



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0125978
(43) 공개일자 2017년11월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/22 (2006.01) A61K 31/616 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 38/2221 (2013.01)
A61K 31/616 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7029880
(22) 출원일자(국제) 2016년03월17일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2016년10월17일
(86) 국제출원번호 PCT/US2016/022880
(87) 국제공개번호 WO 2016/149501
국제공개일자 2016년09월22일
(30) 우선권주장
62/134,939 2015년03월18일 미국(US)

(71) 출원인
더 캘리포니아 인스티튜트 포 바이오메디칼 리써치
미국, 캘리포니아 92037, 라 호야, 스위트 100,
노쓰 토리 파인스 로드 11119
(72) 발명자
센 웨이준
미국 92129 캘리포니아주 샌 디에고 시드니 래 플
레이스 13453
무피디 아빈애쉬
미국 46280 인디애나주 인디애나폴리스 시즌스 웨
스트 드라이브 9815 유닛 111
술츠 피터 지.
미국 92037 캘리포니아주 라 졸라 라 졸라 란초
로드 1650
(74) 대리인
김진희, 김태홍

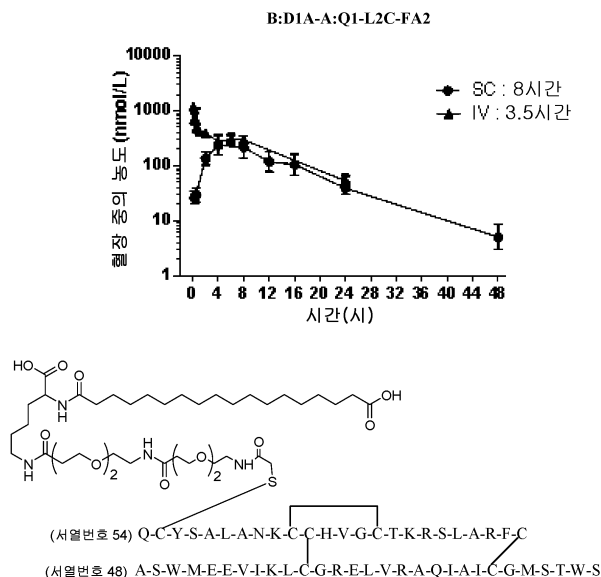
전체 청구항 수 : 총 82 항

(54) 발명의 명칭 변형된 치료제 및 이의 조성물

(57) 요약

치료제의 반감기를 연장시키는 방법 및 조성물이 제공되어 있다. 1개의 반감기 연장 모이어터를 치료제에 부착시켜, 치료제의 반감기를 연장시킬 수 있다. 치료제에 부착된 반감기 연장 모이어터를 포함하는 변형된 치료제를 사용하여, 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 병태를 치료할 수 있다.

대표도 - 도8



(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

(i) 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 릴랙신(relaxin) A-쇄 아미노산 서열을 포함하는 치료제(TA); 및

(ii) 반감기 연장 모이어티

를 포함하는 변형된 치료제로서, TA가 TA의 시스테인 잔기를 통해 반감기 연장 모이어티에 공유부착되어 있는 것인 변형된 치료제.

청구항 2

제1항에 있어서, 시스테인 잔기가 릴랙신 A-쇄 아미노산 서열에 있는 것인 변형된 치료제.

청구항 3

제2항에 있어서, 시스테인 잔기가 릴랙신 A-쇄 아미노산 서열의 2 위치에 있는 것인 변형된 치료제.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 서열번호 54의 릴랙신 A-쇄 아미노산 서열을 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 서열번호 59의 릴랙신 A-쇄 아미노산 서열을 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 릴랙신 B-쇄를 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가, 하나 이상의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 변형된 릴랙신 B-쇄를 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 8

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 릴랙신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 9

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 릴랙신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 10

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 서열번호 48의 릴랙신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 변형된 치료제의 반감기가 치료제 단독의 반감기보다 더 긴 것인

변형된 치료제.

청구항 12

(i) 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열을 포함하는 치료제(TA); 및

(ii) 반감기 연장 모이어티

를 포함하는 변형된 치료제로서, TA가 TA의 시스테인 잔기를 통해 반감기 연장 모이어티에 공유부착되어 있는 것인 변형된 치료제.

청구항 13

제12항에 있어서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열이 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 80% 상동인 변형된 치료제.

청구항 14

제12항에 있어서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열이 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90% 상동인 변형된 치료제.

청구항 15

제12항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 시스테인 잔기가 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열에 있는 것인 변형된 치료제.

청구항 16

제15항에 있어서, 시스테인 잔기가 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 2 위치에 있는 것인 변형된 치료제.

청구항 17

제12항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열이 서열번호 54의 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 변형된 치료제.

청구항 18

제12항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열이 서열번호 59의 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 변형된 치료제.

청구항 19

제12항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 20

제12항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가, 하나 이상의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 21

제12항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 22

제12항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 23

제12항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 서열번호 48의 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 24

제12항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 변형된 치료제의 반감기가 치료제 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제.

청구항 25

(i) 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열을 포함하는 치료제(TA)로서, 최대 5개의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 것인 치료제(TA); 및

(ii) 반감기 연장 모이어티

를 포함하는 변형된 치료제로서, TA가 TA의 시스테인 잔기를 통해 반감기 연장 모이어티에 공유부착되어 있는 것인 변형된 치료제.

청구항 26

제25항에 있어서, 1개의 아미노산이 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열로부터 추가되어 있거나, 결실되어 있거나 치환되어 있는 것인 변형된 치료제.

청구항 27

제25항에 있어서, 2개의 아미노산이 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열로부터 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 것인 변형된 치료제.

청구항 28

제25항에 있어서, 3개의 아미노산이 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열로부터 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 것인 변형된 치료제.

청구항 29

제25항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 시스테인 잔기가 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열에 있는 것인 변형된 치료제.

청구항 30

제29항에 있어서, 시스테인 잔기가 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 2 위치에 있는 것인 변형된 치료제.

청구항 31

제25항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열이, 최대 5개의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 서열번호 54인 변형된 치료제.

청구항 32

제25항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열이, 최대 5개의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 서열번호 59인 변형된 치료제.

청구항 33

제25항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 34

제25항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가, 하나 이상의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 35

제25항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 36

제25항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 37

제25항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 서열번호 48의 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 38

제25항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 변형된 치료제의 반감기가 치료제 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제.

청구항 39

(i) 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 부분을 포함하는 치료제(TA); 및

(ii) 반감기 연장 모이어티

를 포함하는 변형된 치료제로서, TA가 TA의 sistein 잔기를 통해 반감기 연장 모이어티에 공유부착되어 있는 것인 변형된 치료제.

청구항 40

제39항에 있어서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 부분이 서열번호 54, 55, 59 또는 60의 적어도 20개의 연속 아미노산을 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 41

제39항에 있어서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 부분이 서열번호 54, 55, 59 및 60의 적어도 15개의 연속 아미노산을 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 42

제39항에 있어서, 틸렉신 A-쇄의 부분이 서열번호 54, 55, 59 및 60의 적어도 10개의 연속 아미노산을 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 43

제39항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, sistein 잔기가 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 부분에 있는 것인 변형된 치료제.

청구항 44

제43항에 있어서, sistein 잔기가 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 부분의 2 위치에 있는 것인 변형된 치료제.

청구항 45

제39항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 서열번호 54의 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 부분을 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 46

제39항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 서열번호 59의 릴렉신 A-쇄 아미노산 서열의 부분을 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 47

제39항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 릴렉신 B-쇄를 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 48

제39항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가, 하나 이상의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 변형된 릴렉신 B-쇄를 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 49

제39항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 릴렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 50

제39항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 릴렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

청구항 51

제39항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제가 서열번호 48의 아미노산 서열을 추가로 포함하는 것인 변형된 치료제.

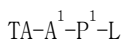
청구항 52

제39항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 변형된 치료제의 반감기가 치료제 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제.

청구항 53

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 화학식을 가진 변형된 치료제:

화학식 (A)



상기 식에서,

TA는 치료제이고;

$\text{---}A^1-P^1-L$ 은 반감기 연장 모이어티이다.

청구항 54

제49항에 있어서,

A^1 이 TA와 P^1 또는 L을 연결하는 화학적 기이고;

P^1 이 결합 또는 $-PEG-A^2-$ 이고;

L이 스테롤 유도체, 담즙산 유도체, 비타민 E 유도체, 지방 이산 유도체, 지방산 유도체, 지방 아미드 유도체, 지방 아민 아민 유도체 및 지방 알코올 유도체로 구성된 군으로부터 선택된 지질 유도체이고; 여기서 지질 유도체가 아미드 또는 에테르 결합을 통해 P^1 에 연결되어 있는 것인 변형된 치료제.

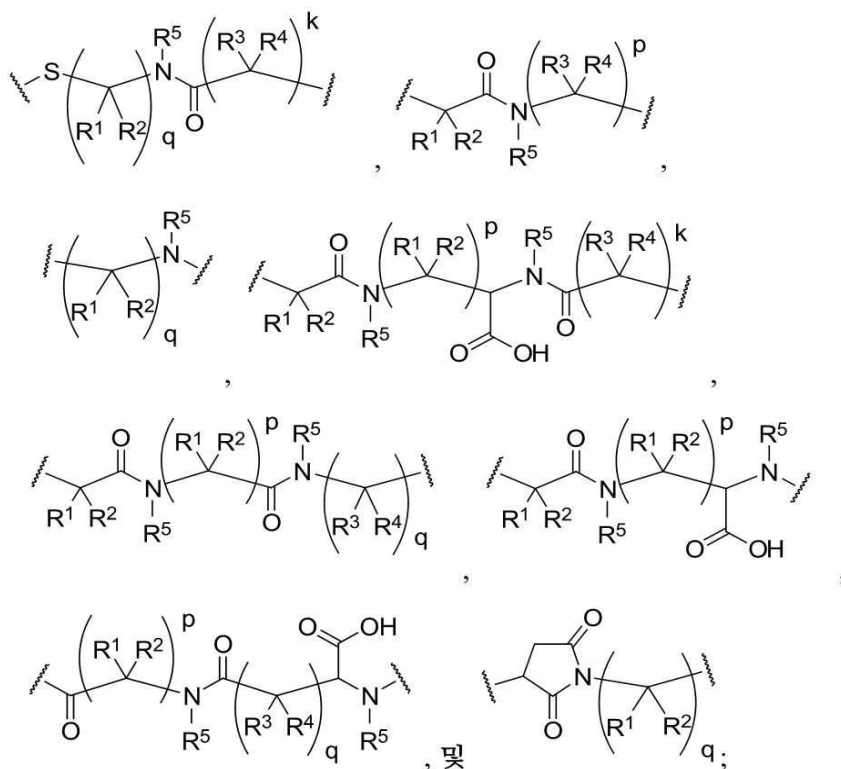
청구항 55

제53항 또는 제54항에 있어서, TA의 시스테인 잔기의 황 원자가 화학적 결합을 통해 A¹에 연결되어 있는 것인 변형된 치료제.

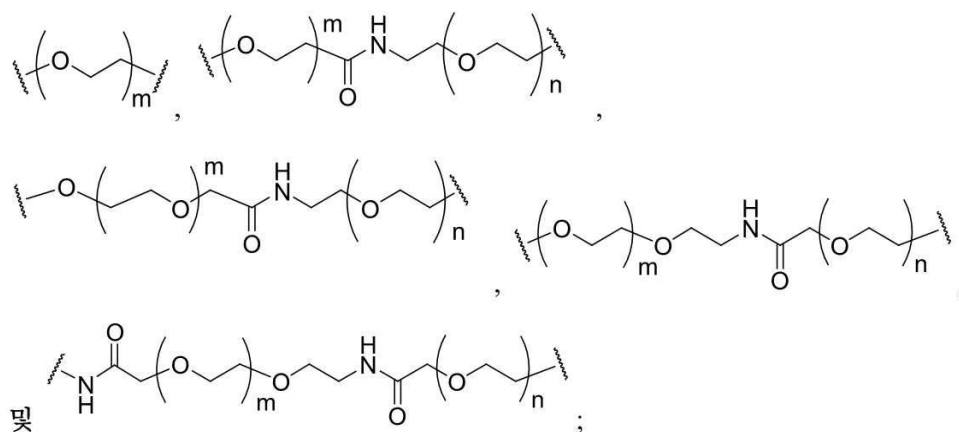
청구항 56

제53항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서,

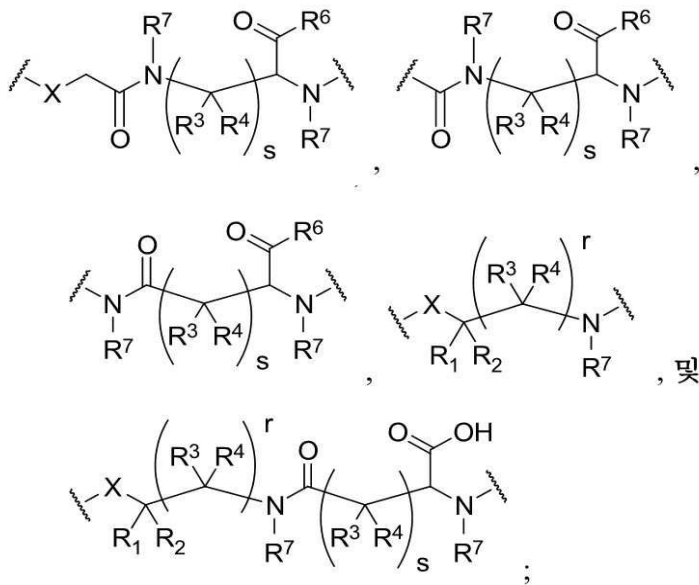
A^1 이 하기 기들로부터 선택되고:



PEG가 하기 기들로부터 선택되고:



A²가 결합, 및 하기 기들로부터 선택되고:



L이 테트라데칸산, 옥타데칸디오산, 미리스트산, 스테아르산, 도코사헥사엔산, 리토콜산, 콜산 및 팔미트산으로부터 선택된 산 모이어티이고; 여기서 산 모이어티가 아마이드 결합을 통해 P¹에 연결되고;

X가 결합, -N(R⁵)-, -S- 또는 -O-이고;

각각의 R¹, R², R³ 및 R⁴가 독립적으로 H, 할로, -CN, -SR⁵, 알킬, 사이클로알킬, 할로알킬, -NR⁵R⁵ 또는 -OR⁵이고;

각각의 R⁵가 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬 또는 헤테로알킬이고;

R⁶이 OH 또는 -NR⁵R⁵이고;

각각의 R⁷이 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬 또는 헤테로알킬이고;

m 및 n이 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이고;

r이 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

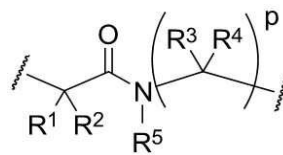
s가 1, 2, 3, 4 또는 5이고;

k가 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

p가 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

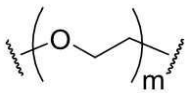
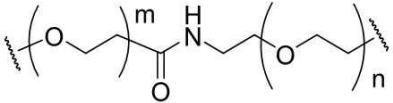
q가 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10인 변형된 치료제.

청구항 57

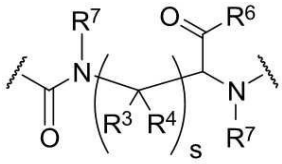
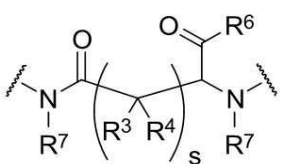
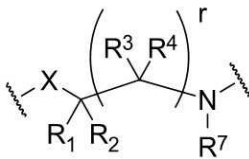


제53항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, A¹인 변형된 치료제.

청구항 58

제53항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, PEG가  또는  인 변형된 치료제.

청구항 59

제53항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, A²가  ,  또는  인 변형된 치료제.

청구항 60

제53항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 R¹, R², R³ 및 R⁴가 H인 변형된 치료제.

청구항 61

제53항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 R⁵가 독립적으로 H인 변형된 치료제.

청구항 62

제53항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 R⁶이 OH 또는 NH₂인 변형된 치료제.

청구항 63

제53항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 R⁷이 H인 변형된 치료제.

청구항 64

제53항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, m이 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9인 변형된 치료제.

청구항 65

제53항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, n이 1, 2, 3, 4 또는 5인 변형된 치료제.

청구항 66

제53항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, r이 1, 2 또는 3인 변형된 치료제.

청구항 67

제53항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, s가 2 또는 4인 변형된 치료제.

청구항 68

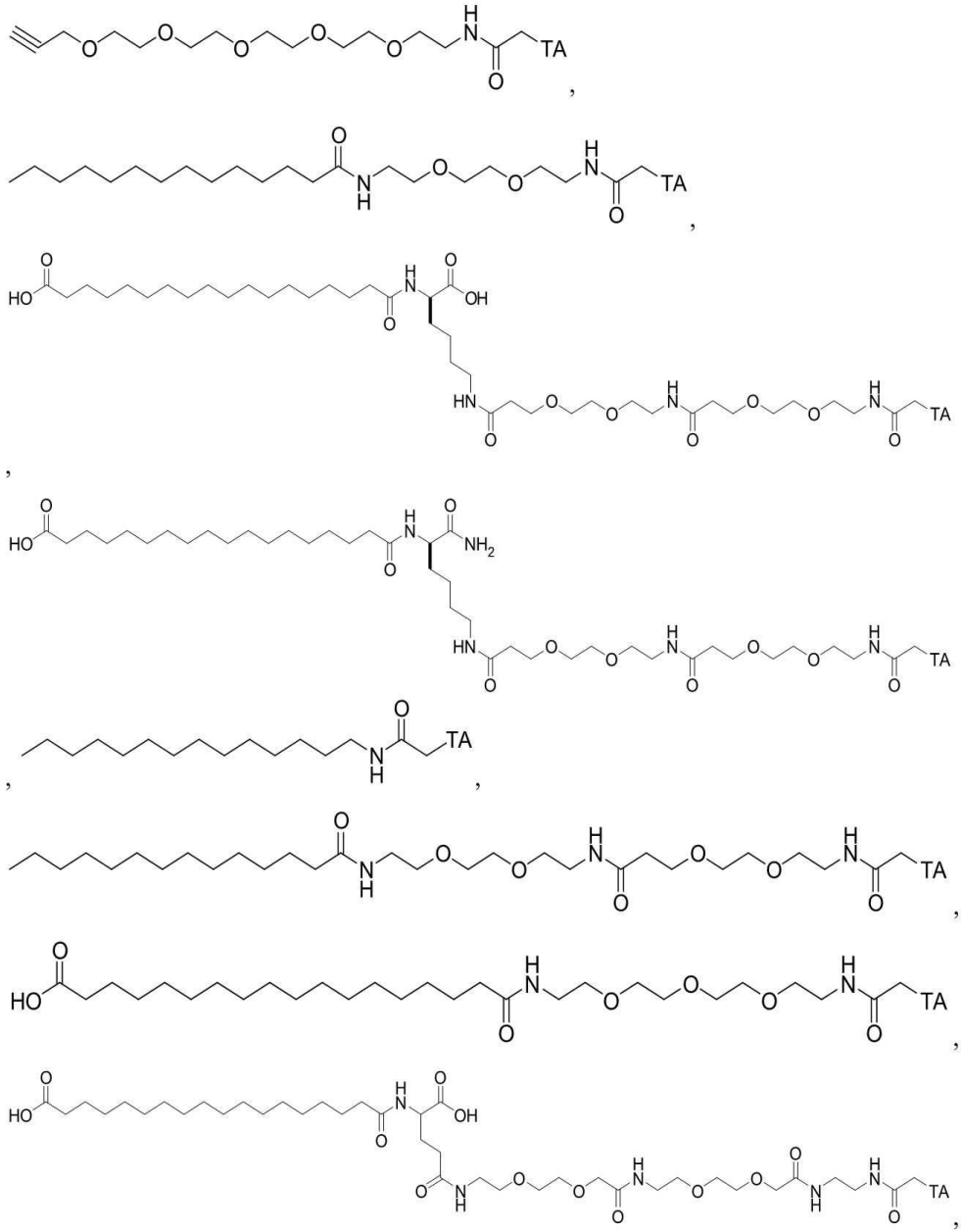
제53항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, p가 2인 변형된 치료제.

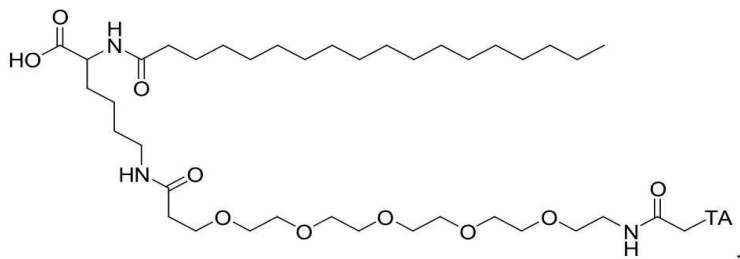
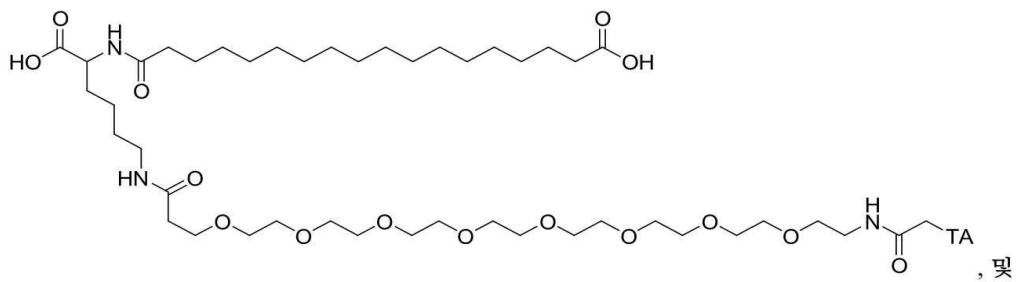
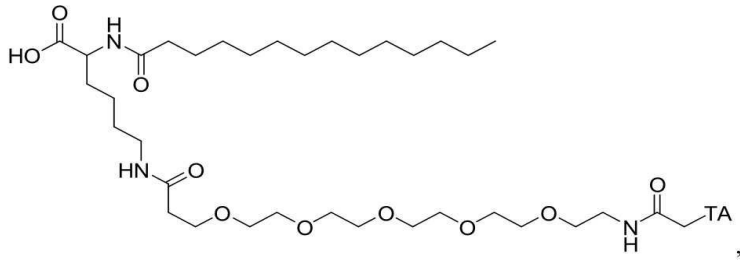
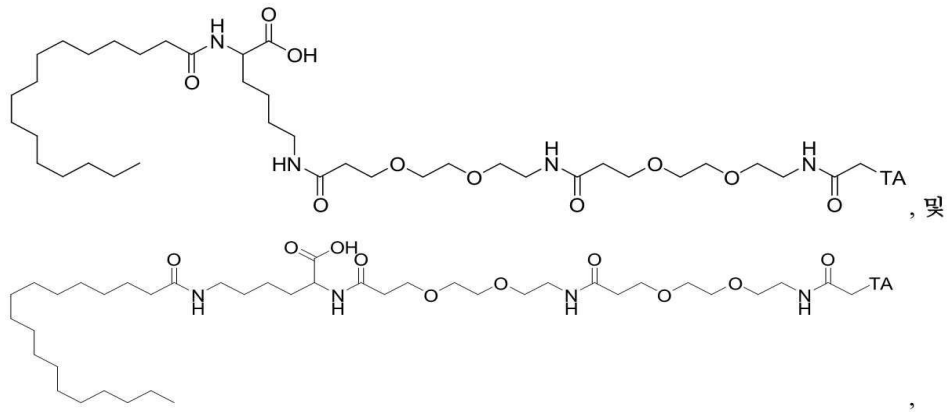
청구항 69

제53항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, X가 -O-인 변형된 치료제.

청구항 70

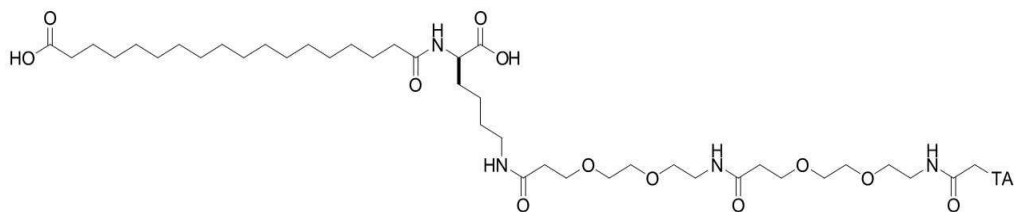
제53항에 있어서, 하기 화합물들로부터 선택되는 변형된 치료제:





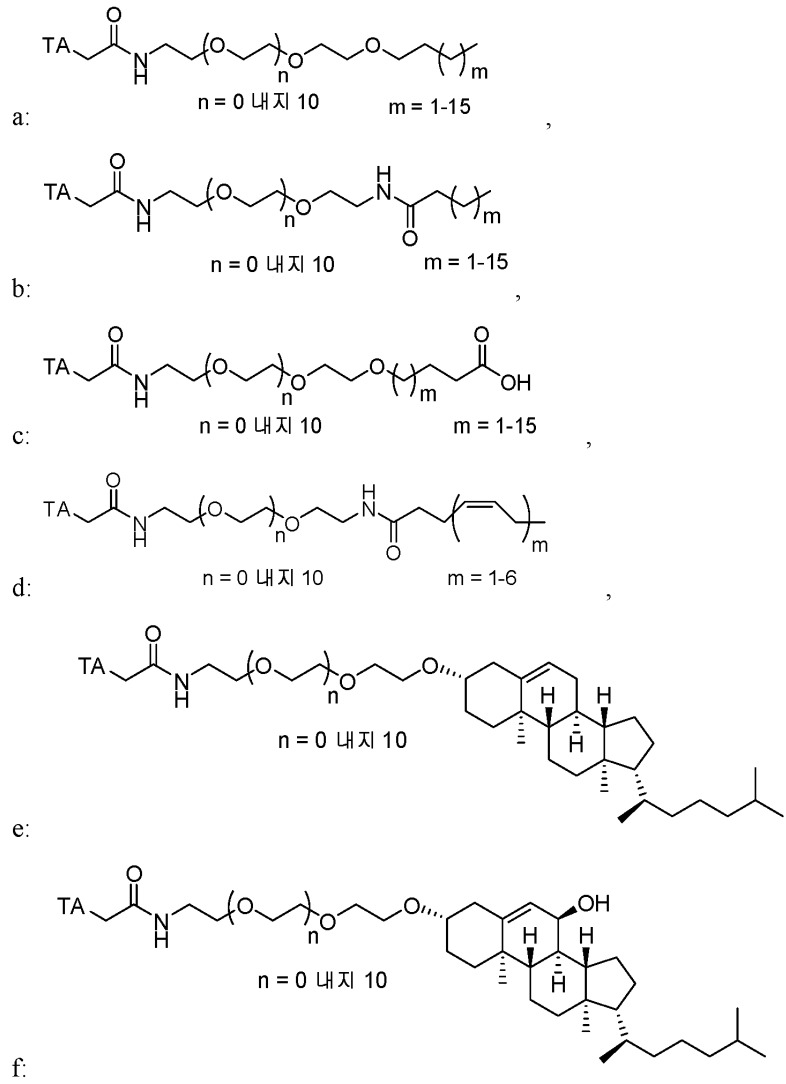
청구항 71

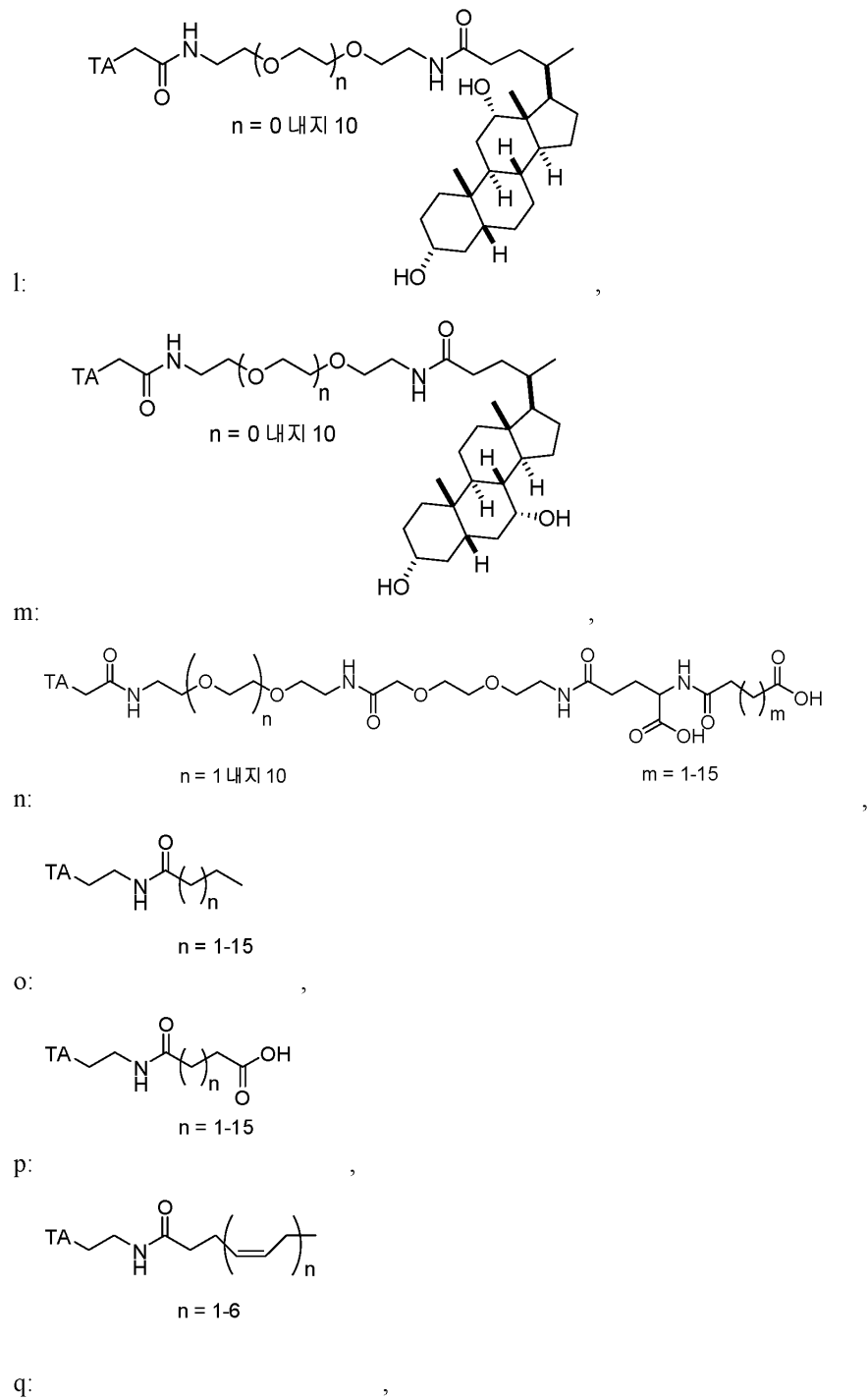
제53항에 있어서, 하기 화합물인 변형된 치료제:

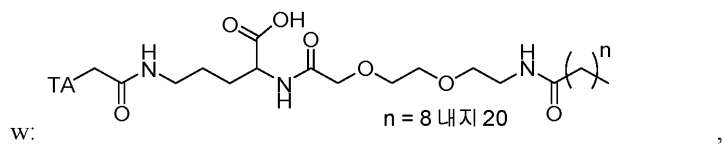
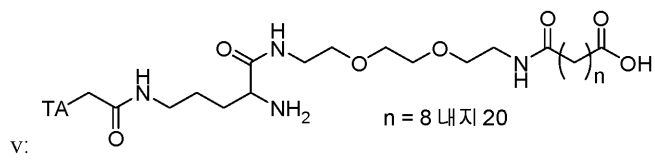
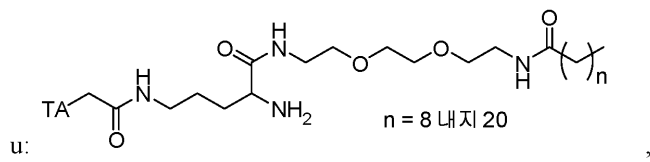
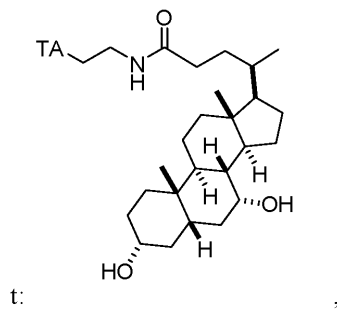
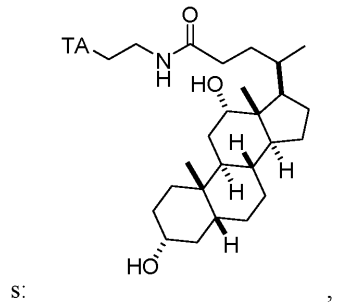
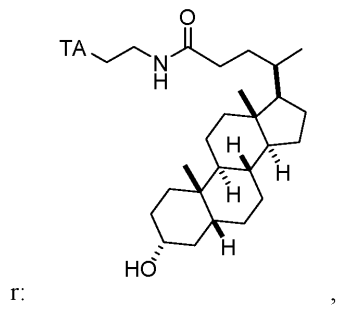


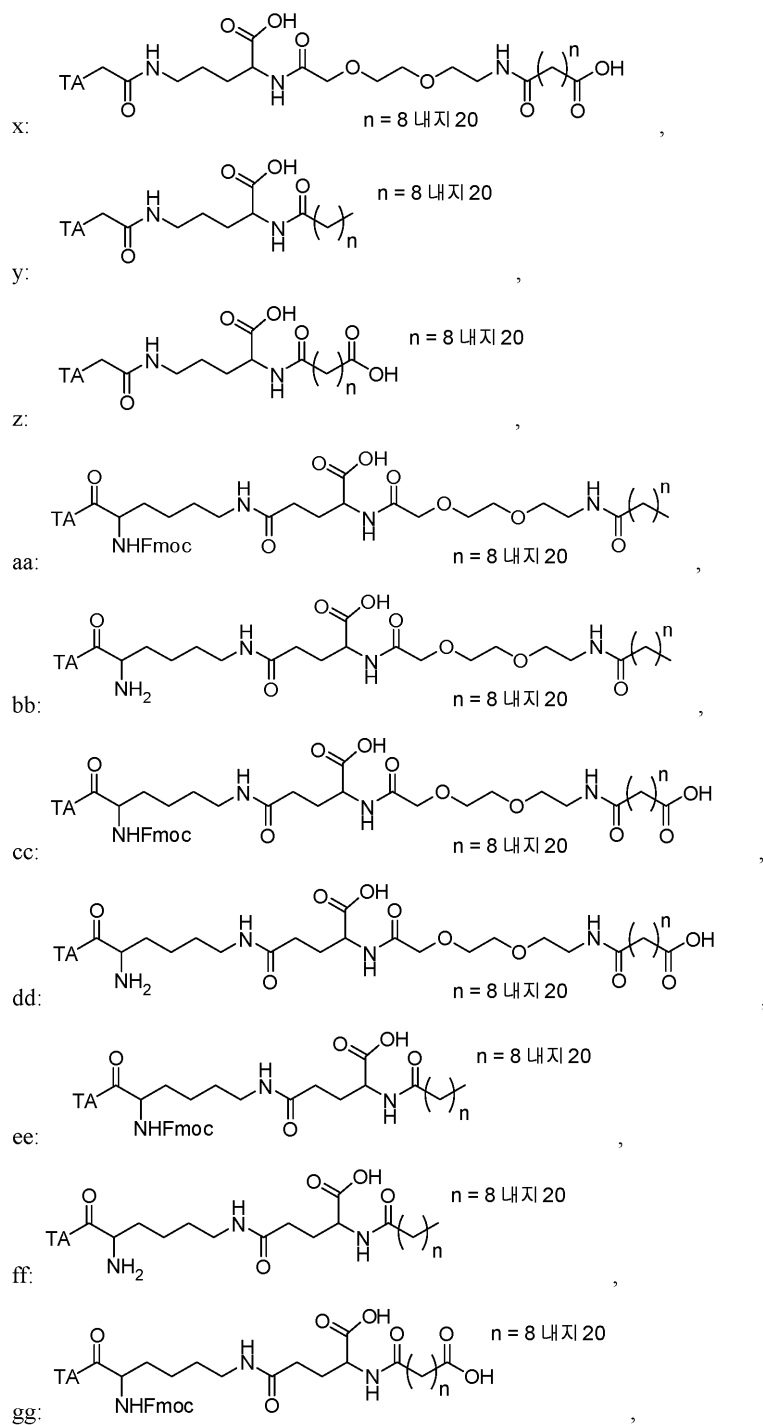
청구항 72

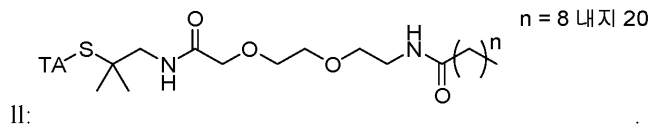
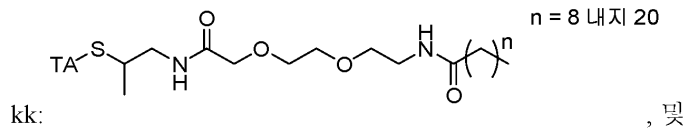
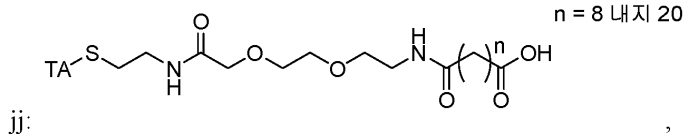
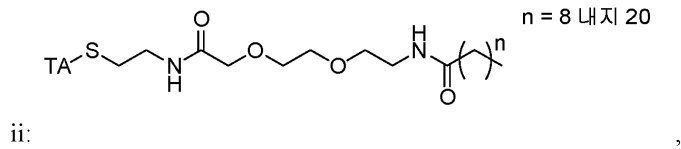
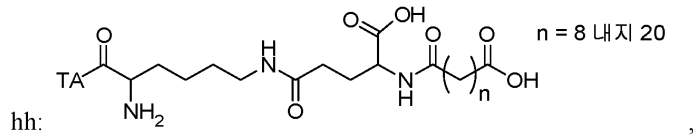
제53항에 있어서, 하기 화합물인 변형된 치료제:











청구항 73

제1항 내지 제72항 중 어느 한 항의 변형된 치료제를 포함하는 약학 조성물.

청구항 74

질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 병태를 치료하는 방법으로서, 제1항 내지 제72항 중 어느 한 항의 변형된 치료제를 치료 유효량으로 포함하는 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 치료 방법.

청구항 75

제74항에 있어서, 질환 또는 병태가 심혈관 장애인 방법.

청구항 76

제74항에 있어서, 질환 또는 병태가 급성 심부전인 방법.

청구항 77

제74항에 있어서, 질환 또는 병태가 섬유증인 방법.

청구항 78

제74항에 있어서, 질환 또는 병태가 통증인 방법.

청구항 79

제78항에 있어서, 통증이 신경병증성 통증 또는 염증성 통증인 방법.

청구항 80

제74항에 있어서, 변형된 치료제를 하나 이상의 추가 치료제와 함께 투여하는 것인 방법.

청구항 81

제80항에 있어서, 하나 이상의 추가 치료제가 소염성 약물, 통증을 치료하는 약물 또는 이들의 임의의 조합으로

구성된 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 82

제81항에 있어서, 하나 이상의 추가 치료제가 아스피린인 방법.

발명의 설명

배경 기술

[0001] 관련 출원에 대한 상호참조

[0002] 본원은 전체로서 본원에 참고로 도입되는, 2015년 3월 18일자로 출원된 미국 출원 제62/134,939호의 이익을 주장한다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본 출원은, ASCII 포맷으로 전자적으로 제출되었고 그 전문이 본원에 참고로 도입되는 서열 목록을 내포한다. 상기 ASCII 카피는, 2016년 4월 25일에 생성되었으며, 41135-739.601_SL.txt로 명명되고 크기가 42,602 바이트이다.

[0005] 배경기술

[0006] 치료제(예를 들면, 생물학적 약물)의 개발은 종종 짧은 반감기에 의해 방해받는다. 물질의 생물학적 반감기 또는 제거 반감기는 물질(예를 들면, 대사물질, 약물, 신호전달 분자, 방사성 핵종 또는 다른 물질)이 그의 약리학, 생리학 또는 방사선학적 활성의 절반을 상실하는 데 소요되는 시간이다. 짧은 반감기의 결과로서, 환자는 보다 더 높은 용량을 보다 더 빈번히 자주 투여받고, 이것은 감소된 순응, 보다 더 높은 비용 및 보다 더 큰 부작용 위험을 유발할 수 있다.

[0007] 연장 방출 제품은 짧은 반감기를 가진 약물의 흡수를 연장시킴으로써, 혈청 약물 수준에서의 변동을 최소화하면서 보다 더 긴 투약 간격을 허용하도록 디자인된다. 반감기를 연장시키기 위해 이용되는 현재 방법은 수력학적 부피를 증가시키는 방법(PEG화) 또는 FcRn-매개된 재순환을 이용하는 방법(알부민 융합)이다. 폴리펩티드 또는 친유성 성분과 약물의 부착도 생물학적 물질의 반감기를 연장시키기 위해 이용되고 있다(미국 특허 제6,268,343호; 미국 특허 제5,750,497호; 미국 특허 제8,129,343호).

[0008] 본 개시는 치료제의 생물학적, 화학적, 생리학, 약리학, 약동학적 및/또는 약력학적 성질을 개선하기 위한 변형된 치료제를 제공한다.

발명의 내용

[0009] (i) 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 릴랙신(relaxin) A-쇄 아미노산 서열을 포함하는 치료제(TA); 및

[0010] (ii) 반감기 연장 모이어티(moiety)

[0011] 를 포함하는 변형된(modified) 치료제로서, TA가 TA의 시스테인 잔기를 통해 반감기 연장 모이어티에 공유부착되어 있는 것인 변형된 치료제가 본원에 개시되어 있다.

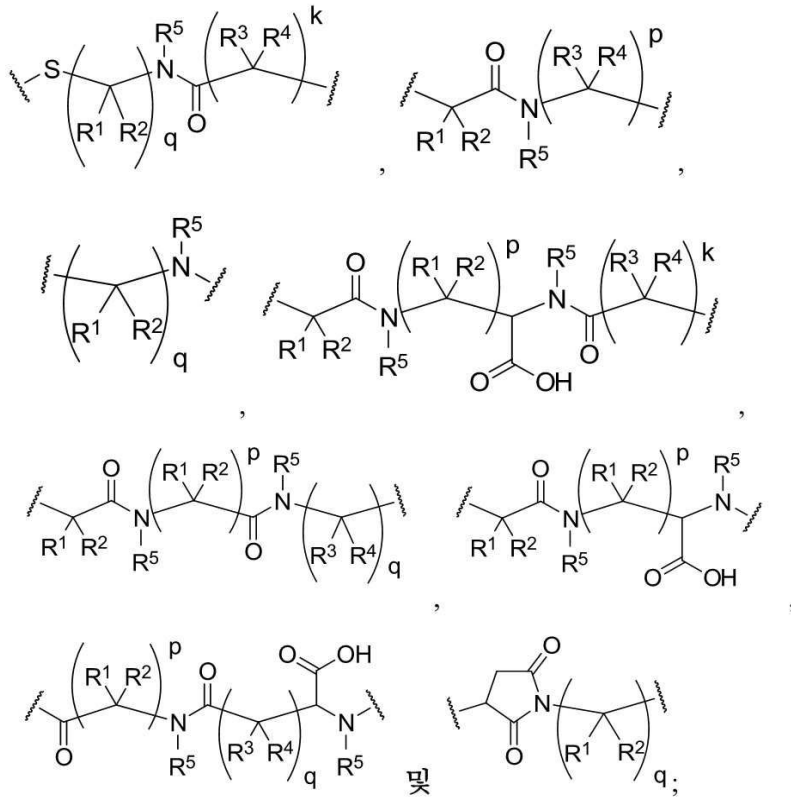
[0012] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 릴랙신 A-쇄 아미노산 서열에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 릴랙신 A-쇄 아미노산 서열의 위치 2에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 54의 릴랙신 A-쇄 아미노산 서열을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 59의 릴랙신 A-쇄 아미노산 서열을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 릴랙신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는, 하나 이상의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 변형된 릴랙신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 릴랙신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 릴랙신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 48의 릴랙신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 변형된 치료제의 반

감기는 치료제 단독의 반감기보다 더 길다.

- [0013] (i) 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열을 포함하는 치료제(TA); 및
- [0014] (ii) 반감기 연장 모이어티
- [0015] 를 포함하는 변형된 치료제로서, TA가 TA의 시스템인 잔기를 통해 반감기 연장 모이어티에 공유부착되어 있는 것인 변형된 치료제가 본원에 개시되어 있다.
- [0016] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 80% 상동이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90% 상동이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스템인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스템인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 2 위치에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 54의 아미노산 서열과 적어도 50% 상동이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 59의 아미노산 서열과 적어도 50% 상동이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는, 하나 이상의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 48의 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 변형된 치료제의 반감기는 치료제 단독의 반감기보다 더 길다.
- [0017] (i) 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열을 포함하는 치료제 (TA)로서, 최대 5개의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 것인 치료제(TA); 및
- [0018] (ii) 반감기 연장 모이어티
- [0019] 를 포함하는 변형된 치료제로서, TA가 TA의 시스템인 잔기를 통해 반감기 연장 모이어티에 공유부착되어 있는 것인 변형된 치료제가 본원에 개시되어 있다.
- [0020] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 1개의 아미노산이 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열로부터 추가되어 있거나, 결실되어 있거나 치환되어 있다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 2개의 아미노산이 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열로부터 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 3개의 아미노산이 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열로부터 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스템인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스템인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 2 위치에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은, 최대 5개의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 서열번호 54이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은, 최대 5개의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 서열번호 59이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는, 하나 이상의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 48의 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 변형된 치료제의 반감기는 치료제 단독의 반감기보다 더 길다.
- [0021] (i) 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 부분을 포함하는 치료제(A); 및

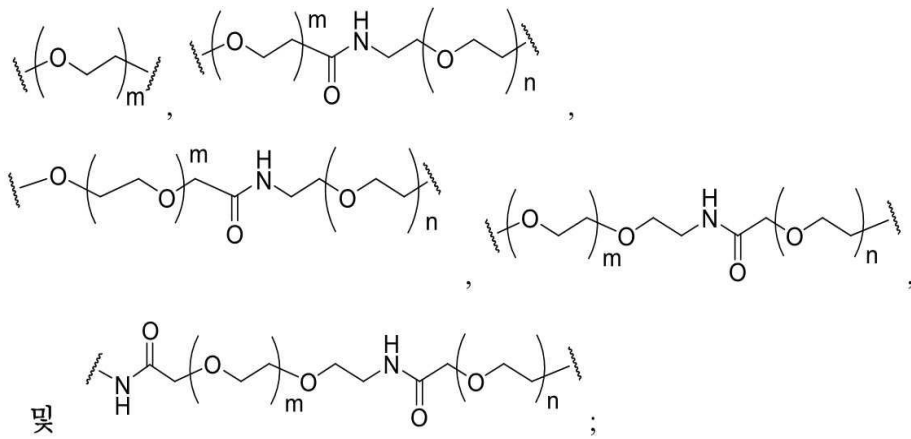
- [0022] (ii) 반감기 연장 모이어티
- [0023] 를 포함하는 변형된 치료제로서, TA가 TA의 시스테인 잔기를 통해 반감기 연장 모이어티에 공유부착되어 있는 것인 변형된 치료제가 본원에 개시되어 있다.
- [0024] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 펩타이드 A-쇄 아미노산 서열의 부분은 서열번호 54, 55, 59 또는 60의 적어도 20개의 연속 아미노산을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 펩타이드 A-쇄 아미노산 서열의 부분은 서열번호 54, 55, 59 및 60의 적어도 15개의 연속 아미노산을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 펩타이드 A-쇄의 부분은 서열번호 54, 55, 59 및 60의 적어도 10개의 연속 아미노산을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 펩타이드 A-쇄 아미노산 서열의 부분에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 펩타이드 A-쇄 아미노산 서열의 부분의 2 위치에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 54의 펩타이드 A-쇄 아미노산 서열의 부분을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 59의 펩타이드 A-쇄 아미노산 서열의 부분을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 펩타이드 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는, 하나 이상의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 변형된 펩타이드 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 펩타이드 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 펩타이드 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 48의 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 변형된 치료제의 반감기는 치료제 단독의 반감기보다 더 길다.
- [0025] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 변형된 치료제는 하기 화학식을 가진다:
- [0026] 화학식 (A)
- [0027] $TA-A^1-P^1-L$
- [0028] 상기 식에서,
- [0029] TA는 치료제이고;
- [0030] $\text{---}A^1-P^1-L$ 은 반감기 연장 모이어티이다.
- [0031] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서,
- [0032] A^1 은 TA와 P^1 또는 L을 연결하는 화학적 기이고;
- [0033] P^1 은 결합 또는 $-PEG-A^2-$ 이고;
- [0034] L은 스테롤 유도체, 담즙산 유도체, 비타민 E 유도체, 지방 이산 유도체, 지방산 유도체, 지방 아미드 유도체, 지방 아민 아민 유도체 및 지방 알코올 유도체로 구성된 군으로부터 선택된 지질 유도체이고; 여기서 지질 유도체는 아미드 또는 에테르 결합을 통해 P^1 에 연결된다.
- [0035] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, TA의 시스테인 잔기의 황 원자는 화학적 결합을 통해 A^1 에 연결된다.
- [0036] 화학식 (A)의 변형된 치료제의 일부 실시양태에서,

[0037] A¹은 하기 기들로부터 선택되고:



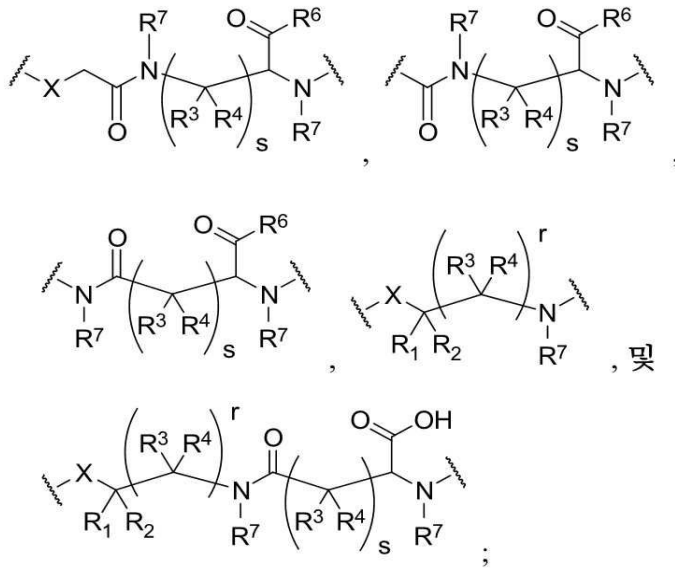
[0038]

[0039] PEG는 하기 기들로부터 선택되고:



[0040]

[0041] A^2 는 결합, 및 하기 기들로부터 선택되고:



[0042]

[0043] L은 테트라데칸산, 옥타데칸디오산, 미리스트산, 스테아르산, 도코사헥사엔산, 리토콜산, 리토콜산, 콜산 및 팔미트산으로부터 선택된 산 모이어티이고; 여기서 산 모이어티는 아마이드 결합을 통해 P^1 에 연결되고;

[0044] X는 결합, $-N(R^5)-$, $-S-$ 또는 $-O-$ 이고;

[0045] 각각의 R^1 , R^2 , R^3 및 R^4 는 독립적으로 H, 할로, $-CN$, $-SR^5$, 알킬, 사이클로알킬, 할로알킬, $-NR^5R^5$ 또는 $-OR^5$ 이고;

[0046] 각각의 R^5 는 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬 또는 헤테로알킬이고;

[0047] R^6 은 OH 또는 $-NR^5R^5$ 이고;

[0048] 각각의 R^7 은 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬 또는 헤테로알킬이고;

[0049] m 및 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이고;

[0050] r은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

[0051] s는 1, 2, 3, 4 또는 5이고;

[0052] k는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

[0053] p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

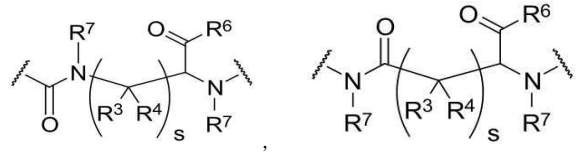
[0054] q는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이다.

[0055] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, A^1 은 이다.

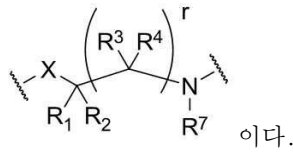
[0056] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, PEG는 이다.

[0057]

변형된 치료제의 일부 실시양태에서, A²는



또는



이다.

[0058]

변형된 치료제의 일부 실시양태에서, R¹, R², R³ 및 R⁴는 각각 H이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, R⁵는 각각 독립적으로 H이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, R⁶은 각각 OH 또는 NH₂이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, R⁷은 각각 H이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, n은 1, 2, 3, 4 또는 5이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, r은 1, 2 또는 3이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, s는 2 또는 4이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, p는 2이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, X는 -O-이다.

[0059]

또 다른 양태에서, 본원에 기재된 변형된 치료제들 중 하나 이상의 변형된 치료제를 포함하는 약학 조성물이 제공되어 있다.

[0060]

질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 병태를 치료하는 방법으로서, 본원에 기재된 변형된 치료제를 치료 유효량으로 포함하는 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 기재되어 있다. 질환 또는 병태는 심혈관 장애일 수 있다. 질환 또는 병태는 급성 심부전일 수 있다. 질환 또는 병태는 섬유증일 수 있다. 질환 또는 병태는 통증일 수 있다. 통증은 신경병증성 통증 또는 염증성 통증일 수 있다. 상기 방법은 하나 이상의 추가 치료제를 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 하나 이상의 추가 치료제는 소염성 약물, 스타틴, 이노제, 베타-차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제, 안지오텐신 II 수용체 차단제 또는 이들의 임의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 하나 이상의 추가 치료제는 소염성 약물, 통증을 치료하는 약물 또는 이들의 임의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 하나 이상의 추가 치료제는 아스피린일 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0061]

본 발명의 신규 특징은 첨부된 청구범위에 구체적으로 기재되어 있다. 본 발명은 첨부된 도면과 함께 관독될 때 하기 상세한 설명으로부터 가장 잘 이해된다. 통상의 관행에 따라 도면의 다양한 특징들이 축적으로 그려져 있지 않다는 것이 강조된다. 대조적으로, 다양한 특징들의 치수는 명료성을 위해 임의로 확대되거나 축소된다. 하기 도면들이 도면에 포함된다.

도 1은 지질 접합을 위해 시스테인으로 변형된 릴렉신을 보여준다(상자 내의 잔기는 예를 들면, L-시스테인, 라이신, 글루타민, 알라닌으로 돌연변이될 수 있다).

도 2는 LGR7 및 CRE-Luc 레포터를 발현하는 HEK293T 세포주에서 릴렉신 2 수용체(RXFP2 또는 LGR7)를 활성화시키는 인간 릴렉신 2를 보여준다.

도 3은 릴렉신-B:D1A-A:pQ1-L2C-FA2(항목 5, 표 3)로의 릴렉신-B:D1A-A:Q1-L2C-FA2 물질(항목 1, 표 3)의 전환을 보여주는 크로마토그램을 보여준다.

도 4는 pVB008 릴렉신2 링커 벡터의 개략도 및 다른 릴렉신 발현 구축물의 추가 개략도를 보여준다. 도 4는 서열번호 72로서 "GGGRGG"를 개시한다.

도 5는 (A) 독소-550 펩티드(야생형)에 대한 디설파이드 결합 패턴, 및 (B) 디설파이드 결합이 시스테인 I과 시스테인 IV 사이 및 시스테인 II와 시스테인 V 사이에 형성되어 있는 2-설파이드 결합 중간체를 묘사하는 중간 구조물인 시스테인-매듭 독소-550 펩티드의 예시적인 시험관내 폴딩 경로를 보여준다.

도 6은 야생형 릴렉신에 대한 마우스 약동학적 데이터를 보여준다.

도 7은 변형된 치료제에 대한 마우스 약동학적 데이터를 보여준다(항목 2, 표 3).

도 8은 변형된 치료제에 대한 마우스 약동학적 데이터를 보여준다(항목 1, 표 3).

도 9는 변형된 치료제에 대한 마우스 약동학적 데이터를 보여준다(항목 3, 표 3).

도 10은 변형된 치료제에 대한 마우스 약동학적 데이터를 보여준다(A: 정맥내, B: 피하)(항목 7, 표 3).

도 11은 변형된 치료제에 대한 마우스 약동학적 데이터를 보여준다(A: 정맥내, B: 피하)(항목 8, 표 3).

도 12는 변형된 치료제에 대한 마우스 약동학적 데이터를 보여준다(A: 정맥내, B: 피하)(항목 9, 표 3).

도 13은 변형된 치료제에 대한 래트 약동학적 데이터를 보여준다(A: 정맥내, B: 피하)(항목 5, 표 3).

도 14는 LGR7 및 CRE-Luc 레포터를 발현하는 HEK293T 세포주에서 야생형 릴렉신에 비해 릴렉신 2 수용체(RXFP2 또는 LGR7)를 활성화시키는 변형된 치료제를 보여준다(항목 9, 표 3).

도 15는 LGR7 및 CRE-Luc 레포터를 발현하는 HEK293T 세포주에서 야생형 릴렉신에 비해 릴렉신 2 수용체(RXFP2 또는 LGR7)를 활성화시키는 변형된 치료제를 보여준다(항목 1, 표 3).

도 16은 LGR7 및 CRE-Luc 레포터를 발현하는 HEK293T 세포주에서 야생형 릴렉신에 비해 릴렉신 2 수용체(RXFP2 또는 LGR7)를 활성화시키는 변형된 치료제를 보여준다(항목 7, 표 3).

도 17은 LGR7 및 CRE-Luc 레포터를 발현하는 HEK293T 세포주에서 야생형 릴렉신에 비해 릴렉신 2 수용체(RXFP2 또는 LGR7)를 활성화시키는 변형된 치료제를 보여준다(항목 8, 표 3).

도 18은 LGR7 및 CRE-Luc 레포터를 발현하는 HEK293T 세포주에서 야생형 릴렉신에 비해 릴렉신 2 수용체(RXFP2 또는 LGR7)를 활성화시키는 변형된 치료제를 보여준다(항목 4, 표 3).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0062] 변형된 치료제가 본원에 개시되어 있다. 일반적으로, 변형된 치료제는 치료제(TA) 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함할 수 있고, 이때 TA는 하나 이상의 반감기 연장 모이어티에 부착되어 있다. 일부 실시양태에서, 변형된 치료제는 치료제(TA) 및 1개의 반감기 연장 모이어티를 포함하고, 이때 TA는 반감기 연장 모이어티에 부착되어 있다. 치료제는 펩티드일 수 있다. TA는 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착될 수 있다. TA는 TA 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티에 부착될 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 변형된 치료제의 반감기는 치료제 단독의 반감기보다 더 길 수 있다. 반감기 연장 모이어티는 지질, 폴리글리콜 영역 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 반감기 연장 모이어티는 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 추가로 포함할 수 있다. 반감기 연장 모이어티는 TA 상의 시스테인 잔기의 황 원자에 부착될 수 있다. TA는 적어도 하나의 등배전자성(isosteric) 디설파이드 모방체(mimetic)를 포함하는 펩티드일 수 있다.

[0063] 지질 접합체(LC)가 본원에 개시되어 있다. 일반적으로, LC는 지질 및 치료제를 포함한다. LC는 지질을 치료제에 연결하는 링커를 추가로 포함할 수 있고, 이때 링커는 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함한다. 치료제는 적어도 하나의 등배전자성 디설파이드 모방체를 포함할 수 있다.

[0064] 지질 접합체(LC)는 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 하나 이상의 지질; (b) 치료제(TA); 및 (c) 하나 이상의 지질 각각을 TA에 연결하는 링커를 포함할 수 있고, 이때 링커는 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하고; TA는 펩티드이고; 각각의 링커는 펩티드 상의 아미노산을 통해 TA에 접합된다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다.

[0065] 지질 접합체(LC)는 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질; (b) 하나 이상의 치료제(TA); 및 (c) 지질을 TA에 연결하는 링커를 포함할 수 있고, 이때 링커는 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하고 각각의 링커는 아미노산 잔기를 통해 TA에 접합된다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다.

[0066] (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질; (b) 하나 이상의 치료제(TA); 및 (c) 지질을 TA에 연결하는 링커를 포함하는 지질 접합체(LC)도 본원에 개시되어 있고, 이때 링커는 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하고, 하나 이상의 TA는 릴렉신 펩티드 또는 이의 유도체를 포함하고, 각각의 링커는 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 TA에 부착

된다.

- [0067] (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질; 및 (b) 적어도 하나의 등배전자성 디설파이드 모방체를 포함하는 하나 이상의 치료제(TA)를 포함하는 지질 접합체(LC)도 본원에 개시되고, 이때 하나 이상의 TA 각각은 펩티드이고, 하나 이상의 지질은 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 TA에 접합된다.
- [0068] 본 방법, 키트 및 조성물이 더 상세히 기재되기 전에, 본 발명은 당연히 그 자체로 변경될 수 있기 때문에 기재된 특정 방법, 키트 또는 조성물로 한정되지 않는다는 것이 이해될 것이다. 본 발명의 범위가 첨부된 청구범위에 의해서만 한정될 것이기 때문에, 본원에서 사용된 용어는 특정 실시양태만을 기술하기 위한 것이고 한정하기 위한 것이 아니라는 것도 이해될 것이다. 실시예는 본 발명을 만들고 사용하는 방법의 완전한 개시 및 설명을 당분야에서 통상의 기술을 가진 자에게 제공하기 위해 기재되어 있고, 본 발명자들이 그들의 발명으로서 간주하는 것의 범위를 한정하기 위한 것이 아니고 하기 실험이 수행된 모든 또는 유일한 실험이라는 것을 나타내기 위한 것도 아니다. 사용된 수치(예를 들면, 양, 온도 등)에 대한 정확성을 보장하기 위해 노력하였으나, 일부 실험 오차 및 편차가 고려되어야 한다. 달리 표시되어 있지 않은 한, 부(parts)는 중량부이고, 분자량은 중량 평균 분자량이고, 온도는 섭씨 온도이고, 압력은 대기압이거나 대기압에 가깝다.
- [0069] 값의 범위가 제공되어 있는 경우, 내용이 달리 명시하지 않은 한, 그 범위의 상한과 하한 사이의 각각의 개재 값도 하한의 단위의 10분의 1까지 구체적으로 개시된다는 것이 이해된다. 언급된 범위 내의 임의의 언급된 값 또는 개재 값과 그 언급된 범위 내의 임의의 다른 언급된 값 또는 개재 값 사이의 각각의 보다 더 작은 범위는 본 발명 내에 포함된다. 이 보다 더 작은 범위의 상한 및 하한은 범위에 독립적으로 포함될 수 있거나 배제될 수 있고, 임의의 한계가 구체적으로 배제된다는 것을 조건으로, 상기 한계들 중 어느 하나가 보다 더 작은 범위 내에 포함되거나, 이들 둘 다가 보다 더 작은 범위 내에 포함되지 않거나, 이들 둘 다가 보다 더 작은 범위 내에 포함되는 경우, 언급된 범위에서 각각의 범위도 본 발명 내에 포함된다. 언급된 범위가 상기 한계들 중 하나 또는 둘 다를 포함하는 경우, 이들 포함된 한계들 중 어느 하나 또는 둘 다를 배제하는 범위도 본 발명 내에 포함된다.
- [0070] 달리 정의되어 있지 않은 한, 본원에서 사용된 모든 기술적 용어들과 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 분야에서 통상의 기술을 가진 자에 의해 통상적으로 이해되는 의미와 동일한 의미를 가진다. 본원에 기재된 방법 및 재료와 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 재료가 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 일부 잠재적인 및 바람직한 방법 및 재료가 지금부터 기재된다. 본원에서 언급된 모든 공개문헌들은 상기 방법 및/또는 재료를 개시하고 기술하기 위해 본원에 참고로 도입되고, 상기 공개문헌들은 이 방법 및/또는 재료와 관련하여 인용되어 있다. 본 개시는 도입된 공개문헌의 임의의 개시를 모순이 있는 정도까지 대신한다는 것이 이해된다.
- [0071] 본 개시를 읽을 때 당분야에서 숙련된 자에게 명확할 바와 같이, 본원에 기재되고 예시된 각각의 개별 실시양태는 본 발명의 범위 또는 사상을 벗어나지 않으면서 다른 여러 실시양태들 중 임의의 여러 실시양태의 특징으로부터 용이하게 분리될 수 있거나 이러한 특징과 조합될 수 있는 별개의 성분 및 특징을 가진다. 임의의 언급된 방법은 언급된 사건의 순서 또는 논리적으로 가능한 임의의 다른 순서로 수행될 수 있다.
- [0072] 본원 및 첨부된 청구범위에서 사용된 바와 같이, 문맥이 달리 명시하지 않은 한, 단수형 용어는 복수 지시대상을 포함한다는 것이 인지되어야 한다. 따라서, 예를 들면, "세포"의 언급은 복수의 이러한 세포들을 포함하고, "펩티드"의 언급은 당분야에서 숙련된 자에게 공지된 하나 이상의 펩티드 및 이의 균등물, 예를 들면, 폴리펩티드 등의 언급을 포함한다.
- [0073] 본원에서 논의된 공개문헌들은 본원의 출원일 전 그들의 개시에 대해서만 제공되어 있다. 본원에서 어느 것도 본 발명이 선행 발명에 의해 이러한 공개문헌보다 시일이 앞설 자격이 없다는 것을 인정하는 것으로서 해석되어서는 안 된다. 추가로, 제공된 공개일은 독립적으로 확인될 필요가 있을 수 있는 실제 공개일과 상이할 수 있다.
- [0074] 치료제의 반감기를 연장시키는 변형된 치료제를 제조하는 방법 및 조성물이 제공되어 있다. 이들 방법 및 조성물은 다수의 질환들에서 치료적으로 사용될 수 있고, 예를 들면, 심혈관 질환은 릴랙신 단독보다 릴랙신에 접합된 반감기 연장 분자에 의해 더 효과적으로 치료될 수 있다. 본 발명의 이들 및 다른 목적, 장점 및 특징은 더 전체적으로 후술되어 있는 상기 조성물 및 방법의 세부설명을 읽을 때 당분야에서 숙련된 자에게 명확해질 것이다.
- [0075] 본 발명의 바람직한 실시양태가 본원에 제시되어 있고 기재되어 있지만, 이러한 실시양태가 단지 예로써 제공된

다는 것은 당분야에서 숙련된 자에게 자명할 것이다. 본 발명을 벗어나지 않으면서 다수의 변경, 변화 및 치환이 당분야에서 숙련된 자에게 인식될 것이다. 본원에 기재된 발명의 실시양태에 대한 다양한 대안들이 본 발명을 실시하는 데 사용될 수 있다는 것을 이해해야 한다. 하기 청구범위는 본 발명의 범위를 정의하고 이 청구범위 내의 방법 및 구조, 및 이들의 균등물은 청구범위에 의해 커버된다.

[0076] **변형된 치료제**

[0077] (i) 틸렉신 A-쇄를 포함하는 치료제(TA); 및

[0078] (ii) 반감기 연장 모이어티

[0079] 를 포함하는 변형된 치료제로서, TA가 TA의 시스테인 잔기를 통해 반감기 연장 모이어티에 공유부착되어 있는 것인 변형된 치료제가 본원에 개시되어 있다.

[0080] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄는 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 41이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 42가 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 43이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 44가 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 45가 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 46이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 47이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 53이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 55가 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는, 하나 이상의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나 치환되어 있는 1개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 2개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 3개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 4개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 5개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 48의 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 변형된 치료제의 반감기는 치료제 단독의 반감기보다 더 길다.

[0081] (i) 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열을 포함하는 치료제(TA); 및

[0082] (ii) 반감기 연장 모이어티

[0083] 를 포함하는 변형된 치료제로서, TA가 TA의 시스테인 잔기를 통해 반감기 연장 모이어티에 공유부착되어 있는 것인 변형된 치료제가 본원에 개시되어 있다.

[0084] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열에 존재하지 않는다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 2 위치에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 13 위치에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 54의 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 55의 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 59의 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 60의 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 틸렉신 B-쇄를 추가로 포

함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는, 하나 이상의 아미노산은 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나 치환되어 있는 1개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 2개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 3개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 4개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 5개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 48의 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 변형된 치료제의 반감기는 치료제 단독의 반감기보다 더 길다.

- [0085] (i) 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열을 포함하는 치료제(TA); 및
- [0086] (ii) 반감기 연장 모이어티
- [0087] 를 포함하는 변형된 치료제로서, TA가 TA의 시스테인 잔기를 통해 반감기 연장 모이어티에 공유부착되어 있는 것인 변형된 치료제가 본원에 개시되어 있다.
- [0088] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 또는 96% 상동이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 80% 상동이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90% 상동이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열에 존재하지 않는다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 2 위치에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 13 위치에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 54의 아미노산 서열과 적어도 50% 상동이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 55의 아미노산 서열과 적어도 50% 상동이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 59의 아미노산 서열과 적어도 50% 상동이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 60의 아미노산 서열과 적어도 50% 상동이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 41이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 42가 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 43이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 44가 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 45가 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 46이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 47이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 53이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 55가 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는, 하나 이상의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나 치환되어 있는 1개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 2개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된

치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 3개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 4개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 5개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 48의 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 변형된 치료제의 반감기는 치료제 단독의 반감기보다 더 길다.

[0089] (i) 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열을 포함하는 치료제 (TA)로서, 최대 5개의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 것인 치료제(TA); 및

[0090] (ii) 반감기 연장 모이어티

[0091] 를 포함하는 변형된 치료제로서, TA가 TA의 시스테인 잔기를 통해 반감기 연장 모이어티에 공유부착되어 있는 것인 변형된 치료제가 본원에 개시되어 있다.

[0092] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 1개의 아미노산이 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열로부터 추가되어 있거나, 결실되어 있거나 치환되어 있다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 2개의 아미노산이 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열로부터 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 3개의 아미노산이 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열로부터 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 4개의 아미노산이 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열로부터 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 5개의 아미노산이 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열로부터 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열에 존재하지 않는다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 2 위치에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 13 위치에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 54이고; 이때 최대 5개의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 55이고; 이때 최대 5개의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 59이고; 이때 최대 5개의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 60이고; 이때 최대 5개의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 41이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 42가 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 43이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 44가 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 45가 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 46이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 47이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 53이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 55가 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는, 하나 이상의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나 치환되어 있는 1개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 2개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결

실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 3개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 4개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 5개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 48의 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 변형된 치료제의 반감기는 치료제 단독의 반감기보다 더 길다.

[0093] (i) 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 부분을 포함하는 치료제(TA); 및

[0094] (ii) 반감기 연장 모이어티

[0095] 를 포함하는 변형된 치료제로서, TA가 TA의 시스테인 잔기를 통해 반감기 연장 모이어티에 공유부착되어 있는 것인 변형된 치료제가 본원에 개시되어 있다.

[0096] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 부분은 서열번호 54, 55, 59 및 60의 적어도 20개의 연속 아미노산을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 부분은 서열번호 54, 55, 59 및 60의 적어도 20개, 적어도 19개, 적어도 18개, 적어도 17개, 적어도 16개, 적어도 15개, 적어도 14개, 적어도 13개, 적어도 12개, 적어도 11개, 적어도 10개, 적어도 9개, 적어도 8개, 적어도 7개, 적어도 6개 또는 적어도 5개의 연속 아미노산을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 부분은 서열번호 54, 55, 59 및 60의 적어도 15개의 연속 아미노산을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 부분은 서열번호 54, 55, 59 및 60의 적어도 10개의 연속 아미노산을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 부분에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 부분에 존재하지 않는다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 부분의 2 위치에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기는 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열의 부분의 2 위치에 존재한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 54의 틸렉신 A-쇄 아미노산의 부분을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 55의 틸렉신 A-쇄 아미노산의 부분을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 59의 틸렉신 A-쇄 아미노산의 부분을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 60의 틸렉신 A-쇄 아미노산의 부분을 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 41이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 42가 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 43이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 44가 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 45가 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 46이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 47이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 53이 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 틸렉신 A-쇄 아미노산 서열은 서열번호 55가 아니다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는, 하나 이상의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나 치환되어 있는 1개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 2개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 3개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 4개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이들의 조합으로 존재하는 5개의 아미노산을 포함하는 변형된 틸렉신 B-쇄를 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 16,

40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 56, 58 및 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 치료제는 서열번호 48의 틸렉신 B-쇄 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 변형된 치료제의 반감기는 치료제 단독의 반감기보다 더 길다.

[0097] 일부 실시양태에서, 변형된 치료제는 하기 화학식을 가진다:

[0098] 화학식 (A)

[0099] $TA-A^1-P^1-L$

[0100] TA는 치료제이고;

[0101] $\text{---}A^1-P^1-L$ 은 반감기 연장 모이어티이다.

[0102] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서,

[0103] A^1 은 TA와 P^1 또는 L을 연결하는 화학적 기이고;

[0104] P^1 은 결합 또는 $-PEG-A^2-$ 이고;

[0105] L은 스테롤 유도체, 담즙산 유도체, 비타민 E 유도체, 지방 이산 유도체, 지방산 유도체, 지방 아미드 유도체, 지방 아민 아민 유도체 및 지방 알코올 유도체로 구성된 군으로부터 선택된 지질 유도체이고; 여기서 지질 유도체는 아미드 또는 에테르 결합을 통해 P^1 에 연결된다.

[0106] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 지질 유도체는 프로판산, 부탄산, 펜탄산, 헥산산, 헵탄산, 옥탄산, 노난산, 데칸산, 운데칸산, 도데칸산, 트리데칸산, 테트라데칸산, 미리스탄, 펜타데칸산, 헥사데칸산, 헵타데칸산, 옥타데칸산, 노나데칸산, 에이코산산, 헨에이코산산, 도코산산, 트리코산산, 테트라코산산, 펜타코산산, 헥사코산산, 헵타코산산, 옥타코산산, 노나코산산, 트리아콘탄산, 헨나트리아콘탄산, 도트리아콘탄산, 트리트리아콘탄산, 테트라트리아콘탄산, 펜타트리아콘탄산 및 헥사트리아콘탄산, 말론산, 석신산, 글루타르산, 아디프산, 피멜산, 수베르산, 아젤라산, 세박산, 운데칸디오산, 도데칸디오산, 트리데칸디오산, 테트라데칸디오산, 펜타데칸디오산, 헥사데칸디오산, 헵타데칸디오산, 옥타데칸디오산 및 노나데칸디오산, 미리스톨레산, 팔미톨레산, 사피엔산, 올레산, 엘라이드산, 박센산, 리놀레산, 리노엘라이드산, α -리놀렌산, 아라키돈산, 에이코사펜탄산, 에루스산, 및 도코사헥사엔산으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0107] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 지질 유도체는 옥탄산, 노난산, 데칸산, 운데칸산, 도데칸산, 트리데칸산, 테트라데칸산, 미리스탄, 펜타데칸산, 헥사데칸산, 헵타데칸산, 옥타데칸산, 노나데칸산, 에이코산산, 헨에이코산산, 도코산산, 트리코산산, 테트라코산산, 펜타코산산, 헥사코산산, 헵타코산산, 옥타코산산, 노나코산산, 트리아콘탄산, 헨나트리아콘탄산, 도트리아콘탄산, 트리트리아콘탄산, 테트라트리아콘탄산, 펜타트리아콘탄산 및 헥사트리아콘탄산, 말론산, 석신산, 글루타르산, 아디프산, 피멜산, 수베르산, 아젤라산, 세박산, 운데칸디오산, 도데칸디오산, 트리데칸디오산, 테트라데칸디오산, 펜타데칸디오산, 헥사데칸디오산, 헵타데칸디오산, 옥타데칸디오산 및 노나데칸디오산, 미리스톨레산, 팔미톨레산, 사피엔산, 올레산, 엘라이드산, 박센산, 리놀레산, 리노엘라이드산, α -리놀렌산, 아라키돈산, 에이코사펜탄산, 에루스산, 및 도코사헥사엔산으로 구성된 군으로부터 선택된다.

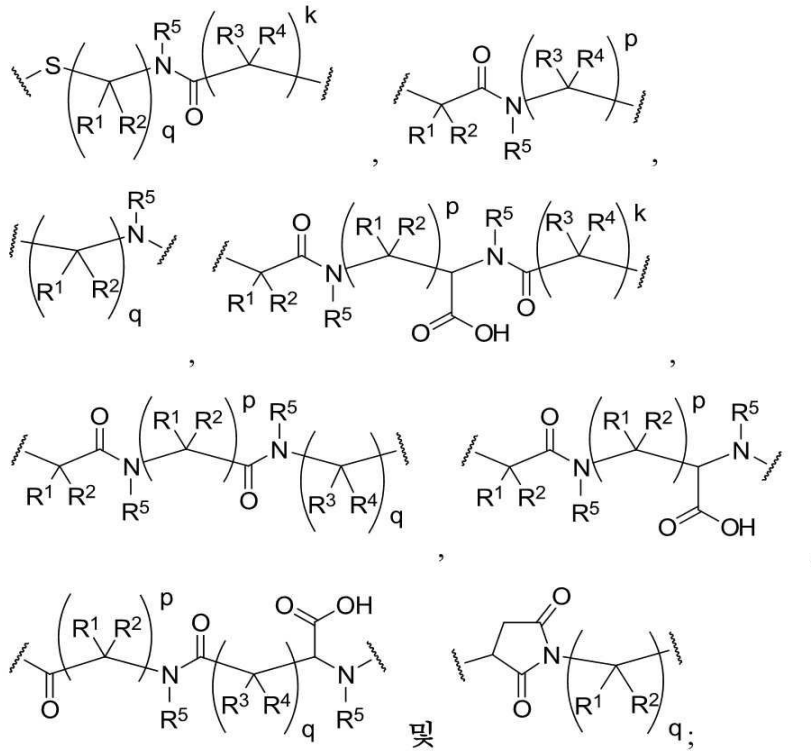
[0108] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 지질 유도체는 콜레스테롤, 7-OH 콜레스테롤, 7,25-디하이드록시콜레스테롤, 콜산, 케노데옥시콜산, 리토콜산, 데옥시콜산, 글리코콜산, 글리코데옥시콜산, 글리코리토콜산, 및 글리코 케노데옥시콜산으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0109] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, 지질 유도체는 α -토코페롤, β -토코페롤, γ -토코페롤, δ -토코페롤, α -토코트리엔놀, β -토코트리엔놀, γ -토코트리엔놀 및 δ -토코트리엔놀로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0110] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, TA의 시스테인 잔기의 황 원자는 화학적 결합을 통해 A^1 에 연결된다.

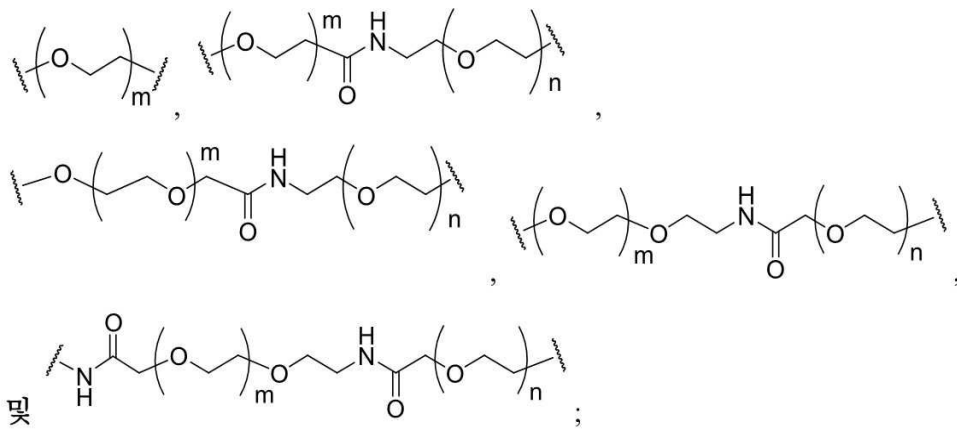
[0111] 화학식 (A)의 변형된 치료제의 일부 실시양태에서,

[0112] A¹은 하기 기들로부터 선택되고:



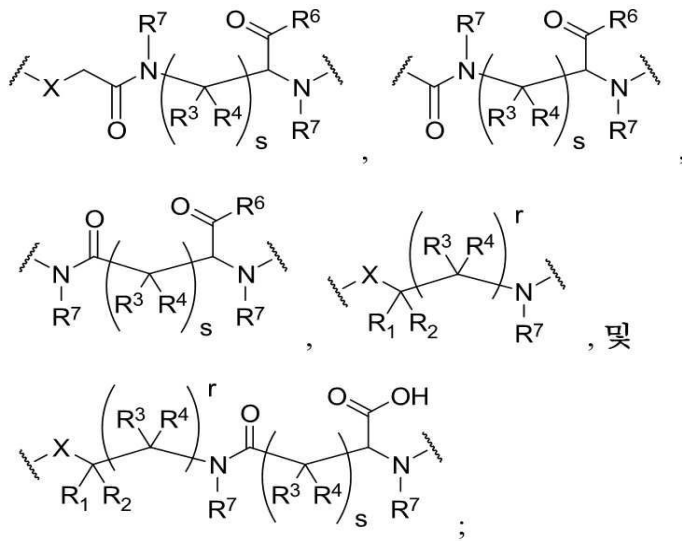
[0113]

[0114] PEG는 하기 기들로부터 선택되고:



[0115]

[0116] A^2 는 결합, 및 하기 기들로부터 선택되고:



[0117]

[0118] L은 테트라데칸산, 옥타데칸디오산, 미리스트산, 스테아르산, 도코사헥사엔산, 리토콜산, 콜산 및 팔미트산으로부터 선택된 산 모이어티이고; 여기서 산 모이어티는 아마이드 결합을 통해 P^1 에 연결되고;

[0119] X는 결합, $-N(R^5)-$, $-S-$ 또는 $-O-$ 이고;

[0120] 각각의 R^1 , R^2 , R^3 및 R^4 는 독립적으로 H, 할로, $-CN$, $-SR^5$, 알킬, 사이클로알킬, 할로알킬, $-NR^5R^5$ 또는 $-OR^5$ 이고;

[0121] 각각의 R^5 는 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬 또는 헤테로알킬이고;

[0122] R^6 은 OH 또는 $-NR^5R^5$ 이고;

[0123] 각각의 R^7 은 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬 또는 헤테로알킬이고;

[0124] m 및 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이고;

[0125] r은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

[0126] s는 1, 2, 3, 4 또는 5이고;

[0127] k는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

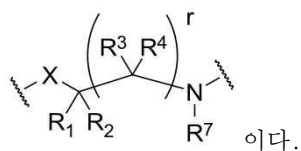
[0128] p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

[0129] q는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이다.

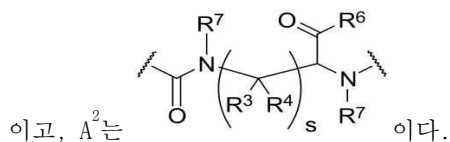
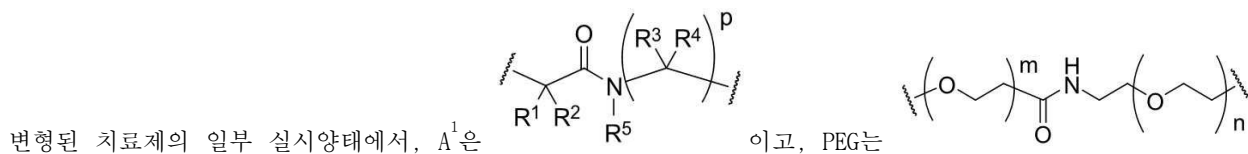
[0130] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, A^1 은 이다.

[0131] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, PEG는 또는 이다.

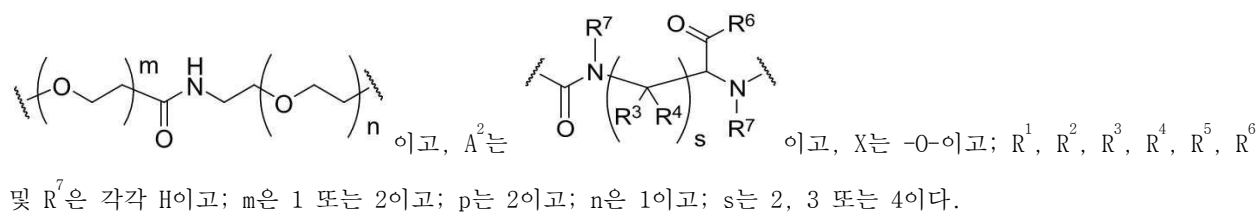
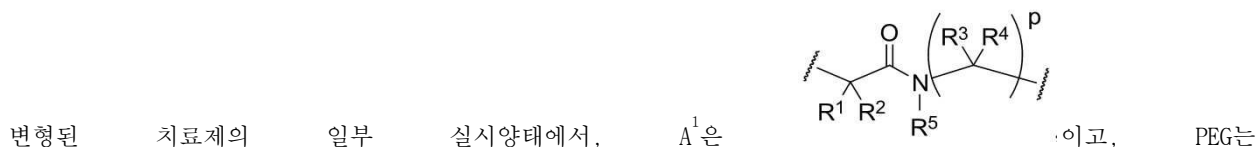
[0132] 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, A^2 는 또는 이다.



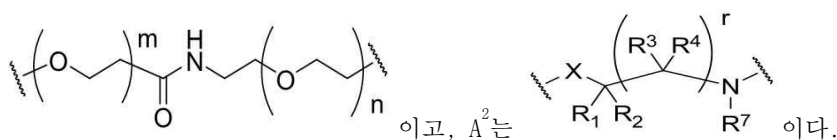
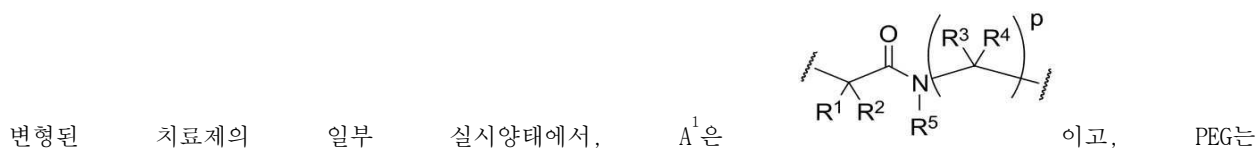
[0133]



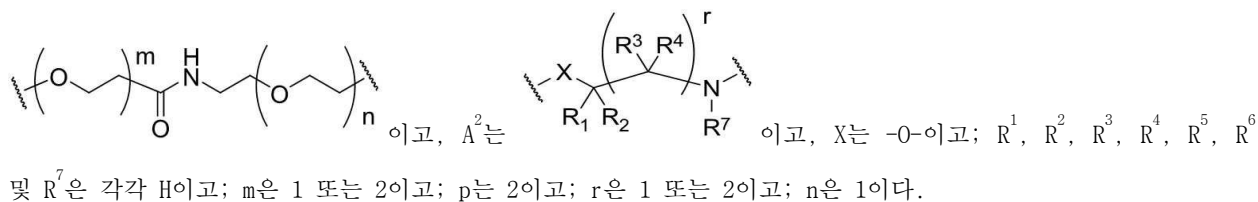
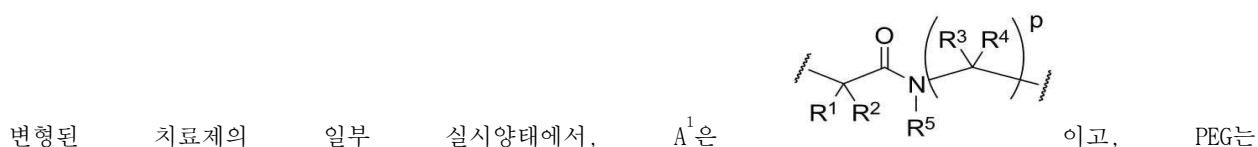
[0134]



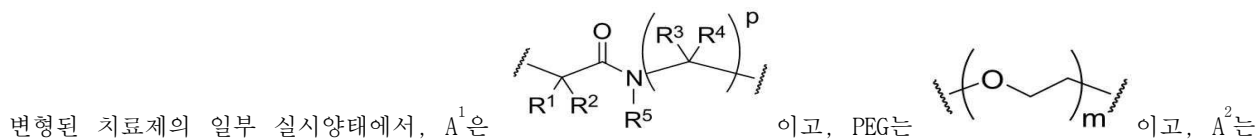
[0135]



[0136]

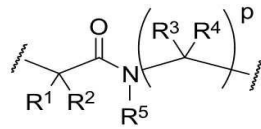


[0137]

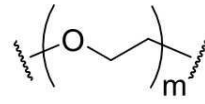


[0138]

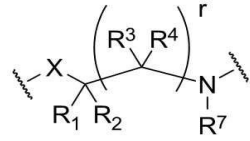
변형된 치료제의 일부 실시양태에서, A¹은



이고, PEG는



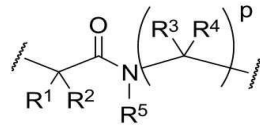
이고, A²는



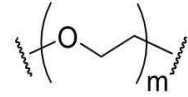
이고, X는 -O-이고; R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶ 및 R⁷은 각각 H이고; m은 1 또는 2이고; p는 2 이고; n은 1이고; r은 1 또는 2이고; s는 2, 3 또는 4이다.

[0139]

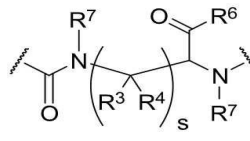
변형된 치료제의 일부 실시양태에서, A¹은



이고, PEG는



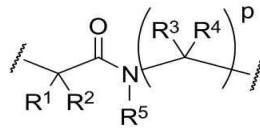
이고, A²는



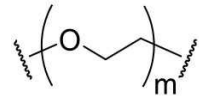
이다.

[0140]

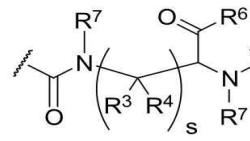
변형된 치료제의 일부 실시양태에서, A¹은



이고, PEG는



이고, A²는



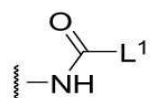
이고, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶ 및 R⁷은 각각 H이고; m은 5, 6, 7 또는 8이고; p는 2이고; s는 2, 3 또는 4이다.

[0141]

변형된 치료제의 일부 실시양태에서, R¹, R², R³ 및 R⁴는 각각 H이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, R⁵는 각각 독립적으로 H이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, R⁶은 각각 OH 또는 NH₂이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, R⁶은 각각 OH이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, R⁷은 각각 H이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, m은 1이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, m은 2이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, m은 5이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, m은 8이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, n은 1, 2, 3, 4 또는 5이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, n은 1이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, r은 1, 2 또는 3이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, r은 1이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, s는 2 또는 4이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, s는 2이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, s는 4이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, p는 2이다. 변형된 치료제의 일부 실시양태에서, X는 -O-이다.

[0142]

변형된 치료제의 일부 실시양태에서, L은 테트라데칸산, 옥타데칸디오산, 미리스트산, 스테아르산, 도코사헥사엔산, 리토콜산, 콜산 및 팔미트산으로부터 선택된 산 모이어티이고; P¹은 -PEG-A²-이고; 산 모이어티는 아마이드 결합을 통해 A²에 연결된다. 일부 실시양태에서, 아마이드 결합은 A²의 한 아미노 모이어티와 L의 한 산 모이어티 사이에서 형성된다. 일부 실시양태에서, 산 유도체는 하기 화학식에 따른 분자의 나머지에 연결된다:

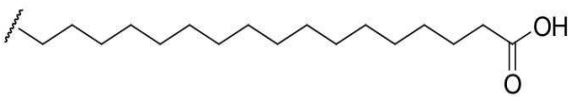


[0143]

상기 식에서,

[0144]

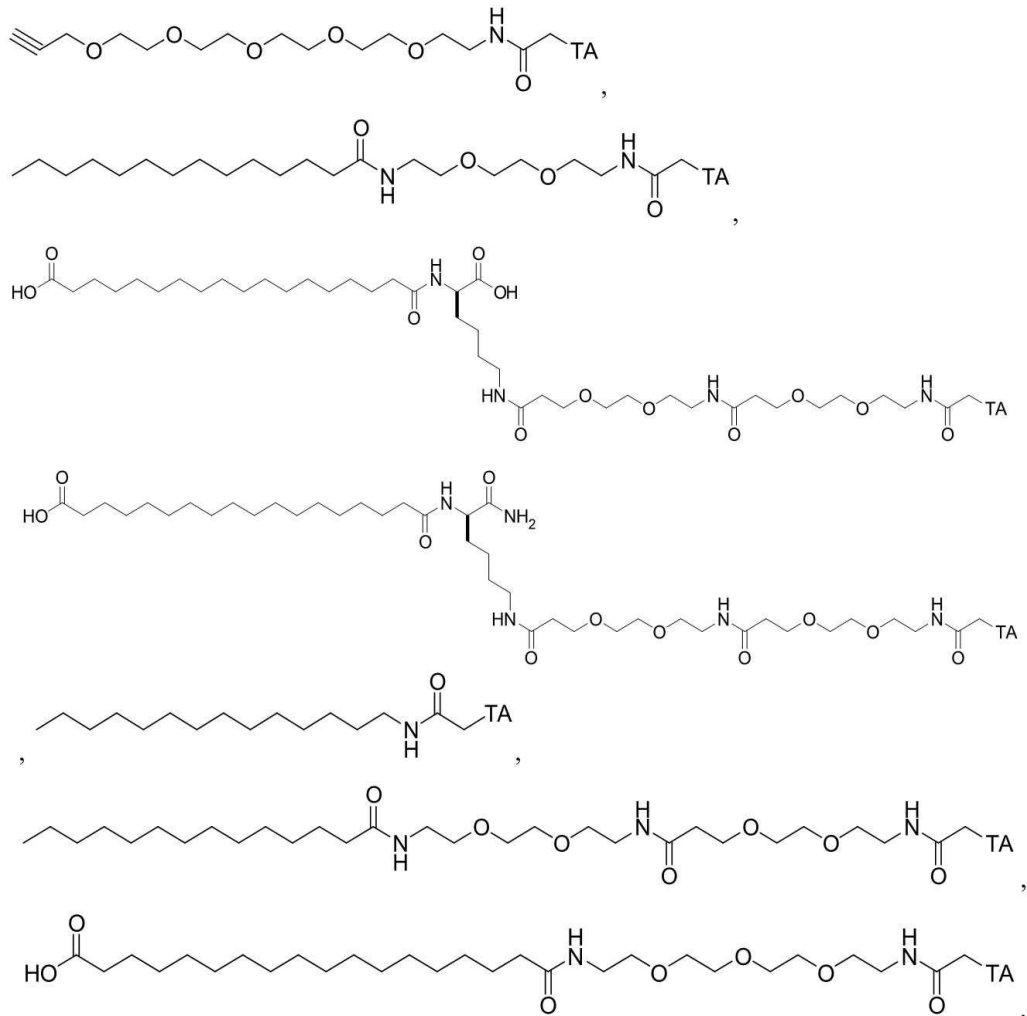
L¹은 테트라데칸산, 옥타데칸디오산, 미리스트산, 스테아르산, 도코사헥사엔산, 리토콜산, 콜산 또는 팔미트산의

부분이고, NH는 A²의 부분이다. 일부 실시양태에서, L¹은  이

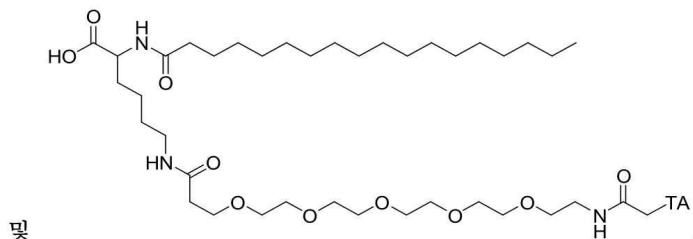
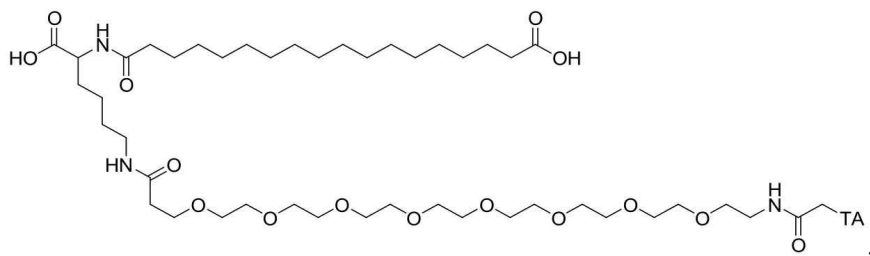
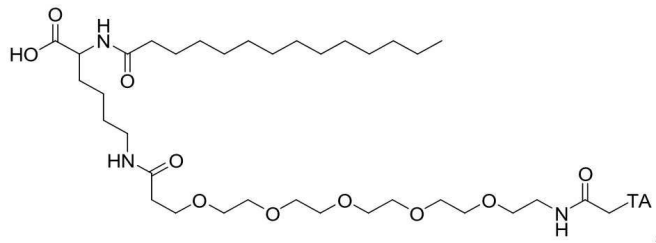
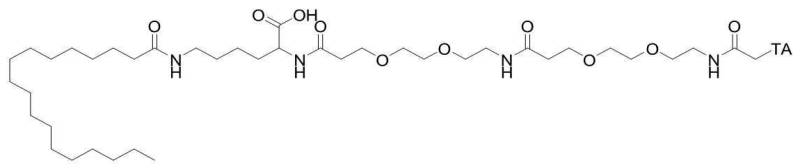
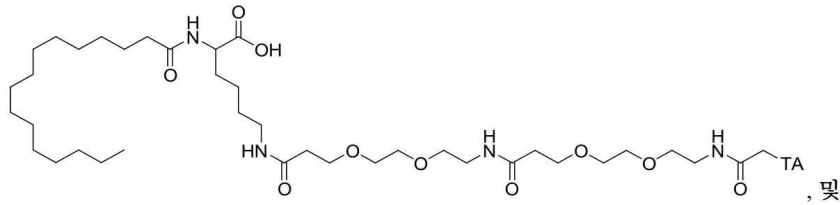
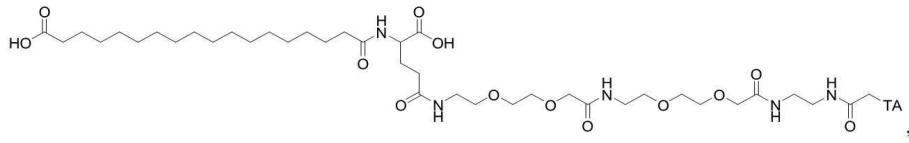
다. 일부 실시양태에서, L¹은  이다. 일부 실시양태에서, L¹은

 이다.

[0146] 일부 실시양태에서, 변형된 치료제는 하기 화합물들로 구성된 군으로부터 선택된다:



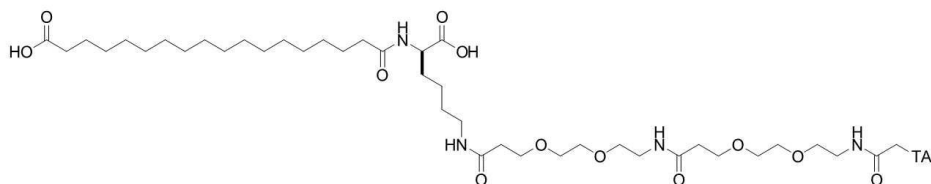
[0147]



[0148]

[0149]

일부 실시양태에서, 변형된 치료제는 하기 화합물이다:



[0150]

[0151]

TA의 시스테인 잔기를 A^3-P^1-X 와 반응시키는 단계를 포함하는, 화학식 (A)의 변형된 치료제를 제조하는 방법으로, A^3 이 A^1 을 형성하기 위한 반응성 전구체인 방법이 본원에 개시되어 있다. 일부 실시양태에서, A^3 은 할로아세트아미드, 말레이미드, 벤질 할라이드 또는 피리딜 디설파이드이다. 추가 실시양태에서, A^3 은 할로아세트아미드

이다. 추가 실시양태에서, A³은 브로모아세트아미드이다.

- [0152] 치료제(TA) 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, TA가 하나 이상의 반감기 연장 모이어티에 부착되어 있는 것인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있다. 치료제는 펩티드일 수 있다. TA는 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착될 수 있다. TA는 치료제 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티에 부착될 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 변형된 치료제의 반감기는 치료제 단독의 반감기보다 더 길 수 있다. 반감기 연장 모이어티는 지질, 폴리글리콜 영역 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 변형된 치료제의 비한정적인 예로는 지질 접합체(LC)가 있다.
- [0153] 치료제(TA) 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, TA가 하나 이상의 반감기 연장 모이어티에 부착되어 있는 것인 변형된 치료제가 본원에 개시되어 있다. 치료제는 펩티드일 수 있다. TA는 적어도 하나의 등배전자성 디설파이드 모방체를 포함할 수 있다. 등배전자성 디설파이드 모방체는 헤테로아릴기를 포함할 수 있다. TA는 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착될 수 있다. TA는 치료제 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티에 부착될 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 변형된 치료제의 반감기는 치료제 단독의 반감기보다 더 길 수 있다. 반감기 연장 모이어티는 지질, 폴리글리콜 영역 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 반감기 연장 모이어티는 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴기를 추가로 포함할 수 있다. 반감기 연장 모이어티는 치료제 상의 시스테인 잔기의 황 원자에 부착될 수 있다. 변형된 치료제의 비한정적인 예로는 지질 접합체(LC)가 있다.
- [0154] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제가 본원에 개시되어 있고; 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴기를 포함하고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로사이클릴기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.
- [0155] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 지질 및 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴기를 포함하고, 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로사이클릴기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.
- [0156] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 지질 및 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴기를 포함하고; 펩티드는 릴렉신, H1 릴렉신, H2 릴렉신, H3 릴렉신, 인간 INSL3, 인간 INSL4, 인간 INSL6, 인간 IGF1, 인간 IGFII, 인간 인슐린, 옥신토모듈린(oxyntomodulin), 엑세나타이드(exenatide), 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 아고니스트, GLP-1R 및 GCGR 이중 아고니스트, 렙틴(leptin), 베타트로핀(betatrophin), FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 펩티드 기초의 독소, Moka 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로부터 선택되고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티

드이고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헵테로아릴 기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헵테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.

[0157] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 지질 및 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기를 포함하고; 펩티드는 릴렉신, 옥신토모둘린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 아고니스트, GLP-1R 및 GCGR 이중 아고니스트, 랩틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 독소-550, Moka 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로부터 선택되고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헵테로아릴 기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헵테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.

[0158] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 지질 및 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기를 포함하고; 펩티드는 릴렉신 또는 이의 유도체이고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헵테로아릴 기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헵테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.

[0159] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 지질 및 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기를 포함하고; 치료제는 서열번호 10 내지 61로 구성된 군으로부터 선택된 폴리펩티드 서열의 적어도 부분을 포함하는 아미노산 서열에 의해 코딩되고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헵테로아릴 기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헵테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헵테로아릴 또는 헵테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.

[0160] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산

잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴 기, 및 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 지질을 포함하고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헥테로아릴 기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헥테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.

[0161] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴 기, 및 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 지질을 포함하고; 펩티드는 릴렉신, H1 릴렉신, H2 릴렉신, H3 릴렉신, 인간 INSL3, 인간 INSL4, 인간 INSL6, 인간 IGF1, 인간 IGFII, 인간 인슐린, 옥신토모둘린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 아고니스트, GLP-1R 및 GCGR 이중 아고니스트, 랩틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 펩티드 기초의 독소, Moka 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로부터 선택되고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헥테로아릴 기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헥테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.

[0162] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴 기, 및 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 지질을 포함하고; 펩티드는 릴렉신, 옥신토모둘린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 아고니스트, GLP-1R 및 GCGR 이중 아고니스트, 랩틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 독소-550, Moka 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로부터 선택되고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헥테로아릴 기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헥테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.

[0163] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴 기, 및 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 지질을 포함하고; 펩티드는 릴렉신 또는 이의 유도체이고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추

가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.

[0164] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기, 및 폴리글리콜 영역을 포함하고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.

[0165] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기, 및 폴리글리콜 영역을 포함하고; 펩티드는 릴렉신, H1 릴렉신, H2 릴렉신, H3 릴렉신, 인간 INSL3, 인간 INSL4, 인간 INSL6, 인간 IGF1, 인간 IGFII, 인간 인슐린, 옥신토모듈린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 아고니스트, GLP-1R 및 GCGR 이중 아고니스트, 랩틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 펩티드 기초의 독소, Moka 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로부터 선택되고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.

[0166] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기, 및 폴리글리콜 영역을 포함하고; 펩티드는 릴렉신, 옥신토모듈린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 아고니스트, GLP-1R 및 GCGR 이중 아고니스트, 랩틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 독소-550, Moka 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로부터 선택되고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸,

옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.

[0167] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기, 및 폴리글리콜 영역을 포함하고; 펩티드는 킬렉신 또는 이의 유도체이고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.

[0168] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기, 및 폴리글리콜 영역을 포함하고; 치료제는 서열번호 10 내지 61로 구성된 군으로부터 선택된 폴리펩티드 서열의 적어도 부분을 포함하는 아미노산 서열에 의해 코딩되고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.

[0169] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기, 지질 및 폴리글리콜 영역을 포함하고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.

[0170] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기, 폴리글리콜 영역, 및 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 지질을 포함하고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테

테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.

[0171] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기, 폴리글리콜 영역, 및 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 지질을 포함하고; 펩티드는 릴렉신, H1 릴렉신, H2 릴렉신, H3 릴렉신, 인간 INSL3, 인간 INSL4, 인간 INSL6, 인간 IGF1, 인간 IGFII, 인간 인슐린, 옥신토모듈린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 아고니스트, GLP-1R 및 GCGR 이중 아고니스트, 렙틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 펩티드 기초의 독소, Moka 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로부터 선택되고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.

[0172] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기, 폴리글리콜 영역, 및 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 지질을 포함하고; 펩티드는 릴렉신, 옥신토모듈린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 아고니스트, GLP-1R 및 GCGR 이중 아고니스트, 렙틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 독소-550, Moka 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로부터 선택되고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.

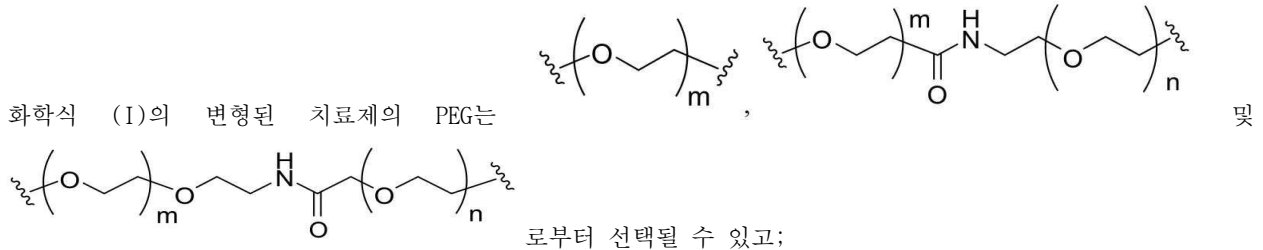
[0173] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기, 폴리글리콜 영역, 및 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 지질을 포함하고; 펩티드는 릴렉신 또는 이의 유도체이고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다. 변형된 치료제는 LC일 수 있다.

[0174] 본원에 개시된 변형된 치료제는 하기 구조를 가질 수 있다:

- [0175] 화학식 (I)
- [0176] $TA-A^1-P^1-X$
- [0177] 상기 식에서,
- [0178] TA는 아미노산 잔기를 가진 치료제이고, 이때 아미노산 잔기는 A^1 에 연결되고;
- [0179] A^1 은 TA와 P^1 을 연결하는 화학적 기이고;
- [0180] P^1 은 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하고;
- [0181] X는 반감기 연장 모이어티이다.
- [0182] 화학식 (I)의 X는 지질을 포함할 수 있다.
- [0183] 화학식 (I)의 변형된 치료제의 TA의 아미노산은 시스테인 또는 라이신일 수 있다. 화학식 (I)의 변형된 치료제의 TA의 아미노산 잔기의 황 또는 질소 원자는 화학적 결합을 통해 A^1 에 연결될 수 있다.
- [0184] 화학식 (I)의 변형된 치료제의 TA의 아미노산은 시스테인일 수 있다. 화학식 (I)의 변형된 치료제의 TA의 시스테인 잔기의 황 원자는 화학적 결합을 통해 A^1 에 연결될 수 있다. 화학식 (I)의 변형된 치료제의 TA의 아미노산은 라이신일 수 있다. 화학식 (I)의 변형된 치료제의 TA의 시스테인 잔기의 질소 원자는 화학적 결합을 통해 A^1 에 연결될 수 있다.
- [0185] 화학식 (I)의 변형된 치료제의 P^1 은 $-PEG-A^2-$ 일 수 있고; 이때 PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌글리콜 서브유닛을 포함하는 화학적 기이고, A^2 는 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하고 PEG와 X를 연결하는 화학적 기이다. A^2 는 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. A^2 는 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸 고리일 수 있다.
- [0186] 화학식 (I)의 반감기 연장 모이어티는 지질을 포함할 수 있다. 지질은 프로판산, 부탄산, 펜탄산, 헥산산, 헵탄산, 옥탄산, 노난산, 데칸산, 운데칸산, 도데칸산, 트리데칸산, 테트라데칸산, 미리스탄산, 펜타데칸산, 헥사데칸산, 헵타데칸산, 옥타데칸산, 노나데칸산, 에이코산산, 헨에이코산산, 도코산산, 트리코산산, 테트라코산산, 펜타코산산, 헥사코산산, 헵타코산산, 옥타코산산, 노나코산산, 트리아콘탄산, 헥사트리아콘탄산, 도트리아콘탄산, 트리트리아콘탄산, 테트라트리아콘탄산, 펜타트리아콘탄산 및 헥사트리아콘탄산으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 지질은 말론산, 석신산, 글루타르산, 아디프산, 피멜산, 수베르산, 아젤라산, 세박산, 운데칸디오산, 도데칸디오산, 트리데칸디오산, 테트라데칸디오산, 펜타데칸디오산, 헥사데칸디오산, 헵타데칸디오산, 옥타데칸디오산 및 노나데칸디오산으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 지질은 미리스톨레산, 팔미톨레산, 사피엔산, 올레산, 엘라이드산, 박센산, 리놀레산, 리노엘라이드산, α -리놀렌산, 아라키돈산, 에이코사펜탄산, 에루스산 및 도코사헥사엔산으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 지질은 콜레스테롤, 7-OH 콜레스테롤, 7,25-디하이드록시콜레스테롤, 콜산, 케노데옥시콜산, 리토콜산, 데옥시콜산, 글리코콜산, 글리코데옥시콜산, 글리코리토콜산 및 글리코케노데옥시콜산으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 화학식 (I)의 변형된 치료제의 하나 이상의 지질은 콜산, 케노데옥시콜산, 리토콜산, 데옥시콜산, 글리코콜산, 글리코데옥시콜산, 글리코리토콜산 및 글리코케노데옥시콜산으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 화학식 (I)의 변형된 치료제의 하나 이상의 지질은 α -토코페롤, β -토코페롤, γ -토코페롤, δ -토코페롤, α -토코트리에놀, β -토코트리에놀, γ -토코트리에놀 및 δ -토코트리에놀로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 화학식 (I)의 변형된 치료제의 하나 이상의 지질은 옥타데칸디오산, 테트라데실아민, 미리스탄산, 도코사헥사엔산, 리토콜산 에스테르, 콜산 및 팔미트산으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.

[0187]

화학식 (I)의 변형된 치료제의 PEG는



로부터 선택될 수 있고;

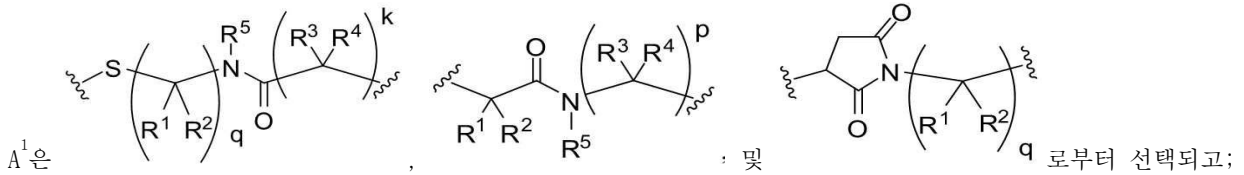
[0188]

이때, m 및 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다.

[0189]

본원에 개시된 화학식 (I)의 변형된 치료제의 일부 실시양태에서,

[0190]



[0191]

각각의 R^1 , R^2 , R^3 및 R^4 는 독립적으로 H, 할로, CN, $-SR^5$, 알킬, 사이클로알킬, 할로알킬, $-NR^5R^5$, $-NC(O)R^5$, $-NC(O)OR^5$ 및 $-OR^5$ 로부터 선택되고;

[0192]

각각의 R^5 는 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, (사이클로알킬)알킬 또는 헤테로알킬이고;

[0193]

p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

[0194]

q는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이다.

[0195]

화학식 (I)의 변형된 치료제의 P^1 은 폴리글리콜을 포함할 수 있다. 폴리글리콜은 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 폴리부틸렌 글리콜, 또는 이들의 조합으로부터 선택될 수 있다. 폴리글리콜은 폴리에틸렌 글리콜일 수 있다. 폴리글리콜은 폴리프로필렌 글리콜일 수 있다. 폴리글리콜은 폴리부틸렌 글리콜일 수 있다.

[0196]

TA의 시스테인 잔기를 A^3-P^1-X 와 반응시키는 단계를 포함하는, 화학식 (I)의 변형된 치료제를 제조하는 방법으로서, A^3 이 A^1 을 형성하기 위한 반응성 전구체인 방법이 본원에 개시되어 있다. 일부 실시양태에서, A^3 은 할로아세트아미드, 말레이미드, 벤질 할라이드 또는 피리딜 디설파이드이다. 추가 실시양태에서, A^3 은 할로아세트아미드이다. 추가 실시양태에서, A^3 은 브로모아세트아미드이다.

[0197]

치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 펩티드는 적어도 하나의 등배전자성 디설파이드 모방체를 포함하고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 지질, 폴리글리콜 영역, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 지질을 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 폴리글리콜 영역을 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 지질 및 폴리글리콜 영역을 포함할 수 있다. 지질은 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 폴리글리콜 영역은 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 유닛, 폴리프로필렌 글리콜 유닛 또는 폴리부틸렌 글리콜 유닛, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 1개 이상의 폴리에틸렌 글리콜 유닛, 폴리프로필렌 글리콜 유닛 또는 폴리부틸렌 글리콜 유닛, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 등배전자성 디설파이드 모방체는 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 반감기 연장 모이어티가 부착되어 있는 아미노산 잔기는 펩티드의 N-말단 또는 C-말단 상에 위치할 수 있다. 반감기 연장 모이어티가 부착되어 있는 아미노산 잔기는 펩티드의 비-말단 위치 상에 위치할 수 있다. 반감기 연장 모이어티가 부착되어 있는 아미노산 잔기는 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 펩티드는 펩티드 독소일 수 있다. 펩티드는 독소-550, Moka 및 VM-24, 또는 이들의 유도

체로부터 선택될 수 있고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이다. 펩티드는 서열번호 22, 23, 및 26 내지 31로 구성된 군으로부터 선택된 폴리펩티드 서열의 적어도 부분들을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 펩티드는 서열번호 22, 23, 및 26 내지 31로 구성된 군으로부터 선택된 폴리펩티드 서열에 기초한 또는 이러한 폴리펩티드 서열로부터 유래한 10개 이상의 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 펩티드는 서열번호 22, 23, 및 26 내지 31을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 펩티드는 서열번호 22, 23, 및 26 내지 31을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 80% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0198] **반감기 연장 모이어티**

[0199] 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제가 본원에 개시되어 있고; 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각은 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴 기를 포함하고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제로서, 치료제가 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 모이어티 각각에 공유부착되어 있는 펩티드인 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있고; 펩티드는 적어도 하나의 등배전자성 디설파이드 모방체를 포함하고; 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다.

[0200] 하나 이상의 반감기 연장 모이어티는 지질, 폴리글리콜 영역, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 모이어티는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함할 수 있다.

[0201] 폴리글리콜 영역은 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 유닛, 폴리프로필렌 글리콜 유닛 또는 폴리부틸렌 글리콜 유닛, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 유닛을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 하나 이상의 폴리프로필렌 글리콜 유닛을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 하나 이상의 폴리부틸렌 글리콜 유닛을 포함할 수 있다.

[0202] 폴리글리콜 영역은 10개, 20개, 30개, 40개, 50개, 60개, 70개, 80개, 90개 또는 100개 이상의 폴리에틸렌 글리콜 유닛, 폴리프로필렌 글리콜 유닛 또는 폴리부틸렌 글리콜 유닛, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 10개, 20개, 30개, 40개, 50개, 60개, 70개, 80개, 90개 또는 100개 이상의 폴리에틸렌 글리콜 유닛을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 10개, 20개, 30개, 40개, 50개, 60개, 70개, 80개, 90개 또는 100개 이상의 폴리프로필렌 글리콜 유닛을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 10개, 20개, 30개, 40개, 50개, 60개, 70개, 80개, 90개 또는 100개 이상의 폴리부틸렌 글리콜 유닛을 포함할 수 있다.

[0203] 폴리글리콜 영역은 100개, 200개, 300개, 400개, 500개, 600개, 700개, 800개, 900개 또는 1000개 이상의 폴리에틸렌 글리콜 유닛, 폴리프로필렌 글리콜 유닛 또는 폴리부틸렌 글리콜 유닛, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 100개, 200개, 300개, 400개, 500개, 600개, 700개, 800개, 900개 또는 1000개 이상의 폴리에틸렌 글리콜 유닛을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 100개, 200개, 300개, 400개, 500개, 600개, 700개, 800개, 900개 또는 1000개 이상의 폴리프로필렌 글리콜 유닛을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 100개, 200개, 300개, 400개, 500개, 600개, 700개, 800개, 900개 또는 1000개 이상의 폴리부틸렌 글리콜 유닛을 포함할 수 있다.

[0204] 폴리글리콜 영역은 1000개, 2000개, 3000개, 4000개, 5000개, 6000개, 7000개, 8000개, 9000개, 10000개, 11000개, 12000개, 13000개, 14000개, 15000개, 16000개, 17000개, 18000개, 19000개, 20000개, 25000개, 30000개, 35000개, 40000개, 45000개 또는 50000개 이상의 폴리에틸렌 글리콜 유닛, 폴리프로필렌 글리콜 유닛 또는 폴리부틸렌 글리콜 유닛, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 1000개, 2000개, 3000개, 4000개, 5000개, 6000개, 7000개, 8000개, 9000개, 10000개, 11000개, 12000개, 13000개, 14000개, 15000개, 16000개, 17000개, 18000개, 19000개, 20000개, 25000개, 30000개, 35000개, 40000개, 45000개 또는 50000개 이상의 폴리프로필렌 글리콜 유닛을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 1000개, 2000개, 3000개, 4000개, 5000개, 6000개, 7000개, 8000개, 9000개, 10000개, 11000개, 12000개, 13000개, 14000개, 15000개, 16000개, 17000개, 18000개, 19000개, 20000개, 25000개, 30000개, 35000개, 40000개, 45000개 또는 50000개 이상의 폴리부틸렌 글리콜 유닛을 포함할 수 있다.

[0205] 폴리글리콜 영역은 500 내지 50,000 달톤의 분자량을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 500 내지 40,000 달톤의 분자량을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 500 내지 30,000 달톤의 분자량을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 500 내지 20,000 달톤의 분자량을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000, 15000, 20000, 25000, 30000, 35000, 40000 또는 45000 달톤 이상(그 안의 증가량을 포함함)의 분자량을 포함할 수 있다.

[0206] 반감기 연장 모이어티는 TA 상의 시스테인 잔기를 통해 TA에 부착될 수 있다. 부착은 TA 상의 시스테인 잔기의 황 원자를 통한 화학적 부착을 통해 달성될 수 있다. 반감기 연장 모이어티는 TA 상의 시스테인 잔기의 황 원자에 직접적으로 부착되어 있는 링커를 포함할 수 있다. 반감기 연장 모이어티는 TA 상의 시스테인 잔기의 황 원자에 공유부착되어 있는 링커를 포함할 수 있다.

[0207] 반감기 연장 모이어티는 TA 상의 라이신 잔기를 통해 TA에 부착될 수 있다. 부착은 TA 상의 라이신 잔기의 질소를 통한 화학적 부착을 통해 달성될 수 있다. 반감기 연장 모이어티는 TA 상의 라이신 잔기의 질소 원자에 직접적으로 부착되어 있는 링커를 포함할 수 있다. 반감기 연장 모이어티는 TA 상의 라이신 잔기의 질소 원자에 공유부착되어 있는 링커를 포함할 수 있다.

[0208] 지질 접합체(LC)

[0209] 하나 이상의 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함하는 지질 접합체(LC)가 본원에 개시되어 있다. 지질 접합체는 1개의 TA에 부착된 하나 이상의 지질을 포함할 수 있다. 지질 접합체는 하나 이상의 TA와 하나 이상의 지질 사이에 친수성 연결체를 추가로 포함할 수 있다. 지질 접합체는 하나 이상의 폴리에틸렌글리콜 서브유닛을 추가로 포함할 수 있다. 지질 접합체는 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 추가로 포함할 수 있다. 하나 이상의 지질은 폐길화될 수 있다.

[0210] 본원에 개시된 LC는 하기 구조를 가질 수 있다:

[0211] 화학식 (II)

[0212] $TA-A^1-P^1-L$

[0213] 상기 식에서,

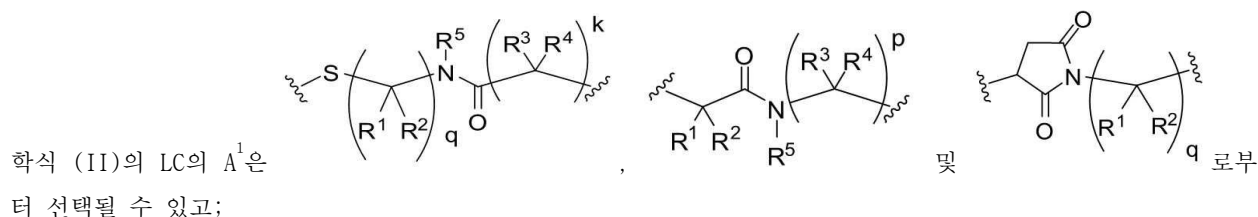
[0214] TA는 치료제이고;

[0215] A^1 은 TA와 P^1 또는 L을 연결하는 화학적 기이고;

[0216] P^1 은 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하고;

[0217] L은 지질이다.

[0218] TA의 아미노산 잔기의 황 또는 질소 원자는 화학식 (II)의 LC에서 화학적 결합을 통해 A^1 에 연결될 수 있다. 화



[0219] R^1 , R^2 , R^3 및 R^4 는 H, 할로, CN, $-SR^5$, 알킬, 사이클로알킬, 할로알킬, $-NR^5R^5$, $-NC(O)R^5$, $-NC(O)OR^5$ 및 $-OR^5$ 로부터 각각 독립적으로 선택되고;

[0220] R^5 는 각각 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, (사이클로알킬)알킬 또는 헤테로알킬이고;

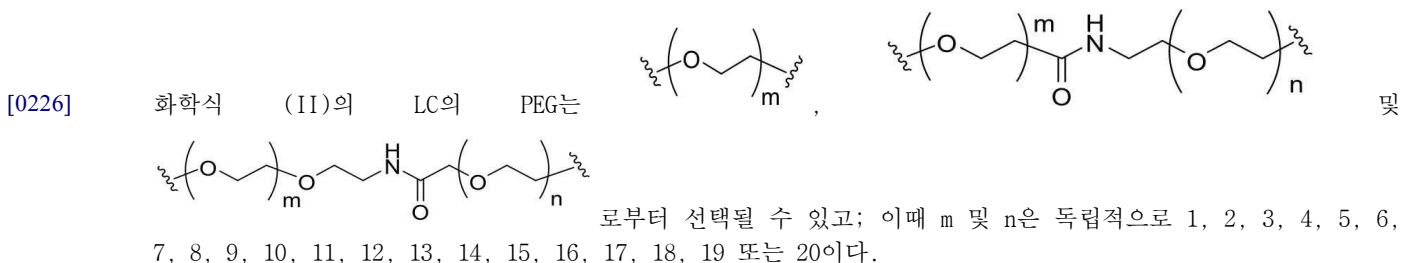
[0221] k는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

[0222] p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

[0223] q는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이다.

[0224] 화학식 (II)의 LC의 P¹은 폴리글리콜을 추가로 포함할 수 있다. 폴리글리콜은 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 폴리부틸렌 글리콜, 또는 이들의 조합으로부터 선택될 수 있다. 폴리글리콜은 폴리에틸렌 글리콜일 수 있다. 폴리글리콜은 폴리프로필렌 글리콜일 수 있다. 폴리글리콜은 폴리부틸렌 글리콜일 수 있다.

[0225] 화학식 (II)의 LC의 P¹은 -PEG-A²-일 수 있고; 이때 PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌글리콜 서브유닛을 포함하는 화학적 기이고; A²는 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하고 PEG와 L을 연결한다.



[0227] 화학식 (II)의 LC의 A²는 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 화학식 (II)의 LC의 A²는 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다.

[0228] 화학식 (II)의 LC의 하나 이상의 지질은 프로판산, 부탄산, 펜탄산, 헥산산, 헵탄산, 옥탄산, 노난산, 데칸산, 운데칸산, 도데칸산, 트리데칸산, 테트라데칸산, 미리스트산, 펜타데칸산, 헥사데칸산, 헵타데칸산, 옥타데칸산, 노나데칸산, 에이코산산, 헨에이코산산, 도코산산, 트리코산산, 테트라코산산, 펜타코산산, 헥사코산산, 헵타코산산, 옥타코산산, 노나코산산, 트리아콘탄산, 헤나트리아콘탄산, 도트리아콘탄산, 트리트리아콘탄산, 테트라트리아콘탄산, 펜타트리아콘탄산 및 헥사트리아콘탄산으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 화학식 (II)의 LC의 하나 이상의 지질은 말론산, 석신산, 글루타르산, 아디프산, 피멜산, 수베르산, 아젤라산, 세박산, 운데칸디오산, 도데칸디오산, 트리데칸디오산, 테트라데칸디오산, 펜타데칸디오산, 헥사데칸디오산, 헵타데칸디오산, 옥타데칸디오산 및 노나데칸디오산으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 화학식 (II)의 LC의 하나 이상의 지질은 미리스톨레산, 팔미톨레산, 사피엔산, 올레산, 엘라이드산, 박센산, 리놀레산, 리노엘라이드산, α -리놀렌산, 아라키돈산, 에이코사펜탄산, 에루산 및 도코사헥사엔산으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 화학식 (II)의 LC의 하나 이상의 지질은 콜레스테롤, 7-OH 콜레스테롤, 7,25-디하이드록시콜레스테롤, 콜산, 케노테옥시콜산, 리토콜산, 테옥시콜산, 글리코콜산, 글리코테옥시콜산, 글리코리토콜산 및 글리코케노테옥시콜산으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 화학식 (II)의 LC의 하나 이상의 지질은 콜산, 케노테옥시콜산, 리토콜산, 테옥시콜산, 글리코콜산, 글리코테옥시콜산, 글리코리토콜산 및 글리코케노테옥시콜산으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 화학식 (II)의 LC의 하나 이상의 지질은 α -토코페롤, β -토코페롤, γ -토코페롤, δ -토코페롤, α -토코트리에놀, β -토코트리에놀, γ -토코트리에놀 및 δ -토코트리에놀로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 화학식 (II)의 LC의 하나 이상의 지질은 옥타데칸디오산, 테트라데실아민, 미리스트산, 도코사헥사엔산, 리토콜산 에스테르, 콜산 및 팔미트산으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.

[0229] TA의 아미노산 잔기와 A³-P¹-L을 반응시키는 단계를 포함하는, 화학식 (II)의 LC를 제조하는 방법으로서, A³이 A¹을 형성하기 위한 반응성 전구체인 방법이 본원에 개시되어 있다. 일부 실시양태에서, A³은 할로아세트아미드, 말레이미드, 벤질 할라이드 또는 피리딜 디설파이드이다. 추가 실시양태에서, A³은 할로아세트아미드이다. 추가 실시양태에서, A³은 브로모아세트아미드이다.

[0230] 지질 접합체(LC)는 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질; 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함할 수 있고, 이때 하나 이상의 지질은 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 치료제에 접합된다.

[0231] 지질 접합체(LC)는 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질; 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함할 수 있고, 이때 하나 이상의 지질은 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 치료제에 접합된다.

[0232] 지질 접합체(LC)는 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 하나 이상의 지질; (b) 치료제(TA); 및 (c) 하나 이상의 지질 각각을 TA에 연결하는 링커로서, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하는 링커를 포함할 수 있고; 이때 TA는 펩티드이고 각각의 링커는 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 TA에 접합된다. 아미노산 잔기는 시스테인, 라이신 또는 세린일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신으로부터 선택될 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 아미노산 잔기는 라이신일 수 있다. 아미노산은 아미노산 돌연변이일 수 있다. 아미노산은 아미노산 추가 또는 아미노산 치환일 수 있다. 아미노산은 펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 위치할 수 있다. 아미노산은 펩티드의 비-말단 위치에 위치할 수 있다. 링커는 하나 이상의 폴리에틸렌글리콜 서브유닛을 추가로 포함할 수 있다. 지질은 폐길화될 수 있다. 링커는 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 링커는 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸 고리일 수 있다.

[0233] 지질 접합체(LC)는 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질; (b) 하나 이상의 치료제(TA); 및 (c) 하나 이상의 지질 각각을 TA에 연결하는 링커로서, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하는 링커를 포함할 수 있고; 이때 하나 이상의 TA는 릴렉신 펩티드 또는 이의 유도체를 포함한다. 지질 접합체(LC)는 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 하나 이상의 지질; (b) 치료제(TA); 및 (c) 하나 이상의 지질 각각을 TA에 연결하는 링커로서, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하는 링커를 포함할 수 있고; 이때 TA는 릴렉신 펩티드 또는 이의 유도체를 포함한다. 아미노산은 펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 위치할 수 있다. 아미노산은 펩티드의 비-말단 위치에 위치할 수 있다. 링커는 하나 이상의 폴리에틸렌글리콜 서브유닛을 추가로 포함할 수 있다. 지질은 폐길화될 수 있다. 링커는 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 링커는 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸 고리일 수 있다.

[0234] 지질 접합체(LC)는 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질; (b) 하나 이상의 치료제(TA); 및 (c) 하나 이상의 지질 각각을 TA에 연결하는 링커로서, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하는 링커를 포함할 수 있고; 이때 하나 이상의 TA는 릴렉신 펩티드 또는 이의 유도체를 포함하고, 각각의 링커는 아미노산 잔기를 통해 하나 이상의 TA에 부착된다. 지질 접합체(LC)는 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 하나 이상의 지질; (b) 치료제(TA); 및 (c) 하나 이상의 지질 각각을 TA에 연결하는 링커로서, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하는 링커를 포함할 수 있고; 이때 TA는 릴렉신 펩티드 또는 이의 유도체를 포함하고, 각각의 링커는 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 TA에 부착된다. 아미노산 잔기는 시스테인, 라이신 또는 세린일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 라이신으로부터 선택될 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 아미노산 잔기는 라이신일 수 있다. 아미노산은 아미노산 돌연변이일 수 있다. 아미노산은 아미노산 추가 또는 아미노산 치환일 수 있다. 아미노산은 펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 위치할 수 있다. 아미노산은 펩티드의 비-말단 위치에 위치할 수 있다. 링커는 하나 이상의 폴리에틸렌글리콜 서브유닛을 추가로 포함할 수 있다. 지질은 폐길화될 수 있다. 링커는 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 링커는 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸 고리일 수 있다.

[0235] 지질 접합체(LC)는 하나 이상의 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질; 및 하나 이상의 지질 각각을 TA에 연결하는 링커로서, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하는 링커를 포함할 수 있고, 이때 하나 이상의 TA는 변형된 릴렉신 펩티드를 포함하고, 변형된 릴렉신 펩티드는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 가진 야생형 릴렉신 폴리펩티드를 포함한다. 지질 접합체(LC)는 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함할 수 있고, 이때 TA는 변형된 릴렉신 펩티드를 포함하고, 변형된 릴렉신 펩티드는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 가진 야생형

릴렉신 폴리펩티드를 포함한다.

[0236] 본원에 개시된 LC는 변형된 릴렉신 펩티드를 포함하는 TA를 포함할 수 있다. 본원에 개시된 LC는 하나 이상의 지질을 포함할 수 있고, 이때 하나 이상의 지질은 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방산 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 하나 이상의 지질과 변형된 릴렉신 펩티드의 부착은 공유부착을 포함할 수 있다. 하나 이상의 지질은 시스테인 잔기를 통해 변형된 릴렉신 펩티드에 부착될 수 있다. 시스테인 잔기는 아미노산 돌연변이일 수 있다. 시스테인 잔기는 아미노산 추가 또는 아미노산 치환일 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상의 아미노산 추가 또는 치환일 수 있다. 아미노산은 펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 위치할 수 있다. 아미노산은 펩티드의 비-말단 위치에 위치할 수 있다. 링커는 하나 이상의 폴리에틸렌글리콜 서브유닛을 추가로 포함할 수 있다. 지질은 폐길화될 수 있다. 링커는 헤테로사이클릴기를 포함할 수 있다. 링커는 헤테로아릴기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴기는 트리아졸 고리일 수 있다.

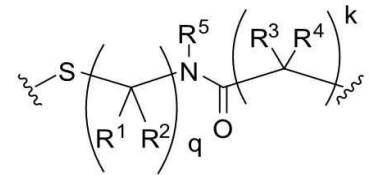
[0237] 본원에 개시된 LC는 하기 구조를 가질 수 있다:

[0238] 화학식 (III)

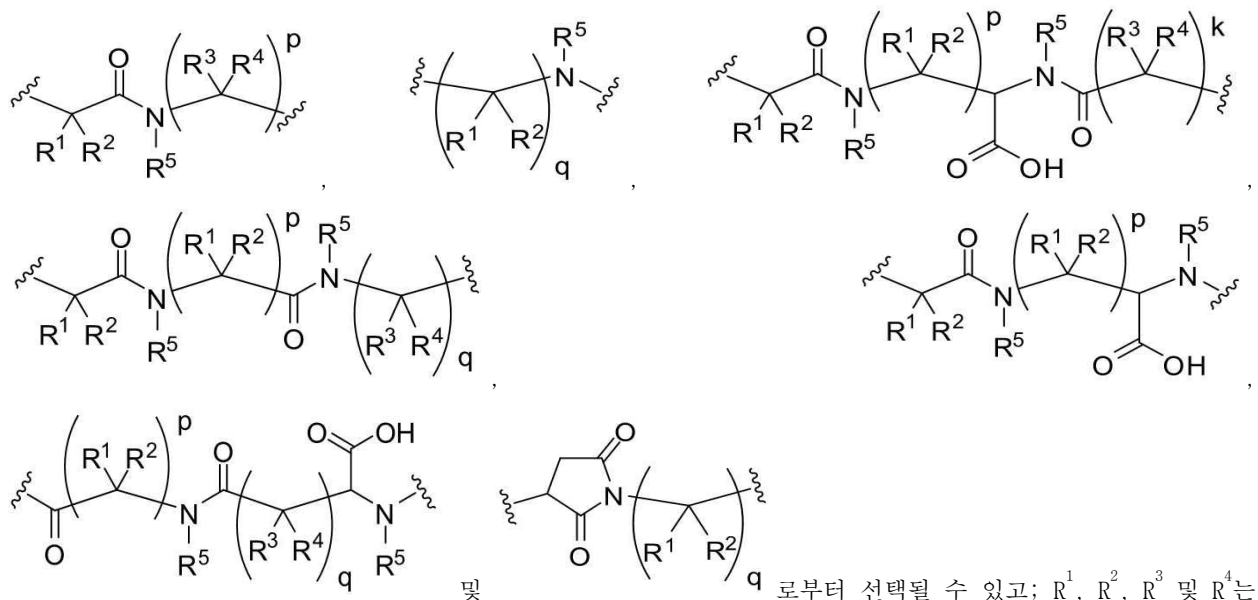
[0239] $TA-A^1-P^1-L$

[0240] 상기 식에서,

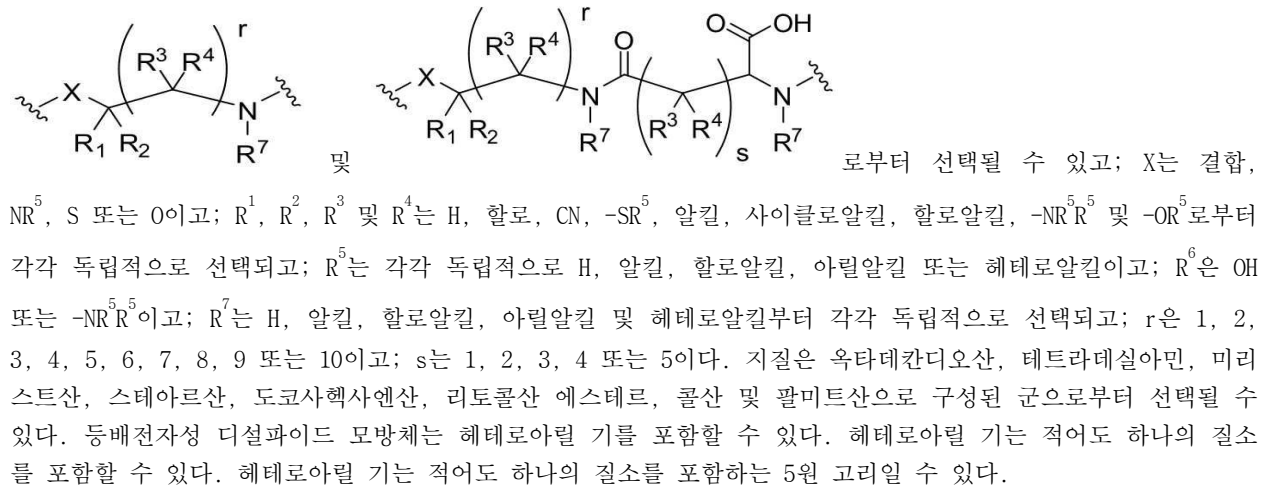
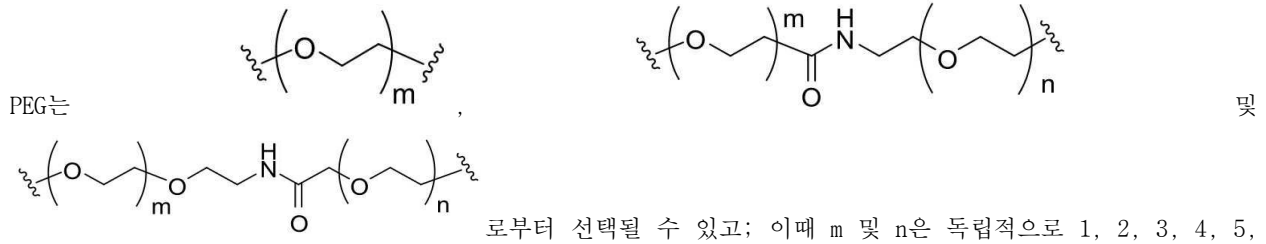
[0241] TA는 적어도 하나의 등배전자성 디설파이드 모방체를 포함하는 치료제이고; A^1 은 TA와 P^1 또는 L을 연결하는 화학적 기이고; P^1 은 결합이거나 폴리글리콜을 포함하고; L은 지질이다. P^1 은 결합일 수 있다. TA의 아미노산 잔기



의 황 또는 질소 원자는 화학적 결합을 통해 A^1 에 연결될 수 있다. A^1 은



H, 할로, CN, $-SR^5$, 알킬, 사이클로알킬, 할로알킬, $-NR^5R^5$, $-NC(O)R^5$, $-NC(O)OR^5$ 및 $-OR^5$ 로부터 각각 독립적으로 선택되고; R^5 는 각각 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, (사이클로알킬)알킬 또는 헤테로알킬이고; k는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고; p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고; q는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이다. P^1 은 폴리글리콜을 포함할 수 있다. P^1 은 $-PEG-A^2-$ 일 수 있고; PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌글리콜 서브유닛을 포함하는 화학적 기일 수 있고; A^2 는 PEG와 L을 연결하는 결합 또는 화학적 기일 수 있다.



[0242] 링커

[0243] 본원에 개시된 LC는 하나 이상의 링커를 추가로 포함할 수 있다. 본원에 개시된 LC는 2개 이상의 링커를 추가로 포함할 수 있다. 본원에 개시된 LC는 3개 이상의 링커를 추가로 포함할 수 있다. 본원에 개시된 LC는 4개 이상의 링커를 추가로 포함할 수 있다. 본원에 개시된 LC는 5개 이상의 링커를 추가로 포함할 수 있다.

[0244] 하나 이상의 링커는 지질이 치료제에 부착되게 할 수 있다. 링커는 지질이 또 다른 지질에 부착되게 할 수 있다. 링커는 지질이 하나 이상의 폴리에틸렌글리콜 서브유닛을 포함하는 화학적 기에 부착되게 할 수 있다. 링커는 PEG가 또 다른 PEG에 부착되게 할 수 있다. 링커는 PEG가 치료제에 부착되게 할 수 있다. 링커는 치료제가 또 다른 치료제에 부착되게 할 수 있다. 링커는 아미노산일 수 있다. 링커는 치료제의 아미노산일 수 있다. 링커는 치료제의 아미노산 돌연변이일 수 있다. 링커는 치료제의 치환된 아미노산일 수 있다. 링커는 치료제의 아미노산 추가일 수 있다. 링커는 펩티드의 C-말단에 위치한 아미노산 돌연변이일 수 있다. 링커는 펩티드의 N-말단에 위치한 아미노산 돌연변이일 수 있다. 링커는 펩티드의 비-말단 위치에 위치한 아미노산 돌연변이일 수 있다. 링커는 라이신일 수 있다. 링커는 시스테인일 수 있다. 링커는 L-시스테인일 수 있다. 링커는 에테르 또는 아마이드일 수 있다. 링커는 PEG 분자를 지질에 연결할 수 있다.

[0245] 링커는 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 링커는 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. 링커는 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함하는 5원 고리일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸 고리일 수 있다.

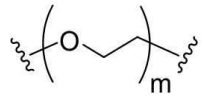
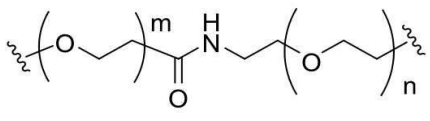
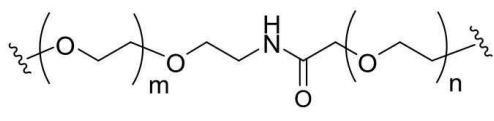
[0246] 지질 유도체

[0247] 본원에 개시된 LC는 하나 이상의 지질 유도체를 포함할 수 있다. 지질 유도체는 TA에 부착될 수 있다. TA에의 지질 유도체의 부착은 TA의 약동학적 성질을 향상시킬 수 있다. 지질 유도체는 폴리글리콜을 포함할 수 있다. 지질 유도체는 폐길화될 수 있다. 폐길화된 지질은 적어도 하나의 폴리에틸렌글리콜 서브유닛을 포함할 수 있다. 지질 유도체는 폐길화될 수 없다. 지질은 소수성 또는 양친매성 소분자로서 넓게 정의될 수 있다. 지질은 천연 생성 또는 합성 지질일 수 있다. 지질은 에이코사노이드, 프로스타글란딘, 류코트리엔, 트롬복산, 왁스 에

스테르, 보조효소 A 유도체, 지방산 카르니틴, 지방산 아마이드, 에탄올아민, 담즙산, 비타민 E, 비타민 A, 비타민 D, 비타민 K, 지용성 비타민 유도체, 모노글리세라이드, 디글리세라이드, 트리글리세라이드, 인지질, 포스파티딜콜린, 글리세로지질, 글리세롤, 글리세로인지질, 스펅고지질, 사카로지질, 폴리케타이드, 스테롤, 스테롤 유도체, 스테롤 지질, 스테로이드 호르몬, 프레놀 지질, 카로테노이드, 지방산 및 지방 알코올일 수 있다.

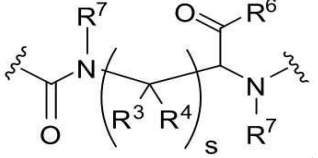
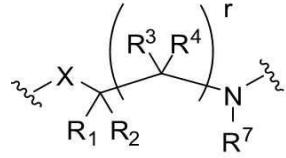
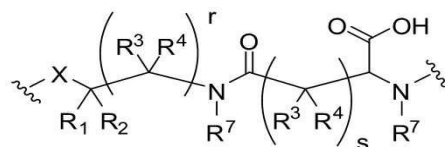
[0248] 한 양태에서, A^3-P^1-L 의 구조를 가진 지질 유도체가 본원에 개시되어 있고; 이때 A^3 은 할로아세트아미드, 말레이미드, 벤질 할라이드 또는 피리딜 디설파이드이고; P^1 은 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하고; L은 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 지질이다.

[0249] 일부 실시양태에서, P^1 은 $-PEG-A^2-$ 이고, 이때 PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌글리콜 서브유닛을 포함하는 화학적

기이고, A^2 는 PEG와 L을 연결하는 화학적 기이다. 본원에 기재된 일부 실시양태에서, PEG는 ,  및 로부터 선택되고; 이때 m 및 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다.

[0250] A^2 는 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. A^2 는 헤테로사이클릴 기를 포함할 수 있다. A^2 는 헤테로아릴 기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다.

[0251] 본원에 기재된 일부 실시양태에서,

[0252] A^2 는  ,  및 로부터 선택되고;

[0253] X는 결합, NR^5 , S 또는 O이고;

[0254] R^1 , R^2 , R^3 및 R^4 는 H, 할로, CN, $-SR^5$, 알킬, 사이클로알킬, 할로알킬, $-NR^5R^5$ 및 $-OR^5$ 로부터 각각 독립적으로 선택되고;

[0255] R^5 는 각각 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬 또는 헤테로알킬이고;

[0256] R^6 은 OH 또는 $-NR^5R^5$ 이고;

[0257] R^7 은 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬 및 헤테로알킬로부터 각각 독립적으로 선택되고;

[0258] r은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

[0259] s는 1, 2, 3, 4 또는 5이다.

[0260] 지질

[0261] 본원에 개시된 LC는 하나 이상의 지질을 포함할 수 있다. 하나 이상의 지질은 지방산일 수 있다. 지방산(FA)은

하나 이상의 치료제(TA)에 부착될 수 있다. TA에의 지방산의 부착은 TA의 약동학적 성질을 향상시킬 수 있다. 지방산은 지방 이산, 지방 아마이드, 지방 아민 또는 지방 알코올일 수 있다. 지방산은 포화될 수 있거나 불포화될 수 있다. 포화된 지방산은 라우르산, 미리스트산, 팔미트산, 스테아르산 및 아라키드산을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다. 불화된 지방산은 팔미톨레산, 올레산, 리놀레산, 리놀렌산, 에루스산 및 아라키돈산을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다. 지방산은 단쇄 지방산, 중쇄 지방산, 장쇄 지방산 또는 극장쇄 지방산일 수 있다. 지방산은 단일불포화될 수 있거나 다중불포화될 수 있다. 지방산은 오메가 지방산, 필수 지방산, 부분적으로 수소첨가된 지방산, 시스-이성질체 지방산 또는 트랜스-이성질체 지방산일 수 있다. 지방산은 오메가-3 지방산, 오메가-6 지방산 또는 오메가-9 지방산일 수 있다. 지방산은 디카복실산일 수 있다.

[0262] 지방산은 약 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 23개, 24개, 25개 또는 26개 이상의 탄소 원자의 채를 포함할 수 있다. 지방산은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개 이상의 이중 결합을 추가로 포함하는 탄소 채를 포함할 수 있다. 지방산은 천연 생성 지방산일 수 있다. 지방산은 천연 생성 지방산이 아닐 수 있다. 지방산은 합성될 수 있다.

[0263] 본원에 개시된 LC는 하나 이상의 지방산을 추가로 포함할 수 있다. 본원에 개시된 LC는 2개 이상의 지방산을 추가로 포함할 수 있다. 본원에 개시된 LC는 3개 이상의 지방산을 추가로 포함할 수 있다. 본원에 개시된 LC는 4개 이상의 지방산을 추가로 포함할 수 있다. 본원에 개시된 LC는 5개 이상의 지방산을 추가로 포함할 수 있다. 지방산은 상이할 수 있다. 지방산은 동일할 수 있다.

[0264] 임의의 LC의 하나 이상의 지질은 미리스트산, 도코사헥산산, 리토콜산 에스테르, 콜산 및 팔미트산으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 임의의 LC의 하나 이상의 지질은 미리스트산일 수 있다. 임의의 LC의 하나 이상의 지질은 도코사헥산산일 수 있다. 임의의 LC의 하나 이상의 지질은 리토콜산 에스테르일 수 있다. 임의의 LC의 하나 이상의 지질은 콜산일 수 있다. 임의의 LC의 하나 이상의 지질은 팔미트산일 수 있다.

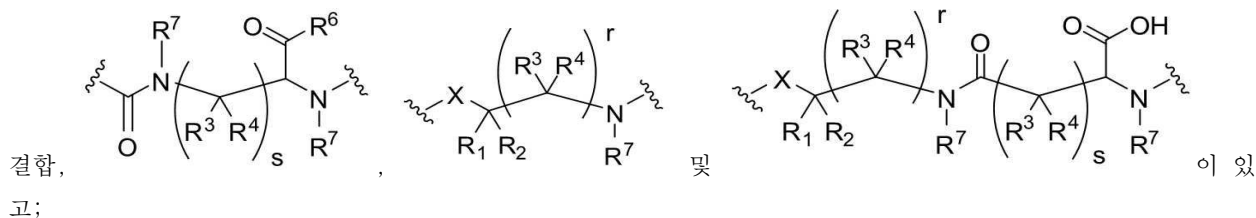
[0265] LC는 하나 이상의 스테롤 또는 스테롤 유도체를 포함할 수 있다. 스테롤 또는 스테롤 유도체는 콜레스테롤, 7-OH 콜레스테롤, 7,25-디하이드록시콜레스테롤, 콜산, 케노데옥시콜산, 리토콜산, 데옥시콜산, 글리코콜산, 글리코데옥시콜산, 글리코리토콜산 및 글리코케노데옥시콜산으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.

[0266] LC는 하나 이상의 담즙산을 포함할 수 있다. 담즙산은 콜산, 케노데옥시콜산, 리토콜산, 데옥시콜산, 글리코콜산, 글리코데옥시콜산, 글리코리토콜산 및 글리코케노데옥시콜산으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.

[0267] LC는 하나 이상의 비타민 E 유도체를 포함할 수 있다. 비타민 E 유도체는 α -토코페롤, β -토코페롤, γ -토코페롤, δ -토코페롤, α -토코트리엔올, β -토코트리엔올, γ -토코트리엔올 및 δ -토코트리엔올로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.

[0268] 폐길화된 지질

[0269] 본원에 개시된 LC는 하나 이상의 폐길화된 지질을 포함할 수 있다. 폐길화된 지질은 적어도 하나의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함할 수 있다. 지질과 하나 이상의 폴리에틸렌글리콜 서브유닛 사이의 연결은 직접적인 결합 또는 링커(A^2)일 수 있다. 지질과 하나 이상의 폴리에틸렌글리콜 서브유닛 사이의 링커의 비한정적인 예로는



[0270] 이때, X는 결합, NR^5 , S 또는 O이고;

[0271] R^1 , R^2 , R^3 및 R^4 는 H, 할로, CN, $-SR^5$, 알킬, 사이클로알킬, 할로알킬, $-NR^5R^5$ 및 $-OR^5$ 로부터 각각 독립적으로 선택되고;

[0272] R^5 는 각각 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬 또는 헤테로알킬이고;

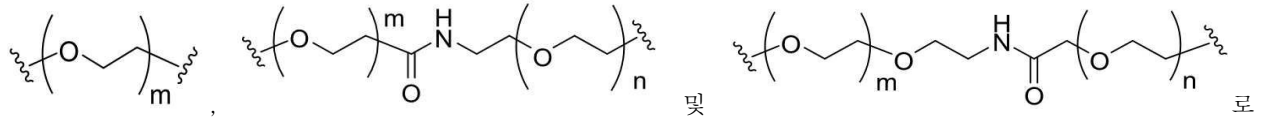
[0273] R^6 은 OH 또는 $-NR^5R^5$ 이고;

[0274] R^7 은 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬 및 헤테로알킬로부터 각각 독립적으로 선택되고;

[0275] r은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

[0276] s는 1, 2, 3, 4 또는 5이다.

[0277] 폐결화된 지질은 구조 P^1-L 을 가질 수 있고, 이때 P^1 은 $-PEG-A^2-$ 이고; PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌글리콜 서브 유닛을 포함하는 화학적 기이고; A^2 는 PEG와 L을 연결하는 화학적 기이고; L은 지질이다. PEG는



부터 선택되고; 이때 m 및 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20이다. A^2 는 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기일 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다.

[0278] 폐결화된 지질은 링커를 통해 치료제에 연결될 수 있다. 링커는 하나 이상의 아미드 모이어티를 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미드 모이어티는 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기로 대체될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 적어도 하나의 질소를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 티아졸, 옥사졸 및 이속사졸로부터 선택될 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기는 트리아졸일 수 있다.

[0279] 치료제(TA)

[0280] 본원에 개시된 변형된 치료제는 하나 이상의 치료제를 포함할 수 있다. 변형된 치료제는 2개 이상의 치료제를 포함할 수 있다. 변형된 치료제는 3개, 4개, 5개, 6개 또는 7개 이상의 치료제를 포함할 수 있다. 치료제는 상이할 수 있다. 치료제는 동일할 수 있다. 본원에서 사용될 때, 용어 "치료제"는 표적 단백질, 표적 펩티드, 표적 세포 또는 표적 조직의 활성을 조절하는 후보 단백질 또는 펩티드를 지칭한다. 활성의 조절은 표적 단백질, 펩티드, 세포 또는 조직의 활성 또는 발현의 증가, 감소, 자극 또는 방지를 포함할 수 있다. 표적 단백질 또는 펩티드는 발현 또는 활성에 의해 질환 또는 장애의 병인에 관여하는 단백질을 포함한다. TA는 단백질, 생체분자, 화합물, 독소, 약물 또는 이들의 임의의 조합의 적어도 부분을 포함할 수 있다. 예시적인 TA는 호르몬, 키나제, 수용체, 리간드, 성장 인자, 조절 단백질, 대사 단백질, 사이토카인, 케모카인, 인터페론, 포스파타제, 항체, 펩티드 독소 또는 이들의 임의의 조합의 적어도 부분을 포함할 수 있으나, 이들로 한정되지 않는다. TA는 야생형 펩티드, 또는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 포함하는 변형된 펩티드일 수 있다. 하나 이상의 아미노산 추가 또는 치환은 펩티드의 C-말단에 위치할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 추가 또는 치환은 펩티드의 N-말단에 위치할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 추가 또는 치환은 펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 위치할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 추가 또는 치환은 펩티드의 N-말단 및 C-말단 둘다에 위치할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 추가 또는 치환은 펩티드의 비-말단 위치에 위치할 수 있다.

[0281] TA는 호르몬일 수 있다. 호르몬의 예로는 펩티드 호르몬, 지질 및 인지질 유래의 호르몬, 및 모노아민이 있으나, 이들로 한정되지 않는다. 펩티드 호르몬은 일반적으로 아미노산의쇄로 구성된다. 작은 펩티드 호르몬의 예로는 티로트로핀 방출 호르몬(TRH) 및 바소프레신이 있으나, 이들로 한정되지 않는다. 수십 또는 수백 개의 아미노산들로 구성된 펩티드는 단백질로서 지칭될 수 있다. 단백질 호르몬의 예로는 인슐린 및 성장 호르몬이 있다. 보다 더 복잡한 단백질 호르몬은 탄수화물 측쇄를 가질 수 있고, 당단백질 호르몬으로서 지칭될 수 있다. 황체형성 호르몬, 여포 자극 호르몬 및 갑상선 자극 호르몬은 당단백질 호르몬의 예이다. 지질 및 인지질 유래의 호르몬은 일반적으로 지질, 예컨대, 리놀레산 및 아라키돈산 및 인지질로부터 유래한다. 단백질 호르몬은 콜레스테롤 및 에이코사노이드로부터 유래한 스테로이드 호르몬을 포함할 수 있다. 스테로이드 호르몬의 예는 테스토스테론 및 코르티솔이다. 에이코사노이드는 프로스타글란딘을 포함할 수 있다. 모노아민은 방향족 아미노산 데카복실라제 효소의 작용에 의해 방향족 아미노산, 예컨대, 페닐알라닌, 티로신, 트립토판으로부터 유도될 수 있다. TA는 옥신토모돌린일 수 있다. TA는 엑센딘-4일 수 있다. TA는 엑세나타이드일 수 있다. TA는 글루카곤 유사 펩티드(GLP-1)일 수 있다. TA는 글루카곤일 수 있다. TA는 렙틴일 수 있다. TA는 베타트로핀일 수 있다.

- [0282] TA는 펩티드 또는 이의 유도체일 수 있다. 펩티드는 변형된 펩티드를 포함할 수 있다. 변형된 펩티드는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함하는 야생형 펩티드의 적어도 부분을 포함할 수 있다. 펩티드는 펩티드의 A 쇠 및/또는 B 쇠의 적어도 부분을 포함할 수 있다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 결실, 치환, 추가 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 야생형 펩티드폴리펩티드에의 하나 이상의 아미노산 잔기의 추가를 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 야생형 펩티드폴리펩티드의 하나 이상의 아미노산 잔기의 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 야생형 펩티드폴리펩티드의 A 쇠 및/또는 B 쇠에서 하나 이상의 아미노산 잔기의 하나 이상의 아미노산 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 야생형 펩티드의 A 쇠에서 하나 이상의 아미노산 잔기의 하나 이상의 아미노산 치환을 포함할 수 있다. A 쇠에서의 하나 이상의 아미노산 잔기의 하나 이상의 아미노산 치환은 Y3C, A7C, T16C, R18C, S19C, 또는 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 야생형 펩티드의 B 쇠에서 하나 이상의 아미노산 잔기의 하나 이상의 아미노산 치환을 포함할 수 있다. B 쇠에서의 하나 이상의 아미노산 잔기의 하나 이상의 아미노산 치환은 D1A, S2C, M4C, S26C 및 S29C, 또는 이들의 임의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 야생형 펩티드의 A 쇠에서 Y3C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 야생형 펩티드의 A 쇠에서 A7C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 야생형 펩티드의 A 쇠에서 T16C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 야생형 펩티드의 A 쇠에서 R18C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 야생형 펩티드의 A 쇠에서 S19C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 야생형 펩티드의 B 쇠에서 S2C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 야생형 펩티드의 B 쇠에서 D1A 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 야생형 펩티드의 B 쇠에서 M4C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 야생형 펩티드의 B 쇠에서 S26C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 야생형 펩티드의 B 쇠에서 S29C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 야생형 펩티드의 하나 이상의 아미노산 잔기를 시스테인 잔기로 치환시키는 것을 포함할 수 있다. 야생형 펩티드의 하나 이상의 아미노산 잔기는 알라닌, 메티오닌, 아르기닌, 세린, 트레오닌 및 티로신으로 구성된 군으로부터 선택된다. 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 하나 이상의 아미노산 잔기를 야생형 펩티드에 추가하는 것을 포함할 수 있다.
- [0283] TA는 성장 인자일 수 있다. 성장 인자는 사이토카인 및 호르몬을 포함할 수 있으나, 이들로 한정되지 않는다. 성장 인자의 예로는 아드레노메둘린(AM), 안지오프이오텐(Ang), 자가분비 이동성 인자, 골 형태형성 단백질(BMP), 뇌 유래의 신경영양성 인자(BDNF), 표피 성장 인자(EGF), 에리쓰로포이오텐(EPO), 섬유모세포 성장 인자(FGF), 신경아교세포주 유래의 신경영양성 인자(GDNF), 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF), 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF), 성장 분화 인자-9(GDF9), 간세포 성장 인자(HGF), 간세포종 유래의 성장 인자(HDGF), 인슐린 유사 성장 인자(IGF), 이동 자극 인자, 미요스타틴(GDF-8), 신경 성장 인자(NGF) 및 다른 뉴로트로핀, 혈소판 유래의 성장 인자(PDGF), 트롬보포이오텐(TPO), 형질전환 성장 인자 알파(TGF- α), 형질전환 성장 인자 베타(TGF- β), 종양 괴사 인자 알파(TNF- α) 및 혈관 내피 성장 인자(VEGF)가 있으나, 이들로 한정되지 않는다. TA는 섬유모세포 성장 인자 21(FGF21)일 수 있다.
- [0284] TA는 세포 조절 단백질일 수 있다. TA는 형질전환 성장 인자 베타 수퍼패밀리의 세포 조절 단백질일 수 있다. TA는 데카펜타플레직(decapentaplegic)-Vg 관련(DVR) 관련 서브패밀리의 구성원일 수 있다. TA는 액티빈(activin)/인히빈(inhibin) 서브패밀리의 구성원일 수 있다. TA는 TGF-베타 서브패밀리의 구성원일 수 있다. TA는 성장 분화 인자(GDF)일 수 있다. GDF는 GDF1, GDF2, GDF3, GDF5, GDF6, GDF8, GDF9, GDF10, GDF11 및 GDF15일 수 있다. TA는 성장 분화 인자 11 (GDF11)일 수 있다.
- [0285] TA는 펩티드 독소일 수 있다. 예로는 독소-550, Moka 및 VM-24가 있으나, 이들로 한정되지 않는다.
- [0286] TA는 단백질일 수 있다. 단백질은 분비된 인자의 안지오프이오텐 유사 패밀리의 구성원일 수 있다. 단백질은 안지오프이오텐 유사 단백질(ANGPTL)일 수 있다. ANGPTL의 예로는 ANGPTL1, ANGPTL2, ANGPTL3, ANGPTL4, ANGPTL5, ANGPTL6 및 ANGPTL7이 있으나, 이들로 한정되지 않는다. TA는 ANGPTL3일 수 있다.
- [0287] TA는 펩티드, H1 펩티드, H2 펩티드, H3 펩티드, 인간 INSL3, 인간 INSL4, 인간 INSL6, 인간 IGF1, 인간 IGFII, 인간 인슐린, 옥신토모둘린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 아고니스트, GLP-1R 및 GCGR 이중 아고니스트, 랩틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF

11, ANGPTL3, 펩티드 기초의 독소, Moka 및 VM-24, 및 이들의 유도체로부터 선택된 펩티드를 포함할 수 있고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이다. TA는 릴렉신, 옥신토모돌린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 아고니스트, GLP-1R 및 GCGR 이중 아고니스트, 랩틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 펩티드 기초의 독소, Moka 또는 VM-24, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이다. TA는 옥신토모돌린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 아고니스트, 또는 GLP-1R 및 GCGR 이중 아고니스트, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이다. TA는 H1 릴렉신, H2 릴렉신, H3 릴렉신, 인간 INSL3, 인간 INSL4, 인간 INSL6, 인간 IGF1, 인간 IGFII 또는 인간 인슐린, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이다. TA는 H1 릴렉신, H2 릴렉신 또는 H3 릴렉신, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이다. TA는 인간 INSL3, 인간 INSL4, 인간 INSL6, 인간 IGF1 또는 인간 IGFII, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이다. TA는 펩티딜 독소 또는 이의 유도체를 포함할 수 있고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이다. TA는 독소-550, Moka 또는 VM-24, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이다. TA는 인간 인슐린 또는 이의 유도체를 포함할 수 있고, 이때 상기 유도체는 하나 이상의 아미노산 추가, 결실 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드이다.

[0288] TA는 서열번호 1 내지 9를 포함하는 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열에 기초한 또는 이러한 뉴클레오타이드 서열로부터 유래한 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩될 수 있다. TA는 서열번호 1 내지 9를 포함하는 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열과 적어도 50% 상동인 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩될 수 있다. TA는 서열번호 1 내지 9를 포함하는 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열과 적어도 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 99% 또는 100% 상동인 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩될 수 있다. TA는 서열번호 1 내지 9를 포함하는 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열과 적어도 70% 상동인 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩될 수 있다. TA는 서열번호 1 내지 9를 포함하는 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열과 적어도 75% 상동인 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩될 수 있다. TA는 서열번호 1 내지 9를 포함하는 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열과 적어도 80% 상동인 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩될 수 있다. TA는 서열번호 1 내지 9를 포함하는 군으로부터 선택된 하나 이상의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 1 내지 9를 포함하는 군으로부터 선택된 2개 이상의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 1 내지 9를 포함하는 군으로부터 선택된 3개 이상의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 1 내지 9를 포함하는 군으로부터 선택된 4개 이상의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 1 내지 9를 포함하는 군으로부터 선택된 5개, 6개, 7개, 8개 또는 9개의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다.

[0289] TA는 서열번호 10 내지 61을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 10 내지 61을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 10 내지 61을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 99% 또는 100% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 10 내지 61을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 70% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 10 내지 61을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 75% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 10 내지 61을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 80% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 10 내지 61을 포함하는 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 10 내지 61을 포함하는 군으로부터 선택된 2개 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 10 내지 61을 포함하는 군으로부터 선택된 3개 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 10 내지 61을 포함하는 군으로부터 선택된 4개 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 10 내지 61을 포함하는 군으로부터 선택된 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개 또는 15개 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0290] TA는 서열번호 10 내지 61을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열로부터의 20개 이상의 연속 아미노산을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 10 내지 61을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열로부터의 30개, 40개,

50개, 60개, 70개, 80개, 90개, 100개, 110개, 120개 또는 130개 이상의 연속 아미노산을 포함할 수 있다.

[0291] TA는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 54, 56, 55, 58, 및 59 내지 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 54, 56, 55, 58, 및 59 내지 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 54, 56, 55, 58, 및 59 내지 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 99% 또는 100% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 54, 56, 55, 58, 및 59 내지 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 70% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 54, 56, 55, 58, 및 59 내지 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 75% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 54, 56, 55, 58, 및 59 내지 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 80% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 54, 56, 55, 58, 및 59 내지 61로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 54, 56, 55, 58, 및 59 내지 61로 구성된 군으로부터 선택된 2개 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 54, 56, 55, 58, 및 59 내지 61로 구성된 군으로부터 선택된 2개 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 54, 56, 55, 58, 및 59 내지 61로 구성된 군으로부터 선택된 3개 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 54, 56, 55, 58, 및 59 내지 61로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열로부터의 20개 이상의 연속 아미노산을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 16, 40, 48 내지 52, 54, 56, 55, 58, 및 59 내지 61을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열로부터의 19개, 18개, 17개, 16개, 15개, 14개, 13개, 12개, 11개, 10개, 9개, 8개, 7개, 6개 또는 5개 이상의 연속 아미노산을 포함할 수 있다.

[0292] TA는 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 54의 아미노산 서열 및 서열번호 48의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 55의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 55의 아미노산 서열 및 서열번호 48의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 59의 아미노산 서열 및 서열번호 48의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0293] TA는 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 61의 아미노산 서열 및 서열번호 10 내지 60으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 61의 아미노산 서열 및 서열번호 10 내지 60으로 구성된 군으로부터 선택된 1개의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 61의 아미노산 서열 및 서열번호 45의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 61의 아미노산 서열 및 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 61의 아미노산 서열 및 서열번호 55의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열번호 61의 아미노산 서열 및 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0294] TA는 포유동물 또는 비-포유동물로부터 유래할 수 있다. TA는 인간으로부터 유래할 수 있다. 대안적으로, TA는 염소, 양, 소, 토끼, 원숭이, 개, 고양이 또는 이들의 조합으로부터 유래할 수 있다. TA는 파충류로부터 유래할 수 있다. TA는 뱀 또는 도마뱀으로부터 유래할 수 있다. TA는 양서류로부터 유래할 수 있다. TA는 개구리 또는 두꺼비로부터 유래할 수 있다. TA는 조류로부터 유래할 수 있다. TA는 제조합 TA일 수 있다.

[0295] 본원에 개시된 TA는 하나 이상의 링커를 추가로 포함할 수 있다. 본원에 개시된 TA는 2개 이상의 링커를 추가로 포함할 수 있다. 본원에 개시된 TA는 3개 이상의 링커를 추가로 포함할 수 있다. 본원에 개시된 TA는 4개 이상의 링커를 추가로 포함할 수 있다. 본원에 개시된 TA는 5개 이상의 링커를 추가로 포함할 수 있다.

[0296] **디설파이드 모방체를 가진 치료제(TA)**

[0297] TA는 하나 이상의 등배전자성 디설파이드 모방체를 추가로 포함할 수 있다. 등배전자성 디설파이드 모방체는 헥테로아릴 기를 포함할 수 있다.

[0298] **약동학**

[0299] 변형된 치료제가 약동학적 또는 약력학적 거동에 긍정적으로 영향을 미치는 기작은 (i) 치료제의 생체내 단백질 용해성 분해 또는 다른 활성 감소 화학적 변경의 방지 또는 감소; (ii) 신장 여과의 감소, 수용체-매개된 제거의 감소 또는 생체이용률의 증가에 의한 반감기 또는 다른 약동학적 성질의 개선; (iii) 독성의 감소; (iv) 가용성의 개선; 및/또는 (v) 치료제의 생물학적 활성 및/또는 표적 선택성의 증가를 포함하나, 이들로 한정되지 않는다.

- [0300] 반감기 연장 모이어티는 TA에 부착될 때 치료제(TA)의 하나 이상의 약동학적 성질을 향상시킬 수 있다.
- [0301] 본원에 개시된 변형된 치료제는 약력학에 의해 측정될 때 TA의 하나 이상의 약동학적 성질을 TA 단독에 비해 적어도 약 200%까지 향상시킬 수 있다. 본원에 개시된 변형된 치료제는 약력학에 의해 측정될 때 TA의 하나 이상의 약동학적 성질을 TA 단독에 비해 적어도 약 300%, 400%, 500%, 600%, 700%, 800%, 900% 또는 1000%까지 향상시킬 수 있다. 본원에 개시된 변형된 치료제는 약력학에 의해 측정될 때 TA의 하나 이상의 약동학적 성질을 TA 단독에 비해 적어도 약 250%까지 향상시킬 수 있다. 본원에 개시된 변형된 치료제는 약력학에 의해 측정될 때 TA의 하나 이상의 약동학적 성질을 TA 단독에 비해 적어도 약 300%까지 향상시킬 수 있다. 본원에 개시된 변형된 치료제는 약력학에 의해 측정될 때 TA의 하나 이상의 약동학적 성질을 TA 단독에 비해 적어도 약 350%까지 향상시킬 수 있다. 본원에 개시된 변형된 치료제는 약력학에 의해 측정될 때 TA의 하나 이상의 약동학적 성질을 TA 단독에 비해 적어도 약 400%까지 향상시킬 수 있다. 본원에 개시된 변형된 치료제는 약력학에 의해 측정될 때 TA의 하나 이상의 약동학적 성질을 TA 단독에 비해 적어도 약 500%까지 향상시킬 수 있다.
- [0302] 약동학적 성질은 반감기를 포함할 수 있다. 변형된 치료제의 반감기는 TA 단독의 반감기에 비해 적어도 약 2배 더 길 수 있다. 본원에 개시된 변형된 치료제의 반감기는 TA 단독의 반감기에 비해 적어도 약 3배, 4배 또는 5배 더 길 수 있다. 본원에 개시된 변형된 치료제의 반감기는 TA 단독의 반감기에 비해 적어도 약 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 25배, 30배, 35배, 40배, 45배 또는 50배 더 길 수 있다. 본원에 개시된 변형된 치료제의 반감기는 TA 단독의 반감기에 비해 적어도 약 5배 더 길 수 있다. 본원에 개시된 변형된 치료제의 반감기는 TA 단독의 반감기에 비해 적어도 약 10배 더 길 수 있다.
- [0303] 추가로, 변형된 치료제는 비접합된 형태의 치료제에 비해 치료제의 제조가능성을 증가시키고/시키거나 면역원성을 감소시킨다는 관점에서 긍정적인 효과를 가질 수 있다.
- [0304] 변형된 치료제는 TA 단독에 필적할만한 활성을 가질 수 있다. 변형된 치료제는 TA 단독과 유사한 활성을 가질 수 있다. 변형된 치료제는 TA 단독에 비해 증가된 활성을 가질 수 있다. 변형된 치료제는 TA 단독에 비해 감소된 활성을 가질 수 있다.
- [0305] 변형된 치료제를 형성하기 위한 TA에의 반감기 연장 모이어티의 부착은 변형된 치료제의 활성을 TA 단독에 비해 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배 또는 10배 이하 더 낮은 활성까지 감소시킬 수 있다. LC를 형성하기 위한 TA에의 하나 이상의 지질의 부착은 LC의 활성을 TA 단독에 비해 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배 또는 10배 이하 더 낮은 활성까지 감소시킬 수 있다. 변형된 치료제를 형성하기 위한 TA에의 폴리글리콜 영역의 부착은 변형된 치료제의 활성을 TA 단독에 비해 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배 또는 10배 이하 더 낮은 활성까지 감소시킬 수 있다.
- [0306] **치료적 용도**
- [0307] 하나 이상의 질환 및/또는 질병을 치료하고/하거나, 완화시키고/시키거나, 억제하고/하거나 예방하기 위한 변형된 치료제도 본원에 개시되어 있다. 질환 및/또는 질병은 만성 질환 또는 병태일 수 있다. 대안적으로, 질환 및/또는 질병은 급성 질환 또는 병태일 수 있다. 질환 또는 병태는 재발성, 불응성, 가속화된 또는 관해중인 질환 또는 병태일 수 있다. 질환 또는 병태는 하나 이상의 세포 유형에 영향을 미칠 수 있다. 하나 이상의 질환 및/또는 질병은 자가면역 질환, 염증성 질환, 심혈관 질환 및 임신일 수 있다. 본원에 개시된 변형된 치료제는 이를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다.
- [0308] 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 병태를 치료하는 방법으로서, 킬렉신 또는 이의 유도체인 치료제에 부착된 지질을 포함하는 LC를 포함하는 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 개시되어 있다.
- [0309] 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 병태를 치료하는 방법으로서, (i) 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 치료제(TA); 및 (ii) 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제를 포함하는 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 개시되어 있다.
- [0310] 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 병태를 치료하는 방법으로서, (i) 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 50% 상동인 아미노산 서열을 포함하는 치료제(TA); 및 (ii) 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제를 포함하는 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 개시되어 있다.

- [0311] 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 병태를 치료하는 방법으로서, (i) 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 치료제(TA)로서, 5개 이하의 아미노산이 추가되어 있거나, 결실되어 있거나, 치환되어 있거나 이의 조합으로 존재하는 것인 치료제(TA); 및 (ii) 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제를 포함하는 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 개시되어 있다.
- [0312] 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 병태를 치료하는 방법으로서, (i) 서열번호 54, 55, 59 및 60으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열의 부분을 포함하는 치료제(TA); 및 (ii) 반감기 연장 모이어티를 포함하는 변형된 치료제를 포함하는 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 개시되어 있다.
- [0313] 질환 또는 병태는 심혈관 질환일 수 있다. 심혈관 질환은 급성 심부전일 수 있다. 추가 심혈관 질환은 울혈성 심부전, 보상된 심부전 또는 비보상된 심부전을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다. 질환 또는 병태는 자가면역 장애일 수 있다. 자가면역 장애는 피부경화증, 미만성 피부경화증 또는 전신 피부경화증일 수 있다. 질환 또는 병태는 통증일 수 있다. 통증은 신경병증성 통증 또는 염증성 통증일 수 있다. 질환 또는 병태는 염증성 질환일 수 있다. 염증성 질환은 섬유근육통일 수 있다. 질환 또는 병태는 섬유증일 수 있다. 대안적으로, 질병은 임신일 수 있다. 변형된 치료제는 자간전증을 치료하거나 분만을 유도하는 데 사용될 수 있다. 변형된 치료제는 하나 이상의 추가 치료제와 함께 투여될 수 있다. 추가 치료제는 소염성 약물, 스타틴, 이노제, 베타-차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제 및 안지오텐신 II 수용체 차단제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 하나 이상의 추가 치료제는 소염성 약물, 통증을 치료하는 약물, 또는 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 추가 치료제는 아스피린일 수 있다.
- [0314] 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 병태를 치료하는 방법으로서, (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드 및 지방 알코올로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 지질; 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함하는 하나 이상의 지질 집합체(LC)를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법도 본원에 개시되어 있고, 이때 상기 하나 이상의 지질은 하나 이상의 치료제의 적어도 하나의 시스템인 잔기에 부착되어 있다. 하나 이상의 TA는 킬렉신을 포함할 수 있다. 질환 또는 병태는 심혈관 질환일 수 있다. 심혈관 질환은 급성 심부전일 수 있다. 추가 심혈관 질환은 울혈성 심부전, 보상된 심부전 또는 비보상된 심부전을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다. 질환 또는 병태는 자가면역 장애일 수 있다. 자가면역 장애는 피부경화증, 미만성 피부경화증 또는 전신 피부경화증일 수 있다. 질환 또는 병태는 염증성 질환일 수 있다. 염증성 질환은 섬유근육통일 수 있다. 질환 또는 병태는 섬유증일 수 있다. 대안적으로, 질병은 임신일 수 있다. LC는 자간전증을 치료하거나 분만을 유도하는 데 사용될 수 있다. LC는 하나 이상의 추가 치료제와 함께 투여될 수 있다. 추가 치료제는 소염성 약물, 스타틴, 이노제, 베타-차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제 및 안지오텐신 II 수용체 차단제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 추가 치료제는 아스피린일 수 있다.
- [0315] 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 병태를 치료하는 방법으로서, (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 지질; 및 (b) 치료제(TA)를 포함하는 하나 이상의 지질 집합체(LC)를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법도 본원에 개시되어 있고, 이때 TA는 펩티드이고, 하나 이상의 지질은 펩티드 상의 아미노산을 통해 펩티드에 부착되어 있다. TA는 킬렉신을 포함할 수 있다. 질환 또는 병태는 심혈관 질환일 수 있다. 심혈관 질환은 급성 심부전일 수 있다. 추가 심혈관 질환은 울혈성 심부전, 보상된 심부전 또는 비보상된 심부전을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다. 질환 또는 병태는 자가면역 장애일 수 있다. 자가면역 장애는 피부경화증, 미만성 피부경화증 또는 전신 피부경화증일 수 있다. 질환 또는 병태는 염증성 질환일 수 있다. 염증성 질환은 섬유근육통일 수 있다. 질환 또는 병태는 섬유증일 수 있다. 대안적으로, 질병은 임신일 수 있다. LC는 자간전증을 치료하거나 분만을 유도하는 데 사용될 수 있다. LC는 하나 이상의 추가 치료제와 함께 투여될 수 있다. 추가 치료제는 소염성 약물, 스타틴, 이노제, 베타-차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제 및 안지오텐신 II 수용체 차단제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 추가 치료제는 아스피린일 수 있다.
- [0316] 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 병태를 치료하는 방법으로서, 화학식 (II)인 TA- A^1-P^1-L 의 하나 이상의 지질 집합체(LC)를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법도 본원에 개시되어 있고, 이때 TA는 치료제이고; A^1 은 TA와 P^1 을 연결하는 화학적 기이고; P^1 은 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기

를 포함하고; L은 지질이다. TA는 틸렉신을 포함할 수 있다. 질환 또는 병태는 심혈관 질환일 수 있다. 심혈관 질환은 급성 심부전일 수 있다. 추가 심혈관 질환은 울혈성 심부전, 보상된 심부전 또는 비보상된 심부전을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다. 질환 또는 병태는 자가면역 장애일 수 있다. 자가면역 장애는 피부경화증, 만성 피부경화증 또는 전신 피부경화증일 수 있다. 질환 또는 병태는 염증성 질환일 수 있다. 염증성 질환은 섬유근육통일 수 있다. 질환 또는 병태는 섬유증일 수 있다. 대안적으로, 질병은 임신일 수 있다. LC는 자간전증을 치료하거나 분만을 유도하는 데 사용될 수 있다. LC는 하나 이상의 추가 치료제와 함께 투여될 수 있다. 추가 치료제는 소염성 약물, 스타틴, 이노제, 베타-차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제 및 안지오텐신 II 수용체 차단제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 추가 치료제는 아스피린일 수 있다.

[0317] 대사 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 대상체에서 대사 질환 또는 병태를 예방하거나 치료하는 방법으로서, (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드 및 지방 알코올로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 지질; (b) 하나 이상의 치료제(TA); 및 (c) 하나 이상의 지질 각각을 TA에 연결하는 링커로서, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하는 링커를 포함하는 하나 이상의 지질 접합체(LC)를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공되어 있고; 이때 각각의 링커는 하나 이상의 치료제의 하나 이상의 아미노산 잔기에 부착되어 있다. 하나 이상의 TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모돌린, 글루카곤, FGF21, 또는 이의 유도체를 포함할 수 있다. GLP-1은 인간 GLP-1일 수 있다. FGF21은 인간 FGF21일 수 있다. 대사 질환 또는 병태는 당뇨병일 수 있다. 대사 질환 또는 병태는 글리코겐 저장 질환, 페닐케톤뇨증, 단풍시럽뇨병, 글루타르산혈증 1형, 카바모일 포스페이트 합성효소 I 결핍, 알칼톤뇨증, 중쇄 아실-보조효소 A 데하이드로게나제 결핍(MCADD), 급성 간혈성 포르피린증, 레쉬-니한(Lesch-Nyhan) 증후군, 리포이드(lipoid) 선천성 부신 과다형성, 선천성 부신 과다형성, 컨스-세이어(Kearns-Sayre) 증후군, 젤웨거(Zellweger) 증후군, 고세병(Gaucher's disease) 또는 니만 픽병(Niemann Pick disease)일 수 있다.

[0318] 대사 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 대상체에서 대사 질환 또는 병태를 예방하거나 치료하는 방법으로서, (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 지질; (b) 치료제(TA); 및 (c) 하나 이상의 지질 각각을 TA에 연결하는 링커로서, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하는 링커를 포함하는 하나 이상의 지질 접합체(LC)를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공되어 있고; 이때 TA는 펩티드이고, 각각의 링커는 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 TA에 부착되어 있다. TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모돌린, 글루카곤, FGF21, 또는 이의 유도체를 포함할 수 있다. GLP-1은 인간 GLP-1일 수 있다. FGF21은 인간 FGF21일 수 있다. 대사 질환 또는 병태는 당뇨병일 수 있다. 대사 질환 또는 병태는 글리코겐 저장 질환, 페닐케톤뇨증, 단풍시럽뇨병, 글루타르산혈증 1형, 카바모일 포스페이트 합성효소 I 결핍, 알칼톤뇨증, 중쇄 아실-보조효소 A 데하이드로게나제 결핍(MCADD), 급성 간혈성 포르피린증, 레쉬-니한 증후군, 리포이드 선천성 부신 과다형성, 선천성 부신 과다형성, 컨스-세이어 증후군, 젤웨거 증후군, 고세병, 또는 니만 픽병일 수 있다.

[0319] 대사 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 대상체에서 대사 질환 또는 병태를 예방하거나 치료하는 방법으로서, 화학식 II인 $TA-A^1-P^1-L$ 의 하나 이상의 지질 접합체(LC)를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공되어 있고, 이때 TA는 치료제이고; A^1 은 TA와 P^1 을 연결하는 화학적 기이고; P^1 은 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하고; L은 지질이다. TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모돌린, 글루카곤, FGF21, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있다. GLP-1은 인간 GLP-1일 수 있다. FGF21은 인간 FGF21일 수 있다. 하나 이상의 지질은 하나 이상의 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드 및 지방 알코올을 포함할 수 있다. 대사 질환 또는 병태는 당뇨병일 수 있다. 대사 질환 또는 병태는 글리코겐 저장 질환, 페닐케톤뇨증, 단풍시럽뇨병, 글루타르산혈증 1형, 카바모일 포스페이트 합성효소 I 결핍, 알칼톤뇨증, 중쇄 아실-보조효소 A 데하이드로게나제 결핍(MCADD), 급성 간혈성 포르피린증, 레쉬-니한 증후군, 리포이드 선천성 부신 과다형성, 선천성 부신 과다형성, 컨스-세이어 증후군, 젤웨거 증후군, 고세병, 또는 니만 픽병일 수 있다.

[0320] 중추신경계(CNS) 장애의 예방 또는 치료를 필요로 하는 대상체에서 중추신경계(CNS) 장애를 예방하거나 치료하는 방법으로서, (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드 및 지방 알코올로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 지질; (b) 하나 이상의 치료제(TA); 및 (c) 하나 이상의 지질 각각을 TA에 연결하는 링커로서, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하는 링커를 포함하는 하나 이상

의 지질 접합체(LC)를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공되어 있고; 이때 각각의 링커는 하나 이상의 치료제의 적어도 하나의 아미노산 잔기에 부착되어 있다. 하나 이상의 TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모둘린, 글루카곤, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있다. GLP-1은 인간 GLP-1일 수 있다. CNS 장애는 알츠하이머병(AD)일 수 있다. 추가 CNS 장애는 뇌염, 뇌수막염, 열대 경련성 대부전마비, 거미막 낭종, 헌팅톤병, 잠금(locked-in) 증후군, 파킨슨병, 뚜렛, 및 다발성 경화증을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다.

[0321] 중추신경계(CNS) 장애의 예방 또는 치료를 필요로 하는 대상체에서 중추신경계(CNS) 장애를 예방하거나 치료하는 방법으로서, (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 지질; (b) 치료제(TA); 및 (c) 하나 이상의 지질 각각을 TA에 연결하는 링커로서, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하는 링커를 포함하는 하나 이상의 지질 접합체(LC)를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공되어 있고; 이때 TA는 펩티드이고, 각각의 링커는 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 TA에 부착되어 있다. TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모둘린, 글루카곤, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있다. GLP-1은 인간 GLP-1일 수 있다. CNS 장애는 알츠하이머병(AD)일 수 있다. 추가 CNS 장애는 뇌염, 뇌수막염, 열대 경련성 대부전마비, 거미막 낭종, 헌팅톤병, 잠금 증후군, 파킨슨병, 뚜렛 및 다발성 경화증을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다.

[0322] 중추신경계(CNS) 장애의 예방 또는 치료를 필요로 하는 대상체에서 중추신경계(CNS) 장애를 예방하거나 치료하는 방법으로서, 화학식 II인 $TA-A^1-P^1-L$ 의 하나 이상의 지질 접합체(LC)를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공되어 있고, 이때 TA는 치료제이고; A^1 은 TA와 P^1 을 연결하는 화학적 기이고; P^1 은 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하고; L은 지질이다. 하나 이상의 지질은 하나 이상의 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드 및 지방 알코올을 포함할 수 있다. 하나 이상의 지질은 하나 이상의 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드 또는 지방 알코올, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있다. TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모둘린, 글루카곤, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있다. GLP-1은 인간 GLP-1일 수 있다. CNS 장애는 알츠하이머병(AD)일 수 있다. 추가 CNS 장애는 뇌염, 뇌수막염, 열대 경련성 대부전마비, 거미막 낭종, 헌팅톤병, 잠금 증후군, 파킨슨병, 뚜렛 및 다발성 경화증을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다.

[0323] GLP-1R 및/또는 글루카곤 수용체(GCGR) 아고니스트로부터 이익을 얻는 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 대상체에서 이러한 질환 또는 병태를 예방하거나 치료하는 방법으로서, (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드 및 지방 알코올로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 지질; (b) 하나 이상의 치료제(TA); 및 (c) 하나 이상의 지질 각각을 TA에 연결하는 링커로서, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하는 링커를 포함하는 하나 이상의 지질 접합체(LC)를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공되어 있고; 이때 각각의 링커는 하나 이상의 치료제의 적어도 하나의 시스테인 잔기에 부착되어 있다. 하나 이상의 TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모둘린, 글루카곤, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있다. GLP-1은 인간 GLP-1일 수 있다. 질환 또는 병태는 대사 질환 또는 장애일 수 있다. 질환 또는 병태는 당뇨병일 수 있다. 질환 또는 병태는 비만일 수 있다. GLP-1R 및/또는 GCGR 아고니스트로부터 이익을 얻는 추가 질환 및/또는 질병은 이상지질혈증, 심혈관 질환 및 지방간 질환을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다.

[0324] GLP-1R 및/또는 글루카곤 수용체(GCGR) 아고니스트로부터 이익을 얻는 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 대상체에서 이러한 질환 또는 병태를 예방하거나 치료하는 방법으로서, (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 지질; (b) 치료제(TA); 및 (c) 하나 이상의 지질 각각을 TA에 연결하는 링커로서, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴 기를 포함하는 링커를 포함하는 하나 이상의 지질 접합체(LC)를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공되어 있고; 이때 TA는 펩티드이고, 각각의 링커는 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 TA에 부착되어 있다. TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모둘린, 글루카곤, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있다. GLP-1은 인간 GLP-1일 수 있다. 질환 또는 병태는 대사 질환 또는 병태일 수 있다. 질환 또는 병태는 당뇨병일 수 있다. 질환 또는 병태는 비만일 수 있다. GLP-1R 및/또는 GCGR 아고니스트로부터 이익을 얻는 추가 질환 및/또는 질병은 이상지질혈증, 심혈관 질환 및 지방간 질환을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다.

[0325] GLP-1R 및/또는 글루카곤 수용체(GCGR) 아고니스트로부터 이익을 얻는 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 대상체에서 이러한 질환 또는 병태를 예방하거나 치료하는 방법으로서, 화학식 II인 $TA-A^1-P^1-L$ 의 하나 이상의 지질 접합체(LC)를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공되어 있고, 이때 TA는 치료제이고; A^1 은 TA와 P^1 을 연결하는 화학적 기이고; P^1 은 헥테로아릴 또는 헥테로사이클릴 기를 포함하고; L은 지질이다. 하나 이상의 지질은 하나 이상의 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드 및 지방 알코올, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있다. 하나 이상의 지질은 하나 이상의 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드 또는 지방 알코올, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있다. TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모돌린, 글루카곤, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있다. GLP-1은 인간 GLP-1일 수 있다. 질환 또는 병태는 대사 질환 또는 병태일 수 있다. 질환 또는 병태는 당뇨병일 수 있다. 질환 또는 병태는 비만일 수 있다. GLP-1R 및/또는 GCGR 아고니스트로부터 이익을 얻는 추가 질환 및/또는 질병은 이상지질혈증, 심혈관 질환 및 지방간 질환을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다.

[0326] 통증의 예방 또는 치료를 필요로 하는 대상체에서 통증을 예방하거나 치료하는 방법으로서, (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 지질; 및 (b) 치료제(TA)를 포함하는 하나 이상의 지질 접합체(LC)를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공되어 있고; 이때 치료제는 적어도 하나의 등배전자성 디설파이드 모방체를 포함하는 펩티드이고, 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. 통증은 신경병증성 통증 또는 염증성 통증일 수 있다. 펩티드는 펩티딜 독소일 수 있다. 상기 방법은 하나 이상의 추가 치료제를 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 하나 이상의 추가 치료제는 소염성 약물, 통증을 치료하는 약물 또는 이들의 임의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 하나 이상의 추가 치료제는 아스피린일 수 있다.

[0327] 조성물

[0328] 본원에 개시된 변형된 치료제를 포함하는 약학 조성물이 본원에 개시되어 있다. 조성물은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개 이상의 변형된 치료제를 포함할 수 있다. 변형된 치료제는 상이할 수 있다. 대안적으로, 변형된 치료제는 동일할 수 있거나 유사할 수 있다. 변형된 치료제는 상이한 치료제, 상이한 반감기 연장 모이어티 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 반감기 연장 모이어티는 동일할 수 있거나 유사할 수 있다.

[0329] 본원에 개시된 LC를 포함하는 약학 조성물도 본원에 개시되어 있다. 상기 조성물은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개 이상의 LC를 포함할 수 있다. LC는 상이할 수 있다. 대안적으로, LC는 동일할 수 있거나 유사할 수 있다. LC는 상이한 치료제, 상이한 지질 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 지질은 동일할 수 있거나 유사할 수 있다.

[0330] 본원에 기재된 조성물은 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 염, 부형제 또는 비히클을 추가로 포함할 수 있다. 본 약학 조성물에서 사용될 약학적으로 허용가능한 염, 부형제 또는 비히클은 담체, 부형제, 희석제, 향산화제, 보존제, 착색제, 풍미 및 희석제, 유화제, 현탁제, 용매, 충전제, 증량제, 완충제, 전달 비히클, 긴장성 조절제, 보조용매, 습윤화제, 착물화제, 완충제, 향균제 및 계면활성제를 포함한다.

[0331] 중성 완충 식염수 또는 혈청 알부민과 혼합된 식염수는 예시적인 적절한 담체이다. 약학 조성물은 향산화제, 예컨대, 아스코르브산; 저분자량 폴리펩티드; 단백질, 예컨대, 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대, 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 라이신; 당당류, 이당류, 및 글루코스, 만노스 또는 텍스트린을 포함하는 다른 탄수화물; 킬레이팅제, 예컨대, EDTA; 당 알코올, 예컨대, 만니톨 또는 소르비톨; 염 형성 반대이온, 예컨대, 나트륨; 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대, 트윈(Tween), 플루로닉(pluronic), 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함할 수 있다. 또한, 예를 들면, 적합한 긴장성 향산제는 알칼리 금속 할라이드(바람직하게는, 염화나트륨 또는 염화칼륨), 만니톨, 소르비톨 등을 포함한다. 적합한 보존제는 염화벤즈알코늄, 티메로살, 페네틸 알코올, 메틸파라벤, 프로필파라벤, 클로르헥시딘, 소르브산 등을 포함한다. 과산화수소도 보존제로서 사용될 수 있다. 적합한 보조용매는 글리세린, 프로필렌 글리콜 및 PEG를 포함한다. 적합한 착물화제는 카페인, 폴리비닐피롤리돈, 베타-사이클로덱스트린 또는 하이드록시-프로필-베타-사이클로덱스트린을 포함한다. 적합한 계면활성제 또는 습윤화제는 소르비탄 에스테르, 폴리소르베이트, 예컨대, 폴리소르베이트 80, 트로메타민, 레시틴, 콜레스테롤, 킬록사팔 등을 포함한다. 완충제

는 통상적인 완충제, 예컨대, 아세테이트, 보레이트, 시트레이트, 포스페이트, 비카보네이트 또는 트리스(Tris)-HCl일 수 있다. 아세테이트 완충제는 약 pH 4 내지 5.5일 수 있고, 트리스 완충제는 약 7 내지 8.5일 수 있다. 추가 약제는 문헌(Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, A. R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company, 1990)에 기재되어 있다.

[0332] 조성물은 액체 형태, 동결건조된 형태 또는 냉동건조된 형태로 존재할 수 있고, 하나 이상의 동결건조보호제, 부형제, 계면활성제, 고분자량 구조적 첨가제 및/또는 증량제를 포함할 수 있다(예를 들면, 미국 특허 제 6,685,940호, 제6,566,329호 및 제6,372,716호 참조). 한 실시양태에서, 비환원 당, 예컨대, 수크로스, 락토스 또는 트레할로스인 동결건조보호제가 포함된다. 일반적으로 포함되는 동결건조보호제의 양은 고장성 또는 다소 저장성 제형도 적합할 수 있지만, 재구성 시 생성된 제형이 등장성을 나타낼 정도의 양이다. 또한, 동결건조보호제의 양은 동결건조 시 허용불가능한 양의 단백질 분해 및/또는 응집을 방지하기에 충분해야 한다. 예비동결건조된 제형에서 당(예를 들면, 수크로스, 락토스, 트레할로스)을 위한 예시적인 동결건조보호제 농도는 약 10 mM 내지 약 400 mM이다. 또 다른 실시양태에서, 계면활성제, 예를 들면, 비이온성 계면활성제 및 이온성 계면활성제, 예컨대, 폴리소르베이트(예를 들면, 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80); 폴록사머(예를 들면, 폴록사머 188); 폴리(에틸렌 글리콜) 페닐 에테르(예를 들면, 트리톤); 나트륨 도데실 설페이트(SDS); 나트륨 라우렐 설페이트; 나트륨 옥틸 글리코사이드; 라우릴-, 미리스틸-, 리놀레일- 또는 스테아릴-설포베타인; 라우릴-, 미리스틸-, 리놀레일- 또는 스테아릴-사르코신; 리놀레일-, 미리스틸- 또는 세틸-베타인; 라우로아미도프로필-, 코카미도프로필-, 리놀레아미도프로필-, 미리스타미도프로필-, 팔미도프로필- 또는 이소스테아라미도프로필-베타인(예를 들면, 라우로아미도프로필); 미리스타미도프로필-, 팔미도프로필- 또는 이소스테아라미도프로필-디메틸아민; 나트륨 메틸 코코일- 또는 이나트륨 메틸 오페일-타우레이트; 및 MONAQUAT™ 시리즈(Mona Industries, Inc., Paterson, N.J.), 폴리에틸 글리콜, 폴리프로필 글리콜, 및 에틸렌 및 프로필렌 글리콜의 공중합체(예를 들면, 플루로닉(Pluronic), PF68 등)가 포함된다. 예비동결건조된 제형에 존재할 수 있는 계면활성제의 예시적인 양은 약 0.001% 내지 0.5%이다. 고분자량 구조적 첨가제(예를 들면, 충전제, 결합제)는 예를 들면, 아카시아, 알부민, 알긴산, 인산칼슘(이염기성), 셀룰로스, 카복시메틸셀룰로스, 카복시메틸셀룰로스 나트륨, 하이드록시메틸셀룰로스, 하이드록시프로필셀룰로스, 하이드록시프로필메틸셀룰로스, 미세결정성 셀룰로스, 텍스트란, 텍스트린, 텍스트레이트, 수크로스, 킬로스, 전호화 전분, 황산칼슘, 아밀로스, 글리신, 벤토나이트, 말토스, 소르비톨, 에틸셀룰로스, 인산수소이나트륨, 인산이나트륨, 피로아황산이나트륨, 폴리비닐 알코올, 젤라틴, 글루코스, 구아 검, 액체 글루코스, 압착가능한 당, 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 말토텍스트린, 폴리(에틸렌 옥사이드), 폴리메타크릴레이트, 포비돈, 알긴산나트륨, 트라가칸스 미세결정성 셀룰로스, 전분 및 제인(zein)을 포함할 수 있다. 고분자량 구조적 첨가제의 예시적인 농도는 0.1 중량% 내지 10 중량%이다. 다른 실시양태에서, 증량제(예를 들면, 만니톨, 글리신)가 포함될 수 있다.

[0333] 조성물은 비경구 투여에 적합할 수 있다. 예시적인 조성물은 숙련된 자에 의해 이용될 수 있는 임의의 경로, 예컨대, 관절내, 피하, 정맥내, 근육내, 복강내, 뇌내(뇌실질내), 뇌실내, 근육내, 안내, 동맥내 또는 병변내 경로에 의해 동물 내로 주사되거나 주입되기에 적합하다. 비경구 제형은 전형적으로 약학적으로 허용가능한 보존제를 임의적으로 함유하는 멸균 발열원 무함유 등장성 수용액일 수 있다.

[0334] 비수성 용매의 예는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물유, 예컨대, 올리브유, 및 주사가 가능한 유기 에스테르, 예컨대, 에틸 올레이트이다. 수성 담체는 식염수 및 완충된 매질을 포함하는, 물, 알코올성/수성 용액, 유액 또는 현탁액을 포함한다. 비경구 비히클은 염화나트륨 용액, 링거 텍스트로스, 텍스트로스 및 염화나트륨, 젖산 첨가된 링거, 또는 고정유를 포함한다. 정맥내 비히클은 유체 및 영양분 보충제, 전해질 보충제, 예컨대, 링거 텍스트로스 기초의 보충제 등을 포함한다. 보존제 및 다른 첨가제, 예를 들면, 항균제, 항산화제, 킬레이팅제, 불활성 가스 등도 존재할 수 있다. 일반적으로, 문헌(Remington's Pharmaceutical Science, 16th Ed., Mack Eds., 1980)을 참조한다.

[0335] 본원에 기재된 약학 조성물은 특정 국소 환경에서 국소 농도의 생물물(예를 들면, 불루스, 데포 효과) 및/또는 증가된 안정성 또는 반감기를 제공하는 방식으로 조절 또는 지속 전달되도록 제형화될 수 있다. 상기 조성물은 중합체성 화합물, 예컨대, 폴리젖산, 폴리글리콜산 등의 미립자 체제뿐만 아니라, 데포 주사로서 전달될 수 있는 활성 물질의 조절 또는 지속 방출을 제공하는 물질, 예컨대, 생분해가능한 매트릭스, 주사가 가능한 마이크로스피어, 마이크로캡슐형 입자, 마이크로캡슐, 생체부식가능한 입자 비드, 리포솜 및 이식가능한 전달 장치도 가진, 본원에 개시된 LC, 폴리펩티드, 핵산 또는 벡터의 제형을 포함할 수 있다. 이러한 지속 또는 조절 전달 수단을 제형화하는 기법은 공지되어 있고, 다양한 중합체들이 개발되어 있고 약물의 조절 방출 및 전달을 위해 사용되고 있다. 이러한 중합체는 전형적으로 생분해가능하고 생체적합하다. 거울상이성질체성 중합체 또는 폴리

펩티드 분질의 착물화에 의해 형성된 중합체 하이드로겔을 포함하는 중합체 하이드로겔, 및 온도 또는 pH 민감성을 가진 하이드로겔은 생체활성 단백질 물질(예를 들면, 울트라롱(ultralong) CDR3을 포함하는 항체)의 포획에 관련된 온화한 수성 조건 때문에 약물 데포 효과를 제공하는 데 바람직할 수 있다. 예를 들면, 국제 특허출원 공보 제WO 93/15722호에서 약학 조성물의 전달을 위한 조절 방출 다공성 중합체성 마이크로입자의 설명을 참조한다.

[0336] 이 목적에 적합한 물질은 폴리락타이드(예를 들면, 미국 특허 제3,773,919호 참조), 폴리-(α -하이드록시카복실산)의 중합체, 예컨대, 폴리-D-(-)-3-하이드록시부티르산(유럽 특허 제133,988A호), L-글루탐산과 감마 에틸-L-글루타메이트의 공중합체(Sidman et al., Biopolymers, 22: 547-556 (1983)), 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트)(Langer et al., J. Biomed. Mater. Res., 15: 167-277 (1981), and Langer, Chem. Tech., 12: 98-105 (1982)), 에틸렌 비닐 아세테이트 또는 폴리-D-(-)-3-하이드록시부티르산을 포함한다. 다른 생분해가능한 중합체는 폴리(락톤), 폴리(아세탈), 폴리(오르토에스테르) 및 폴리(오르토카보네이트)를 포함한다. 지속 방출 조성물은 당분야에서 공지되어 있는 여러 방법들 중 임의의 방법에 의해 제조될 수 있는 리포솜도 포함할 수 있다(예를 들면, 문헌(Eppstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688-92 (1985)) 참조). 담체 그 자체 또는 이의 분해 생성물은 표적 조직에서 독성을 나타내지 않아야 하고 상태를 더 악화시키지 않아야 한다. 이것은 표적 장애의 동물 모델, 또는 이러한 모델이 이용될 수 없는 경우 정상 동물에서 관행적인 스크리닝에 의해 확인될 수 있다.

[0337] 지속 방출을 위한 제조합 단백질의 마이크로캡슐화는 인간 성장 호르몬(rhGH), 인터페론-(rhIFN-), 인터류킨-2 및 MN rgp120을 사용함으로써 성공적으로 수행되어 왔다(Johnson et al., Nat. Med., 2:795-799 (1996); Yasuda, Biomed. Ther., 27:1221-1223 (1993); Hora et al., Bio/Technology, 8:755-758 (1990); Cleland, "Design and Production of Single Immunization Vaccines Using Polylactide Polyglycolide Microsphere Systems," in Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach, Powell and Newman, eds, (Plenum Press: New York, 1995), pp. 439-462; 국제 특허출원 공보 제WO 97/03692호, 제WO 96/40072호 및 제WO 96/07399호; 및 미국 특허 제5,654,010호). 폴리-젯산-코글리콜산(PLGA) 중합체의 생체적합성 및 넓은 범위의 생분해가능성으로 인해 이 중합체를 사용하여 이들 단백질의 지속 방출 제형을 개발하였다. PLGA의 분해 생성물인 젯산 및 글리콜산은 인체 내에서 신속히 제거될 수 있다. 더욱이, 이 중합체의 분해가능성은 그의 분자량 및 조성에 달려있을 수 있다(Lewis, "Controlled release of bioactive agents from lactide/glycolide polymer," in: M. Chasin and R. Langer (Eds.), Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems (Marcel Dekker: New York, 1990), pp. 1-41). 지속 방출 조성물의 추가 예로는 예를 들면, 유럽 특허 제58,481A호, 미국 특허 제3,887,699호, 유럽 특허 제158,277A호, 캐나다 특허 제1176565호, 문헌(U. Sidman et al., Biopolymers 22, 547 [1983]), 문헌(R. Langer et al., Chem. Tech. 12, 98 [1982]), 문헌(Sinha et al., J. Control. Release 90, 261 [2003]), 문헌(Zhu et al., Nat. Biotechnol. 18, 24 [2000]) 및 문헌(Dai et al., Colloids Surf B Biointerfaces 41, 117 [2005])이 있다.

[0338] 생체접착성 중합체도 본 개시의 조성물에서 사용되거나 이러한 조성물과 함께 사용될 것으로 예상된다. 생체접착체는 연장된 기간 동안 생물학적 기질에 접촉할 수 있는 합성 물질 및 천연 생성 물질이다. 예를 들면, 카보폴(Carbopol) 및 폴리카보필(polycarbophil)은 둘 다 폴리(아크릴산)의 합성 가교연결된 유도체이다. 천연 생성 물질 기초의 생체접착성 전달 시스템은 예를 들면, 하이알루로난(hyaluronan)으로서도 공지되어 있는 하이알루론산을 포함한다. 하이알루론산은 D-글루쿠론산 및 N-아세틸-D-글루코사민의 잔기들로 구성된 천연 생성 뮤코다당류이다. 하이알루론산은 결합 조직뿐만 아니라, 혈액 및 눈의 유리액 및 수양액도 포함하는, 척추동물의 세포 외 조직 매트릭스에서 발견된다. 하이알루론산의 에스테르화된 유도체는 생체적합하고 생분해가능한, 전달에서 사용될 마이크로스피어를 생성하는 데 사용되고 있다(예를 들면, 문헌(Cortivo et al., Biomaterials (1991) 12:727-730); 유럽 특허 제517,565호; 국제 특허출원 공보 제WO 96/29998호; 문헌(Illum et al., J. Controlled Rel. (1994) 29:133-141) 참조).

[0339] 생분해가능한 중합체성 매트릭스 및 생분해불가능한 중합체성 매트릭스 둘 다가 본 개시의 조성물을 전달하는 데 사용될 수 있고, 이러한 중합체성 매트릭스들은 천연 또는 합성 중합체를 포함할 수 있다. 생분해가능한 매트릭스가 바람직하다. 방출이 일어나는 기간은 중합체의 선택에 기초한다. 전형적으로, 수 시간과 3개월 내지 12개월 사이의 기간에 걸친 방출이 가장 바람직하다. 생분해가능한 전달 시스템을 형성하는 데 사용될 수 있는 예시적인 합성 중합체는 젯산과 글리콜산의 중합체, 폴리아미드, 폴리카보네이트, 폴리알킬렌, 폴리알킬렌 글리콜, 폴리알킬렌 옥사이드, 폴리알킬렌 테레프탈레이트, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 에테르, 폴리비닐 에스테르, 폴리-비닐 할라이드, 폴리비닐피롤리돈, 폴리글리콜라이드, 폴리실록산, 폴리안하이드라이드, 폴리우레탄 및 이

의 공중합체, 폴리(부트산), 폴리(발레르산), 알킬 셀룰로스, 하이드록시알킬 셀룰로스, 셀룰로스 에테르, 셀룰로스 에스테르, 니트로 셀룰로스, 아크릴산 에스테르와 메타크릴산 에스테르의 중합체, 메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스, 하이드록시프로필 셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸 셀룰로스, 하이드록시부틸 메틸 셀룰로스, 셀룰로스 아세테이트, 셀룰로스 프로피오네이트, 셀룰로스 아세테이트 부티레이트, 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 카복시메틸 셀룰로스, 셀룰로스 트리아세테이트, 셀룰로스 설페이트 나트륨 염, 폴리(메틸 메타크릴레이트), 폴리(에틸 메타크릴레이트), 폴리(부틸메타크릴레이트), 폴리(이소부틸 메타크릴레이트), 폴리(헥실메타크릴레이트), 폴리(이소데실 메타크릴레이트), 폴리(라우릴 메타크릴레이트), 폴리(페닐 메타크릴레이트), 폴리(메틸 아크릴레이트), 폴리(이소프로필 아크릴레이트), 폴리(이소부틸 아크릴레이트), 폴리(옥타데실 아크릴레이트), 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리(에틸렌 글리콜), 폴리(에틸렌 옥사이드), 폴리(에틸렌 테레프탈레이트), 폴리(비닐 알코올), 폴리비닐 아세테이트, 폴리비닐 클로라이드, 폴리스티렌 및 폴리비닐피롤리돈을 포함한다. 예시적인 천연 중합체는 알기네이트, 및 텍스트란 및 셀룰로스를 포함하는 다른 다당류, 콜라겐, 이들의 화학적 유도체(치환, 화학적 기, 예를 들면, 알킬 또는 알킬렌의 추가, 하이드록실화, 산화, 및 당분야에서 숙련된 자에 의해 관행적으로 만들어지는 다른 변경), 알부민 및 다른 친수성 단백질, 제인 및 다른 프롤라민 및 소수성 단백질, 이들의 공중합체 및 혼합물을 포함한다. 일반적으로, 이들 물질들은 효소 가수분해, 또는 표면 또는 벌크 부식에 의한 생체내 물에의 노출에 의해 분해된다. 중합체는 임의적으로 물에서 그의 중량의 최대 약 90%를 흡수할 수 있는 하이드로겔의 형태로 존재할 수 있고(예를 들면, 국제 특허출원 공보 제WO 04/009664호 및 제WO 05/087201호, 및 문헌(Sawhney, et al., *Macromolecules*, 1993, 26, 581-587) 참조) 추가로 임의적으로 다가 이온 또는 다른 중합체와 가교연결된다.

[0340] 전달 시스템은 스테롤, 예컨대, 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르 및 지방산, 또는 중성 지방, 예컨대, 모노글리세라이드, 디글리세라이드 및 트리글리세라이드를 포함하는 지질인 비중합체 시스템; 하이드로겔 방출 시스템; 실라ستيك(silastic) 시스템; 펩티드 기초의 시스템; 왁스 코팅; 통상적인 결합제 및 부형제를 사용하는 압착된 정제; 부분적으로 용해된 이식물 등도 포함한다. 구체적인 예로는 (a) 생성물이 매트릭스 내에서 한 형태로 함유되어 있는 부식 시스템, 예컨대, 미국 특허 제4,452,775호, 제4,675,189호 및 제5,736,152호에 기재된 부식 시스템; 및 (b) 생성물이 중합체로부터 조절된 속도로 투과하는 확산 시스템, 예컨대, 미국 특허 제3,854,480호, 제5,133,974호 및 제5,407,686호에 기재된 확산 시스템이 있으나, 이들로 한정되지 않는다. 생성물을 함유하는 리포솜은 당분야에서 공지되어 있는 방법에 의해 제조될 수 있다(예를 들면, 독일 특허 제3,218,121호; 문헌(Epstein et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82: 3688-3692 (1985)); 문헌(Hwang et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77: 4030-4034 (1980)); 유럽 특허 제52,322호, 제36,676호, 제88,046호, 제143,949호 및 제142,641호; 일본 특허 제83-118008호; 미국 특허 제4,485,045호 및 제4,544,545호; 및 유럽 특허 제102,324호).

[0341] 대안적으로 또는 추가로, 조성물은 본원에 개시된 LC, LC의 적어도 부분을 코딩하는 핵산, 또는 LC의 적어도 부분을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터가 흡수되어 있거나 캡슐화되어 있는 막, 스폰지 또는 다른 적절한 물질의 영향을 받은 영역 내로의 이식을 통해 국소적으로 투여될 수 있다. 이식 장치가 사용되는 경우, 상기 장치는 임의의 적합한 조직 또는 장기 내로 이식될 수 있고, 본원에 개시된 LC, LC의 적어도 부분을 코딩하는 핵산, 또는 LC의 적어도 부분을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터의 전달은 볼루스를 통해, 연속적인 투여를 통해, 또는 연속적인 주입을 사용하는 카테터를 통해 직접적으로 상기 장치를 통해 수행될 수 있다.

[0342] 본원에 개시된 LC, LC의 적어도 부분을 코딩하는 핵산, 또는 LC의 적어도 부분을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터를 포함하는 약학 조성물은 흡입을 위해, 예를 들면, 건조 분말로서 제형화될 수 있다. 흡입 용액도 에어로졸 전달을 위한 액화된 추진제에서 제형화될 수 있다. 또 다른 제형에서, 용액은 분무될 수 있다. 폐 투여를 위한 추가 약학 조성물은 예를 들면, 화학적으로 변경된 단백질의 폐 전달을 개시하는 국제 특허출원 공보 제WO 94/20069호에 기재된 약학 조성물을 포함한다. 폐 전달을 위해, 입자 크기는 멀리 있는 폐로의 전달에 적합해야 한다. 예를 들면, 입자 크기는 1 μm 내지 5 μm 일 수 있으나, 예를 들면, 각각의 입자가 상당한 다공성을 가진 경우 보다 더 큰 입자가 사용될 수 있다.

[0343] 본원에 개시된 LC, LC의 적어도 부분을 코딩하는 핵산, 또는 LC의 적어도 부분을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터를 포함하는 일부 제형들은 경구 투여될 수 있다. 이 방식으로 투여된 제형은 고체 제형, 예컨대, 정제 및 캡슐의 조제에서 통상적으로 사용되는 담체를 사용하거나 사용하지 않고 제형화될 수 있다. 예를 들면, 생체이용률이 최대화되고 침투 분해가 최소화될 때, 캡슐은 위장관 내의 지점에서 제형의 활성 부분을 방출하도록 디자인될 수 있다. 선택적 결합제의 흡수를 용이하게 하기 위해 추가 물질이 포함될 수 있다. 희석제, 풍미제, 저융점 왁스, 식물유, 윤활제, 현탁제, 정제 봉해제 및 결합제도 사용될 수 있다.

- [0344] 또 다른 제제는 정제의 제조에 적합한 무독성 부형제와의 혼합물로 본원에 개시된 LC, LC의 적어도 부분을 코딩하는 핵산, 또는 LC의 적어도 부분을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터를 포함하는 유효량의 항체를 포함할 수 있다. 정제를 멸균수 또는 또 다른 적절한 비히클에 용해시킴으로써 유닛 용량 형태로 용액을 제조할 수 있다. 적합한 부형제는 불활성 희석제, 예컨대, 탄산칼슘, 탄산나트륨 또는 비카보네이트, 락토스 또는 인산칼슘; 또는 결합제, 예컨대, 전분, 젤라틴 또는 아카시아; 또는 윤활제, 예컨대, 스테아르산마그네슘, 스테아르산 또는 탈크를 포함하나, 이들로 한정되지 않는다.
- [0345] 적합한 및/또는 바람직한 약학 제형은 의도된 투여 경로, 전달 포맷 및 원하는 용량에 따라 본 개시 및 제형화 기술의 일반적인 지식을 고려함으로써 결정될 수 있다. 투여 방식과 관계 없이, 유효 용량은 환자 체중, 신체 표면적, 또는 장기 크기에 따라 계산될 수 있다. 본원에 기재된 각각의 제형을 이용하는 치료에 적절한 용량을 결정하기 위한 계산은 당분야에서 관행적으로 더 개량되고, 당분야에서 관행적으로 수행되는 작업의 범위 내에 있다. 적절한 용량은 적절한 용량-반응 데이터의 사용을 통해 확인될 수 있다.
- [0346] "약학적으로 허용가능한"은 연방정부 또는 주정부의 규제 관청에 의해 승인되었거나 승인될 수 있다는 것, 또는 미국 약전 또는 인간을 포함하는 동물에서의 사용에 대해 일반적으로 인정된 다른 약전에 나열되어 있다는 것을 의미한다.
- [0347] "약학적으로 허용가능한 염"은 약학적으로 허용가능하고 모 화합물의 원하는 약리학적 활성을 가진 화합물의 염을 의미한다.
- [0348] "약학적으로 허용가능한 부형제, 담체 또는 보조제"는 본 개시의 적어도 하나의 항체와 함께 대상체에게 투여될 수 있고 그의 약리학적 활성을 파괴하지 않고 치료 양의 화합물을 전달하기에 충분한 용량으로 투여될 때 독성을 나타내지 않는 부형제, 담체 또는 보조제를 의미한다.
- [0349] "약학적으로 허용가능한 비히클"은 본 개시의 적어도 하나의 항체와 함께 투여되는 희석제, 보조제, 부형제 또는 담체를 의미한다.
- [0350] **벡터, 숙주 세포 및 재조합 방법**
- [0351] 본원에 개시된 바와 같이, TA는 재조합 방법에 의해 발현될 수 있다. 일반적으로, TA를 코딩하는 핵산은 추가 클로닝(DNA의 증폭) 또는 발현을 위해 단리될 수 있고 복제가능한 벡터 내로 삽입될 수 있다. LC를 코딩하는 DNA는 PCR 증폭에 의해 제조될 수 있고, 통상적인 절차를 이용함으로써(예를 들면, LC를 코딩하는 뉴클레오타이드에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용함으로써) 서열분석될 수 있다. 예시적인 실시양태에서, LC를 코딩하는 핵산은 PCR에 의해 증폭되고, 제한효소에 의해 분해되고 겔 정제된다. 분해된 LC는 복제가능한 벡터 내로 삽입될 수 있다. 분해된 LC 삽입을 함유하는 복제가능한 벡터는 추가 클로닝(DNA의 증폭) 또는 발현을 위해 숙주 세포 내로 형질전환될 수 있거나 형질도입될 수 있다. 숙주 세포는 원핵 또는 진핵 세포일 수 있다.
- [0352] 본원에 개시된 LC의 폴리펩티드 성분을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열은 증폭되는 올리고뉴클레오타이드 프라이머를 사용한 PCR 증폭에 의해 수득될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드 서열은 TA 생성 세포로부터 단리될 수 있고 서열분석될 수 있다. 대안적으로, 뉴클레오타이드 합성기 또는 PCR 기법을 이용하여 폴리뉴클레오타이드를 합성할 수 있다. 일단 수득되면, 폴리펩티드를 코딩하는 서열은 원핵 및/또는 진핵 숙주에서 이중 폴리뉴클레오타이드를 복제하고 발현할 수 있는 재조합 벡터 내로 삽입된다.
- [0353] 추가로, 숙주 미생물과 호환되는 레플리콘 및 조절 서열을 함유하는 파지 벡터는 이들 숙주와 관련하여 형질전환 벡터로서 사용될 수 있다. 예를 들면, 박테리오파지, 예컨대, λ GEM™-11은 민감한 숙주 세포, 예컨대, 이. 콜라이 LE392를 형질전환시키는 데 사용될 수 있는 재조합 벡터의 제조에 사용될 수 있다.
- [0354] TA는 세포내(예를 들면, 세포질) 또는 세포외(예를 들면, 분비)에서 발현될 수 있다. 세포외 발현의 경우, 벡터는 TA를 세포의 외부로 전위시킬 수 있는 분비 신호를 포함할 수 있다.
- [0355] TA 코딩 벡터의 클로닝 또는 발현에 적합한 숙주 세포는 원핵 또는 진핵 세포를 포함한다. 숙주 세포는 진핵 세포일 수 있다. 진핵 세포의 예로는 인간 배아 신장(HEK) 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, 진균, 효모, 무척추동물 세포(예를 들면, 식물 세포 및 곤충 세포), 림프 세포(예를 들면, YO, NSO, Sp20 세포)가 있으나, 이들로 한정되지 않는다. 적합한 포유동물 숙주 세포주의 다른 예는 SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주(COS-7); 새끼 햄스터 신장 세포(BHK); 마우스 세르톨리(Sertoli) 세포; 원숭이 신장 세포(CV1); 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포(VERO-76); 인간 자궁경부암종 세포(HELA); 개 신장 세포(MDCK); 버팔로 래트 간 세포(BRL

3A); 인간 폐 세포(W138); 인간 간 세포(HepG2); 마우스 유선 종양(MMT 060562); TR1 세포; MRC 5 세포; 및 FS4 세포이다. 숙주 세포는 원핵 세포(예를 들면, 이. 콜라이)일 수 있다.

- [0356] 숙주 세포는 TA를 코딩하는 뉴클레오티드를 함유하는 벡터로 형질전환될 수 있다. 형질전환된 숙주 세포는 배지에서 배양될 수 있다. 배지는 프로모터를 유도하거나, 형질전환체를 선택하거나, 원하는 서열을 코딩하는 유전자를 증폭하거나 발현시키기 위해 하나 이상의 물질로 보충될 수 있다. 숙주 세포를 형질전환시키는 방법은 당 분야에서 공지되어 있고 전기천공, 염화칼슘 또는 폴리에틸렌 글리콜/DMSO를 포함할 수 있다.
- [0357] 대안적으로, 숙주 세포는 TA를 코딩하는 뉴클레오티드를 함유하는 벡터로 형질감염될 수 있거나 형질도입될 수 있다. 형질감염된 또는 형질도입된 숙주 세포는 배지에서 배양될 수 있다. 배지는 프로모터를 유도하거나, 형질감염된 또는 형질도입된 세포를 선택하거나 원하는 서열을 코딩하는 유전자를 발현시키기 위해 하나 이상의 물질로 보충될 수 있다.
- [0358] 발현된 TA는 숙주 세포의 주변세포질 내로 분비되고 이 주변세포질로부터 회수될 수 있거나, 배양 배지 내로 수송될 수 있다. 주변세포질로부터의 단백질 회수는 숙주 세포를 파괴하는 단계를 포함할 수 있다. 숙주 세포의 파괴는 삼투 쇼크, 초음파처리 또는 용해를 포함할 수 있다. 원심분리 또는 여과는 세포 잔해물(debris) 또는 전체 세포를 제거하는 데 사용될 수 있다. TA는 예를 들면, 친화성 수지 크로마토그래피에 의해 더 정제될 수 있다.
- [0359] 대안적으로, 배양 배지 내로 분비되는 TA는 그 안에서 단리될 수 있다. 세포는 배양물로부터 제거될 수 있고, 배양 상청액은 생성된 단백질의 추가 정제를 위해 여과될 수 있고 농축될 수 있다. 발현된 폴리펩티드는 통상적으로 공지된 방법, 예컨대, 폴리아크릴아미드 겔 전기영동(PAGE) 및 웨스턴 블롯 어세이를 이용함으로써 더 단리될 수 있고 확인될 수 있다.
- [0360] TA 제조는 발효 과정에 의해 대량으로 수행될 수 있다. 다양한 대규모 유가식 발효 절차가 재조합 단백질의 제조를 위해 이용될 수 있다. 대규모 발효는 적어도 1000 리터의 용량, 바람직하게는 약 1,000 내지 100,000 리터의 용량을 가진다. 이들 발효기는 산소 및 영양분, 특히 글루코스(바람직한 탄소/에너지원)를 분배하기 위해 교반기 임펠러를 이용할 수 있다. 소규모 발효는 일반적으로 부피 용량이 대략 100 리터 이하이고 약 1 리터 내지 약 100 리터일 수 있는 발효기 내에서의 발효를 의미한다.
- [0361] 발효 과정에서, 단백질 발현의 유도는 전형적으로 세포가 초기 정지상에 있는 단계에서 원하는 밀도, 예를 들면, 약 180 내지 220의 OD550까지 적합한 조건 하에서 성장한 후 시작된다. 당분야에서 공지되어 있고 본원에 기재되어 있는 바와 같이, 사용된 벡터 구축물에 따라, 다양한 유도제들이 사용될 수 있다. 세포는 유도 전에 보다 더 짧은 기간 동안 성장될 수 있다. 보다 더 길거나 더 짧은 유도 시간이 이용될 수 있지만, 세포는 통상적으로 약 12시간 내지 50시간 동안 유도된다.
- [0362] 본원에 개시된 TA의 제조 수율 및 품질을 개선하기 위해, 다양한 발효 조건이 변경될 수 있다. 예를 들면, 분비된 TA 폴리펩티드의 적절한 조립 및 폴딩을 개선하기 위해, 샤페론 단백질, 예컨대, Dsb 단백질(DsbA, DsbB, DsbC, DsbD 및 또는 DsbG) 또는 FkpA(샤페론 활성을 가진 펩티딜프롤릴 시스,트랜스-이소머라제)를 과다발현하는 추가 벡터가 숙주 원핵 세포를 공-형질전환시키는 데 사용될 수 있다. 샤페론 단백질은 세균 숙주 세포에서 생성된 이종 단백질의 적절한 폴딩 및 가용성을 용이하게 하는 것으로 입증되었다.
- [0363] 발현된 이종 단백질(특히, 단백질용해에 민감한 이종단백질)의 단백질 용해를 최소화하기 위해, 단백질용해성 효소를 결핍하는 일부 숙주 균주들이 본 개시를 위해 사용될 수 있다. 예를 들면, 숙주 세포 균주는 공지된 세균 프로테아제, 예컨대, 프로테아제 III, OmpT, DegP, Tsp, 프로테아제 I, 프로테아제 Mi, 프로테아제 V, 프로테아제 VI 및 이들의 조합을 코딩하는 유전자에서 유전적 돌연변이(들)을 수행하도록 변경될 수 있다. 일부 이. 콜라이 프로테아제 결핍 균주들이 이용될 수 있다.
- [0364] 당분야에서 공지되어 있는 표준 단백질 정제 방법이 이용될 수 있다. 하기 절차는 적합한 정제 절차의 예이다: 면역친화성 또는 이온-교환 컬럼 상에서의 분획화, 에탄올 침전, 역상 HPLC, 실리카 또는 양이온-교환 수지, 예컨대, DEAE 상에서의 크로마토그래피, 크로마토포커싱, SDS-PAGE, 황산암모늄 침전, 하이드록실아파타이트 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석, 및 예를 들면, 세파덱스(Sephadex) G-75를 사용한 친화성 크로마토그래피 및 겔 여과.
- [0365] TA는 상업적으로 입수가 가능한 단백질 농축 필터, 예를 들면, 아미콘(Amicon) 또는 밀리포어(Millipore) 펠리콘(Pellicon)[®] 한외여과 유닛을 이용함으로써 농축될 수 있다.

[0366] 프로테아제 억제제 또는 프로테아제 억제제 카테일은 TA의 단백질용해를 억제하기 위해 상기 단계들 중 임의의 단계에서 포함될 수 있다.

[0367] 일부 경우, TA 또는 이의 단편은 단리 시 생물학적 활성을 나타내지 않을 수 있다. 폴리펩티드를 그의 삼차 구조로 "리폴딩하거나" 전환시키고 디설파이드 연결을 생성하는 다양한 방법들이 생물학적 활성을 복구하는 데 이용될 수 있다. 이러한 방법들은 가용화된 폴리펩티드를 특정 농도의 카오토프(chaotrope)의 존재 하에서 통상적으로 7 초과의 pH에 노출시키는 단계를 포함한다. 카오토프의 선택은 봉입체 가용화를 위해 이용된 선택과 매우 유사하나, 통상적으로 카오토프는 보다 더 낮은 농도로 사용되고 가용화를 위해 사용된 카오토프와 반드시 동일할 필요는 없다. 리폴딩/산화 용액은 디설파이드 서플링이 단백질의 시스테인 가교(들)의 형성에서 일어나게 하는 특정 산화환원력을 생성하기 위해 환원제도 함유할 수 있거나 환원제 및 그의 산화된 형태도 특정 비로 함유할 수 있다. 통상적으로 사용되는 산화환원 커플의 일부는 시스테인/시스테인, 글루타티온(GSH)/디티오비스 GSH, 염화구리, 디티오프레이톨(DTT)/디티안 DTT, 및 2-머캅토에탄올(bME)/디-티오-b(ME)를 포함한다. 많은 경우, 보조용매가 리폴딩의 효율을 증가시키는 데 사용될 수 있고, 이 목적을 위해 사용되는 통상의 시약은 글리세롤, 다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜, 아르기닌 등을 포함한다. 완충제의 선택은 리폴딩된 펩티드의 3차원적 구조를 결정할 수 있다. 황산암모늄을 포함하는 완충제의 사용은 다른 유형의 완충제보다 더 우수한 수율로 원하는 리폴딩된 펩티드를 생성시킬 수 있다.

[0368] 키트/제조물품

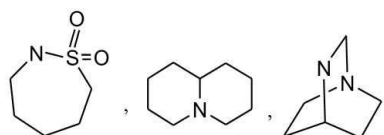
[0369] 추가 양태로서, 본 개시는 본 개시의 방법을 실시하기 위해 하나 이상의 화합물 또는 조성물의 사용을 용이하게 하는 방식으로 포장된 이러한 화합물 또는 조성물을 포함하는 키트를 포함한다. 한 실시양태에서, 이러한 키트는 본 방법을 실시하는 데 있어서 본원에 기재된 화합물 또는 조성물의 사용을 기술하는, 용기에 부착된 표지 또는 포장 삽지를 가진 용기 내에 포장된 이러한 화합물 또는 조성물을 (예를 들면, 변형된 치료제 단독 또는 제2 물질과 조합으로) 포함한다. 적합한 용기는 예를 들면, 병, 바이알, 주사기 등을 포함한다. 용기는 다양한 재료들, 예컨대, 유리 또는 플라스틱으로부터 형성될 수 있다. 용기는 멸균 출입구를 가질 수 있다(예를 들면, 용기는 피하 주사 바늘에 의해 천공될 수 있는 마개를 가진 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있다). 제품은 (a) 본원에 개시된 변형된 치료제를 포함하는 조성물을 그 내부에 함유하는 제1 용기; 및 (b) 추가 치료제를 포함하는 조성물을 그 내부에 함유하는 제2 용기를 포함할 수 있다. 본원에 개시된 이 실시양태에서 제품은 제1 조성물 및 제2 조성물이 특정 질병을 치료하는 데 사용될 수 있다는 것을 표시하는 포장 삽지도 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 제조물품은 약학적으로 허용가능한 완충제, 예컨대, 주사용 정균수(BWFI), 포스페이트 완충 식염수, 링거 용액 및 텍스트로스 용액을 포함하는 제2(또는 제3) 용기를 추가로 포함할 수 있다. 상기 제조물품은 다른 완충제, 희석제, 필터, 바늘 및 주사기를 포함하는, 상업적 및 사용자 관점에서 볼 때 바람직한 다른 물질도 포함할 수 있다. 바람직하게는, 화합물 또는 조성물은 유닛 제형으로 포장된다. 키트는 특정 투여 경로에 따라 조성물을 투여하거나 스크리닝 어세이를 실시하기에 적합한 장치를 추가로 포함할 수 있다. 바람직하게는, 키트는 변형된 치료제 조성물의 사용을 기술하는 표지를 함유한다.

[0370] 일부 실시양태에서, 변형된 치료제를 포함하는 조성물은 포유동물, 예컨대, 인간, 소, 고양이, 개 및 무린에게 정맥내로 투여되도록 맞추어진 약학 조성물로서 관행적인 절차에 따라 제형화된다. 전형적으로, 정맥내 투여를 위한 조성물은 멸균 등장성 수성 완충제 중의 용액이다. 필요한 경우, 조성물은 가용화제, 및 주사 부위에서의 통증을 완화시키기 위한 국소 마취제, 예컨대, 리그노카인(lignocaine)도 포함할 수 있다. 일반적으로, 성분들은 예를 들면, 기밀 밀봉된 용기, 예컨대, 활성 물질의 양을 표시하는 앰플 또는 사셰(sachette) 내의 건식 동결건조된 분말 또는 물 무함유 농축물로서 별도로 공급되거나 유닛 제형으로 함께 혼합된 상태로 공급된다. 조성물이 주입에 의해 투여되는 경우, 이 조성물은 멸균 약학 등급의 물 또는 식염수를 함유하는 주입 병에 의해 분배될 수 있다. 조성물이 주사에 의해 투여되는 경우, 성분들이 투여 전에 혼합될 수 있도록 주사용 멸균수 또는 식염수의 앰플이 제공될 수 있다.

[0371] 단백질의 비정상적인 발현 및/또는 활성과 관련된 질환 또는 장애의 치료, 억제 및 예방에 효과적일 수 있는 본원에 기재된 조성물의 양은 표준 임상 기법에 의해 결정될 수 있다. 추가로, 시험관내 어세이가 최적 용량 범위를 확인하는 데 임의적으로 이용될 수 있다. 제형에서 사용되는 정확한 용량은 투여 경로, 및 질환 또는 장애의 심각성에 의해 좌우될 수도 있고, 의사의 판단 및 각각의 환자의 환경에 따라 결정되어야 한다. 유효 용량은 시험관내 또는 동물 모델 시험 시스템으로부터 유도된 용량-반응 곡선으로부터 추정된다.

[0372] 정의

- [0373] 본원에서 사용될 때, 달리 표시되어 있지 않은 한, 하기 용어들은 하기 의미를 가진다:
- [0374] "아미노"는 $-NH_2$ 라디칼을 의미한다.
- [0375] "시아노" 또는 "니트릴"은 $-CN$ 라디칼을 의미한다.
- [0376] "하이드록시" 또는 "하이드록실"은 $-OH$ 라디칼을 의미한다.
- [0377] "니트로"는 $-NO_2$ 라디칼을 의미한다.
- [0378] "옥소"는 $=O$ 치환기를 의미한다.
- [0379] "옥심"은 $=N-OH$ 치환기를 의미한다.
- [0380] "티옥소"는 $=S$ 치환기를 의미한다.
- [0381] "알킬"은 탄화수소 직쇄 또는 분지쇄 라디칼을 의미하고, 1개 내지 30개의 탄소 원자를 갖고, 단일 결합에 의해 분자의 나머지에 부착된다. 1개 내지 30개 중 임의의 수의 탄소 원자를 포함하는 알킬이 포함된다. 최대 30개의 탄소 원자를 포함하는 알킬은 C_1-C_{30} 알킬로서 지칭되고, 마찬가지로 예를 들면, 최대 12개의 탄소 원자를 포함하는 알킬은 C_1-C_{12} 알킬이다. 다른 수의 탄소 원자를 포함하는 알킬(및 본원에 정의된 다른 모이어티)은 유사하게 표시된다. 알킬 기는 C_1-C_{30} 알킬, C_1-C_{20} 알킬, C_1-C_{15} 알킬, C_1-C_{10} 알킬, C_1-C_8 알킬, C_1-C_6 알킬, C_1-C_4 알킬, C_1-C_3 알킬, C_1-C_2 알킬, C_2-C_8 알킬, C_3-C_8 알킬 및 C_4-C_8 알킬을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다. 대표적인 알킬 기는 메틸, 에틸, *n*-프로필, 1-메틸에틸(*이소*-프로필), *n*-부틸, *i*-부틸, *s*-부틸, *n*-펜틸, 1,1-디메틸에틸(*tert*-부틸), 3-메틸헥실, 2-메틸헥실, 비닐, 알릴, 프로피닐 등을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다. 불포화를 포함하는 알킬은 알케닐 및 알키닐 기를 포함한다. 본 명세서에서 달리 구체적으로 언급되어 있지 않은 한, 알킬 기는 후술되어 있는 바와 같이 임의적으로 치환될 수 있다.
- [0382] "알킬렌" 또는 "알킬렌 쇠"는 상기 알킬에 대해 기재된 바와 같이 2가 탄화수소 직쇄 또는 분지쇄를 의미한다. 본 명세서에서 달리 구체적으로 언급되어 있지 않은 한, 알킬렌 기는 후술되어 있는 바와 같이 임의적으로 치환될 수 있다.
- [0383] "알콕시"는 R_a 가 정의된 알킬 라디칼인 식 $-OR_a$ 의 라디칼을 의미한다. 본 명세서에서 달리 구체적으로 언급되어 있지 않은 한, 알콕시 기는 후술되어 있는 바와 같이 임의적으로 치환될 수 있다.
- [0384] "아릴"은 수소, 6개 내지 30개의 탄소 원자 및 적어도 1개의 방향족 고리를 포함하는 탄화수소 고리 시스템으로부터 유도된 라디칼을 의미한다. 아릴 라디칼은 융합된 또는 가교된 고리 시스템을 포함할 수 있는 단환형, 이환형, 삼환형 또는 사환형 고리 시스템일 수 있다. 아릴 라디칼은 아세안쓰릴렌, 아세나프틸렌, 아세페난쓰릴렌, 안쓰라센, 아줄렌, 벤젠, 크라이센, 플루오란센, 플루오렌, *as*-인다센, *s*-인다센, 인단, 인덴, 나프탈렌, 페날렌, 페난스렌, 플레이아덴, 피렌 및 트리페닐렌의 탄화수소 고리 시스템으로부터 유도된 아릴 라디칼들을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다. 본 명세서에서 달리 구체적으로 언급되어 있지 않은 한, 용어 "아릴" 또는 (예컨대, "아르알킬"에서) 접두사 "아르"는 임의적으로 치환되는 아릴 라디칼을 포함하기 위한 것이다.
- [0385] "사이클로알킬" 또는 "탄소환"은 포화된 또는 불포화된, 융합된 또는 가교된 고리 시스템을 포함할 수 있는 안정한 비방향족 단환형 또는 다환형 탄소환형 고리를 의미한다. 대표적인 사이클로알킬 또는 탄소환은 3개 내지 15개의 탄소 원자, 3개 내지 10개의 탄소 원자, 3개 내지 8개의 탄소 원자, 3개 내지 6개의 탄소 원자, 3개 내지 5개의 탄소 원자, 또는 3개 내지 4개의 탄소 원자를 가진 사이클로알킬을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다. 단환형 사이클로알킬 또는 탄소환은 예를 들면, 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헵틸 및 사이클로옥틸을 포함한다. 다환형 사이클로알킬 또는 탄소환은 예를 들면, 아다만틸, 노르보르닐, 데칼리닐, 비사이클로[3.3.0]옥탄, 비사이클로[4.3.0]노난, 시스-데칼린, 트랜스-데칼린, 비사이클로[2.1.1]헥산, 비사이클로[2.2.1]헵탄, 비사이클로[2.2.2]옥탄, 비사이클로[3.2.2]노난 및 비사이클로[3.3.2]데칸, 및 7,7-디메틸-비사이클로[2.2.1]헵타닐을 포함한다. 본 명세서에서 달리 구체적으로 언급되어 있지 않은 한, 사이클로알킬 또는 탄소환 기는 임의적으로 치환될 수 있다. 사이클로알킬 기의 실례로는 하기 모이어티들이 있으나, 이들로 한정되지 않는다:

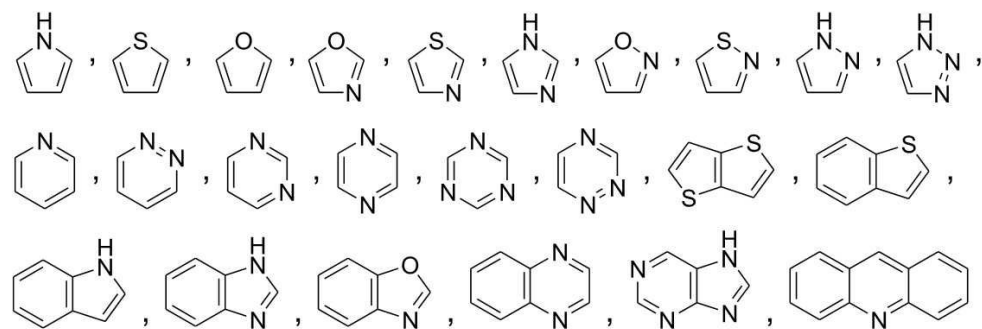


[0392]

등. 용어 헤테로사이클로알킬은 단당류, 이당류 및 올리고당류를 포함하나 이들로 한정되지 않는 모든 고리 형태의 탄수화물도 포함한다. 달리 언급되어 있지 않은 한, 헤테로사이클로알킬은 고리 내에 2개 내지 10개의 탄소를 가진다. 헤테로사이클로알킬 내의 탄소 원자 수를 지칭할 때, 헤테로사이클로알킬 내의 탄소 원자 수는 헤테로사이클로알킬을 구성하는 원자(헤테로원자를 포함함)(즉, 헤테로사이클로알킬 고리의 골격 원자)의 총 수와 동일하지 않다는 것이 이해된다. 본 명세서에서 달리 구체적으로 언급되어 있지 않은 한, 헤테로사이클로알킬 기는 임의적으로 치환될 수 있다.

[0393]

단독으로 또는 조합으로 본원에서 사용된 용어 "헤테로아릴"은 약 5개 내지 약 20개의 골격 고리 원자들을 함유하는, 임의적으로 치환된 방향족 단일라디칼을 의미하고, 이때 상기 기의 고리가 2개의 인접 0 또는 S 원자들을 함유하지 않는 한, 상기 고리 원자들 중 하나 이상의 고리 원자는 산소, 질소, 황, 인, 규소, 셀레늄 및 주석으로부터 독립적으로 선택된 헤테로원자이나, 이 원자들로 한정되지 않는다. 2개 이상의 헤테로원자들이 고리에 존재하는 실시양태에서, 2개 이상의 헤테로원자들은 서로 동일할 수 있거나, 2개 이상의 헤테로원자들 중 일부 또는 전부는 나머지와 각각 상이할 수 있다. 용어 헤테로아릴은 적어도 1개의 헤테로원자를 가진, 임의적으로 치환된 융합된 헤테로아릴 라디칼 및 비융합된 헤테로아릴 라디칼을 포함한다. 용어 헤테로아릴은 5개 내지 약 12개의 골격 고리 원자들을 가진 융합된 헤테로아릴 및 비융합된 헤테로아릴뿐만 아니라, 5개 내지 약 10개의 골격 고리 원자들을 가진 융합된 헤테로아릴 및 비융합된 헤테로아릴도 포함한다. 헤테로아릴 기에의 결합은 탄소 원자 또는 헤테로원자를 통한 결합일 수 있다. 따라서, 비한정적인 예로서, 이미다졸 기는 그의 탄소 원자들 중 임의의 탄소 원자를 통해 모 분자에 부착될 수 있거나(이미다졸-2-일, 이미다졸-4-일 또는 이미다졸-5-일), 그의 질소 원자들 중 임의의 질소 원자를 통해 모 분자에 부착될 수 있다(이미다졸-1-일 또는 이미다졸-3-일). 마찬가지로, 헤테로아릴 기는 그의 탄소 원자들 중 임의의 또는 모든 탄소 원자, 및/또는 그의 헤테로원자들 중 임의의 또는 모든 헤테로원자를 통해 더 치환될 수 있다. 융합된 헤테로아릴 라디칼은 2개 내지 4개의 융합된 고리를 함유할 수 있고, 이때 부착의 고리는 헤테로방향족 고리이고, 다른 개별 고리는 지환족, 헤테로환족, 방향족, 헤테로방향족 또는 이들의 임의의 조합일 수 있다. 단일 고리 헤테로아릴 기의 비한정적인 예로는 피리딘이 있고; 융합된 고리 헤테로아릴 기는 벤즈이미다졸릴, 퀴놀리닐, 아크리디닐을 포함하고; 비융합된 비헤테로아릴 기는 비피리디닐을 포함한다. 헤테로아릴의 추가 예로는 푸라닐, 티에닐, 옥사졸릴, 아크리디닐, 아제피닐, 페나지닐, 벤즈이미다졸릴, 벤즈인돌릴, 벤조푸라닐, 벤조푸라노닐, 벤즈옥사졸릴, 벤조티아졸릴, 벤조티아디아졸릴, 벤조티오펜릴, 벤즈옥사디아졸릴, 벤조디옥솔릴, 벤조[*b*][1,4]디옥세피닐, 1,4-벤조디옥사닐, 벤조나프토프라닐, 벤조트리아졸릴, 벤조디옥솔릴, 벤조디옥시닐, 벤조피라닐, 벤조피라노닐, 벤조티에닐(벤조티오펜릴), 벤조[4,6]이미다조[1,2-*a*]피리디닐, 카바졸릴, 신놀리닐, 디벤조푸라닐, 디벤조티오펜릴, 푸라노닐, 이미다졸릴, 인돌릴, 이속사졸릴, 이소퀴놀리닐, 인돌리지닐, 인다졸릴, 이소인돌릴, 인돌리닐, 이소인돌리닐, 인돌리지닐, 이소티아졸릴, 이소인돌릴옥사디아졸릴, 인다졸릴, 나프티리디닐, 옥사디아졸릴, 2-옥소아제피닐, 옥시라닐, 1-옥시도피리디닐, 1-옥시도피리미디닐, 1-옥시도피라지닐, 1-옥시도피라다지닐, 1-페닐-1*H*-피롤릴, 페노티아지닐, 페독사지닐, 피리디닐, 피라다지닐, 피리미디닐, 피라지닐, 피롤릴, 피라지닐, 피라졸릴, 푸리닐, 프탈라지닐, 프테리디닐, 퀴놀리닐, 퀴나졸리닐, 퀴녹살리닐, 퀴누클리디닐, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 티아졸릴, 트리아지닐, 티아디아졸릴, 테트라하이드로퀴놀리닐, 티아졸릴 및 티오펜릴 등, 및 이들의 옥사이드, 예를 들면, 피리딘-N-옥사이드가 있으나, 이들로 한정되지 않는다. 헤테로아릴 기의 실례로는 하기 모이어티들이 있다:



[0394]

[0395]

모든 상기 기들은 치환될 수 있거나 비치환될 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "치환된"은 상기 기들 중 임의의

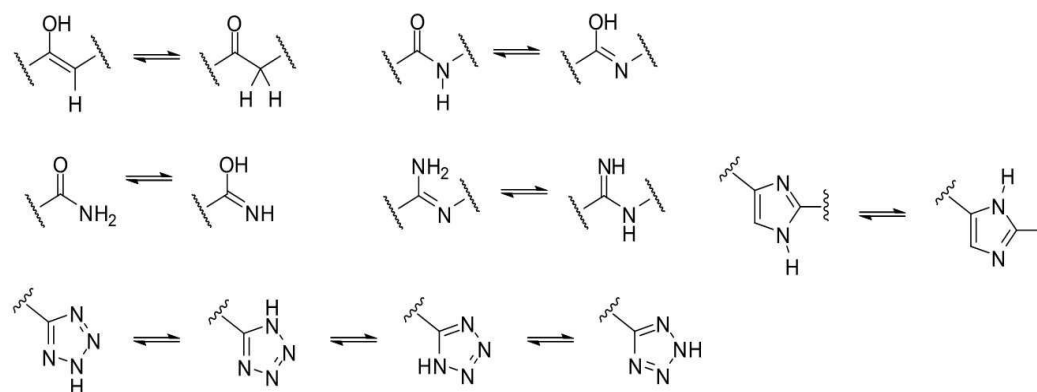
기(예를 들면, 알킬, 알킬렌, 알콕시, 아릴, 사이클로알킬, 할로알킬, 헤테로사이클릴 및/또는 헤테로아릴)가 더 작용화될 수 있고, 이때 적어도 1개의 수소 원자가 비-수소 원자 치환기에의 결합으로 대체된다는 것을 의미한다. 본 명세서에서 구체적으로 언급되어 있지 않은 한, 치환된 기는 하기 치환기들로부터 선택된 하나 이상의 치환기를 포함할 수 있다: 옥소, 아미노, $-CO_2H$, 니트릴, 니트로, 하이드록실, 티오옥시, 알킬, 알킬렌, 알콕시, 아릴, 사이클로알킬, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴, 디알킬아민, 아릴아민, 알킬아릴아민, 디아릴아민, 트리알킬암모늄($-N^+R_3$), N-옥사이드, 이미드 및 엔아민; 기, 예컨대, 트리알킬실릴 기, 디알킬아릴실릴 기, 알킬 디아릴실릴 기, 트리아릴실릴 기, 퍼플루오로알킬 또는 퍼플루오로알콕시, 예를 들면, 트리플루오로메틸 또는 트리플루오로메톡시의 규소 원자. 또한, "치환된"은 하나 이상의 수소 원자가 헤테로원자, 예컨대, 옥소, 카보닐, 카복실 및 에스테르 기의 산소; 및 기, 예컨대, 이민, 옥심, 하이드라존 및 니트릴의 질소;에의 고차 결합(예를 들면, 이중 또는 삼중 결합)으로 대체되어 있는 상기 기들 중 임의의 기를 의미한다. 예를 들면, "치환된"은 하나 이상의 수소 원자가 $-NH_2$, $-NR_gC(=O)NR_gR_h$, $-NR_gC(=O)OR_h$, $-NR_gSO_2R_h$, $-OC(=O)NR_gR_h$, $-OR_g$, $-SR_g$, $-SOR_g$, $-SO_2R_g$, $-OSO_2R_g$, $-SO_2OR_g$, $=NSO_2R_g$ 및 $-SO_2NR_gR_h$ 로 대체되어 있는 상기 기들 중 임의의 기를 포함한다. 상기 설명에서, R_g 와 R_h 는 동일하거나 상이하고 독립적으로 수소, 알킬, 알콕시, 알킬아미노, 티오알킬, 아릴, 아르알킬, 사이클로알킬, 사이클로알킬알킬, 할로알킬, 헤테로사이클릴, *N*-헤테로사이클릴, 헤테로사이클릴알킬, 헤테로아릴, *N*-헤테로아릴 및/또는 헤테로아릴알킬이다. 추가로, 상기 치환기들 각각은 상기 치환기들 중 하나 이상의 치환기로 임의적으로 치환될 수도 있다. 나아가, 상기 기들 중 임의의 기는 하나 이상의 내부 산소, 황 또는 질소 원자를 포함하도록 치환될 수 있다. 예를 들면, 알킬 기는 하나 이상의 내부 산소 원자로 치환되어 에테르 또는 폴리에테르 기를 형성할 수 있다. 유사하게, 알킬 기는 하나 이상의 내부 황 원자로 치환되어 티오 에테르, 디설파이드 등을 형성할 수 있다.

[0396]

용어 "임의적" 또는 "임의적으로"는 후속 기재된 사건 또는 환경이 일어날 수 있거나 일어나지 않을 수 있고 설명이 상기 사건 또는 환경이 일어나는 경우 및 일어나지 않는 경우를 포함한다는 것을 의미한다. 예를 들면, "임의적으로 치환된 알킬"은 상기 정의된 "알킬" 또는 "치환된 알킬"을 의미한다. 추가로, 임의적으로 치환된 기는 비치환될 수 있거나(예를 들면, $-CH_2CH_3$), 전체적으로 치환될 수 있거나(예를 들면, $-CF_2CF_3$), 단치환될 수 있거나(예를 들면, $-CH_2CH_2F$), 전체적으로 치환된 수준과 단치환된 수준 사이의 임의의 수준으로 치환될 수 있다(예를 들면, $-CH_2CHF_2$, $-CH_2CF_3$, $-CF_2CH_3$, $-CFHCHF_2$ 등). 하나 이상의 치환기를 함유하는 임의의 기에 대하여 당 분야에서 숙련된 자는 이러한 기가 입체적으로 비실용적이고/이거나 합성적으로 실현될 수 없는 임의의 치환 또는 치환 패턴을 도입하기 위한 것이 아니라는 것을 이해할 것이다(예를 들면, 치환된 알킬은 임의적으로 치환된 알킬 기를 잠재적으로 무제한적으로 포함하는 것으로서 정의되는, 임의적으로 치환된 사이클로알킬 기를 포함한다). 따라서, 기재된 임의의 치환기는 일반적으로 약 1,000 달톤, 보다 전형적으로 최대 약 500 달톤의 최대 분자량을 가진 것으로서 이해되어야 한다.

[0397]

"호변이성질체"는 한 분자의 한 원자로부터 동일한 분자의 또 다른 원자로의 양성자 이동을 의미한다. 본원에서 제공된 화합물은 호변이성질체로서 존재할 수 있다. 호변이성질체는 단일 결합 및 인접 이중 결합의 전환을 동반하는, 수소 원자의 이동에 의해 상호전환될 수 있는 화합물이다. 호변이성질체화가 가능한 결합 배열에서, 호변이성질체의 화학적 평형이 존재할 것이다. 본원에 개시된 화합물의 모든 호변이성질체 형태들이 예상된다. 호변이성질체의 정확한 비는 온도, 용매 및 pH를 포함하는 여러 요인에 의해 좌우된다. 호변이성질체 상호전환의 일부 예로는 하기 상호전환이 있다:



[0398]

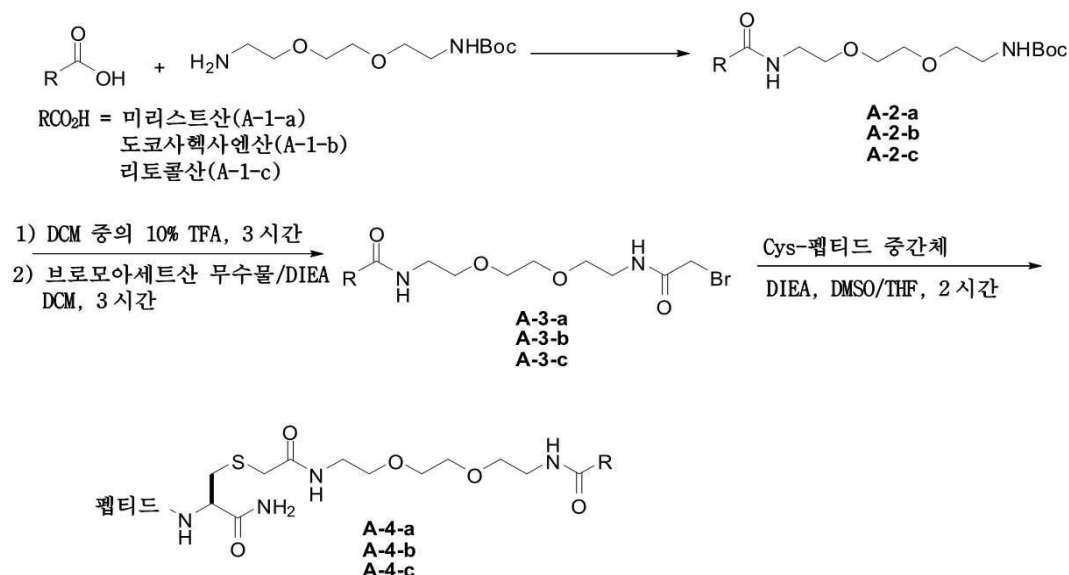
- [0399] 본원에 개시된 화합물의 "대사물질"은 화합물이 대사될 때 형성되는 그 화합물의 유도체이다. 용어 "활성 대사물질"은 화합물이 대사될 때 형성되는 화합물의 생물학적 활성 유도체를 의미한다. 본원에서 사용된 용어 "대사된"은 특정 물질이 유기체에 의해 변화되는 전체 과정(가수분해 반응 및 효소에 의해 촉진되는 반응, 예컨대, 산화 반응을 포함하나, 이들로 한정되지 않음)을 의미한다. 따라서, 효소는 화합물에 대한 특정 구조적 변경을 발생시킬 수 있다. 예를 들면, 사이토크롬 P450은 다양한 산화 및 환원 반응들을 촉진하는 반면, 유리된 디포스페이트 글루쿠로닐 트랜스퍼라제는 방향족 알코올, 지방족 알코올, 카복실산, 아민 및 유리 설프하이드릴 기로의 활성화된 글루쿠론산 분자의 전달을 촉진한다. 대사에 대한 추가 정보는 문헌(The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th Edition, McGraw Hill (1996))으로부터 입수될 수 있다. 본원에 개시된 화합물의 대사물질은 화합물을 숙주에게 투여하고 숙주로부터의 조직 샘플을 분석함으로써, 또는 시험관내에서 화합물을 간세포와 함께 향온처리하고 생성된 화합물을 분석함으로써 확인될 수 있다. 이들 방법들 둘 다가 당분야에서 잘 공지되어 있다. 화합물의 대사물질은 산화 과정에 의해 형성될 수 있고 상응하는 하이드록시 함유 화합물에 상응한다. 화합물은 하나 이상의 약리학적 활성 대사물질로 대사될 수 있다.
- [0400] 본원에서 사용될 때, 펩티드의 "유도체"는 지질 부착(예컨대, 하나 이상의 아미노산 잔기 대체 또는 L-아미노산 대 D-아미노산 대체)을 허용하는 변경된 펩티드, 단편, 하나 이상의 추가 아미노산을 가진 유사체, 복합체 및/또는 펩티드의 응집체를 의미하나, 이들로 한정되지 않는다. 펩티드의 유도체는 펩티드에 대한 적어도 50% 상동성을 가진 상동체일 수 있다. 펩티드의 유도체는 펩티드에 대한 적어도 60% 상동성을 가진 상동체일 수 있다. 펩티드의 유도체는 펩티드에 대한 적어도 70% 상동성을 가진 상동체일 수 있다. 펩티드의 유도체는 펩티드에 대한 적어도 80% 상동성을 가진 상동체일 수 있다. 펩티드의 유도체는 펩티드에 대한 적어도 90% 상동성을 가진 상동체일 수 있다.
- [0401] 기준 서열에 비해 아미노산 서열 또는 핵산 서열을 기술하기 위해 본원에서 사용될 때, 용어 "상동인", "상동성" 또는 "퍼센트 상동성"은 칼린(Karlin)과 알트슐(Altschul)에 의해 기재된 식[문헌(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 2264-2268, 1990), 문헌(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877, 1993)에서 변경됨]을 이용함으로써 측정될 수 있다. 이러한 식은 문헌(Altschul et al., J. Mol. Biol. 215: 403-410, 1990)의 기본 국소 정렬 검색 수단(BLAST) 프로그램 내로 도입된다. 본원의 출원일 현재 BLAST의 가장 최신 버전을 이용하여 서열의 퍼센트 상동성을 측정할 수 있다.
- [0402] "치료하는" 또는 "치료" 또는 "치료하기 위한" 또는 "완화시키는" 또는 "완화시키기 위한"과 같은 용어들은 1) 진단된 병리학적 상태 또는 장애를 치유하고/하거나, 낮추고/늦추거나, 이러한 상태 또는 장애의 증상을 경감시키고/시키거나, 이러한 상태 또는 장애의 진행을 중단시키는 치료적 조치; 및/또는 2) 표적화된 병리학적 상태 또는 장애의 발생을 예방하고/하거나 늦추는 예방적 또는 방지적 조치를 의미할 수 있다. 따라서, 치료를 필요로 하는 대상체는 장애를 이미 가진 대상체; 장애를 갖기 쉬운 대상체; 및 장애가 예방되어야 하는 대상체를 포함한다.
- [0403] "아미노산"은 천연 생성 아미노산 및 합성 아미노산뿐만 아니라, 천연 생성 아미노산과 유사하게 작용하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모방체도 의미한다. 천연 생성 아미노산은 유전 코드에 의해 코딩된 아미노산, 및 추후 변경된 아미노산, 예를 들면, 하이드록시프롤린, 감마-카복시글루탐에이트 및 O-포스포세린이다. 아미노산 유사체는 천연 생성 아미노산과 동일한 기본 화학적 구조, 예를 들면, 수소에 결합되어 있는 알파 탄소, 카복실기, 아미노기 및 R 기를 가진 화합물, 예를 들면, 호모세린, 노르류신, 메티오닌 설폭사이드, 메티오닌 메틸설포늄을 의미한다. 이러한 유사체는 변경된 R 기(예를 들면, 노르류신) 또는 변경된 펩티드 골격을 가질 수 있으나, 천연 생성 아미노산과 동일한 기본 화학적 구조를 유지할 수 있다. 아미노산 모방체는 아미노산의 일반 화학적 구조와 상이한 구조를 갖지만 천연 생성 아미노산과 유사하게 작용하는 화합물을 의미한다.
- [0404] 본원에서 사용될 때, 용어 "치료제" 또는 "펩티드 치료제"는 또 다른 단백질, 펩티드, 세포 또는 조직의 활성을 조절하는 단백질 또는 펩티드를 의미한다. 활성의 조절은 단백질, 펩티드, 세포 또는 조직의 활성 또는 발현의 증가, 감소, 자극 또는 방해를 포함할 수 있다. 치료제는 질환 또는 장애의 병인에 관련된 단백질 또는 펩티드의 활성을 조절할 수 있다. 예시적인 TA는 호르몬, 키나제, 수용체, 리간드, 성장 인자, 조절 단백질, 대사 단백질, 사이토키인, 케모카인, 인터페론, 포스파타제, 항체 또는 이들의 임의의 조합의 적어도 부분을 포함할 수 있으나, 이들로 한정되지 않는다.
- [0405] "장애" 또는 "질환"은 본원에 개시된 물질/분자(예를 들면, 본원에 개시된 변형된 치료제) 또는 방법을 사용한 치료로부터 이익을 얻을 상태를 의미한다. 이것은 포유동물이 해당 장애에 잘 걸리게 하는 병리학적 상태를 포함하는 만성 장애 또는 질환 및 급성 장애 또는 질환을 포함한다.

- [0406] "치료"는 치료되는 개체 또는 세포의 천연 과정을 변경시키기 위한 시도에서의 임상적 중재를 의미하고, 예방을 위해 또는 임상병리학 과정 동안 수행될 수 있다. 치료의 바람직한 효과는 질환의 발생 또는 재발의 예방, 증상의 완화, 질환의 임의의 직접적인 또는 간접적인 병리학적 결과의 감소, 전이의 예방, 질환 진행 속도의 감소, 질환 상태의 호전 또는 경감, 및 관해 또는 개선된 예후를 포함한다.
- [0407] 치료를 목적으로 하는 "포유동물"은 인간, 설치류(예를 들면, 마우스 및 래트) 및 원숭이; 가축 및 농장 동물; 및 동물원, 스포츠, 실험실 또는 애완 동물, 예컨대, 개, 고양이, 소, 말, 양, 돼지, 염소, 토끼 등을 포함하는, 포유동물로서 분류되는 임의의 동물을 의미한다. 일부 실시양태에서, 포유동물은 인간, 설치류 또는 원숭이로부터 선택된다.
- [0408] "약학적으로 허용가능한"은 연방정부 또는 주정부의 규제 관청에 의해 승인되었거나 승인될 수 있다는 것, 또는 미국 약전 또는 인간을 포함하는 동물에서의 사용에 대해 일반적으로 인정된 다른 약전에 나열되어 있다는 것을 의미한다.
- [0409] "약학적으로 허용가능한 염"은 약학적으로 허용가능하고 모 화합물의 원하는 약리학적 활성을 가진 화합물의 염을 의미한다.
- [0410] "약학적으로 허용가능한 부형제, 담체 또는 보조제"는 본 개시의 적어도 하나의 항체와 함께 대상체에게 투여될 수 있고 그의 약리학적 활성을 파괴하지 않고 치료 양의 화합물을 전달하기에 충분한 용량으로 투여될 때 독성을 나타내지 않는 부형제, 담체 또는 보조제를 의미한다.
- [0411] "약학적으로 허용가능한 비히클"은 본 개시의 적어도 하나의 항체와 함께 투여되는 희석제, 보조제, 부형제 또는 담체를 의미한다.
- [0412] 용어 "변형된 치료제", "지질 접합체" 및 "LC"는 상호교환적으로 사용될 수 있다. 이들 용어들은 반감기 연장 모이어티에 부착된 치료제(TA)를 의미할 수 있다.
- [0413] **실시예**
- [0414] **실시예 1. 릴렉신 유사체의 유전자 구축 및 발현**
- [0415] 중합효소 순환 조립을 통해 삽입물을 제조하였는데, 이때 정방향 프라이머 및 역방향 프라이머는 어닐링되어 DNA 단편을 생성하였고, 이 단편은 정방향 말단 프라이머 및 역방향 말단 프라이머에 의해 더 풍부해졌다. 그 다음, 증폭된 단편을 제한 분해 효소(NdeI/KpnI)로 분해하였다. 그 다음, 제조된 삽입물을, T7 프로모터 및 터미네이터의 조절 하에서 PET 골격을 가진 벡터 내로 라이게이션시켰다(예를 들면, 도 4 참조). 그 후, 코딩된 DNA 단편을 DNA 서열분석으로 확인하였다. 발현을 위해, 릴렉신 구축물을, araBAD 프로모터의 조절 하에서 게놈 T7 RNA 중합효소 유전자를 가진 K12 이. 콜라이(W3110의 유도체) 내로 형질전환시켰다. 형질전환된 이. 콜라이 세포를 격렬히 진탕하면서(250 rpm) 37°C에서 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 카나마이신으로 보충된 LB에서 OD600nm = 0.8까지 배양하였다. 유전자의 발현을 유도하기 위해, L-아라비노스 저장 용액(H_2O 중의 20%w/v)을 0.2%의 최종 농도까지 첨가하였고, 세포를 5시간 동안 37°C에서 250 rpm에서 진탕하면서 연속적으로 항온처리하였다. 그 후, 세포를 원심분리(6000 rpm, 15분)로 수거하였다. 봉입체의 준비를 실시예 18에 기재된 바와 같이 수행하였다.
- [0416] **실시예 2. 릴렉신 펩티드의 생체활성의 측정**
- [0417] 릴렉신 2는 류신 풍부 반복부 함유 GPCR(즉, LGR7(RFXR1))을 통해 신호를 전달한다. 제조한 LGR7을 안정하게 발현하는 HEK293T 세포에서 아테닐레이트 사이클라제 활성의 자극을 기초로 야생형 릴렉신 펩티드의 생체활성을 측정하였다. 안정한 LGR7 발현 세포를 200 ng/ml 제오신(Zeocin)(Invitrogen)으로 보충된 둘베코 변경된 이글 배지/F-12 배지에서 유지하였다. 환형 AMP 반응성 요소 유도 루시퍼라제(CRE-Luc) 렌티바이러스(Qiagen)를 사용한 이들 LGR7 발현 HEK293T 세포의 렌티바이러스 형질도입으로 CRE-Luc 레포터 세포주를 생성하였고 2주 동안 푸로마이신(2 $\mu\text{g}/\text{ml}$)으로 선택하였다. 레포터 유전자 어레이를 이용하여 cAMP 수준 및 릴렉신에 의한 LGR7 활성화를 검출하였다.
- [0418] 어레이 세부설명: LGR7 및 CRE-Luc를 발현하는 HEK293T 세포를 384웰 고체 바닥 백색 플레이트에서 10% FBS를 함유하는 50 μl 둘베코 변경된 이글 배지/F-12 배지에 웰당 5×10^3 개 세포의 밀도로 시딩한다. 세포를 37°C에서 하룻밤 동안 예비항온처리한다. 상이한 농도(0.01 nM 내지 1000 nM)의 릴렉신 펩티드를 삼중으로 첨가하고 18시간 동안 항온처리하였고, 10 μl 의 브라이트 글로(Bright Glo)(Promega)를 첨가함으로써 루시퍼라제 활성을 검출하였다. 발광도를 엔비전(Envision)(Perkin Elmer) 상에서 기록하였다. 비선형 곡선 피팅 후 EC₅₀을 계산한다

(틸렉신 H2 용량 반응 곡선에 대해 도 2 참조). 선택된 데이터는 표 3 및 도 14 내지 18에 표시되어 있다.

[0419] 실시예 3. 폐길화된 지질 (아미드 결합) 접합된 틸렉신의 합성(반응식 A)

[0420] 반응식 A



[0421] *tert*-부틸 (2-(2-(2-테트라테칸아미도에톡시)에톡시)에틸)카바메이트(A-2-a)

[0422] *N*-*t*-Boc-아미도-dPEG3-아민(0.5 g, 2.0 mmol)을 10 ml 무수 DMF 중의 미리스트산(0.46 g, 2.0 mmol) 용액에 첨가한 후, HATU(0.8 g, 2.1 mmol) 및 DIPEA(0.45 ml, 2.4 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 6시간 동안 교반하였고 용매를 진공에서 증발시켰다. 미정제 물질을 EtOAc에 용해시키고 냉각된 1% HCl, 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조하고 여과하고 농축하였다. 미정제 물질을, 헥산 중의 구배 25-50% EtOAc를 사용하는 실리카 겔 상에서의 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 백색 고체로서 0.83 g의 원하는 화합물(수율 90%)을 제공하였다. m/z(ESI+) 459.6 (M+H).

[0423] *tert*-부틸 (2-(2-(2-((4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-도코사-4,7,10,13,16,19-헥사엔아미도)에톡시)에톡시)에틸)카바메이트(A-2-b)

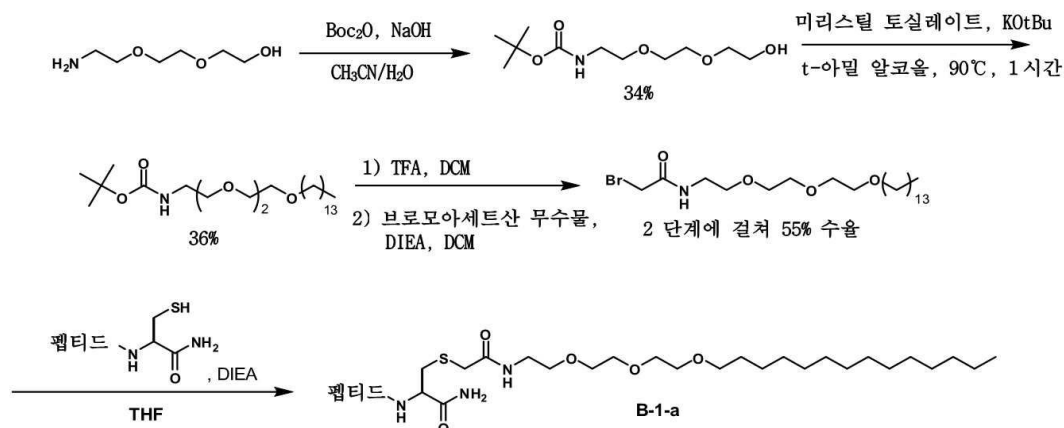
[0424] 무수 DMF(5 ml) 중의 *N*-*t*-Boc-아미도-dPEG3-아민(0.25 g, 1.0 mmol), 도코사헥사엔산(0.33 g, 1.0 mmol), HATU(0.41 g, 1.1 mmol) 및 DIPEA(0.22 ml, 1.2 mmol)를 사용하는, A-2-a에 대한 절차와 유사한 조건을 사용하여 표제 화합물을 제조하였다. 수율 68%, 갈색 오일. ¹H NMR (500 MHz; CDCl₃): δ 0.97 (t, J = 6.0 Hz, 3H), 1.44 (s, 9H), 2.07 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 2.25 (J = 5.0 Hz, 2H), 2.41 (dd, J = 5.0, 6.5 Hz, 2H), 2.79-2.87 (m, 10H), 3.32 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 3.45 (dd, J = 5.0, 6.0 Hz, 2H), 3.55 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 3.59-3.62 (m, 4H), 4.97 (s, 1H), 5.30-5.42 (m, 12H), 6.03 (s, 1H); m/z(ESI+) 459.6 (M+H).

[0425] *tert*-부틸 (2-(2-(2-((R)-4-((3R,5R,8R,9S,10S,13R,14S,17R)-3-하이드록시-10,13-디메틸헥사데카하이드로-1H-사이클로펜타[a]페난트렌-17-일)펜탄아미도)에톡시)에톡시)에틸)카바메이트(A-2-c)

[0426] *N*-*t*-Boc-아미도-dPEG3-아민(0.14 g, 0.55 mmol)을 15 ml 무수 DMF 중의 NHS-활성화된 리토콜산 에스테르(0.24 g, 0.5 mmol) 용액에 첨가한 후, DIPEA(0.18 ml, 1.0 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였고, 용매를 진공에서 증발시켰다. 미정제 물질을 DCM에 용해시키고 냉각된 1% HCl, 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조하고 여과하고 농축한다. 미정제 물질을, DCM 중의 구배 1-5% 메탄올을 사용하는 실리카 겔 상에서의 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 백색 고체로서 0.48 g의 원하는 화합물(수율 80%)을 제공하였다. ¹H NMR (500 MHz; CDCl₃): δ 0.62 (s, 3H), 0.90-2.25 (m, 30H), 3.31 (s, 2H), 3.43-3.46 (s, 2H), 3.52-3.56 (m, 4H), 3.59-3.60 (m, 6H), 4.94 (s, 1H), 6.05 (s, 1H); m/z(ESI+) 628.6(M+H). m/z(ESI+) 607.5 (M+H).

- [0428] *N*-(2-(2-(2-(2-브로모아세트아미도)에톡시)에톡시)에틸)테트라데칸아미드(A-3-a)
- [0429] TFA(2 ml, 26 mmol)를 10 ml DCM 중의 A-2-a(0.46 g, 1 mmol) 용액에 첨가하였고, 혼합물을 3시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 농축하였고, 미정제 물질을 동결건조하여, 10 ml DCM에 용해된 무색 오일을 수득하였다. 브로모아세트산 무수물(0.31 g, 1.2 mmol)에 이어 DIPEA(0.52 ml, 2.5 mmol)를 첨가하였고, 혼합물을 3시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 DCM 및 EtOAc로 추출하고 1% HCl, 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하고 Na₂SO₄ 상에서 건조하고 여과하고 농축하였다. 미정제 물질을, 5% 메탄올을 가진 석유 에테르 중의 구배 20-50% EtOAc를 사용하는 실리카 겔 상에서의 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 백색 고체로서 0.37 g의 원하는 화합물(2 단계에 걸쳐 합쳐진 수율, 78%)을 수득하였다. ¹H NMR (500 MHz; CDCl₃): δ 0.88 (t, J = 6.5 Hz, 3H), 1.25-1.32 (m, 20H), 1.62 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.18 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 3.47 (dd, J = 5.0, 10.0 Hz, 2H), 3.50 (dd, J = 5.0, 10.0 Hz, 2H), 3.56-3.58 (m, 2H), 3.59-3.62 (m, 2H), 3.63 (d, J = 5.5 Hz, 5H), 3.88 (s, 2H), 5.92-5.93 (m, 1H), 6.94 (s, 1H); 7.04-7.17 (m, 1H); ¹³C NMR (100 MHz; CDCl₃): δ 14.55, 23.12, 26.20, 29.76, 29.79, 29.95, 30.06, 30.08, 30.09, 30.11, 32.35, 37.23, 69.84, 70.46, 70.83 (2), 166.06, 173.84; m/z (ESI+) 480.6 (M+H).
- [0430] (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-*N*-(2-(2-(2-(2-브로모아세트아미도)에톡시)에톡시)에틸)도코사-4,7,10,13,16,19-헥사엔아미드(A-3-b)
- [0431] A-3-a에 대한 절차와 유사한 조건을 사용하여 표제 화합물을 제조하였다. 수율 67%, 갈색 오일. ¹H NMR (500 MHz; CDCl₃): δ 0.96 (t, J = 5.0 Hz, 3H), 2.07 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 2.23 (J = 7.2 Hz, 2H), 2.40 (dd, J = 7.2, 13.8 Hz, 2H), 2.79-2.84 (m, 10H), 3.44-3.51 (m, 4H), 3.55-3.62 (m, 4H), 3.63 (s, 4H), 3.88 (s, 2H), 5.78-5.42 (m, 12H), 5.94 (s, 1H), 6.92 (s, 1H); m/z(ESI+) 559.8 (M+H).
- [0432] (*R*)-*N*-(2-(2-(2-(2-브로모아세트아미도)에톡시)에톡시)에틸)-4-((3*R*,5*R*,8*R*,9*S*,10*S*,13*R*,14*S*,17*R*)-3-하이드록시-10,13-디메틸헥사데카하이드로-1*H*-사이클로펜타[a]펜난쓰렌-17-일)펜탄아미드(A-3-c)
- [0433] A-2-a를 A-2-c로 대체하면서 A-3-a에 대한 절차와 유사한 조건을 사용하여 표제 화합물을 제조하였다. 수율 87%, 백색 고체. ¹H NMR (500 MHz; CDCl₃): δ 0.83 (t, J = 4.0 Hz, 3H), 0.85-0.94 (m, 6H), 1.00-1.91 (m, 28H), 3.41-3.64 (m, 12H), 3.85-3.88 (m, 2H), 4.86-4.94 (m, 1H), 6.05 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 7.04 (s, 1H); m/z(ESI+) 628.6(M+H).
- [0434] 지방산 또는 담즙산으로 유도체화된 펩티드의 합성(A-4-a, A-4-b 또는 A-4-c)
- [0435] Cys 펩티드 중간체(1 당량)를 DMSO에 용해시키고 THF에 용해된 A-3-a, A-3-b 또는 A-3-c(2 당량) 중 어느 하나와 반응시킨 후, DIPEA(3 부피%)를 첨가한다. 반응 완료를 HPLC-MS로 평가한다. TFA를 4의 최종 pH까지 첨가함으로써 반응을 퀀칭하고, 용출제 (A) 물 중의 0.05% TFA 및 (B) 아세트니트릴 중의 0.05% TFA, 및 용출제 (B)에 대한 하기 구배를 사용하는 분취 역상 HPLC로 직접적으로 정제한다: 10%(1분) 40-55%(10분), 유속 80 ml/분. 정제된 펩티드를 동결건조하고, 구조 및 순도를 분석 HPLC 및 전기분무 질량 분광측정으로 확인한다.
- [0436] 실시예 4. 폐길화된 지질(에테르 결합) 접합된 릴렉신의 합성(반응식 B-1 및 B-2)

[0437] 반응식 B-1



[0438]

[0439]

4.8 ml 아세토니트릴/물(6:1) 중의 2-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)에탄올(100 mg, 0.671 mmol, 89 μl) 용액을 디-*tert*-부틸 디카보네이트(151 mg, 0.691 mmol)로 처리한 후, 0.5 ml의 1 N NaOH(수성)로 처리하였다. 45분 동안 실온에서 교반한 후, 유기 용매를 진공에서 제거하였고, 잔사를 포화된 NH_4Cl (수성)에 용해시켰고, 원하는 카바메이트를 EtOAc로 추출하였다. EtOAc의 제거는 무색 오일로서 57 mg(34% 수율)의 *tert*-부틸 2-(2-(2-하이드록시에톡시)에톡시)에틸카바메이트를 제공하였다.

[0440]

1.4 ml *t*-아밀 알코올 중의 *tert*-부틸 2-(2-(2-하이드록시에톡시)에톡시)에틸카바메이트(68.5 mg, 0.275 mmol) 및 미리스틸 토실레이트(101 mg, 0.275 mmol)의 용액을 칼럼 *tert*-부톡사이드(61.6 mg, 0.550 mmol) 및 요오드화칼륨(4.6 mg, 0.028 mmol)으로 처리하였다. 2시간 동안 90°C 까지 가열한 후, 반응을 실온까지 냉각시키고 포화된 NH_4Cl (수성)으로 켄칭한 후, EtOAc로 추출하고 Na_2SO_4 상에서 건조하였다. 실리카 겔 상에서의 플래쉬 컬럼 크로마토그래피를 통한 농축 및 후속 정제는 무색 오일로서 44 mg(36% 수율)의 *tert*-부틸 2-(2-(2-(테트라데실옥시)에톡시)에톡시)에틸카바메이트를 제공하였다.

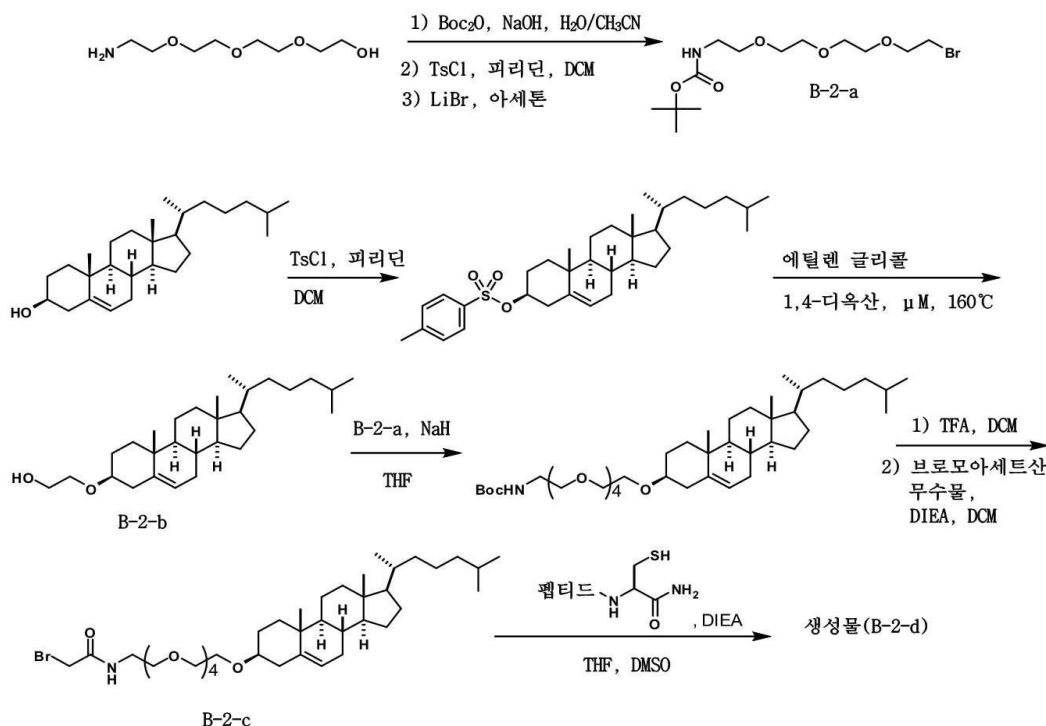
[0441]

1.2 ml DCM 중의 *tert*-부틸 2-(2-(2-(테트라데실옥시)에톡시)에톡시)에틸카바메이트(26 mg, 0.058 mmol) 용액을 0.29 ml의 트리플루오로아세트산으로 처리하였다. 50분 동안 실온에서 교반한 후, 혼합물을 농축하고 2 ml DCM에 다시 용해시켰다. 이 용액의 1 ml 분취물을 별도의 바이알 내로 채취하였고, 이 바이알을 0°C 까지 냉각시킨 후 브로모아세트산 무수물(10.3 mg, 0.040 mmol) 및 DIPEA(11 μl , 0.063 mmol)로 충전시켰다. 12시간 동안 실온에서 교반한 후, 플래쉬 컬럼 크로마토그래피를 통해 반응 혼합물을 정제하여 회백색 고체로서 7.5 mg(2 단계에 걸쳐 55% 수율)의 2-브로모-*N*-(2-(2-(2-(테트라데실옥시)에톡시)에톡시)-에틸)아세트아미드를 제공하였다.

[0442]

DMSO(4 mM) 중의 Cys-펩티드 중간체(1 당량) 용액을 THF(5.4 mM) 및 DIPEA(114 당량) 중의 2-브로모-*N*-(2-(2-(2-(테트라데실옥시)에톡시)에톡시)-에틸)아세트아미드(2.1 당량)로 처리한다. 반응 완료 시, 반응 혼합물을 분취 역상 HPLC로 정제하여 지질 접합체를 제공한다(B-1-a).

[0443] 반응식 B-2



[0444]

[0445] *tert*-부틸 2-(2-(2-(2-브로모에톡시)에톡시)에톡시)에틸카바메이트(B-2-a)

[0446] 15 ml 아세토니트릴/물(6:1) 중의 2-(2-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)에톡시)에탄올(400 mg, 2.07 mmol, 0.33 ml) 용액을 *tert*-부틸 디카보네이트(603 mg, 2.77 mmol)로 처리한 후, 2.8 ml의 1 N NaOH(수성)로 처리하였다. 45분 동안 실온에서 교반한 후, 유기 용매를 진공에서 제거하였고, 잔사를 포화된 NH_4Cl (수성)에 용해시켰고, 원하는 카바메이트를 EtOAc로 추출하였다. EtOAc의 제거는 무색 오일로서 미정제 카바메이트를 제공하였다.

[0447] 이 오일을 DCM에 용해시키고 *p*-톨루엔설포닐 클로라이드(1.18 g, 6.21 mmol) 및 피리딘(0.84 ml, 10.4 mmol)으로 처리하였다. 12시간 동안 40°C 에서 교반한 후, 혼합물을 DCM으로 희석하고 1 N HCl(2 x 10 ml), H_2O (10 ml) 및 염수(10 ml)로 세척한 후, Na_2SO_4 상에서 건조하고 농축하였다. 실리카 겔 상에서의 플래쉬 컬럼 크로마토그래피를 통한 정제는 무색 오일로서 330 mg(2 단계에 걸쳐 36% 수율)의 토실레이트를 제공하였다.

[0448] 3.1 ml 무수 아세톤 중의 토실레이트(203 mg, 0.453 mmol) 용액을 LiBr(385 mg, 4.53 mmol)로 처리하였다. 8시간 동안 60°C 에서 교반한 후, 용매를 제거하였고, 생성된 잔사를 EtOAc에 용해시켰다. 유기 혼합물을 물로 세척하고 MgSO_4 상에서 건조하고 여과하고 농축하였다. 실리카 겔 상에서의 플래쉬 컬럼 크로마토그래피를 통한 정제는 무색 오일로서 126 mg(78% 수율)의 표제 화합물을 제공하였다.

[0449] 2-((3*S*, 8*S*, 9*S*, 10*R*, 13*R*, 14*S*, 17*R*)-10, 13-디메틸-17-(6-메틸헵탄-2-일)-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-테트라데카하이드로-1*H*-사이클로펜타[*a*]페난트렌-3-일옥시)에탄올(B-2-b)

[0450] 4 ml DCM 중의 콜레스테롤(1.50 g, 3.89 mmol) 용액을 *p*-톨루엔설포닐 클로라이드(1.49 g, 7.78 mmol), 피리딘(4 ml) 및 DMAP(94.9 mg, 0.780 mmol)로 처리하였다. 12시간 동안 실온에서 교반한 후, 혼합물을 DCM으로 희석하고 1 N HCl(2 x 5 ml), H_2O (5 ml) 및 염수(5 ml)로 세척한 후, Na_2SO_4 상에서 건조하고 진공에서 농축하였다. 클로로포름 및 메탄올로부터의 재결정화는 백색 고체로서 1.66 g(79% 수율)의 토실레이트 중간체를 제공하였다.

[0451] 7.7 ml 1,4-디옥산 중의 토실레이트 중간체(500 mg, 0.926 mmol)로 충전된 마이크로파 바이알을 2.6 ml의 에틸렌 글리콜로 처리하였다. 10분 동안 마이크로파 조사로 160°C 까지 가열한 후, 용매를 제거하였고, 잔사를 클로로포름에 용해시키고 포화된 NaHCO_3 (5 ml), H_2O (5 ml) 및 염수(5 ml)로 세척한 후, Na_2SO_4 상에서 건조하고 진공에서 농축하였다. 실리카 겔을 사용하는 플래쉬 컬럼 크로마토그래피에 의한 미정제 물질의 정제는 백색 고체로서 270 mg(68% 수율)의 표제 화합물을 제공하였다.

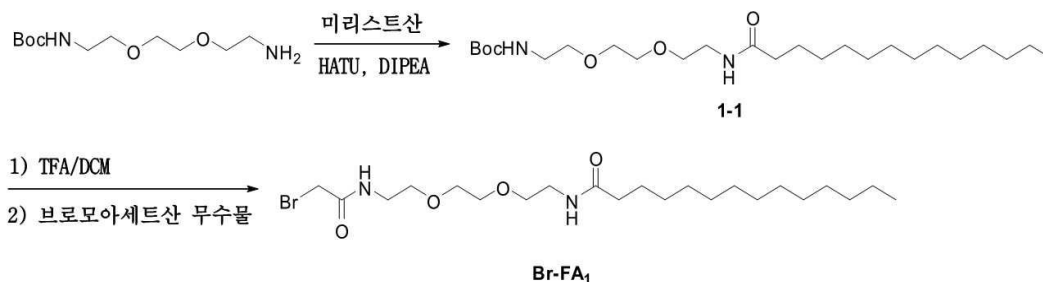
[0452] 2-브로모-*N*-(14-((3*S*, 8*S*, 9*S*, 10*R*, 13*R*, 14*S*, 17*R*)-10, 13-디메틸-17-(6-메틸헵탄-2-일)-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-테트라데카하이드로-1*H*-사이클로펜타[*a*]페난트렌-3-일옥시)-3, 6, 9, 12-테트라옥사테트라데실)아세트아미드(B-2-c)

[0453] 2.5 ml THF 중의 B-2-b(219 mg, 0.509 mmol) 용액을 수소화나트륨(광유 중의 60% 분산액, 20.4 mg, 0.509 mmol)으로 처리하고 30분 동안 교반하였다. 혼합물을 0℃까지 냉각시키고 2.5 ml THF 중의 B-2-a(139 mg, 0.392 mmol)로 처리하였다. 6시간 동안 40℃까지 가열한 후, 반응을 포화된 NH₄Cl(수성)으로 퀀칭하고 EtOAc로 추출하였다. 실리카 겔을 사용하는 플래쉬 컬럼 크로마토그래피에 의한 미정제 물질의 정제는 무색 오일로서 101 mg(36% 수율)의 에테르 중간체를 제공하였다.

[0454] 2.1 ml DCM 중의 에테르 중간체(74 mg, 0.105 mmol) 용액을 0.53 ml의 TFA로 처리하였다. 40분 동안 실온에서 교반한 후, 혼합물을 진공에서 농축하고 10 ml DCM에 용해시켰다. 이 용액의 4 ml 분취물을 별도의 바이알 내로 채취하고 1 ml 부피까지 농축하고 0℃까지 냉각시키고 브로모아세트산 무수물(13.6 mg, 0.053 mmol) 및 DIPEA(15 μl, 0.088 mmol)로 충전하였다. 12시간 동안 실온에서 교반한 후, 반응 혼합물을 실리카 겔을 사용하는 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 직접적으로 정제하여 무색 오일로서 12.6 mg(2 단계에 걸쳐 41%)의 표제 화합물을 제공하였다.

[0455] 지질 접합체 B-2-d는 실시예 4의 반응식 B-1의 지질 접합체 B-1-a와 유사한 방식으로 제조된다.

[0456] **실시예 5. Br-FA₁의 제조**



[0457]

[0458] 단계 A. *tert*-부틸 (2-(2-(2-테트라데칸아미도에톡시)에톡시)에틸)카바메이트(1-1)

[0459] 미리스틴산(0.46 g, 2 mmol)을 5 ml의 DMF에 용해시켰다. HATU(0.8 g, 2.1 mmol) 및 DIPEA(0.4 ml, 2.2 mmol)를 첨가한 후, Boc-NH-PEG2-COOH(0.5 g, 2 mmol)를 첨가하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 6시간 동안 교반하였고, 용매를 제거하였다. 생성물을 EtOAc(3 x 15 ml)로 추출하였다. 유기층을 포화된 NaHCO₃, 냉각된 HCl(1 M) 및 염수로 연속적으로 세척하고 Na₂SO₄ 상에서 건조하고 여과하고 농축하였다. 실리카 겔 상에서의 플래쉬 컬럼 크로마토그래피에 의한 정제는 90% 생성물 수율로 백색 고체로서 0.81 g의 원하는 화합물을 제공하였다. ESI-MS: 계산치 MW 458.4; 실측치 459.6 [M+1]⁺.

[0460] 단계 B. *N*-(2-(2-(2-(2-브로모아세트아미도)에톡시)에톡시)에틸)테트라데칸아미드(Br-FA₁)

[0461] DCM(10 ml) 중의 1-1(0.23 g, 0.5 mmol) 용액을 2시간 동안 TFA(2 ml)로 처리하였다. 혼합물을 농축한 후, 0℃에서 10 ml DCM 중의 브로모아세트산 무수물(0.14 g, 0.55 mmol) 및 DIPEA(0.17 ml, 1 mmol)를 첨가하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 2시간 동안 교반하였고, 용매를 제거하였다. 생성물을 EtOAc(3 x 15 ml)로 추출하였다. 유기층을 포화된 NaHCO₃, 냉각된 HCl(1 M) 및 염수로 연속적으로 세척하고 Na₂SO₄ 상에서 건조하고 여과하고 농축하였다. 실리카 겔 상에서의 플래쉬 컬럼 크로마토그래피에 의한 정제는 83% 생성물 수율로 백색 고체로서 0.2 g의 표제 화합물을 제공하였다. ESI-MS: 계산치 MW 479.5; 실측치 480.4 [M+1]⁺.



[0465] DMF 중의 피페리딘(20%, 5 ml)을 이 수지(50 mg, 40 μ mol)에 첨가하였다. 혼합물을 1분 동안 진탕하고 배수시켰다. 또 다른 5 ml의 20% 피페리딘을 첨가하였고, 이번에 혼합물을 15분 동안 진탕하였다. 양성 니하이드린 검사가 관찰되었다. 그 다음, 수지를 전술된 바와 같이 세척하였다.

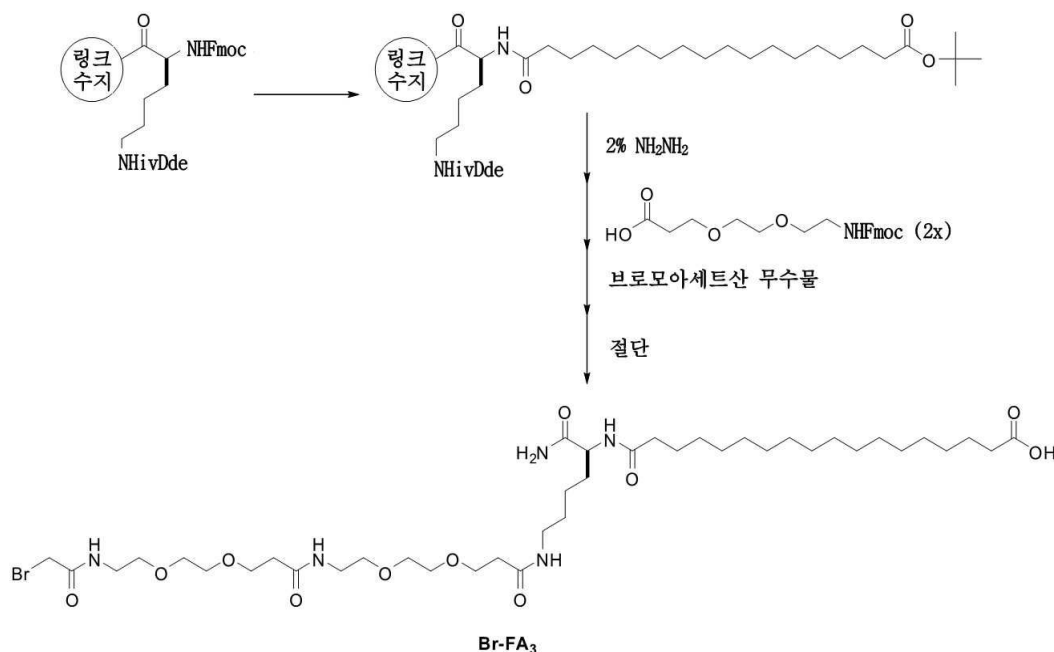
[0467] 그 다음, 2시간 동안 DMF(5 ml) 중의 HATU(76 mg, 200 μ mol) 및 DIPEA(35 μ l, 200 μ mol)를 사용하여 수지를 Fmoc-PEG2-프로피온산(Quanta BioDesign)(80 mg, 200 μ mol)으로 처리하였거나, 음성 다프트린 검사가 관찰 될 때까지 반복하였다. 그 후, 수지를 전술된 바와 같이 세척하였다. 그 다음, 보호기를 제거하고 상기 단계를 반복한다.

[0468] 그 후, 수지를 2 ml DCM 중의 브로모아세트산 무수물(55 mg, 200 μ mol) 및 DIPEA(35 μ l, 200 μ mol)로 처리하고 30분 동안 교반하였다. DCM(3x)으로 세척한 후, 1시간 동안 10% H₂O 및 10% 트리이소프로필살란을 함유하는 DCM 중의 5 ml 10% TFA를 사용하여 생성물을 수지로부터 절단하였다. 절단 후, TFA를 감압 하에서 제거하였다. 생성된 황색 잔사를 냉각된 디에틸 에테르로 수회 세척하였고 질소 유동 하에서 황색 분말로서 미정제 생성물까지 최종적으로 건조하였다.

[0469] 50 mg의 미정제 생성물을 물(0.1% TFA) 중의 최대 0.5 ml 50% CH₃CN에 용해시키고자 하는 노력은 성공적이지 못하였다. 따라서, 대안으로서, 미정제 펩티드(50 mg)를 DMSO(0.1 ml)에 용해시켰고, 이 용액을 50% CH₃CN-물로 0.5 ml의 최종 부피까지 희석하였다. 용액을 여과하였다. 여과된 용액을 물(0.1% TFA) 중의 10% CH₃CN(0.1% TFA)로 평형화된 분취 HPLC 컬럼(Phenomenex, Prep C18, 300A, 50 x 250 mm) 상에 적재하였고, 컬럼을 물(0.1% TFA) 중의 10% CH₃CN(0.1% TFA)로 용출하여 컬럼으로부터 DMSO를 세척하였다. 그 다음, 용출제의 조성을 1분에 걸쳐 35% CH₃CN-물(0.1% TFA)까지 증가시켰고, 선형 구배를 물(0.1% TFA) 내로의 CH₃CN(0.1% TFA)의 0.5%/분의

속도로 시작하고 50분 동안 실시하였다. 용출된 분획을 분석 역상 C18 컬럼(Phenomenex, C18, 120A, 4.6 x 50 mm) 상에서 순도에 대해 확인하였고, 95% 초과 순도로 생성물을 함유하는 분획을 모아 동결건조하여 표제 화합물(15 mg, 41% 수율)을 제공하였다. 생성물의 분자량을 ESI-MS로 분석하였다: 계산치 MW 880.9; 실측치 881.3 $[M+1]^+$, 882.6 $[M+2]^+$.

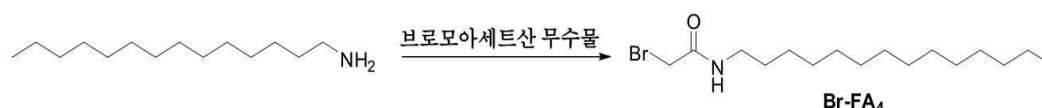
[0470] 실시예 7. Br-FA₃의 고체상 합성



[0471]

[0472] 2-클로로트리틸 클로라이드 수지를 링크 아마이드 수지로 치환시킴으로써 Br-FA₂와 유사한 방식으로 표제 화합물을 제조하였다. 분취 HPLC에 의한 정제 및 동결건조는 약 45% 생성물 수율로 95% 초과 순도를 가진 백색 분말로서 표제 화합물을 제공하였다. 펩티드의 분자량을 ESI-MS로 분석하였다: 계산치 MW 881.0; 실측치 882.2 $[M+1]^+$, 883.7 $[M+2]^+$.

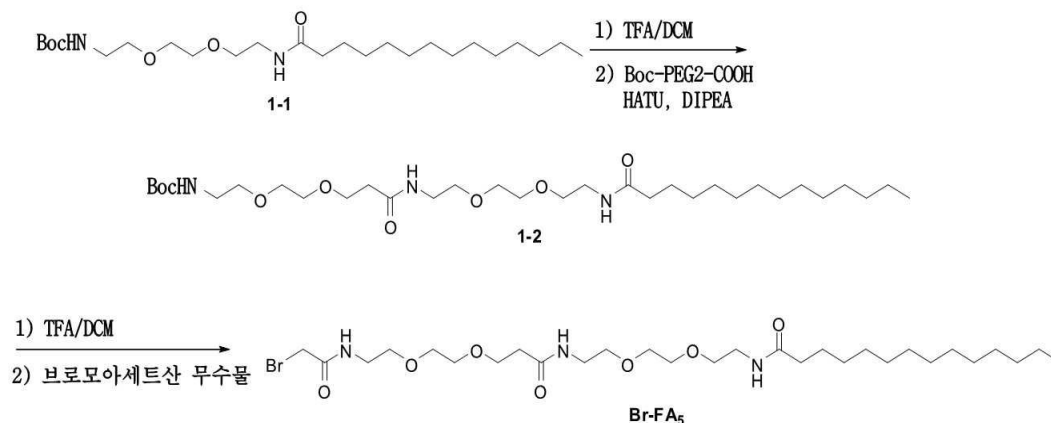
[0473] 실시예 8. Br-FA₄의 제조



[0474]

[0475] DCM(10 ml) 중의 테트라데실아민(107 mg, 0.5 mmol) 용액을 0°C에서 브로모아세트산 무수물(0.14 g, 0.55 mmol) 및 DIPEA(100 μ l, 0.55 mmol)로 처리하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 2시간 동안 교반하였고, 용매를 제거하였다. 생성물을 EtOAc(3 x 15 ml)로 추출하였다. 유기층을 포화된 NaHCO₃, 냉각된 HCl(1 M) 및 염수로 연속적으로 세척하고 Na₂SO₄ 상에서 건조하고 여과하고 농축하였다. 실리카 겔 상에서의 플래쉬 컬럼 크로마토그래피에 의한 정제는 87% 생성물 수율로 백색 고체로서 145 mg의 표제 화합물을 제공하였다. ESI-MS: 계산치 MW 334.3; 실측치 335.6 $[M+1]^+$.

[0476] 실시예 9. Br-FA₅의 제조



[0477]

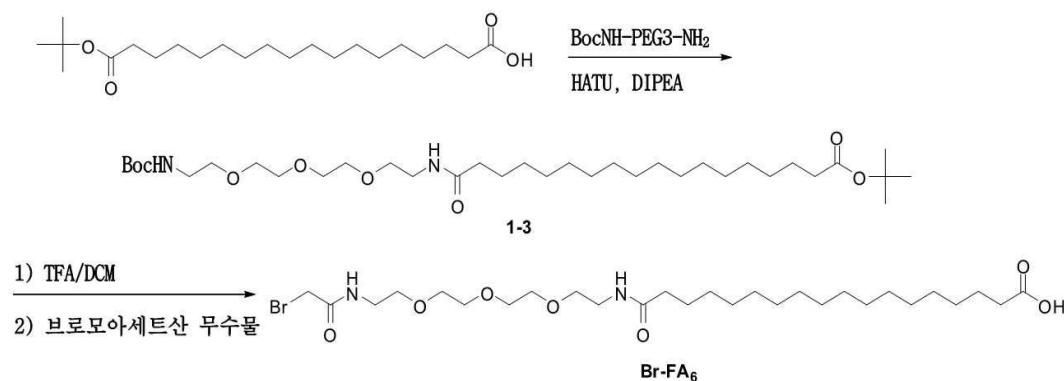
[0478] 단계 A. *tert*-부틸 (9,20-디옥소-3,6,13,16-테트라옥사-10,19-디아자트리트리아콘틸)카바메이트(1-2)

[0479] DCM(10 ml) 중의 1-1(115 mg, 0.25 mmol) 용액을 2시간 동안 TFA(2 ml)로 처리하였다. 혼합물을 농축한 후, 5 ml DMF 중의 Boc-NH-PEG2-산(70 mg, 0.25 mmol), HATU(95 mg, 0.25 mmol) 및 DIPEA(90 μ l, 0.5 mmol)를 첨가하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 2시간 동안 교반하였고, 용매를 제거하였다. 생성물을 EtOAc(3 x 15 ml)로 추출하였다. 유기층을 포화된 NaHCO₃, 냉각된 HCl(1 M) 및 염수로 연속적으로 세척하고 Na₂SO₄ 상에서 건조하고 여과하고 농축하였다. 실리카 겔 상에서의 플래쉬 컬럼 크로마토그래피에 의한 정제는 77% 생성물 수율로 백색 고체로서 122 mg의 원하는 화합물을 제공하였다. ESI-MS: 계산치 MW 617.9; 실측치 618.4 [M+1]⁺.

[0480] 단계 B. *N*-(1-브로모-2,12-디옥소-6,9,16,19-테트라옥사-3,13-디아자헤니코산-21-일)테트라데칸아미드(Br-FA₅)

[0481] DCM(10 ml) 중의 1-2(122 mg, 0.2 mmol) 용액을 2시간 동안 TFA(2 ml)로 처리하였다. 혼합물을 농축한 후, 0℃에서 5 ml DCM 중의 브로모아세트산 무수물(52 mg, 0.2 mmol) 및 DIPEA(70 μ l, 0.4 mmol)를 첨가하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 2시간 동안 교반하였고, 용매를 제거하였다. 생성물을 EtOAc(3 x 15 ml)로 추출하였다. 유기층을 포화된 NaHCO₃, 냉각된 HCl(1 M) 및 염수로 연속적으로 세척하고 Na₂SO₄ 상에서 건조하고 여과하고 농축하였다. HPLC에 의한 정제는 69% 생성물 수율로 백색 고체로서 88 mg의 표제 화합물을 제공하였다. ESI-MS: 계산치 MW 638.7; 실측치 639.4 [M+1]⁺.

[0482] 실시예 10. Br-FA₆의 제조



[0483]

[0484] 단계 A. *tert*-부틸 (2-(2-(2-테트라데칸아미도에톡시)에톡시)에틸)카바메이트(1-3)

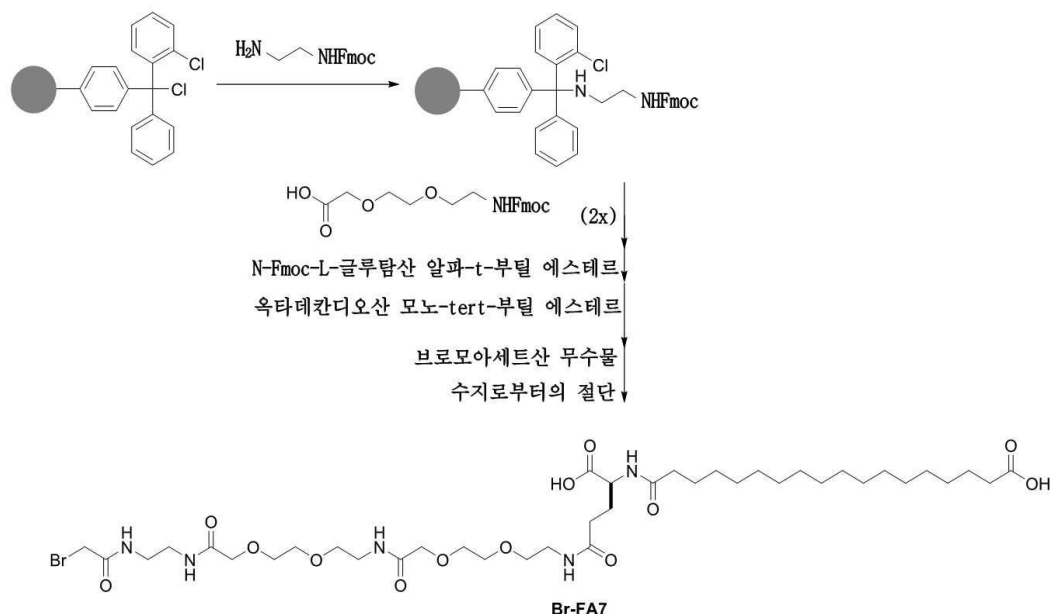
[0485] 옥타데칸디오산 모노-*tert*-부틸 에스테르산(0.18 g, 0.5 mmol)을 5 ml의 DMF에 용해시켰다. HATU(0.2 g, 0.55 mmol) 및 DIPEA(0.1 ml, 0.55 mmol)를 첨가한 후, Boc-NH-PEG3-NH₂(0.12 g, 0.5 mmol)를 첨가하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 6시간 동안 교반하였고, 용매를 제거하였다. 생성물을 EtOAc(3 x 10 ml)로 추출하였다. 유기층을 포화된 NaHCO₃, 냉각된 HCl(1 M) 및 염수로 연속적으로 세척하고 Na₂SO₄ 상에서 건조하고 여과하고 농축하였다. 실리카 겔 상에서의 플래쉬 컬럼 크로마토그래피에 의한 정제는 87% 생성물 수율로 백색 고체로서 0.28 g의

tert-부틸 (2-(2-(2-테트라데칸아미도에톡시)에톡시)에틸)카바메이트를 제공하였다. ESI-MS: 계산치 MW 644.5; 실측치 645.5 $[M+1]^+$.

[0486] 단계 B. 1-브로모-2,16-디옥소-6,9,12-트리옥사-3,15-디아자트리트리아콘탄-33-산(Br-FA₆)

[0487] DCM(2 ml) 중의 1-3(65 mg, 0.1 mmol) 용액을 4시간 동안 TFA(4 ml)로 처리하였다. 혼합물을 농축한 후, 0℃에서 5 ml DCM 중의 브로모아세트산 무수물(26 mg, 0.1 mmol) 및 DIPEA(35 μ l, 0.2 mmol)를 첨가하였다. 그 후, 반응 혼합물을 2시간 동안 교반하였고, 용매를 제거하였다. 생성물을 HPLC로 정제하여, 70% 생성물 수율로 백색 고체로서 35 mg의 표제 화합물을 제공하였다. ESI-MS: 계산치 MW 608.3; 실측치 609.4 $[M+1]^+$.

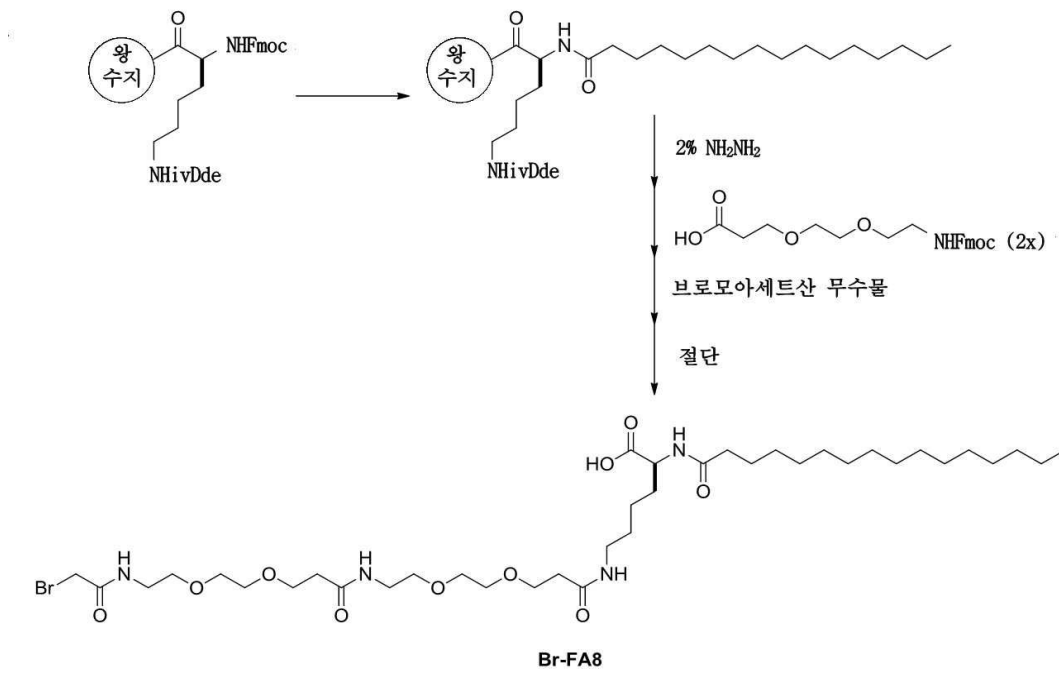
[0488] 실시예 11. Br-FA₇의 고체상 합성



[0489]

[0490] Fmoc-Lys(ivDde)-OH 및 Fmoc-PEG2-프로피온산을 각각 모노-Fmoc 에틸렌 디아민 하이드로클로라이드 및 [2-[2-(Fmoc-아미노)에톡시]에톡시]아세트산으로 치환시킴으로써 Br-FA₂와 유사한 방식으로 표제 화합물을 제조하였다. 분취 HPLC 및 동결건조에 의한 정제는 약 25% 생성물 수율로 95% 초과 순도를 가진 백색 분말로서 표제 화합물을 제공하였다. 펩티드의 분자량을 ESI-MS로 분석하였다: 계산치 MW 896.9; 실측치 898.1 $[M+1]^+$.

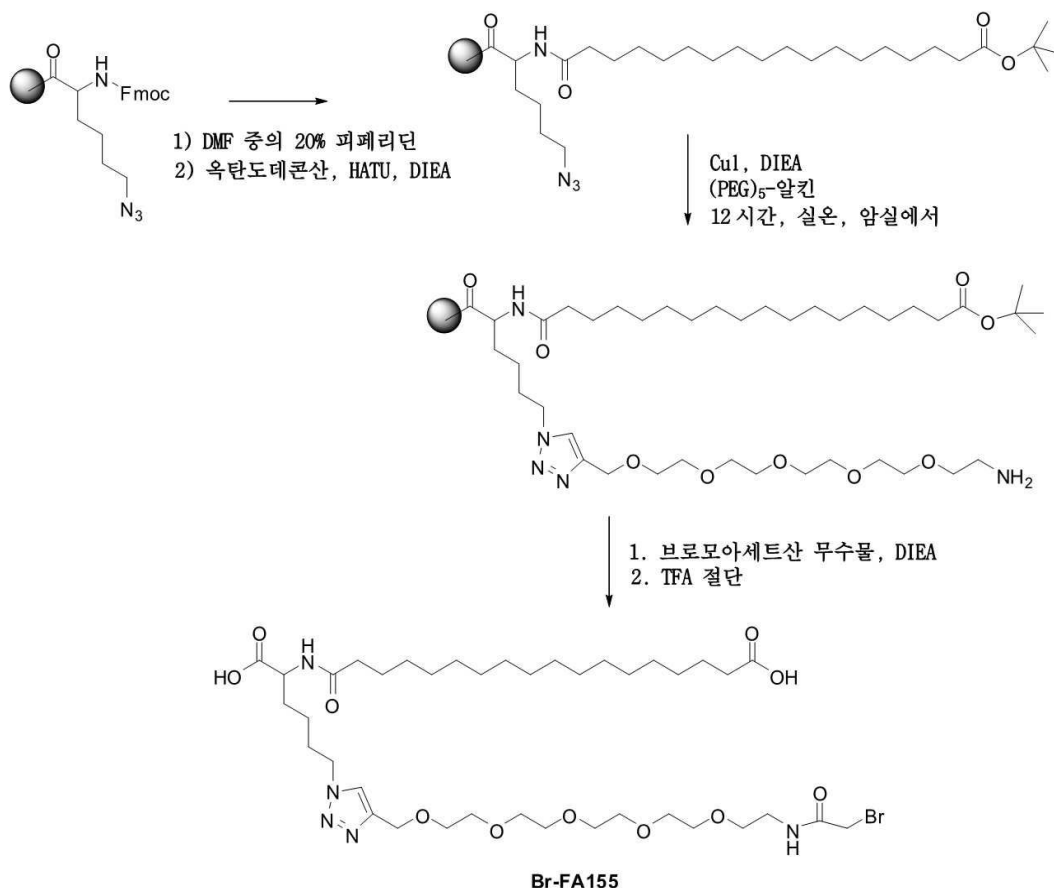
[0491] 실시예 12. Br-FA₈의 제조



[0492]

[0493] 옥타데칸디오산 모노-*tert*-부틸 에스테르를 팔미트산으로 치환시킴으로써 Br-FA₂와 유사한 방식으로 표제 화합물을 제조하였다. 분취 HPLC 및 동결건조에 의한 정제는 약 29% 생성물 수율로 95% 초과 순도를 가진 백색 분말로서 표제 화합물을 제공하였다. 펩티드의 분자량을 ESI-MS로 분석하였다: 계산치 MW 822.4; 실측치 823.6 [M+1]⁺.

[0494] 실시예 13. Br-FA155의 제조



[0495]

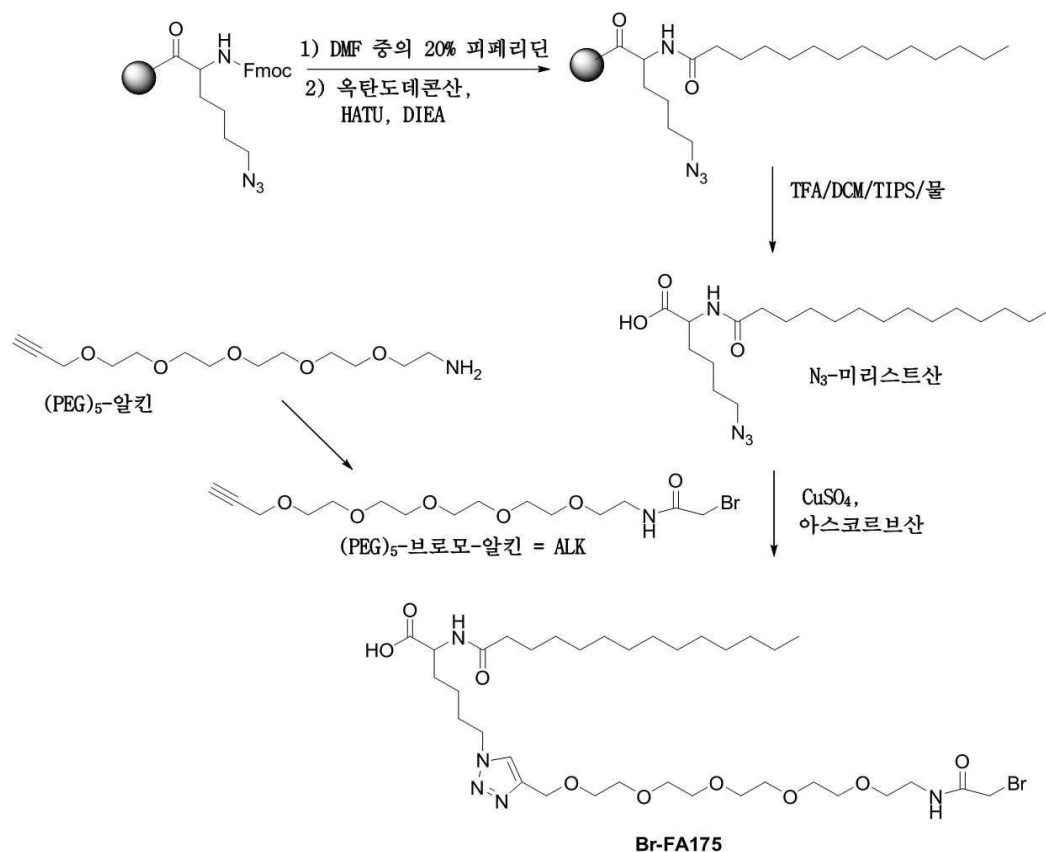
[0496]

Fmoc-Lys(N₃)-OH(40 mg, 100 μmol)를 2 ml DMF 중의 HATU(40 mg) 및 DIPEA(200 μl)와 함께 왕(wang) 수지(100 mg, 70 μmol)에 첨가하고 30분 동안 교반하였다. 상기 수지를 DMF(3x) 및 DCM(3x)으로 세척한 후, 10분 동안 아세트산 무수물/DIPEA로 처리하여 비반응된 왕 수지를 캡핑하였다. 상기 수지를 진공 하에서 건조하고 건조기 내에서 저장하였다. 그 후, 20분 동안 DMF 중의 20% 피페리딘을 사용하여 Fmoc 기를 절단하였고, 이 과정을 3회 반복하였다. 닐하이드린을 사용하여 절단의 완료를 확인한 후, 수지를 DMF 및 DCM으로 세척하였다.

[0497]

그 다음, 탈보호된 수지를 2시간 동안 DMF(5 ml) 중의 옥타데칸디오산 모노-*tert*-부틸 에스테르(AstaTech)(74 mg, 200 μmol), HATU(76 mg, 200 μmol) 및 DIPEA(200 μl)로 처리하였다. 닐하이드린 검사가 음성을 나타낼 때까지 커플링을 반복하였다. DMF 및 DCM으로 세척한 후, 수지를 DMF(1 ml) 중의 10% 요오드화구리, (PEG)₅-알킨(40 mg) 및 DIPEA(0.2 ml)로 처리하였다. 그 후, 상기 수지를 2 ml DCM 중의 브로모아세트산 무수물(100 mg, 200 μmol) 및 DIPEA(200 μl)로 처리하고 2시간 동안 교반하였다. DCM(3x)으로 세척한 후, 2시간 동안 10% H₂O 및 10% 트리이소프로필산을 함유하는 DCM 중의 5 ml 50% TFA를 사용하여 수지로부터 생성물을 절단하였다. 절단 후, 절단된 용액을 건조한 다음, 메탄올/DMF로 재용해시킨 후 HPLC로 정제하여 Br-FA155(3 mg, 15% 수율)를 제공하였다. ESI-MS 계산치 MW 864.5; 실측치 866 [M+1]⁺.

[0498] 실시예 14. Br-FA175의 제조



[0499]

[0500]

Fmoc-Lys(N₃)-OH(40 mg, 100 μmol)를 2 ml DMF 중의 HATU(40 mg) 및 DIPEA(200 μl)와 함께 왕 수지(100 mg, 70 μmol)에 첨가하고 30분 동안 교반하였다. 그 다음, 상기 수지를 DMF(3x) 및 DCM(3x)으로 세척한 후, 10분 동안 아세트산 무수물/DIPEA로 처리하여 비반응된 왕 수지를 캡핑하였다. 상기 수지를 진공 하에서 건조하고 건조기 내에서 저장하였다. 그 후, 20분 동안 DMF 중의 20% 피페리딘을 사용하여 Fmoc 기를 절단하였고, 이 과정을 3회 반복하였다. 닐하이드린을 사용하여 절단의 완료를 확인한 후, 수지를 DMF 및 DCM으로 세척하였다. 그 다음, 탈보호된 수지를 2시간 동안 DMF(2 ml) 중의 미리스트산(100 mg), HATU(180 mg) 및 DIPEA(200 μl)로 처리하였다. 상기 수지를 절단하여 N₃-미리스트산을 생성하였다. ESI-MS 계산치 분자량 382.5; 실측치 383.5 [M+1]⁺.

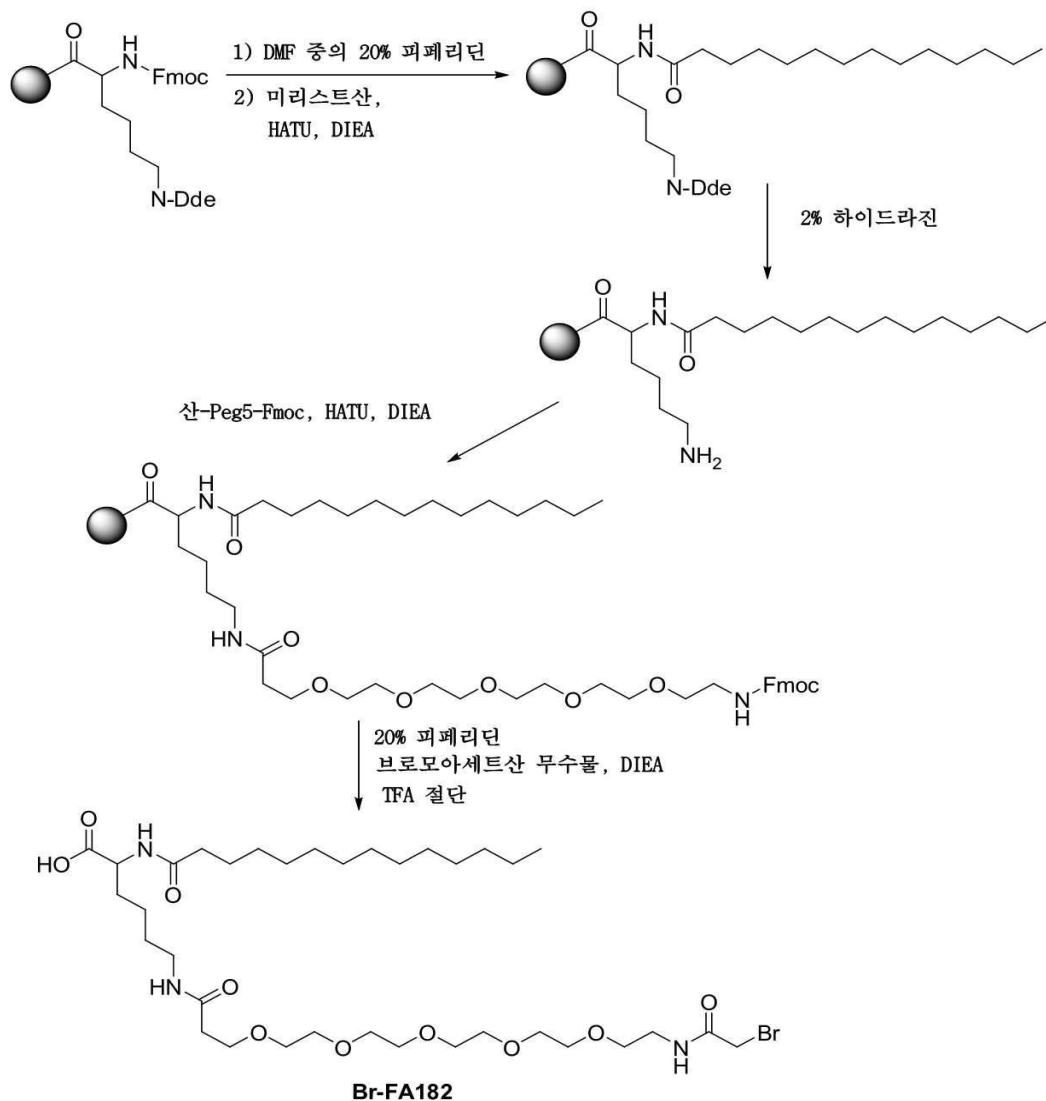
[0501]

브로모아세트산 무수물(40 mg)을 DIPEA(100 μl), DCM(1 ml) 및 (PEG)₅-알킨(20 mg)에 첨가하여 (PEG)₅-브로모-알킨(ALK)을 제조하였다. 생성물을 HPLC로 정제하고 동결건조하여 원하는 생성물(15 mg, 70% 수율)을 제공하였다. ESI-MS 계산치 분자량 395.5; 실측치 396.5 [M+1]⁺.

[0502]

N₃-미리스트산(0.5 mg)을 1:1 아세토니트릴 및 물 중의 황산구리(2 mg) 및 아스코르브산(2 mg)과 함께 (PEG)₅-브로모-알킨(0.75 mg)에 첨가하였고, pH를 8로 조절하였고 하룻밤 동안 교반하여 Br-FA175(0.7 mg, 70% 수율)를 제공하였다. ESI-MS 계산치 779.5, 실측치 780.5 [M+1]⁺.

[0503] 실시예 15. Br-FA182의 제조

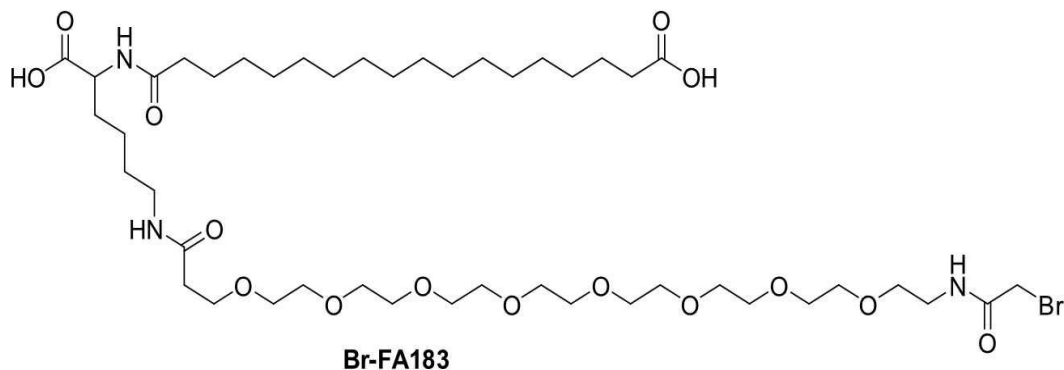


[0504]

[0505]

Fmoc-Lys-ε-N-Dde 500 mg의 수지(0.15 mmoles)를 20% 피페리딘으로 처리한 후, DMF(3x) 및 DCM(3x)으로 세척하였다. 그 다음, 상기 수지를 DIEA 및 HATU와 함께 미리스트산(10 당량)으로 처리하였고, 2시간 동안 커플링을 계속하였다. DMF(2X) 중의 2% 하이드라진을 사용하여 Dde를 제거한 후, DMF 및 DCM으로 세척하였다. 그 다음, 하룻밤 동안 DIEA 및 HATU를 사용하여 산-Peg5-Fmoc 산을 커플링시켰다. 닐하이드린 검사로 커플링 반응을 확인한 후, Fmoc를 절단한 다음, 유리 아민을 염기의 존재 하에서 브로모 아세트산 무수물과 반응시켜 수지 상에서 원하는 화합물 FA-182를 생성하였다. DCM(3x)으로 세척한 후, 2시간 동안 10% H₂O 및 10% 트리이소프로필실란을 함유하는 DCM 중의 5 ml 50% TFA를 사용하여 생성물을 수지로부터 절단하였다. 절단 후, 절단된 용액을 건조한 다음, 메탄올/DMF로 재용해시킨 후 HPLC로 정제하였다. 생성물을 함유하는 분획을 모아 동결건조하여 FA-182를 제공하였다(ESI-MS 계산치 MW 768.2.; 실측치 769.4 [M+1]⁺).

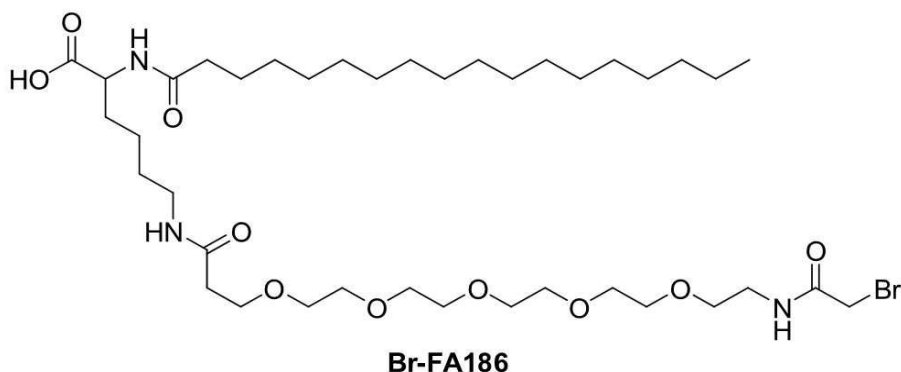
[0506] 실시예 16. Br-FA183의 제조



[0507]

[0508] 미리스트산을 옥타데칸디오산 모노-*tert*-부틸 에스테르로 치환시킴으로써 Br-FA182와 유사한 방식으로 표제 화합물을 제조하였다. 분취 HPLC 및 동결건조에 의한 정제는 백색 분말로서 표제 화합물을 제공하였다. 펩티드의 분자량을 ESI-MS로 분석하였다: 계산치 MW 987.2; 실측치 988.1 $[M+1]^+$.

[0509] 실시예 17. Br-FA186의 제조



[0510]

[0511] 미리스트산을 스테아르산으로 치환시킴으로써 Br-FA182와 유사한 방식으로 표제 화합물을 제조하였다. 분취 HPLC 및 동결건조에 의한 정제는 백색 분말로서 표제 화합물을 제공하였다. 펩티드의 분자량을 ESI-MS로 분석하였다: 계산치 MW 823.4; 실측치 824.3 $[M+1]^+$.

[0512] 실시예 18. 봉입체의 준비

[0513] 릴렉신 유사체를 발현하는 세포를 회전시켜 세포 펠렛을 생성하였다. 세포 펠렛을 용해 완충제(100 mM 트리스, pH 8, 100 mM NaCl, 1% 트리톤-X100, 2 mM EDTA)에 재현탁하였고 세포 현탁액을 각각의 통과 후 4℃까지 냉각시키면서 18,000 psi에서 작동된 프렌치(French) 압력 셀에 적어도 3회 통과시킴으로써 용해시켰다. 용해된 세포 현탁액을 15,000 rpm 및 4℃에서 45분 동안 원심분리함으로써 정화하였다. 펠렛은 봉입체 단백질과 함께 온전한 세포 및 세포 잔해물을 함유한다. 펠렛을 다회 세척하여 나머지에서 봉입체 단백질을 분리하였는데, 요약하건대, 상청액을 따라버린 후, 조직 균질화기를 사용하여 펠렛을 용해 완충제에 재현탁하고 원심분리하였고, 이 절차를 적어도 3회 반복하였다. 펠렛으로부터 트리톤-X 100을 제거하기 위해, 펠렛을 세척 완충제(100 mM 트리스, pH 8, 100 mM NaCl, 1% 트리톤-X100, 2 mM EDTA)로 적어도 2회 세척하였는데; 펠렛의 세척은 균질화를 통한 재현탁 후 원심분리에 의해 수행되었다. 그 다음, 펠렛을 임의의 추가 정제 없이 릴렉신 유사체의 시험관 내 리폴딩에 직접적으로 사용하였다.

[0514] 실시예 19. 릴렉신 유사체의 리폴딩

[0515] 실시예 18로부터의 세포 펠렛을 릴렉신 유사체의 시험관내 리폴딩에 사용하였다. 산화된/환원된 글루타티온을 사용하여 릴렉신 유사체의 리폴딩을 수행하였다. 봉입체를 8 M 구아니딘 하이드로클로라이드(GdnHCl)에 용해시켰다. 40 ml의 GdnHCl를 사용하여 1 l 이. 콜라이 배양물로부터 분리된 봉입체 펠렛을 용해시켰다. 단백질을 가용화시킨 후, 불용성 부분을 30분 동안 15000 rpm에서 원심분리함으로써 펠렛화하였다. 그 다음, 3,000 MW 컷 오프 아미콘 울트라(Amicon Ultra)(Fisher Scientific) 원심분리 필터 유닛을 사용하여 가용화된 단백질을 10 내지 15 ml까지 농축하였다. 그 후, 변성된 단백질을 300 ml의 리폴딩 완충제(440 mM 아르기닌, 55 mM 트리스,

pH 8.2, 2 mM GSH 함유, 10 mM GSSG)로 희석하였다. 리폴딩을 1시간 내지 2시간 동안 계속하였고 TFA를 pH 2까지 첨가함으로써 켄칭하였다. 그 후, 침전물을 원심분리하여 펠렛을 수득하였고, 상청액을 원심분리 유닛 내로 옮기고 2 내지 3 mg/ml까지 농축하였다. 그 다음, 농축된 단백질 혼합물을, 4.0 ml/분으로 설정된 유속으로 페노메넥스 주피터(Phenomenex Jupiter) C5 컬럼(250 X 4.6 mm)을 사용하는 반-분취 HPLC로 정제하였다. 분획을 원하는 단백질에 대해 LC-MS로 분석한 후, 폴링하고 동결건조하였다.

[0516] 실시예 20. 지질과 틸렉신의 접합

효소 분해가 일반적으로 수행되는 염기성 pH에서 틸렉신의 유리 티올이 스캐램블링(scrambling)을 야기하는 것으로 관찰되었기 때문에, 시스테인을 캡핑한 후 모든 효소 프로세싱(트립신/Cp-B 또는 TEV 프로테아제)을 수행하였다. 실시예 19로부터의 동결건조된 단백질을 0.25% TFA에 용해시켰다. 폐길화된 지질을 ACN 아세트니트릴/100 mM NH_4HCO_3 완충제(1:1)(pH 8.5)에 용해시켰다. 그 후, 틸렉신을 혼합물에 첨가하였고 반응을 2시간 동안 실온에서 진행시켰는데; 반응의 진행은 LC-MS에 의해 확인되었다. 반응의 완료 후, 혼합물을 동결건조하였다.

[0518] 실시예 21. 2-쇄 전구체로의 틸렉신 전구체의 효소 전환

실시예 20으로부터의 동결건조된 분말을, 1 mM CaCl_2 (pH 8)을 함유하는 50 mM 트리스 완충제에 재현탁하였다. 트립신(1:100)을 이 혼합물에 첨가하였고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 항온처리하였다. 1시간 후, 카복시 펩티다제-B(1 mg의 단백질에 대해 10 유닛)를 혼합물에 첨가하였고, 절단의 진행을 LC-MS 분석으로 모니터링하였다. 완전한 절단 후, 아세트산을 첨가함으로써 혼합물의 pH를 4로 조절하였다. 혼합물을 동결건조하고 반-분취 HPLC로 정제하였다.

[0520] 실시예 22. TEV 프로테아제를 통한 His-태그의 절단

실시예 21의 동결건조된 단백질을, 3 mM GSH:0.5 mM GSSG를 함유하는 PBS 완충제에 재용해시켰다. Tev 프로테아제를 혼합물에 첨가하고 실온에서 하룻밤 동안 항온처리하였다. 태그의 절단을 LC-MS 분석으로 확인하였다.

[0522] 실시예 23. B:D1A-A:Q1-L2C-틸렉신 유사체의 발현

중합효소 순환 조립을 통해 삽입물을 제조하였는데, 이때 정방향 프라이머와 역방향 프라이머는 어닐링되어, 정방향 말단 프라이머 및 역방향 말단 프라이머에 의해 더 풍부해진 DNA 단편을 생성하였다.

그 다음, 증폭된 단편을 제한 분해 효소(NdeI/KpnI)로 분해하였다. 그 다음, 제조된 삽입물을, T7 프로모터 및 터미네이터의 조절 하에서 PET 골격을 가진 벡터 내로 라이게이션시켰다. 그 다음, 코딩된 DNA 단편을 DNA 서열 분석으로 확인하였다.

발현을 위해, 틸렉신 구축물을, araBAD 프로모터의 조절 하에서 게놈 T7 RNA 중합효소 유전자를 가진 K12 이. 콜라이(W3110의 유도체) 내로 형질전환시켰다.

형질전환된 이. 콜라이 세포를 격렬히 진탕하면서(250 rpm) 37°C에서 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 카나마이신으로 보충된 LB에서 OD600nm = 0.8까지 배양하였다.

유전자의 발현을 유도하기 위해, L-아라비노스 저장 용액(H_2O 중의 20%w/v)을 0.2%의 최종 농도까지 첨가하였고, 세포를 5시간 동안 37°C에서 250 rpm으로 진탕하면서 연속적으로 항온처리하였다. 그 후, 세포를 원심분리(6000 rpm, 15분)로 수거하였다.

[0528] 실시예 24. B:D1A-A:Q1-L2C-틸렉신 유사체의 리폴딩

산화된/환원된 글루타티온을 사용하여 B:D1A, A:Q1-L2C-틸렉신 유사체의 리폴딩을 수행하였다. 봉입체를 8 M 구아니딘 하이드로클로라이드(GdnHCl)에 용해시켰다. 40 ml의 GdnHCl를 사용하여, 1 l 이. 콜라이 배양물로부터 단리된 펠렛으로서 봉입체(봉입체의 준비는 실시예 18에 기재된 바와 같이 수행되었음)를 용해시켰다. 단백질을 가용화시킨 후, 불용성 부분을 30분 동안 15000 rpm에서 원심분리함으로써 펠렛화하였다. 그 다음, 3,000 MW 컷 오프 아미콘 울트라(Fisher Scientific) 원심분리 필터 유닛을 사용하여 가용화된 단백질을 10 내지 15 ml까지 농축하였다. 그 후, 변성된 단백질을 300 ml의 리폴딩 완충제(440 mM 아르기닌, 55 mM 트리스, pH 8.2, 2 mM GSH 함유, 10 mM GSSG)로 희석하였다. 리폴딩을 1시간 내지 2시간 동안 계속하였고 TFA를 pH 2까지 첨가함으로써 켄칭하였다. 그 후, 침전물을 원심분리하여 펠렛을 수득하였고, 상청액을 원심분리 유닛 내로 옮기고 2 내지 3 mg/ml까지 농축하였다. 그 다음, 농축된 단백질 혼합물을, 4.0 ml/분으로 설정된 유속으로 페노메넥스 주피터 C5 컬럼(250 X 4.6 mm)을 사용하는 반-분취 HPLC로 정제하였다. 분획을 원하는 단백질에 대해 LC-MS로 분석한

후, 폴링하고 동결건조하였다. 예상된 질량: 8167.4, 관찰된 질량: 8167.

[0530] 실시예 25. Br-FA2와 B:D1A-A:Q1-L2C 틸락신 유사체의 접합

[0531] 실시예 24로부터의 동결건조된 B:D1A-A:Q1-L2C 틸락신 유사체를 0.25% TFA에 용해시켰다. Br-FA2를 ACN 아세트 니트릴/100 mM NH_4HCO_3 완충제(1:1)(pH 8.5)에 용해시켰다. 그 다음, AL2C-틸락신 유사체를 혼합물에 첨가하였고, 반응을 2시간 동안 실온에서 진행시켰다. 반응의 진행을 LC-MS로 확인하였다. 반응의 완료 후, 혼합물을 동결건조하고 정제하여 순수한 B:D1A-A:Q1-L2C-FA2 틸락신 유사체를 제공하였다. 예상된 질량: 8968.5, 관찰된 질량: 8968.94.

[0532] 실시예 26. 2-쇄 틸락신으로의 B:D1A-A:Q1-L2C-FA2 틸락신 유사체 전구체의 효소 프로세싱

[0533] 실시예 25로부터의 동결건조된 분말을, 1 mM CaCl_2 (pH 8)을 함유하는 50 mM 트리스 완충제에 재현탁하였다. 트립신(1:100)을 이 혼합물에 첨가하였고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 항온처리하였다. 1시간 후, 카복시 펩티다제-B(1 mg의 단백질에 대해 10 유닛)를 혼합물에 첨가하였고, 절단의 진행을 LC-MS 분석으로 모니터링하였다. 완전한 절단 후, 아세트산을 첨가함으로써 혼합물의 pH를 4로 조절하였다. 혼합물을 동결건조하고 반-분취 HPLC로 정제하여 틸락신-A:Q-L2C-FA2를 제공하였다. 예상된 질량: 6727.1, 관찰된 질량: 6727.3.

[0534] 실시예 27. A:pQ1-L2C-FA2의 합성

[0535] 동결건조된 틸락신 A:Q1-L2C-FA2를 50 mM 아세트산에 재현탁한 후, 6시간 동안 90℃에서 항온처리하여, Q-TOF 분석으로 피로글루타메이트(pQ)로의 글루타민(Q)의 완전한 전환을 확인하였다. 예상된 질량: 6710.1, 관찰된 질량: 6710.3(도 3 참조).

[0536] 실시예 28. FA-ALK, FA155, FA175, FA182, FA183 및 FA186과 B:D1A-A:Q1-L2C 틸락신 유사체의 접합

[0537] 출발 물질로서 FA155, FA175, FA182, FA183 및 FA186을 사용하여 접합 및 2-쇄 틸락신으로의 프로세싱을 실시예 25 및 26에 기재된 바와 같이 수행하였다. 관찰된 질량은 표 1에 나열되어 있다:

표 1

관찰된 질량:

명칭	관찰된 질량
틸락신 B:D1A-A:Q1-L2C-FA155	8172.5
틸락신 B:D1A-A:Q1-L2C-FA175	8086.5
틸락신 B:D1A-A:Q1-L2C-FA182	6614.2
틸락신 B:D1A-A:Q1-L2C-FA183	6832.4
틸락신 B:D1A-A:Q1-L2C-FA186	6670.1

[0539] 실시예 29. 독소-550 유사체의 유전자 구축 및 발현

[0540] 중합효소 순환 조립을 통해 삽입물을 제조하였는데, 이때 정방향 프라이머와 역방향 프라이머는 어닐링되어, 정방향 말단 프라이머 및 역방향 말단 프라이머에 의해 더 풍부해진 DNA 단편을 생성하였다. 그 다음, 증폭된 단편을 제한 분해 효소(Bam I/Hind-III)로 분해하였다. 그 다음, 제조된 삽입물을, PET 골격을 가진 벡터 내로 라이게이션시킨 후, 코딩된 DNA 단편을 DNA 서열분석으로 확인하였다. 독소-550 구축물(pET/Txin-550)을 이. 콜라이 균주 BL21(DE3) 내로 형질전환시켰다. 형질전환된 이. 콜라이 세포를 격렬히 진탕하면서(250 rpm) 37℃에서 (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 카나마이신을 가진) 테리픽 브로쓰(terrific broth)에서 $\text{OD}_{600\text{nm}} = 1.0$ 까지 배양하였다. 단백질의 발현을 유도하기 위해, IPTG 저장 용액(1 M)을 0.5 mM의 최종 농도까지 첨가하였고, 세포를 24시간 동안 26℃에서 250 rpm으로 진탕하면서 연속적으로 항온처리하였다. 다음 날, 세포를 원심분리(6000 rpm, 15분)로 수거하였다. 봉입체의 준비를 실시예 18에 기재된 바와 같이 수행하였다.

[0541] 실시예 30. 독소-550 유사체의 리폴딩

[0542] 산화된/환원된 글루타티온을 사용하여 리폴딩을 수행하였다. (실시예 18에서와 같은) 봉입체를 8 M 구아니딘 하이드로클로라이드(GdnHCl)에 용해시켰다. 10 ml의 GdnHCl를 사용하여, 1 ℓ 이. 콜라이 배양물로부터 단리된 봉입체 펠렛을 용해시켰다. 단백질을 가용화시킨 후, 또 다른 10 ml의 트리스-HCl 완충제(50 mM)를 첨가하였고, 불용성 부분을 30분 동안 15000 rpm에서 원심분리함으로써 펠렛화하였다. 그 다음, 가용화된 상청액 변성된 단백질을 200 ml의 리폴딩 완충제로 희석하였다. 가용화된 상청액 변성된 단백질을 희석하는 데 사용된 다양한 리폴딩 완충제들은 하기 표에 표시되어 있다:

리폴딩 완충제	GSH:GSSG
0.1 M 트리스, pH 8.2	1:10
0.1 M 트리스, pH 11	1:10
0.1 M NH ₄ HCO ₃ , pH 8	1:10
0.1 M NH ₄ OAC	1:10
2 M NH ₄ OAC	1:10
2 M (NH ₄) ₂ SO ₄	1:10

[0543]

[0544] 도 5는 독소-550 펩티드(야생형)에 대한 디설파이드 결합 패턴, 및 디설파이드 결합이 시스테인 1과 시스테인 IV 사이 및 시스테인 II와 시스테인 V 사이에 형성되어 있는 2-설파이드 결합 중간체를 묘사하는 중간 구조물인 시스테인-매듭 독소-550 펩티드의 예시적인 시험관내 폴딩 경로를 보여준다.

[0545] 다양한 리폴딩 경로들이 사용되었는데, 이때 2 M (NH₄)₂SO₄ 리폴딩 완충제를 제외한 대다수의 리폴딩 완충제 조건들이 주요 생성물로서 2-디설파이드 결합 중간체를 유발하였고, 이때 3-디설파이드 결합 생성물은 4시간에서 관찰된다. 3-디설파이드 결합 생성물은 시스테인 I과 시스테인 IV 사이, 시스테인 II와 시스테인 V 사이, 및 시스테인 III과 시스테인 VI 사이에 형성된 디설파이드 결합을 가진 독소-550 펩티드를 함유한다.

[0546] 실시예 31. 지질과 독소-550의 접합

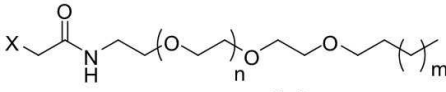
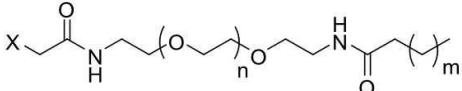
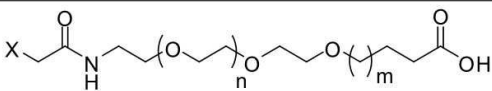
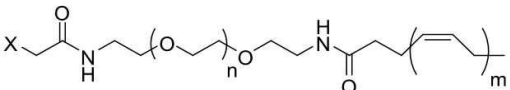
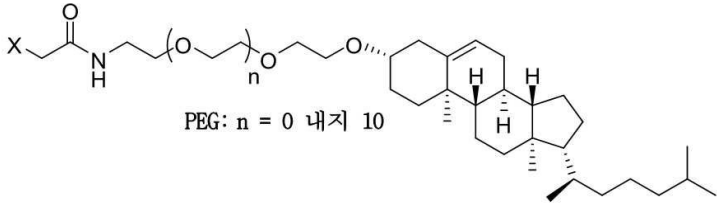
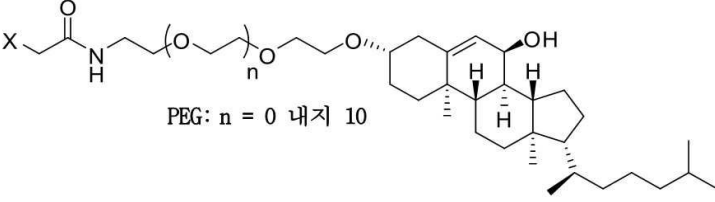
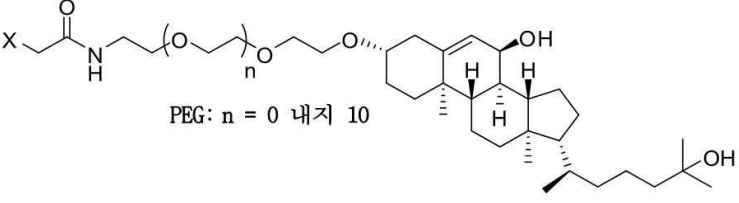
[0547] 그 다음, 리폴딩된 독소-550을 지질과 접합시키기 전에 PBS(2% TFA)로 완충제 교환하여 여분의 글루타티온을 제거하였다. 폐길화된 지질을 ACN 아세트니트릴/100 mM NH₄HCO₃ 완충제(1:1)(pH 8.5)에 용해시켰다. 그 다음, 독소를 혼합물을 첨가하였고 반응을 2시간 동안 실온에서 진행시켰고; 반응의 진행을 LC-MS로 확인하였다. 반응의 완료 후, 혼합물을 동결건조하고 C18-페노메넥스 컬럼을 사용하는 RP-HPLC로 정제하였다.

[0548] 실시예 32. 지질과 옥신토모듈린 및 엑세나타이드 유도체의 접합

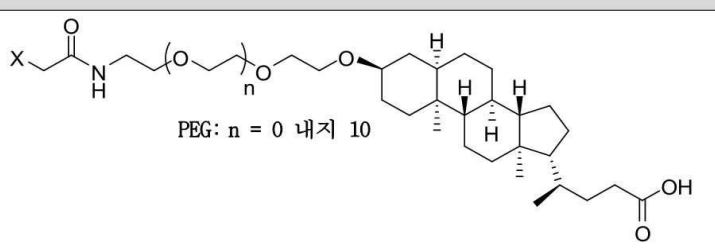
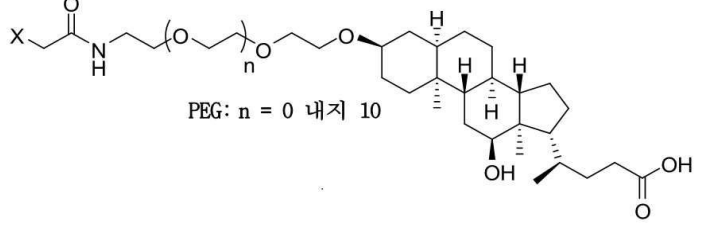
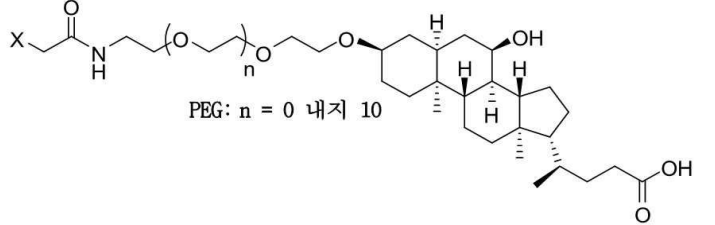
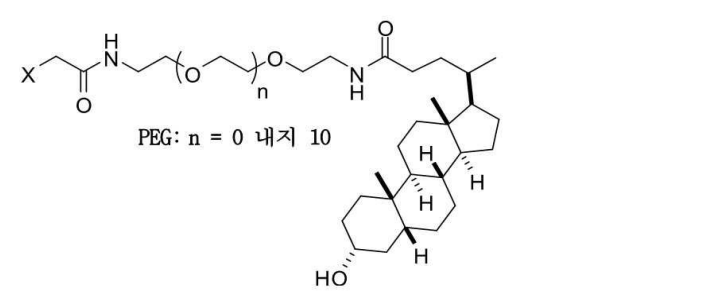
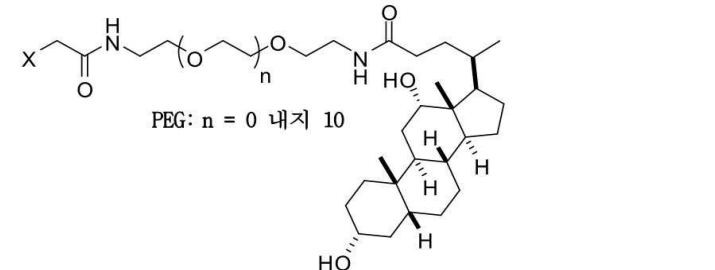
[0549] 고체상 펩티드 합성을 이용하여 옥신토모듈린 Cys38(예를 들면, Oxm-Cys38, 서열번호 24) 및 엑세나타이드 Cys40(예를 들면, Ex4-Cys40, 서열번호 25)을 화학적으로 합성하였다. 폐길화된 지질을 ACN 아세트니트릴/100 mM NH₄HCO₃ 완충제(1:1)(pH 8.5)에 용해시켰다. 시스테인 돌연변이체를 ACN 아세트니트릴/100 mM NH₄HCO₃ 완충제에 용해시킨 후, 폐길화된 지질 혼합물에 첨가하였고, 반응을 2시간 동안 실온에서 진행시켰다. 반응의 진행을 LC-MS로 확인하였다. 반응의 완료 후, 혼합물을 동결건조하고 C18-페노메넥스 컬럼을 사용하는 RP-HPLC로 정제하였다.

[0550] 유사한 절차를 이용하여 표 2의 하기 화합물들을 제조하였거나 제조한다.

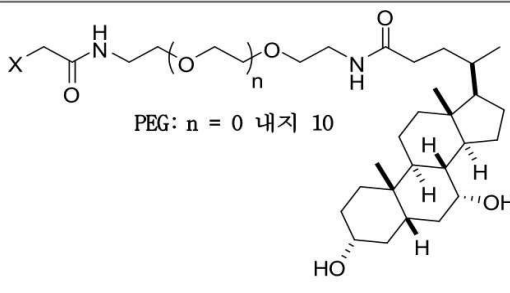
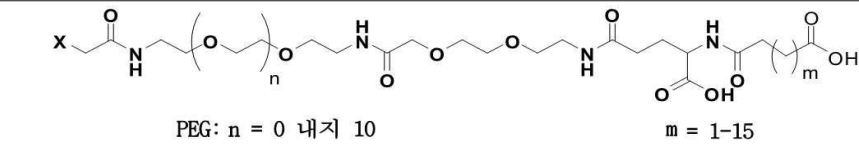
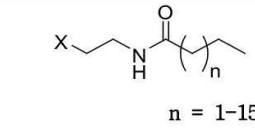
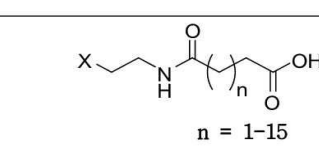
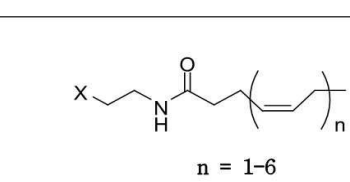
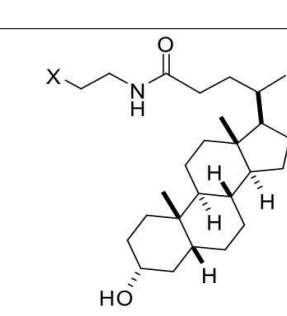
표 2

항목	구조*
1	 PEG: n = 0 내지 10 m = 1-15
2	 PEG: n = 0 내지 10 m = 1-15
3	 PEG: n = 0 내지 10 m = 1-15
4	 PEG: n = 0 내지 10 m = 1-6
5	 PEG: n = 0 내지 10
6	 PEG: n = 0 내지 10
7	 PEG: n = 0 내지 10

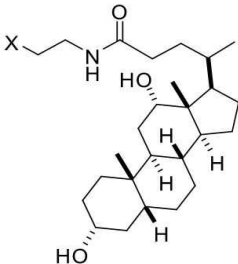
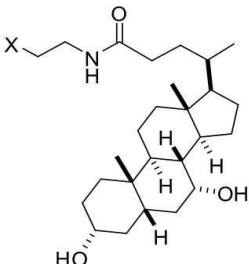
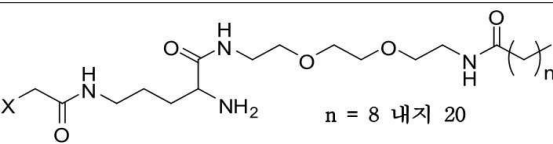
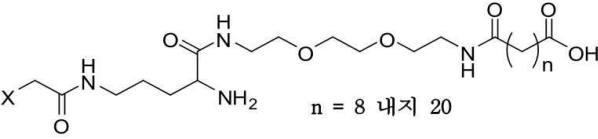
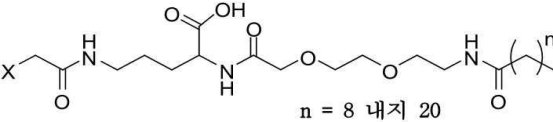
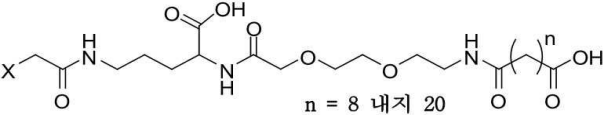
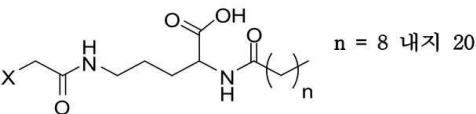
[0551]

항목	구조*
8	 PEG: n = 0 내지 10
9	 PEG: n = 0 내지 10
10	 PEG: n = 0 내지 10
11	 PEG: n = 0 내지 10
12	 PEG: n = 0 내지 10

[0552]

항목	구조*
13	 PEG: n = 0 내지 10
14	 PEG: n = 0 내지 10 m = 1-15
15	 n = 1-15
16	 n = 1-15
17	 n = 1-6
18	

[0553]

항목	구조*
19	
20	
21	 n = 8 내지 20
22	 n = 8 내지 20
23	 n = 8 내지 20
24	 n = 8 내지 20
25	 n = 8 내지 20

[0554]

항목	구조*
26	$n = 8 \text{ 내지 } 20$
27	$n = 8 \text{ 내지 } 20$
28	$n = 8 \text{ 내지 } 20$
29	$n = 8 \text{ 내지 } 20$
30	$n = 8 \text{ 내지 } 20$
31	$n = 8 \text{ 내지 } 20$
32	$n = 8 \text{ 내지 } 20$
33	$n = 8 \text{ 내지 } 20$
34	$n = 8 \text{ 내지 } 20$
35	

[0555]

항목	구조*
36	
37	
38	
39	
40	
41	
42	

*X는 Cl, I, Br, 말레이미드, 또는 펩티드(TA)의 부분인 아미노산일 수 있고; Y는 OH, 또는 펩티드(TA)의 부분인 아미노산일 수 있고; Z는 (디설파이드를 형성하기 위해) 펩티드(TA)의 부분인 아미노산의 부분인 S, 또는 지질 유도체의 부분인 S일 수 있다.

[0556]

[0557]

실시예 33. Ex4 및 Oxm 펩티드의 생체활성의 측정

[0558]

Ex4는 GLP1R 아고니스트이고, Oxm은 GLP1R 및 GCGR 이중 아고니스트이다. GLP1R 및 GCGR 수용체를 안정하게 발현하는 Hek293 세포에서 아데닐레이트 사이클라제 활성의 자극을 기초로 시험관내 활성을 측정한다. 안정한 GCGR 및 GLP1R 수용체 발현 세포를 200 ng/ml 제오신(Invitrogen)으로 보충된 둘베코 변경된 이글 배지/F-12 배지에서 유지한다. 환형 AMP 반응성 요소 유도 루시퍼라제(CRE-Luc) 렌티바이러스(Qiagen)를 사용한 이들 수용체 과발현 HEK293T 세포의 렌티바이러스 형질도입으로 CRE-Luc 레포터 세포주를 생성하고 2주 동안 푸로마이신($2 \mu\text{g/ml}$)으로 선택한다. 레포터 유전자 어세이를 이용하여 cAMP 수준, 및 Ex-4 또는 Oxm에 의한 GLP1R 및 GCGR 활성화를 검출한다.

[0559]

어세이 세부설명: GLP1R 및 CRE-Luc를 발현하는 HEK293T 세포를 384웰 고체 바닥 백색 플레이트에서 10% FBS를 함유하는 $50 \mu\text{l}$ 둘베코 변경된 이글 배지/F-12 배지에 웰당 5×10^3 개 세포의 밀도로 시딩한다. 세포를 37°C 에서 하룻밤 동안 예비향온처리한다. 상이한 농도(0.001 nM 내지 100 nM)의 펩티드를 삼중으로 첨가하고 18시간 동안 향온처리하고, $10 \mu\text{l}$ 의 브라이트 글로(Promega)를 첨가함으로써 루시퍼라제 활성을 검출한다. 발광도를 엔비전(Perkin Elmer) 상에서 기록한다. 비선형 곡선 피팅 후 EC_{50} 을 계산한다. GCGR 활성의 경우, GCGR 및 CRE-Luc를 가진 레포터 세포주를 사용한다.

[0560]

실시예 34. 독소 펩티드의 생체활성의 측정

- [0561] NaV 1.7 전류의 측정을 위해 표준 실시 조건을 이용하여 이온플럭스(IonFlux) HT 상에서 독소-550 펩티드를 분석한다. 요약하건대, 인간 Nav1.7의 알파 및 베타-1 서브유닛을 과다발현하는 HEK293 세포(PrecisION, Millipore)를 트립신으로 처리하고 무혈청 배지로 옮기고 30분 동안 실온에서 진탕한다. 화합물을 원하는 농도에서 표준 세포의 링거 용액(ECS)으로 희석한다. 세포를 ECS로 1회 세척한 후, 4백만 개 세포/ml의 농도로 ECS로 옮긴다. 이온플럭스 HT 플레이트를 표준 프로토콜에 따라 설정한다.
- [0562] 하기 전압 단계 프로토콜에 따라 이온플럭스 상에서 NaV 1.7 전류를 측정한다:
- [0563] 1. 세포를 10초 동안 -90 mV에서 유지한다.
- [0564] 2. 세포를 100 ms 동안 -90 mV부터 -120 mV까지 단계적으로 높인 후,
- [0565] a. 30 ms 동안 -10 mV로 낮춘 후,
- [0566] b. 30 ms 동안 -90 mV로 다시 높였다.
- [0567] 기준 전류를 5분 동안 안정화시킨 후, 대조군 기준(ECS 단독)을 확립한다. 화합물을 20분 동안 적용한 후, 양성 대조군(펩티드 Nav1.7 차단제)을 적용한다.
- [0568] 그 다음, 데이터에 대해 누출 공제(leak subtraction)를 수행하고, 생성된 전류를 다음과 같이 분석한다:
- [0569] 1. 모든 전류 범위에 대해 커서 공제(기준-피크)를 수행하여 전류의 크기(I)를 측정한다.
- [0570] 2. 각각의 패치에 대한 ECS 기준 전류는 최대 전류($I_{\max}$)로서 간주된다.
- [0571] 3. 소정의 시간(예를 들면, 화합물 첨가 후 10분) 동안, 퍼센트 블록은 $I/I_{\max}$ 로서 계산된다.
- [0572] **실시예 35. 반감기 연장에 대한 생체내 약동학(PK) 연구**
- [0573] 마우스 PK:
- [0574] 릴렉신 또는 릴렉신 FA 접합체(NH_4Ac 완충제 중의 0.3 mg/kg)를 사용하여 CD1 암컷 마우스($n = 5$)에서 생체내 정맥내 및 피하 PK 연구를 수행하였다. 활성 릴렉신의 정확한 측정을 보장하기 위해, 세포 기초의 레포터 유전자 어세이를 이용하여 0시간 내지 24시간의 간격으로 채취된 혈장 샘플을 분석하였다.
- [0575] 생체분석: 혈청 샘플을 5 점 연속 희석물(1:3)로 희석하고(1:100) 어세이 프로토콜에 따라 RXFP1 루시퍼라제 레포터 활성을 측정하였다. 주사된 펩티드를 표준물로서 사용하여 표준 곡선을 수득하고 하부, 상부, EC_{50} 및 경사 기울기에 대한 파라미터를 수득하였다. 수득된 활성 값(RLU)을 (표준 곡선의 선형 범위 내에서) 선택하였고, 표준 곡선으로부터 방정식을 이용하여 혈장 중의 농도(nmol/l)를 계산하였다($Y = \text{하부} + (\text{상부} - \text{하부}) / (1 + 10^{((\text{LogIC}_{50} - X) * \text{경사 기울기}))}$).
- [0576] 래트 PK:
- [0577] 릴렉신 B:D1A-A:pGLu1-L2C-FA2(NH_4Ac 완충제 중의 0.3 mg/kg)를 사용하여 Dahl 염 민감성(DSS) 암컷 래트($n = 4$)에서 생체내 정맥내 및 피하 PK 연구를 수행하였다. 활성 릴렉신의 정확한 측정을 보장하기 위해, 세포 기초의 레포터 유전자 어세이를 이용하여 0시간 내지 24시간의 간격으로 채취된 혈장 샘플을 분석하였다.
- [0578] 생체분석: 혈청 샘플을 5 점 연속 희석물(1:3)로 희석하고(1:100) 어세이 프로토콜에 따라 RXFP1 루시퍼라제 레포터 활성을 측정하였다. 주사된 펩티드를 표준물로서 사용하여 표준 곡선을 수득하고 하부, 상부, EC_{50} 및 경사 기울기에 대한 파라미터를 수득하였다. 수득된 활성 값(RLU)을 (표준 곡선의 선형 범위 내에서) 선택하였고, 표준 곡선으로부터 방정식을 이용하여 혈장 중의 농도(nmol/l)를 계산하였다($Y = \text{하부} + (\text{상부} - \text{하부}) / (1 + 10^{((\text{LogIC}_{50} - X) * \text{경사 기울기}))}$).
- [0579] 피하, 비경구 및 정맥내 투약을 이용하여 지질 접합된 릴렉신 또는 다른 치료제를 마우스에게 투약하였다. TA의 혈장 수준을 상이한 시점(예를 들면, 정맥내 PK 5분, 0.5시간, 1시간, 2시간, 4시간, 8시간, 24시간, 48시간)에서 LGR7 활성화로 측정하였다. 선택된 PK 데이터는 표 3 및 도 6 내지 13에 표시되어 있다.

표 3

번호	명칭	예상된 질량	실측된 질량	활성, 틸렉신과 비교된 배수 감소	LGR7 EC ₅₀ (pM)	반감기 (마우스, 피하)
1	틸렉신-B:D1A-A:Q1-L2C-FA2	6727.1	6727.3	12	210	8 시간
2	틸렉신-B:D1A-A:Q1-V13C-FA2	6741.2	6741.48	15	250	8 시간
3	틸렉신-B:D1A-A:Q1-L2C-FA155	6710.2	6710.41	12	210	6 시간
4	틸렉신-B:D1A-A:Q1-L2C-ALK	6241.4	6241.71	1	17-50	NT
5	틸렉신-B:D1A-A:pQ1-L2C-FA2	6710.1	6710.3	12	350	16 시간 (랫)
6	틸렉신-B:D1A-A:Q1-L2C-FA175	8086.3	8086.5	NT	NT	NT
7	틸렉신-B:D1A-A:Q1-L2C-FA182	6614.1	6614.2	2	51	8 시간
8	틸렉신-B:D1A-A:Q1-L2C-FA183	6832.2	6832.4	8	174	9.5 시간
9	틸렉신-B:D1A-A:Q1-L2C-FA186	6669.9	6670.1	10	235	3.4 시간
10	틸렉신-B:D1A	5936.1	5936.92	1	45	0.8 시간
10	틸렉신-야생형	5980.3	5980.9	1	~40	0.7 시간

NT: 시험되지 않음

[0580]

[0581] 실시예 36. 급성 심부전 모델에서의 약력학(PD) 연구 및 생체내 효능

[0582] PK의 측정 후, 적절한 투약법을 결정하고, 피하, 비경구 또는 정맥내 경로를 이용하여 지질 접합된 틸렉신을 투약함으로써, 혈압, 뇨류 및/또는 인대 연신에 대한 효능 모델에서 지질 접합된 틸렉신의 효능을 평가하였다. 또한, 폐 및 간에서의 블레오마이신 유도된 섬유증 모델, 및/또는 늙은 당뇨병 주커(zucker) 지방 랫트에서의 당뇨병성 상처 치유 모델에서 지질 접합된 틸렉신을 평가한다.

[0583] 실시예 37. 마우스 치골간 인대 바이오어세이를 이용한 PD 연구

[0584] 문헌(Steinetz et al. [Endocrinology (1960) 67:102-115])에 기재된 바와 같이 틸렉신에 대한 잘 확립되어 있는 고도로 특이적인 마우스 치골간 인대 바이오어세이를 이용하여 틸렉신 유사체의 생체활성을 CD1 마우스에서 측정한다. 3주령 내지 4주령에서 암컷 CD1 무경험 마우스를 연구로부터 선택한다. 동물을 조절된 온도(25℃) 및 광주기(12:12-시간 명-암 주기) 조건 하에서 군-수용하고, 동물이 표준 정규식 및 수돗물(또는 특정된 식수)에 제한 없이 접근하게 한다. 치료 1일째 날, 0.1 ml 참깨유 중의 10 µg 에스트라디올 사이피오네이트를 마우스에게 s.c. 주사한다. 8일째 날, 마우스들을 상이한 군으로 나눈다: 비히클 대조군, 야생형 틸렉신(PBS 완충제 중의 1% 벤조푸르푸린 4B 현탁액에 용해됨) 및 틸렉신 유사체(20 mM NH₄Ac 완충제에 용해됨, pH 6.5). s.c. 주사를 통해 상이한 용량으로 야생형 틸렉신 또는 틸렉신 유사체를 투여한다. 틸렉신 주사 후 상이한 시간에서, 마

우스를 안락사시키고 칼리퍼 측정을 이용하여 치골간 인대의 길이를 측정한다.

실시예 38. 급성 심부전의 치료를 위한 지질 접합된 릴렉신의 효능 및 안전성

목적: 급성 심부전으로 입원한 환자의 치료를 위한 효능 및 안전성을 확인하기 위해 상이한 용량의 지질 접합된 릴렉신을 플라세보와 비교한다.

질병	중재	기
심부전, 울혈성	약물: 릴렉신 약물: 플라세보	1 기 1 기

연구 유형: 중재

연구 디자인: 할당: 무작위배정

종점 분류: 안전성/효능 연구

중재 모델: 병렬 배정

차폐: 이중 맹검(대상체, 간병인, 조사자, 결과 평가자)

일차 목적: 치료

일차 결과 측정치: 급성 심부전에서의 호흡곤란의 경감[기간: 최대 5일][안전성 문제로서 지정됨: 없음]

이차 결과 측정치:

살아있고 퇴원한 날[기간: 최대 60일][안전성 문제로서 지정됨: 없음]

심부전 또는 신부전으로 인한 CV 사망 또는 재입원[기간: 최대 60일][안전성 문제로서 지정됨: 없음]

아암(Arms)	배정된 중재
플라세보 비교자: 플라세보 플라세보의 48 시간 정맥내 주입	약물: 플라세보 48 시간 동안 정맥내 주입
실험: 지질 접합된 릴렉신 30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{일}$ 로 지질 접합된 릴렉신의 48 시간 정맥내 주입	약물: 지질 접합된 릴렉신 30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{일}$ 로 48 시간 동안 정맥내 주입

상세한 설명:

이것은 급성 비보상된 심부전으로 인해 입원한 환자에서 징후 및 증상의 치료를 위한 정맥내 제조합 릴렉신의 국제적인 무작위배정된 이중 맹검 플라세보 대비 II/III 기 시험이다. II 기 파일럿 연구를 완료하였고; 시험의 III 기 주요 부분을 진행하고 있다.

적격요건

연구를 위한 적격 연령: 18세 이상

연구를 위한 적격 성별: 둘 다

건강한 지원자 허용: 없음

기준

포함 기준:

급성 심부전으로 인한 입원

휴식 또는 최소한의 활동 시 호흡곤란

폐 울혈

사전 동의서를 제공받을 수 있음

수축성 혈압 > 125 mmHg

- [0612] 30-75 ml/분/1.73 m²의 eGFR로서 정의된 손상된 신장 기능
- [0613] 배제 기준:
- [0614] 급성 심부전으로 인한 다른 정맥내 요법의 사용
- [0615] 발열 또는 패혈증
- [0616] 최근의 주요 신경학적 사건
- [0617] 최근의 주요 수술
- [0618] 최근의 급성 관상 증후군
- [0619] 다른 최근의 임상시험 약물 사용

표 4

표 4. 치료제(TA)-뉴클레오타이드 서열		
명칭	서열번호	서열
옥신토모돌린	1	CACTCTCAGGGTACCTTCACCTCTGACTACTCTAAATAC CTGGACTCTCGTCGTGCTCAGGACTTCGTTCAAGTGGCTG ATGAACACCAAACGTAACCGTAACAACATCGCT
릴랙신	2	GACTCTTGGATGGAAGAAGTTATCAAACGTGCGGGTCGT GAACTGGTTCGTGCTCAGATCGCTATCTGCGGTATGTCT ACCTGGTCTGGTGGCGGTCGTGGCGGTCGTCAAGTGTAC TCTGCTCTGGCTAACAAATGCTGCCACGTTGGTTGCACC AAACGTTCTCTGGCTCGTTTCTGCTAA
릴랙신 A 쇠	3	CTGTACTCTGCTCTGGCTAACAAATGCTGCCACGTTGGT TGCACCAAACGTTCTCTGGCTCGTTTCTGC
릴랙신 SB29C	4	GACTCTTGGATGGAAGAAGTTATCAAACGTGCGGGTCGT GAACTGGTTCGTGCTCAGATCGCTATCTGCGGTATGTCT ACCTGGTGC
렙틴	5	GTTCCGATCCAGAAAAGTTCAGGACGACACCAAAACCT GATCAAAACCATCGTTACCCGTATCAACGACATCTCTCA CACCCAGTCTGTTTCTGCTAAACAGCGTGTACtGGTCTG GACTTCATCCCGGGTCTGCACCCGATCCTGTCTCTGTCTA AAATGGACCAGACCCTGGCTGTTTACCAGCAGGTTCTGA CCTCTCTGCCGTCTCAGAACGTTCTGCAGATCGCTAACG ACCTGGAAAAACCTGCGTGACCTGCTGCACCTGCTGGCTT TCTCTAAATCTTGCTCTCTGCCGACAGCCTCTGGTCTGCA GAAACCGGAATCTCTGGACGGTGTCTGGAgGCTTCTCT GTACTCTACCGAAGTTGTTGCTCTGTCTCGTCTGCAGGG TTCTCTGCAGGACATCCTGCAGCAGCTGGACGTTTCTCC GGAATGCTAA
베타트로핀	6	GCTCCTCTGGGCGGTCTGAACCAGCACAGTACGAGGA ACTGACACTGTTGTTCCATGGAGCCTTGCACTGGGCCA GGCCCTCAACGGCGTGTACCGCGCCACAGAGGCACGTTT GACCGAGGCCGACACAGCCTGGGTTTGTACGACAGAG CCCTGGAGTTTCTGGGTACCGAAGTGCCTCAGGGCCAGG ACGCAACTCAGGAGCTGAGAACCTCCCTCTCTGAGATCC AGGTGGAGGAGGACGCCCTGCACCTGCGCGCCGAGGCG ACAGCACGCTCTTTGGGAGAAGTTGCTCGCGCTCAGCAG GCCCTGCGTGATAACCGTGCGGAGACTCCAAGTTCAGCTC AGAGGCGCTTGGCTCGGACAGGCGCATCAGGAGTTCGA GACCCTGAAAGCTCGTGCCGACAAACAGTCCACCTGCT GTGGGCGCTCACCGGTCACGTCCAGCGCCAGCAACGCG AAATGGCCGAGCAGCAGCAATGGCTGCGCCAAATCCAG CAGCGCCTGCATACCGCGGCCCTGCCAGCGTAA
FGF 21	7	CACCCGATCCCGGACTCTTCTCCGCTGCTGCAGTTCGGT GGTCAGGTTTCGTACGCGTTACCTGTACACCGACGACGCT CAGCAGACCGAAGCTCACCTGGAAATCCGTGAAGACGG TACtGTTGGTGGTGCTGCTGACCACTCTCCGGAATCTCTG CTGCAGCTGAAAGCTCTGAAACCGGGTGTATCCAGATC CTGGGTGTTAAAACCTCTCGTTTCCTGTGCCAGCGTCCG GACGGTGCTCTGTACGGTTCTCTGCACTTCGACCCGGAG GCATGCTCTTCCGTGAACGTCTGCTGGAAGACGGTTAC AACGTTTACCAGTCTGAAGCTCACGGTCTGCCGCTGCAC CTGCCGGGTAACAAATCTCCGCACCGTGACCCGGCTCCG

[0620]

표 4. 치료제(TA)-뉴클레오타이드 서열		
명칭	서열번호	서열
		CGTGGTCCGGCTCGTTTCCTGCCGCTGCCGGGTCTGCCG CCGGCTCTGCCGGAACCGCCGGGTATCCTGGCTCCGCAG CCGCCGGACGTTGGTTCTTCTGACCCGCTGTCTATGGTT GGTGGTTCTCAGGGTCGTTCTCCGTCTTACGAATCTCCGT AA
GDF 11	8	AACCTGGGTCTGGACTGCGACGAACACTCTTCTGAATCT CGTTGCTGCCGTTACCCGCTGACCGTTGACTTCGAGGCG TTCGGTTGGGACTGGATCATCGCTCCGAAACGTTACAAA GCTAACTACTGCTCTGGTCAGTGCGAATACATGTTTCATG CAGAAATACCCGCACACCCACCTGGTTCAGCAGGCTAA CCCGCGTGGTTCTGCTGGTCCGTGCTGCACCCCGACCAA AATGTCTCCGATCAACATGCTGTACTTCAACGACAAACA GCAGATCATCTACGGTAAAATCCCGGGTATGGTTGTTGA CCGTTGCGGTTGCTCTTAA
ANGPTL3	9	GGATCCGGTGGTTTCACCATCAAACCTGCTGCTGTTTCATC GTTCCGCTGGTTATCTTCTCTCGTATCGACCAGGACAAC TCTTCTTTCGACTCTCTGTCTCCGGAACCGAAATCTCGTT TCGCTATGCTGGACGACGTTAAAATCCTGGCTAACGGTC TGCTGCAGCTGGGTACGCTCTGAAAGACTTCGTTTACA AAACCAAAGGTCAGATCAACGACATCTTCCAGAACTG AACATCTTCGACCAGTCTTCTACGACCTGTCTCTGCAG ACCTCTGAAATCAAAGAAGAAGAAAAAGAACTGCGTCG TACCACCTACAACTGCAGGTTAAAAACGAAGAAGTTA AAAACATGTCTCTGGAACCTGAACTCTAACTGGAATCTC TGCTGGAAGAAAAATCCTGCTGCAGCAGAAAGTTAA TACCTGGAAGAACAGCTGACCAACCTGATCCAGAACCA GCCGGAACCCCGGAACACCCGGAAGTTACCTCTCTGA AAACCTTCGTTGAAAAACAGGACAACCTCTATCAAAGAC CTGCTGCAGACCGTTGAAGACCAGTACAAACAGCTGAA CCAGCAGCACTCTCAGATCAAAGAAATCGAAAACCAGC TGCGTCGTACCTCTATCCAGGAACCGACCGAAATCTCTC TGTCTTCTAAACCGCGTGCTCCGCGTACCACCCCGTTCTC GCAGCTGAACGAAATCCGTAAACGTTAAACACGACGGTA TCCCGGCTGAATGCACCACCATCTACAACCGTGGTGAAC ACACCTCTGGTATGTACGCTATCCGTCCGTCTAACTCTC AGGTTTTCCACGTTTACTGCGACGTTATCTCTGGTTCTCC GTGGACCCTGATCCAGCACCGTATCGACGGTTCTCAGAA CTTCAACGAAACCTGGGAAAACTACAAATACGGTTTCG GTCGTCTGGACGGTGAATTCTGGCTGGGTCTGGAAAAAA TCTACTCTATCGTTAAACAGTCTAACTACGTTCTGCGTAT CGAACTGGAAGACTGGAAGACAACAAACACTACATCG AATACTCTTTCTACCTGGGTAACACGAAACCAACTACA CCCTGCACCTGGTTGCTATCACCGGTAACGTTCCGAACG CTATCCCGAAGAAGAAGAAGAAAAAAAGAAGAAGAA AT

[0621]

표 5

표 5. 치료제-아미노산 서열		
명칭	서열번호	서열
옥신토모듈린	10	HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNTRNRNNIA
엑센딘-4 또는 엑세나타이드	11	HGEGTFTSDLSKQMEEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS
hGLP-1	12	HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGR
글루카곤	13	HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNT
릴렉신	14	DSWMEEVIKLCGRELVRAQIAICGMSTWSGGGRGGRQLY SALANKCCHVGCTKRSLARFC
릴렉신 A쇄	15	LYSALANKCCHVGCTKRSLARFC
릴렉신 SB29C	16	DSWMEEVIKLCGRELVRAQIAICGMSTWC
렐틴	17	VPIQKVQDDTKTLIKTIVTRINDISHTQSVSAKQRTGLDFI PGLHPILSLSKMDQTLAVYQQVLTSLPSQNVLQIANDLEN LRDLLHLLAFSKSCSLPQTSGLQKPESLDGVLEASLYSTEV VALSRLQGSQDILQQLDVSPEC
베타트로핀	18	APLGGPEPAQYEELTLLFHGALQLGQALNGVYRATEARL TEAGHSLGLYDRALEFLGTEVRQGQDATQELRTSLSEIQV EEDALHLRAEATARSLSGEVARAQALRDTVRRLLQVQLRG AWLGQAHQEFETLKARADKQSHLLWALTGHVQRQRE MAEQQQWLRQIQORLHTAALPA
FGF 21	19	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDT VGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDG ALYGSLHFDPEACSFRELRLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPG NKSPHRDPAPRGPAPFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGS SDPLSMVGGSQGRSPSYESP
GDF 11	20	NLGLDCDEHSSERCCRYPLTVDFEAFGWDWIIAPKRYKA NYCSGQCEYMFQKYPHTLVQQANPRGSAGPCCTPTK MSPINMLYFNDKQQIYGKIPGMVVDRCGS
ANGPTL3	21	GSGGFTIKLLLFIPLVISSRIDQDNSSFDSLSPEPKSRFAML DDVKILANGLLQLGHGLKDFVHKTKGQINDIFQKLNIFDQ SFYDLSLQTSEIKEEEKELRRTTYKLQVKNEEVKNMSLEL NSKLESLLKILLQKVKYLEEQLTNLIQNQPETPEHPEV TSLKTFVEKQDNSIKDLLQTVEDQYKQLNQHSQIKEIEN QLRRTSIQEPTEISLSSKPRAPRTTPFLQLNEIRNVKHDGIPA ECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLI QHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVK QSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNETNYTLHLVAI TGNVPNAIPKKKKKKKKKK
Moka	22	INVKCSLPQQCIKPKCDAGMRFGKCMNKKCRCYS
VM-24	23	AAAIscvGSPECPPKCRAQGCKNGKCMNRKCKCYC
Oxm-Cys38	24	HsQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNTRNRNNIAC
Ex4-Cys40	25	HGEGTFTSDLSKQMEEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSC
독소 H8-Tev-	26	HHHHHHHHENLYFQGSCGGECIGMFKSCDPENDKCKCKGR

[0622]

표 5. 치료제-아미노산 서열

명칭	서열번호	서열
550		TCSRKHRWCKYKL
550-GSGG	27	GSGGEECIGMFKSCDPENDKCKGRTCSRKHRWCKYKL
550-4-GSCGG	28	GSCGGECIGMFKSCDPENDKCKGRTCSRKHRWCKYKL
550-3-GSGG	29	GSGGECIGMFKSCDPENDKCKGRTCSRKHRWCKYKLC
독소-550	30	ECIGMFKSCDPENDKCKGRTCSRKHRWCKYKL
550-3	31	ECIGMFKSCDPENDKCKGRTCSRKHRWCKYKLGSC
Tev-릴렉신-단일쇄	32	*HHHHHHHHENLYFQSGGDSWMEEVIKLCGRELVRQAIAICGMSTWSGGGRGGRQLYSALANKCCHVGCTKRSLARFC*
GSGG-릴렉신-단일쇄	33	*GSGGDSWMEEVIKLCGRELVRQAIAICGMSTWSGGGRGGRQLYSALANKCCHVGCTKRSLARFC*
Tev-릴렉신-C-쇄	34	*HHHHHHHHENLYFQSGGDSWMEEVIKLCGRELVRQAIAICGMSTWSKRSLSQEDAPQTPRPVAEIVPSFINKDTETINMMSEFVANLPQELKLTSEMQLPALPQLQHPVPLKDSSLFEEFKLIRNRQSEAADSSPSELKYLGLDTHSRKKRQLYSALANKCCHVGCTKRSLARFC*
Tev-릴렉신쇄1	35	*HHHHHHHHENLYFQSGGDSWMEEVIKLCGRELVRQAIAICGMSTWS*
Tev-릴렉신쇄2	36	*QLYSALANKCCHVGCTKRSLARFC*
Tev-릴렉신-B-S29C-단일쇄	37	*HHHHHHHHENLYFQSGGDSWMEEVIKLCGRELVRQAIAICGMSTWCGGGRGGRQLYSALANKCCHVGCTKRSLARFC*
Tev-릴렉신-B-S29C-C-쇄	38	*HHHHHHHHENLYFQSGGDSWMEEVIKLCGRELVRQAIAICGMSTWCKRSLSQEDAPQTPRPVAEIVPSFINKDTETINMMSEFVANLPQELKLTSEMQLPALPQLQHPVPLKDSSLFEEFKLIRNRQSEAADSSPSELKYLGLDTHSRKKRQLYSALANKCCHVGCTKRSLARFC*
전구릴렉신-B-D1A	39	*MIEGRDSWMEEVIKLCGRELVRQAIAICGMSTWSKRKPTGYGSRKKRQLYSALANKCCHVGCTKRSLARFC*
B-쇄	40	DSWMEEVIKLCGRELVRQAIAICGMSTWS
A-쇄	41	LYSALANKCCHVGCTKRSLARFC
릴렉신 A쇄1	42	QLYSALANKCCHVGCTKRSLARFC
릴렉신 A쇄2	43	QLYSCLANKCCHVGCTKRSLARFC
릴렉신 A쇄3	44	QLYSALANKCCKVGCTKRSLARFC
릴렉신 A쇄4	45	CLYSALANKCCHVGCTKRSLARFC
릴렉신 A쇄5	46	ALYSALANKCCAVGCTKRSLARFC
릴렉신 A쇄6	47	ALYSALANKCCAVGCTKRSLARFC
릴렉신 B쇄1	48	ASWMEEVIKLCGRELVRQAIAICGMSTWS
릴렉신 B쇄2	49	ASWMEEVIKLCGRELVRQAIAICGMSTWC
릴렉신 B쇄3	50	ASWKEEVIKLCGRELVRQAIAICGKSTWC
릴렉신 B쇄4	51	ASWKEEVIKLCGRELVRQAIAICGMSTWC

[0623]

표 5. 치료제-아미노산 서열		
명칭	서열번호	서열
릴렉신 B쇄 5	52	CSWMEEVIKLCGRELVRAQIAICGMSTWS
H2-릴렉신 A쇄 1	53	ZLYSALANKCCHVGCTKRSLARFC
H2-릴렉신 A쇄 2	54	QCYSALANKCCHVGCTKRSLARFC
H2-릴렉신 A쇄 3	55	QLYSALANKCCHVGCTKRSLARFC
H2-릴렉신 B쇄	56	DSWMEEVIKCLGRELVRAQIAICGMSTWS
릴렉신 A쇄 7	57	QLYSALANKCCHVGCTKCSLARFC
릴렉신 B쇄 6	58	ASWMEEVIKLCGRELVRAQIAICGKSTWC
릴렉신 A쇄 8	59	pQCYSALANKCCHVGCTKRSLARFC
릴렉신 A쇄 9	60	$X^1X^2YSX^3LANKCCX^4X^5GCTKX^6SLARFC$, 이때, $X^1 = Z$ 또는 A; $X^2 = C, L, A, I$ 또는 V; $X^3 = C, L, A, I$ 또는 V; $X^4 = H, A$ 또는 K; $X^5 = C, L, A, I$ 또는 V; $X^6 = R$ 또는 C; 이때, X^2, X^3, X^5 또는 X^6 중 적어도 하나는 C이다.
릴렉신 B쇄 7	61	ASWMEECIKLCGRELVRAQIAICGMSTWS

소문자는 D-아미노산을 표시한다.
Tev = Tev 프로테아제 절단 서열(ENLYFQ) (서열번호 71)
* = 유리 N-말단 또는 비변형된 C-말단 카복실 기
Z = Q, E, 또는 피로글루타메이트(pQ)

[0624]

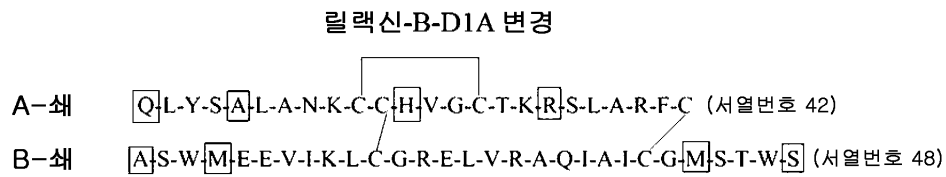
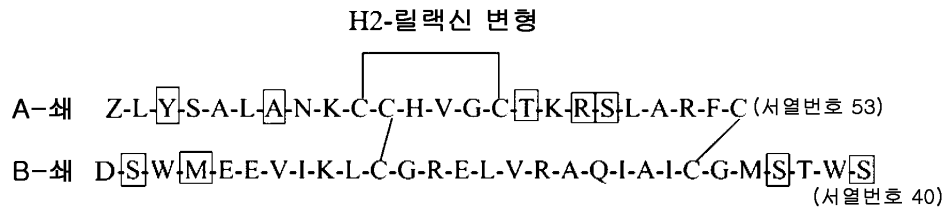
표 6

표 6. 릴렉신2 구축 프라이머 서열		
명칭	서열번호	서열
릴렉신 2 f1 (#32)	62	TATTTCCAGGGATCCGGTGGTGA CTCTTGATGGAAGA AGTTATCAAACTGTGCGGTCGT
릴렉신 2 r6 링커 S26C (#212)	63	TAGACATACCGCAGATAGCGATCTGAGCACGAACCAG TTCACGACCGCACAGTTTGATAA
릴렉신 2 링커 f1 S26C (#213)	64	CGCTATCTGCGGTATGTCTACCTGGTCTGGTGGCGGTC GTGGCGGTCGTCAGCTGTACTC
릴렉신 2 링커 f1 (#209)	65	CGCTATCTGCGGTATGTCTACCTGGTCTGGTGGCGGTC GTGGCGGTCGTCAGCTGTACTC
릴렉신 2 r6 (#43)	66	TAGACATACCGCAGATAGCGATCTGAGCACGAACCAG TTCACGACCGCACAGTTTGATAA
릴렉신 2 링커 f1 S29C (#214)	67	CGCTATCTGCGGTATGTCTACCTGGTCTGGTGGCGGTC GTGGCGGTCGTCAGCTGTACTC
릴렉신 2 링커 r1 (#210)	68	TTTGGTGCAACCAACGTGGCAGCATTTGTTAGCCAGAG CAGAGTACAGCTGACGACCGCC
pVB008 릴렉신 2 Amp for (#60)	69	AATCTGTATTTCCAGGGATCCGGTGGTGA
릴렉신 2 링커 Amp rev (#211)	70	TGGCTAAGCTTTAGCAGAAACGAGCCAGAGAACGTTT GGTGCAACCAACGTGGC

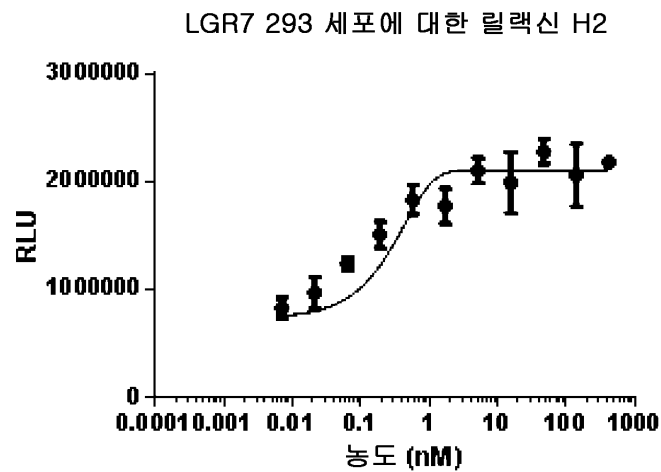
[0625]

도면

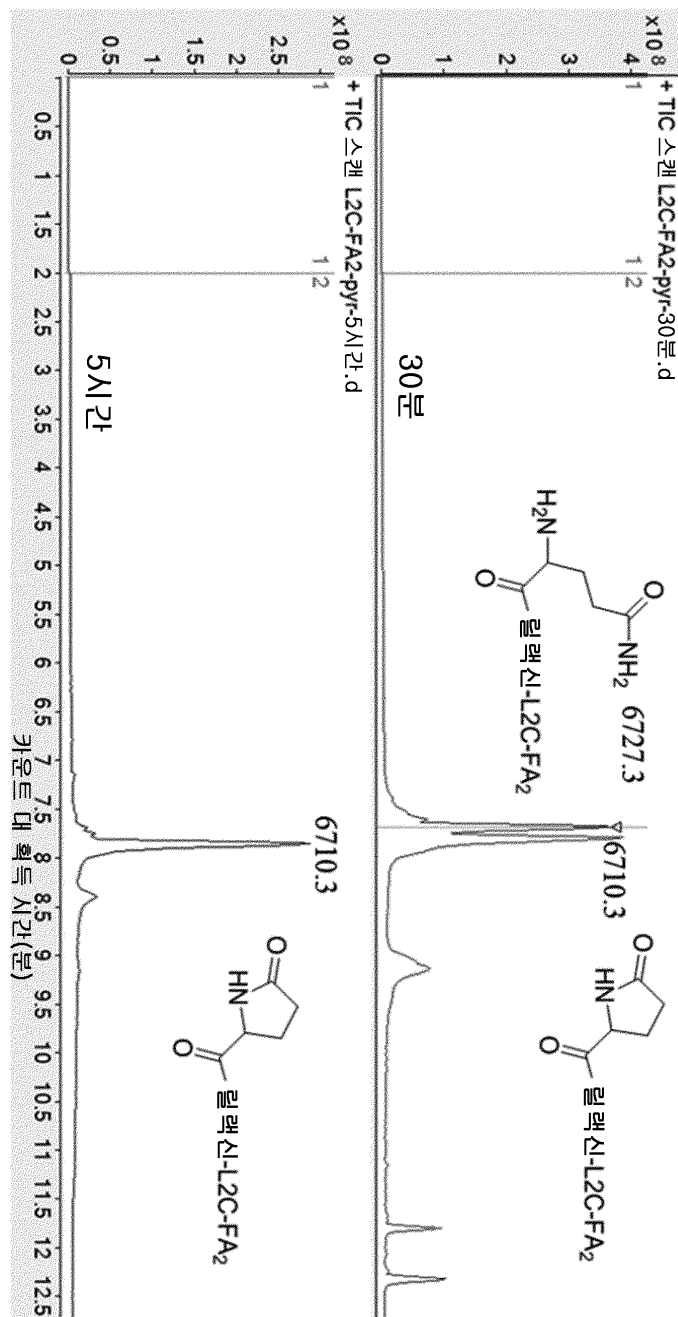
도면1



도면2



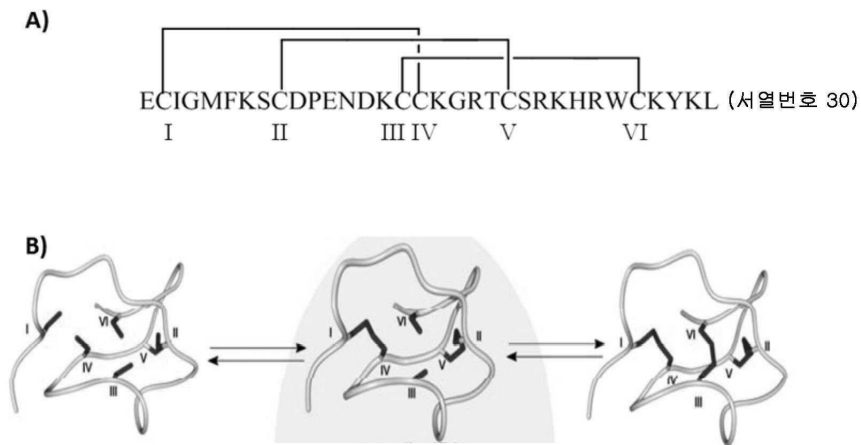
도면3



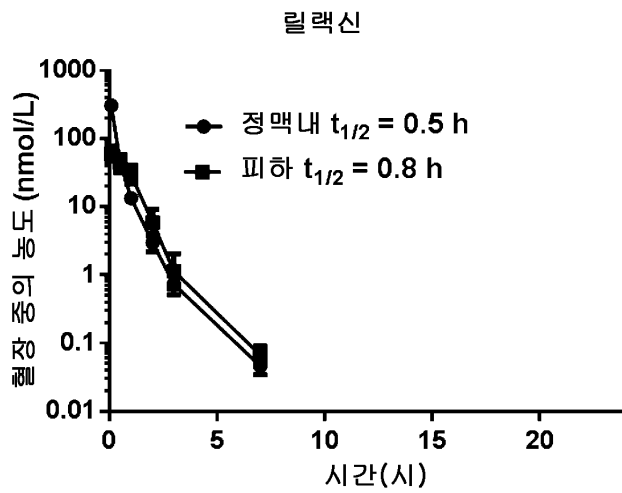
도면4



도면5



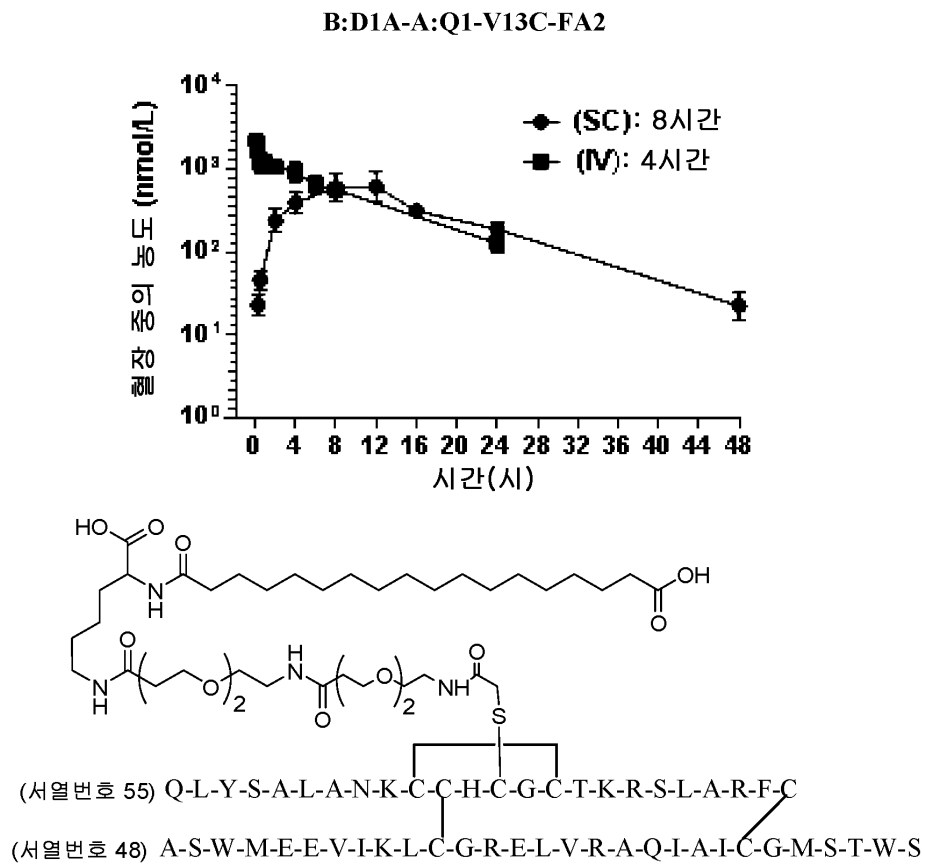
도면6



(서열번호 42) Q-L-Y-S-A-L-A-N-K-C-C-H-V-G-C-T-K-R-S-L-A-R-F-C

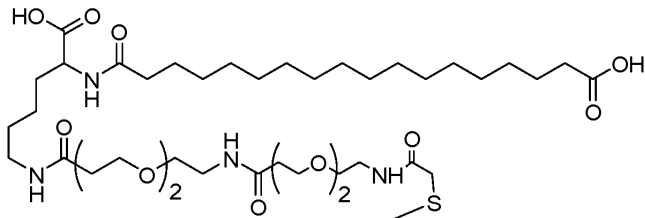
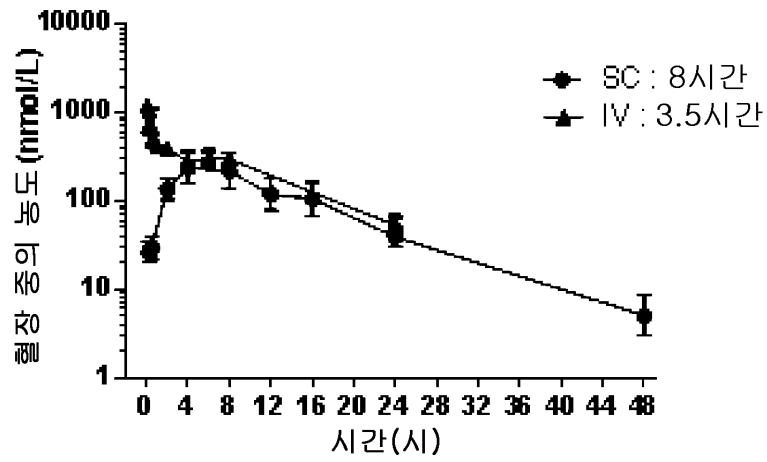
(서열번호 48) A-S-W-M-E-E-V-I-K-L-C-G-R-E-L-V-R-A-Q-I-A-I-C-G-M-S-T-W-S

도면7



도면8

B:D1A-A:Q1-L2C-FA2



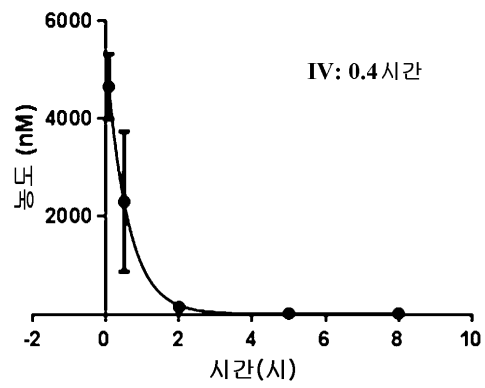
(서열번호 54) Q-C-Y-S-A-L-A-N-K-C-C-H-V-G-C-T-K-R-S-L-A-R-F-C

(서열번호 48) A-S-W-M-E-E-V-I-K-L-C-G-R-E-L-V-R-A-Q-I-A-I-C-G-M-S-T-W-S

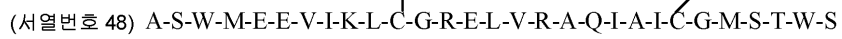
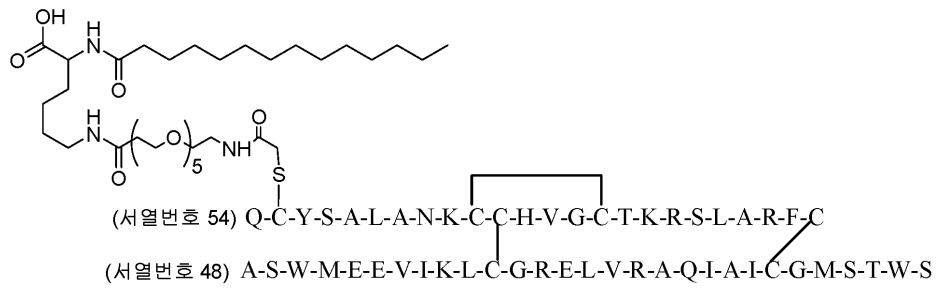
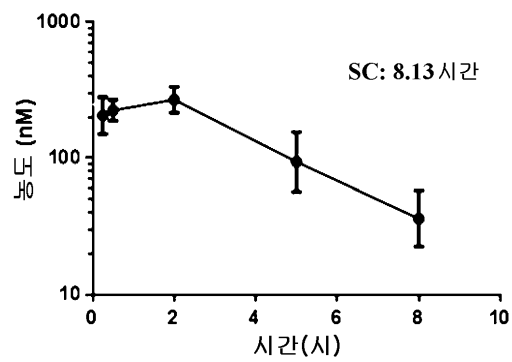
도면10

도 10A

B:D1A-A:Q1-L2C-FA182

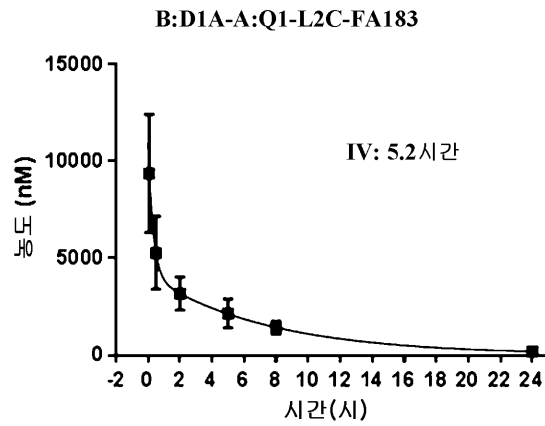


도 10B

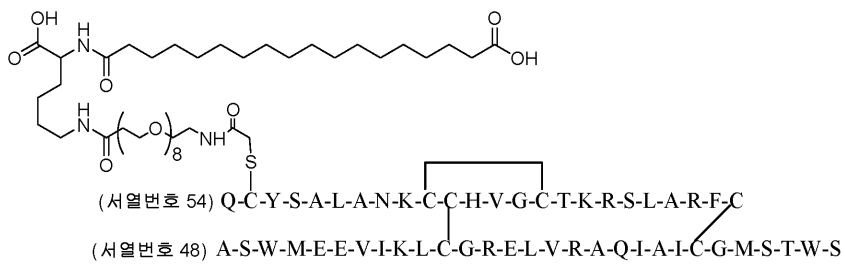
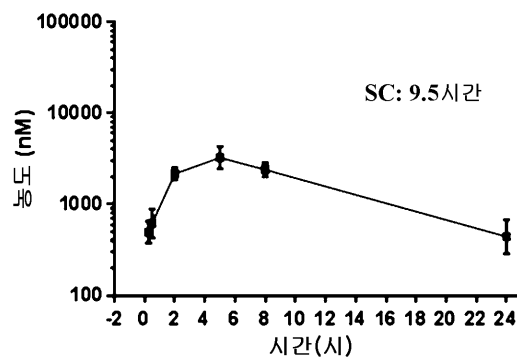


도면11

도 11A

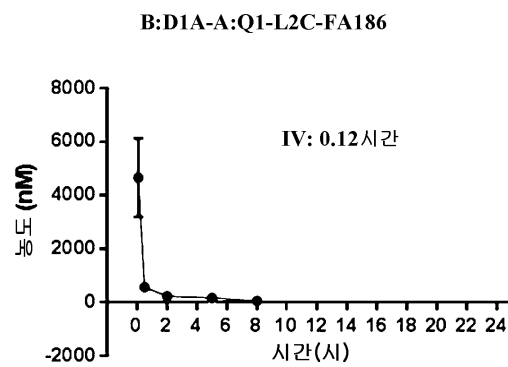


도 11B

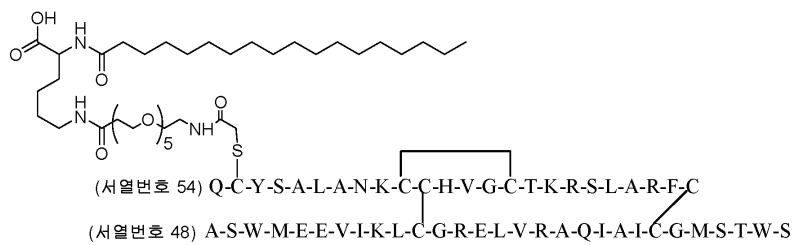
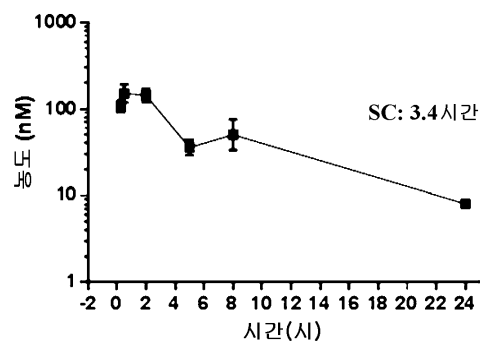


도면12

도 12A

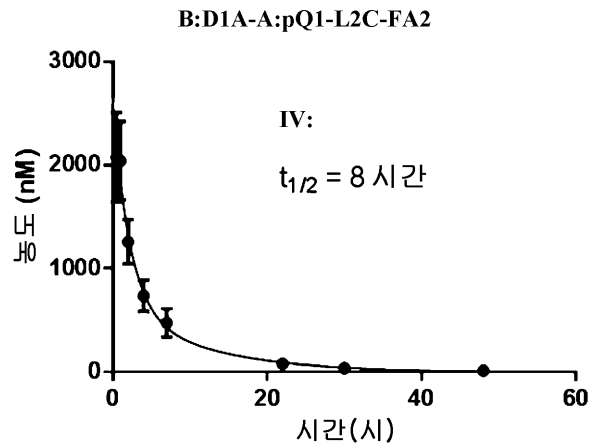


도 12B

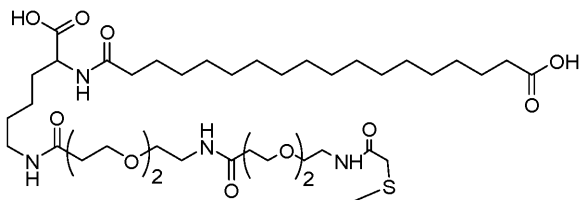
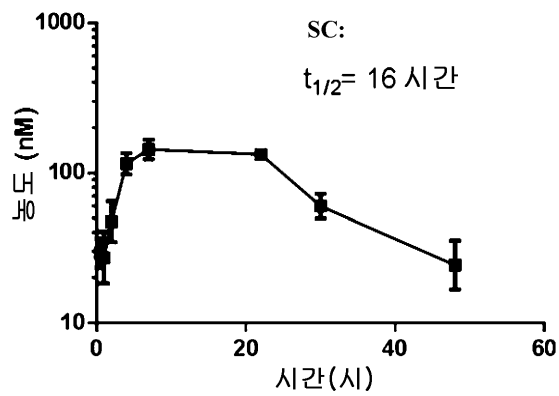


도면13

도 13A



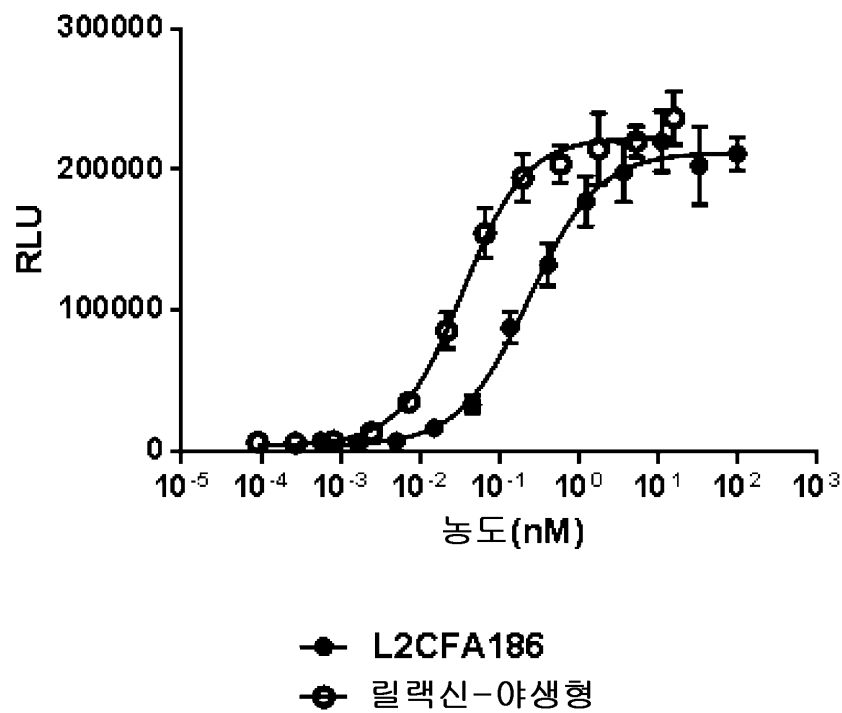
도 13B



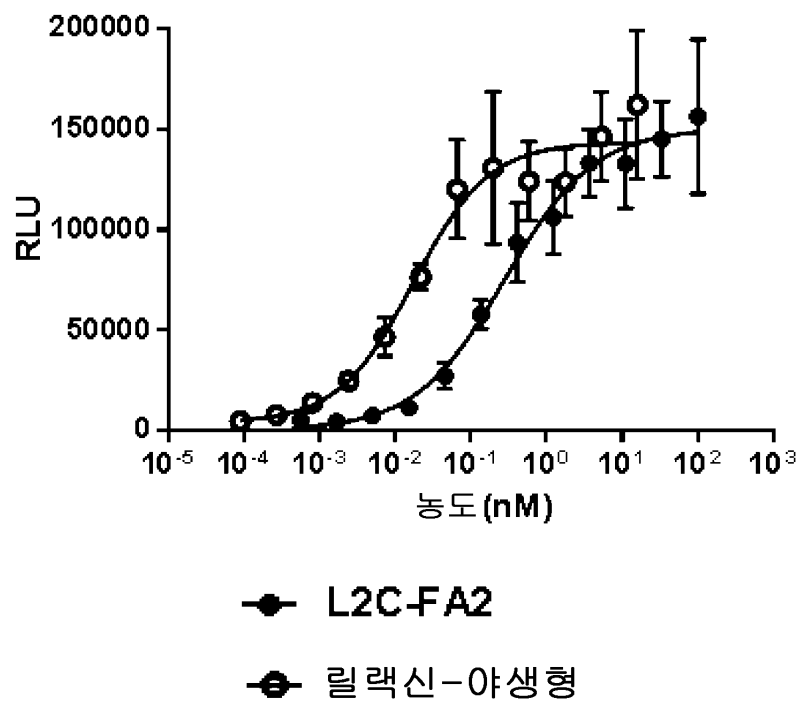
(서열번호 59) pQ-C-Y-S-A-L-A-N-K-C-C-H-V-G-C-T-K-R-S-L-A-R-F-C

(서열번호 48) A-S-W-M-E-E-V-I-K-L-C-G-R-E-L-V-R-A-Q-I-A-I-C-G-M-S-T-W-S

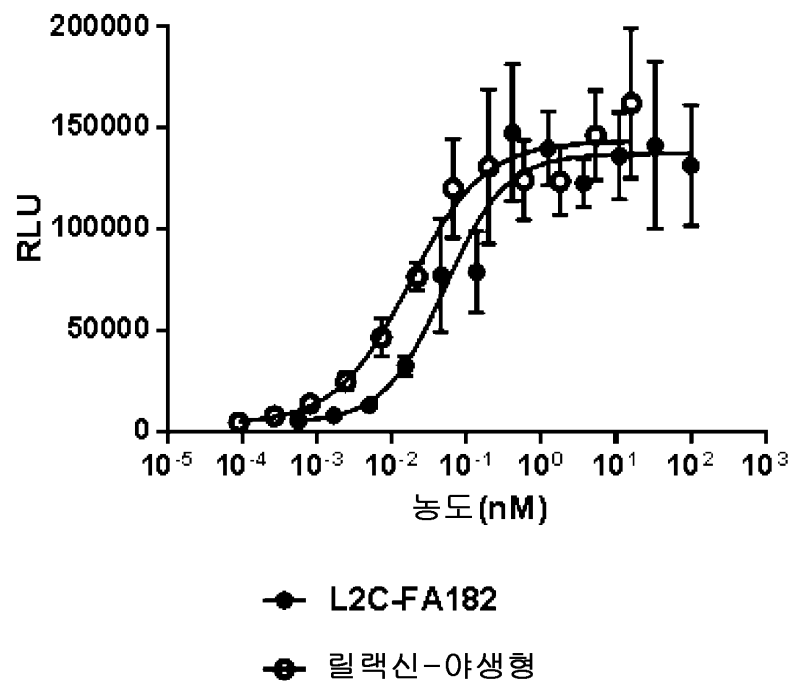
도면14



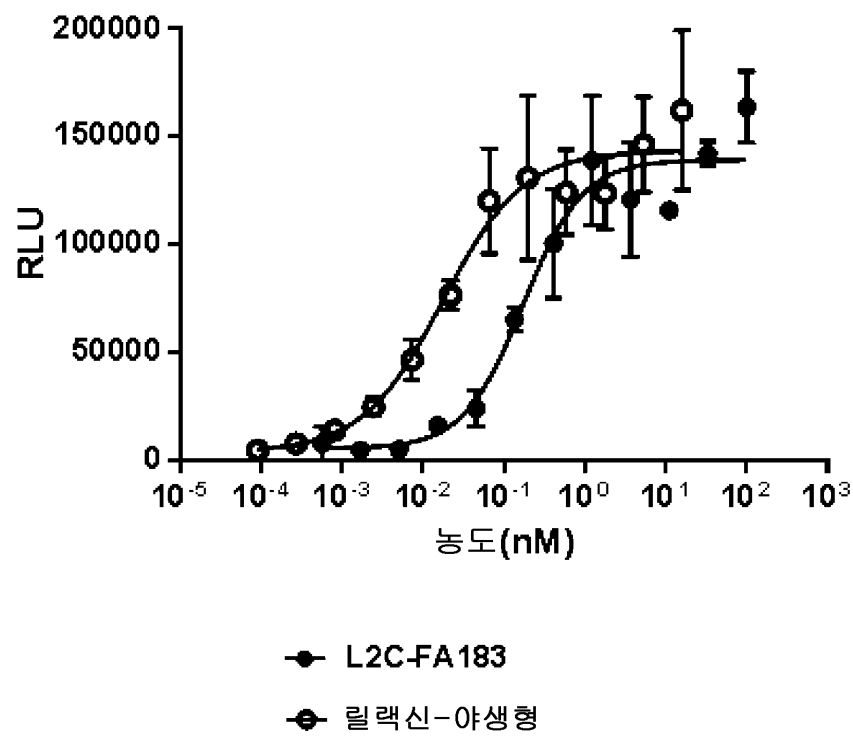
도면15



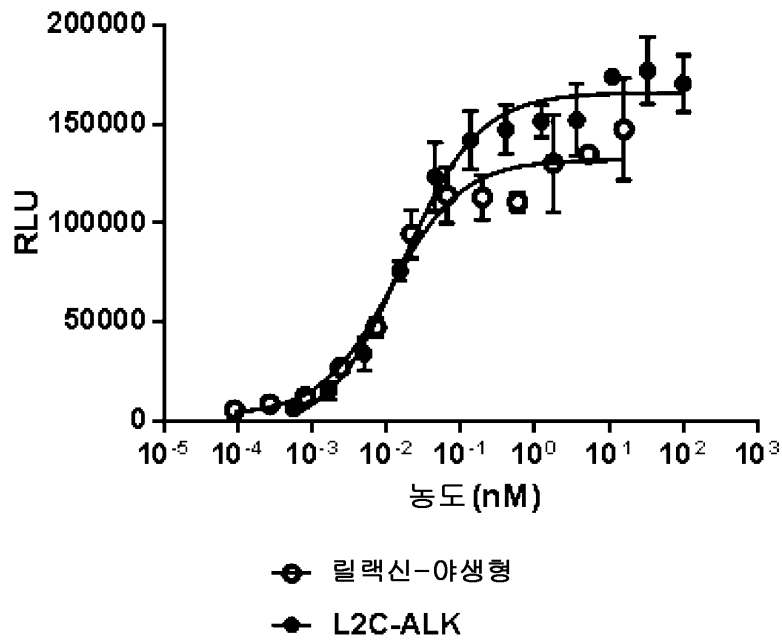
도면16



도면17



도면18



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> THE CALIFORNIA INSTITUTE FOR BIOMEDICAL RESEARCH

<120> MODIFIED THERAPEUTIC AGENTS AND COMPOSITIONS THEREOF

<130> 41135-739.601

<140> PCT/US2016/022880

<141> 2016-03-17

<150> 62/134,939

<151> 2015-03-18

<160> 72

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 111

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 1

cactctcagg gtaccttcac ctctgactac tctaaatacc tggactctcg tcgtgctcag

60

gacttcgttc agtggctgat gaacaccaaa cgtaaccgta acaacatcgc t 111

<210> 2

<211> 183

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 2

gactcttgga tggaagaagt tatcaaaactg tgcggtcgtg aactggttcg tgctcagatc 60

gctatctgcg gtatgtctac ctggctcgtg ggcggtcgtg gcggtcgtca gctgtactct 120

gctctggcta acaaatgctg ccacgttggt tgcaccaaac gttctctggc tcgtttctgc 180

taa 183

<210> 3

<211> 69

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 3

ctgtactctg ctctggctaa caaatgctgc caggttggtt gcaccaaagc ttctctggct 60

cgtttctgc 69

<210> 4

<211> 87

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 4

gactcttgga tggaagaagt tatcaaaactg tgcggtcgtg aactggttcg tgctcagatc 60

gctatctgcg gtatgtctac ctggtgc 87

<210> 5

<211> 441

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 5

gttcgatcc agaaagtcca ggacgacacc aaaaccctga tcaaaacat cgttaccgt	60
atcaacgaca tctctcacac ccagtctgtt tctgctaaac agcgtgttac tggctcggac	120
ttcatcccgg gtctgcaccc gatcctgtct ctgtctaaaa tggaccagac cctggctgtt	180
taccagcagg ttctgacctc tctgccgtct cagaacgttc tgcagatcgc taacgacctg	240
gaaaacctgc gtgacctgct gcacctgctg gctttctcta aatcttgctc tctgccgcag	300
acctctggtc tgcagaaacc ggaatctctg gacggtgttc tggaggcttc tctgtactct	360
accgaagttg ttgctctgct tctgtcgcag ggttctctgc aggacatcct gcagcagctg	420
gacgtttctc cggaatgcta a	441

<210> 6

<211> 534

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 6

gtctctctgg gcggtctga accagcacag tacgaggaac tgacactgtt gttccatgga	60
gccttgacgc tgggccaggc cctcaacggc gtgtaccgcg ccacagaggc acgtttgacc	120
gaggccggac acagcctggg tttgtacgac agagccctgg agtttctggg taccgaagtg	180
cgtcagggcc aggacgcaac tcaggagctg agaacctccc tctctgagat ccagggtggag	240
gaggacgccc tgcacctgcg cgccgaggcg acagcacgct ctttgggaga agttgctcgc	300
gtcagcagg cctgcgtga taccgtgcgg agactccaag ttcagctcag aggcgcttgg	360
ctcggacagg cgcatcagga gttcagagacc ctgaaagctc gtgccgacaa acagtccac	420
ctgctgtggg cgctcaccgg tcacgtccag cgccagcaac gcgaaatggc cgagcagcag	480
caatggctgc gccaaatcca gcagcgctg cataccgagg ccctgccagc gtaa	534

<210> 7

<211> 549

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 7

cacccgatcc cggactcttc tccgctgctg cagttcggtg gtcaggttcg tcagcggttac	60
ctgtacaccg acgacgctca gcagaccgaa gctcacctgg aaatccgtga agacggtact	120
gttgggtggtg ctgctgacca gtctccggaa tctctgctgc agctgaaagc tctgaaaccg	180
ggtgttatcc agatcctggg tgttaaaacc tctcgtttcc tgtgccagcg tccggacggt	240
gctctgtacg gttctctgca cttcgaccgg gaggcattgt ctttcctgta acgtctgctg	300
gaagacgggtt acaacgttta ccagcttgaa gtcacgggtc tgccgctgca cctgccgggt	360
aacaaatctc cgcaccgtga cccggctccg cgtgggtccg ctcgtttcct gccgctgccg	420
ggtctgccgc cggtctgcc ggaaccgccg ggtatcctgg ctccgcagcc gccggacggt	480
ggtttctctg acccgctgct tatggttggg ggttctcagg gtcgttctcc gtcttacgaa	540
tctccgtaa	549

<210> 8

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 8

aacctgggtc tggactgcga cgaacactct tctgaatctc gttgctgccg ttaccgctg	60
accgttgact tcgaggcgtt cggttgggac tggatcatcg ctccgaaacg ttacaaagct	120
aactactgct ctggtcagtg cgaatacatg ttcattgcaga aatacccgca caccacctg	180
gttcagcagg ctaaccgcg tggttctgct ggtccgtgct gcacccgcac caaatgtct	240
ccgatcaaca tgctgtactt caacgacaaa cagcagatca tctacggtaa aatcccggt	300
atggttggtt accgttgccg ttgctcttaa	330

<210> 9

<211> 1162

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 9

ggatccggtg gtttcacat caaactgctg ctgttcacg ttccgctggt tatctcttct	60
cgtatcgacc aggacaactc ttctttcgac tctctgtctc cggaaccgaa atctcgtttc	120
gctatgctgg acgacgttaa aatcctggct aacggtctgc tgcagctggg tcacggtctg	180
aaagacttcg ttcacaaaac caaaggtcag atcaacgaca tcttccagaa actgaacatc	240
ttcgaccagt ctttctacga cctgtctctg cagacctctg aaatcaaaga agaagaaaaa	300
gaactgcgtc gtaccaccta caaactgcag gttaaaaacg aagaagttaa aaacatgtct	360
ctggaactga actctaaact ggaatctctg ctggaagaaa aaatcctgct gcagcagaaa	420
gttaaatacc tggaagaaca gctgaccaac ctgatccaga accagccgga aaccccgga	480
caccgcgaag ttacctctct gaaaaccttc gttgaaaaac aggacaactc tatcaaagac	540
ctgctgcaga ccgttgaaga ccagtacaaa cagctgaacc agcagcactc tcagatcaaa	600
gaaatcgaaa accagctgcg tcgtacctct atccaggaac cgaccgaaat ctctctgtct	660
tctaaaccgc gtgctccgcg taccaccccg ttctgcagc tgaacgaaat ccgtaacgtt	720
aaacacgacg gtatcccggc tgaatgcacc accatctaca accgtggtga acacacctct	780
ggtatgtacg ctatccgtcc gtctaactct caggttttcc acgtttactg cgacgttate	840
tctggttctc cgtggaccct gatccagcac cgtatcgacg gttctcagaa cttcaacgaa	900
acctgggaaa actacaaata cggtttcggg cgtctggacg gtgaattctg gctgggtctg	960
gaaaaaatct actctatcgt taaacagtct aactacgttc tgcgtatcga actggaagac	1020
tggaaagaca acaaacacta catcgaatac tctttctacc tgggtaacca cgaaaccaac	1080
tacacctgc acctggttgc tatcaccggt aacgttccga acgctatccc gaagaagaag	1140
aagaaaaaaa agaagaagaa at	1162

<210> 10

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 10

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser

1	5	10	15
---	---	----	----

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn

20	25	30
----	----	----

Arg Asn Asn Ile Ala

35

<210> 11

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 11

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser

20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

35

<210> 12

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 12

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly

1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg

20 25 30

<210> 13

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 13

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser

1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr

20 25

<210> 14

<211> 60

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 14

Asp Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

1 5 10 15

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Gly

20 25 30

Arg Gly Gly Arg Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His

35 40 45

Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

50 55 60

<210> 15

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 15

Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys

1 5 10 15

Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

20

<210> 16

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 16

Asp Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

1 5 10 15

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Cys

20 25

<210> 17

<211> 146

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 17

Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr

1 5 10 15

Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ala

20 25 30

Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile

35 40 45

Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Val

50 55 60

Leu Thr Ser Leu Pro Ser Gln Asn Val Leu Gln Ile Ala Asn Asp Leu

65 70 75 80

Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys

85 90 95

Ser Leu Pro Gln Thr Ser Gly Leu Gln Lys Pro Glu Ser Leu Asp Gly

100 105 110

Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg

115 120 125

Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Val Ser Pro

130

135

140

Glu Cys

145

<210> 18

<211> 177

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 18

Ala Pro Leu Gly Gly Pro Glu Pro Ala Gln Tyr Glu Glu Leu Thr Leu

1

5

10

15

Leu Phe His Gly Ala Leu Gln Leu Gly Gln Ala Leu Asn Gly Val Tyr

20

25

30

Arg Ala Thr Glu Ala Arg Leu Thr Glu Ala Gly His Ser Leu Gly Leu

35

40

45

Tyr Asp Arg Ala Leu Glu Phe Leu Gly Thr Glu Val Arg Gln Gly Gln

50

55

60

Asp Ala Thr Gln Glu Leu Arg Thr Ser Leu Ser Glu Ile Gln Val Glu

65

70

75

80

Glu Asp Ala Leu His Leu Arg Ala Glu Ala Thr Ala Arg Ser Leu Gly

85

90

95

Glu Val Ala Arg Ala Gln Gln Ala Leu Arg Asp Thr Val Arg Arg Leu

100

105

110

Gln Val Gln Leu Arg Gly Ala Trp Leu Gly Gln Ala His Gln Glu Phe

115

120

125

Glu Thr Leu Lys Ala Arg Ala Asp Lys Gln Ser His Leu Leu Trp Ala

130

135

140

Leu Thr Gly His Val Gln Arg Gln Gln Arg Glu Met Ala Glu Gln Gln

145

150

155

160

Gln Trp Leu Arg Gln Ile Gln Gln Arg Leu His Thr Ala Ala Leu Pro

165 170 175

Ala

<210> 19

<211> 182

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 19

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln

50 55 60

Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly

65 70 75 80

Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg

85 90 95

Glu Arg Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His

100 105 110

Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro

115 120 125

Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro

130 135 140

Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val

145 150 155 160

Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Gly Ser Gln Gly Arg Ser

165 170 175

Pro Ser Tyr Glu Ser Pro

180

<210> 20

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 20

Asn Leu Gly Leu Asp Cys Asp Glu His Ser Ser Glu Ser Arg Cys Cys

1 5 10 15

Arg Tyr Pro Leu Thr Val Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile

20 25 30

Ile Ala Pro Lys Arg Tyr Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Gln Cys Glu

35 40 45

Tyr Met Phe Met Gln Lys Tyr Pro His Thr His Leu Val Gln Gln Ala

50 55 60

Asn Pro Arg Gly Ser Ala Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser

65 70 75 80

Pro Ile Asn Met Leu Tyr Phe Asn Asp Lys Gln Gln Ile Ile Tyr Gly

85 90 95

Lys Ile Pro Gly Met Val Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser

100 105

<210> 21

<211> 387

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 21

Gly Ser Gly Gly Phe Thr Ile Lys Leu Leu Leu Phe Ile Val Pro Leu

1 5 10 15

Val Ile Ser Ser Arg Ile Asp Gln Asp Asn Ser Ser Phe Asp Ser Leu
20 25 30

Ser Pro Glu Pro Lys Ser Arg Phe Ala Met Leu Asp Asp Val Lys Ile
35 40 45

Leu Ala Asn Gly Leu Leu Gln Leu Gly His Gly Leu Lys Asp Phe Val
50 55 60

His Lys Thr Lys Gly Gln Ile Asn Asp Ile Phe Gln Lys Leu Asn Ile
65 70 75 80

Phe Asp Gln Ser Phe Tyr Asp Leu Ser Leu Gln Thr Ser Glu Ile Lys
85 90 95

Glu Glu Glu Lys Glu Leu Arg Arg Thr Thr Tyr Lys Leu Gln Val Lys
100 105 110

Asn Glu Glu Val Lys Asn Met Ser Leu Glu Leu Asn Ser Lys Leu Glu
115 120 125

Ser Leu Leu Glu Glu Lys Ile Leu Leu Gln Gln Lys Val Lys Tyr Leu
130 135 140

Glu Glu Gln Leu Thr Asn Leu Ile Gln Asn Gln Pro Glu Thr Pro Glu
145 150 155 160

His Pro Glu Val Thr Ser Leu Lys Thr Phe Val Glu Lys Gln Asp Asn
165 170 175

Ser Ile Lys Asp Leu Leu Gln Thr Val Glu Asp Gln Tyr Lys Gln Leu
180 185 190

Asn Gln Gln His Ser Gln Ile Lys Glu Ile Glu Asn Gln Leu Arg Arg
195 200 205

Thr Ser Ile Gln Glu Pro Thr Glu Ile Ser Leu Ser Ser Lys Pro Arg
210 215 220

Ala Pro Arg Thr Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val
225 230 235 240

Lys His Asp Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly
245 250 255

Glu His Thr Ser Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val

260 265 270
Phe His Val Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile
275 280 285
Gln His Arg Ile Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn
290 295 300
Tyr Lys Tyr Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu
305 310 315 320

Glu Lys Ile Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile
325 330 335
Glu Leu Glu Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe
340 345 350
Tyr Leu Gly Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile
355 360 365
Thr Gly Asn Val Pro Asn Ala Ile Pro Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
370 375 380

Lys Lys Lys

385

<210> 22

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 22

Ile Asn Val Lys Cys Ser Leu Pro Gln Gln Cys Ile Lys Pro Cys Lys
1 5 10 15
Asp Ala Gly Met Arg Phe Gly Lys Cys Met Asn Lys Lys Cys Arg Cys
20 25 30
Tyr Ser

<210> 23

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 23

Ala Ala Ala Ile Ser Cys Val Gly Ser Pro Glu Cys Pro Pro Lys Cys

1 5 10 15

Arg Ala Gln Gly Cys Lys Asn Gly Lys Cys Met Asn Arg Lys Cys Lys

20 25 30

Cys Tyr Tyr Cys

35

<210> 24

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<220><221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> D-Ser

<400> 24

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser

1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn

20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala Cys

35

<210> 25

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 25

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys
 35 40

<210> 26

<211> 52

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 26

His His His His His His His His Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly Ser
 1 5 10 15
 Cys Gly Gly Glu Cys Ile Gly Met Phe Lys Ser Cys Asp Pro Glu Asn
 20 25 30
 Asp Lys Cys Cys Lys Gly Arg Thr Cys Ser Arg Lys His Arg Trp Cys
 35 40 45
 Lys Tyr Lys Leu
 50

<210> 27

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 27

Gly Ser Gly Gly Glu Glu Cys Ile Gly Met Phe Lys Ser Cys Asp Pro
 1 5 10 15
 Glu Asn Asp Lys Cys Cys Lys Gly Arg Thr Cys Ser Arg Lys His Arg
 20 25 30

Trp Cys Lys Tyr Lys Leu

35

<210> 28

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 28

Gly Ser Cys Gly Gly Glu Cys Ile Gly Met Phe Lys Ser Cys Asp Pro

1	5	10	15
Glu	Asn	Asp	Lys
Cys	Cys	Lys	Gly
Arg	Thr	Cys	Ser
Arg	Lys	His	Arg
20	25	30	

Trp Cys Lys Tyr Lys Leu

35

<210> 29

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 29

Gly Ser Gly Gly Glu Cys Ile Gly Met Phe Lys Ser Cys Asp Pro Glu

1	5	10	15
---	---	----	----

Asn	Asp	Lys	Cys
Cys	Lys	Gly	Arg
Thr	Cys	Ser	Arg
Lys	His	Arg	Trp
20	25	30	

Cys Lys Tyr Lys Leu Cys

35

<210> 30

<211> 33

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 30

Glu Cys Ile Gly Met Phe Lys Ser Cys Asp Pro Glu Asn Asp Lys Cys

1 5 10 15

Cys Lys Gly Arg Thr Cys Ser Arg Lys His Arg Trp Cys Lys Tyr Lys

20 25 30

Leu

<210> 31

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 31

Glu Cys Ile Gly Met Phe Lys Ser Cys Asp Pro Glu Asn Asp Lys Cys

1 5 10 15

Cys Lys Gly Arg Thr Cys Ser Arg Lys His Arg Trp Cys Lys Tyr Lys

20 25 30

Leu Gly Gly Ser Cys

35

<210> 32

<211> 78

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 32

His His His His His His His Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly Ser

1 5 10 15

Gly Gly Asp Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu

20 25 30

Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly

35 40 45

Gly Gly Arg Gly Gly Arg Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys

50 55 60

Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

65 70 75

<210> 33

<211> 64

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 33

Gly Ser Gly Gly Asp Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly

1 5 10 15

Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp

20 25 30

Ser Gly Gly Gly Arg Gly Gly Arg Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn

35 40 45

Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

50 55 60

<210> 34

<211> 179

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 34

His His His His His His His His Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly Ser

1 5 10 15

Gly Gly Asp Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu

20 25 30

Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Lys

35 40 45
 Arg Ser Leu Ser Gln Glu Asp Ala Pro Gln Thr Pro Arg Pro Val Ala
 50 55 60

 Glu Ile Val Pro Ser Phe Ile Asn Lys Asp Thr Glu Thr Ile Asn Met
 65 70 75 80
 Met Ser Glu Phe Val Ala Asn Leu Pro Gln Glu Leu Lys Leu Thr Leu
 85 90 95
 Ser Glu Met Gln Pro Ala Leu Pro Gln Leu Gln Gln His Val Pro Val
 100 105 110
 Leu Lys Asp Ser Ser Leu Leu Phe Glu Glu Phe Lys Lys Leu Ile Arg
 115 120 125

 Asn Arg Gln Ser Glu Ala Ala Asp Ser Ser Pro Ser Glu Leu Lys Tyr
 130 135 140
 Leu Gly Leu Asp Thr His Ser Arg Lys Lys Arg Gln Leu Tyr Ser Ala
 145 150 155 160
 Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala
 165 170 175
 Arg Phe Cys

<210> 35

<211> 46

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 35

His His His His His His His His Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Asp Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu
 20 25 30
 Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
 35 40 45

<210> 36

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 36

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr

1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

20

<210> 37

<211> 78

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 37

His His His His His His His His Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly Ser

1 5 10 15

Gly Gly Asp Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu

20 25 30

Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Cys Gly

35 40 45

Gly Gly Arg Gly Gly Arg Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys

50 55 60

Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

65 70 75

<210> 38

<211> 179

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 38

His His His His His His His His Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly Ser

1 5 10 15

Gly Gly Asp Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu

20 25 30

Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Cys Lys

35 40 45

Arg Ser Leu Ser Gln Glu Asp Ala Pro Gln Thr Pro Arg Pro Val Ala

50 55 60

Glu Ile Val Pro Ser Phe Ile Asn Lys Asp Thr Glu Thr Ile Asn Met

65 70 75 80

Met Ser Glu Phe Val Ala Asn Leu Pro Gln Glu Leu Lys Leu Thr Leu

85 90 95

Ser Glu Met Gln Pro Ala Leu Pro Gln Leu Gln Gln His Val Pro Val

100 105 110

Leu Lys Asp Ser Ser Leu Leu Phe Glu Glu Phe Lys Lys Leu Ile Arg

115 120 125

Asn Arg Gln Ser Glu Ala Ala Asp Ser Ser Pro Ser Glu Leu Lys Tyr

130 135 140

Leu Gly Leu Asp Thr His Ser Arg Lys Lys Arg Gln Leu Tyr Ser Ala

145 150 155 160

Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala

165 170 175

Arg Phe Cys

<210> 39

<211> 72

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 39

Met Ile Glu Glu Gly Arg Asp Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu

1 5 10 15

Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser

20 25 30

Thr Trp Ser Lys Arg Lys Pro Thr Gly Tyr Gly Ser Arg Lys Lys Arg

35 40 45

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr

50 55 60

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

65 70

<210> 40

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 40

Asp Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

1 5 10 15

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser

20 25

<210> 41

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 41

Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys

1 5 10 15

Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

20

<210> 42

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 42

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr

1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

20

<210> 43

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 43

Gln Leu Tyr Ser Cys Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr

1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

20

<210> 44

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 44

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys Lys Val Gly Cys Thr

1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

20

<210> 45

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 45

Cys Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr

1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

20

<210> 46

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 46

Ala Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys Ala Val Gly Cys Thr

1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

20

<210> 47

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 47

Ala Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys Ala Val Gly Cys Thr

1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

20

<210> 48

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 48

Ala Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

1 5 10 15

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser

20 25

<210> 49

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 49

Ala Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

1 5 10 15

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Cys

20 25

<210> 50

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 50

Ala Ser Trp Lys Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

1 5 10 15

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Lys Ser Thr Trp Cys

20 25

<210> 51

<211

> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 51

Ala Ser Trp Lys Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

1 5 10 15

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Cys

20 25

<210> 52

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<

<400> 52

Cys Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

1 5 10 15

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser

20 25

<210> 53

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Gln, Glu or pyro-Glu

<400> 53

Xaa Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr

1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

20

<210> 54

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 54

Gln Cys Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr

1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

20

<210> 55

<211> 24

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 55

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Cys Gly Cys Thr

1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

20

<210> 56

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 56

Asp Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Cys Leu Gly Arg Glu Leu Val

1 5 10 15

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser

20 25

<210> 57

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 57

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr

1 5 10 15

Lys Cys Ser Leu Ala Arg Phe Cys

20

<210> 58

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 58

Ala Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

1 5 10 15

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Lys Ser Thr Trp Cys

20 25

<210> 59

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> pyro-Glu

<400> 59

Xaa Cys Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr

1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

20

<210> 60

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Gln, Glu, pyro-Glu or Ala

<220><221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> Cys, Leu, Ala, Ile or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Cys, Leu, Ala, Ile or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (12)..(12)

<223> His, Ala or Lys

<220><221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> Cys, Leu, Ala, Ile or Val

<220><221> MOD_RES

<222> (18)..(18)

<223> Arg or Cys

<220>

<223> See specification as filed for detailed description of

substitutions and preferred embodiments

<400> 60

Xaa Xaa Tyr Ser Xaa Leu Ala Asn Lys Cys Cys Xaa Xaa Gly Cys Thr

1 5 10 15

Lys Xaa Ser Leu Ala Arg Phe Cys

20

<210> 61

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 61

Ala Ser Trp Met Glu Glu Cys Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

1 5 10 15

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser

20 25

<210> 62

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer

<400> 62

tatttccagg gatccggtgg tgactcttgg atggaagaag ttatcaaact gtgcggtcgt 60

<210> 63

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer

<400> 63

tagacatacc gcagatagcg atctgagcac gaaccagttc acgaccgcac agtttgataa 60

<210> 64

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer

<400> 64

cgctatctgc ggtatgtcta cctggtctgg tggcggtcgt ggcggtcgtc agctgtactc 60

<210> 65

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer

<400> 65

cgctatctgc ggtatgtcta cctggtctgg tggcggtcgt ggcggtcgtc agctgtactc 60

<210> 66

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer

<400> 66

tagacatacc gcagatagcg atctgagcac gaaccagttc acgaccgcac agtttgataa 60

<210> 67

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer

<400> 67

cgctatctgc ggtatgtcta cctggtctgg tggcggtcgt ggcggtcgtc agctgtactc 60

<210> 68

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer

<400> 68

tttgggtgcaa ccaacgtggc agcatttgtt agccagagca gactacagct gacgaccgcc 60

<210> 69

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer

<400> 69

aatctgtatt tccaggatc cggtagtga 29

<210> 70

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer

<400> 70

tggctaagct ttagcagaaa cgagccagag aacgtttggt gcaaccaacg tggc 54

<210> 71

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 71

Glu Asn Leu Tyr Phe Gln

1 5

<210> 72

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 72

Gly Gly Gly Arg Gly Gly

1

5