

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6818940号
(P6818940)

(45) 発行日 令和3年1月27日 (2021.1.27)

(24) 登録日 令和3年1月5日 (2021.1.5)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 K 14/575 (2006.01)

C O 7 K 14/575 Z N A

C 1 2 N 15/16 (2006.01)

C 1 2 N 15/16

A 6 1 K 38/22 (2006.01)

A 6 1 K 38/22

A 6 1 P 3/04 (2006.01)

A 6 1 P 3/04

A 6 1 P 3/10 (2006.01)

A 6 1 P 3/10

請求項の数 15 (全 118 頁)

(21) 出願番号 特願2020-512588 (P2020-512588)
 (86) (22) 出願日 令和1年5月3日 (2019.5.3)
 (65) 公表番号 特表2020-528925 (P2020-528925A)
 (43) 公表日 令和2年10月1日 (2020.10.1)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2019/061413
 (87) 国際公開番号 W02019/211451
 (87) 国際公開日 令和1年11月7日 (2019.11.7)
 審査請求日 令和2年2月28日 (2020.2.28)
 (31) 優先権主張番号 62/666,916
 (32) 優先日 平成30年5月4日 (2018.5.4)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 18172827.0
 (32) 優先日 平成30年5月17日 (2018.5.17)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 欧州特許庁 (EP)

(73) 特許権者 509091848
 ノヴォ ノルディスク アー／エス
 デンマーク、バウスヴェア ディーケー
 ー 2880、ノヴォ アレー
 (74) 代理人 100108453
 弁理士 村山 靖彦
 (74) 代理人 100110364
 弁理士 実広 信哉
 (74) 代理人 100133400
 弁理士 阿部 達彦
 (72) 発明者 ヴォウター・フレデリク・ヨハン・ホーゲ
 ンドルフ
 デンマーク・2880・バウスヴェア・ノ
 ヴォ・アレー・（番地なし）

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 G I P 誘導体およびその使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒト G I P 受容体を活性化することができる G I P 類似体の誘導体であって、前記 G I P 類似体が式 I I（配列番号 48）を含み、

$$X_1 - X_2 - G l u - G l y - T h r - P h e - I l e - S e r - A s p - T y r - S e r - I l e - A l a - X_{14} - A s p - X_{16} - I l e - X_{18} - G l n - X_{20} - A s p - P h e - V a l - L y s - T r p - L e u - L e u - A l a - G l n - L y s - X_{31} \quad (I I),$$

式中、

位置 X_1 、 X_2 、 X_{14} 、 X_{16} 、 X_{18} 、 X_{20} 、および／または X_{31} のアミノ酸 10
 が、

X_1 が T y r または D - T y r であり、

X_2 が A i b、A l a、または D - A l a であり、

X_{14} が L e u、N l e、A s p または M e t であり、

X_{16} が L y s または A l a であり、

X_{18} が A r g または H i s であり、

X_{20} が G l n、G l u または A i b であり、

X_{31} は G l y または P r o であるアミノ酸

から選択され、

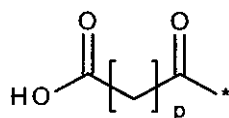
修飾基が位置 24 にあるリジンのイプシロンアミノ基の側鎖に共有結合しており、前記 20

修飾基が A-B-C- により定義され、

A- が化学式 1 であり、

【化 1】

化学式 1 :



p が 1 4 ~ 2 0 の範囲の整数であり、

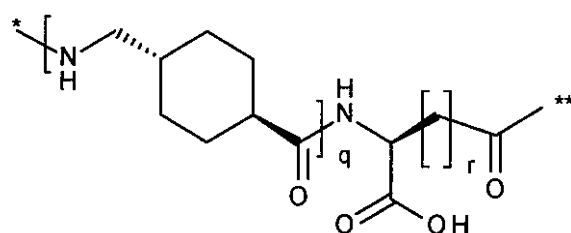
* が A- と B- を接続しているアミド結合の位置を示し、

B-C- がリンカーであり、

B- が化学式 2 であり、

【化 2】

化学式 2 :



q が 0 ~ 1 の範囲の整数であり、

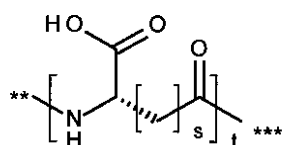
r が 1 ~ 3 の範囲の整数であり、

* が A- と B- を接続しているアミド結合の位置を示し、** が B- と C- を接続しているアミド結合の位置を示し、

C- が化学式 3 および化学式 4 から選択され、

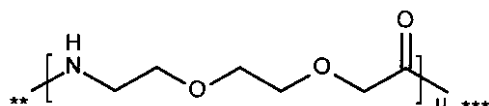
【化 3】

化学式 3 :



【化 4】

化学式 4 :



s が 1 ~ 3 の範囲の整数であり、

t が 1 ~ 4 の範囲の整数であり、

u が 1 ~ 3 の範囲の整数であり、

** が B- と C- を接続しているアミド結合の位置を示し、*** が C- と、位置 2 4 のリジンのイプシロンアミノ基を接続しているアミド結合の位置を示す、誘導体、またはその薬学的に許容される塩もしくはアミド。

【請求項 2】

式 I I を含む、請求項 1 に記載の誘導体、またはその薬学的に許容される塩もしくはアミドであって、位置 X₁、X₂、X₁₄、X₁₆、X₁₈、X₂₀、および/または X₃₁ のアミノ酸が、

X₁ は T y r または D-T y r であり、

10

20

30

40

50

X_2 はA i b、A l a、またはD - A l aであり、
 X_{14} はL e u、N l e、またはM e tであり、
 X_{16} はL y sまたはA l aであり、
 X_{18} はA r gまたはH i sであり、
 X_{20} はG l n、G l uまたはA i bであり、
 X_{31} はG l yまたはP r oであるアミノ酸から選択される、誘導体、またはその薬学的に許容される塩もしくはアミド。

【請求項3】

誘導体が式 I I によって表され、位置 X_1 、 X_2 、 X_{14} 、 X_{16} 、 X_{18} 、 X_{20} 、および／または X_{31} のアミノ酸が、

10

X_1 はT y r、A c - T y r、D - T y rまたはA c - D - T y rであり、

X_2 はA i b、A l a、またはD - A l aであり、

X_{14} はL e u、N l e、A s pまたはM e tであり、

X_{16} はL y sまたはA l aであり、

X_{18} はA r gまたはH i sであり、

X_{20} はG l n、G l uまたはA i bであり、

X_{31} はG l yまたはP r oであるアミノ酸から選択される、

請求項 1 に記載の誘導体、またはその薬学的に許容される塩もしくはアミド。

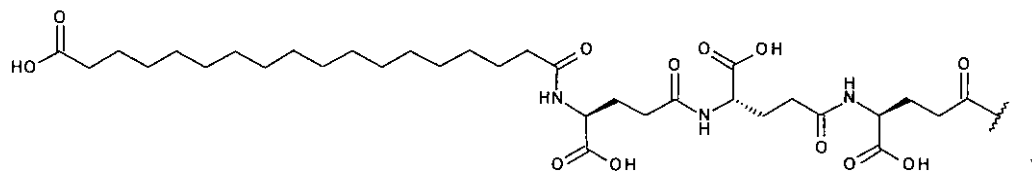
【請求項4】

修飾基 A - B - C - が以下から選択される、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の誘導体。

20

【化5】

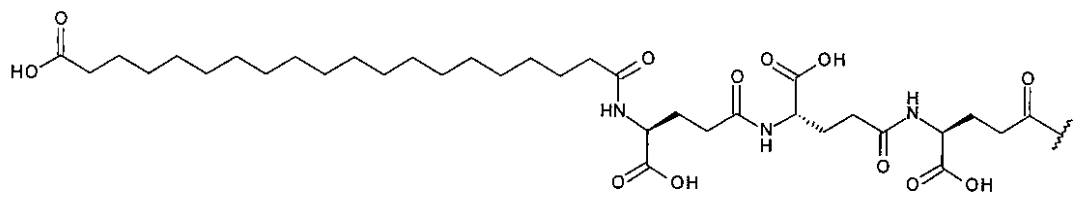
化学式5：



【化6】

30

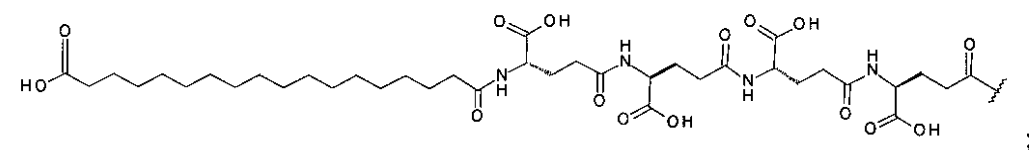
化学式6：



【化7】

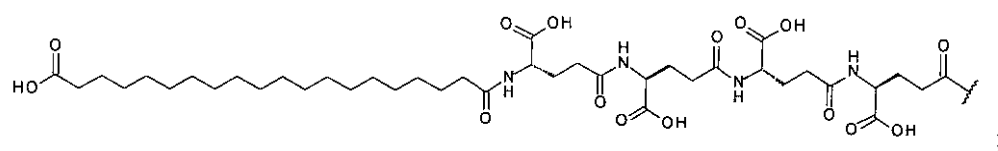
40

化学式7：



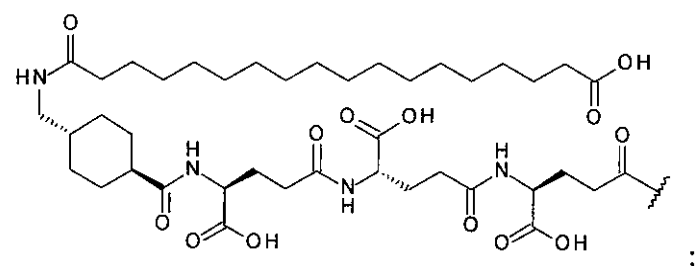
【化 8】

化学式 8 :



【化 9】

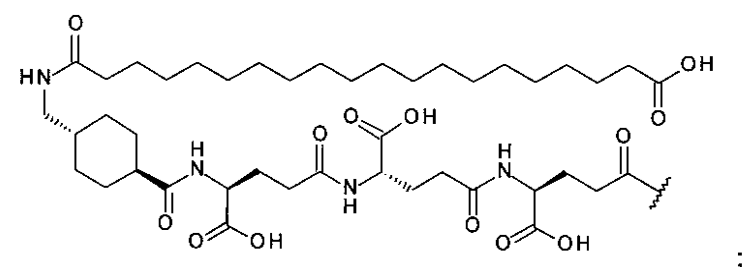
化学式 9 :



10

【化 10】

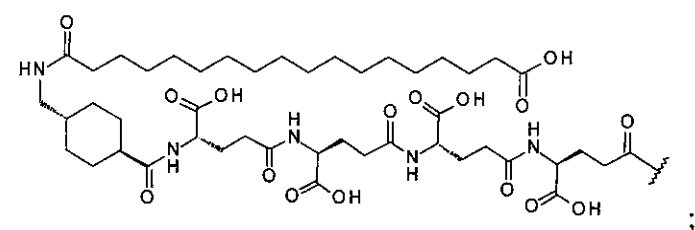
化学式 10 :



20

【化 11】

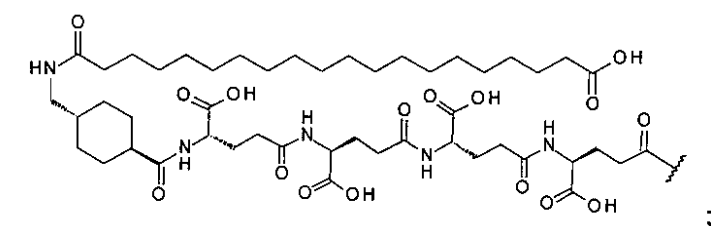
化学式 11 :



30

【化 12】

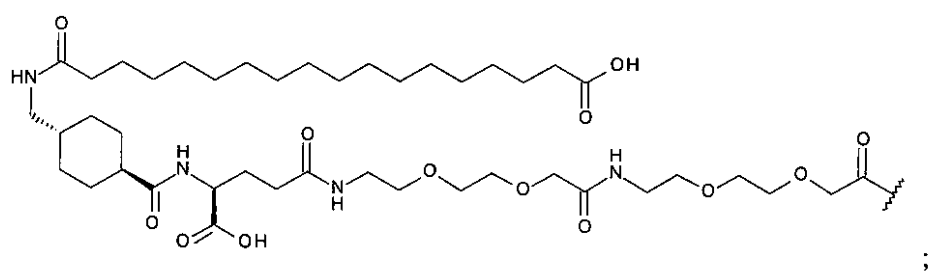
化学式 12 :



40

【化 1 3】

化学式 1 3

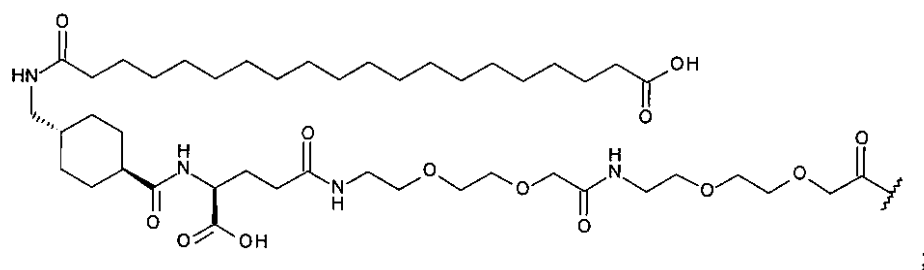


;

10

【化 1 4】

化学式 1 4 :

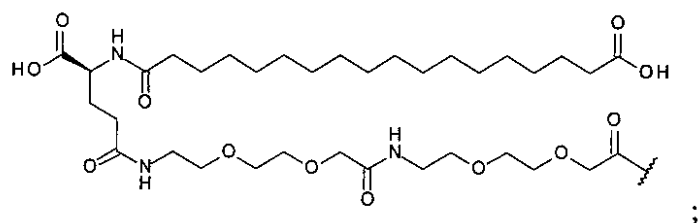


;

20

【化 1 5】

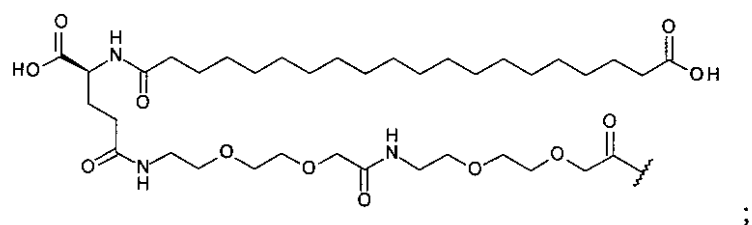
化学式 1 5 :



;

【化 1 6】

化学式 1 6 :

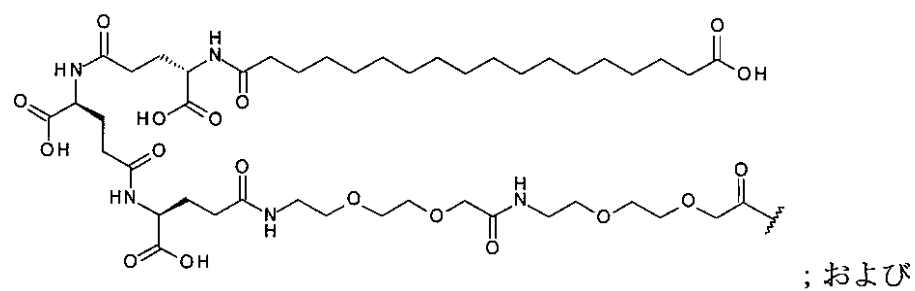


;

30

【化 1 7】

化学式 1 7 :

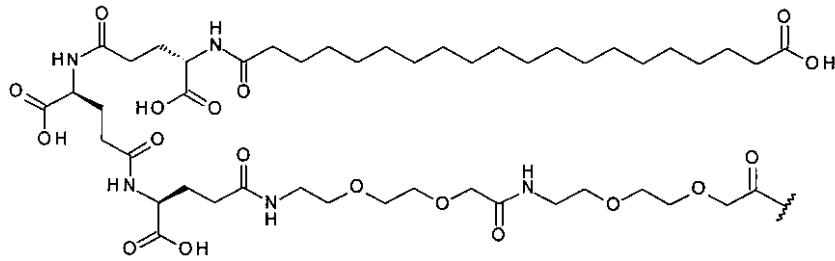


; および

40

【化 18】

化学式 18



。

10

【請求項 5】

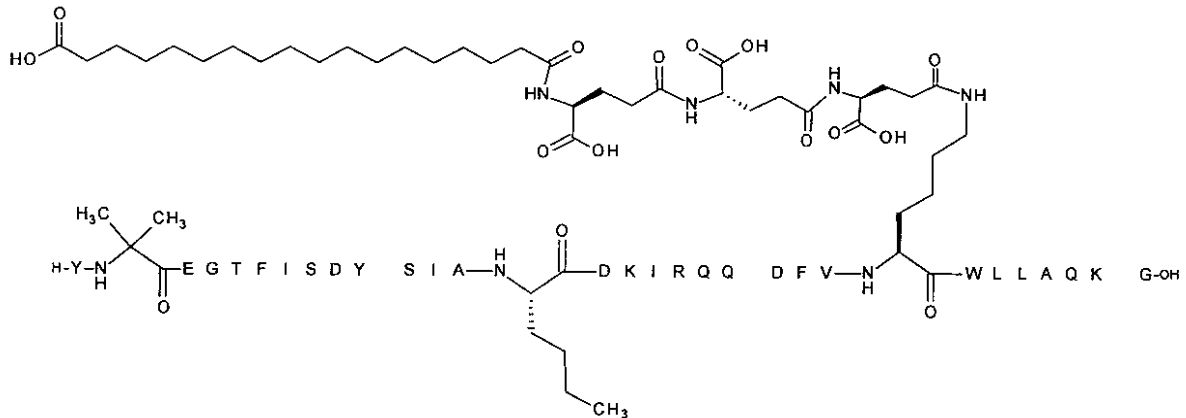
誘導体の N 末端アミノ酸がアシル化、例えばアセチル化されている、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の誘導体。

【請求項 6】

以下から選択される、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の誘導体。

N {イブシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物 1; 配列番号 6)

【化 19】



;

N {イブシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物 2; 配列番号 7)

30

[illegible]

;

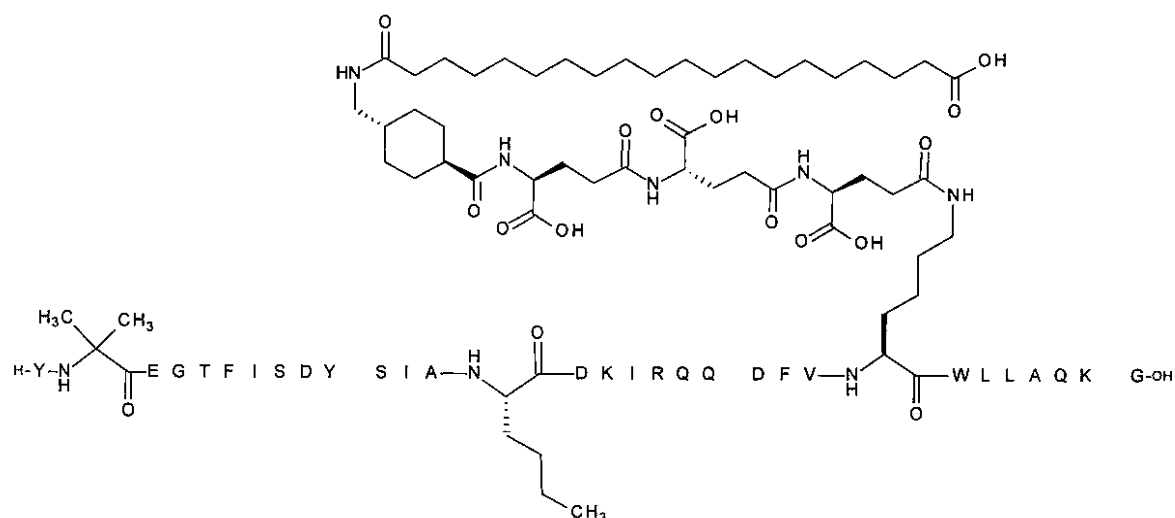
20

[illegible]

;

N {イプシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサノール]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物4; 配列番号9)

【化 2 2】



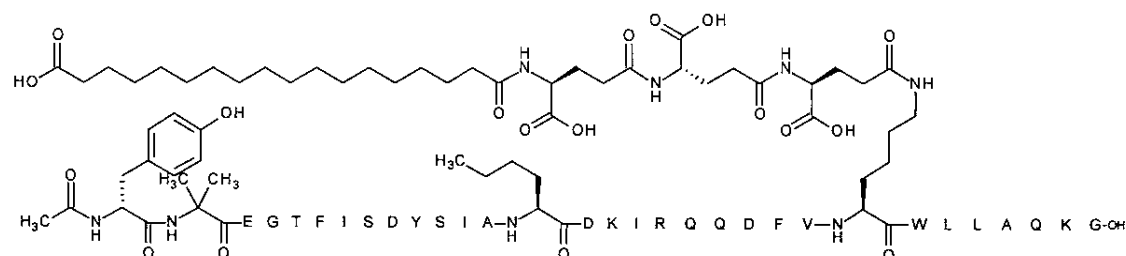
10

;

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [(4S) - 4-カルボキシ-4- [(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [D-Tyr1, Aib2, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物5; 配列番号10)

20

【化 2 3】

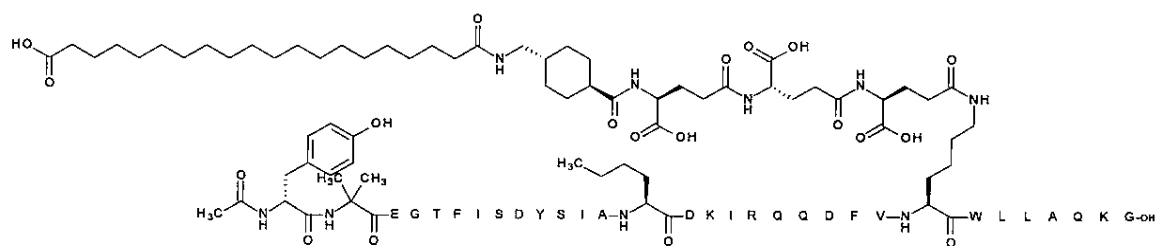


;

30

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [(4S) - 4-カルボキシ-4- [(4S) - 4-カルボキシ-4- [(4S) - 4-カルボキシ-4- (19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [D-Tyr1, Aib2, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物6; 配列番号11)

【化 2 4】



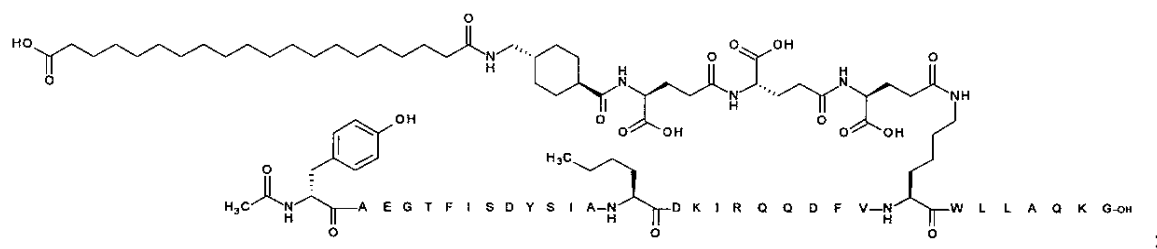
40

;

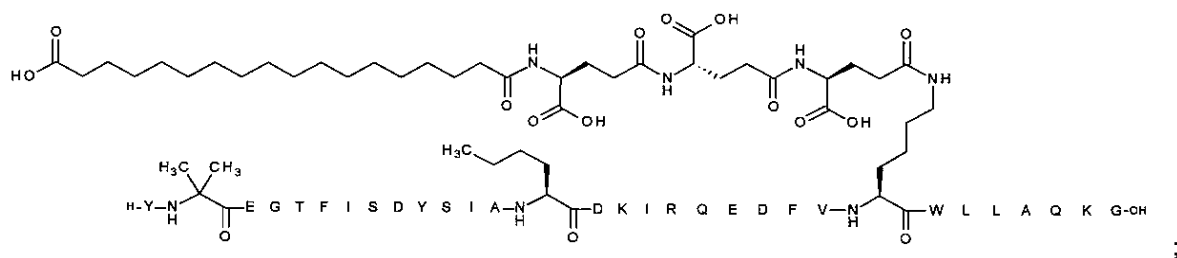
N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [(4S) - 4-カルボキシ-4- [(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物7; 配列番号12)

[illegible]

【化 2 6】



【化 2 7】



N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサノール]アミノ]ブタノイル]アミノ] - ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Glu20, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物10; 配列番号15) 40

10

[illegible]

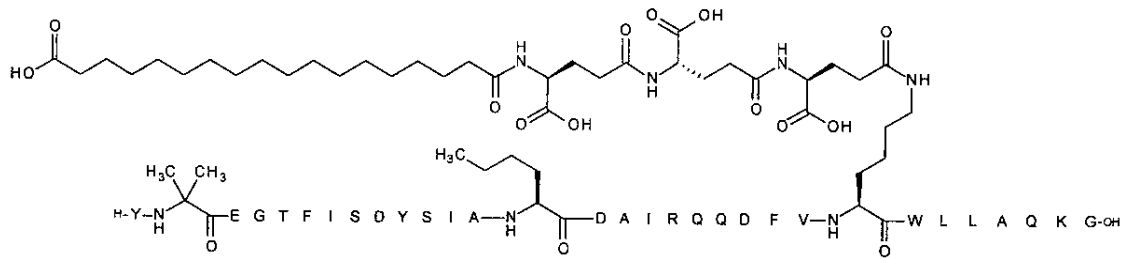
20

The diagram shows the chemical structure of the propeptide of the matured proteinase K from the fungus *Aspergillus niger*. The structure consists of a long aliphatic chain starting with a carboxylic acid group (HO-C=O) at the N-terminus, followed by a series of amino acids: H-Y-N, H-M-T-G-T-F-I-S-D-Y-S-I-A-N-H. This is followed by a complex peptide backbone containing several side chains, including a cyclohexyl ring, a hydroxymethyl group, and a methyl group. The sequence ends with D-K-I-R-Q-N-H, followed by another complex peptide backbone containing a methyl group, a hydroxymethyl group, and a methyl group, ending with W-L-L-A-Q-K-G-OH.

30

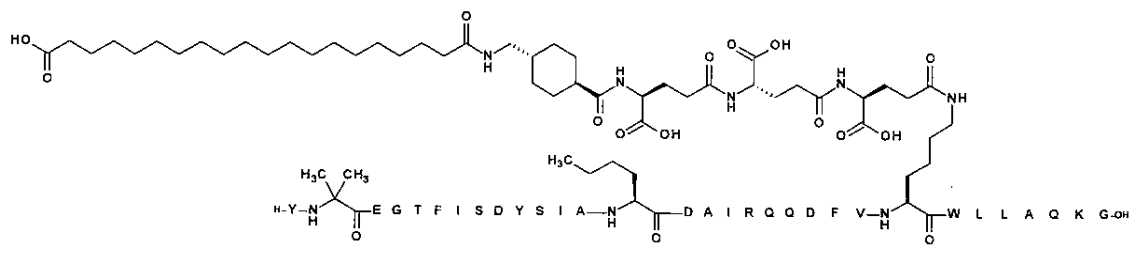
40

【化 3 1】



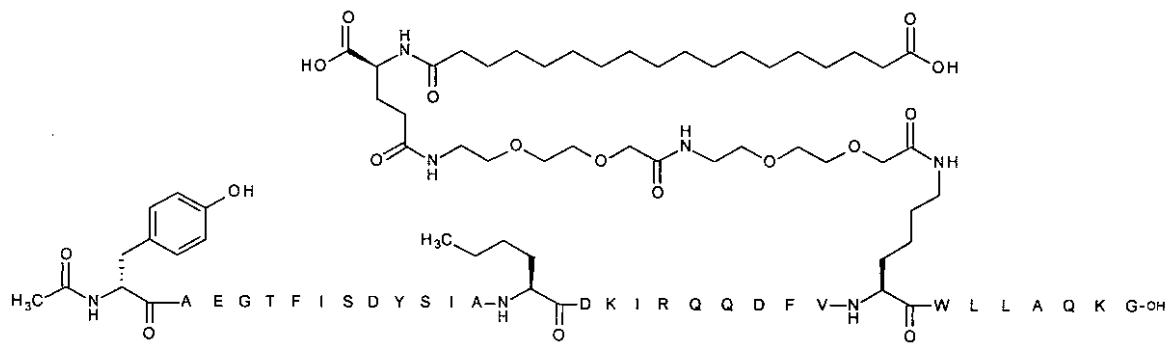
N {イブシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[4- [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] ブタノイル] アミノ] - ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Ala16, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物 14 ; 配列番号 19)

【化 3 2】



N {1} - アセチル, N {イブシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物 15 ; 配列番号 20)

【化 3 3】



N {1} - アセチル, N {イブシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Glu20, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物 16 ; 配列番号 21)

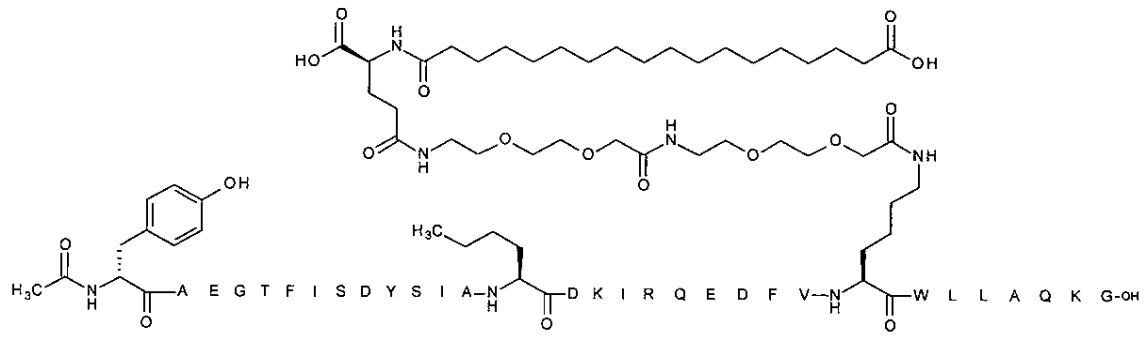
10

20

30

40

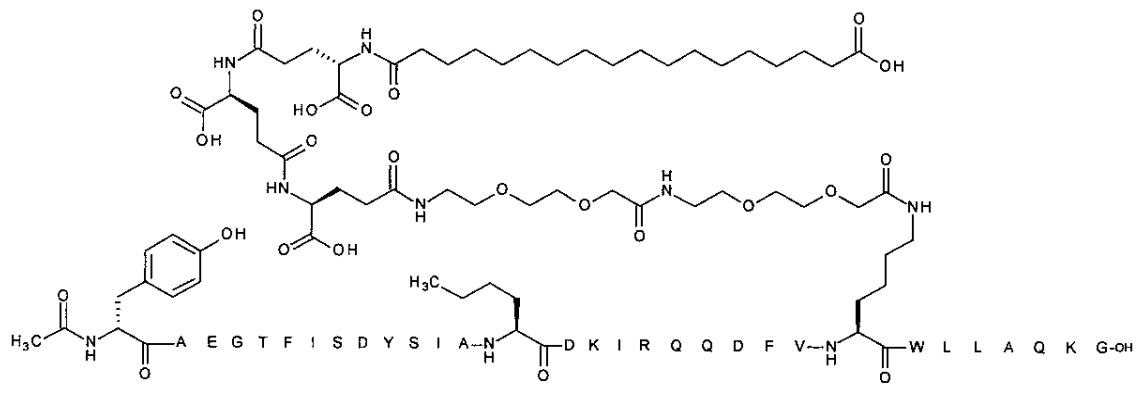
【化 3 4】



10

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4-カルボキシ-4 - [[(4S) - 4-カルボキシ-4 - [[(4S) - 4-カルボキシ-4 - (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] - ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物 17; 配列番号 22)

【化 3 5】

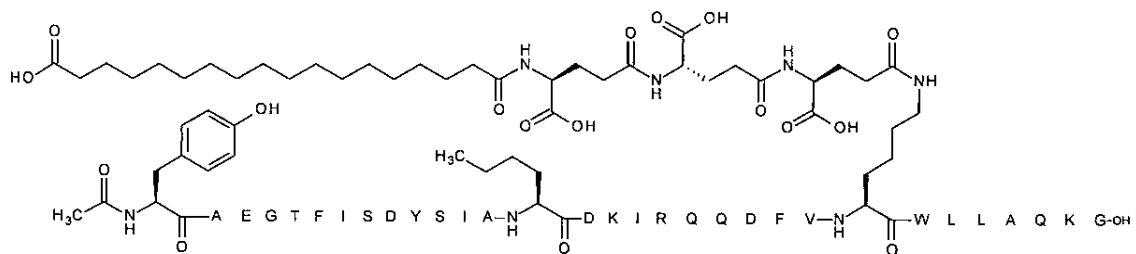


20

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4 - [[(4S) - 4-カルボキシ-4 - [[(4S) - 4-カルボキシ-4 - (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物 18; 配列番号 23)

30

【化 3 6】

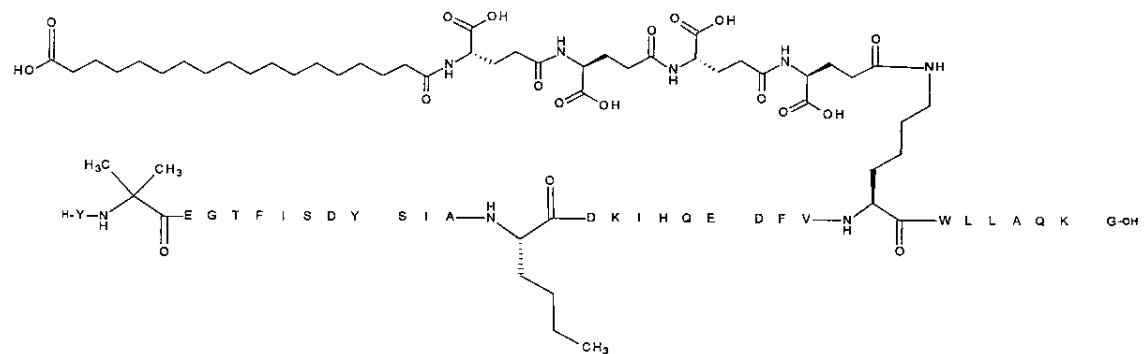


40

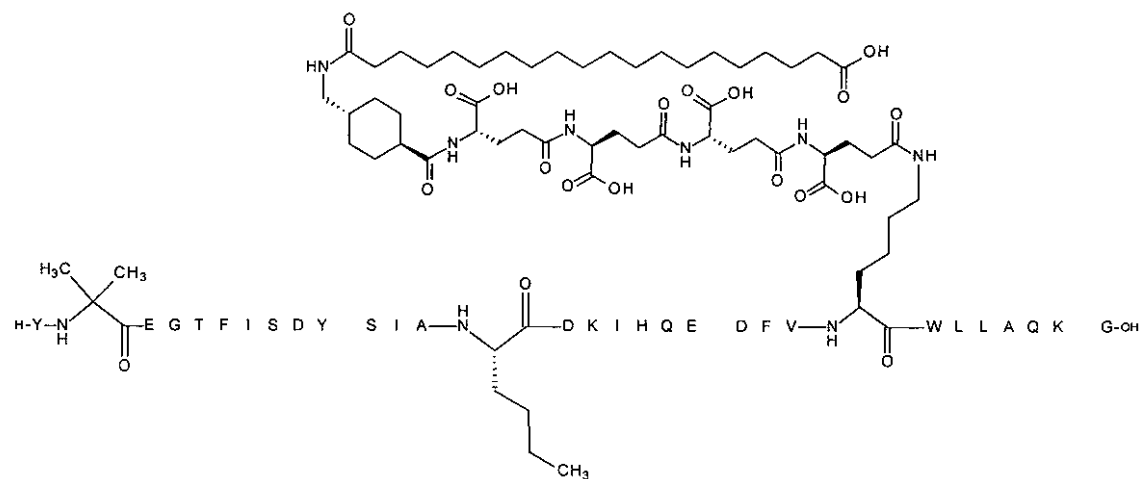
N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4-カルボキシ-4 - (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [D-Tyr1, Asp14, Arg18, Glu20, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物 19; 配列番号 24)

Chemical structure of the 125-residue protein AEGTFSIADDKIRQEDFVNLWLAK. The structure shows the N-terminal region (residues 1-10) and the C-terminal region (residues 115-125). The N-terminal region is shown in a stick model, and the C-terminal region is shown in a ribbon representation. The protein contains a long aliphatic chain (residues 11-114) and a 4-hydroxyphenyl group (residue 115).

【化 3 8】



【化 3 9】



[illegible]

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4-[(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサノール] アミノ] ブタノイル] - アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [D-Tyr1, Nle14, Aib20, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物24; 配列番号29)

Chemical structure of the 12th peptide, showing a complex polypeptide chain with various side chains including a long fatty acid, a cyclohexane ring, and a carboxylic acid group.

;

【化 4 3】

[illegible]

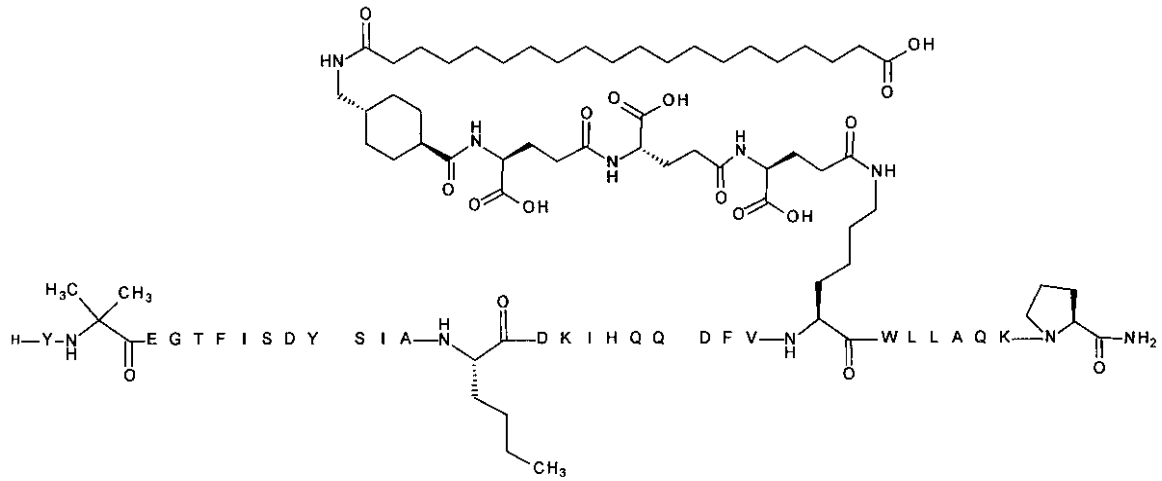
• 5

【化 4 4】

Chemical structure of the 12-mer peptide fragment of the 120-mer protein. The structure shows a linear sequence of 12 amino acids: H-Y-N(CH₃)₂-EGTFISDY-SIA-N(CH₃)₂-DKIRQQ-DFV-N(CH₃)₂-WLLAQK-N(CH₃)₂. The side chains are explicitly drawn, including the long alkyl chain of Y, the isopropyl group of I, the long alkyl chain of V, and the long alkyl chain of Q. The N-terminus is labeled H-Y and the C-terminus is labeled NH₂.

•

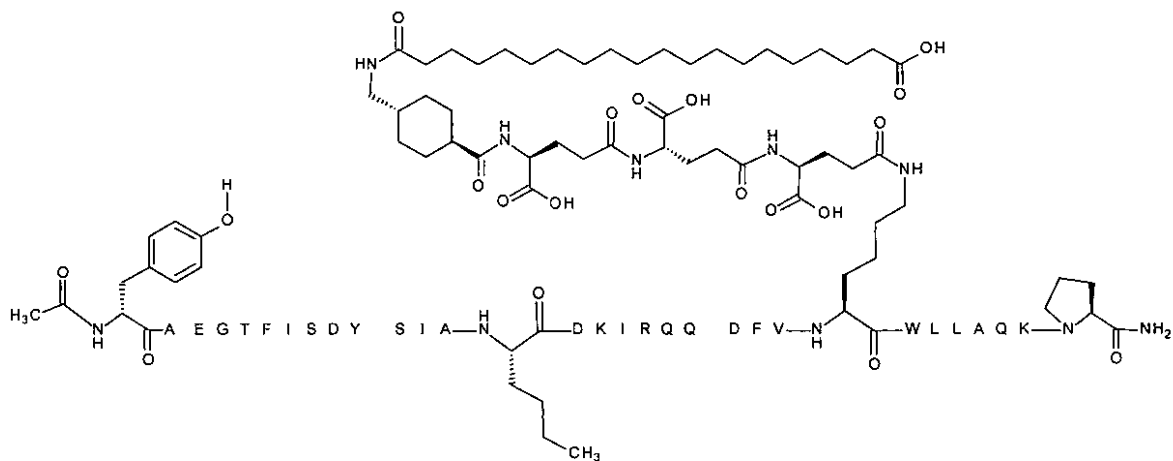
N {イブシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Lys24, Pro31] - hGIP (1-31) アミド (化合物27; 配列番号32)
【化45】



10

20

N {1} - アセチル, N {イブシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Lys24, Pro31] - hGIP (1-31) アミド (化合物28; 配列番号33)
【化46】

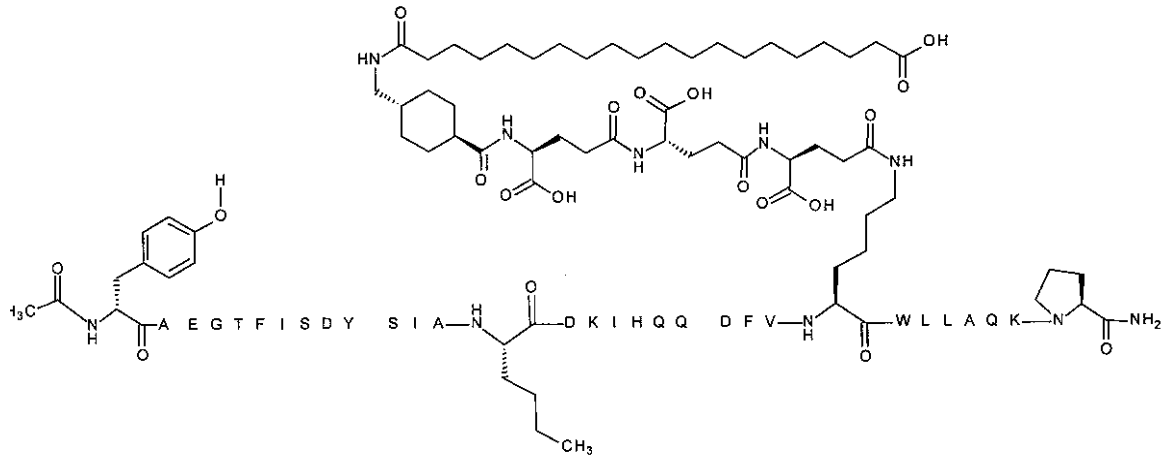


30

40

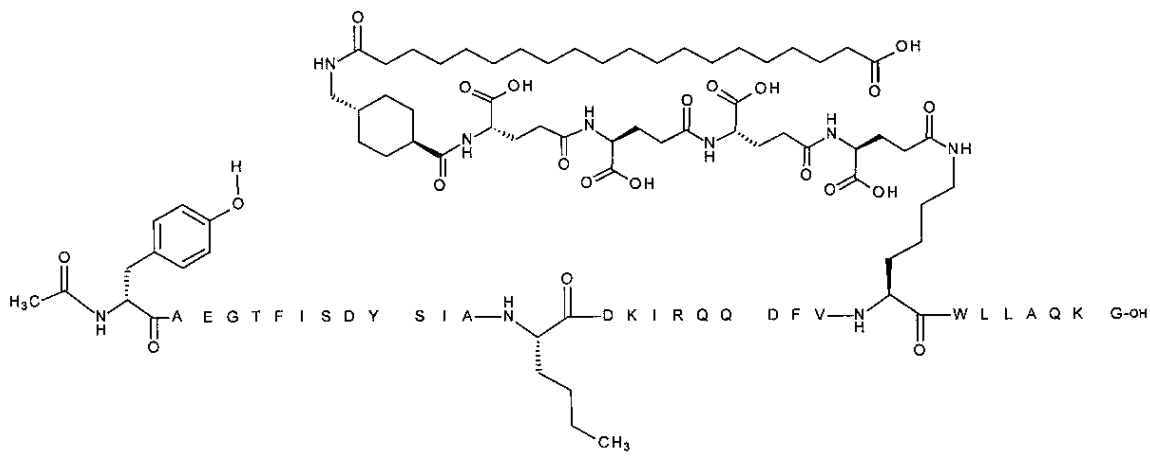
N {1} - アセチル, N {イブシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [D-Tyr1, Nle14, Lys24, Pro31] - hGIP (1-31) アミド (化合物29; 配列番号34)

【化 4 7】



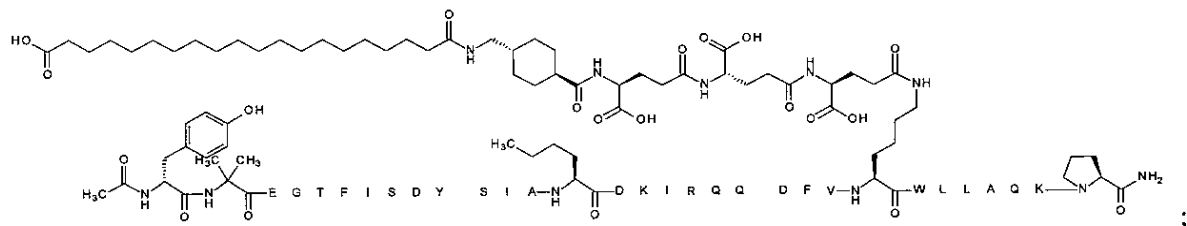
N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [[4 - [(19 - カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] - アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物 30 ; 配列番号 35)

【化 4 8】



N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [[4 - [(19 - カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] - アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [D-Tyr1, Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Pro31] - hGIP (1-31) アミド (化合物 31 ; 配列番号 36)

【化 4 9】

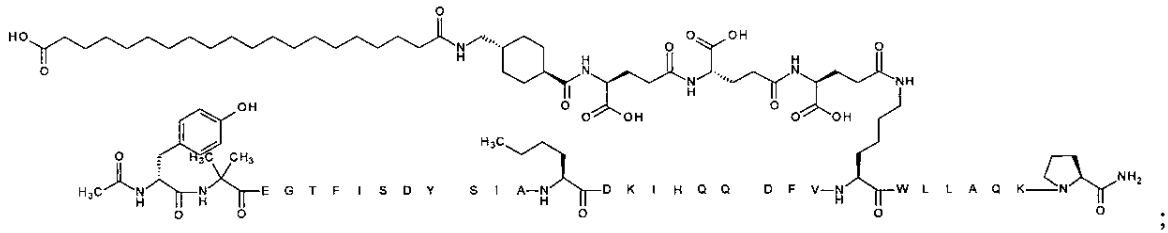


N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [[4 - [(19

50

ーカルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] ブタノイル] -アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [D-Tyr 1, Aib 2, Nle 14, Lys 24, Pro 31] -hGIP (1-31) アミド (化合物 32; 配列番号 37)

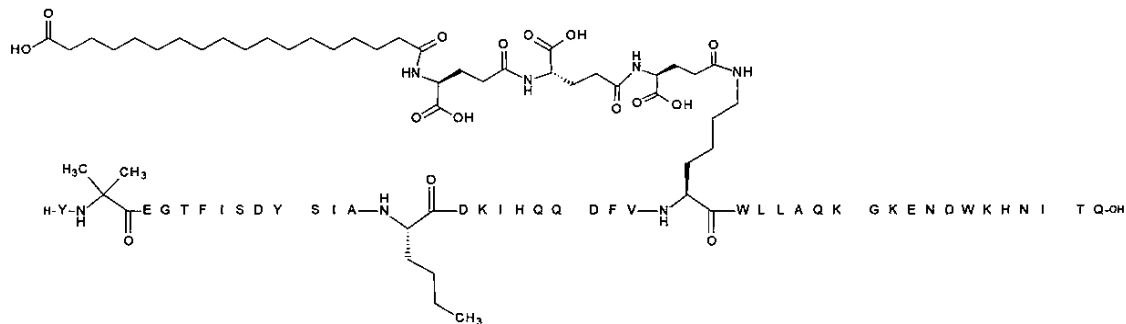
【化 50】



10

N {イブシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib 2, Nle 14, Lys 24, Glu 33] -hGIP (化合物 33; 配列番号 38)

【化 51】

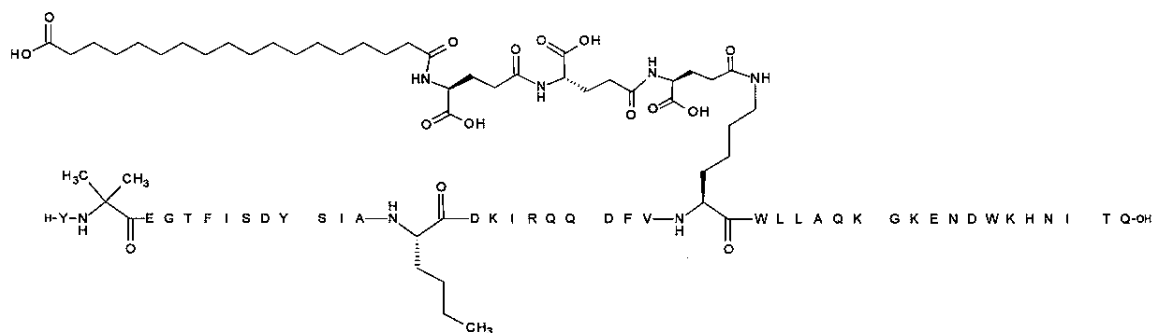


20

;

N {イブシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib 2, Nle 14, Arg 18, Lys 24, Glu 33] -hGIP (化合物 34; 配列番号 39)

【化 52】

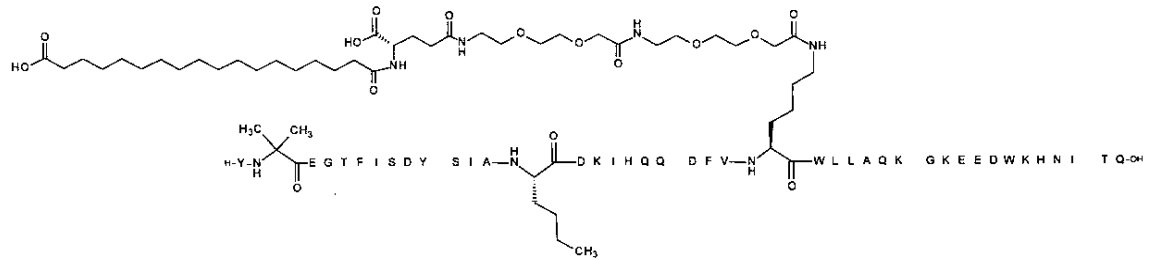


40

;

N {イブシロン-24} - [2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [Aib 2, Nle 14, Lys 24, Glu 33, Glu 34] -hGIP (化合物 35; 配列番号 40)

【化 5 3】

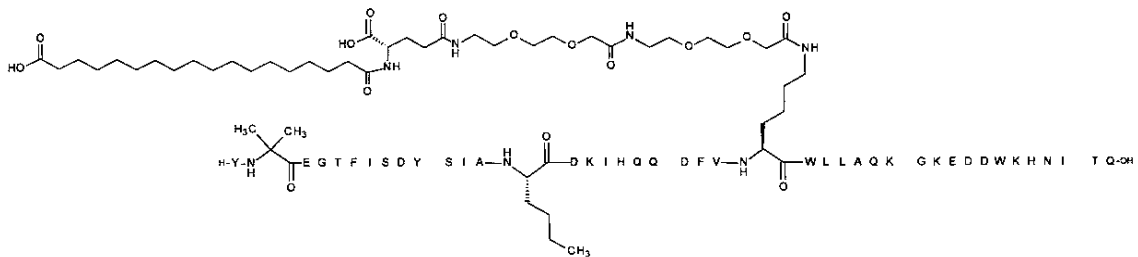


;

10

N {イプシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4 - カルボキシ-4 - (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [Aib2, Nle14, Lys24, Glu33, Asp34] - hGIP (化合物 36; 配列番号 41)

【化 5 4】



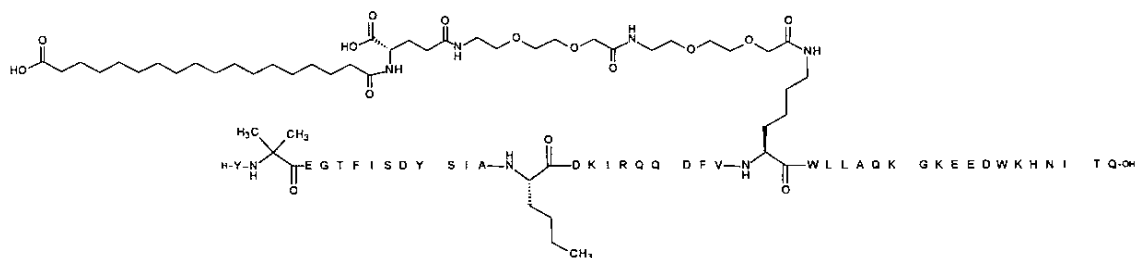
20

;

N {イプシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4 - カルボキシ-4 - (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Glu33, Glu34] - hGIP (化合物 37; 配列番号 42)

30

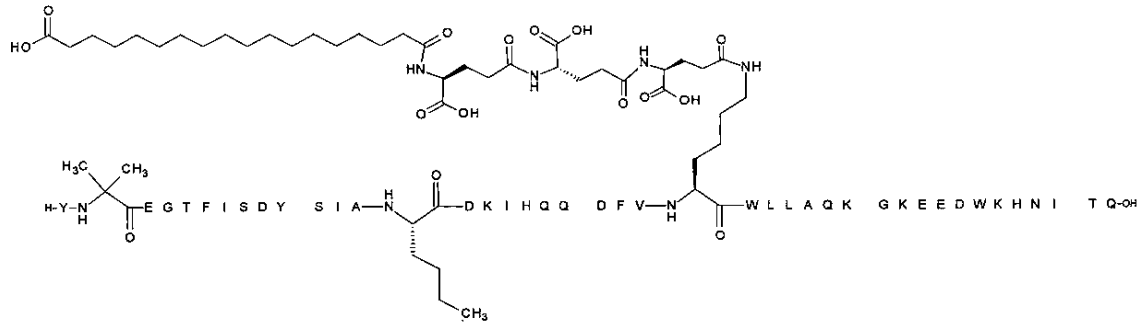
【化 5 5】



N {イプシロン-24} - [(4S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4S) - 4 - カルボキシ-4 - (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Lys24, Glu33, Glu34] - hGIP (化合物 38; 配列番号 43)

40

【化 5 6】

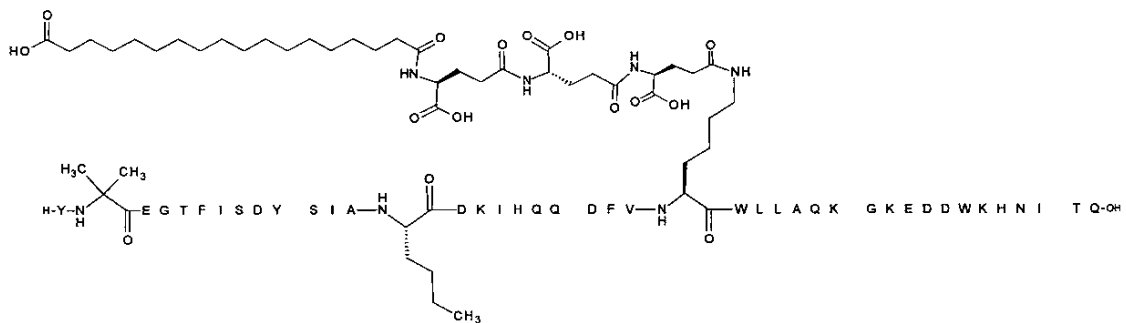


10

;

N {イブシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Lys24, Glu33, Asp34] - hGIP (化合物39; 配列番号44)

【化 5 7】



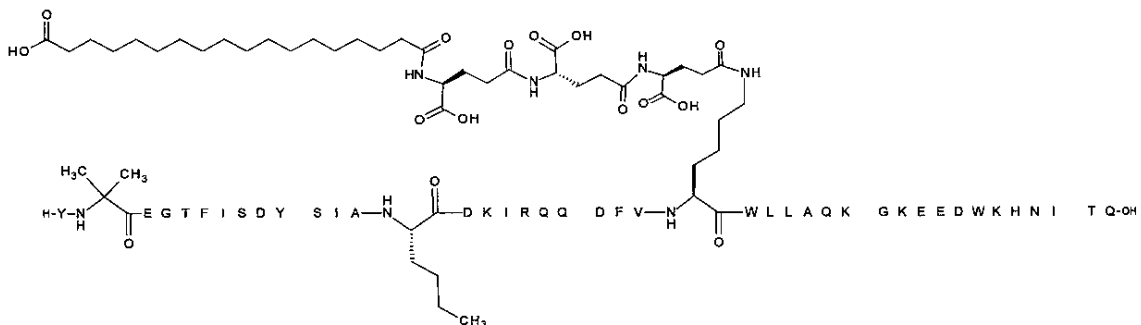
20

;

N {イブシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Glu33, Glu34] - hGIP (化合物40; 配列番号45)

30

【化 5 8】



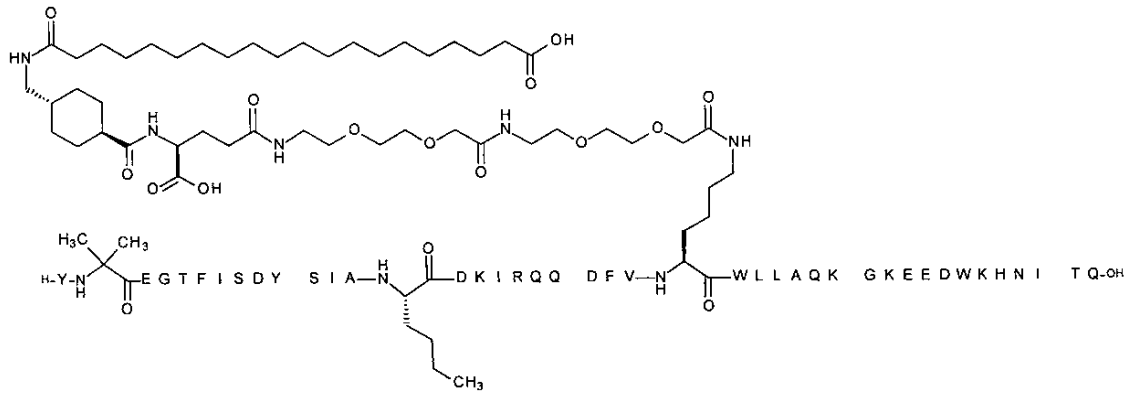
40

;

N {イブシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[4 - [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Glu33, Glu34] - hGIP (化合物41; 配列番号46)

50

【化 5 9】

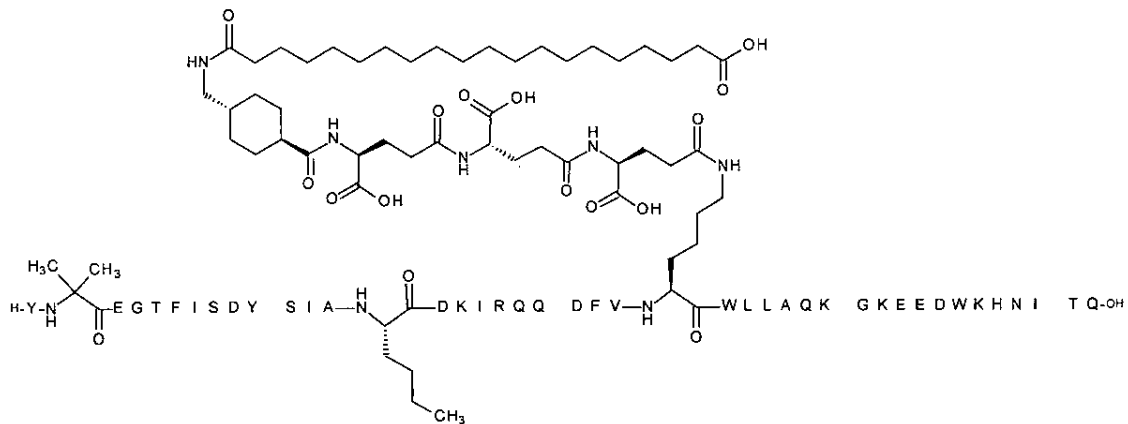


10

;

N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[4- [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Glu33, Glu34] - hGIP (化合物42; 配列番号47)

【化 6 0】



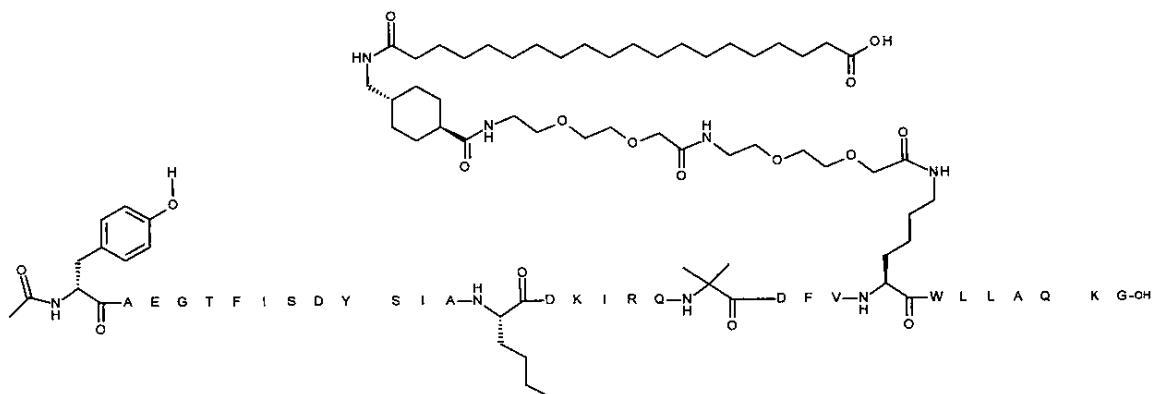
20

30

;

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [2- [2- [2- [[2- [2- [2- [[4- [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Aib20, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物43、配列番号59)

【化 6 1】



40

;

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [2- [2- [2- [[2- [2- [2- [[2- [2- [2- [[4- [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Aib20, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物43、配列番号59)

50

【化 6 2】



【化 6 3】

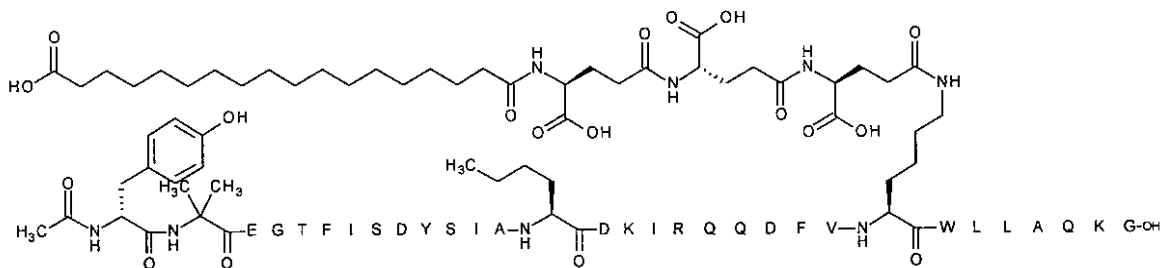


【化 6 4】



40

【化 6 5】



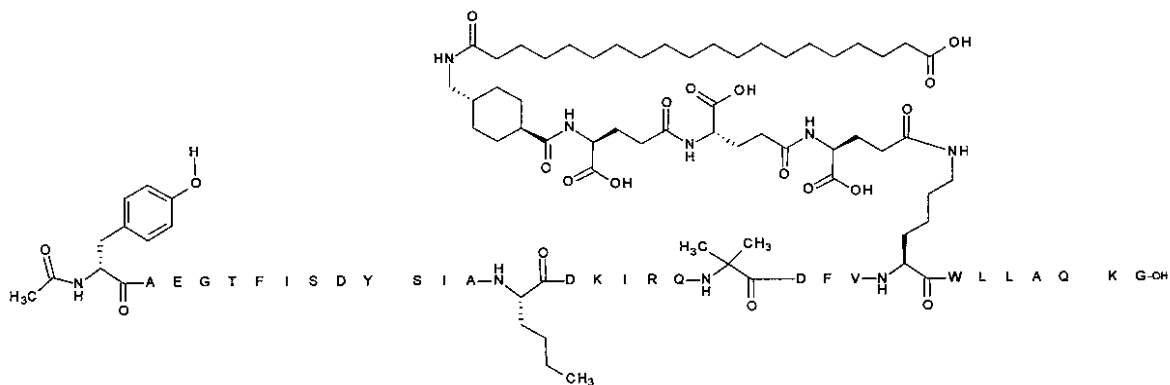
である、請求項 1～6 のいずれか一項に記載の誘導体。

10

【請求項 8】

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[4- [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] ブタノイル] - アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Aib20, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物 25; 配列番号 30)

【化 6 6】



20

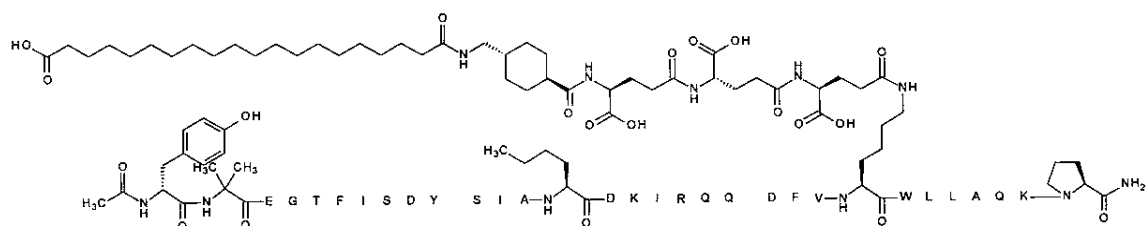
である、請求項 1～6 のいずれか一項に記載の誘導体。

30

【請求項 9】

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[4- [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [D-Tyr1, Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Pro31] - hGIP (1-31) アミド (化合物 31; 配列番号 36)

【化 6 7】



40

である、請求項 1～6 のいずれか一項に記載の誘導体。

【請求項 10】

請求項 1～9 のいずれか一項に記載の誘導体、および少なくとも一つの薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。

【請求項 11】

50

GLP-1 受容体アゴニストまたは GLP-1 / グルカゴン受容体コアゴニストをさらに含む、請求項 10 に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

GLP-1 受容体アゴニストがセマグルチド（配列番号 57）である、請求項 11 に記載の医薬組成物。

【請求項 13】

請求項 1～9 のいずれか一項に記載の誘導体を含む薬剤。

【請求項 14】

体重管理、肥満および肥満に関連する障害の治療および／または予防に使用するための、請求項 13 に記載の薬剤。

10

【請求項 15】

例えば、2 型糖尿病などの糖尿病のすべての形態、および糖尿病に関連する障害の治療および／または予防に使用するための、請求項 13 に記載の薬剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、溶液中の改善された物理的安定性および持続的作用特性を有するグルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド（GIP）類似体の誘導体である新規ペプチド、ならびに GIP 誘導体の医薬用途に関する。

【0002】

20

配列表の参照による組み込み

「180016 配列表__ST25」と題される配列表は、58,669 バイトであり、2019 年 4 月 9 日に作成され、参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0003】

グルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド（GIP、胃抑制ペプチドとしても知られる）は、二つの内在性インクレチンの一つであり、食物摂取後に腸管 K 細胞から放出される 42 アミノ酸ペプチドホルモンである。GIP およびその他のインクレチン、グルカゴン様ペプチド-1（GLP-1）は、インクレチン効果の原因となる腸管内分泌細胞由来のホルモンであり、これは経口ブドウ糖負荷試験に対する総インスリン反応の 70 % 以上を占めると推測される。

30

【0004】

インクレチン効果のため、GIP 受容体は、単剤として、GLP-1 受容体アゴニストとの組み合わせで、または GLP-1 / グルカゴン受容体コアゴニストとの組み合わせで、GIP 受容体アゴニストによる肥満および糖尿病などの代謝疾患の治療において魅力的な薬物標的となっている。GIP 自体は、ジペプチジルペプチダーゼ-4（DPP-IV）を介した不活性化による短い血漿半減期、および溶液中でフィブリルを形成する傾向が高いことを原因とする不良な物理的安定性を有する。

【0005】

異なる GIP 受容体アゴニストおよび／またはそれらの潜在的な医学的使用を開示する特許出願が記述されており、例えば、WO 2016/066744 号、WO 2016/034186 号、WO 2012/055770 号、および WO 2012/167744 号に開示されている。また GIP / GLP-1 受容体コアゴニストおよびそれらの医学的使用が、例えば、WO 2013/164483 号および WO 2014/192284 号で検討されている。

40

【0006】

本発明の誘導体は、改善された安定性に加えて持続的作用特性を有する新規の改変 GIP 類似体を提供する。

【発明の概要】

【0007】

50

本発明は、h G I P (1 - 3 1) (配列番号 3) の位置 2 4 に対応する位置にリジンを有する G I P 類似体の誘導体に関する。

【 0 0 0 8 】

一部の実施形態において、誘導体は、h G I P (1 - 3 1) (配列番号 3) の位置 2 4 に対応する位置にあるリジンと、前記リジンのイプシロンアミノ基に結合している陰性荷電修飾基とを有する G I P 類似体を含む。

【 0 0 0 9 】

一部の実施形態において、誘導体は、h G I P (1 - 3 1) (配列番号 3) の位置 2 4 に対応する位置にリジンと、前記リジンのイプシロンアミノ基に結合している陰性荷電修飾基とを有する G I P 類似体を含み、最大で 7 つのさらなるアミノ酸置換（すなわち、h G I P (1 - 3 1) と比較して最大 8 つの置換としても説明される）を含みうる。

10

【 0 0 1 0 】

一部の実施形態において、誘導体は、h G I P (1 - 3 1) (配列番号 3) の位置 2 4 に対応する位置にリジンと、前記リジンのイプシロンアミノ基に結合している陰性荷電修飾基とを有する G I P 類似体を含み、最大で 7 つのさらなるアミノ酸置換を含んでもよく、置換は式 I の位置 1、2、1 4、1 6、1 8、2 0 および／または 3 1 に対応する一つまたは複数の位置にある。

【 0 0 1 1 】

本発明はさらに、G I P 類似体のこのような誘導体および薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物、ならびに前記誘導体の医学的使用にも関する。

20

【 0 0 1 2 】

第一の態様において、本発明は、G I P 受容体を活性化することができる G I P 類似体の誘導体に関する。さらなる態様において、G I P 類似体の誘導体は、ヒト G L P - 1 受容体およびヒトグルカゴン受容体よりもヒト G I P 受容体の活性化において選択的である。

【 0 0 1 3 】

また、あるいは代替的に、第二の態様では、本発明は、インビボでのみ、または G L P - 1 受容体アゴニストとの組み合わせで活性な G I P 類似体の誘導体に関する。

【 0 0 1 4 】

また、あるいは代替的に、第三の態様では、本発明は、改善された薬物動態特性を有する G I P 類似体の誘導体に関する。

30

【 0 0 1 5 】

また、あるいは代替的に、第四の態様では、本発明は、改善された物理的安定性を有する G I P 類似体の誘導体に関する。

【 0 0 1 6 】

また、あるいは代替的に、第五の態様では、本発明は、改善された化学的安定性を有する G I P 類似体の誘導体に関する。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 7 】

本発明は、h G I P (1 - 3 1) (配列番号 3) の位置 2 4 に対応する位置にリジンを有する G I P 類似体の誘導体に関する。一態様において、本発明の誘導体は、h G I P (1 - 3 1) (式 I、配列番号 3) の位置 2 4 に対応する位置にあるリジンと、前記リジンのイプシロンアミノ基に結合している陰性荷電修飾基とを含む。

40

【 0 0 1 8 】

別の態様において、本発明の誘導体は、h G I P (1 - 3 1) (式 I、配列番号 3) の位置 2 4 に対応する位置にあるリジンと、前記リジンのイプシロンアミノ基に結合している陰性荷電修飾基とを含み、式 I は、最大で 7 つのさらなるアミノ酸置換（h G I P (1 - 3 1) と比較して最大 8 つの置換としても説明される）を含みうる。

【 0 0 1 9 】

別の態様において、本発明の誘導体は、h G I P (1 - 3 1) (式 I、配列番号 3) の

50

位置 24 に対応する位置にあるリジンと、前記リジンのイプシロンアミノ基に結合している陰性荷電修飾基とを含み、式 I は、最大で 7 つのさらなるアミノ酸置を含んでもよく、置換は式 I の位置 1、2、14、16、18、20 および／または 31 に対応する一つまたは複数の位置にある。

【0020】

加えて、本発明は、GIP 類似体のこのような誘導体および薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物、ならびに前記誘導体の医学的使用にも関する。

【0021】

一態様において、本発明は、GIP 受容体を活性化することができる GIP 類似体の誘導体に関する。さらなる態様において、GIP 類似体の誘導体は、ヒト GLP-1 受容体およびヒトグルカゴン受容体よりもヒト GIP 受容体の活性化において選択的である。GLP-1 受容体およびグルカゴン受容体よりも、GIP 受容体に対して「選択的」という用語は、CREルシフェラーゼ機能的効力アッセイなどの、受容体機能の効力アッセイにおいてインビトロで測定し、EC₅₀ 値で比較した場合、GLP-1 受容体およびグルカゴン受容体よりも、GIP 受容体に対して、少なくとも 50 倍、少なくとも 500 倍、または少なくとも 1000 倍など、少なくとも 10 倍高い効力を示す誘導体を指す。

【0022】

また、あるいは代替的に、本発明は、インビボでのみ、または GLP-1 受容体アゴニストとの組み合わせで活性な GIP 類似体の誘導体に関する。

【0023】

また、あるいは代替的に、一態様では、本発明は、改善された薬物動態特性を有する GIP 類似体の誘導体に関する。

【0024】

また、あるいは代替的に、一態様では、本発明は、改善された物理的安定性を有する GIP 類似体の誘導体に関する。

【0025】

また、あるいは代替的に、一態様では、本発明は、改善された化学的安定性を有する GIP 類似体の誘導体に関する。

【0026】

下文において、ギリシャ文字は、その記号または対応する名称、たとえば： α = アルファ、 β = ベータ、 ε = イプシロン、 γ = ガンマ、 ω = オメガなどによって表されうる。また、 μ のギリシャ文字は、「u」によって表されてもよく、例えば $\mu l = u l$ または $\mu M = u M$ である。

【0027】

本明細書に別途示されていない限り、単数形で示した用語は、複数の状態も含む。

【0028】

本明細書にはまた、誘導体、GIP 類似体の誘導体、医薬組成物およびその使用が記述されており、「含む」および「含んだ」のような非限定的な用語は、「から成る」、「から成った」などの排他的用語と置き換えられる。

【0029】

化合物／製品

GIP 受容体アゴニスト

受容体アゴニストは、受容体と結合し、天然リガンドで典型的な応答を引き出す化合物と定義されうる（例えば、“Principles of Biochemistry”, AL Lehninger, DL Nelson, MM Cox, Second Edition, Worth Publishers, 1993, page 763 を参照）。

【0030】

本明細書で記述する「GIP 受容体アゴニスト」は、GIP 受容体を活性化することができる化合物として定義されうる。

【0031】

G I P類似体

本明細書で使用される「h G I P (1-42)」という用語は、ヒトグルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチドを指し、その配列は配列表に配列番号 1として含まれている。配列番号1の配列を有するペプチドは、天然h G I Pまたはh G I Pとも呼ばれる場合がある。

【0032】

本明細書で使用される「h G I P (1-31)」という用語は、h G I P (1-42)のアミノ酸1~31を含む、h G I P (1-42)の切断型を指し、h G I P (1-31)の配列は配列表に配列番号 2として含まれている。

10

【0033】

本明細書で使用される「G I P類似体」という用語は、h G I P (1-31)の変異体であるペプチド、または化合物を指す。「変異体」という用語は、h G I P (1-31)と比較して少なくとも一つのアミノ酸置換を含み、G I P受容体を活性化することができるペプチドに対して使用される。

【0034】

本明細書で使用される「置換」という用語は、ペプチドの骨格において一つのアミノ酸が別のアミノ酸で置き換えられることを指す。一態様では、アミノ酸は、保存的置換によって置換されうる。本明細書で使用する場合、「保存的置換」という用語は、一つ以上のアミノ酸を別の生物学的に類似した残基で置換することを意味する。例としては、アミノ酸残基を類似する特徴物 (characteristics)、例えば、小さなアミノ酸、酸性アミノ酸、極性アミノ酸、塩基性アミノ酸、疎水性アミノ酸、および芳香族アミノ酸で置換することが挙げられる。一態様では、本発明の誘導体のG I P類似体は、一つまたは複数の非天然アミノ酸および／または非アミノ酸（例えばアミノ酸模倣体）のG I P類似体の配列中への置換を含みうる。

20

【0035】

本発明の誘導体のG I P類似体は、i) 変化したアミノ酸残基に対応するh G I P (1-31)またはh G I P (1-42)におけるアミノ酸残基の数（すなわち、h G I P (1-31)またはh G I P (1-42)における対応する位置）、およびii) 実際の変化を参照することによって記述されうる。例えば、[Lys24]-h G I P (1-31)は、h G I P (1-31)の位置24がリジンで置き換えられたG I P類似体を指す。

30

【0036】

一態様において、本発明の誘導体のG I P類似体は、h G I P (1-31)の位置24に対応する位置にリジン残基を含み、これは式I: Tyr-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Ile-Ser-Asp-Tyr-Ser-Ile-Ala-Met-Asp-Lys-Ile-His-Gln-Gln-Asp-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Ala-Gln-Lys-Glyで示される。式Iは配列表に配列番号3として含まれており、[Lys24]-h G I P (1-31)とも示されうる。

【0037】

また、あるいは代替的に、一態様では、本発明の誘導体のG I P類似体は、h G I P (1-31)と比較して最大8つのアミノ酸置換を含み、位置24は常にリジンで一つの置換を説明し、位置24以外の位置に最大で7つのさらなる置換がある。さらなる態様において、本発明の誘導体のG I P類似体は、h G I P (1-31)と比較して、最大で7つ、6つ、5つ、4つ、3つ、2つ、または1つのアミノ酸置換を含む。一態様において、前記置換は、式Iの位置1、2、14、16、18、20および31の位置に対応する位置の一つまたは複数に存在し、本明細書では式II: X₁-X₂-Glu-Gly-Thr-Phe-Ile-Ser-Asp-Tyr-Ser-Ile-Ala-X₁₄-Asp-X₁₆-Ile-X₁₈-Gln-X₂₀-Asp-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Ala-Gln-Lys-X₃₁で示される。式IIは配列表に配列番号 48として含まれている。一態様において、本発明の誘導体のG I P類似体は、

40

50

C末端カルボン酸またはアミドの形態でありうる。

【0038】

また、あるいは代替的に、一態様では、本発明の誘導体のGIP類似体は、式Iまたは式IIへのC末端伸長を含む。さらなる態様において、本発明の誘導体のGIP類似体は、式III: $\text{Lys}-\text{X}_{33}-\text{X}_{34}-\text{Asp}-\text{Trp}-\text{Lys}-\text{His}-\text{Asn}-\text{Ile}-\text{Thr}-\text{Gln}$ で示されるC末端伸長を含み、式中、 X_{33} はLysまたはGluであり、 X_{34} はAsn、GluまたはAspである。C末端伸長は、式Iまたは式IIのC末端カルボン酸から式IIIのN末端アミノ基までのアミド結合を介して、式Iまたは式IIに結合している。式IIIは配列表に配列番号 51として含まれている。

【0039】

以下は、適切な類似体命名法の非限定的な例である。

【0040】

例として、 $[\text{Aib2}, \text{Nle14}, \text{Arg18}, \text{Lys24}]-\text{hGIP}(1-31)$ は、 $\text{hGIP}(1-31)$ と比較して4つの置換を含む。さらなる例として、 $[\text{D-Tyr1}, \text{Aib2}, \text{Nle14}, \text{Arg18}, \text{Lys24}, \text{Pro31}]-\text{hGIP}(1-31)$ は、 $\text{hGIP}(1-31)$ と比較して6つの置換を含む。同様に、 $[\text{D-Tyr1}, \text{Aib2}, \text{Nle14}, \text{Arg18}, \text{Lys24}, \text{Pro31}]-\text{hGIP}(1-31)$ アミドは置換の数が骨格を示すように、 $\text{hGIP}(1-31)$ と比較して6つの置換を含む。

【0041】

ある特定の変化を「含む」類似体は、それぞれの式と比較したときに、さらなる変化を含みうる。特定の実施形態において、類似体は、特定の変化を「有する」。

【0042】

上記の例から明らかなように、アミノ酸残基は、その完全な名称、1文字コードおよび/または3文字コードによって同定されうる。これら三つの方法は、完全に同等である。

【0043】

「〜と同等の位置」または「〜に対応する位置」という表現は、例えば、 $\text{hGIP}(1-31)$ または $\text{hGIP}(1-42)$ などの所与の配列を参照することによって、変異体GIP配列の変化部位を特徴付けるために使用されうる。

【0044】

「ペプチド」という用語は、例えば本発明の誘導体のGIP類似体の文脈で使用される場合、アミド（またはペプチド）結合によって相互接続された一連のアミノ酸を含む化合物を指す。

【0045】

アミノ酸は、アミノ基およびカルボン酸基、ならびに任意選択に、側鎖と呼ばれることの多い一つまたは複数の追加的な基を含む分子である。

【0046】

「アミノ酸」という用語は、タンパク質構成（またはコード化または天然）アミノ酸（20の標準アミノ酸中）、ならびに非タンパク質構成（または非コード化または非天然）アミノ酸を含む。タンパク質構成アミノ酸は、天然においてタンパク質に組み込まれるものである。標準アミノ酸は、遺伝子コードによってコードされるアミノ酸である。非タンパク質構成アミノ酸は、タンパク質内に見出されないか、標準的な細胞機構によって産生されない（たとえば、これらは、翻訳後修飾に供されない）。非タンパク質構成アミノ酸の非限定的な例は、Aib（ α -アミノイソ酪酸）、Nle（ノルロイシン）、ならびにタンパク質構成アミノ酸のD-異性体である。タンパク質構成アミノ酸のD-異性体の非限定的な例は、チロシンまたはアラニンのD-異性体であり、これはそれぞれD-TyrまたはD-Alaと書くことができる。

【0047】

下文において、光学異性体が明言されていない本発明の誘導体のGIP類似体のすべてのアミノ酸は、（別段の指定がない限り）L-異性体を意味すると理解されるべきである

10

20

30

40

50

。

【0048】

G I P誘導体

G I P類似体の文脈で「誘導体」という用語が本明細書で使用される場合、一つまたは複数の置換基がペプチド骨格に共有結合している化学修飾G I P類似体を意味する。

【0049】

本発明の一態様において、置換基はN末端置換基でありうる。

【0050】

また、あるいは代替的に、一態様では、置換基は修飾基であるか、あるいは伸長部分またはアルブミン結合部分と呼ばれうる。

10

【0051】

「N末端置換基」または「修飾基」という用語は本明細書で使用する場合、化学的部分または水素原子を置き換える基を意味する。

【0052】

一態様において、G I P類似体の誘導体は、類似体のN末端にあるアミノ酸残基の α -アミノ基に共有結合した置換基を含む。一態様において、N末端置換基はアルカノイル基またはアシル基である。特定の態様において、N末端置換基はアセチル基である。N末端置換アミノ酸の例は、位置1にあるAc-Tyrである。G I P類似体のアミノ酸が天然Tyrである（例えば、N{1}-アセチル-[Aib2, Nle14, Arg18, Lys24]-hGIP(1-31)はhGIP(1-31)と比較して4つの置換を含む）ため、このようなアセチル化は、hGIP(1-31)と比較したペプチド骨格の置換としては数えられない。

20

【0053】

または、あるいは代替的に、一態様では、G I P類似体は、hGIP(1-31)またはhGIP(1-42)の位置24に対応するアミノ酸残基に共有結合した修飾基を含む。さらなる態様において、修飾基はタンパク質（例えば、アルブミン）と非共有結合抱合体を形成する能力があり、それによって誘導体の血流内での循環を促進し、またG I P誘導体とアルブミンの抱合体は緩慢にのみ分解されて有効活性成分を放出するという事実により、誘導体の作用時間を延長させる効果を有する。

【0054】

修飾基は、アシル化によって、すなわち、修飾基のカルボン酸基と前記リジン基のイプシロンアミノ基との間に形成されたアミド結合を介して、G I P類似体のリジン残基に共有結合されうる。リジンのアミノ基はまた、還元的アミノ化によって修飾基のアルデヒドに結合しうる。

30

【0055】

一態様において、修飾基は、アシル化によって、すなわち、修飾基のカルボン酸基とリジン基のイプシロンアミノ基との間に形成されたアミド結合を介して、hGIP(1-31)またはhGIP(1-42)の位置24に対応する位置にあるリジン残基に共有結合している。

【0056】

一実施形態において、修飾基はA-B-Cで定義され、A-は、遠位端に陰性荷電部分を有する親油性部分であり、B-Cはリンカーである。一実施形態において、修飾基はA-B-Cで定義され、A-は、遠位端に陰性荷電部分を有する親油性部分であり、B-Cは少なくとも一つの陰性荷電部分を含むリンカーである。

40

【0057】

本明細書で使用する「親油性部分」という用語は、8~30個の炭素原子、好ましくは10~28個の炭素元素、より好ましくは12~24個の炭素原子、さらにより好ましくは14~20個の炭素原子、最も好ましくは16~18個の炭素原子の脂肪族炭化水素鎖を意味し、前記炭化水素は追加的置換基を含んでもよい。

【0058】

50

本明細書で使用される「陰性荷電部分」という用語は、生理的 pH (7.4) で陰性に荷電した陰性荷電可能な化学的部分を意味する。陰性荷電部分の例は、カルボン酸類またはそのアイソスター（スルホン酸類もしくはテトラゾール類）である。好ましい実施形態において、陰性荷電部分はカルボン酸部分である。

【0059】

本明細書で使用される「遠位」という用語は、A-のB-への結合点から最も遠い（末端）ことを意味する。

【0060】

本発明の誘導体は、同じ分子式および結合原子の配列を有するが、空間内におけるそれらの原子の三次元配向においてのみ異なる、異なる立体異性の形態で存在してもよい。本発明の例証された誘導体の立体異性は、標準的な命名法を使用して、実験セクションにおいて、名前ならびに構造において示されている。別段の記載のない限り、本発明は特許請求される誘導体のすべての立体異性の形態に関する。

10

【0061】

本発明の誘導体はGIP活性を有する。この用語は、GIP受容体に結合してシグナル伝達経路を開始し、当該技術分野で周知のようにインスリン分泌作用またはその他の生理的作用をもたらす能力を指す。例えば、本発明の誘導体は、本明細書の実施例1～6に記述されたアッセイを使用してGIP活性または安定性を試験することができる。

【0062】

薬学的に許容される塩、アミド、またはエステル
本発明の誘導体は、薬学的に許容される塩、またはアミドの形態でありうる。

20

【0063】

塩は、例えば、塩基と酸の化学反応によって形成される。例： $2\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 。

【0064】

塩は塩基性塩、酸性塩である場合があり、またはどちらでもない場合もある（すなわち、中性塩）。塩基性塩は、水中で水酸化イオンを、酸性塩はヒドロニウムイオンを生成する。

【0065】

本発明の誘導体の塩は、陰イオン基と陽イオン基の間で、それぞれ追加的な陽イオンまたは陰イオンと共に形成されうる。これらの基は、本発明の誘導体のペプチド部分にある、および／または修飾基にあってもよい。

30

【0066】

本発明の誘導体の陰イオン基の非限定的な例には、存在する場合、側鎖中ならびにペプチド部分の遊離カルボキシル基が含まれる。ペプチド部分はしばしば、C末端に遊離カルボン酸基を含み、またAspおよびGluなどの内部酸性アミノ酸残基に遊離カルボキシル基を含んでもよい。

【0067】

ペプチド部分の陽イオン基の非限定的な例には、存在する場合、N末端の遊離アミノ基、ならびにHis、ArgおよびLysなどの内部塩基アミノ酸残基の任意の遊離アミノ基が含まれる。

40

【0068】

本発明の誘導体のアミドは、例えば、遊離カルボン酸基とアミンまたは置換アミンの反応によって、または遊離または置換アミノ基とカルボン酸の反応によって形成されうる。

【0069】

アミド形成には、ペプチドのC末端にある遊離カルボキシル基、側鎖の任意の遊離カルボキシル基、ペプチドのN末端にある遊離アミノ基、ならびに／またはペプチドおよび／もしくは側鎖のペプチドの遊離もしくは置換アミノ基が関与しうる。

【0070】

一態様において、本発明の誘導体は、薬学的に許容される塩の形態であり、ナトリウム

50

塩の形態であることが好ましい。また、あるいは代替的に、一態様では、本発明の誘導体は、薬学的に許容されるアミドであり、ペプチドのC末端にアミド基を有することが好ましい。

【0071】

機能特性

第一の機能的態様において、本発明の誘導体は、G I P受容体において良好な効力を有する。それらは、G I P受容体を活性化する能力によって反映されるように、強力なG I P受容体アゴニストであることが好ましい。また、あるいは代替的に、第二の機能的態様において、それらは、体重、食物摂取および耐糖能両方へのインビボ効果を、単独およびG L P-1受容体アゴニストとの組み合わせで有する。また、あるいは代替的に、第三の機能的態様において、それらは改善された薬物動態特性を有する。また、あるいは代替的に、第四の機能的態様において、本発明の誘導体は物理的に安定である。また、あるいは代替的に、第五の機能的態様において、本発明の誘導体は化学的に安定である。

10

【0072】

生物活性 - インビトロ効力

第一の機能的態様によると、本発明の誘導体、ならびに[L y s 2 4]-h G I P(1-31)などの構成G I P類似体またはその類似体は、ヒトG I P受容体において生理学的に活性である、または効力を有する。

【0073】

一実施形態において、効力および／または活性とは、インビトロ効力、すなわち、機能的G I P受容体アッセイにおける性能、さらに具体的にはヒトG I P受容体を活性化する能力を指す。

20

【0074】

インビトロ効力は、例えば、ヒトG I P受容体を発現している膜を含有する媒体中、および／またはヒトG I P受容体を発現している全細胞を用いたアッセイで決定されうる。

【0075】

例えば、ヒトG I P受容体の反応は、受容体遺伝子アッセイで、例えば、ヒトG I P受容体を発現し、かつホタルルシフェラーゼ(C R E ルシフェラーゼ)に対するプロモーターおよび遺伝子と結合したc A M P応答配列(C R E)のD N Aを含有するB H K安定発現細胞株中で測定しうる。c A M PがG I P受容体の活性化の結果として生成されるとき、これは次にルシフェラーゼの発現をもたらす。ルシフェラーゼは、ルシフェリンを追加することによって決定することができ、これは酵素によってオキシルシフェリンに変換されて生物発光を生じ、これが測定されて、インビトロ効力の尺度となる。このようなアッセイの一つの非限定的な例を、本明細書の実施例2に記述する。

30

【0076】

50%効果濃度($E C_{50}$)は一般的に、用量反応曲線を参照することにより、ベースラインと最大の中間の反応を誘発する濃度を指す。 $E C_{50}$ は、化合物の効力の尺度として使用され、その最大効果の50%が観察される濃度を表す。

【0077】

本発明の誘導体のインビトロ効力は、上述のように決定することができ、対象の誘導体の $E C_{50}$ が決定される。 $E C_{50}$ 値がより低いほど、効力がより良好である。

40

【0078】

さらなる特定の実施形態において、本発明の誘導体は、実施例2の方法を使用して決定したとき、5000 pM以下の $E C_{50}$ に対応するインビトロ効力を有し、900 pM未満であることがより好ましく、500 pM未満であることがさらに好ましく、200 pM未満であることが最も好ましい。

【0079】

さらなる特定の実施形態において、本発明の誘導体は、ヒトG L P-1受容体およびヒトグルカゴン受容体よりも選択的にG I P受容体を活性化することができる。G L P-1受容体およびグルカゴン受容体と比較して、G I P受容体の活性化に関して使用するとき

50

、「選択的に」という用語は、C R E ルシフェラーゼ機能的効力アッセイなどの受容体機能の効力アッセイにおいてインビトロで測定し、 EC_{50} 値で比較した場合、G L P - 1 受容体およびグルカゴン受容体よりも、G I P 受容体に対して、少なくとも 50 倍、少なくとも 500 倍、または少なくとも 1000 倍など、少なくとも 10 倍良好な効力を示す誘導体を指す。G L P - 1 受容体およびグルカゴン受容体よりも G I P 受容体における本発明の誘導体の「より良好な効力」という用語は、それぞれ G L P - 1 受容体対 G I P 受容体、またはグルカゴン受容体対 G I P 受容体の EC_{50} 値の比によって決定される。

【0080】

生物活性 - インビボ薬理学

第二の機能的態様によると、本発明の G I P 誘導体、ならびに [L y s 24] - h G I P (1-31) などの構成 G I P 類似体またはその類似体は、インビボで効力を有するが、これは当該技術分野で周知のように、任意の適切な動物モデルならびに臨床試験で決定しうる。

10

【0081】

食餌誘発性肥満 (D I O) マウスは適切な動物モデルの一例であり、体重、食物摂取および耐糖能への効果を、このモデルの亜慢性投薬中に評価することができる。本発明の G I P 誘導体の体重、食物摂取および耐糖能への効果は、例えば本明細書の実施例 6 に記述するように、このようなマウスのインビボで決定しうる。食物摂取は、動物を単独収容し、1 日あたり摂取した食物を計量することによって評価することができる。またこのモデルを使用して、経口または腹腔内ブドウ糖負荷試験 (O G T T または I P G T T) を実施することにより、耐糖能への効果を評価することができる。これらの試験は、半絶食した動物に糖負荷を経口または腹腔内投与し、その後 3 時間まで血糖を測定することにより実施される。

20

【0082】

薬物動態プロファイル

第三の機能的態様によると、本発明の誘導体は、終末相半減期の増加など、改善された薬物動態特性を有する。

【0083】

終末相半減期の増加は、対象の化合物がよりゆっくりと体から排出されることを意味する。本発明の誘導体について、これは薬理効果の期間延長を必然的に伴う。

30

【0084】

本発明の誘導体の薬物動態特性は、薬物動態 (P K) 研究においてインビボで適切に決定されうる。このような研究は、医薬品が体内でどのように吸収、分布および排出され、これらの過程が経時的に体内の化合物の濃度にどのように影響するかを評価するために実施される。

【0085】

医薬品開発の発見および前臨床段階において、マウス、ラット、サル、イヌ、またはブタなどの動物モデルを使用してこの特徴付けを実施しうる。これらのモデルのどれでも、本発明の誘導体の薬物動態特性を試験するために使用することができる。

【0086】

このような研究において、動物は典型的に、薬物の単一用量を妥当な製剤で、静脈内 (i. v.)、皮下 (s. c.) または経口 (p. o.) 投与される。血液試料を投与後の所定の時点で採取し、薬剤の濃度について試料を妥当な定量アッセイで分析する。これらの測定値に基づいて、試験化合物の時間-血漿濃度プロファイルをプロットし、データのいわゆるノンコンパートメント薬物動態速度論解析を実施する。

40

【0087】

大部分の化合物について、血漿濃度プロファイルの終末部分は、片対数プロットしたときに直線的となり、初期吸収および分布後、薬剤が一定の分画速度で体内から除去されることを反映している。この速度 (ラムダ Z または λ_z) は、プロットの終末部分の傾きのマイナスに等しい。この速度から、終末相半減期も、 $t_{1/2} = \ln(2) / \lambda_z$

50

として計算しうる（例えば、Johan Gabrielson and Daniel Weiner: Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Data Analysis. Concepts & Applications, 3rd Ed., Swedish Pharmaceutical Press, Stockholm (2000)を参照）。

【0088】

クリアランスは、静脈内投与後に決定することができ、用量（D）を、血漿濃度対時間プロファイルの曲線下面積（AUC）で割ったものとして定義される（Rowland, M and Tozer TN: Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications, 3rd edition, 1995 Williams Wilkins）。

10

【0089】

終末相半減期および／またはクリアランスの推定は、投与レジメンの評価に関連し、薬剤開発、新しい医薬品の評価において重要なパラメータである。

【0090】

薬物動態プロファイル - ミニブタにおけるインビボ半減期

第三の機能的態様によると、本発明の誘導体は、改善された薬物動態特性を有する。

【0091】

特定の実施形態において、薬物動態特性は、例えば、本明細書の実施例3に記述されるように、静脈内投与後のミニブタにおけるインビボの終末相半減期（ $t_{1/2}$ ）として決定されうる。

20

【0092】

特定の実施形態において、ミニブタの終末相半減期は少なくとも24時間であり、少なくとも40時間であることが好ましく、少なくとも60時間であることがさらに好ましい。

【0093】

物理的特性

第四の機能的態様によると、本発明の誘導体は、溶液中で改善した物理的安定性を有する。「物理的安定性」という用語は、生物学的に不活性および／または不溶性の凝集体（例えば、アミロイド線維またはゲル）を形成するポリペプチドの傾向を指す。

30

【0094】

特定の実施形態において、改善された物理的安定性は、例えば、本明細書の実施例4に記述されるように、チオフラビンT（ThT）細線維化アッセイのラグタイムおよび／または回収率を測定することにより決定しうる。

【0095】

さらなる特定の実施形態において、本発明の誘導体は、本明細書に記述された実施例4に示すものなど、ThT細線維化アッセイにおいて70パーセントを超える回収率を有し、90パーセントを超える回収率が好ましく、95パーセントを超える回収率がさらに好ましく、98パーセントを超える回収率が最も好ましい。

【0096】

40

さらなる特定の実施形態において、本発明の誘導体は、本明細書に記述された実施例4に示すものなど、ThT細線維化アッセイにおいて10時間を超えるラグタイムを有し、20時間を超えることが好ましく、45時間を超えることがさらに好ましい。

【0097】

特定の実施形態において、改善された物理的安定性は、例えば本明細書の実施例4に記述されるように、動的光散乱安定性指標（DLS-SI）アッセイによって決定しうる。

【0098】

さらなる特定の実施形態において、本発明の誘導体は、本明細書の実施例4に示されるものなど、DLS-SIアッセイにおいて低いDLS-SI値を有し、7未満であることが好ましく、2未満であることがより好ましい。

50

【0099】

さらなる特定の実施形態において、本発明の誘導体は、本明細書の実施例4に示すものなど、DL S-S Iアッセイにおいて沈殿を全くまたはほとんど示さず、沈殿が全くないことが好ましい。

【0100】

化学的特性

第五の機能的態様によると、本発明の誘導体は、改善された化学的安定性を有する。「化学的安定性」という用語は、インタクトなポリペプチドと比較して、低減した生物学的効力、および／または増加した免疫原性効果を潜在的に有する、高分子タンパク質（HMWP）、脱アミド、異性化および加水分解産物など、化学分解産物の形成をもたらすポリペプチド構造の化学的（特に共有結合の）変化を指す。

10

【0101】

特定の実施形態において、改善された化学的安定性は、例えば本明細書の実施例5に記述されるように、異なる環境条件への曝露後、様々な時点で化学的分解産物の量を、例えばSEC-HPLCおよび／またはLCMSで測定することにより、HMWPの含量および／または純度損失を測定することによって決定しうる。

【0102】

さらなる特定の実施形態において、本発明の誘導体は、本明細書に記述される実施例5に示すものなど、1カ月あたりの純度損失が35パーセント未満であり、15パーセント未満であることが好ましく、7パーセント未満であることがより好ましい。

20

【0103】

さらなる特定の実施形態において、本発明の誘導体は、本明細書に記述される実施例5に示すものなど、1カ月あたりのHMWP形成が4パーセント未満であり、2パーセント未満であることが好ましく、1パーセント未満であることがより好ましい。

【0104】

本発明の誘導体の追加的な特定の実施形態を、「特定の実施形態」と題する節に記述する。

【0105】

生成プロセス

hGIP（1-31）およびhGIP類似体などのペプチドの生成は当該技術分野で周知である。

30

【0106】

[Lys24]-hGIP（1-31）または類似体またはその断片など、本発明の二環式誘導体のGIP類似体（またはその断片）は、例えば、t-Boc化学もしくはFmoc化学または他の確立された技術を用いた固相ペプチド合成など、伝統的ペプチド合成により生成されてもよく、例えば、Greene and Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, 1999, Florencio Zaragoza Dorwald, "Organic Synthesis on solid Phase", Wiley-VCH Verlag GmbH, 2000, and "Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis", Edited by W. C. Chan and P. D. White, Oxford University Press, 2000を参照されたい。

40

【0107】

また、あるいは代替的に、それらは、遺伝子組換え方法により、すなわち、類似体をコードしているDNA配列を含み、かつペプチドの発現を許す条件下で、適切な栄養培地でペプチドを発現することができる宿主細胞を培養することによって、生成してもよい。これらのペプチドの発現に適した宿主細胞の非限定的な例は、大腸菌、出芽酵母、ならびに哺乳類BHKまたはCHO細胞株である。

【0108】

50

非天然アミノ酸および／または共有結合したN末端モノまたはジペプチド模倣物を含む、本発明のこれらの誘導体は、例えば、実験部分に記述されたように生成しうる。または、例えば、Hodgson et al: "The synthesis of peptides and proteins containing non-natural amino acids", Chemical Society Reviews, vol. 33, no. 7 (2004), p. 422-430を参照のこと。

【0109】

本発明の多数の誘導体を調製する方法の特定の例が、実験部分に含まれている。

【0110】

医薬組成物

本発明の誘導体を含む注射可能な組成物は、望ましい最終製品を与えるために、必要に応じて成分の溶解および混合を伴う製薬業界の従来技術を使用して調製することができる。このため、一つの手順によると、本発明の誘導体を、沈殿が最小化または回避されるように、適切なpHの適切な緩衝液に溶解する。注射可能な組成物は、例えば、除菌ろ過によって無菌化される。

【0111】

本発明の誘導体またはその薬学的に許容される塩、またはアミド、および薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物は、当該技術分野で周知のように調製されうる。

【0112】

「賦形剤」という用語は、活性治療的成分以外の任意の成分を広く指す。賦形剤は、非活性物質、不活性物質および／または医薬的に活性でない物質でありうる。

【0113】

様々な賦形剤を伴った薬学的活性成分の製剤は、当該技術分野で周知であり、例えばRemington: The Science and Practice of Pharmacy (たとえば、第19版(1995)および任意のその後の版)を参照されたい。

【0114】

組成物は安定化された製剤でもよい。「安定化された製剤」という用語は、物理的安定性および／または化学的安定性が増加した、好ましくはこの両方が増加した製剤を指す。概して、製剤は、有効期限に到達するまで、(推奨される使用条件および保管条件に準拠した)使用中および保管中において安定していなければならない。

【0115】

本発明による誘導体を使用した治療はまた、例えば、GLP-1受容体アゴニスト、またはGLP-1／グルカゴン受容体コアゴニストから選択される、一つまたは複数の追加的薬理活性物質と組み合わせてもよい。

【0116】

本発明の一態様において、本発明の誘導体は、GLP-1受容体アゴニストと組み合わせられる。化合物は、単一剤形が両方の化合物を含有する単一剤形で、または第一の単位剤形として本発明の誘導体の調剤および第二の単位投薬形態としてGLP-1受容体アゴニストの調剤を含む部品のキットの形態で供給されうる。

【0117】

本発明の誘導体と組み合わせられるGLP-1受容体アゴニストの非限定的な例は、リラグルチド、セマグルチド、エキセナチド、デュラグルチド、リキシセナチド、タスポグルチド、およびアルビグルチドである。セマグルチドは、WO2006/097537号、実施例4に記述されるように調製されうるGLP-1受容体アゴニストであり、N⁶,²⁶-{18-[N-(17-カルボキシヘプタデカノイル)-L-γ-グルタミル]-10-オキソ-3,6,12,15-テトラオキサ-9,18-ジアザオクタデカノイル}-[8-(2-アミノ-2-プロパン酸),34-L-アルギニン]ヒトグルカゴン様ペプチド1(7-37)としても知られる。WHO Drug Information

10

20

30

40

50

Vol. 24, No. 1, 2010 (配列番号57)を参照。

【0118】

GLP-1／グルカゴン受容体コアゴニストの非限定的な例は、WO 2014/170496号に記述されている。例えば、現在の配列番号52、53、54、55または56を参照。

【0119】

医薬品の適応症

本発明はまた、薬剤用のGIP類似体の誘導体に関する。

【0120】

特定の実施形態では、本発明の誘導体は、以下の医学的治療に使用されうる：

(i) 高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、非インスリン依存性糖尿病、MODY（若年発症成人型糖尿病）、妊娠糖尿病などのすべての形態の糖尿病の予防および／もしくは治療、ならびに／またはHbA1Cの低減、

(ii) 2型糖尿病の進行などの糖尿病疾患の進行の遅延または予防、耐糖能障害（IGT）からインスリンを必要とする2型糖尿病への進行の遅延、インスリン耐性の遅延または予防、および／またはインスリンを必要としない2型糖尿病からインスリンを必要とする2型糖尿病への進行の遅延、

(iii) 例えば、食事量の減少、体重減少、食欲の抑制、満腹感の誘発による、肥満などの摂食障害の予防および／もしくは治療；過食性障害、神経性大食症、および／もしくは抗精神病薬もしくはステロイドの投与によって誘発された肥満の治療もしくは予防、胃内容排出の遅延、身体的可動性の増加、ならびに／または骨関節炎および／もしくは尿失禁などの肥満の共存疾患の予防および／もしくは治療、

(iv) (薬剤誘発性または食事と運動による)減量成功後の体重維持 - すなわち、減量成功後の体重増加の予防。

(v) 脂肪肝、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、肝臓炎または脂肪肝などの肝臓障害の予防および／または治療。

【0121】

特定の実施形態において、適応症は2型糖尿病および／または肥満である。

【0122】

いくつかの実施形態で、本発明は、体重管理の方法に関する。いくつかの実施形態で、本発明は、食欲を低下させるための方法に関する。いくつかの実施形態で、本発明は、食物摂取量を減少させるための方法に関する。

【0123】

一般に、肥満を患っているすべての対象は、過体重も患っていると考えられる。いくつかの実施形態で、本発明は、肥満を治療または予防するための方法に関する。いくつかの実施形態で、本発明は、肥満を治療または予防するための本発明の誘導体の使用に関する。いくつかの実施形態では、肥満を患っている対象者は、成人のヒトまたは小児（paediatric）のヒト（幼児、小児（children）、青年を含む）などのヒトである。ボディマス指数（BMI）は、身長および体重に基づく体脂肪の尺度である。計算式は、 $BMI = \text{体重（キログラム）} / \text{身長（メートル）}^2$ である。肥満を患っているヒト対象は30以上のBMIを有することがあり、この対象は肥満とも呼ばれる場合がある。いくつかの実施形態において、肥満を患っているヒト対象は、35以上のBMIを有するか、または30以上40未満の範囲のBMIを有する。いくつかの実施形態において、肥満は、ヒト対象が40以上のBMIを有する重度の肥満または病的肥満である。

【0124】

いくつかの実施形態において、本発明は、任意選択で少なくとも一つの体重に関連する併存疾患の存在下での過体重の治療または予防のための方法に関する。いくつかの実施形態において、本発明は、任意選択で少なくとも一つの体重に関連する併存疾患の存在下での過体重の治療または予防のためのGIP類似体の誘導体の使用に関する。いくつかの実施形態では、過体重を患っている対象は、成人のヒトまたは小児のヒト（幼児、小児、お

10

20

30

40

50

よび青年を含む)などのヒトである。いくつかの実施形態において、過体重を患っているヒト対象は、25以上のBMI(27以上のBMIなど)を有する。いくつかの実施形態では、過体重を患っているヒト対象は、25～30未満の範囲または27～30未満の範囲のBMIを有する。いくつかの実施形態では、体重関連の併存疾患は、高血圧、糖尿病(2型糖尿病など)、脂質異常症、高コレステロール、および閉塞性睡眠時無呼吸からなる群から選択される。

【0125】

いくつかの実施形態では、本発明は、体重を低下させるための方法に関する。いくつかの実施形態では、本発明は、体重を低下させるためのGIP類似体の誘導体の使用に関する。本発明による体重の減少を享受するヒトは、25以上のBMI(27以上のBMIまたは30以上のBMIなど)を有する。いくつかの実施形態では、本発明による体重の減少を享受するヒトは、35以上のBMIまたは40以上のBMIを有する。「体重の減少」という用語は、肥満および／または過体重の治療または予防を含みうる。

【0126】

特定の実施形態

本発明は、以下の非限定的実施形態によってさらに説明されうる：

【0127】

1. 式I(配列番号3)を含むGIP類似体の誘導体：

Tyr-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Ile-Ser-Asp-Tyr-Ser-Ile-Ala-Met-Asp-Lys-Ile-His-Gln-Gln-Asp-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Ala-Gln-Lys-Gly (I)、

式中、修飾基は位置24にあるリジンのイプシロンアミノ基の側鎖に共有結合しており、修飾基はA-B-C-により定義され、A-は遠位端に陰性荷電部分を有する親油性部分であり、B-C-はリンカーであり、

GIP類似体はhGIP(1-31)(配列番号2)と比較して、最大8つのアミノ酸置換を有する、誘導体

または薬学的に許容される塩、またはそのアミド。

【0128】

2. 式II(配列番号48)を含む実施形態1に記載の誘導体：

X₁-X₂-Glu-Gly-Thr-Phe-Ile-Ser-Asp-Tyr-Ser-Ile-Ala-X₁₄-Asp-X₁₆-Ile-X₁₈-Gln-X₂₀-Asp-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Ala-Gln-Lys-X₃₁ (II)、

式IIは位置X₁、X₂、X₁₄、X₁₆、X₁₈、X₂₀、および／またはX₃₁に任意のアミノ酸を含み、

GIP類似体はhGIP(1-31)(配列番号2)と比較して、最大8つのアミノ酸置換を有する。

【0129】

3. 式IIを含む実施形態1～2のいずれか一つに記載の誘導体であり、式中、位置X₁、X₂、X₁₄、X₁₆、X₁₈、X₂₀、および／またはX₃₁のアミノ酸は(配列番号49)から選択され、

X₁はTyrまたはD-Tyrであり、

X₂はAib、Ala、またはD-Alaであり、

X₁₄はLeu、Nle、AspまたはMetであり、

10

20

30

40

50

X₁₆ は L y s または A l a であり、
 X₁₈ は A r g または H i s であり、
 X₂₀ は G l n、G l u または A i b であり、
 X₃₁ は G l y または P r o である。

【0130】

4. 式 I I を含む先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体であり、式中、位置 X₁、X₂、X₁₄、X₁₆、X₁₈、X₂₀、および／または X₃₁ のアミノ酸は（配列番号 64）から選択され、

X₁ は T y r または D - T y r であり、
 X₂ は A i b、A l a、または D - A l a であり、
 X₁₄ は L e u、N l e、または M e t であり、
 X₁₆ は L y s または A l a であり、
 X₁₈ は A r g または H i s であり、
 X₂₀ は G l n、G l u または A i b であり、
 X₃₁ は G l y または P r o である。

10

【0131】

5. 式 I I を含む先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体であり、式中、位置 X₁、X₂、X₁₄、X₁₆、X₁₈、X₂₀、および／または X₃₁ のアミノ酸は（配列番号 63）から選択され、

20

X₁ は T y r または D - T y r であり、
 X₂ は A i b または A l a であり、
 X₁₄ は N l e、A s p または L e u であり、
 X₁₆ は L y s または A l a であり、
 X₁₈ は A r g または H i s であり、
 X₂₀ は G l n、G l u または A i b であり、
 X₃₁ は G l y または P r o である。

【0132】

6. 式 I I を含む先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体であり、式中、位置 X₁、X₂、X₁₄、X₁₆、X₁₈、X₂₀、および／または X₃₁ のアミノ酸（配列番号 50）から選択され、

30

X₁ は T y r または D - T y r であり、
 X₂ は A i b または A l a であり、
 X₁₄ は N l e であり、
 X₁₆ は L y s または A l a であり、
 X₁₈ は A r g または H i s であり、
 X₂₀ は G l n、G l u または A i b であり、
 X₃₁ は G l y または P r o である。

40

【0133】

7. 誘導体が式 I I によって示される、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体であって、式中、位置 X₁、X₂、X₁₄、X₁₆、X₁₈、X₂₀、および／または X₃₁ のアミノ酸は（配列番号 65）から選択され、

X₁ は T y r、A c - T y r、D - T y r または A c - D - T y r であり、
 X₂ は A i b、A l a、または D - A l a であり、
 X₁₄ は L e u、N l e、A s p または M e t であり、
 X₁₆ は L y s または A l a であり、
 X₁₈ は A r g または H i s であり、

50

X₂₀はGln、GluまたはAibであり、
X₃₁はGlyまたはProである、

またはその薬学的に許容される塩、アミドである。

【0134】

8. GIP類似体が、hGIP(1-31)(配列番号2)と比較して最大7つのアミノ酸置換を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0135】

9. GIP類似体が、hGIP(1-31)(配列番号2)と比較して最大6つのアミノ酸置換を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

10

【0136】

10. GIP類似体が、hGIP(1-31)(配列番号2)と比較して最大5つのアミノ酸置換を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0137】

11. GIP類似体が、hGIP(1-31)(配列番号2)と比較して最大4つのアミノ酸置換を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0138】

12. GIP類似体が、hGIP(1-31)(配列番号2)と比較して最大3つのアミノ酸置換を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0139】

20

13. GIP類似体が、hGIP(1-31)(配列番号2)と比較して最大2つのアミノ酸置換を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0140】

14. GIP類似体が、hGIP(1-31)(配列番号2)と比較して最大1つのアミノ酸置換を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0141】

15. GIP類似体が、hGIP(1-31)(配列番号2)と比較して3～6つのアミノ酸置換を有する、実施形態1～12のいずれか一つに記載の誘導体。

【0142】

16. 修飾基がA-B-Cで定義され、Aが、遠位端に陰性荷電部分を有する親油性部分であり、B-Cが少なくとも一つの陰性荷電部分を含むリンカーである、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

30

【0143】

17. リンカーB-Cが1～6つの陰性荷電部分を含む、先行する実施形態の一つに記載の誘導体。

【0144】

18. リンカーB-Cが1～4つの陰性荷電部分を含む、先行する実施形態の一つに記載の誘導体。

【0145】

19. リンカーB-Cの少なくとも一つの陰性荷電部分がガンマーGluおよび／またはAspから選択される、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

40

【0146】

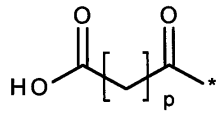
20. リンカーB-Cの少なくとも一つの陰性荷電部分がガンマーGluである、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0147】

21. Aが化学式1である、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【化 1】

化学式 1 :



p は 14 ～ 20 の範囲の整数であり、

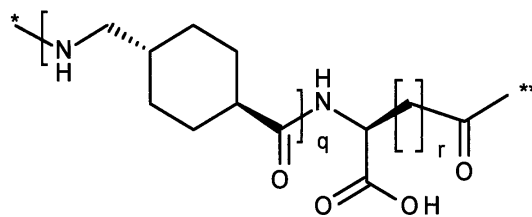
＊は A－と B－を接続しているアミド結合の位置を示す。

【0148】

22. B－が化学式 2 である、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【化 2】

化学式 2 :



q は 0 ～ 1 の範囲の整数であり、

r は 1 ～ 3 の範囲の整数であり、

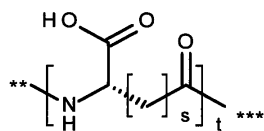
＊は A－と B－を接続しているアミド結合の位置を示し、＊＊は B－と C－を接続しているアミド結合の位置を示す。

【0149】

23. C－が化学式 3 および化学式 4 から選択される、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

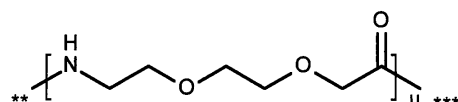
【化 3】

化学式 3 :



【化 4】

化学式 4 :



s は 1 ～ 3 の範囲の整数であり、

t は 1 ～ 4 の範囲の整数であり、

u は 1 ～ 3 の範囲の整数であり、

＊＊は B－と C－を接続しているアミド結合の位置を示し、＊＊＊は C－と、位置 24 のリジンのイプシロンアミノ基を接続しているアミド結合の位置を示す。

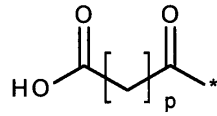
【0150】

24. 修飾基が A-B-C- により定義され、

A- が化学式 1 である、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【化 5】

化学式 1 :



10

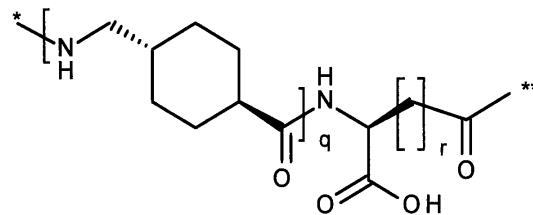
p は、14 ~ 20 の範囲の整数であり、

* は A- と B- を接続しているアミド結合の位置を示し、

B- は化学式 2 である。

【化 6】

化学式 2 :



20

q は 0 ~ 1 の範囲の整数であり、

r は 1 ~ 3 の範囲の整数であり、

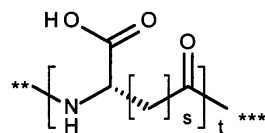
* は A- と B- を接続しているアミド結合の位置を示し、** は B- と C- を接続しているアミド結合の位置を示し、

C- は化学式 3 および化学式 4 から選択される。

30

【化 7】

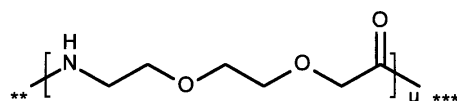
化学式 3 :



【化 8】

40

化学式 4 :



s は 1 ~ 3 の範囲の整数であり、

t は 1 ~ 4 の範囲の整数であり、

u は 1 ~ 3 の範囲の整数であり、

** は B- と C- を接続しているアミド結合の位置を示し、*** は C- と、位置 24 の

50

リジンのイプシロンアミノ基を接続しているアミド結合の位置を示す。

【0151】

25. A-が化学式1であり、pが16～18である、実施形態21または24のいずれか一つに記載の誘導体。

【0152】

26. B-が化学式2であり、qが0～1であり、rが2である、実施形態22または24のいずれか一つに記載の誘導体。

【0153】

27. C-が化学式3である、実施形態23～24のいずれか一つに記載の誘導体。

【0154】

28. C-が化学式3であり、sが2である、実施形態27に記載の誘導体。

【0155】

29. C-が化学式3であり、tが2～3である、実施形態27～28のいずれか一つに記載の誘導体。

【0156】

30. C-が化学式4である、実施形態23～24のいずれか一つに記載の誘導体。

【0157】

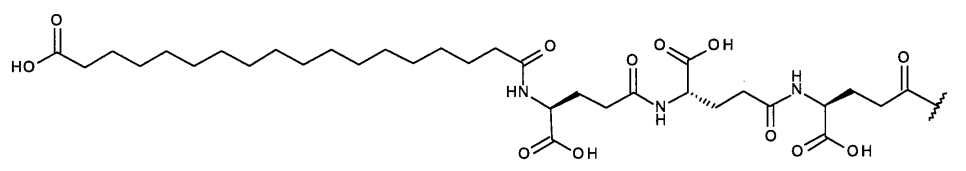
31. C-が化学式4であり、uが2である、実施形態30に記載の誘導体。

【0158】

32. 修飾基A-B-C-が、化学式5～化学式18から選択される、実施形態1～24のいずれか一つに記載の誘導体：

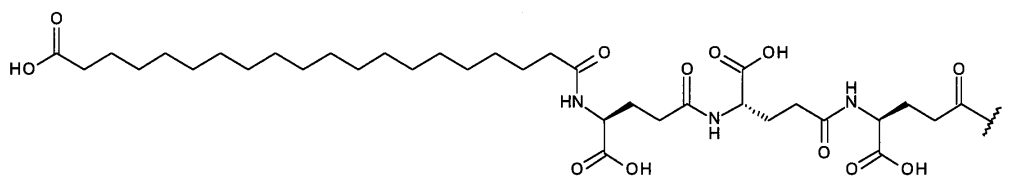
【化9】

化学式5：



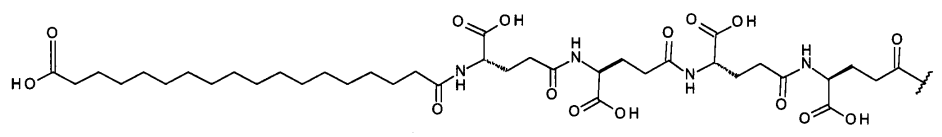
【化10】

化学式6：



【化11】

化学式7：



10

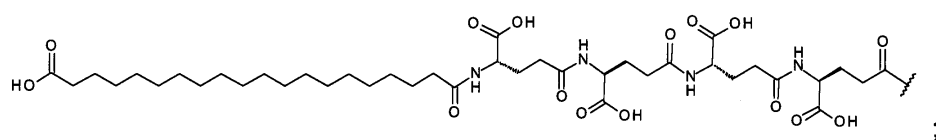
20

30

40

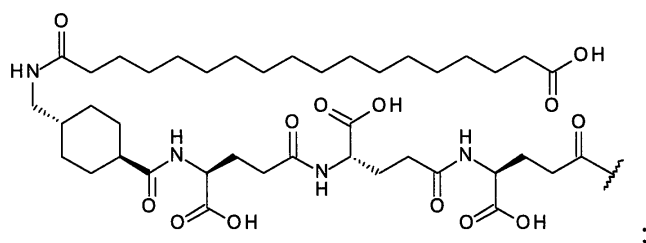
【化 1 2】

化学式 8 :



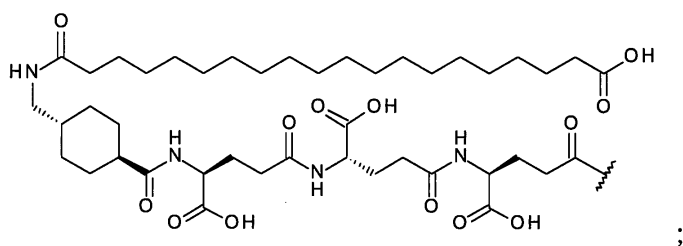
【化 1 3】

化学式 9 :



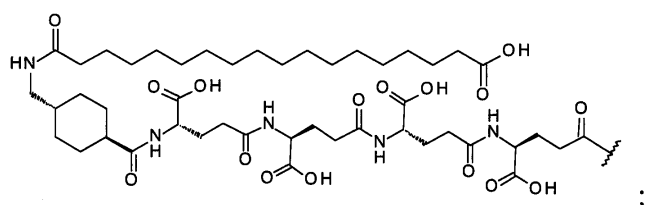
【化 1 4】

化学式 10 :



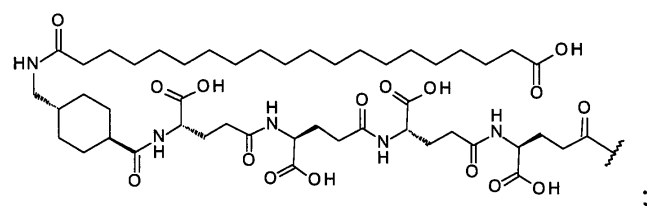
【化 1 5】

化学式 11 :



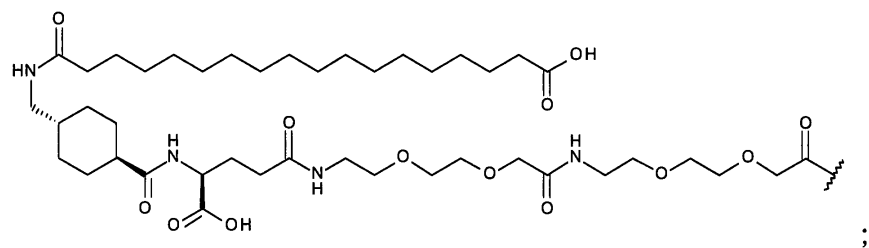
【化 1 6】

化学式 12 :



【化 1 7】

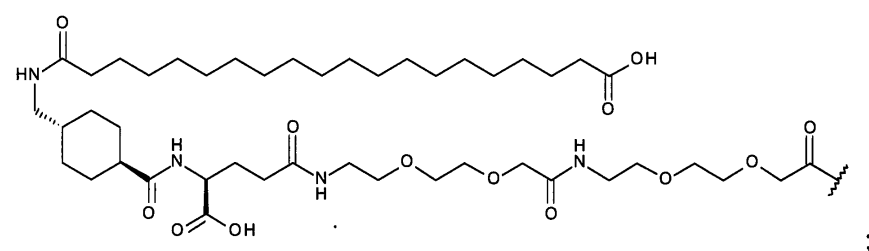
化学式 1 3



10

【化 1 8】

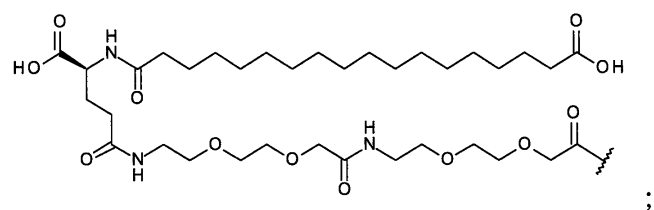
化学式 1 4 :



20

【化 1 9】

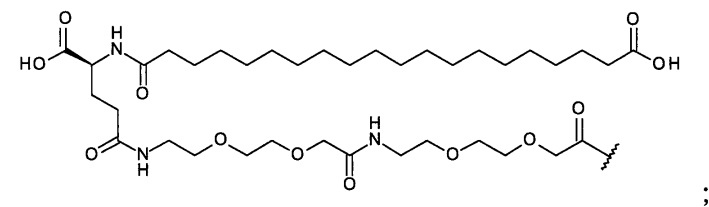
化学式 1 5 :



30

【化 2 0】

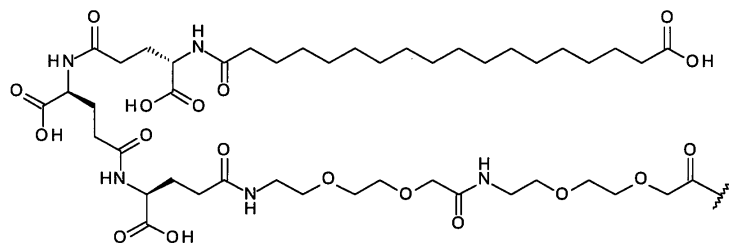
化学式 1 6 :



40

【化 2 1】

化学式 17 :

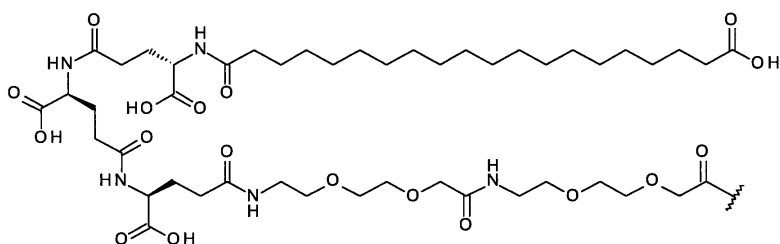


; および

10

【化 2 2】

化学式 18



20

【0 1 5 9】

33. X_1 が T y r である、実施形態 2 ~ 3 2 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0 1 6 0】

34. X_1 が D - T y r である、実施形態 2 ~ 3 2 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0 1 6 1】

35. X_2 が A i b である、実施形態 2 ~ 3 4 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0 1 6 2】

36. X_2 が A l a である、実施形態 2 ~ 3 4 のいずれか一つに記載の誘導体。

30

【0 1 6 3】

37. X_2 が D - A l a である、実施形態 2 ~ 3 4 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0 1 6 4】

38. X_1 が L e u である、実施形態 2 ~ 3 7 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0 1 6 5】

39. X_1 が N l e である、実施形態 2 ~ 3 7 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0 1 6 6】

40. X_1 が A s p である、実施形態 2 ~ 3 7 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0 1 6 7】

41. X_1 が M e t である、実施形態 2 ~ 3 7 のいずれか一つに記載の誘導体。

40

【0 1 6 8】

42. X_1 が L y s である、実施形態 2 ~ 4 1 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0 1 6 9】

43. X_1 が A l a である、実施形態 2 ~ 4 1 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0 1 7 0】

44. X_1 が A r g である、実施形態 2 ~ 4 3 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0 1 7 1】

45. X_1 が H i s である、実施形態 2 ~ 4 3 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0 1 7 2】

46. X_2 が G l n である、実施形態 2 ~ 4 5 のいずれか一つに記載の誘導体。

50

【0173】

47. X_{20} が Glu である、実施形態 2～45 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0174】

48. X_{20} が Alb である、実施形態 2～45 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0175】

49. X_{31} が Gly である、実施形態 2～48 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0176】

50. X_{31} が Pro である、実施形態 2～48 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0177】

51. 式 I I I (配列番号 51) によって定義されるペプチドが、式 I または式 I I 10
 の C 末端カルボン酸基から式 I I I の N 末端アミノ基のアミド結合を介して、式 I または
 式 I I の C 末端に結合されている、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体：

Lys- X_{33} - X_{34} -Asp-Trp-Lys-His-Asn-Ile-Thr-
 Glu (I I I)、

式中、

 X_{33} は Lys、Glu であり、 X_{34} は Asn、Glu、または Asp である。

【0178】

52. X_{33} が Lys である、実施形態 51 に記載の誘導体。

【0179】

53. X_{33} が Glu である、実施形態 51 に記載の誘導体。

【0180】

54. X_{34} が Asn である、実施形態 51～53 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0181】

55. X_{34} が Glu である、実施形態 51～53 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0182】

56. X_{34} が Asp である、実施形態 51～53 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0183】

57. N 末端アミノ酸がアシル化されている、先行する実施形態のいずれか一つに記
 載の誘導体。

【0184】

58. N 末端アミノ酸がアセチル化されている、先行する実施形態のいずれか一つに
 記載の誘導体。

【0185】

59. X_1 が Ac-Tyr である、実施形態 2～33、35～58 のいずれか一つに
 記載の誘導体。

【0186】

60. X_1 が Ac-D-Tyr である、実施形態 2～32、34～58 のいずれか一 40
 つに記載の誘導体。

【0187】

61. GIP 類似体が C 末端カルボン酸または C 末端アミドである、先行する実施形
 態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0188】

62. GIP 類似体が C 末端カルボン酸である、先行する実施形態のいずれか一つに
 記載の誘導体。

【0189】

63. X_{31} が Gly-OH である、実施形態 2～49、57～62 のいずれか一つ
 に記載の誘導体。

【0190】

64. X_{31} が Pro-OH である、実施形態 2～48、50、57～62 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0191】

65. GIP 類似体が C 末端アミドである、実施形態 1～61 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0192】

66. X_{31} が Gly-NH_2 である、実施形態 2～49、57～61、65 のいずれか一つに記載の誘導体。

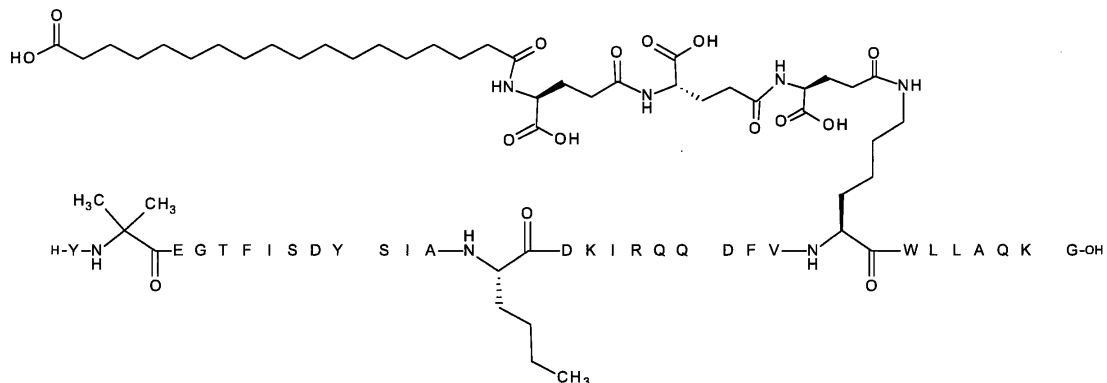
【0193】

67. X_{31} が Pro-NH_2 である、実施形態 2～48、50、57～61、65 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0194】

68. 以下から選択される、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体：

N {イブシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物 1、配列番号 6)
【化 23】



;

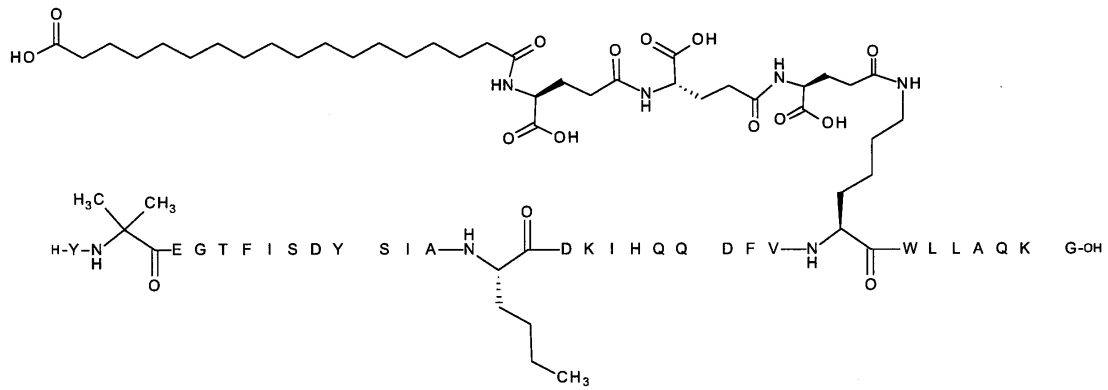
N {イブシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物 2、配列番号 7)

10

20

30

【化 2 4】



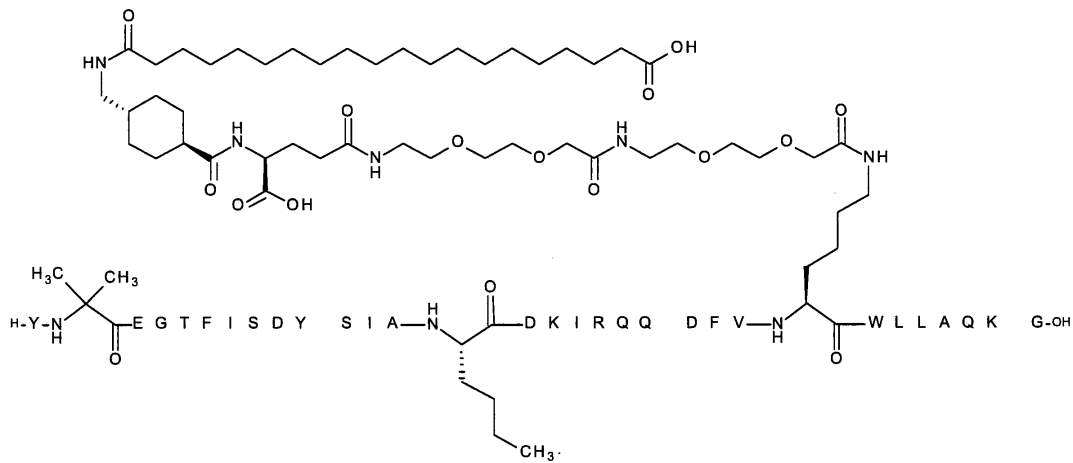
10

;

N {イプシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4 - カルボキシ-4 - [[4 - [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物3、配列番号8)

【化 2 5】

20

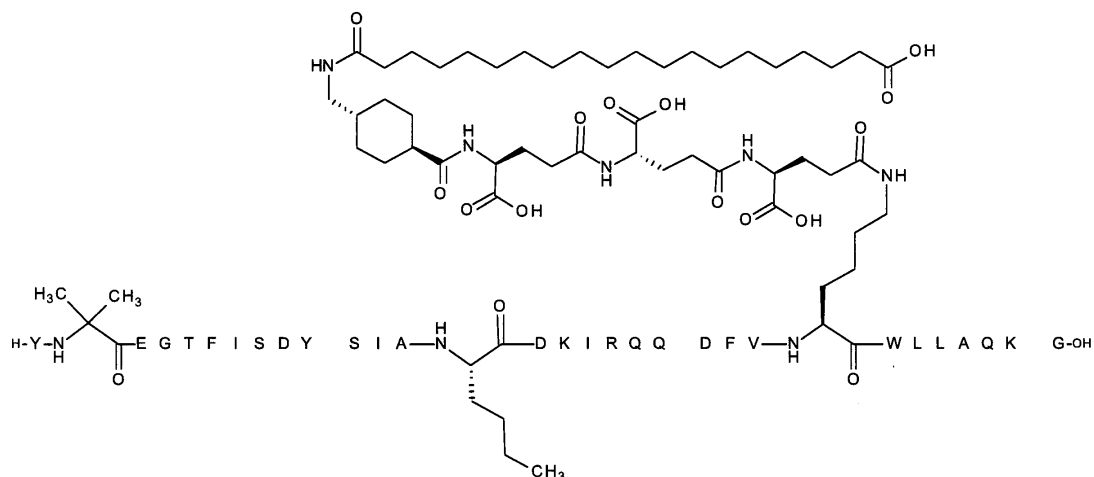


30

;

N {イプシロン-24} - [(4S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4S) - 4 - カルボキシ-4 - [[4 - [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物4、配列番号9)

【化 2 6】

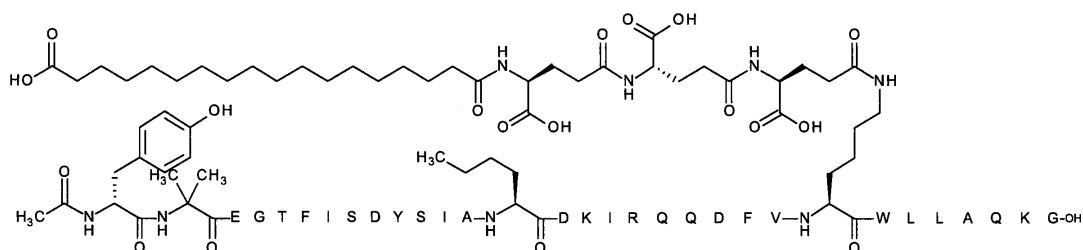


10

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [D-Tyr1, Aib2, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物5、配列番号10)

20

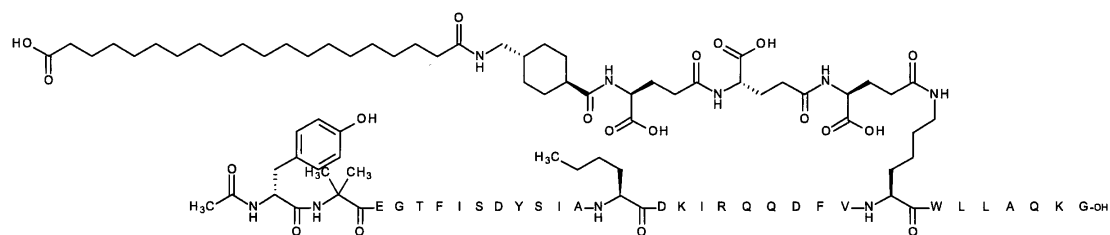
【化 2 7】



30

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [D-Tyr1, Aib2, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物6、配列番号11)

【化 2 8】



40

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] -

50

【化 2 9】



【化 3 0】



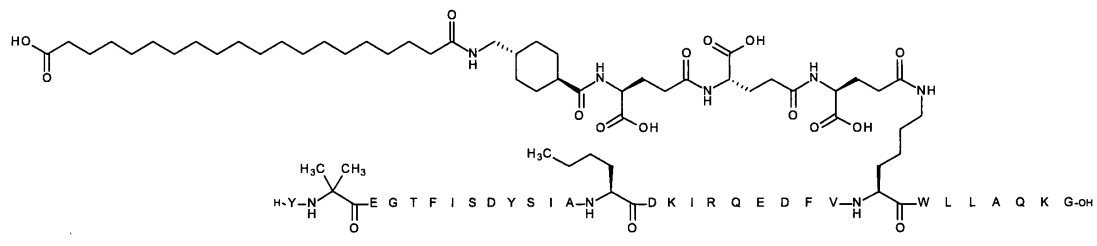
30

【化 3 1】



N {イプシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサノール]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ] - [Aib2, Nle14, Arg18, Glu20, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物10、配列番号15)

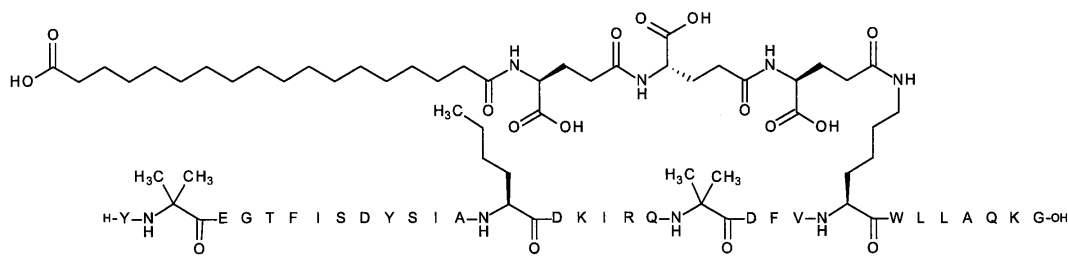
【化 3 2】



10

N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Aib20 Lys24] - hGIP (1-31) (化合物11、配列番号16)

【化 3 3】

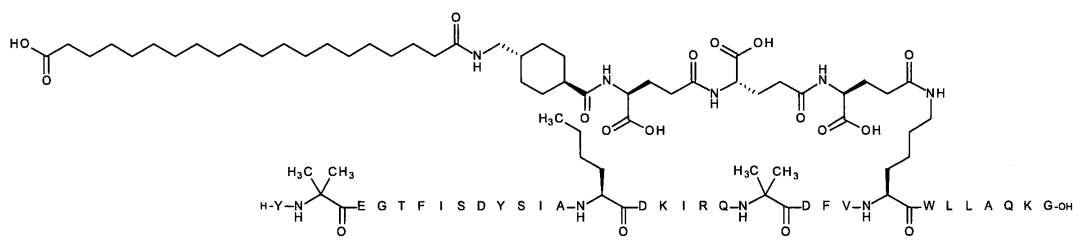


20

N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] ブタノイル] アミノ] - ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Aib20, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物12、配列番号17)

30

【化 3 4】



40

N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Ala16, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物13、配列番号18)

CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)N[C@@H](CC(=O)N[C@@H](CO)CC(=O)N[C@@H](CC(=O)N)CC(=O)O)[C@@H](C(=O)O)CC(=O)N[C@@H](CCCC(C)C)C(=O)N[C@@H](C(C)(C)C)CC(=O)O

N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[4- [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサノール] アミノ] ブタノイル] アミノ] - ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Ile14, Ala16, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物14、配列番号19)

Chemical structure of the propeptide of the proenzyme of the prokaryotic chymotrypsin-like protease. The structure shows a long polypeptide chain with various side chains, including a long fatty acid chain, a cyclohexane ring, and a complex side chain with multiple amide and carboxylic acid groups. The sequence is H-Y-NH-CH(CH₃)₂-C(=O)-E-G-T-F-I-S-D-Y-S-I-A-NH-CH(CH₃)-C(=O)-D-A-I-R-Q-Q-D-F-V-NH-CH(CH₃)-C(=O)-W-L-L-A-Q-K-G-OH.

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - (17 - カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物15、配列番号20)

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - (17 - カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Glu20, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物16、配列番号21)

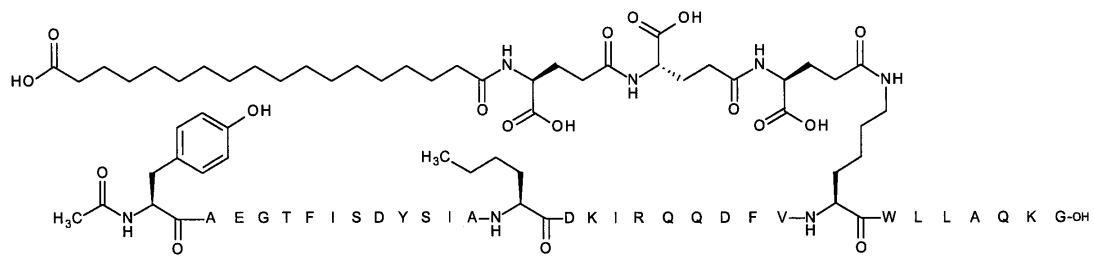
[illegible]

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - (17 - カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] - ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物17、配列番号22)

[illegible]

30

【化 4 0】



N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブ
タノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセ
チル] - [D-Tyr1, Asp14, Arg18, Glu20, Lys24] - hGI

50

【化 4 1】

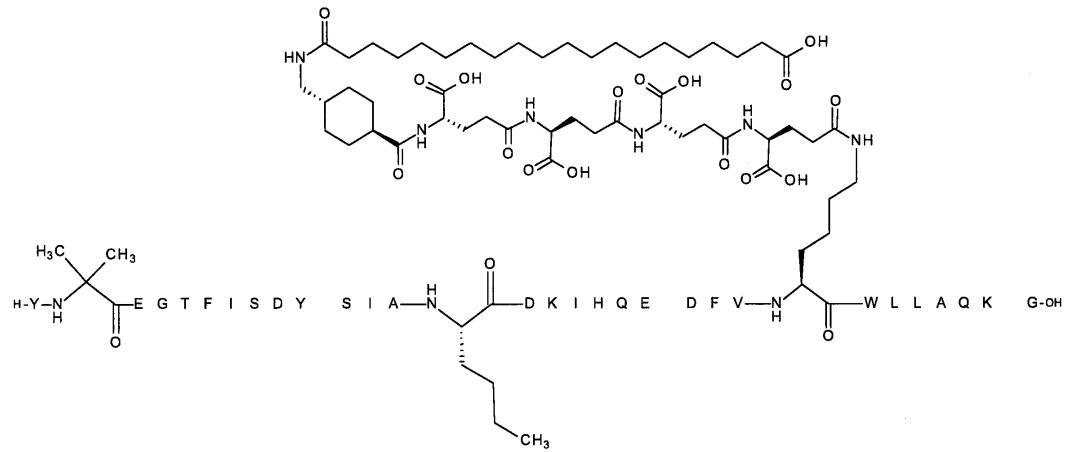


【化 4 2】



30

【化 4 3】

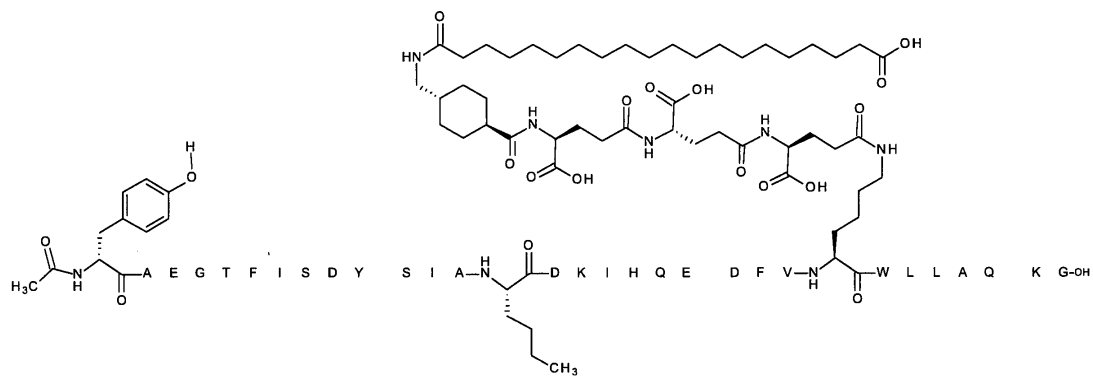


10

N {1} - アセチル, N {イブシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[4- [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [D-Tyr1, Nle14, Glu20, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物 22、配列番号 27)

20

【化 4 4】

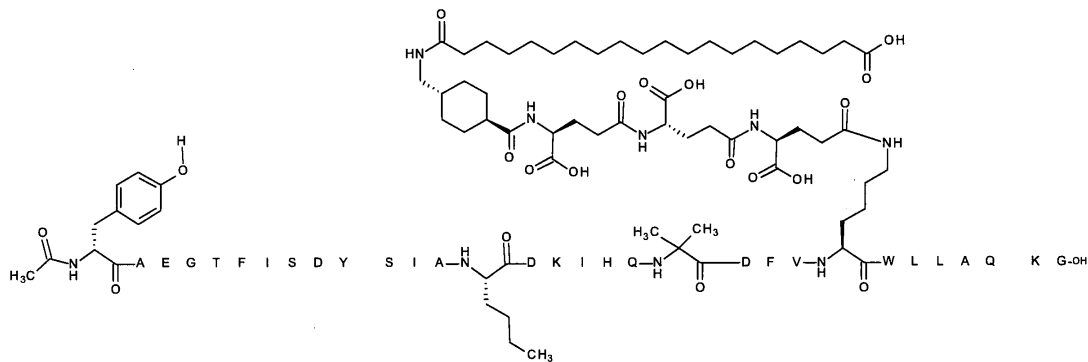


30

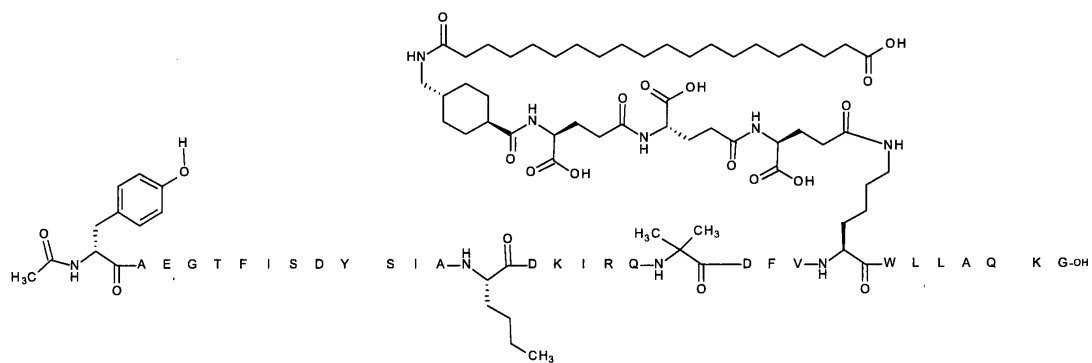
N {1} - アセチル, N {イブシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[4- [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Glu20, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物 23、配列番号 28)

Chemical structure of the 12th peptide, showing a long chain of amino acids with various side chains, including a long fatty acid chain and a hydroxyl group.

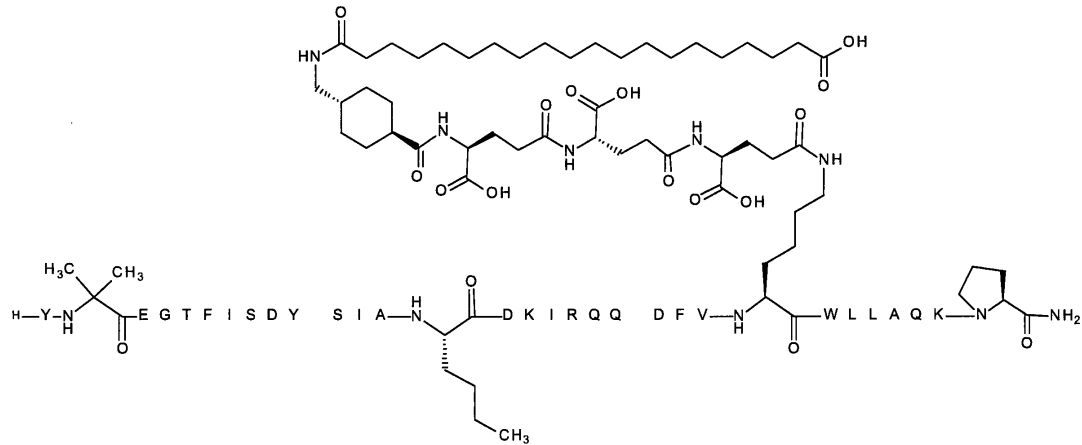
【化 4 6】



【化 4 7】



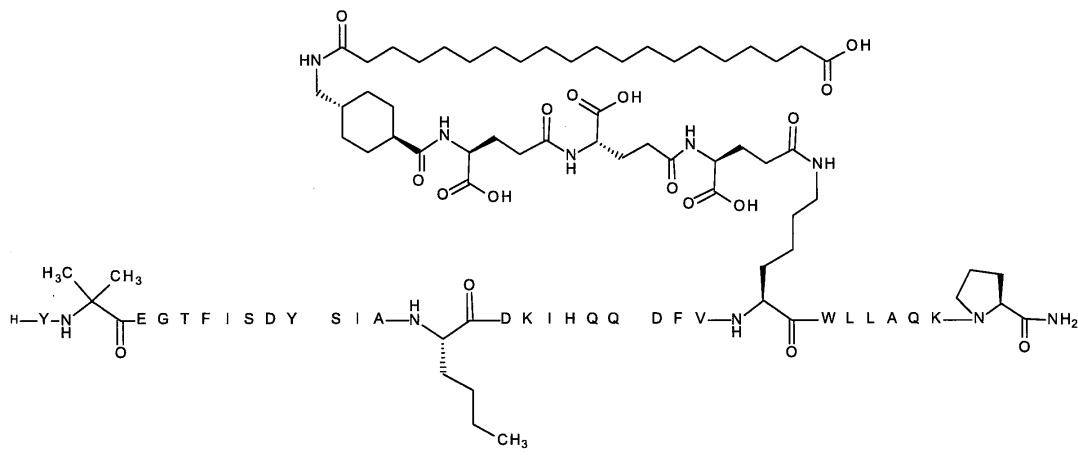
N {イプシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ] -ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Pro31] - hGIP (1-31) アミド (化合物26、配列番号31)
【化48】



10

N {イプシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ] -ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Lys24, Pro31] - hGIP (1-31) アミド (化合物27、配列番号32)
【化49】

20



30

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ] -ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Lys24, Pro31] - hGIP (1-31) アミド (化合物28、配列番号33)

40

[illegible]

;

20

[illegible]

•

40

•
;

20

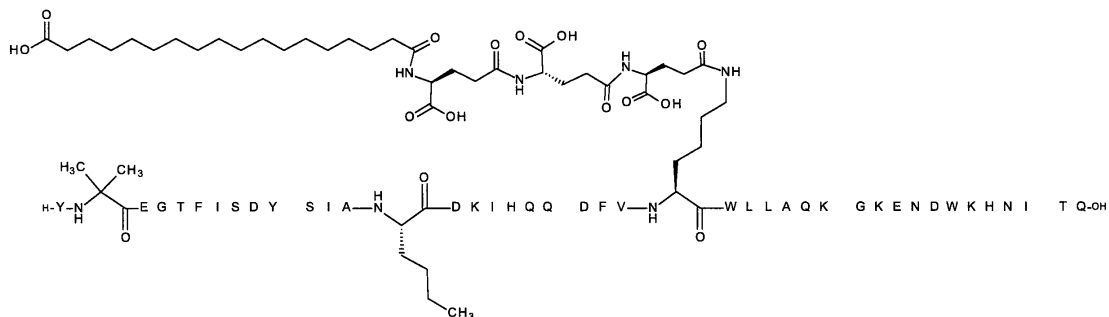
Chemical structure of the 12th peptide, showing a long fatty acid chain, a cyclohexane ring, and a complex peptide backbone with various side chains including a phenol, a branched alkyl, and a pyrrolidine.

Chemical structure of the 12th peptide, showing a long chain with various side chains including a long fatty acid, a cyclohexane ring, a carboxylic acid, a hydroxyl group, a methyl group, and a proline ring.

;

N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4-[[[(4S) - 4-カルボキシ-4-[[[(4S) - 4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Lys24, Glu33] - hGIP (化合物33、配列番号38)

【化 5 5】

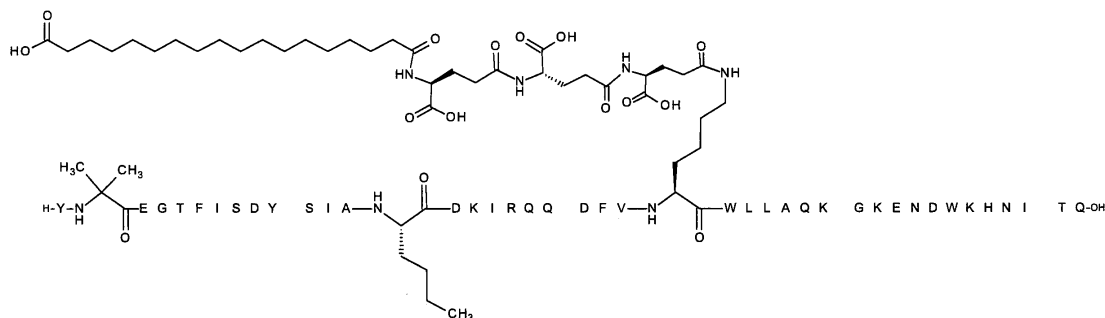


10

;

N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Glu33] - hGIP (化合物34、配列番号39)

【化 5 6】



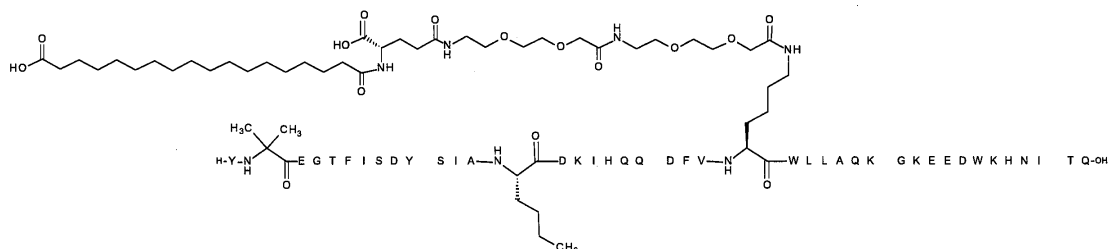
20

;

N {イプシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [Aib2, Nle14, Lys24, Glu33, Glu34] - hGIP (化合物35、配列番号40)

30

【化 5 7】

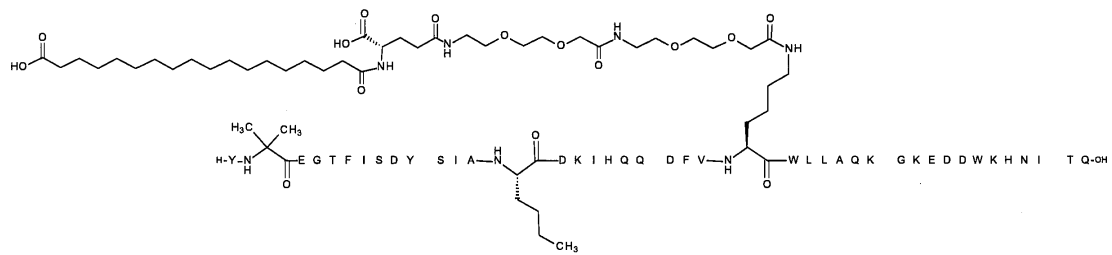


40

;

N {イプシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [Aib2, Nle14, Lys24, Glu33, Asp34] - hGIP (化合物36、配列番号41)

【化 5 8】

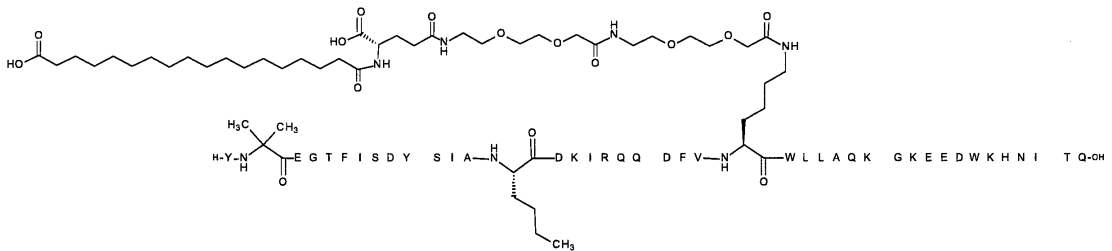


;

10

N {イプシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4 - カルボキシ-4 - (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Glu33, Glu34] - hGIP (化合物 37、配列番号 42)

【化 5 9】



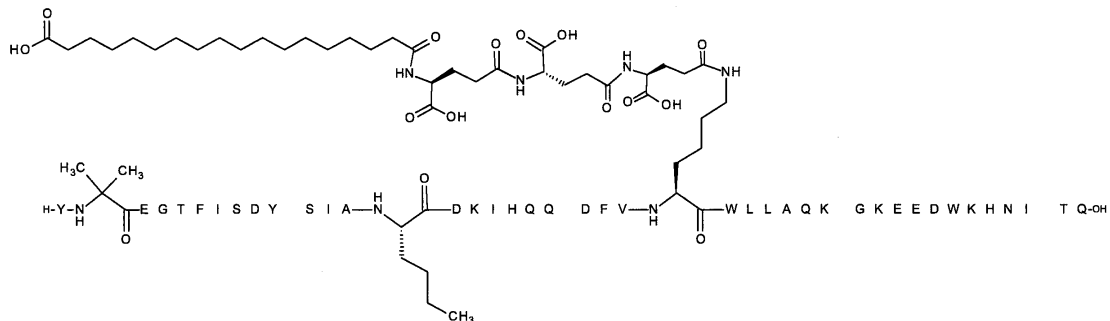
;

20

N {イプシロン-24} - [(4S) - 4 - カルボキシ-4 - [[[(4S) - 4 - カルボキシ-4 - [[[(4S) - 4 - カルボキシ-4 - (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Lys24, Glu33, Glu34] - hGIP (化合物 38、配列番号 43)

30

【化 6 0】

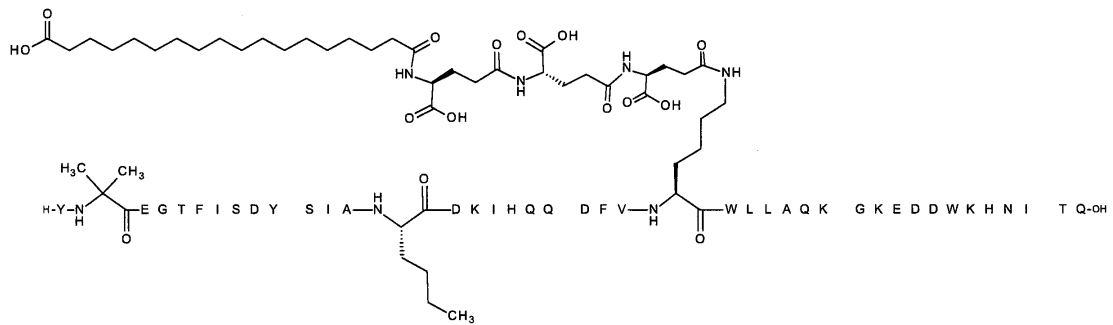


;

40

N {イプシロン-24} - [(4S) - 4 - カルボキシ-4 - [[[(4S) - 4 - カルボキシ-4 - [[[(4S) - 4 - カルボキシ-4 - (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Lys24, Glu33, Asp34] - hGIP (化合物 39、配列番号 44)

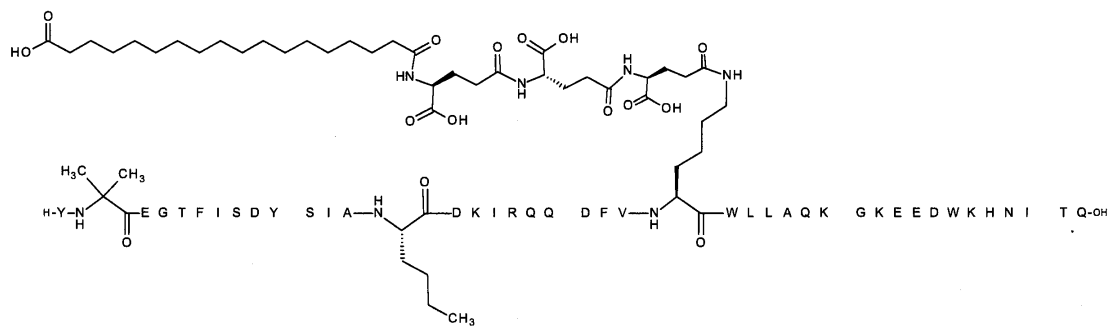
【化 6 1】



10

N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Glu33, Glu34] - hGIP (化合物40、配列番号45)

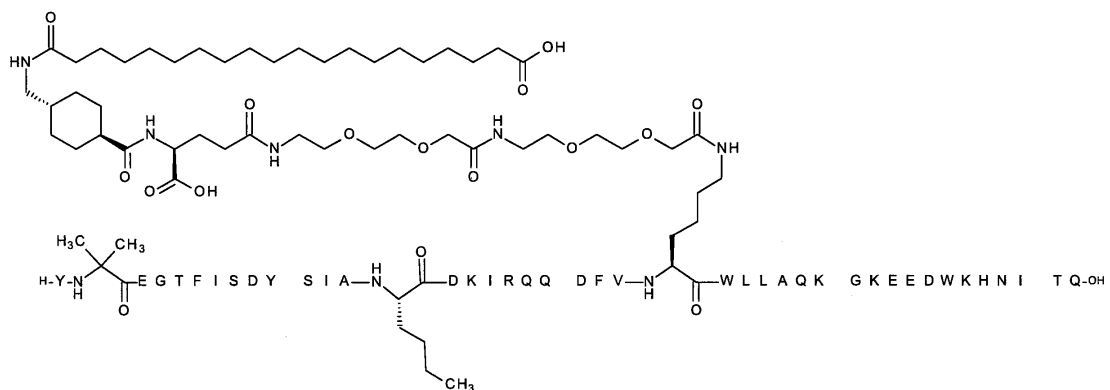
【化 6 2】



20

N {イプシロン-24} - [2- [2- [2- [[2- [2- [2- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[4- [(19-カルボキシノンデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Glu33, Glu34] - hGIP (化合物41、配列番号46)

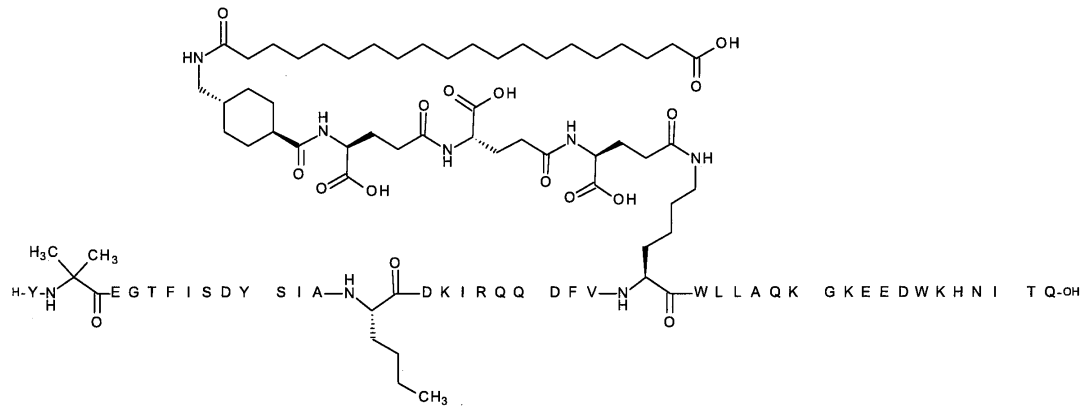
【化 6 3】



40

50

N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[4- [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Glu33, Glu34] - hGIP (化合物42、配列番号47)
【化64】

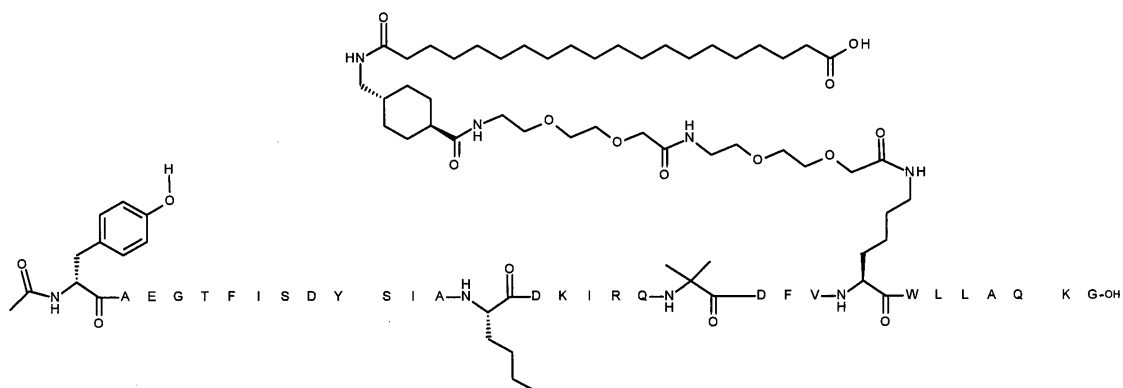


10

;

20

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [2- [2- [2- [[2- [2- [2- [[4- [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Aib20, Lys24] - hGIP (1-31) (化合物43、配列番号59)
【化65】



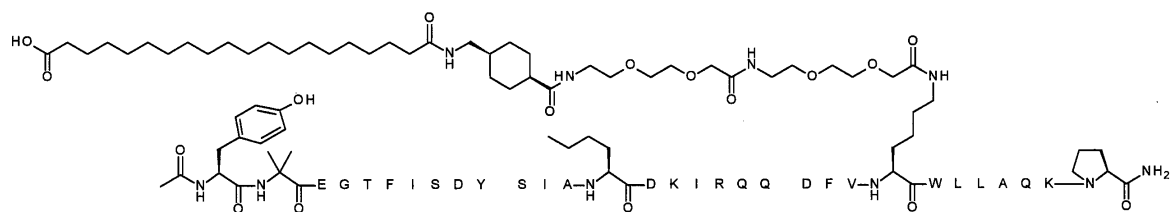
30

;

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [2- [2- [2- [[2- [2- [2- [[4- [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [D-Tyr1, Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Pro31] - hGIP (1-31) アミド (化合物44、配列番号60)

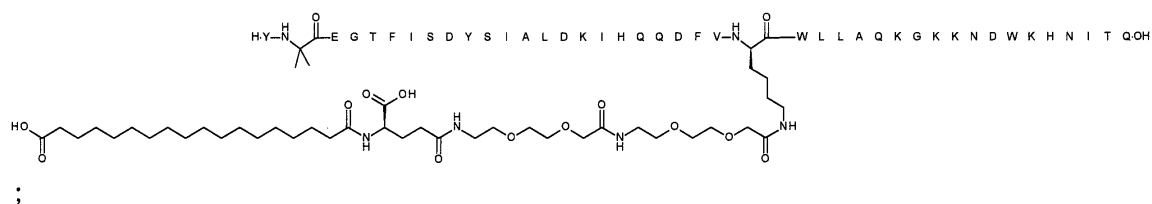
40

【化 6 6】



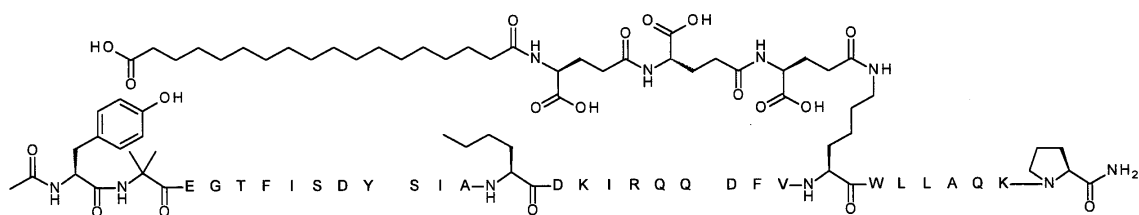
N {イプシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [(4S) - 4 - カルボキシ-4 - (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [Aib2, Leu14, Lys24] - hGIP (化合物45、配列番号61)

【化 6 7】



N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4S) - 4 - カルボキシ-4 - [(4S) - 4 - カルボキシ-4 - [(4S) - 4 - カルボキシ-4 - (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [D-Tyr1, Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Pro31] - hGIP (1-31) アミド (化合物46、配列番号62)

【化 6 8】



【0195】

69. 化合物番号1～32、43～44、46から選択される、実施形態68に記載の誘導体。

【0196】

70. 化合物番号1～25、30、43から選択される、実施形態68～69のいずれか一つに記載の誘導体。

【0197】

71. 化合物番号5である、実施形態68～70のいずれか一つに記載の誘導体。

【0198】

72. 化合物番号25である、実施形態68～70のいずれか一つに記載の誘導体。

【0199】

73. 化合物番号26～29、31～32、44、46から選択される、実施形態68～69のいずれか一つに記載の誘導体。

【0200】

10

20

30

40

50

74. 化合物番号 31 である、実施形態 68～69、73 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0201】

75. 化合物番号 33～42、45 から選択される、実施形態 68 に記載の誘導体。

【0202】

76. ヒト GIP 受容体でのアゴニストである、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0203】

77. ヒト GIP 受容体を活性化することができる、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

10

【0204】

78. ヒト GIP 受容体を発現している全細胞を用いたアッセイでヒト GIP 受容体を活性化することができる、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0205】

79. 本明細書に記述された実施例 2 などの、CREルシフェラーゼアッセイでヒト GIP 受容体を活性化することができる、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0206】

80. 本明細書に記述された実施例 2 で決定されるものなど、900 pM 以下の EC₅₀ を有する、ヒト GIP 受容体でのアゴニストである、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

20

【0207】

81. 本明細書に記述された実施例 2 で決定されるものなど、500 pM 以下の EC₅₀ を有する、ヒト GIP 受容体でのアゴニストである、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0208】

82. 本明細書に記述された実施例 2 で決定されるものなど、200 pM 以下の EC₅₀ を有する、ヒト GIP 受容体でのアゴニストである、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0209】

30

83. ヒト GLP-1 受容体およびヒトグルカゴン受容体よりもヒト GIP 受容体に対して選択的である、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0210】

84. ヒト GLP-1 受容体およびヒトグルカゴン受容体におけるよりもヒト GIP 受容体においてより低い EC₅₀ を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0211】

85. 本明細書に記述された実施例 2 で決定されるものなど、CREルシフェラーゼアッセイでヒト GLP-1 受容体において 100000 pM を超える EC₅₀ を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

40

【0212】

86. 本明細書に記述された実施例 2 で決定されるものなど、CREルシフェラーゼアッセイでヒト GLP-1 受容体において 10000 pM を超える EC₅₀ を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0213】

87. 本明細書に記述された実施例 2 など、CREルシフェラーゼアッセイでヒトグルカゴン受容体において 100000 pM を超える EC₅₀ を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0214】

88. 改善された薬物動態特性を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の

50

誘導体。

【0215】

89. 増加した半減期を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0216】

90. ミニブタで決定されるとき、増加した半減期を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0217】

91. 改善された物理的安定性を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0218】

92. 本明細書に記述された実施例4で決定されるものなど、ThT細線維化アッセイで95パーセントを超える回収率を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0219】

93. 本明細書に記述された実施例4で決定されるものなど、ThT細線維化アッセイで45時間を超えるラグタイムを有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0220】

94. 低いDLS-SI値を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0221】

95. 本明細書に記述された実施例4で決定されるものなど、7未満、好ましくは2未満のDLS-SI値を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0222】

96. 本明細書に記述された実施例4で決定されるものなど、DLS-SIアッセイで沈殿を示さない、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0223】

97. 改善された化学的安定性を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0224】

98. 本明細書に記述された実施例5で決定されるものなど、1カ月あたり2パーセント以下のHMWPの形成を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0225】

99. 本明細書に記述された実施例5で決定されるものなど、1カ月あたり35パーセント以下の純度損失を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0226】

100. 本明細書に記述された実施例5で決定されるものなど、1カ月あたり6パーセント以下の純度損失を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0227】

101. 本明細書に記述された実施例6など、DIDマウスの亜慢性試験で決定される食物摂取減少のインビボ効果を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0228】

102. 本明細書に記述された実施例6など、DIDマウスの亜慢性試験で決定される体重減少誘発のインビボ効果を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0229】

103. 本明細書に記述された実施例6など、DIDマウスの亜慢性試験で決定されるインビボの耐糖能改善効果を有する、先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体。

【0230】

10

20

30

40

50

104. 先行する実施形態のいずれか一つに記載の誘導体、および少なくとも一つの薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。

【0231】

105. 実施形態1～103のいずれか一つに記載の誘導体、GLP-1受容体アゴニスト、および少なくとも一つの薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。

【0232】

106. 実施形態1～103のいずれか一つに記載の誘導体、GLP-1／グルカゴン受容体コアゴニスト、および少なくとも一つの薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。

【0233】

107. GLP-1受容体アゴニストがリラグルチドである、実施形態105に記載の医薬組成物。

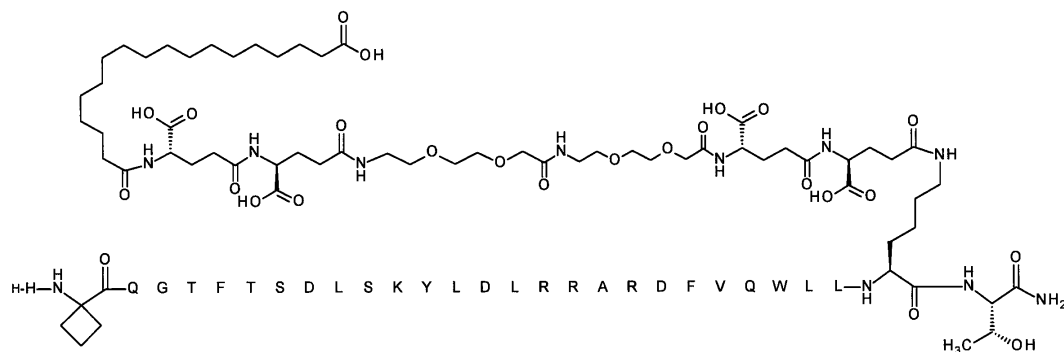
【0234】

108. GLP-1受容体アゴニストがセマグルチド（配列番号57）である、実施形態105に記載の医薬組成物。

【0235】

109. GLP-1／グルカゴン受容体コアゴニストが、N {イブシロン-28} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [Ac b 2, Leu 10, Leu 16, Arg 20, Leu 27, Lys 28] - グルカゴンアミド（配列番号52）である、実施形態106に記載の医薬組成物：

【化69】



【0236】

110. GLP-1／グルカゴン受容体コアゴニストが、N {イブシロン-28} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ] - 3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ] - 3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ] - [Aib 2, Leu 10, Glu 15, Lys 17, Arg 20, Glu 21, Leu 27, Lys 28] - グルカゴンアミド（配列番号53）である、実施形態106に記載の医薬組成物：

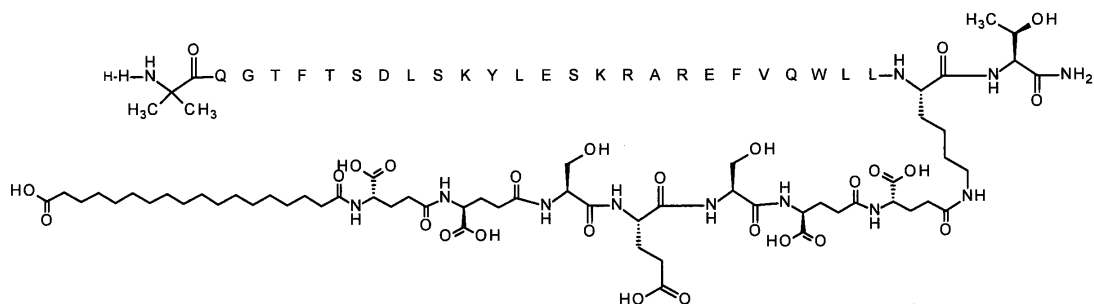
10

20

30

40

【化 7 0】



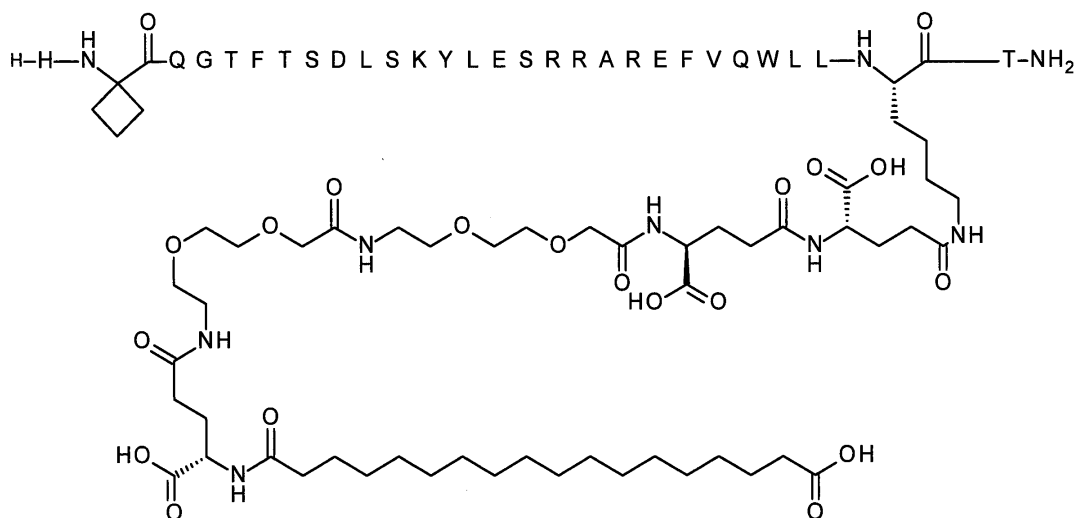
10

【0 2 3 7】

111. GLP-1 / グルカゴン受容体コアゴニストが、N {イブシロン-28} - [(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [[(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [[2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - (17 - カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Ac b 2, Leu 10, Glu 15, Arg 20, Glu 21, Leu 27, Lys 28] - グルカゴンアミド (配列番号 54) である、実施形態 106 に記載の医薬組成物：

【化 7 1】

20



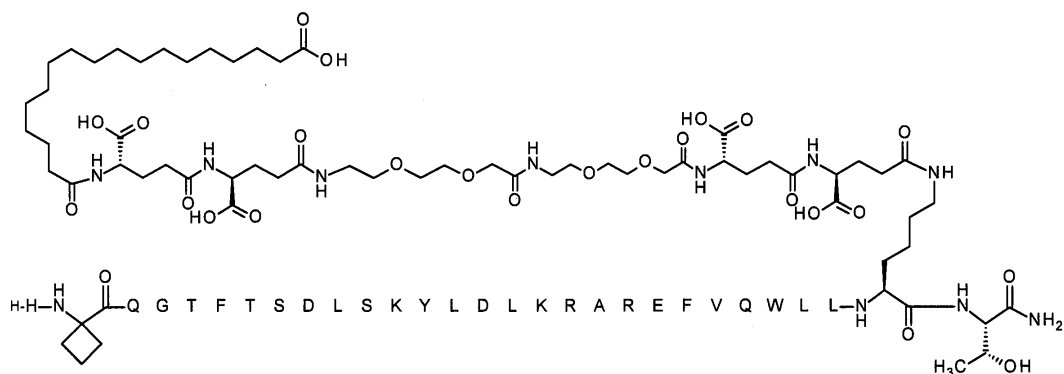
30

【0 2 3 8】

112. GLP-1 / グルカゴン受容体コアゴニストが、N {イブシロン-28} - [(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [[(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [[2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [[(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - (17 - カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Ac b 2, Leu 10, Leu 16, Lys 17, Arg 20, Glu 21, Leu 27, Lys 28] - グルカゴンアミド (配列番号 55) である、実施形態 106 に記載の医薬組成物：

40

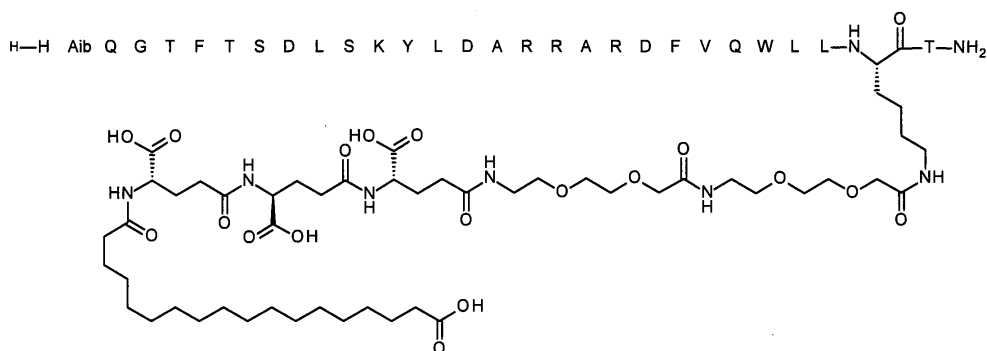
【化 7 2】



【0 2 3 9】

113. GLP-1 / グルカゴン受容体コアゴニストが、N {イブシロシ-28} - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - (17 - カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [Aib 2, Leu 10, Ala 16, Arg 20, Leu 27, Lys 28] - グルカゴンアミド (配列番号 56) である、実施形態 106 に記載の医薬組成物：

【化 7 3】



【0 2 4 0】

114. 誘導体が配列番号 10 である、実施形態 104 ~ 113 のいずれか一つに記載の医薬組成物。

【0 2 4 1】

115. 誘導体が配列番号 30 である、実施形態 104 ~ 113 のいずれか一つに記載の医薬組成物。

【0 2 4 2】

116. 誘導体が配列番号 36 である、実施形態 104 ~ 113 のいずれか一つに記載の医薬組成物。

【0 2 4 3】

117. 薬剤として使用するための、実施形態 104 ~ 116 のいずれか一つに記載の医薬組成物。

【0 2 4 4】

118. 薬剤として使用するための、実施形態 1 ~ 103 のいずれか一つに記載の誘導体。

【0 2 4 5】

119. (i) 高血糖症、2 型糖尿病、耐糖能障害、1 型糖尿病、非インスリン依存性

10

20

30

40

50

糖尿病、MODY（若年発症成人型糖尿病）、妊娠糖尿病などすべての形態の糖尿病の予防および／もしくは治療、ならびに／またはHbA1Cの低減、

（i i）2型糖尿病の進行などの糖尿病疾患の進行の遅延または予防、耐糖能障害（IGT）からインスリンを必要とする2型糖尿病への進行の遅延、インスリン耐性の遅延または予防、および／またはインスリンを必要としない2型糖尿病からインスリンを必要とする2型糖尿病への進行の遅延、

（i i i）例えば、食事量の減少、体重減少、食欲の抑制、満腹感の誘発による、肥満などの摂食障害の予防および／もしくは治療；過食性障害、神経性大食症、および／もしくは抗精神病薬もしくはステロイドの投与によって誘発された肥満の治療もしくは予防；胃内容排出の遅延；身体的可動性の増加；ならびに／または骨関節炎および／もしくは尿失禁などの肥満の共存疾患の予防および／もしくは治療、

10

（i v）（薬剤誘発性または食事と運動による）減量成功後の体重維持 - すなわち、減量成功後の体重増加の予防、

（v）脂肪肝、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、肝臓炎または脂肪肝などの肝臓障害の予防および／または治療、の治療に使用するための実施形態1～103のいずれか一つに記載の誘導体。

20

【0246】

120. 高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、非インスリン依存性糖尿病、MODY（若年発症成人型糖尿病）、妊娠糖尿病などすべての形態の糖尿病の予防および／もしくは治療、ならびに／またはHbA1Cの低減に使用するための、実施形態1～103のいずれか一つに記載の誘導体。

【0247】

121. 2型糖尿病の進行などの糖尿病疾患の進行の遅延または予防、耐糖能障害（IGT）からインスリンを必要とする2型糖尿病への進行の遅延、インスリン耐性の遅延または予防、および／またはインスリンを必要としない2型糖尿病からインスリンを必要とする2型糖尿病への進行の遅延に使用するための、実施形態1～103のいずれか一つに記載の誘導体。

30

【0248】

122. 例えば、食事量の減少、体重減少、食欲の抑制、満腹感の誘発による、肥満などの摂食障害の予防および／もしくは治療；過食性障害、神経性大食症、および／もしくは抗精神病薬もしくはステロイドの投与によって誘発された肥満の治療もしくは予防；胃内容排出の遅延；身体的可動性の増加；ならびに／または骨関節炎および／もしくは尿失禁などの肥満の共存疾患の予防および／もしくは治療に使用するための、実施形態1～103のいずれか一つに記載の誘導体。

【0249】

123. （薬剤誘発性または食事と運動による）減量成功後の体重維持 - すなわち、減量成功後の体重増加の予防に使用するための、実施形態1～103のいずれか一つに記載の誘導体。

40

【0250】

124. 脂肪肝、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、肝臓炎または脂肪肝などの肝臓障害の予防および／または治療に使用するための、実施形態1～103のいずれか一つに記載の誘導体。

【0251】

125. 体重管理、肥満および肥満に関連する障害の治療および／または予防に使用するための、実施形態1～103のいずれか一つに記載の誘導体。

【0252】

50

126. 例えば、2型糖尿病などの糖尿病のすべての形態、および糖尿病に関連する障害の治療および／または予防に使用するための、実施形態1～103のいずれか一つに記載の誘導体。

【0253】

127. (i) 高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、非インスリン依存性糖尿病、MODY（若年発症成人型糖尿病）、妊娠糖尿病などすべての形態の糖尿病の予防および／もしくは治療、ならびに／またはHbA1Cの低減、

(ii) 2型糖尿病の進行などの糖尿病疾患の進行の遅延または予防、耐糖能障害（IGT）からインスリンを必要とする2型糖尿病への進行の遅延、インスリン耐性の遅延または予防、および／またはインスリンを必要としない2型糖尿病からインスリンを必要とする2型糖尿病への進行の遅延、

10

(iii) 例えば、食事量の減少、体重減少、食欲の抑制、満腹感の誘発による、肥満などの摂食障害の予防および／もしくは治療；過食性障害、神経性大食症、および／もしくは抗精神病薬もしくはステロイドの投与によって誘発された肥満の治療もしくは予防；胃内容排出の遅延；身体的可動性の増加；ならびに／または骨関節炎および／もしくは尿失禁などの肥満の共存疾患の予防および／もしくは治療、

(iv)（薬剤誘発性または食事と運動による）減量成功後の体重維持 - すなわち、減量成功後の体重増加の予防、

20

(v) 脂肪肝、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、肝臓炎または脂肪肝などの肝臓障害の予防および／または治療のための薬剤の製造を目的とする、実施形態1～103のいずれか一つに記載の誘導体の使用。

【0254】

128. 高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、非インスリン依存性糖尿病、MODY（若年発症成人型糖尿病）、妊娠糖尿病などのすべての形態の糖尿病の予防および／もしくは治療、ならびに／またはHbA1Cの低減のための薬剤の製造を目的とする、実施形態1～103のいずれか一つに記載の誘導体の使用。

30

【0255】

129. 2型糖尿病の進行などの糖尿病疾患の進行の遅延または予防、耐糖能障害（IGT）からインスリンを必要とする2型糖尿病への進行の遅延、インスリン耐性の遅延または予防、および／またはインスリンを必要としない2型糖尿病からインスリンを必要とする2型糖尿病への進行の遅延のための薬剤の製造を目的とする、実施形態1～103のいずれか一つに記載の誘導体の使用。

【0256】

130. 例えば、食事量の減少、体重減少、食欲の抑制、満腹感の誘発による、肥満などの摂食障害の予防および／もしくは治療；過食性障害、神経性大食症、および／もしくは抗精神病薬もしくはステロイドの投与によって誘発された肥満の治療もしくは予防；胃内容排出の遅延；身体的可動性の増加；ならびに／または骨関節炎および／もしくは尿失禁などの肥満の共存疾患の予防および／もしくは治療のための薬剤の製造を目的とする、実施形態1～103のいずれか一つに記載の誘導体の使用。

40

【0257】

131.（薬剤誘発性または食事と運動による）減量成功後の体重維持 - すなわち、減量成功後の体重増加の予防のための薬剤の製造を目的とする、実施形態1～103のいずれか一つに記載の誘導体の使用。

【0258】

132. 脂肪肝、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、肝臓炎または脂肪肝などの肝臓障害の予防および／または治療のため

50

の薬剤の製造を目的とする、実施形態 1 ～ 1 0 3 のいずれか一つに記載の誘導体の使用。

【0 2 5 9】

133. 体重管理、肥満および肥満に関連する障害の治療および／または予防のための薬剤の製造を目的とする、実施形態 1 ～ 1 0 3 のいずれか一つに記載の誘導体の使用。

【0 2 6 0】

134. 例えば、2 型糖尿病などの糖尿病のすべての形態、および糖尿病に関連する障害の治療および／または予防のための薬剤の製造を目的とする、実施形態 1 ～ 1 0 3 のいずれか一つに記載の誘導体の使用。

【0 2 6 1】

135. 実施形態 1 ～ 1 0 3 のいずれか一つに記載の誘導体の薬学的に活性な量を投与する工程を含む、高血糖症、2 型糖尿病、耐糖能障害、1 型糖尿病、非インスリン依存性糖尿病、M O D Y（若年発症成人型糖尿病）、妊娠糖尿病などのすべての形態の糖尿病の予防および／もしくは治療、ならびに／または H b A 1 C の低減のための方法。

10

【0 2 6 2】

136. 実施形態 1 ～ 1 0 3 のいずれか一つに記載の誘導体の薬学的に活性な量を投与する工程を含む、2 型糖尿病の進行などの糖尿病疾患の進行の遅延または予防、耐糖能障害（I G T）からインスリンを必要とする 2 型糖尿病への進行の遅延、インスリン耐性の遅延または予防、および／またはインスリンを必要としない 2 型糖尿病からインスリンを必要とする 2 型糖尿病への進行の遅延の方法。

【0 2 6 3】

20

137. 実施形態 1 ～ 1 0 3 のいずれか一つに記載の誘導体の薬学的に活性な量を投与する工程を含む、例えば、食事量の減少、体重減少、食欲の抑制、満腹感の誘発による、肥満などの摂食障害の予防および／もしくは治療；過食性障害、神経性大食症、および／もしくは抗精神病薬もしくはステロイドの投与によって誘発された肥満の治療もしくは予防；胃内容排出の遅延；身体的可動性の増加；ならびに／または骨関節炎および／もしくは尿失禁などの肥満の共存疾患の予防および／もしくは治療の方法。

【0 2 6 4】

138. 実施形態 1 ～ 1 0 3 のいずれか一つに記載の誘導体の薬学的に活性な量を投与する工程を含む、（薬剤誘発性または食事と運動による）減量成功後の体重維持 - すなわち、減量成功後の体重増加の予防の方法。

30

【0 2 6 5】

139. 実施形態 1 ～ 1 0 3 のいずれか一つに記載の誘導体の薬学的に活性な量を投与する工程を含む、脂肪肝、非アルコール性脂肪性肝疾患（N A F L D）、非アルコール性脂肪性肝炎（N A S H）、肝臓炎または脂肪肝などの肝臓障害の予防および／または治療の方法。

【0 2 6 6】

140. 実施形態 1 ～ 1 0 3 のいずれか一つに記載の誘導体の薬学的に活性な量を投与する工程を含む、体重管理、肥満および肥満に関連する障害の治療および／または予防の方法。

【0 2 6 7】

40

141. 実施形態 1 ～ 1 0 3 のいずれか一つに記載の誘導体の薬学的に活性な量を投与する工程を含む、例えば、2 型糖尿病などの糖尿病のすべての形態、および糖尿病に関連する障害の治療および／または予防の方法。

【実施例】

【0 2 6 8】

この実験部分は、略語のリストで始まり、その後に本発明の類似体および誘導体を合成および特徴付けるための一般的な方法を含む節が続く。次に、本発明の特定の誘導体の調製に関連する多数の実施例が続き、最後にこれらの類似体および誘導体の活性および特性に関連して多数の実施例が含まれている（薬理学的方法という見出しの節）。

【0 2 6 9】

50

実施例は、本発明を例証する役割を果たす。

材料および方法

略語リスト

【0270】

以下の略語はアルファベット順であり、以下で使用される：

Ac：	アセチル	
Ado：	8-アミノ-3, 6-ジオキサオクタン酸	
Aib：	アルファ-アミノイソ酪酸	
AUC：	曲線下面積	
BHK：	ベビーハムスター腎臓	10
Boc：	t-ブチルオキシカルボニル	
BW：	体重	
DCC：	ジシクロヘキシルカルボジイミド	
DCM：	ジクロロメタン	
DIC：	ジイソプロピルカルボジイミド	
DIO：	食餌誘発性肥満	
Dipea：	N, N-ジイソプロピルエチルアミンまたはヒューニッヒ塩基	
DLS-SI：	動的光散乱安定性指標	
DMEM：	ダルベッコ改変イーグル培地	
DMF：	ジメチルホルムアミド	20
DODT：	3, 6-ジオキサ-1, 8-オクタンジチオール	
EDTA：	エチレンジアミン-テトラ酢酸	
ELISA：	酵素結合免疫吸着測定法	
FBS：	ウシ胎児血清	
Fmoc：	9-フルオレニルメチルオキシカルボニル	
GIP：	グルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド	
GLP-1：	グルカゴン様ペプチド1	
HFIP：	1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロ-2-プロパノールまたはヘキサフルオロイソプロパノール	
HMWP：	高分子量タンパク質	30
HOBT：	1-ヒドロキシベンゾトリアゾール	
HPLC：	高速液体クロマトグラフィー	
HSA：	ヒト血清アルブミン	
i. p.：	腹腔内	
IPGTT：	腹腔内ブドウ糖負荷試験	
i. v.：	静脈内	
kcal：	キロカロリー	
kg：	キログラム	
LCMS：	液体クロマトグラフィー質量分析	
MeCN：	アセトニトリル	40
mM：	ミリモル濃度	
Mtt：	4-メチルトリチル	
Nle：	ノルロイシン	
NMP：	N-メチルピロリドン	
Oxyma Pure（登録商標）：	シアノーヒドロキシイミノ-酢酸エチルエステル	
PBS：	リン酸緩衝生理食塩水	
PK：	薬物動態学的	
pM：	ピコモル濃度	
QToF：	定量的飛行時間法	
R _h ：	ストークス半径	50

s. c. :	皮下
SD :	標準偏差
SEC-HPLC :	サイズ排除高圧液体クロマトグラフィー
SEC-MS :	サイズ排除クロマトグラフィー質量分析法
SEM :	平均値の標準誤差
t Bu :	t-ブチル
TFA :	トリフルオロ酢酸
ThT :	チオフラビンT
TIC :	トリイソプロピルシラン
Trt :	トリフェニルメチル (トリチル)
Trx :	トラネキサム酸
UPLC :	超高速液体クロマトグラフィー

10

【0271】

調製の一般的な方法

この節は、固相ペプチド合成 (SPPS法、アミノ酸の脱保護方法、樹脂からのペプチドを切断する方法、およびその精製方法を含む) ならびに結果的に得られるペプチドを検出して特徴付ける方法 (LCMS方法) に関連する。

【0272】

C末端ペプチドアミドの調製に用いられた樹脂は、PAL Amide AM樹脂 (例えば、0.6 mmol/g 負荷) またはH-Rink Amide-ChemMatrix樹脂 (例えば、0.5 mmol/g 負荷) またはRink Amide AMポリスチレン樹脂 (例えば、0.3~0.7 mmol/g 負荷) であった。C末端ペプチドグリシル酸の調製に用いられた樹脂は、Fmoc-Gly-Wangポリスチレン樹脂 (例えば、0.3~0.7 mmol/g 負荷) であった。

20

【0273】

別段の記載がない限り、使用されたFmoc保護アミノ酸誘導体は、推奨される標準品であった： Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Asn(Trt)-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Cys(Trt)-OH、Fmoc-Gln(Trt)-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-His(Trt)-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-Met-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Trp(Boc)-OH (方法SPPSおよびSPPS_Dの場合) またはFmoc-Trp-OH (方法SPPS_BおよびSPPS_Cの場合)、Fmoc-Tyr(tBu)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Lys(Mtt)-OH、Fmoc-Aib-OH、Fmoc-Nle-OH、Fmoc-D-Tyr-(tBu)-OHなどで、例えばAAPPTeC, Anaspec, Bachem, ChemImpex, Iris Biotech, Midwest Biotech, Gyros Protein TechnologiesまたはNovabiochemから提供された。他に何も指定されていない場合、アミノ酸の天然L型が使用される。N末端アミノ酸がアセチル化されていなかった場合、N末端アミノ酸は、Boc基を事前導入した試薬 (例えば、N末端にTyrを有するペプチドに対してはBoc-Tyr(tBu)-OH) を使用することにより、またはペプチドN末端のアミノ酸導入後、N末端Fmoc保護基をBoc保護基と交換することにより、アルファアミノ基においてBoc保護された。

30

40

【0274】

SPPSを使用したモジュラーアルブミン結合部分付加の場合、Fmoc-8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸 (Fmoc-Ado-OH)、Fmoc-トラネキサム酸 (Fmoc-Trx-OH)、Fmoc-Glu-OtBu、オクタデカン二酸モノ-tert-ブチルエステル、ノナデカン二酸モノ-tert-ブチルエステル、エイコサン

50

二酸モノ-tert-ブチルエステル、テトラデカン二酸モノ-tert-ブチルエステル、または4-(9-カルボキシノニロキシ)安息香酸tert-ブチルエステルなどであるが、これらに限定されない、適切な保護ビルディングブロックを使用した。以下に記載するすべての操作は、100~450 μmol 合成スケール範囲内で実施した。

【0275】

樹脂に結合した保護骨格の合成

方法：SPPS_A

SPPSは、Protein Technologies (米国アリゾナ州ツーソン85714)製のSymphony X Solid Phase Peptide Synthesizer (Symphony X固相ペプチド合成装置)上でのFmocベースの化学を使用して実施した。Fmoc脱保護は、0.1MのOxyma Pure (登録商標)を含有する20%ピペリジンのDMF溶液で達成した。ペプチドカップリングは、DIC/Oxyma Pure (登録商標)を使用して実施した。アミノ酸/Oxyma Pure (登録商標)溶液(4~8倍モル過剰の0.3M/0.3M DMF溶液)を樹脂に加え、その後、同じモル当量のDIC(1.5MのDMF溶液)およびコリジン(1.5MのDMF溶液)を加えた。段階的な構築は以下の工程を使用して行った: 1) DCMおよびDMFを使用した樹脂の予備膨潤、2) 0.1M Oxyma Pure (登録商標)を含有する20%ピペリジンのDMF溶液の使用によるFmoc脱保護(それぞれ10分間の処理を2回)、3) ピペリジンを除去するためのDMF洗浄、4) 0.3M Oxyma Pure (登録商標)のDMF溶液中の0.3M溶液としてのFmoc-アミノ酸4~8当量を、当モル容量のDICおよびコリジンと1~2時間混合することによるFmoc-アミノ酸のカップリング、5) 過剰試薬を除去するためのDMF洗浄、6) 構築完了時のDCMを使用した最終洗浄。N末端アセチル化を有するペプチドについては、Fmoc脱保護ペプチジル樹脂をDMF中1M無水酢酸で30~60分間処理し、その後DMFおよびDCMで洗浄した。

【0276】

方法：SPPS_B

保護されたペプチジル樹脂は、Applied Biosystems 431A固相ペプチド合成装置上で、製造業者から支給された一般的なFmocプロトコルを使用し、Fmoc方法に従って合成した。混合は、ボルテックスおよび時折の窒素バブリングで達成した。段階的な構築は以下の工程を使用して行った: 1) 20%ピペリジンのNMP溶液の使用によるFmoc脱保護(3分間の処理1回に続いて15分間の処理1回)、2) ピペリジンを除去するためのNMP洗浄、3) Fmoc-アミノ酸の5~10当量、DIC、およびHOBTのNMP溶液を、45~90分混合することによるFmoc-アミノ酸のカップリング、4) 過剰試薬を除去するためのNMP洗浄、5) 構築完了時のDCMを使用した最終洗浄。上記の標準的保護アミノ酸誘導体は、事前計量カートリッジで(例えば、Midwest Biotechから)供給され、非標準的誘導体は手動計量した。立体障害型アミノ酸(例えば、Aib)の次に続くアミノ酸などであるが、これらに限定されない一部のアミノ酸は、反応完了を確実にするために「二重カップリング」した、つまり最初のカップリング(例えば、45分)後、樹脂を排出し、さらなる試薬を追加して(Fmoc-アミノ酸、DIC、HOBT)、混合物を再び反応させた(例えば、45分)。N末端アセチル化を有するペプチドについては、Fmoc脱保護ペプチジル樹脂を合成装置から取り出し、手動でDMF中10%(v/v)無水酢酸/10%(v/v)ピリジンで30~60分間処理し、その後DMFおよびDCMで洗浄した。

【0277】

方法：SPPS_C

保護ペプチジル樹脂は、Protein Technologies Symphony X固相ペプチド合成装置上で、製造業者から支給されたプロトコルをわずかに変更し、Fmoc方法に従って合成した。段階的な構築は、次の工程を使用して0.2 mmolベースで行った: 1) DMF中の樹脂の予備膨潤(3x8 mLをそれぞれ15分)、2

） 20%（v/v）ピペリジンのDMF溶液を使用したFmoc脱保護（2 x 8 mLをそれぞれ10分）、3）ピペリジンを除去するためのDMF洗浄（5 x 6 mL）、4）Fmoc-アミノ酸（12当量、2.4 mmol）および0.6 MのDMF溶液（4 mL）としてのOxyma Pure（登録商標）（12当量、2.4 mmol）の混合物を追加し、その後1.2 MのDMF溶液（2 mL）としてのDIC（12当量、2.4 mmol）の追加、および追加的DMF（2 mL）の追加を行い、次に0.5～4時間混合、4）過剰試薬を除去するためのDMF洗浄（3 x 6 mL）、5）構築完了時のDCMを使用した最終洗浄。立体障害型アミノ酸（例えば、Aib）の次に続くアミノ酸などであるが、これらに限定されない一部のアミノ酸は、反応の完了を確実にするために長時間の反応時間（例えば、4時間）でカップリングを行った。N末端アセチル化を有するペプチド、または側鎖の構築（例えば、Bocを保護する基のFmocの交換）前にN末端を保護する基を導入する必要があるペプチドについては、上記の工程2に記述するように、20%（v/v）ピペリジンのDMF溶液との反応によって、N末端Fmoc基を除去した。次に、ペプチジル樹脂を合成装置から取り出し、手動でDMF中10%（v/v）無水酢酸／10%（v/v）DIPEAで30～60分間処理し、その後DMFおよびDCMで洗浄した。

【0278】

方法：SPPS_D

保護ペプチジル樹脂は、Prelude固相ペプチド合成装置（Protein Technologies、米国、ツーソン）上で、製造業者から支給されたプロトコルを使用し、Fmoc方法に従って合成した。カップリングは、NMP中、DCCおよびOxyma Pure（登録商標）（Merck, Novabiochem、スイス）を用いたカップリングを使用して行った。Fmoc-アミノ酸のカップリングは上述のように、樹脂置換（4～8当量）に対して4～8倍過剰のアミノ酸を使用して行った。カップリング時間は1～6時間の範囲であった。Fmoc-Arg(pbf)-OHは、二重カップリング手順（1時間+1時間）を使用してカップリングした。Prelude上の段階的な固相構築は、次の工程を使用して行った：1）25%ピペリジンのNMP溶液を使用した脱保護（Fmocの除去）（2 x 4分）、工程2）NMPおよびDCMでの洗浄（ピペリジンの除去）工程3）1/10容量の3M DCCのNMP溶液および1/10容量のコリジンのNMP溶液の追加によりカップリングを開始し、4～8当量過剰で1～4時間反応を行う、Fmoc-アミノ酸のカップリング（0.3 MのOxyma Pure（登録商標）NMP溶液中0.3 MのFmoc-アミノ酸）。混合は時折の窒素バブリングにより行った、工程4）洗浄（NMPおよびDCMの使用による過剰アミノ酸および試薬の除去）。最後の工程は、修飾基のリジン側鎖への付加のために樹脂を準備する、DCMでの洗浄を含む。

【0279】

樹脂結合保護ペプチド骨格への側鎖の付加

方法：SC_A

N-イプシロン-リジンMtt保護基は、樹脂をピペリジン、DMFおよびDCMで洗浄する前に、HFIP/TIS/DCM（75：2.5：22.5、v/v/v）で洗浄（1 x 5分および2 x 20分）することにより除去した。

【0280】

アシル化は、Protein Technologies社（米国アリゾナ州ツーソン85714）製のSymphony X固相ペプチド合成装置上で、方法SPPS_Aに記述したように、Fmoc-8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸（Fmoc-Ado-OH）、Fmoc-Glu-OtBu、Fmoc-トラネキサム酸（Fmoc-Trx-OH）などであるが、これらに限定されないビルディングブロックの段階的追加を使用して実施した。脂肪酸部分の導入は、方法SPPS_Aおよび、オクタデカン二酸モノ-tert-ブチルエステルまたはエイコサン二酸モノ-tert-ブチルエステルなどであるが、これらに限定されない適切なビルディングブロックを使用して達成した。

【0281】

方法：SC__B

N-イブシロン-リジン保護Mtt保護基は、30%HFIPのDCM溶液で樹脂を2回、それぞれ45分間洗浄した後、DCMおよびDMFで洗浄することにより除去した。アシル化は、Applied Biosystems 431A固相ペプチド合成装置上で、方法SPPS__Bに記述されたプロトコルを使用し、Fmoc-8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸、Fmoc-トラネキサム酸、Fmoc-Glu-OtBu、オクタデカン二酸モノ-tert-ブチルエステル、エイコサン二酸モノ-tert-ブチルエステルなどであるが、これらに限定されないビルディングブロックの段階的追加を使用して実施した。

10

【0282】

方法：SC__C

N-イブシロン-リジンMtt保護基は、30%(v/v)HFIPのDCM溶液で樹脂を2回、それぞれ1時間洗浄した後、DCMおよびDMFで洗浄することにより除去した。

アシル化は、Protein Technologies社(米国アリゾナ州ツーソン85714)製のSymphonyX固相ペプチド合成装置上で、4時間のカップリング時間を用いた方法SPPS__Cに記述したように、Fmoc-8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸(Fmoc-Ado-OH)、Fmoc-Glu-OtBu、Fmoc-トラネキサム酸(Fmoc-Trx-OH)などであるが、これらに限定されないビルディングブロックの段階的追加を使用して実施した。脂肪酸部分の導入は、4時間の時間を用いる方法SPPS__Cおよび、オクタデカン二酸モノ-tert-ブチルエステルまたはエイコサン二酸モノ-tert-ブチルエステルなどであるが、これらに限定されない適切なビルディングブロックを使用して達成した。ビルディングブロックがDMF中0.6Mの保存濃度に適さない特定の場合(例えば、Fmoc-Trx-OHおよびエイコサン二酸モノ-tert-ブチルエステル)、0.3Mの原液濃度を調製し、追加容量を2倍にした。

20

【0283】

方法：SC__D

N-イブシロン-リジン保護Mtt保護基は、樹脂を70%HFIP + 3%TISのDCM溶液で2回、それぞれ15分間洗浄した後、DCMおよびNMPで洗浄することにより除去した。

30

【0284】

アシル化は、Prelude固相合成装置上、方法SPPS__Dに記述されたプロトコルを使用して、Fmoc-8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸、Fmoc-トラネキサム酸、Fmoc-Glu-OtBu、オクタデカン二酸モノ-tert-ブチルエステル、エイコサン二酸モノ-tert-ブチルエステルなどであるが、これらに限定されないビルディングブロックの段階的追加を使用して実施した。

【0285】

方法：SC__E

N-イブシロン-リジンMtt保護基は、樹脂をDMFおよびDCMで洗浄する前に、HFIP/TIS/DCM(75:5:20、v/v/v)で洗浄(2x5分および2x30分)することにより除去した。

40

【0286】

アシル化は、Protein Technologies社(米国アリゾナ州ツーソン85714)製のSymphonyX固相ペプチド合成装置上で、方法SPPS__Aに記述したように、Fmoc-8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸(Fmoc-Ado-OH)、Fmoc-Glu-OtBu、Fmoc-トラネキサム酸(Fmoc-Trx-OH)などであるが、これらに限定されないビルディングブロックの段階的追加を使用して実施した。脂肪酸部分の導入は、方法SPPS__Aおよび、オクタデカン二酸モノ-

50

tert-ブチルエステルまたはエイコサン二酸モノ-tert-ブチルエステルなどであるが、これらに限定されない適切なビルディングブロックを使用して達成した。

【0287】

樹脂結合ペプチドの切断および精製

方法：CP_A

合成後、樹脂をDCMで洗浄し、ペプチジル樹脂をTFA/TIS/水(95:2.5:2.5、v/v/v)を用いて1.5~3時間処理し、その後ジエチルエーテルで沈殿させた。沈殿物をジエチルエーテルで洗浄し、水、酢酸および/またはMeCNの適切な混合物に溶解した。粗ペプチド溶液を逆相分取HPLC(Waters Delta Prep 4000)のC18シリカゲル含有カラムで精製した。溶出は、0.1%TFAを含有するMeCN水溶液のグラジエントを増加させて実施した。関連する分画は、分析UPLCによってチェックした。純粋な標的ペプチドを含む分画を集め、凍結乾燥した。

10

【0288】

さらなる精製が必要な場合、単離された上記の凍結乾燥ペプチドTFA塩を、リン酸水素二ナトリウムなどであるがこれに限定されない一般的な塩をベースとする中性水性緩衝液に溶解し、逆相分取HPLC(Waters Delta Prep 4000)のC18シリカゲル含有カラムで精製した。溶出は、MeCNリン酸ナトリウム水溶液(90mM、pH 7.4)のグラジエントを増加させて実施した。関連する分画は、分析UPLCによってチェックした。純粋な標的ペプチドを含む分画を集め、水で希釈した後、第二の逆相分取HPLC(Waters Delta Prep 4000)のC18シリカゲル含有カラムに適用した。溶出は、0.1%TFAを含有するMeCN水溶液のグラジエントを増加させて実施した。関連する分画を集めて凍結乾燥し、標的ペプチドのTFA塩を得た。

20

【0289】

方法：CP_B

側鎖合成の完了後、ペプチジル樹脂をDCMで洗浄して乾燥し、次にTFA/水/TIS(92.5:5:2.5 v/v/v、10 mL)で2時間処理し、その後ジエチルエーテルで沈殿させた。沈殿物をジエチルエーテルで洗浄し、ペプチドの完全溶解のために必要な場合、溶液pHの調整をして、適切な溶媒に溶解した(例えば、2:1 水/MeCNまたは4:1 25 mM NH₄HCO₃/MeCN水溶液)。精製は、逆相分取HPLC(Waters 2545 バイナリグラジエントモジュール、Waters 2489 UV/可視検出器、Waters フラクションコレクターIII)のPhenomenex Luna C8(2)カラム(粒径10 μM、孔径100 Å、寸法250 x 21.2 mm)で実施した。不純物および生成物溶出の分離は、0.1%TFAを含有するMeCN水溶液のグラジエント増加を使用して達成した。関連する分画は、分析LCMSによってチェックした。純粋な標的ペプチドを含む分画を集めて凍結乾燥し、標的ペプチドのTFA塩を得た。

30

【0290】

方法：CP_C

合成後、樹脂をDCMで洗浄し、ペプチジル樹脂をTFA/TIS/水/アニソール/DODT(90:2.5:2.5:2.5:2.5、v/v/v/v)を用いて1.5~3時間処理し、その後ジエチルエーテルで沈殿させた。沈殿物をジエチルエーテルで洗浄し、炭酸水素アンモニウム水溶液(例えば、50mMの濃度)に溶解して、ボルテックスした。これにMeCNを加えて透明黄色溶液を得た。次にこの溶液を0.22 μm Stericupでろ過してから、逆相分取HPLC(Waters: 2545 ポンプ、2489 UV-可視、フラクションコレクターIII)のC18シリカゲル含有カラムで精製した。溶出は、0.1%TFAを含有するMeCN水溶液のグラジエントを増加させて実施した。関連する分画は、分析UPLCによってチェックした。純粋な標的ペプチドを含む分画を集め、凍結乾燥した。

40

【0291】

50

塩交換－ナトリウム塩の形成。

方法：S X__A：

方法C P__A、C P__B、またはC P__Cから単離した凍結乾燥ペプチドを、中性～わずかに塩基性（pH 7～8.5）のナトリウム含有水性緩衝液（例えば、0.1～0.2 Mの酢酸ナトリウムまたは炭酸水素ナトリウム緩衝液）に溶解した。ペプチドを含有する緩衝化溶液を、Sep-Pak C18カートリッジ（1～5 g）を使用して塩交換した。カートリッジをまず、4カラム容量のイソプロパノールで平衡化し、次に4カラム容量のMeCN、その後8カラム容量の水で平衡化した。ペプチド溶液をカートリッジに適用し、ペプチドの完全保持を確実にするために通過画分を再適用した。カートリッジを2～4カラム容量の水、その後4～15カラム容量のナトリウム塩含有緩衝溶液（例えば、pH 7.5）（NaHCO₃、NaOAc、Na₂HPO₄などであるがこれらに限定されない）で洗浄した。ペプチドは、5～10カラム容量の50～80%のMeCN水溶液で溶出し、凍結乾燥して、白色固体としてペプチドナトリウム塩を得て、これをこのように使用した。

10

【0292】

方法：S X__B：

H₂O/MeCN/TFA中のペプチド溶液を、NaOHでpH 7～8に調節し、最大MeCN含量は20%であった。次に混合物を逆相分取HPLC（Waters Deltaprep 4000）のC18シリカゲル含有カラムに適用した。まず、～4カラム容量の0.1 M NaOAcで平衡化を行い、その後、2カラム容量の水でフラッシュした。溶出は、MeCN水溶液のグラジエントを増加して実施した。関連する分画は分析UPLCでチェックした。純粋な標的ペプチドナトリウム塩を含む分画を集め、凍結乾燥した。

20

【0293】

全般的な検出および特徴付けの方法

LCMS法：

方法：LCMS__34：

LCMS__34は、Waters Acquity UPLC H ClassシステムおよびWaters Xevo G2-XS QToFから成るセットアップで実施した。溶離液：A：MQ水中の0.1%ギ酸；B：MeCN中の0.1%ギ酸。

30

【0294】

分析は、AおよびBのグラジエントで溶出されたカラムに適切な量の試料を注入することによって、RT（カラム温度40℃）で実施した。UPLCの条件、検出器の設定、質量分析計の設定は以下のとおりである。カラム：Waters Acquity BEH、C-18、1.7 μm、2.1 mm x 50 mm。グラジエント：0.4 ml/分で4.0分間、線形5%～95%のB。検出：MS分解能モード、イオン化法：ES。スキャン：50～4000 amu。

【0295】

方法：LCMS__27：

LCMS__27は、Agilent 1290インフィニティシリーズUPLCシステムおよびAgilent Technologies LC/MSD TOF 6230（G6230A）から成るセットアップで実施した。溶離液：A：0.02% TFA水溶液；B：0.02% TFAのMeCN溶液。

40

【0296】

分析は、AおよびBのグラジエントで溶出されたカラムに適切な量の試料を注入することによって、RT（カラム温度40℃）で実施した。カラム：Eclipse C18+、1.8 μm、2.1 mm x 50 mm。グラジエント実行時間：流速0.40 ml/分で、線形5～95% Bを4.5分、その後95% Bを0.5分、95～5% Bを0.5分、5% Bを0.5分。検出：リニアリフレクターモード（正）；イオン化法：Agilent Jet Stream源。スキャン：100～3200（m/z）。

50

【0297】

方法：LCMS_01

LCMS_01は、Waters Acquity UPLCシステムおよびLC-TPremier XE質量分析計（Micromass製）から構成されるセットアップで実施された。溶離液：A：0.1%ギ酸MQ水溶液、B：0.1%ギ酸MeCN溶液。分析は、AおよびBのグラジエントで溶出されたカラムに適切な量の試料を注入することによって、RT（カラム温度40℃）で実施した。UPLCの条件、検出器の設定、質量分析計の設定は以下のとおりである。カラム：Waters Acquity UPLC BEH、C-18、1.7μm、2.1mm×50mm グラジエント：流速0.4mL/分で、線形5%～95%Bを4.0分。検出：214nm（TUVからのアナログ出力（調整可能UV検出器））MSイオン化モード：API-ES。スキャン：500～2000 amu。

10

【0298】

[実施例1]

GIP誘導体の合成

本発明の誘導体は、上述のように調製の一般的方法に従って合成した。

hGIP（1-42）；（配列番号1）：

【化74】

20

H-Y A E G T F I S D Y S I A M D K I H Q Q D F V N W L L A Q K G K K N D W K H N I T Q-OH

使用した一般的方法：SPPS_D、CP_A

計算分子量（平均）：4983.53g/mol

LCMS01：実測値（M + 4H）4+ 1246.17

hGIP（1-31）；（配列番号2）：

【化75】

30

H-Y A E G T F I S D Y S I A M D K I H Q Q D F V N W L L A Q K G-OH

使用した一般的方法：SPPS_A、CP_A

計算分子量（平均）：3589.98g/mol

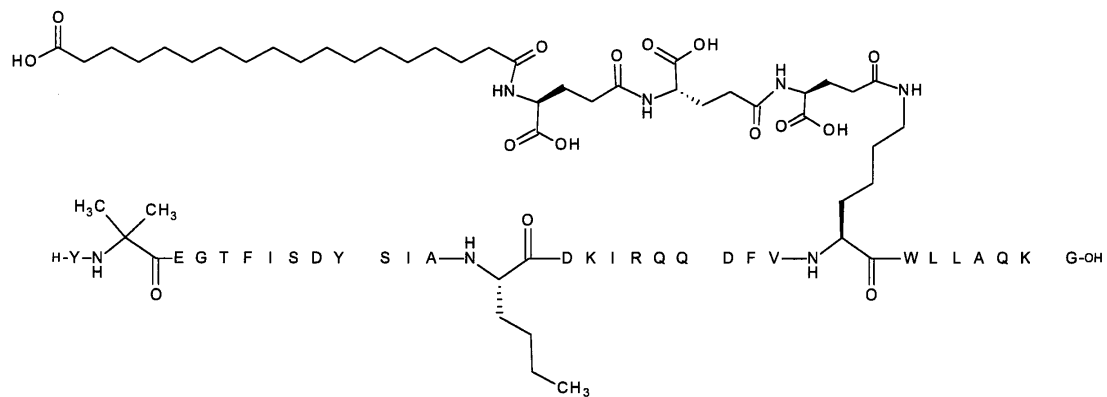
LCMS01：実測値（M + 3H）3+ 1197.61

化合物1（配列番号6）：

N {イプシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP（1-31）

40

【化 7 6】



10

使用した一般的方法：SPPS_A、SC_A、CP_A、SX_A

計算分子量（平均）：4302.87 g/mol

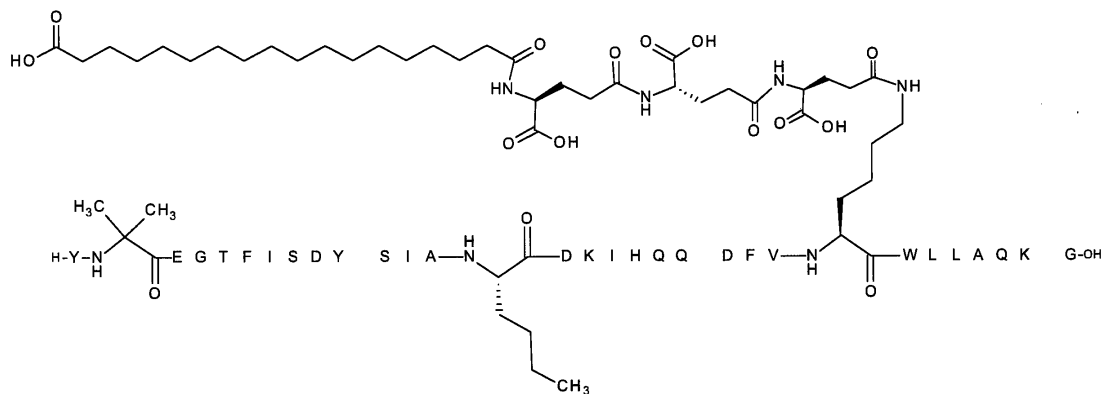
LCMS_34：実測値 (M + 4H) 4+ 1076.82

化合物 2（配列番号 7）：

N {イブシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Lys24] - hGIP (1-31)

20

【化 7 7】



30

使用した一般的方法：SPPS_A、SC_A、CP_A、SX_A

計算分子量（平均）：4283.82 g/mol

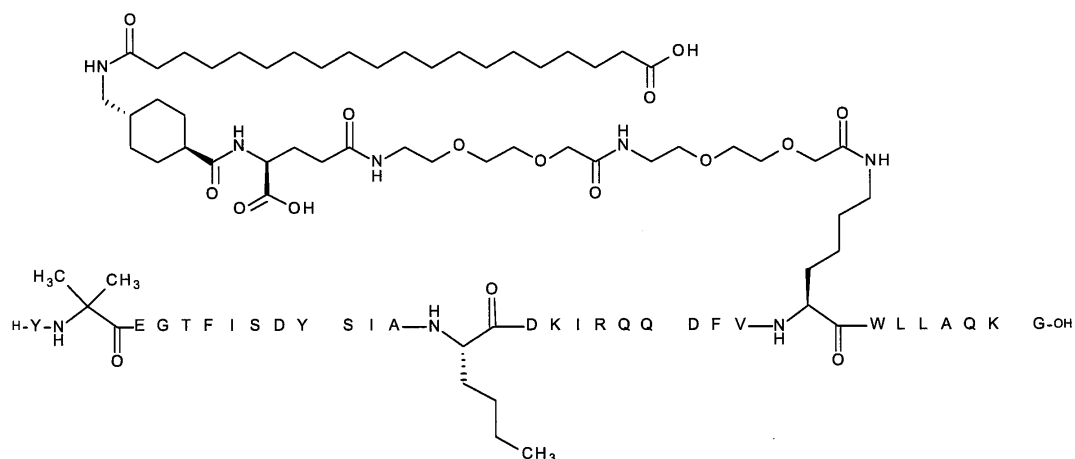
LCMS_34：実測値 (M + 4H) 4+ 1071.82

40

化合物 3（配列番号 8）：

N {イブシロン-24} - [2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31)

【化 7 8】



10

使用した一般的方法：S P P S _ A、S C _ A、C P _ A、S X _ A

計算分子量（平均）：4 5 0 2 . 2 0 g / m o l

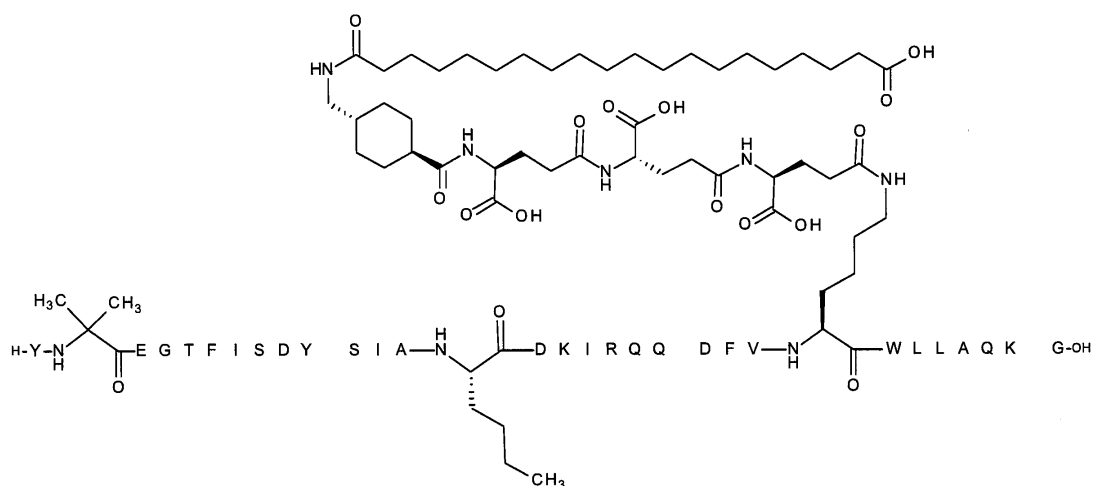
L C M S _ 2 7 : 実測値 (M + 3 H) 3 + 1 5 0 1 . 5 0

化合物 4（配列番号 9）：

20

N {イブシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31)

【化 7 9】



30

使用した一般的方法：S P P S _ A、S C _ A、C P _ A、S X _ A

計算分子量（平均）：4 4 7 0 . 1 2 g / m o l

L C M S _ 2 7 : 実測値 (M + 4 H) 4 + 1 1 1 8 . 1 1

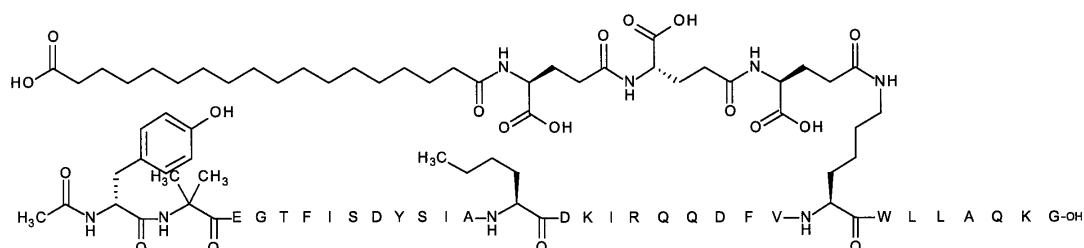
化合物 5（配列番号 10）：

N {1} - アセチル, N {イブシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [D-Tyr1, Aib2, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-

50

3 1)

【化 8 0】



10

使用した一般的方法：SPSS A、SC A、CP A、SX A

計算分子量（平均）：4344.91 g/mol

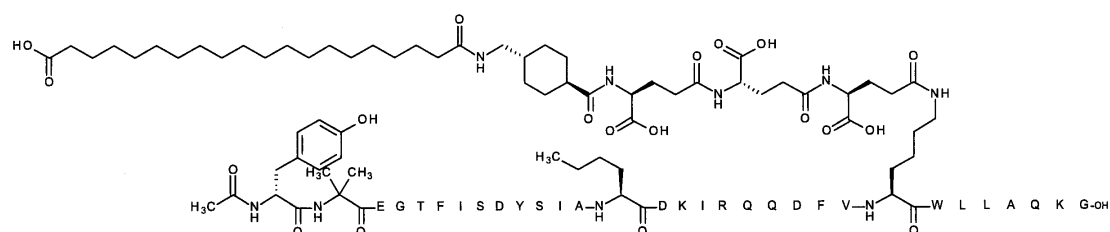
LCMS 27: 実測値 (M + 3H) 3+ 1449.10

化合物 6 (配列番号 1 1) :

N { 1 } - アセチル, N { イプシロン - 2 4 } - [(4 S) - 4 - カルボキシ - 4 - [(4 S) - 4 - カルボキシ - 4 - [(4 S) - 4 - カルボキシ - 4 - [[4 - [(1 9 - カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサノール] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [D - T y r 1 , A i b 2 , N l e 1 4 , A r g 1 8 , L y s 2 4] - h G I P (1 - 3 1)

20

【化 8 1】



30

使用した一般的方法：SPSS B、SC B、CP B、SX A

計算分子量（平均）：4512.16 g/mol

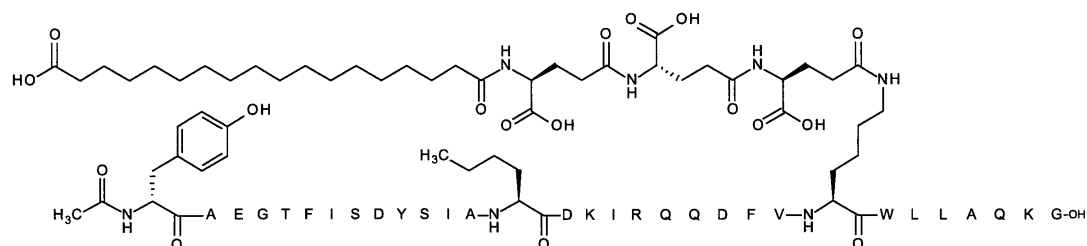
L C M S _ 2 7 : 実測値 (M + 3 H) 3 + 1 5 0 4 . 7 9

化合物 7 (配列番号 1 2) :

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - (17 - カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31)

40

【化 8 2】



使用した一般的方法：S P P S _ B、S C _ B、C P _ B、S X _ A

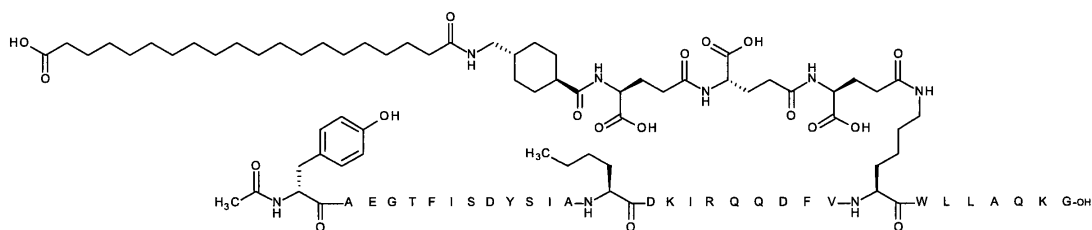
計算分子量（平均）：4330.88 g/mol

50

10

20

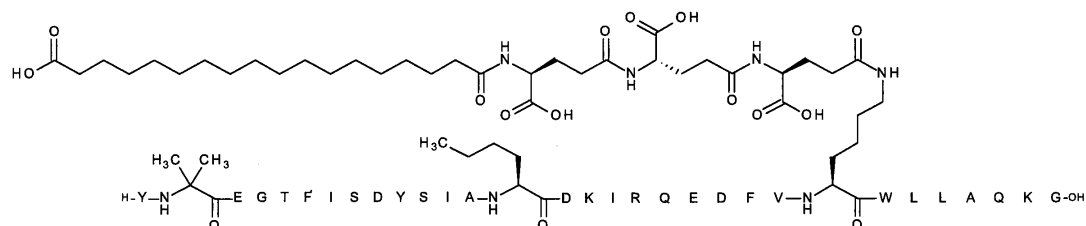
【化 8 3】



LCMS 27: 実測値 (M + 3H)³⁺ 1500.12

30

【化 8 4】

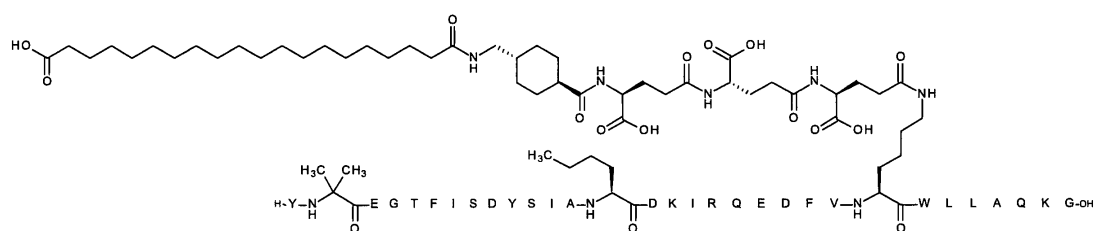


L C M S _ 2 7 : 実測値 (M + 3 H) 3 + 1 4 3 5 . 0 8

40

N {イプシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサノール]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Glu20, Lys24] - hGIP (1-31)

【化 8 5】



使用した一般的方法：SPPS__B、SC__B、CP__B、SX__A

計算分子量（平均）：4471.10 g/mol

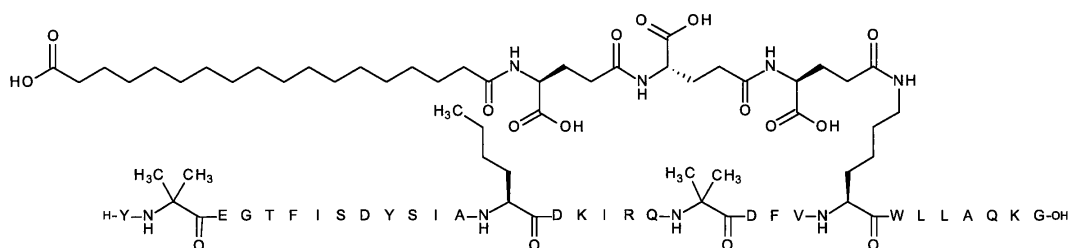
LCMS__27：実測値 (M + 3H) 3+ 1490.79

10

化合物 11（配列番号 16）：

N {イブシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Aib20, Lys24] - hGIP (1-31)

【化 8 6】



使用した一般的方法：SPPS__C、SC__C、CP__C、SX__A

計算分子量（平均）：4259.85 g/mol

LCMS__27：実測値 (M + 3H) 3+ 1420.74

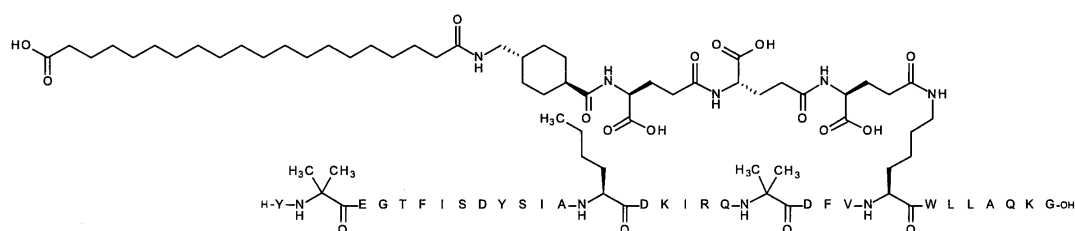
20

30

化合物 12（配列番号 17）：

N {イブシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4-[[(4S) - 4-カルボキシ-4- [4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Aib20, Lys24] - hGIP (1-31)

【化 8 7】



使用した一般的方法：SPPS__C、SC__C、CP__C、SX__A

計算分子量（平均）：4427.09 g/mol

LCMS__27：実測値 (M + 3H) 3+ 1476.45

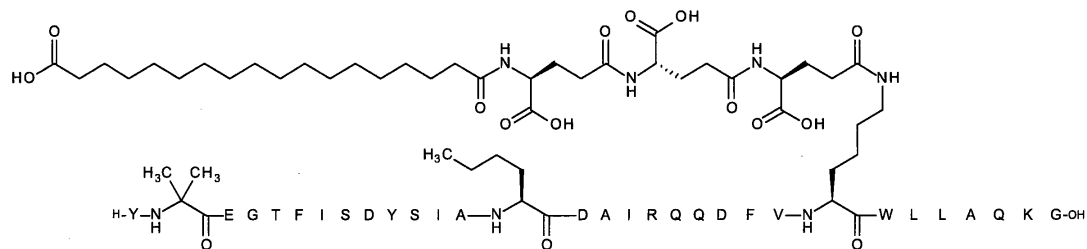
40

50

化合物 13 (配列番号 18) :

N {イブシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4-[[[(4S) - 4-カルボキシ-4-[[[(4S) - 4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Ala16, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31)

【化88】



10

使用した一般的方法: SPPS_C、SC_C、CP_C

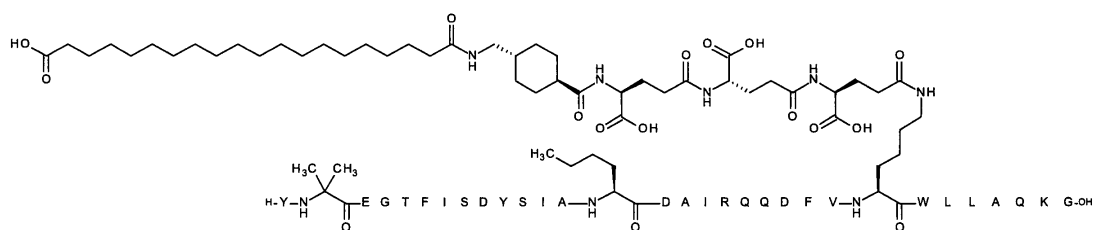
計算分子量 (平均): 4245.78 g/mol

LCMS_27: 実測値 (M + 3H) 3+ 1416.06

化合物 14 (配列番号 19) :

N {イブシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4-[[[(4S) - 4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Ala16, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31)

【化89】



30

使用した一般的方法: SPPS_C、SC_C、CP_C

計算分子量 (平均): 4413.02 g/mol

LCMS_27: 実測値 (M + 3H) 3+ 1471.77

化合物 15 (配列番号 20) :

N {1} - アセチル, N {イブシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[[(4S) - 4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31)

)

40

The chemical structure illustrates the 125-residue protein AEG13. The full sequence is shown as H₃C-A E G T F I S D Y S I A-N D K I R Q Q D F V-N W L L A Q K G-OH. A detailed view of the C-terminal region (residues 115-125) is provided, showing the long-chain fatty acid modification on residue 125 and the complex glycosylation on residue 124.

10

LCMS 27: 実測値 (M + 3H) 3+ 1455.09

N {1} - アセチル, N {イブシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - (17 - カルボキシ - ヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Glu20, Lys24] - hGIP (1-31)

20

Chemical structure of the 125-residue protein AEG13, showing the full sequence and the location of the 12-residue fragment AEG13-125. The sequence is: H₃C-NH-CH(COOH)-A-EGTFLSDYSIA-NH-CH(COOH)-DKIRQEDFV-NH-CH(COOH)-WLLAQKG-OH. The 12-residue fragment AEG13-125 is highlighted in red in the original image, corresponding to the residues AEGTFLSDYSIA.

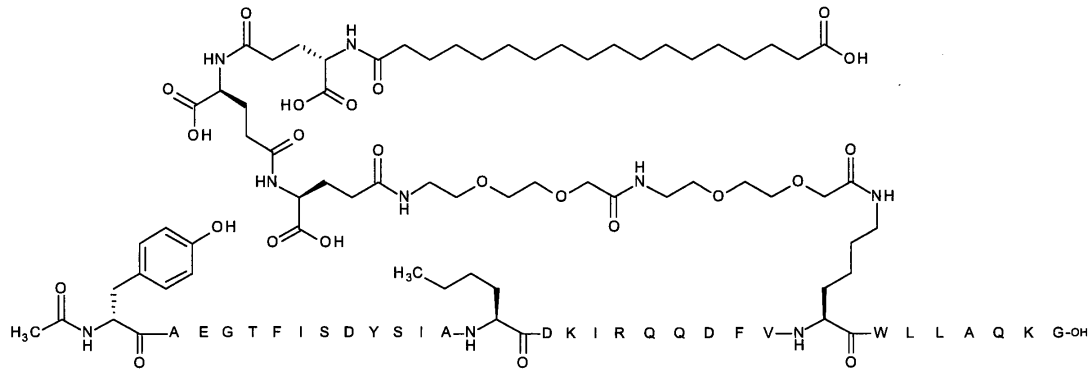
30

LCMS-27: 実測値 (M + 3H) 3+ 1455.42

$\text{N}\{1\}$ – アセチル, $\text{N}\{\text{イブシロン}-24\}$ – $[2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4 - \text{カルボキシ} - 4 - [[(4S) - 4 - \text{カルボキシ} - 4 - [[(4S) - 4 - \text{カルボキシ} - 4 - (17 - \text{カルボキシヘプタデカノイルアミノ}) \text{ブタノイル}] \text{アミノ}] \text{ブタノイル}] \text{アミノ}] - \text{ブタノイル}] \text{アミノ}] \text{エトキシ}] \text{エトキシ}] \text{アセチル}] \text{アミノ}] \text{エトキシ}] \text{エトキシ}] \text{アセチル}] - [\text{D-Tyr1}, \text{Nle14}, \text{Arg18}, \text{Lys24}] - \text{hGIP}(1-31)$

40

【化 9 2】



10

使用した一般的方法：SPPS__B、SC__B、CP__B、SX__A

計算分子量（平均）：4621.19 g/mol

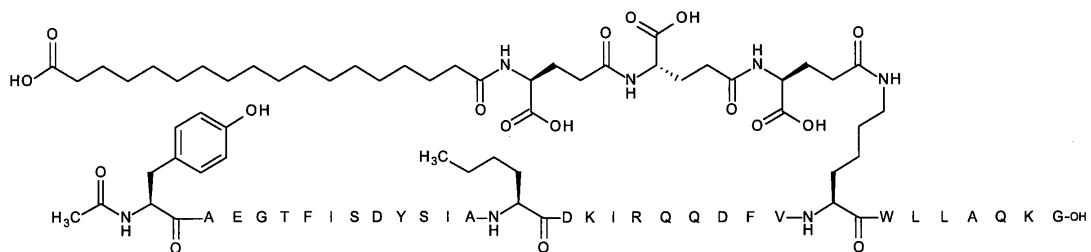
LCMS__27：実測値 (M + 3H) 3+ 1541.12

化合物 18（配列番号 23）：

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Nle14, Arg18, Lys24] - hGIP (1-31)

20

【化 9 3】



30

使用した一般的方法：SPPS__C、SC__C、CP__C

計算分子量（平均）：4330.88 g/mol

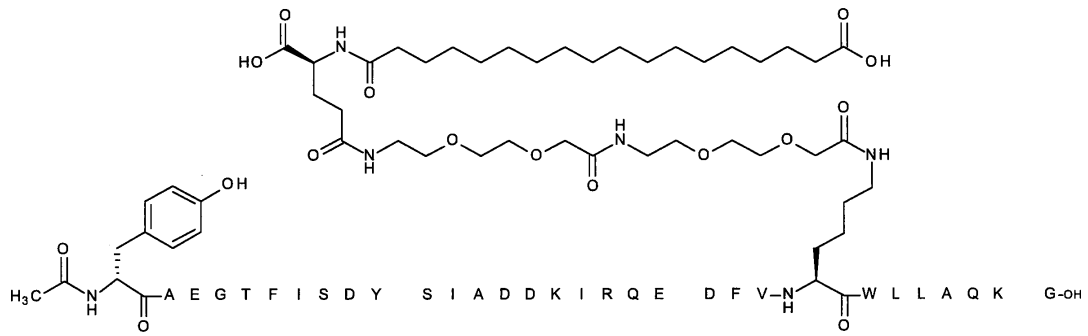
LCMS__27：実測値 (M + 3H) 3+ 1444.40

化合物 19（配列番号 24）：

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [2- [2- [2- [[2- [2- [2- [2- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [D-Tyr1, Asp14, Arg18, Glu20, Lys24] - hGIP (1-31)

40

【化 9 4】



10

使用した一般的方法：S P P S _ C、S C _ C、C P _ C

計算分子量（平均）：4 3 6 5 . 8 8 g / m o l

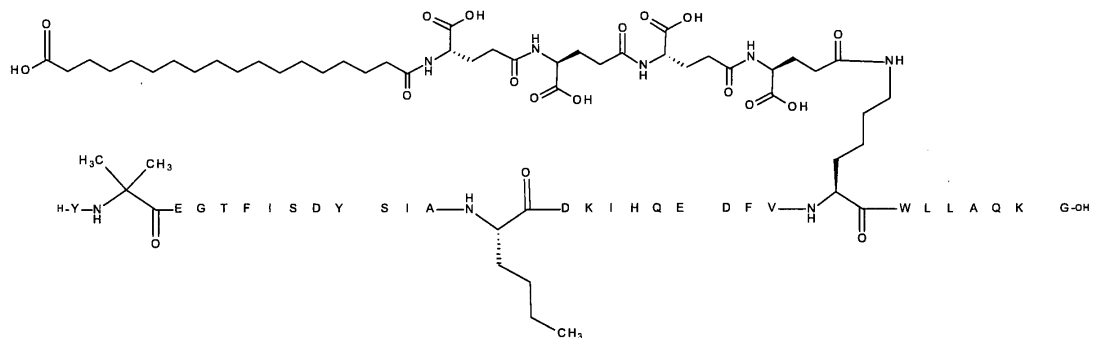
L C M S _ 2 7 : 実測値 (M + 3 H) 3 + 1 4 5 6 . 0 7

化合物 2 0 (配列番号 2 5) :

N {イブシロン-24} - [(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - アミノ] ブタノイル] - [A i b 2, N l e 14, G l u 20, L y s 24] - h G I P (1-31)

20

【化 9 5】



30

使用した一般的方法：S P P S _ A、S C _ A、C P _ A

計算分子量（平均）：4 4 1 3 . 9 2 g / m o l

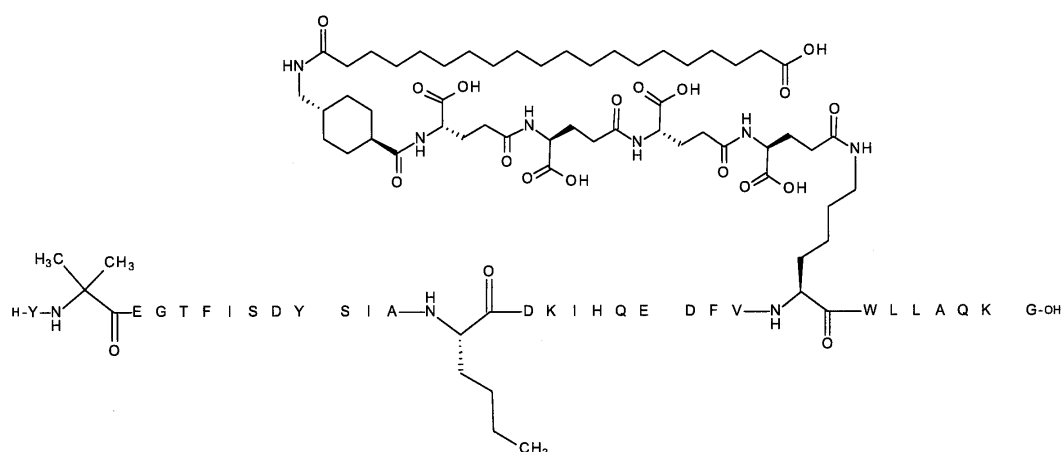
L C M S _ 2 7 : 実測値 (M + 3 H) 3 + 1 4 7 2 . 0 7

化合物 2 1 (配列番号 2 6) :

N {イブシロン-24} - [(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4 S) - 4 - カルボキシ-4 - [4 - [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] - アミノ] ブタノイル] - アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [A i b 2, N l e 14, G l u 20, L y s 24] - h G I P (1-31)

40

【化 9 6】



10

使用した一般的方法：SPPS_A、SC_A、CP_A、SX_A

計算分子量（平均）：4581.17 g/mol

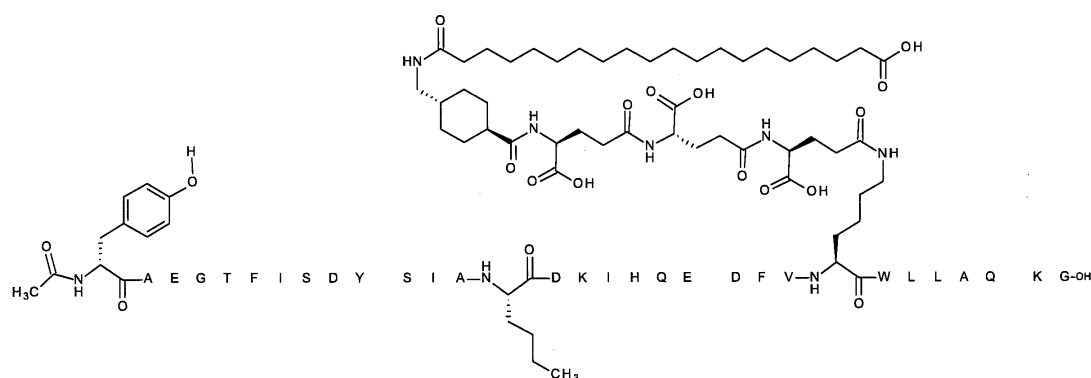
LCMS_27：実測値 (M + 3H) 3+ 1527.78

化合物 22（配列番号 27）：

20

N {1} - アセチル, N {イブシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [D-Tyr1, Nle14, Glu20, Lys24] - hGIP (1-31)

【化 9 7】



30

使用した一般的方法：SPPS_A、SC_A、CP_A、SX_A

計算分子量（平均）：4480.07 g/mol

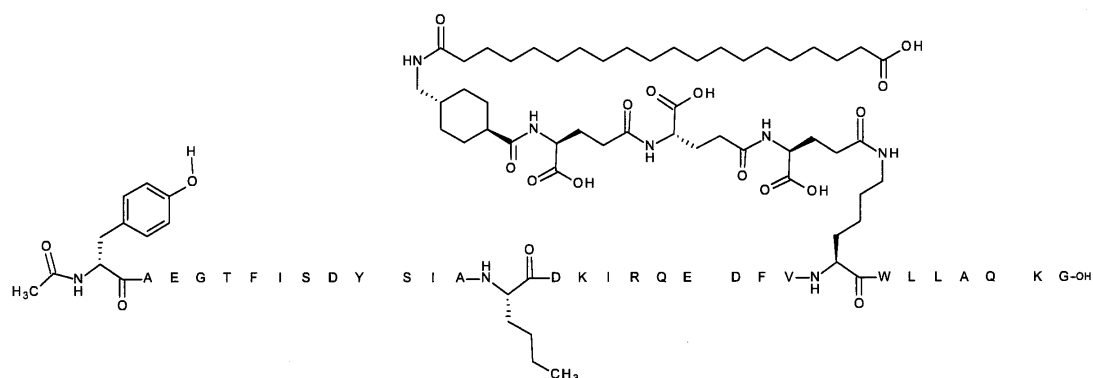
LCMS_27：実測値 (M + 3H) 3+ 1494.13

40

化合物 23（配列番号 28）：

N {1} - アセチル, N {イブシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Glu20, Lys24] - hGIP (1-31)

【化 9 8】



10

使用した一般的方法：S P P S__A、S C__A、C P__A、S X__A

計算分子量（平均）：4499.11 g/mol

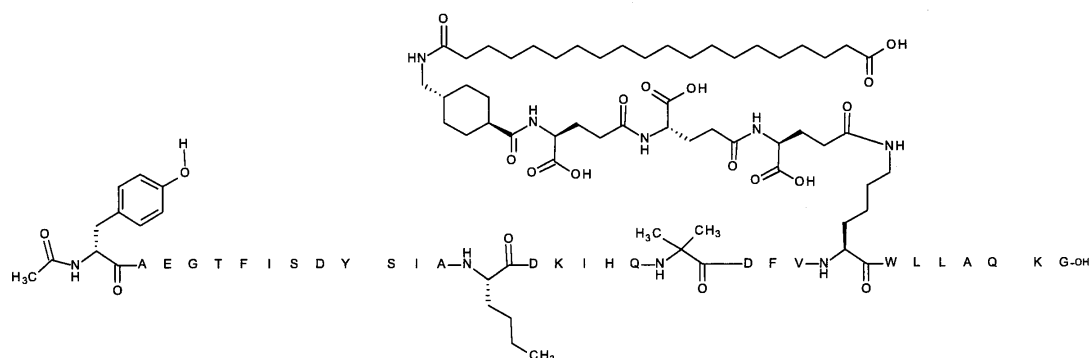
LCMS 27: 実測値 (M + 3H) 3 + 1500.47

化合物 24 (配列番号 29) :

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [[(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [[4 - [(19 - カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサノール] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [D-Tyr1, Nle14, Aib20, Lys24] - hGIP (1-31)

20

【化 9 9】



30

使用した一般的方法：S P P S__A、S C__A、C P__A、S X__A

計算分子量（平均）：4436.06 g/mol

L C M S 27: 実測値 (M + 3H) 3 + 1 4 7 9. 4 6

40

化合物 25 (配列番号 30) :

N {1} - アセチル, N {イブシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサノール]アミノ]ブタノール]アミノ]ブタノール]アミノ]ブタノール] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Iib20, Lys24] - hGIP (1-31)

[illegible]

10

L C M S _ 2 7 : 実測値 (M + 3 H) 3 + 1 4 8 5 . 8 1

N {イプシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサノール]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Pro31] - hGIP (1-31) アミド

20

The chemical structure shows a 12-mer peptide fragment of the C-terminal domain of the human protein. The sequence is H-Y-NH-C(=O)-E-G-T-F-I-S-D-Y-S-I-A-NH-C(=O)-D-K-I-R-Q-Q-D-F-V-NH-C(=O)-W-L-L-A-Q-K-NH-C(=O)-NH₂. The side chains are: Y (4-methylphenyl), E (carboxylate), G (methyl), T (methyl), F (phenyl), I (methyl), S (methylthio), D (carboxylate), Y (4-methylphenyl), S (methylthio), I (methyl), A (methyl), D (carboxylate), K (methyl), I (methyl), R (methyl), Q (methyl), Q (methyl), D (carboxylate), F (phenyl), V (methyl), W (indol-3-yl), L (methyl), L (methyl), A (methyl), Q (methyl), K (methyl), and a C-terminal amide group. The structure is shown in a ribbon representation with the peptide backbone in blue and the side chains in red.

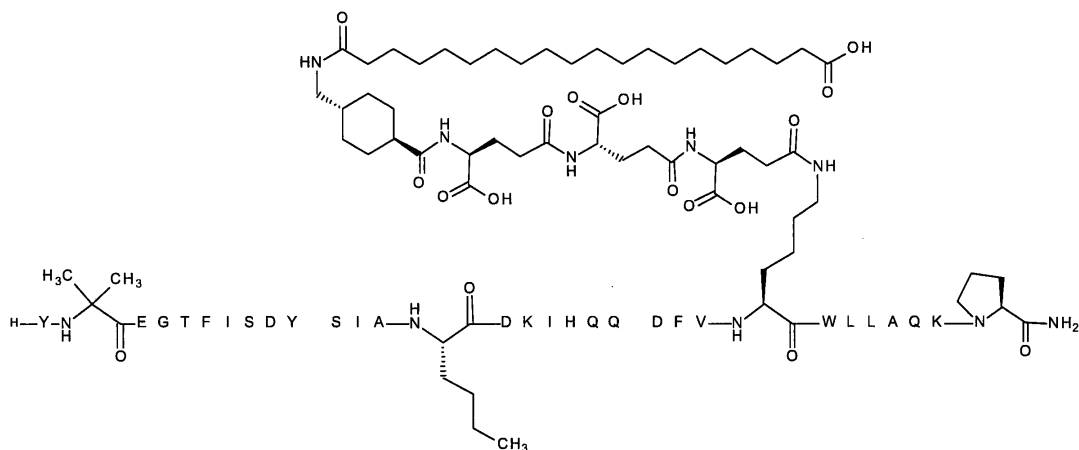
30

L C M S _ 2 7 : 実測値 (M + 3 H) 3 + 1 5 0 3 . 8 4

40

N {イブシロン-24} - [(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [[(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [[(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [[4 - [(19 - カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサノール] アミノ] ブタノイル] アミノ] - ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Lys24, Pro31] - hGIP (1-31) アミド

【化102】



10

使用した一般的方法：SPPS_A、SC_A、CP_A、SX_A

計算分子量（平均）：4490.15 g/mol

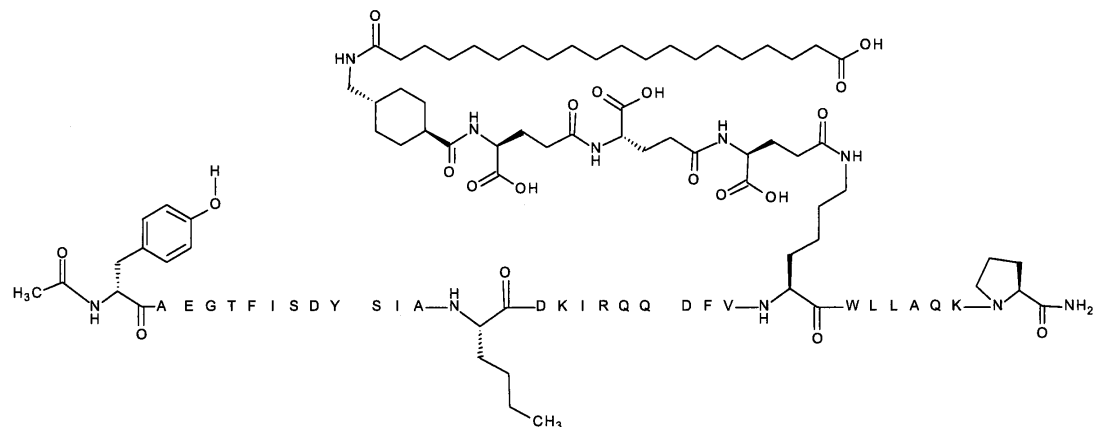
LCMS_27：実測値 (M + 3H)³⁺ 1497.49

化合物28（配列番号33）：

N{1}-アセチル, N{イプシロン-24}-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]-ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[D-Tyr1, Nle14, Arg18, Lys24, Pro31]-hGIP(1-31)アミド

20

【化103】



30

使用した一般的方法：SPPS_A、SC_A、CP_A、SX_A

計算分子量（平均）：4537.21 g/mol

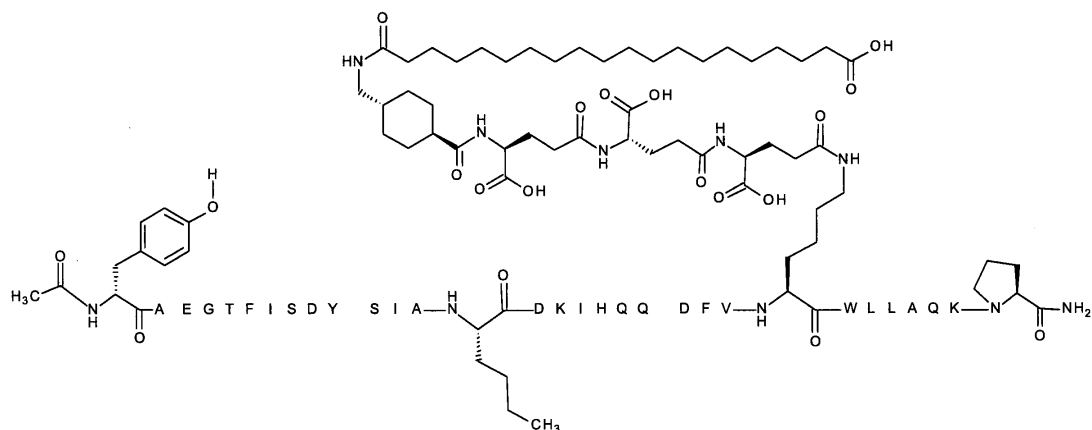
LCMS_34：実測値 (M + 4H)⁴⁺ 1135.13

40

化合物29（配列番号34）：

N{1}-アセチル, N{イプシロン-24}-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]-ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[D-Tyr1, Nle14, Lys24, Pro31]-hGIP(1-31)アミド

【化104】



10

使用した一般的方法：SPPS_A、SC_A、CP_A、SX_A

計算分子量（平均）：4518.16 g/mol

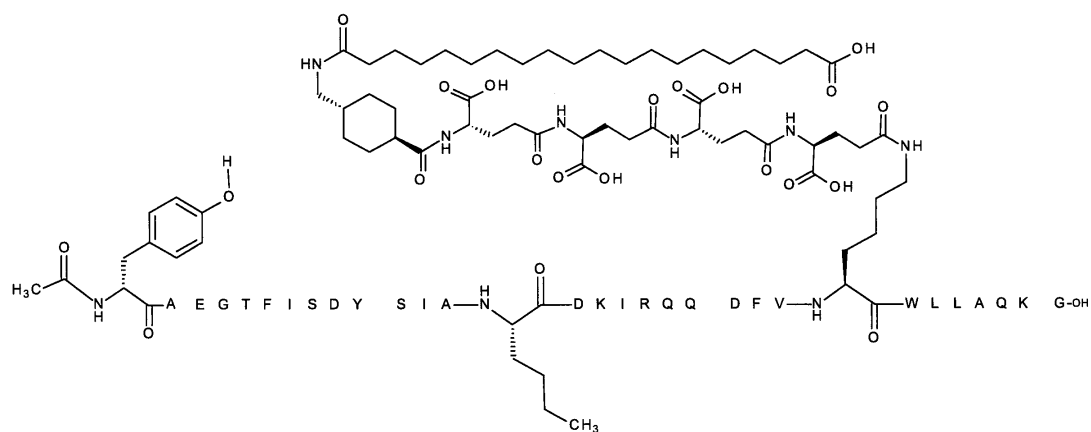
LCMS_34：実測値（M + 4H）4+ 1130.37

化合物30（配列番号35）：

N{1}-アセチル, N{イプシロン-24}-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[D-Tyr1, Nle14, Arg18, Lys24]-hGIP(1-31)

20

【化105】



30

使用した一般的方法：SPPS_A、SC_A、CP_A、SX_A

計算分子量（平均）：4627.24 g/mol

LCMS_34：実測値（M + 4H）4+ 1130.37

40

化合物31（配列番号36）：

N{1}-アセチル, N{イプシロン-24}-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[D-Tyr1, Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Pro31]-hGIP(1-31)アミド

50

10

LCMS 27: 実測値 (M + 3H) 3+ 1517.81

N {1} - アセチル, N {イブシロン-24} - [(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサノール]アミノ]-ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル] - [D-Tyr1, Aib2, Nle14, Lys24, Pro31]-hGIP(1-31)アミド

20

[illegible]

30

LCMS 27: 実測値 (M + 3H)³⁺ 1511.44

$\overline{N\{イプシロン-24\}} = [(4S) - 4 - \text{カルボキシ} - 4 - [[(4S) - 4 - \text{カルボキシ} - 4 - [[(4S) - 4 - \text{カルボキシ} - 4 - (17 - \text{カルボキシヘプタデカノイルアミノ}) \text{ブタノイル}] \text{アミノ}] \text{ブタノイル}] \text{アミノ}] \text{ブタノイル}] = [\text{Aib2}, \text{Nle14}, \text{Lys24}, \text{Glu33}] - \text{hGIP}$

Chemical structure of the full-length protein (1-100) is shown, including the signal peptide (1-16) and the mature protein (17-100). The structure is a single chain with various amino acid side chains and a long hydrophobic tail (residues 1-16). The mature protein (17-100) is shown as a linear sequence of residues: **EGTFISDY SIA-NH-DKIHQQ DFV-NH-WLLAQK GKENDWKHNI TQ-OH**. The structure is a single chain with various amino acid side chains and a long hydrophobic tail (residues 1-16).

40

計算分子量（平均）：5678.32 g/mol

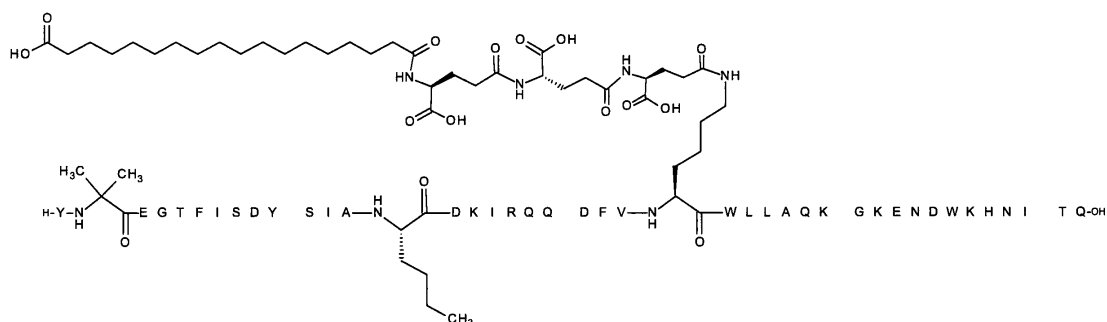
50

LCMS₂₇: 実測値 (M + 4H)⁴⁺ 1420.54

化合物 34 (配列番号 39):

N {イブシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, , Arg18, Lys24, Glu33] -hGIP

【化109】



10

使用した一般的方法: SPPS_A、SC_A、CP_A、SX_A

計算分子量 (平均): 5697.36 g/mol

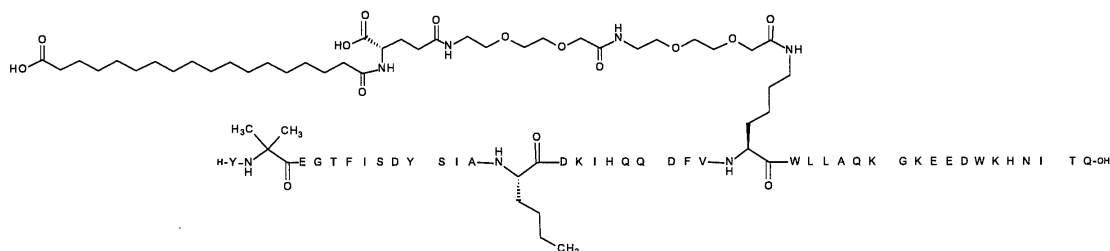
LCMS₂₇: 実測値 (M + 4H)⁴⁺ 1425.29

20

化合物 35 (配列番号 40):

N {イブシロン-24} - [2- [2- [2- [[2- [2- [2- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [Aib2, Nle14, Lys24, Glu33, Glu34] -hGIP

【化110】



30

使用した一般的方法: SPPS_A、SC_A、CP_A

計算分子量 (平均): 5725.41 g/mol

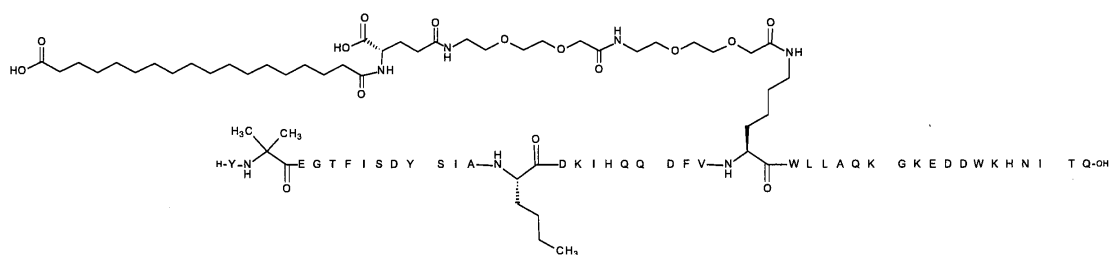
LCMS₂₇: 実測値 (M + 4H)⁴⁺ 1432.25

40

化合物 36 (配列番号 41):

N {イブシロン-24} - [2- [2- [2- [[2- [2- [2- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [Aib2, Nle14, Lys24, Glu33, Asp34] -hGIP

【化 1 1 1】



使用した一般的方法：SPPS_A、SC_A、CP_A

計算分子量（平均）：5711.39 g/mol

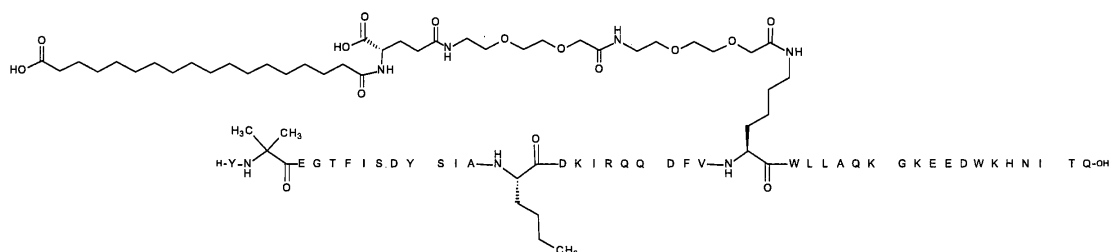
LCMS_27：実測値 (M + 4H) 4+ 1428.75

10

化合物 37（配列番号 42）：

N {イプシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4 - カルボキシ-4 - (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Glu33, Glu34] - hGIP

【化 1 1 2】



使用した一般的方法：SPPS_A、SC_A、CP_A

計算分子量（平均）：5744.46 g/mol

LCMS_27：実測値 (M + 4H) 4+ 1437.03

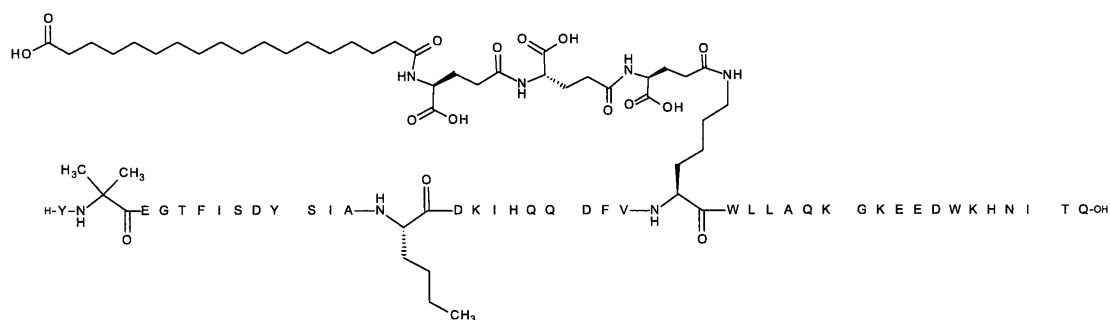
20

30

化合物 38（配列番号 43）：

N {イプシロン-24} - [(4S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4S) - 4 - カルボキシ-4 - [[(4S) - 4 - カルボキシ-4 - (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Lys24, Glu33, Glu34] - hGIP

【化 1 1 3】



使用した一般的方法：SPPS_A、SC_A、CP_A

計算分子量（平均）：5693.33 g/mol

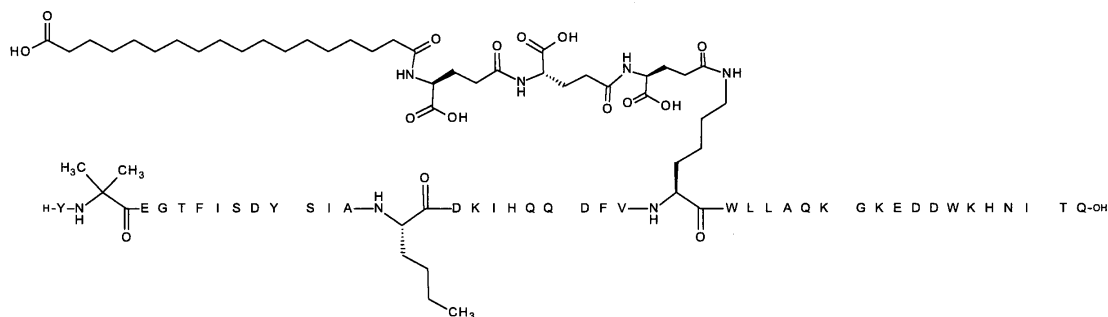
LCMS_27：実測値 (M + 4H) 4+ 1424.24

40

50

化合物 39 (配列番号 44) :

N {イブシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Lys24, Glu33, Asp34] - hGIP
【化114】



10

使用した一般的方法: SPPS_A、SC_A、CP_A

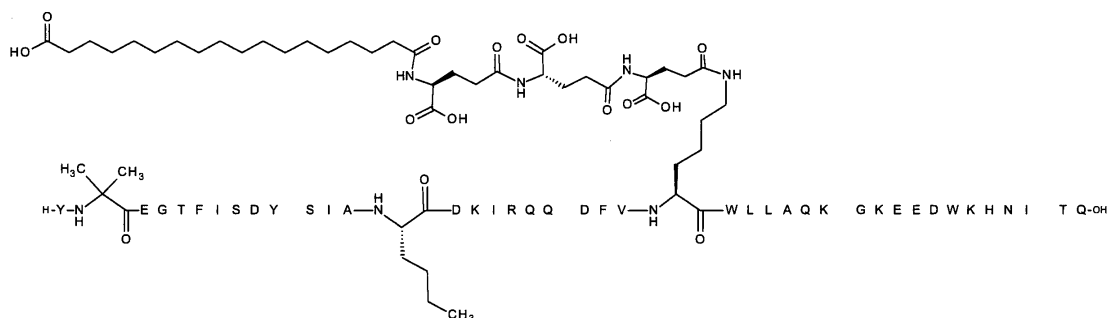
計算分子量 (平均): 5679.30 g/mol

LCMS_27: 実測値 (M + 4H) 4+ 1420.79

20

化合物 40 (配列番号 45) :

N {イブシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Glu33, Glu34] - hGIP
【化115】



30

使用した一般的方法: SPPS_A、SC_A、CP_A

計算分子量 (平均): 5712.37 g/mol

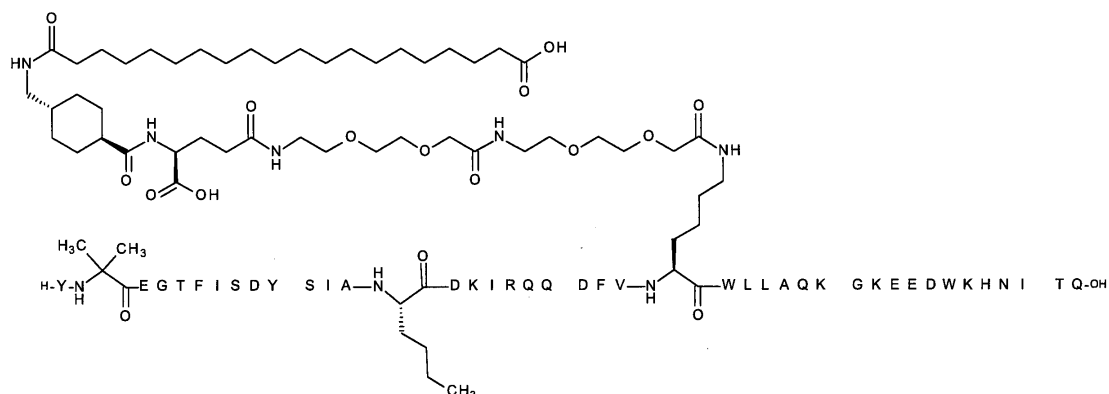
LCMS_27: 実測値 (M + 4H) 4+ 1429.00

40

化合物 41 (配列番号 46) :

N {イブシロン-24} - [2- [2- [2- [[2- [2- [2- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[4- [(19-カルボキシノンデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] ブタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Glu33, Glu34] - hGIP

【化 1 1 6】



10

使用した一般的方法：SPPS_A、SC_A、CP_A

計算分子量（平均）：5911.71 g/mol

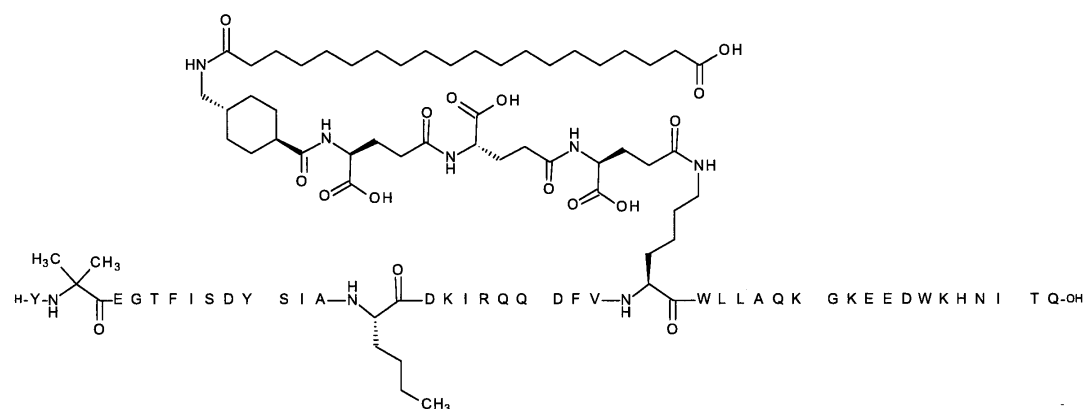
LCMS_27：実測値 (M + 4H) 4+ 1478.81

化合物 4 2（配列番号 4 7）：

N {イブシロン-24} - [(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[(4S) - 4-カルボキシ-4- [[4- [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Glu33, Glu34] -hGIP

20

【化 1 1 7】



30

使用した一般的方法：SPPS_A、SC_A、CP_A

計算分子量（平均）：5879.62 g/mol

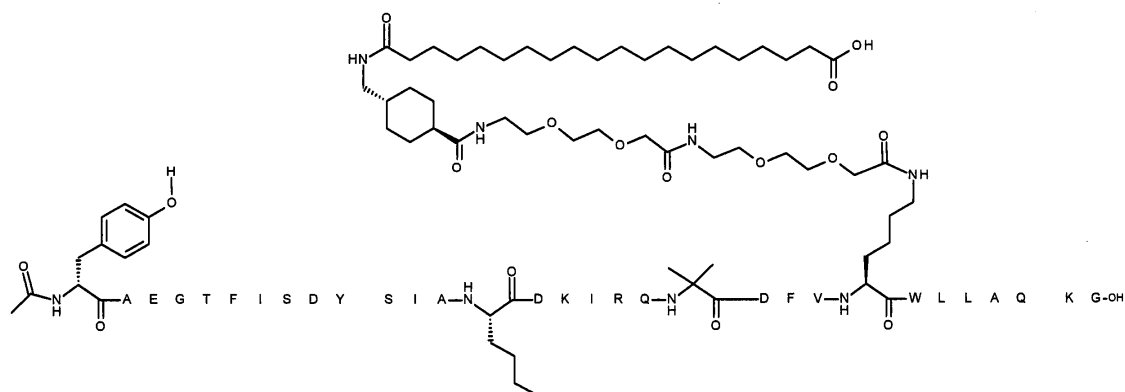
LCMS_27：実測値 (M + 4H) 4+ 1470.81

40

化合物 4 3（配列番号 5 9）：

N {1} - アセチル, N {イブシロン-24} - [2- [2- [2- [[2- [2- [2- [[4- [(19-カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [D-Tyr1, Nle14, Arg18, Aib20, Lys24] -hGIP (1-31)

【化 1 1 8】



10

使用した一般的方法：SPPS_A、SC_E、CP_A、SX_A

計算分子量（平均）：4358.08 g/mol

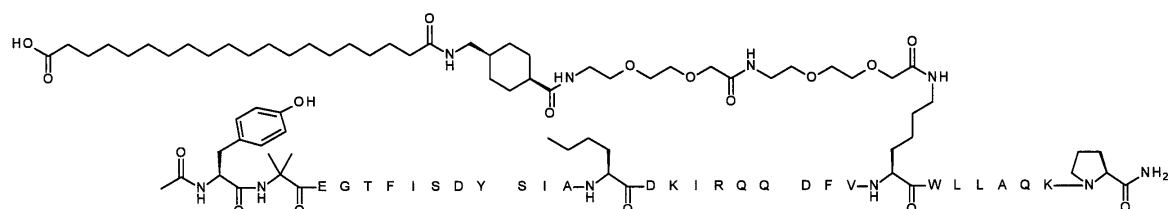
LCMS_34：実測値 (M + 3H) 3+ 1452.82

化合物 44（配列番号 60）：

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[4 - [(19 - カルボキシノナデカノイルアミノ) メチル] シクロヘキサンカルボニル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [D-Tyr1, Aib2, Nle14, Arg18, Lys24, Pro31] - hGIP (1-31) アミド

20

【化 1 1 9】



30

使用した一般的方法：SPPS_A、SC_E、CP_A、SX_A

計算分子量（平均）：4454.21 g/mol

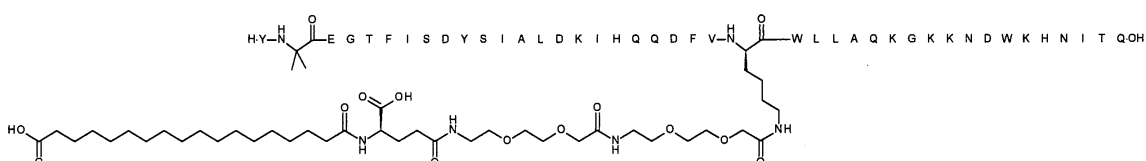
LCMS_34：実測値 (M + 3H) 3+ 1484.83

化合物 45（配列番号 61）

N {イプシロン-24} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[(4S) - 4 - カルボキシ-4 - (17 - カルボキシヘプタデカノイルアミノ) プタノイル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] アミノ] エトキシ] エトキシ] アセチル] - [Aib2, Leu14, Lys24] - hGIP

40

【化 1 2 0】



使用した一般的方法：SPPS_D、SC_D、CP_A

計算分子量（平均）：5709.46 g/mol

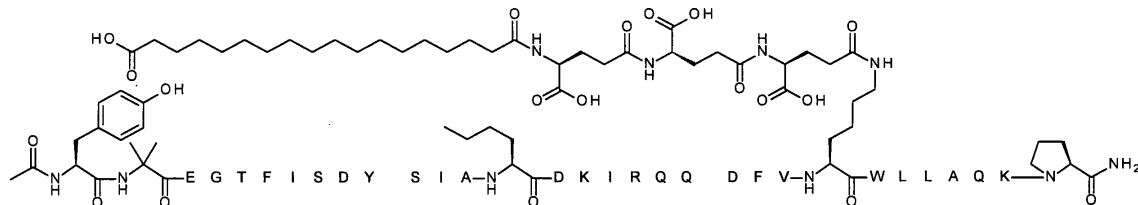
LCMS_34：実測値 (M + 4H) 4+ 1428.36

50

化合物 46 (配列番号 62)

N {1} - アセチル, N {イプシロン-24} - [(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - [(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - (17 - カルボキシヘプタデカノイルアミノ) ブタノイル] アミノ] ブタノイル] アミノ] ブタノイル] - [D-Tyr1, Aib2, Nle14, Arg18, Lys24Pro31] - hGIP (1-31) アミド

【化121】



10

使用した一般的方法：SPPS__A、SC__A、CP__A、SX__B

計算分子量 (平均)：4383.99 g/mol

LCMS__34：実測値 (M + 3H) 3+ 1461.99

【0299】

20

薬理学的方法

ヒトなどの哺乳類の体重増加の低減および肥満の治療、ならびに糖尿病およびNASHの治療のための薬理活性剤としての本発明の誘導体の効用は、従来のアッセイならびに以下に記述するインビトロおよびインビボアッセイにおけるアゴニストの活性によって実証される。

【0300】

このようなアッセイはまた、本発明の誘導体の活性を既知の化合物の活性と比較しうる手段を提供する。

【0301】

[実施例2]

30

インビトロ効力 (CREルシフェラーゼ、全細胞)

この実施例の目的は、誘導体の活性または効力を、ヒトGIP受容体ならびにヒトGLP-1受容体およびヒトグルカゴン受容体においてインビトロで試験することである。インビトロ効力は、全細胞アッセイにおけるヒトGIP、GLP-1またはグルカゴン受容体それぞれの尺度である。

【0302】

実施例1の誘導体の効力は、以下に記述するように決定した。hGIPおよびC末端切断hGIP (1-31) ならびにhGLP-1 (7-37) (配列番号4 (およびヒトグルカゴン (hGcg) (配列番号5) を比較に含めた。

【0303】

40

原理：

インビトロ効力は、個別細胞株のレポーター遺伝子アッセイにおける、ヒトGIP、GLP-1またはグルカゴン受容体の応答を測定することにより決定された。アッセイは、ヒトGIP受容体、ヒトGLP-1受容体またはヒトグルカゴン受容体のいずれかを発現し、かつそれぞれが、ホタルルシフェラーゼ (CREルシフェラーゼ) に対するプロモーターおよび遺伝子と結合したcAMP応答配列 (CRE) のDNAを含有する、安定にトランスフェクトされたBHK細胞株で実施した。それぞれの受容体が活性化されると、cAMPの生成をもたらし、これは次に、ルシフェラーゼタンパク質が発現されるという結果になる。アッセイインキュベーションが完了した時に、ルシフェラーゼ基質 (ルシフェリン) を追加し、酵素がルシフェリンをオキシルシフェリンに変換して、生物発光を生じ

50

る。発光はアッセイの読み取り値として測定される。

【0304】

細胞培養および調製

このアッセイに使用した細胞（BHK CRE luc2P hGIPRクローン#5、BHK CRE luc2P hGLP-1Rクローン#6、BHK CRE luc2P hGCCRクローン#18）は、BHKTS13を親細胞株とするBHK細胞であった。細胞は、CREルシフェラーゼを含有するクローンから由来し、それぞれの受容体とさらにトランスフェクトすることにより確立され、現在のクローンを得た。

【0305】

細胞は、細胞培養培地中、5%CO₂で培養した。それらをアリコートし、液体窒素中で保管した。細胞を継代培養し、各アッセイの前日に播種した。

【0306】

材料

以下の化学物質をアッセイで使用した：Pluronic F-68（10%）（Gibco 2404）、ヒト血清アルブミン（HSA）（Sigma A9511）、10%FBS（ウシ胎児血清；Invitrogen 16140-071）、胎児オボアルブミン（Sigma A5503）、フェノールレッド不含有DMEM（Gibco 11880-028）、1M Hepes（Gibco 15630）、Glutamax 100x（Gibco 35050）、G418（Invitrogen 10131-027）、ハイグロマイシン（Invitrogen 10687-010）、1% pen/strep（ペニシリン/ストレプトマイシン；Invitrogen 15140-122）およびsteady lite plus（PerkinElmer 6016757）。

【0307】

緩衝液

DMEM培地ならびに10% FBS、1mg/ml G418、1mg/ml ハイグロマイシンおよび1% pen/strep（ペニシリン/ストレプトマイシン15140-122）から成る細胞培養培地。

【0308】

フェノールレッド不含有DMEM、10mM Hepesおよび1x Glutamaxから成るアッセイ培地。アッセイ培地中の1%オボアルブミンおよび0.1% Pluronic F-68に、適応濃度の2倍のヒト血清アルブミンを添加したものから成るアッセイ緩衝液。アッセイ培地は、アッセイ緩衝液中の化合物の等容量と1:1で混合し、血清アルブミンの最終アッセイ濃度を得た。

【0309】

手順

- 1) 細胞は、5000細胞/ウェルでプレートに蒔き、一晚インキュベーションした。
- 2) 細胞をPBSで3回洗浄した。
- 3) 血清アルブミンを含むまたは含まないアッセイ培地（50 μlアリコート）を、アッセイプレートの各ウェルに加えた。
- 4) 試験化合物および基準化合物の原液を、アッセイ緩衝液中0.2 μMの濃度まで希釈した。化合物を10倍希釈して次の濃度を得た： 2×10^{-7} M、 2×10^{-8} M、 2×10^{-9} M、 2×10^{-10} M、 2×10^{-11} M、 2×10^{-12} M、 2×10^{-13} M、および 2×10^{-14} M。
- 5) 化合物またはブランクの50 μlアリコートを希釈プレートからアッセイプレートに移した。化合物は次の濃度で試験した： 1×10^{-7} M、 1×10^{-8} M、 1×10^{-9} M、 1×10^{-10} M、 1×10^{-11} M、 1×10^{-12} M、 1×10^{-13} M、および 1×10^{-14} M。
- 6) アッセイプレートを5% CO₂のインキュベーター中、37℃で3時間インキュベートした。

- 7) アッセイプレートをインキュベーターから取り出し、室温で15分間放置した。
- 8) 細胞を、PBS+各ウェルの一部の液体で3回洗浄した。
- 9) steady liteの100 μ l アリコート+試薬をアッセイプレートの各ウェルに加えた(試薬は感光性であった)。
- 10) 各アッセイプレートをアルミホイルで覆って遮光し、室温で30分間振盪した。
- 11) 各アッセイプレートをマイクロタイタープレートリーダーで読み取った。

【0310】計算および結果

マイクロタイタープレートリーダーからのデータを、GraphPad Prismソフトウェアに転送した。ソフトウェアは、非線形回帰を実施する(ログ(アゴニスト)対 10
応答)。ソフトウェアによって計算され、pMで報告されたEC₅₀を以下の表1に示す。

【0311】

各試料について、最低2つの複製を測定した。報告値は複製の平均である。

【表 1 A】

[表 1] 効力、 EC_{50}

化合物 番号	hGIP-R、CRE Luc 0.2% H SA EC_{50} (pM)	hGLP-1-R、 CRE Luc 0.2% HSA EC_{50} (pM)	hGcg-R CR E Luc 0. 2% HSA EC_{50} (pM)
hGIP (1- 42)	4.98	>100000	>100000
hGIP (1- 31)	2.24	nd	nd
hGLP-1 (7-37)	>100000	3.9*	>100000*
hGcg	>100000	1094	14.3
1	40.49	>100000*	>100000*
2	49.89	>100000*	>100000*
3	44.74	nd	nd
4	72.12	nd	nd
5	20.90	>10000*	nd
6	134.67	nd	nd
7	48.93	nd	nd
8	179.57	nd	nd
9	62.94	nd	nd
10	252.27	nd	nd
11	9.40	nd	nd
12	71.17	nd	nd
13	72.47	nd	nd
14	265.53	nd	nd
15	30.44	nd	nd
16	25.03	nd	nd
17	43.10	nd	nd
18	545.53	nd	nd
19	91.53	nd	nd
20	158.46	nd	nd
21	810.27	nd	nd
22	547.20	nd	nd
23	135.62	nd	nd
24	152.88	nd	nd
25	123.86	>10000*	nd
26	61.50	nd	nd
27	67.47	nd	nd
28	76.23	nd	nd

10

20

30

40

【表 1 B】

29	71.19	nd	nd
30	84.20	nd	nd
31	26.05	>100000*	>1000000*
32	38.35	nd	nd
33	21.29	>1000000*	>1000000*
34	20.15	>1000000*	>1000000*
35	5.45	>1000000	>1000000
36	5.97	>1000000	>1000000
37	4.12	>1000000	>1000000
38	9.00	>1000000	>1000000
39	5.90	>1000000	>1000000
40	4.47	>1000000	>1000000
41	14.00	nd	nd
42	22.00	nd	nd
45	56.00	>1000000*	>1000000*
46	21.2	>1000000	nd

*アッセイは1% HSAの存在下で実施した；nd＝未決定。

【0312】

本発明の誘導体は、与えられた条件下ですべて良好なGIP効力を示し、ヒトGLP-1受容体およびヒトグルカゴン受容体においては実質的に活性を示さない、または測定可能な活性を示さない。

【0313】

[実施例3]

ミニブタにおける薬物動態研究

本研究の目的は、ミニブタへの静脈内投与後の本発明の誘導体のインビボでの半減期、すなわち体内での該誘導体の時間の長期化、およびそれによる該誘導体の作用時間の延長を決定することである。これは薬物動態(PK)研究において行われ、問題の誘導体の終末相半減期が決定される。終末相半減期は、一般に、初期分布相の後に測定される、ある特定の血漿濃度を半減するのにかかる期間を意味する。

【0314】

研究：

雌のGöttingenミニブタをEllegaard Göttingen Minipigs（デンマーク、Dalmose）から取得し、月齢およそ7～14ヵ月でかつ体重がおよそ16～35kgのものを研究で使用した。ミニブタは単独収容され、SDSミニブタ飼料（Special Diets Services、英国、エセックス）を1日1回、限定的に与えられた。

【0315】

3週間の順化後、二つの永久中心静脈カテーテルを、各ミニブタの大静脈尾部に移植した。ミニブタを手術後1週間回復させ、次いで、連続的な誘導体投与の間に適切なウォッシュ・アウト期間を伴う反復薬物動態研究に使用した。

【0316】

ミニブタは投与前およそ18時間、および投与後0～4時間の間絶食させたが、全期間の間、水には自由にアクセスできた。

【0317】

実施例1のGIP誘導体を、236 mMプロピレングリコールを含有する8 mMリ

ン酸ナトリウム緩衝液 pH 7.8 に溶解し、濃度 50 nmol/ml とした。化合物の静脈内注射（通常は 5 nmol/kg に対応する容積、例えば、0.1 ml/kg）を一つのカテーテルを通して与え、投与後 13 日までの所定の時点で（好ましくは他のカテーテルを通して）血液試料を採取した。血液試料（例えば、0.8 ml）を EDTA 緩衝液（8 mM）に採取し、次いで 4℃ および 1942 G で 10 分間遠心分離した。

【0318】

サンプリングおよび分析：

血漿をドライアイス上の Micronic チューブの中にピペットで入れ、ELISA または類似の抗体ベースアッセイまたは LCMS を使用してそれぞれの GIP ペプチド誘導体の血漿濃度について分析するまで -20℃ で保持した。個別の血漿の濃度・時間プロファイルを、Phoenix WinNonLin バージョン 6.4 (Pharsight Inc.、米国カリフォルニア州、マウンテンビュー) の非コンパートメントモデルで分析し、結果として生じる終末相半減期（調和平均）を決定した。

【0319】

結果：

【表2】

[表2] 半減期 ($t_{1/2}$)

化合物番号	n	$t_{1/2}$ (時間) 調和平均 (最小～最大)
3	3	96 (93～98)
4	3	124 (116～132)
5	2	79 (73～79)
6	3	125 (121～130)
7	2	84 (82～87)
8	3	106 (92～118)
11	2	89 (86～91)
12	3	132 (120～141)
15	2	81 (80～82)
17	3	88 (86～91)
23	3	119 (112～126)
24	3	125 (122～127)
25	2	125 (119～134)
26	3	109 (101～118)
27	3	147 (145～151)
28	3	104 (91～116)
29	3	119 (103～138)
30	3	99 (88～107)
31	2	128 (125～130)
32	3	121 (100～137)

【0320】

試験した GIP 誘導体は、ヒトで測定された hGIP (1-42) の半減期が約 5 分 [Meier et al., Diabetes, Vol. 59, 2004, 654-662] または 7 分 [Deacon et al., J. Clin. Endocrinol. & Metab., Vol. 85, No. 10, 2000

， 3 5 7 5－3 5 8 1］であるのに比べて、非常に長い半減期を有する。

【0 3 2 1】

〔実施例 4〕

ペプチド組成物の物理的安定性（Th T 細線維化アッセイおよび D L S _ S I）

本研究の目的は、以下に説明するように Th T アッセイおよび D L S－S I アッセイで、水溶液中における本発明の誘導体の物理的安定性を評価することである。

【0 3 2 2】

Th T アッセイ：

チオフラビン T アッセイは、Schle in （2 0 1 7），A A P S J，1 9
（2），3 9 7－4 0 8 に概説されるように実施した。

10

【0 3 2 3】

ペプチドの低い物理的安定性はアミロイド線維形成につながる可能性があり、これは試料中に秩序正しい糸のような高分子構造として観察され、やがてはゲル形成につながりうる。これは慣例的には、試料の目視試験によって測定されてきた。しかし、そのような測定は非常に扱いにくく、観察者に依存する。従って、小分子インジケータプローブ（small molecule indicator probe）の適用がはるかに有利である。チオフラビン T（Th T）はこのようなプローブであり、線維に結合した時、明確な蛍光シグネチャを有する [Na i k i e t a l. （1 9 8 9）A n a l. B i o c h e m. 1 7 7，2 4 4－2 4 9；L e V i n e （1 9 9 9）M e t h o d s. E n z y m o l. 3 0 9，2 7 4－2 8 4]。

20

【0 3 2 4】

線維形成の時間経過は、以下の式の S 字状曲線で表すことができる [N i e l s e n e t a l. （2 0 0 1）B i o c h e m i s t r y 4 0，6 0 3 6－6 0 4 6]：

【数 1】

$$F = f_i + m_i t + \frac{f_f + m_f t}{1 + e^{-[(t-t_0)/\tau]}} \quad \text{方程式 (1)}$$

式中、F は時間 t での Th T 蛍光である。定数 t 0 は、最大蛍光の 5 0 % に達するために必要な時間である。線維形成を説明する 2 つの重要なパラメータは、t 0－2 τ で計算されるラグタイムおよび見かけ上の速度定数カッパ 1 / τ である。

30

【0 3 2 5】

細線維化の一般的開始機構として、ペプチドの部分的に折り畳まれた中間物の形成が示唆されている。これらの中間物のうち、その上にさらなる中間物が集まり、細線維化が進むテンプレートを形成するために核となるものはほとんどない。ラグタイムは、核の限界質量が高まる間隔に相当し、見かけ上の速度定数は、線維自体が形成される速度である。

【0 3 2 6】

試料は各アッセイの前に新たに調製する。原薬を、8 m M リン酸塩、1 4 m g / m L プロピレングリコール、5 8 m M フェノール、p H 7. 4 中、2 5 0 μ M の G I P
誘導体と共に溶解した。試料の p H は、適切な量の濃 N a O H および H C l を使用して、望ましい値に調整した。チオフラビン T を、H 2 O 中の原液から試料に加えて、最終濃度 1 μ M とした。

40

【0 3 2 7】

2 0 0 μ l の試料アリコート を 9 6 ウェルマイクロタイタープレート（P a c k a r d O p t i P l a t e ^{T M}－9 6、白色ポリスチレン）の各ウェルに入れた。各試料の 4 つの複製（1 回の試験条件に相当）をウェルのカラム 1 つに入れた。プレートは S c o t c h P a d（Q i a g e n）で密封した。

【0 3 2 8】

インキュベーション、振盪および Th T 蛍光発光の測定は、F l u o r o s k a n A

50

scent FL蛍光プレートリーダー (Thermo Lab systems)で行った。プレートは、1 mm振幅で960 rpmに調整した軌道振盪をしながら、37℃でインキュベートした。蛍光測定は、444 nmフィルターを通した励起、および485 nmフィルターを通した発光測定を使用して行った。アッセイは45時間のインキュベーション後に完了した。

【0329】

各実行は、プレートをアッセイ温度で10分間インキュベートすることにより開始した。プレートは20分ごとに、望ましい時間の間測定した。測定と測定の間、プレートは記述したように振盪および加熱した。

【0330】

ThTアッセイの完了後、各試料の複製を集め、20000 rpmおよび18℃で30分間遠心分離した。上清を0.22 µmフィルターでろ過し、アリコートにHPLCバイアルに移した。初期試料に対するろ過した試料の濃度（パーセント）を回収率として報告した。

【0331】

測定点はさらなる処理のためにMicrosoft Excelフォーマットで保存し、曲線の描画および近似はGraphPad Prismを使用して実施した。線維がない場合のThTからのバックグラウンド発光は無視できた。データ点は複製4つの平均であり、標準偏差誤差のバーとともに示した。同じ実験で得られたデータのみ（すなわち、同じプレート上の試料）を同じグラフに表し、実験間の細線維化の相対的測定を確実にした。

【0332】

データセットは方程式 (1) に近似されうる。しかし、本明細書で報告した細線維化前のラグタイムは、ThT蛍光がバックグラウンドレベルよりも顕著に上の時点特定する曲線の目視検査により決定された。45時間のラグタイムとして、アッセイ中のThT蛍光の増加は報告されなかった。

【0333】

溶液中のペプチドの物理的安定性の評価のための動的光散乱安定性指標 (DLS-SI)

：

溶液中のペプチドの流体力学半径 (R_h 、同義語：ストークス半径) は、溶液中の生体分子のサイズおよびオリゴマー状態の指標であり、動的光散乱法 (DLS) で測定できる。経時的な流体力学半径 (R_h) の変化は、サイズおよびオリゴマー状態の変化の指標となりうるため、溶液中のペプチドの物理的不安定性の指標となりうる。

【0334】

試料は各アッセイの前に新たに調製した。原薬を、8 mMリン酸塩、14 mg/mLプロピレングリコール、58 mMフェノール、pH 7.4中、250 µMのGIP誘導体と共に溶解した。試料のpHは、適切な量の濃NaOHおよびHClを使用して、望ましい値に調整した。

【0335】

新たに調製した各試料の400 µLを、孔径0.02 µmの非滅菌Whatman (登録商標) Anotop (登録商標) 10シリンジフィルターを通してろ過し、それによって最初の2滴を廃棄した。384ウェルマイクロタイタープレート (Corning (登録商標) 3540ポリスチレン、黒色で平らで透明な底部のウェルあたり25 µLのろ過試料を入れ、各試料を3つの複製として分析した。各ウェルの試料を、15 µLのシリコンオイル (Sigma-Aldrich、25℃の粘度20 cSt) で覆った。プレートを1200 rpmで5分間遠心分離し (Eppendorf (登録商標) 遠心機5430、ローターA 2 MTP)、試料温度を25℃に平衡化するためにWyatt DynaPro Plate Reader IIに30分間配置してから測定を行った。Wyatt DynaPro Plate Reader IIは830 nmレーザーおよびソフトウェアDynamics v7.5を備えていた。各ウェルのそれ

10

20

30

40

50

ぞれの試料を、データ取得間隔 5 秒および試料あたりの取得数 40 で分析した。測定後、プレートをマイクロプレート用粘着フィルム（VWR ポリプロピレン耐熱フィルム）で覆い、25℃で 4 週間インキュベートした。試料は、1、2 および 4 週間後に同じパラメータを使用して DLS により再測定した。

【0336】

測定後、各試料のデータは最初に Dynamic s ソフトウェア v 7.5 でフィルターした（最小振幅：0.03、最大振幅：1、ベースライン限度（1+/-）：0.005 および最大 SOS：100）。その後、各測定試料の時間自己相関関数をピアレビューしてから、方程式（2）に従って DLS-SI を計算した。

【0337】

DLS-SI アッセイで、キュムラント R_h の変化は、次式のように時間に依存する安定性指標として定義され、

【数 2】

$$DLSSI(t) = \frac{|R_h(t) - R_h(t_0)|}{2\sigma} \quad \text{方程式 (2)}$$

DLS-SI は時間（t）に依存する安定性指標であり、安定性調査の開始時（ t_0 ）と終了時（t）の間のキュムラント流体力学半径 R_h の差を統計的に有意な変動性 2σ で正規化する。このような条件下で R_h 測定値の分析変動性を包括的に調査したところ、結果は $\sigma = 0.3 \text{ nm}$ であった。1 より大きな DLS-SI 値は、 R_h の統計的に有意な変化を表す。DLS-SI 値が大きいほど、経時的な R_h の変化が大きい。

【0338】

結果：

10

20

【表 3】

[数 3] pH 7.4 および DLS-SI での ThT アッセイ ラグタイム および 回収率。

化合物番号	ThT アッセイ ラグタイム (時間)	ThT アッセイ 回収率 (%)	DLS-SI 無次元	DLS-SI 沈殿
hGIP (1-42)	0.33	0	1 [#]	いいえ [#]
hGIP (1-31)	0	49	1000 ^{##}	はい ^{##}
1	>45	104.5	1.7	いいえ
2	>45	111.5	0	いいえ
3	>45	100	0	いいえ
4	>45	100	0.6	いいえ
5	>45	101	1.1	いいえ
6	>45	100	1.7	いいえ
7	>45	100	1.7	いいえ
8	>45	100	0.6	いいえ
10	>45	95	1.7	いいえ
11	>45	100	0	いいえ
12	>45	115	0.6	いいえ
15	>45	101	1.7	いいえ
17	>45	105	0.6	いいえ
21	>45	104	0	いいえ
22	>45	100	1.7	いいえ
23	>45	100	1.7	いいえ
24	>45	100	1.7	いいえ
25	>45	104	1.7	いいえ
26	>45	104	0	いいえ
27	>45	102	1.7	いいえ
28	>45	100	0	いいえ
29	>45	102	0	いいえ
30	>45	100	1.1	いいえ
31	>45	101	0.6	いいえ
32	>45	100	1.7	いいえ
33	>45	88	nd	nd
34	>45	88	nd	nd
43*	>45	100	0	いいえ
44**	nd	nd	nd	nd
45	>45	93	6.7	いいえ
46	>45	103	1.5	いいえ

nd = 未決定; [#]DLS-SI の hGIP (1-42) の濃度は、試料調製に記述された 250 μ M ではなく、わずか 156 μ M であった。^{##}DLS-SI の hGIP (1-31) の濃度は、試料調製に記述された 250 μ M ではなく、わずか 5 μ M であった。^{*}濃度は、試料調製に記述された 250 μ M ではなく、わずか 162 μ M であった。^{**}化合物は所与の pH で溶けない。

【0339】

ThT アッセイで試験された GIP 誘導体は、45 時間 (ラグタイム) 後に線維形成を示さず、回収率は非常に高かった (すなわち、hGIP (1-42) および hGIP (1-31) の初期濃度に対する、アッセイ後に回収された GIP 誘導体の濃度)。さらに、hGIP (1-42) および hGIP (1-31) が溶液中で線維を形成する傾向を示す。

【0340】

DLS-SI データは、hGIP (1-42) および本発明の GIP 誘導体に対して流体力学半径の増加は全くないかまたはほんのわずかであることを示しており、沈殿は目に

10

20

30

40

50

見えなかった。 R_h の経時的变化は、hGIP (1-31) について顕著であり、大きな凝集体の形成はDLS法において沈殿として見えるようになった。

【0341】

よって、本発明のGIP誘導体は、hGIP (1-42) およびhGIP (1-31) と比較して高い物理的安定性を有する。

【0342】

[実施例5]

GIP誘導体組成物の化学的安定性

本研究の目的は、GIP誘導体組成物の化学的安定性を決定することである。GIP誘導体組成物の安定性の尺度として、時間の関数としての高分子量ペプチド形成の形成(% HMWP)をサイズ排除クロマトグラフィー(SEC-MS)で分析した。さらに、GIP誘導体組成物の純度損失はLCMSで測定した。

【0343】

製剤：

化学的安定性アッセイ用の試料は、各アッセイ前に新たに調製した。原薬を、8 mM リン酸塩、14 mg/mL プロピレングリコール、58 mM フェノール、pH 7.4 中、250 μ M のGIP誘導体と共に溶解した。試料のpHは、適切な量の濃NaOHおよびHClを使用して、望ましい値に調整した。

【0344】

インキュベーション：

それぞれのGIP誘導体の製剤を37°Cのインキュベーター中に4週間保存した後、HMWP形成および純度損失について以下に記述するように試験した。

【0345】

HMWP形成分析：

共有結合オリゴマー(HMWP)の形成をSEC-MS法で分析し特定した。Acquity BEH200 SECカラム(4.6 mm x 150 mm、粒径1.7 μ m および孔径200 Å)を備えたWaters Acquity i-クラスUPLC。55% MeCN中の0.05% TFAを使用し、カラム温度45度および流速0.2 mL/分で定組成溶離を実施した。LCシステムは、215 nm、10 Hzで作動するTUV検出器、および陽イオンモードで作動しm/z範囲100~4000、通常分解能設定の高分解能QToF質量分析計(Waters製、Synapt G2S)の両方に接続されていた。ロイシン-エンケファリンに対するロックマスコレクションは31秒ごとに行った。スペクトルはMassLynxバージョン4.1で処理し、MaxEntデコンボリューションした。結果を表5に示す。

【0346】

LCMSによる純度分析：

加速化学的安定性試験について、関連試料を、純度および不純物特定および特徴付けのために、Waters Synapt G2S高分解能QToF質量分析システムに接続したWaters Acquity i-クラスUPLCシステムで分析した。UPLCシステムにWaters Acquity CSH C18カラム(粒径1.7 μ m、内径1 mmおよび長さ150 mm)を取り付けた。カラムオーブンは55°Cに保持した。使用した溶媒は、Thermo (Optima LS118-1)から予め混合された0.1%ギ酸水溶液(溶離液A)であり、B溶離液はこれもThermo (Optima LS120-1)から予め混合された0.1%ギ酸のMeCN溶液であった。溶媒はバイナリ溶溶媒マネジャーシステムからポンプで吸い出され、50 μ lの容量のミキサーの高圧側で混合された。グラジエントおよび流速は表4に示される：

【0347】

【表 4】

[表 4] LC グラジエント表

時間 (分)	流速 (ml / 分)	%A	%B	曲線
0	0.1	70	30	初期
40	0.1	46	54	6
41	0.1	5	95	6
45	0.1	5	95	6
46	0.1	70	30	6
50	0.1	70	30	6

10

【0348】

8℃のフロースルーニードル自動サンプラーを使用し、各試料の1 μlを注入した。流出液は、215 nmに調整した波長可変UV検出器（TUV）を通過した。UV検出器からの出口は、質量分析計のエレクトロスプレー源になった。キャピラリーは3 kVに保持し、乾燥窒素ガスを750 L/時間の流量および250℃の温度でパーズした。ソースブロックは120℃に保持し、大きなボアコーンは50 L/時間の窒素でフラッシュし、機器の残りは標準電極電位であった。質量分析計は公称分解能35000の高分解能モードで操作した。ToFアナライザは、100～2000のm/zウィンドウのADCモードで操作した。トラップT-wave領域のより高い衝突エネルギーの第二の機能を、32～52 Vの電圧を有する高エネルギーランプのMSEタイプの実験のために使用した。

20

【0349】

結果：

30

【表 5】

[表 5] 37℃でのHMWP形成および純度損失

化合物番号	HMWP形成 (% /月)	純度損失 (%/月)
hGIP (1-4 2)	2. 0	73. 1
hGIP (1-3 1)	0. 15	86. 9
1	0. 30	5. 60
2	0. 25	3. 47
3	0. 90	2. 80
4	0. 50	2. 00
5	0. 15	2. 89
6	0. 50	5. 20
7	0. 00	1. 70
8	0. 80	6. 00
10	1. 50	4. 80
11	-0. 44	2. 64
12	0. 70	4. 40
15	0. 24	0. 74
17	-0. 30	4. 00
21	0. 40	3. 20
22	0. 10	4. 80
23	0. 40	1. 60
24	0. 70	3. 60
25	0. 40	2. 00
26	1. 30	4. 40
27	0. 85	1. 09
28	0. 08	1. 49
29	0. 31	2. 10
30	0. 10	1. 14
31	-0. 24	0. 49
32	0. 66	2. 80
33	0. 32	34. 50
45	8. 17	47. 22
46	-0. 09	2. 96

【0350】

表5に見られるように、本発明のGIP誘導体はHMWPの低い形成を示し、月あたりの低い純度損失を有する。よって、それらは溶液中で化学的に安定であると見なされる。

【0351】

[実施例6]

肥満マウスの亜慢性インビボ研究

本実施例の目的は、本発明のGIP誘導体のみ、およびGLP-1受容体アゴニストと

10

20

30

40

50

の組み合わせの、食餌誘発性肥満（DIO）マウスの食物摂取、体重、および耐糖能に対するインビボ効果を評価することである。本実施例に使用したGLP-1受容体アゴニストは、セマグルチドと同じ薬理学的特性を有するが、わずかに異なる構造を有するセマグルチド様分子であった。化合物は、例えば、本明細書の実施例1の方法により記述されたもの、またはWO 2006/097537号、実施例4に記述されたものなど、当該技術分野で周知の方法を使用して合成してもよい。

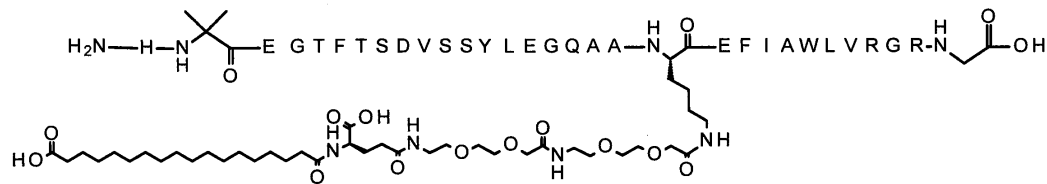
【0352】

セマグルチド様分子（化合物番号47；配列番号58）：

N⁶,²⁶-{18-[N-(17-カルボキシヘプタデカノイル)-D-γ-グルタミル]-10-オキソ-3,6,12,15-テトラオキサ-9,18-ジアザオクタデカノイル}-[8-(2-アミノ-2-プロパン酸),34-L-アルギニン]ヒトグルカゴン様ペプチド1(7-37)

10

【化122】



20

【0353】

動物をGLP-1受容体アゴニスト（化合物番号47）および／または化合物番号5、25および31により例示される本発明のGIP誘導體で1日1回治療し、体重減少、有効性および耐糖能を評価した。

【0354】

動物および飼料

すべての動物実施計画書は、Novo Nordiskの施設内動物管理委員会および倫理審査委員会による承認を受けた。動物は、Novo Nordiskの齧歯類飼育基準に従って収容され、制御照明下で食品および水に対する適宜な自由なアクセスが与えられた（12時間：12時間の明／暗サイクル、照明オフ：18：00～06：00）、温度（23±2℃）および相対湿度（50±20％）。高脂肪の飼料（45％ kcal脂肪、RD12451、Research Diets、米国ニュージャージー州ニューブランズウィック）で22週間にわたり維持された、DIO雄C57BL/6Jマウスは、Charles River（フランス）から入手した。到着時、マウスは単独収容（ケージ当たりマウス1匹）され、治療開始前の2週間にわたり、その新しい環境に対して順応させた。

30

【0355】

グループの割り当ておよび投与

試験の開始前に、動物は単独収容され、7日間にわたり取扱いに順応させた。DIOマウスは、体脂肪量および体重の平均および標準偏差の統計的变化が群間で最小化されるように、群（n=8／群）に配分された。動物は1日1回、溶媒または化合物のいずれかの皮下投与を受けた。

40

【0356】

製剤緩衝液

試験のすべての化合物は、次の緩衝液中で処方された：50 mMリン酸塩、70 mM塩化ナトリウム、0.05％ポリソルベート80、pH 7.4。投薬溶液はガラスバイアル中で処方し、2～8℃で保存した。投薬溶液は、投薬前に室温まで戻し、投薬後は2～8℃に戻した。

【0357】

体重および食物摂取量

50

体重（BW）および食物摂取量は、毎日投与する直前に測定した。治療開始前のマウスの平均開始体重は 45.2 ± 0.2 グラムであった。結果を表6～8に示す。

【0358】

I P G T T（腹腔内ブドウ糖負荷試験）

ブドウ糖負荷試験の当日（15日目）に、動物を4時間絶食させた。食物を取り除き、動物を新たなケージに移した。動物は水にはアクセスできたが、食物にはアクセスできなかった。尾の血糖値を測定し、マウスに 2 g/kg の腹腔内（i. p.）糖負荷を注入した（ $t=0$ ）（ 200 mg/ml グルコース溶液、用量容積 10 ml/kg ）。尾の血糖値を、腹腔内糖負荷後、0、15、30、60、90、120分時点で測定した。I P G T T中の動物の層別化は、例えば、グループ1からのマウス2匹、次にグループ2、3、4からのマウス2匹に投与した後、グループ1、2、3などからの次の2匹を取り扱うように行われた。これは、すべてのグループにわたり「時刻」の公平な分配を可能にするためであった。

【0359】

結果：

【表6】

〔表6〕試験1、GLP-1受容体アゴニスト（化合物番号47、 2 nmol/kg ）および／またはGIP化合物番号5（ 30 nmol/kg ）で治療したDIOマウスにおける、食物摂取量、体重および耐糖能に対する効果。

化合物番号	累積食物摂取量 (kcal)	絶対BW (グラム)		BWの変化 (%)	iAUC、I PGTT (mM*分)
	14日目	0日目	14日目	14日目	15日目
溶媒	197.0 ± 12.2 a	43.8 ± 1.2 a	43.6 ± 1.0 a	-0.6 ± 3.6 a	1038 ± 157 a
5	181.6 ± 8.1 b	43.9 ± 1.1 a	42.2 ± 1.1 ab	-3.8 ± 3.4 b	812 ± 141 a
47	146.3 ± 6.8 b	44.4 ± 1.0 a	38.5 ± 1.2 bc	-13.2 ± 3.3 c	543 ± 94 a
5 + 47	117.1 ± 8.2 b	44.6 ± 1.2 a	35.4 ± 0.7 c	-20.7 ± 2.7 d	482 ± 154 b

a~d $p < 0.05$ 、各日に対して一元配置分散分析およびテューキーの多重比較検定；

（各カラムの）同じ文字で接続されていないグループは互いに有意に異なる。結果は $\pm$ SEM、 $n=6-8$ として表される。iAUC = ベースラインを減算した曲線下面積

【0360】

【表 7】

〔表 7〕試験 2、GLP-1 受容体アゴニスト（化合物番号 47、2 nmol/kg）および／または GIP 化合物番号 25（30 nmol/kg）で治療した DIO マウスにおける、食物摂取量、体重および耐糖能に対する効果。

化合物番号	累積食物摂取量 (kcal)	絶対 BW (グラム)		BW の変化 (%)	iAUC、IPGTT (mM*分)
	14 日目	0 日目	14 日目	14 日目	15 日目
溶媒	180.7 ± 7.3 ^a	40.8 ± 1.0 ^a	40.1 ± 0.7 ^a	-1.6 ± 1.5 ^a	1078 ± 123 ^a
25	170.2 ± 7.3 ^b	41.1 ± 1.0 ^a	38.8 ± 1.0 ^a	-5.6 ± 0.8 ^b	518 ± 36 ^b
47	134.9 ± 4.3 ^b	40.2 ± 1.2 ^a	34.8 ± 1.2 ^b	-13.6 ± 0.7 ^c	503 ± 55 ^b
25 + 47	111.0 ± 8.6 ^b	40.8 ± 1.2 ^a	31.9 ± 0.9 ^b	-21.8 ± 1.0 ^d	375 ± 76 ^b

^{a~d} p < 0.05、各日に対して一元配置分散分析およびテューキーの多重比較検定；
（各カラムの）同じ文字で接続されていないグループは互いに有意に異なる。結果は ± SEM、n = 8 として表される。iAUC = ベースラインを減算した曲線下面積

【0361】

【表 8】

【表 8】 試験 3、GLP-1 受容体アゴニスト（化合物番号 47、2 nmol/kg）および GIP 化合物番号 31（30 nmol/kg）で治療した DIO マウスにおける、食物摂取量、体重および耐糖能に対する効果。

化合物番号	累積食物摂取量 (kcal)	絶対 BW (グラム)		BW の変化 (%)	iAUC、IPGTT (mM*分)
	14 日目	0 日目	14 日目	14 日目	15 日目
溶媒	178.2 ± 8.9 ^a	44.4 ± 1.2 ^a	44.4 ± 1.4 ^a	-0.2 ± 0.8 ^a	1882 ± 119 ^a
31	161.9 ± 5.7 ^b	43.9 ± 1.2 ^a	41.6 ± 1.0 ^a	-5.2 ± 0.9 ^b	727 ± 76 ^b
47	140.2 ± 6.7 ^b	45.2 ± 1.4 ^a	40.0 ± 1.3 ^a	-11.2 ± 1.6 ^c	1441 ± 135 ^c
31 + 47	110.0 ± 6.0 ^b	44.3 ± 1.5 ^a	36 ± 1.3 ^b	-18.7 ± 1.6 ^d	1045 ± 113 ^{b,c}

^{a~d} $p < 0.05$ 、各日に対して一元配置分散分析およびテューキーの多重比較検定；
（各カラムの）同じ文字で接続されていないグループは互いに有意に異なる。結果は ± SEM、n=8 として表される。iAUC = ベースラインを減算した曲線下面積

【0362】

表 6～8 から、GLP-1 受容体アゴニスト化合物番号 47（2 nmol/kg）を使用した単剤療法は、食物摂取量の減少を誘発し、体重減少および耐糖能の改善をもたらしたことが分かる。本発明の GIP 誘導体（化合物 5、25、31；30 nmol/kg）を使用した単剤療法は、食物摂取量に軽微な効果を有し、化合物 47 よりも小さな体重減少をもたらした。GIP 誘導体 5、25、31 を使用した単剤療法はすべて耐糖能を改善した。化合物 47（2 nmol/kg）と GIP 誘導体 5、25、31（30 nmol/kg）のそれぞれとの併用療法は、単剤療法と比較して、添加物よりも大きな効果で、食物摂取量の減少および体重減少を増強させた。併用療法の耐糖能は、GIP 誘導体の単剤療法で達成されたものを超えて改善することはなかった（表 6～8）。

【0363】

本発明のある特定の特徴を本明細書において例示および説明してきたが、数多くの修正、置換、変更および均等物が当業者には思い浮かぶであろう。したがって、添付の特許請求の範囲が、本発明の真の趣旨の範囲内にあるそのようなすべての修正および変更を網羅することを意図していることが理解されるべきである。

【配列表】

0006818940000001.app

フロントページの続き

早期審査対象出願

- (72)発明者 ヘニング・トゥーヤスン
デンマーク・2880・バウスヴェア・ノヴォ・アレー・(番地なし)
- (72)発明者 ニコラス・レイモンド・コックス
アメリカ合衆国・ワシントン・98109・シアトル・フェアビュー・アヴェニュー・ノース・5
30・#5000・ノヴォ・ノルディスク
- (72)発明者 パトリック・ジェイ・ナー
アメリカ合衆国・ワシントン・98109・シアトル・フェアビュー・アヴェニュー・ノース・5
30・#5000・ノヴォ・ノルディスク
- (72)発明者 リチャード・ディマーチ
アメリカ合衆国・ワシントン・98109・シアトル・フェアビュー・アヴェニュー・ノース・5
30・#5000・ノヴォ・ノルディスク
- (72)発明者 ブライアン・フィナン
アメリカ合衆国・ワシントン・98109・シアトル・フェアビュー・アヴェニュー・ノース・5
30・#5000・ノヴォ・ノルディスク
- (72)発明者 イェスベル・エフ・ラウ
デンマーク・2880・バウスヴェア・ノヴォ・アレー・(番地なし)
- (72)発明者 ステフェン・リーツールンゲ
デンマーク・2880・バウスヴェア・ノヴォ・アレー・(番地なし)
- (72)発明者 ファ・リウ
アメリカ合衆国・ワシントン・98109・シアトル・フェアビュー・アヴェニュー・ノース・5
30・#5000・ノヴォ・ノルディスク

審査官 福澤 洋光

- (56)参考文献 特表2015-528795 (JP, A)
特表2013-514323 (JP, A)
国際公開第2012/036962 (WO, A1)
特表2016-520511 (JP, A)
特表2018-500282 (JP, A)
Journal of Medicinal Chemistry, 2006年, Vol.49, No.3, pp.1047-1054

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C12N 1/00-15/90
C07K 1/00-19/00
CA/MEDLINE/BIOSIS/WPIDS (STN)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)
UniProt/GeneSeq
PubMed