

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】平成 27 年 2 月 12 日 (2015.2.12)

【公表番号】特表 2014-501262 (P2014-501262A)

【公表日】平成 26 年 1 月 20 日 (2014.1.20)

【年通号数】公開・登録公報 2014-003

【出願番号】特願 2013-546263 (P2013-546263)

【国際特許分類】

A 6 1 K 47/48 (2006.01)

A 6 1 K 47/18 (2006.01)

A 6 1 K 38/43 (2006.01)

A 6 1 P 7/04 (2006.01)

A 6 1 K 47/34 (2006.01)

A 6 1 K 47/12 (2006.01)

A 6 1 K 47/14 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 47/48

A 6 1 K 47/18

A 6 1 K 37/465

A 6 1 P 7/04

A 6 1 K 47/34

A 6 1 K 47/12

A 6 1 K 47/14

【手続補正書】

【提出日】平成 26 年 12 月 15 日 (2014.12.15)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

水溶性リンカーに結合した脂肪酸または脂肪酸エステルを含み、治療用タンパク質と安定に結合した、水溶性脂肪酸誘導体であって、ここで前記水溶性リンカーが、水溶性ポリマーと、前記治療用タンパク質に結合した少なくとも 1 つの官能基とを含み、前記官能基がアミノオキシ基である、水溶性脂肪酸誘導体。

【請求項 2】

インビトロまたはインビボでヒト血清アルブミン (HSA) と結合し、天然の治療用タンパク質と比較して増加した半減期を有する、請求項 1 に記載の脂肪酸誘導体であって、前記脂肪酸が飽和脂肪酸または不飽和脂肪酸である、脂肪酸誘導体。

【請求項 3】

前記脂肪酸が分岐鎖脂肪酸である、請求項 2 に記載の脂肪酸誘導体。

【請求項 4】

前記脂肪酸が C 10、C 12、C 14、C 16、C 18、C 20、C 22、および C 24 からなる群から選択される鎖長を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の脂肪酸誘導体。

【請求項 5】

前記脂肪酸が、末端カルボキシル基および 基からなる群から選択される前記脂肪酸上の基で前記水溶性リンカーに結合しており、前記 基が、ヒドロキシル、アミノ、チオ、お

よびカルボキシルからなる群から選択される、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の脂肪酸誘導体。

【請求項 6】

前記脂肪酸が 16 - ヒドロキシヘキサデカン酸であるか、または前記脂肪酸エステルが 16 - ヒドロキシヘキサデカン酸メチルエステルである、請求項 1 または 2 に記載の脂肪酸誘導体。

【請求項 7】

前記脂肪酸エステルが、メチルエステルおよびエチルエステルからなる群から選択される、請求項 1 または 2 に記載の脂肪酸誘導体。

【請求項 8】

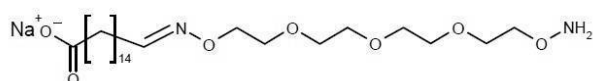
前記脂肪酸誘導体が、オキシム連結により前記治療用タンパク質と安定に結合しており、前記オキシム連結が、前記水溶性リンカー上のアミノオキシ基と前記治療用タンパク質上の酸化炭水化物のアルデヒド基との間に形成される、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の脂肪酸誘導体。

【請求項 9】

前記脂肪酸誘導体が、

a) 式：

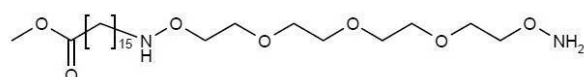
【化 4 6】



の 16 - ( 2 - ( 2 - ( 2 - ( 2 - アミノオキシエトキシ ) - エトキシ ) - エトキシ ) - エトキシイミノ ) - ヘキサデカン酸ナトリウム塩、および

b) 16 - ( 2 - ( 2 - ( 2 - ( 2 - アミノオキシエトキシ ) - エトキシ ) - エトキシ ) - エトキシアミノ ) - ヘキサデカン酸メチルエステル

【化 4 7】



からなる群から選択される、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の脂肪酸誘導体。

【請求項 10】

a) 脂肪酸上の - ヒドロキシ基を酸化させて、前記脂肪酸上にアルデヒド基を生成することと、

b) 活性アミノオキシ基を含む水溶性リンカーを前記アルデヒド基とカップリングさせて、安定なオキシム連結を形成することと、

を含む、請求項 1 に記載の脂肪酸誘導体を調製する方法であって、前記脂肪酸誘導体が水溶性であり、前記 - ヒドロキシ基が、デス・マーチン・ペルヨージナン試薬、Tempo 試薬、塩化オキサリル / DMSO、過ルテニウム酸テトラプロピルアンモニウム (TPAP)、および 6 価クロム試薬 (コリンズ試薬、クロロクロム酸ピリジニウム (PCC)、および重クロム酸ピリジニウム) からなる群から選択される酸化試薬により酸化され、前記脂肪酸が飽和脂肪酸または不飽和脂肪酸である、方法。

【請求項 11】

a) 脂肪酸上のカルボキシル基をエステル化して、前記脂肪酸上にエステルを生成することと、

b) 脂肪酸上の - ヒドロキシ基を活性化して、ステップ a) の脂肪酸上にメシル基を生成することと、

c) ステップ b) のメシル基を置換することによって、活性アミノオキシ基を含む水溶性リンカーをカップリングさせ、それにより安定なオキシイミン - メチレン結合を形成することと、

を含む、請求項 1 に記載の脂肪酸誘導体を調製する方法であって、前記脂肪酸誘導体が水

溶性であり、前記カルボキシル基が、塩化アセチル、酸存在下でのメタノール、酸存在下でのエタノール、ジアゾメタン、およびヨウ化メチルからなる群から選択されるエステル化剤によりエステル化され、前記 - ヒドロキシ基が、塩化メシル、塩化トシル、および塩化ノシルからなる群から選択される活性化剤により活性化され、かつ前記脂肪酸が飽和脂肪酸または不飽和脂肪酸である、方法。

【請求項 1 2】

前記脂肪酸が分岐鎖脂肪酸である、請求項 1 0 または 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記脂肪酸が、C 1 0、C 1 2、C 1 4、C 1 6、C 1 8、C 2 0、C 2 2、および C 2 4 からなる群から選択される鎖長を含み、必要に応じて、前記脂肪酸が 1 6 - ヒドロキシヘキサデカン酸である、請求項 1 0 または 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記水溶性ポリマーが、ポリエチレングリコール ( P E G )、分岐 P E G、ポリシアル酸 ( P S A )、ヒドロキシアルキルデンプン ( H A S )、ヒドロキシエチルデンプン ( H E S )、炭水化物、多糖類、プルラン、キトサン、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸塩、デルマタン硫酸塩、デンプン、デキストラン、カルボキシメチル - デキストラン、ポリアルキレンオキサイド ( P A O )、ポリアルキレングリコール ( P A G )、ポリプロピレングリコール ( P P G )、ポリオキサゾリン、ポリアクリロイルモルホリン、ポリビニルアルコール ( P V A )、ポリカルボキシレート、ポリビニルピロリドン、ポリホスファゼン、ポリオキサゾリン、ポリエチレン - コ - 無水マレイン酸、ポリスチレン - コ - 無水マレイン酸、ポリ ( 1 - ヒドロキシメチルエチレンヒドロキシメチルホルマール ) ( P H F )、および 2 - メタクリロイルオキシ - 2 ' - エチルトリメチルアンモニウムホスフェート ( M P C ) からなる群から選択される、請求項 1 に記載の脂肪酸誘導体あるいは請求項 1 0 または 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 5】

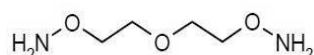
前記水溶性ポリマーが P E G であり、かつ O 3、O 5、O 7、O 9、O 1 1、O 1 3、および O 1 5 からなる群から選択される鎖長を含む、請求項 1 4 に記載の脂肪酸誘導体あるいは方法。

【請求項 1 6】

前記水溶性リンカーが、

a ) 式：

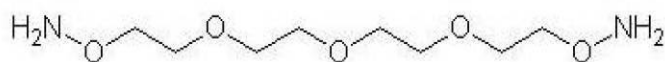
【化 5 4】



の 3 - オキサペンタン - 1 , 5 - ジオキシアミン、

b ) 式：

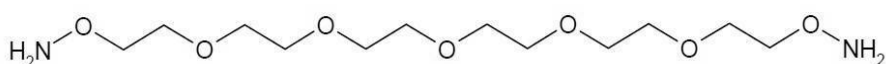
【化 5 5】



の 3 , 6 , 9 - トリアオキサウンデカン - 1 , 1 1 - ジオキシアミン、

c ) 式：

【化 5 6】



の 3 , 6 , 9 , 1 2 , 1 5 - ペンタオキサヘプタデカン - 1 , 1 7 - ジオキシアミン、および

d ) 式：

## 【化 5 7】



の 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 - ヘプタオキサトリコサン - 1, 23 - ジオキシアミンからなる群から選択される、請求項 15 に記載の脂肪酸誘導体あるいは方法。

## 【請求項 17】

抱合を可能にする条件下で、前記治療用タンパク質上の酸化炭水化物部分と請求項 1 に記載の脂肪酸誘導体とを接触させることを含む、治療用複合タンパク質を調製する方法であって、

前記炭水化物部分は、過ヨウ素酸ナトリウム (NaIO<sub>4</sub>)、四酢酸鉛 (Pb(OAc)<sub>4</sub>)、および過ルテニウム酸カリウム (KRuO<sub>4</sub>) からなる群から選択される酸化剤を含む緩衝剤とのインキュベーションによって酸化され、

前記酸化炭水化物部分と前記脂肪酸誘導体上の活性アミノオキシ基との間にオキシム連結が形成され、

前記オキシム連結形成が、アニリン、o - アミノ安息香酸、m - アミノ安息香酸、p - アミノ安息香酸、スルファニル酸、o - アミノベンザミド、o - トルイジン、m - トルイジン、p - トルイジン、o - アニシジン、m - アニシジン、および p - アニシジンからなる群から選択される求核触媒により触媒される、方法。

## 【請求項 18】

前記治療用タンパク質が、第 IX 因子 (FIX)、第 VII 因子 (FVII)、第 VIIa 因子 (FVIIa)、フォンヴィレブランド因子 (VWF)、第 FV 因子 (FV)、第 X 因子 (FX)、第 XI 因子 (FXI)、第 XII 因子 (FXII)、トロンビン (FII)、プロテイン C、プロテイン S、tPA、PAI - 1、組織因子 (TF)、ADAMTS 13 プロテアーゼ、IL - 1 アルファ、IL - 1 ベータ、IL - 2、IL - 3、IL - 4、IL - 5、IL - 6、IL - 11、コロニー刺激因子 - 1 (CSF - 1)、M - CSF、SCF、GM - CSF、顆粒球コロニー刺激因子 (G - CSF)、EPO、インターフェロン - アルファ (IFN - アルファ)、コンセンサスインターフェロン、IFN - ベータ、IFN - ガンマ、IFN - オメガ、IL - 7、IL - 8、IL - 9、IL - 10、IL - 12、IL - 13、IL - 14、IL - 15、IL - 16、IL - 17、IL - 18、IL - 19、IL - 20、IL - 21、IL - 22、IL - 23、IL - 24、IL - 31、IL - 32 アルファ、IL - 33、トロンボポエチン (TPO)、Ang - 1、Ang - 2、Ang - 4、Ang - Y、アンジオポエチン様ポリペプチド 1 (ANGPTL1)、アンジオポエチン様ポリペプチド 2 (ANGPTL2)、アンジオポエチン様ポリペプチド 3 (ANGPTL3)、アンジオポエチン様ポリペプチド 4 (ANGPTL4)、アンジオポエチン様ポリペプチド 5 (ANGPTL5)、アンジオポエチン様ポリペプチド 6 (ANGPTL6)、アンジオポエチン様ポリペプチド 7 (ANGPTL7)、ピトロネクチン、血管内皮成長因子 (VEGF)、アンジオゲニン、アクチビン A、アクチビン B、アクチビン C、骨形態形成タンパク質 - 1、骨形態形成タンパク質 - 2、骨形態形成タンパク質 - 3、骨形態形成タンパク質 - 4、骨形態形成タンパク質 - 5、骨形態形成タンパク質 - 6、骨形態形成タンパク質 - 7、骨形態形成タンパク質 - 8、骨形態形成タンパク質 - 9、骨形態形成タンパク質 - 10、骨形態形成タンパク質 - 11、骨形態形成タンパク質 - 12、骨形態形成タンパク質 - 13、骨形態形成タンパク質 - 14、骨形態形成タンパク質 - 15、骨形態形成タンパク質受容体 IA、骨形態形成タンパク質受容体 IB、骨形態形成タンパク質受容体 II、脳由来神経栄養因子、カルジオトロフィン - 1、毛様体神経栄養因子、毛様体神経栄養因子受容体、クリプト (cripto)、クリプティック (cryptic)、サイトカイン誘導性好中球走化性因子 1、サイトカイン誘導性好中球走化性因子 2、サイトカイン誘導性好中球走化性因子 2、内皮細胞成長因子、エンドセリン 1、上皮成長因子、エピゲン (epigen)、エピレギュリン、上皮由来好中球誘引物質、線維芽細胞成長因子 4、線維芽細胞成長因子 5、線維

芽細胞成長因子 6、線維芽細胞成長因子 7、線維芽細胞成長因子 8、線維芽細胞成長因子 8 b、線維芽細胞成長因子 8 c、線維芽細胞成長因子 9、線維芽細胞成長因子 10、線維芽細胞成長因子 11、線維芽細胞成長因子 12、線維芽細胞成長因子 13、線維芽細胞成長因子 16、線維芽細胞成長因子 17、線維芽細胞成長因子 19、線維芽細胞成長因子 20、線維芽細胞成長因子 21、酸性線維芽細胞成長因子、塩基性線維芽細胞成長因子、グリア細胞株由来神経栄養因子受容体 1、グリア細胞株由来神経栄養因子受容体 2、成長関連タンパク質、成長関連タンパク質、成長関連タンパク質、成長関連タンパク質、ヘパリン結合上皮成長因子、肝細胞成長因子、肝細胞成長因子受容体、肝細胞癌由来成長因子、インスリン様成長因子 I、インスリン様成長因子受容体、インスリン様成長因子 II、インスリン様成長因子結合タンパク質、ケラチノサイト成長因子、白血病抑制因子、白血病抑制因子受容体、神経成長因子神経成長因子受容体、ニューロポエチン、ニューロトロフィン - 3、ニューロトロフィン - 4、オンコスタチン M ( O S M )、胎盤成長因子、胎盤成長因子 2、血小板由来内皮細胞成長因子、血小板由来成長因子、血小板由来成長因子 A 鎖、血小板由来成長因子 A A、血小板由来成長因子 A B、血小板由来成長因子 B 鎖、血小板由来成長因子 B B、血小板由来成長因子受容体、血小板由来成長因子受容体、プレ B 細胞成長刺激因子、幹細胞因子 ( S C F )、幹細胞因子受容体、T N F、T N F 0、T N F 1、T N F 2、形質転換成長因子、形質転換成長因子、形質転換成長因子 1、形質転換成長因子 1 . 2、形質転換成長因子 2、形質転換成長因子 3、形質転換成長因子 5、潜在型形質転換成長因子 1、形質転換成長因子結合タンパク質 I、形質転換成長因子結合タンパク質 II、形質転換成長因子結合タンパク質 III、胸腺間質性リンパ球新生因子 ( T S L P )、腫瘍壊死因子受容体 I 型、腫瘍壊死因子受容体 II 型、ウロキナーゼ型プラスミノーゲン活性化因子受容体、ホスホリパーゼ活性化タンパク質 ( P U P )、インスリン、レクチンリシン、プロラクチン、絨毛性ゴナドトロピン、卵胞刺激ホルモン、甲状腺刺激ホルモン、組織プラスミノーゲン活性化因子、I g G、I g E、I g M、I g A、および I g D、 $\alpha$ -ガラクトシダーゼ、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ、D N アーゼ、フェチュイン、黄体形成ホルモン、エストロゲン、インスリン、アルブミン、リポタンパク質、胎児性タンパク質、トランスフェリン、トロンボポエチン、ウロキナーゼ、インテグリン、トロンピン、レプチン、ヒュミラ ( アダリムマブ )、プロリア ( デノスマブ )、エンブレル ( エタネルセプト )、表 1 のタンパク質、またはそれらの生物活性断片、誘導体、もしくは変異体からなる群から選択される、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の脂肪酸誘導体あるいは請求項 17 に記載の方法。

#### 【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0049

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0049】

また別の実施形態において、a) 脂肪酸上のカルボキシル基をエステル化して、脂肪酸エステルを生成することと、b) ステップ a) によって生じた脂肪酸をアジド試薬と反応させることによって、対応する脂肪酸アジドを生成することと、c) ステップ b) の脂肪酸アジドを水素化して、対応する脂肪酸アミンを生成することと、d) 活性 N H S 基を含む水溶性リンカーを遊離アミン基とカップリングさせることによって、安定な結合を形成することと、を含み、脂肪酸誘導体が水溶性である、前述の脂肪酸誘導体を調製する方法が提供される。

例えば、本発明は、以下の項目を提供する：

( 項目 1 )

水溶性リンカーに結合した脂肪酸または脂肪酸エステルを含み、治療用タンパク質と安定に結合した、水溶性脂肪酸誘導体。

(項目2)

インビトロまたはインビボでヒト血清アルブミン (HSA) と結合する、項目1に記載の脂肪酸誘導体。

(項目3)

天然の治療用タンパク質と比較して増加した半減期を有する、項目1～2のいずれかに記載の脂肪酸誘導体。

(項目4)

上記脂肪酸が飽和脂肪酸または不飽和脂肪酸である、項目1～3のいずれかに記載の脂肪酸誘導体。

(項目5)

上記脂肪酸が飽和脂肪酸である、項目4に記載の脂肪酸誘導体。

(項目6)

上記脂肪酸が分岐鎖脂肪酸である、項目4に記載の脂肪酸誘導体。

(項目7)

上記脂肪酸がC10、C12、C14、C16、C18、C20、C22、およびC24からなる群から選択される鎖長を含む、項目1～6のいずれかに記載の脂肪酸誘導体。

(項目8)

上記脂肪酸がC14、C16、およびC18からなる群から選択される鎖長を有する、項目7に記載の脂肪酸誘導体。

(項目9)

上記脂肪酸が、末端カルボキシル基および 基からなる群から選択される上記脂肪酸上の基で上記水溶性リンカーに結合している、項目1～8のいずれかに記載の脂肪酸誘導体。

(項目10)

上記脂肪酸が上記 基で上記水溶性リンカーと結合している、項目9に記載の脂肪酸誘導体。

(項目11)

上記 基が、ヒドロキシル、アミノ、チオ、およびカルボキシルからなる群から選択される、項目10に記載の脂肪酸誘導体。

(項目12)

上記脂肪酸が16-ヒドロキシヘキサデカン酸である、項目1～3のいずれかに記載の脂肪酸誘導体。

(項目13)

上記脂肪酸エステルが、メチルエステルおよびエチルエステルからなる群から選択される、項目1～3のいずれかに記載の脂肪酸誘導体。

(項目14)

上記脂肪酸エステルが16-ヒドロキシヘキサデカン酸メチルエステルである、項目13に記載の脂肪酸誘導体。

(項目15)

上記水溶性リンカーが、水溶性ポリマーと、上記治療用タンパク質に結合した少なくとも1つの官能基とを含む、項目1～14のいずれかに記載の脂肪酸誘導体。

(項目16)

上記官能基が、スルホ基、カルボキシル基、水酸基、アミノ基、アミド基、マレイミド基、アミノオキシ基、およびヒドラジド基からなる群から選択される、項目15に記載の脂肪酸誘導体。

(項目17)

上記官能基がアミノオキシ基である、項目16に記載の脂肪酸誘導体。

(項目18)

上記水溶性ポリマーが、ポリエチレングリコール (PEG)、分岐PEG、ポリシアル酸 (PSA)、ヒドロキシアルキルデンプン (HAS)、ヒドロキシエチルデンプン (HES)、炭水化物、多糖類、プルラン、キトサン、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸塩、

デルマタン硫酸塩、デンプン、デキストラン、カルボキシメチル - デキストラン、ポリアルキレンオキサイド ( P A O )、ポリアルキレングリコール ( P A G )、ポリプロピレングリコール ( P P G )、ポリオキサゾリン、ポリアクリロイルモルホリン、ポリビニルアルコール ( P V A )、ポリカルボキシレート、ポリビニルピロリドン、ポリホスファゼン、ポリオキサゾリン、ポリエチレン - コ - 無水マレイン酸、ポリスチレン - コ - 無水マレイン酸、ポリ ( 1 - ヒドロキシメチルエチレンヒドロキシメチルホルマール ) ( P H F )、および 2 - メタクリロイルオキシ - 2 ' - エチルトリメチルアンモニウムホスフェート ( M P C ) からなる群から選択される、項目 1 5 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の脂肪酸誘導体。

( 項目 1 9 )

上記水溶性ポリマーが P E G である、項目 1 8 に記載の脂肪酸誘導体。

( 項目 2 0 )

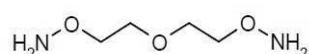
上記水溶性ポリマーが、O 3、O 5、O 7、O 9、O 1 1、O 1 3、および O 1 5 からなる群から選択される鎖長を含む、項目 1 5 ~ 1 7 および 1 9 のいずれか 1 項に記載の脂肪酸誘導体。

( 項目 2 1 )

上記水溶性リンカーが、

a ) 式 :

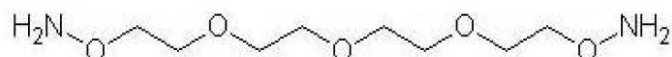
【化 4 0】



の 3 - オキサペンタン - 1 , 5 - ジオキシアミン、

b ) 式 :

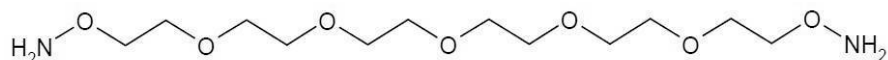
【化 4 1】



の 3 , 6 , 9 - トリアオキサウンデカン ( t r i a o x a u n d e c a n e ) - 1 , 1 1 - ジオキシアミン、

c ) 式 :

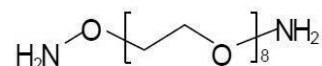
【化 4 2】



の 3 , 6 , 9 , 1 2 , 1 5 - ペンタオキサヘプタデカン - 1 , 1 7 - ジオキシアミン、および

d ) 式 :

【化 4 3】



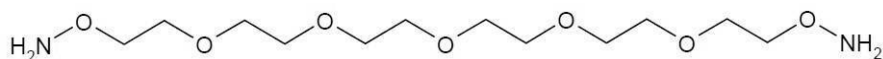
の 3 , 6 , 9 , 1 2 , 1 5 , 1 8 , 2 1 - ヘプタオキサトリコサン - 1 , 2 3 - ジオキシアミンからなる群から選択される、項目 1 7 に記載の脂肪酸誘導体。

( 項目 2 2 )

上記水溶性リンカーが、式 :

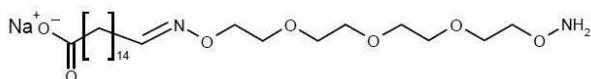
$$\text{H}_2\text{N}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{NH}_2$$

【化 4 5】

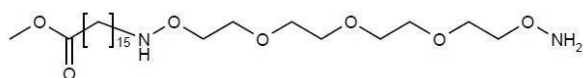


a) 式:

【化 4 6】



【化 4 7】



上記治療用タンパク質が、第ⅠⅩ因子（ⅠⅩ）、第ⅤⅠⅠⅠ因子（ⅤⅠⅠⅠ）、第ⅤⅠⅠa因子（ⅤⅠⅠa）、フォンヴィレブランド因子（ⅤⅤⅤ）、第ⅤⅤ因子（ⅤⅤ）



、第 X 因子 ( F X )、第 X I 因子 ( F X I )、第 X I I 因子 ( F X I I )、トロンピン ( F I I )、プロテイン C、プロテイン S、t P A、P A I - 1、組織因子 ( T F )、A D A M T S 1 3 プロテアーゼ、I L - 1 アルファ、I L - 1 ベータ、I L - 2、I L - 3、I L - 4、I L - 5、I L - 6、I L - 1 1、コロニー刺激因子 - 1 ( C S F - 1 )、M - C S F、S C F、G M - C S F、顆粒球コロニー刺激因子 ( G - C S F )、E P O、インターフェロン - アルファ ( I F N - アルファ)、コンセンサスインターフェロン、I F N - ベータ、I F N - ガンマ、I F N - オメガ、I L - 7、I L - 8、I L - 9、I L - 1 0、I L - 1 2、I L - 1 3、I L - 1 4、I L - 1 5、I L - 1 6、I L - 1 7、I L - 1 8、I L - 1 9、I L - 2 0、I L - 2 1、I L - 2 2、I L - 2 3、I L - 2 4、I L - 3 1、I L - 3 2 アルファ、I L - 3 3、トロンボポエチン ( T P O )、A n g - 1、A n g - 2、A n g - 4、A n g - Y、アンジオポエチン様ポリペプチド 1 ( A N G P T L 1 )、アンジオポエチン様ポリペプチド 2 ( A N G P T L 2 )、アンジオポエチン様ポリペプチド 3 ( A N G P T L 3 )、アンジオポエチン様ポリペプチド 4 ( A N G P T L 4 )、アンジオポエチン様ポリペプチド 5 ( A N G P T L 5 )、アンジオポエチン様ポリペプチド 6 ( A N G P T L 6 )、アンジオポエチン様ポリペプチド 7 ( A N G P T L 7 )、ピトロネクチン、血管内皮成長因子 ( V E G F )、アンジオゲニン、アクチビン A、アクチビン B、アクチビン C、骨形態形成タンパク質 - 1、骨形態形成タンパク質 - 2、骨形態形成タンパク質 - 3、骨形態形成タンパク質 - 4、骨形態形成タンパク質 - 5、骨形態形成タンパク質 - 6、骨形態形成タンパク質 - 7、骨形態形成タンパク質 - 8、骨形態形成タンパク質 - 9、骨形態形成タンパク質 - 1 0、骨形態形成タンパク質 - 1 1、骨形態形成タンパク質 - 1 2、骨形態形成タンパク質 - 1 3、骨形態形成タンパク質 - 1 4、骨形態形成タンパク質 - 1 5、骨形態形成タンパク質受容体 I A、骨形態形成タンパク質受容体 I B、骨形態形成タンパク質受容体 I I、脳由来神経栄養因子、カルジオトロフィン - 1、毛様体神経栄養因子、毛様体神経栄養因子受容体、クリプト ( c r i p t o )、クリプティック ( c r y p t i c )、サイトカイン誘導性好中球走化性因子 1、サイトカイン誘導性好中球走化性因子 2、サイトカイン誘導性好中球走化性因子 2、内皮細胞成長因子、エンドセリン 1、上皮成長因子、エピゲン ( e p i g e n )、エピレギュリン、上皮由来好中球誘引物質、線維芽細胞成長因子 4、線維芽細胞成長因子 5、線維芽細胞成長因子 6、線維芽細胞成長因子 7、線維芽細胞成長因子 8、線維芽細胞成長因子 8 b、線維芽細胞成長因子 8 c、線維芽細胞成長因子 9、線維芽細胞成長因子 1 0、線維芽細胞成長因子 1 1、線維芽細胞成長因子 1 2、線維芽細胞成長因子 1 3、線維芽細胞成長因子 1 6、線維芽細胞成長因子 1 7、線維芽細胞成長因子 1 9、線維芽細胞成長因子 2 0、線維芽細胞成長因子 2 1、酸性線維芽細胞成長因子、塩基性線維芽細胞成長因子、グリア細胞株由来神経栄養因子受容体 1、グリア細胞株由来神経栄養因子受容体 2、成長関連タンパク質、成長関連タンパク質、成長関連タンパク質、成長関連タンパク質、ヘパリン結合上皮成長因子、肝細胞成長因子、肝細胞成長因子受容体、肝細胞癌由来成長因子、インスリン様成長因子 I、インスリン様成長因子受容体、インスリン様成長因子 I I、インスリン様成長因子結合タンパク質、ケラチノサイト成長因子、白血病抑制因子、白血病抑制因子受容体、神経成長因子神経成長因子受容体、ニューロポエチン、ニューロトロフィン - 3、ニューロトロフィン - 4、オンコスタチン M ( O S M )、胎盤成長因子、胎盤成長因子 2、血小板由来内皮細胞成長因子、血小板由来成長因子、血小板由来成長因子 A 鎖、血小板由来成長因子 A A、血小板由来成長因子 A B、血小板由来成長因子 B 鎖、血小板由来成長因子 B B、血小板由来成長因子受容体、血小板由来成長因子受容体、プレ B 細胞成長刺激因子、幹細胞因子 ( S C F )、幹細胞因子受容体、T N F、T N F 0、T N F 1、T N F 2、形質転換成長因子、形質転換成長因子、形質転換成長因子 1、形質転換成長因子 1、2、形質転換成長因子 2、形質転換成長因子 3、形質転換成長因子 5、潜在型形質転換成長因子 1、形質転換成長因子結合タンパク質 I、形質転換成長因子結合タンパク質 I I、形質転換成長因子結合タンパク質 I I I、胸腺間質性リンパ球新生因子 ( T S L P )、腫瘍壊死因子受容体 I 型、腫瘍壊死因子受容体 I I 型、ウロキナーゼ型プラスミノーゲン活性化因子受容体、ホスホリパーゼ活

性化タンパク質 ( P U P )、インスリン、レクチンリシン、プロラクチン、絨毛性ゴナドトロピン、卵胞刺激ホルモン、甲状腺刺激ホルモン、組織プラスミノゲン活性化因子、I g G、I g E、I g M、I g A、および I g D、        -ガラクトシダーゼ、        -ガラクトシダーゼ、D N アーゼ、フェチュイン、黄体形成ホルモン、エストロゲン、インスリン、アルブミン、リボタンパク質、胎児性タンパク質、トランスフェリン、トロンボポエチン、ウロキナーゼ、インテグリン、トロンピン、レプチン、ヒュミラ ( アダリムマブ )、プロリア ( デノスマブ )、エンブレル ( エタネルセプト )、表 1 のタンパク質、またはそれらの生物活性断片、誘導体、もしくは変異体からなる群から選択される、項目 1 ~ 2 8 のいずれか 1 項に記載の脂肪酸誘導体。

( 項目 3 0 )

上記治療用タンパク質が F V I I a である、項目 2 9 に記載の脂肪酸誘導体。

( 項目 3 1 )

上記治療用タンパク質が F V I I I である、項目 2 9 に記載の脂肪酸誘導体。

( 項目 3 2 )

上記治療用タンパク質が F I X である、項目 2 9 に記載の脂肪酸誘導体。

( 項目 3 3 )

a ) 脂肪酸上の         -ヒドロキシ基を酸化させて、上記脂肪酸上にアルデヒド基を生成することと、

b ) 活性アミノオキシ基を含む水溶性リンカーを上記アルデヒド基とカップリングさせて、安定なオキシム連結を形成することと、

を含み、上記脂肪酸誘導体が水溶性である、項目 1 に記載の脂肪酸誘導体を調製する方法。

( 項目 3 4 )

上記         -ヒドロキシ基が、デス・マーチン・ペルヨージナン試薬、T e m p o 試薬、塩化オキサリル / D M S O、過ルテニウム酸テトラプロピルアンモニウム ( T P A P )、および 6 価クロム試薬 ( コリンズ試薬、クロロクロム酸ピリジニウム ( P C C )、および重クロム酸ピリジニウム ) からなる群から選択される酸化試薬により酸化される、項目 3 3 に記載の方法。

( 項目 3 5 )

上記酸化試薬がデス・マーチン・ペルヨージナンである、項目 3 4 に記載の方法。

( 項目 3 6 )

上記脂肪酸が飽和脂肪酸または不飽和脂肪酸である、項目 3 3 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 3 7 )

上記脂肪酸が飽和脂肪酸である、項目 3 6 に記載の方法。

( 項目 3 8 )

上記脂肪酸が分岐鎖脂肪酸である、項目 3 6 に記載の方法。

( 項目 3 9 )

上記脂肪酸が C 1 0、C 1 2、C 1 4、C 1 6、C 1 8、C 2 0、C 2 2、および C 2 4 からなる群から選択される鎖長を含む、項目 3 3 ~ 3 7 のいずれかに記載の方法。

( 項目 4 0 )

上記脂肪酸が C 1 4、C 1 6、および C 1 8 からなる群から選択される鎖長を有する、項目 3 9 に記載の方法。

( 項目 4 1 )

上記脂肪酸が 1 6 - ヒドロキシヘキサデカン酸である、項目 4 0 に記載の方法。

( 項目 4 2 )

上記水溶性リンカーが水溶性ポリマーおよび少なくとも 1 つのアミノオキシ基を含む、項目 3 3 ~ 4 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 4 3 )

上記水溶性ポリマーが、ポリエチレングリコール ( P E G )、分岐 P E G、ポリシアル酸

( P S A )、ヒドロキシアシルキルデンブン ( H A S )、ヒドロキシエチルデンブン ( H E S )、炭水化物、多糖類、プルラン、キトサン、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸塩、デルマタン硫酸塩、デンブン、デキストラン、カルボキシメチル - デキストラン、ポリアルキレンオキサイド ( P A O )、ポリアルキレングリコール ( P A G )、ポリプロピレングリコール ( P P G )、ポリオキサゾリン、ポリアクリロイルモルホリン、ポリビニルアルコール ( P V A )、ポリカルボキシレート、ポリビニルピロリドン、ポリホスファゼン、ポリオキサゾリン、ポリエチレン - コ - 無水マレイン酸、ポリスチレン - コ - 無水マレイン酸、ポリ ( 1 - ヒドロキシメチルエチレンヒドロキシメチルホルマール ) ( P H F )、および 2 - メタクリロイルオキシ - 2 ' - エチルトリメチルアンモニウムホスフェート ( M P C ) からなる群から選択される、項目 4 2 に記載の方法。

( 項目 4 4 )

上記水溶性ポリマーが P E G である、項目 4 3 に記載の方法。

( 項目 4 5 )

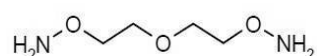
上記水溶性ポリマーが、O 5、O 7、O 9、O 1 1、O 1 3、および O 1 5 からなる群から選択される鎖長を含む、項目 4 2 または 4 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 4 6 )

上記水溶性リンカーが、

a ) 式 :

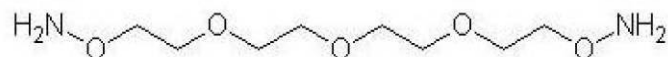
【化 4 8】



の 3 - オキサペンタン - 1 , 5 - ジオキシアミン、

b ) 式 :

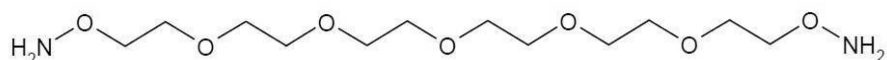
【化 4 9】



の 3 , 6 , 9 - トリアオキサウンデカン - 1 , 1 1 - ジオキシアミン、

c ) 式 :

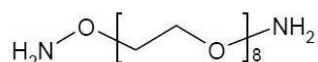
【化 5 0】



の 3 , 6 , 9 , 1 2 , 1 5 - ペンタオキサヘプタデカン - 1 , 1 7 - ジオキシアミン、および

d ) 式 :

【化 5 1】



の 3 , 6 , 9 , 1 2 , 1 5 , 1 8 , 2 1 - ヘプタオキサトリコサン - 1 , 2 3 - ジオキシアミンからなる群から選択される、項目 4 5 に記載の方法。

( 項目 4 7 )

上記水溶性リンカーが、式 :

N[O]CCOC[O]CCOC[O]CCOC[O]CCONN[O]CCOCCOCCOCCOCCOCCOCCOCCN

上記脂肪酸が 16 - ヒドロキシヘキサデカン酸である、項目 58 に記載の方法。

( 項目 6 0 )

上記水溶性リンカーが水溶性ポリマーおよび少なくとも 1 つのアミノオキシ基を含む、項目 4 9 ~ 5 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 6 1 )

上記水溶性ポリマーが、ポリエチレングリコール ( P E G )、分岐 P E G、ポリシアル酸 ( P S A )、ヒドロキシアルキルデンプン ( H A S )、ヒドロキシエチルデンプン ( H E S )、炭水化物、多糖類、プルラン、キトサン、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸塩、デルマタン硫酸塩、デンプン、デキストラン、カルボキシメチル - デキストラン、ポリアルキレンオキサイド ( P A O )、ポリアルキレングリコール ( P A G )、ポリプロピレングリコール ( P P G )、ポリオキサゾリン、ポリアクリロイルモルホリン、ポリビニルアルコール ( P V A )、ポリカルボキシレート、ポリビニルピロリドン、ポリホスファゼン、ポリオキサゾリン、ポリエチレン - コ - 無水マレイン酸、ポリスチレン - コ - 無水マレイン酸、ポリ ( 1 - ヒドロキシメチルエチレンヒドロキシメチルホルマール ) ( P H F )、および 2 - メタクリロイルオキシ - 2 ' - エチルトリメチルアンモニウムホスフェート ( M P C ) からなる群から選択される、項目 6 0 に記載の方法。

( 項目 6 2 )

上記水溶性ポリマーが P E G である、項目 6 1 に記載の方法。

( 項目 6 3 )

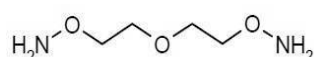
上記水溶性ポリマーが、O 3、O 5、O 7、O 9、O 1 1、O 1 3、および O 1 5 からなる群から選択される鎖長を含む、項目 6 0 または 6 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 6 4 )

上記水溶性リンカーが、

a ) 式 :

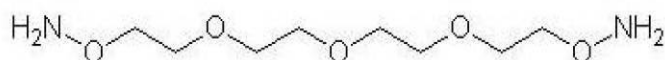
【化 5 4】



の 3 - オキサペンタン - 1 , 5 - ジオキシアミン、

b ) 式 :

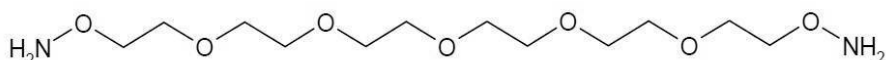
【化 5 5】



の 3 , 6 , 9 - トリアオキサウンデカン - 1 , 1 1 - ジオキシアミン、

c ) 式 :

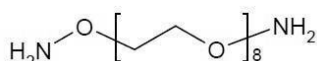
【化 5 6】



の 3 , 6 , 9 , 1 2 , 1 5 - ペンタオキサヘプタデカン - 1 , 1 7 - ジオキシアミン、および

d ) 式 :

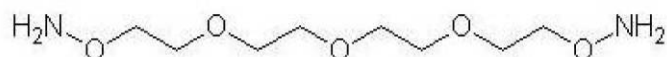
【化 5 7】



の 3 , 6 , 9 , 1 2 , 1 5 , 1 8 , 2 1 - ヘプタオキサトリコサン - 1 , 2 3 - ジオキシ

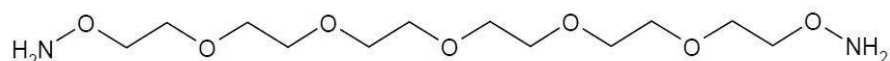
( 項目 6 5 )

【化 5 8】



( 項目 6 6 )

【化 5 9】



( 項目 6 7 )

上記炭水化物部分は、過ヨウ素酸ナトリウム (  $\text{NaIO}_4$  )、四酢酸鉛 (  $\text{Pb}(\text{OAc})_4$  )、および過ルテニウム酸カリウム (  $\text{KRuO}_4$  ) からなる群から選択される酸化剤を含む緩衝剤とのインキュベーションによって酸化され、

上記オキシム連結形成が、アニリン、o - アミノ安息香酸、m - アミノ安息香酸、p - アミノ安息香酸、スルファニル酸、o - アミノベンザミド、o - トルイジン、m - トルイジン、p - トルイジン、o - アニシジン、m - アニシジン、および p - アニシジンからなる群から選択される求核触媒により触媒される、方法。

( 項目 6 8 )

上記治療用タンパク質が、第Ⅰ×因子（F I X）、第V I I I因子（F V I I I）、第V  
I I a因子（F V I I a）、フォンヴィレブランド因子（V W F）、第F V因子（F V）  
、第X因子（F X）、第X I因子（F X I）、第X I I因子（F X I I）、トロンビン（  
F I I）、プロテインC、プロテインS、t P A、P A I - 1、組織因子（T F）、A D  
A M T S 1 3 プロテアーゼ、I L - 1 アルファ、I L - 1 ベータ、I L - 2、I L - 3、  
I L - 4、I L - 5、I L - 6、I L - 1 1、コロニー刺激因子 - 1 （ C S F - 1 ） 、M  
- C S F、S C F、G M - C S F、顆粒球コロニー刺激因子（ G - C S F ）、E P O、イ  
ンターフェロンのアルファ（ I F N - アルファ）、コンセンサスインターフェロン、I F  
N - ベータ、I F N - ガンマ、I F N - オメガ、I L - 7、I L - 8、I L - 9、I L -  
1 0、I L - 1 2、I L - 1 3、I L - 1 4、I L - 1 5、I L - 1 6、I L - 1 7、I  
L - 1 8、I L - 1 9、I L - 2 0、I L - 2 1、I L - 2 2、I L - 2 3、I L - 2 4  
、I L - 3 1、I L - 3 2 アルファ、I L - 3 3、トロンボポエチン（ T P O ）、A n g  
- 1、A n g - 2、A n g - 4、A n g - Y、アンジオポエチン様ポリペプチド1 （ A N  
G P T L 1 ）、アンジオポエチン様ポリペプチド2 （ A N G P T L 2 ）、アンジオポエチ  
ン様ポリペプチド3 （ A N G P T L 3 ）、アンジオポエチン様ポリペプチド4 （ A N G P  
T L 4 ）、アンジオポエチン様ポリペプチド5 （ A N G P T L 5 ）、アンジオポエチン様  
ポリペプチド6 （ A N G P T L 6 ）、アンジオポエチン様ポリペプチド7 （ A N G P T L

7)、ビトロネクチン、血管内皮成長因子(V E G F)、アンジオゲニン、アクチビン A、アクチビン B、アクチビン C、骨形態形成タンパク質 - 1、骨形態形成タンパク質 - 2、骨形態形成タンパク質 - 3、骨形態形成タンパク質 - 4、骨形態形成タンパク質 - 5、骨形態形成タンパク質 - 6、骨形態形成タンパク質 - 7、骨形態形成タンパク質 - 8、骨形態形成タンパク質 - 9、骨形態形成タンパク質 - 10、骨形態形成タンパク質 - 11、骨形態形成タンパク質 - 12、骨形態形成タンパク質 - 13、骨形態形成タンパク質 - 14、骨形態形成タンパク質 - 15、骨形態形成タンパク質受容体 I A、骨形態形成タンパク質受容体 I B、骨形態形成タンパク質受容体 I I、脳由来神経栄養因子、カルジオトロフィン - 1、毛様体神経栄養因子、毛様体神経栄養因子受容体、クリプト(c r i p t o)、クリプティック(c r y p t i c)、サイトカイン誘導性好中球走化性因子 1、サイトカイン誘導性好中球走化性因子 2、サイトカイン誘導性好中球走化性因子 2、内皮細胞成長因子、エンドセリン 1、上皮成長因子、エピゲン(e p i g e n)、エビレギュリン、上皮由来好中球誘引物質、線維芽細胞成長因子 4、線維芽細胞成長因子 5、線維芽細胞成長因子 6、線維芽細胞成長因子 7、線維芽細胞成長因子 8、線維芽細胞成長因子 8 b、線維芽細胞成長因子 8 c、線維芽細胞成長因子 9、線維芽細胞成長因子 10、線維芽細胞成長因子 11、線維芽細胞成長因子 12、線維芽細胞成長因子 13、線維芽細胞成長因子 16、線維芽細胞成長因子 17、線維芽細胞成長因子 19、線維芽細胞成長因子 20、線維芽細胞成長因子 21、酸性線維芽細胞成長因子、塩基性線維芽細胞成長因子、グリア細胞株由来神経栄養因子受容体 1、グリア細胞株由来神経栄養因子受容体 2、成長関連タンパク質、成長関連タンパク質、成長関連タンパク質、成長関連タンパク質、ヘパリン結合上皮成長因子、肝細胞成長因子、肝細胞成長因子受容体、肝細胞癌由来成長因子、インスリン様成長因子 I、インスリン様成長因子受容体、インスリン様成長因子 I I、インスリン様成長因子結合タンパク質、ケラチノサイト成長因子、白血病抑制因子、白血病抑制因子受容体、神経成長因子神経成長因子受容体、ニューロボエチン、ニューロトロフィン - 3、ニューロトロフィン - 4、オンコスタチン M ( O S M)、胎盤成長因子、胎盤成長因子 2、血小板由来内皮細胞成長因子、血小板由来成長因子、血小板由来成長因子 A 鎖、血小板由来成長因子 A A、血小板由来成長因子 A B、血小板由来成長因子 B 鎖、血小板由来成長因子 B B、血小板由来成長因子受容体、血小板由来成長因子受容体、プレ B 細胞成長刺激因子、幹細胞因子(S C F)、幹細胞因子受容体、T N F、T N F 0、T N F 1、T N F 2、形質転換成長因子、形質転換成長因子、形質転換成長因子 1、形質転換成長因子 1 . 2、形質転換成長因子 2、形質転換成長因子 3、形質転換成長因子 5、潜在型形質転換成長因子 1、形質転換成長因子結合タンパク質 I、形質転換成長因子結合タンパク質 I I、形質転換成長因子結合タンパク質 I I I、胸腺間質性リンパ球新生因子(T S L P)、腫瘍壊死因子受容体 I 型、腫瘍壊死因子受容体 I I 型、ウロキナーゼ型プラスミノーゲン活性化因子受容体、ホスホリパーゼ活性化タンパク質(P U P)、インスリン、レクチンリシン、プロラクチン、絨毛性ゴナドトロピン、卵胞刺激ホルモン、甲状腺刺激ホルモン、組織プラスミノーゲン活性化因子、I g G、I g E、I g M、I g A、および I g D、 - ガラクトシダーゼ、 - ガラクトシダーゼ、D N アーゼ、フェチュイン、黄体形成ホルモン、エストロゲン、インスリン、アルブミン、リボタンパク質、胎児性タンパク質、トランスフェリン、トロンボポエチン、ウロキナーゼ、インテグリン、トロンピン、レプチン、ヒュミラ(アダリムマブ)、プロリア(デノスマブ)、エンブレル(エタネルセプト)、表 1 のタンパク質、またはそれらの生物活性断片、誘導体、もしくは変異体からなる群から選択される、項目 67 に記載の方法。

(項目 69)

項目 67 ~ 68 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 70)

上記治療用タンパク質が F V I I a である、項目 67 ~ 69 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 71)

上記治療用タンパク質が F V I I I である、項目 6 7 ~ 6 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 7 2 )

上記治療用タンパク質が F I X である、項目 6 7 ~ 6 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 7 3 )

上記酸化剤が過ヨウ素酸ナトリウム ( N a I O 4 ) である、項目 6 7 ~ 7 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 7 4 )

上記求核触媒が m - トルイジンである、項目 6 7 ~ 7 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 7 5 )

上記治療用複合タンパク質を精製することをさらに含む、項目 6 7 ~ 7 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 7 6 )

上記脂肪酸誘導体が項目 3 3 ~ 4 7 のいずれか 1 項に記載の方法により調製される、項目 6 7 ~ 7 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 7 7 )

上記脂肪酸誘導体が項目 4 9 ~ 6 6 のいずれか 1 項に記載の方法により調製される、項目 6 7 ~ 7 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 7 8 )

a ) 脂肪酸上のカルボキシル基をエステル化して、上記脂肪酸上にエステルを生成することと、

b ) 活性マレイミド基を含む水溶性リンカーを遊離スルフヒドリル ( S H ) 基とカップリングさせることによって、安定なチオエーテル結合を形成することと、

を含み、上記脂肪酸誘導体が水溶性である、項目 1 に記載の脂肪酸誘導体を調製する方法

。

( 項目 7 9 )

a ) 脂肪酸上のカルボキシル基をエステル化して、脂肪酸エステルを生成することと、

b ) ステップ a ) によって生じた上記脂肪酸をアジド試薬と反応させることによって、対応する脂肪酸アジドを生成することと、

c ) ステップ b ) の脂肪酸アジドを水素化して、対応する脂肪酸アミンを生成することと、

d ) 活性 N H S 基を含む水溶性リンカーを遊離アミン基とカップリングさせることによって、安定な結合を形成することと、

を含み、上記脂肪酸誘導体が水溶性である、項目 1 に記載の脂肪酸誘導体を調製する方法

。