

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-502749
(P2025-502749A)

(43)公表日 令和7年1月28日(2025.1.28)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	38/16 (2006.01)	A 6 1 K	38/16		4 C 0 7 6
A 6 1 K	38/26 (2006.01)	A 6 1 K	38/26	Z N A	4 C 0 8 4
A 6 1 P	1/16 (2006.01)	A 6 1 P	1/16		4 H 0 4 5
A 6 1 K	47/60 (2017.01)	A 6 1 K	47/60		
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全78頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-538421(P2024-538421)		(71)出願人	515022445	
(86)(22)出願日	令和4年12月22日(2022.12.22)			ハンミ ファーマシューティカル カンパ	
(85)翻訳文提出日	令和6年6月24日(2024.6.24)			ニー リミテッド	
(86)国際出願番号	PCT/KR2022/021130			大韓民国 1 8 5 3 6 キョンギード フ	
(87)国際公開番号	WO2023/121371			ァソーンシ パルタンーミョン ムハー口	
(87)国際公開日	令和5年6月29日(2023.6.29)			2 1 4	
(31)優先権主張番号	10-2021-0185350		(74)代理人	100103610	
(32)優先日	令和3年12月22日(2021.12.22)			弁理士 ▲吉▼田 和彦	
(33)優先権主張国・地域又は機関	韓国(KR)		(74)代理人	100109070	
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ			弁理士 須田 洋之	
	,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),		(74)代理人	100119013	
	EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(			弁理士 山崎 一夫	
	AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,		(74)代理人	100111796	
	FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV			弁理士 服部 博信	
	最終頁に続く		(74)代理人	100123766	
				最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 肝臓標的薬物及びその用途

(57)【要約】

本発明は、肝臓標的薬物及びその肝臓における薬物作用が必要な疾患に対する治療的用途に関する。また、本発明は、グルカゴンに対して活性を有する物質を用いて肝組織への標的化又は体内投与後に肝組織における分布増大を誘導する方法に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】

肝臓標的薬物を含む、投与された個体の体内臓器中、前記薬物の肝臓における分布度が高い、薬学的組成物であって、

前記肝臓標的薬物は、下記一般式1で示されるアミノ酸配列を含むペプチドである、薬学的組成物：

X a a 1 - X a a 2 - X a a 3 - G l y - T h r - P h e - X a a 7 - S e r - A s p
- X a a 1 0 - S e r - X a a 1 2 - X a a 1 3 - X a a 1 4 - X a a 1 5 - X a a 1 6
- X a a 1 7 - X a a 1 8 - X a a 1 9 - X a a 2 0 - X a a 2 1 - P h e - X a a 2 3
- X a a 2 4 - T r p - L e u - X a a 2 7 - X a a 2 8 - X a a 2 9 - X a a 3 0 - R 10
1 (一般式1、配列番号103)

前記一般式1において、

X a a 1 はヒスチジン (H i s , H)、4-イミダゾアセチル (C A)、又はチロシン (T y r , Y) であり、

X a a 2 はグリシン (G l y , G)、アルファ-メチル-グルタミン酸、又は A i b (a m i n o i s o b u t y r i c a c i d) であり、

X a a 3 はグルタミン酸 (G l u , E) 又はグルタミン (G l n , Q) であり、

X a a 7 はスレオニン (T h r , T) 又はイソロイシン (I l e , I) であり、

X a a 1 0 はロイシン (L e u , L)、チロシン (T y r , Y)、リシン (L y s , K)、システイン (C y s , C)、又はバリン (V a l , V) であり、 20

X a a 1 2 はリシン (L y s , K)、セリン (S e r , S)、又はイソロイシン (I l e , I) であり、

X a a 1 3 はグルタミン (G l n , Q)、チロシン (T y r , Y)、アラニン (A l a , A)、又はシステイン (C y s , C) であり、

X a a 1 4 はロイシン (L e u , L)、メチオニン (M e t , M)、又はチロシン (T y r , Y) であり、

X a a 1 5 はシステイン (C y s , C)、アスパラギン酸 (A s p , D)、グルタミン酸 (G l u , E)、又はロイシン (L e u , L) であり、

X a a 1 6 はグリシン (G l y , G)、グルタミン酸 (G l u , E)、又はセリン (S e r , S) であり、 30

X a a 1 7 はグルタミン (G l n , Q)、アルギニン (A r g , R)、イソロイシン (I l e , I)、グルタミン酸 (G l u , E)、システイン (C y s , C)、又はリシン (L y s , K) であり、

X a a 1 8 はアラニン (A l a , A)、グルタミン (G l n , Q)、アルギニン (A r g , R)、又はヒスチジン (H i s , H) であり、

X a a 1 9 はアラニン (A l a , A)、グルタミン (G l n , Q)、システイン (C y s , C)、又はバリン (V a l , V) であり、

X a a 2 0 はリシン (L y s , K)、グルタミン (G l n , Q)、又はアルギニン (A r g , R) であり、

X a a 2 1 はグルタミン酸 (G l u , E)、グルタミン (G l n , Q)、ロイシン (L e u , L)、システイン (C y s , C)、又はアスパラギン酸 (A s p , D) であり、 40

X a a 2 3 はイソロイシン (I l e , I) 又はバリン (V a l , V) であり、

X a a 2 4 はアラニン (A l a , A)、グルタミン (G l n , Q)、システイン (C y s , C)、アスパラギン (A s n , N)、アスパラギン酸 (A s p , D)、又はグルタミン酸 (G l u , E) であり、

X a a 2 7 はバリン (V a l , V)、ロイシン (L e u , L)、リシン (L y s , K) 又はメチオニン (M e t , M) であり、

X a a 2 8 はシステイン (C y s , C)、リシン (L y s , K)、アラニン (A l a , A)、アスパラギン (A s n , N)、又はアスパラギン酸 (A s p , D) であり、

X a a 2 9 はシステイン (C y s , C)、グリシン (G l y , G)、グルタミン (G l 50

n, Q)、スレオニン (Thr, T)、グルタミン酸 (Glu, E)、又はヒスチジン (His, H) であり、

Xaa30はシステイン (Cys, C)、グリシン (Gly, G)、リシン (Lys, K)、又はヒスチジン (His, H) であるか、存在せず、

R1はシステイン (Cys, C)、GKKNDWKHNIT (配列番号106)、m-SSGAPPPS-n (配列番号107)、又はm-SSGQPPPS-n (配列番号108) であるか、存在せず、

ここで、

mはCys、Pro又はGly-Proであり、

nはCys、Gly、Ser又はHis-Glyであるか、存在しない。

10

【請求項2】

前記ペプチドは持続型結合体の形態であり、前記持続型結合体は下記化学式1で示される、請求項1に記載の薬学的組成物：

【化学式1】

X-L-F

ここで、

Xは、前記一般式1のアミノ酸配列を含むペプチドであり；

Lは、エチレングリコール繰り返し単位を含有するリンカーであり；

Fは、免疫グロブリンFc領域であり、

-は、XとLとの間、LとFとの間の共有結合連結を示す。

20

【請求項3】

前記体内臓器は、肝臓、心臓、肺、大腸、脾臓、すい臓、脂肪組織、小腸、胃、筋肉、腎臓及び脳であり、前記各臓器中、肝臓における分布度が最も高いものである、請求項1又は2に記載の薬学的組成物。

【請求項4】

前記薬学的組成物は、肝臓における薬物作用が必要な疾患の予防又は治療に使用するための、請求項1又は2に記載の薬学的組成物。

【請求項5】

前記肝臓標的薬物は、投与後の肝臓におけるT/S比率 (tissue-to-serum ratio) が下記から選択された一つ以上である、請求項1又は2に記載の薬学的組成物：

30

(a) 投与後2時間～5時間でT/S比率が25%～50%；

(b) 投与後40時間～50時間でT/S比率が40%～60%；及び

(c) 投与後160時間～180時間でT/S比率が45%～75%。

【請求項6】

前記肝臓標的薬物は、投与後の肝臓におけるT/S比率が下記から選択された一つ以上である、請求項5に記載の薬学的組成物：

(a) 投与後4時間でT/S比率が35%～45%；

(b) 投与後2日でT/S比率が45%～55%；及び

(c) 投与後7日でT/S比率が55%～70%。

40

【請求項7】

前記肝臓標的薬物は、投与後の肺組織に比した肝臓における分布比が1：2～4である、請求項1又は2に記載の薬学的組成物。

【請求項8】

前記肝臓標的薬物は、投与後の肺組織に比した肝臓における分布比が1：3～4である、請求項7に記載の薬学的組成物。

【請求項9】

前記肝臓標的薬物は、投与後の肺組織に比した肝臓における分布比が1：3.5～4である、請求項8に記載の薬学的組成物。

【請求項10】

50

前記分布比は、投与後 40 時間～180 時間における分布比である、請求項 7 に記載の薬学的組成物。

【請求項 11】

前記分布比は、投与後 2 日～7 日における分布比である、請求項 9 に記載の薬学的組成物。

【請求項 12】

前記肝臓標的薬物は、

(a) 投与後 2 時間～5 時間で心臓に比した肝臓における分布比が 1 : 1.5 ~ 3.0 であり；

(b) 投与後 40 時間～50 時間で心臓に比した肝臓における分布比が 1 : 2.0 ~ 3.0 であり；及び

(c) 投与後 160 時間～180 時間で心臓に比した肝臓における分布比が 1 : 5.5 ~ 7.0 である、請求項 1 又は 2 に記載の薬学的組成物。

【請求項 13】

前記肝臓標的薬物は、肝臓疾患に治療的活性を有する、請求項 1 又は 2 に記載の薬学的組成物。

【請求項 14】

Xaa14 はロイシン又はメチオニンであり、

Xaa15 はシステイン、アスパラギン酸、又はロイシンである、請求項 1 又は 2 に記載の薬学的組成物。

【請求項 15】

前記一般式 1 において、

Xaa2 はグリシン、アルファ-メチル-グルタミン酸、又は Aib であり、

Xaa7 はスレオニンであり、

Xaa10 はチロシン、システイン、又はバリンであり、

Xaa12 はリシン又はイソロイシンであり、

Xaa13 はチロシン、アラニン、グルタミン、又はシステインであり、

Xaa14 はロイシン、チロシン、又はメチオニンであり、

Xaa15 はシステイン、ロイシン、グルタミン酸、又はアスパラギン酸であり、

Xaa17 はグルタミン、アルギニン、イソロイシン、システイン、グルタミン酸、又はリシンであり、

Xaa18 はアラニン、グルタミン、アルギニン、又はヒスチジンであり、

Xaa19 はアラニン、グルタミン、バリン、又はシステインであり、

Xaa20 はリシン、アルギニン、又はグルタミンであり、

Xaa21 はグルタミン酸、グルタミン、ロイシン、システイン、又はアスパラギン酸であり、

Xaa23 はイソロイシン又はバリンであり、

Xaa24 はシステイン、アラニン、グルタミン、アスパラギン、グルタミン酸、又はアスパラギン酸であり、

Xaa27 はロイシン又はリシンである、請求項 1 又は 2 に記載の薬学的組成物。

【請求項 16】

前記ペプチドは、下記一般式 2 で示されるアミノ酸配列を含むペプチドである、請求項 1 又は 2 に記載の薬学的組成物：

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 (一般式 2、配列番号 104)

前記一般式 2 において、

X a a 1 は 4 - イミダゾアセチル、ヒスチジン、又はチロシンであり、
X a a 2 はグリシン、アルファ - メチル - グルタミン酸、又は A i b であり、
X a a 1 0 はチロシン、又はシステインであり、
X a a 1 3 はアラニン、グルタミン、チロシン、又はシステインであり、
X a a 1 4 はロイシン、メチオニン、又はチロシンであり、
X a a 1 5 はアスパラギン酸、グルタミン酸、又はロイシンであり、
X a a 1 6 はグリシン、グルタミン酸、又はセリンであり、
X a a 1 7 はグルタミン、アルギニン、イソロイシン、グルタミン酸、システイン、又は
リシンであり、

10

X a a 1 8 はアラニン、グルタミン、アルギニン、又はヒスチジンであり、
X a a 1 9 はアラニン、グルタミン、システイン、又はバリンであり、
X a a 2 0 はリシン、グルタミン、又はアルギニンであり、
X a a 2 1 はシステイン、グルタミン酸、グルタミン、ロイシン、又はアスパラギン酸
であり、
X a a 2 3 はイソロイシン又はバリンであり、
X a a 2 4 はシステイン、アラニン、グルタミン、アスパラギン、又はグルタミン酸で
あり、

X a a 2 8 はリシン、システイン、アスパラギン、又はアスパラギン酸であり、
X a a 2 9 はグリシン、グルタミン、システイン、又はヒスチジンであり、
X a a 3 0 はシステイン、グリシン、リシン、又はヒスチジンであり、
X a a 3 1 はプロリン又はシステインであり、
X a a 4 0 はシステインであるか、存在しない。

20

【請求項 1 7】

前記一般式 1 において、

X a a 2 はグリシン、アルファ - メチル - グルタミン酸、又は A i b であり、
X a a 7 はスレオニンであり、
X a a 1 0 はチロシン、システイン、又はバリンであり、
X a a 1 2 はリシン又はイソロイシンであり、
X a a 1 3 はチロシン、アラニン、又はシステインであり、
X a a 1 4 はロイシン又はメチオニンであり、
X a a 1 5 はシステイン又はアスパラギン酸であり、
X a a 1 7 はグルタミン、アルギニン、イソロイシン、システイン、又はリシンであり

30

、
X a a 1 8 はアラニン、アルギニン、又はヒスチジンであり、
X a a 1 9 はアラニン、グルタミン、又はシステインであり、
X a a 2 0 はリシン又はグルタミンであり、
X a a 2 1 はグルタミン酸、システイン、又はアスパラギン酸であり、
X a a 2 3 はバリンであり、
X a a 2 4 はアラニン、グルタミン、システイン、アスパラギン、又はアスパラギン酸
であり、

40

X a a 2 7 はロイシン又はリシンである、

請求項 1 又は 2 に記載の薬学的組成物。

【請求項 1 8】

前記一般式 2 において、

X a a 1 3 はアラニン、チロシン、又はシステインであり、
X a a 1 5 はアスパラギン酸又はグルタミン酸であり、
X a a 1 7 はグルタミン、アルギニン、システイン、又はリシンであり、
X a a 1 8 はアラニン、アルギニン、又はヒスチジンであり、
X a a 2 1 はシステイン、グルタミン酸、グルタミン、又はアスパラギン酸であり、
X a a 2 3 はイソロイシン又はバリンであり、

50

X a a 2 4 はシステイン、グルタミン、又はアスパラギンであり、
X a a 2 8 はシステイン、アスパラギン、又はアスパラギン酸であり、
X a a 2 9 はグルタミン、システイン、又はヒスチジンであり、
X a a 3 0 はシステイン、リシン、又はヒスチジンである、
請求項 1 6 に記載の薬学的組成物。

【請求項 1 9】

前記一般式 1 において、

X a a 2 はアルファ-メチル-グルタミン酸又は A i b であり、
X a a 7 はスレオニンであり、
X a a 1 0 はチロシン又はシステインであり、
X a a 1 2 はリシン又はイソロイシンであり、
X a a 1 3 はチロシン、アラニン、又はシステインであり、
X a a 1 4 はロイシン又はメチオニンであり、
X a a 1 5 はシステイン又はアスパラギン酸であり、
X a a 1 6 はグルタミン酸であり、
X a a 1 7 はアルギニン、イソロイシン、システイン、又はリシンであり、
X a a 1 8 はアラニン、アルギニン、又はヒスチジンであり、
X a a 1 9 はアラニン、グルタミン、又はシステインであり、
X a a 2 0 はリシン又はグルタミンであり、
X a a 2 1 はグルタミン酸又はアスパラギン酸であり、
X a a 2 3 はバリンであり、
X a a 2 4 はグルタミン、アスパラギン、又はアスパラギン酸であり、
X a a 2 7 はロイシンであり、
X a a 2 8 はシステイン、アラニン、アスパラギン、又はアスパラギン酸である、
請求項 1 又は 2 に記載の薬学的組成物。

10

20

【請求項 2 0】

前記一般式 1 において、

X a a 1 はヒスチジン又は 4-イミダゾアセチルであり、
X a a 2 はアルファ-メチル-グルタミン酸又は A i b であり、
X a a 3 はグルタミンであり、
X a a 7 はスレオニンであり、
X a a 1 0 はチロシンであり、
X a a 1 2 はイソロイシンであり、
X a a 1 3 はアラニン又はシステインであり、
X a a 1 4 はメチオニンであり、
X a a 1 5 はアスパラギン酸であり、
X a a 1 6 はグルタミン酸であり、
X a a 1 7 はイソロイシン又はリシンであり、
X a a 1 8 はアラニン又はヒスチジンであり、
X a a 1 9 はグルタミン又はシステインであり、
X a a 2 0 はリシンであり、
X a a 2 1 はアスパラギン酸であり、
X a a 2 3 はバリンであり、
X a a 2 4 はアスパラギンであり、
X a a 2 7 はロイシンであり、
X a a 2 8 はアラニン又はアスパラギンであり、
X a a 2 9 はグルタミン又はスレオニンであり、
X a a 3 0 はシステイン又はリシンであるか、存在しない、
請求項 1 又は 2 に記載の薬学的組成物。

30

40

【請求項 2 1】

50

前記ペプチドは、下記一般式 3 のアミノ酸配列を含むペプチドである、請求項 1 又は 2 に記載の薬学的組成物：

X a a 1 - X a a 2 - G l n - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - T y r - S e r - L y s - X a a 1 3 - L e u - A s p - G l u - X a a 1 7 - X a a 1 8 - X a a 1 9 - L y s - X a a 2 1 - P h e - V a l - X a a 2 4 - T r p - L e u - L e u - X a a 2 8 - X a a 2 9 - X a a 3 0 - X a a 3 1 - S e r - S e r - G l y - G l n - P r o - P r o - P r o - S e r - X a a 4 0 (一般式 3、配列番号 1 0 5)、

前記一般式 3 において、

X a a 1 はヒスチジン又はチロシンであり、

X a a 2 はアルファ-メチル-グルタミン酸又は A i b であり、

X a a 1 3 はアラニン、チロシン又はシステインであり、

X a a 1 7 はアルギニン、システイン、又はリシンであり、

X a a 1 8 はアラニン又はアルギニンであり、

X a a 1 9 はアラニン又はシステインであり、

X a a 2 1 はグルタミン酸又はアスパラギン酸であり、

X a a 2 4 はグルタミン又はアスパラギンであり、

X a a 2 8 はシステイン又はアスパラギン酸であり、

X a a 2 9 はシステイン、ヒスチジン、又はグルタミンであり、

X a a 3 0 はシステイン又はヒスチジンであり、

X a a 3 1 はプロリン又はシステインであり、

X a a 4 0 はシステイン又は存在しない。

【請求項 2 2】

前記 R 1 は、システイン、G K K N D W K H N I T (配列番号 1 0 6)、C S S G Q P P P S (配列番号 1 0 9)、G P S S G A P P P S (配列番号 1 1 0)、G P S S G A P P P S C (配列番号 1 1 1)、P S S G A P P P S (配列番号 1 1 2)、P S S G A P P P S G (配列番号 1 1 3)、P S S G A P P P S H G (配列番号 1 1 4)、P S S G A P P P S S (配列番号 1 1 5)、P S S G Q P P P S (配列番号 1 1 6)、又は P S S G Q P P P S C (配列番号 1 1 7) であるか、存在しない、請求項 1 又は 2 に記載の薬学的組成物。

【請求項 2 3】

前記ペプチドは、配列番号：1～102 からなる群から選択されたアミノ酸配列を含む、請求項 1 又は 2 に記載の薬学的組成物。

【請求項 2 4】

前記一般式 1 の X a a 1 6 アミノ酸と X a a 2 0 アミノ酸は、互いに環を形成する、請求項 1 又は 2 に記載の薬学的組成物。

【請求項 2 5】

前記ペプチドは、その C 末端がアミド化するか、又は遊離カルボキシル基 (-C O O H) を有する、請求項 1 又は 2 に記載の薬学的組成物。

【請求項 2 6】

前記ペプチドは、その C 末端がアミド化された、請求項 2 2 に記載の薬学的組成物。

【請求項 2 7】

前記ペプチドは、その C 末端がアミド化された、請求項 2 3 に記載の薬学的組成物。

【請求項 2 8】

前記 F は、I g G F c 領域である、請求項 2 に記載の薬学的組成物。

【請求項 2 9】

前記 L は、ポリエチレングリコールである、請求項 2 に記載の薬学的組成物。

【請求項 3 0】

前記 L 内のエチレングリコール繰り返し単位部分の化学式量は、1～100 k D a の範囲にある、請求項 2 に記載の薬学的組成物。

【請求項 3 1】

10

20

30

40

50

前記肝臓における薬物作用が必要な疾患は、肝臓疾患である、請求項 4 に記載の薬学的組成物。

【請求項 3 2】

前記肝臓疾患は、代謝性肝疾患である、請求項 3 0 に記載の薬学的組成物。

【請求項 3 3】

前記肝疾患は、単純脂肪症、非アルコール性脂肪肝、肝臓炎症、非アルコール性非アルコール性脂肪肝、肝臓炎症、非アルコール性脂肪肝炎、胆汁うっ滞性肝疾患、肝線維症、肝硬変、肝不全及び肝臓癌からなる群から選択する少なくとも一つの疾患である、請求項 3 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 3 4】

前記前記胆汁うっ滞性肝疾患は、原発性胆汁性硬変症 (Primary biliary cirrhosis)、原発性硬化性胆管炎 (primary sclerosing cholangitis) 及びそれらの組み合わせからなる群から選択するいずれか一つである、請求項 3 3 に記載の薬学的組成物。

【請求項 3 5】

請求項 1 ～ 3 4 のいずれか一項に記載の薬学的組成物をそれを必要とする個体に投与して前記肝臓標的薬物の肝臓標的化を誘導する方法。

【請求項 3 6】

請求項 1 ～ 3 4 のいずれか一項に記載の薬学的組成物をそれを必要とする個体に投与して肝組織内で前記肝臓標的薬物の分布増大を誘導する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、肝臓標的薬物及びその肝臓における薬物作用が必要な疾患に対する治療的用途に関する。また、本発明は、肝臓標的薬物を用いて肝組織への標的化又は体内投与後に肝組織における分布増大を誘導する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

肝臓は、人間の身体で最も大きい臓器の一つであり、多様で総括的な代謝過程で重要な役割を担当する。人間が摂取する多くの植物性あるいは動物性物質、そして生体機能遂行による代謝産物中には身体に有益なものもあるが、害になる物質も多い。肝臓は、このような物質中、有益なものに対しては正しい生体利用を助ける化学的過程を行い、害になる物質に対しては化学的代謝過程を通じて尿や便を通じて安全に体外に排出されるように助ける。肝臓は、人間の身体に必要な数種のタンパク質、脂肪、炭水化物を合成して分泌させることにより生体機能に必須の役割をする。従って、肝機能が悪くなると、種々の機能異常が現われることができる。血液の凝固に関与する凝固因子の生成が不足すると、出血がよく起こり、弱い歯茎などで頻繁な出血が現れ、肝硬変症患者の場合、インスリン分解がうまくいかず、肝臓のグリコーゲン貯蔵量も不足して空腹による低血糖がもたらされたりする。また、肝臓は、細菌侵入に対する防御作用に中枢的な役割もする。特に、肝臓内の細胞中、クッパー (Kupffer) 細胞が主に異質物あるいはバクテリアを捕食する大食作用をし、体内に入ってきたウイルスを免疫体系に露出させて体内の自然な免疫作用を誘導する役割もする。また、肝細胞で合成して分泌する主な物質である胆汁は、一日に約 800-1000 cc 程度形成されるが、主成分は、水、電解質、胆汁酸、コレステロール、リン脂質、ビリルビンで構成されている。胆汁の主な機能を見ると、胆汁内の胆汁酸は、小腸で脂肪と脂溶性ビタミンを消化して吸収するのに重要な役割をし、胆汁自体が体内で生産される多くの老廃物を糞便として排泄する役割をする。多様な原因により引き起こされる肝臓における薬物作用が必要な疾患は肝疾患であり、ウイルス感染を原因とした肝炎、原発性胆汁性肝硬変症、非アルコール性脂肪肝臓疾患、肝硬変、肝硬変、肝臓癌など、多様な疾患が存在する。

【0003】

原発性胆汁性肝硬変症 (primary biliary cirrhosis, PBC) は、希少疾患で、胆道線維性狭窄と慢性胆汁うっ滞を示す慢性炎症性疾患であり、肝外胆道と肝内胆道の一部又は全部の線維性狭窄をもたらす、慢性胆汁うっ滞、胆汁性肝硬変を経て結局肝細胞が損傷して肝不全を引き起こす疾患である。中年の女性に好発し、生化学検査でアルカリリン酸分解酵素 (Alkaline phosphatase, ALP)、ガンマグルトミル転移酵素 (gamma glutamyl transpeptidase, GGT) 及びビリルビン上昇などの胆汁うっ滞型生化学検査異常を示し、90～95%の患者で抗ミトコンドリア抗体 (antimitochondrial antibody) が陽性である。原発性胆汁性肝硬変症は、現在、特別な治療薬物はなく、胆汁うっ滞性疾患で胆汁うっ滞を好転させて肝細胞を保護し、回復させる役割をするウルソデオキシコール酸 (Ursodeoxycholic acid, UDCA) などが使用され、脂肪肝を改善する薬物であるインターセプト社のオベチコール酸 (obeticholic acid) が近年米国で前記適応症として承認された。

10

【0004】

特に、非アルコール性脂肪肝臓疾患 (NAFLD, nonalcoholic steatohepatitis disease) は、アルコール摂取と関連がないにもかかわらず、アルコール肝炎と類似の組織所見を示す疾患の一種であり、非アルコール性脂肪肝 (non-alcoholic fatty liver, NAFL) から非アルコール性脂肪肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH)、肝硬変 (cirrhosis)、肝臓癌 (hepatocellular carcinomas) までを併せた疾患である。非アルコール性脂肪肝臓疾患は、肥満及び糖尿病人口が増加するにつれて共に増加している傾向であり、韓国でも年間発病率が約16%に至っている。

20

【0005】

このような非アルコール性脂肪肝臓疾患の病因としては、インスリン抵抗性、肥満、脂質毒性 (lipotoxicity)、炎症反応などのような多様な病因に起因することが知られている。そのうち、最も大きい病因としては、インスリン抵抗性が挙げられる。

【0006】

このような非アルコール性脂肪肝臓疾患を予防及び／又は治療するために、インスリン抵抗性を改善させるのに多くの努力をしている。例えば、インスリン増感剤 (insulin sensitizer) の一種であるTZD (thiazolidinediones) やメトホルミンに対する臨床試験は、現在も活発に行われている (Hepatology (2003) 38:1008-17, J Clin Invest. (2001) 108:1167-74)。

30

【0007】

一方、上述の肝疾患を治療するために、薬物を高濃度で肝臓に到達して分布させることは重要な技術的課題の一つである (韓国特許公開番号KR10-2013-0131227)。

【0008】

肝臓標的薬物は、既存の医薬品の副作用を最小化し、効能及び効果を最大化させて必要な量の薬物を効率よく伝達できるようにして薬物治療を最適化することができる。これは、目的部位に到達する薬物の量を高めて生体利用率を高め、より効果的な治療を可能にし、目的部位以外の所に伝達されないようにして副作用を減らすことができ、患者の薬物に対する反応を良くして患者の順応度の増進に大きい役割をする。

40

【先行技術文献】

【特許文献】

【0009】

【特許文献1】韓国特許公開番号KR10-2013-0131227

【特許文献2】国際特許公開第WO 97/34631号

【特許文献3】国際特許公開第96/32478号

50

【特許文献4】国際公開特許WO 2020/263063

【非特許文献】

【0010】

【非特許文献1】Hepatology (2003) 38:1008-17, J Clin Invest. (2001) 108:1167-74

【非特許文献2】Pearson et al (1988) [Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85]:2444

【非特許文献3】Rice et al., 2000, Trends Genet. 16:276-277

【非特許文献4】Needleman and Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48:443-453

【非特許文献5】Devereux, J., et al, Nucleic Acids Research 12:387 (1984)

【非特許文献6】Atschul, [S.] [F.,] [ET AL, J MOLEC BIOL 215]:403 (1990)

【非特許文献7】Guide to Huge Computers, Martin J. Bishop, [ED.,] Academic Press, San Diego, 1994

【非特許文献8】[CARILLO ETA/.] (1988) SIAM J Applied Math 48:1073

【非特許文献9】Smith and Waterman, Adv. Appl. Math (1981) 2:482

【非特許文献10】Schwartz and Dayhoff, eds., Atlas Of Protein Sequence And Structure, National Biomedical Research Foundation, pp. 353-358 (1979)

【非特許文献11】Gribskov et al (1986) Nucl. Acids Res. 14:6745

【非特許文献12】H. Neurath, R. L. Hill, The Proteins, Academic Press, New York, 1979

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

肝臓における薬物作用が必要な疾患の治療効果を高めるために、治療効果を有しながらも投与された個体の体内臓器中、前記薬物の肝臓における分布度が高い優れた肝臓標的薬剤の開発が求められる。

【課題を解決するための手段】

【0012】

本発明の一つの目的は、肝臓標的薬物を含む薬学的組成物、具体的には、肝臓標的薬物を含む投与された個体の体内臓器中、前記薬物の肝臓における分布度が高い薬学的組成物を提供することにある。

【0013】

本発明のもう一つの目的は、肝臓標的薬物を含む薬学的組成物、具体的には、肝臓標的薬物を含む肝臓における薬物作用が必要な疾患の予防又は治療用薬学的組成物を提供することにある。

【0014】

本発明の他の目的は、前記薬学的組成物又は肝組織に標的化された生理活性物質をそれを必要とする個体に投与する段階を含む、肝臓における薬物作用が必要な疾患の予防又は治療方法を提供することにある。

【0015】

10

20

30

40

50

本発明の他の目的は、前記肝臓における薬物作用が必要な疾患の予防又は治療用薬剤の製造に使用するための、前記肝臓標的薬物、具体的には、肝組織に標的化された生理活性物質の用途を提供することにある。

【0016】

本発明の他の目的は、前記肝臓標的薬物、具体的には、肝組織に標的化された生理活性物質をそれを必要とする個体に投与して肝臓標的化を誘導する方法を提供することにある。

【0017】

本発明の他の目的は、前記肝臓標的薬物、具体的には、肝組織に標的化された生理活性物質をそれを必要とする個体に投与して肝組織内で前記生理活性物質の分布増大を誘導する方法を提供することにある。

【発明の効果】

【0018】

肝細胞の受容体と結合する物質を含む本発明の薬物（例、生理活性タンパク質あるいはペプチド誘導体）は、血管から肝組織に、より効果的に到達し、生体内投与後、体内臓器中、肝臓に相対的に多く分布する生理活性物質、具体的には、グルカゴン受容体と結合力を有することにより、肝組織に相対的に多く分布する生理活性物質として提供されるだけでなく、約7日以内にも肝臓における分布度が高く、患者の投薬に対する不便を減少させながら、多様な肝臓疾患など、肝臓における薬物作用が必要な疾患の治療に適用することができる。

【発明を実施するための形態】

【0019】

本発明を具現する一態様は、肝臓標的薬物を含む薬学的組成物、具体的には、投与された個体の体内臓器中、前記薬物の肝臓における分布度が高い、薬学的組成物に関する。

【0020】

一つの実例として、前記肝臓標的薬物は、肝組織に標的化された生理活性物質であり、下記一般式1のアミノ酸配列を含むペプチド又はそれを含む持続型結合体の形態であることを特徴とする。

【0021】

一つの実例として、前記肝臓標的薬物は、下記一般式1のアミノ酸配列を含むペプチドであることを特徴とする：

【0022】

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（一般式1、配列番号103）

【0023】

前記一般式1において、

Xaa1はヒスチジン（His, H）、4-イミダゾアセチル（CA）、又はチロシン（Tyr, Y）であり、

Xaa2はグリシン（Gly, G）、アルファ-メチル-グルタミン酸、又はAib（aminoisobutyric acid）であり、

Xaa3はグルタミン酸（Glu, E）又はグルタミン（Gln, Q）であり、

Xaa7はスレオニン（Thr, T）又はイソロイシン（Ile, I）であり、

Xaa10はロイシン（Leu, L）、チロシン（Tyr, Y）、リシン（Lys, K）、システイン（Cys, C）、又はバリン（Val, V）であり、

Xaa12はリシン（Lys, K）、セリン（Ser, S）、又はイソロイシン（Ile, I）であり、

Xaa13はグルタミン（Gln, Q）、チロシン（Tyr, Y）、アラニン（Ala

10

20

30

40

50

、A)、又はシステイン (Cys, C) であり、

Xaa14はロイシン (Leu, L)、メチオニン (Met, M)、又はチロシン (Tyr, Y) であり、

Xaa15はシステイン (Cys, C)、アスパラギン酸 (Asp, D)、グルタミン酸 (Glu, E)、又はロイシン (Leu, L) であり、

Xaa16はグリシン (Gly, G)、グルタミン酸 (Glu, E)、又はセリン (Ser, S) であり、

Xaa17はグルタミン (Gln, Q)、アルギニン (Arg, R)、イソロイシン (Ile, I)、グルタミン酸 (Glu, E)、システイン (Cys, C)、又はリシン (Lys, K) であり、

Xaa18はアラニン (Ala, A)、グルタミン (Gln, Q)、アルギニン (Arg, R)、又はヒスチジン (His, H) であり、

Xaa19はアラニン (Ala, A)、グルタミン (Gln, Q)、システイン (Cys, C)、又はバリン (Val, V) であり、

Xaa20はリシン (Lys, K)、グルタミン (Gln, Q)、又はアルギニン (Arg, R) であり、

Xaa21はグルタミン酸 (Glu, E)、グルタミン (Gln, Q)、ロイシン (Leu, L)、システイン (Cys, C)、又はアスパラギン酸 (Asp, D) であり、

Xaa23はイソロイシン (Ile, I) 又はバリン (Val, V) であり、

Xaa24はアラニン (Ala, A)、グルタミン (Gln, Q)、システイン (Cys, C)、アスパラギン (Asn, N)、アスパラギン酸 (Asp, D)、又はグルタミン酸 (Glu, E) であり、

Xaa27はバリン (Val, V)、ロイシン (Leu, L)、リシン (Lys, K) 又はメチオニン (Met, M) であり、

Xaa28はシステイン (Cys, C)、リシン (Lys, K)、アラニン (Ala, A)、アスパラギン (Asn, N)、又はアスパラギン酸 (Asp, D) であり、

Xaa29はシステイン (Cys, C)、グリシン (Gly, G)、グルタミン (Gln, Q)、スレオニン (Thr, T)、グルタミン酸 (Glu, E)、又はヒスチジン (His, H) であり、

Xaa30はシステイン (Cys, C)、グリシン (Gly, G)、リシン (Lys, K)、又はヒスチジン (His, H) であるか、存在せず、

R1はシステイン (Cys, C)、GKKNDWKHNIT (配列番号106)、m-SSGAPPPS-n (配列番号107)、又はm-SSGQPPPS-n (配列番号108) であるか、存在せず、

ここで、

mはCys、Pro又はGly-Proであり、

nはCys、Gly、Ser又はHis-Glyであるか、存在しない。

【0024】

他の具体例として、前記ペプチドは持続型結合体の形態であり、前記持続型結合体は下記化学式1で示される、薬学的組成物であることを特徴とする：

【0025】

〔化学式1〕

X-L-F

【0026】

ここで、

Xは、前記一般式1のアミノ酸配列を含むペプチドであり；

Lは、エチレングリコール繰り返し単位を含有するリンカーであり；

Fは、免疫グロブリンFc領域であり、

-は、XとLとの間、LとFとの間の共有結合連結を示す。

【0027】

10

20

30

40

50

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記体内臓器は、肝臓、心臓、肺、大腸、脾臓、すい臓、脂肪組織、小腸、胃、筋肉、腎臓及び脳であり、前記各臓器中、肝臓における分布度が最も高いことを特徴とする。

【0028】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記組成物は、肝臓における薬物作用が必要な疾患の予防又は治療に使用するためのものであることを特徴とする。

【0029】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記肝臓標的薬物は、投与後の肝臓におけるT／S比率（t i s s u e - t o - s e r u m r a t i o）が下記から選択された一つ以上であることを特徴とする：（a）投与後2時間～5時間でT／S比率が25％～50％；（b）投与後40時間～50時間でT／S比率が40％～60％；及び（c）投与後160時間～180時間でT／S比率が45％～75％。

10

【0030】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記肝臓標的薬物は、投与後の肝臓におけるT／S比率（t i s s u e - t o - s e r u m r a t i o）が下記から選択された一つ以上であることを特徴とする：（a）投与後の約2時間～約5時間でT／S比率が約30％～約50％；（b）投与後の約40時間～約50時間でT／S比率が約45％～約55％；及び（c）投与後の約160時間～約180時間でT／S比率が約50％～約65％。

【0031】

20

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記肝臓標的薬物は、投与後の肝臓におけるT／S比率が下記から選択された一つ以上であることを特徴とする：（a）投与後4時間でT／S比率が35％～45％；（b）投与後2日でT／S比率が45％～55％；及び（c）投与後7日でT／S比率が55％～70％。

【0032】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記肝臓標的薬物は、投与後の肝臓におけるT／S比率が下記から選択された一つ以上であることを特徴とする：（a）投与後の約4時間でT／S比率が約41％～約43％；（b）投与後の約2日でT／S比率が約48％～約52％；及び（c）投与後の約7日でT／S比率が約60％～約65％。

30

【0033】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記肝臓標的薬物は、投与後の肺組織に比した肝臓における分布比が1：約2～約4であることを特徴とする。

【0034】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記肝臓標的薬物は、投与後の肺組織に比した肝臓における分布比が1：約3～約4であることを特徴とする。

【0035】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記肝臓標的薬物は、投与後の肺組織に比した肝臓における分布比が1：約3.5～約4であることを特徴とする。

【0036】

40

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記投与後の肺組織に比した肝臓における分布比は、投与後の約40時間～約180時間における分布比であることを特徴とする。

【0037】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記投与後の肺組織に比した肝臓における分布比は、投与後の約2日～約7日間における分布比であることを特徴とする。

【0038】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記肝臓標的薬物は、（a）投与後2時間～5時間で心臓に比した肝臓における分布比が1：1.5～3.0であり

50

；（b）投与後４０時間～５０時間で心臓に比した肝臓における分布比が１：２．０～３．０であり；及び（c）投与後１６０時間～１８０時間で心臓に比した肝臓における分布比が１：５．５～７．０であることを特徴とする。

【００３９】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記肝臓標的薬物は、投与後、体内臓器中、肝臓に相対的に多く分布するペプチド又はそれを含む持続型結合体の形態であることを特徴とする。

【００４０】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記肝臓標的薬物は、肝臓における薬物作用が必要な疾患に治療的活性を有することを特徴とする。

【００４１】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記肝臓における薬物作用が必要な疾患は、肝臓疾患であることを特徴とする。

【００４２】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記肝臓疾患は、肝臓癌であることを特徴とする。

【００４３】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記肝臓標的薬物は、グルカゴン受容体に対して結合力を有するペプチドの配列を含むタンパク質あるいはペプチドであることを特徴とする。

【００４４】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、

前記一般式１において、

X a a ２はグリシン、アルファ－メチル－グルタミン酸、又はA i bであり、

X a a ７はスレオニンであり、

X a a １０はチロシン、システイン、又はバリンであり、

X a a １２はリシン又はイソロイシンであり、

X a a １３はチロシン、アラニン、グルタミン、又はシステインであり、

X a a １４はロイシン、チロシン、又はメチオニンであり、

X a a １５はシステイン、ロイシン、グルタミン酸、又はアスパラギン酸であり、

X a a １７はグルタミン、アルギニン、イソロイシン、システイン、グルタミン酸、又はリシンであり、

X a a １８はアラニン、グルタミン、アルギニン、又はヒスチジンであり、

X a a １９はアラニン、グルタミン、バリン、又はシステインであり、

X a a ２０はリシン、アルギニン、又はグルタミンであり、

X a a ２１はグルタミン酸、グルタミン、ロイシン、システイン、又はアスパラギン酸であり、

X a a ２３はイソロイシン又はバリンであり、

X a a ２４はシステイン、アラニン、グルタミン、アスパラギン、グルタミン酸、又はアスパラギン酸であり、

X a a ２７はロイシン又はリシンであることを特徴とする。

【００４５】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記ペプチドは、下記一般式２で示されるアミノ酸配列を含むペプチドであることを特徴とする：

【００４６】

X a a １－X a a ２－G l n－G l y－T h r－P h e－T h r－S e r－A s p－X a a １０－S e r－L y s－X a a １３－X a a １４－X a a １５－X a a １６－X a a １７－X a a １８－X a a １９－X a a ２０－X a a ２１－P h e－X a a ２３－X a a ２４－T r p－L e u－L e u－X a a ２８－X a a ２９－X a a ３０－X a a ３１－S e r－S e r－G l y－G l n－P r o－P r o－P r o－S e r－X a a ４０（一般式

10

20

30

40

50

2、配列番号 104)

【0047】

前記一般式 2 において、

X a a 1 は 4-イミダゾアセチル、ヒスチジン、又はチロシンであり、

X a a 2 はグリシン、アルファ-メチル-グルタミン酸、又は A i b であり、

X a a 1 0 はチロシン、又はシステインであり、

X a a 1 3 はアラニン、グルタミン、チロシン、又はシステインであり、

X a a 1 4 はロイシン、メチオニン、又はチロシンであり、

X a a 1 5 はアスパラギン酸、グルタミン酸、又はロイシンであり、

X a a 1 6 はグリシン、グルタミン酸、又はセリンであり、

10

X a a 1 7 はグルタミン、アルギニン、イソロイシン、グルタミン酸、システイン、又はリシンであり、

X a a 1 8 はアラニン、グルタミン、アルギニン、又はヒスチジンであり、

X a a 1 9 はアラニン、グルタミン、システイン、又はバリンであり、

X a a 2 0 はリシン、グルタミン、又はアルギニンであり、

X a a 2 1 はシステイン、グルタミン酸、グルタミン、ロイシン、又はアスパラギン酸であり、

X a a 2 3 はイソロイシン又はバリンであり、

X a a 2 4 はシステイン、アラニン、グルタミン、アスパラギン、又はグルタミン酸であり、

20

X a a 2 8 はリシン、システイン、アスパラギン、又はアスパラギン酸であり、

X a a 2 9 はグリシン、グルタミン、システイン、又はヒスチジンであり、

X a a 3 0 はシステイン、グリシン、リシン、又はヒスチジンであり、

X a a 3 1 はプロリン又はシステインであり、

X a a 4 0 はシステインであるか、存在しない。

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、

前記一般式 1 において、

X a a 2 はグリシン、アルファ-メチル-グルタミン酸、又は A i b であり、

X a a 7 はスレオニンであり、

X a a 1 0 はチロシン、システイン、又はバリンであり、

30

X a a 1 2 はリシン又はイソロイシンであり、

X a a 1 3 はチロシン、アラニン、又はシステインであり、

X a a 1 4 はロイシン又はメチオニンであり、

X a a 1 5 はシステイン又はアスパラギン酸であり、

X a a 1 7 はグルタミン、アルギニン、イソロイシン、システイン、又はリシンであり

、

X a a 1 8 はアラニン、アルギニン、又はヒスチジンであり、

X a a 1 9 はアラニン、グルタミン、又はシステインであり、

X a a 2 0 はリシン又はグルタミンであり、

X a a 2 1 はグルタミン酸、システイン、又はアスパラギン酸であり、

40

X a a 2 3 はバリンであり、

X a a 2 4 はアラニン、グルタミン、システイン、アスパラギン、又はアスパラギン酸であり、

X a a 2 7 はロイシン又はリシンであることを特徴とする。

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、

前記一般式 2 において、

X a a 1 3 はアラニン、チロシン、又はシステインであり、

X a a 1 5 はアスパラギン酸又はグルタミン酸であり、

X a a 1 7 はグルタミン、アルギニン、システイン、又はリシンであり、

X a a 1 8 はアラニン、アルギニン、又はヒスチジンであり、

50

X a a 2 1 はシステイン、グルタミン酸、グルタミン、又はアスパラギン酸であり、
X a a 2 3 はイソロイシン又はバリンであり、
X a a 2 4 はシステイン、グルタミン、又はアスパラギンであり、
X a a 2 8 はシステイン、アスパラギン、又はアスパラギン酸であり、
X a a 2 9 はグルタミン、システイン、又はヒスチジンであり、
X a a 3 0 はシステイン、リシン、又はヒスチジンであることを特徴とする。

【0048】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、
前記一般式 1 において、

X a a 2 はアルファ-メチル-グルタミン酸又は A i b であり、

10

X a a 7 はスレオニンであり、

X a a 1 0 はチロシン又はシステインであり、

X a a 1 2 はリシン又はイソロイシンであり、

X a a 1 3 はチロシン、アラニン、又はシステインであり、

X a a 1 4 はロイシン又はメチオニンであり、

X a a 1 5 はシステイン又はアスパラギン酸であり、

X a a 1 6 はグルタミン酸であり、

X a a 1 7 はアルギニン、イソロイシン、システイン、又はリシンであり、

X a a 1 8 はアラニン、アルギニン、又はヒスチジンであり、

X a a 1 9 はアラニン、グルタミン、又はシステインであり、

20

X a a 2 0 はリシン又はグルタミンであり、

X a a 2 1 はグルタミン酸又はアスパラギン酸であり、

X a a 2 3 はバリンであり、

X a a 2 4 はグルタミン、アスパラギン、又はアスパラギン酸であり、

X a a 2 7 はロイシンであり、

X a a 2 8 はシステイン、アラニン、アスパラギン、又はアスパラギン酸であることを特徴とする。

【0049】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、
前記一般式 1 において、

30

X a a 1 はヒスチジン又は 4-イミダゾアセチルであり、

X a a 2 はアルファ-メチル-グルタミン酸又は A i b であり、

X a a 3 はグルタミンであり、

X a a 7 はスレオニンであり、

X a a 1 0 はチロシンであり、

X a a 1 2 はイソロイシンであり、

X a a 1 3 はアラニン又はシステインであり、

X a a 1 4 はメチオニンであり、

X a a 1 5 はアスパラギン酸であり、

X a a 1 6 はグルタミン酸であり、

40

X a a 1 7 はイソロイシン又はリシンであり、

X a a 1 8 はアラニン又はヒスチジンであり、

X a a 1 9 はグルタミン又はシステインであり、

X a a 2 0 はリシンであり、

X a a 2 1 はアスパラギン酸であり、

X a a 2 3 はバリンであり、

X a a 2 4 はアスパラギンであり、

X a a 2 7 はロイシンであり、

X a a 2 8 はアラニン又はアスパラギンであり、

X a a 2 9 はグルタミン又はスレオニンであり、

50

X a a 3 0 はシステイン又はリシンであるか、存在しないことを特徴とする。

【0050】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記ペプチドは、下記一般式3のアミノ酸配列を含むペプチドであることを特徴とする：

【0051】

X a a 1 - X a a 2 - G l n - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - T y r - S e r - L y s - X a a 1 3 - L e u - A s p - G l u - X a a 1 7 - X a a 1 8 - X a a 1 9 - L y s - X a a 2 1 - P h e - V a l - X a a 2 4 - T r p - L e u - L e u - X a a 2 8 - X a a 2 9 - X a a 3 0 - X a a 3 1 - S e r - S e r - G l y - G l n - P r o - P r o - P r o - S e r - X a a 4 0 (一般式3、配列番号105)

10

【0052】

前記一般式3において、

X a a 1 はヒスチジン又はチロシンであり、

X a a 2 はアルファ-メチル-グルタミン酸又はA i bであり、

X a a 1 3 はアラニン、チロシン又はシステインであり、

X a a 1 7 はアルギニン、システイン、又はリシンであり、

X a a 1 8 はアラニン又はアルギニンであり、

X a a 1 9 はアラニン又はシステインであり、

X a a 2 1 はグルタミン酸又はアスパラギン酸であり、

X a a 2 4 はグルタミン又はアスパラギンであり、

20

X a a 2 8 はシステイン又はアスパラギン酸であり、

X a a 2 9 はシステイン、ヒスチジン、又はグルタミンであり、

X a a 3 0 はシステイン又はヒスチジンであり、

X a a 3 1 はプロリン又はシステインであり、

X a a 4 0 はシステイン又は存在しない。

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、

前記R1はシステイン、G K K N D W K H N I T (配列番号106)、C S S G Q P P P S (配列番号109)、G P S S G A P P P S (配列番号110)、G P S S G A P P P S C (配列番号111)、P S S G A P P P S (配列番号112)、P S S G A P P P S G (配列番号113)、P S S G A P P P S H G (配列番号114)、P S S G A P P P S S (配列番号115)、P S S G Q P P P S (配列番号116)、又はP S S G Q P P P S C (配列番号117)であるか、存在しないことを特徴とする。

30

【0053】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記ペプチドは、配列番号：1～102からなる群から選択されたアミノ酸配列を含むことを特徴とする。

【0054】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記ペプチドにおいてX a a 1 6 アミノ酸とX a a 2 0 アミノ酸は、互いに環を形成することを特徴とする。

【0055】

前述した具体例のいずれか一つによる薬学的組成物として、前記ペプチドは、そのC末端がアミド化するか、又は遊離カルボキシル基(-C O O H)を有することを特徴とする。

40

【0056】

前述した具体例のいずれか一つによる組成物として、前記ペプチドのC末端がアミド化したことを特徴とする。

【0057】

前述した具体例のいずれか一つによる組成物として、前記L内のエチレングリコール繰り返し単位部分の化学式量は1～100kDaの範囲にあることを特徴とする。

【0058】

前述した具体例のいずれか一つによる組成物として、前記化学式1の構造は、下記化学

50

【0072】

前述した具体例のいずれか一つによる組成物として、前記免疫グロブリンFc領域であるFとXがグリコシル化されていないことを特徴とする。

【0073】

本発明を具現する他の一態様は、肝組織に標的化された生理活性物質、具体的には、肝臓に存在する受容体と結合力を有する物質を含み、肝組織に標的化された生理活性物質である。

【0074】

本発明を具現する他の一態様は、前記薬学的組成物又は肝組織に標的化された生理活性物質をそれを必要とする個体に投与する段階を含む、肝臓における薬物作用が必要な疾患の予防又は治療方法である。

【0075】

前述した具体例のいずれか一つによる組成物として、前記肝臓における薬物作用が必要な疾患は、肝臓疾患であることを特徴とする。

【0076】

前述した具体例のいずれか一つによる組成物として、前記肝臓疾患は、代謝性肝疾患であることを特徴とする。

【0077】

前述した具体例のいずれか一つによる組成物として、前記肝臓疾患は、単純脂肪症、非アルコール性脂肪肝、肝臓炎症、非アルコール性非アルコール性脂肪肝、肝臓炎症、非アルコール性脂肪肝、胆汁うっ滞性肝疾患、肝線維症、肝硬変、肝不全及び肝臓癌からなる群から選択された少なくとも一つの疾患であることを特徴とする。

【0078】

前述した具体例のいずれか一つによる組成物として、前記胆汁うっ滞性肝疾患は、原発性胆汁性硬変症（Primary biliary cirrhosis）、原発性硬化性胆管炎（primary sclerosing cholangitis）及びそれらの組み合わせからなる群から選択された少なくとも一つの疾患であることを特徴とする。

【0079】

本発明を具現する他の一態様は、前記肝臓における薬物作用が必要な疾患の予防又は治療用薬剤の製造に使用するための、前記肝臓標的薬物、具体的には、肝組織に標的化された生理活性物質の用途である。

【0080】

本発明を具現する他の一態様は、前記肝臓標的薬物、具体的には、肝組織に標的化された生理活性物質をそれを必要とする個体に投与して肝臓標的化を誘導する方法である。

【0081】

本発明を具現する他の一態様は、前記肝臓標的薬物、具体的には、肝組織に標的化された生理活性物質をそれを必要とする個体に投与して肝組織内で前記生理活性物質の分布増大を誘導する方法を提供することである。

【0082】

以下では、本発明をさらに詳細に説明する。

【0083】

一方、本願において開示されるそれぞれの説明及び実施形態は、それぞれの他の説明及び実施形態にも適用することができる。即ち、本願において開示された多様な要素の全ての組み合わせが本発明の範疇に属する。また、下記の具体的な記述により本発明の範疇が制限されるとは見られない。

【0084】

また、当該技術分野における通常の知識を有する者であれば、通常の実験のみを用いて本出願に記載された本発明の特定の様態に対する多数の等価物を認知又は確認することができる。また、このような等価物は、本発明に含まれることが意図される。本明細書に記

10

20

30

40

50

載された文献は、全体が参照として本願に組み込まれることができる。また、本明細書の全体にわたって多数の論文及び特許文献が参照され、その引用が表示されている。引用された論文及び特許文献の開示内容は、その全体として本明細書に参照として組み込まれ、本出願が属する技術分野の水準及び本発明の内容がより明確に説明される。

【0085】

本明細書全体を通じて、天然に存在するアミノ酸に対する通常の一文字及び3文字コードが用いられるだけでなく、A i b (α-アミノイソブチル酸)、S a r (N-methylglycine)、アルファ-メチル-グルタミン酸 (α-methyl-glutamic acid) などのような他のアミノ酸について一般的に許容される3文字コードが用いられる。また、本明細書で略語として言及されたアミノ酸はIUPAC-IUB命名法により記載された。

10

【0086】

アラニンA l a、A	アルギニンA r g、R
アスパラギンA s n、N	アスパラギン酸A s p、D
システインC y s、C	グルタミン酸G l u、E
グルタミンG l n、Q	グリシンG l y、G
ヒスチジンH i s、H	イソロイシンI l e、I
ロイシンL e u、L	リシンL y s、K
メチオニンM e t、M	フェニルアラニンP h e、F
プロリンP r o、P	セリンS e r、S
スレオニンT h r、T	トリプトファンT r p、W
チロシンT y r、Y	バリンV a l、V

20

【0087】

本明細書において「A i b」は、「2-アミノイソブチル酸 (2-aminoisobutyric acid)」又は「アミノイソブチル酸 (aminoisobutyric acid)」と混用されてもよく、2-アミノイソブチル酸 (2-aminoisobutyric acid) とアミノイソブチル酸 (aminoisobutyric acid) は、混用されてもよい。

【0088】

本発明を具現するための一態様は、肝臓標的薬物を含む組成物、例えば、薬学的組成物を提供する。具体的には、本発明を具現するための一態様は、肝臓標的薬物を含む、投与された個体の体内臓器中、前記薬物の肝臓における分布度が高い、薬学的組成物に関する。

30

【0089】

体内臓器中、肝臓における分布度が高いということは、肝臓、心臓、肺、大腸、脾臓、すい臓、脂肪組織、小腸、胃、筋肉、腎臓及び脳からなる体内臓器中、肝臓標的薬物が体内に投与された後、肝臓標的薬物の分布が肝臓で最も高いことを意味するが、これに制限されない。

【0090】

前記薬学的組成物は、肝臓における薬物作用が必要な疾患の予防又は治療に使用するための薬学的組成物であってもよい。

40

【0091】

本出願において用語、「肝臓標的薬物」とは、肝組織に標的化され得る薬物を意味する。肝組織に標的化とは、前記薬物が投与された後、他の臓器に比べて肝臓における分布が高いことを意味するが、これに制限されない。前記肝臓標的薬物は、肝臓における薬物作用が必要な疾患に対する治療的活性を有する。

【0092】

前記肝臓標的薬物は、投与後の肝臓におけるT/S比率 (tissue-to-serum ratio) が下記から選択された一つ以上であってもよいが、それに制限されない：(a) 投与後の約2時間～約5時間でT/S比率が約25%～約50%、約30%～

50

約 50%、約 35%～約 50%、約 40%～約 45%、約 41%～約 44%、又は約 42%～約 43%；(b) 投与後の約 40 時間～約 50 時間で T/S 比率が約 40%～約 60%、約 45%～約 55%、約 46%～約 54%、約 47%～約 53%、約 48%～約 53%、約 48%～約 53%、約 49%～約 52%、又は約 49%～約 51%；及び (c) 投与後の約 160 時間～約 180 時間で T/S 比率が約 45%～約 75%、約 50%～約 65%、約 55%～約 65%、約 58%～約 65%、約 59%～約 65%、約 60%～約 65%、約 61%～約 65%、約 62%～約 64%、又は約 63%～約 64%。前記特徴は、(a)、(b) 又は (c) から選択された 1 個以上、2 個以上、又は 3 個の全部であってもよいが、これに制限されない。

【0093】

前記肝臓標的薬物は、投与後の肝臓における T/S 比率が下記から選択された一つ以上であってもよいが、それに制限されない：(a) 投与後の約 4 時間で T/S 比率が約 35%～約 45%、約 40%～約 45%、約 41%～約 43%、約 42%～約 43%、又は約 42.4%；(b) 投与後の約 2 日で T/S 比率が約 45%～約 55%、約 48%～約 52%、約 49%～約 52%、約 49%～約 51%、約 50%～約 51%、又は約 50.1%；及び (c) 投与後の約 7 日で T/S 比率が約 55%～約 70%、約 60%～約 65%、約 61%～約 65%、約 62%～約 64%、約 63%～約 64%、又は約 63.7%。前記特徴は、(a)、(b) 又は (c) から選択された 1 個以上、2 個以上、又は 3 個の全部であってもよいが、これに制限されない。

【0094】

T/S 比率 (tissue-to-serum ratio) は、組織対血清の濃度割合であり、%で換算され、公知の方法を通じて測定することができる。その例として、T/S 比率 (tissue-to-serum ratio)、T/S ratio (%) は、組織濃度/血清濃度×100で計算される。濃度測定は、臓器を摘出した後、ELISA 方法などにより物質濃度を測定する。

【0095】

T/S 比率が高いほど前記組織で投与された物質が低い T/S 比率を有する組織に比べて分布が高いことを意味する。一般に、薬物が体内に投与される場合、薬物の分布度が多い臓器が肺及び心臓であるところ、肺組織及び心臓組織における分布度を肝組織と比較し、肺組織及び心臓組織に比べて肝組織における分布が多くなると、これは、本発明の肝臓標的薬物が効果的に肝組織に標的化されることを意味する。それ以外にも肝臓標的薬物が効果的に肝組織に標的化するというを確認できる T/S 比率を測定し、肝組織の T/S 比率と比較できる組織は、制限なく含まれ得る。

【0096】

前記肝臓標的薬物は、投与後の肺組織に比した肝臓における分布比が 1：約 2～約 4.2、1：約 3～約 4.2、1：約 3～約 4、1：約 3.2～約 4、1：約 3.3～約 4、1：約 3.4～約 4、1：約 3.5～約 4、1：約 3.5～約 3.9、1：約 3.5～約 3.8、1：約 3.6～約 3.8、1：約 3.6～約 3.9、又は 1：約 3.65～約 3.89 であってもよいが、これに制限されない。

【0097】

前記分布比は、T/S (%) を基に測定することができ、肺の T/S (%) を基準である 1 とすると、肝臓における T/S (%) がどのような倍数であるかにより確認することができる。

【0098】

前記投与後の肺組織に比した肝臓における分布比は、投与後の約 40 時間～約 180 時間、約 45 時間～約 170 時間、又は約 2 日～約 7 日であってもよいが、これに制限されない。

【0099】

前記投与後の肺組織に比した肝臓における分布比は、投与後の約 2 日で 1：約 3.2～約 3.9、1：約 3.6～約 3.7、約 7 日で 1：約 3.5～約 4.2、1：約 3.7～

10

20

30

40

50

3. 9、又は1：約3. 8～約3. 9の分布比であってもよいが、これに制限されない。

【0100】

前記投与後に心臓に比した肝臓における分布比は、(a)投与後2時間～5時間で心臓に比した肝臓における分布比が1：1. 5～3. 0であり；(b)投与後40時間～50時間で心臓に比した肝臓における分布比が1：2. 0～3. 0であり；及び(b)投与後の160時間～180時間で心臓に比した肝臓における分布比が1：5. 5～7. 0であってもよいが、これに制限されない。

【0101】

前記投与後に心臓に比した肝臓における分布比は、(a)投与後2時間～5時間で心臓に比した肝臓における分布比が1：約1. 5～約3. 0、1：約1. 8～約3. 0、1：約2. 0～約2. 8、1：約2. 1～約2. 5、1：約2. 2～約2. 8であり；(b)投与後の約40時間～約50時間、約45時間～約50時間、又は約2日で心臓に比した肝臓における分布比が1：約2. 0～3. 0、1：約2. 4～3. 0、1：約2. 5～3. 0、1：約2. 6～3. 0、1：約2. 7～3. 0、1：約2. 8～約3. 0、又は1：約2. 8～2. 9であり；及び(c)投与後の約160時間～約180時間、約160時間～約180時間、又は約7日で心臓に比した肝臓における分布比が1：約5. 5～約7. 0、1：約5. 8～約7. 0、1：約5. 9～約7. 0、1：約6. 0～約7. 0、1：約6. 1～約7. 0、1：約6. 2～約7. 0、1：約6. 3～約7. 0、1：約6. 4～約7. 0、1：約6. 5～約7. 0、1：約6. 5～約6. 9、1：約6. 5～約6. 8、1：約6. 5～約6. 7、1：約6. 5～約6. 6、又は1：約6. 55～約6. 6であってもよいが、これに制限されない。

【0102】

前記分布比は、 T/S (%)を基に測定することができ、心臓の T/S (%)を基準である1とする時、肝臓における T/S (%)がどのような倍数であるかにより確認することができる。

【0103】

本出願において用語、「約」は $\pm 0. 5$ 、 $\pm 0. 4$ 、 $\pm 0. 3$ 、 $\pm 0. 2$ 、 $\pm 0. 1$ 、 $\pm 0. 05$ などを全て含む範囲であり、約という用語に続く数値と同等又は類似の範囲の数値を全て含むが、これに制限されない。

【0104】

前記肝臓標的薬物は、肝組織に標的化され得る物質を含むことができる。具体的には、前記肝臓標的薬物は、肝臓標的化を誘導できるグルカゴン受容体に結合し、グルカゴン受容体、GLP-1受容体、及びGIP受容体に対して活性を有するペプチドの配列を含むものであってもよい。その例として、前記一般式1のアミノ酸配列を含むペプチド又はそれを含む持続型結合体の形態であってもよいが、これに制限されない。前記ペプチドは、グルカゴン受容体、GLP-1受容体、及びGIP受容体に対して活性を有する、ペプチドであってもよいが、これに制限されない。

【0105】

一方、本発明において肝臓標的薬物が「グルカゴン受容体に結合力を有すること」は、当該薬物を動物の血液内に伝達した時に血液から肝臓に標的化できる程度にグルカゴン受容体に結合力を有することをいう。より具体的には、当該薬物を動物の血液内に伝達した後、少なくとも1時間、少なくとも4時間、少なくとも48時間、又は少なくとも168時間で前記薬物の臓器分布比率を確認した時、心臓、肺、大腸、脾臓、すい臓、脂肪組織、小腸、胃、筋肉、腎臓、又は脳のような少なくとも一つの他の臓器に比べて肝臓に分布した比率が、約5%以上、約10%以上、約15%以上、約20%以上、約30%以上、又は約40%以上高いことを意味するが、特にこれに制限されない。

【0106】

前記「グルカゴン受容体、GLP-1受容体、及びGIP受容体に対して活性を有する、ペプチド」は、本発明において三重活性体、又は三重活性体ペプチドで混用され得る。

【0107】

このようなペプチドは、グルカゴン、G L P - 1、及びG I P受容体に対して有意なレベルの活性を有する多様な物質、例えば、多様なペプチドを含む。

【0108】

特にこれに限定されるものではないが、前記グルカゴン、G L P - 1、及びG I P受容体に対して有意なレベルの活性を有する三重活性体は、グルカゴン、G L P - 1、及びG I P受容体中の一つ又はそれ以上の受容体、具体的には、二つ又はそれ以上の受容体、より具体的には、三つの受容体の全部に対して *in vitro* 活性が当該受容体の天然型リガンド（天然型グルカゴン、天然型G L P - 1、及び天然型G I P）に比べて約0.1%以上、約1%以上、約2%以上、約3%以上、約4%以上、約5%以上、約6%以上、約7%以上、約8%以上、約9%以上、約10%以上、約20%以上、約30%以上、約40%以上、約50%以上、約60%以上、約70%以上、約80%以上、約90%以上、約100%以上を示すことができるが、これに制限されない。

10

【0109】

より具体的には、前記三重活性体は、グルカゴン受容体に対して *in vitro* 活性が天然型リガンド（天然型グルカゴン）に比べて約0.1%以上、約1%以上、約2%以上、約3%以上、約4%以上、約5%以上、約6%以上、約7%以上、約8%以上、約9%以上、約10%以上、約20%以上、約30%以上、約40%以上、約50%以上、約60%以上、約70%以上、約80%以上、約90%以上、約100%以上を示すことができるが、これに制限されない。

20

【0110】

このような三重活性体の *in vitro* 活性を測定する方法は、本願明細書の実験例1を参照することができるが、特にこれに限定されるものではない。

【0111】

一方、前記ペプチドは、下記i)～iii)中の一つ以上、二つ以上、具体的には、三つの活性を有すること、具体的には、有意な活性を有することの特徴とする：

【0112】

i) グルカゴン受容体の活性化；ii) G L P - 1受容体の活性化；及びiii) G I P受容体の活性化。

【0113】

より具体的には、グルカゴン受容体に対する活性を有し、G L P - 1受容体に対する活性及び／又はG I P受容体に対する活性を有するものであってもよいが、特にこれに制限されない。

30

【0114】

ここで、受容体を活性化するとは、天然のものに比べて、受容体に対する *in vitro* 活性が約0.1%以上、約1%以上、約2%以上、約3%以上、約4%以上、約5%以上、約6%以上、約7%以上、約8%以上、約9%以上、約10%以上、約20%以上、約30%以上、約40%以上、約50%以上、約60%以上、約70%以上、約80%以上、約90%以上、約100%以上を示す場合が例として挙げられる。しかし、これに限定されるものではない。

【0115】

なお、前記ペプチドは、天然型グルカゴン、天然型G L P - 1、及び天然型G I Pのいずれかに比べて体内半減期が延長されたものであってもよいが、特にこれに限定されるものではない。

40

【0116】

特にこれに限定されるものではないが、このような前記ペプチドは、非自然な（*non-naturally occurring*）ものであってもよい。

【0117】

一方、特にこれに限定されるものではないが、天然型グルカゴンは、次のアミノ酸配列を有することができる：

【0118】

50

H i s - S e r - G l n - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - T y r
- S e r - L y s - T y r - L e u - A s p - S e r - A r g - A r g - A l a - G l n
- A s p - P h e - V a l - G l n - T r p - L e u - M e t - A s n - T h r (配列番
号：118)

【0119】

具体的には、前記ペプチドは、天然型グルカゴン配列において少なくとも一つ以上のアミノ酸に置換 (substitution)、追加 (addition)、除去 (deletion)、修飾 (modification) 及びそれらの組み合わせから成る群から選択された変形が起きた、天然型グルカゴンのアナログであってもよいが、投与された個体の体内臓器中、前記ペプチドの肝臓における分布度が高ければ、本発明の範囲に属することができる。

10

【0120】

また、前記アミノ酸の置換は、アミノ酸での置換や非天然型化合物での置換を全て含む。

【0121】

このような方法の組み合わせにより製造されるグルカゴンのアナログの例として、天然型グルカゴンとアミノ酸配列が一つ以上異なり、N末端のアミノ酸残基のアルファ炭素が除去された、グルカゴン受容体、GLP-1受容体、及びGIP受容体に対して活性を有するペプチドなどがあるが、これに限定されず、アナログ製造のための様々な方法の組み合わせにより本発明に適用される天然型グルカゴンのアナログを製造することができる。

20

【0122】

また、特にこれに制限されないが、本発明のペプチドは、体内半減期の増加のため、活性体分解酵素の認識作用を回避するために一部のアミノ酸を他のアミノ酸あるいは非天然型化合物で置換することができる。

【0123】

具体的には、前記三重活性体のアミノ酸配列中、二番目のアミノ酸配列の置換を通じて分解酵素の認識作用を回避し、体内半減期を増加させたペプチドであってもよいが、体内分解酵素の認識作用を回避するためのアミノ酸の置換又は変更は制限なく含まれる。

【0124】

また、天然型グルカゴンのアナログの製造のためのこのような変形は、L-型あるいはD-型アミノ酸、及び／又は非天然型アミノ酸を用いた変形；及び／又は天然型配列を改質、例えば、側鎖官能基の変形、分子内共有結合、例えば、側鎖間環形成、メチル化、アシル化、ユビキチン化、リン酸化、アミノヘキサン化、ビオチン化などのように改質することにより変形することを全て含む。

30

【0125】

また、天然型グルカゴンのアミノ及び／又はカルボキシ末端に一つ又はそれ以上のアミノ酸が追加されたことを全て含む。

【0126】

前記置換又は追加されるアミノ酸は、ヒトタンパク質から通常観察される20個のアミノ酸だけでなく非定型又は非自然的発生アミノ酸を用いることができる。非定型アミノ酸の商業的出典にはSigma-Aldrich、ChemPepとGenzyme pharmaceuticalsが含まれる。このようなアミノ酸が含まれたペプチドと定形的なペプチド配列は商業化されたペプチド合成会社、例えば、米国のAmerican peptide companyやBachem、又は韓国のAnygenを通じて合成及び購買可能である。

40

【0127】

アミノ酸誘導体も同様の方式で入手することができるが、その例を一部だけ挙げると、4-イミダゾ酢酸 (4-imidazoacetic acid) などを用いることができる。

50

【0128】

一つの具体的な様態として、前記肝臓標的薬物であるグルカゴン受容体、GLP-1受容体、及びGIP受容体に対して活性を有する、ペプチドは、下記一般式1で示されたアミノ酸配列を含むことができる。

【0129】

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-R
1 (一般式1、配列番号103)

10

【0130】

前記一般式1において、

Xaa1はヒスチジン、4-イミダゾアセチル、又はチロシンであり、

Xaa2はグリシン、アルファ-メチル-グルタミン酸、又はAibであり、

Xaa3はグルタミン酸又はグルタミンであり、

Xaa7はスレオニン又はイソロイシンであり、

Xaa10はロイシン、チロシン、リシン、システイン、又はバリンであり、

Xaa12はリシン、セリン、又はイソロイシンであり、

Xaa13はグルタミン、チロシン、アラニン、又はシステインであり、

Xaa14はロイシン、メチオニン、又はチロシンであり、

20

Xaa15はシステイン、アスパラギン酸、グルタミン酸、又はロイシンであり、

Xaa16はグリシン、グルタミン酸、又はセリンであり、

Xaa17はグルタミン、アルギニン、イソロイシン、グルタミン酸、システイン、又はリシンであり、

Xaa18はアラニン、グルタミン、アルギニン、又はヒスチジンであり、

Xaa19はアラニン、グルタミン、システイン、又はバリンであり、

Xaa20はリシン、グルタミン、又はアルギニンであり、

Xaa21はグルタミン酸、グルタミン、ロイシン、システイン、又はアスパラギン酸であり、

Xaa23はイソロイシン又はバリンであり、

30

Xaa24はアラニン、グルタミン、システイン、アスパラギン、アスパラギン酸、又はグルタミン酸であり、

Xaa27はバリン、ロイシン、リシン、又はメチオニンであり、

Xaa28はシステイン、リシン、アラニン、アスパラギン、又はアスパラギン酸であり、

Xaa29はシステイン、グリシン、グルタミン、スレオニン、グルタミン酸、又はヒスチジンであり、

Xaa30はシステイン、グリシン、リシン、又はヒスチジンであるか、存在せず、

R1はシステイン、GKKNDWKHNIT (配列番号106)、m-SSGAPPPS-n (配列番号107)、又はm-SSGQPPPS-n (配列番号108) であるか、存在せず、

40

ここで、

mは-Cys-、-Pro-、又は-Gly-Pro-であり、

nは-Cys-、-Gly-、-Ser-、又は-His-Gly-であるか、存在しない。

【0131】

前記三重活性体の例として、配列番号：1～102からなる群から選択されたアミノ酸配列を含むこと、配列番号：1～102からなる群から選択されたアミノ酸配列で（必須で）構成されたものであってもよいが、これに限定されるものではない。

【0132】

50

また、本願において「特定の配列番号で構成されるペプチド」と記載されているとしても、当該配列番号のアミノ酸配列からなるペプチドと同一又は対応する活性を有する場合であれば、当該配列番号のアミノ酸配列の前後の無意味な配列の付加又は自然に生じ得る突然変異、あるいはそのサイレント突然変異 (silent mutation) を除くものではなく、このような配列の追加もしくは突然変異を有する場合にも、本願の範囲内に属することが自明である。即ち、一部の配列の差があっても、一定レベル以上の相同性又は同一性を示し、投与された個体の体内臓器中、前記ペプチドの肝臓における分布度が高ければ、本発明の範囲に属することができる。

【0133】

その例として、特定の配列番号で構成されるペプチド、又は特定の配列番号を含むペプチドと少なくとも60%以上、65%以上、70%以上、75%以上、80%以上、85%以上、90%以上、91%以上、92%以上、93%以上、94%以上、又は95%以上の配列同一性を有するペプチドも含むことができ、投与された個体の体内臓器中、前記ペプチドの肝臓における分布度が高ければ、特定の配列に制限されない。

【0134】

本出願において用語、「相同性 (homology)」又は「同一性 (identity)」は、二つの与えられたアミノ酸配列又は塩基配列と相互間の関連した程度を意味し、百分率で表すことができる。用語の相同性及び同一性は、しばしば互換的に使用することができる。

【0135】

任意の二つのペプチド配列が相同性、類似性又は同一性を有するかどうかは、例えば、Pearson et al (1988) [Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85]: 2444 でのようなデフォルトパラメータを用いて「FASTA」プログラムなどの既知のコンピュータアルゴリズムを使用して決定することができる。又は、EMBOSS パッケージのニードルマンプログラム (EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice et al., 2000, Trends Genet. 16: 276-277) (バージョン 5.0.0 又は以降のバージョン) で行われるような、ニードルマン-ウンシュ (Needleman-Wunsch) アルゴリズム (Needleman and Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48: 443-453) を使用して決定することができる。(GCG プログラムパッケージ (Devereux, J., et al, Nucleic Acids Research 12: 387 (1984))、BLASTP, BLASTN, FASTA (Atschul, [S.] [F.,] [ET AL, J MOLEC BIOL 215]: 403 (1990); Guide to Huge Computers, Martin J. Bishop, [ED.,] Academic Press, San Diego, 1994、及び [CARILLO ETA/.] (1988) SIAM J Applied Math 48: 1073 を含む)。例えば、国立生物工学情報データベースセンターの BLAST 又は ClustalW を用いて相同性、類似性又は同一性を決定することができる。

【0136】

ペプチドの相同性、類似性又は同一性は、例えば、Smith and Waterman, Adv. Appl. Math (1981) 2: 482 において公知となっているように、例えば、Needleman et al. (1970)、J Mol Biol. 48: 443 のような GAP コンピュータプログラムを用いて配列情報を比較することにより決定することができる。要約すると、GAP プログラムは、2つの配列中、より短いものにおける記号の総数であり、類似の配列された記号 (即ち、アミノ酸) の数を除いた値と定義する。GAP プログラムのためのデフォルトパラメータは、(1) 一進法比較マトリックス (同一性のために 1、そして非同一性のために 0 の値を含む) 及び Schwartz and Dayhoff, eds., Atlas Of Protein

Sequence And Structure, National Biomedical Research Foundation, pp. 353-358 (1979) により開示されているように、Gribskov et al (1986) Nucl. Acids Res. 14:6745の加重比較マトリックス (又はEDNAFULL (NCBI NUC4.4のEMBOSSバージョン) 置換マトリックス); (2) 各ギャップのための3.0のペナルティ及び各ギャップにおいて各記号のための追加の0.10ペナルティ (又はギャップ開放ペナルティ10、ギャップ延長ペナルティ0.5); 及び (3) 末端ギャップのための無ペナルティを含むことができる。従って、本発明で使用されたものとして、用語「相同性」又は「同一性」は、配列間の関連性 (relevance) を示す。

10

【0137】

以上の内容は、本発明の他の具体例あるいは他の様態にも適用され得るが、これに限定されるものではない。

【0138】

一例として、前記一般式1においてXaa14はロイシン又はメチオニンであり、Xaa15はシステイン、アスパラギン酸、又はロイシンであってもよい。

【0139】

このようなペプチドの例として、配列番号: 1~12、14~17、及び21~102からなる群から選択されたアミノ酸配列を含むか、又はこれで (必須で) 構成されたペプチドが挙げられるが、特にこれに限定されるものではない。

20

【0140】

このようなペプチドは、グルカゴン受容体、GLP-1受容体、及びGIP受容体中の一つ以上を有意に活性化させてもよいが、特にこれに限定されるものではない。具体的には、GLP-1を有意に活性化させても、さらにグルカゴン受容体及び／又はGIP受容体を有意に活性化させるものであってもよいが、特にこれに制限されない。

【0141】

また、一例として、

前記一般式1において、

Xaa2はグリシン、アルファ-メチル-グルタミン酸、又はAibであり、

Xaa7はスレオニンであり、

30

Xaa10はチロシン、システイン、又はバリンであり、

Xaa12はリシン又はイソロイシンであり、

Xaa13はチロシン、アラニン、グルタミン、又はシステインであり、

Xaa14はロイシン、チロシン、又はメチオニンであり、

Xaa15はシステイン、ロイシン、グルタミン酸、又はアスパラギン酸であり、

Xaa17はグルタミン、アルギニン、イソロイシン、システイン、グルタミン酸、又はリシンであり、

Xaa18はアラニン、グルタミン、アルギニン、又はヒスチジンであり、

Xaa19はアラニン、グルタミン、バリン、又はシステインであり、

Xaa20はリシン、アルギニン、又はグルタミンであり、

40

Xaa21はグルタミン酸、グルタミン、ロイシン、システイン、又はアスパラギン酸であり、

Xaa23はイソロイシン又はバリンであり、

Xaa24はシステイン、アラニン、グルタミン、アスパラギン、グルタミン酸、又はアスパラギン酸であり、

Xaa27はロイシン又はリシンである、ペプチドであってもよいが、特にこれに限定されるものではない。

【0142】

また、一例として、

前記一般式1において、

50

X a a 2 はグリシン、アルファ-メチル-グルタミン酸、又は A i b であり、
X a a 7 はスレオニンであり、
X a a 1 0 はチロシン、システイン、又はバリンであり、
X a a 1 2 はリシン又はイソロイシンであり、
X a a 1 3 はチロシン、アラニン、又はシステインであり、
X a a 1 4 はロイシン又はメチオニンであり、
X a a 1 5 はシステイン又はアスパラギン酸であり、
X a a 1 7 はグルタミン、アルギニン、イソロイシン、システイン、又はリシンであり

、

X a a 1 8 はアラニン、アルギニン、又はヒスチジンであり、
X a a 1 9 はアラニン、グルタミン、又はシステインであり、
X a a 2 0 はリシン又はグルタミンであり、
X a a 2 1 はグルタミン酸、システイン、又はアスパラギン酸であり、
X a a 2 3 はバリンであり、
X a a 2 4 はアラニン、グルタミン、システイン、アスパラギン、又はアスパラギン酸
であり、

X a a 2 7 はロイシン又はリシンであってもよいが、特にこれに制限されない。

【0143】

また、一例として、

前記一般式 1 において、

X a a 2 はアルファ-メチル-グルタミン酸又は A i b であり、
X a a 7 はスレオニンであり、
X a a 1 0 はチロシン又はシステインであり、
X a a 1 2 はリシン又はイソロイシンであり、
X a a 1 3 はチロシン、アラニン、又はシステインであり、
X a a 1 4 はロイシン又はメチオニンであり、
X a a 1 5 はシステイン又はアスパラギン酸であり、
X a a 1 6 はグルタミン酸であり、
X a a 1 7 はアルギニン、イソロイシン、システイン、又はリシンであり、
X a a 1 8 はアラニン、アルギニン、又はヒスチジンであり、
X a a 1 9 はアラニン、グルタミン、又はシステインであり、
X a a 2 0 はリシン又はグルタミンであり、
X a a 2 1 はグルタミン酸又はアスパラギン酸であり、
X a a 2 3 はバリンであり、
X a a 2 4 はグルタミン、アスパラギン、又はアスパラギン酸であり、
X a a 2 7 はロイシンであり、
X a a 2 8 はシステイン、アラニン、アスパラギン、又はアスパラギン酸であってもよ
い。

【0144】

また、一例として、

前記一般式 1 において、

X a a 1 はヒスチジン又は 4-イミダゾアセチルであり、
X a a 2 はアルファ-メチル-グルタミン酸又は A i b であり、
X a a 3 はグルタミンであり、
X a a 7 はスレオニンであり、
X a a 1 0 はチロシンであり、
X a a 1 2 はイソロイシンであり、
X a a 1 3 はアラニン又はシステインであり、
X a a 1 4 はメチオニンであり、
X a a 1 5 はアスパラギン酸であり、

X a a 1 6 はグルタミン酸であり、
X a a 1 7 はイソロイシン又はリシンであり、
X a a 1 8 はアラニン又はヒスチジンであり、
X a a 1 9 はグルタミン又はシステインであり、
X a a 2 0 はリシンであり、
X a a 2 1 はアスパラギン酸であり、
X a a 2 3 はバリンであり、
X a a 2 4 はアスパラギンであり、
X a a 2 7 はロイシンであり、
X a a 2 8 はアラニン又はアスパラギンであり、
X a a 2 9 はグルタミン又はスレオニンであり、
X a a 3 0 はシステイン又はリシンであるか、存在しなくてもよい。

10

【0145】

また、一例として、
前記一般式 1 において、
X a a 2 はグリシン、アルファ-メチル-グルタミン酸、又は A i b であり、
X a a 3 はグルタミンであり、
X a a 7 はスレオニンであり、
X a a 1 0 はチロシン、システイン、又はバリンであり、
X a a 1 2 はリシンであり、
X a a 1 3 はチロシンであり、
X a a 1 4 はロイシンであり、
X a a 1 5 はアスパラギン酸であり、
X a a 1 6 はグリシン、グルタミン酸、又はセリンであり、
X a a 1 7 はグルタミン、アルギニン、システイン、又はリシンであり、
X a a 1 8 はアラニン、アルギニン、又はヒスチジンであり、
X a a 1 9 はアラニン又はグルタミンであり、
X a a 2 0 はリシン又はグルタミンであり、
X a a 2 1 はグルタミン酸、システイン、又はアスパラギン酸であり、
X a a 2 3 はバリンであり、
X a a 2 4 はアラニン、グルタミン、又はシステインであり、
X a a 2 7 はロイシン又はリシンであり、
X a a 2 9 はグリシン、グルタミン、スレオニン、又はヒスチジンであってもよいが、
特にこれに限定されるものではない。

20

30

【0146】

このようなペプチドは、グルカゴン受容体及び G L P - 1 受容体の活性化の程度が有意であり、G I P 受容体の活性化の程度に比べて高いか；G L P - 1 受容体、グルカゴン受容体及び G I P 受容体の活性化の程度が全部有意であるか；G L P - 1 受容体及び G I P 受容体の活性化の程度が有意であり、グルカゴン受容体の活性化に比べて高い場合に該当することができるが、特にこれに制限されない。

40

【0147】

G L P - 1 受容体及び G I P 受容体の活性化の程度が有意であり、グルカゴン受容体の活性化の程度に比べて高い場合、体重減少効力と共に血糖調節能がより高いペプチドを提供することができる、G L P - 1 受容体、グルカゴン受容体及び G I P 受容体の活性化の程度の全部が有意な場合、体重減少効果が最大化される利点がある。しかし、特にこれに限定されるものではなく、肝臓に標的化することができ、また、任意に肝臓に対して治療的活性を有することができれば、全部本発明の範疇に含まれる。

【0148】

このようなペプチドの例として、配列番号：8、9、21～37、39、42、43、49～61、64～83、85、86、88、89、91～93、95～102 からなる

50

群から選択されたアミノ酸配列を含むか、又はこれで（必須で）構成されたペプチドが挙げられるが、特にこれに限定されるものではない。

【0149】

一つの具体例として、前記肝臓標的薬物であるペプチドは、下記一般式2で示されるアミノ酸配列を含むものであってもよい。

【0150】

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（一般式2、配列番号104）

10

【0151】

前記式において、

Xaa1は4-イミダゾアセチル、ヒスチジン、又はチロシンであり；

Xaa2はグリシン、アルファ-メチル-グルタミン酸、又はAibであり；

Xaa10はチロシン、又はシステインであり

Xaa13はアラニン、グルタミン、チロシン、又はシステインであり；

Xaa14はロイシン、メチオニン、又はチロシンであり；

Xaa15はアスパラギン酸、グルタミン酸、又はロイシンであり；

20

Xaa16はグリシン、グルタミン酸、又はセリンであり；

Xaa17はグルタミン、アルギニン、イソロイシン、グルタミン酸、システイン、又はリシンであり；

Xaa18はアラニン、グルタミン、アルギニン、又はヒスチジンであり；

Xaa19はアラニン、グルタミン、システイン、又はバリンであり；

Xaa20はリシン、グルタミン、又はアルギニンであり；

Xaa21はシステイン、グルタミン酸、グルタミン、ロイシン、又はアスパラギン酸であり；

Xaa23はイソロイシン又はバリンであり；

Xaa24はシステイン、アラニン、グルタミン、アスパラギン、又はグルタミン酸であり；

30

Xaa28はリシン、システイン、アスパラギン、又はアスパラギン酸であり；

Xaa29はグリシン、グルタミン、システイン、又はヒスチジンであり；

Xaa30はシステイン、グリシン、リシン、又はヒスチジンであり；

Xaa31はプロリン又はシステインであり；

Xaa40はシステインであるか、存在しない。

より具体的には、前記一般式2において、

Xaa13はアラニン、チロシン、又はシステインであり；

Xaa15はアスパラギン酸又はグルタミン酸であり、

Xaa17はグルタミン、アルギニン、システイン、又はリシンであり；

40

Xaa18はアラニン、アルギニン、又はヒスチジンであり；

Xaa21はシステイン、グルタミン酸、グルタミン、又はアスパラギン酸であり；

Xaa23はイソロイシン又はバリンであり；

Xaa24はシステイン、グルタミン、又はアスパラギンであり、

Xaa28はシステイン、アスパラギン、又はアスパラギン酸であり；

Xaa29はグルタミン、システイン、又はヒスチジンであり；

Xaa30はシステイン、リシン、又はヒスチジンであってよい。

【0152】

このようなペプチドの例として、配列番号：21、22、42、43、50、64～77、及び95～102からなる群から選択されたアミノ酸配列、より具体的には、配列番

50

号：21、22、42、43、50、64～77、及び96～102からなる群から選択されたアミノ酸配列を含むか、又はこれで（必須で）構成されたペプチドが挙げられるが、特にこれに限定されるものではない。

【0153】

一つの具体例として、前記肝臓標的薬物であるペプチドは、下記一般式3のアミノ酸配列を含むことができる。

【0154】

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（一般式3、配列番号105）

10

【0155】

前記一般式3において、

Xaa1はヒスチジン又はチロシンであり；

Xaa2はアルファ-メチル-グルタミン酸又はAibであり；

Xaa13はアラニン、チロシン又はシステインであり；

Xaa17はアルギニン、システイン、又はリシンであり；

Xaa18はアラニン又はアルギニンであり；

Xaa19はアラニン又はシステインであり；

20

Xaa21はグルタミン酸又はアスパラギン酸であり；

Xaa24はグルタミン又はアスパラギンであり、

Xaa28はシステイン又はアスパラギン酸であり；

Xaa29はシステイン、ヒスチジン、又はグルタミンであり；

Xaa30はシステイン又はヒスチジンであり；

Xaa31はプロリン又はシステインであり；

Xaa40はシステイン又は存在しなくてもよい。

このようなペプチドの例として、配列番号：21、22、42、43、50、64～71、75～77、及び96～102からなる群から選択されたアミノ酸配列を含むか、又はこれで（必須で）構成されたペプチドが挙げられるが、特にこれに限定されるものではない。

30

【0156】

また、前記一般式1においてR1はシステイン、GKKNDWKHNIT（配列番号106）、CSSGQPPPS（配列番号109）、GPSSGAPPPS（配列番号110）、GPSSGAPPPSC（配列番号111）、PSSGAPPPS（配列番号112）、PSSGAPPPSG（配列番号113）、PSSGAPPPSHG（配列番号114）、PSSGAPPPSS（配列番号115）、PSSGQPPPS（配列番号116）、又はPSSGQPPPS（配列番号117）であるか、存在しなくてもよいが、特にこれに限定されるものではない。

【0157】

上述の三重活性体ペプチドは、分子内架橋（intramolecular bridge）を含むことができ（例えば、共有結合的架橋又は非共有結合的架橋）、具体的には、環を含む形態であってもよい。例えば、三重活性体ペプチドの16番目及び20番目のアミノ酸の間に環が形成された形態であってもよいが、特にこれに限定されるものではない。

40

【0158】

前記環の非制限的な例として、ラクタム架橋（又はラクタム環）を含むことができる。

【0159】

また、前記三重活性体ペプチドは環を含むように、目的とする位置に環を形成できるアミノ酸を含むように変形したものを全て含む。

50

【0160】

このような環は、前記三重活性体ペプチド内のアミノ酸の側鎖の間に形成されてもよく、その例としてリシンの側鎖とグルタミン酸の側鎖との間にラクタム環が形成される形態であってもよいが、特にこれに限定されるものではない。

【0161】

例えば、前記一般式1～一般式3のアミノ酸配列を含むペプチドは、一般式1～一般式3のX a a 1 0とX a a 1 4、X a a 1 2とX a a 1 6、X a a 1 6とX a a 2 0、X a a 1 7とX a a 2 1、X a a 2 0とX a a 2 4、及びX a a 2 4とX a a 2 8のアミノ酸対において、各アミノ酸対のアミノ酸がそれぞれグルタミン酸又はリシンで置換されたものであってもよいが、これに制限されない。前記、X a a n (nは自然数)においてnは提示されたアミノ酸配列のN末端からのアミノ酸位置を示す。

10

【0162】

また、前記一般式1～一般式3のアミノ酸配列を含むペプチドは、X a a 1 2とX a a 1 6のアミノ酸対、X a a 1 6とX a a 2 0のアミノ酸対、又はX a a 1 7とX a a 2 1のアミノ酸対のアミノ酸のそれぞれが環を形成できるグルタミン酸又はリシンで置換されたものであってもよいが、これに制限されない。

【0163】

また、前記一般式1～一般式3において、X a a 1 0とX a a 1 4、X a a 1 2とX a a 1 6、X a a 1 6とX a a 2 0、X a a 1 7とX a a 2 1、X a a 2 0とX a a 2 4、及びX a a 2 4とX a a 2 8のアミノ酸対中、少なくとも一つのアミノ酸対において各アミノ酸対のそれぞれのアミノ酸の間に環（例えば、ラクタム環）を形成したものであってもよいが、これに制限されない。

20

【0164】

また、前記一般式1～一般式3において、X a a 1 6がグルタミン酸であり、X a a 2 0はリシンであり、X a a 1 6とX a a 2 0の側鎖がラクタム環を形成しているものであってもよいが、これに制限されない。

【0165】

また、本発明によるペプチドは、N末端及び／又はC末端が変形されないものであってもよいが、生体内のタンパク質切断酵素から保護し、安定性を増加させるために、そのN末端及び／又はC末端などが化学的に修飾されたり有機基で保護されたり、又はペプチド末端などにアミノ酸が追加されて変形された形態も本発明によるペプチドの範疇に含まれる。C末端が変形されていない場合、本発明によるペプチドの末端はカルボキシル基を有するが、特にこれに限定されるものではない。

30

【0166】

又は化学的に合成したペプチドの場合、N及びC末端が電荷を帯びているため、このような電荷を除去するためにN末端をアセチル化 (a c e t y l a t i o n) 及び／又はC末端をアミド化 (a m i d a t i o n) してもよいが、特にこれに制限されない。

【0167】

本明細書において特に指すところがあれば、本発明による「ペプチド」又はこのようなペプチドが免疫グロブリンFc領域に共有結合で連結された「結合体」に関する明細書の詳細な説明や請求の範囲の記述は、当該ペプチド又は結合体はもちろんのこと、当該ペプチド又は結合体の塩（例えば、前記ペプチドの薬学的に許容可能な塩）、又はその溶媒和物の形態を全て含む範疇にも適用される。従って、明細書に「ペプチド」又は「結合体」とだけ記載されていても当該記載内容は、その特定の塩、その特定の溶媒和物、その特定の塩の特定の溶媒和物にも同様に適用される。このような塩の形態は、例えば、薬学的に許容される任意の塩を用いた形態であってもよい。

40

【0168】

前記塩の種類は、特に制限されない。ただし、個体、例えば、哺乳類に安全で効果的な形態であることが好ましいが、特にこれに限定されるものではない。

【0169】

50

前記用語、「薬学的に許容される」とは、医薬学的判断の範囲内で、過度な毒性、刺激、又はアレルギー反応などを誘発することなく所望の用途に効果的に使用可能な物質を意味する。

【0170】

本出願において用語、「薬学的に許容される塩」とは、薬学的に許容される無機酸、有機酸、又は塩基から誘導された塩を含む。適した酸の例としては、塩酸、臭素酸、硫酸、硝酸、過塩素酸、フマル酸、マレイン酸、リン酸、グリコール酸、乳酸、サリチル酸、コハク酸、トルエン-p-スルホン酸、酒石酸、酢酸、クエン酸、メタンスルホン酸、ギ酸、安息香酸、マロン酸、ナフタレン-2-スルホン酸、ベンゼンスルホン酸などを挙げることができる。適した塩基から誘導された塩は、ナトリウム、カリウムなどのアルカリ金属、マグネシウムなどのアルカリ土類金属、及びアンモニウムなどを含み得る。

10

【0171】

また、本発明で用いられた用語「溶媒和物」は、本発明によるペプチド、結合体、又はその塩が溶媒分子と複合体を形成したものをいう。

【0172】

本発明によるペプチドのC末端はアミド化するか、又は遊離カルボキシル基(−COOH)を有するペプチドであるか、又はC末端が変形されていないペプチドを含むものであってもよいが、これに制限されない。

【0173】

一つの具体例として、前記ペプチドは、C末端がアミド化しているものであってもよいが、これに制限されない。

20

【0174】

一つの具体例として、前記ペプチドは、非グリコシル化したものであってもよいが、これに制限されない。

【0175】

本発明のペプチドは、Solid phase合成法を通じて合成されてもよく、組換え方法でも生産可能であり、商業的に依頼して製造してもよいが、これに制限されない。

【0176】

また、本発明のペプチドは、その長さに応じてこの分野でよく知られている方法、例えば、自動ペプチド合成器により合成することができ、遺伝子操作技術により生産することもできる。

30

【0177】

具体的には、本発明のペプチドは、標準合成方法、組換え発現システム、又は任意の他の当該分野の方法により製造され得る。従って、本発明によるペプチドは、例えば、下記を含む方法を含む多数の方法で合成することができる：

【0178】

(a) ペプチドを固相又は液相法の手段で段階的に又は断片組立により合成し、最終ペプチド生成物を分離及び精製する方法；又は

(b) ペプチドをエンコードする核酸作製物を宿主細胞内で発現させ、発現生成物を宿主細胞培養物から回収する方法；又は

40

(c) ペプチドをエンコードする核酸作製物の無細胞試験管内の発現を行い、発現生成物を回収する方法；又は

(a)、(b)及び(c)の任意の組み合わせによりペプチドの断片を得、続いて、断片を連結させてペプチドを得、当該ペプチドを回収する方法。

【0179】

また、前記グルカゴン受容体、GLP-1受容体、及びGIP受容体に対して活性を有するペプチドは、グルカゴン受容体、GLP-1受容体、及びGIP受容体に対して活性を有するペプチドにその生体内半減期を増加させる生体適合性物質部に結合された、持続型結合体の形態であってもよいが、これに制限されない。本明細書において、前記生体適合性物質部はキャリアと混用され得る。

50

【0180】

前記持続型結合体の形態の一般式1～一般式3のアミノ酸配列を含むペプチド（結合体形態）、又は一般式1～一般式3のアミノ酸配列を含むペプチドそれ自体は肝臓標的薬物であり、投与された個体の体内臓器中、前記薬物の肝臓における分布度が高い、薬学的組成物の有効成分である。

【0181】

本出願において用語、「持続型結合体」は、生理活性物質（例えば、三重活性体ペプチド）に生体適合性物質部又はキャリアが結合された形態であり、具体的には、前記結合体は、ペプチド部位及び前記ペプチド部位に共有結合で連結された生体適合性物質部を含み、前記ペプチド部位は、前記一般式1～一般式3のアミノ酸配列又は配列番号1～102から選択されたいずれか一つの配列と同一の配列であるか、又はこれを含む配列であってもよい。前記持続型結合体において生体適合性物質部又はキャリアは、生理活性物質に共有結合で連結されたものであってもよいが、特にこれに制限されない。前記一般式1～一般式3のアミノ酸配列又は配列番号1～102から選択されたいずれか一つの配列と同一の配列であるか、又はこれを含む配列のペプチドのC末端はアミド化するか、又は遊離カルボキシル基（-COOH）を有するペプチドであるか、又はC末端が変形されていないペプチドを含むものであってもよいが、これに制限されない。

10

【0182】

本発明において前記ペプチドの結合体は、キャリアが結合されていない前記ペプチドに比べて増加した効力の持続性及び／又は血中半減期の増大を示すことができ、本発明では、このような結合体を「持続型結合体」と称する。

20

【0183】

一方、このような結合体は、非自然な（non-naturally occurring）ものであってもよい。

【0184】

本発明の具体的な実施形態において、前記持続型結合体は、三重活性体ペプチドに免疫グロブリンFc領域が互いに連結された形態を指す。具体的には、前記結合体は、三重活性体ペプチドに免疫グロブリンFc領域がリンカーを通じて共有結合で連結されたものであってもよいが、特にこれに制限されない。

【0185】

一つの具体例として、前記免疫グロブリンFc領域とXはグリコシル化されていなくてもよいが、これに制限されない。

30

【0186】

本発明の一つの具体例において、前記持続型結合体は、下記化学式1で示される、結合体である：

【0187】

[化学式1]

X-L-F

【0188】

ここで、

Xは、前記ペプチドであり；

Lは、エチレングリコール繰り返し単位を含有するリンカーであり；

Fは、免疫グロブリンFc領域であり、

-は、XとLとの間、LとFとの間の共有結合連結を示す。

40

【0189】

前記化学式1の持続型結合体のXは、上述の三重活性体ペプチドであってもよいが、これに制限されない。

【0190】

一つの具体例として、前記化学式1の持続型結合体のXは、前記一般式1のアミノ酸配列を含むペプチドであってもよい。

50

【0191】

一つの実例として、前記化学式1の持続型結合体のXは、前記一般式2又は一般式3のアミノ酸配列を含むペプチドであってもよい。

【0192】

具体的には、前記Xは、配列番号1～102からなる群から選択されるいずれか一つの配列番号のアミノ酸配列を含むペプチドであってもよいが、これに制限されない。

【0193】

前記結合体においてFはX、即ち、肝臓標的薬物、具体的には、グルカゴン受容体に対して結合力を有する物質を含む薬物、例えば、前記グルカゴン受容体、GLP-1受容体、及びGIP受容体に対して活性を有するペプチドであり、本発明の前記結合体を構成するモイエティの一構成に該当する。前記肝臓標的薬物は、前述したことが全部適用される。

10

【0194】

前記Fは、Xと共有化学結合又は非共有化学結合で互いに結合されるものであってもよく、共有化学結合、非共有化学結合又はそれらの組み合わせによりLを通じてFとXとが互いに結合されるものであってもよい。

【0195】

本発明において用語「化学式1の持続型結合体」は、三重活性体ペプチド及び免疫グロブリンFc領域が互いにリンカーで連結された形態であり、前記結合体は、免疫グロブリンFc領域が結合されていない三重活性体ペプチドに比べて増加した効力の持続性を示すことができる。

20

【0196】

前記持続型結合体においてFはX、即ち、三重活性体ペプチドの半減期を増加させる物質であり、本発明の前記結合体を構成するモイエティの一構成に該当する。

【0197】

化学式1の持続型結合体において三重活性体であるペプチドであるXと免疫グロブリンFc領域の連結は、物理又は化学結合であるか、非共有又は共有結合であってもよく、具体的には、共有結合であってもよいが、これに制限されない。

【0198】

また、化学式1の持続型結合体の三重活性体ペプチドであるXと免疫グロブリンFc領域の連結方法は、特に制限されないが、リンカーを通じて三重活性体ペプチドと免疫グロブリンFc領域が互いに連結されたものであってもよい。

30

【0199】

前記化学式1において共有結合でLを通じてXとFが互いに結合される。

【0200】

より具体的には、XとL、及びLとFは共有結合で互いに連結されてもよく、その時、前記結合体は、化学式1の順序で、X、L、及びFが共有結合を通じてそれぞれ連結された結合体であってもよい。

【0201】

また、前記Xは、Fはリンカー(L)を通じて連結されたものであってもよい。

40

【0202】

一方、前記Lは、非ペプチド性リンカー、例えば、エチレングリコール繰り返し単位を含むリンカーであってもよい。

【0203】

本発明において「非ペプチド性リンカー」は、繰り返し単位が二つ以上結合された生体適合性ポリマーを含む。前記繰り返し単位は、ペプチド結合ではなく任意の共有結合を通じて互いに連結される。前記非ペプチド性リンカーは、本発明の結合体のモイエティをなす一構成であってもよく、前記化学式1においてLに該当する。本発明で使用する非ペプチド性リンカーは、生体内タンパク質分解酵素に抵抗性のあるポリマーであれば、制限なく使用できる。本発明において、前記非ペプチド性リンカーは、非ペプチド性ポリマー

50

と混用されてもよい。

【0204】

特にこれに制限されないが、前記非ペプチド性リンカーはエチレングリコール繰り返し単位を含むリンカー、例えば、ポリエチレングリコールであってもよく、また、当該分野に既に知られているこれらの誘導体及び当該分野の技術水準で容易に製造できる誘導体も本発明の範囲に含まれる。

【0205】

前記非ペプチド性リンカーの繰り返し単位はエチレングリコール繰り返し単位であってもよく、具体的には、前記非ペプチド性リンカーはエチレングリコール繰り返し単位を含みながら、結合体として構成される以前には結合体の製造に用いられる官能基を末端に含むものであってもよい。本発明による持続型結合体は、前記官能基を通じてXとFが連結された形態であってもよいが、これに制限されない。本発明において、前記非ペプチド性リンカーは二つ又は三つ以上の官能基を含むことができ、各官能基は同一又は相異してもよいが、これに制限されない。

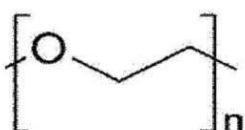
10

【0206】

具体的には、前記リンカーは下記化学式2で表されるポリエチレングリコール（PEG）であってもよいが、これに限定されるものではない：

【0207】

〔化学式2〕



20

【0208】

ここで、 $n = 10 \sim 2400$ 、 $n = 10 \sim 480$ 、又は $n = 50 \sim 250$ であるが、これに制限されない。

【0209】

前記持続型結合体においてPEGモイエティは、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 構造だけでなく、連結要素とこの $-(CH_2CH_2O)_n-$ との間に介在する酸素原子も含むことができるが、これに限定されるものではない。

30

【0210】

一つの具体例として、前記エチレングリコール繰り返し単位は、その例として、 $[OCH_2CH_2]_n$ で表され、 n 値は自然数で前記ペプチド結合体内の $[OCH_2CH_2]_n$ 部位の平均分子量、例えば、数平均分子量が0超～約100kDaになるように定められるが、これに制限されない。もう一つの例として、前記 n 値は自然数で前記ペプチド結合体内の $[OCH_2CH_2]_n$ 部位の平均分子量、例えば、数平均分子量が約1～約100kDa、約1～約80kDa、約1～約50kDa、約1～約30kDa、約1～約25kDa、約1～約20kDa、約1～約15kDa、約1～約13kDa、約1～約11kDa、約1～約10kDa、約1～約8kDa、約1～約5kDa、約1～約3.4kDa、約3～約30kDa、約3～約27kDa、約3～約25kDa、約3～約22kDa、約3～約20kDa、約3～約18kDa、約3～約16kDa、約3～約15kDa、約3～約13kDa、約3～約11kDa、約3～約10kDa、約3～約8kDa、約3～約5kDa、約3～約3.4kDa、約8～約30kDa、約8～約27kDa、約8～約25kDa、約8～約22kDa、約8～約20kDa、約8～約18kDa、約8～約16kDa、約8～約15kDa、約8～約13kDa、約8～約11kDa、約8～約10kDa、約9～約15kDa、約9～約14kDa、約9～約13kDa、約9～約12kDa、約9～約11kDa、約9.5～約10.5kDa、又は約10kDaであってもよいが、これに制限されない。

40

【0211】

50

また、一つの具体的な実施形態において前記化学式 1 の持続型結合体は、一般式 1 ～ 一般式 3 のアミノ酸配列を含むペプチド (X) と免疫グロブリン領域 (F) がエチレングリコール繰り返し単位を含有するリンカーを通じて共有結合で連結された構造であってもよいが、これに限定されるものではない。

【0212】

前記ポリエチレングリコールは、エチレングリコールホモポリマー、PEG コポリマー、又はモノメチル置換された PEG ポリマー (mPEG) の形態をいずれも包括する用語であるが、特にこれに限定されるものではない。

【0213】

前記非ペプチド性ポリマーの分子量は、1 ～ 100 kDa の範囲、具体的には 1 ～ 20 kDa の範囲、又は 1 ～ 10 kDa の範囲であるが、これに制限されない。また、前記 F に該当するポリペプチドと結合される本発明の非ペプチド性リンカーは一種類のポリマーだけでなく、相違した種類のポリマーの組み合わせが使用されてもよい。

【0214】

一つの具体例として、前記リンカーの両末端は、免疫グロブリン Fc 領域のチオール基、アミノ基、ヒドロキシル基及びペプチド (X) のチオール基、アミノ基、アジド基、ヒドロキシル基に結合してもよいが、これに制限されない。

【0215】

具体的には、前記リンカーは、両末端にそれぞれ免疫グロブリン Fc 領域及びペプチド (X) と結合できる反応基、具体的には、免疫グロブリン Fc 領域のシステインのチオール基；N 末端、リシン、アルギニン、グルタミン及び／又はヒスチジンに位置したアミノ基；及び／又は C 末端に位置したヒドロキシル基と結合され、ペプチド (X) のシステインのチオール基；リシン、アルギニン、グルタミン及び／又はヒスチジンのアミノ基；アジドリシンのアジド基；及び／又はヒドロキシル基と結合できる反応基を含んでもよいが、これに制限されない。

【0216】

より具体的には、前記リンカーの反応基は、アルデヒド基、マレイミド基及びスクシンイミド誘導体からなる群から選択される一つ以上であってもよいが、これに制限されない。

【0217】

前記において、アルデヒド基 (アルデヒドグループ) としてプロピオンアルデヒド基又はブチルアルデヒド基を例として挙げられるが、これに制限されない。

【0218】

前記において、スクシンイミド誘導体としては、スクシンイミジル吉草酸、スクシンイミジルメチルブタン酸、スクシンイミジルメチルプロピオネート、スクシンイミジルブタン酸、スクシンイミジルプロピオネート、N-ヒドロキシスクシンイミド、ヒドロキシスクシンイミジル、スクシンイミジルカルボキシメチル又はスクシンイミジルカーボネートが用いられるが、これに制限されない。

【0219】

前記リンカーは、前記のような反応基を通じて免疫グロブリン Fc 領域である F 及びペプチド (三重活性体) である X に連結され、リンカー連結部に転換される。

【0220】

また、アルデヒド結合による還元性アミノ化 (又は還元性アルキル化) で生成された最終産物は、アミド結合で連結されたものより遥かに安定している。アルデヒド反応基は、低い pH で N 末端に選択的に反応し、高い pH、例えば、pH 9.0 の条件ではリシン残基と共有結合を形成できるが、これに制限されない。

【0221】

また、本発明のリンカーの両末端の反応基は互いに同一又は互いに異なってもよい。前記リンカーは、末端にアルデヒド基の反応基を有するものであってもよく、また、前記リンカーは、末端にそれぞれアルデヒド基及びマレイミド反応基を有するか、又は末端にそ

10

20

30

40

50

れぞれアルデヒド基及びスクシンイミド反応基を有してもよいが、リンカーの各末端に F、具体的には、免疫グロブリン F c 領域と X が結合されれば、これに制限されない。

【0222】

例えば、一方の末端にはマレイミド基を、他方の末端にはアルデヒド基、プロピオンアルデヒド基又はブチルアルデヒド基を有することができる。また、一例として、一方の末端にはスクシンイミジル基を、他方の末端にはプロピオンアルデヒド基又はブチルアルデヒド基を有することができる。

【0223】

プロピオン側の末端にヒドロキシ反応基を有するポリエチレングリコールをリンカーとして用いる場合には、公知の化学反応により前記ヒドロキシ基を前記多様な反応基で活性化するか、又は商業的に入手可能な変形された反応基を有するポリエチレングリコールを用いて本発明の結合体を製造することができる。

10

【0224】

一つの具体的な実施形態において前記リンカーの反応基がペプチド (X) のシステイン残基、より具体的には、システインの $-SH$ 基に連結されるものであってもよいが、これに制限されない。

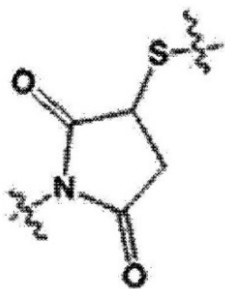
【0225】

もし、マレイミド-PEG-アルデヒドを用いる場合、マレイミド基はペプチドの $-SH$ 基とチオエーテル (thioether) 結合で連結し、アルデヒド基は免疫グロブリン F c の $-NH_2$ 基と還元的アルキル化反応を通じて連結できるが、これに限定されず、これは一例に該当する。

20

【0226】

このような還元的アルキル化を通じて PEG の一方の末端に位置する酸素原子に免疫グロブリン F c 領域の N 末端アミノ基が $-CH_2CH_2CH_2-$ の構造を有するリンカー官能基を通じて互いに連結され、 $-PEG-O-CH_2CH_2CH_2NH-$ 免疫グロブリン F c と同様な構造を形成することができ、チオエーテル結合を通じて PEG の一方の末端がペプチドのシステインに位置する硫黄原子に連結された構造を形成することができる。上述のチオエーテル結合は、



30

の構造を含むことができる。

【0227】

しかし、上述の例に特に制限されるものではなく、これは一例に該当する。

40

【0228】

また、前記結合体において、リンカーの反応基が免疫グロブリン F c 領域の N 末端に位置する $-NH_2$ と連結されたものであってもよいが、これは一例に該当する。

【0229】

また、前記結合体において、本発明によるペプチドは反応基を有するリンカーと C 末端を通じて連結されてもよいが、これは一例に該当する。

【0230】

本発明において「C 末端」は、ペプチドのカルボキシ末端を意味することであり、本発明の目的上、リンカーと結合できる位置をいう。その例として、これに制限されないが、C 末端の最末端のアミノ酸残基だけでなく C 末端周囲のアミノ酸残基をいずれも含んでも

50

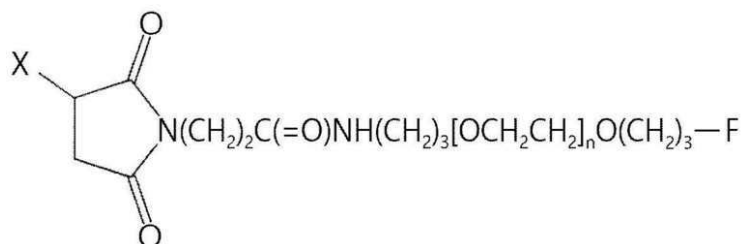
よく、具体的には、最末端から最初～20番目のアミノ酸残基を含んでもよいが、これに制限されない。

【0231】

一つの実例として、前記化学式1の結合体は、下記化学式3の構造を有することができる。

【0232】

〔化学式3〕



10

【0233】

前記化学式3において、Xは前記で説明したペプチド（三重活性体）であり；

Fはヒト免疫グロブリンFc領域であり；

nは自然数であってもよい。この時、nに関する説明は前記で説明した通りである。

【0234】

一つの実例として、前記化学式3の持続型結合体は、ペプチドXとヒト免疫グロブリンFc領域Fがエチレングリコール繰り返し部を介在し、共有結合で連結された構造であり、それぞれXは化学式3のスクシニミド環に、Fは化学式3のオキシプロピレン基に連結される形態であってもよい。

20

【0235】

前記化学式3において、前記nの値は、前記ペプチド結合体内の $[\text{OCH}_2\text{CH}_2]_n$ 部位の平均分子量、例えば、数平均分子量が1～100kDa、又は1～20kDa又は10kDaになるように定められるものであってもよいが、これに制限されない。

【0236】

ある実施形態において化学式3のスクシニミド環にXが連結される部位は、XのC末端システインの硫黄原子であってもよい。

30

【0237】

F内において前記オキシプロピレン基に連結される部位は、特に限定されない。本発明のある実施形態において前記オキシプロピレン基に連結されるFの部位は、N末端の窒素又はF内部残基の窒素原子（例えば、リシンのイプシロン窒素）であってもよい。本発明のある具体的な実施形態において、Fが前記オキシプロピレン基に連結される部位は、FのN末端プロリンであってもよいが、これに制限されない。

【0238】

また、前記結合体において、非ペプチド性ポリマーの反応基が免疫グロブリンFc領域のN末端に位置する ---NH_2 と連結されたものであってもよいが、これは一例に該当する。

40

【0239】

具体的な例として、前記化学式1のFは免疫グロブリンFc領域である。その例として、前記免疫グロブリンFc領域はIgG由来であってもよいが、特にこれに制限されない。

【0240】

本発明における「免疫グロブリンFc領域」とは、免疫グロブリンの重鎖と軽鎖の可変領域を除いた、重鎖定常領域2（CH2）及び／又は重鎖定常領域3（CH3）部分を含む部位を意味する。前記免疫グロブリンFc領域は、本発明の持続型結合体のモイエティをなす一構成であってもよい。前記免疫グロブリンFc領域は、「免疫グロブリンFc断

50

片」と混用され得る。

【0241】

本明細書において、Fc領域と言え、免疫グロブリンのパパイン消化から得る天然型配列だけでなくその誘導体、例えば、天然配列中の一つ以上のアミノ酸残基が欠失、挿入、非保存的もしくは保存的置換、又はそれらの組み合わせにより変換されて天然のものとは異なる配列など変形体も含まれる。前記誘導体、置換体、変形体はFcRnに結合する能力を保有することを前提とする。本発明において、Fはヒト免疫グロブリン領域であってもよいが、これに制限されない。前記Fは、二つのポリペプチド鎖がジスルフィド結合で連結されている構造であり、前記二鎖中の一鎖の窒素原子を介してのみ連結されている構造であってもよいが、これに制限されるものではない。前記窒素原子を介する連結は、

10

【0242】

還元的アミノ化反応とは、反応物のアミン基又はアミノ基が他の反応物のアルデヒド（即ち、還元的アミノ化が可能な官能基）と反応してアミンを生成し、次いで還元反応によりアミン結合を形成させる反応を意味し、当該技術分野で周知の有機合成反応である。

【0243】

一つの実例として、前記Fは、そのN末端プロリンの窒素原子を通じて連結されたものであってもよいが、これに制限されない。

【0244】

このような免疫グロブリンFc領域は、重鎖定常領域にヒンジ（hinge）部分を含んでもよいが、これに限定されるものではない。

20

【0245】

本発明における免疫グロブリンFc領域は、N末端に特定のヒンジ配列を含んでもよい。

【0246】

本発明の用語、「ヒンジ配列」とは、重鎖に位置してジスルフィド結合（interdisulfide bond）により免疫グロブリンFc領域の二量体を形成する部位を意味する。

【0247】

本発明における前記ヒンジ配列は、下記のアミノ酸配列を有するヒンジ配列中の一部が欠失して一つのシステイン残基のみ有するように変異したものであってもよいが、それに制限されるものではない：

30

【0248】

Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser-Cys-Pro（配列番号119）。

【0249】

前記ヒンジ配列は、配列番号119のヒンジ配列中の8番目又は11番目システイン残基が欠失して一つのシステイン残基のみ含むものであってもよい。本発明のヒンジ配列は、一つのシステイン残基のみ含む、3～12個のアミノ酸からなるものであるが、これに制限されるものではない。より具体的には、本発明のヒンジ配列は次のような配列を有することができる：Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Pro-Ser-Cys-Pro（配列番号120）、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser-Pro（配列番号121）、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser（配列番号122）、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Pro（配列番号123）、Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser（配列番号124）、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys（配列番号125）、Glu-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys（配列番号126）、Glu-Ser-Pro-Ser-Cys-Pro（配列番号1

40

50

27)、Glu-Pro-Ser-Cys-Pro (配列番号128)、Pro-Ser-Cys-Pro (配列番号129)、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Ser-Cys-Pro (配列番号130)、Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Pro-Ser-Cys-Pro (配列番号131)、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Ser-Cys-Pro (配列番号132)、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys (配列番号133)、Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro (配列番号134)、Glu-Ser-Lys-Pro-Ser-Cys-Pro (配列番号135)、Glu-Ser-Pro-Ser-Cys-Pro (配列番号136)、Glu-Pro-Ser-Cys (配列番号137)、Ser-Cys-Pro (配列番号138)。

10

【0250】

より具体的には、前記ヒンジ配列は、配列番号129 (Pro-Ser-Cys-Pro) 又は配列番号138 (Ser-Cys-Pro) のアミノ酸配列を含むものであってもよいが、これらに制限されるものではない。

【0251】

本発明の免疫グロブリンFc領域は、ヒンジ配列の存在により免疫グロブリンFc鎖の二つの分子が二量体を形成した形態であってもよく、また、本発明の化学式1の結合体はリンカーの一方の末端が二量体の免疫グロブリンFc領域の一つの鎖に連結された形態であってもよいが、これに限定されるものではない。

【0252】

本発明の用語、「N末端」とは、タンパク質又はポリペプチドのアミノ末端を意味し、アミノ末端の最末端、又は最末端から1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、もしくは10個以上のアミノ酸まで含むものであってもよい。本発明の免疫グロブリンFc領域は、ヒンジ配列をN末端に含んでもよいが、これに制限されるものではない。

20

【0253】

また、本発明の免疫グロブリンFc領域は、天然のものと実質的に同等又は向上した効果を有するものであれば、免疫グロブリンの重鎖と軽鎖の可変領域のみを除き、一部又は全部の重鎖定常領域1 (CH1) 及び／又は軽鎖定常領域1 (CL1) を含む拡張されたFc領域であってもよい。さらに、CH2及び／又はCH3に相当する非常に長い一部のアミノ酸配列が除去された領域であってもよい。

30

【0254】

例えば、本発明の免疫グロブリンFc領域は、1) CH1ドメイン、CH2ドメイン、CH3ドメイン及びCH4ドメイン、2) CH1ドメイン及びCH2ドメイン、3) CH1ドメイン及びCH3ドメイン、4) CH2ドメイン及びCH3ドメイン、5) CH1ドメイン、CH2ドメイン、CH3ドメイン及びCH4ドメインの少なくとも1個又は2個以上のドメインと免疫グロブリンヒンジ領域 (又はヒンジ領域の一部) との組み合わせ (例、CH2ドメイン及びCH3ドメインとヒンジ領域又はその一部との組み合わせ、そして上述の組み合わせを有するポリペプチド二つの二量体形態)、6) 重鎖定常領域の各ドメインと軽鎖定常領域の二量体であってもよいが、これに限定されるものではない。

40

【0255】

本発明において、前記免疫グロブリンFc領域は、同一の起源のドメインからなる単鎖免疫グロブリンで構成された、二量体又は多量体形態であってもよいが、これに制限されない。

【0256】

また、一つの具体例として、前記免疫グロブリンFc領域は、二量体形態 (dimeric form) であってもよく、二量体形態の一つのFc領域にXの一分子が共有結合的に連結され、この時、前記免疫グロブリンFcとXは非ペプチド性ポリマーにより互いに連結される。一方、二量体形態の一つのFc領域にXの二分子が対称的に結合することも可能である。この時、前記免疫グロブリンFcとXは、非ペプチド性リンカーにより互

50

いに連結される。しかし、前記例に制限されるものではない。

【0257】

また、本発明の免疫グロブリンFc領域は、天然型アミノ酸配列だけでなく、その配列誘導体を含む。アミノ酸配列誘導体とは、天然アミノ酸配列中の少なくとも一つのアミノ酸残基が欠失、挿入、非保存的もしくは保存的置換、又はそれらの組み合わせにより異なる配列を有するものを意味する。

【0258】

例えば、IgG Fcの場合、結合に重要であることが知られている214～238、297～299、318～322又は327～331番目のアミノ酸残基が変形のために適当な部位として用いられてもよい。

【0259】

また、ジスルフィド結合を形成する部位が除去されるか、または天然型FcからN末端のいくつかのアミノ酸が除去されるか、又は天然型FcのN末端にメチオニン残基が付加されるなど、多様な種類の誘導体が可能である。また、エフェクター機能をなくすために、補体結合部位、例えばC1q結合部位が除去されてもよく、ADCC (antibody dependent cell mediated cytotoxicity) 部位が除去されてもよい。このような免疫グロブリンFc領域の配列誘導体を作製する技術は、国際特許公開第WO 97/34631号、国際特許公開第96/32478号などに開示されている。

【0260】

分子の活性を全体的に変更させないタンパク質及びペプチドにおけるアミノ酸交換は、当該分野で公知である (H. Neurath, R. L. Hill, The Proteins, Academic Press, New York, 1979)。最も一般的な交換は、アミノ酸残基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間の交換である。場合によっては、リン酸化 (phosphorylation)、硫化 (sulfation)、アクリル化 (acrylation)、グリコシル化 (glycosylation)、メチル化 (methylation)、ファルネシル化 (farnesylation)、アセチル化 (acetylation) 及びアミド化 (amidation) などにより修飾 (modification) されてもよい。

【0261】

前述したFc誘導体は、本発明のFc領域と同等の生物学的活性を示し、Fc領域の熱、pHなどに対する構造的安定性を向上させたものであってもよい。

【0262】

また、このようなFc領域は、ヒト、ウシ、ヤギ、ブタ、マウス、ウサギ、ハムスター、ラット又はモルモットなどの動物の生体内から分離した天然のものから得られてもよく、形質転換された動物細胞もしくは微生物から得られた組換えたもの又はその誘導体であってもよい。ここで、天然のものから得る方法は、全免疫グロブリンをヒト又は動物の生体から分離した後、タンパク質分解酵素を処理して得られる方法であってもよい。パパインを処理する場合にはFab及びFcで切断され、ペプシンを処理する場合にはpF'c及びF(ab)₂に切断される。これをサイズ排除クロマトグラフィー (size-exclusion chromatography) などを用いてFc又はpF'cを分離することができる。より具体的な実施形態では、ヒト由来のFc領域を微生物から得られた組換え型免疫グロブリンFc領域である。

【0263】

また、免疫グロブリンFc領域は、天然糖鎖、天然のものに比べて増加した糖鎖、天然のものに比べて減少した糖鎖、又は糖鎖が除去された形態であってもよい。このような免疫グロブリンFc糖鎖の増減又は除去には、化学的方法、酵素学的方法及び微生物を用い

10

20

30

40

50

た遺伝工学的な方法などの通常の方法が用いられてもよい。ここで、Fcから糖鎖が除去された免疫グロブリンFc領域は、補体（C1q）との結合力が著しく低下し、抗体依存性細胞傷害又は補体依存性細胞傷害が減少又は除去されるので、生体内で不要な免疫反応を誘発しない。このようなことから、薬物のキャリアとしての本来の目的に、より符合する形態は、糖鎖が除去されるか、または非グリコシル化された免疫グロブリンFc領域であると言える。

【0264】

本発明において「糖鎖の除去（Deglycosylation）」とは、酵素で糖を除去したFc領域を意味し、非グリコシル化（Aglycosylation）とは、原核動物、より具体的な実施形態においては、大腸菌で産生されてグリコシル化されていないFc領域を意味する。

10

【0265】

一方、免疫グロブリンFc領域はヒト又はウシ、ヤギ、ブタ、マウス、ウサギ、ハムスター、ラット、モルモットなどの動物起源であってもよく、より具体的な実施形態においてはヒト起源である。

【0266】

また、免疫グロブリンFc領域は、IgG、IgA、IgD、IgE、IgM由来又はそれらの組み合わせ（combination）又はそれらのハイブリッド（hybrid）によるFc領域であってもよい。より具体的な実施形態においては、ヒト血液に最も豊富なIgG又はIgM由来のものであり、さらに具体的な実施形態においては、リガンド結合タンパク質の半減期を延長させることが知られているIgG由来のものである。一層具体的な実施形態において、前記免疫グロブリンFc領域はIgG4 Fc領域であり、最も具体的な実施形態において、前記免疫グロブリンFc領域はヒトIgG4由来の非グリコシル化されたFc領域であるが、これらに限定されるものではない。

20

【0267】

また、一つの具体的な実施形態において、免疫グロブリンFc領域はヒトIgG4 Fcの領域として、各モノマー（monomer）の3番目のアミノ酸であるシステイン間のジスルフィド結合（inter-chain形態）により2個のモノマーが連結されたホモ二量体（homodimer）の形態であってもよく、この時、ホモ二量体の各モノマーは、独立に35番の及び95番のシステイン間の内部のジスルフィド結合及び141番及び199番のシステイン間の内部のジスルフィド結合、即ち、二つの内部のジスルフィド結合（intra-chain形態）を有するものである／有するものであってもよい。各モノマーのアミノ酸数は、221個のアミノ酸からなり、ホモ二量体を形成するアミノ酸は、全体で442個のアミノ酸からなるが、これらに制限されるものではない。具体的には、免疫グロブリンFc領域は、配列番号139のアミノ酸配列（221個のアミノ酸からなる）を有するモノマー2個が各モノマーの3番目のアミノ酸であるシステイン間にジスルフィド結合を通じてホモ二量体を形成し、前記ホモ二量体のモノマーは、それぞれ独立して35番目の及び95番目のシステイン間の内部のジスルフィド結合及び141番目及び199番目のシステイン間の内部のジスルフィド結合を形成するものであるが、これに制限されるものではない。

30

40

【0268】

前記化学式1のFは、配列番号139のアミノ酸配列であるモノマーを含むものであってもよく、前記Fは配列番号139のアミノ酸配列のモノマーのホモ二量体であってもよいが、これに制限されない。

【0269】

一例として、免疫グロブリンFc領域は、配列番号140のアミノ酸配列（442個のアミノ酸で構成される）を含むホモ二量体であってもよいが、これに制限されない。

【0270】

一方、本発明において「組み合わせ（combination）」とは、二量体又は多量体を形成する時、同一起源の単鎖免疫グロブリンFc領域をコードするポリペプチドが

50

相違する起源の単鎖ポリペプチドと結合を形成することを意味する。即ち、I g G F c、I g A F c、I g M F c、I g D F c及びI g EのF c断片からなるグループから選択された2個以上の断片から二量体又は多量体の製造が可能である。

【0271】

また、上述した結合体は、効力の持続性が天然型グルカゴン、天然型G L P - 1、あるいは天然型G I Pに比べて、又はFが修飾されていないXに比べて増加したものであってもよく、このような結合体は上述した形態だけでなく、生分解性ナノパーティクルに封入された形態などを全て含む。

【0272】

前記肝臓標的薬物を含む組成物、例えば、前記ペプチド（例えば、前記ペプチド自体又はこれに免疫グロブリンF c領域が結合された形態）を含む組成物は、肝臓における薬物作用が必要な疾患の予防又は治療用であってもよい。

【0273】

本発明において用語「予防」とは、前記肝臓標的薬物を含む組成物の投与により肝臓における薬物作用が必要な疾患の発病を抑制又は遅延させるあらゆる行為を意味し、「治療」とは、前記肝臓標的薬物を含む組成物の投与により肝臓における薬物作用が必要な疾患の症状が好転又は有益になるあらゆる行為を意味する。

【0274】

本発明において用語「投与」とは、任意の適切な方法で患者に所定の物質を導入することを意味し、前記組成物の投与経路は特にこれに制限されないが、前記組成物が生体内標的に到達できる任意の一般的な経路を通じて投与され、例えば、腹腔内投与、静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与、皮内投与、経口投与、局所投与、鼻腔内投与、肺内投与、又は直腸内投与などであってもよい。

【0275】

本出願において用語、「肝臓における薬物作用が必要な疾患」は、本発明による肝臓標的薬物が治療的活性を示す疾患であり、肝組織に投与された薬物の分布度が高くなることにより、予防又は治療効果を示す疾患を言う。例えば、本発明の肝臓標的薬物が標的化して治療できる疾患は制限なく含まれる。その例として肝臓疾患であってもよい。本発明において用語「肝疾患」とは、肝臓で発病する疾患を意味し、代謝性肝疾患又は肝臓炎症を含んでもよいが、これに限定されるものではない。前記肝疾患の代表的な例としては、単純脂肪症、非アルコール性脂肪肝、肝臓炎症、非アルコール性脂肪肝炎、胆汁うっ滞性肝疾患（cholestasis liver disease）、肝線維症、肝硬変、肝不全及び肝臓癌などが挙げられ、肝臓の組織及び機能に異常が生じる限り、本発明による肝疾患であってもよい。多くの場合において、ウイルス、アルコール、薬物、免疫異常、代謝疾患などの原因により肝臓に炎症が発生する可能性があり、肝炎症の進行及び慢性化により肝硬変、肝臓癌などの疾患で発病することが知られている。本発明による組成物は、肝臓炎症を伴うか、又はこれに起因した肝臓疾患、例えば、肝臓炎症、非アルコール性脂肪肝炎、又は肝線維症に対する効果を示すことがあるが、これに制限されない。一方、本発明による組成物は、炎症を伴わない肝臓疾患に対しても予防又は治療効果を示すことができ、このような肝臓疾患の例としては、単純脂肪症、非アルコール性脂肪肝と肝硬変などが挙げられるが、これに限定されるものではない。

【0276】

本発明のペプチド又はその結合体が治療効果を有する肝疾患は、代謝性肝疾患であってもよいが、これに制限されない。代謝性肝疾患は、身体 of 非正常な化学反応が身体の新陳代謝を妨害することにより発生する疾患であり、単純脂肪症、脂肪肝、脂肪肝炎などが含まれる。

【0277】

本発明による組成物は、投与時の肝組織内トリグリセライド及び／又はコレステロールの量を減少させることにより代謝性肝疾患に予防又は治療効果を示すものであってもよいが、これに限定されるものではない。前記代謝性肝疾患は、炎症を伴うか、又は炎症を伴

10

20

30

40

50

わなくてもよく、本発明による組成物で治療できる肝疾患の例としては、単純脂肪症、非アルコール性脂肪肝、非アルコール性脂肪肝炎などが挙げられるが、これに限定されるものではない。

【0278】

代謝性肝疾患の代表的例である「非アルコール性脂肪肝臓疾患（nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD）」とは、アルコール摂取の過去歴がなく、アルコール摂取に関係がないのに脂肪肝を伴う場合をいう。脂肪肝とは、中性脂肪が正常な場合とは異なり、肝細胞内に非正常に沈着する現象が現れたことをいう。正常の肝は、約5%が脂肪組織で構成されており、中性脂肪、脂肪酸、リン脂質、コレステロール及びコレステロールエステルが脂肪の主成分であるが、一度脂肪肝が発生すると、大部分の成分が中性脂肪に代替され、中性脂肪の量が肝臓重量の5%以上であれば脂肪肝と診断される。脂肪肝は、肝細胞内の脂肪代謝障害や過剰脂肪を運搬する過程における欠陥などによりもたらされることであり、主に肝臓における脂肪代謝の障害により発生する。前記脂肪肝に蓄積された脂肪の大部分は中性脂肪（triglyceride）であってもよい。

10

【0279】

非アルコール性脂肪肝臓疾患は、肝細胞に脂肪の過度な蓄積のみがある単純脂肪症（simple steatosis）、非アルコール性脂肪肝（nonalcoholic fatty liver）、肝細胞壊死と炎症と線維化を伴う非アルコール性脂肪肝炎（nonalcoholic steatohepatitis, NASH）などを含む一連の疾患群を意味するが、本発明の組成物で治療される限り、これに限定されるものではない。本発明による非アルコール性脂肪肝臓疾患は、非アルコール性脂肪肝炎であってもよいが、これに限定されるものではない。

20

【0280】

また、本発明のペプチド又はその結合体が治療効果を有する肝疾患は、肝臓炎症（liver inflammation）であってもよいが、これに制限されない。本発明において、「肝臓炎症」とは、肝疾患の最大の原因であり、肝臓に炎症を引き起こす疾病を意味し、原因と症状に応じて急性肝炎と慢性肝炎に区別される。ウイルス、アルコール、薬物、免疫異常、代謝疾患などを主原因とする。

【0281】

本発明において、「非アルコール性脂肪肝炎（nonalcoholic steatohepatitis）」は、非アルコール性脂肪肝臓疾患の一つであり、肝細胞壊死、炎症、及び線維化を伴う肝臓疾患の代表的な例である。本発明による組成物は、肝臓炎症及び線維化を抑制し、非アルコール性脂肪肝炎に対する効果を示すことができ、具体的には、脂肪肝、肝線維症又は肝硬変を伴う非アルコール性脂肪肝炎；又は非アルコール性脂肪肝炎による肝臓癌に対する効果を示すことができるが、これに限定されるものではない。

30

【0282】

本発明において、「肝線維症（liver fibrosis）」とは、反復的な肝損傷に対する傷回復過程の結果であり、再生（reparative）や反応過程で器官や組織に過度な線維性結合組織が形成されることを意味する。肝炎症の慢性化及び深化が発病の一原因として知られている。肝硬変症とは異なって可逆的であり、薄い原線維（thin fibril）で構成され、結節（nodule）の形成がないことが知られており、肝損傷の原因が消失すれば、正常回復が可能であるが、このような肝線維症の過程が繰り返されると、ECM（extracellular matrix）間の架橋結合（crosslinking）が増加し、結節（nodule）のある不可逆的な肝硬変症に進行する。本発明による組成物は、肝線維症、具体的には、非アルコール性脂肪肝炎を伴う肝線維症に対する予防又は治療効果を示すことができるが、これに制限されない。

40

【0283】

本発明において、「胆汁うっ滞症（cholestasis）」は、肝臓から十二指腸

50

への胆汁の流動が遅くなったり遮断された病態であり、「胆汁うっ滞性肝疾患 (cholestasis liver disease)」とは、肝臓内において、胆汁形成が各種疾患、拡張された頸静脈栄養、又は特定の薬物（例えば、一部の抗生剤）の副作用のような病態により妨害されたことを意味する。胆汁うっ滞症の通常の徴候には、疲労、搔痒感（かゆみ症）、黄疸、及び黄色腫（皮下への高コレステロール (cholesterol-rich) 物質の蒸着）が含まれる。胆汁うっ滞症の影響は極度で広範囲であり、これは、肝臓疾患の全身的疾患への悪化、肝不全、及び肝移植の必要をもたらす。胆汁うっ滞性肝疾患の原因としては、急性肝炎、胆管の炎症などが挙げられる。

【0284】

前記胆汁うっ滞性肝疾患には、原発性胆汁性胆管炎 (PBC)、原発性硬化性胆管炎 (PSC)、進行性家族性肝臓内胆汁うっ滞症 (PFIC)、及びアラジール症候群 (Alagille syndrome) (AS) などが含まれ得るが、これに制限されない。

10

【0285】

原発性胆汁性胆管炎 (primary biliary cholangitis: PBC) としても知られている原発性胆汁性硬変症は、原因不明の慢性胆汁うっ滞性肝臓疾患である。門脈 (portal) 及び門脈周囲 (periportal) の炎症による進行性胆管損傷は、進行性線維症及び最終的に肝硬変を引き起こすことがある。これまでは、免疫学的、遺伝的及び環境的要因が疾患に潜在的な原因として知られている。原発性胆汁性硬変症は、主に中年の女性に多く見られ、症状は初期発現において疲労、かゆみ又は不糾明の高脂血症も原発性胆汁性硬変症の症状として現れることがある。

20

【0286】

原発性硬化性胆管炎 (Primary sclerosing cholangitis: PSC) は、原因を知らない肝内／肝外胆道の炎症と線維化により引き起こされる慢性進行性胆汁うっ滞性肝臓疾患である。具体的には、胆管及び胆道の炎症性疾患として疾患が進行すると、線維化が起こり、胆管壁が厚くなり、狭くなったり狭窄する疾患である。まだ原因は不明であるが、遺伝的要因、環境的要因、これに関連する免疫反応など多様な因子が複合的な原因として推定されている。

【0287】

本発明の「肝硬変 (liver cirrhosis)」は、肝細胞の再生及び線維組織の増加を繰り返しながら発病し、病理学的に壊死 (necrosis)、炎症 (inflammation) 及び線維化 (fibrosis) を伴う慢性疾患であり、最終的には、肝不全のような肝硬変合併症及び肝臓癌などの疾患に進行して死亡するに至る。特に、初期に自覚症状がなく、かなり進んでから発見されるため、肝硬変などに進行する前の状態である肝線維症を迅速に治療することが求められる。本発明による組成物は、肝硬変、具体的には、非アルコール性脂肪肝炎を伴う肝硬変に対する予防又は治療効果を示すことができるが、これに制限されない。

30

【0288】

本発明の「肝不全 (liver decompensation)」とは、ウイルス性肝炎、肝硬変症、薬物又はアルコールのような肝損傷又は肝臓疾患により肝機能が弱くなり、肝臓が正常な生理作用としてのタンパク質合成と代謝機能を行えない状態を意味する。進行速度に応じて急性肝不全又は慢性肝不全に分けられ、様々な合併症を引き起こすことが知られている。本発明による組成物は、炎症及び線維化抑制などの効果を示すため、肝不全に対する予防又は治療効果を示すことができる。

40

【0289】

本発明の「肝臓癌 (hepatocellular carcinoma)」とは、肝細胞に由来する悪性腫瘍を意味し、肝細胞自体から発生した原発性肝臓癌 (肝細胞癌; hepatocellular carcinoma) と他の組織の癌が肝臓に転移されてきた転移性肝臓癌に区分することができるが、肝臓癌の約90%以上は原発性肝臓癌である。主な原因としては、肝炎、慢性肝臓疾患以外に、アルコール、喫煙、肥満などが知られている。本発明による組成物は、肝臓癌、具体的には、非アルコール性脂肪肝炎による肝臓

50

癌に対する予防又は治療効果を示すことができるが、これに制限されない。

【0290】

国際公開特許WO 2020/263063で開示されているように、代謝性肝疾患、単純脂肪症、非アルコール性脂肪肝、肝臓炎症、非アルコール性脂肪肝炎、胆汁うっ滞性肝疾患、肝線維症、肝硬変、肝不全及び肝臓癌など、肝臓疾患に効果が優れた本発明の三重活性体又はその持続型結合体は、肝組織への標的化にも優れ、前記肝疾患に予防又は治療効果が優れ、肝臓疾患治療剤としても効果的に提供される。

【0291】

本発明の薬学的組成物は、薬学的に許容可能な担体、賦形剤又は希釈剤をさらに含む得る。このような薬学的に許容可能な担体、賦形剤、又は希釈剤は、非自然なものであってもよい。

10

【0292】

本発明において用語「薬学的に許容可能な」とは、治療効果を示すことができる程度の十分な量と副作用を引き起こさないことを意味し、疾患の種類、患者の年齢、体重、健康、性別、患者の薬物に対する敏感度、投与経路、投与方法、投与回数、治療期間、配合又は同時に用いられる薬物など、医学分野によく知られている要素に応じて当業者により容易に決定され得る。

【0293】

本発明のペプチドを含む薬学的組成物は、薬学的に許容可能な担体をさらに含んでもよい。前記担体は、特にこれに制限されないが、経口投与時には、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、賦形剤、可溶化剤、分散剤、安定化剤、懸濁化剤、色素、香料などを用いることができ、注射剤の場合には、緩衝剤、保存剤、無痛化剤、可溶化剤、等張化剤、安定化剤などを混合して用いることができ、局所投与用の場合には、基剤、賦形剤、潤滑剤、保存剤などを用いることができる。

20

【0294】

本発明の組成物の剤形は、上述したような薬学的に許容可能な担体と混合して多様に製造され得る。例えば、経口投与時には、錠剤、トローチ、カプセル、エリキシル、サスペンション、シロップ、ウェハーなどの形態で製造することができ、注射剤の場合には、単位投薬アンプル又は多数回投薬形態で製造することができる。その他、溶液、懸濁液、錠剤、丸薬、カプセル、徐放型製剤などに剤形化することができる。

30

【0295】

一方、製剤化に適した担体、賦形剤及び希釈剤の例としては、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、キシリトール、エリスリトール、マルチトール、澱粉、アカシア、アルギネート、ゼラチン、カルシウムホスフェート、カルシウムシリケート、セルロース、メチルセルロース、微晶質セルロース、ポリビニルピロリドン、水、メチルヒドロキシベンゾエート、プロピルヒドロキシベンゾエート、タルク、マグネシウムステアレート又は鉱油などが用いられる。また、充填剤、抗凝集剤、潤滑剤、湿潤剤、香料、防腐剤などをさらに含む得る。

【0296】

また、本発明の薬学的組成物は、錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、懸濁剤、内用液剤、乳剤、シロップ剤、滅菌水溶液、非水性溶剤、凍結乾燥製剤及び坐剤からなる群から選択されるいずれか一つの剤形を有することができる。

40

【0297】

また、前記組成物は、薬学的分野において通常の方法により患者の身体内投与に適した単位投与形の製剤、具体的には、タンパク質医薬品の投与に有用な製剤形態に剤形化させて当業界において通常に用いる投与方法を用いて経口、又は皮膚、静脈内、筋肉内、動脈内、骨髄内、髄膜腔内、心室内、肺、経皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、消化管内、局所、舌下、腔内又は直腸経路を含む非経口投与経路により投与され得るが、これらに限定されるものではない。

【0298】

50

また、前記結合体は、生理食塩水又は有機溶媒のように薬剤として許容された種々の担体 (carrier) と混合して用いられ、安定性や吸水性を増加させるために、グルコース、スクロース又はデキストランのような炭水化物、アスコルビン酸 (ascorbic acid) 又はグルタチオンのような抗酸化剤 (antioxidants)、キレート剤、低分子タンパク質又は他の安定化剤 (stabilizers) などが薬剤として用いられる。

【0299】

本発明の薬学的組成物の投与量と回数は、治療する疾患、投与経路、患者の年齢、性別及び体重及び疾患の重症度などの種々の関連因子と共に、活性成分である薬物の種類に応じて決定される。

【0300】

本発明の組成物の総有効量は、単一投与量 (single dose) で患者に投与され、多重投与量 (multiple dose) で長期間投与される分割治療方法 (fractionated treatment protocol) により投与され得る。本発明の薬学的組成物は、疾患の程度に応じて有効成分の含量を異にすることができる。具体的には、本発明の結合体の好ましい全体用量は、一日に患者体重 1 kg 当り約 0.0001 mg ~ 500 mg であってもよい。しかし、前記結合体の用量は、薬学的組成物の投与経路及び治療回数だけでなく、患者の年齢、体重、健康状態、性別、疾患の重症度、食事及び排泄率など多様な要因を考慮して患者に対する有効投与量が決定されるため、このような点を考慮すると、当分野の通常の知識を有する者であれば、前記本発明の組成物の特定の用途に応じた適切な有効投与量を決定し得るものである。本発明による薬学的組成物は、本発明の効果を奏する限り、その剤形、投与経路及び投与方法に特に制限されない。

【0301】

本発明の薬学的組成物は生体内持続性及び力価に優れ、本発明の薬学的製剤の投与回数及び頻度を顕著に減少させることができる。

【0302】

本発明を具現するもう一つの態様は、肝組織に標的化された生理活性物質、具体的には、グルカゴン受容体と結合力を有する物質、その例として肝臓標的薬物を含み、肝組織に標的化された生理活性物質を提供する。

【0303】

前記肝組織に標的化された生理活性物質、グルカゴン受容体と結合力を有する物質、肝臓標的薬物などについては前述したことが全部適用される。

【0304】

本発明を具現するもう一つ態様は、前記薬学的組成物又は肝組織に標的化された生理活性物質をそれを必要とする個体に投与する段階を含む、肝臓における薬物作用が必要な疾患の予防又は治療方法を提供する。

【0305】

前記薬学的組成物、肝組織に標的化された生理活性物質、肝臓における薬物作用が必要な疾患、予防及び治療については前述したことが全部適用される。

【0306】

本発明において前記個体は、肝臓における薬物作用が必要な、例えば、肝臓疾患が疑われる個体であり、前記肝臓疾患が疑われる個体は、当該疾患が発病しているか、又は発病し得るヒトを含むラット、家畜などを含む哺乳動物を意味するが、本発明の肝臓標的薬物を含む前記組成物で治療可能な個体は、制限なく含まれる。

【0307】

本発明の方法は、前記肝臓標的薬物を含む薬学的組成物を薬学的有効量で投与することを含むことができる。適した総 1 日使用量は正しい医学的判断の範囲内で処置医により決定され、1 回又は数回に分けて投与できる。しかし、本発明の目的上、特定患者に対する具体的な治療の有効量は、達成しようとする反応の種類と程度、場合によって他の製剤が

10

20

30

40

50

用いられるかどうかをはじめとする具体的な組成物、患者の年齢、体重、一般健康状態、性別及び食事、投与時間、投与経路及び組成物の分泌率、治療期間、具体的な組成物と共に用いられり同時に用いられる薬物をはじめとする多様な因子と医薬分野によく知られている類似因子により異なって適用することが好ましい。

【0308】

本発明を具現するもう一つの態様は、前記肝臓における薬物作用が必要な疾患の予防又は治療用薬剤の製造に使用するための、前記肝臓標的薬物、具体的には、肝組織に標的化された生理活性物質の用途を提供することである。

【0309】

前記肝臓疾患、肝臓標的薬物、及び肝組織に標的化された生理活性物質については前述したことが全部適用される。

【0310】

本発明を具現するもう一つの態様は、前記肝臓標的薬物、具体的には、肝組織に標的化された生理活性物質をそれを必要とする個体に投与して前記肝臓標的薬物の肝臓標的化を誘導する方法を提供することである。

【0311】

前記肝臓標的薬物、肝組織に標的化された生理活性物質、及び個体については前述したことが全部適用される。

【0312】

本発明を具現するもう一つの態様は、前記肝臓標的薬物、具体的には、肝組織に標的化された生理活性物質をそれを必要とする個体に投与して肝組織内で前記生理活性物質の分布増大を誘導する方法を提供することである。

【0313】

前記肝臓標的薬物、肝組織に標的化された生理活性物質、及び個体については前述したことが全部適用される。

【0314】

前記肝臓標的化を誘導する方法は、当該物質が肝臓に標的化されるように適切な投与経路を通じて投与され、例えば、皮下（s.c.）に投与されてもよいが、特にこれに限定されるものではない。

【0315】

以下、下記実施例により本発明をより詳しく説明する。ただし、下記実施例は本発明を例示するためのものであり、本発明の範囲がこれらに限定されるものではない。

【0316】

実施例 1：三重活性体の製造

グルカゴン、GLP-1、及びGIP受容体の全てに活性を示す三重活性体を製造し、下記表1にその配列を示した。

【0317】

10

20

30

40

50

【表 1】

配列番号	配列	情報
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 G G	

10

20

30

40

50

	P S S G A P P P S H G	
17	C A G Q G T F T S D L S K Q M D E E R A R E F I E W L L A Q K P S S G A P P P S H G	
18	C A G Q G T F T S D L S K Q M D S E R A R E F I E W L K N T G P S S G A P P P S H G	
19	C A G Q G T F T S D L S I Q Y D S E H Q R D F I E W L K D T G P S S G A P P P S H G	
20	C A G Q G T F T S D L S I Q Y E E E A Q Q D F V E W L K D T G P S S G A P P P S H G	
21	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E C R A K E F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S	環形成
22	Y 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	環形成
23	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E C R A K E F V Q W L L A Q K G K K N D W K H N I T	環形成
24	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E C R A K E F V Q W L K N G G P S S G A P P P S	環形成
25	H 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	
26	H X Q G T F T S D C S K Y L D S R A A Q D F V Q W L L D G G P S S G A P P P S	
27	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E R A C Q D F V Q W L L D Q G G P S S G A P P P S	
28	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R A Q E F V C W L L A Q K G K K N D W K H N I T	
29	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E K A A K E F V Q W L L N T C	環形成
30	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E K A Q K E F V Q W L L D T C	環形成

10

20

30

40

50

31	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E <u>K</u> A C <u>K</u> E F V Q W L L A Q	環形成
32	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E <u>K</u> A C <u>K</u> D F V Q W L L D G G P S S G A P P P S	環形成
33	H X Q G T F T S D Y S I A M D E <u>I</u> H Q <u>K</u> D F V N W L L A Q K C	環形成
34	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E <u>K</u> R Q <u>K</u> E F V N W L L A Q K C	環形成
35	H X Q G T F T S D Y S I A M D E <u>I</u> H Q <u>K</u> D F V N W L L N T K C	環形成
36	H X Q G T F T S D Y S K Y L C <u>E</u> 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	環形成
37	H X Q G T F T S D Y S K Y L D E <u>C</u> 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	環形成
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 <u>K</u> 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	環形成
43	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E <u>K</u> R A <u>K</u> E F V Q W L L D H H C S S G Q P P P S	環形成
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	

10

20

30

40

50

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 K D F V N W L L N T K	環形成
50	H X Q G T F T S D Y S K Y 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 C	環形成
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	環形成
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	環形成
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	環形成
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	環形成
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	環形成
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	環形成
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	環形成
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	環形成
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	環形成
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	環形成
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	環形成
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	

10

20

30

40

50

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	環形成
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	環形成
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	環形成
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 H H P S S G Q P P P S	環形成
68	Y X Q G T F T S D Y S K C L D E K A A K E F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S	環形成
69	Y X Q G T F T S D Y S K C L D E R A A K E F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S	環形成
70	Y X Q G T F T S D Y S K C L D E K R A K D F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S	環形成
71	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E R A C K D F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S	環形成
72	Y X Q G T F T S D C S K Y L D E R A A K D F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S	環形成
73	C A X Q G T F T S D Y S K Y L D E C R A K E F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S	環形成
74	C A 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	環形成
75	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E K A A K E F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S C	環形成
76	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R A K D F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S C	環形成
77	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E K A A K D F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S	環形成

10

20

30

40

50

	P S S G Q P P P S C	
78	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 K C	環形成
79	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 K C	環形成
80	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 K C	環形成
81	C A 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	環形成
82	C A 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	環形成
83	C A 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	環形成
84	C A 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	環形成
85	C A 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	環形成
86	C A 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	環形成
87	C A 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	環形成
88	C A 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	環形成
89	C A 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 K C	環形成
90	C A 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 K C	環形成
91	C A 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 K C	環形成
92	C A 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 K C	環形成
93	C A 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 K C	環形成
94	C A 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 K	環形成

10

20

30

40

50

	C	
95	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E <u>K</u> R A <u>K</u> E F V Q W L L C H H P S S G Q P P P S	環形成
96	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E <u>K</u> R A <u>K</u> E F V Q W L L D H C P S S G Q P P P S	環形成
97	Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E <u>K</u> R A <u>K</u> E F V Q W L L D C H P S S G Q P P P S	環形成
98	Y X Q G T F T S D Y S K A L D E <u>K</u> 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	環形成
99	Y X Q G T F T S D Y S K A L D E <u>K</u> 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	環形成
100	Y X Q G T F T S D Y S K A L D E <u>K</u> 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	環形成
101	Y X Q G T F T S D Y S K A L D E <u>K</u> A A <u>K</u> E F V N W L L D Q H P S S G Q P P P S C	環形成
102	Y X Q G T F T S D Y S K A L D E <u>K</u> A A <u>K</u> D F V N W L L D Q H P S S G Q P P P S C	環形成

10

20

30

40

50

【0318】

前記の表1に記載された配列においてXと表記されたアミノ酸は、非天然型アミノ酸であるAib (amino isobutyric acid) であり、下線で示されたアミノ酸は、下線で示されたアミノ酸が互いに環を形成することを意味する。また、前記表1においてCAは4-イミダゾアセチル (4-imidazoacetyl) を、Yはチロシンを意味する。前記三重活性体ペプチドは、必要に応じてC末端をアミド化した三重活性体として用いる。一方、前記ペプチドは、合成器を用いた固相ペプチド合成法で製造し、C末端のアミド化された三重活性体の場合には、合成器を用いた固相ペプチド合成法で製造時に、C末端のアミド化のためにアミドレジンを用いた。

【0319】

実施例2：三重活性体の持続型結合体の製造

両末端にそれぞれマレイミド基及びアルデヒド基を有する10kDaのPEG、即ち、マレイミド-PEG-アルデヒド (10kDa、NOF、日本) を実施例1の三重活性体 (配列番号21、22、42、43、50、77、及び96) のシステイン残基にペグ化させるために、三重活性体とマレイミド-PEG-アルデヒドのモル比を1:1~3、タンパク質の濃度を1~5mg/mlにして低温で0.5~3時間反応させた。この時、反応は50mM Tris緩衝液 (pH 7.5) に20~60%のイソプロパノールが添加された環境下で行われた。反応が終了した後、前記反応液をSPセファロースHP (GE healthcare、米国) に適用してシステインにモノペグ化された三重活性体

を精製した。

【0320】

次に、前記精製されたモノペグ化された三重活性体と免疫グロブリンFc（配列番号139のホモ二量体）をモル比1：1～5、タンパク質の濃度を10～50mg/mlにして4～8℃で12～18時間反応させた。反応は、100mMのリン酸カリウム緩衝液（pH 6.0）に還元剤である10～50mMのシアノ水素化ホウ素ナトリウムと10～30%のイソプロパノールが添加された環境下で行われた。反応が終了した後、前記反応液をブチルセファロースFF精製カラム（GE healthcare、米国）とSource ISO精製カラム（GE healthcare、米国）に適用し、三重活性体と免疫グロブリンFcを含む結合体を精製した。精製されたこの持続型結合体は、分子内で三重活性体ペプチド、ポリエチレングリコール（PEG）リンカーとFc二量体が1：1：1のモル比で共有結合で連結された構造であり、PEGリンカーは、Fc二量体の両ポリペプチド鎖中の一本鎖のみに連結されている。

10

【0321】

一方、前記免疫グロブリンFcは、配列番号139のアミノ酸配列（221個のアミノ酸で構成される）を有するモノマー2個が、各モノマーの3番のアミノ酸であるシステインの間にジスルフィド結合を通じてホモ二量体を形成し、前記ホモ二量体のモノマーは、それぞれ独立して35番及び95番のシステイン間の内部のジスルフィド結合及び141番及び199番のシステイン間の内部のジスルフィド結合が形成されたものである。

20

【0322】

製造後、逆相クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー及びイオン交換クロマトグラフィーで分析した純度は95%以上であった。

【0323】

ここで、配列番号21の三重活性体のC末端をアミド化した三重活性体及び免疫グロブリンFcがPEGを通じて連結された結合体を、「配列番号21と免疫グロブリンFcを含む結合体」あるいは「配列番号21の持続型結合体」と命名し、これらは本願において混用され得る。

【0324】

ここで、配列番号22の三重活性体のC末端をアミド化した三重活性体及び免疫グロブリンFcがPEGを通じて連結された結合体を、「配列番号22と免疫グロブリンFcを含む結合体」あるいは「配列番号22の持続型結合体」と命名し、これらは本願において混用され得る。

30

【0325】

ここで、配列番号42の三重活性体のC末端をアミド化した三重活性体及び免疫グロブリンFcがPEGを通じて連結された結合体を、「配列番号42と免疫グロブリンFcを含む結合体」あるいは「配列番号42の持続型結合体」と命名し、これらは本願において混用され得る。

【0326】

ここで、配列番号43の三重活性体のC末端をアミド化した三重活性体及び免疫グロブリンFcがPEGを通じて連結された結合体を、「配列番号43と免疫グロブリンFcを含む結合体」あるいは「配列番号43の持続型結合体」と命名し、これらは本願において混用され得る。

40

【0327】

ここで、配列番号50の三重活性体のC末端をアミド化した三重活性体及び免疫グロブリンFcがPEGを通じて連結された結合体を、「配列番号50と免疫グロブリンFcを含む結合体」あるいは「配列番号50の持続型結合体」と命名し、これらは本願において混用され得る。

【0328】

ここで、配列番号77の三重活性体のC末端をアミド化した三重活性体及び免疫グロブリンFcがPEGを通じて連結された結合体を、「配列番号77と免疫グロブリンFcを

50

含む結合体」あるいは「配列番号 77 の持続型結合体」と命名し、これらは本願において混用され得る。

【0329】

ここで、配列番号 96 の三重活性体の C 末端をアミド化した三重活性体及び免疫グロブリン Fc が PEG を通じて連結された結合体を、「配列番号 96 と免疫グロブリン Fc を含む結合体」あるいは「配列番号 96 の持続型結合体」と命名し、これらは本願において混用され得る。

【0330】

実験例 1：三重活性体及びその持続型結合体の *in vitro* 活性の測定

前記実施例 1 及び 2 で製造された三重活性体とその持続型結合体の活性を測定するために GLP-1 受容体、グルカゴン (GCG) 受容体、及び GIP 受容体がそれぞれ形質転換された細胞株を用いて *in vitro* で細胞活性を測定する方法を用いた。

【0331】

前記各細胞株は、CHO (chinese hamster ovary) にヒト GLP-1 受容体、ヒト GCG 受容体及びヒト GIP 受容体遺伝子をそれぞれ発現するように形質転換されたものであり、GLP-1、GCG 及び GIP の活性を測定するのに適している。従って、各部分に対する活性をそれぞれの形質転換細胞株を用いて測定した。

【0332】

前記実施例 1 と 2 で製造された三重活性体とその持続型結合体の GLP-1 活性測定のために、ヒト GLP-1 を 50 nM から 4 倍ずつ 0.000048 nM まで連続的に希釈し、前記実施例 1 と 2 で製造された三重活性体とその持続型結合体を 400 nM から 4 倍ずつ 0.00038 nM まで連続的に希釈した。前記培養されたヒト GLP-1 受容体が発現された CHO 細胞から培養液を除去し、連続的に希釈された各物質を 5 μ l ずつ前記細胞に添加した後、cAMP 抗体が含まれた緩衝液を 5 μ l ずつ追加した後、15 分間常温で培養した。その後、細胞溶解緩衝液 (cell lysis buffer) が含まれた detection mix を 10 μ l ずつ加えて細胞を溶解させ、90 分間常温で反応させた。前記反応が完了した細胞溶解物を LANCE cAMP kit (PerkinElmer, USA) に適用して蓄積された cAMP を通じて EC₅₀ 値を算出した後、互いに比較した。ヒト GLP-1 に比した相対力価は下記表 2 と表 3 に示した。

【0333】

前記実施例 1 と 2 で製造された三重活性体とその持続型結合体の GCG 活性の測定のために、ヒト GCG を 50 nM から 4 倍ずつ 0.000048 nM まで連続的に希釈し、前記実施例 1 と 2 で製造された三重活性体とその持続型結合体を 400 nM から 4 倍ずつ 0.00038 nM まで連続的に希釈した。前記培養されたヒト GCG 受容体が発現された CHO 細胞から培養液を除去し、連続的に希釈された各物質を 5 μ l ずつ前記細胞に添加した後、cAMP 抗体が含まれた緩衝液を 5 μ l ずつ追加した後、15 分間常温で培養した。その後、細胞溶解緩衝液 (cell lysis buffer) が含まれた detection mix を 10 μ l ずつ加えて細胞を溶解させ、90 分間常温で反応させた。前記反応が完了した細胞溶解物を LANCE cAMP kit (PerkinElmer, USA) に適用して蓄積された cAMP を通じて EC₅₀ 値を算出した後、互いに比較した。ヒト GCG に比した相対力価は下記の表 2 と表 3 に示した。

【0334】

前記実施例 1 と 2 で製造された三重活性体とその持続型結合体の GIP 活性測定のために、ヒト GIP を 50 nM から 4 倍ずつ 0.000048 nM まで連続的に希釈し、前記実施例 1 と 2 で製造された三重活性体とその持続型結合体を 400 nM から 4 倍ずつ 0.00038 nM まで連続的に希釈した。前記培養されたヒト GIP 受容体が発現された CHO 細胞から培養液を除去し、連続的に希釈された各物質を 5 μ l ずつ前記細胞に添加した後、cAMP 抗体が含まれた緩衝液を 5 μ l ずつ追加した後、15 分間常温で培養した。その後、細胞溶解緩衝液 (cell lysis buffer) が含まれた detection mix を 10 μ l ずつ加えて細胞を溶解させ、90 分間常温で反応させた。

前記反応が完了した細胞溶解物を LANCE cAMP kit (PerkinElmer, USA) に適用して蓄積された cAMP を通じて EC₅₀ 値を算出した後、互いに比較した。ヒト GIP に比した相対力価は下記表 2 と表 3 に示した。下記表 2 で活性を確認した配列番号 1 ～ 102 の三重活性体ペプチド及び表 3 で活性を確認した三重活性体持続型結合体内の三重活性体ペプチドは C 末端がアミド化された三重活性体である。

【0335】

【表 2】

三重活性体の相対的力価比率

	天然ペプチドに比した <i>in vitro</i> 活性 (%)		
配列番号	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

10

20

30

40

50

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

10

20

30

40

50

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

10

20

30

40

50

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

10

20

30

40

【 0 3 3 6 】

50

【表 3】

三重活性体持続型結合体の相対的力価比率

持続型結合体	天然ペプチドに比べた <i>in vitro</i> 活性 (%)		
	vs GLP-1	vs Glucagon	vs GIP
配列番号：21の持続型結合体	0.1	1.6	0.2
配列番号：22の持続型結合体	0.1	0.9	0.5
配列番号：42の持続型結合体	3.1	23.1	1.2
配列番号：43の持続型結合体	2.1	13.5	0.6
配列番号：50の持続型結合体	15.4	6.9	0.7
配列番号：77の持続型結合体	6.7	1.7	6.6
配列番号：96の持続型結合体	0.3	4.0	0.3

【0337】

前記で製造した新規な三重活性体持続型結合体は、グルカゴン受容体に活性が高いため、肝細胞への標的が増加し、また、グルカゴン受容体、GLP-1受容体、及びGIP受容体を全て活性化させ、肝臓で目的とする疾患の治療的物質として利用できる。

【0338】

実験例2：三重活性体持続型結合体の組織分布の確認

3匹のSDラット（rat）から代表的な肝臓標的薬物として配列番号42の持続型結合体を選択し、前記肝臓標的薬物の組織及び臓器内分布を比較した。

【0339】

具体的には、三重活性体持続型結合体を各544 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ずつ皮下注射した後4、48、及び168時間で臓器を摘出した後、ELISA方法を通じて組織（血清、脳、すい臓、心臓、腎臓、胃、小腸、大腸、肺、肝、脾臓、脂肪組織及び筋肉）における各物質濃度を測定及び比較した。

【0340】

その結果、三重活性体持続型結合体は、投与後 48 時間で組織分布が最も強く検出され、特に、肝臓で高い分布比率を示した。組織分布は、肝臓、心臓、肺、大腸、脾臓、すい臓、脂肪組織、小腸、胃、筋肉の順に高かった。投与後 168 時間にも依然として肝臓で最も高い割合で検出され、投与後 7 日目までも肝臓で高割合で存在することが分かった。前記実施例で確認した配列番号 42 持続型結合体の血清の比べた組織分布比率の結果を要約すると、下記表 4 の通りである。

【0341】

【表 4】

組織	4時間		48時間		168時間	
	濃度 (ng/ml, ng/g)	分布比率 T/S (%)	濃度 (ng/ml, ng/g)	分布比率 T/S (%)	濃度 (ng/ml, ng/g)	分布比率 T/S (%)
血清	167.0 ± 42.2	—	2281.7 ± 525.3	—	1113.3 ± 351.7	—
肝臓	70.9 ± 20.9	42.4	1143.4 ± 310.4	50.1	709.3 ± 42.7	63.7
心臓	30.6 ± 2.8	18.3	403.7 ± 80.5	17.7	108.1 ± 3.2	9.7
肺	<LLOQ	—	311.6 ± 27.2	13.7	182.3 ± 12.7	16.4
大腸	<LLOQ	—	182.2 ± 23.0	8.0	52.2 ± 5.1	4.7
脾臓	<LLOQ	—	176.4 ± 35.0	7.7	130.3 ± 13.9	11.7
すい臓	<LLOQ	—	100.5 ± 101.5	4.4	39.8 ± 3.0	3.6
脂肪組織	<LLOQ	—	101.2 ± 1.5	4.4	58.1 ± 6.0	5.2
小腸	<LLOQ	—	94.8 ± 38.2	4.2	<LLOQ	—
胃	<LLOQ	—	67.7 ± 12.4	3.0	31.8 ± 3.3	2.9
筋肉	<LLOQ	—	68.4 ± 34.2	3.0	41.5 ± 5.2	3.7
腎臓	<LLOQ	—	<LLOQ	—	<LLOQ	—
脳	<LLOQ	—	<LLOQ	—	<LLOQ	—

* LLOQ (Lower Limit of Quantification)= 最低定量限界* T/S (tissue-to-serum ratio) = 組織対血清比率

* ng/mlは血清, ng/gは組織に対する濃度である

【0342】

前記のような結果は、本発明の三重活性体持続型結合体が他の組織に比べて肝臓で組織

分布性に優れ、目的とする疾患の治療的物質として利用できることを示唆することである。従って、肝組織への標的化を誘導して必要な量の薬物を効率的に伝達できるようにして薬物治療を最適化できる新たな用途として三重活性体持続型結合体を利用できる。併せて、国際公開特許WO 2020/263063で開示された通り、代謝性肝疾患、単純脂肪症、非アルコール性脂肪肝、肝臓炎症、非アルコール性脂肪肝炎、胆汁うっ滞性肝疾患、肝線維症、肝硬変、肝不全及び肝臓癌など、肝臓疾患に効果が優れた本発明の三重活性体又はその持続型結合体は、肝組織への標的化が優れ、前記肝臓疾患に予防又は治療効果が優れることが分かる。

【0343】

また、前記のような結果は、投与後7日目にも肝臓における分布が高いことを示唆することであり、1週に約1回投与される製剤としての便宜性を裏付けることである。

10

【0344】

以上の説明から、本発明が属する技術分野の当業者であれば、本発明がその技術的思想や必須の特徴を変更することなく、他の具体的な形態で実施されうることが理解できるだろう。これに関連し、以上で記述した実施例は全ての面で例示的なものであり、限定的なものでないことを理解すべきである。本発明の範囲は前記詳細な説明よりは、後述する特許請求の範囲の意味及び範囲、そしてその等価概念から導かれるあらゆる変更又は変形された形態が本発明の範囲に含まれるものと解釈すべきである。

【配列表】

2025502749000001.xml

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/021130

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
A61K 38/16(2006.01)i; A61K 47/68(2017.01)i; A61K 47/60(2017.01)i; A61P 1/16(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) A61K 38/16(2006.01); A61K 38/26(2006.01); A61K 47/68(2017.01); C07K 14/605(2006.01)		
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: 글루카곤(glucagon), 펩타이드(peptide), 결합체(complex), 간 표적(liver targeting), 분포(distribution), T/S 비율(T/S ration), 삼중 활성제(triple agonist), 간질환(liver disease)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KR 10-2021-0002055 A (HANMI PHARM. CO., LTD.) 06 January 2021 (2021-01-06) See claims 1-3, 5-9 and 18, paragraphs [0024]-[0031], [0034], [0036]-[0037], [0046], [0051], [0092], [0095], [0111]-[0139], [0142]-[0143], [0145]-[0178], [0180]-[0197], [0199]-[0220], [0243]-[0275], [0278]-[0293], [0295], [0302], [0346]-[0347], [0354], [0378], [0380]-[0382], [0386], [0422]-[0433] and [0577], table 1, general formulas 1-3, chemical formula 1, and SEQ ID NOs: 1-106 and 109-117.	1-34
A	KR 10-2017-0080522 A (HANMI PHARM. CO., LTD.) 10 July 2017 (2017-07-10) See entire document.	1-34
A	KR 10-2015-0023013 A (INDIANA UNIVERSITY RESEARCH AND TECHNOLOGY CORPORATION) 04 March 2015 (2015-03-04) See entire document.	1-34
A	US 2013-0203659 A1 (MIRANDA, L. P. et al.) 08 August 2013 (2013-08-08) See entire document.	1-34
☒ 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 "D" document cited by the applicant in the international application "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 07 April 2023		Date of mailing of the international search report 07 April 2023
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208 Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2022/021130

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2021-0129614 A (HANMI PHARM. CO., LTD.) 28 October 2021 (2021-10-28) See entire document.	1-34
PX	KR 10-2022-0010462 A (HANMI PHARM. CO., LTD.) 25 January 2022 (2022-01-25) See claims 1-8, paragraphs [0025]-[0027] and [0029]-[0123], table 1, general formulas 1-3, chemical formula 1, and SEQ ID NOs: 1-103.	1-34

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/021130

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

- a. ☒ forming part of the international application as filed.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)),
☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/021130

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **35-36**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 35-36 pertain to a method for treatment of the human body by surgery or therapy, as well as a diagnostic method (PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv)).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: **35-36**
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2022/021130

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
KR	10-2021-0002055	A	06 January 2021	CN	113271959	A	17 August 2021
				CN	115209913	A	18 October 2022
				EP	3936142	A1	12 January 2022
				EP	4104849	A1	21 December 2022
				JP	2022-171653	A	11 November 2022
				JP	2022-530714	A	30 June 2022
				JP	2023-510864	A	15 March 2023
				JP	7111917	B2	02 August 2022
				KR	10-2021-0002067	A	06 January 2021
				KR	10-2021-0091032	A	21 July 2021
				KR	10-2022-0050824	A	25 April 2022
				KR	10-2022-0146369	A	01 November 2022
				KR	10-2227400	B1	15 March 2021
				KR	10-2459366	B1	28 October 2022
				US	2022-0040262	A1	10 February 2022
				WO	2020-263063	A1	30 December 2020
				WO	2021-145552	A1	22 July 2021
				WO	2022-080991	A1	21 April 2022
KR	10-2017-0080522	A	10 July 2017	CN	108699125	A	23 October 2018
				CN	108699125	B	28 October 2022
				CN	109071624	A	21 December 2018
				EP	3398961	A1	07 November 2018
				EP	3398961	B1	29 June 2022
				EP	3398962	A1	07 November 2018
				EP	3985017	A1	20 April 2022
				JP	2019-504055	A	14 February 2019
				JP	2019-504057	A	14 February 2019
				JP	2020-128428	A	27 August 2020
				JP	2020-171287	A	22 October 2020
				JP	2022-130723	A	06 September 2022
				JP	6712322	B2	17 June 2020
				JP	6712323	B2	17 June 2020
				JP	7030894	B2	07 March 2022
				KR	10-2017-0080521	A	10 July 2017
				KR	10-2019-0060749	A	03 June 2019
				KR	10-2019-0062344	A	05 June 2019
				KR	10-2019-0104958	A	11 September 2019
				KR	10-2019-0105542	A	17 September 2019
				KR	10-2020-0095436	A	10 August 2020
				KR	10-2020-0096184	A	11 August 2020
				KR	10-2179391	B1	16 November 2020
				KR	10-2179392	B1	16 November 2020
				KR	10-2285377	B1	04 August 2021
				KR	10-2285378	B1	04 August 2021
				KR	10-2367997	B1	02 March 2022
				KR	10-2401869	B1	25 May 2022
				US	10370426	B2	06 August 2019
				US	10400020	B2	03 September 2019
				US	10981967	B2	20 April 2021
				US	11332508	B2	17 May 2022

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2022/021130

Patent document cited in search report				Publication date (day/month/year)		Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)		
				US		2018-0311315	A1	01 November 2018			
				US		2019-0002520	A1	03 January 2019			
				US		2019-0153060	A1	23 May 2019			
				US		2019-0218269	A1	18 July 2019			
				US		2021-0188937	A1	24 June 2021			
				US		2022-0213164	A1	07 July 2022			
				WO		2017-116204	A1	06 July 2017			
				WO		2017-116205	A1	06 July 2017			
KR	10-2015-0023013	A	04 March 2015	CN		104583232	A	29 April 2015			
				CN		104583232	B	13 April 2018			
				EP		2864351	A1	29 April 2015			
				EP		2864351	B1	10 August 2016			
				JP		2015-521622	A	30 July 2015			
				JP		6311708	B2	18 April 2018			
				US		2014-0011738	A1	09 January 2014			
				US		9340600	B2	17 May 2016			
				WO		2013-192129	A1	27 December 2013			
US	2013-0203659	A1	08 August 2013	EP		2007804	A2	31 December 2008			
				EP		2007804	B1	18 June 2014			
				EP		2573111	A1	27 March 2013			
				EP		2574624	A1	03 April 2013			
				JP		2009-534423	A	24 September 2009			
				JP		2012-116864	A	21 June 2012			
				US		2010-0048468	A1	25 February 2010			
				US		8288339	B2	16 October 2012			
				WO		2007-124461	A2	01 November 2007			
				WO		2007-124461	A3	05 June 2008			
KR	10-2021-0129614	A	28 October 2021	EP		4140496	A1	01 March 2023			
				WO		2021-215801	A1	28 October 2021			
KR	10-2022-0010462	A	25 January 2022	WO		2022-015115	A1	20 January 2022			

국제조사보고서

국제출원번호

PCT/KR2022/021130

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61K 38/16(2006.01); A61K 47/68(2017.01); A61K 47/60(2017.01); A61P 1/16(2006.01)		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61K 38/16(2006.01); A61K 38/26(2006.01); A61K 47/68(2017.01); C07K 14/605(2006.01)		
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(glucagon), 펩타이드(peptide), 결합체(complex), 간 표적(liver targeting), 분포(distribution), T/S 비율(T/S ration), 삼중 활성제(triple agonist), 간질환(liver disease)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	KR 10-2021-0002055 A (한미약품 주식회사) 2021.01.06 청구항 1-3, 5-9, 18, 단락 [0024]-[0031], [0034], [0036]-[0037], [0046], [0051], [0092], [0095], [0111]-[0139], [0142]-[0143], [0145]-[0178], [0180]-[0197], [0199]-[0220], [0243]-[0275], [0278]-[0293], [0295], [0302], [0346]-[0347], [0354], [0378], [0380]-[0382], [0386], [0422]-[0433], [0577], 표 1, 일반식 1-3, 화학식 1, 서열번호 1-106, 109-117	1-34
A	KR 10-2017-0080522 A (한미약품 주식회사) 2017.07.10 전체 문헌	1-34
A	KR 10-2015-0023013 A (인디애나 유니버시티 리서치 앤드 테크놀로지 코퍼레이션) 2015.03.04 전체 문헌	1-34
A	US 2013-0203659 A1 (MIRANDA, L. P. 등) 2013.08.08 전체 문헌	1-34
A	KR 10-2021-0129614 A (한미약품 주식회사) 2021.10.28 전체 문헌	1-34
☒ 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 “D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 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 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2023년04월07일(07.04.2023)		국제조사보고서 발송일 2023년04월07일(07.04.2023)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578		심사관 히주형 전화번호 +82-42-481-5373

서식 PCT/ISA/210 (두 번째 용지) (2022년 7월)

10

20

30

40

50

국제출원번호

C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
PX	KR 10-2022-0010462 A (한미약품 주식회사) 2022.01.25 청구항 1-8, 단락 [0025]-[0027], [0029]-[0123], 표 1, 일반식 1-3, 화학식 1, 서열번호 1-103	1-34

국제조사보고서

국제출원번호

PCT/KR2022/021130

제1기 재판 핵산염기 및/또는 아미노산 서열(첫 번째 용지의 1.c의 계속)

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

- a. ☒ 출원시 국제출원의 일부를 구성하는 서열목록
- b. ☐ 국제조사를 목적으로 국제출원일 이후에 제출된 서열목록(규칙 13의3.1(a))
- ☐ 서열목록이 출원시 국제출원의 개시 범위를 넘지 않는다는 취지의 진술서를 첨부

10

2. ☐ 국제출원에 개시된 핵산염기 및/또는 아미노산 서열에 대해, 본 보고서는 WIPO 표준 ST.26을 준수하는 서열목록이 없이 유효한 조사를 할 수 있는 범위에서 작성되었습니다

3. 추가 의견:

20

30

40

50

국제조사보고서

국제출원번호

PCT/KR2022/021130

제2기 재판 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: **35-36**
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 35-36은 수술 또는 치료에 의한 사람의 처치방법 및 진단방법에 관한 것입니다(PCT 17조(2)(a)(i) 및 PCT 규칙 39.1(iv)).
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. ☒ 청구항: **35-36**
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

10

20

30

40

50

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호

PCT/KR2022/021130

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2021-0002055 A	2021/01/06	CN 113271959 A	2021/08/17
		CN 115209913 A	2022/10/18
		EP 3936142 A1	2022/01/12
		EP 4104849 A1	2022/12/21
		JP 2022-171653 A	2022/11/11
		JP 2022-530714 A	2022/06/30
		JP 2023-510864 A	2023/03/15
		JP 7111917 B2	2022/08/02
		KR 10-2021-0002067 A	2021/01/06
		KR 10-2021-0091032 A	2021/07/21
		KR 10-2022-0050824 A	2022/04/25
		KR 10-2022-0146369 A	2022/11/01
		KR 10-2227400 B1	2021/03/15
		KR 10-2459366 B1	2022/10/28
		US 2022-0040262 A1	2022/02/10
		WO 2020-263063 A1	2020/12/30
		WO 2021-145552 A1	2021/07/22
		WO 2022-080991 A1	2022/04/21
KR 10-2017-0080522 A	2017/07/10	CN 108699125 A	2018/10/23
		CN 108699125 B	2022/10/28
		CN 109071624 A	2018/12/21
		EP 3398961 A1	2018/11/07
		EP 3398961 B1	2022/06/29
		EP 3398962 A1	2018/11/07
		EP 3985017 A1	2022/04/20
		JP 2019-504055 A	2019/02/14
		JP 2019-504057 A	2019/02/14
		JP 2020-128428 A	2020/08/27
		JP 2020-171287 A	2020/10/22
		JP 2022-130723 A	2022/09/06
		JP 6712322 B2	2020/06/17
		JP 6712323 B2	2020/06/17
		JP 7030894 B2	2022/03/07
		KR 10-2017-0080521 A	2017/07/10
		KR 10-2019-0060749 A	2019/06/03
		KR 10-2019-0062344 A	2019/06/05
		KR 10-2019-0104958 A	2019/09/11
		KR 10-2019-0105542 A	2019/09/17
		KR 10-2020-0095436 A	2020/08/10
		KR 10-2020-0096184 A	2020/08/11
		KR 10-2179391 B1	2020/11/16
		KR 10-2179392 B1	2020/11/16
		KR 10-2285377 B1	2021/08/04
		KR 10-2285378 B1	2021/08/04
		KR 10-2367997 B1	2022/03/02
		KR 10-2401869 B1	2022/05/25
		US 10370426 B2	2019/08/06
		US 10400020 B2	2019/09/03
		US 10981967 B2	2021/04/20
		US 11332508 B2	2022/05/17

서식 PCT/ISA/210 (대응특허 추가용지) (2022년 7월)

10

20

30

40

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호

PCT/KR2022/021130

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		US 2018-0311315 A1	2018/11/01
		US 2019-0002520 A1	2019/01/03
		US 2019-0153060 A1	2019/05/23
		US 2019-0218269 A1	2019/07/18
		US 2021-0188937 A1	2021/06/24
		US 2022-0213164 A1	2022/07/07
		WO 2017-116204 A1	2017/07/06
		WO 2017-116205 A1	2017/07/06
KR 10-2015-0023013 A	2015/03/04	CN 104583232 A	2015/04/29
		CN 104583232 B	2018/04/13
		EP 2864351 A1	2015/04/29
		EP 2864351 B1	2016/08/10
		JP 2015-521622 A	2015/07/30
		JP 6311708 B2	2018/04/18
		US 2014-0011738 A1	2014/01/09
		US 9340600 B2	2016/05/17
US 2013-0203659 A1	2013/08/08	WO 2013-192129 A1	2013/12/27
		EP 2007804 A2	2008/12/31
		EP 2007804 B1	2014/06/18
		EP 2573111 A1	2013/03/27
		EP 2574624 A1	2013/04/03
		JP 2009-534423 A	2009/09/24
		JP 2012-116864 A	2012/06/21
		US 2010-0048468 A1	2010/02/25
KR 10-2021-0129614 A	2021/10/28	US 8288339 B2	2012/10/16
		WO 2007-124461 A2	2007/11/01
		WO 2007-124461 A3	2008/06/05
		EP 4140496 A1	2023/03/01
		WO 2021-215801 A1	2021/10/28
KR 10-2022-0010462 A	2022/01/25	WO 2022-015115 A1	2022/01/20

서식 PCT/ISA/210 (대응특허 추가용지) (2022년 7월)

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 0 7 K	14/605 (2006.01)	C 0 7 K	14/605
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00
C 0 7 K	16/00 (2006.01)	C 0 7 K	16/00
C 1 2 N	15/16 (2006.01)	C 1 2 N	15/16

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,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,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁理士 松田 七重

(72)発明者

キム ジュン クク

大韓民国 1 8 4 6 9 キョングード ファソナーシ ドンタングフナー口 5 5 0

(72)発明者

チョイ ジェ ヒョク

大韓民国 1 8 4 6 9 キョングード ファソナーシ ドンタングフナー口 5 5 0

(72)発明者

オ ウ リム

大韓民国 1 8 4 6 9 キョングード ファソナーシ ドンタングフナー口 5 5 0

(72)発明者

リー エイ ラム

大韓民国 1 8 4 6 9 キョングード ファソナーシ ドンタングフナー口 5 5 0

(72)発明者

キム サン ユン

大韓民国 1 8 4 6 9 キョングード ファソナーシ ドンタングフナー口 5 5 0

F ターム (参考)

4C076 AA95 CC16 EE41 EE59

4C084 AA02 BA01 BA08 BA19 BA23 BA24 CA59 DB35 DC50 NA13
ZA751 ZA7524H045 AA10 AA20 AA30 BA18 BA41 BA57 CA40 DA30 DA75 EA25
FA20 FA50