



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0027284
(43) 공개일자 2014년03월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/60 (2006.01) *A61K 38/25* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-7030657
(22) 출원일자(국제) 2012년04월17일
 심사청구일자 空
(85) 번역문제출일자 2013년11월19일
(86) 국제출원번호 PCT/CA2012/050242
(87) 국제공개번호 WO 2012/142706
 국제공개일자 2012년10월26일
(30) 우선권주장
 61/477,775 2011년04월21일 미국(US)

(71) 출원인
 제러테크놀로지스 인코포레이티드
 캐나다, 케벡 에이치 4 에스 2 비 4, 몬트리얼,
 불리바드 알프레드-노벨, 2310.
(72) 발명자
 페리 크리쉬나 쥐.
 캐나다 케벡 에이치4알 2알2 몬트리올 가이호프만
 2999
 하비 압둘크림
 캐나다 케벡 에이치9에이치 5이9 피에르퐁 프레보
 4309
(74) 대리인
 박장원

전체 청구항 수 : 총 64 항

(54) 발명의 명칭 성장 호르몬 방출 인자(GRF) 유사체 및 이의 용도

(57) 요 약

본 발명은 라이신-21, 류신-22 및 류신-23이 본원에 기재된 바대로 결합된 성장 호르몬 방출 인자(GRF) 유사체에 관한 것이다. 이 유사체는 GRF 활성을 보유한다. 예를 들면 피험체 또는 생물학적 시스템에서 성장 호르몬 분비를 유도하기 위한 예를 들면 GRF 수용체 효현제로서의 상기 유사체의 용도가 또한 기재되어 있다.

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 (I)의 도메인(서열 번호 1)을 포함하는 성장 호르몬 방출 인자(growth hormone releasing factor: GRF) 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염:

[화학식 (I)]

X1-X2-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-X8-X9-Tyr-X11-X12-X13-Leu-X15-Gln-Leu-X18-X19-Arg-Gln-X22-X23-X24-X25-X26-X27-X28-X29-X30-X31-X32-X33

상기 식 중,

X1은 Tyr 또는 His이고;

X2는 Ala, D-Ala, Ser, Leu, α -아미노아이소부티르산(Aib), Val 또는 Gly이며;

X8은 Asn, Asp, Ala, Gln, Ser 또는 Aib이고;

X9은 Ser, Asp 또는 Ala이며;

X11은 Arg 또는 L-호모아르기닌(HoArg)이고;

X12는 Lys, L-오르니틴(Orn) 또는 HoArg이며;

X13은 Val 또는 Ile이고;

X15는 Gly 또는 Ala이며;

X18은 Lys, L-오르니틴, L-2,4-다이아미노부티르산, L-2,3-다이아미노프로파온산 또는 Ser이고;

X19는 Ala 또는 Leu이며;

X22는 Asp 또는 Glu이고;

X23은 Ile 또는 Leu이며;

X24는 Met, Ile, Nle 또는 Leu이고;

X25는 Ser, Asn, Aib 또는 Ala이며;

X26은 Arg, D-Arg, HoArg 또는 Lys이고;

X27은 Ala이나 부재하며;

X28은 Ala이나 부재하고;

X29는 Arg이나 부재하며;

X30은 Ala이나 부재하고;

X31은 Ala이나 부재하며;

X32는 Arg이나 부재하고;

X33은 L-호모세린(HoSer)이나 부재하며;

X18이 Ser인 경우, X27 내지 X32 또는 X27 내지 X33이 존재한다.

청구항 2

제1항에 있어서, X1은 Tyr인 것인 GRF 유사체.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, X2는 Ala 또는 D-Ala인 것인 GRF 유사체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, X8은 Ala 또는 Asp인 것인 GRF 유사체.

청구항 5

제4항에 있어서, X8은 Asp인 것인 GRF 유사체.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, X9는 Ser인 것인 GRF 유사체.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, X11은 Arg인 것인 GRF 유사체.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, X12는 Lys 또는 HoArg인 것인 GRF 유사체.

청구항 9

제8항에 있어서, X12는 Lys인 것인 GRF 유사체.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, X15는 Ala인 것인 GRF 유사체.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, X18은 Orn 또는 Lys인 것인 GRF 유사체.

청구항 12

제11항에 있어서, X18은 Lys인 것인 GRF 유사체.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, X22는 Asp인 것인 GRF 유사체.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, X23은 Ile인 것인 GRF 유사체.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, X24는 Leu인 것인 GRF 유사체.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, X25는 Ala 또는 Ser인 것인 GRF 유사체.

청구항 17

제16항에 있어서, X25는 Ala인 것인 GRF 유사체.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, X26은 Arg 또는 D-Arg인 것인 GRF 유사체.

청구항 19

제18항에 있어서, X26은 Arg인 것인 GRF 유사체.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, X27은 Ala인 것인 GRF 유사체.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, X28은 Ala인 것인 GRF 유사체.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, X29는 Arg인 것인 GRF 유사체.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, X30은 Ala인 것인 GRF 유사체.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, X31은 Ala인 것인 GRF 유사체.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, X32는 Arg인 것인 GRF 유사체.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, X33은 HoSer인 것인 GRF 유사체.

청구항 27

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, X27 내지 X33 중 적어도 하나는 부재한 것인 GRF 유사체.

청구항 28

제27항에 있어서, X27 내지 X33은 부재한 것인 GRF 유사체.

청구항 29

제1항에 있어서, 상기 도메인은

Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R(서열 번호 2);

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r(서열 번호 3);

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-aib-R(서열 번호 4);

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r(서열 번호 5);

Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r(서열 번호 6);

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-S-r(서열 번호 7);

Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 8);

Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 9);

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 10);

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 11);

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R(서열 번호 12);

Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 13);

Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R(서열 번호 14);

Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 15);

Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 16);

Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 17);

Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer(서열 번호 18);

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer(서열 번호 19)이고;

a는 D-Ala이고, 0는 L-오르니틴이며, Aib는 α-아미노아이소부티르산이고, HoSer은 L-호모세린이고, r은 D-Arg인 것인 GRF 유사체.

청구항 30

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, (i) 아미노 말단 변형기; (ii) 카복시 말단 변형기; 또는 (iii) (i) 및 (ii) 둘 다를 추가로 포함하는 GRF 유사체.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 아미노 말단 변형기는 선형 또는 분지형 포화 C_1-C_6 아실 기 또는 불포화 C_3-C_6 아실 기인 것인 GRF 유사체.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 아미노 말단 변형기는 아세틸 기(Ac)인 것인 GRF 유사체.

청구항 33

제30항에 있어서, 상기 아미노 말단 변형기는 트랜스-3-헥세노일 기인 것인 GRF 유사체.

청구항 34

제30항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 카복시 말단 변형기는 NH_2 인 것인 GRF 유사체.

청구항 35

제1항에 있어서, 상기 GRF 유사체는

트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-NH₂(서열 번호 20);

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH₂(서열 번호 21);

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-aib-R-NH₂(서열 번호 22);

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH₂(서열 번호 23);

트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH₂(서열 번호 24);

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-S-r-NH₂(서열 번호 25);

트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 26);

트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 27);

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 28);

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 29);

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 30);

트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 31);

트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-R-NH₂(서열 번호 32);

Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 33);

Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 34);

Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 35);

Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH₂(서열 번호 36); 또는

Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH₂(서열 번호 37)이고;

a는 D-Ala이고, 0는 L-오르니틴이며, Aib는 α-아미노아이소부티르산이고, HoSer은 L-호모세린이며, r은 D-Arg인 것인 GRF 유사체.

청구항 36

제35항에 있어서, 상기 GRF 유사체는 Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 28)인 것인 GRF 유사체.

청구항 37

제35항에 있어서, 상기 GRF 유사체는 Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 29)인 것인 GRF 유사체.

청구항 38

제35항에 있어서, 상기 GRF 유사체는 Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 30)인 것인 GRF 유사체.

청구항 39

제35항에 있어서, 상기 GRF 유사체는 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 31)인 것인 GRF 유사체.

청구항 40

제35항에 있어서, 상기 GRF 유사체는 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 32)인 것인 GRF 유사체.

청구항 41

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항의 GRF 유사체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 42

제41항에 있어서, 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 및/또는 희석제를 추가로 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 43

성장 호르몬 분비의 유도를 필요로 하는 피험체에서 성장 호르몬 분비를 유도하는 방법으로서, 상기 방법은 유효량의 제1항 내지 제40항 중 어느 한 항의 GRF 유사체 또는 제41항 또는 제42항의 약제학적 조성물을 상기 피험체에게 투여하는 단계를 포함하는 것인, 성장 호르몬 분비를 유도하는 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, 상기 GRF 유사체를 약 0.1mg 내지 약 20mg의 1일 용량으로 투여하는 것인, 성장 호르몬 분비를 유도하는 방법.

청구항 45

제43항 또는 제44항에 있어서, 상기 GRF 유사체를 정맥내로, 경구로, 경피로, 피하로, 점막으로, 근육내로, 비강내로, 폐내로, 비경구로, 직장내로 또는 국소로 투여하는 것인, 성장 호르몬 분비를 유도하는 방법.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 GRF 유사체를 피하로 투여하는 것인, 성장 호르몬 분비를 유도하는 방법.

청구항 47

제45항에 있어서, 상기 GRF 유사체를 비강내로 투여하는 것인, 성장 호르몬 분비를 유도하는 방법.

청구항 48

제45항에 있어서, 상기 GRF 유사체를 경피로 투여하는 것인, 성장 호르몬 분비를 유도하는 방법.

청구항 49

피험체에서 성장 호르몬 분비를 유도하기 위한, 제1항 내지 제40항 중 어느 한 항의 GRF 유사체 또는 제41항 또는 제42항의 약제학적 조성물의 용도.

청구항 50

피험체에서 성장 호르몬 분비를 유도하기 위한 약제의 제조를 위한, 제1항 내지 제40항 중 어느 한 항의 GRF 유사체 또는 제41항 또는 제42항의 약제학적 조성물의 용도.

청구항 51

제49항 또는 제50항에 있어서, 상기 GRF 유사체는 약 0.1mg 내지 약 20mg의 1일 용량으로 투여하기 위한 것인 용도.

청구항 52

제49항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GRF 유사체는 정맥내, 경구, 경피, 피하, 점막, 근육내, 비강내, 폐내, 비경구, 직장내 또는 국소 투여를 위한 것인 용도.

청구항 53

제52항에 있어서, 상기 GRF 유사체는 피하 투여를 위한 것인 용도.

청구항 54

제52항에 있어서, 상기 GRF 유사체는 비강내 투여를 위한 것인 용도.

청구항 55

제52항에 있어서, 상기 GRF 유사체는 경피 투여를 위한 것인 용도.

청구항 56

피험체에서 성장 호르몬 분비를 유도하기 위한 약제의 제조를 위한, 제1항 내지 제40항 중 어느 한 항의 GRF 유사체 또는 제41항 또는 제42항의 약제학적 조성물.

청구항 57

피험체에서 성장 호르몬 분비를 유도하는 용도를 위한, 제1항 내지 제40항 중 어느 한 항의 GRF 유사체 또는 제41항 또는 제42항의 약제학적 조성물.

청구항 58

제56항 또는 제57항에 있어서, 상기 GRF 유사체는 약 0.1mg 내지 약 20mg의 1일 용량으로 투여하기 위한 것인

GRF 유사체.

청구항 59

제56항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GRF 유사체는 정맥내, 경구, 경피, 피하, 점막, 근육내, 비강내, 폐내, 비경구, 직장내 또는 국소 투여를 위한 것인 GRF 유사체.

청구항 60

제59항에 있어서, 상기 GRF 유사체는 피하 투여를 위한 것인 GRF 유사체.

청구항 61

제59항에 있어서, 상기 GRF 유사체는 비강내 투여를 위한 것인 GRF 유사체.

청구항 62

제59항에 있어서, 상기 GRF 유사체는 경피 투여를 위한 것인 GRF 유사체.

청구항 63

약제로서의 제1항 내지 제40항 중 어느 한 항의 GRF 유사체 또는 제41항 또는 제42항의 약제학적 조성물의 용도.

청구항 64

약제로서 사용하기 위한, 제1항 내지 제40항 중 어느 한 항의 GRF 유사체 또는 제41항 또는 제42항의 약제학적 조성물.

명세서

기술분야

[0001]

본 발명은 일반적으로 성장 호르몬 방출 인자(growth hormone releasing factor: GRF) 수용체의 효현제 및 이의 용도에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 GRF 유사체 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경기술

[0002]

성장 호르몬(growth hormone: GH)은 포유동물의 뇌하수체 전엽의 소마토트로프 세포에서 생성되고 일생 동안 분비된다. 이의 분비 및 합성을 자극하는 GRF; 및 이를 억제하는 소마토스타틴의 2종의 시상하부 펩타이드에 의해 뇌에서 주로 이를 조절한다. 다수의 말초 인자는 GH 분비를 조절한다. 이들 중에서, 인슐린양 성장 인자-1(IGF-1)은 GH에 반응하여 간에 의해 생성되고 GH 분비에 대해 음성 피드백을 발휘하도록 시상하부에 작용하므로 중요한 것을 나타낸다.

[0003]

인간 및 동물에서 보이는 나이에 따른 GH 분비 감소는 유기체 노화를 개시시키거나 이에 참여하는 이화작용에 대한 대사 이동을 선호한다. 노인에게서 관찰되는 근육량 손실, 지방 조직 축척, 골 탈회 및 수술후 조직 재생 용량 손실은 GH 분비 감소와 상관된다.

[0004]

따라서 GH는 어린이에게서 키 성장에 관여하고 성인에서 단백질 대사를 조절하는 생리학적 동화제(anabolic agent)이다.

[0005]

GRF(GH 방출 호르몬 또는 GHRH로도 언급됨)는 뇌하수체 전엽의 소마토트로프 세포로부터 GH의 발현, 합성 및 방출을 조절하는 시상하부에 의해 분비되는 44개의 아미노산 펩타이드이다(Frohman LA *et al.* *Endocrine Reviews* 1986, **7**: 223-253). 인간 GRF(hGRF₍₁₋₂₉₎; 세르모렐린)의 처음의 29개의 아미노산으로 이루어진 펩타이드는 전장 펩타이드의 생물학적 활성을 보유하고(Lance, V.A. *et al.*, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1984, **119**: 265-272), 어린이에게서 GH 결핍증 치료에 임상적으로 사용되어 왔다(Thorner, M. *et al.*, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1996, **81**: 1189-1196). 더 최근에는, 소마토트로프 GH-인슐린양 성장 인자(IGF)-I 축의 기능에서 나이 관련 감소를 반전시키는 GRF의 가능성이 평가되었다(Khorram, O. *et al.*, *Clinical Obstetrics and Gynecology* 2001, **44**: 893-901).

- [0006] hGRF₍₁₋₂₉₎의 약제학적 제제는 임상 사용을 위해 구입 가능하다(게레프®(Geref®)), 라보라토이레즈 세로노 에스.에이.(Laboratoires Serono S.A.)). 그러나, 이의 약리학적 가치는 주로 이의 신속한 효소 분해에 대한 감수성으로 인한 이의 짧은 반감기(인간에서 정맥내 주사 후 약 12분)에 의해 제한된다(Frohman, L.A. *et al.*, *Journal of Clinical Investigation* 1986, 78: 906-913).
- [0007] 따라서, GRF 수용체 또는 GHRH 수용체(GHRHr)에 대한 효현제 특성을 나타내는 신규한 GRF 유사체의 개발에 대한 필요성이 존재한다.
- [0008] 본 명세서는 다수의 문현(이의 내용은 본원에 그 전문이 참조문헌으로 포함됨)을 참조한다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

- [0009] 본 발명은 GRF 유사체 및 이의 용도에 관한 것이다.
- [0010] 제1 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 (I)의 도메인(서열 번호 1)을 포함하는 성장 호르몬 방출 인자(GRF) 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 제공한다:
- [0011] [화학식 (I)]
- [0012] X1-X2-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-X8-X9-Tyr-X11-X12-X13-Leu-X15-Gln-Leu-X18-X19-Arg-Gln-X22-X23-X24-X25-X26-X27-X28-X29-X30-X31-X32-X33
- [0013] 상기 식 중,
- [0014] X1은 Tyr 또는 His이고;
- [0015] X2는 Ala, D-Ala, Ser, Leu, α -아미노아이소부티르산(Aib), Val 또는 Gly이며;
- [0016] X8은 Asn, Asp, Ala, Gln, Ser 또는 Aib이고;
- [0017] X9는 Ser, Asp 또는 Ala이며;
- [0018] X11은 Arg 또는 L-호모아르기닌이고;
- [0019] X12는 Lys, L-오르니틴 또는 L-호모아르기닌이며;
- [0020] X13은 Val 또는 Ile이고;
- [0021] X15는 Gly 또는 Ala이며;
- [0022] X18은 Lys, L-오르니틴, L-2,4-다이아미노부티르산, L-2,3-다이아미노프로파온산 또는 Ser이고;
- [0023] X19는 Ala 또는 Leu이며;
- [0024] X22는 Asp 또는 Glu이고;
- [0025] X23은 Ile 또는 Leu이며;
- [0026] X24는 Met, Ile, Nle 또는 Leu이고;
- [0027] X25는 Ser, Asn, Aib 또는 Ala이며;
- [0028] X26은 Arg, D-Arg, L-호모아르기닌 또는 Lys이고;
- [0029] X27은 Ala이나 부재하며;
- [0030] X28은 Ala이나 부재하고;
- [0031] X29는 Arg이나 부재하며;
- [0032] X30은 Ala이나 부재하고;
- [0033] X31은 Ala이나 부재하며;
- [0034] X32는 Arg이나 부재하고;

- [0035] X33은 HoSer이거나 부재하며;
- [0036] X18이 Ser인 경우, X27 내지 X32 또는 X27 내지 X33이 존재한다.
- [0037] 일 실시양태에서, X1은 Tyr이다.
- [0038] 일 실시양태에서, X2는 Ala 또는 D-Ala이다.
- [0039] 일 실시양태에서, X8은 Ala 또는 Asp이고, 추가의 실시양태에서 Asp이다.
- [0040] 일 실시양태에서, X9는 Ser이다.
- [0041] 일 실시양태에서, X11은 Arg이다.
- [0042] 일 실시양태에서, X12는 Lys 또는 L-호모아르기닌이고, 추가의 실시양태에서 Lys이다.
- [0043] 일 실시양태에서, X15는 Ala이다.
- [0044] 일 실시양태에서, X18은 L-오르니틴 또는 Lys이고, 추가의 실시양태에서 Lys이다.
- [0045] 일 실시양태에서, X22는 Asp이다.
- [0046] 일 실시양태에서, X23은 Ile이다.
- [0047] 일 실시양태에서, X24는 Leu이다.
- [0048] 일 실시양태에서, X25는 Ala 또는 Ser이고, 추가의 실시양태에서 Ala이다.
- [0049] 일 실시양태에서, X26은 Arg 또는 D-Arg이고, 추가의 실시양태에서 Arg이다.
- [0050] 일 실시양태에서, X27은 Ala이다.
- [0051] 일 실시양태에서, X28은 Ala이다.
- [0052] 일 실시양태에서, X29는 Arg이다.
- [0053] 일 실시양태에서, X30은 Ala이다.
- [0054] 일 실시양태에서, X31은 Ala이다.
- [0055] 일 실시양태에서, X32는 Arg이다.
- [0056] 일 실시양태에서, X33은 HoSer이다.
- [0057] 다른 실시양태에서, X27 내지 X33 중 적어도 하나가 부재한다. 추가의 실시양태에서, X27 내지 X33이 부재한다.
- [0058] 일 실시양태에서, 상기 언급된 도메인은
- [0059] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R(서열 번호 2);
- [0060] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r(서열 번호 3);
- [0061] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-aib-R(서열 번호 4);
- [0062] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r(서열 번호 5);
- [0063] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r(서열 번호 6);
- [0064] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-S-r(서열 번호 7);
- [0065] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 8);
- [0066] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 9);
- [0067] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 10);
- [0068] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 11);
- [0069] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R(서열 번호 12);
- [0070] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 13);

- [0071] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 14);
- [0072] Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 15);
- [0073] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 16);
- [0074] Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 17);
- [0075] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer(서열 번호 18);
- [0076] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer(서열 번호 19)이고;
- [0077] a는 D-Ala이고, 0는 L-오르니틴이며, Aib는 α-아미노아이소부티르산이고, HoSer은 L-호모세린이며, r은 D-Arg이다.
- [0078] 일 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 (i) 아미노 말단 변형기; (ii) 카복시 말단 변형기; 또는 (iii) (i) 및 (ii) 둘 다를 추가로 포함한다.
- [0079] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 아미노 말단 변형기는 선형 또는 분지형 포화 C₁-C₆ 아실 기 또는 불포화 C₃-C₆ 아실 기이다. 추가의 또 다른 실시양태에서, 상기 언급된 아미노 말단 변형기는 아세틸 기(Ac)이다. 다른 실시양태에서, 상기 언급된 아미노 말단 변형기는 트랜스-3-헥세노일 기이다.
- [0080] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 카복시 말단 변형기는 NH₂이다.
- [0081] 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는
- [0082] 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-NH₂(서열 번호 20);
- [0083] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH₂(서열 번호 21);
- [0084] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-aib-R-NH₂(서열 번호 22);
- [0085] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH₂(서열 번호 23);
- [0086] 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH₂(서열 번호 24);
- [0087] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-S-r-NH₂(서열 번호 25);
- [0088] 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 26);
- [0089] 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 27);
- [0090] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 28);
- [0091] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 29);
- [0092] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 30);
- [0093] 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 31);
- [0094] 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 32);
- [0095] Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 33);
- [0096] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 34);
- [0097] Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 35);
- [0098] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH₂(서열 번호 36); 또는
- [0099] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH₂(서열 번호 37)이고;

- [0100] a는 D-Ala이고, 0는 L-오르니틴이며, Aib는 α-아미노아이소부티르산이고, r은 D-Arg이다.
- [0101] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 28)이다.
- [0102] 추가의 다른 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 29)이다.
- [0103] 추가의 다른 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 30)이다.
- [0104] 추가의 다른 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 31)이다.
- [0105] 추가의 다른 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 32)이다.
- [0106] 다른 양태에서, 본 발명은 상기 언급된 GRF 유사체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0107] 일 실시양태에서, 상기 언급된 약제학적 조성물은 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 및/또는 희석제를 추가로 포함한다.
- [0108] 일 양태에서, 본 발명은 성장 호르몬 분비의 유도를 필요로 하는 피험체에서 성장 호르몬 분비를 유도하는 방법으로서, 상기 방법은 유효량의 상기 언급된 GRF 유사체 또는 약제학적 조성물을 상기 피험체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0109] 다른 양태에서, 본 발명은 피험체에서 성장 호르몬 분비를 유도하기 위한 상기 언급된 GRF 유사체 또는 약제학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0110] 다른 양태에서, 본 발명은 피험체에서 성장 호르몬 분비를 유도하기 위한 약제의 제조를 위한 상기 언급된 GRF 유사체 또는 약제학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0111] 다른 양태에서, 본 발명은 피험체에서 성장 호르몬 분비를 유도하기 위한 약제의 제조를 위한 상기 언급된 GRF 유사체 또는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0112] 다른 양태에서, 본 발명은 피험체에서 성장 호르몬 분비를 유도하기 위한 상기 언급된 GRF 유사체 또는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0113] 다른 양태에서, 본 발명은 약제로서의 상기 언급된 GRF 유사체 또는 약제학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0114] 다른 양태에서, 본 발명은 약제로서 사용하기 위한 상기 언급된 GRF 유사체 또는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0115] 일 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 약 0.1mg 내지 약 20mg의 1일 용량으로 투여되거나 투여되기에 적합하다.
- [0116] 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체를 정맥내로, 경구로, 경피로, 피하로, 점막으로, 근육내로, 비강내로, 폐내로, 비경구로, 직장내로 또는 국소로, 추가의 실시양태에서 피하로 또는 경피로 투여되거나 투여되기에 적합하다.
- [0117] 본 발명의 다른 목적, 이점 및 특징이 이의 구체적인 실시양태의 하기 비제한적인 설명을 읽을 때 더 명확해질 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0118] 본 발명자들은 GHRH를 발현하는 세포에서 효현제 활성을 나타내고, 동물 모델에서 GH 분비를 유도하는 신규한 GRF 유사체를 개발하였다.
- [0119] 자연형 인간 GRF는 하기 구조를 갖는 44개의 아미노산의 웹타이드이다:
- [0120] Tyr-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Asn-Ser-Tyr-Arg-Lys-Val-Leu-Gly-Gln-Leu-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-Gln-Asp-Ile-Met-Ser-Arg-Gln-Gly-Glu-Ser-Asn-Gln-Glu-Arg-Gly-Ala-Arg-Ala-Arg-Leu(서열 번호 38)

- [0121] $\text{GRF}_{(1-29)}$ 로 공지된 $\text{GRF}_{(1-44)}$ 의 29개의 아미노산 N 말단 단편이 $\text{GRF}_{(1-44)}$ 와 유사한 생물학적 활성 및 효능을 나타내는 것으로 밝혀졌다. $\text{GRF}_{(1-29)}$ 는 하기 서열을 갖는다:
- [0122] Tyr-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Asn-Ser-Tyr-Arg-Lys-Val-Leu-Gly-Gln-Leu-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-Gln-Asp-Ile-Met-Ser-Arg(서열 번호 39).
- [0123] $\text{GRF}_{(1-29)}$ 와 $\text{GRF}_{(1-44)}$ 사이의 (길이에서의) 중간 형태, 즉 자연형 인간 GRF 의 30-43번 잔기(또는 다른 잔기)에 상응하는 1개 내지 14개의 아미노산이 첨가된 C 말단에서의 $\text{GRF}_{(1-29)}$ 의 서열은 또한 GRF 활성을 보유한다. 추가로, 자연형 서열에서 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 특정한 GRF 변이체가 GRF 활성을 보유하는 것으로 공지되어 있다.
- [0124] 본 발명의 GRF 유사체는 자연형 인간 $\text{GRF}_{(1-44)}$, 이의 N 말단 단편 $\text{GRF}_{(1-29)}$ 또는 상기 언급된 중간 형태의 21번 내지 23번 잔기(상기 기술된 서열에서 밀줄친 Lys-Leu-Leu)에 상응하는 위치에서 3개의 아미노산 잔기 결실을 포함하는 GRF 의 변이체 및 이의 활성 단편 및/또는 변이체이다. 본 발명의 GRF 유사체는 (상기 기술된 서열에서 이탈릭체의) 18번 위치에 상응하는 세린의 변경, 바람직하게는 자연형 인간 $\text{GRF}_{(1-44)}$, 이의 N 말단 단편 $\text{GRF}_{(1-29)}$ 또는 상기 언급된 중간 형태의 Lys, L-오르니틴, L-2,4-다이아미노부티르산 또는 L-2,3-다이아미노프로피온산에 의한 치환을 추가로 포함할 수 있다. 이 GRF 유사체는 GHRHr을 발현하는 세포에서 효현제 활성을 나타내고 동물 모델에서 GH 분비를 유도한다.
- [0125] 용어 "GRF 유사체", "GRF 수용체 효현제", "GRF 펩타이드", "GRF 펩타이드 화합물" 또는 "펩타이드 화합물"은 하기 추가로 상세히 기재된 GHRHr을 발현하는 세포에서 효현제 활성을 나타내고 동물 모델에서 GH 분비를 유도하는 본 발명의 화합물을 의미하기 위해 본원에서 상호교환으로 사용된다.
- [0126] 용어 "GRF"(성장 호르몬 방출 인자) 및 "GHRH"(성장 호르몬 방출 호르몬)은 본원에서 상호교환으로 사용된다. 유사하게, 용어 "GRF 수용체", "GRFr", "GHRH 수용체" 및 "GHRHr"은 본원에서 상호교환으로 사용된다.
- [0127] 본 발명은 하기 화학식 (I)의 도메인(서열 번호 1)을 포함하는 성장 호르몬 방출 인자(GRF) 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 제공한다:
- [0128] [화학식 (I)]
- [0129] X1-X2-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-X8-X9-Tyr-X11-X12-X13-Leu-X15-Gln-Leu-X18-X19-Arg-Gln-X22-X23-X24-X25-X26-X27-X28-X29-X30-X31-X32-X33
- [0130] 상기 식 중,
- [0131] X1은 Tyr 또는 His이고;
- [0132] X2는 Ala, D-Ala, Ser, Leu, α -아미노아이소부티르산(Aib), Val 또는 Gly이며;
- [0133] X8은 Asn, Asp, Ala, Gln, Ser 또는 Aib이고;
- [0134] X9는 Ser, Asp 또는 Ala이며;
- [0135] X11은 Arg 또는 L-호모아르기닌이고;
- [0136] X12는 Lys, L-오르니틴 또는 L-호모아르기닌이며;
- [0137] X13은 Val 또는 Ile이고;
- [0138] X15는 Gly 또는 Ala이며;
- [0139] X18은 Lys, L-오르니틴, L-2,4-다이아미노부티르산, L-2,3-다이아미노프로피온산 또는 Ser이고;
- [0140] X19는 Ala 또는 Leu이며;
- [0141] X22는 Asp 또는 Glu이고;
- [0142] X23은 Ile 또는 Leu이며;
- [0143] X24는 Met, Ile, Nle 또는 Leu이고;

- [0144] X25는 Ser, Asn, Aib 또는 Ala이며;
- [0145] X26은 Arg, D-Arg, L-호모아르기닌 또는 Lys이고;
- [0146] X27은 Ala이거나 부재하며;
- [0147] X28은 Ala이거나 부재하고;
- [0148] X29는 Arg이거나 부재하며;
- [0149] X30은 Ala이거나 부재하고;
- [0150] X31은 Ala이거나 부재하며;
- [0151] X32는 Arg이거나 부재하고;
- [0152] X33은 HoSer이거나 부재하며;
- [0153] X18이 Ser인 경우, X27 내지 X32 또는 X27 내지 X33이 존재한다.
- [0154] 본 발명은 하기 화학식 (II)의 도메인(서열 번호 40)을 포함하는 성장 호르몬 방출 인자(GRF) 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 추가로 제공한다:
- [0155] [화학식 (II)]
- [0156] X1-X2-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-X8-X9-Tyr-X11-X12-X13-Leu-X15-Gln-Leu-X18-X19-Arg-Gln-X22-X23-X24-X25-X26-X27-X28-X29-X30-X31-X32-X33
- [0157] 상기 식 중,
- [0158] X1은 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Tyr 또는 His이며, 추가의 실시양태에서 Tyr이고;
- [0159] X2는 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Ala, D-Ala, Ser, Leu, α -아미노아이소부티르산(Aib), Val 또는 Gly이며, 추가의 실시양태에서 Ala 또는 D-Ala이고;
- [0160] X8은 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Asn, Asp, Ala, Gln, Ser 또는 Aib이며, 추가의 실시양태에서 Ala 또는 Asp이고, 추가의 실시양태에서 Asp이며;
- [0161] X9는 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Ser, Asp 또는 Ala이며, 추가의 실시양태에서 Ser이고;
- [0162] X11은 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Arg 또는 L-호모아르기닌이며, 추가의 실시양태에서 Arg이고;
- [0163] X12는 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Lys, L-오르니틴 또는 L-호모아르기닌이며, 추가의 실시양태에서 Lys 또는 L-호모아르기닌이고, 추가의 또 다른 실시양태에서 Lys이며;
- [0164] X13은 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Val 또는 Ala이며, 추가의 실시양태에서 Val이고;
- [0165] X15는 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Gly 또는 Ala이며, 추가의 실시양태에서 Ala이고;
- [0166] X18은 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Lys, L-오르니틴, L-2,4-다이아미노부티르산 또는 L-2,3-다이아미노프로피온산이며, 추가의 실시양태에서 Lys 또는 L-오르니틴이고, 추가의 또 다른 실시양태에서 Lys이며;
- [0167] X19는 Ala 또는 Leu이고;
- [0168] X22는 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Asp 또는 Glu이며, 추가의 실시양태에서 Asp이고;
- [0169] X23은 임의의 아미노산이며, 일 실시양태에서 Ile 또는 Leu, 추가의 실시양태에서 Ile이고;
- [0170] X24는 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Met, Ile, Nle 또는 Leu이며, 추가의 실시양태에서 Met 또는 Leu이고, 추가의 실시양태에서 Leu이고;
- [0171] X25는 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Ser, Asn, Aib 또는 Ala이며, 추가의 실시양태에서 Ala 또는 Ser이고, 추가의 또 다른 실시양태에서 Ala이며;
- [0172] X26은 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Arg, D-Arg, L-호모아르기닌 또는 Lys이며, 추가의 실시양태에서 Arg 또는 D-Arg이고, 추가의 또 다른 실시양태에서 Arg이며;

- [0173] X27은 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Ala이거나 부재하고;
- [0174] X28은 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Ala이거나 부재하고;
- [0175] X29는 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Arg이거나 부재하고;
- [0176] X30은 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Ala이거나 부재하고;
- [0177] X31은 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Ala이거나 부재하고;
- [0178] X32는 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 Arg이거나 부재하고;
- [0179] X33은 임의의 아미노산이고, 일 실시양태에서 HoSer이거나 부재하고;
- [0180] X18이 Ser인 경우, X27 내지 X32 또는 X27 내지 X33이 존재한다.
- [0181] 본원에 사용되는 용어 "아미노산"은 펩타이드의 합성 유사체를 제조하기 위해 펩타이드 화학에서 사용되는 천연 아미노산 및 다른 아미노산(예를 들면, 천연 아미노산, 비천연 아미노산, 핵산 서열에 의해 코딩되지 않는 아미노산 등)의 L-이성질체 및 D-이성질체 둘 다를 포함한다. 천연 아미노산의 예로는 글라이신, 알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 세린, 트레오닌 등이 있다.
- [0182] 다른 아미노산은 예를 들면 아미노산의 비유전적으로 코딩된 형태 및 L-아미노산의 보존적 치환을 포함한다. 천연 비유전적으로 코딩된 아미노산으로는 예를 들면 베타-알라닌, 3-아미노-프로피온산, 2,3-다이아미노 프로피온산, 알파-아미노아이소부티르산(Aib), 4-아미노-부티르산, N-메틸글라이신(사르코신), 하이드록시프롤린, 오르니틴(예를 들면, L-오르니틴), 시트룰린, t-부틸알라닌, t-부틸글라이신, N-메틸아이소류신, 페닐글라이신, 사이클로헥실알라닌, 노르류신(Nle), 노르발린, 2-나프틸알라닌, 페리딜알라닌, 3-벤조티에닐 알라닌, 4-클로로페닐알라닌, 2-플루오로페닐알라닌, 3-플루오로페닐알라닌, 4-플루오로페닐알라닌, 페니실라민, 1,2,3,4-테트라하이드로-아이소퀴놀린-3-카복실산, 베타-2-티에닐알라닌, 메티오닌 셀록사이드, L-호모아르기닌(Hoarg), N-아세틸 라이신, 2-아미노 부티르산, 2-아미노 부티르산, 2,4-다이아미노부티르산(D- 또는 L-), p-아미노페닐알라닌, N-메틸발린, 호모시스테인, 호모세린(HoSer), 시스테인산, 입실론-아미노 핵산산, 멜타-아미노 발레르산 또는 2,3-다이아미노부티르산(D- 또는 L-) 등을 들 수 있다. 이러한 아미노산은 생화학/펩타이드 화학의 분야에 널리 공지되어 있다.
- [0183] 실시양태에서, 본 발명의 도메인 또는 GRF 유사체는 상기 언급된 도메인 또는 GRF 유사체에 대해 작용상 동등한 아미노산 잔기의 치환을 포함하는 변경된 서열을 갖는 폴리펩타이드를 포함한다. 예를 들면, 서열 내의 하나 이상의 아미노산 잔기는 작용상 동등하게 작용하는 유사한 극성의 (유사한 이화학적 특성을 갖는) 다른 아미노산에 의해 치환되어 침묵 변형을 만든다. 서열 내의 아미노산에 대한 치환은 아미노산이 속하는 부류의 다른 구성원으로부터 선택할 수 있다. 예를 들면, 양으로 하전된 (염기성) 아미노산은 아르기닌, 라이신 및 히스티딘(및 호모아르기닌 및 오르니틴)을 포함한다. 비극성 (소수성) 아미노산은 류신, 아이소류신, 알라닌, 페닐알라닌, 발린, 프롤린, 트리토판 및 메티오닌을 포함한다. 비하전 극성 아미노산은 세린, 트레오닌, 시스테인, 타이로신, 아스파라긴 및 글루타민을 포함한다. 음으로 하전된 (산성) 아미노산은 글루탐산 및 아스파르트산을 포함한다. 아미노산 글라이신은 비극성 아미노산 패밀리 또는 비하전 (중성) 극성 아미노산 패밀리를 포함할 수 있다. 아미노산 패밀리 내에 이루어진 치환은 일반적으로 보존적 치환인 것으로 이해된다.
- [0184] 상기 언급된 도메인 또는 GRF 유사체는 모든 L-아미노산, 모든 D-아미노산 또는 L-아미노산과 D-아미노산의 혼합물을 포함할 수 있다. 일 실시양태에서, 상기 언급된 도메인 또는 GRF 유사체는 적어도 1개의 D-아미노산(예를 들면, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 이상의 D-아미노산)을 포함한다. 일 실시양태에서, 상기 언급된 도메인 또는 GRF 유사체는 적어도 1개의 D-Ala 및/또는 D-Arg 잔기를 포함한다. 일 실시양태에서, 상기 적어도 1개의 D-아미노산은 도메인 또는 GRF 유사체의 N 말단 및/또는 C 말단 부분(예를 들면, 마지막 2개 또는 3개의 N 및/또는 C 말단 잔기 내)에 위치한다. 1개 이상의 D-아미노산의 존재는 통상적으로 프로테아제/펩티다제 분해에 대한 감수성 감소로 인해 (예를 들면, 생체내) 안정성이 증가하지만, 생물학적 활성을 보유하는 펩타이드를 생성시킨다.
- [0185] 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 약제학적으로 허용되는 염과 같은 염 형태이다. 본원에 사용되는 용어 "약제학적으로 허용되는 염"은 모 화합물의 생물학적 활성을 보유하고, 생물학적으로 또는 다른 면에서 바람직한 화합물의 염을 의미한다. 이러한 염을 유사체의 최종 분리 및 정제 동안 제자리 제조하거나, 자유 염기 작용기를 적합한 산과 반응시켜 별도로 제조할 수 있다. 본원에 개시된 많은 GRF 유사체는 아미노 및/또는 카복실기 또는 이와 유사한 기의 존재로 인해 산 및/또는 염기 염을 형성할 수 있다.

- [0186] 약제학적으로 허용되는 산 부가염을 무기 및 유기 산으로부터 제조할 수 있다. 대표적인 산 부가염은 아세테이트, 아디페이트, 알기네이트, 시트레이트, 아스파르테이트, 벤조에이트, 벤젠설포네이트, 비설페이트, 부티레이트, 캄포레이트, 캄퍼설포네이트, 데카노에이트, 다이글루코네이트, 글라이세로포스페이트, 헤미설페이트, 헬타노에이트, 헥사노에이트, 푸마레이트, 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 하이드로요오다이드, 2-하이드록시에탄설포네이트(아이소티오네이트), 락테이트, 말레이트, 메탄설포네이트, 니코티네이트, 2-나프탈렌설포네이트, 오타노에이트, 옥살레이트, 팔미토에이트, 펙티네이트, 퍼설페이트, 3-페닐프로파오네이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로파오네이트, 숙시네이트, 타르트레이트, 티오시아네이트, 포스페이트, 글루타메이트, 바이카보네이트, p-톨루엔설포네이트 및 운데카노에이트를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 무기 산으로부터 유도된 염은 염산, 브롬산, 황산, 질산, 인산 등을 포함한다. 유기 산으로부터 유도된 염은 아세트산, 프로피온산, 글라이콜산, 피루브산, 옥살산, 말산, 말론산, 숙신산, 말레산, 푸마르산, 타르타르산, 시트르산, 벤조산, 신남산, 만델산, 메탄설폰산, p-톨루엔-설폰산, 살리실산 등을 포함한다. 약제학적으로 허용되는 산 부가염을 형성하기 위해 사용될 수 있는 산의 예로는 예를 들면 무기 산, 예를 들면 염산, 브롬산, 황산 및 인산 및 유기 산, 예를 들면 옥살산, 말레산, 숙신산 및 시트르산을 들 수 있다.
- [0187] 카복실산 함유 모이어티를 약제학적으로 허용되는 금속 양이온의 하이드록사이드, 카보네이트 또는 바이카보네이트와 같은 적합한 염기 또는 암모니아 또는 유기 1차, 2차 또는 3차 아민과 반응시킴으로써 염기성 부가염을 또한 제조할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속에 기초한 양이온, 예컨대 리튬염, 나트륨염, 칼륨염, 칼슘염, 마그네슘염 및 알루미늄염 등 및 비독성 4차 암모니아 및 무엇보다도 암모늄, 테트라메틸암모늄, 테트라에틸암모늄, 메틸암모늄, 다이메틸암모늄, 트라이메틸암모늄, 트라이에틸암모늄, 다이에틸암모늄 및 에틸암모늄을 포함하는 아민 양이온을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 염기 부가염 형성에 유용한 다른 대표적인 유기 아민은 예를 들면 에틸렌다이아민, 에탄올아민, 다이에탄올아민, 피페리딘, 피페라진 등을 포함한다. 유기 염기로부터 유도된 염은 1차, 2차 및 3차 아민의 염을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0188] 일 실시양태에서, 화학식 (I) 및/또는 (II)에서, X30 내지 X32는 부재한다. 다른 실시양태에서, X30 내지 X33은 부재한다.
- [0189] 일 실시양태에서, 화학식 (I) 및/또는 (II)에서, X27 내지 X29는 하기와 같다: Ala-Ala-Arg.
- [0190] 다른 실시양태에서, 화학식 (I) 및/또는 (II)에서, X27 내지 X32는 부재한다. 다른 실시양태에서, X27 내지 X33은 부재한다.
- [0191] 다른 실시양태에서, 화학식 (I) 및/또는 (II)에서, X18은 Lys이고, X27 내지 X29, X27 내지 X32 또는 X27 내지 X33은 존재한다. 일 실시양태에서, X27 내지 X32는 하기와 같다: Ala-Ala-Arg-Ala-Ala-Arg(서열 번호 41). 일 실시양태에서, X27 내지 X33은 하기와 같다: Ala-Ala-Arg-Ala-Ala-Arg-HoSer(서열 번호 42).
- [0192] 일 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 상기 정의된 바와 같은 화학식 I 또는 II의 1개의 도메인을 포함한다. 일 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 상기 정의된 바와 같은 화학식 I 또는 II의 2개 이상(예를 들면, 2개, 3개, 4개 또는 5개)의 도메인을 포함한다.
- [0193] 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는, 상기 정의된 화학식 I 또는 II의 도메인 이외에, 상기 도메인의 아미노 및/또는 카복시 말단에 공유 결합된 1개 이상의 아미노산(천연 또는 합성)을 포함할 수 있다. 일 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 상기 정의된 화학식 (I) 또는 (II)의 도메인에 대한 N 및/또는 C 말단에서 25개 까지의 추가의 아미노산을 포함한다. 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 상기 정의된 화학식 (I) 또는 (II)의 도메인의 N 및/또는 C 말단에서 20개, 19개, 18개, 17개, 16개, 15개, 14개, 13개, 12개, 11개, 10개, 9개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개까지의 추가의 포함한다. 일 실시양태에서, 상기 언급된 도메인 또는 GRF 유사체는 약 100개 이하의 잔기, 추가의 실시양태에서 약 90개, 80개, 70개, 60개, 50개, 40개 또는 35개 이하의 잔기를 포함한다. 일 실시양태에서, 상기 언급된 도메인 또는 GRF 유사체는 약 26개의 잔기 내지 약 100개의 잔기를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 도메인 또는 GRF 유사체는 약 26개의 잔기 내지 약 50개의 잔기를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 약 26개의 잔기 내지 약 45개의 잔기를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 약 26개의 잔기 내지 약 40개의 잔기를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 약 26개, 27개, 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개, 34개, 35개, 36개, 37개, 38개 또는 39개의 잔기를 포함한다.
- [0194] 일 실시양태에서, 상기 언급된 도메인 또는 GRF 유사체는 펩티도미메틱(peptidomimetic)이다. 펩티도미메틱은

통상적으로 이의 펩타이드 등가물의 극성, 3차원 크기 및 기능(생물활성)을 보유하지만, 1개 이상의 펩타이드 결합/연결이 대개는 더 안정한 연결에 의해 대체되는 것을 특징으로 한다. 일반적으로, 아마이드 결합을 대체하는 결합(아마이드 결합 대용물)은 많은 또는 모든 아마이드 결합의 특성, 예를 들면 배치, 입체 벌크, 정전 특성, 수소 결합의 가능성 등을 보존한다. 통상적인 펩타이드 결합 대체는 이의 에스터, 폴리아민 및 유도체, 및 치환 알칸 및 알켄, 예컨대 아미노메틸 및 케토메틸렌을 포함한다. 예를 들면, 상기 언급된 도메인 또는 GRF 유사체는 $-\text{CH}_2\text{NH}-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$ $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$ (시스 또는 트랜스), $-\text{CH}_2\text{SO}-$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ 또는 $-\text{COCH}_2-$ 와 같은 연결에 의해 대체된 1개 이상의 펩타이드 연결을 가질 수 있다. 이러한 펩티도미메틱은 더 높은 화학 안정성, 생물학적/약리학적 특성(예를 들면, 반감기, 흡수, 효능, 유효성 등) 증대 및/또는 이의 펩타이드 등가물에 대한 항원성 감소를 가질 수 있다.

[0195] 실시양태에서, GRF 유사체는 상기 정의된 화학식 (I)의 도메인 또는 (II)로 이루어진다.

[0196] 실시양태에서, 상기 언급된 도메인은 하기 서열 중 하나를 포함한다:

[0197] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R(서열 번호 2);

[0198] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r(서열 번호 3);

[0199] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-aib-R(서열 번호 4);

[0200] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r(서열 번호 5);

[0201] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r(서열 번호 6);

[0202] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-S-r(서열 번호 7);

[0203] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 8);

[0204] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 9);

[0205] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 10);

[0206] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 11);

[0207] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R(서열 번호 12);

[0208] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 13);

[0209] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R(서열 번호 14);

[0210] Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 15);

[0211] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 16);

[0212] Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 17);

[0213] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 18);

[0214] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 19)이고;

[0215] a는 D-Ala이고, 0는 L-오르니틴이며, Aib는 α -아미노아이소부티르산이고, HoSer은 = L-호모세린이며, r은 D-Arg이다.

[0216] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 도메인은 하기 서열 중 하나를 포함한다:

[0217] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 8);

[0218] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 9);

[0219] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 10);

[0220] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 11); 또는

[0221] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R(서열 번호 12);

[0222] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 13); 또는

- [0223] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 14)이고,
- [0224] a는 D-Ala^o이다.
- [0225] 실시양태에서, 상기 언급된 도메인은 하기와 같다(또는 하기로 이루어진다):
- [0226] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R(서열 번호 2);
- [0227] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r(서열 번호 3);
- [0228] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-aib-R(서열 번호 4);
- [0229] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r(서열 번호 5);
- [0230] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r(서열 번호 6);
- [0231] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-S-r(서열 번호 7);
- [0232] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 8);
- [0233] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 9);
- [0234] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 10);
- [0235] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 11);
- [0236] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 12);
- [0237] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 13);
- [0238] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 14);
- [0239] Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 15);
- [0240] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 16);
- [0241] Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 17);
- [0242] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer(서열 번호 18);
- [0243] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer(서열 번호 19)이고;
- [0244] a는 D-Ala^o이고, 0는 L-오르니틴이며, Aib는 α-아미노아이소부티르산이고, HoSer은 = L-호모세린이며, r은 D-Arg^o이다.
- [0245] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 도메인은 하기와 같다(또는 하기로 이루어진다):
- [0246] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 8);
- [0247] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 9);
- [0248] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 10);
- [0249] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 11); 또는
- [0250] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 12);
- [0251] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 13); 또는
- [0252] Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 14)이고,
- [0253] a는 D-Ala^o이다.
- [0254] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 도메인은 Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R(서열 번호 8)이다.
- [0255] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 도메인은 Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 9)이다.
- [0256] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 도메인은 Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 10)이다.

A-R(서열 번호 10)(a는 D-Ala임)이다.

[0257] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 도메인은 Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 11)(a는 D-Ala임)이다.

[0258] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 도메인은 Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 12)(a는 D-Ala임)이다.

[0259] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 도메인은 Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 13)이다.

[0260] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 도메인은 Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R(서열 번호 14)이다.

[0261] 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체 또는 도메인의 N 및/또는 C 말단 아미노산은 예를 들면 아마이드화, 아세틸화, 아실화 또는 당해 분야에 공지된 임의의 다른 변형에 의해 변형될 수 있다.

[0262] 따라서, 다른 양태에서, 본 발명은 하기 화학식 (III)의 GRF 유사체 또는 Z1-[화학식 I 또는 II의 도메인]-Z2를 제공한다:

[화학식 (III)]

Z1-X1-X2-Asp-Ala-11e-Phe-Thr-X8-X9-Tyr-X11-X12-X13-Leu-X15-Gln-Leu-X18-X19-Arg-Gln-X22-X23-X24-X25-X26-X27-X28-X29-X30-X31-X32-X33-Z2

[0263] 상기 식 중,

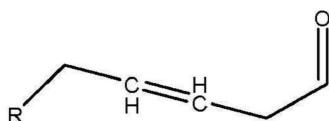
X1, X2, X8, X9, X11 내지 X13, X15, X18, X19 및 X22 내지 X33은 상기 정의된 바와 같고;

[0264] Z1은 아미노 말단 변형이거나 부재하고;

[0265] Z2는 카복시 말단 변형이거나 부재한다.

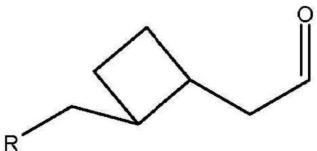
[0266] 일 실시양태에서, GRF 유사체의 아미노 말단 잔기(즉, N 말단에서 자유 아미노 기)는 (예를 들면, 분해에 대해 보호하기 위해) 예를 들면 모이어티/화학 기(Z1)의 공유 결합에 의해 변형된다. 일 실시양태에서, 아미노 말단 변형(Z1)은 C₁-C₁₆ 또는 C₃-C₁₆ 아실 기(선형 또는 분지형, 포화 또는 불포화)이고, 추가의 실시양태에서, 포화 C₁-C₁₆ 아실 기(선형 또는 분지형) 또는 불포화 C₃-C₁₆ 아실 기(선형 또는 분지형)이고, 추가의 실시양태에서 아세틸 기(CH₃-CO-, Ac)이다. 다른 실시양태에서, Z1은 X1에 부착된 1개 이상의 아미노산(예를 들면, 1개 내지 25개의 추가의 아미노산, 예를 들면 20개, 19개, 18개, 17개, 16개, 15개, 14개, 13개, 12개, 11개, 10개, 9개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 아미노산)의 서열이다. 일 실시양태에서, Z1이 부재한 경우, X2는 D-Ala이다.

[0267] 다른 실시양태에서, 아미노 말단 변형(Z1)은 5개 내지 8개의 원자의 골격을 포함하는 소수성 꼬리이고; 이 골격은 C₁-C₆ 알킬, C₃-C₆ 사이클로알킬 또는 C₆-C₁₂ 아릴 C₁-C₆ 알킬, C₃-C₆ 사이클로알킬 또는 C₆-C₁₂ 아릴에 의해 치환될 수 있고, 이 골격은 골격의 적어도 2개의 원자에 연결된 적어도 1개의 강성 모이어티를 포함하고; 강성 모이어티는 이중 결합, 삼중 결합, 포화 또는 불포화 C₃-C₉ 사이클로알킬 또는 C₆-C₁₂ 아릴이다. 추가의 실시양태에서, Z1은



[0271] (i)

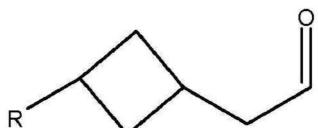
[0272] (여기서, R은 H, CH₃ 또는 CH₂CH₃이고, 이중 결합은 시스 또는 트랜스임);



[0273] (ii)

[0274]

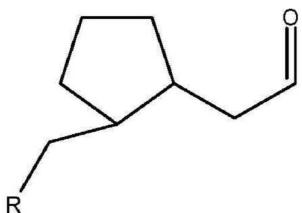
(여기서, R은 H, CH₃ 또는 CH₂CH₃이고, X는 시스 또는 트랜스 배치이고, 상기 GRF 유사체는 라세미체 혼합물 또는 순수한 거울상이성질체임);



[0275] (iii)

[0276]

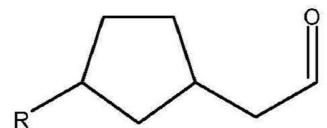
(여기서, R은 H, CH₃ 또는 CH₂CH₃이고, R이 CH₃ 또는 CH₂CH₃일 때, X는 시스 또는 트랜스 배치임);



[0277] (iv)

[0278]

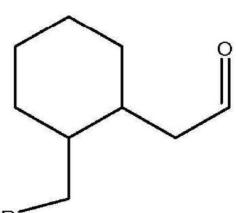
(여기서, R은 H, CH₃ 또는 CH₂CH₃이고, X는 시스 또는 트랜스 배치이고, 상기 GRF 유사체는 라세미체 혼합물 또는 순수한 거울상이성질체임);



[0279] (v)

[0280]

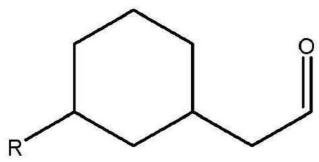
(여기서, R은 H, CH₃ 또는 CH₂CH₃이고, R이 CH₃ 또는 CH₂CH₃일 때, X는 시스 또는 트랜스 배치이고, 상기 GRF 유사체는 라세미체 혼합물 또는 순수한 거울상이성질체임);



[0281] (vi)

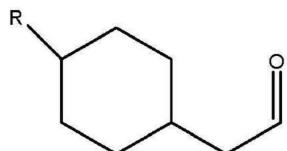
[0282]

(여기서, R은 H, CH₃ 또는 CH₂CH₃이고, X는 시스 또는 트랜스 배치이고, 상기 GRF 유사체는 라세미체 혼합물 또는 순수한 거울상이성질체임);



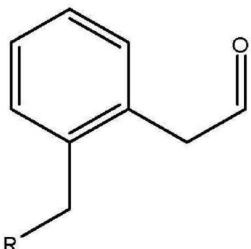
(vii)

[0283] (여기서, R은 H, CH₃ 또는 CH₂CH₃이고, R의 CH₃ 또는 CH₂CH₃일 때, X는 시스 또는 트랜스 배치이고, 상기 GRF 유사체는 라세미체 혼합물 또는 순수한 거울상이성질체임);



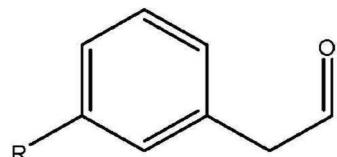
(viii)

[0284] (여기서, R은 H, CH₃ 또는 CH₂CH₃이고, R의 CH₃ 또는 CH₂CH₃일 때, X는 시스 또는 트랜스 배치임);



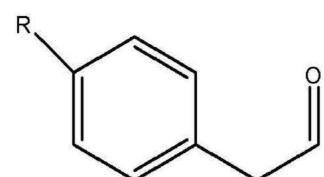
(ix)

[0285] (여기서, R은 H, CH₃ 또는 CH₂CH₃임);



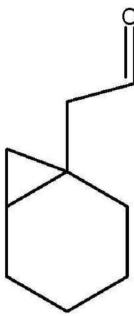
(x)

[0286] (여기서, R은 H, CH₃ 또는 CH₂CH₃임);



(x i)

[0287] (여기서, R은 H, CH₃ 또는 CH₂CH₃임); 또는



[0293] (x ii)

[0294] 이다.

[0295] 일 실시양태에서, 아미노 말단 변형(Z1)은 트랜스-CH₃-CH₂-CH=CH-CH₂-CO 또는 트랜스-3-헥세노일이다.[0296] 일 실시양태에서, GRF 유사체의 카복시 말단 잔기(즉, 펩타이드의 C 말단에서 자유 카복시 기)는 (예를 들면, 분해에 대해 보호하기 위해) 변형된다. 일 실시양태에서, 상기 변형은 아마이드화(NH₂ 기에 의한 OH 기의 대체)여서, 이런 경우에 Z2는 NH₂ 기이다. 추가의 실시양태에서, Z2는 1개 이상의 아미노산(예를 들면, 1개 내지 25개의 추가의 아미노산, 예를 들면 20개, 19개, 18개, 17개, 16개, 15개, 14개, 13개, 12개, 11개, 10개, 9개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 아미노산)의 서열이다.[0297] 본 발명의 GRF 유사체는 프로테아제 내성, 혈장 단백질 결합, 혈장 반감기 증가, 세포내 침투 등과 같은 추가의 생물학적 특성을 부여하는 변형을 추가로 포함할 수 있다. 이러한 변형으로는 예를 들면 GRF 유사체에 대한 지방산(예를 들면, C₆-C₁₈)의 공유 결합, 알부민과 같은 단백질에 대한 부착(예를 들면, 미국 특허 제7,268,113호 참조); 글라이코실화, 바이오티닐화 또는 PEG화(예를 들면, 미국 특허 제7,256,258호 및 제6,528,485호 참조)를 들 수 있다. GRF 유사체의 변형의 상기 설명은 조작될 수 있는 접근법도 가능한 변형의 범위도 제한하지 않는다.

[0298] 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 하기와 같다:

[0299] 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-NH₂(서열 번호 20);[0300] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH₂(서열 번호 21);[0301] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-aib-R-NH₂(서열 번호 22);[0302] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH₂(서열 번호 23);[0303] 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH₂(서열 번호 24);[0304] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-S-r-NH₂(서열 번호 25);[0305] 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 26);[0306] 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 27);[0307] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 28);[0308] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 29);[0309] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 30);[0310] 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 31);[0311] 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 32);[0312] Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 33);

- [0313] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-R-NH₂(서열 번호 34);
- [0314] Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-R-NH₂(서열 번호 35);
- [0315] Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-R-NH₂(서열 번호 36); 또는
- [0316] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-R-NH₂(서열 번호 37)이고;
- [0317] a는 D-Ala이고, 0는 L-오르니틴이며, Aib는 α-아미노아이소부티르산이고, r은 D-Arg이며, HoSer은 = L-호모세린이다.
- [0318] 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 하기와 같다:
- [0319] 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 26);
- [0320] 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-R-NH₂(서열 번호 27);
- [0321] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-R-NH₂(서열 번호 28);
- [0322] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 29);
- [0323] Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 30);
- [0324] 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 31);
- [0325] 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 32)이고,
- [0326] a는 D-Ala이다.
- [0327] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 26)이다.
- [0328] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-R-NH₂(서열 번호 27)이다.
- [0329] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 28)이다.
- [0330] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 29)이다.
- [0331] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 30)이다.
- [0332] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 31)이다.
- [0333] 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 트랜스-3-헥세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH₂(서열 번호 32)이다.
- [0334] 일 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 자연형 서열을 포함하는 GRF 웨타이드(예를 들면, 인간 GRF₍₁₋₄₄₎, GRF₍₁₋₂₉₎, 중간 형태, 예컨대 GRF₍₁₋₄₀₎ 및 이의 N 말단 아실화 및 C 말단 아마이드화 형태)와 유사하거나 이보다 현저히 높은 생물학적 활성 및/또는 효능을 나타낸다. 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 생물학적 활성 및/또는 효능은 생체내 생물학적 활성 및/또는 효능(예를 들면, 생체내 GH 분비 활성 및/또는 효능)이다. 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 자연형 서열을 포함하는 GRF 웨타이드(예를 들면, GRF₍₁₋₂₉₎)보다 현저히 높은(또는 이와 비교하여 현저히 증가된) 생물학적 활성 및/또는 효능을 나타낸다. 이러한 생물학적 활성 및/또

는 효능을 본원에 기재된 마우스 및 래트 모델과 같은 동물 모델에서 측정할 수 있다. 사용되는 현저히 더 높다는 것은 자연형 서열을 포함하는 GRF 웨타이드(예를 들면, GRF₍₁₋₄₄₎, GRF₍₁₋₂₉₎)보다 적어도 2배, 3배, 4배 또는 5배 높은 효능을 의미한다. 다른 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 자연형 서열을 포함하는 GRF 웨타이드(예를 들면, 인간 GRF₍₁₋₄₄₎, GRF₍₁₋₂₉₎, 중간 형태, 예컨대 GRF₍₁₋₄₀₎ 및 이의 N 말단 아실화 및 C 말단 아마이드화 형태)와 유사하거나 이보다 현저히 높은 안정성(예를 들면, 생체내 안정성)을 나타낸다. 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 자연형 GFR 서열(예를 들면, GRF₍₁₋₂₉₎)을 포함하는 GRF 웨타이드보다 현저히 높은(또는 이와 비교하여 현저히 증가된) 생체내 안정성(반감기)을 나타낸다.

[0335]

GRF 유사체를 코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포에서의 발현(재조합 발현) 또는 화학 합성(예를 들면, 고상 웨타이드 합성)에 의해 본 발명의 GRF 유사체를 제조할 수 있다. 당해 분야에 널리 공지된 수동 및 자동 고상 절차에 의해 웨타이드를 용이하게 합성할 수 있다. 예를 들면 "T-boc" 또는 "Fmoc" 절차를 이용하여 적합한 합성을 수행할 수 있다. 고상 합성을 위한 기술 및 절차는 예를 들면 문헌[*Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach*, by E. Atherton and R. C. Sheppard, published by IRL, Oxford University Press, 1989]에 기재되어 있다. 대안적으로, 예를 들면 문헌[Liu *et al.*, *Tetrahedron Lett.* **37**: 933-936, 1996; Baca *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **117**: 1881-1887, 1995; Tarn *et al.*, *Int. J. Peptide Protein Res.* **45**: 209-216, 1995; Schnolzer and Kent, *Science* **256**: 221-225, 1992; Liu and Tarn, *J. Am. Chem. Soc.* **116**: 4149-4153, 1994; Liu and Tarn, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**: 6584-6588, 1994; 및 Yamashiro and Li, *Int. J. Peptide Protein Res.* **31**: 322-334, 1988)]에 기재된 바대로 분절 농축에 의해 웨타이드를 제조할 수 있다. 웨타이드를 합성하기에 유용한 다른 방법은 문헌[Nakagawa *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **107**: 7087-7092, 1985]에 기재되어 있다.

[0336]

유전자 코드에 의해 코딩된 천연 아미노산을 포함하는 웨타이드 및 웨타이드 유사체를 표준 방법을 이용하는 재조합 DNA 기술을 이용하여 또한 제조할 수 있다. 재조합 기술에 의해 제조된 웨타이드를 당해 분야에 널리 공지된 방법을 이용하여 변형(예를 들면, N 말단 아실화[예를 들면, 아세틸화], C 말단 아마이드화)할 수 있다. 따라서, 실시양태에서, 본원에 기재된 GRF 유사체가 유전자 코드에 의해 코딩된 천연 아미노산을 포함하는 경우에, GRF 유사체를 재조합 방법을 이용하여 제조할 수 있고, 실시양태에서 대부분을 예를 들면 바로 언급된 변형(예를 들면, 아실화, 아마이드화)으로 처리할 수 있다. 따라서, 다른 양태에서, 본 발명은 상기 언급된 도메인 또는 GRF 유사체를 코딩하는 핵산을 추가로 제공한다. 본 발명은 또한 상기 언급된 핵산을 포함하는 벡터를 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 발명은 상기 언급된 핵산 및/또는 벡터를 포함하는 세포(예를 들면, 숙주 세포)를 제공한다. 본 발명은 당해 분야에 널리 공지된 예를 들면 배양 배지, 제조, 분리 및 정제 방법을 이용하여 본 발명의 웨타이드 또는 GRF 유사체의 발현/제조를 위한 재조합 발현 시스템, 벡터 및 숙주 세포, 예컨대 상기 기재된 것을 추가로 제공한다.

[0337]

역상 크로마토그래피, 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC), 이온 교환 크로마토그래피, 크기 배제 크로마토그래피, 친화도 크로마토그래피, 겔 전기영동 등과 같은 당해 분야에 널리 공지된 모든 웨타이드 정제 기술에 의해 본 발명의 GRF 유사체를 정제할 수 있다. 특정한 웨타이드 또는 웨타이드 유사체를 정제하기 위해 사용되는 실제 조건은, 부분적으로, 합성 전략 및 순전하, 소수화도, 친수화도 등과 같은 인자에 따라 달라지고, 당해 분야의 당업자에게 명확할 것이다. 친화도 크로마토그래피 정제를 위해, 웨타이드 또는 웨타이드 유사체를 특이적으로 결합하는 임의의 항체를 예를 들면 사용할 수 있다.

[0338]

일 실시양태에서, 상기 언급된 GRF 유사체는 실질적으로 순수하다. 화합물이 천연에서 이를 동반하는 성분으로부터 분리될 때 이 화합물은 "실질적으로 순수하다". 통상적으로, 화합물은 샘플 중의 총 재료의 적어도 60중량%, 더 일반적으로 75중량%, 80중량% 또는 85중량%, 바람직하게는 90중량% 초과, 더 바람직하게는 95중량% 초과 일 때 실질적으로 순수하다. 따라서, 예를 들면, 화학적으로 합성되거나 재조합 기술에 의해 제조된 폴리웨타이드는 일반적으로 이의 천연에서 관련된 성분이 실질적으로 없다. 핵산 분자는 본 발명의 DNA가 유도되는 유기체의 천연 계놈에서 보통 인접한 코딩 서열과 바로 인접하지(즉, 이에 공유 결합되지) 않을 때 실질적으로 순수하다. 예를 들면, 천연물로부터 추출에 의해; 폴리웨타이드 화합물을 코딩하는 재조합 핵산 분자의 발현에 의해; 또는 화학 합성에 의해 실질적으로 순수한 화합물을 얻을 수 있다. 칼럼 크로마토그래피, 겔 전기영동, HPLC 등과 같은 임의의 적절한 방법을 이용하여 순도를 측정할 수 있다.

[0339]

다른 양태에서, 본 발명은 상기 언급된 GRF 유사체를 포함하는 조성물(예를 들면, 약제학적 조성물)을 제공한다. 일 실시양태에서, 상기 조성물은 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 및/또는 희석제를 추가로 포함한다.

- [0340] 본원에 사용되는 "약제학적으로 허용되는"(또는 "생물학적으로 허용되는")은 생체내 독성 또는 부정적인 생물학적 효과의 부재(또는 제한)를 특징으로 하는 재료를 의미한다. 이는 합당한 의학적 판단의 범위 내에 있고, 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 또는 다른 문제점 또는 합병증 없이 피험체(예를 들면, 인간, 동물)의 생물학적 유체 및/또는 조직 및/또는 장기와 접촉하기에 적합하고, 합당한 이익/위험 비에 해당하는 화합물, 조성물 및/또는 제형을 의미한다.
- [0341] 용어 "약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 및/또는 희석제"는 약제학적 조성물의 제조에서 통상 사용되는 첨가제를 의미하고, 예를 들면, 용매, 분산 매질, 식염수액, 계면활성제, 가용화제, 활력제, 유화제, 코팅, 항박테리아제 및 항진균제, 퀼레이트화제, pH 조정제, 수딩제, 완충제, 환원제, 항산화제, 등장제, 흡수 지연제 등(예를 들면, 문헌[Rowe et al., *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Pharmaceutical Press; 6th edition, 2009] 참조)을 포함한다.
- [0342] 본 발명의 GRF 유사체를 정맥내, 경구, 경피, 복강내, 피하, 점막, 근육내, 비강내, 폐내, 비경구 또는 국소 투여와 같은 임의의 종래 경로를 통한 투여를 위해 제제화할 수 있다. 이러한 제제의 제조는 당해 분야에 널리 공지되어 있다(예를 들면, 문헌[Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, Lippincott Williams & Wilkins; 21st edition, 2005] 참조).
- [0343] 본 발명의 GRF 유사체 및 조성물은 피험체에서 GH 분비를 유도하거나 자극하는 데 유용할 수 있다.
- [0344] 따라서, 다른 양태에서, 본 발명은 성장 호르몬 분비의 유도 또는 증가를 필요로 하는 피험체에서 성장 호르몬 분비를 유도하거나 증가시키는 방법으로서, 상기 방법은 유효량의 상기 언급된 GRF 유사체 또는 상기 언급된 약제학적 조성물을 상기 피험체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0345] 다른 양태에서, 본 발명은 피험체에서 성장 호르몬 분비를 유도하거나 증가시키기 위한 상기 언급된 GRF 유사체 또는 상기 언급된 약제학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0346] 다른 양태에서, 본 발명은 피험체에서 성장 호르몬 분비를 유도하거나 증가시키기 위한 약제의 제조를 위한 상기 언급된 GRF 유사체 또는 상기 언급된 약제학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0347] 다른 양태에서, 본 발명은 피험체에서 성장 호르몬 분비를 유도하거나 증가시키기 위한 약제의 제조를 위한 상기 언급된 GRF 유사체 또는 상기 언급된 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0348] 다른 양태에서, 본 발명은 피험체에서 성장 호르몬 분비를 유도하거나 증가시키기 위한 상기 언급된 GRF 유사체 또는 상기 언급된 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0349] 용어 "자극하는", "증가시키는" 또는 "유도하는" 또는 본원에 사용되는 이러한 용어의 임의의 변형어는 생물학적 활성의 측정 가능한 증가를 의미한다. 실시양태에서, 이 증가는 대조군에 비해 적어도 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 90%, 95%, 100%(2배), 200%(3배)의 생물학적 활성의 증가이다. 예를 들면, GRF 유사체는 GRF 유사체를 투여되지 않은 피험체와 비교하여 피험체(예를 들면, 동물, 인간)에게 GRF 유사체를 투여한 후 GH 수치 증가를 측정할 때 GHRHr 활성을 자극하는 것으로 밝혀졌다.
- [0350] 이의 GHRHr 효현체 활성 및 GH 방출 특성의 관점에서, 본 발명의 GRF 유사체 및 조성물은 예를 들면 GRF 및/또는 GH 기능과 관련되는 병증/질병/질환의 치료 또는 예방을 위해 GH/IGF-1 분비 자극이 바람직한(예를 들면, GH 및/또는 GHRH 기능 감소가 질환/질병의 병인학에 관여되는) 예방학적 및/또는 치료학적 용도를 위한 약제로서 유용할 수 있다. GH, GRF 또는 GRF 유사체/유도체의 투여가 이익을 줄 수 있는 질환 및 병증이 당해 분야에 광범위하게 기재되어 있다(예를 들면, WO 2009/009727, WO 2006/042408, WO 2005/037307, WO 2004/105789 참조). 이러한 병증/질병/질환으로는 예를 들면 지방 축척과 관련된 증후군, 고콜레스테롤혈증, 비만, X 증후군, 지방비후증, 지방조직위축증, 지방이영양증(예를 들면, HIV 관련 지방이영양증 증후군), 인지 기능 손상, 낮시간 불면증 손상, 면역계 기능 감소(예를 들면, 면역결핍, 예컨대 T 세포 결핍증), 근육 단백질 이화작용, 근육 소모와 관련된 질환/병증 예컨대 근육감소증, 허약함, (예를 들면, HIV 감염 및 암 환자에서의) 방사선치료 및/또는 화학치료 관련 부작용, (예를 들면, 암 환자에서의) 악액질, 시상하부 뇌하수체 소인증, 화상, 골다공증, 신부전, 불유함 골 골절, 급성/만성 쇠약 질병 또는 감염, 상처 치유, 수술후 장애, 수유 실패, 여성의 불임, 신경변성 병증, GRF 수용체 의존성 종양, 노화와 관련된 병증, 수면 질병/손상을 들 수 있다.
- [0351] 따라서, 다른 양태에서, 본 발명은 (1) 예를 들면 노화와 관련된 병증에서의 낮시간 불면증 및/또는 인지 기능, 중등도 인지 장애(mild cognitive impairment: MCI), 알츠하이머증 증상(개시전 알츠하이머), 치매 및/또는 수

면 장애(예를 들면, 나이 관련 수면 장애)를 자극하는 방법, (2) 지방 축척과 관련된 대사 장애 및/또는 고콜레스테롤혈증(비만, 복부 비만/지방파다, 대사 질병을 수반한 복부 비만, 상대적 GH 결핍증을 수반된 복부 비만, 대사 증후군 또는 X 증후군, 지방비후증, 지방조직위축증, 지방이영양증(예를 들면, HIV 관련 지방이영양증 증후군), 이상지질혈증, 고중성지방혈증)을 개선/예방/치료하는 방법, (3) 특히 노인 피험체에서의 급성 또는 만성 신부전(예를 들면, 급성 또는 만성 신부전 소모), 만성 심부전(예를 들면, 만성 심부전 소모), 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD), 낭포성 심유증(예를 들면, 성인에서의 낭포성 심유증 소모), 허약함, 화상, 감염(폐렴증), 근육성 이영양증, 율혈성 심부전, 신경변성 병증(알츠하이머, 알츠하이머증 증후군, 근위축성 축삭경화증(amyotrophic lateral sclerosis: ALS), AIDS, 단백질 영양실조 이후의 장기간 코르티코스테로이드 치료, 이후의 불유합 골 골절, 엉덩이 골절, 외상 또는 대수술(수술후 장애), 골다공증, 장기간 기동장애, 암 관련 악액질, 근육감소증(예를 들면, 나이 관련 근육감소증), GI 흡수장애(단장 증후군(Short Bowel Syndrome: SBS), 크론병)에서 관찰되는 것과 같은 이화/소모 병증에서의 동화작용을 개선하는, 예를 들면 근육량 및/또는 기능을 증가시키는 방법, (4) 노화와 관련된 것과 같은 면역결핍 상태(예를 들면, T 세포 면역결핍)의 면역 기능 또는 재구성, HIV 감염/AIDS 또는 (HIV 감염 및 암 환자에서의) 이후의 고용량 화학치료 및/또는 방사선치료를 개선하는 방법, (5) 지질 매개변수를 변경((a) 콜레스테롤 감소; (b) 비-HDL 콜레스테롤 감소; (c) 트라이글리세라이드 감소; 및/또는 (d) 총 콜레스테롤/HDL 콜레스테롤 비 감소)하는 방법; (6) 신체 조성물 매개변수를 변경 ((a) 제지방 질량 증가; (b) 체간 지방 감소; (c) 내장 지방 감소; (d) 복부 둘레 감소; (e) 내장 지방 조직(VAT) 감소; 및/또는 (f) VAT/피하 지방 조직(SAT) 비 감소)하는 방법, (7) (여성에서의) 생식력을 증대시키거나 불임을 치료하거나, 수유 실패를 치료하는 방법, (8) GH 결핍증(예를 들면, 복부 비만을 수반한 GH 결핍증)을 치료하고, 예를 들면 성인에서의 GH 대체 치료를 제공하고, 특발성 저신장(idiopathic short stature: ISS)을 치료하는 방법, (9) GRF 수용체 관련 종양을 치료하는 방법, (10) 시상하부 뇌하수체 소인증을 치료하는 방법, (11) 상처 치유를 개선하는 방법, (12) 화상을 치료하는 방법, (13) 급성/만성 쇠약 질병 또는 감염을 치료하는 방법 및/또는 (14) 골 형성 결핍 또는 감소를 특징으로 하는 병증(예를 들면, 골다공증)을 예방/치료하는 방법을 제공하고; 상기 방법은 유효량의 상기 언급된 GRF 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 상기 언급된 GRF 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 (예를 들면, 약제학적으로 허용되는 담체/부형제와 함께) 포함하는 조성물을 이를 필요로 하는 피험체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0352]

다른 양태에서, 본 발명은 상기 언급된 병증, 질환 또는 질병을 개선하고, 예방하고/하거나 치료하기 위한, 또는 상기 언급된 병증, 질환 또는 질병을 개선하고, 예방하고/하거나 치료하기 위한 약제의 생성/제조를 위한, 상기 언급된 GRF 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 상기 언급된 GRF 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 (예를 들면, 약제학적으로 허용되는 담체/부형제와 함께) 포함하는 조성물의 용도를 제공한다. 다른 양태에서, 본 발명은 상기 언급된 병증, 질환 또는 질병의 개선, 예방 및/또는 치료에서 사용하기 위한, 또는 상기 언급된 병증, 질환 또는 질병을 개선하고, 예방하고/하거나 치료하기 위한 약제의 생성/제조를 위한, 상기 언급된 GRF 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 상기 언급된 GRF 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 (예를 들면, 약제학적으로 허용되는 담체/부형제와 함께) 포함하는 조성물을 제공한다.

[0353]

본원에 사용되는 용어 "치료" 또는 "치료하는"은, 질병/질환 및/또는 질병/질환의 증상의 치료, 치유, 완화, 경감, 변경, 구제, 회복, 개선, 진행 감소 또는 영향의 목적으로, 피험체에 대한 상기 언급된 GRF 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 상기 언급된 조성물의 도포 또는 투여, 또는 질병, 질환, 질병 또는 질환의 증상을 갖는 피험체로부터 분리된 조직 또는 세포주에 대한 상기 언급된 GRF 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 상기 언급된 조성물의 도포 또는 투여로서 정의된다. 일 실시양태에서, 치료는 혈당 조절에 영향이 없거나 실질적으로 영향이 없다(예를 들면, 임상적으로 현저한 효과 없음).

[0354]

본원에 사용되는 용어 "예방" 또는 "예방하는"은, 질환/질병 또는 증상의 개시/출현 전에 투여할 때 질환/질병 또는 증상을 예방하거나 이의 개시를 지연시키거나, 질환/질병 또는 증상의 중증도를 감소시키고자 하는 목적으로, 피험체에 대한 상기 언급된 GRF 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 상기 언급된 조성물의 도포 또는 투여, 또는 (질병/질환에 대한 소인을 갖거나 질병/질환이 진행할 위험이 있는) 피험체로부터 얻은 분리 조직 또는 세포주에 대한 상기 언급된 GRF 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 상기 언급된 조성물의 도포 또는 투여로서 정의된다.

[0355]

"유효량"은 원하는 생물학적 활성(예를 들면, GH 분비 유도) 및/또는 예방학적/치료학적 결과(예를 들면, 상기 언급된 질환/질병의 예방 및/또는 치료)를 성취하기 위해 필요한 기간 동안 및 용량에서 효과적인 양을 의미한다. "치료학적 유효량"은 치료 상황에서의 유효량을 의미하고; "예방학적 유효량"은 예방 상황에서의 유효량을

의미한다. 유효량의 본 발명의 화합물은 개인의 질환 상태, 나이, 성별 및 체중과 같은 인자 및 개인에서 원하는 반응을 유발하는 화합물의 능력에 따라 달라질 수 있다. 최적 예방학적/치료학적 반응을 제공하기 위해 용량 요법을 조정할 수 있다. 유효량은 또한 예방학적/치료학적으로 이로운 효과가 화합물의 임의의 독성 또는 해로운 효과를 능가하는 양이다. 임의의 특정한 피험체의 경우, 개인 필요 및 조성물을 투여하거나 조성물의 투여를 감독하는 사람의 전문적 판단에 따라 구체적인 용량 요법을 조정할 수 있다. 일 실시양태에서, GRF 유사체를 약 0.01mg 내지 약 30mg, 추가의 실시양태에서 약 0.1mg 내지 약 20 또는 25mg, 추가의 실시양태에서 약 0.5mg 내지 약 20mg, 추가의 실시양태에서 약 1mg 내지 약 20mg의 1일 용량으로 투여한다.

[0356] 본 발명의 GRF 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 조성물은 정맥내, 경구, 경피, 복강내, 피하, 점막, 근육내, 비강내, 폐내, 비경구 또는 국소와 같은 임의의 종래 경로에 의해 투여되거나 이의 투여를 위한 것일 수 있다. 일 실시양태에서, GRF 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은 피하 경로에 의해 투여되거나 이의 투여를 위한 것이다. 다른 실시양태에서, GRF 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은 (예를 들면, 경피 패치와 같은 경피 전달 시스템을 사용하는) 경피 경로에 의해 투여되거나 이의 투여를 위한 것이다. 따라서, 다른 양태에서, 본 발명은 상기 언급된 GRF 유사체(또는 이의 약제학적으로 허용되는 염) 또는 약제학적 조성물을 포함하는 경피 전달 시스템, 예컨대 경피 패치를 제공한다. 경피 전달을 위한 방법 및 시스템은 당해 분야에 널리 공지되어 있고 예를 들면 문헌 [Transdermal Drug Delivery, Second Edition, Marcel Dekker Inc., New York, 2003 및 Transdermal and Topical Drug Delivery, Adrian C Williams, Pharmaceutical Press, 2003]에 기재되어 있다. 다른 실시양태에서, GRF 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은 경구 경로에 의해 투여되거나 이의 투여를 위한 것이다. 일 실시양태에서, GRF 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은 비강 경로에 의해 투여되거나 이의 투여를 위한 것이다.

[0357] 일 실시양태에서, 상기 언급된 예방 및/또는 치료는 하나 이상의 추가의 활성/치료 물질과 병용되는 상기 언급된 GRF 유사체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 조성물의 투여를 포함한다. 예방/치료 물질 및/또는 조성물의 복합제를 임의의 종래 제형으로 투여하거나 동시 투여할 수 있다(예를 들면, 연속, 동시, 다른 시간에). 본 발명에 있어서 동시 투여는 개선된 임상 결과를 성취하기 위해 조직화된 치료 과정에서 하나 초과의 치료제의 투여를 의미한다. 이러한 동시 투여는 또한 동연(coextensive)일 수 있고, 즉 중첩하는 시간 동안 발생한다. 예를 들면, 제2 활성 물질을 투여하기 전에, 부수적으로, 전에 및 후에 또는 후에 제1 물질을 환자에게 투여할 수 있다. 상기 물질은 일 실시양태에서 단일 조성물에서 배합/제제화되고 동시에 투여될 수 있다. 일 실시양태에서, 본 발명의 하나 이상의 활성제(들)는 당해 질병을 예방하거나 치료하기 위해 현재 사용되는 하나 이상의 활성제(들)와 병용되어 사용/투여된다.

[0358] 본원에 사용되는 용어 "피험체" 또는 "환자"는 고양이, 개, 마우스, 기니아 피그, 말, 소, 돼지 및 인간과 같은 온혈 포유동물을 의미하도록 취해진다. 일 실시양태에서, 피험체는 포유동물이다. 추가의 실시양태에서, 상기 언급된 피험체는 인간이다.

본 발명을 실행하기 위한 방식(들)

[0360] 본 발명은 하기 비제한적인 실시예에 의해 추가로 상세히 예시되어 있다.

[0361] 하기 약어가 본원에서 사용된다:

[0362] DMF: N,N-다이메틸포름아마이드

[0363] DIEA: 다이아이소프로필에틸아민

[0364] HCTU: [2-(6-클로로-1H-벤조트라이아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸아미늄 혼사플루오로포스페이트]

[0365] COMU: (1-사이아노-2-에톡시-2-옥소에틸리덴아미노옥시)다이메틸아미노-모르폴리노-카르베늄 혼사플루오로포스페이트(COMU)

[0366] TFA: 트라이플루오로아세트산

[0367] MALDI-TOF: 기질 보조 레이저 탈착/이온화 질량 분광법

[0368] HPLC: 고성능 액체 크로마토그래피

[0369] BHA: 벤즈하이드릴아민 수지

[0370] Pbf: 2,2,4,6,7-펜타메틸다이하이드로벤조퓨란-5-설포닐

- [0371] Boc: *t*-부톡시카보닐
- [0372] *t*-Bu: *t*-부틸
- [0373] Trt: 트라이틸
- [0374] Aib: α -아미노아이소부티르산
- [0375] O: L-오르니틴
- [0376] Ac: 아세틸
- [0377] HoArg: L-호모아르기닌
- [0378] HoSer: L-호모세린
- [0379] a: D-알라닌
- [0380] r: D-아르기닌
- [0381] 본원에 걸쳐, 천연 아미노산은 한글자 또는 세글자 코드(이들 사이의 관련성에 대해 하기 표 1 참조)를 사용하여 상호교환으로 지칭된다.

표 1

아미노산, 한글자 및 세글자 코드

아미노산	세글자 코드	한글자 코드
알라닌	Ala	A
아르기닌	Arg	R
아스파라긴	Asn	N
아스파르트산	Asp	D
사이스테인	Cys	C
글루타민	Gln	Q
글루탐산	Glu	E
글라이신	Gly	G
히스티딘	His	H
아이소류신	Ile	I
류신	Leu	L
라이신	Lys	K
메티오닌	Met	M
페닐알라닌	Phe	F
프롤린	Pro	P
세린	Ser	S
트레오닌	Thr	T
트립토팝	Trp	W
타이로신	Tyr	Y
팔린	Val	V

[0382]

[0383] 실시예 1: 재료 및 방법

[0384] GRF 유사체의 합성 및 제조.

[0385] 고상 합성

[0386] 0.75mmol/g의 로딩으로 적절한 측쇄 보호를 갖는 플루오레닐메톡시카보닐 보호 알파-아미노산 및 벤즈하이드릴 아민(BHA) 수지(바햄 아게(BACHEM AG))를 사용하여 수동 또는 자동 고상 웹타이드 합성 접근법을 이용하여 본 발명의 GRF 유사체를 제조하였다. 아미노산, 6-아미노헥산산 및 링크(Rink) 링커를 수지에 커플링하기 전에, Fmoc-[9H-플루오렌-9-일메톡시카보닐] 보호 아미노산을 N,N-다이메틸포름아마이드(DMF) 중의 [2-(6-클로로-1H-벤조트라이아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸아미늄 혼사플루오로포스페이트](HCTU) 또는 (1-사이아노-2-에톡시-2-옥소에틸리덴아미노옥시)다이메틸아미노-모르폴리노-카르베늄 혼사플루오로포스페이트(COMU) 및 다이아이소프로필에틸아민(DIEA)을 사용하여 약 1시간 동안 커플링하였다. 약 0.5시간 동안 DMF 중의 20%(v/v) 피페리딘을 사용하여 Fmoc 탈보호를 수행하였다. 아세트산 무수물 및 DIEA를 사용하여 아세틸로 본 발명의 웹타이드를 N 캡

평하기 위한 일반적인 절차를 수행하였다. 합성 완료 후, 웨타이드를 동시에 측정 탈보호하면서 고상 지지체로부터 분해하였다. 미정제 선형 웨타이드를 0.1% 트라이플루오로아세트산(TFA) 중의 아세토나이트릴 구배를 이용하여 C18-칼럼 위의 분취용 RP-HPLC에 의해 추가로 정제하였다. 웨타이드를 진공 건조하여 아세토나이트릴을 제거하고 0.1% TFA로부터 동결건조하였다. 분석용 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)에 의해 순도를 평가하고 보이저(Voyager)(상표명) 장치(퍼셉티브 바이오시스템즈 인크(PerSeptive Biosystems Inc.))를 사용하여 기질 보조 레이저 탈착/이온화 질량 분광법(MALDI-TOF MS) 분석에 의해 질량을 결정하였다.

[0387] 본 발명의 GRF 유사체의 활성 결정.

알칼리 포스파타제(AP) 검정

인간 GRF 수용체 및 알칼리 포스파타제 수용체 유전자를 발현하도록 안정하게 형질감염된 베이비 햄스터 신장(baby hamster kidney: BHK) 세포에서 대표적인 GRF 웨타이드의 활성을 시험하였다. 세포를 0.5×10^5 개의 세포/웰의 농도로 96웰 플레이트 내에서 자극 전에 24시간 동안 배양하였다. 자극 전에, 세포를 DPBS로 2회 세척하고 검정 완충제(20mM HEPES 및 1% 열 불활성화 소 태아 혈청(FBS)이 보충된 페놀 레드가 없는 DMEM) 중에 10 내지 30분 동안 항온처리하였다. 10^{-5} M 내지 10^{-11} M의 웨타이드 농도로 24시간 동안 GRF 웨타이드의 용량 반응 곡선을 만들었다. 상청액을 수집하고 어플라이드 바이오시스템즈(Applied Biosystems)로부터 얻은 알칼리 포스파타제 검출 키트를 사용하여 알칼리 포스파타제 수치 분석을 수행하였다.

마우스에서의 GRF 유사체 투여 및 샘플 수집

CD-1 마우스(암컷, 20 내지 25g의 체중)를 샤를 리버 인크(Charles River Inc)로부터 얻었다. 동물 관리에 대한 캐나다 위원회(Canadian Council)의 실험 동물의 관리 및 사용에 대한 가이드(Guide for the Care and Use of Experimental Animals)의 원칙과 함께 동물 관리 위원회(Animal Care Committee)의 프로토콜에 따라 동물을 사용하였다. 12:12 광:암 사이를 하에 표준 실험실 음식에서 동물을 유지시켰다. 이 동물을 우리마다 4마리의 마우스의 군으로 가뒀다.

실험 일자에, 마우스에게 GRF 유사체(pH 5에서 20mM 아세트산나트륨(AcONa) + 5% 만니톨 중에 용해된 마우스당 10 μ g)를 피하 주사하였다. 주사 10분 후, 마우스를 아이소플루란으로 마취시켰다. 심장내 천공에 의해 혈액 샘플(500 μ l)을 얻었다. 혈액을 K₂EDTA로 전처리된 마이크로테이너(microtainer)에 위치시키고 2분 동안 13,000RPM에서 데스크탑 원심분리기에서 즉시 원심분리하였다. 혈장을 수집하고 스크류캡 에펜도르프™(Eppendorf™) 관에 위치시키고 액체 질소 중에 신속히 냉동시켰다. 이후, 평가하기까지 샘플을 -80°C에서 유지시켰다. 하기 기재된 바대로 GH 수치 결정을 수행하였다.

래트에서의 GRF 유사체 투여 및 샘플 수집

스프래그-다우리(Sprague-Dawley) 래트(암컷, 250 내지 300g의 체중)를 샤를 리버 인크로부터 얻었다. 동물 관리에 대한 캐나다 위원회의 실험 동물의 관리 및 사용에 대한 가이드의 원칙과 함께 동물 관리 위원회의 프로토콜에 따라 동물을 사용하였다. 12:12 광:암 사이를 하에 표준 실험실 음식에서 동물을 유지시켰다. 이 동물을 우리마다 4마리의 마우스의 군으로 가뒀다.

동물을 아이소플루란 2.5%으로 마취시켰다. 목을 약간 절개하여 경동맥을 노출시켰다. 경동맥에 폴리프로필렌관(PE-50)을 삽입하여 혈액이 배출되게 하였다. 수술 준비 후, 래트에 GRF 유사체(pH 5에서 20mM AcONa + 5% 만니톨 중에 용해된 마우스당 10 μ g)를 피하 주사하였다. 약동학적 연구를 위해, 시점마다 군마다 4마리 내지 8마리의 동물로부터 혈액 샘플(400 μ l)을 수집하였다. 약물 주사 후 0, 10, 20, 30, 45 및 60분에서 경동맥 카테터를 통해 혈액 샘플(400 μ l)을 수집하였다. 혈액을 K₂EDTA로 전처리된 마이크로테이너에 위치시키고 2분 동안 13,000RPM에서 데스크탑 원심분리기에서 즉시 원심분리하였다. 혈장을 수집하고 스크류캡 에펜도르프(상표명) 관에 위치시키고 액체 질소 중에 신속히 냉동시켰다. 이후, 평가하기까지 샘플을 -80°C에서 유지시켰다. 하기 기재된 바대로 GH 수치 결정을 수행하였다.

혈장 샘플에서의 GH 수치 결정

래트 및 마우스 혈장 샘플을 조심스럽게 와류시키고 4°C에서 2분 동안 9,000RPM에서 원심분리하였다. 밀리포어(Millipore)(카탈로그 EZRMGH-45K호)로부터 얻은 래트/마우스 성장 호르몬 ELISA 키트로부터 GH 수치의 용량을 수행하였다. 샘플 상청액을 처음에 GH ELISA 검정 완충제로 20배 희석하고, 이 희석액 10 μ l를 90 μ l의 GH EIA 검정 완충제와 함께 ELISA 플레이트에 첨가하였다. 남은 절차를 제조업자의 지시에 따라 수행하고, 그래프패드 프

리즘(GraphPad Prism)(상표명) 소프트웨어를 사용하여 데이터를 얻었다.

[0398] **실시예 2: GRF 유사체의 GHRHr 효율적 활성**

인간 GHRHr을 발현하는 베이비 햄스터 신장(BHK) 세포에서 대표적인 GRF 유사체의 실험실내 활성을 시험하였다. 결과가 표 2에 제시되어 있다.

표 2

알칼리 포스파타제(AP) 유도에 의해 평가된 본원에 기재된 대표적인 GRF 유사체의 EC₅₀

서열	EC ₅₀ (nM)	SD	N
Ac-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-K-L-L-Q-D-I-L-S-R-NH ₂ (서열 번호 43) (N 말단 아세틸화, C 말단 아미드화, Asp(8)로 치환된 Asn(8), Ala(15)로 치환된 Gly(15) 및 Leu(27)로 치환된 Met(27)을 갖는 GRF ₁₋₂₉)	0.25	0.78	13
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-M-S-R-NH ₂ (서열 번호 44)	9.73	1.41	3
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-NH ₂ (서열 번호 45)	7.55	4.09	3
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (서열 번호 46)	15.1	4.38	3
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-NH ₂ (서열 번호 20)	0.98	0.50	3
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (서열 번호 21)	2.47	0.81	2
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-aib-R-NH ₂ (서열 번호 22)	0.72	0.00	1
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (서열 번호 23)	1.14	0.46	3
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (서열 번호 24)	1.18	0.90	3
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-S-r-NH ₂ (서열 번호 25)	2.35	0.00	1
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-R-NH ₂ (서열 번호 26)	0.13	0.00	1
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (서열 번호 27)	0.19	0.07	3
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-R-NH ₂ (서열 번호 28)	0.11	0.14	14
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (서열 번호 29)	0.08	0.00	1
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (서열 번호 30)	0.18	0.03	3
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (서열 번호 31)	0.10	0.04	4
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-NH ₂ (서열 번호 32)	0.11	0.07	4
Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (서열 번호 33)	0.25	0.00	1
Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (서열 번호 34)	0.20	0.04	4
Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (서열 번호 35)	2.52	0.67	2
Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH ₂ (서열 번호 36)	0.20	0.03	5
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH ₂ (서열 번호 37)	0.20	0.00	1

Ac: 아세틸
a: D-알라닌
r: D-아르기닌
Aib: 아미노 아이소부티르산
O: L-오르니틴
HoSer: L-호모세린
SD: 표준 편차
N: 실험수

[0400]

[0401] **실시예 3: GRF 유사체의 GH 방출 특성**

암컷 마우스 및 래트에서 GH 방출을 유도하는 능력에 대해 본원에 기재된 GRF 유사체를 시험하였다. N 말단 아세틸화, C 말단 아마이드화, Asp(8)로 치환된 Asn(8), Ala(15)로 치환된 Gly(15) 및 Leu(27)로 치환된 Met(27)을 갖는 자연형 GRF₍₁₋₂₉₎ 펫타이드의 유사체(서열 번호 43)에 의해 유도된, 자연형 GRF₍₁₋₂₉₎보다 더 활성인, GH 방출을 비교를 위해 동시에 또한 측정하였다. 데이터가 표 3(마우스) 및 표 4 및 표 5(래트)에 제시되어 있다.

표 3

본원에 기재된 대표적인 GRF 유사체의 투여에 반응하는 암컷 마우스에서의 성장 호르몬 분비

서열	GH 수치 10분 (ng/ml)	SD	P 값	N
Ac-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-K-L-L-Q-D-I-L-S-R-NH ₂ (서열 번호 43) (N 말단 아세틸화, C 말단 아미드화, Asp(8)로 치환된 Asn(8), Ala(15)로 치환된 Gly(15) 및 Leu(27)로 치환된 Met(27)을 갖는 GRF ₁₀₋₂₈)	277	57.4	NAP	7
프로스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-M-S-R-NH ₂ (서열 번호 44)	15.2	13.2	*	4
프로스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-NH ₂ (서열 번호 45)	102.1	72.3	*	4
프로스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-S-R-NH ₂ (서열 번호 46)	10.6	3.6	*	4
프로스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-NH ₂ (서열 번호 20)	307.7	48.1	*	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (서열 번호 21)	104.4	32.6	*	9
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-aib-R-NH ₂ (서열 번호 22)	249.1	35.0	*	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (서열 번호 23)	269.9	123.4	*	11
프로스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-O-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (서열 번호 24)	332.6	118.4	*	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-S-r-NH ₂ (서열 번호 25)	144.1	50.1	*	4
프로스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-NH ₂ (서열 번호 26)	484.6	105.7	*	4
프로스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (서열 번호 27)	323.6	146.6	*	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (서열 번호 28)	449.7	169.8	*	8
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (서열 번호 29)	457.7	102.9	*	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (서열 번호 30)	493.3	187.0	*	8
프로스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (서열 번호 31)	563.6	259.6	*	8
프로스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (서열 번호 32)	401.6	200.9	*	8

Ac: 아세틸

a: D-알라닌

r: D-아르기닌

Aib: 아미노 아이소부티르산

O: L-오르니틴

SD: 표준 편차

NAP: 이용 가능하지 않음

*: 일원배지 아노마 시험, 듀네드 비교에 따른 서열 번호 43에 의해 얻은 값과 유의적으로 다른 값

N: 동물수

표 4

곡선화 GH 면적(AUC, 시간에 따른 GH 농도)에 의해 결정된 본원에 기재된 대표적인
GRF 유사체의 투여에 반응하는 암컷 래트에서의 축적 래트 성장 호르몬 분비

시열	평균 AUC	SD	P 값	N
Ac-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-K-L-L-Q-D-I-L-S-R-NH ₂ (시열 번호 43) (N 말단 아세틸화, C 말단 아미드화, Asp(8)로 치환된 Asn(8), Ala(15)로 치환된 Gly(15) 및 Leu(27)로 치환된 Met(27)을 갖는 GRF ₀₋₂₆)	2128	347.7 0	NAP	4
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-M-S-R-NH ₂ (시열 번호 44)	984	284	NS	4
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-NH ₂ (시열 번호 45)	1953	462	NS	4
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (시열 번호 46)	1453	372	NS	4
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-NH ₂ (시열 번호 20)	966	109	NS	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (시열 번호 21)	3130	1250	NS	8
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-NH ₂ (시열 번호 26)	8880	3110	*	4
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (시열 번호 27)	8350	3620	*	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (시열 번호 28)	17633	5338	*	8
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (시열 번호 29)	9442	541	*	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (시열 번호 30)	12282	3226	*	8
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (시열 번호 31)	9093	2606	*	8
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (시열 번호 32)	10500	5282	*	8
Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (시열 번호 33)	12487	743	NS	8
Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (시열 번호 34)	11046	5162	*	4
Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (시열 번호 35)	9144	4865	NS	4
Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH ₂ (시열 번호 36)	6211	3365	NS	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH ₂ (시열 번호 37)	14757	8617	*	3

Ac: 아세틸

a: D-알라닌

r: D-아르기닌

Alb: 아미노 아이소부티크산

O: L-오르나린

HoSer: L-호모세린

SD: 표준 편차

NAP: 이용 가능하지 않음

NS: 일원분석 아노마 시험, 드네트 비교에 따른 시열 번호 43에 의해 얻은 값과 유의적으로 다르지 않은 값

*: 일원분석 아노마 시험, 드네트 비교에 따른 시열 번호 43에 의해 얻은 값과 유의적으로 다른 값

N: 동물수

표 5

시약	평균 C_{max} (ng/ml)	SD	P 값	N
Ac-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-K-L-L-Q-D-I-L-S-R-NH ₂ (시약 번호 43) (N 말단 아세틸화, C 말단 아미드화, Asp(8)로 치환된 Asn(8), Ala(15)로 치환된 Gly(15) 및 Leu(27)로 치환된 Met(27)을 갖는 GRF _{n-2a})	83.6	14.1	NAP	4
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-M-S-R-NH ₂ (시약 번호 44)	44.2	24.2	NS	4
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-NH ₂ (시약 번호 45)	78.8	16.0	NS	4
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (시약 번호 46)	57.3	27.5	NS	4
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-NH ₂ (시약 번호 20)	31.7	7.6	NS	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-S-r-NH ₂ (시약 번호 21)	135.9	73.0	NS	8
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-NH ₂ (시약 번호 26)	468.1	147.9	*	4
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-S-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (시약 번호 27)	455.6	210.4	*	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (시약 번호 28)	806.2	240.3	*	8
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-L-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (시약 번호 29)	466.7	124.3	*	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (시약 번호 30)	664.1	168.7	*	8
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (시약 번호 31)	459.9	175.5	*	8
트립스-3-액세노일-Y-A-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-L-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (시약 번호 32)	514.8	241.1	*	8
Y-S-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (시약 번호 33)	499.0	12.7	NS	8
Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (시약 번호 34)	539.7	236.3	NS	4
Y-L-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-NH ₂ (시약 번호 35)	376.9	128.5	NS	4
Y-G-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH ₂ (시약 번호 36)	373.5	207.4	NS	4
Y-a-D-A-I-F-T-D-S-Y-R-K-V-L-A-Q-L-K-A-R-Q-D-I-L-A-R-A-A-R-A-A-R-HoSer-NH ₂ (시약 번호 37)	594.6	145.3	NS	3
Ac: 아세틸 a: D-알라닌 r: D-아르기닌 Alb: 아미노 아이소부티르산 O: L-오르노린 HoSer: L-호모세린 SD: 표준 편차 NAP: 이용 가능하지 않음 NS: 일원배치 아노마 시약, 듀네트 비교에 따른 시약 번호 43에 의해 얻은 값과 유의적으로 다르지 않은 값 *: 일원배치 아노마 시약, 듀네트 비교에 따른 시약 번호 43에 의해 얻은 값과 유의적으로 다른 값 N: 동물수				

[0405]

[0406]

본 발명이 이의 구체적인 실시양태에 의해 상기 기재되어 있지만, 특허청구범위에 정의된 것과 같은 본 발명의 대상의 정신 및 성질을 벗어남이 없이 변경될 수 있다. 특허청구범위에서, 단어 "포함하는"은 "포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다"의 구절에 실질적으로 균등한 개방 용어로서 사용된다. 문맥에서 달리 명확히 구술하지 않은 한 단수형은 상응하는 복수 언급을 포함한다.

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> THERATECHNOLOGIES INC.

<120> GROWTH HORMONE RELEASING FACTOR (GRF) ANALOGS AND USES THEREOF
<130> WO2012142706
<140> PCT/CA2012/050242
<141> 2012-04-17
<150> US 61/477,775
<151> 2011-04-21
<160> 46
<170> PatentIn version 2.0
<210> 1
<211> 33
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic peptide
<220><221> MISC FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa at position 1 is Tyr or His
<220><221> MISC FEATURE

<222> (2)..(2)
<223> Xaa at position 2 is Ala, D-Ala, Ser, Leu, alpha-aminoisobutyric acid (Aib), Val or Gly
<220><221> MISC FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> Xaa at position 8 is Asn, Asp, Ala, Gln, Ser or Aib
<220><221> MISC FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> Xaa at position 9 is Ser, Asp or Ala
<220><221> MISC FEATURE
<222> (11)..(11)
<223> Xaa at position 11 is Arg or L-Homoarginine
<220><221> MISC FEATURE
<222> (12)..(12)
<223> Xaa at position 12 is Lys, L-Ornithine or L-Homoarginine

<220><221> MISC FEATURE

<222> (13)..(13)

<223> Xaa at position 13 is Val or Ile

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(15)

<223> Xaa at position 15 is Gly or Ala;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (18)..(18)

<223> Xaa at position 18 is Lys, L-Ornithine, L-2,4-diaminobutyric

acid, L-2,3-diaminopropionic acid or Ser;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (18)..(18)

<223> If Xaa at position 18 is Ser, the Xaa at positions 27 to 32 or 27

to 33 are present;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (19)..(19)

<223> Xaa at position 19 is Ala or Leu;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (22)..(22)

<223> Xaa at position 22 is Asp or Glu;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (23)..(23)

<223> Xaa at position 23 is Ile or Leu;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa at position 24 is Met, Ile, Nle or Leu;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (25)..(25)

<223> Xaa at position 25 is Ser, Asn, Aib or Ala;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(26)

<223> Xaa at position 26 is Arg, D-Arg, L-Homoarginine or Lys;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(27)

<223> Xaa at position 27 is Ala or is absent;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa at position 28 is Ala or is absent;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa at position 29 is Arg or is absent;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (30)..(30)

<223> Xaa at position 30 is Ala or is absent;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(31)

<223> Xaa at position 31 is Ala or is absent;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (32)..(32)

<223> Xaa at position 32 is Arg or is absent;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (33)..(33)

<223> Xaa at position 33 is HoSer or is absent;

<400> 1

Xaa Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Leu Xaa Gln

1 5 10 15

Leu Xaa Xaa Arg Gln Xaa Xaa

20 25 30

Xaa

<210> 2

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 2

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg

20 25

<210> 3

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa at position 2 is D-Ala

<220><221> misc_feature

<222> (26)..(26)

<223> Xaa at position 26 is D-Arg

<400> 3

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ser Xaa

20 25

<210> 4

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa at position 2 is D-Ala

<220><221> MOD_RES

<222> (25)..(25)

<223> Aib

<400> 4

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Xaa Arg

20 25

<210> 5

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa at position 2 is D-Ala

<220><221> MOD_RES

<222> (18)..(18)

<223> Orn

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(26)

<223> Xaa at position 26 is D-Arg

<400> 5

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Xaa Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ser Xaa

20 25

<210> 6

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (18)..(18)

<223> Xaa at position 18 is L-Ornithine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(26)

<223> Xaa at position 26 is D-Arg

<400> 6

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Xaa Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ser Xaa

20 25

<210> 7

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa at position 2 is D-Ala;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(26)

<223> Xaa at position 26 is D-Arg;

<400> 7

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ser Xaa

20 25

<210> 8

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 8

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg

20 25

<210> 9

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 9

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1	5	10	15
Leu Ser Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Arg			
20	25	30	

<210> 10

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa at position 2 is D-Ala

<400> 10

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

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

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Arg

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

<210> 11

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa at position 2 is D-Ala

<400> 11

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

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

Leu Lys Leu Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Arg

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

<210> 12
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa at position 2 is D-Ala
 <400> 12
 Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
 1 5 10 15
 Leu Lys Ala Arg Gln Asp Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
 20 25 30

<210> 13
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 13
 Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
 1 5 10 15
 Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
 20 25 30

<210> 14
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 14
 Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15
 Leu Lys Ala Arg Gln Asp Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg
 20 25 30

<210> 15

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 15

Tyr Ser Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Arg

20 25 30

<210> 16

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 16

Tyr Gly Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Arg

20 25 30

<210> 17

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 17

Tyr Leu Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Arg

20 25 30

<210> 18

<211> 33

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (33)..(33)

<223> Xaa at position 33 is L-Homoserine

<400> 18

Tyr Gly Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

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

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg

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

Xaa

<210> 19

<211> 33

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa at position 2 is D-Ala

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (33)..(33)

<223> Xaa at position 33 is L-Homoserine

<400> 19

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

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

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg

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

Xaa

<210> 20

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Tyr residue is linked to a trans-3-hexenoyl moiety

<220><221> MOD_RES

<222> (26)..(26)

<223> AMIDATION

<400> 20

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg

20 25

<210> 21

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa at position 2 is D-Ala

<220><221> MOD_RES

<222> (26)..(26)

<223> AMIDATION

<220><221> misc_feature

<222> (26)..(26)

<223> Xaa at position 26 is D-Arg

<400> 21

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ser Xaa

20 25

<210> 22

<211> 26
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa at position 2 is D-Ala
 <220><221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> Aib
 <220><221> MOD_RES
 <222> (26)..(26)
 <223> AMIDATION
 <400> 22

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Xaa Arg
20 25

<210> 23
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa at position 2 is D-Ala
 <220><221> MOD_RES
 <222> (18)..(18)
 <223> Orn
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(26)
 <223> Xaa at position 26 is D-Arg
 <220><221> MOD_RES
 <222> (26)..(26)

<223> AMIDATION

<400> 23

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Xaa Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ser Xaa

20 25

<210> 24

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Tyr residue is linked to a trans-3-hexenoyl moiety

<220><221> MOD_RES

<222> (18)..(18)

<223> Orn

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(26)

<223> Xaa at position 26 is D-Arg

<400> 24

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Xaa Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ser Xaa

20 25

<210> 25

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa at position 2 is D-Ala;

<220><221> MOD_RES

<222> (26)..(26)

<223> AMIDATION

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(26)

<223> Xaa at position 26 is D-Arg;

<400> 25

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

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

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ser Xaa

20	25
----	----

<210> 26

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Tyr residue is linked to a trans-3-hexenoyl moiety

<220><221> MOD_RES

<222> (29)..(29)

<223> AMIDATION

<400> 26

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

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

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg

20	25
----	----

<210> 27

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Tyr residue is linked to a trans-3-hexenoyl moiety

<220><221> MOD_RES

<222> (32)..(32)

<223> AMIDATION

<400> 27

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Ser Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg

20 25 30

<210> 28

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa at position 2 is D-Ala

<220><221> MOD_RES

<222> (32)..(32)

<223> AMIDATION

<400> 28

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Ala Arg

20 25 30

<210> 29

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa at position 2 is D-Ala

<220><221> MOD_RES

<222> (32)..(32)

<223> AMIDATION

<400> 29

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

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

Leu Lys Leu Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Arg

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

<210> 30

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa at position 2 is D-Ala

<220><221> MOD_RES

<222> (32)..(32)

<223> AMIDATION

<400> 30

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

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

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Leu Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Arg

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

<210> 31

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Tyr residue is linked to a trans-3-hexenoyl moiety

<220><221> MOD_RES

<222> (32)..(32)

<223> AMIDATION

<400> 31

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Arg

20 25 30

<210> 32

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Tyr residue is linked to a trans-3-hexenoyl moiety

<220><221> MOD_RES

<222> (32)..(32)

<223> AMIDATION

<400> 32

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Leu Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Arg

20 25 30

<210> 33

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (32)..(32)

<223> AMIDATION

<400> 33

Tyr Ser Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
 1 5 10 15
 Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Arg
 20 25 30

<210> 34
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide
 <220><221> MOD_RES
 <222> (32)..(32)
 <223> AMIDATION
 <400> 34

Tyr Gly Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
 1 5 10 15
 Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Arg
 20 25 30

<210> 35
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223>

Synthetic peptide
 <220><221> MOD_RES
 <222> (32)..(32)
 <223> AMIDATION
 <400> 35

Tyr Leu Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln
 1 5 10 15
 Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Arg
 20 25 30

<210> 36
 <211> 33
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (33)..(33)

<223> Xaa at position 33 is L-Homoserine

<220><221> MOD_RES

<222> (33)..(33)

<223> AMIDATION

<400> 36

Tyr Gly Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Arg

20 25 30

Xaa

<210> 37

<211> 33

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa at position 2 is D-Ala

<220><221> MOD_RES

<222> (33)..(33)

<223> AMIDATION

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (33)..(33)

<223> Xaa at position 33 is L-Homoserine

<400> 37

Tyr Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Lys Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg Ala Ala Arg Ala Arg

20 25 30

Xaa

<210> 38
 <211> 44
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 38

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asn Ser Tyr Arg Lys Val Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 Leu Ser Ala Arg Lys Leu Leu Gln Asp Ile Met Ser Arg Arg Gln Gln
 20 25 30
 Gly Glu Ser Asn Glu Arg Gly Ala Arg Ala Arg Leu
 35 40

<210> 39
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 39

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asn Ser Tyr Arg Lys Val Leu Gly Gln
 1 5 10 15

Leu Ser Ala Arg Lys Leu Leu Gln Asp Ile Met Ser Arg
 20 25

<210> 40
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa at position 1 is any amino acid
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)

<223> Xaa at position 2 is any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa at position 8 is any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa at position 9 is any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa at position 11 is any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (12)..(12)

<223> Xaa at position 12 is any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(13)

<223> Xaa at position 13 is any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(15)

<223> Xaa at position 15 is any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (18)..(18)

<223> Xaa at position 18 is any amino acid

<220

><221> MISC_FEATURE

<222> (18)..(18)

<223> If Xaa at position 18 is Ser, the Xaa at positions 27 to 32 or 27

to 33 are present;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (19)..(19)

<223> Xaa at position 19 is any amino acid;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (22)..(22)

<223> Xaa at position 22 is any amino acid;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (23)..(23)

<223> Xaa at position 23 is any amino acid;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa at position 24 is any amino acid;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (25)..(25)

<223> Xaa at position 25 is any amino acid;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(26)

<223> Xaa at position 26 is any amino acid;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(27)

<223> Xaa at position 27 is any amino acid or is absent;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa at position 28 is any amino acid or is absent;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa at position 29 is any amino acid or is absent;

<220>

><221> MISC_FEATURE

<222> (30)..(30)

<223> Xaa at position 30 is any amino acid or is absent;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(31)

<223> Xaa at position 31 is any amino acid or is absent;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (32)..(32)

<223> Xaa at position 32 is any amino acid or is absent;

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (33)..(33)

<223> Xaa at position 33 is any amino acid or is absent;

<400> 40

Xaa Xaa Asp Ala Ile Phe Thr Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Gln

1 5 10 15

Leu Xaa Xaa Arg Gln Xaa Xaa

20 25 30

Xaa

<210> 41

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 41

Ala Ala Arg Ala Ala Arg

1 5

<210> 42

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa at position 7 is L-Homoserine

<400> 42

Ala Ala Arg Ala Ala Arg Xaa

1 5

<210> 43

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> ACETYLATION

<220><221> MOD_RES

<222> (29)..(29)

<223> AMIDATION

<400> 43

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Ser Ala Arg Lys Leu Leu Gln Asp Ile Leu Ser Arg

20 25

<210> 44

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Tyr residue is linked to a trans-3-hexenoyl moiety

<220><221> MOD_RES

<222> (26)..(26)

<223> AMIDATION

<400> 44

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Ser Ala Arg Gln Asp Ile Met Ser Arg

20 25

<210> 45

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Tyr residue is linked to a trans-3-hexenoyl moiety

<220><221> MOD_RES

<222> (26)..(26)

<223> AMIDATION

<400> 45

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Ser Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ala Arg

20 25

<210> 46

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Tyr residue is linked to a trans-3-hexenoyl moiety

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(26)

<223> Xaa at position 26 is D-Arg

<220><221> MOD_RES

<222> (26)..(26)

<223> AMIDATION

<400> 46

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Arg Lys Val Leu Ala Gln

1 5 10 15

Leu Ser Ala Arg Gln Asp Ile Leu Ser Xaa

20 25