의 부재 하에 세포내 글루코스 유사체 2-NB의 정량화이다.

(E) 지시된 펩타이드 치료 후(1개 그룹 당 n = 8), 지방세포에서 INS의 존재 하에 세포내 글루코스 유사체 2-NB의 정량화이다.

도 5: 지방 조직-관련 내분비 양태 및 이들의 전신 영향이다.

(A) 스테이플드 펩타이드 A와 B의 조합의 피하 주사 전, 및 펩타이드 주사 후 1주 뒤에, 식단 유도 비만(DIO; diet induced obese) 및 당뇨병 마우스에서 글루코스 관용 시험(GTT)이다.

(B) DIO 마우스에서 펩타이드 치료에 대한 실험 설정의 도식도이다.

(C) 주사 부위로부터 수득된 지방 조직 내부에서 표지된 형질막(PM)과 함께 FAM-표지 펩타이드 A 및 B(화살표로 표시됨)의 형광 검출이다.

(D) 스테이플드 펩타이드 A와 B의 조합의 피하 주사 전, 및 펩타이드 피하 주사 후 1주 뒤에, 기능적 ALMS1이 결여된 Almsfoz/foz 마우스에서 GTT이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0030] 놀랍게도, 당업계가, 지방 조직이 단지 일일 글루코스 섭취 및 생성 중 20% 미만의 폐기를 책임진다고 교시하고 있음에도, 본 발명자들은, 인슐린-독립적 지방세포 글루코스 흡수의 유도 자체가 정상혈당증을 회복시키고 비만 당뇨병 개체에서 다운스트림 대사 결함을 교정(correct)할 수 있음을 확인하였다. 지방세포 내로의 인슐린-독립적 글루코스 흡수의 단순 유도가 전신 비만-연관 고혈당증 및 이의 다운스트림 대사 결과를 역전시킬 수 있다는 신규 및 놀라운 발견은, 인슐린-독립적 지방세포 글루코스 흡수를 특이적으로 표적화하는 신규 당뇨병 치료법의 설계를 가능하게 한다. 후속적으로, 본 발명자들은 본 개시내용의 신규 펩타이드를 설계하였고, 이들의 표적 Alms1이 세포내 단백질임에도 불구하고, 놀랍게도, 지방 조직 내로의 이들 펩타이드의 주사는 저혈당증을 유도하지 않거나 체중을 변화시키지 않으면서 당뇨병 개체에서 정상혈당증을 회복시킬 수 있음을 보여주었다.

[0031] 이에, 본 발명은 인슐린-독립적 지방세포 글루코스 흡수의 유도를 통한, 고혈당증의 치료 또는 예방 방법에 관한 것이다.

[0032] *정의*

[0033] ALMS1, 알스트롬 증후군(Alstrom syndrome) 단백질 1은 *ALMS1* 유전자에 의해 인코딩되는 단백질이다. ALMS1 유전자에서의 돌연변이는 알스트롬 증후군의 원인이 되는 것으로 확인되었다. 이러한 돌연변이는 몇몇 데이터베이스, 즉, UniProt ID No Q8TCU4; Gene ID No 7840, HGNG ID No 428에 기재되어 있다. 기준 서열은 mRNA에 대해서는 Genbank에서 NM_015120.4 하에, 그리고 단백질에 대해서는 NP_055935.4 하에 개시되어 있다.

[0034] 현재 As160으로도 지칭되는 TBC1D4(TBC1 domain family member 4)는 RAB2A, RAB8A, RAB10 및 RAB14에 대한 GTPase-활성화 단백질로서 작용하는 것으로 제안된다. 이는 몇몇 데이터베이스, 즉, UniProt ID No O60343, Gene ID No 9882, HGNG ID No 19165에 기재되어 있다. 기준 서열은 Genbank에서 mRNA에 대해서는 NM_014832.3 및 단백질에 대해서는 NP_055647.2에 개시되어 있다(canonical 서열로서 선택된 이소형 1에 대해). 위치 678-740에서 아미노산의 누락(missing)에 의해 이소형 1과 상이하고 UniProt under No O60343-2에서 지칭된 이소형 2는 형질막에서 인슐린-유도 글루코스 수송체 SLC2A4/GLUT4 전좌를 촉진하여, 글루코스 흡수를 증가시킨다.

[0035] 용어 "단백질 키나제 C" 및 "PKC"(EC 2.7.11.13)는 동일하고, 이들 단백질 상의 세린 및 트레오닌 아미노산 잔기의 하이드록실기의 인산화를 통해 다른 단백질의 기능을 조절하는 데 관여하는 단백질 키나제 효소의 계통을 지칭한다. PKC는 전형적으로, 디아실글리세롤(DAG) 또는 칼슘 이온(Ca2+) 농도의 증가와 같은 신호에 의해 활성화된다. PKC는 몇몇 신호 전달 캐스케이드에서 중요한 역할을 한다.

[0036] PKC 계통은 인간에서 적어도 15개의 동질 효소(isozyme)를 포함하고, 이들 효소는 3개의 주요 하위계통, 종래의(또는 전형적인) PKC, 신규 PKC 및 비정형(atypical) PKC로 나뉜다.

[0037] 종래의 (c)PKC는 이소형 α, βI, βII 및 γ를 포함한다. 이들 PKC는 활성화를 위해 Ca^{2+}, DAG, 및 인지질, 예컨대 포스파티딜세린을 필요로 한다.

[0038] 신규 (n)PKC는 δ, ε, η 및 Θ 이소형을 포함한다. 이들 PKC는 활성화를 위해 DAG는 필요로 하나 $Ca2^{+}$를 필요

로 하지 않는다.

[0039] 비정형 (a)PKC는 ζ, ι 및 이소형을 포함한다. 이들 PKC는 활성화를 위해 Ca2+ 또는 디아실글리세롤 중 어느 것도 필요로 하지 않는다.

[0040] αPKC, PKC-A 또는 PKC-알파로도 지칭되는 단백질 키나제 C 알파 유형은, 칼슘 및 2차 전령자 디아실글리세롤에 의해 활성화될 수 있는 세린-특이적 및 트레오닌-특이적 단백질 키나제 계통에 속한다. 이는 몇몇 데이터베이스, 즉, UniProt ID No P17252, Gene ID No 9393, HGNG ID No 5578에 기재되어 있다. 기준 서열은 Genbank에서 mRNA에 대해 NM_02737.2 하에, 그리고 단백질에 대해 NP_002728.1 하에 개시되어 있다. 인간 αPKC의 단백질 서열은 서열 번호: 1에 개시되어 있다.

[0041] *"~로 구성된다", "~로 본질적으로 구성된다" 또는 "~을 실질적으로 포함한다"*: 요소 또는 요소들에 대한 지칭과 같이 용어를 사용하는 본 발명의 임의의 양태 또는 구현예의 본원의 설명은, 문맥상 다르게 언급되거나 명백하게 상충되지 않는 한, 해당되는 특정 요소 또는 요소들"로 구성되거나", "본질적으로 구성되거나" 또는 "실질적으로 포함하는" 본 발명의 유사한 양태 또는 구현예에 대한 뒷받침을 제공하고자 한다. 예를 들어, 특정 서열을 포함하는 것으로 본원에 기재된 펩타이드 또는 단백질은, 문맥상 다르게 언급되거나 명백하게 상충되지 않는 한, 해당 서열로 구성된 펩타이드 또는 단백질을 기재하는 것으로도 이해되어야 한다. "~로 본질적으로 구성된다"란, 펩타이드 또는 단백질이 해당 서열로 구성되지만, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환, 첨가, 결실 또는 이들의 혼합, 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환, 첨가, 결실 또는 이들의 혼합을 포함할 수도 있는 것으로 의도된다. 특히, "~로 본질적으로 구성된다"란, 펩타이드가 N 및/또는 C-말단부(terminal end)에 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 부가적인 아미노산, 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 부가적인 아미노산, 및/또는 1, 2 또는 3개의 치환, 결실, 첨가 또는 이들의 혼합을 포함할 수 있는 것으로 의도되고자 할 수 있다.

[0042] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "치환"은 펩타이드 서열에서 또 다른 아미노산에 의한 단일 아미노산의 교환을 지칭한다.

[0043] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "결실"은 펩타이드 서열에서 단일 아미노산의 제거를 지칭한다.

[0044] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "삽입" 또는 "첨가"는 동일하고, 펩타이드 서열에서 단일 아미노산의 첨가를 지칭한다.

[0045] 본원에 개시된 펩타이드 서열에서, 아미노산은 하기 명명법에 따라 이들의 한글자 코드로 표시된다: A: 알라닌; C: 시스테인; D: 아스파르트산; E: 글루탐산; F: 페닐알라닌; G: 글리신; H: 히스티딘; I: 이소류신; K: 라이신; L: 류신 ; M: 메티오닌 ; N: 아스파라긴 ; P: 프롤린 ; Q: 글루타민 ; R: 아르기닌 ; S: 세린 ; T: 트레오닌 ; V: 발린 ; W: 트립토판 및 Y: 티로신.

[0046] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "서열 동일성" 또는 "동일성"은 2개의 펩타이드의 정확한 아미노산 대 아미노산 대응도(correspondence)를 지칭한다. 동일성 퍼센트는, 서열을 정렬하고, 2개의 정렬된 서열 사이에서 매치(match)의 정확한 수를 계수하고, 더 짧은 서열의 길이로 나누고, 그 결과에 100을 곱함으로써 2개의 분자 사이에서 서열 정보의 직접적인 비교에 의해 결정될 수 있다.

[0047] 서열 동일성은 2개의 서열의 길이에 따라 전체 정렬 알고리즘 또는 국소 정렬 알고리즘을 사용하여 2개의 펩타이드 서열의 정렬에 의해 결정될 수 있다. 유사한 길이의 서열은 바람직하게는, 서열을 전체 길이에 걸쳐 최적으로 정렬시키는 전체 정렬 알고리즘(예를 들어 Needleman Wunsch)을 사용하여 정렬되고, 한편 실질적으로 상이한 길이의 서열은 바람직하게는 국소 정렬 알고리즘(예를 들어 Smith Waterman)을 사용하여 정렬된다. 그 후에, 서열은, 이들 서열이(예를 들어 디폴트 매개변수를 사용하여 프로그램 GAP 또는 BESTFIT에 의해 최적으로 정렬된 경우) 서열 동일성의 적어도 소정의 최소 퍼센트를 공유하는 경우, "실질적으로 동일한" 또는 "본질적으로 유사한" 것으로 지칭될 수 있다. GAP은 Needleman 및 Wunsch 전체 정렬 알고리즘을 사용하여, 2개의 서열을 이들의 전체 길이(총 길이)에 걸쳐 정렬하고, 매치의 수를 최대화하고 갭의 수를 최소화시킨다. 전체 정렬은, 2개의 서열이 유사한 길이를 갖는 경우 서열 동일성을 결정하는 데 적합하게 사용된다.

[0048] "증가된", "증가시키다" 또는 "증강시키다"는, 동일한 조건에서 시험 분자의 부재 하에 측정된 측정치와 비교한 경우 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 또는 90%만큼 증가된 측정치를 지칭하고자 한다. "저하된" 또는 "저하시키다"는, 동일한 조건에서 시험 분자의 부재 하에 측정된 측정치와 비교한 경우 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 또는 90%만큼 저하된 측정치를 지칭하고자 한다.

[0049] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "치료", "치료하다" 또는 "치료하는"은 환자의 건강 상태를 개선하고자 하는, 예컨대 질병을 치유하거나, 완화하거나 지연시키고자 하는 임의의 행위를 지칭한다. 치료는 예방적 치료뿐만 아니라 치료적 치료를 포함한다. 용어 치료는 특히, 손상된 글루코스 항상성의 교정, 지체 또는 감소를 의미한다. 용어 "치료"는 또한, 글루코스 흡수(예를 들어 지방세포에 의한 글루코스의 포착)의 향상, 또는 상승된 혈중 글루코스 또는 인슐린 내성의 임의의 악영향의 역전을 의미한다. 본 발명의 맥락 내에서, 용어 "혈중 글루코스 수준을 조절하는" 또는 "혈중 글루코스 수준의 조절"은 비정상적인 수준(즉, 정상적인 글루코스 항상성을 갖는 상응하는 포유류 대상체에 대한 공지된 기준, 중앙값 또는 평균값보다 낮거나 높은 수준)을 갖는 포유류 대상체에서 혈액 또는 혈장 글루코스 수준의 정상화 또는 제어를 지칭한다.

[0050] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "유효량"은 진성 당뇨병, 인슐린 내성, 고지혈증, 관상심장병, 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 신장병증, 인슐린 내성, 고혈당, 비만, 지질이영양증, 인슐린 결핍, 베타 세포 기능장애 또는 고인슐린혈증, 바람직하게는 진성 당뇨병, 보다 더 바람직하게는 2형 진성 당뇨병의 진행 또는 발병을 치료하거나 지연시키는 본 개시내용의 펩타이드 또는 본 개시내용의 약제학적 조성물의 양을 지칭한다.

[0051] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "유효 성분(active principle)", "활성 성분(active ingredient)" 및 "활성 약제학적 성분"은 동일하고, 치료 효과를 갖는 약제학적 조성물의 구성성분을 지칭한다.

[0052] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "치료 효과"는 진성 당뇨병, 인슐린 내성, 고지혈증, 관상심장병, 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 신장병증, 인슐린 내성, 고혈당, 비만, 지질이영양증, 인슐린 결핍, 베타 세포 기능장애 또는 고인슐린혈증, 바람직하게는 진성 당뇨병, 보다 더 바람직하게는 2형 진성 당뇨병의 진행 또는 발병을 치료하거나 지연시킬 수 있는 활성 성분, 예컨대 본 개시내용의 펩타이드, 또는 본 개시내용에 따른 약제학적 조성물에 의해 유도되는 효과를 지칭한다.

[0053] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "부형제 또는 약제학적으로 허용 가능한 담체"는, 약제학적 조성물에 존재하는 활성 성분을 제외한 임의의 성분을 지칭한다. 이의 첨가는 특정 일관성 또는 다른 물리적 또는 미각적(gustative) 특성을 최종 생성물에 부여하는 것을 목적으로 할 수 있다. 부형제 또는 약제학적으로 허용 가능한 담체는 활성 성분과 임의의 상호작용, 특히 화학적 상호작용을 하지 않아야 한다.

[0054] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "대상체", "개체" 또는 "환자"는 상호교환적이고, 동물, 바람직하게는 포유류, 보다 더 바람직하게는 성인, 어린이, 신생아, 및 태아기 인간을 포함한 인간을 지칭한다.

[0055] 본 문서에서, 용어 ≪ 약 ≫은 명시된 값의 ± 10%의 값의 범위를 지칭한다. 예를 들어, ≪ 약 50 ≫은 50의 ± 10%의 값, 즉, 45 내지 55 사이의 범위의 값을 포함한다. 바람직하게는, 용어 ≪ 약 ≫은 명시된 값의 ± 5%의 값의 범위를 지칭한다.

[0056] ***펩타이드***

[0057] 본 개시내용에 따른 펩타이드(들)는 지방세포 내로의 인슐린-독립적 글루코스 흡수를 유도하며, 이로써 당뇨병 개체에서 정상혈당증을 회복시키거나 당뇨병 개체에서 혈당증을 향상시킬 수 있다.

[0058] 본 개시내용에 따른 펩타이드는 적어도 하나의 메티오닌, 하나의 프롤린 및 하나의 아르기닌을 포함한다.

[0059] 일 양태에서, 본 개시내용의 펩타이드는 알파 나선 구조를 가진다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "알파 나선" "α-나선", "전형적인 폴링-코리-브랜슨(Pauling-Corey-Branson) α-나선" 및 "3.613-나선"은 동일하고, 서로를 지칭한다. 용어 "알파 나선"은 단백질의 2차 구조에서 공통 모티프를 지칭하며, 이는 모든 백본 N-H 기가 단백질 서열을 따라 3 또는 4개 잔기 앞에 위치한 아미노산의 백본 C=O 기에 수소 결합을 공여하는 오른손-꼬임 또는 나선형(spiral) 형태(나선)이다. 알파 나선은 1개 나선 회전(helical turn) 당 약 3.6개의 평균 잔기 수를 갖고, 13개의 원자가 수소 결합에 의해 형성된 고리에 관여한다.

[0060] 특정 구현예에서, 본 개시내용의 펩타이드는 알파 나선 구조를 가지며, 및/또는 알파 나선 구조를 예측하는 서열을 가진다. 펩타이드의 구조를 결정하는 방법, 예컨대 원편광 이색성 분석(원형 Dichroism) 또는 NMR은 당업자에게 잘 공지되어 있다. 마찬가지로, 펩타이드의 알파 나선 구조를 예측하는 방법, 예컨대 STRIDE(문헌[Frishman D., Argos P., Proteins, vol. 23, no 4, 1995, p. 566-579]); DEFINE(문헌[Richards F. M., Kundrot C. E., Proteins, vol.3, no 2, 1988, p. 71-84]); DSSP(문헌[Touw et al. Nucleic Acids Research 2015; 43: D364-D368 ; Kabsch & Sander. Biopolymers. 1983, 22, 2577-2637])는 당업자에게 잘 공지되어 있다.

[0061] 또 다른 특정 구현예에서, 본 개시내용에 따른 펩타이드는 상기 펩타이드를 알파 나선형 형태로 유지시키기 위해 설계되거나 변형된다. 당업계에 공지된 바와 같이, 이는, 생물학적 효과에 중요하지 않은 아미노산의 치환을 이용한 아미노산 서열의 변형, 비-천연 아미노산의 사용, 펩타이드 고리화, 및 펩타이드 백본의 변형 또는 펩타이드 사슬 내 아미노산 사이에서 화학적 연결의 첨가를 포함한 여러 가지 방법을 통해 달성될 수 있다. 이러한 변형은 예를 들어 펩타이드의 열적 및 프로테아제 안정성을 증가시키기 위해 펩타이드에 대해 이루어질 수 있다.

[0062] 특히, 본 개시내용의 펩타이드는 화학적 가교에 의해 변형된다. 예를 들어, 펩타이드는 스테이플드 펩타이드일 수 있다. 일 구현예에서, 본 개시내용의 펩타이드는 스테이플드이다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "스테이플드 펩타이드" 또는 "스티치드(stitched) 펩타이드"는, 펩타이드 2차 구조가 펩타이드 내 α-나선의 인접한 회전(turn)을 연결하는 하나 이상의 인위적 분자 가교(브릿지(bridge))를 이용하여 안정화되는 인위적으로 변형된 펩타이드를 지칭한다. 스테이플드 펩타이드의 제조 방법은 당업계, 예를 들어 문헌[Verdine & Hilinski (2012, Methods Enzymol, 503, 3-33)], WO10033617 및 WO10011313에서 잘 공지되어 있으며, 이들의 개시내용은 참조에 의해 본 명세서에 포함된다.

[0063] 일 구현예에서, 본 개시내용의 스테이플드 펩타이드의 가교는 i+3, 및/또는 i+4, 및/또는 i+7 가교이다. 펩타이드에서, "i+3 가교"는 아미노산, "i" 아미노산과 상기 i 아미노산으로부터 3개 아미노산 잔기의 거리에 존재하는 또 다른 아미노산 사이의 가교이다. 펩타이드에서, "i+4 가교"는 아미노산, "i" 아미노산과 상기 i 아미노산으로부터 4개 아미노산 잔기의 거리에 존재하는 또 다른 아미노산 사이의 가교이다. 펩타이드에서, "i+7 가교"는 아미노산, "i" 아미노산과 상기 i 아미노산으로부터 7개 아미노산 잔기의 거리에 존재하는 또 다른 아미노산 사이의 가교이다.

[0064] 특정 구현예에서, 본 개시내용에 따른 펩타이드는 환식 펩타이드이다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "환식 펩타이드" 또는 "원형 펩타이드"는 동일하고, N-말단과 C-말단, 또는 N-말단과 또 다른 아미노산, 바람직하게는 C-말단 아미노산의 측쇄, 또는 C-말단과 또 다른 아미노산, 바람직하게는 N-말단 아미노산의 측쇄, 또는 아미노산의 측쇄와 또 다른 아미노산, 바람직하게는 N-말단 아미노산 및 C-말단 아미노산의 측쇄가 공유 결합에 의해 연결되어 고리 구조를 발생시키는 펩타이드를 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "N-말단", "아미노-말단", "NH2-말단", "N-말단부" 및 "아민-말단"은 동일하고, 펩타이드의 처음 아미노산 상에 존재하는 자유 아민기(-NH2)를 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "C-말단", "카르복실-말단", "카르복시-말단", "C-말단부" 및 "COOH-말단"은 동일하고, 펩타이드의 마지막 아미노산 상에 존재하는 자유 카르복실기(-COOH)를 지칭한다.

[0065] 펩타이드는 하기 식: M-(X)m-P-(X)n-R 또는 M-(X)m-R-(X)n-P 또는 P-(X)m-M-(X)n-R 또는 P-(X)m-R-(X)n-M 또는 R-(X)m-P-(X)n-M 또는 R-(X)m-M-(X)n-P, 바람직하게는 M-(X)m-R-(X)n-P 또는 P-(X)m-R-(X)n-M 또는 R-(X)m-M-(X)n-P 또는 M-(X)m-P-(X)n-R 중 하나에 따른 서열을 포함할 수 있으며, 이때, X는 임의의 아미노산이며, m 및 n은 1 내지 30의 정수이고, m + n은 50 미만이다.

[0066] 이들 서열에서, m 및 n은 1 내지 30, 바람직하게는 1 내지 20, 보다 바람직하게는 2 내지 15, 더욱 바람직하게는 2 내지 10, 보다 더 바람직하게는 2 내지 7를 포함하는 정수이다. 대안적으로, m 및 n은 3 내지 5를 포함하는 정수일 수 있다.

[0067] 이들 서열에서, m + n은 50 미만, 바람직하게는 30 미만, 보다 바람직하게는 20 미만이다. 대안적으로, m + n은 15 미만일 수 있다.

[0068] 일 구현예에서, m 및 n은 1 내지 20의 정수이고, m + n은 30 미만이다.

[0069] 이들 서열에서, X는 M, R 또는 P를 포함한 임의의 아미노산일 수 있다. 대안적으로, X는 M, R 및 P를 제외한 임의의 아미노산일 수 있다.

[0070] 특히, X는 α-나선 2차 구조에 선호적인 아미노산일 수 있다. 예를 들어, 이러한 아미노산은 A, R, D, N, C, G, Q, E, H, L, K, M, F, S, W 및 Y로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으며, 바람직하게는 A, D, N, C, G, Q, E, H, L, K, F, S, W 및 Y로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.

[0071] 본 개시내용에 따른 펩타이드는 120개 미만의 아미노산 길이를 가진다. 일 구현예에서, 본 개시내용에 따른 펩타이드는 80개 미만의 아미노산, 보다 바람직하게는 60개 미만의 아미노산, 더욱 바람직하게는 40개 미만의 아미노산, 보다 더 바람직하게는 30개 미만의 아미노산 길이를 가진다. 특정 구현예에서, 본 개시내용에 따른 펩

타이드는 25개 미만의 아미노산 길이를 가진다. 또 다른 특정 구현예에서, 본 개시내용에 따른 펩타이드는 20개 미만의 아미노산, 바람직하게는 15개 미만의 아미노산 길이를 가진다. 바람직하게는, 펩타이드는 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개 초과의 아미노산의 최소 길이를 가진다. 예를 들어, 펩타이드는 적어도 8개 아미노산 내지 40개 미만의 아미노산 길이, 바람직하게는 적어도 10개 아미노산 내지 30개 미만의 아미노산 길이; 보다 바람직하게는 적어도 12개 아미노산 내지 25개 미만의 아미노산 길이를 가진다.

[0072] 특정 구현예에서, 본 개시내용에 따른 펩타이드는 하기 특징 중 2, 3, 4 또는 모두를 제시한다:

[0073] - 본 펩타이드는 인슐린-독립적 지방세포 글루코스 수송을 유도한다;

[0074] - 본 펩타이드는 적어도 하나의 메티오닌, 하나의 프롤린 및 하나의 아르기닌을 포함한다;

[0075] - 본 펩타이드는 적어도 8개 아미노산 내지 40개 미만의 아미노산 길이, 바람직하게는 적어도 10개 아미노산 내지 30개 아미노산 미만의 길이, 보다 바람직하게는 적어도 12개 아미노산 내지 25개 미만의 아미노산 길이를 가진다;

[0076] - 본 펩타이드는 나선, 바람직하게는 알파 나선인 2차 구조를 채택한다.

[0077] 보다 구체적인 구현예에서, 본 개시내용에 따른 펩타이드는 하기 특징을 제시한다:

[0078] - 본 펩타이드는 인슐린-독립적 지방세포 글루코스 수송을 유도한다;

[0079] - 본 펩타이드는 적어도 하나의 메티오닌, 하나의 프롤린 및 하나의 아르기닌을 포함한다;

[0080] - 본 펩타이드는 적어도 8개 아미노산 내지 40개 미만의 아미노산 길이, 바람직하게는 적어도 10개 아미노산 내지 30개 아미노산 미만의 길이, 보다 바람직하게는 적어도 12개 아미노산 내지 25개 미만의 아미노산 길이를 가진다;

[0081] - 본 펩타이드는 나선, 바람직하게는 알파 나선인 2차 구조를 채택한다;

[0082] - 본 펩타이드는 가교에 의해 안정화된다.

[0083] 또 다른 특정 구현예에서, 본 개시내용에 따른 펩타이드 서열은 PKC(단백질 키나제 C)의 분절의 서열을 포함하거나, 이러한 서열로 본질적으로 구성되거나, 이러한 서열로 구성된다. 일 구현예에서, PKC는 종래의 PKC, 신규 PKC 및 비정형 PKC로부터 선택된다. 특정 구현예에서, PKC는 종래의 PKC로부터 선택된다. 더욱 바람직하게는, PKC는 α, βI, βII 및 γ PKC로 구성된 군으로부터 선택된다. 보다 바람직하게는, PKC는 α, βI 및 βII PKC로 구성된 군으로부터 선택된다. 보다 구체적인 구현예에서, PKC는 α PKC, 바람직하게는 인간 α PKC, 보다 바람직하게는 서열 번호: 1의 인간 α PKC이다.

[0084] 일 구현예에서, PKC의 분절의 상기 서열은 서열 번호: 1의 위치 336과 672 사이의 서열에 속한다. 예를 들어, PKC의 분절의 서열은 서열 번호: 1의 위치 336과 432 사이, 서열 번호: 1의 위치 434과 544 사이, 또는 서열 번호: 1의 위치 568과 596 사이의 서열에 속할 수 있다.

[0085] 일 구현예에서, PKC의 분절의 서열은 하기 잔기: 서열 번호: 1의 F114, D116, C118, L121, N138, Q142, I145, P148, G433, E545, S562, S566, F597, D601, W602, K604, E606, G620, T631, V664, 및 I667, 바람직하게는 서열 번호: 1의 G433, E545, S562, S567, F597, D601, W602, K604, E606, G620, T631, V664 및 I667을 포함하지 않는다.

[0086] 바람직하게는, PKC의 분절의 상기 서열은 펩타이드의 서열 중 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%에 상응한다. 특정 구현예에서, 본 개시내용에 따른 펩타이드 서열은 서열 번호: 1의 분절의 서열로 구성된다.

[0087] 바람직하게는, 상기 적어도 하나의 메티오닌 및/또는 하나의 프롤린 및/또는 하나의 아르기닌은 PKC의 분절의 서열에 포함된다. 보다 바람직하게는, 상기 적어도 하나의 메티오닌 및 하나의 프롤린 및 하나의 아르기닌은 PKC의 분절의 서열에 포함된다.

[0088] 본 개시내용에 따른 펩타이드는 치환, 결실 및/또는 첨가를 포함할 수 있다.

[0089] 바람직하게는, 펩타이드는 20개 이하, 바람직하게는 15개 이하, 보다 바람직하게는 10개 이하의 치환, 결실, 첨가 또는 이들의 혼합을 포함한다. 특히 바람직한 구현예에서, 펩타이드는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는

10개, 바람직하게는 1, 2, 3, 4 또는 5, 보다 바람직하게는 1, 2 또는 3개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함할 수 있다. 치환(들), 결실(들), 첨가(들)는 상기 적어도 하나의 메티오닌, 하나의 프롤린 및 하나의 아르기닌의 위치에 도입되지 않는다.

[0090] 대안적인 구현예에서, 펩타이드는 PKC의 분절의 서열, 바람직하게는 서열 번호: 1과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%의 동일성을 가진다. 일 구현예에서, 서열 번호: 1에 상응하는 펩타이드의 서열의 일부는 서열 번호: 1의 분절의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%의 동일성을 가진다.

[0091] 또 다른 특정 구현예에서, 본 개시내용에 따른 펩타이드의 서열은 하기:

[0092] - MVEKRVLALLDKP(서열 번호: 2);

[0093] - PFLTQLHSCFQTVDRLYFVM(서열 번호: 3);

[0094] - RLYFVMEYVNGGDLMYHIQQVGKFKEP(서열 번호: 4);

[0095] - MYHIQQVGKFKEPQAVFYAAEISIGLFFLHKR(서열 번호: 5);

[0096] - PQAVFYAAEISIGLFFLHKRGIIYRDLKLDNVM(서열 번호: 6);

[0097] - MDGVTTRTFCGTP(서열 번호: 7);

[0098] - MTKHPAKR(서열 번호: 8); 및

[0099] - RKGTEELYAIKILKKDVVIQDDDVECTMVEKRVLALLDKP(서열 번호: 12).

[0100] - RVLALLDKPPFLTQLHSCFQTVDRLYFVM(서열 번호: 13); 및

[0101] - RTFCGTPDYIAPEIIAYQPYGKSVDWWAYGVLLYEM(서열 번호: 14)

[0102] 로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함하거나, 이러한 서열로 본질적으로 구성되거나, 이러한 서열로 구성되고,

[0103] 선택적으로, 상기 펩타이드의 서열은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함한다. 바람직하게는, 상기 펩타이드의 서열은 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함할 수 있다. 보다 바람직하게는, 상기 펩타이드의 서열은 1, 2 또는 3개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 치환(들), 결실(들), 첨가(들)는, 적어도 하나의 M, P 및 R이 보존되도록 존재한다. 보다 바람직하게는, 치환(들), 결실(들), 첨가(들)는, M, P 및 R이 보존되도록 존재한다. 또한, 치환(들), 결실(들), 첨가(들)의 수는 서열 번호: 1의 분절의 서열과 적어도 50%, 60% 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%의 동일성을 유지하도록 선택된다.

[0104] 일 양태에서, 본 개시내용에 따른 펩타이드의 서열은 하기:

[0105] - MVEKRVLALLDKP(서열 번호: 2);

[0106] - PFLTQLHSCFQTVDRLYFVM(서열 번호: 3);

[0107] - RLYFVMEYVNGGDLMYHIQQVGKFKEP(서열 번호: 4);

[0108] - MYHIQQVGKFKEPQAVFYAAEISIGLFFLHKR(서열 번호: 5);

[0109] - PQAVFYAAEISIGLFFLHKRGIIYRDLKLDNVM(서열 번호: 6);

[0110] - MDGVTTRTFCGTP(서열 번호: 7); 및

[0111] - MTKHPAKR(서열 번호: 8)

[0112] 로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함하거나, 이러한 서열로 본질적으로 구성되거나, 이러한 서열로 구성되고,

[0113] 선택적으로 상기 펩타이드의 서열은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함한다. 바람직하게는, 상기 펩타이드의 서열은 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함할 수 있다. 보다 바람직하게는, 상기 펩타이드의 서열은 1, 2 또는 3개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 치환(들), 결실(들), 첨가(들)는, 적어도 하나의 M, P 및 R이 보존되도록 존재한다. 보다 바람직하게는, 치환(들), 결실(들), 첨가

(들)는, M, P 및 R이 보존되도록 존재한다. 또한, 치환(들), 결실(들), 첨가(들)의 수는 서열 번호: 1.의 분절의 서열과 적어도 50%, 60% 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%의 동일성을 유지하도록 선택된다.

[0114] 또 다른 양태에서, 본 개시내용에 따른 펩타이드의 서열은 하기:

[0115] - MVEKRVLALLDKP(서열 번호: 2);

[0116] - PFLTQLHSCFQTVDRLYFVM(서열 번호: 3);

[0117] - PQAVFYAAEISIGLFFLHKRGIIYRDLKLDNVM(서열 번호: 6)

[0118] - MDGVTTRTFCGTP(서열 번호: 7);

[0119] - MTKHPAKR(서열 번호: 8)

[0120] 로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함하거나, 이러한 서열로 본질적으로 구성되거나, 이러한 서열로 구성되고,

[0121] 선택적으로 상기 펩타이드의 서열은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함한다. 바람직하게는, 상기 펩타이드의 서열은 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함할 수 있다. 보다 바람직하게는, 상기 펩타이드의 서열은 1, 2 또는 3개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 치환(들), 결실(들), 첨가(들)는, 적어도 하나의 M, P 및 R이 보존되도록 존재한다. 보다 바람직하게는, 치환(들), 결실(들), 첨가(들)는, M, P 및 R이 보존되도록 존재한다. 또한, 치환(들), 결실(들), 첨가(들)의 수는 서열 번호: 1.의 분절의 서열과 적어도 50%, 60% 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%의 동일성을 유지하도록 선택된다.

[0122] 특정 양태에서, 본 개시내용에 따른 펩타이드의 서열은 하기:

[0123] - MVEKRVLALLDKP(서열 번호: 2);

[0124] - MDGVTTRTFCGTP(서열 번호: 7);

[0125] - MTKHPAKR(서열 번호: 8)

[0126] 로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함하거나, 이러한 서열로 본질적으로 구성되거나, 이러한 서열로 구성되고,

[0127] 선택적으로 상기 펩타이드의 서열은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함한다. 바람직하게는, 상기 펩타이드의 서열은 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함할 수 있다. 보다 바람직하게는, 상기 펩타이드의 서열은 1, 2 또는 3개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 치환(들), 결실(들), 첨가(들)는, 적어도 하나의 M, P 및 R이 보존되도록 존재한다. 보다 바람직하게는, 치환(들), 결실(들), 첨가(들)는, M, P 및 R이 보존되도록 존재한다. 또한, 치환(들), 결실(들), 첨가(들)의 수는 서열 번호: 1.의 분절의 서열과 적어도 50%, 60% 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%의 동일성을 유지하도록 선택된다.

[0128] 대안적으로, 본 개시내용에 따른 펩타이드의 서열은 하기:

[0129] - VECTMVEKRVLALLDKPPFLTQLHS(서열 번호: 9);

[0130] - MCKEHMMDGVTTRTFCGTPD(서열 번호: 10); 및

[0131] - SICKGLMTKHPAKRLGCGPEG(서열 번호: 11)

[0132] 로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함하거나, 이러한 서열로 본질적으로 구성되거나, 이러한 서열로 구성되고,

[0133] 선택적으로 상기 펩타이드의 서열은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함한다. 바람직하게는, 상기 펩타이드의 서열은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함할 수 있다. 보다 바람직하게는, 상기 펩타이드의 서열은 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 치환(들), 결실(들), 첨가(들)는, 적어도 하나의 M, P 및 R이 보존되도록 존재한다. 보다 바람직하게는, 치환(들), 결실(들), 첨가(들)는, M, P 및 R이 보존되도록 존재한다. 또한, 치환(들), 결실(들),

첨가(들)의 수는 서열 번호: 1.의 분절의 서열과 적어도 50%, 60% 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%의 동일성을 유지하도록 선택된다.

[0134] 특정 양태에서, 펩타이드는 하기:

[0135] - VECTMVEKRVLALLDKPPFLTQLHS(서열 번호: 9);

[0136] - MCKEHMMDGVTTRTFCGTPD(서열 번호: 10); 및

[0137] - SICKGLMTKHPAKRLGCGPEG(서열 번호: 11)

[0138] 로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함하거나, 이러한 서열로 본질적으로 구성되거나, 이러한 서열로 구성되고,

[0139] 볼드체로 되어 있고 밑줄이 그어진 잔기는 스테이플링을 수행한다.

[0140] 선택적으로 본 개시내용에 따른 펩타이드는 상기 열거된 서열에서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 추가로 포함한다. 바람직하게는, 상기 펩타이드는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함할 수 있다. 보다 바람직하게는, 상기 펩타이드는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환(들), 결실(들), 첨가(들) 또는 이들의 혼합을 포함할 수 있다. 치환(들), 결실(들), 첨가(들)는 적어도 하나의 M, P 및 R, 및 스테이플링에 사용되는 2개의 잔기를 보존하도록 선택된다. 보다 바람직하게는, 치환(들), 결실(들), 첨가(들)는, M, P 및 R이 보존되도록 선택된다.

[0141] 본 개시내용에 따른 펩타이드는 이의 세포성 흡수 또는 진입을 용이하게 하는 모이어티, 특히 PTD(단백질 형질도입 도메인)을 추가로 포함할 수 있다. PTD는 일반적으로, 10 내지 20개 아미노산의 소정의 아미노산 서열을 포함한다(문헌[Matsushita and Matsui, (2005), J Mol Med 83, 324-328; Vives et al, Biochimic et Biophysica Acta, 2008, 1786, 126-138]). PTD는 주로, 염기성 아미노산, 예컨대 아르기닌 또는 라이신으로 이루어지고, PTD의 대표적인 예는 아르기닌-풍부(rich) 펩타이드, 예컨대 폴리 R_8(RRRRRRRR(서열 번호: 15)) 또는 (RRPRRPRRPRRPRRP(서열 번호: 16)), 안테나피디아(antennapedia) 또는 페네트라틴(penetratin) 펩타이드, 예컨대 (RQIKIWFQNRRMKWKK(서열 번호: 17)) 또는 HIV-Tat(YGRKKRRQRRR(서열 번호: 18))를 포함한다.

[0142] 본 개시내용에 따른 펩타이드는 천연 아미노산 및/또는 비천연 아미노산으로 이루어질 수 있고, 바람직하게는 적어도 하나의 메티오닌, 하나의 프롤린 및 하나의 아르기닌은 천연 아미노산이다. 용어 "비천연 아미노산"은 천연 아미노산(즉, 알라닌, 발린, 글리신, 류신, 이소류신, 라이신, 아르기닌, 글루탐산, 글루타민, 아스파르트산, 아스파라긴, 히스티딘, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 세린, 프롤린, 트레오닌, 시스테인, 메티오닌)의 유사체 또는 유도체로서 정의된다. 이들은 변형된 측쇄, 예를 들어 더 짧거나 더 긴 측쇄, 또는 상이한 작용기를 갖는 측쇄를 제시한다. 이성질체 D 및 L이 고려되는데, 특히 이성질체 D가 프로테아제에 민감하지 않기 때문이다. 또한, 단백분해(proteolysis) 내성을 증가시키기 위해, 일부 또는 모든 펩타이드 결합에서의 변형이, 특히 (-CO-NH-)에 의해, ($-CH_2$-NH-), (-NH-CO-), ($-CH_2$-O-), ($-CH_2$-S-), ($-CH_2-CH_2$-), (-CO-CH_2-), (-CHOH-CH_2-), (-N=N-), 및/또는 (-CH=CH-)에 의해 또한, 고려된다. 펩타이드는 카르복실 C 말단부($-COO^-$) 및 아미드 말단부($-CONH_2$)를 제시할 수 있다. 펩타이드는 또한, 본원에 개시된 바와 같은 펩타이드의 D-레트로-인베르소(D-retro-inverso) 서열일 수 있다. N 말단은 특히 아세틸 라디칼에 의해 변형될 수 있다.

[0143] 선택적으로, 펩타이드는 이의 안정성을 증가시키기 위해 PEG화될 수 있다. 더 선택적으로, 펩타이드는 비-수성 양성자성 용매 용액, 예컨대 프로필렌 글리콜 및 폴리에틸렌 글리콜에서 제제화될 수 있다. 펩타이드는 또한, 폴리 락틱 코-글리콜산 미소구체 데폿 제제 내로 포장될 수 잇다. 많은 서방성(sustained-release) 전달 시스템이 존재하고, 이들 중 많은 것들은 본 개시내용에 사용하기에 적절하다. 예를 들어, PLGA, 폴리-락테이트 또는 폴리-글리콜레이트와 같은 분해 가능한 중합체를 기반으로 하는 중합체계 완효성(slow-release) 조성물이 적합하며, 지질계 데폿 조성물, 예컨대 WO2005/117830 및/또는 WO2006/075124에 기재된 것들도 적합하고, 이들의 완전한 개시내용은 참조에 의해 본 명세서에 포함되어 있다. 생분해 가능한 중합체 데폿 제제 내로의 활성제의 제제화는 당업계에서 잘 구축되어 있고 잘 공지되어 있으며, 따라서, 본 개시내용의 펩타이드는 공지된 방법을 이용하여 제제화될 수 있다. 바람직하게는, 본 개시내용의 조성물은 펩타이드를 기능적 농도에서 적어도 1개월 동안 방출시킬 수 있다.

[0144] 부가적인 양태에서, 본 개시내용에 따른 펩타이드는 인슐린-독립적 지방세포 글루코스 흡수를 유도한다. 인슐린-독립적 지방세포 글루코스 흡수는 당업자로부터 공지된 임의의 방법에 의해 평가될 수 있다. 특히, 이는 실시

예 부문에 기재된 방법에 의해 평가된다. 인슐린-독립적 지방세포 글루코스 흡수를 유도하는 펩타이드는 당업계에 공지된 임의의 기술, 특히 세포 배양물 내의 지방세포 내로의 글루코스의 수송을 측정하는 데 적합한 임의의 방법을 사용하여 편리하게 스크리닝될 수 있다. 펩타이드의 효과를 평가하기 위한 특정 기술은 지방세포 내부에서 글루코스 또는 글루코스 유사체의 양을 형광적으로, 방사선적으로 또는 비색적으로(colorimetrically) 측정하는 것이다.

[0145] 본 발명자들은, 지방세포 인슐린-독립적 글루코스 흡수를 유도하기 위한 바람직한 방법이, ALMS1에 결합하고 이로써 지방세포에서 내인성 αPKC와 ALMS1 사이의 상호작용을 차단하는 펩타이드 또는 화합물을 사용하는 것임을 확인하였다. 이에, 일 구현예에서, 펩타이드는 ALMS1로의 αPKC의 결합을 방지하거나 방출시킬 수 있다. 그 후에, 이는 지방세포 인슐린-독립적 글루코스 흡수를 촉발한다. 펩타이드 또는 화합물이 ALMS1로의 αPKC의 결합을 차단하는 능력을 결정하기 위해, 당업자에게 공지된 임의의 기술, 특히 단백질 상호작용을 결정하기에 적합한 임의의 방법이 수행될 수 있다. 예를 들어, 재조합 또는 정제된 천연 ALMS1 또는 αPKC는 표면 플라즈몬 공명 쉽(ship), 및 예를 들어 Biacore(General Electric, USA) 기계에서 결합 친화성을 평가하기 위해 상기 쉽에 걸쳐 유동되는 다른 분자에 결합될 수 있다. 동일한 접근법이, ALMS1 및 αPKC의 결합 친화성을 측정하는 데 사용될 수 있다.

[0146] ALMS1로의 αPKC의 결합에 대한 펩타이드의 효과는, 시험 분자의 부재 및 존재 하에 ALMS1로의 αPKC의 결합을 측정함으로써, 그리고 ALMS1로의 αPKC의 결합을 비교함으로써 결정된다. ALMS1의 큰 크기로 인해, 본 발명자들은 스크리닝 방법에 세포 시스템을 사용하는 것을 선호한다. 바람직하게는, 세포 시스템은 인슐린에 반응하는 세포 시스템이다. 예를 들어, 세포 시스템은 간엽 세포주, 간엽 줄기세포, 지방 간엽 줄기세포, 전(pre)-지방세포 및 지방세포 중에서 선택될 수 있을 것이다. 바람직하게는, 세포는 인간 세포이다. 그 후에, 결합 결정은 인슐린의 부재 또는 존재 하에, 바람직하게는 αPKC를 ALMS1에 결합시키기 위한 인슐린의 부재 하에 수행될 수 있다.

[0147] 제1 양태에서, ALMS1을 베이트(bait)로서 사용하는 면역침전 검정법은 특히 실험 부문에서 상술된 바와 같이 수행될 수 있다. 예를 들어, 상기 검정법은 인슐린의 부재 및/또는 존재 하에, 바람직하게는 인슐린의 부재 하에 배양된 세포, 특히 지방세포를 이용하여 수행될 수 있다. 시험되는 펩타이드는 배양 배지에 첨가된다. 그 후에, αPKC가 면역검출된다.

[0148] 일 구현예에서, ALMS1에 결합된 αPKC의 양이 결정되고, 시험되는 펩타이드의 부재 하에서의 양, 특히 인슐린의 부재 하에서의 양과 비교된다. ALMS1에 결합된 αPKC의 양이 시험되는 펩타이드의 존재 하에 저하된다면, 상기 펩타이드는 선별된다.

[0149] 제2 양태에서, 질량 분광법에 커플링된 친화성 정제는 특히, 화학적 가교 후에 수행될 수 있다. 예를 들어, 세포는 메티오닌 및 류신이 없지만 광-활성화 메티오닌 및 류신을 포함하는 배지에서 배양될 수 있다. 그 후에, 단백질 복합체를 안정화시키기 위해 세포는 UV 조사되고, 단백질 복합체는 질량 분광법에 의해 분석된다.

[0150] "증가되는", "증가하다" 또는 "증강시키다"란, 동일한 조건에서 시험되는 분자의 부재 하에 측정된 결합과 비교한 경우 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 또는 90%만큼 증가된 결합을 지칭하고자 한다. "저하되는" 또는 "저하시키다"란, 동일한 조건에서 시험되는 분자의 부재 하에 측정된 결합과 비교한 경우 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 또는 90%만큼 저하된 결합을 지칭하고자 한다.

[0151] ***치료 적응증***

[0152] 나아가, 본 발명은 상기 정의된 바와 같은 펩타이드 및 약제학적으로 허용 가능한 담체/부형제 및 선택적으로 또 다른 활성 성분을 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 또한, 약물로서 사용하기 위한 상기 정의된 바와 같은 펩타이드, 또는 약제의 제조를 위한 상기 정의된 바와 같은 펩타이드의 용도에 관한 것이다.

[0153] 진성 당뇨병은 고혈당을 특징으로 한다. 보다 특히, 2형 당뇨병은 고혈당 및 인슐린 내성을 특징으로 한다. 비만은 해당 질병의 유전적 소인이 있는 사람에서 2형 당뇨병의 주된 원인인 것으로 생각된다. 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 신장병증은 당뇨병 및 인슐린 내성과 연관된 것으로 널리 알려진 진환이다.

[0154] 본 발명의 발견은, 지방세포 글루코스 흡수를 유도하는 본 개시내용의 펩타이드가 놀랍게도, 비만에 의해 유발되는 고혈당증을 역전시키는 데 효과가 있다는 것이다. 본 발명자들은, 특히 지방세포에 의한 글루코스 흡수를 유도하여, 이로써 향상된 혈중 글루코스 조절을 초래하기 위해 본원에 개시된 바와 같은 펩타이드 및 약제학적 조성물을 사용하는 것을 제안한다. 그 후에, 펩타이드 및 약제학적 조성물은 진성 당뇨병, 인슐린 내성, 고지혈

증, 관상심장병, 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 신장병증, 인슐린 내성, 고혈당, 비만, 지질이영양증, 인슐린 결핍, 베타 세포 기능장애 또는 고인슐린혈증의 진행 또는 발병을 치료하거나 지연시키는 데 적합하다.

[0155] 본 발명은 특히 인슐린-독립적 지방세포 글루코스 흡수의 유도를 통해 고혈당증을 치료하거나 예방하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 본 개시내용에 따른 펩타이드 또는 상기 펩타이드를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 인슐린-독립적 지방세포 글루코스 흡수의 유도는 당뇨병 개체에서 정상혈당증을 회복시키고 다운스트림 대사 결함을 교정할 수 있는 것으로 제시된다. 본 발명은 또한, 특히 인슐린-독립적 지방세포 글루코스 흡수의 유도를 통해 고혈당증을 치료하거나 예방하는 의약의 제조를 위한 본 개시내용에 따른 펩타이드 또는 상기 펩타이드를 포함하는 약제학적 조성물의 용도에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 특히 인슐린-독립적 지방세포 글루코스 흡수의 유도를 통해 고혈당증을 치료하거나 예방하는 데 사용하기 위한 본 개시내용에 따른 펩타이드 또는 상기 펩타이드를 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0156] 본 발명은 또한, 대상체에서 당뇨병을 치료하는 데 사용되는 경우 인슐린의 용량을 감소시키거나 인슐린 치료를 중단시키는 데 사용하기 위한 본 개시내용에 따른 펩타이드 및 약제학적 조성물, 대상체에서 당뇨병을 치료하는 데 사용되는 경우 인슐린의 용량을 감소시키거나 인슐린 치료를 중단시키는 약제의 제조를 위한 본 개시내용에 따른 펩타이드의 용도, 또는 대상체에서 당뇨병을 치료하는 방법에 관한 것이며, 여기서, 치료적 유효량의 본 개시내용에 따른 펩타이드 또는 약제학적 조성물이 저하된 용량의 인슐린과 함께 또는 인슐린 치료의 부재 하에 대상체에게 투여된다. 보다 일반적으로, 본 개시내용에 따른 펩타이드 또는 약제학적 조성물은 항-당뇨병 약물의 용량을 낮추는 데 사용될 수 있다. 본 발명은 펩타이드의 약제학적 또는 수의학적 용도에 관한 것이다. 이에, 대상체는 임의의 포유류, 바람직하게는 성인, 어린이, 신생아 또는 태아기 인간을 포함한 인간 대상체일 수 있다. 특정 구현예에서, 대상체는 비만을 앓고 있는 대상체이다. 선택적으로, 대상체는 검출 가능한 항-섬 항체(anti-islet antibody)가 없고, 췌장 이상(pancreatic abnormality)을 갖고 있지 않다. 수의학적 적용의 맥락에서, 대상체는 동물, 바람직하게는 포유류, 특히 개, 고양이, 말, 당나귀, 토끼, 페릿, 게르빌루스쥐(gerbil), 햄스터, 친칠라, 래트, 마우스 또는 기니피그와 같은 애완 동물일 수 있다.

[0157] 본 개시내용에 따른 펩타이드(들)는 특히 진성 당뇨병, 인슐린 내성, 고지혈증, 관상심장병, 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 신장병증, 인슐린 내성, 고혈당, 비만, 지질이영양증, 인슐린 결핍, 베타 세포 기능장애 또는 고인슐린혈증의 진행 또는 발병을 치료하거나 지연시키기 위해 하나 이상의 부가적인 활성 약물, 바람직하게는 항-당뇨병 약물 또는 항-비만 약물과 조합되어 사용될 수 있다.

[0158] 따라서, 본 발명은 또한, 본 개시내용에 다른 펩타이드(들) 및 하나 이상의 부가적인 활성 약물, 바람직하게는 항-당뇨병 약물을 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0159] 나아가, 본 발명은 본 개시내용에 따른 약제학적 조성물 및 하나 이상의 부가적인 활성 약물, 바람직하게는 항-당뇨병 약물을 동시적, 개별적 또는 순차적 사용을 위한 조합된 조제물, 또는 특히 진성 당뇨병, 인슐린 내성, 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 신장병증, 인슐린 내성, 고지혈증, 관상심장병, 고혈당, 비만, 지질이영양증, 인슐린 결핍, 베타 세포 기능장애 또는 고인슐린혈증의 진행 또는 발병을 치료하거나 지연시키기 위한 동시적, 개별적 또는 순차적 사용을 위한 본 개시내용에 따른 펩타이드 및 하나 이상의 부가적인 활성 약물, 바람직하게는 항-당뇨병 약물을 포함하는 조합된 조제물로서 함유하는 제품 또는 키트에 관한 것이다.

[0160] 보다 나아가, 본 발명은 하나 이상의 부가적인 활성 약물, 바람직하게는 항-당뇨병 약물과 조합된, 진성 당뇨병, 인슐린 내성, 고지혈증, 관상심장병, 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 신장병증, 인슐린 내성, 고혈당, 비만 및 고인슐린혈증의 진행 또는 발병을 치료하거나 지연시키는 데 사용하기 위한 본 개시내용에 따른 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0161] 보다 나아가, 본 발명은 특히 진성 당뇨병, 인슐린 내성, 고지혈증, 관상심장병, 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 신장병증, 인슐린 내성, 고혈당, 비만 및 고인슐린혈증의 진행 또는 발병을 치료하거나 지연시키는 약제의 제조를 위한, 본 개시내용에 따른 약제학적 조성물 및 하나 이상의 부가적인 활성 약물, 바람직하게는 항-당뇨병 약물에 관한 것이다.

[0162] 마지막으로, 본 발명은 진성 당뇨병, 인슐린 내성, 고지혈증, 관상심장병, 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 신장병증, 인슐린 내성, 고혈당, 비만 및 고인슐린혈증의 진행 또는 발병을 치료하거나 지연시키는 방법에 관한 것이며, 여기서, 치료적 유효량의 본 개시내용에 따른 약제학적 조성물은 치료적 또는 하위-치

료적 유효량의 하나 이상의 부가적인 활성 약물, 바람직하게는 항-당뇨병 약물과 조합되어 투여된다. "하위-치료적"이란, 예를 들어 종래의 치료적 투여량(특히 동일한 적응증 및 동일한 투여 경로의 경우)의 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 또는 10%일 수 있는 양을 지칭하고자 한다.

[0163] 특히, 부가적인 활성 약물은 진성 당뇨병, 인슐린 내성, 고지혈증, 관상심장병, 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 신장병증, 인슐린 내성, 고혈당, 비만 및 고인슐린혈증의 진행 또는 발병을 치료하거나 지연시키는 데 사용되는 약물이다. 예를 들어, 부가적인 약물은 항-당뇨병 약물, 예컨대 혈당강하제 또는 항고혈당제(antihyperglycemic agent)일 수 있다. 상기 약물은 인슐린, 메트포르민, 설포닐우레아, 예컨대 톨부타미드, 아세토헥사미드, 톨라자미드, 클로르프로파미드, 글리부리드, 글리메피리드, 글리피지드, 글리카지드, 글리코피라미드 및 글리퀴돈, 알파-글루코시다제 저해제, 예컨대 아카보스, 미글리톨 및 보글리보스, 티아졸리딘디온, 예컨대 피오글리타존 및 로시글리타존, 메글리티나이드, 예컨대 레파글리니드 및 나테글리니드, 인크레틴 모방체, 글루카곤-유사 펩타이드 유사체 및 효능제, 예컨대 엑세노티드, 타스포글루티드 및 리라글루티드, 디펩티딜 펩티다제-4 저해제, 예컨대 빌다글립틴, 시타글립틴, 삭사글립틴, 리나글립틴, 알로글립틴 및 셉타글립틴, 아밀린 유사체, 예컨대 팜린티드, 글리코수릭, 예컨대 카나글리플로진, 엠파글리플로진 및 다파글리플로진 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 비배타적인 목록에서 선택될 수 있다.

[0164] 약제학적 조성물의 형태, 투여 경로, 투여량 및 요법은 원래, 치료되는 질환, 병의 중증도, 환자의 연령, 체중 및 성별 등에 의존한다.

[0165] 본 개시내용의 약제학적 또는 치료적 조성물은 국소, 경구, 비경구, 비내(intranasal), 정맥내, 근육내, 피하 또는 안내(intraocular) 투여 등을 위해 제제화될 수 있다.

[0166] 본 개시내용의 약제학적 조성물에 사용되는 펩타이드는 치료적 유효량으로 존재한다.

[0167] 펩타이드를 포함하는 약제학적 조성물은 당업자에 의해 공지된 표준 약제학적 실시에 따라 제제화된다(문헌 [Lippincott Williams & Wilkins, 2000 and Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick and J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, New York]).

[0168] 일 양태에서, 본 발명은 펩타이드 또는 이의 염을 포함하는 본 개시내용에 따른 약제학적 조성물의 비경구 주사를 위한 안정한 제제를 제공하며, 여기서, 상기 펩타이드는 건조되었고, 그 후에 사용 전에 용매 내에서 재구성된다. 펩타이드(또는 제제가 2개 이상의 펩타이드를 포함하는 구현예에서는 각각의 펩타이드)는 비-휘발성 완충제와 혼합되고, 건조한 펩타이드 분말로 건조된다. 적합한 완충제는 글리신 완충제, 시트레이트 완충제, 포스페이트 완충제 및 이들의 혼합물을 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 일 구현예에서, 완충제는 글리신 완충제이다. 또 다른 구현예에서, 완충제는 시트레이트 완충제와 포스페이트 완충제의 혼합물이다. 일부 구현예에서, 제제가 2개 이상의 펩타이드를 포함하는 경우, 제1 완충제와 제2 완충제는 동일하다. 일부 구현예에서, 제제가 2개 이상의 펩타이드를 포함하는 경우, 제1 완충제와 제2 완충제는 상이하다. 대안적으로, 본 개시내용에 따른 약제학적 조성물은 수성 상태로 저장될 수 있다. 용액은 원하는 경우, 추가의 첨가제 또는 부형제를 함유할 수 있고, 이는 유효 성분과 융화성이어야 하고, 이들이 동결-건조 단계 동안에 제거되지 않는다면, 이들은 투여 경로와도 융화성이어야 한다. 비경구 투여의 경우, 조성물은 피내, 피하, 근육내 또는 정맥내로 주사될 수 있다. 상기 조성물은 바람직하게는, 체내로 이식된 미니-삼투 펌프 또는 다른 조절된 전달 장치와 함께 놓일 수 있다. 바람직하게는, 상기 조성물은 데폿 완효성 제제를 제조하기 위해 다른 화합물과 혼합될 수 있다. 바람직한 투여 경로는 인슐린 펜과 유사한 1회용 또는 다중단위(multiunit) 분배 장치를 사용한 피하 주사이다.

[0169] 일 구현예에서, 본 개시내용의 펩타이드는 데폿 완효성 제제를 제조하기 위해 다른 화합물과 혼합될 수 있다. 그 후에, 이는 완효성 데폿을 형성하여 피하 주사될 수 있다.

[0170] 경구 투여를 위해, 조성물은 종래의 경구 투여량 형태, 예컨대 정제, 캡슐, 분말, 과립 및 액체 조제물, 예컨대 시럽, 엘릭셔 및 농축 드롭(concentrated drop)으로 제제화될 수 있다. 무독성 고체 담체 또는 희석제가 사용될 수 있으며, 이는 예를 들어 약제학적 등급의 만니톨, 락토스, 전분, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 사카린, 탤컴(talcum), 셀룰로스, 글루코스, 수크로스, 마그네슘, 카르보네이트 등을 포함한다. 압축 정제의 경우, 분말화된 물질에 응집 품질을 부여하는 작용제인 결합제가 또한 필요하다. 예를 들어, 전분, 젤라틴, 당, 예컨대 락토스 또는 덱스트로스, 및 천연 또는 합성 검이 결합제로서 사용될 수 있다. 정제의 해체(break-up)를 용이하게 하기 위해 상기 정제에서는 붕해제(disintegrant)가 또한 필요하다. 붕해제는 전분, 점토, 셀룰로스, 알기닌, 검 및 가교된 중합체를 포함한다. 더욱이, 제조 과정에서 정제 물질이 표면에 접착하는 것을 방지하고 제조 동안 분말 물질의 유동 특징을 향상시키기 위해 윤활제 및 활강제가 또한 정제에 포함된다. 콜로이드 실리콘 디옥사이드가

활강제로서 가장 보편적으로 사용되고, 활석 또는 스테아르산과 같은 화합물이 윤활제로서 가장 보편적으로 사용된다.

[0171] 경피 투여를 위해, 조성물은 연고, 크림 또는 젤 형태로 제제화될 수 있고, 침투를 용이하게 하기 위해 적절한 침투제 또는 세정제, 예컨대 디메틸 설폭사이드, 디메틸 아세타미드 및 디메틸포름아미드가 사용될 수 있을 것이다.

[0172] 경점막 투여를 위해, 비내 스프레이, 폐내 흡입, 직장 또는 질 좌제가 사용될 수 있다. 일 구현예에서, 본 발명은 당업계에 공지된 방법에 따라 폐내 약물 전달 장치를 사용하여 투여되는 건조 분말 또는 약체 제제를 사용하여 폐내 경로에 의해 투여될 수 있다. 활성 화합물은 당업계에 공지된 방법에 의해 임의의 공지된 좌제 베이스(base) 내로 혼입될 수 있다. 이러한 베이스의 예는 코코아 버터, 폴리에틸렌 글리콜(카르보왁스), 폴리에틸렌 소르비탄 모노스테아레이트, 및 이들과 용융점 또는 용해 속도를 변형시키기 위한 다른 융화성 물질과의 혼합물을 포함한다.

[0173] 본 개시내용에 따른 약제학적 조성물은 실질적으로 투여 즉시, 또는 투여 후 임의의 예정된 시기 또는 기간에서 활성 약물을 방출하도록 제제화될 수 있다.

[0174] 본 개시내용에 따른 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 부형제 및/또는 담체와 연관된 본 개시내용의 하나 이상의 펩타이드를 포함할 수 있다. 이들 부형제 및/또는 담체는 상기 기재된 바와 같은 투여 형태에 따라 선택된다.

[0175] 특정 구현예에서, 본 개시내용에 따른 약제학적 조성물은 10 ng 내지 10 g의 본 개시내용의 펩타이드를 포함한다. 일 구현예에서, 본 개시내용에 따른 약제학적 조성물은 0.01 mg 내지 1 g의 본 개시내용의 펩타이드를 포함한다.

[0176] 과학적 논문 및 요약서, 공개된 특허 출원, 등록 특허 또는 임의의 다른 참조문헌을 포함하여 본 출원에서 인용된 모든 참조문헌은 그 전체가 참조에 의해 본 명세서에 포함되고, 이들은 이들 참조 문헌의 결과, 표, 도면 및 본문을 모두 포함한다.

[0177] 용어 "포함하는", "갖는", "~로 구성된" 및 "함유하는"은 상이한 의미를 갖더라도, 전체 출원에서 서로 대체될 수 있다.

[0178] 본 개시내용의 추가의 양태 및 이점은 하기 실시예에서 설명될 것이고, 이러한 실시예는 예시적이고 제한하려는 것으로 간주되어서는 안 된다.

[0179] **실시예**

[0180] **재료 및 방법**

[0181] *동물 사육*

[0182] 동물 연구를 지역 윤리 위원회의 권고사항에 따라 수행하였다. *Alms1*$^{foz/foz}$ *(팻 오지(fat Aussie)*; FA) 마우스 및 *Alms1*$^{+/+}$(WT) 한배 새끼(littermate)를 병원체-무함유 조건 하에 12시간 명/암 사이클에서 C57BL/6J 백그라운드 상에서 유지시켰다. 마우스는 물 및 정상적인 식단에 자유롭게 접근하였다. foz 돌연변이 측면 프라이머를 PCR 유전형 분석에 사용하였다: 정방향 ACA ACT TTT CAT GGC TCC AGT(서열 번호: 19); 역방향 TTG GCT CAG AGA CAG TTG AAA(서열 번호: 20). 식단 유도 비만 및 글루코스 비관용 마우스의 경우, C57/Black 6 수컷 마우스가 물 및 60% 고지방/고글루코스 식단에 자유롭게 접근하도록 하였다.

[0183] *인슐린 관용 시험(ITT) 및 글루코스 관용 시험(GTT)*

[0184] 마우스를 ITT 및 복강내 GTT에 의해 인슐린 내성에 대해 시험하였다. ITT를 4시간 공복 마우스 상에서 수행하였다. 인슐린(Humulin R, Eli Lilly, USA)을 0.9% 식염수(Pfizer, USA) 중 0.5 U/kg 체중으로 i.p. 주사하였다. GTT를 18시간 공복 마우스 상에서 수행하였다. 글루코스를 0.9% 식염수 중 2 g/kg 체중으로 주사하였다. 채혈을 위해 꼬리를 자르고, 혈장 글루코스를 GTT에서 0, 15, 30, 60 및 120분째에 글루코스 측정기(Optium Xceed, Abbott, USA)를 사용하여 결정하였다. 대안적으로, 혈장 인슐린 측정을 의식이 있는 동물에서 하악 채혈(submandibular bleeding)을 통해 수합된 4시간 공복 마우스의 혈액을 사용하여 수행하고, 상업적인 초민감 마우스 인슐린 ELISA 키트(Crystal Chem Inc., USA)를 사용하여 공복 인슐린에 대해 분석하였다.

[0185] *지방 조직의 아디포레드(AdipoRed) 염색*

[0186] 60-일령 및 120-일령 마우스의 지방 조직을 단리하고, PBS(3.2 mM Na2HPO4, 0.5 mM KH2PO4, 1.3 mM KCl, 135 mM NaCl, pH 7.4)에서 간단히 세척하였다. 그 후에, 시료를 4% 파라포름알데하이드(0.1 M 소듐 포스페이트 완충제, pH 7.2)에서 15분 동안 놔두고, PBS에서 세척하고, 30 μM DAPI(Sigma-Aldrich, USA)와 함께 아디포레드 염료(1/25; Lonza, Switzerland)에서 15분 동안 인큐베이션하였다. PBS로 3회 세척 후, 시료를 슬라이드 상에 봉입(mount)하고, BX50 형광 현미경(Olympus, Japan)을 사용하여 사진을 촬영하였다.

[0187] *인슐린-의존적 글루코스 흡수*

[0188] 고지방-공급(Specialty 사료; SF03-020; 23% 지방, 0.19% 콜레스테롤, 단순 탄수화물, AIN93G 기초) 마우스를 실험 시작 전에 3 내지 6시간 동안 단식시켰다. 인슐린 0.75 U/kg을 3 μCi의 2-[1-C^{14}] 데옥시-D-글루코스(DOG)(Perkin Elmer, Australia)와 조합하여 꼬리 정맥을 통해 i.v. 주사하였다. 꼬리로부터 주사 후 0, 5, 10, 15, 20, 40 및 60분째에 혈중 글루코스 및 시료를 수합하였다. 마우스를 안락사시키고(경추 탈구), 간, 근육(양쪽면 비장근, 및 EDL = 해당 근육(glycolytic muscle); 좌측 대퇴부), 심장, 피하 지방 조직, 내장 지방 조직(신장-주위(peri-renal))을 단리하고, 빙냉 PBS에서 헹구고, 플린트-무함유(flint-free) 페이퍼 티슈 상에서 급속 건조하고, 칭량하였다. 그 후에, 단리된 조직 1 조각을 작은 조각으로 절단하고, 다시 칭량하고, 그 후에 1 N NaOH에서 60℃에서 1시간 동안 균질화하고, 그 후에 HCl(1 M)로 중화시켰다. 일부의 균질화물을 사용하여, 단백질을 6% 퍼클로로산(PCA)을 이용하여 침전시킴으로써 데옥시글루코스+데옥시글루코스-6-P를 결정하고, 상층액을 섬광 계수기(Perkin Elmer)에 의해 측정하였다. 다른 일부를 0.3 N $ZnSO_4$와 혼합하여 데옥시-글루코스-6-P와 반응시키고, 복합체를 0.3 N $Ba(OH)_2$를 이용하여 침전시키고, 상층액을 섬광 측정에 사용하였다.

[0189] *Alms1* $^{flin/flin}$*; 아디포넥틴-Cre* $^{+/-\ 글루코스}$ *표현형 분석*

[0190] 현재까지, 본 발명자들의 접근법은 지방 조직 글루코스 재흡수의 표적화를 기초로 하였으며, 이는, ALMS 돌연변이체 마우스에서 지방 조직만, 주입된 방사성 글루코스를 흡수하지 않았다는 본 발명자들의 이전의 발견에 의해 힘을 받았다. 이것이 지방 조직이고, ALMS 마우스에서 당뇨병 표현형을 구동하는 것이 오로지 지방 조직이라는 것을 완전히 실증하기 위해, 본 발명자들은 지방 조직에서 ALMS1 유전자를 특이적으로 불활성화시키고, 후속적으로 글루코스 관용 시험(GTT)을 수행하고자 한다. 이러한 방식으로, 본 발명자들은 지방 조직이 순환 글루코스 중 단지 20%만 흡수하더라도, 전신 혈당증을 조절하는 데 주요한 역할을 함을 입증하고, 이로써 글루코스 항상성을 회복시키기 위해 지방 조직을 표적화하는 본 발명자들의 펩타이드 접근법이 적절한 접근법임을 구축할 것이다.

[0191] *ALMS1 모델링*

[0192] 상동성 모델링 프로그램 Modeler를 이용한 단편 모델링 방법을 사용하여 ALMS1 3D 모델을 구축하였다. Alms1의 각각의 엑손에 대한 아미노산 서열을, PISRED 서버에서 입수 가능한 프로파일 기초 스레딩(threading) 알고리즘에 제출하고, 적합한 주형을 식별하였다. 그 후에, 주형 단백질로 식별한 것들을 각각의 엑손 서열과 정렬시키고, 각각의 엑손을 Modeller를 사용하여 개별적으로 모델링하였다. 별개의 최적화된 단백질 에너지 점수를 기반으로 모델의 에너지 최적화 및 선별을 수행하였다. 마지막으로, 모델을 조립하여 전장 Alms1의 구조를 구축하고, 전장 단백질을 분자 동역학 시뮬레이션 프로그램 NAMD를 사용하여 이완시키고 최소화하였다.

[0193] *지방세포에서 펩타이드 발현 효과의 시험관내 특징화*

[0194] 인간 백색 내장 지방전구세포(카탈로그 #: C-12732; PromoCell)를 구입하였다. 지방전구세포를 제조업체의 프로토콜에 따라 접종하고, 지방전구세포 성장 배지(카탈로그 #: C-27410; PromoCell)에서 컨플루언시가 될 때까지 배양하였다. 일단 컨플루언시에 도달하면, 배지 교환을 통해 지방생성 분화를 촉발하여, 성숙한 인간 지방세포를 얻었다. 인슐린이 없는 배양의 경우, 인슐린이 없는 지방세포 기본 배지(카탈로그 #: C-2431; PromoCell)에 5 g/L의 데옥시글루코스, 8 μg/mL의 d-비오틴, 400 ng/mL의 덱사메타손(제조업체의 절차에 따름)을 보충하였다. 천연 펩타이드 및 이들의 스테이플드 대응물, 뿐만 아니라 스크램블드 펩타이드(동일한 세트의 아미노산에 상응하지만 무작위로 재배열됨)를 Eurogentec로부터 구입하였다. 각각의 펩타이드를 식염수에 희석시키고, 시험관내 연구를 위해 10 cm^2의 세포 배양 표면적 당 2.5 ng의 용량으로 사용하거나, 2.5 ng의 각각의 펩타이드(A 및 B)를 1 마리의 마우스 당 주사하였다.

[0195] *형광 이미징 실험*

[0196] 세포를 permanox 8-웰 Lab-Tek II 챔버 슬라이드(카탈로그 #: 177445; NUNC) 상에 접종하였다. 세포를 지시된 바와 같이 처리하였다. 그 후에, 세포 크리오섹션(cryosection)과 조직 크리오섹션 둘 모두를, 메탄올 고정 후 단백질 검출을 위해 가공하고 0.1% Triton X-100으로 침투시켰다. 현미경 슬라이드를 Vectashield 봉입 배지(카탈로그 #: H-1200; Vector Laboratories)를 이용하여 검출을 위해 봉입시켰다. 막-결합 단백질을 관찰하기 위해, 세포를 포르말린에서 15분 동안 고정하고, 직접적으로 블라킹한 후, 뒤이어 면역염색하고, 정립(upright) Zeiss AxioImager Z2 현미경을 사용하여 획득하였다. 이미지 분석, 3D 재구성 및 시간 경과 실험 및 엔도좀 추적 실험을, 상응하는 3D 및 Tracking Zeiss 모듈을 갖는 Zeiss AxioVision 프로그램 또는 Zeiss Zen 2012 이미징 플랫폼을 사용하여 수행하였다. 시험관내 글루코스 흡수에 대해, 세포를 핵 대조염색용 DAPI와 함께 형광 글루코스 유사체 2-NBDG와 함께 30분 동안 인큐베이션하였다. 그 후에, 세포를 정상 배양 배지로 세척하고, 사진을 획득하였다.

[0197] *선별된 펩타이드에 대한 글루코스 흡수의 시험관내 평가*

[0198] 성숙한 지방세포를 96웰 플레이트에서 배양하였다. 지방세포에 상기 지시된 농도의 상이한 펩타이드를 부여하였다. 24시간 후, 처리된 세포의 글루코스 흡수력을 Bio Vision의 글루코스 흡수 비색 검정법 키트(카탈로그 #: K676-100)를 사용하여 평가하였다.

[0199] *상이한 마우스 모델(식단 유도 당뇨병 WT, 대조군 비-비만 사료-공급, FA 마우스) 프로토콜에서 2개의 펩타이드에 대한 급성 관용 시험*

[0200] 식염수 용액 중 각각의 시험 펩타이드 10 ng/mL의 워킹 스탁(working stock).

[0201] 글루코스 22%(1:2 글루코스; NaCl) 또는 NaCl 0.9%의 용액을 제조한다.

[0202] 마우스를 펩타이드 주사 전 4 내지 5시간 동안 단식시킨다.

[0203] 각각의 마우스의 체중을 재고, 평균을 계산하고, 마우스의 마릿수로 곱한다(2 마리 이상의 마우스를 계수함).

[0204] 펩타이드 주사를 위해, 1 마리의 마우스 당 2.5 μL 펩타이드 A 및 2.5 μL 펩타이드 B. 1 마리의 마우스 당 2.5 μL 펩타이드 A와 B를 곱한다.

[0205] 마우스의 평균 x (마우스의 수 + 2) = X1

[0206] X1 x 10 = 총 부피(TV)

[0207] 글루코스 22%의 부피 = TV - (2.5 펩타이드 A x (마우스의 수 + 2)) + (2.5 펩타이드 B x (마우스의 수 + 2)).

[0208] 각각의 마우스 100 μL/10 g에 대해 각각 부피의 주사기를 준비한다.

[0209] 꼬리 1 mm를 절단하고, 글루코스 측정기 "Startrip"(TO)을 이용하여 혈당증을 측정한다.

[0210] 글루코스를 각각의 동물에게 주사하고, 주사는 우측면에서 복강내로, 바늘을 약 1 cm 삽입한다.

[0211] 120분까지 30분마다 글루코스 측정기를 이용하여 측정한다.

[0212] GTT 후, 펩타이드의 항-당뇨병 효과를 모니터링하기 위해, 본 발명자들은 마우스를 안락사시키고, 상이한 조직을 시료화하였다. 포르말린 고정 후, 고정된 지방 조직을 아디포레드 및 DAPI와 함께 30분 동안 인큐베이션하였다. PBS 완충제로 2회 세척 후, 지방 조직을 이미지 획득을 위해 유리 슬라이드 상에 봉입하였다. 다른 조직의 경우, 크리오섹션을 수행하고, 지방 조직과 유사한 방식으로 염색하였다.

[0213] **실시예 1: *Alms1*$^{foz/foz}$ 마우스 글루코스 표현형 분석**

[0214] 알스트롬 증후군 마우스 모델 Alms1$^{foz/foz}$은 6-월령의 비만 마우스(도 1a)이고, 중증 인슐린 내성(도 1c)과 함께 지방 조직의 비대(hypertrophy)(도 1b)를 나타낸다. 2-월령에서 시험 시, 비만 표현형 또는 지방 조직 비대 중 어느 것도 발달하지 않았음에도 불구하고, Alms1$^{foz/foz}$는 중증 인슐린 내성을 나타내었고(도 1f), 이는 당뇨병 표현형이 비만 표현형에 이차적이지 않음을 나타낸다. 인슐린-자극 데옥시글루코스 흡수 연구는, 근육에 의한 보상적인 증가된 데옥시글루코스 흡수와 함께 Alms1$^{foz/foz}$에서 WAT에 제약된 손상된 흡수를 보여주었으며(도 1f), 이는 Alms1$^{foz/foz}$ 마우스에서 인슐린 내성의 일차 부위로서 지방세포 글루코스 수송에서의 특이적인 결함을 가리킨다.

[0215] **실시예 2: *Alms1*$^{flin/flin}$ 아디포넥틴 Cre 글루코스 표현형 분석**

[0216] 다음, 본 발명자들은, 지시된 바와 같이 Frt 또는 LoxP 부위의 측면에 놓인 네오마이신 코딩 서열 및 lacZ를 특이적으로 도입할 구축물을 이용하여 Alms1 대립유전자를 표적화한 마우스주를 제조하였다(도 2a). ALMS 대립유전자에서 이 서열의 도입은 이의 적절한 발현을 방지하고, 따라서 ALMS 유전자에 대한 넉아웃 마우스 모델(*Alms1*$^{flin/flin}$)을 초래한다. 한편, Cre-LoxP 기술을 사용함으로써, 네오마이신 코딩 서열을 제거할 수 있고(도 2b), 완전 ALMS 유전자의 발현을 회복시킬 수 있다. 지방세포만 표적화하는 Adipo-Cre 마우스의 특이성의 입증과 관련하여, 본 발명자들은 리포터 마우스주 RosaTomatoeGFP를 사용하였고, 여기서, 조직은 Cre 활성 시 녹색으로 변하고, 그 결과는 지방 조직에서 ALMS1 발현의 특이적인 재활성화에 상응하는 지방세포에서의 특이적인 Cre 활성을 보여준다(도 2c). 상이한 표적 조직에서 Alms1의 정상화된 발현 수준에 대한 정량적 PCR은, *Alms1*$^{flin/flin}$*; 아디포넥틴-Cre*$^{+/-}$ 마우스의 지방 조직을 제외한 상이한 조직에서 ALMS1의 완전한 불활성화를 드러내었다(도 2d). 시간 경과에 따른 체중 및 GTT에 대한 *Alms1*$^{flin/flin\ 마우스}$의 대사 표현형 분석을 2 개월에서 수행하였다. Alms1$^{flin/flin}$ 마우스는 비만으로 되었고 글루코스 비관용으로 되었다(도 2e 내지 도 2f). 지방 조직에서 ALMS1의 특이적인 회복을 갖는 *Alms1*$^{flin/flin}$*; 아디포넥틴-Cre*$^{+/-}$ 마우스는 비만 및 글루코스 비관용으로부터 보호되었으며, 이는 지방 조직에서 ALMS1의 역할이 글루코스 항상성에 결정적임을 보여준다.

[0217] **실시예 3: ALMS 상에서 αPKC 결합의 *인 실리코* 예측**

[0218] ALMS1과 함께 αPKC의 인 실리코 모델링을 기반으로, 본 발명자들은 3개의 주요 아미노산 잔기, 즉, 메티오닌, 아르기닌 및 프롤린을 식별하였다. 전장 αPKC 단백질 서열에서 이들 3개 아미노산 잔기에 대해 검색함으로써, 3개의 잠재적인 펩타이드 서열을 최종 명단에 넣었다(서열 번호: 9, 서열 번호: 11 및 서열 번호: 10, 각각 펩타이드 A, 펩타이드 B 및 펩타이드 C로서 지칭됨).

[0219] **실시예 4: *시험관내* 인간 지방세포에서 글루코스 흡수에 대한 펩타이드 효과 특징**

[0220] 천연 펩타이드를 스테이플링 기술을 사용하여 안정화시키고, N-말단에서 FAM(녹색)을 이용하여 표지하였다. 인간 지방세포 상에서 펩타이드 A 및 B의 세포 침투성을, 막을 적색으로 염색하고 핵을 청색으로 염색하여 이미지화함으로써 평가하였다(도 4a). 2개의 FAM-표지 상이한 펩타이드 A 및 B를 세포 진입에 대해여 평가하였고, 지방 세포의 3D 이미지는 펩타이드의 세포 내 위치화를 보여준다(도 4b).

[0221] 도 4c에서, 형광 이미지는, 펩타이드 A 및 B가 인슐린의 부재 시 지방세포에서 형광 글루코스 유사체의 세포 진입을 매개함을 보여준다.

[0222] 도 4d 내지 도 4e는 지방세포에서 글루코스 진입을 촉발하기 위한, 천연 형태 또는 스테이플드 형태의 펩타이드 A 및 B의 효능 평가를 도시한 것이다. 천연 조건 하에 펩타이드 A와 B 둘 모두는 인슐린의 부재 시 지방세포 내로의 글루코스의 유의한 진입을 촉발할 수 있다. 분해에 저항성이고 따라서 보다 안정한 스테이플드 펩타이드는 인슐린의 부재 시 더 높은 활성을 가진다.

[0223] **실시예 5: 항-당뇨병 특성에 대한 생체내 펩타이드 서열의 시험**

[0224] 식단-유도 당뇨병 WT 마우스의 지방 조직에서 스테이플드 펩타이드 A 및 B 주사 효과의 생체내 평가이다. 마우스에게, 이들 마우스가 글루코스에 대해 비관용성으로 될 때까지 정의된 고지방/고글루코스 식단을 공급하였다(도 5a, 주사 전). 일단 마우스가 글루코스 비관용으로 되었을 때, 이들 마우스에게 스테이플드 펩타이드 A와 B의 조합을 피하 지방에 직접적으로 주사하고, 도 5b에 도시된 바와 같이 1 주일 후에 GTT를 다시 수행하였다. 펩타이드 주사 후, 마우스 상에서의 GTT는 글루코스 관용의 유의한 향상을 보여주었다(도 5a, 1 주 후). 도 5c는 FAM으로 표지된 스테이플드 펩타이드 A와 B의 조합이 부여된 지방 조직의 사진을 도시한 것이다(녹색 도트(dot)는 백색 화살표로 표시되어 있음). 도 5d에서, Alms1foz/foz의 지방 조직에서 펩타이드의 주사는 전신 혈당증에 아무런 효과가 없었으며, 이는 펩타이드에 의해 표적화되는 지방 조직 내에 활성 ALMS1이 없다는 단순한 이유에서이다.

[0225] 펩타이드 서열의 변형이 지방세포 내로의 인슐린-독립적 글루코스 흡수에 미치는 효과를 시험하기 위해, 여러 가지 변형된 스테이플드 펩타이드를 설계하였다. 펩타이드를 CPC Scientific로부터 입수하였다.

[0226] 본 기술의 개별 펩타이드에 대한 인간 일차 지방세포에서 부가적인 *시험관내* 2-데옥시-D-글루코스-6-포스페이트(DG6P) 흡수의 결과는 표 1 내지 3에 제공된다.

표 1

표 1. 50 μM 에서 펩타이드를 이용한 DG6P 흡수 결과

	2-DG6P (pmol)	-인슐린과 비교하여 2-DG6P (%)	펩타이드 서열
- 인슐린	30.1	100.0	
+ 인슐린	94.2	312.6	
AT001 50 μM	44.2	146.8	H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 21)
AT003 50 μM	46.2	153.3	H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-NH_2 (폴리펩타이드) (SEQ ID NO: 22)
AT004 50 μM	29.5	98.0	스크램블드 스테이플드 펩타이드 응집(scrambled 스테이플드 펩타이드 aggregating): H-LPHET-R8-RLSQKV-S5-TKLDCLMFVEPA-OH (SEQ ID NO: 36)
AT005 50 μM	27.7	92.0	
AT006 50 μM	30.7	102.0	
AT007 50 μM	57.7	191.5	H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 21)
AT008 50 μM	53.3	177.0	H-VECTM-S5-EKR-S5-LALLDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 35)
AT009 50 μM	42.7	141.8	H-CTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 23)
AT010 50 μM	35.7	118.6	H-M-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 24)
AT011 50 μM	56.9	189.0	Cbz-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 25)
AT012 50 μM	58.0	192.6	H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQL-OH (SEQ ID NO: 26)
AT013 50 μM	46.5	154.3	H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLT-OH (SEQ ID NO: 27)
AT014 50 μM	58.8	195.1	H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPF-OH (SEQ ID NO: 28)
AT015 50 μM	35.7	118.6	H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKP-OH (SEQ ID NO: 29)
AT016 50 μM	51.5	170.9	H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LD-OH (SEQ ID NO: 30)
AT017 50 μM	55.4	184.0	H-VE(AAB)TM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 31)
AT018 50 μM	28.2	93.5	H-VECT(AAH)-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 32)
AT019 50 μM	40.4	134.2	H-VE(AAB)T(AAH)-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 33)
AT021 50 μM	37.5	124.6	H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 21)

[0227]

표 2

표 2. 용량 반응 DG6P 흡수 결과

[0228]

	2-DG6P (pmol)	-인슐린과 비교하여 2-DG6P (%)	펩타이드 서열
-인슐린	21.8	100.0	
+인슐린	79.3	363.3	
AT001 0.001 μM	19.9	91.2	H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 21)
AT001 0.01 μM	21.3	97.5	
AT001 0.1 μM	22.3	102.0	
AT001 1 μM	23.9	109.6	
AT001 10 μM	31.7	145.2	
AT001 100 μM	47.2	216.1	
AT007 0.1 μM	23.2	106.5	H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 21)
AT007 1 μM	24.0	110.1	
AT007 10 μM	36.0	165.0	
AT007 100 μM	55.5	254.3	

표 3

표 3. 용량 반응 DG6P 흡수 결과.

[0229]

	2-DG6P (pmol)	-인슐린과 비교하여 2-DG6P (%)	펩타이드 서열
-인슐린	13.7	100.0	
+인슐린	87.9	639.6	
AT011 0.1 μM	12.8	93.2	Cbz-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 25)
AT011 1 μM	30.3	220.4	
AT011 10 μM	42.7	311.1	
AT011 100 μM	59.5	432.8	
AT015 1 μM	16.6	121.0	H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKP-OH (SEQ ID NO: 29)
AT015 10 μM	28.9	210.6	
AT015 100 μM	39.2	284.9	
AT016 1 μM	23.7	172.4	H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LD-OH (SEQ ID NO: 30)
AT016 10 μM	38.6	280.6	
AT016 100 μM	51.4	373.7	

[0230] S5: (S)-2-(4-펜테닐)알라닌

[0231] R8: (R)-2-(7-옥테닐)알라닌)

[0232] Cbz: 카르복시벤질

[0233] AAB: 알파-아미노부티르산(세린 및 시스테인의 등배전자체(isostere))

[0234] AAH: 알파-아미노헵탄산(=호모노르류신, 메티오닌의 등배전자체)

[0235] 이들 결과는, 본 기술의 펩타이드가 예컨대 진성 당뇨병 치료에서 세포의 글루코스 흡수를 자극하는 방법에 유용함을 실증한다.

[0236] **실시예 6: PATAD 펩타이드 서열 변이체의 *인-실리코* 분자 모델링 및 ALMS 단백질을 이용한 분자 도킹(Molecular**

Docking) 연구

[0237] 이 실시예는, ALMS1 단백질 상의 PKC 결합 부위 상으로 도킹 시, PKC의 ALMS1 결합 부위로부터 유래된 스테이플드 펩타이드의 결합을 예측하기 위한 인 실리코 모델링의 사용을 실증한다.

[0238] 펩타이드 모델링: 펩타이드를 UCSF Chimera의 Build 툴을 사용하여 모델링하고, 스테이플링을 Avogadro 소프트웨어를 사용하여 수행하였다.

[0239] 에너지 최소화: 고비용의 최소화 및 평형화 프로토콜을 모든 모델에 적용하여, 펩타이드를 에너지적으로 선호적인 상태로 이완시키고, UCSF Chimera 소프트웨어를 사용하여 안정성을 달성하였다.

[0240] 분자 도킹: 스테이플드 펩타이드 및 천연 펩타이드와 함께 ALMS 단백질의 도킹 분석을, HEX 8.0.0 도킹 소프트웨어를 사용하여 수행하였으며, 이는 최저 자유 에너지를 갖는 펩타이드 및 펩타이드의 쌍의 실현 가능한 도킹 모드를 계산하고 제시하기 위한 상호작용 분자 그래픽 프로그램(Interactive Molecular Graphics Program)이다. 도킹 과정에 사용되는 매개변수는 표 4에 열거되어 있다.

표 4

표 4. 헥스 도킹(Hex Docking) 매개변수

[0241]

상관관계 유형	형상 + 정전기학(Electrostatistics)
FFT 모드	3D
그리드 치수	1.0
수용체 범위	180
리간드 범위	180
트위스트 범위	360
거리 범위	40
용액	2000

[0242] 생성된 모델링된 펩타이드를 상기 매개변수를 사용하여 ALMS1 단백질의 구조 모델과 함께 도킹시켰다.

[0243] 시각화: 도킹된 복합체를 분석하고, 시각화하여, Visual Molecular Dynamics 소프트웨어를 사용하여 초기 상태와 도킹된 상태 사이의 disparity를 분석하였다. 구조에서의 스테이플링이 펩타이드 활성에 결정적인 경향이 있는 것으로 생각되므로, 스테이플드 펩타이드의 모델링된 구조를 또한, 엄격하게 분석하였다.

[0244] 결과: 모든 모델링된 스테이플드 펩타이드 및 천연 펩타이드를 10,000 단계 동안, AMBER ff99SB 포스필드(forcefield)를 사용하여 공역 구배법(conjugate gradient) 단계 및 최급 강하법(steepest descent)을 사용하여 에너지 최소화하였다. 모든 에너지 최소화된 구조를 pdb 포맷에 저장하고, 이후에 HEX8.0.0 소프트웨어에서 ALMS1 단백질의 구조적 모델과 함께 도킹할 때 사용하였다.

[0245] 비-스테이플드 펩타이드 및 스테이플드 펩타이드와 함께 ALMS1 단백질의 도킹 점수는 표 5에 제시된다.

표 5

표 5: 도킹 점수

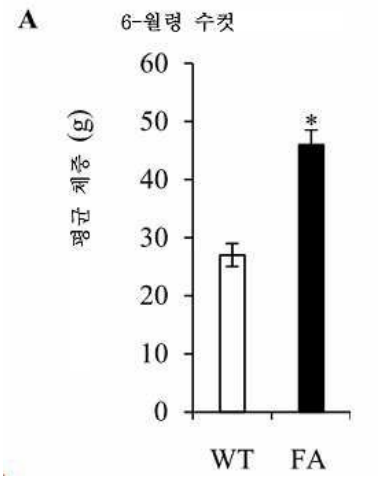
펩타이드	스테이플드	천연
H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 21)	**-906.97**	-801.44
H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-NH2 (SEQ ID NO : 22)	-830.79	-920.83
VECTMVEKRVLALLDKPPFLTQLHS (SEQ ID NO: 9)	-850.92	
H-CTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 23)	-825.37	-843.97
H-M-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 24)	-876.45	-867.45
Cbz-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 25)	-819.38	-805.21
H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQL-OH (SEQ ID NO: 26)	-866.33	-839.42
H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLT-OH (SEQ ID NO: 27)	-849.16	-827.52
H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPF-OH (SEQ ID NO: 28)	-783.16	-730.93
H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKP-OH (SEQ ID NO: 29)	-800.48	-742.87
H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LD-OH (SEQ ID NO: 30)	-739.21	-860.67
H-VE(AAB)TM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 31)	-825.00	-812.45
H-VECT(AAH)-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 32)	-823.01	-817.13
H-VE(AAB)T(AAH)-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 33)	-838.77	-786.90
H-VECTM-R8-EKRVLA-S5-LDKPPFLTQLHS-OH 수소화된 (SEQ ID NO: 34)	-764.89	-759.55
H-VECTM-S5-EKR-S5-LALLDKPPFLTQLHS-OH (SEQ ID NO: 35)	-881.59	-815.50

[0246]

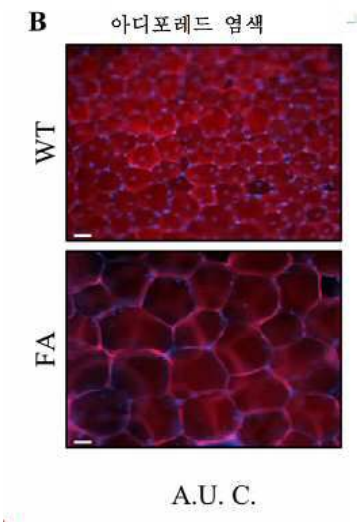
[0247] 천연 펩타이드 및 스테이플드 펩타이드의 도킹 점수의 순위는 Alms1에 대한 예측된 결합에 주요한 효과를 가질 수 있다. 전반적으로, 스테이플링은 펩타이드의 안정성을 증가시켜, 이들 펩타이드가 ALMS1에 더 잘 결합할 수 있게 한다. 전반적으로, PKC와 가장 높은 상동성을 갖는 스테이플드 펩타이드는 ALMS1에 대한 최상의 도킹 점수를 가졌다. 펩타이드 상의 말단 OH 및 NH2 기는 도킹 점수에 영향을 주었으며, 이때 말단 하이드록실기가 최고의 도킹 점수를 제공하였다.

도면

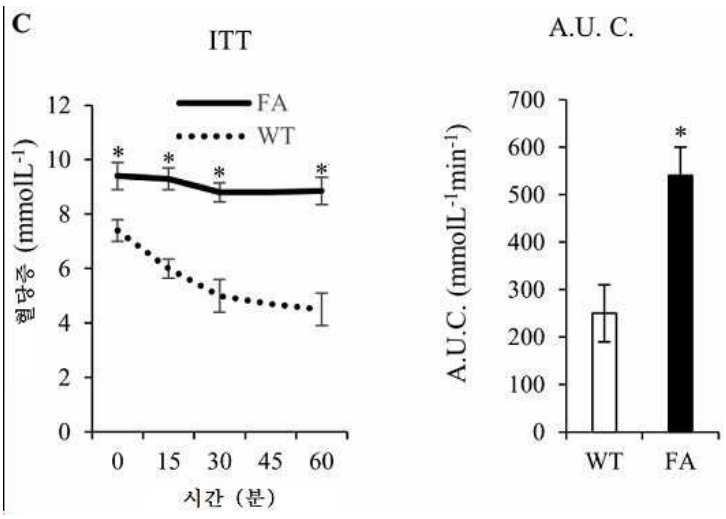
도면1a



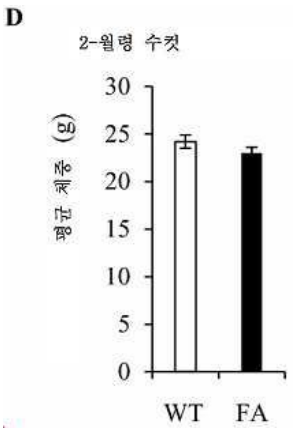
도면1b



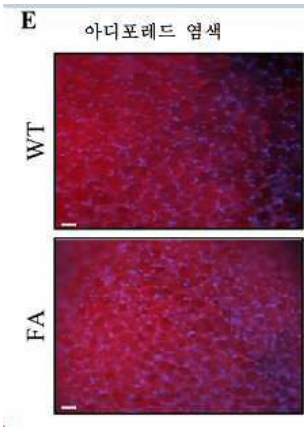
도면1c



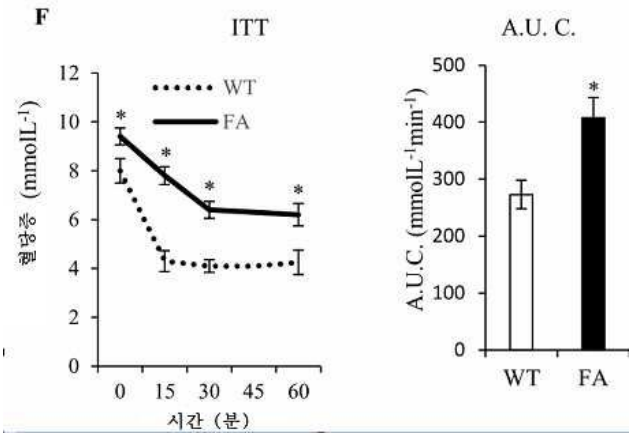
도면1d



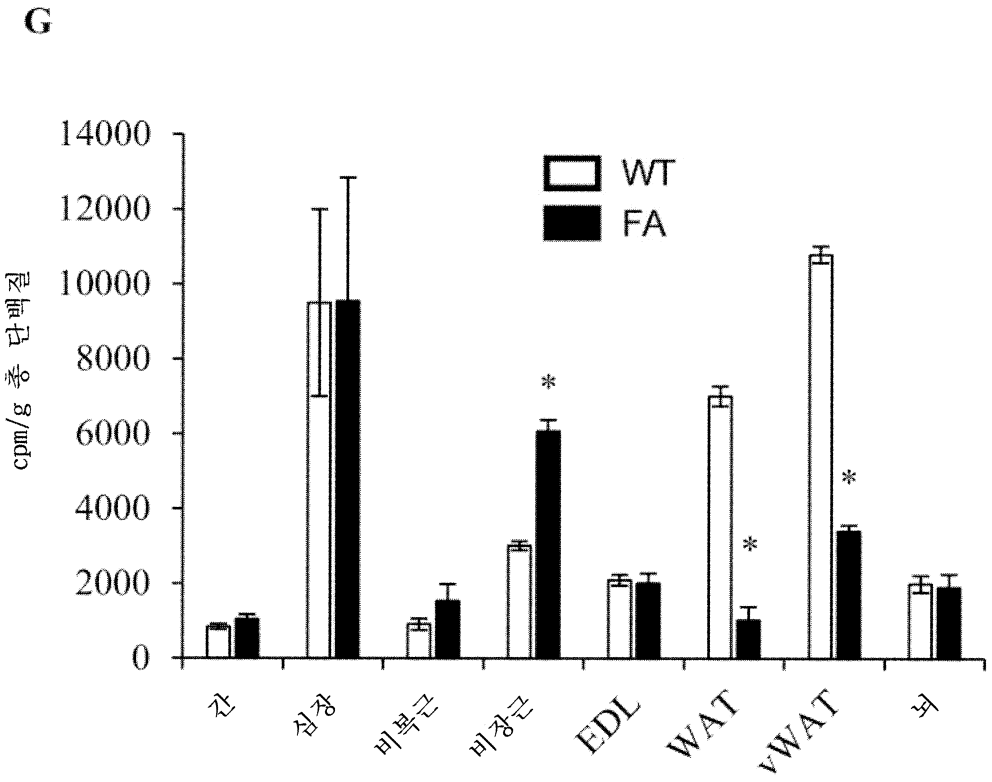
도면1e


E
아디포레드 염색
WT
FA

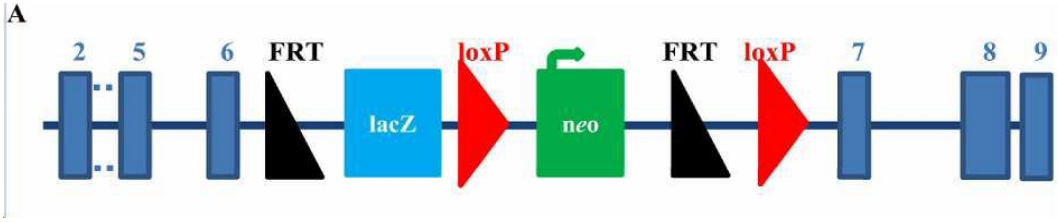
도면1f


F
ITT
A.U. C.
WT
FA
혈당증 (mmolL-1)
시간 (분)
A.U.C. (mmolL-1min-1)
0
2
4
6
8
10
12
0
15
30
45
60
100
200
300
400
500

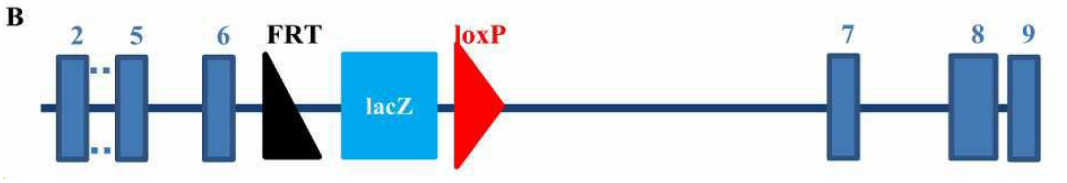
도면1g



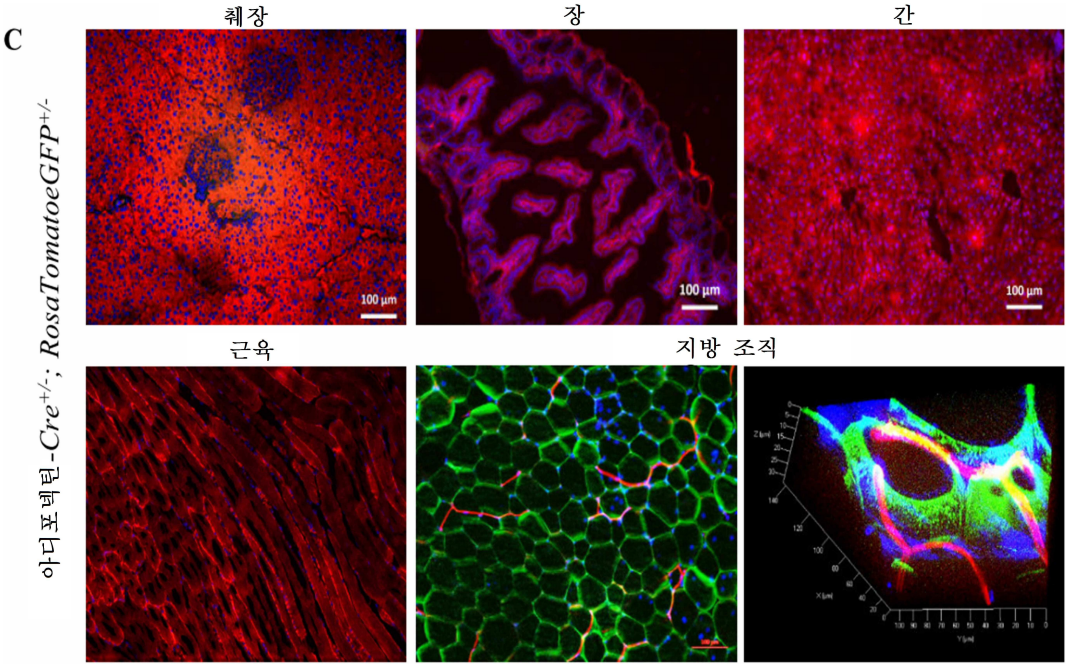
도면2a



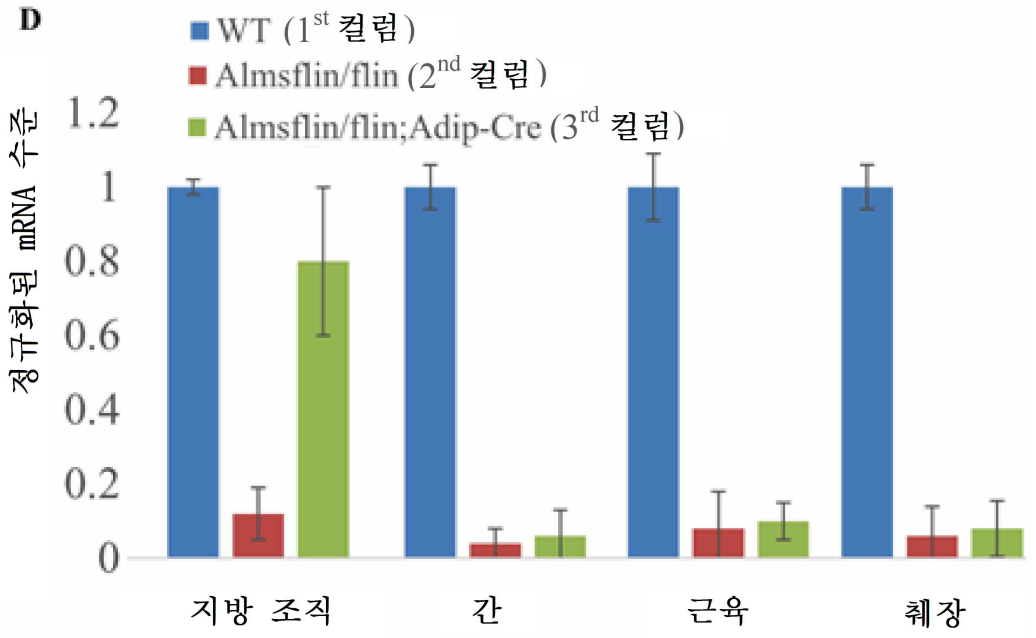
도면2b



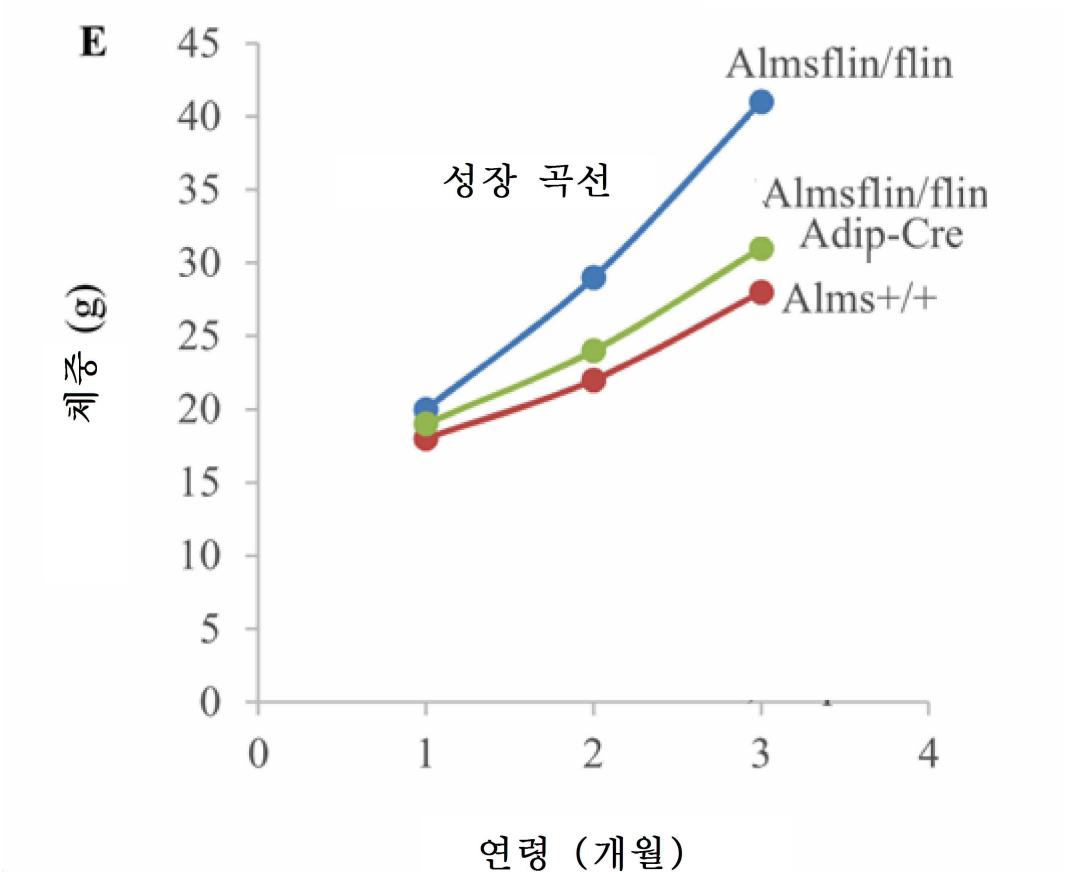
도면2c


C
췌장
장
간
아디포넥틴-Cre+/-; RosaTomatoeGFP+/-
100 μm
100 μm
100 μm
근육
지방 조직

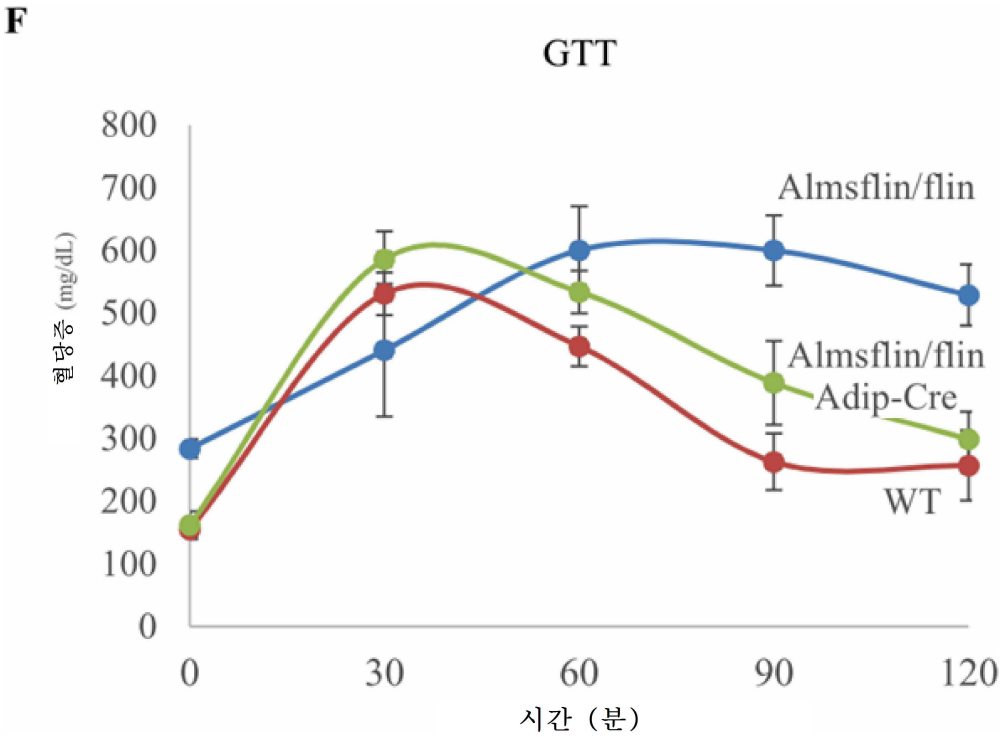
도면2d


D
WT (1st 컬럼)
Almsflin/flin (2nd 컬럼)
Almsflin/flin;Adip-Cre (3rd 컬럼)
정규화된 mRNA 수준
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
지방 조직
간
근육
췌장

도면2e


E
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
체중 (g)
성장 곡선
Almsflin/flin
Almsflin/flin
Adip-Cre
Alms+/+
0
1
2
3
4
연령 (개월)

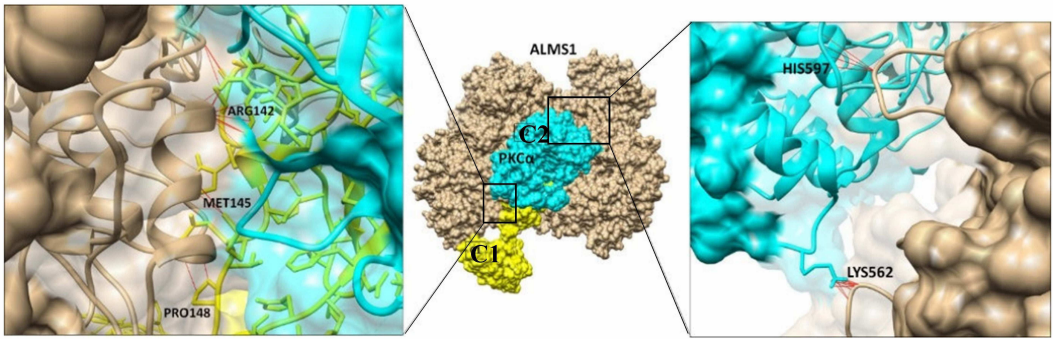
도면2f


F
GTT
800
700
600
500
400
300
200
100
0
혈당증 (mg/dL)
Almsflin/flin
Almsflin/flin
Adip-Cre
WT
0
30
60
90
120
시간 (분)

도면3a

A

ALMS1과 aPKC-상호작용 도메인



도면3b

B

MPR 모티프를 갖는 잠재적인 PATAD 펩타이드

```
          10         20         30         40         50
MADVFPGNDS TASQDVANRF ARKGALRQKN VHEVKDHKFI ARFFKQPTFC
          60         70         80         90        100
SHCTDFIWGF GKQGFQCQVC CFVVHKRCHE FVTFSCPGAD KGPDTDDPRS
         110        120        130        140        150
KHKFKIHTYG SPTFCDHCGS LLYGLIHQGM KCDTCDMNVH KQCVINVPSL
         160        170        180        190        200
CGMDHTEKRG RIYLKAEVAD EKLHVTVRDA KNLIPMDPNG LSDPYVKLKL
          210        220        230        240        250
IPDPKNESKQ KTKTIRSTLN PQWNESFTFK LKPSDKDRRL SVEIWDWDRT
          260        270        280        290        300
TRNDFMGSLS FGVSELMKMP ASGWYKLLNQ EEGEYYNVPI PEGDEEGNME
          310        320        330        340        350
LRQKFEKAKL GPAGNKVISP SEDRKQPSNN LDRVKLTDFN FLMVLGKGSF
          360        370        380        390        400
GKVMLADRKG TEELYAIKIL KKDVVIQDDD VECTMVEKRV LALLDKPPFL
          410        420        430        440        450
TQLHSCFQTV DRLYFVMEYV NGGDLMYHIQ QVGKFKEPQA VFYAAEISIG
          460        470        480        490        500
LFFLHKRGII YRDLKLDNVM LDSEGHIKIA DFGMCKEHMM DGVTTRTFCG
          510        520        530        540        550
TPDYIAPEII AYQPYGKSVD WWAYGVLLYE MLAGQPPFDG EDEDELFQSI
          560        570        580        590        600
MEHNVSYPKS LSKEAVSVCK GLMTKHPAKR LGCGPEGERD VREHAFFRRI
          610        620        630        640        650
DWEKLENREI QPPFKPKVCG KGAENFDKFF TRGQPVLTPP DQLVIANIDQ
          660        670
SDFEGFSYVN PQFVHPILQS AV
```

C1 도메인

C2 도메인

Ca^{2+} 결합 도메인

ATP 결합 도메인 : **GxGxxG**

불변 라이신 **(K)**

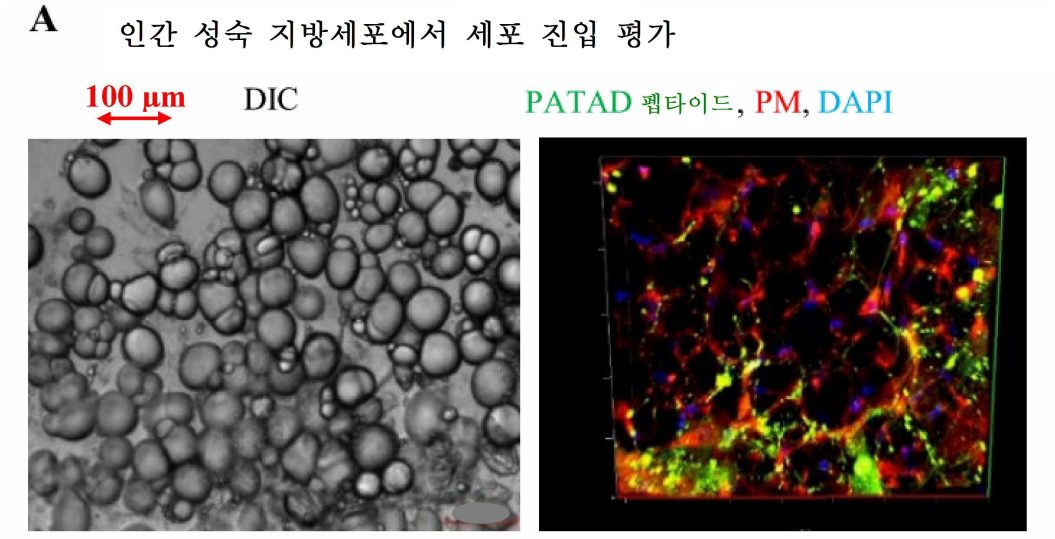
키나제 도메인

게이트키퍼 잔기 **(M)**

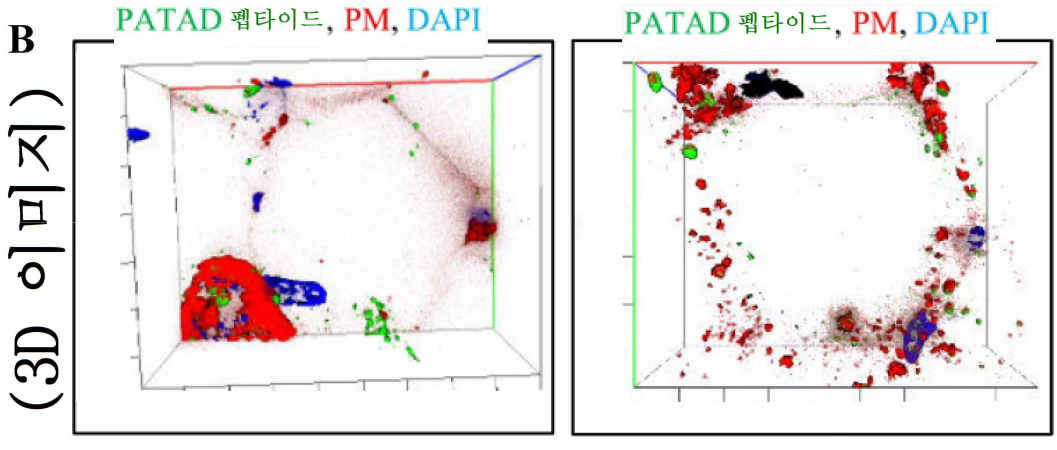
불변 트레오닌

활성화 루프

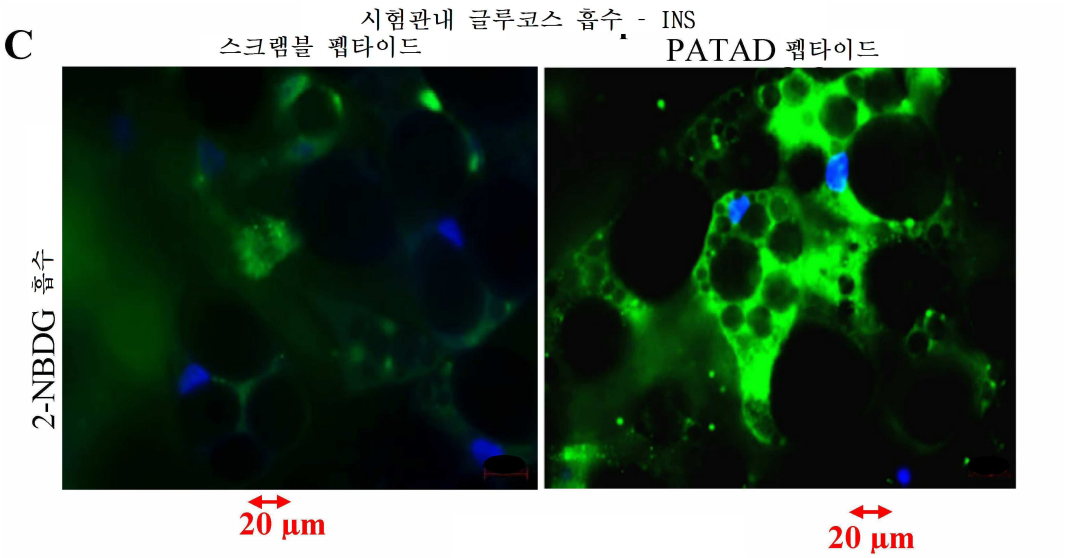
도면4a



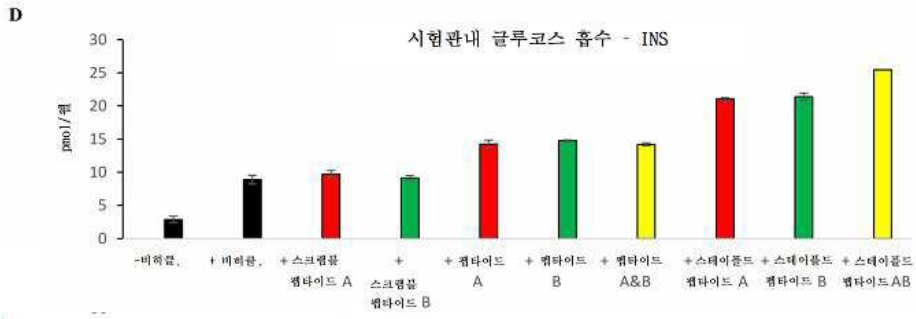
도면4b



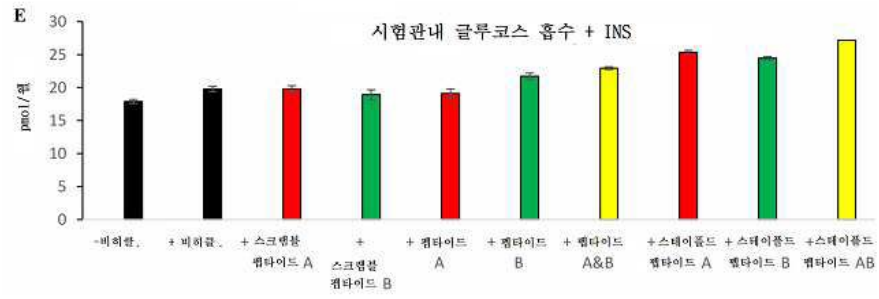
도면4c



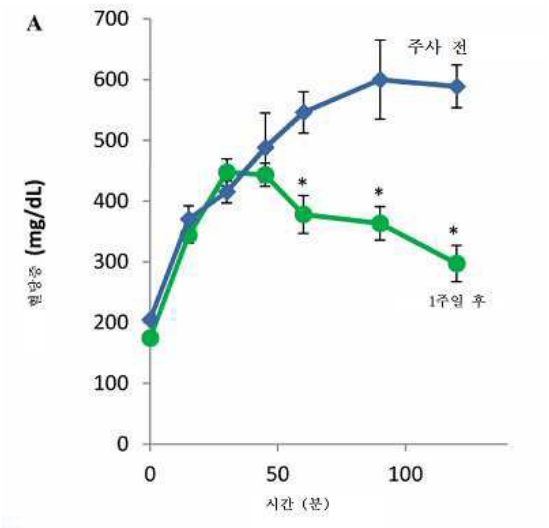
도면4d



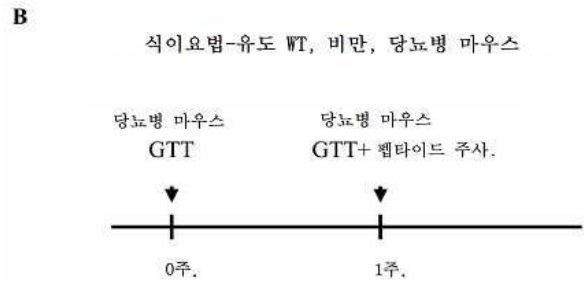
도면4e



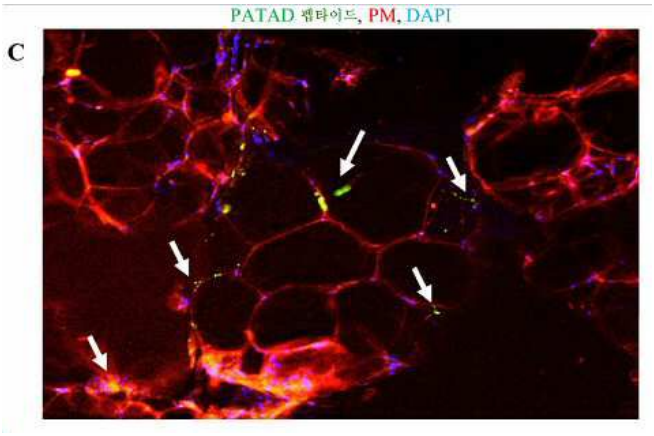
도면5a



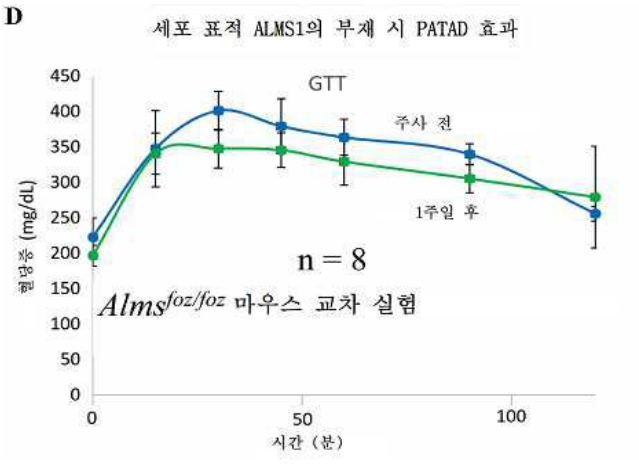
도면5b



도면5c



도면5d



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> UNIVERSITE DE STRASBOURG

INSERM (INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE)

VAXINE PTY LTD

<120> PEPTIDES FOR TREATMENT AND PREVENTION OF HYPERGLYCAEMIA

<130> IP-BEAS1928

<140> PCT/EP2018/067657

<141> 2018-06-29

<150> EP 17305843.9

<151> 2017-06-30

<160> 37

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 672

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Ala Asp Val Phe Pro Gly Asn Asp Ser Thr Ala Ser Gln Asp Val

1 5 10 15

Ala Asn Arg Phe Ala Arg Lys Gly Ala Leu Arg Gln Lys Asn Val His

20 25 30

Glu Val Lys Asp His Lys Phe Ile Ala Arg Phe Phe Lys Gln Pro Thr

35 40 45

Phe Cys Ser His Cys Thr Asp Phe Ile Trp Gly Phe Gly Lys Gln Gly

50 55 60

Phe Gln Cys Gln Val Cys Cys Phe Val Val His Lys Arg Cys His Glu

65 70 75 80

Phe Val Thr Phe Ser Cys Pro Gly Ala Asp Lys Gly Pro Asp Thr Asp

85 90 95

Asp Pro Arg Ser Lys His Lys Phe Lys Ile His Thr Tyr Gly Ser Pro

100 105 110

Thr Phe Cys Asp His Cys Gly Ser Leu Leu Tyr Gly Leu Ile His Gln

115 120 125

Gly Met Lys Cys Asp Thr Cys Asp Met Asn Val His Lys Gln Cys Val

130 135 140

Ile Asn Val Pro Ser Leu Cys Gly Met Asp His Thr Glu Lys Arg Gly
145 150 155 160
Arg Ile Tyr Leu Lys Ala Glu Val Ala Asp Glu Lys Leu His Val Thr
165 170 175
Val Arg Asp Ala Lys Asn Leu Ile Pro Met Asp Pro Asn Gly Leu Ser
180 185 190
Asp Pro Tyr Val Lys Leu Lys Leu Ile Pro Asp Pro Lys Asn Glu Ser

195 200 205
Lys Gln Lys Thr Lys Thr Ile Arg Ser Thr Leu Asn Pro Gln Trp Asn
210 215 220
Glu Ser Phe Thr Phe Lys Leu Lys Pro Ser Asp Lys Asp Arg Arg Leu
225 230 235 240
Ser Val Glu Ile Trp Asp Trp Asp Arg Thr Thr Arg Asn Asp Phe Met
245 250 255
Gly Ser Leu Ser Phe Gly Val Ser Glu Leu Met Lys Met Pro Ala Ser

260 265 270
Gly Trp Tyr Lys Leu Leu Asn Gln Glu Glu Gly Glu Tyr Tyr Asn Val
275 280 285
Pro Ile Pro Glu Gly Asp Glu Glu Gly Asn Met Glu Leu Arg Gln Lys
290 295 300
Phe Glu Lys Ala Lys Leu Gly Pro Ala Gly Asn Lys Val Ile Ser Pro
305 310 315 320
Ser Glu Asp Arg Lys Gln Pro Ser Asn Asn Leu Asp Arg Val Lys Leu

325 330 335
Thr Asp Phe Asn Phe Leu Met Val Leu Gly Lys Gly Ser Phe Gly Lys
340 345 350
Val Met Leu Ala Asp Arg Lys Gly Thr Glu Glu Leu Tyr Ala Ile Lys
355 360 365
Ile Leu Lys Lys Asp Val Val Ile Gln Asp Asp Asp Val Glu Cys Thr
370 375 380
Met Val Glu Lys Arg Val Leu Ala Leu Leu Asp Lys Pro Pro Phe Leu

385 390 395 400

Thr Gln Leu His Ser Cys Phe Gln Thr Val Asp Arg Leu Tyr Phe Val

405 410 415

Met Glu Tyr Val Asn Gly Gly Asp Leu Met Tyr His Ile Gln Gln Val

420 425 430

Gly Lys Phe Lys Glu Pro Gln Ala Val Phe Tyr Ala Ala Glu Ile Ser

435 440 445

Ile Gly Leu Phe Phe Leu His Lys Arg Gly Ile Ile Tyr Arg Asp Leu

450 455 460

Lys Leu Asp Asn Val Met Leu Asp Ser Glu Gly His Ile Lys Ile Ala

465 470 475 480

Asp Phe Gly Met Cys Lys Glu His Met Met Asp Gly Val Thr Thr Arg

485 490 495

Thr Phe Cys Gly Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Pro Glu Ile Ile Ala Tyr

500 505 510

Gln Pro Tyr Gly Lys Ser Val Asp Trp Trp Ala Tyr Gly Val Leu Leu

515 520 525

Tyr Glu Met Leu Ala Gly Gln Pro Pro Phe Asp Gly Glu Asp Glu Asp

530 535 540

Glu Leu Phe Gln Ser Ile Met Glu His Asn Val Ser Tyr Pro Lys Ser

545 550 555 560

Leu Ser Lys Glu Ala Val Ser Ile Cys Lys Gly Leu Met Thr Lys His

565 570 575

Pro Ala Lys Arg Leu Gly Cys Gly Pro Glu Gly Glu Arg Asp Val Arg

580 585 590

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

595 600 605

Glu Ile Gln Pro Pro Phe Lys Pro Lys Val Cys Gly Lys Gly Ala Glu

610 615 620

Asn Phe Asp Lys Phe Phe Thr Arg Gly Gln Pro Val Leu Thr Pro Pro

625 630 635 640

Asp Gln Leu Val Ile Ala Asn Ile Asp Gln Ser Asp Phe Glu Gly Phe

645 650 655

Ser Tyr Val Asn Pro Gln Phe Val His Pro Ile Leu Gln Ser Ala Val

660 665 670

<210> 2

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Val Glu Lys Arg Val Leu Ala Leu Leu Asp Lys Pro

1 5 10

<210> 3

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Pro Phe Leu Thr Gln Leu His Ser Cys Phe Gln Thr Val Asp Arg Leu

1 5 10 15

Tyr Phe Val Met

20

<210> 4

<211> 27

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Arg Leu Tyr Phe Val Met Glu Tyr Val Asn Gly Gly Asp Leu Met Tyr

1 5 10 15

His Ile Gln Gln Val Gly Lys Phe Lys Glu Pro

20 25

<210> 5

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Tyr His Ile Gln Gln Val Gly Lys Phe Lys Glu Pro Gln Ala Val

1 5 10 15

Phe Tyr Ala Ala Glu Ile Ser Ile Gly Leu Phe Phe Leu His Lys Arg

20 25 30

<210> 6

<211> 33

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Pro Gln Ala Val Phe Tyr Ala Ala Glu Ile Ser Ile Gly Leu Phe Phe

1 5 10 15

Leu His Lys Arg Gly Ile Ile Tyr Arg Asp Leu Lys Leu Asp Asn Val

20 25 30

Met

<210> 7

<211> 13

<212> PRT

<213

> Homo sapiens

<400> 7

Met Asp Gly Val Thr Thr Arg Thr Phe Cys Gly Thr Pro

1 5 10

<210> 8

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Thr Lys His Pro Ala Lys Arg

1 5

<210> 9

<211> 25

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Val Glu Cys Thr Met Val Glu Lys Arg Val Leu Ala Leu Leu Asp Lys
1 5 10 15

Pro Pro Phe Leu Thr Gln Leu His Ser
20 25

<210> 10

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Met Cys Lys Glu His Met Met Asp Gly Val Thr Thr Arg Thr Phe Cys
1 5 10 15

Gly Thr Pro Asp
20

<210> 11

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Ser Ile Cys Lys Gly Leu Met Thr Lys His Pro Ala Lys Arg Leu Gly
1 5 10 15

Cys Gly Pro Glu Gly
20

<210> 12

<211> 40

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Arg Lys Gly Thr Glu Glu Leu Tyr Ala Ile Lys Ile Leu Lys Lys Asp
1 5 10 15

Val Val Ile Gln Asp Asp Asp Val Glu Cys Thr Met Val Glu Lys Arg
20 25 30

Val Leu Ala Leu Leu Asp Lys Pro

35 40

<210> 13

<211> 29

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Arg Val Leu Ala Leu Leu Asp Lys Pro Pro Phe Leu Thr Gln Leu His

1 5 10 15

Ser Cys Phe Gln Thr Val Asp Arg Leu Tyr Phe Val Met

20 25

<210> 14

<211> 36

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Arg Thr Phe Cys Gly Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Pro Glu Ile Ile Ala

1 5 10 15

Tyr Gln Pro Tyr Gly Lys Ser Val Asp Trp Trp Ala Tyr Gly Val Leu

20 25 30

Leu Tyr Glu Met

35

<210> 15

<211> 8

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

PTD R8 peptide"

<400> 15

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg

1 5

<210> 16

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

PTD peptide"

<400> 16

Arg Arg Pro Arg Arg Pro Arg Arg Pro Arg Arg Pro Arg Arg Pro

1 5 10 15

<210

> 17

<211> 16

<212> PRT

<213> Drosophila sp.

<400> 17

Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys

1 5 10 15

<210> 18

<211> 11

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus

<400> 18

Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg

1 5 10

<210> 19

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer"

<400> 19

acaacttttc atggctccag t 21

<210> 20

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic primer"

<400> 20

ttggctcaga gacagttgaa a 21

<210> 21

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220

><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> (R)-2-(7-octenyl)alanine

<220><221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> (S)-2-(4-pentenyl)alanine

<400> 21

Val Glu Cys Thr Met Xaa Glu Lys Arg Val Leu Ala Xaa Leu Asp Lys

1 5 10 15

Pro Pro Phe Leu Thr Gln Leu His Ser

20 25

<210> 22

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> (R)-2-(7-octenyl)alanine

<220><221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> (S)-2-(4-pentenyl)alanine

<400> 22

Val Glu Cys Thr Met Xaa Glu Lys Arg Val Leu Ala Xaa Leu Asp Lys

1 5 10 15

Pro Pro Phe Leu Thr Gln Leu His Ser

20 25

<210> 23

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> (R)-2-(7-octenyl)alanine

<220><221> MOD_RES

<222> (11)..(11)

<223> (S)-2-(4-pentenyl)alanine

<400> 23

Cys Thr Met Xaa Glu Lys Arg Val Leu Ala Xaa Leu Asp Lys Pro Pro

1 5 10 15

Phe Leu Thr Gln Leu His Ser

20

<210> 24

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<220

><221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> (R)-2-(7-octenyl)alanine

<220><221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> (S)-2-(4-pentenyl)alanine

<400> 24

Met Xaa Glu Lys Arg Val Leu Ala Xaa Leu Asp Lys Pro Pro Phe Leu
1 5 10 15

Thr Gln Leu His Ser
20

<210> 25

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<220><221> source

<223>

/note="N-term carboxybenzyle"

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> (R)-2-(7-octenyl)alanine

<220><221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> (S)-2-(4-pentenyl)alanine

<400> 25

Xaa Glu Lys Arg Val Leu Ala Xaa Leu Asp Lys Pro Pro Phe Leu Thr
1 5 10 15

Gln Leu His Ser
20

<210> 26

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> (R)-2-(7-octenyl)alanine

<220><221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> (S)-2-(4-pentenyl)alanine

<400> 26

Val Glu Cys Thr Met Xaa Glu Lys Arg Val Leu Ala Xaa Leu Asp Lys
1 5 10 15

Pro Pro Phe Leu Thr Gln Leu
20

<210> 27

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> (R)-2-(7-octenyl)alanine

<220><221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> (S)-2-(4-pentenyl)alanine

<400> 27

Val Glu Cys Thr Met Xaa Glu Lys Arg Val Leu Ala Xaa Leu Asp Lys

1 5 10 15

Pro Pro Phe Leu Thr

20

<210> 28

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> (R)-2-(7-octenyl)alanine

<220><221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> (S)-2-(4-pentenyl)alanine

<400> 28

Val Glu Cys Thr Met Xaa Glu Lys Arg Val Leu Ala Xaa Leu Asp Lys

1 5 10 15

Pro Pro Phe

<210> 29

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> (R)-2-(7-octenyl)alanine

<220><221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> (S)-2-(4-pentenyl)alanine

<400> 29

Val Glu Cys Thr Met Xaa Glu Lys Arg Val Leu Ala Xaa Leu Asp Lys

1 5 10 15

Pro

<210> 30

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> (R)-2-(7-octenyl)alanine

<220><221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> (S)-2-(4-pentenyl)alanine

<400> 30

Val Glu Cys Thr Met Xaa Glu Lys Arg Val Leu Ala Xaa Leu Asp

1 5 10 15

<210> 31

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Alpha-aminobutyric acid

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> (R)-2-(7-octenyl)alanine

<220><221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> (S)-2-(4-pentenyl)alanine

<400> 31

Val Glu Xaa Thr Met Xaa Glu Lys Arg Val Leu Ala Xaa Leu Asp Lys

1 5 10 15

Pro Pro Phe Leu Thr Gln Leu His Ser

20 25

<210> 32

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Alpha-aminoheptanoic acid

<220><221> MOD_RES

<222>

(6)..(6)

<223> (R)-2-(7-octenyl)alanine

<220><221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> (S)-2-(4-pentenyl)alanine

<400> 32

Val Glu Cys Thr Xaa Xaa Glu Lys Arg Val Leu Ala Xaa Leu Asp Lys

1 5 10 15

Pro Pro Phe Leu Thr Gln Leu His Ser

20 25

<210> 33

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Alpha-aminobutyric acid

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Alpha-aminoheptanoic acid

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> (R)-2-(7-octenyl)alanine

<220><221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> (S)-2-(4-pentenyl)alanine

<400> 33

Val Glu Xaa Thr Xaa Xaa Glu Lys Arg Val Leu Ala Xaa Leu Asp Lys

1 5 10 15

Pro Pro Phe Leu Thr Gln Leu His Ser

20 25

<210> 34

<211> 25

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> (R)-2-(7-octenyl)alanine

<220><221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> (S)-2-(4-pentenyl)alanine

<400> 34

Val Glu Cys Thr Met Xaa Glu Lys Arg Val Leu Ala Xaa Leu Asp Lys
1 5 10 15

Pro Pro Phe Leu Thr Gln Leu His Ser
20 25

<210> 35

<211

> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> (S)-2-(4-pentenyl)alanine

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> (S)-2-(4-pentenyl)alanine

<400> 35

Val Glu Cys Thr Met Xaa Glu Lys Arg Xaa Leu Ala Leu Leu Asp Lys
1 5 10 15

Pro Pro Phe Leu Thr Gln Leu His Ser
20 25

<

210> 36

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> (R)-2-(7-octenyl)alanine

<220><221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> (S)-2-(4-pentenyl)alanine

<400> 36

Leu Pro His Glu Thr Xaa Arg Leu Ser Gln Lys Val Xaa Thr Lys Leu

1 5 10 15

Asp Cys Leu Met Phe Val Glu Pro Ala

20 25

<210> 37

<211> 672

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

Met Ala Asp Val Phe Pro Gly Asn Asp Ser Thr Ala Ser Gln Asp Val

1 5 10 15

Ala Asn Arg Phe Ala Arg Lys Gly Ala Leu Arg Gln Lys Asn Val His

20 25 30

Glu Val Lys Asp His Lys Phe Ile Ala Arg Phe Phe Lys Gln Pro Thr

35 40 45

Phe Cys Ser His Cys Thr Asp Phe Ile Trp Gly Phe Gly Lys Gln Gly

50 55 60

Phe Gln Cys Gln Val Cys Cys Phe Val Val His Lys Arg Cys His Glu

65 70 75 80

Phe Val Thr Phe Ser Cys Pro Gly Ala Asp Lys Gly Pro Asp Thr Asp

85 90 95

Asp Pro Arg Ser Lys His Lys Phe Lys Ile His Thr Tyr Gly Ser Pro

100 105 110

Thr Phe Cys Asp His Cys Gly Ser Leu Leu Tyr Gly Leu Ile His Gln

115 120 125

Gly Met Lys Cys Asp Thr Cys Asp Met Asn Val His Lys Gln Cys Val

130 135 140

Ile Asn Val Pro Ser Leu Cys Gly Met Asp His Thr Glu Lys Arg Gly

145 150 155 160

Arg Ile Tyr Leu Lys Ala Glu Val Ala Asp Glu Lys Leu His Val Thr

165 170 175

Val Arg Asp Ala Lys Asn Leu Ile Pro Met Asp Pro Asn Gly Leu Ser

180 185 190

Asp Pro Tyr Val Lys Leu Lys Leu Ile Pro Asp Pro Lys Asn Glu Ser

195 200 205

Lys Gln Lys Thr Lys Thr Ile Arg Ser Thr Leu Asn Pro Gln Trp Asn

210 215 220

Glu Ser Phe Thr Phe Lys Leu Lys Pro Ser Asp Lys Asp Arg Arg Leu

225 230 235 240

Ser Val Glu Ile Trp Asp Trp Asp Arg Thr Thr Arg Asn Asp Phe Met

245 250 255

Gly Ser Leu Ser Phe Gly Val Ser Glu Leu Met Lys Met Pro Ala Ser

260 265 270

Gly Trp Tyr Lys Leu Leu Asn Gln Glu Glu Gly Glu Tyr Tyr Asn Val

275 280 285

Pro Ile Pro Glu Gly Asp Glu Glu Gly Asn Met Glu Leu Arg Gln Lys

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Glu Asp Arg Lys Gln Pro Ser Asn Asn Leu Asp Arg Val Lys Leu
325 330 335
Thr Asp Phe Asn Phe Leu Met Val Leu Gly Lys Gly Ser Phe Gly Lys
340 345 350
Val Met Leu Ala Asp Arg Lys Gly Thr Glu Glu Leu Tyr Ala Ile Lys
355 360 365
Ile Leu Lys Lys Asp Val Val Ile Gln Asp Asp Asp Val Glu Cys Thr

370 375 380
Met Val Glu Lys Arg Val Leu Ala Leu Leu Asp Lys Pro Pro Phe Leu
385 390 395 400
Thr Gln Leu His Ser Cys Phe Gln Thr Val Asp Arg Leu Tyr Phe Val
405 410 415
Met Glu Tyr Val Asn Gly Gly Asp Leu Met Tyr His Ile Gln Gln Val
420 425 430
Gly Lys Phe Lys Glu Pro Gln Ala Val Phe Tyr Ala Ala Glu Ile Ser

435 440 445
Ile Gly Leu Phe Phe Leu His Lys Arg Gly Ile Ile Tyr Arg Asp Leu
450 455 460
Lys Leu Asp Asn Val Met Leu Asp Ser Glu Gly His Ile Lys Ile Ala
465 470 475 480
Asp Phe Gly Met Cys Lys Glu His Met Met Asp Gly Val Thr Thr Arg
485 490 495
Thr Phe Cys Gly Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Pro Glu Ile Ile Ala Tyr

500 505 510
Gln Pro Tyr Gly Lys Ser Val Asp Trp Trp Ala Tyr Gly Val Leu Leu
515 520 525
Tyr Glu Met Leu Ala Gly Gln Pro Pro Phe Asp Gly Glu Asp Glu Asp
530 535 540
Glu Leu Phe Gln Ser Ile Met Glu His Asn Val Ser Tyr Pro Lys Ser
545 550 555 560
Leu Ser Lys Glu Ala Val Ser Val Cys Lys Gly Leu Met Thr Lys His

565 570 575

Pro Ala Lys Arg Leu Gly Cys Gly Pro Glu Gly Glu Arg Asp Val Arg

580 585 590

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

595 600 605

Glu Ile Gln Pro Pro Phe Lys Pro Lys Val Cys Gly Lys Gly Ala Glu

610 615 620

Asn Phe Asp Lys Phe Phe Thr Arg Gly Gln Pro Val Leu Thr Pro Pro

625 630 635 640

Asp Gln Leu Val Ile Ala Asn Ile Asp Gln Ser Asp Phe Glu Gly Phe

645 650 655

Ser Tyr Val Asn Pro Gln Phe Val His Pro Ile Leu Gln Ser Ala Val

660 665 670