# 명세서

# 발명의 명칭: 3중 작용성 지속형 결합체 또는 3중 작용제를 포함하는 조합물의 치료학적 용도

## 기술분야

[1] 본 발명은 3중 작용성 지속형 결합체 (triple agonistic long-acting conjugate) 또는 3중 작용제 (triple agonist); 및 FXR 작용제 (farnesoid X receptor agonist)를 포함하는 조합물, 또는 상기 조합물에 ACC 억제제 (acetyla-CoA carboxylase inhibitor)를 추가로 포함하는 조합물의 치료학적 용도에 관한 것이다.

[2]

## 배경기술

[3] 간은 동물의 주요 생체 기관 중 하나로, 간과 관련된 질환으로는 대표적으로 비알코올성 지방간, 간염, 간섬유증, 담즙정체성 간질환, 간경변, 간 부전, 간암, 등을 들 수 있다. 바이러스, 알코올, 약물, 면역 이상, 대사 질환 등의 원인으로 인해 간에 염증이 발생할 수 있고, 간염증의 진행 및 만성화에 따라 간섬유증, 간경변, 간암 간암 등의 질환으로 발병하는 것으로 알려져 있다.

[4] 일반적으로 간에 염증이 생기는 간염이 간 질환의 대부분을 차지하며, 간염증이 진행되면서 간 염증을 수반하거나, 또는 간 염증에 기인하여 다양한 간질환(간섬유증, 경변 등)이 나타나는 것으로 알려져 있다. 간염증의 양상에 따라 급성 간염과 만성 간염, 원인에 따라 바이러스성 간염, 알코올성 간염, 약물성 간염 등으로 나눌 수 있다. 담즙정체성 간질환(cholestasis liver disease) 역시 염증성 질환이 원인이 되어, 발생하는 것으로 추정되고 있다.

[5] 한편, 비알코올성 지방간 질환 (NAFLD, nonalcoholic fatty liver disease)은 알코올 섭취와 관련 없음에도 알코올 간염과 유사한 조직소견을 보이는 질환의 일종으로, 단순 지방증(simple steatosis), 비알코올성 지방간 (non-alcoholic fatty liver, NAFL)으로부터 비알코올성지방간염 (non-acoholic steatohepatitis, NASH), 간 염증, 간 섬유증 (liver fibrosis), 간경변 (cirrhosis), 간부전 (liver decompensation), 및 간암 (hepatocellular carcinomas)까지를 아우르는 질환이다. 비알코올성 지방간 질환은 비만 및 당뇨인구가 증가함에 따라 함께 증가하고 있는 추세이다.

[6] 이러한 비알코올성 지방간질환의 병인으로는 인슐린 저항성, 비만, 지질독성 (lipotoxicity), 염증 반응등과 같은 다양한 병인에 기인하다고 알려져 있다. 그 중 가장 큰 병인으로는 인슐린 저항성을 꼽는다.

[7] 이와 같은 비알코올성 지방간질환을 예방 및/또는 치료하기 위해 인슐린 저항성을 개선시키는데 많은 노력을 하고 있다. 예를 들어, 인슐린 반응개선제 (insulin sensitizer)의 일종인 TZD (thiazolidnedinones)나 메포민에 대한 임상시험은 현재에도 활발하게 이루어지고 있다 (Hepatology(2003) 38:1008-17, J

Clin Invest. (2001) 108:1167-74).

[8] 그러나 TZD계열의 약물을 이용한 치료의 경우 체중증가가 크고, 체액 흐름을 느리게 할 수 있다는 단점이 있어 심장질환 환자에게는 적용이 불가능한 것으로 알려져 있다. TZD 계열의 약물 외에도 빅토자 (Victoza) 또는 바이에타 (Byetta)와 같은 GLP-1 수용체 아고니스트를 이용한 비알코올성 지방간질환에 대한 적용 임상실험도 활발히 이루어지고 있다. 특히, 해당약물은 체중감량 효과를 수반하기 때문에 개발초기에는 비알코올성 지방간질환 및 이에 기인한 섬유증에도 치료효과가 있을 것으로 예상되었다. 하지만, 이들의 경우는 다른 펩타이드 호르몬과 마찬가지로 체내 반감기가 극히 짧아 매일 또는 하루 두번 이상의 반복투여를 해야하기 때문에, 환자 편의성에 대한 단점이 있다. 이와 같은 잦은 투여는 환자에게 엄청난 고통과 불편함을 야기하게 된다. 최근에는 이러한 투여편의성이 개선된 GLP-1 수용체 아고니스트인 세마글루타이드 (semaglutide)에 대한 비알코올성 지방간질환 임상실험이 진행되었으나, 여전히 비알코올성 지방간염에서 기인한 섬유증에 대한 치료효능이 없음이 확인되었다. 즉, 단순히 인슐린 저항성을 개선시키는 기작 또는 GLP-1 수용체 아고니스트를 포함하는 다양한 당뇨병 치료제의 비알코올성 지방간질환 치료제로의 적용은 여전히 부족한 치료효능, 다양한 부작용, 그리고 환자 편의성 문제 등의 단점들이 있다. 이러한 결과 등으로 인하여, 당뇨병 치료에 효과가 있다고 알려진 약물을 비알코올성 지방간질환의 치료제로 직접 사용하기는 어렵다는 사실이 당업계에는 다양하게 알려져 있다. 따라서, 당뇨병 치료에 효과가 있다고 알려진 약물이 곧 비알코올성 지방간질환의 치료제로 사용될 수 있는지 여부는 임상시험을 통한 상기 질환의 치료효능을 명확히 확인한 후에야 결정할 수 있을 것이다. 하지만, 현재 사용중인 당뇨병치료제 중 비알코올성 지방간질환 치료제로 승인을 받은 약물은 전무한 실정이다. 따라서, 환자 편의성 확보 및 부작용 없이 보다 효과적으로 비알코올성 지방간질환을 치료할 수 있는 약물의 개발이 여전히 요구되고 있다.

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

[10] 한편, GLP-1는 비만 치료제로서의 가능성을, GIP는 혈당 농도에 의존적으로 췌장에서의 인슐린 분비를 촉진하고 혈당 농도를 낮추는데 도움을 주는 기능을 수행하며 GLP-1의 활성 증가 효과, 항염증 효과등이 보고되었다. 글루카곤은 약물 치료 또는 질병, 호르몬이나 효소 결핍 등의 원인으로 혈당이 떨어지기 시작하면 췌장에서 생산된다. 글루카곤은 간에 신호하여 글리코겐을 분해하여 글루코오스를 방출하도록 유도하고, 혈당 수준을 정상 수준까지 높이는 역할을 한다. 뿐만 아니라, 글루카곤은 혈당 상승효과 이외에 동물과 사람에서의

식욕억제 및 지방세포의 호르몬 민감성 리파제 (hormone sensitive lipase)를 활성화시켜 지방 분해를 촉진 및 에너지대사 (energy expenditure)를 촉진하여 항비만 효과를 나타냄이 보고되었다.

[11]

[12] FXR 작용제 (farnesoid X receptor agonist)는 담즙산 수용체(Bile acid Receptor, BAR)로도 공지되어 있는, 담즙산에 의해 활성화되는 핵 수용체인 FXR 작용제이다. FXR은 간, 장 및 신장과 같은 담즙산 대사의 주요 부위에서 발현되며, 이는 조직-특이적 방식으로 작용하여 담즙산을 포함한 여러 대사 경로는 물론, 섬유화 작용에도 영향을 미친다고 보고되어있다. 이에 FXR 에 의해 매개되는 간 질환에 대한 효과적인 치료 방법이 요구되고 있다.

[13]

[14] ACC 억제제 (acetyla-CoA carboxylase inhibitor)는 지방산 생성 및 대사의 조절에 중요한 효소인 아세틸-CoA 카복실라제 (acetyla-CoA carboxylase)를 억제하는 물질로 알려져 있다.

[15]

## 발명의 상세한 설명

## 기술적 과제

[16] 효과적인 간질환의 예방 및/또는 치료를 위한 약물의 개발이 요구된다.

[17]

## 기술적 해결방법

[18] 본 발명의 하나의 목적은 약학적 유효량의 3중 작용성 지속형 결합체(triple agonistic long-acting conjugate) 또는 3중 작용제 (triple agonist)와 약학적으로 허용되는 부형제를 함유하는 간 질환의 치료 또는 예방을 위한 약학적 조성물로서, 상기 약학적 조성물은 파네소이드 X 수용체 작용제(farnesoid X receptor agonist)와 병용되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[19] 본 발명의 또 하나의 목적은 (i) 글루카곤 수용체, GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) 수용체, 및 GIP (Glucose-dependent insuliontropic polypeptide) 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 또는 이의 지속형 결합체, 및 (ii) 파네소이드 X 수용체 작용제 (farnesoid X receptor agonist, FXR 작용제)를 포함하는, 조합물을 제공하는 것이다.

[20] 본 발명의 또 하나의 목적은 (i) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 또는 이의 지속형 결합체, (ii) FXR 작용제, 및 (iii) 아세틸조효소 A 카르복실라제 억제제 (acetyla-CoA carboxylase inhibitor, ACC 억제제)를 포함하는, 조합물을 제공하는 것이다.

[21] 본 발명의 또 하나의 목적은 상기 조합물을 포함하는, 간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[22] 본 발명의 또 하나의 목적은 (i) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 또는 이의 지속형 결합체, 및 (ii) FXR 작용제 (farnesoid X receptor agonist)를 포함하는, 간 질환의 예방 또는 치료를 위한 약학적 키트를 제공하는 것이다.

[23] 본 발명의 또 하나의 목적은 (i) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 또는 이의 지속형 결합체, (ii) FXR 작용제, 및 (iii) ACC 억제제를 포함하는, 간 질환의 예방 또는 치료를 위한 약학적 키트를 제공하는 것이다.

[24] 본 발명의 또 하나의 목적은 상기 조합물, 상기 간 질환의 치료 또는 예방을 위한 약학적 조성물, 또는 상기 약학적 키트를 이를 필요로 하는 개체에 투여 및/또는 사용하는 단계를 포함하는 간 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공하는 것이다.

[25] 본 발명의 또 하나의 목적은 상기 조합물, 약학적 조성물, 또는 약학적 키트의 간 질환의 예방 또는 치료 용도 및/또는 비알코올성 지방간 질환의 예방 또는 치료를 위한 약제의 제조를 위한 용도를 제공하는 것이다.

[26]

## 발명의 효과

[27] 본 발명에 따른 3중 작용성 지속형 결합체 또는 3중 작용제; 및 FXR 작용제의 복합 병용 투여, 또는 3중 작용성 지속형 결합체 또는 3중 작용제; FXR 작용제; 및 ACC 억제제의 삼중 복합 투여 요법은 단일 투여 요법에 비해 향상된 효과를 가져서 간 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용할 수 있다.

[28]

## 도면의 간단한 설명

[29] 도 1은 삼중 활성체의 지속형 결합체의 복합 투여에 따른 NAS (NAFLD activity score)의 변화를 나타낸 도이다 (*$p < 0.05$, **$p < 0.01$, ***$p < 0.001$ vs. CH-HFD, 부형제 대조군 by ono-way ANOVA).

[30] 도 2는 삼중 활성체의 지속형 결합체의 복합 투여에 따른 간조직내 하이드록시프롤린 (hydroxyprolin)의 함량 변화를 나타낸 도이다 (*$p < 0.05$, **$p < 0.01$, ***$p < 0.001$ vs. CH-HFD, 부형제 대조군 by ono-way ANOVA).

[31]

## 발명의 실시를 위한 최선의 형태

[32] 본 발명을 구현하는 하나의 양태는 3중 작용성 지속형 결합체(triple agonistic long-acting conjugate) 또는 3중 작용제 (triple agonist)를 포함하는 간 질환의 치료 또는 예방을 위한 약학적 조성물로서, 상기 약학적 조성물은 파네소이드 X 수용체 작용제(farnesoid X receptor agonist)와 병용되는 것을 특징하는 조성물이다.

[33]

[34] 하나의 구체예로서, 상기 약학적 조성물은 약학적 유효량의 3중 작용성 지속형 결합체 또는 3중 작용제 (triple agonist)와 약학적으로 허용되는 부형제를 함유하는 간 질환의 치료 또는 예방을 위한 약학적 조성물로서,

[35] 상기 약학적 조성물은 파네소이드 X 수용체 작용제(farnesoid X receptor agonist)와 병용되는 것을 특징으로 하고,

[36] 상기 3중 작용성 지속형 결합체는 하기 화학식 1로 표시되는 물질인 약학적 조성물인 것을 특징으로 한다:

[37] [화학식 1]

[38] Z - Lx - Fc

[39] 이 때 Lx는 에틸렌글리콜 반복 단위를 함유하는 링커이며, x는 0 또는 자연수이고,

[40] Fc는 면역글로불린 Fc 영역이고,

[41] -는 Lx와 Z 사이, Fc와 Lx 사이의 각각에 공유결합 연결을 나타내며,

[42] Z 또는 3중 작용제는 하기 일반식 1로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드이고,

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

[44] 상기 일반식 1에서,

[45] Xaa1은 히스티딘(His, H), 4-이미다조아세틸(CA) 또는 티로신(Tyr, Y)이고,

[46] Xaa2는 글리신(Gly, G), 알파-메틸-글루탐산 또는 2-아미노이소부티르산(2-aminoisobutyric acid, Aib)이며,

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

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

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

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

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

[52] Xaa14는 류신(Leu, L), 메티오닌(Met, M) 또는 티로신(Tyr, Y)이며,

[53] Xaa15는 시스테인(Cys, C), 아스파르트산(Asp, D), 글루탐산(Glu, E) 또는 류신(Leu, L)이며,

[54] Xaa16은 글리신(Gly, G), 글루탐산(Glu, E) 또는 세린(Ser, S)이고,

[55] Xaa17은 글루타민(Gln, Q), 아르기닌(Arg, R), 이소류신(Ile, I), 글루탐산(Glu, E), 시스테인(Cys, C) 또는 리신(Lys, K)이며,

[56] Xaa18은 알라닌(Ala, A), 글루타민(Gln, Q), 아르기닌(Arg, R) 또는 히스티딘(His, H)이고,

[57]

[58] Xaa19는 알라닌(Ala, A), 글루타민(Gln, Q), 시스테인(Cys, C) 또는 발린(Val, V)이며,

[59] Xaa20은 리신(Lys, K), 글루타민(Gln, Q) 또는 아르기닌(Arg, R)이고,

[60] Xaa21은 글루탐산(Glu, E), 글루타민(Gln, Q), 류신(Leu, L), 시스테인(Cys, C) 또는 아스파르트산(Asp, D)이며,

[61] Xaa23은 이소류신(Ile, I) 또는 발린(Val, V)이고,

[62] Xaa24는 알라닌(Ala, A), 글루타민(Gln, Q), 시스테인(Cys, C), 아스파라긴(Asn, N), 아스파르트산(Asp, D) 또는 글루탐산(Glu, E)이며,

[63] Xaa27은 발린(Val, V), 류신(Leu, L) 또는 리신(Lys, K) 이고,

[64] Xaa28은 시스테인(Cys, C), 리신(Lys, K), 알라닌(Ala, A), 아스파라긴(Asn, N) 또는 아스파르트산(Asp, D)이며,

[65] Xaa29는 시스테인(Cys, C), 글리신(Gly, G), 글루타민(Gln, Q), 트레오닌(Thr, T), 글루탐산(Glu, E) 또는 히스티딘(His, H)이고,

[66] Xaa30은 시스테인(Cys, C), 글리신(Gly, G), 리신(Lys, K) 또는 히스티딘(His, H)이거나, 부존재하며,

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

[68] m은 -Cys-, -Pro- 또는 -Gly-Pro-이고,

[69] n은 부존재하거나 -Cys-, -Gly-, -Ser- 또는 -His-Gly-이다.

[70]

[71] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 일반식 1에서

[72] Xaa2는 글리신, 알파-메틸-글루탐산 또는 2-아미노이소부티르산이고,

[73] Xaa7은 트레오닌이며,

[74] Xaa10은 티로신, 시스테인 또는 발린이고,

[75] Xaa12는 리신 또는 이소류신이며,

[76] Xaa13은 티로신, 알라닌, 글루타민 또는 시스테인이고,

[77] Xaa14는 류신, 티로신 또는 메티오닌이며;

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

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

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

[81] Xaa19는 알라닌, 글루타민, 발린 또는 시스테인이며,

[82] Xaa20은 리신, 아르기닌 또는 글루타민이고,

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

[84] Xaa23은 이소류신 또는 발린이고,

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

[86] Xaa27은 류신 또는 리신인 것을 특징으로 한다.

[87]

[88] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 Z 또는 3중 작용제는 하기 일반식 2로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드인 것을 특징으로 한다:

[89] Xaa1-Xaa2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa10-Ser-Lys-Xaa13-Xaa14-Xaa15-Xaa16-Xaa17-Xaa18-Xaa19-Xaa20-Xaa21-Phe-Xaa23-Xaa24-Trp-Leu-Leu-Xaa28-Xaa29-Xaa30-Xaa31- Ser-Ser-Gly-Gln-Pro-Pro-Pro-Ser-Xaa40(일반식 2, 서열번호 104)

[90] 상기 일반식 2에서,

[91] Xaa1은 4-이미다조아세틸, 히스티딘 또는 티로신이고,

[92] Xaa2는 글리신, 알파-메틸-글루탐산 또는 2-아미노이소부티르산이며,

[93] Xaa10은 티로신 또는 시스테인이고,

[94] Xaa13은 알라닌, 글루타민, 티로신 또는 시스테인이며,

[95] Xaa14는 류신, 메티오닌 또는 티로신이고,

[96] Xaa15는 아스파르트산, 글루탐산 또는 류신이며,

[97] Xaa16은 글리신, 글루탐산 또는 세린이고,

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

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

[100] Xaa19는 알라닌, 글루타민, 시스테인 또는 발린이며,

[101] Xaa20은 리신, 글루타민 또는 아르기닌이고,

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

[103] Xaa23은 이소류신 또는 발린이고,

[104] Xaa24는 시스테인, 알라닌, 글루타민, 아스파라긴 또는 글루탐산이며,

[105] Xaa28은 리신, 시스테인, 아스파라긴 또는 아스파르트산이고,

[106] Xaa29는 글리신, 글루타민, 시스테인 또는 히스티딘이며,

[107] Xaa30은 시스테인, 글리신, 리신 또는 히스티딘이고,

[108] Xaa31은 프롤린 또는 시스테인이며;

[109] Xaa40은 시스테인이거나, 부존재한다.

[110]

[111] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 Z 또는 3중 작용제는 하기 일반식 3으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드인 것을 특징으로 한다:

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

[113] 상기 일반식 3에서,

[114] Xaa1은 히스티딘 또는 티로신이고,

[115] Xaa2는 알파-메틸-글루탐산 또는 2-아미노이소부티르산이며,

[116] Xaa13은 알라닌, 티로신 또는 시스테인이고,

[117] Xaa17은 아르기닌, 시스테인 또는 리신이며,

[118] Xaa18은 알라닌 또는 아르기닌이고,

[119] Xaa19는 알라닌 또는 시스테인이며,

[120] Xaa21은 글루탐산 또는 아스파르트산이고,

[121] Xaa24는 글루타민 또는 아스파라긴이며,

[122] Xaa28은 시스테인 또는 아스파르트산이고,

[123] Xaa29는 시스테인, 히스티딘 또는 글루타민이며,

[124] Xaa30은 시스테인 또는 히스티딘이고,

[125] Xaa31은 프롤린 또는 시스테인이며,

[126] Xaa40은 시스테인 또는 부존재함.

[127] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 Z 또는 3중 작용제 중 상기 Xaa16이 글루탐산이고, Xaa20이 리신이며, 상기 글루탐산과 상기 리신이 락탐 고리를 형성한 것을 특징으로 한다.

[128] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 Z 또는 3중 작용제는 그 C-말단이 아미드화된 것을 특징으로 한다.

[129] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 Lx 내의 에틸렌글리콜 반복 단위 부분의 화학식량은 1 ~ 100 kDa 범위 내인 것을 특징으로 한다.

[130] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 Z 또는 3중 작용제는 서열번호: 1 내지 102로 이루어진 군으로부터 선택하는 하나의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드인 것을 특징으로 한다.

[131] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 Z 또는 3중 작용제는 서열번호 21, 22, 42, 43, 50, 64, 66, 67, 70, 71, 76, 77, 96, 97과 100으로 이루어진 군으로부터 선택하는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드인 것을 특징으로 한다.

[132] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 Z 또는 3중 작용제는 서열번호 21, 22, 42, 43, 50, 66, 67, 77, 96, 97과 100으로 이루어진 군으로부터 선택하는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드인 것을 특징으로 한다.

[133] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 Z 또는 3중 작용제는 서열번호 21, 22, 42, 43, 50, 77과 96으로 이루어진 군으로부터 선택하는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드인 것을 특징으로 한다.

[134] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 파네소이드 X 수용체 작용제는 카페스톨(Cafestol), 케노데옥시콜린산(Chenodeoxycholic acid), 오베티콜린산(Obeticholic acid), 펙사라민(Fexaramine), GW 4064, PX104, 6E-CDCA(6-ethyl-chedeoxycholic acid), AKN-083, 트로피펙서(Tropifexor), 킬로펙서(Cilofexor), EDP-305, AGN-242266, AGN-242256, EP-024297, RDX-023, BWL-200, GNF-5120, GS-9674, LMB-763, Px-102, Px-103, M790, M780, M450,

M-480, MET-409, MET-642, PX20606, EYP-001, TERN-101, TC-100 및 INT-2228으로 이루어진 군에서 선택하는 하나 이상인 것을 특징으로 한다.

[135] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 약학적 조성물은 아세틸조효소 A 카르복실라제 억제제(acetyl-Coenzyme A carboxylase inhibitor)와도 병용하는 것을 특징으로 한다.

[136] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 아세틸조효소 A 카르복실라제 억제제는 CP-640186,(4-피페리디닐)-피페라진 유도체((4-piperidinyl)-piperazine derivatives), 1,4-치환 사이클로헥산 유도체(1,4-disubstituted cyclohexane derivatives), 스피로크로마논 유도체(Spirochromanone derivatives), 스피로락탐 유도체(Spirolactam derivatives), 스피로디아민 유도체(Spirodiamine derivatives), 스피로펜타실아미드 유도체(Spiropentacylamide derivatives), 슈도펩타이드 피롤리딘다이온 유도체(Pseudopeptide pyrrolidinedione derivatives), 매크로사이클릭 폴리케톤 유도체(Macrocyclic polyketone derivatives), 피르소코스타트 (firsocostat)를 포함하는 티오펜 피리미돈 유도체(Thiophene pyrimidone derivatives), 아미노-옥사졸 유도체(Amino-oxazole derivatives), 아조벤지미다졸 유도체(Azobenzimidazole derivatives) 및 PF-05221304로 이루어진 군에서 선택하는 하나 이상인 것을 특징으로 한다.

[137] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 간 질환은 비알코올성 지방간 질환(non-alcoholic fatty liver disease) 또는 담즙정체성 간질환인 것을 특징으로 한다.

[138] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 비알코올성 지방간 질환은 단순 지방증, 간 염증, 비알코올성 지방간, 비알코올성 지방간염, 간경변, 간 섬유증, 간부전, 및 간암으로 이루어진 군에서 선택하는 적어도 하나의 질환인 것을 특징으로 한다.

[139] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 담즙 정체성 간질환은 원발성 담즙성 경변증 (Primary biliary cirrhosis), 원발성 경화성 담관염(primary sclerosing cholangitis) 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택하는 어느 하나인 것을 특징으로 한다.

[140] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 비알코올성 지방간 질환은 간 염증, 비알코올성 지방간염과 간 섬유증으로 이루어진 군에서 선택하는 적어도 하나의 질환인 것을 특징으로 한다.

[141]

[142] 본 발명을 구현하는 또 하나의 양태는 (i) 글루카곤 수용체, GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) 수용체, 및 GIP (Glucose-dependent insuliontropic polypeptide) 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 또는 이의 지속형 결합체, 및 (ii) FXR 작용제 (farnesoid X receptor agonist)를 포함하는, 조합물이다.

[143] 하나의 구체예로서, 상기 조합물은 (iii) ACC 억제제 (acetyla-CoA carboxylase

inhibitor)를 추가로 포함하는 것을 특징으로 한다.

[144]

[145] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질은 상기에서 설명한 일반식 1로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드인 것을 특징으로 한다.

[146]

[147] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 일반식 1에서,

[148] Xaa14는 류신 또는 메티오닌이며,

[149] Xaa15는 시스테인, 아스파르트산, 또는 류신인 것을 특징으로 한다.

[150]

[151] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질은 상기에서 설명한 일반식 2로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드인 것을 특징으로 한다

[152]

[153] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 일반식 1에서,

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

[155] Xaa7은 트레오닌이며,

[156] Xaa10은 티로신, 시스테인, 또는 발린이고,

[157] Xaa12는 리신 또는 이소류신이며,

[158] Xaa13은 티로신, 알라닌, 또는 시스테인이고,

[159] Xaa14는 류신 또는 메티오닌이며,

[160] Xaa15는 시스테인 또는 아스파르트산이고,

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

[162] Xaa18은 알라닌, 아르기닌, 또는 히스티딘이고,

[163] Xaa19는 알라닌, 글루타민, 또는 시스테인이며,

[164] Xaa20은 리신 또는 글루타민이고,

[165] Xaa21은 글루탐산, 시스테인, 또는 아스파르트산이며,

[166] Xaa23은 발린이고,

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

[168] Xaa27은 류신 또는 리신인 것을 특징으로 한다.

[169] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 일반식 2에서,

[170] Xaa13은 알라닌, 티로신, 또는 시스테인이고,

[171] Xaa15는 아스파르트산 또는 글루탐산이며,

[172] Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 시스테인, 또는 리신이고,

[173] Xaa18은 알라닌, 아르기닌, 또는 히스티딘이며,

[174] Xaa21은 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 또는 아스파르트산이고,

[175] Xaa23은 이소류신 또는 발린이며,

[176] Xaa24는 시스테인, 글루타민, 또는 아스파라긴이고,

[177] Xaa28은 시스테인, 아스파라긴, 또는 아스파르트산이며,

[178] Xaa29는 글루타민, 시스테인, 또는 히스티딘이고,

[179] Xaa30은 시스테인, 리신, 또는 히스티딘인 것을 특징으로 한다.

[180]

[181] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 일반식 1에서,

[182] Xaa2는 알파-메틸-글루탐산 또는 Aib이고,

[183] Xaa7은 트레오닌이며,

[184] Xaa10은 티로신 또는 시스테인이고,

[185] Xaa12는 리신 또는 이소류신이며,

[186] Xaa13은 티로신, 알라닌, 또는 시스테인이고,

[187] Xaa14는 류신 또는 메티오닌이며,

[188] Xaa15는 시스테인 또는 아스파르트산이고,

[189] Xaa16은 글루탐산이며,

[190] Xaa17은 아르기닌, 이소류신, 시스테인, 또는 리신이고,

[191] Xaa18은 알라닌, 아르기닌, 또는 히스티딘이며,

[192] Xaa19는 알라닌, 글루타민, 또는 시스테인이고,

[193] Xaa20은 리신 또는 글루타민이며,

[194] Xaa21은 글루탐산 또는 아스파르트산이고,

[195] Xaa23은 발린이며,

[196] Xaa24는 글루타민, 아스파라긴, 또는 아스파르트산이고,

[197] Xaa27은 류신이며,

[198] Xaa28은 시스테인, 알라닌, 아스파라긴, 또는 아스파르트산인 것을 특징으로 한다.

[199]

[200] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 일반식 1에서,

[201] Xaa1은 히스티딘 또는 4-이미다조아세틸이고,

[202] Xaa2는 알파-메틸-글루탐산 또는 Aib이며,

[203] Xaa3은 글루타민이고,

[204] Xaa7은 트레오닌이며,

[205] Xaa10은 티로신이고,

[206] Xaa12는 이소류신이며,

[207] Xaa13은 알라닌 또는 시스테인이고,

[208] Xaa14는 메티오닌이며,

[209]

[210] Xaa15는 아스파르트산이고,

[211] Xaa16은 글루탐산이며,

[212] Xaa17은 이소류신 또는 리신이고,

[213] Xaa18은 알라닌 또는 히스티딘이며,

[214] Xaa19는 글루타민 또는 시스테인이고,

[215] Xaa20은 리신이며,

[216] Xaa21은 아스파르트산이고,

[217] Xaa23은 발린이며,

[218] Xaa24는 아스파라긴이고,

[219] Xaa27은 류신이며,

[220] Xaa28은 알라닌 또는 아스파라긴이고,

[221] Xaa29는 글루타민 또는 트레오닌이며,

[222] Xaa30은 시스테인 또는 리신이거나, 부존재하는 것을 특징으로 한다.

[223]

[224] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질은 상기에서 설명한 일반식 3의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드인 것을 특징으로 한다.

[225]

[226] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 일반식 1에서,

[227] 상기 R1은 시스테인, GKKNDWKHNIT (서열번호 106), CSSGQPPPS (서열번호 109), GPSSGAPPPS (서열번호 110), GPSSGAPPPSC (서열번호 111), PSSGAPPPS (서열번호 112), PSSGAPPPSG (서열번호 113), PSSGAPPPSHG (서열번호 114), PSSGAPPPSS (서열번호 115), PSSGQPPPS (서열번호 116), 또는 PSSGQPPPSC (서열번호 117)이거나, 부존재하는 것을 특징으로 한다.

[228]

[229] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 펩타이드는 상기 일반식에서 N-말단으로부터 16번 아미노산과 20번 아미노산은 서로 고리를 형성하는 것을 특징으로 한다.

[230] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 펩타이드는 이의 C-말단이 아미드화되거나 또는 자유 카르복실기 (-COOH)를 갖는 것을 특징으로 한다.

[231] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질은 서열번호: 1 내지 102로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드인 것을 특징으로 한다.

[232] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 FXR 작용제는 카페스톨 (Cafestol), 케노데옥시콜산 (Chenodeoxycholic acid), 오베티콜산 (Obeticholic acid), 펙사라민 (Fexaramine), GW 4064, PX104, 6E-CDCA (6-ethyl-chedeoxycholic acid), AKN-083 및 트로피펙서 (Tropifexor), 킬로펙서 (Cilofexor), EDP-305 AGN-242266, AGN-242256, EP-024297, RDX-023, BWL-200, GNF-5120, GS-9674, LMB-763, Px-102, Px-103, M790, M780, M450, M-480, MET-409, MET-642, PX20606, EYP-001, TERN-101, TC-100 및 INT-2228으로 이루어진 군에서 선택된 것을 특징으로 한다.

[233] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 ACC 억제제는 CP-640186, (4-피페리디닐)-피페라진 유도체 ((4-piperidinyl)-piperazine derivatives), 1,4-치환 사이클로헥산 유도체 (1,4-disubstituted cyclohexane derivatives), 스피로크로마논 유도체 (Spirochromanone derivatives), 스피로락탐 유도체 (Spirolactam derivatives), 스피로디아민 유도체 (Spirodiamine derivatives), 스피로펜타실아미드 유도체 (Spiropentacylamide derivatives), 슈도펩타이드 피롤리딘다이온 유도체 (Pseudopeptide pyrrolidinedione derivatives), 매크로사이클릭 폴리케톤 유도체 (Macrocyclic polyketone derivatives), 피르소코스타트 (firsocostat)를 포함하는 티오펜 피리미돈 유도체 (Thiophene pyrimidone derivatives), 아미노-옥사졸 유도체 (Amino-oxazole derivatives), 아조벤지미다졸 유도체 (Azobenzimidazole derivatives) 및 PF-05221304로 이루어진 군에서 선택된 것을 특징으로 한다.

[234] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 결합체는 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질의 생체 내 반감기를 증가시킬 수 있는 생체적합성 물질이 결합된, 지속형 결합체의 형태인 것을 특징으로 한다.

[235] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 결합체는 상기에서 설명한 화학식 1로 표시되는 것을 특징으로 한다.

[236]

[237] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 화학식 1의 Fc는 면역글로불린 Fc 영역인 것을 특징으로 한다.

[238] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물 또는 조합물로서, 상기 Fc 영역은 IgG Fc 영역인 것을 특징으로 한다.

[239]

[240] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물 또는 조합물로서, 상기 Lx는 폴리에틸렌 글리콜인 것을 특징으로 한다.

[241] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 조합물은 간 질환의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 것을 특징으로 한다.

[242] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 조합물로서, 상기 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질은 서열번호: 1 내지 102로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드이고, 이의 결합체는 상기 펩타이드와 면역글로불린 Fc 영역이 비펩타이드성 중합체인 링커를 통해 연결된 것을 특징으로 한다.

[243]

[244] 본 발명을 구현하는 다른 하나의 양태는 상기 조합물을 포함하는, 간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물이다.

[245] 하나의 구체예로서, 상기 간 질환은 비알코올성 지방간 질환(non-alcoholic fatty liver disease) 또는 담즙정체성 간질환인 것을 특징으로 한다.

[246] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 비알코올성 지방간

질환은 단순 지방증, 간 염증, 비알코올성 지방간, 비알코올성 지방간염, 간경변, 간 섬유증, 간 부전 및 간암으로 이루어진 군에서 선택된 것을 특징으로 한다.

[247] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물로서, 상기 담즙 정체성 간질환은 원발성 담즙성 경변증, 원발성 경화성 담관염 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택하는 어느 하나인 것을 특징으로 한다.

[248]

[249] 본 발명을 구현하는 다른 하나의 양태는 FXR 작용제 (farnesoid X receptor agonist)와 병용하는 것을 특징으로 하는 상기의 글루카곤 수용체, GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) 수용체, 및 GIP (Glucose-dependent insuliontropic polypeptide) 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 또는 이의 결합체를 포함하는, 간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물이다.

[250] 하나의 구체예로서, 상기 조성물은 추가로 ACC 억제제 (acetyla-CoA carboxylase inhibitor)와 병용하는 것을 특징으로 한다.

[251]

[252] 본 발명을 구현하는 다른 하나의 양태는 (i) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 또는 이의 지속형 결합체, 및 (ii) FXR 작용제를 포함하는, 간 질환의 예방 또는 치료를 위한 약학적 키트이다.

[253] 하나의 구체예로서, 상기 키트는 (iii) ACC 억제제를 추가로 포함하는 것을특징으로 한다.

[254]

[255] 본 발명을 구현하는 다른 하나의 양태는 상기 조합물, 상기 간 질환의 치료 또는 예방을 위한 약학적 조성물, 또는 상기 약학적 키트를 이를 필요로 하는 개체에 투여 및/또는 사용하는 단계를 포함하는 간 질환의 예방 또는 치료 방법이다.

[256]

[257] 본 발명을 구현하는 다른 하나의 양태는 상기 조합물, 약학적 조성물, 또는 약학적 키트의 간 질환의 예방 또는 치료 용도 및/또는 간 질환의 예방 또는 치료를 위한 약제의 제조를 위한 용도이다.

[258]

## 발명의 실시를 위한 형태

[259] 이하에서는, 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.

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

[261] 또한, 당해 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 통상의 실험만을 사용하여 본 출원에 기재된 본 발명의 특정 양태에 대한 다수의 등가물을 인지하거나 확인할 수 있다. 또한, 이러한 등가물은 본 발명에 포함되는 것으로 의도된다.

[262] 본 명세서 전반을 통하여, 천연적으로 존재하는 아미노산에 대한 통상의 1문자 및 3문자 코드가 사용될 뿐만 아니라 Aib(2-아미노이소부티르산, 2-aminoisobutyric acid), Sar(N-methylglycine) 등과 같은 다른 아미노산에 대해 일반적으로 허용되는 3문자 코드가 사용된다. 또한 본 명세서에서 약어로 언급된 아미노산은 IUPAC-IUB 명명법에 따라 기재되었다.

[263]

[264] 알라닌 Ala, A 아르기닌 Arg, R

[265] 아스파라긴 Asn, N 아스파르트산 Asp, D

[266] 시스테인 Cys, C 글루탐산 Glu, E

[267] 글루타민 Gln, Q 글리신 Gly, G

[268] 히스티딘 His, H 이소류신 Ile, I

[269] 류신 Leu, L 리신 Lys, K

[270] 메티오닌 Met, M 페닐알라닌 Phe, F

[271] 프롤린 Pro, P 세린 Ser, S

[272] 트레오닌 Thr, T 트립토판 Trp, W

[273] 티로신 Tyr, Y 발린 Val, V

[274]

[275] 본 발명을 구현하는 하나의 양태는 3중 작용성 지속형 결합체(triple agonistic long-acting conjugate) 또는 3중 작용제를 포함하는 간 질환의 치료 또는 예방을 위한 약학적 조성물로서, 상기 약학적 조성물은 파네소이드 X 수용체 작용제(farnesoid X receptor agonist, FXR 작용제)와 병용되는 것을 특징하는 약학적 조성물을 제공한다.

[276] 상기 "3중 작용성 지속형 결합체"는 글루카곤 수용체, GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) 수용체, 및 GIP (Glucose-dependent insuliontropic polypeptide) 수용체에 대해 활성을 갖는, 펩타이드에 이의 생체 내 반감기를 증가시키는 생체 적합성 물질부가 결합된 지속형 결합체를 의미한다. 본 명세서에서 상기 생체적합성 물질은 캐리어와 혼용될 수 있다. 상기 "글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (또는 펩타이드)"는 "3중 작용제 (triple agonis, trigonal agonist)" 또는 “삼중 활성체”로 지칭될 수 있다.

[277] 본 발명에서 상기 펩타이드의 결합체인 "3중 작용성 지속형 결합체"는 캐리어가 결합되지 않은 상기 펩타이드에 비하여 증가된 효력의 지속성을 나타낼 수 있으며, 본 발명에서는 이러한 결합체를 "지속형 결합체"로 지칭하고 "결합체", "삼중 활성체의 지속형 결합체", 또는 "글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질의 결합체"로 혼용되어 사용될 수 있다.

[278]

[279] 본 발명의 하나의 구체예에서, 상기 약학적 조성물은 약학적 유효량의 3중 작용성 지속형 결합체 또는 3중 작용제와 약학적으로 허용되는 부형제를

함유하는 간 질환의 치료 또는 예방을 위한 약학적 조성물로서,

[280] 상기 약학적 조성물은 파네소이드 X 수용체 작용제와 병용되는 것을 특징으로 한다.

[281] 상기 "3중 작용성 지속형 결합체"는 하기 화학식 1로 표시되는 물질일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[282] [화학식 1]

[283] Z - Lx - Fc

[284] 이 때 Lx는 에틸렌글리콜 반복 단위를 함유하는 링커이며, x는 0 또는 자연수이고,

[285] Fc는 면역글로불린 Fc 영역이고,

[286] -는 Lx와 Z 사이, Fc와 Lx 사이의 각각에 공유결합 연결을 나타내며,

[287] Z 또는 3중 작용제는 하기 일반식 1로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드이고,

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

[289] 상기 일반식 1에서,

[290] Xaa1은 히스티딘(His, H), 4-이미다조아세틸(CA) 또는 티로신(Tyr, Y)이고,

[291] Xaa2는 글리신(Gly, G), 알파-메틸-글루탐산 또는 2-아미노이소부티르산(2-aminoisobutyric acid, Aib)이며,

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

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

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

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

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

[297] Xaa14는 류신(Leu, L), 메티오닌(Met, M) 또는 티로신(Tyr, Y)이며,

[298] Xaa15는 시스테인(Cys, C), 아스파르트산(Asp, D), 글루탐산(Glu, E) 또는 류신(Leu, L)이며,

[299] Xaa16은 글리신(Gly, G), 글루탐산(Glu, E) 또는 세린(Ser, S)이고,

[300] Xaa17은 글루타민(Gln, Q), 아르기닌(Arg, R), 이소류신(Ile, I), 글루탐산(Glu, E), 시스테인(Cys, C) 또는 리신(Lys, K)이며,

[301] Xaa18은 알라닌(Ala, A), 글루타민(Gln, Q), 아르기닌(Arg, R) 또는 히스티딘(His, H)이고,

[302] Xaa19는 알라닌(Ala, A), 글루타민(Gln, Q), 시스테인(Cys, C) 또는 발린(Val, V)이며,

[303] Xaa20은 리신(Lys, K), 글루타민(Gln, Q) 또는 아르기닌(Arg, R)이고,

[304] Xaa21은 글루탐산(Glu, E), 글루타민(Gln, Q), 류신(Leu, L), 시스테인(Cys, C) 또는 아스파르트산(Asp, D)이며,

[305] Xaa23은 이소류신(Ile, I) 또는 발린(Val, V)이고,

[306] Xaa24는 알라닌(Ala, A), 글루타민(Gln, Q), 시스테인(Cys, C), 아스파라긴(Asn, N), 아스파르트산(Asp, D) 또는 글루탐산(Glu, E)이며,

[307] Xaa27은 발린(Val, V), 류신(Leu, L) 또는 리신(Lys, K) 이고,

[308] Xaa28은 시스테인(Cys, C), 리신(Lys, K), 알라닌(Ala, A), 아스파라긴(Asn, N) 또는 아스파르트산(Asp, D)이며,

[309] Xaa29는 시스테인(Cys, C), 글리신(Gly, G), 글루타민(Gln, Q), 트레오닌(Thr, T), 글루탐산(Glu, E) 또는 히스티딘(His, H)이고,

[310] Xaa30은 시스테인(Cys, C), 글리신(Gly, G), 리신(Lys, K) 또는 히스티딘(His, H)이거나, 부존재하며,

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

[312] m은 -Cys-, -Pro- 또는 -Gly-Pro-이고,

[313] n은 부존재하거나 -Cys-, -Gly-, -Ser- 또는 -His-Gly-이다.

[314] 상기 일반식 1은 서열번호 12일 경우 Xaa27은 예외적으로 메티오닌 (Met, M)일 수 있다.

[315]

[316] 상기 약학적 조성물은 아세틸조효소 A 카르복실라제 억제제(acetyl-Coenzyme A carboxylase inhibitor, ACC 억제제)와도 병용하는 것일 수 있다.

[317]

[318] 본 발명의 또 하나의 양태는 (i) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 또는 이의 지속형 결합체, 및 (ii) FXR 작용제 (farnesoid X receptor agonist)를 병용하는 치료학적 용도를 제공한다.

[319]

[320] 또 하나의 구체예는 (i) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 또는 이의 지속형 결합체, (ii) FXR 작용제, 및 (iii) ACC 억제제 (acetyla-CoA carboxylase inhibitor)를 병용하는 치료학적 용도를 제공한다.

[321]

[322] 또 하나의 구체예는 (i) 3중 작용성 지속형 결합체 또는 3중 작용제 및 (ii) FXR 작용제를 병용하는 간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[323]

[324] 또 하나의 구체예는 (i) 3중 작용성 지속형 결합체 또는 3중 작용제, (ii) FXR 작용제, 및 (iii) ACC 억제제를 병용하는 간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[325]

[326] 구체적으로, 본 발명의 일 양태는 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체); 및 FXR 작용제를 포함하는 조합물, 약학적 조성물, 또는 키트를 제공한다.

[327] 일 구체예로, 상기 3중 작용제 또는 이의 지속형 결합체; 및 FXR 작용제를 포함하는 조합물, 약학적 조성물, 또는 키트는 간 질환의 예방 또는 치료용 조합물, 약학적 조성물, 또는 키트일 수 있다.

[328]

[329] 상기 조합물은 ACC 억제제를 추가로 포함할 수 있으며, 이 경우 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체); FXR 작용제; 및 ACC 억제제를 포함하는 조합물, 약학적 조성물, 또는 키트를 제공한다. 일 구체예로, 상기 3중 작용제 또는 이의 지속형 결합체; FXR 작용제; 및 ACC 억제제를 포함하는 조합물, 약학적 조성물, 또는 키트는 간 질환의 예방 또는 치료용 조합물, 약학적 조성물, 또는 키트일 수 있다.

[330]

[331] 본 발명에서 용어 "조합물(combination)"은 (a) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체); 및 (b) FXR 작용제, 또는 (b') FXR 작용제 및 ACC 억제제의 병용 투여 용도를 갖는 것으로, "병용 용도(combined used)"와 같은 의미로 이해될 수 있다. 이는 3중 작용성 지속형 결합체 또는 3중 작용제와 FXR 작용제가 병용되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물이나, 상기 약학적 조성물에 ACC 억제제가 추가로 병용되는 조성물 형태도 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 본원에서 (a) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체); 및 (b) FXR 작용제의 병용 투여는 "복합 병용 투여" 또는 "복합 투여"로 혼용될 수 있으며, (a) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체); 및 (b') FXR 작용제 및 ACC 억제제의 병용 투여는 "삼중 복합 병용 투여", "삼중 복합 투여"로 혼용될 수 있다.

[332] 상기 조합물 또는 약학적 조성물은

[333] a) (i) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체) 및 (ii) FXR 작용제가 혼합된 하나의 혼합물(mixture)로 투여되는 것이거나, 또는 (i) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), (ii) FXR 작용제, 및 (iii) ACC 억제제가 혼합된 하나의 혼합물(mixture)로 투여되는 것이거나; 또는

[334] b) (i) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질

(3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체) 및 (ii) FXR 작용제가 분리된 형태로 투여되는 것이거나, 또는 (i) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), (ii) FXR 작용제, 및 (iii) ACC 억제제가 분리된 형태로 투여되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[335] 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체) 및 FXR 작용제가 분리된 형태일 경우, 또는 GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), FXR 작용제 및 ACC 억제제가 분리된 형태일 경우, 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체) 및 FXR 작용제; 또는 GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), FXR 작용제 및 ACC 억제제가 별개의 제제로 제제화되어 동시, 개별, 순차, 또는 역순으로 투여될 수 있는 것일 수 있다.

[336] 본 발명에서, "병용 투여", "병용되는" "병용하는"은 단지 동시의 투여를 의미하는 것뿐만이 아니라, a) (i) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체) 및 (ii) FXR 작용제; 또는 b) (i) GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), (ii) FXR 작용제 및 (iii) ACC 억제제가 개체에 함께 작용하여 각 물질 ((i), (ii) 및/또는 (iii))이 본연의 기능과 동등하거나 그 이상의 수준을 수행할 수 있는 투여 형태로 이해되어야 한다. 따라서, 본원에서, "병용"이란 용어가 사용될 경우 이는 동시, 개별, 순차, 또는 역순 투여를 나타내는 것으로 그 순서가 무제한 인 것으로 이해되어야 한다. 상기 투여가 순차, 역순 또는 개별적인 경우, 투여의 순서는 특별히 제한되지 않고 다만 2차 이상의 성분 투여의 간격은 상기 병용의 이로운 효과를 잃지 않도록 하는 것이어야 한다.

[337]

[338] 본 발명에서 용어 "조합물을 포함하는 조성물(composition)"은 상기 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체) 및 FXR 작용제; 또는 GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체(3중 작용성 지속형 결합체), FXR 작용제 및 ACC 억제제를 포함하는 조합물 그 자체이거나, 이를 포함하고, 치료학적 용도를 갖는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 그 예로, 간 질환의 예방 또는 치료 용도를 갖는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 본원에서 "조합물을 포함하는 조성물"은 "조성물"과 상호 교환적으로 사용될 수 있다.

[339] 본 발명에 따른 조합물을 포함하는 조성물은 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체) 및 FXR 작용제; 또는 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), FXR 작용제 및 ACC 억제제를 병용 투여하기 위한 것으로, 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체) 및 FXR 작용제; 또는 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), FXR 작용제 및 ACC 억제제가 하나의 제제로 제제화된 것이거나, 또는 개별적으로 제제화된 것일 수 있다. 그 예로, 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체) 및 FXR 작용제; 또는 GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체, FXR 작용제 및 ACC 억제제를 동시, 개별, 순차, 또는 역순으로 투여하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[340]

[341] 본 발명에서 용어 "키트"는 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체) 및 FXR 작용제; 또는 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), FXR 작용제 및 ACC 억제제를 병용 투여하기 위해, 본 발명에 따른 조합물 또는 조성물을 포함하는 것일 수 있다. 구체적으로, 본 발명에 따른 키트에는 하나의 제제로 제제화된 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체) 및 FXR 작용제; 또는 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), FXR 작용제 및 ACC 억제제의 개별 제제를 포함하는 것일 수 있고, 두 물질, 또는 세 물질의 병용 투여에 필요한 물질을 추가적으로 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[342]

[343] 본 발명은 간 질환에 예방 또는 치료 효과를 갖는 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체)에 FXR 작용제; 또는 FXR 작용제 및 ACC 억제제를 추가로 포함하여 병용하여 사용할 경우, 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체) 단독에 비해 간 질환의 예방 또는 치료 효과가 획기적으로 개선되는 것을 확인하여 상기 병용 사용 요법을 제공하게

되었다.

[344]

[345] 상기 "글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는, 물질"은 "글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는, 펩타이드"일 수 있다. 본 발명에서 "3중 작용제 (triple agonist)" 또는 "삼중 활성체"로 혼용되어 사용될 수 있다. 상기 삼중 활성체는 상기 화학식 1의 일 구성요소인 Z일 수 있다.

[346] 이러한 펩타이드는 글루카곤, GLP-1, 및 GIP 수용체에 대해 유의한 수준의 활성을 가지는 다양한 물질, 예컨대 다양한 펩타이드를 포함한다.

[347] 특별히 이에 제한되는 것은 아니나, 상기 글루카곤, GLP-1, 및 GIP 수용체에 대해 유의한 수준의 활성을 가지는 삼중 활성체는 글루카곤, GLP-1, 및 GIP 수용체 중 하나 또는 그 이상의 수용체, 구체적으로 둘 또는 그 이상의 수용체, 보다 구체적으로 세 개의 수용체 모두에 대해 *in vitro* 활성이 해당 수용체의 천연형 리간드 (천연형 글루카곤, 천연형 GLP-1, 및 천연형 GIP) 대비 약 0.001%이상, 약 0.01% 이상, 약 0.1% 이상, 약 1% 이상, 약 2% 이상, 약 3 % 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 6% 이상, 약 7% 이상, 약 8% 이상, 약 9% 이상, 약 10 % 이상, 약 20% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상, 약 50 % 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90% 이상, 약 100%, 약 150% 이상, 약 200% 이상을 나타낼 수 있으나, 유의적으로 증가한 범위는 제한 없이 포함된다.

[348] 여기서, 수용체에 대한 활성은, 천연형 대비 수용체에 대한 *in vitro* 활성이 약 0.001%이상, 0.01% 이상, 0.1% 이상, 1% 이상, 2% 이상, 3 % 이상, 4% 이상, 5% 이상, 6% 이상, 7% 이상, 8% 이상, 9% 이상, 10 % 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50 % 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90 % 이상, 100% 이상, 약 200% 이상을 나타내는 경우를 예로 들 수 있다. 그러나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[349] 본 발명에서 용어, "약"은 ±0.5, ±0.4, ±0.3, ±0.2, ±0.1 등을 모두 포함하는 범위로, 약 이란 용어 뒤에 나오는 수치와 동등하거나 유사한 범위의 수치를 모두 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[350]

[351] 이러한 삼중 활성체의 *in vitro* 활성을 측정하는 방법은 본원 명세서의 실시예 3을 참조할 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[352] 한편, 상기 펩타이드는 하기 i) 내지 iii) 중 하나 이상, 둘 이상, 구체적으로 세 개의 활성을 보유하는 것, 구체적으로 유의한 활성을 보유하는 것을 특징으로 한다:

[353] i) GLP-1 수용체의 활성화; ii) 글루카곤 수용체의 활성화; 및 iii) GIP 수용체의 활성화.

[354] 여기서, 수용체를 활성화시킨다는 것은, 천연형 대비 수용체에 대한 *in vitro* 활성이 약 0.001%이상, 약 0.1% 이상, 약 1% 이상, 약 2% 이상, 약 3 % 이상, 약 4% 이상, 약 5% 이상, 약 6% 이상, 약 7% 이상, 약 8% 이상, 약 9% 이상, 약 10 %

이상, 약 20% 이상, 약 30% 이상, 약 40% 이상, 약 50 % 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90 % 이상, 약 100% 이상, 약 150% 이상, 약 200% 이상을 나타내는 경우를 예로 들 수 있다. 그러나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[355] 또한, 상기 펩타이드는 천연형 GLP-1, 천연형 글루카곤 및 천연형 GIP 중 어느 하나 대비 체내 반감기가 증가된 것일 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[356] 특별히 이에 제한되는 것은 아니나, 이러한 상기 펩타이드는 비자연적으로 발생된 (non-naturally occurring) 것일 수 있다.

[357]

[358] 이러한 펩타이드는 분자 내 가교 (intramolecular bridge)를 포함할 수 있으며 (예컨대, 공유결합적 가교 또는 비공유결합적 가교), 구체적으로 고리를 포함하는 형태일 수 있으며, 예컨대 펩타이드의 16번 및 20번 위치의 아미노산 사이에 고리가 형성된 형태일 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다. 구체적인 예로, 16번 위치의 아미노산은 글루탐산, 20번 위치의 아미노산은 리신일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[359] 상기 고리의 비제한적인 예로 락탐 가교 (또는 락탐 고리)를 포함할 수 있다.

[360] 또한, 상기 펩타이드는 고리를 포함하도록, 목적하는 위치에 고리를 형성할 수 있는 아미노산을 포함하도록 변형된 것을 모두 포함한다.

[361] 예컨대, 펩타이드의 16번 및 20번 위치의 아미노산 쌍이 각각 고리를 형성할 수 있는 글루탐산 또는 리신으로 치환된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[362] 이러한 고리는 상기 펩타이드 내의 아미노산 곁 사슬 간에 형성될 수 있으며, 그 예로 리신의 곁 사슬과 글루탐산의 곁 사슬 간에 락탐 고리가 형성되는 형태일 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[363] 이러한 방법들의 조합으로 제조되는 펩타이드의 예로, 천연형 글루카곤과 아미노산 서열이 하나 이상 다르고, N-말단의 아미노산 잔기의 알파-탄소가 제거된, 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 보유한 펩타이드 등이 있으나, 이에 제한되지 않으며, 아날로그 제조를 위한 여러 방법들의 조합으로 본 발명에 적용되는 펩타이드를 제조할 수 있다.

[364] 또한, 특별히 이에 제한되지 않으나, 본 발명의 펩타이드는 체내 반감기의 증가를 위해 활성체 분해 효소의 인식작용을 회피하기 위하여 일부 아미노산을 타 아미노산 혹은 비 천연형 화합물로 치환할 수 있다.

[365] 구체적으로, 상기 펩타이드의 아미노산 서열 중 두 번째 아미노산 서열의 치환을 통해 분해효소의 인식 작용을 회피하여 체내 반감기를 증가시킨 펩타이드일 수 있으나, 체내 분해 효소의 인식 작용을 회피하기 위한 아미노산 치환 또는 변경은 제한 없이 포함된다.

[366] 또한, 펩타이드 제조를 위한 이러한 변형은 L-형 혹은 D-형 아미노산, 및/또는 비-천연형 아미노산을 이용한 변형; 및/또는 천연형 서열을 개질, 예를 들어 측쇄 작용기의 변형, 분자 내 공유결합, 예컨대, 측쇄 간 고리 형성, 메틸화, 아실화,

유비퀴틴화, 인산화, 아미노헥산화, 바이오틴화 등과 같이 개질함으로써 변형하는 것을 모두 포함한다.

[367] 또한, 천연형 글루카곤의 아미노 및/또는 카르복시 말단에 하나 또는 그 이상의 아미노산이 추가된 것을 모두 포함한다.

[368] 상기 치환되거나 추가되는 아미노산은 인간 단백질에서 통상적으로 관찰되는 20개의 아미노산뿐만 아니라 비정형 또는 비-자연적 발생 아미노산을 사용할 수 있다. 비정형 아미노산의 상업적 출처에는 Sigma-Aldrich, ChemPep과 Genzyme pharmaceuticals가 포함된다. 이러한 아미노산이 포함된 펩타이드와 정형적인 펩타이드 서열은 상업화된 펩타이드 합성 회사, 예를 들어 미국의 American peptide company나 Bachem, 또는 한국의 Anygen을 통해 합성 및 구매 가능하다.

[369] 아미노산 유도체도 마찬가지 방식으로 입수할 수 있는데, 그 예를 일부만 들자면 4-이미다조아세트산 (4-imidazoacetic acid) 등을 사용할 수 있다.

[370] 또한, 본 발명에 따른 펩타이드는 생체 내의 단백질 절단 효소들로부터 보호하고 안정성을 증가시키기 위하여 이의 N-말단 및/또는 C-말단 등이 화학적으로 수식되거나 유기단으로 보호되거나, 또는 펩타이드 말단 등에 아미노산이 추가되어 변형된 형태일 수 있다.

[371] 특히, 화학적으로 합성한 펩타이드의 경우, N- 및 C-말단이 전하를 띠고 있기 때문에, 이러한 전하를 제거하기 위하여 N-말단을 아세틸화 (acetylation) 및/또는 C-말단을 아미드화 (amidation)할 수 있으나, 특별히 이에 제한되지는 않는다.

[372] 또한, 본 발명에 따른 펩타이드는 펩타이드 그 자체, 이의 염 (예컨대, 상기 펩타이드의 약학적으로 허용가능한 염), 또는 이의 용매화물의 형태를 모두 포함한다. 또한, 펩타이드는 약학적으로 허용되는 임의의 형태일 수 있다.

[373] 상기 염의 종류는 특별히 제한되지는 않는다. 다만, 개체, 예컨대 포유류에게 안전하고 효과적인 형태인 것이 바람직하나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[374] 상기 용어, "약학적으로 허용되는"은 의약학적 판단의 범위 내에서, 과도한 독성, 자극, 또는 알레르기 반응 등을 유발하지 않고 원하는 용도에 효과적으로 사용 가능한 물질을 의미한다.

[375] 본 발명에서 용어, "약학적으로 허용되는 염" 이란 약학적으로 허용되는 무기산, 유기산, 또는 염기로부터 유도된 염을 포함한다. 적합한 산의 예로는 염산, 브롬산, 황산, 질산, 과염소산, 푸마르산, 말레산, 인산, 글리콜산, 락트산, 살리실산, 숙신산, 톨루엔-p-설폰산, 타르타르산, 아세트산, 시트르산, 메탄설폰산, 포름산, 벤조산, 말론산, 나프탈렌-2-설폰산, 벤젠설폰산 등을 들 수 있다. 적합한 염기로부터 유도된 염은 나트륨, 칼륨 등의 알칼리 금속, 마그네슘 등의 알칼리 토금속, 및 암모늄 등을 포함할 수 있다.

[376] 또한, 본 발명에서 사용된 용어 "용매화물"은 본 발명에 따른 펩타이드 또는 이의 염이 용매 분자와 복합체를 형성한 것을 말한다.

[377]

[378] 하나의 구체예로서, 상기 펩타이드 (3중 작용제), 또는 화학식 1의 Z는 하기

일반식 1로 표시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

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

[380] 상기 일반식 1에서,

[381] Xaa1은 히스티딘, 4-이미다조아세틸, 또는 티로신이고,

[382] Xaa2는 글리신, 알파-메틸-글루탐산, 또는 Aib이며,

[383] Xaa3은 글루탐산 또는 글루타민이고,

[384] Xaa7은 트레오닌 또는 이소류신이며,

[385] Xaa10은 류신, 티로신, 리신, 시스테인, 또는 발린이고,

[386] Xaa12는 리신, 세린, 또는 이소류신이며,

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

[388] Xaa14는 류신, 메티오닌, 또는 티로신이며,

[389] Xaa15는 시스테인, 아스파르트산, 글루탐산, 또는 류신이며,

[390] Xaa16은 글리신, 글루탐산, 또는 세린이고,

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

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

[393] Xaa19는 알라닌, 글루타민, 시스테인, 또는 발린이며,

[394] Xaa20은 리신, 글루타민, 또는 아르기닌이고,

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

[396] Xaa23은 이소류신 또는 발린이고,

[397] Xaa24는 알라닌, 글루타민, 시스테인, 아스파라긴, 아스파르트산, 또는 글루탐산이며,

[398] Xaa27은 발린, 류신, 또는 리신이고,

[399] Xaa28은 시스테인, 리신, 알라닌, 아스파라긴, 또는 아스파르트산이며,

[400] Xaa29는 시스테인, 글리신, 글루타민, 트레오닌, 글루탐산, 또는 히스티딘이고,

[401] Xaa30은 시스테인, 글리신, 리신, 또는 히스티딘이거나, 부존재하며,

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

[403] 여기서,

[404] m은 -Cys-, -Pro-, 또는 -Gly-Pro-이고,

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

[406] 상기 일반식 1은 서열번호 12일 경우 Xaa27은 예외적으로 메티오닌일 수 있다.

[407] 상기 삼중 활성체 (3중 작용제) 또는 화학식 1의 Z의 예로, 서열번호: 1 내지 102로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것, 서열번호: 1 내지 11, 13 내지 102로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것, 서열번호: 1 내지 11, 13 내지 102로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열로 (필수적으로) 구성된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[408] 또 하나의 구체예로, 상기 삼중 활성체 (3중 작용제) 또는 화학식 1의 Z는 서열번호 21, 22, 42, 43, 50, 64, 66, 67, 70, 71, 76, 77, 96, 97 및 100으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, (필수적으로) 구성된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[409] 또 하나의 구체예로, 상기 삼중 활성체 (3중 작용제) 또는 화학식 1의 Z는 서열번호 21, 22, 42, 43, 50, 66, 67, 77, 96, 97 및 100으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, (필수적으로) 구성된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[410] 또 하나의 구체예로, 상기 삼중 활성체 (3중 작용제) 또는 화학식 1의 Z는 서열번호 21, 22, 42, 43, 50, 77 및 96으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, (필수적으로) 구성된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[411] 또한, 본원에서 특정 서열번호로 '구성되는' 펩타이드라고 기재되어 있다 하더라도, 해당 서열번호의 아미노산 서열로 이루어진 펩타이드와 동일 혹은 상응하는 활성을 가지는 경우라면 해당 서열번호의 아미노산 서열 앞뒤의 무의미한 서열 추가 또는 자연적으로 발생할 수 있는 돌연변이, 혹은 이의 잠재성 돌연변이 (silent mutation)를 제외하는 것이 아니며, 이러한 서열 추가 혹은 돌연변이를 가지는 경우에도 본원의 범위 내에 속하는 것이 자명하다. 즉, 일부 서열의 차이가 있더라도 일정 수준 이상의 상동성을 나타내며 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및/또는 GIP 수용체에 대한 활성을 나타낸다면 본 발명의 범위에 속할 수 있다.

[412] 예를 들어, 본 발명의 펩타이드에 WO2017-116204 및 WO2017-116205를 참조할 수 있다.

[413] 이상의 내용은 본 발명의 다른 구체예 혹은 다른 양태에도 적용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[414] 구체적으로, 상기 일반식 1에서 Xaa14는 류신 또는 메티오닌이며, Xaa15는 시스테인, 아스파르트산, 또는 류신일 수 있다.

[415] 이러한 펩타이드의 예로, 서열번호: 1 내지 11, 14 내지 17, 및 21 내지 102로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 (필수적으로) 구성된 펩타이드를 들 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[416] 이러한 펩타이드는 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체 중 하나 이상을 유의하게 활성화시킬 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다. 구체적으로, GLP-1을 유의하게 활성화시키거나, 추가로 글루카곤 수용체 및/또는 GIP 수용체를 유의하게 활성화시키는 것일 수 있으나, 특별히 이에 제한되지 않는다.

[417] 하나의 구체예로,

[418] 상기 일반식 1에서,

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

[420] Xaa7은 트레오닌이며,

[421] Xaa10은 티로신, 시스테인, 또는 발린이고,

[422] Xaa12는 리신 또는 이소류신이며,

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

[424] Xaa14는 류신, 티로신, 또는 메티오닌이며,

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

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

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

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

[429] Xaa20은 리신, 아르기닌, 또는 글루타민이고,

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

[431] Xaa23은 이소류신 또는 발린이고,

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

[433] Xaa27은 류신 또는 리신인, 펩타이드일 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[434]

[435] 또 하나의 구체예로,

[436] 상기 일반식 1에서,

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

[438] Xaa7은 트레오닌이며,

[439] Xaa10은 티로신, 시스테인, 또는 발린이고,

[440] Xaa12는 리신 또는 이소류신이며,

[441] Xaa13은 티로신, 알라닌, 또는 시스테인이고,

[442] Xaa14는 류신 또는 메티오닌이며,

[443] Xaa15는 시스테인 또는 아스파르트산이고,

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

[445] Xaa18은 알라닌, 아르기닌, 또는 히스티딘이고,

[446] Xaa19는 알라닌, 글루타민, 또는 시스테인이며,

[447] Xaa20은 리신 또는 글루타민이고,

[448] Xaa21은 글루탐산, 시스테인, 또는 아스파르트산이며,

[449] Xaa23은 발린이고,

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

[451] Xaa27은 류신 또는 리신일 수 있으나, 특별히 이에 제한되지는 않는다.

[452]

[453] 또 하나의 구체예로,

[454] 상기 일반식 1에서,

[455] Xaa2는 알파-메틸-글루탐산 또는 Aib이고,

[456] Xaa7은 트레오닌이며,

[457] Xaa10은 티로신 또는 시스테인이고,

[458] Xaa12는 리신 또는 이소류신이며,

[459] Xaa13은 티로신, 알라닌, 또는 시스테인이고,

[460] Xaa14는 류신 또는 메티오닌이며,

[461] Xaa15는 시스테인 또는 아스파르트산이고,

[462] Xaa16은 글루탐산이며,

[463] Xaa17은 아르기닌, 이소류신, 시스테인, 또는 리신이고,

[464] Xaa18은 알라닌, 아르기닌, 또는 히스티딘이며,

[465] Xaa19는 알라닌, 글루타민, 또는 시스테인이고,

[466] Xaa20은 리신 또는 글루타민이며,

[467] Xaa21은 글루탐산 또는 아스파르트산이고,

[468] Xaa23은 발린이며,

[469] Xaa24는 글루타민, 아스파라긴, 또는 아스파르트산이고,

[470] Xaa27은 류신이며,

[471] Xaa28은 시스테인, 알라닌, 아스파라긴, 또는 아스파르트산일 수 있다.

[472]

[473] 또 하나의 구체예로,

[474] 상기 일반식 1에서,

[475] Xaa1은 히스티딘 또는 4-이미다조아세틸이고,

[476] Xaa2는 알파-메틸-글루탐산 또는 Aib이며,

[477] Xaa3은 글루타민이고,

[478] Xaa7은 트레오닌이며,

[479] Xaa10은 티로신이고,

[480] Xaa12는 이소류신이며,

[481] Xaa13은 알라닌 또는 시스테인이고,

[482] Xaa14는 메티오닌이며,

[483] Xaa15는 아스파르트산이고,

[484] Xaa16은 글루탐산이며,

[485] Xaa17은 이소류신 또는 리신이고,

[486] Xaa18은 알라닌 또는 히스티딘이며,

[487] Xaa19는 글루타민 또는 시스테인이고,

[488] Xaa20은 리신이며,

[489] Xaa21은 아스파르트산이고,

[490] Xaa23은 발린이며,

[491] Xaa24는 아스파라긴이고,

[492] Xaa27은 류신이며,

[493] Xaa28은 알라닌 또는 아스파라긴이고,

[494] Xaa29는 글루타민 또는 트레오닌이며,

[495] Xaa30은 시스테인 또는 리신이거나, 부존재할 수 있다.

[496]

[497] 또 하나의 구체예로,

[498] 상기 일반식 1에서,

[499] Xaa2는 글리신, 알파-메틸-글루탐산, 또는 Aib이며,

[500] Xaa3은 글루타민이고,

[501] Xaa7은 트레오닌이며,

[502] Xaa10은 티로신, 시스테인, 또는 발린이고,

[503] Xaa12는 리신이며,

[504] Xaa13은 티로신이고,

[505] Xaa14는 류신이며,

[506] Xaa15는 아스파르트산이며,

[507] Xaa16은 글리신, 글루탐산, 또는 세린이고,

[508] Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 시스테인, 또는 리신이며,

[509] Xaa18은 알라닌, 아르기닌, 또는 히스티딘이고,

[510] Xaa19는 알라닌 또는 글루타민이며,

[511] Xaa20은 리신 또는 글루타민이고,

[512] Xaa21은 글루탐산, 시스테인, 또는 아스파르트산이며,

[513] Xaa23은 발린이고,

[514] Xaa24는 알라닌, 글루타민, 또는 시스테인이며,

[515] Xaa27은 류신 또는 리신이고,

[516] Xaa29는 글리신, 글루타민, 트레오닌, 또는 히스티딘일 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[517] 이러한 펩타이드는 GLP-1 수용체 및 글루카곤 수용체의 활성화 정도가 유의하고, GIP 수용체의 활성화 정도에 비해 높거나; GLP-1 수용체, 글루카곤 수용체 및 GIP 수용체의 활성화 정도가 모두 유의하거나; GLP-1 수용체 및 GIP 수용체의 활성화 정도가 유의하고, 글루카곤 수용체의 활성화에 비해 높은 경우에 해당할 수 있으나, 특별히 이에 제한되지 않는다.

[518] 이러한 펩타이드의 예로, 서열번호: 8, 9, 21 내지 37, 39, 42, 43, 49 내지 61, 64 내지 83, 85, 86, 88, 89, 91 내지 93, 95 내지 102로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 (필수적으로) 구성된 펩타이드를 들 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[519] 구체적인 양태로서, 상기 펩타이드는 하기 일반식 2로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 것일 수 있다.

[520] Xaa1-Xaa2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa10-Ser-Lys-Xaa13-Xaa14-Xaa15-Xaa16-Xaa17-Xaa18-Xaa19-Xaa20-Xaa21-Phe-Xaa23-Xaa24-Trp-Leu-Leu-Xaa28-Xaa29-Xaa30-Xaa31-Ser-Ser-Gly-Gln-Pro-Pro-Pro-Ser-Xaa40 (일반식 2, 서열번호 104)

[521] 상기 식에서,

[522] Xaa1은 4-이미다조아세틸, 히스티딘, 또는 티로신이고;

[523] Xaa2는 글리신, 알파-메틸-글루탐산, 또는 Aib이며;

[524] Xaa10은 티로신, 또는 시스테인이며

[525] Xaa13은 알라닌, 글루타민, 티로신, 또는 시스테인이며;

[526] Xaa14는 류신, 메티오닌, 또는 티로신이고;

[527] Xaa15는 아스파르트산, 글루탐산, 또는 류신이며;

[528] Xaa16은 글리신, 글루탐산, 또는 세린이고;

[529] Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 이소류신, 글루탐산, 시스테인, 또는 리신이며;

[530] Xaa18은 알라닌, 글루타민, 아르기닌, 또는 히스티딘이고;

[531] Xaa19는 알라닌, 글루타민, 시스테인, 또는 발린이며;

[532] Xaa20은 리신, 글루타민, 또는 아르기닌이고;

[533] Xaa21은 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 류신, 또는 아스파르트산이며;

[534] Xaa23은 이소류신 또는 발린이고;

[535] Xaa24는 시스테인, 알라닌, 글루타민, 아스파라긴, 또는 글루탐산이며;

[536] Xaa28은 리신, 시스테인, 아스파라긴, 또는 아스파르트산이며;

[537] Xaa29는 글리신, 글루타민, 시스테인, 또는 히스티딘이고;

[538] Xaa30은 시스테인, 글리신, 리신, 또는 히스티딘이며;

[539] Xaa31은 프롤린 또는 시스테인이며;

[540] Xaa40은 시스테인이거나, 부존재함.

[541]

[542] 보다 구체적으로, 상기 일반식 2에서,

[543] Xaa13은 알라닌, 티로신, 또는 시스테인이며;

[544] Xaa15는 아스파르트산 또는 글루탐산이고,

[545] Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 시스테인, 또는 리신이며;

[546] Xaa18은 알라닌, 아르기닌, 또는 히스티딘이고;

[547] Xaa21은 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 또는 아스파르트산이며;

[548] Xaa23은 이소류신 또는 발린이고;

[549] Xaa24는 시스테인, 글루타민, 또는 아스파라긴이고,

[550] Xaa28은 시스테인, 아스파라긴, 또는 아스파르트산이며;

[551] Xaa29는 글루타민, 시스테인, 또는 히스티딘이고;

[552] Xaa30은 시스테인, 리신, 또는 히스티딘일 수 있다.

[553]

[554] 이러한 펩타이드의 예로, 서열번호: 21, 22, 42, 43, 50, 64 내지 77, 및 95 내지 102로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호: 21, 22, 42, 43, 50, 64 내지 77, 및 96 내지 102로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 (필수적으로) 구성된 펩타이드를 들 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[555] 구체적인 양태로서, 상기 펩타이드는 하기 일반식 3의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

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

[557] 상기 일반식 3에서,

[558] Xaa1은 히스티딘 또는 티로신이고;

[559] Xaa2는 알파-메틸-글루탐산 또는 Aib이며;

[560] Xaa13은 알라닌, 티로신 또는 시스테인이고;

[561] Xaa17은 아르기닌, 시스테인, 또는 리신이며;

[562] Xaa18은 알라닌 또는 아르기닌이고;

[563] Xaa19는 알라닌 또는 시스테인이며;

[564] Xaa21은 글루탐산 또는 아스파르트산이고;

[565] Xaa24는 글루타민 또는 아스파라긴이며,

[566] Xaa28은 시스테인 또는 아스파르트산이며;

[567] Xaa29는 시스테인, 히스티딘, 또는 글루타민이고;

[568] Xaa30은 시스테인 또는 히스티딘이며;

[569] Xaa31은 프롤린 또는 시스테인이며;

[570] Xaa40은 시스테인 또는 부존재할 수 있다.

[571] 이러한 펩타이드의 예로, 서열번호: 21, 22, 42, 43, 50, 64 내지 71, 75 내지 77, 및 96 내지 102로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 (필수적으로) 구성된 펩타이드를 들 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

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

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

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

[575] (a) 펩타이드를 고체상 또는 액체상 방법의 수단으로 단계적으로 또는 단편 조립에 의해 합성하고, 최종 펩타이드 생성물을 분리 및 정제하는 방법; 또는

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

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

[578] (a), (b) 및 (c)의 임의의 조합으로 펩타이드의 단편을 수득하고, 이어서 단편을 연결시켜 펩타이드를 수득하고, 당해 펩타이드를 회수하는 방법.

[579]

[580] 한편, 3중 작용성 지속형 결합체 또는 3중 작용제는 비자연적인 (non-naturally occurring) 것일 수 있다.

[581] 본 발명의 하나의 구체예에서, 상기 3중 작용성 지속형 결합체는 상기에서 기재한 화학식 1로 표시되는, 결합체일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[582] 구체적으로, 화학식 1을 설명하면 다음과 같다.

[583] [화학식 1]

[584] Z - Lx - Fc

[585] 이 때 Lx는 에틸렌글리콜 반복 단위를 함유하는 링커이며, x는 0 또는 자연수이고,

[586] Fc는 면역글로불린 Fc 영역이고,

[587] -는 Lx와 Z 사이, Fc와 Lx 사이의 각각에 공유결합 연결을 나타내며,

[588] Z는 상기에서 설명한 바와 같다. Z는 3중 작용제를 의미할 수 있다.

[589]

[590] 상기 결합체에서 Fc는 Z, 즉 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는, 펩타이드의 반감기를 증가시킬 수 있는 물질로서, 본 발명의 상기 결합체를 구성하는 모이어티의 일 구성에 해당한다.

[591] 상기 Fc는 Z와 공유 화학결합 또는 비공유 화학결합으로 서로 결합되는 것일 수 있으며, 공유 화학결합, 비공유 화학결합 또는 이들의 조합으로 Lx를 통하여 Fc와 Z가 서로 결합되는 것일 수 있다.

[592] 상기 Fc는 Z와 직접적으로 연결되거나 (즉, 상기 화학식 1에서 x가 0이거나), 또는 링커 (Lx)를 통해 연결된 것일 수 있다.

[593] 구체적으로, 상기 Lx는 비펩타이드성 링커, 예를 들어 에틸렌글리콜 반복 단위를 함유하는 링커일 수 있다.

[594]

[595] 본 발명에서 "비펩타이드성 링커"는 반복 단위가 2개 이상 결합된 생체 적합성 중합체를 포함한다. 상기 반복 단위들은 펩타이드 결합이 아닌 임의의 공유결합을 통해 서로 연결된다. 상기 비펩타이드성 링커는 본 발명의 결합체의 모이어티를 이루는 일 구성일 수 있으며, 상기 화학식 1에서 Lx에 해당된다.

[596] 상기 Lx에서 x는 1 이상일 수 있으며, x가 2 이상일 때 각각의 L은 독립적일 수 있다.

[597] 본 발명에서 사용될 수 있는 비펩타이드성 링커는 생체 내 단백질 분해 효소에

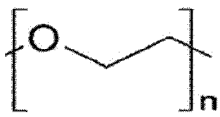
저항성 있는 중합체이면 제한 없이 사용될 수 있다. 본 발명에서 상기 비펩타이드성 링커는 비펩타이드성 중합체와 혼용되어 사용될 수 있다.

[598] 특별히 이에 제한되지 않으나, 상기 비펩타이드성 링커는 에틸렌글리콜 반복 단위를 함유하는 링커, 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜일 수 있고, 또한, 당해 분야에 이미 알려진 이들의 유도체 및 당해 분야의 기술 수준에서 용이하게 제조할 수 있는 유도체들도 본 발명의 범위에 포함된다.

[599] 상기 비펩타이드성 링커의 반복 단위는 에틸렌글리콜 반복 단위일 수 있고, 구체적으로, 상기 비펩타이드성 링커는 에틸렌글리콜 반복 단위를 포함하면서, 결합체의 제조에 이용되는 작용기를 말단에 포함하는 것일 수 있다. 본 발명에 따른 지속형 결합체는 상기 작용기를 통해 Z와 Fc가 연결된 형태일 수 있으나 이에 제한되지 않는다. 본 발명에서, 상기 비펩타이드성 링커는 2개, 또는 3개 이상의 작용기를 포함할 수 있고, 각 작용기는 동일하거나, 서로 상이할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[600] 구체적으로, 상기 링커는 하기 화학식 2로 표시되는 폴리에틸렌글리콜(PEG)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다:

[601] [화학식 2]

[602] 

[603] 여기서, n= 10 내지 2400, n= 10 내지 480, 또는 n = 50 내지 250이나, 이에 제한되지 않는다.

[604] 상기 지속형 결합체에서 PEG 모이어티는, -(CH2CH2O)n-구조 뿐만 아니라 연결 요소와 이 -(CH2CH2O)n- 사이에 개재하는 산소 원자도 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[605] 또한, 하나의 구체적인 실시 형태에서 상기 결합체는 일반식 1의 아미노산 서열 또는 서열번호 1 내지 102 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드(Z)와 면역글로불린 Fc 영역(Fc)이 에틸렌글리콜 반복 단위를 함유하는 링커를 통해 공유 결합으로 연결된 구조 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[606]

[607] 상기 폴리에틸렌 글리콜은, 에틸렌 글리콜 동종 중합체, PEG 공중합체, 또는 모노메틸-치환된 PEG 중합체 (mPEG)의 형태를 모두 포괄하는 용어이나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[608] 하나의 구체예로 상기 에틸렌글리콜 반복단위는 그 예로, $[OCH_2CH_2]n$로 표시될 수 있으며, n 값은 자연수로 상기 펩타이드 결합체 내의 $[OCH_2CH_2]n$ 부위의 평균 분자량, 예컨대 수평균 분자량이 O 초과 내지 약 100 kDa이 되도록 정해질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 또 하나의 예로, 상기 n 값은 자연수로

상기 펩타이드 결합체 내의 $[OCH_2CH_2]n$ 부위의 평균 분자량, 예컨대 수평균 분자량이 약 1 내지 약 100 kDa, 약 1 내지 약 80 kDa, 약 1 내지 약 50 kDa, 약 1 내지 약 30 kDa, 약 1 내지 약 25 kDa, 약 1 내지 약 20 kDa, 약 1 내지 약 15 kDa, 약 1 내지 약 13 kDa, 약 1 내지 약 11 kDa, 약 1 내지 약 10 kDa, 약 1 내지 약 8 kDa, 약 1 내지 약 5 kDa, 약 1 내지 약 3.4 kDa, 약 3 내지 약 30 kDa, 약 3 내지 약 27 kDa, 약 3 내지 약 25 kDa, 약 3 내지 약 22 kDa, 약 3 내지 약 20 kDa, 약 3 내지 약 18 kDa, 약 3 내지 약 16 kDa, 약 3 내지 약 15 kDa, 약 3 내지 약 13 kDa, 약 3 내지 약 11 kDa, 약 3 내지 약 10 kDa, 약 3 내지 약 8 kDa, 약 3 내지 약 5 kDa, 약 3 내지 약 3.4 kDa, 약 8 내지 약 30 kDa, 약 8 내지 약 27 kDa, 약 8 내지 약 25 kDa, 약 8 내지 약 22 kDa, 약 8 내지 약 20 kDa, 약 8 내지 약 18 kDa, 약 8 내지 약 16 kDa, 약 8 내지 약 15 kDa, 약 8 내지 약 13 kDa, 약 8 내지 약 11 kDa, 약 8 내지 약 10 kDa, 약 9 내지 약 15 kDa, 약 9 내지 약 14 kDa, 약 9 내지 약 13 kDa, 약 9 내지 약 12 kDa, 약 9 내지 약 11 kDa, 약 9.5 내지 약 10.5 kDa, 또는 약 10 kDa일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[609] 본 발명에서 사용될 수 있는 비펩타이드성 링커는 생체 내 단백질 분해 효소에 저항성 있는 에틸렌글리콜 반복단위를 포함하는 중합체이면 제한 없이 사용될 수 있다. 상기 비펩타이드성 중합체의 분자량은 0 초과 약 100 kDa 범위, 약 1 내지 약 100 kDa 범위, 구체적으로 약 1 내지 약 20 kDa 범위, 또는 약 1 내지 약 10 kDa 범위이나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 상기 Fc에 해당하는 폴리펩타이드와 결합되는 본 발명의 비펩타이드성 링커는 한 종류의 중합체뿐만 아니라 상이한 종류의 중합체들의 조합이 사용될 수도 있다.

[610] 하나의 구체적인 실시 형태에서 상기 비펩타이드성 링커의 양 말단은 각각 Fc, 예컨대 면역글로불린 Fc 영역의 아민기, 티올기, 하이드록실기 및 Z의 아민기, 티올기, 아지드기, 하이드록실기에 결합할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[611] 구체적으로, 상기 비펩타이드성 중합체는 양쪽 말단에 각각 Fc (예컨대, 면역글로불린 Fc 영역) 및 Z와 결합될 수 있는 반응기, 구체적으로는 면역글로불린 Fc 영역의 시스테인의 티올기; N-말단, 리신, 아르기닌, 글루타민 및/또는 히스티딘에 위치한 아민기; 및/또는 C-말단에 위치한 하이드록실기와 결합되고, Z의 시스테인의 티올기; 리신, 아르기닌, 글루타민 및/또는 히스티딘의 아민기; 아지도리신의 아지드기; 및/또는 하이드록실기와 결합될 수 있는 반응기를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[612] 하나의 구체적인 실시 형태에서 상기 비펩타이드성 링커의 양 말단은 각각 Fc, 예컨대 면역글로불린 Fc 영역의 아민기 또는 티올기 및 Z의 아민기 또는 티올기에 결합할 수 있다.

[613] 구체적으로, 상기 비펩타이드성 중합체는 양쪽 말단에 각각 Fc (예컨대, 면역글로불린 Fc 영역) 및 Z와 결합될 수 있는 반응기, 구체적으로는 Z, 혹은 Fc (예컨대, 면역글로불린 Fc 영역)의 N-말단 또는 리신에 위치한 아민기, 또는 시스테인의 티올기와 결합될 수 있는 반응기를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지

않는다.

[614] 또한, Fc, 예컨대 면역글로불린 Fc 영역 및 Z와 결합될 수 있는, 상기 비펩타이드성 중합체의 반응기는 알데히드기, 말레이미드기 및 석시니미드 유도체로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[615] 상기에서, 알데히드기로 프로피온 알데히드기 또는 부틸 알데히드기를 예로서 들 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[616] 상기에서, 석시니미드 유도체로는 석시니미딜 발레르에이트, 석시니미딜 메틸부타노에이트, 석시니미딜 메틸프로피온에이트, 석시니미딜 부타노에이트, 석시니미딜 프로피오네이트, N-하이드록시석시니미드, 히드록시 석시니미딜, 석시니미딜 카르복시메틸 또는 석시니미딜 카보네이트가 이용될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[617] 비펩타이드성 링커는 이러한 반응기를 통하여 Z와 Fc에 연결되어 비펩타이드성 링커 연결부로 전환될 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[618] 또한, 알데히드 결합에 의한 환원성 아민화로 생성된 최종 산물은 아미드 결합으로 연결된 것보다 훨씬 안정적이다. 알데히드 반응기는 낮은 pH에서 N-말단에 선택적으로 반응하며, 높은 pH, 예를 들어 pH 9.0 조건에서는 리신 잔기와 공유결합을 형성할 수 있다.

[619] 또한, 상기 비펩타이드성 링커의 양쪽 말단의 반응기는 서로 동일하거나 또는 서로 상이할 수 있으며, 예를 들어, 한쪽 말단에는 말레이미드기를, 다른 쪽 말단에는 알데히드기, 프로피온 알데히드기, 또는 부틸 알데히드기를 가질 수 있다. 그러나, 비펩타이드성 링커의 각 말단에 Fc, 구체적으로 면역글로불린 Fc 영역과 Z가 결합될 수 있다면, 특별히 이에 제한되지 않는다.

[620] 예를 들어, 상기 비펩타이드성 링커의 한쪽 말단에는 반응기로서 말레이미드기를 포함하고, 다른 쪽 말단에는 알데히드기, 프로피온 알데히드기 또는 부틸 알데히드기 등을 포함할 수 있다.

[621] 양쪽 말단에 히드록시 반응기를 갖는 폴리에틸렌 글리콜을 비펩타이드성 중합체로 이용하는 경우에는 공지의 화학반응에 의해 상기 히드록시기를 상기 다양한 반응기로 활성화하거나, 상업적으로 입수 가능한 변형된 반응기를 갖는 폴리에틸렌 글리콜을 이용하여 본 발명의 지속형 단백질 결합체를 제조할 수 있다.

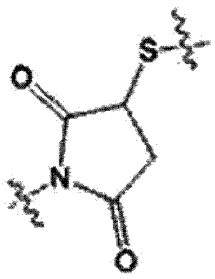
[622] 하나의 구체적인 실시 형태에서 상기 비펩타이드성 중합체는 Z의 시스테인 잔기, 보다 구체적으로 시스테인의 -SH 기에 연결되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[623]

[624] 예컨대, 상기 Z에 해당하는 펩타이드에서 10번 시스테인 잔기, 13번 시스테인 잔기, 15번 시스테인 잔기, 17번 시스테인 잔기, 19번 시스테인 잔기, 21번

시스테인 잔기, 24번 시스테인 잔기, 28번 시스테인 잔기, 29번 시스테인 잔기, 30번 시스테인 잔기, 31번 시스테인 잔기, 40번 시스테인 잔기, 또는 41번 시스테인 잔기에 상기 비펩타이드성 중합체가 연결된 것일 수 있으나, 특별히 이에 제한되지 않는다.

[625] 구체적으로, 상기 시스테인 잔기의 -SH 기에 비펩타이드성 중합체의 반응기가 연결될 수 있으며, 반응기에 대해서는 앞서 기술한 내용이 모두 적용된다. 만약, 말레이미드-PEG-알데히드를 사용하는 경우, 말레이미드 기는 Z의 -SH 기와 티오에테르(thioether) 결합으로 연결하고, 알데히드기는 Fc, 구체적으로 면역글로불린 Fc의 -$NH_2$기와 환원적 아민화 반응을 통해 연결할 수 있으나, 이에 제한되지 않으며, 이는 하나의 일례에 해당한다.

[626] 이와 같은 환원적 알킬화를 통하여 비펩타이드성 중합체인 PEG의 한쪽 말단에 위치한 산소 원자에 면역글로불린 Fc 영역의 N-말단 아미노기가 -$CH_2CH_2CH_2$-의 구조를 가지는 링커 작용기를 통해 서로 연결되어, -PEG-O-$CH_2CH_2CH_2$ NH-면역글로불린 Fc와 같은 구조를 형성할 수 있고, 티오에테르 결합을 통하여 PEG의 한쪽 말단이 일반식 1 또는 서열번호 1 내지 102 중 어느 하나의 서열을 포함하는 펩타이드의 시스테인에 위치한 황 원자에 연결된 구조를 형성할 수 있다. 상술한 티오에테르 결합은  의 구조를 포함할 수 있다.

[627] 그러나, 상술한 예에 특별히 제한되는 것은 아니며, 이는 하나의 일례에 해당한다.

[628] 다른 구체적인 실시 형태에서 상기 비펩타이드성 중합체는 Z의 라이신 잔기, 보다 구체적으로, 라이신의 아미노기에 연결되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[629] 또한, 상기 결합체에서, 비펩타이드성 중합체의 반응기가 면역글로불린 Fc 영역의 N-말단에 위치한 -$NH_2$와 연결된 것일 수 있으나, 이는 하나의 일례에 해당한다.

[630] 또한, 상기 결합체에서, 펩타이드는 반응기를 갖는 링커와 C-말단을 통해 연결될 수 있으나, 이는 하나의 일례에 해당한다.

[631] 본 발명에서 "C-말단"은, 펩타이드의 카르복시 말단을 의미하는 것으로, 본 발명의 목적상 링커와 결합할 수 있는 위치를 말한다. 그 예로, 이에 제한되지는 않으나, C-말단의 최말단 아미노산 잔기뿐만 아니라 C-말단 주위의 아미노산 잔기를 모두 포함할 수 있으며, 구체적으로는 최말단으로부터 첫 번째 내지 20번째의 아미노산 잔기를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[632]

[633] 한편, 상기 Fc는 면역글로불린 Fc 영역일 수 있으며, 보다 구체적으로 상기 면역글로불린 Fc 영역은 IgG 유래 일 수 있으나, 특별히 이에 제한되지 않는다.

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

[635] 본 명세서에서 Fc 영역이라고 하면 면역글로불린의 파파인 소화에서 얻는 천연형 서열뿐 아니라 그 유도체, 예컨대 천연 서열 중의 하나 이상의 아미노산 잔기가 결실, 삽입, 비보전적 또는 보전적 치환 또는 이들의 조합에 의하여 변환되어 천연형과 상이하게 된 서열까지 망라하여 포함된다.

[636] 상기 Fc 는, 2개의 폴리펩타이드 사슬이 이황화결합으로 연결되어 있는 구조이며, 상기 두 사슬 중 한 사슬의 질소 원자를 통해서만 연결되어 있는 구조일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 질소 원자를 통한 연결은 리신의 입실론 아미노 원자나 N-말단 아미노기에 환원적 아민화를 통하여 연결될 수 있다.

[637] 환원적 아민화 반응이란 반응물의 아민기 또는 아미노기가 다른 반응물의 알데히드 (즉, 환원적 아민화가 가능한 작용기)와 반응하여 아민을 생성한 다음, 환원 반응에 의해 아민 결합을 형성시키는 반응을 의미하여, 당해 기술 분야에 널리 알려져 있는 유기합성 반응이다.

[638] 하나의 구체예로, 상기 Fc는 그 N-말단 프롤린의 질소 원자를 통하여 연결된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[639] 상기 면역글로불린 Fc 영역은 본 발명의 화학식 1의 결합체의 모이어티를 이루는 일 구성으로, 구체적으로, 상기 화학식 1에서 Fc에 해당할 수 있다.

[640]

[641] 이러한 면역글로불린 Fc 영역은 중쇄 불변영역에 힌지(hinge) 부분을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[642] 본 발명에서, 면역글로불린 Fc 영역은 N-말단에 특정 힌지 서열을 포함할 수 있다.

[643] 본 발명의 용어, "힌지 서열"은 중쇄에 위치하여 이황화결합(inter disulfide bond)를 통하여 면역글로불린 Fc 영역의 이량체를 형성하는 부위를 의미한다.

[644] 본 발명에서, 상기 힌지 서열은 하기의 아미노산 서열을 갖는 힌지 서열 중 일부가 결실되어 하나의 시스테인 잔기만을 갖도록 변이된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다:

[645] Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser-Cys-Pro(서열번호 118).

[646] 상기 힌지 서열은 서열번호 118의 힌지 서열 중 8번째 또는 11번째 시스테인 잔기가 결실되어 하나의 시스테인 잔기만을 포함하는 것일 수 있다. 본 발명의

힌지 서열은 하나의 시스테인 잔기만을 포함하는, 3 내지 12개의 아미노산으로 구성된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 보다 구체적으로, 본 발명의 힌지 서열은 다음과 같은 서열을 가질 수 있다:
Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Pro-Ser-Cys-Pro(서열번호 119),
Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser-Pro(서열번호 120),
Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser(서열번호 121),
Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Pro(서열번호 122),
Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser(서열번호 123),
Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys(서열번호 124),
Glu-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys(서열번호 125), Glu-Ser-Pro-Ser-Cys-Pro(서열번호 126), Glu-Pro-Ser-Cys-Pro(서열번호 127), Pro-Ser-Cys-Pro(서열번호 128),
Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Ser-Cys-Pro(서열번호 129),
Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Pro-Ser-Cys-Pro(서열번호 130),
Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Ser-Cys-Pro(서열번호 131),
Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys(서열번호 132),
Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro(서열번호 133),
Glu-Ser-Lys-Pro-Ser-Cys-Pro(서열번호 134), Glu-Ser-Pro-Ser-Cys-Pro(서열번호 135), Glu-Pro-Ser-Cys(서열번호 136), Ser-Cys-Pro(서열번호 137).

[647] 더욱 구체적으로는 상기 힌지 서열은 서열번호 128(Pro-Ser-Cys-Pro)또는 서열번호 137(Ser-Cys-Pro)의 아미노산 서열을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[648] 본 발명의 면역글로불린 Fc 영역은 힌지 서열의 존재로 면역글로불린 Fc 사슬 두 분자가 이량체를 형성한 형태일 수 있고, 또한, 본 발명의 화학식 1의 결합체는 링커의 일 말단이 이량체의 면역글로불린 Fc 영역의 한 사슬에 연결된 형태일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[649] 본 발명의 용어, "N-말단"은 단백질 또는 폴리펩티드의 아미노 말단을 의미하는 것으로, 아미노 말단의 최말단, 또는 최말단으로부터 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 또는 10개 이상의 아미노산까지 포함하는 것일 수 있다. 본 발명의 면역글로불린 Fc 영역은 힌지 서열을 N-말단에 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[650]

[651] 또한 본 발명의 면역글로불린 Fc 영역은 천연형과 실질적으로 동등하거나 향상된 효과를 갖는 한, 면역 글로불린의 중쇄와 경쇄 가변영역만을 제외하고, 일부 또는 전체 중쇄 불변영역 1(CH1) 및/또는 경쇄불변영역 1(CL1)을 포함하는 확장된 Fc 영역일 수 있다. 또한, CH2 및/또는 CH3에 해당하는 상당히 긴 일부 아미노산 서열이 제거된 영역일 수도 있다.

[652] 예컨대, 본 발명의 면역글로불린 Fc 영역은 1) CH1 도메인, CH2 도메인, CH3 도메인 및 CH4 도메인, 2) CH1 도메인 및 CH2 도메인, 3) CH1 도메인 및 CH3

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

[653] 또한, 하나의 구체예로서, 상기 면역글로불린 Fc 영역은 이량체 형태 (dimeric form)일 수 있으며, 이량체 형태의 하나의 Fc 영역에 Z 한 분자가 공유결합적으로 연결될 수 있으며, 이때 상기 면역글로불린 Fc와 Z는 에틸렌글리콜 반복 단위를 함유하는 링커를 통하여 공유결합으로 서로 연결될 수 있다. 한편, 이량체 형태의 하나의 Fc 영역에 Z 두 분자가 대칭적으로 결합하는 것 역시 가능하다. 이때 상기 면역글로불린 Fc와 Z는 에틸렌글리콜 반복 단위를 함유하는 링커에 의해 서로 연결될 수 있다. 그러나, 상기 기술된 예에 제한되는 것은 아니다. 하나의 구체예에서, Z는 이러한 Fc 영역 이량체 Fc의 두 폴리펩타이드 사슬 중 하나의 폴리펩타이드 사슬에만 링커 Lx를 통하여 공유결합으로 연결되어 있을 수 있다. 그 예로, 이러한 Fc 영역 이량체 Fc의 두 폴리펩타이드 사슬 중 Z가 연결된 하나의 폴리펩타이드 사슬에는 한 분자의 Z만이 Lx를 통하여 공유결합적으로 연결되어 있을 수 있다. 그 예로 상기 Fc는 동종이량체(homodimer)일 수 있다.

[654] 다른 구체예에서, 상기 면역글로불린 Fc 영역인 Fc는 두 개의 폴리펩타이드 사슬로 이루어진 이량체이며, Lx의 한 말단이 상기 두 폴리펩타이드 사슬 중 하나의 폴리펩티드 사슬에만 연결되어 있는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[655]

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

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

[658] 또한, 이황화 결합을 형성할 수 있는 부위가 제거되거나, 천연형 Fc에서 N-말단의 몇몇 아미노산이 제거되거나 또는 천연형 Fc의 N-말단에 메티오닌 잔기가 부가될 수도 있는 등 다양한 종류의 유도체가 가능하다. 또한, 이펙터 기능을 없애기 위해 보체결합부위, 예로 C1q 결합부위가 제거될 수도 있고, ADCC (antibody dependent cell mediated cytotoxicity) 부위가 제거될 수도 있다. 이러한 면역글로불린 Fc 영역의 서열 유도체를 제조하는 기술은 국제특허공개 제WO 97/34631호, 국제특허공개 제96/32478호 등에 개시되어 있다.

[659] 분자의 활성을 전체적으로 변경시키지 않는 단백질 및 펩타이드에서의 아미노산 교환은 당해 분야에 공지되어 있다 (H.Neurath, R.L.Hill, The Proteins,

Academic Press, New York, 1979). 가장 통상적으로 일어나는 교환은 아미노산 잔기 Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Thy/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu, Asp/Gly 간의 교환이다. 경우에 따라서는 인산화(phosphorylation), 황화(sulfation), 아크릴화(acrylation), 당화(glycosylation), 메틸화(methylation), 파네실화(farnesylation), 아세틸화(acetylation) 및 아미드화(amidation) 등으로 수식(modification)될 수도 있다.

[660] 상기 기술한 Fc 유도체는 본 발명의 Fc 영역과 동등한 생물학적 활성을 나타내며 Fc 영역의 열, pH 등에 대한 구조적 안정성을 증대시킨 것일 수 있다.

[661] 또한, 이러한 Fc 영역은 인간, 소, 염소, 돼지, 마우스, 래빗, 햄스터, 랫트 또는 기니아 픽 등의 동물의 생체 내에서 분리한 천연형으로부터 얻어질 수도 있고, 형질전환된 동물세포 또는 미생물로부터 얻어진 재조합형 또는 이의 유도체일 수 있다. 여기서, 천연형으로부터 획득하는 방법은 전체 면역글로불린을 인간 또는 동물의 생체로부터 분리한 후, 단백질 분해효소를 처리하여 획득하는 방법일 수 있다. 파파인을 처리할 경우에는 Fab 및 Fc로 절단되고, 펩신을 처리할 경우에는 pF'c 및 $F(ab)_2$로 절단된다. 이를 크기 배제 크로마토그래피 (size-exclusion chromatography) 등을 이용하여 Fc 또는 pF'c를 분리할 수 있다. 더 구체적인 실시 형태에서는 인간 유래의 Fc 영역을 미생물로부터 수득한 재조합형 면역글로불린 Fc 영역이다.

[662] 또한, 면역글로불린 Fc 영역은 천연형 당쇄, 천연형에 비해 증가된 당쇄, 천연형에 비해 감소한 당쇄 또는 당쇄가 제거된 형태일 수 있다. 이러한 면역글로불린 Fc 당쇄의 증감 또는 제거에는 화학적 방법, 효소학적 방법 및 미생물을 이용한 유전 공학적 방법과 같은 통상적인 방법이 이용될 수 있다. 여기서, Fc에서 당쇄가 제거된 면역글로불린 Fc 영역은 보체(c1q)와의 결합력이 현저히 저하되고, 항체-의존성 세포독성 또는 보체-의존성 세포 독성이 감소 또는 제거되므로, 생체 내에서 불필요한 면역 반응을 유발하지 않는다. 이런 점에서 약물의 캐리어로서의 본래의 목적에 보다 부합하는 형태는 당쇄가 제거되거나 비당쇄화된 면역글로불린 Fc 영역이라 할 것이다.

[663] 본 발명에서 "당쇄의 제거(Deglycosylation)"는 효소로 당을 제거한 Fc 영역을 말하며, 비당쇄화(Aglycosylation)는 원핵동물, 더 구체적인 실시 형태에서는 대장균에서 생산하여 당쇄화되지 않은 Fc 영역을 의미한다.

[664] 한편, 면역글로불린 Fc 영역은 인간 또는 소, 염소, 돼지, 마우스, 래빗, 햄스터, 랫트, 기니아 픽 등의 동물기원일 수 있으며, 더 구체적인 실시 형태에서는 인간기원이다.

[665] 또한, 면역글로불린 Fc 영역은 IgG, IgA, IgD, IgE, IgM 유래 또는 이들의 조합(combination) 또는 이들의 혼성(hybrid)에 의한 Fc 영역일 수 있다. 더 구체적인 실시 형태에서는 인간 혈액에 가장 풍부한 IgG 또는 IgM유래이며, 보다 더 구체적인 실시 형태에서는 리간드 결합 단백질의 반감기를 향상시키는

것으로 공지된 IgG 유래이다. 더욱 더 구체적인 실시 형태에서 상기 면역글로불린 Fc 영역은 IgG4 Fc 영역이며, 가장 구체적인 실시 형태에서 상기 면역글로불린 Fc 영역은 인간 IgG4 유래의 비-당쇄화된 Fc 영역이나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[666] 또한, 하나의 구체적인 실시 형태에서, 면역글로불린 Fc 절편은 인간 IgG4 Fc의 단편으로서, 각 단량체(monomer)의 3번 아미노산인 시스테인 사이의 이황화 결합(inter-chain 형태)을 통해 2개의 단량체가 연결된 동종이량체(homodimer) 형태일 수 있으며, 이 때 동종이량체의 각 단량체는 독립적으로 35번 및 95번의 시스테인 간의 내부의 이황화 결합 및 141번 및 199번의 시스테인 간의 내부의 이황화 결합, 즉 2개의 내부의 이황화 결합(intra-chain 형태)을 가지거나/가질 수 있다. 각 단량체의 아미노산 수는 221개의 아미노산으로 구성될 수 있으며, 동종이량체를 형성하는 아미노산은 전체 442개의 아미노산으로 이루어질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 구체적으로 면역글로불린 Fc 절편은 서열번호 138의 아미노산 서열 (221개의 아미노산으로 구성됨)을 갖는 단량체 2개가 각 단량체의 3번 아미노산인 시스테인 사이에 이황화 결합을 통해 동종이량체를 형성하고, 상기 동종이량체의 단량체는 각각 독립적으로 35번 및 95번의 시스테인 간의 내부의 이황화 결합 및 141번 및 199번의 시스테인 간의 내부의 이황화 결합을 형성하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[667] 상기 화학식 1의 Fc는 서열번호 138의 아미노산 서열인 단량체를 포함하는 것일 수 있으며, 상기 Fc는 서열번호 138의 아미노산 서열의 단량체의 동종이량체일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[668] 하나의 예로, 면역글로불린 Fc 영역은 서열번호 139의 아미노산 서열 (442개의 아미노산으로 구성됨)을 포함하는 동종이량체일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[669] 한편, 본 발명에서 면역글로불린 Fc 영역과 관련된 "조합(combination)"이란 이량체 또는 다량체를 형성할 때, 동일 기원 단쇄 면역글로불린 Fc 영역을 암호화하는 폴리펩타이드가 상이한 기원의 단쇄 폴리펩타이드와 결합을 형성하는 것을 의미한다. 즉, IgG Fc, IgA Fc, IgM Fc, IgD Fc 및 IgE의 Fc 단편으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 2개 이상의 단편으로부터 이량체 또는 다량체의 제조가 가능하다.

[670] 본 발명에서 "하이브리드(hybrid)"란 단쇄의 면역글로불린 불변영역 내에 2개 이상의 상이한 기원의 면역글로불린 Fc 단편에 해당하는 서열이 존재함을 의미하는 용어이다. 본 발명의 경우 여러 형태의 하이브리드가 가능하다. 즉, IgG Fc, IgM Fc, IgA Fc, IgE Fc 및 IgD Fc의 CH1, CH2, CH3 및 CH4로 이루어진 그룹으로부터 1개 내지 4개 도메인으로 이루어진 도메인의 하이브리드가 가능하며, 힌지를 포함할 수 있다.

[671] 한편, IgG 역시 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4의 서브클래스로 나눌 수 있고 본 발명에서는 이들의 조합 또는 이들의 혼성화도 가능하다. 구체적으로는 IgG2 및

IgG4 서브클래스이며, 가장 구체적으로는 보체 의존적 독성(CDC, Complement dependent cytotoxicity)과 같은 이펙터 기능(effector function)이 거의 없는 IgG4의 Fc 절편이다.

[672] 또한, 상술한 결합체는 효력의 지속성이 천연형 GLP-1, GIP, 혹은 글루카곤에 비해, 또는 Fc가 수식되지 않은 Z에 비해 증가된 것일 수 있으며, 이러한 결합체는 상술한 형태뿐만 아니라, 생분해성 나노파티클에 봉입된 형태 등을 모두 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[673]

[674] 상기 FXR 작용제는 담즙산 수용체(Bile acid Receptor, BAR)로도 공지되어 있는, 담즙산에 의해 활성화되는 핵 수용체인 FXR의 작용제를 의미하는 것으로, 본 발명의 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체와 병용 요법에 사용되어, 단독에 비해 간 질환을 예방 또는 치료 효과를 개선시킬 수 있는 물질은 제한없이 포함될 수 있다.

[675] FXR은 간, 장 및 신장과 같은 담즙산 대사의 주요 부위에서 발현되며, 이는 조직-특이적 방식으로 담즙산을 포함한 여러 대사 경로에 영향을 미친다. FXR은 간 및 장의 여러 메커니즘을 통해 담즙산 생산억제, 및 제거촉진 작용을 한다고 알려져있다. 또한, FXR 작용제는 간 트리글리세라이드 합성을 감소시켜 지방증을 감소시키고, 간 성상 세포 활성화를 억제하여, 간 섬유증을 감소시키고, FGF15/FGF19 발현(담즙산 대사의 주요 조절제)을 자극하여, 간 인슐린 민감성을 개선시키는 것으로 알려져 있으나, 본 발명의 삼중 활성체 또는 이의 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체)와 병용하는 조합물로 이용될 경우 단독에 비해 간 질환의 예방 또는 치료 효과가 개선될 수 있다는 것은 알려진 바 없다.

[676] 상기 FXR 작용제는 본 발명의 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체)와 함께 병용 요법에 사용되어, 단독에 비해 간 질환을 예방 또는 치료 효과를 개선시킬 수 있는 물질은 제한없이 포함되나, 그 예로 카페스톨 (Cafestol), 케노데옥시콜산 (Chenodeoxycholic acid), 오베티콜산 (Obeticholic acid), 펙사라민 (Fexaramine), GW 4064, PX104, 6E-CDCA (6-ethyl-chedeoxycholic acid), AKN-083 또는 트로피펙서 (Tropifexor), 킬로펙서 (Cilofexor), EDP-305, AGN-242266, AGN-242256, EP-024297, RDX-023, BWL-200, GNF-5120, GS-9674, LMB-763, Px-102, Px-103, M790, M780, M450, M-480, MET-409, MET-642, PX20606, EYP-001, TERN-101, TC-100 또는 INT-2228등 일 수 있다.

[677]

[678] 상기 ACC 억제제는 지방산 생성 및 대사의 조절에 중요한 효소인 아세틸-CoA 카복실라제 (acetyla-CoA carboxylase)를 억제하는 물질을 의미하며, 본 발명의

글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체) 및 상기 FXR 작용제와의 병용 요법에 사용되어, 단독에 비해 간 질환을 예방 또는 치료 효과를 개선시킬 수 있는 물질은 제한없이 포함될 수 있다.

[679] 상기 ACC 억제제는 본 발명의 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), 및 FXR 작용제와 함께 병용 요법에 사용되어, 단독에 비해 간 질환을 예방 또는 치료 효과를 개선시킬 수 있는 물질은 제한없이 포함되나, 그 예로 CP-640186, (4-피페리디닐)-피페라진 유도체 ((4-piperidinyl)-piperazine derivatives), 1,4-치환 사이클로헥산 유도체 (1,4-disubstituted cyclohexane derivatives), 스피로크로마논 유도체 (Spirochromanone derivatives), 스피로락탐 유도체 (Spirolactam derivatives), 스피로디아민 유도체 (Spirodiamine derivatives), 스피로펜타실아미드 유도체 (Spiropentacylamide derivatives), 슈도펩타이드 피롤리딘다이온 유도체 (Pseudopeptide pyrrolidinedione derivatives), 매크로사이클릭 폴리케톤 유도체 (Macrocyclic polyketone derivatives), 피르소코스타트 (firsocostat)을 포함하는 티오펜 피리미돈 유도체 (Thiophene pyrimidone derivatives), 아미노-옥사졸 유도체 (Amino-oxazole derivatives), 아조벤지미다졸 유도체 (Azobenzimidazole derivatives) 또는 PF-05221304 일 수 있다. 상기 ACC 억제제는 공지의 문헌인 Future Med Chem. 2020 Mar;12(6):533-561 (doi: 10.4155/fmc-2019-0312) 등을 참고할 수 있으며, 상기 문헌은 전체가 본원의 참조로 이용된다.

[680]

[681] 본 발명의 조합물, 약학적 조성물 또는 키트는 간 질환의 예방 또는 치료에 사용될 수 있다.

[682] 본 발명에서 용어 "예방"은 (a) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체) 및 FXR 작용제; 또는 (b) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), FXR 작용제 및 ACC 억제제를 포함하는 조합물 또는 조성물의 투여로 목적하는 질환, 예컨대 간 질환의 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미하며, "치료"는 (a) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체) 및 FXR 작용제; 또는 (b) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), FXR 작용제 및 ACC 억제제를 포함하는 조합물 또는 조성물의 투여로 목적하는 질환, 예컨대 간 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 되는 모든 행위를 의미한다.

[683] 본 발명에서 용어 "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 환자에게 소정의 물질을

도입하는 것을 의미하며, 상기 조성물의 투여 경로는 특별히 이에 제한되지 않으나, 상기 조성물이 생체 내 표적에 도달할 수 있는 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있으며, 예를 들어 복강 내 투여, 정맥 내 투여, 근육 내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 국소 투여, 비 내 투여, 폐 내 투여, 직장 내 투여 등이 될 수 있다.

[684] 상기 (a) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체) 및 FXR 작용제; 또는 (b) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), FXR 작용제 및 ACC 억제제는 병용으로 이용되어 간 질환의 예방 또는 치료에 사용될 수 있다.

[685] 본 발명에서 용어 “간 질환”은 간에서 발병하는 질환을 의미하는 것으로, 대사성 간질환 또는 간 염증을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 간질환의 대표적인 예로는, 비알코올성 지방간 질환(non-alcoholic fatty liver disease) 또는 담즙정체성 간질환(cholestasis liver disease) 등을 들 수 있다. 본 발명에 따른 상기 병용 요법에 사용되는 약학적 조성물, 조합물, 키트 등에 의해 그 질환이 예방 또는 치료될 수 있는 한, 간의 조직 및 기능에 이상이 생기는 다양한 간 질환은 본 발명의 간질환의 범주에 들어갈 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[686] 본 발명에서 용어 "비알코올성 지방간 질환"은 알코올 섭취 과거력이 없거나 알코올 섭취와 관련이 없으면서도 지방간을 동반하는 경우를 말한다. 지방간은 중성지방이 정상적인 경우와는 다르게 간 세포 내에 비정상적으로 침착되어 보이는 현상이 나타난 것을 말한다. 정상 간은 약 5%가 지방조직으로 구성되어 있으며 중성지방, 지방산, 인지질, 콜레스테롤 및 콜레스테롤 에스터가 지방의 주성분이나, 일단 지방간이 발생되면 대부분의 성분이 중성지방으로 대체되며, 중성지방의 양이 간 중량의 5%이상이면 지방간으로 진단된다. 지방간은 간세포 내의 지방대사 장애나 과잉지방을 운반하는 과정에서의 결함 등에 의하여 초래되는 것으로서, 주로 간에서의 지방대사 장애로 인하여 발생한다. 상기 지방간에서 축적된 지방의 대부분은 중성지방 (triglyceride)일 수 있다. 본 발명에 따른 조성물은 NAS (NAFLD activity score) 감소 및 섬유화를 억제하는 것을 확인한 바, 상기 비알코올성 지방간 질환에 포함되는 다양한 질환의 병변을 예방 또는 치료할 수 있음을 알 수 있다.

[687] 상기 비알코올성 지방간질환은 단순 지방증, 간 염증, 비알코올성 지방간, 비알코올성 지방간염, 간경변, 간 섬유증, 간 부전 또는 간암 등이 이에 속하나, 본 발명의 조성물로 예방 또는 치료되는 비알코올성 지방간 질환은 제한 없이 포함된다.

[688] 또 하나의 예로서, 상기 비알코올성 지방간 질환은 간 염증, 비알코올성 지방간염과 간 섬유증으로 이루어진 군에서 선택하는 적어도 하나의 질환일 수 있으나, 본 발명의 조성물로 예방 또는 치료되는 비알코올성 지방간 질환은 제한

없이 포함된다.

[689] 본 발명에서, "비알코올성 지방간염(nonalcoholic steatohepatitis)"은 비알코올성 지방간질환의 하나로, 간 세포 괴사, 염증, 및 섬유화를 수반하는 간 질환의 대표적 예이다. 본 발명에 따른 조성물은 NAS (NAFLD activity score) 감소 및 섬유화를 억제하여 비알코올성 지방간염에 대한 효과를 나타낼 수 있으며, 구체적으로, 지방간, 간섬유증 또는 간경변을 수반한 비알코올성 지방간염; 또는 비알코올성 지방간염에 의한 간암에 대한 효과를 나타낼 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[690] 본 발명에서, "간 염증(liver inflamation)"은 간질환의 가장 큰 원인으로 간에 염증을 일으키는 질병을 의미하며, 원인과 증상에 따라서 급성간염과 만성간염으로 구별된다. 바이러스, 알코올, 약물, 면역 이상, 대사 질환 등을 주원인으로 한다.

[691] 본 발명에서, "간 섬유증 (liver fibrosis)"은 반복적인 간 손상에 대한 상처 회복 과정의 결과로, 간경변증과는 달리 가역적이고, 얇은 원섬유(thin fibril)로 구성되며, 결절(nodule) 형성이 없는 것으로 알려져 있고, 간 손상의 원인이 소실되면 정상회복이 가능할 수 있으나, 이러한 간 섬유증 과정이 반복적으로 지속되면 ECM(extra cellular matrix) 간의 교차결합(crosslinking)이 증가하여 결절(nodule)이 있는 비가역적인 간경변증으로 진행된다.

[692] 본 발명의 조성물은 상기 약학적 조성물은 투여시 투여받은 개체에서 하이드록시프롤린 함량을 감소시킴으로써 간섬유증에 대한 예방 또는 치료 효과를 나타낼 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명에 따른 결합체는 간의 섬유화 자체를 완화하는 효과를 가질 뿐만 아니라, 간의 섬유화를 수반하거나, 이에 기인하여 발병한 질환에도 효과를 나타낼 수 있다.

[693] 본 발명의 "간경변(liver cirrhosis)"은 간세포 재생 및 섬유조직의 증가를 반복하면서 발병하고 병리학적으로 괴사(necrosis), 염증(inflammation) 및 섬유화(fibrosis)가 수반되는 만성질환이며 궁극적으로 간 부전과 같은 간경변 합병증 및 간암 등의 질환으로 진행되어 사망에 이르게 한다. 특히, 초기에 자각증상이 없어 상당히 진행되어서야 발견되기 때문에, 간경변 등으로 진화되기 전의 상태인 간섬유증을 신속히 치료하는 것이 요구된다.

[694] 본 발명의 "간 부전(liver decompensation)"은 바이러스성 간염, 간경변증, 약물 또는 알코올과 같은 간 손상 또는 간 질환으로 인해, 간 기능이 약화되고 간이 정상적인 생리 작용으로서의 단백질 합성과 대사 기능을 수행할 수 없는 상태를 의미한다. 진행 속도에 따라 급성 간부전 또는 만성 간부전으로 나뉘며, 다양한 합병증을 일으키는 것으로 알려져 있다.

[695] 본 발명의 "간암(hepatocellular carcinoma)"은 간 세포에서 기원하는 악성 종양을 의미하며, 간세포 자체로부터 발생한 원발성 간암 (간세포암; hepatocellular carcinoma)과 다른 조직의 암이 간으로 전이되어 온 전이성 간암으로 구분할 수 있는데, 간암의 약 90% 이상은 원발성 간암이다. 주된

원인으로는 간염, 만성 간질환 외에 알코올, 흡연, 비만 등이 알려져 있다.

[696] 본 발명에서, "담즙정체증 (cholestasis)"은, 간에서 십이지장으로의 담즙의 유동이 느려지거나 차단된 병태이고, "담즙정체성 간질환(cholestasis liver disease)"은 간 내부에서, 담즙 형성이 각종 질환, 확장된 경정맥 영양, 또는 특정 약물 (예컨대, 일부 항생제) 의 부작용과 같은과 병태에 의해 방해된 것을 의미한다. 담즙정체증의 통상의 징후에는, 피로, 소양감 (가려움증), 황달, 및 황색종 (피하에의 고콜레스테롤 (cholesterol-rich) 물질의 증착) 이 포함된다. 담즙정체증의 영향은 극심하며 광범위하고, 이는 간 질환의 전신적 질환으로의 악화, 간부전, 및 간 이식의 필요를 초래한다. 담즙정체성 간질환의 원인으로는 급성 간염, 담관의 염증 등을 들 수 있다.

[697] 상기 담즙정체성 간질환에는, 원발성 담즙성 담관염 (PBC), 원발성 경화성 담관염 (PSC), 진행성 가족성 간내 담즙정체증 (PFIC), 및 알라질 증후군 (Alagille syndrome) (AS) 등이 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[698] 원발성 담즙성 담관염 (primary biliary cholangitis: PBC)으로도 알려진 원발성 담즙성 경변증은 원인 불명의 만성 담즙정체성 간 질환이다. 문맥 (portal) 및 문맥주위 (periportal) 염증으로 인한 진행성 담관 손상은 진행성 섬유증 및 궁극적 간경화를 일으킬 수 있다. 지금까지는 면역학적, 유전적 및 환경적 요인이 질환에 잠재적인 원인으로 알려져 있다. 원발성 담즙성 경변증은 주로 중년 여성에서 많이 나타나며, 증상은 초기 발현에서 피로, 가려움증 또는 미규명된 고지혈증이 또한 원발성 담즙성 경변증의 증상으로 나타날 수 있다.

[699] 현재까지는 원발성 담즙성 경화증이 면역-매개된 질환이라고 알려져 있으며, 구체적으로, 문맥 및 문맥주위 부위에서 T 림프구의 면역조직화학적 염색은 CD4-양성 및 CD8-음성 T 세포를 나타낸다. 또한, 이환된 개체의 무증상 제1-등급 동류 (relatives)에서 비정상 억제자 T-세포 활성이 보고되었다. 인터류킨이 변경된 면역 기능 및 섬유증에 기여함으로써 PBC의 발병기전에 역할을 할 수 있다는 것이 보고되었다 (G.J. Webb et al, J. Autoimmunity, 2015 Nov; 64: 42-52).

[700] PBC의 치료방법은 우르소데옥시콜산 (UDSA) 및 오베티콜산 (OCA)을 이용한 담즙산 치료법이다. PBC에서 두 약물의 작용 메커니즘은 FXR 및 TGFR-5를 활성화시켜 항-염증성 효과를 발휘하게 하는 이들의 능력과 연관된다. 그러나, UDCA로 치료된 환자의 약 40%에서 충분한 생화학적 반응을 달성되지 않았다.

[701] 원발성 경화성 담관염(Primary sclerosing cholangitis: PSC)는 원인 모를 간내/간외 담도의 염증과 섬유화로 인해 발생되는 만성 진행성 담즙 정체성 간질환이다. 구체적으로, 담관 및 담도의 염증성 질환으로서 질환이 진행되면 섬유화가 일어나 담관벽이 두꺼워지면서 좁아지거나 협착이 오는 질환이다. 아직까지 원인은 불명이나, 유전적 요인, 환경적 요인, 이와 관련된 면역반응 등 다양한 인자가 복합적으로 원인으로 추정하고 있다.

[702] 혈액을 통한 간 기능 검사에서 alkaline phosphatase 수치 상승, aminotransferase 수치 상승, 감마글로불린혈증 등이 보이면 원발성 경화성 담관염으로 진단하고

있다.

[703] PSC의 치료방법은 아직까지 명확하게 보고된 바 없으며, 간이식 수술이 근본적으로 치료할 수 있는 유일한 치료방법이다.

[704] 이에, 환자 편의성 확보 및 부작용 없이 PBS, 및 PSC를 치료할 수 있는 약물의 개발이 여전히 요구되고 있으며, 본 발명에 따른 3중 작용제 또는 이의 지속형 결합체 및 FXR 작용제와의 병용; 또는 3중 작용제 또는 이의 지속형 결합체, FXR 작용제 및 ACC 억제제와의 병용 요법은 상기 질환을 치료하기에 적합하다.

[705] 본 발명에 따른 조성물은 기존 비알코올성 지방간질환 치료제의 부작용인 체중 증가가 없거나 그 정도가 상대적으로 낮은 것을 특징으로 할 수 있다.

[706] 또한, 상기 조성물은 (a) 섬유증 마커 (fibrosis marker)인 콜라겐-1a의 발현 또는 활성 감소; (b) 염증 유발 마커 (pro-inflammatory marker)인 TNF-alpha (tumor necrosis factor-α)의 발현 또는 활성 감소; (c) 지방 생성 마커 (lipogenesis marker)인 SREBP-1c (sterol regulatory element binding protein-1c)의 발현 또는 활성 감소; (d) 간 내 중성 지방 감소; 및 (e) 혈액 내 콜레스테롤 감소와 같은 (a) 내지 (e)의 특성 중 하나 이상의 특성을 수행하여, 간 질환을 예방 또는 치료할 수 있다. 그러나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[707] 또한 상기 조성물은 NAS (NAFLD activity score)를 감소시켜 간 질환, 그 예로 비알코올성 지방간 질환을 예방 또는 치료할 수 있다.

[708] 또한 상기 조성물은 간 조직내 섬유증 지표로 알려진 하이드록시프롤린 (hydroxyprolin)을 감소시켜 간 질환, 그 예로 비알코올성 지방간 질환을 예방 또는 치료할 수 있다.

[709]

[710] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있다. 이러한 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제, 또는 희석제는 비자연적으로 발생된 것일 수 있다.

[711] 본 발명에서 용어 "약학적으로 허용가능한"이란 치료효과를 나타낼 수 있을 정도의 충분한 양과 부작용을 일으키지 않는 것을 의미하며, 질환의 종류, 환자의 연령, 체중, 건강, 성별, 환자의 약물에 대한 민감도, 투여 경로, 투여 방법, 투여횟수, 치료 기간, 배합 또는 동시 사용되는 약물 등 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[712] 본 발명의 펩타이드를 포함한 약학적 조성물은 약학적으로 허용가능한 부형제를 추가로 포함할 수 있다. 상기 부형제는 특별히 이에 제한되지는 않으나, 경구 투여 시에는 결합제, 활택제, 붕해제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 현탁화제, 색소, 향료 등을 사용할 수 있고, 주사제의 경우에는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장화제, 안정화제 등을 혼합하여 사용할 수 있으며, 국소투여용의 경우에는 기제, 부형제, 윤활제, 보존제 등을 사용할 수 있다.

[713] 본 발명의 조성물의 제형은 상술한 바와 같은 약학적으로 허용가능한 부형제와 혼합하여 다양하게 제조될 수 있다. 예를 들어, 경구 투여 시에는 정제, 트로키,

캡슐, 엘릭서, 서스펜션, 시럽, 웨이퍼 등의 형태로 제조할 수 있으며, 주사제의 경우에는 단위 투약 앰플 또는 다수회 투약 형태로 제조할 수 있다. 기타, 용액, 현탁액, 정제, 환약, 캡슐, 서방형 제제 등으로 제형화할 수 있다.

[714] 한편, 제제화에 적합한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유 등이 사용될 수 있다. 또한, 충진제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[715] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 동결건조제제 및 좌제로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있다.

[716] 또한, 상기 조성물은 약학적 분야에서 통상의 방법에 따라 환자의 신체 내 투여에 적합한 단위 투여형의 제제, 구체적으로는 단백질 의약품의 투여에 유용한 제제 형태로 제형화시켜 당업계에서 통상적으로 사용하는 투여 방법을 이용하여 경구, 또는 피부, 정맥 내, 근육 내, 동맥 내, 골수 내, 수막강 내, 심실 내, 폐, 경피, 피하, 복 내, 비강 내, 소화관 내, 국소, 설하, 질 내 또는 직장 경로를 포함하는 비경구 투여 경로에 의하여 투여될 수 있으나, 이들에 한정되는 것은 아니다.

[717]

[718] 또한, 상기 3중 작용제 또는 이의 지속형 결합체는 생리식염수 또는 유기용매와 같이 약제로 허용된 여러 전달체(carrier)와 혼합하여 사용될 수 있고, 안정성이나 흡수성을 증가시키기 위하여 글루코스, 수크로스 또는 덱스트란과 같은 탄수화물, 아스코르브산(ascorbic acid) 또는 글루타티온과 같은 항산화제(antioxidants), 킬레이트제, 저분자 단백질 또는 다른 안정화제(stabilizers) 등이 약제로 사용될 수 있다.

[719] 본 발명의 약학적 조성물의 투여량과 횟수는 치료할 질환, 투여 경로, 환자의 연령, 성별 및 체중 및 질환의 중등도 등의 여러 관련 인자와 함께, 활성성분인 약물의 종류에 따라 결정된다. . 구체적으로, 본 발명의 조성물은 상기 펩타이드 또는 이를 포함하는 지속형 결합체를 약학적 유효량으로 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[720] 상기 펩타이드 또는 지속형 결합체를 약학적 유효량으로 포함하는 것은, 펩타이드 또는 지속형 결합체로 인한 목적하는 약리 활성(예를 들어, 간 질환의 예방, 개선 또는 치료)을 얻을 수 있는 정도를 의미하고, 또한 투여되는 개체에서 독성 또는 부작용이 일어나지 않거나 미미한 수준으로서 약학적으로 허용되는 수준을 의미할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 이와 같은 약학적 유효량은 투여 횟수, 환자, 제형 등을 종합적으로 고려하여 결정될 수 있다.

[721]

[722] 특별히 이에 제한되지 않으나, 본 발명의 상기 약학적 조성물은 상기 성분(유효성분)을 0.01 내지 99% 중량 대 부피로 함유할 수 있다.

[723]

[724] 본 발명의 조성물의 총 유효량은 단일 투여량 (single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량 (multiple dose)으로 장기간 투여되는 분할 치료 방법 (fractionated treatment protocol)에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 질환의 정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있다. 구체적으로, 본 발명의 펩타이드 또는 결합체의 바람직한 전체 용량은 하루에 환자 체중 1 kg당 약 0.0001 mg 내지 500 mg일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 그러나 상기 결합체의 용량은 약학적 조성물의 투여 경로 및 치료 횟수뿐만 아니라 환자의 연령, 체중, 건강 상태, 성별, 질환의 중증도, 식이 및 배설율 등 다양한 요인들을 고려하여 환자에 대한 유효 투여량이 결정되는 것이므로, 이러한 점을 고려할 때 당분야의 통상적인 지식을 가진 자라면 상기 본 발명의 조성물의 특정한 용도에 따른 적절한 유효 투여량을 결정할 수 있을 것이다. 본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 그 제형, 투여 경로 및 투여 방법에 특별히 제한되지 아니한다.

[725] 본 발명의 3중 작용제 또는 이의 지속형 결합체는 FXR 작용제; 또는 FXR 작용제 및 ACC 억제제와 적절한 비율로 병용 투여될 수 있다. 예를 들어, 1회 투여량 기준으로 본 발명의 3중 작용제 또는 이의 지속형 결합체는 약 0.1 내지 약 100 mg, 약 0.5 내지 약 80 mg, 약 1 내지 약 60 mg, 약 1 내지 약 25 mg, 약 5 내지 약 20 mg, 또는 약 10 내지 약 15 mg으로 투여되고, FXR 작용제는 약 1 내지 약 100 mg, 약 1 내지 약 250 mg, 약 5 내지 약 250 mg, 약 5 내지 약 50 mg, 약 5 내지 약 40 mg, 약 5 내지 약 40 mg, 약 5 내지 약 25 mg, 약 5 내지 약 30 mg,약 90 내지 약 250 mg, 약 140 내지 약 250 mg,약 140 내지 약 200 mg으로 투여되고, ACC 억제제는 약 1 내지 1000 mg, 약 5 내지 약 1000 mg, 약 5 내지 150 mg, 약 5 내지 약 50 mg, 약 5 내지 약 30 mg, 약 5 내지 약 750 mg, 약 10 내지 약 550 mg으로 투여되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[726] 본 발명의 3중 작용제 또는 이의 지속형 결합체는 FXR 작용제; 또는 FXR 작용제 및 ACC 억제제와 적절한 비율로 병용 투여되어 우수한 간 질환 치료 효과를 나타낼 수 있다.

[727] 본 발명의 약학적 조성물은 생체 내 지속성 및 역가가 우수하여, 본 발명의 약학적 제제의 투여 횟수 및 빈도를 현저하게 감소시킬 수 있으나 이에 제한되지 않는.

[728]

[729] 본 발명을 구현하는 다른 하나의 양태는 FXR 작용제와 병용하는 것을 특징으로 하는 상기 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형

결합체)를 포함하는, 간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[730] 또 하나의 구체예로서, 상기 약학적 조성물은 추가로 ACC 억제제와 병용하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[731] 상기 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), FXR 작용제, ACC 작용제를 포함하는 조성물, 예방, 치료, 간 질환 및 약학적 조성물에 대해서는 앞서 설명한 바와 같다.

[732]

[733] 본 발명을 구현하는 다른 하나의 양태는 (i) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), 및 (ii) FXR 작용제를 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 간 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[734] 본 발명을 구현하는 다른 하나의 양태는, (i) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), (ii) FXR 작용제, 및 (iii) ACC 억제제를 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 간 질환의 예방 또는 치료 방법일 수 있다.

[735] 본 발명을 구현하는 다른 하나의 양태는 간 질환의 치료가 필요한 개체에, 약학적 유효량으로 (i) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체)를 투여하는 단계; 및 (ii) FXR 작용제를 투여하는 단계를 포함하며, 위 (i)과 (ii)의 단계는 순차적, 역순 또는 동시에 이루어지는, 간 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[736] 본 발명을 구현하는 다른 하나의 양태는 간 질환의 치료가 필요한 개체에, 약학적 유효량으로 (i) 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체)를 투여하는 단계; (ii) FXR 작용제를 투여하는 단계; 및 (iii) ACC 억제제를 포함하며, 위 (i), (ii), (iii)의 단계는 순차적, 역순 또는 동시에 이루어지는, 간 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[737] 본 발명의 예방 또는 치료 방법의 각 약효 성분들을 투여하는 각각의 단계는 어느 순서로 이루어지든 무방하며, (i), (ii), (iii)은 순서를 의미하는 것이 아니며, 유효성분을 구분 짓는 것으로 각 단계는 순차적, 역순 또는 동시에 이루어질 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[738]

[739] 상기 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), FXR 작용제, ACC 작용제를 포함하는 조성물, 예방, 치료, 간 질환 및 약학적 조성물에 대해서는 앞서 설명한 바와 같다.

[740]

[741] 본 발명에서 상기 개체는 간 질환이 의심되는 개체로서, 상기 간 질환 의심 개체는 해당 질환이 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 포함한 쥐, 가축 등을 포함하는 포유 동물을 의미하나, 본 발명의 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체); 및 (a) FXR 작용제, 또는 (b) FXR 작용제 및 ACC 억제제를 포함하는 상기 조성물로 치료 가능한 개체는 제한 없이 포함된다. 또한, 본 발명의 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체); 및 (a) FXR 작용제, 또는 (b) FXR 작용제 및 ACC 억제제를 포함하는 약학적 조성물을 간 질환 의심 개체에 투여함으로써, 개체를 효율적으로 치료할 수 있다. 간 질환에 대해서는 상기에서 설명한 바와 같다.

[742] 본 발명의 방법은 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체); 및 (a) FXR 작용제, 또는 (b) FXR 작용제 및 ACC 억제제를 포함하는 조합물 또는 약학적 조성물을 약학적 유효량으로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 본 발명에 따른 방법은 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체); 및 (a) FXR 작용제, 또는 (b) FXR 작용제 및 ACC 억제제를 하나의 제제로서 투여하거나, 또는 개별 제제를 동시, 개별, 순차 또는 역순으로 투여하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[743] 본 발명의 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 환자(개체)에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미한다. 상기 3중 작용제 또는 이의 지속형 결합체, FXR 작용제, ACC 억제제의 투여 경로는 특별히 이에 제한되지 않으나, 상기 3중 작용제 또는 이의 지속형 결합체, FXR 작용제, ACC 억제제가 생체 내 표적에 도달할 수 있는 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있으며, 예를 들어 복강 내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 국소 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장 내 투여 등이 될 수 있다.

[744] 본 발명의 방법에서, 상기 3중 작용제 또는 이의 지속형 결합체, FXR 작용제, ACC 억제제는 동일한 투여 경로로 투여되거나, 또는 서로 다른 투여 경로로 투여될 수 있으며, 병용 투여되는 약물의 투여 경로는 서로 독립적일 수 있다.

[745] 이에 제한되지 않으나, 본 발명의 3중 작용제 또는 이의 지속형 결합체, FXR 작용제; 또는 3중 작용제 또는 이의 지속형 결합체, FXR 작용제, 및 ACC 억제제를 포함하는 조성물은 1일에 1회, 2일에 1회, 3일에 1회, 1주에 1회, 2주에 1회, 4주에 1회, 또는 1개월에 1회 투여될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[746] 한편, FXR 작용제, 및 ACC 억제제는 본 발명의 3중 작용제 또는 이의 지속형 결합체 또는 이를 포함하는 조성물과 병용 투여됨으로써 간 질환 예방 또는 치료 효과를 발휘할 수 있는 한, 투여 빈도는 제한되지 않으나, 예를 들어, 1일에 1회, 2일에 1회, 3일에 1회, 1주에 1회, 2주에 1회, 4주에 1회, 또는 1개월에 1회 투여될

수 있다. 또한, 상기 3중 작용제 또는 이의 지속형 결합체와 동일한 간격으로 투여되거나, 또는 다른 간격, 예를 들어 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 또는 10일 이상의 간격을 두고 투여되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다,

[747]

[748] 적합한 총 1일 사용량은 올바른 의학적 판단범위 내에서 처치의에 의해 결정될 수 있으며, 1회 또는 수회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나 본 발명의 목적상, 특정 환자에 대한 구체적인 치료적 유효량은 달성하고자 하는 반응의 종류와 정도, 경우에 따라 다른 제제가 사용되는지의 여부를 비롯한 구체적 조성물, 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 구체적 조성물과 함께 사용되거나 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자와 의약 분야에 잘 알려진 유사 인자에 따라 다르게 적용하는 것이 바람직하다.

[749]

[750] 본 발명을 구현하는 또 하나의 양태는 상기 조합물, 상기 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 또는 상기 약학적 키트를 이를 필요로 하는 개체에 투여 및/또는 사용하는 단계를 포함하는 간 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[751] 상기 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), FXR 작용제, ACC 작용제를 포함하는 조합물, 키트, 조성물, 예방, 치료, 간 질환 및 약학적 조성물에 대해서는 앞서 설명한 바와 같다.

[752]

[753] 본 발명을 구현하는 또 하나의 양태는 상기 조합물, 약학적 조성물, 또는 약학적 키트의 간 질환의 예방 또는 치료 용도 및/또는 간 질환의 예방 또는 치료를 위한 약제의 제조를 위한 용도를 제공한다.

[754] 상기 글루카곤 수용체, GLP-1 수용체, 및 GIP 수용체에 대해 활성을 갖는 물질 (3중 작용제) 또는 이의 지속형 결합체 (3중 작용성 지속형 결합체), FXR 작용제, ACC 작용제를 포함하는 조합물, 키트, 조성물, 예방, 치료, 간 질환 및 약학적 조성물에 대해서는 앞서 설명한 바와 같다.

[755]

[756] 이하, 하기 실시예에 의하여 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 범위가 이들로 한정되는 것은 아니다.

[757]

[758] **실시예 1: 삼중 활성체의 제조**

[759]

[760] GLP-1 수용체, GIP 수용체 및 글루카곤 수용체에 모두 활성을 나타내는 삼중 활성체를 제조하여, 하기 표 1에 이의 서열을 나타냈다.

[761]

[762] [표1]

| 서열번호 | 서열 | 정보 |
|---|---|---|
| 1 | HXQGTFTSDVSSYLDGQAAKEFIAWLVKGC | |
| 2 | HXQGTFTSDVSSYLDGQAQKEFIAWLVKGC | |
| 3 | HXQGTFTSDVSSYLLGQAAKQFIAWLVKGGGPSSGAPPPSC | |
| 4 | HXQGTFTSDVSSYLLGQQQKEFIAWLVKGC | |
| 5 | HXQGTFTSDVSSYLLGQQQKEFIAWLVKGGGPSSGAPPPSC | |
| 6 | HXQGTFTSDVSSYLDGQAAKEFVAWLLKGC | |
| 7 | HXQGTFTSDVSKYLDGQAAKEFVAWLLKGC | |
| 8 | HXQGTFTSDVSKYLDGQAAQEFVAWLLKGC | |
| 9 | HXQGTFTSDVSKYLDGQAAQEFVAWLLAGC | |
| 10 | HXQGTFTSDVSKYLDGQAAQEFVAWLLAGGGPSSGAPPPSC | |
| 11 | CAGEGTFTSDLSKYLDSRRQQLFVQWLKAGGPSSGAPPPSHG | |
| 12 | CAGEGTFISDLSKYMDEQAVQLFVEWLMAGGPSSGAPPPSHG | |
| 13 | CAGEGTFISDYSIQLDEIAVQDFVEWLLAQKPSSGAPPPSHG | |
| 14 | CAGQGTFTSDYSIQLDEIAVRDFVEWLKNGGPSSGAPPPSHG | |
| 15 | CAGQGTFTSDLSKQMDEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSHG | |
| 16 | CAGQGTFTSDLSKQMDSEAQQLFIEWLK | |

| | | |
|---|---|---|
| | NGGPSSGAPPPSHG | |
| 17 | CAGQGTFTSDLSKQMDEERAREFIEWLL AQKPSSGAPPPSHG | |
| 18 | CAGQGTFTSDLSKQMDSERAREFIEWLK NTGPSSGAPPPSHG | |
| 19 | CAGQGTFTSDLSIQYDSEHQRDFIEWLKD TGPSSGAPPPSHG | |
| 20 | CAGQGTFTSDLSIQYEEEAQQDFVEWLK DTGPSSGAPPPSHG | |
| 21 | YXQGTFTSDYSKYLDECRAKEFVQWLLD HHPSSGQPPPS | 고리 형성 |
| 22 | YXQGTFTSDYSKCLDEKRAKEFVQWLLD HHPSSGQPPPS | 고리 형성 |
| 23 | YXQGTFTSDYSKYLDECRAKEFVQWLLA QKGKKNDWKHNIT | 고리 형성 |
| 24 | YXQGTFTSDYSKYLDECRAKEFVQWLK NGGPSSGAPPPS | 고리 형성 |
| 25 | HXQGTFTSDCSKYLDERAAQDFVQWLL DGGPSSGAPPPS | |
| 26 | HXQGTFTSDCSKYLDSRAAQDFVQWLL DGGPSSGAPPPS | |
| 27 | HXQGTFTSDYSKYLDERACQDFVQWLL DQGGPSSGAPPPS | |
| 28 | HXQGTFTSDYSKYLDEKRAQEFVCWLLA QKGKKNDWKHNIT | |
| 29 | HXQGTFTSDYSKYLDEKAAKEFVQWLL NTC | 고리 형성 |
| 30 | HXQGTFTSDYSKYLDEKAQKEFVQWLL DTC | 고리 형성 |
| 31 | HXQGTFTSDYSKYLDEKACKEFVQWLL AQ | 고리 형성 |
| 32 | HXQGTFTSDYSKYLDEKACKDFVQWLL DGGPSSGAPPPS | 고리 형성 |
| 33 | HXQGTFTSDYSIAMDEIHQKDFVNWLLA | 고리 |

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

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

| | | |
|---|---|---|
| | D H H P S S G Q P P P S | 형성 |
| 68 | Y X Q G T F T S D Y S K C L D E K A A K E F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S | 고리 형성 |
| 69 | Y X Q G T F T S D Y S K C L D E R A A K E F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S | 고리 형성 |
| 70 | Y X Q G T F T S D Y S K C L D E K R A K D F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S | 고리 형성 |
| 71 | Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E R A C K D F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S | 고리 형성 |
| 72 | Y X Q G T F T S D C S K Y L D E R A A K D F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S | 고리 형성 |
| 73 | CA X Q G T F T S D Y S K Y L D E C R A K E F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S | 고리 형성 |
| 74 | CA X Q G T F T S D Y S K C L D E K R A K E F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S | 고리 형성 |
| 75 | Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E K A A K E F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S C | 고리 형성 |
| 76 | Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R A K D F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S C | 고리 형성 |
| 77 | Y X Q G T F T S D Y S K Y L D E K A A K D F V Q W L L D H H P S S G Q P P P S C | 고리 형성 |
| 78 | H X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R Q K E F V Q W L L D T K C | 고리 형성 |
| 79 | H X E G T F T S D Y S I A M D E I H Q K D F V N W L L A Q K C | 고리 형성 |
| 80 | H X E G T F T S D Y S I A M D E I H Q K D F V D W L L A E K C | 고리 형성 |
| 81 | CA X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R Q K E F V Q W L L N T C | 고리 형성 |
| 82 | CA X Q G T F T S D Y S K Y L D E K R Q K E F V Q W L L D T C | 고리 형성 |
| 83 | CA X E G T F T S D Y S I A M D E I H Q K D F V N W L L A Q C | 고리 형성 |
| 84 | CA X E G T F T S D Y S I A M D E I H Q K D F V D W L L | 고리 |

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

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

[763]

[764] 상기 표 1에 기재된 서열에서 X로 표기된 아미노산은 비천연형 아미노산인 Aib (2-아미노이소부티르산(2-aminoisobutyric acid))이며, 아미노산 기호 아래 밑줄은 밑줄 친 해당 아미노산 쌍의 측쇄들 사이에 락탐 고리가 형성된 것을 가리킨다. 또한, 상기 표 1에서 CA는 4-이미다조아세틸(4-imidazoacetyl)을 의미한다.

[765]

[766] **실시예 2: 삼중 활성체의 지속형 결합체 제조**

[767]

[768] 양 말단에 각각 말레이미드기 및 알데히드기를 가지는 10kDa의 PEG, 즉 말레이미드-PEG-알데히드 (10kDa, NOF, 일본)를 실시예 1의 삼중활성체 (서열번호 21, 22, 42, 43, 50, 77, 및 96)의 시스테인 잔기에 페길화시키기 위하여, 삼중활성체와 말레이미드-PEG-알데히드의 몰비를 1 : 1 내지 3, 단백질의 농도를 1 내지 5 ㎎/㎖로 하여 저온에서 0.5 내지 3 시간 동안 반응시켰다. 이때, 반응은 50 mM Tris 완충액(pH 7.5)에 20 내지 60% 아이소프로판올이 첨가된 환경 하에서 수행되었다. 구체적으로, 삼중활성체와 폴리에틸렌글리콜 링커의 연결체를 제조하기 위하여 양 말단의 수소가 각각 3-(3-말레이미도프로피온아미도)프로필기 및 3-옥소프로필기(프로피온알데히드기)로 치환된 분자량 10 kDa의 선형 개질 폴리에틸렌글리콜인 말레이미드-PEG-알데히드(일본 NOF사)를 상기 삼중활성체의 시스테인 잔기에 반응시킴으로써 삼중활성체를 말레이미드-PEG-알데히드의 말레이미드쪽 말단에 페길화시켰다.

[769] 반응이 종료된 후, 상기 반응액을 SP 세파로스 HP (GE healthcare, 미국)에 적용하여 시스테인에 모노-페길화된 삼중활성체를 정제하였다.

[770] 다음으로, 상기 정제된 모노-페길화된 삼중활성체와 면역글로불린 Fc (서열번호 138의 동종이량체)를 몰비를 1 : 1 내지 5, 단백질의 농도를 10 내지 50㎎/㎖로 하여 4 내지 8℃에서 12 내지 18시간 동안 반응시켰다. 반응은 100 mM 인산칼륨 완충액 (pH 6.0)에 환원제인 10 내지 50 mM 소디움시아노보로하이드라이드와 10 내지 30 % 아이소프로판올이 첨가된 환경 하에서 수행되었다. 반응이 종료된 후, 상기 반응액을 부틸 세파로스 FF 정제컬럼 (GE healthcare, 미국)과 Source ISO 정제컬럼 (GE healthcare, 미국)에 적용하여, 삼중활성체와 면역글로불린 Fc를 포함하는 결합체를 정제하였다. 정제된 이 지속형 결합체는 분자 내에서 삼중활성체 펩타이드, 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 링커와 Fc 이량체가 1:1:1의 몰 비로 공유결합 연결된 구조이며, PEG 링커는 Fc 이량체의 두 폴리펩타이드 사슬 중 한 사슬에만 연결되어 있다.

[771] 한편, 상기 면역글로불린 Fc는 서열번호 138의 아미노산 서열 (221개의 아미노산으로 구성됨)을 갖는 단량체 2개가 각 단량체의 3번 아미노산인 시스테인 사이에 이황화 결합을 통해 동종이량체를 형성하고, 상기 동종이량체의 단량체는 각각 독립적으로 35번 및 95번의 시스테인 간의 내부의 이황화 결합 및 141번 및 199번의 시스테인 간의 내부의 이황화 결합이 형성된 것이다. 구체적으로 면역글로불린 Fc는 N-말단에 Pro-Ser-Cys-Pro 서열의 힌지 영역을 갖는 면역글로불린 Fc 절편(서열번호 138의 사슬 두 개가 이황화결합으로 연결된 동종이량체)을 사용하여 국제공개특허 WO2007/021129에 기재된 방법으로 제조하였다.

[772]

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

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

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

[776] 여기서, 서열번호 42의 삼중활성체 및 면역글로불린 Fc가 PEG를 통하여 연결된 결합체를, '서열번호 42와 면역글로불린 Fc를 포함하는 결합체' 혹은 '서열번호 42의 지속형 결합체'로 명명하였고, 이들은 본원에서 혼용되어 사용될 수 있다.

[777] 여기서, 서열번호 43의 삼중활성체 및 면역글로불린 Fc가 PEG를 통하여 연결된 결합체를, '서열번호 43과 면역글로불린 Fc를 포함하는 결합체' 혹은 '서열번호 43의 지속형 결합체'로 명명하였고, 이들은 본원에서 혼용되어 사용될 수 있다.

[778] 여기서, 서열번호 50의 삼중활성체 및 면역글로불린 Fc가 PEG를 통하여 연결된 결합체를, '서열번호 50과 면역글로불린 Fc를 포함하는 결합체' 혹은 '서열번호 50의 지속형 결합체'로 명명하였고, 이들은 본원에서 혼용되어 사용될 수 있다.

[779] 여기서, 서열번호 77의 삼중활성체 및 면역글로불린 Fc가 PEG를 통하여 연결된 결합체를, '서열번호 77와 면역글로불린 Fc를 포함하는 결합체' 혹은 '서열번호 77의 지속형 결합체'로 명명하였고, 이들은 본원에서 혼용되어 사용될 수 있다.

[780] 여기서, 서열번호 96의 삼중활성체 및 면역글로불린 Fc가 PEG를 통하여 연결된 결합체를, '서열번호 96과 면역글로불린 Fc를 포함하는 결합체' 혹은

'서열번호 96의 지속형 결합체'로 명명하였고, 이들은 본원에서 혼용되어 사용될 수 있다.

[781]

[782] **실시예 3: 삼중 활성체 및 이의 지속형 결합체의 *in vitro* 활성 측정**

[783]

[784] 상기 실시예 1 및 2에서 제조된 삼중활성체와 이의 지속형 결합체의 활성을 측정하기 위해 GLP-1 수용체, 글루카곤(GCG) 수용체, 및 GIP 수용체가 각각 형질전환된 세포주를 이용하여 *in vitro*에서 세포 활성을 측정하는 방법을 이용하였다.

[785]

[786] 상기 각 세포주는 CHO (chinese hamster ovary)에 인간 GLP-1 수용체, 인간 GCG 수용체 및 인간 GIP 수용체 유전자를 각각 발현하도록 형질 전환된 것으로서, GLP-1, GCG 및 GIP의 활성을 측정하기에 적합하다. 따라서, 각 부분에 대한 활성을 각각의 형질 전환 세포주를 이용하여 측정하였다.

[787]

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

[789]

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

비교하였다. 인간 GCG 대비 상대 역가는 하기 표2와 표3에 나타내었다.

[791]

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

[793]

[794] [표2]

삼중활성체의 상대적 역가 비율

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

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

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

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

[795] [표3]

삼중활성체 지속형 결합체의 상대적 역가 비율

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

[796]

[797] 상기에서 제조한 삼중활성체 또는 이의 지속형 결합체는 GLP-1 수용체, GIP 수용체 및 글루카곤 수용체를 모두 활성화시킬 수 있는 삼중 활성체로 기능을 가지는 바, 목적하는 질환의 치료적 물질로 이용될 수 있다.

[798]

[799] **실시예 4: 간 질환 치료 효과 확인**

[800]

[801] 상기 실시예에서 제조된 삼중 활성체의 지속형 결합체와 FXR (farnesoid X

receptor) 작용제, 또는 삼중 활성체의 지속형 결합체와 FXR (farnesoid X receptor) 작용제 및 ACC (acetyla-CoA carboxylase) 억제제 복합투여에 따른 간 질환의 대표적인 예인 NASH 및 섬유증 (fibrosis) 개선효능을 확인코자, NASH 및 fibrosis 모델로 알려진 콜린 결핍, 고지방 및 고콜레스테롤 식이로 유도된 CD-HFD (Choline deficient high fat diet) 마우스 모델을 사용하였다. CD-HFD는 지방간염 및 fibrosis를 유발한다고 알려져 있다. 간략히, C57BL/6 마우스에 8주간 CD-HFD를 진행하여 모델을 유도하였다.

[802]

[803] 삼중 활성체의 지속형 결합체의 대표예로 서열번호 42의 삼중 활성체의 지속형 결합체, FXR 작용제의 대표예로 킬로펙서 (cilofexor), ACC 억제제의 대표예로 피르소코스타트 (firsocostat)를 선택하여 실험을 수행하였다. 킬로펙서 및 피르소코스타트는 MCE (MedChemExpress)에서 구입하였다.

[804]

[805] **4-1: NASH 및 fibrosis 마우스에서 NASH 개선효과 확인**

[806]

[807] 상기 유도된 동물모델은 부형제 대조군, 서열번호 42의 삼중 활성체의 지속형 결합체 (2.6 nmo/kg, Q2D, 피하) 단독투여군, FXR 작용제 단독 투여군 (4.3 mmol/kg, QD, 경구), ACC 억제제 단독 투여군(51.1 mmol/kg, QD, 경구), 서열번호 42의 삼중 활성체의 지속형 결합체(2.6 nmo/kg, Q2D, 피하)와 FXR 작용제 (4.3 mmol/kg, QD, 경구) 복합투여군, 서열번호 42의 삼중 활성체의 지속형 결합체 (2.6 nmo/kg, Q2D, 피하)와 ACC 억제제(51.1 mmol/kg, QD, 경구) 및 FXR 작용제 (4.3 mmol/kg, QD, 경구) 삼중 복합투여군으로 나누었고, 6주 동안 반복투여를 진행하였다. 6주 반복투여 후 부검을 통해 취한 각 마우스의 간조직에 H&E 염색을 진행한 뒤, NASH 효능평가법으로 잘알려진 NAS (NAFLD activity score)를 구하였다.

[808] 여기서, QD는 1일 1회, Q2D는 2일에 1회 투여를 의미한다.

[809] 도 1에서와 같이 삼중 활성체의 지속형 결합체를 6주간 반복 투여한 결과, CD-HFD 부형제 대조군 대비, NAS가 ACC 억제제 및 FXR 작용제 단독투여군 보다 유의적으로 감소한 것을 확인하였다. 뿐만 아니라, 삼중 활성체의 지속형 결합체를 FXR 작용제와 복합투여 또는 ACC 억제제 및 FXR 작용제와 삼중 복합투여 시, NAS가 보다 효과적으로 개선 된 것을 관찰할 수 있었다.

[810]

[811] 이를 통해 삼중 활성체 또는 이의 지속형 결합체의 NASH 치료효능이 FXR 작용제와의 복합 투여, 또는 FXR 작용제와 및 ACC 억제제와의 삼중 복합투여로 보다 개선될 수 있음을 확인할 수 있었다.

[812]

[813] **4-2:NASH 및 fibrosis 마우스에서 fibrosis 지표 개선효과 확인**

[814]

[815] 상기에서 확인한 삼중 활성체의 지속형 결합체 및 FXR 작용제 복합투여, 그리고 삼중 활성체의 지속형 결합체, ACC 억제제 및 FXR 작용제 삼중 복합투여의 fibrosis 치료효능을 확인코자, CD-HFD 마우스 모델의 간조직에서 침윤식 fibrosis 지표로 알려진 hydroxyproline 함량을 측정하였다.

[816] 구체적으로, 상기에서 확인한 삼중 활성체의 지속형 결합체의 대표 예인 서열번호 42의 삼중 활성체의 지속형 결합체 단독 투여군, FXR 작용제 단독 투여군, ACC 억제제 단독 투여군, 서열번호 42의 삼중 활성체의 지속형 결합체와 FXR 작용제 복합투여군, 그리고 서열번호 42의 삼중 활성체의 지속형 결합체와 ACC 억제제 및 FXR 작용제 삼중 복합투여군의 CD-HFD 마우스 모델의 간조직에서 hydroxyproline 함량을 측정하였다.

[817]

[818] 그 결과, 삼중 활성체의 지속형 결합체 투여는 ACC 억제제 및 FXR 작용제 단독투여군 보다 hydroxyproline 함량을 더 감소 시켰다. 또한, 삼중 활성체의 지속형 결합체 투여에 의해 유의적으로 감소한 hydroxyproline 함량이 FXR 작용제와의 복합투여, 그리고 ACC 억제제 및 FXR 작용제 삼중 복합투여시 hydroxyproline 함량이 보다 효과적으로 감소된 것을 관찰할 수 있었다 (도 2).

[819]

[820] 이를 통해 본 발명의 삼중 활성체 또는 이의 지속형 결합체의 fibrosis 치료효능이 FXR 작용제와의 복합 투여, 또는 FXR 작용제와 및 ACC 억제제와의 삼중 복합투여로 보다 효과적으로 개선될 수 있음을 확인할 수 있었다.

[821]

[822] 상기와 같은 결과들은 본 발명의 삼중 활성체 또는 이의 지속형 결합체가 FXR 작용제와의 복합 투여, 또는 FXR 작용제와 및 ACC 억제제와의 삼중 복합투여에 의해 다양한 비알코올성 지방간 질환의 치료 효과를 보다 개선할 수 있음을 시사하는 것으로, 새로운 복합 투여 제제, 또는 삼중 복합 투여 제제로서 이용될 수 있음을 시사하는 것이다.

[823]

[824] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

# 청구범위

[청구항 1] 약학적 유효량의 3중 작용성 지속형 결합체(triple agonistic long-acting conjugate) 또는 3중 작용제와 약학적으로 허용되는 부형제를 함유하는 간질환의 치료 또는 예방을 위한 약학적 조성물로서,
상기 약학적 조성물은 파네소이드 X 수용체 작용제(farnesoid X receptor agonist)와 병용되는 것을 특징으로 하고,
상기 3중 작용성 지속형 결합체는 하기 화학식 1로 표시되는 물질인
약학적 조성물:
[화학식 1]
Z - Lx - Fc
이 때 Lx는 에틸렌글리콜 반복 단위를 함유하는 링커이며, x는 0 또는 자연수이고,
Fc는 면역글로불린 Fc 영역이고,
-는 Lx와 Z 사이, Fc와 Lx 사이의 각각에 공유결합 연결을 나타내며,
Z 또는 3중 작용제는 하기 일반식 1로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드이고,
Xaa1-Xaa2-Xaa3-Gly-Thr-Phe-Xaa7-Ser-Asp-Xaa10-Ser-Xaa12-Xaa13-Xaa14-Xaa15-Xaa16-Xaa17-Xaa18-Xaa19-Xaa20-Xaa21-Phe-Xaa23-Xaa24-Trp-Leu-Xaa27-Xaa28-Xaa29-Xaa30-R1(일반식 1, 서열번호 103)
상기 일반식 1에서,
Xaa1은 히스티딘(His, H), 4-이미다조아세틸(CA) 또는 티로신(Tyr, Y)이고,
Xaa2는 글리신(Gly, G), 알파-메틸-글루탐산 또는 2-아미노이소부티르산(2-aminoisobutyric acid)이며,
Xaa3은 글루탐산(Glu, E) 또는 글루타민(Gln, Q)이고,
Xaa7은 트레오닌(Thr, T) 또는 이소류신(Ile, I)이며,
Xaa10은 류신(Leu, L), 티로신(Tyr, Y), 리신(Lys, K), 시스테인(Cys, C) 또는 발린(Val, V)이고,
Xaa12는 리신(Lys, K), 세린(Ser, S) 또는 이소류신(Ile, I)이며,
Xaa13은 글루타민(Gln, Q), 티로신(Tyr, Y), 알라닌(Ala, A) 또는 시스테인(Cys, C)이고,
Xaa14는 류신(Leu, L), 메티오닌(Met, M) 또는 티로신(Tyr, Y)이며,
Xaa15는 시스테인(Cys, C), 아스파르트산(Asp, D), 글루탐산(Glu, E) 또는 류신(Leu, L)이며,
Xaa16은 글리신(Gly, G), 글루탐산(Glu, E) 또는 세린(Ser, S)이고,
Xaa17은 글루타민(Gln, Q), 아르기닌(Arg, R), 이소류신(Ile, I), 글루탐산(Glu, E), 시스테인(Cys, C) 또는 리신(Lys, K)이며,

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

[청구항 2] 제1항에 있어서,
Xaa2는 글리신, 알파-메틸-글루탐산 또는 2-아미노이소부티르산이고,
Xaa7은 트레오닌이며,
Xaa10은 티로신, 시스테인 또는 발린이고,
Xaa12는 리신 또는 이소류신이며,
Xaa13은 티로신, 알라닌, 글루타민 또는 시스테인이고,
Xaa14는 류신, 티로신 또는 메티오닌이며;
Xaa15는 시스테인, 류신, 글루탐산 또는 아스파르트산이고,
Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 이소류신, 시스테인, 글루탐산 또는 리신이며,
Xaa18은 알라닌, 글루타민, 아르기닌 또는 히스티딘이고,
Xaa19는 알라닌, 글루타민, 발린 또는 시스테인이며,
Xaa20은 리신, 아르기닌 또는 글루타민이고,
Xaa21은 글루탐산, 글루타민, 류신, 시스테인 또는 아스파르트산이며,
Xaa23은 이소류신 또는 발린이고,
Xaa24는 시스테인, 알라닌, 글루타민, 아스파라긴, 글루탐산 또는

아스파르트산이며,

Xaa27은 류신 또는 리신인 약학적 조성물.

[청구항 3] 제1항에 있어서, Z 또는 3중 작용제는 하기 일반식 2로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드인 약학적 조성물:

Xaa1-Xaa2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa10-Ser-Lys-Xaa13-Xaa14-Xaa15-Xaa16-Xaa17-Xaa18-Xaa19-Xaa20-Xaa21-Phe-Xaa23-Xaa24-Trp-Leu-Leu-Xaa28-Xaa29-Xaa30-Xaa31-

Ser-Ser-Gly-Gln-Pro-Pro-Pro-Ser-Xaa40(일반식 2, 서열번호 104)

상기 일반식 2에서,

Xaa1은 4-이미다조아세틸, 히스티딘 또는 티로신이고,

Xaa2는 글리신, 알파-메틸-글루탐산 또는 2-아미노이소부티르산이며,

Xaa10은 티로신 또는 시스테인이고,

Xaa13은 알라닌, 글루타민, 티로신 또는 시스테인이며,

Xaa14는 류신, 메티오닌 또는 티로신이고,

Xaa15는 아스파르트산, 글루탐산 또는 류신이며,

Xaa16은 글리신, 글루탐산 또는 세린이고,

Xaa17은 글루타민, 아르기닌, 이소류신, 글루탐산, 시스테인 또는 리신이며,

Xaa18은 알라닌, 글루타민, 아르기닌 또는 히스티딘이고,

Xaa19는 알라닌, 글루타민, 시스테인 또는 발린이며,

Xaa20은 리신, 글루타민 또는 아르기닌이고,

Xaa21은 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 류신 또는 아스파르트산이며,

Xaa23은 이소류신 또는 발린이고,

Xaa24는 시스테인, 알라닌, 글루타민, 아스파라긴 또는 글루탐산이며,

Xaa28은 리신, 시스테인, 아스파라긴 또는 아스파르트산이고,

Xaa29는 글리신, 글루타민, 시스테인 또는 히스티딘이며,

Xaa30은 시스테인, 글리신, 리신 또는 히스티딘이고,

Xaa31은 프롤린 또는 시스테인이며;

Xaa40은 시스테인이거나, 부존재한다.

[청구항 4] 제1항에 있어서, Z 또는 3중 작용제는 하기 일반식 3으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드인 약학적 조성물:

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

상기 일반식 3에서,

Xaa1은 히스티딘 또는 티로신이고,

Xaa2는 알파-메틸-글루탐산 또는 2-아미노이소부티르산이며,

Xaa13은 알라닌, 티로신 또는 시스테인이고,
Xaa17은 아르기닌, 시스테인 또는 리신이며,
Xaa18은 알라닌 또는 아르기닌이고,
Xaa19는 알라닌 또는 시스테인이며,
Xaa21은 글루탐산 또는 아스파르트산이고,
Xaa24는 글루타민 또는 아스파라긴이며,
Xaa28은 시스테인 또는 아스파르트산이고,
Xaa29는 시스테인, 히스티딘 또는 글루타민이며,
Xaa30은 시스테인 또는 히스티딘이고,
Xaa31은 프롤린 또는 시스테인이며,
Xaa40은 시스테인 또는 부존재함.

[청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 Xaa16이 글루탐산이고, Xaa20이 리신이며, 상기 글루탐산과 상기 리신이 락탐 고리를 형성한 약학적 조성물.

[청구항 6] 제1항에 있어서, 상기 Z 또는 3중 작용제는 그 C-말단이 아미드화된 약학적 조성물.

[청구항 7] 제1항에 있어서, 상기 Lx 내의 에틸렌글리콜 반복 단위 부분의 화학식량은 1 ~ 100 kDa 범위에 있는 약학적 조성물.

[청구항 8] 제1항에 있어서, Z 또는 3중 작용제는 서열번호: 1 내지 102로 이루어진 군으로부터 선택하는 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드인 약학적 조성물.

[청구항 9] 제8항에 있어서, Z 또는 3중 작용제는 서열번호 21, 22, 42, 43, 50, 64, 66, 67, 70, 71, 76, 77, 96, 97과 100으로 이루어진 군으로부터 선택하는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드인 약학적 조성물.

[청구항 10] 제9항에 있어서, 상기 펩타이드는 서열번호 21, 22, 42, 43, 50, 66, 67, 77, 96, 97과 100으로 이루어진 군으로부터 선택하는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드인 약학적 조성물.

[청구항 11] 제10항에 있어서, 상기 펩타이드는 서열번호 21, 22, 42, 43, 50, 77과 96으로 이루어진 군으로부터 선택하는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드인 약학적 조성물.

[청구항 12] 제1항에 있어서, 상기 파네소이드 X 수용체 작용제는 카페스톨(Cafestol), 케노데옥시콜린산(Chenodeoxycholic acid), 오베티콜린산(Obeticholic acid), 펙사라민(Fexaramine), GW 4064, PX104, 6E-CDCA(6-ethyl-chedeoxycholic acid), AKN-083, 트로피펙서(Tropifexor), 킬로펙서(Cilofexor), EDP-305 AGN-242266, AGN-242256, EP-024297, RDX-023, BWL-200, GNF-5120, GS-9674, LMB-763, Px-102, Px-103, M790, M780, M450, M-480, MET-409, MET-642, PX20606, EYP-001, TERN-101, TC-100 및 INT-2228으로 이루어진 군에서 선택하는 약학적 조성물.

[청구항 13] 제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약학적 조성물은

아세틸조효소 A 카르복실라제 억제제(acetyl-Coenzyme A carboxylase inhibitor)와도 병용하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

[청구항 14] 제13항에 있어서, 아세틸조효소 A 카르복실라제 억제제는 CP-640186,(4-피페리디닐)-피페라진 유도체((4-piperidinyl)-piperazine derivatives), 1,4-치환 사이클로헥산 유도체(1,4-disubstituted cyclohexane derivatives), 스피로크로마논 유도체(Spirochromanone derivatives), 스피로락탐 유도체(Spirolactam derivatives), 스피로디아민 유도체(Spirodiamine derivatives), 스피로펜타실아미드 유도체(Spiropentacylamide derivatives), 슈도펩타이드 피롤리딘다이온 유도체(Pseudopeptide pyrrolidinedione derivatives), 매크로사이클릭 폴리케톤 유도체(Macrocyclic polyketone derivatives), 피르소코스타트(firsocostat)를 포함하는 티오펜 피리미돈 유도체(Thiophene pyrimidone derivatives), 아미노-옥사졸 유도체(Amino-oxazole derivatives), 아조벤지미다졸 유도체(Azobenzimidazole derivatives) 및 PF-05221304로 이루어진 군에서 선택하는 약학적 조성물.

[청구항 15] 제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 간 질환은 비알코올성 지방간 질환(non-alcoholic fatty liver disease) 또는 담즙정체성 간질환인 것인 약학적 조성물.

[청구항 16] 제15항에 있어서, 상기 비알코올성 지방간 질환은 단순 지방증, 간 염증, 비알코올성 지방간, 비알코올성 지방간염, 간경변, 간 섬유증, 간부전, 및 간암으로 이루어진 군에서 선택하는 적어도 하나의 질환인 약학적 조성물.

[청구항 17] 제15항에 있어서, 상기 담즙 정체성 간질환은 원발성 담즙성 경변증(Primary biliary cirrhosis), 원발성 경화성 담관염(primary sclerosing cholangitis) 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택하는 어느 하나인 약학적 조성물.

[청구항 18] 제15항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 아세틸조효소 A 카르복실라제 억제제(acetyl-Coenzyme A carboxylase inhibitor)와도 병용하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

[청구항 19] 제15항에 있어서, 상기 비알코올성 지방간 질환은 간 염증, 비알코올성 지방간염과 간 섬유증으로 이루어진 군에서 선택하는 적어도 하나의 질환인 약학적 조성물.