(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。Int. Cl.[7]
A61K 38/26
A01N 37/18

(11) 공개번호 10-2004-0085205
(43) 공개일자 2004년10월07일

(21) 출원번호 10-2004-7012920
(22) 출원일자 2004년08월19일
번역문 제출일자 2004년08월19일
(86) 국제출원번호 PCT/US2003/003111
(87) 국제공개번호 WO 2003/072195
(86) 국제출원출원일자 2003년02월07일
(87) 국제공개일자 2003년09월04일

(30) 우선권주장 60/358,184 2002년02월20일 미국(US)

(71) 출원인 일라이 릴리 앤드 캄파니
미국 46285 인디애나주 인디애나폴리스 릴리 코포레이트 센터

(72) 발명자 칸,모하메드,아민
미국 46033 인디애나주 카멜 수 드라이브 5163

존스,브라이언,에드워드
미국 46032 인디애나주 카멜 비컨 파크 드라이브 14772

맥길,존,맥네일
미국 46143 인디애나주 그린우드 아든 플레이스 2254

(74) 대리인 장수길
김영

심사청구 : 없음

(54) G L P -1 분자의 투여 방법

요약

본 발명은 GLP-1 화합물 및 특정한 전달제를 포함하는, 경구 흡수의 가능성을 입증하는 제제에 관한 것이다.

색인어

경구 흡수, 글루카곤-유사 펩티드-1, 전달제, 글루카곤, 제2형 당뇨병

명세서

기술분야

본 발명은 글루카곤-유사 펩티드-1 (GLP-1) 화합물 및 특정의 전달제를 포함하는 경구 투여에 유용한 제제에 관한 것이다. 본 제제의 경구 투여는 제2형 당뇨병 뿐만 아니라 각종 다른 상태의 치료에 사용될 수 있다.

배경기술

지난 수십년에 걸쳐, 당뇨병의 치료에 대한 개선에 대해 연속적인 발전이 있었다. 당뇨병을 앓고 있는 사람들 중 약 90%가 비-인슐린 의존성 당뇨병 (NIDDM)으로도 알려져 있는 제2형 당뇨병을 앓고 있다. 제2형 당뇨병은 일반적으로 여전히 인슐린을 생성하지만, 인슐린은 체세포에 의해 유효하게 사용될 수 없다. 이것은 근본적으로 혈당 수준 상승에 반응하여 생성된 인슐린의 양이, 세포가 글루코스를 효과적으로 섭취하여 혈당 수준을 감소시키기에 충분하지 않기 때문이다.

다수의 전-임상학적 및 임상학적 연구 데이타는 글루카곤-유사 펩티드-1 (GLP-1) 화합물이 제2형 당뇨병 및 다른 증상의 치료제로서 매우 유망하다는 것을 제시하고 있다. GLP-1은 다수의 생물학적 영향, 예컨대 인슐린 분비 자극, 글루카곤 분비 억제, 위 배출 억제, 글루코스 유용화 증대, 및 체중 손실 유도를 유도한다. 또한, 전-임상학적 연구는 GLP-1이 작용하여 질환 진행으로서 발생하는 β 세포 퇴보를 또한 방지할 수 있다는 것을 제시하고 있다. GLP-1의 가장 두드러진 특 성은 인슐린 발현을 증가시킴으로써 작용하는 일부 유형의 경구 요법 또는 인슐린 요법을 사용하는 경우 나타나는 저혈당증의 관련 위험 없이 인슐린 분비를 자극하는 그의 능력일 것이다.

그러나, GLP-1 치료제의 개발은 매우 어려웠다. 이는 근본적으로 용액 제제에서 생산 과정 동안 및 생체내에서 펩티드의 불안정성 때문이다. 과혈당증 또는 다른 상태를 치료하기 위해 GLP-1 화합물을 사용하는 발표된 임상학적 연구들만 피하 주사 또는 연속 피하 주입 또는 연속 정맥내 투여를 통해 전달될 수 있는 GLP-1 화합물의 제제화와 관련된다. 감량을 목적하는 다수의 제2형 당뇨병 또는 비만 환자는 일일 수회 주사를 포함할 수 있는 치료 섭생을 시작하는 것을 꺼릴 것이다. 따라서, 다른 비-침해 수단, 예컨대 경구 전달에 의해 전달될 수 있는 GLP-1 화합물 치료제에 대한 개발이 요구된다.

불행히도, 펩티드의 유효한 경구 전달에는 다수의 장벽이 있다. 소화관의 높은 산 함유량 및 보편적인 소화 효소는 흡수 부위에 도달하기 전에 단백질 및 펩티드를 종종 분해할 것이다. 또한, 다수의 펩티드는 소장 중의 상피 막의 세포를 효율적으로 가로질러 혈류에 도달할 수 없다. 마지막으로, 다수의 약물은 소화관에서 마주치는 낮은 pH 수준에서 불용성이 되어 효과적으로 흡수되지 않는다.

GLP-1 화합물이 용액 제제에서 비교적 불안정하고, 단지 상당히 한정된 셋트 조건 하에서만 용액 상태로 존재하고, 용액 제제로서 투여되는 경우 비교적 짧은 생체내 반감기를 가진다는 사실은 이들 화합물이 경구 경로를 통해 효과적으로 전달될 수 없다는 것을 제시한다. 따라서, GLP-1 화합물이 제제화되어 생물학상 활 성 분자가 경구 투여 후에 혈류 내로 흡수될 수 있는 것이 놀라웠다.

본 발명은 GLP-1 화합물과 비-공유 방식으로 상호작용하여 화합물이 소화관 막을 가로질러 통과하고, 여전히 치료 활성 상태인 특정의 전달제 분자의 사용을 포함한다. 본 발명에 사용되는 전달제는 일련의 미국 특허 (미국 특허 제5,541,155호; 동 제5,693,338호; 동 제5,976,569호; 동 제5,643,957호; 동 제5,955,503호; 동 제6,100,298호; 동 제5,650,386호; 동 제5,866,536호; 동 제5,965,121호; 동 제5,989,539호; 동 제6,001,347호; 동 제6,071,510호; 동 제5,820,881호; 및 동 제6,242,495호 참조; 또한, WO 02/02509; WO 01/51454; WO 01/44199; WO 01/32130; WO 00/59863; WO 00/50386; WO 00/47188; 및 WO 00/40203 참조)에 개시되어 있지만, GLP-1 화합물을 이들 전달제와 함께 포함하는 제제의 경구 투여는 개시되거나 제시되지 않았다. 또한, 다수의 파라미터는 특정 부류의 화합물이 1 부류 이상의 전달제와 조합되어 효과적으로 전달될 수 있는가에 영향을 준다. 예를 들면, 펩티드의 구조, 특정 제제화 조건하의 분자 상의 표면 전하, 용해도 프로파일, 제제화된 구성분의 안정성, 뿐만 아니라 프로테아제 소화에 대한 민감성 및 생체내 안정성 모두가 화합물의 경구 전달능에 영향을 준다.

<발명의 요약>

본 발명은 GLP-1 화합물 및 경구 투여될 수 있는 전달제를 포함하는 신규 제제의 개발을 포함한다. 본 발명은 GLP-1 화합물 및 특정의 전달제를 포함하는, 경구 투여될 수 있는 제제를 제공한다. GLP-1 화합물이 천연 GLP-1; GLP-1 단편; GLP-1 유사체; 천연 GLP-1, GLP-1 단편 또는 GLP-1 유사체의 GLP-1 유도체; 및 엑 센딘(Exendin)-3 및 엑센딘-4일 수 있다. 전달제는 미국 특허 제5,541,155호; 동 제5,693,338호; 동 제5,976,569호; 동 제5,643,957호; 동 제5,955,503호; 동 제6,100,298호; 동 제5,650,386호; 동 제5,866,536호; 동 제5,965,121호; 동 제5,989,539호; 동 제6,001,347호; 동 제6,071,510호; 동 제5,820,881호; 및 동 제6,242,495호; 및 WO 02/02509; WO 01/51454; WO 01/44199; WO 01/32130; WO 00/59863; WO 00/50386; WO 00/47188; 및 WO 00/40203에 기재된 전달제로부터 선택된다.

바람직한 GLP-1 화합물은 위치 8, 12, 16, 18, 19, 20, 22, 25, 27, 30, 33, 및 37 중 하나 이상에 변형을 갖는 유사체 또는 그의 유도체이고, Val^{8}-GLP-1(7-37)OH에 비해 상승된 효능을 나타낸다. 바람직한 GLP-1 화합물은 또한 서열 1, 서열 2, 서열 3, 서열 4, 서열 5, 서열 6, 서열 7, 서열 8, 서열 9, 서열 10, 서열 11, 서열 12, 서열 13, 또는 서열 14로 기재되어 있다. 더 바람직한 GLP-1 화합물은 서열 2, 서열 12, 서열 13, 및 서열 14의 화합물로 기재되어

있다.

바람직한 전달제는 표 1에 기재되어 있다. 더 바람직한 전달제는 1, 2, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 28, 30, 31, 35, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 46, 51, 52, 및 54로 이루어진 군으로부터 선택되는 표 1의 번호에 상응하는 전달제이다.

본 발명은 또한 GLP-1 수용체 자극이 필요한 대상체에게 본원에 기재된 유효량의 경구 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서의 GLP-1 수용체의 자극 방법을 포함한다. GLP-1 수용체 자극이 필요한 대상체는 비-인슐린 의존성 당뇨병 및 비만을 앓고 있는 대상체를 포함한다.

발명의 상세한 설명

본 명세서에 사용되는 아미노산에 대한 3문자 약자 코드는 PCT 행정 지침의 부속서 C, 부록 2의 표 3에 포함된 목록 및 37 C.F.R. §1.822 (d)(1)(2000)에 따른다.

본원에 개시되고 기재된 바와 같은 본 발명의 목적을 위해, 하기 용어 및 약자를 하기와 같이 정의한다.

본원에 사용되는 용어 '제제'는 GLP-1 화합물, 및 GLP-1 화합물이 소화관을 통과하여 전신 순환하고, GLP-1 수용체에 결합하고, 신호 전달 경로를 개시하여 인슐린향성 (insulinotropic) 활성을 발생시키는 능력을 가지도록 경구로 병용 투여될 수 있는 특정의 전달제를 의미한다. 제제는 GLP-1이 GLP-1 수용체에 대한 결합능을 보유하는 한 다른 물질을 임의로 포함할 수 있다.

본원에 사용되는 용어 '경구'는 화합물이 위, 소장, 또는 대장을 통과하여 전신 순환하도록 구강에 의해 화합물을 전달하는 것을 의미한다.

본원에 사용되는 용어 'GLP-1 화합물'은 GLP-1 수용체에 결합하고, 신호 전달 경로를 개시하여 인슐린향성 활성을 발생시키는 능력을 갖는 자연 발생 GLP-1 폴리펩티드 (GLP-1(7-37)OH 및 GLP-1(7-36)NH_2), GLP-1 단편, GLP-1 유사체, 자연 발생 GLP-1 폴리펩티드, GLP-1 단편 또는 GLP-1 유사체의 GLP-1 유도체, 및 엑센딘 -3 및 엑센딘-4를 포함하는 폴리펩티드를 의미한다.

용어 '인슐린향성 활성'은 상승된 글루코스 수준에 반응하여 인슐린 분비를 자극함으로써 세포에 의한 글루코스 섭취 및 감소된 혈장 글루코스 수준을 유발하는 능력을 의미한다. 예를 들면, 인슐린향성 활성은 실시예 1에 기재된 방법을 이용하여 측정될 수 있다. 도세포 (islet cell)가 GLP-1 분자의 존재하에 배경 수준보다 높은 인슐린 수준을 분비하는 경우에 GLP-1 분자는 인슐린향성 활성을 가진다.

용어 'DPP IV 내성'은 연장된 대사 안정성 및 개선된 생물학적 활성을 갖는 GLP-1 분자를 의미한다. 예를 들면, DPP IV 내성은 실시예 2에 기재된 방법을 이용하여 측정될 수 있다. DPP IV의 존재하에 GLP-1 분자가 천연 GLP-1보다 연장된 대사 안정성을 갖는 경우 GLP-1 분자는 DPP IV 내성이다. DPP IV 내성 GLP-1 분자는 DPP IV 인식 부위 (위치 8)에 아미노산 변화를 가질 수 있거나, 또는 DPP IV 내성 펩티드는 인식 부위에 대한 DPP IV의 접근성을 제한하는 부착된 기를 가질 수 있거나, 또는 두 경우 모두일 수 있다.

'GLP-1 단편'은 GLP-1(7-37)OH, 또는 그의 유사체 또는 유도체의 N-말단 및(또는) C-말단으로부터 1개 이상의 아미노산의 말단절단 (truncation) 후에 얻은 폴리펩티드이다. GLP-1(7-37)OH의 기재에 사용된 명명법은 또한 GLP-1 단편에도 적용가능하다. 예를 들면, GLP-1(9-36)OH는 N-말단으로부터 2개의 아미노산 및 C-말단으로부터 1개의 아미노산을 말단절단함으로써 얻은 GLP-1 단편을 나타낸다. 단편 중의 아미노산은 GLP-1(7-37)OH 중의 상응하는 아미노산과 동일한 번호로 나타 낸다. 예를 들면, GLP-1(7-37)OH 중에서와 같이 GLP-1(9-36)OH 중에 N-말단 글루탐산은 위치 9에 있고; 위치 12에는 페닐알라닌이 있고; 위치 22에는 글리신이 있다. GLP-1(7-36)OH의 경우, GLP-1(7-37)OH의 위치 37에서의 글리신이 결실되어 있다.

'GLP-1 유사체'는 유도체가 인슐린향성 활성을 가질 정도로 GLP-1(7-37)OH 또는 GLP-1(7-37)OH의 단편에 충분히 상동성이 있다. 바람직하게는, GLP-1 유사체는 GLP-1(7-37)OH 또는 GLP-1(7-37)OH의 단편의 상응하는 위치에서의 아미노산과 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산이 상이하도록 변형된 GLP-1(7-37)OH 또는 그의 단편의 아미노산 서열을 가진다. GLP-1 화합물을 나타내는 데 본원에서 사용되는 명명법에서, 치환하는 아미노산 및 그의 위치는 모 구조 앞에 표시된다. 예를 들면, Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH는 GLP-1(7-37)OH의 위치 22에서 보통 발견되는 글리신이 글루탐산으로 치환된 GLP-1 화합물을 나타내고; Val^{8}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH는 GLP-1(7-37)OH의 위치 8에서 보통 발견되는 알라닌 및 위치 22에서 보통 발견되는 글리신이 각각 발린 및 글루탐산으로 치환된 GLP-1 화합물을 나타낸다.

GLP-1 분자는 또한 1개 이상의 아미노산이 GLP-1(7-37)OH의 N-말단 및(또는) C-말단에 첨가된 폴리펩티드, 또는 그의 단편 또는 유사체를 포함한다. 이 유형의 GLP-1 분자는 약 39개 이하의 아미노산을 가지는 것이 바람직하다. '연장된' GLP-1 분자 중의 아미노산은 GLP-1(7-37)OH 중의 상응하는 아미노산과 동일한 번호로 나타낸다. 예를 들면, GLP-1(7-37)OH의 N-말단에 2개의 아미노산을 첨가하여 얻 은 GLP-1 분자의 경우, N-말단 아미노산은 위치 5에 위치하고; GLP-1(7-37)OH의 C-말단에 1개의 아미노산을 첨가하여 얻은 GLP-1 분자의 경우, C-말단 아미노산은 위치 38에 위치한다. 따라서, GLP-1(7-37)OH에서와 같이 이들 '연장된' GLP-1 화합물 모두에서 위치 12에는 페닐알라닌이 있고, 위치 22에는 글리신이 있다. 연장된 GLP-1 분자의 아미노산 1-6은 GLP-1(1-37)OH의 상응하는 위치에서의 아미노산과 동일하거나 또는 이들 아미노산의 보존적 치환인 것이 바람직하다. 연장된 GLP-1 분자의 아미노산 38-45는 글루카곤 또는 엑센딘-4의 상응하는 위치에서의 아미노산과 동일하거나 또는 이들 아미노산의 보존적 치환인 것이 바람직하다.

'GLP-1 유도체'는 GLP-1, GLP-1 단편, 또는 GLP-1 유사체의 아미노산 서열을 가지나, 그의 아미노산 측쇄기, α-탄소 원자, 말단 아미노기, 또는 말단 카르복실산기 중 하나 이상의 화학적 변형을 추가로 갖는 분자를 의미한다. 화학적 변형은 화학적 잔기 부가, 신규 결합의 생성, 및 화학적 잔기의 제거를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 아미노산 측쇄기에서의 변형에는 리신 ε-아미노기의 아실화, 아르기닌, 히스티딘, 또는 리신의 N-알킬화, 글루탐산계 또는 아스파르트산계 카르복실산 기의 알킬화, 및 글루타민 또는 아스파라긴의 탈아미드화를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 말단 아미노기의 변형에는 데스-아미노, N-저급 알킬, N-디-저급 알킬, 및 N-아실 변형이 포함되지만 이에 제한되지는 않는다. 말단 카르복시기의 변형에는 아미드, 저급 알킬 아미드, 디알킬 아미드, 및 저급 알킬 에스테르 변형이 포함되지만 이에 제한되지는 않는다. 저급 알킬은 C_1-C_4 알킬이다. 또한, 하나 이상의 측쇄기 또는 말단기는 통상의 숙련된 단백질 화학자에게 공지된 보호기에 의해 보호될 수 있다. 아미노산의 α-탄소는 모노- 또는 디-메틸화될 수 있다.

본 발명의 목적을 위해, 시험관내 GLP-1 수용체-신호전달 분석법을 이용하여 특유의 연장된 GLP-1 펩티드가 생체내 인슐린향성 활성을 나타낼 것인지를 결정한다. 본 발명에 포함되는 연장된 GLP-1 펩티드는 Val^8-GLP-1(7-37)OH로서 공지된 DPP IV 내성 GLP-1 유사체의 1/10 이상의 시험관내 효능을 가진다. 더 바람직하게는, 본 발명의 연장된 GLP-1 펩티드는 Val^8-GLP-1(7-37)OH만큼의 효능 또는 그 이상의 효능이 있다.

본 발명에 사용되는 '시험관내 효능'은 세포-기재 분석에서 GLP-1 수용체를 활성화시키는 펩티드의 능력을 의미한다. 단일 투여량-반응 실험에서 50% 활성을 생성하는 화합물의 유효한 농도인 'EC_{50}'으로 시험관내 효능을 나타낸다. 본 발명의 목적을 위해, 시험관내 효능은 인간 GLP-1 수용체를 안정하게 발현하는 HEK-293 아우로라 (Aurora) CRE-BLAM 세포를 사용하는 형광 분석을 이용하여 결정한다. 이들 HEK-293 세포는 β-락타마제 (BLAM) 유전자의 발현을 유도하는 cAMP 반응 요소 (CRE)를 갖는 안정하게 통합된 DNA 벡터를 가진다. GLP-1 아고니스트와 수용체의 상호작용은 cAMP 반응 요소의 활성화 및 β-락타마제의 차후 발현을 생성하는 신호를 개시시킨다. 이어서, β-락타마제 (아우로라 바이오사이언시스 코포레이션 (Aurora Biosciences Corp.))에 의해 절단될 경우에 형광을 발광하는 β-락타마제 CCF2/AM 기질을 특정량의 GLP-1 아고니스트에 노출되어 GLP-1 아고니스트 효능의 척도를 제공하는 세포에 첨가할 수 있다. 이 분석은 또한 문헌 [Zlokarnik, et al. (1998) Science 279: 84-88]에 기재되어 있다 (또한, 실시예 1 참조). 실시예 1에 열거된 화합물에 대한 EC_{50} 값은 0.00003 나노몰 내지 30 나노몰의 범위의 희석액을 사용하여 투여량 반응 곡선을 작성함으로써 상기에 기재된 BLAM 분석을 이용하여 결정한다. 대조군으로서 Val^8-GLP-1(7-37)OH를 시험하고, 대조군을 참조 값 1로 지정함으로써 상대적 시험관내 효능 값을 확립한다.

용어 '전달제'는 미국 특허 제5,541,155호; 동 제5,693,338호; 동 제5,976,569호; 동 제5,643,957호; 동 제5,955,503호; 동 제6,100,298호; 동 제5,650,386호; 동 제5,866,536호; 동 제5,965,121호; 동 제5,989,539호; 동 제6,001,347호; 동 제6,071,510호; 동 제5,820,881호; 및 동 제6,242,495호; 및 WO 02/02509; WO 01/51454; WO 01/44199; WO 01/32130; WO 00/59863; WO 00/50386; WO 00/47188; 및 WO 00/40203에서의 분자를 의미한다. 전달제는 아미노산으로부터 일반적으로 유도되고, 본 발명의 경구 제제에 유용하다. 유도된 아미노산은 폴리 아미노산 및 펩티드의 형태일 수도 있다. 아미노산은 하나 이상의 유리 아민기를 갖는 임의의 카르복실산이고, 자연 발생 및 합성 아미노산을 포함한다. 폴리 아미노산은 연결될 수 있는 다른 기에 의해 형성되는 결합, 예컨대 에스테르, 무수물, 또는 무수물 연결기에 의해 연결된 펩티드 또는 2개 이상의 아미노산이다. 펩티드는 펩티드 결합에 의해 연결된 2개 이상의 아미노산이다. 펩티드는 2개의 아미노산을 갖는 디펩티드 내지 수백개의 아미노산을 갖는 폴리펩티드의 길이로 달라질 수 있다. 바람직한 펩티드에는 디-펩티드, 트리-펩티드, 테트라-펩티드, 및 펜타-펩티드가 포함된다.

또한, 본 발명의 전달제는 임의로 염 형태이다. 염의 예에는 나트륨, 염산, 황산, 인산, 시트르산, 아세트산, 황산염, 인산염, 염화물, 브롬화물, 요오드화물, 아세트산염, 프로피온산염, 브롬화수소산, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화암모늄, 및 탄산칼륨이 포함된다.

본 발명의 각종 경구 제제는 제약상 허용되는 완충액을 임의로 포함할 수 있다. 제약상 허용되는 완충액의 예에는 인산염 완충액, 예컨대 이염기성 인산나트륨, TRIS, 글리실글리신, 말레산염, 아세트산나트륨, 시트르산나트륨, 타르타르산나트륨, 또는 아미노산, 예컨대 글리신, 히스티딘, 리신 또는 아르기닌이 포함된다. 다른 제약상 허용되는 완충액

은 당업계에 공지되어 있다. 바람직하게는, 완충액은 인산염, TRIS, 말레산염, 및 글리신으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 더더욱 바람직하게는 완충액은 TRIS이다.

바람직하게는, TRIS 농도는 약 1 mM 내지 100 mM이다. 더더욱 바람직하게는, 농도는 약 10 mM 내지 약 50 mM이고, 가장 바람직하게는 완충액의 농도는 약 20 mM이다.

경구 제제의 pH는 안정성을 제공하고, 경구 투여에 허용되도록 조정된다. 바람직하게는, pH는 약 7.0 내지 약 9.0, 더 바람직하게는 약 7.4 내지 8.4로 조정된다. 더더욱 바람직하게는 pH는 약 7.8 내지 8.4이다. 가장 바람직하게는, pH는 약 7.8 내지 8.1이다.

본 발명의 각종 경구 제제는 임의로 현탁제를 포함할 수 있다. 일부 전달제는 그의 용해도 특성 때문에 현탁제를 요구한다. 현탁제의 예에는 히드록시프로필-메틸셀룰로오스가 있다. 바람직하게는, 히드록시프로필메틸셀룰로오스의 최종 농도는 약 2% 내지 약 10% (중량/용적)이다. 더더욱 바람직하게는, 농도는 약 2% 내지 약 5% (w/v)이다. 가장 바람직하게는 농도는 약 3.9% (w/v)이다.

본 발명의 경구 제제는 임의로 공용매를 포함할 수 있다. 일부 전달제는 그의 용해도 특성 때문에 공용매를 요구한다. 공용매의 예에는 에탄올, N-메틸피롤리돈, N,N-디메틸아세트아미드, N,N-디메틸포름아미드, 글리코푸롤, 에톡시디올, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 300 및 폴리비닐피롤리돈이 포함된다. 바람직하게는, 공용매의 최종 농도는 약 5% 내지 약 30% (용적/용적)이다. 더더욱 바람직하게는, 농도는 약 10% 내지 약 25% (v/v)이다. 가장 바람직하게는, 농도는 약 20% (v/v)이다.

본 발명의 경구 제제는 임의로 방부제를 포함할 수 있다. 방부제는 제제에 첨가되어 항미생물제로서 작용하는 화합물을 의미한다. 유효하고 비경구 제제로 허용되는, 당업계에 공지된 방부제 중에는 페놀계 방부제, 알킬파라벤, 벤질 알콜, 클로로부탄올, 레소르시놀, 및 다른 유사한 방부제, 및 이들의 각종 혼합물이 있다. 페놀계 유도체의 예에는 크레졸 및 페놀, 또는 크레졸과 페놀의 혼합물이 포함된다. 크레졸의 예에는 메타-크레졸, 오르토-크레졸, 파라-크레졸, 클로로크레 졸, 또는 이들의 혼합물이 포함된다. 알킬파라벤은 C_1 내지 C_4 알킬파라벤, 또는 그의 혼합물을 의미한다. 알킬파라벤의 예에는 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 또는 부틸파라벤이 포함된다. 농도는 미생물 성장을 지연시킴으로써 방부제 유효성을 유지하기에 충분하여야 한다. 바람직하게는, 방부제는 페놀 유도체이다. 더 바람직하게는, 방부제는 크레졸이다. 더더욱 바람직하게는, 방부제는 메타-크레졸이다.

최종 혼합물 중의 방부제의 바람직한 농도는 약 1.0 mg/mL 내지 약 20.0 mg/mL이다. 최종 혼합물 중의 방부제의 더 바람직한 농도 범위는 약 2.0 mg/mL 내지 약 8.0 mg/mL, 약 2.5 mg/mL 내지 약 4.5 mg/mL 및 약 2.0 mg/mL 내지 약 4.0 mg/mL이다. 최종 혼합물 중의 방부제의 가장 바람직한 농도는 약 3.0 mg/mL이다.

본 발명의 경구 제제는 임의로 등장제를 포함할 수 있다. 등장제는 생리학상 허용되고, 적합한 장성을 제제에 부여하여 세포 막을 횡단하는 물의 순흐름을 차단하는 화합물을 의미한다. 이러한 화합물의 예에는 글리세린, 염, 예컨대 NaCl, 및 당, 예컨대 덱스트로스, 만니톨, 및 수크로스가 포함된다. 이들 화합물은 공지된 농도에서 상기 목적을 위해 통상적으로 사용된다. 하나 이상의 등장제를 이온성 강도 또는 장성을 조정하기 위해 첨가할 수 있다. 바람직한 등장제는 NaCl이다. NaCl의 농도는 바람직하게는 약 10 mM 내지 200 mM, 더 바람직하게는 약 50 mM 내지 150 mM, 가장 바람직하게는 약 100 mM이다.

투여 조성물은 달리 고형물, 예컨대 정제, 캡슐제 또는 입제, 예컨대 산제의 형태일 수 있다. 고형물 투여형은 화합물의 고형물 형태를 활성제의 고형물 형태와 혼합함으로써 제조할 수 있다. 달리, 고형물은 당업계에 공지된 방법, 예컨대 동결 건조법, 침전법, 결정화법 및 고형물 분산법에 의해 화합물 및 활성제의 용액으로부터 수득될 수 있다.

본 발명에 사용하기에 적절한 GLP-1 화합물:

본 발명의 GLP-1 화합물은 당업계에 공지된 각종 방법, 예컨대 고상 합성 화학작용, 천연원으로부터의 GLP-1 분자의 정제, 재조합 DNA 기술, 또는 이들 방법의 조합으로 제조될 수 있다. 예를 들면, GLP-1 펩티드의 제조 방법은 미국 특허 제5,118,666호; 동 제5,120,712호; 동 제5,512,549호; 동 제5,977,071호; 및 동 제6,191,102호에 기재되어 있다.

당업계에서 통상적으로 GLP-1(7-37)OH의 아미노 말단을 잔기 번호 7로 지정하고, 카르복시-말단을 번호 37로 지정하였다. 폴리펩티드 중의 다른 아미노산은 서열 1에 나타낸 바와 같이 연속적으로 번호를 부여한다. 예를 들면, 위치 12는 페닐알라닌이고, 위치 22는 글리신이다.

2개의 자연 발생 말단절단된 GLP-1 펩티드를 하기 화학식 I-1 (서열 1)로 나타낸다.

화학식 I-1

His^{7}-Ala-Glu-Gly^{10}-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu^{20}-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala^{25}-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala^{30}-Trp-Leu-Val-Lys-Gly^{35}-Arg-Xaa^{37}

(서열 1)

식 중,

Xaa^{37} 은 Gly, 또는 $-NH_2$ 이다.

바람직하게는, GLP-1 화합물은 서열 1의 아미노산 서열을 가지거나, 또는 변형되어 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산이 서열 1과 상이하다.

GLP-1 화합물의 바람직한 군은 하기 화학식 I-2 (서열 2)의 GLP-1 유사체로 이루어진다.

화학식 I-2

His-Xaa^{8}-Xaa^{9}-Gly-Xaa^{11}-Phe-Thr-Xaa^{14}-Asp-Xaa^{16}-Xaa^{17}-Xaa^{18}-Xaa^{19}-Xaa^{20}-Xaa^{21}-Xaa^{22}-Xaa^{23}-Xaa^{24}-Xaa^{25}-Xaa^{26}-Xaa^{27}-Phe-Ile-Xaa^{30}-Xaa^{31}-Xaa^{32}-Xaa^{33}-Xaa^{34}-Xaa^{35}-Xaa^{36}-Xaa^{37}-Xaa^{38}-Xaa^{39}-Xaa^{40}-Xaa^{41}-Xaa^{42}-Xaa^{43}-Xaa^{44}-Xaa^{45}

(서열 2)

식 중,

Xaa^{8} 은 Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa^{9} 는 Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa^{11} 은 Thr, Ala, Gly, Ser, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa^{14} 는 Ser, Ala, Gly, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa^{16} 은 Val, Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Tyr, Glu, Asp, Trp, 또는 Lys이고;

Xaa^{17} 은 Ser, Ala, Gly, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa^{18} 은 Ser, Ala, Gly, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, Trp, Tyr, 또는 Lys이고;

Xaa^{19} 는 Tyr, Phe, Trp, Glu, Asp, Gln, 또는 Lys이고;

Xaa^{20} 은 Leu, Ala, Gly, Ser, Thr, Ile, Val, Glu, Asp, Met, Trp, Tyr, 또는 Lys이고;

Xaa^{21} 은 Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa^{22} 는 Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa^{23} 은 Gln, Asn, Arg, Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa ^{24} 는 Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Arg, Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa ^{25} 는 Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa ^{26} 은 Lys, Arg, Gln, Glu, Asp, 또는 His이고;

Xaa ^{27} 은 Leu, Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa ^{30} 은 Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa ^{31} 은 Trp, Phe, Tyr, Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa ^{32} 는 Leu, Gly, Ala, Ser, Thr, Ile, Val, Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa ^{33} 은 Val, Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa ^{34} 는 Asn, Lys, Arg, Glu, Asp, 또는 His이고;

Xaa ^{35} 는 Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa ^{36} 은 Gly, Arg, Lys, Glu, Asp, 또는 His이고;

Xaa ^{37} 은 Pro, Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 또는 Lys이거나, 또는 결실되고;

Xaa ^{38} 은 Ser, Arg, Lys, Glu, Asp, 또는 His이거나, 또는 결실되고;

Xaa ^{39} 는 Ser, Arg, Lys, Glu, Asp, 또는 His이거나, 또는 결실되고;

Xaa ^{40} 은 Gly, Asp, Glu, 또는 Lys이거나, 또는 결실되고;

Xaa ^{41} 은 Ala, Phe, Trp, Tyr, Glu, Asp, 또는 Lys이거나, 또는 결실되고;

Xaa ^{42} 는 Ser, Pro, Lys, Glu, 또는 Asp이거나, 또는 결실되고;

Xaa ^{43} 은 Ser, Pro, Glu, Asp, 또는 Lys이거나, 또는 결실되고;

Xaa ^{44} 는 Gly, Pro, Glu, Asp, 또는 Lys이거나, 또는 결실되고;

Xaa ^{45} 는 Ala, Ser, Val, Glu, Asp, 또는 Lys, Ala-NH_2, Ser-NH_2, Val-NH_2, Glu-NH_2, Asp-NH_2, 또는 Lys-NH_2 이거나, 또는 결실되며,

단, 위치 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 또는 44에서의 아미노산이 결실되는 경우, 그 아미노산의 각각의 아미노산 하류도 또한 결실된다.

화학식 I의 GLP-1 화합물이 GLP-1(7-37)OH 또는 엑센딘-4 중의 상응하는 아미노산과 상이한 6개 미만의 아미노산을 함유하는 것이 바람직하다. GLP-1(7-37)OH 또는 엑센딘-4 중의 상응하는 아미노산과 상이한 아미노산이 5개 미만인 것이 더 바람직하다. GLP-1(7-37)OH 또는 엑센딘-4 중의 상응하는 아미노산과 상이한 아미노산이 4개 미만인 것이 더더욱 바람직하다.

본 발명의 GLP-1 화합물은 화학식 I의 유도체, 예컨대 그의 C-1-6-에스테르, 또는 아미드, 또는 C-1-6-알킬아미드, 또는 C-1-6-디알킬아미드를 포함한다. W099/43706에는 화학식 I의 GLP-1 화합물의 유도체가 기재되어 있고, 그 전문이 본원에 참고로 인용된다. WO 99/43706에 기재된 바와 같이 유도체화되거나, 또는 유도체화되지 않은 화학식 I의 화합물은 본 발명에 포함된다.

GLP-1 화합물의 또다른 바람직한 군은 하기 화학식 II (서열 3)의 GLP-1 유사체로 이루어진다:

화학식 II

Xaa^{7}-Xaa^{8}-Xaa^{9}-Gly-Xaa^{11}-Xaa^{12}-Thr-Ser-Asp-Xaa^{16}-Ser-Xaa^{18}-
Xaa^{19}-Leu-Glu-Gly-Xaa^{23}-Xaa^{24}-Ala-Xaa^{26}-Xaa^{27}-Phe-Ile-Xaa^{30}-
Xaa^{31}-Leu-Xaa^{33}-Xaa^{34}-Xaa^{35}-Xaa^{36}-R^{37}

(서열 3)

식 중,

Xaa ^{7} 은 L-히스티딘, D-히스티딘, 데스아미노-히스티딘, 2-아미노-히스티딘, β-히드록시-히스티딘, 호모히스티딘, α-플루오로메틸-히스티딘 또는 α-메틸-히스티딘이고;

Xaa ^{8} 은 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Ser, 또는 Thr이고;

Xaa ^{9} 는 Thr, Ser, Arg, Lys, Trp, Phe, Tyr, Glu, 또는 His이고;

Xaa ^{11} 은 Asp, Glu, Arg, Thr, Ala, Lys, 또는 His이고;

Xaa ^{12} 는 His, Trp, Phe, 또는 Tyr이고;

Xaa ^{16} 은 Leu, Ser, Thr, Trp, His, Phe, Asp, Val, Tyr, Glu, 또는 Ala이고;

Xaa ^{18} 은 His, Pro, Asp, Glu, Arg, Ser, Ala, 또는 Lys이고;

Xaa ^{19} 는 Gly, Asp, Glu, Gln, Asn, Lys, Arg, 또는 Cys이고;

Xaa ^{23} 은 His, Asp, Lys, Glu, Gln, 또는 Arg이고;

Xaa ^{24} 는: Glu, Arg, Ala, 또는 Lys이고;

Xaa ^{26} 은 Trp, Tyr, Phe, Asp, Lys, Glu, 또는 His이고;

Xaa ^{27} 은 Ala, Glu, His, Phe, Tyr, Trp, Arg, 또는 Lys이고;

Xaa ^{30} 은 Ala, Glu, Asp, Ser, 또는 His이고;

Xaa ^{31} 은 Asp, Glu, Ser, Thr, Arg, Trp, 또는 Lys이고;

Xaa ^{33} 은 Asp, Arg, Val, Lys, Ala, Gly, 또는 Glu이고;

Xaa ^{34} 는 Glu, Lys, 또는 Asp이고;

Xaa ^{35} 는 Thr, Ser, Lys, Arg, Trp, Tyr, Phe, Asp, Gly, Pro, His, 또는 Glu이고;

Xaa ^{36} 은 Thr, Ser, Asp, Trp, Tyr, Phe, Arg, Glu, 또는 His이고;

R ^{37} 은 Lys, Arg, Thr, Ser, Glu, Asp, Trp, Tyr, Phe, His, Gly, Gly-Pro이거나, 또는 결실된다.

GLP-1 화합물의 또다른 바람직한 군은 하기 화학식 III (서열 4)의 GLP-1 유사체로 이루어진다:

화학식 III

Xaa^{7}-Xaa^{8}-Glu-Gly-Xaa^{11}-Xaa^{12}-Thr-Ser-Asp-Xaa^{16}-Ser-Ser-Tyr-Leu-Glu-Xaa^{22}-Xaa^{23}-Xaa^{24}-Xaa^{25}-Lys-Xaa^{27}-Phe-Ile-Xaa^{30}-Trp-Leu-Xaa^{33}-Xaa^{34}-Xaa^{35}-Xaa^{36}-R^{37}

(서열 4)

식 중,

Xaa^{7} 은 L-히스티딘, D-히스티딘, 데스아미노-히스티딘, 2-아미노-히스티딘, β-히드록시-히스티딘, 호모히스티딘, α-플루오로메틸히스티딘 또는 α-메틸히스티딘이고;

Xaa^{8} 은 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Ser, 또는 Thr이고;

Xaa^{11} 은 Asp, Glu, Arg, Thr, Ala, Lys, 또는 His이고;

Xaa^{12} 는 His, Trp, Phe, 또는 Tyr이고;

Xaa^{16} 은 Leu, Ser, Thr, Trp, His, Phe, Asp, Val, Glu, 또는 Ala이고;

Xaa^{22} 는 Gly, Asp, Glu, Gln, Asn, Lys, Arg, 또는 Cys이고;

Xaa^{23} 은 His, Asp, Lys, Glu, 또는 Gln이고;

Xaa^{24} 는 Glu, His, Ala, 또는 Lys이고;

Xaa^{25} 는 Asp, Lys, Glu, 또는 His이고;

Xaa^{27} 은 Ala, Glu, His, Phe, Tyr, Trp, Arg, 또는 Lys이고;

Xaa^{30} 은 Ala, Glu, Asp, Ser, 또는 His이고;

Xaa^{33} 은 Asp, Arg, Val, Lys, Ala, Gly, 또는 Glu이고;

Xaa^{34} 는 Glu, Lys, 또는 Asp이고;

Xaa^{35} 는 Thr, Ser, Lys, Arg, Trp, Tyr, Phe, Asp, Gly, Pro, His, 또는 Glu이고;

Xaa^{36} 은 Arg, Glu, 또는 His이고;

R^{37} 은 Lys, Arg, Thr, Ser, Glu, Asp, Trp, Tyr, Phe, His, Gly, Gly-Pro이거나, 또는 결실된다.

GLP-1 화합물의 또다른 바람직한 군은 화학식 IV (서열 5)의 GLP-1 유사체로 이루어진다:

화학식 IV

Xaa^{7}-Xaa^{8}-Glu-Gly-Thr-Xaa^{12}-Thr-Ser-Asp-Xaa^{16}-Ser-Ser-Tyr-Leu-Glu-Xaa^{22}-Xaa^{23}-Ala-Ala-Xaa^{26}-Glu-Phe-Ile-Xaa^{30}-Trp-Leu-Val-Lys-Xaa^{35}-Arg-R^{37}

(서열 5)

식 중,

Xaa ^{7} 은 L-히스티딘, D-히스티딘, 데스아미노-히스티딘, 2-아미노-히스티딘, β-히드록시-히스티딘, 호모히스티딘, α-플루오로메틸-히스티딘, 또는 α-메틸-히스티딘이고;

Xaa ^{8} 은 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Ser, Met, 또는 Thr이고;

Xaa ^{12} 는 His, Trp, Phe, 또는 Tyr이고;

Xaa ^{16} 은 Leu, Ser, Thr, Trp, His, Phe, Asp, Val, Glu, 또는 Ala이고;

Xaa ^{22} 는 Gly, Asp, Glu, Gln, Asn, Lys, Arg, 또는 Cys이고;

Xaa ^{23} 은 His, Asp, Lys, Glu, 또는 Gln이고;

Xaa ^{26} 은 Asp, Lys, Glu, 또는 His이고;

Xaa ^{30} 은 Ala, Glu, Asp, Ser, 또는 His이고;

Xaa ^{35} 는 Thr, Ser, Lys, Arg, Trp, Tyr, Phe, Asp, Gly, Pro, His, 또는 Glu이고;

R ^{31} 은 Lys, Arg, Thr, Ser, Glu, Asp, Trp, Tyr, Phe, His, Gly, Gly-Pro이거나, 또는 결실된다.

GLP-1 화합물의 또다른 바람직한 군은 하기 화학식 V (서열 6)의 GLP-1 유사체로 이루어진다:

화학식 V

Xaa^{7}-Xaa^{8}-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu-Glu-Xaa^{22}-Xaa^{23}-Xaa^{24}-Ala-Lys-Glu-Phe-Ile-Xaa^{30}-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-Arg-R^{37}

(서열 6)

식 중,

Xaa ^{7} 은 L-히스티딘, D-히스티딘, 데스아미노-히스티딘, 2-아미노-히스티딘, β-히드록시-히스티딘, 호모히스티딘, α-플루오로메틸-히스티딘, 또는 α-메틸-히스티딘이고;

Xaa ^{8} 은 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Ser, 또는 Thr이고;

Xaa ^{22} 는 Gly, Asp, Glu, Gln, Asn, Lys, Arg, 또는 Cys이고;

Xaa ^{23} 은 His, Asp, Lys, Glu, 또는 Gln이고;

Xaa ^{24} 는 Ala, Glu, His, Phe, Tyr, Trp, Arg, 또는 Lys이고;

Xaa ^{30} 은 Ala, Glu, Asp, Ser, 또는 His이고;

R ^{37} 은 Lys, Arg, Thr, Ser, Glu, Asp, Trp, Tyr, Phe, His, Gly, Gly-Pro이거나, 또는 결실된다.

화학식 I, II, III, IV, 및 V의 바람직한 GLP-1 화합물은 GLP-1 유사체 또는 GLP-1 유사체의 단편을 포함하며, 여기서 유사체 또는 단편은 위치 8에 알라닌 이 외의 아미노산을 함유한다 (위치 8 유사체). 이들 위치 8 유사체는 천연 GLP-1(7-37)OH의 상응하는 아미노산과 비교하여 위치 9, 11, 12, 16, 18, 22, 23, 24, 26, 27, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 및 37에서 하나 이상의 추가 변형을 함유하는 것이 바람직하다. 또한, 이들 유사체가 천연 GLP-1(7-37)OH 또는 GLP-1(7-36)OH의 상응하는 아미노산과 비교하여 6개 이하의 변형을 가지는 것이 바람직하다. 더 바람직한 유사체는 천연 GLP-1(7-37)OH 또는 GLP-1(7-36)OH의 상응하는 아미노산과 비교하여 5개 이하의 변형을 가지거나 또는 천연 GLP-1(7-37)OH 또는 GLP-1(7-36)OH의 상응하는 아미노산과 비교하여 4개 이하의 변형을 가진다. 이들

유사체가 천연 GLP-1(7-37)OH 또는 GLP-1(7-36)OH의 상응하는 아미노산과 비교하여 3개 이하의 변형을 가지는 것이 더더욱 바람직하다. 이들 유사체가 천연 GLP-1(7-37)OH의 상응하는 아미노산과 비교하여 2개 이하의 변형을 가지는 것이 가장 바람직하다.

화학식 II, III, IV, 및 V의 바람직한 GLP-1 화합물은 위치 22에서의 글리신, 바람직하게는 위치 8에서의 알라닌이 또 다른 아미노산으로 치환된 GLP-1 유사체 또는 GLP-1 유사체의 단편을 포함한다.

위치 22가 아스파르트산, 글루탐산, 아르기닌 또는 리신인 경우, 위치 8은 바람직하게는 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌 또는 메티오닌, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신이다. 위치 22가 술폰산, 예컨대 시스테인산인 경우, 위치 8은 바람직하게는 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린; 트레오닌 또는 메티오닌, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신이다.

다른 바람직한 GLP-1 화합물에는 화학식 IV (서열 5)의 GLP-1 유사체를 포함 하며, 여기서 유사체는 위치 8의 아미노산이 바람직하게는 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌, 또는 메티오닌, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신이고 위치 30의 아미노산이 글루탐산, 아스파르트산, 세린, 또는 히스티딘, 더 바람직하게는 글루탐산인 것을 제외한 GLP-1(7-37)OH의 서열을 가진다.

다른 바람직한 GLP-1 화합물은 화학식 IV (서열 5)의 GLP-1 유사체를 포함하며, 여기서 유사체는 위치 8의 아미노산이 바람직하게는 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌, 또는 메티오닌, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신이고 위치 37의 아미노산이 히스티딘, 리신, 아르기닌, 트레오닌, 세린, 글루탐산, 아스파르트산, 트립토판, 티로신, 페닐알라닌, 더 바람직하게는 히스티딘인 것을 제외한 GLP-1(7-37)OH의 서열을 가진다.

다른 바람직한 GLP-1 화합물은 화학식 IV (서열 5)의 GLP-1 유사체를 포함하며, 여기서 유사체는 위치 8의 아미노산이 바람직하게는 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌, 또는 메티오닌, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신이고 위치 22의 아미노산이 글루탐산, 리신, 아스파르트산, 또는 아르기닌, 더 바람직하게는 글루탐산 또는 리신이고 위치 23의 아미노산이 리신, 아르기닌, 글루탐산, 아스파르트산, 및 히스티딘, 더 바람직하게는 리신 또는 글루탐산인 것을 제외한 GLP-1(7-37)OH의 서열을 가진다.

다른 바람직한 GLP-1 화합물은 화학식 V (서열 6)의 GLP-1 유사체를 포함하며, 여기서 유사체는 위치 8의 아미노산이 바람직하게는 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌, 또는 메티오닌, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신이고 위 치 22의 아미노산이 글루탐산, 리신, 아스파르트산, 또는 아르기닌, 더 바람직하게는 글루탐산 또는 리신이고 위치 27의 아미노산이 알라닌, 리신, 아르기닌, 트립토판, 티로신, 페닐알라닌, 또는 히스티딘, 더 바람직하게는 알라닌인 것을 제외한 GLP-1(7-37)OH의 서열을 가진다.

다른 바람직한 GLP-1 화합물은 화학식 II의 GLP-1 유사체를 포함하며, 여기서 유사체는 위치 8의 아미노산, 및 위치 9, 위치 11, 위치 12, 위치 16, 위치 18, 위치 22, 위치 23, 위치 24, 위치 26, 위치 27, 위치 30, 위치 31, 위치 33, 위치 34, 위치 35, 위치 36, 및 위치 37로 이루어진 군으로부터 선택되는 1, 2 또는 3개의 아미노산이 천연 GLP-1(7-37)OH의 상응하는 위치에서의 아미노산과 상이한 것을 제외한 GLP-1(7-37)OH의 서열을 가진다.

화학식 II의 다른 바람직한 GLP-1 화합물에는 하기의 화합물이 포함된다:

Val^{8}-GLP-1(7-37)OH,
Gly^{8}-GLP-1(7-37)OH, Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Asp^{22}-GLP-1(7-37)OH,
Arg^{22}-GLP-1(7-37)OH, Lys^{22}-GLP-1(7-37)OH, Cys^{22}-GLP-1(7-37)OH,
Val^{8}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Asp^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Arg^{22}-GLP-1(7-37)OH,
Val^{8}-Lys^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Cys^{22}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH,
Gly^{8}-Asp^{22}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Arg^{22}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Lys^{22}-GLP-1(7-37)OH,
Gly^{8}-Cys^{22}-GLP-1(7-37)OH, Glu^{22}-GLP-1(7-36)OH, Asp^{22}-GLP-1(7-36)OH,
Arg^{22}-GLP-1(7-36)OH, Lys^{22}-GLP-1(7-36)OH, Cys^{22}-GLP-1(7-36)OH,
Val^{8}-Glu^{22}-GLP-1(7-36)OH, Val^{8}-Asp^{22}-GLP-1(7-36)OH, Val^{8}-Arg^{22}-GLP-1(7-36)OH,
Val^{8}-Lys^{22}-GLP-1(7-36)OH, Val^{8}-Cys^{22}-GLP-1(7-36)OH, Gly^{8}-Glu^{22}-GLP-1(7-36)OH,
Gly^{8}-Asp^{22}-GLP-1(7-36)OH, Gly^{8}-Arg^{22}-GLP-1(7-36)OH, Gly^{8}-Lys^{22}-GLP-1(7-36)OH,
Gly^{8}-Cys^{22}-GLP-1(7-36)OH, Lys^{23}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Lys^{23}-GLP-1(7-37)OH,
Gly^{8}-Lys^{23}-GLP-1(7-37)OH, His^{24}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-His^{24}-GLP-1(7-37)OH,
Gly^{8}-His^{24}-GLP-1(7-37)OH, Lys^{24}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Lys^{24}-GLP-1(7-37)OH,
Glu^{30}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{30}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Glu^{30}-GLP-1(7-37)OH,
Asp^{30}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Asp^{30}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Asp^{30}-GLP-1(7-37)OH,
Gln^{30}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Gln^{30}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Gln^{30}-GLP-1(7-37)OH,
Tyr^{30}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Tyr^{30}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Tyr^{30}-GLP-1(7-37)OH,
Ser^{30}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Ser^{30}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Ser^{30}-GLP-1(7-37)OH,
His^{30}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-His^{30}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-His^{30}-GLP-1(7-37)OH,
Glu^{34}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{34}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Glu^{34}-GLP-1(7-37)OH,
Ala^{34}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Ala^{34}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Ala^{34}-GLP-1(7-37)OH,
Gly^{34}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Gly^{34}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Gly^{34}-GLP-1(7-37)OH,
Ala^{35}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Ala^{35}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Ala^{35}-GLP-1(7-37)OH,
Lys^{35}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Lys^{35}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Lys^{35}-GLP-1(7-37)OH,
His^{35}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-His^{35}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-His^{35}-GLP-1(7-37)OH,
Pro^{35}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Pro^{35}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Pro^{35}-GLP-1(7-37)OH,
Glu^{35}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{35}-GLP-1(7-37)OH, Gly^{8}-Glu^{35}-GLP-1(7-37)OH,
Val^{8}-Ala^{27}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-His^{37}-GLP-1(7-37)OH,
Val^{8}-Glu^{22}-Lys^{23}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{22}-Glu^{23}-GLP-1(7-37)OH,
Val^{8}-Glu^{22}-Ala^{27}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Gly^{34}-Lys^{35}-GLP-1(7-37)OH,
Gly^{8}-His^{37}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Glu^{22}-Ala^{27}-GLP-1(7-37)OH,
Gly^{8}-Glu^{22}-Ala^{27}-GLP-1(7-37)OH, Val^{8}-Lys^{22}-Glu^{23}-GLP-1(7-37)OH, 및
Gly^{8}-Lys^{22}-Glu^{23}-GLP-1(7-37)OH.

본 발명에 사용하기 위한 GLP-1 유사체 및 그의 유도체의 또다른 바람직한 군은 하기 화학식 VI (서열 7)의 분자로 이루어진다.

화학식 VI

$\mathbf{R_1}$-**X**-Glu-Gly^{10}-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp^{15}-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu^{20}-**Y**-Gly-Gln-Ala-Ala^{25}-Lys-**Z**–Phe-Ile-Ala^{30}-Trp-Leu-Val-Lys-Gly^{35}-Arg-$\mathbf{R_2}$

(서열 7)

식 중,

R_1은 L-히스티딘, D-히스티딘, 데스아미노-히스티딘, 2-아미노-히스티딘, β-히드록시-히스티딘, 호모히스티딘, α-플루오로메틸-히스티딘, 및 α-메틸히스티딘으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

X는 Ala, Gly, Val, Thr, Ile, 및 알파-메틸-Ala로 이루어진 군으로부터 선택되고;

Y는 Glu, Gln, Ala, Thr, Ser, 및 Gly로 이루어진 군으로부터 선택되고;

Z는 Glu, Gln, Ala, Thr, Ser, 및 Gly로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R^2는 Gly-OH이다.

본 발명에 사용하기 위한 GLP-1 화합물의 또다른 바람직한 군은 WO 91/11457에 개시되어 있고, 하기 변형들로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 변형을 갖는, GLP-1(7-34), GLP-1(7-35), GLP-1(7-36), 또는 GLP-1(7-37), 또는 그의 아미드 형태, 및 그의 제약상-허용되는 염으로 실질적으로 이루어진다:

(a) 위치 26 및(또는) 위치 34에서 리신의 글리신, 세린, 시스테인, 트레오 닌, 아스파라긴, 글루타민, 티로신, 알라닌, 발린, 이소류신, 류신, 메티오닌, 페닐알라닌, 아르기닌, 또는 D-리신으로의 치환; 또는 위치 36에서 아르기닌의 글리신, 세린, 시스테인, 트레오닌, 아스파라긴, 글루타민, 티로신, 알라닌, 발린, 이소류신, 류신, 메티오닌, 페닐알라닌, 리신, 또는 D-아르기닌으로의 치환;

(b) 위치 31에서 트립토판의 산화-내성 아미노산으로의 치환;

(c) 위치 16에서 발린의 티로신으로의 치환; 위치 18에서 세린의 리신으로의 치환; 위치 21에서 글루탐산의 아스파르트산으로의 치환; 위치 22에서 글리신의 세린으로의 치환; 위치 23에서 글루타민의 아르기닌으로의 치환; 위치 24에서 알라닌의 아르기닌으로의 치환; 및 위치 26에서 리신의 글루타민으로의 치환 중 하나 이상의 치환; 및

(d) 위치 8에서 알라닌의 글리신, 세린, 또는 시스테인으로의 치환; 위치 9에서 글루탐산의 아스파르트산, 글리신, 세린, 시스테인, 트레오닌, 아스파라긴, 글루타민, 티로신, 알라닌, 발린, 이소류신, 류신, 메티오닌, 또는 페닐알라닌으로의 치환; 위치 10에서 글리신의 세린, 시스테인, 트레오닌, 아스파라긴, 글루타민, 티로신, 알라닌, 발린, 이소류신, 류신, 메티오닌, 또는 페닐알라닌으로의 치환; 및 위치 15에서 아스파르트산의 글루탐산으로의 치환 중 하나 이상의 치환; 및

(e) 위치 7에서 히스티딘의 글리신, 세린, 시스테인, 트레오닌, 아스파라긴, 글루타민, 티로신, 알라닌, 발린, 이소류신, 류신, 메티오닌, 또는 페닐알라닌, 또는 D- 또는 N-아실화된 또는 알킬화된 형태의 히스티딘으로의 치환;

여기서, (a), (b), (d), 및 (e)의 치환에서는, 치환된 아미노산은 임의로 D- 형태일 수 있고, 위치 7에서 치환된 아미노산은 임의로 N-아실화된 또는 N-알킬화된 형태일 수 있다. 디펩티딜-펩티다제 (dipeptidyl-peptidase) IV (DPP IV) 효소가 투여된 GLP-1의 관찰되는 급속 생체내 불활성화를 초래하기 때문에 (예컨대, 문헌 [Mentlein, R., et al., Eur. J. Biochem., 214: 829-835 (1993)] 참조), 융합 단백질 환경에서 DPP IV의 활성으로부터 보호되는 GLP-1 유사체 및 유도체가 바람직하고, GLP-1 화합물이 Gly^8-GLP-1(7-37)OH, Val^8-GLP-1(7-37)OH, α-메틸-Ala^8-GLP-1(7-37)OH, 또는 Gly^8-Gln^{21}-GLP-1(7-37)OH인 융합 단백질이 더 바람직하다. 본 발명에 사용하기 위한 GLP-1 화합물의 또다른 바람직한 군은 미국 특허 제5,512,549호에서 청구된 하기 화학식 VII (서열 8)의 화합물로 이루어지며, 명백히 본원에 참고로 인용된다.

화학식 VII

$$R_1\text{-Ala-Glu-Gly}^{10}\text{-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp}^{15}\text{-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu}^{20}\text{-Glu-Gly-}$$
$$\text{Gln-Ala-Ala}^{25}\text{-Xaa-Glu-Phe-Ile-Ala}^{30}\text{-Trp-Leu-Val-Lys-Gly}^{35}\text{-Arg-}R_3$$
$$|$$
$$R_2$$

(서열 8)

식 중,

R^1은 4-이미다조프로피오닐, 4-이미다조아세틸, 또는 4-이미다조-α,α-디메틸-아세틸로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R^2는 비분지된 C_6-C_{10} 아실로 이루어진 군으로부터 선택되거나, 또는 존재하 지 않고;

R^3은 Gly-OH 또는 NH_2로 이루어진 군으로부터 선택되고;

Xaa는 Lys 또는 Arg이다.

본 발명에 사용하기 위한 화학식 VII의 더 바람직한 화합물은 Xaa가 Arg이고 R_2가 비분지된 C_6-C_{10} 아실인 화합물이다. 본 발명에 사용하기 위한 화학식 IV의 더더욱 바람직한 화합물은 Xaa가 Arg이고 R_2가 비분지된 C_6-C_{10} 아실이고 R_3이 Gly-OH인 화합물이다. 본 발명에 사용하기 위한 화학식 IV의 다른 매우 바람직한 화합물은 Xaa가 Arg이고 R_2가 비분지된 C_6-C_{10} 아실이고 R_3이 Gly-OH이고 R_1이 4-이미다조프로피오닐인 화합물이다. 본 발명에 사용하기 위한 화학식 IV의 특히 바람직한 화합물은 Xaa가 Arg이고 R_2가 비분지된 C_8 아실이고 R_3이 Gly-OH이고 R_1이 4-이미다조프로피오닐인 화합물이다.

다른 바람직한 GLP-1 유도체는 미국 특허 제6,268,343 B1호에 기재되어 있다. 더 바람직한 GLP-1 유도체는 Arg^{34} Lys^{26}-(N-ε-(γ-Glu(N-α-헥사데카노일)))-GLP-1(7-37)이다.

바람직하게는, GLP-1 화합물은 이러한 유사체 또는 단편에 대한 골격이 위치 8에서 알라닌 이외의 아미노산을 함유하는 GLP-1 유사체 (위치 8 유사체)를 포함한다. 골격은 또한 위치 7에서의 L-히스티딘, D-히스티딘, 또는 히스티딘의 변형된 형태, 예컨대 데스아미노-히스티딘, 2-아미노-히스티딘, β-히드록시-히스티딘, 호 모히스티딘, α-플루오로메틸-히스티딘, 또는 α-메틸-히스티딘을 포함할 수 있다. 이들 위치 8 유사체가 천연 GLP-1(7-37)OH의 상응하는 아미노산과 비교하여 위치 12, 16, 18, 19, 20, 22, 25, 27, 30, 33, 및 37에서 하나 이상의 추가 변형을 함유하는 것이 바람직하다. 이들 위치 8 유사체가 천연 GLP-1(7-37)OH의 상응하는 아미노산과 비교하여 위치 16, 18, 22, 25 및 33에서 하나 이상의 추가 변형을 함유하는 것이 더 바람직하다.

바람직한 실시양태에서, GLP-1 유사체는 위치 12에서의 아미노산이 트립토판 또는 티로신으로 이루어진 군으로부터 선택되는 GLP-1(7-37)OH이다. 위치 12에서의 치환 외에, 위치 8에서의 아미노산이 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌, 또는 메티오닌, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신으로 치환되는 것이 더 바람직하다. 위치 12 및 8에서의 치환 외에, 위치 22에서의 아미노산이 글루탐산으로 치환되는 것이 더더욱 바람직하다.

또다른 바람직한 실시양태에서, GLP-1 유사체는 위치 16에서의 아미노산이 트립토판, 이소류신, 류신, 페닐알라닌, 또는 티로신으로 이루어진 군으로부터 선택되는 GLP-1(7-37)OH이다. 위치 16에서의 치환 외에, 위치 8에서의 아미노산이 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌, 또는 메티오닌, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신으로 치환되는 것이 더 바람직하다. 위치 16 및 8에서의 치환 외에, 위치 22에서의 아미노산이 글루탐산으로 치환되는 것이 더더욱 바람직하다. 위치 16 및 8에서의 치환 외에, 위치 30에서의 아미노산이 글루탐산으로 치환되는 것이 또한 바람직하다. 위치 16 및 8에서의 치환 외에, 위치 37에서의 아미노산이 히스티딘으로 치환되는 것이 또한 바람직하다.

또다른 바람직한 실시양태에서, GLP-1 유사체는 위치 18에서의 아미노산이 트립토판, 티로신, 페닐알라닌, 리신, 류신, 또는 이소류신, 바람직하게는 트립토판, 티로신, 및 이소류신으로 이루어진 군으로부터 선택되는 GLP-1(7-37)OH이다. 위치 18에서의 치환 외에, 위치 8에서의 아미노산이 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌, 또는 메티오닌, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신으로 치환되는 것이 더 바람직하다. 위치 18 및 8에서의 치환 외에, 위치 22에서의 아미노산이 글루탐산으로 치환되는 것이 더더욱 바람직하다. 위치 18 및 8에서의 치환 외에, 위치 30에서의 아미노산이 글루탐산으로 치환되는 것이 또한 바람직하다. 위치 18 및 8에서의 치환 외에, 위치 37에서의 아미노산이 히스티딘으로 치환되는 것이 또한 바람직하다.

또다른 바람직한 실시양태에서, GLP-1 유사체는 위치 19에서의 아미노산이 트립토판 또는 페닐알라닌으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 바람직하게는 트립토판인 GLP-1(7-37)OH이다. 위치 19에서의 치환 외에, 위치 8에서의 아미노산이 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌, 또는 메티오닌, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신으로 치환되는 것이 더 바람직하다. 위치 19 및 8에서의 치환 외에, 위치 22에서의 아미노산이 글루탐산으로 치환되는 것이 더더욱 바람직하다. 위치 19 및 8에서의 치환 외에, 위치 30에서의 아미노산이 글루탐산으로 치환되는 것이 또한 바람직하다. 위치 19 및 8에서의 치환 외에, 위치 37에서의 아미노산이 히스티딘으로 치환되는 것이 또한 바람직하다.

또다른 바람직한 실시양태에서, GLP-1 유사체는 위치 20에서의 아미노산이 페닐알라닌, 티로신, 또는 트립토판인 GLP-1(7-37)OH이다. 위치 20에서의 치환 외에, 위치 8에서의 아미노산이 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌, 또는 메티오닌, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신으로 치환되는 것이 더 바람직하다. 위치 20 및 8에서의 치환 외에, 위치 22에서의 아미노산이 글루탐산으로 치환되는 것이 더더욱 바람직하다. 위치 20 및 8에서의 치환 외에, 위치 30에서의 아미노산이 글루탐산으로 치환되는 것이 또한 바람직하다. 위치 20 및 8에서의 치환 외에, 위치 37에서의 아미노산이 글루탐산으로 치환되는 것이 또한 바람직하다.

또다른 바람직한 실시양태에서, GLP-1 유사체는 위치 25에서의 아미노산이 발린, 이소류신, 및 류신으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 바람직하게는 발린인 GLP-1(7-37)OH이다. 위치 25에서의 치환 외에, 위치 8에서의 아미노산이 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌, 또는 메티오닌, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신으로 치환되는 것이 더 바람직하다. 위치 25 및 8에서의 치환 외에, 위치 22에서의 아미노산이 글루탐산으로 치환되는 것이 더더욱 바

람직하다. 위치 25 및 8에서의 치환 외에, 위치 30에서의 아미노산이 글루탐산으로 치환되는 것이 또한 바람직하다. 위치 25 및 8에서의 치환 외에, 위치 37에서의 아미노산이 히스티딘으로 치환되는 것이 또한 바람직하다.

또다른 바람직한 실시양태에서, GLP-1 유사체는 위치 27에서의 아미노산이 이소류신 또는 알라닌으로 이루어진 군으로부터 선택되는 GLP-1(7-37)OH이다. 위치 27에서의 치환 외에, 위치 8에서의 아미노산이 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌, 또는 메티오닌, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신으로 치환되는 것이 더 바람직하다. 위치 27 및 8에서의 치환 외에, 위치 22에서의 아미노산이 글루탐산으로 치환되는 것이 더더욱 바람직하다. 위치 27 및 8에서의 치환 외에, 위치 30에서의 아미노산이 글루탐산으로 치환되는 것이 또한 바람직하다. 위치 27 및 8에서의 치환 외에, 위치 37에서의 아미노산이 히스티딘으로 치환되는 것이 또한 바람직하다.

또다른 바람직한 실시양태에서, GLP-1 유사체는 위치 33에서의 아미노산이 이소류신인 GLP-1(7-37)OH이다. 위치 33에서의 치환 외에, 위치 8에서의 아미노산이 글리신, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 트레오닌, 또는 메티오닌, 더 바람직하게는 발린 또는 글리신으로 치환되는 것이 더 바람직하다. 위치 33 및 8에서의 치환 외에, 위치 22에서의 아미노산이 글루탐산으로 치환되는 것이 더더욱 바람직하다. 위치 33 및 8에서의 치환 외에, 위치 30에서의 아미노산이 글루탐산으로 치환되는 것이 또한 바람직하다. 위치 33 및 8에서의 치환 외에, 위치 37에서의 아미노산이 히스티딘으로 치환되는 것이 또한 바람직하다.

GLP-1 화합물이 위치 8, 12, 16, 18, 19, 20, 22, 25, 27, 30, 33, 및 37 중 하나 이상에 변형을 가진다. 이들 GLP-1 화합물은 GLP-1(7-37)OH에 비해 증가된 효능을 나타내고, 하기 화학식 VIII (서열 9)의 아미노산 서열을 포함한다.

화학식 VIII

Xaa^{7}-Xaa^{8}-Glu-Gly-Thr-Xaa^{12}-Thr-Ser-Asp-Xaa^{16}-Ser-Xaa^{18}-Xaa^{19}-Xaa^{20}-Glu-Xaa^{22}-Gln-Ala-Xaa^{25}-Lys-Xaa^{27}-Phe-Ile-Xaa^{30}-Trp-Leu-Xaa^{33}-Lys-Gly-Arg-Xaa^{37}

(서열 9)

식 중,

Xaa^{7} 은 L-히스티딘, D-히스티딘, 데스아미노-히스티딘, 2-아미노-히스티딘, β-히드록시-히스티딘, 호모히스티딘, α-플루오로메틸-히스티딘, 또는 α-메틸-히스티딘이고;

Xaa^{8} 은 Ala, Gly, Val, Leu, Ile, Ser, 또는 Thr이고;

Xaa^{12} 는 Phe, Trp, 또는 Tyr이고;

Xaa^{16} 은 Val, Trp, Ile, Leu, Phe, 또는 Tyr이고;

Xaa^{18} 은 Ser, Trp, Tyr, Phe, Lys, Ile, Leu, 또는 Val이고;

Xaa^{19} 는 Tyr, Trp, 또는 Phe이고;

Xaa^{20} 은 Leu, Phe, Tyr, 또는 Trp이고;

Xaa^{22} 는 Gly, Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa^{25} 는 Ala, Val, Ile, 또는 Leu이고;

Xaa^{27} 은 Glu, Ile, 또는 Ala이고;

Xaa^{30} 은 Ala 또는 Glu이고;

Xaa^{33} 은 Val 또는 Ile이고;

Xaa ^{37} 은 Gly, His, NH_2 이거나, 또는 존재하지 않는다.

화학식 VIII의 일부 바람직한 GLP-1 화합물에는 하기 화합물이 포함된다:

GLP-1(7-37)OH,
GLP-1(7-36)NH_2, Gly^8-GLP-1(7-37)OH, Gly^8-GLP-1(7-36)NH_2, Val^8-GLP-1(7-37)OH,
Val^8-GLP-1(7-36)NH_2, Leu^8-GLP-1(7-37)OH, Leu^8-GLP-1(7-36)NH_2,
Ile^8-GLP-1(7-37)OH, Ile^8-GLP-1(7-36)NH_2, Ser^8-GLP-1(7-37)OH,
Ser^8-GLP-1(7-36)NH_2, Thr^8-GLP-1(7-37)OH, Thr^8-GLP-1(7-36)NH_2,
Val^8-Tyr^{12}-GLP-1(7-37)OH, Val^8-Tyr^{12}-GLP-1(7-36)NH_2, Val^8-Tyr^{16}-GLP-1(7-37)OH,
Val^8-Tyr^{16}-GLP-1(7-36)NH_2, Val^8-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^8-Glu^{22}-GLP-1(7-36)NH_2,
Gly^8-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Gly^8-Glu^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Val^8-Asp^{22}-GLP-1(7-37)OH,
Val^8-Asp^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Gly^8-Asp^{22}-GLP-1(7-37)OH, Gly^8-Asp^{22}-GLP-1(7-36)NH_2,
Val^8-Lys^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^8-Lys^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Gly^8-Lys^{22}-GLP-1(7-37)OH,
Gly^8-Lys^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Leu^8-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Leu^8-Glu^{22}-GLP-1(7-36)NH_2,
Ile^8-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Ile^8-Glu^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Leu^8-Asp^{22}-GLP-1(7-37)OH,
Leu^8-Asp^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Ile^8-Asp^{22}-GLP-1(7-37)OH, Ile^8-Asp^{22}-GLP-1(7-36)NH_2,
Leu^8-Lys^{22}-GLP-1(7-37)OH, Leu^8-Lys^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Ile^8-Lys^{22}-GLP-1(7-37)OH,
Ile^8-Lys^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Ser^8-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Ser^8-Glu^{22}-GLP-1(7-36)NH_2,
Thr^8-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Thr^8-Glu^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Ser^8-Asp^{22}-GLP-1(7-37)OH,
Ser^8-Asp^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Thr^8-Asp^{22}-GLP-1(7-37)OH, Thr^8-Asp^{22}-GLP-1(7-36)NH_2,
Ser^8-Lys^{22}-GLP-1(7-37)OH, Ser^8-Lys^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Thr^8-Lys^{22}-GLP-1(7-37)OH,
Thr^8-Lys^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Glu^{22}-GLP-1(7-36)NH_2,
Asp^{22}-GLP-1(7-37)OH, Asp^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Lys^{22}-GLP-1(7-37)OH,
Lys^{22}-GLP-1(7-36)NH_2, Val^8-Ala^{27}-GLP-1(7-37)OH, Val^8-Glu^{22}-Ala^{27}-GLP-1(7-37)OH,
Val^8-Glu^{30}-GLP-1(7-37)OH, Val^8-Glu^{30}-GLP-1(7-36)NH_2, Gly^8-Glu^{30}-GLP-1(7-37)OH,
Gly^8-Glu^{30}-GLP-1(7-36)NH_2, Leu^8-Glu^{30}-GLP-1(7-37)OH, Leu^8-Glu^{30}-GLP-1(7-36)NH_2,
Ile^8-Glu^{30}-GLP-1(7-37)OH, Ile^8-Glu^{30}-GLP-1(7-36)NH_2, Ser^8-Glu^{30}-GLP-1(7-37)OH,
Ser^8-Glu^{30}-GLP-1(7-36)NH_2, Thr^8-Glu^{30}-GLP-1(7-37)OH, Thr^8-Glu^{30}-GLP-1(7-36)NH_2,
Val^8-His^{37}-GLP-1(7-37)OH, Val^8-His^{37}-GLP-1(7-36)NH_2, Gly^8-His^{37}-GLP-1(7-37)OH,
Gly^8-His^{37}-GLP-1(7-36)NH_2, Leu^8-His^{37}-GLP-1(7-37)OH, Leu^8-His^{37}-GLP-1(7-36)NH_2,
Ile^8-His^{37}-GLP-1(7-37)OH, Ile^8-His^{37}-GLP-1(7-36)NH_2, Ser^8-His^{37}-GLP-1(7-37)OH,
Ser^8-His^{37}-GLP-1(7-36)NH_2, Thr^8-His^{37}-GLP-1(7-37)OH, Thr^8-His^{37}-GLP-1(7-36)NH_2.

다중 치환을 갖는 화학식 VIII의 일부 바람직한 GLP-1 화합물에는 위치 8이 발린 또는 글리신이고 위치 22가 글루탐산이고 위치 16이 티로신, 류신 또는 트립토판이고 위치 18이 티로신, 트립토판, 또는 이소류신이고 위치 25가 발린이고 위 치 33이 이소류신인 GLP-1(7-37)OH가 포함된다. 다른 바람직한 GLP-1 화합물에는 하기와 같은 화합물이 포함된다:

Val^8-Tyr^{16}-GLP-1(7-37)OH,
Val^8-Tyr^{12}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^8-Tyr^{16}-Phe^{19}-GLP-1(7-37)OH,
Val^8-Tyr^{16}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^8-Trp^{16}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH,
Val^8-Leu^{16}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^8-Ile^{16}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH,
Val^8-Phe^{16}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^8-Trp^{18}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH,
Val^8-Tyr^{18}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, Val^8-Phe^{18}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH, 및
Val^8-Ile^{18}-Glu^{22}-GLP-1(7-37)OH.

본 발명의 GLP-1 화합물은 또한 엑센딘 화합물을 포함한다. 엑센딘-3 및 엑센딘-4는 *헬로데르마티다에* (*Heloderma tidae*) 도마뱀 독물로부터 최초에 단리된 생물학상 활성 펩티드이고, GLP-1 수용체에 결합하고, 포유류 벽 세포(parietal cell)에서 cAMP-의존성 H^+ 생산을 자극하는 것으로 관찰되었다. 엑센딘-3 및 엑센딘-4는 모두 GLP-1에 대해 약 53% 상동성인 39개의 아미노산 펩티드이다. 엑센딘-3 및 엑센딘-4는 GLP-1 활성의 효능있는 아고니스트로서 작용한다. 특히, 엑센딘 (9-39 아미노산)으로 공지된 엑센딘의 N-말단 말단절단된 유도체는 엑센딘-3, 엑센딘-4 및 GLP-1의 억제제이다.

엑센딘 화합물은 전형적으로 엑센딘-3, 엑센딘-4, 또는 이들의 유사체 또는 단편의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 엑센딘-3 및 엑센딘-4는 미국 특허 제5,424,286에 개시되어 있다.

엑센딘-3은 하기 서열 10의 아미노산 서열을 가진다:

<서열 10>

His^{7}-Ser-Asp-Gly^{10}-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp^{15}-Leu-Ser-Lys-Gln-Met^{20}-
Glu-Glu-Glu-Ala-Val^{25}-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu^{30}-Trp-Leu-Lys-Asn-
Gly^{35}-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly^{40}-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser^{45}-NH_2

엑센딘-4는 하기 서열 11의 아미노산 서열을 가진다:

<서열 11>

His^{7}-Gly-Glu-Gly^{10}-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp^{15}-Leu-Ser-Lys-Gln-
Met^{20}-Glu-Glu-Glu-Ala-Val^{25}-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu^{30}-Trp-Leu-
Lys-Asn-Gly^{35}-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly^{40}-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser^{45}-
NH_2

GLP-1 화합물은 또한 엑센딘 또는 엑센딘 유사체의 N-말단 및(또는) C-말단으로부터 하나 이상의 아미노산의 말단 절단 후에 수득한 폴리펩티드인 엑센딘 단편을 포함한다. 또한, GLP-1 화합물은 하나 이상의 아미노산이 엑센딘 또는 그의 단편의 N-말단 및(또는) C-말단에 첨가된 엑센딘 폴리펩티드를 포함한다. 이 유형의 엑센딘 화합물은 약 45개 이하의 아미노산을 가진다.

GLP-1 화합물은 또한 '엑센딘 유사체'를 포함한다. 엑센딘 유사체는 유사체가 인슐린향성 활성을 가지기에 엑센딘-4, 엑센딘-3, 또는 이들의 단편에 대해 충분한 상동성을 가진다. 엑센딘 단편 및(또는) 유사체의 활성은 시험관내 분석, 예컨대 실시예 1에 기재된 것을 사용하여 평가될 수 있다.

바람직하게는, 엑센딘 유사체는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산이 엑센딘-4 또는 엑센딘-4의 단편의 상응하는 위치에서의 아미노산과 상이하도록 변형된 엑센딘-4 또는 그의 단편의 아미노산 서열을 가진다. 엑센딘 화합물을 나타내기 위 해 본원에 사용된 명명법에서, 치환하는 아미노산 및 그의 위치는 모 구조 앞에 나타낸다. 예를 들면, Val^{8}-엑센딘-4는 엑센딘-4의 위치 8에서 보통 발견되는 글리신이 발린으로 치환된 엔센딘 화합물을 나타낸다.

GLP-1 화합물의 또다른 바람직한 군은 하기 화학식 IX (서열 12)의 GLP-1/엑센딘-4 유사체로 이루어진다:

화학식 IX

Xaa^{7}-Xaa^{8}-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa^{16}-Ser-Xaa^{18}-Xaa^{19}-
Xaa^{20}-Glu-Xaa^{22}-Xaa^{23}-Ala-Xaa^{25}-Xaa^{26}-Xaa^{27}-Phe-Ile-Xaa^{30}-Trp-
Leu-Xaa^{33}-Xaa^{34}-Gly-Xaa^{36}-R^{37}

(서열 12)

식 중,

Xaa^{7}은 L-히스티딘, D-히스티딘, 데스아미노-히스티딘, 2-아미노-히스티딘, β-히드록시-히스티딘, 호모히스티딘, α-플루오로메틸-히스티딘 또는 α-메틸-히스티딘이고;

Xaa^{8}은 Gly, Ala, 또는 Val이고;

Xaa^{16}은 Leu 또는 Val이고;

Xaa^{18}은 Lys 또는 Ser이고;

Xaa [19] 는 Gln 또는 Tyr이고;

Xaa [20] 은 Met 또는 Leu이고;

Xaa [22] 는 Glu 또는 Gln이고;

Xaa [23] 은 Glu 또는 Gln이고;

Xaa [25] 는 Val 또는 Ala이고;

Xaa [26] 은 Arg 또는 Lys이고;

Xaa [27] 은 Leu 또는 Glu이고;

Xaa [30] 은 Glu 또는 Ala이고;

Xaa [33] 은 Val 또는 Lys이고;

Xaa [34] 는 Asn 또는 Lys이고;

Xaa [36] 은 Gly 또는 Arg이고;

R [37] 은 Gly, Pro, Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser이거나, 또는 존재하지 않는다.

본 발명에 유용한 추가 엑센딘-유사체는 PCT 특허 공개 WO 99/25728 (Beeley, et al.); WO 99/25727 (Beeley, et al.); WO 98/05351 (Young, et al.); WO 99/40788 (Young, et al.); WO 99/07404 (Beeley, et al.); 및 WO 99/43708 (Knudsen, et al.)에 기재되어 있다.

GLP-1 화합물의 또다른 바람직한 군은 하기 화학식 X (서열 13)의 아미노산 서열을 가진다:

화학식 X

Xaa^{7}-Xaa^{8}-Glu-Gly-Thr-Xaa^{12}-Thr-Ser-Asp-Xaa^{16}-Ser-Xaa^{18}-Xaa^{19}-Xaa^{20}-Glu-Xaa^{22}-Gln-Ala-Xaa^{25}-Lys-Xaa^{27}-Phe-Ile-Xaa^{30}-Trp-Leu-Xaa^{33}-Xaa^{34}-Gly-Xaa^{36}-Xaa^{37}-Xaa^{38}-Xaa^{39}-Xaa^{40}-Xaa^{41}-Xaa^{42}-Xaa^{43}-Xaa^{44}-Xaa^{45}-Xaa^{46}-Xaa^{47}

(서열 13)

식 중,

Xaa [7] 은 L-히스티딘, D-히스티딘, 데스아미노-히스티딘, 2-아미노-히스티딘, β-히드록시-히스티딘, 호모히스티딘, α-플루오로메틸-히스티딘, 또는 α-메틸-히스티딘이고;

Xaa [8] 은 Ala, Gly, Val, Leu, Ile, Ser, 또는 Thr이고;

Xaa [12] 는 Phe, Trp, 또는 Tyr이고;

Xaa [16] 은 Val, Trp, Ile, Leu, Phe, 또는 Tyr이고;

Xaa [18] 은 Ser, Trp, Tyr, Phe, Lys, Ile, Leu, 또는 Val이고;

Xaa [19] 는 Tyr, Trp, 또는 Phe이고;

Xaa ^{20} 은 Leu, Phe, Tyr, 또는 Trp이고;

Xaa ^{22} 는 Gly, Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa ^{25} 는 Ala, Val, Ile, 또는 Leu이고;

Xaa ^{27} 은 Glu, Ile, 또는 Ala이고;

Xaa ^{30} 은 Ala 또는 Glu이고;

Xaa ^{33} 은 Val 또는 Ile이고;

Xaa ^{34} 는 Lys, Asp, Arg, 또는 Glu이고;

Xaa ^{36} 은 Gly, Pro, 또는 Arg이고;

Xaa ^{37} 은 Gly, Pro, 또는 Ser이고;

Xaa ^{38} 은 Ser, Pro, 또는 His이고;

Xaa ^{39} 는 Ser, Arg, Thr, Trp, 또는 Lys이고;

Xaa ^{40} 은 Ser 또는 Gly이고;

Xaa ^{41} 은 Ala, Asp, Arg, Glu, Lys, 또는 Gly이고;

Xaa ^{42} 는 Pro, Ala, NH_2 이거나, 또는 존재하지 않고;

Xaa ^{43} 은 Pro, Ala, NH_2 이거나, 또는 존재하지 않고;

Xaa ^{44} 는 Pro, Ala, Arg, Lys, His, NH_2 이거나, 또는 존재하지 않고;

Xaa ^{45} 는 Ser, His, Pro, Lys, Arg, NH_2 이거나, 또는 존재하지 않고;

Xaa ^{46} 은 His, Ser, Arg, Lys, NH_2 이거나, 또는 존재하지 않고;

Xaa ^{47} 은 His, Ser, Arg, Lys, NH_2 이거나, 또는 존재하지 않으며;

단, Xaa ^{42}, Xaa ^{43}, Xaa ^{44}, Xaa ^{45}, Xaa ^{46}, 또는 Xaa ^{47} 이 존재하지 않는 경우에 각각의 아미노산 하류가 존재하지 않고, 또한 GLP-1 펩티드가 Xaa ^{36} 의 시작부에 Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-NH_2 의 C-말단 아미노산 연장을 가지지 않는다.

GLP-1 화합물의 또다른 바람직한 군은 하기 화학식 XI (서열 14)의 아미노산 서열을 가진다:

화학식 XI

Xaa^{7}-Xaa^{8}-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa^{16}-Ser-Ser-Tyr-Lys-Glu-Xaa^{22}-Gln-Ala-Xaa^{25}-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Xaa^{33}-Xaa^{34}-Gly-Xaa^{36}-Xaa^{37}-Xaa^{38}-Xaa^{39}-Xaa^{40}-Xaa^{41}-Xaa^{42}-Xaa^{43}-Xaa^{44}-Xaa^{45}-Xaa^{46}-Xaa^{47}

(서열 14)

식 중,

Xaa ^{7} 은 L-히스티딘, D-히스티딘, 데스아미노-히스티딘, 2-아미노-히스티딘, β-히드록시-히스티딘, 호모히스티딘, α-플루오로메틸-히스티딘, 또는 α-메틸-히스티딘이고;

Xaa ^{8} 은 Gly, Val, Leu, Ile, Ser, 또는 Thr이고;

Xaa ^{16} 은 Val, Trp, Ile, Leu, Phe, 또는 Tyr이고;

Xaa ^{22} 는 Gly, Glu, Asp, 또는 Lys이고;

Xaa ^{25} 는 Ala, Val, Ile, 또는 Leu이고;

Xaa ^{33} 은 Val 또는 Ile이고;

Xaa ^{34} 는 Lys, Asp, Arg, 또는 Glu이고;

Xaa ^{36} 은 Gly, Pro, 또는 Arg이고;

Xaa ^{37} 은 Gly, Pro, 또는 Ser이고;

Xaa ^{38} 은 Ser, Pro, 또는 His이고;

Xaa ^{39} 는 Ser, Arg, Thr, Trp, 또는 Lys이고;

Xaa ^{40} 은 Ser 또는 Gly이고;

Xaa ^{41} 은 Ala, Asp, Arg, Glu, Lys, 또는 Gly이고;

Xaa ^{42} 는 Pro 또는 Ala이고;

Xaa ^{43} 은 Pro 또는 Ala이고;

Xaa ^{44} 는 Pro, Ala, Arg, Lys, His, NH_2 이거나, 또는 존재하지 않고;

Xaa ^{45} 는 Ser, His, Pro, Lys, Arg, NH_2 이거나, 또는 존재하지 않고;

Xaa ^{46} 은 His, Ser, Arg, Lys, NH_2 이거나, 또는 존재하지 않고;

Xaa ^{47} 은 His, Ser, Arg, Lys, NH_2 이거나, 또는 존재하지 않으며;

단, Xaa ^{44}, Xaa ^{45}, Xaa ^{46}, 또는 Xaa ^{47} 이 존재하지 않는 경우에 각각의 아미노산 하류가 존재하지 않고, 또한 GLP-1 펩티드가 Xaa ^{36} 의 시작부에 Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro- Ser-NH_2 의 C-말단 아미노산 연장을 가지지 않는다.

화학식 X 및 화학식 XI의 바람직한 실시양태는 위치 8에서의 발린 또는 글리신 및 위치 22에서의 글루탐산을 갖는 GLP-1 화합물을 포함한다.

본 발명에 사용하기에 적절한 전달제:

본 발명의 전달제는 당업계에 공지되고, WO 90/36480; WO 96/30036; 미국 특허 제5,643,957호; 동 제6,242,495호에 기재된 유기 화학 방법에 의해 제조될 수 있으며; 상기 문헌은 모두 본원에 참조로 인용된다.

본 발명의 다수의 전달제는 아미노카프릴산, 부티릴히드록사민산, 아미노페닐부티르산, 아미노페닐헥산산, 아미노페닐프로피온산, 아미노살리실산, 아미노페닐숙신산, 아미노노난산, 아미노니코틴산, 아미노발렌산, 아미노페닐아세트산, 아미노카프로산, 아미노운데칸산, 아미노헵탄산, 아미노히드록시벤조산, 및 아미노데칸산을 포함하지만 이에 제한되지 않는 아미노산으로부터 용이하게 제조될 수 있다.

예를 들면, 이들 전달제는 아미노산에 존재하는 유리 아미노 잔기와 반응하여 아미드를 형성하는 적절한 제제와 단일 산을 반응시킴으로써 제조될 수 있다. 보호기는 당업자에게 공지된 원치않는 부반응을 차단하기 위해 사용될 수 있다.

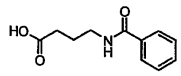
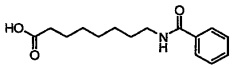
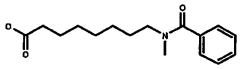
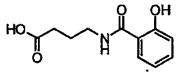
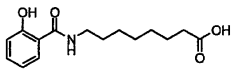
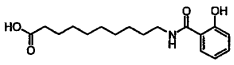
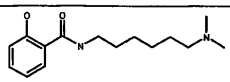
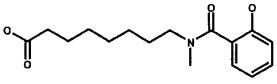
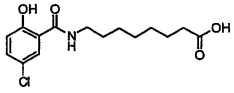
전달제는 재결정화 또는 고형물 칼럼 지지체 상에서의 분획법에 의해 정제될 수 있다. 적합한 재결정화 용매 시스템은 아세토니트릴, 메탄올 및 테트라히드로푸란을 포함한다. 분획법은 이동상으로서 메탄올/n-프로판올 혼합물을 사용하며 적합한 고형물 칼럼 지지체, 예컨대 알루미나; 이동상으로서 트리플루오로아세트산/아세토니트릴 혼합물을 사용하며 역상 칼럼 지지체; 및 이동상으로서 물을 사용하며 이온 교환 크로마토그래피 상에서 수행될 수 있다. 음이온 교환 크로마토그래피를 수행하는 경우에, 바람직하게는 차후에 0-500 mM 염화나트륨 구배를 사용한다.

본 발명에서 유용한 전달제는 미국 특허 제5,541,155호; 동 제5,693,338호; 동 제5,976,569호; 동 제5,643,957호; 동 제5,955,503호; 동 제6,100,298호; 동 제5,650,386호; 동 제5,866,536호; 동 제5,965,121호; 동 제5,989,539호; 동 제 6,001,347호; 동 제6,071,510호; 동 제5,820,881호; 및 동 제6,242,495호; 및 WO 02/02509; WO 01/51454; WO 01/44199; WO 01/32130; WO 00/59863; WO 00/50386; WO 00/47188; 및 WO 00/40203에 기재되어 있으며, 상기 문헌은 모두 본원에 참고로 인용된다. 당업자는 또한 전달제의 변형이 제조되고 본 발명에 사용될 수 있다는 것을 인식할 것이다.

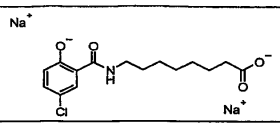
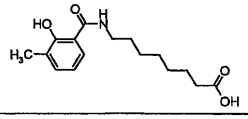
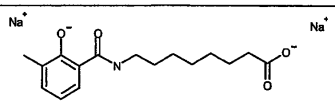
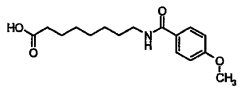
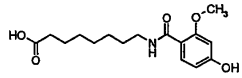
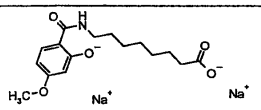
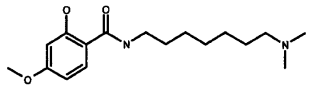
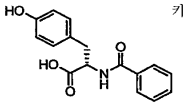
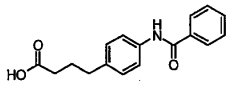
전달제의 예는 하기 표 1에 기재되어 있다. 표 1의 바람직한 전달제는 전달제 번호 1, 2, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 28, 30, 31, 35, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 46, 51, 52, 및 54이다.

[표 1a]

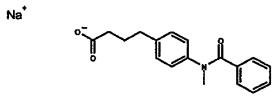
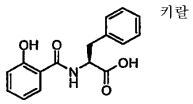
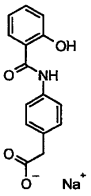
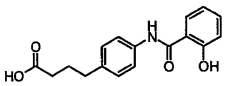
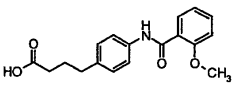
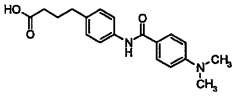
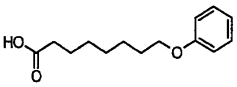
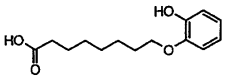
전달제

전달제 번호	구조
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	

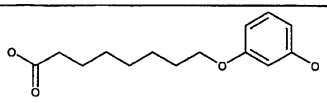
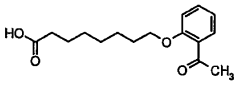
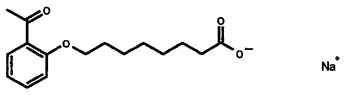
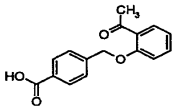
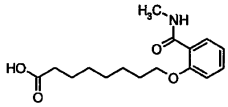
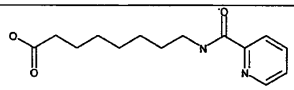
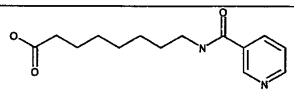
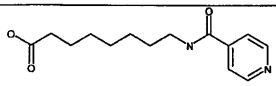
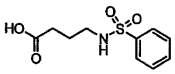
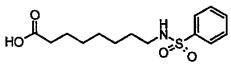
[표 1b]

전달제 번호	구조
10	
11	
12	
13	
14	
15	
16	
17	 키랄
18	

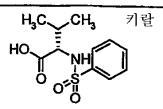
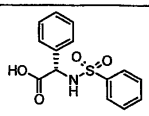
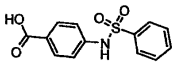
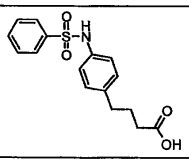
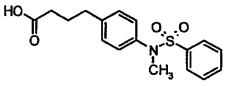
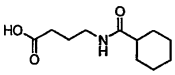
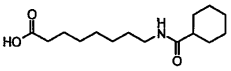
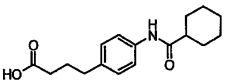
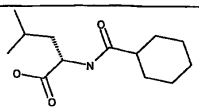
[표 1c]

전달제 번호	구조
19	
20	 키랄
21	
22	
23	
24	
25	
26	

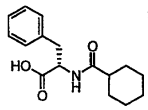
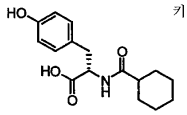
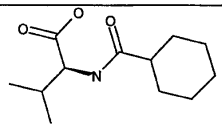
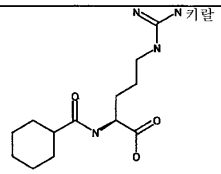
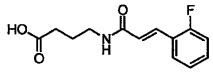
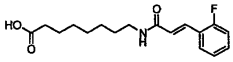
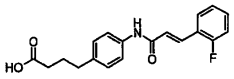
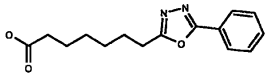
[표 1d]

전달제 번호	구조
27	
28	
29	
30	
31	
32	
33	
34	
35	
36	

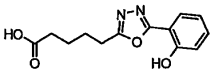
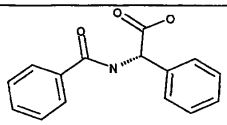
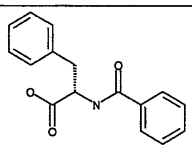
[표 1e]

전달제 번호	구조
37	 키랄
38	 키랄
39	
40	
41	
42	
43	
44	
45	 키랄

[표 1f]

전달제 번호	구조
46	 키랄
47	 키랄
48	 키랄
49	 키랄
50	
51	
52	
53	

[표 1g]

전달제 번호	구조
54	
55	
56	 키랄

GLP-1 화합물 및 전달제를 포함하는 경구 제제를 광범위한 각종 질환 및 상태의 치료에 사용될 수 있다. GLP-1 화합물은 GLP-1 수용체에서 작용함으로써 그의 생물학적 영향에 주로 작용한다. GLP-1 수용체 자극 또는 GLP-1 화합물의 투여에 유리하게 반응하는 질환 및(또는) 상태를 갖는 대상체는 따라서 본 발명의 경구 제제로 치료될 수 있다. 이들 대상체는 'GLP-1 화합물의 치료를 필요로 한다' 또는 'GLP-1 수용체 자극을 필요로 한다'라고 말할 수 있다.

비-인슐린 의존성 당뇨병, 인슐린 의존성 당뇨병, 발작 (WO 00/16797 참조), 심근경색증 (WO 98/08531 참조), 비만 (WO 98/19698 참조), 수술후 이화작용 변화 (미국 특허 제6,006,753호 참조), 기능성 소화불량 및 과민성 대장 증후군 (WO 99/64060 참조)을 앓고 있는 대상체가 포함된다. 또한, GLP-1 화합물을 사용하는 예방적 치료를 필요로 하는 대상체, 예컨대 진행성 비-인슐린 의존성 당뇨병 (WO 00/07617 참조)에 대한 위험을 갖는 대상체도 포함된다. 내당능 장애 또는 공복혈당 장애를 앓고 있는 대상 체, 대상체의 신장 및 체격에 대해 체중이 정상 체중보다 약 25% 초과인 대상체, 부분 췌장 절제술을 받은 대상체, 비-인슐린 의존성 당뇨병을 앓고 있는 1명 이상의 부모가 있는 대상체, 임신성 당뇨병을 앓았던 대상체 및 급성 또는 만성 췌장염을 앓았던 대상체는 진행성 비-인슐린 의존성 당뇨병에 대한 위험이 있다.

본 발명은 하기 실시예를 참조하여 더 잘 이해될 수 있다. 이들 실시예는 본 발명의 특정 실시양태를 대표적으로 나타내려는 것이지 본 발명의 범위를 제한하려는 의도가 아니다.

실시예

실시예 1

인슐린향성 활성 측정

췌장 조직의 콜라게나제 소화물을 피콜 (Ficoll) 구배 (행크 (Hank) 균형 염 용액 중에서 27%, 23%, 20.5%, 및 11%, pH 7.4) 상에서 분리하였다. 도세포를 20.5%/11% 인터페이스로부터 수집하고, 세척하고, 실체현미경 하에 외분비물 및 다른 조직이 없도록 손으로 가려냈다. 10% 소 태아 혈장을 보충하고 11 mM 글루코스를 함유한 RPMI 1640 배지 중에서 도세포를 37 ℃ 및 95% 공기/5% CO_2 하에 밤새 인큐베이션하였다. 연구할 GLP-1 화합물을 10% 소 태아 혈장 및 16.7 mM 글루코스를 함유한 RPMI 배지 중에서 바람직하게는 3 나노몰 내지 30 나노몰의 농도 범위로 제조하였다. 이어서, 96-웰 미세역가 접시 중에 배지를 함유한 총 용적 250 ㎕의 GLP-1 화합물에 약 8 내지 10개의 단리된 도세포를 피펫으로 옮겼다. 도 세포를 GLP-1 화합물의 존재하에 37 ℃, 95% 공기, 5% CO_2 에서 90 분 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 도세포-무함유 배지의 분취량을 수집하고, 존재하는 인슐린의 양에 대해 이퀘이트 (Equate) 인슐린 RIA 키트 (Binax, Inc., Portland, ME)를 사용하여 방사능면역분석법으로 그 분취량의 100 ㎕를 분석하였다.

실시예 2

DPP IV의 존재하의 GLP -1 안정성

인간 혈장 중의 GLP-1 분자를 인큐베이션하여 각각의 GLP-1 분자의 안정성을 측정할 수 있다. 건강한 인간 기증자로부터 얻은 혈장 (800 ㎕)을 GLP-1 분자 300 pmol/L와 37 ℃에서 6시간 이하 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 문헌 [Deacon, et al., in J. Clin. Endocrinal. Metab. 80: 952-957 (1995)]에 따라 역상 HPLC 및 RIA를 수행하였다.

실시예 3

전달제 번호 15의 제제

약 600 mg의 전달제 번호 15를 유형 I 유리 바이알 내에서 칭량하고, 염기 3 mL (0.1 N NaOH, pH 12.7)를 첨가하여, 최종 농도 200 mg/mL를 달성하였다. pH를 7.1로 조정하였고, 농도가 171 mg/mL로 추정되었다. 이어서, 전달제 번호 15를 밀리-큐 (Milli-Q (등록상표)) 물을 사용하여 150 mg/mL로 희석하였다.

실시예 4

전달제 번호 40의 제제

실시예 1을 따르는 경우 전달제 번호 40 및 9가 목적 농도 150 mg/mL에서 불용성이었다. 염기를 사용하는 pH 11.5로의 추가 희석은 또한 목적 농도 150 mg/mL를 달성하지 못하였다. 공용매의 첨가도 또한 어느 쪽의 전달제도 목적 농도 150 mg/mL로 가용화시키지 못하였다. 시험된 공용매에는 에탄올, N-메틸피롤리돈, N,N-디메틸아세트아미드, N,N-디메틸포름아미드, 글리코푸롤, 에톡시디올, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌글리콜 300, 및 폴리비닐피롤리돈이 포함된다.

그러나, 전달제 번호 40의 경우, 150 mg을 유형 I 바이알 내에서 칭량하고, 그 바이알 내로 밀리-큐 (등록상표) 물 1 mL를 첨가하고, pH를 10 N NaOH로 조정하였다. 이 접근법을 사용하여, 150 mg/mL 용액을 전달제 번호 40 (pH 8.

22)에 대해 달성하였다.

실시예 5

전달제 번호 9의 제제

전달제 번호 9의 수불용성 때문에, 현탁액 제제를 4% 중량/용적 (수성)의 현탁제 히드록시프로필메틸셀룰로오스 (클루셀 (Klucel) (등록상표))로 제조하였다. 현탁제 약 1.7 mL를 300 mg의 전달제 번호 9를 함유한 유형 I 유리 바이알에 첨가하였다. 제조물을 빙상에서 3 분 동안 냉각시킨 후에, 미소닉스 소니카터 (Misonix Sonicatoro (등록상표)) 울트라소닉 프로세서 XL (Ultrasonic Processor XL) (3/16 th 인치 마이크로팁)을 사용하여 빙상에서 30 분 동안 탐침 초음파분해하였다. 초음파분해에 의해 전달제 번호 9의 평균 입경이 pH 7.98에서 48 ㎛ 내지 8 ㎛ (콜터 (Coulter (등록상표)); LS 입경 분석기)로 감소되었다. 이어서, 현탁제를 사용하여 제제를 150 mg/mL로 희석하였다.

실시예 6

다른 전달제 :

상기 실시예 5에 기재된 바와 같이 제조한 전달제 번호 10, 11, 12, 16, 18, 22, 25, 27, 33, 및 52를 제외한, 모든 다른 전달제를 상기 실시예 3 및 4에 기재된 바와 같이 제조하였다. 전달제 46 및 54를 2종의 개별적인 제제 (실시예 3 또는 4에 따른 전달제 및 실시예 5에 따른 또다른 전달제)로 제조하였다.

실시예 7

안정성 연구:

안정성 연구를 전달제 번호 9, 15, 및 40에 대해 수행하였다. 전달제를 상기 기재된 바와 같이 각각 새롭게 제조하여 목적 농도 150 mg/mL를 달성하였다. 샘플을 3개의 2 mL 분취량으로 나누고, -20 ℃, 4 ℃, 및 주위 온도에서 3일 동안 저장하였다. HPLC분석 개발 및 분석을 저장 기간 말미에 수행하였다. 결과를 하기 표 2에 나타낸다.

[표 2]

전달제 9, 15 및 40에 대한 안정성 데이타

온도	전달제 번호 40 (mg/mL)	전달제 번호 15 (mg/mL)	전달제 번호 9 (mg/mL)
-20°C	134.0	135.5	153.2
4°C	135.1	138.2	148.6
주위 온도	135.3	137.4	146.0

실시예 8

GLP -1 화합물의 제제:

GLP-1 화합물을 증류수에 용해함으로써 Val ^{8} -Glu ^{22} -GLP-1의 용액을 제조하여 농도 7 mg/mL를 얻었다. 2 N NaOH를 사용하여 pH를 10.5로 서서히 증가시킨 후에, 실온에서 30 분 동안 인큐베이션하였다. 1 M Tris 완충액 (pH 8.0)의 용적을 첨가하여 최종 완충액 농도 20 mM Tris를 수득하고, 1 N 또는 5 N HCl을 사용하여 pH를 pH 7.8로 조정하였다. 이어서, 용액을 낮은 단백질 결합 0.22 μM 주사기 필터 (Millex GV, Millipore)를 통해 여과하고, GLP-1 화합물의 농도를 UV 분광기로 측정하였다. 20 mM Tris 완충액 (pH 7.8)을 사용하여 용액을 최종 농도 5.5 mg/mL로 희석하였다. 이어서, 펩티드 용액을 사용할 때까지 -70 °C에서 1.0 mL 분취량으로 저장하였다.

실시예 9

최종 제제:

생체내 투여 약 30 분 내지 1시간 전에 전달제 4.5 mL를 GLP-1 화합물 0.5 mL와 합함으로써 최종 제제를 새롭게 제조하였다. 경구 가바즈에 의해 2 mL/kg (GLP-1 화합물 1.1 mg/kg, 전달제 300 mg/kg)로 최종 제제를 투여 전 12시간 동안 금식시킨 수컷 스프라그 돌리 래트에게 투여하였다. GLP-1 화합물 단독의 피하 투여를 대조군 (0.011 mg

/kg)으로서 사용하였다. 평균 약동학 파라미터를 하기 표 3에 나타낸다.

[표 3]

전달제 9, 15, 및 40에 대한 평균 약동학 파라미터 및 생체이용성.

전달제 번호	제형	T_{max} (분)	C_{max} (pg/mL)	AUC (pg* 분/mL)	%F[a]
	용액	10 ± 0	3781 ± 1097	93635 ± 18531	
	용액	NC[b]	NC[b]	NC[b]	NC[b]
40	용액	6 ± 3	6304 ± 4929	94215 ± 66732	1.01
15	용액	5 ± 0	25660 ± 12522	254291 ± 129387	2.72
9	클루셀 현탁액	7 ± 3	2637 ± 2695	28144 ± 38576	0.30

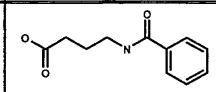
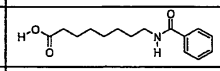
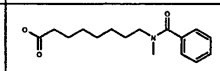
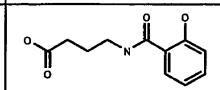
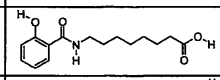
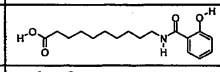
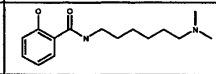
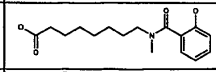
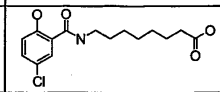
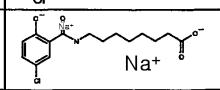
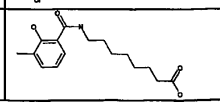
[a] 피하 투여량에 상대적인 생체이용성.
[b] NC = 탐지 수준 미만이어서 계산되지 않음

상기 데이타로부터, 전달제 번호 15를 갖는 제제 중의 Val ^{8}-Glu ^{22}-GLP-1의 경구 투여에 대한 생체이용성 백분율이 2.72%로 계산되었고, 전달제 번호 40을 갖는 제제 중의 Val ^{8}-Glu ^{22}-GLP-1은 1.01%로 계산되었고, 전달제 번호 9를 갖는 제제 중의 Val ^{8}-Glu ^{22}-GLP-1은 0.3%로 계산되었다.

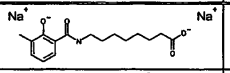
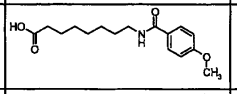
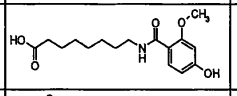
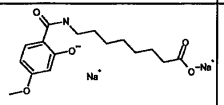
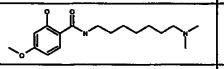
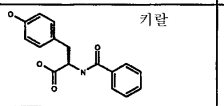
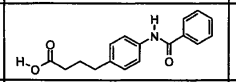
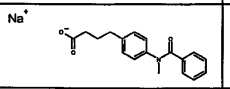
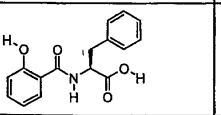
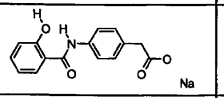
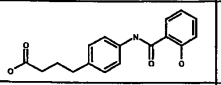
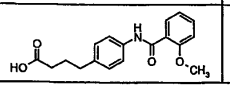
모든 전달제에 대한 약동학 데이타를 하기 표 4에 나타낸다.

[표 4a]

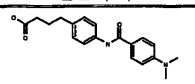
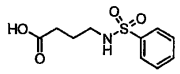
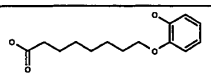
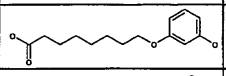
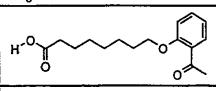
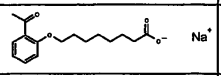
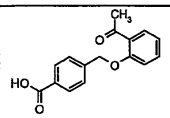
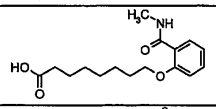
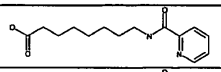
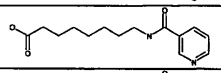
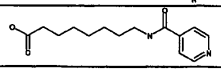
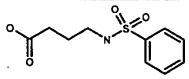
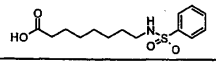
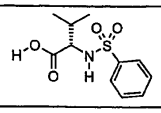
전달제 1 내지 56에 대한 Tmax, Cmax, 및 AUC 약동학 데아타.

번호	전달제 구조	퀩티드	제형	T max (분)	Cmax (pg/mL)	AUC (pg* 분/mL)
A	NA	A[a]	트리스 용액	10 ± 0	3781	93635
B	NA	B[b]	트리스 용액	NC[c]	NC[c]	NC[c]
1		A	트리스 용액	NC[c]	NC[c]	NC[c]
2		A	트리스 용액[d]	5 ± 0	875	7202
3		A	트리스 용액[h]	5 ± 0	24505.8	237422.3
4		A	트리스 용액	5 ± 0	297.2	NC[c]
5		A	트리스 현탁액	5 ± 0	4022	40984
6		A	트리스 현탁액	5 ± 0	3184	37926
7		A	트리스 용액	5 ± 0	17576	204611
8		A	트리스 용액	9 ± 8	13247.1	173548.6
9		A	클루셀 현탁액 클루셀 현탁액	7 ± 3 5 ± 0	2637 1619	28144 9889
10		A	클루셀 현탁액	NC[c]	NC[c]	NC[c]
11		A	클루셀 현탁액 클루셀 현탁액	11 ± 6 6 ± 3	4760 1243.1	71350 12167.1

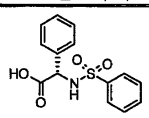
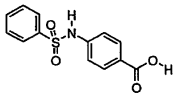
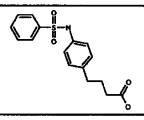
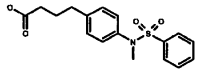
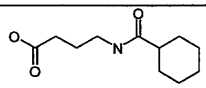
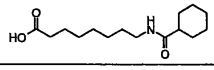
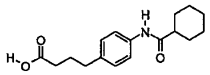
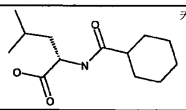
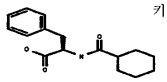
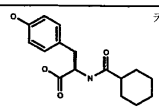
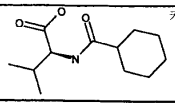
[표 4b]

번호	전달제 구조	퀜티드	제형	T max (분)	Cmax (pg/mL)	AUC (pg* 분 /mL)
12		A	클루셀 현탁액	7±3	4225	35239
13		A	트리스 현탁액[d] 트리스 현탁액[i]	8±3 8±3	23297.1 6265	279725.0 82398
14		A	트리스 용액[e]	6±3	12177.9	160066.6
15		A	트리스 용액	5±0	25660	254291
16		A	트리스 현탁액	5±0	2113	19972
17	 키랄	A	트리스 용액[h]	NC[c]	NC[c]	NC[c]
18		A	클루셀 현탁액	NC[c]	NC[c]	NC[c]
19		A	트리스 현탁액	5±0	20704.9	290106.4
20		A	트리스 현탁액	5±0	1895	21948
21		A	트리스 현탁액	6±3	5833	57166
22		A	클루셀 현탁액	NC[c]	NC[c]	NC[c]
23		A	트리스 용액[d]	5±0	1930	15747

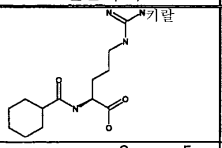
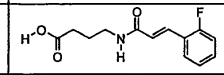
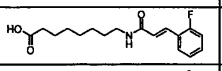
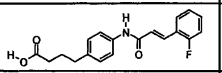
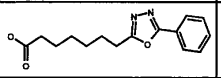
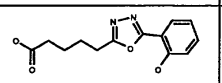
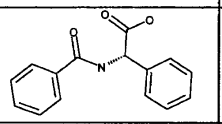
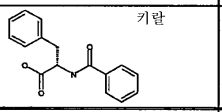
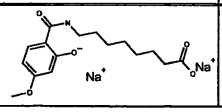
[표 4c]

번호	전달제 구조	펩티드	제형	T max (분)	Cmax (pg/mL)	AUC (pg* 분 /mL)
24		A	트리스 용액	13 ± 3	1885.3	21559.2
25		A	클루셀 현탁액	NC[c]	NC[c]	NC[c]
26		A	트리스 용액	5 ± 0	12841.0	113480.1
27		A	클루셀 용액[g]	5 ± 0	27898.3	299137.2
28		A	트리스 용액 트리스 현탁액	10 ± 7 9 ± 8	4220 1404	59543 13116
29		A	트리스 용액	10 ± 7	5262	62303
30		A	트리스 용액	5 ± 0	4174	35259
31		A	트리스 용액	5 ± 0	3724	30164
32		A	트리스 현탁액	6 ± 3	10315.9	130175.6
33		A	클루셀 현탁액	5 ± 0	232.1	NC[c]
34		A	트리스 현탁액	9 ± 8	756.1	6964.2
35		A	트리스 용액	NC[e]	NC[e]	NC[e]
36		A	트리스 용액	5 ± 0	4752	42036
37		A	트리스 용액	NC[c]	NC[c]	NC[c]

[표 4d]

번호	전달제 구조	펩티드	제형	T max (분)	Cmax (pg/mL)	AUC (pg* 분 /mL)
38	키랄 	A	트리스 용액	9 ± 3	556	5669
39		A	트리스 용액	6 ± 3	815	6087
40		A	트리스 용액	6 ± 3	6304	94215
41		A	트리스 용액	5 ± 0	2117.0	21679.1
42		A	트리스 용액	NC[c]	NC[c]	NC[c]
43		A	트리스 현탁액	5 ± 0	962	7281
44		A	트리스 용액	6 ± 3	4227	55671
45	키랄 	A	트리스 용액[h]	6 ± 3	975.1	13468.0
46	키랄 	A	트리스 용액 클루셀 용액	6 ± 3 5 ± 0	1746.1 544.2	19304.1 4789.7
47	키랄 	A	트리스 용액	NC[c]	NC[c]	NC[c]
48	키랄 	A	트리스 용액	5 ± 0	649.2	6068.5

[표 4e]

번호	전달제 구조	펩티드	제형	T max (분)	Cmax (pg/mL)	AUC (pg* 분 /mL)
49	 키랄	A	트리스 현탁액	5 ± 0	165.7	NC[c]
50		A	트리스 용액[d]	NC[e]	NC[e]	NC[e]
51		A	트리스 용액	5 ± 0	1076	10838
52		A	클루셀 현탁액	NC[e]	NC[e]	NC[e]
53		A	트리스 현탁액	6 ± 3	27467	337360
54		A	클루셀 현탁액 트리스 현탁액	6 ± 3 5 ± 0	18771.5 65729.5	218240.8 684087.3
55		A	트리스 용액	6 ± 3	2398.9	20177.7
56	 키랄	A	트리스 용액	6 ± 3	3689.8	48324.4
15		B	트리스 용액	5 ± 0	8122	82656

[a] 펩티드로 HVEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGRG를 사용함.

[b] 펩티드로 HVEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLIKGGPSSGDPPPS를 사용함.

[c] NC는 불충분한 데이타로 인해 계산되지 않음.

[d] 소수의 불용해/섬유상 입자를 갖는 용액으로서 투여된 제제.

[e] 혼탁한 용액으로서 투여된 제제.

[f] 소수의 불용해된 입자를 갖는 용액으로서 투여된 제제.

[g] 혼탁한 점성 용액으로서 투여된 제제.

[h] 소수의 반투명한 입자를 갖는 용액으로서 투여된 제제.

[i] 불균질이고, 다소 덩어리가 많은 현탁액으로서 투여된 제제.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

GLP-1 화합물, 및 전달제 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, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 및 56으로 이루어진 군으로부터 선택되는 전달제를 포함하는 제제.

청구항 2.

제1항에 있어서, GLP-1 화합물이 서열 1, 서열 2, 서열 3, 서열 4, 서열 5, 서열 6, 서열 7, 서열 8, 서열 9, 서열 10, 서열 11, 서열 12, 서열 13, 및 서열 14의 GLP-1 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 제제.

청구항 3.
제1항에 있어서, GLP-1 화합물이 서열 2, 서열 3, 서열 4, 서열 5, 서열 6, 서열 12, 서열 13, 및 서열 14의 GLP-1 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 제제.

청구항 4.
제1항에 있어서, GLP-1 화합물이 서열 2, 서열 12, 서열 13, 및 서열 14의 GLP-1 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 제제.

청구항 5.
제1항에 있어서, GLP-1 화합물이 서열 13의 GLP-1 화합물 또는 서열 14의 GLP-1 화합물인 제제.

SEQUENCE LISTING

<110> Eli Lilly Company

<120> METHOD FOR ADMINISTERING GLP-1 MOLECULES

<130> X15557

<160> 14

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1
<211> 31
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic construct

<220>
<221> misc_feature
<222> (31)..(31)
<223> Xaa = Gly or is deleted

<220>

<221> MOD_RES

<222> (30)..(30)

<223> AMIDATION, if Xaa at 31 is deleted

<400> 1

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Xaa
20 25 30

<210> 2

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is Thr, Ala, Gly, Ser, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is Ser, Ala, Gly, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is Val, Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Tyr, Glu, Asp, Trp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa is Ser, Ala, Gly, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (12)..(12)

<223> Xaa is Ser, Ala, Gly, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, Trp, Tyr, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa is Tyr, Phe, Trp, Glu, Asp, Gln, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (14)..(14)

<223> Xaa is Leu, Ala, Gly, Ser, Thr, Ile, Val, Glu, Asp, Met, Trp,
Tyr, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (15)..(15)

<223> Xaa is Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> Xaa is Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> Xaa is Gln, Asn, Arg, Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (18)..(18)

<223> Xaa is Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Arg, Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> Xaa is Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> Xaa is Lys, Arg, Gln, Glu, Asp, or His

<220>

<221> misc_feature

<222> (21)..(21)

<223> Xaa is Leu, Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (25)..(25)

<223> Xaa is Trp, Phe, Tyr, Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (26)..(26)

<223> Xaa is Leu, Gly, Ala, Ser, Thr, Ile, Val, Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (27)..(27)

<223> Xaa is Val, Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Asn, Lys, Arg, Glu, Asp, or His

<220>

<221> misc_feature

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (30)..(30)

<223> Xaa is Gly, Arg, Lys, Glu, Asp, or His

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Pro, Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, or Lys,
or is deleted

<220>

<221> misc_feature

<222> (32)..(32)

<223> Xaa is Ser, Arg, Lys, Glu, Asp, or His, or is deleted

<220>

<221> misc_feature

<222> (33)..(33)

<223> Xaa is Ser, Arg, Lys, Glu, Asp, or His, or is deleted

<220>

<221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> Xaa is Gly, Asp, Glu, or Lys, or is deleted

<220>

<221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is Ala, Phe, Trp, Tyr, Glu, Asp, or Lys, or is deleted

<220>

<221> misc_feature

<222> (36)..(36)

<223> Xaa is Ser, Pro, Lys, Glu, or Asp, or is deleted

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(37)

<223> Xaa is Ser, Pro, Glu, Asp, or Lys, or is deleted

<220>

<221> misc_feature

<222> (38)..(38)

<223> Xaa is Gly, Pro, Glu, Asp, or Lys, or is deleted

<220>

<221> misc_feature

<222> (39)..(39)

<223> Xaa is Ala, Ser, Val, Glu, Asp, or Lys, or is deleted

<220>

<221> MOD_RES

<222> (39)..(39)

<223> AMIDATION: Ala, Ser, Val, Glu, Asp, or Lys in this position may b
e amidated.

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(38)

<223> When the amino acid in this position is deleted, all subsequent a
mino acids are deleted.

<400> 2

His Xaa Xaa Gly Xaa Phe Thr Xaa Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35

<210> 3
<211> 31
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic construct

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa is L-histidine, D-histidine, desaminohistidine,
2-aminohistidine, beta-hydroxyhistidine, homohistidine,
alpha-fluoromethylhistidine or alpha-methylhistidine

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa is Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Ser, or Thr

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)

<223> Xaa is Thr, Ser, Arg, Lys, Trp, Phe, Tyr, Glu, or His

<220>

<221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is Asp, Glu, Arg, Thr, Ala, Lys, or His

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is His, Trp, Phe, or Tyr

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is Leu, Ser, Thr, Trp, His, Phe, Asp, Val, Tyr, Glu, or Ala

<220>

<221> misc_feature

<222> (12)..(12)

<223> Xaa is His, Pro, Asp, Glu, Arg, Ser, Ala, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa is Gly, Asp, Glu, Gln, Asn, Lys, Arg, or Cys

<220>

<221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> Xaa is His, Asp, Lys, Glu, Gln, or Arg

<220>

<221> misc_feature

<222> (18)..(18)

<223> Xaa is Glu, Arg, Ala, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> Xaa is Trp, Tyr, Phe, Asp, Lys, Glu, or His

<220>

<221> misc_feature

<222> (21)..(21)

<223> Xaa is Ala, Glu, His, Phe, Tyr, Trp, Arg, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Ala, Glu, Asp, Ser, or His

<220>

<221> misc_feature

<222> (25)..(25)

<223> Xaa is Asp, Glu, Ser, Thr, Arg, Trp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (27)..(27)

<223> Xaa is Asp, Arg, Val, Lys, Ala, Gly, or Glu

<220>

<221> misc_feature

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Glu, Lys, or Asp

<220>

<221> misc_feature

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Thr, Ser, Lys, Arg, Trp, Tyr, Phe, Asp, Gly, Pro, His,
or Glu

<220>

<221> misc_feature

<222> (30)..(30)

<223> Xaa is Thr, Ser, Asp, Trp, Tyr, Phe, Arg, Glu, or His

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Lys, Arg, Thr, Ser, Glu, Asp, Trp, Tyr, Phe, His, Gly,
Gly-Pro, or is deleted

<400> 3

Xaa Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Thr Ser Asp Xaa Ser Xaa Xaa Leu Glu Gly
1 5 10 15

Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Phe Ile Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
20 25 30

<210> 4
<211> 31
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic construct

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa is L-histidine, D-histidine, desaminohistidine,
2-aminohistidine, beta-hydroxyhistidine, homohistidine,
alpha-fluoromethylhistidine or alpha-methylhistidine

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa is Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Ser, or Thr

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)

<223> Xaa is Asp, Glu, Arg, Thr, Ala, Lys, or His

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is His, Trp, Phe, or Tyr

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is Leu, Ser, Thr, Trp, His, Phe, Asp, Val, Glu, or Ala

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> Xaa is Gly, Asp, Glu, Gln, Asn, Lys, Arg, or Cys

<220>

<221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> Xaa is His, Asp, Lys, Glu, or Gln

<220>

<221> misc_feature

<222> (18)..(18)

<223> Xaa is Glu, His, Ala, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> Xaa is Asp, Lys, Glu, or His

<220>

<221> misc_feature

<222> (21)..(21)

<223> Xaa is Ala, Glu, His, Phe, Tyr, Trp, Arg, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Ala, Glu, Asp, Ser, or His

<220>

<221> misc_feature

<222> (27)..(27)

<223> Xaa is Asp, Arg, Val, Lys, Ala, Gly, or Glu

<220>

<221> misc_feature

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Glu, Lys, or Asp

<220>

<221> misc_feature

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Thr, Ser, Lys, Arg, Trp, Tyr, Phe, Asp, Gly, Pro, His,
or Glu

<220>

<221> misc_feature

<222> (30)..(30)

<223> Xaa is Arg, Glu, or His

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Lys, Arg, Thr, Ser, Glu, Asp, Trp, Tyr, Phe, His, Gly,
Gly-Pro, or is deleted

<400> 4

Xaa Xaa Glu Gly Xaa Xaa Thr Ser Asp Xaa Ser Ser Tyr Leu Glu Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Phe Ile Xaa Trp Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
20 25 30

<210> 5

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is L-histidine, D-histidine, desaminohistidine,
2-aminohistidine, beta-hydroxyhistidine, homohistidine,
alpha-fluoromethylhistidine or alpha-methylhistidine

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Ser, Met, or Thr

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is His, Trp, Phe, or Tyr

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is Leu, Ser, Thr, Trp, His, Phe, Asp, Val, Glu, or Ala

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> Xaa is Gly, Asp, Glu, Gln, Asn, Lys, Arg, or Cys

<220>

<221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> Xaa is His, Asp, Lys, Glu, or Gln

<220>

<221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> Xaa is Asp, Lys, Glu, or His

<220>

<221> misc_feature

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Ala, Glu, Asp, Ser, or His

<220>

<221> misc_feature

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Thr, Ser, Lys, Arg, Trp, Tyr, Phe, Asp, Gly, Pro, His,
or Glu

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Lys, Arg, Thr, Ser, Glu, Asp, Trp, Tyr, Phe, His, Gly,
Gly-Pro, or is deleted

<400> 5

Xaa Xaa Glu Gly Thr Xaa Thr Ser Asp Xaa Ser Ser Tyr Leu Glu Xaa
1 5 10 15

Xaa Ala Ala Xaa Glu Phe Ile Xaa Trp Leu Val Lys Xaa Arg Xaa
20 25 30

<210> 6
<211> 31
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic construct

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa is L-histidine, D-histidine, desaminohistidine,
2-aminohistidine, beta-hydroxyhistidine, homohistidine,
alpha-fluoromethylhistidine or alpha-methylhistidine

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa is Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Ser, or Thr

<220>
<221> misc_feature
<222> (16)..(16)
<223> Xaa is Gly, Asp, Glu, Gln, Asn, Lys, Arg, or Cys

<220>

<221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> Xaa is His, Asp, Lys, Glu, or Gln

<220>

<221> misc_feature

<222> (18)..(18)

<223> Xaa is Ala, Glu, His, Phe, Tyr, Trp, Arg, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Ala, Glu, Asp, Ser, or His

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Lys, Arg, Thr, Ser, Glu, Asp, Trp, Tyr, Phe, His, Gly,
Gly-Pro, or is deleted

<400> 6

Xaa Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Ala Lys Glu Phe Ile Xaa Trp Leu Val Lys Gly Arg Xaa
20 25 30

<210> 7

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is L-histidine, D-histidine, desaminohistidine,
2-aminohistidine, beta-hydroxyhistidine, homohistidine,
alpha-fluoromethylhistidine or alpha-methylhistidine

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is Ala, Gly, Val, Thr, Ile, and alpha-methylalanine

<220>

<221> misc_feature

<222> (15)..(15)

<223> Xaa is Glu, Gln, Ala, Thr, Ser, and Gly

<220>

<221> misc_feature

<222> (21)..(21)

<223> Xaa is Glu, Gln, Ala, Thr, Ser, and Gly

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Gly-OH

<400> 7

Xaa Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Xaa Gly
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Xaa Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Xaa
20 25 30

<210> 8

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Ala is modified with one of the following groups:
4-imidazopropionyl, 4-imidazoacetyl,
or 4-imidazo-alpha,alpha-dimethyl-acetyl

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> Xaa is Lys or Arg

<220>

<221> MOD_RES

<222> (27)..(27)

<223> Lys has a C6-C10 unbranched acyl substituent group,
or is unsubstituted

<220>

<221> misc_feature

<222> (30)..(30)

<223> Xaa is Gly-OH or is deleted

<220>

<221> MOD_RES

<222> (29)..(29)

<223> AMIDATION, if Xaa at 30 is deleted

<400> 8

Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gln
1 5 10 15

Ala Ala Xaa Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Xaa
20 25 30

<210> 9

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is L-histidine, D-histidine, desaminohistidine,
2-aminohistidine, beta-hydroxyhistidine, homohistidine,
alpha-fluoromethylhistidine or alpha-methylhistidine

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is Ala, Gly, Val, Leu, Ile, Ser, or Thr

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is Phe, Trp, or Tyr

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is Val, Trp, Ile, Leu, Phe, or Tyr

<220>

<221> misc_feature

<222> (12)..(12)

<223> Xaa is Ser, Trp, Tyr, Phe, Lys, Ile, Leu, Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa is Tyr, Trp, or Phe

<220>

<221> misc_feature

<222> (14)..(14)

<223> Xaa is Leu, Phe, Tyr, or Trp

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> Xaa is Gly, Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> Xaa is Ala, Val, Ile, or Leu

<220>

<221> misc_feature

<222> (21)..(21)

<223> Xaa is Glu, Ile, or Ala

<220>

<221> misc_feature

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Ala or Glu

<220>

<221> misc_feature

<222> (27)..(27)

<223> Xaa is Val or Ile

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Gly, His, NH2, or is deleted

<220>

<221> MOD_RES

<222> (30)..(30)

<223> AMIDATION, if Xaa at 31 is deleted

<400> 9

Xaa Xaa Glu Gly Thr Xaa Thr Ser Asp Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Glu Xaa

1 5 10 15

Gln Ala Xaa Lys Xaa Phe Ile Xaa Trp Leu Xaa Lys Gly Arg Xaa

20 25 30

<210> 10

<211> 39

<212> PRT

<213> Heloderma sp.

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (39)..(39)

<223> Exendin-3

<220>

<221> MOD_RES

<222> (39)..(39)

<223> Ser at position 39 may be amidated

<400> 10

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 11

<211> 39

<212> PRT

<213> Heloderma sp.

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (39)..(39)

<223> Exendin-4

<220>

<221> MOD_RES

<222> (39)..(39)

<223> Ser at position 39 may be amidated

<400> 11

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 12

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is L-histidine, D-histidine, desaminohistidine,
2-aminohistidine, beta-hydroxyhistidine, homohistidine,
alpha-fluoromethylhistidine or alpha-methylhistidine

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is Gly, Ala, or Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is Leu or Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (12)..(12)

<223> Xaa is Lys or Ser

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa is Gln or Tyr

<220>

<221> misc_feature

<222> (14)..(14)

<223> Xaa is Met or Leu

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> Xaa is Glu or Gln

<220>

<221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> Xaa is Glu or Gln

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> Xaa is Val or Ala

<220>

<221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> Xaa is Arg or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (21)..(21)

<223> Xaa is Leu or Glu

<220>

<221> misc_feature

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Glu or Ala

<220>

<221> misc_feature

<222> (27)..(27)

<223> Xaa is Val or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Asn or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (30)..(30)

<223> Xaa is Gly or Arg

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Gly, Pro, Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser,
or is absent

<400> 12

Xaa Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Glu Xaa
1 5 10 15

Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Phe Ile Xaa Trp Leu Xaa Xaa Gly Xaa Xaa
20 25 30

<210> 13
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic construct

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa is L-histidine, D-histidine, desaminohistidine,
2-aminohistidine, beta-hydroxyhistidine, homohistidine,
alpha-fluoromethylhistidine or alpha-methylhistidine

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa is Ala, Gly, Val, Leu, Ile, Ser, or Thr

<220>
<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is Phe, Trp, or Tyr

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is Val, Trp, Ile, Leu, Phe, or Tyr

<220>

<221> misc_feature

<222> (12)..(12)

<223> Xaa is Ser, Trp, Tyr, Phe, Lys, Ile, Leu, Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa is Tyr, Trp, or Phe

<220>

<221> misc_feature

<222> (14)..(14)

<223> Xaa is Leu, Phe, Tyr, or Trp

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> Xaa is Gly, Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> Xaa is Ala, Val, Ile, or Leu

<220>

<221> misc_feature

<222> (21)..(21)

<223> Xaa is Glu, Ile, or Ala

<220>

<221> misc_feature

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Ala or Glu

<220>

<221> misc_feature

<222> (27)..(27)

<223> Xaa is Val or Ile

<220>

<221> misc_feature

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Lys, Asp, Arg, or Glu

<220>

<221> misc_feature

<222> (30)..(30)

<223> Xaa is Gly, Pro, or Arg

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Gly, Pro, or Ser

<220>

<221> misc_feature

<222> (32)..(32)

<223> Xaa is Ser, Pro, or His

<220>

<221> misc_feature

<222> (33)..(33)

<223> Xaa is Ser, Arg, Thr, Trp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> Xaa is Ser or Gly

<220>

<221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is Ala, Asp, Arg, Glu, Lys, or Gly

<220>

<221> misc_feature

<222> (36)..(36)

<223> Xaa is Pro, Ala, or is absent

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(37)

<223> Xaa is Pro, Ala, or is absent

<220>

<221> misc_feature

<222> (38)..(38)

<223> Xaa is Pro, Ala, Arg, Lys, His, or is absent

<220>

<221> misc_feature

<222> (39)..(39)

<223> Xaa is Ser, His, Pro, Lys, Arg, or is absent

<220>

<221> misc_feature

<222> (40)..(40)

<223> Xaa is His, Ser, Arg, Lys, or is absent

<220>

<221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa is His, Ser, Arg, Lys, or is absent

<220>

<221> MOD_RES

<222> (35)..(41)

<223> AMIDATION, if the amino acid immediately following is deleted

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (36)..(40)

<223> If Xaa at this position is deleted, then all subsequent amino acids are deleted

<400> 13

Xaa Xaa Glu Gly Thr Xaa Thr Ser Asp Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Glu Xaa
1 5 10 15

Gln Ala Xaa Lys Xaa Phe Ile Xaa Trp Leu Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40

<210> 14

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic construct

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is L-histidine, D-histidine, desaminohistidine,
2-aminohistidine, beta-hydroxyhistidine, homohistidine,
alpha-fluoromethylhistidine or alpha-methylhistidine

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is Gly, Val, Leu, Ile, Ser, or Thr

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is Val, Trp, Ile, Leu, Phe, or Tyr

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> Xaa is Gly, Glu, Asp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> Xaa is Ala, Val, Ile, or Leu

<220>

<221> misc_feature

<222> (27)..(27)

<223> Xaa is Val or Ile

<220>

<221> misc_feature

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Lys, Asp, Arg, or Glu

<220>

<221> misc_feature

<222> (30)..(30)

<223> Xaa is Gly, Pro, or Arg

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Gly, Pro, or Ser

<220>

<221> misc_feature

<222> (32)..(32)

<223> Xaa is Ser, Pro, or His

<220>

<221> misc_feature

<222> (33)..(33)

<223> Xaa is Ser, Arg, Thr, Trp, or Lys

<220>

<221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> Xaa is Ser or Gly

<220>

<221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa is Ala, Asp, Arg, Glu, Lys, or Gly

<220>

<221> misc_feature

<222> (36)..(36)

<223> Xaa is Pro or Ala

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(37)

<223> Xaa is Pro or Ala

<220>

<221> misc_feature

<222> (38)..(38)

<223> Xaa is Pro, Ala, Arg, Lys, His, or is absent

<220>

<221> misc_feature

<222> (39)..(39)

<223> Xaa is Ser, His, Pro, Lys, Arg, or is absent

<220>

<221> misc_feature

<222> (40)..(40)

<223> Xaa is His, Ser, Arg, Lys, or is absent

<220>

<221> misc_feature

<222> (41)..(41)

<223> Xaa is His, Ser, Arg, Lys, or is absent

<220>

<221> misc_feature

<222> (38)..(40)

<223> If Xaa at this position is deleted, then all subsequent amino acids are deleted

<220>

<221> MOD_RES

<222> (37)..(41)

<223> AMIDATION, if Xaa at the position immediately following is deleted.

<400> 14

Xaa Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Xaa Ser Ser Tyr Lys Glu Xaa

1 5 10 15

Gln Ala Xaa Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40