

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(43) 국제공개일
2017년 7월 6일 (06.07.2017)

WIPO | PCT



(10) 국제공개번호

WO 2017/116205 A1

(51) 국제특허분류:

C07K 14/605 (2006.01) A61K 38/26 (2006.01)

세창 (KWON, Se Chang); 18469 경기도 화성시 동탄기
홍로 550, Gyeonggi-do (KR).

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2016/015555

(74) 대리인: 손민 (SON, Min); 06302 서울시 강남구 양재천
로 163 6층 한얼국제특허사무소, Seoul (KR).

(22) 국제출원일:

2016년 12월 30일 (30.12.2016)

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의
국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN,
KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU,
RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH,
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA,
ZM, ZW.

(71) 출원인: 한미약품 주식회사 (HANMI PHARM. CO., LTD.) [KR/KR]; 18536 경기도 화성시 팔탄면 무하로
214, Gyeonggi-do (KR).

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의
역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,
TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,
MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR),

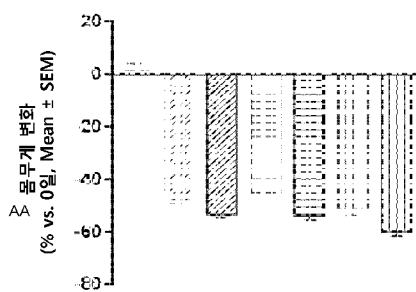
[다음 쪽 계속]

(54) Title: PERSISTENT CONJUGATE OF TRIPLE ACTIVATOR ACTIVATING GLUCAGON, GLP-1 AND GIP RECEPTOR

(54) 발명의 명칭 : 글루카곤, GLP-1 및 GIP 수용체 모두에 활성을 갖는 삼중 활성체의 지속형 결합체

(57) Abstract: The present invention relates to a persistent conjugate of a triple activator which activates glucagon, GLP-1 and GIP receptor and to the applications of the persistent conjugate.

(57) 요약서: 본 발명은 글루카곤, GLP-1 및 GIP 수용체 모두에 활성을 갖는 삼중 활성체의 지속형 결합체 및 이의 용도에 관한 것이다.



BB 대조군
CC 서열번호 42의 자속형 결합체 1.44 nmol/kg
DD 서열번호 42의 자속형 결합체 2.88 nmol/kg
EE 서열번호 43의 자속형 결합체 1.44 nmol/kg
FF 서열번호 43의 자속형 결합체 2.88 nmol/kg
GG 서열번호 50의 자속형 결합체 1.44 nmol/kg
HH 서열번호 50의 자속형 결합체 2.88 nmol/kg

AA ... Change in body weight (% vs. 0 days, Mean ± SEM)

BB ... Control group

CC ... Persistent conjugate of sequence number 42, 1.44 nmol/kg

DD ... Persistent conjugate of sequence number 42, 2.88 nmol/kg

EE ... Persistent conjugate of sequence number 43, 1.44 nmol/kg

FF ... Persistent conjugate of sequence number 43, 2.88 nmol/kg

GG ... Persistent conjugate of sequence number 50, 1.44 nmol/kg

HH ... Persistent conjugate of sequence number 50, 2.88 nmol/kg

WO 2017/116205 A1

WO 2017/116205 A1



OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, — 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

명세서

발명의 명칭: 글루카곤, GLP-1 및 GIP 수용체 모두에 활성을 갖는 삼중 활성체의 지속형 결합체

기술분야

[1] 본 발명은 글루카곤, GLP-1 및 GIP 수용체 모두에 활성을 갖는 삼중 활성체의 지속형 결합체 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경기술

[2] 비만과 2형 당뇨를 포함하는 당뇨는 현대사회에 들어서 발생되는 대표적인 대사질환 중 하나로서 전세계적인 건강위협요소로 인식되고 있으며, 질병의 발병에 수반되는 경제적 비용도 급증하는 추세다.

[3]

[4] GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) 및 GIP (Glucose-dependent insulinotropic polypeptide)는 대표적인 위장 호르몬이자 신경 호르몬으로서 음식물 섭취에 따른 혈중 당 농도 조절에 관여하는 물질이다. 글루카곤 (Glucagon)은 췌장에서 분비되는 펩타이드 호르몬으로 전술한 두 물질과 함께 혈중 당 농도 조절 작용에 관여한다.

[5]

[6] GLP-1은 음식물 섭취에 자극을 받아 소장에서 분비되는 호르몬으로 혈당 농도의 존적으로 췌장에서의 인슐린 분비를 촉진하고 글루카곤의 분비를 억제하여 혈당 농도를 낮추는 작용을 돋는다. 또한, 포만 인자로 작용하여 위장의 소화작용을 늦추고 음식 소화물의 위장 통과시간을 지연시켜 음식물 섭취를 줄이는 역할을 지닌다. 더욱이 쥐에 투여시 음식 섭취억제와 체중 감소효과가 있음이 보고되었으며, 이러한 효과는 정상과 비만상태 모두에서 동일하게 나타남이 확인되어 비만 치료제로서의 가능성은 보여주었다.

[7]

[8] GLP-1과 더불어 음식섭취에 자극을 받아 분비되는 위장 호르몬의 하나인 GIP는 소장의 K 세포로부터 분비되는 42개 아미노산으로 구성된 호르몬으로서 혈당 농도에 의존적으로 췌장에서의 인슐린 분비를 촉진하고 혈당 농도를 낮추는데 도움을 주는 기능을 수행하며 GLP-1의 활성 증가 효과, 항염증 효과 등이 보고되었다.

[9]

[10] 글루카곤은 약물 치료 또는 질병, 호르몬이나 효소 결핍 등의 원인으로 혈당이 떨어지기 시작하면 췌장에서 생산된다. 글루카곤은 간에 신호하여 글리코겐을 분해하여 글루코스를 방출하도록 유도하고, 혈당 수준을 정상 수준까지 높이는 역할을 한다. 뿐만 아니라, 글루카곤은 혈당 상승효과 이외에 동물과 사람에서의 식욕억제 및 지방세포의 호르몬 민감성 리파제 (hormone sensitive lipase)를

활성화시켜 지방 분해를 촉진 및 에너지대사 (energy expenditudre)를 촉진하여 항-비만 효과를 나타냄이 보고되었다.

[11]

[12] 이에, GLP-1의 혈당 조절 및 체중감소 효과를 이용하여 당뇨병과 비만의 치료제로서 개발하고자 하는 연구가 활발하게 진행되고 있으며, GLP-1과 약 50% 수준의 아미노산 배열 유사성을 가지는 도마뱀 독액 (lizard venom)으로부터 만들어지는 엑센딘-4 (exendin-4) 역시 동종 질환에 대한 치료제로서의 개발이 진행 중이다. 그러나 현재까지 보고된 바에 따르면 GLP-1과 엑센딘-4를 사용한 치료제의 경우 부작용으로 구토와 메스꺼움을 동반한다는 문제가 발생하는 것으로 알려져 있다 (Syed YY., Drugs., 2015 Jul;75(10):1141-52).

[13]

[14] 또한, 체중 감소 효과 극대화 및 전술한 GLP-1 기반 치료물질의 대안으로서 GLP-1 수용체와 글루카곤 수용체 양쪽에 활성을 가지는 이중 활성체 (dual agonist)에 대한 연구가 진행되어 왔으며 기존 GLP-1 단독 치료시 보다 글루카곤 수용체의 활성으로 체중감소가 더 우월함이 보고되었다 (Jonathan W et al., Nat Chem Bio., 2009 Oct(5):749-757).

[15]

[16] 여기에 더하여 최근 GLP-1, GIP, 글루카곤 전체 수용체에 동시에 활성을 갖는 삼중 활성체 (triple agonist)에 관한 연구에서는 위장 호르몬을 분해하여 활성을 상실하게 하는 디펩티딜 펩티다제-IV (dipeptidyl peptidase-IV, DPP-IV)에 대한 저항성을 높이도록 아미노산 서열을 치환하고 특정 부위에 아실기를 추가하여 반감기를 증가하는 노력이 진행된 바 있으나 (Finan B et al., Nat Med., 2015 Jan;21(1):27-36), 3가지 다른 수용체의 활성화 효력이 높지 않으며, 다양한 비율의 활성비를 갖는 삼중 활성체를 보여주지 못하였다.

[17]

[18] 이에, 혈당 조절 및 체중 감소 효과를 가지면서도, 구토와 메스꺼움 같은 부작용이 발생하지 않으며, GLP-1과 GIP, 그리고 글루카곤 수용체를 높게 활성화 시킬 수 있는 신규한 물질의 필요성이 대두되고 있다.

[19]

[20] 또한, GLP-1, GIP, 글루카곤 수용체에 대한 활성화 비율이 다양한 물질의 개발 필요성 역시 대두되고 있다. 예컨대, 혈당강화를 위해 GLP-1 및 GIP의 활성을 높으면서 상대적으로 글루카곤의 활성은 낮아 체중감소 효력도 있지만 혈당조절능력이 보다 높은 물질이나, GLP-1, GIP, 및 글루카곤 모두의 활성이 높아 체중 감소 효과가 높은 물질이 개발되어야 할 필요성이 대두되고 있다.

[21]

[22] 또한, GLP-1, GIP, 그리고 글루카곤은 생체 내 안정성이 낮아 인체에 치료적 용도로 적용 시 하루 2회 또는 매일 투여해야 하는 단점이 있다.

[23]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [24] 본 발명의 하나의 목적은 글루카곤 수용체, GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) 수용체, 및 GIP (Glucose-dependent insulontropic polypeptide) 수용체에 대해 활성을 갖는, 웹타이드의 결합체를 제공하는 것이다.
- [25] 본 발명의 다른 목적은 상기 결합체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드, 상기 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터, 및 상기 폴리뉴클레오티드 또는 이를 포함하는 벡터를 포함하는 형질전환체를 제공하는 것이다.
- [26] 본 발명의 다른 목적은 상기 결합체를 포함하는 조성물을 제공하는 것이다.
- [27] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 결합체 또는 이를 포함하는 조성물을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 상기 결합체 또는 이를 포함하는 조성물이 목적하는 질환의 치료 방법을 제공하는 것이다.
- [28] 본 발명의 또 다른 목적은 약제의 제조에 사용하기 위한 상기 결합체 또는 이의 조성물의 용도를 제공하는 것이다.

[29]

과제 해결 수단

- [30] 상기 과제를 해결하기 위한 본 발명의 하나의 양태는 글루카곤 수용체, GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) 수용체, 및 GIP (Glucose-dependent insulontropic polypeptide) 수용체에 대해 활성을 갖는, 웹타이드의 결합체이다.
- [31] 하나의 구체예로서, 상기 결합체는 하기 화학식 1로 표시되는, 결합체인 것을 특징으로 한다:
- [32] [화학식 1]
- [33] X - La - F
- [34] 여기서,
- [35] X는, 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는, 웹타이드이고;
- [36] L은, 링커이며;
- [37] a는, 0 또는 자연수이며, 다만 a가 2 이상일 때, 각각의 L은 서로 독립적이고;
- [38] F는, X의 반감기를 증가시킬 수 있는 물질임.
- [39]
- [40] 다른 구체예로서, 상기 X는 천연형 글루카곤 서열에서 적어도 하나 이상의 아미노산에 치환(substitution), 추가(addition), 제거(deletion), 수식(modification) 및 이들의 조합으로 이루어지는 군에서 선택된 변형이 일어난, 천연형 글루카곤의 아날로그인 것을 특징으로 한다.
- [41] 다른 구체예로서, 상기 추가되는 아미노산 서열은 천연형 GLP-1, 천연형 GIP, 또는 천연형 엑센틴-4 아미노산 서열에서 유래되는 것을 특징으로 한다.
- [42] 다른 구체예로서, 상기 X는 하기 일반식 1로 표시되는 아미노산 서열을

포함하는 웹타이드인 것을 특징으로 한다:

- [43] Xaa1-Xaa2-Xaa3-Gly-Thr-Phe-Xaa7-Ser-Asp-Xaa10-Ser-Xaa12-Xaa13-Xaa14-Xaa15-Xaa16-Xaa17-Xaa18-Xaa19-Xaa20-Xaa21-Phe-Xaa23-Xaa24-Trp-Leu-Xaa27-Xaa28-Xaa29-Xaa30-R1 (일반식 1, 서열번호 103)
 - [44] 상기 일반식 1에서,
 - [45] Xaa1은 히스티딘 (His, H), 4-아미다조아세틸 (CA), 또는 티로신 (Tyr, Y)이고,
 - [46] Xaa2는 글리신 (Gly, G), 알파-메틸-글루탐산, 또는 Aib (aminoisobutyric acid)이며,
 - [47] Xaa3은 글루탐산 (Glu, E) 또는 글루타민 (Gln, Q)이고,
 - [48] Xaa7은 트레오닌 (Thr, T) 또는 이소류신 (Ile, I)이며,
 - [49] Xaa10은 류신 (Leu, L), 티로신 (Tyr, Y), 리신 (Lys, K), 시스테인 (Cys, C), 또는 발린 (Val, V)이고,
 - [50] Xaa12는 리신 (Lys, K), 세린 (Ser, S), 또는 이소류신 (Ile, I)이며,
 - [51] Xaa13은 글루타민 (Gln, Q), 티로신 (Tyr, Y), 알라닌 (Ala, A), 또는 시스테인 (Cys, C)이고,
 - [52] Xaa14는 류신 (Leu, L), 메티오닌 (Met, M), 또는 티로신 (Tyr, Y)이며,
 - [53] Xaa15는 시스테인 (Cys, C), 아스파르트산 (Asp, D), 글루탐산 (Glu, E), 또는 류신 (Leu, L)이며,
 - [54] Xaa16은 글리신 (Gly, G), 글루탐산 (Glu, E), 또는 세린 (Ser, S)이고,
 - [55] Xaa17은 글루타민 (Gln, Q), 아르기닌 (Arg, R), 이소류신 (Ile, I), 글루탐산 (Glu, E), 시스테인 (Cys, C), 또는 리신 (Lys, K)이며,
 - [56] Xaa18은 알라닌 (Ala, A), 글루타민 (Gln, Q), 아르기닌 (Arg, R), 또는 히스티딘 (His, H)이고,
 - [57] Xaa19는 알라닌 (Ala, A), 글루타민 (Gln, Q), 시스테인 (Cys, C), 또는 발린 (Val, V)이며,
 - [58] Xaa20은 리신 (Lys, K), 글루타민 (Gln, Q), 또는 아르기닌 (Arg, R)이고,
 - [59] Xaa21은 글루탐산 (Glu, E), 글루타민 (Gln, Q), 류신 (Leu, L), 시스테인 (Cys, C), 또는 아스파르트산 (Asp, D)이며,
 - [60] Xaa23은 이소류신 (Ile, I) 또는 발린 (Val, V)이고,
 - [61] Xaa24는 알라닌 (Ala, A), 글루타민 (Gln, Q), 시스테인 (Cys, C), 아스파라긴 (Asn, N), 아스파르트산 (Asp, D), 또는 글루탐산 (Glu, E)이며,
 - [62] Xaa27은 발린 (Val, V), 류신 (Leu, L), 리신 (Lys, K), 또는 메티오닌 (Met, M)이고,
 - [63] Xaa28은 시스테인 (Cys, C), 리신 (Lys, K), 알라닌 (Ala, A), 아스파라긴 (Asn, N), 또는 아스파르트산 (Asp, D)이며,
 - [64] Xaa29는 시스테인 (Cys, C), 글리신 (Gly, G), 글루타민 (Gln, Q), 트레오닌 (Thr, T), 글루탐산 (Glu, E), 또는 히스티딘 (His, H)이고,
 - [65] Xaa30은 시스테인 (Cys, C), 글리신 (Gly, G), 리신 (Lys, K), 또는 히스티딘 (His,

H)이거나, 부존재하며,

[66] R1은 시스테인 (Cys, C), GKKNDWKHNIT (서열번호 106), m-SSGAPPPS-n (서열번호 107), 또는 m-SSGQPPPS-n (서열번호 108)이거나, 부존재하며,

[67] 여기서,

[68] m은 -Cys-, -Pro-, 또는 -Gly-Pro-이고,

[69] n은 -Cys-, -Gly-, -Ser-, 또는 -His-Gly-이거나, 부존재함.

[70]

[71] 다른 구체예로서,

[72] 상기 일반식 1에서 Xaa14는 류신 또는 메티오닌이며, Xaa15는 시스테인,

아스파르트산, 또는 류신인 것을 특징으로 한다.

[73]

[74] 다른 구체예로서,

[75] 상기 일반식 1에서,

[76] Xaa2는 글리신, 알파-메틸-글루탐산, 또는 Aib이고,

[77] Xaa7은 트레오닌이며,

[78] Xaa10은 티로신, 시스테인, 또는 발린이고,

[79] Xaa12는 리신 또는 이소류신이며,

[80] Xaa13은 티로신, 알라닌, 글루타민, 또는 시스테인이고,

[81] Xaa14는 류신, 시스테인, 또는 메티오닌이며;

[82] Xaa15는 시스테인, 류신, 글루탐산, 또는 아스파르트산이고,

[83] Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 이소류신, 시스테인, 글루탐산, 또는 리신이며,

[84] Xaa18은 알라닌, 글루타민, 아르기닌, 또는 히스티딘이고,

[85] Xaa19는 알라닌, 글루타민, 발린, 또는 시스테인이며,

[86] Xaa20은 리신, 아르기닌, 또는 글루타민이고,

[87] Xaa21은 글루탐산, 글루타민, 류신, 시스테인, 또는 아스파르트산이며,

[88] Xaa23은 이소류신 또는 발린이고,

[89] Xaa24는 시스테인, 알라닌, 글루타민, 아스파라긴, 글루탐산, 또는 아스파르트산이며,

[90] Xaa27은 류신 또는 리신인 것을 특징으로 한다.

[91]

[92] 다른 구체예로서, 상기 일반식 1에서,

[93] Xaa2는 글리신, 알파-메틸-글루탐산, 또는 Aib이고,

[94] Xaa7은 트레오닌이며,

[95] Xaa10은 티로신, 시스테인, 또는 발린이고,

[96] Xaa12는 리신 또는 이소류신이며,

[97] Xaa13은 티로신, 알라닌, 또는 시스테인이고,

[98] Xaa14는 류신 또는 메티오닌이며,

[99] Xaa15는 시스테인 또는 아스파르트산이고,

- [100] Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 이소류신, 시스테인, 또는 리신이며,
- [101] Xaa18은 알라닌, 아르기닌, 또는 히스티딘이고,
- [102] Xaa19는 알라닌, 글루타민, 또는 시스테인이며,
- [103] Xaa20은 리신 또는 글루타민이고,
- [104] Xaa21은 글루탐산, 시스테인, 또는 아스파르트산이며,
- [105] Xaa23은 발린이고,
- [106] Xaa24는 알라닌, 글루타민, 시스테인, 아스파라긴, 또는 아스파르트산이며,
- [107] Xaa27은 류신 또는 리신인 것을 특징으로 한다.
- [108]
- [109] 다른 구체예로서,
- [110] 상기 일반식 1에서,
- [111] Xaa2는 알파-메틸-글루탐산 또는 Aib이고,
- [112] Xaa7은 트레오닌이며,
- [113] Xaa10은 티로신 또는 시스테인이고,
- [114] Xaa12는 리신 또는 이소류신이며,
- [115] Xaa13은 티로신, 알라닌, 또는 시스테인이고,
- [116] Xaa14는 류신 또는 메티오닌이며,
- [117] Xaa15는 시스테인 또는 아스파르트산이고,
- [118] Xaa16은 글루탐산이며,
- [119] Xaa17은 아르기닌, 이소류신, 시스테인, 또는 리신이고,
- [120] Xaa18은 알라닌, 아르기닌, 또는 히스티딘이며,
- [121] Xaa19는 알라닌, 글루타민, 또는 시스테인이고,
- [122] Xaa20은 리신 또는 글루타민이며,
- [123] Xaa21은 글루탐산 또는 아스파르트산이고,
- [124] Xaa23은 발린이며,
- [125] Xaa24는 글루타민, 아스파라긴, 또는 아스파르트산이고,
- [126] Xaa27은 류신이며,
- [127] Xaa28은 시스테인, 알라닌, 아스파라긴, 또는 아스파르트산인 것을 특징으로 한다.
- [128]
- [129] 다른 구체예로서,
- [130] 상기 일반식 1에서,
- [131] Xaa1은 히스티딘 또는 4-아미다조아세틸이고,
- [132] Xaa2는 알파-메틸-글루탐산 또는 Aib이며,
- [133] Xaa3은 글루타민이고,
- [134] Xaa7은 트레오닌이며,
- [135] Xaa10은 티로신이고,
- [136] Xaa12는 이소류신이며,

- [137] Xaa13은 알라닌 또는 시스테인이고,
- [138] Xaa14는 메티오닌이며,
- [139] Xaa15는 아스파르트산이고,
- [140] Xaa16은 글루탐산이며,
- [141] Xaa17은 이소류신 또는 리신이고,
- [142] Xaa18은 알라닌 또는 히스티딘이며,
- [143] Xaa19는 글루타민 또는 시스테인이고,
- [144] Xaa20은 리신이며,
- [145] Xaa21은 아스파르트산이고,
- [146] Xaa23은 발린이며,
- [147] Xaa24는 아스파라긴이고,
- [148] Xaa27은 류신이며,
- [149] Xaa28은 알라닌 또는 아스파라긴이고,
- [150] Xaa29는 글루타민 또는 트레오닌이며,
- [151] Xaa30은 시스테인 또는 리신이거나, 부존재하는 것을 특징으로 한다.
- [152]
- [153] 다른 구체예로서,
- [154] 상기 일반식 1에서,
- [155] Xaa2는 글리신, 알파-메틸-글루탐산, 또는 Aib이며,
- [156] Xaa3은 글루타민이고,
- [157] Xaa7은 트레오닌이며,
- [158] Xaa10은 티로신, 시스테인, 또는 발린이고,
- [159] Xaa12는 리신이며,
- [160] Xaa13은 티로신이고,
- [161] Xaa14는 류신이며,
- [162] Xaa15는 아스파르트산이며,
- [163] Xaa16은 글리신, 글루탐산, 또는 세린이고,
- [164] Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 시스테인, 또는 리신이며,
- [165] Xaa18은 알라닌, 아르기닌, 또는 히스티딘이고,
- [166] Xaa19는 알라닌 또는 글루타민이며,
- [167] Xaa20은 리신 또는 글루타민이고,
- [168] Xaa21은 글루탐산, 시스테인, 또는 아스파르트산이며,
- [169] Xaa23은 발린이고,
- [170] Xaa24는 알라닌, 글루타민, 또는 시스테인이며,
- [171] Xaa27은 류신 또는 리신이고,
- [172] Xaa29는 글리신, 글루타민, 트레오닌, 또는 히스티딘인 것을 특징으로 한다.
- [173]
- [174] 다른 구체예로서,

- [175] 상기 X는 하기 일반식 2로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 웹타이드인 것을 특징으로 한다:
- [176] Xaa1-Xaa2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa10-Ser-Lys-Xaa13-Xaa14-Xaa15-Xaa16-Xaa17-Xaa18-Xaa19-Xaa20-Xaa21-Phe-Xaa23-Xaa24-Trp-Leu-Leu-Xaa28-Xaa29-Xaa30-Xaa31- Ser-Ser-Gly-Gln-Pro-Pro-Pro-Ser-Xaa40 (일반식 2, 서열번호 104)
- [177] 상기 식에서,
- [178] Xaa1은 4-아미다조아세틸, 히스티딘, 또는 티로신이고,
- [179] Xaa2는 글리신, 알파-메틸-글루탐산, 또는 Aib이며,
- [180] Xaa10은 티로신, 또는 시스테인이고,
- [181] Xaa13은 알라닌, 글루타민, 티로신, 또는 시스테인이며,
- [182] Xaa14는 류신, 메티오닌, 또는 티로신이고,
- [183] Xaa15는 아스파르트산, 글루탐산, 또는 류신이며,
- [184] Xaa16은 글리신, 글루탐산, 또는 세린이고,
- [185] Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 이소류신, 글루탐산, 시스테인, 또는 리신이며,
- [186] Xaa18은 알라닌, 글루타민, 아르기닌, 또는 히스티딘이고,
- [187] Xaa19는 알라닌, 글루타민, 시스테인, 또는 발린이며,
- [188] Xaa20은 리신, 글루타민, 또는 아르기닌이고,
- [189] Xaa21은 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 류신, 또는 아스파르트산이며,
- [190] Xaa23은 이소류신 또는 발린이고,
- [191] Xaa24는 시스테인, 알라닌, 글루타민, 아스파라긴, 또는 글루탐산이며,
- [192] Xaa28은 리신, 시스테인, 아스파라긴, 또는 아스파르트산이고,
- [193] Xaa29는 글리신, 글루타민, 시스테인, 또는 히스티딘이며,
- [194] Xaa30은 시스테인, 글리신, 리신, 또는 히스티딘이고,
- [195] Xaa31은 프롤린 또는 시스테인이며;
- [196] Xaa40은 시스테인이거나, 부존재함.
- [197]
- [198] 다른 구체예로서, 상기 일반식 2에서,
- [199] Xaa13은 알라닌, 티로신, 또는 시스테인이고,
- [200] Xaa15는 아스파르트산 또는 글루탐산이며,
- [201] Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 시스테인, 또는 리신이고,
- [202] Xaa18은 알라닌, 아르기닌, 또는 히스티딘이며,
- [203] Xaa21은 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 또는 아스파르트산이고,
- [204] Xaa23은 이소류신 또는 발린이며,
- [205] Xaa24는 시스테인, 글루타민, 또는 아스파라긴이고,
- [206] Xaa28은 시스테인, 아스파라긴, 또는 아스파르트산이며,
- [207] Xaa29는 글루타민, 시스테인, 또는 히스티딘이고,
- [208] Xaa30은 시스테인, 리신, 또는 히스티딘인 것을 특징으로 한다.
- [209]

- [210] 다른 구체예로서, 상기 X는 하기 일반식 3의 아미노산 서열을 포함하는 웹타이드인 것을 특징으로 한다:
- [211] Xaa1-Xaa2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Xaa13-Leu-Asp-Glu-Xaa17-Xaa18-Xaa19-Lys-Xaa21-Phe-Val-Xaa24-Trp-Leu-Leu-Xaa28-Xaa29-Xaa30-Xaa31-Ser-Ser-Gly-Gln-Pro-Pro-Pro-Ser-Xaa40 (일반식 3, 서열번호 105),
- [212] 상기 일반식 3에서,
- [213] Xaa1은 히스티딘 또는 티로신이고,
- [214] Xaa2는 알파-메틸-글루탐산 또는 Aib이며,
- [215] Xaa13은 알라닌, 티로신 또는 시스테인이고,
- [216] Xaa17은 아르기닌, 시스테인, 또는 리신이며,
- [217] Xaa18은 알라닌 또는 아르기닌이고,
- [218] Xaa19는 알라닌 또는 시스테인이며,
- [219] Xaa21은 글루탐산 또는 아스파르트산이고,
- [220] Xaa24는 글루타민 또는 아스파라긴이며,
- [221] Xaa28은 시스테인 또는 아스파르트산이고,
- [222] Xaa29는 시스테인, 히스티딘, 또는 글루타민이며,
- [223] Xaa30은 시스테인 또는 히스티딘이고,
- [224] Xaa31은 프롤린 또는 시스테인이며,
- [225] Xaa40은 시스테인 또는 부존재함.
- [226]
- [227] 다른 구체예로서, 상기 R1은 시스테인, GKKNDWKHNIT (서열번호 106), CSSGQPPPS (서열번호 109), GPSSGAPPPS (서열번호 110), GPSSGAPPPSC (서열번호 111), PSSGAPPPS (서열번호 112), PSSGAPPPSG (서열번호 113), PSSGAPPPSHG (서열번호 114), PSSGAPPPSS (서열번호 115), PSSGQPPPS (서열번호 116), 또는 PSSGQPPPSC (서열번호 117)이거나, 부존재하는 것을 특징으로 한다.
- [228]
- [229] 다른 구체예로서, 상기 일반식에서 N-말단으로부터 16번 아미노산과 20번 아미노산은 서로 고리를 형성하는 것을 특징으로 한다.
- [230]
- [231] 다른 구체예로서, 상기 X는 서열번호: 1 내지 102로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 웹타이드인 것을 특징으로 한다.
- [232]
- [233] 다른 구체예로서, 상기 F는 고분자 중합체, 지방산, 콜레스테롤, 알부민 및 이의 단편, 알부민 결합물질, 특정 아미노산 서열의 반복단위의 중합체, 항체, 항체 단편, FcRn 결합물질, 생체 내 결합조직, 뉴클레오타이드, 파이브로넥틴, 트랜스페린(Transferrin), 사카라이드(saccharide), 혼파린, 및 엘라스틴으로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 한다.

[234]

[235] 다른 구체예로서, 상기 F는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 에틸렌 글리콜-프로필렌 글리콜 공중합체, 폴리옥시에틸화폴리올, 폴리비닐알콜, 폴리사카라이드, 텍스트란, 폴리비닐에틸에테르, 생분해성 고분자, 지질 중합체, 키틴, 히아루론산, 올리고뉴클레오타이드 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 고분자 중합체인 것을 특징으로 한다.

[236]

[237] 다른 구체예로서, 상기 F는 면역글로불린 Fc 영역인 것을 특징으로 한다.

[238]

[239] 다른 구체예로서, 상기 F는 IgG Fc 영역인 것을 특징으로 한다.

[240]

[241] 다른 구체예로서, 상기 L은 펩타이드, 지방산, 사카라이드 (saccharide), 고분자 중합체, 저분자 화합물, 뉴클레오타이드 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 한다.

[242]

[243] 다른 구체예로서, 상기 L은 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 에틸렌 글리콜-프로필렌 글리콜 공중합체, 폴리옥시에틸화폴리올, 폴리비닐알콜, 폴리사카라이드, 텍스트란, 폴리비닐에틸에테르, 생분해성 고분자, 지질 중합체, 키틴, 히아루론산, 올리고뉴클레오타이드 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 고분자 중합체인 것을 특징으로 한다.

[244]

[245] 다른 구체예로서, 상기 L은 폴리에틸렌 글리콜인 것을 특징으로 한다.

[246]

[247] 본 발명을 구현하는 다른 양태는 상기 결합체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드, 상기 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터, 및 상기 폴리뉴클레오타이드 또는 이를 포함하는 벡터를 포함하는 형질전환체이다.

[248]

[249] 본 발명을 구현하는 다른 양태는 상기 결합체를 포함하는 조성물이다.

[250] 하나의 구체예로서, 상기 조성물은 약학적 조성물인 것을 특징으로 한다.

[251] 다른 구체예로서, 상기 조성물은 대사 증후군의 예방 또는 치료용인 것을 특징으로 한다.

[252] 다른 구체예로서, 상기 대사 증후군은 내당증 장애, 고콜레스테롤혈증, 이상지혈증, 비만, 당뇨, 고혈압, 이상지혈증에 의한 동맥경화, 죽상동맥경화증, 동맥경화증, 또는 관상동맥 심질환(관동맥성 심장병)을 포함하는 것을 특징으로 한다.

[253]

[254] 본 발명을 구현하는 다른 양태는 상기 결합체 또는 이를 포함하는 조성물을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 상기 결합체 또는 이를

포함하는 조성물이 목적하는 질환을 치료하는 방법이다.

[255] 하나의 구체예로서, 상기 질환은 대사 증후군인 것을 특징으로 한다.

[256]

[257] 본 발명을 구현하는 다른 양태는 약제의 제조에 사용하기 위한 상기 결합체 또는 이를 포함하는 조성물의 용도이다.

[258] 하나의 구체예로서, 상기 약제는 대사 증후군의 예방 또는 치료용인 것을 특징으로 한다.

[259]

발명의 효과

[260] 본 발명에 따른 삼중 활성체의 지속형 결합체는 글루카곤 수용체, GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) 수용체, 및 GIP (Glucose-dependent insulinotropic polypeptide) 수용체에 대해 활성을 가져, 대사증후군의 치료에 적용될 수 있다.

[261]

도면의 간단한 설명

[262] 도 1은, 고지방 식이를 통한 비만 동물 모델(마우스)에 삼중 활성체의 지속형 결합체를 2일 1회, 28일간 투여하는 동안, 2일 단위로 마우스의 체중변화를 측정한 결과를 나타낸 도이다 ($p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, vs. vehicle by One-way ANOVA).

[263]

[264] 도 2는, 고지방 식이를 통한 비만 동물 모델(마우스)에 삼중 활성체 지속형 결합체를 2일 1회, 28일간 투여하는 동안, 2일 단위의 마우스의 장간막 지방량을 측정한 결과를 나타낸 도이다 ($p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, vs. vehicle by One-way ANOVA).

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[265] 이하에서는, 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.

[266] 한편, 본원에서 개시되는 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본원에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 발명의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술되는 구체적인 서술에 의하여 본 발명의 범주가 제한된다고 할 수 없다.

[267]

[268] 본 명세서 전반을 통하여, 천연적으로 존재하는 아미노산에 대한 통상의 1문자 및 3문자 코드가 사용될 뿐만 아니라 Aib (α -아미노이소부티르산), Sar (N-methylglycine), 알파-메틸-글루탐산 (α -methyl-glutamic acid) 등과 같은 다른 아미노산에 대해 일반적으로 허용되는 3문자 코드가 사용된다. 또한 본 명세서에서 약어로 언급된 아미노산은 IUPAC-IUB 명명법에 따라 기재되었다.

[269]

[270] 알라닌 Ala, A 아르기닌 Arg, R

- [271] 아스파라긴 Asn, N 아스파르트산 Asp, D
- [272] 시스테인 Cys, C 글루탐산 Glu, E
- [273] 글루타민 Gln, Q 글리신 Gly, G
- [274] 히스티딘 His, H 이소류신 Ile, I
- [275] 류신 Leu, L 리신 Lys, K
- [276] 메티오닌 Met, M 페닐알라닌 Phe, F
- [277] 프롤린 Pro, P 세린 Ser, S
- [278] 트레오닌 Thr, T 트립토판 Trp, W
- [279] 티로신 Tyr, Y 발린 Val, V
- [280]
- [281] 본 발명을 구현하기 위한 하나의 양태는 글루카곤 수용체, GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) 수용체, 및 GIP (Glucose-dependent insulontropic polypeptide) 수용체에 대해 활성을 갖는, 웹타이드의 결합체를 제공한다.
- [282]
- [283] 본 발명에서 상기 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 웹타이드의 결합체는, 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 웹타이드에 이의 생체 내 반감기를 증가시키기 위한 생체적 합성 물질이 결합된 형태일 수 있다. 본 명세서에서 상기 생체적 합성 물질은 캐리어와 혼용될 수 있다.
- [284] 본 발명에서 상기 웹타이드의 결합체는 캐리어가 결합되지 않은 상기 웹타이드에 비하여 증가된 효력의 지속성을 나타낼 수 있으며, 본 발명에서는 이러한 결합체를 "지속형 결합체"로 지칭한다.
- [285] 한편, 이러한 결합체는 비자연적으로 발생된 (non-naturally occurring) 것일 수 있다.
- [286]
- [287] 본 발명의 하나의 구체예에서, 상기 결합체는 하기 화학식 1로 표시되는, 결합체이다:
- [288] [화학식 1]
- [289] X - La - F
- [290] 여기서,
- [291] X는, 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는, 웹타이드이고;
- [292] L은, 링커이며;
- [293] a는, 0 또는 자연수이며, 다만 a가 2 이상일 때, 각각의 L은 서로 독립적이고;
- [294] F는, X의 반감기를 증가시킬 수 있는 물질임.
- [295]
- [296] 본 발명에서, 상기 "글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는, 웹타이드"는 상기 결합체를 구성하는 일 모이어티의 구성에 해당할

- 수 있다. 구체적으로, 상기 화학식 1에서 X에 해당한다.
- [297] 상기 글루카곤, GLP-1, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 웨타이드는 본 발명에서 삼중 활성체로 혼용되어 사용될 수 있다.
- [298] 이러한 웨타이드는 글루카곤, GLP-1, 및 GIP 수용체에 대해 유의한 수준의 활성을 가지는 다양한 물질, 예컨대 다양한 웨타이드를 포함한다.
- [299]
- [300] 특별히 이에 제한되는 것은 아니나, 상기 글루카곤, GLP-1, 및 GIP 수용체에 대해 유의한 수준의 활성을 가지는 삼중 활성체는 글루카곤, GLP-1, 및 GIP 수용체 중 하나 또는 그 이상의 수용체, 구체적으로 둘 또는 그 이상의 수용체, 보다 구체적으로 세 개의 수용체 모두에 대해 *in vitro* 활성이 해당 수용체의 천연형 리간드 (천연형 글루카곤, 천연형 GLP-1, 및 천연형 GIP) 대비 0.1% 이상, 1% 이상, 2% 이상, 3% 이상, 4% 이상, 5% 이상, 6% 이상, 7% 이상, 8% 이상, 9% 이상, 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상을 나타낼 수 있다.
- [301] 이러한 삼중 활성체의 *in vitro* 활성을 측정하는 방법은 본원 명세서의 실험예 1을 참조할 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.
- [302]
- [303] 한편, 상기 웨타이드는 하기 i) 내지 iii) 중 하나 이상, 둘 이상, 구체적으로 세 개의 활성을 보유하는 것, 구체적으로 유의한 활성을 보유하는 것을 특징으로 한다:
- [304] i) GLP-1 수용체의 활성화; ii) 글루카곤 수용체의 활성화; 및 iii) GIP 수용체의 활성화.
- [305] 여기서, 수용체를 활성화시킨다는 것은, 천연형 대비 수용체에 대한 *in vitro* 활성이 0.1% 이상, 1% 이상, 2% 이상, 3% 이상, 4% 이상, 5% 이상, 6% 이상, 7% 이상, 8% 이상, 9% 이상, 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상을 나타내는 경우를 예로 들 수 있다. 그러나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [306]
- [307] 또한, 상기 웨타이드는 천연형 GLP-1, 천연형 글루카곤 및 천연형 GIP 중 어느 하나 대비 체내 반감기가 증가된 것일 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.
- [308]
- [309] 특별히 이에 제한되는 것은 아니나, 이러한 상기 웨타이드는 비자연적으로 발생된 (non-naturally occurring) 것일 수 있다.
- [310]
- [311] 구체적으로, 상기 분리된 웨타이드는 천연형 글루카곤의 아날로그일 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.
- [312] 본 발명에 따른 천연형 글루카곤 아날로그는 천연형 글루카곤과 비교하여

아미노산 서열에 하나 이상의 차이가 있는 웹타이드, 천연형 글루카곤 서열의 개질 (modification)을 통하여 변형시킨 웹타이드, 천연형 글루카곤의 모방체를 포함한다.

[313]

[314] 한편, 특별히 이에 제한되는 것은 아니나, 천연형 글루카곤은 다음의 아미노산 서열을 가질 수 있다:

[315]

[316] His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr (서열번호: 118)

[317]

[318] 구체적으로, 상기 웹타이드는 천연형 글루카곤 서열에서 적어도 하나 이상의 아미노산에 치환 (substitution), 추가 (addition), 제거 (deletion), 수식 (modification) 및 이들의 조합으로 이루어지는 군에서 선택된 변형이 일어난, 천연형 글루카곤의 아날로그일 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[319] 또한, 상기 아미노산의 치환은 아미노산으로의 치환이나 비 천연형 화합물로의 치환을 모두 포함한다.

[320] 또한, 추가는 웹타이드의 N-말단 및/또는 C-말단에 이루어질 수 있다. 한편, 추가되는 아미노산의 길이는 특별히 이에 제한되지 않으며, 1 이상, 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9 이상, 10 이상, 11 이상의 아미노산이 추가될 수 있으며, 넓게는 폴리웹타이드의 추가를 포함하나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[321] 보다 구체적으로, 상기 글루카곤 아날로그는 천연형 글루카곤 아미노산 서열에서 1번, 2번, 3번, 7번, 10번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 23번, 24번, 27번, 28번 및 29번으로 이루어진 군에서 선택된, 1 이상, 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9 이상, 10 이상, 11 이상, 12 이상, 13 이상, 14 이상, 15 이상, 16 이상, 17 이상, 18 이상, 19 이상, 또는 20개의 아미노산이 다른 아미노산이 치환된 것일 수 있으며, 또한 독립적으로 또는 추가적으로 이의 C-말단에 1 이상, 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9 이상, 10 이상, 11개 이상의 아미노산이 추가된 것일 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[322] 보다 더 구체적으로 상기 글루카곤 아날로그는 천연형 글루카곤 아미노산 서열에서 1번, 2번, 3번, 10번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 23번, 24번, 27번, 28번 및 29번으로 이루어진 군에서 선택된, 1 이상, 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9 이상, 10 이상, 11 이상, 12 이상, 13 이상, 14 이상, 15 이상, 16 이상, 17 이상, 18 이상, 19개의 아미노산이 다른 아미노산이 치환된 것일 수 있으며, 또한 독립적으로 또는 추가적으로 이의 C-말단에 1 이상, 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9 이상, 10 이상, 또는 11개 이상의 아미노산이 추가된 것일 수 있으나, 특별히 이에

제한되는 것은 아니다.

- [323] 보다 더 구체적으로 상기 글루카곤 아날로그는 천연형 글루카곤 아미노산 서열에서 1번, 2번, 3번, 10번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 23번, 24번, 28번 및 29번으로 이루어진 군에서 선택된, 1 이상, 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9 이상, 10 이상, 11 이상, 12 이상, 13 이상, 14 이상, 15 이상, 16 이상, 17개의 아미노산이 다른 아미노산이 치환된 것일 수 있으며, 또한 독립적으로 또는 추가적으로 이의 C-말단에 1 이상, 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9 이상, 10 이상, 또는 11개 이상의 아미노산이 추가된 것일 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.
- [324] 보다 더 구체적으로 상기 글루카곤 아날로그는 천연형 글루카곤 아미노산 서열에서 1번, 2번, 13번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 23번, 24번, 27번, 28번 및 29번으로 이루어진 군에서 선택된, 1 이상, 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9 이상, 10 이상, 11 이상, 12 이상, 13 이상, 또는 14개의 아미노산이 다른 아미노산이 치환된 것일 수 있으며, 또한 독립적으로 또는 추가적으로 이의 C-말단에 1 이상, 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9 이상, 10 이상, 11개 이상의 아미노산이 추가된 것일 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.
- [325] 상기 천연형 글루카곤에서 도입되는 아미노산은 티로신, 알파-메틸-글루탐산, Aib, 메티오닌, 글루탐산, 히스티딘, 리신, 류신, 이소류신, 글루타민, 발린, 글리신, 알라닌, 시스테인, 세린, 알라닌, 아스파르트산, 및 아르기닌으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.
- [326] 예컨대, 상기 추가되는 아미노산 서열은 천연형 GLP-1, 천연형 GIP, 또는 천연형 엑센틴-4 아미노산 서열에서 유래되는 1개 이상의 아미노산 서열일 수 있다.
- [327] 이러한 글루카곤 아날로그 또는 삼중 활성체는 분자 내 가교 (intramolecular bridge)를 포함할 수 있으며 (예컨대, 공유결합적 가교 또는 비공유결합적 가교), 구체적으로 고리를 포함하는 형태일 수 있으며, 예컨대 글루카곤 아날로그 또는 삼중 활성체의 16번 및 20번 아미노산 사이에 고리가 형성된 형태일 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.
- [328] 상기 고리의 비제한적인 예로 락탐 가교 (또는 락탐 고리)를 포함할 수 있다.
- [329] 또한, 상기 글루카곤 아날로그 또는 삼중 활성체는 고리를 포함하도록, 목적하는 위치에 고리를 형성할 수 있는 아미노산을 포함하도록 변형된 것을 모두 포함한다.
- [330] 예컨대, 글루카곤 아날로그 또는 삼중 활성체의 16번 및 20번 아미노산 쌍이 각각 고리를 형성할 수 있는 글루탐산 또는 리신으로 치환된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [331] 이러한 고리는 상기 글루카곤 아날로그 또는 삼중 활성체 내의 아미노산 결 사슬 간에 형성될 수 있으며, 그 예로 리신의 결 사슬과 글루탐산의 결 사슬 간에

락탐 고리가 형성되는 형태일 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

- [332] 이러한 방법들의 조합으로 제조되는 글루카곤의 아날로그의 예로, 천연형 글루카곤과 아미노산 서열이 하나 이상 다르고, N-말단의 아미노산 잔기의 알파-탄소가 제거된, 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 보유한 웨타이드 등이 있으나, 이에 제한되지 않으면, 아날로그 제조를 위한 여러 방법들의 조합으로 본 발명에 적용되는 천연형 글루카곤의 아날로그를 제조할 수 있다.
- [333] 또한, 특별히 이에 제한되지 않으나, 본 발명의 웨타이드는 체내 반감기의 증가를 위해 활성체 분해 효소의 인식작용을 회피하기 위하여 일부 아미노산을 타 아미노산 혹은 비 천연형 화합물로 치환할 수 있다.
- [334] 구체적으로, 상기 삼중 활성체의 아미노산 서열 중 두 번째 아미노산 서열의 치환을 통해 분해효소의 인식 작용을 회피하여 체내 반감기를 증가시킨 웨타이드일 수 있으나, 체내 분해 효소의 인식 작용을 회피하기 위한 아미노산 치환 또는 변경은 제한 없이 포함된다.
- [335] 또한, 천연형 글루카곤의 아날로그의 제조를 위한 이러한 변형은 L-형 혹은 D-형 아미노산, 및/또는 비-천연형 아미노산을 이용한 변형; 및/또는 천연형 서열을 개질, 예를 들어 측쇄 작용기의 변형, 문자 내 공유결합, 예컨대, 측쇄 간 고리 형성, 메틸화, 아실화, 유비퀴틴화, 인산화, 아미노헥산화, 바이오틴화 등과 같이 개질함으로써 변형하는 것을 모두 포함한다.
- [336] 또한, 천연형 글루카곤의 아미노 및/또는 카르복시 말단에 하나 또는 그 이상의 아미노산이 추가된 것을 모두 포함한다.
- [337] 상기 치환되거나 추가되는 아미노산은 인간 단백질에서 통상적으로 관찰되는 20개의 아미노산뿐만 아니라 비정형 또는 비-자연적 발생 아미노산을 사용할 수 있다. 비정형 아미노산의 상업적 출처에는 Sigma-Aldrich, ChemPep과 Genzyme pharmaceuticals가 포함된다. 이러한 아미노산이 포함된 웨타이드와 정형적인 웨타이드 서열은 상업화된 웨타이드 합성 회사, 예를 들어 미국의 American peptide company나 Bachem, 또는 한국의 Anygen을 통해 합성 및 구매 가능하다.
- [338] 아미노산 유도체도 마찬가지 방식으로 입수할 수 있는데, 그 예를 일부만 들자면 4-이미다조아세트산 (4-imidazoacetic acid) 등을 사용할 수 있다.
- [339]
- [340] 또한, 본 발명에 따른 웨타이드는 생체 내의 단백질 절단 효소들로부터 보호하고 안정성을 증가시키기 위하여 이의 N-말단 및/또는 C-말단 등이 화학적으로 수식되거나 유기단으로 보호되거나, 또는 웨타이드 말단 등에 아미노산이 추가되어 변형된 형태일 수 있다.
- [341] 특히, 화학적으로 합성한 웨타이드의 경우, N- 및 C-말단이 전하를 띠고 있기 때문에, 이러한 전하를 제거하기 위하여 N-말단을 아세틸화 (acetylation) 및/또는 C-말단을 아미드화 (amidation)할 수 있으나, 특별히 이에 제한되지는 않는다.
- [342]

- [343] 또한, 본 발명에 따른 웹타이드는 웹타이드 그 자체, 이의 염 (예컨대, 상기 웹타이드의 약학적으로 허용가능한 염), 또는 이의 용매화물의 형태를 모두 포함한다. 또한, 웹타이드는 약학적으로 허용되는 임의의 형태일 수 있다.
- [344] 상기 염의 종류는 특별히 제한되지는 않는다. 다만, 개체, 예컨대 포유류에게 안전하고 효과적인 형태인 것이 바람직하나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.
- [345] 상기 용어, "약학적으로 허용되는"은 의약학적 판단의 범위 내에서, 과도한 독성, 자극, 또는 알레르기 반응 등을 유발하지 않고 원하는 용도에 효과적으로 사용 가능한 물질을 의미한다.
- [346] 본 발명에서 용어, "약학적으로 허용되는 염" 이란 약학적으로 허용되는 무기산, 유기산, 또는 염기로부터 유도된 염을 포함한다. 적합한 산의 예로는 염산, 브롬산, 황산, 질산, 과염소산, 푸마르산, 말레산, 인산, 글리콜산, 락트산, 살리실산, 숙신산, 톨루엔-p-설폰산, 타르타르산, 아세트산, 시트르산, 메탄설폰산, 포름산, 벤조산, 말론산, 나프탈렌-2-설폰산, 벤젠설폰산 등을 들 수 있다. 적합한 염기로부터 유도된 염은 나트륨, 칼륨 등의 알칼리 금속, 마그네슘 등의 알칼리 토금속, 및 암모늄 등을 포함할 수 있다.
- [347] 또한, 본 발명에서 사용된 용어 "용매화물"은 본 발명에 따른 웹타이드 또는 이의 염이 용매 분자와 복합체를 형성한 것을 말한다.
- [348]
- [349] 하나의 구체적인 양태로서, 상기 X는 하기 일반식 1로 표시된 아미노산 서열을 포함하는, 분리된 웹타이드일 수 있다.
- [350]
- [351] Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Gly-Thr-Phe-Xaa₇-Ser-Asp-Xaa₁₀-Ser-Xaa₁₂-Xaa₁₃-Xaa₁₄-Xaa₁₅-Xaa₁₆-Xaa₁₇-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Xaa₂₁-Phe-Xaa₂₃-Xaa₂₄-Trp-Leu-Xaa₂₇-Xaa₂₈-Xaa₂₉-Xaa₃₀-R₁ (일반식 1, 서열번호 103)
- [352]
- [353] 상기 일반식 1에서,
- [354] Xaa₁은 히스티딘, 4-이미다조아세틸, 또는 티로신이고,
- [355] Xaa₂는 글리신, 알파-메틸-글루탐산, 또는 Aib이며,
- [356] Xaa₃은 글루탐산 또는 글루타민이고,
- [357] Xaa₇은 트레오닌 또는 이소류신이며,
- [358] Xaa₁₀은 류신, 티로신, 리신, 시스테인, 또는 발린이고,
- [359] Xaa₁₂는 리신, 세린, 또는 이소류신이며,
- [360] Xaa₁₃은 글루타민, 티로신, 알라닌, 또는 시스테인이고,
- [361] Xaa₁₄는 류신, 메티오닌, 또는 티로신이며,
- [362] Xaa₁₅는 시스테인, 아스파르트산, 글루탐산, 또는 류신이며,
- [363] Xaa₁₆은 글리신, 글루탐산, 또는 세린이고,
- [364] Xaa₁₇은 글루타민, 아르기닌, 이소류신, 글루탐산, 시스테인, 또는 리신이며,
- [365] Xaa₁₈은 알라닌, 글루타민, 아르기닌, 또는 히스티딘이고,

- [366] Xaa19는 알라닌, 글루타민, 시스테인, 또는 발린이며,
- [367] Xaa20은 리신, 글루타민, 또는 아르기닌이고,
- [368] Xaa21은 글루탐산, 글루타민, 류신, 시스테인, 또는 아스파르트산이며,
- [369] Xaa23은 이소류신 또는 발린이고,
- [370] Xaa24는 알라닌, 글루타민, 시스테인, 아스파라긴, 아스파르트산, 또는 글루탐산이며,
- [371] Xaa27은 발린, 류신, 리신, 또는 메티오닌이고,
- [372] Xaa28은 시스테인, 리신, 알라닌, 아스파라긴, 또는 아스파르트산이며,
- [373] Xaa29는 시스테인, 글리신, 글루타민, 트레오닌, 글루탐산, 또는 히스티딘이고,
- [374] Xaa30은 시스테인, 글리신, 리신, 또는 히스티딘이거나, 부존재하며,
- [375] R1은 시스테인, GKKNDWKHNIT (서열번호 106), m-SSGAPPPS-n (서열번호 107), 또는 m-SSGQPPPS-n (서열번호 108)이거나, 부존재하며,
- [376] 여기서,
- [377] m은 -Cys-, -Pro-, 또는 -Gly-Pro-이고,
- [378] n은 -Cys-, -Gly-, -Ser-, 또는 -His-Gly-이거나, 부존재함.
- [379]
- [380] 상기 삼중 활성체의 예로, 서열번호: 1 내지 102로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것, 서열번호: 1 내지 102로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열로 (필수적으로) 구성된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [381] 또한, 본원에서 '특정 서열번호로 구성되는 웹타이드'라고 기재되어 있다 하더라도, 해당 서열번호의 아미노산 서열로 이루어진 웹타이드와 동일 혹은 상응하는 활성을 가지는 경우라면 해당 서열번호의 아미노산 서열 앞뒤의 무의미한 서열 추가 또는 자연적으로 발생할 수 있는 돌연변이, 혹은 이의 잠재성 돌연변이 (silent mutation)를 제외하는 것이 아니며, 이러한 서열 추가 혹은 돌연변이를 가지는 경우에도 본원의 범위 내에 속하는 것이 자명하다.
- [382] 이상의 내용은 본 발명의 다른 구체예 혹은 다른 양태에도 적용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [383]
- [384] 구체적으로, 상기 일반식 1에서 Xaa14는 류신 또는 메티오닌이며, Xaa15는 시스테인, 아스파르트산, 또는 류신일 수 있다.
- [385] 이러한 웹타이드의 예로, 서열번호: 1 내지 12, 14 내지 17, 및 21 내지 102로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 (필수적으로) 구성된 웹타이드를 들 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.
- [386] 이러한 웹타이드는 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체 중 하나 이상을 유의하게 활성화시킬 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다. 구체적으로, GLP-1을 유의하게 활성화시키거나, 추가로 글루카곤 수용체 및/또는 GIP 수용체를 유의하게 활성화시키는 것일 수 있으나, 특별히 이에

제한되지 않는다.

[387]

[388] 보다 더 구체적으로,

[389] 상기 일반식 1에서,

[390] Xaa2는 글리신, 알파-메틸-글루탐산, 또는 Aib이고,

[391] Xaa7은 트레오닌이며,

[392] Xaa10은 티로신, 시스테인, 또는 발린이고,

[393] Xaa12는 리신 또는 이소류신이며,

[394] Xaa13은 티로신, 알라닌, 글루타민, 또는 시스테인이고,

[395] Xaa14는 류신, 시스테인, 또는 메티오닌이며,

[396] Xaa15는 시스테인, 류신, 글루탐산, 또는 아스파르트산이고,

[397] Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 이소류신, 시스테인, 글루탐산, 또는 리신이며,

[398] Xaa18은 알라닌, 글루타민, 아르기닌, 또는 히스티딘이고,

[399] Xaa19는 알라닌, 글루타민, 발린, 또는 시스테인이며,

[400] Xaa20은 리신, 아르기닌, 또는 글루타민이고,

[401] Xaa21은 글루탐산, 글루타민, 류신, 시스테인, 또는 아스파르트산이며,

[402] Xaa23은 이소류신 또는 발린이고,

[403] Xaa24는 시스테인, 알라닌, 글루타민, 아스파라긴, 글루탐산, 또는
아스파르트산이며,

[404] Xaa27은 류신 또는 리신인, 웹타이드일 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은
아니다.

[405]

[406] 보다 더 구체적으로,

[407] 상기 일반식 1에서,

[408] Xaa2는 글리신, 알파-메틸-글루탐산, 또는 Aib이고,

[409] Xaa7은 트레오닌이며,

[410] Xaa10은 티로신, 시스테인, 또는 발린이고,

[411] Xaa12는 리신 또는 이소류신이며,

[412] Xaa13은 티로신, 알라닌, 또는 시스테인이고,

[413] Xaa14는 류신 또는 메티오닌이며,

[414] Xaa15는 시스테인 또는 아스파르트산이고,

[415] Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 이소류신, 시스테인, 또는 리신이며,

[416] Xaa18은 알라닌, 아르기닌, 또는 히스티딘이고,

[417] Xaa19는 알라닌, 글루타민, 또는 시스테인이며,

[418] Xaa20은 리신 또는 글루타민이고,

[419] Xaa21은 글루탐산, 시스테인, 또는 아스파르트산이며,

[420] Xaa23은 발린이고,

[421] Xaa24는 알라닌, 글루타민, 시스테인, 아스파라긴, 또는 아스파르트산이며,

- [422] Xaa27은 류신 또는 리신일 수 있으나, 특별히 이에 제한되지는 않는다.
- [423]
- [424] 보다 더 구체적으로,
- [425] 상기 일반식 1에서,
- [426] Xaa2는 알파-메틸-글루탐산 또는 Aib이고,
- [427] Xaa7은 트레오닌이며,
- [428] Xaa10은 티로신 또는 시스테인이고,
- [429] Xaa12는 리신 또는 이소류신이며,
- [430] Xaa13은 티로신, 알라닌, 또는 시스테인이고,
- [431] Xaa14는 류신 또는 메티오닌이며,
- [432] Xaa15는 시스테인 또는 아스파르트산이고,
- [433] Xaa16은 글루탐산이며,
- [434] Xaa17은 아르기닌, 이소류신, 시스테인, 또는 리신이고,
- [435] Xaa18은 알라닌, 아르기닌, 또는 히스티딘이며,
- [436] Xaa19는 알라닌, 글루타민, 또는 시스테인이고,
- [437] Xaa20은 리신 또는 글루타민이며,
- [438] Xaa21은 글루탐산 또는 아스파르트산이고,
- [439] Xaa23은 발린이며,
- [440] Xaa24는 글루타민, 아스파라긴, 또는 아스파르트산이고,
- [441] Xaa27은 류신이며,
- [442] Xaa28은 시스테인, 알라닌, 아스파라긴, 또는 아스파르트산일 수 있다.
- [443]
- [444] 구체적으로,
- [445] 상기 일반식 1에서,
- [446] Xaa1은 히스티딘 또는 4-아미다조아세틸이고,
- [447] Xaa2는 알파-메틸-글루탐산 또는 Aib이며,
- [448] Xaa3은 글루타민이고,
- [449] Xaa7은 트레오닌이며,
- [450] Xaa10은 티로신이고,
- [451] Xaa12는 이소류신이며,
- [452] Xaa13은 알라닌 또는 시스테인이고,
- [453] Xaa14는 메티오닌이며,
- [454] Xaa15는 아스파르트산이고,
- [455] Xaa16은 글루탐산이며,
- [456] Xaa17은 이소류신 또는 리신이고,
- [457] Xaa18은 알라닌 또는 히스티딘이며,
- [458] Xaa19는 글루타민 또는 시스테인이고,
- [459] Xaa20은 리신이며,

- [460] Xaa21은 아스파르트산이고,
 [461] Xaa23은 발린이며,
 [462] Xaa24는 아스파라긴이고,
 [463] Xaa27은 류신이며,
 [464] Xaa28은 알라닌 또는 아스파라긴이고,
 [465] Xaa29는 글루타민 또는 트레오닌이며,
 [466] Xaa30은 시스테인 또는 리신이거나, 부존재할 수 있다.
- [467]
- [468] 보다 구체적으로,
 [469] 상기 일반식 1에서,
 [470] Xaa2는 글리신, 알파-메틸-글루탐산, 또는 Aib이며,
 [471] Xaa3은 글루타민이고,
 [472] Xaa7은 트레오닌이며,
 [473] Xaa10은 티로신, 시스테인, 또는 발린이고,
 [474] Xaa12는 리신이며,
 [475] Xaa13은 티로신이고,
 [476] Xaa14는 류신이며,
 [477] Xaa15는 아스파르트산이며,
 [478] Xaa16은 글리신, 글루탐산, 또는 세린이고,
 [479] Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 시스테인, 또는 리신이며,
 [480] Xaa18은 알라닌, 아르기닌, 또는 히스티딘이고,
 [481] Xaa19는 알라닌 또는 글루타민이며,
 [482] Xaa20은 리신 또는 글루타민이고,
 [483] Xaa21은 글루탐산, 시스테인, 또는 아스파르트산이며,
 [484] Xaa23은 발린이고,
 [485] Xaa24는 알라닌, 글루타민, 또는 시스테인이며,
 [486] Xaa27은 류신 또는 리신이고,
 [487] Xaa29는 글리신, 글루타민, 트레오닌, 또는 히스티딘일 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.
- [488]
- [489] 이러한 웨타이드는 GLP-1 수용체 및 글루카곤 수용체의 활성화 정도가 유의하고, GIP 수용체의 활성화 정도에 비해 높거나; GLP-1 수용체, 글루카곤 수용체 및 GIP 수용체의 활성화 정도가 모두 유의하거나; GLP-1 수용체 및 GIP 수용체의 활성화 정도가 유의하고, 글루카곤 수용체의 활성화에 비해 높은 경우에 해당할 수 있으나, 특별히 이에 제한되지 않는다.
- [490] GLP-1 수용체 및 GIP 수용체의 활성화 정도가 유의하고, 글루카곤 수용체의 활성화 정도에 비해 높은 경우, 체중 감소 효력과 함께 혈당 조절 능력이 보다 높은 웨타이드를 제공할 수 있으며, GLP-1 수용체, 글루카곤 수용체 및 GIP

수용체의 활성화 정도 모두가 유의한 경우, 체중 감소효과가 극대화될 수 있는 이점이 있다. 그러나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

- [491] 이러한 웹타이드의 예로, 서열번호: 8, 9, 21 내지 37, 39, 42, 43, 49 내지 61, 64 내지 83, 85, 86, 88, 89, 91 내지 93, 95 내지 102로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 (필수적으로) 구성된 웹타이드를 들 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.
- [492]
- [493] 구체적인 양태로서, 상기 웹타이드는 하기 일반식 2로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 것일 수 있다.
- [494]
- [495] Xaa1-Xaa2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa10-Ser-Lys-Xaa13-Xaa14-Xaa15-Xaa16-Xaa17-Xaa18-Xaa19-Xaa20-Xaa21-Phe-Xaa23-Xaa24-Trp-Leu-Leu-Xaa28-Xaa29-Xaa30-Xaa31- Ser-Ser-Gly-Gln-Pro-Pro-Pro-Ser-Xaa40 (일반식 2, 서열번호 104)
- [496]
- [497] 상기 식에서,
- [498] Xaa1은 4-아미다조아세틸, 히스티딘, 또는 티로신이고;
- [499] Xaa2는 글리신, 알파-메틸-글루탐산, 또는 Aib이며;
- [500] Xaa10은 티로신, 또는 시스테인이며
- [501] Xaa13은 알라닌, 글루타민, 티로신, 또는 시스테인이며;
- [502] Xaa14는 류신, 메티오닌, 또는 티로신이고;
- [503] Xaa15는 아스파르트산, 글루탐산, 또는 류신이며;
- [504] Xaa16은 글리신, 글루탐산, 또는 세린이고;
- [505] Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 이소류신, 글루탐산, 시스테인, 또는 리신이며;
- [506] Xaa18은 알라닌, 글루타민, 아르기닌, 또는 히스티딘이고;
- [507] Xaa19는 알라닌, 글루타민, 시스테인, 또는 발린이며;
- [508] Xaa20은 리신, 글루타민, 또는 아르기닌이고;
- [509] Xaa21은 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 류신, 또는 아스파르트산이며;
- [510] Xaa23은 이소류신 또는 발린이고;
- [511] Xaa24는 시스테인, 알라닌, 글루타민, 아스파라긴, 또는 글루탐산이며;
- [512] Xaa28은 리신, 시스테인, 아스파라긴, 또는 아스파르트산이며;
- [513] Xaa29는 글리신, 글루타민, 시스테인, 또는 히스티딘이고;
- [514] Xaa30은 시스테인, 글리신, 리신, 또는 히스티딘이며;
- [515] Xaa31은 프롤린 또는 시스테인이며;
- [516] Xaa40은 시스테인이거나, 부존재함.
- [517]
- [518] 보다 구체적으로, 상기 일반식 2에서,
- [519] Xaa13은 알라닌, 티로신, 또는 시스테인이며;
- [520] Xaa15는 아스파르트산 또는 글루탐산이고,

- [521] Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 시스테인, 또는 리신이며;
- [522] Xaa18은 알라닌, 아르기닌, 또는 히스티딘이고;
- [523] Xaa21은 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 또는 아스파르트산이며;
- [524] Xaa23은 이소류신 또는 발린이고;
- [525] Xaa24는 시스테인, 글루타민, 또는 아스파라гин이고,
- [526] Xaa28은 시스테인, 아스파라긴, 또는 아스파르트산이며;
- [527] Xaa29는 글루타민, 시스테인, 또는 히스티딘이고;
- [528] Xaa30은 시스테인, 리신, 또는 히스티딘일 수 있다.
- [529]
- [530] 이러한 웨타이드의 예로, 서열번호: 21, 22, 42, 43, 50, 64 내지 77, 및 95 내지 102로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열, 보다 구체적으로 서열번호: 21, 22, 42, 43, 50, 64 내지 77, 및 96 내지 102로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 (필수적으로) 구성된 웨타이드를 들 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.
- [531]
- [532] 구체적인 양태로서, 상기 웨타이드는 하기 일반식 3의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [533]
- [534] Xaa1-Xaa2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Xaa13-Leu-Asp-Glu-Xaa17-Xaa18-Xaa19-Lys-Xaa21-Phe-Val-Xaa24-Trp-Leu-Leu-Xaa28-Xaa29-Xaa30-Xaa31-Ser-Ser-Gly-Gln-Pro-Pro-Pro-Ser-Xaa40 (일반식 3, 서열번호 105),
- [535]
- [536] 상기 일반식 3에서,
- [537] Xaa1은 히스티딘 또는 티로신이고;
- [538] Xaa2는 알파-메틸-글루탐산 또는 Aib이며;
- [539] Xaa13은 알라닌, 티로신 또는 시스테인이고;
- [540] Xaa17은 아르기닌, 시스테인, 또는 리신이며;
- [541] Xaa18은 알라닌 또는 아르기닌이고;
- [542] Xaa19는 알라닌 또는 시스테인이며;
- [543] Xaa21은 글루탐산 또는 아스파르트산이고;
- [544] Xaa24는 글루타민 또는 아스파라гин이며,
- [545] Xaa28은 시스테인 또는 아스파르트산이며;
- [546] Xaa29는 시스테인, 히스티딘, 또는 글루타민이고;
- [547] Xaa30은 시스테인 또는 히스티딘이며;
- [548] Xaa31은 프롤린 또는 시스테인이며;
- [549] Xaa40은 시스테인 또는 부존재할 수 있다.
- [550]
- [551] 이러한 웨타이드의 예로, 서열번호: 21, 22, 42, 43, 50, 64 내지 71, 75 내지 77, 및

96 내지 102로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 (필수적으로) 구성된 웹타이드를 들 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[552]

[553] 또한, 상기 일반식 1에서 R1은 시스테인, GKKNDWKHNIT(서열번호 106), CSSGQPPPS(서열번호 109), GPSSGAPPPS(서열번호 110), GPSSGAPPSC(서열번호 111), PSSGAPPPS(서열번호 112), PSSGAPPPSG(서열번호 113), PSSGAPPPSHG(서열번호 114), PSSGAPPPSS(서열번호 115), PSSGQPPPS(서열번호 116), 또는 PSSGQPPPSC(서열번호 117)이거나, 부존재할 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[554]

[555] 또한, 본 발명의 웹타이드는 그 길이에 따라 이 분야에서 잘 알려진 방법, 예를 들어 자동 웹타이드 합성기에 의해 합성할 수 있으며, 유전자 조작 기술에 의하여 생산할 수도 있다.

[556] 구체적으로, 본 발명의 웹타이드는 표준 합성 방법, 재조합 발현 시스템, 또는 임의의 다른 당해 분야의 방법에 의해 제조될 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 웹타이드는, 예를 들어 하기를 포함하는 방법을 포함하는 다수의 방법으로 합성될 수 있다:

[557] (a) 웹타이드를 고체상 또는 액체상 방법의 수단으로 단계적으로 또는 단편 조립에 의해 합성하고, 최종 웹타이드 생성물을 분리 및 정제하는 방법; 또는

[558] (b) 웹타이드를 인코딩하는 핵산 작제물을 숙주세포 내에서 발현시키고, 발현 생성물을 숙주 세포 배양물로부터 회수하는 방법; 또는

[559] (c) 웹타이드를 인코딩하는 핵산 작제물의 무세포 시험관 내 발현을 수행하고, 발현 생성물을 회수하는 방법; 또는

[560] (a), (b) 및 (c)의 임의의 조합으로 웹타이드의 단편을 수득하고, 이어서 단편을 연결시켜 웹타이드를 수득하고, 당해 웹타이드를 회수하는 방법.

[561]

[562] 상기 결합체에서 F는 X, 즉 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는, 웹타이드의 반감기를 증가시킬 수 있는 물질로서, 본 발명의 결합체를 구성하는 모이어티의 일 구성에 해당한다.

[563] 상기 F는 X와 공유 화학결합 또는 비공유 화학결합으로 서로 결합되는 것일 수 있으며, 공유 화학결합, 비공유 화학결합 또는 이들의 조합으로 L을 통하여 F와 X가 서로 결합되는 것일 수 있다.

[564] 상기 X의 반감기를 증가시킬 수 있는 물질은 생체적합성 물질일 수 있으며, 예를 들어, 고분자 중합체, 지방산, 콜레스테롤, 알부민 및 이의 단편, 알부민 결합물질, 특정 아미노산 서열의 반복단위의 중합체, 항체, 항체 단편, FcRn 결합물질, 생체 내 결합조직, 뉴클레오타이드, 파이브로넥틴, 트랜스페린(Transferrin), 사카라이드(saccharide), 혜파린, 및 엘라스틴으로

이루어진 군에서 선택되는 것일 수 있으나, 특별히 이에 제한되지 않는다.

- [565] 상기 엘라스틴의 경우 수용성 전구체인 인간 트로포엘라스틴 (tropoelastin) 일 수 있으며, 이들 중 일부 서열 혹은 일부 반복단위의 중합체일 수 있으며, 예컨대, 엘라스틴 유사 폴리펩타이드인 경우를 모두 포함하나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.
- [566] 상기 고분자 중합체의 예로, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 폴리프로필렌 글리콜, 에틸렌 글리콜-프로필렌 글리콜 공중합체, 폴리옥시에틸화폴리올, 폴리비닐알콜, 폴리사카라이드, 텍스트란, 폴리비닐에틸에테르, 생분해성 고분자, 지질 중합체, 키틴, 히아루론산, 올리고뉴클레오타이드 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 고분자 중합체를 들 수 있으나, 특별히 이에 제한되지 않는다.
- [567] 상기 폴리에틸렌 글리콜은, 에틸렌 글리콜 동종 중합체, PEG 공중합체, 또는 모노메틸-치환된 PEG 중합체 (mPEG)의 형태를 모두 포함하는 용어이나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.
- [568] 또한, 상기 생체적합성 물질은 폴리-리신, 폴리-아스파르트산 및 폴리-글루탐산과 같은 폴리-아미노산을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [569] 또한, 지방산은 생체 내 일부민과 결합력을 갖는 것일 수 있으나, 특별히 이에 제한되지 않는다.
- [570] 보다 구체적인 예로, 상기 FcRn 결합물질은 면역글로불린 Fc 영역일 수 있으며, 보다 구체적으로 IgG Fc 영역일 수 있으나, 특별히 이에 제한되지 않는다.
- [571] 본 발명의 웹타이드 내의 하나 이상의 아미노산 측쇄는 생체 내에서 가용성 및/또는 반감기를 증가시키고/시키거나 생체이용율을 증가시키기 위해 이러한 생체적합성 물질에 접합될 수 있다. 이러한 변형은 또한 치료학적 단백질 및 웹타이드의 소거 (clearance)를 감소시킬 수 있다.
- [572] 상술한 생체적합성 물질은 수용성 (양친매성 또는 친수성) 및/또는 무독성 및/또는 약학적으로 허용가능한 것일 수 있다.
- [573]
- [574] 상기 F는 X와 직접적으로 연결되거나 (즉, 상기 화학식 1에서 a가 0이거나), 또는 링커 (L)를 통해 연결된 것일 수 있다.
- [575] 구체적으로, 상기 L은 웹타이드성 링커 또는 비웹타이드성 링커일 수 있다.
- [576] 상기 L이 웹타이드성 링커일 때, 1개 이상의 아미노산을 포함할 수 있으며, 예컨대 1개부터 1000개의 아미노산을 포함할 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명에서 F와 X를 연결하기 위하여 공지의 다양한 웹타이드 링커가 본 발명에 사용될 수 있으며, 그 예로 [GS]_x 링커, [GGGS]_x 링커 및 [GGGGS]_x 링커 등을 포함하며, 여기서 x는 1 이상의 자연수일 수 있다. 그러나, 상기 예에 제한되는 것은 아니다.
- [577]
- [578] 본 발명에서 "비웹타이드성 링커"는 반복 단위가 2개 이상 결합된 생체 적합성

중합체를 포함한다. 상기 반복 단위들은 웨პ타이드 결합이 아닌 임의의 공유결합을 통해 서로 연결된다. 상기 비웨პ타이드성 링커는 본 발명의 결합체의 모이어티를 이루는 일 구성일 수 있으며, 상기 화학식 1에서 L에 해당된다.

[579] 상기 La에서 a는 1 이상일 수 있으며, a가 2 이상일 때 각각의 L은 독립적일 수 있다.

[580] 본 발명에서 상기 비웨პ타이드성 링커는 비웨პ타이드성 중합체와 혼용되어 사용될 수 있다.

[581] 또한, 하나의 구체적인 실시 형태에서 상기 결합체는 양쪽 말단에 F, 구체적으로 면역글로불린 Fc 영역 및 X, 구체적으로 웨პ타이드 약물과 결합될 수 있는 반응기를 포함하는 비웨პ타이드성 링커를 통하여 F와 X가 서로 공유결합적으로 연결된 것일 수 있다.

[582] 구체적으로, 상기 비웨პ타이드성 링커는 지방산, 사카라이드 (saccharide), 고분자 중합체, 저분자 화합물, 뉴클레오타이드 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것일 수 있다.

[583] 특별히 이에 제한되지 않으나, 상기 비웨პ타이드성 링커는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 에틸렌 글리콜과 프로필렌 글리콜의 공중합체, 폴리옥시에틸화 폴리올, 폴리비닐 알콜, 폴리사카라이드, 텍스트란, 폴리비닐 에틸에테르, PLA(polylactic acid) 및 PLGA(polylactic-glycolic acid)와 같은 생분해성 고분자, 지질 중합체, 키틴류, 히아루론산, 올리고뉴클레오타이드 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 것일 수 있다. 보다 구체적인 실시형태에서 상기 비웨პ타이드성 중합체는 폴리에틸렌글리콜일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 당해 분야에 이미 알려진 이들의 유도체 및 당해 분야의 기술 수준에서 용이하게 제조할 수 있는 유도체들도 본 발명의 범위에 포함된다.

[584] 본 발명에서 사용될 수 있는 비웨პ타이드성 링커는 생체 내 단백질 분해 효소에 저항성 있는 중합체이면 제한 없이 사용될 수 있다. 비웨პ타이드성 중합체의 분자량은 1 내지 100 kDa 범위, 구체적으로 1 내지 20 kDa 범위이나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 상기 F에 해당하는 폴리웨პ타이드와 결합되는 본 발명의 비웨პ타이드성 링커는 한 종류의 중합체뿐만 아니라 상이한 종류의 중합체들의 조합이 사용될 수도 있다.

[585] 하나의 구체적인 실시 형태에서 상기 비웨პ타이드성 링커의 양 말단은 각각 F, 예컨대 면역글로불린 Fc 영역의 아민기 또는 티올기 및 X의 아민기 또는 티올기에 결합할 수 있다.

[586] 구체적으로, 상기 비웨პ타이드성 중합체는 양쪽 말단에 각각 F(예컨대, 면역글로불린 Fc 영역) 및 X와 결합될 수 있는 반응기, 구체적으로는 X, 혹은 F(예컨대, 면역글로불린 Fc 영역)의 N-말단 또는 리신에 위치한 아민기, 또는 시스테인의 티올기와 결합될 수 있는 반응기를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [587] 또한, F, 예컨대 면역글로불린 Fc 영역 및 X와 결합될 수 있는, 상기 비펩타이드성 중합체의 반응기는 알데히드기, 말레이미드기 및 석시니미드 유도체로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [588] 상기에서, 알데히드기로 프로피온 알데히드기 또는 부틸 알데히드기를 예로서 들 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [589] 상기에서, 석시니미드 유도체로는 석시니미딜 발레르에이트, 석시니미딜 메틸부타노에이트, 석시니미딜 메틸프로파온에이트, 석시니미딜 부타노에이트, 석시니미딜 프로파오네이트, N-하이드록시석시니미드, 히드록시 석시니미딜, 석시니미딜 카르복시메틸 또는 석시니미딜 카보네이트가 이용될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [590] 비펩타이드성 링커는 이러한 반응기를 통하여 X와 F에 연결될 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.
- [591] 또한, 알데히드 결합에 의한 환원성 알킬화로 생성된 최종 산물은 아미드 결합으로 연결된 것보다 훨씬 안정적이다. 알데히드 반응기는 낮은 pH에서 N-말단에 선택적으로 반응하며, 높은 pH, 예를 들어 pH 9.0 조건에서는 리신 잔기와 공유결합을 형성할 수 있다.
- [592] 또한, 상기 비펩타이드성 링커의 양쪽 말단의 반응기는 서로 동일하거나 또는 서로 상이할 수 있으며, 예를 들어, 한쪽 말단에는 말레이미드기를, 다른 쪽 말단에는 알데히드기, 프로파온 알데히드기, 또는 부틸 알데히드기를 가질 수 있다. 그러나, 비펩타이드성 링커의 각 말단에 F, 구체적으로 면역글로불린 Fc 영역과 X가 결합될 수 있다면, 특별히 이에 제한되지 않는다.
- [593] 예를 들어, 상기 비펩타이드성 링커의 한쪽 말단에는 반응기로서 말레이미드 기를 포함하고, 다른 쪽 말단에는 알데히드기, 프로파온 알데히드기 또는 부틸 알데히드기 등을 포함할 수 있다.
- [594] 양쪽 말단에 히드록시 반응기를 갖는 폴리에틸렌 글리콜을 비펩타이드성 중합체로 이용하는 경우에는 공자의 화학반응에 의해 상기 히드록시기를 상기 다양한 반응기로 활성화하거나, 상업적으로 입수 가능한 변형된 반응기를 갖는 폴리에틸렌 글리콜을 이용하여 본 발명의 지속형 단백질 결합체를 제조할 수 있다.
- [595] 하나의 구체적인 실시 형태에서 상기 비펩타이드성 중합체는 X의 시스테인 잔기, 보다 구체적으로 시스테인의 -SH기에 연결되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [596] 만약, 말레이미드-PEG-알데히드를 사용하는 경우, 말레이미드기는 X의 -SH 기와 티오에테르(thioether) 결합으로 연결하고, 알데히드기는 F, 구체적으로 면역글로불린 Fc의 -NH₂기와 환원적 알킬화 반응을 통해 연결할 수 있으나, 이에 제한되지 않으며, 이는 하나의 일례에 해당한다.
- [597] 또한, 상기 결합체에서, 비펩타이드성 중합체의 반응기가 면역글로불린 Fc 영역의 N-말단에 위치한 -NH₂와 연결된 것일 수 있으나, 이는 하나의 일례에

해당한다.

[598]

[599] 본 발명에서, "면역글로불린 Fc 영역"은, 면역글로불린의 중쇄와 경쇄 가변영역을 제외한, 중쇄 불변영역 2(CH2) 및/또는 중쇄 불변영역 3(CH3)부분을 포함하는 부위를 의미한다. 상기 면역글로불린 Fc 영역은 본 발명의 결합체의 모이어티를 이루는 일 구성일 수 있다.

[600] 이러한 면역글로불린 Fc 영역은 중쇄 불변영역에 힌지(hinge) 부분을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한 본 발명의 면역글로불린 Fc 영역은 천연형과 실질적으로 동등하거나 향상된 효과를 갖는 한, 면역 글로불린의 중쇄와 경쇄 가변영역만을 제외하고, 일부 또는 전체 중쇄 불변영역 1(CH1) 및/또는 경쇄불변영역 1(CL1)을 포함하는 확장된 Fc 영역일 수 있다. 또한, CH2 및/또는 CH3에 해당하는 상당히 긴 일부 아미노산 서열이 제거된 영역일 수도 있다.

[601] 예컨대, 본 발명의 면역글로불린 Fc 영역은 1) CH1 도메인, CH2 도메인, CH3 도메인 및 CH4 도메인, 2) CH1 도메인 및 CH2 도메인, 3) CH1 도메인 및 CH3 도메인, 4) CH2 도메인 및 CH3 도메인, 5) CH1 도메인, CH2 도메인, CH3 도메인 및 CH4 도메인 중 1개 또는 2개의 이상의 도메인과 면역글로불린 힌지 영역(또는 힌지 영역의 일부)와의 조합, 6) 중쇄 불변 영역 각 도메인과 경쇄 불변영역의 이량체일 수 있다. 그러나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[602] 또한, 하나의 구체예로서, 상기 면역글로불린 Fc 영역은 이합체 형태 (dimeric form)일 수 있으며, 이합체 형태의 하나의 Fc 영역에 X 한 문자가 공유결합적으로 연결될 수 있으며, 이때 상기 면역글로불린 Fc와 X는 비펩타이드성 중합체에 의해 서로 연결될 수 있다. 한편, 이합체 형태의 하나의 Fc 영역에 X 두 문자가 대칭적으로 결합하는 것 역시 가능하다. 이때 상기 면역글로불린 Fc와 X는 비펩타이드성 링커에 의해 서로 연결될 수 있다. 그러나, 상기 기술된 예에 제한되는 것은 아니다.

[603] 또한, 본 발명의 면역글로불린 Fc 영역은 천연형 아미노산 서열뿐만 아니라 이의 서열 유도체를 포함한다. 아미노산 서열 유도체란 천연 아미노산 서열 중의 하나 이상의 아미노산 잔기가 결실, 삽입, 비보전적 또는 보전적 치환 또는 이들의 조합에 의하여 상이한 서열을 가지는 것을 의미한다.

[604] 예를 들면, IgG Fc의 경우 결합에 중요하다고 알려진 214 내지 238, 297 내지 299, 318 내지 322 또는 327 내지 331번 아미노산 잔기들이 변형을 위해 적당한 부위로서 이용될 수 있다.

[605] 또한, 이황화 결합을 형성할 수 있는 부위가 제거되거나, 천연형 Fc에서 N-말단의 몇몇 아미노산이 제거되거나 또는 천연형 Fc의 N-말단에 메티오닌 잔기가 부가될 수도 있는 등 다양한 종류의 유도체가 가능하다. 또한, 이펩터 기능을 없애기 위해 보체결합부위, 예로 C1q 결합부위가 제거될 수도 있고, ADCC (antibody dependent cell mediated cytotoxicity) 부위가 제거될 수도 있다.

이러한 면역글로불린 Fc 영역의 서열 유도체를 제조하는 기술은 국제특허공개 제WO 97/34631호, 국제특허공개 제96/32478호 등에 개시되어 있다.

- [606] 분자의 활성을 전체적으로 변경시키지 않는 단백질 및 웹타이드에서의 아미노산 교환은 당해 분야에 공지되어 있다 (H.Neurath, R.L.Hill, *The Proteins*, Academic Press, New York, 1979). 가장 통상적으로 일어나는 교환은 아미노산 잔기 Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Thy/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu, Asp/Gly 간의 교환이다. 경우에 따라서는 인산화(phosphorylation), 황화(sulfation), 아크릴화(acrylation), 당화(glycosylation), 메틸화(methylation), 파네실화(farnesylation), 아세틸화(acetylation) 및 아미드화(amidation) 등으로 수식(modification)될 수도 있다.
- [607] 상기 기술한 Fc 유도체는 본 발명의 Fc 영역과 동등한 생물학적 활성을 나타내며 Fc 영역의 열, pH 등에 대한 구조적 안정성을 증대시킨 것일 수 있다.
- [608]
- [609] 또한, 이러한 Fc 영역은 인간, 소, 염소, 돼지, 마우스, 래빗, 햄스터, 랫트 또는 기니아 핵 등의 동물의 생체 내에서 분리한 천연형으로부터 얻어질 수도 있고, 형질전환된 동물세포 또는 미생물로부터 얻어진 재조합형 또는 이의 유도체일 수 있다. 여기서, 천연형으로부터 획득하는 방법은 전체 면역글로불린을 인간 또는 동물의 생체로부터 분리한 후, 단백질 분해효소를 처리하여 획득하는 방법일 수 있다. 파파인을 처리할 경우에는 Fab 및 Fc로 절단되고, 웨신을 처리할 경우에는 pFc' 및 F(ab)₂로 절단된다. 이를 크기 배제 크로마토그래피 (size-exclusion chromatography) 등을 이용하여 Fc 또는 pFc'를 분리할 수 있다. 더 구체적인 실시 형태에서는 인간 유래의 Fc 영역을 미생물로부터 수득한 재조합형 면역글로불린 Fc 영역이다.
- [610] 또한, 면역글로불린 Fc 영역은 천연형 당쇄, 천연형에 비해 증가된 당쇄, 천연형에 비해 감소한 당쇄 또는 당쇄가 제거된 형태일 수 있다. 이러한 면역글로불린 Fc 당쇄의 증감 또는 제거에는 화학적 방법, 효소학적 방법 및 미생물을 이용한 유전 공학적 방법과 같은 통상적인 방법이 이용될 수 있다. 여기서, Fc에서 당쇄가 제거된 면역글로불린 Fc 영역은 보체(c1q)와의 결합력이 현저히 저하되고, 항체-의존성 세포독성 또는 보체-의존성 세포 독성이 감소 또는 제거되므로, 생체 내에서 불필요한 면역 반응을 유발하지 않는다. 이런 점에서 약물의 캐리어로서의 본래의 목적에 보다 부합하는 형태는 당쇄가 제거되거나 비당쇄화된 면역글로불린 Fc 영역이라 할 것이다.
- [611] 본 발명에서 "당쇄의 제거(Deglycosylation)"는 효소로 당을 제거한 Fc 영역을 말하며, 비당쇄화(Aglycosylation)는 원핵동물, 더 구체적인 실시 형태에서는 대장균에서 생산하여 당쇄화되지 않은 Fc 영역을 의미한다.
- [612] 한편, 면역글로불린 Fc 영역은 인간 또는 소, 염소, 돼지, 마우스, 래빗, 햄스터, 랫트, 기니아 핵 등의 동물기원일 수 있으며, 더 구체적인 실시 형태에서는

인간기원이다.

- [613] 또한, 면역글로불린 Fc 영역은 IgG, IgA, IgD, IgE, IgM 유래 또는 이들의 조합(combination) 또는 이들의 혼성(hybrid)에 의한 Fc 영역일 수 있다. 더 구체적인 실시 형태에서는 인간 혈액에 가장 풍부한 IgG 또는 IgM유래이며 보다 더 구체적인 실시 형태에서는 리간드 결합 단백질의 반감기를 향상시키는 것으로 공지된 IgG 유래이다. 더욱 더 구체적인 실시 형태에서 상기 면역글로불린 Fc 영역은 IgG4 Fc 영역이며, 가장 구체적인 실시 형태에서 상기 면역글로불린 Fc 영역은 인간 IgG4 유래의 비-당쇄화된 Fc 영역이나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [614]
- [615] 한편, 본 발명에서 "조합(combination)"이란 이량체 또는 다량체를 형성할 때, 동일 기원 단쇄 면역글로불린 Fc 영역을 암호화하는 폴리펩타이드가 상이한 기원의 단쇄 폴리펩타이드와 결합을 형성하는 것을 의미한다. 즉, IgG Fc, IgA Fc, IgM Fc, IgD Fc 및 IgE의 Fc 단편으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 2개 이상의 단편으로부터 이량체 또는 다량체의 제조가 가능하다.
- [616]
- [617] 또한, 상술한 결합체는 효력의 지속성이 천연형 GLP-1, GIP, 혹은 글루카곤에 비해, 또는 F가 수식되지 않은 X에 비해 증가된 것일 수 있으며, 이러한 결합체는 상술한 형태뿐만 아니라, 생분해성 나노파티클에 봉입된 형태 등을 모두 포함한다.
- [618]
- [619] 본 발명을 구현하는 다른 양태는 상기 결합체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드, 상기 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터, 및 상기 폴리뉴클레오티드 또는 이를 포함하는 벡터를 포함하는 형질전환체를 제공한다.
- [620] 상기 결합체에 대해서는 앞서 설명한 바와 같다.
- [621] 상기 폴리뉴클레오티드는 융합 단백질 형태의 결합체를 코딩하는 것일 수 있다.
- [622] 또한, 상기 결합체를 코딩하는 분리된 폴리뉴클레오티드는 해당 서열과 75% 이상, 구체적으로는 85% 이상, 보다 구체적으로는 90% 이상, 더욱 구체적으로는 95% 이상의 서열 동일성을 가지는 폴리뉴클레오티드 서열을 본 발명의 범주에 포함한다.
- [623] 용어 "상동성"이란 야생형(wild type) 아미노산 서열 및 야생형 핵산 서열과의 유사한 정도를 나타내기 위한 것으로서, 상동성의 비교는 육안으로나 구입이 용이한 비교 프로그램을 이용하여 수행한다. 시판되는 컴퓨터 프로그램은 2개 이상의 서열간의 상동성을 백분율(%)로 계산할 수 있다. 상동성(%)은 인접한 서열에 대해 계산될 수 있다.
- [624] 본 발명에서 용어 "제조합 벡터"는 적합한 숙주 내에서 목적 단백질, 가령 결합체를 발현시킬 수 있도록 목적 단백질, 가령 결합체가 적합한 조절 서열에

작동 가능하게 연결된 DNA 제조물을 의미한다.

- [625] 상기 조절 서열은 전사를 개시할 수 있는 프로모터, 그러한 전사를 조절하기 위한 임의의 오퍼레이터 서열, 적합한 mRNA 리보솜 결합부위를 코딩하는 서열, 및 전사 및 해독의 종결을 조절하는 서열을 포함한다. 재조합 벡터는 적당한 숙주세포 내로 형질전환된 후, 숙주 세포와 무관하게 복제되거나 기능할 수 있으며, 세포 그 자체에 통합될 수 있다.
- [626] 본 발명에서 사용되는 재조합 벡터는 숙주세포 내에서 복제 가능한 것이면 특별히 한정되지 않으며, 당업계에 알려진 임의의 벡터를 이용하여 제작될 수 있다. 통상 사용되는 벡터의 예로는 천연 상태이거나 재조합된 상태의 플라스미드, 코스미드, 바이러스 및 박테리오파지를 들 수 있다. 본 발명에서 사용 가능한 벡터는 특별히 제한되는 것이 아니며 공지된 발현 벡터를 사용할 수 있다.
- [627] 상기 재조합 벡터는 본 발명의 결합체를 생산하기 위해 숙주세포를 형질전환시키는데 사용된다. 또한 본 발명의 일부인, 이러한 형질전환 세포는 본 발명의 핵산 단편 및 벡터의 증식에 사용되거나, 본 발명의 결합체의 재조합 생산에 사용된 배양된 세포 또는 세포주일 수 있다.
- [628] 본 발명에서 용어 "형질전환"은 목적 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 재조합 벡터를 숙주세포 내에 도입하여 숙주세포 내에서 상기 폴리뉴클레오티드가 코딩하는 단백질이 발현할 수 있도록 하는 것을 의미한다. 형질전환된 폴리뉴클레오티드가 숙주세포 내에서 발현될 수 있기만 한다면, 숙주세포의 염색체 내에 삽입되어 위치하거나 염색체 외에 위치하거나 상관없이 이들 모두를 포함한다.
- [629] 또한, 상기 폴리뉴클레오티드는 목적 단백질을 코딩하는 DNA 및 RNA를 포함한다. 상기 폴리뉴클레오티드는 숙주세포 내로 도입되어 발현될 수 있는 것이면, 어떠한 형태로 도입되는 것이든 상관없다. 예를 들면, 상기 폴리뉴클레오티드는 자체적으로 발현되는데 필요한 모든 요소를 포함하는 유전자 구조체인 발현 카세트(expression cassette)의 형태로 숙주세포에 도입될 수 있다. 상기 발현 카세트는 통상 상기 폴리뉴클레오티드에 작동 가능하게 연결되어 있는 프로모터(promoter), 전사 종결신호, 리보솜 결합부위 및 번역 종결신호를 포함할 수 있다. 상기 발현 카세트는 자체 복제가 가능한 발현 벡터 형태일 수 있다. 또한, 상기 폴리뉴클레오티드는 그 자체의 형태로 숙주세포에 도입되어, 숙주세포에서 발현에 필요한 서열과 작동 가능하게 연결되어 있는 것일 수도 있으며, 이에 한정되지 않는다.
- [630] 또한, 상기에서 용어 "작동 가능하게 연결"된 것이란 본 발명에서 목적하는 단백질, 구체적으로 결합체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 전사를 개시 및 매개하도록 하는 프로모터 서열과 상기 유전자 서열이 기능적으로 연결되어 있는 것을 의미한다.
- [631] 본 발명에 적합한 숙주는 본 발명의 폴리뉴클레오티드를 발현하도록 하는 한

특별히 제한되지 않는다. 본 발명에 사용될 수 있는 숙주의 특정한 예로는 대장균 (*E. coli*)과 같은 에스케리키아 (*Escherichia*) 속 세균; 바실러스 서브틸리스 (*Bacillus subtilis*)와 같은 바실러스 (*Bacillus*) 속 세균; 슈도모나스 푸티다 (*Pseudomonas putida*)와 같은 슈도모나스 (*Pseudomonas*) 속 세균; 피키아 파스토리스 (*Pichia pastoris*), 사카로마이세스 세레비지애 (*Saccharomyces cerevisiae*), 스키조사카로마이세스 품베 (*Schizosaccharomyces pombe*)와 같은 효모; 스포도프테라 프루기페르다 (Sf9)와 같은 곤충세포; 및 CHO, COS, BSC 등과 같은 동물세포가 있다.

- [632]
- [633] 본 발명을 구현하는 다른 양태는 상기 결합체를 포함하는 조성물을 제공한다.
- [634] 상기 결합체에 대해서는 앞서 설명한 바와 같다.
- [635] 구체적으로, 상기 조성물은 약학적 조성물일 수 있으며, 보다 구체적으로 상기 조성물은 대사 증후군의 예방 또는 치료용일 수 있다.
- [636] 본 발명에서 용어 "예방"은 상기 결합체 또는 이를 포함하는 조성물의 투여로 대사 증후군의 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미하며, "치료"는 상기 결합체 또는 이를 포함하는 조성물의 투여로 대사 증후군의 증세가 호전되거나 이롭게 되는 모든 행위를 의미한다.
- [637] 본 발명에서 용어 "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 환자에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며, 상기 조성물의 투여 경로는 특별히 이에 제한되지 않으나, 상기 조성물이 생체 내 표적에 도달할 수 있는 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있으며, 예를 들어 복강 내 투여, 정맥 내 투여, 근육 내 투여, 폐 투여, 폐 내 투여, 경구 투여, 국소 투여, 비 내 투여, 폐 내 투여, 또는 직장 내 투여 등이 될 수 있다.
- [638] 본 발명에서 용어 "대사증후군(metabolic syndrome)"은 만성적인 대사 장애로 인하여 일어나는 다양한 질환이 단독 또는 복합적으로 일어나는 증상을 말하며, 특히 대사증후군에 해당하는 질환으로는 내당증 장애, 고콜레스테롤혈증, 이상 지혈증(dyslipidemia), 비만, 당뇨, 고혈압, 이상지혈증에 의한 동맥경화, 죽상동맥경화증, 동맥경화증, 및 관상동맥 심질환(관동맥성 심장병) 등이 있으나, 이에 제한되지는 않는다.
- [639] 본 발명에서 용어 "비만"은 체내에 지방조직이 과다한 상태로, 신체비만지수(체중(kg)을 신장(m)의 제곱으로 나눈 값)가 25 이상이면 비만으로 정의된다. 비만은 오랜 기간에 걸쳐 에너지 소비량에 비해 영양소를 과다하게 섭취할 경우 에너지 불균형에 의해 유발되는 것이 통상적이다. 비만은 신체 전체에 영향을 미치는 대사질환으로 당뇨병 및 고지혈증에 걸릴 가능성이 높아지고, 성기능 장애, 관절염, 심혈관계 질환의 발병 위험이 커지며 일부의 경우 암의 발생과도 연관이 있다.
- [640] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있다. 이러한 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제,

또는 희석제는 비자연적으로 발생된 것일 수 있다.

- [641] 본 발명에서 용어 "약학적으로 허용가능한"이란 치료효과를 나타낼 수 있을 정도의 충분한 양과 부작용을 일으키지 않는 것을 의미하며, 질환의 종류, 환자의 연령, 체중, 건강, 성별, 환자의 약물에 대한 민감도, 투여 경로, 투여 방법, 투여횟수, 치료 기간, 배합 또는 동시 사용되는 약물 등 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [642] 본 발명의 웹타이드를 포함한 약학적 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함할 수 있다. 상기 담체는 특별히 이에 제한되지는 않으나, 경구 투여 시에는 결합제, 활택제, 봉해제, 부형제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 혼탁화제, 색소, 향료 등을 사용할 수 있고, 주사제의 경우에는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장화제, 안정화제 등을 혼합하여 사용할 수 있으며, 국소투여용의 경우에는 기제, 부형제, 윤활제, 보존제 등을 사용할 수 있다.
- [643] 본 발명의 조성물의 제형은 상술한 바와 같은 약학적으로 허용가능한 담체와 혼합하여 다양하게 제조될 수 있다. 예를 들어, 경구 투여 시에는 정제, 트로키, 캡슐, 엘리서, 서스펜션, 시럽, 웨이퍼 등의 형태로 제조할 수 있으며, 주사제의 경우에는 단위 투약 앰플 또는 다수회 투약 형태로 제조할 수 있다. 기타, 용액, 혼탁액, 정제, 환약, 캡슐, 서방형 제제 등으로 제형화할 수 있다.
- [644] 한편, 제제화에 적합한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐파롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유 등이 사용될 수 있다. 또한, 충진제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [645] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 혼탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 동결건조제제 및 좌제로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있다.
- [646]
- [647] 또한, 상기 조성물은 약학적 분야에서 통상의 방법에 따라 환자의 신체 내 투여에 적합한 단위 투여형의 제제, 구체적으로는 단백질 의약품의 투여에 유용한 제제 형태로 제형화시켜 당업계에서 통상적으로 사용하는 투여 방법을 이용하여 경구, 또는 피부, 정맥 내, 근육 내, 동맥 내, 골수 내, 수막강 내, 심실 내, 폐, 경피, 피하, 복 내, 비강 내, 소화관 내, 국소, 설하, 질 내 또는 직장 경로를 포함하는 비경구 투여 경로에 의하여 투여될 수 있으나, 이들에 한정되는 것은 아니다.
- [648] 또한, 상기 결합체는 생리식염수 또는 유기용매와 같이 약제로 허용된 여러 전달체(carrier)와 혼합하여 사용될 수 있고, 안정성이나 흡수성을 증가시키기 위하여 글루코스, 수크로스 또는 덱스트란과 같은 탄수화물,

아스코르브산(ascorbic acid) 또는 글루타티온과 같은 항산화제(antioxidants), 킬레이트제, 저분자 단백질 또는 다른 안정화제(stabilizers) 등이 약제로 사용될 수 있다.

- [649] 본 발명의 약학적 조성물의 투여량과 횟수는 치료할 질환, 투여 경로, 환자의 연령, 성별 및 체중 및 질환의 중등도 등의 여러 관련 인자와 함께, 활성성분인 약물의 종류에 따라 결정된다.
- [650]
- [651] 본 발명의 조성물의 총 유효량은 단일 투여량 (single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량 (multiple dose)으로 장기간 투여되는 분할 치료 방법 (fractionated treatment protocol)에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 질환의 정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있다. 구체적으로, 본 발명의 결합체의 바람직한 전체 용량은 하루에 환자 체중 1 kg당 약 0.0001 mg 내지 500 mg일 수 있다. 그러나 상기 결합체의 용량은 약학적 조성물의 투여 경로 및 치료 횟수뿐만 아니라 환자의 연령, 체중, 건강 상태, 성별, 질환의 중증도, 식이 및 배설율 등 다양한 요인들을 고려하여 환자에 대한 유효 투여량이 결정되는 것이므로, 이러한 점을 고려할 때 당분야의 통상적인 지식을 가진 자라면 상기 본 발명의 조성물의 특정한 용도에 따른 적절한 유효 투여량을 결정할 수 있을 것이다. 본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 그 제형, 투여 경로 및 투여 방법에 특별히 제한되지 아니한다.
- [652] 본 발명의 약학적 조성물은 생체 내 지속성 및 역가가 우수하므로, 본 발명의 약학적 제제의 투여 횟수 및 빈도를 현저하게 감소시킬 수 있다.
- [653]
- [654] 본 발명을 구현하는 다른 양태는 상기 결합체 또는 이를 포함하는 조성물을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 상기 결합체 또는 이를 포함하는 조성물이 목적하는 질환을 치료하는 방법을 제공한다.
- [655] 상기 결합체 또는 이를 포함하는 조성물에 대해서는 앞서 설명한 바와 같다.
- [656] 상기 질환은 대사증후군일 수 있다.
- [657]
- [658] 본 발명에서 상기 개체는 대사증후군 (metabolic syndrome)이 의심되는 개체로서, 상기 대사증후군 (metabolic syndrome) 의심 개체는 해당 질환이 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 포함한 쥐, 가축 등을 포함하는 포유 동물을 의미하나, 본 발명의 결합체 혹은 이를 포함하는 상기 조성물로 치료 가능한 개체는 제한 없이 포함된다.
- [659] 본 발명의 방법은 상기 결합체를 포함하는 약학적 조성물을 약학적 유효량으로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 적합한 총 1일 사용량은 올바른 의학적 판단범위 내에서 처치의에 의해 결정될 수 있으며, 1회 또는 수회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나 본 발명의 목적상, 특정 환자에 대한 구체적인 치료적 유효량은 달성하고자 하는 반응의 종류와 정도, 경우에 따라 다른 제제가 사용되는지의

여부를 비롯한 구체적 조성물, 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 구체적 조성물과 함께 사용되거나 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자와 의약 분야에 잘 알려진 유사 인자에 따라 다르게 적용하는 것이 바람직하다.

- [660] 본 발명을 구현하는 다른 양태는 약제의 제조에 사용하기 위한 상기 결합체 또는 이를 포함하는 조성물의 용도를 제공한다.
- [661] 상기 결합체 또는 이를 포함하는 조성물에 대해서는 앞서 설명한 바와 같다.
- [662] 상기 약제는 대사 증후군의 예방 또는 치료용일 수 있다.
- [663]
- [664] 이하, 하기 실시예에 의하여 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 범위가 이들로 한정되는 것은 아니다.
- [665]
- [666] **실시예 1: 삼중 활성체의 제조**
- [667] GLP-1, GIP 및 글루카곤 수용체에 모두 활성을 나타내는 삼중 활성체를 제조하여, 하기 표 1에 이의 서열을 나타냈다.

[668] [표1]

서열번호 호	서열	정보
1	H X Q G T F T S D V S S Y L D G Q A A K E F I A W L V K G C	
2	H X Q G T F T S D V S S Y L D G Q A Q K E F I A W L V K G C	
3	H X Q G T F T S D V S S Y L L G Q A A K Q F I A W L V K G G G P S S G A P P P S C	
4	H X Q G T F T S D V S S Y L L G Q Q Q K E F I A W L V K G C	
5	H X Q G T F T S D V S S Y L L G Q Q Q K E F I A W L V K G G G P S S G A P P P S C	
6	H X Q G T F T S D V S S Y L D G Q A A K E F V A W L L K G C	
7	H X Q G T F T S D V S K Y L D G Q A A K E F V A W L L K G C	
8	H X Q G T F T S D V S K Y L D G Q A A Q E F V A W L L K G C	
9	H X Q G T F T S D V S K Y L D G Q A A Q E F V A W L L A G C	
10	H X Q G T F T S D V S K Y L D G Q A A Q E F V A W L L A G G G P S S G A P P P S C	
11	C A G E G T F T S D L S K Y L D S R R Q Q L F V Q W L K A G G P S S G A P P P S H G	
12	C A G E G T F I S D L S K Y M D E Q A V Q L F V E W L M A G G P S S G A P P P S H G	
13	C A G E G T F I S D Y S I Q L D E I A V Q D F V E W L L A Q K P S S G A P P P S H G	
14	C A G Q G T F T S D Y S I Q L D E I A V R D F V E W L K N G G P S S G A P P P S H G	
15	C A G Q G T F T S D L S K Q M D E E A V R L F I E W L K N G G P S S G A P P P S H G	
16	C A G Q G T F T S D L S K Q M D S E A Q Q L F I E W L K N	

	GGPSSGAPPPSHG	
17	CAGQGTFTSDLSKQMDEERAREFIEWLLA QKPSSGAPPPSHG	
18	CAGQGTFTSDLSKQMDSERAREFIEWLKN TGPSSGAPPPSHG	
19	CAGQGTFTSDLSIQYDSEHQRFIEWLKD GPSSGAPPPSHG	
20	CAGQGTFTSDLSIQYEEEAAQQDFVEWLKD TGPSSGAPPPSHG	
21	YXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> CRAKEFVQWLLD HHPSSGQPPPS	고리 형성
22	YXQGTFTSDYSKCLD <u>E</u> KRAKEFVQWLLD HHPSSGQPPPS	고리 형성
23	YXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> CRAKEFVQWLLA QKGKKNDWKHNIT	고리 형성
24	YXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> CRAKEFVQWLKD GGPSSGAPPPS	고리 형성
25	HXQGTFTSDCSKYLDERAQAQDFVQWLLD GGPSSGAPPPS	
26	HXQGTFTSDCSKYLDERSAAQDFVQWLLD GGPSSGAPPPS	
27	HXQGTFTSDYSKYLDERACQDFVQWLLD QGGPSSGAPPPS	
28	HXQGTFTSDYSKYLDEKRAQEFCVWLLA QKGKKNDWKHNIT	
29	HXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KA <u>A</u> KEFVQWLLN TC	고리 형성
30	HXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KA <u>Q</u> KEFVQWLLD TC	고리 형성
31	HXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KAC <u>K</u> KEFVQWLLA Q	고리 형성
32	HXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KAC <u>K</u> DFVQWLLD GGPSSGAPPPS	고리 형성
33	HXQGTFTSDYSIAMDEIHQ <u>K</u> DFVNWLLAQ	고리

	K C	형성
34	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R Q <u>K</u> E F V N W L L A Q K C	고리 형성
35	H X Q G T F T S D Y S I A M D E I H Q <u>K</u> D F V N W L L N T K C	고리 형성
36	H X Q G T F T S D Y S K Y L C E K R Q <u>K</u> E F V Q W L L N G G P S S G A P P P S G	고리 형성
37	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E C R Q <u>K</u> E F V Q W L L N G G P S S G A P P P S G	고리 형성
38	C A X Q G T F T S D K S S Y L D E R A A Q D F V Q W L L D G G P S S G A P P P S S	
39	H X Q G T F T S D Y S K Y L D G Q H A Q C F V A W L L A G G G P S S G A P P P S	
40	H X Q G T F T S D K S K Y L D E R A C Q D F V Q W L L D G G P S S G A P P P S	
41	H X Q G T F T S D K S K Y L D E C A A Q D F V Q W L L D G G P S S G A P P P S	
42	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R A <u>K</u> E F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S C	고리 형성
43	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R A <u>K</u> E F V Q W L L D H H C S S G Q P P P S	고리 형성
44	H G Q G T F T S D C S K Q L D G Q A A Q E F V A W L L A G G P S S G A P P P S	
45	H G Q G T F T S D C S K Y M D G Q A A Q D F V A W L L A G G P S S G A P P P S	
46	H G Q G T F T S D C S K Y L D E Q H A Q E F V A W L L A G G P S S G A P P P S	
47	H G Q G T F T S D C S K Y L D G Q R A Q E F V A W L L A G G P S S G A P P P S	
48	H G Q G T F T S D C S K Y L D G Q R A Q D F V N W L L A G G P S S G A P P P S	
49	C A X Q G T F T S D Y S I C M D E I H Q <u>K</u> D F V N W L L N T K	고리 형성
50	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R A <u>K</u> E F V Q W L L D	고리

	H H P S S G Q P P P S C	형성
51	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R Q K E F V Q W L L N T C	고리 형성
52	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R Q K E F V Q W L L D T C	고리 형성
53	H X E G T F T S D Y S I A M D E I H Q K D F V N W L L A Q C	고리 형성
54	H X E G T F T S D Y S I A M D E I H Q K D F V D W L L A E C	고리 형성
55	H X Q G T F T S D Y S I A M D E I H Q K D F V N W L L A Q C	고리 형성
56	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R Q K E F V N W L L A Q C	고리 형성
57	H X Q G T F T S D Y S I A M D E I H Q K D F V N W L L N T C	고리 형성
58	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R Q K E F V Q W L L N T K C	고리 형성
59	C A X Q G T F T S D Y S I C M D E K H Q K D F V N W L L N T K	고리 형성
60	C A X Q G T F T S D Y S I A M D E K H C K D F V N W L L N T K	고리 형성
61	C A X Q G T F T S D Y S I A M D E I A C K D F V N W L L N T K	고리 형성
62	C A X Q G T F T S D K S K Y L D E R A A Q D F V Q W L L D G G P S S G A P P P S	-
63	C A X Q G T F T S D C S K Y L D E R A A Q D F V Q W L L D G G P S S G A P P P S	-
64	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E C A A K E F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S	고리 형성
65	H X Q G T F T S D Y S K C L D E K R A K E F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S	고리 형성
66	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E C R A K D F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S	고리 형성
67	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E C A A K D F V Q W L L D	고리

	HHPSSGQPPPS	형성
68	YXQGTFTSDYSKCLDEKAAK <u>E</u> FVQWLLD HHPSSGQPPPS	고리 형성
69	YXQGTFTSDYSKCLDE <u>R</u> AA <u>K</u> E <u>F</u> VQWLLD HHPSSGQPPPS	고리 형성
70	YXQGTFTSDYSKCLDE <u>K</u> RA <u>K</u> DFVQWLLD HHPSSGQPPPS	고리 형성
71	YXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> RACK <u>K</u> DFVQWLLD HHPSSGQPPPS	고리 형성
72	YXQGTFTSDCSKYLD <u>E</u> RAA <u>K</u> DFVQWLLD HHPSSGQPPPS	고리 형성
73	CAXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> CRACK <u>E</u> FVQWLLD HHPSSGQPPPS	고리 형성
74	CAXQGTFTSDYSKCLDE <u>K</u> RA <u>K</u> EFVQWLLD HHPSSGQPPPS	고리 형성
75	YXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KA <u>A</u> <u>K</u> EFVQWLLD HHPSSGQPPPSC	고리 형성
76	YXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KRA <u>K</u> DFVQWLLD HHPSSGQPPPSC	고리 형성
77	YXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KA <u>A</u> <u>K</u> DFVQWLLD HHPSSGQPPPSC	고리 형성
78	HXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KRQ <u>K</u> EFVQWLLDT KC	고리 형성
79	HXEGTFTSDYSIAMDEIHQ <u>K</u> DFVNWLQAQ KC	고리 형성
80	HXEGTFTSDYSIAMDEIHQ <u>K</u> DFVDWLAE KC	고리 형성
81	CAXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KRQ <u>K</u> EFVQWLLN TC	고리 형성
82	CAXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KRQ <u>K</u> EFVQWLLD TC	고리 형성
83	CAXEGTFTSDYSIAMDEIHQ <u>K</u> DFVNWLQA QC	고리 형성
84	CAXEGTFTSDYSIAMDEIHQ <u>K</u> DFVDWLAA	고리

	E C	형성
85	CA X Q G T F T S D Y S I A M D E I H Q <u>K</u> D F V N W L L A Q C	고리 형성
86	CA X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R Q <u>K</u> E F V N W L L A Q C	고리 형성
87	CA X Q G T F T S D Y S I A M D E I H Q <u>K</u> D F V N W L L N T C	고리 형성
88	CA X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R Q <u>K</u> E F V Q W L L N T K C	고리 형성
89	CA X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R Q <u>K</u> E F V Q W L L D T K C	고리 형성
90	CA X E G T F T S D Y S I A M D E I H Q <u>K</u> D F V N W L L A Q K C	고리 형성
91	CA X E G T F T S D Y S I A M D E I H Q <u>K</u> D F V D W L L A E K C	고리 형성
92	CA X Q G T F T S D Y S I A M D E I H Q <u>K</u> D F V N W L L A Q K C	고리 형성
93	CA X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R Q <u>K</u> E F V N W L L A Q K C	고리 형성
94	CA X Q G T F T S D Y S I A M D E I H Q <u>K</u> D F V N W L L N T K C	고리 형성
95	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R A <u>K</u> E F V Q W L L C H H P S S G Q P P P S	고리 형성
96	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R A <u>K</u> E F V Q W L L D H C P S S G Q P P P S	고리 형성
97	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R A <u>K</u> E F V Q W L L D C H P S S G Q P P P S	고리 형성
98	Y X Q G T F T S D Y S K A L D E K A A <u>K</u> E F V N W L L D H H P S S G Q P P P S C	고리 형성
99	Y X Q G T F T S D Y S K A L D E K A A <u>K</u> D F V N W L L D H H P S S G Q P P P S C	고리 형성
100	Y X Q G T F T S D Y S K A L D E K A A <u>K</u> E F V Q W L L D Q H P S S G Q P P P S C	고리 형성
101	Y X Q G T F T S D Y S K A L D E K A A <u>K</u> E F V N W L L D	고리

	Q H P S S G Q P P P S C	형성
102	Y X Q G T F T S D Y S K A L D E K A A K D F V N W L L D Q H P S S G Q P P P S C	고리 형성

[669]

[670] 상기 표 1에 기재된 서열에서 X로 표기된 아미노산은 비천연형 아미노산인 Aib (aminoisobutyric acid)이며, 밑줄로 표시된 아미노산은 밑줄로 표시된 아미노산들이 서로 고리를 형성하는 것을 의미한다. 또한, 상기 표 1에서 CA는 4-이미다조아세틸(4-imidazoacetyl)을, Y는 티로신을 의미한다.

[671]

[672] 실시예 2: 삼중 활성체의 지속형 결합체 제조

[673]

[674] 양 말단에 각각 말레이미드기 및 알데히드기를 가지는 10kDa의 PEG, 즉 말레이미드-PEG-알데히드 (10kDa, NOF, 일본)를 실시예 1의 삼중활성체 (서열번호 21, 22, 42, 43, 50, 77, 및 96)의 시스테인 잔기에 폐길화시키기 위하여, 삼중활성체와 말레이미드-PEG-알데히드의 몰비를 1 : 1 내지 3, 단백질의 농도를 1 내지 5 mg/ml로 하여 저온에서 0.5 내지 3 시간 동안 반응시켰다. 이때, 반응은 50 mM Tris 완충액(pH 7.5)에 20 내지 60% 아이소프로판올이 첨가된 환경 하에서 수행되었다. 반응이 종료된 후, 상기 반응액을 SP 세파로스 HP (GE healthcare, 미국)에 적용하여 시스테인에 모노-폐길화된 삼중활성체를 정제하였다.

[675]

다음으로, 상기 정제된 모노-폐길화된 삼중활성체와 면역글로불린 Fc을 몰비를 1 : 1 내지 5, 단백질의 농도를 10 내지 50mg/ml로 하여 4 내지 8°C에서 12 내지 18시간 동안 반응시켰다. 반응은 100 mM 인산칼륨 완충액 (pH 6.0)에 환원제인 10 내지 50 mM 소디움시아노보로하이드라이드와 10 내지 30 % 아이소프로판올이 첨가된 환경 하에서 수행되었다. 반응이 종료된 후, 상기 반응액을 부틸 세파로스 FF 정제컬럼 (GE healthcare, 미국)과 Source ISO 정제컬럼 (GE healthcare, 미국)에 적용하여, 삼중활성체와 면역글로불린 Fc를 포함하는 결합체를 정제하였다.

[676]

제조 후 역상 크로마토그래피, 크기배제 크로마토그래피 및 이온교환 크로마토그래피로 분석한 순도는 95 % 이상이었다.

[677]

여기서, 서열번호 21의 삼중활성체 및 면역글로불린 Fc가 PEG를 통하여 연결된 결합체를, '서열번호 21과 면역글로불린 Fc를 포함하는 결합체' 혹은 '서열번호 21의 지속형 결합체'로 명명하였고, 이들은 본원에서 혼용되어 사용될 수 있다.

[678]

여기서, 서열번호 22의 삼중활성체 및 면역글로불린 Fc가 PEG를 통하여 연결된 결합체를, '서열번호 22와 면역글로불린 Fc를 포함하는 결합체' 혹은 '서열번호 22의 지속형 결합체'로 명명하였고, 이들은 본원에서 혼용되어 사용될

수 있다.

- [679] 여기서, 서열번호 42의 삼중활성체 및 면역글로불린 Fc가 PEG를 통하여 연결된 결합체를, '서열번호 42와 면역글로불린 Fc를 포함하는 결합체' 혹은 '서열번호 42의 지속형 결합체'로 명명하였고, 이들은 본원에서 혼용되어 사용될 수 있다.
- [680] 여기서, 서열번호 43의 삼중활성체 및 면역글로불린 Fc가 PEG를 통하여 연결된 결합체를, '서열번호 43과 면역글로불린 Fc를 포함하는 결합체' 혹은 '서열번호 43의 지속형 결합체'로 명명하였고, 이들은 본원에서 혼용되어 사용될 수 있다.
- [681] 여기서, 서열번호 50의 삼중활성체 및 면역글로불린 Fc가 PEG를 통하여 연결된 결합체를, '서열번호 50과 면역글로불린 Fc를 포함하는 결합체' 혹은 '서열번호 50의 지속형 결합체'로 명명하였고, 이들은 본원에서 혼용되어 사용될 수 있다.
- [682] 여기서, 서열번호 77의 삼중활성체 및 면역글로불린 Fc가 PEG를 통하여 연결된 결합체를, '서열번호 77와 면역글로불린 Fc를 포함하는 결합체' 혹은 '서열번호 77의 지속형 결합체'로 명명하였고, 이들은 본원에서 혼용되어 사용될 수 있다.
- [683] 여기서, 서열번호 96의 삼중활성체 및 면역글로불린 Fc가 PEG를 통하여 연결된 결합체를, '서열번호 96과 면역글로불린 Fc를 포함하는 결합체' 혹은 '서열번호 96의 지속형 결합체'로 명명하였고, 이들은 본원에서 혼용되어 사용될 수 있다.
- [684]
- [685] 실험 예 1: 삼중 활성체 및 이의 지속형 결합체의 *in vitro* 활성 측정
- [686]
- [687] 상기 실시예 1 및 2에서 제조된 삼중활성체와 이의 지속형 결합체의 활성을 측정하기 위해 GLP-1 수용체, 글루카곤(GCG) 수용체, 및 GIP 수용체가 각각 형질전환된 세포주를 이용하여 *in vitro*에서 세포 활성을 측정하는 방법을 이용하였다.
- [688]
- [689] 상기 각 세포주는 CHO (chinese hamster ovary)에 인간 GLP-1 수용체, 인간 GCG 수용체 및 인간 GIP 수용체 유전자를 각각 발현하도록 형질 전환된 것으로서, GLP-1, GCG 및 GIP의 활성을 측정하기에 적합하다. 따라서, 각 부분에 대한 활성을 각각의 형질 전환 세포주를 이용하여 측정하였다.
- [690]
- [691] 상기 실시예 1과 2에서 제조된 삼중활성체와 이의 지속형 결합체의 GLP-1 활성 측정을 위해 인간 GLP-1을 50nM 부터 4배씩 0.000048nM까지 연속적으로 희석하고, 상기 실시예 1과 2에서 제조된 삼중활성체와 이의 지속형 결합체를 400nM 부터 4배씩 0.00038nM까지 연속적으로 희석하였다. 상기 배양된 인간

GLP-1 수용체가 발현된 CHO 세포에서 배양액을 제거하고 연속적으로 희석된 각 물질들을 $5\mu\text{l}$ 씩 상기 세포에 첨가한 다음, cAMP 항체가 포함된 완충액을 $5\mu\text{l}$ 씩 추가 한 뒤 15분 동안 상온에서 배양하였다. 그런 다음 세포용해완충액 (cell lysis buffer)이 포함된 detection mix를 $10\mu\text{l}$ 씩 가하여 세포를 용해시키고, 90분 동안 상온에서 반응시켰다. 상기 반응이 완료된 세포용해물을 LANCE cAMP kit (PerkinElmer, USA)에 적용하여 측정된 cAMP를 통해 EC₅₀값을 산출한 후, 상호 비교하였다. 인간 GLP-1 대비 상대 역가는 하기 표 2와 표 3에 나타내었다.

[692]

[693] 상기 실시 예 1과 2에서 제조된 삼중활성체와 이의 지속형 결합체의 GCG 활성 측정을 위해 인간 GCG을 50nM 부터 4배씩 0.000048nM까지 연속적으로 희석하고, 상기 실시 예 1과 2에서 제조된 삼중활성체와 이의 지속형 결합체를 400nM 부터 4배씩 0.00038nM까지 연속적으로 희석하였다. 상기 배양된 인간 GCG 수용체가 발현된 CHO 세포에서 배양액을 제거하고 연속적으로 희석된 각 물질들을 $5\mu\text{l}$ 씩 상기 세포에 첨가한 다음, cAMP 항체가 포함된 완충액을 $5\mu\text{l}$ 씩 추가 한 뒤 15분 동안 상온에서 배양하였다. 그런 다음 세포용해완충액 (cell lysis buffer)이 포함된 detection mix를 $10\mu\text{l}$ 씩 가하여 세포를 용해시키고, 90분 동안 상온에서 반응시켰다. 상기 반응이 완료된 세포용해물을 LANCE cAMP kit (PerkinElmer, USA)에 적용하여 측정된 cAMP를 통해 EC₅₀값을 산출한 후, 상호 비교하였다. 인간 GCG 대비 상대 역가는 하기 표2와 표3에 나타내었다.

[694]

[695] 상기 실시 예 1과 2에서 제조된 삼중활성체와 이의 지속형 결합체의 GIP 활성 측정을 위해 인간 GIP을 50nM 부터 4배씩 0.000048nM까지 연속적으로 희석하고, 상기 실시 예 1과 2에서 제조된 삼중활성체와 이의 지속형 결합체를 400nM 부터 4배씩 0.00038nM까지 연속적으로 희석하였다. 상기 배양된 인간 GIP 수용체가 발현된 CHO 세포에서 배양액을 제거하고 연속적으로 희석된 각 물질들을 $5\mu\text{l}$ 씩 상기 세포에 첨가한 다음, cAMP 항체가 포함된 완충액을 $5\mu\text{l}$ 씩 추가 한 뒤 15분 동안 상온에서 배양하였다. 그런 다음 세포용해완충액 (cell lysis buffer)이 포함된 detection mix를 $10\mu\text{l}$ 씩 가하여 세포를 용해시키고, 90분 동안 상온에서 반응시켰다. 상기 반응이 완료된 세포용해물을 LANCE cAMP kit (PerkinElmer, USA)에 적용하여 측정된 cAMP를 통해 EC₅₀값을 산출한 후, 상호 비교하였다. 인간 GIP 대비 상대 역가는 하기 표 2와 표 3에 나타내었다.

[696]

[697] [표2]

삼중활성체의 상대적 역가 비율

서열번호	천연형 펩타이드 대비 <i>in vitro</i> 활성 (%)		
	vs GLP-1	vs Glucagon	vs GIP
1	3.2	<0.1	<0.1
2	5.9	<0.1	<0.1
3	1.8	<0.1	<0.1
4	8.5	<0.1	<0.1
5	42.1	<0.1	<0.1
6	17.0	<0.1	<0.1
7	13.7	<0.1	<0.1
8	14.2	0.10	<0.1
9	32.1	0.13	<0.1
10	46.0	<0.1	<0.1
11	1.4	<0.1	<0.1
12	0.4	<0.1	<0.1
13	<0.1	<0.1	<0.1
14	28.0	<0.1	<0.1
15	79.2	<0.1	<0.1
16	2.1	<0.1	<0.1
17	0.2	<0.1	<0.1
18	<0.1	<0.1	<0.1
19	<0.1	<0.1	<0.1
20	<0.1	<0.1	<0.1
21	17.8	267	22.7
22	20.1	140	59.7
23	4.01	9.3	<0.1
24	41.2	9.3	<0.1
25	82.6	0.1	<0.1
26	64.5	0.2	<0.1
27	83.1	0.8	0.9

28	17.2	1.6	<0.1
29	38.5	6.0	<0.1
30	142	0.7	0.8
31	135	2.2	2.4
32	151	1.7	8.8
33	24.5	<0.1	10.4
34	19.1	0.92	0.6
35	7.5	<0.1	1.3
36	37.4	0.39	0.2
37	236	6.21	2.2
38	2.3	-	-
39	13.9	0.53	<0.1
40	75.2	<0.1	<0.1
41	34.3	<0.1	<0.1
42	33.9	205.8	7.8
43	12.6	88.4	3.70
44	1.3	<0.1	<0.1
45	6.6	<0.1	<0.1
46	1.4	<0.1	<0.1
47	2.4	<0.1	<0.1
48	1.5	<0.1	<0.1
49	29.8	<0.1	3.3
50	67.4	50.5	2.7
51	14.4	2.0	0.1
52	44.1	7.5	0.3
53	161	8.4	1.3
54	30.6	1.4	0.1
55	27.1	0.7	2.4
56	57.9	4.9	0.8
57	11.7	<0.1	0.3
58	39.1	2.6	0.2

59	40.3	<0.1	4.0
60	106.2	<0.1	8.2
61	59.8	<0.1	2.8
62	5.2	<0.1	<0.1
63	15.3	<0.1	<0.1
64	64.6	60.1	92.9
65	95.4	25.2	11.6
66	15.8	172	17.2
67	28.5	46.2	39.8
68	27.9	8.8	107
69	24.3	9.6	62.8
70	15.1	71.3	64.4
71	90.1	12.7	94.7
72	11.5	1.0	1.6
73	22.6	5.4	3.0
74	12.9	0.9	1.0
75	35.1	8.5	18.0
76	10.3	47.6	11.7
77	38.7	12.2	35.5
78	51.0	14.0	0.12
79	41.5	4.9	1.4
80	8.1	0.0	0.1
81	7.8	0.3	<0.1
82	9.5	1.1	<0.1
83	47.3	1.3	0.4
84	4.2	<0.1	<0.1
85	4.3	<0.1	0.3
86	28.4	0.4	0.2
87	0.9	<0.1	<0.1
88	9.6	0.3	<0.1
89	7.1	0.7	<0.1

90	7.4	<0.1	<0.1
91	31.9	16.8	0.3
92	0.8	<0.1	0.4
93	5.7	0.3	0.7
94	0.5	<0.1	<0.1
95	2.1	0.4	<0.1
96	34.4	194.8	5.2
97	10.5	62.8	2.6
98	28.1	8.2	47.1
99	20.9	14.9	57.7
100	42.2	12.7	118.5
101	23.2	13.9	40.1
102	23.3	29.5	58.0

[698] [표3]

삼중활성체 지속형 결합체의 상대적 역가 비율

지속형 결합체	천연형 펩타이드 대비 in vitro 활성 (%)		
	vs GLP-1	vs Glucagon	vs GIP
21	0.1	1.6	0.2
22	0.1	0.9	0.5
42	3.1	23.1	1.2
43	2.1	13.5	0.6
50	15.4	6.9	0.7
77	6.7	1.7	6.6
96	0.3	4.0	0.3

[699]

[700] 상기에서 제조한 신규한 삼중활성체 지속형 결합체는 GLP-1 수용체, GIP 수용체 및 글루카곤 수용체를 모두 활성화시킬 수 있는 삼중 활성체로 기능을 가지는 바, 당뇨병과 비만 등을 포함하는 대사 증후군 환자의 치료제 물질로 이용될 수 있다.

[701]

[702] 실험 예 2: 삼중 활성체 지속형 결합체의 *in vivo* 활성 측정

[703]

- [704] 비만 동물 모델로 널리 사용되고 있는 고지방 식이유도 비만 마우스를 이 연구를 위해 사용하였다. 마우스의 체중은 투여 전에 약 40~60g이었다. 연구 기간 동안 마우스는 군별로 수용되었고 물에 자유롭게 접근하도록 하였다. 빛은 6 AM에서 6 PM까지 꺼두었다.
- [705] 고지방 식이 급식된 시험군은, 군 1: 부형제 (2일 1회 주사)-고지방 식이유도 비만 마우스 대조군, 군 2: 서열번호 42의 지속형 결합체 1.44 nmol/kg (2일 1회 주사), 군 3: 서열번호 42의 지속형 결합체 2.88 nmol/kg (2일 1회 주사), 군 4: 서열번호 43의 지속형 결합체 1.44 nmol/kg (2일 1회 주사), 군 5: 서열번호 43의 지속형 결합체 2.88 nmol/kg (2일 1회 주사), 군 6: 서열번호 50의 지속형 결합체 1.44 nmol/kg (2일 1회 주사), 군 7: 서열번호 50의 지속형 결합체 2.88 nmol/kg (2일 1회 주사)가 있다. 실험은 28일째 종료하였으며, 실험이 진행되는 동안 2일 단위로 각 군에 해당하는 마우스의 체중변화를 측정하였다. 실험이 종료된 후, 부검을 통해 장간막 지방량을 측정하였다. 통계 처리는 1원 ANOVA를 사용하여 고지방 식이유도 비만 마우스 대조군 및 시험군 사이를 비교하였다.
- [706] 체중 변화를 측정한 결과, 도 1에서 확인할 수 있듯이, 서열번호 42, 43, 및 50의 지속형 결합체의 고용량 투여군들 모두 투여 개시 전에 비해 각각 -56.9%, -57.0% 그리고 -63.5%의 체중 감소를 보였다.
- [707] 또한, 장간막 지방량을 측정한 결과, 도 2에서 확인할 수 있듯이 서열번호 42, 43, 및 50의 지속형 결합체의 고용량 투여군들 모두 부형제 투여군과의 비교에서 체내 지방이 유의적으로 감소하는 것이 확인되었다.
- [708]
- [709] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특히 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

청구범위

[청구항 1] 하기 화학식 1로 표시되는, 결합체:

[화학식 1]

X - La - F

여기서,

X는, 글루카곤 수용체, GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) 수용체, 및 GIP (Glucose-dependent insulontropic polypeptide) 수용체에 대해 활성을 갖는, 웹타이드이고;

L은, 링커이며;

a는, 0 또는 자연수이며, 다만 a가 2 이상일 때, 각각의 L은 서로 독립적이고;

F는, X의 반감기를 증가시킬 수 있는 물질임.

[청구항 2] 제1항에 있어서,

상기 X는 천연형 글루카곤 서열에서 적어도 하나 이상의 아미노산에 치환(substitution), 추가(addition), 제거(deletion), 수식(modification) 및 이들의 조합으로 이루어지는 군에서 선택된 변형이 일어난, 천연형 글루카곤의 아날로그인, 결합체.

[청구항 3] 제2항에 있어서,

추가되는 아미노산 서열은 천연형 GLP-1, 천연형 GIP, 또는 천연형 엑센틴-4 아미노산 서열에서 유래되는, 결합체.

[청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 X는 하기 일반식 1로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 웹타이드인, 결합체:

Xaa1-Xaa2-Xaa3-Gly-Thr-Phe-Xaa7-Ser-Asp-Xaa10-Ser-Xaa12-Xaa13-Xaa14-Xaa15-Xaa16-Xaa17-Xaa18-Xaa19-Xaa20-Xaa21-Phe-Xaa23-Xaa24-Trp-Leu-Xaa27-Xaa28-Xaa29-Xaa30-R1 (일반식 1, 서열번호 103)

상기 일반식 1에서,

Xaa1은 히스티딘 (His, H), 4-아미다조아세틸 (CA), 또는 티로신 (Tyr, Y)이고,

Xaa2는 글리신 (Gly, G), 알파-메틸-글루탐산, 또는 Aib (aminoisobutyric acid)이며,

Xaa3은 글루탐산 (Glu, E) 또는 글루타민 (Gln, Q)이고,

Xaa7은 트레오닌 (Thr, T) 또는 이소류신 (Ile, I)이며,

Xaa10은 류신 (Leu, L), 티로신 (Tyr, Y), 리신 (Lys, K), 시스테인 (Cys, C), 또는 발린 (Val, V)이고,

Xaa12는 리신 (Lys, K), 세린 (Ser, S), 또는 이소류신 (Ile, I)이며,

Xaa13은 글루타민 (Gln, Q), 티로신 (Tyr, Y), 알라닌 (Ala, A), 또는 시스테인 (Cys, C)이고,

Xaa14는 류신 (Leu, L), 메티오닌 (Met, M), 또는 티로신 (Tyr, Y)이며,
 Xaa15는 시스테인 (Cys, C), 아스파르트산 (Asp, D), 글루탐산 (Glu, E),
 또는 류신 (Leu, L)이며,
 Xaa16은 글리신 (Gly, G), 글루탐산 (Glu, E), 또는 세린 (Ser, S)이고,
 Xaa17은 글루타민 (Gln, Q), 아르기닌 (Arg, R), 이소류신 (Ile, I), 글루탐산
 (Glu, E), 시스테인 (Cys, C), 또는 리신 (Lys, K)이며,
 Xaa18은 알라닌 (Ala, A), 글루타민 (Gln, Q), 아르기닌 (Arg, R), 또는
 히스티딘 (His, H)이고,
 Xaa19는 알라닌 (Ala, A), 글루타민 (Gln, Q), 시스테인 (Cys, C), 또는 발린
 (Val, V)이며,
 Xaa20은 리신 (Lys, K), 글루타민 (Gln, Q), 또는 아르기닌 (Arg, R)이고,
 Xaa21은 글루탐산 (Glu, E), 글루타민 (Gln, Q), 류신 (Leu, L), 시스테인
 (Cys, C), 또는 아스파르트산 (Asp, D)이며,
 Xaa23은 이소류신 (Ile, I) 또는 발린 (Val, V)이고,
 Xaa24는 알라닌 (Ala, A), 글루타민 (Gln, Q), 시스테인 (Cys, C),
 아스파라긴 (Asn, N), 아스파르트산 (Asp, D), 또는 글루탐산 (Glu, E)이며,
 Xaa27은 발린 (Val, V), 류신 (Leu, L), 리신 (Lys, K), 또는 메티오닌 (Met,
 M)이고,
 Xaa28은 시스테인 (Cys, C), 리신 (Lys, K), 알라닌 (Ala, A), 아스파라긴
 (Asn, N), 또는 아스파르트산 (Asp, D)이며,
 Xaa29는 시스테인 (Cys, C), 글리신 (Gly, G), 글루타민 (Gln, Q), 트레오닌
 (Thr, T), 글루탐산 (Glu, E), 또는 히스티딘 (His, H)이고,
 Xaa30은 시스테인 (Cys, C), 글리신 (Gly, G), 리신 (Lys, K), 또는 히스티딘
 (His, H)이거나, 부존재하며,
 R1은 시스테인 (Cys, C), GKKNDWKHNIT (서열번호 106),
 m-SSGAPPPS-n (서열번호 107), 또는 m-SSGQPPPS-n (서열번호
 108)이거나, 부존재하며,
 여기서,
 m은 -Cys-, -Pro-, 또는 -Gly-Pro-이고,
 n은 -Cys-, -Gly-, -Ser-, 또는 -His-Gly-이거나, 부존재함.

[청구항 5]

제4항에 있어서,
 Xaa14는 류신 또는 메티오닌이며,
 Xaa15는 시스테인, 아스파르트산, 또는 류신인, 결합체.

[청구항 6]

제4항에 있어서,
 상기 일반식 1에서,
 Xaa2는 글리신, 알파-메틸-글루탐산, 또는 Aib이고,
 Xaa7은 트레오닌이며,
 Xaa10은 티로신, 시스테인, 또는 발린이고,

Xaa12는 리신 또는 이소류신이며,
 Xaa13은 티로신, 알라닌, 글루타민, 또는 시스테인이고,
 Xaa14는 류신, 시스테인, 또는 메티오닌이며;
 Xaa15는 시스테인, 류신, 글루탐산, 또는 아스파르트산이고,
 Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 이소류신, 시스테인, 글루탐산, 또는
 리신이며,
 Xaa18은 알라닌, 글루타민, 아르기닌, 또는 히스티딘이고,
 Xaa19는 알라닌, 글루타민, 발린, 또는 시스테인이며,
 Xaa20은 리신, 아르기닌, 또는 글루타민이고,
 Xaa21은 글루탐산, 글루타민, 류신, 시스테인, 또는 아스파르트산이며,
 Xaa23은 이소류신 또는 발린이고,
 Xaa24는 시스테인, 알라닌, 글루타민, 아스파라긴, 글루탐산, 또는
 아스파르트산이며,
 Xaa27은 류신 또는 리신인, 결합체.

[청구항 7] 제4항에 있어서, 상기 X는 하기 일반식 2로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 패타이드인, 결합체:

Xaa1-Xaa2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa10-Ser-Lys-Xaa13-Xaa14-Xaa
 15-Xaa16-Xaa17-Xaa18-Xaa19-Xaa20-Xaa21-Phe-Xaa23-Xaa24-Trp-Leu-Leu
 -Xaa28-Xaa29-Xaa30-Xaa31- Ser-Ser-Gly-Gln-Pro-Pro-Pro-Ser-Xaa40
 (일반식 2, 서열번호 104)

상기 식에서,

Xaa1은 4-이미다조아세틸, 히스티딘, 또는 티로신이고,
 Xaa2는 글리신, 알파-메틸-글루탐산, 또는 Aib이며,
 Xaa10은 티로신, 또는 시스테인이고,
 Xaa13은 알라닌, 글루타민, 티로신, 또는 시스테인이며,
 Xaa14는 류신, 메티오닌, 또는 티로신이고,
 Xaa15는 아스파르트산, 글루탐산, 또는 류신이며,
 Xaa16은 글리신, 글루탐산, 또는 세린이고,
 Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 이소류신, 글루탐산, 시스테인, 또는
 리신이며,
 Xaa18은 알라닌, 글루타민, 아르기닌, 또는 히스티딘이고,
 Xaa19는 알라닌, 글루타민, 시스테인, 또는 발린이며,
 Xaa20은 리신, 글루타민, 또는 아르기닌이고,
 Xaa21은 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 류신, 또는 아스파르트산이며,
 Xaa23은 이소류신 또는 발린이고,
 Xaa24는 시스테인, 알라닌, 글루타민, 아스파라긴, 또는 글루탐산이며,
 Xaa28은 리신, 시스테인, 아스파라긴, 또는 아스파르트산이고,
 Xaa29는 글리신, 글루타민, 시스테인, 또는 히스티딘이며,

Xaa30은 시스테인, 글리신, 리신, 또는 히스티딘이고,
 Xaa31은 프롤린 또는 시스테인이며;
 Xaa40은 시스테인이거나, 부존재함.

- [청구항 8] 제4항에 있어서,
 상기 일반식 1에서,
 Xaa2는 글리신, 알파-메틸-글루탐산, 또는 Aib이고,
 Xaa7은 트레오닌이며,
 Xaa10은 티로신, 시스테인, 또는 발린이고,
 Xaa12는 리신 또는 이소류신이며,
 Xaa13은 티로신, 알라닌, 또는 시스테인이고,
 Xaa14는 류신 또는 메티오닌이며,
 Xaa15는 시스테인 또는 아스파르트산이고,
 Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 이소류신, 시스테인, 또는 리신이며,
 Xaa18은 알라닌, 아르기닌, 또는 히스티딘이고,
 Xaa19는 알라닌, 글루타민, 또는 시스테인이며,
 Xaa20은 리신 또는 글루타민이고,
 Xaa21은 글루탐산, 시스테인, 또는 아스파르트산이며,
 Xaa23은 발린이고,
 Xaa24는 알라닌, 글루타민, 시스테인, 아스파라긴, 또는
 아스파르트산이며,
 Xaa27은 류신 또는 리신인, 결합체.

- [청구항 9] 제7항에 있어서,
 상기 일반식 2에서,
 Xaa13은 알라닌, 티로신, 또는 시스테인이고,
 Xaa15는 아스파르트산 또는 글루탐산이며,
 Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 시스테인, 또는 리신이고,
 Xaa18은 알라닌, 아르기닌, 또는 히스티딘이며,
 Xaa21은 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 또는 아스파르트산이고,
 Xaa23은 이소류신 또는 발린이며,
 Xaa24는 시스테인, 글루타민, 또는 아스파라긴이고,
 Xaa28은 시스테인, 아스파라긴, 또는 아스파르트산이며,
 Xaa29는 글루타민, 시스테인, 또는 히스티딘이고,
 Xaa30은 시스테인, 리신, 또는 히스티딘인, 결합체.

- [청구항 10] 제4항에 있어서,
 상기 일반식 1에서,
 Xaa2는 알파-메틸-글루탐산 또는 Aib이고,
 Xaa7은 트레오닌이며,
 Xaa10은 티로신 또는 시스테인이고,

Xaa12는 리신 또는 이소류신이며,
 Xaa13은 티로신, 알라닌, 또는 시스테인이고,
 Xaa14는 류신 또는 메티오닌이며,
 Xaa15는 시스테인 또는 아스파르트산이고,
 Xaa16은 글루탐산이며,
 Xaa17은 아르기닌, 이소류신, 시스테인, 또는 리신이고,
 Xaa18은 알라닌, 아르기닌, 또는 히스티딘이며,
 Xaa19는 알라닌, 글루타민, 또는 시스테인이고,
 Xaa20은 리신 또는 글루타민이며,
 Xaa21은 글루탐산 또는 아스파르트산이고,
 Xaa23은 발린이며,
 Xaa24는 글루타민, 아스파라긴, 또는 아스파르트산이고,
 Xaa27은 류신이며,
 Xaa28은 시스테인, 알라닌, 아스파라긴, 또는 아스파르트산인, 결합체.

[청구항 11] 제4항에 있어서,

상기 일반식 1에서,
 Xaa1은 히스티딘 또는 4-이미다조아세틸이고,
 Xaa2는 알파-메틸-글루탐산 또는 Aib이며,
 Xaa3은 글루타민이고,
 Xaa7은 트레오닌이며,
 Xaa10은 티로신이고,
 Xaa12는 이소류신이며,
 Xaa13은 알라닌 또는 시스테인이고,
 Xaa14는 메티오닌이며,
 Xaa15는 아스파르트산이고,
 Xaa16은 글루탐산이며,
 Xaa17은 이소류신 또는 리신이고,
 Xaa18은 알라닌 또는 히스티딘이며,
 Xaa19는 글루타민 또는 시스테인이고,
 Xaa20은 리신이며,
 Xaa21은 아스파르트산이고,
 Xaa23은 발린이며,
 Xaa24는 아스파라긴이고,
 Xaa27은 류신이며,
 Xaa28은 알라닌 또는 아스파라긴이고,
 Xaa29는 글루타민 또는 트레오닌이며,
 Xaa30은 시스테인 또는 리신이거나, 부존재하는, 결합체.

[청구항 12] 제4항에 있어서,

상기 X는 하기 일반식 3의 아미노산 서열을 포함하는 웹타이드인, 결합체:

Xaa1-Xaa2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Xaa13-Leu-Asp-Glu-Xaa17-Xaa18-Xaa19-Lys-Xaa21-Phe-Val-Xaa24-Trp-Leu-Leu-Xaa28-Xaa29-Xaa30-Xaa31-Ser-Ser-Gly-Gln-Pro-Pro-Pro-Ser-Xaa40 (일반식 3, 서열번호 105),

상기 일반식 3에서,

Xaa1은 히스티딘 또는 티로신이고,

Xaa2는 알파-메틸-글루탐산 또는 Aib이며,

Xaa13은 알라닌, 티로신 또는 시스테인이고,

Xaa17은 아르기닌, 시스테인, 또는 리신이며,

Xaa18은 알라닌 또는 아르기닌이고,

Xaa19는 알라닌 또는 시스테인이며,

Xaa21은 글루탐산 또는 아스파르트산이고,

Xaa24는 글루타민 또는 아스파라긴이며,

Xaa28은 시스테인 또는 아스파르트산이고,

Xaa29는 시스테인, 히스티딘, 또는 글루타민이며,

Xaa30은 시스테인 또는 히스티딘이고,

Xaa31은 프롤린 또는 시스테인이며,

Xaa40은 시스테인 또는 부존재함.

[청구항 13] 제4항에 있어서, 상기 R1은 시스테인, GKKNDWKHNIT (서열번호 106), CSSGQPPPS (서열번호 109), GPSSGAPPPS (서열번호 110), GPSSGAPPSC (서열번호 111), PSSGAPPPS (서열번호 112), PSSGAPPPSG (서열번호 113), PSSGAPPPSHG (서열번호 114), PSSGAPPPSS (서열번호 115), PSSGQPPPS (서열번호 116), 또는 PSSGQPPPSC (서열번호 117)이거나, 부존재하는, 결합체.

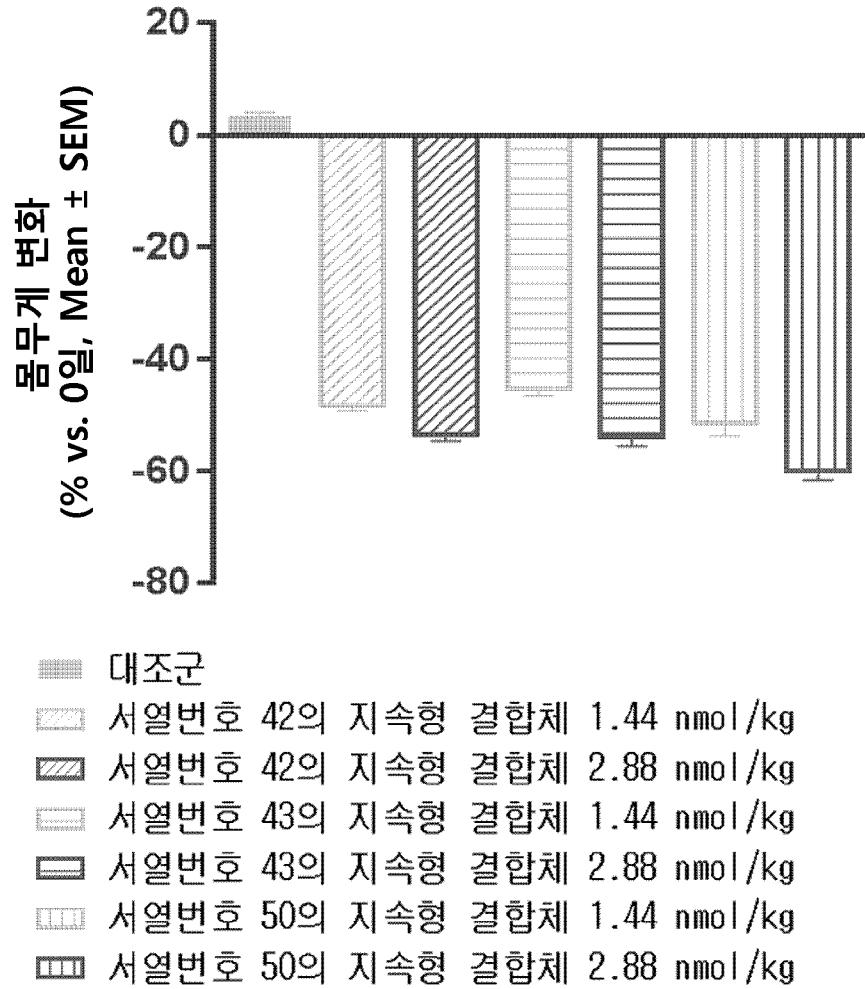
[청구항 14] 제4항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 일반식에서 N-말단으로부터 16번 아미노산과 20번 아미노산은 서로 고리를 형성하는, 결합체.

[청구항 15] 제1항에 있어서,
상기 X는 서열번호: 1 내지 102로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 웹타이드인, 결합체.

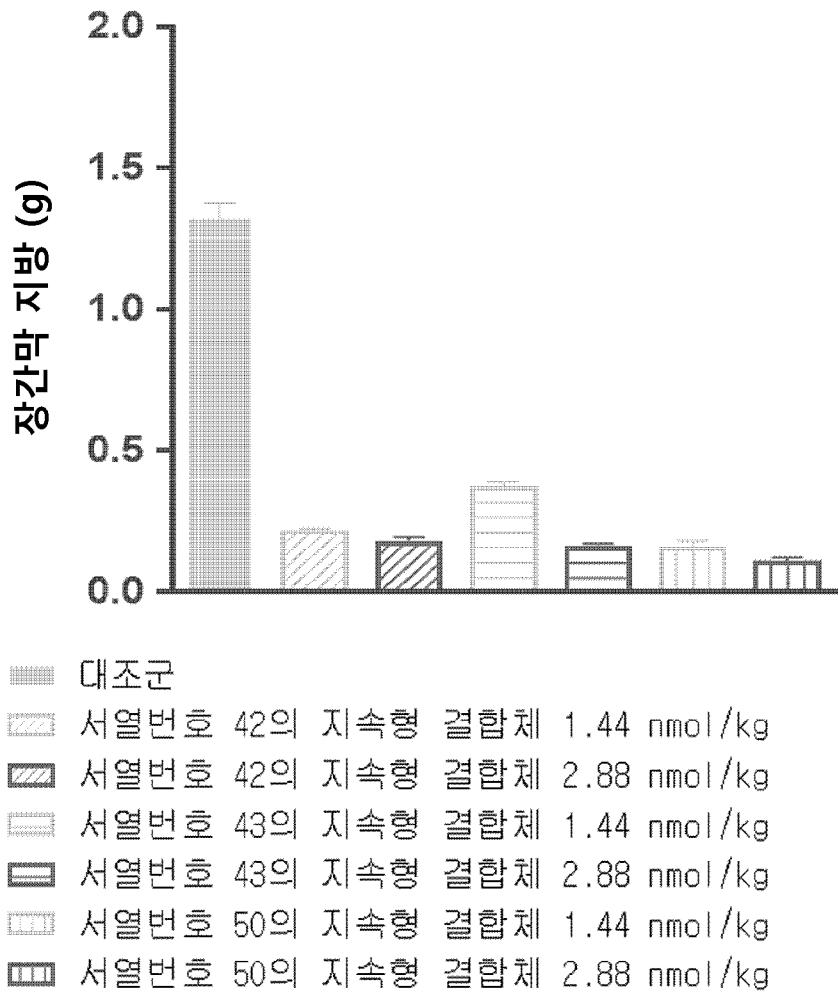
[청구항 16] 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 F는 고분자 중합체, 지방산, 콜레스테롤, 알부민 및 이의 단편, 알부민 결합물질, 특정 아미노산 서열의 반복단위의 중합체, 항체, 항체 단편, FcRn 결합물질, 생체 내 결합조직, 뉴클레오타이드, 파이브로넥틴, 트랜스페린(Transferrin), 사카라이드(saccharide), 혼파린, 및 엘라스틴으로 이루어진 군에서 선택되는, 결합체.

- [청구항 17] 제16항에 있어서,
상기 고분자 중합체는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 에틸렌
글리콜-프로필렌 글리콜 공중합체, 폴리옥시에틸화폴리올,
폴리비닐알콜, 폴리사카라이드, 텍스트란, 폴리비닐에틸에테르,
생분해성 고분자, 지질 중합체, 키틴, 히아루론산, 올리고뉴클레오타이드
및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 결합체.
- [청구항 18] 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 F는 면역글로불린 Fc 영역인, 결합체.
- [청구항 19] 제18항에 있어서,
상기 F는 IgG Fc 영역인, 결합체.
- [청구항 20] 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 L은 펩타이드, 지방산, 사카라이드 (saccharide), 고분자 중합체,
저분자 화합물, 뉴클레오타이드 및 이들의 조합으로 이루어진
군으로부터 선택되는, 결합체.
- [청구항 21] 제20항에 있어서, 상기 고분자 중합체는
폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 에틸렌 글리콜-프로필렌
글리콜 공중합체, 폴리옥시에틸화폴리올, 폴리비닐알콜,
폴리사카라이드, 텍스트란, 폴리비닐에틸에테르, 생분해성 고분자, 지질
중합체, 키틴, 히아루론산, 올리고뉴클레오타이드 및 이들의 조합으로
이루어진 군으로부터 선택되는, 결합체.
- [청구항 22] 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 L은 폴리에틸렌 글리콜인, 결합체.
- [청구항 23] 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항의 결합체를 포함하는, 대사 증후군의
예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 24] 제23항에 있어서, 상기 대사 증후군은 내당증 장애, 고콜레스테롤혈증,
이상지혈증, 비만, 당뇨, 고혈압, 이상지혈증에 의한 동맥경화,
죽상동맥경화증, 동맥경화증, 또는 관상동맥 심질환(관동맥성 심장병)을
포함하는, 조성물.

[도1]



[도2]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2016/015555

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 14/605(2006.01)i, A61K 38/26(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K 14/605; A61P 25/00; A61K ; A61K 38/26; A61K 38/16

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
 Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above
 Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: glucagon, GLP-1, GIP, triple activator, metabolic syndrome

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2013-0203659 A1 (MIRANDA et al.) 08 August 2013 See paragraphs [0011], [0189], [0238], [0439]-[0443], [0453], [0465], [0481]; claims 1, 24-25; and table 2.	1-24
A	US 2012-0329715 A (GREIG et al.) 27 December 2012 See abstract; and claims 88, 95-97.	1-24
A	WO 2004-093823 A2 (ELI LILLY AND COMPANY) 04 November 2004 See abstract; and claims 1-4.	1-24
A	KR 10-2014-0018462 A (HANMI PHARM. CO., LTD.) 13 February 2014 See abstract; paragraphs [0122]-[0123]; and claims 1, 8.	1-24
A	DRUCKER et al., "The Incretin System: Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists and Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors in Type 2 Diabetes", The Lancet, 2006, vol. 368, no. 11, pages 1696-1705 See abstract; and figure 2.	1-24



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 APRIL 2017 (10.04.2017)

Date of mailing of the international search report

10 APRIL 2017 (10.04.2017)

Name and mailing address of the ISA/KR


 Korean Intellectual Property Office
 Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
 Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2016/015555

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 2013-0203659 A1	08/08/2013	AU 2007-240313 A1 AU 2007-240313 B2 CA 2648936 A1 CA 2648936 C CA 2800389 A1 EP 2007804 A2 EP 2007804 B1 EP 2573111 A1 EP 2574624 A1 ES 2495741 T3 JP 2009-534423 A JP 2012-116864 A MX 2008013304 A US 2010-0048468 A1 US 8288339 B2 WO 2007-124461 A2 WO 2007-124461 A3 WO 2007-124461 A8	01/11/2007 02/02/2012 01/11/2007 09/07/2013 01/11/2007 31/12/2008 18/06/2014 27/03/2013 03/04/2013 17/09/2014 24/09/2009 21/06/2012 27/10/2008 25/02/2010 16/10/2012 01/11/2007 05/06/2008 05/12/2013
US 2012-0329715 A1	27/12/2012	AT 408414 T AT 536881 T AU 2002-317599 B2 AU 2008-202893 A1 AU 2008-202893 B2 CA 2455963 A1 EP 1411968 A2 EP 1411968 A4 EP 1411968 B1 EP 2022505 A2 EP 2022505 A3 EP 2022505 B1 EP 2275117 A1 EP 2275117 B1 JP 2005-501058 A JP 2010-090129 A JP 2013-139447 A JP 5631578 B2 JP 5695097 B2 US 2004-0242853 A1 US 2009-0253625 A1 US 2015-0072930 A1 US 7576050 B2 US 8278272 B2 US 8853160 B2 WO 03-011892 A2 WO 2003-011892 A3	15/10/2008 15/12/2011 03/04/2008 24/07/2008 12/01/2012 13/02/2003 28/04/2004 15/06/2005 17/09/2008 11/02/2009 27/05/2009 14/12/2011 19/01/2011 26/10/2016 13/01/2005 22/04/2010 18/07/2013 26/11/2014 01/04/2015 02/12/2004 08/10/2009 12/03/2015 18/08/2009 02/10/2012 07/10/2014 13/02/2003 26/02/2004
WO 2004-093823 A2	04/11/2004	AU 2004-231461 A1 AU 2004-231461 B2	04/11/2004 12/11/2009

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2016/015555

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
		BR P10407936 A CA 2518336 A1 CN 1832959 A DK 1605897 T3 EA 009366 B1 EC SP056025 A EP 1605897 A2 EP 1605897 A4 EP 1605897 B1 ES 2390270 T3 HR 20050683 A2 HR P20050683 A2 IL 170437 A IL 203320 A JP 2006-520818 A KR 10-0733940 B1 KR 10-2005-0111386 A MX PA05009940 A NO 20054310 A NO 20054310 D NZ 541534 A PT 1605897 E SI 1605897 T1 UA 92451 C2 US 2008-0113905 A1 US 7557183 B2 WO 2004-093823 A3	21/02/2006 04/11/2004 13/09/2006 20/08/2012 28/12/2007 27/01/2006 21/12/2005 04/08/2010 25/07/2012 08/11/2012 31/07/2006 31/07/2006 21/02/2006 31/10/2010 14/09/2006 29/06/2007 24/11/2005 05/12/2005 16/11/2005 19/09/2005 30/05/2008 10/09/2012 30/11/2012 10/11/2010 15/05/2008 07/07/2009 22/12/2005
KR 10-2014-0018462 A	13/02/2014	AU 2013-293714 A1 CA 2888407 A1 CN 104507492 A EP 2884994 A1 US 2015-0182593 A1 WO 2014-017843 A1	30/01/2014 30/01/2014 08/04/2015 24/06/2015 02/07/2015 30/01/2014

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C07K 14/605(2006.01)i, A61K 38/26(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C07K 14/605; A61P 25/00; A61K ; A61K 38/26; A61K 38/16

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 글루카곤, GLP-1, GIP, 삼중활성체, 대사증후군

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	US 2013-0203659 A1 (MIRANDA 등) 2013.08.08 단락 [0011], [0189], [0238], [0439]-[0443], [0453], [0465], [0481]; 청구항 1, 24-25; 및 표 2 참조.	1-24
A	US 2012-0329715 A (GREIG 등) 2012.12.27 요약; 및 청구항 88, 95-97 참조.	1-24
A	WO 2004-093823 A2 (ELI LILLY AND COMPANY) 2004.11.04 요약; 및 청구항 1-4 참조.	1-24
A	KR 10-2014-0018462 A (한미약품 주식회사) 2014.02.13 요약; 단락 [0122]-[0123]; 및 청구항 1, 8 참조.	1-24
A	DRUCKER 등, 'The Incretin system: Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists and Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors in Type 2 Diabetes', The Lancet, 2006, 368권, 11호, 페이지 1696-1705 요약; 및 도면 2 참조.	1-24

 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후
에 공개된 선출원 또는 특허 문헌“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일
또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지
않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된
문헌“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신
규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과
조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명
은 진보성이 없는 것으로 본다.

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일

2017년 04월 10일 (10.04.2017)

국제조사보고서 발송일

2017년 04월 10일 (10.04.2017)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

대한민국 특허청

(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

김승범

전화번호 +82-42-481-3371



제1기재란 핵산염기 및/또는 아미노산 서열(첫 번째 용지의 1.c의 계속)

1. 국제출원에 개시된 핵산염기 및/또는 아미노산 서열과 관련하여, 국제조사는 아래에 기초하여 수행되었습니다.

- a. 아래의 형태로 출원시 국제출원의 일부를 구성하는 서열목록
 부록 C/ST.25 텍스트 파일
 서면 혹은 이미지 파일
- b. PCT 규칙 13의 3.1(a)에 따라 국제출원과 함께 국제조사만을 목적으로 부록 C/ST.25 텍스트 파일의 형태로 제출된 서열목록
- c. 국제조사만을 목적으로 국제출원일 이후에 아래 형태로 제출된 서열목록
 부록 C/ST.25 텍스트 파일 (규칙 13의 3.1(a))
 서면 혹은 이미지 파일 (규칙 제13의 3.1(b) 및 시행세칙 713)
2. 추가로 서열목록에 대하여 하나 이상의 버전이나 사본이 제출된 경우, 후속 버전 또는 추가된 사본에 기재되어 있는 정보가 출원시 출원의 일부를 구성하는 정보와 동일하거나 또는 출원시의 개시범위를 벗어나지 않는다는 진술서가 제출되었습니다.
3. 추가 의견:

국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

US 2013-0203659 A1	2013/08/08	AU 2007-240313 A1 AU 2007-240313 B2 CA 2648936 A1 CA 2648936 C CA 2800389 A1 EP 2007804 A2 EP 2007804 B1 EP 2573111 A1 EP 2574624 A1 ES 2495741 T3 JP 2009-534423 A JP 2012-116864 A MX 2008013304 A US 2010-0048468 A1 US 8288339 B2 WO 2007-124461 A2 WO 2007-124461 A3 WO 2007-124461 A8	2007/11/01 2012/02/02 2007/11/01 2013/07/09 2007/11/01 2008/12/31 2014/06/18 2013/03/27 2013/04/03 2014/09/17 2009/09/24 2012/06/21 2008/10/27 2010/02/25 2012/10/16 2007/11/01 2008/06/05 2013/12/05
US 2012-0329715 A1	2012/12/27	AT 408414 T AT 536881 T AU 2002-317599 B2 AU 2008-202893 A1 AU 2008-202893 B2 CA 2455963 A1 EP 1411968 A2 EP 1411968 A4 EP 1411968 B1 EP 2022505 A2 EP 2022505 A3 EP 2022505 B1 EP 2275117 A1 EP 2275117 B1 JP 2005-501058 A JP 2010-090129 A JP 2013-139447 A JP 5631578 B2 JP 5695097 B2 US 2004-0242853 A1 US 2009-0253625 A1 US 2015-0072930 A1 US 7576050 B2 US 8278272 B2 US 8853160 B2 WO 03-011892 A2 WO 2003-011892 A3	2008/10/15 2011/12/15 2008/04/03 2008/07/24 2012/01/12 2003/02/13 2004/04/28 2005/06/15 2008/09/17 2009/02/11 2009/05/27 2011/12/14 2011/01/19 2016/10/26 2005/01/13 2010/04/22 2013/07/18 2014/11/26 2015/04/01 2004/12/02 2009/10/08 2015/03/12 2009/08/18 2012/10/02 2014/10/07 2003/02/13 2004/02/26
WO 2004-093823 A2	2004/11/04	AU 2004-231461 A1 AU 2004-231461 B2	2004/11/04 2009/11/12

국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

BR PI0407936 A	2006/02/21
CA 2518336 A1	2004/11/04
CN 1832959 A	2006/09/13
DK 1605897 T3	2012/08/20
EA 009366 B1	2007/12/28
EC SP056025 A	2006/01/27
EP 1605897 A2	2005/12/21
EP 1605897 A4	2010/08/04
EP 1605897 B1	2012/07/25
ES 2390270 T3	2012/11/08
HR 20050683 A2	2006/07/31
HR P20050683 A2	2006/07/31
IL 170437 A	2006/02/21
IL 203320 A	2010/10/31
JP 2006-520818 A	2006/09/14
KR 10-0733940 B1	2007/06/29
KR 10-2005-0111386 A	2005/11/24
MX PA05009940 A	2005/12/05
NO 20054310 A	2005/11/16
NO 20054310 D	2005/09/19
NZ 541534 A	2008/05/30
PT 1605897 E	2012/09/10
SI 1605897 T1	2012/11/30
UA 92451 C2	2010/11/10
US 2008-0113905 A1	2008/05/15
US 7557183 B2	2009/07/07
WO 2004-093823 A3	2005/12/22

KR 10-2014-0018462 A 2014/02/13

AU 2013-293714 A1	2014/01/30
CA 2888407 A1	2014/01/30
CN 104507492 A	2015/04/08
EP 2884994 A1	2015/06/24
US 2015-0182593 A1	2015/07/02
WO 2014-017843 A1	2014/01/30

摘要

本发明涉及对胰高血糖素、GLP-1 和 GIP 受体全部都具有活性的三重激动剂的长效缀合物及其用途。