(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2016-504379
(P2016-504379A)
(43)公表日　平成28年2月12日(2016.2.12)

| (51)Int.Cl. | | F I | | | テーマコード（参考） |
|---|---|---|---|---|---|
| C07K 14/575 | (2006.01) | C07K | 14/575 | ZNA | 4C084 |
| C07K 14/62 | (2006.01) | C07K | 14/62 | | 4H045 |
| A61P 3/10 | (2006.01) | A61P | 3/10 | | |
| A61K 38/00 | (2006.01) | A61K | 37/02 | | |
| A61K 38/04 | (2006.01) | A61K | 37/43 | | |

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 31 頁）　最終頁に続く

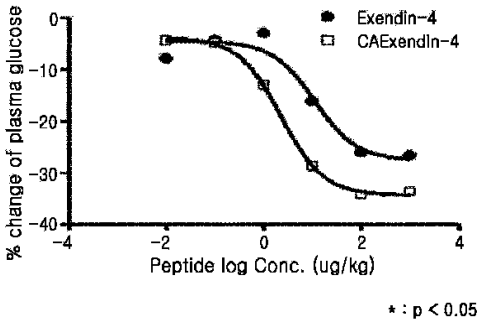
(21)出願番号　特願2015-551600 (P2015-551600)
(86)(22)出願日　平成26年1月3日(2014.1.3)
(85)翻訳文提出日　平成27年7月2日(2015.7.2)
(86)国際出願番号　PCT/KR2014/000025
(87)国際公開番号　WO2014/107035
(87)国際公開日　平成26年7月10日(2014.7.10)
(31)優先権主張番号　10-2013-0000766
(32)優先日　平成25年1月3日(2013.1.3)
(33)優先権主張国　韓国(KR)
(31)優先権主張番号　10-2014-0000031
(32)優先日　平成26年1月2日(2014.1.2)
(33)優先権主張国　韓国(KR)

(71)出願人　515182071
ハンミ　ファーム．カンパニー　リミテッド
ＨＡＮＭＩ　ＰＨＡＲＭ．ＣＯ．，ＬＴＤ．
大韓民国　４４５－９５８　キョンギ－ド　ファソン－シ　パルタン－ミョン　ムハ－ロ　２１４
(74)代理人　100105957
弁理士　恩田　誠
(74)代理人　100068755
弁理士　恩田　博宣
(74)代理人　100142907
弁理士　本田　淳

最終頁に続く

(54)【発明の名称】Ｎ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体

(57)【要約】
本発明は、Ｎ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体及びこれを含む薬学的組成物に関し、具体的には、前記インスリン分泌ペプチド誘導体は、インスリン分泌ペプチドのＮ－末端の正電荷が中性ｐＨで中性電荷または実効負電荷に改変されたことを特徴とする。本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、前述のようなＮ－末端の電荷の改変により、ＧＬＰ－１受容体からの解離が迅速に進められ、血中安定性を維持しつつ、天然型インスリン分泌ペプチドに比べて増加したインスリン分泌能と血糖値低下能を示すため、２型糖尿病の治療に非常に有効に用いることができる。



【特許請求の範囲】
【請求項１】
インスリン分泌ペプチド誘導体であって、前記誘導体が天然型インスリン分泌ペプチドのＮ－末端の電荷（charge）を改変したものである、インスリン分泌ペプチド誘導体。
【請求項２】
前記インスリン分泌ペプチド誘導体は、天然型インスリン分泌ペプチド、その類似体または断片のＮ－末端アミノ基またはアミノ酸残基の正電荷が中性または実効負電荷を有するように化学的に改変されたものである、請求項１に記載のインスリン分泌ペプチド誘導体。
【請求項３】
前記天然型インスリン分泌ペプチド、その類似体または断片は、そのＮ－末端残基がヒスチジンであり、前記改変は、前記ヒスチジン残基のα－アミノ基を除去または置換すること、あるいはα炭素を除去することにより、中性または実効負電荷を有するように改変したものである、請求項２に記載のインスリン分泌ペプチド誘導体。
【請求項４】
前記改変は、天然型インスリン分泌ペプチド、その類似体または断片のＮ－末端アミノ基を除去すること；前記Ｎ－末端アミノ基をヒドロキシル基に置換すること；前記Ｎ－末端アミノ基を２つのメチル残基で修飾すること；前記Ｎ－末端アミノ基をカルボキシル基に置換すること；前記Ｎ－末端ヒスチジン残基のα炭素を除去してイミダゾールアセチル残基のみを残すこと；及び、前記Ｎ－末端アミノ基を除去し、Ｃ－末端のカルボキシル基をプロピルアミド（propylamide）に置換することのうちの一つ以上を含む、請求項３に記載のインスリン分泌ペプチド誘導体。
【請求項５】
前記インスリン分泌ペプチド誘導体は、天然型インスリン分泌ペプチド、その類似体または断片のＮ－末端残基がデス－アミノ－ヒスチジル、ジメチル－ヒスチジル、β－ヒドロキシイミダゾプロピオニル、４－イミダゾアセチル及びβ－カルボキシイミダゾプロピオニルからなる群より選択される物質に置換されたものである、請求項４に記載のインスリン分泌ペプチド誘導体。
【請求項６】
前記インスリン分泌ペプチド誘導体は、天然型インスリン分泌ペプチド、その類似体または断片のＮ－末端残基がデス－アミノ－ヒスチジルに置換され、Ｃ－末端カルボキシル基がプロピルアミドに置換されたものである、請求項４に記載のインスリン分泌ペプチド誘導体。
【請求項７】
前記インスリン分泌ペプチド誘導体は、ＧＬＰ－１受容体に対する結合活性を有するものである、請求項１に記載のインスリン分泌ペプチド誘導体。
【請求項８】
前記天然型インスリン分泌ペプチドは、配列番号１で表されるＧＬＰ－１、配列番号２で表されるエキセンディン－４、配列番号３で表されるエキセンディン－３、配列番号５で表されるオキシントモジュリン、配列番号６で表されるＧＩＰ、これらの類似体または断片である、請求項１に記載のインスリン分泌ペプチド誘導体。
【請求項９】
前記天然型インスリン分泌ペプチドまたはその類似体は、ＧＬＰ－１類似体であって、$Arg^{34}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、$Gly^{8}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、$Gly^{8}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、$Val^{8}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、$Val^{8}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、$Val^{8}Asp^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、$Val^{8}Asp^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、$Val^{8}Glu^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、$Val^{8}Glu^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、$Val^{8}Lys^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、$Val^{8}Lys^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、$Val^{8}Arg^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、$Val^{8}Arg^{22}$－ＧＬＰ－１（

７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｈｉｓ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$Ｈｉｓ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｖａｌ$^{25}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｙｒ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｌｅｕ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｙｒ$^{18}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｈｉｓ$^{37}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$、Ｉｌ$^{33}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｖａｌ$^{25}$Ｉｌｅ$^{33}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｉｌｅ$^{33}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｖａｌ$^{25}$Ｉｌｅ$^{33}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、及びＶａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｖａｌ$^{25}$－ＧＬＰ－１（７－３７）からなる群より選択されるものである、請求項８に記載のインスリン分泌ペプチド誘導体。

【請求項１０】

前記天然型インスリン分泌ペプチドまたはその類似体は、配列番号４のＺＰ－１０（Ｓｅｒ$^{38}$Ｌｙｓ$^{39}$－エキセンディン－４（１～３９）－ＬｙｓＬｙｓＬｙｓＬｙｓＬｙｓ－アミド）エキセンディン－４の類似体である、請求項８に記載のインスリン分泌ペプチド誘導体。

【請求項１１】

前記インスリン分泌ペプチド誘導体は、その天然型インスリン分泌ペプチドと比較してＧＬＰ－１受容体に対し、より大きい解離定数（Kd）を有するものである、請求項１に記載のインスリン分泌ペプチド誘導体。

【請求項１２】

前記インスリン分泌ペプチド誘導体は、下記化学式１で表されるものである、請求項５に記載のインスリン分泌ペプチド誘導体：

Ｒ１－Ｘ－Ｒ２〈化学式１〉

前記式において、Ｒ１は、デス－アミノ－ヒスチジル、ジメチル－ヒスチジル、β－ヒドロキシイミダゾプロピオニル、４－イミダゾアセチル及びβ－カルボキシイミダゾプロピオニルからなる群より選択され、

Ｒ２は、－ＮＨ$_2$または－ＯＨであり、

Ｘは、Ａｌａ Ｇｌｕ Ｇｌｙ Ｔｈｒ Ｐｈｅ Ｔｈｒ Ｓｅｒ Ａｓｐ Ｖａｌ Ｓｅｒ Ｓｅｒ Ｔｙｒ Ｌｅｕ Ｇｌｕ Ｇｌｙ Ｇｌｎ Ａｌａ Ａｌａ Ｌｙｓ Ｇｌｕ Ｐｈｅ Ｉｌｅ Ａｌａ Ｔｒｐ Ｌｅｕ Ｖａｌ Ｌｙｓ Ｇｌｙ Ａｒｇ Ｇｌｙ；

Ｓｅｒ Ａｓｐ Ｇｌｙ Ｔｈｒ Ｐｈｅ Ｔｈｒ Ｓｅｒ Ａｓｐ Ｌｅｕ Ｓｅｒ Ｌｙｓ Ｇｌｎ Ｍｅｔ Ｇｌｕ Ｇｌｕ Ｇｌｕ Ａｌａ Ｖａｌ Ａｒｇ Ｌｅｕ Ｐｈｅ Ｉｌｅ Ｇｌｕ Ｔｒｐ Ｌｅｕ Ｌｙｓ Ａｓｎ Ｇｌｙ Ｇｌｙ Ｐｒｏ Ｓｅｒ Ｓｅｒ Ｇｌｙ Ａｌａ Ｐｒｏ Ｐｒｏ Ｐｒｏ Ｓｅｒ；

Ｇｌｙ Ｇｌｕ Ｇｌｙ Ｔｈｒ Ｐｈｅ Ｔｈｒ Ｓｅｒ Ａｓｐ Ｌｅｕ Ｓｅｒ Ｌｙｓ Ｇｌｎ Ｍｅｔ Ｇｌｕ Ｇｌｕ Ｇｌｕ Ａｌａ Ｖａｌ Ａｒｇ Ｌｅｕ Ｐｈｅ Ｉｌｅ Ｇｌｕ Ｔｒｐ Ｌｅｕ Ｌｙｓ Ａｓｎ Ｇｌｙ Ｇｌｙ Ｐｒｏ Ｓｅｒ Ｓｅｒ Ｇｌｙ Ａｌａ Ｐｒｏ Ｐｒｏ Ｐｒｏ Ｓｅｒ；または

Ｓｅｒ Ｇｌｎ Ｇｌｙ Ｔｈｒ Ｐｈｅ Ｔｈｒ Ｓｅｒ Ａｓｐ Ｔｙｒ Ｓｅｒ Ｌｙｓ Ｔｙｒ Ｌｅｕ Ａｓｐ Ｓｅｒ Ａｒｇ Ａｒｇ Ａｌａ Ｇｌｎ Ａｓｐ Ｐｈｅ Ｖａｌ Ｇｌｎ Ｔｒｐ Ｌｅｕ Ｍｅｔ Ａｓｎ Ｔｈｒ Ｌｙｓ Ａｒｇ Ａｓｎ Ａｒｇ Ａｓｎ Ａｓｎ Ｉｌｅ Ａｌａである。

【請求項１３】

前記インスリン分泌ペプチド誘導体は、ＧＬＰ－１、エキセンディン－４、エキセンディン－３、オキシントモジュリン、ＧＩＰまたはその類似体のＮ－末端ヒスチジン残基がデス－アミノ－ヒスチジルに置換され、Ｃ－末端カルボキシル基がプロピルアミドに置換されたものである、請求項６に記載のインスリン分泌ペプチド誘導体。

【請求項１４】
前記インスリン分泌ペプチド誘導体は、エキセンディン－４のＮ－末端アミノ基を除去したデスアミノ－ヒスチジル－エキセンディン－４（desamino-histidyl-exendin-4）；エキセンディン－４のＮ－末端アミノ基をヒドロキシル基に置換したβ－ヒドロキシイミダゾプロピオニル－エキセンディン－４（beta-hydroxy imidazopropionyl-exendin-4）；エキセンディン－４のＮ－末端アミノ基をカルボキシル基に置換したβ－カルボキシイミダゾプロピル－エキセンディン－４（beta-carboxyimidazopropionyl-exendin-4）；エキセンディン－４のＮ－末端アミノ基を２つのメチル残基で修飾したジメチル－ヒスチジル－エキセンディン－４（dimethyl-histidyl-exendin-4）；及びエキセンディン－４の１番目のアミノ酸であるヒスチジンのα炭素を除去したイミダゾアセチル－エキセンディン－４（imidazoacetyl-exendin-4）からなる群より選択されるものである、請求項１２に記載のインスリン分泌ペプチド誘導体。
【請求項１５】
前記インスリン分泌ペプチド誘導体は、エキセンディン－４のＮ－末端アミノ基を除去し、そのＣ－末端カルボキシル基がプロピルアミドに置換されたＤＡ－エキセンディン－４プロピル－アミド（DA-Exendin-4-propyl-amide）である、請求項１３に記載のインスリン分泌ペプチド誘導体。
【請求項１６】
請求項１～１５のいずれか一項によるインスリン分泌ペプチド誘導体を有効成分として含有する糖尿病治療用薬学的組成物。
【請求項１７】
請求項１～１５のいずれか一項によるインスリン分泌ペプチド誘導体を、これを必要とする対象に、治療学的有効量で投与することを含む、対象から糖尿病を治療する方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、増加したインスリン分泌活性及び血糖低下能を有するように改変されたインスリン分泌ペプチドの誘導体及びこれを含む薬学的組成物に関し、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、インスリン分泌ペプチドのＮ－末端電荷が中性または実効負電荷を有するように改変されたことを特徴とする。
【背景技術】
【０００２】
ペプチドは、一般に、安定性が低く、容易に変性され、体内のタンパク質加水分解酵素により分解されてその活性を失い、また、相対的にサイズが小さく、腎臓を通じて容易に除去されるので、薬理学的活性成分としてペプチドを含む医薬品の血中濃度及び力価を維持するためには、ペプチド薬物を患者に頻繁に投与する必要がある。
【０００３】
しかし、ペプチド薬物は、大部分注射剤の形態で患者に投与され、従って、生理活性ペプチドの血中濃度を維持するためには、それだけ頻繁な注射が要求されるが、これは、患者に多大な苦痛を与えるようになる。これらの問題点を克服するために、ペプチド薬物の血中安定性を増加させ、血中薬物濃度を長時間高く持続させて薬効を最大化しようとする努力が活発に進められている。
【０００４】
特に、このようなペプチド薬物の持続型製剤は、ペプチド薬物の安定性を高めると同時に、薬物自体の力価が十分に高く維持されなければならず、患者に免疫反応を誘発してはならない。よって、ペプチド薬物を安定化させ、タンパク質加水分解酵素による分解を抑制するための方法として、タンパク質加水分解酵素に敏感な特定のアミノ酸配列を変更する試みがあった。
【０００５】
例えば、血中グルコース濃度を減少させる作用をして、２型糖尿病の治療効果を有する

ＧＬＰ－１（７－３７または７－３６アミド）の場合、生理活性半減期が４分以下と非常に短いが、これは、ジペプチジルペプチダーゼ（dipeptidyl pepdidase IV、DPP IV）によるＧＬＰ－１の８番目（Ala）と９番目（Asp）のアミノ酸間の切断によるＧＬＰ－１の力価喪失に起因する。よって、ＧＬＰ－１のＡｌａ$^{8}$をＧｌｙ、ＬｅｕまたはＤ－Ａｌａに置換してＤＰＰ　ＩＶに対する抵抗性を増加させながら生理活性をそのまま維持するＧＬＰ－１誘導体が開発された。また、ＧＬＰ－１のＮ－末端アミノ酸Ｈｉｓ$^{7}$は、ＧＬＰ－１の活性に非常に重要であり、同時に、ＤＰＰ　ＩＶの標的である。よって、Ｎ－末端をアルキル基またはアシル基に変更したりＨｉｓ$^{7}$をＮ－メチル化（N-methylation）またはα－メチル化（alpha-methylation）させてＤＰＰ　ＩＶ抵抗性を増加させ、生理活性を維持した。しかし、この場合、ＤＰＰ　ＩＶ抵抗性の増加により、安定性が良くなることを確認したが、Ｈｉｓ$^{7}$を変化させた誘導体の受容体親和性（receptor affinity）が著しく減少し、同じ濃度でｃＡＭＰの分泌能が低下するという問題が報告された（非特許文献１，２）。

【０００６】

また、ＧＬＰ－１のようなインスリン分泌ペプチドのうち、エキセンディン－４は、ＤＰＰ　ＩＶの基質として作用するＧＬＰ－１の配列であるＨｉｓ－Ａｌａではなく、Ｈｉｓ－Ｇｌｙの配列で構成されており、ＤＰＰ　ＩＶに対する抵抗性と共にＧＬＰ－１より高い生理活性を有し、従って、ＧＬＰ－１に比べてより長い体内半減期を有する。しかし、エキセンディン－４の体内半減期がＧＬＰ－１より長いと言っても、現在市販されているエキセンディン－４（エクセナチド、exenatide）の場合、患者に１日２回の注射を通じて投与しなければならず、これは、依然として患者に大きな負担となる。

【０００７】

このような背景の下、本発明者らは、インスリン分泌ペプチドの活性及び血中安定性を増加させるために鋭意努力した結果、インスリン分泌ペプチドのＮ－末端アミノ酸の電荷を改変させた誘導体が、その天然型インスリン分泌ペプチドより優れた薬力学（pharmacodynamics）及び高いインスリン分泌活性を示すという事実を確認し、本発明を完成するに至った。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００８】

【非特許文献１】Gallwitz et al., Regulatory Peptide 79: 93-102, 1999

【非特許文献２】Gallwitz et al., Regulatory Peptide 86: 103-111, 2000

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００９】

本発明の目的は、インスリン分泌活性が増加して優れた血糖低下能を持つインスリン分泌ペプチド誘導体を提供することである。

本発明の他の目的は、前記インスリン分泌ペプチド誘導体を有効成分として含有する糖尿病治療用の薬学的組成物を提供することである。

【００１０】

本発明のさらに他の目的は、前記インスリン分泌ペプチド誘導体を用いて、糖尿病を治療する方法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【００１１】

前記課題を解決するための一様態として、本発明は、インスリン分泌ペプチドのＮ－末端の電荷（charge）が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体を提供する。

本発明の一具体例として、インスリン分泌ペプチドのＮ－末端アミノ基またはアミノ酸残基が中性電荷（neutral charge）または実効負電荷（net negative charge）を有するように改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体を提供する。

【００１２】

さらに他の一具体例として、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、インスリン分泌ペプチドのＮ－末端ヒスチジン残基のα－アミノ基を除去または置換したり、α炭素を除去することにより、中性または実効負電荷を有するように化学的に改変されたことを特徴とする。

【００１３】

さらに他の一具体例として、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、インスリン分泌ペプチドのＮ－末端アミノ基が除去され；前記Ｎ－末端アミノ基をヒドロキシル基に置換し；前記Ｎ－末端アミノ基を２つのメチル残基で修飾し；前記Ｎ－末端アミノ基をカルボキシル基に置換し；前記Ｎ－末端ヒスチジン残基のα炭素を除去してイミダゾールアセチル残基のみを残したり；前記Ｎ－末端アミノ基を除去し、Ｃ－末端カルボキシル基がプロピルアミド（propylamide）に置換されたもののうちの一つ以上に該当する化学的改変が導入されたことを特徴とする。

【００１４】

さらに他の一具体例として、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、インスリン分泌ペプチドのＮ－末端ヒスチジン残基がデス－アミノ－ヒスチジル、ジメチル－ヒスチジル、β－ヒドロキシイミダゾプロピオニル、４－イミダゾアセチル及びβ－カルボキシイミダゾプロピオニルからなる群より選択される物質に置換されたことを特徴とする。

【００１５】

さらに他の一具体例として、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、インスリン分泌ペプチドのＮ－末端ヒスチジン残基がデス－アミノ－ヒスチジルに置換され、Ｃ－末端カルボキシル基がプロピルアミド（propylamide）に置換されたことを特徴とする。

【００１６】

さらに他の一具体例として、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体におけるインスリン分泌ペプチドは、ＧＬＰ－１受容体に対して結合能を有することを特徴とする。

さらに他の一具体例として、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体におけるインスリン分泌ペプチドは、配列番号１で表されるＧＬＰ－１、配列番号２で表されるエキセンディン－４、配列番号３で表されるエキセンディン－３、配列番号５で表されるオキシントモジュリン、配列番号６で表されるＧＩＰまたはそれらの類似体であることを特徴とする。

【００１７】

さらに他の一具体例として、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、Ｎ－末端の電荷の改変により、ＧＬＰ－１受容体に対して天然型インスリン分泌ペプチドに比べて増加した解離定数（Kd）を有することを特徴とする。

【００１８】

さらに他の一具体例として、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、ＧＬＰ－１、エキセンディン－４、エキセンディン－３、オキシントモジュリン、ＧＩＰまたはその類似体のＮ－末端ヒスチジン残基がデス－アミノ－ヒスチジル、ジメチル－ヒスチジル、β－ヒドロキシイミダゾプロピオニル、４－イミダゾアセチルまたはβ－カルボキシイミダゾプロピオニルに置換されたことを特徴とする。

【００１９】

さらに他の一具体例として、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、ＧＬＰ－１、エキセンディン－４、エキセンディン－３、オキシントモジュリン、ＧＩＰまたはその類似体のＮ－末端ヒスチジン残基がデス－アミノ－ヒスチジルに置換され、Ｃ－末端カルボキシル基がプロピルアミドに置換されたことを特徴とする。

【００２０】

さらに他の一具体例として、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、エキセンディン－４のＮ－末端アミノ基を除去したデスアミノ－ヒスチジル－エキセンディン－４（desamino-histidyl-exendin-4）；エキセンディン－４のＮ－末端アミノ基をヒドロキシル基に置換したβ－ヒドロキシイミダゾプロピオニル－エキセンディン－４（beta-hydroxy imidazopropionyl-exendin-4）；エキセンディン－４のＮ－末端アミノ基をカルボ

キシル基に置換したβ－カルボキシイミダゾプロピル－エキセンディン－４（beta-carboxyimidazopropionyl-exendin-4）；エキセンディン－４のＮ－末端アミノ基を２つのメチル残基で修飾したジメチル－ヒスチジル－エキセンディン－４（dimethyl-histidyl-exendin-4）；及びエキセンディン－４の１番目のアミノ酸であるヒスチジンのα炭素を除去したイミダゾアセチル－エキセンディン－４（imidazoacetyl-exendin-4）からなる群より選択されることを特徴とする。

【００２１】

さらに他の一具体例として、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、エキセンディン－４のＮ－末端アミノ基を除去し、そのＣ－末端カルボキシル基がプロピルアミドに置換されたＤＡ－エキセンディン－４－プロピル－アミド（DA-Exendin-4-propyl-amide）であることを特徴とする。

【００２２】

本発明の他の態様として、前述のようなＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体を有効成分として含む糖尿病治療用の薬学的組成物を提供する。

本発明のさらに他の態様として、前述のようなＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体を、これを必要とする対象に治療学的有効量で投与することを含む、対象から糖尿病を治療する方法を提供する。

【発明の効果】

【００２３】

本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体は、ＧＬＰ－１受容体から迅速に解離され、前記受容体によるインスリン分泌ペプチドの消去（clearance）を防止することができ、脱感作（desensitization）を少なく発現させ得る。また、本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体は、前述のＧＬＰ－１受容体に対する結合力の変化により、天然型インスリン分泌ペプチドに比べて増加したインスリン分泌活性及び生体内（in vivo）における血糖低下能を示し、糖尿病の治療に非常に有効に用いることができる。

【図面の簡単な説明】

【００２４】

【図１ａ】ＧＬＰ－１受容体に対する本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体の濃度別結合曲線を示したものであり、図１ａは天然型エキセンディン－４の結果である。

【図１ｂ】ＧＬＰ－１受容体に対する本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体の濃度別結合曲線を示したものであり、図１ｂはＣＡ－エキセンディン－４の結果である。

【図１ｃ】ＧＬＰ－１受容体に対する本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体の濃度別結合曲線を示したものであり、図１ｃはＤＡ－エキセンディン－４の結果である。

【図１ｄ】ＧＬＰ－１受容体に対する本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体の濃度別の結合曲線を示したものであり、図１ｄはＤＡ－エキセンディン－４プロピル－アミドの結果である。

【図１ｅ】ＧＬＰ－１受容体に対する本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体の濃度別の結合曲線を示したものであり、図１ｅはＨＹ－エキセンディン－４の結果である。

【図２】天然型エキセンディン－４と本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたＣＡ－エキセンディン－４誘導体のインスリン分泌活性を測定した結果である。

【図３】天然型エキセンディン－４と本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたＣＡ－エキセンディン－４誘導体の血糖低下能力を糖尿病モデル動物で測定した結果である。

【発明を実施するための形態】

【００２５】

本発明は、インスリン分泌ペプチドのＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプ

チド誘導体に関するものである。
本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、インスリン分泌ペプチドのＮ－末端の電荷を改変させて受容体との迅速な解離を引き起こすことを特徴とする。
【００２６】
本発明における用語「インスリン分泌ペプチド誘導体」とは、固有のインスリン分泌機能を保持しつつ、化学的、遺伝的または物理的な操作により、天然型インスリン分泌ペプチド、その類似体または断片のＮ－末端の電荷が正電荷から中性または実効負電荷を有するように改変されたことを指す。
【００２７】
具体的には、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、中性ｐＨにおいてインスリン分泌ペプチドのＮ－末端アミノ基またはアミノ酸残基が中性または実効負電荷を有するように化学的に改変されることが望ましい。より好ましくは、本発明によるインスリン分泌ペプチドのＮ－末端の１番目のアミノ酸残基の正電荷が中性または実効負電荷に変換された誘導体である。
【００２８】
本発明における用語「インスリン分泌ペプチド」とは、インスリン分泌機能を有するペプチドであり、膵臓のβ細胞におけるインスリンの合成及び発現を刺激する。本発明に適したインスリン分泌ペプチドは、ＧＬＰ－１受容体と結合して生理的活性を示すものであれば、その種類に制限なく使用することができ、非制限的な例として、配列番号１のＧＬＰ－１（７－３７）、配列番号２のエキセンディン－４、配列番号３のエキセンディン－３、配列番号５のオキシントモジュリン（oxyntomodulin）、配列番号６のグルコース－依存性インスリン分泌ポリペプチド（glucose-dependent insulinotropic polypeptide、GIP）、これらの類似体または断片であってもよい。
【００２９】
本発明における用語「インスリン分泌ペプチドの類似体」とは、天然型インスリン分泌ペプチドとアミノ酸配列が一つ以上異なるペプチドであって、インスリン分泌機能を有するペプチドを意味する。好ましくは、本発明によるインスリン分泌ペプチドの類似体は、天然型インスリン分泌ペプチドに比べて、アミノ酸配列において少なくとも８０％以上の相同性を示すポリペプチドを指すものであり、アミノ酸残基の一部の基が、化学的に置換（例えば、alpha-methylation、alpha-hydroxylation）、除去（例えば、deamination）または修飾（例えば、N-methylation）された形態であってもよい。
【００３０】
発明の好ましい一実施形態において、インスリン分泌ペプチドの類似体は、インスリン分泌機能が天然型インスリン分泌ペプチドと比較して同等またはそれ以上を示すことを意味するが、本発明によるインスリン分泌ペプチドの類似体の範囲は、必ずしもその程度のレベルのインスリン分泌機能を有するものに限定されるわけではない。
【００３１】
本発明における用語「インスリン分泌ペプチドの断片」とは、インスリン分泌機能を有しつつ、天然型インスリン分泌ペプチドのＮ－末端またはＣ－末端に一つまたはそれ以上のアミノ酸が追加または除去された形態を意味し、追加されたアミノ酸は、天然に存在しないアミノ酸（例えば、Ｄ型アミノ酸）も可能である。
【００３２】
ＧＬＰ－１は、小腸から分泌されるホルモンであって、一般に、インスリンの生合成及び分泌を促進し、グルカゴンの分泌を抑制し、細胞内のグルコースの吸収を促進する。小腸においてグルカゴン前駆体は、３つのペプチド、すなわち、グルカゴン、ＧＬＰ－１及びＧＬＰ－２に分解される。ここで、ＧＬＰ－１は、ＧＬＰ－１（１～３７）を意味し、インスリン分泌機能がない形態であり、ＧＬＰ－１（７－３７）の形態にプロセシングされて活性型ＧＬＰ－１（７－３７）になる。ＧＬＰ－１（７－３７）は、配列番号２で表されるアミノ酸配列を有する。
【００３３】

好ましくは、ＧＬＰ－１類似体は、Ａｒｇ$^{34}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｇｌｙ$^{8}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｇｌｙ$^{8}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ａｓｐ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$Ａｓｐ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｌｙｓ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$Ｌｙｓ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ａｒｇ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$Ａｒｇ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｈｉｓ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$Ｈｉｓ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｖａｌ$^{25}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｙｒ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｌｅｕ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｙｒ$^{18}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｈｉｓ$^{37}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$、Ｉｌ$^{33}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｖａｌ$^{25}$Ｉｌｅ$^{33}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｉｌｅ$^{33}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｖａｌ$^{25}$Ｉｌｅ$^{33}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、及びＶａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｖａｌ$^{25}$－ＧＬＰ－１（７－３７）からなる群より選択されるものであってもよいが、これらに限定されるものではない。

【００３４】

さらに他の類型のインスリン分泌ペプチドとしてエキセンディン－４は、アミノ酸配列においてＧＬＰ－１と５３％の類似性を示す３９個のアミノ酸からなるポリペプチドであって、配列番号２で表されるアミノ酸配列を有する。エキセンディン－３は配列番号３で表されるアミノ酸配列を有するが、エキセンディン－４と、２位及び３位のアミノ酸のみが異なるエキセンディン－４の類似体である。エキセンディン－３は、エキセンディン－４の２位及び３位のアミノ酸がそれぞれセリン及びアスパラギン酸に置換されたもので、Ｓｅｒ$^{2}$Ａｓｐ$^{3}$－エキセンディン－４（１－３９）で表してもよい。さらに他のエキセンディン－４の類似体としてエキセンディン－４の３８位及び３９位のアミノ酸がそれぞれセリンとリジンに置換されたＺＰ－１０は、Ｓｅｒ$^{38}$Ｌｙｓ$^{39}$－エキセンディン－４（１－３９）－ＬｙｓＬｙｓＬｙｓＬｙｓＬｙｓ－アミドで表され、配列番号４のアミノ酸配列を有する。

【００３５】

オキシントモジュリン（oxyntomodulin）は、グルカゴンの前駆体であるプレグルカゴン（pre－glucagon）から作られるペプチドであって、ＧＬＰ－１と共に栄養素の摂取に比例して小腸のＬ細胞から放出される。オキシントモジュリンは、配列番号５で表される３７個のアミノ酸からなるペプチドホルモンであって、食物摂取の阻害、満腹感の増進効果とグルカゴンの脂肪分解機能を示す。

【００３６】

グルコース－依存性インスリン分泌ポリペプチド（GIP）は、腸内栄養分の吸収に反応してグルコース濃度依存的に膵臓のインスリンの分泌を調節するインクレチン（incretin）であり、配列番号６として記載されている４２個のアミノ酸からなり、小腸のＫ細胞から分泌される。ＧＩＰはβ細胞においてグルコース依存的にインスリン分泌を刺激するだけでなく、インスリンの合成を促進し、β細胞の増殖を誘導し、死滅には抑制的な効果を有している。

【００３７】

前記のような天然型インスリン分泌ペプチド、その類似体または断片においてそれぞれ用いられた製造方法は、単独で用いられてもよく、組み合わせも可能である。例えば、アミノ酸配列が一つ以上異なり、Ｎ－末端アミノ酸残基に脱アミノ化（deamination）されたインスリン分泌ペプチドも含まれる。

【００３８】

具体的な一態様として、本発明で用いた天然型インスリン分泌ペプチドと改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体は、固相（Solid phase）合成法を通じて合成することができ、天然型インスリン分泌ペプチドを含む大部分の天然型ポリペプチドは、組換え方法でも生産可能である。

【００３９】

前記ＧＬＰ－１、エキセンディン－４、エキセンディン－３、オキシントモジュリンまたはＧＩＰの類似体は、天然型のＧＬＰ－１、エキセンディン－４またはエキセンディン－３の一つ以上のアミノ酸が置換、欠失、及び／または付加されたものであるか、または一つ以上のアミノ酸残基が、例えば、アルキル化、アシル化、エステル化形成またはアミド形成などにより化学的に改変されたペプチドを指し、天然型のインスリン分泌活性を有するものをいう。

【００４０】

このようなＧＬＰ－１、エキセンディン－３またはエキセンディン－４類似体については、ＧＬＰ－１またはエキセンディン－４のＣ－末端を一部除去したり、非天然型アミノ酸であるノルロイシン（norleucine）に置換したエキセンディン改変体に関するＷＯ９７／４６５８４；ペンチルグリシン（pentylglycine）、ホモプロリン（homoproline）、３級－ブチルグリシン（tert-butylglycine）のように、非天然型アミノ酸を含むエキセンディンのアミノ酸を置換した改変体に関するＷＯ９９／０７４０４；エキセンディン－４のＣ－末端アミノ酸残基の一部を切断して天然型よりも短いアミノ酸配列で構成されるようにしたり、他のアミノ酸に置換したエキセンディン改変体に関するＵＳ２００８／０１１９３９０などに開示されており、これらは参考文献として本明細書に併合される。

【００４１】

本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、前記のような天然型インスリン分泌ペプチド、その類似体または断片のＮ－末端アミノ基またはアミノ酸残基が中性または実効負電荷を有するように改変されることを特徴とする。

【００４２】

好ましくは、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、インスリン分泌ペプチドのＮ－末端の１番目のアミノ酸残基の正電荷が中性または実効負電荷を有するように化学的に改変された誘導体である。

【００４３】

前記のように、Ｎ－末端が中性または実効負電荷を有するように改変された本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、天然型インスリン分泌ペプチドに比べてＧＬＰ－１受容体に対し、より高い解離定数（Kd）を有することを特徴とする。好ましくは、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、天然型インスリン分泌ペプチドに比べて２倍以上、さらに好ましくは３倍以上、最も好ましくは６倍以上に増加したＧＬＰ－１受容体に対する解離定数（Kd）を有するように改変されたものであるが、これに限定されるものではない。

【００４４】

インスリン分泌ペプチドのＮ－末端正電荷が中性または実効負電荷に変換された本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、当該分野において公知となった多様な方法により製造することができ、好ましくは、正電荷を有するインスリン分泌ペプチドのＮ－末端ヒスチジン残基のα－アミノ基を除去または置換したり、α炭素を除去することにより、中性または実効負電荷を有するように改変させることができる。

【００４５】

さらに好ましくは、本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体には、インスリン分泌ペプチドのＮ－末端アミノ基が除去された誘導体（desamino-histidyl derivative）；そのＮ－末端アミノ基をヒドロキシル基に置換した誘導体（beta-hydroxy imidazopropionyl-derivative）；そのＮ－末端アミノ基を２つのメチル（methyl）残基で修飾した誘導体（dimethyl-histidyl-derivative）；そのＮ－末端アミノ基をカルボキシル基に置換した誘導体（beta-carboxy imidazopropionyl-derivative）；そ

のＮ－末端ヒスチジン残基のα炭素を除去してイミダゾアセチル（imidazoacetyl）基のみを残した誘導体（imidazoacetyl-derivative）などが含まれてもよく、Ｎ－末端の正電荷を中性または実効負電荷に改変させることのできるものであれば、任意の形態のアミノ－末端アミノ基改変誘導体もまた本発明の範疇に属する。

【００４６】

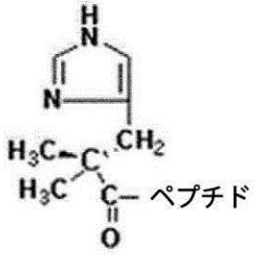
前記のように、Ｎ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体は、下記構造式で表すことができる。

【００４７】

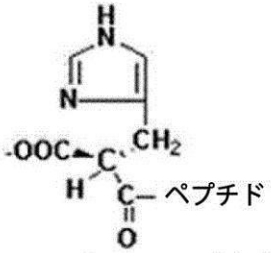
【化１】



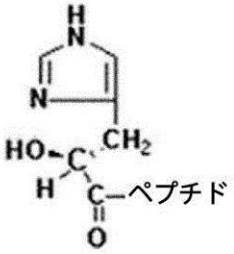

デスアミノ-ヒスチジル(ＤＡ)
インスリン分泌ペプチド



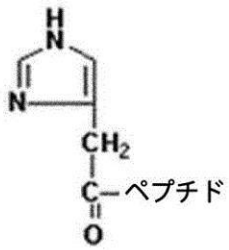

ジメチル-ヒスチジル(ＤＭ)
インスリン分泌ペプチド




ベータ-カルボキシイミダゾプロピオニル(ＣＸ)
インスリン分泌ペプチド




ベータ-ヒドロキシイミダゾプロピオニル(ＨＹ)
インスリン分泌ペプチド




4-イミダゾアセチル(ＣＡ)
インスリン分泌ペプチド

【００４８】

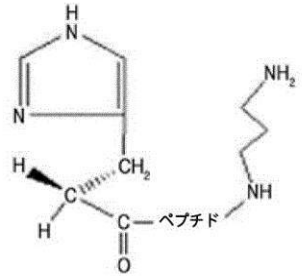
さらに、本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体には、Ｎ－末端アミノ基を除去した前記デスアミノ－ヒスチジル－誘導体のＣ－末端カルボキシル基がプロピルアミド（propylamide）に置換された誘導体が含まれてもよい。

【００４９】

前記のように、Ｎ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体は、下記構造式で表すことができる。

【００５０】

【化２】




ＤＡ-インスリン分泌ペプチド-
プロピルアミド

【００５１】

さらに好ましくは、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、ＧＬＰ－１、エキセンディン－４、エキセンディン－３、オキシントモジュリン、ＧＩＰ、その類似体または断片のＮ－末端ヒスチジン残基がデス－アミノ－ヒスチジル、ジメチル－ヒスチジル、β－ヒドロキシイミダゾプロピオニル、４－イミダゾアセチルまたはβ－カルボキシイミダゾプロピオニルに置換され、Ｎ－末端の電荷が改変されたものであってもよい。

【００５２】

発明の一実施態様において、本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体は、下記化学式１で表すことができる。

Ｒ１－Ｘ－Ｒ２〈化学式１〉

前記式において、Ｒ１は、デス－アミノ－ヒスチジル、ジメチル－ヒスチジル、β－ヒドロキシイミダゾプロピオニル、４－イミダゾアセチル及びβ－カルボキシイミダゾプロピオニルからなる群より選択され、

Ｒ２は、－ＮＨ$_2$または－ＯＨであり、

Ｘは、Ａｌａ Ｇｌｕ Ｇｌｙ Ｔｈｒ Ｐｈｅ Ｔｈｒ Ｓｅｒ Ａｓｐ Ｖａｌ Ｓｅｒ Ｓｅｒ Ｔｙｒ Ｌｅｕ Ｇｌｕ Ｇｌｙ Ｇｌｎ Ａｌａ Ａｌａ Ｌｙｓ Ｇｌｕ Ｐｈｅ Ｉｌｅ Ａｌａ Ｔｒｐ Ｌｅｕ Ｖａｌ Ｌｙｓ Ｇｌｙ Ａｒｇ Ｇｌｙ；

Ｓｅｒ Ａｓｐ Ｇｌｙ Ｔｈｒ Ｐｈｅ Ｔｈｒ Ｓｅｒ Ａｓｐ Ｌｅｕ Ｓｅｒ Ｌｙｓ Ｇｌｎ Ｍｅｔ Ｇｌｕ Ｇｌｕ Ｇｌｕ Ａｌａ Ｖａｌ Ａｒｇ Ｌｅｕ Ｐｈｅ Ｉｌｅ Ｇｌｕ Ｔｒｐ Ｌｅｕ Ｌｙｓ Ａｓｎ Ｇｌｙ Ｇｌｙ Ｐｒｏ Ｓｅｒ Ｓｅｒ Ｇｌｙ Ａｌａ Ｐｒｏ Ｐｒｏ Ｐｒｏ Ｓｅｒ；

Ｇｌｙ Ｇｌｕ Ｇｌｙ Ｔｈｒ Ｐｈｅ Ｔｈｒ Ｓｅｒ Ａｓｐ Ｌｅｕ Ｓｅｒ Ｌｙｓ Ｇｌｎ Ｍｅｔ Ｇｌｕ Ｇｌｕ Ｇｌｕ Ａｌａ Ｖａｌ Ａｒｇ Ｌｅｕ Ｐｈｅ Ｉｌｅ Ｇｌｕ Ｔｒｐ Ｌｅｕ Ｌｙｓ Ａｓｎ Ｇｌｙ Ｇｌｙ Ｐｒｏ Ｓｅｒ Ｓｅｒ Ｇｌｙ Ａｌａ Ｐｒｏ Ｐｒｏ Ｐｒｏ Ｓｅｒ；または

Ｓｅｒ Ｇｌｎ Ｇｌｙ Ｔｈｒ Ｐｈｅ Ｔｈｒ Ｓｅｒ Ａｓｐ Ｔｙｒ Ｓｅｒ Ｌｙｓ Ｔｙｒ Ｌｅｕ Ａｓｐ Ｓｅｒ Ａｒｇ Ａｒｇ Ａｌａ Ｇｌｎ Ａｓｐ Ｐｈｅ Ｖａｌ Ｇｌｎ Ｔｒｐ Ｌｅｕ Ｍｅｔ Ａｓｎ Ｔｈｒ Ｌｙｓ Ａｒｇ Ａｓｎ Ａｒｇ Ａｓｎ Ａｓｎ Ｉｌｅ Ａｌａである。

【００５３】

発明の好ましい実施態様において、前記インスリン分泌ペプチド誘導体は、エキセンディン－４のＮ－末端電荷が改変された誘導体であって、エキセンディン－４のＮ－末端アミノ基を除去したデスアミノ－ヒスチジル－エキセンディン－４（desamino-histidyl-exendin-4、ＤＡ－エキセンディン－４）；エキセンディン－４のＮ－末端アミノ基をヒドロキシル基に置換したβ－ヒドロキシイミダゾプロピオニル－エキセンディン－４（beta-hydroxy imidazopropionyl-exendin-4、ＨＹ－エキセンディン－４）；エキセンディン－４のＮ－末端アミノ基をカルボキシル基に置換したβ－カルボキシイミダゾプロピル－

エキセンディン－４（beta-carboxyimidazopropionyl-exendin-4、ＣＸ－エキセンディン－４）；エキセンディン－４のＮ－末端アミノ基を２つのメチル残基で修飾したジメチル－ヒスチジル－エキセンディン－４（dimethyl-histidyl-exendin-4、ＤＭ－エキセンディン－４）；またはエキセンディン－４の１番目のアミノ酸であるヒスチジンのα炭素を除去したイミダゾアセチル－エキセンディン－４（imidazoacetyl-exendin-4、ＣＡ－エキセンディン－４）であってもよい。

【００５４】

また、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、ＧＬＰ－１、エキセンディン－４、エキセンディン－３、オキシントモジュリン、ＧＩＰ、この類似体または断片のＮ－末端ヒスチジン残基がデス－アミノ－ヒスチジルに置換され、そのＣ－末端カルボキシル基がプロピルアミドに置換されたものであってもよい。

【００５５】

発明の他の実施態様において、前記Ｎ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体には、エキセンディン－４のＮ－末端アミノ基を除去したデスアミノ－ヒスチジル－エキセンディン－４（ＤＡ－エキセンディン－４）のＣ－末端カルボキシル基がプロピルアミドに置換されたＤＡ－エキセンディン－４プロピル－アミド（DA-Exendin-4-propyl-amide）が含まれてもよい。

【００５６】

前記誘導体は、アミノ－末端ヒスチジン残基のα－アミノ基を除去または置換したりα炭素を除去したものであり、その他のアミノ酸配列は、生理学的活性が維持される限り、特に限定されない。

【００５７】

前記エキセンディン－４誘導体のように、他の種類のインスリン分泌ペプチド、例えば、エキセンディン－３、ＧＬＰ－１、オキシントモジュリン及びＧＩＰのＮ－末端にも、このような置換または除去が全て適用され得、インスリン分泌活性が維持される限り、この類似体及び断片にも全て適用され得る。

【００５８】

本発明のインスリン分泌ペプチド誘導体において、Ｎ－末端の正電荷の中性または実効負電荷への改変は、ＧＬＰ－１受容体との解離を迅速に誘導し、前記受容体によるインスリン分泌ペプチドの消去（clearance）を防止することができ、脱感作（desensitization）を少なく発現させて、優れた生理活性を示すことができる。

【００５９】

また、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、インスリン分泌ペプチドのＮ－末端の電荷が中性または実効正電荷に変換されてＧＬＰ－１受容体に対する結合力の変化によりインスリン分泌活性が天然型インスリン分泌ペプチドに比べて増加され、生体内（in vivo）において優れた血糖低下能を示すことができる。

【００６０】

本発明の一実施例では、インスリン分泌ペプチドのＮ－末端アミノ酸の正電荷を中性または実効負電荷に改変させたインスリン分泌ペプチド誘導体がＧＬＰ－１受容体に対して天然型インスリン分泌ペプチドより高い解離定数（Kd）を有し、これにより、ＧＬＰ－１受容体との頻繁な結合／解離を繰り返すことを確認した（実施例１を参照）。また、前記Ｎ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体は、電荷が改変されていない天然型インスリン分泌ペプチドに比べて約２倍程度増加したインスリン分泌活性を示し（実施例２を参照）、糖尿病動物モデル（db／dbマウス）において、天然型インスリン分泌ペプチドに比べて約５倍程度増加した血糖低下能を示した（実施例３を参照）。

【００６１】

従って、インスリン分泌ペプチドのＮ－末端の電荷が改変された本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、ＧＬＰ－１受容体に対する解離定数が増加し、すなわち、ＧＬＰ－１受容体からの解離が増加し、優れた血中安定性とインスリン分泌能を示すことが分かる。

【００６２】
前述のように、インスリン分泌ペプチドのＮ－末端の電荷を中性または実効負電荷に変換させると、ＧＬＰ－１受容体との結合力、特に、前記受容体からの解離が増加し、インスリン分泌ペプチドの生物学的活性を増加させることができるという事実を、本発明で初めて解明した。従って、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体の優れた血中安定性及びインスリン分泌活性は、２型糖尿病の治療効果を最大化するのに有用なものである。
【００６３】
本発明の他の態様として、インスリン分泌ペプチドのＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体を有効成分として含有する糖尿病治療用薬学的組成物を提供する。
【００６４】
Ｎ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体に関する説明は、前述の通りである。
本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体は、天然型インスリン分泌ペプチドに比べて高いインスリン分泌活性及び血糖低下能を有しているので、優れた糖尿病治療薬として用いることができる。
【００６５】
本発明の糖尿病治療用の薬学的組成物は、糖尿病治療が必要な個体に投与することにより、糖尿病を効果的に治療することができる。
従って、本発明の範囲には、前述のようなＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体を、これを必要とする対象に治療学的有効量で投与することを含む、対象から糖尿病を治療する方法が含まれる。
【００６６】
本発明における用語「治療」とは、本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体またはこれを含む薬学的組成物の投与により糖尿病の症状が好転したり、有利に変更されるすべての行為を意味する。
【００６７】
本発明における用語「投与」とは、任意の適切な方法で対象に所定の物質、すなわち、本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体またはこれを含む薬学的組成物を導入することを意味し、その投与経路は、薬物が目的の組織に到達できる限り、如何なる一般的な経路を通じて投与してもよい。例えば、投与経路は、腹腔内投与、静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与、皮内投与、経口投与、局所投与、鼻内投与、肺内投与、直腸内投与などであってもよいが、これらに限定されるものではない。しかし、経口投与の際に、ペプチドは、消化されるため、経口用組成物は、活性薬剤をコーティングしたり、胃による分解から保護できるように剤形化するのが望ましい。好ましくは、注射剤の形態で投与してもよい。また、薬学的組成物は、活性物質が標的細胞に移動することのできる任意の装置により投与することができる。
【００６８】
本発明の誘導体を含む薬学的組成物は、薬剤学的に許容可能な担体を含むことができる。薬剤学的に許容可能な担体としては、経口投与用の場合には、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、賦形剤、可溶化剤、分散剤、安定化剤、懸濁化剤、色素、香料などを用いることができ、注射剤の場合には、緩衝剤、保存剤、無痛化剤、可溶化剤、等張化剤、安定化剤などを混合して用いてもよく、局所投与用の場合には、基剤、賦形剤、潤滑剤、保存剤などを用いてもよい。本発明の薬学的組成物の剤形は、前述のように、薬剤学的に許容可能な担体と混合して多様に製造することができる。例えば、経口投与用の場合には、錠剤、トローチ、カプセル、エリキシル、サスペンション、シロップ、ウェーハなどの形態で製造することができ、注射剤の場合には、単位投薬アンプルまたは多数回投薬の形態で製造することができる。その他の溶液、懸濁液、錠剤、丸薬、カプセル、徐放性製剤などに剤形化することができる。
【００６９】

一方、製剤化に適した担体、賦形剤及び希釈剤の例としては、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、キシリトール、エリスリトール、マルチトール、澱粉、アカシア、アルギン酸、ゼラチン、リン酸カルシウム、ケイ酸カルシウム、セルロース、メチルセルロース、微結晶セルロース、ポリビニルピロリドン、水、ヒドロキシ安息香酸メチル、ヒドロキシ安息香酸プロピル、タルク、ステアリン酸マグネシウムまたは鉱物油などが用いられる。また、充填剤、抗凝集剤、潤滑剤、湿潤剤、香料、防腐剤などがさらに含まれてもよい。

【００７０】

本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体またはこれを含む薬学的組成物は、治療学的有効量で投与される。本発明における用語「治療的有効量」とは、医学的治療に適用可能な合理的な恩恵／リスク比で疾患を治療するのに十分な量を意味し、有効容量のレベルは、患者の疾患の種類、重症度、薬物の活性、薬物に対する感受性、投与時間、投与経路及び排出率、治療期間、同時に使用される薬剤を含む要素及びその他の医学分野において公知の要素に応じて決定することができる。本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体またはこれを含む薬学的組成物は、治療薬を個別投与するか、または他の治療薬と併用投与してもよく、従来の治療剤と順次または同時に投与してもよく、単一または複数回投与してもよい。前述の要素を全て考慮し、副作用のない最小限の量で最大の効果が得られる量を投与することが重要であり、これは、当業者によって容易に決定することができる。

【００７１】

本発明の薬学的組成物の投与量と回数は、治療する疾患、投与経路、患者の年齢、性別、及び体重及び疾患の重症度などの様々な関連因子と共に、活性成分である薬物の種類に応じて決定される。本発明の薬学的組成物は、生体内において持続性と力価に優れているため、本発明による薬学的製剤の投与回数及び頻度を大幅に減らすことができる。

【００７２】

本発明における用語「対象」とは、ヒト、サル、ウシ、ウマ、ヒツジ、ブタ、ニワトリ、七面鳥、ウズラ、ネコ、イヌ、マウス、ラット、ウサギまたはモルモットが含まれるが、これらに限定されない動物を意味し、一実施例では哺乳類を、さらに他の実施例ではヒトを意味する。

【００７３】

発明の実施形態

以下、下記の実施例により本発明をさらに詳しく説明する。ただし、下記実施例は、本発明を例示するためのものに過ぎず、本発明の範囲がこれらに限定されるものではない。

【実施例】

【００７４】

実施例１：Ｎ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体のＧＬＰ－１受容体に対する結合力の比較

ＧＬＰ－１受容体とＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体の結合力を表面プラズモン共鳴（surface plasmon resonance：SPR）装置（BIACORE 3000、GE Healthcare）を用いて測定した。この際、Ｎ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体としてＣＡ－エキセンディン－４（CA-Exendin-4）、ＤＡ－エキセンディン－４（DA-Exendin-4）、ＨＹ－エキセンディン－４（HY-Exendin-4）及びＤＡ－エキセンディン－４プロピル－アミド（DA-Exendin-4-propyl-amide）を用いた。前記ＣＡ－エキセンディン－４は、エキセンディン－４のＮ－末端ヒスチジン残基のα炭素を除去した誘導体であり；ＤＡ－エキセンディン－４は、エキセンディン－４のＮ－末端アミノ基を除去した誘導体であり；ＨＹ－エキセンディン－４は、エキセンディン－４のＮ－末端アミノ基をヒドロキシル基に置換した誘導体であり；ＤＡ－エキセンディン－４プロピル－アミドは、エキセンディン－４のＮ－末端アミノ基を除去し、Ｃ－末端カルボキシル基がプロピルアミドに置換された誘導体である。さらに、対照群として天然型エキセンディン－４（exenatide：Byetta）を用いた。Ｎ－末端の電荷が改変されたエキセンディン－４誘

導体は、Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ社により合成し、天然型エキセンディン－４は、Ａｍｙｌｉｎ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ社より入手した。

【００７５】

ＣＨＯ－ＤＧ４４細胞でＧＬＰ－１受容体をｈＧＬＰ－１Ｒ／ＧＳＴ形態として発現させ、発現したｈＧＬＰ－１Ｒ／ＧＳＴをＣＭ５チップにアミン結合法（amine coupling）により固定化した。ｈＧＬＰ－１Ｒ／ＧＳＴが固定されたＣＭ５チップに前記Ｎ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体を濃度別に希釈した後に添加し、ＧＬＰ－１受容体との結合力を測定した。この際、Ｎ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体とＧＬＰ－１受容体との間の結合力は、１：１ラングミュア適合モデル（Langmuir fitting model）に基づいて分析し、その結果を図１ａ～１ｅと下記表１に示した。

【００７６】

【表１】

| 試料 | pH7.4での N-末端の電荷 | ka(1/Ms, $\times 10^5$) | kd(1/s, $\times 10^4$) | $K_D$(nM) |
|---|---|---|---|---|
| 天然型エキセンディン-4 | 正電荷 | 3.70±0.06 | 5.26±0.11 | 1.4±0.05 |
| CA-エキセンディン-4 | 中性電荷 | 1.20±0.11 | 31.5±0.56 | 26.3±2.08 |
| DA-エキセンディン-4 | | 1.13±0.08 | 36.5±1.40 | 32.2±1.89 |
| DA-エキセンディン-4プロピル-アミド | | 1.04±0.11 | 33.5±1.40 | 32.6±4.17 |
| HY-エキセンディン-4 | | 0.90±0.07 | 38.3±1.92 | 42.7±4.10 |

【００７７】

前記表１及び図１ａ～１ｅに示すように、天然型エキセンディン－４のＮ－末端は、正電荷を帯びる一方、この電荷が中性電荷に変換されたエキセンディン－４誘導体は、天然型エキセンディン－４より顕著に増加した解離定数（kd）を有することが確認された。前記結果は、ＧＬＰ－１受容体とＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体の間に、より頻繁な結合／解離が繰り返して起こり得ることを示す。

【００７８】

ＧＬＰ－１受容体に対するこれらの薬物動態学的変化は、前記受容体によるインスリン分泌ペプチド誘導体の消去を防止することができ、脱感作を少なく発現させて血中安定性の増加に有利である。

【００７９】

実施例２：Ｎ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体のインスリン分泌活性の測定

ＲＩＮｍ５Ｆ細胞を対象に、Ｎ－末端の電荷が改変されたエキセンディン－４誘導体のインスリン分泌活性（insulinotropic activity）を比較した。解凍後、１回以上継代培養したＲＩＮｍ５Ｆ細胞を９６ウェルプレートに$１\times１０^{5}$細胞／ウェルになるようにＦＢＳ（Gibco、＃11082）含有培養培地と共に接種し、３７℃、５％$ＣＯ_{2}$インキュベーターで４８時間培養した。インスリン分泌活性の測定のために、培養したＲＩＮｍ５Ｆ細胞の培地を０．５％ＦＢＳ含有培地に交換した後、さらに１時間培養した。

【００８０】

前記実施例１と同様にＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体と天然型エキセンディン－４（exenatide：Byetta）をそれぞれ０．５％ＦＢＳとグルコースを含有した培養培地で希釈し、１０ｎＭ～０．００１ｎＭまで準備した。この際、エキセンディン－４を含有していない培養培地を対照群として用いた。培養されたＲＩＮｍ５Ｆ細胞の培地を全て除き、準備した試料を添加した後、３７℃、５％$CO_2$インキュベーターで１時間培養した後、各ウェルの培地を全て回収した。ラットインスリンＥＬＩＳＡキット（Mercodia社）を用いて回収した培地のインスリン濃度を測定し、その結果を図２及び表２に示した。

【００８１】

【表２】

| 試料 | 対照群に対する最大のインスリン分泌量の割合 |
|---|---|
| N-末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体 | 198.9 % |
| 天然型エキセンディン-4 | 159.0 % |

【００８２】

前記表２及び図２に示したように、本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体は、同一濃度の範囲で天然型エキセンディン－４より約１．２５倍程度優れたインスリン分泌活性を示すことが確認された。

【００８３】

実施例３：Ｎ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体の生体内における活性の比較

Ｎ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体の生体内（in vivo）における活性を測定するために、糖尿病モデル動物において、これらの血糖低下能を天然型エキセンディン－４と比較した。ｄｂ／ｄｂマウス（Jackson Lab、１０－１２週齢）を２時間絶食させた後、０．０１～１０００ｍｃｇ／ｋｇの天然型エキセンディン－４（exenatide：Byetta）とＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体をそれぞれ皮下経路を通じて投与した。この際、対照群としてビークル（vehicle）を同様に投与し、各投与濃度別の投与薬物による血糖値の変化を、ビークルに対する％の変化値で計算した。

【００８４】

薬物投与１時間後に尾部から血液を採取して血糖値測定器で血糖値を測定し、各投与濃度におけるビークルに対する血糖値低下の効果は、プリズム（Prism）プログラムを用いてその活性（$ED_{50}$）を求めた。

【００８５】

【表３】

| 試料 | $ED_{50}$(mcg/kg) | $R^2$ |
|---|---|---|
| N-末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体 | 2.30 | 0.99 |
| 天然型エキセンディン-4 | 9.92 | 0.98 |

【００８６】

前記表３及び図３で示したように、糖尿病モデル動物において、本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体は、天然型エキセンディン－４より約

５倍程度増加した血糖低下能を示した。

【００８７】

前記の結果から、本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体は、ＧＬＰ－１受容体に対する解離定数の増加により、ＧＬＰ－１受容体からの解離が迅速に進められ、天然型インスリン分泌ペプチドに比べて優れた血中安定性を示したことから、増加したインスリン分泌能及び血糖低下能を示すことが分かった。従って、本発明によるインスリン分泌ペプチド誘導体は、２型糖尿病の治療に非常に有効に用いることができる。

【００８８】

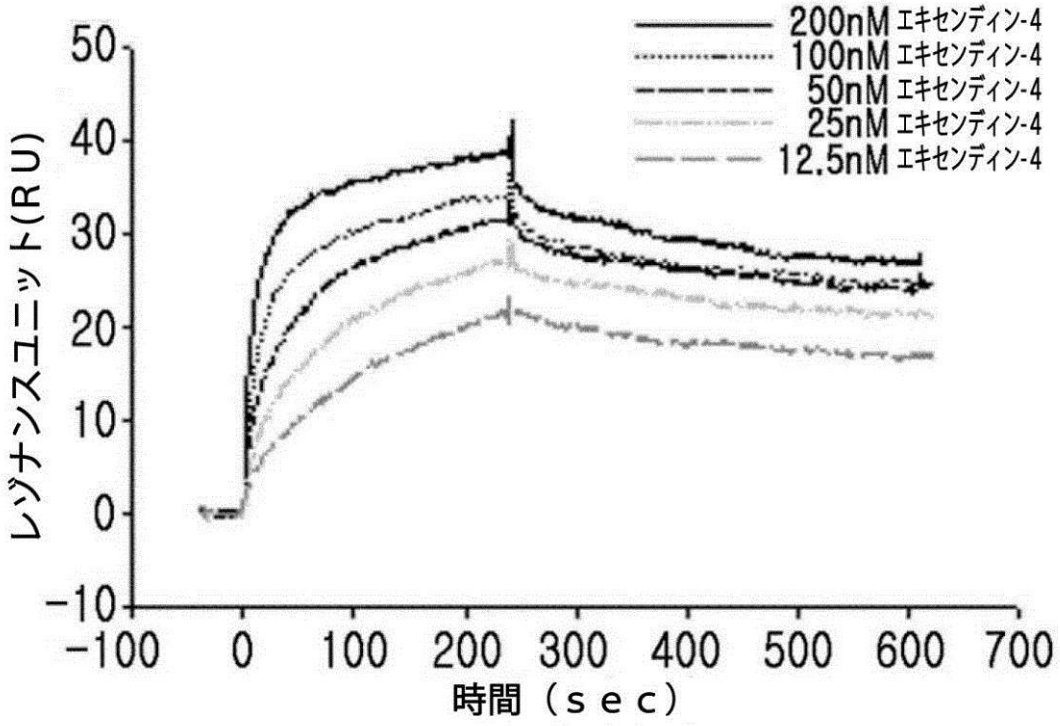
以上の説明から、本発明が属する技術分野の当業者は、本発明がその技術的思想や必須の特徴を変更することなく、他の具体的な形態で実施され得ることを理解できるであろう。これに関連し、以上で記述した実施例は、全ての面において例示的なものであり、限定的なものではないものとして理解されるべきである。本発明の範囲は、前記詳細な説明よりは後述する特許請求の範囲の意味及び範囲、そして、その等価の概念から導き出される全ての変更または変形された形態が本発明の範囲に含まれるものと解釈されるべきである。

【産業上の利用可能性】

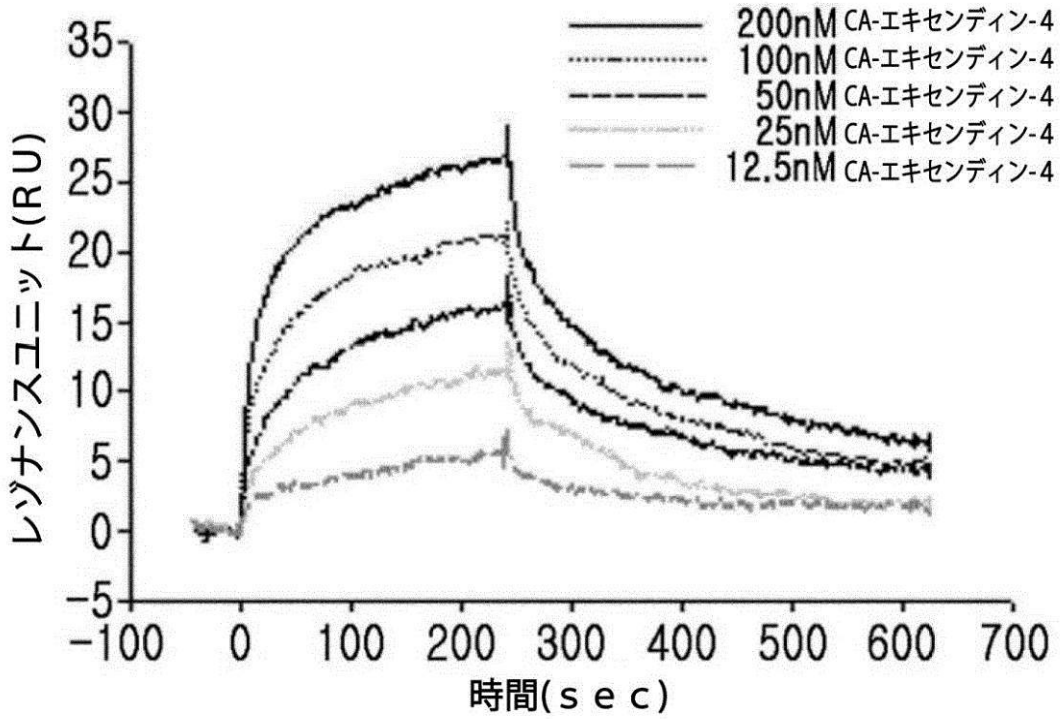
【００８９】

本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体は、ＧＬＰ－１受容体から迅速に解離され、前記受容体によるインスリン分泌ペプチドの消去（clearance）を防止することができ、脱感作（desensitization）を少なく発現させる。また、本発明によるＮ－末端の電荷が改変されたインスリン分泌ペプチド誘導体は、前述のＧＬＰ－１受容体に対する結合力の変化により天然型インスリン分泌ペプチドに比べて増加したインスリン分泌活性及び生体内（in vivo）における血糖低下能を示すことから、糖尿病の治療に非常に有効に用いることができる。

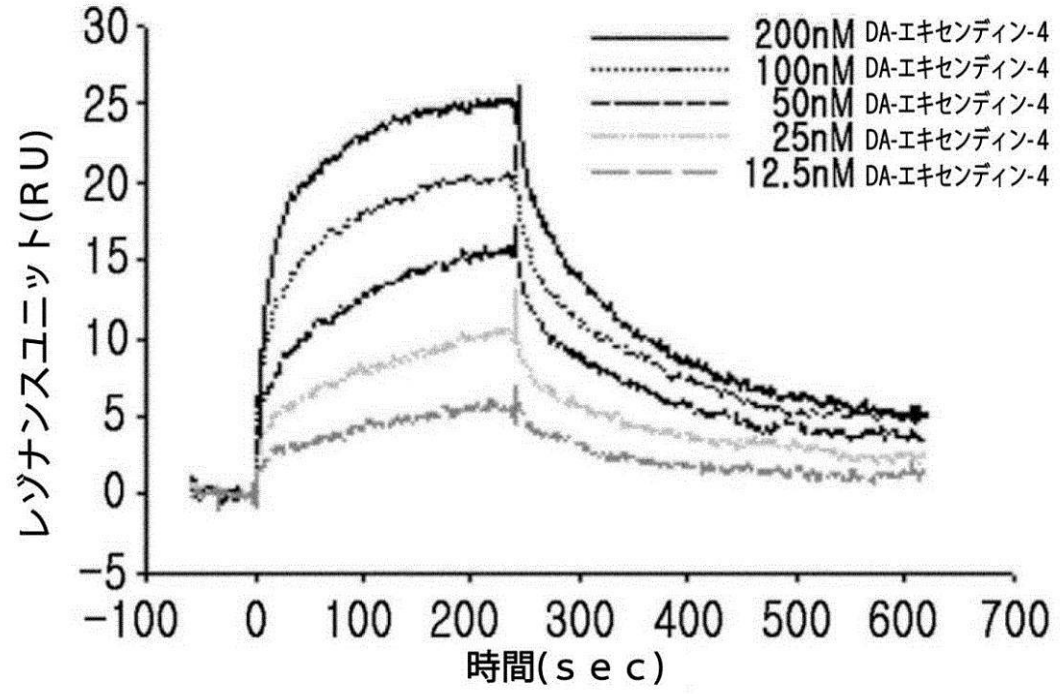
【図１ａ】



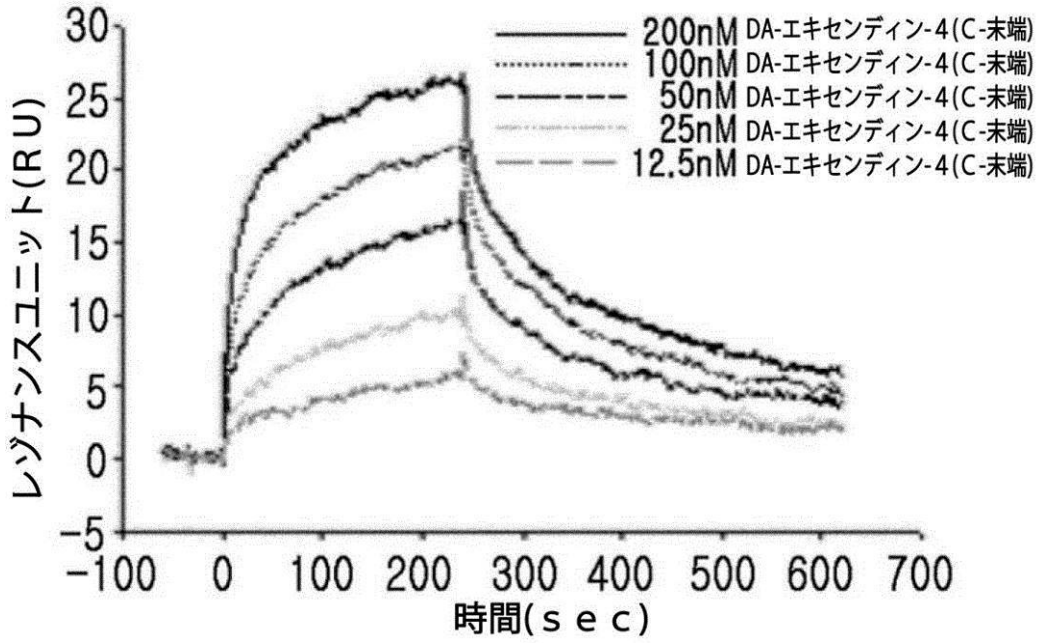
【図１ｂ】


200nM CA-エキセンディン-4
100nM CA-エキセンディン-4
50nM CA-エキセンディン-4
25nM CA-エキセンディン-4
12.5nM CA-エキセンディン-4
レゾナンスユニット(RU)
35
30
25
20
15
10
5
0
−5
−100
0
100
200
300
400
500
600
700
時間(ｓｅｃ)

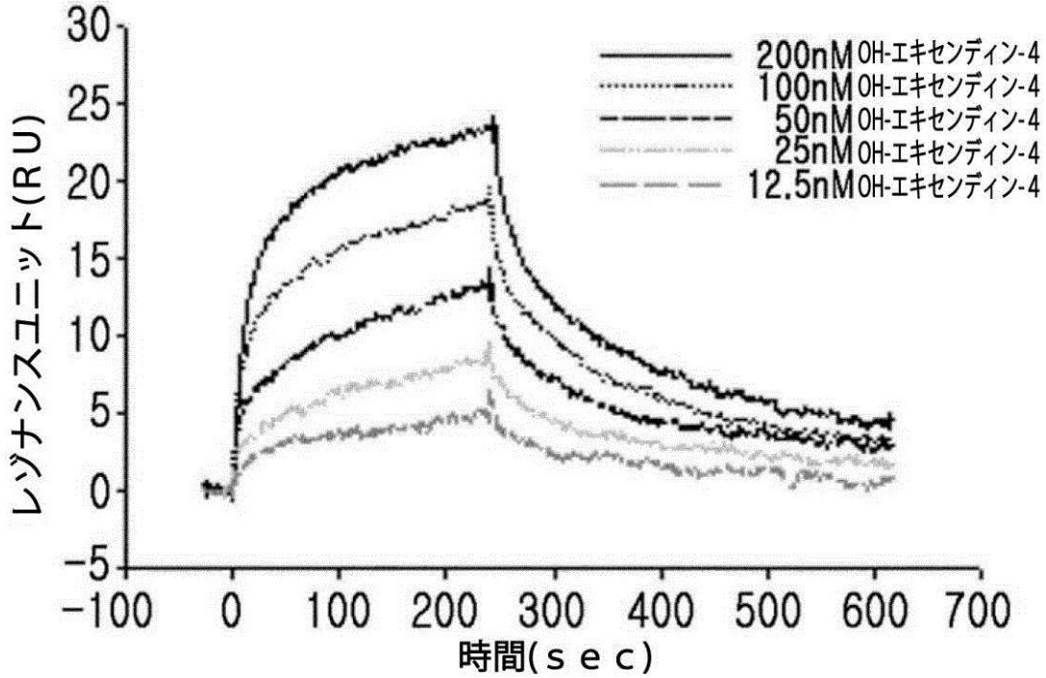
【図１ｃ】


200nM DA-エキセンディン-4
100nM DA-エキセンディン-4
50nM DA-エキセンディン-4
25nM DA-エキセンディン-4
12.5nM DA-エキセンディン-4
レゾナンスユニット(RU)
30
25
20
15
10
5
0
−5
−100
0
100
200
300
400
500
600
700
時間(ｓｅｃ)

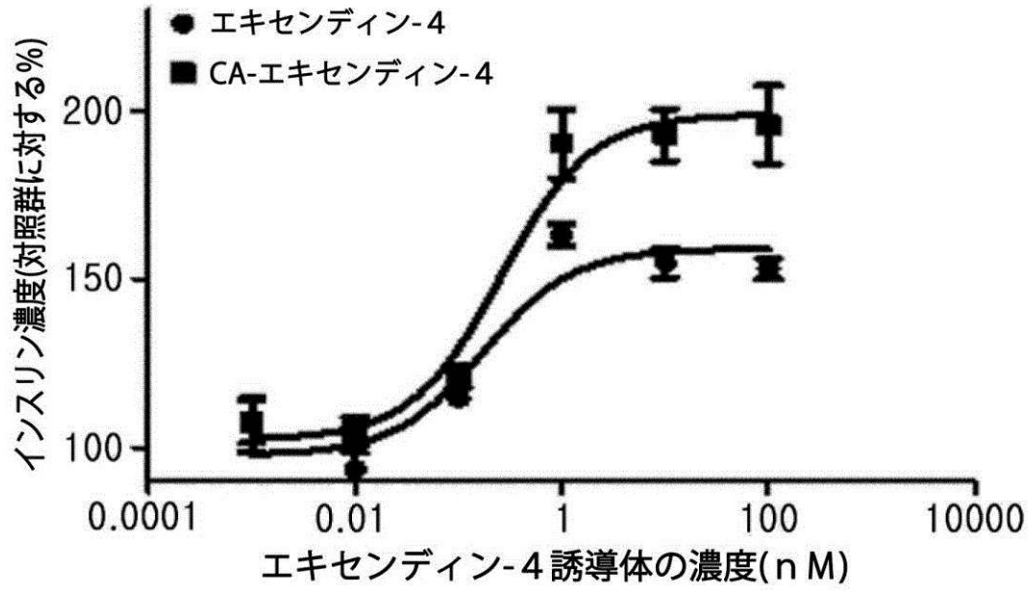
【図１ｄ】


200nM DA-エキセンディン-4(C-末端)
100nM DA-エキセンディン-4(C-末端)
50nM DA-エキセンディン-4(C-末端)
25nM DA-エキセンディン-4(C-末端)
12.5nM DA-エキセンディン-4(C-末端)
レゾナンスユニット(RU)
30
25
20
15
10
5
0
−5
−100
0
100
200
300
400
500
600
700
時間(ｓｅｃ)

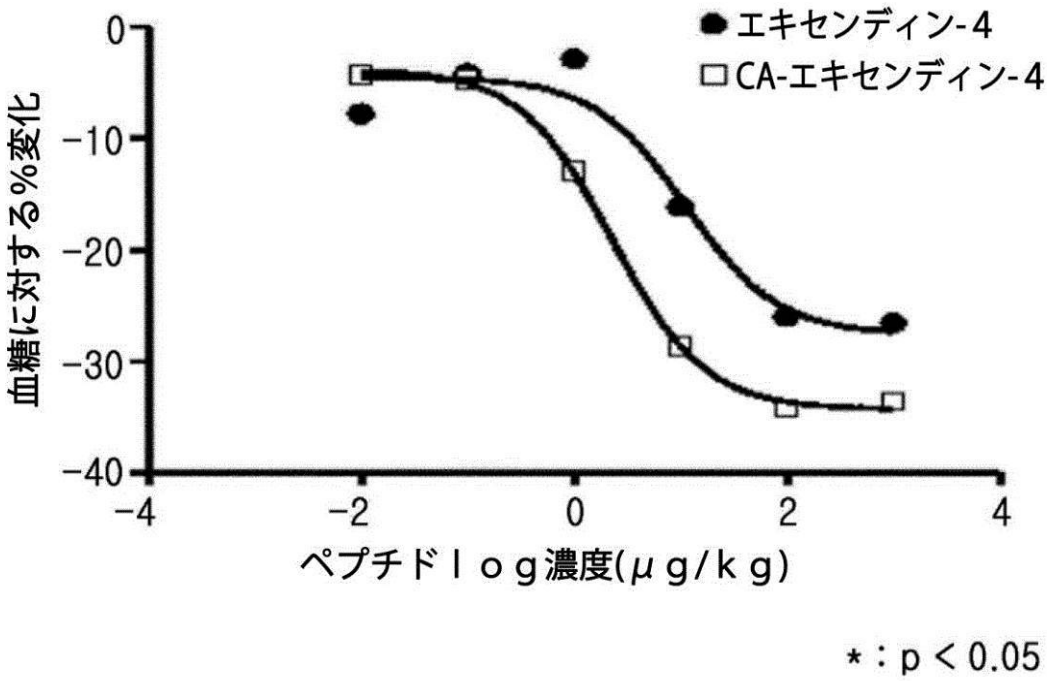
【図１ｅ】


200nM OH-エキセンディン-4
100nM OH-エキセンディン-4
50nM OH-エキセンディン-4
25nM OH-エキセンディン-4
12.5nM OH-エキセンディン-4
レゾナンスユニット(RU)
30
25
20
15
10
5
0
−5
−100
0
100
200
300
400
500
600
700
時間(ｓｅｃ)

【図２】




【図３】




【配列表】
2016504379000001.app
【手続補正書】
【提出日】平成27年7月13日(2015.7.13)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】請求項９
【補正方法】変更
【補正の内容】
【請求項９】
前記天然型インスリン分泌ペプチドまたはその類似体は、ＧＬＰ－１類似体であって、Ａｒｇ$^{34}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｇｌｙ$^{8}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｇ

ｌｙ$^{8}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ａｓｐ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$Ａｓｐ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｌｙｓ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$Ｌｙｓ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ａｒｇ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$Ａｒｇ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｈｉｓ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$Ｈｉｓ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｖａｌ$^{25}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｙｒ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｌｅｕ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｙｒ$^{18}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｈｉｓ$^{37}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｉｌｅ$^{33}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｖａｌ$^{25}$Ｉｌｅ$^{33}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｉｌｅ$^{33}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｖａｌ$^{25}$Ｉｌｅ$^{33}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、及びＶａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｖａｌ$^{25}$－ＧＬＰ－１（７－３７）からなる群より選択されるものである、請求項８に記載のインスリン分泌ペプチド誘導体。

【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００３３
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００３３】

好ましくは、ＧＬＰ－１類似体は、Ａｒｇ$^{34}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｇｌｙ$^{8}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｇｌｙ$^{8}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ａｓｐ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$Ａｓｐ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｌｙｓ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$Ｌｙｓ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ａｒｇ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$Ａｒｇ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｈｉｓ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３６）－アミド、Ｖａｌ$^{8}$Ｈｉｓ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｖａｌ$^{25}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｙｒ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｌｅｕ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｙｒ$^{18}$Ｇｌｕ$^{22}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｈｉｓ$^{37}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｉｌｅ$^{33}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｖａｌ$^{25}$Ｉｌｅ$^{33}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｉｌｅ$^{33}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、Ｖａｌ$^{8}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｖａｌ$^{25}$Ｉｌｅ$^{33}$－ＧＬＰ－１（７－３７）、及びＶａｌ$^{8}$Ｔｒｐ$^{16}$Ｇｌｕ$^{22}$Ｖａｌ$^{25}$－ＧＬＰ－１（７－３７）からなる群より選択されるものであってもよいが、これらに限定されるものではない。

【国際調査報告】

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.
**PCT/KR2014/000025**

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

***C07K 14/575(2006.01)i, A61P 3/10(2006.01)i***

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K 14/575; A61K 38/28; A61K 38/16; A61K 38/22; C07K 14/62; A61P 3/10

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above
Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: insulin, secretion, N-end charge, diabetes

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| A | KR 10-2008-0064750 A (HANMI SCIENCE CO., LTD) 09 July 2008<br>See abstract and claims 1-5. | 1-16 |
| A | WO 01-04156 A1 (ZEALAND PHARMACEUTICALS A/S) 18 January 2001<br>See abstract and claims 1-2. | 1-16 |
| A | KR 10-1991-0700262 A (NOVO NORDISK A/S) 14 March 1991<br>See claims 1-2. | 1-16 |
| A | FONDA, IRENA et al., "Improvement of potential therapeutic value of tumor necrosis- α (TNF- α) by charge modulation in the tip region",<br>Eur. Cytokine Netw., 01 March 2005, vol. 16, no. 1, pages 17-26<br>See abstract. | 1-16 |
| A | CHAN, ANNA ON-YEE et al., "Modification of N-terminal α -amino groups of peptides and proteins using ketenes", JACS, 2012, vol. 134, pages 2589-2598<br>See abstract. | 1-16 |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

| Date of the actual completion of the international search | Date of mailing of the international search report |
|---|---|
| 21 APRIL 2014 (21.04.2014) | **22 APRIL 2014 (22.04.2014)** |
| Name and mailing address of the ISA/KR<br>Korean Intellectual Property Office<br>Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701, Republic of Korea<br>Facsimile No. 82-42-472-7140 | Authorized officer<br><br>Telephone No. |

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.
**PCT/KR2014/000025**

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

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

1. ☒ Claims Nos.: **17**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claim 17 pertains to a method for treatment of the human, and thus pertains to subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**
Information on patent family members

International application No.
**PCT/KR2014/000025**

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member | Publication date |
|---|---|---|---|
| KR 10-2008-0064750 A | 09/07/2008 | AR 065639 A1 | 17/06/2009 |
| | | AU 2008-203574 A1 | 10/07/2008 |
| | | AU 203574 B2 | 01/12/2011 |
| | | BR PI0806262 A2 | 30/08/2011 |
| | | CA 2674538 A1 | 10/07/2008 |
| | | CN 101646451 A | 10/02/2010 |
| | | EP 2114438 A1 | 11/11/2009 |
| | | EP 2114438 A4 | 01/09/2010 |
| | | EP 2114438 B1 | 29/08/2012 |
| | | EP 2114438 B8 | 03/10/2012 |
| | | JP 2008-169195 A | 24/07/2008 |
| | | JP 2010-515677 A | 13/05/2010 |
| | | KR 10-1058290 B1 | 22/08/2011 |
| | | KR 10-2010-0061786 A | 09/06/2010 |
| | | KR 10-2011-0092253 A | 17/08/2011 |
| | | MX 2009007267 A | 11/11/2009 |
| | | NZ 577812 A | 12/01/2012 |
| | | RU 2009129953 A | 10/02/2011 |
| | | RU 2436589 C2 | 20/12/2011 |
| | | TW 200930408 A | 16/07/2009 |
| | | US 2010-0105877 A1 | 29/04/2010 |
| | | WO 2008-082274 A1 | 10/07/2008 |
| | | ZA 200904337 A | 27/10/2010 |
| WO 01-04156 A1 | 18/01/2001 | AT 242267 T | 15/06/2003 |
| | | AT 551362 T | 15/04/2012 |
| | | AU 2001-966000 A | 30/01/2001 |
| | | AU 2005-203735 A1 | 29/09/2005 |
| | | AU 203735 B2 | 19/03/2009 |
| | | AU 781338 B2 | 19/05/2005 |
| | | CA 2378431 A1 | 18/01/2001 |
| | | CA 2378431 C | 09/02/2010 |
| | | CA 2680437 A1 | 18/01/2001 |
| | | CN 1229390 C | 30/11/2005 |
| | | CN 1376166 A | 23/10/2002 |
| | | DE 60003182 D1 | 10/07/2003 |
| | | DE 60003182 T2 | 06/05/2004 |
| | | DK 1196444 T3 | 29/09/2003 |
| | | DK 1329458 T3 | 16/07/2012 |
| | | EP 1076066 A1 | 14/02/2001 |
| | | EP 1196444 A1 | 17/04/2002 |
| | | EP 1196444 B1 | 04/06/2003 |
| | | EP 1196444 B8 | 06/08/2003 |
| | | EP 1329458 A2 | 23/07/2003 |
| | | EP 1329458 A3 | 17/12/2003 |
| | | EP 1329458 B1 | 28/03/2012 |
| | | EP 1329458 B9 | 12/09/2012 |
| | | EP 2112161 A2 | 28/10/2009 |
| | | EP 2112161 A3 | 28/04/2010 |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**
Information on patent family members

International application No.
**PCT/KR2014/000025**

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member | Publication date |
|---|---|---|---|
| | | ES 2200892 T3 | 16/03/2004 |
| | | ES 2384963 T3 | 16/07/2012 |
| | | ES 2384963 T9 | 16/10/2012 |
| | | IL 147293 A | 03/12/2007 |
| | | IL 147293 D0 | 14/08/2002 |
| | | IL 185763 A | 30/04/2012 |
| | | IL 185763 D0 | 06/01/2008 |
| | | IL 206445 A | 27/09/2011 |
| | | IL 206445 D0 | 31/07/2011 |
| | | JP 04332314 B2 | 16/09/2009 |
| | | JP 2003-505347 A | 12/02/2003 |
| | | JP 2007-001987 A | 11/01/2007 |
| | | JP 2011-102305 A | 26/05/2011 |
| | | NZ 517012 A | 28/02/2003 |
| | | PT 1196444 E | 31/10/2003 |
| | | PT 1329458 E | 03/07/2012 |
| | | SI 1329458 T1 | 31/07/2012 |
| | | US 2007-0111940 A1 | 17/05/2007 |
| KR 10-1991-0700262 A | 14/03/1991 | CN 1043719 A0 | 11/07/1990 |
| | | EP 0375437 A3 | 11/09/1991 |
| | | EP 0375437 B1 | 09/09/1998 |
| | | EP 0837072 A2 | 22/04/1998 |
| | | EP 0837072 A3 | 19/08/1998 |
| | | EP 0837072 B1 | 20/01/1999 |
| | | EP 0861851 A1 | 02/09/1998 |
| | | EP 0861851 B1 | 14/04/1999 |
| | | US 5164366 A | 17/11/1992 |
| | | US 5716927 A | 10/02/1998 |
| | | WO 90-07522 A1 | 12/07/1990 |

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
**PCT/KR2014/000025**

**A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))**

**C07K 14/575(2006.01)i, A61P 3/10(2006.01)i**

**B. 조사된 분야**

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C07K 14/575; A61K 38/28; A61K 38/16; A61K 38/22; C07K 14/62; A61P 3/10

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌
한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))
eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 인슐린, 분비, N-말단 전하, 당뇨병

**C. 관련 문헌**

| 카테고리* | 인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재 | 관련 청구항 |
|---|---|---|
| A | KR 10-2008-0064750 A (한미약품 주식회사) 2008.07.09<br>요약 및 청구항 1-5 참조. | 1-16 |
| A | WO 01-04156 A1 (ZEALAND PHARMACEUTICALS A/S) 2001.01.18<br>요약 및 청구항 1-2 참조. | 1-16 |
| A | KR 10-1991-0700262 A (노보 노르디스크 아크티에 셀스카브) 1991.03.14<br>청구항 1-2 참조. | 1-16 |
| A | FONDA, IRENA 외 6명, 'Improvement of potential therapeutic value of tumor necrosis-α (TNF-α) by charge modulation in the tip region', Eur. Cytokine Netw., 2005.03.01, 16권, 1호, 17-26 페이지<br>요약 참조. | 1-16 |
| A | CHAN, ANNA ON-YEE 외 6명, 'Modification of N-terminal α-amino groups of peptides and proteins using ketenes', JACS, 2012, 134권, 2589-2598 페이지<br>요약 참조. | 1-16 |

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

| 국제조사의 실제 완료일 | 국제조사보고서 발송일 |
|---|---|
| 2014년 04월 21일 (21.04.2014) | 2014년 04월 22일 (22.04.2014) |

ISA/KR의 명칭 및 우편주소
대한민국 특허청
(302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 +82-42-472-7140

심사관
허주형
전화번호 +82-42-481-8150

서식 PCT/ISA/210 (두 번째 용지) (2009년 7월)

국제조사보고서

국제출원번호
PCT/KR2014/000025

**제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)**

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

1. ☒ 청구항: 17
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 17은 사람의 치료방법에 관한 것이므로 PCT 조약 제17조(2)(a)(i) 및 조약규칙 39.1(iv)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.

2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,

3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

**제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)**

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.

2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.

3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.

4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

**이의신청에 관한 기재**

☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.

☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.

☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

**국제조사보고서**
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
**PCT/KR2014/000025**

| 국제조사보고서에서 인용된 특허문헌 | 공개일 | 대응특허문헌 | 공개일 |
|---|---|---|---|
| KR 10-2008-0064750 A | 2008/07/09 | AR 065639 A1 | 2009/06/17 |
| | | AU 2008-203574 A1 | 2008/07/10 |
| | | AU 203574 B2 | 2011/12/01 |
| | | BR PI0806262 A2 | 2011/08/30 |
| | | CA 2674538 A1 | 2008/07/10 |
| | | CN 101646451 A | 2010/02/10 |
| | | EP 2114438 A1 | 2009/11/11 |
| | | EP 2114438 A4 | 2010/09/01 |
| | | EP 2114438 B1 | 2012/08/29 |
| | | EP 2114438 B8 | 2012/10/03 |
| | | JP 2008-169195 A | 2008/07/24 |
| | | JP 2010-515677 A | 2010/05/13 |
| | | KR 10-1058290 B1 | 2011/08/22 |
| | | KR 10-2010-0061786 A | 2010/06/09 |
| | | KR 10-2011-0092253 A | 2011/08/17 |
| | | MX 2009007267 A | 2009/11/11 |
| | | NZ 577812 A | 2012/01/12 |
| | | RU 2009129953 A | 2011/02/10 |
| | | RU 2436589 C2 | 2011/12/20 |
| | | TW 200930408 A | 2009/07/16 |
| | | US 2010-0105877 A1 | 2010/04/29 |
| | | WO 2008-082274 A1 | 2008/07/10 |
| | | ZA 200904337 A | 2010/10/27 |
| WO 01-04156 A1 | 2001/01/18 | AT 242267 T | 2003/06/15 |
| | | AT 551362 T | 2012/04/15 |
| | | AU 2001-966000 A | 2001/01/30 |
| | | AU 2005-203735 A1 | 2005/09/29 |
| | | AU 203735 B2 | 2009/03/19 |
| | | AU 781338 B2 | 2005/05/19 |
| | | CA 2378431 A1 | 2001/01/18 |
| | | CA 2378431 C | 2010/02/09 |
| | | CA 2680437 A1 | 2001/01/18 |
| | | CN 1229390 C | 2005/11/30 |
| | | CN 1376166 A | 2002/10/23 |
| | | DE 60003182 D1 | 2003/07/10 |
| | | DE 60003182 T2 | 2004/05/06 |
| | | DK 1196444 T3 | 2003/09/29 |
| | | DK 1329458 T3 | 2012/07/16 |
| | | EP 1076066 A1 | 2001/02/14 |
| | | EP 1196444 A1 | 2002/04/17 |
| | | EP 1196444 B1 | 2003/06/04 |
| | | EP 1196444 B8 | 2003/08/06 |
| | | EP 1329458 A2 | 2003/07/23 |
| | | EP 1329458 A3 | 2003/12/17 |
| | | EP 1329458 B1 | 2012/03/28 |
| | | EP 1329458 B9 | 2012/09/12 |
| | | EP 2112161 A2 | 2009/10/28 |
| | | EP 2112161 A3 | 2010/04/28 |

**국제조사보고서**
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
**PCT/KR2014/000025**

| 국제조사보고서에서 인용된 특허문헌 | 공개일 | 대응특허문헌 | 공개일 |
|---|---|---|---|
| | | ES 2200892 T3 | 2004/03/16 |
| | | ES 2384963 T3 | 2012/07/16 |
| | | ES 2384963 T9 | 2012/10/16 |
| | | IL 147293 A | 2007/12/03 |
| | | IL 147293 D0 | 2002/08/14 |
| | | IL 185763 A | 2012/04/30 |
| | | IL 185763 D0 | 2008/01/06 |
| | | IL 206445 A | 2011/09/27 |
| | | IL 206445 D0 | 2011/07/31 |
| | | JP 04332314 B2 | 2009/09/16 |
| | | JP 2003-505347 A | 2003/02/12 |
| | | JP 2007-001987 A | 2007/01/11 |
| | | JP 2011-102305 A | 2011/05/26 |
| | | NZ 517012 A | 2003/02/28 |
| | | PT 1196444 E | 2003/10/31 |
| | | PT 1329458 E | 2012/07/03 |
| | | SI 1329458 T1 | 2012/07/31 |
| | | US 2007-0111940 A1 | 2007/05/17 |
| KR 10-1991-0700262 A | 1991/03/14 | CN 1043719 A0 | 1990/07/11 |
| | | EP 0375437 A3 | 1991/09/11 |
| | | EP 0375437 B1 | 1998/09/09 |
| | | EP 0837072 A2 | 1998/04/22 |
| | | EP 0837072 A3 | 1998/08/19 |
| | | EP 0837072 B1 | 1999/01/20 |
| | | EP 0861851 A1 | 1998/09/02 |
| | | EP 0861851 B1 | 1999/04/14 |
| | | US 5164366 A | 1992/11/17 |
| | | US 5716927 A | 1998/02/10 |
| | | WO 90-07522 A1 | 1990/07/12 |

フロントページの続き

| (51)Int.Cl. | F I | テーマコード（参考） |
|---|---|---|
| *Ａ６１Ｐ　43/00　(2006.01)* | Ａ６１Ｐ　43/00　１１１ | |

(81)指定国　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ

(72)発明者　チョン、ソン　ヨプ
大韓民国　４４２－７５４　キョンギード　スウォン－シ　パルダル－グ　クォンワン－ロ　３７３　１０９－１０５
(72)発明者　ファン、サン　ヨン
大韓民国　４４５－７６９　キョンギード　ファソン－シ　ピョンジョム　４－ロ　１０２　１００４－７０１
(72)発明者　チェ、イン　ヨン
大韓民国　４４８－１６０　キョンギード　ヨンイン－シ　スジ－グ　ヨング－デロ　２７７１ボン－ギル　７０　１０５－１８０１
(72)発明者　パク、ソン　ヒ
大韓民国　４６３－９５９　キョンギード　ソンナム－シ　プンダン－グ　パンギョウォン－ロ　２０９　６０３－１８０４
(72)発明者　クォン、セ　チャン
大韓民国　１３５－５０６　ソウル　カンナム－グ　ソルルン－ロ　２２１　４０８－１８０４

Ｆターム(参考)　4C084 AA02 AA07 BA01 BA44 CA53 DB34 DB36 NA14 ZC451
4H045 AA10 AA20 AA30 BA19 CA40 DA37 DA45 EA24 EA27 FA34