



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0043509
(43) 공개일자 2017년04월21일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/575 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)
C07K 7/06 (2006.01) C07K 7/08 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 14/575 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7002630
- (22) 출원일자(국제) 2015년06월29일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2017년01월26일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2015/038370
- (87) 국제공개번호 WO 2015/200916
국제공개일자 2015년12월30일
- (30) 우선권주장
62/018,382 2014년06월27일 미국(US)

- (71) 출원인
프로타고니스트 테라퓨틱스, 인코포레이티드
미국, 캘리포니아 95035, 밀피타스, 스위트 에이,
521 코튼우드 드라이브
- (72) 발명자
본, 그레고리 토마스
오스트레일리아, 퀸즐랜드 94588, 진달리, 29 무
링갈 스트리트
스미스, 마크 레슬리
오스트레일리아, 뉴 사우스 웨일즈 94539, 바든,
8 모건 테라스
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
손민

전체 청구항 수 : 총 32 항

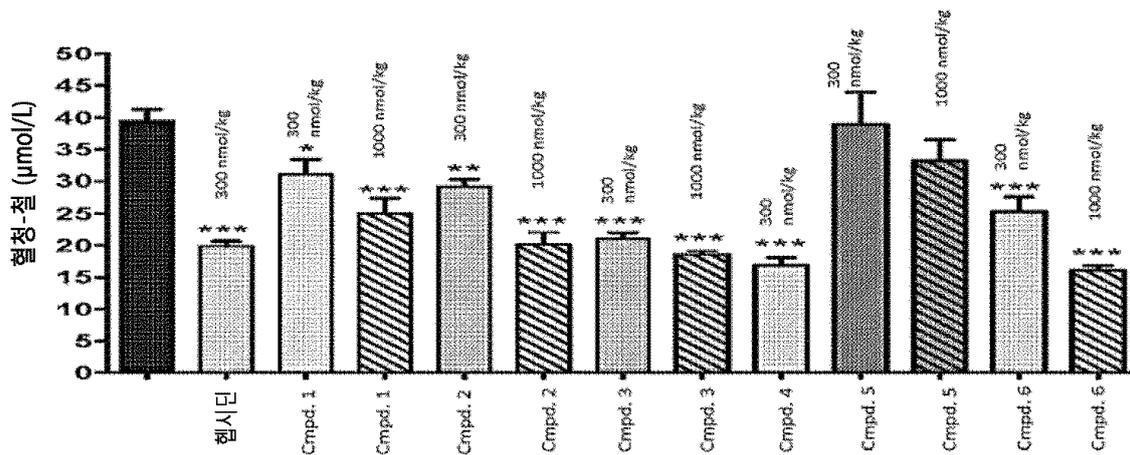
(54) 발명의 명칭 헵시딘 및 미니-헵시딘 유사체 및 그의 용도

(57) 요약

본 발명은 유전성 혈색소 침착증, 철-부하 빈혈과 같은 철 과부하 질환(iron overload disease)을 포함하는 다양한 질환 및 장애, 및 본 명세서에 기재된 다른 병태 및 장애를 치료하거나 예방하기 위한, 신규의 헵시딘 유사체 및 이들 헵시딘 유사체를 사용하는 관련 방법을 제공한다.

대표도

선택된 헵시딘 유사체 시리즈의 2가지 농도(s.c.; 2 h)에서의 생체내 용량 반응
C-57 (마우스) 혈청 철 수준 (n=4)



(52) CPC특허분류

C07K 7/06 (2013.01)

C07K 7/08 (2013.01)

C07K 2319/00 (2013.01)

(72) 발명자

프레드릭, 브라이언 트로이

미국, 캘리포니아 98005, 벤 로몬드, 8470 글렌 아
버 로드

빈크, 시몬

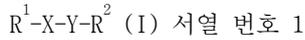
오스트레일리아, 퀸즐랜드 4068, 타링가, 5/70 스
완 로드

명세서

청구범위

청구항 1

화학식 I의 구조를 나타내는 펩티드 유사체, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물:

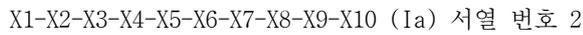


상기 식에서

R^1 은 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, 또는 C1-C20 알카노일이며, PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;

R^2 는 OH 또는 NH_2 이며;

X는 화학식 Ia의 펩티드 서열이고:



상기 식에서

X1은 Asp, Ser, Glu, Ida, pGlu, bhAsp, D-Asp이거나 부재하며;

X2는 Thr, Ser, Lys, Glu, Pro, Ala이거나 부재하고;

X3는 His, Ala, 또는 Glu이며;

X4는 Phe, Ile, 또는 Dpa이고;

X5는 Pro, bhPro, Val, Glu, Sarc, 또는 Gly이며;

X6는 Cys 또는 (D)-Cys이고;

X7은 부재하거나 Ile, Cys, 또는 (D)-Cys를 제외한 임의의 아미노산이며;

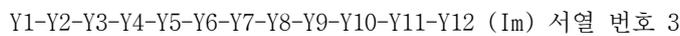
X8은 부재하거나 Cys 또는 (D)-Cys를 제외한 아미노산이고;

X9은 Phe, Ala, Ile, Thr, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, D-Phe이거나 부재하며;

X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;

Y는 부재하거나 존재하며;

단, Y가 존재하는 경우, Y는 화학식 Im의 펩티드이고:



상기 식에서

Y1은 Gly, PEG3, Sarc, Lys, Glu, Ala, Phe, Pro, Glu, Lys, D-Pro, Val, Ser이거나 부재하며;

Y2는 Pro, Ala, Cys, Gly이거나 부재하고;

Y3는 Arg, Lys, Pro, Gly, His, Ala, Trp이거나 부재하며;

Y4는 Ser, Arg, Gly, Trp, Ala, His, Glu, Tyr이거나 부재하고;

Y5는 Lys, Met, Ser, Arg, Ala이거나 부재하며;

Y6는 Gly, Sarc, Glu, Lys, Arg, Ser, Lys, Ile, Ala, Pro, Val이거나 부재하고;

Y7은 Trp, Lys, Gly, Ala, Ile, Val이거나 부재하며;

Y8은 Val, Trp, His, Thr, Gly, Cys, Met, Tyr, Ala, Glu, Lys, Asp, Arg이거나 부재하고;

Y9은 Val, Asp, Asn, Cys, Tyr이거나 부재하며;

Y10은 Cys, Met, Lys, Arg, Tyr이거나 부재하고;

Y11은 Arg, Met, Cys, Lys이거나 부재하며;

Y12는 Arg, Lys, Ala이거나 부재한다.

청구항 2

제1항에 있어서,

X가 화학식 Ib의 펩티드 서열인 헵시딘 유사체:

X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (Ib) 서열 번호 18

상기 식에서

X1은 Asp, Glu, Ida, pGlu, bhAsp, D-Asp이거나 부재하며;

X2는 Thr, Ser, Lys, Glu, Pro, Ala이거나 부재하고;

X3는 His, Ala, 또는 Glu이며;

X4는 Phe, Ile, 또는 Dpa이고;

X5는 Pro, bhPro, Sarc, 또는 Gly이며;

X6는 Cys이고;

X7은 부재하거나 Ile, Cys, 또는 (D)-Cys를 제외한 임의의 아미노산이며;

X8은 부재하거나 Cys 또는 (D)-Cys를 제외한 임의의 아미노산이고;

X9은 Phe, Ile, Tyr, bhPhe, 또는 D-Phe이거나 부재하며;

X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;

여기에서 Y는 부재하거나 존재하며, 단, Y가 존재하는 경우, Y는 화학식 In의 펩티드이고:

Y1-Y2-Y3-Y4-Y5-Y6-Y7-Y8-Y9-Y10-Y11-Y12 (In) 서열 번호 19

상기 식에서

Y1은 Gly, PEG3, Sarc, Lys, Glu, Ala, Phe, Pro, Glu, Lys, D-Pro, Val, Ser이거나 부재하며;

Y2는 Pro, Ala, Gly이거나 부재하고;

Y3는 Arg, Lys, Pro, Gly, His, Ala이거나 부재하며;

Y4는 Ser, Arg, Glu이거나 부재하고;

Y5는 Lys, Ser, Met, Arg, Ala이거나 부재하며;

Y6는 Gly, Sarc, Glu, Leu, Phe, His이거나 부재하고;

Y7은 Trp, N-메틸 Trp, Lys, Thr, His, Gly, Ala, Ile, Val이거나 부재하며;

Y8은 Val, Trp, Ala, Asn, Glu이거나 부재하고;

Y9은 Val, Ala, Asn, Asp, Cys이거나 부재하며;

Y10은 Cys, (D)Cys, Glu이거나 부재하고;

Y11은 Tyr, Met이거나 부재하며;

Y12는 Trp이거나 부재한다.

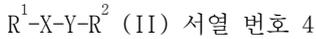
청구항 3

제1항에 있어서,

표 2에 나타난 아미노산 서열 또는 구조를 포함하는 헵시딘 유사체.

청구항 4

화학식 II의 구조를 나타내는 헵시딘 유사체, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물:

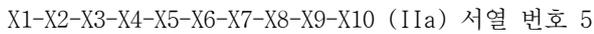


상기 식에서

R¹은 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, 또는 C1-C20 알카노일이며, PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;

R²는 OH 또는 NH₂이며;

X는 화학식 IIa의 펩티드 서열이고:



상기 식에서

X1은 Asp, Glu, 또는 Ida이며;

X2는 Thr, Ser이거나 부재하고;

X3는 His이며;

X4는 Phe 또는 Dpa이고;

X5는 Pro, bhPro, Sarc, 또는 Gly이며;

X6는 Cys 또는 (D)-Cys이고;

X7은 Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Val, Lys, Ile, Ala, Ser, Dapa이거나 부재하며;

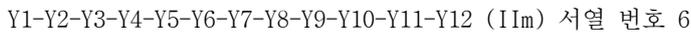
X8은 Ile, Arg, Lys, Arg, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, Dapa이거나 부재하고;

X9은 Phe, Tyr, bhPhe, D-Phe이거나 부재하며;

X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;

상기 식에서

Y는 부재하거나 존재하며, 단, Y가 존재하는 경우, Y는 화학식 IIIm의 펩티드이고:



상기 식에서

Y1은 Gly, Sarc, Lys, Glu이거나 부재하며;

Y2는 Pro, Ala, Gly이거나 부재하고;

Y3는 Arg, Lys, Pro, Gly, His, Ala이거나 부재하며;

Y4는 Ser, Arg, Glu이거나 부재하고;

Y5는 Lys, Ser, Met, Arg, Ala이거나 부재하며;

Y6는 Gly, Sarc, Glu, Leu, Phe, His이거나 부재하고;

Y7은 Trp, NMe-Trp, Lys, Thr, His, Gly, Ala, Ile, Val이거나 부재하며;

Y8은 Val, Trp, Ala, Asn, Glu이거나 부재하고;

Y9은 Cys이며;

Y10은 부재하고;

Y11은 부재하며;

Y12는 부재한다.

청구항 5

제4항에 있어서,

표 3에 나타낸 아미노산 서열 또는 구조를 포함하는 헵시딘 유사체.

청구항 6

2개의 헵시딘 유사체를 포함하는 이량체로서, 각각의 헵시딘 유사체는 화학식 I의 구조, 화학식 II의 구조, 화학식 III의 구조, 화학식 IV의 구조, 화학식 V의 구조, 화학식 VI의 구조, 또는 표 2-4 및 6-8, 또는 10-12 중 어느 하나에 나타낸 서열 또는 구조를 나타내고, 단, 이량체가 화학식 III, 화학식 IV, 화학식 V, 또는 화학식 VI의 구조를 나타내는 헵시딘 유사체를 포함하는 경우, 2개의 헵시딘 유사체는 리신 링커를 통해 연결되는 이량체.

청구항 7

제6항에 있어서,

하나 또는 양자 모두의 헵시딘 유사체가 화학식 I의 구조를 나타내는 이량체.

청구항 8

제6항에 있어서,

하나 또는 양자 모두의 헵시딘 유사체가 화학식 II의 구조를 나타내는 이량체.

청구항 9

제6항에 있어서,

하나 또는 양자 모두의 헵시딘 유사체가 화학식 III, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 나타내는 이량체:

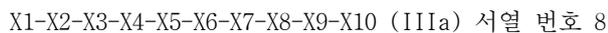


상기 식에서

R^1 은 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, 또는 C1-C20 알카노일이며, 그의 PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;

R^2 는 $-NH_2$ 또는 $-OH$ 이며;

X는 화학식 (IIIa)의 펩티드 서열이고:



상기 식에서

X1은 Asp, Glu, Ala, Gly, Thr, Ida, pGlu, bhAsp, D-Asp, Tyr, Leu이거나 부재하며;

X2는 Thr, Ala, Aib, D-Thr, Arg이거나 부재하고;

X3는 His, Lys, Ala, 또는 D-His이며;

X4는 Phe, Ala, Dpa, 또는 bhPhe이고;

X5는 Pro, Glu, Ser, Gly, Arg, Lys, Val, Ala, D-Pro, bhPro, Sarc, Abu이거나 부재하며;

X6는 Ile, Cys, Arg, Leu, Lys, His, Glu, D-Ile, D-Arg, D-Cys, Val, Ser, 또는 Ala이고;

X7은 Cys, Ile, Ala, Leu, Val, Ser, Phe, Dapa, D-Ile, 또는 D-Cys이며;

X8은 Ile, Lys, Arg, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, 또는 Dapa이고;

X9은 Phe, Ala, Ile, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, 또는 D-Phe이며;

X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;

Y는 부재하거나 존재하며, 존재하는 경우, Y는 화학식 (IIIIm)의 펩티드이며:

Y1-Y2-Y3-Y4-Y5-Y6-Y7-Y8-Y9-Y10-Y11-Y12-Y13-Y14-Y15 (IIIIm) 서열 번호 9

상기 식에서

Y1은 Gly, Cys, Ala, Phe, Pro, Glu, Lys, D-Pro, Val, Ser이거나 부재하고;

Y2는 Pro, Ala, Cys, Gly이거나 부재하고;

Y3는 Arg, Lys, Pro, Gly, His, Ala, Trp이거나 부재하며;

Y4는 Ser, Arg, Gly, Trp, Ala, His, Tyr이거나 부재하고;

Y5는 Lys, Met, Arg, Ala이거나 부재하며;

Y6는 Gly, Ser, Lys, Ile, Arg, Ala, Pro, Val이거나 부재하고;

Y7은 Trp, Lys, Gly, Ala, Ile, Val이거나 부재하며;

Y8은 Val, Thr, Gly, Cys, Met, Tyr, Ala, Glu, Lys, Asp, Arg이거나 부재하고;

Y9은 Cys, Tyr이거나 부재하며;

Y10은 Met, Lys, Arg, Tyr이거나 부재하고;

Y11은 Arg, Met, Cys, Lys이거나 부재하며;

Y12는 Arg, Lys, Ala이거나 부재하고;

Y13은 Arg, Cys, Lys, Val이거나 부재하며;

Y14은 Arg, Lys, Pro, Cys, Thr이거나 부재하고;

Y15은 Thr, Arg이거나 부재하며;

여기에서 화학식 (III)의 펩티드에 Y가 부재하는 경우, X7은 Ile이고;

여기에서 상기 화학식 (III)의 화합물은 임의로 R¹, X, 또는 Y 상에서 PEG화된다.

청구항 10

제6항에 있어서,

하나 또는 양자 모두의 헵시딘 유사체가 화학식 (IV)의 구조, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 나타내는 이량체:



상기 식에서

R¹은 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, 또는 C1-C20 알카노일이며, PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;

R²는 -NH₂ 또는 -OH이며;

X는 화학식 (IVa)의 펩티드 서열이고;

X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (IVa) 서열 번호 11

상기 식에서

X1은 Asp, Glu, Ala, Gly, Thr, Ida, pGlu, bhAsp, D-Asp, Tyr, Leu이거나 부재하며;

X2는 Thr, Ala, Aib, D-Thr, Arg이거나 부재하고;

X3는 His, Lys, Ala, 또는 D-His이며;

X4는 Phe, Ala, Dpa, bhPhe, 또는 D-Phe이고;

X5는 Pro, Glu, Ser, Gly, Arg, Lys, Val, Ala, D-Pro, bhPro, Sarc, Abu이거나 부재하며;

X6는 Ile, Cys, Arg, Leu, Lys, His, Glu, D-Ile, D-Arg, D-Cys, Val, Ser, 또는 Ala이고;

X7은 Cys, Ile, Ala, Leu, Val, Ser, Phe, Dapa, D-Ile, 또는 D-Cys이며;

X8은 Ile, Lys, Arg, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, 또는 Dapa이고;

X9은 Phe, Ala, Ile, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, 또는 D-Phe이며;

X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;

여기에서 Y는 존재하거나 부재하며, 단, Y가 부재하는 경우, X7은 Ile이고;

Y는 화학식 (IVm)의 펩티드이며;

Y1-Y2-Y3-Y4-Y5-Y6-Y7-Y8-Y9-Y10-Y11-Y12-Y13-Y14-Y15 (IVm) 서열 번호 12

상기 식에서

Y1은 Gly, Cys, Ala, Phe, Pro, Glu, Lys, D-Pro, Val, Ser이거나 부재하고;

Y2는 Pro, Ala, Cys, Gly이거나 부재하며;

Y3는 Arg, Lys, Pro, Gly, His, Ala, Trp이거나 부재하고;

Y4는 Ser, Arg, Gly, Trp, Ala, His, Tyr이거나 부재하며;

Y5는 Lys, Met, Arg, Ala이거나 부재하고;

Y6는 Gly, Ser, Lys, Ile, Arg, Ala, Pro, Val이거나 부재하며;

Y7는 Trp, Lys, Gly, Ala, Ile, Val이거나 부재하고;

Y8은 Val, Thr, Gly, Cys, Met, Tyr, Ala, Glu, Lys, Asp, Arg이거나 부재하며;

Y9은 Cys, Tyr이거나 부재하고;

Y10은 Met, Lys, Arg, Tyr이거나 부재하며;

Y11은 Arg, Met, Cys, Lys이거나 부재하고;

Y12는 Arg, Lys, Ala이거나 부재하며;

Y13은 Arg, Cys, Lys, Val이거나 부재하고;

Y14은 Arg, Lys, Pro, Cys, Thr이거나 부재하며;

Y15은 Thr, Arg이거나 부재하고;

여기에서 상기 화학식 (IV)의 화합물은 임의로 R¹, X, 또는 Y 상에서 PEG화되며;

여기에서 상기 화학식 (IV)의 화합물이 2개 이상의 시스테인 잔기를 포함하는 경우, 상기 시스테인 잔기 중 적

어도 2개는 디설파이드 결합을 통해 연결된다.

청구항 11

제6항에 있어서,

하나 또는 양자 모두의 헵시딘 유사체가 화학식 V의 구조, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 나타내는 이량체를

$R^1-X-Y-R^2(V)$ 서열 번호 13

상기 식에서

R^1 은 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, 또는 C1-C20 알카노일이며, PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;

R^2 는 $-NH_2$ 또는 $-OH$ 이며;

X는 화학식 (Va)의 펩티드 서열이고:

X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (Va) 서열 번호 14

상기 식에서

X1은 Asp, Glu, Ala, Gly, Thr, Ida, pGlu, bhAsp, D-Asp, Tyr, Leu이거나 부재하며;

X2는 Thr, Ala, Aib, D-Thr, Arg이거나 부재하고;

X3는 His, Lys, Ala, D-His, 또는 Lys이며;

X4는 Phe, Ala, Dpa, bhPhe, 또는 D-Phe이고;

X5는 Pro, Glu, Ser, Gly, Arg, Lys, Val, Ala, D-Pro, bhPro, Sarc, Abu이거나 부재하며;

X6는 Ile, Cys, Arg, Leu, Lys, His, Glu, D-Ile, D-Arg, D-Cys, Val, Ser, 또는 Ala이고;

X7는 Cys, Ile, Ala, Leu, Val, Ser, Phe, Dapa, D-Ile, 또는 D-Cys이며;

X8은 Ile, Lys, Arg, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, 또는 Dapa이고;

X9은 Phe, Ala, Ile, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, 또는 D-Phe이며;

X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;

여기에서 Y는 존재하거나 부재하며, 단, Y가 부재하는 경우, X7은 Ile이고;

여기에서 상기 화학식 V의 화합물은 임의로 R^1 , X, 또는 Y 상에서 PEG화되며;

여기에서 상기 화학식 V의 화합물이 2개 이상의 시스테인 잔기를 포함하는 경우, 상기 시스테인 잔기 중 적어도 2개는 디설파이드 결합을 통해 연결된다.

청구항 12

제6항에 있어서,

하나 또는 양자 모두의 헵시딘 유사체가 화학식 VI의 구조, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 나타내는 이량체를

$R^1-X-Y-R^2(VI)$ 서열 번호 15

상기 식에서

R^1 은 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, 또는 C1-C20 알카노일이며, PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;

R²은 -NH₂ 또는 -OH이며;

X는 화학식 (VIa)의 펩티드 서열이고:

X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (VIa) 서열 번호 16

상기 식에서

X1은 Asp, Glu, Ida이거나 부재하며;

X2는 Thr, Ser, Pro, Ala이거나 부재하고;

X3는 His, Ala, 또는 Glu이며;

X4는 Phe 또는 Dpa이고;

X5는 Pro, bhPro, Sarc, 또는 Gly이며;

X6는 Cys, (D)-Cys, Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Val, Lys, Ala, Ser, Dapa이거나 부재하고;

X7은 Cys, (D)-Cys, Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Val, Lys, Ala, Ser, Dapa이거나 부재하며;

X8은 Ile, Arg, Lys, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, Dapa이거나 부재하고;

X9은 Phe, Ala, Ile, Thr, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, D-Phe이거나 부재하며;

X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;

Y는 부재하거나 존재하며, 단, Y가 존재하는 경우, Y는 화학식 (VIIm)의 펩티드이고:

Y1-Y2-Y3 (VIIm) 서열 번호 17

상기 식에서

Y1은 Ile, Arg, Lys, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, Dapa이거나 부재하며;

Y2는 Phe, Ala, Ile, Thr, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, 또는 D-Phe이거나 부재하고;

Y3는 Lys, Phe이거나 부재한다.

청구항 13

제6항에 있어서,

하나 또는 양자 모두의 헵시딘 유사체가 표 4에 나타난 서열 또는 구조를 나타내는 이량체.

청구항 14

제6항에 있어서,

표 6, 7, 및 8 중 어느 하나에 나타난 서열 또는 구조를 나타내는 이량체.

청구항 15

제6항에 있어서,

표 12의 화합물 1-361 중 어느 하나에 나타난 서열 또는 구조를 포함하는 이량체.

청구항 16

제6항에 있어서,

표 10 또는 표 12에 나타난 서열 또는 구조를 포함하는 이량체.

청구항 17

제6항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서,
동종이량체인 이량체.

청구항 18

제6항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서,
이종이량체인 이량체.

청구항 19

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 헵시딘 유사체의 2개의 시스테인 잔기가 분자내 디설파이드 가교에 의해 연결되는 헵시딘 유사체 또는 이량체.

청구항 20

제6항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서,
2개의 헵시딘 유사체가 디에틸렌 글리콜 링커, 이미노디아세트산(IDA) 링커, β -Ala-이미노디아세트산(β -Ala-IDA) 링커, 또는 PEG 링커 중에서 선택되는 링커 부분에 의해 연결되며, 여기서 화학식 III, IV, V, 또는 VI의 구조, 또는 표 12의 화합물 1-361 중 어느 하나에 나타난 서열, 또는 표 10에 나타난 서열을 나타내는 펩티드 유사체를 포함하지 않는 이량체.

청구항 21

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 헵시딘 유사체, 또는 제6항 내지 제20항 중 어느 한 항의 이량체의 헵시딘 유사체를 암호화하는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 22

제21항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터.

청구항 23

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 헵시딘 유사체 또는 제6항 내지 제20항 중 어느 한 항의 이량체, 및 억제학적으로 허용되는 담체, 부형제, 또는 비히클을 포함하는 억제학적 조성물.

청구항 24

페로포틴을 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 적어도 하나의 헵시딘 유사체, 제6항 내지 제20항 중 어느 한 항의 이량체, 또는 제23항의 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 페로포틴을 결합시키거나 페로포틴 내재화(internalization) 및 분해를 유도하는 방법.

청구항 25

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 적어도 하나의 헵시딘 유사체, 제6항 내지 제20항 중 어느 한 항의 이량체, 또는 제23항의 조성물의 유효량을 대상체에게 제공하는 단계를 포함하는, 대상체에서 철 대사의 질환을 치료하는 방법.

청구항 26

제25항에 있어서,
억제학적 조성물이 경구, 정맥내, 복막, 피내, 피하, 근육내, 척수강내, 흡입, 기화, 분무, 설하, 협부, 장관외(parenteral), 직장, 질, 또는 국소 투여 경로에 의해 대상체에게 제공되는 방법.

청구항 27

제25항에 있어서,
철 대사의 질환이 철 과부하 질환(iron overload disease)인 방법.

청구항 28

헵시딘 유사체, 이량체, 또는 조성물을 대상체에게 전달하기 위한, 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 헵시딘 유사체, 제6항 내지 제20항 중 어느 한 항의 이량체, 또는 제23항의 조성물을 포함하는 디바이스.

청구항 29

시약, 디바이스, 또는 설명 자료(instructional material), 또는 그의 조합과 함께 포장된, 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 적어도 하나의 헵시딘 유사체, 제6항 내지 제20항 중 어느 한 항의 이량체, 또는 제23항의 조성물을 포함하는 키트.

청구항 30

제4항에 있어서,
X6가 Cys인 헵시딘 유사체.

청구항 31

제4항에 있어서,
X7이 Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Val, Lys, Ala, Ser, Dapa이거나 부재하는 헵시딘 유사체.

청구항 32

제6항에 있어서,
표 14 또는 15에 나타낸 서열 또는 구조를 나타내는 단량체 펩티드를 포함하는 이량체.

발명의 설명

기술 분야

[0001] **관련 출원과의 상호 참조**

[0002] 본 출원은 2014년 6월 27일자로 출원된 미국 가출원 제62/018,382호에 대한 우선권을 주장하며, 이는 원용에 의해 전체적으로 본 명세서에 포함된다.

[0003] **기술 분야**

[0004] 본 발명은 특히, 펩티드 단량체 및 펩티드 이량체 양자 모두를 포함하는 소정의 헵시딘 펩티드 유사체, 및 그의 접합체 및 유사체와 더불어, 펩티드 유사체를 포함하는 조성물에 관한 것이며, 유전성 혈색소 침착증, 철-부하(iron-loading) 빈혈과 같은 철 과부하 질환(iron overload disease), 및 본 명세서에 기재된 다른 병태 및 장애의 치료 및/또는 예방을 포함하는, 다양한 질환, 병태, 또는 장애의 치료 및/또는 예방에 있어서의 펩티드 유사체의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 간에 의해 생성되는 펩티드 호르몬인 헵시딘(LEAP-1이라고도 지칭됨)은 인간 및 다른 포유류에서 철 항상성의 조절자이다. 헵시딘은 그의 수용체, 철 배출 채널 페로포틴에 결합하여 그의 내재화(internalization) 및 분해를 유발함으로써 작용한다. 인간 헵시딘은 25-아미노산 펩티드(Hep25)이다. 문헌[Krause et al. (2000) FEBS Lett 480:147-150] 및 문헌[Park et al. (2001) J Biol Chem 276:7806-7810]을 참조한다. 헵시딘의 생물활성 25-아미노산 형태의 구조는, 문헌[Jordan et al. J Biol Chem 284:24155-67]에 의해 기재된 바와 같이 4개의 디설파이드 결합을 형성하는 8개의 시스테인을 가진 단순 헤어핀이다. 철-조절 작용에는 N 말단 영역이 필요하며, 5개의 N-말단 아미노산 잔기의 결실은 철-조절 작용의 손실을 유발한다. 문헌[Nemeth et al. (2006) Blood 107:328-33]을 참조한다.

[0006] 비정상적인 헵시딘 활성은 유전성 혈색소 침착증(HH) 및 철-부하 빈혈을 포함하는 철 과부하 질환과 연계된다. 유전성 혈색소 침착증은 헵시딘 결핍에 의해, 또는 일부 경우에는 헵시딘 내성에 의해 주로 유발되는 유전적 철 과부하 질환이다. 이는 식이로부터의 과도한 철 흡수 및 철 과부하의 발생을 가능하게 한다. HH의 임상 양상은

간 질환(예를 들어, 간 경변증 및 간세포 암종), 당뇨병, 및 심부전을 포함할 수 있다. 현재, HH에 대한 유일한 치료는 규칙적인 정맥혈개술이며, 이는 환자에게 매우 부담이 된다. 철-부하 빈혈은 β -지중해성빈혈과 같은 비효과적 적혈구 생성을 동반하는 유전성 빈혈이며, 이는 중증의 철 과부하를 수반한다. 이러한 환자의 경우, 철 과부하로부터의 합병증은 이환율 및 치사율의 주원인이다. 헵시딘 결핍은 비-수혈 환자에서 철 과부하의 주원인이고, 수혈 환자에서 철 과부하에 기여한다. 이러한 환자에서 철 과부하에 대한 현재의 치료는 철 킬레이트화이며, 이는 매우 부담이 되고, 간혹 비효과적이며, 빈번한 부작용을 수반한다.

[0007] 헵시딘은, 폴딩 중의 단백질의 응집 및 침전에 부분적으로 기인하는 어려운 합성 공정(이는 결국 제품의 높은 비용을 유발함)을 포함하는, 약물로서의 그의 용도를 제한하는 다수의 한계를 나타낸다. 헵시딘-유사 생물의약품을 적정 가격으로 제조하고, 예를 들어, 본 명세서에 기재된 것들과 같은 헵시딘-관련 질환 및 장애를 치료하기 위해 사용할 수 있도록, 헵시딘 활성을 나타내고 개선된 용해도, 안정성, 및/또는 효능과 같은 다른 유익한 물리적 특성 또한 보유하는 화합물이 당업계에 필요하다.

[0008] 본 발명은, 펩티드 단량체 유사체 및 펩티드 이량체 유사체 양자 모두를 포함하며, 헵시딘 활성을 나타내고, 본 발명의 펩티드가 헵시딘의 적합한 대안이 되도록 하는 다른 유익한 특성 또한 나타내는 신규의 펩티드 유사체를 제공하여 이러한 필요성을 해결한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 일반적으로 단량체 및 이량체 양자 모두를 포함하며 헵시딘 활성을 나타내는 펩티드 유사체, 및 그의 사용 방법에 관한 것이다.

과제의 해결 수단

발명의 간단한 요약

[0011] 일부 실시양태에서 본 발명은, 하기 구조식 I을 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 이로 구성되는, 단리되고/되거나 정제될 수 있는 펩티드, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 제공한다:

[0012] $R^1-X-Y-R^2$ (I) (서열 번호 1)

[0013] 상기 식에서

[0014] R^1 은 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, 또는 C1-C20 알카노일이며, PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;

[0015] R^2 는 OH 또는 NH_2 이며;

[0016] X는 화학식 Ia의 펩티드 서열이고:

[0017] $X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10$ (Ia) (서열 번호 2)

[0018] 상기 식에서

[0019] X1은 Asp, Ser, Glu, Ida, pGlu, bhAsp, D-Asp이거나 부재하며;

[0020] X2는 Thr, Ser, Lys, Glu, Pro, Ala이거나 부재하고;

[0021] X3는 His, Ala, 또는 Glu이며;

[0022] X4는 Phe, Ile, 또는 Dpa이고;

[0023] X5는 Pro, bhPro, Val, Glu, Sarc, 또는 Gly이며;

[0024] X6는 Cys 또는 (D)-Cys이고;

[0025] X7은 부재하거나 Ile, Cys, 또는 (D)-Cys를 제외한 임의의 아미노산이며;

[0026] X8은 부재하거나 Cys 또는 (D)-Cys를 제외한 임의의 아미노산이고;

- [0027] X9은 Phe, Ala, Ile, Thr, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, D-Phe이거나 부재하며;
- [0028] X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;
- [0029] Y는 부재하거나 존재하며;
- [0030] 단, Y가 존재하는 경우, Y는 화학식 Im의 펩티드이고:
- [0031] Y1-Y2-Y3-Y4-Y5-Y6-Y7-Y8-Y9-Y10-Y11-Y12 (Im) (서열 번호 3)
- [0032] 상기 식에서
- [0033] Y1은 Gly, PEG3, Sarc, Lys, Glu, Ala, Phe, Pro, Glu, Lys, D-Pro, Val, Ser이거나 부재하며;
- [0034] Y2는 Pro, Ala, Cys, Gly이거나 부재하고;
- [0035] Y3는 Arg, Lys, Pro, Gly, His, Ala, Trp이거나 부재하며;
- [0036] Y4는 Ser, Arg, Gly, Trp, Ala, His, Glu, Tyr이거나 부재하고;
- [0037] Y5는 Lys, Met, Ser, Arg, Ala이거나 부재하며;
- [0038] Y6는 Gly, Sarc, Glu, Lys, Arg, Ser, Lys, Ile, Ala, Pro, Val이거나 부재하고;
- [0039] Y7은 Trp, Lys, Gly, Ala, Ile, Val이거나 부재하며;
- [0040] Y8은 Val, Trp, His, Thr, Gly, Cys, Met, Tyr, Ala, Glu, Lys, Asp, Arg이거나 부재하고;
- [0041] Y9은 Val, Asp, Asn, Cys, Tyr이거나 부재하며;
- [0042] Y10은 Cys, Met, Lys, Arg, Tyr이거나 부재하고;
- [0043] Y11은 Arg, Met, Cys, Lys이거나 부재하며;
- [0044] Y12는 Arg, Lys, Ala이거나 부재한다.
- [0045] 대안적인 일 실시양태에서 본 발명은, X5가 Pro, bhPro, Val, Glu, Sarc, Gly, 또는 임의의 N-메틸화 아미노산인 화학식 Ia의 헵시딘 유사체 펩티드를 제공한다.
- [0046] 일 실시양태에서 본 발명은, 화학식 I을 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 이로 구성되는, 단리되고/되거나 정제될 수 있는 펩티드를 제공하며,
- [0047] 상기 식에서
- [0048] X는 화학식 Ib의 펩티드 서열이고:
- [0049] X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (Ib) 서열 번호 18
- [0050] 상기 식에서
- [0051] X1은 Asp, Glu, Ida, pGlu, bhAsp, D-Asp이거나 부재하며;
- [0052] X2는 Thr, Ser, Lys, Glu, Pro, Ala이거나 부재하고;
- [0053] X3는 His, Ala, 또는 Glu이며;
- [0054] X4는 Phe, Ile, 또는 Dpa이고;
- [0055] X5는 Pro, bhPro, Sarc, 또는 Gly이며;
- [0056] X6는 Cys이고;
- [0057] X7은 부재하거나 Ile, Cys, 또는 (D)-Cys를 제외한 임의의 아미노산이며;
- [0058] X8은 부재하거나 Cys 또는 (D)-Cys를 제외한 임의의 아미노산이고;
- [0059] X9은 Phe, Ile, Tyr, bhPhe, 또는 D-Phe이거나 부재하며;
- [0060] X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;

- [0061] 여기에서 Y는 부재하거나 존재하며, 단, Y가 존재하는 경우, Y는 화학식 In의 펩티드이고:
- [0062] Y1-Y2-Y3-Y4-Y5-Y6-Y7-Y8-Y9-Y10-Y11-Y12 (In) 서열 번호 19
- [0063] 상기 식에서
- [0064] Y1은 Gly, PEG3, Sarc, Lys, Glu, Ala, Phe, Pro, Glu, Lys, D-Pro, Val, Ser이거나 부재하며;
- [0065] Y2는 Pro, Ala, Gly이거나 부재하고;
- [0066] Y3는 Arg, Lys, Pro, Gly, His, Ala이거나 부재하며;
- [0067] Y4는 Ser, Arg, Glu이거나 부재하고;
- [0068] Y5는 Lys, Ser, Met, Arg, Ala이거나 부재하며;
- [0069] Y6는 Gly, Sarc, Glu, Leu, Phe, His이거나 부재하고;
- [0070] Y7은 Trp, N-메틸 Trp, Lys, Thr, His, Gly, Ala, Ile, Val이거나 부재하며;
- [0071] Y8은 Val, Trp, Ala, Asn, Glu이거나 부재하고;
- [0072] Y9은 Val, Ala, Asn, Asp, Cys이거나 부재하며;
- [0073] Y10은 Cys, (D)Cys, Glu이거나 부재하고;
- [0074] Y11은 Tyr, Met이거나 부재하며;
- [0075] Y12는 Trp이거나 부재한다.
- [0076] 관련 실시양태에서 본 발명은, 하기 구조식 II를 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 이로 구성되는, 단 리되고/되거나 정제될 수 있는 펩티드, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 제공한다:
- [0077] $R^1-X-Y-R^2$ (II) (서열 번호 4)
- [0078] 상기 식에서
- [0079] R^1 은 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, 또는 C1-C20 알카노일이며, PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;
- [0080] R^2 는 OH 또는 NH_2 이며;
- [0081] X는 화학식 IIa의 펩티드 서열이고:
- [0082] X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (IIa) (서열 번호 5)
- [0083] 상기 식에서
- [0084] X1은 Asp, Glu, 또는 Ida이며;
- [0085] X2는 Thr, Ser이거나 부재하고;
- [0086] X3는 His이며;
- [0087] X4는 Phe 또는 Dpa이고;
- [0088] X5는 Pro, bhPro, Sarc, 또는 Gly이며;
- [0089] X6는 Cys 또는 D-Cys이고;
- [0090] X7은 Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Val, Lys, Ile, Ala, Ser, Dapa이거나 부재하며;
- [0091] X8은 Ile, Arg, Lys, Arg, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, Dapa이거나 부재하고;
- [0092] X9은 Phe, Tyr, bhPhe, D-Phe이거나 부재하며;

- [0093] X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;
- [0094] 여기에서 Y는 부재하거나 존재하며, 단, Y가 존재하는 경우, Y는 화학식 II_m의 펩티드이고:
- [0095] Y1-Y2-Y3-Y4-Y5-Y6-Y7-Y8-Y9-Y10-Y11-Y12 (II_m) (서열 번호 6)
- [0096] 상기 식에서
- [0097] Y1은 Gly, Sarc, Lys, Glu이거나 부재하며;
- [0098] Y2는 Pro, Ala, Gly이거나 부재하고;
- [0099] Y3는 Arg, Lys, Pro, Gly, His, Ala이거나 부재하며;
- [0100] Y4는 Ser, Arg, Glu이거나 부재하고;
- [0101] Y5는 Lys, Ser, Met, Arg, Ala이거나 부재하며;
- [0102] Y6는 Gly, Sarc, Glu, Leu, Phe, His이거나 부재하고;
- [0103] Y7은 Trp, N-메틸Trp, Lys, Thr, His, Gly, Ala, Ile, Val이거나 부재하며;
- [0104] Y8은 Val, Trp, Ala, Asn, Glu이거나 부재하고;
- [0105] Y9은 Cys이며;
- [0106] Y10은 Met이거나 부재하고;
- [0107] Y11은 Tyr, Met이거나 부재하며;
- [0108] Y12는 Trp이거나 부재한다.
- [0109] 소정의 실시양태에서, 화학식 II_a의 X6는 Cys이다.
- [0110] 소정의 대안적인 실시양태에서, 화학식 II_a의 X7은 Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Val, Lys, Ala, Ser, Dapa이거나 부재한다.
- [0111] 소정의 실시양태에서, Y10은 부재한다.
- [0112] 소정의 실시양태에서, Y11은 부재한다.
- [0113] 소정의 실시양태에서, Y12는 부재한다.
- [0114] 다른 관련 실시양태에서 본 발명은, 2개의 헵시딘 유사체를 포함하는 이량체로서, 각각의 헵시딘 유사체는 화학식 I의 구조, 화학식 II의 구조, 화학식 III의 구조, 화학식 IV의 구조, 화학식 V의 구조, 화학식 VI의 구조, 화학식 VII의 구조, 화학식 VIII의 구조, 화학식 IX의 구조, 화학식 X의 구조, 또는 표 2-4, 6-10, 12, 14, 또는 15 중 어느 하나에 나타낸 서열 또는 구조를 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 이로 구성되는, 단리되고/되거나 정제될 수 있는 펩티드 동종- 또는 이종이량체를 제공하며, 단, 이량체가 화학식 III, 화학식 IV, 화학식 V, 또는 화학식 VI의 구조를 나타내는 헵시딘 유사체를 포함하는 경우, 2개의 헵시딘 유사체는 리신 링커를 통해 연결된다.
- [0115] 소정의 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체 이량체는 하나 초과와 수단에 의해 이량체화된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체 이량체는 적어도 하나의 분자간 디설파이드 가교 및 적어도 하나의 링커 부분(예를 들어, IDA-Palm과 같은 IDA 링커)에 의해 이량체화된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체 이량체는 적어도 하나의 분자간 디설파이드 가교 및 적어도 하나의 링커 부분(예를 들어, IDA-Palm과 같은 IDA 링커)에 의해 이량체화되며, 여기에서 링커 부분은 각각의 펩티드 단량체 내의 리신 잔기에 부착된다.
- [0116] 소정의 실시양태에서, 하나 또는 양자 모두의 헵시딘 유사체는 화학식 III, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 나타낸다:
- [0117] $R^1-X-Y-R^2$ (III) (서열 번호 7)
- [0118] 상기 식에서
- [0119] R^1 은 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, 또는 C1-C20 알카노일이며, 그의 PEG화 버전을

단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;

- [0120] R²는 -NH₂ 또는 -OH이며;
- [0121] X는 화학식 (IIIa)의 펩티드 서열이고;
- [0122] X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (IIIa) (서열 번호 8)
- [0123] 상기 식에서
- [0124] X1은 Asp, Glu, Ala, Gly, Thr, Ida, pGlu, bhAsp, D-Asp, Tyr, Leu이거나 부재하며;
- [0125] X2는 Thr, Ala, Aib, D-Thr, Arg이거나 부재하고;
- [0126] X3는 His, Lys, Ala, 또는 D-His이며;
- [0127] X4는 Phe, Ala, Dpa, 또는 bhPhe이고;
- [0128] X5는 Pro, Glu, Ser, Gly, Arg, Lys, Val, Ala, D-Pro, bhPro, Sarc, Abu이거나 부재하며;
- [0129] X6는 Ile, Cys, Arg, Leu, Lys, His, Glu, D-Ile, D-Arg, D-Cys, Val, Ser, 또는 Ala이고;
- [0130] X7은 Cys, Ile, Ala, Leu, Val, Ser, Phe, Dapa, D-Ile, 또는 D-Cys이며;
- [0131] X8은 Ile, Lys, Arg, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, 또는 Dapa이고;
- [0132] X9은 Phe, Ala, Ile, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, 또는 D-Phe이며;
- [0133] X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;
- [0134] Y는 부재하거나 존재하며, 존재하는 경우, Y는 화학식 (IIIIm)의 펩티드이고;
- [0135] Y1-Y2-Y3-Y4-Y5-Y6-Y7-Y8-Y9-Y10-Y11-Y12-Y13-Y14-Y15 (IIIIm) (서열 번호 9)
- [0136] 상기 식에서
- [0137] Y1은 Gly, Cys, Ala, Phe, Pro, Glu, Lys, D-Pro, Val, Ser이거나 부재하며;
- [0138] Y2는 Pro, Ala, Cys, Gly이거나 부재하고;
- [0139] Y3는 Arg, Lys, Pro, Gly, His, Ala, Trp이거나 부재하며;
- [0140] Y4는 Ser, Arg, Gly, Trp, Ala, His, Tyr이거나 부재하고;
- [0141] Y5는 Lys, Met, Arg, Ala이거나 부재하며;
- [0142] Y6는 Gly, Ser, Lys, Ile, Arg, Ala, Pro, Val이거나 부재하고;
- [0143] Y7은 Trp, Lys, Gly, Ala, Ile, Val이거나 부재하며;
- [0144] Y8은 Val, Thr, Gly, Cys, Met, Tyr, Ala, Glu, Lys, Asp, Arg이거나 부재하고;
- [0145] Y9은 Cys, Tyr이거나 부재하며;
- [0146] Y10은 Met, Lys, Arg, Tyr이거나 부재하고;
- [0147] Y11은 Arg, Met, Cys, Lys이거나 부재하며;
- [0148] Y12는 Arg, Lys, Ala이거나 부재하고;
- [0149] Y13은 Arg, Cys, Lys, Val이거나 부재하며;
- [0150] Y14은 Arg, Lys, Pro, Cys, Thr이거나 부재하고;
- [0151] Y15은 Thr, Arg이거나 부재하며;
- [0152] 여기에서 화학식 (III)의 펩티드에 Y가 부재하는 경우, X7은 Ile이고;
- [0153] 여기에서 상기 화학식 (III)의 화합물은 임의로 R¹, X, 또는 Y 상에서 PEG화 된다.

- [0154] 소정의 실시양태에서, 하나 또는 양자 모두의 헵시딘 유사체는 화학식 (IV)의 구조, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 나타낸다:
- [0155] $R^1-X-Y-R^2$ (IV) (서열 번호 10)
- [0156] 상기 식에서
- [0157] R^1 은 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, 또는 C1-C20 알카노일이며, PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;
- [0158] R^2 는 $-NH_2$ 또는 $-OH$ 이며;
- [0159] X는 화학식 (IVa)의 펩티드 서열이고:
- [0160] X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (IVa) (서열 번호 11)
- [0161] 상기 식에서
- [0162] X1은 Asp, Glu, Ala, Gly, Thr, Ida, pGlu, bhAsp, D-Asp, Tyr, Leu이거나 부재하며;
- [0163] X2는 Thr, Ala, Aib, D-Thr, Arg이거나 부재하고;
- [0164] X3는 His, Lys, Ala, 또는 D-His이며;
- [0165] X4는 Phe, Ala, Dpa, bhPhe, 또는 D-Phe이고;
- [0166] X5는 Pro, Glu, Ser, Gly, Arg, Lys, Val, Ala, D-Pro, bhPro, Sarc, Abu이거나 부재하며;
- [0167] X6는 Ile, Cys, Arg, Leu, Lys, His, Glu, D-Ile, D-Arg, D-Cys, Val, Ser, 또는 Ala이고;
- [0168] X7은 Cys, Ile, Ala, Leu, Val, Ser, Phe, Dapa, D-Ile, 또는 D-Cys이며;
- [0169] X8은 Ile, Lys, Arg, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, 또는 Dapa이고;
- [0170] X9은 Phe, Ala, Ile, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, 또는 D-Phe이며;
- [0171] X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;
- [0172] 여기에서 Y는 존재하거나 부재하며, 단, Y가 부재하는 경우, X7은 Ile이고;
- [0173] Y는 화학식 (IVm)의 펩티드이며:
- [0174] Y1-Y2-Y3-Y4-Y5-Y6-Y7-Y8-Y9-Y10-Y11-Y12-Y13-Y14-Y15 (IVm) (서열 번호 12)
- [0175] 상기 식에서
- [0176] Y1은 Gly, Cys, Ala, Phe, Pro, Glu, Lys, D-Pro, Val, Ser이거나 부재하고;
- [0177] Y2는 Pro, Ala, Cys, Gly이거나 부재하고;
- [0178] Y3는 Arg, Lys, Pro, Gly, His, Ala, Trp이거나 부재하며;
- [0179] Y4는 Ser, Arg, Gly, Trp, Ala, His, Tyr이거나 부재하고;
- [0180] Y5는 Lys, Met, Arg, Ala이거나 부재하며;
- [0181] Y6는 Gly, Ser, Lys, Ile, Arg, Ala, Pro, Val이거나 부재하고;
- [0182] Y7은 Trp, Lys, Gly, Ala, Ile, Val이거나 부재하며;
- [0183] Y8은 Val, Thr, Gly, Cys, Met, Tyr, Ala, Glu, Lys, Asp, Arg이거나 부재하고;
- [0184] Y9은 Cys, Tyr이거나 부재하며;
- [0185] Y10은 Met, Lys, Arg, Tyr이거나 부재하고;
- [0186] Y11은 Arg, Met, Cys, Lys이거나 부재하며;

- [0187] Y12는 Arg, Lys, Ala이거나 부재하고;
- [0188] Y13은 Arg, Cys, Lys, Val이거나 부재하며;
- [0189] Y14은 Arg, Lys, Pro, Cys, Thr이거나 부재하고;
- [0190] Y15은 Thr, Arg이거나 부재하며;
- [0191] 여기에서 상기 화학식 (IV)의 화합물은 임의로 R¹, X, 또는 Y 상에서 PEG화되고;
- [0192] 여기에서 상기 화학식 (IV)의 화합물이 2개 이상의 시스테인 잔기를 포함하는 경우, 상기 시스테인 잔기 중 적어도 2개는 디설파이드 결합을 통해 연결된다.
- [0193] 소정의 실시양태에서, 하나 또는 양자 모두의 헵시딘 유사체는 화학식 V의 구조, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 나타낸다:
- [0194] R¹-X-Y-R²(V) (서열 번호 13)
- [0195] 상기 식에서
- [0196] R¹은 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, 또는 C1-C20 알카노일이며, PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;
- [0197] R²는 -NH₂ 또는 -OH이며;
- [0198] X는 화학식 (Va)의 펩티드 서열이고:
- [0199] X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (Va) (서열 번호 14)
- [0200] 상기 식에서
- [0201] X1은 Asp, Glu, Ala, Gly, Thr, Ida, pGlu, bhAsp, D-Asp, Tyr, Leu이거나 부재하며;
- [0202] X2는 Thr, Ala, Aib, D-Thr, Arg이거나 부재하고;
- [0203] X3는 His, Lys, Ala, D-His, 또는 Lys이며;
- [0204] X4는 Phe, Ala, Dpa, bhPhe, 또는 D-Phe이고;
- [0205] X5는 Pro, Glu, Ser, Gly, Arg, Lys, Val, Ala, D-Pro, bhPro, Sarc, Abu이거나 부재하며;
- [0206] X6는 Ile, Cys, Arg, Leu, Lys, His, Glu, D-Ile, D-Arg, D-Cys, Val, Ser, 또는 Ala이고;
- [0207] X7은 Cys, Ile, Ala, Leu, Val, Ser, Phe, Dapa, D-Ile, 또는 D-Cys이며;
- [0208] X8은 Ile, Lys, Arg, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, 또는 Dapa이고;
- [0209] X9은 Phe, Ala, Ile, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, 또는 D-Phe이며;
- [0210] X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;
- [0211] 여기에서 Y는 존재하거나 부재하며, 단, Y가 부재하는 경우, X7은 Ile이고;
- [0212] 여기에서 상기 화학식 V의 화합물은 임의로 R¹, X, 또는 Y 상에서 PEG화되며;
- [0213] 여기에서 상기 화학식 V의 화합물이 2개 이상의 시스테인 잔기를 포함하는 경우, 상기 시스테인 잔기 중 적어도 2개는 디설파이드 결합을 통해 연결된다.
- [0214] 소정의 실시양태에서, 하나 또는 양자 모두의 헵시딘 유사체는 화학식 VI의 구조, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 나타낸다:
- [0215] R¹-X-Y-R²(VI) (서열 번호 15)
- [0216] 상기 식에서

- [0217] R¹은 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, 또는 C1-C20 알카노일이며, PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;
- [0218] R²는 -NH₂ 또는 -OH이며;
- [0219] X는 화학식 (VIa)의 펩티드 서열이고;
- [0220] X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (VIa) (서열 번호 16)
- [0221] 상기 식에서
- [0222] X1은 Asp, Glu, Ida이거나 부재하며;
- [0223] X2는 Thr, Ser, Pro, Ala이거나 부재하고;
- [0224] X3는 His, Ala, 또는 Glu이며;
- [0225] X4는 Phe 또는 Dpa이고;
- [0226] X5는 Pro, bhPro, Sarc, 또는 Gly이며;
- [0227] X6는 Cys, (D)-Cys, Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Val, Lys, Ala, Ser, Dapa이거나 부재하고;
- [0228] X7은 Cys, (D)-Cys, Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Val, Lys, Ala, Ser, Dapa이거나 부재하며;
- [0229] X8은 Ile, Arg, Lys, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, Dapa이거나 부재하고;
- [0230] X9은 Phe, Ala, Ile, Thr, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, D-Phe이거나 부재하며;
- [0231] X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;
- [0232] Y는 부재하거나 존재하며, 단 Y가 존재하는 경우, Y는 화학식 (VIIm)의 펩티드이고;
- [0233] Y1-Y2-Y3 (VIIm) (서열 번호 17)
- [0234] 상기 식에서
- [0235] Y1은 Ile, Arg, Lys, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, Dapa이거나 부재하며;
- [0236] Y2는 Phe, Ala, Ile, Thr, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, 또는 D-Phe이거나 부재하고;
- [0237] Y3는 Lys, Phe이거나 부재한다.
- [0238] 일 실시양태에서 본 발명은, 2개의 헵시딘 유사체를 포함하는 이량체로서, 각각의 헵시딘 유사체는 화학식 I의 구조 또는 화학식 II의 구조를 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 이로 구성되는, 단리되고/되거나 정제될 수 있는 펩티드 동종- 또는 이종이량체를 제공하며, 여기에서 2개의 헵시딘 유사체는 Ida 링커(예를 들어, IDA-Palm 링커)를 통해 연결되고, 여기에서 Ida 링커는 각각의 2개 헵시딘 유사체 내의 리신에 부착된다(예를 들어, 리신 측쇄를 통해). 이러한 일 실시양태에서, 이량체는 동종이량체이고, 다른 실시양태에서, 이량체는 이종이량체이다.
- [0239] 다른 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서에 기재된 헵시딘 유사체를 암호화하는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [0240] 추가의 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서에 기재된 헵시딘 유사체를 암호화하는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 포함한다.
- [0241] 부가적인 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서에 기재된 펩티드 또는 헵시딘 유사체, 및 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제, 또는 비히클을 포함하는 약제학적 조성물을 포함한다.
- [0242] 관련 실시양태에서 본 발명은, 페로포틴을 본 명세서에 기재된 적어도 하나의 펩티드 또는 헵시딘 유사체와 접촉시키는 단계를 포함하는, 페로포틴을 결합시키거나 페로포틴 내재화 및 분해를 유도하는 방법을 포함한다.
- [0243] 추가의 관련 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서에 기재된 적어도 하나의 펩티드 또는 헵시딘 유사체의 유효량

을 대상체에게 제공하는 단계를 포함하는, 대상체에서 철 대사의 질환을 치료하는 방법을 포함한다.

[0244] 다른 실시양태에서 본 발명은, 헵시딘 유사체, 이량체, 또는 조성물을 대상체에게 전달하기 위한, 본 명세서에 기재된 펩티드 또는 헵시딘 유사체를 포함하는 디바이스를 포함한다.

[0245] 다른 관련 실시양태에서 본 발명은, 시약, 디바이스, 또는 설명 자료(instructional material), 또는 그의 조합과 함께 포장된, 본 명세서에 기재된 적어도 하나의 펩티드 또는 헵시딘 유사체를 포함하는 키트를 포함한다.

[0246] **발명의 상세한 설명**

[0247] 본 발명은 일반적으로 헵시딘 유사체 펩티드, 및 그의 제조 및 사용 방법에 관한 것이다. 소정의 실시양태에서, 헵시딘 유사체는 하나 이상의 헵시딘 활성을 나타낸다. 소정의 실시양태에서 본 발명은, 분자내 결합, 예를 들어, 분자내 디설파이드 결합을 통해 고리화 구조를 형성하는 하나 이상의 펩티드 서브유닛을 포함하는 헵시딘 펩티드 유사체에 관한 것이다. 특정 실시양태에서, 고리화 구조는 비-고리화 헵시딘 펩티드 및 그의 유사체에 비교하여 증가된 효능 및 선택성을 나타낸다.

[0248] **정의 및 명명법**

[0249] 본 명세서에 달리 정의되지 않는 한, 본 출원에 사용되는 과학 기술 용어는 당업자가 통상적으로 이해하는 의미를 가질 것이다. 일반적으로, 본 명세서에 기재된 화학, 분자생물학, 세포 및 암 생물학, 면역학, 미생물학, 약리학, 단백질 및 핵산 화학의 기술에, 그리고 이와 관련하여 사용되는 명명법은 당업계에 주지되고 통상적으로 사용되는 것들이다.

[0250] 본 명세서에 사용되는 하기 용어는, 달리 명시되지 않는 한, 그들에게 부여된 의미를 갖는다.

[0251] 본 명세서 전체에 걸쳐, 단어 "포함하다", 또는 "포함한다" 또는 "포함하는"과 같은 변형은 임의의 다른 정수(또는 구성요소) 또는 정수(또는 구성요소)의 그룹의 배제가 아니라, 언급된 정수(또는 구성요소) 또는 정수(또는 구성요소)의 그룹의 포함을 시사하는 것으로 이해될 것이다.

[0252] 단수 형태("a," "an," 및 "the")는, 문맥상 명확하게 달리 지시되지 않는 한, 복수형을 포함한다.

[0253] 용어 "포함하는"은 "포함하나 이로 제한되지 않는"을 의미하기 위해 사용된다. "포함하는" 및 "포함하나 이로 제한되지 않는"은 호환적으로 사용된다.

[0254] 용어 "환자", "대상체", 및 "개체"는 호환적으로 사용될 수 있으며, 인간 또는 비-인간 동물을 지칭한다. 이들 용어는 포유류, 예컨대 인간, 영장류, 가축(예를 들어, 소, 돼지), 반려 동물(예를 들어, 개, 고양이), 및 설치류(예를 들어, 마우스 및 랫트)를 포함한다. 용어 "포유류"는 임의의 포유류 중, 예컨대 인간, 마우스, 랫트, 개, 고양이, 햄스터, 기니 피그, 토끼, 가축 등을 지칭한다.

[0255] 본 명세서에 사용되는 용어 "펩티드"는 펩티드 결합에 의해 함께 연결된 2개 이상의 아미노산의 서열을 광범위하게 지칭한다. 이 용어는 아미노산의 중합체의 특이적 길이를 내포하는 것이 아니며, 제조합 기술, 화학적 합성, 또는 효소적 합성을 사용하여 폴리펩티드를 제조하는지, 또는 폴리펩티드가 천연적으로 발생한 것인지 여부를 시사하거나 구별하고자 하는 것도 아님을 이해해야 한다.

[0256] 본 명세서에 사용되는 용어 "펩티드 유사체"는, 헵시딘과 공통적인 하나 이상의 구조적 특징 및/또는 작용 활성, 또는 그의 작용 영역을 포함하는 펩티드 단량체 및 펩티드 이량체를 광범위하게 지칭한다. 소정의 실시양태에서, 펩티드 유사체는 헵시딘과 실질적인 아미노산 서열 동일성을 공유하는 펩티드, 예를 들어, 야생형 헵시딘, 예를 들어, 인간 헵시딘 아미노산 서열에 비교하여 하나 이상의 아미노산 삽입, 결실, 또는 치환을 포함하는 펩티드를 포함한다. 소정의 실시양태에서 펩티드 유사체는, 예를 들어, 다른 화합물에 대한 접합과 같은 하나 이상의 부가적인 개질을 포함한다. 용어 "펩티드 유사체"는 본 발명의 임의의 펩티드 단량체 또는 펩티드 이량체를 포괄한다. 소정의 경우에, 본 명세서에서 "펩티드 유사체"는 또한, 또는 대안적으로, "헵시딘 유사체", "헵시딘 펩티드 유사체", 또는 "헵시딘 유사체 펩티드"라고 지칭될 수 있다.

[0257] 본 명세서에 사용되는 "서열 동일성", "% 동일성", "% 상동성", 또는, 예를 들어, "~에 대해 50% 동일한 서열"을 포함하는 설명은, 비교 윈도우에 걸쳐 뉴클레오티드-대-뉴클레오티드 기준 또는 아미노산-대-아미노산 기준 상에서 서열이 동일한 정도를 지칭한다. 따라서, "서열 동일성의 퍼센트"는 비교 윈도우에 걸쳐 최적으로 정렬된 2개의 서열을 비교하는 단계, 동일한 핵산 염기(예를 들어, A, T, C, G, I) 또는 동일한 아미노산 잔기(예를 들어, Ala, Pro, Ser, Thr, Gly, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Lys, Arg, His, Asp, Glu, Asn, Gln, Cys, 및 Met)가 양자 모두의 서열 내에 발생하는 위치의 갯수를 결정하여 일치하는 위치의 갯수를 산출하는 단계, 일

치하는 위치의 갯수를 비교 윈도우 내의 위치의 총 갯수(즉, 윈도우 크기)로 나누는 단계, 및 그 결과에 100을 곱하여 서열 동일성의 퍼센트를 산출하는 단계에 의해 계산할 수 있다.

[0258] 서열들 사이의 서열 유사성 또는 서열 동일성(상기 용어들은 본 명세서에서 호환적으로 사용됨)의 계산은 하기와 같이 수행될 수 있다. 2개의 아미노산 서열, 또는 2개의 핵산 서열의 % 동일성을 결정하기 위해, 최적 비교 목적으로 서열들을 정렬할 수 있다(예를 들어, 최적 정렬을 위해 제1 및 제2 아미노산 또는 핵산 서열 중 하나 또는 양자 모두에 갭을 도입하고 비교 목적으로 비-상동 서열을 무시할 수 있음). 소정의 실시양태에서, 비교 목적으로 정렬되는 기준 서열의 길이는 기준 서열의 길이의 적어도 30%, 바람직하게 적어도 40%, 더욱 바람직하게 적어도 50%, 60%, 더욱 더 바람직하게 적어도 70%, 80%, 90%, 100%이다. 이어서, 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드를 상응하는 아미노산 위치 또는 뉴클레오티드 위치에서 비교한다. 제1 서열에서의 위치가 제2 서열에서의 상응하는 위치와 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드에 의해 점유된다면, 그 위치에서 분자들은 동일하다.

[0259] 2개 서열 사이의 % 동일성은, 2개 서열의 최적 정렬을 위해 도입될 필요가 있는 갭의 갯수, 및 각각의 갭의 길이를 고려하여, 서열들에 의해 공유되는 동일한 위치의 갯수의 함수이다.

[0260] 2개 서열 사이의 서열 비교 및 % 동일성 결정은 수학적 알고리즘을 사용하여 수행할 수 있다. 일부 실시양태에서는, GCG 소프트웨어 패키지 내의 GAP 프로그램에 포함된 문헌[Needleman and Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48: 444-453]의 알고리즘을 사용하여, 블로섬(Blossum) 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스, 및 16, 14, 12, 10, 8, 6, 또는 4의 갭 가중치 및 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6의 길이 가중치를 사용하여, 2개 아미노산 서열 사이의 % 동일성을 결정한다. 또 다른 바람직한 실시양태에서는, GCG 소프트웨어 패키지 내의 GAP 프로그램을 사용하여, NWSgapdna.CMP 매트릭스 및 40, 50, 60, 70, 또는 80의 갭 가중치 및 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6의 길이 가중치를 사용하여, 2개 뉴클레오티드 서열 사이의 % 동일성을 결정한다. 다른 예시적인 파라미터 세트는 갭 페널티가 12이고, 갭 연장 페널티가 4이며, 해독률 변위 갭 페널티가 5인 블로섬 62 점수화 매트릭스를 포함한다. 또한, 얼라인(ALIGN) 프로그램(버전 2.0)에 포함된 문헌[E. Meyers and W. Miller, 1989, Cabios, 4: 11-17]의 알고리즘을 사용하여, PAM120 가중치 잔기 표(weight residue table), 12의 갭 길이 페널티, 및 4의 갭 페널티를 사용하여, 2개 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열 사이의 % 동일성을 결정할 수 있다.

[0261] 예를 들어, 다른 패밀리 구성원 또는 관련 서열을 동정하기 위해, 본 명세서에 기재된 펩티드 서열을 "질의 서열"로 사용하여 공용 데이터베이스에 대한 검색을 수행할 수 있다. 문헌[Altschul, et al., 1990, J. Mol. Biol., 215: 403-10]의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램(버전 2.0)을 사용하여 이러한 검색을 수행할 수 있다. NBLAST 프로그램(점수 = 100, 단어길이 = 12)으로 BLAST 뉴클레오티드 검색을 수행하여 본 발명의 핵산 분자에 상동성인 뉴클레오티드 서열을 얻을 수 있다. XBLAST 프로그램(점수 = 50, 단어길이 = 3)으로 BLAST 단백질 검색을 수행하여 본 발명의 단백질 분자에 상동성인 아미노산 서열을 얻을 수 있다. 비교 목적으로 갭이 있는 정렬을 얻기 위해, 문헌[Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402, 1997]에 기재된 바와 같이 갭이 있는 BLAST를 이용할 수 있다. BLAST 및 갭이 있는 BLAST 프로그램을 이용하는 경우, 각각의 프로그램(예를 들어, XBLAST 및 NBLAST)의 기본 파라미터를 사용할 수 있다.

[0262] 본 명세서에 사용되는 용어 "보존적 치환"은 하나 이상의 아미노산이 생물학적으로 유사한 다른 잔기에 의해 대체됨을 나타낸다. 예는 유사한 특징을 가진 아미노산 잔기, 예를 들어, 작은 아미노산, 산성 아미노산, 극성 아미노산, 염기성 아미노산, 소수성 아미노산, 및 방향족 아미노산의 치환을 포함한다. 예를 들어, 하기 표를 참조한다. 본 발명의 일부 실시양태에서는, 하나 이상의 Met 잔기가 노르류신(Nle)으로 치환되며, 이는 Met에 대한 생물동배체이지만 Met와는 대조적으로 용이하게 산화되지 않는다. 내인성 포유류 펩티드 및 단백질에서 정상적으로 발견되지 않는 잔기에 의한 보존적 치환의 다른 예는, 예를 들어, 오르니틴, 카나바닌, 아미노에틸시스테인, 또는 다른 염기성 아미노산에 의한 Arg 또는 Lys의 보존적 치환이다. 일부 실시양태에서는, 본 발명의 펩티드 유사체의 하나 이상의 시스테인을 세린과 같은 다른 잔기로 치환할 수 있다. 펩티드 및 단백질에서의 표현형 침묵 치환에 관한 추가의 정보에 대해서는, 예를 들어, 문헌[Bowie et. al. Science 247, 1306-1310, 1990]을 참조한다. 하기 도표에서는, 아미노산의 보존적 치환을 물리화학적 특성에 의해 분류한다. I: 중성, 친수성, II: 산 및 아미드, III: 염기성, IV: 소수성, V: 방향족, 대형(bulky) 아미노산.

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

[0263]

[0264]

하기 도표에서는, 아미노산의 보존적 치환을 물리화학적 특성에 의해 분류한다. VI: 중성 또는 소수성, VII: 산성, VIII: 염기성, IX: 극성, X: 방향족.

VI	VII	VIII	IX	X
A	E	H	M	F
L	D	R	S	Y
I		K	T	W
P			C	
G			N	
V			Q	

[0265]

[0266]

본 명세서에 사용되는 용어 "아미노산" 또는 "임의의 아미노산"은, 천연적으로 발생하는 아미노산(예를 들어, α-아미노산), 비천연(unnatural) 아미노산, 개질된 아미노산, 및 비정규(non-natural) 아미노산을 포함하는 임의의 모든 아미노산을 지칭한다. 그것은 D- 및 L-아미노산 양자 모두를 포함한다. 천연 아미노산은, 예를 들어, 펩티드 쇠 내로 조합되어 방대한 배열의 단백질의 빌딩-블록을 형성하는 23개의 아미노산과 같은, 천연에서 발견되는 것들을 포함한다. 박테리아 외피 및 일부 항생제에서는 몇몇 D-아미노산이 발생하지만, 이들은 주로 L 입체이성체이다. 20개의 "표준" 천연 아미노산은 상기 표에 열거되어 있다. "비-표준" 천연 아미노산은 피롤리신(메탄생성 유기체 및 다른 진핵생물에서 발견됨), 셀레노시스테인(대부분의 진핵생물 뿐 아니라 다수의 비진핵생물(noneukaryote)에 존재함), 및 N-포르밀메티오닌(박테리아, 미토콘드리아, 및 엽록체에서 시작 코돈 AUG에 의해 암호화됨)이다. "비천연" 또는 "비정규" 아미노산은, 천연적으로 발생하거나 화학적으로 합성되는 비-단백질생성 아미노산(즉, 유전 코드에서 천연적으로 암호화되거나 발견되지 않는 것들)이다. 140개가 넘는 천연 아미노산이 공지되어 있으며, 수천개의 더 많은 조합이 가능하다. "비천연" 아미노산의 예는 β-아미노산(β³ 및 β²), 동중-아미노산, 프롤린, 및 피루브산 유도체, 3-치환 알라닌 유도체, 글리신 유도체, 환-치환 페닐알라닌 및 티로신 유도체, 선형 코어 아미노산, 디아미노산, D-아미노산, 및 N-메틸 아미노산을 포함한다. 비천연 또는 비정규 아미노산은 개질된 아미노산 또한 포함한다. "개질된" 아미노산은 아미노산 상에 천연적으로 존재하지 않는 기, 기들, 또는 화학적 부분을 포함하도록 화학적으로 개질된 아미노산(예를 들어, 천연 아미노산)을 포함한다.

[0267]

당업자에게 명확한 바와 같이, 본 명세서에 개시된 펩티드 서열은 좌측으로부터 우측으로 진행되는 것으로 나타내며, 서열의 좌측 단부는 펩티드의 N-말단이고 서열의 우측 단부는 펩티드의 C-말단이다. 본 명세서에 개시된 서열 중에는 서열의 아미노 말단(N-말단)에 "Hy-" 부분을 포함하고, 서열의 카복시 말단(C-말단)에 "-OH" 부분 또는 "-NH₂" 부분을 포함하는 서열이 있다. 이러한 경우, 달리 표시되지 않는 한, 문체의 서열의 N-말단에 있는 "Hy-" 부분은 수소 원자를 표시하며, N-말단에 있는 유리 1차 또는 2차 아미노 기의 존재에 상응하는 반면에, 서열의 C-말단에 있는 "-OH" 또는 "-NH₂" 부분은 각각 하이드록시 기 또는 아미노 기를 표시하며, C-말단에 있는 아미도(CONH₂) 기의 존재에 상응한다. 본 발명의 각각의 서열에서, C-말단 "-OH" 부분은 C-말단 "-NH₂" 부분을 대체할 수 있으며, 그 역도 성립한다. 특히 아미노 말단 또는 카복시 말단이 링커 또는 다른 화학적 부분, 예를 들어, PEG 부분에 결합되는 상황에서, 아미노 말단 또는 카복시 말단에 있는 부분은 결합, 예를 들어, 공유 결합일 수 있다는 것이 추가로 이해된다.

[0268]

본 명세서에 사용되는 용어 "NH₂"는 폴리펩티드의 아미노 말단에 존재하는 유리 아미노 기를 지칭한다. 본 명세서에 사용되는 용어 "OH"는 펩티드의 카복시 말단에 존재하는 유리 카복시 기를 지칭한다. 추가로, 본 명세서에 사용되는 용어 "Ac"는 폴리펩티드의 C- 또는 N-말단의 아실화를 통한 아세틸 보호를 지칭한다.

[0269]

본 명세서에 사용되는 용어 "카복시"는 -CO₂H를 지칭한다.

[0270]

대부분, 본 명세서에 사용되는 천연적으로 발생하는 아미노아실 잔기 및 비-천연적으로 발생하는 아미노아실 잔기의 명칭은 문헌["Nomenclature of α-Amino Acids(Recommendations, 1974)" Biochemistry, 14(2), (1975)]

에 정리된 바와 같은 IUPAC-IUB 생화학 명명법 위원회(IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature) 및 IUPAC 유기 화학 명명법 위원회(IUPAC Commission on the Nomenclature of Organic Chemistry)에 의해 제시된 명명 규칙을 따른다. 본 명세서 및 첨부된 청구범위에 채용된 아미노산 및 아미노아실 잔기의 명칭 및 약어가 그러한 제시와 상이할 경우, 그들은 독자에게 명료해질 것이다. 본 발명을 기재함에 있어서 유용한 일부 약어가 하기 표 1에 하기 정의되어 있다.

표 1

비정규 아미노산 및 화학적 부분의 약어	
약어	정의
DIG	디글리콜산
Dapa	디아미노프로피온산
Daba	디아미노부티르산
Pen	페닐실라민
Sarc	사르코신
Cit	시트룰린
Cav	카바닌
NMe-Arg	N-메틸-아르기닌
NMe-Trp	N-메틸-트립토판
NMe-Phe	N-메틸-페닐알라닌
Ac-	아세틸
2-Nal	2-나프틸알라닌
1-Nal	1-나프틸알라닌
Bip	비페닐알라닌
βAla	베타-알라닌
Aib	2-아미노이소부티르산
Azt	아제티딘-2-카복실산
Tic	(3S)-1,2,3,4-테트라하이드로이소퀴놀린-하이드록시-3-카복실산
Phe(OMe)	티로신(4-메틸)
N-MeLys	N-메틸-리신
N-MeLys(Ac)	N-ε-아세틸-D-리신
Dpa	β, β 디페닐알라닌
NH ₂	유리 아민
CONH ₂	아미드
COOH	산
Phe(4-F)	4-플루오로-페닐알라닌
PEG3	NH ₂ CH ₂ CH ₂ (OCH ₂ CH ₂) ₃ CH ₂ CH ₂ CO ₂ H
m-PEG3	CH ₃ OCH ₂ CH ₂ (OCH ₂ CH ₂) ₂ CH ₂ CH ₂ CO ₂ H
m-PEG4	CH ₃ OCH ₂ CH ₂ (OCH ₂ CH ₂) ₃ CH ₂ CH ₂ CO ₂ H
m-PEG8	CH ₃ OCH ₂ CH ₂ (OCH ₂ CH ₂) ₇ CH ₂ CH ₂ CO ₂ H
PEG11	O-(2-아미노에틸)-O'-(2-카복시에틸)-운데카에틸렌글리콜 NH ₂ CH ₂ CH ₂ (OCH ₂ CH ₂) ₁₁ CH ₂ CH ₂ CO ₂ H
PEG13	13개의 폴리에틸렌 글리콜 단위를 가진 2작용성 PEG 링커
PEG25	25개의 폴리에틸렌 글리콜 단위를 가진 2작용성 PEG 링커
PEG1K	분자량 1000 Da의 폴리에틸렌 글리콜을 가진 2작용성 PEG 링커
PEG2K	분자량 2000 Da의 폴리에틸렌 글리콜을 가진 2작용성 PEG 링커
PEG3.4K	분자량 3400 Da의 폴리에틸렌 글리콜을 가진 2작용성 PEG 링커
PEG5K	분자량 5000 Da의 폴리에틸렌 글리콜을 가진 2작용성 PEG 링커
IDA 또는 Ida	이미노디아세트산
IDA-Palm	(팔미틸)-이미노디아세트산
hPhe	호모페닐알라닌
Ahx	아미노헥사노산
DIG-OH	글리콜 일산
트리아진	아미노 프로필 트리아진 이산
Boc-트리아진	Boc-트리아진 이산
트리플루오로부티르산	4,4,4-트리플루오로부티르산

[0271]

2-메틸트리플루오로부티르산	2-메틸-4,4,4-부티르산
트리플루오르펜타노산	5,5,5-트리플루오르펜타노산
1,4-페닐렌디아세트산	파라-페닐렌디아세트산
1,3-페닐렌디아세트산	메타-페닐렌디아세트산
DTT	디티오프레오티올
Nle	노르류신
β hTrp 또는 bhTrp	β -호모트립토판
β hPhe 또는 bhPhe	β -호모페닐알라닌
Phe(4-CF ₃)	4-트리플루오로메틸페닐알라닌
β Glu 또는 bGlu	β -글루탐산
β hGlu 또는 bhGlu	β -호모글루탐산
2-2-인단	2-아미노인단-2-카복실산
1-1-인단	1-아미노인단-1-카복실산
hCha	호모사이클로헥실알라닌
사이클로부틸	사이클로부틸알라닌
hLeu	호모류신
Gla	γ -카복시-글루탐산
Aep	3-(2-아미노에톡시)프로파노산
Aea	(2-아미노에톡시)아세트산
IsoGlu-옥타노산	옥타노일- γ -Glu
K-옥타노산	옥타노일- ϵ -Lys
Dapa(Palm)	헥사데카노일- β -디아미노프로피온산
IsoGlu-Palm	헥사데카노일- γ -Glu
C-StBu	S-tert-부틸티오-시스테인
C-tBu	S-tert-부틸-시스테인
Dapa(AcBr)	NY-(브로모아세틸)-2,3-디아미노프로피온산
Tle	tert-류신
Phg	페닐글리신
Oic	옥타하이드로인돌-2-카복실산
Chg	α -사이클로헥실글리신
GP-(Hyp)	Gly-Pro-하이드록시Pro
Inp	이소니페코트산
Amc	4-(아미노메틸)사이클로헥산 카복실산
베타인	(CH ₃) ₃ NCH ₂ CH ₂ CO ₂ H

[0272] 본 명세서 전체에 걸쳐, 천연적으로 발생하는 아미노산을 그들의 전체 명칭(예를 들어, 알라닌, 아르기닌 등)으로 지칭하지 않는 한, 그들의 관용적인 3-문자 또는 1-문자 약어(예를 들어, 알라닌의 경우 Ala 또는 A, 아르기닌의 경우 Arg 또는 R 등)로 그들을 나타낸다. 덜 통상적이거나 비-천연적으로 발생하는 아미노산의 경우, 그들의 전체 명칭(예를 들어, 사르코신, 오르니틴 등)으로 그들을 지칭하지 않는 한, Sar 또는 Sarc(사르코신, 즉 N-메틸글리신), Aib(α -아미노이소부티르산), Daba(2,4-디아미노부타노산), Dapa(2,3-디아미노프로파노산), γ -Glu(γ -글루탐산), pGlu(피로글루탐산), Gaba(γ -아미노부타노산), β -Pro(피롤리딘-3-카복실산), 8Ado(8-아미노-3,6-디옥사옥타노산), Abu(4-아미노부티르산), bhPro(β -호모-프롤린), bhPhe(β -호모-L-페닐알라닌), bhAsp(β -호모-아스파르트산), Dpa(β, β 디페닐알라닌), Ida(이미노디아세트산), hCys(호모시스테인), bhDpa(β -호모- β, β -디페닐알라닌)을 포함하는, 빈번하게 채용되는 3-문자 또는 4-문자 코드를 그의 잔기에 채용한다.

[0273] 추가로, R¹은 모든 서열에서 이소발레르산 또는 균등물로 치환될 수 있다. 예를 들어, 이소발레르산, 이소부티르산, 발레르산 등과 같은 산성 화합물에 본 발명의 펩티드가 접합되는 일부 실시양태에서, 이러한 접합의 존재는 산 형태로 언급된다. 그러므로, 예를 들어, 그러나 어떤 방식으로든 이로 제한되지 않으면서, 이소발레로일을 언급함으로써 펩티드에 대한 이소발레르산의 접합을 표시하는 대신에, 일부 실시양태에서, 본 출원은 이러한 접합을 이소발레르산으로서 언급할 수 있다.

[0274] 본 명세서에 사용되는 용어 "L-아미노산"은 펩티드의 "L" 이성체 형태를 지칭하고, 역으로 용어 "D-아미노산"은 펩티드의 "D" 이성체 형태를 지칭한다. 소정의 실시양태에서, 본 명세서에 기재된 아미노산 잔기는 "L" 이성체 형태이지만, 펩티드가 목적하는 작용성을 유지하는 한, "D" 이성체 형태의 잔기로 임의의 L-아미노산 잔기를 치환할 수 있다.

- [0275] 달리 표시되지 않는 한, 비대칭 중심을 보유한 문제의 천연 및 비천연 아미노산의 L-이성체 형태를 언급한다. 적절한 경우, 관용적인 3-문자 코드 앞의 접두어 "D"에 의해 관용적인 방식으로 아미노산의 D-이성체 형태를 표시한다(예를 들어, Dasp, (D)Asp, 또는 D-Asp; Dphe, (D)Phe, 또는 D-Phe).
- [0276] 본 명세서에 사용되는 용어 "DRP"는 디설파이드가 풍부한 펩티드를 지칭한다.
- [0277] 본 명세서에 사용되는 용어 "이량체"는, 2개 이상의 단량체 서브유닛을 포함하는 펩티드를 광범위하게 지칭한다. 소정의 이량체는 2개의 DRP를 포함한다. 본 발명의 이량체는 동종이량체 및 이종이량체를 포함한다. 이량체의 단량체 서브유닛은 그의 C- 또는 N-말단에서 연결될 수 있거나, 내부 아미노산 잔기를 통해 그것이 연결될 수 있다. 이량체의 각각의 단량체 서브유닛은 동일한 부위를 통해 연결될 수 있거나, 각각이 상이한 부위(예를 들어, C-말단, N-말단, 또는 내부 부위)를 통해 연결될 수 있다.
- [0278] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 소정의 개시된 펩티드 서열의 맥락에서(예컨대 표 2-4, 6-15에 기술된 것들), 괄호, 예를 들어, ()는 측쇄 집합을 나타내고, 대괄호, 예를 들어, []는 비천연 아미노산 치환을 나타낸다. 일반적으로, 펩티드 서열의 N-말단에 링커를 나타내는 경우, 그것은 펩티드가 다른 펩티드와 이량체화되며, 여기에서 링커는 2개의 펩티드의 N-말단에 부착됨을 표시한다. 일반적으로, 펩티드 서열의 C-말단에 링커를 나타내는 경우, 그것은 펩티드가 다른 펩티드와 이량체화되며, 여기에서 링커는 2개의 펩티드의 C-말단에 부착됨을 표시한다.
- [0279] 본 명세서에서 용어 "동배체 대체" 또는 "동배체 치환"은 명시된 아미노산과 유사한 화학적 및/또는 구조적 특성을 나타내는 임의의 아미노산 또는 다른 유사체 부분을 지칭하기 위해 호환적으로 사용된다. 소정의 실시양태에서, 동배체 대체는 천연 또는 비천연 아미노산에 의한 보존적 치환이다.
- [0280] 본 명세서에 사용되는 용어 "고리화"는, 예컨대 디설파이드 가교 또는 다른 유사한 결합을 형성함으로써, 폴리펩티드 분자의 일부분이 폴리펩티드 분자의 다른 부분에 연결되어 폐환을 형성하는 반응을 지칭한다.
- [0281] 본 명세서에 사용되는 용어 "서브유닛"은, 결합되어 이량체 펩티드 조성물을 형성하는 폴리펩티드 단량체의 쌍 중 하나를 지칭한다.
- [0282] 본 명세서에 사용되는 용어 "링커 부분"은, 2개의 펩티드 단량체 서브유닛을 함께 연결하거나 결합하여 이량체를 형성할 수 있는 화학적 구조를 광범위하게 지칭한다.
- [0283] 본 발명의 맥락에서 용어 "용매화"는 용질(예를 들어, 본 발명에 따른 헵시딘 유사체, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염)과 용매 사이에 형성되는 정의된 화학양론의 복합체를 지칭한다. 이와 관련된 용매는, 예를 들어, 물, 에탄올, 또는 아세트산 또는 락트산과 같지만 이로 제한되지 않는 전형적으로 소분자인 약제학적으로 허용되는 다른 유기 화학종일 수 있다. 문제의 용매가 물인 경우, 이러한 용매화물은 통상적으로 수화물이라고 지칭된다.
- [0284] 본 명세서에 사용되는 "철 대사의 질환"은, 비정상적인 철 대사가 질환을 직접 유발하거나, 혈중 철 수준의 조절이상으로 질환을 유발하거나, 철 조절이상이 다른 질환의 결과이거나, 철 수준을 조정함으로써 질환을 치료할 수 있는 질환 등을 포함한다. 더욱 구체적으로, 본 개시에 따른 철 대사의 질환은 철 과부하 질환, 철 결핍 장애, 철 생체분포의 장애, 철 대사의 다른 장애 및 철 대사에 잠재적으로 관련된 다른 장애 등을 포함한다. 철 대사의 질환은 혈색소 침착증, HFE 돌연변이 혈색소 침착증, 페로포틴 돌연변이 혈색소 침착증, 트랜스페린 수용체 2 돌연변이 혈색소 침착증, 헤모주벨린 돌연변이 혈색소 침착증, 헵시딘 돌연변이 혈색소 침착증, 청소년 혈색소 침착증, 신생아 혈색소 침착증, 헵시딘 결핍, 수혈성 철 과부하, 지중해성빈혈, 지중해성빈혈 중간기, 알파 지중해성빈혈, 철적모구 빈혈, 포르피린증, 만발성 피부 포르피린증, 아프리카 철 과부하, 고페리틴혈증, 세룰로플라스민 결핍, 트랜스페린결핍혈증(atransferrinemia), 선천성 적혈구 생성이상 빈혈, 만성 질환에 의한 빈혈, 염증에 의한 빈혈, 감염에 의한 빈혈, 저색소성 소구성 빈혈, 철-결핍 빈혈, 철-불응성 철 결핍 빈혈, 만성 신장 질환으로 인한 빈혈, 에리트로포이에틴 내성, 비만으로 인한 철 결핍, 다른 빈혈, 헵시딘을 과다생성시키거나 그의 과다생성을 유도하는 양성 또는 악성 종양, 헵시딘 과다를 동반하는 병태, 프리드리히 운동실조(Friedreich ataxia), 연약 증후군(gracile syndrome), 할러포르텐-스파츠병(Hallervorden-Spatz disease), 윌슨병(Wilson's disease), 폐 혈철증, 간세포 암종, 암, 간염, 간경변, 이식증, 만성 신부전, 인슐린 내성, 당뇨병, 죽상동맥경화증, 신경퇴행성 장애, 다발성 경화증, 파킨슨병(Parkinson's disease), 헌팅턴병(Huntington's disease), 및 알츠하이머병(Alzheimer's disease)을 포함한다.
- [0285] 일부 실시양태에서, 질환 및 장애는 철 혈색소 침착증, HFE 돌연변이 혈색소 침착증, 페로포틴 돌연변이 혈색소

침착증, 트랜스페린 수용체 2 돌연변이 혈색소 침착증, 헤모주벨린 돌연변이 혈색소 침착증, 헵시딘 돌연변이 혈색소 침착증, 청소년 혈색소 침착증, 신생아 혈색소 침착증, 헵시딘 결핍, 수혈성 철 과부하, 지중해성빈혈, 지중해성빈혈 중간기, 알파 지중해성빈혈과 같은 철 과부하 질환에 관련된다.

[0286] 일부 실시양태에서는, 본 발명의 헵시딘 유사체를 사용하여 전형적으로 철 관련으로 동정되지 않은 질환 및 장애를 치료한다. 예를 들어, 헵시딘은 쥐과 체장에서 고도로 발현되며, 이는 기저의 철 대사 장애를 치료함으로써 당뇨병(유형 I 또는 유형 II), 인슐린 내성, 글루코스 불내성, 및 다른 장애를 완화시킬 수 있다는 것을 제시한다. 원용에 의해 본 명세서에 포함된 문헌[Ilyin, G. et al. (2003) FEBS Lett. 542 22-26]을 참조한다. 그러므로, 본 발명의 펩티드를 사용하여 이들 질환 및 병태를 치료할 수 있다. 원용에 의해 본 명세서에 포함된 국제 특허 제2004092405호의 어세이, 및 원용에 의해 본 명세서에 포함된 미국 특허 제7,534,764호에 기재된 것들과 같이 당업계에 공지된 헵시딘, 헤모주벨린, 또는 철 수준 및 발현을 모니터링하는 어세이를 포함하는, 당업계에 공지된 방법을 사용하여 본 발명에 따른 펩티드로 주어진 질환을 치료할 수 있는지 여부를 당업자는 용이하게 결정할 수 있다.

[0287] 본 발명의 소정의 실시양태에서, 철 대사의 질환은 유전성 혈색소 침착증, 철-부하 빈혈, 알코올성 간 질환, 및 만성 간염 C를 포함하는 철 과부하 질환이다.

[0288] 본 명세서에 사용되는 용어 "약제학적으로 허용되는 염"은, 물 또는 오일에 가용성이거나 분산성이고, 과도한 독성, 자극성, 및 알려지 반응 없이 질환의 치료에 적합하며; 합리적인 유익성/위험성 비에 상응하고, 그들의 의도되는 용도에 효과적인, 본 발명의 펩티드 또는 화합물의 염 또는 쓰비터이온 형태를 나타낸다. 염은 화합물의 최종 단리 및 정제 중에 제조되거나, 아미노기를 적합한 산과 반응시킴으로써 별도로 제조될 수 있다. 대표적인 산 부가 염은 아세트레이트, 아디페이트, 알기네이트, 시트레이트, 아스파테이트, 벤조에이트, 벤젠설포네이트, 비셀레이트, 부티레이트, 캄포레이트, 캄포설포네이트, 디글루코네이트, 글리세로포스페이트, 헤미셀레이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 포르메이트, 푸마레이트, 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 하이드로요오다이드, 2-하이드록시에탄설포네이트(이세티오네이트), 락테이트, 말레에이트, 메시틸렌설포네이트, 메탄설포네이트, 나프틸렌설포네이트, 니코티네이트, 2-나프탈렌설포네이트, 옥살레이트, 파모에이트, 펙티네이트, 퍼셀레이트, 3-페닐프로프리오네이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 석시네이트, 타르트레이트, 트리클로로아세테이트, 트리플루오로아세테이트, 포스페이트, 글루타메이트, 비카보네이트, 파라-톨루엔설포네이트, 및 운데카노에이트를 포함한다. 또한, 본 발명의 화합물 내의 아미노기는 메틸, 에틸, 프로필, 및 부틸 클로라이드, 브로마이드, 및 요오다이드; 디메틸, 디에틸, 디부틸, 및 디아밀 설페이트; 데실, 라우릴, 미리스틸, 및 스테릴 클로라이드, 브로마이드, 및 요오다이드; 및 벤질 및 페네틸 브로마이드에 의해 4차화될 수 있다. 치료적으로 허용되는 부가 염을 형성하기 위해 채용될 수 있는 산의 예는 무기산, 예컨대 염산, 브롬산, 황산, 및 인산, 및 유기산, 예컨대 옥살산, 말레산, 석신산, 및 시트르산을 포함한다. 적합하게, 약제학적으로 허용되는 염은, 예를 들어, 산 부가 염 및 염기성 염 중에서 선택되는 염일 수 있다. 산 부가 염의 예는 클로라이드 염, 시트레이트 염, 및 아세트레이트 염을 포함한다. 염기성 염의 예는 양이온이 알칼리 금속 양이온, 예컨대 소듐 또는 포타슘 이온, 알칼라인 토금속 양이온, 예컨대 칼슘 또는 마그네슘 이온과 더불어, 치환된 암모늄 이온, 예컨대 유형 N(R1)(R2)(R3)(R4)+의 이온 중에서 선택되는 염을 포함하며, 상기 식에서 R1, R2, R3, 및 R4는 독립적으로 수소, 임의로 치환된 C1-6-알킬, 또는 임의로 치환된 C2-6-알케닐을 전형적으로 나타낼 것이다. 적절한 C1-6-알킬 기의 예는 메틸, 에틸, 1-프로필, 및 2-프로필 기를 포함한다. 가능한 적절한 C2-6-알케닐 기의 예는 에테닐, 1-프로페닐, 및 2-프로페닐을 포함한다. 약제학적으로 허용되는 염의 다른 예는 문헌["Remington's Pharmaceutical Sciences", 17th edition, Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mark Publishing Company, Easton, PA, USA, 1985](및 그의 더 최근판), 문헌["Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology", 3rd edition, James Swarbrick (Ed.), Informa Healthcare USA (Inc.), NY, USA, 2007], 및 문헌[J. Pharm. Sci. 66: 2 (1977)]에 기재되어 있다. 또한, 적합한 염에 대한 개관의 경우, 문헌[Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use by Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, 2002)]을 참조한다. 다른 적합한 염기 염은 비-독성 염을 형성하는 염기로부터 형성된다. 대표적인 예는 알루미늄, 아르기닌, 벤자틴, 칼슘, 콜린, 디에틸아민, 디올아민, 글리신, 리신, 마그네슘, 메글루민, 올아민, 포타슘, 소듐, 트로메타민, 및 아연 염을 포함한다. 산 및 염기의 헤미염(hemisalt), 예를 들어, 헤미셀레이트 및 헤미칼슘 염 또한 형성될 수 있다.

[0289] 본 명세서에 사용되는 용어 "N(알파)메틸화"는 아미노산의 알파 아민의 메틸화를 기재하며, 일반적으로 N-메틸화라고도 불린다.

[0290] 본 명세서에 사용되는 용어 "sym 메틸화" 또는 "Arg-Me-sym"은, 아르기닌의 구아니딘 기의 2개의 질소의 대칭적

메틸화를 기재한다. 추가로, 용어 "asym 메틸화" 또는 "Arg-Me-asym"은 아르기닌의 구아니딘 기의 단일 질소의 메틸화를 기재한다.

[0291] 본 명세서에 사용되는 용어 "아실화 유기 화합물"은 C-말단 이량체를 형성하기 전에 아미노산 서브유닛의 N-말단을 아실화하기 위해 사용되는 카복실산 작용기를 가진 다양한 화합물을 지칭한다. 아실화 유기 화합물의 비-제한적 예는 사이클로프로필아세트산, 4-플루오로벤조산, 4-플루오로페닐아세트산, 3-페닐프로피온산, 석신산, 글루타르산, 사이클로펜탄 카복실산, 3,3,3-트리플루오로프로피온산, 3-플루오로메틸부티르산, 테트라히드로-2H-피란-4-카복실산을 포함한다.

[0292] 용어 "알킬"은 1 내지 24개의 탄소 원자를 함유하는 직쇄 또는 분지쇄, 비사이클릭 또는 사이클릭, 포화 지방족 탄화수소를 포함한다. 대표적인 포화 직쇄 알킬은 메틸, 에틸, *n*-프로필, *n*-부틸, *n*-펜틸, *n*-헥실 등을 포함하나 이로 제한되지 않는 반면에, 포화 분지형 알킬은 이소프로필, *sec*-부틸, 이소부틸, *tert*-부틸, 이소펜틸 등을 제한 없이 포함한다. 대표적인 포화 사이클릭 알킬은 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실 등을 포함하나 이로 제한되지 않는 반면에, 불포화 사이클릭 알킬은 사이클로펜테닐, 사이클로헥세닐 등을 제한 없이 포함한다.

[0293] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 본 발명의 펩티드 작용제의 "치료적 유효량"은 본 명세서에 기재된 임의의 질환 및 장애(예를 들어, 철 대사의 질환)를 포함하나 이로 제한되지 않는 헵시딘-관련 질환을 치료하기에 충분한 펩티드 작용제의 양을 기재하고자 하는 것이다. 특정 실시양태에서, 치료적 유효량은 임의의 의학적 치료에 적용가능한 목적하는 유익성/위험성 비를 달성할 것이다.

[0294] 헵시딘의 펩티드 유사체

[0295] 본 발명은 단량체 또는 이량체일 수 있는 헵시딘의 펩티드 유사체(집합적으로 "헵시딘 유사체")를 제공한다.

[0296] 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 페로포틴, 예를 들어, 인간 페로포틴에 결합한다. 소정의 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 인간 페로포틴에 특이적으로 결합한다. 본 명세서에 사용되는 "특이적으로 결합하다"는, 샘플 중의 다른 약제에 비해 특이적 결합체가 주어진 리간드와 우선적으로 상호작용함을 지칭한다. 예를 들어, 주어진 리간드에 특이적으로 결합하는 특이적 결합체는, 적합한 조건 하에, 샘플 중의 다른 구성요소와의 임의의 비특이적 상호작용의 것에 비해 관찰가능한 양 또는 정도로 주어진 리간드에 결합한다. 적합한 조건은 주어진 특이적 결합체와 주어진 리간드 사이의 상호작용을 가능하게 하는 것들이다. 이들 조건은 pH, 온도, 농도, 용매, 인큐베이션 시간 등을 포함하며, 주어진 특이적 결합체 및 리간드 쌍들 사이에 상이할 수 있지만, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 헵시딘 기준 화합물(예를 들어, 본 명세서에 제공된 헵시딘 기준 화합물 중 어느 하나)보다 더 큰 특이성으로 페로포틴에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 헵시딘 기준 화합물(예를 들어, 본 명세서에 제공된 헵시딘 기준 화합물 중 어느 하나)보다 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, 300%, 400%, 500%, 700%, 1000%, 또는 10,000% 더 높은 페로포틴 특이성을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 헵시딘 기준 화합물(예를 들어, 본 명세서에 제공된 헵시딘 기준 화합물 중 어느 하나)보다 적어도 약 5 배, 또는 적어도 약 10, 20, 50, 또는 100 배 더 높은 페로포틴 특이성을 나타낸다.

[0297] 소정의 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 헵시딘 활성을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 활성은 시험관 내 또는 생체내 활성, 예를 들어, 본 명세서에 기재된 생체내 또는 시험관내 활성이다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 헵시딘 기준 화합물(예를 들어, 본 명세서에 제공된 헵시딘 기준 화합물 중 어느 하나)에 의해 나타나는 활성의 적어도 약 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 99% 초과를 나타낸다.

[0298] 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 기준 헵시딘에 의해 나타나는 페로포틴 결합 능력의 적어도 약 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 99% 초과를 나타낸다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 기준 헵시딘에 비교하여 페로포틴(예를 들어, 인간 페로포틴) 결합에 대한 더 낮은 IC₅₀(즉, 더 높은 결합 친화도)을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 페로포틴 경쟁적 결합 어세이에서 기준 헵시딘보다 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, 300%, 400%, 500%, 700%, 또는 1000% 더 낮은 IC₅₀을 나타낸다.

[0299] 소정의 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 헵시딘 기준 펩티드에 비교하여 증가된 헵시딘 활성을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 활성은 시험관내 또는 생체내 활성, 예를 들어, 본 명세서에 기재된 생체내 또는 시험

관내 활성이다. 소정의 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 기준 헵시딘보다 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 또는 200-배 더 큰 헵시딘 활성을 나타낸다. 소정의 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 기준 헵시딘보다 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 99% 초과, 100%, 200%, 300%, 400%, 500%, 700%, 또는 1000% 더 큰 활성을 나타낸다.

[0300] 일부 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 유사체는 인간 페로포틴 단백질의 분해를 유도함에 있어서 기준 헵시딘의 것보다 적어도 약 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 99% 초과, 100%, 200%, 300%, 400%, 500%, 700%, 또는 1000% 더 큰 시험관내 활성을 나타내며, 여기에서 활성은 본 명세서에 기재된 방법에 따라 측정된다.

[0301] 일부 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 또는 펩티드 이량체는 개체에서 유리 혈장 철의 감소를 유도함에 있어서 기준 헵시딘이 하는 것보다 적어도 약 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 99% 초과, 100%, 200%, 300%, 400%, 500%, 700%, 또는 1000% 더 큰 생체내 활성을 나타내며, 여기에서 활성은 본 명세서에 기재된 방법에 따라 측정된다.

[0302] 일부 실시양태에서, 활성은 시험관내 또는 생체내 활성, 예를 들어, 본 명세서에 기재된 생체내 또는 시험관내 활성이다. 소정의 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 기준 헵시딘보다 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 또는 200-배 더 크거나 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, 300%, 400%, 500%, 700%, 또는 1000% 더 큰 활성을 나타내며, 여기에서 활성은, 예를 들어, 본 명세서의 실시예에 따라 측정된 페로포틴의 분해를 유도하는 시험관내 활성이거나; 여기에서 활성은, 예를 들어, 본 명세서의 실시예에 따라 측정된 유리 혈장 철을 감소시키는 생체내 활성이다.

[0303] 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 본 명세서에서 "미니-헵시딘"이라고 지칭하는 생물활성 인간 25-아미노산 형태인 Hep25의 헵시딘 활성을 모방한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 소정의 실시양태에서, "헵시딘 활성"을 나타내는 화합물(예를 들어, 헵시딘 유사체)은, 화합물이 대상체에 투여되는 경우(예를 들어, 장관외[parenteral] 주사 또는 경구 투여), 용량-의존적이고 시간-의존적인 방식으로 대상(예를 들어, 마우스 또는 인간) 내의 혈장 철 농도를 낮추는 능력을 나타냄을 의미한다. 예를 들어, 문헌[Rivera et al. (2005), Blood 106:2196-9]에 입증된 바를 참조한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 펩티드는 대상 내의 혈장 철 농도를 적어도 약 1.2, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10-배, 또는 적어도 약 5%, 10%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 약 99% 만큼 낮춘다.

[0304] 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 문헌[Nemeth et al. (2006) Blood 107:328-33]에 교시된 바와 같이 페로포틴-발현 세포주에서 페로포틴의 내재화 및 분해를 유발하는 능력에 의해 어세이되는 시험관내 활성을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 시험관내 활성은 문헌[Nemeth et al. (2006) Blood 107:328-33]에서와 같이 녹색 형광 단백질에 융합된 페로포틴을 디스플레이하도록 조작된 세포의 형광의 용량-의존적 손실에 의해 측정된다. 세포의 분취량을 차등 농도의 Hep25 또는 미니-헵시딘의 기준 제제와 함께 24 시간 동안 인큐베이션한다. 본 명세서에 제공되는 바와 같이, EC₅₀ 값은 기준 화합물에 의해 발생한 형광의 최대 손실의 50%를 도출하는 주어진 화합물(예를 들어, 본 발명의 헵시딘 유사체 펩티드 또는 펩티드 이량체)의 농도로서 제공된다. 이러한 어세이 범위에서 Hep25 제제의 EC₅₀은 5 내지 15 nM이며, 소정의 실시양태에서, 본 발명의 바람직한 헵시딘 유사체는 시험관내 활성 어세이에서 약 1,000 nM 이하의 EC₅₀ 값을 나타낸다. 소정의 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 시험관내 활성 어세이(예를 들어, 문헌[Nemeth et al. (2006) Blood 107:328-33] 또는 본 명세서의 실시예에 기재된 바와 같음)에서 약 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 또는 500 nM 중 어느 하나 미만의 EC₅₀을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 헵시딘 유사체 또는 생물치료제 조성물(예를 들어, 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물 중 어느 하나)은 약 1 nM 이하의 EC₅₀ 값을 나타낸다.

[0305] 헵시딘 활성 및 본 발명에 따른 헵시딘 유사체의 시험관내 활성을 계산하는 당업계에 공지된 다른 방법을 사용할 수 있다. 예를 들어, 소정의 실시양태에서는, 헵시딘 유사체 또는 기준 펩티드의 시험관내 활성을, 세포 페로포틴을 내재화하는 그들의 능력에 의해 측정하며, 이는 페로포틴의 세포의 에피토프를 인식하는 항체를 사용하는 면역조직화학 또는 유세포분석에 의해 결정된다. 대안적으로, 소정의 실시양태에서, 헵시딘 유사체 또는 기준 펩티드의 시험관내 활성은, 문헌[Nemeth et al. (2006) Blood 107:328-33]에서와 같이 철의 방사성 동위

원소 또는 안정한 동위원소로 사전 로딩된 페로포틴-발현 세포로부터 철의 유출을 저해하는 그들의 용량-의존적 능력에 의해 측정된다.

[0306] 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 기준 헵시딘에 비교하여 증가된 안정성(예를 들어, 반감기, 단백질 분해 속도에 의해 측정됨)을 나타낸다. 소정의 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체의 안정성은 기준 헵시딘보다 적어도 약 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 또는 200-배 더 크거나 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, 300%, 400%, 또는 500% 더 크게 증가된다. 일부 실시양태에서, 안정성은 본 명세서에 기재된 안정성이다. 일부 실시양태에서 안정성은, 예를 들어, 본 명세서에 기재된 방법에 따라 임의로 측정된 혈장 안정성이다.

[0307] 특정 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 기준 헵시딘보다 더 긴 반감기를 나타낸다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 주어진 세트의 조건(예를 들어, 온도, pH) 하에 적어도 약 5 분, 적어도 약 10 분, 적어도 약 20 분, 적어도 약 30 분, 적어도 약 45 분, 적어도 약 1 시간, 적어도 약 2 시간, 적어도 약 3 시간, 적어도 약 4 시간, 적어도 약 5 시간, 적어도 약 6 시간, 적어도 약 12 시간, 적어도 약 18 시간, 적어도 약 1 일, 적어도 약 2 일, 적어도 약 4 일, 적어도 약 7 일, 적어도 약 10 일, 적어도 약 2 주, 적어도 약 3 주, 적어도 약 1 월, 적어도 약 2 월, 적어도 약 3 월 이상, 또는 그 사이의 임의의 개재된 반감기 또는 범위, 약 5 분, 약 10 분, 약 20 분, 약 30 분, 약 45 분, 약 1 시간, 약 2 시간, 약 3 시간, 약 4 시간, 약 5 시간, 약 6 시간, 약 12 시간, 약 18 시간, 약 1 일, 약 2 일, 약 4 일, 약 7 일, 약 10 일, 약 2 주, 약 3 주, 약 1 월, 약 2 월, 약 3 월 이상, 또는 그 사이의 임의의 개재된 반감기 또는 범위의 반감기를 나타낸다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체의 반감기는 하나 이상의 친유성 치환체, 예를 들어, 본 명세서에 개시된 임의의 친유성 치환체에 그것이 접합됨으로 인해 연장된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체의 반감기는 하나 이상의 중합체성 부분, 예를 들어, 본 명세서에 개시된 임의의 중합체성 부분에 그것이 접합됨으로 인해 연장된다. 소정의 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 주어진 세트의 조건 하에 상기 기재된 바와 같은 반감기를 나타내며, 여기에서 온도는 약 25 °C, 약 4 °C, 또는 약 37 °C이고, pH는 생리학적 pH, 또는 약 7.4의 pH이다.

[0308] 일부 실시양태에서, 반감기는 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법을 사용하여 시험관내에서 측정되며, 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체의 안정성은 헵시딘 유사체를 사전-가온된 인간 혈청(시그마(Sigma))과 함께 37 °C에서 인큐베이션함으로써 결정된다. 전형적으로 최대 24 시간의 다양한 시점에 샘플을 채취하고, 혈청 단백질로부터 헵시딘 유사체를 분리한 후에 LC-MS를 사용하여 관심의 대상인 헵시딘 유사체의 존재에 대해 분석함으로써 샘플의 안정성을 분석한다.

[0309] 일부 실시양태에서, 헵시딘 유사체의 안정성은 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법을 사용하여 생체내에서 측정되며, 예를 들어, 일부 실시양태에서, 헵시딘 유사체의 안정성은 펩티드 또는 펩티드 이량체를 인간 또는 임의의 포유류(예를 들어, 마우스)와 같은 대상체에게 투여한 후에, 전형적으로 최대 24 시간의 다양한 시점에 채혈을 통해 대상체로부터 샘플을 채취함으로써 생체내에서 결정된다. 이어서, 반감기 측정의 시험관내 방법에 관련하여 상기 기재된 바와 같이 샘플을 분석한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체의 생체내 안정성은 본 명세서의 실시예에 개시된 방법을 통해 결정된다.

[0310] 일부 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서에 기재된 바와 같은 헵시딘 유사체를 제공하며, 여기에서 헵시딘 유사체는 기준 헵시딘에 비교하여 개선된 용해도 또는 개선된 응집 특징을 나타낸다. 용해도는 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법을 통해 결정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 용해도를 결정하는 당업계에 공지된 적합한 방법은 펩티드(예를 들어, 본 발명의 헵시딘 유사체)를 다양한 완충액(아세테이트 pH 4.0, 아세테이트 pH 5.0, 포스/시트레이트 pH 5.0, 포스 시트레이트 pH 6.0, 포스 pH 6.0, 포스 pH 7.0, 포스 pH 7.5, 강력 PBS(Strong PBS) pH 7.5, 트리스 pH 7.5, 트리스 pH 8.0, 글리신 pH 9.0, 물, 아세트산 pH 5.0, 및 당업계에 공지된 다른 것) 중에 배양하는 단계, 및 표준 기술을 사용하여 응집 또는 용해도에 대해 시험하는 단계를 포함한다. 이들은, 예를 들어, 표면 소수성을 측정하고 응집 또는 섬유화를 검출하기 위한 시각적 침전(visual precipitation), 동적 광산란, 원편광 이색성, 및 형광성 염료를 포함하나 이로 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, 개선된 용해도는 펩티드(예를 들어, 본 발명의 헵시딘 유사체)가 기준 헵시딘보다 주어진 액체에 더 가용성임을 의미한다.

[0311] 소정의 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서에 기재된 바와 같은 헵시딘 유사체를 제공하며, 여기에서 헵시딘 유사체는 특정 용액 또는 완충액, 예를 들어, 물 또는 당업계에 공지되거나 본 명세서에 개시된 완충액 중에서 기준 헵시딘보다 적어도 약 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30,

40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 또는 200-배 더 크거나, 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, 300%, 400%, 또는 500% 더 크게 증가된 용해도를 나타낸다.

- [0312] 소정의 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서에 기재된 바와 같은 헵시딘 유사체를 제공하며, 여기에서 헵시딘 유사체는 감소된 응집을 나타내고, 여기에서 용액 중의 펩티드의 응집은 특정 용액 또는 완충액, 예를 들어, 물 또는 당업계에 공지되거나 본 명세서에 개시된 완충액 중에서 기준 헵시딘보다 적어도 약 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 또는 200-배 더 적거나, 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, 300%, 400%, 또는 500% 더 적다.
- [0313] 일부 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서에 기재된 바와 같은 헵시딘 유사체를 제공하며, 여기에서 헵시딘 유사체는 더 적은 분해(즉, 더 큰 분해 안정성)를 나타낸다(예를 들어, 기준 헵시딘보다 약 10% 이상 더 적거나, 약 20% 이상 더 적거나, 약 30% 이상 더 적거나, 약 40% 이상 더 적거나, 약 50% 이상 더 적음). 일부 실시양태에서, 분해 안정성은 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법을 통해 결정된다. 일부 실시양태에서, 분해 안정성을 결정하는 당업계에 공지된 적합한 방법은 본 명세서에 전체적으로 포함된 문헌[Hawe et al J Pharm Sci, VOL. 101, NO. 3, 2012, p 895-913]에 기재된 방법을 포함한다. 일부 실시양태에서는 이러한 방법을 사용하여 저장 수명이 향상된 강한 서열을 선택한다.
- [0314] 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 합성에 의해 제조된다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 제조합에 의해 제조된다.
- [0315] 천연 아미노산만으로 본 발명의 다양한 헵시딘 유사체 단량체 및 이량체 펩티드를 작제할 수 있다. 대안적으로, 이들 헵시딘 유사체는 개질된 아미노산을 포함하나 이로 제한되지 않는 비천연 또는 비정규 아미노산을 포함할 수 있다. 소정의 실시양태에서, 개질된 아미노산은 아미노산 상에 천연적으로 존재하지 않는 기, 기들, 또는 화학적 부분을 포함하도록 화학적으로 개질된 천연 아미노산을 포함한다. 본 발명의 헵시딘 유사체는 부가적으로 D-아미노산을 포함할 수 있다. 추가로, 본 발명의 헵시딘 유사체 펩티드 단량체 및 이량체는 아미노산 유사체를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서 본 발명의 펩티드 유사체는, 펩티드 유사체의 하나 이상의 천연 아미노산 잔기가 비천연 또는 비정규 아미노산, 또는 D-아미노산으로 치환된, 본 명세서에 기재된 것들 중 임의의 것을 포함한다.
- [0316] 소정의 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 하나 이상의 개질된 아미노산 또는 비천연 아미노산을 포함한다. 예를 들어, 소정의 실시양태에서, 헵시딘 유사체는 Daba, Dapa, Pen, Sar, Cit, Cav, hLeu, 2-Nal, 1-Nal, d-1-Nal, d-2-Nal, Bip, Phe(4-OMe), Tyr(4-OMe), β hTrp, β hPhe, Phe(4-CF₃), 2-2-인단, 1-1-인단, 사이클로부틸, β hPhe, hLeu, Gla, Phe(4-NH₂), hPhe, 1-Nal, Nle, 3-3-diPhe, 사이클로부틸-Ala, Cha, Bip, β -Glu, Phe(4-Guan), 호모 아미노산, D-아미노산, 및 다양한 N-메틸화 아미노산 중 하나 이상을 포함한다. 다른 개질된 아미노산 또는 비천연 아미노산, 및 개질된 아미노산 또는 비천연 아미노산에 의한 천연 아미노산의 다른 다양한 치환을 실행하여 유사한 목적하는 결과를 달성할 수 있으며, 이러한 치환은 본 발명의 교시 및 사상 이내에 있음을, 당업자는 인정할 것이다.
- [0317] 본 발명은 본 명세서에 기재된 임의의 헵시딘 유사체를, 예를 들어, 유리 형태 또는 염 형태로 포함한다
- [0318] 본 발명의 헵시딘 유사체는, 본 명세서에 기재된 임의의 특이적 링커 부분을 포함하는, 링커 부분에 연결된 본 명세서에 기재된 임의의 펩티드 단량체 또는 이량체를 포함한다.
- [0319] 본 발명의 헵시딘 유사체는 본 명세서에 기재된 헵시딘 유사체 펩티드 서열에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 아미노산 서열 동일성을 나타내는 펩티드 단량체 서브유닛(예를 들어, 표 1-4 또는 6-15에 개시된 펩티드 중 어느 하나)을 포함하는 펩티드, 예를 들어, 단량체 또는 이량체를 포함한다.
- [0320] 소정의 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 유사체, 또는 본 발명의 이량체 펩티드 유사체의 단량체 서브유닛은, 7 내지 35개의 아미노산 잔기, 8 내지 35개의 아미노산 잔기, 9 내지 35개의 아미노산 잔기, 10 내지 35개의 아미노산 잔기, 7 내지 25개의 아미노산 잔기, 8 내지 25개의 아미노산 잔기, 9 내지 25개의 아미노산 잔기, 10 내지 25개의 아미노산 잔기, 7 내지 18개의 아미노산 잔기, 8 내지 18개의 아미노산 잔기, 9 내지 18개의 아미노산 잔기, 또는 10 내지 18개의 아미노산 잔기, 및 임의로, 하나 이상의 부가적인 비-아미노산 부분, 예컨대 접합된 화학적 부분, 예를 들어, PEG 또는 링커 부분을 포함하거나 이로 구성된다. 특정 실시양태에서, 헵시딘 유

사체의 단량체 서브유닛은 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, 또는 35개의 아미노산 잔기를 포함하거나 이로 구성된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체의 단량체 서브유닛은 10 내지 18개의 아미노산 잔기, 및 임의로, 하나 이상의 부가적인 비-아미노산 부분, 예컨대 접합된 화학적 부분, 예를 들어, PEG 또는 링커 부분을 포함하거나 이로 구성된다. 다양한 실시양태에서, 단량체 서브유닛은 7 내지 35개의 아미노산 잔기, 9 내지 18개의 아미노산 잔기, 또는 10 내지 18개의 아미노산 잔기를 포함하거나 이로 구성된다. 본 명세서에 기재된 임의의 다양한 화학식의 특정 실시양태에서, X는 7 내지 35개의 아미노산 잔기, 8 내지 35개의 아미노산 잔기, 9 내지 35개의 아미노산 잔기, 10 내지 35개의 아미노산 잔기, 7 내지 25개의 아미노산 잔기, 8 내지 25개의 아미노산 잔기, 9 내지 25개의 아미노산 잔기, 10 내지 25개의 아미노산 잔기, 7 내지 18개의 아미노산 잔기, 8 내지 18개의 아미노산 잔기, 9 내지 18개의 아미노산 잔기, 또는 10 내지 18개의 아미노산 잔기를 포함하거나 이로 구성된다.

[0321] 펩티드 단량체 헵시딘 유사체

[0322] 소정의 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 단일 펩티드 서브유닛을 포함한다. 소정의 실시양태에서, 이들 헵시딘 유사체는 분자내 디설파이드 또는 다른 결합을 통해 고리화 구조를 형성한다. 일 실시양태에서 본 발명은, 표 2-4 또는 12-15에 열거된 헵시딘 유사체 중 어느 하나의 고리화 형태를 제공하며, 단, 유사체는 2개 이상의 Cys 잔기를 가진다.

[0323] 소정의 실시양태에서, 본 발명은 화학식 I의 구조를 나타내는 펩티드 유사체, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 포함한다:

[0324] $R^1-X-Y-R^2$ (I) (서열 번호 1)

[0325] 상기 식에서

[0326] R^1 은 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, 또는 C1-C20 알카노일이며, PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;

[0327] R^2 는 OH 또는 NH_2 이며;

[0328] X는 화학식 Ia의 펩티드 서열이고:

[0329] $X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10$ (Ia) (서열 번호 2)

[0330] 상기 식에서

[0331] X1은 Asp, Ser, Glu, Ida, pGlu, bhAsp, D-Asp이거나 부재하며;

[0332] X2는 Thr, Ser, Lys, Glu, Pro, Ala이거나 부재하고;

[0333] X3는 His, Ala, 또는 Glu이며;

[0334] X4는 Phe, Ile, 또는 Dpa이고;

[0335] X5는 Pro, bhPro, Val, Glu, Sarc, 또는 Gly이며;

[0336] X6는 Cys 또는 (D)-Cys이고;

[0337] X7은 부재하거나 Ile, Cys, 또는 (D)-Cys를 제외한 임의의 아미노산이며;

[0338] X8은 부재하거나 Cys 또는 (D)-Cys를 제외한 임의의 아미노산이고;

[0339] X9은 Phe, Ala, Ile, Thr, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, D-Phe이거나 부재하며;

[0340] X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;

[0341] Y는 부재하거나 존재하며;

[0342] 단, Y가 존재하는 경우, Y는 화학식 Im의 펩티드이고:

[0343] $Y1-Y2-Y3-Y4-Y5-Y6-Y7-Y8-Y9-Y10-Y11-Y12$ (Im) (서열 번호 3)

[0344] 상기 식에서

- [0345] Y1은 Gly, PEG3, Sarc, Lys, Glu, Ala, Phe, Pro, Glu, Lys, D-Pro, Val, Ser이거나 부재하며;
- [0346] Y2는 Pro, Ala, Cys, Gly이거나 부재하고;
- [0347] Y3는 Arg, Lys, Pro, Gly, His, Ala, Trp이거나 부재하며;
- [0348] Y4는 is Ser, Arg, Gly, Trp, Ala, His, Glu, Tyr이거나 부재하고;
- [0349] Y5는 Lys, Met, Ser, Arg, Ala이거나 부재하며;
- [0350] Y6는 Gly, Sarc, Glu, Lys, Arg, Ser, Lys, Ile, Ala, Pro, Val이거나 부재하고;
- [0351] Y7은 Trp, Lys, Gly, Ala, Ile, Val이거나 부재하며;
- [0352] Y8은 Val, Trp, His, Thr, Gly, Cys, Met, Tyr, Ala, Glu, Lys, Asp, Arg이거나 부재하고;
- [0353] Y9은 Val, Asp, Asn, Cys, Tyr이거나 부재하며;
- [0354] Y10은 Cys, Met, Lys, Arg, Tyr이거나 부재하고;
- [0355] Y11은 Arg, Met, Cys, Lys이거나 부재하며;
- [0356] Y12는 Arg, Lys, Ala이거나 부재한다.
- [0357] 소정의 대안적인 실시양태에서, X7은 부재하거나 Cys 또는 (D)-Cys를 제외한 임의의 아미노산이다.
- [0358] 소정의 실시양태에서, X7은 Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Val, Lys, Ala, Ser, Dapa이거나 부재한다.
- [0359] 소정의 실시양태에서, X8은 Ile, Arg, Lys, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, Dapa이거나 부재한다.
- [0360] 본 명세서에 기술된 임의의 다양한 화학식의 임의의 펩티드 유사체의 소정의 실시양태에서, R¹은 메틸, 아세틸, 포르밀, 벤조일, 트리플루오로아세틸, 이소발레릴, 이소부티릴, 옥타닐, 및 라우르산, 헥사데카노산, 및 γ -Glu-헥사데카노산의 접합된 아미드 중에서 선택된다.
- [0361] 본 명세서에 기술된 임의의 화학식의 소정의 실시양태에서, X6에 대해 카복시 인접 아미노산 잔기는 Ile가 아니다. X6가 Cys 또는 (D)-Cys인 특정 실시양태에서, X6에 대해 카복시 인접 아미노산 잔기는 Ile가 아니다. 예를 들어, 소정의 실시양태에서, X7이 부재하고 X8이 존재하는 경우에 X8은 Ile가 아니거나, X7 및 X8이 부재하는 경우에 X9은 Ile가 아니다.
- [0362] 본 명세서에 기술된 임의의 화학식의 소정의 실시양태에서, X는 미국 특허 제8,435,941호에 기술된 아미노산 서열을 포함하지 않거나, 이로 구성되지 않거나, 양자 모두이다.
- [0363] 화학식 I의 펩티드 유사체의 소정의 실시양태에서,
- [0364] X는 화학식 Ib의 펩티드 서열이고:
- [0365] X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (Ib) (서열 번호 18)
- [0366] 상기 식에서
- [0367] X1은 Asp, Glu, Ida, pGlu, bhAsp, D-Asp이거나 부재하며;
- [0368] X2는 Thr, Ser, Lys, Glu, Pro, Ala이거나 부재하고;
- [0369] X3는 His, Ala, Glu, 또는 Ala이며;
- [0370] X4는 Phe, Ile, 또는 Dpa이고;
- [0371] X5는 Pro, bhPro, Sarc, 또는 Gly이며;
- [0372] X6는 Cys이고;
- [0373] X7은 부재하거나 Ile, Cys, 또는 (D)-Cys를 제외한 임의의 아미노산이며;
- [0374] X8은 부재하거나 Cys 또는 (D)-Cys를 제외한 임의의 아미노산이고;

- [0375] X9은 Phe, Ile, Tyr, bhPhe, 또는 D-Phe이거나 부재하며;
- [0376] X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;
- [0377] 여기에서 Y는 부재하거나 존재하며, 단, Y가 존재하는 경우, Y는 화학식 In의 펩티드이고:
- [0378] Y1-Y2-Y3-Y4-Y5-Y6-Y7-Y8-Y9-Y10-Y11-Y12 (In) (서열 번호 19)
- [0379] 상기 식에서
- [0380] Y1은 Gly, PEG3, Sarc, Lys, Glu, Ala, Phe, Pro, Glu, Lys, D-Pro, Val, Ser이거나 부재하며;
- [0381] Y2는 Pro, Ala, Gly이거나 부재하고;
- [0382] Y3는 Arg, Lys, Pro, Gly, His, Ala이거나 부재하며;
- [0383] Y4는 Ser, Arg, Glu이거나 부재하고;
- [0384] Y5는 Lys, Ser, Met, Arg, Ala이거나 부재하며;
- [0385] Y6는 Gly, Sarc, Glu, Leu, Phe, His이거나 부재하고;
- [0386] Y7은 Trp, NMe-Trp, Lys, Thr, His, Gly, Ala, Ile, Val이거나 부재하며;
- [0387] Y8은 Val, Trp, Ala, Asn, Glu이거나 부재하고;
- [0388] Y9은 Val, Ala, Asn, Asp, Cys이거나 부재하며;
- [0389] Y10은 Cys, (D)Cys, Glu이거나 부재하고;
- [0390] Y11은 Tyr, Met이거나 부재하며;
- [0391] Y12는 Trp이거나 부재한다.
- [0392] 소정의 실시양태에서, X7은 Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Val, Lys, Ala, Ser, Dapa이거나 부재한다.
- [0393] 소정의 실시양태에서, X7은 Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Ile, Val, Lys, Ala, Ser, Dapa이거나 부재한다.
- [0394] 소정의 대안적인 실시양태에서, X7은 부재하거나 Cys 또는 (D)-Cys를 제외한 임의의 아미노산이다.
- [0395] 소정의 실시양태에서, X8은 Ile, Arg, Lys, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, Dapa이거나 부재한다.
- [0396] 일부 실시양태에서, 화학식 (I)의 펩티드는 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 또는 적어도 12개의 아미노산 잔기를 Y 내에 포함한다.
- [0397] 일부 실시양태에서는, Y1 내지 Y3가 존재하고 Y4 내지 Y12가 부재한다.
- [0398] 일부 실시양태에서는, Y1 내지 Y11이 존재하고 Y12가 부재한다.
- [0399] 일부 실시양태에서는, Y1 내지 Y10이 존재하고 Y11 내지 Y12가 부재한다.
- [0400] 화학식 I의 펩티드 유사체의 예시적인 실시양태가 표 2에 제공된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 유사체는 표 2에 기술된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성되거나, 표 2에 나타난 구조를 가진다. 표 2는 첨부된 실시예에 기재된 페로포틴 내재화/분해 어세이를 통해 결정된 예시적인 펩티드 유사체의 EC₅₀ 값 또한 제공한다.

표 2

	예시적인 펩티드 단량체 헵시딘 유사체	
서열 번호	서열	EC ₅₀ (nM)
440	Hy-DTHFPCAIF-NH ₂	>1000
441	Hy-DTHFPCRRF-NH ₂	>10 μM
442	[IDA]-TH-[Dpa]-[bhPro]CRR-[bhPhe]-NH ₂	206
443	Hy-DTHFPCEIF-NH ₂	>1000

444	Hy-DTHFPCFIF-NH ₂	1191.8
445	Hy-DTHFPCQIF-NH ₂	>1000
446	Hy-DTHFPCRIF-NH ₂	>1000
447	Hy-[pGlu]-THFPCRKF-NH ₂	>1000
448	Hy-DTHFPCLIF-NH ₂	>10 μM
449	Hy-DTHFPCVIF-NH ₂	10 μM에서 81%
450	Hy-DTHFPCEIF-NH ₂	10 μM에서 19%
451	Hy-DTHFPCRIF-NH ₂	10 μM에서 31%
452	Hy-DTHFPCKIF-NH ₂	10 μM에서 9%
453	Hy-DTHFPCLF-NH ₂	1 μM에서 39%
454	Hy-DTHFPCEF-NH ₂	10 μM에서 17%
455	Hy-DTHFPCRf-NH ₂	10 μM에서 31%
456	Hy-DTHFPRRFGPRSKGWVC-NH ₂	>1000
457	[IDA]-THF-[bhPro]-CRR-[bhPhe]GPRSKGWVC-NH ₂	>1000
458	Hy-DTHFPCIFGPRSKGWVC-NH ₂	>1000
459	Hy-DTHFPCRIFGPRSRGWVCK-NH ₂	>1000
460	이소발레르산-DTHFPCLIFGPRSKGWVCK-NH ₂	19.2
461	이소발레르산-DTHFPCVIFGPRSKGWVCK-NH ₂	41
462	이소발레르산-DTHFPCIFGPRSKGWVCK-NH ₂	78
463	이소발레르산-DTHFPCQIFGPRSKGWVCK-NH ₂	157
464	이소발레르산-DTHFPCKIFGPRSKGWVCK-NH ₂	86
465	이소발레르산-DTHFPC-[Dapa]-IFGPRSKGWDCk-NH ₂	65
466	이소발레르산-DTHFPC-[Dapa]-IFGPRSKGWECk-NH ₂	151
467	이소발레르산-DTHFPCKIFGPRSKGWECk-NH ₂	163
468	이소발레르산-DTHFPCRFRFGPRSKGWVCK-NH ₂	>1000
469	이소발레르산-DTHFPCTIFGPRSKGWVCK-NH ₂	시험하지 않음

[0402] 소정의 실시양태에서, 본 발명은 화학식 II의 구조를 나타내는 펩티드 유사체, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 포함한다:

[0403] $R^1-X-Y-R^2$ (II) (서열 번호 4)

[0404] 상기 식에서

[0405] R^1 은 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, 또는 C1-C20 알카노일이며, PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;

[0406] R^2 는 OH 또는 NH₂이며;

[0407] X는 화학식 IIa의 펩티드 서열이고:

[0408] X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (IIa) (서열 번호 5)

[0409] 상기 식에서

[0410] X1은 Asp, Glu, 또는 Ida이며;

[0411] X2는 Thr, Ser이거나 부재하고;

[0412] X3는 His이며;

[0413] X4는 Phe 또는 Dpa이고;

[0414] X5는 Pro, bhPro, Sarc, 또는 Gly이며;

- [0415] X6는 Cys 또는 (D)-Cys이고;
- [0416] X7은 Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Val, Lys, Ile, Ala, Ser, Dapa이거나 부재하며;
- [0417] X8은 Ile, Arg, Lys, Arg, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, Dapa이거나 부재하고;
- [0418] X9은 Phe, Tyr, bhPhe, D-Phe이거나 부재하며;
- [0419] X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;
- [0420] 여기에서 Y는 부재하거나 존재하며, 단, Y가 존재하는 경우, Y는 화학식 II_m의 펩티드이고:
- [0421] Y1-Y2-Y3-Y4-Y5-Y6-Y7-Y8-Y9-Y10-Y11-Y12 (II_m) (서열 번호 6)
- [0422] 상기 식에서
- [0423] Y1은 Gly, Sarc, Lys, Glu이거나 부재하며;
- [0424] Y2는 Pro, Ala, Gly이거나 부재하고;
- [0425] Y3는 Arg, Lys, Pro, Gly, His, Ala이거나 부재하며;
- [0426] Y4는 Ser, Arg, Glu이거나 부재하고;
- [0427] Y5는 Lys, Ser, Met, Arg, Ala이거나 부재하며;
- [0428] Y6는 Gly, Sarc, Glu, Leu, Phe, His이거나 부재하고;
- [0429] Y7은 Trp, NMe-Trp, Lys, Thr, His, Gly, Ala, Ile, Val이거나 부재하며;
- [0430] Y8은 Val, Trp, Ala, Asn, Glu이거나 부재하고;
- [0431] Y9은 Cys이며;
- [0432] Y10은 Met이거나 부재하고;
- [0433] Y11은 Tyr, Met이거나 부재하며;
- [0434] Y12는 Trp이거나 부재한다.
- [0435] 소정의 실시양태에서, X6는 Cys이다.
- [0436] 일부 실시양태에서, X7은 Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Val, Lys, Ala, Ser, Dapa이거나 부재한다.
- [0437] 소정의 실시양태에서, Y10은 부재한다.
- [0438] 소정의 실시양태에서, Y11은 Tyr이다.
- [0439] 소정의 실시양태에서, Y11은 부재한다.
- [0440] 소정의 실시양태에서, Y12는 부재한다.
- [0441] 소정의 실시양태에서, Y11 및 Y12 또는 Y10, Y11, 및 Y12는 부재한다.
- [0442] 본 명세서에 기술된 임의의 화학식의 임의의 펩티드 유사체의 소정의 실시양태에서, R¹은 메틸, 아세틸, 포르밀, 벤조일, 트리플루오로아세틸, 이소발레릴, 이소부티릴, 옥타닐, 및 라우르산, 헥사테카노산, 및 γ -Glu-헥사테카노산의 접합된 아마이드 중에서 선택된다.
- [0443] 본 명세서에 기술된 임의의 화학식의 소정의 실시양태에서, X는 미국 특허 제8,435,941호에 기술된 아미노산 서열을 포함하지 않거나, 이로 구성되지 않거나, 양자 모두이다.
- [0444] 일부 실시양태에서, 화학식 (II)의 펩티드는 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 또는 적어도 12개의 아미노산 잔기를 Y 내에 포함한다.
- [0445] 일부 실시양태에서는, Y1 내지 Y3가 존재하고 Y4 내지 Y12가 부재한다.
- [0446] 일부 실시양태에서는, Y1 내지 Y11이 존재하고 Y12가 부재한다.

[0447] 일부 실시양태에서는, Y1 내지 Y10이 존재하고 Y11 내지 Y12가 부재한다.

[0448] 화학식 II의 펩티드 유사체의 예시적인 실시양태는 표 3에 제공된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 유사체는 표 3에 기술된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성되거나, 표 3에 나타난 구조를 가진다. 표 3은 본 명세서에 기재된 페로포틴 내재화/분해 어세이를 통해 결정된 예시적인 펩티드 유사체의 EC₅₀ 값 또한 제공한다.

표 3

[0449]

예시적인 펩티드 단량체 헵시딘 유사체		
서열 번호	서열	페로포틴 내재화 어세이 EC ₅₀ (nM)
470	Hy-DTHFP1A1CI-NH ₂	활성 없음
471	Hy-DTHFP1ICI-NH ₂	활성 없음
472	Hy-DTH1CIA1IF-NH ₂	활성 없음
473	Hy-DTHCP1A1IF-NH ₂	활성 없음
474	Hy-ATHFP1CIF-NH ₂	>1000
475	Hy-ADHF1CIF-NH ₂	>1000
476	Hy-DTHFP1CIFKC-NH ₂	6398.0
477	Hy-DTHFP1CIFAC-NH ₂	>1000
478	Hy-DTHFP1CIFA-NH ₂	1 μM에서 59%
479	Hy-DEHF1CIF-NH ₂	10 μM에서 34%
480	Hy-DPHF1CIF-NH ₂	10 μM에서 64%
481	Hy-DTHK1CIF-NH ₂	10 μM에서 45%
482	Hy-DTHV1CIF-NH ₂	10 μM에서 34%
483	Hy-DTHFV1CIF-NH ₂	10 μM에서 50%
484	Hy-DTHFP1CIY-NH ₂	10 μM에서 75%
485	Hy-DTHFP1CIT-NH ₂	1 μM에서 23%
486	Hy-DTHFP1CILY-NH ₂	1 μM에서 85%
487	Hy-DTHFP1CIEY-NH ₂	1 μM에서 8%
488	이소발레르산-DTHFP1IFGPRSKG-[N-MeTrp]-VC-NH ₂	32
489	이소발레르산-DTHFP1IF-[Sarc]-PRSKG-[N-MeTrp]-VC-NH ₂	10
490	이소발레르산-DTHFP1IF-[Sarc]-PHSKG-[N-MeTrp]-VC-NH ₂	9
491	이소발레르산-DTHFP1IFEPRSKHWVCK-NH ₂	15
492	이소발레르산-DTHFP1IFEPRSKWVCK-NH ₂	19
493	이소발레르산-DTHFP1IFEPRSKLVCK-NH ₂	7
494	이소발레르산-DTHFP1IFEPRSKFWVCK-NH ₂	10
495	이소발레르산-DTHFP1IKFEPHSK-[Sarc]-CK-NH ₂	28
496	이소발레르산-DTHFP1IKFKPHSKWVCE-NH ₂	46
497	이소발레르산-DTHFP1IKFEPRSKWVCK-NH ₂	20
498	이소발레르산-DTHFP1IKFEPRSKLVCK-NH ₂	9
499	이소발레르산-DTHFP1IKFEPRSKWVCK-OH	46
500	이소발레르산-DTHFP1IKFEPRS-K(isoGlu-옥타노산)-ECK-NH ₂	48
501	Hy-DTHFP1IFGPRSKGWAVCYW-NH ₂	197

502	Hy-DTHFPICIFGPHRSKGWVCM-NH ₂	149
503	Hy-DTHFPICIFGPRSKGWVAC-NH ₂	281
504	Hy-DTHFP-[(D)Cys]-IIFGPRSKGWVA-[(D)Cys]-NH ₂	활성 없음
505	Hy-DTHFPICIFGPRSKGWVACY-NH ₂	활성 없음
506	Hy-DTHFPICIFGPRSRGHVCK-NH ₂	>1000
507	Hy-DTHFPICIFGPRSKGWNCK-NH ₂	>1000
508	Hy-DTHFPICIFGPRSKGWVCK-NH ₂	>1000
509	Hy-DTHFPICIDFGPRSKGWVCK-NH ₂	>1000
510	이소발레르산-DTHFECIFGPRSKGWVCK-NH ₂	>1000
511	Hy-DTHFPICIFGGPRSRGWVCK-NH ₂	520
512	Hy-DTHFPICIFGGPRSKGWNCK-NH ₂	404
513	Hy-DTHFPICIFGGPRSKGWDCK-NH ₂	679
514	이소발레르산-DTHFPICIFEPRSKGTCK-NH ₂	57
515	이소발레르산-DTHFPICIF-[PEG3]-C-NH ₂	157
516	이소발레르산-DTHAPCICKF-[Sarc]-PRSKGWECK-NH ₂	활성 없음
517	이소발레르산-DTHAPCICKFEPRSK-[Sarc]-WECK-NH ₂	활성 없음
518	이소발레르산-DTHAPCICKFEPRSKWECK-NH ₂	활성 없음
519	이소발레르산-STHAPCICKFEPRSKGWECK-NH ₂	활성 없음
520	이소발레르산-SKHAPCICKFEPRSKGWECK-NH ₂	활성 없음
521	이소발레르산-DTHFPICIKFEPHSKEWVCK-NH ₂	80
522	이소발레르산-DTAFPCIKFEPRSK-EC-NH ₂	활성 없음
523	이소발레르산-DTHFGCICKFEPRSKWEVCK-NH ₂	>1000
524	이소발레르산-DTEFPCIKFEPRSKWEVCK-NH ₂	>1000
525	이소발레르산-DTHFPICIKFEPRS-K(옥타노산)-EWVCK-NH ₂	62
526	이소발레르산-ETHFPICIKFEPRSKWEVCK-NH ₂	181

[0450] 펩티드 이량체 헵시딘 유사체

[0451] 소정의 실시양태에서 본 발명은, 표 2-4에 기술된 임의의 단량체 펩티드 서열 또는 구조를 포함하는 이량체, 및 표 6-10, 12, 14, 및 15에 기술된 서열 또는 구조의 소정의 이량체를 포함하는, 본 명세서에 기재된 단량체 헵시딘 유사체의 이량체를 포함한다. 특정 실시양태에서 본 발명은, 표 11 또는 13에 기술된 임의의 단량체 펩티드 서열 또는 구조의 이량체를 포함한다. 이들 이량체는 본 명세서에 사용되는 일반적 용어 "헵시딘 유사체"의 범위 내에 들어간다. 펩티드 이량체에서와 같이, 용어 "이량체"는 2개의 펩티드 단량체 서브유닛이 연결된 화합물을 지칭한다. 본 발명의 펩티드 이량체는 동종이량체를 생성시키는 2개의 동일한 단량체 서브유닛, 또는 이종 이량체를 생성시키는 2개의 동일하지 않은 단량체 서브유닛을 포함할 수 있다. 시스테인 이량체는 하나의 단량체 서브유닛 내의 시스테인 잔기와 다른 단량체 서브유닛 내의 시스테인 잔기 사이의 디설피이드 결합을 통해 연결된 2개의 펩티드 단량체 서브유닛을 포함한다.

[0452] 특정 실시양태에서 펩티드 이량체 헵시딘 유사체는, 표 4에 나타내거나 원용에 의해 전체적으로 본 명세서에 포함된 미국 특허 제8,435,941호에 기재된 하나 이상의, 예를 들어, 2개의 펩티드 단량체 서브유닛을 포함한다.

표 4

[0453]

예시적인 펩티드 단량체 서브유닛	
서열 번호	서열

376	DTHFPICIFC
377	FPIC
378	HFPIC
379	HFPICI
380	HFPICIF
381	DTHFPIC
381	DTHFPICI
382	DTHFPICIF
383	DTHFPIAIFC
384	DTHAPICIF
385	DTHAPI-[C-StBu]-IF
386	DTHAPI-[C-tBu]-IF
387	DTHFPIAIF
388	DTHFPISIF
389	DTHFPI-[(D)-Cys]-IF
390	DTHFPI-[homoCys]-IF
391	DTHFPI-[Pen]-IF
392	DTHFPI-[(D)-Pen]-IF
393	DTHFPI-[Dapa(AcBr)]-IF
394	CDTHFPICIF
395	DTHFPICIF-NHCH ₂ CH ₂ S
396	CHFPICIF
397	HFPICIF-NHCH ₂ CH ₂ S
398	D-[Tle]-H-[Phg]-[Oic]-[Chg]-C-[Chg]-F
399	D-[Tle]-HP-[Oic]-[Chg]-C-[Chg]-F
400	[(D)Phe]-[(D)Ile]-[(D)Cys]-[(D)Ile]-[(D)pro]-[(D)Phe]-[(D)His]-[(D)Thr]-[(D)Asp]
401	[(D)Phe]-[(D)Ile]-[(D)Cys]-[(D)Ile]-[(D)Pro]-[(D)Phe]-[(D)His]
402	케노테옥시콜레이트-(PEG11)-[(D)Phe]-[(D)Ile]-[(D)Cys]-[(D)Ile]-[(D)Pro]-[(D)Phe]-[(D)His]-[(D)Thr]-[(D)Asp]
403	우르소테옥시콜레이트-(PEG11)-[(D)Phe]-[(D)Ile]-[(D)Cys]-[(D)Ile]-[(D)Pro]-[(D)Phe]-[(D)His]-[(D)Thr]-[(D)Asp]
404	F-[(D)Ile]-[(D)Cys]-[(D)Ile]-[(D)Pro]-[(D)Phe]-[(D)His]-[(D)Thr]-[(D)Asp]-[Peg11]-GYIPEAPRDGQAYVRKDGWVLLSTFL
405	F-[(D)Ile]-[(D)Cys]-[(D)Ile]-[(D)pro]-[(D)Phe]-[(D)His]-[(D)Thr]-[(D)Asp]-[GP-(Hyp)] ₁₀
406	팔미토일-(PEG11)-[(D)Phe]-[(D)Ile]-[(D)Cys]-[(D)Ile]-[(D)Pro]-[(D)Phe]-[(D)His]-[(D)Thr]-[(D)Asp]
407	2(팔미토일)-[Dapa]-[Peg11]-[(D)Phe]-[(D)Ile]-[(D)Cys]-[(D)Ile]-[(D)Pro]-[(D)Phe]-[(D)His]-[(D)Thr]-[(D)Asp]
408	DTH-[bhPhe]-PIICIF
409	DTH-[Dpa]-PICI
410	DTH-[Bip]-PICIF
411	DTH[1-Nal]-PICIF
412	DTH-[bhDpa]-PICIF
413	DTHFP-ICI-bhPhe
414	DTHFPICI-[Dpa]
415	DTHFPICI-[Bip]
416	DTHFPICI-[1-Nal]
417	DTHFPICI-[bhDpa]
418	DTH-[Dpa]-PICI-[Dpa]
419	D-[Dpa]-PICIF
420	D-[Dpa]-PICI-[Dpa]
421	DTH-[Dpa]-P-[(D)Arg]-CR-[Dpa]
422	DTH-[Dpa]-P-[(D)Arg]-C-[(D)Arg]-[Dpa]
423	DTH-[Dpa]-[Oic]-ICIF
424	DTH-[Dpa]-[Oic]-ICI-[Dpa]
425	DTH-[Dpa]-PCCC-[Dpa]

426	DTHFPICIF-[(D)Pro]-PK
427	DTHFPICIF-[(D)Pro]-PR
428	DTHFPICIF-[bhPro]-PK
429	DTHFPICIF-[bhPro]-PR
430	DTHFPICIF-[(D)Pro]-[bhPro]-K
431	DTHFPICIF-[(D)Pro]-[bhPro]-R
432	DTHFPICI-[bhPhe]-[(D)Pro]-PK
433	DTHFPICI-[bhPhe]-[(D)Pro]-PR
434	DTHFPICI-[bhPhe]-[(D)Pro]-[bhPro]-K
435	DTHFPICI-[bhPhe]-[(D)Pro]-[bhPro]-R
436	C-[Inp]-[(D)Dpa]-[Amc]-R-[Amc]-[Inp]-[Dpa]-시스테인아미드
437	CP-[(D)Dpa]-[Amc]-R-[Amc]-[Inp]-[Dpa]-시스테인아미드
438	C-[(D)Pro]-[(D)Dpa]-[Amc]-R-[Amc]-[Inp]-[Dpa]-시스테인아미드
439	CG-[(D)Dpa]-[Amc]-R-[Amc]-[Inp]-[Dpa]-시스테인아미드

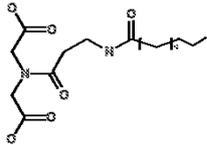
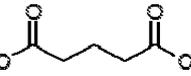
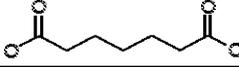
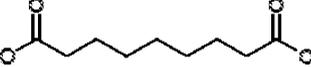
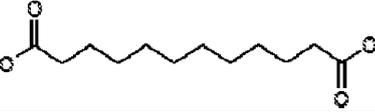
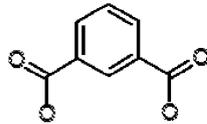
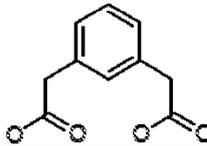
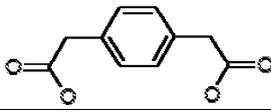
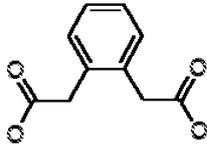
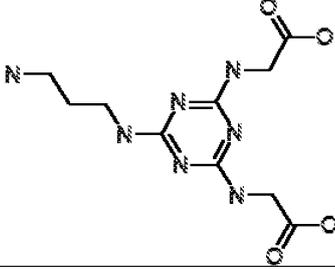
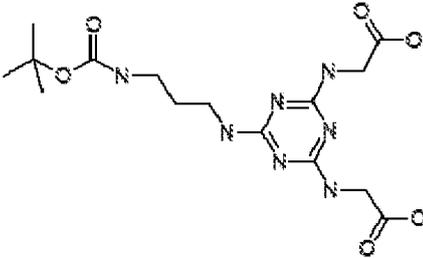
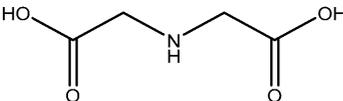
- [0454] 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 이량체 입체형태에서, 특히 펩티드 내에 유리 시스테인 잔기가 존재하는 경우에 활성이다. 소정의 실시양태에서, 이는 합성 이량체로서, 또는 특히 유리 시스테인 단량체 펩티드가 존재하고 산화성 조건 하에 이량체화되는 경우에 발생한다. 일부 실시양태에서, 이량체는 동종이량체이다. 다른 실시양태에서, 이량체는 이종이량체이다.
- [0455] 소정의 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체 이량체는 본 발명의 2개의 헵시딘 유사체 펩티드 단량체를 포함하는 펩티드 이량체이다.
- [0456] 다양한 실시양태에서, 표 2-4 및 표 6-15에 열거된 아미노산 서열은 아미노산에 대한 1 문자 코드를 사용하여 나타낸다. 헵시딘 유사체 단량체 펩티드 서열만 나타내는 경우, 본 교시에 따라, 소정의 실시양태에서, 이들 헵시딘 유사체 단량체 펩티드, 즉, 단량체 서브유닛이 이량체화되어 펩티드 이량체 헵시딘 유사체를 형성하는 것으로 이해된다. 따라서, 일 실시양태에서, 본 발명은 표 2-4, 6-10, 12, 14, 또는 15 중 어느 하나에 나타난 펩티드 단량체의 이량체를 제공한다.
- [0457] 단량체 서브유닛은 2개의 시스테인 잔기(각각의 펩티드 단량체 서브유닛 내에 하나) 사이의 디설파이드 가교에 의해 이량체화될 수 있거나, 본 명세서에 정의된 바와 같이, 다른 적합한 링커 부분에 의해 그들이 이량체화될 수 있다. 단량체 서브유닛 중 일부는 양자 모두 유리 아민을 포함하는 C- 및 N-말단을 가지는 것으로 나타난다. 따라서, 펩티드 이량체 저해제를 제조하기 위해, C- 또는 N-말단 유리 아민을 제거함으로써 잔류하는 유리 아민에서의 이량체화를 허용하도록 단량체 서브유닛을 개질할 수 있다. 추가로, 일부 경우에는, 2-me-트리플루오로부틸, 트리플루오로펜틸, 아세틸, 옥도닐, 부틸, 펜틸, 헥실, 팔미틸, 트리플루오로메틸 부티르산, 사이클로펜탄 카복실산, 사이클로프로필아세트산, 4-플루오로벤조산, 4-플루오로페닐 아세트산, 3-페닐프로피온산, 테트라헤드로-2H-피란-4카복실산, 석신산, 및 글루타르산으로 구성된 그룹 중에서 선택되는 아실화 유기 화합물로 하나 이상의 단량체 서브유닛의 말단 단부를 아실화한다. 일부 경우에, 단량체 서브유닛은 유리 카복시 말단 및 유리 아미노 말단 양자 모두를 포함하며, 이에 의해 사용자는 서브유닛을 선택적으로 개질하여 목적하는 말단에서의 이량체화를 달성할 수 있다. 그러므로, 당업자는 본 발명의 단량체 서브유닛을 선택적으로 개질하여 목적하는 이량체화를 위한 단일하고 특이적인 아민을 달성할 수 있음을 인정할 것이다.
- [0458] 달리 표시되지 않는 한, 본 명세서에 개시된 단량체 서브유닛의 C-말단 잔기는 아미드임이 추가로 이해된다. 추가로, 당업계에서 일반적으로 이해되는 바와 같이, 소정의 실시양태에서, 아민 작용기를 가진 측쇄를 가진 적합한 아미노산을 사용함으로써 C-말단에서의 이량체화가 촉진됨이 이해된다. N-말단 잔기에 관하여, 당업계에서 일반적으로 이해되는 바와 같이, 이량체화는 말단 잔기의 유리 아민을 통해 달성할 수 있거나, 유리 아민을 가진 적합한 아미노산 측쇄를 사용함으로써 달성할 수 있음이 일반적으로 이해된다.
- [0459] 또한, 본 발명의 헵시딘 유사체 펩티드 단량체에 포함된 하나 이상의 내부 잔기의 측쇄를 이량체화의 목적으로 이용할 수 있음이 이해된다. 이러한 실시양태에서, 측쇄는 일부 실시양태에서 적합한 천연 아미노산(예를 들어, Lys)이거나, 대안적으로 그것은 본 명세서에 정의된 바와 같이, 예를 들어, 적합한 링커 부분에 대한 접합에 적합한 측쇄를 포함하는 비천연 아미노산이다.
- [0460] 단량체 서브유닛을 연결하는 링커 부분은 본 명세서의 교시와 상용성인 임의의 구조, 길이, 및/또는 크기를 포함할 수 있다. 적어도 하나의 실시양태에서, 링커 부분은 시스테인, 리신, DIG, PEG4, PEG4-바이오틴, PEG13,

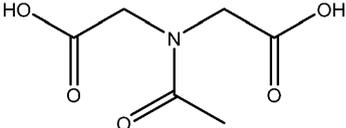
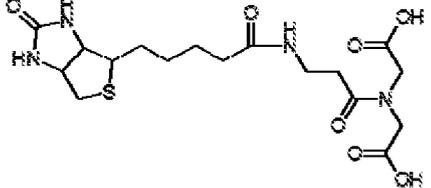
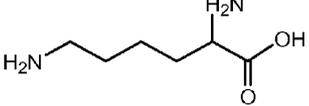
PEG25, PEG1K, PEG2K, PEG3.4K, PEG4K, PEG5K, IDA, IDA-Palm, ADA, Boc-IDA, 글루타르산, 이소프탈산, 1,3-페닐렌디아세트산, 1,4-페닐렌디아세트산, 1,2-페닐렌디아세트산, 트리아진, Boc-트리아진, IDA-바이오틴, PEG4-바이오틴, AADA, 적합한 지방족, 방향족, 헤테로방향족, 및 대략 400 Da 내지 대략 40,000 Da의 분자량을 나타내는 폴리에틸렌 글리콜 기반의 링커로 구성된 비-제한적 그룹 중에서 선택된다. 적합한 링커 부분의 비-제한적 예는 표 5에 제공된다.

표 5

[0461]

예시적인 링커 부분		
약어	설명	구조
DIG	디글리콜산	
PEG4	4개의 폴리에틸렌 글리콜 단위를 가진 2작용성 PEG 링커	
PEG13	13개의 폴리에틸렌 글리콜 단위를 가진 2작용성 PEG 링커	
PEG25	25개의 폴리에틸렌 글리콜 단위를 가진 2작용성 PEG 링커	
PEG1K	분자량 1000 Da의 폴리에틸렌 글리콜을 가진 2작용성 PEG 링커	
PEG2K	분자량 2000 Da의 폴리에틸렌 글리콜을 가진 2작용성 PEG 링커	
PEG3.4K	분자량 3400 Da의 폴리에틸렌 글리콜을 가진 2작용성 PEG 링커	
PEG5K	분자량 5000 Da의 폴리에틸렌 글리콜을 가진 2작용성 PEG 링커	
DIG	디글리콜산	
β -Ala-IDA	β -Ala-이미노디아세트산	
Boc- β -Ala-IDA	Boc- β -Ala-이미노디아세트산	
Ac- β -Ala-IDA	Ac- β -Ala-이미노디아세트산	

Palm- β-Ala-IDA-	팔미틸-β-Ala-이미노디아세트산	
GTA	글루타르산	
PMA	페닐산	
AZA	아젤라산	
DDA	도데칸디오산	
IPA	이소프탈산	
1,3-PDA	1,3-페닐렌디아세트산	
1,4-PDA	1,4-페닐렌디아세트산	
1,2-PDA	1,2-페닐렌디아세트산	
트리아진	아미노 프로필 트리아진 이산	
Boc-트리아진	Boc-트리아진 이산	
IDA	이미노디아세트산	

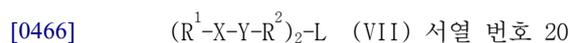
AIDA	n-아세틸 이미노 아세트산	
바이오틴-β-ala-IDA-	N-바이오틴-β-Ala-이미노디아세트산	
Lys	리신	

[0462] 본 명세서에 개시된 C- 및 N-말단 및 내부 링커 부분은 적합한 링커 부분의 비-제한적 예이며, 본 발명이 임의의 적합한 링커 부분을 포함할 수 있음을, 당업자는 인정할 것이다. 따라서, 본 발명의 일부 실시양태는 본 명세서에, 예를 들어, 표 2-4 및 11-15에 나타낸 펩티드 중에서 선택되거나 본 명세서에, 예를 들어, 표 2-4 및 11-15에 제공된 서열을 포함하거나 이로 구성된 2개의 단량체 서브유닛으로 이루어진 동중- 또는 이종이량체 헵시딘 유사체를 포함하며, 여기에서 각각의 단량체 서브유닛의 C- 또는 N-말단은 임의의 적합한 링커 부분에 의해 연결되어 헵시딘 활성을 나타내는 헵시딘 유사체 이량체 펩티드를 제공한다. 일부 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서에 기재된, 예를 들어, 표 2-4 및 11-15에 나타낸 펩티드 중에서 선택되거나 표 2-4 또는 10-15에 제공된 서열을 포함하거나 이로 구성된 2개의 단량체 서브유닛으로 이루어진 동중- 또는 이종이량체 헵시딘 유사체를 포함하며, 여기에서 각각의 단량체 서브유닛은 하나 이상의 내부 아미노산의 측쇄에 접합된 임의의 적합한 링커 부분에 의해 내부적으로 연결되어 헵시딘 활성을 나타내는 헵시딘 유사체 이량체 펩티드를 제공한다.

[0463] 특정 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 본 명세서에 기재된 단량체 헵시딘 유사체의 2개 이상의 폴리펩티드 서열을 포함한다.

[0464] 일 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 이량체 헵시딘 유사체는 하나 이상의 링커 부분 또는 분자간 연결부(예를 들어, 시스테인 디설파이드 가교)를 통해 연결된 2개의 펩티드 단량체 서브유닛을 포함하며, 여기에서 각각의 펩티드 단량체 서브유닛은 화학식 I(여기에서 X는 하나 이상의 링커 부분 또는 분자간 연결부(예를 들어, 시스테인 디설파이드 가교)를 통해 연결된 2개의 펩티드 단량체 서브유닛을 포함하는 본 발명의 헵시딘 유사체임)의 화합물이거나, 여기에서 각각의 펩티드 단량체 서브유닛은 화학식 II(예를 들어, 여기에서 X는 IIa이고 Y는 IIIm 임)의 화합물이다. 소정의 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 이량체 헵시딘 유사체는 하나 이상의 링커 부분 또는 분자간 연결부(예를 들어, 시스테인 디설파이드 가교)를 통해 연결된 2개의 펩티드 단량체 서브유닛을 포함하며, 여기에서 각각의 펩티드 단량체 서브유닛은 화학식 I(여기에서 X는 Ia이고 Y는 Im이거나, X는 Ib이고 Y는 In 임)의 화합물이거나, 화학식 II(여기에서 X는 IIa이고 Y는 IIIm 임)의 화합물이다. 소정의 실시양태에서, 펩티드 이량체는 동중이량체이고, 다른 실시양태에서, 펩티드 이량체는 이종이량체이다.

[0465] 소정의 실시양태에서, 펩티드 이량체 저해제는 화학식 VII의 구조, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 나타낸다:



[0467] 상기 식에서

[0468] 각각의 R^1 은 결합(예를 들어, 공유 결합), 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, C1-C20 알카노일 중에서 독립적으로 선택되며, PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;

[0469] 각각의 R^2 는 독립적으로 부재하거나, 결합(예를 들어, 공유 결합)이거나, OH 또는 NH_2 중에서 선택되며;

- [0470] L은 링커 부분이고;
- [0471] 여기에서 각각의 X 및 Y 조합은 본 명세서에 기재된 임의의 화학식, 예컨대 화학식 I, II, III, IV, V, 또는 VI에 존재하는 것들 중에서 독립적으로 선택된다. 소정의 실시양태에서, 각각의 X 및 Y 조합은 하기의 것들로 구성된 그룹 중에서 독립적으로 선택된다:
- [0472] Ia 및 Im;
- [0473] Ib 및 In;
- [0474] IIa 및 IIm;
- [0475] IIIa-IIIId 및 IIIIm-IIIs;
- [0476] IVa-IVd 및 IVm-Ivs;
- [0477] Va-Vd 및 Vm-Vn; 및
- [0478] VIa 및 VIm.
- [0479] 화학식 VII의 펩티드 이량체의 일 실시양태에서,
- [0480] 각각의 X는 독립적으로 선택되는 화학식 VIIa를 나타내는 펩티드 서열이다:
- [0481] X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (VIIa) 서열 번호 21
- [0482] 상기 식에서
- [0483] X1은 Asp, Glu, Ida, Lys이거나 부재하며;
- [0484] X2는 Thr, Ser, Lys이거나 부재하고;
- [0485] X3는 His, Ala, 또는 Lys이며;
- [0486] X4는 Phe, Dpa, 또는 Lys이고,
- [0487] X5는 Pro, bhPro, Gly, 또는 Lys이며;
- [0488] X6는 Cys이고,
- [0489] X7은 Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Val, Lys, Ala, Ser, Dapa, Thr이거나 부재하며;
- [0490] X8은 Ile, Arg, Lys, Glu, Asn, Asp, Ala, Gln, Phe, Glu, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, 또는 Dapa이거나 부재하고;
- [0491] X9은 Phe, Tyr, bhPhe, Lys이거나 부재하며;
- [0492] X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;
- [0493] 각각의 Y는 부재한다.
- [0494] 화학식 VII의 소정의 대안적인 실시양태에서, X7은 Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Val, Ile, Lys, Ala, Ser, Dapa, Thr이거나 부재한다.
- [0495] 화학식 VII의 소정의 실시양태에서, 링커는 Lys 또는 Phe이다. 특정 실시양태에서, 링커는 Lys이다.
- [0496] 화학식 VII의 소정의 실시양태에서, 2개의 X 펩티드는 디설파이드 결합을 통해 연결된다.
- [0497] 일부 실시양태에서 본 발명은, 하기 구조식 VIII을 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 이로 구성되는, 단리되고/되거나 정제될 수 있는 펩티드, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 제공한다:

- [0521] 소정의 실시양태에서, Lk는 R₃ 및/또는 R₄를 통해 2개의 단량체 서브유닛을 연결한다.
- [0522] 소정의 실시양태에서, Lk는 R₁ 및/또는 R₂를 통해 단량체 서브유닛을 연결한다.
- [0523] 소정의 실시양태에서, Lk는 R₁, X_n, 또는 R₃ 중 어느 하나 및 R₂, Y_n, 및 R₄ 중 어느 하나를 통해 단량체 서브유닛을 연결한다.
- [0524] 화학식 VIII의 소정의 실시양태에서, 링커는 Lys 또는 Phe이다. 특정 실시양태에서, 링커는 Lys이다.
- [0525] 화학식 VIII의 소정의 실시양태에서, 2개의 X 펩티드는 디설파이드 결합을 통해 연결된다.
- [0526] 일부 실시양태에서 본 발명은, 서열 DTX₁FPC(여기에서 X₁은 임의의 아미노산임)를 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 본질적으로 구성되는 펩티드를 포함하는 헵시딘 유사체 단량체, 또는 그의 동종이량체 또는 이종이량체를 제공한다. 일 실시양태에서 본 발명은, 서열 DTX₁FPCX₂X₃F(여기에서 X₁은 임의의 아미노산이고, X₂는 임의의 아미노산이며, X₃는 임의의 아미노산이거나 부재함)를 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 본질적으로 구성되는 펩티드를 제공한다. 이러한 일 실시양태에서, X₂는 Cys를 제외한 임의의 아미노산이다. 일 실시양태에서, X₁, X₂, 및/또는 X₃는 비천연 아미노산이다. 일부 실시양태에서, 이러한 헵시딘 유사체 단량체를 포함하는 이량체는 링커(예를 들어, 리신 링커)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이러한 이량체는 제1 헵시딘 유사체 단량체 및 제2 단량체(이들 단량체는 임의로 서열이 동일함)를 포함하며, 이량체는 제1 단량체 내의 Cys(예를 들어, 상기 화학식 중 어느 하나에 나타난 Cys)를 제2 단량체 내의 Cys에 연결하는 적어도 하나의 분자간 디설파이드 가교를 추가로 포함한다.
- [0527] 일부 실시양태에서 본 발명은, 서열 X₁X₂X₃FX₄CY₁X₅F(여기에서 임의의 X₁, X₂, 및 X₃는 부재하거나 임의의 아미노산이고, X₄ 및 X₅는 임의의 아미노산이며, Y₁은 D-Cys, D-Ser, D-Ala, Cys(S-tBut), homoC, Pen, (D)Pen, Dap(AcBr), Inp, 또는 D-His를 제외한 임의의 아미노산임)를 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 본질적으로 구성되는 펩티드를 포함하는 헵시딘 유사체 단량체, 또는 그의 동종이량체 또는 이종이량체를 제공한다. 이러한 일 실시양태에서, Y₁은 임의의 지질성 아미노산이다. 특정 실시양태에서, Y₁은 Val, Ile, 및 Leu 중에서 선택된다. 일 실시양태에서, Y₁은 Ile이다. 일 실시양태에서, X₅는 Lys이다. 일 실시양태에서, 임의의 X₁, X₂, X₃, X₄, X₅, 및/또는 Y₁는 비천연 아미노산이다. 일부 실시양태에서, 이러한 헵시딘 유사체 단량체를 포함하는 이량체는 링커(예를 들어, 리신 링커)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이러한 이량체는 제1 헵시딘 유사체 단량체 및 제2 단량체(이들 단량체는 임의로 서열이 동일함)를 포함하며, 이량체는 제1 단량체 내의 Cys(예를 들어, 상기 화학식 중 어느 하나에 나타난 Cys)를 제2 단량체 내의 Cys에 연결하는 적어도 하나의 분자간 디설파이드 가교를 추가로 포함한다.
- [0528] 일부 실시양태에서 본 발명은, 서열 DTX₁FX₂CY₁X₃F(여기에서 X₁은 임의의 아미노산이고, Y₁은 D-Cys, D-Ser, D-Ala, Cys(S-tBut), homoC, Pen, (D)Pen, Dap(AcBr), Inp, 또는 D-His를 제외한 임의의 아미노산이며, X₂는 임의의 아미노산이거나 부재함)를 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 본질적으로 구성되는 펩티드를 포함하는 헵시딘 유사체 단량체, 또는 그의 동종이량체 또는 이종이량체를 제공한다. 이러한 일 실시양태에서, Y₁은 Cys를 제외한 임의의 아미노산이다. 이러한 일 실시양태에서, Y₁은 임의의 지질성 아미노산이다. 특정 실시양태에서, Y₁은 Val, Ile, 및 Leu 중에서 선택된다. 일 실시양태에서, Y₁은 Ile이다. 일 실시양태에서, X₁, X₂(부재하지 않는 경우), 및/또는 Y₁은 비천연 아미노산이다. 일부 실시양태에서, 이러한 헵시딘 유사체 단량체를 포함하는 이량체는 링커(예를 들어, 리신 링커)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이러한 이량체는 제1 헵시딘 유사체 단량체 및 제2 단량체(이들 단량체는 임의로 서열이 동일함)를 포함하며, 이량체는 제1 단량체 내의 Cys(예를 들어, 상기 화학식 중 어느 하나에 나타난 Cys)를 제2 단량체 내의 Cys에 연결하는 적어도 하나의 분자간 디설파이드 가교를 추가로 포함한다.
- [0529] 일부 실시양태에서 본 발명은, 서열 DTX₁FPX₂C(여기에서 X₁은 임의의 아미노산임)를 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 본질적으로 구성되는 헵시딘 유사체 단량체 펩티드를 포함하는 헵시딘 유사체 동종이량체 또는 이종이량체를 제공한다. 일 실시양태에서 본 발명은, 서열 DTX₁FPX₂CX₃F(여기에서 X₁은 임의의 아미노산이고, X₂는 임의

의 아미노산이며, X_3 는 임의의 아미노산이거나 부재함)를 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 본질적으로 구성되는 헵시딘 유사체 단량체 펩티드를 포함하는 헵시딘 유사체 동종이량체 또는 이종이량체를 제공한다. 이러한 일 실시양태에서, X_2 는 Cys를 제외한 임의의 아미노산이다. 일 실시양태에서, X_1 , X_2 , 및/또는 X_3 는 비천연 아미노산이다. 일부 실시양태에서, 이러한 헵시딘 유사체 단량체를 포함하는 이량체는 링커(예를 들어, 리신 링커)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이러한 이량체는 제1 헵시딘 유사체 단량체 및 제2 단량체(이들 단량체는 임의로 서열이 동일함)를 포함하며, 이량체는 제1 단량체 내의 Cys(예를 들어, 상기 화학식 중 어느 하나에 나타낸 Cys)를 제2 단량체 내의 Cys에 연결하는 적어도 하나의 분자간 디설파이드 가교를 추가로 포함한다.

[0530] 일부 실시양태에서 본 발명은, 서열 $X_1X_1X_1FX_2X_2CY_1F$ (여기에서 X_1 은 부재하거나 임의의 아미노산이고, X_2 는 임의의 아미노산이며, Y_1 은 임의의 아미노산임)를 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 본질적으로 구성되는 펩티드를 포함하는 헵시딘 유사체 단량체, 또는 그의 동종이량체 또는 이종이량체를 제공한다. 이러한 일 실시양태에서, Y 는 임의의 천연 아미노산이다. 특정 실시양태에서, Y_1 는 Arg, Val, Ile, 및 Leu 중에서 선택된다. 일 실시양태에서, Y_1 는 Ile이다. 일 실시양태에서, X_1 , X_2 , 및/또는 Y_1 은 비천연 아미노산이다. 일부 실시양태에서, 이러한 헵시딘 유사체 단량체를 포함하는 이량체는 링커(예를 들어, 리신 링커)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이러한 이량체는 제1 헵시딘 유사체 단량체 및 제2 단량체(이들 단량체는 임의로 서열이 동일함)를 포함하며, 이량체는 제1 단량체 내의 Cys(예를 들어, 상기 화학식 중 어느 하나에 나타낸 Cys)를 제2 단량체 내의 Cys에 연결하는 적어도 하나의 분자간 디설파이드 가교를 추가로 포함한다.

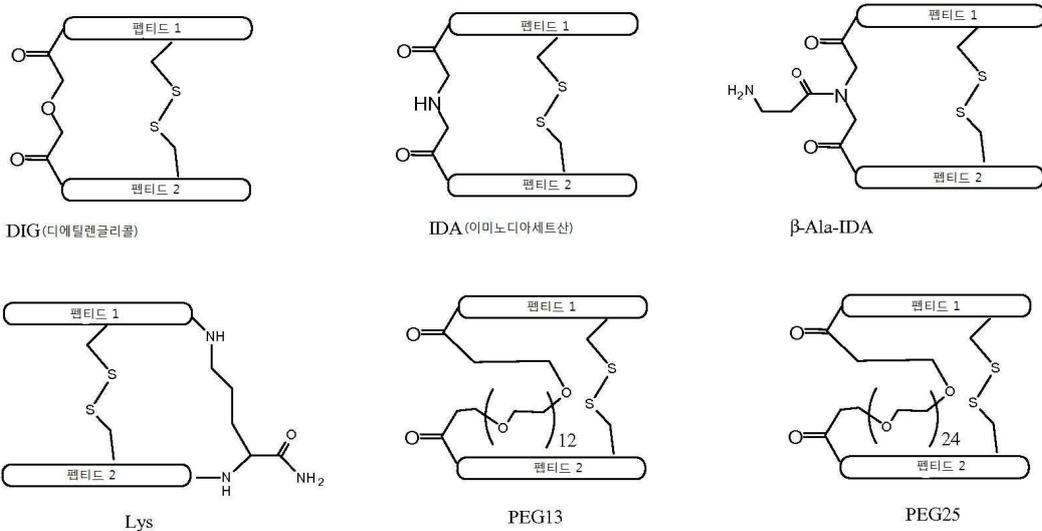
[0531] 일부 실시양태에서 본 발명은, 서열 $DTX_1FX_2X_3CY_1F$ (여기에서 X_1 은 임의의 아미노산이고, X_2 는 임의의 아미노산이거나 부재하며, X_3 는 임의의 아미노산이고, Y_1 은 임의의 아미노산임)를 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 본질적으로 구성되는 펩티드를 포함하는 헵시딘 유사체 단량체, 또는 그의 동종이량체 또는 이종이량체를 제공한다. 이러한 일 실시양태에서, Y_1 은 임의의 지질성 아미노산이다. 특정 실시양태에서, Y_1 은 Val, Ile, 및 Leu 중에서 선택된다. 일 실시양태에서, Y_1 은 Ile이다. 일 실시양태에서, X_1 , X_2 (부재하지 않는 경우), 및/또는 Y_1 은 비천연 아미노산이다. 일부 실시양태에서, 이러한 헵시딘 유사체 단량체를 포함하는 이량체는 링커(예를 들어, 리신 링커)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이러한 이량체는 제1 헵시딘 유사체 단량체 및 제2 단량체(이들 단량체는 임의로 서열이 동일함)를 포함하며, 이량체는 제1 단량체 내의 Cys(예를 들어, 상기 화학식 중 어느 하나에 나타낸 Cys)를 제2 단량체 내의 Cys에 연결하는 적어도 하나의 분자간 디설파이드 가교를 추가로 포함한다.

[0532] 일부 실시양태에서 본 발명은, 서열 $X_1X_1X_1FX_2X_2CX_3F$ (여기에서 X_1 은 부재하거나 임의의 아미노산이고, X_2 는 임의의 아미노산이며, X_3 는 임의의 아미노산임)를 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 본질적으로 구성되는 하나 이상의 헵시딘 유사체 단량체의 동종이량체 또는 이종이량체를 제공한다. 이러한 일 실시양태에서, X_3 는 임의의 천연 아미노산이다. 특정 실시양태에서, X_3 는 Arg, Val, Ile, 및 Leu 중에서 선택된다. 일 실시양태에서, X_3 는 Ile이다. 일 실시양태에서, X_1 , X_2 , 및/또는 X_3 는 비천연 아미노산이다. 일부 실시양태에서, 이러한 헵시딘 유사체 단량체를 포함하는 이량체는 링커(예를 들어, 리신 링커)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이러한 이량체는 제1 헵시딘 유사체 단량체 및 제2 단량체(이들 단량체는 임의로 서열이 동일함)를 포함하며, 이량체는 제1 단량체 내의 Cys(예를 들어, 상기 화학식 중 어느 하나에 나타낸 Cys)를 제2 단량체 내의 Cys에 연결하는 적어도 하나의 분자간 디설파이드 가교를 추가로 포함한다.

[0533] 일부 실시양태에서 본 발명은, 서열 $DTX_1FX_2X_3CX_4F$ (여기에서 X_1 은 임의의 아미노산이고, X_2 는 임의의 아미노산이거나 부재하며, X_3 는 임의의 아미노산이고, X_4 는 임의의 아미노산임)를 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 본질적으로 구성되는 하나 이상의 헵시딘 유사체 단량체의 동종이량체 또는 이종이량체를 제공한다. 이러한 일 실시양태에서, X_4 는 Cys를 제외한 임의의 아미노산이다. 이러한 일 실시양태에서, X_4 는 임의의 지질성 아미노산이다. 특정 실시양태에서, X_4 는 Val, Ile, 및 Leu 중에서 선택된다. 일 실시양태에서, X_4 는 Ile이다. 일 실시양태에서, X_1 , X_2 (부재하지 않는 경우), 및/또는 X_4 는 비천연 아미노산이다. 일 실시양태에서는, Cys가 디설파이드를 통해 연결되어 이량체를 형성한다. 일부 실시양태에서, 이러한 헵시딘 유사체 단량체를 포함하는 이량체는 링커(예를 들어, 리신 링커)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이러한 이량체는 제1 헵시딘 유사체 단량체 및 제2 단량체(이들 단량체는 임의로 서열이 동일함)를 포함하며, 이량체는 제1 단량체 내의 Cys(예를 들어, 상기 화학식

중 어느 하나에 나타낸 Cys)를 제2 단량체 내의 Cys에 연결하는 적어도 하나의 분자간 디설파이드 가교를 추가로 포함한다.

- [0534] 소정의 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 이량체(예를 들어, 헵시딘 유사체 또는 저해제)는 하나 이상의 링커 부분 또는 분자간 연결부(예를 들어, 시스테인 디설파이드 가교)를 통해 연결된 2개의 펩티드 단량체 서브유닛을 포함하며, 여기에서 각각의 펩티드 단량체 서브유닛은 표 2-4 또는 표 11-15 중 임의의 것에 나타낸 서열을 포함한다. 소정의 실시양태에서, 펩티드 이량체는 동종이량체이고, 다른 실시양태에서, 펩티드 이량체는 이종이량체이다. 일부 실시양태에서, 2개의 단량체를 이량체화하는 링커 부분 또는 분자간 연결부는 단량체 펩티드 중 하나 이상의 N-말단, C-말단, 또는 내부 아미노산(예를 들어, 리신 측쇄) 중 임의의 것에 결합된다.
- [0535] 소정의 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 이량체(예를 들어, 헵시딘 유사체 또는 저해제)는 하나 이상의 링커 부분 또는 분자간 연결부(예를 들어, 시스테인 디설파이드 가교)를 통해 연결된 2개의 펩티드 단량체 서브유닛을 포함하며, 여기에서 각각의 펩티드 단량체 서브유닛은 화학식 I의 화합물(여기에서 X는 Ia이고 Y는 Im이거나, X는 Ib이고 Y는 In임); 화학식 II의 화합물(여기에서 X는 IIa이고 Y는 IIm임); 또는 표 2-4, 10, 12, 14, 및 15 중 임의의 것에 나타낸 서열을 가진 화합물이다. 소정의 실시양태에서, 펩티드 이량체는 동종이량체이고, 다른 실시양태에서, 펩티드 이량체는 이종이량체이다. 특정 실시양태에서, 펩티드 이량체는 표 6-10, 및 15 중 어느 하나에 나타낸 바와 같은 펩티드 이량체이다.
- [0536] 소정의 실시양태에서, 헵시딘 유사체 펩티드 이량체의 적어도 2개의 시스테인 잔기는 디설파이드 가교에 의해 연결된다.
- [0537] 본 발명의 헵시딘 유사체 펩티드 이량체의 특정 실시양태에서, 링커 부분(L)은 표 5에 나타낸 임의의 링커이다. 소정의 실시양태에서, 링커는 리신 링커, 디에틸렌 글리콜 링커, 이미노디아세트산(IDA) 링커, β-Ala-이미노디아세트산(β-Ala-IDA) 링커, 또는 PEG 링커이다.
- [0538] 임의의 헵시딘 유사체 펩티드 이량체의 소정의 실시양태에서, 각각의 펩티드 단량체 서브유닛의 N-말단은 링커 부분에 의해 연결된다.
- [0539] 임의의 헵시딘 유사체 펩티드 이량체의 소정의 실시양태에서, 각각의 펩티드 단량체 서브유닛의 C-말단은 링커 부분에 의해 연결된다.
- [0540] 소정의 실시양태에서, 헵시딘 유사체 펩티드 이량체의 각각의 펩티드 단량체 서브유닛에 포함된 하나 이상의 내부 아미노산 잔기(예를 들어, Lys 잔기)의 측쇄는 링커 부분에 의해 연결된다.
- [0541] 임의의 헵시딘 유사체 펩티드 이량체의 소정의 실시양태에서, 각각의 펩티드 단량체 서브유닛의 C-말단, N-말단, 또는 내부 아미노산(예를 들어, 리신 측쇄)은 링커 부분에 의해 연결되고 헵시딘 유사체 펩티드 이량체의 적어도 2개의 시스테인 잔기는 디설파이드 가교에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 펩티드 이량체는 하기에 나타낸 일반 구조를 가진다. 이러한 헵시딘 유사체의 비-제한적인 도식적 예를 하기 예시에 나타낸다:



- [0542]
- [0543] 본 발명의 펩티드 이량체 헵시딘 유사체의 예시적인 예는 첨부된 실시예에 기재된 페로포틴 내재화/분해 어셈블리에서의 시험관내 활성 데이터와 함께 표 6-8에 제공된다.

표 6

[0544]

예시적인 펩티드 이량체 헵시딘 유사체		
서열 번호	서열	효능 EC ₅₀ (nM)
527	([pGlu]-THFPCRKF-NH ₂) ₂	10 μM에서 31%
528	(Hy-DTHFPCLF-NH ₂) ₂	297

표 7

[0545]

예시적인 펩티드 이량체 헵시딘 유사체		
서열 번호	서열	효능 EC ₅₀ (nM)
529	(이소발레르산-DTHFPICIFK(Palm)-NH ₂) ₂	580
530	(이소발레르산-DTHFPCIK(Palm)-F-NH ₂) ₂	294
531	(이소발레르산-DTHFPCIKFAA-NH ₂) ₂	47

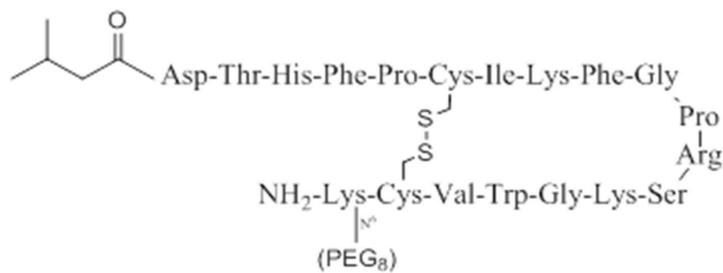
표 8

[0546]

예시적인 펩티드 이량체 헵시딘 유사체		
서열 번호	서열	효능 EC ₅₀ (nM)
532	([(D)Phe]-[(D)Ile]-[(D)Cys]-[(D)Ile]-[(D)Pro]-[(D)Phe]-[(D)His]-[(D)Thr]-[(D)Asp]) ₂	10 μM에서 활성 없음
533	(Hy-DTHFPICIF-NH ₂) ₂	146
534	(Ida-TH-Dpa-bhPro-RCR-bhPhe-PEG3-Palm) ₂	31

[0547]

일 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 단량체는 하기 구조를 나타낸다:

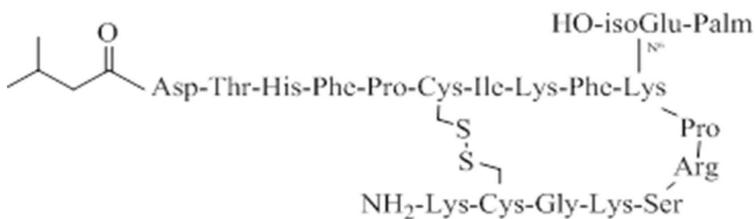


[0548]

서열 번호 535

[0549]

일 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 단량체는 하기 구조를 나타낸다:

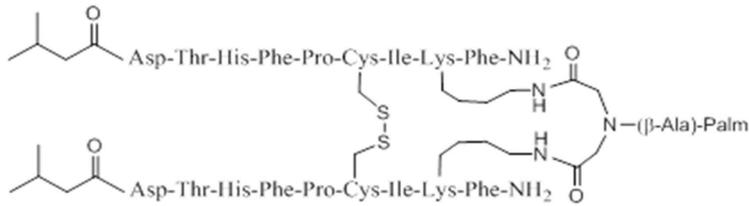


[0550]

서열 번호 536

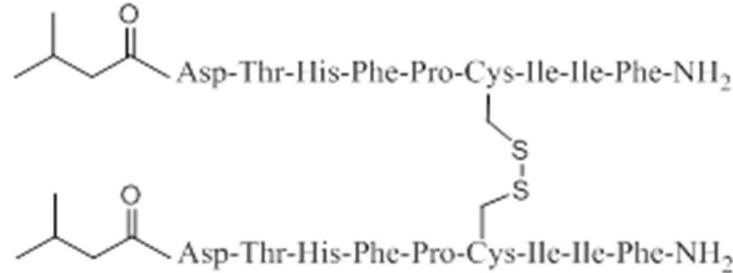
[0551]

일 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 이량체는 하기 구조를 나타낸다:



[0552] 서열 번호 537

[0553] 일 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 이량체는 하기 구조를 나타낸다:



[0554] 서열 번호 538

[0555] 소정의 실시양태에서, 펩티드 이량체 저해제는 화학식 X의 구조, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 나타낸다:

[0556] $(R^1-X-R^2)_2-L$ (X) 서열 번호 23

[0557] 상기 식에서

[0558] 각각의 R¹은 독립적으로 부재하거나, 결합(예를 들어, 공유 결합)이거나, 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, C1-C20 알카노일 중에서 선택되거나, PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;

[0559] 각각의 R²는 독립적으로 부재하거나, 결합(예를 들어, 공유 결합)이거나, OH 또는 NH₂ 중에서 선택되며;

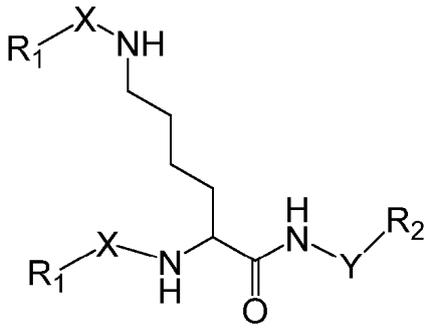
[0560] L은 링커 부분이고;

[0561] 각각의 X는 길이가 7 내지 35개의 아미노산 잔기, 8 내지 35개의 아미노산 잔기, 9 내지 35개의 아미노산 잔기, 10 내지 35개의 아미노산 잔기, 7 내지 25개의 아미노산 잔기, 8 내지 25개의 아미노산 잔기, 9 내지 25개의 아미노산 잔기, 10 내지 25개의 아미노산 잔기, 7 내지 18개의 아미노산 잔기, 8 내지 18개의 아미노산 잔기, 9 내지 18개의 아미노산 잔기, 또는 10 내지 18개의 아미노산 잔기를 포함하거나 이로 구성되며, 화학식 I 또는 화학식 II의 서열, 또는 표 2-4, 표 12-14에 기술된 서열, 또는 표 15에 기술된 단량체 서열을 각각 포함하거나 이로 구성되는, 독립적으로 선택되는 펩티드 단량체 서브유닛이다.

[0562] 리신 이량체 헵시딘 유사체

[0563] 소정의 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 이량체 헵시딘 유사체는 리신 링커를 통해 연결된 2개의 펩티드 단량체 서브유닛을 포함한다.

[0564] 일부 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 이량체 헵시딘 유사체는 화학식 IX의 구조, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 용매화물의 염을 나타낸다:



- [0565] .
- [0566] 화학식 IX
- [0567] (서열 번호 24)
- [0568] 상기 식에서
- [0569] 각각의 X는 독립적으로 선택되는 화학식 IXa의 펩티드 서열이고:
- [0570] X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (IXa) 서열 번호 25
- [0571] 상기 식에서
- [0572] X1은 Asp, Glu, Ida이거나 부재하며;
- [0573] X2는 Thr, Ser, Pro, Ala이거나 부재하고;
- [0574] X3는 His, Ala, Glu, 또는 Ala이며;
- [0575] X4는 Phe 또는 Dpa이고;
- [0576] X5는 Pro, bhPro, Sarc, 또는 Gly이며;
- [0577] X6는 Cys, (D)-Cys, Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Val, Lys, Ala, Ser, Dapa이거나 부재하고;
- [0578] X7은 Cys, (D)-Cys, Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Val, Lys, Ala, Ser, Dapa이거나 부재하며;
- [0579] X8은 Ile, Arg, Lys, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, Dapa이거나 부재하고;
- [0580] X9은 Phe, Ala, Ile, Thr, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, D-Phe이거나 부재하며;
- [0581] X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;
- [0582] 여기에서 각각의 R¹은 독립적으로 부재하거나, 결합(예를 들어, 공유 결합)이거나, 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, C1-C20 알카노일 중에서 선택되며, PEG화 버전을 단독으로 또는 진술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;
- [0583] 각각의 R²는 독립적으로 부재하거나, 결합(예를 들어, 공유 결합)이거나, OH 또는 NH₂ 중에서 선택되며;
- [0584] Y는 부재하거나 존재하고, 단, Y가 존재하는 경우, Y는 화학식 IXm의 펩티드이며:
- [0585] Y1-Y2-Y3 (IXm) 서열 번호 26
- [0586] 상기 식에서
- [0587] Y1은 Ile, Arg, Lys, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, Dapa이거나 부재하고;
- [0588] Y2는 Phe, Ala, Ile, Thr, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, D-Phe이거나 부재하며;
- [0589] Y3는 Lys, Phe이거나 부재한다.
- [0590] 소정의 실시양태에서는, Y1, Y2, 및 Y3 중 하나 이상이 존재한다.

- [0591] 소정의 실시양태에서, Y는 본 명세서에 기재된 임의의 것들을 포함하나 이로 제한되지 않는 하나 이상의 화학적 치환체에 접합된다.
- [0592] 일부 실시양태에서는, 하나 또는 양자 모두의 X가 디설파이드 결합을 통해 고리화된다.
- [0593] 일부 실시양태에서는, 2개의 X 펩티드가 디설파이드 결합을 통해 연결된다.
- [0594] 소정의 실시양태에서, 본 발명의 리신-연결 펩티드 이량체 헵시딘 유사체는 표 9에 기술된 구조를 나타낸다.

표 9

예시적인 리신-연결 이량체 헵시딘 유사체		
서열 번호	서열	EC ₅₀ (nM) (n>3)
539	(이소부티르산-DTHFPCIKF) ₂ [Lys]K(iso-Glu-Palm)-NH ₂	24
540	(이소발레르산-DTHFPCIKF) ₂ [Lys]K(iso-Glu-Palm)-NH ₂	14
541	(사이클로헥사노산-DTHFPCIKF) ₂ [Lys]K(iso-Glu-Palm)-NH ₂	17
542	(이소발레르산-DTHFPCIRF) ₂ [Lys]-K(iso-Glu-Palm)-NH ₂	4
543	(이소발레르산-DTHFPCIKF) ₂ [Lys]-NH ₂	30
544	(이소발레르산-DTHFPCIKF) ₂ [Lys]-Lys(Palm)-NH ₂	17

- [0596] 소정의 실시양태에서, 본 발명의 리신-연결 펩티드 이량체 헵시딘 유사체의 각각의 펩티드 단량체 서브유닛은 화학식 III의 구조, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 포함하거나 이로 구성된다:
- [0597] R¹-X-Y-R² (III) 서열 번호 7
- [0598] 상기 식에서
- [0599] R¹은 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, 또는 C1-C20 알카노일이며, 그의 PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;
- [0600] R²는 -NH₂ 또는 -OH이며;
- [0601] X는 화학식 (IIIa)의 펩티드 서열이고:
- [0602] X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (IIIa) 서열 번호 8
- [0603] 상기 식에서
- [0604] X1은 Asp, Glu, Ala, Gly, Thr, Ida, pGlu, bhAsp, D-Asp, Tyr, Leu이거나 부재하며;
- [0605] X2는 Thr, Ala, Aib, D-Thr, Arg이거나 부재하고;
- [0606] X3는 His, Lys, Ala, 또는 D-His이며;
- [0607] X4는 Phe, Ala, Dpa, 또는 bhPhe이고;
- [0608] X5는 Pro, Glu, Ser, Gly, Arg, Lys, Val, Ala, D-Pro, bhPro, Sarc, Abu이거나 부재하며;
- [0609] X6는 Ile, Cys, Arg, Leu, Lys, His, Glu, D-Ile, D-Arg, D-Cys, Val, Ser, 또는 Ala이고;
- [0610] X7은 Cys, Ile, Ala, Leu, Val, Ser, Phe, Dapa, D-Ile, 또는 D-Cys이며;
- [0611] X8은 Ile, Lys, Arg, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, 또는 Dapa이고;
- [0612] X9은 Phe, Ala, Ile, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, 또는 D-Phe이며;
- [0613] X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;
- [0614] Y는 부재하거나 존재하며, 존재하는 경우, Y는 화학식 (IIIIm)의 펩티드이고:

- [0615] Y1-Y2-Y3-Y4-Y5-Y6-Y7-Y8-Y9-Y10-Y11-Y12-Y13-Y14-Y15 (III_m) 서열 번호 9
- [0616] 상기 식에서
- [0617] Y1은 Gly, Cys, Ala, Phe, Pro, Glu, Lys, D-Pro, Val, Ser이거나 부재하며;
- [0618] Y2는 Pro, Ala, Cys, Gly이거나 부재하고;
- [0619] Y3는 Arg, Lys, Pro, Gly, His, Ala, Trp이거나 부재하며;
- [0620] Y4는 Ser, Arg, Gly, Trp, Ala, His, Tyr이거나 부재하고;
- [0621] Y5는 Lys, Met, Arg, Ala이거나 부재하며;
- [0622] Y6는 Gly, Ser, Lys, Ile, Arg, Ala, Pro, Val이거나 부재하고;
- [0623] Y7은 Trp, Lys, Gly, Ala, Ile, Val이거나 부재하며;
- [0624] Y8은 Val, Thr, Gly, Cys, Met, Tyr, Ala, Glu, Lys, Asp, Arg이거나 부재하고;
- [0625] Y9은 Cys, Tyr이거나 부재하며;
- [0626] Y10은 Met, Lys, Arg, Tyr이거나 부재하고;
- [0627] Y11은 Arg, Met, Cys, Lys이거나 부재하며;
- [0628] Y12는 Arg, Lys, Ala이거나 부재하고;
- [0629] Y13은 Arg, Cys, Lys, Val이거나 부재하며;
- [0630] Y14은 Arg, Lys, Pro, Cys, Thr이거나 부재하고;
- [0631] Y15은 Thr, Arg이거나 부재하며;
- [0632] 여기에서 Y가 화학식 (III)의 펩티드에 부재하는 경우, X7은 Ile이고;
- [0633] 여기에서 상기 화학식 (III)의 화합물은 임의로 R¹, X, 또는 Y 상에서 PEG화된다.
- [0634] 소정의 실시양태에서, R¹은 메틸, 아세틸, 포르밀, 벤조일, 트리플루오로아세틸, 이소발레릴, 이소부티릴, 옥타닐, 및 라우르산, 헥사데카노산, 및 γ -Glu-헥사데카노산의 접합된 아마이드 중에서 선택된다.
- [0635] 소정의 실시양태에서, X는 미국 특허 제8,435,941호에 기술된 아미노산 서열을 포함하지 않고/않거나 이로 구성되지 않는다.
- [0636] 일부 실시양태에서, 화학식 (III)의 화합물 또는 펩티드는 2개 이상의 시스테인 잔기를 포함하며, 여기에서 상기 시스테인 잔기 중 적어도 2개는 디설파이드 결합을 통해 연결된다.
- [0637] 일부 실시양태에서, X는 본 명세서에 기재된 화학식 (IIIa)에 따른 펩티드 서열이며,
- [0638] 상기 식에서
- [0639] X1은 Asp, Ala, Ida, pGlu, bhAsp, Leu, D-Asp이거나 부재하고;
- [0640] X2는 Thr, Ala, 또는 D-Thr이며;
- [0641] X3는 His, Lys, 또는 D-His이고;
- [0642] X4는 Phe, Ala, 또는 Dpa이며;
- [0643] X5는 Pro, Gly, Arg, Lys, Ala, D-Pro, 또는 bhPro이고;
- [0644] X6는 Ile, Cys, Arg, Lys, D-Ile, 또는 D-Cys이며;
- [0645] X7은 Cys, Ile, Leu, Val, Phe, D-Ile, 또는 D-Cys이고;
- [0646] X8은 Ile, Arg, Phe, Gln, Lys, Glu, Val, Leu, 또는 D-Ile이며;
- [0647] X9은 Phe 또는 bhPhe이고;

- [0648] X10은 Lys, Phe이거나 부재한다.
- [0649] 일부 실시양태에서, X는 화학식 (IIIb)의 펩티드 서열이다:
- [0650] X1-Thr-His-X4-X5-X6-X7-X8-Phe-X10 (IIIb) 서열 번호 27
- [0651] 상기 식에서
- [0652] X1은 Asp, Ida, pGlu, bhAsp이거나 부재하고;
- [0653] X4는 Phe 또는 Dpa이며;
- [0654] X5는 Pro 또는 bhPro이고;
- [0655] X6는 Ile, Cys, 또는 Arg이며;
- [0656] X7은 Cys, Ile, Leu, 또는 Val이고;
- [0657] X8은 Ile, Lys, Glu, Phe, Gln, 또는 Arg이며;
- [0658] X10은 Lys, Phe이거나 부재한다.
- [0659] 일부 실시양태에서, X는 본 명세서에 기재된 바와 같은 화학식 (IIIb)에 따른 펩티드 서열이며,
- [0660] 상기 식에서
- [0661] X1은 Asp, Glu, Ida, pGlu, bhAsp이거나 부재하고;
- [0662] X4는 Phe 또는 Dpa이며;
- [0663] X5는 Pro 또는 bhPro이고;
- [0664] X6는 Ile, Cys, 또는 Arg이며;
- [0665] X7은 Cys, Ile, Leu, 또는 Val이고;
- [0666] X8은 Ile, Lys, Glu, Phe, Gln, 또는 Arg이며;
- [0667] X10은 Lys이거나 부재한다.
- [0668] 일부 실시양태에서, X는 화학식 (IIIc)의 펩티드 서열이다:
- [0669] X1-Thr-His-X4-X5-Cys-Ile-X8-Phe-X10 (IIIc) 서열 번호 571
- [0670] 상기 식에서
- [0671] X1은 Asp, Glu, Ida, pGlu, bhAsp이거나 부재하며;
- [0672] X4는 Phe 또는 Dpa이고;
- [0673] X5는 Pro 또는 bhPro이며;
- [0674] X8은 Ile Lys, Glu, Phe, Gln, 또는 Arg이고;
- [0675] X10은 Lys이거나 부재한다.
- [0676] 일부 실시양태에서, X는 화학식 (IIId)의 펩티드 서열이다:
- [0677] X1-Thr-His-Phe-X5-Cys-Ile-X8-Phe-X10 (IIId) 서열 번호 572
- [0678] 상기 식에서
- [0679] X1은 Asp, Glu, 또는 Ida이고;
- [0680] X4는 Phe이며;
- [0681] X5는 Pro 또는 bhPro이고;
- [0682] X8은 Ile, Lys, 또는 Phe이며;
- [0683] X10은 부재한다.

- [0684] 일부 실시양태에서, Y는 화학식 IIIIn의 펩티드 서열이다:
- [0685] Y1-Y2-Y3-Y4-Y5-Y6-Y7-Y8-Cys-Y10 (IIIIn) 서열 번호 573
- [0686] 상기 식에서
- [0687] Y1은 Gly, Ala, Lys, Pro, 또는 D-Pro이고;
- [0688] Y2는 Pro, Ala, 또는 Gly이며;
- [0689] Y3는 Arg, Ala, Lys, 또는 Trp이고;
- [0690] Y4는 Ser, Gly, 또는 Ala이며;
- [0691] Y5는 Lys, Met, Arg, 또는 Ala이고;
- [0692] Y6는 Gly, Arg, 또는 Ala이며;
- [0693] Y7은 Trp, Ala이거나 부재하고;
- [0694] Y8은 Val, Thr, Lys, Ala, Glu이거나 부재하며;
- [0695] Y10은 Met, Lys이거나 부재한다.
- [0696] 일부 실시양태에서, Y는 본 명세서에 기재된 바와 같은 화학식 (IIIIn)에 따른 펩티드 서열이며,
- [0697] 상기 식에서
- [0698] Y1은 Gly, Ala, Lys, Pro, 또는 D-Pro이고;
- [0699] Y2는 Pro, Ala, 또는 Gly이며;
- [0700] Y3는 Arg, Ala, Lys, 또는 Trp이고;
- [0701] Y4는 Ser, Gly, 또는 Ala이며;
- [0702] Y5는 Lys, Met, Arg, 또는 Ala이고;
- [0703] Y6는 Gly, Arg, 또는 Ala이며;
- [0704] Y7은 Trp 또는 Ala이고;
- [0705] Y8은 Val, Thr, Ala, 또는 Glu이며;
- [0706] Y10은 Met, Lys이거나 부재한다.
- [0707] 일부 실시양태에서, Y는 화학식 (IIIo)의 펩티드 서열이다:
- [0708] Y1-Y2-Y3-Ser-Lys-Gly-Trp-Y8-Cys-Y10 (IIIo) 서열 번호 574
- [0709] 상기 식에서
- [0710] Y1은 Gly, Pro, 또는 D-Pro이고;
- [0711] Y2는 Pro 또는 Gly이며;
- [0712] Y3는 Arg 또는 Lys이고;
- [0713] Y8은 Val 또는 Thr이며;
- [0714] Y10은 Met, Lys이거나 부재한다.
- [0715] 일부 실시양태에서, Y는 화학식 (IIIp)의 펩티드 서열이다:
- [0716] Y1-Cys-Y3-Y4-Arg-Y6-Y7-Y8-Cys-Y10-Y11-Y12-Y13-Y14-Y15 (IIIp) 서열 번호 575
- [0717] 상기 식에서
- [0718] Y1은 Val, Ala이거나 부재하고;
- [0719] Y3는 Gly, Pro이거나 부재하며;

- [0720] Y4는 His, Trp, 또는 Tyr이고;
- [0721] Y6는 Ser, Gly, 또는 Pro이며;
- [0722] Y7은 Ile, Gly, 또는 Lys이고;
- [0723] Y8은 Gly, Met이거나 부재하며;
- [0724] Y10은 Tyr 또는 Cys이고;
- [0725] Y11은 Arg, Lys, Met, 또는 Ala이며;
- [0726] Y12는 Arg 또는 Ala이고;
- [0727] Y13은 Cys 또는 Val이거나 부재하며;
- [0728] Y14은 Cys, Lys, Pro, Arg, Thr이거나 부재하고;
- [0729] Y15은 Arg, Thr이거나 부재한다.
- [0730] 일부 실시양태에서, Y는 화학식 (IIIq)의 펩티드 서열이다:
- [0731] Val-Cys-Y3-His-Arg-Y6-Y7-Y8-Cys-Tyr-Arg-Y12-Y13-Y14-Y15 (IIIq) 서열 번호
- [0732] 상기 식에서
- [0733] Y3는 Gly이거나 부재하고;
- [0734] Y6는 Ser 또는 Pro이며;
- [0735] Y7은 Ile 또는 Lys이고;
- [0736] Y8은 Gly이거나 부재하며;
- [0737] Y12는 Arg 또는 Ala이고;
- [0738] Y13은 Cys, Val이거나 부재하며;
- [0739] Y14은 Cys, Arg, Thr이거나 부재하고;
- [0740] Y15은 Arg이거나 부재한다.
- [0741] 일부 실시양태에서, Y는 화학식 (IIIr)의 펩티드 서열이다:
- [0742] Y1-Pro-Y3-Ser-Y5-Y6-Y7-Y8-Cys-Y10 (IIIr) 서열 번호 576
- [0743] 상기 식에서
- [0744] Y1은 Gly, Glu, Val, 또는 Lys이고;
- [0745] Y3는 Arg 또는 Lys이며;
- [0746] Y5는 Arg 또는 Lys이고;
- [0747] Y6는 Gly, Ser, Lys, Ile, 또는 Arg이며;
- [0748] Y7은 Trp이거나 부재하고;
- [0749] Y8은 Val, Thr, Asp, Glu이거나 부재하며;
- [0750] Y10은 Lys이거나 부재한다.
- [0751] 일부 실시양태에서, Y는 화학식 (IIIs)의 펩티드 서열이다:
- [0752] Y1-Pro-Y3-Ser-Y5-Y6-Y7-Y8-Cys-Y10 (IIIs) 서열 번호 577
- [0753] 상기 식에서
- [0754] Y1은 Glu 또는 Lys이고;
- [0755] Y3는 Arg 또는 Lys이며;

- [0756] Y5는 Arg 또는 Lys이고;
- [0757] Y6는 Gly, Ser, Lys, Ile, 또는 Arg이며;
- [0758] Y7은 Trp이거나 부재하고;
- [0759] Y8은 Val이거나 부재하며;
- [0760] Y10은 Lys이거나 부재한다.
- [0761] 일부 실시양태에서, 화학식 (III)의 펩티드는 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 또는 적어도 15개의 Y 잔기를 Y 내에 포함한다.
- [0762] 일부 실시양태에서는, Y1 내지 Y3가 존재하고 Y4 내지 Y15이 부재한다.
- [0763] 일부 실시양태에서는, Y1 내지 Y11이 존재하고 Y12 내지 Y15이 부재한다.
- [0764] 일부 실시양태에서는, Y1 내지 Y10이 존재하고 Y11 내지 Y15이 부재한다.
- [0765] 일부 실시양태에서는, Y8 및 Y15이 부재한다.
- [0766] 일부 실시양태에서는, Y3 및 Y15이 부재한다.
- [0767] 일부 실시양태에서는, Y3, Y14, 및 Y15이 부재한다.
- [0768] 일부 실시양태에서는, Y5가 부재한다.
- [0769] 일부 실시양태에서는, Y1, Y5, Y7, Y12, Y13, Y14, 및 Y15이 부재한다.
- [0770] 일부 실시양태에서는 Y1, Y5, 및 Y7이 부재한다. 일부 실시양태에서는, Y8이 부재한다. 일부 실시양태에서는, Y3가 부재한다. 일부 실시양태에서는 Y1, Y5, Y7, 및 Y11-Y15이 부재한다. 일부 실시양태에서는, Y8 및 Y11-Y15이 부재한다. 일부 실시양태에서는, Y3 및 Y11-Y15이 부재한다.
- [0771] 소정의 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 이량체 헵시딘 유사체는 하기 구조식, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 이로 본질적으로 구성되는, 리신 링커를 통해 연결된 2개의 펩티드 단량체 서브유닛을 포함한다:
- [0772] $R^1-X-Y-R^2$ (IV) 서열 번호 10
- [0773] 상기 식에서
- [0774] R^1 은 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, 또는 C1-C20 알카노일이며, PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;
- [0775] R^2 는 $-NH_2$ 또는 $-OH$ 이며;
- [0776] X는 화학식 (IVa)의 펩티드 서열이고:
- [0777] X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (IVa) 서열 번호 11
- [0778] 상기 식에서
- [0779] X1은 Asp, Glu, Ala, Gly, Thr, Ida, pGlu, bhAsp, D-Asp, Tyr, Leu이거나 부재하며;
- [0780] X2는 Thr, Ala, Aib, D-Thr, Arg이거나 부재하고;
- [0781] X3는 His, Lys, Ala, 또는 D-His이며;
- [0782] X4는 Phe, Ala, Dpa, bhPhe, 또는 D-Phe이고;
- [0783] X5는 Pro, Glu, Ser, Gly, Arg, Lys, Val, Ala, D-Pro, bhPro, Sarc, Abu이거나 부재하며;
- [0784] X6는 Ile, Cys, Arg, Leu, Lys, His, Glu, D-Ile, D-Arg, D-Cys, Val, Ser, 또는 Ala이고;
- [0785] X7은 Cys, Ile, Ala, Leu, Val, Ser, Phe, Dapa, D-Ile, 또는 D-Cys이며;

- [0786] X8은 Ile, Lys, Arg, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, 또는 Dapa이고;
- [0787] X9은 Phe, Ala, Ile, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, 또는 D-Phe이며;
- [0788] X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;
- [0789] 단, Y'이 부재하는 경우, X7은 Ile이며;
- [0790] Y는 부재하거나 화학식 (IVm)의 펩티드이고;
- [0791] Y1-Y2-Y3-Y4-Y5-Y6-Y7-Y8-Y9-Y10-Y11-Y12-Y13-Y14-Y15 (IVm) 서열 번호 12
- [0792] 상기 식에서
- [0793] Y1은 Gly, Cys, Ala, Phe, Pro, Glu, Lys, D-Pro, Val, Ser이거나 부재하며;
- [0794] Y2는 Pro, Ala, Cys, Gly이거나 부재하고;
- [0795] Y3는 Arg, Lys, Pro, Gly, His, Ala, Trp이거나 부재하며;
- [0796] Y4는 Ser, Arg, Gly, Trp, Ala, His, Tyr이거나 부재하고;
- [0797] Y5는 Lys, Met, Arg, Ala이거나 부재하며;
- [0798] Y6는 Gly, Ser, Lys, Ile, Arg, Ala, Pro, Val이거나 부재하고;
- [0799] Y7은 Trp, Lys, Gly, Ala, Ile, Val이거나 부재하며;
- [0800] Y8은 Val, Thr, Gly, Cys, Met, Tyr, Ala, Glu, Lys, Asp, Arg이거나 부재하고;
- [0801] Y9은 Cys, Tyr이거나 부재하며;
- [0802] Y10은 Met, Lys, Arg, Tyr이거나 부재하고;
- [0803] Y11은 Arg, Met, Cys, Lys이거나 부재하며;
- [0804] Y12는 Arg, Lys, Ala이거나 부재하고;
- [0805] Y13은 Arg, Cys, Lys, Val이거나 부재하며;
- [0806] Y14은 Arg, Lys, Pro, Cys, Thr이거나 부재하고;
- [0807] Y15은 Thr, Arg이거나 부재하며;
- [0808] 여기에서 상기 화학식 (IV)의 화합물은 임의로 R¹, X, 또는 Y 상에서 PEG화되고;
- [0809] 여기에서 상기 화학식 (IV)의 화합물은 2개 이상의 시스테인 잔기를 포함하며, 상기 시스테인 잔기 중 적어도 2개는 디설파이드 결합을 통해 연결된다.
- [0810] 소정의 실시양태에서, R¹은 메틸, 아세틸, 포르밀, 벤조일, 트리플루오로아세틸, 이소발레릴, 이소부티릴, 옥타닐, 및 라우르산, 헥사데카노산, 및 γ -Glu-헥사데카노산의 집합된 아미드 중에서 선택된다.
- [0811] 일부 실시양태에서, R¹은 수소, 이소발레르산, 이소부티르산, 또는 아세틸이다.
- [0812] 소정의 실시양태에서, X는 미국 특허 제8,435,941호에 기술된 아미노산 서열을 포함하지 않거나, 이로 구성되지 않거나, 양자 모두이다.
- [0813] 화학식 (IV)의 펩티드 화합물의 일부 실시양태에서, X는 화학식 (IVa)에 따른 펩티드 서열이며,
- [0814] 상기 식에서
- [0815] X1은 Asp, Ala, Ida, pGlu, bhAsp, Leu, D-Asp이거나 부재하고;
- [0816] X2는 Thr, Ala, 또는 D-Thr이며;
- [0817] X3는 His, Lys, D-His, 또는 Lys이고;
- [0818] X4는 Phe, Ala, Dpa, 또는 D-Phe이며;

- [0819] X5는 Pro, Gly, Arg, Lys, Ala, D-Pro, 또는 bhPro이고;
- [0820] X6는 Ile, Cys, Arg, Lys, D-Ile, 또는 D-Cys이며;
- [0821] X7은 Cys, Ile, Leu, Val, Phe, D-Ile, 또는 D-Cys이고;
- [0822] X8은 Ile, Arg, Phe, Gln, Lys, Glu, Val, Leu, 또는 D-Ile이며;
- [0823] X9은 Phe 또는 bhPhe이고;
- [0824] X10은 Lys, Phe이거나 부재한다.
- [0825] 화학식 IV의 펩티드 화합물의 일부 실시양태에서, X는 화학식 (IVb)의 펩티드 서열이다:
- [0826] X1-Thr-His-X4-X5-X6-X7-X8-Phe-X10 (IVb) 서열 번호 578
- [0827] 상기 식에서
- [0828] X1은 Asp, Ida, pGlu, bhAsp이거나 부재하고;
- [0829] X4는 Phe 또는 Dpa이며;
- [0830] X5는 Pro 또는 bhPro이고;
- [0831] X6는 Ile, Cys, 또는 Arg이며;
- [0832] X7은 Cys, Ile, Leu, 또는 Val이고;
- [0833] X8은 Ile Lys, Glu, Phe, Gln, 또는 Arg이며;
- [0834] X10은 Lys이거나 부재한다.
- [0835] 화학식 IV의 펩티드 화합물의 일부 실시양태에서, X는 화학식 (IVc)의 펩티드 서열이다:
- [0836] X1-Thr-His-X4-X5-Cys-Ile-X8-Phe-X10 (IVc) 서열 번호 579
- [0837] 상기 식에서
- [0838] X1은 Asp, Ida, pGlu, bhAsp이거나 부재하고;
- [0839] X4는 Phe 또는 Dpa이며;
- [0840] X5는 Pro 또는 bhPro이고;
- [0841] X8은 Ile Lys, Glu, Phe, Gln, 또는 Arg이며;
- [0842] X10은 Lys이거나 부재한다.
- [0843] 화학식 IV의 펩티드 화합물의 일부 실시양태에서, X는 화학식 (IVd)의 펩티드 서열이다:
- [0844] X1-Thr-His-Phe-X5-Cys-Ile-X8-Phe-X10 (IVd) 서열 번호 580
- [0845] 상기 식에서
- [0846] X1은 Asp, Glu, 또는 Ida이고;
- [0847] X4는 Phe이며;
- [0848] X5는 Pro 또는 bhPro이고;
- [0849] X8은 Ile, Lys, 또는 Phe이며;
- [0850] X10은 부재한다.
- [0851] 화학식 IV의 펩티드 화합물의 일부 실시양태에서, Y는 화학식 (IVn)의 펩티드 서열이다:
- [0852] Y1-Y2-Y3-Y4-Y5-Y6-Y7-Y8-Cys-Y10 (IVn) 서열 번호 581
- [0853] 상기 식에서
- [0854] Y1은 Gly, Ala, Lys, Pro, 또는 D-Pro이고;

- [0855] Y2는 Pro, Ala, 또는 Gly이며;
- [0856] Y3는 Arg, Ala, Lys, 또는 Trp이고;
- [0857] Y4는 Ser, Gly, 또는 Ala이며;
- [0858] Y5는 Lys, Met, Arg, 또는 Ala이고;
- [0859] Y6는 Gly, Arg, 또는 Ala이며;
- [0860] Y7은 Trp 또는 Ala이고;
- [0861] Y8은 Val, Thr, Ala, 또는 Glu이며;
- [0862] Y10은 Met, Lys이거나 부재한다.
- [0863] 화학식 IV의 펩티드 화합물의 일부 실시양태에서, Y는 화학식 (IVo)의 펩티드 서열이다:
- [0864] Y1-Y2-Y3-Ser-Lys-Gly-Trp-Y8-Cys-Y10 (IVo) 서열 번호 582
- [0865] 상기 식에서
- [0866] Y1은 Gly, Pro, 또는 D-Pro이고;
- [0867] Y2는 Pro 또는 Gly이며;
- [0868] Y3는 Arg 또는 Lys이고;
- [0869] Y8은 Val 또는 Thr이며;
- [0870] Y10은 Met, Lys이거나 부재한다.
- [0871] 화학식 IV의 펩티드 화합물의 일부 실시양태에서, Y는 화학식 (IVp)의 펩티드 서열이다:
- [0872] Y1-Cys-Y3-Y4-Arg-Y6-Y7-Y8-Cys-Y10-Y11-Y12-Y13-Y14-Y15 (IVp) 서열 번호 583
- [0873] 상기 식에서
- [0874] Y1은 Val 또는 Ala이거나 부재하고;
- [0875] Y3는 Gly, Pro이거나 부재하며;
- [0876] Y4는 His, Trp, 또는 Tyr이고;
- [0877] Y6는 Ser, Gly, 또는 Pro이며;
- [0878] Y7은 Ile, Gly, 또는 Lys이고;
- [0879] Y8은 Gly, Met이거나 부재하며;
- [0880] Y10은 Tyr 또는 Cys이고;
- [0881] Y11은 Arg, Lys, Met, 또는 Ala이며;
- [0882] Y12는 Arg 또는 Ala이고;
- [0883] Y13은 Cys 또는 Val이거나 부재하며;
- [0884] Y14은 Cys, Lys, Pro, Arg, Thr이거나 부재하고;
- [0885] Y15은 Arg, Thr이거나 부재한다.
- [0886] 화학식 IV의 펩티드 화합물의 일부 실시양태에서, Y는 화학식 (IVq)의 펩티드 서열이다:
- [0887] Val-Cys-Y3-His-Arg-Y6-Y7-Y8-Cys-Tyr-Arg-Y12-Y13-Y14-Y15 (IVq) 서열 번호
- [0888] 상기 식에서
- [0889] Y3는 Gly이거나 부재하고;
- [0890] Y6는 Ser 또는 Pro이며;

- [0891] Y7은 Ile 또는 Lys이고;
- [0892] Y8은 Gly이거나 부재하며;
- [0893] Y12는 Arg 또는 Ala이고;
- [0894] Y13은 Cys, Val이거나 부재하며;
- [0895] Y14은 Cys, Arg, Thr이거나 부재하고;
- [0896] Y15은 Arg이거나 부재한다.
- [0897] 화학식 IV의 펩티드 화합물의 일부 실시양태에서, Y는 화학식 (IVr)의 펩티드 서열이다:
- [0898] Y1-Pro-Y3-Ser-Y5-Y6-Y7-Y8-Cys-Y10 (IVr) 서열 번호
- [0899] 상기 식에서
- [0900] Y1은 Gly, Glu, Val, 또는 Lys이고;
- [0901] Y3는 Arg 또는 Lys이며;
- [0902] Y5는 Arg 또는 Lys이고;
- [0903] Y6는 Gly, Ser, Lys, Ile, 또는 Arg이며;
- [0904] Y7은 Trp이거나 부재하고;
- [0905] Y8은 Val, Thr, Asp, Glu이거나 부재하며;
- [0906] Y10은 Lys이거나 부재한다.
- [0907] 화학식 IV의 펩티드 화합물의 일부 실시양태에서, Y는 화학식 (IVs)의 펩티드 서열이다:
- [0908] Y1-Pro-Y3-Ser-Y5-Y6-Y7-Y8-Cys-Y10 (IVs) 서열 번호
- [0909] 상기 식에서
- [0910] Y1은 Glu 또는 Lys이고;
- [0911] Y3는 Arg 또는 Lys이며;
- [0912] Y5는 Arg 또는 Lys이고;
- [0913] Y6는 Gly, Ser, Lys, Ile, 또는 Arg이며;
- [0914] Y7은 Trp이거나 부재하고;
- [0915] Y8은 Val이거나 부재하며;
- [0916] Y10은 Lys이거나 부재한다.
- [0917] 일부 실시양태에서, 화학식 IV의 펩티드는 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 또는 적어도 15개의 Y 잔기를 Y 내에 포함한다.
- [0918] 일부 실시양태에서는, Y1 내지 Y3가 존재하고 Y4 내지 Y15이 부재한다.
- [0919] 일부 실시양태에서는, Y1 내지 Y11이 존재하고 Y12 내지 Y15이 부재한다.
- [0920] 일부 실시양태에서는, Y1 내지 Y10이 존재하고 Y11 내지 Y15이 부재한다.
- [0921] 일부 실시양태에서는, Y8 및 Y15이 부재한다.
- [0922] 일부 실시양태에서는, Y3 및 Y15이 부재한다.
- [0923] 일부 실시양태에서는, Y3, Y14, 및 Y15이 부재한다.
- [0924] 일부 실시양태에서는, Y5가 부재한다.

- [0925] 일부 실시양태에서는 Y1, Y5, Y7, Y12, Y13, Y14, 및 Y15이 부재한다.
- [0926] 소정의 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 이량체 헵시딘 유사체는 하기 구조식, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 이로 구성되는, 리신 링커를 통해 연결된 2개의 펩티드 단량체 서브유닛을 포함한다:
- [0927] $R^1-X-Y-R^2$ (V) 서열 번호 13
- [0928] 상기 식에서
- [0929] R^1 은 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, 또는 C1-C20 알카노일이며, PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;
- [0930] R^2 는 $-NH_2$ 또는 $-OH$ 이며;
- [0931] X는 화학식 (Va)의 펩티드 서열이고:
- [0932] X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (Va) 서열 번호 14
- [0933] 상기 식에서
- [0934] X1은 Asp, Glu, Ala, Gly, Thr, Ida, pGlu, bhAsp, D-Asp, Tyr, Leu이거나 부재하며;
- [0935] X2는 Thr, Ala, Aib, D-Thr, Arg이거나 부재하고;
- [0936] X3는 His, Lys, Ala, D-His, 또는 Lys이며;
- [0937] X4는 Phe, Ala, Dpa, bhPhe, 또는 D-Phe이고;
- [0938] X5는 Pro, Glu, Ser, Gly, Arg, Lys, Val, Ala, D-Pro, bhPro, Sarc, Abu이거나 부재하며;
- [0939] X6는 Ile, Cys, Arg, Leu, Lys, His, Glu, D-Ile, D-Arg, D-Cys, Val, Ser, 또는 Ala이고;
- [0940] X7은 Cys, Ile, Ala, Leu, Val, Ser, Phe, Dapa, D-Ile, 또는 D-Cys이며;
- [0941] X8은 Ile, Lys, Arg, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, 또는 Dapa이고;
- [0942] X9은 Phe, Ala, Ile, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, 또는 D-Phe이며;
- [0943] X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;
- [0944] 여기에서 Y는 존재하거나 부재하며, 단, Y가 부재하는 경우, X7은 Ile이고;
- [0945] 여기에서 상기 화학식 V의 화합물은 임의로 R^1 , X, 또는 Y 상에서 PEG화되며;
- [0946] 여기에서 상기 화학식 V의 화합물이 2개 이상의 시스테인 잔기를 포함하는 경우, 상기 시스테인 잔기 중 적어도 2개는 디설파이드 결합을 통해 연결된다.
- [0947] 소정의 실시양태에서, R^1 은 메틸, 아세틸, 포르밀, 벤조일, 트리플루오로아세틸, 이소발레릴, 이소부티릴, 옥타닐, 및 라우르산, 헥사데카노산, 및 γ -Glu-헥사데카노산의 접합된 아미드 중에서 선택된다.
- [0948] 일부 실시양태에서, R^1 은 수소, 이소발레르산, 이소부티르산, 또는 아세틸이다.
- [0949] 소정의 실시양태에서, X는 미국 특허 제8,435,941호에 기술된 아미노산 서열을 포함하지 않거나, 이로 구성되지 않거나, 양자 모두이다.
- [0950] 화학식 (V)의 화합물의 일부 실시양태에서, X는 화학식 (Va)에 따른 펩티드 서열이며,
- [0951] 상기 식에서
- [0952] X1은 Asp, Ala, Ida, pGlu, bhAsp, Leu, D-Asp이거나 부재하고;
- [0953] X2는 Thr, Ala, 또는 D-Thr이며;
- [0954] X3는 His, Lys, 또는 D-His이고;

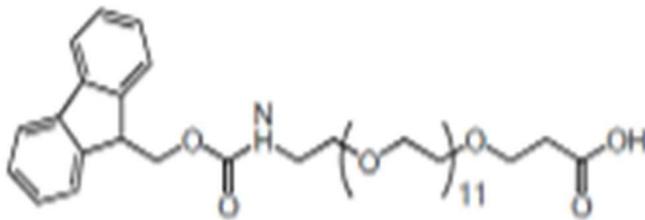
- [0955] X4는 Phe, Ala, 또는 Dpa이며;
- [0956] X5는 Pro, Gly, Arg, Lys, Ala, D-Pro, 또는 bhPro이고;
- [0957] X6는 Ile, Cys, Arg, Lys, D-Ile, 또는 D-Cys이며;
- [0958] X7은 Cys, Ile, Leu, Val, Phe, D-Ile, 또는 D-Cys이고;
- [0959] X8은 Ile, Arg, Phe, Gln, Lys, Glu, Val, Leu, 또는 D-Ile이며;
- [0960] X9은 Phe 또는 bhPhe이고;
- [0961] X10은 Lys이거나 부재한다.
- [0962] 화학식 (V)의 화합물의 일부 실시양태에서, X는 화학식 (Vb)의 펩티드 서열이다:
- [0963] X1-Thr-His-X4-X5-X6-X7-X8-Phe-X10 (Vb) 서열 번호 584
- [0964] 상기 식에서
- [0965] X1은 Asp, Ida, pGlu, bhAsp이거나 부재하며;
- [0966] X4는 Phe 또는 Dpa이고;
- [0967] X5는 Pro 또는 bhPro이며;
- [0968] X6는 Ile, Cys, 또는 Arg이고;
- [0969] X7은 Cys, Ile, Leu, 또는 Val이며;
- [0970] X8은 Ile, Lys, Glu, Phe, Gln, 또는 Arg이고;
- [0971] X10은 Lys, Phe이거나 부재한다.
- [0972] 화학식 (V)의 화합물의 일부 실시양태에서, X는 화학식 (Ic')의 펩티드 서열이다:
- [0973] X1-Thr-His-X4-X5-Cys-Ile-X8-Phe-X10 (Vc) 서열 번호 585
- [0974] 상기 식에서
- [0975] X1은 Asp, Ida, pGlu, bhAsp이거나 부재하며;
- [0976] X4는 Phe 또는 Dpa이고;
- [0977] X5는 Pro 또는 bhPro이며;
- [0978] X8은 Ile, Lys, Glu, Phe, Gln, 또는 Arg이고;
- [0979] X10은 Lys이거나 부재한다.
- [0980] 화학식 (V)의 화합물의 일부 실시양태에서, X는 화학식 (Vd)의 펩티드 서열이다:
- [0981] X1-Thr-His-Phe-X5-Cys-Ile-X8-Phe-X10 (Vd) 서열 번호 586
- [0982] 상기 식에서
- [0983] X1은 Asp, Glu, 또는 Ida이고;
- [0984] X4는 Phe이며;
- [0985] X5는 Pro 또는 bhPro이고;
- [0986] X8은 Ile, Lys, 또는 Phe이며;
- [0987] X10은 부재한다.
- [0988] Y가 존재하는 화학식 (V)의 화합물의 실시양태에서, Y는 화학식 (Vm)의 펩티드이다:
- [0989] Y1-Y2-Y3-Y4-Y5-Y6-Y7-Y8-Cys-Y10 (Vm) 서열 번호 587
- [0990] 상기 식에서

- [0991] Y1은 Gly, Ala, Lys, Pro, 또는 D-Pro이고;
- [0992] Y2는 Pro, Ala, 또는 Gly이며;
- [0993] Y3는 Arg, Ala, Lys, 또는 Trp이고;
- [0994] Y4는 Ser, Gly, 또는 Ala이며;
- [0995] Y5는 Lys, Met, Arg, 또는 Ala이고;
- [0996] Y6는 Gly, Arg, 또는 Ala이며;
- [0997] Y7은 Trp, Ala이거나 부재하고;
- [0998] Y8은 Val, Thr, Lys, Ala, Glu이거나 부재하며;
- [0999] Y10은 Met, Lys이거나 부재한다.
- [1000] 화학식 (V)의 화합물의 일부 실시양태에서, Y는 화학식 (Vm)에 따른 펩티드 서열이며,
- [1001] 상기 식에서
- [1002] Y1은 Gly, Glu, Val, 또는 Lys이고;
- [1003] Y2는 Pro이며;
- [1004] Y3는 Arg 또는 Lys이고;
- [1005] Y4는 Ser이며;
- [1006] Y5는 Arg 또는 Lys이고;
- [1007] Y6는 Gly, Ser, Lys, Ile, 또는 Arg이며;
- [1008] Y7은 Trp이거나 부재하고;
- [1009] Y8은 Val, Thr, Asp, Glu이거나 부재하며;
- [1010] Y10은 Lys이거나 부재한다.
- [1011] 화학식 (V)의 화합물의 일부 실시양태에서, Y는 화학식 (Vm)에 따른 펩티드 서열이며,
- [1012] 상기 식에서
- [1013] Y1은 Glu 또는 Lys이고;
- [1014] Y2는 Pro이며;
- [1015] Y3는 Arg 또는 Lys이고;
- [1016] Y4는 Ser이며;
- [1017] Y5는 Arg 또는 Lys이고;
- [1018] Y6는 Gly, Ser, Lys, Ile, 또는 Arg이며;
- [1019] Y7은 Trp이거나 부재하고;
- [1020] Y8은 Val이거나 부재하며;
- [1021] Y10은 Lys이거나 부재한다.
- [1022] 화학식 (V)의 화합물의 일부 실시양태에서, Y는 화학식 (Vm)에 따른 펩티드 서열이며,
- [1023] 상기 식에서
- [1024] Y1은 Gly, Pro, 또는 D-Pro이고;
- [1025] Y2는 Pro 또는 Gly이며;
- [1026] Y3는 Arg 또는 Lys이고;

- [1027] Y4는 Ser이며;
- [1028] Y5는 Lys이고;
- [1029] Y6는 Gly이며;
- [1030] Y7은 Trp이고;
- [1031] Y8은 Val 또는Thr이며;
- [1032] Y10은 Met, Lys이거나 부재한다.
- [1033] 화학식 (V)의 화합물의 일부 실시양태에서, Y는 화학식 (Vn)의 펩티드 서열이다:
- [1034] Y1-Y2-Y3-Ser-Lys-Gly-Trp-Y8-Cys-Y10 (Vn) 서열 번호 588
- [1035] 상기 식에서
- [1036] Y1은 Gly, Pro, 또는 D-Pro이고;
- [1037] Y2는 Pro 또는 Gly이며;
- [1038] Y3는 Arg 또는 Lys이고;
- [1039] Y8은 Val 또는 Thr이며;
- [1040] Y10은 Met, Lys이거나 부재한다.
- [1041] 일부 실시양태에서, 화학식 (V)의 펩티드는 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 또는 적어도 10개 아미노산 잔기의 Y를 포함한다. 일부 실시양태에서는, Y1 내지 Y3가 존재하고 Y4 내지 Y10이 부재한다. 일부 실시양태에서는, Y5가 부재한다. 일부 실시양태에서는 Y1, Y5, 및 Y7이 부재한다. 일부 실시양태에서는, Y8이 부재한다. 일부 실시양태에서는, Y3가 부재한다.
- [1042] 소정의 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 이량체 헵시딘 유사체는 하기 구조식 VI, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 포함하거나, 이로 본질적으로 구성되거나, 이로 구성되는, 리신 링커를 통해 연결된 2개의 펩티드 단량체 서브유닛을 포함한다:
- [1043] $R^1-X-Y-R^2$ (VI) 서열 번호 15
- [1044] 상기 식에서
- [1045] R^1 은 수소, C1-C6 알킬, C6-C12 아릴, C6-C12 아릴 C1-C6 알킬, 또는 C1-C20 알카노일이며, PEG화 버전을 단독으로 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 스페이서로서 포함하고;
- [1046] R^2 는 $-NH_2$ 또는 $-OH$ 이며;
- [1047] X는 화학식 (VIa)의 펩티드 서열이고:
- [1048] X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10 (VIa) 서열 번호 16
- [1049] 상기 식에서
- [1050] X1은 Asp, Glu, Ida이거나 부재하며;
- [1051] X2는 Thr, Ser, Pro, Ala이거나 부재하고;
- [1052] X3는 His, Ala, 또는 Glu이며;
- [1053] X4는 Phe 또는 Dpa이고;
- [1054] X5는 Pro, bhPro, Sarc, 또는 Gly이며;
- [1055] X6는 Cys, (D)-Cys, Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Val, Lys, Ala, Ser, Dapa이거나 부재하고;
- [1056] X7은 Cys, (D)-Cys, Arg, Glu, Phe, Gln, Leu, Val, Lys, Ala, Ser, Dapa이거나 부재하며;
- [1057] X8은 Ile, Arg, Lys, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, Dapa이거나 부재

하고;

- [1058] X9은 Phe, Ala, Ile, Thr, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, D-Phe이거나 부재하며;
- [1059] X10은 Lys, Phe이거나 부재하고;
- [1060] Y는 부재하거나 존재하며, 단, Y가 존재하는 경우, Y는 화학식 (VI_m)의 펩티드이며:
- [1061] Y1-Y2-Y3 (VI_m) 서열 번호 17
- [1062] 상기 식에서
- [1063] Y1은 Ile, Arg, Lys, Ala, Gln, Phe, Glu, Asp, Tyr, Ser, Leu, Val, D-Ile, D-Lys, D-Arg, Dapa이거나 부재하고;
- [1064] Y2는 Phe, Ala, Ile, Thr, Tyr, Lys, Arg, bhPhe, 또는 D-Phe이거나 부재하며;
- [1065] Y3는 Lys, Phe이거나 부재하고;
- [1066] 여기에서 상기 화학식 VI의 화합물은 임의로 R¹, X, 또는 Y 상에서 PEG화된다.
- [1067] 본 명세서에 사용되는 용어 "가지는"은 "포함하는", "~으로 구성되는", 또는 "~으로 본질적으로 구성되는"을 의미하며, 각각의 경우에 이들 다양한 실시양태 각각을 포괄한다.
- [1068] 소정의 실시양태에서, 화학식 VI의 펩티드 유사체는 2개 이상의 시스테인 잔기를 포함하며, 상기 시스테인 잔기 중 적어도 2개는 디설파이드 결합을 통해 연결된다.
- [1069] 소정의 실시양태에서, R¹은 메틸, 아세틸, 포르밀, 벤조일, 트리플루오로아세틸, 이소발레릴, 이소부틸릴, 옥타닐, 및 라우르산, 헥사데카노산, 및 γ-Glu-헥사데카노산의 접합된 아마이드 중에서 선택된다.
- [1070] 일부 실시양태에서, R¹은 수소, 이소발레르산, 이소부티르산, 또는 아세틸이다.
- [1071] 소정의 실시양태에서, X는 미국 특허 제8,435,941호에 기술된 아미노산을 포함하지 않거나, 이로 구성되지 않거나, 양자 모두이다.
- [1072] 소정의 실시양태에서, 본 발명의 이량체 펩티드 유사체, 예를 들어, 본 발명의 리신 이량체 펩티드 유사체는, 표 12에 페로포틴 내재화/분해 어세이 EC₅₀ 값과 함께 화합물 번호 1-361 중 어느 하나로서 나타낸 아미노산 서열을 나타내는 1개 또는 2개의 펩티드 단량체를 포함한다.
- [1073] N-말단 PEG11 부분을 포함하는 소정의 화합물의 경우, 하기의 것을 그들의 합성에 사용하였다:
- [1074] Fmoc-아미노 PEG 프로피온산



- [1075]
- [1076] 소정의 실시양태에서, 본 발명의 리신 이량체 펩티드 유사체는 표 10에 페로포틴 내재화/분해 어세이 EC₅₀ 값과 함께 나타낸 펩티드 서열을 포함하거나 그 구조를 나타낸다.

표 10

예시적인 리신 이량체 펩티드 유사체		
서열 번호	서열	EC ₅₀ (nM) (n>3)
539	(이소부티르산-DTHFPCIKF) ₂ [Lys]K(iso-Glu-Palm)-NH ₂	24
540	(이소발레르산-DTHFPCIKF) ₂ [Lys]K(iso-Glu-Palm)-NH ₂	14

541	(사이클로헥사노산-DTHFPCIKF) ₂ [Lys]K(iso-Glu-Palm)-NH ₂	17
542	(이소발레르산-DTHFPCIRF) ₂ [Lys]-K(iso-Glu-Palm)-NH ₂	4
543	(이소발레르산-DTHFPCIKF) ₂ [Lys]-NH ₂	30
544	(이소발레르산-DTHFPCIKF) ₂ [Lys]-Lys(Palm)-NH ₂	16
570	(이소발레르산-DTHFPCIKF) ₂ [Lys]-Lys[(isoGlu(옥타노산))-NH ₂	17

[1078] 펩티드 유사체 접합체 및 유사체

[1079] 소정의 실시양태에서, 단량체 및 이량체 양자 모두를 포함하는 본 발명의 헵시딘 유사체는, 하나 이상의 접합된 화학적 치환체, 예컨대 친유성 치환체 및 중합체성 부분을 포함한다. 임의의 특정 이론에 구애되고자 하는 것은 아니지만, 친유성 치환체는 혈류 중의 알부민에 결합하며, 이에 의해 헵시딘 유사체를 효소적 분해로부터 보호함으로써, 그의 반감기를 향상시키는 것으로 생각된다. 부가적으로, 중합체성 부분은 반감기를 향상시키고 혈류 중의 청소율을 감소시키며, 일부 경우에는 상피를 통한 투과성 및 고유관 내의 체류를 향상시키는 것으로 생각된다. 또한, 이들 치환체는 일부 경우에 상피를 통한 투과성 및 고유관 내의 체류를 향상시킬 수 있는 것으로 또한 추정된다. 당업자는 본 발명의 맥락에서 채용되는 화합물의 적합한 제조 기술을 잘 인식할 것이다. 비-제한적인 적합한 화학의 예에 대해서는, 예를 들어, 국제 특허 제98/08871호, 국제 특허 제00/55184호, 국제 특허 제00/55119호, 문헌[Madsen et al., J. Med. Chem. 2007, 50, 6126-32], 및 문헌[Knudsen et al., 2000, J. Med Chem. 43, 1664-1669]을 참조한다.

[1080] 일 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체 내의 하나 이상의 아미노산 잔기(예를 들어, Lys 잔기)의 측쇄는 친유성 치환체에 추가로 접합된다(예를 들어, 공유적으로 부착됨). 친유성 치환체는 아미노산 측쇄 내의 원자에 공유적으로 결합될 수 있거나, 대안적으로 하나 이상의 스페이서를 통해 아미노산 측쇄에 접합될 수 있다. 존재하는 경우, 스페이서는 헵시딘 유사체와 친유성 치환체 사이에 간격을 제공할 수 있다.

[1081] 소정의 실시양태에서, 친유성 치환체는 4 내지 30개의 C 원자, 예를 들어, 적어도 8 또는 12개의 C 원자, 바람직하게 24개 이하의 C 원자, 또는 20개 이하의 C 원자를 가지는 탄화수소쇄를 포함한다. 탄화수소쇄는 선형이거나 분지형일 수 있으며, 포화되거나 불포화될 수 있다. 소정의 실시양태에서, 탄화수소쇄는 아미노산 측쇄 또는 스페이서에 대한 부착 부분을 형성하는 부분, 예를 들어, 아실 기, 설포닐 기, N 원자, O 원자, 또는 S 원자로 치환된다. 일부 실시양태에서, 탄화수소쇄는 아실 기로 치환되며, 따라서 탄화수소쇄는 알카노일 기, 예를 들어, 팔미토일, 카프로일, 라우로일, 미리스토일, 또는 스테아로일의 일부를 형성할 수 있다.

[1082] 친유성 치환체는 본 발명의 헵시딘 유사체 내의 임의의 아미노산 측쇄에 접합될 수 있다. 소정의 실시양태에서, 스페이서 또는 친유성 치환체와 에스테르, 설포닐 에스테르, 티오에스테르, 아마이드, 또는 설포아미드를 형성하기 위해, 아미노산 측쇄는 카복시, 하이드록실, 티올, 아마이드, 또는 아민 기를 포함한다. 예를 들어, 친유성 치환체는 Asn, Asp, Glu, Gln, His, Lys, Arg, Ser, Thr, Tyr, Trp, Cys 또는 Dbu, Dpr 또는 Orn에 접합될 수 있다. 소정의 실시양태에서, 친유성 치환체는 Lys에 접합된다. 친유성 치환체가 첨가되는 경우에, 본 명세서에 제공된 임의의 화학식에서 Lys로 나타낸 아미노산은, 예를 들어, Dbu, Dpr, 또는 Orn에 의해 대체될 수 있다.

[1083] 본 발명의 추가의 실시양태에서, 예를 들어, 용해도 및/또는 생체내(예를 들어, 혈장내) 반감기 및/또는 생체이용률을 증가시키기 위해, 대안적으로 또는 부가적으로, 본 발명의 헵시딘 유사체 내의 하나 이상의 아미노산 잔기의 측쇄를 중합체성 부분에 접합할 수 있다. 이러한 개질은 또한, 치료 단백질 및 펩티드의 청소율(예를 들어, 신장 청소율)을 감소시키는 것으로 공지되어 있다.

[1084] 본 명세서에 사용되는 "폴리에틸렌 글리콜" 또는 "PEG"는 일반식 H-(O-CH₂-CH₂)_n-OH의 폴리에테르 화합물이다. PEG는 또한 폴리에틸렌 옥사이드(PEO) 또는 폴리옥시에틸렌(POE)으로서 공지되어 있으며, 본 명세서에 사용되는 PEO, PEE, 또는 POG는 그들의 분자량에 따라 에틸렌 옥사이드의 올리고머 또는 중합체를 지칭한다. 3개의 명칭은 화학적으로 동의어이나, PEG는 분자량이 20,000 g/mol 미만인 올리고머 및 중합체, PEO는 분자량이 20,000 g/mol을 초과하는 중합체, 그리고 POE는 임의의 분자량의 중합체를 지칭하는 경향이 있다. PEG 및 PEO는 그들의 분자량에 따라 액체 또는 저-융점 고체이다. 본 개시 전체에 걸쳐, 3개의 명칭은 구분 없이 사용된다. PEG는 에틸렌 옥사이드의 중합에 의해 제조되며, 300 g/mol 내지 10,000,000 g/mol의 광범위한 분자량에 걸쳐 구매가능하다. 상이한 분자량을 가진 PEG 및 PEO는 상이한 응용에 사용되며,쇄 길이 효과로 인해 상이한 물리적 특성(예를 들어, 점도)을 나타내지만, 그들의 화학적 특성은 거의 동일하다. 중합체성 부분은 바람직하게 수용성(양

친매성 또는 친수성)이고, 비-독성이며, 약제학적으로 불활성이다. 적합한 중합체성 부분은 폴리에틸렌 글리콜(PEG), PEG의 단일-중합체 또는 공-중합체, PEG의 모노메틸-치환된 중합체(mPEG), 또는 폴리옥시에틸렌 글리세롤(POG)을 포함한다. 예를 들어, 문헌[Int. J. Hematology 68:1 (1998)]; 문헌[Bioconjugate Chem. 6:150 (1995)]; 및 문헌[*Crit. Rev. Therap. Drug Carrier Sys.* 9:249 (1992)]을 참조한다. 반감기 연장의 목적으로 제조된 PEG 또한 포함되며, 예를 들어, 모노-메톡시-종결 폴리에틸렌 글리콜(mPEG)과 같은 모노 활성화(mono-activated) 알콕시-종결 폴리알킬렌 옥사이드(POA); 비스 활성화(bis activated) 폴리에틸렌 옥사이드(글리콜) 또는 다른 PEG 유도체 또한 고려된다. 약 200 내지 약 40,000 범위의 중량에 의해 실질적으로 변동될 적합한 중합체가 본 발명의 목적을 위해 통상적으로 선택된다. 소정의 실시양태에서, 200 내지 2,000, 또는 200 내지 500의 분자량을 나타내는 PEG가 사용된다. 중합 공정에 사용되는 개시체에 따라 상이한 형태의 PEG 또한 사용할 수 있으며, 예를 들어, 통상의 개시체는 단작용성 메틸 에테르 PEG 또는 메톡시폴리(에틸렌 글리콜)(mPEG라고 약칭함)이다. 다른 적합한 개시체가 당업계에 공지되어 있으며, 본 발명에 사용하기에 적합하다.

- [1085] 더 낮은 분자량의 PEG 또한 단분산성이거나 균일하거나 이산성(discrete)인 것으로 지칭순수한 올리고머로서 입수가능하다. 이들은 본 발명의 소정의 실시양태에서 사용된다.
- [1086] PEG는 또한 상이한 기하형태로 입수가능하며, 분지형 PEG는 중심 코어 기로부터 나오는 3 내지 10개의 PEG 쇄를 갖고; 별모양 PEG는 중심 코어 기로부터 나오는 10 내지 100개의 PEG 쇄를 가지며; 빗모양 PEG는 중합체 골격 상에 수직으로 접목되는 다중 PEG 쇄를 가진다. 또한 PEG는 선형일 수 있다. PEG의 명칭에 흔히 포함되는 숫자는 그들의 평균 분자량을 표시한다(예를 들어, n = 9인 PEG는 대략 400 달톤의 평균 분자량을 나타낼 것이며, PEG 400으로 표지될 것이다).
- [1087] 본 명세서에 사용되는 "PEG화"는 본 발명의 펩티드 유사체에 PEG 구조를 커플링(예를 들어, 공유적으로)하는 행위이며, 이는 소정의 실시양태에서 "PEG화 펩티드 유사체"라고 지칭된다. 소정의 실시양태에서, PEG화 측쇄의 PEG는 분자량이 약 200 내지 약 40,000인 PEG이다. 일부 실시양태에서, 화학식 I, 화학식 I', 또는 화학식 I''의 펩티드의 스페이서는 PEG화된다. 소정의 실시양태에서, PEG화 스페이서의 PEG는 PEG3, PEG4, PEG5, PEG6, PEG7, PEG8, PEG9, PEG10, 또는 PEG11이다. 소정의 실시양태에서, PEG화 스페이서의 PEG는 PEG3 또는 PEG8이다.
- [1088] 일부 실시양태에서 본 발명은, 예를 들어, 아마이드, 티올을 통해, 클릭 화학을 통해, 또는 당업계에 공지된 임의의 다른 적합한 수단을 통해 공유적으로 부착된 PEG와 접합된 펩티드 유사체 펩티드(또는 그의 이량체)를 포함한다. 특정 실시양태에서 PEG는 아마이드 결합을 통해 부착되며, 사용되는 소정의 PEG 유도체는 그렇게 적절하게 작용화될 것이다. 예를 들어, 소정의 실시양태에서, 0-(2-아미노에틸)-0'-(2-카복시에틸)-운데카에틸렌글리콜인 PEG11은 본 발명의 펩티드에 부착되기 위한 아민 및 카복실산 양자 모두를 가진다. 소정의 실시양태에서, PEG25는 이산 및 25개의 글리콜 부분을 함유한다.
- [1089] 다른 적합한 중합체성 부분은 폴리-아미노산, 예컨대 폴리-리신, 폴리-아스파르트산, 및 폴리-글루탐산을 포함한다(예를 들어, 문헌[Gombotz, et al. (1995), *Bioconjugate Chem.*, vol. 6: 332-351], 문헌[Hudecz, et al. (1992), *Bioconjugate Chem.*, vol. 3, 49-57], 및 문헌[Tsukada, et al. (1984), *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 73, : 721-729]을 참조한다). 중합체성 부분은 직쇄 또는 분지형일 수 있다. 일부 실시양태에서, 그것은 500-40,000 Da, 예를 들어, 500-10,000 Da, 1000-5000 Da, 10,000-20,000 Da, 또는 20,000-40,000 Da을 나타낸다.
- [1090] 일부 실시양태에서, 본 발명의 펩티드 유사체는 2개 이상의 이러한 중합체성 부분을 포함할 수 있으며, 이 경우에 모든 이러한 부분의 총 분자량은 일반적으로 상기 제공된 범위 내에 들어갈 것이다.
- [1091] 일부 실시양태에서, 중합체성 부분은 아미노산 측쇄의 아미노, 카복실, 또는 티올 기에 커플링될 수 있다(공유 연결부에 의함). 소정의 예는 Cys 잔기의 티올 기 및 Lys 잔기의 엡실론 아미노 기이며, Asp 및 Glu 잔기의 카복실 기 또한 포함될 수 있다.
- [1092] 커플링 반응을 수행하기 위해 사용될 수 있는 적합한 기술을 당업자는 잘 인식할 것이다. 예를 들어, 넥타르 테라퓨틱스 AL(Nektar Therapeutics AL)로부터 구매가능한 시약을 사용하여 말레이미도 연결부에 의해 메톡시기를 보유하는 PEG 부분을 Cys 티올 기에 커플링할 수 있다. 적합한 화학의 상세사항에 대해서는 국제 특허 제 2008/101017호, 및 상기 인용된 참고 문헌 또한 참조한다. 또한, 말레이미드-작용화 PEG를 Cys 잔기의 측쇄 설프하이드릴 기에 접합할 수 있다.
- [1093] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 디설파이드 결합 산화는 단일 단계 내에서 일어날 수 있거나, 2-단계 공정이

다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 단일 산화 단계의 경우, 어셈블리 중에 트리틸 보호기를 흔히 채용하고, 절단 중에 탈보호를 허용하며, 용액 산화가 이어진다. 제2 디설파이드 결합이 필요한 경우, 자연 산화(native oxidation) 또는 선택적 산화(selective oxidation)의 선택이 주어진다. 직교 보호기(orthogonal protecting group)가 필요한 선택적 산화의 경우, 시스테인을 위한 보호기로서 Acm 및 트리틸이 사용된다. 절단은 시스테인의 보호 쌍 하나의 제거를 유발하여 이 쌍의 산화를 허용한다. 이어서, Acm 기로 보호된 시스테인의 제2 산화성 탈보호 단계를 수행한다. 자연 산화의 경우, 모든 시스테인에 대해 트리틸 보호기를 사용하며, 펩티드의 천연 폴딩을 허용한다.

- [1094] 당업자는 산화 단계를 수행하기 위해 사용할 수 있는 적합한 기술을 잘 인식할 것이다.
- [1095] 예시적인 헵시딘 유사체 펩티드 단량체 및 헵시딘 유사체 펩티드 이량체
- [1096] 본 발명의 예시적인 헵시딘 유사체 및 헵시딘 유사체 펩티드 이량체를 표 2-4, 6-10, 12, 14, 및 15에 나타낸다. 이들 표는 선택된 단량체 헵시딘 유사체 및 헵시딘 유사체 펩티드 이량체의 아미노산 서열을 제공하며, 일부 경우에는 헵시딘 유사체 펩티드 이량체 내에 존재하는 링커 부분을 표시한다. 본 명세서에 논의된 프로토콜에 따라, 나타난 다수의 헵시딘 유사체 단량체 펩티드 및 헵시딘 유사체 펩티드 이량체를 합성하였다. 선택된 단량체 헵시딘 유사체 및 헵시딘 유사체 펩티드 이량체의, 인간 페로포틴 단백질의 시험관내 내재화/분해의 유도에 대한 IC50 값이 제공된다.
- [1097] 따라서 본 발명은 페로포틴(예를 들어, 인간 페로포틴)과 결합하거나 연계되어 수송체의 내재화를 유도하는 다양한 헵시딘 유사체를 제공한다.
- [1098] 일부 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서에 개시된 펩티드 단량체 중 어느 하나의 이량체를 제공한다. 일 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서에 개시된 단량체 펩티드 서열 중 어느 하나의 동종이량체인 헵시딘 유사체 이량체를 제공한다. 일 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서에 개시된 임의의 2개의 상이한 단량체 펩티드 서열의 이종이량체인 헵시딘 유사체 이량체를 제공한다. 일 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서에 개시된 임의의 하나의 단량체 펩티드 서열, 및 야생형 헵시딘 펩티드 또는 헵시딘 유사체를 포함하는 헵시딘 활성을 나타내는 것으로 당업계에 공지된 임의의 다른 펩티드 서열의 이종이량체인 헵시딘 유사체 이량체를 제공한다. 다양한 실시양태에서 본 발명은, 디설파이드 연결부에 의해 이량체화된 헵시딘 동종이량체 및 이종이량체를 제공한다. 다양한 실시양태에서 본 발명은, 링커, 예를 들어, 본 명세서에 개시되거나 당업계에 공지된 링커 중 임의의 하나 이상을 통해 이량체화된 헵시딘 동종이량체 및 이종이량체를 제공한다. 추가의 실시양태에서 본 발명은, 하나 이상의 디설파이드 연결부 및 하나 이상의 링커, 예를 들어, 본 명세서에 개시되거나 당업계에 공지된 링커 중 임의의 하나 이상에 의해 이량체화된 헵시딘 동종이량체 및 이종이량체를 제공한다.
- [1099] 본 발명의 헵시딘 유사체는 당업자에게 공지된 다수의 기술에 의해 합성될 수 있다. 소정의 실시양태에서는, 첨부된 실시예에 기재된 기술을 사용하여 단량체 서브유닛을 합성하고, 정제하고, 이량체화한다.
- [1100] 관련 실시양태에서 본 발명은, 화학식 I-IX 중 어느 하나에 기술되거나, 표 2-4, 6-10, 12, 14, 또는 15 중 임의의 것에 나타난 바와 같은 서열을 가진 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다.
- [1101] 부가적으로 본 발명은, 본 발명의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터, 예를 들어, 발현 벡터를 포함한다.
- [1102] 소정의 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서에 개시된 화학식 중 어느 하나에 따른 헵시딘 유사체 단량체, 또는 이러한 단량체를 포함하는 동종이량체 또는 이종이량체를 제공하며, 여기에서 단량체는 위치 6 또는 7에 Cys를 포함하고, 여기에서 이러한 Cys에 대해 C-말단 인접 아미노산은 Ile를 제외한 임의의 천연 또는 비천연 아미노산이다.
- [1103] 치료 방법
- [1104] 일부 실시양태에서 본 발명은, 본 발명의 헵시딘 유사체를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 헵시딘 신호 전달의 조절이상과 연계된 질환 또는 장애로 고통 받는 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 대상체에게 투여되는 헵시딘 유사체는 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물) 내에 존재한다. 일 실시양태에는, 대상체에서 페로포틴에 (부분적으로 또는 완전히) 결합하고 작용하기(agonize) 충분한 양으로 본 발명의 헵시딘 유사체 또는 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 페로포틴의 증가된 활성 또는 발현을 특징으로 하는 질환 또는 장애로 고통 받는 대상체를 치료하는 방법이 제공된다. 일 실시양태에는, 본 발명의 헵시딘 유사체 또는 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 철 대사의 조절이상을 특징으로 하는 질환 또는 장애로 고통 받는 대상체를 치료하는 방법이 제공된다.

- [1105] 일부 실시양태에서 본 발명의 방법은, 본 발명의 헵시딘 유사체 또는 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 제공하는 단계를 포함한다. 특정 실시양태에서, 이를 필요로 하는 대상체는 철 수준의 조절이상을 특징으로 하는 질환 또는 장애(예를 들어, 철 대사의 질환 또는 장애; 철 과부하에 관련된 질환 또는 장애; 및 비정상적인 헵시딘 활성 또는 발현에 관련된 질환 또는 장애)로 진단되거나 그의 발생 위험이 있는 것으로 결정되었다. 특정 실시양태에서, 대상체는 포유류(예를 들어, 인간)이다.
- [1106] 소정의 실시양태에서 질환 또는 장애는, 예를 들어, 철 과부하 질환, 철 결핍 장애, 철 생체분포의 장애, 또는 철 대사의 다른 장애, 및 철 대사에 잠재적으로 관련된 다른 장애 등과 같은 철 대사의 질환이다. 특정 실시양태에서, 철 대사의 질환은 혈색소 침착증, HFE 돌연변이 혈색소 침착증, 페로포틴 돌연변이 혈색소 침착증, 트랜스페린 수용체 2 돌연변이 혈색소 침착증, 헤모주벨린 돌연변이 혈색소 침착증, 헵시딘 돌연변이 혈색소 침착증, 청소년 혈색소 침착증, 신생아 혈색소 침착증, 헵시딘 결핍, 수혈성 철 과부하, 지중해성빈혈, 지중해성빈혈 중간기, 알파 지중해성빈혈, 베타 지중해성빈혈, 철적모구 빈혈, 포르피린증, 만발성 피부 포르피린증, 아프리카 철 과부하, 고페리틴혈증, 세룰로플라스민 결핍, 트랜스페린결핍혈증, 선천성 적혈구 생성이상 빈혈, 만성 질환에 의한 빈혈, 염증에 의한 빈혈, 감염에 의한 빈혈, 저색소성 소구성 빈혈, 철-결핍 빈혈, 철-불응성 철 결핍 빈혈, 만성 신장 질환으로 인한 빈혈, 수혈-의존성 빈혈, 용혈성 빈혈, 에리트로포이에틴 내성, 비만으로 인한 철 결핍, 다른 빈혈, 헵시딘을 과다생성시키거나 그의 과다생성을 유도하는 양성 또는 악성 종양, 헵시딘 과다를 동반하는 병태, 프리드라이히 운동실조, 연약 증후군, 할리포르텐-스파츠병, 윌슨병, 폐 혈철증, 간세포암종, 암(예를 들어, 간암), 간염, 간경변, 이식증, 만성 신부전, 인슐린 내성, 당뇨병, 죽상동맥경화증, 신경 퇴행성 장애, 치매, 다발성 경화증, 파킨슨병, 헌팅턴병, 또는 알츠하이머병이다.
- [1107] 소정의 실시양태에서, 질환 또는 장애는 철 과부하 질환, 예컨대 철 혈색소 침착증, HFE 돌연변이 혈색소 침착증, 페로포틴 돌연변이 혈색소 침착증, 트랜스페린 수용체 2 돌연변이 혈색소 침착증, 헤모주벨린 돌연변이 혈색소 침착증, 헵시딘 돌연변이 혈색소 침착증, 청소년 혈색소 침착증, 신생아 혈색소 침착증, 헵시딘 결핍, 수혈성 철 과부하, 지중해성빈혈, 지중해성빈혈 중간기, 알파 지중해성빈혈에 관련된다.
- [1108] 소정의 실시양태에서, 질환 또는 장애는 전형적으로 철 관련으로 동정되지 않는 것이다. 예를 들어, 헵시딘은 쥐과 체장에서 고도로 발현되며, 이는 기저의 철 대사 장애를 치료함으로써 당뇨병(유형 I 또는 유형 II), 인슐린 내성, 글루코스 불내성, 및 다른 장애를 완화시킬 수 있다는 것을 제시한다. 원용에 의해 본 명세서에 포함된 문헌[Ilyin, G. et al. (2003) FEBS Lett. 542 22-26]을 참조한다. 그러므로, 본 발명의 펩티드를 사용하여 이들 질환 및 병태를 치료할 수 있다. 원용에 의해 본 명세서에 포함된 국제 특허 제2004092405호의 어세이, 및 원용에 의해 본 명세서에 포함된 미국 특허 제7,534,764호에 기재된 것들과 같이 당업계에 공지된 헵시딘, 헤모주벨린, 또는 철 수준 및 발현을 모니터링하는 어세이를 포함하는, 당업계에 공지된 방법을 사용하여 본 발명에 따른 펩티드로 주어진 질환을 치료할 수 있는지 여부를 당업자는 용이하게 결정할 수 있다.
- [1109] 소정의 실시양태에서, 질환 또는 장애는 폐경후 골다공증이다.
- [1110] 본 발명의 소정의 실시양태에서, 철 대사의 질환은 철 과부하 질환이며, 이는 유전성 혈색소 침착증, 철-부하 빈혈, 알코올성 간 질환, 심장 질환 및/또는 부전, 심근병증, 및 만성 간염 C를 포함한다.
- [1111] 특정 실시양태에서, 임의의 이들 질환, 장애, 또는 적응증은 헵시딘의 결핍 또는 철 과부하에 의해 유발되거나 이들과 연계된다.
- [1112] 일부 실시양태에서 본 발명의 방법은, 본 발명의 헵시딘 유사체(즉, 제1 치료제)를 제2 치료제와 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 제공하는 단계를 포함한다. 소정의 실시양태에서, 제2 치료제는 약제학적 조성물이 대상체에게 투여되기 전에 및/또는 그와 동시에 및/또는 그 후에 대상체에게 제공된다. 특정 실시양태에서, 제2 치료제는 철 킬레이터이다. 소정의 실시양태에서, 제2 치료제는 철 킬레이터 데페록사민(Deferoxamine) 및 데페라시록스(Deferasirox)(엑스자이드(Exjade)TM) 중에서 선택된다. 다른 실시양태에서, 본 방법은 대상체에게 제3 치료제를 투여하는 단계를 포함한다.
- [1113] 본 발명은 하나 이상의 본 발명의 헵시딘 유사체를 포함하는 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)을 제공한다.
- [1114] 소정의 실시양태에서, 조성물은 본 명세서에 개시된 2개 이상의 헵시딘 유사체를 포함한다. 소정의 실시양태에서, 조합은 하기의 것들 중 하나 중에서 선택된다: (i) 예를 들어, 표 2-4, 6-10, 12, 14, 또는 15에 개시된 것들 중 어느 하나와 같은 헵시딘 유사체 펩티드 단량체, 또는 그 안에 나타난 임의의 단량체의 이량체 중 임의의 2개 이상; (ii) 표 2-4 또는 6-10, 12, 14, 또는 15에 개시된 헵시딘 유사체 펩티드 이량체 중 임의의 2개 이상; (iii) 본 명세서에 개시된 헵시딘 유사체 펩티드 단량체 중 임의의 하나 이상, 및 본 명세서에 개시된 헵

시딘 유사체 펩티드 이량체 중 임의의 하나 이상.

- [1115] 소정의 실시양태에서, 본 발명은 하나 이상의 본 발명의 헵시딘 유사체 및 약제학적으로 허용되는 담체, 희석제, 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 포함한다. 약제학적으로 허용되는 담체, 희석제, 또는 부형제는 비-독성 고체, 반-고체, 또는 액체 충전제, 희석제, 봉지재, 또는 임의의 유형의 제형화 보조제 (formulation auxiliary)를 지칭한다. 다양한 항균제 및 항진균제, 예를 들어, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀 소르브산 등의 포함에 의해 미생물 활동의 방지를 보장할 수 있다. 당, 소듐 클로라이드 등과 같은 등장화제를 포함하는 것 또한 바람직할 수 있다.
- [1116] 용어 "약제학적으로 허용되는 담체"는 임의의 표준 약제학적 담체를 포함한다. 치료적 용도에 약제학적으로 허용되는 담체는 약제학 기술분야에 주지되어 있으며, 예를 들어, 문헌["Remington's Pharmaceutical Sciences", 17th edition, Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mark Publishing Company, Easton, PA, USA, 1985]에 기재되어 있다. 예를 들어, 약간 산성이거나 생리적 pH인 멸균 식염수 및 포스페이트-완충 식염수를 사용할 수 있다. 적합한 pH-완충제는, 예를 들어, 포스페이트, 시트레이트, 아세테이트, 트리스(하이드록시메틸)아미노메탄(TRIS), N-트리스(하이드록시메틸)메틸-3-아미노프로판설폰산(TAPS), 암모늄 비카보네이트, 디에탄올아민, 히스티딘, 아르기닌, 리신, 또는 아세테이트(예를 들어, 소듐 아세테이트로서), 또는 그의 혼합물일 수 있다. 그 용어는 인간을 포함하는 동물에서의 사용을 위해 미국 약전에 열거된 임의의 담체 약제를 추가로 포괄한다.
- [1117] 본 발명의 헵시딘 유사체(즉, 하나 이상의 본 발명의 헵시딘 유사체 펩티드 단량체 또는 하나 이상의 본 발명의 헵시딘 유사체 펩티드 이량체)를 약제학적 조성물 내에 포함하는 것은 본 발명의 헵시딘 유사체의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 포함 또한 포괄한다는 것이 이해되어야 한다. 특정 실시양태에서, 약제학적 조성물은 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제, 또는 비히클을 추가로 포함한다.
- [1118] 소정의 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서 또는 다른 곳에 개시된 바와 같은(예를 들어, 본 명세서의 치료 방법을 참조한다) 다양한 병태, 질환, 또는 장애의 치료를 위한, 헵시딘 유사체, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 특정 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서 또는 다른 곳에 개시된 바와 같은(예를 들어, 본 명세서의 치료 방법을 참조한다) 다양한 병태, 질환, 또는 장애의 치료를 위한, 헵시딘 유사체 펩티드 단량체, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 특정 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서 또는 다른 곳에 개시된 바와 같은(예를 들어, 본 명세서의 치료 방법을 참조한다) 다양한 병태, 질환, 또는 장애의 치료를 위한, 헵시딘 유사체 펩티드 이량체, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [1119] 본 발명의 헵시딘 유사체는, 저장을 하거나 하지 않는 투여에 적합하고, 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제, 또는 비히클과 함께 치료적 유효량의 적어도 하나의 본 발명의 헵시딘 유사체를 전형적으로 포함하는 약제학적 조성물로서 제형화될 수 있다.
- [1120] 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체 약제학적 조성물은 단위 투여 형태이다. 이러한 형태에서, 조성물은 적절한 양의 활성 구성요소 또는 구성요소들을 함유하는 단위 용량으로 분할된다. 단위 투여 형태는 포장된 제제로서 제공될 수 있으며, 포장은 분리량(discrete quantity)의 제제, 예를 들어, 바이알 또는 앰플 내에 포장된 정제, 캡슐, 또는 산제를 함유한다. 단위 투여 형태는 또한, 예를 들어, 그 자체가 캡슐, 카세트, 또는 정제일 수 있거나, 적절한 갯수의 임의의 이들 포장된 형태일 수 있다. 단위 투여 형태는 또한, 단일-용량 주사용 형태로, 예를 들어, 액상(전형적으로 수성) 조성물을 함유하는 펜 디바이스의 형태로 제공될 수 있다. 임의의 적합한 투여 경로 및 수단, 예를 들어, 본 명세서에 개시된 투여 경로 및 수단 중 어느 하나를 위해 조성물을 제형화할 수 있다.
- [1121] 특정 실시양태에서, 헵시딘 유사체, 또는 헵시딘 유사체를 포함하는 약제학적 조성물은 서방성 매트릭스 내에 현탁된다. 본 명세서에 사용되는 서방성 매트릭스는, 효소적 가수분해 또는 산-염기 가수분해에 의해, 또는 용해에 의해 분해가능한 재료(통상적으로 중합체)로 제조된 매트릭스이다. 일단 체내로 삽입되면, 효소 및 체액이 매트릭스에 작용한다. 서방성 매트릭스는 생체적합성 재료, 예컨대 리포솜, 폴리락티드(폴리락트산), 폴리글리콜리드(글리콜산의 중합체), 폴리락티드 코-글리콜리드(락트산과 글리콜산의 공중합체) 폴리엔하이드라이드, 폴리(오르토)에스테르, 폴리펩티드, 히알루론산, 콜라겐, 콘드로이틴 설페이트, 카복실산, 지방산, 인지질, 폴리사카라이드, 핵산, 폴리아미노산, 아미노산, 예컨대 페닐알라닌, 티로신, 이소류신, 폴리뉴클레오티드, 폴리비닐 프로필렌, 폴리비닐피롤리돈, 및 실리콘 중에서 바람직하게 선택된다. 생분해성 매트릭스의 일 실시양태는 폴리락티드, 폴리글리콜리드, 또는 폴리락티드 코-글리콜리드(락트산과 글리콜산의 공중합체) 중 하나의 매트릭스이다.

- [1122] 소정의 실시양태에서, 조성물은 장관내 또는 장관외 투여된다. 특정 실시양태에서, 조성물은 경구, 낭내, 질내, 복강내, 직장내, 국소(산제, 연고, 적제, 좌제, 또는 경피 패치에 의한 것과 같은, 유리체내, 비강내, 및 흡입을 통한 전달을 포함함) 또는 협부 투여된다. 본 명세서에 사용되는 용어 "장관외"는 정맥내, 근육내, 복강내, 흉골내, 피하, 피내, 및 관절내 주사 및 주입을 포함하는 투여 모드를 지칭한다. 따라서, 소정의 실시양태에서, 조성물은 이들 임의의 투여 경로에 의한 전달을 위해 제형화된다.
- [1123] 소정의 실시양태에서, 장관외 주사를 위한 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용되는 멸균 수성 또는 비수성 용액, 분산액, 현탁액, 또는 유탁액, 또는 사용 직전에 멸균 주사용 용액 또는 분산액으로 재구성하기 위한 멸균 산제를 포함한다. 적합한 수성 및 비수성 담체, 희석제, 용매, 또는 비히클의 예는 물, 에탄올, 폴리올(예컨대 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등), 카복시메틸셀룰로스, 및 그의 적합한 혼합물, 베타-사이클로덱스트린, 식물유(예컨대 올리브유), 및 주사용 유기 에스테르, 예컨대 에틸 올레에이트를 포함한다. 예를 들어, 레시틴과 같은 코팅 재료의 사용에 의해, 분산액의 경우에는 필요한 입자 크기의 유지에 의해, 그리고 계면활성제의 사용에 의해, 적당한 유동성을 유지할 수 있다. 이들 조성물은 방부제, 습윤제, 유화제, 및 분산제와 같은 보조제 또한 함유할 수 있다. 흡수를 지연시키는 약제, 예컨대 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴의 포함에 의해 주사용 의약 형태의 장기적인 흡수를 유발할 수 있다.
- [1124] 주사용 저장소 형태는 하나 이상의 생분해성 중합체, 예컨대 폴리락티드-폴리글리콜리드, 폴리(오르토에스테르), 폴리(엔하이드라이드), 및 (폴리)글리콜, 예컨대 PEG 중에 헵시딘 유사체의 미세봉지 매트릭스(microencapsule matrix)를 형성시킴으로써 제조되는 것들을 포함한다. 펩티드 대 중합체의 비 및 채용되는 특정 중합체의 성질에 따라, 헵시딘 유사체의 방출 속도를 제어할 수 있다. 저장소 주사용 제형은 또한, 체조직과 상용성인 리포솜 또는 미세유탁액 중에 헵시딘 유사체를 포집함으로써 제조한다.
- [1125] 예를 들어, 박테리아-보류 필터(bacterial-retaining filter)를 통한 여과에 의해, 또는 사용 직전에 멸균수 또는 다른 멸균 주사용 매체에 용해되거나 분산될 수 있는 멸균 고체 조성물 형태의 멸균제를 혼입시킴으로써, 주사용 제형을 멸균할 수 있다.
- [1126] 국소 투여는 폐 및 눈의 표면을 포함하는 피부 또는 점막에 대한 투여를 포함한다. 흡입 및 비강내 투여를 위한 것들을 포함하는, 국소 폐 투여용 조성물은, 수성 및 비수성 제형 내의 용액 및 현탁액을 포함할 수 있으며, 가압되거나 비-가압될 수 있는 건조 산제로서 제조될 수 있다. 비-가압된 산제 조성물에서, 활성 성분은 미세하게 분할된 형태일 수 있으며, 예를 들어, 최대 100 마이크로미터 직경의 크기를 나타내는 입자를 포함하는 더 큰 크기의 약제학적으로 허용되는 불활성 담체와 혼합하여 사용할 수 있다. 적합한 불활성 담체는 락토스와 같은 당을 포함한다.
- [1127] 대안적으로, 조성물은 가압되고 질소 또는 액화 기체 추진제와 같은 압축 기체를 함유할 수 있다. 액화 추진제 매체 및 사실상 총 조성물은 활성 성분이 임의의 실질적인 정도로 그 안에 용해되지 않도록 하는 것일 수 있다. 가압된 조성물은 액체 또는 고체 비-이온성 표면 활성제 또는 고체 음이온성 표면 활성제일 수 있는 표면 활성제 또한 함유할 수 있다. 소듐 염의 형태인 고체 음이온성 표면 활성제를 사용하는 것이 바람직하다.
- [1128] 추가의 국소 투여 형태는 눈에 대한 것이다. 헵시딘 유사체가 충분한 기간 동안 안 표면과 접촉을 유지하여, 예를 들어, 전안방, 후안방, 유리체, 수양액, 유리액, 각막, 홍채/섬모체, 수정체, 맥락막/망막, 및 공막과 같은 눈의 각막 및 내부 영역에 헵시딘 유사체가 침투하는 것을 허용하도록, 본 발명의 헵시딘 유사체는 약제학적으로 허용되는 안과용 비히클 내에 전달될 수 있다. 약제학적으로 허용되는 안과용 비히클은, 예를 들어, 연고, 식물유, 또는 봉지제일 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 헵시딘 유사체를 유리액 및 수양액 내로 직접 주사할 수 있다.
- [1129] 직장 또는 질 투여용 조성물은, 본 발명의 헵시딘 유사체를 적합한 비-자극성 부형제 또는 담체, 예컨대 실온에서는 고체이지만 체온에서는 액체이므로 직장 또는 질강 내에서 용융되어 활성 화합물을 방출하는 코코아 버터, 폴리에틸렌 글리콜, 또는 좌제 왁스와 혼합함으로써 제조할 수 있는 좌제를 포함한다.
- [1130] 본 발명의 헵시딘 유사체는 또한, 리포솜 또는 다른 지질-기반의 담체 중에 투여될 수 있다. 당업계에 공지된 바와 같이, 리포솜은 일반적으로 인지질 또는 다른 지질 물질로부터 유도된다. 리포솜은 수성 매체 내에 분산된 단일층 또는 다중층 수화 액정에 의해 형성된다. 리포솜을 형성할 수 있는 생리학적으로 허용되고 대사가 가능한 임의의 비-독성 지질을 사용할 수 있다. 리포솜 형태의 본 조성물은 본 발명의 헵시딘 유사체에 부가하여 안정화제, 방부제, 부형제 등을 함유할 수 있다. 소정의 실시양태에서, 지질은 포스파티딜 콜린(레시틴) 및 세린(양자 모두 천연 및 합성)을 포함하는 인지질을 포함한다. 리포솜을 형성하는 방법은 당업계에 공지되어 있다.

- [1131] 장관의 투여에 적합한 본 발명에 사용할 약제학적 조성물은, 일반적으로 소듐 클로라이드, 글리세린, 글루코스, 만니톨, 소르비톨 등을 사용하여 수용자의 혈액과 등장성으로 만든 펩티드 저해제의 멸균 수용액 및/또는 현탁액을 포함할 수 있다.
- [1132] 일부 측면에서, 본 발명은 경구 전달용 약제학적 조성물을 제공한다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법, 기술, 및/또는 전달 비히클에 따라 본 발명의 조성물 및 헵시딘 유사체를 경구 투여용으로 제조할 수 있다. 추가로, 본 발명의 헵시딘 유사체를 개질하거나 본 명세서에는 개시되지 않지만 당업계에 주지되고 펩티드의 경구 전달에 사용하기에 상용성인 시스템 또는 전달 비히클 내로 통합할 수 있다는 것을, 당업자는 인정할 것이다.
- [1133] 소정의 실시양태에서, 경구 투여용 제형은 장 벽의 투과성을 인공적으로 증가시키기 위한 보조제(예를 들어, 레조르시놀 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대 폴리옥시에틸렌 올레일 에테르 및 n-헥사데실폴리에틸렌 에테르), 및/또는 효소적 분해를 저해하기 위한 효소 저해제(예를 들어, 췌장 트립신 저해제, 디이소프로필플루오로포스페이트(DFF) 또는 트라실롤)를 포함할 수 있다. 소정의 실시양태에서는, 경구 투여용 고체-유형 투여 형태의 헵시딘 유사체를 적어도 하나의 첨가제, 예컨대 수크로스, 락토스, 셀룰로스, 만니톨, 트레할로스, 라피노스, 말티톨, 텍스트란, 녹말, 아가, 알기네이트, 키틴, 키토산, 펙틴, 트래거캔스 고무, 아라비아 고무, 젤라틴, 콜라겐, 카제인, 알부민, 합성 또는 반합성 중합체, 또는 글리세리드와 혼합할 수 있다. 이들 투여 형태는 다른 유형(들)의 첨가제, 예를 들어, 비활성 희석제, 윤활제, 예컨대 마그네슘 스테아레이트, 과라벳, 방부제, 예컨대 소르브산, 아스코르브산, 알파-토코페롤, 산화방지제, 예컨대 시스테인, 붕해제, 결합제, 증점제, 완충제, pH 조절제, 감미제, 향미제, 또는 방향제 또한 함유할 수 있다.
- [1134] 특정 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체와 함께 사용하기에 상용성인 경구 투여 형태 또는 단위 용량은 헵시딘 유사체와 비약물 구성성분 또는 부형제의 혼합물과 더불어, 성분 또는 포장재로서 간주될 수 있는 다른 재사용 불가 재료를 포함할 수 있다. 경구 조성물은 액체, 고체, 및 반-고체 투여 형태 중 적어도 하나를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에는, 유효량의 헵시딘 유사체를 포함하는 경구 투여 형태가 제공되며, 여기에서 투여 형태는 환제, 정제, 캡슐, 젤, 페이스트, 드링크, 시럽, 연고, 및 좌제 중 적어도 하나를 포함한다. 일부 경우에는, 대상의 소장 및/또는 결장 내에서 헵시딘 유사체의 지연 방출을 달성하도록 설계되고 구성된 경구 투여 형태가 제공된다.
- [1135] 일 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체를 포함하는 경구 약제학적 조성물은 소장 내에서 헵시딘 유사체의 방출을 지연시키도록 설계된 장용 코팅을 포함한다. 적어도 일부 실시양태에는, 지연 방출 약제학적 제형 내에 본 발명의 헵시딘 유사체 및 프로테아제 저해제, 예컨대 아프로티닌을 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다. 일부 경우에, 본 발명의 약제학적 조성물은 약 5.0 이상의 pH에서 위액에 가용성인 장용 코팅을 포함한다. 적어도 하나의 실시양태에는, 해리성 카복실기를 가진 중합체, 예컨대 하이드록시프로필메틸 셀룰로스 프탈레이트, 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 및 셀룰로스 아세테이트 트리멜리테이트, 및 셀룰로스의 유사한 유도체를 포함하는 셀룰로스의 유도체, 및 다른 탄수화물 중합체를 포함하는 장용 코팅을 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.
- [1136] 일 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체를 포함하는 약제학적 조성물은 장용 코팅 내에 제공되며, 장용 코팅은 대상의 하부 위장관 시스템 내부에서 제어된 방식으로 약제학적 조성물을 보호하고 방출하며 전신 부작용을 방지하도록 설계된다. 장용 코팅에 부가하여, 본 발명의 헵시딘 유사체는 임의의 상용성 경구 약물 전달 시스템 또는 구성요소 내부에 봉지되거나, 코팅되거나, 포획되거나, 다른 방법으로 연계될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서 본 발명의 헵시딘 유사체는 중합체성 하이드로겔, 나노입자, 미소구체, 미셀, 및 다른 지질 시스템 중 적어도 하나를 포함하는 지질 담체 시스템 내에 제공된다.
- [1137] 소장 내에서의 펩티드 분해를 극복하기 위해, 본 발명의 일부 실시양태는 본 발명의 헵시딘 유사체가 함유된 하이드로겔 중합체 담체 시스템을 포함하며, 이에 의해 하이드로겔 중합체는 헵시딘 유사체를 소장 및/또는 결장 내에서의 단백질 분해로부터 보호한다. 본 발명의 헵시딘 유사체는 펩티드의 용해 동역학을 증가시키고장 흡수를 향상시키도록 설계된 담체 시스템과의 상용성 사용을 위해 추가로 제형화될 수 있다. 이들 방법은 펩티드의 GI 계 투과를 증가시키기 위한 리포솜, 미셀, 및 나노입자의 사용을 포함한다.
- [1138] 경구 전달용 약제를 제공하기 위해, 또한 다양한 생물반응성(bioresponsive) 시스템을 하나 이상의 본 발명의 헵시딘 유사체와 조합할 수 있다. 일부 실시양태에서는, 경구 투여용 치료제를 제공하기 위해, 본 발명의 헵시딘 유사체를 생물반응성 시스템, 예컨대 수소 결합기를 가진 하이드로겔 및 점막부착성 중합체(예를 들어, PEG, 폴리(메타크릴)산[PMAA], 셀룰로스, 유드라기트(Eudragit)®, 키토산, 및 알기네이트)와 조합하여 사용한다. 다른 실시양태는 본 명세서에 개시된 헵시딘 유사체에 대해 약물 체류 시간을 최적화하거나 연장하는 방법

을 포함하며, 여기에서 헵시딘 유사체 표면의 표면은 수소 결합, 연결된 묶음을 가진 중합체, 및/또는 소수성 상호작용을 통해 점막부착성 특성을 포함하도록 개질된다. 본 발명의 목적하는 특징에 따라, 이들 개질된 펩티드 분자는 대상 내에서 증가된 약물 체류 시간을 나타낼 수 있다. 또한, 표적화된 점막부착성 시스템은 장세포 및 M-세포 표면에서 수용체에 특이적으로 결합함으로써, 헵시딘 유사체를 함유하는 입자의 흡수를 추가로 증가시킬 수 있다.

[1139] 다른 실시양태는 본 발명의 헵시딘 유사체의 경구 전달 방법을 포함하며, 여기에서 헵시딘 유사체는 세포간 투과 또는 경세포 투과를 증가시킴으로써 장 점막을 가로질러 펩티드의 수송을 촉진하는 투과 촉진제와 조합하여 대상체에게 제공된다. 예를 들어, 일 실시양태에서, 투과 촉진제는 헵시딘 유사체와 조합되며, 여기에서 투과 촉진제는 장쇄 지방산, 담즙산 염, 양친매성 계면활성제, 및 킬레이트화제 중 적어도 하나를 포함한다. 일 실시양태에서는, 소듐 N-[하이드록시벤조일)아미노] 카프릴레이트를 포함하는 투과 촉진제를 사용하여 본 발명의 헵시딘 유사체와 약한 비공유 결합을 형성하며, 여기에서 투과 촉진제는 막 수송을 지원하고, 일단 혈액 순환에 도달하면 추가의 해리를 지원한다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 올리고아르기닌에 접합되며, 이에 의해 다양한 세포 유형 내로의 펩티드의 세포 침투를 증가시킨다. 추가로, 적어도 하나의 실시양태에서는, 본 발명의 펩티드 저해제와 사이클로덱스트린(CD) 및 텐드리머로 구성된 그룹 중에서 선택되는 투과 촉진제 사이에 비공유 결합을 제공하며, 여기에서 투과 촉진제는 펩티드 응집을 감소시키고 헵시딘 유사체 분자의 안정성 및 용해도를 증가시킨다.

[1140] 본 발명의 다른 실시양태는 증가된 반감기를 나타내는 본 발명의 헵시딘 유사체로 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 일 측면에서 본 발명은, 치료적 유효량의 매일(q.d.) 또는 매일 2회(b.i.d.) 투여에 충분한 적어도 몇 시간 내지 1 일의 시험관내 또는 생체내 반감기(예를 들어, 인간 대상체에게 투여하는 경우)를 나타내는 헵시딘 유사체를 제공한다. 다른 실시양태에서, 헵시딘 유사체는 치료적 유효량의 매주(q.w.) 투여에 충분한 3 일 이상의 반감기를 나타낸다. 추가로, 다른 실시양태에서, 헵시딘 유사체는 치료적 유효량의 격주(b.i.w.) 또는 매월 투여에 충분한 8일 이상의 반감기를 나타낸다. 다른 실시양태에서는, 유도체화되지 않거나 개질되지 않은 헵시딘 유사체에 비교하여 더 긴 반감기를 나타내도록 헵시딘 유사체를 유도체화하거나 개질한다. 다른 실시양태에서, 헵시딘 유사체는 혈청 반감기를 증가시키기 위한 하나 이상의 화학적 개질을 함유한다.

[1141] 본 명세서에 기재된 치료 또는 전달 시스템 중 적어도 하나에 사용되는 경우, 본 발명의 헵시딘 유사체는 순수한 형태 또는, 이러한 형태가 존재하는 경우, 약제학적으로 허용되는 염 형태로 채용될 수 있다.

[1142] **투여량**

[1143] 본 발명의 헵시딘 유사체 및 조성물의 총 매일 사용량은 정상적인 의학적 판단의 범위 내에서 주치의에 의해 결정될 수 있다. 임의의 특정 대상체에 대한 특이적 치료적 유효 용량 수준은 하기의 것들을 포함하는 다양한 인자에 의존할 것이다: a) 치료되는 장애 및 장애의 중증도; b) 채용되는 특이적 화합물의 활성; c) 채용되는 특이적 조성물, 환자의 연령, 체중, 일반적 건강, 성별, 및 식이; d) 투여 시간, 투여 경로, 및 채용되는 특이적 헵시딘 유사체의 배출 속도; e) 치료의 지속기간; f) 채용되는 특이적 헵시딘 유사체와 조합하거나 동시에 사용되는 약물, 및 의료 기술 분야에 주지된 유사한 인자.

[1144] 특정 실시양태에서, 인간 또는 다른 포유류 숙주에 단일 용량 또는 분할 용량으로 투여될 본 발명의 헵시딘 유사체의 총 매일 용량은, 예를 들어, 매일 0.0001 내지 300 mg/kg 체중 또는 매일 1 내지 300 mg/kg 체중의 양일 수 있다. 소정의 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체의 투여량은 일당 약 0.0001 내지 약 100 mg/kg 체중, 예컨대 일당 약 0.0005 내지 약 50 mg/kg 체중, 예컨대 일당 약 0.001 내지 약 10 mg/kg 체중, 예를 들어, 일당 약 0.01 내지 약 1 mg/kg 체중의 범위이며, 하나 이상의 용량, 예컨대 1 내지 3 용량으로 투여된다.

[1145] 다양한 실시양태에서, 목적하는 투여량 및 특정 대상체에 대해 담당자가 선택한 약제학적 조성물에 따라, 본 발명의 헵시딘 유사체를 연속적으로(예를 들어, 정맥내 투여 또는 다른 연속적 약물 투여 방법에 의함) 투여할 수 있거나, 간격을 두고, 전형적으로 규칙적인 시간 간격으로 대상체에게 투여할 수 있다. 규칙적인 투여 용량 간격은, 예를 들어, 매일 1회, 매일 2회, 2, 3, 4, 5, 또는 6일마다 1회, 또는 매주 1회 또는 2회, 매일 1회 또는 2회 등을 포함한다.

[1146] 예를 들어, 만성 장기 투여 중과 같은 소정의 상황에서, 투약을 받는 대상체가 투약의 수준을 감소시키거나 투약을 중지하도록, 본 발명의 이러한 규칙적인 헵시딘 유사체 투여 요법을 소정의 기간 동안 유리하게 중단할 수 있다(흔히 "약물 휴지기"를 취한다고 지칭함). 약물 휴지기는, 예를 들어, 특히 장기 만성 치료 중에 약물에 대한 감수성을 유지하거나 회복하기 위해, 또는 약물에 의한 대상의 장기 만성 치료의 원치 않는 부작용을 감소시

키기 위해 유용하다. 약물 휴지기의 시기는 규칙적인 투여 요법의 시기 및 약물 휴지기를 취하는 목적(예를 들어, 약물 감수성을 회복하기 위한 및/또는 연속적 장기 투여의 원치 않는 부작용을 감소시키기 위한)에 의존한다. 일부 실시양태에서, 약물 휴지기는 약물 투여량의 감소일 수 있다(예를 들어, 소정의 시간 간격 동안 치료적 유효량 미만으로). 다른 실시양태에서는, 약물의 투여를 소정의 시간 간격 동안 중지한 후에 동일하거나 상이한 투여 요법(예를 들어, 더 낮거나 더 높은 용량 및/또는 투여 빈도로)을 사용하여 투여를 다시 시작한다. 따라서 본 발명의 약물 휴지기는 광범위한 기간 및 투여량 요법 중에서 선택될 수 있다. 예시적인 약물 휴지기는 2 일 이상, 1 주 이상, 또는 1 월 이상, 최대 약 24 월의 약물 휴지기이다. 그러므로, 예를 들어, 본 발명의 펩티드, 펩티드 유사체, 또는 이량체에 의한 규칙적인 매일 투여 요법은, 예를 들어, 1 주, 또는 2 주, 또는 4 주의 약물 휴지기에 의해 중단될 수 있으며, 이 시간 후에 이전의 규칙적인 투여량 요법(예를 들어, 매일 또는 매주 투여 요법)이 재개된다. 다양한 다른 약물 휴지기 요법이 본 발명의 펩시딘 유사체의 투여에 유용할 것으로 예상된다.

- [1147] 따라서, 펩시딘 유사체는 각각의 약물 휴지기 단계에 의해 분리된 2개 이상의 투여 단계를 포함하는 투여 요법을 통해 전달될 수 있다.
- [1148] 각각의 투여 단계 중에, 펩시딘 유사체는 사전-결정된 투여 패턴에 따라 치료적 유효량으로 수용자 대상체에게 투여된다. 투여 패턴은 투여 단계의 지속기간에 걸친 수용자 대상체에 대한 약물의 연속적 투여를 포함할 수 있다. 대안적으로, 투여 패턴은 수용자 대상체에 대한 복수의 용량의 펩시딘 유사체의 투여를 포함할 수 있으며, 여기에서 상기 용량은 투여 간격에 의해 이격된다.
- [1149] 투여 패턴은 투여 단계당 적어도 2 용량, 투여 단계당 적어도 5 용량, 투여 단계당 적어도 10 용량, 투여 단계당 적어도 20 용량, 투여 단계당 적어도 30 용량, 또는 그 이상을 포함할 수 있다.
- [1150] 상기 투여 간격은 상기 정리된 바와 같을 수 있는 규칙적인 투여 간격일 수 있으며, 이는 본 발명의 펩시딘 유사체의 특정 투여 제형, 생체이용률, 및 약물동력학적 프로파일에 따라 매일 1회, 매일 2회, 2, 3, 4, 5, 또는 6 일마다 1회, 매주 1회 또는 2회, 매월 1회 또는 2회, 또는 규칙적이고 심지어 덜 빈번한 투여 간격을 포함한다.
- [1151] 투여 단계는 적어도 2 일, 적어도 1 주, 적어도 2 주, 적어도 4 주, 적어도 1 월, 적어도 2 월, 적어도 3 월, 적어도 6 월, 또는 그 이상의 지속기간을 가질 수 있다.
- [1152] 투여 패턴이 복수의 용량을 포함하는 경우, 이어지는 약물 휴지기 단계의 지속기간은 그 투여 패턴에 사용되는 투여 간격보다 더 길다. 투여 간격이 불규칙적인 경우, 약물 휴지기 단계의 지속기간은 투여 단계의 경로에 걸친 용량들 사이의 평균 간격보다 더 클 수 있다. 대안적으로 약물 휴지기의 지속기간은 투여 단계 중의 연이은 용량들 사이의 최장 간격보다 더 길 수 있다.
- [1153] 약물 휴지기 단계의 지속기간은 관련 투여 간격의 지속기간(또는 그의 평균)의 적어도 2배, 관련 투여 간격의 지속기간 또는 그의 평균의 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 10배, 또는 적어도 20배일 수 있다.
- [1154] 이들 제약 이내에서, 약물 휴지기 단계는 이전 투여 단계 중의 투여 패턴에 따라 적어도 2 일, 적어도 1 주, 적어도 2 주, 적어도 4 주, 적어도 1 월, 적어도 2 월, 적어도 3 월, 적어도 6 월, 또는 그 이상의 지속기간을 가질 수 있다.
- [1155] 투여 체제는 적어도 2개의 투여 단계를 포함한다. 연이은 투여 단계는 각각의 약물 휴지기 단계에 의해 분리된다. 따라서 투여 체제는 각각의 약물 휴지기 단계에 의해 각각 분리된 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 10, 적어도 15, 적어도 20, 적어도 25, 또는 적어도 30개의 투여 단계, 또는 그 이상을 포함할 수 있다.
- [1156] 연이은 투여 단계는 동일한 투여 패턴을 이용할 수 있으나, 이것이 항상 바람직하거나 필요한 것은 아니다. 그러나, 본 발명의 펩시딘 유사체와 조합하여 다른 약물 또는 활성 약제가 투여된다면, 전형적으로 동일한 조합의 약물 또는 활성 약제가 연이은 투여 단계에 주어진다. 소정의 실시양태에서, 수용자 대상체는 인간이다.
- [1157] 일부 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서에 개시된 바와 같은 적어도 하나의 펩시딘 유사체를 포함하는 조성물 및 의약품을 제공한다. 일부 실시양태에서 본 발명은, 철 대사의 질환, 예컨대 철 과부하 질환의 치료를 위해 본 명세서에 개시된 바와 같은 적어도 하나의 펩시딘 유사체를 포함하는 의약품의 제조 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서 본 발명은, 당뇨병(유형 I 또는 유형 II), 인슐린 내성, 또는 글루코스 불내성의 치료를 위해 본 명세서에 개시된 바와 같은 적어도 하나의 펩시딘 유사체를 포함하는 의약품의 제조 방법을 제공한다. 본 명세서에 개시된 바와 같은 적어도 하나의 펩시딘 유사체 또는 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대

상체, 예컨대 포유류 대상체, 바람직하게 인간 대상체에서 철 대사의 질환을 치료하는 방법 또한 제공된다. 일부 실시양태에서, 헵시딘 유사체 또는 조성물은 치료적 유효량으로 투여된다. 본 명세서에 개시된 바와 같은 적어도 하나의 헵시딘 유사체 또는 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체, 예컨대 포유류 대상체, 바람직하게 인간 대상체에서 당뇨병(유형 I 또는 유형 II), 인슐린 내성, 또는 글루코스 불내성을 치료하는 방법 또한 제공된다. 일부 실시양태에서, 헵시딘 유사체 또는 조성물은 치료적 유효량으로 투여된다.

- [1158] 일부 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서에 개시된 바와 같이, 헵시딘 유사체 또는 헵시딘 유사체 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)을 제조하는 공정을 제공한다.
- [1159] 일부 실시양태에서 본 발명은, 헵시딘 유사체를 대상체에게 전달하기 위한, 적어도 하나의 본 발명의 헵시딘 유사체, 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 용매화물을 포함하는 디바이스를 제공한다.
- [1160] 일부 실시양태에서 본 발명은, 페로포틴을 본 명세서에 개시된 바와 같은 적어도 하나의 헵시딘 유사체, 또는 헵시딘 유사체 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 페로포틴을 결합시키거나 페로포틴 내재화 및 분해를 유도하는 방법을 제공한다.
- [1161] 일부 실시양태에서 본 발명은, 시약, 디바이스, 설명 자료, 또는 그의 조합과 함께 포장된, 본 명세서에 개시된 바와 같은 적어도 하나의 헵시딘 유사체, 또는 헵시딘 유사체 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)을 포함하는 키트를 제공한다.
- [1162] 일부 실시양태에서 본 발명은, 당업계에 주지된 바와 같이, 임플란트 또는 삼투 펌프를 통해, 카트리지 또는 마이크로 펌프에 의해, 또는 당업자가 인정하는 다른 수단에 의해, 본 발명의 헵시딘 유사체 또는 헵시딘 유사체 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)을 대상체에게 투여하는 방법을 제공한다.
- [1163] 일부 실시양태에서 본 발명은, 페로포틴, 바람직하게 인간 페로포틴, 또는 항체, 예컨대 본 명세서에 개시된 바와 같은 헵시딘 유사체에 특이적으로 결합하는 항체, Hep25, 또는 그의 조합에 결합된 본 명세서에 개시된 바와 같은 적어도 하나의 헵시딘 유사체를 포함하는 복합체를 제공한다.
- [1164] 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 Fpn 내재화 어세이에서 500 nM 미만의 측정값(예를 들어, EC50)을 나타낸다. 당업자가 인식할 바와 같이, 헵시딘 유사체의 작용은 헵시딘 유사체의 3차 구조 및 제공되는 결합 표면에 의존한다. 그러므로, 헵시딘 유사체를 암호화하는 서열에, 폴딩에 영향을 주지 않거나 결합 표면 상에 있지 않으며 작용을 유지하는 부수적인 변화를 일으키는 것이 가능하다. 다른 실시양태에서 본 발명은, 활성(예를 들어, 헵시딘 활성)을 나타내거나 헵시딘이 관련된 질환 또는 적응증의 증상을 경감시키는 본 명세서에 기재된 임의의 헵시딘 유사체의 아미노산 서열에 대해 85% 이상(예를 들어, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5%)의 동일성 또는 상동성을 나타내는 헵시딘 유사체를 제공한다.
- [1165] 다른 실시양태에서 본 발명은, 본 명세서에 제공된, 예를 들어, 표 2-4 또는 표 6-10, 12, 14, 또는 15 중 어느 하나에 제공된 임의의 헵시딘 유사체, 또는 본 명세서에 기재된 화학식, 예를 들어, 화학식 I, II, III, IV, V, 및 VI 중 어느 하나에 따른 펩티드의 아미노산 서열에 대해 85% 이상(예를 들어, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99.5%)의 동일성 또는 상동성을 나타내는 헵시딘 유사체를 제공한다.
- [1166] 일부 실시양태에서, 본 발명의 헵시딘 유사체는 본 명세서에 나열된 특이적 펩티드 유사체 서열 중 하나 이상에 비교하여 최대 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1개의 아미노산 치환을 나타내는 작용성 단편 또는 그의 변이체를 포함할 수 있다.
- [1167] 본 명세서의 실시예에 기재된 방법에 부가하여, 화학적 합성, 제조 DNA 방법을 사용하는 생합성 또는 시험관 내 합성, 및 고체상 합성을 포함하는, 당업계에 공지된 방법을 사용하여 본 발명의 헵시딘 유사체 펩티드 및 펩티드 이량체를 제조할 수 있다. 예를 들어, 원용에 의해 본 명세서에 포함된 문헌[Kelly & Winkler (1990) Genetic Engineering Principles and Methods, vol. 12, J. K. Setlow ed., Plenum Press, NY, pp. 1-19]; 문헌[Merrifield (1964) J Amer Chem Soc 85:2149]; 문헌[Houghten (1985) PNAS USA 82:5131-5135]; 및 문헌[Stewart & Young (1984) Solid Phase Peptide Synthesis, 2ed. Pierce, Rockford, IL]을 참조한다. 당업계에 공지된 단백질 정제 기술, 예컨대 역상 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC), 이온 교환 또는 면역친화도 크로마토그래피, 여과 또는 크기 배제, 또는 전기영동을 사용하여 본 발명의 헵시딘 유사체를 정제할 수 있다. 원용에 의해 본 명세서에 포함된 문헌[Olsson, S. and A. Pihl (1973) Biochem. 12(16):3121-3126]; 및 문헌[Scopes (1982) Protein Purification, Springer-Verlag, NY]을 참조한다. 대안적으로, 본 발명의 헵시딘 유사체는 당업계에 공지된 제조 DNA 기술에 의해 제조될 수 있다. 따라서, 본 명세서에서는 본 발명의 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 고찰한다. 소정의 바람직한 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드는 단리된다. 본 명세서

에 사용되는 "단리된 폴리뉴클레오티드"는 폴리뉴클레오티드가 천연적으로 발생하는 환경과는 상이한 환경에 있는 폴리뉴클레오티드를 지칭한다.

도면의 간단한 설명

[1168] 도 1은 혈청 철 수준(n=4)으로서 제공된, C-57(마우스)에서 300 nmol/kg 및 1000 nmol/kg(피하 또는 "s.c."; 2 h)의 2가지 농도에서의 예시적인 헵시딘 유사체의 생체내 용량 반응을 나타낸다. 본 실험에 사용된 헵시딘 유사체 단량체 펩티드의 서열은 표 14에 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[1169] **실시예**

[1170] 하기 실시예는 본 발명의 소정의 특이적 실시양태를 나타낸다. 달리 상세하게 기재된 경우를 제외하고는, 당업자에게 주지되고 일상적인 표준 기술을 사용하여 하기 실시예를 실행하였다. 이들 실시예는 단지 예시적인 목적을 위한 것이며, 본 발명의 조건 또는 범위에 관해 완전히 확정적인 것으로 주장되지 않음을 이해해야 한다. 그러므로, 그들은 어떤 방식으로든 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[1171] 약어:

[1172] DCM: 디클로로메탄

[1173] DMF: N,N-디메틸포름아미드

[1174] NMP: N-메틸피롤리돈

[1175] HBTU: O-(벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트

[1176] HATU: 2-(7-아자-1H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트

[1177] DCC: 디사이클로헥실카보디이미드

[1178] NHS: N-하이독시석신아미드

[1179] DIPEA: 디이소프로필에틸아민

[1180] EtOH: 에탄올

[1181] Et₂O: 디에틸 에테르

[1182] H₂: 수소

[1183] TFA: 트리플루오로아세트산

[1184] TIS: 트라이소프로필실란

[1185] ACN: 아세토니트릴

[1186] HPLC: 고성능 액체 크로마토그래피

[1187] ESI-MS: 전기 분무 이온화 질량 분석법

[1188] PBS: 포스페이트-완충 식염수

[1189] Boc: t-부톡시카보닐

[1190] Fmoc: 플루오레닐메틸옥시카보닐

[1191] Acn: 아세트아미도메틸

[1192] IVA: 이소발레르산(또는 이소발레릴)

[1193] K(): 본 명세서에 제공되는 펩티드 서열에서, 리신 잔기 직후의 괄호 내에 화합물 또는 화학적 기가 제공되는 경우, 괄호 내의 화합물 또는 화학적 기는 리신 잔기에 접합된 측쇄임을 이해해야 한다. 그러므로, 예를 들어 (그러나 어떤 방식으로든 이로 제한되지 않음), K-[PEG8]-은 PEG8 부분이 이 리신의 측쇄에 접합됨을 표시한다. 이러한 접합된 리신의 몇몇 비-제한적 예에 대해서는, 예를 들어, 화합물 54 및 90를 참조하기 바란다.

- [1194] Palm: 팔미트산(팔미토일)의 접합을 표시한다.
- [1195] 본 명세서에 사용되는 "C()"는 특정 디설파이드 가교에 관련된 시스테인 잔기를 지칭한다. 예를 들어, 펩시딘에는 4개의 디설파이드 가교가 있으며: 첫번째는 2개의 C(1) 잔기 사이이고; 두번째는 2개의 C(2) 잔기 사이이며; 세번째는 2개의 C(3) 잔기 사이이고; 네번째는 2개의 C(4) 잔기 사이이다. 따라서, 일부 실시양태에서, 펩시딘에 대한 서열은 하기와 같이 작성되며, 다른 펩티드에 대한 서열 또한 임의로 동일한 방식으로 작성될 수 있다:
- [1196] Hy-DTHFPIC(1)IFC(2)C(3)GC(2)C(4)HRSKC(3)GMC(4)C(1)KT-OH (서열 번호 335).
- [1197] 실시예 1
- [1198] 펩티드 유사체의 합성
- [1199] 달리 명시되지 않는 한, 하기에 채용된 시약 및 용매는 표준 실험실 시약 또는 분석용 등급으로 구매가능하며, 추가의 정제 없이 사용하였다.
- [1200] 펩티드의 고체-상 합성을 위한 절차
- [1201] 최적화된 9-플루오레닐메톡시 카보닐(Fmoc) 고체상 펩티드 합성 프로토콜을 사용하여 본 발명의 펩티드 유사체를 화학적으로 합성하였다. C-말단 아미드의 경우, 링크-아미드(link-amide) 수지를 사용하였으나, C-말단 산을 생성시키기 위해서는 왕(wang) 및 트리틸 수지 또한 사용하였다. 측쇄 보호기는 하기와 같았다: Glu, Thr, 및 Tyr: O-t부틸; Trp 및 Lys: t-Boc(t-부틸옥시카보닐); Arg: N-감마-2,2,4,6,7-펜타메틸디하이드로벤조푸란-5-설포닐; His, Gln, Asn, Cys: 트리틸. 선택적인 디설파이드 가교 형성의 경우, Acm(아세트아미도메틸) 또한 Cys 보호기로 사용되었다. 커플링의 경우, DMF 중에 Fmoc 아미노산, HBTU, 및 DIPEA(1:1:1.1)를 함유하는 4 내지 10-배 과량의 용액을 팽윤된 수지에 첨가하였다[HBTU: O-(벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트; DIPEA: 디이소프로필에틸아민; DMF: 디메틸포름아미드]. HATU(O-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3,-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트)를 HBTU 대신에 사용하여 어려운 영역에서 커플링 효율을 개선하였다. DMF, 피페리딘(2:1) 용액으로 처리함으로써 Fmoc 보호기 제거를 달성하였다.
- [1202] 수지로부터 펩티드를 절단해내기 위한 절차
- [1203] 트리플루오로아세트산, 물, 에탄디올, 및 트리-이소프로필실란(90:5:2.5:2.5)을 함유하는 용액 중에 2 내지 4 시간 동안 건조 수지를 교반함으로써 본 발명의 펩티드 유사체(예를 들어, 화합물 번호 2)의 측쇄 탈보호 및 절단을 달성하였다. TFA 제거 후에, 얼음-냉각 디에틸 에테르를 사용하여 펩티드를 침전시켰다. 용액을 원심분리하고 에테르를 따라낸 후에, 제2 디에틸 에테르 세척을 수행하였다. 0.1% TFA(트리플루오로아세트산)를 함유하는 아세트니트릴, 물 용액(1:1)에 펩티드를 용해시키고, 생성되는 용액을 여과하였다. 전기분무 이온화 질량 분석법(ESI-MS)을 사용하여 선형 펩티드 품질을 평가하였다.
- [1204] 펩티드의 정제를 위한 절차
- [1205] 역상 고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)를 사용하여 본 발명의 펩티드(예를 들어, 화합물 번호 2)의 정제를 달성하였다. C18 컬럼(3 μ m, 50 x 2 mm)을 사용하여 1 mL/min의 유속으로 분석을 수행하였다. C18 컬럼(5 μ m, 250 x 21.2 mm)을 가진 분취용 RP-HPLC를 사용하여 20 mL/min의 유속으로 선형 펩티드의 정제를 달성하였다. 완충액 A 중의 완충액 B(완충액 A: 수성 0.05% TFA; 완충액 B: 0.043% TFA, 물 중의 90% 아세트니트릴)의 선형 구배를 사용하여 분리를 달성하였다.
- [1206] 펩티드의 산화를 위한 절차
- [1207] 방법 A(단일 디설파이드 산화). MeOH 중의 요오드(1 mL당 1 mg)를 용액(ACN:H₂O, 7:3, 0.5% TFA) 중의 펩티드에 적가함으로써 보호되지 않은 본 발명의 펩티드의 산화를 달성하였다. 2 min 동안 교반한 후, 용액이 맑아질 때까지 아스코르브산을 나누어 첨가하고 샘플을 정제용 HPLC 상에 즉시 로딩하였다.
- [1208] 방법 B(2개의 디설파이드의 선택적 산화). 1개 초과 디설파이드가 존재하는 경우, 선택적 산화가 흔히 수행되었다. 유리 시스테인의 산화는 pH 7.6 NH₄CO₃ 용액에서 1 mg /10 mL의 펩티드로 달성되었다. 24 h의 교반 후에, 정제 전에 TFA로 pH 3까지 용액을 산성화한 후에 동결건조하였다. 생성되는 단일 산화 펩티드(ACM 보호된 시스테인을 가짐)를, 이어서 요오드 용액을 사용하여 산화/선택적 탈보호하였다. 펩티드(2 mL당 1 mg)를 MeOH/H₂O(80:20)에 용해시키고, 반응 용매에 용해된 요오드를 실온에서 반응물에 첨가하였다(최종 농도: 5

mg/mL). 용액을 7 분 동안 교반한 후에 용액이 맑아질 때까지 아스코르브산을 나누어 첨가하였다. 이어서 용액을 HPLC 상에 직접 로딩하였다.

- [1209] 방법 C(자연 산화). 1개 초과 디설피이드가 존재하는 경우, 그리고 선택적 산화를 수행하지 않는 경우, 자연 산화를 수행하였다. 산화된 글루타티온 및 환원된 글루타티온의 존재 하에((펩티드: GSSG: GSH, 1:10, 100)의 (펩티드/GSH/GSSG, 1:100:10 몰비)) 100 mM NH₄CO₃(pH 7.4) 용액으로 자연 산화를 달성하였다. 24 h의 교반 후에, RP-HPLC 정제 전에 TFA로 pH 3까지 용액을 산성화한 후에 동결건조하였다.
- [1210] 이량체를 제조하기 위해 시스테인을 산화시키는 절차. MeOH 중의 요오드(1 mL당 1 mg)를 용액(ACN:H₂O, 7:3, 0.5% TFA) 중의 펩티드에 적가함으로써 본 발명의 보호되지 않은 펩티드의 산화를 달성하였다. 2 min 동안 교반한 후, 용액이 맑아질 때까지 아스코르브산을 나누어 첨가하고 샘플을 정제용 HPLC 상에 즉시 로딩하였다.
- [1211] 이량체화를 위한 절차.
- [1212] 1 당량("eq"로 약칭함)의 산을 2.2 eq의 N-하이독시석신이미드(NHS) 및 디사이클로헥실 카보디이미드(DCC) 양자 모두로 NMP(N-메틸 피롤리돈) 중에 0.1 M의 최종 농도에서 처리함으로써 글리옥실산(DIG), IDA, 또는 Fmoc-β-Ala-IDA를 N-하이독시석신이미드 에스테르로서 사전-활성화하였다. PEG13 및 PEG25 링커의 경우, 이들 화학물은 활성화된 석신이미드 에스테르로서 사전-형성되어 구매되었다. NMP 중의 펩티드(1 mg/mL)에 활성화된 에스테르 ~ 0.4 eq를 천천히 나누어 첨가하였다. 용액을 10 min 동안 교반되도록 놓아둔 후에 추가적인 2-3 분취량의 링커 ~0.05 eq를 천천히 첨가하였다. 용액을 추가로 3 h 동안 교반되도록 놓아둔 후에 진공 하에 용매를 제거하고 잔류물을 역상 HPLC에 의해 정제하였다. 추가적인 역상 HPLC 정제 전에 DMF 중의 20% 피페리딘 중에 펩티드를 교반하는(2 x 10 min) 추가적인 단계를 수행하였다.
- [1213] 펩티드 합성의 표준 방법을 사용하여 본 발명의 화합물을 생성시킬 수 있다는 것을 당업자는 인정할 것이다.
- [1214] 링커 활성화 및 이량체화
- [1215] 하기 기재된 바와 같이 펩티드 단량체 서브유닛을 연결하여 헵시딘 유사체 펩티드 이량체를 형성하였다.
- [1216] 소규모 DIG 링커 활성화 절차: IDA 이산(304.2 mg, 1 mmol), N-하이독시석신이미드(NHS, 253.2 mg, 2.2 eq, 2.2 mmol), 및 교반 막대를 함유하는 유리 바이알에 5 mL의 NMP를 첨가하였다. 실온에서 혼합물을 교반하여 고체 시제료를 완전히 용해시켰다. 이어서, N,N'-디사이클로헥실카보디이미드(DCC, 453.9 mg, 2.2 eq., 2.2 mmol)를 혼합물에 첨가하였다. 10 min 이내에 침전이 나타났으며, 반응 혼합물을 실온에서 추가로 밤새 교반하였다. 이어서, 반응 혼합물을 여과하여 침전된 디사이클로헥실우레아(DCU)를 제거하였다. 활성화된 링커를 이량체화에 사용하기 전에 폐쇄된 바이알에 보관하였다. 활성화된 링커의 농도는 대략 0.20 M이었다.
- [1217] PEG 링커를 사용하는 이량체화의 경우, 사전-활성화 단계가 포함되지 않았다. 구매가능한 사전-활성화된 2작용성 PEG 링커를 사용하였다.
- [1218] 이량체화 절차: 펩티드 단량체(0.1 mmol)를 함유하는 바이알에 2 mL의 무수 DMF를 첨가하였다. DIEA로 펩티드의 pH를 8-9로 조정하였다. 이어서, 활성화된 링커(IDA 또는 PEG13, PEG 25)(단량체에 대해 0.48 eq, 0.048 mmol)를 단량체 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 분석용 HPLC를 사용하여 이량체화 반응의 완료를 모니터링하였다. 이량체화 반응의 완료를 위한 시간은 링커에 따라 변동되었다. 반응의 완료 후에, 차가운 에테르 중에 펩티드를 침전시키고 원심분리하였다. 상등액 에테르 층을 폐기하였다. 침전 단계를 2회 반복하였다. 이어서, 역상 HPLC(루나(Luna) C18 지지체, 10 u, 100 A, 이동상 A: 0.1% TFA를 함유하는 물, 이동상 B: 0.1% TFA를 함유하는 아세토니트릴(ACN), 15% B 및 60 min에 걸쳐 45% B로 변화하는 구배, 유속 15 ml/min)를 사용하여 미정제 이량체를 정제하였다. 이어서, 순수한 산물을 함유하는 분획을 동결건조기 상에서 냉동-건조하였다.
- [1219] 실시예 2
- [1220] 펩티드 유사체의 활성화
- [1221] 인간 페로포틴 단백질의 내재화의 유도에 대해 펩티드 유사체를 시험관내에서 시험하였다. 내재화 후에, 펩티드는 분해되었다. 어세이는 수용체의 형광의 감소를 측정하였다.
- [1222] 인간 페로포틴을 암호화하는 cDNA(SLC40A1)를 오리진(Origene)으로부터의 cDNA 클론(NM_014585)으로부터 클로닝하였다. 서브클로닝을 위한 말단 제한 부위 또한 암호화하지만 종결 코돈이 없는 프라이머를 사용하는 PCR에 의해 페로포틴을 암호화하는 DNA를 증폭하였다. 페로포틴의 해독들이 GFP 단백질과 해독들 보존 융합되도록(fused

in frame), 네오마이신(G418) 내성 표지자를 함유하는 포유류 GFP 발현 벡터 내로 페로포틴 수용체를 서브클로닝하였다. 단백질을 암호화하는 DNA의 정확도를 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. 페로포틴-GFP 수용체 발현 플라스미드의 형질감염에는 HEK293 세포를 사용하였다. 표준 프로토콜에 따라 성장 배지 내에서 세포를 성장시키고 리포펙타민(Lipofectamine)(제조자의 프로토콜, 인비트로젠(Invitrogen))을 사용하여 플라스미드로 형질감염시켰다. 성장 배지 내에서 G418을 사용하여 페로포틴-GFP를 안정적으로 발현시키는 세포를 선택하고(cDNA 발현 플라스미드를 흡수하고 혼입시킨 세포만 생존하므로) 사이토메이션 MoFlo(Cytomation MoFlo)TM 세포 분류기 상에서 수회 분류하여 GFP-양성 세포(488 nm/530 nm)를 얻었다. 세포를 번식시키고 분취량으로 냉동하였다.

[1223] 인간 페로포틴에 대한 헵시딘 유사체(화합물)의 활성을 결정하기 위해, 페놀 레드 없이 표준 배지 내에서 96 웰 플레이트 내에 세포를 인큐베이션하였다. 인큐베이터에서 적어도 18 시간 동안 화합물을 목적하는 최종 농도로 첨가하였다. 인큐베이션 후에, 전체 세포 GFP 형광(인비전(Envision) 플레이트 판독기, 485/535 필터 쌍)에 의해, 또는 베크만 쿨터 퀀타(Beckman Coulter Quanta)TM 유세포분석기(485 nm/525 nm에서 형광 강도의 기하 평균으로서 표현됨)에 의해 잔류하는 GFP-형광을 결정하였다. 인큐베이터에서 적어도 18 시간 동안, 그러나 24 시간 이하로 화합물을 목적하는 최종 농도로 첨가하였다.

[1224] 기준 화합물은 자연 헵시딘, 미니-헵시딘, 및 RI-미니-헵시딘(이는 미니-헵시딘의 유사체임)을 포함하였다. RI-미니-헵시딘에서 "RI"는 레트로 인버스(Retro Inverse)를 지칭한다. 레트로 인버스 펩티드는 모든 D 아미노산에서 역 서열을 가진 펩티드이다. 일례는 Hy-Glu-Thr-His-NH₂가 Hy-DHis-DThr-DGlu-NH₂가 되는 것이다. 상기 기재된 활성 어세이에 따라 페로포틴 분해에 대한 이들 기준 화합물의 EC₅₀을 결정하였다. 이들 펩티드는 다수의 하위서열 연구를 위한 대조군 표준의 역할을 했다.

표 11

[1225]

기준 화합물		
명칭	서열	효능 EC ₅₀ (nM)
헵시딘	Hy-DTHFPIC(1)IFC(2)C(3)GC(2)C(4)HRSKC(3)GMC(4)C(1)KT-OH (서열 번호 335)	34
미니-헵시딘 1-9	Hy-DTHFPICIF-NH ₂ (서열 번호 545)	712
RI-미니 헵시딘	Hy-DPhe-DIle-DCys-DIle-DPro-DPhe-DHis-DThr-DAsp-NH ₂ (서열 번호 546)	> 10 μM

[1226] 다양한 본 발명의 펩티드 유사체에 대해 결정된 EC₅₀ 값이 본 명세서의 다른 표에 하기 제공되어 있다.

표 12

[1227]

예시적인 펩티드 유사체의 활성			
화합물 번호	서열 번호	서열	효능 EC ₅₀ (nM)
1	28	Hy-DTHFPCIF-NH ₂	133
2	29	이소발레르산-DTHFPCIFGPRSKGWVC-NH ₂	5
3	30	이소발레르산-DTHFPCIFGPRSRGWVCK-NH ₂	15
4	31	이소발레르산-DTHFPCIFGPRSKGWVC-NH ₂	19
5	32	[Ida]-TH-[Dpa]-[bhPro]-ICIFGPRSKGWCM-NH ₂	17
6	33	이소발레르산-DTHFPCIFGPRSKGWVCK-NH ₂	23
7	34	이소발레르산-DTHFPCIFGPRSKGWTC-NH ₂	24
8	35	[Ida]-TH-[Dpa]-[bhPro]-CIFGPRSRGWVCK-NH ₂	29

9	36	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	32
10	37	이소발레르산-DTHFPCIQFGPRSKGWVCK-NH ₂	35
11	38	이소발레르산-DTHFPCIIFGPRSKGWVCK-NH ₂	9
12	39	Hy-DTHFPIC ₁ IFVC ₂ GHRSGC ₂ YRRC ₁ R-NH ₂	77
13	40	이소부티르산-DTHFPIC ₁ IFVC ₂ HRSKGC ₂ YRRC ₁ R-NH ₂	63
14	41	Hy-DTHFPIC ₁ IFVC ₂ HRSKGC ₂ YRAC ₁ -NH ₂	69
15	42	이소발레르산-DTHFPCIEFGPRSKGWVCK-NH ₂	79
16	43	Hy-DTHFPICIFGPRAKGWVCM-NH ₂	88
17	44	이소부티르산-DTHFPIC ₁ IFVC ₂ HRSKGC ₂ YRRC ₁ R-NH ₂	93
18	45	Hy-DTHFPICIFGPRSKGWVCM-NH ₂	125
19	46	Hy-DTHFPIC ₁ IFVC ₂ HRSKGC ₂ YRRC ₁ R-NH ₂	140
20	47	Hy-DTHFPICIFGPRSGWVCK-NH ₂	101
21	48	Hy-DTHFPCIIFGPRSKGWVCM-NH ₂	46
22	49	Hy-DTHFPICIFAPRSGWVCM-NH ₂	9430
23	50	Hy-DTHFPICIFGPRSKGWVCM-OH	131
24	51	Hy-DTHFPCIQF-NH ₂	138
25	52	Hy-DTHFPIC ₁ IFVC ₂ GHRSGC ₂ YRRC ₁ R-NH ₂	144
26	53	Hy-DTHFAICIFGPRSKGWVCM-NH ₂	147
27	54	Hy-DTHFPICIFGPHRSKGWVCM-NH ₂	149
28	55	Hy-DTHFPICIFGPRAKGWVCM-NH ₂	88
29	56	Hy-DTHFPACIFGPRSKGWVCM-NH ₂	157
30	57	Hy-DTHFPC ₁ IIFVC ₂ HRPKGC ₂ YRRC ₁ R-NH ₂	173
31	58	Hy-DTHFPICIFGPRSKAWVCM-NH ₂	175
32	59	Hy-DTHFPIC ₁ IFVC ₂ GHRGKGC ₂ YRRC ₁ R-NH ₂	182
33	60	Hy-ATHFPICIFGPRSKGWVCM-NH ₂	184
34	61	Hy-DTHFPICIFGPASKGWVCM-NH ₂	206
35	62	Hy-DTHFPIC ₁ IFVC ₂ HRSKGC ₂ YARC ₁ -NH ₂	214
36	63	Ac-DTHFPICIFGPRSKGWVCM-NH ₂	239
37	64	Hy-DTHFPICIFGPRSGWVCM-NH ₂	239
38	65	Hy-DTHAPICIFGPRSKGWVCM-NH ₂	254
39	66	Hy-DTHFPIC ₁ IFVC ₂ HRSKGC ₂ YRRC ₁ -NH ₂	256
40	67	pGlu-THFPIC ₁ IFVC ₂ HRSKGC ₂ YRRC ₁ R-NH ₂	260
41	68	Ac-DTHFPICIFKPRSKGWVCM-NH ₂	262
42	69	Hy-DTHFPIC ₁ IFVC ₂ GHRSGC ₂ YMRC ₁ KT-NH ₂	265
43	70	Hy-DAHFPICIFGPRSKGWVCM-NH ₂	265
44	71	Hy-DTHFPIC ₁ IFVC ₂ YRGIC ₂ YRRC ₁ R-NH ₂	269
45	72	Ac-DTHFPICIFGPRSKGWVCM-NH ₂	272
46	73	Hy-[bhAsp]-THFPICIFGPRSKGWVCM-NH ₂	274
47	74	Hy-DTHFPICIFGPRSKGWVCM-NH ₂	313

48	75	[Ida]-TH-[Dpa]-[bhPro]-RCR-[bhPhe]-GPRSKGWVCM-NH ₂	331
49	76	Hy-DTHFPCIRF-NH ₂	334
50	77	이소발테르산-THFPCIFGPRSKGWVCM-NH ₂	345
51	78	Hy-DTHFPCIAF-NH ₂	382
52	79	Hy-DAHFPCIF-NH ₂	388
53	80	Hy-DTHFPC ₁ IFVC ₂ HRPKGC ₂ YRRC ₁ P-NH ₂	393
54	81	Ac-DTHFPCIFKPRS-K(m-PEG8)-GWVCM-NH ₂	479
55	82	Hy-DTHFPCIFK-NH ₂	419
56	83	Hy-DTHFPCIFF-NH ₂	441
57	84	Hy-DTHFPCIFGPRSK-K(m-PEG8)-WVCM-NH ₂	462
58	85	Ac-DTHFPCIFGPRSKWVCM-NH ₂	472
59	86	Hy-DTHFPC ₁ IFC ₂ PWGMCC ₁ K-NH ₂	495
60	87	Hy-DTAFPCIFGPRSKGWVCM-NH ₂	498
65	88	Hy-DTHFPC ₁ IFVC ₂ YRGIC ₁ YMRC ₂ KT-NH ₂	763
66	89	Hy-DTHFPCIFGPRSKGAVCM-NH ₂	520
67	90	Hy-DTHFPCIAIAGPRSKGWVCM-NH ₂	2466
68	91	Hy-DTHFPCAFGPRSKGWVCM-NH ₂	>10 μM
69	92	Hy-DTHFPIAIFGPRSKGWVAM-NH ₂	>10 μM
70	93	Hy-DTHFPCRRFGPRSKGVC-NH ₂	>10 μM
71	94	[Ida]-THF-[bhPro]-CRR-[bhPhe]-GPRSKGVC-NH ₂	N/A
73	96	Hy-DTHFPC ₁ IFVC ₂ HRSKGC ₂ YWAVC ₁ -NH ₂	2640
74	97	Hy-DTHFP-(D)Cys ₁ -IIFVC ₂ HRSKGC ₂ YWAV-(D)Cys ₁ -F-NH ₂	356
75	98	Hy-DTHFPC ₁ IFVC ₂ HRSKGC ₂ YWAVC ₁ FW-NH ₂	>10 μM
76	99	Ac-DTHFPCIF-K-(m-PEG8)-PRSKGWVCM-NH ₂	610
78	101	Hy-DTH-[Dpa]-PCIFGPRSRGWVCK-NH ₂	> 1 μM
79	102	Hy-DTHF-[bhPro]-CIFGPRSRGWVCK-NH ₂	> 1 μM
80	103	Hy-DTHFPCIFGPRSRGWVCK-NH ₂	> 1 μM
81	104	Hy-DTHFPCIRFGPRSRGWVCK-NH ₂	> 1 μM
82	105	Hy-DTHFPCIRFGPRSRGWVCK-NH ₂	> 1 μM
83	106	Hy-DTHFPCIFGPRSRGWVCK-NH ₂	> 1 μM
84	107	Hy-DTHFPCIFGPRSRGVCK-NH ₂	> 1 μM
85	108	Hy-DTHFPCIFYGPRSKGWVCK-NH ₂	705
86	109	Hy-DTHFPCIFGPRSKGWVCK-NH ₂	> 1 μM
87	110	Hy-DTHFPCIFGPRARGVCK-NH ₂	> 1 μM
88	111	옥타노산-DTHFPCIFGPRSRGWVCK-NH ₂	> 1 μM
89	112	Pal m-PEG11-DTHFPCIFGPRSRGWVCK-NH ₂	> 1 μM
90	113	Ac-DTHFPCIF-K(2K PEG)-PRSKGWVCK-NH ₂	107
91	114	Hy-DTHFPCIFGPRSKGWKCK-NH ₂	시험하지 않음
92	115	Hy-DTHFPCIKFGPRSKGWKCK-NH ₂	시험하지 않음

93	116	이소발레르산-DTHFPCIFGPRSKGWVCK-NH ₂	19
94	117	이소발레르산-DTHFPCVIFGPRSKGWVCK-NH ₂	41
95	118	이소발레르산-DTHFPCIFGPRSKGWVCK-NH ₂	78
96	119	이소발레르산-DTHFPCQIFGPRSKGWVCK-NH ₂	157
97	120	Hy-THFPCIFGPRSKGWVCK-NH ₂	>10 μM
98	121	이소발레르산-THFPCIFGPRSKGWVCK-NH ₂	>10 μM
99	122	Hy-HFPCIFGPRSKGWVCK-NH ₂	>10 μM
100	123	이소발레르산-HFPCIFGPRSKGWVCK-NH ₂	>10 μM
101	124	Hy-DTHFPCISFGPRSKGWVCK-NH ₂	> 1 μM
102	125	Hy-DTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	> 1 μM
103	126	Hy-EDTHFPCIFGPRSKGWVCK-NH ₂	> 1 μM
105	128	이소발레르산-DTHFPCIFFEPRSKGWVCK-NH ₂	10
106	129	이소발레르산-DTHFPCIFSPRSGWVCK-NH ₂	44
107	130	이소발레르산-DTHFSCIFGPRSKGWVCK-NH ₂	50
108	131	옥타노산-PEG11-DTHFPCIFGPRSGWVCK-NH ₂	> 1 μM
109	132	이소부티르산-PEG11-DTHFPCIFGPRSGWVCK-NH ₂	> 1 μM
110	133	[Ida]-THFPCIFGPRSGWVCK-NH ₂	> 300 nM
111	134	이소발레르산-DTHFPCIFGPKSKGWVCK-NH ₂	12
112	135	이소발레르산-DTHFPCIKFGPKSKGWVCK-NH ₂	15
113	136	이소발레르산-DTHFPCIFGPRSKGWVCK-NH ₂	15
114	137	이소발레르산-DTHFPCIFGPRSKGVC-NH ₂	18
115	138	이소발레르산-DTHFPCIFGPRSKGCK-NH ₂	21
117	140	이소발레르산-DTHFPC-[Dapa]-IFGPRSKGWDCK-NH ₂	65
118	141	이소발레르산-DTHFPC-[Dapa]-FGPRSKGWDCK-NH ₂	17
119	142	이소발레르산-DTHFPC-[Dapa]-IFGPRSKGWECK-NH ₂	151
120	143	이소발레르산-DTHFPC-[Dapa]-FGPRSKGWECK-NH ₂	15
121	144	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRSKGWECK-NH ₂	14
122	145	이소발레르산-DTHFGCIFGPRSKGWVCK-NH ₂	57
123	146	Hy-DTHFGCIFGPRSKGWVCK-NH ₂	>10 μM
124	147	이소발레르산-DTHFRCIFGPRSKGWVCK-NH ₂	106
125	148	Hy-DTHFRCIFGPRSKGWVCK-NH ₂	>10 μM
126	149	이소발레르산-DTHF-[Sar c]-CIFGPRSKGWVCK-NH ₂	31
127	150	Hy-DTHF-[Sar c]-CIFGPRSKGWVCK-NH ₂	>10 μM
128	151	이소발레르산-DTHF-[β-Ala]-CIFGPRSKGWVCK-NH ₂	264
129	152	Hy-DTHF-[β-Ala]-CIFGPRSKGWVCK-NH ₂	>10 μM
130	153	이소발레르산-DTHFKCIFGPRSKGWVCK-NH ₂	150
131	154	Hy-DTHFKCIFGPRSKGWVCK-NH ₂	>10 μM
132	155	Hy-THFPCIFGPRSKGWVCM-NH ₂	>1 μM
133	156	Hy-HFPCIFGPRSKGWVCM-NH ₂	>1 μM

134	157	이소발레르산-HFPCIIFGPRSKGWVCM-NH ₂	>1 μM
135	158	Hy-DTHFPCISFGPRSKGWVCM-NH ₂	545
136	159	Hy-DTHFPCIKFGPRSKGWVCM-NH ₂	669
137	160	Hy-EDTHFPCIIFGPRSKGWVCM-NH ₂	873
139	162	Hy-DTHFPCIIFEPRSKGWVCM-NH ₂	N/A
140	163	이소발레르산-DTHFKCIEFGPRSKGWVCK-NH ₂	>1 μM
141	164	이소발레르산-DTHFPCIIFGPRSKGWACK-NH ₂	11
142	165	이소발레르산-DTHFPCIIFEPRSKGWVCK-NH ₂	9
143	166	이소발레르산-DTHFPCIIFGPRSKGWVCKKKK-NH ₂	24
144	167	이소발레르산-DTHFPCIIFEPRSKGWVCKKKK-NH ₂	15
145	168	이소발레르산-DTHFPCIIFGPRSKGWVCKK-NH ₂	9
146	169	이소발레르산-DTAFPCIIFGPRSKGWVCK-NH ₂	24
147	170	이소발레르산-DTKFPCIIFGPRSKGWVCK-NH ₂	20
148	171	이소발레르산-DTHFPC ₁ IFVC ₂ HRPKGC ₂ YRRVC ₁ R-NH ₂	2.2
149	172	이소발레르산-DTHFPCI-K(m-PEG8)-FGPRSKGWVCK-NH ₂	9
150	173	이소발레르산-DTHFPCIKF-K(m-PEG8)-PRSKGWVCK-NH ₂	7
151	174	이소발레르산-DTHFPCIKFGP-K(m-PEG8)-SKGWVCK-NH ₂	13
152	175	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRS-K(m-PEG8)-GWVCK-NH ₂	16
153	176	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRSKGWVC-K(m-PEG8)-NH ₂	18
154	177	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	18
155	178	이소발레르산-DTHFPCIEFGPRSKGWVCK-NH ₂	38
156	179	이소발레르산-DTHFPCIFGPRS-K(베타인)-GWVCK-NH ₂	시험하지 않음
157	180	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRS-K(베타인)-GWVCK-NH ₂	18
158	181	이소발레르산-DTHFPCI-K(베타인)-FGPRSKGWVCK-NH ₂	16
159	182	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRSKGWVC-K(베타인)-NH ₂	17
160	183	Ac-DTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	464
161	184	이소발레르산-PEG3-DTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	666
162	185	이소부티르산-DTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	41
163	186	발레르산-DTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	64
164	187	Hy-VDTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	146
165	188	Hy-LDTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	107
166	189	헥사노산-DTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	36
167	190	5-메틸펜타노산-DTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	99
168	191	사이클로헥사노산-DTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	30
169	192	헵타노산-DTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	91
170	193	옥타노산-DTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	183
171	194	이소발레르산-DTHFPCIIFGPRSKGWCK-NH ₂	48
172	195	이소발레르산-DTHFPCIIFGPRSKGWECK-NH ₂	15

173	196	이소발레르산-DTHFPCRRFGPRSGWVCK-NH ₂	시험하지 않음
176	199	이소발레르산-DTHFPCIFGPRS-K(m-PEG8)-GWVC-NH ₂	6
177	200	이소발레르산-DTHFPCIFGPRS-K-[(m-PEG4)]-GWVC-NH ₂	6
178	201	이소발레르산-DTHFPCIFGPRSRGWVC-K(m-PEG8)-NH ₂	3
179	202	이소발레르산-DTHFPCIFGPRSRGWVC-K-[(m-PEG4)]-NH ₂	4
180	203	이소발레르산-DTHFPCIFGPRSRGWVC-K(PEG2)-NH ₂	9
181	204	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSGWVCK-NH ₂	15
182	205	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSGWTCK-NH ₂	13
183	206	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSGWCK-NH ₂	17
184	207	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSGCK-NH ₂	23
185	208	이소발레르산-DTHFPCIFEPRSGCK-NH ₂	54
186	209	이소발레르산-DTHFPCIFEPRSGWCK-NH ₂	12
187	210	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRSKCK-NH ₂	21
188	211	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRSK-NH ₂	30
189	212	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRCK-NH ₂	36
190	213	이소발레르산-DTHFPCIKFGPCK-NH ₂	55
191	214	이소발레르산-DTHFPCIKFGCK-NH ₂	97
192	215	이소발레르산-DTHFPCIKFCK-NH ₂	48
193	216	이소발레르산-DTHFPCIKFC-NH ₂	80
194	217	이소발레르산-DTHFPCI-K(Pal m)-FGPRSGWVCK-NH ₂	4
195	218	이소발레르산-DTHFPCIKF-K(Pal m)-PRSGWVCK-NH ₂	9
196	219	이소발레르산-DTHFPCIKFGP-K(Pal m)-SKGWVCK-NH ₂	2
197	220	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRS-K(Pal m)-GWVCK-NH ₂	1
198	221	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRSGWVC-K(Pal m)-NH ₂	7
199	222	이소발레르산-DTHFPCI-K(PEG3-Pal m)-FGPRSGWVCK-NH ₂	7
200	223	이소발레르산-DTHFPCIKF-K(PEG3-Pal m)-PRSGWVCK-NH ₂	6
201	224	이소발레르산-DTHFPCIKFGP-K(PEG3-Pal m)-SKGWVCK-NH ₂	4
202	225	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRS-K(PEG3-Pal m)-GWVCK-NH ₂	3
203	226	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRSGWVC-K(PEG3-Pal m)-NH ₂	4
204	227	Hy-DTHFPCI-K(IVA)-FGPRSGWVCK-NH ₂	>300 nM
205	228	Hy-DTHFPCIKF-K(IVA)-PRSGWVCK-NH ₂	>300 nM
206	229	Hy-DTHFPCIKFGP-K(IVA)-SKGWVCK-NH ₂	624
207	230	Hy-DTHFPCIKFGPRS-K(IVA)-GWVCK-NH ₂	318
208	231	Hy-DTHFPCIKFGPRSGWVC-K(IVA)-NH ₂	109
209	232	Hy-DTHFPCI-K(PEG3-IVA)-FGPRSGWVCK-NH ₂	342
210	233	Hy-DTHFPCIKF-K(PEG3-IVA)-PRSGWVCK-NH ₂	457
211	234	Hy-DTHFPCIKFGP-K(PEG3-IVA)-SKGWVCK-NH ₂	>300 nM
212	235	Hy-DTHFPCIKFGPRS-K(PEG3-IVA)-GWVCK-NH ₂	>300 nM
213	236	Hy-DTHFPCIKFGPRSGWVC-K(PEG3-IVA)-NH ₂	233

214	237	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSKKWVCK-NH ₂	15
215	238	Hy-DTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	>1 μM
216	239	PalM-DTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	>1 μM
217	240	PalM-PEG3-DTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	>1 μM
218	241	이소발레르산-DTHFPCI-K(isoGlu-PalM)-FEPRSKGCK-NH ₂	10
219	242	이소발레르산-DTHFPCIKF-K(isoGlu-PalM)-PRSKGCK-NH ₂	9
220	243	이소발레르산-DTHFPCIKFEP-K(isoGlu-PalM)-SKGCK-NH ₂	5
221	244	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRS-K(isoGlu-PalM)-GCK-NH ₂	4
222	245	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSK-K(isoGlu-PalM)-CK-NH ₂	4
223	246	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSKGCK-K(isoGlu-PalM)-NH ₂	5
224	247	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSKGCK-K(isoGlu-PalM)-NH ₂	4
225	248	이소발레르산-DTHFPCI-K(dapa-PalM)-FEPRSKGCK-NH ₂	17
226	249	이소발레르산-DTHFPCIKF-K(dapa-PalM)-PRSKGCK-NH ₂	14
227	250	이소발레르산-DTHFPCIKFEP-K(dapa-PalM)-SKGCK-NH ₂	10
228	251	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRS-K(dapa-PalM)-GCK-NH ₂	7
229	252	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSK-K(dapa-PalM)-CK-NH ₂	13
230	253	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSKGCK-K(dapa-PalM)-K-NH ₂	10
231	254	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSKGCK-K(dapa-PalM)-NH ₂	11
232	255	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	시험하지 않음
233	256	이소발레르산-AAHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	320
234	257	이소발레르산-ATHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	60
235	258	이소발레르산-DAHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	203
236	259	이소발레르산-DTHAPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	>500 nM
237	260	이소발레르산-DTHFPCIKAGPRSKGWVCK-NH ₂	50
238	261	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSKGWVCK-OH	47
239	262	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSKGWECK-OH	101
240	263	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSKGWEC-OH	139
241	264	이소발레르산-DTHFPCIKFK(isoGlu-PalM)-PRSKGWECK-NH ₂	6
242	265	이소발레르산-DTHFPCIKFEPK(isoGlu-PalM)-SKGWECK-NH ₂	8
243	266	이소발레르산-DTHAPCIKFEPRSKGWECK-NH ₂	>10 μM
244	267	Ida-THFPCIKFEPRSK-K(isoGlu-PalM)CK-NH ₂	25
245	268	이소발레르산-DTHFPCI-K(isoGlu-PalM)-FEPRSKGWEC-OH	131
246	269	4,4-5,5-6,6,6-헵타플루오로헥사노산-DTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	480
247	270	이소발레르산-DTHFPCIKF-K(미스테르산)-PRSKGWVC-NH ₂	7
248	271	이소발레르산-DTHFPCIKF-K(라우르산)-PRSKGWVC-NH ₂	10
249	272	이소발레르산-DTHFPCIKF-K(데카노산)-PRSKGWVC-NH ₂	22
250	273	이소발레르산-DTHFPCIKF-K(옥타노산)-PRSKGWVC-NH ₂	30
251	274	이소발레르산-DTHFPCIKF-K(헥사노산)-PRSKGWVC-NH ₂	21
252	275	이소발레르산-DTHFPCIKF-K(부티르산)-PRSKGWVC-NH ₂	37
253	276	이소발레르산-DTHFPCIKF-K(Ac)-PRSKGWVC-NH ₂	29

254	277	Ida-THFPCIKFEPRSGWVC-K(미스테르산)-NH ₂	20
255	278	[Ida]-THFPCIKFEPRSGWVC-K(라우르산)-NH ₂	52
256	279	[Ida]-THFPCIKFEPRSGWVC-K(데카노산)-NH ₂	116
257	280	[Ida]-THFPCIKFEPRSGWVC-K(옥타노산)-NH ₂	129
258	281	[Ida]-THFPCIKFEPRSGWVC-K(헥사노산)-NH ₂	191
259	282	[Ida]-THFPCIKFEPRSGWVC-K(부티르산)-NH ₂	355
260	283	[Ida]-THFPCIKFEPRSGWVC-K(Ac)-NH ₂	502
261	284	이소발레르산-HFPCIKFEPRSGWVC-K(옥타노산)-NH ₂	>300 nM
262	285	이소발레르산-HFPCIKFEPRSGWVC-K(라우르산)-NH ₂	77
263	286	이소발레르산-DTHFPCIKFEPHSGCK-NH ₂	62
264	287	이소발레르산-DTHFPCIHFEPHSGC-NH ₂	118
265	288	이소발레르산-DTHFPCIKFEPHS-K(Albu)-GCK-NH ₂	6
266	289	이소발레르산-DTHFPCIKFEPREKEC-NH ₂	183
267	290	이소발레르산-DTAFPCIKFEPRSKEC-NH ₂	>1 μM
268	291	이소발레르산-DTHFPCIKFECK-NH ₂	107
269	292	Hy-DTHFPPIAIFAAGICI-NH ₂	>10 μM
270	293	Hy-DTHFPPIAIFAACICI-NH ₂	>10 μM
271	294	Hy-DTHFPPIAIFAICI-NH ₂	>10 μM
272	295	Hy-DTHFPPIAIFICI-NH ₂	>10 μM
273	296	Hy-DTHFPPIAIIICI-NH ₂	>10 μM
274	297	Hy-DTHFPPIAICI-NH ₂	>10 μM
275	298	Hy-DTHFPPIICI-NH ₂	>10 μM
276	299	Hy-DTHICIAIF-NH ₂	>10 μM
277	300	Hy-DTHCPIAIF-NH ₂	>10 μM
278	301	Hy-DTHFPCI IA-NH ₂	>1 μM
279	302	Hy-DTHFPCAIF-NH ₂	>1 μM
280	303	Hy-DTHFACI IF-NH ₂	>1 μM
281	304	Hy-DTHF-(D)-Ala-CI IF-NH ₂	>10 μM
282	305	Hy-DTHAPCI IF-NH ₂	>10 μM
283	306	Hy-DTAFPCI IF-NH ₂	739 nM
284	307	Hy-ATHFPCI IF-NH ₂	>1 μM
285	308	[Ida]-THF-[bhPro]-CI IF-NH ₂	>1 μM
286	310	Hy-DTHFPCIEF-NH ₂	>1 μM
287	298	Hy-DTHFPCIEF-NH ₂	>1 μM
288	311	이소발레르산-DTHFPCI IF-NH ₂	16 nM
289	312	이소발레르산-DTHFP AI IF-NH ₂	비활성
290	313	이소발레르산-DTHFPSI IF-NH ₂	비활성
291	314	이소발레르산-DTHFPCIKF-NH ₂	7 nM
293	316	Hy-DTHFPCIF-NH ₂	1 μM에서 52%

297	320	Hy-DTHFPCIKFF-NH ₂	1 μM에서 64%
298	321	Hy-YTHFPCIIIF-NH ₂	시험하지 않음
299	322	Hy-LTHFPCIIIF-NH ₂	1 μM에서 64%
300	323	Hy-ETHFPCIIIF-NH ₂	1 μM에서 77%
301	324	Hy-DRHFPCIIIF-NH ₂	시험하지 않음
302	325	Hy-DTKFPCIIIF-NH ₂	1 μM에서 60%
303	326	Hy-DTHFECCIIF-NH ₂	시험하지 않음
304	327	Hy-DTHFPCIIK-NH ₂	1 μM에서 55%
305	328	Hy-DTHFPCIIIR-NH ₂	1 μM에서 62%
306	329	Hy-DTHFPCIEF-NH ₂	시험하지 않음
307	330	Hy-DTHFPCIVF-NH ₂	1 μM에서 75%
308	331	Hy-DTHFPCILF-NH ₂	1 μM에서 89%
309	332	Hy-DTHFPCILK-NH ₂	1 μM에서 55%
310	333	Hy-DTHFPCIEK-NH ₂	1 μM에서 0%
355	369	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSKECK-NH ₂	48
356	370	이소발레르산-DTHFPCIKFEPHSKECK-NH ₂	181
357	371	이소발레르산-DTHFPCIKKEPHSKECK-NH ₂	>1 μM
358	372	이소발레르산-DTHFPCIKF-K(isoglu-Palm)-PHSKECK-NH ₂	6
359	373	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRECK-NH ₂	64
360	374	이소발레르산-DTHFPCIKFEPHECK-NH ₂	138
361	375	이소발레르산-DTHFPCIKFEPCK-NH ₂	29
	376	DTHFPICIFC	
	377	FPIC	
	378	HFPIC	
	379	HFPICI	
	380	HFPICIF	
	381	DTHFPIC	
	381	DTHFPICI	
	382	DTHFPICIF	
	383	DTHFPIAIFC	
	384	DTHAPICIF	
	385	DTHAPI-[C-StBu]-IF	
	386	DTHAPI-[C-tBu]-IF	
	387	DTHFPIAIF	
	388	DTHFPISIF	
	389	DTHFPI-([D]-Cys)-IF	
	390	DTHFPI-[homoCys]-IF	
	391	DTHFPI-[Pen]-IF	
	392	DTHFPI-([D]-Pen)-IF	
	393	DTHFPI-[Dapa(AcBr)]-IF	
	394	CDTHFPICIF	
	395	DTHFPICIF-NHCH ₂ CH ₂ S	
	396	CHFPCIF	
	397	HFPICIF-NHCH ₂ CH ₂ S	

398	D-[Tle]-H-[Phg]-[Oic]-[Chg]-C-[Chg]-F	
399	D-[Tle]-HP-[Oic]-[Chg]-C-[Chg]-F	
400	[(D)Phe]-[(D)Ile]-[(D)Cys]-[(D)Ile]-[(D)pro]-[(D)Phe]-[(D)His]-[(D)Thr]-[(D)Asp]	
401	[(D)Phe]-[(D)Ile]-[(D)Cys]-[(D)Ile]-[(D)Pro]-[(D)Phe]-[(D)His]	
402	케노테옥시콜레이트-(Peg11)-[(D)Phe]-[(D)Ile]-[(D)Cys]-[(D)Ile]-[(D)Pro]-[(D)Phe]-[(D)His]-[(D)Thr]-[(D)Asp]	
403	우르소테옥시콜레이트-(Peg11)-[(D)Phe]-[(D)Ile]-[(D)Cys]-[(D)Ile]-[(D)Pro]-[(D)Phe]-[(D)His]-[(D)Thr]-[(D)Asp]	
404	F-[(D)Ile]-[(D)Cys]-[(D)Ile]-[(D)Pro]-[(D)Phe]-[(D)His]-[(D)Thr]-[(D)Asp]-(Peg11)-GYIPEAPRDGQAYVRKDGWVLLSTFL	
405	F-[(D)Ile]-[(D)Cys]-[(D)Ile]-[(D)pro]-[(D)Phe]-[(D)His]-[(D)Thr]-[(D)Asp]-([GP-(Hyp)] ₁₀	
406	팔미토일-(Peg11)-[(D)Phe]-[(D)Ile]-[(D)Cys]-[(D)Ile]-[(D)Pro]-[(D)Phe]-[(D)His]-[(D)Thr]-[(D)Asp]	
407	2(팔미토일)-[Dapa]-[(Peg11)-[(D)Phe]-[(D)Ile]-[(D)Cys]-[(D)Ile]-[(D)Pro]-[(D)Phe]-[(D)His]-[(D)Thr]-[(D)Asp]	
408	DTH-[bhPhe]-PIICIF	
409	DTH-[Dpa]-PICI.	
410	DTH-[Bip]-PICIF	
411	DTH[1-Nal]-PICIF	
412	DTH-[bhDpa]-PICIF	
413	DTHFP-ICI-bhPhe	
414	DTHFPICI-[Dpa]	
415	DTHFPICI-[Bip]	
416	DTHFPICI-[1-Nal]	
417	DTHFPICI-[bhDpa]	
418	DTH-[Dpa]-PICI-[Dpa]	
419	D-[Dpa]-PICIF	
420	D-[Dpa]-PICI-[Dpa]	
421	DTH-[Dpa]-P-[(D)Arg]-CR-[Dpa]	
422	DTH-[Dpa]-P-[(D)Arg]-C-[(D)Arg]-[Dpa]	
423	DTH-[Dpa]-[Oic]-ICIF	
424	DTH-[Dpa]-[Oic]-ICI-[Dpa]	
425	DTH-[Dpa]-PCCC-[Dpa]	
426	DTHFPICIF-[(D)Pro]-PK	
427	DTHFPICIF-[(D)Pro]-PR	
428	DTHFPICIF-[bhPro]-PK	
429	DTHFPICIF-[bhPro]-PR	
430	DTHFPICIF-[(D)Pro]-[bhPro]-K	
431	DTHFPICIF-[(D)-Pro]-[bhPro]-R	
432	DTHFPICI-[bhPhe]-[(D)Pro]-PK	
433	DTHFPICI-[bhPhe]-[(D)Pro]-PR	
434	DTHFPICI-[bhPhe]-[(D)Pro]-[bhPro]-K	
435	DTHFPICI-[bhPhe]-[(D)Pro]-[bhPro]-R	
436	C-[Inp]-[(D)Dpa]-[Amc]-R-[Amc]-[Inp]-[Dpa]-시스테인아미드	
437	CP-[(D)Dpa]-[Amc]-R-[Amc]-[Inp]-[Dpa]-시스테인아미드	
438	C-[(D)Pro]-[(D)Dpa]-[Amc]-R-[Amc]-[Inp]-[Dpa]-시스테인아미드	
439	CG-[(D)Dpa]-[Amc]-R-[Amc]-[Inp]-[Dpa]-시스테인아미드	
440	Hy-DTHFPCAIF-NH ₂	>1000
441	Hy-DTHFPCRRF-NH ₂	활성 없음
442	[IDA]-TH-[Dpa]-[bhPro]CRR-[bhPhe]-NH ₂	206
443	Hy-DTHFPCEIF-NH ₂	>1000
444	Hy-DTHFPCFIF-NH ₂	1191.8
445	Hy-DTHFPCQIF-NH ₂	>1000

446	Hy-DTHFPCRIF-NH ₂	>1000
447	Hy- [pGlu]-THFPCRKF-NH ₂	>1000
448	Hy-DTHFPCLIF-NH ₂	> 10 μM
449	Hy-DTHFPCVIF-NH ₂	10 μM에서 81%
450	Hy-DTHFPCEIF-NH ₂	10 μM에서 19%
451	Hy-DTHFPCRIF-NH ₂	10 μM에서 31%
452	Hy-DTHFPCKIF-NH ₂	10 μM에서 9%
453	Hy-DTHFPCLF-NH ₂	1 μM에서 39%
454	Hy-DTHFPCEF-NH ₂	10 μM에서 17%
455	Hy-DTHFPCRIF-NH ₂	10 μM에서 31%
456	Hy-DTHFPRRFGPRSGWVC-NH ₂	>1000
457	[IDA]-THF-[bhPro]-CRR-[bhPhe]GPRSGWVC-NH ₂	>1000
458	Hy-DTHFPCIFGPRSGWVC-NH ₂	>1000
459	Hy-DTHFPCRIFGPRSRGWCK-NH ₂	>1000
460	이소발레르산-DTHFPCLIFGPRSGWCK-NH ₂	19.2
461	이소발레르산-DTHFPCVIFGPRSGWCK-NH ₂	41
462	이소발레르산-DTHFPCIFGPRSGWCK-NH ₂	78
463	이소발레르산-DTHFPCQIFGPRSGWCK-NH ₂	157
464	이소발레르산-DTHFPCKIFGPRSGWCK-NH ₂	86
465	이소발레르산-DTHFPC-[Dapa]-IFGPRSGWDCK-NH ₂	65
466	이소발레르산-DTHFPC-[Dapa]-IFGPRSGWECK-NH ₂	151
467	이소발레르산-DTHFPCKIFGPRSGWECK-NH ₂	163
468	이소발레르산-DTHFPCRRFGPRSGWCK-NH ₂	>1000
469	이소발레르산-DTHFPCTIFGPRSGWCK-NH ₂	시험하지 않음
470	Hy-DTHFPPIAICI-NH ₂	>10 μM
471	Hy-DTHFPPIICI-NH ₂	>10 μM
472	Hy-DTHICIAIF-NH ₂	>10 μM
473	Hy-DTHCPIAIF-NH ₂	>10 μM
474	Hy-ATHFPCIIF-NH ₂	>1000
475	Hy-ADHFPCIIF-NH ₂	>1000
476	Hy-DTHFPCIIFKC-NH ₂	6398.0
477	Hy-DTHFPCIIFAC-NH ₂	>1000
478	Hy-DTHFPCIIFAA-NH ₂	1 μM에서 59%
479	Hy-DEHFPCIIF-NH ₂	10 μM에서 34%
480	Hy-DPHFPCIIF-NH ₂	10 μM에서 64%
481	Hy-DTHKPCIIF-NH ₂	10 μM에서 45%
482	Hy-DTHVPCIIF-NH ₂	10 μM에서 34%
483	Hy-DTHFVCIIF-NH ₂	10 μM에서 50%

484	Hy-DTHFPCIIY-NH ₂	10 μM에서 75%
485	Hy-DTHFPCII T-NH ₂	1 μM에서 23%
486	Hy-DTHFPCILY-NH ₂	1 μM에서 85%
487	Hy-DTHFPCIEY-NH ₂	1 μM에서 8%
488	이소발레르산-DTHFPCIFGPRSKG-[N-MeTrp]-VC-NH ₂	32
489	이소발레르산-DTHFPCII F-[Sar c]-PRSKG-[N-MeTrp]-VC-NH ₂	10
490	이소발레르산-DTHFPCII F-[Sar c]-PHSKG-[N-MeTrp]-VC-NH ₂	9
491	이소발레르산-DTHFPCII FEPRSKHWVCK-NH ₂	15
492	이소발레르산-DTHFPCII FEPRSKWVCK-NH ₂	19
493	이소발레르산-DTHFPCII FEPRSKLVCK-NH ₂	7
494	이소발레르산-DTHFPCII FEPRSKFWVCK-NH ₂	10
495	이소발레르산-DTHFPCIKFEPHSK-[Sar c]-CK-NH ₂	28
496	이소발레르산-DTHFPCIKFKPHSKEWVCE-NH ₂	46
497	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSKWVCK-NH ₂	20
498	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSKLVCK-NH ₂	9
499	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSKWVCK-OH	46
500	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRS-K(isoGlu-옥타노산)-ECK-NH ₂	48
501	Hy-DTHFPCIFGPRSKGWAVCYW-NH ₂	197
502	Hy-DTHFPCIFGPHRSKGVCM-NH ₂	149
503	Hy-DTHFPCIFGPRSKGWVAC-NH ₂	281
504	Hy-DTHFP-[(D)Cys]-I IFGPRSKGWA-[(D)Cys]-NH ₂	>10 μM
505	Hy-DTHFPCIFGPRSKGWVACY-NH ₂	>10 μM
506	Hy-DTHFPCIFGPRSRGHVCK-NH ₂	>1000
507	Hy-DTHFPCIFGPRSKGVNCK-NH ₂	>1000
508	Hy-DTHFPCINFGPRSKGVCK-NH ₂	>1000
509	Hy-DTHFPCIDFGPRSKGVCK-NH ₂	>1000
510	이소발레르산-DTHFECIFGPRSKGVCK-NH ₂	>1000
511	Hy-DTHFPCIFGGPRSRGVCK-NH ₂	520
512	Hy-DTHFPCIFGGPRSKGVNCK-NH ₂	404
513	Hy-DTHFPCIFGGPRSKGVDC-NH ₂	679
514	이소발레르산-DTHFPCIFEPRSKGTCK-NH ₂	57
515	이소발레르산-DTHFPCII F-[PEG3]-C-NH ₂	157
516	이소발레르산-DTHAPCIKF-[Sar c]-PRSKGWECK-NH ₂	>10 μM
517	이소발레르산-DTHAPCIKFEPRSK-[Sar c]-WECK-NH ₂	>10 μM
518	이소발레르산-DTHAPCIKFEPRSKEWECK-NH ₂	>10 μM
519	이소발레르산-STHAPCIKFEPRSKGWECK-NH ₂	>10 μM
520	이소발레르산-SKHAPCIKFEPRSKGWECK-NH ₂	>10 μM
521	이소발레르산-DTHFPCIKFEPHSKEWVCK-NH ₂	80

	522	이소발레르산-DTAFPCIKFEPRSKEC-NH ₂	>10 μM
	523	이소발레르산-DTHFGC IKFEPRSKIEWVCK-NH ₂	>1000
	524	이소발레르산-DTEFPCIKFEPRSKIEWVCK-NH ₂	>1000
	525	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRS-K(옥타노산)-EWVCK-NH ₂	62
	526	이소발레르산-ETHFPCIKFEPRSKIEWVCK-NH ₂	181

[1228] 주어진 펩티드가 내인성 페로포틴의 내재화 및 분해를 개질하는지 여부를 결정하기 위해, 웨스턴 블로팅, 면역조직화학, 및 당업계에 공지된 페로포틴 항체를 사용하여, 펩티드로 처리한 간세포 및 대식세포에서 페로포틴의 단백질 수준 및 세포 분포를 어세이할 수 있다.

[1229] 실시예 3

[1230] 혈청 안정성 어세이

[1231] 생체내 결과를 보충하고 강하고 안정한 페로포틴 작용제의 설계를 지원하기 위해 혈청 안정성 실험을 수행하였다. 주요 펩티드(10 μM)를 사전-가온된 인간 혈청(시그마), 신선한 랫트 혈청 또는 혈장과 함께 37 도에서 인큐베이션하였다. 최대 24 시간의 다양한 시점에 샘플을 채취하였다. 혈청 단백질로부터 샘플을 분리하고 LC-MS를 사용하여 관심의 대상인 펩티드의 존재에 대해 분석하였다. 0 시점에 대한 분석물 피크 면적을 사용하여 각각의 샘플 내의 온전한 펩티드의 양을 계산하였다. 화합물 대 내부 표준에 대한 시험의 피크 면적 반응비를 기반으로 각각의 시점에서 잔류하는 %를 계산하였다. 시간 0을 100%로 설정하고, 이후의 모든 시점을 시간 0에 대해 계산하였다. 그래프패드(Graphpad)를 사용하여 1차 지수 감쇄 방정식(first-order exponential decay equation)에 적합시킴으로써 반감기를 계산하였다. 인간 및 랫트 생체의 안정성의 전체 목록을 표 15에 나타낸다.

표 15

[1232]

서열 번호	서열	랫트 혈청 t _{1/2} (h)	랫트 혈장 t _{1/2} (h)	인간 혈청 t _{1/2} (h)
547	Hy-DTHFPICIFCCGCCHRSKCGMCKT-OH (헵시딘)			2.76 (가변)
545	Hy-DTHFPICIF-NH ₂	-	-	0.1
548	Palm-PEG11-ficipfhtd-NH ₂	-	-	0.06
28	Hy-DTHFPICIF-NH ₂	-	-	0.18
549	DTHFPICIFGPRSKGWCM-NH ₂	0.18	-	2.32
533	(Hy-DTHFPICIF-NH ₂) ₂	-	-	0.67
93	Hy-DTHFPCRRFGPRSKGWVC-NH ₂	-	-	0.46
550	Ida-THF-[bhPro]-CRR-[bhPhe]-GPRSKGWVC-NH ₂	-	-	1.14
551	Hy-[bhAsp]-THFPICIFGPRSKGWVC-NH ₂	-	-	2.1
552	Hy-[bhAsp]-TH-[NMePhe]-PICIFGPRSKGWVC-NH ₂	0.16	4	1.93
29	이소발레르산-DTHFPICIFGPRSKGWVC-NH ₂	0.15	4	1.99
68	Ac-DTHFPICIFKPRSKGWCM-NH ₂	0.31	5.9	-
553	Ac-DTHFPICIF-K(m-PEG8)-PRSKGWCM-NH ₂	1.81	19.5	40
554	Ac-DTHFPICIFGPRS-K(m-PEG8)-GWCM-NH ₂	1.82	6	40
555	Ida-TH-Dpa-bhPro-CIFGPRSKGWVCK-NH ₂	-	-	0.51
556	Hy-IPFIDTCFHGPRSRGWVCK-NH ₂	-	-	0.18

30	이소발레르산-DTHFPCIIFGPRSRGWVCK-NH ₂	0.08	0.43	0.51
63	Ac-DTHFPCIFGPRSKGWCM-NH ₂	0.38	6	-
128	이소발레르산-DTHFPCIIFEPRSKGWVCK-NH ₂	0.68	-	2.22
31	이소발레르산-DTHFPCIIFGPRSKGWVC-NH ₂	0.13	4	0.94
557	이소발레르산-DTHFPCIIFGPRSKGVCK-NH ₂	0.27	-	1.17
138	이소발레르산-DTHFPCIIFGPRSKGCK-NH ₂	0.19	-	1.33
558	이소발레르산-DTHFPCIFGPRSKGWCK-NH ₂	0.21	-	0.99
144	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRSKGWECK-NH ₂	0.38	-	1.19
38	이소발레르산-DTHFPCIIFGPRSKGWVCK-NH ₂	0.14	-	-
36	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRSKGWVCK-NH ₂	0.14	-	0.57
37	이소발레르산-DTHFPCIQFGPRSKGWVCK-NH ₂	0.12	-	0.61
42	이소발레르산-DTHFPCIEFGPRSKGWVCK-NH ₂	0.15	-	0.74
172	이소발레르산-DTHFPCI-K(m-PEG8)-FGPRSKGWVCK-NH ₂	0.32	-	1.13
173	이소발레르산-DTHFPCIKF-K(m-PEG8)-PRSKGWVCK-NH ₂	0.42	-	1.35
175	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRS-K(m-PEG8)-GWVCK-NH ₂	1.16	-	11.09
176	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRSKGWVC-K(m-PEG8)-NH ₂	0.41	-	3.36
181	이소발레르산-DTHFPCI-K(베타인)-FGPRSKGWVCK-NH ₂	0.14	-	1.22
559	(이소발레르산-DTHFPCIIF-NH ₂) ₂	18	-	>24
560	이소발레르산-DTHFPCIFGPRS-K(m-PEG8)-GWVC-NH ₂	1.62	-	15
561	이소발레르산-DTHFPCIFGPRS-K(m-PEG4)-GWVC-NH ₂	1.1	-	12
562	(이소발레르산-DTHFPCIIFGPRSRGWVCK) ₂ -DIG-NH ₂	0.59	-	9
563	이소발레르산-DTHFPCIFGPRSKG-[NMeTrp]-VC-NH ₂	0.07	-	0.4
564	이소발레르산-DTHFPCIF-[Sar]-PRSKG-[NMeTrp]-VC-NH ₂	0.24	-	1.36
565	이소발레르산-DTHFPCIF-[Sar]-PHSKG-[NMeTrp]-VC-NH ₂	11.3	-	>24
207	이소발레르산-DTHFPCIKFEPRSKGCK-NH ₂	2.12	-	8.06
218	이소발레르산-DTHFPCIKF-K(Pal m)-PRSKGWVCK-NH ₂	24	-	>24
220	이소발레르산-DTHFPCIKFGPRS-K(Pal m)-GWVCK-NH ₂	>24	-	>>24
223	이소발레르산-DTHFPCIKF-K(PEG3-Pal m)-PRSKGWVCK-NH ₂	3.95	-	22.2
228	Hy-DTHFPCIKF-K(IVA)-PRSKGWVCK-NH ₂	0.19	-	0.31
233	Hy-DTHFPCIKF-K(PEG3-IVA)-PRSKGWVCK-NH ₂	0.35	-	0.58
491	이소발레르산-DTHFPCIIFEPRSKHWVCK-NH ₂	1.29	-	4.71
492	이소발레르산-DTHFPCIIFEPRSKWVCK-NH ₂	7.7	-	>24
493	이소발레르산-DTHFPCIIFEPRSKLWVCK-NH ₂	3.7	-	>24
566	이소발레르산-DTHFPCIIFEPRSKKWVCK-NH ₂	0.89	-	5.06
494	이소발레르산-DTHFPCIIFEPRSKFWVCK-NH ₂	2.69	-	20
567	이소발레르산-DTHFPCIIF-PEG3-C-NH ₂	>24	-	>>24
568	DIG-(DTHFPCIIF-NH ₂) ₂	>24	-	>>24
242	이소발레르산-DTHFPCIKF-K(Isoglu-Pal m)-PRSKGCK-NH ₂	16	-	>>24
569	이소발레르산-DTHFPCIKFK(dapa-Pal m)PRSKGCK-NH ₂	14	-	24

- [1233] 실시예 4
- [1234] 랫트에서의 유리 혈장 철의 감소
- [1235] 펩티드 유사체가 혈청 내의 유리 Fe²⁺를 감소시키는 데에 효과적인지 여부를 조사하기 위해, 레트로 인버스 미니 헵시딘을 기준 펩티드로 사용하였다. RI 미니-Hep은 시험관내에서 매우 낮은 효능을 나타내지만, 문헌[Presza et al. J Clin Invest. 2011]에 의해 보고된 바와 같이 그것은 생체내에서 고도로 활성이다.
- [1236] 제1일에, 혈청 내의 유리 Fe²⁺에 대해 동물을 모니터하였다. 균질한 혈청 수준에 도달하기 위해, Fe²⁺를 분석하고 7 또는 8 마리의 동물의 균질한 코호트를 각각의 처리군에 무작위 배정하였다. 제2일에, 시험 화합물의 복강내 (i.p.) 투여 및 후속의 꼬리 정맥 채혈을 동물에 적용하는 급성 실험을 수행하였다. 투여 전에, 3-5 분 동안 동물을 가열 램프 하에 두었다. 비히클 또는 화합물 투여 전에 혈청 철 수준을 결정하기 위해 모든 동물의 꼬리 정맥으로부터 혈액 샘플을 채취하였다. 기준 화합물의 연구에서는, 비히클 중의 시험 물질 또는 비히클 단독 1 ml를 동물에 i.p. 투여하고 t=0, 60, 120, 240, 360 min, 및 24 시간에 각각의 동물로부터 250 μl의 혈액 샘플을 채취하였다. 레트로 인버스(RI) 미니-헵시딘(기준 화합물)으로 용량 반응 연구를 수행하고, 시험 화합물로 수행하는 효능 연구를 별도의 실험으로서 수행하였다.
- [1237] 제0일 및 제1일로부터의 Fe²⁺의 분석은 이후 시점에(10 일 후 이전에) 실행하였다. 사용되는 화학물질 및 장비는 하기 표 13에 나타난다

표 13

[1238]

사용되는 화학물질 및 장비							
약물 명칭	화합물 번호	서열 번호	MW (g/mol)	계산된 펩티드 함량 %	결정된 펩티드 함량 %	순도 %	용매
이소발레르산-DTHFPICIFGPRS KGWVC-NH ₂	2	29	2144.52	86.2	86.2	90	Na-아세테이트 완충액
RI-헵시딘1-9		546	1091.3	82.7	82.7	94.2	강력 PBS

- [1239] 초기에, 펩티드 유사체를 포함하는 모든 화합물을 pH=2.5에서 3 mg/ml API의 농도로 산성 H₂O에 용해시켰다. 그 후에 화합물을 Na-아세테이트 완충액(50 mM 아세트산, 125 mM NaCl, pH 5.0) 또는 강력 PBS(25 mM 소듐 포스페이트, 125 mM NaCl, pH 7.4)에 용해시켰다.
- [1240] 체중이 200-250 g인 웅성 스프라크-둘리(Sprague-Dawley) 랫트를 연구에 사용하였다. 광, 온도, 및 습도가 조절되는 방(12-시간 명주기: 12-시간 암주기, 0600/1800 시에 점등/소등; 섭씨 23 도; 50% 상대 습도) 안에서 n=2인 그룹으로 그들을 사육하였다. OECD의 "동물 연구 제안에서의 종료시점에 관한 지침(Guidelines for Endpoints in Animal Study Proposals)"에 따라 인도적 종료시점을 적용하였다. 동물은 매일 모니터하였다. 유의적으로 영향을 받은 병태(> 30% 초과)의 체중 감소(비만 동물); 비정상적인 자세; 거친 모피; 눈 및/또는 코 주위의 삼출물; 피부 병변; 비정상적인 호흡; 보행 곤란; 비정상적인 음식 또는 물 섭취; 또는 자해와 같은 징후를 기반으로 함), 또는 유의적인 통증 또는 고통을 유발하는 다른 병태의 경우, 동물을 즉시 안락사시켰다.
- [1241] 코바스(Cobas) c 111 상에서 어세이의 제조자로부터의 설명서(어세이: IRON2: ACN 661)에 따라 비색 어세이를 사용하여 철 함량에 대해 혈장/혈청 중의 철 함량을 측정하였다.
- [1242] 코바스 Iron2 분석으로부터 얻은 데이터는 평균 값 +/- SEM으로 제공되어 있다.
- [1243] 본 발명의 펩티드 유사체의 투여는, 양성 대조군 레트로 인버스 미니 헵시딘(RI-미니-헵시딘)의 주사 후에 관찰되는 것과 유사한 혈청 철 수준의 감소를 유발할 것으로 예상된다.
- [1244] 실시예 5
- [1245] 펩티드 유사체의 생체내 검증

[1246] 하기의 변화를 동반하여 이전의 실시예에 기재된 바와 같이, 본 발명의 펩티드 유사체를 생체내 활성에 대해 시험하였다. 랫트 대신에, 마우스(C57-BL6)를 시험하였다. 펩티드 또는 비히클 대조군을 마우스(n=8/그룹)에 투여하였으며, 본 발명의 화합물은 3000 nmol/kg으로 투여하였고, 헵시딘 대조군은 피하 주사를 통해 1000 nmol/kg으로 투여하였다. 시험한 펩티드를 내재화/분해 어세이 효능 값과 함께 표 14에 나타낸다.

표 14

[1247]

예시적인 헵시딘 유사체의 효능			
화합물 번호	서열 번호	서열	효능 EC50(nM)
헵시딘	335	Hy-DTHFPICIFCCGCHRSKCGMCCKT-OH	34
Cmpd1	207	이소발레르산-DTHFPICKFEPRSKG_ _CK-NH2	23
Cmpd2	36	이소발레르산-DTHFPICKFGPRSKGWVCK-NH ₂	35
Cmpd3	76	이소발레르산-DTHFPICKFGPRSKGWVCK-[(m-PEG8)]-NH ₂	17
Cmpd4	199	이소발레르산 - DTHFPICKFGPRSK-[(m-PEG8)]-GWVC-NH ₂	6.4
Cmpd5	492	이소발레르산-DTHFPICIFEPRSKEWVCK-NH ₂	19
Cmpd6	490	이소발레르산-DTHFPICIF-[Sarc]-PHSKG-[N-MeTrp]-VC-NH ₂	9

[1248] 본 실험의 주목적은 마우스 모델에서 본 발명의 펩티드 유사체의 활성을 검증하는 것이었다. 이전의 실시예에서와 같이 펩티드 또는 비히클 투여 후 2 시간에 혈청 철 수준을 평가하였다. 비히클 대조군에 비교하여 화합물-처리 동물에서 혈청 철의 유의적인 감소가 관찰되었다. 추가로, 본 발명의 화합물의 최대-용량 반응은 헵시딘으로 달성된 최대-용량 반응과 유사할 것으로 예상된다.

[1249] 혈청 철 감소의 유도에 대한 이들 화합물의 용량 반응을 평가하기 위해, 더 낮은 용량으로 유사한 실험을 수행하였다. 하기 파라미터를 제외하고는, 방법은 본 실시예에 상기 기재된 바와 같았다: n = 4 마리 마우스/그룹이었으나, 비히클의 경우에는 n = 8이었다(2 그룹이 통합되므로). 2가지 별도의 투여량(300 nmol/kg 또는 1000 nmol/kg)으로 피하 주사를 통해 시험 화합물을 마우스에 투여하였다. 이전의 실시예에서와 같이 펩티드 또는 비히클 주사 후 2 시간에 혈청 철 수준을 평가하였다. 이들 펩티드는 생체내에서 자연 헵시딘과 유사한 철 감소를 유도했다. 본 실험의 결과를 도 1에 나타내며, 이는 2가지 농도, 300 nmol/kg 및 1000 nmol/kg(피하 또는 "s.c."; 2 h)에서의, C-57(마우스)에서 혈청 철 수준(n=4)으로서 나타난 예시적인 헵시딘 유사체의 생체내 용량 반응을 제공한다.

[1250] 이전의 실시예에 기재된 바와 같이 랫트에서, 또는 본 실시예에 상기 기재된 바와 같이 마우스에서, 다른 펩티드를 유사하게 시험하였다. 복강내 주사에 의한 것으로 달리 표시되지 않는 한, 펩티드 투여의 경로는 피하 주사에 의하였다.

[1251] 당업자에게 통상적으로 공지된 방법을 사용하여 다른 약물동력학/약역학(PK/PD) 파라미터에 대해서도 펩티드를 시험하였다. 이들 파라미터는 안정성(표시된 인간 또는 랫트 대상체로부터의 혈장 내에서 안정한 시간), 마우스에서의 반감기, 및 시험관내 활성(EC₅₀)에 관한 결정을 포함한다. 본 발명의 펩티드 유사체의 PK/PD 특성을 헵시딘과 비교하여 C57BL6 마우스에서 그들의 PK/PD 효과를 결정하였다. 펩티드 유사체는 일시적이거나 지속적일 수 있는 혈청 철의 감소를 생성할 것으로 예상된다.

[1252] 본 명세서에 언급되고/되거나 출원 데이터 시트에 열거된 모든 상기 미국 특허, 미국 특허 출원 공개, 미국 특허 출원, 외국 특허, 외국 특허 출원, 및 비-특허 간행물은 원용에 의해 전체적으로 본 명세서에 포함된다.

[1253] 본 발명의 특이적 실시양태가 예시의 목적으로 본 명세서에 기재되어 있지만, 본 발명의 사상 및 범위로부터 이탈하지 않으면서 다양한 개질이 실행될 수 있다는 것이 전술한 내용으로부터 인정될 것이다.

도면

도면1

선택된 헵시딘 유사체 시리즈의 2가지 농도(s.c.; 2 h)에서의 생체내 용량 반응
C-57 (마우스) 혈청 철 수준 (n=4)

