



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년09월14일

(11) 등록번호 10-2302634

(24) 등록일자 2021년09월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 47/48 (2006.01) A61K 38/22 (2006.01)

A61K 38/26 (2006.01) A61K 38/28 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 47/543 (2017.08)

A61K 38/2221 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-7009482

(22) 출원일자(국제) 2014년09월12일

심사청구일자 2019년09월11일

(85) 번역문제출일자 2016년04월11일

(65) 공개번호 10-2016-0079776

(43) 공개일자 2016년07월06일

(86) 국제출원번호 PCT/US2014/055457

(87) 국제공개번호 WO 2015/038938

국제공개일자 2015년03월19일

(30) 우선권주장

61/877,799 2013년09월13일 미국(US)

61/917,816 2013년12월18일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020090091145 A

WO2006097537 A2

WO2006066258 A2

(73) 특허권자

더 스크립스 리서치 인스티튜트

미국 캘리포니아주 92037 라 줄라 노스 토리 파인 로드 10550

(72) 발명자

헨 웨이준

미국 92129 캘리포니아주 샌디에고 시드니 라 플레이스 13453

술츠 피터 지.

미국 92037 캘리포니아주 라줄라 라줄라 란초 로드 1650

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김진희, 김태홍

전체 청구항 수 : 총 9 항

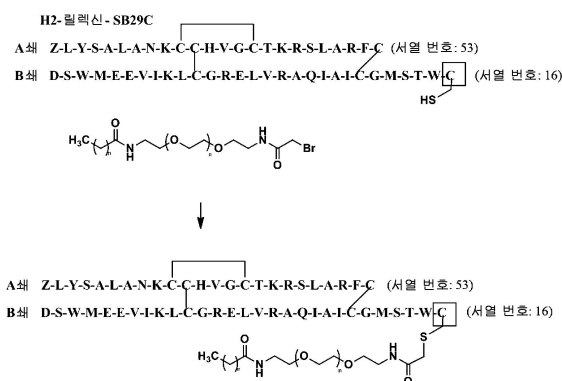
심사관 : 이재정

(54) 발명의 명칭 변형된 치료제 및 이의 조성물

(57) 요약

치료제의 반감기를 연장하기 위한 방법 및 조성물을 개시한다. 하나 이상의 반감기 연장 부분(half-life extending moiety)을 치료제에 부착시킴으로써 치료제의 반감기를 연장할 수 있다. 치료제에 부착된 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA: modified therapeutic agent)를 이용하여 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이를 치료할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 38/2264 (2013.01)

A61K 38/26 (2013.01)

A61K 38/28 (2013.01)

A61K 47/54 (2017.08)

A61K 47/554 (2017.08)

(72) 발명자

무피디 아빈애쉬

미국 92037 캘리포니아주 라줄라 라줄라 빌리지 드
라이브 3832

크라머리 안드레아스

스위스 포스키아보 에스. 카를로 7741 페데코스타
554

아매드 인샤

미국 92116 캘리포니아주 샌디에고 노쓰 애비뉴
4441

양 쉑유

미국 92122 캘리포니아주 샌디에고 코스타 베르데
블러바드 8840 아파트먼트 3343

명세서

청구범위

청구항 1

a. 스테롤, 콜레스테롤, 7-OH 콜레스테롤, 7,25-디히드록시콜레스테롤, 콜산, 케노데옥시콜산, 리토콜산, 데옥시콜산, 글리코콜산, 글리코데옥시콜산, 글리코리토콜산, 글리코케노데옥시콜산, 담즙산, α -토코페롤, β -토코페롤, γ -토코페롤, δ -토코페롤, α -토코트리에놀, β -토코트리에놀, γ -토코트리에놀, δ -토코트리에놀, 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, 헨아트리아콘탄산, 도트리아콘탄산, 트리트리아콘탄산, 테트라트리아콘탄산, 펜타트리아콘탄산, 헥사트리아콘탄산, 말론산, 숙신산, 글루타르산, 아디프산, 피멜산, 수베르산, 아젤라산, 세바스산, 운데칸디온산, 도데칸디온산, 트리데칸디온산, 테트라데칸디온산, 펜타데칸디온산, 헥사데칸디온산, 헵타데칸디온산, 옥타데칸디온산, 노나데칸디온산, 지방 아미드, 지방 아민, 및 지방 알코올로 이루어진 군으로부터 선택되는 지질; 및

b. 서열 번호 14-16 및 32-56으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열과 80% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함하는 펩티드를 포함하는 치료제(TA)

를 포함하는 지질 접합체(LC)로서, 여기서 지질은 상기 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 TA에 접합되는 것인 지질 접합체.

청구항 2

제1항에 있어서, TA는 서열 번호 14-16 및 32-56으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열과 99% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함하는 것인 지질 접합체.

청구항 3

제1항에 있어서, TA는 서열 번호 45 및 48인 2개의 아미노산 서열을 포함하는 것인 지질 접합체.

청구항 4

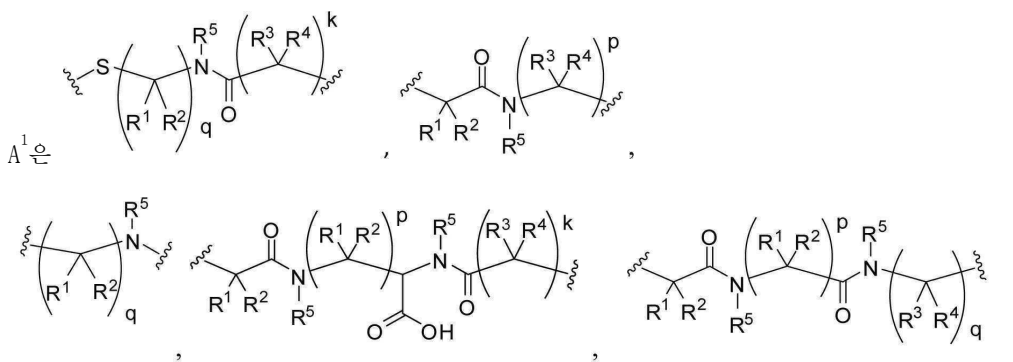
제1항에 있어서, 하기 구조를 갖는 지질 접합체:

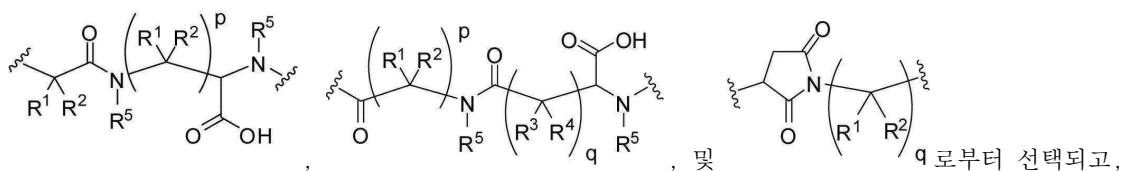
<화학식 (I)>

TA-A¹-P¹-L

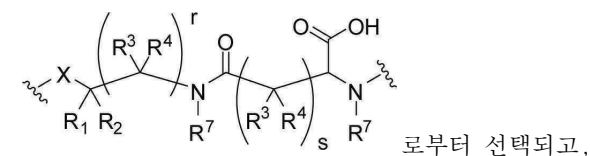
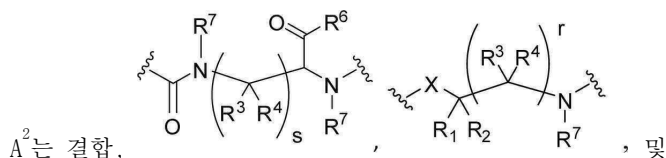
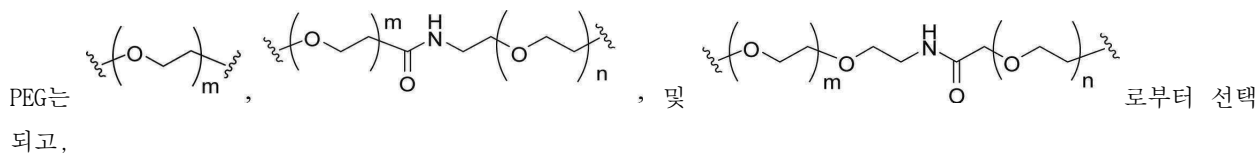
상기 식에서,

TA는 서열 번호 14-16 및 32-56으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열과 80% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함하는 펩티드를 포함하는 치료제이고,





P^1 은 -PEG- A^2 -이고,



X는 결합, NR^5 , S, 또는 O이고,

각 R^1 , R^2 , R^3 , 및 R^4 는 독립적으로 H, 할로, CN, $-SR^5$, 알킬, 시클로알킬, 할로알킬, $-NR^5R^5$, 및 $-OR^5$ 로부터 선택되고,

각 R^5 는 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 또는 헤테로알킬이고,

R^6 은 OH 또는 $-NR^5R^5$ 이고,

각 R^7 은 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 및 헤테로알킬로부터 선택되고,

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,

r은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,

s는 1, 2, 3, 4, 또는 5이고,

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 10이고,

L은 지질이다.

청구항 5

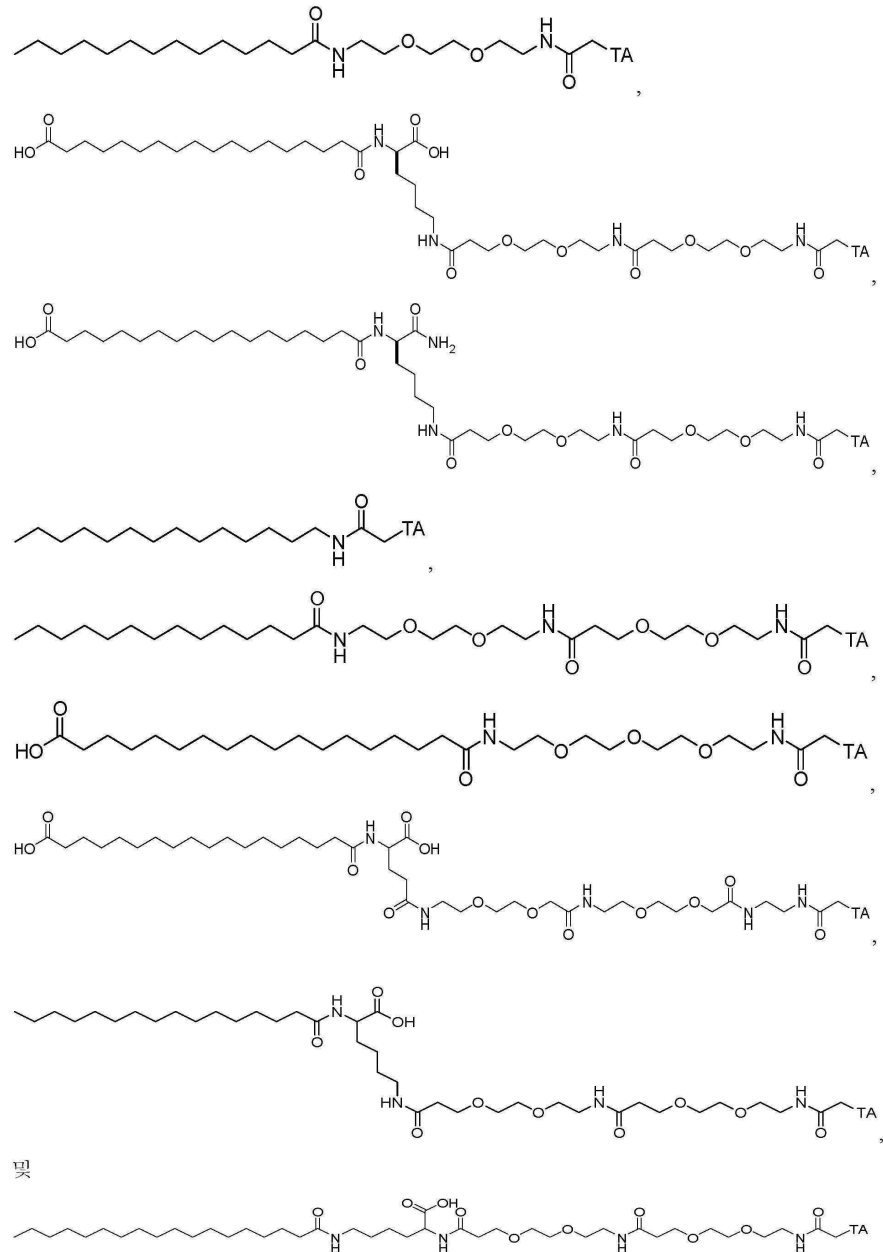
제4항에 있어서, TA의 시스테인 잔기의 황 원자가 화학 결합에 의해 A^1 에 연결되는 것인 지질 접합체.

청구항 6

제4항에 있어서, L은 옥타데칸디오산, 테트라데실아민, 미리스트산, 스테아르산, 도코사헥사엔산, 리토콜산 에스테르, 콜산 및 팔미트산으로부터 선택되는 것인 지질 접합체.

청구항 7

제4항에 있어서, 하기로부터 선택되는 지질 접합체:



청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 지질 접합체를 포함하는 심혈관 장애, 급성 심부전, 섬유증 또는 통증을 치료하는데 사용하기 위한 약학 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 항염제, 스타틴, 이노제, 베타 차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제, 안지오텐신 II 수용체 차단제 또는 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 추가의 치료제와 조합하여 사용하기 위한 약학 조성물.

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원의 상호 참조

[0002] 본 출원은 2013년 9월 13일에 출원된 미국 가출원 제61/877,799호, 및 2013년 12월 18일에 출원된 미국 가출원 제61/917,816호의 우선권을 주장하며, 이들 모두는 그 전문으로 본원에서 참고에 포함된다.

서열 목록

본 출원은 ASCII 포맷으로 전자적으로 제출되었으며 그 전문이 본원에서 참고적으로 도입되는 서열 목록을 포함한다. 2014년 12월 2일에 생성된 상기 ASCII 카피는 41135-709.601_SL.txt로 명명되고 크기는 51,235 바이트이다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 발명은 변형된 치료제 및 이의 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 치료제(예를 들어, 생물학적 약물)의 개발은 대개 짧은 반감기에 의해 방해받는다. 물질의 생물학적 반감기 또는 제거 반감기는 물질(예를 들어, 대사물질, 약물, 신호전달 분자, 방사성 핵종, 또는 기타 물질)이 그의 약리학, 생리학, 방사선학적 활성의 절반을 손실하는데 걸리는 시간이다. 짧은 반감기의 결과로서, 환자는 대부분 더 자주 더 높은 용량을 투여받게 되고, 이것은 순응도의 감소, 비용의 증가 및 부작용 위험의 증가를 가져올 수 있다.

[0006] 지속 방출형 제품은 반감기가 짧은 약물의 흡수를 연장하도록 설계되어 혈장 약물 수준의 변동을 최소화하면서 투여 간격을 연장 시킨다. 반감기를 연장하기 위해 현재 이용되는 방법은 유체역학적 부피를 증가시키는 방법(페길화(PEGylation)) 또는 FcRn을 매개한 재활용(알부민 융합) 방법이다. 또한, 약물에 폴리펩티드 또는 친유성 구성성분의 부착을 이용하여 생물학적 체제의 반감기를 연장하였다(미국 특허 제6,268,343호, 미국 특허 제5,750,497호, 미국 특허 제8,129,343호).

[0007] 본 개시는 치료제의 생물학적, 화학적, 생리학, 약리학, 약동학적, 및/또는 약력학적 특성을 향상시키기 위한 변형된 치료제(mTA: modified therapeutic agent)를 제공한다.

발명의 내용

[0008] 발명의 요약

[0009] 변형된 치료제를 형성하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 변형된 치료제(mTA)는 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분(half-life extending moiety)을 포함할 수 있으며, 상기 치료제는 펩티드이며 펩티드 상의 시스템인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 반감기 연장 부분 각각에 공유적으로 부착되며, 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. mTA는 두 개 이상의 반감기 연장 부분을 포함할 수 있다. 두 개 이상의 반감기 연장 부분은 동일할 수 있다. 두 개 이상의 반감기 연장 부분은 상이할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 부분 중 하나의 반감기 연장 부분은 지질, 폴리글리콜 영역, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 부분 각각은 지질을 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 부분 중 하나의 반감기 연장 부분은 폴리글리콜 영역을 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 부분 중 하나의 반감기 연장 부분은 지질 및 폴리글리콜 영역을 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 부분 중 하나의 반감기 연장 부분은 (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조(beta-sheet)가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN: extended recombinant polypeptide)를 포함할 수 있다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류

신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 70% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 지질은 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산(fatty di-acid), 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민, 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 폴리글리콜 영역은 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 단위, 폴리프로필렌 글리콜 단위, 또는 폴리부틸렌 글리콜 단위, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 천 개 이상의 폴리에틸렌 글리콜 단위, 폴리프로필렌 글리콜 단위, 또는 폴리부틸렌 글리콜 단위, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 펩티드는 릴렉신(relaxin), 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: glucagon like protein-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 작용제(dual agonist), GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 랩틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 펩티드계 독소, 모카(Moka), 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체로부터 선택될 수 있다. 펩티드는 릴렉신, 옥신토모듈린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 작용제, GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 랩틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 독소-550, 모카, 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체로부터 선택될 수 있다. 펩티드는 릴렉신 또는 이의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체일 수 있다. 펩티드는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩티드 서열의 적어도 일부분을 포함하는 아미노산 서열에 의해 코딩될 수 있다. 펩티드는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩티드 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 10개 이상의 아미노산을 포함하는 아미노산 서열에 의해 코딩될 수 있다. 펩티드는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 50% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 펩티드는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 80% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 펩티드는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 펩티드는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 두 개 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 시스테인 잔기는 펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 위치할 수 있다. 시스테인 잔기는 펩티드의 말단이 아닌 위치에 위치할 수 있다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다.

[0010] 지질 접합체(LC: lipid conjugate)를 형성하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 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, 및 (b) 치료제(TA)를 포함할 수 있으며, 상기 TA는 펩티드이고 상기 하나 이상의 지질은 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 TA에 접합된다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 리신일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 아미노산 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 아미노산 치환될 수 있다. 아미노산 잔기는 펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 위치할 수 있다. 아미노산 잔기는 펩티드의 말단이 아닌 위치에 위치할 수 있다. TA는 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드일 수 있다. 하나 이상의 시스테인 또는 리신 잔기는 하나 이상의 아미노산 첨가 또는 치환 또는 이들의 조합에 의해 도입될 수 있다. 지질 접합체(LC)는 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 하나 이상의 치료제를 포함할 수 있으며, 상기 하나 이상의 지질은 시스테인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 치료제에 접합된다.

[0011] 또한, 본원에서 (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, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하는 지질 접합체에 있어서, 상기 TA가 릴렉신 펩티드 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 하나 이상의 지질이 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 TA에 접합되는 것인 지질 접합체(LC)를 개시한다. 또한, 본원에서 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함하는 지질 접합체(LC)에 있어서, 상기 하나 이상의 TA가 릴렉신 펩티드, 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 하나 이상의 지질이 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 치료제에 부착되는 것인 지질 접합체(LC)를 개시한다.

[0012] 또한, 본원에서 하나 이상의 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함하는 지질 접합체(LC)에 있어서, 상

기 하나 이상의 TA가 변형된 펩티드를 포함하고, 상기 변형된 펩티드가 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 펩티드 폴리펩티드를 포함하는 것인 지질 접합체(LC)를 개시한다. 또한, 본원에서 (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, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하는 지질 접합체에 있어서, 상기 TA가 변형된 펩티드를 포함하고, 상기 변형된 펩티드가 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 펩티드 폴리펩티드를 포함하는 것인 지질 접합체(LC)를 개시한다.

[0013] 본원에서 LC를 포함하는 약학 조성물로서, 상기 LC가 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함하며, 상기 하나 이상의 지질이 시스테인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 치료제에 접합되는 것인 약학 조성물을 개시한다.

[0014] 또한, 본원에서 LC를 포함하는 약학 조성물로서, 상기 LC가 (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, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 TA가 펩티드이고 상기 하나 이상의 지질이 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 상기 TA에 접합되는 것인 약학 조성물을 개시한다.

[0015] 또한, 본원에서 LC를 포함하는 약학 조성물로서, 상기 LC가 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함하며, 상기 하나 이상의 TA가 펩티드 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 하나 이상의 지질이 시스테인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 치료제(TA)에 부착되는 것인 약학 조성물을 개시한다.

[0016] 또한, 본원에서 LC를 포함하는 약학 조성물로서, 상기 LC가 (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, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 TA가 펩티드 또는 이의 유도체를 포함하고 상기 하나 이상의 지질이 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 상기 TA에 접합되는 것인 약학 조성물을 개시한다.

[0017] 또한, 본원에서 LC를 포함하는 약학 조성물로서, 상기 LC가 하나 이상의 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함하며, 상기 하나 이상의 TA가 변형된 펩티드를 포함하고, 상기 변형된 펩티드가 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 펩티드 폴리펩티드를 포함하는 것인 약학 조성물을 개시한다.

[0018] 또한, 본원에서 LC를 포함하는 약학 조성물로서, 상기 LC가 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함하며, 상기 TA가 변형된 펩티드를 포함하고, 상기 변형된 펩티드가 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 펩티드 폴리펩티드를 포함하는 것인 약학 조성물을 개시한다.

[0019] 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료 방법으로서 LC를 포함하는 조성물을 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 LC가 (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, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 TA가 펩티드이고 상기 하나 이상의 지질이 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 상기 TA에 접합되는 것인 방법을 개시한다.

[0020] 또한, 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료 방법으로서 LC를 포함하는 조성물을 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 LC가 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함하며, 상기 하나 이상의 지질이 시스테인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 치료제에 접합되는 것인 방법을 개시한다.

[0021] 또한, 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료 방법으로서 LC를 포함하는 조성물을 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 LC가 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함하며, 상기 하나 이상의 TA가 펩티드 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 하나 이상의 지질이 시스테인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 치료제에 부착되는 것인 방법을 개시한다.

[0022] 또한, 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료 방법으로서 LC를 포함하는 조성물을 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 LC가 (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, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 TA가 펩티드 또는 이의 유도체를 포함하고 상기

하나 이상의 지질이 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 상기 TA에 접합되는 것인 방법을 개시한다.

- [0023] 또한, 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료 방법으로서 LC를 포함하는 조성물을 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 LC가 하나 이상의 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함하며, 상기 하나 이상의 TA가 변형된 틸렉신 펩티드를 포함하고, 상기 변형된 틸렉신 펩티드가 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 틸렉신 폴리펩티드를 포함하는 것인 방법을 개시한다.
- [0024] 또한, 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료 방법으로서 LC를 포함하는 조성물을 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 LC가 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함하며, 상기 TA가 변형된 틸렉신 펩티드를 포함하고, 상기 변형된 틸렉신 펩티드가 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 틸렉신 폴리펩티드를 포함하는 것인 방법을 개시한다.
- [0025] 본원에서 LC를 포함하는 키트로서, 상기 LC가 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민, 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 TA가 펩티드이고 상기 하나 이상의 지질이 펩티드 상의 아미노산 잔기를 상기 TA에 접합되는 것인 키트를 개시한다.
- [0026] 또한, 본원에서 LC를 포함하는 키트로서, 상기 LC가 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함하며, 상기 하나 이상의 지질이 시스테인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 치료제에 접합되는 것인 키트를 개시한다.
- [0027] 또한, 본원에서 LC를 포함하는 키트로서, 상기 LC가 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 TA가 틸렉신 펩티드 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 하나 이상의 지질이 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 상기 TA에 접합되는 것인 키트를 개시한다.
- [0028] 또한, 본원에서 LC를 포함하는 키트로서, 상기 LC가 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함하며, 상기 하나 이상의 치료제(TA)가 틸렉신 펩티드 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 하나 이상의 지질이 시스테인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 치료제에 접합되는 것인 키트를 개시한다.
- [0029] 또한, 본원에서 LC를 포함하는 키트로서, 상기 LC가 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함하며, 상기 TA가 변형된 틸렉신 펩티드를 포함하고, 상기 변형된 틸렉신 펩티드가 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 틸렉신 폴리펩티드를 포함하는 것인 키트를 개시한다.
- [0030] 또한, 본원에서 LC를 포함하는 키트로서, 상기 LC가 하나 이상의 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함하며, 상기 하나 이상의 TA가 변형된 틸렉신 펩티드를 포함하고, 상기 변형된 틸렉신 펩티드가 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 틸렉신 폴리펩티드를 포함하는 것인 키트를 개시한다.
- [0031] 본원에서 서열 번호 1-9의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터를 개시하다.
- [0032] 본원에서 서열 번호 1-9의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 숙주 세포를 개시한다.
- [0033] 본원에서 서열 번호 10-56의 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터를 개시한다.
- [0034] 본원에서 서열 번호 10-56의 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 숙주 세포를 개시한다.
- [0035] 본원에서 개시된 LC는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 더 포함할 수 있다.
- [0036] 본원에서 개시된 LC는 하나 이상의 폐결합된 지질을 포함할 수 있다.
- [0037] LC는 하기 구조식을 가질 수 있다.
- [0038] <화학식 (I)>
- [0039] $TA-A^1-P^1-L$
- [0040] 상기 식에서, TA는 치료제이고, A^1 은 TA와 P^1 또는 L을 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합이거나 폴리글리콜을 포함하고, L은 지질이다. P^1 은 결합일 수 있다. TA의 아미노산 잔기의 황 또는 질소 원자는 화학 결합을 통해 A^1 에

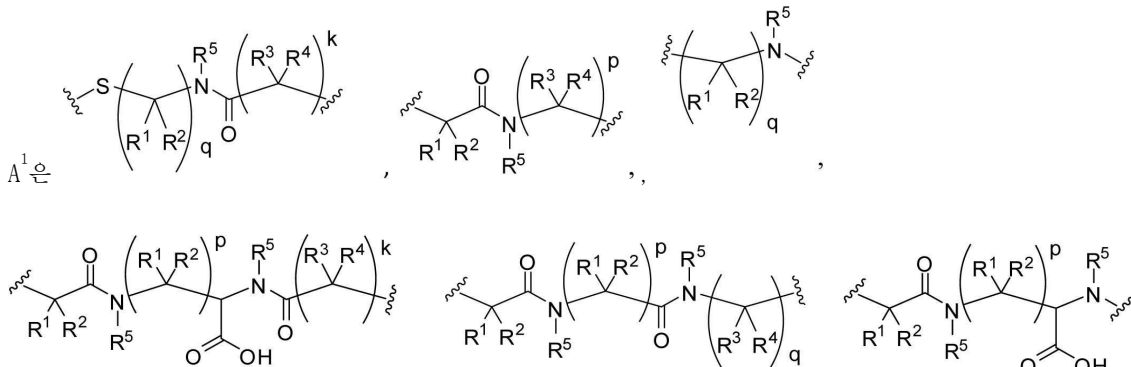
결합될 수 있다. P^1 은 폴리글리콜을 포함할 수 있다. P^1 은 $-\text{PEG}-A^2-$ 일 수 있으며, 상기 식에서, PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기이고, A^2 는 PEG와 L을 연결하는 화학 기이다. PEG는



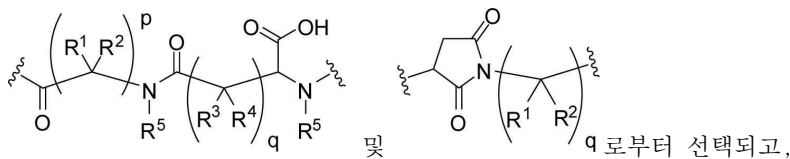
로부터 선택될 수 있으며, 상기 식에서 m 및 n 은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20이다. 하나 이상의 지질은 옥타데칸디오산, 테트라데실아민, 미리스트산, 스테아르산, 도코사헥사엔산, 리토콜산 에스테르, 콜산 및 팔미트산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0041] 화학식 (I)의 LC의 본원에 기재된 일부 실시양태에서,

[0042] A^1 은



[0043]



[0044] 각 R^1 , R^2 , R^3 , 및 R^4 는 독립적으로 H, 할로, CN, $-\text{SR}^5$, 알킬, 시클로알킬, 할로알킬, $-\text{NR}^5\text{R}^5$, $-\text{NC}(\text{O})\text{R}^5$, $-\text{NC}(\text{O})\text{OR}^5$, 및 $-\text{OR}^5$ 로부터 선택되고,

[0045] 각 R^5 는 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, (시클로알킬)알킬, 또는 헤테로알킬이고,

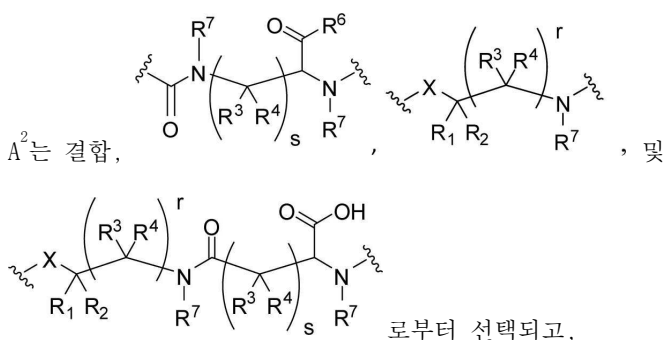
[0046] k 는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,

[0047] p 는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,

[0048] q 는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다.

[0049] 화학식 (I)의 LC의 본원에 기재된 일부 실시양태에서,

[0050] A^2 는 결합,



[0051]로부터 선택되고,

[0052] X 는 결합, NR^5 , S, 또는 O이고,

[0053] 각 R^1 , R^2 , R^3 , 및 R^4 는 독립적으로 H, 할로, CN, $-\text{SR}^5$, 알킬, 시클로알킬, 할로알킬, $-\text{NR}^5\text{R}^5$, 및 $-\text{OR}^5$ 로부터 선택되고,

[0054] 각 R^5 는 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 또는 헤테로알킬이고,

[0055] R^6 은 OH 또는 $-NR^5R^5$ 이고,

[0056] 각 R^7 은 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 및 헤테로알킬로부터 선택되고,

[0057] r은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,

[0058] s는 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.

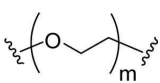
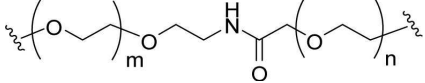
[0059] LC는 하기 구조를 가질 수 있다.

[0060] <화학식 (Ia)>

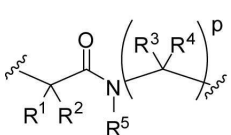
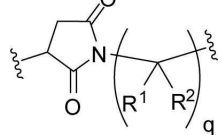
[0061] $TA-A^1-P^1-L$

[0062] 상기 식에서, TA는 시스테인 잔기를 가진 치료제이고, 상기 시스테인 잔기는 A^1 에 결합되고, A^1 은 TA와 P^1 을 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합 또는 $-PEG-A^2-$ 이고, PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기이고, A^2 는 PEG와 L을 연결하는 화학 기이고, L은 지질이다.

[0063] 화학식 (Ia)의 TA의 시스테인 잔기의 황 원자는 화학 결합을 통해 A^1 에 결합될 수 있다.

[0064] 화학식 (Ia)의 LC의 PEG는  및 로부터 선택될 수 있으며, 상기 식에서 m 및 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20일 수 있다.

[0065] 화학식 (Ia)의 LC의 본원에서 기재된 일부 실시양태에서,

[0066] A^1 은  및 로부터 선택되고,

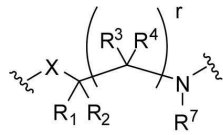
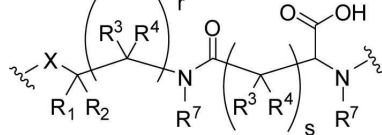
[0067] R^1 , R^2 , R^3 , 및 R^4 는 독립적으로 H, 할로, CN, $-SR^5$, 알킬, 시클로알킬, 할로알킬, $-NR^5R^5$, 및 $-OR^5$ 로부터 선택되고,

[0068] R^5 는 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 또는 헤테로알킬이고,

[0069] p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,

[0070] q는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다.

[0071] 화학식 (Ia)의 LC의 본원에서 기재된 일부 실시양태에서,

[0072] A^2 는 결합, , 및 로부터 선택되고,

[0073] X는 결합, NR^5 , 또는 O이고,

[0074] R^1 , R^2 , R^3 , 및 R^4 는 독립적으로 H, 할로, CN, $-SR^5$, 알킬, 시클로알킬, 할로알킬, $-NR^5R^5$, 및 $-OR^5$ 로부터 선택되고,

[0075] R^5 는 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 또는 헤테로알킬이고,

- [0076] 각 R^7 은 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 및 헤테로알킬로부터 선택되고,
- [0077] r 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,
- [0078] s 는 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.
- [0079] P^1 은 화학식 (Ia)의 LC의 경우 PEG- A^2 일 수 있다.
- [0080] 화학식 (I) 또는 (Ia)의 LC는 변형된 펩티드를 포함하는 TA를 포함할 수 있다. 화학식 (I) 또는 (Ia)의 LC는 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질을 포함할 수 있다.
- [0081] 치료제에 하나 이상의 지질의 부착은 공유적 부착을 포함할 수 있다. 변형된 펩티드에 하나 이상의 지질의 부착은 공유적 부착을 포함할 수 있다.
- [0082] 하나 이상의 지질은 시스테인 잔기를 통해 치료제에 부착될 수 있다. 하나 이상의 지질은 시스테인 잔기를 통해 변형된 펩티드에 부착될 수 있다.
- [0083] 본원에서 A^3-P^1-L 의 구조를 가진 화합물을 개시하며, 상기 식에서, A^3 은 할로아세트아미드, 말레이미드, 할로겐화 벤질, 또는 피리딜 디설피드이고, P^1 은 결합또는 $-PEG-A^2-$ 이고, PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기이고, A^2 는 PEG와 L을 연결하는 화학 기이고, L은 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로부터 선택된 지질이다.
- [0084] 또한, 본원에서 A^3-P^1-L 의 구조를 가진 화합물을 개시하며, 상기 식에서, A^3 은 할로아세트아미드, 말레이미드, 할로겐화 벤질, 또는 피리딜 디설피드이고, P^1 은 결합이거나 폴리글리콜을 포함하고, L은 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민, 및 지방 알코올로부터 선택된 지방 알코올로부터 선택된 지질이다.
- [0085] 본원에서 하나 이상의 지질을 포함하는 방법 및 조성물을 개시한다. 하나 이상의 지질은 포화 지방산, 불포화 지방산, 지방 이산, 지방 아마이드, 다불포화 지방산, 단쇄 지방산, 중쇄 지방산, 장쇄 지방산 및 초장쇄 지방산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0086] 지질은 프로판산, 부탄산, 펜탄산, 헥산산, 헵탄산, 옥탄산, 노난산, 데칸산, 운데칸산, 도데칸산, 트리데칸산, 테트라데칸산, 미리스탄산, 펩타데칸산, 헥사데칸산, 헵타데칸산, 옥타데칸산, 노나데칸산, 에이코산산, 헨 에이코산산, 도코산산, 트리코산산, 테트라코산산, 펜타코산산, 헥사코산산, 헵타코산산, 옥타코산산, 노나코산산, 트리아콘탄산, 헨트리아콘탄산, 도트리아콘탄산, 트리트리아콘탄산, 테트라트리아콘탄산, 펜타트리아콘탄산, 및 헥사트리아콘탄산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0087] 하나 이상의 지질은 미리스톨레산, 팔미톨레산, 사피엔산, 올레산, 엘라이드산, 백센산, 리놀레산, 리노엘라이드산, α -리놀렌산, 아라키돈산, 에이코사헵탄산, 에루크산, 도코사헥사엔산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0088] 하나 이상의 지질은 옥타데칸디오산, 테트라데실아민, 미리스탄산, 스테아르산, 도코사헥사엔산, 리토콜산 에스테르, 콜산 및 팔미트산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0089] 하나 이상의 지질은 미리스탄산을 포함할 수 있다. 하나 이상의 지질은 도코사헥사엔산을 포함할 수 있다. 하나 이상의 지질은 리토콜산 에스테르를 포함할 수 있다. 하나 이상의 지질은 콜산을 포함할 수 있다. 하나 이상의 지질은 팔미트산을 포함할 수 있다. 하나 이상의 지질은 옥타데칸디오산을 포함할 수 있다. 하나 이상의 지질은 테트라데실아민을 포함할 수 있다. 하나 이상의 지질은 스테아르산을 포함할 수 있다.
- [0090] 지방산은 적어도 약 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30개 이상의 탄소 원자를 포함할 수 있다.
- [0091] 하나 이상의 지질은 포화 지방산, 불포화 지방산, 다불포화 지방산, 단쇄 지방산, 중쇄 지방산, 장쇄 지방산 및 초장쇄 지방산으로 이루어진 군으로부터 선택된 지방산으로부터 유래된 지방 알코올을 포함할 수 있다.
- [0092] 하나 이상의 지질은 콜레스테롤, 7-OH 콜레스테롤, 7,25-디히드록시콜레스테롤, 콜산, 케노테옥시콜산, 리토콜

산, 테옥시콜산, 글리코콜산, 글리코테옥시콜산, 글리코리토콜산, 및 글리코케노테옥시콜산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0093] 하나 이상의 지질은 콜산, 케노테옥시콜산, 리토콜산, 테옥시콜산, 글리코콜산, 글리코테옥시콜산, 글리코리토콜산, 및 글리코케노테옥시콜산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0094] 하나 이상의 지질은 α -토코페롤, β -토코페롤, γ -토코페롤, δ -토코페롤, α -토코트리엔놀, β -토코트리엔놀, γ -토코트리엔놀 및 δ -토코트리엔놀로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0095] 본원에서 하나 이상의 치료제(TA)를 포함하는 방법 및 조성물을 개시한다. 방법 및 조성물은 하나의 치료제(TA)를 포함할 수 있다. 하나 이상의 TA는 단백질, 생체분자, 화합물질, 독소, 약물 또는 이들의 조합의 적어도 일부분을 포함할 수 있다.

[0096] 하나 이상의 TA는 호르몬, 키나아제, 수용체, 리간드, 성장인자, 조절 단백질, 대사 단백질, 사이토카인, 항체 또는 이들의 임의의 조합의 적어도 일부분을 포함할 수 있다.

[0097] 하나 이상의 TA는 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 작용제, GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 렙틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 펩티드계 독소, 모카, 및 VM-24, 및 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체로부터 선택된 펩티드를 포함할 수 있다. 하나 이상의 TA는 릴렉신, 옥신토모듈린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 작용제, GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 렙틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 펩티드계 독소, 모카, 또는 VM-24, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체를 포함할 수 있다. 하나 이상의 TA는 옥신토모듈린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 작용제, 또는 GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체를 포함할 수 있다. 하나 이상의 TA는 H1 릴렉신, H2 릴렉신, H3 릴렉신, 인간 INSL3, 인간 INSL4, 인간 INSL6, 인간 IGF1, 인간 IGFII, 또는 인간 인슐린, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체를 포함할 수 있다. 하나 이상의 TA는 펩티딜 독소 또는 이의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체를 포함할 수 있다. 펩티딜 독소 또는 이의 유도체는 황산암모늄을 포함하는 리폴딩(refolding) 완충제를 이용하여 리폴딩될 수 있다.

[0098] 하나 이상의 TA는 릴렉신 펩티드 또는 이의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체를 포함할 수 있다. 릴렉신 유도체는 첨가, 결실, 또는 치환된 하나 이상의 아미노산, 또는 이들의 조합을 포함하는 릴렉신의 변형된 A-쇄를 포함할 수 있다. 릴렉신 유도체는 첨가, 결실, 또는 치환된 하나 이상의 아미노산, 또는 이들의 조합을 포함하는 릴렉신의 변형된 B-쇄를 포함할 수 있다. 릴렉신 유도체는 첨가, 결실, 또는 치환된 하나 이상의 아미노산, 또는 이들의 조합을 포함하는 릴렉신의 변형된 A-쇄, 및 첨가, 결실, 또는 치환된 하나 이상의 아미노산, 또는 이들의 조합을 포함하는 릴렉신의 변형된 B-쇄를 포함할 수 있다. 릴렉신 유도체는 첨가, 결실, 또는 치환된 하나 이상의 아미노산, 또는 이들의 조합을 포함하는 변형된 프로릴렉신을 포함할 수 있다.

[0099] TA는 옥신토모듈린 또는 이의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체일 수 있다. TA는 엑센딘-4 또는 이의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체일 수 있다. TA는 엑세나타이드 또는 이의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체일 수 있다. TA는 글루카곤-유사 펩티드(GLP-1) 또는 이의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체일 수 있다. TA는 글루카곤 또는 이의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체일 수 있다.

[0100] 하나 이상의 TA는 서열 번호 1-9로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩될 수 있다.

[0101] 하나 이상의 TA는 서열 번호 1-9로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 20개 이상의 뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩될 수 있다.

[0102] 하나 이상의 TA는 서열 번호 1-9로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열과 적어도 약 50% 상동인 뉴

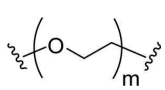
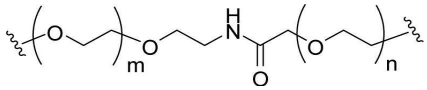
클레오티드 서열에 의해 코딩될 수 있다.

- [0103] 하나 이상의 TA는 서열 번호 1-9로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열과 적어도 약 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% 상동인 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩될 수 있다.
- [0104] 하나 이상의 TA는 200개 이하의 뉴클레오티드를 포함하는 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩될 수 있다.
- [0105] 하나 이상의 TA는 60-1500개 이하의 뉴클레오티드를 포함하는 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩될 수 있다.
- [0106] 하나 이상의 TA는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩티드 서열의 적어도 일부분을 포함하는 아미노산 서열에 의해 코딩될 수 있다.
- [0107] 하나 이상의 TA는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩티드 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 10개 이상의 아미노산을 포함할 수 있는 아미노산 서열에 의해 코딩될 수 있다.
- [0108] 하나 이상의 TA는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 20-500개 이상의 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0109] 하나 이상의 TA는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 50% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0110] 하나 이상의 TA는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97% 또는 99% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0111] 하나 이상의 TA는 펩티드를 포함할 수 있다. 펩티드는 변형된 펩티드를 포함할 수 있다. 변형된 펩티드는 하나 이상의 아미노산 변이를 포함하는 야생형 펩티드의 적어도 일부분을 포함할 수 있다. 펩티드는 펩티드의 A쇄 및/또는 B쇄의 적어도 일부분을 포함할 수 있다.
- [0112] 펩티드는 하나 이상의 아미노산 변이를 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 결실, 치환, 첨가 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드 폴리펩티드에 하나 이상의 아미노산 잔기의 첨가를 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드 폴리펩티드에 하나 이상의 아미노산 잔기의 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드 폴리펩티드의 하나 이상의 아미노산 잔기의 결실을 포함할 수 있다.
- [0113] 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드의 A쇄 및/또는 B쇄에 하나 이상의 아미노산 잔기의 하나 이상의 아미노산 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드의 A쇄에 하나 이상의 아미노산 잔기의 하나 이상의 아미노산 치환을 포함할 수 있다. A쇄에 하나 이상의 아미노산 잔기의 하나 이상의 아미노산 치환은 Y3C, A7C, T16C, R18C, S19C, 또는 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드의 B쇄에 하나 이상의 아미노산 잔기의 하나 이상의 아미노산 치환을 포함할 수 있다. B쇄에 하나 이상의 아미노산 잔기의 하나 이상의 아미노산 치환은 S2C, M4C, S26C, 및 S29C, 또는 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드의 A쇄에 Y3C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드의 A쇄에 A7C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드의 A쇄에 T16C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드의 A쇄에 R18C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드의 A쇄에 S19C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드의 B쇄에 S2C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드의 B쇄에 M4C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드의 B쇄에 S26C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드의 B쇄에 S29C 치환을 포함할 수 있다.
- [0114] 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드의 하나 이상의 아미노산 잔기를 시스테인 잔기로 치환하는 것을 포함할 수 있다. 야생형 펩티드의 하나 이상의 아미노산 잔기는 알라닌, 메티오닌, 아르기닌, 세린, 트레오닌, 및 티로신으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0115] 하나 이상의 아미노산 변이는 하나 이상의 아미노산 잔기를 야생형 펩티드에 첨가하는 것을 포함할 수 있다.
- [0116] 본원에 개시된 방법 및 조성물에 사용하기 위한 하나 이상의 지질은 하나 이상의 TA의 하나 이상의 약동학적 특성을 향상시킬 수 있다.

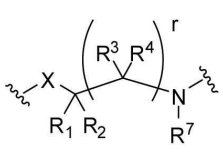
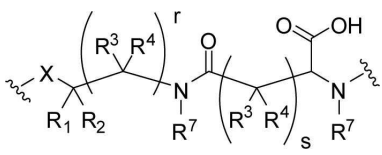
[0117] 하나 이상의 지질은 하나 이상의 지질에 부착되지 않은 하나 이상의 TA와 비교하여 약력학으로 측정될 때 하나 이상의 TA의 하나 이상의 약동학적 특성을 적어도 약 200% 향상시킬 수 있다. 하나 이상의 지질은 하나 이상의 지질에 부착되지 않은 TA와 비교하여 약력학으로 측정될 때 TA의 하나 이상의 약동학적 특성을 적어도 약 250% 향상시킬 수 있다.

[0118] 하나 이상의 약동학적 특성은 반감기를 포함할 수 있다.

[0119] 본원에서 A^3-P^1-L 의 구조를 가진 화합물을 개시하며, 상기 식에서, A^3 은 할로아세트아미드, 말레이미드, 할로겐화 벤질, 또는 피리딜 디설피드일 수 있고, P^1 은 결합 또는 $-PEG-A^2-$ 일 수 있고, A^2 는 PEG와 L을 연결하는 화학기일 수 있고, L은 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지

방 알코올로부터 선택된 지질일 수 있고, PEG는  및 로부터 선택될 수 있으며, 상기 식에서 m 및 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20일 수 있다.

[0120] 본원에서 개시된 일부 실시양태에서,

[0121] A^2 는 결합, , 및 로부터 선택되고,

[0122] X는 결합, NR^5 , 또는 O이고,

[0123] R^1 , R^2 , R^3 , 및 R^4 는 독립적으로 H, 할로, CN, $-SR^5$, 알킬, 시클로알킬, 할로알킬, $-NR^5R^5$, 및 $-OR^5$ 로부터 선택되고,

[0124] R^5 는 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 또는 헤테로알킬이고,

[0125] 각 R^7 은 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 및 헤테로알킬로부터 선택되고,

[0126] r은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,

[0127] s는 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.

[0128] 본원에서 화학식 (I)의 LC의 제조 방법으로서, TA의 시스테인 잔기를 A^3-P^1-L (식에서, A^3 은 A^1 을 형성하는 반응성 전구물질임)와 반응하는 단계를 포함하는 방법을 개시한다. 화학식 (I)의 LC의 제조 방법은 TA의 시스테인 잔기를 A^3-P^1-L (식에서, A^3 이 할로아세트아미드, 말레이미드, 할로겐화 벤질, 또는 피리딜 디설피드임)과 반응하는 단계를 포함할 수 있다. A^3 은 할로아세트아미드일 수 있다. A^3 은 브로모아세트아미드일 수 있다.

[0129] 본원에서 개시된 약학 조성물은 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 염, 부형제 또는 비히클을 더 포함할 수 있다.

[0130] 본원에서 개시된 방법 및 조성물은 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이를 치료하는데 사용될 수 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 신경병증 통증 또는 염증성 통증일 수 있다.

[0131] 본원에서 개시된 LC는 하나 이상의 추가의 치료제와 함께 투여될 수 있다. 하나 이상의 추가 치료제는 항염제, 스타틴, 이노제, 베타 차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제, 안지오텐신 II 수용체 차단제 또는 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 하나 이상의 추가 치료제는 아스피린일 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0132] 본 발명의 신규 특성은 첨부된 청구항에서 구체적으로 개시된다. 본 발명은 수반되는 도면과 함께 볼 때 하기 상세한 설명으로부터 가장 잘 이해된다. 관례에 따르면, 도면의 여러 부분은 일정한 비율로 조정하지 않는다는

것을 강조한다. 반면, 여러 부분의 크기는 명확히 하기 위해 임의로 확대하거나 축소한다. 하기 [도]가 도면에 포함된다.

[도 1]은 L-시스테인 변형된 릴렉신에 폐결화된 지질 유도체의 화학적 접합에 대한 개략도를 나타낸다(상자 안 잔기는 L-시스테인으로 변이될 수 있다).

[도 2]는 지질 접합을 위해 시스테인으로 변형된 릴렉신을 나타낸다(상자 안 잔기는 예를 들어 L-시스테인, 리신, 글루타민, 알라닌으로 변이될 수 있다).

[도 3]은 LGR7 및 CRE-Luc 리포터를 발현하는 HEK293T 세포주에서 릴렉신2 수용체(RXFP2 또는 LGR7)을 활성화시키는 인간 릴렉신2를 나타낸다.

[도 4]는 pVB008 릴렉신2 링커 벡터의 개략도 및 다른 릴렉신 발현 구조물의 또 다른 개략도를 나타낸다. 도 4는 "GGGRGG"를 서열 번호 69로서 개시한다.

[도 5]는 릴렉신2 S26C 및 릴렉신2 S29C PCR 산물의 아가로스 겔을 나타낸다.

[도 6]은 릴렉신2 S26C 링커 및 릴렉신2 S29C 링커 PCR 산물의 아가로스 겔을 나타낸다.

[도 7]은 제한효소 절단된 벡터(pVB008 및 pAC145) 및 PCR 산물(릴렉신2, 릴렉신2 S26C 링커, 릴렉신2 S29C 링커, 및 엑세나타이드)의 아가로스 겔을 나타낸다.

[도 8]은 릴렉신 및 릴렉신 변이체의 SDS-PAGE 겔을 나타낸다.

[도 9]는 N-말단에 CBD 태그된 야생형 릴렉신의 SDS-PAGE 겔을 나타낸다.

[도 10]은 (a) 독소-550 펩티드(야생형)에 대한 이황화 결합 양상, 및 (b) 시스테인-노트(knot) 독소-550 펩티드의 대표적인 시험관 내 폴딩 경로를 나타내며, 가운데 구조는 이황화 결합이 시스테인 I과 시스테인 IV 사이와 시스테인 II와 시스테인 V 사이에 형성되는 두 개의 황화 결합 중간체를 도식한다.

[도 11]은 지질 접합체에 대한 마우스의 약동학 데이터를 나타낸다.

[도 12]는 야생형 릴렉신에 대한 마우스의 약동학 데이터를 나타낸다.

[도 13]은 다양한 시점에서 지질 접합체에 대한 치골 인대 길이 데이터를 나타낸다.

[도 14]는 24시간 시점에서 지질 접합체에 대한 용량 반응 데이터를 나타낸다.

[도 15]는 XTEN-변형된 치료제(릴렉신-B-D1A, S29C-XTEN-288)의 비제한적인 예에 대한 마우스의 약동학 데이터를 나타낸다.

[도 16a-b]는 대표적인 mTA를 나타낸다. 일련번호 1-10은 반감기 연장 부분(X로 나타냄)에 부착된 릴렉신 A쇄 및 B쇄를 포함하는 대표적인 mTA를 도식한다. 일련 번호 11-13은 반감기 연장 부분(X로 나타냄)에 부착된 독소-550을 포함하는 대표적인 mTA를 도식한다. X는 FA₁, FA₂, FA₃, FA₄, FA₅, FA₆, 또는 FA₇ 또는 본원에서 기재된 또 다른 지질일 수 있다. 이황화 결합은 두 개의 시스테인 잔기를 연결하는 팔호 또는 두 개의 시스테인 잔기를 연결하는 선으로 도식되어 있다. 도 16b는 "GSCGG" 및 "GSGG"를 각각 서열 번호 72 및 71로서 개시한다.

[도 17]은 대표적인 mTA를 나타낸다. 대표적인 mTA는 반감기 연장 부분(X로 나타냄)에 부착된 릴렉신 A쇄 및 B쇄를 포함한다. X는 XTEN-288 또는 XTEN-864일 수 있다. 이황화 결합은 두 개의 시스테인 잔기를 연결하는 팔호 또는 두 개의 시스테인 잔기를 연결하는 선으로 도식되어 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0133]

본원에서 변형된 치료제(mTA)를 개시한다. 일반적으로, mTA는 치료제(TA) 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함할 수 있으며, 상기 TA는 하나 이상의 반감기 연장 부분에 부착된다. 치료제는 펩티드일 수 있다. TA는 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착될 수 있다. TA는 치료제 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분에 부착될 수 있다. 변형된 치료제의 반감기는 치료제 단독의 반감기보다 길어질 수 있다. 반감기 연장 부분은 지질, 폴리글리콜 영역, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 반감기 연장 부분은 (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10%

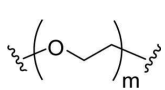
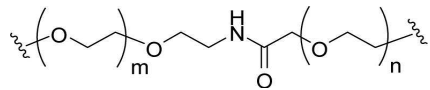
미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함할 수 있다. 반감기 연장 부분은 치료제 상의 시스테인 잔기의 황 원자에 부착될 수 있다. mTA의 비제한적인 예는 지질 접합체(LC) 및 XTEN-변형된 치료제(XTEN-mTA)를 포함한다.

- [0134] 본원에서 지질 접합체(LC)를 개시한다. 일반적으로, LC는 지질 및 치료제를 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, 및 (b) 치료제(TA)를 포함할 수 있으며, 상기 TA는 펩티드이고 상기 하나 이상의 지질은 펩티드 상의 아미노산을 통해 TA에 접합된다.
- [0135] 지질 접합체(LC)는 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함할 수 있으며, 상기 하나 이상의 지질은 시스테인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 TA에 접합된다.
- [0136] 또한, 본원에서 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함하는 지질 접합체(LC)에 있어서, 상기 하나 이상의 TA가 틸렉신 펩티드 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 하나 이상의 지질이 시스테인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 치료제에 접합되는 것인 지질 접합체(LC)를 개시한다.
- [0137] 또한, 본원에서 하나 이상의 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함하는 지질 접합체(LC)에 있어서, 상기 하나 이상의 TA가 변형된 틸렉신 펩티드를 포함하고, 상기 변형된 틸렉신 펩티드가 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 틸렉신 폴리펩티드를 포함하는 것인 지질 접합체(LC)를 개시한다. LC는 변형된 틸렉신 펩티드를 포함하는 치료제에 부착된 하나 이상의 지질을 포함할 수 있으며, 상기 변형된 틸렉신 펩티드는 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 틸렉신 폴리펩티드를 포함한다.
- [0138] 본원에서 LC를 포함하는 약학 조성물로서, 상기 LC가 (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, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 치료제가 펩티드이고 상기 하나 이상의 지질이 펩티드 상의 아미노산을 통해 상기 치료제에 접합되는 것인 약학 조성물을 개시한다.
- [0139] 또한, 본원에서 LC를 포함하는 약학 조성물로서, 상기 LC가 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함하며, 상기 하나 이상의 지질이 시스테인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 치료제에 부착되는 것인 약학 조성물을 개시한다.
- [0140] 또한, 본원에서 LC를 포함하는 약학 조성물로서, 상기 LC가 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함하며, 상기 하나 이상의 TA가 틸렉신 펩티드 또는 이의 유도체를 포함하며, 상기 하나 이상의 지질이 시스테인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 치료제에 부착되는 것인 약학 조성물을 개시한다.
- [0141] 또한, 본원에서 LC를 포함하는 약학 조성물로서, 상기 LC가 하나 이상의 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함하며, 상기 하나 이상의 TA가 변형된 틸렉신 펩티드를 포함하고, 상기 변형된 틸렉신 펩티드가 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 틸렉신 폴리펩티드를 포함하는 것인 약학 조성물을 개시한다. 약학 조성물은 LC를 포함할 수 있으며, 상기 LC는 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함하고, 상기 TA는 변형된 틸렉신 펩티드를 포함하고, 상기 변형된 틸렉신 펩티드는 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 틸렉신 폴리펩티드를 포함한다.
- [0142] 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료 방법으로서 LC를 포함하는 조성물을 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 LC가 (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, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 치료제가 펩티드이고 상기 하나 이상의 지질이 펩티드 상의 아미노산을 통해 상기 치료제에 접합되는 것인 방법을 개시한다.
- [0143] 또한, 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료 방법으로서 LC를 포함하는 조성물을 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 LC가 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함하며, 상기 하나 이상의 지질이 시스테인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 치료제(TA)에

접합되는 것인 방법을 개시한다.

- [0144] 또한, 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료 방법으로서 LC를 포함하는 조성물을 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 LC가 (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 포함하며, 상기 하나 이상의 치료제가 펩티드 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 하나 이상의 지질이 시스테인 잔기를 상기 하나 이상의 치료제(TA)에 부착되는 것인 방법을 개시한다.
- [0145] 또한, 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료 방법으로서 LC를 포함하는 조성물을 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 LC가 하나 이상의 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함하며, 상기 하나 이상의 TA가 변형된 펩티드를 포함하고, 상기 변형된 펩티드가 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 펩티드 폴리펩티드를 포함하는 것인 방법을 개시한다. 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료 방법은 LC를 포함하는 조성물을 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함할 수 있으며, 상기 LC는 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함하고, 상기 TA는 변형된 펩티드를 포함하고, 상기 변형된 펩티드는 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 펩티드 폴리펩티드를 포함한다.
- [0146] 본원에서 LC를 포함하는 키트로서, 상기 LC가 (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, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 치료제가 펩티드이고 상기 하나 이상의 지질이 펩티드 상의 아미노산을 통해 상기 치료제(TA)에 접합되는 것인 키트를 개시한다.
- [0147] 또한, 본원에서 LC를 포함하는 키트로서, 상기 LC가 (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 포함하며, 상기 하나 이상의 지질이 시스테인 잔기를 통해 상기 치료제에 접합되는 것인 키트를 개시한다.
- [0148] 또한, 본원에서 LC를 포함하는 키트로서, 상기 LC가 (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 포함하며, 상기 하나 이상의 TA가 펩티드 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 하나 이상의 지질이 시스테인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 치료제에 접합되는 것인 키트를 개시한다.
- [0149] 또한, 본원에서 LC를 포함하는 키트로서, 상기 LC가 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함하며, 상기 하나 이상의 TA가 변형된 펩티드이고, 상기 변형된 펩티드가 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 펩티드 폴리펩티드를 포함하는 것인 키트를 개시한다. 키트는 LC를 포함할 수 있으며, 상기 LC는 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함하며, 상기 TA는 변형된 펩티드를 포함하고, 상기 변형된 펩티드는 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 펩티드 폴리펩티드를 포함한다.
- [0150] 또한, 본원에서 하기 구조를 가진 LC를 개시한다.
- [0151] <화학식 (I)>
- [0152] $TA-A^1-P^1-L$
- [0153] 상기 식에서, TA는 치료제이고, A^1 은 TA와 P^1 또는 L을 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합이거나 폴리글리콜을 포함하고, L은 지질이다.
- [0154] 또한, 본원에서 하기 구조를 가진 LC를 개시한다.
- [0155] <화학식 (Ia)>
- [0156] $TA-A^1-P^1-L$
- [0157] 상기 식에서, TA는 시스테인 잔기를 가진 치료제이고, 상기 시스테인 잔기는 A^1 에 결합되고, A^1 은 TA와 P^1 을 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합 또는 $-PEG-A^2-$ 이고, PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기이고, A^2 는 PEG와 L을 연결하는 화학 기이고, L은 지질이다.

[0158] 본원에서 A^3-P^1-L 의 구조를 가진 화합물을 개시하며, 상기 식에서, A^3 은 할로아세트아미드, 말레이미드, 할로젠화 벤질, 또는 피리딜 디설피드일 수 있고, P^1 은 결합 또는 $-PEG-A^2-$ 일 수 있고, A^2 는 PEG와 L을 연결하는 화학기일 수 있고, L은 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드, 및 지

방 알코올로부터 선택된 지질일 수 있고, PEG는  및 로부터 선택될 수 있으며, 상기 식에서 m 및 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20일 수 있다.

[0159] 본원에서 화학식 (Ia)의 LC의 제조 방법으로서, TA의 시스테인 잔기를 A^3-P^1-L (식에서, A^3 은 A^1 을 형성하는 반응성 전구물질임)과 반응하는 단계를 포함하는 방법을 개시한다. 화학식 (Ia)의 LC의 제조 방법은 TA의 시스테인 잔기를 A^3-P^1-L (식에서, A^3 은 할로아세트아미드, 말레이미드, 할로젠화 벤질, 또는 피리딜 디설피드임)과 반응하는 단계를 포함할 수 있다. A^3 은 할로아세트아미드일 수 있다. A^3 은 브로모아세트아미드일 수 있다.

[0160] 본 방법, 키트 및 조성물을 더 상세히 기재하기에 앞서, 본 발명은 기재된 특정 방법, 키트 또는 조성물에 제한되지 않으며, 물론 그와 같이 변화할 수 있다는 것을 이해해야 한다. 또한, 본 발명의 범위는 첨부된 청구항에 의해서만 제한될 것이기 때문에 본원에서 사용되는 전문 용어는 단지 특정 실시양태를 설명하기 위한 것이며 제한하고자 하는 것이 아니라는 것을 이해해야 한다. 실시예는 당업자에게 본 발명을 제조하고 이용하는 방법을 완벽하게 개시하고 설명하기 위해 제시되며, 발명자들이 그들의 발명으로 간주하는 것의 범위를 한정하고자 하는 것도 아니며 하기 실험이 실시된 전체 또는 유일한 실험임을 나타내고자 하는 것은 아니다. 사용된 수(예, 양, 온도 등)와 관련하여 정확도를 보장하기 위해 노력하였으나 약간의 실험 오차 및 편차는 고려되어야 한다. 달리 명시되지 않는다면, 부는 중량부이고, 분자량은 중량 평균 분자량이고, 온도는 섭씨온도이고, 압력은 대기이거나 대기에 가깝다.

[0161] 값의 범위가 제공되는 경우, 본문에 달리 명백하게 명시되지 않는다면, 그 범위의 상한 및 하한 사이에서 하한 단위의 1/10까지 각 사이 값도 구체적으로 개시된 것으로 이해한다. 언급된 범위 내의 언급된 임의의 값 또는 사이 값과 언급된 임의의 다른 값 또는 사이 값 사이에서 각각의 더 작은 범위는 본 발명에 포함된다. 상기 더 작은 범위의 상한 및 하한은 범위에 독립적으로 포함되거나 제외될 수 있으며, 한계 값의 어느 하나 또는 둘 다가 더 작은 범위에 포함되거나 한계 값의 어느 것도 더 작은 범위에 포함되지 않는 각 범위도 언급된 범위 내에 구체적으로 제외된 어떤 한계 값을 조건으로 본 발명에 포함된다.

[0162] 달리 정의되지 않는다면, 본원에서 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 분야의 통상의 기술자에게 보편적으로 이해되는 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 등가인 어떤 방법 및 재료를 본 발명을 실시하거나 시험하는데 이용될 수 있지만, 지금은 가능하고 바람직한 일부 방법 및 재료를 기재한다. 본원에 언급된 모든 간행물은 간행물이 인용되는데 관련된 방법 및/또는 재료를 개시하고 기재하는 참고로 본원에 포함된다. 본 개시는 반박이 생길 정도까지는 포함된 간행물의 모든 개시 내용을 대신하는 것으로 여겨진다.

[0163] 본 개시를 읽을 때 당업자에게 자명하겠지만, 본원에 기재되고 예시된 각각의 실시양태는 본 발명의 범위 또는 취지를 벗어나지 않으면서 임의의 다른 여러 실시양태의 특징으로부터 쉽게 분리될 수 있거나 그와 조합될 수 있는 별개의 구성요소 및 특징을 가진다. 인용된 모든 방법은 인용된 사례의 순서로 또는 논리적으로 가능한 임의의 다른 순서로 수행될 수 있다.

[0164] 본원 및 첨부된 청구항에 사용된 단수 형태 "하나"("a", "an", 및 "the")는 본문에서 달리 명백하게 나타내지 않는다면 복수를 포함한다는 것에 주의해야 한다. 따라서, 예를 들어, "하나의 세포"라는 언급은 상기 세포 복수를 포함하고 "펩티드"라는 언급은 하나 이상의 펩티드 및 그의 등가물, 예를 들어 당업자에게 공지된 폴리펩티드 등의 언급을 포함한다.

[0165] 본원에서 논의된 간행물은 본 출원의 출원일 이전의 그들의 개시 내용에 대해서만 제공된다. 본원의 어떤 것도 본 발명이 선행 발명에 의해 상기 간행물을 선행하는 자격이 없다는 것을 인정하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 게다가, 제공된 공개일은 실제 공개일과 상이할 수 있으며, 이는 별도로 확인이 필요할 수 있다.

[0166] 치료제의 반감기를 연장시키는 mTA를 제조하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 이들 방법 및 조성물은 수많은 질환에서 치료 용도를 모색하며, 예를 들어 심혈관 질환은 틸렉신 단독에 의해서보다 틸렉신에 접합된 반감기 연장 분자로 더 효과적으로 치료될 수 있다. 본 발명의 상기 및 기타 목적, 장점, 및 특징은 하기에 더 완전하

게 기재된 조성물 및 방법의 상세 내용을 읽을 때 당 업자에게 자명할 것이다.

[0167] 본 발명의 바람직한 실시양태를 본원에서 제시하고 기재하였지만, 상기 실시양태는 단지 예로써 제공된다는 것은 당업자에게 자명할 것이다. 이제 본 발명을 벗어나지 않는 수많은 변이, 변화 및 치환이 당 업자에게 떠오를 수 있을 것이다. 본원에서 기재된 본 발명의 실시양태의 다양한 대안이 본 발명을 실시하는데 이용될 수 있을 것으로 생각된다. 하기 청구항으로 본 발명의 범위를 정의하고 이로써 본 청구항 범위 내의 방법 및 구조 및 그의 등가물을 포함시키고자 한다.

[0168] **변형된 치료제(mTA)**

[0169] 본원에서 치료제(TA) 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함할 수 있으며, 상기 TA가 하나 이상의 반감기 연장 부분에 부착되는 것인 변형된 치료제(mTA)를 개시한다. 치료제는 펩티드일 수 있다. TA는 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착될 수 있다. TA는 치료제 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분에 부착될 수 있다. 변형된 치료제의 반감기는 치료제 단독의 반감기보다 더 길 수 있다. 반감기 연장 부분은 지질, 폴리글리콜 영역, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 반감기 연장 부분은 (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함할 수 있다. 반감기 연장 부분은 치료제 상의 시스테인 잔기의 황 원자에 부착될 수 있다. mTA의 비제한적인 예는 지질 접합체(LC) 및 XTEN-변형된 치료제(XTEN-mTA)를 포함한다.

[0170] 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제(mTA)를 개시한다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 치환, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다.

[0171] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 지질을 포함하고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제를 개시한다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 치환, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. mTA는 LC일 수 있다.

[0172] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 지질을 포함하고, 상기 펩티드가 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 작용제, GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 렙틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 펩티드계 독소, 모카, 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체로부터 선택되고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제를 개시한다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. mTA는 LC일 수 있다.

[0173] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 지질을 포함하고, 상기 펩티드가 릴렉신, 옥신토모둘린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 작용제, GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 렙틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 독소-550, 모카, 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체로부터 선택되고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제를 개시한다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. mTA는 LC일 수 있다.

- [0174] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 지질을 포함하고, 상기 펩티드가 틸렉신 또는 이의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체이고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제를 개시한다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. mTA는 LC일 수 있다.
- [0175] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 지질을 포함하고, 상기 치료제가 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩티드 서열의 적어도 일부분을 포함하는 아미노산 서열에 의해 코딩되고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제를 개시한다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 치환, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. mTA는 LC일 수 있다.
- [0176] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 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 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제를 개시한다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 치환, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다.
- [0177] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드, 지방 아민, 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 지질을 포함하고, 상기 펩티드가 틸렉신, H1 틸렉신, H2 틸렉신, H3 틸렉신, 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 작용제, GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 렙틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 펩티드계 독소, 모카, 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체로부터 선택되고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제를 개시한다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다.
- [0178] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드, 지방 아민, 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 지질을 포함하고, 상기 펩티드가 틸렉신, 옥신토모듈린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 작용제, GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 렙틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 독소-550, 모카, 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체로부터 선택되고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제를 개시한다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다.
- [0179] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드, 지방 아민, 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 지질을 포함하고, 상기 펩티드가 틸렉신 또는 이의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체이고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제를 개시한다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨

가 또는 치환일 수 있다.

- [0180] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 폴리글리콜 영역을 포함하고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제를 개시한다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 치환, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환일 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환일 수 있다.
- [0181] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 폴리글리콜 영역을 포함하고, 상기 펩티드가 릴렉신, H1 릴렉신, H2 릴렉신, H3 릴렉신, 인간 INSL3, 인간 INSL4, 인간 INSL6, 인간 IGF1, 인간 IGFII, 인간 인슐린, 옥신토모둘린, 엑센타타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 작용제, GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 렙틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 펩티드계 독소, 모카, 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체로부터 선택되고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제를 개시한다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환일 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환일 수 있다.
- [0182] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 폴리글리콜 영역을 포함하고, 상기 펩티드가 릴렉신, 옥신토모둘린, 엑센타타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 작용제, GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 렙틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 독소-550, 모카, 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체로부터 선택되고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제를 개시한다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환일 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환일 수 있다.
- [0183] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 폴리글리콜 영역을 포함하고, 상기 펩티드가 릴렉신 또는 이의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체이고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제를 개시한다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환일 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환일 수 있다.
- [0184] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 폴리글리콜 영역을 포함하고, 치료제가 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩티드 서열의 적어도 일부분을 포함하는 아미노산 서열에 의해 코딩되고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제를 개시한다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환일 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환일 수 있다.
- [0185] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 지질 및 폴리글리콜 영역을 포함하고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 것인 변형된 치료제를 개시한다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 치환, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환일 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환일 수 있다. mTA는 LC일 수 있다.
- [0186] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민, 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 지질 및 폴리글리콜 영역을 포함하고, 변

형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 변형된 치료제를 개시한다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 치환, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. mTA는 LC일 수 있다.

[0187] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민, 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 지질 및 폴리글리콜 영역을 포함하고, 상기 펩티드가 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 작용제, GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 랩틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 펩티드계 독소, 모카, 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체로부터 선택되고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 변형된 치료제를 개시한다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. mTA는 LC일 수 있다.

[0188] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민, 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 지질 및 폴리글리콜 영역을 포함하고, 상기 펩티드가 릴렉신, 옥신토모듈린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 작용제, GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 랩틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 독소-550, 모카, 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체로부터 선택되고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 변형된 치료제를 개시한다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. mTA는 LC일 수 있다.

[0189] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민, 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 지질 및 폴리글리콜 영역을 포함하고, 상기 펩티드가 릴렉신 또는 이의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체이고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 변형된 치료제를 개시한다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. mTA는 LC일 수 있다.

[0190] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함하고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 변형된 치료제를 개시한다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 치환, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. mTA는 XTEN-변형된 치료제(XTEN-mTA)일 수 있다.

[0191] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함하고, 상기 펩티드가 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 작용제, GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 렙틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 펩티드계 독소, 모카, 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체로부터 선택되고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 변형된 치료제를 개시한다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. mTA는 XTEN-변형된 치료제(XTEN-mTA)일 수 있다.

[0192] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착된 펩티드이고, 각각의 반감기 연장 부분이 (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함하고, 상기 펩티드가 렙렉신, 옥신토모둘린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 작용제, GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 렙틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 독소-550, 모카, 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체로부터 선택되고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 변형된 치료제를 개시한다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. mTA는 XTEN-변형된 치료제(XTEN-mTA)일 수 있다.

[0193] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착된 펩티드이고, 각각의 반감기 연장 부분이 (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함하고, 상기 펩티드가 렙렉신 또는 이의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체이고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 변형된 치료제를 개시한다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. mTA는 XTEN-변형된 치료제(XTEN-mTA)일 수 있다.

[0194] 또한, 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 반감기 연장 부분의 각각에 공유적으로 부착되고, 각각의 반감기 연장 부분이 (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함하고, 상기 치료제가 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩티드 서열의 적어도 일부분을 포함하는 아미노산 서열에 의해 코딩되고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 변형된 치료제를 개시한다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. mTA는 XTEN-변형된 치료제(XTEN-mTA)일 수 있다.

[0195] 본원에서 개시된 mTA는 하기 구조를 가질 수 있다.

[0196] <화학식 (II)>

[0197] TA-A¹-P¹-X

[0198] 상기 식에서, TA는 치료제이고,

[0199] A¹은 TA와 P¹ 또는 X를 연결하는 화학 기이고,

[0200] P¹은 결합이거나 폴리글리콜을 포함하고,

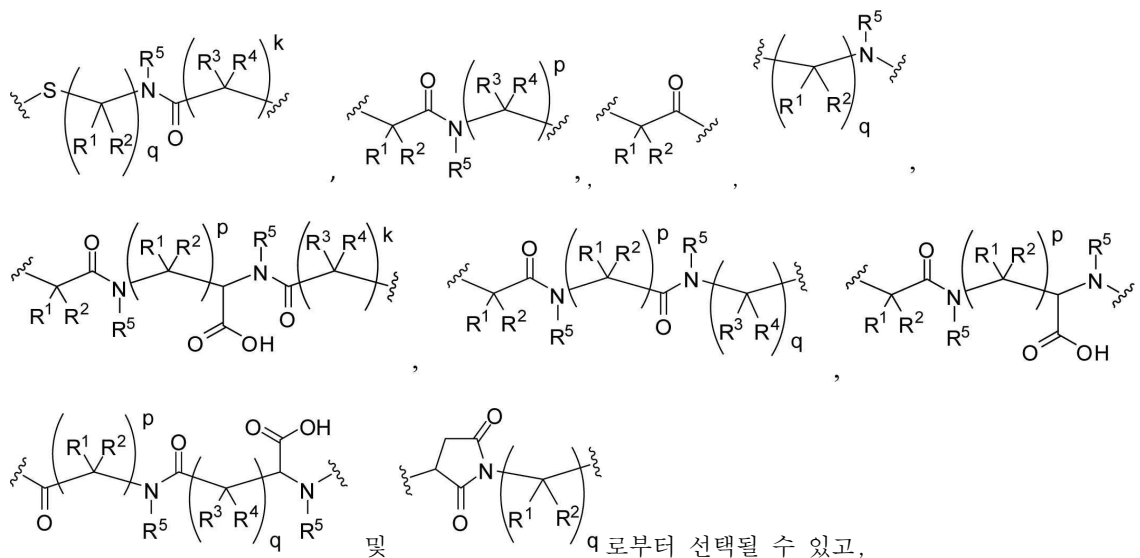
[0201] X는 반감기 연장 부분이다.

[0202] 화학식 (II)의 X는 지질을 포함할 수 있다.

[0203] 화학식 (II)의 X는 연장된 재조한 폴리펩티드(XTEN)를 포함할 수 있다.

[0204] 화학식 (II)의 mTA의 P¹은 결합될 수 있다.

[0205] TA의 아미노산 잔기의 황 또는 질소 원자는 화학식 (II)의 mTA에서 화학 기를 통해 A¹에 결합될 수 있다. 화학식 (II)의 mTA의 A¹은



[0206] 각 R¹, R², R³, 및 R⁴는 독립적으로 H, 할로, CN, -SR⁵, 알킬, 시클로알킬, 할로알킬, -NR⁵R⁵, -NC(O)R⁵, -NC(O)OR⁵, 및 -OR⁵로부터 선택되고,

[0207] 각 R⁵는 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, (시클로알킬)알킬, 또는 헤테로알킬이고,

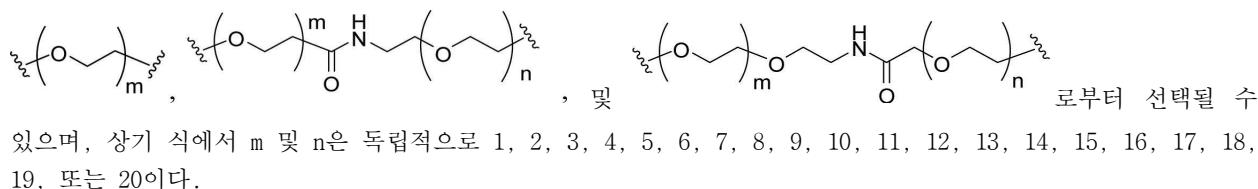
[0208] k는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,

[0209] p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,

[0210] q는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다.

[0211] 화학식 (II)의 mTA의 P¹은 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.

[0212] 화학식 (II)의 mTA의 P¹은 -PEG-A²-일 수 있으며, 상기 식에서, PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기이고, A²는 PEG와 X를 연결하는 화학 기이다. PEG는



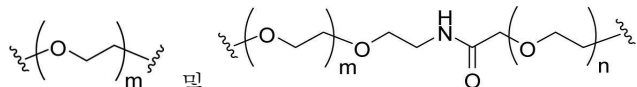
[0213] A²는 결합, 로부터 선택될 수

있으며,

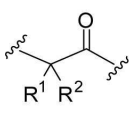
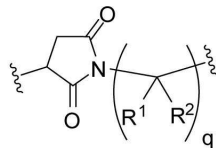
- [0214] 상기 식에서, X는 결합, NR^5 , S, 또는 O이고,
- [0215] 각 R^1 , R^2 , R^3 , 및 R^4 는 독립적으로 H, 할로, CN, $-SR^5$, 알킬, 시클로알킬, 할로알킬, $-NR^5R^5$, 및 $-OR^5$ 로부터 선택되고,
- [0216] 각 R^5 는 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 또는 헤테로알킬이고,
- [0217] R^6 은 OH 또는 $-NR^5R^5$ 이고,
- [0218] 각 R^7 은 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 및 헤테로알킬로부터 선택되고,
- [0219] r은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,
- [0220] s는 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.
- [0221] 화학식 (II)의 반감기 연장 부분은 지질을 포함할 수 있다. 지질은 프로판산, 부탄산, 펜탄산, 헥산산, 헵탄산, 옥탄산, 노난산, 데칸산, 운데칸산, 도데칸산, 트리데칸산, 테트라데칸산, 미리스탄, 펩타데칸산, 헥사데칸산, 헵타데칸산, 옥타데칸산, 노나데칸산, 에이코산산, 헨에이코산산, 도코산산, 트리코산산, 테트라코산산, 펜타코산산, 헥사코산산, 헵타코산산, 옥타코산산, 노나코산산, 트리아콘탄산, 헨아트리아콘탄산, 도트리아콘탄산, 트리트리아콘탄산, 테트라트리아콘탄산, 펜타트리아콘탄산, 및 헥사트리아콘탄산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 지질은 말론산, 숙신산, 글루타르산, 아디프산, 피멜산, 수베르산, 아젤라산, 세바스산, 운데칸디온산, 도데칸디온산, 트리데칸디온산, 테트라데칸디온산, 펜타데칸디온산, 헥사데칸디온산, 헵타데칸디온산, 옥타데칸디온산, 및 노나데칸디온산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 지질은 미리스톨레산, 팔미톨레산, 사피엔산, 올레산, 엘라이드산, 백센산, 리놀레산, 리노엘라이드산, α -리놀렌산, 아라키돈산, 에이키돈산, 에이코사펜탄산, 에루크산, 도코사헥사엔산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 지질은 콜레스테롤, 7-OH 콜레스테롤, 7,25-디히드록시콜레스테롤, 콜산, 케노데옥시콜산, 리토콜산, 데옥시콜산, 글리코콜산, 글리코데옥시콜산, 글리코리토콜산, 및 글리코케노데옥시콜산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 화학식 (II)의 mTA의 하나 이상의 지질은 콜산, 케노데옥시콜산, 리토콜산, 데옥시콜산, 글리코콜산, 글리코데옥시콜산, 글리코리토콜산, 및 글리코케노데옥시콜산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 화학식 (II)의 mTA의 하나 이상의 지질은 α -토코페롤, β -토코페롤, γ -토코페롤, δ -토코페롤, α -토코트리에놀, β -토코트리에놀, γ -토코트리에놀 및 δ -토코트리에놀로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 화학식 (II)의 mTA의 하나 이상의 지질은 옥타데칸디온산, 테트라데실아민, 미리스탄, 도코사헥사엔산, 리토콜산 에스테르, 콜산 및 팔미트산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0222] 본원에서 개시된 mTA는 하기 구조를 가질 수 있다.
- [0223] <화학식 (IIa)>
- [0224] $TA-A^1-P^1-X$
- [0225] 상기 식에서,
- [0226] TA는 시스테인 잔기를 가진 치료제이고, 상기 시스테인 잔기는 A^1 에 결합되고,
- [0227] A^1 은 TA와 P^1 을 연결하는 화학 기이고,
- [0228] P^1 은 결합 또는 $-PEG-A^2-$ 이고,
- [0229] PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기이고,
- [0230] A^2 는 PEG와 X를 연결하는 화학 기이고,
- [0231] X는 반감기 연장 부분이다.
- [0232] 화학식 (IIa)의 X는 지질을 포함할 수 있다.

[0233] 화학식 (IIa)의 X는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함할 수 있다.

[0234] 화학식 (IIa)의 mTA의 TA의 시스테인 잔기의 황 원자는 화학 결합을 통해 A¹에 결합될 수 있다.

[0235] 화학식 (IIa)의 mTA의 PEG는 로부터 선택될 수 있으며, 상기 식에서 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.

[0236] 본원에서 개시된 화학식 (IIa)의 mTA의 일부 실시양태에서,

[0237] A¹은 , 및 로부터 선택되고,

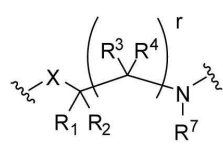
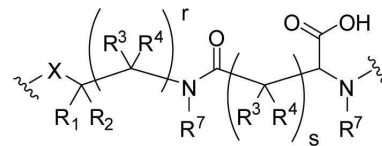
[0238] R¹, R², R³, 및 R⁴는 독립적으로 H, 할로, CN, -SR⁵, 알킬, 시클로알킬, 할로알킬, -NR⁵R⁵, 및 -OR⁵로부터 선택되고,

[0239] R⁵는 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 또는 헤테로알킬이고,

[0240] p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,

[0241] q는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다.

[0242] 본원에서 개시된 화학식 (IIa)의 mTA에 대해 기재된 일부 실시양태에서,

[0243] A²는 결합, , 및 로부터 선택되고,

[0244] X는 결합, NR⁵, 또는 O이고,

[0245] R¹, R², R³, 및 R⁴는 독립적으로 H, 할로, CN, -SR⁵, 알킬, 시클로알킬, 할로알킬, -NR⁵R⁵, 및 -OR⁵로부터 선택되고,

[0246] R⁵는 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 또는 헤테로알킬이고,

[0247] 각 R⁷은 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 및 헤테로알킬로부터 선택되고,

[0248] r은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,

[0249] s는 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.

[0250] 본원에서 개시된 화학식 (IIa)의 mTA의 일부 실시양태에서, P¹은 -PEG-A²이다.

[0251] 본원에서 화학식 (II)의 mTA의 제조 방법으로서, TA의 시스테인 잔기를 A³-P¹-X(식에서, A³은 A¹을 형성하는 반응성 전구물질임)와 반응하는 단계를 포함하는 방법을 개시한다. 일부 실시양태에서, A³은 할로아세트아미드, 말레이미드, 할로겐화 벤질, 또는 피리딜 디설피드이다. 또 다른 실시양태에서, A³은 할로아세트아미드이다. 또 다른 실시양태에서, A³은 브로모아세트아미드이다.

[0252] 변형된 치료제(mTA)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 있으며, 상기 하나 이상의 지질은 시스테인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 치료제(TA)에 접합된다.

- [0253] 변형된 치료제(mTA)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, 및 (b) 치료제(TA)를 포함할 수 있으며, 상기 TA는 펩티드이고 상기 하나 이상의 지질은 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 상기 TA에 접합된다. 아미노산 잔기는 시스테인, 리신, 또는 세린일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 리신으로부터 선택될 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 아미노산 잔기는 리신일 수 있다. 아미노산 잔기는 아미노산 변이일 수 있다. 아미노산은 아미노산 첨가 또는 아미노산 치환일 수 있다.
- [0254] 변형된 치료제(mTA)는 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함할 수 있으며, 상기 하나 이상의 TA는 펩티드 또는 이의 유도체를 포함한다. 변형된 치료제(mTA)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, 및 (b) 치료제(TA)를 포함할 수 있으며, 상기 TA는 펩티드 또는 이의 유도체를 포함한다.
- [0255] 변형된 치료제(mTA)는 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함할 수 있으며, 상기 하나 이상의 TA는 펩티드 또는 이의 유도체를 포함하고 상기 하나 이상의 지질은 시스테인 잔기를 통해 하나 이상의 치료제에 부착된다. 변형된 치료제(mTA)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, 및 (b) 치료제(TA)를 포함할 수 있으며, 상기 TA는 펩티드 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 하나 이상의 지질은 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 상기 치료제에 부착된다. 아미노산 잔기는 시스테인, 리신, 또는 세린일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 리신으로부터 선택될 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 아미노산 잔기는 리신일 수 있다. 아미노산 잔기는 아미노산 변이일 수 있다. 아미노산은 아미노산 첨가 또는 아미노산 치환일 수 있다. 아미노산 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환일 수 있다.
- [0256] 변형된 치료제(mTA)는 하나 이상의 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함할 수 있으며, 상기 하나 이상의 TA는 변형된 펩티드를 포함하고, 상기 변형된 펩티드는 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 펩티드 폴리펩티드를 포함한다. 변형된 치료제(mTA)는 하나 이상의 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함할 수 있으며, 상기 TA는 변형된 펩티드를 포함하고, 상기 변형된 펩티드는 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 펩티드 폴리펩티드를 포함한다.
- [0257] 본원에 개시된 mTA는 변형된 펩티드를 포함하는 TA를 포함할 수 있다. 본원에 개시된 mTA는 하나 이상의 지질을 포함할 수 있으며, 상기 하나 이상의 지질은 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방산 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 변형된 펩티드에 하나 이상의 지질의 부착은 공유적 부착을 포함할 수 있다. 하나 이상의 지질은 시스테인 잔기를 통해 변형된 펩티드에 부착될 수 있다. 시스테인 잔기는 아미노산 변이일 수 있다. 시스테인 잔기는 아미노산 첨가 또는 아미노산 치환일 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환일 수 있다.
- [0258] **반감기 연장 부분**
- [0259] 본원에서 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함하는 변형된 치료제(mTA)로서, 상기 치료제가 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 반감기 연장 부분 각각에 공유적으로 부착되고, 변형된 치료제의 반감기가 펩티드 단독의 반감기보다 더 긴 변형된 치료제를 개시한다.
- [0260] 하나 이상의 반감기 연장 부분은 지질, 폴리글리콜 영역, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 부분은 연장된 제조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함할 수 있다.
- [0261] 폴리글리콜 영역은 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 단위, 폴리프로필렌 글리콜 단위, 또는 폴리부틸렌 글리콜 단위, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 단위를 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 하나 이상의 폴리프로필렌 글리콜 단위를 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 하나 이상의 폴리부틸렌 글리콜 단위를 포함할 수 있다.
- [0262] 폴리글리콜 영역은 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100개 이상의 폴리에틸렌 글리콜 단위, 프로필렌 글리콜 단위, 또는 폴리부틸렌 글리콜 단위, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100개 이상의 폴리에틸렌 글리콜 단위를 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100개 이상의 폴리프로필렌 글리콜 단위를 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은

10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100개 이상의 폴리부틸렌 글리콜 단위를 포함할 수 있다.

[0263] 폴리글리콜 영역은 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000개 이상의 폴리에틸렌 글리콜 단위, 폴리프로필렌 글리콜 단위, 또는 폴리부틸렌 글리콜 단위, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000개 이상의 폴리에틸렌 글리콜 단위를 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000개 이상의 폴리프로필렌 글리콜 단위를 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000개 이상의 폴리부틸렌 글리콜 단위를 포함할 수 있다.

[0264] 폴리글리콜 영역은 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000, 11000, 12000, 13000, 14000, 15000, 16000, 17000, 18000, 19000, 20000, 25000, 30000, 35000, 40000, 45000, 50000개 이상의 폴리에틸렌 글리콜 단위, 폴리프로필렌 글리콜 단위, 또는 폴리부틸렌 글리콜 단위, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000, 11000, 12000, 13000, 14000, 15000, 16000, 17000, 18000, 19000, 20000, 25000, 30000, 35000, 40000, 45000, 50000개 이상의 폴리에틸렌 글리콜 단위를 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000, 11000, 12000, 13000, 14000, 15000, 16000, 17000, 18000, 19000, 20000, 25000, 30000, 35000, 40000, 45000, 50000개 이상의 폴리프로필렌 글리콜 단위를 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000, 11000, 12000, 13000, 14000, 15000, 16000, 17000, 18000, 19000, 20000, 25000, 30000, 35000, 40000, 45000, 50000개 이상의 폴리부틸렌 글리콜 단위를 포함할 수 있다.

[0265] 폴리글리콜 영역은 500-50,000 달톤의 분자량을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 500-40,000 달톤의 분자량을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 500-30,000 달톤의 분자량을 포함할 수 있다. 폴리글리콜 영역은 500-20,000 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 이상의 분자량을 포함할 수 있으며, 그 안에 증분을 포함한다.

[0266] 반감기 연장 부분은 TA 상의 시스테인 잔기를 통해 TA에 부착될 수 있다. 부착은 TA 상의 시스테인 잔기의 황 원자를 통한 화학적 부착을 통해서 일어날 수 있다. 반감기 연장 부분은 TA 상의 시스테인 잔기의 황 원자에 직접적으로 부착된 링커를 포함할 수 있다. 반감기 연장 부분은 TA 상의 시스테인 잔기의 황 원자에 공유적으로 부착된 링커를 포함할 수 있다.

[0267] 지질 접합체(LC)

[0268] 본원에서 하나 이상의 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함하는 지질 접합체(LC)를 개시한다. 지질 접합체는 하나의 TA에 부착된 하나 이상의 지질을 포함할 수 있다. 지질 접합체는 하나 이상의 TA와 하나 이상의 지질 사이에 친수성 연결기(connector)를 더 포함할 수 있다. 지질 접합체는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 더 포함할 수 있다. 하나 이상의 지질은 폐길화될 수 있다.

[0269] 본원에서 개시된 LC는 하기 구조를 가질 수 있다.

[0270] <화학식 (I)>

[0271] $TA-A^1-P^1-L$

[0272] 상기 식에서,

[0273] TA는 치료제이고,

[0274] A^1 은 TA와 P^1 또는 L을 연결하는 화학 기이고,

[0275] P^1 은 결합이거나 폴리글리콜을 포함하고,

[0276] L은 지질이다.

[0277] 화학식 (I)의 LC의 P^1 은 결합일 수 있다.

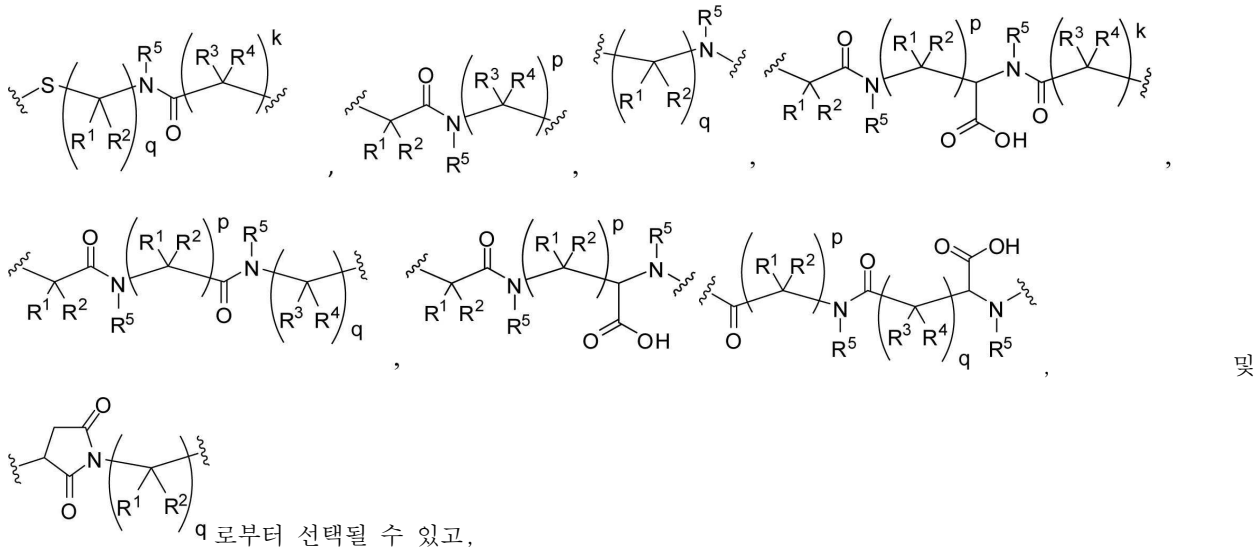
[0278] TA의 아미노산 잔기의 황 또는 질소 원자는 화학식 (I)의 LC에서 화학 결합을 통해 A^1 에 결합될 수 있다. 화학

식

(I)의

LC의

A¹은



[0279] 각 R¹, R², R³, 및 R⁴는 독립적으로 H, 할로, CN, -SR⁵, 알킬, 시클로알킬, 할로알킬, -NR⁵R⁵, -NC(O)R⁵, -NC(O)OR⁵, 및 -OR⁵로부터 선택되고,

[0280] 각 R⁵는 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, (시클로알킬)알킬, 또는 헤테로알킬이고,

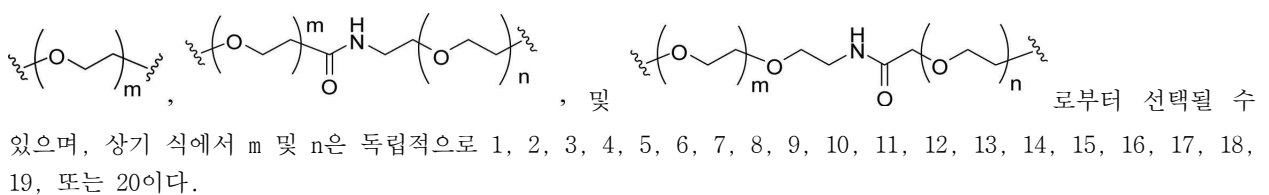
[0281] k는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,

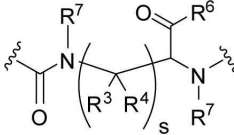
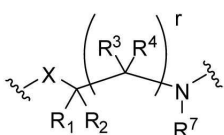
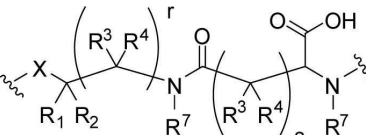
[0282] p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,

[0283] q는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다.

[0284] 화학식 (I)의 LC의 P¹은 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.

[0285] 화학식 (I)의 LC의 P¹은 -PEG-A²-일 수 있으며, 상기 식에서 PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기이고, A²는 PEG와 L을 연결하는 화학 기이다. PEG는



[0286] A²는 결합, , , 및 로부터 선택될 수 있으며,

[0287] 상기 식에서 X는 결합, NR⁵, S, 또는 O이고,

[0288] 각 R¹, R², R³, 및 R⁴는 독립적으로 H, 할로, CN, -SR⁵, 알킬, 시클로알킬, 할로알킬, -NR⁵R⁵, 및 -OR⁵로부터 선택되고,

[0289] 각 R⁵는 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 또는 헤테로알킬이고,

- [0290] R^6 은 OH 또는 $-NR^5R^5$ 이고,
- [0291] 각 R^7 은 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 및 헤테로알킬로부터 선택되고,
- [0292] r은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,
- [0293] s는 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.
- [0294] 화학식 (I)의 LC의 하나 이상의 지질은 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, 헨아트리아콘탄산, 도트리아콘탄산, 트리트리아콘탄산, 테트라트리아콘탄산, 펜타트리아콘탄산, 및 헥사트리아콘탄산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 화학식 (I)의 LC의 하나 이상의 지질은 말론산, 숙신산, 글루타르산, 아디프산, 피멜산, 수베르산, 아젤라산, 세바스산, 운데칸디온산, 도데칸디온산, 트리데칸디온산, 테트라데칸디온산, 펜타데칸디온산, 헥사데칸디온산, 헵타데칸디온산, 옥타데칸디온산, 및 노나데칸디온산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 화학식 (I)의 LC의 하나 이상의 지질은 미리스톨레산, 팔미톨레산, 사피엔산, 올레산, 엘라이드산, 백센산, 리놀레산, 리노엘라이드산, α -리놀렌산, 아라키돈산, 에이코사헵탄산, 에루크산, 도코사헥사엔산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 화학식 (I)의 LC의 하나 이상의 지질은 콜레스테롤, 7-OH 콜레스테롤, 7,25-디히드록시콜레스테롤, 콜산, 케노데옥시콜산, 리토콜산, 데옥시콜산, 글리코콜산, 글리코데옥시콜산, 글리코리토콜산, 및 글리코케노데옥시콜산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 화학식 (I)의 LC의 하나 이상의 지질은 콜산, 케노데옥시콜산, 리토콜산, 데옥시콜산, 글리코콜산, 글리코데옥시콜산, 글리코리토콜산, 및 글리코케노데옥시콜산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 화학식 (I)의 LC의 하나 이상의 지질은 α -토코페롤, β -토코페롤, γ -토코페롤, δ -토코페롤, α -토코트리에놀, β -토코트리에놀, γ -토코트리에놀 및 δ -토코트리에놀로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 화학식 (I)의 LC의 하나 이상의 지질은 옥타데칸디오산, 테트라데실아민, 미리스탄, 도코사헥사엔산, 리토콜산 에스테르, 콜산 및 팔미트산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0295] 본원에서 개시된 LC는 하기 구조식을 가질 수 있다.

[0296] <화학식 (Ia)>

[0297] $TA-A^1-P^1-L$

[0298] 상기 식에서,

[0299] TA는 시스테인 잔기를 가진 치료제이고, 상기 시스테인 잔기는 A^1 에 결합되고,

[0300] A^1 은 TA와 P^1 을 연결하는 화학 기이고,

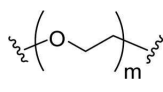
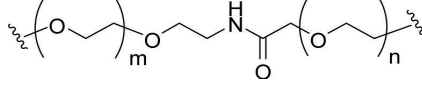
[0301] P^1 은 결합 또는 $-PEG-A^2-$ 이고,

[0302] PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기이고,

[0303] A^2 는 PEG와 L을 연결하는 화학 기이고,

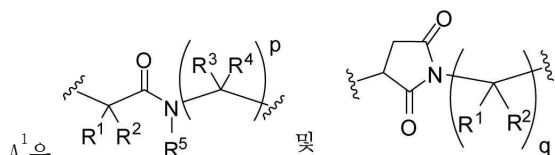
[0304] L은 지질이다.

[0305] 화학식 (Ia)의 LC의 TA의 시스테인 잔기의 황 원자는 화학 결합을 통해 A^1 에 결합될 수 있다.

[0306] 화학식 (Ia)의 LC의 PEG는  및 로부터 선택될 수 있고, 상기 식에서 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.

[0307] 본원에서 개시된 화학식 (Ia)의 LC의 일부 실시양태에서,

[0308] A^1 은



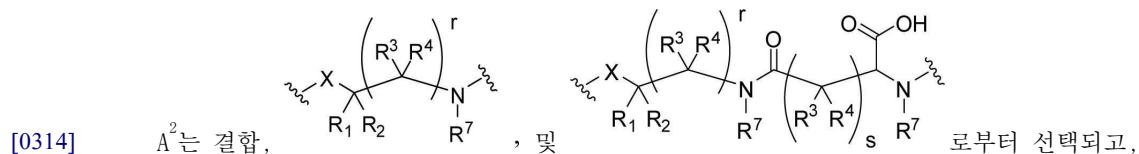
[0309] R^1 , R^2 , R^3 , 및 R^4 는 독립적으로 H, 할로, CN, $-SR^5$, 알킬, 시클로알킬, 할로알킬, $-NR^5R^5$, 및 $-OR^5$ 로부터 선택되고,

[0310] R^5 는 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 또는 헤테로알킬이고,

[0311] p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,

[0312] q는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다.

[0313] 본원에서 개시된 화학식 (Ia)의 LC에 대해 기재된 일부 실시양태에서,



[0314] X는 결합, NR^5 , 또는 O이고,

[0315] R^1 , R^2 , R^3 , 및 R^4 는 독립적으로 H, 할로, CN, $-SR^5$, 알킬, 시클로알킬, 할로알킬, $-NR^5R^5$, 및 $-OR^5$ 로부터 선택되고,

[0316] R^5 는 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 또는 헤테로알킬이고,

[0317] 각 R^7 은 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 및 헤테로알킬로부터 선택되고,

[0318] r은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,

[0319] s는 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.

[0320] 본원에서 개시된 화학식 (Ia)의 LC의 일부 실시양태에서, P^1 은 $-PEG-A^2$ 이다.

[0321] 본원에서 화학식 (I)의 LC의 제조 방법으로서, TA의 시스테인 잔기를 A^3-P^1-L (식에서, A^3 은 A^1 을 형성하는 반응성 전구물질임)과 반응하는 단계를 포함하는 방법을 개시한다. 일부 실시양태에서, A^3 은 할로아세트아미드, 말레이미드, 할로겐화 벤질, 또는 피리딜 디설피드이다. 또 다른 실시양태에서, A^3 은 할로아세트아미드이다. 또 다른 실시양태에서, A^3 은 브로모아세트아미드이다.

[0322] 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 있으며, 상기 하나 이상의 지질이 시스테인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 치료제에 접합된다.

[0323] 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, 및 (b) 치료제(TA)를 포함할 수 있으며, 상기 TA는 펩티드이고 상기 하나 이상의 지질은 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 상기 TA에 접합된다. 아미노산 잔기는 시스테인, 리신, 또는 세린일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 리신으로부터 선택될 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 아미노산 잔기는 리신일 수 있다. 아미노산 잔기는 아미노산 변이일 수 있다. 아미노산은 아미노산 첨가 또는 아미노산 치환일 수 있다.

[0324] 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 있으며, 상기 하나 이상의 TA는 펩티드 또는 이의 유도체를 포함한다. 지질 접합체(LC)는 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙

산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민, 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 치료제(TA)를 포함할 수 있으며, 상기 TA는 펩티드 또는 이의 유도체를 포함한다.

[0326] 지질 접합체(LC)는 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함할 수 있으며, 상기 하나 이상의 TA는 펩티드 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 하나 이상의 지질은 시스테인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 TA에 접합된다. 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, 및 (b) 치료제(TA)를 포함할 수 있으며, 상기 TA는 펩티드 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 하나 이상의 지질은 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 상기 TA에 접합된다. 아미노산 잔기는 시스테인, 리신, 또는 세린일 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인 또는 리신으로부터 선택될 수 있다. 아미노산 잔기는 시스테인일 수 있다. 아미노산 잔기는 리신일 수 있다. 아미노산 잔기는 아미노산 변이일 수 있다. 아미노산은 아미노산 첨가 또는 아미노산 치환일 수 있다.

[0327] 지질 접합체(LC)는 하나 이상의 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함할 수 있으며, 상기 하나 이상의 TA는 변형된 펩티드를 포함하고, 상기 변형된 펩티드가 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 펩티드 폴리펩티드를 포함한다. 지질 접합체(LC)는 치료제(TA)에 부착된 하나 이상의 지질을 포함하고, 상기 TA는 변형된 펩티드를 포함하고, 상기 변형된 펩티드는 하나 이상의 아미노산 변이를 가진 야생형 펩티드 폴리펩티드를 포함한다.

[0328] 본원에서 개시된 LC는 변형된 펩티드를 포함하는 TA를 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 LC는 하나 이상의 지질을 포함할 수 있으며, 상기 하나 이상의 지질은 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방산 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 변형된 펩티드에 하나 이상의 지질의 부착은 공유적 부착을 포함할 수 있다. 하나 이상의 지질은 시스테인 잔기를 통해 변형된 펩티드에 부착될 수 있다. 시스테인 잔기는 아미노산 변이일 수 있다. 시스테인 잔기는 아미노산 첨가 또는 아미노산 치환일 수 있다. 시스테인 잔기는 야생형 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환일 수 있다.

[0329] **링커**

[0330] 본원에서 개시된 LC는 하나 이상의 링커를 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 LC는 두 개 이상의 링커를 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 LC는 세 개 이상의 링커를 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 LC는 네 개 이상의 링커를 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 LC는 5개 이상의 링커를 더 포함할 수 있다.

[0331] 하나 이상의 링커는 치료제에 지질의 부착을 가능하게 할 수 있다. 링커는 지질에 또 다른 지질의 부착을 가능하게 할 수 있다. 링커는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기에 지질의 부착을 가능하게 할 수 있다. 링커는 PEG에 또 다른 PEG의 부착을 가능하게 할 수 있다. 링커는 치료제에 PEG의 부착을 가능하게 할 수 있다. 링커는 치료제에 또 다른 치료제의 부착을 가능하게 할 수 있다. 링커는 아미노산일 수 있다. 링커는 치료제의 아미노산일 수 있다. 링커는 치료제의 아미노산 변이일 수 있다. 링커는 치료제의 치환된 아미노산일 수 있다. 링커는 치료제의 아미노산 첨가일 수 있다. 링커는 펩티드의 C-말단에 위치한 아미노산 변이일 수 있다. 링커는 펩티드의 N-말단에 위치한 아미노산 변이일 수 있다. 링커는 펩티드의 말단이 아닌 위치에 위치한 아미노산 변이일 수 있다. 링커는 리신일 수 있다. 링커는 시스테인일 수 있다. 링커는 L-시스테인일 수 있다. 링커는 에테르 또는 아마이드일 수 있다. 링커는 PEG 분자를 지질에 연결할 수 있다.

[0332] **지질 유도체**

[0333] 본원에서 개시된 LC는 하나 이상의 지질 유도체를 포함할 수 있다. 지질 유도체는 TA에 부착될 수 있다. TA에 지질 유도체의 부착은 TA의 약동학적 특성을 향상시킬 수 있다. 지질 유도체는 폴리글리콜을 포함할 수 있다. 지질 유도체는 폐결화될 수 있다. 폐결화된 지질은 적어도 하나의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함할 수 있다. 지질 유도체는 폐결화되지 않을 수 있다. 지질은 광범위하게는 소수성 또는 양친매성 소분자로 정의될 수 있다. 지질은 천연적이거나 합성적일 수 있다. 지질은 에이코사노이드, 프로스타글란딘, 류코트리엔, 트롬복산, 왁스 에스테르, 조효소 A 유도체, 지방산 카르니틴, 지방산 아마이드, 에탄올아민, 담즙산, 비타민 E, 비타민 A, 비타민 D, 비타민 K, 지용성 비타민 유도체, 모노글리세리드, 디글리세리드, 트리글리세리드, 인지질, 포스파티딜콜린, 글리세로지질, 글리세롤, 글리세로인지질, 스펅고지질, 사카로지질, 폴리케티드, 스테롤, 스테롤 유도체, 스테롤 지질, 스테로이드 호르몬, 프레놀 지질, 카로테노이드, 지방산, 및 지방 알코올일 수 있다.

[0334] 한 측면에서, 본원에서 A^3-P^1-L 의 구조를 가진 지질 유도체를 개시한다.

[0335] 상기 식에서,

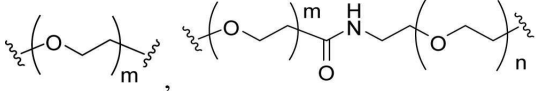
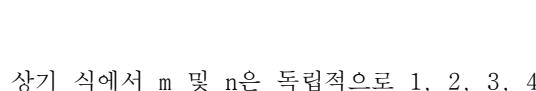

[0336] A^3 은 할로아세트아미드, 말레이미드, 할로겐화 벤질, 또는 피리딜 디설피드이고,

[0337] P^1 은 결합 또는 $-PEG-A^2-$ 이고,

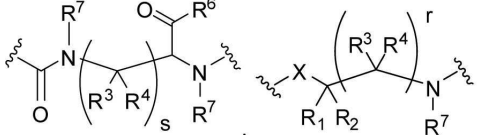
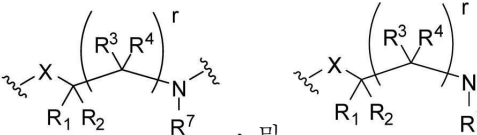
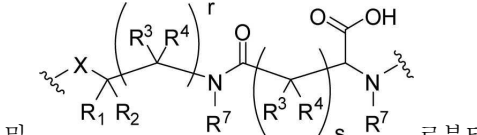
[0338] PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기이고,

[0339] A^2 는 PEG와 L을 연결하는 화학 기이고,

[0340] L은 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로부터 선택된 지질이다.

[0341] 본원에서 기재된 일부 실시양태에서, PEG는 , , 및 로부터 선택되고, 상기 식에서 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.

[0342] 본원에서 기재된 일부 실시양태에서,

[0343] A^2 는 결합, , , 및 로부터 선택되고,

[0344] X는 결합, NR^5 , S, 또는 O이고,

[0345] 각 R^1 , R^2 , R^3 , 및 R^4 는 독립적으로 H, 할로, CN, $-SR^5$, 알킬, 시클로알킬, 할로알킬, $-NR^5R^5$, 및 $-OR^5$ 로부터 선택되고,

[0346] 각 R^5 는 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 또는 헤테로알킬이고,

[0347] R^6 은 OH 또는 $-NR^5R^5$ 이고,

[0348] 각 R^7 은 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 및 헤테로알킬로부터 선택되고,

[0349] r은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,

[0350] s는 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.

[0351] **지질**

[0352] 본원에서 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. TA에 지방산의 부착은 TA의 약동학적 특성을 향상시킨다. 지방산은 지방 이산, 지방 아마이드, 지방 아민, 또는 지방 알코올일 수 있다. 지방산은 포화 또는 불포화될 수 있다. 포화 지방산은 라우르산, 미리스트산, 팔미트산, 스테아르산, 아라키돈산을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 불포화 지방산은 팔미톨레산, 올레산, 리놀레산, 리놀렌산, 에루크산 및 아라키돈산을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 지방산은 단쇄 지방산, 중쇄 지방산, 장쇄 지방산 또는 초장쇄 지방산일 수 있다. 지방산은 단일불포화 또는 다불포화될 수 있다. 지방산은 오메가 지방산, 필수 지방산, 부분적 경화 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.

[0353] 지방산은 약 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26개 이상의 탄

소 원자 사슬(쇄)을 포함할 수 있다. 지방산은 1, 2, 3, 4, 5, 6개 이상의 이중 결합을 더 포함하는 탄소쇄를 포함할 수 있다. 지방산은 천연적일 수 있다. 지방산은 천연적이지 아닐 수 있다. 지방산은 합성될 수 있다.

[0354] 본원에서 개시된 LC는 하나 이상의 지방산을 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 LC는 두 개 이상의 지방산을 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 LC는 세 개 이상의 지방산을 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 LC는 네 개 이상의 지방산을 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 LC는 5개 이상의 지방산을 더 포함할 수 있다. 지방산은 상이할 수 있다. 지방산은 동일할 수 있다.

[0355] 임의의 LC의 하나 이상의 지질은 미리스트산, 도코사헥산산, 리토콜산 에스테르, 콜산 및 팔미트산으로 이루어진 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.

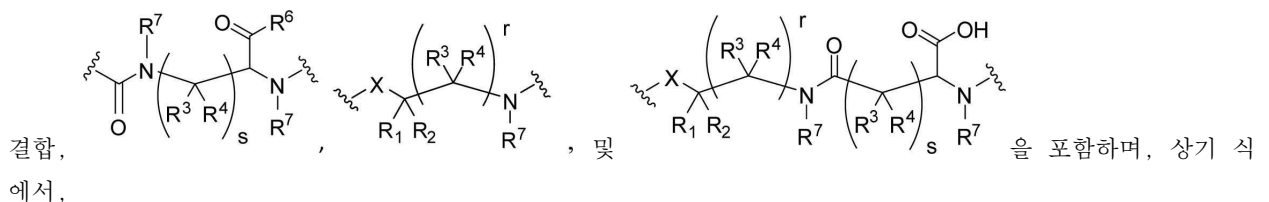
[0356] LC는 하나 이상의 스테롤 또는 스테롤 유도체를 포함할 수 있다. 스테롤 또는 스테롤 유도체는 콜레스테롤, 7-OH 콜레스테롤, 7,25-디히드록시콜레스테롤, 콜산, 케노데옥시콜산, 리토콜산, 데옥시콜산, 글리코콜산, 글리코데옥시콜산, 글리코리토콜산, 및 글리코케노데옥시콜산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0357] LC는 하나 이상의 담즙산을 포함할 수 있다. 담즙산은 콜산, 케노데옥시콜산, 리토콜산, 데옥시콜산, 글리코콜산, 글리코데옥시콜산, 글리코리토콜산, 및 글리코케노데옥시콜산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0358] LC는 하나 이상의 비타민 E 유도체를 포함할 수 있다. 비타민 E 유도체는 α -토코페롤, β -토코페롤, γ -토코페롤, δ -토코페롤, α -토코트리에놀, β -토코트리에놀, γ -토코트리에놀 및 δ -토코트리에놀로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0359] 폐길화된 지질

[0360] 본원에서 개시된 LC는 하나 이상의 폐길화된 지질을 포함할 수 있다. 폐길화된 지질은 적어도 하나의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함할 수 있다. 지질과 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛 사이의 결합은 직접 결합 또는 링커(A^2)일 수 있다. 지질과 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛 사이의 링커의 비제한적인 예는



[0361] X는 결합, NR^5 , S, 또는 O이고,

[0362] 각 R^1 , R^2 , R^3 , 및 R^4 는 독립적으로 H, 할로, CN, $-SR^5$, 알킬, 시클로알킬, 할로알킬, $-NR^5R^5$, 및 $-OR^5$ 로부터 선택되고,

[0363] 각 R^5 는 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 또는 헤테로알킬이고,

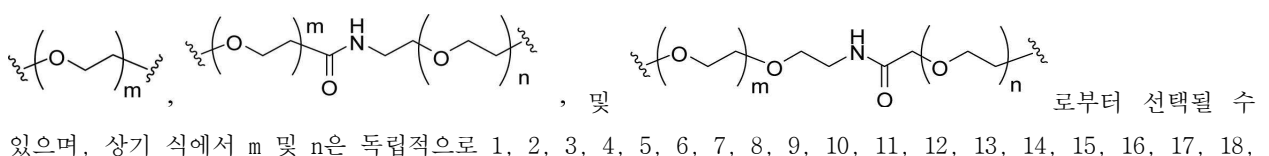
[0364] R^6 은 OH 또는 $-NR^5R^5$ 이고,

[0365] 각 R^7 은 독립적으로 H, 알킬, 할로알킬, 아릴알킬, 및 헤테로알킬로부터 선택되고,

[0366] r은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고,

[0367] s는 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.

[0368] 폐길화된 지질은 구조 P^1 -L를 가질 수 있으며, 상기 식에서, P^1 은 $-PEG-A^2$ 이고, PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기이고, A^2 는 PEG와 L을 연결하는 화학 기이고, L은 지질이다. PEG는



19, 또는 20이다.

[0369] 폐길화된 지질은 링커를 통해 치료제에 결합될 수 있다. 링커는 하나 이상의 아미드 잔기를 포함할 수 있다.

[0370] **XTEN-변형된 치료제(XTEN-mTA)**

[0371] 본원에서 (a) 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN), 및 (b) 릴렉신, 섬유아세포 성장인자 21(FGF21: fibroblast growth factor 21), 랩틴, 독소-550, 및 그들의 유사체로 이루어진 군으로부터 선택된 치료제(TA)를 포함하는 XTEN-변형된 치료제(XTEN-mTA)를 개시한다.

[0372] 또한, 본원에서 (a) 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN), 및 (b) 릴렉신 또는 그의 유사체를 포함하는 치료제(TA)를 포함하는 XTEN-변형된 치료제(XTEN-mTA)를 개시한다.

[0373] 또한, 본원에서 (a) 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN), 및 (b) FGF21 또는 그의 유사체를 포함하는 치료제(TA)를 포함하는 XTEN-변형된 치료제(XTEN-mTA)를 개시한다.

[0374] 또한, 본원에서 (a) 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN), 및 (b) 랩틴 또는 그의 유사체를 포함하는 치료제(TA)를 포함하는 XTEN-변형된 치료제(XTEN-mTA)를 개시한다.

[0375] 또한, 본원에서 (a) 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN), 및 (b) 독소-550 또는 그의 유사체를 포함하는 치료제(TA)를 포함하는 XTEN-변형된 치료제(XTEN-mTA)를 개시한다.

[0376] 또한, 본원에서 (a) 릴렉신, 섬유아세포 성장인자 21(FGF21), 랩틴, 독소-550, 및 그들의 유사체로 이루어진 군으로부터 선택된 치료제(TA), 및 (b) (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함하는 XTEN-변형된 치료제로서, 상기 TA가 상기 XTEN에 부착되는 것인 XTEN-변형된 치료제를 개시한다. XTEN에 TA의 부착은 TA 상에 시스테인 잔기를 통해서 일어날 수 있다. XTEN에 TA의 부착은 TA 상에 시스테인 잔기의 황 원자를 통해 일어날 수 있다.

[0377] 또한, 본원에서 (a) 릴렉신 또는 그의 유사체를 포함하는 치료제(TA), 및 (b) (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함하는 XTEN-변형된 치료제로서, 상기 TA가 상기 XTEN에 부착되는 것인 XTEN-변형된 치료제를 개시한다. XTEN에 TA의 부착은 TA 상에 시스테인 잔기를 통해서 일어날 수 있다. XTEN에 TA의 부착은 TA 상에 시스테인 잔기의 황 원자를 통해 일어날 수 있다.

[0378] 또한, 본원에서 (a) FGF21 또는 그의 유사체를 포함하는 치료제(TA), 및 (b) (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함하는 XTEN-변형된 치료제로서, 상기 TA가 상기 XTEN에 부착되는 것인 XTEN-변형된 치료제를 개시한다. XTEN에 TA의 부착은 TA 상에 시스테인 잔기를 통해서 일어날 수 있다. XTEN에 TA의 부착은 TA 상에 시스테인 잔기의 황 원자를 통해 일어날 수 있다.

[0379] 또한, 본원에서 (a) 랩틴 또는 그의 유사체를 포함하는 치료제(TA), 및 (b) (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함하는 XTEN-변형된 치료제로서, 상기 TA가 상기 XTEN에 부착되는 것인 XTEN-변형된 치료제를 개시한다. XTEN에 TA의 부착은 TA 상에 시스테인 잔기를 통해서 일어날 수 있다. XTEN에 TA의 부착은 TA 상에 시스테인 잔기의 황 원자를 통해 일어날 수 있다.

[0380] 또한, 본원에서 (a) 독소-550 또는 그의 유사체를 포함하는 치료제(TA), 및 (b) (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii)

알과 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함하는 XTEN-변형된 치료제로서, 상기 TA가 상기 XTEN에 부착되는 것인 XTEN-변형된 치료제를 개시한다. XTEN에 TA의 부착은 TA 상에 시스테인 잔기를 통해서 일어날 수 있다. XTEN에 TA의 부착은 TA 상에 시스테인 잔기의 황 원자를 통해 일어날 수 있다.

[0381] XTEN-mTA는 길이가 약 2000, 1800, 1600, 1500, 1400, 1300, 1200, 1100, 1000개 미만인 아미노산을 포함할 수 있다. XTEN-mTA는 길이가 약 975, 950, 925, 875, 850, 825, 800, 775, 750, 725, 700, 675, 650, 625, 또는 600개 미만인 아미노산을 포함할 수 있다. XTEN-mTA는 길이가 약 900개 미만인 아미노산을 포함할 수 있다. 길이가 XTEN-mTA는 약 890개 미만인 아미노산을 포함할 수 있다. XTEN-mTA는 길이가 약 880개 미만인 아미노산을 포함할 수 있다. XTEN-mTA는 길이가 약 870개 미만인 아미노산을 포함할 수 있다. XTEN-mTA는 길이가 약 860개 미만인 아미노산을 포함할 수 있다. XTEN-mTA는 길이가 약 850개 미만인 아미노산을 포함할 수 있다.

[0382] XTEN-mTA의 아미노 서열은 하나 이상의 아스파테이트 잔기를 포함할 수 있다. XTEN-mTA의 아미노 서열은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 이상의 아스파테이트 잔기를 포함할 수 있다. XTEN-mTA의 아미노 서열은 2개 이상의 아스파테이트 잔기를 포함할 수 있다. XTEN-mTA의 아미노 서열은 3개 이상의 아스파테이트 잔기를 포함할 수 있다. XTEN-mTA의 아미노 서열은 4개 이상의 아스파테이트 잔기를 포함할 수 있다.

[0383] XTEN-mTA는 하나 이상의 XTEN을 포함할 수 있다. XTEN-mTA는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 이상의 XTEN을 포함할 수 있다. XTEN-mTA는 2개 이상의 XTEN을 포함할 수 있다. XTEN-mTA는 3개 이상의 XTEN을 포함할 수 있다. XTEN-mTA는 4개 이상의 XTEN을 포함할 수 있다.

[0384] XTEN은 서열번호 66-67로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 10개 이상의 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750개 이상의 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 20개 이상의 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 30개 이상의 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 40개 이상의 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 50개 이상의 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 60개 이상의 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0385] XTEN은 아미노산이 약 400개 미만인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 아미노산이 약 390, 380, 375, 370, 365, 360, 350, 340, 330, 320, 310, 300, 290, 280, 270, 260, 250, 240, 230, 220, 210, 200, 190, 180, 170, 160, 150, 140, 130, 120, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 또는 10개 미만인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 아미노산이 약 350개 미만인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 아미노산이 약 300개 미만인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 아미노산이 약 250개 미만인 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0386] XTEN은 서열 번호 66-67로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 50% 상동일 수 있는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 상동일 수 있는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 60% 상동일 수 있는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 70% 상동일 수 있는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 80% 상동일 수 있는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0387] XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트

레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 80% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 85% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 90% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 95% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0388] XTEN은 TA의 N-말단, C-말단, 또는 N- 및 C-말단에 부착될 수 있다. XTEN은 TA의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기에 부착될 수 있다. XTEN은 TA의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기에 화학적으로 부착될 수 있다. XTEN은 TA의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 부착될 수 있다. XTEN은 TA의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 화학적으로 부착될 수 있다. XTEN은 TA의 내부 잔기에 부착될 수 있다. XTEN은 TA의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기에 부착될 수 있다. XTEN은 TA의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기에 화학적으로 부착될 수 있다. XTEN은 TA의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 부착될 수 있다. XTEN은 TA의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 화학적으로 부착될 수 있다.

[0389] XTEN-mTA는 하나 이상의 TA를 포함할 수 있다. XTEN-mTA는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 이상의 TA를 포함할 수 있다. XTEN-mTA는 2개 이상의 TA를 포함할 수 있다. XTEN-mTA는 3개 이상의 TA를 포함할 수 있다. XTEN-mTA는 4개 이상의 TA를 포함할 수 있다.

[0390] TA는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩티드 서열의 적어도 일부분을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 10개 이상의 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180개 이상의 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 20개 이상의 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 30개 이상의 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 50개 이상의 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 70개 이상의 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 아미노산은 연속적일 수 있다. 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 아미노산은 비연속적일 수 있다.

[0391] TA는 약 400개 미만의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 약 375, 350, 325, 300, 275, 250, 225, 200, 190, 180, 170, 160, 150, 140, 130, 120, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 또는 10개 미만의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0392] TA는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 50% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 60% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 70% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 80% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 90% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0393] TA는 틸렉신 또는 그의 유사체일 수 있다. XTEN은 틸렉신 또는 그의 유사체의 N-말단, C-말단, 또는 N- 및 C-말단에 부착될 수 있다. XTEN은 틸렉신 또는 그의 유사체의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기에 부착될 수 있다. XTEN은 틸렉신 또는 그의 유사체의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기에 화학적으로 부착될 수 있다. XTEN은 틸렉신 또는 그의 유사체의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 부착될 수 있다.

XTEN은 틸렉신 또는 그의 유사체의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 화학적으로 부착될 수 있다. XTEN은 틸렉신 또는 그의 유사체의 내부 잔기에 부착될 수 있다. XTEN은 틸렉신 또는 그의 유사체의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기에 화학적으로 부착될 수 있다. XTEN은 틸렉신 또는 그의 유사체의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 부착될 수 있다. XTEN은 틸렉신 또는 그의 유사체의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 화학적으로 부착될 수 있다.

[0394] TA는 FGF21 또는 그의 유사체일 수 있다. XTEN는 FGF21 또는 그의 유사체의 N-말단, C-말단, 또는 N- 및 C-말단에 부착될 수 있다. XTEN은 FGF21 또는 그의 유사체의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기에 부착될 수 있다. XTEN은 FGF21 또는 그의 유사체의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기에 화학적으로 부착될 수 있다. XTEN은 FGF21 또는 그의 유사체의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 부착될 수 있다. XTEN은 FGF21 또는 그의 유사체의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 화학적으로 부착될 수 있다. XTEN은 FGF21 또는 그의 유사체의 내부 잔기에 부착될 수 있다. XTEN은 FGF21 또는 그의 유사체의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기에 부착될 수 있다. XTEN은 FGF21 또는 그의 유사체의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기에 화학적으로 부착될 수 있다. XTEN은 FGF21 또는 그의 유사체의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 부착될 수 있다. XTEN은 FGF21 또는 그의 유사체의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 화학적으로 부착될 수 있다.

[0395] TA는 랩틴 또는 그의 유사체일 수 있다. XTEN는 랩틴 또는 그의 유사체의 N-말단, C-말단, 또는 N- 및 C-말단에 부착될 수 있다. XTEN은 랩틴 또는 그의 유사체의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기에 부착될 수 있다. XTEN은 랩틴 또는 그의 유사체의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기에 화학적으로 부착될 수 있다. XTEN은 랩틴 또는 그의 유사체의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 부착될 수 있다. XTEN은 랩틴 또는 그의 유사체의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 화학적으로 부착될 수 있다. XTEN은 랩틴 또는 그의 유사체의 내부 잔기에 부착될 수 있다. XTEN은 랩틴 또는 그의 유사체의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기에 부착될 수 있다. XTEN은 랩틴 또는 그의 유사체의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기에 화학적으로 부착될 수 있다. XTEN은 랩틴 또는 그의 유사체의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 부착될 수 있다. XTEN은 랩틴 또는 그의 유사체의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 화학적으로 부착될 수 있다.

[0396] TA는 독소-550 또는 그의 유사체일 수 있다. XTEN는 독소-550 또는 그의 유사체의 N-말단, C-말단, 또는 N- 및 C-말단에 부착될 수 있다. XTEN은 독소-550 또는 그의 유사체의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기에 부착될 수 있다. XTEN은 독소-550 또는 그의 유사체의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기에 화학적으로 부착될 수 있다. XTEN은 독소-550 또는 그의 유사체의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 부착될 수 있다. XTEN은 독소-550 또는 그의 유사체의 N- 또는 C-말단에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 화학적으로 부착될 수 있다. XTEN은 독소-550 또는 그의 유사체의 내부 잔기에 부착될 수 있다. XTEN은 독소-550 또는 그의 유사체의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기에 부착될 수 있다. XTEN은 독소-550 또는 그의 유사체의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기에 화학적으로 부착될 수 있다. XTEN은 독소-550 또는 그의 유사체의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 부착될 수 있다. XTEN은 독소-550 또는 그의 유사체의 내부 위치에 위치한 시스테인 잔기의 황 원자에 화학적으로 부착될 수 있다.

[0397] 본원에서 개시된 XTEN-mTA는 하나 이상의 링커를 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 XTEN-mTA는 두 개 이상의 링커를 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 XTEN-mTA는 세 개 이상의 링커를 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 XTEN-mTA는 네 개 이상의 링커를 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 XTEN-mTA는 5개 이상의 링커를 더 포함할 수 있다.

[0398] XTEN-mTA 상에 하나 이상의 링커의 각각은 할로겐 원자를 포함하는 반응성 전구물질로부터 형성될 수 있다. 반응성 전구물질은 XTEN에 부착된 할로아세트아미드일 수 있다. 할로아세트아미드는 XTEN의 N-말단에 위치할 수 있다. 할로아세트아미드는 클로로아세트아미드, 브로모아세트아미드, 또는 요오도아세트아미드일 수 있다.

[0399] 본원에서 개시된 TA는 하나 이상의 링커를 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 TA는 두 개 이상의 링커를 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 TA는 세 개 이상의 링커를 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 TA는 네 개 이상의 링커를 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 TA는 5개 이상의 링커를 더 포함할 수 있다.

[0400] 하나 이상의 링커는 치료제 또는 또 다른 XTEN에 XTEN의 부착을 가능하게 할 수 있다.

[0401] 치료제(TA)

[0402] 본원에서 개시된 mTA는 하나 이상의 치료제를 포함할 수 있다. mTA는 두 개 이상의 치료제를 포함할 수 있다. mTA는 3, 4, 5, 6, 7개 이상의 치료제를 포함할 수 있다. 치료제는 상이할 수 있다. 치료제는 동일할 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "치료제"는 표적 단백질, 표적 펩티드, 표적 세포 또는 표적 조직의 활성을 조절하는 후보 단백질 또는 펩티드를 나타낸다. 활성을 조절한다는 것은 표적 단백질, 펩티드, 세포 또는 조직의 활성 또는 발현을 증가, 감소, 촉진, 또는 방지한다는 것을 포함할 수 있다. 표적 단백질 또는 펩티드는 발현 또는 활성에 의해 질환 또는 장애의 병인에 관련된 단백질을 포함한다. TA는 단백질, 생체분자, 화합물질, 독소, 약물 또는 이들의 임의의 조합의 적어도 일부분을 포함할 수 있다. 대표적인 TA는 호르몬, 키나아제, 수용체, 리간드, 성장인자, 조절 단백질, 대사 단백질, 사이토카인, 케모카인, 인터페론, 포스포타제, 항체 또는 이들의 임의의 조합의 적어도 일부분을 포함할 수 있으나 이에 제한되지 않는다. TA는 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 야생형 펩티드 또는 변형된 펩티드일 수 있다. 하나 이상의 아미노산 첨가 또는 치환은 펩티드의 C-말단에 위치할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 첨가 또는 치환은 펩티드의 N-말단에 위치할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 첨가 또는 치환은 펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 위치할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 첨가 또는 치환은 펩티드의 N-말단 및 C-말단 모두에 위치할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 첨가 또는 치환은 펩티드의 말단이 아닌 위치에 위치할 수 있다.

[0403] TA는 호르몬일 수 있다. 호르몬의 예는 펩티드 호르몬, 지질 및 인지질 유래 호르몬, 및 모노아민을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 펩티드 호르몬은 일반적으로 아미노산 사슬로 이루어진다. 작은 펩티드 호르몬의 예는 갑상선 자극 호르몬 방출 호르몬(TRH: thyrotropin-releasing hormone) 및 바소프레신을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 수십 또는 수백 개의 아미노산으로 구성된 펩티드를 단백질로 나타낼 수 있다. 단백질 호르몬의 예는 인슐린 및 성장 호르몬을 포함한다. 더 복잡한 단백질 호르몬은 탄수화물 측쇄를 포함할 수 있으며 당단백질 호르몬으로 불릴 수 있다. 황체형성 호르몬, 난포 자극 호르몬 및 갑상선 자극 호르몬이 당단백질 호르몬의 예이다. 지질 및 인지질 유래 호르몬은 일반적으로 지질, 예를 들어 리놀레산 및 아라키돈산 및 인지질로부터 유래된다. 단백질 호르몬은 콜레스테롤 및 에이코사노이드로부터 유래되는 스테로이드 호르몬을 포함할 수 있다. 스테로이드 호르몬의 예는 테스토스테론 및 코르티솔이다. 에이코사노이드는 프로스타글란딘을 포함할 수 있다. 모노아민은 방향족 아미노산 디카르복실라제 효소의 작용에 의해 페닐알라닌, 티로신, 트립토판과 같은 방향족 아미노산으로부터 유래될 수 있다. TA는 옥신토모둘린일 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 랩틴일 수 있다. TA는 베타트로핀일 수 있다.

[0404] TA는 릴렉신 펩티드 또는 이의 유도체일 수 있다. 릴렉신 펩티드는 변형된 릴렉신 펩티드를 포함할 수 있다. 변형된 릴렉신 펩티드는 하나 이상의 아미노산 변이를 포함하는 야생형 릴렉신 펩티드의 적어도 일부분을 포함할 수 있다. 릴렉신 펩티드는 릴렉신 펩티드의 A쇄 및/또는 B쇄의 적어도 일부분을 포함할 수 있다. 릴렉신 펩티드는 하나 이상의 아미노산 변이를 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 결실, 치환, 첨가 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 릴렉신 폴리펩티드에 하나 이상의 아미노산 잔기의 첨가를 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 릴렉신 폴리펩티드의 하나 이상의 아미노산 잔기의 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 릴렉신 폴리펩티드의 하나 이상의 아미노산 잔기의 결실을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 릴렉신 펩티드의 A쇄 및/또는 B쇄에 하나 이상의 아미노산 잔기의 하나 이상의 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 릴렉신 펩티드의 A쇄에 하나 이상의 아미노산 잔기의 하나 이상의 치환을 포함할 수 있다. A쇄에 하나 이상의 아미노산 잔기의 하나 이상의 아미노산 치환은 Y3C, A7C, T16C, R18C, S19C, 또는 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 릴렉신 펩티드의 B쇄에 하나 이상의 아미노산 잔기의 하나 이상의 치환을 포함할 수 있다. B쇄에 하나 이상의 아미노산 잔기의 하나 이상의 아미노산 치환은 D1A, S2C, M4C, S26C, 및 S29C, 또는 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 릴렉신 펩티드의 A쇄에 Y3C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 릴렉신 펩티드의 A쇄에 A7C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 릴렉신 펩티드의 A쇄에 T16C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 릴렉신 펩티드의 A쇄에 R18C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 릴렉신 펩티드의 A쇄에 S19C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 릴렉신 펩티드의 B쇄에 S2C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 릴렉신 펩티드의 B쇄에 D1A 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 릴렉신 펩티드의 B쇄에 M4C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 릴렉신 펩티드의 B쇄에 S26C 치환을 포함

할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드 펩티드의 B쇄에 S29C 치환을 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드 펩티드의 하나 이상의 아미노산 잔기를 시스테인 잔기로의 치환을 포함할 수 있다. 야생형 펩티드 펩티드의 하나 이상의 아미노산 잔기는 알라닌, 메티오닌, 아르기닌, 세린, 트레오닌, 및 티로신으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 하나 이상의 아미노산 변이는 야생형 펩티드 펩티드에 하나 이상의 아미노산 잔기의 첨가를 포함할 수 있다.

[0405] TA는 성장인자일 수 있다. 성장인자는 사이토카인 및 호르몬을 포함할 수 있으나 이에 제한되지 않는다. 성장인자의 예는 아드레노메둘린(AM: adrenomedullin), 안지오포이에틴(Ang: Angiopoietin), 자가분비 운동성 인자(autocrine motility factor), 뼈형성 단백질(BMP: bone morphogenetic protein), 뇌 유래 신경영양인자(BDNF: brain-derived neurotrophic factor), 상피 성장인자(EGF: epidermal growth factor), 에리트로포이에틴(EPO: erythropoietin), 섬유아세포 성장인자(FGF), 교세포주 유래 신경영양인자(GDNF: glial cell line-derived neurotrophic factor), 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF: granulocyte colony-stimulating factor), 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF: granulocyte macrophage colony-stimulating factor), 성장 분화 인자(GDF-9: Growth differentiation factor-9), 간세포(HGF: hepatocyte Growth factor), 간세포암 유래 성장인자(HDGF: hepatoma-derived growth factor), 인슐린-유사 성장인자(IGF: insulin-like growth factor), 이동 촉진 인자, 마이오스타틴(GDF-8), 신경 성장인자(NGF: nerve growth factor) 및 기타 뉴트로핀, 혈소판 유래 성장인자(PDGF: platelet-derived growth factor), 트롬보포이에틴(TPO: thrombopoietin), 형질전환 성장인자 알파(TGF- α : transforming growth factor- α), 형질전환 성장인자 베타(TGF- β), 종양 괴사 인자-알파(TNF- α : tumor necrosis factor- α) 및 혈관 내피 성장인자(VEGF: vascular endothelial growth factor)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. TA는 섬유아세포 성장인자 21(FGF21)일 수 있다.

[0406] TA는 세포 조절 단백질일 수 있다. TA는 형질전환 성장인자 베타 상과(superfamily)의 세포 조절 단백질일 수 있다. TA는 데카펜타플레직(decapentaplegic)-Vg 관련 (DVR) 관련 아과(subfamily)의 일원일 수 있다. TA는 엑티빈/인히빈 아과의 일원일 수 있다. TA는 TGF-베타 아과의 일원일 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.

[0407] TA는 단백질일 수 있다. 단백질은 분비되는 인자 중 안지오포이에틴 유사 과(family)의 일원일 수 있다. 단백질은 안지오포이에틴 유사 단백질(ANGPTL: angiopoietin like protein)일 수 있다. ANGPTL의 예는 ANGPTL1, ANGPTL2, ANGPTL3, ANGPTL4, ANGPTL5, ANGPTL6 및 ANGPTL7을 포함하나 이에 제한되지 않는다. TA는 ANGPTL3일 수 있다.

[0408] 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 작용제, GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 랩틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 펩티드계 독소, 모카, 및 VM-24, 및 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체로부터 선택된 펩티드를 포함할 수 있다. TA는 펩티드, 옥신토모둘린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 작용제, GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 랩틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 펩티드계 독소, 모카, 또는 VM-24, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체를 포함할 수 있다. TA는 옥신토모둘린, 엑세나타이드, 엑센딘-4, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1), GLP-2, 글루카곤, GLP-1R 및 GIPR 이중 작용제, 또는 GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체를 포함할 수 있다. TA는 H1 펩티드, H2 펩티드, H3 펩티드, 인간 INSL3, 인간 INSL4, 인간 INSL6, 인간 IGF1, 인간 IGFII, 또는 인간 인슐린, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체를 포함할 수 있다. TA는 H1 펩티드, H2 펩티드, 또는 H3 펩티드, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체를 포함할 수 있다. TA는 인간 INSL3, 인간 INSL4, 인간 INSL6, 인간 IGF1, 또는 인간 IGFII, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체를 포함할 수 있다. TA는 펩티드 독소 또는 이의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체를 포함할 수 있다. TA는 독소-550, 모카, 또는 VM-24, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체를 포함할 수 있다. TA는 인간 인슐린 또는 이의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는

캡티드인 유도체를 포함할 수 있다.

- [0409] TA는 서열 번호 1-9를 포함하는 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩될 수 있다. TA는 서열 번호 1-9를 포함하는 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열과 적어도 약 50% 상동인 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩될 수 있다. TA는 서열 번호 1-9를 포함하는 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열과 적어도 약 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 99%, 또는 100% 상동인 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩될 수 있다. TA는 서열 번호 1-9를 포함하는 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열과 적어도 약 70% 상동인 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩될 수 있다. TA는 서열 번호 1-9를 포함하는 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열과 적어도 약 75% 상동인 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩될 수 있다. TA는 서열 번호 1-9를 포함하는 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열과 적어도 약 80% 상동인 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩될 수 있다. TA는 서열 번호 1-9를 포함하는 군으로부터 선택된 하나 이상의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 1-9를 포함하는 군으로부터 선택된 두 개 이상의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 1-9를 포함하는 군으로부터 선택된 세 개 이상의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 1-9를 포함하는 군으로부터 선택된 네 개 이상의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 1-9를 포함하는 군으로부터 선택된 5, 6, 7, 8, 또는 9개 이상의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다.
- [0410] TA는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 50% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 99%, 또는 100% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 70% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 75% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 80% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 두 개 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 세 개 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 네 개 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15개 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0411] TA는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열로부터 20개 이상의 연속한 아미노산을 포함할 수 있다. TA는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열로부터 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130개 이상의 연속한 아미노산을 포함할 수 있다.
- [0412] TA는 포유동물 또는 비포유동물로부터 유래될 수 있다. TA는 인간으로부터 유래될 수 있다. 별법으로, TA는 염소, 양, 소, 토끼, 원숭이, 개, 고양이 또는 이들의 조합으로부터 유래될 수 있다. TA는 파충류로부터 유래될 수 있다. TA는 뱀 또는 도마뱀으로부터 유래될 수 있다. TA는 양서류로부터 유래될 수 있다. TA는 개구리 또는 두꺼비로부터 유래될 수 있다. TA는 조류로부터 유래될 수 있다. TA는 재조합될 수 있다.
- [0413] 본원에서 개시된 TA는 하나 이상의 링커를 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 TA는 두 개 이상의 링커를 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 TA는 세 개 이상의 링커를 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 TA는 네 개 이상의 링커를 더 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 TA는 5개 이상의 링커를 더 포함할 수 있다.
- [0414] **약동학**
- [0415] 변형된 치료제가 약동학적 또는 약력학적 양상에 긍정적으로 영향을 주는 기전은 (i) 치료제의 생체 내 단백질 분해 또는 기타 활성을 감소시키는 화학적 변형의 방지 또는 완화, (ii) 신장 여과를 감소시킴으로써 반감기 또는 기타 약동학적 특성의 향상, 수용체 매개된 청소율의 감소 또는 생체이용율의 증가, (iii) 독성의 감소 (iv) 용해도의 향상, 및/또는 (v) 치료제의 생물학적 활성 및/또는 표적 선택성의 증가를 포함하나 이에 제한되지 않는다.
- [0416] 반감기 연장 부분은 TA에 부착될 때 치료제(TA)의 하나 이상의 약동학적 특성을 향상시킬 수 있다.
- [0417] 본원에서 개시된 변형된 치료제는 TA 단독과 비교하여 약력학에 의해 측정될 때 TA의 하나 이상의 약동학적 특성을 적어도 약 200% 상승시킬 수 있다. 본원에서 개시된 변형된 치료제는 TA 단독과 비교하여 약력학에 의해

측정될 때 TA의 하나 이상의 약동학적 특성을 적어도 약 300%, 400%, 500%, 600%, 700%, 800%, 900%, 1000% 상승시킬 수 있다. 본원에서 개시된 변형된 치료제는 TA 단독과 비교하여 약력학에 의해 측정될 때 TA의 하나 이상의 약동학적 특성을 적어도 약 250% 상승시킬 수 있다. 본원에서 개시된 변형된 치료제는 TA 단독과 비교하여 약력학에 의해 측정될 때 TA의 하나 이상의 약동학적 특성을 적어도 약 300% 상승시킬 수 있다. 본원에서 개시된 변형된 치료제는 TA 단독과 비교하여 약력학에 의해 측정될 때 TA의 하나 이상의 약동학적 특성을 적어도 약 350% 상승시킬 수 있다. 본원에서 개시된 변형된 치료제는 TA 단독과 비교하여 약력학에 의해 측정될 때 TA의 하나 이상의 약동학적 특성을 적어도 약 400% 상승시킬 수 있다. 본원에서 개시된 변형된 치료제는 TA 단독과 비교하여 약력학에 의해 측정될 때 TA의 하나 이상의 약동학적 특성을 적어도 약 500% 상승시킬 수 있다.

[0418] 약동학적 특성은 반감기를 포함할 수 있다. 변형된 치료제의 반감기는 TA 단독의 반감기에 비해 적어도 약 2배 더 길 수 있다. 본원에서 개시된 변형된 치료제의 반감기는 TA 단독의 반감기에 비해 적어도 약 3배, 4배, 또는 5배 더 길 수 있다. 본원에서 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. 본원에서 개시된 변형된 치료제의 반감기는 TA 단독의 반감기에 비해 적어도 약 5배 더 길 수 있다. 본원에서 개시된 변형된 치료제의 반감기는 TA 단독의 반감기에 비해 적어도 약 10배 더 길 수 있다.

[0419] 또한, 변형된 치료제는 치료제의 비접합 형태에 비해 제조가능성의 향상, 및/또는 치료제의 면역원성의 감소의 면에서 긍정적인 효과를 가져올 수 있다.

[0420] 변형된 치료제는 TA 단독과 비교할 만한 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.

[0421] TA에 하나 이상의 지질을 부착한 LC의 형성은 TA 단독에 비해 LC의 활성을 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 또는 10배 이하의 활성으로 감소시킬 수 있다. TA에 폴리글리콜 영역을 부착하여 변형된 치료제의 형성은 TA 단독에 비해 변형된 치료제의 활성을 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 또는 10배 이하의 활성으로 감소시킬 수 있다.

[0422] 치료 용도

[0423] 또한, 본원에서 하나 이상의 질환 및/또는 병태의 치료, 완화, 억제 및/또는 예방을 위한 mTA를 개시한다. 질환 및/또는 병태는 만성 질환 또는 병태일 수 있다. 별법으로, 질환 및/또는 병태는 급성 질환 또는 병태일 수 있다. 질환 또는 병태는 재발성, 난치성, 가속성 또는 관해성일 수 있다. 질환 또는 병태는 하나 이상의 세포 유형에 영향을 미칠 수 있다. 하나 이상의 질환 및/또는 병태는 자가면역 질환, 염증 질환, 심혈관 질환 및 임신일 수 있다. 본원에서 개시된 mTA는 이를 필요로 하는 피험체에게 투여될 수 있다.

[0424] 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료방법으로서 LC를 포함하는 조성물을 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 LC가 치료제에 부착된 지질을 포함하고, 상기 치료제가 펩티드 또는 이의 유도체인 방법을 개시한다. 질환 또는 병태는 심혈관 질환일 수 있다. 심혈관 질환은 급성 심부전일 수 있다. 또 다른 심혈관 질환은 울혈성 심부전, 대상성 심부전 또는 비대상성 심부전을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 질환 또는 병태는 자가면역 장애일 수 있다. 자가면역 장애는 피부경화증, 광범위 피부경화증 또는 전신성 피부경화증일 수 있다. 질환 또는 병태는 염증 질환일 수 있다. 염증 질환은 섬유 근육통일 수 있다. 질환 또는 병태는 섬유증일 수 있다. 별법으로, 질환 또는 병태는 임신일 수 있다. LC는 임신중독증을 치료하거나 분만을 유도하는데 사용될 수 있다. LC는 하나 이상의 추가의 치료제와 함께 투여될 수 있다. 추가의 치료제는 항염제, 스타틴, 이노제, 베타-차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제 및 안지오텐신 II 수용체 차단제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 추가의 치료제는 아스피린일 수 있다.

[0425] 또한, 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료방법으로서 하나 이상의 LC를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 하나 이상의 지질 접합체(LC)가 (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 포함하며, 상기 하나 이상의 지질이 상기 치료제의 적어도 하나의 시스템에 부착되는 것인 방법을 개시한다. 하나 이상의 TA는 펩티드를 포함할 수 있다. 질환 또는 병태는 심혈관 질환일 수 있다. 심혈관 질환은 급성 심부전일 수 있다. 또 다른 심혈관 질환은 울혈성 심부전, 대상성 심부전 또는 비대상성 심부전을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 질환 또는 병태는 자가면역 장애일 수 있다. 자가면역 장애는 피부경화증, 광범위 피부경화증 또는 전신성 피부경화증일 수 있다. 질환 또는 병태는 염증 질환일

수 있다. 염증 질환은 섬유 근육통일 수 있다. 질환 또는 병태는 섬유증일 수 있다. 별법으로, 질환 또는 병태는 임신이다. LC는 임신중독증을 치료하거나 분만을 유도하는데 사용될 수 있다. LC는 하나 이상의 추가의 치료제와 함께 투여될 수 있다. 추가의 치료제는 항염제, 스타틴, 이뇨제, 베타-차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제 및 안지오텐신 II 수용체 차단제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 추가의 치료제는 아스피린일 수 있다.

[0426]

또한, 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료방법으로서 하나 이상의 LC를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 하나 이상의 지질 접합체(LC)가 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민, 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 TA가 펩티드이고 상기 하나 이상의 지질이 펩티드 상의 아마노산을 통해 펩티드에 접합되는 것인 방법을 개시한다. TA는 펩티드를 포함할 수 있다. 질환 또는 병태는 심혈관 질환일 수 있다. 심혈관 질환은 급성 심부전일 수 있다. 또 다른 심혈관 질환은 울혈성 심부전, 대상성 심부전 또는 비대상성 심부전을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 질환 또는 병태는 자가면역 장애일 수 있다. 자가면역 장애는 피부경화증, 광범위 피부경화증 또는 전신성 피부경화증일 수 있다. 질환 또는 병태는 염증 질환일 수 있다. 염증 질환은 섬유 근육통일 수 있다. 질환 또는 병태는 섬유증일 수 있다. 별법으로, 질환 또는 병태는 임신이다. LC는 임신중독증을 치료하거나 분만을 유도하는데 사용될 수 있다. LC는 하나 이상의 추가의 치료제와 함께 투여될 수 있다. 추가의 치료제는 항염제, 스타틴, 이뇨제, 베타-차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제 및 안지오텐신 II 수용체 차단제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 추가의 치료제는 아스피린일 수 있다.

[0427]

또한, 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료방법으로서, 화학식 (Ia) $TA-A^1-P^1-L$ 의 하나 이상의 지질 접합체(LC)(식에서, TA는 치료제이고, A^1 은 TA와 P^1 을 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합 또는 $-PEG-A^2-$ 이고, PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기이고, A^2 는 PEG와 L을 연결하는 화학 기이고, L은 지질임)를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 개시한다. TA는 펩티드를 포함할 수 있다. 질환 또는 병태는 심혈관 질환일 수 있다. 심혈관 질환은 급성 심부전일 수 있다. 또 다른 심혈관 질환은 울혈성 심부전, 대상성 심부전 또는 비대상성 심부전을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 질환 또는 병태는 자가면역 장애일 수 있다. 자가면역 장애는 피부경화증, 광범위 피부경화증 또는 전신성 피부경화증일 수 있다. 질환 또는 병태는 염증 질환일 수 있다. 염증 질환은 섬유 근육통일 수 있다. 질환 또는 병태는 섬유증일 수 있다. 별법으로, 질환 또는 병태는 임신이다. LC는 임신중독증을 치료하거나 분만을 유도하는데 사용될 수 있다. LC는 하나 이상의 추가의 치료제와 함께 투여될 수 있다. 추가의 치료제는 항염제, 스타틴, 이뇨제, 베타-차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제 및 안지오텐신 II 수용체 차단제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 추가의 치료제는 아스피린일 수 있다.

[0428]

또한, 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료방법으로서, 화학식 (I) $TA-A^1-P^1-L$ 의 하나 이상의 지질 접합체(LC)(식에서, TA는 치료제이고, A^1 은 TA와 P^1 또는 L을 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합이거나 폴리글리콜을 포함하고, L은 지질임)를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 개시한다. TA는 펩티드를 포함할 수 있다. 질환 또는 병태는 심혈관 질환일 수 있다. 심혈관 질환은 급성 심부전일 수 있다. 또 다른 심혈관 질환은 울혈성 심부전, 대상성 심부전 또는 비대상성 심부전을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 질환 또는 병태는 자가면역 장애일 수 있다. 자가면역 장애는 피부경화증, 광범위 피부경화증 또는 전신성 피부경화증일 수 있다. 질환 또는 병태는 염증 질환일 수 있다. 염증 질환은 섬유 근육통일 수 있다. 질환 또는 병태는 섬유증일 수 있다. 별법으로, 질환 또는 병태는 임신이다. LC는 임신중독증을 치료하거나 분만을 유도하는데 사용될 수 있다. LC는 하나 이상의 추가의 치료제와 함께 투여될 수 있다. 추가의 치료제는 항염제, 스타틴, 이뇨제, 베타-차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제 및 안지오텐신 II 수용체 차단제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 추가의 치료제는 아스피린일 수 있다.

[0429]

대사 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서 하나 이상의 LC를 상기 피험체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 하나 이상의 지질 접합체(LC)가 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함하며, 상기 하나 이상의 지질이 상기 하나 이상의 치료제의 하나 이상의 시스테인 잔기에 부착되는 것인 방법을 제공한다. 하나 이상의 TA는 GLP-1, 엑센틴-4, 엑세나타이드, 옥신토모듈린, 글루카곤, FGF21, 또는 이들의 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 병

태는 글리코겐 축적병, 페닐케톤뇨증, 단풍 시럽 뇨병, 글루타르산혈증 1형, 카바모일 포스페이트 신테타아제 I 결핍증, 알카톤뇨증, 중쇄 아실 coA 탈수소효소 결핍증(MCADD: Medium-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency), 급성 간혈성 포르피린증, 레쉬-니한 증후군, 선천성 지질성 부신과형성증, 선천성 부신과형성증, 컨스-세르 증후군, 젤웨어 증후군, 고세병, 또는 니만-피크병일 수 있다.

[0430] 또한, 대사 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서 하나 이상의 LC를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 하나 이상의 지질 접합체(LC)가 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 지방 아민, 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로 이루어진 군으로 부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 TA가 펩티드이고 상기 하나 이상의 지질이 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 상기 TA에 접합되는 것인 방법을 제공한다. TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모둘린, 글루카곤, FGF21, 또는 이들의 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 축적병, 페닐케톤뇨증, 단풍 시럽 뇨병, 글루타르산혈증 1형, 카바모일 포스페이트 신테타아제 I 결핍증, 알카톤뇨증, 중쇄 아실 coA 탈수소효소 결핍증(MCADD), 급성 간혈성 포르피린증, 레쉬-니한 증후군, 선천성 지질성 부신과형성증, 선천성 부신과형성증, 컨스-세르 증후군, 젤웨어 증후군, 고세병, 또는 니만-피크병일 수 있다.

[0431] 대사 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법에 있어서, 화학식 (Ia) $TA-A^1-P^1-L$ 의 하나 이상의 지질 접합체(LC)(식에서, TA는 치료제이고, A^1 은 TA와 P^1 을 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합 또는 $-PEG-A^2-$ 이고, PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기이고, A^2 는 PEG와 L을 연결하는 화학 기이고, L은 지질임)를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모둘린, 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 아마이드, 및 지방 알코올을 포함할 수 있다. 대사 질환 또는 병태는 당뇨병일 수 있다. 대사 질환 또는 병태는 글리코겐 축적병, 페닐케톤뇨증, 단풍 시럽 뇨병, 글루타르산혈증 1형, 카바모일 포스페이트 신테타아제 I 결핍증, 알카톤뇨증, 중쇄 아실 coA 탈수소효소 결핍증(MCADD), 급성 간혈성 포르피린증, 레쉬-니한 증후군, 선천성 지질성 부신과형성증, 선천성 부신과형성증, 컨스-세르 증후군, 젤웨어 증후군, 고세병, 또는 니만-피크병일 수 있다.

[0432] 대사 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법에 있어서, 화학식 (I) $TA-A^1-P^1-L$ 의 하나 이상의 지질 접합체(LC)(식에서, TA는 치료제이고, A^1 은 TA와 P^1 또는 L을 연결하는 화학 기이고, A^1 은 TA와 P^1 또는 L을 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합이거나 폴리글리콜을 포함하고, L은 지질임)를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모둘린, 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 아마이드, 및 지방 알코올을 포함할 수 있다. 대사 질환 또는 병태는 당뇨병일 수 있다. 대사 질환 또는 병태는 글리코겐 축적병, 페닐케톤뇨증, 단풍 시럽 뇨병, 글루타르산혈증 1형, 카바모일 포스페이트 신테타아제 I 결핍증, 알카톤뇨증, 중쇄 아실 coA 탈수소효소 결핍증(MCADD), 급성 간혈성 포르피린증, 레쉬-니한 증후군, 선천성 지질성 부신과형성증, 선천성 부신과형성증, 컨스-세르 증후군, 젤웨어 증후군, 고세병, 또는 니만-피크병일 수 있다.

[0433] 중추 신경계(CNS) 장애의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서 하나 이상의 LC를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 하나 이상의 지질 접합체(LC)가 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 상기 하나 이상의 치료제(TA)를 포함하며, 상기 하나 이상의 지질이 상기 하나 이상의 치료제의 적어도 하나의 시스템 잔기에 부착되는 것인 방법을 제공한다. 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: Alzheimer's disease)일 수 있다. 또 다른 CNS 장애는 뇌염, 뇌수막염, 열대성 강직성 하반신 마비, 거미막 낭종, 헌팅턴병, 락트-인 증후군, 파킨슨병, 투렛 증후군, 및 다발성 경화증을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0434] 중추 신경계(CNS) 장애의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서 상기 하나

이상의 LC를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 하나 이상의 지질 접합체(LC)가 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드, 지방 아민, 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 TA가 펩티드이고 상기 하나 이상의 지질이 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 상기 TA에 부착되는 것인 방법을 제공한다. 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. 또 다른 CNS 장애는 뇌염, 뇌수막염, 열대성 강직성 하반신 마비, 거미막 낭종, 헌팅턴병, 랍트-인 증후군, 파킨슨병, 투렛 증후군, 및 다발성 경화증을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0435] 중추 신경계(CNS) 장애의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서, 화학식 (Ia) $TA-A^1-P^1-L$ 의 하나 이상의 지질 접합체(LC)(식에서, TA는 치료제이고, A^1 은 TA와 P^1 을 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합 또는 $-PEG-A^2-$ 이고, PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기이고, A^2 는 PEG와 L을 연결하는 화학 기이고, L은 지질임)를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 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, 및 지방 알코올을 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. 또 다른 CNS 장애는 뇌염, 뇌수막염, 열대성 강직성 하반신 마비, 거미막 낭종, 헌팅턴병, 랍트-인 증후군, 파킨슨병, 투렛 증후군, 및 다발성 경화증을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0436] 중추 신경계(CNS) 장애의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서, 화학식 (I) $TA-A^1-P^1-L$ 의 하나 이상의 지질 접합체(LC)(식에서, TA는 치료제이고, A^1 은 TA와 P^1 또는 L을 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합이거나 폴리글리콜을 포함하고, L은 지질임)를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 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. 또 다른 CNS 장애는 뇌염, 뇌수막염, 열대성 강직성 하반신 마비, 거미막 낭종, 헌팅턴병, 랍트-인 증후군, 파킨슨병, 투렛 증후군, 및 다발성 경화증을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0437] GLP-1R 및/또는 글루카곤 수용체(GCGR) 작용제가 유익한 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서 하나 이상의 지질 접합체(LC)를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 하나 이상의 지질 접합체(LC)가 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드, 및 지방 알코올로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 하나 이상의 치료제를 포함하며, 상기 하나 이상의 지질이 상기 하나 이상의 치료제의 적어도 하나의 시스테인 잔기에 부착되는 것인 방법을 제공한다. 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 작용제가 유익한 또 다른 질환 및/또는 병태는 이상지질혈증, 심혈관 및 지방간 질환을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0438] GLP-1R 및/또는 글루카곤 수용체(GCGR) 작용제가 유익한 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서 하나 이상의 LC를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 하나 이상의 지질 접합체(LC)가 (a) 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아미드, 지방 아민, 및 지방 알코올, 및 이들의 유도체로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 지질, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 TA가 펩티드이고 상기 하나 이상의 지질이 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 TA에 부착되는 것인 방법을 제공한다. 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 작용제가 유익한 또 다른 질환 및/또는 병태는 이상지질혈증, 심혈관 및 지방간 질환을 포함하나 이에 제한되지

는 않는다.

[0439] GLP-1R 및/또는 글루카곤 수용체(GCGR) 작용제가 유익한 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서, 화학식 (Ia) $TA-A^1-P^1-L$ 의 하나 이상의 지질 접합체(LC)(식에서, TA는 치료제이고, A^1 은 TA와 P^1 을 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합 또는 $-PEG-A^2-$ 이고, PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기이고, A^2 는 PEG와 L을 연결하는 화학 기이고, L은 지질임)를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 하나 이상의 지질은 하나 이상의 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올을 포함할 수 있다. 하나 이상의 지질은 하나 이상의 스테롤, 스테롤 유도체, 담즙산, 비타민 E 유도체, 지방 이산, 지방산, 지방 아마이드, 및 지방 알코올을 포함할 수 있다. TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모듈린, 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 작용제가 유익한 또 다른 질환 및/또는 병태는 이상지질혈증, 심혈관 및 지방간 질환을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0440] GLP-1R 및/또는 글루카곤 수용체(GCGR) 작용제가 유익한 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서, 화학식 (I) $TA-A^1-P^1-L$ 의 하나 이상의 지질 접합체(LC)(식에서, TA는 치료제이고, A^1 은 TA와 P^1 또는 L을 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합이거나 폴리글리콜을 포함하고, L은 지질임)를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 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, 옥신토모듈린, 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 작용제가 유익한 또 다른 질환 및/또는 병태는 이상지질혈증, 심혈관 및 지방간 질환을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0441] 또한, 본원에서 하나 이상의 질환 및/또는 병태의 치료, 완화, 억제 및/또는 예방에 사용하기 위한 mTA를 개시한다. 질환 및/또는 병태는 만성 질환 또는 병태일 수 있다. 별법으로, 질환 및/또는 병태는 급성 질환 또는 병태일 수 있다. 질환 또는 병태는 재발성, 난치성, 가속성 또는 관해성일 수 있다. 질환 또는 병태는 하나 이상의 세포 유형에 영향을 미칠 수 있다. 하나 이상의 질환 및/또는 병태는 자가면역 질환, 염증 질환, 심혈관 질환 및/또는 임신일 수 있다. 변형된 치료제(mTA)는 치료제 및 하나 이상의 반감기 연장 부분을 포함할 수 있으며, 상기 치료제는 펩티드이고 펩티드 상의 시스테인 잔기를 통해 상기 하나 이상의 반감기 연장 부분 각각에 공유적으로 부착되고, 변형된 치료제의 반감기는 펩티드 단독의 반감기보다 더 길다. mTA는 두 개 이상의 반감기 연장 부분을 포함할 수 있다. 두 개 이상의 반감기 연장 부분은 동일할 수 있다. 두 개 이상의 반감기 연장 부분은 상이할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 부분 각각은 지질, 폴리글리콜 영역, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 부분 각각은 지질을 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 부분 각각은 폴리글리콜 영역을 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 부분 각각은 지질 및 폴리글리콜 영역을 포함할 수 있다. 하나 이상의 반감기 연장 부분 각각은 (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함할 수 있다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67의 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 93%, 95%, 97%, 또는 99% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 펩티드는 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 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 작용제, GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 렙틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 펩티드계 독소, 모카, 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체로부터 선택될 수 있다. 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 작용제, GLP-1R 및 GCGR 이중 작용제, 렙틴, 베타트로핀, FGF 21, GDF 11, ANGPTL3, 펩티드계 독소, 모카, 및 VM-24, 또는 이들의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체로부터 선택될 수 있다. 펩티드는 릴렉신 또는 이의 유도체로서 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 또는 이들의 조합을 포함하는 펩티드인 유도체일 수 있다. 펩티드는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩티드 서열의 적어도 일부분을 포함하는 아미노산 서열에 의해 코딩될 수 있다. 펩티드는 서열 번호 10-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩티드 서열에 기초하거나 그로부터 유래된 10개 이상의 아미노산을 포함하는 아미노산 서열에 의해 코딩될 수 있다. 펩티드는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 약 50% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 펩티드는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 80% 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 펩티드는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 펩티드는 서열 번호 10-56을 포함하는 군으로부터 선택된 두 개 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 펩티드는 링커를 더 포함할 수 있다. 시스테인 잔기는 펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 위치할 수 있다. 시스테인 잔기는 펩티드의 말단이 아닌 위치에 위치할 수 있다. 시스테인 잔기는 펩티드 상에 아미노산 첨가 또는 치환될 수 있다. 본원에서 개시된 mTA는 이를 필요로 하는 피험체에게 투여될 수 있다. mTA는 XTEN-mTA일 수 있다. mTA는 LC일 수 있다.

[0442] 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료 방법으로서 mTA를 포함하는 조성물을 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 mTA가 치료제에 부착된 반감기 연장 부분을 포함하고, 상기 치료제가 릴렉신 또는 이의 유도체인 방법을 개시한다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67의 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 93%, 95%, 97%, 또는 99% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 치료제는 링커를 더 포함할 수 있다. 질환 또는 병태는 심혈관 질환일 수 있다. 심혈관 질환은 급성 심부전일 수 있다. 또 다른 심혈관 질환은 울혈성 심부전, 대상성 심부전 또는 비대상성 심부전을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 질환 또는 병태는 자가면역 장애일 수 있다. 자가면역 장애는 피부경화증, 광범위 피부경화증 또는 전신성 피부경화증일 수 있다. 질환 또는 병태는 염증 질환일 수 있다. 염증 질환은 섬유 근육통일 수 있다. 질환 또는 병태는 섬유증일 수 있다. 별법으로, 질환 또는 병태는 임신일 수 있다. mTA는 임신중독증을 치료하거나 분만을 유도하는데 사용될 수 있다. mTA는 하나 이상의 치료제와 함께 투여될 수 있다. 추가의 치료제는 항염제, 스타틴, 이노제, 베타-차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제 및 안지오텐신 II 수용체 차단제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 추가의 치료제는 아스피린일 수 있다. mTA는 XTEN-mTA일 수 있다.

[0443] 또한, 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료 방법으로서 하나 이상의 mTA를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 하나 이상의 변형된 치료제(mTA)가 (a) (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함하는 하나 이상의 반감기 연장 부분, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 하나 이상의 반감기 연장 부분이 상기 하나 이상의 치료제의 적어도 하나의 시스테인에 부착되는 것인 방법을 개시한다. TA는 릴렉신을 포함할 수 있다. TTA는 링커를 포함할 수 있다. TTA는 변형된 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 변형된 폴리펩티드는 하나 이상의 변이를 포함하는 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 하나 이상의 변이는 치환, 결실, 또는 삽입일 수 있다. 변형된 펩티드는 링커에 부착된 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 질환 또는 병태는 심혈관 질환일 수 있다. 심혈관 질환은 급성 심부전일 수 있다. 또 다른 심혈관 질환은 울혈성 심부전, 대상성 심부전 또는 비대상성 심부전을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 질환 또는 병태는 자가면역 장애일 수 있다. 자가면역 장애는 피부경화증, 광범위 피부경화증 또는 전신성 피부경화증일 수 있다. 질환 또는 병태는 염증 질환일 수 있다. 염증 질환은 섬유 근육통일 수 있다. 질환 또는 병태는 섬유

증일 수 있다. 별법으로, 질환 또는 병태는 임신이다. mTA는 임신중독증을 치료하거나 분만을 유도하는데 사용될 수 있다. mTA는 하나 이상의 치료제와 함께 투여될 수 있다. 추가의 치료제는 항염제, 스타틴, 이노제, 베타-차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제 및 안지오텐신 II 수용체 차단제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 추가의 치료제는 아스피린일 수 있다. mTA는 XTEN-mTA일 수 있다.

[0444]

또한, 본원에서 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료 방법으로서 하나 이상의 mTA를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 하나 이상의 변형된 치료제(mTA)가 (a) (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함하는 하나 이상의 반감기 연장 부분, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 TA가 펩티드이고 상기 하나 이상의 반감기 연장 부분이 펩티드 상의 아미노산을 통해 펩티드에 부착되는 것인 방법을 개시한다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67의 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 93%, 95%, 97%, 또는 99% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 틸렉신을 포함할 수 있다. TA는 링커를 더 포함할 수 있다. 질환 또는 병태는 심혈관 질환일 수 있다. 심혈관 질환은 급성 심부전일 수 있다. 또 다른 심혈관 질환은 울혈성 심부전, 대상성 심부전 또는 비대상성 심부전을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 질환 또는 병태는 자가면역 장애일 수 있다. 자가면역 장애는 피부경화증, 광범위 피부경화증 또는 전신성 피부경화증일 수 있다. 질환 또는 병태는 염증 질환일 수 있다. 염증 질환은 섬유 근육통일 수 있다. 질환 또는 병태는 섬유증일 수 있다. 별법으로, 질환 또는 병태는 임신이다. mTA는 임신중독증을 치료하거나 분만을 유도하는데 사용될 수 있다. mTA는 하나 이상의 치료제와 함께 투여될 수 있다. 추가의 치료제는 항염제, 스타틴, 이노제, 베타-차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제 및 안지오텐신 II 수용체 차단제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 추가의 치료제는 아스피린일 수 있다. mTA는 XTEN-mTA일 수 있다.

[0445]

또한, 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료 방법으로서, 화학식 (IIa) $TA-A^1-P^1-X$ 의 하나 이상의 변형된 치료제(mTA)(식에서, TA는 치료제이고, A^1 은 TA와 P^1 을 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합 또는 -PEG- A^2 -이고, PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기이고, A^2 는 PEG와 X를 연결하는 화학 기이고, X는 반감기 연장 부분임)를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 개시한다. 반감기 연장 부분은 반감기 연장 부분은 (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함할 수 있다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있고, P^1 은 결합이다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67의 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 93%, 95%, 97%, 또는 99% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 틸렉신을 포함할 수 있다. TA는 링커를 더 포함할 수 있다. 질환 또는 병태는 심혈관 질환일 수 있다. 심혈관 질환은 급성 심부전일 수 있다. 또 다른 심혈관 질환은 울혈성 심부전, 대상성 심부전 또는 비대상성 심부전을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 질환 또는 병태는 자가면역 장애일 수 있다. 자가면역 장애는 피부경화증, 광범위 피부경화증 또는 전신성 피부경화증일 수 있다. 질환 또는 병태는 염증 질환일 수 있다. 염증 질환은 섬유 근육통일 수 있다. 질환 또는 병태는 섬유증일 수 있다. 별법으로, 질환 또는 병태는 임신이다. mTA는 임신중독증을 치료하거나 분만을 유도하는데 사용될 수 있다. mTA는 하나 이상의 추가의 치료제와 함께 투여될 수 있다. 추가의 치료제는 항염제, 스타틴, 이노제, 베타-차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제 및 안지오텐신 II 수용체 차단제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 추가의 치료제는 아스피린일 수 있다.

[0446]

또한, 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 치료 방법으로서, 화학식 (II) $TA-A^1-P^1-X$ 의 하나

이상의 변형된 치료제(mTA)(식에서, A는 치료제이고, A¹은 TA와 P¹ 또는 X를 연결하는 화학 기이고, P¹은 결합이거나 폴리글리콜을 포함하고, X는 반감기 연장 부분임)를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 개시한다. 반감기 연장 부분은 (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함할 수 있다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있고, P¹은 결합이다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67의 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 93%, 95%, 97%, 또는 99% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 릴렉신을 포함할 수 있다. TA는 링커를 더 포함할 수 있다. 질환 또는 병태는 심혈관 질환일 수 있다. 심혈관 질환은 급성 심부전일 수 있다. 또 다른 심혈관 질환은 울혈성 심부전, 대상성 심부전 또는 비대성 심부전을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 질환 또는 병태는 자가면역 장애일 수 있다. 자가면역 장애는 피부경화증, 광범위 피부경화증 또는 전신성 피부경화증일 수 있다. 질환 또는 병태는 염증 질환일 수 있다. 염증 질환은 섬유 근육통일 수 있다. 질환 또는 병태는 섬유증일 수 있다. 별법으로, 질환 또는 병태는 임신이다. mTA는 임신중독증을 치료하거나 분만을 유도하는데 사용될 수 있다. mTA는 하나 이상의 추가의 치료제와 함께 투여될 수 있다. 추가의 치료제는 항염제, 스타틴, 이뇨제, 베타-차단제, 안지오텐신 전환 효소 억제제 및 안지오텐신 II 수용체 차단제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 추가의 치료제는 아스피린일 수 있다. mTA는 XTEN-mTA일 수 있다.

[0447] 본원에서 대사 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서 하나 이상의 mTA를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 하나 이상의 변형된 치료제(mTA)가 (a) (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함하는 하나 이상의 반감기 연장 부분, 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함하며, 상기 하나 이상의 반감기 연장 부분이 상기 하나 이상의 치료제의 하나 이상의 시스테인 잔기에 부착되는 것인 방법을 제공한다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67의 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 93%, 95%, 97%, 또는 99% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 하나 이상의 TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모둘린, 글루카곤, FGF21, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있다. GLP-1은 인간 GLP-1일 수 있다. FGF21은 인간 FGF21일 수 있다. 하나 이상의 TA는 링커를 더 포함할 수 있다. 대사 질환 또는 병태는 당뇨병일 수 있다. 대사 질환 또는 병태는 글리코겐 축적병, 페닐케톤뇨증, 단풍 시럽 뇨병, 글루타르산혈증 1형, 카바모일 포스페이트 신테타아제 I 결핍증, 알칼톤뇨증, 중쇄 아실 coA 탈수소효소 결핍증(MCADD), 급성 간혈성 포르피린증, 레쉬-니한 증후군, 선천성 지질성 부신과형성증, 선천성 부신과형성증, 컨스-세르 증후군, 젤웨거 증후군, 고세병, 또는 니만-피크병일 수 있다. mTA는 XTEN-mTA일 수 있다.

[0448] 본원에서 대사 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서 하나 이상의 mTA를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 하나 이상의 변형된 치료제(mTA)가 (a) (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함하는 하나 이상의 반감기 연장 부분, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 TA가 펩티드이고 상기 하나 이상의 반감기 연장 부분이 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 상기 TA에 부착되는 것인 방법을 제공한다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는

아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67의 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 93%, 95%, 97%, 또는 99% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 펩티드는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모둘린, 글루카곤, FGF21, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있다. GLP-1은 인간 GLP-1일 수 있다. FGF21은 인간 FGF21일 수 있다. 펩티드는 링커를 더 포함할 수 있다. 대사 질환 또는 병태는 당뇨병일 수 있다. 대사 질환 또는 병태는 글리코겐 축적병, 페닐케톤뇨증, 단풍 시럽 뇨병, 글루타르산혈증 1형, 카바모일 포스페이트 신테타아제 I 결핍증, 알칼톤뇨증, 중쇄 아실 coA 탈수소효소 결핍증(MCADD), 급성 간혈성 포르피린증, 레쉬-니한 증후군, 선천성 지질성 부신과형성증, 선천성 부신과형성증, 컨스-세르 증후군, 젤웨거 증후군, 고세병, 또는 니만-피크병일 수 있다. mTA는 XTEN-mTA일 수 있다.

[0449] 본원에서 대사 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서, 화학식 (IIa) $TA-A^1-P^1-X$ 의 하나 이상의 변형된 치료제(mTA)(식에서, TA는 치료제이고, A^1 은 TA와 P^1 을 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합 또는 -PEG- A^2 -이고, PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기이고, A^2 는 PEG와 X를 연결하는 화학 기이고, X는 반감기 연장 부분임)를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 반감기 연장 부분은 (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드를 포함할 수 있고, P^1 은 결합이다. TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모둘린, 글루카곤, FGF21, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있다. GLP-1은 인간 GLP-1일 수 있다. FGF21은 인간 FGF21일 수 있다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67의 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 93%, 95%, 97%, 또는 99% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 대사 질환 또는 병태는 당뇨병일 수 있다. 대사 질환 또는 병태는 글리코겐 축적병, 페닐케톤뇨증, 단풍 시럽 뇨병, 글루타르산혈증 1형, 카바모일 포스페이트 신테타아제 I 결핍증, 알칼톤뇨증, 중쇄 아실 coA 탈수소효소 결핍증(MCADD), 급성 간혈성 포르피린증, 레쉬-니한 증후군, 선천성 지질성 부신과형성증, 선천성 부신과형성증, 컨스-세르 증후군, 젤웨거 증후군, 고세병, 또는 니만-피크병일 수 있다. mTA는 XTEN-mTA일 수 있다.

[0450] 본원에서 대사 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서, 화학식 (I) $TA-A^1-P^1-X$ 의 하나 이상의 변형된 치료제(mTA)(식에서, TA는 치료제이고, A^1 은 TA와 P^1 또는 X를 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합이거나 폴리글리콜을 포함하고, X는 반감기 연장 부분임)를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 반감기 연장 부분은 (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함한다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67의 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 93%, 95%, 97%, 또는 99% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모둘린, 글루카곤, FGF21, 또는 이들의 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 축적병, 페닐케톤뇨증, 단풍 시럽 뇨병, 글루타르산혈증 1형, 카바모일 포스페이트 신테타아제 I 결핍증, 알칼톤뇨증, 중쇄 아실 coA 탈수소효소 결핍증(MCADD), 급성 간혈성 포르피린증, 레쉬-니한 증후군, 선천성 지질성 부신과형성증, 선천성 부신과형성증, 컨스-세르 증후군, 젤웨거 증후군, 고세병, 또는 니만-피크병일 수 있다. mTA는 XTEN-mTA일 수 있다.

[0451] 본원에서 중추 신경계(CNS) 장애의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서

하나 이상의 mTA를 상기 피험체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 하나 이상의 변형된 치료제(mTA)가 (a) (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함하는 하나 이상의 반감기 연장 부분, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 하나 이상의 반감기 연장 부분이 상기 하나 이상의 치료제의 적어도 하나의 시스테인 잔기에 부착되는 것인 방법을 제공한다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67의 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 93%, 95%, 97%, 또는 99% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 하나 이상의 TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모듈린, 글루카곤, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있다. GLP-1은 인간 GLP-1일 수 있다. CNS 장애는 알츠하이머병(AD)일 수 있다. 또 다른 CNS 장애는 뇌염, 뇌수막염, 열대성 강직성 하반신 마비, 거미막 낭종, 헌팅턴병, 락트-인 증후군, 파킨슨병, 투렛 증후군, 및 다발성 경화증을 포함하나 이에 제한되지 않는다. mTA는 XTEN-mTA일 수 있다.

[0452] 본원에서 중추 신경계(CNS) 장애의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서 하나 이상의 mTA를 상기 피험체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 하나 이상의 변형된 치료제(mTA)가 (a) (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함하는 하나 이상의 반감기 연장 부분, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 TA가 펩티드이고 하나 이상의 반감기 연장 부분이 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 상기 TA에 부착되는 것인 방법을 제공한다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67의 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 93%, 95%, 97%, 또는 99% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모듈린, 글루카곤, 또는 이의 유도체를 포함할 수 있다. GLP-1은 인간 GLP-1일 수 있다. CNS 장애는 알츠하이머병(AD)일 수 있다. 또 다른 CNS 장애는 뇌염, 뇌수막염, 열대성 강직성 하반신 마비, 거미막 낭종, 헌팅턴병, 락트-인 증후군, 파킨슨병, 투렛 증후군, 및 다발성 경화증을 포함하나 이에 제한되지 않는다. mTA는 XTEN-mTA일 수 있다.

[0453] 본원에서 중추(CNS) 신경계 장애의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서, 화학식 (IIa) $TA-A^1-P^1-X$ 의 하나 이상의 변형된 치료제(mTA)(식에서, TA는 치료제이고, A^1 은 TA와 P^1 을 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합 또는 $-PEG-A^2-$ 이고, PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기이고, A^2 는 PEG와 X를 연결하는 화학 기이고, X는 반감기 연장 부분임)를 상기 피험체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 반감기 연장 부분은 (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함할 수 있다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있고, P^1 은 결합이다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67의 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 93%, 95%, 97%, 또는 99% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 있다. TA는 GLP-1, 엑센딘-4, 엑세나타이드, 옥신토모듈린, 글루카곤, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있다. GLP-1은 인간 GLP-1일 수 있다. CNS 장애는 알츠하이머병(AD)일 수 있다. 또 다른 CNS 장애는 뇌염, 뇌수막염, 열대성 강직성 하반신 마비, 거미막 낭종, 헌팅턴병, 락트-인 증후군, 파킨슨병, 투렛

증후군, 및 다발성 경화증을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. mTA는 XTEN-mTA일 수 있다.

[0454]

본원에서 중추(CNS) 신경계 장애의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서, 화학식 (II) $TA-A^1-P^1-X$ 의 하나 이상의 변형된 치료제(mTA)(식에서, TA는 치료제이고, A^1 은 TA와 P^1 또는 X를 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합이거나 폴리글리콜을 포함하고, X는 반감기 연장 부분임)를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 반감기 연장 부분은 (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함할 수 있다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있고, P^1 은 결합이다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67의 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 93%, 95%, 97%, 또는 99% 이상 상동인 아미노산 서열을 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. 또 다른 CNS 장애는 뇌염, 뇌수막염, 열대성 강직성 하반신 마비, 거미막 낭종, 헌팅턴병, 락트-인 증후군, 파킨슨병, 투렛 증후군, 및 다발성 경화증을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. mTA는 XTEN-mTA일 수 있다.

[0455]

본원에서 GLP-1R 및/또는 글루카곤 수용체(GCGR) 작용제가 유익한 질환 또는 병태의 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서 하나 이상의 mTA를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 하나 이상의 변형된 치료제(mTA)가 (a) (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함하는 하나 이상의 반감기 연장 부분, 및 (b) 하나 이상의 치료제(TA)를 포함하며, 상기 하나 이상의 반감기 연장 부분이 상기 하나 이상의 치료제의 적어도 하나의 시스테인 잔기에 부착되는 것인 방법을 제공한다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67의 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 93%, 95%, 97%, 또는 99% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 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 작용제가 유익한 또 다른 질환 또는 병태는 이상지질혈증, 심혈관 및 지방간 질환을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. mTA는 XTEN-mTA일 수 있다.

[0456]

또한, GLP-1R 및/또는 글루카곤 수용체(GCGR) 작용제가 유익한 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서 하나 이상의 mTA를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 상기 하나 이상의 변형된 치료제(mTA)가 (a) (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함하는 하나 이상의 반감기 연장 부분, 및 (b) 치료제(TA)를 포함하며, 상기 TA가 펩티드이고 하나 이상의 반감기 연장 부분이 펩티드 상의 아미노산 잔기를 통해 상기 TA에 부착되는 것인 방법을 제공한다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67의 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 93%, 95%, 97%, 또는 99% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 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 장애일 수 있다. 질환 또는 병태는 당뇨병일 수 있다. 질환 또는 병태는 비만일 수 있다. GLP-1R 및/또는 GCGR 작용제가 유익한 또 다른 질환 및/또는 병태는 이상지질혈증, 심혈관 및 지방간 질환을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. mTA는 XTEN-mTA일 수 있다.

[0457] 본원에서 GLP-1R 및/또는 글루카곤 수용체(GCGR) 작용제가 유익한 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서, 화학식 (IIa) $TA-A^1-P^1-X$ 의 하나 이상의 변형된 치료제(mTA) (식에서, TA는 치료제이고, A^1 은 TA와 P^1 을 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합 또는 $-PEG-A^2-$ 이고, PEG는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 화학 기이고, A^2 는 PEG와 X를 연결하는 화학 기이고, X는 반감기 연장 부분임)를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 반감기 연장 부분은 (i) 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함할 수 있다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있고, P^1 은 결합이다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67의 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 93%, 95%, 97%, 또는 99% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 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 장애일 수 있다. 질환 또는 병태는 당뇨병일 수 있다. 질환 또는 병태는 비만일 수 있다. GLP-1R 및/또는 GCGR 작용제가 유익한 또 다른 질환 및/또는 병태는 이상지질혈증, 심혈관 및 지방간 질환을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. mTA는 XTEN-mTA일 수 있다.

[0458] 본원에서 GLP-1R 및/또는 글루카곤 수용체(GCGR) 작용제가 유익한 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 필요로 하는 피험체에서 이의 예방 또는 치료 방법으로서, 화학식 (I) $TA-A^1-P^1-X$ 의 하나 이상의 변형된 치료제(mTA)(식에서, TA는 치료제이고, A^1 은 TA와 P^1 또는 X를 연결하는 화학 기이고, P^1 은 결합이거나 폴리글리콜을 포함하고, X는 반감기 연장 부분임)를 상기 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 반감기 연장 부분은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 70% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열, (ii) 실질적으로 비반복 아미노산 서열, (iii) 알파 나선이 약 10% 미만인 아미노산 서열, 및/또는 (iv) 베타 병풍구조가 약 10% 미만인 아미노산 서열을 포함하는 연장된 재조합 폴리펩티드(XTEN)를 포함할 수 있다. XTEN은 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E), 아스파테이트(D), 류신(L) 및 프롤린(P) 잔기의 합이 전체 아미노산 서열의 약 75%, 77%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 또는 99% 초과 구성하는 것을 특징으로 하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. XTEN은 서열 번호 66-67의 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 83%, 85%, 87%, 90%, 93%, 95%, 97%, 또는 99% 이상 상동인 아미노산 서열을 포함할 수 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 장애일 수 있다. 질환 또는 병태는 당뇨병일 수 있다. 질환 또는 병태는 비만일 수 있다. GLP-1R 및/또는 GCGR 작용제가 유익한 또 다른 질환 및/또는 병태는 이상지질혈증, 심혈관 및 지방간 질환을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. mTA는 XTEN-mTA일 수 있다.

[0459] 또한, 본원에서 하나 이상의 질환 및/또는 병태의 치료, 완화, 억제 및/또는 예방을 위한 XTEN-mTA를 개시한다. 질환 및/또는 병태는 만성 질환 또는 병태일 수 있다. 별법으로, 질환 및/또는 병태는 급성 질환 또는 병태일 수 있다. 질환 또는 병태는 재발성, 난치성, 가속성 또는 관해성일 수 있다. 질환 또는 병태는 하나 이상의 세포 유형에 영향을 미칠 수 있다. 하나 이상의 질환 및/또는 병태는 자가면역 질환, 염증 질환, 심혈관 질환 및 임신일 수 있다. 본원에서 개시된 XTEN-mTA는 이를 필요로 하는 피험체에게 투여될 수 있다.

[0460] 조성물

[0461] 본원에서 개시된 변형된 치료제를 포함하는 약학 조성물을 본원에서 개시한다. 조성물은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 이상의 변형된 치료제를 포함할 수 있다. 변형된 치료제는 상이할 수 있다. 별법으로, 변형된 치료제는 동일하거나 유사할 수 있다. 변형된 치료제는 상이한 치료제, 상이한 반감기 연장 부분, 또는 이들의 조합

을 포함할 수 있다. 반감기 연장 부분은 동일하거나 유사할 수 있다.

[0462] 또한, 본원에서 개시된 LC를 포함하는 약학 조성물을 본원에서 개시한다. 조성물은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 이상의 LC를 포함할 수 있다. LC는 상이할 수 있다. 별법으로, LC는 동일하거나 유사할 수 있다. LC는 상이한 치료제, 상이한 지질, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 지질은 동일하거나 유사할 수 있다.

[0463] 본원에서 기재된 조성물은 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 염, 부형제 또는 비히클을 더 포함할 수 있다. 본 약학 조성물에 사용하기 위한 약학적으로 허용가능한 염, 부형제, 또는 비히클은 담체, 부형제, 희석제, 항산화제, 방부제, 착색제, 향미제 및 희석제, 유화제, 현탁화제, 용매, 충전제, 증량제, 완충제, 전달 비히클, 긴장성 제제, 보조용매(cosolvent), 습윤제, 착화제, 완충제, 향균제, 및 계면활성제를 포함한다.

[0464] 중성 완충 식염수 또는 혈청 알부민과 혼합된 식염수는 대표적으로 적합한 담체이다. 약학 조성물은 항산화제, 예를 들어 아스코르브산; 저분자량 폴리펩티드; 단백질, 예를 들어 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예를 들어 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예를 들어 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 리신; 글루코스, 만노스, 또는 텍스트린을 포함하는 당당류, 이당류, 및 기타 탄수화물; 킬레이트제 예를 들어 EDTA; 당 알코올 예를 들어 만니톨 또는 소르비톨; 염 형성 반대 이온 예를 들어 나트륨; 및/또는 비이온계 계면활성제, 예를 들어 트윈(Tween), 플루로닉스(pluronic), 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함할 수 있다. 또한, 예로서, 적합한 긴장성 상승제는 알칼리 금속 할로겐화물(바람직하게는 염화나트륨 또는 염화칼륨), 만니톨, 소르비톨 등을 포함한다. 적합한 방부제는 벤즈알코늄 클로라이드, 티머소살, 페네틸 알코올, 메틸파라벤, 프로필파라벤, 클로르헥시딘, 소르브산 등을 포함한다. 또한, 과산화수소가 방부제로 사용될 수 있다. 적합한 보조용매는 글리세린, 프로필렌 글리콜, 및 PEG를 포함한다. 적합한 착화제는 카페인, 폴리비닐피롤리돈, 베타-시클로텍스트린 또는 히드록시-프로필-베타-시클로텍스트린을 포함한다. 적합한 계면활성제 또는 습윤제는 소르비탄 에스테르, 폴리소르베이트, 예를 들어 폴리소르베이트 80, 트로메타민, 레시틴, 콜레스테롤, 킬록사팔 등을 포함한다. 완충제는 통상의 완충제, 예를 들어 아세트산염, 붕산염, 시트르산염, 인산염, 중탄산염, 또는 트리스(Tris)-HCl이 될 수 있다. 아세테이트 완충제는 약 pH 4-5.5일 수 있고, 트리스 완충제는 약 pH 7-8.5일 수 있다. 추가적인 약학 제제는 문헌(Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, A. R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company, 1990)에 제시된다.

[0465] 조성물은 액체 형태 또는 동결건조된 형태일 수 있고 하나 이상의 동결보호제, 부형제, 계면활성제, 고분자량 구조 첨가제 및/또는 증량제(예를 들어, 미국 특허 제6,685,940호, 제6,566,329호, 및 6,372,716호 참조)를 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 동결보호제는 비환원당, 예를 들어 슈크로스, 락토스 또는 트레할로스가 포함된다. 동결보호제의 양은 일반적으로 재구성시 생성된 제형이 등장성이 되도록 포함되지만, 고긴장성 또는 약간 저긴장성 제형 또한 적합할 수 있다. 또한, 동결보호제의 양은 동결건조시 허용되지 않는 양의 단백질의 분해 및/또는 응집을 방지하기에 충분해야 한다. 미리 동결건조된 제형 내 당(예를 들어, 슈크로스, 락토스, 트레할로스)의 경우 전형적인 동결보호제 농도는 약 10 mM 내지 약 400 mM이다. 또 다른 실시양태에서, 계면활성제에는, 예를 들어 비이온계 계면활성제 및 이온계 계면활성제, 예를 들어 폴리소르베이트(예를 들어 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80); 폴록사머(예를 들어, 폴록사머 188); 폴리(에틸렌 글리콜) 페닐 에테르(예를 들어, 트리톤); 소듐 도데실 설페이트(SDS); 소듐 라우렐 설페이트; 소듐 옥틸 글리코사이드; 라우릴-미리스틸-리놀레일- 또는 스테아릴-설포베타인; 라우릴-, 미리스틸-, 리놀레일- 또는 스테아릴-사르코신; 리놀레일-, 미리스틸-, 또는 세틸-베타인; 라우로아미도프로필-, 코카미도프로필-, 리놀레아미도프로필-, 미리스타아미도프로필-, 팔미도프로필-, 또는 이소스테아르아미도프로필-베타인(예를 들어, 라우로아미도프로필); 미리스타아미도프로필-, 팔미도프로필-, 또는 이소스테아르아미도프로필-디메틸아민; 소듐 메틸 코코일-, 또는 디소듐 메틸 오페일-타우레이트; 모나쿠아트(MONAQUATTM) 시리즈(Mona Industries, Inc., Paterson, N.J.), 폴리에틸 글리콜, 폴리프로필 글리콜, 및 에틸렌과 프로필렌 글리콜의 공중합체(예를 들어 플루로닉스, PF68 등)이 포함된다. 미리 동결건조된 제형 내에 존재할 수 있는 계면활성제의 전형적인 양은 약 0.001-0.5%이다. 고분자량 구조 첨가제(예를 들어, 충전제, 결합제)는 예를 들어 아카시아, 알부민, 알긴산, 인산칼슘(2염기), 셀룰로스, 카복시메틸셀룰로스, 카복시메틸셀룰로스 소듐, 히드록시에틸셀룰로스, 히드록시프로필셀룰로스, 히드록시프로필메틸셀룰로스, 결정셀룰로스, 텍스트란, 텍스트린, 텍스트레이트, 슈크로스, 킬로스, 전호화분 녹말, 황산칼슘, 아밀로스, 글리신, 벤토나이트, 말토스, 소르비톨, 에틸셀룰로스, 인산수소이소나트륨, 디소듐포스페이트, 디소듐피로설파이트, 폴리비닐 알코올, 젤라틴, 글루코스, 구아검, 액상 글루코스, 압축성 설탕, 마그네슘알루미늄실리케이트, 말토크스트린, 폴리에틸렌옥사이드, 폴리메타크릴레이트, 포비돈, 알긴산나트륨, 트라가칸트 결정 셀룰로스, 전분, 및 제인을 포함할 수 있다. 고분자량 구조 첨가물의 전형적인 농도는 0.1 중량% 내지 10 중량%이다. 다른 실시양태에서, 증량제(예를 들어, 만니톨, 글리신)이 포함될 수 있다.

- [0466] 조성물은 비경구 투여에 적합할 수 있다. 대표적인 조성물은 숙련자에 이용 가능한 모든 경로, 예를 들어 관절 내, 피하, 정맥 내, 근육 내, 복강 내, 뇌 내(뇌실질 내), 뇌실 내, 근육 내, 안내, 동맥 내, 또는 병변 내 경로에 의해 동물에 주사 또는 주입에 적합하다. 비경구 제형은 통상적으로, 약학적으로 허용 가능한 방부제를 선택적으로 포함하는, 멸균되고, 발열물질이 제거된 등장성 수용액일 수 있다.
- [0467] 비수용성 용매의 예는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브유와 같은 식물유, 및 에틸 올레에이트와 같은 주사가 가능한 유기 에스테르이다. 수성 담체는 식염수 및 완충 배지를 포함하여 물, 알콜성/수성 용액, 에멀전 또는 현탁액을 포함한다. 비경구 비히클은 염화나트륨 용액, 링커 텍스트로스, 텍스트로스 및 염화나트륨, 젖산 첨가 링거액, 또는 고정유를 포함한다. 정맥 내 비히클은 유동의 영양분 보충제, 전해질 보충제, 예를 들어 링커 텍스트로스에 기반한 것들 등을 포함한다. 또한, 방부제 및 기타 첨가제, 예를 들어 항균제, 항산화제, 킬레이트제, 불활성 기체 등이 존재할 수 있다. 전반적으로, 문헌(Remington's Pharmaceutical Science, 16th Ed., Mack Eds., 1980)을 참조한다.
- [0468] 본원에 기재된 조성물은 특정한 국소 환경에서 산물의 국소 농도(예를 들어, 볼러스, 데포 효과) 및/또는 증가된 안정성 또는 반감기를 제공하는 방식으로 제어 또는 지속된 전달을 위해 제제화될 수 있다. 조성물은 이후에 데포 주사로 전달될 수 있는 활성제의 제어 또는 지속 방출을 제공하는 폴리락트산, 폴리글리콜산 등과 같은 중합체 화합물의 입자성 제제뿐만 아니라 생분해성 기질, 주사가 가능한 마이크로스피어, 마이크로캡슐 입자, 마이크로캡슐, 생분해성 입자 비드, 리포솜, 및 이식 가능한 전달 장치와 같은 제제와 함께 본원에서 개시된 LC, 폴리펩티드, 핵산, 또는 벡터의 제형을 포함할 수 있다. 상기 지속 또는 제어 전달 수단의 제형 기술은 공지되어 있으며 다양한 중합체가 개발되어 약물의 제어 방출 및 전달에 이용되고 있다. 상기 중합체는 전형적으로 생분해성 및 생적합성을 가진다. 거울상 이성질체 중합체 또는 폴리펩티드 분절 및 온도 또는 pH에 민감성을 가진 히드로겔의 복합체 형성에 의해 형성된 것들을 포함한 중합체 히드로겔은 생물활성의 단백질 제제(예를 들어, 매우 긴 CDR3를 포함하는 항체)를 트랩하는데 수반되는 약한 수성 조건으로 인해 약물 데포 효과를 제공하는데 바람직할 수 있다. 예를 들어 W093/15722의 약학 조성물의 전달을 위한 제어 방출 다공성 중합체 마이크로입자에 대한 설명을 참조한다.
- [0469] 상기 목적에 적합한 재료에는 폴리락티드(예를 들어, 미국 특허 제3,773,919호 참조), 폴리-(α -히드록시카복실산)의 중합체, 예를 들어 폴리-D(-)-3-히드록시부티르산(EP 133,988A), L-글루탐산과 감마 에틸-L-글루타메이트의 공중합체(Sidman *et al.*, Biopolymers, 22: 547-556 (1983)), 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트)(Langer *et al.*, J. Biomed. Mater. Res., 15: 167-277 (1981), 및 Langer, Chem. Tech., 12: 98-105 (1982)), 에틸렌 비닐 아세테이트, 또는 폴리-D(-)-3-히드록시부티르산이 포함된다. 기타 생분해성 중합체에는 폴리(락톤), 폴리(아세탈), 폴리(오르토에스테르), 및 폴리(오르토카보네이트)가 포함된다. 지속 방출 조성물은 또한 리포솜을 포함할 수 있으며, 이것은 당 업계에 공지된 여러 방법에 의해 제조될 수 있다(예를 들어 문헌(Eppstein *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688-92 (1985) 참조). 담체 자체, 또는 그의 분해 산물은 표적 조직에서 비독성이어야 하며 병태를 더 악화시켜서는 안 된다. 이것은 표적 장애의 동물 모델, 또는 이러한 모델이 가능하지 않은 경우, 정상 동물에서 통상적인 스크리닝에 의해 결정될 수 있다.
- [0470] 지속 방출을 위한 재조합 단백질의 미세캡슐화는 인간 성장 호르몬(rhGH), 인터페론-(rhIFN-), 인터류킨-2, 및 MN rgp120에서 성공을 거두었다(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; WO 97/03692, WO 96/40072, WO 96/07399; 및 미국 특허 제5,654,010호). 이러한 단백질의 지속 방출형 제형은 생적합성 및 광범위한 생분해성으로 인해 폴리-락트산-글리콜산 공중합체(PLGA)를 이용하여 개발되었다. PLGA, 락트산 및 글리콜산의 분해 산물은 인체 내에서 신속하게 제거될 수 있다. 게다가, 이 중합체의 분해도는 그의 분자량 및 조성에 따라 결정될 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 방출형 조성물의 또 다른 예는 예를 들어 EP 58,481A, 미국 특허 제3,887,699호, EP 158,277A, 캐나다 특허 제1176565호, 문헌(U. Sidman *et al.*, Biopolymers 22, 547 [1983], R. Langer *et al.*, Chem. Tech. 12, 98 [1982], Sinha *et al.*, J. Control. Release 90, 261 [2003], Zhu *et al.*, Nat. Biotechnol. 18, 24 [2000], 및 Dai *et al.*, Colloids Surf B Biointerfaces 41, 117 [2005])을 포함한다.
- [0471] 또한, 본 개시의 조성물에, 또는 함께 사용하기 위하여 생접착성 중합체가 고려된다. 생접착제는 연장된 기간

동안 생물학적 기질에 부착할 수 있는 합성 및 천연 물질이다. 예를 들어, 카보폴(Carbopol) 및 폴리카보필은 모두 폴리(아크릴산)의 합성 가교 유도체이다. 천연 물질에 기반한 생접착제 전달 시스템은 예를 들어 히아루로난으로도 알려진 히아루론산을 포함한다. 히아루론산은 D-글루쿠론산 및 N-아세틸-D-글루코사민의 잔기로 이루어진 천연 점액성 다당류이다. 히아루론산은 결합 조직에서만 아니라 윤활액 및 눈의 유리체액 및 방수를 포함하여 척추동물의 세포 외 조직 기질에서 발견된다. 히아루론산의 에스테르화 유도체를 사용하여 전달에 사용하기 위해 생접합성 및 생분성을 가진 마이크로스피어를 제조하였다(예를 들어, 문헌(Cortivo et al., *Biomaterials* (1991) 12:727-730; EP 517,565; WO 96/29998; Illum et al., *J. Controlled Rel.* (1994) 29:133-141) 참조).

[0472] 생분해성 및 비생분해성 중합체 매트릭스 모두를 이용하여 본 개시의 조성물을 전달할 수 있으며, 이러한 중합체 매트릭스는 천연 또는 합성 중합체이다. 생분해성 매트릭스가 바람직하다. 방출이 일어나는 기간은 중합체의 선택에 기초한다. 전형적으로 수 시간과 3 내지 12개월에 걸친 기간 동안의 방출이 가장 바람직하다. 생분해성 전달 시스템을 형성하는데 이용될 수 있는 대표적인 합성 중합체는 락트산과 글리콜산의 중합체, 폴리아미드, 폴리카보네이트, 폴리알킬렌, 폴리알킬렌 글리콜, 폴리알킬렌 옥시드, 폴리알킬렌 테레프탈레이트, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 에테르, 폴리비닐 에스테르, 폴리비닐 할라이드, 폴리비닐피롤리돈, 폴리글리콜리드, 폴리실록산, 폴리산무수물, 폴리우레탄 및 그들의 공중합체, 폴리(부트산), 폴리(발레르산), 알킬셀룰로스, 히드록시알킬 셀룰로스, 셀룰로스 에테르, 셀룰로스 에스테르, 니트로 셀룰로스, 아크릴 에스테르와 메타크릴 에스테르의 중합체, 메틸셀룰로스, 에틸셀룰로스, 히드록시프로필 셀룰로스, 히드록시프로필 메틸 셀룰로스, 히드록시부틸 메틸 셀룰로스, 셀룰로스 아세테이트, 셀룰로스 프로피오네이트, 셀룰로스 아세테이트 부티레이트, 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 카복시에틸 셀룰로스, 셀룰로스 트리아세테이트, 셀룰로스 설페이트 나트륨염, 폴리(메틸 메타크릴레이트), 폴리(에틸 메타크릴레이트), 폴리(부틸메타크릴레이트), 폴리(이소부틸 메타크릴레이트), 폴리(헥실메타크릴레이트), 폴리(이소도데실 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 옥시드), 폴리(에틸렌 테레프탈레이트), 폴리(비닐 알코올), 폴리비닐 아세테이트, 폴리 비닐 클로라이드, 폴리스티렌 및 폴리비닐 피롤리돈을 포함한다. 대표적인 천연 중합체는 알지네이트, 및 텍스트린 및 셀룰로스를 포함한 기타 다당류, 콜라겐, 그들의 화학적 유도체(화학 기, 예를 들어 알킬, 알킬렌의 치환, 첨가, 히드록실화, 산화 및 당업자에 의해 통상 만들어 지는 기타 변형), 알부민 및 기타 친수성 단백질, 제인 및 기타 프콜라민 및 소수성 단백질, 그들의 공중합체 및 혼합물을 포함한다. 일반적으로 이들 물질은 생체 내 효소 가수분해 또는 물에 노출에 의해, 표면 또는 용적 침식에 의해 분해된다. 중합체는 선택적으로 물에서 자신의 중량의 약 90%까지 흡수할 수 있는 히드로겔 형태이며(예를 들어 문헌(WO 04/009664, WO 05/087201, Sawhney, et al., *Macromolecules*, 1993, 26, 581-587) 참조), 게다가, 선택적으로 다가 이온 또는 기타 중합체와 가교된다.

[0473] 전달 시스템은 또한 스테롤, 예를 들어 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르 및 지방산 또는 중성 지방, 예를 들어 모노-, 디- 및 트리-글리세리드를 포함하는 지질인 비-중합체 시스템; 히드로겔 방출 시스템; 실라스틱 시스템; 펩티드 기반 시스템; 왁스 코팅; 통상의 결합제 및 부형제를 이용한 압축 정제; 부분적으로 용해된 이식편 등을 포함한다. 구체적인 예는 (a) 산물이 미국 특허 제4,452,775호, 제4,675,189호 및 제5,736,152호에 기재된 것과 같은 매트릭스 형태에 포함된 침식 시스템 및 (b) 산물이 미국 특허 제3,854,480호, 제5,133,974호 및 제5,407,686호에 기재된 바와 같은 중합체로부터 제어된 속도로 침투하는 확산 시스템을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 산물을 포함하는 리포솜은 예를 들어 문헌(DE 3,218,121; Epstein et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82: 3688-3692 (1985); Hwang et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77: 4030-4034 (1980); EP 52,322; EP 36,676; EP 88,046; EP 143,949; EP 142,641; JP 83-118008; 미국 특허 제4,485,045호 및 제4,544,545호; 및 EP 102,324)에 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0474] 별법으로 또는 추가적으로, 조성물은 LC, LC의 적어도 일부분을 코딩하는 핵산, 본원에 개시된 LC의 적어도 일부분을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터가 흡수되거나 캡슐화되는 막, 스펀지, 또는 기타 적합한 재료를 발병 부분에 이식하여 국소적으로 투여할 수 있다. 이식 장치가 사용되는 경우, 장치는 적합한 어떤 조직 또는 기관에 든 이식될 수 있으며, LC, LC의 적어도 일부분을 코딩하는 핵산, 본원에 개시된 LC의 적어도 일부분을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터는 볼러스, 또는 연속 투여, 또는 연속 주입을 이용한 카테터에 의한 장치를 통해 직접적으로 전달될 수 있다.

[0475] LC, LC의 적어도 일부분을 코딩하는 핵산, 본원에 개시된 LC의 적어도 일부분을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터를 포함하는 약학 조성물은 예를 들어 건조 분말과 같이 흡입용으로 제제화될 수 있다. 흡입액은 또한 에어로졸

전달을 위해 액화 분사제 중에 제제화될 수 있다. 또 다른 제형으로, 용액은 분무될 수 있다. 폐 투여를 위한 또 다른 약학 조성물은 예를 들어, 화학적으로 변형된 단백질의 폐 전달을 개시하는 WO 94/20069에 기재된 것을 포함한다. 폐 전달의 경우, 입자 크기는 폐 말단에 전달하기에 적합해야 한다. 예를 들어 입자 크기는 1 μ m 내지 5 μ m일 수 있다. 그러나 각 입자가 적절히 다공성인 경우 더 큰 입자가 사용될 수 있다.

[0476] LC, LC의 적어도 일부분을 코딩하는 핵산, 본원에 개시된 LC의 적어도 일부분을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터를 포함하는 어떤 제형은 경구 투여될 수 있다. 본 방법으로 투여되는 제형은 고체 투여 형태, 예를 들어 정제 및 캡슐을 조제하는데 통상적으로 사용되는 담체와 함께 또는 없이 제제화될 수 있다. 예를 들어, 캡슐은 생체 이용률이 최대화되고 전신순환 전 분해를 최소화될 때 위장관 지점에서 제형의 활성 부분을 방출하도록 설계될 수 있다. 첨가제는 선택적인 결합제의 흡수를 촉진하기 위해 포함될 수 있다. 또한, 희석제, 향미제, 저융점 왁스, 식물유, 윤활제, 현탁화제, 정제 봉해제, 및 결합제가 이용될 수 있다.

[0477] 또 다른 제제는 정제 제조에 적합한 비독성 부형제와 혼합하여 LC를 포함하는 항체, LC의 적어도 일부분을 코딩하는 핵산, 본원에 개시된 LC의 적어도 일부분을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터의 유효량을 수반할 수 있다. 멸균수, 또는 또 다른 적합 비히클 중에 정제를 용해시킴으로써, 용액은 단위 투여 형태로 제조될 수 있다. 적합한 부형제에는 불활성 희석제, 예를 들어 탄산칼슘, 탄산나트륨 또는 중탄산나트륨, 락토스, 또는 인산칼슘; 또는 결합제, 예를 들어 전분, 젤라틴 또는 아카시아; 또는 윤활제 예를 들어 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산, 또는 탈크가 포함되나 이에 제한되지 않는다.

[0478] 적합하고/거나 바람직한 약학 제형(제제)은 원하는 투여 경로, 전달 형식, 및 원하는 투여량에 따라 본 개시 및 제형 기술의 일반적인 지식을 고려하여 결정될 수 있다. 투여 방법에 상관없이, 유효량은 환자의 체중, 체표면적, 또는 기관 크기에 따라 계산될 수 있다. 본원에서 기재된 각각의 제형을 수반하는 치료를 위한 적합한 투여량을 결정하기 위한 계산 값의 추가적인 정제는 당 업계에서 통상적으로 이루어지며, 당 업계에서 통상적으로 수행되는 작업 범위 내에 있다. 적합한 투여량은 적합한 용량 반응 데이터를 이용하여 확인될 수 있다.

[0479] "약학적으로 허용 가능한"은 연방 또는 주 정부 관리기관에 의해 승인받았거나 승인 가능하거나 인간을 포함한 동물에서의 사용에 대해 미국 약전 또는 기타 통상적으로 인정되는 약전에 열거되어 있다는 것을 나타낸다.

[0480] "약학적으로 허용 가능한 염"은 약학적으로 허용 가능하며 모 화합물의 바람직한 약리학적 활성을 가진 화합물의 염을 나타낸다.

[0481] "약학적으로 허용 가능한 부형제, 담체 또는 보조제"는 본 개시의 적어도 하나의 항체와 함께 피험체에 투여될 수 있으며 화합물의 치료량을 전달하기에 충분한 용량으로 투여될 때 그의 약리학적 활성을 파괴하지 않으면서 비독성인 부형제, 담체 또는 보조제를 나타낸다.

[0482] "약학적으로 허용 가능한 비히클"은 본 개시의 적어도 하나의 항체와 함께 투여되는 희석제, 보조제, 부형제, 또는 담체를 나타낸다.

[0483] 벡터, 숙주 세포 및 제조법

[0484] 본원에서 개시된 TA는 제조법 방법에 의해 발현될 수 있다. 일반적으로, TA를 코딩하는 핵산은 단리되어 추가의 클로닝(DNA 증폭) 또는 발현을 위한 복제가능 벡터로 삽입될 수 있다. LC를 코딩하는 DNA는 PCR 증폭에 의해 제조되어 통상의 절차(예를 들어, LC를 코딩하는 뉴클레오타이드에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 이용하여)를 이용하여 서열분석될 수 있다. 대표적인 실시양태에서, LC를 코딩하는 핵산은 PCR 증폭되고, 제한효소 절단되어 겔 정제된다. 절단된 LC는 복제가능 벡터에 삽입될 수 있다. 절단된 LC 삽입물을 포함하는 복제가능 벡터는 추가의 클로닝(DNA 증폭) 또는 발현을 위한 숙주 세포에 형질전환되거나 형질도입될 수 있다. 숙주 세포는 원핵 또는 진핵 세포일 수 있다.

[0485] 본원에서 개시된 LC의 폴리펩티드 구성요소를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열은 오버랩핑 올리고뉴클레오타이드 프라이머를 이용한 PCR 증폭에 의해 얻을 수 있다. 폴리뉴클레오타이드 서열은 TA를 생산하는 세포로부터 단리되어 서열분석될 수 있다. 별법으로, 폴리뉴클레오타이드는 뉴클레오타이드 합성기 또는 PCR 기술을 이용하여 합성될 수 있다. 일단 얻어지면, 폴리펩티드를 코딩하는 서열은 원핵 및/또는 진핵 숙주에서 이중 폴리뉴클레오타이드를 복제하고 발현할 수 있는 제조법 벡터에 삽입된다.

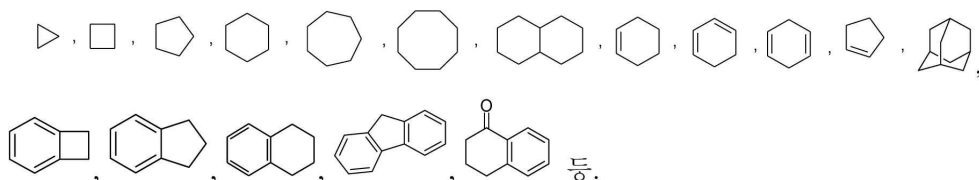
[0486] 또한, 숙주 미생물과 적합한 레플리콘 및 조절 서열을 포함하는 파아지 벡터는 상기 숙주와 관련하여 형질전환 벡터로서 사용될 수 있다. 예를 들어, λ GEM™-11과 같은 박테리오파아지를 이용하여 *o*/. *콜라이*(*E. coli*) LE392와 같은 민감성 숙주 세포를 형질전환시키는데 사용될 수 있는 제조법 벡터를 만들 수 있다.

- [0487] TA는 세포 내(예를 들어, 세포질) 또는 세포 외(예를 들어, 분비)에서 발현될 수 있다. 세포 외 발현의 경우, 벡터는 TA를 세포 외부로 이동시킬 수 있는 분비 신호를 포함할 수 있다.
- [0488] 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: human embryonic kidney) 세포, 중국 햄스터 난소(CHO: chinease hamster ovary) 세포, 진균, 효모, 무척추 세포(예를 들어, 식물 및 곤충 세포), 림프계 세포(예를 들어, YO, NSO, Sp20 세포)가 포함되나 이에 제한되지 않는다. 적합한 포유동물 숙주 세포주의 다른 예는 SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주(COS-7); 새끼 햄스터 신장세포(BHK); 마우스 세르툴리 세포; 원숭이 신장 세포(CV1); 아프리카 녹색 원숭이 신장세포(VERO-76); 인간 자궁경부암 세포(HELA); 개 신장 세포(MDCK; Madin-Darby, canine kidney); 버팔로 랫트 간 세포(BRL 3A); 인간 폐세포(W138); 인간 간세포(Hep G2); 마우스 유방종양(MMT 060562); TR1 세포; MRC 5 세포; 및 FS4 세포이다. 숙주 세포는 원핵 세포(예를 들어, 이. 콜라이)일 수 있다.
- [0489] 숙주 세포는 TA를 코딩하는 뉴클레오티드를 포함하는 벡터로 형질전환될 수 있다. 형질전환된 숙주 세포는 배지에서 배양될 수 있다. 배지에는 프로모터를 유도하고, 형질전환체를 선별하고, 또는 원하는 서열을 코딩하는 유전자를 증폭하거나 발현하기 위한 하나 이상의 제제가 보충될 수 있다. 숙주 세포의 형질전환 방법은 당 업계에 공지되어 있으며 전기천공, 염화갈슘, 또는 폴리에틸렌 글리콜/DMSO 방법을 포함할 수 있다.
- [0490] 별법으로, 숙주 세포는 TA를 코딩하는 뉴클레오티드를 포함하는 벡터로 형질감염 또는 형질도입될 수 있다. 형질감염 또는 형질도입된 숙주 세포는 배지에서 배양될 수 있다. 배지에는 프로모터를 유도하고, 형질감염 또는 형질도입된 세포를 선별하고, 또는 원하는 서열을 코딩하는 유전자를 발현하기 위한 하나 이상의 제제가 보충될 수 있다.
- [0491] 발현된 TA는 숙주 세포의 주변세포질로 분비되어 그로부터 수거되거나 배양 배지로 운반될 수 있다. 주변세포질로부터 단백질을 회수는 숙주 세포를 파괴하는 단계를 수반할 수 있다. 숙주 세포의 파괴 단계는 삼투압 충격, 음파 처리 또는 용균을 포함할 수 있다. 원심분리 또는 여과는 세포 잔해 또는 전세포를 제거하는데 이용될 수 있다. TA는 예를 들어 친화성 수지 크로마토그래피에 의해 추가로 정제될 수 있다.
- [0492] 별법으로, 배양 배지로 분비된 TA는 그 안에서 단리될 수 있다. 세포를 배양물로부터 제거하고 생산된 단백질을 추가로 정제하기 위해 배양물 상등액을 여과하고 농축할 수 있다. 발현된 폴리펩티드는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동(PAGE) 및 웨스턴 블롯 분석과 같은 통상적으로 공지된 방법을 이용하여 추가로 단리하고 확인될 수 있다.
- [0493] TA는 발효 과정에 의해 대량으로 생산될 수 있다. 대규모의 다양한 유가 배양식 발효법이 재조합 단백질 생산에 이용 가능하다. 대규모 발효는 적어도 1000리터 용량, 바람직하게는 약 1,000 내지 100,000리터의 용량을 가진다. 이러한 발효기는 산소 및 영양분, 특히 글루코스(바람직한 탄소/에너지원)을 분배하기 위해 교반기 임펠러를 사용할 수 있다. 소규모 발효는 용적이 대략 100리터 이하인 발효기에서의 발효를 나타내며, 약 1리터 내지 약 100리터 범위를 가질 수 있다.
- [0494] 발효 과정에서, 단백질 발현의 유도는 통상적으로 세포가 적합한 조건하에서 원하는 밀도, 예를 들어 세포가 초기 정지 상에 있는 단계에서 OD550이 약 180 내지 220으로 배양된 후에 개시된다. 다양한 유도 인자는, 당 업계에 공지되고 본원에서 기재된 바와 같이, 이용되는 벡터 구조물에 따라 사용될 수 있다. 세포는 유도 전에 더 짧은 기간 동안 배양될 수 있다. 세포는 대개 약 12 내지 50시간 동안 유도되지만 더 길거나 더 짧은 유도 시간이 이용될 수 있다.
- [0495] 본원에서 개시된 TA의 생산 수율 및 질을 향상시키기 위해서, 여러 발효 조건이 조정될 수 있다. 예를 들어, 분비되는 TA 폴리펩티드의 적합한 조립 및 폴딩을 향상시키기 위해, 샤페론 단백질, 예를 들어 Dsb 단백질(DsbA, DsbB, DsbC, DsbD 및/또는 DsbG) 또는 FkpA(샤페론 활성을 가진 펩티딜프롤릴 시스,트랜스-이소머라아제)를 과다발현하는 추가의 벡터가 숙주 원핵 세포를 동시 형질감염시키는데 사용될 수 있다. 샤페론 단백질은 세균 숙주 세포에서 생산된 이중 단백질의 적합한 폴딩 및 용해도를 촉진시키는 것으로 증명되어졌다.
- [0496] 발현된 이중 단백질(특히 단백질 분해에 민감한 것들)의 단백질 분해를 최소화하기 위해서, 단백질 분해 효소가 결핍된 특정 숙주 균주가 본 개시에 사용될 수 있다. 예를 들어, 숙주 세포 균주는 공지된 세균 프로테아제, 예를 들어 프로테아제 III, OmpT, DegP, Tsp, 프로테아제 I, 프로테아제 Mi, 프로테아제 V, 프로테아제 VI 및 이들의 조합을 코딩하는 유전자에 유전자 변이(들)를 가져오도록 변형될 수 있다. 일부 이.콜라이 프로테아제 결핍 균주가 이용 가능하다.

- [0497] 당 업계에 공지된 표준 단백질 정제 방법이 이용될 수 있다. 다음 절차는 적합한 대표적인 정제 절차이다: 면역 친화성 또는 이온 교환 컬럼 상에서 분류, 에탄올 침전, 역상 HPLC, 실리카 크로마토그래피 또는 DEAE와 같은 양이온 교환 수지 크로마토그래피, 크로마토포커싱, SDS-PAGE, 황산암모늄 침전, 수산인회석 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석, 및 친화성 크로마토그래피, 및 예를 들어 세파텍스 G-75를 이용한 겔 여과.
- [0498] TA는 구입 가능한 단백질 농축 필터, 예를 들어 아미콘(Amicon) 또는 밀리포어(Millipore) 펠리콘(Pellicon[®]) 한외 여과 유닛을 이용하여 농축될 수 있다.
- [0499] 프로테아제 억제제 또는 프로테아제 억제제 카테일이 TA의 단백질 분해를 억제하는 상기 임의 단계에서 포함될 수 있다.
- [0500] 어떤 경우에는, TA 또는 이의 단편은 단리 시 생물학적으로 활성을 띠지 않을 수 있다. 폴리펩티드를 그의 3차 구조로 "리폴딩" 또는 전환시켜 이황화 결합을 생성하는 여러 가지 방법을 이용하여 생물학적 활성을 회복시킬 수 있다. 이러한 방법은 가용화된 폴리펩티드를 대개 7보다 높은 pH와 특정 농도의 카오트로프 존재하에 노출시키는 단계를 포함한다. 카오트로프의 선택 방법은 봉입체 가용화에 사용되는 선택 방법과 매우 유사하지만, 대개 카오트로프는 더 낮은 농도에서 사용되며 가용화에 사용되는 카오트로프와 반드시 동일하지는 않다. 리폴딩/산화 용액은 또한 특정 비율의 환원제 또는 환원제와 그의 산화된 형태를 포함하여 특정 산화환원 전위를 생성하여 단백질의 시스테인 가교(들)이 형성되도록 이황화 서플링을 가능하게 할 수 있다. 통상적으로 사용되는 일부 산화환원 커플에는 시스테인/시스테인, 글루타티온(GSH)/디티오비스 GSH, 염화제이구리, 디티오프레이톨(DTT)/디티안 DTT, 및 2-머캅토에탄올(bME)/디-티오-b(ME)이 포함된다. 많은 경우에, 보조용매를 사용하여 리폴딩의 효율을 증가시킬 수 있으며, 상기 목적에 사용되는 통상적인 시약에는 글리세롤, 다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜, 아르기닌 등이 포함된다. 완충제의 선택은 리폴딩된 펩티드의 3차원 구조를 결정할 수 있다. 황산암모늄을 포함하는 완충제를 사용하여 결과적으로 원하는 리폴딩된 펩티드를 다른 유형의 완충제에서보다 더 우수한 수율로 얻을 수 있다.
- [0501] **키트/제품(제조물품)**
- [0502] 추가적인 측면으로서, 본 개시는 본 개시의 방법을 실시하는데 그들의 사용을 용이하게 하는 방식으로 포장된 하나 이상의 화합물 또는 조성물을 포함하는 키트를 포함한다. 한 실시양태에서, 이러한 키트는 본 방법을 실시하는데 화합물 또는 조성물의 사용을 설명하는 용기에 부착된 라벨 또는 포장 삽입물과 함께 용기에 포장된 본원에 기재된 화합물 또는 조성물(예를 들어 mTA 단독, 또는 제2 제제와 함께)을 포함한다. 적합한 용기는 예를 들어, 병, 바이알, 주사기 등을 포함한다. 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 재료로 만들어질 수 있다. 용기는 멸균 접속구를 가질 수 있다(예를 들어 용기는 피하 주사 바늘로 관통될 수 있는 마개가 있는 정맥 내 용액 백 또는 바이알일 수 있다). 제품은 (a) 본원에서 개시된 mTA를 포함하는 조성물을 포함하는 제1 용기, 및 (b) 추가의 치료제를 포함하는 조성물을 포함하는 제2 용기를 포함할 수 있다. 본원에서 개시된 본 실시양태에서 제품은 제1 및 제2 조성물이 특정 병태를 치료하는데 사용될 수 있다는 것을 지시하는 포장 삽입물을 더 포함할 수 있다. 별법으로, 또는 추가적으로, 제품은 약학적으로 허용 가능한 완충제, 예를 들어, 주사용 정균수(BWFI), 인산완충 식염수, 링커액 및 텍스트로스 용액을 포함하는 제2(또는 제3) 용기를 더 포함할 수 있다. 제품은 기타 완충액, 희석액, 충전제, 바늘 및 주사기를 포함하여 상업적이고 이용자의 입장에서 바람직한 기타 재료를 더 포함할 수 있다. 바람직하게는, 화합물 또는 조성물은 단위 투여 형태로 포장될 수 있다. 키트는 특정 투여 경로에 따라 조성물을 투여하거나 스크리닝 분석을 실시하기에 적합한 장치를 더 포함할 수 있다. 바람직하게는, 키트는 변형된 치료제 조성물의 용도를 설명하는 라벨을 포함한다.
- [0503] 어떤 실시양태에서, 변형된 치료제를 포함하는 조성물은 통상의 절차에 따라 포유동물, 예를 들어 인간, 젖소, 고양이, 개, 및 쥐에 정맥 내 투여를 위해 조정된 약학 조성물로서 제제화된다. 전형적으로, 정맥 내 투여를 위한 조성물은 멸균의 등장 수성 완충액 중의 용액이다. 필요한 경우, 조성물은 또한 가용화제 및 주사부위의 통증을 완화하기 위한 국소마취제, 예를 들어 리도카인을 포함할 수 있다. 일반적으로, 구성성분은 개별적으로 또는 함께 혼합되어, 단위 투여 형태로 예를 들어, 활성제의 양을 나타내는 앰플 또는 사세트와 같이 밀봉된 용기 내에 동결건조된 건조 분말 또는 수분 없는 농축물로서 제공된다. 조성물이 주입에 의해 투여되는 경우, 의약품 등급의 멸균수 또는 멸균 식염수를 포함하는 주입 병으로 분배될 수 있다. 조성물이 주사에 의해 투여되는 경우, 주사용 멸균수 또는 식염수의 앰플이 구성성분이 투여되기 전에 혼합될 수 있도록 제공될 수 있다.
- [0504] 단백질의 이상 발현 및/또는 활성과 연관된 질환 또는 장애의 치료, 억제 및 예방에 효과적일 수 있는 본원에서 기재된 조성물의 양은 표준 임상 기술에 의해 결정될 수 있다. 게다가, 시험관 내 분석이 선택적으로 이용되어

최적의 투여량 범위를 확인하는 것을 도울 수 있다. 제형에 이용되는 정확한 용량은 또한 투여 경로, 및 질환 또는 장애의 심각도에 따라 결정될 수 있으며, 의사의 판단 및 각 환자의 상황에 따라 결정되어야 한다. 효과적인 투여량은 시험관 내 또는 동물 모델 시험 시스템으로부터 유도된 용량 반응 곡선으로부터 추론된다.

- [0505] **정의**
- [0506] 본원에서 사용된 하기 용어는 달리 명시되지 않는다면 다음 의미를 나타낸다.
- [0507] "아미노"는 $-NH_2$ 라디칼을 나타낸다.
- [0508] "시아노" 또는 "니트릴"은 $-CN$ 라디칼을 나타낸다.
- [0509] "히드록시" 또는 "히드록실"은 $-OH$ 라디칼을 나타낸다.
- [0510] "니트로"는 $-NO_2$ 라디칼을 나타낸다.
- [0511] "옥소"는 $=O$ 치환기를 나타낸다.
- [0512] "옥심"은 $=N-OH$ 치환기를 나타낸다.
- [0513] "티옥소"는 $=S$ 치환기를 나타낸다.
- [0514] "알킬"은 직선형 또는 분지형 탄화수소 사슬 라디칼을 나타내며, 1 내지 30개의 탄소 원자를 가지며, 단일 결합에 의해 나머지 분자에 부착된다. 1 내지 30개 중 임의의 개수의 탄소 원자를 포함하는 알킬이 포함된다. 최대 30개의 탄소원자를 포함하는 알킬은 C_1-C_{30} 알킬로 나타내며, 유사하게, 예를 들어, 최대 12개의 탄소 원자를 포함하는 알킬은 C_1-C_{12} 알킬이다. 다른 개수의 탄소원자를 포함하는 알킬(및 본원에서 정의된 기타 잔기)은 유사하게 나타낸다. 알킬기는 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 이에 제한되지 않는다. 대표적인 알킬기는 메틸, 에틸, *n*-프로필, 1-메틸에틸 (*이소*-프로필), *n*-부틸, *i*-부틸, *s*-부틸, *n*-펜틸, 1,1-디메틸에틸 (*t*-부틸), 3-메틸헥실, 2-메틸헥실, 비닐, 알릴, 프로피닐 등을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 불포화를 포함하는 알킬은 알케닐 및 알키닐기를 포함한다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는다면, 알킬기는 하기와 같이 선택적으로 치환될 수 있다.
- [0515] "알킬렌" 또는 "알킬렌 사슬"은 상기 알킬에 기재된 바와 같이 직선형 또는 분지형 2가 탄화수소 사슬이다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는다면, 알킬렌기는 하기와 같이 선택적으로 치환될 수 있다.
- [0516] "알콕시"는 화학식 $-OR_a$ 의 라디칼을 나타내며, 여기서 R_a 는 정의된 바와 같이 알킬 라디칼이다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는다면, 알콕시기는 하기와 같이 선택적으로 치환될 수 있다.
- [0517] "아릴"은 수소, 6 내지 30개의 탄소 원자 및 적어도 하나의 방향족 고리를 포함하는 탄화수소 고리계로부터 유래된 라디칼을 나타낸다. 아릴 라디칼은 모노시클릭, 비시클릭, 트리시클릭 또는 테트라시클릭 고리계일 수 있으며, 이들은 축합되거나 가교된 고리계를 포함할 수 있다. 아릴 라디칼은 아세안트릴렌, 아세나프틸렌, 아세페난트릴렌, 안트라센, 아줄렌, 벤젠, 크리센, 플루오란텐, 플루오렌, *as*-인다센, *s*-인다센, 인단, 인텐, 나프탈렌, 페날렌, 페난트렌, 플레이아덴, 피렌, 및 트리페닐렌의 탄화수소 고리계로부터 유래된 아릴라디칼을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는다면, 용어 "아릴" 또는 접두사 "아르-"(예를 들어 "아르알킬")는 선택적으로 치환된 아릴 라디칼을 포함하는 것을 의미한다.
- [0518] "시클로알킬" 또는 "카보사이클"은 안정한, 비방향족, 모노시클릭 또는 폴리시클릭 카보시클릭 고리를 나타내며, 이들은 축합 또는 가교된 고리계를 포함할 수 있고, 포화 또는 불포화이다. 대표적인 시클로알킬 또는 카보사이클은 3 내지 15개, 3 내지 10개, 3 내지 8개, 3 내지 6개, 3 내지 5개, 또는 3 내지 4개의 탄소 원자를 가진 시클로알킬을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 모노시클릭 시클로알킬 또는 카보사이클은 예를 들어, 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵틸, 및 시클로옥틸을 포함한다. 폴리시클릭 시클로알킬 또는 카보사이클은 예를 들어 아다만틸, 노르보닐, 데칼리닐, 비시클로[3.3.0]옥탄, 비시클로[4.3.0]노난, 시스-데칼린, 트랜스-데칼린, 비시클로[2.1.1]헥산, 비시클로[2.2.1]헵탄, 비시클로[2.2.2]옥탄, 비시클로[3.2.2]노난, 및 비시클로[3.3.2]데칸, 및 7,7-디메틸-비시클로[2.2.1]헵타닐을 포함한다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는다면, 시클로알킬 또는 카보사이클 기는 선택적으로 치환될 수 있다. 시클로 알킬기의 예시는 하기 잔기를 포함하나 이에 제한되지 않는다:



[0519]

[0520]

"축합된(융합된)"은 기존의 고리 구조에 축합된 본원에 기재된 임의의 고리 구조를 나타낸다. 축합된 고리가 헤테로시클릴 고리 또는 헤테로아릴 고리일 때, 축합된 헤테로시클릴 고리 또는 축합된 헤테로아릴 고리의 일부분이 되는 기존의 고리 구조 상에 임의의 탄소 원자는 질소 원자로 대체될 수 있다.

[0521]

"할로" 또는 "할로젠"은 브로모, 클로로, 플루오로 또는 요오도를 나타낸다.

[0522]

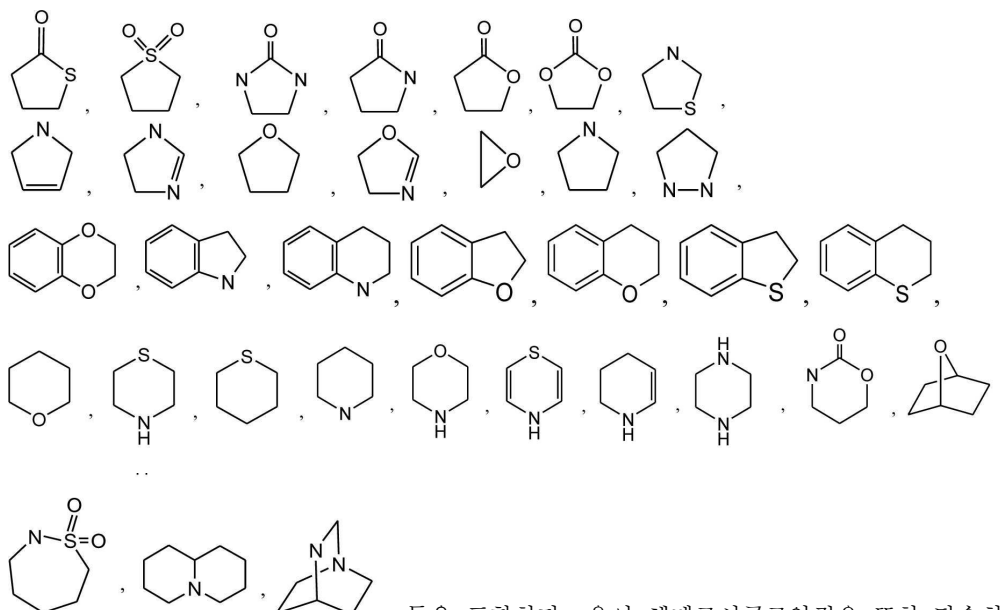
"할로알킬"은 상기에 정의된 하나 이상의 할로 라디칼, 예를 들어 트리플루오로메틸, 디플루오로메틸, 플루오로메틸, 트리클로로메틸, 2,2,2-트리플루오로에틸, 1,2-디플루오로에틸, 3-브로모-2-플루오로프로필, 1,2-디브로모에틸 등으로 치환된 상기에 정의된 알킬 라디칼을 나타낸다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는다면, 할로알킬기는 선택적으로 치환될 수 있다.

[0523]

"할로알콕시"는 유사하게 화학식 $-OR_a$ 의 라디칼을 나타내며, 여기서 R_a 는 정의된 바와 같이 할로알킬 라디칼이다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는다면, 할로알콕시기는 하기와 같이 선택적으로 치환될 수 있다.

[0524]

"헤테로시클로알킬" 또는 "헤테로시클릴" 또는 "헤테로시클릭 고리" 또는 "헤테로사이클"은 2 내지 23개의 탄소 원자 및, 질소, 산소, 인 및 황으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 8개의 이종원자를 포함하는 안정한 3 내지 24 원자 비-방향족 고리 라디칼을 나타낸다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는다면, 헤테로시클릴 라디칼은 모노시클릭, 비시클릭, 트리시클릭 또는 테트라시클릭 고리계일 수 있으며, 이들은 축합 또는 가교된 고리계를 포함할 수 있고, 헤테로시클릴 라디칼 내 질소, 탄소 또는 황 원자는 선택적으로 산화될 수 있고, 질소 원자는 선택적으로 4가화(quaternized)될 수 있고, 헤테로시클릴 라디칼은 부분적으로 또는 완전히 포화될 수 있다. 이러한 헤테로시클릴 라디칼의 예는 아제티딘, 디옥솔라닐, 티에닐[1,3]디티아닐, 데카히드로이소퀴놀릴, 이미다졸리닐, 이미다졸리디닐, 이소티아졸리디닐, 이속사졸리디닐, 모르폴리닐, 옥타히드로인돌릴, 옥타히드로이소인돌릴, 2-옥소피페라지닐, 2-옥소피페리디닐, 2-옥소피롤리디닐, 옥사졸리디닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 4-피페리도닐, 피롤리디닐, 피라졸리디닐, 퀴누클리디닐, 티아졸리디닐, 테트라히드로푸릴, 트리티아닐, 테트라히드로피라닐, 티오모르폴리닐, 티아모르폴리닐, 1-옥소-티오모르폴리닐, 1,1-디옥소-티오모르폴리닐, 12-클라운-4, 15-클라운-5, 18-클라운-6, 21-클라운-7, 아자-18-클라운-6, 디아자-18-클라운-6, 아자-21-클라운-7, 및 디아자-21-클라운-7을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는다면, 헤테로시클릴기는 선택적으로 치환될 수 있다. 비-방향족 헤테로사이클로도 나타내는 헤테로시클로알킬기의 예시는

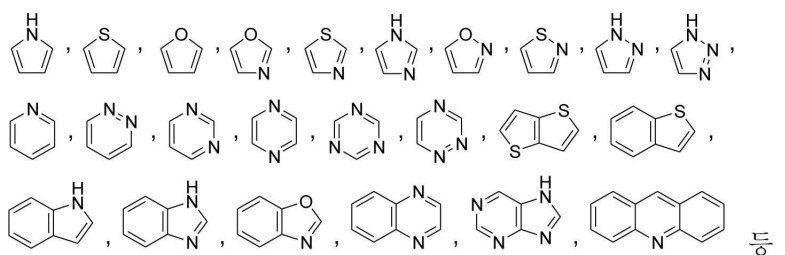


등을 포함한다. 용어 헤테로시클로알킬은 또한 탄수화물의 모든 고리 형태를 포함하며, 이는 단당류, 이당류, 및 올리고당을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 달리 언급되지 않는다면, 헤테

테로시클로알킬은 고리 내 2 내지 10개의 탄소를 가진다. 헤테로시클로알킬 내 탄소 원자 개수를 언급할 때, 헤테로시클로알킬 내 탄소 원자의 개수는 헤테로시클로알킬(즉, 헤테로시클로알킬 고리의 골격 원자)을 구성하는 전체 원자(이종원자 포함) 개수와 동일하지 않다는 것을 이해해야 한다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는다면, 헤테로시클로알킬기는 선택적으로 치환될 수 있다.

[0525]

본원에서 사용되는 용어 "헤테로아릴"은, 단독 또는 조합하여, 약 5개 내지 약 20개의 골격 고리 원자를 포함하는 선택적으로 치환된 방향족 모노라디칼을 나타내며, 여기서 하나 이상의 고리 원자는 산소, 질소, 황, 인, 규소, 셀레늄 및 주석으로부터 독립적으로 선택된 이종원자이지만 상기 원자에 제한되지 않으며, 단, 상기 기의 고리는 두 개의 인접한 O 또는 S 원자를 포함하지 않는다. 두 개 이상의 이종원자가 고리 안에 존재하는 실시양태에서, 두 개 이상의 이종원자는 서로 동일할 수 있거나, 두 개 이상의 이종원자의 일부 또는 전부는 각각 서로 상이할 수 있다. 용어 헤테로아릴은 적어도 하나의 이종원자를 가진 선택적으로 치환 축합된 및 비축합된 헤테로아릴 라디칼을 포함한다. 또한, 용어 헤테로아릴은 5 내지 약 12개의 골격 고리 원자를 가진 것뿐 아니라 5 내지 약 10개의 골격 고리 원자를 가진 축합 및 비축합 헤테로아릴을 포함한다. 헤테로아릴기에 결합은 탄소 원자 또는 이종원자를 통해서 일어날 수 있다. 따라서, 비제한적인 예로서, 이미디아졸기는 그의 임의의 탄소 원자를 통해(이미다졸-2-일, 이미다졸-4-일 또는 이미다졸-5-일), 또는 그의 질소 원자를 통해(이미다졸-1-일 또는 이미다졸-3-일) 모분자에 부착될 수 있다. 유사하게, 헤테로아릴기는 그의 모든 탄소 원자 또는 그의 모든 이종원자를 통해 더 치환될 수 있다. 축합된 헤테로아릴 라디칼은 부착 고리가 헤테로 방향족 고리이고 나머지 각 고리들이 지방족 고리, 헤테로고리, 방향족, 헤테로방향족 또는 이들의 임의의 조합일 수 있는 2 내지 4개의 축합된 고리를 포함할 수 있다. 단일 고리 헤테로아릴기의 비제한적인 예는 피리딜을 포함하고, 축합된 고리 헤테로아릴기는 벤즈이미다졸릴, 퀴놀리닐, 아크리디닐을 포함하고, 비축합된 비-헤테로아릴기는 비피리디닐을 포함한다. 헤테로아릴의 또 다른 예는 제한 없이 푸라닐, 티에닐, 옥사졸릴, 아크리디닐, 아제피닐, 페나지닐, 벤즈이미다졸릴, 벤즈인돌릴, 벤조푸라닐, 벤조푸라노닐, 벤조사졸릴, 벤조티아졸릴, 벤조티아디아졸릴, 벤조티오펜닐, 벤조사디아졸릴, 벤조디옥솔릴, 벤조[*b*][1,4]디옥세피닐, 1,4-벤조디옥사닐, 벤조나프토푸라닐, 벤조트리아졸릴, 벤조디옥솔릴, 벤조디옥시닐, 벤조피라닐, 벤조피라노닐, 벤조티에닐 (벤조티오펜닐), 벤조[4,6]이미다조[1,2-*a*]피리디닐, 카바졸릴, 시놀리닐, 디벤조푸라닐, 디벤조티오펜닐, 푸라노닐, 이미다졸릴, 인돌릴, 이속사졸릴, 이소퀴놀리닐, 인돌리지닐, 인다졸릴, 이소인돌릴, 인돌리닐, 이소인돌리닐, 인돌리지닐, 이소티아졸릴, 이소인돌릴옥사디아졸릴, 인다졸릴, 나프티리디닐, 옥사디아졸릴, 2-옥사제피닐, 옥시라닐, 1-옥시도피리디닐, 1-옥시도피리미디닐, 1-옥시도피라지닐, 1-옥시도피리다지닐, 1-페닐-1 $\#$ -피롤릴, 페노티아지닐, 페녹사지닐, 피리디닐, 피리다지닐, 피리미디닐, 피라지닐, 피롤릴, 피라지닐, 피라졸릴, 푸리닐, 프탈라지닐, 프테리디닐, 퀴놀리닐, 퀴나졸리닐, 퀴녹살리닐, 퀴누클리디닐, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 티아졸릴, 트리아졸릴, 티아디아졸릴, 테트라히드로퀴놀리닐, 티아졸릴 및 티오펜닐 등, 및 그들의 산화물, 예를 들어 피리딜-N-옥시드를 포함한다. 헤테로아릴기의 예시는 다음 잔기를 포함한다:



[0526]

[0527]

상기 모든 기는 치환되거나 비치환될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "치환된"은 상기 임의의 기(예를 들어, 알킬, 알킬렌, 알콕시, 아릴, 시클로알킬, 할로알킬, 헤테로시클릴 및/또는 헤테로아릴)는 적어도 하나의 수소 원자가 결합에 의해 비-수소 원자 치환기로 대체되어 추가로 작용화될 수 있다는 것을 의미한다. 명세서에서 구체적으로 언급되지 않는다면, 치환기는 옥소, 아미노, $-CO_2H$, 니트릴, 니트로, 히드록실, 티오펜옥소, 알킬, 알킬렌, 알콕시, 아릴, 시클로알킬, 헤테로시클릴, 헤테로아릴, 디알킬아민, 아릴아민, 알킬아릴아민, 디아릴아민, 트리알킬암모늄($-NR_3^+$), N-옥시드, 이미드, 및 에나민; 트리알킬실릴기, 디알킬아릴실릴기, 알킬디아릴실릴기, 트리아릴실릴기와 같은 기에서 규소 원자, 퍼플루오로알킬 또는 퍼플루오로알콕시, 예를 들어, 트리플루오로메틸 또는 트리플루오로메톡시로부터 선택된 하나 이상의 치환기를 포함할 수 있다. 또한, "치환된"은 하나 이상의 수소 원자가 이종원자, 예를 들어 옥소, 카보닐, 카복실, 및 에스테르기에서 산소; 이민, 옥심, 히드라존, 및 니트릴과 같은 기에서 질소에 고차 결합(예를 들어, 이중 또는 삼중 결합)에 의해 대체되는 상기의 임의의 기를 의미한다. 예를 들어, "치환된"은 하나 이상의 수소 원자가 $-NH_2$, $-NR_gC(=O)NR_gR_h$, $-NR_gC(=O)OR_h$, $-NR_gSO_2R_h$,

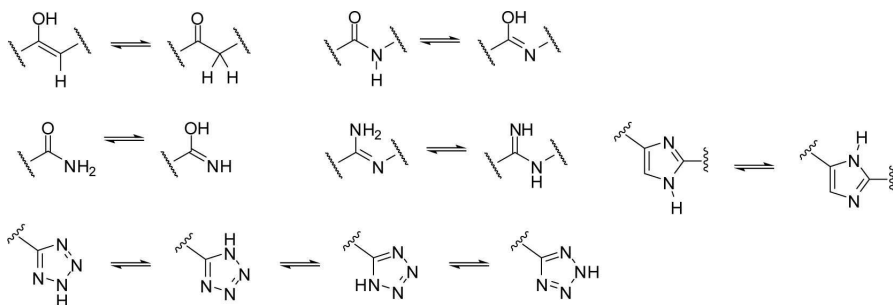
$-OC(=O)NR_gR_h$, $-OR_g$, $-SR_g$, $-SOR_g$, $-SO_2R_g$, $-OSO_2R_g$, $-SO_2OR_g$, $=NSO_2R_g$, 및 $-SO_2NR_gR_h$ 으로 치환된 상기 임의의 기를 포함한다. 상기에서, R_g 및 R_h 는 동일하거나 상이하고 독립적으로 수소, 알킬, 알콕시, 알킬아미노, 티오알킬, 아릴, 아르알킬, 시클로알킬, 시클로알킬알킬, 할로알킬, 헤테로시클릴, *N*-헤테로시클릴, 헤테로시클릴알킬, 헤테로아릴, *N*-헤테로아릴 및/또는 헤테로아릴알킬이다. 게다가, 상기 치환기의 각각은 하나 이상의 상기 치환기로 선택적으로 치환될 수도 있다. 뿐만 아니라, 상기 임의의 기는 하나 이상의 내부 산소, 황, 또는 질소 원자를 포함하도록 치환될 수 있다. 예를 들어, 알킬기는 하나 이상의 내부 산소 원자로 치환되어 에테르 또는 폴리에테르기를 형성할 수 있다. 유사하게, 알킬기는 하나 이상의 내부 황 원자로 치환되어 티오에테르, 디설피드 등을 형성할 수 있다.

[0528]

용어 "선택적인" 또는 "선택적으로"는 계속하여 설명되는 사건 또는 상황이 일어날 수 있거나 일어나지 않을 수 있다는 것을 의미하고, 설명은 상기 사건 또는 상황이 일어나는 경우, 일어나지 않는 경우를 포함한다는 것을 의미한다. 예를 들어, "선택적으로 치환된 알킬"은 상기에 정의된 바와 같이 "알킬" 또는 "치환된 알킬"을 의미한다. 또한, 선택적으로 치환된 기는 비치환되거나(예를 들어, $-CH_2CH_3$), 완전히 치환되거나(예를 들어, $-CF_2CF_3$), 단일 치환되거나(예를 들어, $-CH_2CH_2F$) 또는 완전한 치환과 단일 치환 사이에 어느 수준으로든 치환될 수 있다(예를 들어, $-CH_2CHF_2$, $-CH_2CF_3$, $-CF_2CH_3$, $-CFHCHF_2$ 등). 하나 이상의 치환기를 포함하는 임의의 기와 관련하여 당업자는 이러한 기가 입체구조적으로 불가능하고/거나 합성 가능하지 않은 임의의 치환 또는 치환 양상(예를 들어, 치환된 알킬은 선택적으로 치환된 시클로알킬기를 포함하며, 이것은 차례로 선택적으로 치환된 알킬기를, 가능성 있게는 무한정 포함하는 것으로 정의된다)을 도입하고자 하는 것은 아님을 이해할 것이다. 따라서, 기재된 임의의 치환기는 일반적으로 약 1,000 달톤, 보다 전형적으로, 최대 약 500 달톤의 최대 분자량을 갖는 것으로 이해되어야 한다.

[0529]

"호변 이성질체"는 분자의 한 원자로부터 동일한 분자의 또 다른 원자로의 양성자 이동을 나타낸다. 본원에서 제시된 화합물은 호변 이성질체로서 존재할 수 있다. 호변 이성질체는 단일 결합과 인접한 이중 결합의 교환에 의해 수반되는 수소 원자의 이동에 의해 상호전환되는 화합물이다. 호변 이성질체화가 가능한 결합 배열에서, 호변 이성질체의 화학적 평형이 존재할 것이다. 본원에서 개시된 화합물의 모든 호변 이성질 형태가 고려된다. 호변 이성질체의 정확한 비율은 온도, 용매, 및 pH를 포함한 여러 가지 인자에 따라 결정된다. 호변 이성질체의 호환성의 일부 예는



[0530]

[0531]

본원에서 개시된 화합물의 "대사물질"은 화합물이 대사될 때 형성되는 화합물의 유도체이다. 용어 "활성인 대사물질"은 화합물이 대사될 때 형성되는 화합물의 생물학적으로 활성인 유도체를 나타낸다. 본원에서 사용되는 용어 "대사된다"는 특정 물질이 생물체에 의해 변화되는 과정(가수분해 반응 및 효소에 의해 촉매되는 반응, 예를 들어 산화 반응을 포함하나 이에 제한되지 않음) 전체를 나타낸다. 따라서, 효소는 화합물에 특이적인 구조적 변화를 가져올 수 있다. 예를 들어 사이토크롬 P450은 다양한 산화 및 환원 반응을 촉매하는 한편, 우리딘 이인산 글루쿠로닐 트랜스퍼라제는 활성화된 글루쿠론산 분자를 방향족 알코올, 지방족 알코올, 카복실산, 아민 및 유리 설프히드릴기에 전달하는 것을 촉매한다. 대사에 대한 추가 정보는 문헌(The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th Edition, McGraw-Hill (1996))으로부터 얻을 수 있다. 본원에서 개시된 화합물의 대사물질은 화합물을 숙주에 투여하고 숙주 세포부터의 조직 시료의 분석에 의해, 또는 간세포와 화합물의 시험관 내 인큐베이션과 생성 화합물의 분석에 의해 확인될 수 있다. 두 방법 모두는 당 업계에 잘 알려져 있다. 화합물의 대사물질은 산화 과정에 의해 형성되어 상응하는 히드록시 함유 화합물에 해당할 수 있다. 화합물은 하나 이상의 약리학적으로 활성인 대사물질로 대사될 수 있다.

[0532]

본원에서 사용되는 펩티드의 "유도체"는 지질 부착을 허용하는 변형된 펩티드(예를 들어 하나 이상의 아미노산 잔기 치환 또는 L vs D-아미노산 치환), 단편, 하나 이상의 추가의 아미노산을 가진 유사체, 펩티드의 복합체

및/또는 응집체를 나타내나 이에 제한되지는 않는다. 펩티드의 유도체는 펩티드에 대하여 적어도 50% 상동성을 갖는 상동체일 수 있다. 펩티드의 유도체는 펩티드에 대하여 적어도 60% 상동성을 갖는 상동체일 수 있다. 펩티드의 유도체는 펩티드에 대하여 적어도 70% 상동성을 갖는 상동체일 수 있다. 펩티드의 유도체는 펩티드에 대하여 적어도 80% 상동성을 갖는 상동체일 수 있다. 펩티드의 유도체는 적어도 90% 상동성을 갖는 상동체일 수 있다.

[0533] "치료하는" 또는 "치료" 또는 "치료하다" 또는 "완화하는" 또는 "완화하다"는 1) 진단받은 병리학적 상태 또는 장애의 증상을 치유, 지연, 감소 시키고/거나 그의 진행을 중단시키는 치료 조치, 및/또는 2) 목표로 하는 병리학적 상태 또는 장애의 발전을 예방 및/또는 지연시키는 예방 또는 방지 조치를 나타낼 수 있다. 따라서, 치료를 필요로 하는 대상은 이미 장애를 가진 대상, 장애를 가지기 쉬운 대상, 및 장애가 예방되어야 하는 대상을 포함한다.

[0534] "아미노산"은 천연 및 합성 아미노산뿐 아니라 천연 아미노산과 유사하게 기능을 하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모방체를 나타낸다. 천연 아미노산은 유전 코드에 의해 코딩되는 것뿐만 아니라 이후에 변형되는 아미노산, 예를 들어 히드록시프롤린, 감마-카복시글루타메이트, 및 O-포스포세린이다. 아미노산 유사체는 천연 아미노산과 동일한 기본 구조, 예를 들어 수소, 카복실기, 아미노기, 및 R기에 결합된 알과 탄소를 가진 화합물, 예를 들어 호모세린, 노르류신, 메티오닌 설폭시드, 메티오닌 메틸 설포늄을 나타낸다. 이러한 유사체는 변형된 R기(예를 들어 노르류신) 또는 변형된 펩티드 골격을 가지지만 천연 아미노산과 동일한 기본 화학적 구조를 유지할 수 있다. 아미노산 모방체는 아미노산의 일반적인 화학 구조와 상이한 구조를 가지지만 천연 아미노산과 유사하게 기능을 하는 화학 화합물을 나타낸다.

[0535] 본원에서 사용되는 용어 "치료제" 또는 "펩티드 치료제"는 또 다른 단백질, 펩티드, 세포 또는 조직의 활성을 조절하는 단백질 또는 펩티드를 나타낸다. 활성을 조절한다는 것은 단백질, 펩티드, 세포 또는 조직의 활성 또는 발현을 증가, 감소, 촉진, 또는 방지한다는 것을 포함할 수 있다. 치료제는 질환 또는 장애의 병인과 관련된 단백질 또는 펩티드의 활성을 조절할 수 있다. 대표적인 TA는 호르몬, 키나아제, 수용체, 리간드, 성장인자, 조절 단백질, 대사 단백질, 사이토카인, 케모카인, 인터페론, 포스파타제, 항체 또는 이들의 임의의 조합의 적어도 일부분을 포함할 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.

[0536] "장애" 또는 "질환"은 본원에서 개시된 물질/분자(예를 들어 본원에서 개시된 mTA) 또는 방법을 이용한 치료가 유익한 병태를 나타낸다. 이것은 포유동물이 문제가 되는 장애에 잘 걸리게 하는 병리학적 상태를 포함하는 만성 및 급성 장애 또는 질환을 포함한다.

[0537] "치료"는 치료받는 개인 또는 세포의 자연 과정을 변경하려는 시도에 있어 임상적 개입을 나타내며, 예방을 위해 또는 임상적 병리 과정에서 실시될 수 있다. 치료의 바람직한 효과는 질환 발생 또는 재발의 방지, 증상의 완화, 질환의 직접적인 또는 간접적인 모든 병리학적 결과의 감소, 전이의 예방, 질환의 진행 속도 감소, 질환 상태의 개선 또는 완화, 및 관해 또는 개선된 예후를 포함한다.

[0538] 치료 목적을 위한 "포유동물"은 포유동물로 분류된 모든 동물을 나타내며, 인간, 설치류(예를 들어, 마우스 및 랫트) 및 원숭이; 가축; 및 동물원 동물, 스포츠 동물, 실험실 동물, 또는 애완동물, 예를 들어 개, 고양이, 소, 말, 양, 돼지, 염소, 토끼 등을 포함한다. 일부 실시양태에서, 포유동물은 인간, 설치류, 또는 원숭이로부터 선택된다.

[0539] "약학적으로 허용 가능한"은 연방 또는 주 정부 관리기관에 의해 승인받았거나 승인 가능하거나 인간을 포함한 동물에서의 사용에 대해 미국 약전 또는 기타 통상적으로 인정되는 약전에 열거되어 있다는 것을 나타낸다.

[0540] "약학적으로 허용 가능한 염"은 약학적으로 허용 가능하며 모 화합물의 바람직한 약리학적 활성을 가진 화합물의 염을 나타낸다.

[0541] "약학적으로 허용 가능한 부형제, 담체 또는 보조제"는 본 개시의 적어도 하나의 항체와 함께 피형제에 투여될 수 있으며, 치료량의 화합물을 전달하기에 충분한 용량으로 투여될 때 그의 약리학적 활성을 파괴하지 않으면서 비독성인 부형제, 담체 또는 보조제를 나타낸다.

[0542] "약학적으로 허용 가능한 비히클"은 본 개시의 적어도 하나의 항체와 함께 투여되는 희석제, 보조제, 부형제, 또는 담체를 나타낸다.

[0543] 용어 "변형된 치료제," "mTA," "지질 접합체," 및 "LC"는 호환적으로 사용될 수 있다. 이들 용어는 반감기 연장 부분에 부착된 치료제(TA)를 나타낼 수 있다.

[0544] 실시예

[0545] 실시예 1. 변이 S26C 및 S29C를 가진 CBD 융합체로서 B쇄와 A쇄 사이에 링커를 가진 재조합 릴렉신2의 제작 및 발현

[0546] 본 실험의 목적은 A쇄와 B쇄 사이에 GGGRGGR(서열 번호 68) 링커를 가지며 변이 S26C 및 S29C를 가진 재조합 릴렉신2를 제작하여 발현하는 것이다.

[0547] 재료

[0548] 본 실험에 사용된 재료는 다음을 포함한다.

[0549] pVB008 릴렉신2 링커 선형

[0550] pVB008 릴렉신2 링커 선형 S26C

[0551] pVB008 릴렉신2 링커 선형 S29C

[0552] 표 6에 개시된 서열 번호 38-46의 올리고(Oligo) 저장액 100 μ M

[0553] [도 4]는 pVB008 릴렉신2 링커 벡터의 개략도를 도식한다.

[0554] 단계 1. 어셈블링(assembling) PCR - 릴렉신 단편의 증폭

[0555] 야생형 릴렉신 단편, 또는 S26C 또는 S29C 변이를 가진 릴렉신 단편을 생성하기 위한 PCR 반응은 다음과 같다.

시약	반응 1 (μ l)	반응 2 (μ l)	반응 3 (μ l)	반응 4 (μ l)
올리고 믹스	1	2	4	8
5x 완충액	20	20	20	20
10mM dNTP	4	4	4	4
원 택(One Taq)	1	1	1	1
H ₂ O	74	73	61	67

[0556]

[0557] 단계 2. PCR 프로그램

[0558] 릴렉신2 단편(야생형, S26C 및 S29C)을 다음 PCR 프로그램을 실시하여 증폭하였다:

[0559] 94℃-2분, 이어서 사이클 94℃-15초, 42℃-30초, 및 68℃-15초 20회

[0560] 릴렉신2 단편의 PCR 산물을 0.8% 아가로스 겔에서 이동시켰다. [도 5]에 나타난 바와 같이, 레인 1, 6 및 11은 100 bp 사다리를 포함하고, 레인 2-5는 각각 S26C 올리고 믹스 단계 1의 반응 1-4 반응물을 포함하고, 레인 7-10은 각각 S29C 올리고 믹스 단계 1의 반응 1-4 반응물을 포함한다.

[0561] 단계 3. 릴렉신2 링커의 증폭

[0562] 릴렉신2 링커를 생성하는 PCR 반응을 다음과 같이 준비하였다.

시약	반응 1 (μ l)	반응 2 (μ l)	반응 3 (μ l)
어셈블링 믹스	1	2	4
5x 완충액	20	20	20
10mM dNTP	4	4	4
10 μ M 프라이머 믹스	4	4	4
원 택	1	1	1
H ₂ O	70	69	67

[0563]

[0564] 10 μ M 프라이머 믹스는 릴렉신2 정방향 프라이머(pVB008 릴렉신2 Amp for (#60): AATCTGTATTTCACGGGATCCGGTGGTGA = 서열 번호 64) 및 릴렉신2 역방향 프라이머(릴렉신2 링커 Amp rev (#211) TGGCTAAGCTTTAGCAGAAACGAGCCAGAGAACGTTTGGTGCAACCAACGTGGC = 서열 번호 65)를 포함하였다. 단계 2의 PCR 증폭된 반응 1 믹스를 어셈블링 믹스에 사용하였다.

[0565] 다음 PCR 프로그램을 실시하여 릴렉신2 링커를 증폭하였다: 94℃-2분, 이어서 사이클 94℃-15초, 52℃-15초, 및

68℃-60초 25회.

- [0566] 릴렉신2 링커 증폭의 PCR 산물을 0.8% 아가로스 겔에서 이동시켰다. [도 6]에 나타난 바와 같이, 레인 1은 100bp 사다리를 포함하고, 레인 2는 S29C 단계 3의 반응 1을 포함하고, 레인 3은 S29C 단계 3의 반응 2를 포함하고, 레인 4는 S29C 단계 3의 반응 3을 포함한다.
- [0567] 단계 4. 벡터 pVB008 및 pAC145의 절단
- [0568] 릴렉신2 링커 PCR 산물을 삽입하기 위한 벡터를 제조하기 위하여 벡터 pVB008 및 pAC145의 제한효소 절단을 실시하였다. 제한효소 절단은 다음과 같이 준비하였다:
- [0569] 20 μ l pVB008/pAC045
- [0570] 10 μ l 10x 완충액 #4
- [0571] 2 μ l HindIII-HF
- [0572] 2 μ l BamHI-HF
- [0573] 66 μ l H₂O
- [0574] 제한효소 절단 반응은 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다.
- [0575] 단계 5. 삽입체의 절단
- [0576] pVB008 및 pAC145 벡터에 삽입하기 위한 PCR 산물을 제조하기 위하여 릴렉신2 링커 PCR 산물(야생형, S26C, 및 S29C)의 제한효소 절단을 실시하였다:
- [0577] 20 μ l 전장의 단편
- [0578] 10 μ l 10x 완충액 #4
- [0579] 2 μ l HindIII-HF
- [0580] 2 μ l BamHI-HF
- [0581] 66 μ l H₂O
- [0582] 제한효소 절단 반응은 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다.
- [0583] 단계 6. 겔 정제
- [0584] pVB008 절단된 벡터, pAC145 절단된 벡터 및 릴렉신2 링커 삽입체를 아가로스 겔에서 이동시켰다. [도 7]에 나타난 바와 같이, 레인 1은 1kb 사다리를 포함하고, 레인 2는 절단된 pVB008 벡터를 포함하고, 레인 3은 절단된 pAC145 벡터를 포함하고, 레인 4는 100 bp 사다리를 포함하고, 레인 5는 릴렉신2-링커 삽입체를 포함하고, 레인 6은 릴렉신2 S26C-링커 삽입체를 포함하고 레인 7은 릴렉신2 S29C-링커 삽입체를 포함한다. 절단된 벡터 및 릴렉신2 PCR 산물을 제조사(NucleoSpin Gel and PCR Cleanup Macherey-Nagel)의 지시에 따라 겔 정제하였다.
- [0585] 단계 7. 결찰/형질전환
- [0586] 겔 정제된 절단된 벡터(벡터 dg) 및 절단된 PCR 산물(릴렉신-2 선형 dg(삽입체)를 다음 결찰 반응에 의해 결찰하였다:
- [0587] 5 μ l 벡터 dg
- [0588] 1 μ l 릴렉신2 선형 dg(삽입체)
- [0589] 2 μ l 10x 완충액
- [0590] 1 μ l T4 DNA 리가아제
- [0591] 11 μ l H₂O
- [0592] 결찰 반응을 실온(RT)에서 1시간 동안 인큐베이션하였다.
- [0593] 이어서 결찰된 산물을 사용하여 NEB 터보 컴피턴트 세포(NEB turbo Competent cell)를 형질전환시켰고, 2 μ l의

결찰 반응물로 NEB 터보 컴피턴트 세포를 프로토콜에 따라 형질전환시켰다. 형질전환된 세포를 LB/Kan 플레이트에 플레이트하였다.

[0594] 5개의 콜로니를 선택하여 5ml LB +Kan에 접종하였다. 세포를 37℃에서 6시간 동안 배양하였다.

[0595] 단계 8. 서열분석을 위한 DNA의 제조

[0596] 뉴클레오 스피ن DNA 미니 프랩(NucleoSpin DNA Mini Prep)(Macherey-Nagel)을 이용하여 프로토콜에 따라 5개의 각 배양물 1.5ml로부터 DNA를 제조하였다. 릴렉신2가 pVB008 및 pAC145 벡터에 삽입된 것을 확인하기 위하여 DNA 서열분석을 실시하였다.

[0597] 단계 9. 릴렉신 펩티드의 발현 및 정제

[0598] 상기 펩티드를 코딩하는 뉴클레오타이드 벡터를 가진 유리형 HEK293 세포의 일시적인 형질감염을 통해 릴렉신 또는 변형된 릴렉신 펩티드를 발현하였다. 발현된 펩티드를 배양 배지로 분비시키고 형질감염 후 48시간 및 96시간에 회수하였다. 용합 단백질을 단백질 A/G 크로마토그래피(Thermo Fisher Scientific, IL)에 의해 정제하고, SDS-PAGE 겔로 분석하였다. [도 8]은 릴렉신 및 릴렉신 변이체의 발현의 SDS-PAGE 겔을 나타낸다. [도 8]에 나타난 바와 같이, 레인 1 및 17은 단백질 표준을 나타내고, 레인 2-6은 pCAC0095 용해액, 세척 1, 세척 2, 세척 4 및 봉입체를 각각 나타내고, 레인 7-11은 pCAC0096 용해액, 세척 1, 세척 2, 세척 4 및 봉입체를 각각 나타내고, 레인 12-16은 pCAC0097 용해액, 세척 1, 세척 2, 세척 4 및 봉입체를 각각 나타낸다. PCAC0095는 GGGRGG(서열 번호 69) 링커 및 N-말단 8xHis(서열 번호 70)을 가진 야생형 릴렉신을 나타낸다. PCAC0096은 GGGRGG(서열 번호 69) 링커 및 N-말단 8xHis(서열 번호 70)을 가진 S26C 릴렉신을 나타낸다. PCAC0097은 GGGRGG(서열 번호 69) 링커 및 N-말단 8xHis(서열 번호 70)을 가진 S29C 릴렉신을 나타낸다. [도 9]에 나타난 바와 같이, 레인 1 및 6은 단백질 표준을 나타내고, 레인 2-5는 pCAC002 로드, 통과액, 세척액 및 비드를 각각 나타낸다. PCAC002는 N-말단에 CBD 태그를 가진 야생형 릴렉신을 나타낸다.

[0599] **실시예 2. 릴렉신 펩티드의 생물활성의 측정.**

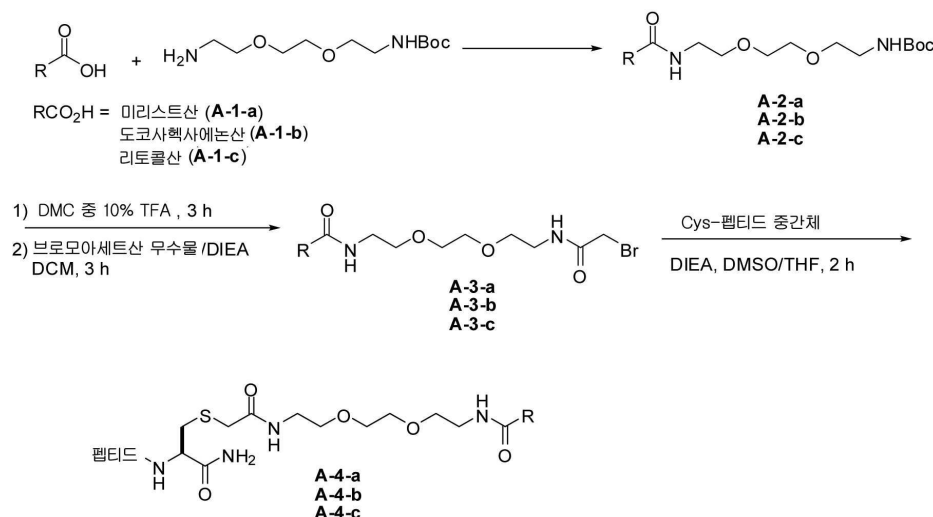
[0600] 릴렉신2는 고류신 반응을 포함하는 GPCR(즉, LGR7(RFXR1))을 통해 신호전달한다. 야생형 릴렉신 펩티드의 생물활성은 재조합 LGR7을 안정적으로 발현하는 HEK293T 세포에서 아데닐레이트 시클라제 활성의 측정을 기초로 하여 측정하였다. 안정한 LGR7 발현 세포는 200 ng/ml 제오신(Zeocin)(Invitrogen)이 보충된 돌베코 수정 이글 배지(Dulbecco's modified Eagle's medium)/F-12 배지에서 유지시켰다. 시클릭 AMP 반응 요소 유도된 루시퍼라제(CRE-Luc) 리포터 세포주는 상기 LGR7 발현 HEK293T 세포를 CRE-Luc 렌티바이러스(Qiagen)로 렌티바이러스 형질도입에 의해 생성하고 퓨로마이신(2 µg/mL)으로 2주간 선별하였다. 리포터 유전자 분석을 이용하여 cAMP 수준 및 릴렉신에 의한 LGR7 활성화를 검출하였다.

[0601] 분석의 상세 내용: LGR7 및 CRE-Luc를 발현하는 HEK293T 세포를 384웰 솔리드 바닥 백색 플레이트(solid bottom white plate)에 10% FBS를 함유하는 돌베코 수정 이글 배지/F-12 배지 50 µl에 웰 당 5×10^3 세포 밀도로 접종한다. 세포를 37℃에서 하룻밤 동안 미리 인큐베이션한다. 다양한 농도의 릴렉신 펩티드(0.01nM 내지 1000nM)을 3회 반복하여 첨가하고, 18시간 동안 인큐베이션하고, 10 µl의 브라이트 글로(Bright Glo)(Promega)를 첨가하여 루시퍼라제 활성을 측정하였다. 인비전(Envision)(Perkin Elmer)으로 발광도를 기록하였다. 비선형 곡선 맞춤(fitting) 후 EC₅₀을 계산한다(릴렉신 H2의 용량 반응 곡선은 [도 3]을 참조한다). 선별 데이터는 표 2 및 3에 나타낸다.

[0602] **실시예 3. 폐길화된 지질(아미드 결합) 접합된 릴렉신의 합성(방식 A).**

[0603] *방식 A.*

[0604] 방식 A



[0605]

[0606] *tert*-부틸 (2-(2-(2-테트라데칸아미도에톡시)에톡시)에틸)카바메이트 (A-2-a).

[0607] *N*-*t*-Boc-아미도-dPEG3-아민(0.5 g, 2.0 mmol)을 10 ml의 건조 DMF 중 미리스트산(0.46 g, 2.0 mmol) 용액에 첨가하고, 이어서 HATU(0.8 g, 2.1 mmol) 및 DIEA(0.45 mL, 2.4 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 6시간 동안 교반하고 용매를 진공하에 증발시켰다. 조물질을 EtOAc에 용해시키고, 냉각 1% HCl, 포화 NaHCO₃ 및 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조하고, 여과하고 농축하였다. 조물질을 헥산 중 구배 25-50% EtOAc로 실리카겔 상에서 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 0.83g의 목표 화합물을 백색 고체로서 얻었다(수율 90%). m/z(ESI⁺) 459.6 (M+H).

[0608] *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).

[0609] *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 DIEA(0.22 mL, 건조 DMF(5 mL) 중 1.2 mmol)를 사용하여 A-2-a에 대한 절차와 유사한 조건을 이용하여 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).

[0610] *tert*-부틸 (2-(2-(2-((R)-4-((3R,5R,8R,9S,10S,13R,14S,17R)-3-히드록시-10,13-디메틸헥사테카히드로-1H-시클로펜타[a]펜탄렌-17-일)펜탄아미도)에톡시)에톡시)에틸)카바메이트 (A-2-c).

[0611] *N*-*t*-Boc-아미도-dPEG3-아민(0.14 g, 0.55 mmol)을 5 ml의 건조 DMF 중 NHS-활성화된 리토콜산 에스테르(0.24 g, 0.5 mmol) 용액에 첨가하고, 이어서 DIEA(0.18 mL, 1.0 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하고, 용매를 진공 하에 증발시켰다. 조물질을 DCM에 용해시키고, 냉각 1% HCL, 포화 NaHCO₃ 및 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조하고, 여과하고 농축한다. 조물질을 DCM 중 구배 1-5% 메탄올로 실리카겔 상에서 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 0.48의 목표 화합물을 백색 고체로서 얻었다(수율 80%). 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).

[0612] *N*-(2-(2-(2-브로모아세트아미도)에톡시)에톡시)에틸)테트라데칸아미드 (A-3-a)

[0613] TFA(2 mL, 26 mmol)를 10 ml의 DCM 중 A-2-a(0.46 g, 1 mmol) 용액에 첨가하고 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축하고, 조물질을 동결건조하여 10 ml의 DCM에 용해시켜 무색 오일을 수득하였다. 브로모아세트산 무수물(0.31 g, 1.2 mmol)을 첨가하고, 이어서 DIEA(0.52 mL, 2.5 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 DCM 및 EtOAc로 추출하고, 1% HCl, 포화 NaHCO₃ 및 염수로 세

척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조하고, 여과하고 농축하였다. 조물질을 5% 메탄올을 포함한 석유 에테르 중 구배 20-50% EtOAc로 실리카겔 상에서 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 0.37 g의 목표 화합물을 백색 고체로서 수득하였다(두 단계에 걸쳐 합한 수율, 78%). 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).

[0614] (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).

[0615] 표제 화합물을 A-3-a에 대한 절차와 유사한 조건을 이용하여 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).

[0616] (R)-N-(2-(2-(2-(2-브로모아세트아미도)에톡시)에톡시)에틸)-4-((3R,5R,8R,9S,10S,13R,14S,17R)-3-히드록시-10,13-디메틸헥사데카히드로-1H-시클로펜타[a]페난트렌-17-일)펜탄아미드 (A-3-c).

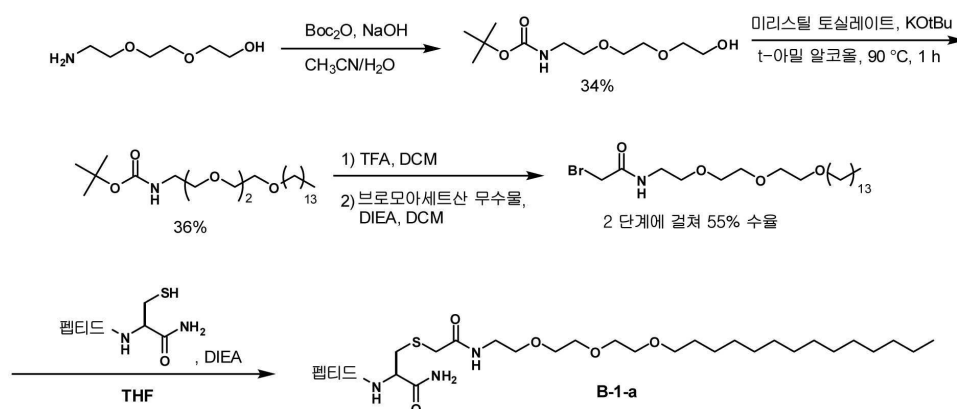
[0617] A-2-a를 A-2-c로 대체하여 A-3-a에 대한 절차와 유사한 조건을 이용하여 표제 화합물을 제조하였다. 수율 87%, 백색 고체. ¹H NMR (500 MHz; CDCl₃): δ 0.83 (t, J = 4.0 Hz, 3H), 0.85-0.94 (m, 6H), 1.00-1.91 (m, 28H), 3.41-3.64 (m, 12H), 3.85-3.88 (m, 2H), 4.86-4.94 (m, 1H), 6.05 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 7.04 (s, 1H); m/z(ESI+) 628.6(M+H).

[0618] 지방산 또는 담즙산으로 유도체화된 펩티드의 합성 (A-4-a, A-4-b, 또는 A-4-c).

[0619] Cys 펩티드 중간체(1 당량)를 DMSO에 용해시키고 THF에 용해된 A-3-a, A-3-b, 또는 A-3-c 중 어느 하나(2 당량)와 반응시키고, 이어서 DIEA(3 부피%)를 첨가한다. 반응 완료를 HPLC-MS로 평가한다. TFA를 첨가하여 최종 pH 4로 반응을 चेचि하고, 용리액 (A) 물 중 0.05% TFA 및 (B) 아세트니트릴 중 0.05% TFA, 이어서 용리액의 구배 (B): 10%(1분) 40-55%(10분) 유속 80 ml/분을 이용하여 예비 역상 HPLC에 의해 직접 정제한다. 정제된 펩티드를 동결건조하고, 구조 및 순도를 분석 HPLC 및 전기 분무 질량 분광 측정법에 의해 확인한다.

[0620] 실시예 4. 폐길화된 지질(에테르 결합) 접합된 릴렉신의 합성 (방식 B-1 및 B-2).

[0621] 방식 B-1



[0622]

[0623] 4.8 mL의 아세트니트릴/물(6:1) 중 2-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)에탄올(100 mg, 0.671 mmol, 89 μl) 용액을 di-tert-부틸 디카보네이트(151 mg, 0.691 mmol)로 처리하고, 이어서 0.5 mL의 1 N NaOH(aq)을 처리하였다. 실온에서 45분간 교반한 후, 유기 용매를 진공 하에 제거하고, 잔사를 포화 NH₄Cl(aq)에 용해시키고, 목표하는 카바메이트를 EtOAc로 추출하였다. EtOAc를 제거하여 57 mg(34% 수율)의 tert-부틸 2-(2-(2-히드록시에톡시)에톡시)에탄올을 수득하였다.

시)에틸카바메이트를 무색 오일로서 얻었다.

[0624]

1.4 mL의 *t*-아밀 알코올 중 *tert*-부틸 2-(2-(2-히드록시에톡시)에톡시)에틸카바메이트(68.5 mg, 0.275 mmol)와 미리스틸 토실레이트(101 mg, 0.275 mmol)의 용액을 포타슘 *tert*-부톡사이드(61.6 mg, 0.550 mmol) 및 요오드화 칼륨(4.6 mg, 0.028 mmol)으로 처리하였다. 90℃에서 2시간 동안 가열한 후, 반응을 실온으로 냉각시키고, 포화 NH₄Cl(aq)로 켄치한 후, EtOAc로 추출하고 Na₂SO₄ 상에서 건조하였다. 농축하고 계속하여 실리카겔 상에서 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 44 mg(36% 수율)의 *tert*-부틸 2-(2-(2-(테트라데실옥시)에톡시)에톡시)에틸카바메이트를 무색 오일로서 얻었다.

[0625]

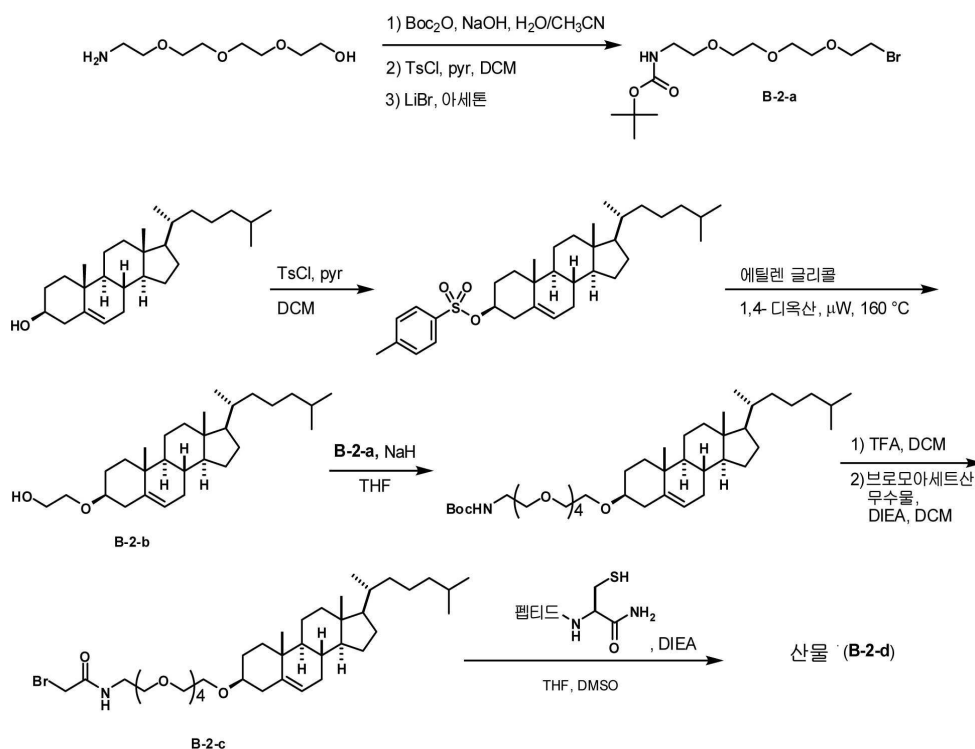
1.2 mL의 DCM 중 *tert*-부틸 2-(2-(2-(테트라데실옥시)에톡시)에톡시)에틸카바메이트(26 mg, 0.058 mmol) 용액을 0.29 mL의 트리플루오로아세트산으로 처리하였다. 실온에서 50분간 교반한 후, 혼합물을 농축하고 2 mL DCM에 다시 용해시켰다. 상기 용액의 1 mL 분액을 개별 바이알에 넣고, 0℃로 냉각시키고, 계속하여 브로모아세트산 무수물(10.3 mg, 0.040 mmol) 및 DIEA(11 μl, 0.063 mmol)로 채웠다. 실온에서 12시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 7.5mg(2 단계에 걸쳐 55% 수율)의 2-브로모-*N*-(2-(2-(2-(테트라데실옥시)에톡시)에톡시)-에틸)아세트아미드를 황백색의 고체로서 얻었다.

[0626]

DMSO(4 mM) 중 Cys-펩티드 중간체(1 당량)의 용액을 THF(5.4 mM) 중 2-브로모-*N*-(2-(2-(2-(테트라데실옥시)에톡시)에톡시)-에틸)아세트아미드(2.1 당량) 및 DIEA(114 당량)로 처리한다. 반응이 완료되면, 반응 혼합물을 예비 역상 HPLC로 정제하여 지질 접합체(B-1-a)를 얻는다.

[0627]

방식 B-2



[0628]

[0629]

tert-부틸 2-(2-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)에톡시)에틸카바메이트 (B-2-a)

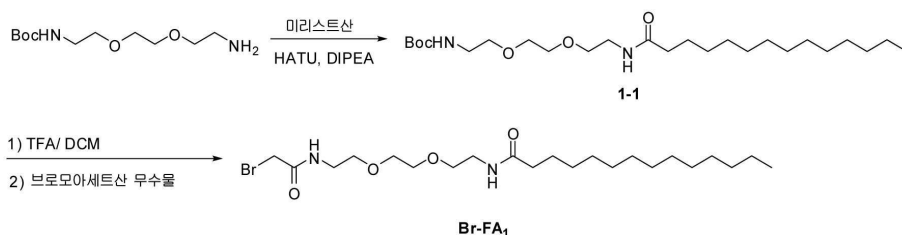
[0630]

15 mL의 아세트니트릴/물(6:1) 중 2-(2-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)에톡시)에탄올(400 mg, 2.07 mmol, 0.33 mL) 용액을 디-*tert*-부틸 디카보네이트(603 mg, 2.77 mmol)로 처리하고, 이어서 2.8 mL의 1 N NaOH(aq)으로 처리하였다. 실온에서 45분간 교반한 후, 유기 용매를 진공 하에 제거하고, 잔사를 포화 NH₄Cl(aq)에 용해시키고, 목표하는 카바메이트를 EtOAc로 추출하였다. EtOAc를 제거하여 조 카바메이트를 무색 오일로서 얻었다.

[0631]

상기 오일을 DCM에 용해시키고 *p*-톨루엔설퍼닐 클로라이드(1.18 g, 6.21 mmol) 및 피리딘(0.84 mL, 10.4 mmol)으로 처리하였다. 40℃에서 12시간 동안 교반한 후, 혼합물을 DCM으로 희석하고, 1N HCl(2 x 10 mL), H₂O(10 mL), 및 염수(10 mL)로 세척한 후, Na₂SO₄ 상에서 건조하고 농축하였다. 실리카겔 상에서 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 330 mg(2단계에 걸쳐 36% 수율)의 토실레이트를 무색 오일로서 얻었다.

- [0632] 3.1 mL 무수 아세톤 중 토실레이트(203 mg, 0.453 mmol) 용액을 LiBr(385 mg, 4.53 mmol)으로 처리하였다. 60℃에서 8시간 동안 교반한 후, 용매를 제거하고 생성된 잔사를 EtOAc에 용해시켰다. 유기 혼합물을 물로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 실리카겔 상에서 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 126 mg(78% 수율)의 표제 화합물을 무색 오일로서 얻었다.
- [0633] 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-테트라데카히드로-1*H*-시클로펜타[*a*]페난트렌-3-일옥시)에탄올 (**B-2-b**).
- [0634] 4 mL DCM 중 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. 실온에서 12시간 동안 교반한 후, 혼합물을 DCM으로 희석하고 1*N* HCl(2 x 5 mL), H₂O(5 mL), 및 염수(5 mL)로 세척한 후, Na₂SO₄ 상에서 건조하고, 진공 하에 농축하였다. 클로로포름 및 메탄올로부터 재결정화하여 1.66 g(79% 수율)의 토실레이트 중간체를 백색 고체로서 얻었다.
- [0635] 7.7 mL의 1,4-디옥산 중 토실레이트 중간체(500 mg, 0.926 mmol)로 채워진 마이크로웨이브 바이알을 2.6 mL의 에틸렌 글리콜로 처리하였다. 10분간 마이크로웨이브 조사에 의해 160℃까지 가열한 후, 용매를 제거하고, 잔사를 클로로포름에 용해시키고 포화 NaHCO₃(5 mL), H₂O(5 mL), 및 염수(5 mL)로 세척한 후, Na₂SO₄ 상에서 건조한 후 진공 하에 농축하였다. 실리카겔을 이용한 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 조물질을 정제하여 270 mg(68% 수율)의 표제 화합물을 백색 고체로서 얻었다.
- [0636] 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-테트라데카히드로-1*H*-시클로펜타[*a*]페난트렌-3-일옥시)-3,6,9,12-테트라옥사테트라데실)아세트아미드 (**B-2-c**).
- [0637] 2.5 mL의 THF 중 **B-2-b**(219 mg, 0.509 mmol) 용액을 수소화나트륨(광유 중 60% 분산액, 20.4 mg, 0.509 mmol)으로 처리하고 30분간 교반하였다. 혼합물을 0℃로 냉각시키고 2.5 mL의 THF 중 **B-2-a**(139 mg, 0.392 mmol)을 처리하였다. 40℃에서 6시간 동안 가열한 후, 반응을 포화 NH₄Cl(aq)로 켄치하고 EtOAc로 추출하였다. 실리카겔을 이용한 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 조물질을 정제하여 101 mg(36% 수율)의 에테르 중간체를 무색 오일로서 얻었다.
- [0638] 2.1 mL의 DCM 중 에테르 중간체(74 mg, 0.105 mmol) 용액을 0.53 mL의 TFA를 처리하였다. 실온에서 40분간 교반한 후, 혼합물을 진공 하에 농축하고 10 mL DCM에 용해시켰다. 상기 용액의 4-mL 분액을 개별 바이알에 넣고, 1-mL 부피로 농축하고, 0℃로 냉각시키고, 브로모아세트산 무수물(13.6 mg, 0.053 mmol) 및 DIEA(15 μl, 0.088 mmol)로 채웠다. 실온에서 12시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 실리카겔을 이용한 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 직접 정제하여 12.6 mg(2단계에 걸쳐 41%)의 표제 화합물을 무색 오일로서 얻었다.
- [0639] 지질 접합체 **B-2-d**를 실시예 4, 방식 B-1의 지질 접합체 **B-1-a**와 유사한 방법으로 제조한다.
- [0640] **실시예 5. Br-FA₁의 제조.**



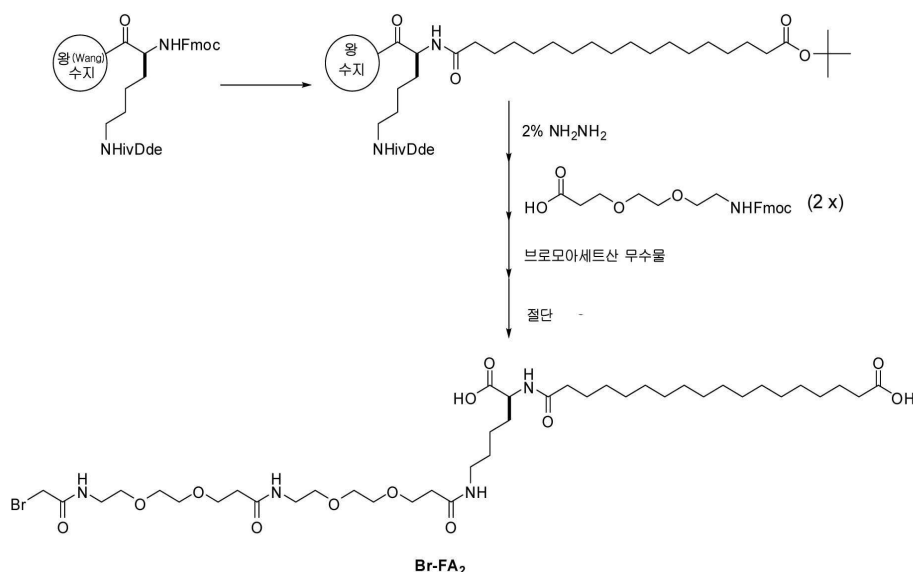
- [0641]
- [0642] 단계 A. *Tert*-부틸 (2-(2-(2-테트라데칸아미도에톡시)에톡시)에틸)카바메이트 (**1-1**).
- [0643] 미리스트산(0.46 g, 2 mmol)을 5 mL의 DMF에 용해시켰다. HATU(0.8 g, 2.1 mmol) 및 DIPEA(0.4 mL, 2.2 mmol)를 첨가한 후 Boc-NH-PEG2-COOH(0.5 g, 2 mmol)을 첨가하였다. 그 후 반응 혼합물을 6시간 동안 교반하고, 용매를 제거하였다. 산물을 EtOAc(3 x 15 mL)로 추출하였다. 유기층을 연속하여 포화 NaHCO₃, 냉각 HCl(1 M) 및 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 실리카겔 상에서 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 0.81g의 목표 화합물을 백색 고체로서 90% 수율로 얻었다. ESI-MS: 계산된 MW 458.4; 확인

459.6 [M+1]⁺.

[0644] 단계 B. *N*-(2-(2-(2-(2-브로모아세트아미도)에톡시)에톡시)에틸)테트라데칸아미드 (Br-FA₁).

[0645] DCM(10 mL) 중 **1-1**(0.23 g, 0.5 mmol) 용액을 TFA(2 mL)로 2시간 동안 처리하였다. 혼합물을 농축하고 이어서 브로모아세트산 무수물(0.14 g, 0.55 mmol), 10 mL의 DCM 중 DIPEA(0.17 mL, 1 mmol)을 0°C에서 첨가하였다. 그 후 반응 혼합물을 2시간 동안 교반하고, 용매를 제거하였다. 산물을 EtOAc(3 x 15 mL)로 추출하였다. 유기층을 연속하여 포화 NaHCO₃, 냉각 HCl(1 M) 및 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 실리카겔 상에서 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 0.2 g의 표제 화합물을 백색 고체로서 83% 산물 수율로 얻었다. ESI-MS: 계산된 MW 479.5; 확인 480.4 [M+1]⁺.

[0646] 실시예 6. Br-FA₂의 고상 합성



[0647]

[0648] 아미노산, 수지, 및 5mL의 DMF 중 DIPEA(70 μ L, 400 μ mol)을 혼합하고 30분간 교반하여 Fmoc-Lys(ivDde)-OH(60 mg, 100 μ mol)을 2-클로로트리틸 클로라이드 수지(Novabiochem)(100 mg, 80 μ mol)에 부착하였다. 그 후 수지를 DMF(3x), DCM(3x)로 세척하고 반응되지 않은 트리틸 클로라이드 부위를 차단하기 위해 CH₃OH/DCM/DIPEA(8:1:1)로 10분간 처리하고, 진공 하에 건조하여, 데시케이터에 보관하였다.

[0649] 상기 수지(50 mg, 40 μ mol)에 DMF(20%, 5 mL) 중 피페리딘을 첨가하였다. 혼합물을 1분간 흔들어준 후 액체를 따라냈다. 추가로 5 mL의 20% 피페리딘을 첨가하고 이번에는 혼합물을 15분간 흔들어 주었다. 양성 Ninhidrin 시험을 관찰하였다. 그 후 수지를 상기에 기재된 바와 같이 세척하였다.

[0650] 그 후 수지를 커플링 시약 HATU(76 mg, 200 μ mol), 및 DMF(5 mL) 중 DIPEA(35 μ l, 200 μ mol)을 이용하여 옥타데칸디오산 모노-*tert*-부틸 에스테르(AstaTech)(74 mg, 200 μ mol)로 2시간 동안 또는 음성 다프트린 시험이 관찰될 때까지 반복하여 처리하였다. DMF 및 DCM으로 세척한 후, 수지를 DMF 중 2% 히드라진(5 mL, 2 x 5분)으로 처리하였다. 양성 다프트린 시험을 관찰하였다. 그 후 수지를 상기에 기재된 바와 같이 세척하였다.

[0651] 그 후 수지를 HATU(76 mg, 200 μ mol), 및 DMF(5 mL) 중 DIPEA(35 μ L, 200 μ mol)을 이용하여 Fmoc-PEG2-프로 피온산(Quanta BioDesign)(80 mg, 200 μ mol)으로 2시간 동안 또는 음성 네히드린 시험이 관찰될 때까지 처리하였다. 그 후 수지를 상기에 기재된 바와 같이 세척하였다. 그 후 보호기를 제거하고 상기 단계를 반복하였다.

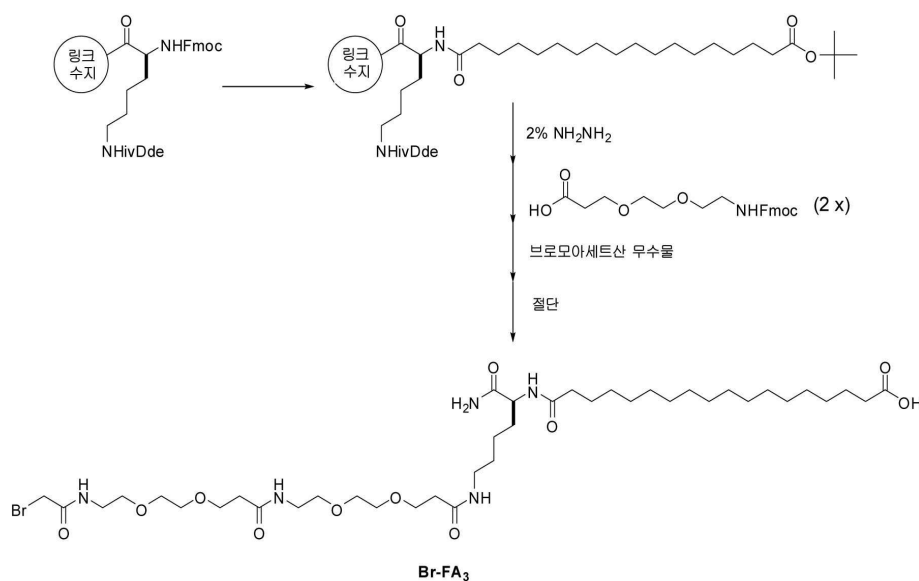
[0652] 그 후 수지를 브로모아세트산 무수물(55 mg, 200 μ mol), 및 2 mL의 DCM 중 DIPEA(35 μ l, 200 μ mol)로 처리하고 30분간 교반하였다. DCM(3x)으로 세척한 후, 10% H₂O 및 10% 트리이소프로필실란을 함유하는 DCM 중 10% TFA 5 mL를 이용하여 산물을 1시간 동안 수지로부터 절단하였다. 절단 후, TFA를 감압 하에서 제거하였다. 생성된 황색 잔사를 냉각 디에틸에테르로 수 회 세척하고 최종적으로 질소 흐름 하에서 조산물을 황색 분말로서 건조하였다.

[0653]

물(0.1% TFA) 중 50% CH₃CN의 최대 0.5 mL에 50 mg의 조산물을 용해시키고자 하였으나 성공하지 못하였다. 그래서, 대안으로서, 조펩티드(50 mg)를 DMSO(0.1 mL)에 용해시키고 상기 용액을 50% CH₃CN-물로 최종 부피 0.5 mL로 희석하였다. 용액을 여과하였다. 여과된 용액을 물(0.1% TFA) 중 10% CH₃CN으로 평형화된 예비 HPLC 컬럼(Phenomenex, Prep C18, 300A, 50 x 250 mm) 상에 로딩하고, 컬럼을 물(0.1% TFA) 중 10% CH₃CN(0.1% TFA)로 용리시켜 컬럼으로부터 DMSO를 세척하였다. 그 후 용리된 조성물을 1분에 걸쳐 35% CH₃CN-물(0.1%TFA)로 구배를 주고, 분당 0.5%의 CH₃CN(0.1% TFA) 속도로 물(0.1% TFA)로 선형 구배를 개시하여 50분간 흘려주었다. 용리된 분획을 분석 역상 C18 컬럼(Phenomenex, C18, 120A, 4.6 x 50 mm) 상에서 순도를 확인하고 >95% 순도로 산물을 포함하는 분획을 합하여 동결건조하여 표제 화합물(15 mg, 41% 수율)을 얻었다. 산물의 분자량을 ESI-MS로 분석하였다: 계산된 MW 880.9; 확인 881.3 [M+1]⁺, 882.6 [M+2]⁺.

[0654]

실시예 7. Br-FA₃의 고상 합성.



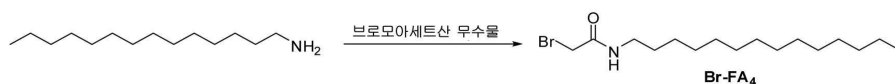
[0655]

[0656]

2-클로로트리틸 클로라이드 수지를 링크(link) 아미드 수지로 대체하여 표제 화합물을 Br-FA₂와 유사한 방법으로 제조하였다. 예비 HPLC에 의해 정제하고 동결건조하여 > 95% 순도로 백색 분말의 표제화합물을 약 45% 산물 수율로 얻었다. 펩티드의 분자량은 ESI-MS로 분석하였다: 계산된 MW 881.0; 확인 882.2 [M+1]⁺, 883.7 [M+2]⁺.

[0657]

실시예 8. Br-FA₄의 제조.

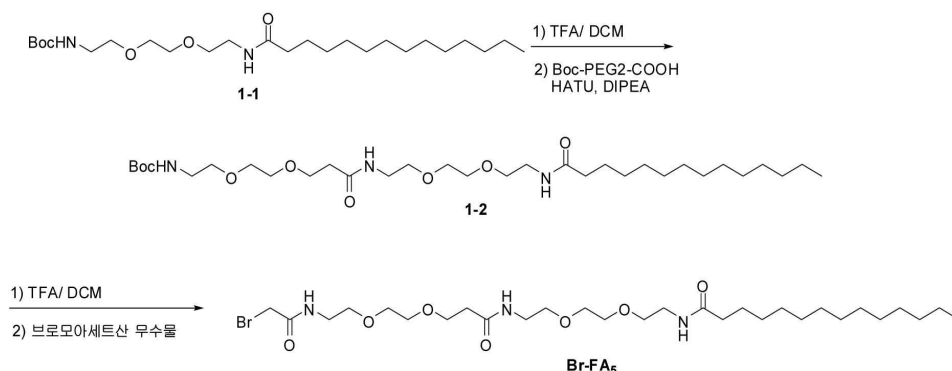


[0658]

[0659]

DCM(10 mL) 중 테트라테실아민(107 mg, 0.5 mmol) 용액을 브로모아세트산 무수물(0.14 g, 0.55 mmol), DIPEA(100 μ L, 0.55 mmol)로 0°C에서 처리하였다. 그 후 반응 혼합물을 2시간 동안 교반하고, 용매를 제거하였다. 산물을 EtOAc(3 x 15 mL)로 추출하였다. 유기층을 연속하여 포화 NaHCO₃, 냉각 HCl(1 M) 및 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 실리카겔 상에서 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 145mg의 표제 화합물을 백색 고체로서 87% 산물 수율로 얻었다. ESI-MS: 계산된 MW 334.3; 확인 335.6 [M+1]⁺.

[0660] 실시예 9. Br-FA₅의 제조.



[0661]

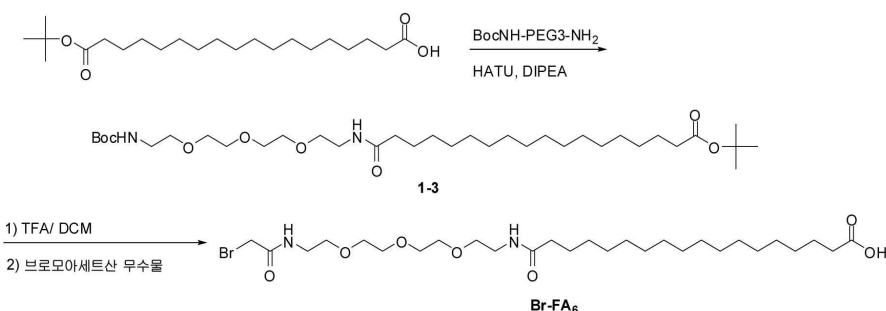
[0662] 단계 A. *Tert*-부틸 (9,20-디옥소-3,6,13,16-테트라옥사-10,19-디아자트리트리아콘틸)카바메이트 (1-2).

[0663] DCM(10 mL) 중 1-1(115 mg, 0.25 mmol) 용액을 TFA(2 mL)로 2시간 동안 처리하였다. 혼합물을 농축하고 이어서 Boc-NH-PEG2-산(70 mg, 0.25 mmol), HATU(95 mg, 0.25 mmol) 및 5 mL의 DMF 중 DIPEA(90 μ l, 0.5 mmol)을 첨가하였다. 그 후 반응 혼합물을 2시간 동안 교반하고 용매를 제거하였다. 산물을 EtOAc(3 x 15 mL)로 추출하였다. 유기층을 연속하여 포화 NaHCO₃, 냉각 HCl(1 M) 및 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 실리카겔 상에서 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 122 mg의 목표 화합물을 백색 고체로서 77% 산물 수율로 얻었다. ESI-MS: 계산된 MW 617.9; 확인 618.4 [M+1]⁺.

[0664] 단계 B. *N*-(1-브로모-2,12-디옥소-6,9,16,19-테트라옥사-3,13-디아자헨이코산-21-일)테트라데칸아미드 (Br-FA₅).

[0665] DCM(10 mL) 중 1-2(122 mg, 0.2 mmol) 용액을 TFA(2 mL)로 2시간 동안 처리하였다. 혼합물을 농축하고 이어서 브로모아세트산 무수물(52 mg, 0.2 mmol), 5 mL의 DCM 중 DIPEA(70 μ l, 0.4 mmol)을 0°C에서 첨가하였다. 그 후 반응 혼합물을 2시간 동안 교반하고, 용매를 제거하였다. 산물을 EtOAc(3 x 15 mL)로 추출하였다. 유기층을 연속하여 포화 NaHCO₃, 냉각 HCl(1 M) 및 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. HPLC에 의해 정제하여 88 mg의 표제 화합물을 백색 고체로서 69% 산물 수율로 얻었다. ESI-MS: 계산된 MW 638.7; 확인 639.4 [M+1]⁺.

[0666] 실시예 10. Br-FA₆의 제조.



[0667]

[0668] 단계 A. *tert*-부틸 (2-(2-(2-테트라데칸아미도에톡시)에톡시)에틸)카바메이트 (1-3).

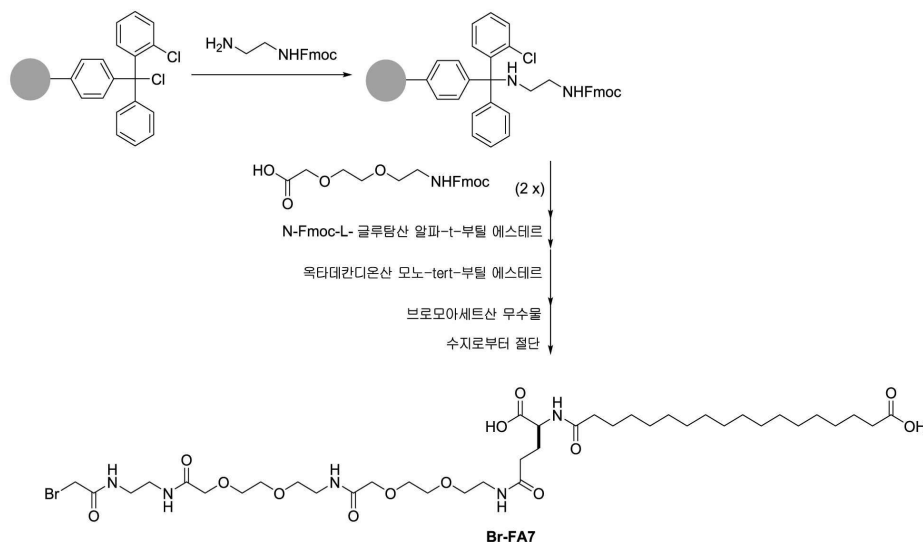
[0669] 옥타데칸디오산 모노-*tert*-부틸 에스테르산(0.18 g, 0.5 mmol)을 5 mL의 DMF에 용해시켰다. HATU(0.2 g, 0.55 mmol) 및 DIPEA(0.1 mL, 0.55 mmol)을 첨가하고 이어서 Boc-NH-PEG3-NH₂(0.12 g, 0.5 mmol)을 첨가하였다. 그 후 반응 혼합물을 6시간 동안 교반하고, 용매를 제거하였다. 산물을 EtOAc(3 x 10 mL)로 추출하였다. 유기층을 연속하여 포화 NaHCO₃, 냉각 HCl(1 M) 및 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 실리카겔 상에서 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 0.28 g의 *tert*-부틸 (2-(2-(2-테트라데칸아미도에

톡시)에톡시)에틸)카바메이트를 백색 고체로서 87% 산물 수율로 얻었다. ESI-MS: 계산된 MW 644.5; 확인 645.5 $[M+1]^+$.

[0670] 단계 B. 1-브로모-2,16-디옥소-6,9,12-트리옥사-3,15-디아자트리트리아콘탄-33-온산 (**Br-FA₆**).

[0671] DCM(2 mL) 중 **1-3**(65 mg, 0.1 mmol) 용액을 TFA(4 mL)로 4시간 동안 처리하였다. 혼합물을 농축하고 이어서 브로모아세트산 무수물(26 mg, 0.1 mmol), 5 mL의 DCM 중 DIPEA(35 μ l, 0.2 mmol)을 0°C에서 첨가하였다. 그 후 반응 혼합물을 2시간 동안 교반하고, 용매를 제거하였다. 산물을 HPLC로 정제하여 35 mg의 표제 화합물을 백색 고체로서 70% 산물 수율로 얻었다. ESI-MS: 계산된 MW 608.3; 확인 609.4 $[M+1]^+$.

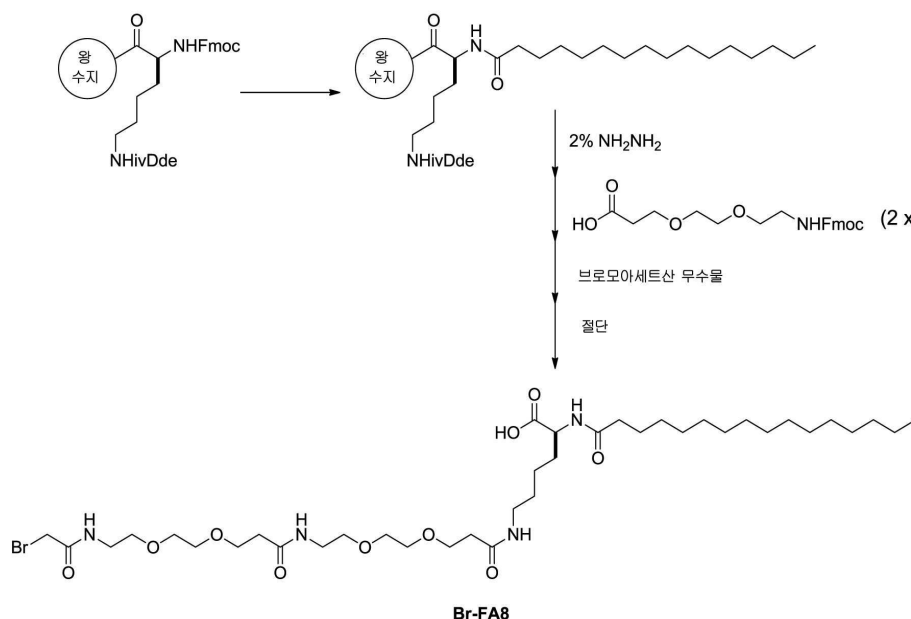
[0672] 실시예 11. **Br-FA₇**의 고상 합성.



[0673]

[0674] Fmoc-Lys(ivDde)-OH 및 Fmoc-PEG2-프로피온산을 모노-Fmoc 에틸렌 디아민 히드록로라이드 및 [2-[2-(Fmoc-아미노)에톡시]에톡시]아세트산으로 각각 대체하여 표제 화합물을 **Br-FA₂**와 유사한 방법으로 제조하였다. 예비 HPLC로 정제하고 동결건조하여 표제 화합물을 > 95% 순도의 백색 분말로서 약 25% 산물 수율로 얻었다. 펩티드의 분자량을 ESI-MS로 분석하였다: 계산된 MW 896.9; 확인 898.1 $[M+1]^+$.

[0675] 실시예 12. Br-FA8의 제조



[0676]

[0677] 옥타데칸디오산 모노-*tert*-부틸 에스테르를 팔미트산으로 대체하여 표제 화합물을 **Br-FA₂**와 유사한 방법으로 제조하였다. 예비 HPLC로 정제하고 동결건조하여 표제 화합물을 > 95% 순도의 백색 분말로서 약 29% 산물 수율로 얻었다. 펩티드의 분자량을 ESI-MS로 분석하였다: 계산된 MW 822.4; 확인 823.6 [M+1]⁺.

[0678] 실시예 13. 봉입체의 제조.

[0679] 릴렉신 유사체를 발현하는 세포를 스핀 다운하여 세포 펠렛을 얻었다. 세포 펠렛을 용해 완충액(100 mM 트리스, pH 8, 100 mM NaCl, 1% 트리톤-X 100, 2 mM EDTA)에 재현탁하고 18,000 psi로 작동시킨 프렌치 프레스(French pressure)를 3회 이상 통과시키는데 각 통과 후 세포 현탁액을 4℃로 냉각시키면서 용해시켰다. 용해된 세포 현탁액을 4℃ 15,000 rpm에서 45분간 원심분리하여 투명하게 만들었다. 펠렛은 봉입체 단백질과 함께 완전 세포, 세포 파편을 포함한다. 그래서, 나머지에서부터 봉입체를 분리하기 위해 펠렛을 수차례 세척하였는데, 간략하게, 상등액을 따라낸 후 조직 균질기를 이용하여 펠렛을 용해 완충액에 재현탁하고 원심분리하고, 상기 절차를 3회 이상 반복하였다. 펠렛으로부터 트리톤-X 100을 제거하기 위하여, 펠렛을 세척 완충액(100 mM 트리스, pH 8, 100 mM NaCl, 1% 트리톤-X 100, 2 mM EDTA)으로 2회 이상 세척하였으며, 펠렛의 세척은 균질화를 통한 재현탁, 이어서 원심분리에 의해 실시하였다. 그 후 펠렛을 어떤 추가의 정제 없이 릴렉신 유사체의 시험관 내 리폴딩(refolding)에 직접 사용하였다.

[0680] 실시예 14. 릴렉신 유사체의 리폴딩.

[0681] 실시예 13에서 얻은 세포 펠렛을 릴렉신 유사체의 시험관 내 리폴딩에 사용하였다. 릴렉신 유사체의 리폴딩은 산화/환원된 글루타티온을 이용하여 수행하였다. 봉입체를 8M 구아니딘 히드로클로라이드(GdnHCl)에 용해시켰다. 40 mL의 GdnHCl을 사용하여 1L 이. 콜라이(E.coli) 배양물로부터 분리된 봉입체 펠렛을 용해시켰다. 단백질을 용해시킨 후, 불용성 부분을 15000 rpm에서 30분간 원심분리하여 펠렛으로 만들었다. 그 후 용해된 단백질을 3,000 MW 차단 아미콘 울트라(Amicon Ultra)(Fisher Scientific) 원심분리 필터 단위를 이용하여 10-15 mL로 농축하였다. 그 후 변성된 단백질을 300 mL의 리폴딩 완충액(440 mM 아르기닌, 2 mM GSH, 10 mM GSSG 함유 55 mM 트리스, pH 8.2)에 희석하였다. 1-2시간 동안 리폴딩을 계속하고 TFA를 첨가하여 pH 2로 켄치하였다. 그 후 침전물을 펠렛으로 원심분리하고 상등액을 원심분리 단위로 옮겨 2-3 mg/mL로 농축하였다. 그 후 농축된 단백질 혼합물을 페노메넥스 쥬피터(Phenomenex Jupiter) C5 컬럼(250 × 4.6 mm)을 사용하는 세미-예비 HPLC에 의해 4.0 mL/분의 유속으로 정제하였다. 목표 단백질의 순도를 LC-MS로 분석한 후 모아 동결건조하였다.

[0682] 실시예 15. 릴렉신에 지질의 접합.

[0683] 릴렉신 내 유리 티올은 효소 절단이 일반적으로 수행되는 염기 pH에서 스كر램블링(scrambling)을 야기한다는 것

이 관찰되었기 때문에, 모든 효소 처리(트립신/Cp-B 또는 TEV 프로테아제)는 시스테인을 차단한 후 실시하였다. 실시예 14로부터 동결건조된 단백질을 0.25% TFA에 용해시켰다. 폐길화된 지질을 ACN 아세트니트릴/100 mM NH_4HCO_3 완충액(1:1), pH 8.5에 용해시켰다. 그 후 틸렉신을 혼합물에 첨가하고 실온에서 2시간 동안 반응을 진행시켰다. 반응의 진행은 LC-MS로 확인하였다. 반응이 완료된 후, 혼합물을 동결건조하였다.

[0684] 실시예 16. 틸렉신 전구물질의 두 개의 전구체 사슬로의 효소에 의한 전환

실시예 15로부터 동결건조된 분말을 1 mM CaCl_2 를 포함하는 50mM 트리스 완충액(pH8)에 재현탁하였다. 트립신 (1:100)을 상기 혼합물에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 1시간 후에, 카복시 펩티다제-B(단백질 1 mg에 대해 10 유니트)를 혼합물에 첨가하고 절단의 진행을 LC-MS 분석에 의해 모니터링하였다. 절단이 완료된 후, 아세트산을 첨가하여 혼합물의 pH가 4가 되도록 하였다. 혼합물을 동결건조하여 세미-예비 HPLC로 정제하였다.

[0686] 실시예 17. TEV 프로테아제를 통한 His-태그의 절단.

실시예16의 동결건조된 단백질을 3mM GSH: 0.5 mM GSSG를 포함하는 PBS 완충액에 재용해시켰다. Tev 프로테아제를 혼합물에 첨가하고 실온에서 하룻밤 동안 인큐베이션하였다. 태그의 절단은 LC-MS 분석에 의해 확인하였다.

[0688] 실시예 18. 독소-550 유사체의 유전자 제작 및 발현.

중합효소 순환 어셈블리를 통하여 삽입체를 제조하였으며, 여기서 정방향 및 역방향 프라이머를 어닐링시켜 정방향 및 역방향 프라이머에 의해 더 증폭되는 DNA 단편을 생성하였다. 그 후 증폭된 단편을 제한 절단 효소(Bam I/Hind-III)로 절단하였다. 그 후 제조된 삽입체를 PET 골격을 가진 벡터에 결합시킨 후, 코딩된 DNA 단편을 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. 독소-550 구조물(pET/Txin-550)로 이.콜라이 균주 BL21(DE3)를 형질전환시켰다. 형질전환된 이. 콜라이 세포를 TB(terrific broth)(50 $\mu\text{g/ml}$ 카나마이신)에서 37°C에서 격렬하게 진탕하면서(250 rpm) OD600nm = 1.0까지 배양하였다. 단백질 발현을 유도하기 위하여, IPTG 저장액(1M)을 최종 농도 0.5 mM로 첨가하고, 세포를 26°C에서 24시간 동안 250 rpm으로 계속하여 진탕 배양하였다. 다음날, 세포를 원심 분리(6000 rpm, 15분)하여 수거하였다.

[0690] 봉입체의 제조

세포 펠렛을 용해 완충액(100 mM 트리스, pH 8, 100 mM NaCl, 1% 트리톤-X 100, 2 mM EDTA)에 재현탁하고 18,000 psi로 작동시킨 프렌치 프레스를 3회 이상 통과시키는데 각 통과 후 세포 현탁액을 4°C로 냉각시키면서 용해시켰다. 용해된 세포 현탁액을 4°C 15,000 rpm에서 45분간 원심분리하여 투명하게 만들었다. 펠렛은 봉입체 단백질과 함께 완전 세포, 세포 파편을 포함하였다. 나머지 세포와 다른 세포 파편으로부터 봉입체 단백질을 분리하기 위해 펠렛을 수차례 세척하였다. 간략하게, 상등액을 따라낸 후 조직 균질기를 이용하여 펠렛을 용해 완충액에 재현탁하고 원심분리하고, 상기 절차를 3회 이상 반복하였다. 펠렛으로부터 트리톤-X 100을 제거하기 위하여, 펠렛을 세척 완충액(100 mM 트리스, pH 8, 100 mM NaCl, 1% 트리톤-X 100, 2 mM EDTA)으로 2회 이상 세척하였으며, 펠렛의 세척은 균질화를 통한 현탁, 이어서 원심분리에 의해 실시하였다. 그 후 펠렛을 어떤 추가의 정제 없이 시험관 내 리폴딩에 직접 사용하였다.

[0692] 실시예 19. 독소-550 유사체의 리폴딩.

산화/환원된 글루타티온을 이용하여 리폴딩을 수행하였다. 봉입체(실시예 18에서 같이)를 8M 구아니딘 히드로클로라이드(GdnHCl)에 용해시켰다. 10 mL의 GdnHCl을 사용하여 1L 이. 콜라이 배양물로부터 단리된 봉입체 펠렛을 용해시켰다. 단백질을 용해시킨 후, 추가로 10 mL의 트리스-HCL 완충액(50mM)을 첨가하고 불용성 부분을 15000 rpm에서 30분간 원심분리하여 펠렛으로 만들었다. 그 후 용해된 상등액의 변성된 단백질을 200 mL의 리폴딩 완충액으로 희석하였다. 용해된 상등액의 변성된 단백질을 희석하는데 사용한 여러 리폴딩 완충액을 하기 표에 나타낸다.

리폴딩 완충액	GSH:GSSG
0.1 M 트리스, pH 8.2	1:10
0.1 M 트리스, pH 11	1:10
0.1 M NH_4HCO_3 , pH 8	1:10
0.1M NH_4OAC	1:10
1 M NH_4OAC	1:10
2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1:10

[0694]

[0695]

[도 10]은 독소-550 펩티드(야생형)의 이황화 결합 양상 및 시스테인-노트(knot) 독소-550 펩티드의 대표적인 시험관 내 폴딩 경로를 나타내며, 중간 구조는 두 개의 황화 결합 중간체를 나타내는데, 여기서 이황화 결합은 시스테인 I과 시스테인 IV 사이 그리고 시스테인 II와 시스테인 V 사이에서 형성된다.

[0696]

다양한 리폴딩 경로를 이용하였으며, 4시간 안에 세 개의 이황화 결합 산물이 관찰된 2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 리폴딩 완충액의 경우만 제외하고, 대부분의 리폴딩 완충액 조건에서 주요 산물로서 두 개의 이황화 결합 중간체를 생성하였다. 세 개의 이황화 결합 산물은 시스테인 I과 시스테인 IV 사이, 시스테인 II와 시스테인 V 사이, 그리고 시스테인 III과 시스테인 VI 사이에서 형성된 이황화 결합을 가진 독소-550 펩티드를 포함한다.

[0697]

실시예 20. 독소-550에 지질의 접합.

[0698]

이어서, 지질과 접합하기 전에 과량의 글루타티온을 제거하기 위해 리폴딩된 독소-550에 PBS, 2% TFA로 완충액을 교환하였다. 폐길화된 지질을 ACN 아세토니트릴/100 mM NH_4HCO_3 완충액(1:1), pH 8.5에 용해시켰다. 그 후 독소를 혼합물에 첨가하고 실온에서 2시간 동안 반응을 진행시켰다. 반응의 진행은 LC-MS로 확인하였다. 반응이 완료된 후 혼합물을 동결건조하고 C18-페노메넥스 컬럼을 이용하는 RP-HPLC로 정제하였다. 독소-550에 부착된 지질을 포함하는 지질 접합체는 [도 16b]에 일련 번호 11-13으로 나타낸다. 괄호는 지질 접합체 내 시스테인 잔기 사이에 형성된 이황화 결합을 도식한다.

[0699]

실시예 21. 옥신토모돌린 및 엑세나타이드 유도체에 지질의 접합.

[0700]

옥신토모돌린 Cys38(예를 들어, Oxm-Cys38, 서열 번호 24) 및 엑세나타이드 Cys40(예를 들어, Ex4-Cys40, 서열 번호 25)을 고상 펩티드 합성을 이용하여 화학 합성하였다. 폐길화된 지질을 ACN 아세토니트릴/100 mM NH_4HCO_3 완충액(1:1)(pH 8.5)에 용해시켰다. 시스테인 변이체를 ACN 아세토니트릴/100 mM NH_4HCO_3 완충액에 용해시킨 후 폐길화된 지질 혼합물에 첨가하고 2시간 실온에서 반응을 진행시켰다. 반응의 진행은 LC-MS로 확인하였다. 반응이 완료된 후, 혼합물을 동결건조하고 C18-페노메넥스 컬럼을 이용하여 RP-HPLC로 정제하였다.

[0701]

실시예 22. 릴렉신 유도체에 XTEN의 접합.

[0702]

동결건조된 단백질, 유리 시스테인을 가진 리폴딩된 릴렉신을 물과 아세토니트릴 혼합물 중 0.25% TFA에 재현탁하였다. 요오도아세틸화된 XTEN 288 또는 864(1.2 당량; N-말단에서 요오도아세틸화됨)를 첨가한 후 1M 중탄산암모늄을 이용하여 pH를 8.5로 조정하였다. 실온에서 2시간 동안 반응을 진행하였다. 반응의 진행은 LC-MS로 확인하였다. 반응이 완료된 후, 혼합물에 완충액을 교환하고 음이온 교환 크로마토그래피(Mono-Q)에 의해 정제하였다. 그 후 목표 분획을 수집하여 실시예 16에 예시된 바와 유사한 절차에 따라 미니-C-쇄(mini-C-chain)의 절단을 거쳤다. 절단 반응을 켄치하고 RP-HPLC를 거쳐 XTEN-릴렉신 접합체를 정제하였다. 선별 데이터는 표 3에 나타낸다.

[0703]

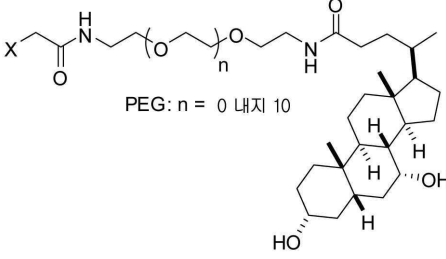
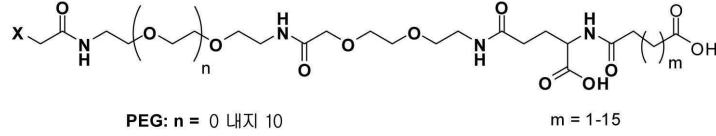
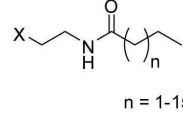
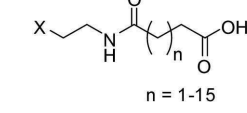
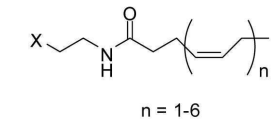
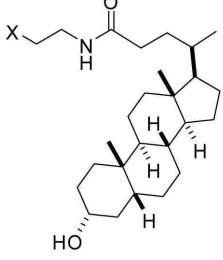
표 1의 하기 화합물을 유사한 절차를 이용하여 제조하였거나 제조한다. 추가의 실시예는 [도 16a-b] 및 [도 17]에 나타낸다.

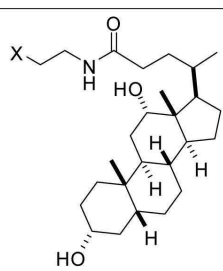
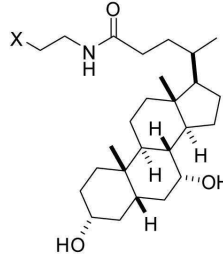
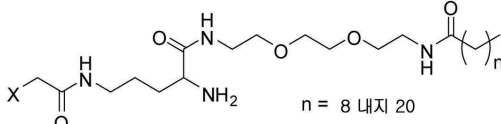
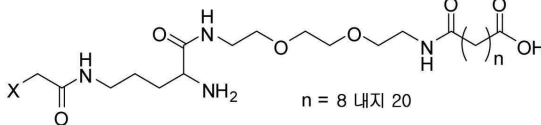
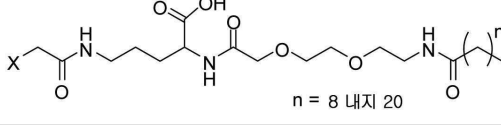
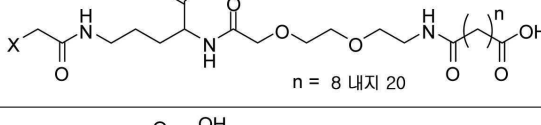
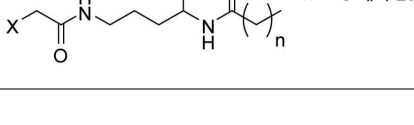
[0704] [표 1]

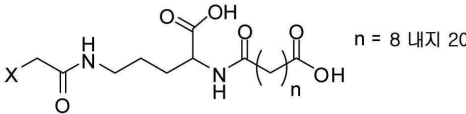
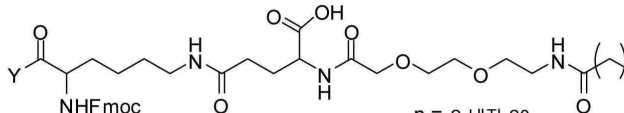
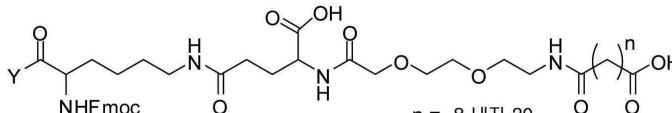
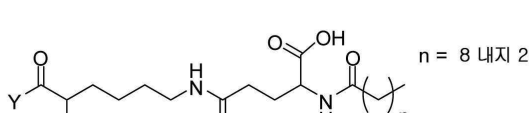
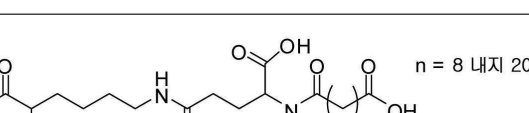
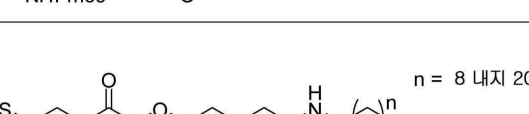
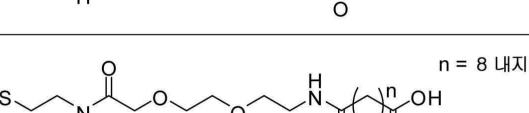
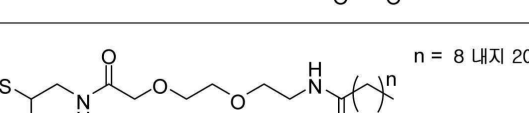
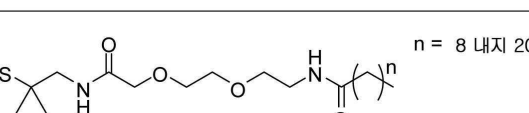
일련 번호	구조*
1	<p>PEG: n = 0 내지 10 m = 1-15</p>
2	<p>PEG: n = 0 내지 10 m = 1-15</p>
3	<p>PEG: n = 0 내지 10 m = 1-15</p>
4	<p>PEG: n = 0 내지 10 m = 1-6</p>
5	<p>PEG: n = 0 내지 10</p>
6	<p>PEG: n = 0 내지 10</p>
7	<p>PEG: n = 0 내지 10</p>

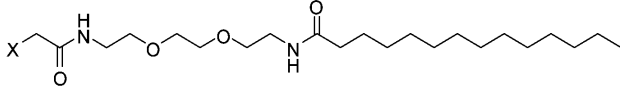
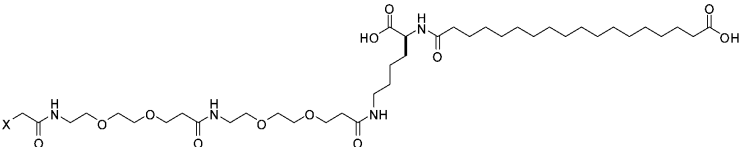
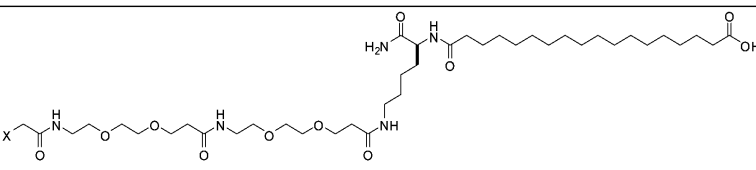
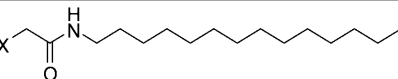
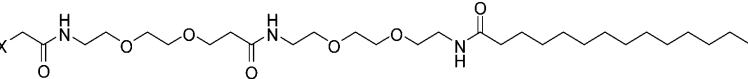
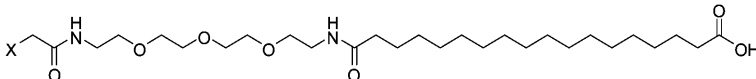
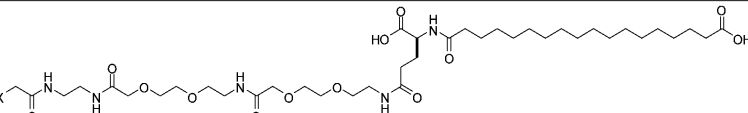
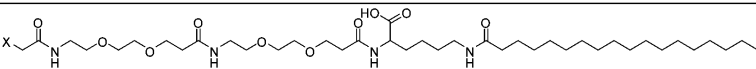
[0705]

일련 번호	구조*
8	<p>PEG: n = 0 내지 10</p>
9	<p>PEG: n = 0 내지 10</p>
10	<p>PEG: n = 0 내지 10</p>
11	<p>PEG: n = 0 내지 10</p>
12	<p>PEG: n = 0 내지 10</p>

일련 번호	구조*
13	 <p>PEG: n = 0 내지 10</p>
14	 <p>PEG: n = 0 내지 10 m = 1-15</p>
15	 <p>n = 1-15</p>
16	 <p>n = 1-15</p>
17	 <p>n = 1-6</p>
18	

일련 번호	구조*
19	
20	
21	 <p>$n = 8 \text{ 내지 } 20$</p>
22	 <p>$n = 8 \text{ 내지 } 20$</p>
23	 <p>$n = 8 \text{ 내지 } 20$</p>
24	 <p>$n = 8 \text{ 내지 } 20$</p>
25	 <p>$n = 8 \text{ 내지 } 20$</p>

일련 번호	구조*
26	 <p>$n = 8 \text{ 내지 } 20$</p>
27	 <p>$n = 8 \text{ 내지 } 20$</p>
28	 <p>$n = 8 \text{ 내지 } 20$</p>
29	 <p>$n = 8 \text{ 내지 } 20$</p>
30	 <p>$n = 8 \text{ 내지 } 20$</p>
31	 <p>$n = 8 \text{ 내지 } 20$</p>
32	 <p>$n = 8 \text{ 내지 } 20$</p>
33	 <p>$n = 8 \text{ 내지 } 20$</p>
34	 <p>$n = 8 \text{ 내지 } 20$</p>

일련 번호	구조*
35	
36	
37	
38	
39	
40	
41	
42	
43	XCH ₂ C(O)-SAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPSASR (서열번호 66에 개시된 코어 서열)

일련 번호	구조*
44	<p>XCH₂C(O)-SAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTESASR (서열번호 67에 개시된 코어 서열)</p>

*X는 Cl, I, Br, 말레이미드, 또는 펩티드(TA)의 일부인 아미노산일 수 있고, Y는 OH, 또는 펩티드(TA)의 일부인 아미노산일 수 있고, Z는 펩티드(TA)의 일부인 S, 또는 지질 유도체의 일부인 S(이황화물을 형성)일 수 있다.

[0706] 실시예 23. Ex4 및 Oxm 펩티드의 생물활성 측정.

[0707] Ex4는 GLP1R 작용제이고, Oxm은 GLP1R 및 GCGR 이중 작용제이다. 시험관 내 활성을 GLP1R 및 GCGR 수용체를 안정적으로 발현하는 Hek293 세포에서 아데닐레이트 시클라제 활성의 측진을 기초로 하여 측정하였다. 안정한 GCGR 및 GLP1R 수용체 발현 세포를 200 ng/ml 제오신(Invitrogen)이 보충된 둘베코 수정 이글 배지/F-12 배지에서 유지시켰다. 시클릭 AMP 반응 요소 유도된 루시퍼라제(CRE-Luc) 리포터 세포주는 상기 수용체를 과발현하는 HEK293T 세포를 CRE-Luc 렌티바이러스(Qiagen)로 렌티바이러스 형질도입에 의해 생성하고 푸로마이신(2 μg/mL)으로 2주간 선별하였다. 리포터 유전자 분석을 이용하여 cAMP 수준, 및 Ex-4 또는 Oxm에 의한 GLP1R 및 GCGR 활성화를 검출하였다.

[0708] 분석의 상세 내용: GLP1R 및 CRE-Luc를 발현하는 HEK293T 세포를 384웰 솔리드 바닥 백색 플레이트에 10% FBS를 함유하는 둘베코 수정 이글 배지/F-12 배지 50 μl에 웰 당 5x10³ 세포 밀도로 접종하였다. 세포를 37℃에서 하룻밤 동안 미리 인큐베이션하였다. 다양한 농도의 펩티드(0.01nM 내지 100nM)를 3회 반복하여 첨가하고, 18시간 동안 인큐베이션하고, 10 μl의 브라이트 글로(Promega)를 첨가하여 루시퍼라제 활성을 측정하였다. 인비전(Perkin Elmer)으로 발광도를 기록하였다. 비선형 곡선 맞춤 후 EC₅₀을 계산하였다. GCGR 활성의 경우, GCGR 및 CRE-Luc를 가진 리포터 세포주를 이용하였다. 선별 데이터는 표 3에 나타난다.

[0709] 실시예 24. 독소 펩티드의 생물활성 측정.

[0710] 독소-550 펩티드를 Nav 1.7 전류 측정을 위한 표준 운행 조건을 이용하여 이온플럭스(IonFlux) HT에서 분석하였다. 간략하게, 인간 Nav1.7의 알파 및 베타-1 서브유닛을 과발현하는 HEK293 세포(PrecisION, Millipore)를 트립신 처리하고, 무혈청 배지에서 배양하고 실온에서 30분간 진탕하였다. 화합물을 원하는 농도로 표준 세포 외 링거액(ECS)으로 희석하였다. 세포를 ECS로 한번 세척하고 ECS에서 4백만 세포/mL의 농도로 배양하였다. 이온플럭스 HT 플레이트를 표준 프로토콜에 따라 설치하였다.

[0711] Nav 1.7 전류를 하기 전압 단계 프로토콜에 따라 이온플러스에서 측정하였다.

[0712] 1. 세포를 -90 mV에서 10초 동안 유지시켰다.

[0713] 2. 세포를 -90 mV에서 -120 mV로 100 ms

- [0714] a. 이어서 -10 mV로 30 ms 그리고
- [0715] b. 이어서 다시 -90 mV로 30 ms 단계를 진행시켰다.
- [0716] 기준선 전류로 5분 동안 안정화하도록 한 후, 대조 기준선(ECS 단독)을 확립하였다. 화합물을 20분간 적용한 후, 양성 대조군(웍티드 NaV1.7 차단제)을 적용하였다.
- [0717] 그 후 데이터에 누감(leak subtraction)을 실시하였고 생성된 전류를 다음과 같이 분석한다.
- [0718] 1. 전류(I)의 진폭을 결정하기 위해 모든 전류 스위치에 대해 커서 차감(기준선 피크)을 실시하였다.
- [0719] 2. 각 패치에 대한 ECS 기준선 전류를 최대 전류로 정하였다(I_{\max}).
- [0720] 3. 주어진 시간 동안(예를 들어 화합물 첨가 후 10분), 차단율을 I/I_{\max} 로서 계산하였다.
- [0721] 선별 데이터는 표 3에 나타낸다.
- [0722] **실시예 25. 반감기 연장을 위한 생체 내 약동학(PK) 연구**
- [0723] 지질 접합된 릴렉신 또는 기타 치료제를 sc, po, iv 투여를 이용하여 마우스에 투여한다. TA의 혈장 수준을 다양한 시점(예를 들어, i.v. PK의 경우, 5분, 0.5h, 1h, 2h 4h, 8h, 24h, 48h, 96h & 144h, s.c. PK의 경우 15분, 0.5h, 1h, 2h, 4h, 8h, 24h, 48h, 96h 및 144h)에서 ms, lgr7, glp1r 및/또는 gcgr 활성화로 결정한다. 선별 PK 데이터는 [도 11, 12, 및 15], 및 표 2에 나타낸다.

[0724] [표 2]

일련번호	명칭	예상 질량	확인된 질량	활성, 릴렉신과 비교된 배 (fold) 감소	반감기(시간) i.v., s.c.
1	프로-릴렉신-B-D1A	8183.7	8184.12	10	
2	릴렉신-B-D1A	5936.15	5936.92	0	0.5, 0.8
3	릴렉신-B-D1AS29C-FA ₁ ^a	6349.98	6350.52	0	0.5, 1.2
4	릴렉신-B-D1AS29C-FA ₂	6752.87	6753.27	70	
5	릴렉신-B-D1AS29C-FA ₃	6751.90	6752.49	30	
6	릴렉신-B-D1AS29C-FA ₄	6205.14	6205.62	170	
7	릴렉신-B-D1AS29C-FA ₅				
8	릴렉신-B-D1AS29C-PEG20K		ND	30	
9	릴렉신-B-D1A,A-Q1C-FA ₁ ^b	6309.10	6309.87	10	
10	릴렉신-B-D1A,A-Q1C-FA ₂	6711.72	6712.45	15	3.5, 7.8
11	릴렉신-B-D1A,A-Q1C-FA ₃	6710.75	6711.33	25	
12	릴렉신-B-D1A,A-Q1C- PEG20K				3.0, 7.1
13	릴렉신-B-D1A,A-A5C-FA ₁		ND		
14	릴렉신-B-D1A,A-A5C-FA ₂	6768.95	6769.36	25	
15	릴렉신-B-D1A,A-A5C-FA ₃	6767.98	6768.42	15	
16	릴렉신-B-D1A,A-A5C- PEG20K				
17	릴렉신-B-D1C-FA ₁	6366.20	6366.82	3	
18	릴렉신-B-D1C-FA ₂	6768.82	6769.34	18	
19	릴렉신-B-D1C-FA ₃				
20	릴렉신-B-D1C-PEG-20K				
21	릴렉신-B-D1A,A-R18C-FA ₁	6281.05	6281.79	15	
22	릴렉신-B-D1A,A-R18C-FA ₂	6683.67	6684.26	30	
23	릴렉신-B-D1A,A-R18C-FA ₃	6682.70	6683.27	30	
24	릴렉신-B-D1A,A-R18C-PEG- 20K		ND		
25	릴렉신-B-D1AM25KM4K,A- Q1AH12K,B-S29C-FA ₁	6278.29	6279.01	25	
26	릴렉신-B-D1AM25KM4K,A- Q1AH12K,B-S29C-FA ₂	6680.91	6681.42	150	

[0725]

27	릴렉신-B-D1AM25KM4K,A- Q1AH12K,B-S29C-FA ₃	6679.94	6680.63	150	
28	릴렉신-B-D1AM25KS29C- FA ₂	6749.84	6750.32	48	
29	릴렉신-B-D1AM4KS29C-FA ₂	6749.84	6750.58	40	
30	릴렉신-A-H12K,B-D1AS29C- FA ₂	6743.91	6744.60	16	
31	릴렉신-B-D1AM25KM4K,A- Q1AH12A,B-S29C-FA ₂	6623.97	6624.48	8	
32	릴렉신-B-D1AS29C- XTEN288	32236.1	32236.8	20	1.5, 4.5
^a “B-”는 B쇄를 나타낸다.					
^b “A-”는 A쇄를 나타낸다.					

[0726]

[0727] [표 3]

일련 번호	명칭	예상 질량	확인된 질량	활성 (nM)
1	Tev-릴렉신-단쇄	8841.1	8841.3	14
2	GSGG-릴렉신-단쇄(서열번호 71에 개시된"GSGG")	6817.9	6818.0	1
3	Tev-릴렉신-B-S29C-단쇄	8857.2	8857.3	11
4	Tev-릴렉신-B-S29C-FA ₁ -단쇄	9255.8	9255.8	29
5	Tev-릴렉신-C쇄	20411.4	20495.5	6
6	Tev-릴렉신	8130.4	8214.5	2
7	Tev-릴렉신-B-S29C-FA ₁ -C-쇄	20826.0	20925.9	21
8	Tev-릴렉신-B-S29C-FA ₁	8544.9	8645.0	1
9	Ex4-Cys40-FA ₁	4688.6	1173.1 ([M+4H] ⁴⁺); 938.6 ([M+5H] ⁵⁺)	0.14 (GLP-1R)
10	Oxm-Cys38-FA ₁	4950.8	1238.7 ([M+4H] ⁴⁺); 991.2 ([M+5H] ⁵⁺)	100 (GLP-1R) 및 50 (GCGR)
11	550-	3947.1	3947.3	100 nM에서 87% 차단
12	550-4-GSGG (서열번호 71에 개시된 "GSGG")	4310.6	4310.2	ND
13	550-4-GSCGG-FA ₁ (서열번호 72에 개시된 "GSCGG")	4709.4	4709.1	100 nM에서 85% 차단
14	550-GSGG(서열번호 71에 개시된 "GSGG")	4207.5	4206.9	ND
15	550-3-GSGG (서열번호 71에 개시된 "GSGG")	4310.7	4310.2	ND
16	550-3-GSGG-FA ₁ (서열번호 71에 개시된 "GSGG")	4709.3	4709.1	ND
17	550-3-GGS	4253.9	4253.1	ND
18	550-3-GGS-FA ₁	4652.7	4652.3	ND

[0728]

[0729] 실시예 26. 급성 심부전 모델에서 약력학(PD) 연구 및 생체 내 효능.

[0730] PK를 결정한 후, 적합한 투여 요법을 결정하고 지질 접합된 릴렉신을 sc, po 또는 iv를 이용하여 투여하고 혈압, 뇨류 및/또는 인대 신장에 대한 효능 모델에서 지질 접합된 릴렉신의 효능을 평가한다. 또한, 지질 접합된 릴렉신을 폐 및 간에서 블레오마이신 유도된 섬유증 모델 및/또는 노화 당뇨 Zucker(zucker) 비만 랫트에서 당뇨성 상처 치유 모델에서 평가한다.

[0731] 실시예 27. 마우스 치골 인대 생물분석법을 이용한 PD 연구.

[0732] 릴렉신 유사체의 생물활성을 문헌(Steinetz *et al.* [Endocrinology (1960) 67:102-115]에 기재된 바와 같이 잘 확립되고 매우 특이적인 마우스 치골 인대의 릴렉신에 대한 생물분석법을 이용하여 CD1 마우스에서 측정하였다. 연구로부터 3-4주령의 암컷 CD1 동정 마우스를 선택하였다. 온도(25°C) 및 광주기(12:12시간 명암 주기)의 제어 조건하에 동물을 집단 수용하고, 표준식과 수돗물(또는 명시된 음료액)에 무제한 접근하도록 하였다. 치료 1일차, 마우스를 0.1 ml 참기름 중 10 µg 에스트라디올 시피오네이트로 s.c. 주사하였다. 8일차, 마우스를 여러 그룹-비히클 대조군, wt 릴렉신(PBS 완충액 중 1% 벤조퍼푸린의 현탁액 중에 용해) 및 릴렉신 유사체(20 mM NH₄Ac 완충액, pH 6.5 중에 용해)-으로 나누었다. Wt 릴렉신 또는 릴렉신 유사체를 다양한 용량으로 s.c. 주사를 통해 투여하였다. 릴렉신 주사 후 다양한 시점에서, 마우스를 안락사시키고 치골 인대의 길이를 캘리퍼 측정을 이용하여 결정하였다. 선별 데이터는 [도 13 및 14]에 나타낸다.

[0733] 실시예 28. 급성 심부전 치료를 위한 지질 접합된 릴렉신의 효능 및 안전성.

[0734] 목적: 다양한 용량의 지질 접합된 릴렉신을 플라시보와 비교하여 급성 심부전으로 입원한 환자의 치료에 대한 효능 및 안전성을 결정한다.

병태	중재	단계
울혈성 심부전	약물: 릴렉신	1 상
	약물: 플라시보	1 상

[0735]

- [0736] 연구 종류: 중재 연구
- [0737] 연구 설계: 배정: 무작위
- [0738] 평가변수(endpoint) 분류: 안전성/효능 연구
- [0739] 중재 모형: 평행 지정
- [0740] 맹검: 이중 맹검(피험자, 간병인, 연구자, 결과 평가자)
- [0741] 1차 목표: 치료
- [0742] 1차 결과 측정: 급성 심부전에서 호흡곤란의 완화 [기간: 최대 5일] [안전성 이슈로 지정됨: 아니오]
- [0743] 2차 결과 측정:
- [0744] 생존 및 퇴원 일수 [기간: 최대 60일] [안전성 이슈로 지정됨: 아니오]
- [0745] 심부전 또는 심부전으로 인한 CV 사망 또는 재입원 [기간: 최대 60일] [안전성 이슈로 지정됨: 아니오]

시험군 (Arms)	지정된 중재
플라시보 대조약: 플라시보 플라시보의 48 시간 iv 주입	약물: 플라시보 48 시간 동안 정맥 내 주입
실험: 지질 접합된 릴렉신 지질 접합된 릴렉신 30 ug/kg/일로 48 시간 iv 주입	약물: 지질 접합된 릴렉신 30 ug/kg/일로 48 시간 정맥 내 주입

- [0746]
- [0747] 상세한 설명:
- [0748] 본 연구는 급성 비대상성 심부전으로 입원한 환자의 징후 및 증상 치료를 위한 정맥 내 재조합 릴렉신의 중재적, 무작위, 이중 맹검, 플라시보 대조, II/III상 임상시험이다. II상 파일럿 연구는 완료되었다. 임상시험 III상의 주요 부분은 진행중이다.
- [0749] 대상자 자격
- [0750] 연구 자격 연령: 18세 이상
- [0751] 연구 자격 성별: 둘 다
- [0752] 건강 지원자 수용: 아니오
- [0753] 기준
- [0754] 포함 기준:
- [0755] 급성 심부전으로 입원
- [0756] 휴식 또는 최소 운동 시 호흡곤란
- [0757] 폐울혈
- [0758] 사전 동의 가능
- [0759] 수축기 혈압 > 125 mmHg
- [0760] 30-75 mL/분/1.73m2의 eGFR로 정의된 손상된 신장기능
- [0761] 제외 기준:
- [0762] 급성 심부전을 위한 다른 IV 치료법의 사용
- [0763] 열 또는 패혈증
- [0764] 최근 주요 신경학적 사례
- [0765] 최근 대수술

- [0766] 최근 급성 관상동맥 증후군
- [0767] 기타 최근 연구 약물 사용
- [0768] [표 4]

표 4. 치료제 (TA)-뉴클레오타이드 서열		
명칭	서열 번호	서열
옥신토모돌린	1	CACTCTCAGGGTACCTTCACCTCTGACTACTCTAAATAC CTGGACTCTCGTCGTGCTCAGGACTTCGTTCAAGTGGCTG ATGAACACCAAACGTAACCGTAACAACATCGCT
릴렉신	2	GACTCTTGGATGGAAGAAGTTATCAAACGTGCGGTCGT GAACTGGTTCGTGCTCAGATCGCTATCTGCGGTATGTCT ACCTGGTCTGGTGGCGGTCGTGGCGGTCGTGAGCTGTAC TCTGCTCTGGCTAACAAATGCTGCCACGTTGGTTGCACC AAACGTTCTCTGGCTCGTTTCTGCTAA
릴렉신 A 쇄	3	CTGTAATCTGCTCTGGCTAACAAATGCTGCCACGTTGGT TGACCAAACGTTCTCTGGCTCGTTTCTGCT
릴렉신 SB29C	4	GACTCTTGGATGGAAGAAGTTATCAAACGTGCGGTCGT GAACTGGTTCGTGCTCAGATCGCTATCTGCGGTATGTCT ACCTGGTGC
렙틴	5	GTTCCGATCCAGAAAGTTCAGGACGACACCAAAACCT GATCAAAACCATCGTTACCCGTATCAACGACATCTCTCA CACCCAGTCTGTTTCTGCTAAACAGCGTGTACGGTCTG GACTTCATCCCGGGTCTGCACCCGATCCTGTCTCTGTCTA AAATGGACCAGACCCTGGCTGTTTACCAGCAGGTTCTGA CCTCTCTGCCGTCTCAGAACGTTCTGCAGATCGCTAACG ACCTGGAACCTGCGTGACCTGCTGCACCTGCTGGCTT TCTCTAAATCTTGCTCTCTGCCGACAGCTCTGGTCTGCA GAAACCGGAATCTCTGGACGGTGTCTTGGAGGCTTCTCT GTACTCTACCGAAGTTGTTGCTCTGTCTCGTCTGCAGGG TTCTCTGCAGGACATCCTGCAGCAGCTGGACGTTTCTCC GGAATGCTAA
메타트로핀	6	GCTCCTCTGGGCGGTCCTGAACCAGCACAGTACGAGGA ACTGACACTGTTGTTCCATGGAGCCTTGCAGCTGGGCCA GGCCCTCAACGGCGGTGTACCGCGCCACAGAGGCACGTTT GACCGAGGCCGACACAGCCTGGGTTTGTACGACAGAG CCCTGGAGTTTCTGGGTACCGAAGTGCCTCAGGGCCAGG ACGCAACTCAGGAGCTGAGAACCTCCCTCTCTGAGATCC AGGTGGAGGAGGACGCCCTGCACCTGCGCGCCGAGGCG ACAGCACGCTCTTTGGGAGAAGTTGCTCGCGCTCAGCAG GCCCTGCGTGATACCGTGCGGAGACTCCAAGTTCAGCTC AGAGGCGCTTGGCTCGGACAGGCGCATCAGGAGTTCTGA GACCCTGAAAGCTCGTGCCGACAAACAGTCCCACCTGCT GTGGGCGCTCACCGGTCACGTCCAGCGCCAGCAACGCG AAATGGCCGAGCAGCAGCAATGGCTGCGCCAAATCCAG CAGCGCCTGCATACCGCGGCCCTGCCAGCGTAA
FGF 21	7	CACCCGATCCCGGACTCTTCTCCGCTGCTGCAGTTTCGGT GGTCAGGTTTCGTACGCTTACCTGTACACCGACGACGCT CAGCAGACCGAAGCTCACCTGGAAATCCGTGAAGACGG TACiGTTGGTGGTGTGCTGCTGACAGTCTCCGGAATCTCTG CTGCAGCTGAAAGCTCTGAAACCGGGTGTATCCAGATC CTGGGTGTTAAAACCTCTCGTTTCTGTGCCAGCGTCCG GACGGTGCTCTGTACGGTCTCTGCACTTCGACCCGGAG GCATGCTCTTTCCGTGAACGCTCTGCTGGAAGACGGTTAC AACGTTTACAGTCTGAAGCTCACGGTCTGCCGCTGCAC

[0769]

표 4. 치료제 (TA)-뉴클레오타이드 서열		
명칭	서열 번호	서열
		CTGCCGGGTAACAAATCTCCGCACCGTGACCCGGCTCCG CGTGGTCCGGCTCGTTTCTGCCGCTGCCGGGTCTGCCG CCGGCTCTGCCGGAACCGCCGGGTATCCTGGCTCCGCAG CCGCCGGACGTTGGTTCTTCTGACCCGCTGTCTATGGTT GGTGGTTCTCAGGGTCGTTCTCCGTCTTACGAATCTCCGT AA
GDF 11	8	AACCTGGGTCTGGACTGCGACGAACACTCTTCTGAATCT CGTTGCTGCCGTTACCCGCTGACCGTTGACTTCGAGGCG TTCCGGTTGGGACTGGATCATCGCTCCGAAACGTTACAAA GCTAACTACTGCTCTGGTCAGTGCGAATACATGTTTCATG CAGAAATACCCGCACACCCACCTGGTTCAGCAGGCTAA CCCGCGTGGTTCTGCTGGTCCGTGCTGCACCCCGACCAA AATGTCTCCGATCAACATGCTGTACTTCAACGACAAACA GCAGATCATCTACGGTAAAAATCCCGGGTATGGTTGTTGA CCGTTGCCGGTTGCTCTTAA
ANGPTL3	9	GGATCCGGTGGTTTCACCATCAAACCTGCTGCTGTTTCATC GTTCCGCTGGTTATCTCTTCTCGTATCGACCAGGACAAC TCTTCTTTTCGACTCTCTGCTCCCGGAACCGAAATCTCGTT TCGCTATGCTGGACGACGTTAAAAATCCTGGCTAACGGTC TGCTGCAGCTGGGTCACGGTCTGAAAGACTTCGTTTACA AAACCAAAGGTCAGATCAACGACATCTTCCAGAAACTG AACATCTTCGACCAGTCTTTCTACGACCTGTCTCTGCAG ACCTCTGAAATCAAAGAAGAAGAAAAAGAACTGCGTCG TACCACCTACAAACTGCAGGTTAAAAACGAAGAAGTTA AAAACATGTCTCTGGAAGTGAAGTCTAAACTGGAATCTC TGCTGGAAGAAAAAATCCTGCTGCAGCAGAAAGTTAAA TACCTGGAAGAACAGCTGACCAACCTGATCCAGAACCA GCCGGAACCCCGGAACACCCGGAAGTTACCTCTCTGA AAACCTTCGTTGAAAAACAGGACAACCTCTATCAAAGAC CTGCTGCAGACCGTTGAAGACCAGTACAAACAGCTGAA CCAGCAGCACTCTCAGATCAAAGAAATCGAAAACAGC TGCGTCGTACCTCTATCCAGGAACCGACCGAAATCTCTC TGTCTTCTAAACCGCGTGTCTCCGCGTACCACCCCGTTCTC GCAGCTGAACGAAATCCGTAACGTTAAACACGACGGTA TCCCGGCTGAATGCACCACCTCTACAACCGTGGTGAAC ACACCTCTGGTATGTACGCTATCCGTCCGTCTAACTCTC AGGTTTTCCACGTTTACTGCGACGTTATCTCTGGTTCTCC GTGGACCCTGATCCAGCACCGTATCGACGGTTCTCAGAA CTTCAACGAAACCTGGGAAAACTACAAATACGGTTTCG GTCGTCTGGACGGTGAATTCTGGCTGGGTCTGGAAAAAA TCTACTCTATCGTTAAACAGTCTAACTACGTTCTGCGTAT CGAACTGGAAGACTGGAAGACAACAAACACTACATCG AATACTCTTCTACCTGGGTAACCACGAAACCAACTACA CCCTGCACCTGGTTGCTATCACCGGTAACGTTCCGAACG CTATCCCGAAGAAGAAGAAGAAAAAAGAAAGAAGAA AT

[0770]

[0771]

[표 5]

표 5. 치료제-아미노산 서열		
명칭	서열 번호	서열
옥신토모둘린	10	HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNTRNRNNIA
엑센딘 -4 또는 엑세나타이드	11	HGEGTFTSDLSKQMEEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS
hGLP-1	12	HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGR
글루카곤	13	HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNT
릴렉신	14	DSWMEEVIKLCGRELVRAQIAICGMSTWSGGGRGRQLY SALANKCCHVGCTKRSLARFC
릴렉신 A쇄	15	LYSALANKCCHVGCTKRSLARFC
릴렉신 SB29C	16	DSWMEEVIKLCGRELVRAQIAICGMSTWC
렙틴	17	VPIQKVQDDTKTIKTIVTRINDISHTQSVSAKQRTGLDFI PGLHPILSLSKMDQTLAVYQQVLTSLPSQNVLQIANDLEN LRDLLHLLAFSKSCSLPQTSGLQKPESLDGVLEASLYSTEV VALSRLQGSLLQDILQQLDVSPEC
베타트로핀	18	APLGGPPEPAQYEELTLLFHGALQLGQALNGVYRATEARL TEAGHSLGLYDRALEFLGTEVRQGQDATQELRTSLSEIQV EEDALHLRAEATARSLSGEVARAQALRDTVRRLLQVQLRG AWLGQAHQEFETLKARADKQSHLLWALTGHVQRQORE MAEQQQWLRQIQQLHTAALPA
FGF 21	19	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDT VGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDG ALYGSLHFDPEACSFRERLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPG NKSPHRDPAAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVG SDPLSMVGGSQGRSPSYESP
GDF 11	20	NLGLDCDEHSSESRCRYPLTVDFEAFGWDWIIAPKRYKA NYCSGQCEYMFQMKYPHTHLVQQANPRGSAGPCCTPTK MSPINMLYFNDKQQIYGKIPGMVVDRCGCS
ANGPTL3	21	GSGGFTIKLLLFIVPLVISSRIDQDNSSFDLSPEPKSRFAML DDVKILANGLLQLGHGLKDFVHKTKGQINDIFQKLNIFDQ SFYDLSLQTSEIKEEEKELRRTTYKLQVKNEEVKNMSLEL NSKLESLEEKILLQKVKYLEEQLTNLIQNQPETPEHPEV TSLKTFVEKQDNSIKDLLQTVEDQYKQLNQHSQIKEIEN QLRRTSIQEPTEISLSKPRAPRTTFLQLNEIRNVKHDGIPA ECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLI QHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVK QSNYVLRIELEDWKNKHIEYSFYLGNETNYTLHLVAI TGNVPNAIPKKKKKKKKKK
모카	22	INVKCSLPQQCIKPKCDAGMRFGKCMNKKCRCYS
VM-24	23	AAAIQCVGSPECPPKCRAQGCKNGKCMNRKCKCYC
Oxm-Cys38	24	HsQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNTRNRNNIAC
Ex4-Cys40	25	HGEGTFTSDLSKQMEEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSC
독소 H8-Tev- 550	26	HHHHHHHHENLYFQGS CGGECIGMFKSCDPENDKCKGR TCSRKHRWCKYKL
550-GSGG (서열번호 71에 개시된 "GSGG")	27	GSGGEECIGMFKSCDPENDKCKGR TCSRKHRWCKYKL

[0772]

표 5. 치료제-아미노산 서열		
명칭	서열 번호	서열
550-4-GSCGG (서열번호 72에 개시된 "GSCGG")	28	GSCGGECIGMFKSCDPENDKCKGRTCSRKHRWCKYKL
550-3-GSGG (서열번호 71에 개시된 "GSGG")	29	GSGGECIGMFKSCDPENDKCKGRTCSRKHRWCKYKLC
독소-550	30	ECIGMFKSCDPENDKCKGRTCSRKHRWCKYKL
550-3	31	ECIGMFKSCDPENDKCKGRTCSRKHRWCKYKLGSC
Tev-릴렉신- 단쇄	32	*HHHHHHHHENLYFQSGGDSWMEEVIKLCGRELVR AICGMSTWSGGGRGGRQLYSALANKCCHVGCTKRSLAR FC*
GSGG-릴렉신- 단쇄 (서열번호 71에 개시된 "GSGG")	33	*GSGGDSWMEEVIKLCGRELVRQAICGMSTWSGGG RGGRQLYSALANKCCHVGCTKRSLARFC*
Tev-릴렉신-C- 쇄	34	*HHHHHHHHENLYFQSGGDSWMEEVIKLCGRELVR AICGMSTWSKRSLSQEDAPQTPRPAEIVPSFINKDTETI NMMSEFVANLPQELKLTLEMQPALPQLQQHVPVLKDSS LLFEEFKKLIRNRQSEAADSSPELKYLGLDTHSRKKRQLY SALANKCCHVGCTKRSLARFC*
Tev-릴렉신 쇠 1	35	*HHHHHHHHENLYFQSGGDSWMEEVIKLCGRELVR AICGMSTWS*
Tev-릴렉신 쇠 2	36	*QLYSALANKCCHVGCTKRSLARFC*
Tev-릴렉신-B- S29C-단쇄	37	*HHHHHHHHENLYFQSGGDSWMEEVIKLCGRELVR AICGMSTWCGGGRGGRQLYSALANKCCHVGCTKRSLAR FC*
Tev-릴렉신-B- S29C-C-쇄	38	*HHHHHHHHENLYFQSGGDSWMEEVIKLCGRELVR AICGMSTWCKRSLSQEDAPQTPRPAEIVPSFINKDTETI NMMSEFVANLPQELKLTLEMQPALPQLQQHVPVLKDSS LLFEEFKKLIRNRQSEAADSSPELKYLGLDTHSRKKRQLY SALANKCCHVGCTKRSLARFC*
프로-릴렉신- B-D1A	39	*MIEEGRDSWMEEVIKLCGRELVRQAICGMSTWSKRKP TGYGSRKKRQLYSALANKCCHVGCTKRSLARFC*
B-쇄	40	DSWMEEVIKLCGRELVRQAICGMSTWS
A-쇄	41	LYSALANKCCHVGCTKRSLARFC
릴렉신 A쇄 1	42	QLYSALANKCCHVGCTKRSLARFC
릴렉신 A쇄 2	43	QLYSCLANKCCHVGCTKRSLARFC
릴렉신 A쇄 3	44	QLYSALANKCCKVGCTKRSLARFC
릴렉신 A쇄 4	45	CLYSALANKCCHVGCTKRSLARFC
릴렉신 A쇄 5	46	ALYSALANKCCAVGCTKRSLARFC
릴렉신 A쇄 6	47	ALYSALANKCCAVGCTKRSLARFC
릴렉신 B쇄 1	48	ASWMEEVIKLCGRELVRQAICGMSTWS
릴렉신 B쇄 2	49	ASWMEEVIKLCGRELVRQAICGMSTWC
릴렉신 B쇄 3	50	ASWKEEVIKLCGRELVRQAICGKSTWC
릴렉신 B쇄 4	51	ASWKEEVIKLCGRELVRQAICGMSTWC
릴렉신 B쇄 5	52	CSWMEEVIKLCGRELVRQAICGMSTWS
H2-릴렉신 A쇄	53	ZLYSALANKCCHVGCTKRSLARFC

[0773]

표 5. 치료제-아미노산 서열		
명칭	서열 번호	서열
H2-릴렉신 B쇄	54	DSWMEEVIKLCGRELVRQAICGMSTWS
릴렉신 A쇄 7	55	QLYSALANKCCHVGCTKCSLARFC
릴렉신 B쇄 6	56	ASWMEEVIKLCGRELVRQAICGKSTWC
소문자는 D-아미노산을 나타낸다.		
Tev = Tev 프로테아제 절단 서열 (ENLYFQ) (서열번호 73)		
* = 유리 N-말단 또는 비변형된 C-말단 카복실기		

[0774]

[0775] [표 6]

표 6. 릴렉신2 제작 프라이머 서열		
명칭	서열 번호	서열
릴렉신 2 fl (#32)	57	TATTTCCAGGGATCCGGTGGTGACTCTTGGATGGAAGA AGTTATCAAACGTGCGGTCGT
릴렉신 2 r6 링커 S26C (#212)	58	TAGACATACCGCAGATAGCGATCTGAGCACGAACCAG TTCACGACCGCACAGTTTGATAA
릴렉신 2 링커 fl S26C (#213)	59	CGCTATCTGCGGTATGTCTACCTGGTCTGGTGGCGGTC GTGGCGGTCGTCAGCTGTACTC
릴렉신 2 링커 fl (#209)	60	CGCTATCTGCGGTATGTCTACCTGGTCTGGTGGCGGTC GTGGCGGTCGTCAGCTGTACTC
릴렉신 2 r6 (#43)	61	TAGACATACCGCAGATAGCGATCTGAGCACGAACCAG TTCACGACCGCACAGTTTGATAA
릴렉신 2 링커 fl S29C (#214)	62	CGCTATCTGCGGTATGTCTACCTGGTCTGGTGGCGGTC GTGGCGGTCGTCAGCTGTACTC
릴렉신 2 링커 r1 (#210)	63	TTTGGTGCAACCAACGTGGCAGCATTTGTTAGCCAGAG CAGAGTACAGCTGACGACCGCC
pVB008 릴렉신 2 Amp for (#60)	64	AATCTGTATTTCCAGGGATCCGGTGGTGA
릴렉신 2 링커 Amp rev (#211)	65	TGGCTAAGCTTTAGCAGAAACGAGCCAGAGAACGTTT GGTGCAACCAACGTGGC

[0776]

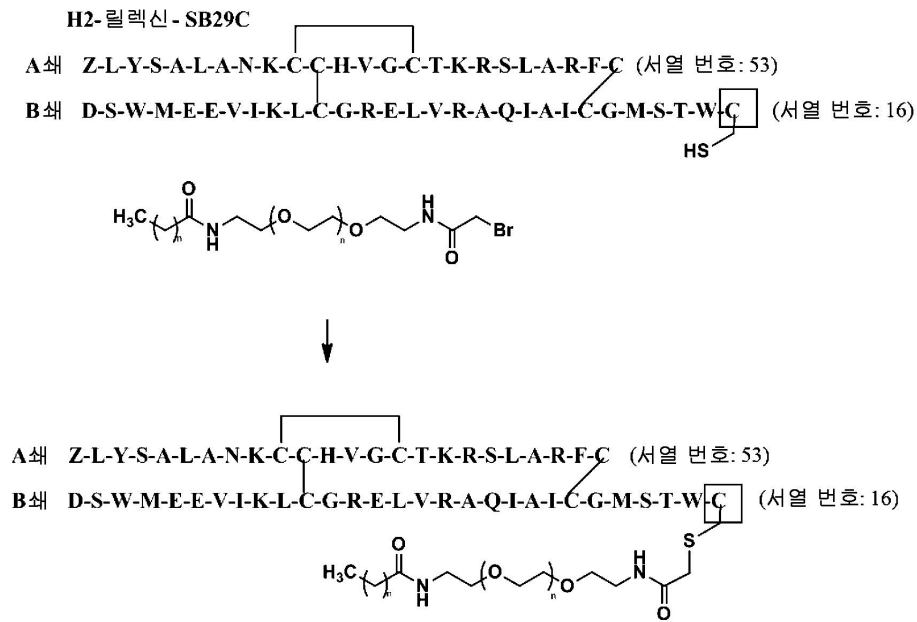
[0777] [표 7]

표 7. XTEN-아미노산 서열		
명칭	서열 번호	서열
XTEN 288	66	SAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSE TPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPSASR
XTEN 864	67	SAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTESASR

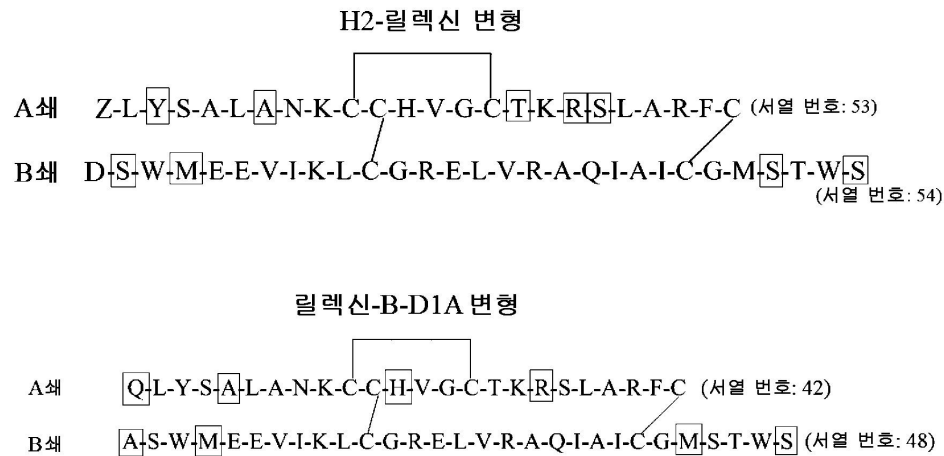
[0778]

도면

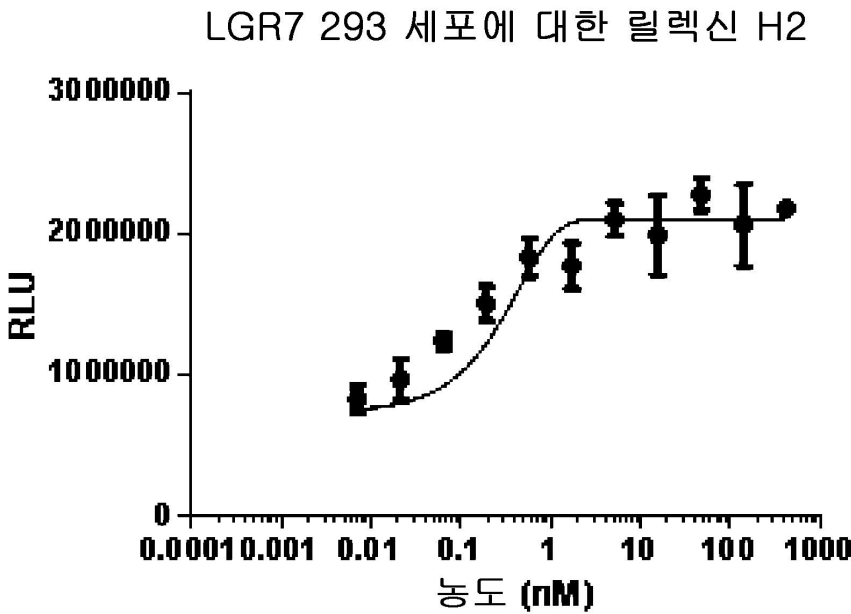
도면1



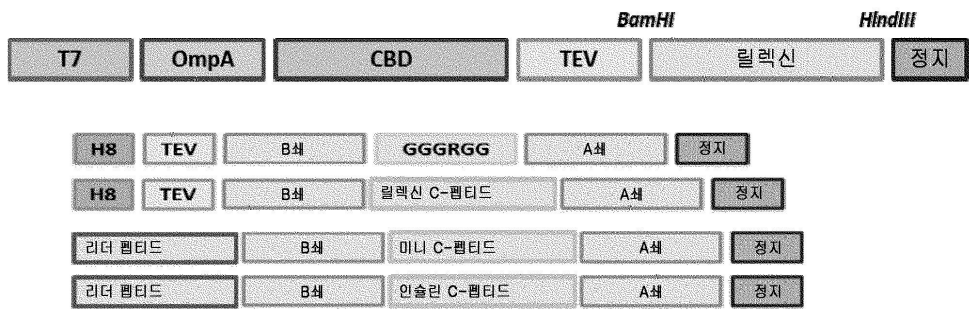
도면2



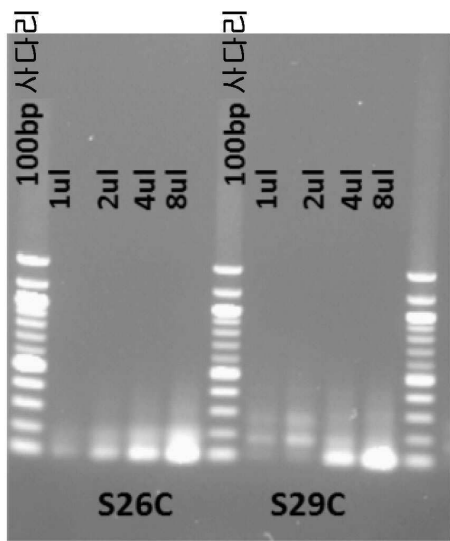
도면3



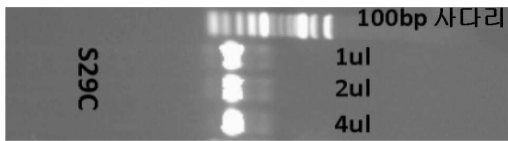
도면4



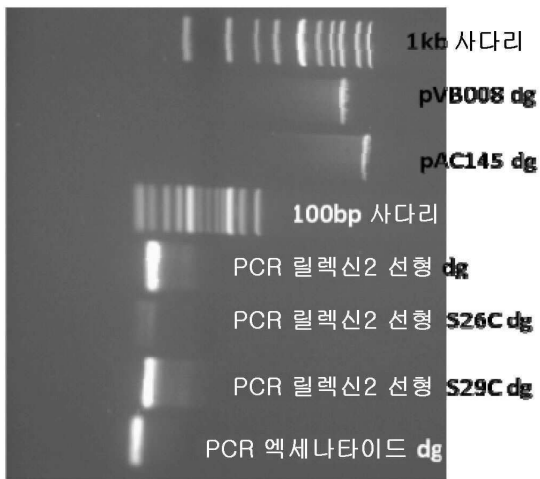
도면5



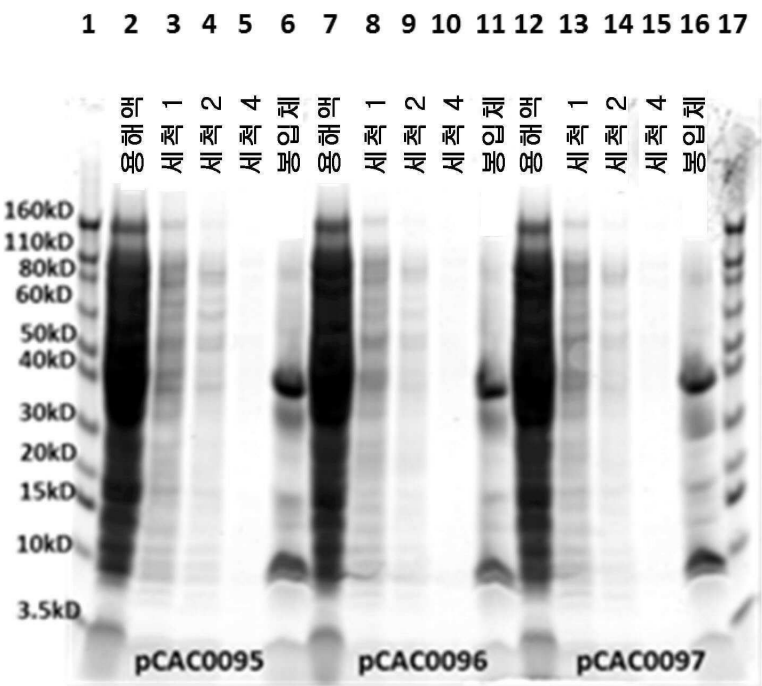
도면6



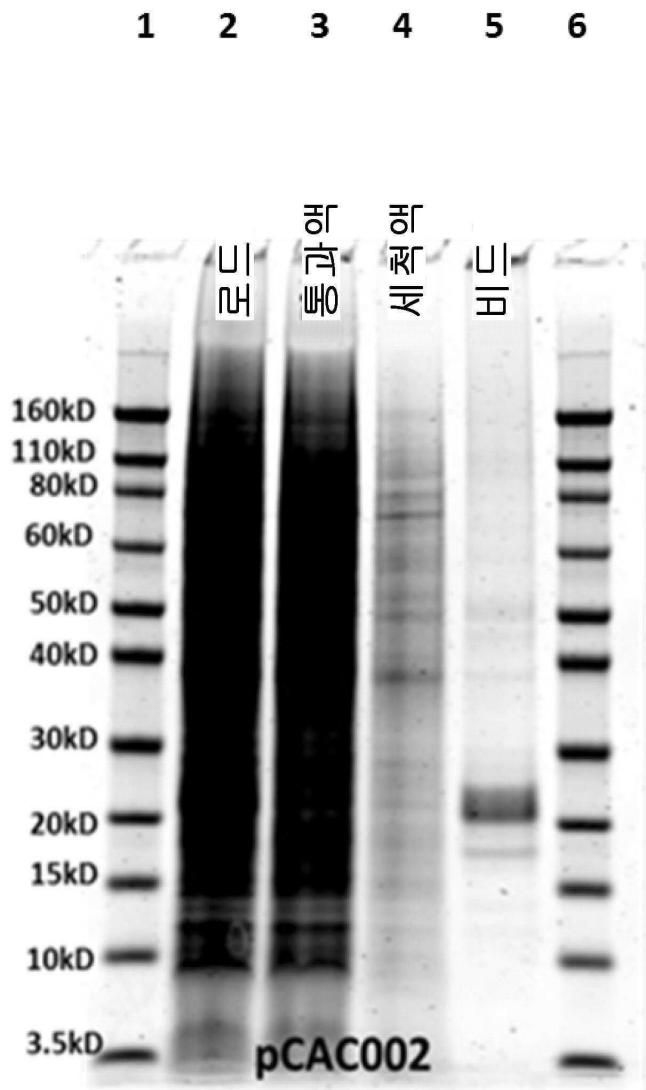
도면7



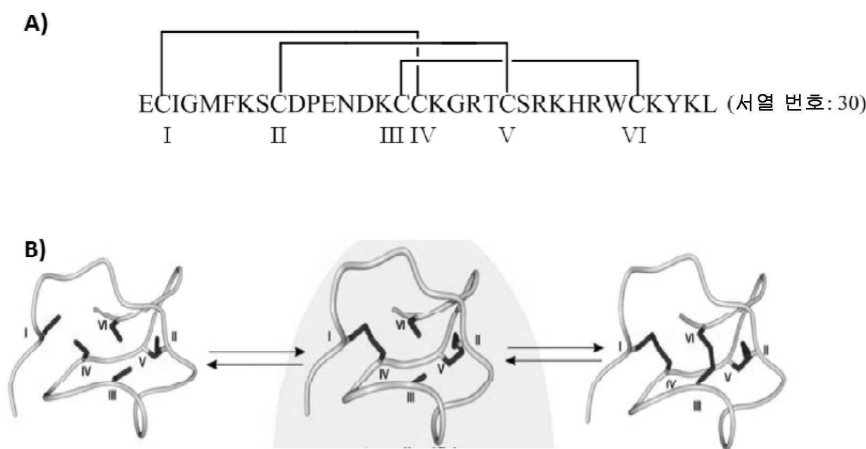
도면8



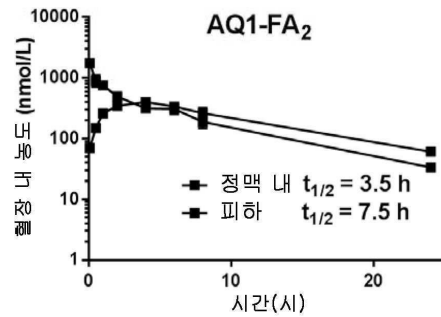
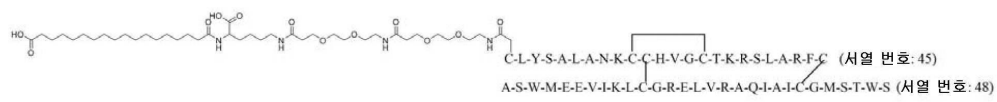
도면9



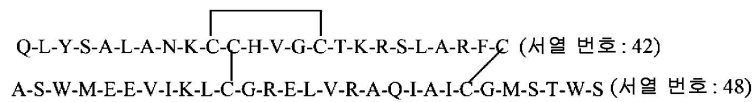
도면10



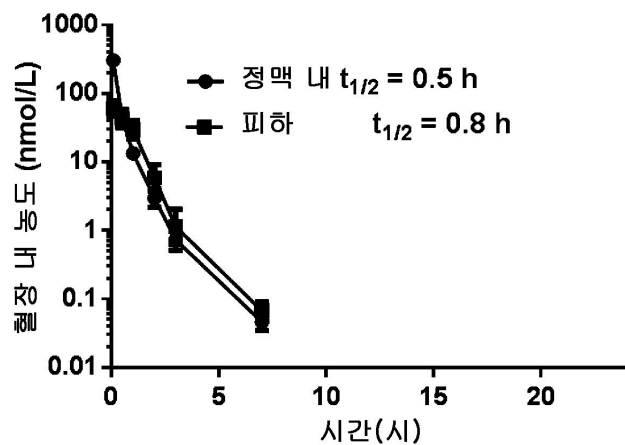
도면11



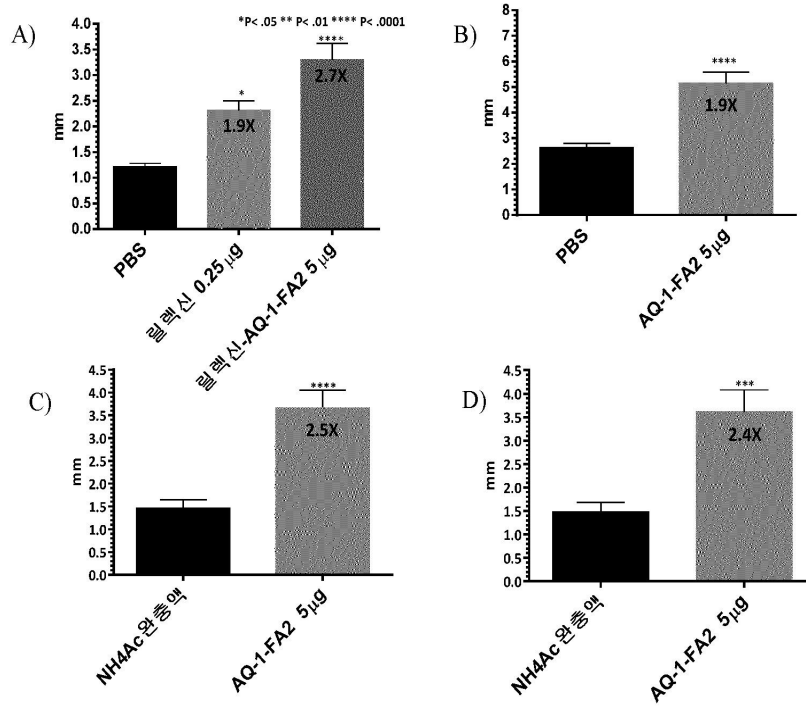
도면 12



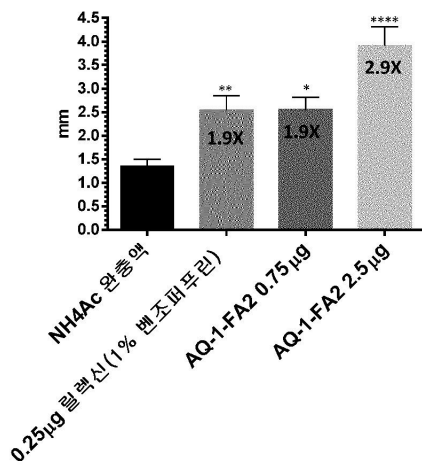
릴렉신



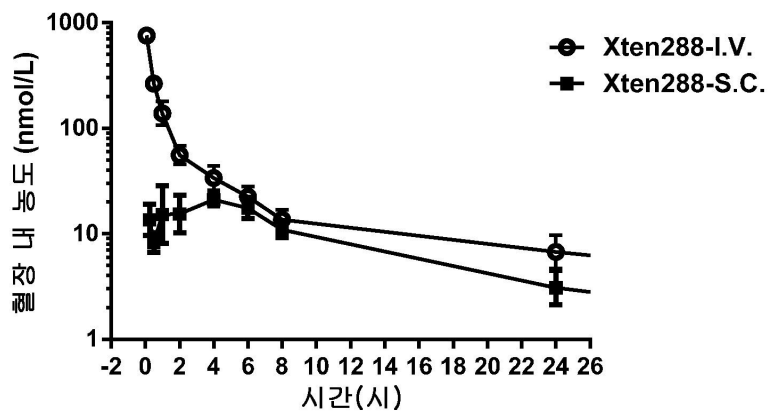
도면13



도면14



도면15



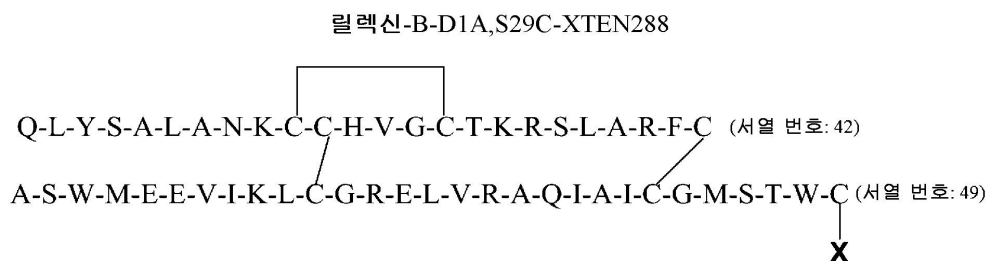
도면16a

일련번호	명칭	지질 접합체 구조
1	릴렉신-B-D1A,A-Q1C-X	<p>C-L-Y-S-A-L-A-N-K-C-C-H-V-G-C-T-K-R-S-L-A-R-F-C (서열 번호: 45)</p> <p>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 (서열 번호: 48)</p>
2	릴렉신-B-D1C- X	<p>Q-L-Y-S-A-L-A-N-K-C-C-H-V-G-C-T-K-R-S-L-A-R-F-C (서열 번호: 42)</p> <p>C-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 (서열 번호: 52)</p>
3	릴렉신-B-D1A,A-A5C-X	<p>Q-L-Y-S-C-L-A-N-K-C-C-H-V-G-C-T-K-R-S-L-A-R-F-C (서열 번호: 43)</p> <p>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 (서열 번호: 48)</p>
4	릴렉신-B-D1A,A-R18C-X	<p>Q-L-Y-S-A-L-A-N-K-C-C-H-V-G-C-T-K-C-S-L-A-R-F-C (서열 번호: 55)</p> <p>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 (서열 번호: 48)</p>
5	릴렉신-B-D1AS29C-X	<p>Q-L-Y-S-A-L-A-N-K-C-C-H-V-G-C-T-K-R-S-L-A-R-F-C (서열 번호: 42)</p> <p>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-C (서열 번호: 49)</p>
6	릴렉신-B--D1AM25KM4K,A-Q1AH12A,B-S29C-X	<p>A-L-Y-S-A-L-A-N-K-C-C-A-V-G-C-T-K-R-S-L-A-R-F-C (서열 번호: 46)</p> <p>A-S-W-K-E-E-V-I-K-L-C-G-R-E-L-V-R-A-Q-I-A-I-C-G-K-S-T-W-C (서열 번호: 50)</p>
7	릴렉신-B-D1AM25KM4K,A-Q1AH12K,B-S29C-X	<p>A-L-Y-S-A-L-A-N-K-C-C-K-V-G-C-T-K-R-S-L-A-R-F-C (서열 번호: 47)</p> <p>A-S-W-K-E-E-V-I-K-L-C-G-R-E-L-V-R-A-Q-I-A-I-C-G-K-S-T-W-C (서열 번호: 50)</p>

도면16b

일련번호	명칭	지질 접합체 구조
8	릴렉신-B-D1AM4KS29C-X	
9	릴렉신-A-H12K,B-D1AS29C-X	
10	릴렉신-B-D1AM25KS29C-X	
11	550-4-GSCGG-X	
12	550-3-GSGG-X	
13	550-3-GGS-X	

도면17



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> THE CALIFORNIA INSTITUTE FOR BIOMEDICAL RESEARCH

THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE

<120> MODIFIED THERAPEUTIC AGENTS AND COMPOSITIONS THEREOF

<130> 41135-709.601

<140> PCT/US2014/055457

<141> 2014-09-12

<150> 61/917,816

<151> 2013-12-18

<150> 61/877,799

<151> 2013-09-13

<160> 73

<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 tgcggctcgtg aactggttcg tgctcagatc 60

gctatctgcg gtatgtctac ctggctctggt ggcggctcgtg ggcggctcgtca gctgtactct 120

gctctggcta acaaagtctg ccacgttggc 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 cacgttggtt 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 tatcaaacgt tgcggtcgtg aactgggttcg tgctcagatc 60

gctatctgcg gtatgtctac ctgggtgc 87

<210> 5

<211> 441

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 5

gttcgatcc agaaagttca ggacgacacc aaaacctga tcaaaacat cgttacccgt 60

atcaacgaca tctctcacac ccagtctgtt tctgctaaac agcgtgttac tggctcggac 120

ttcatcccgg gtctgcaccc gatcctgtct ctgtctaaaa tggaccagac cctggctgtt 180

taccagcagg ttctgacctc tctgccgtct cagaacgttc tgcagatcgc taacgacctg 240

gaaaacctgc gtgacctgct gcacctgtg gctttctcta aatcttgctc tctgccgcag 300

acctctggtc tgcagaaacc ggaatctctg gacggtgttc tggaggcttc tctgtactct 360

accgaagttg ttgctctgtc tcgtctgcag 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

gctcctctgg gcggtcctga 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
gctcagcagg ccctgcgtga taccgtgcgg agactccaag ttcagctcag aggcgcttgg	360
ctcggacagg cgcatcagga gttcgagacc ctgaaagctc gtgccgacaa acagtccac	420

ctgctgtggg cgctcaccgg tcacgtccag cgccagcaac gcgaaatggc cgagcagcag	480
caatggctgc gccaaatcca gcagcgctg cataccgcgg ccctgccagc gtaa	534

<210> 7

<211> 549

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 7

cacccgatcc cggactcttc tccgtgctg cagttcggcg gtcagggtcg tcagcgttac	60
ctgtacaccg acgacgtca gcagaccgaa gtcacctgg aaatccgtga agacgttact	120
gttgggtggg ctgctgacca gtctccggaa tctctgctgc agctgaaagc tctgaaaccg	180
ggtgttatcc agatcctggg tggtaaaacc tctcgtttcc tgtgccagcg tccggacggt	240
gctctgtacg gttctctgca cttcgaccgg gaggcattgt ctttccgtga acgtctgctg	300
gaagacgggtt acaacgttta ccagctgaa gtcacggtc tgccgctgca cctgccgggt	360
aacaaatctc cgcaccgtga cccggctccg cgtggtccgg ctcgtttcct gccgctgccg	420
ggtctgccgc cggctctgcc ggaaccgccg ggtatcctgg ctccgcagcc gccggacgtt	480
ggttcttctg 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 tcgaggcggt cggttgggac tggatcatcg ctccgaaacg ttacaaagct	120
aactactgct ctggtcagtg cgaatacatg ttcattgcaga aatacccgca caccacactg	180
gttcagcagg ctaaccgcg tggttctgct ggtccgtgct gcaccccgac caaatgtct	240
ccgatcaaca tgctgtactt caacgacaaa cagcagatca tctacggtaa aatcccggt	300

atggttggtg accgttgcgg ttgctcttaa	330
----------------------------------	-----

<210> 9

<211> 1162

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 9

ggatccggtg gtttaccat caaactgctg ctgttcatcg ttccgctggt tatctcttct	60
cgtatcgacc aggacaactc ttctttcgac tctctgtctc cggaaccgaa atctcgtttc	120
gctatgctgg acgacgttaa aatcctggct aacggtctgc tgcagctggg tcacggtctg	180
aaagacttcg ttcacaaaac caaaggctcag atcaacgaca tcttcagaa 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
--	-----

cacccggaag 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 gtatcccgcc tgaatgcacc accatctaca accgtggtga acacacctct	780
---	-----

ggtatgtacg ctatccgtcc gtctaactct caggttttcc acgtttactg cgacgttatac 840
tctggttctc cgtggaccct gatccagcac cgtatcgacg gttctcagaa cttcaacgaa 900
acctgggaaa actacaaata cggtttcggt cgtctggacg gtgaattctg gctgggtctg 960
gaaaaaatct acitctatcgt taaacagtct aactacgttc tgcgtatcga actggaagac 1020
tggaagaca acaaacacta catcgaatac tctttctacc tgggtaacca cgaaaccaac 1080

tacaccctgc acctgggtgc tatcaccggt aacgttcga acgtatccc 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

<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 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> Any amino acid or absent

<220>

<223> see specification as filed for detailed description of

substitutions and preferred embodiments

<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> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 54

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> 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 Val Gly Cys Thr

1 5 10 15

Lys Cys 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

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> 57

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

primer

<400> 57

tatttccagg gatccggtgg tgactcttgg atggaagaag ttatcaaact gtgcggtcgt 60

<210> 58

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

primer

<400> 58

tagacatacc gcagatagcg atctgagcac gaaccagttc acgaccgcac agtttgataa 60

<210> 59

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

primer

<400> 59

cgctatctgc ggtatgtcta cctggtcttg tggcggtcgt ggcggtcgtc agctgtactc 60

<210> 60

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer

<400> 60

cgctatctgc ggtatgtcta cctggtcttg tggcggtcgt ggcggtcgtc agctgtactc 60

<210> 61

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

primer

<400> 61

tagacatacc gcagatagcg atctgagcac gaaccagttc acgaccgcac agtttgataa 60

<210> 62

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

primer

<400> 62

cgctatctgc ggtatgtcta cctggtctgg tggcggtcgt ggcggtcgtc agctgtactc 60

<210> 63

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

primer

<400> 63

tttggtgcaa ccaacgtggc agcatttggt agccagagca gactacagct gacgaccgcc 60

<210> 64

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

primer

<400> 64

aatctgtatt tccaggatc cggtggtga 29

<210> 65

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

primer

<400> 65

tggctaagct ttagcagaaa cgagccagag aacgtttggt gcaaccaacg tggc 54

<210> 66

<211> 288

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 66

Ser Ala Gly Ser Pro Thr Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly

1 5 10 15

Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro

20 25 30

Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu

35 40 45

Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu

50 55 60

Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu

65 70 75 80

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro

85 90 95

Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro

100 105 110

Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu

115 120 125

Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr

130 135 140

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro

145 150 155 160

Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro

165 170 175

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro

180 185 190

Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly

195 200 205

Ser Glu Thr Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu

210

215

220

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr

225

230

235

240

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly

245

250

255

Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro

260

265

270

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Ser Ala Ser Arg

275

280

285

<210> 67

<211> 864

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 67

Ser Ala Gly Ser Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu

1

5

10

15

Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser

20

25

30

Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro

35

40

45

Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala

50

55

60

Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser

65

70

75

80

Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser

85

90

95

Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr

100

105

110

Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser
115 120 125
Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser
130 135 140
Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala
145 150 155 160
Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser
165 170 175
Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser
180 185 190
Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly
195 200 205
Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser
210 215 220
Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser
225 230 235 240
Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala
245 250 255
Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser
260 265 270
Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr
275 280 285
Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu
290 295 300
Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu
305 310 315 320
Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr
325 330 335
Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala
340 345 350
Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser

355 360 365
 Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser
 370 375 380
 Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala
 385 390 395 400
 Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro
 405 410 415
 Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser

 420 425 430
 Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly
 435 440 445
 Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser
 450 455 460
 Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser
 465 470 475 480
 Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly

 485 490 495
 Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser
 500 505 510
 Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro
 515 520 525
 Thr Ser Thr Glu Glu Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu
 530 535 540
 Glu Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser

 545 550 555 560
 Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser
 565 570 575
 Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly
 580 585 590
 Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser
 595 600 605

Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser

610

615

620

Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly

625

630

635

640

Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro

645

650

655

Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr

660

665

670

Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr

675

680

685

Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro

690

695

700

Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro

705

710

715

720

Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala

725

730

735

Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser

740

745

750

Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr

755

760

765

Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr

770

775

780

Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Pro

785

790

795

800

Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser

805

810

815

Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala

820

825

830

Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser

835

840

845

Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Glu Ser Ala Ser Arg

850	855	860
<210> 68		
<211> 7		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide		
<400> 68		
Gly Gly Gly Arg Gly Gly Arg		
1 5		
<210> 69		
<211> 6		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide		
<400> 69		
Gly Gly Gly Arg Gly Gly		
1 5		
<210> 70		
<211> 8		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic 8xHis tag		
<400> 70		
His His His His His His His His		
1 5		
<210> 71		
<211> 4		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic		

peptide

<400> 71

Gly Ser Gly Gly

1

<210> 72

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 72

Gly Ser Cys Gly Gly

1

5

<210> 73

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 73

Glu Asn Leu Tyr Phe Gln

1

5