



## Hybridní polypeptidy

### Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká zesilujících (enhancerových) peptidových sekvencí původně odvozených od různých proteinových sekvencí retrovirálního obalu (gp41), které zesilují farmakokinetické vlastnosti jakéhokoli základního (core) polypeptidu, ke kterému jsou připojeny. Vynález je z části založen na objevu, že polypeptidy obsahující zesilující peptidové sekvence navázané na základní polypeptid, mají zlepšené farmakokinetické vlastnosti, jako je zvýšený poločas. Vynález se dále týká nových antifuzogenních a/nebo antivirálních peptidů, včetně peptidů obsahujících tyto zesilující peptidové sekvence a způsobů použití těchto peptidů. Vynález se dále týká způsobů zlepšení (zesílení) farmakokinetických vlastností jakéhokoli základního polypeptidu prostřednictvím navázání zesilujících peptidových sekvencí na základní polypeptid. Základní polypeptidy použitelné při provádění vynálezu mohou zahrnovat jakýkoli farmakologicky použitelný polypeptid, který může být například použit jako léčebná nebo preventivní látka. V neomezujícím provedení je vynález ukázán na příkladu, ve kterém je hybridní polypeptid obsahující například základní polypeptid HIV připojený k zesilujícím peptidovým sekvencím prokázán jako silný, necytotoxický inhibitor infekce HIV-1, HIV-2 a SIV. Navíc byly zesilující peptidové sekvence podle vynálezu navázány na základní polypeptid respiračního syncytiálního viru (RSV) a základní polypeptid receptoru luteinizačního hormonu (LH-RH). V každém případě bylo zjištěno, že hybridní polypeptid má zlepšené farmakokinetické vlastnosti a hybridní polypeptid RSV vykazoval významnou anti-RSV aktivitu.

### **Dosavadní stav techniky**

Polypeptidové produkty mají širokou oblast použití jako léčebné a/nebo preventivní látky pro prevenci a léčení onemocnění. Mnoho polypeptidů je schopno řídit biochemické nebo fyziologické procesy a tím buď předcházet onemocnění nebo poskytnout zmírnění příznaků spojených s onemocněním. Například polypeptidy jako virové nebo bakteriální polypeptidy byly úspěšně použity jako vakcíny pro prevenci patologických onemocnění. Navíc byly peptidy úspěšně používány jako léčebné látky pro léčbu příznaků onemocnění. Tyto peptidy patří do různých kategorií, jako například hormony, enzymy, imunomodulátory, sérové proteiny a cytokiny.

Aby se u polypeptidů projevil jejich patřičné biologické a terapeutické účinky na cílová místa, polypeptidy musí být v těchto místech působení přítomny ve vhodných koncentracích. Navíc musí být obecně zachována jejich strukturální integrita. Proto je formulace polypeptidů jako léčiv pro terapeutické použití řízena chemickou povahou a vlastnostmi polypeptidů, jako je jejich velikost a komplexnost, jejich konformační požadavky, a jejich často komplikované profily stability a rozpustnosti. Farmakokinetické vlastnosti jakéhokoli konkrétního peptidu s léčebnými účinky jsou závislé na biologické dostupnosti, distribuci a vylučování uvedeného peptidu z organismu.

Protože mnoho biologicky aktivních látek jako jsou peptidy a proteiny se v těle rychle rozkládá, je kritické vyvíjet účinné systémy pro udržování stabilní koncentrace peptidu v krevním oběhu pro zvýšení účinku těchto peptidů a pro minimalizaci výskytu a vážnosti nepříznivých vedlejších účinků.

### **Podstata vynálezu**

Předkládaný vynález se za prvé týká zesilujících

(enhancerových) peptidových sekvencí původně odvozených od různých proteinových sekvencí retrovirálního obalu (gp41), tj. HIV-1, HIV-2 a SIV, které zesilují farmakokinetické vlastnosti jakéhokoli základního (core) polypeptidu, s kterým jsou spojeny. Vynález je založen na překvapivém výsledku, že totiž pokud jsou popisované zesilující peptidové sekvence spojeny s jakýmkoli základním polypeptidem, získané hybridní polypeptidy mají zlepšené farmakokinetické vlastnosti, včetně například zvýšení poločasu a snížené rychlosti vylučování z organismu ve srovnání se samotným základním polypeptidem. Předkládaný vynález se dále týká těchto hybridních polypeptidů a základních polypeptidů, a nových peptidů, které mají antifuzogenní aktivitu, antivirovou aktivitu a/nebo schopnost modulovat intracelulární procesy, které se týkají peptidových struktur se stočenou šroubovicí (coiled-coil). Mezi tyto peptidy patří peptidy, které obsahují zesilující peptidové sekvence.

Základní polypeptidy mohou zahrnovat jakékoli peptidy, které mohou být zaváděny do živého systému, například jakékoli peptidy schopné fungovat jaké léčebná, preventivní nebo zobrazující činidla použitelná pro léčení nebo prevenci onemocnění, nebo pro diagnostické nebo prognostické metody, včetně metod zobrazování in vivo. Mezi takové peptidy patří například růstové faktory, hormony, cytokiny, angiogenní růstové faktory, polypeptidy extracelulární matrice, receptorové ligandy, látky s agonistickými, antagonistickými nebo inverzně agonistickými účinky, látky s cílenými účinky na peptidy, jako jsou zobrazovací činidla nebo cytotoxické látky s cílenými účinky, nebo polypeptidy, které mají antifuzogenní a/nebo antivirální účinky a peptidy nebo polypeptidy, které fungují jako antigeny nebo imunogeny, včetně například virových a bakteriálních polypeptidů.

Vynález se dále týká způsobů zesílení farmakokinetických vlastností jakéhokoli základního polypeptidu pomocí spojení základního peptidu se zesilujícími peptidovými sekvencemi za vytvoření hybridních polypeptidů.

Předkládaný vynález se ještě dále týká způsobu použití popisovaných polypeptidů včetně hybridních polypeptidů obsahujících zesilující peptidové sekvence. Například způsoby podle vynálezu zahrnují způsoby snížení nebo inhibice virové infekce, například HIV-1, HIV-2, RSV, spalniček, chřipky, parainfluenzy, infekce virem Epstein-Barrové a virem hepatitidy a/nebo fúze buněk indukované viry. Zesilující peptidové sekvence podle vynálezu mohou být navíc použity pro zvýšení poločasu in vitro nebo ex vivo základního polypeptidu, na který byly zesilující peptidové sekvence navázány; zesilující peptidové sekvence mohou například zvýšit poločas navázaných základních polypeptidů v buněčné kultuře nebo buňkách nebo vzorcích tkáně.

Vynález je demonstrován na příkladech, ve kterých se ukazuje, že hybridní polypeptidy obsahující základní polypeptid HIV připojený k zesilující peptidové sekvenci mají značně zlepšené farmakokinetické vlastnosti a působí jako silné, necytotoxické inhibitory infekce HIV-1, HIV-2 a SIV. Vynález je dále ukázán na příkladech, ze kterých vyplývá, že hybridní polypeptidy obsahující základní polypeptid RSV nebo polypeptid luteinizačního hormonu, mají značně zlepšené farmakokinetické vlastnosti. Navíc měl hybridní polypeptid RSV významnou anti-RSV aktivitu.

## 1. Definice

Peptidy, polypeptidy a proteiny jsou zde definovány jako organické sloučeniny obsahující dvě nebo více kovalentně spojených aminokyselin, tedy spojených například peptidovými amidovými vazbami. Mezi peptidy, polypeptidy a proteiny mohou také patřit peptidy obsahující nepřírodní aminokyseliny a jakékoli modifikace a další aminoskupiny a karboxylové skupiny, jak bude dále popsáno. Termíny „peptid“, „polypeptid“ a „protein“ se zde tedy používají zaměnitelně.

Peptidové sekvence jsou podle předkládaného vynálezu definovány jednopísmenovými symboly pro zbytky aminokyselin podle následujícího klíče:

- A (alanin)
- R (arginin)
- N (asparagin)
- D (kyselina asparagová)
- C (cystein)
- Q (glutamin)
- E (kyselina glutamová)
- G (glycin)
- H (histidin)
- I (isoleucin)
- L (leucin)
- K (lysin)
- M (methionin)
- F (fenylalanin)
- P (prolin)
- S (serin)
- T (threonin)
- W (tryptofan)
- Y (tyrosin)
- V (valin)
- X (jakákoli aminokyselina)

„Zasilující peptidové sekvence“ (enhancer peptide sequences) jsou definovány jako peptidy s následujícími konvenčními (consensus)

aminokyselinovými sekvencemi: „WXXWXXXI“, „WXXWXXX“, „WXXWXX“, „WXXWX“, „WXXW“, „WXXXWXWX“, „XXXWXWX“, „XXWXWX“, „XWXWX“, „WXWX“, „WXXXWXW“, „WXXXWX“, „WXXXW“, „IXXXWXXW“, „XXXWXXW“, „XXWXXW“, „XWXXW“, „XWXWXX“, „XWXWX“, „XWXW“, „WXWXXXW“, „XWXWXXXW“, „XWXWXXX“, nebo „XWXXXW“, kde X může být jakákoli aminokyselina, W znamená tryptofan a I znamená isoleucin. Jak je diskutováno dále, zesilující peptidové sekvence podle předkládaného vynálezu také zahrnují peptidové sekvence, které jsou jinak stejné jako dohodnuté aminokyselinové sekvence, ale obsahují substituce, inserce nebo delece aminokyselin, které však nesnižují schopnost peptidu zesilovat farmakokinetické účinky základního peptidu, na který jsou navázány, vzhledem k farmakokinetickým účinkům samotného základního polypeptidu.

„Základní polypeptid“ (core polypeptide), jak se zde používá, označuje jakýkoli polypeptid, který může být zaveden do živého systému, a představuje tedy biologicky aktivní molekulu, například jakýkoli polypeptid, který může fungovat jako farmakologicky využitelný peptid pro léčení nebo prevenci onemocnění.

„Hybridní polypeptid“, jak se zde používá, označuje jakýkoli polypeptid zahrnující amino-, karboxy-, nebo amino- a karboxykoncovou zesilující peptidovou sekvenci a základní polypeptid. Zesilující polypeptidová sekvence je typicky navázána přímo na základní polypeptid. Je třeba rozumět, že zesilující peptid může být také navázán na mezilehlou aminokyselinovou sekvenci přítomnou mezi zesilující peptidovou sekvencí a základním peptidem.

Termíny „antifuzogenní“ a „antimembránová fúze“, jak se zde používají, označují schopnost peptidu inhibovat nebo snižovat množství fúzí mezi dvěma nebo více strukturami, například buněčnými membránami nebo virovými obaly nebo pilusy, vzhledem k množství membránových fúzí, které probíhají mezi strukturami bez přítomnosti

tohoto peptidu.

„Antivirální“, jak se zde používá, označuje schopnost peptidu inhibovat virovou infekci buněk například prostřednictvím buněčné fúze nebo infekce volným virem. Tato infekce může zahrnovat fúzi membrán, ke které dochází v případě virů s obalem, nebo jakoukoli fúzi, jíž se účastní virová struktura a buněčná struktura, například fúzi virového pilusu a bakteriální membrány v průběhu konjugace bakterií.

### **Přehled obrázků na výkresech**

Obr. 1. Hybridní polypeptidy. Zesilující peptidové sekvence odvozené z domnělých N-koncových a C-koncových interaktivních oblastí jsou znázorněny jako navázané na obecný základní polypeptid. Konzervované zesilující peptidové sekvence jsou vystínovány. Je třeba zdůraznit, že označené zesilující peptidové sekvence mohou být použity buď jako -koncové, C-koncové nebo - a C-koncové adice. Navíc mohou být zesilující peptidové sekvence přidány k základnímu polypeptidu v dopředné nebo reverzní orientaci, jednotlivě nebo v jakékoli možné kombinaci, pro zesílení farmakokinetických vlastností peptidu.

Obr. 2A. Zesilující peptidové sekvence odvozené od různých proteinových sekvencí obalu (gp41), reprezentující N-koncovou interaktivní oblast pozorovanou u všech dosud publikovaných izolovaných sekvencí HIV-1, HIV-2 a SIV. Poslední sekvence „WXXWXXXI“ reprezentuje dohodnutou sekvenci.

Obr. 2B. Varianty zesilující peptidové sekvence odvozené od různých proteinových sekvencí obalu (gp41), reprezentující C-koncovou interaktivní oblast pozorovanou u všech dosud publikovaných izolovaných sekvencí HIV-1, HIV-2 a SIV. Poslední sekvence „WXXXWXWX“ reprezentuje dohodnutou sekvenci.



Obr. 3. Srovnání titrů HIV-1 ve tkáních virem HIV-1 9320 infikovaných myší SCID-HuPBMC, přičemž měření byla prováděna pomocí hladin P24 v testech společné kultivace s HuPBMC. Obrázek ukazuje srovnání inhibice viru polypeptidy T20 a T1249 in vivo.

Obr. 4A - 4B. Farmakokinetický profil v plazmě polypeptidu T1249 proti kontrole základního polypeptidu T1387 v krysách CD po i.v. injekci do 2 hod (obr. 4A) a do 8 hod (obr. 4B). Polypeptid T1387 je základní polypeptid a polypeptid T1249 je základní polypeptid navázaný na zesilující polypeptidové sekvence.

Obr. 5. Farmakokinetický profil v plasmě polypeptidu T1249 proti kontrolnímu polypeptidu T20 v krysách CD po i.v. podání. Polypeptid T1249 je hybridní polypeptid základního polypeptidu (T1387) navázaného na zesilující peptidové sekvence T20: n = 4; T1249: n = 3.

Obr. 6. Porovnání aktivity a cytotoxicity Anti-HIV-1/IIIb sloučenin T20/T1249.

Obr. 7. Přímá vazba polypeptidu T1249 na gp41-konstrukt M41 $\Delta$ 178.  $^{125}$ I-T1249 byl čištěn HPLC do maximální specifické aktivity. Je ukázána saturační vazba na M41 $\Delta$ 178 (fuzní protein s ektodoménou gp41 postrádající aminokyselinovou sekvenci T20) imobilizovaný na mikrotitračních destičkách v koncentraci 0,5 mg/ml.

Obr. 8. Časový průběh asociace/disociace T1249. Výsledky ukazují, že  $^{125}$ I-T1249 a  $^{125}$ I-T20 mají podobné vazebné afinity 1 - 2 nM. Počáteční rychlosti přírůstku a úbytku pro  $^{125}$ I-T1249 byly podstatně nižší než odpovídající hodnoty pro  $^{125}$ I-T20. Disociace navázaného radioligandu byla měřena po přidání neznačeného peptidu na konečnou koncentraci 10  $\mu$ M v 1/10 celkového objemu testu.

Obr. 9. Kompetice pro vazbu T1249 na M41 $\Delta$ 178. Neznačené T1249 a T20 byly titrovány v přítomnosti jediné koncentrace buď  $^{125}$ I-T1249 nebo  $^{125}$ I-T20. Ligand byl přidán ihned po neznačeném peptidu

k zahájení inkubace.

Obr. 10A - 10B. Farmakokinetický profil v plasmě hybridních RSV polypeptidů T1301 (10A) a T1302 (10B) proti T786 v krysách CD.

Obr. 11A. Test snížení počtu plaků. Hybridní polypeptid T1293 je schopen inhibovat infekci RSV s koncentrací  $IC_{50}$  2,6  $\mu$ g/ml.

Obr. 11B. Test snížení počtu plaků ukazuje schopnost hybridních RSV polypeptidů T1301, T1302 a T1303 inhibovat infekci RSV.

Obr. 12A a 12B. Farmakokinetický profil v plasmě hybridního polypeptidu luteinizačního hormonu T1324 proti T1323 u samců krys CD. Polypeptid T1323 je základní polypeptid luteinizačního hormonu a polypeptid T1324 je hybridní polypeptid obsahující základní polypeptid navázaný na zesilující peptidové sekvence.

Obr. 13. Hybridní polypeptidové sekvence odvozené od různých základních polypeptidů. Sekvence základních polypeptidů jsou ukázány vystínovaně. Nestínované amino- a karboxykoncové sekvence představují zesilující peptidové sekvence.

Obr. 14 A - B. Spektra cirkulárního dichroismu (CD) pro T1249 v roztoku (fyziologický roztok s fosfátovým pufrem, pH 7) samostatně (10  $\mu$ M při 1 ° C; obr. 14A) a v kombinaci s peptidem o délce 45 zbytků z vazebné domény gp41 HR1 (T1346); plné čtverce (■) znázorňují teoretické spektrum předpovězené pro „model bez interakce“, zatímco skutečná spektra CD jsou znázorněna plnými kroužky (●).

Obr. 15. Elektroforéza na polyakrylamidovém gelu ukazující ochranu T1249 gp41-konstruktu M41 $\Delta$ 178 před štěpením proteinázou K; dráha 1: primerový marker; dráha 2: neštěpený M41 $\Delta$ 178; dráha 3: M41 $\Delta$ 178 inkubovaný s proteinázou K; dráha 4: neštěpený T1249; dráha 5: T1249 inkubovaný s proteinázou K; dráha 6: M41 $\Delta$ 178 inkubovaný s T1249; dráha 7: inkubace T1249 a M41 $\Delta$ 178 před přidáním proteinázy K.

Obr. 16 A - C. Farmakokinetické vlastnosti polypeptidu T1249 u albinotických krys Sprague-Dawley; obr. 16A: Farmakokinetické vlastnosti polypeptidu T1249 při podání jedné dávky kontinuální podkožní infuzí; obr. 16B: Farmakokinetické vlastnosti v plasmě polypeptidu T1249 podávaného podkožní injekcí (s.c.) nebo intravenózní injekcí (i.v.); obr. 16C: Kinetická analýza T1249 v lymfě a plasmě po intravenózním podání.

Obr. 17 A - B. Farmakokinetické vlastnosti polypeptidu T1249 v opicích cynomolgus; obr. 17A: Farmakokinetické vlastnosti v plasmě při jediné dávce 0,8 mg/kg polypeptidu T1249 subkutánní (s.c.), intravenózní (i.v.) nebo intramuskulární (i.m.) injekcí; obr. 17B: Farmakokinetické vlastnosti subkutánně podaného T1249 při třech různých dávkách (0,4 mg/kg, 0,8 mg/kg a 1,6 mg/kg).

#### Podrobný popis vynálezu

Budou popsány peptidové sekvence označované jako zesilující peptidové sekvence odvozené od různých proteinových sekvencí retrovirálního obalu (gp41), které jsou schopny zesilovat farmakokinetické vlastnosti základních polypeptidů, na které jsou navázány. Tyto zesilující peptidové sekvence mohou být použity při způsobech zlepšení farmakokinetických vlastností jakéhokoli základního polypeptidu navázáním zesilujících peptidových sekvencí na základní polypeptid za vytvoření hybridního polypeptidu se zlepšenými farmakokinetickými vlastnostmi ve srovnání se samotným základním polypeptidem. Poločas základního peptidu, na který jsou jedna nebo více zesilujících peptidových sekvencí navázané, může být také zvýšen in vitro. Například navázané zesilující peptidové sekvence mohou zvyšovat poločas základního polypeptidu, jestliže jsou přítomny v buněčné kultuře, tkáňové kultuře nebo vzorcích tkáně pacienta, jako jsou buňky, tkáň nebo jiné vzorky.

Základní polypeptidy hybridních polypeptidů podle vynálezu zahrnují jakýkoli peptid, který může být zaveden do živého systému, například peptid, který může fungovat jako léčebná nebo preventivní látka použitelná pro léčení nebo prevenci onemocnění, nebo jako zobrazovací látka využitelná pro zobrazování struktur in vivo. Jsou zde popisovány také peptidy včetně peptidů obsahujících zesilující peptidové sekvence, které vykonávají antifuzogenní a/nebo antivirální aktivity. Dále jsou popisovány způsoby použití těchto peptidů včetně způsobů snížení nebo inhibice virové infekce a/nebo fúze buněk indukované viry.

### 1. Hybridní polypeptidy

Hybridní polypeptidy podle vynálezu zahrnují alespoň jednu zesilující peptidovou sekvenci a základní polypeptid. S výhodou zahrnují hybridní polypeptidy podle vynálezu alespoň dvě zesilující peptidové sekvence a základní polypeptid, přičemž alespoň jeden zesilující peptid je přítomný v hybridním peptidu na aminovém konci vzhledem k základnímu peptidu a alespoň jedna zesilující peptidová sekvence je v hybridním polypeptidu přítomná na karboxylovém konci základního polypeptidu.

Zesilující peptidové sekvence podle vynálezu obsahují peptidové sekvence odvozené původně z různých proteinových sekvencí retrovirálního obalu (gp 41), včetně sekvencí HIV-1, HIV-2 a SIV, a specifické variace nebo modifikace těchto sekvencí popsané níže. Základní polypeptid může obsahovat jakoukoli peptidovou sekvenci, s výhodou jakoukoli peptidovou sekvenci, která může být zavedena do živého systému, včetně například peptidů použitelných pro terapeutické, profylaktické nebo zobrazovací účely.

Typicky bude mít hybridní polypeptid délku v rozmezí od přibližně 10 do přibližně 500 aminokyselinových zbytků, přičemž výhodné je rozmezí přibližně 10 až 100 aminokyselinových zbytků,

a nejvýhodnější je rozmezí délek přibližně 10 až přibližně 40 aminokyselin. I když si autoři nepřejí být vázáni jakoukoli konkrétní teorií, struktura proteinu obalu je taková, že se domnělá oblast  $\alpha$ -šroubovice umístěná na C-konci proteinu, pravděpodobně asociuje s leucinovou zipovou oblastí umístěnou v N-koncové oblasti proteinu. Uspořádání N-koncové a C-koncové zesilující peptidové sekvence oblastí gp41 pozorované ve všech dosud zveřejněných izolovaných sekvencích HIV-1, HIV-2 a SIV identifikovalo dohodnuté aminokyselinové sekvence.

Konkrétně byly identifikovány následující dohodnuté aminokyselinové sekvence představující dohodnuté zesilující peptidové sekvence (dohodnuté sekvence jsou uvedeny níže v dopředných a reverzních orientacích, protože uvedené zesilující peptidové sekvence mohou být použity buď v dopředné nebo v reverzní orientaci): „WXXWXXXI“, „WXXWXXX“, „WXXWXX“, „WXXWX“, „WXXW“, „WXXXWXWX“, „XXXWXWX“, „XXWXWX“, „XWXWX“, „WXWX“, „WXXXWXW“, „WXXXWX“, „WXXXW“, „IXXXWXXW“, „XXXWXXW“, „XXWXXW“, „XWXXW“, „XWXWXXXW“, „XWXWXXX“, „XWXWXX“, „XWXWX“, „XWXW“, „WXWXXXW“ nebo „XWXXXW“, kde X může být jakákoli aminokyselina, W znamená tryptofan a I znamená isoleucin. Dopředné orientace konvenčních aminokyselinových sekvencí jsou ukázány v obr. 1 a 2.

Typicky bude mít zesilující peptidová sekvence délku přibližně 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 nebo 30 aminokyselinových zbytků, přičemž výhodná je délka přibližně 4 až přibližně 20 zbytků, výhodnější je délka přibližně 4 až přibližně 10 zbytků a nejvýhodnější je délka přibližně 6 až přibližně 8 zbytků.

Ve výhodném provedení vynálezu mohou obsahovat zesilující peptidové sekvence, které mohou být použity ke zlepšení farmakokinetických vlastností získaných hybridních polypeptidů,

specifické zesilující peptidové sekvence zznázorněné v obr. 2, 13, a tabulce 1 níže. Mezi nejvýhodnější zesilující peptidové sekvence patří sekvence obsahující následující aminokyselinové sekvence: „WQEWEQKI“ a „WASLWEWF“. Jako příklad a bez omezení uvádí tabulka 1 níže aminokyselinové sekvence, které představují výhodná provedení zesilujících peptidových sekvencí podle vynálezu. Je třeba rozumět, že i když je dále znázorněna pouze dopředná orientace těchto sekvencí, do rozsahu předkládaného vynálezu také spadá reverzní orientace těchto sekvencí. Jestliže je například dále znázorněna dopředná orientace zesilující peptidové sekvence „WMEWDREI“, je také zahrnuta její reverzní orientace, tj. „IERDWEMW“.

#### Tabulka 1

WMEWDREI  
WQEWERKV  
WQEWEQKV  
MTWMEWDREI  
NNMTWMEWDREI  
WQEWEQKVRYLEANI  
NNMTWQEWEZKVRYLEANI  
WNWFI  
WQEWDREISNYTSLI  
WQEWEREISAYTSLI  
WQEWDREI  
WQEWEI  
WNWF  
WQEW  
WQAW  
WQEWEQKI  
WASLWNWF

WASLFNFF  
WDVFTNWL  
WASLWEWF  
EWASLWEWF  
WEWF  
EWEWF  
IEWEWF  
IEWEW  
EWEW  
WASLWEWF  
WAGLWEWF  
AKWASLWEWF  
AEWASLWEWF  
WASLWAWF  
AEWASLWAWF  
AKWASLWAWF  
WAGLWAWF  
AEWAGLWAWF  
WASLWAW  
AEWASLWAW  
WAGLWAW  
AEWAGLWAW  
DKWEWF  
IEWASLWEWF  
IKWASLWEWF  
DEWEWF  
GGWASLWNWF  
GGWNWF

V dalším výhodném provedení zahrnují konkrétní zesilující peptidové sekvence podle vynálezu zesilující peptidové sekvence znázorněné na obr. 2, 13 a v tabulce 1, které vykazují konzervativní substituce aminokyselin v jedné, dvou nebo třech polohách, přičemž

uvedené substituce nesnižují schopnost zesilující peptidové sekvence zlepšovat farmakokinetické vlastnosti hybridního polypeptidu, vzhledem k odpovídajícímu základnímu polypeptidu.

Tyto substituce nejvýhodněji vedou k zesilujícím peptidovým sekvencím, které spadají do jedné z konvenčních zesilujících peptidových sekvencí. Substituce jako takové se obecně provádějí na zbytcích aminokyselin odpovídajících polohám „X“ znázorněným v konvenčních aminokyselinových sekvencích uvedených výše a v obr. 1 a 2. „Konzervativní substituce“ označují substituce zbytky aminokyselin s podobným nábojem, velikostí a/nebo hydrofobními/hydrofilními vlastnostmi, jako má substituovaný aminokyselinový zbytek. Tyto vlastnosti aminokyselin jsou odborníkům v oboru dobře známy.

Předkládaný vynález dále poskytuje zesilující peptidové sekvence obsahující aminokyselinové sekvence z obr. 1, 2, 13 a tabulky 1, které jsou jinak stejné, ale uvedené zesilující peptidové sekvence obsahují adice jedné nebo více aminokyselin (obecně ne více než 15 aminokyselinových zbytků v délce), delece (například zkrácení na aminovém nebo karboxylovém konci) nebo nekonzervativní substituce, které však nesnižují schopnost získaného zesilujícího peptidu zvyšovat farmakokinetické vlastnosti základních polypeptidů, které jsou k němu připojeny, vzhledem k základním peptidům bez těchto zesilujících peptidových sekvencí.

Počet adicí není obecně větší než přibližně 15 aminokyselinových zbytků a mohou zahrnovat adice přibližně 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 nebo 15 za sebou následujících aminokyselinových zbytků. Celkový počet zbytků aminokyselin přidaných k původnímu zesilujícímu peptidu není s výhodou vyšší než přibližně 15 aminokyselinových zbytků, výhodněji není vyšší než přibližně 10 aminokyselinových zbytků a nejvýhodněji není vyšší než přibližně 5 aminokyselinových zbytků.



Delece jsou s výhodou delece ne více než celem přibližně 3 aminokyselinových zbytků (buď následujících nebo nenásledujících za sebou), výhodnější jsou delece s výhodou 2 aminokyselinových zbytků a nejvýhodnější jsou delece jednoho aminokyselinového zbytku. Obecně se budou delece týkat zbytků aminokyselin odpovídajícím zbytkům označeným „X“ konvenčních sekvencí zesilujících peptidů.

Zsilující peptidové sekvence podle vynálezu také zahrnují konkrétní zesilující peptidové sekvence znázorněné na obr. 2, 13 a v tabulce 1, obsahující jednu, dvě nebo tři substituce nekonzervativních aminokyselin, přičemž výhodné jsou dvě takové substituce a nejvýhodnější je jedna taková substituce. Označení „nekonzervativní“ substituce se týká substitucí aminokyselinovými zbytky, které nemají podobný náboj, velikost a/nebo hydrofobní/hydrofilní vlastnosti jako nahrazovaný aminokyselinový zbytek. Tyto vlastnosti aminokyselin jsou odborníkům v oboru dobře známé.

Navíc nemusí být substituce aminokyselin, a v některých provedeních s výhodou nejsou, omezeny na geneticky kódované aminokyseliny. Peptidy mohou samozřejmě obsahovat geneticky nekódované aminokyseliny. Navíc k přírodně se vyskytujícím geneticky kódovaným aminokyselinám mohou být zbytky aminokyselin v peptidech nahrazeny v přírodě se vyskytujícími nekódovanými aminokyselinami i syntetickými aminokyselinami.

Některé běžně používané aminokyseliny, které poskytují použitelné substituce, zahrnují bez omezení  $\beta$ -alanin ( $\beta$ -Ala) a jiné omega-aminokyseliny jako je 3-aminopropionová kyselina, 2,3-diaminopropionová kyselina (Dpr), 4-aminomáselná kyselina atd.;  $\alpha$ -aminoisomáselná kyselina (Aib);  $\epsilon$ -aminohexanová kyselina (Aha);  $\delta$ -aminovalerová kyselina (Ava); N-methylglycin nebo sarkosin (MeGly); ornithin (Orn); citrullin (Cit); t-butylalanin (t-BuA); t-butylglycin (t-BuG); N-methylisoleucin (Melle); fenyglycin (Phg); cyklohexylalanin (Cha);

norleucin (Nle); naftylalanin (Nal); 4-chlorfenylalanin (Phe(4-Cl)); 2-fluorfenylalanin (Phe(2-F)); 3-fluorfenylalanin (Phe(3-F)); 4-fluorfenylalanin (Phe(4-F)); penicillamin (Pen); kyselina 1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-karboxylová (Tic);  $\beta$ -2-thienylalanin (Thi); methioninsulfoxid (MSO); homoarginin (hArg); N-acetyllysin (AcLys); kyselina 2,4-diaminomásečná (Dbu); kyselina 2,3-diaminomásečná (Dab); *p*-aminofenylalanin (Phe(*p*NH<sub>2</sub>)); N-methylvalin (MeVal); homocystein (hCys), homofenylalanin (hPhe) a homoserin (hSer); hydroxyprolin (Hyp), homoprolin (hPro), N-methylované aminokyseliny a peptoidy (N-substituované glyciny).

I když budou ve většině případů aminokyseliny peptidu substituované L-enantiomery aminokyselin, substituce nejsou na tyto L-enantiomerní aminokyseliny omezeny. V definici „mutovaných“ nebo „změněných“ forem jsou tedy také zahrnuty situace, kdy je L-aminokyselina nahrazena identickou D-aminokyselinou (např. L-Arg → D-Arg) nebo D-aminokyselinou stejné kategorie nebo subkategorie (např. L-Arg → D-Lys) a naopak.

Je třeba rozumět, že předkládaný vynález zahrnuje také analogy peptidů, ve kterých je jedna nebo více amidových vazeb popřípadě nahrazena vazbou jinou než amidovou, s výhodou substituovaný amid nebo isoster amidu. I když tedy budou zbytky aminokyselin v peptidech obecně popisovány z hlediska aminokyselin, a výhodná provedení vynálezu jsou ukazována na příkladech peptidů, odborníkům v oboru bude zřejmé, že v provedeních obsahujících neamidové vazby se týká termín „aminokyselina“ nebo „zbytek“ jiných bifunkčních skupin nesoucích skupiny podobné strukturou postranním řetězcům aminokyselin. Navíc mohou být tyto zbytky aminokyselin blokovány nebo neblokované.

Dále může být jedna nebo více amidových vazeb nahrazena peptidomimetickými nebo amidomimetickými skupinami, které výrazně neinterferují se strukturou nebo aktivitou peptidů. Vhodné

amidomimetické skupiny se popisují například v Olson a další, 1993, J. Med. Chem. 36: 3049.

Zasilující peptidové sekvence mohou být použity pro zlepšení farmakokinetických vlastností základního polypeptidu ve formě buď N-koncových, C-koncových, nebo - a C-koncových adicí. I když je výhodné, aby byly zesilující peptidové sekvence používány v párech, tj. aby výhodné hybridní polypeptidy obsahovaly zesilující peptidové sekvence jak na aminovém, tak i na karboxylovém konci, hybridní polypeptidy mohou obsahovat také jediný zesilující peptid, přičemž tento peptid je přítomen buď na aminovém nebo na karboxylovém konci hybridního polypeptidu. Navíc mohou být zesilující peptidy použity buď v dopředné nebo reverzní orientaci nebo v jakékoli možné kombinaci navázány na základní polypeptid. Je třeba poznamenat, že jakýkoli ze zesilujících peptidů může být zaváděn buď na N-konci nebo C-konci základního polypeptidu. Ještě dále mohou být v N-, C-, nebo - a C-koncových polohách hybridních polypeptidů zaváděny vícečetné zesilující peptidové sekvence. Vícečetné zesilující peptidové sekvence mohou být navázány přímo jedna na druhou stejnými druhy vazeb jako se používají pro vazbu zesilující peptidové sekvence na základní polypeptid (viz níže). Navíc může být mezi jednu nebo více vícečetných zesilujících peptidových sekvencí vložena aminokyselinová sekvence stejného druhu, jak se popisuje níže. Vícečetné zesilující peptidové sekvence budou typicky obsahovat od 2 do přibližně 10 jednotlivých zesilujících peptidových sekvencí (se stejnou nebo rozdílnou aminokyselinovou sekvencí), přičemž přibližně 2 až 4 tyto sekvence budou výhodné.

Je třeba rozumět, že základní polypeptid je obecně navázán na zesilující peptidy prostřednictvím peptidové amidové vazby, ačkoli pro spojení zesilujících peptidových sekvencí se základními polypeptidy mohou být použity i jiné vazby než jsou vazby amidové. Tyto vazby jsou dobře známé odborníkům v oboru a patří mezi ně například jakákoli vazba uhlík-uhlík, esterová vazba nebo chemická vazba

fungující tak, aby spojila zesilující peptidové sekvence podle vynálezu se základním peptidem.

Typicky je zesilující peptidová sekvence navázána přímo na základní polypeptid. Zesilující peptidová sekvence může být také navázána na vložené aminokyselinové sekvence přítomné mezi zesilující peptidovou sekvencí a základním polypeptidem. Vložené aminokyselinové sekvence mohou mít typicky rozmezí velikostí od přibližně 1 do přibližně 50 aminokyselinových zbytků, přičemž výhodné jsou délky přibližně 1 až přibližně 10 aminokyselinových zbytků. Stejně druhy vazeb popisovaných pro spojení zesilujícího peptidu se základním polypeptidem mohou být použity pro spojení zesilujícího peptidu s vloženým peptidem.

Jak je diskutováno v případě zesilujících peptidových sekvencí výše, základní a vložené aminokyselinové sekvence nemusí být omezeny na geneticky kódované aminokyseliny, ale mohou obsahovat jakoukoli aminokyselinu a modifikace vazeb popisované výše.

Aminové a/nebo karboxylové konce získaného hybridního polypeptidu mohou obsahovat aminoskupinu ( $-NH_2$ ), popřípadě karboxylovou ( $-COOH$ ) skupinu. Alternativně může být aminový konec hybridního polypeptidu například hydrofobní skupina, včetně bez omezení skupin karbobenzyl, dansyl, t-butoxykarbonyl, dekanoyl, naftoyl nebo jiné uhlohydrátové skupiny; acetylová skupina; skupina 9-fluorenylmethoxykarbonyl (FMoc); nebo modifikovaný zbytek aminokyseliny, který se nevyskytuje v přírodě. Alternativně může karboxylový konec hybridního polypeptidu obsahovat amidovou skupinu; skupinu t-butoxykarbonyl; nebo modifikovaný zbytek aminokyselin, který se nevyskytuje v přírodě. Jako neomezující příklad aminových a/nebo karboxylových konců může získaný hybridní polypeptid obsahovat jakoukoli z modifikací aminových a/nebo karboxylových konců uvedených v peptidech z obr. 13 nebo tabulky 2 níže.

Hybridní polypeptid typicky obsahuje aminokyselinovou sekvenci, která se nevyskytuje v přírodě. To znamená, že aminokyselinová sekvence hybridního polypeptidu se typicky neskládá výlučně z aminokyselinové sekvence nebo fragmentu endogenního, v přírodě se vyskytujícího polypeptidu. Navíc nemá hybridní polypeptid obsahovat pouze polypeptid vyskytující se v přírodě s úplnou délkou.

Základní polypeptidy mohou obsahovat jakýkoli polypeptid, který lze zavést do živého systému, například jakýkoli polypeptid, který může fungovat jako farmakologicky využitelný polypeptid. Tyto základní polypeptidy mohou být například použitelné pro léčení nebo prevenci onemocnění, nebo pro použití v diagnostických nebo prognostických metodách, včetně metod zobrazování in vivo. Dolní limit velikosti základního polypeptidu je typicky přibližně 4 až 6 aminokyselinových zbytků. Teoreticky neexistuje žádný horní limit velikosti základního polypeptidu, protože takový základní polypeptid může obsahovat jakýkoli polypeptid vyskytující se v přírodě nebo jeho fragment, nebo jakýkoli modifikovaný nebo syntetický polypeptid. Typicky má však základní polypeptid délku v rozmezí od přibližně 4 až 6 aminokyselin do přibližně 494 až 500 aminokyselin, přičemž výhodná jsou rozmezí přibližně 4 až přibližně 94 až 100 aminokyselinových zbytků a nejvýhodnější jsou rozmezí přibližně 4 až přibližně 34 až 40 aminokyselinových zbytků.

Příklady možných základních polypeptidů poskytovaných výlučně jako příklady a nikoli jako omezení, zahrnují bez omezení růstové faktory, cytokiny, terapeutické polypeptidy, hormony, např. insulin, a peptidové fragmenty hormonů, inhibitory nebo látky zesilující účinek cytokinů, peptidové růstové a diferenciacní faktory, interleukiny, chemokiny, interferony, faktory stimulující tvorbu kolonií, angiogenní faktory, receptorové ligandy, agonistické, antagonistické nebo inverzně agonistické látky, peptidové látky s cílenými účinky a proteiny extracelulární matrice jako je kolagen, laminin, fibronectin a integrin, pokud uvádíme pouze některé. Navíc mohou možné základní peptidy

zahrnovat virové nebo bakteriální polypeptidy, které mohou fungovat buď přímo nebo nepřímo jako imunogeny nebo antigeny, a mohou být tedy použitelné při léčení nebo prevenci patologických stavů.

Reprezentativní příklady hybridních polypeptidů, které obsahují základní polypeptidy odvozené od virových proteinových sekvencí, jsou ukázány v obr. 13, kde jsou sekvence základních polypeptidů stínovány. Základní polypeptidy také bez omezení zahrnují polypeptidy uvedené v US patentu No. 5,464,933, US patentu No. 5,656,480 a WO 96/19495, které se uvádějí ve své úplnosti odkazem.

Sekvence základního polypeptidu mohou dále obsahovat bez omezení polypeptidové sekvence uvedené v tabulce 2 níže. Je třeba poznamenat, že peptidy uvedené v tabulce 2 zahrnují hybridní polypeptidy navíc k základním polypeptidům. Sekvence hybridních polypeptidů budou však zřejmé ve světle koncových zesilujících peptidových sekvencí jako částí hybridních polypeptidů.

#### Tabulka 2

No.	Sekvence
1	GIKQLQARILAVEERYLKDQ
2	NNLLRAIEAQQHILLQLTVW
3	NEQELLELDKWASLWNWF
4	YTSLIHSLIESSQNQKEK
5	Ac-VWGIKQLQARILAVEERYLKDQQLLGIWG-NH <sub>2</sub>
6	QHLLQLTVWGIKQLQARILAVEERYLKDQ
7	LRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAV
8	VQQNNLLQARIEAQQHLLQLTVWGIKQL
9	RQLLSGIVQQNNLLRAIEAQQHLLQLT
10	MTLTVQARQLLSGIVQQNNLLRAIEAQ
11	VVSLSNGVSVLTskVLDLKNYIDKQLL

- 12 VVSLNSGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLL
- 13 LLSTNKAVVSLNSGVSVLTSKVLDLKNY
- 15 Ac-VLHLEGEVFNKIKSALLSTNKAVVSLNSG-NH<sub>2</sub>
- 19 Ac-LLSTNKAVVSLNSGVSVLTSKVLDLKNY-NH<sub>2</sub>
- 20 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 21 Ac-NNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQ-NH<sub>2</sub>
- 22 Ac-IELSNIKENKCNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMAST-  
-NH<sub>2</sub>
- 23 Ac-IELSNIKENKCNGTDAKVKLIKQELDKY-NH<sub>2</sub>
- 24 Ac-ENKCNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTEL-NH<sub>2</sub>
- 25 Ac-DAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQST-NH<sub>2</sub>
- 26 Ac-CNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLL-NH<sub>2</sub>
- 27 Ac-SNIKENKCHGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLL-NH<sub>2</sub>
- 28 Ac-ASGVAVSKVLHLEGEVFNKIKSALLSTNKAVVSLNSGV-NH<sub>2</sub>
- 29 Ac-SGVAVSKVLHLEGEVFNKIKSALLSTNKAVVSLNSG-NH<sub>2</sub>
- 30 Ac-VLHLEGEVFNKIKSALLSTHKAVVSLNSGVSVLTSK-NH<sub>2</sub>
- 31 Ac-ARKLQRMKQLEDKVEELLSKNYHYLENEVARLKKLV-NH<sub>2</sub>
- 32 Ac-RMKQLEDKVEELLSKNYHYLENEVARLKKLVGER-NH<sub>2</sub>
- 33 Ac-VQQQNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQL-NH<sub>2</sub>
- 34 Ac-LRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLOARILAV-NH<sub>2</sub>
- 35 Ac-QHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQ-NH<sub>2</sub>
- 36 Ac-RQLLSGIVQQQNLLRAIEAQQHLLQLT-NH<sub>2</sub>
- 37 Ac-MTLTVQARQLLSGIVQQQNLLRAIEAQ-NH<sub>2</sub>
- 38 Ac-AKQARSDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSS-NH<sub>2</sub>
- 39 Ac-AAVALVEAKQARSDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSS-NH<sub>2</sub>
- 40 Ac-AKQARSDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVA-NH<sub>2</sub>
- 41 Ac-GTIALGVATSAQITAAVALVEAKQARSD-NH<sub>2</sub>
- 42 Ac-ATSAQITAAVALVEAKQARSDIEKLKEA-NH<sub>2</sub>

- 43 Ac-AAVALVEAKQARSDIEKLKEAIRDTNKA-NH<sub>2</sub>
- 44 Ac-IEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVA-NH<sub>2</sub>
- 45 Ac-IRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIAKSVQDY-NH<sub>2</sub>
- 46 Ac-AVQSVQSSIGNLIVAIAKSVQDYVNKEIV-NH<sub>2</sub>
- 47 Ac-ARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGI-  
-KQLARILAVERYLKDQ-NH<sub>2</sub>
- 48 Ac-QARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQ-NH<sub>2</sub>
- 49 Ac-MTWMEMDREINNYTSLIGSLIEESQNQQEKNEQE-  
-LLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 50 Ac-WMEWDREINNYTSLIGGSLIEESQNQQEKNEQELLE-NH<sub>2</sub>
- 51 Ac-INNYTSLIGGSLIEESQNQQEKNEQELLE-NH<sub>2</sub>
- 52 Ac-INNYTSLIGGSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASL-NH<sub>2</sub>
- 53 Ac-EWDRENNYTSIGSLIEESQNQQEKNEQEGGC-NH<sub>2</sub>
- 54 Ac-QSRTLLAGIVQQQCLLDVVKRQQELLR-NH<sub>2</sub>
- 55 Ac-NNDTWQEWERKVDVFLEENITALLEEAQIQQEKN-  
-MYELQKLNSWD-NH<sub>2</sub>
- 56 Ac-WQEWERKVDVFLEENITALLEEAQIQQEKN-NH<sub>2</sub>
- 57 Ac-VDFLEENITALLEEAQIQQEKNMYELQK-NH<sub>2</sub>
- 58 Ac-ITALLEEAQIQQEKNMYELQKLNSWDVF-NH<sub>2</sub>
- 59 Ac-SSESFTLLEQWNNWKLQLAEQWLEQINEKHYLEDIS-NH<sub>2</sub>
- 60 Ac-DKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 61 Ac-NEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 62 Ac-EKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 63 Ac-NQQEKKEQELLELDKWASLWWWF-NH<sub>2</sub>
- 64 Ac-ESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 65 Ac-LIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 66 Ac-NDQKKLMSNNQIVRQQSYSIMSIIKEE-NH<sub>2</sub>
- 67 Ac-DEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>



- 68 Ac-VSKGYSALRTGWYTSVITIELSNIKEN-NH<sub>2</sub>
- 69 Ac-VVSLSNGVSVLTSTKVLDLKKNYIDKQLL-NH<sub>2</sub>
- 70 Ac-VNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTK-NH<sub>2</sub>
- 71 Ac-PIINFYDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLVFIR-NH<sub>2</sub>
- 72 Ac-NLVYAQLQFTYDTLRGYINRALAQIAEA-NH<sub>2</sub>
- 73 Ac-LNQVDLTETLERYQQRLNTYALVSKDASYRS-NH<sub>2</sub>
- 74 Ac-ELLVLKKAQLNRHSYKDSDFLDAALD-NH<sub>2</sub>
- 75 Ac-LAEAGESSVTEDTEREDTEEEEREDEEEE-NH<sub>2</sub>
- 76 Ac-ALLAEAGEESVTEDTEREDTEEEEREDEEEENEART-NH<sub>2</sub>
- 77 Ac-ETERSVDLVAALLAEAGEESVTEDTEREDTEEEERE-NH<sub>2</sub>
- 78 Ac-EESVTEDTEREDTEEEEREDEEEENEART-NH<sub>2</sub>
- 79 Ac-VDLVAALLAEAGEESVTEDTEREDTEEE-NH<sub>2</sub>
- 80 Ac-NSETERSVDLVAALLAEAGEESVTE-NH<sub>2</sub>
- 81 Ac-DISYAQLQFTYDVLKDYINDALRNINMDA-NH<sub>2</sub>
- 82 Ac-SNVFSKDEIMREYNSQKQHIRTLSAKVNON-NH<sub>2</sub>
- 83 Biotin-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 84 Dig-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 85 Biotin-NNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQ-  
-NH<sub>2</sub>
- 86 Dig-NNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQ-NH<sub>2</sub>
- 87 Ac-VLHQLNIQLKQYLETQERLLGNRIAARQLLQIWKDVA-NH<sub>2</sub>
- 88 Ac-LWHEQLLNTAQRAGLQLQLQLINQALAVREKVLIRYDIQK-  
-NH<sub>2</sub>
- 89 Ac-LLDNFESTWEQSKELWEQQEISIQNLHKSALQEYW-NH<sub>2</sub>
- 90 Ac-LSNLLQISNNSDEWLEALEIEHEKWKLQWQSYEQF-NH<sub>2</sub>
- 91 Ac-KLEALEGKLEALEGKLEALEGKLEALEGKLEALEGK-NH<sub>2</sub>
- 92 Ac-ELRALRGELRALRGELRALRGELARALRGK-NH<sub>2</sub>
- 93 Ac-ELKAKELEGEGLAEGEEALKGLLEKAAKLEGLELLK-NH<sub>2</sub>

- 94 Ac-WEAAAREAAAREAAAREAAARA-NH<sub>2</sub>
- 95 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNAF-NH<sub>2</sub>
- 96 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNENEQELLELDKWASLANWF-NH<sub>2</sub>
- 97 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNQQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 98 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLQLDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 99 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNQQELLQLDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 100 Ac-RMKQLEDKVEELLSKNYHLENEVARLKKLVGER-NH<sub>2</sub>
- 101 Ac-QQLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKNQ-NH<sub>2</sub>
- 102 Ac-NEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 103 Ac-YTSLIQSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 104 Ac-INFYDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRK-NH<sub>2</sub>
- 105 Ac-INFYDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKS-NH<sub>2</sub>
- 106 Ac-NFYDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSD-NH<sub>2</sub>
- 107 Ac-FYDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDE-NH<sub>2</sub>
- 108 Ac-YDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL-NH<sub>2</sub>
- 109 Ac-DPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 110 Ac-PLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLH-NH<sub>2</sub>
- 111 Ac-LVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHN-NH<sub>2</sub>
- 112 Ac-VFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 113 Ac-FPSEDFDASISQVNEKINQWLAFIRKSDELLHNVN-NH<sub>2</sub>
- 114 Ac-PSDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNA-NH<sub>2</sub>
- 115 Ac-SDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAG-NH<sub>2</sub>
- 116 Ac-DFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGK-NH<sub>2</sub>
- 117 Ac-EFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKS-NH<sub>2</sub>
- 118 Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 119 Ac-DASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKSTT-NH<sub>2</sub>
- 120 Ac-ASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSN-NH<sub>2</sub>
- 121 Ac-SGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNG-NH<sub>2</sub>

- 122 Ac-GVAVSKVLHLEGEVNIKISALLSTNKAVVSLSNNGY-NH<sub>2</sub>
- 123 Ac-VAVSKVLHLEGEVNIKISALLSTNKAVVSLSNNGVS-NH<sub>2</sub>
- 124 Ac-AVSKVLHLEGEVNIKISALLSTNKAVVSLSNNGVSV-NH<sub>2</sub>
- 125 Ac-VSKVLHLEGEVNIKISALLSTNKAVVSLSNNGVSVL-NH<sub>2</sub>
- 126 Ac-SKVLHLEGEVNIKISALLSTNKAVVSLSNNGVSVLT-NH<sub>2</sub>
- 127 Ac-KVLHLEGEVNIKISALLSTNKAVVSLSNNGVSVLTS-NH<sub>2</sub>
- 128 Ac-VLHLEGEVNIKISALLSTNKAVVSLSNNGVSVLTTSK-NH<sub>2</sub>
- 129 Ac-LHLEGEVNIKISALLSTNKAVVSLSNNGVSVLTTSKV-NH<sub>2</sub>
- 130 Ac-HLEGEVNIKISALLSTNKAVVSLSNNGVSVLTTSKVL-NH<sub>2</sub>
- 131 Ac-LEGEVNIKISALLSTNKAVVSLSNNGVSVLTTSKVLD-NH<sub>2</sub>
- 132 Ac-EGEVNINSALLSTNKAVVSLSNNGVSVLTTSKVLDL-NH<sub>2</sub>
- 133 Ac-GEVNIKISALLSTNKAVVSLSNNGVSVLTTSKVLDLK-NH<sub>2</sub>
- 134 Ac-EVNIKISALLSTNKAVVSLSNNGVSVLTTSKVLDLKN-NH<sub>2</sub>
- 135 Ac-VNIKISALLSTNKAVVSLSNNGVSVLTTSKVLDLKNY-NH<sub>2</sub>
- 136 Ac-NIKISALLSTNKAVVSLSNNGVSVLTTSKVLDLKNYI-NH<sub>2</sub>
- 137 Ac-KISALLSTNKAVVSLSNNGVSVLTTSKVLDLKNYID-NH<sub>2</sub>
- 138 Ac-IKSALLSTNKAVVSLSNNGVSVLTTSKVLDLKNYIDK-NH<sub>2</sub>
- 139 Ac-KSALLSTNKAVVSLSNNGVSVLTTSKVLDLKNYIDKQ-NH<sub>2</sub>
- 140 Ac-SALLSTNKAVVSLSNNGVSVLTTSKVLDLKNYIDKQL-NH<sub>2</sub>
- 141 Ac-ALLSTNKAVVSLSNNGVSVLTTSKVLDLKNYIDKQLL-NH<sub>2</sub>
- 142 Ac-YTSVITIELSNIKENKCNGTDAKVKLIKQELDKYK-NH<sub>2</sub>
- 143 Ac-TSVITIELSNIKENKCNGTDAKVKLIKQELDKYKN-NH<sub>2</sub>
- 144 Ac-SVITIELSNIKENKCNGTDAKVKLIKQELDKYKNA-NH<sub>2</sub>
- 145 Ac-VITIELSNIKENKCNGTDAKVKLIKQELDKYKNAV-NH<sub>2</sub>
- 146 Ac-ITIELSNIKENKCNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTE-NH<sub>2</sub>
- 147 Ac-TIELSNIKENKCNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTE-NH<sub>2</sub>
- 148 Ac-IELSNIKENKCNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELE-NH<sub>2</sub>
- 149 Ac-ELSNIKENKCNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELEQ-NH<sub>2</sub>

- 150 Ac-LSNIKENKCNNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTEQL-NH<sub>2</sub>
- 151 Ac-SNIKENKCNNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTEQLL-NH<sub>2</sub>
- 152 Ac-NIKENKCNNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTEQLLM-NH<sub>2</sub>
- 153 Ac-IKENKCNNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTEQLLMQ-NH<sub>2</sub>
- 154 Ac-KENKCNNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTEQLLMQS-NH<sub>2</sub>
- 155 Ac-EKKCNNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELDLLMQST-NH<sub>2</sub>
- 156 Ac-LLDNFESTWEQSKELWELQEISIQNLHKSALQEYWN-NH<sub>2</sub>
- 157 Ac-ALGVATSAQITAAVALVEAKQARSDIEKLKEAIRD-NH<sub>2</sub>
- 158 Ac-LGVATSAQITAAVALVEAKQARSDIEKLKEAIRDT-NH<sub>2</sub>
- 159 Ac-GVATSAQITAAVALVEAKQARSDIEKLKEAIRDTN-NH<sub>2</sub>
- 160 Ac-VATSAQITAAVALVEAKQARSDIEKLKEAIRDTNK-NH<sub>2</sub>
- 161 Ac-ATSAQITAAVALVEAKQARSDIEKLKEAIRDTNKA-NH<sub>2</sub>
- 162 Ac-TSAQITAAVALVEAKQARSDIEKLKEAIRDTNKAV-NH<sub>2</sub>
- 163 Ac-SAQITAAVALVEAKQARSDIEKLKEAIRDTNKAVQ-NH<sub>2</sub>
- 164 Ac-AQITAAVALVEAKQARSDIEKLKEAIRDTNKAVQS-NH<sub>2</sub>
- 165 Ac-QITAAVALVEAKQARSDIEKLKEAIRDTNKAVQSV-NH<sub>2</sub>
- 166 Ac-ITAAVALVEAKQARSDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQ-NH<sub>2</sub>
- 167 Ac-TAAVALVEAKQARSDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQS-NH<sub>2</sub>
- 168 Ac-AAVALVEAKQARSDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSS-NH<sub>2</sub>
- 169 Ac-AVALVEAKQARSDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSI-NH<sub>2</sub>
- 170 Ac-VALVEAKQARSDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIG-NH<sub>2</sub>
- 171 Ac-ALVEAKQARSDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGN-NH<sub>2</sub>
- 172 Ac-LVEAKQARSDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNL-NH<sub>2</sub>
- 173 Ac-VEAKQARSDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLI-NH<sub>2</sub>
- 174 Ac-EAKQARSDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIV-NH<sub>2</sub>
- 175 Ac-KQARSDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAI-NH<sub>2</sub>
- 176 Ac-QARSDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIK-NH<sub>2</sub>
- 177 Ac-ARSDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIKS-NH<sub>2</sub>

- 178 Ac-RSDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIAKSV-NH<sub>2</sub>  
 179 Ac-SDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIAKSVQ-NH<sub>2</sub>  
 180 Ac-DIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIAKSVQD-NH<sub>2</sub>  
 181 Ac-IEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIAKSVQDY-NH<sub>2</sub>  
 182 Ac-EKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIAKSVQDYV-NH<sub>2</sub>  
 183 Ac-KLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIAKSVQDYVN-NH<sub>2</sub>  
 184 Ac-LKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIAKSVQDYVNK-NH<sub>2</sub>  
 185 Ac-KEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIAKSVQDYVNKE-NH<sub>2</sub>  
 186 Ac-EAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIAKSVQDYVNKEI-NH<sub>2</sub>  
 187 Ac-AIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIAKSVQDYVNKEIV-NH<sub>2</sub>  
 188 Ac-IRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIAKSVQDYVNKEIV-NH<sub>2</sub>  
 189 Ac-YTPNDITLNNSVALDPIDISIELNKAKSDLEESKE-NH<sub>2</sub>  
 190 Ac-TPNDITLNNSVALDPIDISIELNKAKSDLEESKEW-NH<sub>2</sub>  
 191 Ac-PNDITLNNSVALDPIDISIELNKAKSDLEESKEWI-NH<sub>2</sub>  
 192 Ac-NDITLNNSVALDPIDISIELNKAKSDLEESKEWIR-NH<sub>2</sub>  
 193 Ac-DITLNNSVALDPIDISIELNKAKSDLEESKEWIRR-NH<sub>2</sub>  
 194 Ac-ITLNNSVALDPIDISIELNKAKSDLEESKEWIRRS-NH<sub>2</sub>  
 195 Ac-TLNNSVALDPIDISIELNKAKSDLEESKEWIRRSN-NH<sub>2</sub>  
 196 Ac-LNNSVALDPIDISIELNKAKSDLEESKEWIRRSNQ-NH<sub>2</sub>  
 197 Ac-NNSVALDPIDISIELNKAKSDLEESKEWIRRSNQK-NH<sub>2</sub>  
 198 Ac-NSVALDPIDISIELNKAKSDLEESKEWIRRSNQKL-NH<sub>2</sub>  
 200 Ac-VALDPIDISIELNKAKSDLEESKEWIRRSNQKLDS-NH<sub>2</sub>  
 201 Ac-ALDPIDISIELNKAKSDLEESKEWIRRSNQKLDSI-NH<sub>2</sub>  
 202 Ac-LDPIDISIELNKAKSDLEESKEWIRRSNQKLDSIG-NH<sub>2</sub>  
 203 Ac-DPIDISIELNKAKSDLEESKEWIRRSNQKLDSIGN-NH<sub>2</sub>  
 204 Ac-PIDISIELNKAKSDLEESKEWIRRSNQKLDSIGNW-NH<sub>2</sub>  
 205 Ac-IDISIELNKAKSDLEESKEWIRRSNQKLDSIGNWH-NH<sub>2</sub>  
 206 Ac-DISIELNKAKSDLEESKEWIRRSNQKLDSIGNWIQ-NH<sub>2</sub>

- 207 Ac-ISIELNKAKSDLEESKEWRRSNQKLDSIGNWHQS-NH<sub>2</sub>  
 208 Ac-SIELNKAKSDLEESKEWIRRSNQKLDSIGNWHQSS-NH<sub>2</sub>  
 209 Ac-IELNKAKSDLEESKEWIRRSNQKLDSIGNWHQSST-NH<sub>2</sub>  
 210 Ac-ELNKAKSDLEESKEWIRRSNQKLDSIGNWHQSSTT-NH<sub>2</sub>  
 211 Ac-ELRALRGELRALRGELRALRGELRALRGELRALRGK-NH<sub>2</sub>  
 212 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>  
 213 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELNKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>  
 214 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>  
 215 Ac-YTSLIHSLIQESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>  
 216 Ac-YTSLIHSLIQSQNQQQKNQQQLLNKWASLWNWT-NH<sub>2</sub>  
 217 Ac-EQEELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>  
 218 Ac-QELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>  
 219 Ac-ELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>  
 220 Ac-LLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>  
 .221 Ac-LELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>  
 .222 Ac-ELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>  
 .226 Ac-WASLWNWF-NH<sub>2</sub>  
 .227 Ac-ASLWNWF-NH<sub>2</sub>  
 229 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLANAA-NH<sub>2</sub>  
 230 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQQLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>  
 .231 Ac-YTSLIQSLIEESQNQQEKNNQEELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>  
 234 Ac-EAAAREAAAREAAARLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>  
 .236 Ac-PSLRDPISAEISIQALSYALGGDINKYLEKLGYSG-NH<sub>2</sub>  
 237 Ac-SLRDPISAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSGG-NH<sub>2</sub>  
 .238 Ac-LRDPISAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSGGD-NH<sub>2</sub>  
 239 Ac-RDPISAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSGGDL-NH<sub>2</sub>  
 .240 Ac-DPISAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSGGDLL-NH<sub>2</sub>  
 .241 Ac-PISAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSGGDLLG-NH<sub>2</sub>

- 242 Ac-ISAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSGGDLLGI-NH<sub>2</sub>  
 243 Ac-SAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSGGDLLGIL-NH<sub>2</sub>  
 244 Ac-AEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSGGDLLGILE-NH<sub>2</sub>  
 245 Ac-EISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSGGDLLGILES-NH<sub>2</sub>  
 246 Ac-ISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSGGDLLGILES-R-NH<sub>2</sub>  
 247 Ac-SIQALSYALGGDINKVLEKLGYSGGDLLGILES-RG-NH<sub>2</sub>  
 248 Ac-IQALSYALGGDINKVLEKLGYSGGDLLGILES-RGI-NH<sub>2</sub>  
 249 Ac-QALSYALGGDINKVLEKLGYSGGDLLGILES-RGIK-NH<sub>2</sub>  
 250 Ac-ALSYALGGDINKVLEKLGYSGGDLLGILES-RGIKA-NH<sub>2</sub>  
 251 Ac-LSYALGGDINKVLEKLGYSGGDLLGILES-RGIKAR-NH<sub>2</sub>  
 252 Ac-PDAVYLHRIDLGPPI-SLERLDVGTNLGNIAIAKLED-NH<sub>2</sub>  
 253 Ac-DAVYLHRIDLGPPI-SLERLDVGTNLGNIAIAKLEDA-NH<sub>2</sub>  
 254 Ac-AVYLHRIDLGPPI-SLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAK-NH<sub>2</sub>  
 255 Ac-VYLHRIDLGPPI-SLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKE-NH<sub>2</sub>  
 256 Ac-YLHRIDLGPPI-SLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKEL-NH<sub>2</sub>  
 257 Ac-LHRIDLGPPI-SLERLDVGTNLGHIAIAKLEDAKELL-NH<sub>2</sub>  
 258 Ac-HRIDLGPPI-SLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLE-NH<sub>2</sub>  
 259 Ac-RIDLGPPI-SLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLES-NH<sub>2</sub>  
 260 Ac-IDLGPPI-SLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLES-NH<sub>2</sub>  
 261 Ac-DLGPPI-SLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLES-SD-NH<sub>2</sub>  
 262 Ac-LGPPI-SLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLES-SDO-NH<sub>2</sub>  
 263 Ac-GPPI-SLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLES-SDOI-NH<sub>2</sub>  
 264 Ac-PPISLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLES-SDQIL-NH<sub>2</sub>  
 265 Ac-PISLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLES-SDQILR-NH<sub>2</sub>  
 266 Ac-ISLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLES-SDQIRS-NH<sub>2</sub>  
 267 Ac-SLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLES-SDQILRSW-NH<sub>2</sub>  
 268 Ac-LERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLES-SDQILRSMK-NH<sub>2</sub>  
 269 Ac-EWIRRSNQKLD-SI-NH<sub>2</sub>

- 270 Ac-LELDKWASLANAF-NH<sub>2</sub>  
271 Ac-LELDKWASLFNFF-NH<sub>2</sub>  
272 Ac-LELDKWASLANWF-NH<sub>2</sub>  
273 Ac-LELDKWASLWNAF-NH<sub>2</sub>  
274 Ac-ELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKVNKLTSTSA-NH<sub>2</sub>  
275 Ac-TELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKVNKLTSTS-NH<sub>2</sub>  
276 Ac-STELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKVNKLTST-NH<sub>2</sub>  
277 Ac-ISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKVNKLTST-NH<sub>2</sub>  
278 Ac-DISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKVNKLT-NH<sub>2</sub>  
279 Ac-LDISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKVNKLT-NH<sub>2</sub>  
280 Ac-NLDISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKVNK-NH<sub>2</sub>  
281 Ac-GNLDISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKVN-NH<sub>2</sub>  
282 Ac-TGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKVN-NH<sub>2</sub>  
283 Ac-VTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKV-NH<sub>2</sub>  
284 Ac-IVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDK-NH<sub>2</sub>  
285 Ac-VIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKLD-NH<sub>2</sub>  
286 Ac-QVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKL-NH<sub>2</sub>  
287 Ac-SQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEESNSK-NH<sub>2</sub>  
288 Ac-DSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEESNS-NH<sub>2</sub>  
289 Ac-LDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEESN-NH<sub>2</sub>  
290 Ac-ILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEES-NH<sub>2</sub>  
291 Ac-SILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEE-NH<sub>2</sub>  
292 Ac-ISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLE-NH<sub>2</sub>  
293 Ac-NISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKL-NH<sub>2</sub>  
294 Ac-KNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDK-NH<sub>2</sub>  
295 Ac-QKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALD-NH<sub>2</sub>  
296 Ac-YQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNAL-NH<sub>2</sub>  
297 Ac-TYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNA-NH<sub>2</sub>



- 298 Ac-ATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISN-NH<sub>2</sub>
- 299 Ac-DATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSIS-NH<sub>2</sub>
- 300 Ac-FDATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSI-NH<sub>2</sub>
- 301 Ac-EFDATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNS-NH<sub>2</sub>
- 302 Ac-GEFDATYQKNISILDSQVIVTGHLDISTELGHVNN-NH<sub>2</sub>
- 303 Ac-SGEFDATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVN-NH<sub>2</sub>
- 304 Ac-LSGEFDATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNV-NH<sub>2</sub>
- 305 Ac-RLSGEFDATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGN-NH<sub>2</sub>
- 306 Ac-LRLSGEFDATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELG-NH<sub>2</sub>
- 306 Ac-LRLSGEFDATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELG-NH<sub>2</sub>
- 307 Ac-TLRLSGEFDATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTEL-NH<sub>2</sub>
- 308 Ac-ITLRLSGEFDATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTE-NH<sub>2</sub>
- 309 Ac-GITLRLSGEFDATYQKNISILDSQVIVTGNLDIST-NH<sub>2</sub>
- 310 Ac-TATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKMQQFVNDQFNNT-NH<sub>2</sub>
- 311 Ac-ITATIEAVHEVTDGLSOLAVAVQKMQQFVNDOFNH-NH<sub>2</sub>
- 312 Ac-SITATIEAVHEVTDGLSOLAVAVGKMQQFVNDQFH-NH<sub>2</sub>
- 314 Ac-KESITATIEAVHEVIDGLSQLAVAVGKMQQFVNDQ-NH<sub>2</sub>
- 315 Ac-LKESITATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKMQQFVND-NH<sub>2</sub>
- 316 Ac-RLKESITATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKMQQFVN-NH<sub>2</sub>
- 317 Ac-LRLKESITATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKMQQFV-NH<sub>2</sub>
- 318 Ac-ILRLKESITATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKMQQF-NH<sub>2</sub>
- 319 Ac-NILRLKESITATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKMQQ-NH<sub>2</sub>
- 320 Ac-ANILRLKESITATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKMQ-NH<sub>2</sub>
- 321 Ac-AANILRLKESITATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKM-NH<sub>2</sub>
- 322 Ac-HKCDDECMNSVKNGTYDYPKYEEESKLNREIKGV-NH<sub>2</sub>
- 323 Ac-KCDDECMNSVKNGTYDYPKYEEESKLNREIKGVK-NH<sub>2</sub>
- 324 Ac-CDDECMNSVKNGTYDYPKYEEESKLNREIKGVKL-NH<sub>2</sub>
- 325 Ac-DDECMNSVKNGTYDYPKYEEESKLNREIKGVKLS-NH<sub>2</sub>

- 326 Ac-DECMNSVKNGTYDYPKYEEESKLNREIKGVKLSS-NH<sub>2</sub>
- 327 Ac-ECMNSVKNGTYDYPKYEEESKLNREIKGVKLSSM-NH<sub>2</sub>
- 328 Ac-CMNSVKNGTYDYPKYEEESKLNREIKGVKLSSMG-NH<sub>2</sub>
- 329 Ac-MNSVKNGTYDYPKYEEESKLNREIKGVKLSSMGV-NH<sub>2</sub>
- 330 Ac-NSVKNGTYDYPKYEEESKLNREIKGVKLSSMGVY-NH<sub>2</sub>
- 331 Ac-SVKNGTYDYPKYEEESKLNREIKGVKLSSMGVYQ-NH<sub>2</sub>
- 332 Ac-VKNGTYDYPKYEEESKLNREIKGVKLSSMGVYQI-NH<sub>2</sub>
- 333 Ac-KNGTYDYPKYEEESKLNREIKGVKLSSMGVYQIL-NH<sub>2</sub>
- 334 Ac-AFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 335 Ac-VVLAGAALGVATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNL-NH<sub>2</sub>
- 336 Ac-VLAGAALGVATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLR-NH<sub>2</sub>
- 337 Ac-LAGAALGVATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRA-NH<sub>2</sub>
- 338 Ac-AGAALGVATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRAS-NH<sub>2</sub>
- 339 Ac-GAALGVATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASL-NH<sub>2</sub>
- 340 Ac-AALGVATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLE-NH<sub>2</sub>
- 341 Ac-ALGVATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLET-NH<sub>2</sub>
- 342 Ac-LGVATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETT-NH<sub>2</sub>
- 343 Ac-GVATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTN-NH<sub>2</sub>
- 344 Ac-VATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQ-NH<sub>2</sub>
- 345 Ac-ATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNAQ-NH<sub>2</sub>
- 346 Ac-TAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAI-NH<sub>2</sub>
- 347 Ac-AAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAIENH<sub>2</sub>
- 348 Ac-AQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAIENH<sub>2</sub>
- 349 Ac-QITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAIENH<sub>2</sub>
- 350 Ac-ITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAIENH<sub>2</sub>
- 351 Ac-TAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAIENH<sub>2</sub>
- 352 Ac-AGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAIENH<sub>2</sub>
- 353 Ac-GIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAIENH<sub>2</sub>

- 354 Ac-IALHQSMLNSQAIDNLRASLETTNQAIEAIRQAGQ-NH<sub>2</sub>
- 355 Ac-ALHQSMLNSQAIDNLRASLETTNQAIEAIRQAGQE-NH<sub>2</sub>
- 356 Ac-LHQSMLNSQAIDNLRASLETTNQAIEAIRQAGQEM-NH<sub>2</sub>
- 357 Ac-HQSMLNSQAIDNLRASLETTNQAIEAIRQAGQEMI-NH<sub>2</sub>
- 358 Ac-QSMLNSQAIDNLRASLETTNQAIEAIRQAGQEMIL-NH<sub>2</sub>
- 359 Ac-SMLNSQAIDNLRASLETTNQAIEAIRQAAGQEMIL-NH<sub>2</sub>
- 360 Ac-MLNSQAIDNLRASLETTNQAIEAIRQAGQEMILAV-NH<sub>2</sub>
- 361 Ac-LNSQAIDNLRASLETTNQAIEAIRQAGQEMILAVQ-NH<sub>2</sub>
- 362 Ac-NSQAIDNLRASLETTNQAIEAIRQAGQEMILAVQG-NH<sub>2</sub>
- 363 Ac-SQAIDNLRASLETTNQAIEAIRQAGOEMILAVQGY-NH<sub>2</sub>
- 364 Ac-QAIDNLRASLETTNQAIEAIRQAGOEMILAVQGVQ-NH<sub>2</sub>
- 365 Ac-AIDNLRASLETTNQAIEAIROAGQEMILAVQGYQD-NH<sub>2</sub>
- 366 Ac-IDHLRASLETTNQAIEAIRQAGQEMILAVQGVQDY-NH<sub>2</sub>
- 367 Ac-DNLRASLETTNQAIEAIRQAGQEMILAVQGVQDYI-NH<sub>2</sub>
- 368 Ac-NLRASLETTNQAIEAIRQAGQEMILAVQGVQDYIN-NH<sub>2</sub>
- 369 Ac-LRASLETTNQAIEAIRQAGQEMILAVQGVQDYINN-NH<sub>2</sub>
- 370 Ac-RASLETTNQAIEAIRQAGQEMILAVQGYQDYINNE-NH<sub>2</sub>
- 371 Ac-YTSVITIELSNIKENKUNGTDAVKLIKQELDKYK-NH<sub>2</sub>
- 372 Ac-TSVITIELSNIKENKUNGTDAVKLIKQELDKYKN-NH<sub>2</sub>
- 373 Ac-SVITIELSNIKENKUNGTDAVKLIKQELDKYKNA-NH<sub>2</sub>
- 374 Ac-SNIKENKUNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLL-NH<sub>2</sub>
- 376 Ac-KENKUNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQS-NH<sub>2</sub>
- 376 Ac-CLELDKWASLWNWFC-NH<sub>2</sub>
- 377 Ac-CLELDKWASLANWFC-NH<sub>2</sub>
- 378 Ac-CLELDKWASLFNFFC-NH<sub>2</sub>
- 379 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLFNFF-NH<sub>2</sub>
- 381 Ac-RMKQLEDKVEELLSKNYHLENELELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 382 Ac-KVEELLSKNYHLENELELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>

- 383 Ac-RMKQLEDKVEELLSKLEWIRRSNQLDSI-NH<sub>2</sub>
- 384 Ac-RMKQLEDKVEELLSKLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 385 Ac-ELEALRGELRALRGELELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 386 Ac-LDPIDISIELNKAKSDLEESKEWIRRSNQLDSI-NH<sub>2</sub>
- 387 Ac-CNEQLSDSFPVEFFQV-NH<sub>2</sub>
- 388 Ac-MAEDDPYLGRPEQMFHLDPSL-NH<sub>2</sub>
- 389 Ac-EDFSSIADMDFSALLSQISS-NH<sub>2</sub>
- 390 Ac-TWQEWERKVDFLEENITALLEEAQIQQEKNMYELQ-NH<sub>2</sub>
- 391 Ac-WQEWERKVDFLEENITALLEEAQIQQEKNMYELQK-NH<sub>2</sub>
- 392 Ac-QEWERKVDFLEENITALLEEAQIQQEKNWYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 393 Ac-EWERKVDFLEENITALLEEAQIQQEKNMYELQKLN-NH<sub>2</sub>
- 394 Ac-WERKVDFLEENITALLEEAQIQQEKNMYELQKLNS-NH<sub>2</sub>
- 395 Ac-ERKVDFLEENITALLEEAQIQQEKNMYELQKLNSW-NH<sub>2</sub>
- 396 Ac-RKVDFLEENITALLEEAQIQQEKNMYELQKLNSWD-NH<sub>2</sub>
- 397 Ac-KVDFLEENITALLEEAQIQQEKNMYELQKLNSWDV-NH<sub>2</sub>
- 398 Ac-VDFLEENITALLEEAQIQQEKNMYELQKLNSWDVF-NH<sub>2</sub>
- 399 Ac-DFLEENITALLEEAQIQQEKNMYELQKLNSWDVFG-NH<sub>2</sub>
- 400 Ac-FLEENITALLEEAQIQQEKNMYELQKLNSWDVFGN-NH<sub>2</sub>
- 401 Ac-LEENITALLEEAQIQQEKNMYELQKLNSWDVFGNW-NH<sub>2</sub>
- 402 Ac-LEENITALLEEAQIQQEKNMYELQKLNSWDVFGNWF-NH<sub>2</sub>
- 403 Ac-NEQSEEKENELYWAKEQLLDLLFNIFNQTVGAWIMQ-NH<sub>2</sub>
- 405 Ac-QQQLLDVVKRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLKD-NH<sub>2</sub>
- 406 Ac-QQQLLDVVKRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLKDQ-NH<sub>2</sub>
- 407 Ac-QQQLLDVVKRQQELLRLTVWGPKNLQTRVTAIEKYLKDQ-NH<sub>2</sub>
- 408 Ac-DERKQDKVLVQQTGTLQLTLIQLEKTAKLQWVRLNRY-NH<sub>2</sub>
- 409 Ac-QQQLLDVVKRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKY-NH<sub>2</sub>
- 410 Ac-QQQLLDVVKRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYL-NH<sub>2</sub>
- 411 Ac-QLLDVVKRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLK-NH<sub>2</sub>

- 412 Ac-LLDVVKRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLKD-NH<sub>2</sub>
- 413 Ac-LDVVKRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLKDQ-NH<sub>2</sub>
- 414 Ac-DVVVKRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLKDQA-NH<sub>2</sub>
- 415 Ac-VVKRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLKDQAQ-NH<sub>2</sub>
- 416 Ac-VKRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLKDQAQL-NH<sub>2</sub>
- 417 Ac-KRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLKDQAQLN-NH<sub>2</sub>
- 418 Ac-RQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLKDQAQLNA-NH<sub>2</sub>
- 419 Ac-QQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLKDQAQLNA-NH<sub>2</sub>
- 420 Ac-QELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLKDQAQLNAWG-NH<sub>2</sub>
- 421 Ac-ELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLKDQAQLNAWGC-NH<sub>2</sub>
- 422 Ac-NLLRAIEAQQHLLQLTVWGPQQLQARILAVERYLKDQ-NH<sub>2</sub>
- 423 Ac-SELEIKRYKNRVASRKCRKAKFKQLLQHYREVAAAK-NH<sub>2</sub>
- 424 Ac-ELEIKRYKNRVASRKCRKAKFKQLLQHYREVAAAKS-NH<sub>2</sub>
- 425 Ac-LEIKRYKNRVASRKCRKAKFKQLLQHYREVAAAKSS-NH<sub>2</sub>
- 426 Ac-EIKRYKNRVASRKCRKAKFKQLLQHYREVAAAKSSE-NH<sub>2</sub>
- 427 Ac-IKRYKNRVASRKCRKAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN-NH<sub>2</sub>
- 428 Ac-KRYKNRVASRKCRKAKFKQLLQHYREVAAAKSSEND-NH<sub>2</sub>
- 429 Ac-RYKNRVASRKCRKAKFKQLLQHYREVAAAKSENDR-NH<sub>2</sub>
- 430 Ac-YKNRVASRKCRKAKFKQLLQHYREVAAAKSENDRLL-NH<sub>2</sub>
- 431 Ac-KNRVASRKCRKAKFKQLLQHYREVAAAKSENDRLLR-NH<sub>2</sub>
- 432 Ac-NRVASRKCRKAKFKQLLQHYREVAAAKSENDRLLRL-NH<sub>2</sub>
- 433 Ac-RVASRKCRKAKFKQLLQHYREVAAAKSENDRLLRLL-NH<sub>2</sub>
- 434 Ac-VASRKCRKAKFKQLLQHYREVAAAKSENDRLLRLLL-NH<sub>2</sub>
- 435 Ac-ASRKCRKAKFKQLLQHYREVAAAKSENDRLLRLLLK-NH<sub>2</sub>
- 436 Ac-SRKCRKAKFKQLLQHYREVAAAKSENDRLLRLLLKQ-NH<sub>2</sub>
- 437 Ac-RKCRKAKFKQLLQHYREVAAAKSENDRLLRLLLKQM-NH<sub>2</sub>
- 438 Ac-KCRKAKFKQLLQHYREVAAAKSENDRLLRLLLKQMC-NH<sub>2</sub>
- 439 Ac-CRACFKQLLQHYREVAAAKSENDRLLRLLLKQMCP-NH<sub>2</sub>

- 440 Ac-RAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCPS-NH<sub>2</sub>
- 441 Ac-AKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCPSL-NH<sub>2</sub>
- 442 Ac-KFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCPSLD-NH<sub>2</sub>
- 443 Ac-FKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCPSLDV-NH<sub>2</sub>
- 444 Ac-KQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCPSLDVD-NH<sub>2</sub>
- 445 Ac-QLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCPSLDVDS-NH<sub>2</sub>
- 446 Ac-LLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCPSLDVDSI-NH<sub>2</sub>
- 447 Ac-LQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCPSLDVDSII-NH<sub>2</sub>
- 448 Ac-QHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCPSLDVDSIIP-NH<sub>2</sub>
- 449 Ac-HYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCPSLDVDSIIPR-NH<sub>2</sub>
- 450 Ac-YREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCPSLDVDSIIPRT-NH<sub>2</sub>
- 451 Ac-REVAAAKSSENDRLRLLLKQMCPSLDVDSIIPRTP-NH<sub>2</sub>
- 452 Ac-EVAAAKSSENDRLRLLLKQMCPSLDVDSIIPRTPD-NH<sub>2</sub>
- 453 Ac-VAAAKSSENDRLRLLLKQMCPSLDVDSIIPRTPDV-NH<sub>2</sub>
- 454 Ac-AAAKSSENDRLRLLLKQMCPSLDVDSIIPRTPDVL-NH<sub>2</sub>
- 455 Ac-AAKSSENDRLRLLLKQMCPSLDVDSIIPRTPDVLH-NH<sub>2</sub>
- 456 Ac-AKSSENDRLRLLLKQMCPSLDVDSIIPRTPDVLHE-NH<sub>2</sub>
- 457 Ac-KSSENDRLRLLLKQMCPSLDVDSIIPRTPDVLHED-NH<sub>2</sub>
- 458 Ac-SSSENDRLRLLLKQMCPSLDVDSIIPRTPDVLHEDL-NH<sub>2</sub>
- 459 Ac-SENDRLRLLLKQMCPSLDVDSIIPRTPDVLHEDLL-NH<sub>2</sub>
- 460 Ac-ENDRLRLLLKQMCPSLDVDSIIPRTPDVLHEDLLN-NH<sub>2</sub>
- 461 Ac-NDRLRLLLKQMCPSLDVDSIIPRTPDVLHEDLLNF-NH<sub>2</sub>
- 534 Ac-PGYRWMCLRRFIIFLIFLLVLLDYQGML-NH<sub>2</sub>
- 535 Ac-GYRWMCLRRFIIFLIFLLVLLDYQGMLP-NH<sub>2</sub>
- 536 Ac-YRWMCLRRFIIFLIFLLVLLDYQGMLPV-NH<sub>2</sub>
- 537 Ac-RWMCLRRFIIFLIFLLVLLDYQGMLPVC-NH<sub>2</sub>
- 538 Ac-WMCLRRFIIFLIFLLVLLDYQGMLPVCP-NH<sub>2</sub>
- .539 Ac-MCLRRFIIFLIFLLVLLDYQGMLPVCP-NH<sub>2</sub>

- .540 Ac-CLRRFIIFLIFLLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLI-NH<sub>2</sub>
- .541 Ac-LRRFIIFLIFLLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIP-NH<sub>2</sub>
- .542 Ac-RRFIIFLIFLLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPG-NH<sub>2</sub>
- .543 Ac-RFIIFLIFLLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGS-NH<sub>2</sub>
- .544 Ac-FIIFLIFLLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSS-NH<sub>2</sub>
- .545 Ac-IIFLIFLLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSST-NH<sub>2</sub>
- .546 Ac-IFLIFLLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTT-NH<sub>2</sub>
- .547 Ac-FLIFLLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTS-NH<sub>2</sub>
- .548 Ac-LFIFLLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTST-NH<sub>2</sub>
- .549 Ac-FIFLLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTG-NH<sub>2</sub>
- .550 Ac-IFLLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGP-NH<sub>2</sub>
- .551 Ac-LLFLLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPC-NH<sub>2</sub>
- .552 Ac-LLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPCR-NH<sub>2</sub>
- .553 Ac-LCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPCRT-NH<sub>2</sub>
- 554 Ac-CLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPCRTC-NH<sub>2</sub>
- 555 Ac-LIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPCRTCMT-NH<sub>2</sub>
- 556 Ac-IFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPCRTCMTT-NH<sub>2</sub>
- 557 Ac-FLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPCRTCMTT-NH<sub>2</sub>
- 558 Ac-PLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGT-NH<sub>2</sub>
- 559 Ac-LLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTT-NH<sub>2</sub>
- 560 Ac-LVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTV-NH<sub>2</sub>
- 561 Ac-VLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVC-NH<sub>2</sub>
- 562 Ac-LQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCL-NH<sub>2</sub>
- 563 Ac-QAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLG-NH<sub>2</sub>
- 564 Ac-AGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQ-NH<sub>2</sub>
- 565 Ac-GFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVLCGQN-NH<sub>2</sub>
- 566 Ac-FFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVLCGQNS-NH<sub>2</sub>
- 567 Ac-FLLTRILTIPQSLDSWWTSLHFLGGTTVLCGQNSQ-NH<sub>2</sub>

- 568 Ac-LLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVLCGQNSQS-NH<sub>2</sub>
- 569 Ac-LTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVLCGQNSQSP-NH<sub>2</sub>
- 570 Ac-FWNWLSAWKDLELKSLLLEEVKDELQKMR-NH<sub>2</sub>
- 571 NNULLRAIEAQQHLLQLTVW-NH<sub>2</sub>
- 572 Ac-CGGNNULLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVEERYLIKDQ-  
-NH<sub>2</sub>
- 573 YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 574 C<sub>13</sub>H<sub>27</sub>CO-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASL-  
-WNWF-NH<sub>2</sub>
- 575 Ac-AVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKUNGTDANH<sub>2</sub>
- 576 Ac-SISNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVS-NH<sub>2</sub>
- 577 Ac-DQQIKQYKRLLDRLIIPLYDGLRQKDVIVSNQESN-NH<sub>2</sub>
- 576 Ac-YSELTNIFGDNIGSLQEKGIKLQGIASLYRTKITEI-NH<sub>2</sub>
- 579 Ac-TSITLQVRLPLLTRLLNTQIYRVDSTSYNIQNREWY-NH<sub>2</sub>
- 580 Ac-VEIAEYRLLRTVLEPIRDALNAMTQNIRPVQSYA-NH<sub>2</sub>
- 581 Ac-SYFIVLSIAYPTLSEIKGVIVHRLEGVSYNIGSQEW-NH<sub>2</sub>
- 582 Ac-LEKAIRDITNKAVQSVQSSIGNLIVAIS-NH<sub>2</sub>
- 583 NNULLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVEERYLKDQ-NH<sub>2</sub>
- 583 NNULLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVEERYLKDQ-NH<sub>2</sub>
- 584 CKQEPIDKELYPLTSL
- 585 YPKFVKQNTLKLAT
- 586 OYIKANQKFIGITE
- 587 NGOIGKDPNRDILY
- 588 Ac-RPDVY-OH
- 589 CLELDKWASLWNWFC-(cyklický)
- 590 CLELDKWASLWNWFC-(cyklický)
- 591 CLELDKWASLWNWFC-(cyklický)
- 594 Ac-NNULLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVEERYLKDQ-NH<sub>2</sub>



- 595 Ac-CGGYTSLIHSLIEESQNNQKNEQELLELDKWASLWNWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 596 Ac-PLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNPLGGT-NH<sub>2</sub>
- 597 Ac-LLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNPLGGTT-NH<sub>2</sub>
- 598 Ac-LVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNPLGGTTV-NH<sub>2</sub>
- 599 Ac-VLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNPLGGTTVC-NH<sub>2</sub>
- 600 Ac-LQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNPLGGTTVCL-NH<sub>2</sub>
- 601 Ac-QAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNPLGGTTVCLG-NH<sub>2</sub>
- 602 Ac-AGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNPLGGTTVCLGQ-NH<sub>2</sub>
- 603 Ac-GFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNPLGGTTVCLGQN-NH<sub>2</sub>
- 604 Ac-FFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNPLGGTTVCLGQNS-NH<sub>2</sub>
- 605 Ac-FLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQNSQ-NH<sub>2</sub>
- 606 Ac-LLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQNSQS-NH<sub>2</sub>
- 607 Ac-LTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQNSQSP-NH<sub>2</sub>
- 608 Ac-LELDKWASLWNWA-NH<sub>2</sub>
- 609 Ac-LELDKWASAWNWF-NH<sub>2</sub>
- 610 Ac-LELDKWASLWNWA-NH<sub>2</sub>
- 611 Ac-LELDKWASLWNWA-NH<sub>2</sub>
- 612 Ac-LELDKWASLWNWA-NH<sub>2</sub>
- 613 Ac-DELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 614 Ac-KSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 615 Ac-IRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 616 Ac-AFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 617 Ac-FDASISQVNEKINQSLAFI-NH<sub>2</sub>
- 618 Ac-YAADKESTQKAFDGITNKVNSVIEKMNTQFEAVGKE-NH<sub>2</sub>
- 619 Ac-SVIEKMNTQFEAVGKEFGNLERLENLNKRMEDGFL-NH<sub>2</sub>
- 620 Ac-VWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRMQL-NH<sub>2</sub>
- 621 Ac-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNNQKNEQEGGC-NH<sub>2</sub>

- 622 Ac-INNYTSLIHSLIEESQNQQEKNNQELLELDKWASL-NH<sub>2</sub>
- 623 Ac-INNYTSLIHSLIEESQNQQEKNNQELLE-NH<sub>2</sub>
- 624 Ac-WMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNNQELLE-NH<sub>2</sub>
- 625 Ac-MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNNQELLELD-  
-KWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 626 Ac-IDISIELNKAKSDLEESKEWIKKSNQLLDSIGNWH-NH<sub>2</sub>
- 627 Ac-NQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNITNWLWYIKIFI-NH<sub>2</sub>
- 627 Ac-NQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNITNWLWYIKIFI-NH<sub>2</sub>
- 628 Ac-QNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNITNWLWYIKIF-NH<sub>2</sub>
- 629 Ac-SQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNITNWLWYIKI-NH<sub>2</sub>
- 630 Ac-ESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNITNWLWYIK-NH<sub>2</sub>
- 631 Ac-EESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNITNWLWYI-NH<sub>2</sub>
- 632 Ac-IEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNITNWLWY-NH<sub>2</sub>
- 633 Ac-LIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNITNWLW-NH<sub>2</sub>
- 634 Ac-SLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNITNWL-NH<sub>2</sub>
- 635 Ac-HSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNITNW-NH<sub>2</sub>
- 636 Ac-IHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNITN-NH<sub>2</sub>
- 637 Ac-LIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNIT-NH<sub>2</sub>
- 638 Ac-SLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNI-NH<sub>2</sub>
- 639 Ac-TSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFN-NH<sub>2</sub>
- 640 Ac-NYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNW-NH<sub>2</sub>
- 641 Ac-NNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWN-NH<sub>2</sub>
- 642 Ac-INNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLW-NH<sub>2</sub>
- 643 Ac-EINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASL-NH<sub>2</sub>
- 644 Ac-REINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWAS-NH<sub>2</sub>
- 645 Ac-DREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWA-NH<sub>2</sub>
- 646 Ac-WDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKW-NH<sub>2</sub>
- 647 Ac-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDK-NH<sub>2</sub>

- 648 Ac-MEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELD-NH<sub>2</sub>
- 649 Ac-WMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEL-NH<sub>2</sub>
- 650 Ac-TWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLE-NH<sub>2</sub>
- 651 Ac-MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELL-NH<sub>2</sub>
- 652 Ac-NMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEL-NH<sub>2</sub>
- 653 Ac-NNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQE-NH<sub>2</sub>
- 654 Ac-WNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQ-NH<sub>2</sub>
- 655 Ac-IWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNE-NH<sub>2</sub>
- 656 Ac-QIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKN-NH<sub>2</sub>
- 657 Ac-EQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEK-NH<sub>2</sub>
- 658 Ac-LEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQE-NH<sub>2</sub>
- 659 Ac-SLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQ-NH<sub>2</sub>
- 660 Ac-KSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQ-NH<sub>2</sub>
- 661 Ac-NKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQN-NH<sub>2</sub>
- 662 Ac-SLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 663 Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRK-NH<sub>2</sub>
- 664 Ac-YTSLIHSLIEESQQQQEKQEELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 665 Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGK-NH<sub>2</sub>
- 666 Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNA-NH<sub>2</sub>
- 667 Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 668 Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLH-NH<sub>2</sub>
- 669 Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL-NH<sub>2</sub>
- 670 Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSD-NH<sub>2</sub>
- 671 Ac-ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 672 Ac-ISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 673 Ac-QVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 674 Ac-NEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 675 Ac-KINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>

- 676 Ac-NQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 677 Ac-FWNWLSAWKDLELYPGSLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 678 Ac-CGGNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVEYLKDDQ-NH<sub>2</sub>
- 679 Ac-CGGYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 680 YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF
- 681 NLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVEYLKDDQ
- 682 Ac-EKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSWVRYIQYIQYGV-NH<sub>2</sub>
- 683 Ac-QEKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSWVRYIQYIQYG-NH<sub>2</sub>
- 684 Ac-QQEKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSWVRYIQYIQY-NH<sub>2</sub>
- 685 Ac-IQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSWVRYIQYIQ-NH<sub>2</sub>
- 686 Ac-QIQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSWVRYIQYG-NH<sub>2</sub>
- 687 Ac-AQIQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSWVRYIQY-NH<sub>2</sub>
- 688 Ac-QAQIQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSWVRYIQ-NH<sub>2</sub>
- 741 Ac-QQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVEYL-NH<sub>2</sub>
- 742 Ac-VQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVEYL-NH<sub>2</sub>
- 743 Ac-IVQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVEYL-NH<sub>2</sub>
- 744 Ac-GIVQQNHLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVEYL-NH<sub>2</sub>
- 745 Ac-SGIVQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVEYL-NH<sub>2</sub>
- 758 Ac-RSMTLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTV-NH<sub>2</sub>
- 760 Ac-GARSMTLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQL-NH<sub>2</sub>
- 764 Ac-GSTMGARSMTLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQH-NH<sub>2</sub>
- 765 Ac-GSTMGARSMTLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQH-NH<sub>2</sub>
- 766 Ac-EGSTMGARSMTLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQ-NH<sub>2</sub>
- 767 Ac-RAKFKQLLQHYREVAAAKSSENORLRL-NH<sub>2</sub>
- 768 Ac-AKFKQLLQHYREVAAAKSSENORLRL-NH<sub>2</sub>
- 769 Ac-KFKQLLQHYREVAAAKSSENORLRL-NH<sub>2</sub>

- 770 Ac-FKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQ-NH<sub>2</sub>
- 771 Ac-RAKFKQLLQHYREVAAAKSSENORLRLKQMCPN-NH<sub>2</sub>
- 772 DKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 773 Biotin-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 774 Ac-YDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 775 Ac-YDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 776 Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 777 Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 778 Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 779 Ac-FDASISQVNEKINQALAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 780 Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 781 Ac-YDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 782 Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 783 Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 784 Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLENV-NH<sub>2</sub>
- 785 Ac-VFPSDEFDASISQVNEEINQSLAFIRKSDELLENV-NH<sub>2</sub>
- 786 Ac-VYPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLENV-NH<sub>2</sub>
- 787 Ac-VFPSDEFDASISQVHEEINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 788 Ac-SNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQ-NH<sub>2</sub>
- 789 Ac-WSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEES-NH<sub>2</sub>
- 790 Ac-SWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEE-NH<sub>2</sub>
- 791 Ac-ASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIE-NH<sub>2</sub>
- 792 Ac-NASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLI-NH<sub>2</sub>
- 793 Ac-WNASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSL-NH<sub>2</sub>
- 793 Ac-WNASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSL-NH<sub>2</sub>
- 794 Ac-WNASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSL-NH<sub>2</sub>
- 795 Ac-PWNASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHS-NH<sub>2</sub>
- 796 Ac-VPWNASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIH-NH<sub>2</sub>

- 797 Ac-AVPWNASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLI-NH<sub>2</sub>
- 798 Ac-TAVPWNASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSL-NH<sub>2</sub>
- 800 Ac-TTAVPWNASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTS-NH<sub>2</sub>
- 801 Ac-AAASDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 802 Ac-VFPAAAFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 803 Ac-VFPAAAFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 804 Ac-VFPAAAFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 805 Ac-VFPAAAFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 806 Ac-VFPSDEFDASISQVNEKIAAALAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 807 Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSAAAIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 808 Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFAAASDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 809 Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKAAALLHNV-NH<sub>2</sub>
- 810 Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEAAANV-NH<sub>2</sub>
- 811 Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEAAANV-NH<sub>2</sub>
- 812 Ac-VYPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 813 Ac-AAAAIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 814 Ac-YTSLIHSLIEESQQQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 815 Ac-YTSLIHSLIEESQQQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 816 Ac-QIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKQ-NH<sub>2</sub>
- 817 Ac-QIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKQ-NH<sub>2</sub>
- 818 Ac-QIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKQ-NH<sub>2</sub>
- 819 Ac-NKSLEQWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQQ-NH<sub>2</sub>
- 820 Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIEESDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 821 Ac-ACIRKSDELICAL-NH<sub>2</sub>
- 823 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKDEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 824 Ac-YTSLIHSLIEESQDQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 825 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKDEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 826 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKDEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>

- 841 Ac-LEANITQSLEQAQIQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWL-NH<sub>2</sub>
- 842 Ac-LEANISASLEQAQIQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWL-NH<sub>2</sub>
- 843 Ac-LEANISALLEQAQIQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWL-NH<sub>2</sub>
- 844 Ac-LEANITASLEQAQIQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWL-NH<sub>2</sub>
- 845 Ac-LEANITASLEQAQIQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWL-NH<sub>2</sub>
- 845 Ac-LEANITASLEQAQIQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWL-NH<sub>2</sub>
- 846 Ac-RAKFKQLLQHYREVAATAKSSSENDRLRLLKQMUPS-NH<sub>2</sub>
- 847 Ac-Abu-DDE-Abu-MNSVKNGTYDRPKYEEESKLNREIKGVKL-  
-NH<sub>2</sub>
- 856 Ac-WQEWEQKVRYLEANISQSLEQAQIQQEKNMYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 860 Ac-DEYDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGK-NH<sub>2</sub>
- 861 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWN-NH<sub>2</sub>
- 862 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLW-NH<sub>2</sub>
- 863 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASL-NH<sub>2</sub>
- 864 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWAS-NH<sub>2</sub>
- 865 Ac-QARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQHLLQLTVWGIKQLQARIL-  
-AVERYLKDQ-NH<sub>2</sub>
- 866 Ac-DREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWN-  
-WF-NH<sub>2</sub>
- 867 Ac-NNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEL-  
-DK-NH<sub>2</sub>
- 868 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWAAA-NH<sub>2</sub>
- 871 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLAAAKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 872 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQAAAELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 873 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKAAAELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 874 Ac-YTSLIHSLIEESQNQAAANEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 875 Ac-YTSLIHSLIEESAAAQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 876 Ac-YTSLIHSLIAAAQNQQEKAAAELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>

- 877 Ac-YTSLIHAAAEEESQNQQEKAAAELLELDKWASLWNWF-NH
- 878 Ac-YTSAAASLIEESQNQQEKAAAELLELDKWASLWNWF-NH
- 879 Ac-EIWNNMTWMEWDRENEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 880 Ac-YISEYNEENQSLAFIRKADELLENVDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 881 Ac-TSVITIELSNIKENKANGTDAKVKLIKQELDKYKH-NH<sub>2</sub>
- 882 YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFMG-NH<sub>2</sub>
- 883 Ac-NEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 884 Biotin-YDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL-NH<sub>2</sub>
- 885 Biotin-PLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLH-NH<sub>2</sub>
- 886 Biotin-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 887 Biotin-DEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGK-NH<sub>2</sub>
- 888 Biotin-VYPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 889 Biotin-VYPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 890 Ac-VYPSDEFDASISQVQEEIQQALAFIRKADELLEQV-NH<sub>2</sub>
- 891 Ac-NYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 892 Ac-NNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 893 Ac-INNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 894 Ac-EINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 895 Ac-YTSLHSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 896 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNI-NH<sub>2</sub>
- 897 Ac-YTSLHSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFIT-  
-NH<sub>2</sub>
- 898 Ac-YTSLHSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-  
-ITN-NH<sub>2</sub>
- 899 Ac-YDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVN-  
-AGK-NH<sub>2</sub>



- 900 Ac-NYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFN-NH<sub>2</sub>
- 901 Ac-NNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNI-  
-NH<sub>2</sub>
- 905 Ac-KCRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCPSLDV-  
-DSIIPRTPD-NH<sub>2</sub>
- 906 Ac-RAKFKQLLQHYREVAAAKSSEMDRLRLLLKQMCPSLDVDSI-  
-IPRTPD-NH<sub>2</sub>
- 907 VYPSDEYDASISQVMEEMQALAYIAAADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 909 YDASISQVNEEINQALAYIRKADELL-NH<sub>2</sub>
- 910 Ac-M-NIe-WMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLE-  
-NH<sub>2</sub>
- 911 Ac-KNGTYDRPKYEEESKLNREIKGVKLSSMGVYQI-NH<sub>2</sub>
- 912 Ac-VTEKIQMASDNINDLIQSGVNTRLLTIQSHVQNYI-NH<sub>2</sub>
- 913 QNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 914 Ac-QNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 915 LWNWF-NH<sub>2</sub>
- 916 ELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 917 EKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 918 SLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 919 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNW
- 920 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWN
- 921 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWN
- 922 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWN
- 923 TSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 924 SLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 925 LIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 926 IHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 940 Ac-AAVALLPAVLLALLAPSELEIKRYKNRVASRKCRKAKFKQLL-  
-QHYREVAAAK-NH<sub>2</sub>

- 941 Ac-AAVALLPAVLLALLAPCRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDR-  
-LRLLLKQMCP-NH<sub>2</sub>
- 942 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNNNIERDWEMWTMNNWIQ-NH<sub>2</sub>
- 944 VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 945 Ac-LMQLARQLMQLARQMKQLADSLMQLARQVSRLESA-NH<sub>2</sub>
- 946 Ac-WMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELL-NH<sub>2</sub>
- 947 Ac-MEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEL-NH<sub>2</sub>
- 948 Ac-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEL-NH<sub>2</sub>
- 949 Ac-MEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLE-NH<sub>2</sub>
- 950 Biotin-W-Nie-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEL-  
-NH<sub>2</sub>
- 951 Ac-YLEYDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEL-NH<sub>2</sub>
- 952 Ac-IKQFINMWEQEVGKAMYA-NH<sub>2</sub>
- 953 Ac-IRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 954 Dekanoyl-IRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 955 Acetyl-Aca-Aca-IRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 956 Ac-YDASISQV-NH<sub>2</sub>
- 957 Ac-NEKINQSL-NH<sub>2</sub>
- 958 Ac-SISQVNEEINQALAYIRKADELL-NH<sub>2</sub>
- 959 Ac-QVNEEINQALAYIRKADELL-NH<sub>2</sub>
- 960 Ac-EEINQALAYIRKADELL-NH
- 961 Ac-NQALAYIRKADELL-NH<sub>2</sub>
- 962 Ac-LAYIRKADELL-NH<sub>2</sub>
- 963 FDASISQVNEKINQALAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 964 Ac-W-Nie-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEL-NH<sub>2</sub>
- 965 Ac-ASRKRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCP-  
-SLDVDS-NH<sub>2</sub>
- 967 Ac-WLEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEL-NH<sub>2</sub>

- 968 Ac-YVKGERIINFYDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSL-NH<sub>2</sub>
- 969 Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQSLAYIRKADELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 970 Ac-YDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 971 Ac-YDASISQVNEEINQALAYIRKADELLE-NH<sub>2</sub>
- 972 Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKAAELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 973 Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKAAELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 974 Dekanoyl-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 975 Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQLLAYIRKLDELLENV-NH<sub>2</sub>
- 976 Ac-DEYDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 977 Ac-SNDQGSYAADKESTQKAFDGITNKVNSVIEKTNT-NH<sub>2</sub>
- 978 Ac-ESTQKAFDGITNKVNSVIEKTNTQFEAVGKEFGNLEKR-NH<sub>2</sub>
- 979 Ac-DGITNKVNSVIEKTNTQFEAVGKEFGNLEKRENLNK-NH<sub>2</sub>
- 980 Ac-DSNVKNLYDKVRSQLRDNVKELGNGAFEFYHK-NH<sub>2</sub>
- 981 Ac-RDNVKELGNGAFEFYHKADDEALNSVKNNGTYDYPKY-NH<sub>2</sub>
- 982 Ac-EFYHKADDEALNSVKNNGTYDYPKY-NH<sub>2</sub>
- 983 Ac-AAVALLPAVLLALLAPAADKESTQKAFDGITNKVNS-NH<sub>2</sub>
- 984 Ac-AAVALLPAVLLALLAPAADSNVKNLYDKVRSQLRDN-NH<sub>2</sub>
- 985 Ac-KESTQKAFDGITNKVNSY-NH<sub>2</sub>
- 986 Ac-IKETNTQFEAVGKEFGNLER-NH<sub>2</sub>
- 987 Ac-RLENALNKRVEDGFLDVWTYNAELLVALENE-NH<sub>2</sub>
- 988 Ac-SNVKNLYDKVRSQLRDN-NH<sub>2</sub>
- 989 Ac-WMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEL-NH<sub>2</sub>
- 990 Ac-WMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQE-NH<sub>2</sub>
- 991 Ac-MEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEL-NH<sub>2</sub>
- 992 Ac-MEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQE-NH<sub>2</sub>
- 993 Ac-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELE-NH<sub>2</sub>
- 994 Ac-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELL-NH<sub>2</sub>

- 995 Ac-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEL-NH<sub>2</sub>
- 996 Ac-YTKFIYTLLEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 997 Ac-YMKQLADSLMQLARQVSRLESA-NH<sub>2</sub>
- 998 Ac-YLMQLARQMQLADSLMQLARQVSRLESA-NH<sub>2</sub>
- 999 Ac-YQEWERKYDFLEENITALLEEAQIQQEKKNMYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1000 Ac-WMAWAAAINNYTSLHSLIEESONOQEKNEQEEEE-NH<sub>2</sub>
- 1001 Ac-YASLIAALIEESQNQQEKNEQELLELAKWAALWAWF-NH<sub>2</sub>
- 1002 [Ac-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEGGC-NH<sub>2</sub>] dimer
- 1003 Ac-YDISIELNKAKSDLEESKEWIKKSNQKLDSIGNWH-NH<sub>2</sub>
- 1004 Biotinyl-IDISIELNKAKSDLEESKEWIKKSNQKLDSIGNWH-NH<sub>2</sub>
- 1005 Ac-YTSLI-OH
- 1006 Fmoc-HSLIEE-OH
- 1007 Fmoc-SQNQQEK-OH
- 1008 Fmoc-NEQELLEL-OH
- 1009 Fmoc-DKWASL-OH
- 1010 Fmoc-WNWF-OH
- 1011 Ac-AKTLERTWDTLNHLLFISSALYKLNKLSVAQITLSI-NH<sub>2</sub>
- 1012 Ac-NITLQAKIKQFINMWQEVGKAMYA-NH<sub>2</sub>
- 1013 Ac-LENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDN-NH<sub>2</sub>
- 1014 Ac-LENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNVKELGNG-NH<sub>2</sub>
- 1015 Ac-TLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNVKELGNGAFEF-NH<sub>2</sub>
- 1016 Ac-IDISIELNKAKSDLEESKEWIKKSNQKLDSIGNWH-NH<sub>2</sub>
- 1021 Biotinyl-SISQVNEEINQALAYIRKADELL-NH<sub>2</sub>
- 1022 Biotinyl-SISQVNEEINQSLAYIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1023 Ac-SISQVNEEINQSLAYIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1024 Ac-IDISIELNKAKSDLEESKEWIEKSNQELDSIGNWE-NH<sub>2</sub>
- 1025 Ac-IDISIELKNAKSDLEESKEWIKKSNQELDSIGNWH-NH<sub>2</sub>
- 1026 Ac-IDISIELNKAKSDLEEAKWIKKANQKLDSIGNWH-NH<sub>2</sub>

- 1027 Ac-IDISIELNKAKSDLEESKEWIKKANQKLDSIGNWH-NH<sub>2</sub>
- 1028 Ac-IDISIELNKAKSDLEEAKEWIKKSNQKLDSIGNWH-NH<sub>2</sub>
- 1029 Biotinyl-NSVALDPIDISIELNKAKSDLEESKEWIKKSNQKL-NH<sub>2</sub>
- 1030 Biotinyl-ALDPHIDISIELNKAKSDLEESKEWIKKSNQKLDSI-NH<sub>2</sub>
- 1031 desaminotyrosin-NSVALDPIDISIELNKAKSDLEESKEWIKK-  
-SNQLK-NH<sub>2</sub>
- 1032 desaminotyrosin-ALDPIDISIELNKAKSDLEESKEWIKK-  
-SNQKLDSI-NH<sub>2</sub>
- 1033 Ac-YDASISQVNEEINQALAFIRKADEL-NH<sub>2</sub>
- 1034 Ac-YDASISQVNEEINQSLAYIRKADELL-NH<sub>2</sub>
- 1035 Biotinyl-YDASISQVNEEINQALAYIRKADELL-NH<sub>2</sub>
- 1036 Biotinyl-YDASISQVNEEINQSLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1037 Ac-YDASISQVNEEINQSLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1038 Ac-WLEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEL-NH<sub>2</sub>
- 1039 Biotinyl-IDISIELNKAKSDLEESKEWIRRSNQKLDSIGNWH-NH<sub>2</sub>
- 1044 Ac-YESTQKAFDGITNKVNSVIEKTNTQFEAVGKEFGNLEKR-NH<sub>2</sub>
- 1045 Biotin-DEYDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1046 Ac-MEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELL-NH<sub>2</sub>
- 1047 Ac-WQEWEQKVRYLEANISQSLEQAQIQQEKNMYEL-NH<sub>2</sub>
- 1048 Ac-WQEWEQKVRYLEANISQSLEQAQIQQEKNEYEL-NH<sub>2</sub>
- 1049 Ac-WQEWEQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYEL-NH<sub>2</sub>
- 1050 Ac-WQEWEQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKNMYEL-NH<sub>2</sub>
- 1051 Ac-WQEWEQKVRYLEANISQSLEQAQIQQEKNEYELQLK-NH<sub>2</sub>
- 1052 Ac-WQEWEQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQLK-NH<sub>2</sub>
- 1053 Ac-WQEWEQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQLK-NH<sub>2</sub>
- 1054 Ac-IDISIELNKAKSDLEESKEWIEKSNQKLDSIGNWH-NH<sub>2</sub>
- 1055 Ac-EFGNLEKRLLENLNKRVEDGFLDVWTYNAELLVALENE-NH<sub>2</sub>
- 1056 Ac-EDGFLDVWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDK-  
-VRMQL-NH<sub>2</sub>

- 1057 Ac-SISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1058 desaminoTyr-SISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1059 Ac-SISQVNEKINQSLAYIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1060 Ac-QQLLDVVKRQQEMLRLTVWGTKNLQARVTAIEKYLKDQ-NH<sub>2</sub>
- 1061 YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFC
- 1062 Ac-FDASISQVNEKINQSLAYIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1063 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWA
- 1064 Indol-3-acetyl-DEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1065 Indol-3-acetyl-DEFDEISISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1066 Indol-3-acetyl-DEFDEISISQVNEKIEESLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1067 Indol-3-acetyl-DEFDEISISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1068 Indol-3-acetyl-DEFDEISISQVNEKIEESLQFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1069 Indol-3-acetyl-GGGGGDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1070 2-Naftoyl-DEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1071 desNH<sub>2</sub>Tyr-DEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL -NH<sub>2</sub>
- 1072 biotin-ALDPIDISIELNKAKSDLEESKEWRRSNQKLDSEI-NH<sub>2</sub>
- 1073 Ac-YDASISQVNEKIHQALAYIRKADELLHHVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 1074 Ac-VYPSDEYDASISQVNEKINQALAYIRKADELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 1075 Ac-VYPSDEYDASISQVNEKINQSLAYIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 1076 Ac-WGWGYGYG-NH<sub>2</sub>
- 1077 Ac-YGWGWGWGF-NH<sub>2</sub>
- 1078 Ac-WQEWQKVRYLEANITALQEQAQIQAEKA EYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1079 Ac-WQEWQKVRYLEAEITALQEEAQIQAEKA EYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1081 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWAS
- 1082 Ac-VWPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 1083 Ac-SKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKWWTSDWGV-NH<sub>2</sub>
- 1084 Ac-LSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKWWTSDWG-NH<sub>2</sub>

- 1085 Ac-DLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKWWTSDW-NH<sub>2</sub>
- 1086 Ac-EDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKWWTSD-NH<sub>2</sub>
- 1087 Ac-IEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKWWTS-NH<sub>2</sub>
- 1088 Ac-GIEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKWWT-NH<sub>2</sub>
- 1089 Ac-IGIEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKWW-NH<sub>2</sub>
- 1090 2-Naftoyl-PSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1091 Ac-VYPSDEYDASISQVNEKINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1092 Ac-VYPSDEFDASISQVNEKINQALAFIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1093 Ac-VYPSDEYDASISQVNEKINQALAYIREADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1094 Biotinyl-YDASISQVNEKINQSLAFIRESDELL-NH<sub>2</sub>
- 1095 Ac-AIGIEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKW-NH<sub>2</sub>
- 1096 Ac-AAIGIEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGK-NH<sub>2</sub>
- 1097 Ac-DAAIGIEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGG-NH<sub>2</sub>
- 1098 Ac-PDAAIGIEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLG-NH<sub>2</sub>
- 1099 Ac-NITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDNWWTGWRQWI-NH<sub>2</sub>
- 1100 Ac-KNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDNWWTGWRQW-NH<sub>2</sub>
- 1101 Ac-TKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDNWWTGWRG-NH<sub>2</sub>
- 1102 Ac-WTKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDNWWTGWR-NH<sub>2</sub>
- 1103 Ac-DWTKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDNWWTGW-NH<sub>2</sub>
- 1104 Ac-HDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDNWWTG-NH<sub>2</sub>
- 1105 Ac-PHDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDNWWT-NH<sub>2</sub>
- 1106 Ac-EPHDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDNWW-NH<sub>2</sub>
- 1107 Ac-IEPHDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDNW-NH<sub>2</sub>
- 1108 Ac-AIEPHDWTKNITDKIDQIIHDFVDKITPDQGDNDN-NH<sub>2</sub>
- 1109 Ac-AAIEPHDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDND-NH<sub>2</sub>
- 1110 Ac-DAAIEPHDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDN-NH<sub>2</sub>
- 1111 Ac-LSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPFLPLLPIFF-NH<sub>2</sub>
- 1112 Ac-GLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPFLPLLPIF-NH<sub>2</sub>

- 1113 Ac-VGLSPTVWLSVTWMMWYWGPSLYSILSPFLPLLPI-NH<sub>2</sub>
- 1114 Ac-FVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPFLPLLP-NH<sub>2</sub>
- 1115 Ac-WFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPFLPLL-NH<sub>2</sub>
- 1116 Ac-QWFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPFLPL-NH<sub>2</sub>
- 1117 Ac-VQWFVGLSPTVWLSVTWMMWYWGPSLYSILSPFLP-NH<sub>2</sub>
- 1118 Ac-FVQWFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPFL-NH<sub>2</sub>
- 1119 Ac-PFVQWFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPF-NH<sub>2</sub>
- 1120 Ac-VPFVQWFVGLSPTVWLSVTWMMWYWGPSLYSILSP-NH<sub>2</sub>
- 1121 Ac-LVPFVQWFVGLSPTVWLSVTWMMWYWGPSLYSILS-NH<sub>2</sub>
- 1122 H-NHTTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEL-  
-DKW-OH
- 1123H-QARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARIL-  
-AVERYLKDQ-OH
- 1124 Ac-VYPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIREADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1125 Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAYIREADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1126 Ac-DEFDASISQVNEKINQSLAYIREADELL-NH<sub>2</sub>
- 1127 Ac-NEQELLELDKWASLWNWFGGGGDEFDASISQVNEKINQ-  
-SLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1128 Ac-LELDKWASLWNWFGGGGDEFDASISQVNEKINQSLAFIR-  
-KSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1129 2-Naftoyl-EGEGEGEGDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-  
-NH<sub>2</sub>
- 1130 Ac-ASRKCRKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLLKQMCPSL-  
-DV-NH<sub>2</sub>
- 1131 2-Naftoyl-GDEEDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1132 2-Naftoyl-GDEEDASESQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1133 2-Naftoyl-GDEEDASESQNEKINQSLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1134 2-Naftoyl-GDEEDASESQNEKQNQSLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1135 2-Naftoyl-GDEEDASESQNEKQNQSEAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>



- 1136 Ac-WGDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1137 Ac-YTSLGGDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELLGGWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1138 Ac-YTSLIHSLGGDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELLGGWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1139 2-Naftoyl-GDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1140 2-Naftoyl-GDEEDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1141 2-Naftoyl-GDEEDESISQVQEKIEESLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1142 2-Naftoyl-GDEEDESISQVQEKIEESLLFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1143 Biotin-GDEYDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1144 2-Naftoyl-GDEYDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1145 Ac-YTSLIHSLIDEQEKIEELAFIRKSDELLELDKWNWT-NH<sub>2</sub>
- 1146 VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1147 Ac-NNLLRAIEAQQHLLQLTVWGSKQLQARILAVERYLKDQ-NH<sub>2</sub>
- 1148 GGGVYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1149 Ac-NNLLRAIEAQQHLLQLTVWGEKQLQARILAVERYLKDQ-NH<sub>2</sub>
- 1150 Ac-PTRVNYILIIGVLVLABuEVTGVRADVHLL-NH<sub>2</sub>
- 1151 Ac-PTRVNYILIIGVLVLABuEVTGVRADVHLLEQPGNLW-NH<sub>2</sub>
- 1152 Ac-PEKTPLLPTRVNYILIIGVLVLABuEVTGVRADVHLL-NH<sub>2</sub>
- 1153 AhaGGGVYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1155 Ac-YTSLIHSLGGDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL-NH<sub>2</sub>
- 1156 Ac-YTSLGGDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSOELL-NH<sub>2</sub>
- 1157 Ac-DEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELLGGWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1158 Ac-DEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELLGGWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1159 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1160 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKSLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1161 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1162 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWNWF-NH<sub>2</sub>

- 1163 Ac-MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELD-  
-KASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1164 Ac-MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDK-  
-SLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1165 Ac-MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELD-  
-KLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1166 Ac-MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDK-  
-WNWF-NH<sub>2</sub>
- 1167 Ac-MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDK-  
-WASLWN-NH<sub>2</sub>
- 1168 Ac-MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDK-  
-WASL-NH<sub>2</sub>
- 1169 (Pyr)HWSY(2-naftyl-D-Ala)LRPG-NH<sub>2</sub>
- 1170 Ac-WNWFDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1171 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKYASLYNYF-NH<sub>2</sub>
- 1172 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKYAYLYNYF-NH<sub>2</sub>
- 1173 2-Naftoyl-AcaAcaAcaDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELLAca-  
-AcaAcaW-NH<sub>2</sub>
- 1174 2-Naftoyl-AcaAcaAcaGDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELLG-  
-AcaAcaAcaW-NH<sub>2</sub>
- 1175 2-Naftoyl-GDEFDESISQVNEKIEESLAFIRESDELL-NH<sub>2</sub>
- 1176 2-Naftoyl-GDEFDESISQVNEKIEESLAFIEESDELL-NH<sub>2</sub>
- 1177 Ac-WQEWEQKVNYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1178 Ac-WQEWEQKVNYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1179 Ac-WQEWEQKVNYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1180 Ac-WQEWEQKVNYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1181 Ac-WQEWEHQVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1182 Ac-WQEWEQKVNYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1183 Ac-WQEWEQKVNYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>

- 1184 Ac-WQEWQKVNYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1185 Ac-WQEWQKVNYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1186 Ac-WQEWQKVNYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1187 Ac-WQEWQKVNYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1188 Ac-VNaIPsDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1189 Ac-VNaIPsDENaIDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1190 Ac-VNaIPsDEYDASISQVNEEINQALANaIIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1191 Ac-VYPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIREADELLFNFF-NH<sub>2</sub>
- 1192 Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1193 Ac-YTSLITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1194 Ac-YTSLITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1195 Ac-YTSLITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDEWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1196 Ac-YTSLITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDEWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1197 Ac-YTSLITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDEWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1198 Naftoyl-Aua-Aua-Aua-TALLEQAQIQQEKNEYELQKLAua-Aua-Aua-W-NH<sub>2</sub>
- 1199 Ac-WAAWEQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1200 Ac-WQEAAQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1201 Ac-WQEWAAKVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1202 Ac-WQAAEQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1203 Ac-WQEWAAVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1204 Ac-WQEWQAARYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1205 Ac-WQEWAAVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1206 Ac-WQEWAAVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1207 Ac-WQEWQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKLGGG-GWASLWNF-NH<sub>2</sub>
- 1208 2-Naftoyl-GDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELTA-NH<sub>2</sub>
- 1209 2-Naftoyl-GDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELTA-NH<sub>2</sub>

- 1210 2-Naftoyl-GDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELTA-NH<sub>2</sub>
- 1211 2-Naftoyl-GDEFDASISQTNEKTNQSLAFIRKSDELTA-NH<sub>2</sub>
- 1212 2-Naftoyl-GDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELTA-NH<sub>2</sub>
- 1213 2-Naftoyl-GDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELTA-NH<sub>2</sub>
- 1214 2-Naftoyl-GDEFDEEISQVNEKIEESLAFIRKSDELLA-NH<sub>2</sub>
- 1215 2-Naftoyl-GDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELTA-NH<sub>2</sub>
- 1216 2-Naftoyl-GDEFDASASQANEKANQSLAFARKSDELLA-NH<sub>2</sub>
- 1217 2-Naftoyl-GDEFDEESISQVNEKIEESLAFTRKSDELLA-NH<sub>2</sub>
- 1218 2-Naftoyl-GDEFDEESISQVNEKTEESLAFIRKSDELLA-NH<sub>2</sub>
- 1219 2-Naftoyl-GDEFDEESISQTNEKIEESLAFIRKSDELLA-NH<sub>2</sub>
- 1220 2-Naftoyl-GDEFDESTSQVNEKIEESLAFIRKSDELLA-NH<sub>2</sub>
- 1221 Ac-WNWFDEFDESTSQVNEKIEESLAFIRKSDELLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1222 Ac-WNWFDEFDESTSQTNEKIEESLAFIRKSDELLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1223 Ac-WNWFDEFDESTSQTNEKTEESLAFIRKSDELLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1224 Ac-LOAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLRFLGGTTVAL-NH<sub>2</sub>
- 1125 Ac-YTNLIYTLLEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWSWF-NH<sub>2</sub>
- 1226 Ac-WQEWQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWA-  
-SLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1227 Ac-NNMTWQEWQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-  
-DKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1230 Ac-WNWFIEESDELLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1231 2-Naftoyl-GFIEESDELLW-NH<sub>2</sub>
- 1232 Ac-WFIEESDELLW-NH<sub>2</sub>
- 1233 2-Naftoyl-GENFFIEESDELLFNFF-NH<sub>2</sub>
- 1234 2-Naftoyl-GESDELW-NH<sub>2</sub>
- 1235 Ac-WNWFDEFDEESISQVQEEIEESLAFIEESDELLGGWNWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1236 Ac-WNWFHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWV-NH<sub>2</sub>

- 1237 Ac-YTSLITALLEQAQIQQEENEYELQELDEWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1238 Ac-YTSLINSLGGDFEDESISQVNEELEEESLAFIEESDELLGGWA-  
-SLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1239 2-Naftoyl-GDEFDESISQVQEEIEESLAFIEESDELL-NH<sub>2</sub>
- 1240 H-QARQLLSSIMQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARI-  
-LAVERYLKDQ-OH
- 1241 Ac-CPKYVKQNTLKLATGMRNVPEKQTR-NH<sub>2</sub>
- 1242 Ac-GLFGAIAGFIENGWEGMIDGWYGFRHQNSC-NH<sub>2</sub>
- 1243 Ac-LNFLGGT-NH<sub>2</sub>
- 1244 Ac-LDSWWTSLNFLGGT-NH<sub>2</sub>
- 1245 Ac-ILTIPQSLDSWWTSLNFLGGT-NH<sub>2</sub>
- 1246 Ac-GFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGT-NH<sub>2</sub>
- 1247 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWNWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1248 Ac-WNWFITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1249 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWNWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1250 Ac-WQEWEQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKIEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1251 Ac-WQEWEQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKIEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1252 Ac-WQEWEQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKIEYELQKL-NH<sub>2</sub>
- 1253 Ac-NIKENKANGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLM-NH<sub>2</sub>
- 1254 (FS) -YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1255 2-Naftoyl-GWNWFAcaDEFDESTSQVQEEIEESLAFIEESDELL-  
-AcaWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1256 Ac-WNWFGDEFDESISQVNEKIEESLAFIEESDELLGWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1257 Ac-WNWFGDEFDESISQVNEKIEESLAFIEESDELLGWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1258 Ac-WNWF- Aca-DEFDESTSQVNEKIEESLAFIRKSDELLAca-  
-WNWF-NH<sub>2</sub>

- 1259 Ac-WNWF-Aca-DEFDESTSQVNEKIEESLAFIRKSDELL-Aca-  
-WNWF-NH<sub>2</sub>
- 1260 Ac-EESQNQQEKNEQELLELDKWA-NH<sub>2</sub>
- 1261 EESQNQQEKNEQELLELDKWA
- 1262 Ac-CGTTDRSGAPTYSWGATDVFLNNTTRPPLGNWFG-NH<sub>2</sub>
- 1263 Ac-GVEHRLEAACNWTRGERADLEDRDRSELSP-NH<sub>2</sub>
- 1264 Ac-CVREGNASRAWVAVTPTVATRDGKLPT-NH<sub>2</sub>
- 1265 Ac-CFSPRHHTTQDANASIYPG-NH<sub>2</sub>
- 1266 Ac-LQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCPSLDVDS-NH<sub>2</sub>
- 1267 Ac-WQEWDREISNYTSLITALLEQAQIQQEKNEYELOKLDEW-  
-ASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1268 Ac-CWQEWDREISNYTSLITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDE-  
-WASLWEWFC-NH<sub>2</sub>
- 1269 Ac-WQEWDREISNYTSLITALLEQAQIQQEKHEYELOKLDEW-  
-EWF-NH<sub>2</sub>
- 1270 Ac-CWQEWDREISNYTSLITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDEW-  
-EWFC-NH<sub>2</sub>
- 1271 Ac-GQNSQSPTSNHSPTSAPPTAPGYRWA-NH<sub>2</sub>
- 1272 Ac-PGSSTTSTGPARTALTTAQGTSLYPSA-NH<sub>2</sub>
- 1273 Ac-PGSSTTSTGPARTALTTAQGTSLYPSAAATKPSDGNATA-  
-NH<sub>2</sub>
- 1276 Ac-WQEWDREITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWNWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1276 Ac-WQEWDREITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDEWASLWNWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1277 Ac-WQEWDREITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDEWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1278 Ac-WQEWDREITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDEWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1279 Ac-WQEWEREITALLEQAQIQQEKNEYELQKLIEWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1280 Ac-WQEWEREITALLEQAQIQQEKIEYELQKLDEWEWF-NH<sub>2</sub>

- 1281 Ac-WQEWEITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDEWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1282 Ac-WQEWEITALLEQAQIQQEKNEYELQKLIWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1283 Ac-WQEWEITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDEWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1284 Ac-WQEWEITALLEQAQIQQEKNEYELQKLIWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1285 Ac-WQEWREIDEYDASISQVNEKINQALAYIREADELWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1286 Ac-WQEWEREIDEYDASISQVNEKINQALAYIREADELWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1287 Ac-WQEWEIDEYDASISQVNEKINQALAYIREADELWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1288 Ac-WQEWEREIDEYDASISQVNEEINQALAYIREADELWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1289 Ac-WQEWEREIDEYDASISQVNEEINQALAYIREADELWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1290 Ac-WQEWEIDEYDASISQVNEEINQALAYIREADELWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1291 Ac-WQEWDEYDASISQVNEEINQALAYIREADELWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1292 Ac-WQEWDEYDASISQVNEEINQALAYIREADELWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1293 Ac-WQEWWEQKITALLEQAQIQQEKIEYELQKLIWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1294 Ac-WQEWWEQKITALLEQAQIQQEKIEYELQKLIWASLEWF-NH<sub>2</sub>
- 1295 Ac-WQEWWEITALLEQAQIQQEKIEYELQKLIWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1298 Ac--VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1299 Ac-WVYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENVWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1300 YTSLIHSLIESSQNQQENKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1301 Ac-WQEWDEYDASISQVNEKINQALAYIREADELWAWF-NH<sub>2</sub>
- 1302 Ac-WQEWDEYDASISQVNEKINQALAYIREADELWAWF-NH<sub>2</sub>
- 1303 Ac-WQEWDEYDASISQVNEKINQALAYIREADELWAWF-NH<sub>2</sub>
- 1304 Blotin-YDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL-NH<sub>2</sub>
- 1305 Blotin-YDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAF-NH<sub>2</sub>

- 1306 Biotin-QVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH<sub>2</sub>
- 1307 Ac-WMEWDREI-NH<sub>2</sub>
- 1308 Ac-WQEWEQKI-NH<sub>2</sub>
- 1309 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKIEYELQKLIKWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1310 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKIEYELQKLIKWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1311 Ac-WQEWEREISAYTSLITALLEQAQIQQEKIEYELQKLIWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1312 Ac-WQEWEREISAYTSLITALLEQAQIQQEKIEYELQKEWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1313 Ac-WQEWEREISAYTSLITALLEQAQIQQEKIEYELQKEWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1314 Ac-WQEWEREISAYTSLITALLEQAQIQQEKIEYELQKLIWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1315 Ac-PNLSDHSESIQKKFQLMKKHVNKIGVDS DPIGSWLR-NH<sub>2</sub>
- 1316 Ac-DHSESIQKKFQLMKKHVNKIGVDS DPIGSWLRGIF-NH<sub>2</sub>
- 1317 Ac-WSVKQANLTTSLLDLDDVTSIRHAVLONRA-NH<sub>2</sub>
- 1318 Biotin-WMEWDREI-NH<sub>2</sub>
- 1319 Biotin-NNMTWMEWDREINNYTSL-NH<sub>2</sub>
- 1320 Ac-GAASLTTLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLL-NH<sub>2</sub>
- 1321 Ac-ASLTTLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQL-NH<sub>2</sub>
- 1322 Ac-VSVGNTLYYV NKQEGKSLYVKGEPIIHFYDPLVF-NH<sub>2</sub>
- 1323 Ac-QHWSYGLRPG-NH<sub>2</sub>
- 1324 Ac-WQEWEQKIQHWSYGLRPGWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1325 Ac-WQEWEQKIQHWSYGLRPGWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1326 Ac-WNWFQHWSYGLRPGWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1327 Ac-FNFFQHWSYGLRPGFNFF-NH<sub>2</sub>
- 1328 Ac-GAGAGHWSYGLRPGAGAG-NH<sub>2</sub>



- 1329 PLLVLOAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGT
- 1330 Ac-WOEWEQKITALLEQAQIQQEKIEYELOKLAKWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1331 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKIEYELOKLAEWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1332 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKIEYELOKLAEWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1333 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKAEYELQKLAEWASLWAWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1334 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKIEYELOKLAEWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1335 Ac-TNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVKNK-NH<sub>2</sub>
- 1336 Ac-KAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVKNKQS-NH<sub>2</sub>
- 1337 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLIWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1338 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKGEEYELQKLIWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1339 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKIEYELQKLDKWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1340 Ac-YDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAF-NH<sub>2</sub>
- 1341 Fluor-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1342 Fluor-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1344 Ac-SGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARIL-NH<sub>2</sub>
- 1345 Ac-QQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQ-  
-NH<sub>2</sub>
- 1346 Ac-SGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYL-  
-KDQ-NH<sub>2</sub>
- 1347 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAEWASLWAWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1348 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAEWASLWAW-  
-NH<sub>2</sub>

- 1349 Ac-WQEWKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAEWASLWAW-NH<sub>2</sub>
- 1350 Ac-WQEWKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAEWASLWAWF-NH<sub>2</sub>
- 1351 Ac-WQEWKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAEWASLWAW-NH<sub>2</sub>
- 1352 Ac-WQEWKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAEWASLWAW-NH<sub>2</sub>
- 1353 Ac-WQEWKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAEWASLWAWF-NH<sub>2</sub>
- 1354 Ac-WQEWQHWSYGLRPGWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1355 Ac-WQEWQHWSYGLRPGWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1356 Biotinyl-WQEWKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAEWASLW-AWF-NH<sub>2</sub>
- 1357 WQEWKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAEWASLWAWF
- 1358 WQEWKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLEWAWF
- 1361 Ac-AGSTMGARSMTLTVQARQLLSQIVQQQNNLLRAIEAQQ-NH<sub>2</sub>
- 1362 Ac-AGSAMGAASLTLSAQSRLLAGIVQQQQQLLDVVKRQQ-NH<sub>2</sub>
- 1363 Ac-AGSAMGAASLTLSAQSRLLAGIVQQQQQLLDVVKRQQ-NH<sub>2</sub>
- 1364 Ac-ALTAGSRLLAGIVQQQQQLLDVVKRQQELLRLTVWGT-NH<sub>2</sub>
- 1365 Ac-TLSAQSRLLAGIVQQQQQLLDVVKRQQELLRLTVWGT-NH<sub>2</sub>
- 1366 Ac-TITVQARQLLAGIVQQQQQLLDVVKRQQELLRLTVWGT-NH<sub>2</sub>
- 1367 Ac-WQAWIEYEAELSQVKEKIEQSLAYIREADELWAWF-NH<sub>2</sub>
- 1368 Ac-WQAWIEYEAELSQVKEKIEQSKAYIREADELWAWF-NH<sub>2</sub>
- 1369 Ac-WQAWIEYERLLVOAKLKIAIAKLYIAKELLEWAWF-NH<sub>2</sub>
- 1370 Ac-WQAWIEYERLLVOAKLKIAIAKLYIAKELLEWAWF-NH<sub>2</sub>
- 1371 Ac-WQAWIELERLLVQVKLKLIAIAKLEIAKELLEWAWF-NH<sub>2</sub>
- 1372 Ac-GEWTYDDATKTFTVTEGGH-NH<sub>2</sub>
- 1373 Ac-WQEWKIGEWTYDDATKTFTVTEGGHWASLWEWF-NH<sub>2</sub>

- 1374 Ac-GEWTYDDATKTFTVTE-NH<sub>2</sub>
- 1375 Ac-WQEWEQKIGEWTYDDATKTFTVTEWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1376 Ac-WHRFDYRT-NH<sub>2</sub>
- 1377 Ac-WQEWEQKIMHRFDYRTWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1378 Ac-MHRFNWSTGGG-NH<sub>2</sub>
- 1379 Ac-WQEWEQKIMHRFNWSTGGGWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1380 Ac-MHRFDYRT-NH<sub>2</sub>
- 1381 Ac-WQEWEQKIMHRFNWSTWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1382 Ac-LLVPLARIMTMSSVHGGG-NH<sub>2</sub>
- 1383 Ac-WQEWEQKILLVPLARIMTMSSVHGGWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1384 Ac-LLVPLARIMTMSSVH-NH<sub>2</sub>
- 1385 Ac-WQEWEQKILLVPLARIMTMSSVHWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1386 TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDK
- 1387 Ac-TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDK-NH<sub>2</sub>
- 1388 Ac-TALLEQAQIQQEKIEYELQKLIE-NH<sub>2</sub>
- 1389 TALLEQAQIQQEKIEYELQKLIE
- 1390 Ac-QARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARIL-  
 -AVERY-NH<sub>2</sub>
- 1391 Rhod-QARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQ-  
 -ARILAVERY-NH<sub>2</sub>
- 1392 Ac-GAASLTLSAQSRRTLLAGIVQQQQQLLDVVKRQQEML-NH<sub>2</sub>
- 1393 Ac-GSAMGAASLTLSAQSRRTLLAGIVQQQQQLLDVVKRQQEML-  
 -NH<sub>2</sub>
- 1394 Ac-PALSTGLIHLHQNIVDVQFLFGVGSSIASWAIKWEY-NH<sub>2</sub>
- 1395 Ac-PALSTGLIHLHQNIVDVQFLFGVGSSIASWAIK-NH<sub>2</sub>
- 1396 Ac-LSTTQWQVLPUSFTTLPALSTGLIHLHQNIVDVQY-NH<sub>2</sub>
- 1397 Ac-FRKPPEATFSRUGSGPRITPRUMVDFFPRLWHY-NH<sub>2</sub>
- 1398 Ac-DFFPRLWHFPUTINYTIFKVRLFVGGVEHRLEAAUNWTR-  
 -NH<sub>2</sub>

- 1399 Ac-YVGGVEHRLEAAUNWTRGERUDLEDRDRSELSPL-NH<sub>2</sub>
- 1400 MVYPSDEYDSISQVNEEINQALAYIRKADELLENV
- 1402 Ac-GPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGG-NH<sub>2</sub>
- 1403 Ac-LGPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLG-NH<sub>2</sub>
- 1404 Ac-FLGPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWRSNFL-NH<sub>2</sub>
- 1405 Ac-YTNTIYTLLEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1406 YTNTTYTLLEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF
- 1407 Ac-YTGIIYNLLEESQNQQEKNEQELLELDKWANLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1408 YTGIIYNLLEESQNQQEKNEQELLELDKWANLWNWF
- 1409 Ac-YTSLIYSLLEESQNQQEKNEQELLELDKWANLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1410 YTSLIYSLLEESQNQQEKNEQELLELDKWANLWNWF
- 1411 Ac-EKSQIQQEKNEQELLELDKWA-NH<sub>2</sub>
- 1412 EKSQIQQEKNEQELLELDKWA
- 1413 Ac-EKSQIQQEKNEQELLELDKWA-NH<sub>2</sub>
- 1414 EKSQIQQEKNEQELLELDKWA
- 1415 Ac-YTXLIHSLXESQNQQXKNEQELXELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1416 Ac-YTXLIHSLIXESQNQQXKNEQELXELD-NH<sub>2</sub>
- 1417 Ac-TYSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELD-NH<sub>2</sub>
- 1418 Ac-WQEWEXKITALLXQAQIQQXKNEYELXKLDKWASLWEWF-  
 -NH<sub>2</sub>
- 1419 Ac-XKITALLXQAQIQQXKNEYELXKLDKWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1420 Ac-WQEWEXKITALLXQAQIQQXKNEYELXKLD-NH<sub>2</sub>
- 1421 Ac-WEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLD-NH<sub>2</sub>
- 1422 Ac-QEXKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLD-NH<sub>2</sub>
- 1423 Ac-XKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLD-NH<sub>2</sub>
- 1425 Ac-CKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLD-NH<sub>2</sub>
- 1426 Ac-QKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1427 Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLD-NH<sub>2</sub>

- 1428 Ac-VYPSDEYDASISQVNEENQALAYIRKADELLEN-OH
- 1429 Ac-VYPSDEYDASISQVNEENQALAYIRKADELLE-OH
- 1430 Ac-VYPSDEYDASISQVNEENQALAYIRKADELL-OH
- 1431 Ac-VYPSDEYDASISQVNEENQALAYIRKADEL-OH
- 1432 YPSDEYDASISQVNEENQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1433 PSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1434 SDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1435 DEYDASISCVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1436 Ac-VYPSDEYDASISQVDEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1437 Ac-VYPSDEYDASISQVDEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1438 Ac-VYPSDEYDASISQVDEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1439 Ac-VYPSDEYDASISQVDEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1440 Ac-LLSTNKAVVSLSNQVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLP-NH<sub>2</sub>
- 1441 Ac-LSTNKAVVSLSNQVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPI-NH<sub>2</sub>
- 1442 Ac-STNKAVVSLSNQVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIV-NH<sub>2</sub>
- 1443 Ac-TNKAVVSLSNQVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIVN-NH<sub>2</sub>
- 1444 Ac-NKAVVSLSNQVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIV NK-NH<sub>2</sub>
- 1445 Ac-KAVVSLSNQVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIV NKQ-NH<sub>2</sub>
- 1446 Ac-AVVSLSNQVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIV NKQS-NH<sub>2</sub>
- 1447 Ac-VVSLSNQVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIV NKQSU-NH<sub>2</sub>
- 1448 Ac-VSLSNQVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIV NKQSUS-NH<sub>2</sub>
- 1449 Ac-SLSNGVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIV NKQSUSI-NH<sub>2</sub>
- 1450 Ac-LSNGVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIV NKQSUSIS-NH<sub>2</sub>
- 1451 Ac-SNGVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIV NKQSUSISN-NH<sub>2</sub>
- 1452 Ac-NGVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIV NKQSUSISNI-NH<sub>2</sub>
- 1453 Ac-GVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIV NKQSUSISNIE-NH<sub>2</sub>
- 1454 Ac-VSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIV NKQSUSISNIET-NH<sub>2</sub>
- 1455 Ac-SVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIV NKQSUSISNIETV-NH<sub>2</sub>

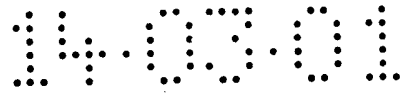
- 1456 Ac-VLTSKVLDLKKNYIDKQLLPVINKQSUSISNIETVI-NH<sub>2</sub>  
1457 Ac-LTSKVLDLKKNYIDKQLLPVINKQSUSISNIETVIE-NH<sub>2</sub>  
1458 Ac-TSKVLDLKKNYIDKQLLPVINKQSUSISNIETVIEF-NH<sub>2</sub>  
1459 Ac-SKVLDLKKNYIDKQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQ-NH<sub>2</sub>  
1460 Ac-KVLDLKKNYIDKQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQ-NH<sub>2</sub>  
1461 Ac-VLDLKKNYIDKQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQK-NH<sub>2</sub>  
1462 Ac-LDLKKNYIDKQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKN-NH<sub>2</sub>  
1463 Ac-DLKKNYIDKQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKNN-NH<sub>2</sub>  
1464 Ac-LKNYIDKQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKNNR-NH<sub>2</sub>  
1465 Ac-KNYIDKQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKNNRL-NH<sub>2</sub>  
1466 Ac-NYIDKQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKNNRLL-NH<sub>2</sub>  
1467 Ac-YIDKQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKNNRLLLE-NH<sub>2</sub>  
1468 Ac-IDKQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKNNRLLLEI-NH<sub>2</sub>  
1469 Ac-DKQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKNNRLLLEIT-NH<sub>2</sub>  
1470 Ac-KQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKNNRLLLEITR-NH<sub>2</sub>  
1471 Ac-QLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKNNRLLLEITRE-NH<sub>2</sub>  
1472 Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALA  
1473 QVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>  
1474 VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV  
1475 Ac-DEYDASISQVNEEINQALAYIREADEL-NH<sub>2</sub>  
1476 Ac-DEYDASISQVNEEINQALAYIREADEL-NH<sub>2</sub>  
1477 Ac-DDECLNSVKNGTYDFPKFEEESKLNARNEIKGVKLS-NH<sub>2</sub>  
1478 Ac-DDE-Abu-LNSVKNGTYDFPKFEEESKLNARNEIKGVKLS-NH<sub>2</sub>  
1479 Ac-YHKCDDECLNSVKNGTFDFPKFEEESNLNRNEIKGVKLSS-  
-NH<sub>2</sub>  
1480 Ac-YHK-Abu-DDE-Abu-LNSVKNGTFDFPKFEEESKLNARNEIKGV-  
-KLSS-NH<sub>2</sub>  
1481 Ac-YTSLIHSLIEESQIQQEKNEQELLELDKWASSLWNWF-NH<sub>2</sub>

- 1482 Ac-YTSLIHSLIEESQIQQEKNEQEELLELDKWASSLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1483 Ac-YTSLIHSLIEESQIQQEKNEQEELLELDKWASSLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1484 Ac-YTSLIHSLIEESQIQQEKNEQEELLELDKWASSLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1485 Ac-YTSLIHSLIEESQIQQEKNEQEELLELDKWASSLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1486 Ac-YTSLIHISLIEESQNQQEKNEYELQKLDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1487 Ac-YTSLIHSLIEESQIQQEKNEQELQKLDKWAGLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1488 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWQSLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1489 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWQSLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1490 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWQSLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1491 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWQSLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1492 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWQSLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1493 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWQSLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1494 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWQSLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1495 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWQSLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1496 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1497 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLI EWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1498 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAKWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1499 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLIKWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1500 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLI EWAGLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1501 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAKWAGLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1502 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLIKWAGLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1503 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLI EWASLWAWF-  
-NH<sub>2</sub>

- 1504 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAKWAGLWAWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1505 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLIKWAGLWAWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1506 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1507 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELLELDKWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1508 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAKWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1509 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDEWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1510 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELLELAKWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1511 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELLELDKWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1512 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELLELIEWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1513 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELLELIEWAGLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1514 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELLELIEWAGLWAWF-  
NH<sub>2</sub>
- 1515 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLIWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1516 Ac-WQEWEREIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1517 Ac-WQEWEREIQQEKGEYELQKLIWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1518 Ac-WQEWEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1519 Ac-WQEWQAQIQQEKGEYELQKLIWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1520 PEG-GWQEWEQRITALLEQAQIQQERNEYELQRLDEWASL-  
-WEWF-NH<sub>2</sub>
- 1521 Ac-GWQEWEQRITALLEQAQIQQERNEYELQRLDEWASLW-  
-EWF-NH<sub>2</sub>
- 1522 PEG-YTSLITALLEQAQIQQERNEQELLELDEWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1523 Ac-YTSLITALLEQAQIQQERNEQELLELDEWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1526 PEG-YTSLITALLEQAQIQQERNEQELLELDEWASLWEWF-NH<sub>2</sub>



- 1527 Ac-GWQEWEQRITALLEQAQIQQERNEYELQRLDEWASL-  
-WEWF-NH<sub>2</sub>
- 1528 PEG-YTSLITALLEQAQIQQERNEQELLELDEWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1529 PEG-GWQEWEQRITALLEQAQIQQERNEYELQRLDEWASL-  
-WEWF-NH<sub>2</sub>
- 1530 Ac-GWQEWEQRITALLEQAQIQQERNEYELQRLDEWASL-  
-WEWF-NH<sub>2</sub>
- 1531 PEG-GWQEWEQRITALLEQAQIQQERNEYELQELDRWASL-  
-WEWF-NH<sub>2</sub>
- 1532 AC-GWQEWEQRITALLEQAQIQQERNEYELQELDRWASL-  
-WEWF-NH<sub>2</sub>
- 1533 PEG-YTSLIGSLIEESQNQQERNEQELLELDRWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1534 Ac-YTSLIGSLIEESQNQQERNEQELLELDRWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1538 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEK-OH
- 1539 NEQELLELDK
- 1540 WASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1542 Ac-AAWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1543 QQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1544 QQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1545 QQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1546 Ac-WQEWEQKITALLAAQIQQEKNEYELQKLDKWQSLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1547 Ac-WQEWEQKITALLAAQIQQEKNEYELQKLDKWQSLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1548 Ac-WQEWEQKITALLAAQIQQEKNEYELQKLDKWQSLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1549 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKAAAELQKLDKWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>



- 1550 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYAAAKLDKWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1551 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQAAAKWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1552 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDAAASLWEWF-NH
- 1553 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWAAAAEWF-NH
- 1554 Ac-WQEWEQKITALLAAQIQQEKNEYELQKLDKWQSLWAAA-NH<sub>2</sub>
- 1556 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1557 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1558 Ac-ERTLDFHDS-NH<sub>2</sub>
- 1559 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWN(W)F-NH<sub>2</sub>
- 1563 Ac-YTSLIHSLIEESQN(Q) QEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1564 Ac-YTSLIHSUEESQNQQDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1566 Ac-FYEIIMDIEQNNVQGKKGIIQQLQKWEDWVGWIGNI-NH<sub>2</sub>
- 1567 Ac-INQTIWNHGNITLGEWYNQTKDLQQKFYEIIMDIE-NH<sub>2</sub>
- 1568 Ac-WNHGNITLGEWYNQTKDLQQKFYEIIMDIEQNNVQ-NH<sub>2</sub>
- 1572 Ac-YTSUHSLIEESENQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1573 Ac-YTSLIHSUEESQDQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1574 Ac-YTSLIHSLIEESQNEQEKNEQEELLELDKWASLWN(W)F-NH<sub>2</sub>
- 1575 c-YTSUHSUEESQNQEEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1576 Ac-YTSUHSUEESQNQQEKDEQEELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1577 Ac-LGEWYNQTKDLQQKFYEIIMDIEQNNVQGKKGIIQQLQK-NH<sub>2</sub>
- 1578 Ac-WYNQTKDLQQKFYEIIMDIEQNNVQGKKGIIQQLQK-NH<sub>2</sub>
- 1579 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEEELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1580 Ac-YTSUHSUEESQNQQEKNEQEELLELOKWASLWDWF-NH<sub>2</sub>

- 1586 Ac-XTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWX-NH<sub>2</sub>
- 1588 Ac-YNQTKDLQQKFYEIIMDIEQNNVQGKKGIIQQLQKW-NH<sub>2</sub>
- 1598 Ao-YTSUHSUEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF
- 1600 Ac-TLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQ-  
-LQAR-NH<sub>2</sub>
- 1603 Ao-LQQKFYEIIMDIEQNNVQGKKGIIQQLQKWEDWVGW-NH<sub>2</sub>
- 1627 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLALDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1628 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEADKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1629 Ac-YTSUHSUEESQNQQEKNEQELLELAKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1630 Ac-YTSUHSUEESQNQQEKAQEELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1631 Ac-YTSUHSUEESQNQQEKNAQEELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1632 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1634 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEQELQKLDKWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1635 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKAAYELQKLDKWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1636 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNAAYELQKLDKWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1637 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEAELQKLDKWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1644 Ac-EYDLRRWEK-NH<sub>2</sub>
- 1645 Ac-EQELLELDK-NH<sub>2</sub>
- 1646 Ac-EYELQKLDK-NH<sub>2</sub>
- 1647 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEQELLKLDKWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1648 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEQELLELDKWASLWE-NH<sub>2</sub>
- 1649 Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNDKWASLWEWF-NH<sub>2</sub>
- 1650 Ac-YTSLIHSLIEESQNQAQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1651 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQAKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>

- 1652 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEANEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1653 Ac-YTSLIHSLIEESANQQEANEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1654 Ac-YTSLIHSLIEESQAQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1655 Ac-YTSLIHSLIEESQNAQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1656 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1657 Ac-YTSLIHSAIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1658 Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>
- 1659 Ac-YTSLIHSLAEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1660 EESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1661 Ac-YTSLAHS�IEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1662 Ac-YTSUASLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1663 Ac-ATSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1664 Ac-YASUHS�IEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1665 Ac-YTAUHS�IEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH<sub>2</sub>
- 1666 Ac-RIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQ-NH<sub>2</sub>
- 1667 Ac-HTIDLTSEMKNLFEKTRRQLREN-NH<sub>2</sub>
- 1668 Ac-SEMKNLFEKTRRQLREN-NH<sub>2</sub>
- 1669 Ac-VFPSDEADASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 1670 Ac-VFPSDEFAASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 1671 Ac-VFPSDEFAASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 1672 Ac-VFPSDEFAASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 1673 Ac-VFPSDEFAASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 1674 Ac-WQEWEQKITAALQQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1675 Ac-WQEWEQKITAALQQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1676 Ac-WQEWEQKITAALQQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLW-  
-EWF-NH<sub>2</sub>

- 1677 Ac-WQEWQKITAALQQAQQAQKNEYELQKLDKWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1678 Ac-WQEWQKITAALQQAQIAQKNEYELQKLDKWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1679 Ac-WQEWQKITAALQQAQIQAEKNEYELQKLDKWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1680 Ac-VFPSDEFAASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 1681 Ac-VFPSDEFAASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 1682 Ac-VFPSDEFAASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 1683 Ac-VFPSDEFAASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 1684 Ac-VFPSDEFAASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH<sub>2</sub>
- 1685 Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQAKNEYELQKLDKWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1687 Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQALDKWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>
- 1688 Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKADKWASLWEWF-  
-NH<sub>2</sub>

Je třeba rozumět, že do rámce předkládaného vynálezu spadají také peptidy uvedené v tabulce 2. Jak se uvádí výše, ty peptidy znázorněné v tabulce 2, které již neobsahují zesilující peptidové sekvence (tj. nejsou hybridními polypeptidy) mohou být použity ve spojení se zesilujícími peptidovými sekvencemi a v přihlášce popisovanými znalostmi pro vytvoření hybridních polypeptidů. Navíc mohou být základní polypeptidy a základní polypeptidy hybridních polypeptidů ukázané v tabulce 2 a obr. 13 použity s jakoukoli zde popisovanou zesilující peptidovou sekvencí pro rutinní získávání dalších hybridních polypeptidů, které mají také patřit do rámci předkládaného vynálezu.

Je třeba rozumět, že zatímco řada polypeptidů uvedených



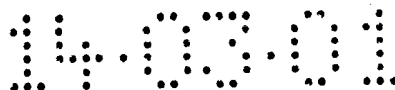
v tabulce 2 a obr. 13 je znázorněna s modifikovanými, například blokovánými aminovými a/nebo karboxylovými konci d-isomerních aminokyselin (označené zbytky v závorkách), má se za to, že jakýkoli polypeptid obsahující primární aminokyselinovou sekvenci zobrazenou v tabulce 2 a obr. 13 je rovněž součástí předkládaného vynálezu.

Sekvence základních polypeptidů samy o sobě ukázané v tabulce 2 a obr. 13, stejně jako hybridní polypeptidy obsahující tyto základní polypeptidy mohou vykonávat antivirovou a/nebo antifuzogenní aktivitu a/nebo mohou mít schopnost modulovat intracelulární procesy, které se týkají peptidových struktur se stočenou šroubovicí (coiled-coil). Mezi těmito sekvencemi základních polypeptidů se například vyskytují sekvence, které byly odvozeny z jednotlivých sekvencí virových proteinů. Mezi sekvence základních polypeptidů patří také například sekvence, které jsou odvozené z více než jedné sekvence virového proteinu (například základní peptid odvozený z HIV-1, HIV-2 a SIV).

Navíc mohou tyto základní polypeptidy obsahovat substituce, delece a/nebo inserce aminokyselin jak bylo diskutováno výše, zesilujících polypeptidových sekvencí, pokud nedojde ke snížení konkrétní antivirové a/nebo antifuzogenní aktivity základního polypeptidu (buď jako takového nebo jako součásti hybridního polypeptidu).

Co se týče delecí aminokyselin, výhodné je, jestliže má výsledný základní polypeptid délku alespoň přibližně 4 až 6 aminokyselin. Mezi insercemi aminokyselin jsou výhodné inserce, které nejsou delší než přibližně 50 aminokyselinových zbytků, a výhodněji nejsou delší než přibližně 15 aminokyselinových zbytků. Je také výhodné, jestliže jsou inserce základního polypeptidu insercemi na amino- a/nebo karboxylových koncích.

Mezi těmito insercemi na aminových a/nebo karboxylových koncích jsou inserce, které obsahují aminokyselinové sekvence ve



směru amino a/nebo karboxy vzhledem k endogenní proteinové sekvenci, ze které je základní polypeptid odvozen. Jestliže je například základní polypeptid odvozen z proteinu gp41, taková inserce by zahrnovala aminokoncovou a/nebo karboxykoncovou inserci obsahující aminokyselinovou sekvenci gp41 sousedící se základní polypeptidovou sekvencí gp41. Tyto aminokoncové a/nebo karboxykoncové inserce mohou být typicky v délce přibližně 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 nebo 50 aminokyselinových zbytků ve směru amino a/nebo karboxy vzhledem k původnímu základnímu polypeptidu.

Hybridní polypeptidy podle vynálezu mohou ještě dále obsahovat další modifikace, které snadno umožňují detekci polypeptidu. Například hybridní polypeptidy mohou být značeny buď přímo nebo nepřímo. Technologie značení peptidů jsou odborníkům v oboru dobře známy a zahrnují bez omezení radioaktivní, fluorescenční a kolorimetrické techniky. Techniky nepřímého značení jsou odborníkům v oboru také dobře známy a zahrnují bez omezení systém biotin/streptavidin a nepřímé značení protilátkami.

Vynález se dále týká asociace zesilujících peptidových sekvencí s typy molekul jinými než jsou peptidy. Například zesilující peptidová sekvence může být navázána na molekuly nukleových kyselin (např. DNA nebo RNA) nebo jakýkoli typ malé organické molekuly pro účely zesílení farmakokinetických vlastností těchto molekul.

## 2. Syntéza peptidů

Zesilující, základní a hybridní polypeptidy podle vynálezu mohou být syntetizovány nebo připravovány technikami dobře známými v oboru, viz například Creighton, 1983, *Proteins: Structures and Molecular Principles*, W. H. Freeman and Co, NY, který se zahrnuje ve své úplnosti odkazem. Hybridní polypeptidy mohou být připraveny použitím běžných postupných syntéz v roztoku nebo na pevné fázi, kondenzací fragmentů, použitím chemických reakcí F-MOC nebo T-

BOC (viz např. Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins, Williams a další, ed., 1997, CRC Press, Boca Raton Florida, a tam uvedené odkazy; Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach, Atherton & Sheppard, ed., 1989, IRL Press, Oxford, Anglie, a tam uvedené odkazy). Podobně se provádějí modifikace na aminových a/nebo karboxylových koncích.

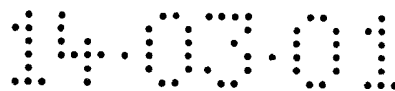
Zesilující, základní a hybridní polypeptidy podle vynálezu mohou být čištěny způsoby známými v oboru, jako je normální HPLC nebo HPLC s reverzní fází, iontoměničová chromatografie, gelová elektroforéza, afinitní chromatografie, metoda size exclusion, srážení apod. Skutečné podmínky použité pro čištění konkrétního polypeptidu budou z části záviset na strategii syntézy a na faktorech jako je celkový náboj, hydrofobicita, hydrofilicita, solubilita, stabilita atd., a budou odborníkům v oboru zřejmé.

Hybridní, zesilující a základní polypeptidy mohou být také vyrobeny použitím technik rekombinantní DNA. Zde mohou být syntetizovány a/nebo klonovány nukleotidové sekvence kódující polypeptidy podle vynálezu, které mohou být exprimovány způsoby známými odborníkům v oboru, viz například Sambrook, a další, 1989, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, díl 1 - 3, Cold Spring Harbor Press, NY.

Je možno získat segment DNA kódující příslušný polypeptid použitím celé řady technik molekulární biologie, které jsou odborníkům v oboru obecně známé, například pro vytvoření fragmentu DNA kódujícího příslušný protein může být použita polymerázová řetězová reakce (PCR). alternativně může být fragment DNA získán z komerčního zdroje.

DNA kódující polypeptidy může být vložena pomocí rekombinačních technik do řady systémů hostitelských vektorů, které také poskytují replikaci DNA ve velkém měřítku. Tyto vektory mohou být navrženy tak, aby obsahovaly nezbytné prvky pro řízení transkripce





a/nebo translace sekvence DNA kódující hybridní polypeptid.

Mezi použitelné vektory patří bez omezení vektory odvozené z rekombinantní bakteriofágové DNA, plasmidové DNA nebo kosmidové DNA. Mohou být například použity plasmidové vektory jako jsou skupiny vektorů pcDNA3, pBR322, pUC 19/18, pUC 118, 119 a M13 mp. Mezi bakteriofágové vektory mohou patřit řady bakteriofágových vektorů  $\lambda$ gt10,  $\lambda$ gt11,  $\lambda$ gt18-23,  $\lambda$ ZAP/R a EMBL. Mezi použitelné kosmidové vektory patří bez omezení vektory řady pJB8, pCV 103, pCV 107, pCV 108, pTM, pMCS, pNNL, pHSG274, COS202, COS203, pWE15, pWE16 a charomid 9.

Alternativně zahrnují rekombinantní vektory bez omezení vektory omezené z virů jako je herpetický virus, retroviry, viry vakcinie, adenoviry, viry spojené s adenoviry nebo bovinní papilomaviry, rostlinné viry jako je virus tabákové mozaiky a bakulovirus.

Pro expresi biologicky aktivního polypeptidu může být nukleotidová sekvence kódující protein vložena do vhodného expresního vektoru, tj. vektoru, který obsahuje nezbytné prvky pro transkripci a translaci vložených kódujících sekvencí. Pro konstrukci expresních vektorů s kódující sekvencí hybridního polypeptidu operativně spojenou s vhodnými transkripčními/translačními řídicími signály mohou použity metody dobře známé odborníkům v oboru. Mezi tyto metody patří rekombinantní techniky DNA in vitro a syntetické techniky, viz například způsoby popsané v Sambrook, a další, 1992, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y. a Ausubel a další, 1989, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates & Wiley Interscience, N.Y., které se všechny zařazují ve své úplnosti odkazem.

Molekula nukleové kyseliny kódující hybridní, zesilující a základní polypeptidy, může být operativně spojena s řadou různých promotorových/zesilujících prvků. Promotorové/zesilující prvky mohou být zvoleny tak, aby optimalizovaly expresi terapeutických množství

proteinu. Expresní prvky těchto vektorů mohou mít různou sílu a různé specifické znaky. V závislosti na použitém systému hostitel/vektor je možno použít jakýkoli počet vhodných transkripčních a translačních prvků. Promotor může být ve formě promotoru přirozeně asociovaného s příslušným genem. Alternativně může být DNA umístěna pod kontrolu rekombinantního nebo heterologního promotoru, tj. promotoru, který s tímto genem není za normálních okolností asociován. Například pro řízení exprese přenesené DNA v určitých typech buněk mohou být použity tkáňově specifické promotorové/zesilující prvky.

Příklady transkripčních řídicích oblastí, které vykazují tkáňovou specifitu, které byly popsány a které by mohly být použity, zahrnují bez omezení kontrolní oblast genu pro elastázu I, která je aktivní v pankreatických acinárních buňkách (Swift a další, 1984, Cell 38: 639 - 646; Ornitz a další, 1986, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 50: 399 - 409; MacDonald, 1987, Hepatology 7: 42S - 51S); řídicí oblast genu pro inzulin, která je aktivní v buňkách beta pankreatu (Hanahan, 1985, Nature 315: 115 - 122); kontrolní oblast genu pro imunoglobulin, která je aktivní v lymfoidních buňkách (Grosschedl a další, 1984, Cell 38: 647 - 658; Adams a další, 1985, Nature 318: 533 - 538 ; Alexander a další, 1987, Mol. Cell. Biol. 7: 1436 - 1444); kontrolní oblast genu pro albumin, která je aktivní v játrech (Pinkert a další, 1987, Genes and Devel. 1: 268 - 276); kontrolní oblast genu pro alfa-fetoprotein, který je aktivní v játrech (Krumlauf a další, 1985, Mol. Cell. Biol. 5: 1639 - 1648; Hammer a další, 1987, Science 235: 53 - 58); kontrolní oblast genu pro alfa-1-antitrypsin, který je aktivní v játrech (Kelsey a další, 1987, Genes a Devel. 1: 161 - 171); kontrolní oblast pro gen beta-globinu, který je aktivní v myeloidních buňkách (Magram a další, 1985, Nature 315: 338 - 340; Kollias a další, 1986, Cell 46: 89 - 94); kontrolní oblasti genu pro myelinový bazický protein, který je aktivní v oligodendrocytárních buňkách v mozku (Readhead a další, 1987, Cell 48: 703 - 712); kontrolní oblast pro gen lehkého řetězce 2-

myosinu, který je aktivní v kosterním svalstvu (Shani, 1985, Nature 314: 283 - 286); a kontrolní oblast pro gen hormonu uvolňujícího gonadotropin, který je aktivní v hypothalamu (Mason a další, 1986, Science 234: 1372 - 1378). Mohou být použity promotory izolované z genomu virů, které rostou v savčích buňkách (například virus vakcinie 7,5K, SV40, HSV, adenoviry MLP, MMTV, LTR a CMV promotory) stejně jako promotory produkované technikami rekombinantní DNA nebo synteticky.

V některých případech mohou být prvky promotoru konstitutivní nebo inducibilní promotory a mohou být použity za vhodných podmínek pro navození vysokých úrovní nebo regulované exprese příslušné nukleotidové sekvence. Expese genů pod řízením konstitutivních promotorů nevyžaduje přítomnost specifického substrátu pro indukci exprese genu a bude probíhat za všech podmínek buněčného růstu. Naopak expese genů řízených inducibilními promotory odpovídá na přítomnost nebo nepřítomnost indukčního činidla.

Pro dostatečnou translaci vložených sekvencí kódujících proteiny jsou také nutné specifické iniciační signály. Mezi tyto signály patří iniciační kodon ATG a přilehlé sekvence. V případech, kdy jsou do příslušných expresních vektorů vloženy celé kódující sekvence včetně iniciačního kodonu a přilehlých sekvencí, nemusí být zapotřebí dalších signálů pro řízení translace. V případech, kdy se vkládá pouze část kódující sekvence, však musí být poskytnuty exogenní translační kontrolní signály včetně iniciačního kodonu ATG. Navíc musí být iniciační kodon ve fázi s čtecím rámcem kódujících sekvencí proteinů pro zajištění translace celého inzertu. Tyto exogenní translační řídicí signály a iniciační kodony mohou pocházet z nejrůznějších zdrojů, jak přírodních tak i syntetických. Účinnost exprese může být zvýšena zavedením sekvencí zeslabujících transkripci, zesilujících prvků apod.

### 3. Použití zesilujících peptidových sekvencí, základních polypeptidů a hybridních polypeptidů podle vynálezu

Jak je diskutováno výše, zesilující peptidové sekvence podle vynálezu mohou být použity pro zlepšení farmakokinetických vlastností jakéhokoli základního polypeptidu prostřednictvím spojení základního peptidu se zesilujícími peptidovými sekvencemi za vytvoření hybridních polypeptidů. Pozorované zesílení farmakokinetických vlastností se vztahuje k farmakokinetickým vlastnostem samotného základního polypeptidu. Standardní parametry farmakokinetických vlastností a způsoby určování a charakterizace farmakokinetických vlastností prostředku jako je polypeptid, jsou dobře známy odborníkům v oboru. Neomezující příklady těchto metod se uvádějí v příkladech dále.

Zesilující peptidové sekvence podle vynálezu mohou být navíc použity pro zvýšení poločasu základního polypeptidu, na který byly navázány zesilující peptidové sekvence, in vivo nebo ex vivo. Zesilující peptidové sekvence mohou například zvyšovat poločas navázaných základních polypeptidů, jestliže jsou získané hybridní polypeptidy přítomné v buněčné kultuře, tkáňové kultuře nebo vzorcích odebraných pacientovi (například vzorky buněk, vzorky z biopsie tkáně nebo jiné vzorky obsahující tělesné tekutiny). Základní polypeptidy a hybridní polypeptidy podle vynálezu mohou být také použity jako část způsobů modulace (například snižování, inhibice, přerušení, stabilizace nebo zesílení) fuzogenních událostí. Tyto peptidy s výhodou vykazují antifuzogenní nebo antivirovou aktivitu. Peptidy podle vynálezu mohou také mít schopnost modulovat intracelulární procesy, kterých se účastní interakce peptidů se stočenou šroubovicí.

V konkrétních provedeních mohou být použity hybridní polypeptidy a základní polypeptidy podle vynálezu, které vykonávají antivirovou aktivitu, použity jako součást způsobů pro snížení virové infekce. Tyto antivirové metody mohou být použity proti například

lidským retrovirům, zvláště HIV (virus lidské imunodeficiency), například HIV-1 a HIV-2, a virům lidských T-lymfocytů (HTLV-I a HTLV-II), a jiným než lidským retrovirům, jako je virus bovinní leukózy, kočičího sarkomu a viry leukemie, virů imunodeficiency opic (SIV), sarkomových a leukemických virů, a virů progresivní pneumonie ovčí.

Antivirové metody podle vynálezu mohou být také použity proti neretrovirálním virům, včetně bez omezení respiračního syncytiálního viru (RSV), viru psinky, viru Newcastleké nemoci, viru lidské parainfluenzy, virů chřipky, virů spalniček, viru Epstein-Barrové, virů hepatitidy B a Mason-Pfizerových virů.

Výše uvedené viry jsou viry opatřené obalem. Antivirové metody podle vynálezu mohou být použity také proti virům, které nemají obal, včetně bez omezení pikornavirů jako jsou polioviry, viru hepatitidy A, enterovirů, echovirů a virů coxsackie, papovavirů jako je papilomavirus, parvovirů, adenovirů a reovirů.

Mezi další antifuzogenní aktivity, které mohou být metodami využívajícími peptidy podle vynálezu modulovány, patří bez omezení modulace výměny neuropřenašečů prostřednictvím fúze buněk a fúze sperma - vajíčko. Mezi intracelulárními poruchami, kterých se účastní interakce struktur se stočenou šroubovicí, a které mohou být odstraněny způsoby využívajícími peptidy podle vynálezu, je možno uvést například bakteriální toxiny.

Antifuzní a antivirová aktivita daného základního polypeptidu nebo hybridního polypeptidu může být rutinně zjišťována standardními testy in vitro, ex vivo a testy využívajícími zvířecích modelů, které mohou být z hlediska antivirové aktivity specifické nebo částečně specifické pro příslušný virus, a které jsou dobře známé odborníkům v oboru.

Výše uvedený popis se týká zejména antivirových aktivit a antifúzních aktivit základních a hybridních polypeptidů podle vynálezu. Hybridní polypeptidy podle vynálezu mohou být také použity

jako část jakékoli metody, pro kterou může být uvažované použití samotného základního polypeptidu. Použití hybridních polypeptidů jako části těchto metod je zvláště výhodné v případech, kdy se požaduje zlepšení farmakokinetických vlastností základního polypeptidu. Například inzulin se používá jako součást léčení u některých typů diabetu. Hybridní polypeptid obsahující inzulin nebo fragment inzulinu jako základní polypeptid může být proto také použit jako součást metod pro zmírnění příznaků forem diabetu, u kterých se používá a/nebo předpokládá použití inzulinu.

Navíc k výše uvedeným terapeutickým metodám mohou být peptidy podle vynálezu ještě dále použity jako část prognostických metod pro prevenci poruch, včetně bez omezení poruch zahrnujících fúzní události, intracelulárních procesů zahrnujících peptidy se stočenou šroubovicí a virových infekcí, které zahrnují fúzi buňka - buňka a/nebo virus - buňka. Základní a hybridní polypeptidy podle vynálezu mohou být tedy například použity jako součást preventivních metod proti virové infekci.

Hybridní polypeptidy podle vynálezu mohou být ještě dále používány jako součást diagnostických metod. Tyto metody mohou být buď metody in vivo nebo in vitro. Jakákoli diagnostická metoda, při které může být využit konkrétní základní polypeptid, může být také prováděna použitím hybridního polypeptidu obsahujícího základní polypeptid a modifikaci primární aminokyselinové sekvence, která umožní detekci hybridního polypeptidu. Tyto techniky mohou představovat zlepšení proti diagnostickým metodám v tom, že zvýšený poločas hybridního polypeptidu vzhledem k samotnému základnímu polypeptidu může zvýšit citlivost diagnostického postupu, při kterém se hybridní polypeptid používá. Mezi tyto diagnostické techniky patří bez omezení zobrazovací metody, například metody zobrazování in vivo. V neomezujícím příkladu zobrazovací metody se může struktura, která se váže na základní polypeptid hybridního polypeptidu, detekovat vazbou na hybridní polypeptid a zobrazením (buď přímým nebo

nepřímým) navázaného hybridního polypeptidu.

#### 4. Farmaceutické prostředky, dávkování a způsoby podávání

Peptidy podle vynálezu mohou být podávány použitím technik dobře známých odborníkům v oboru. Prostředky mohou být formulovány a podávány systémově. Techniky pro formulaci a podávání je možno nalézt v publikaci „Remington's Pharmaceutical Sciences“, poslední vydání, Mack Publishing Co, Easton, PA. Vhodné způsoby mohou zahrnovat orální, rektální, vaginální, plicní (například inhalační), transdermální, transmukosální nebo intestinální podávání; parenterální dodávání, včetně intramuskulárních, subkutánních, intramedulárních injekcí stejně jako intrathekálních, přímých nebo intraventrikulárních, intravenózních, intraperitoneálních, intranazálních nebo intraokulárních injekcí, pokud uvádíme pouze některé. V případě intravenózních injekcí mohou být prostředky podle vynálezu formulovány ve vodných roztocích, s výhodou ve fyziologicky kompatibilních pufrch jako je Hanksův roztok, Ringerův roztok, nebo pufrovaný fyziologický roztok, pokud uvádíme pouze příklady. Pro dodávání peptidů podle vynálezu mohou být například použita infuzní čerpadla. Pro transmukosální podávání se ve formulaci používají látky napomáhající penetraci příslušné bariéry, přes kterou má léčivo proniknout. Tyto látky napomáhající penetraci jsou v oboru obecně známy.

V případech, kdy je výhodné intracelulární podávání peptidů podle vynálezu nebo jiných inhibičních prostředků, mohou být použity techniky dobře známé odborníkům v oboru. Tyto prostředky mohou být například zapouzdřeny do liposomů nebo mikrokuliček, a potom podány jak bylo popsáno výše. Liposomy jsou sferické lipidové dvojvrstvy s vodným prostředím uvnitř. Všechny molekuly přítomné ve vodném roztoku v době tvorby liposomu jsou zahrnuty do vnitřního vodného prostředí. Obsah liposomů je jak chráněný před vnějším

mikroprostředím, tak je i účinně dodáván v důsledku fúze liposomů s buněčnými membránami do cytoplasmy buněk. Navíc je možno dosáhnout, v důsledku jejich hydrofobicity při podávání malých molekul, přímého intracelulárního podávání.

Nukleotidové sekvence kódující peptidy podle vynálezu, které mají být podávány intracelulárně, mohou být exprimovány v příslušných buňkách použitím technologií dobře známých odborníkům v oboru. Například pro dodávání a expresi těchto nukleotidových sekvencí do populace cílových buněk mohou být použity expresní vektory odvozené od virů jako jsou retroviry, viry vakcinie, viry spojené s adenoviry, herpetické viry nebo bovinní papilomaviry. Metody konstrukce takových vektorů a expresní konstrukty jsou velmi dobře známy, viz například Sambrook a další, 1989, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor NY, a Ausubel a další, 1989, *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates a Wiley Interscience, NY.

Účinné látky peptidů podle vynálezu, které mají být podávány, mohou být určeny postupy dobře známými odborníkům v oboru, které řeší takové parametry jako je biologický poločas, biologická dostupnost a toxicita. Ve zvláště výhodných provedeních se účinná dávka hybridního polypeptidu určuje na základě znalostí odborníkům v oboru použitím údajů z rutinních studií in vitro a in vivo, které jsou odborníkům v oboru dobře známé. Například testy antivirové aktivity na buněčných kulturách in vitro, jako jsou testy popisované jako příklady v části 7 dále pro T1249, poskytnou údaje, ze kterých může odborník v oboru snadno určit střední inhibiční koncentraci (IC) peptidu nebo polypeptidu nezbytného pro blokování určité části infekčnosti viru (například 50 %, IC<sub>50</sub>; nebo 90 %, IC<sub>90</sub>). Vhodné dávky je možno potom volit na základě znalostí odborníka v oboru s využitím farmakokinetických údajů z jednoho nebo více rutinních zvířecích modelů, jako jsou farmakokinetické údaje popsané na příkladech



v části 10 níže pro T1249, takže se získá minimální koncentrace v plasmě ( $C_{\min}$ ) peptidu, která je rovná nebo která převyšuje stanovenou hodnotu IC.

Jako příklady dávkování polypeptidů je možno uvést dávky již od 0,1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  tělesné hmotnosti až do 10  $\text{mg}/\text{kg}$  tělesné hmotnosti. Výhodnější a účinnější rozmezí dávek je od 0,1 do 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  tělesné hmotnosti. Jiné příklady dávkování peptidů podle vynálezu mohou být 1 až 5 mg, 1 až 10 mg, 1 až 30 mg, 1 až 50 mg, 1 až 75 mg, 1 až 100 mg, 1 až 125 mg, 1 až 150 mg, 1 až 200 mg, nebo 1 až 250 mg peptidu. Terapeuticky účinná dávka označuje takové množství sloučeniny, které je dostatečné pro zmírnění příznaků nebo prodloužení přežívání u pacienta. Toxicita a terapeutická účinnost těchto sloučenin může být zjištěna standardními farmaceutickými postupy v buněčných kulturách nebo na experimentálních zvířatech, například pro určení  $\text{LD}_{50}$  (dávka smrtelná pro 50 % populace) a  $\text{ED}_{50}$  (dávka terapeuticky účinná u 50 % populace). Poměr dávek mezi toxickou a terapeutickou dávkou je terapeutický index, který tedy může být vyjádřen jako poměr  $\text{LD}_{50}/\text{ED}_{50}$ . Výhodné jsou sloučeniny, které mají velké terapeutické indexy. Údaje získané z těchto testů na buněčných kulturách a ze studií na zvířatech mohou být použity při formulaci rozmezí dávek pro použití u lidí. Dávkování těchto sloučenin je s výhodou v rozmezí koncentrací v oběhu, které zahrnují hodnotu  $\text{ED}_{50}$  s malou nebo žádnou toxicitou. Dávkování se může v tomto rozmezí měnit v závislosti na použité dávkovací formě a použitém způsobu podávání. Pro jakoukoli sloučeninu použitou při způsobu podle vynálezu může být terapeuticky účinná dávka na počátku odhadnuta z testů na buněčné kultuře. Dávky mohou být určeny na zvířecích modelech pro dosažení plasmatické koncentrace v rozmezí, které zahrnuje  $\text{IC}_{50}$  (například koncentrace testované sloučeniny, která poskytne polovinu maximální inhibice fuzogenní události, jako je polovina maximální inhibice virové infekce vzhledem k míře události v nepřítomnosti testované sloučeniny) tak jak se určí v buněčné

kultuře. Tato informace může být použita pro přesnější určení použitelných dávek u lidí. Hladiny v plasmě mohou být měřeny například chromatografií s vysokou účinností (HPLC) nebo jakýmkoli biologickým nebo imunologickým testem schopným měřit hladiny peptidů.

Hybridní polypeptidy podle vynálezu mohou být podávány v jediném podání, přerušovaně, periodicky nebo kontinuálně. Například polypeptidy podle vynálezu mohou být podány v jediném podání, jako je jediná subkutánní injekce, jediná intravenózní infuze nebo jediné orální podání. Polypeptidy podle vynálezu mohou být také podávány celou řadou přerušovaných podání, včetně periodického podávání. Například v některých provedeních mohou být polypeptidy podle vynálezu podávány jednou týdně, jednou denně, dvakrát denně (například každých 12 hodin), každých 6 hodin, každé 4 hodiny, každé 2 hodiny nebo každou hodinu. Polypeptidy podle vynálezu mohou být také podávány kontinuálně, jako například kontinuální subkutánní nebo intravenózní infuzní pumpou, nebo pomocí subkutánních nebo jiných implantátů, které umožňují, aby byly polypeptidy pacientem kontinuálně absorbovány.

Hybridní polypeptidy podle vynálezu mohou být také podávány v kombinaci s alespoň jedním dalším terapeutickým činidlem. I když to není výhodné pro léčení HIV, podávání pro jiné typy terapie (například léčení rakoviny) může být prováděno současně nebo postupně, včetně cyklické terapie (tj. podávání první sloučeniny po určitou dobu, potom podávání druhé antivirové sloučeniny po určitou dobu a opakování tohoto postupného podávání pro snížení vyvinutí rezistence na jeden z těchto způsobů léčení).

V případě virových, například retrovirových infekcí může být účinné množství hybridního polypeptidu nebo jeho farmaceuticky přijatelného derivátu podáváno v kombinaci s alespoň jedním, s výhodou alespoň dvěma dalšími antivirovými prostředky.

Pokud jako příklad uvedeme infekci HIV, mezi tyto antivirové prostředky mohou patřit bez omezení DP-107 (T21), DP178 (T20), jakýkoli jiný základní polypeptid zobrazený v tabulce 2 odvozený z HIV-1 nebo HIV-2, jakýkoli jiný hybridní polypeptid, jehož základní polypeptid je alespoň z části odvozen o HIV-1 nebo HIV-2, cytokiny, například rIFN  $\alpha$ , rIFN  $\beta$ , rIFN  $\gamma$ ; inhibitory reverzní transkriptázy, včetně nukleosidových a nenukleosidových inhibitorů, například AZT, 3TC, D4T, ddI, adefovir, abacavir a jiné dideoxynukleosidy nebo dideoxyfluornukleosidy, nebo delaviridinmesylát, nevirapin, efavirenz; inhibitory zakončování virové mRNA, jako je ribavirin; inhibitory HIV proteázy, jako je ritonavir, nelfinavirmesylát, amprenavir, saquinavir, saquinavirmesylát, indinavir nebo ABT378, ABT538 nebo MK639; amfotericin B jako molekula vázající se na lipidy s anti-HIV účinky; a castanospermin jako inhibitor zpracování glykoproteinů.

Hybridní a/nebo základní polypeptidy podle vynálezu mohou být dále používány preventivně pro prevenci onemocnění. Hybridní a/nebo základní polypeptidy mohou působit přímo pro prevenci onemocnění, nebo mohou být alternativně použity jako vakcíny, přičemž si hostitel vytváří protilátky proti hybridním polypeptidům podle vynálezu, které potom slouží pro neutralizaci patogenních organismů, například pro inhibici virové, bakteriální a parazitární infekce.

Pro všechny tyto výše popisované způsoby léčení je možno zvolit přesnou formulaci, cestu podávání a dávkování na základě rozhodnutí ošetřujícího lékaře z hlediska stavu pacienta (viz např. Fingl a další, 1975, „The Pharmacological Basis of Therapeutics“, kap. 1, str. 1).

Je třeba uvést, že ošetřující lékař by měl vědět, jak a kdy ukončit, přerušit nebo upravit podávání z hlediska toxicity nebo dysfunkcí orgánů. Naopak by ošetřující lékař měl také vědět jak upravit léčení směrem k vyšším dávkám, jestliže nebyla klinická odpověď dostatečná (i z hlediska toxicity). Podávané dávky při zvládnání

onkogenní poruchy se budou lišit podle vážnosti léčeného stavu a cesty podávání. Dávka a také četnost dávek se budou lišit podle věku, tělesné hmotnosti a reakce každého jednotlivého pacienta. Ve veterinárním lékařství může být použito programu srovnatelného s programem diskutovaným výše. Použití farmaceuticky přijatelných nosičů pro formulaci zde popisovaných sloučenin pro praktické použití vynálezu do dávkovacích forem vhodných pro systémové podávání patří do rámce předkládaného vynálezu. Správnou volbou nosiče a vhodného způsobu výroby mohou být prostředky podle předkládaného vynálezu, zvláště prostředky formulované jako roztoky, podávané parenterálně, jako například subkutánní injekcí, intravenózní injekcí, subkutánní infuzí nebo intravenózní infuzí, například čerpadlem. Sloučeniny mohou být snadno formulovány s použitím farmaceuticky přijatelných nosičů dobře známých v oboru do dávkovacích forem vhodných pro orální podávání. Tyto nosiče umožňují formulaci sloučenin podle vynálezu jako tablety, pilulky, kapsle, kapaliny, gely, sirupy, kaše, suspenze apod., pro orální podávání léčenému pacientovi.

Farmaceutické prostředky vhodné pro použití v rámci předkládaného vynálezu zahrnují prostředky, ve kterých jsou účinné složky obsaženy v účinném množství pro dosažení zamýšleného účelu. Určení účinných množství může provést odborník v oboru, zvláště na základě uvedeného podrobného popisu.

Navíc k účinným složkám mohou tyto farmaceutické prostředky obsahovat vhodné farmaceuticky přijatelné nosiče obsahující pomocné látky, které umožňují zpracování aktivních sloučenin do přípravků, které mohou být farmaceuticky použity. Přípravky formulované pro orální podávání mohou být ve formě tablet, dražé, kapslí nebo roztoků. Pro orální podávání peptidů mohou být použity způsoby, které se například používají v Emisfere Technologies, které jsou dobře známe odborníkům v oboru, a mohou být rutinně používány.

Farmaceutické prostředky podle předkládaného vynálezu mohou být vyráběny způsobem, který je známý sám o sobě, například pomocí běžného míchání, rozpouštění, granulace, výroby dražé, rozprašovacím sušením, emulgací, zapouzdřováním, zachycováním, nebo lyofilizací.

Farmaceutické prostředky pro parenterální podávání zahrnují vodné roztoky účinných látek ve formě rozpustné ve vodě. Navíc mohou být emulze a suspenze účinných sloučenin připraveny jako vhodné olejové injekční směsi. Mezi vhodná lipofilní rozpouštědla nebo vehikula patří masné oleje jako je sezamový olej, nebo syntetické estery mastných kyselin jako je ethyloléat nebo triglyceridy, liposomy nebo jiné látky známé v oboru pro výrobu lipidových nebo lipofilních emulzí. Vodné injekční suspenze mohou obsahovat látky zvyšující viskozitu suspenze, jako je sodná sůl karboxymethylcelulózy, sorbitol nebo dextran. Suspenze může také popřípadě obsahovat vhodné stabilizátory nebo látky zvyšující rozpustnost sloučenin a umožňující přípravu vysoce koncentrovaných roztoků. Farmaceutické prostředky pro orální použití mohou být získány kombinací účinných látek s pevnými pomocnými látkami, popřípadě mletím získané směsi a zpracováním směsí granulí po přidavku vhodných pomocných látek, v případě potřeby, pro získání tablet nebo jader dražé. Vhodné pomocné látky jsou zvláště plniva jako jsou cukry, včetně laktózy, sacharózy, trehalózy, mannitolu nebo sorbitolu; celulózové preparáty jako je například kukuřičný škrob, pšeničný škrob, rýžový škrob, bramborový škrob, želatina, tragakantová guma, methylcelulóza, hydroxypropylmethylcelulóza, sodná sůl karboxymethylcelulózy a/nebo polyvinylpyrrolidon (PVP). V případě potřeby mohou být přidána desintegrační činidla, jako je zesíťovaný polyvinylpyrrolidon, agar, nebo alginová kyselina, nebo jejich soli jako je alginát sodný.

Jádra dražé se opatřují vhodnými povlaky. K tomuto účelu mohou být použity koncentrované roztoky cukrů, které mohou popřípadě obsahovat arabskou gumu, talek, polyvinylpyrrolidon,

karbopolový gel, polyethylenglykol a/nebo oxid titaničitý, roztoky laků a vhodná organická rozpouštědla nebo směsi rozpouštědel. K tabletám nebo povlakům pro dražé mohou být přidávána barviva nebo pigmenty pro identifikaci nebo charakterizaci různých kombinací dávek účinné sloučeniny. Farmaceutické prostředky, které mohou být používány orálně, zahrnují zasouvací kapsle vyrobené z želatiny stejně jako měkké uzavřené kapsle, vyrobené z želatiny a plastifikátoru, jako je glycerol nebo sorbitol. Zasouvací kapsle mohou obsahovat účinné složky ve směsi s plnivem jako je laktóza, pojiva jako jsou škroby a/nebo kluzné látky jako je talek nebo stearan hořečnatý a popřípadě stabilizátory. V případě měkkých kapslí mohou být účinné sloučeniny rozpuštěné nebo suspendované ve vhodných kapalinách, jako jsou mastné oleje, parafinový olej nebo kapalné polyethylenglykoly. Navíc mohou být přidány stabilizátory.

V případech, kdy se požaduje zesílení imunitní odpovědi hostitele, mohou být hybridní polypeptidy formulovány s vhodným adjuvans pro zesílení imunitní odpovědi. Mezi tato adjuvans mohou bez omezení patřit minerální gely jako je hydroxid hlinitý; povrchově aktivní látky jako je lysolecithin, polyoly pluronic, polyanionty; další peptidy, olejové emulze; a potenciálně použitelná adjuvans jako BCG a *Corynebacterium parvum*. Pro zavádění vakcín popisovaných výše je možno použít mnoha způsobů. Mezi tyto způsoby bez omezení patří orální, intradermální, intramuskulární, intraperitoneální, intravenózní, subkutánní a intranazální způsoby podávání.

### **Příklady provedení vynálezu**

#### **Příklad 1: Identifikace konvenčních aminokyselinových sekvencí, které obsahují zesilující peptidové sekvence**

Retrovirální protein gp41 obsahuje strukturní domény označované jako oblast  $\alpha$ -šroubovice umístěnou v C-koncové oblasti

proteinu a oblast leucinového zipu umístěnou v N-koncové oblasti proteinu. Srovnání oblastí zesilující peptidové sekvence obsažené uvnitř gp41 (obr. 2A a 2B) z gp41 ze všech současně publikovaných izolovaných sekvencí HIV-1, HIV-2 a SIV identifikovalo konvenční aminokyselinové sekvence ukázané v obr. 1.

Jak se podrobněji popisuje v dále uváděných případech, tyto sekvence reprezentují zesilující peptidové sekvence, ve kterých vazba těchto peptidových sekvencí na řadu různých základních polypeptidů zlepšuje farmakokinetické vlastnosti získaných hybridních polypeptidů.

### Příklad 2: Hybridní polypeptidy fungující jako silné inhibitory infekce HIV-1

T1249 znázorněný v obr. 13, je hybridní polypeptid, který obsahuje zesilující peptidové sekvence navázané na základní polypeptid HIV. Jak je uvedeno dále, hybridní polypeptid T1249 se vyznačuje zlepšenými farmakokinetickými vlastnostmi a silnou aktivitou in vitro proti izolátům HIV-1, HIV-2 a SIV, zesílenou aktivitou proti klinickým izolátům HIV-1 v infekčních testech v HuPBMC in vitro, stejně jako v modelu HuPBMC na myši SCID in vivo. V dále popisovaných biologických testech se porovnává aktivita T1249 s aktivitou silného antivirově účinného polypeptidu T20. Polypeptid T20, který je známý také jako DP-178, je odvozený z proteinové sekvence HIV-1 gp41, a popisuje se a nárokuje v US patentu No. 5,464,933.

## 1. Materiály a metody

### 1.1. Syntéza a purifikace peptidů

Peptidy byly syntetizovány použitím syntézy Fast Moc. Peptidy obecně obsahovaly, pokud není uvedeno jinak, amidované karboxylové konce a acetylované aminokonce. Purifikace byla

prováděna HPLC s reverzní fází.

T1249 (Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASL-WEWF-NH<sub>2</sub>) je peptid o délce 39 aminokyselin (Mh = 5036,7) složený výhradně z aminokyselin vyskytujících se v přírodě, který je pro zvýšení stability na aminovém konci blokován acetylovou skupinou a na karboxylovém konci je blokován amidovou skupinou. T1387 je peptid o délce 23 aminokyselin postrádající zesilující peptidové sekvence (Ac-TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDK-NH<sub>2</sub>). T1387 tedy představuje základní polypeptid hybridního polypeptidu T1249. T1387 je na aminových a karboxylových koncích blokován stejným způsobem jako T1249.

T1249 byl konkrétně syntetizován použitím standardních technik syntézy na pevné fázi. Identita hlavního vrcholu na záznam HPLC byla potvrzena hmotnostní spektroskopií jako T1249.

T1249 bylo možno snadno čistit chromatografií s reverzní fází na koloně 152 mm naplněné nosičem C18, 10 μm, 120A.

## 1. 2 Virus

Virus HIV-1<sub>LAI</sub> (Popovic, M. a další, 1984, Science 224: 497 - 508) byl pomnožen v buňkách CEM kultivovaných v médiu RPMI 1640 obsahujícím 10 % fetálního telecího séra. Supernatant z infikovaných buněk CEM byl zfiltrován filtrem 0,2 μm a infekční titr byl určen mikroinfekčním testem použitím buněčné linie AA5 pro podporu replikace viru. K tomu účelu bylo 20 μl sériově zředěného viru přidáno do 20 μl buněk CEM při koncentraci  $6 \times 10^5$ /ml v 96-jamkové mikrotitrační destičce. Každá zředění viru bylo testováno ve třech opakováních. Buňky byly kultivovány 7 dnů, přičemž každý den bylo přidáváno čerstvé médium. Sedmý den po infekci byly vzorky supernatantu testovány na replikaci viru, kterou je možno dokázat aktivitou reverzní transkriptázy uvolněnou do supernatantu. Hodnota



TCID<sub>50</sub> byla vypočtena vzorcem podle Reeda a Muencha (Reed, L. J. a další, 1938, Am. J. Hyg. 27: 493 - 497).

### 1. 3 Test buněčné fúze

Přibližně  $7 \times 10^4$  buněk Molt-4 bylo inkubováno s  $1 \times 10^4$  buněk CEM chronicky infikovaných virem HIV-1<sub>LAI</sub> v 96-jamkových destičkách pro tkáňové kultury v konečném objemu 100  $\mu$ l kultivačního média (RPMI 1640 obsahující 10 % teplem inaktivovaného FBS, doplněného 1% L-glutaminem a 1% Pen-Strep), jak bylo popsáno dříve (Matthews, T. J. a další, 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 5424 - 5428). Inhibitory peptidů byly přidávány v objemu 10  $\mu$ l a buněčné směsi byly inkubovány 24 hod při 37 °C v 5% CO<sub>2</sub>. Potom byly počítány vícejaderné obří buňky (syncytia, pětinasobná šířka buněk nebo větší) mikroskopickým počítáním při zvětšení 10 x a 40 x, které umožnilo zviditelnění celé jamky v jediném zorném poli. Ošetřené buňky byly porovnávány s infikovanými neošetřenými kontrolami a výsledky byly vyjádřeny jako procento inhibice infikovaných kontrol.

### 1. 4 Testy infekčnosti na buňkách MAGI-CCR-5

Přibližně  $1 \times 10^6$  buněk Magi-CCR-5 (získaných prostřednictvím NIH AIDS Research a Reference Reagent Program, Division of AIDS, NIAID; Chackerian, B. a další, 1997, J. Virol. 71: 3932 - 3939) bylo zaočkováno o 48-jamkové destičky pro tkáňové kultury (přibližně  $2 \times 10^4$  buněk/jamku v objemu 300  $\mu$ l/jamku selektivního růstového média složeného z DMEM doplněného 10 % teplem inaktivovaného FBS, 1 % L-glutaminu, 1 % Pen/Strep, hygromycinem B, geneticinem a puromycinem) a ponechány přichytit přes noc při 37 °C, v atmosféře 5% CO<sub>2</sub>. Buňky dosáhly následujícího dne konfluence přibližně 30 %. Očkovací médium bylo odstraněno a byl přidán zředěný peptidový inhibitor v objemech 50  $\mu$ l/jamku (média pouze v neošetřených

kontrolách) s následným přidáním zředěného viru 100 µl/jamku (požadovaný vstupní titr viru 100 - 200 pfu/jamku). Nakonec bylo do každé jamky přidáno 250 µl selektivního růstového média a destička byla inkubována 2 dny při 37 °C, v 5% CO<sub>2</sub>. Fixace a barvení bylo prováděno podle protokolu poskytnutého NIAID s buňkami MAGI-CCR5. Ve stručnosti, médium bylo z destičky odstraněno a do každé jamky bylo přidáno 500 µl fixativu. Destičky byly ponechány fixovat 5 min při pokojové teplotě. Fixativ byl odstraněn, každá jamka byla dvakrát promyta DPBS a do každé jamky bylo přidáno 200 µl barvicího roztoku. Destička byla potom inkubována při 37 °C v 5% CO<sub>2</sub> 50 min, barvicí roztok byl odstraněn a každá jamka byla dvakrát promyta DPBS. Destička byla ponechána sušit na vzduchu před počítáním modrých buněk pod mikroskopem, přičemž počítání se provádělo pro celou jamku. Ošetřené buňky byly porovnávány s infikovanými neošetřenými kontrolami, a výsledky byly vyjádřeny jako procento inhibice infikovaných kontrol.

### 1. 5 Test s reverzní transkriptázou

Byl proveden mikrotest s reverzní transkriptázou (RT) upravený z Goff a další (Goff, S. a další, 1981, J. Virol. 38: 239 - 248) a Willey a další (Willey, R. a další, 1988, J. Virol. 62: 139 - 147). V supernatantech z kultur virů a buněk byla upravena koncentrace 1% Triton-X100. 10 µl každého vzorku supernatant/Triton X-100 bylo přidáno do 50 µl směsi RT (75 mM KCl, 2 mM Clevelandsovo činidlo, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 µg/ml poly A, 0,25 jednotek/ml oligo dT, 0,05 % NP40, 50 mM Tris-HCl, pH 7,8, 0,5 µM neradioaktivní dTTP a 10 cCi/ml <sup>32</sup>P-dTTP) v 96-jamkové mikrotitrační destičce se dnem ve tvaru U a směs byla inkubována při 37 °C 90 min. Po inkubaci bylo převedeno 40 µl reakční směsi z každé jamky do zařízení dot blot Schleicher a Schuell (S+S) v částečném vakuu, které obsahovalo filtrační vrstvu pro 96 jamek rozdělenou mřížkou (Wallac katalog # 1450 - 423) a filtr

nasycený puftrem 2 x SSC (0,3M NaCl a 0,003M citrát sodný). Každá jamka byla promyta 4 x alespoň 200  $\mu$ l 2 x SSC použitím plného vakua. Zařizování bylo rozebráno a filtrační papír opatřený mřížkou byl vyjmut a třikrát promyt 2 x SSC. Nakonec byla filtrační membrána odsáta na absorpčním papíře, ponechána sušit na vzduchu a byla zatavena do sáčku. Vzorky byly vloženy do kazety s fosforescenční vrstvou a byla přiložena vymazaná (alespoň 8 min) fosforescenční vrstva a kazeta byla uzavřena. Bylo použito expozice 16 hod. Pro zjištění ovlivněného nebo inhibovaného podílu (Fa) pro všechny dávky inhibitoru nebo inhibitorů v porovnání s neošetřenými infekčními kontrolami byly použity hodnoty Pixel Index Values (PIV), vytvořené ve formátu vyjadřujícím objem odvozeném z přenosů fosforescenčního zobrazování (Molecular Dynamics Phosphorimager) (analýza byla prováděna na ImageQuant volume report, byla provedena korekce na pozadí).

#### 1. 6 Test infekčnosti/neutralizace na lidských PBMC

Prototyp testu používal buněčných linií, kde se v testu primárního izolátu používá buněk PBMC, získaných z Interstate Blood Bank, aktivovaných 2 až 3 dny kombinací protilátek OKT3 (0,5  $\mu$ g/ml) a CD28 (0,1  $\mu$ g/ml). Cílové buňky byly přeneseny do média pro separaci lymfocytů (LSM), promyty a zmrazeny. Buňky byly podle potřeby ponechány roztát a byly aktivovány jak bylo uvedeno výše minimálně 2 až 3 dny před testem. V tomto testu ve formátu 96 jamek byly buňky v koncentraci  $2 \times 10^6$ /ml v 5% médiu IL-2 a konečném objemu 100  $\mu$ l. Zásobní roztoky peptidu byly připraveny v DPBS (1 mg/ml). Ředění peptidu byla prováděna v kompletním médiu 20 % FBS RPMI 1640/5 % IL-2.

### 1. 7 Model infekce HIV-1 na myších HU-PBMC SCID in vivo

Samice myši SCID (stáří 5 až 7 týdnů) dostaly intraperitoneálně 5 až  $10 \times 10^7$  dospělých lidských buněk PBMC. Dva týdny po rekonstituci byly myši infikovány i.p. v den 0  $10^3$  TCID<sub>50</sub> HIV-1 9320 (izolát A018 citlivý na AZT. Ošetření peptidy bylo prováděno intraperitoneálně, dvakrát denně počínaje dnem -1 a dále až do šestého dne. Míra infekce krevních buněk, splenocytů, lymfatických uzlin a peritoneálních buněk byla testována kvantitativní společnou kultivací s lidskými blasty PBMC týdně po tři za sebou následující týdny po odběru krve a tkání zvířeti (den 7, přibližně 12 až 18 hod po posledním podání léčiva). Supernatanty ze společné kultivace byly testovány na produkci antigenu p24 HIV-1 jako měřítko infekce virem (kity a protokol Immunotek Coulter).

### 1. 8 Farmakokinetické studie na krysách

Byli použiti samci krys CD o hmotnosti 250 až 300 g s dvojitým jugulárním katétre, získaní od Charles River Laboratories. Peptidy byly nastříkovány do jednoho jugulárního katétru v objemu 200  $\mu$ l roztoku peptidu (přibližně 3,75 mg/ml), přičemž koncentrace podávaného roztoku byla určena Edelhochovou metodou (Edelhoch, 1967, Biochemistry 6: 1948 - 1954) a nastavena v závislosti na hmotnost zvířete tak, že každé zvíře dostalo dávku 2,5 mg/kg). Přibližně 250 až 300  $\mu$ l krve bylo odebíráno v předem určených časových intervalech (0, 15, 30 min a 1, 2, 4, 6 a 8 hod) a přidáváno do zkumavek capiject s EDTA. Po centrifugaci byla od usazených buněk oddělena plasma a buď zmražena nebo okamžite zpracována pro fluorescenční analýzu HPLC.

### 1. 9 Analýza vzorků plasmy fluorescenční HPLC

100  $\mu$ l vzorku plasmy bylo přidáno k 900  $\mu$ l precipitačního pufru

(acetonitril, 1,0% TFA, detergent) což vede k vysrážení většiny plasmatických proteinů. Po centrifugaci při 10 000 ot/min 10 minut, bylo odebráno 400  $\mu$ l supernatantu, který byl přidán k 600  $\mu$ l vody s čistotou pro HPLC. Byla prováděna sériová ředění určená koncentrací peptidu přítomného v každém vzorku v ředicím pufru složeném ze 40 % precipitačního pufru a 60 % vody pro HPLC. Navíc k ředěním vzorků byla prováděna sériová ředění dávkovaného roztoku v pufru stejně jako v plasmě a použita pro vytvoření standardní křivky určující vztah mezi plochou vrcholu a známou koncentrací peptidu. Tato křivka byla potom použita pro výpočet koncentrace peptidu v plasmě se zahrnutím do výpočtu všech ředění a množství nastříknutého na kolonu.

#### 1. 10 Protokol XTT

Pro měření cytotoxických/cytostatických účinků peptidů byly prováděny testy XTT (Weislow, O. S. a další, 1989, J. Natl. Cancer Inst. 81: 577 - 586) přítomnosti různých koncentrací peptidu, aby bylo možno určit index selektivity (SI). Hodnota  $TC_{50}$  byla v tomto testu určována inkubací buněk v přítomnosti a v nepřítomnosti sériově ředěného peptidu s následným přidáním XTT. V přežívajících/metabolizujících buňkách se XTT redukuje na rozpustné hnědé barvivo XTT-formazan. Odečítá se absorbance a provádí se srovnání mezi hodnotami získanými v přítomnosti a v nepřítomnosti peptidu pro zjištění hodnoty  $TC_{50}$  Karberovou metodou (viz např. Lennette, E. H. a další, ed., 1969, „Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Infections“, American Public Health Association, Inc., 4. vyd., str. 47 - 52). Buňky Molt 4, CEM (80 000 buněk/jamku) a kombinace těchto dvou typů buněk (70 000, popřípadě 10 000 buněk/jamku) byly vysety a inkubovány se sériově ředěným peptidem 24 hod v celkovém objemu 100  $\mu$ l. Po inkubaci bylo do každé jamky přidáno 25  $\mu$ l pracovního roztoku XTT (1 mg/ml XTT,

250  $\mu$ M PMS v kompletním médiu s obsahem 5 % DMSO) a destičky byly inkubovány při 37 °C. Byl odečítán vývoj barvy a výsledky byly použity pro vyjádření hodnot poskytnutých v jamkách s obsahem peptidů jako procento hodnot získaných z jamek obsahujících neošetřenou kontrolu.

## 2. Výsledky

### 2. 1 Antivirová aktivita - testy fúze

T1249 byl přímo porovnáván s T20 v testech fúze buňka - buňka zprostředkované virem s použitím chronicky infikovaných buněk CEM smíšených s neinfikovanými buňkami Molt-4, jak je ukázáno v tabulce 3 níže. Inhibice fúze T1249 proti laboratorním izolátům jako je IIIb, MN a RF je srovnatelná s T20, a vykazuje proti T20 přibližně 2,5 až 5 násobné zvýšení. T1249 byl také aktivnější (3 až 28 násobné zvýšení) než T20 proti několika klinickým izolátům indukujícím syncytia, včetně izolátu rezistentního na AZT (G691-2) a izolátu předem ošetřeného AZT (G762-3) a G320 (izolát použitý ve studiích v HuPBMC-SCID). Nejvýznamnější je, že polypeptid T1249 měl více než 800 krát vyšší účinnost než peptid T20 proti HIV-2 NIHZ.

Tabulka 3

Izolát viru	T20 (ng/ml)	n	T1249 (ng/ml)	n	Rozdíl jako násobek
HIV-1 IIIb	2,5	9	1,0	9	2,5
HIV-1 G691-2 (AZT-R)	406,0	1	16,0	1	25
HIV-1 G762-3 (pre-AZT)	340,1	1	12,2	1	28
HIV-1 MN	20,0	7	3,1	7	6
HIV-1 RF	6,1	7	2,1	7	3
HIV-1 9320	118,4	1	34,5	1	3
HIV-2 NIHZ	3610,0	>10	4,3	2	840

## 2. 2 Antivirová účinnost - testy infekčnosti Magi-CCR-5

Testy infekčnosti Magi-CCR-5 umožňují přímá srovnání izolátů virů indukujících syncytia a neindukujících syncytia, stejně jako porovnání mezi laboratorními a klinickými izoláty. Tento test je také přímým měřítkem infekce virem (exprese TAT po infekci, transaktivace produkce  $\beta$ -galaktosidázy řízené LTR) naproti běžně používaným nepřímým metodám měření infekčnosti, jako je produkce antigenu p24 nebo produkce reverzní transkriptázy. Testy infekčnosti Magi-CCR-5 (viz tabulka 4 níže) ukazují, že T1249 je konzistentně účinnější než T20 proti všem testovaným izolátům z hlediska  $EC_{50}$ , tak i výpočtům inhibice  $V_n/V_o = 0,1$ . T1249 vykazuje podstatné zlepšení účinnosti ve srovnání s klinickým izolátem HIV-1 301714 (> 25 násobné), který je jedním z nejméně citlivých izolátů na T20. Navíc je T1249 alespoň 100 krát silnější než T20 vzhledem k izolátu SIV B670. Tyto údaje spolu s údaji o fúzi ukazují, že T1249 je silným peptidovým inhibitorem HIV-1, HIV-2, a SIV.

**Tabulka 4**

Izolát viru	T20		T1249			
	EC-50	Vn/Vo=0,1	EC-50	Vn/Vo = 0,1	EC-50 rozdíl jako násobek	Vn/Vo=0,1 rozdíl jako násobek
HIV-1 IIIB	42	80	8	10	5	8
HIV-1 9320	11	50	1	6	11	8
HIV-1 301714 (subtyp B, NSI)	1065	4000	43	105	25	38
HIV-1 G691-2 (AZT-R)	13	200	0,3	20	43	10
HIV-1 pNL4-3	166	210	1	13	166	16
SIV-B670	2313	>10000	21	100	110	>100

### 2. 3 Antivirová aktivita - test infekčnosti HuPBMC

T1249 byl přímo porovnáván s T20 v testech infekčnosti HuPBMC (tabulka 5 níže), který představuje uznávanou náhražku systému in vitro pro předpovídání koncentrací léčiva v plasmě nutných pro inhibici viru in vivo. Tato porovnání ukázala, že T1249 je účinnější proti všem dosud testovaným izolátům HIV-1, přičemž všechny hodnoty Vn/Vo = 0,1 (dávka nutná pro snížení titru viru o jeden log) jsou sníženy až k submikrogramovým koncentracím. Mnohé z nejméně citlivých klinických izolátů na T20 vykazovaly desetnásobnou nebo větší citlivost na T1249. Je třeba zdůraznit, že HIV-1 9320, izolát používaný v myším modelu infekce HuPBMC SCID je 46 x méně citlivý na T20 než na T1249, což ukazuje velmi dobrou korelaci s výsledky in vivo.



**Tabulka 5**

	T20	T1249	
Virový izolát (HIB-1)	Vn/Vo=0,1 (ng/ml)	Vn/Vo=0,1 (ng/ml)	Rozdíl jako násobek
IIIB	250	80	3
9320	6000	130	46
301714 (subtyp B, NSI)	8000	700	11
302056 (subtyp B, NSI)	800	90	9
301593 (subtyp B, SI)	3500	200	18
302077 (subtyp A)	3300	230	14
302143 (SI)	1600	220	7
G691-2 (AZT-R)	1300	400	3

#### 2. 4 Antivirová aktivita - laboratorní izoláty rezistentní na T20

T1249 byl přímo porovnáván s T20 v testech fúze buňka - buňka zprostředkované virem prováděných s použitím chronicky infikovaných buněk CEM smíšených s neinfikovanými buňkami Molt-4 (tabulka 6 níže). T1249 byl téměř 200 krát silnější než T20 při měření na izolátu rezistentním na T20.

**Tabulka 6**

Izolát viru	T20 (ng/ml)	n	T1249 (ng/ml)	n	Rozdíl jako násobek
HIV-1 pNLA-3 SM (T20 rezistentní)	405,3	3	2,1	3	193

V testech Magi-CCR-5 (viz tabulka 7 níže), je T1249 50 000 krát účinnější než T20 při testování na izolátech rezistentních na T20, jako

je pNL4-3 SM a pNL4-3 STM (Rimsky, L. a Matthews, T., 1998, J. Virol. 72: 986 - 993).

Tabulka 7

Izolát viru (HIV-1)	T20		T1249			
	EC-50	Vn/Vo = 0,1	EC-50	Vn/Vo = 0,1	EC-50 rozdíl jako násobek	Vn/Vo = 0,1 rozdíl jako násobek
pNLA-3	166	210	1	13	166	16
pNLA4-3 SM (T20-R)	90	900	4	11	23	82
pNLA4-3 SM (T20-R) Duke	410	2600	4	11	103	236
pNLA4-3 STM (T20/T649-R)	<50 000	>50 000	1	13	>50 000	>3846

T1249 byl přímo porovnáván s T20 v testech infekčnosti HuPBMC (viz tabulka 8 níže), který vyhodnocoval rozdíly v účinnosti na rezistentní izolát. T1249 je více než 250 krát účinnější než T20 při testování na rezistentním izolátu pNL4-3 SM.

Tabulka 8

Izolát viru (HIV-1)	T20	T1249	Rozdíl jako násobek
	Vn/Vo = 0,1 (ng/ml)	Vn/Vo = 0,1 (ng/ml)	
pNL4-3	3500	30	117
pNL4-3 SM (T20-R)	>10 000	40	>250

## 2. 5 Antivirová účinnost, model in vivo SCID-HuPBMC

Antivirová účinnost T1240 in vivo byla přímo porovnávána s účinností T20 v HuPBMC-SCID myším modelu infekce HIV-1 9320 (obr. 3). Dva týdny po rekonstituci HuPBMC byly myši infikovány i. p. v den 0  $10^3$  TCID<sub>50</sub> HIV-1 9320 pasážovaným v PBMC (AZT - senzitivní izolát A018). Bylo prováděno ošetření peptidy i. p. dvakrát denně v celkových denních dávkách 67 mg/kg (T20), 20 mg/kg (T1249), 6,7 mg/kg (T1249), 2,0 mg/kg (T1249), a 0,67 mg/kg (T1249), po 8 dnů počínaje dnem -1. Míra infekce v krevních buňkách, splenocytech, lymfatických uzlinách a peritoneálních buňkách byla testována kvantitativní společnou kultivací s lidskými blasty PBMC týdně po tři za sebou následující týdny po odebrání krve a tkání (den 7, přibližně 12 až 18 hod po posledním podání léčiva). Supernatanty ze společné kultivace byly testovány na produkci antigenu HIV-1 p24 jako měřítko infekce virem. Infekční viry nebyly detekovatelné v krvi nebo v lymfatických tkáních u zvířat ošetřených T20, i když byl virus detekován v peritoneální tekutině a preparátu sleziny. Všechny součásti byly negativní na infekční virus při dávce 6,7 mg/kg T1249, což ukazuje alespoň desetinásobné zlepšení ve srovnání s ošetřením T20. V dávce 2,0 mg/kg T1249 byly zcela prosté detekovatelného infekčního viru jak lymfa tak i slezina, přičemž u peritoneální tekutiny došlo ke snížení titru viru s koeficientem  $2 \log_{10}$ , a u titru viru v krvi došlo ke snížení s koeficientem  $1 \log_{10}$ , přičemž vždy bylo provedeno srovnání s infikovanými kontrolami. Při nejnižší dávce T1249, 0,67 mg/kg, byly peritoneální tekutina a krev ekvivalentní s infikovanou kontrolou; avšak jak u lymfatických, tak i slezinných tkání byl pozorován pokles titru infekčního viru s koeficientem  $1 \log_{10}$ . Celkově tyto výsledky ukazují, že T1249 je za těchto podmínek 30 až 100 krát účinnější in vivo proti HIV-1 9320.

## 2. 6 Farmakokinetické studie na krysách

Pro další definici farmakokinetického profilu T1249 byly použity krysy s kanylami. Samcům krys CD o hmotnosti 250 až 300 g byly jugulárním katétrem podávány i.v. polypeptidy T1249 a T20 (obr. 4A - 5). Získané vzorky plasmy byly vyhodnocovány fluorescenční HPLC pro odhad množství peptidu v extrahované plasmě.  $\beta$ -fáze poločasu a celková AUC T1249 byly téměř třikrát vyšší než v případě T20 (obr. 5).

## 2. 7 Cytotoxicita

U T1249 nebyla pozorována žádná zřejmá cytotoxicita in vitro, jak je ukázáno na obr. 6.

Navíc není T1249 akutně toxický (úmrtí během 24 hod) i v dávce 167 mg/kg (nejvyšší testovaná dávka) podané i.v. jugulární kanylou (0,3 ml v průběhu 2 až 3 min).

## 2. 8 Přímá vazba na konstrukt gp41 M41 $\Delta$ 178

T1249 byl radioaktivně označen  $^{125}\text{I}$  a pomocí HPLC čištěn až k dosažení maximální specifické aktivity. Stejným způsobem byl jodován T20. Saturační vazba na M41 $\Delta$ 178 (zkrácený fúzní protein ektodomény gp41 bez aminokyselinové sekvence T20) imobilizovaný na mikrotitračních destičkách v koncentraci 0,5  $\mu\text{g/ml}$  je ukázána na obr. 7. Nеспецифická vazba byla definována jako vazba radioligandu v přítomnosti 1  $\mu\text{M}$  neznačeného peptidu. Specifická vazba byla rozdíl mezi celkovou a nespécifickou vazbou. Výsledky ukazují, že  $^{125}\text{I}$ -T1249 a  $^{125}\text{I}$ -T20 mají podobné vazebné afinity s hodnotou 1 až 2 nM. Lineární inverzní Scatchardova vynesení ukazují, že každý ligand se váže na homogenní skupinu míst.

Kinetika vazby  $^{125}\text{I}$ -T1249 a  $^{125}\text{I}$ -T20 byla určována na

scintilačních mikrotitračních destičkách potažených 0,5 µg/ml M41Δ178. Časový průběh asociace a disociace je ukázán na obr. 8. Disociace navázaného radioligandu byla měřena po přidavku neznačeného peptidu na konečnou koncentraci 10 µM v jedné desetíně celkového testovacího objemu. Počáteční rychlosti nástupu a sestupu pro <sup>125</sup>I-T1249 byly podstatně pomalejší než hodnoty pro <sup>125</sup>I-T20. Charakteristiky disociace pro oba radioligandy byly nezměněny, jestliže disociace byla započata s druhým neznačeným peptidem (tj. <sup>125</sup>I-T1249 s T20).

Aby bylo možno dále ukázat, že oba ligandy soutěží o stejná cílová místa, neznačené T1249 a T20 byly titrovány v přítomnosti jedné koncentrace buď <sup>125</sup>I-T1249 nebo <sup>125</sup>I-T20. Ligand byl přidán pro zahájení inkubace právě po neznačeném peptidu. Kompetiční křivky ukázané na obr. 9 ukazují, že ačkoli oba ligandy mají podobné afinity, jsou pro úplnou kompetici vzhledem k vazbě <sup>125</sup>I-T1249 nutné vyšší koncentrace jak neznačeného T20, tak i T1249.

## 2. 9 Přímá vazba na oblast HR1 GP41

Pro měření sekundární struktury T1249 v roztoku (fyziologický roztok s fosfátovým pufrům, pH 7) byla použita spektroskopie cirkulárního dichroismu (CD), přičemž T1249 byl použit buď samostatně nebo v kombinaci s peptidem o délce 45 zbytků (T1346) z HR1 (sedmičlenné opakování 1) vazebné oblasti gp41. Obr. 14A ilustruje spektrum CD T1249 samotného v roztoku (10 µM, 1 ° C). Spektrum je typické pro peptidy, které přijímají α-šroubovicovou strukturu. Konkrétně dekonvoluce tohoto spektra používající rozklad se základem nastaveným na spektrum proteinu o délce 33 předpovídá v T1249 obsah šroubovice (samotného v roztoku) na 50 %. Obr. 14B ilustruje reprezentativní spektrum CD peptidu T1249 smíšeného s T1346. Plné čtverce (■) označují teoretické spektrum CD předpovězené pro „model bez interakce“, kde se předpokládá, že

peptidy neinteragují v roztoku. Skutečné experimentální spektrum (●) se významně liší od tohoto teoretického „neinterakční model“ spektra, což ukazuje, že oba peptidy interagují za získání měřitelné strukturní změny, která se pozoruje na spektru CD.

## 2. 10 Proteinázová ochrana vazebné oblasti T1249 uvnitř GP41

Vnímavost chimerního proteinu M41 $\Delta$ 178, popisovaná v části 2. 8 výše, vzhledem ke štěpení proteinázou K, byla testována a analyzována elektroforézou na polyakrylamidovém gelu. Výsledky jsou ilustrovány na obr. 15. Jestliže se individuálně s proteinázou K inkubují buď M41 $\Delta$ 178 (neštěpený obr. 15, dráha 2; štěpený obr. 15, dráha 3) nebo T1249 (neštěpený obr. 15, dráha 4; štěpený obr. 15, dráha 5), oba peptidy jsou rozštěpeny. Jestliže se však T1249 inkubuje s M41 $\Delta$ 178 před přidáním proteinázy K (obr. 15, dráha 7), získá se chráněný fragment HR-1 s molekulovou hmotností 6500. Sekvenování chráněného fragmentu ukazuje, že odpovídá oblasti primární sekvence umístěné uvnitř ektodomény gp41. Chráněný fragment zahrnuje rozpustný peptid HR1 (T1346) použitý ve studiích CD popisovaných v části 2. 9 výše a dále obsahuje dalších sedm aminokyselinových zbytků umístěných na aminovém konci. Tato ochrana může být připisována vazbě T1249 na specifickou sekvenci gp41, která je obsažena v konstruktu M41 $\Delta$ 178.

### Příklad 3: Hybridní polypeptidy respiračního syncytiálního viru

Následující příklad popisuje hybridní polypeptidy respiračního syncytiálního viru (RSV) se zlepšenými farmakokinetickými vlastnostmi. Navíc se uvádějí výsledky, které ukazují silné inhibiční účinky hybridních polypeptidů RSV na infekci RSV.

## 1. Materiály a metody

### 1. 1 Syntéza a purifikace peptidů

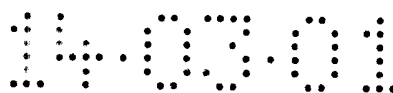
Polypeptidy RSV byly syntetizovány standardní metodou Fast Moc. Obecně, pokud není uvedeno jinak, obsahovaly peptidy amidované karboxylové konce a acetylované aminové konce. Čištění bylo prováděno HPLC s reverzní fází.

### 1. 2 Test snížení počtu plaků respiračního syncytiálního viru

Všechna nezbytná ředění peptidů byla prováděna v čisté, sterilní, 96-jamkové destičce TC. Celkem bylo připraveno jedenáct ředění pro každý peptid a jedna kontrolní jamka neobsahující žádný peptid. Rozmezí konečných koncentrací peptidu začalo 50 µg/ml nebo 100 µg/ml, přičemž bylo provedeno celkem jedenáct dvojnásobných ředění. RSV byl připraven s koncentrací 100 pfu/jamku ve 100 µl 3% EMEM, při stanovení pomocí RSV známého titru. Viry se potom přidají do všech jamek.

Média byla odstraněna z jedné subkonfluentní 96-jamkové destičky s buňkami Hep2. Materiál z ředící destičky byl převeden na destičky pro kultivaci buněk počínaje řadou 1 a potom přes řadu 12, řadu 11 atd. až do přenesení všech řad. Destičky byly na 48 hod vloženy zpět do inkubátoru.

Destičky byly kontrolovány pro zajištění, že v kontrolních jamkách byla přítomna syncytia. Média byla odstraněna a do každé jamky bylo přidáno přibližně 50 µl 0,25% krystalové violeti v methanolu. Buňky byly ihned opláchnuty vodou pro odstranění nadbytku barviva a byly ponechány usušit. Použitím mikroskopu byl zjišťován počet syncytií v každé jamce.



## 2. Výsledky

Farmakokinetické studie s hybridními peptidy RSV T1301 (Ac-WQEWDEYDASISQVNEKINQALAYIREADELWA WF-NH<sub>2</sub>) a T1302 (Ac-WQAWDEYDASISQVNEKINQALAYIREADELW AWF-NH<sub>2</sub>) obsahující zesilující peptidové sekvence ukázaly značně zvýšený poločas vzhledem k základnímu peptidu T786 (Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH<sub>2</sub>), jak je ukázáno na obr. 10A - 10B. Hybridní polypeptidy T1301, T1302 a T1303 (Ac-WQAWDEYDASISDVNEKINQALAYIREADELWEWF-NH<sub>2</sub>) rovněž vykázaly značně zvýšený poločas vzhledem k základnímu polypeptidu T1476 (Ac-DEYDASISQVNEKINQALAYIREADEL-NH<sub>2</sub>).

Hybridní polypeptidy RSV T1301, T1302 a T1303, stejně jako polypeptidy T786 a T1293, byly testovány na schopnost inhibovat tvorbu plaků RSV v buňkách HEp2. Jak je ukázáno na obr. 11A a 11B, jak testované hybridní polypeptidy RSV, tak i základní polypeptid T786, byly schopny inhibovat infekci RSV. Překvapivě se také ukázalo, že hybridní polypeptid T1293 je sloučeninou se silnými účinky proti RSV (obr. 13).

### Příklad 4: Hybridní polypeptidy luteinizačního hormonu

Popisovaný příklad ukazuje hybridní proteiny luteinizačního hormonu (LH) se zlepšenými farmakokinetickými vlastnostmi. Následující hybridní polypeptidy LH byly syntetizovány a purifikovány výše popsánymi způsoby: základní peptid T1323 (Ac-QHWSYGLRPG-NH<sub>2</sub>) a hybridní polypeptid T1324 (Ac-WQEWWEQKIQHWSY-GLRPGWASLWEWF-NH<sub>2</sub>), které obsahují aminokyselinovou sekvenci základního polypeptidu T1323 spojenou se zesilujícími peptidy na aminových a karboxylových koncích. Jak je ukázáno na obr. 12A a 12B, hybridní peptid T1324 měl podstatně zvýšený poločas v porovnání se základním peptidem T1323, kterému chybí zesilující peptidové sekvence.



### Příklad 5: Farmakologie hybridního polypeptidu T1249

T1249 znázorněný na obr. 13 je hybridní polypeptid obsahující zesilující peptidové sekvence navázané na polypeptid jádra odvozený ze směsi virových sekvencí. Jak je ukázáno v příkladu v části 7 výše, hybridní polypeptid T1249 má zlepšené farmakokinetické vlastnosti a účinek in vitro stejně jako in vivo proti HIV-1. V příkladu uvedeném dále se popisují farmakologické vlastnosti T1249 na zvířecích modelech hlodavců a primátů.

#### 1. Materiály a metody

##### 1. 1 Podávání hlodavcům v jedné dávce

Polypeptid T1249 byl podán albinotickým krysám Sprague-Dawley v jedné dávce kontinuální subkutánní infuzí (CSI), subkutánní injekcí nebo intravenózní injekcí. V každé ošetřované skupině bylo devět krys každého pohlaví. Skupiny dostaly sterilní preparáty polypeptidu T1249 jako chemické sloučeniny v dávce 0,5, 2,0 nebo 6,5 mg/kg CSI. Jedna skupina dostala 50 mM karbonát/bikarbonát, pH 8,5, podaný jako kontrolu. Peptidy byly podávány 12 hod katetrem polyvinylchlorid/polyethylen chirurgicky implantovaným podkožně do šije. Dvě skupiny dostaly jednu dávku T1249 v množství 1,2 nebo 1,5 mg/kg subkutánní injekcí do mezilopatkové oblasti. Dvě skupiny dostaly jednu dávku T1249 v množství 1,5 nebo 5 mg/kg intravenózní injekcí. Skutečné množství T1249 v miligramech bylo vypočteno použitím obsahu peptidu stanoveného pro každou podanou šarži.

Při analýze byla zvířata pozorována v klecích (dvakrát denně na úmrtnost a stav umírání), byla prováděna klinická vyšetření, byly zjišťovány klinické laboratorní parametry, tělesná hmotnost, a byla prováděna pitva. Vzorky krve byly získávány technikou rozptýleného vzorkování v 12 hodinovém časovém období od tří krys na pohlaví na

skupinu vždy v následujících časech: 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 19 a 12 hod po podání dávky. Analýza vzorků byla prováděna použitím analýzy PcAb ECLIA (Blackburn, G. a další, 1991, Clin. Chem. 37: 1534 - 1539; Deaver, D., 1995, Nature 377: 758).

Pro plasmatickou a lymfatickou farmakokinetickou analýzu látky T1249 u krys byl připraven sterilní roztok látky T1249 v bikarbonátovém pufru, který byl podáván jednorázově, jednorázovou intravenózní injekcí do laterální ocasní žíly v dávce 20 mg/kg. Krev byla odebírána zvířatům jugulárním katetrem. Vzorky byly odebírány ihned po podání dávky a v čase 5, 15 a 30 min a 1, 2, 4 a 6 hod po podání léčiva. Pro analýzu lymfatických kapalin byly vzorky odebírány ihned po podání dávky a každých 20 min po prvních šest hodin po podání léčiva. Lymfatická tekutina byla odebírána z katetru, který byl umístěn přímo do hrudního lymfatického kanálu, jak bylo popsáno výše (Kirkpatrick a Silver, 1970, *The Journal of Surgical Research* 10: 147 - 158). Koncentrace T1249 v plasmě a lymfatické tekutině byly určovány použitím standardního testu na T1249 kompetitivní ELISA (Hamilton, G., 1991, str. 139, v „Immunochemistry of Solid-Phase Immunoassay“, Butler, J., ed., CRC Press, Boston).

### 1. 2 Jednorázové podávání primátům

Sterilní preparáty T1249 jako chemické sloučeniny byly podávány opicím cynomologus v jednorázových dávkách ssubkutánní, intramuskulární nebo intravenózní injekcí. V uspořádání typu postupného křížení dostává jedna skupina zvířat složená ze dvou zvířat každého pohlaví jednozárovou dávku T1249 intravenózně (0,8 mg/kg), intramuskulárně (0,8 mg/kg) nebo subkutánně (0,4, 0,8 a 1,6 mg/kg). Mezi každým podávacím dnem bylo vloženo období vyplachování alespoň tří dnů. Lyofilizovaný T1249 byl rekonstituován ve sterilním fyziologickém roztoku s fosfátovým pufrům pH 7,4 bezprostředně před dávkováním. Skutečné množství testované látky

v miligramech bylo vypočítáno pomocí obsahu peptidu stanoveného pro každou podávanou šarži.

Při analýze byla zvířata pozorována v klecích, byla prováděna fyzikální vyšetření a měření tělesné hmotnosti. V intravenózní fázi studie byly odebírány vzorky krve do heparinizovaných zkumavek v následujících časech: ihned po podání dávky, 0,25, 0,5, 1,5, 3, 6, 12 a 24 hod po podání. V intramuskulární a subkutánní fázi studie byly odebírány vzorky krve do heparinizovaných zkumavek od každého zvířete v následujících časech: 0,5, 1, 2, 3, 6, 12 a 24 hod po podání. Vzorky plasmy byly připraveny v průběhu 1 hodiny po odebrání a vzorky byly rychle zamrazeny v kapalném dusíku. Analýzy vzorků byly prováděny použitím testu PcAb ECLIA (Blackburn, G. a další, 1991, Clin. Chem. 37: 1534 - 1539; Deaver, D., 1995, Nature 377: 758).

### 1. 3 Přemost'ující farmakokinetická studie

Šest samců opic cynomologus bylo náhodně uspořádáno do tří skupin vždy po dvou zvířatech ve skupině. Všechny dávky T1249 byly podávány jednorázovou subkutánní injekcí. Studie byla rozdělena do dvou částí. V části 1 dostala zvířata ve skupinách 1, 2 a 3 sterilní preparát T1249 jako chemické sloučeniny (tj. látka T1249 byla rozpuštěna v pufru karbonát/bikarbonát, pH 8,5) ve dvou denních dávkách po čtyři za sebou následující dny (dny studie 1 až 4) po 0,2, 0,6 a 2,0 mg/kg/dávku. Etapy 1 a 2 byly rozděleny desetidenním obdobím promývání. V etapě 2 dostala zvířata ve skupinách 1, 2 a 3 sterilní preparát látky T1249 jako léku (tj. ve vodném roztoku, pH 6,5 plus mannitol) dvakrát denně po čtyři za sebou následující dny (dny studie 15 až 18) v dávkách 0,2, 0,6 a 2,0 mg/kg/dávku.

Ve dnech studie 1 a 15 byly odebírány vzorky krve pro farmakokinetické analýzy pro zjištění farmakokinetických vlastností jedné dávky a v dnech studie 4 a 18 pro zjištění rovnovážných

plasmatických farmakokinetických parametrů. Vzorky byly odebírány v následujících časech: bezprostředně před podáním a 0,5, 1,5, 3,0, 4,0, 6,0, 8,0 a 12,0 hod po podání. Zvířata byla monitorována v etapách 1 a 2 na klinické vnější znaky a změny tělesné hmotnosti.

## 2. Výsledky

### 2. 1 Farmakokinetické vlastnosti T1249 podávané krysám

Pro provedení počátečního testování farmakokinetických vlastností v plasmě a distribuce T1249 byly použity modely na krysách. U zvířat ve všech dávkovacích skupinách nebyly pozorovány žádné změny tělesné hmotnosti, vnějších fyzikálních znaků, parametrů hematologických a klinických nebo mikroskopických patologických znaků spojených s podáváním T1249.

Krasy, které dostaly T1249 pomocí CSI, dosáhly rovnovážných koncentrací peptidů v plasmě přibližně 4 hodiny po podání. Jak rovnovážná koncentrace v plasmě ( $C_{p_{ss}}$ ), tak i vypočtená plocha pod křivkou závislosti koncentrace v plasmě na čase (AUC), byly přímo úměrné podávané dávce, což ukazuje, že T1249 vykazuje lineární farmakokinetické vlastnosti v rozmezí testovaných dávek od 0,5 do 6,5 mg/kg. Vypočtené farmakokinetické parametry a závislosti plasmatické koncentrace na čase pro podávání způsobem CSI jsou uvedeny v tabulce 9, popřípadě obr. 16A.

Tabulka 9

Parametr	Skupiny podle dávek		
	0,5 mg/kg	2,0 mg/kg	6,5 mg/kg
$C_{p_{ss}}$ (μg/ml)	0,80	2,80	10,9
$AUC_{(0-12 \text{ hod})}$ (μg.h/ml)	7,99	25,9	120

Při podání T1249 jednorázovou intravenózní injekcí se ukázala přímá farmakokinetická závislost na podané dávce v rámci testovaných dávek. Naopak podání T1249 subkutánní injekcí neprokázalo v rozmezí studovaných dávek závislost na dávce. Vypočtené farmakokinetické parametry a závislosti koncentrace v plasmě na čase pro subkutánní a intravenózní podání T1249 jsou uvedeny v tabulce 10, popřípadě obr. 16B.

Tabulka 10

Parametr	Skupiny podle dávek/podání			
	(SC)		(IV)	
	1,2 mg/kg	15 mg/kg	1,5 mg/kg	5,0 mg/kg
$t_{1/2}$ , (hod)	2,02	2,00	2,46	1,86
$t_{max}$ (hod);	1,09	1,88	-	-
$C_{max}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	6,37	21,5	15,7	46,3
$AUC_{0-12 \text{ hod}}$ ( $\mu\text{g.h/ml}$ )	27,0	107	45,6	118
$AUC_{(0-\infty)}$ ( $\mu\text{g.h/ml}$ )	27,6	110	47,1	120

Biologická dostupnost T1249 při subkutánním podávání krysám byla zjišťována jako porovnání s intravenózním podáváním. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 11 níže. V nízké dávce (1,2 mg/kg) byla relativní biologická dostupnost ( $F_R$ ) T1249 pro subkutánní podávání 73 %. Relativní biologická dostupnost při podání vysoké dávky (15 mg/kg) T1249 byla 30 %, což bylo vyšší, než je koncentrace inhibující 90 % ( $IC_{90}$ ) infekčnosti HIV po dobu celých 12 hodin studie ve všech vyšetřovaných dávkách.

Tabulka 11

Způsob podání	Dávka (mg/kg)	AUC <sub>0-∞</sub> (μg.h/ml)	AUC <sub>(0-∞)</sub> (μg.h/ml)	F <sub>R</sub> (%)
Nízká dávka				
SC	1,2	27,6	34,5 <sup>(a)</sup>	73
IV	1,5	47,1	-	-
Vysoká dávka				
SC	15	110	36,5 <sup>(b)</sup>	30
IV	5	120	-	-

(a) Normalizováno z dávky 1,2 mg/kg na dávku 1,5 mg/kg vynásobením AUC(0-∞) 1,25.

(b) Normalizováno z dávky 15 mg/kg na dávku 5 mg/kg dělením AUC(0-∞) třemi.

Kinetické údaje pro plasmatické a lymfatické koncentrace T1249 jsou ukázány na obr. 16C a uvedeny v tabulce 12 níže. T1249 rychle pronikal do lymfatického systému a rovnováhy s plasmatickým rezervoárem léčiva bylo dosaženo přibližně 1 hodinu po podání. Po dosažení rovnováhy mezi těmito dvěma oblastmi byly koncentrace v plasmě a lymfě porovnatelné u čtyř z pěti zvířat do tří hodin po podání. U jednoho zvířete byly trvale nižší koncentrace T1249 v lymfě než u jiných zvířat, i když profil lymfatické eliminace u tohoto zvířete nebyl odlišitelný od jiných členů této skupiny. Porovnání poločasu eliminační fáze ( $t_{1/2}$ ) pro plasmu a lymfu ukazují, že přechod T1249 mezi těmito dvěma oblastmi je proces řízený difuzí. Po třech hodinách se zdálo, že dochází ke druhé, rychlejší fázi eliminaci z lymfatického systému. Tento rozdíl by mohl být založen na mechanismu (například redistribucí nebo urychlenou degradací peptidu v lymfě) nebo na jiných faktorech. Koncentrace T1249 v lymfatické tekutině 6 hodin po injekci je vyšší než hodnota IC<sub>90</sub> pro infekčnost viru u běžných laboratorních

kmenů a u primárních klinických izolátů HIV-1.

Míra penetrace T1249 do cerebrospinální tekutiny (CSF) byla testována rovněž. Koncentrace T1249 byly pod limitem detekce (LOD; 2,0 ng T1249/ml CSF) ve všech měřitelných časech, což ukazuje, že T1249 neproniká při podání v jedné dávce do centrálního nervového systému.

Tabulka 12

Parametr	T1249	
	Plasma	Lymfa
$t_{1/2}$ , eliminace (hod)	2,6 ± 41	1,3 ± 27
$C_{max}$ (µg/ml)	291	133 <sup>(a)</sup> /155 <sup>(b)</sup>
$AUC_{(0-6 h)}$ (µg.h/ml)	506	348 <sup>(a)</sup> /411 <sup>(b)</sup>
$AUC_{(0-\infty)}$ (µg.h/ml)	598	390 <sup>(a)</sup> /449 <sup>(b)</sup>
Cl (ml/h)	7,8	11,5

- (a) Vypočtené průměry zahrnují jedno zvíře (krysa #1), u kterého se dosahovalo podstatně nižších lymfatických koncentrací, ale podobného kinetického profilu, než u dalších zvířat ve skupině.
- (b) Vypočtené výsledky s vyloučením krysy #1.

## 2. 2 Farmakokinetické vlastnosti T1249 při podávání primátům

Pro vyhodnocení vztahu mezi dávkou a různými farmakokinetickými parametry souvisejícími s parenterálním podáváním T1249 byly použity modely primátů. Koncentrací v plasmě vyšších než 6,0 µg/ml T1249 bylo dosaženo všemi způsoby podávání, a kvantifikovatelné hladiny (tj. hladiny vyšší než 0,5 µg/ml) byly detekovány 24 hod po subkutánním a intravenózním podání. Doba

eliminace  $t_{1/2}$  byla srovnatelná pro všechny způsoby podávání (5,4 hod, 4,8 hod a 5,6 hod pro podání intravenózní, subkutánní, popřípadě intramuskulární). Plasmatické koncentrace T1249, které převýšily hodnoty  $IC_{90}$  pro laboratorní kmeny a klinické izoláty HIV-1, byly pozorovány ve všech časech měření průběhu 24 hodin vzorkování.

Porovnání údajů získaných pro parenterální podávání 0,8 mg/kg T1249 všemi způsoby podávání (tj. subkutánní, intravenózní a intramuskulární) se uvádí v obr. 17A. Obr. 15B ilustruje porovnání údajů získaných z injekce s.c. ve třech různých dávkách T1249 (0,4 mg/kg, 0,8 mg/kg a 1,6 mg/kg). Vložený graf v obr.17B ukazuje vynesení vypočtené hodnoty AUC v závislosti na podané dávce.

T1249 vykazuje u opic cynomologus po subkutánním podání lineární farmakokinetické vlastnosti v rozmezí podávaných dávek, což ukazuje, že v tomto rozmezí dávek nedošlo k saturaci vylučovacího mechanismu. Souhrn farmakokinetických údajů po parenterálním podávání T1249 opicím cynomologus je ukázán v tabulce 13 níže. Srovnání plasmatických koncentrací AUC ukazuje, že vzhledem k intravenóznímu podávání je biologická dostupnost T1249 při přibližně 64 % při podání intramuskulární injekcí a 92 % při podání subkutánní injekcí.

**Tabulka 13**

Parametr	Způsob podání (dávka, mg/kg)				
	SC (0,4)	SC (0,8)	SC (1,6)	IM (0,8)	IV (0,8)
$t_{1/2}$ , terminální (h)	6,23±0,52	4,83±0,48	5,55±0,92	5,57±0,24	5,35±0,95
$t_{max}$ (h)	3,97±1,18	4,58±1,45	4,72±1,81	2,32±0,43	-
$C_{max}$ (µg/ml)	3,17±0,09	6,85±1,01	13,3±2,55	6,37±1,69	26,7±0,25
$AUC_{(0-24\ h)}$ (µg.h/ml)	37,5±6,6	8,12±11,4	168±34,0	56,4±12,3	87,4±25,0
$AUC_{(0-\infty)}$ (µg.h/ml)	40,9±8,2	85,3±13,6	181±44,0	59,5±13,1	92,5±25,0
$F_R$ (%)	-	92,3	-	64,4	-



### 2. 3 Přemostující farmakokinetická studie

Přemostující farmakokinetické studie byly prováděny pro porovnání farmakokinetických profilů T1249 jako chemické látky v plasmě při použití v neklinických experimentech popsaných výše, s T1249 formulovaným jako léčivo, který by mohl být podáván skutečnému pacientovi, například pro léčení infekce HIV. Studie byla označena jako paralelní, jednosměrné, zkřížené porovnání tří hladin dávek T1249 jako chemické látky a tří hladin dávek formulovaného léčivého výrobku. Farmakokinetické vlastnosti v plasmě byly testovány po podání jedné dávky a po dosažení rovnovážného stavu. Podávání T1249 subkutánní injekcí vedlo ve všech skupinách dávek k měřitelným koncentracím peptidu. Křivky závislosti plasmatické koncentrace na čase byly přibližně paralelní u všech skupin dávek po počátečním podání (dny 1 a 15) a v rovnovážném stavu (dny 4 a 18) jak pro T1249 jako chemickou látku, tak i T1249 formulovaný jako léčivo.

Navíc hodnoty  $AUC_{(0-12 \text{ hod})}$  kolísaly přímo úměrně podle dávek pro obě léčivé formulace. Vypočtené hodnoty  $AUC_{(0-12 \text{ hod})}$  pro léčivo se pohybovaly od 43 % do 80 % hodnot  $AUC_{(0-12 \text{ hod})}$  vypočtených pro léčivou látku po podání v jedné dávce a od 36 % do 71 % v rovnovážném stavu.

T1249 jako chemická látka i jako léčivo ukázaly podobné farmakokinetické vlastnosti u opic cynomologus po jednorázovém subkutánním podávání ve všech testovaných dávkách a dávkovacích objemech. Přímé porovnání tvarů křivek závislosti koncentrace v plasmě na čase s předkládané studii a tvary křivek z předchozí studie u opic cynomologus ukazuje, že existuje depotní efekt, jestliže se T1249 podá subkutánní injekcí. To je naznačeno prodloužením času, ve kterém se dosáhne maximální koncentrace v plasmě ( $t_{\max}$ ) a hodnoty  $t_{1/2}$ .

Tyto výsledky ukazují, že formulace léčivé látky jako chemické sloučeniny použité ve farmakologickém programu, poskytují srovnatelné hodnoty AUC a jiných kinetických vlastností, jako hodnoty získané po podání hotového formulovaného léčiva. Tato pozorování ukazují, že klinické podávání T1249 poskytne celkovou expozici pacienta látce T1249.

Předkládaný vynález není omezen rozsahem zde popisovaných konkrétních provedení, která jsou zamýšlena pouze jako jednotlivé ilustrace individuálních aspektů vynálezu, a do rozsahu vynálezu spadají funkčně ekvivalentní metody a složky. Odborníkům v oboru budou z předcházejícího popisu a přiložených výkresů zřejmé různé modifikace vynálezu navíc k provedením popsáním v této přihlášce. Všechny takové modifikace mají spadat do rozsahu přiložených nároků.

*Zastupuje:*

## PATENTOVÉ NÁROKY

1. Hybridní polypeptid obsahující zesilující peptidovou sekvenci navázanou na základní polypeptid.
2. Hybridní polypeptid podle nároku 1, kde zesilující peptidová sekvence zahrnuje: WXXWXXXI, WXXWXXX, WXXWXX, WXXWX, WXXW, WXXXWXWX, XXXWXWX, XXWXWX, XWXWX, WXWX, WXXXWXW, WXXXW, IXXXWXXW, XXXWXXW, XXWXXW, XWXXW, XWXXXW, XWXWXXX, XWXWXX, XWXWX, XWXW, WXWXXXW nebo XWXXXW.
3. Hybridní polypeptid podle nároku 1, kde zesilující peptidová sekvence zahrnuje WQEWEQKI nebo WASLWEWF.
4. Hybridní polypeptid podle nároku 1, kde zesilující peptidová sekvence je navázána na aminový konec základního polypeptidu.
5. Hybridní polypeptid podle nároku 4, který dále obsahuje zesilující peptidovou sekvenci, která je navázána na karboxylový konec základního polypeptidu.
6. Hybridní polypeptid podle nároku 1, kde zesilující peptidová sekvence je navázána na karboxylový konec základního polypeptidu.

7. Hybridní polypeptid podle nároku 1, kde terapeuticky účinnou látkou je základní polypeptid.
  
8. Hybridní polypeptid podle nároku 1, kde základním polypeptidem je aminokyselinová sekvence biologicky aktivního peptidu, růstového faktoru, cytokinu, diferenciačního faktoru, interleukinu, interferonu, faktoru stimulujícího kolonie, hormonu nebo angiogenního faktoru.
  
9. Hybridní polypeptid podle nároku 1, kde základní polypeptid zahrnuje následující aminokyselinovou sekvenci:
  - YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDK;
  - LEENITALLEEAQIQQEKKNMYELQKLNS;
  - LEANISQSLEQAQIQQEKKNMYELQKLNS;
  - NNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEL;
  - DFLEENITALLEEAQIQQEKKNMYELQKL;
  - RYLEANISQSLEQAQIQQEKKNMYELQKL;
  - RYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL;
  - NNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDK;
  - TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDK;
  - TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDE;
  - TALLEQAQIQQEKNEYELQKLIE;
  - TALLEQAQIQQEKIEYELQKLDK;
  - ALLEQAQIQQEKIEYELQKLDE;
  - TALLEQAQIQQEKIEYELQKLIE;
  - TALLEQAQIQQEKIEYELQKLE;

TALLEQAQIQQEKIEYELQKLAK;  
 TALLEQAQIQQEKIEYELQKLAE;  
 TALLEQAQIQQEKAHEYELQKLE;  
 TALLEQAQIQQEKNEYELQKLE;  
 TALLEQAQIQQEKGHEYELQKLE;  
 TALLEQAQIQQEKAHEYELQKLAK;  
 TALLEQAQIQQEKNEYELQKLAK;  
 TALLEQAQIQQEKGHEYELQKLAK;  
 TALLEQAQIQQEKAHEYELQKLAE;  
 TALLEQAQIQQEKNEYELQKLAE;  
 TALLEQAQIQQEKGHEYELQKLAE;  
 DEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL;  
 DEYDASISQVNEKINQALAYIREADEL;  
 DEYDASISQVNEEINQALAYIRKADEL;  
 DEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL;  
 DEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDEL; nebo  
 QHWSYGLRPG.

10. Hybridní polypeptid podle nároku 9, kde zesilující peptidová sekvence je navázána k aminovému konci základního polypeptidu.
11. Hybridní polypeptid podle nároku 10, který dále obsahuje zesilující peptidovou sekvenci navázanou na karboxylový konec základního polypeptidu.

12. Hybridní polypeptid podle nároku 9, kde zesilující peptidová sekvence je navázána na karboxylový konec základního polypeptidu.
13. Hybridní polypeptid podle nároku 9, kde zesilující peptidová sekvence zahrnuje aminokyselinovou sekvenci WQEWEQKI nebo WASLWEWF.
14. Hybridní polypeptid podle nároku 9, kde tento hybridní polypeptid zahrnuje aminokyselinovou sekvenci: WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF, WQEWEQKITALLEQAQIQQEKIEYELQKLIWEWF nebo VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV.
15. Hybridní polypeptid podle nároku 14, který dále obsahuje aminokoncovou acetylovou skupinu a karboxykoncovou amidovou skupinu.
16. Základní polypeptid, který zahrnuje následující polypeptidové sekvence:
  - YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDK;
  - LEENITALLEEAQIQQEKKNMYELQKLNS;
  - LEANISQSLEQAQIQQEKKNMYELQKLNS;
  - NNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEL;
  - DFLEENITALLEEAQIQQEKKNMYELQKL;
  - RYLEANISQSLEQAQIQQEKKNMYELQKL;
  - RYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL;

NNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDK;

TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDK;

TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDE;

TALLEQAQIQQEKNEYELQKLIE;

TALLEQAQIQQEKIEYELQKLDK;

ALLEQAQIQQEKIEYELQKLDE;

TALLEQAQIQQEKIEYELQKLIE;

TALLEQAQIQQEKIEYELQKLE;

TALLEQAQIQQEKIEYELQKLAK;

TALLEQAQIQQEKIEYELQKLAE;

TALLEQAQIQQEKAEYELQKLE;

TALLEQAQIQQEKNEYELQKLE;

TALLEQAQIQQEKGEYELQKLE;

TALLEQAQIQQEKAEYELQKLAK;

TALLEQAQIQQEKNEYELQKLAK;

TALLEQAQIQQEKGEYELQKLAK;

TALLEQAQIQQEKAEYELQKLAE;

TALLEQAQIQQEKNEYELQKLAE;

TALLEQAQIQQEKGEYELQKLAE;

DEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL;

DEYDASISQVNEKINQALAYIREADEL;

DEYDASISQVNEEINQALAYIRKADEL;

DEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL;

DEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDEL; nebo

QHWSYGLRPG.

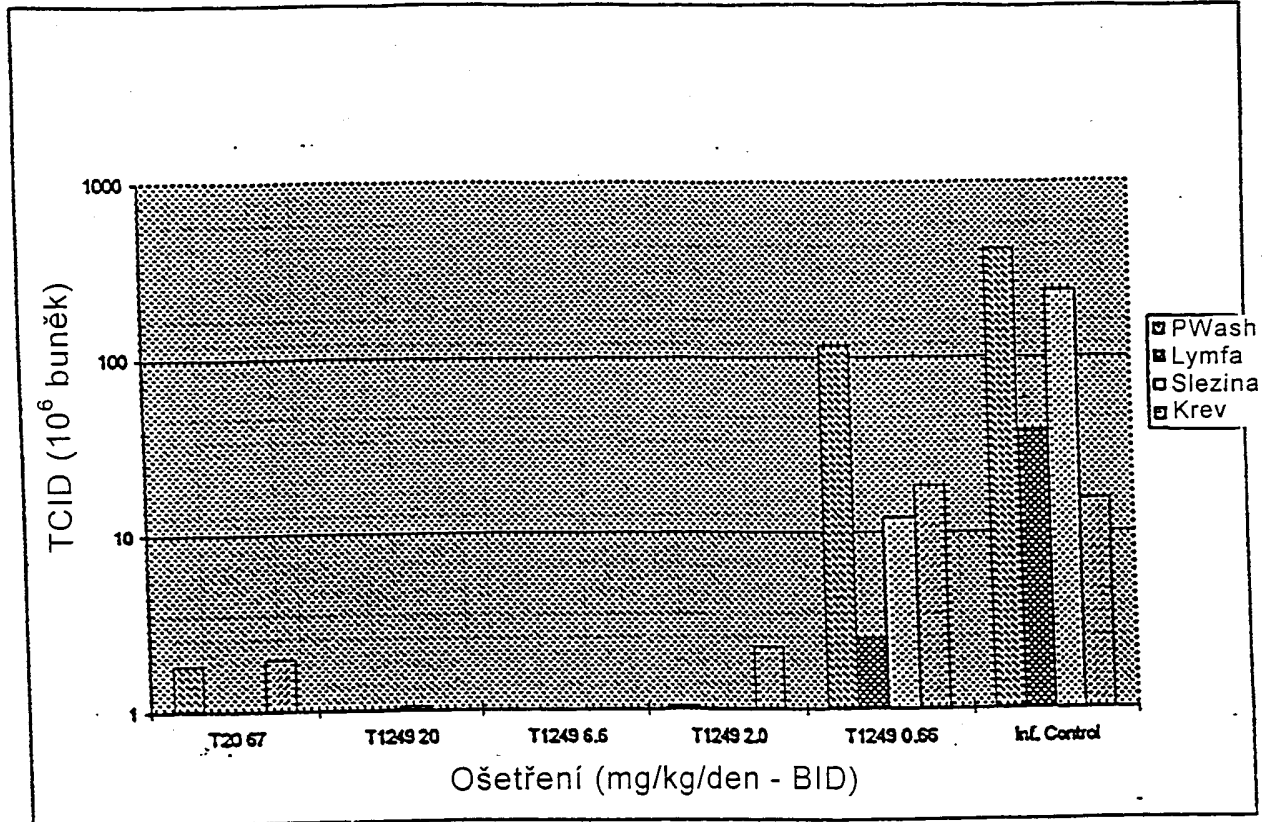
17. Základní polypeptid podle nároku 16, který dále zahrnuje aminokoncovou acetylovou skupinu a karboxykoncovou amidovou skupinu.
18. Způsob zlepšení farmakokinetických vlastností základního polypeptidu, v y z n a č u j í c í s e t í m , ž e zahrnuje navázání konvenční zesilující peptidové sekvence k základnímu polypeptidu za vytvoření hybridního polypeptidu tak, že při zavedení do živého systému má hybridní polypeptid zlepšené farmakokinetické vlastnosti ve srovnání s vlastnostmi základního polypeptidu.
19. Způsob podle nároku 18, v y z n a č u j í c í s e t í m , ž e základním polypeptidem je terapeuticky účinná látka.
20. Způsob podle nároku 18, v y z n a č u j í c í s e t í m , ž e jako základní polypeptid se použije biologicky aktivní peptid, růstový faktor, cytokin, diferenciační faktor, interleukin, interferon, faktor stimulující kolonie, hormon nebo angiogenní faktor.

~~/Zastupuje:/~~



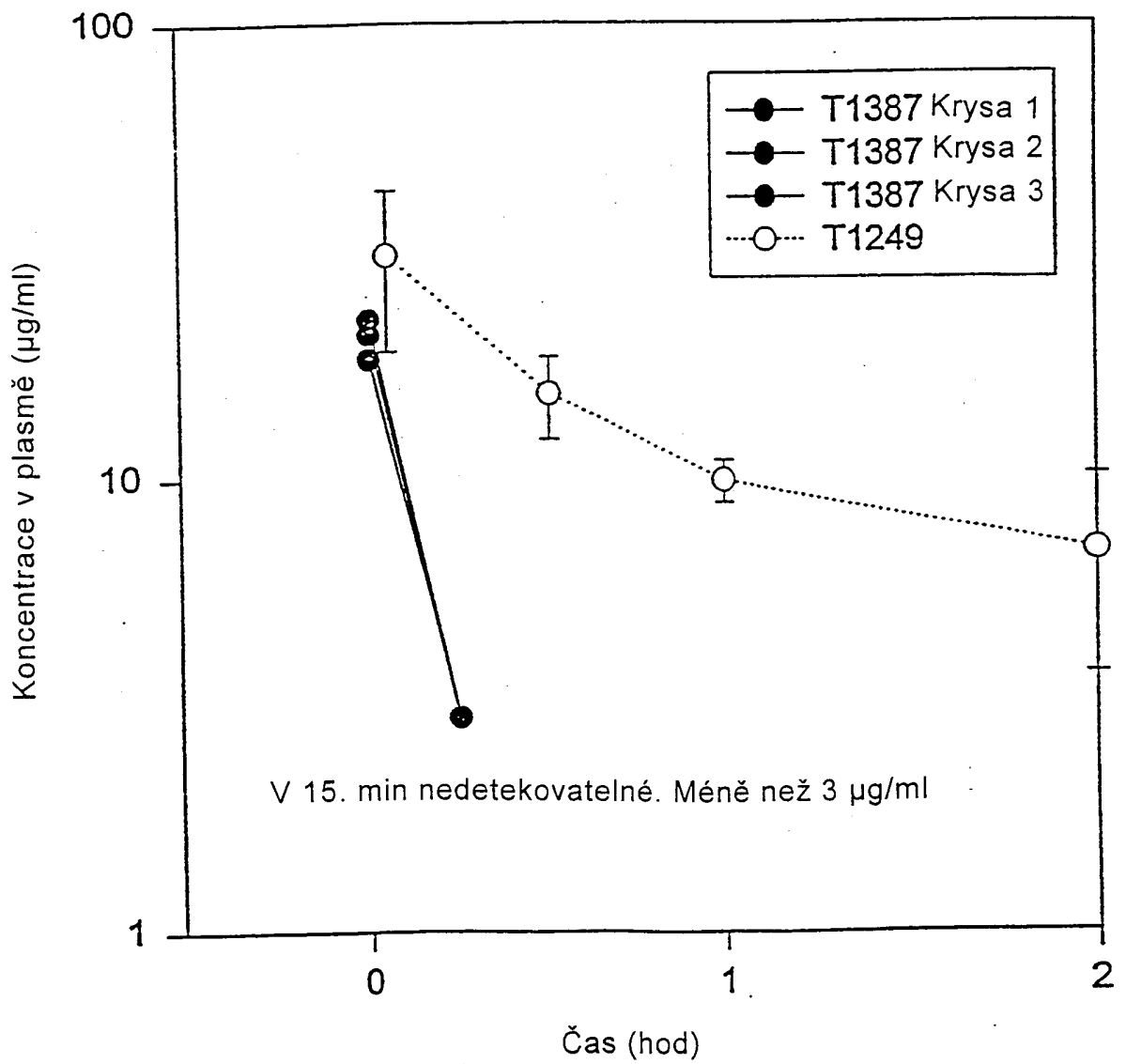






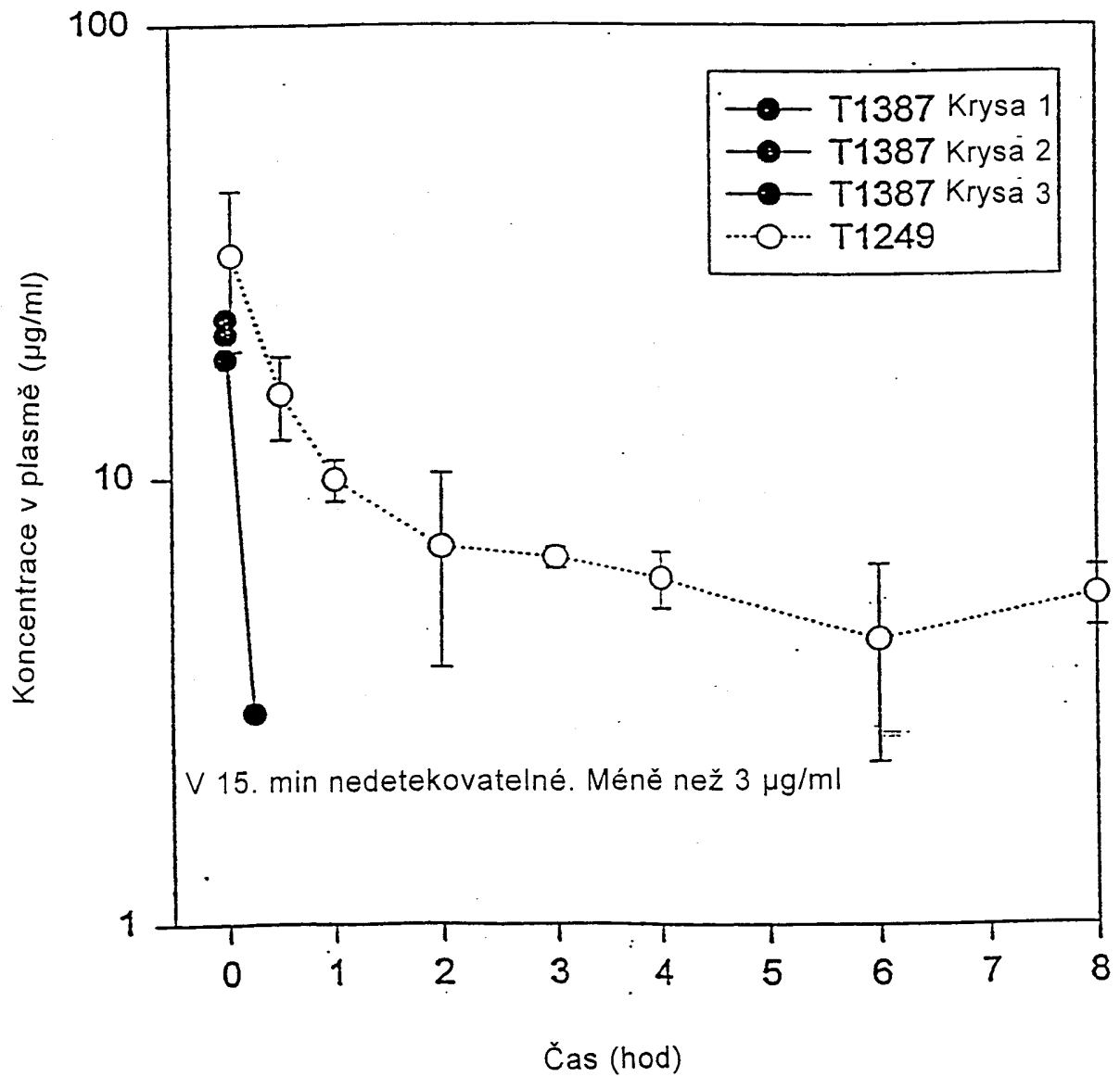
Obr. 3

4/23



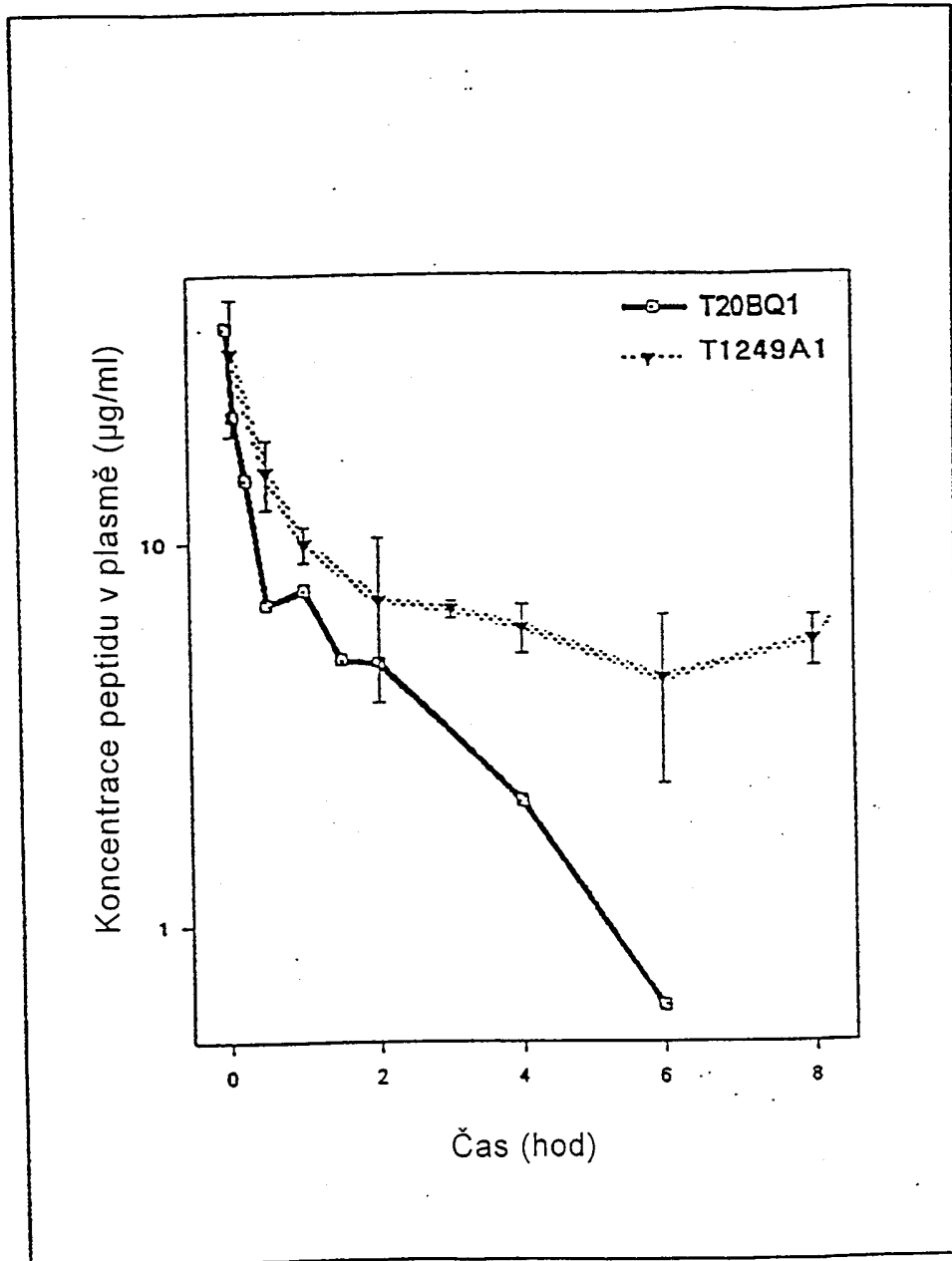
Obr. 4 A

5/23



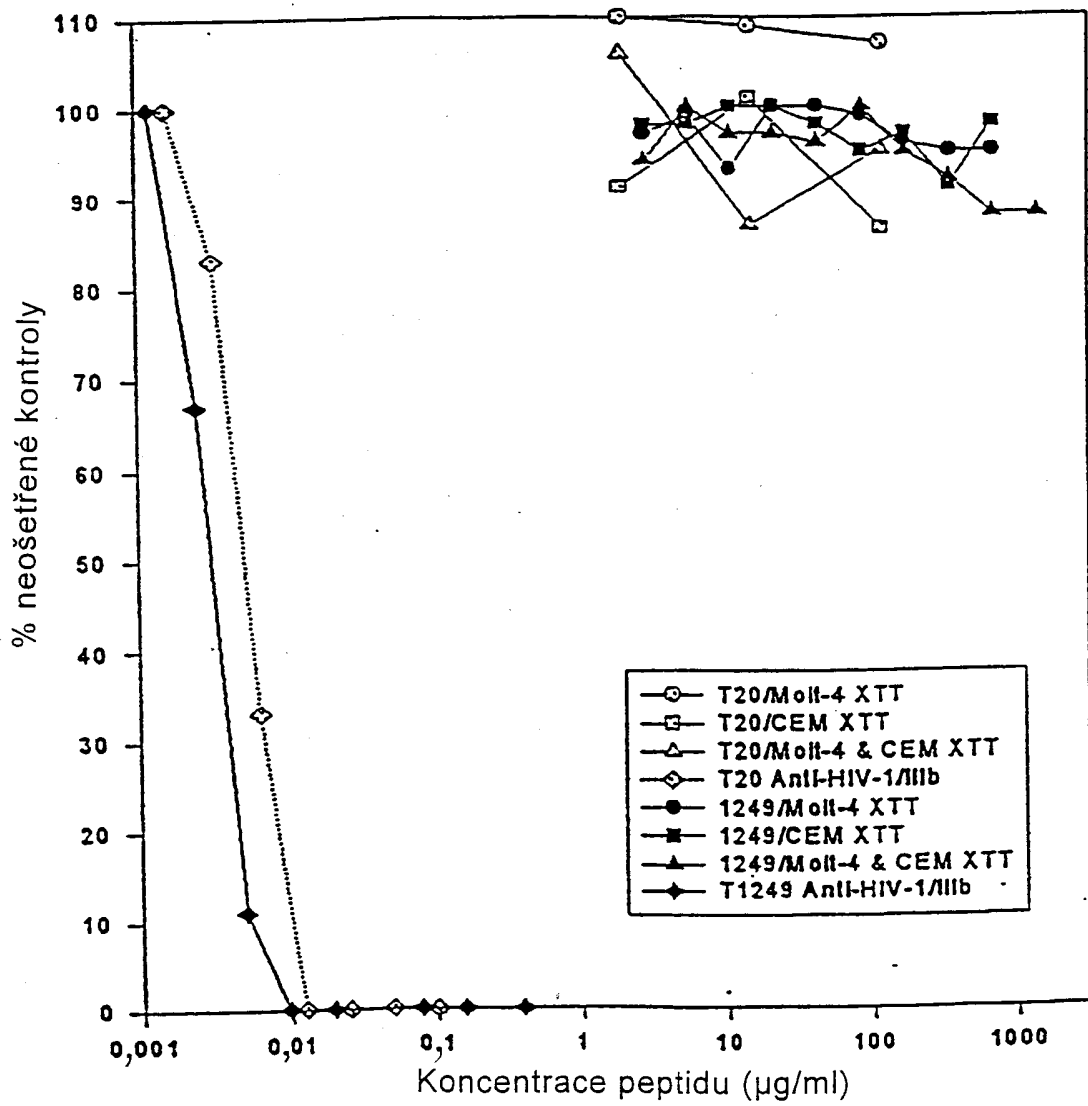
Obr. 4 B

6/23

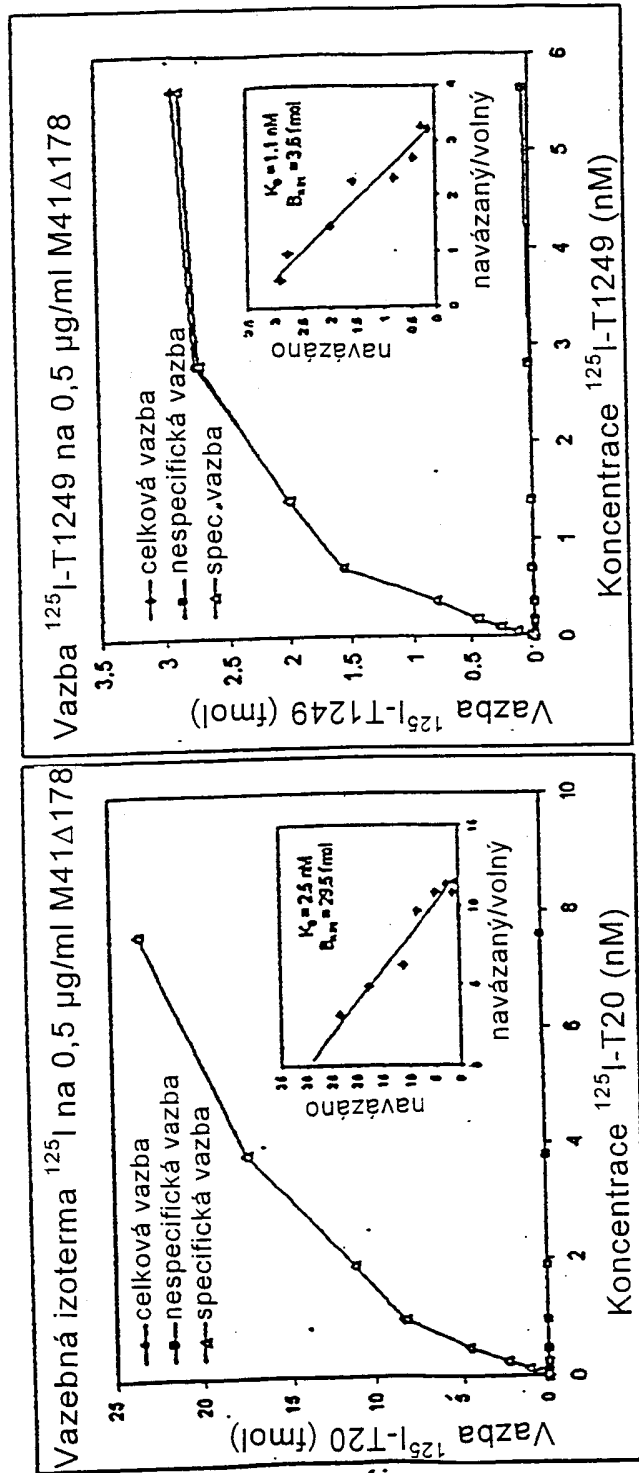


Farmakokinetické vlastnosti	T20BQ1	T1249A1
Dávka (mg/kg i.v.)	2,5	2,5
Způsob detekce	Fluorescence HPLC	Fluorescence HPLC
$T_{1/2\beta}$ (hod)	1,6	4,71
$Cl_{\beta}$ (ml/hod)	27,94	9,62
$AUC_{(0-8)}$ (µg hod/ml)	26,12	71,43

7/23



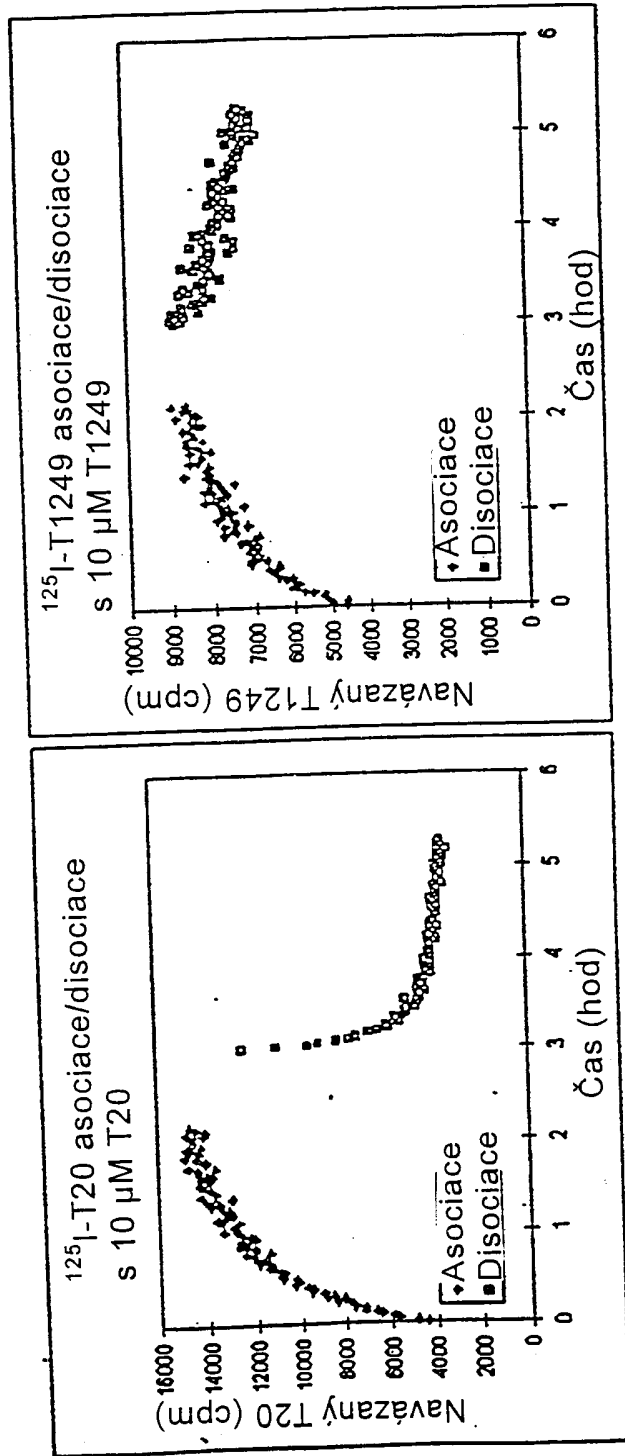
Obr. 6



Obr. 7

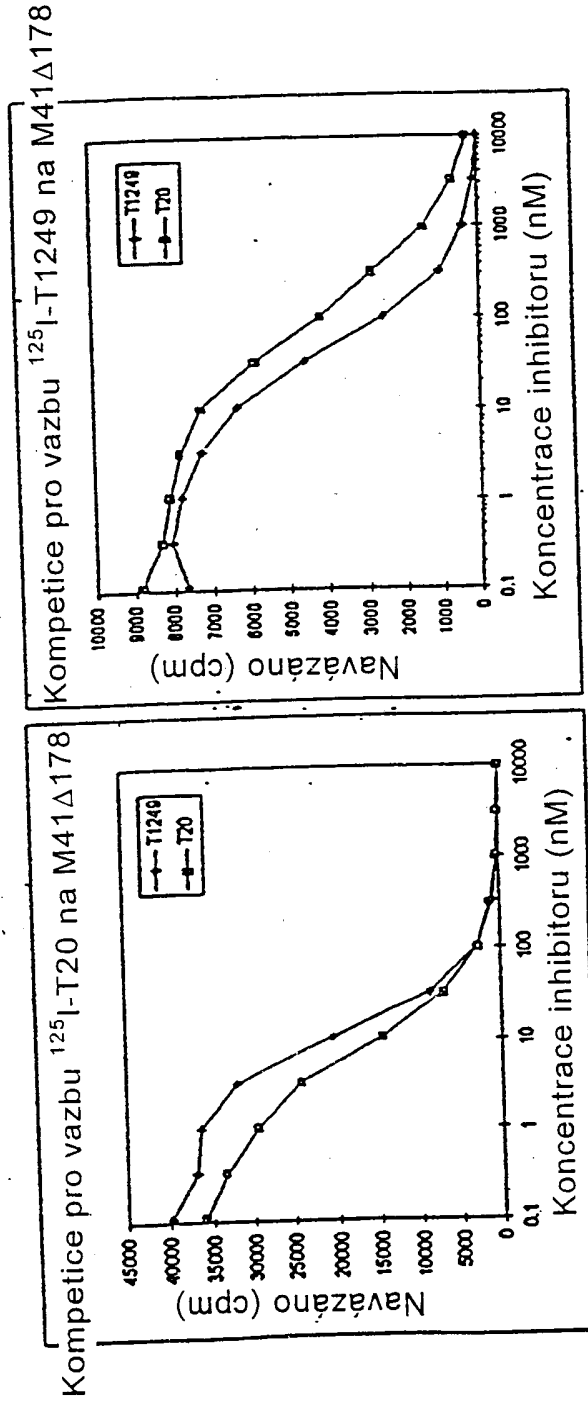


9/23



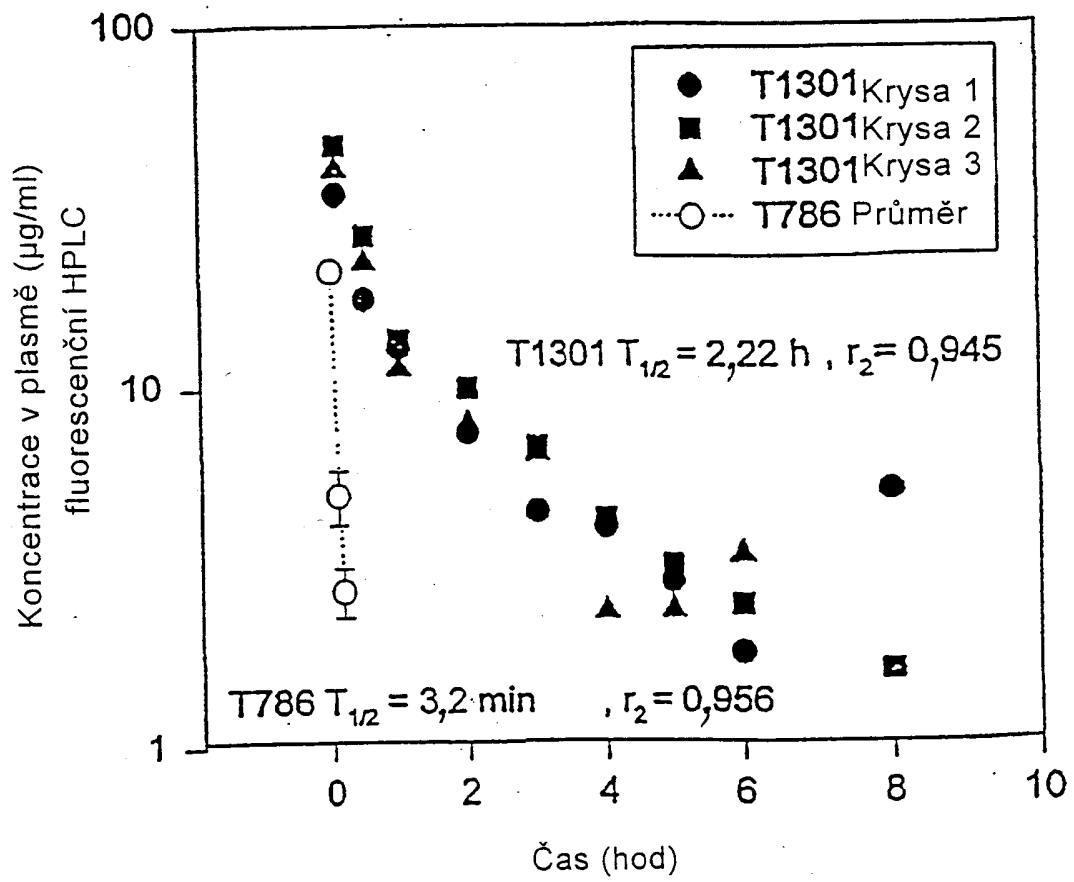
Obr. 8

10/23



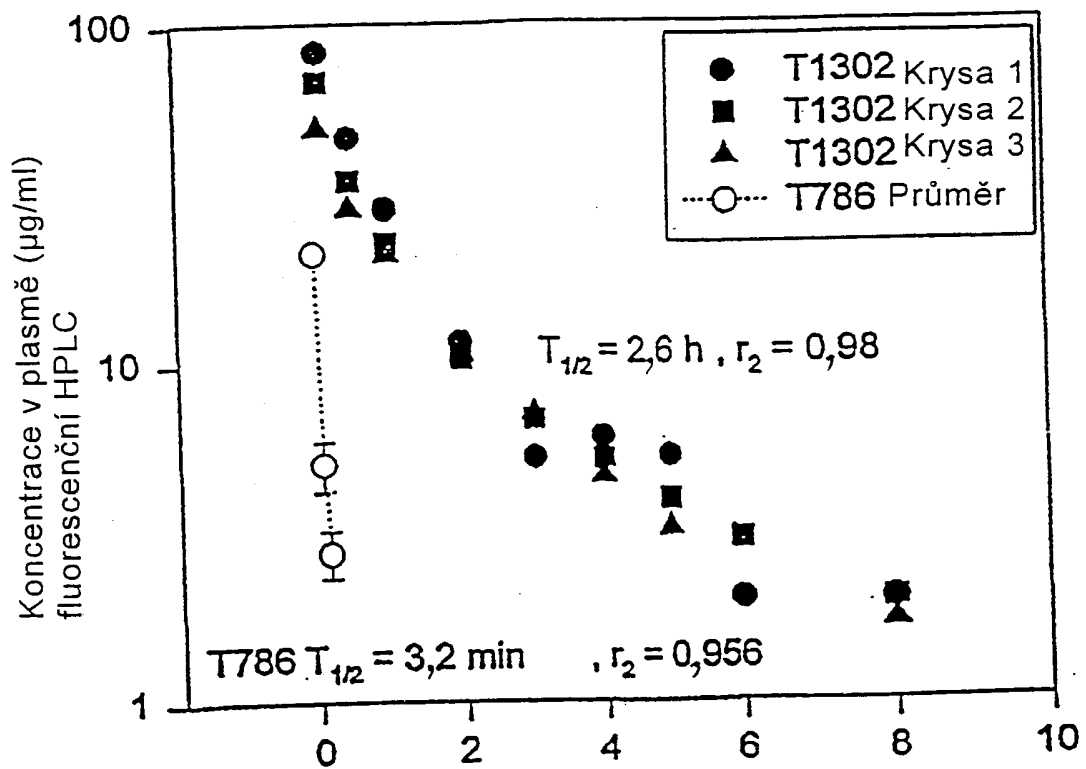
Obr. 9

11/23



Obr. 10 A

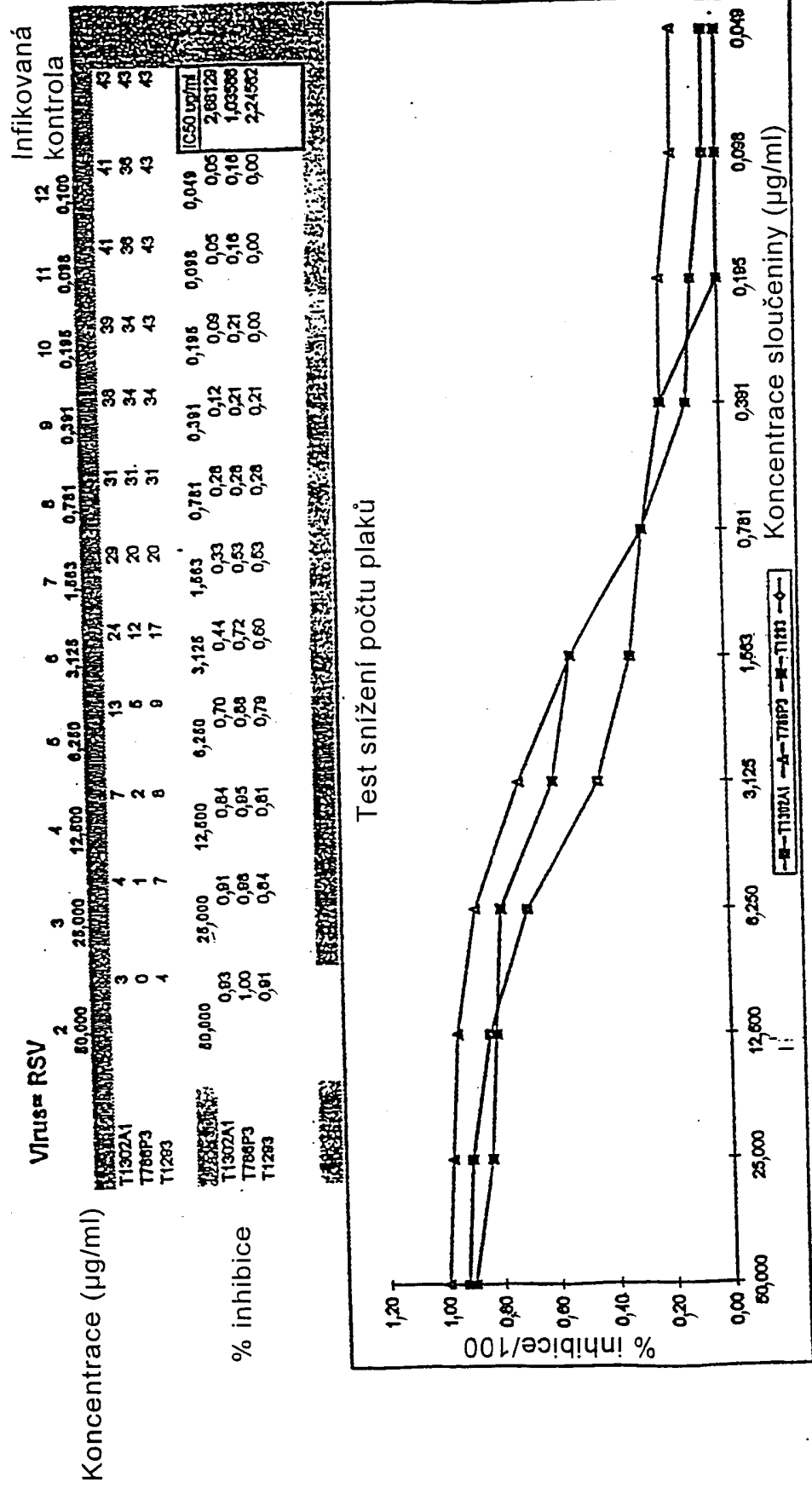
12/23



Obr. 10 B

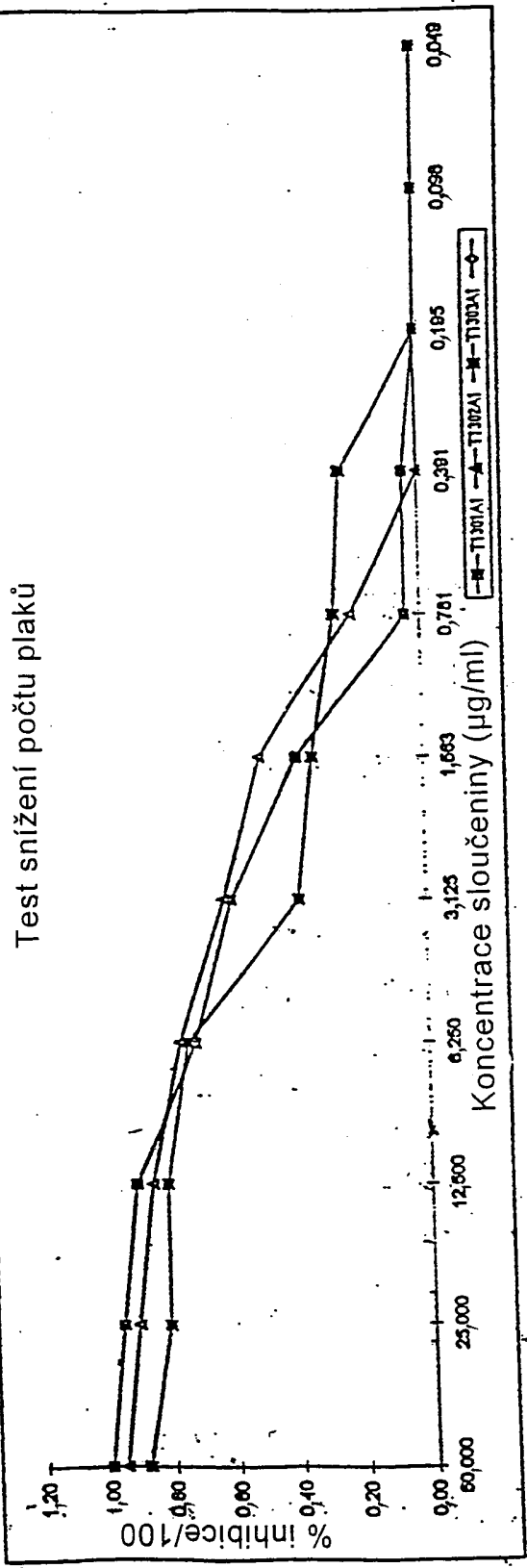
4001

PV 2000-4329



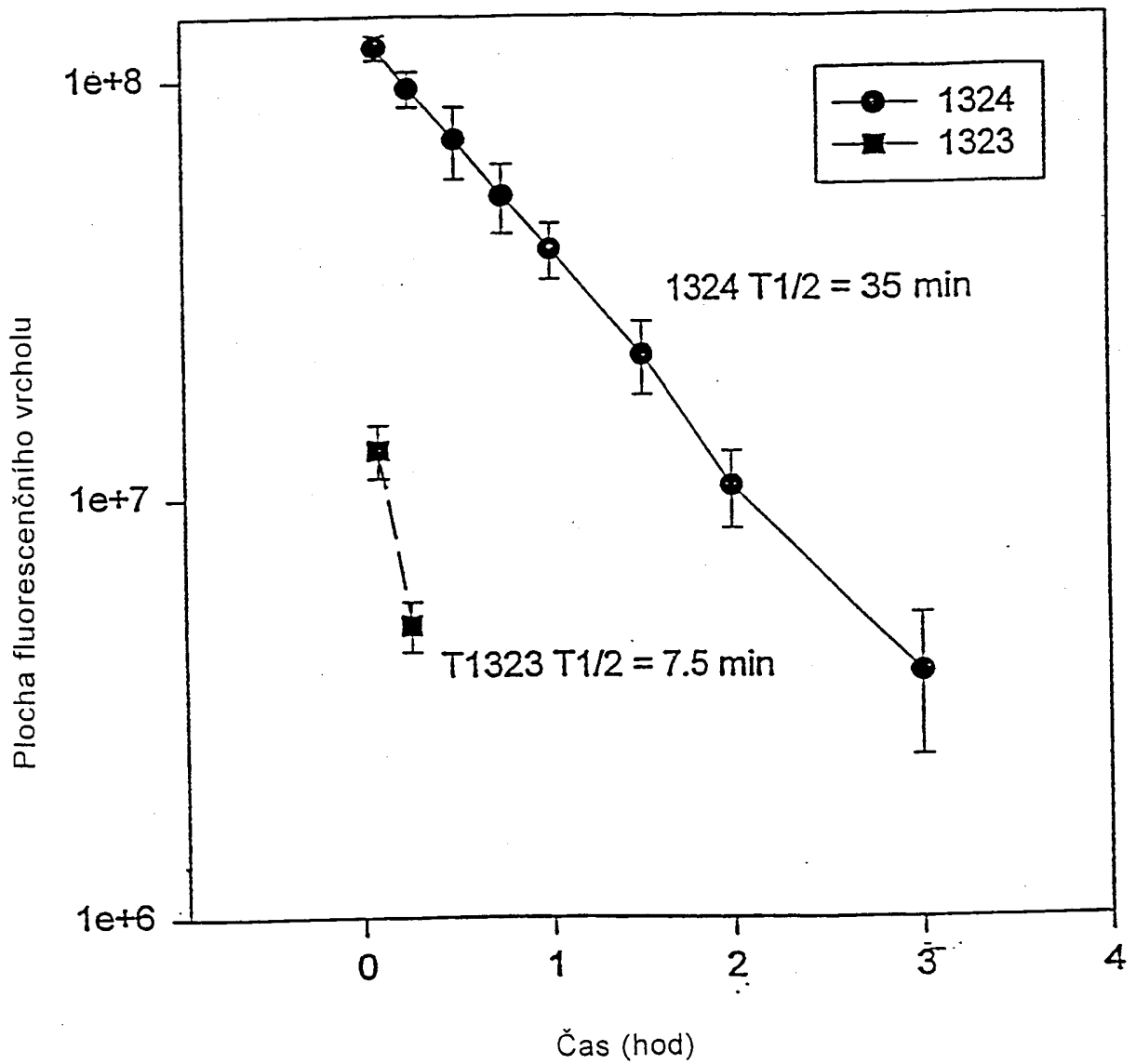
Obr. 11 A

Virus RSV	Infikovaná kontrola											
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	12
Koncentrace (µg/ml)	80,000	28,000	12,500	6,250	3,125	1,563	0,781	0,391	0,196	0,098	0,100	0,100
T1301A1	0	2	4	6	12	17	28	40	42	42	42	42
T1302A1	2	4	6	10	16	21	33	42	42	42	42	42
T1303A1	6	8	8	11	28	28	31	32	42	42	42	42
% inhibice	80,000	28,000	12,500	6,250	3,125	1,563	0,781	0,391	0,196	0,098	0,049	0,049
	1,00	0,95	0,80	0,71	0,60	0,38	0,05	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00
	0,85	0,80	0,66	0,76	0,62	0,60	0,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	0,68	0,61	0,61	0,74	0,38	0,33	0,28	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00
IC50 µg/ml												2,63038
												2,62108
												3,22887



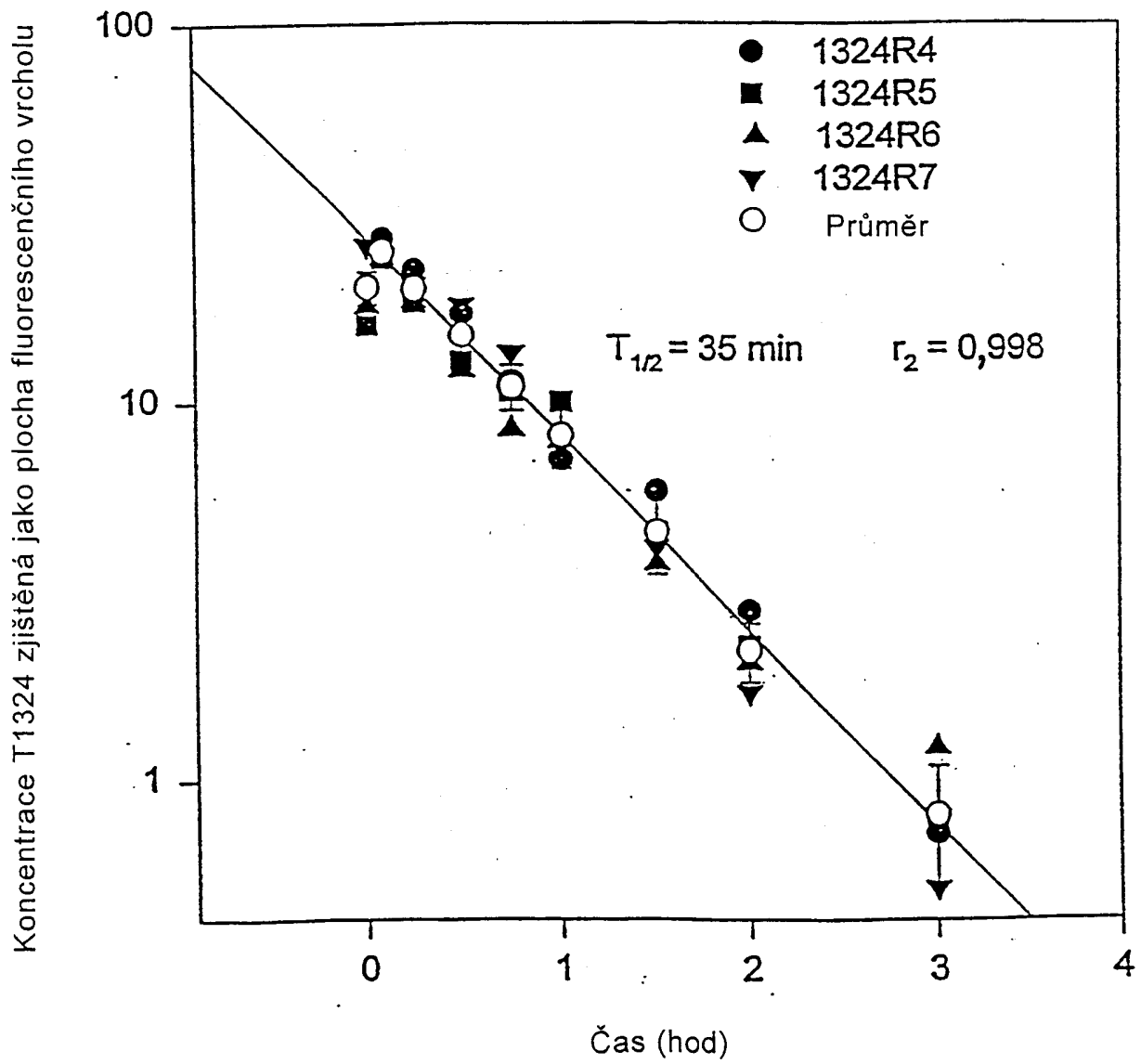
Obr. 11 B

15/23



Obr. 12 A

16/23



Obr. 12 B



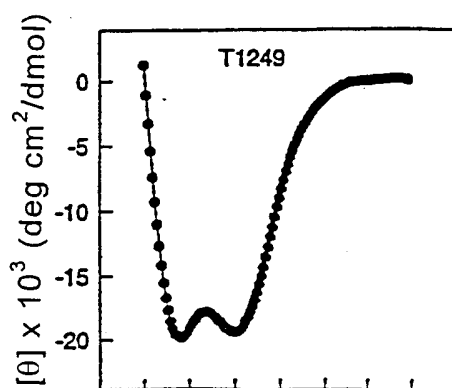




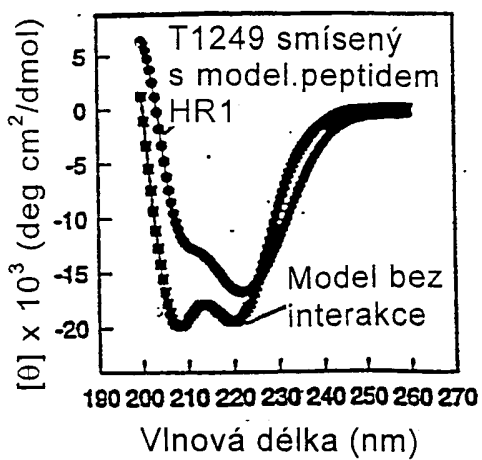
14.03.01

PV 2000-4324

19/23



Obr. 14 A

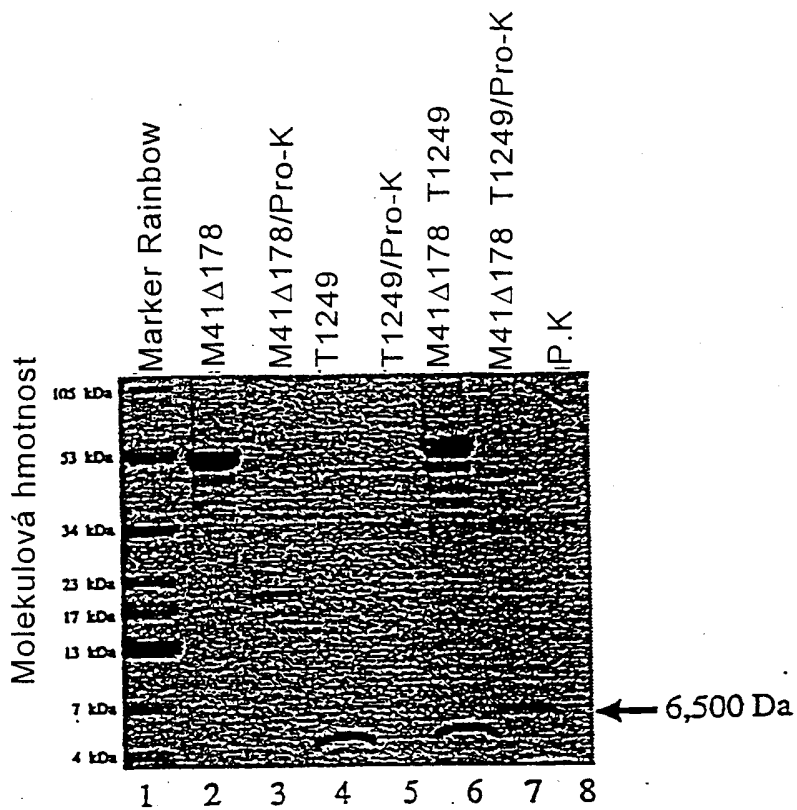


Obr. 14 B

14.03.01

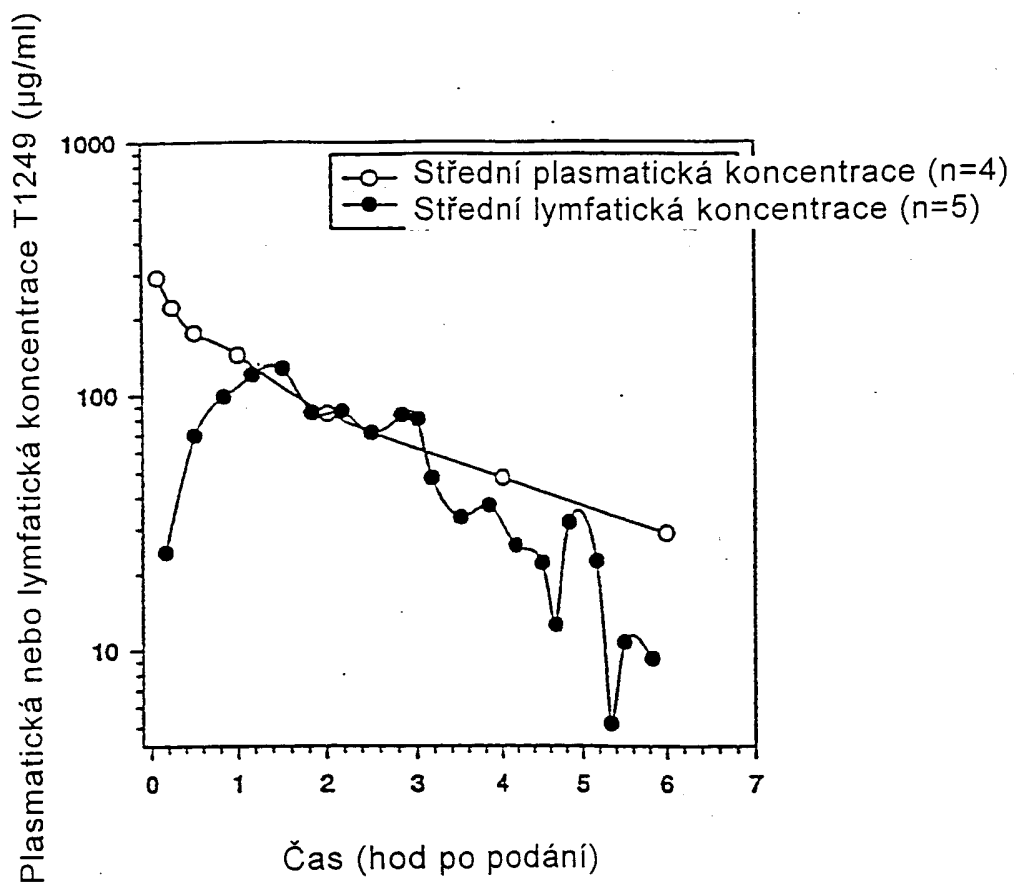
PV. 2000 - 4324

20/23



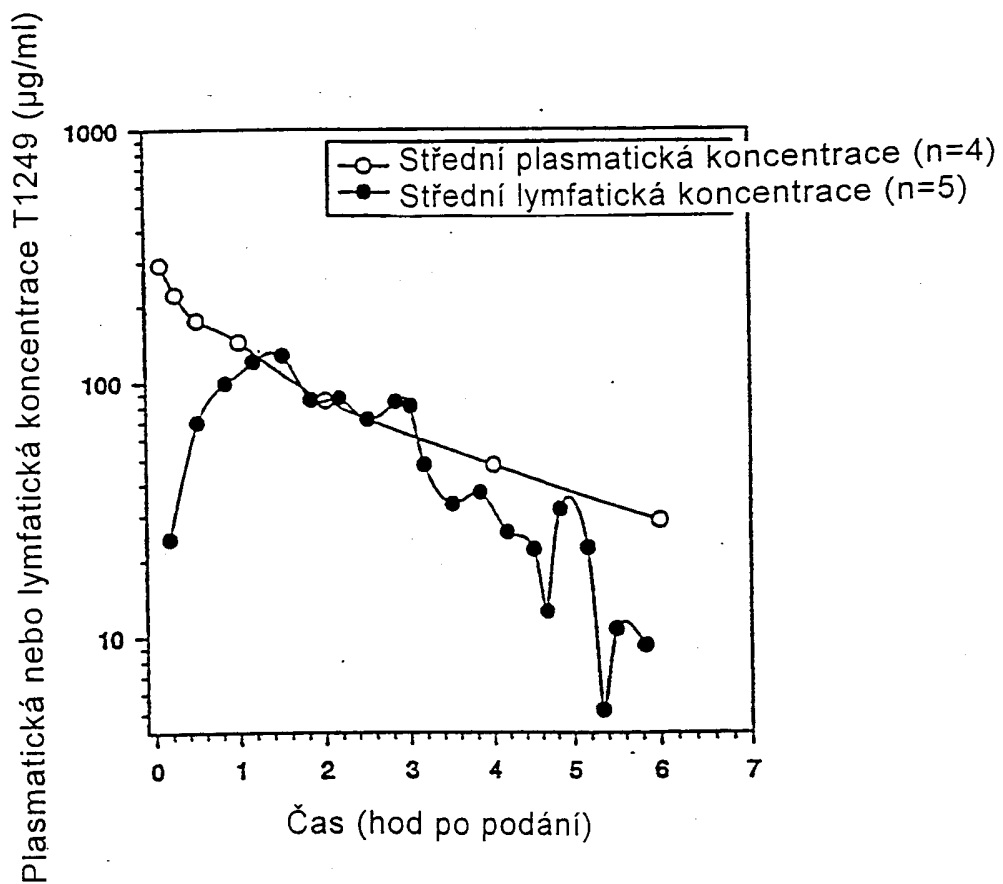
Obr. 15

21/23



Obr. 16 A

22/23

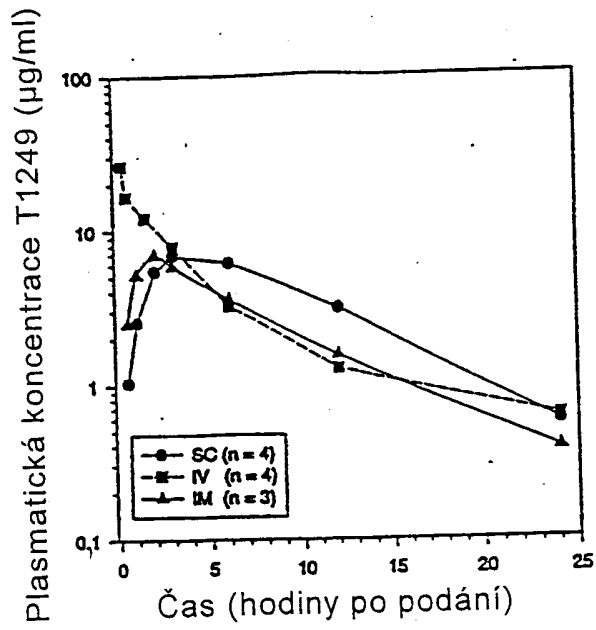


Obr. 16 A

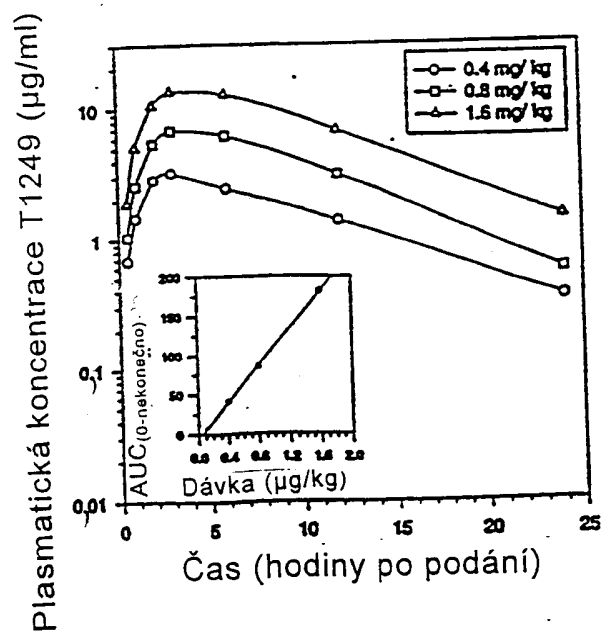
14.03.01

PV 2000-9324

23/23



Obr. 17 A



Obr. 17 B