

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5399244号

(P5399244)

(45) 発行日 平成26年1月29日(2014.1.29)

(24) 登録日 平成25年11月1日(2013.11.1)

(51) Int.Cl.

F I

C O 7 K 14/575 (2006.01)

C O 7 K 14/575 Z N A

C O 7 K 14/605 (2006.01)

C O 7 K 14/605

C O 7 K 19/00 (2006.01)

C O 7 K 19/00

A 6 1 K 38/22 (2006.01)

A 6 1 K 37/24

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 45/00

請求項の数 10 (全 240 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2009-524707 (P2009-524707)
 (86) (22) 出願日 平成19年8月17日 (2007.8.17)
 (65) 公表番号 特表2010-500996 (P2010-500996A)
 (43) 公表日 平成22年1月14日 (2010.1.14)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2007/018415
 (87) 国際公開番号 W02008/021560
 (87) 国際公開日 平成20年2月21日 (2008.2.21)
 審査請求日 平成22年8月12日 (2010.8.12)
 (31) 優先権主張番号 11/507,081
 (32) 優先日 平成18年8月17日 (2006.8.17)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 598133654
 アミリン・ファーマシューティカルズ、リ
 ミテッド・ライアビリティ・カンパニー
 AMYLIN PHARMACEUTIC
 ALS, LLC
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92
 121, サンディエゴ, タウン センター
 ドライブ 9360
 9360 Towne Centre D
 rive, San Diego, CA
 92121 USA

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 選択可能な特性を持つDPP-IV耐性GIPハイブリッドポリペプチド

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

少なくとも1個の追加的な生理活性ペプチドホルモンに共有結合された第1の生理活性ペプチドホルモンを含んでなるインスリン分泌刺激GIPホルモン活性を有するGIP化合物であって、

a. N末端配列の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、およびC末端配列のP S S G A P P P S、P K K I P P P S、P S S G A P P N S、P S S G Q P P Q S K、P S S G A P P Q S K、P S S G A P P K S K、P S S G A P P K S、P S S G A R P P SまたはP S S G A K P P Sよりなるペプチド；

b. N末端配列の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、およびC末端配列のP S S G A P P P S、P K K I P P P S、P S S G A P P N S、P S S G Q P P Q S K、P S S G A P P Q S K、P S S G A P P K S K、P S S G A P P K S、P S S G A R P P SまたはP S S G A K P P Sを含むペプチド；

c. N末端配列のY a E G T F I S D Y S I A L E K I R Q Q E F V N W L L A Q KおよびC末端配列のP S S G A P P P S、P K K I P P P S、P S S G A P P N S、P S S G Q P P Q S K、P S S G A P P Q S K、P S S G A P P K S K、P S S G A P P K S、P S S G A R P P SまたはP S S G A K P P Sを含むペプチド；ならびに

d. N末端配列のY a E G T F I S D Y S I A L E K I R Q Q E F V N W L L K Q KおよびC末端配列のP S S G A P P P S、P K K I P P P S、P S S G A P P N S、P S S G Q P P Q S K、P S S G A P P Q S K、P S S G A P P K S K、P S S G A P P K S、

10

20

PSSGARPPSまたはPSSGAKPPSを含むペプチドからなる群より選択される該GIP化合物。

【請求項2】

GIP化合物のC末端側末端がアミド化された請求項1記載のGIP化合物。

【請求項3】

C末端配列のPSSGAPPPS、PKKI PPPS、PSSGAPPNS、PSSGQPPQSK、PSSGAPPQSK、PSSGAPPKSK、PSSGAPPKS、PSSGARPPSまたはPSSGAKPPSが、アルキル基；ジカルボン酸；PEG；アミノ酸；ポリアミノ酸；二官能性リンカー；アミノカプロイル（Ac a）；Gly；βアラニル；8-アミノ-3,6-ジオキサオクタノイル；Gly-Gly-Gly；およびGly-Lys-Arg（GKR）からなる群より独立して選択される1個または複数の連結基により共有結合される、請求項1または2に記載のGIP化合物。

10

【請求項4】

それを必要とする患者における糖尿病、前糖尿病または高血糖を治療または予防するための医薬製造用の請求項1～3のいずれか1記載のGIP化合物の使用であって、

治療的に有効量の該化合物が患者に投与されることを特徴とする該使用。

【請求項5】

救命救急管理中の患者を治療するための医薬製造用の請求項1～3のいずれか1記載のGIP化合物の使用であって、

治療的に有効量の該化合物が患者に投与されることを特徴とする該使用。

20

【請求項6】

患者が血糖レベルのコントロールを必要とする請求項4または5記載の使用。

【請求項7】

患者が非糖尿病である請求項4～6のいずれか1記載の使用。

【請求項8】

救命救急管理が、重病、敗血症、外傷後、手術後、ショック後、昏睡患者、ストレス誘発性高血糖、脳卒中、心筋梗塞、急性腸間膜虚血、呼吸困難、人工呼吸器依存、腎不全、うっ血性心不全、水腫、冬眠心筋、心筋症、BNP低下、駆出機能障害、高血圧症、ポリニューロパシー、虚血／再灌流傷害、器官床の組織保護、心筋梗塞、急性冠症候群、伝導または律動の障害、乳頭機能障害、および／または肺水腫に付随する異化変化の疾患または病態のためである請求項5～7のいずれか1記載の使用。

30

【請求項9】

治療における使用のための請求項1～3のいずれか1記載のGIP化合物。

【請求項10】

それを必要とする患者における糖尿病、前糖尿病または高血糖の治療または予防に用いる請求項1～3のいずれか1記載のGIP化合物であって、

治療的に有効量の該化合物が患者に投与されることを特徴とする該GIP化合物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

40

本発明はペプチド化学および医薬品、より詳細には新規胃抑制ポリペプチド（「GIP」）類似体および選択可能な特性を備えるGIP含有ハイブリッドポリペプチドに関する。これはさらに、これらおよび他のGIP化合物の単独またはグルカゴン様ペプチド1（「GLP1」）、エキセンディン-4、またはアミリンポリペプチドなどの他の化合物との併用のいずれかでの、代謝性疾患および病態を処置するための使用に関する。

【0002】

（関連出願の相互参照）

本出願は、米国仮出願：2005年2月11日に提出された米国仮特許出願第60/652,662号明細書、2005年2月15日に提出された米国仮特許出願第60/653,433号明細書、2005年2月11日に提出された米国仮特許出願第60/651

50

、647号明細書、2005年8月11日に出願された米国仮特許出願第60/707、244号明細書、2005年8月11日に出願された米国仮特許出願第60/707、369号明細書、2005年8月17日に出願された米国仮特許出願第60/709、320号明細書、および2005年8月17日に出願された米国仮特許出願第60/709、316号明細書の優先権を主張する共同所有され係属中の米国特許出願第11/507、081号；ならびに2006年2月10日に出願されたPCT/US2006/005020の優先権を主張し、これらの各々をここに出典明示してその全てを本明細書の一部とみなす。

【背景技術】

【0003】

インクレチンペプチドはグルコースレベルが正常な時、または特にそれが上昇する時に放出されるインスリン量の増加を引き起こすホルモンおよびペプチド模倣物である。これらのインクレチンペプチドはインスリン分泌により規定される当初のインクレチン作用を超える他の作用を有する。例えば、これらはまた、グルカゴン産生を低減するとともに胃排出を遅延する作用も有し得る。加えて、これらはインスリン感受性を改善する作用を有し得るとともに、これらは膵島細胞新生—新しい膵島の形成—を増加させ得る。

【0004】

インクレチン効果の概念は、インスリンが経口グルコースに対し、等量のグルコースの静脈内投与後に計測されるものを上回って反応するという観察から展開した。消化管由来因子、またはインクレチンが、食後のインスリン放出に影響することが結論づけられた。栄養の胃および近位の胃腸管への流入がインクレチンホルモンの放出を引き起こし、これが次にはインスリン分泌を刺激する。このインスリン指向性、またはインスリン分泌を刺激する能力は、経口グルコース負荷に対するインスリンまたはC-ペプチド反応を静脈内のものと比較することにより定量化され得る。このようにして、インクレチン効果が健常人中の経口グルコースに対するインスリン反応の約50%~70%に参与することが示されている。

【0005】

多くの食後ホルモンがインクレチン様活性を有するが、主要なインクレチンペプチドとしては、胃抑制ポリペプチド(GIP)としても知られる、グルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド、グルカゴン様ペプチド-1(GLP-1)、およびエキセンディンペプチド(これは非内在性インクレチン模倣物である)が挙げられる。GIPおよびGLP-1は双方ともグルカゴンペプチドスーパーファミリーに属するとともに、それゆえアミノ酸配列相同性を共有する。GIPおよびGLP-1は胃腸管内の特殊化された細胞により分泌されるとともに膵島細胞ならびに他の組織上に位置する受容体を有する。インクレチン同様、双方とも栄養の摂取に反応して腸から分泌され、結果としてインスリン分泌の亢進をもたらす。GIPおよびGLP-1のインスリン分泌刺激効果は周囲のグルコースの上昇に依存する。双方とも偏在性酵素ジペプチジルペプチダーゼIV(DPP-IV)により急速に不活性化される。

【0006】

未変性ヒトGIPは特殊化された腸内分泌K細胞内で合成されるとともにそれにより分泌される単一の42アミノ酸ペプチドである。これらの細胞は主に十二指腸および近位の空腸内で濃縮されるが、これらはまた腸の至るところにも所見され得る。GIP分泌の主要な刺激物は炭水化物および脂質の豊富な食事の摂取である。摂取後、循環血漿GIPレベルは10~20倍増加する。インタクトGIPの半減期は健常対象においておよそ7.3分および糖尿病対象において5.2分と推定される。

【0007】

GIP注入プロトコルに加え、GIP受容体アンタゴニスト、GIPペプチドアンタゴニスト、およびGIP受容体ノックアウトマウスを使用して、GIPの生理学的効果が解明されてきた。GIPのその受容体への結合を阻止する結果、ラットおよびマウスにおける経口グルコース負荷後にグルコース依存性インスリン分泌の減弱がもたらされる。同様

10

20

30

40

50

に、G I PアンタゴニストまたはG I P抗血清の投与がラットにおける食後のインスリン放出を顕著に低減させる。G I P受容体ノックアウトマウスは経口グルコース負荷後に正常な空腹時グルコースレベルだが軽度のグルコース不耐性を実証する。興味深いことに、これらはまた、数ヶ月の高脂肪摂食後の食餌誘発性肥満に対する耐性も呈する。加えて、レプチン欠損ob／obマウスにおいては、G I P受容体ノックアウト遺伝子型が出現し、発症する肥満の程度を低下させる。

【0008】

G I P注入は単離されたラット膵島、単離された灌流ラット膵、イヌ、およびヒト中のインスリン分泌の刺激を一貫して実証している。段階的正常血糖、軽度高血糖（基礎値の54mg／dL超）、および中等度高血糖（基礎値の143mg／dL超）クランプの間、G I P注入は結果として、グルコース濃度上昇の存在下においてのみインスリン分泌をもたらすことが実証されている。さらには、G I Pは正常血糖または高血糖条件のいずれかにおける間も正常ヒト中でグルカゴン分泌性ではないことが実証されている。このように、内因的に放出されるG I Pの効果は食後インスリン分泌の重要な機序であると見られるとともに、絶食状態においては役割を果たさないと見られる。

【0009】

G I Pは多くの非インクレチン効果もまた有する。他のインスリン分泌促進物質と異なり、G I PはINS-I膵島細胞系試験においてβ細胞増殖および細胞生存を刺激する。さらには、動物試験はG I Pの、脂肪組織への脂肪酸取り込みを含め、リポタンパク質リパーゼ活性を刺激すること、および脂肪酸合成を刺激することによる、脂質代謝における役割を示唆している。しかしながら、ヒトにおいては、G I Pの脂質代謝に対する効果についての明確な証拠はない。G I Pはまた、単離された灌流ラット膵からのグルカゴン分泌も刺激すると見られるが、ヒト試験はグルカゴン分泌に対する有意な影響は何ら実証していない。さらには、GLP-Iと異なり、G I Pは胃腸管運動を阻害することによりむしろ、胃の排出を加速することにより作用すると見られる。

【0010】

Gタンパク質共役受容体ファミリーのメンバーであるG I P受容体はG I Pへの高い特異性を有するとともにグルカゴンファミリーの他のペプチドは結合しない。このため、GLP-1／G I PキメラペプチドはG I P受容体への親和性をほとんど示さない。かかる試験から、G I P（1-42）のG I P（1-30）配列が受容体を認識するのに十分であると結論づけられている。G I P（6-30）アミドはG I P（1-42）の高親和性結合領域を含むが、アンタゴニスト活性を呈する。

【0011】

本明細書において参照される発行された特許、出願および参考文献は、各々が出典明示して本明細書の一部とみなすように特におよび個々に示され、本明細書に完全に記載されるかのごとき同一範囲まで参照により本出願に援用される。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

インスリン分泌のグルコース依存性刺激を通じての強力な糖調節作用にも関わらず、G I Pのインスリン分泌刺激効果は正常人と比べ糖尿病対象において有意に低減する（16～18）。結果的に、G I Pの臨床使用は大幅には進歩していない。さらに、追加的な糖尿病処置様式ならびに代謝性疾患、病態、および障害用処置を開発する必要性が残っている。従って、代謝性疾患、病態、および障害を処置または予防するためのG I P類似体およびG I P含有ハイブリッドポリペプチドおよびそれらの使用方法を提供することが本発明の目的である。

【課題を解決するための手段】

【0013】

糖尿病および糖尿病関連病態などの、血漿グルコースレベル、インスリンレベル、および／またはインスリン分泌の制御により軽減され得るものを含む代謝性疾患および障害、

10

20

30

40

50

および、これらには限定はされないが、高血圧症、異常脂質血症、心血管疾患、摂食障害、インスリン抵抗性、肥満、および1型、2型、および妊娠糖尿病を含め、任意の種類の真性糖尿病を含む、病態および障害を処置または予防する方法が提供される。本方法は、治療的または予防的に有効量のG I PまたはG I P類似体、それらの断片または誘導体、または本明細書に記載されるとおりのG I Pハイブリッドまたはその誘導体を、単独（単剤治療）もしくは別の薬剤または治療、例えばグルコース降下薬（例えば、抗糖尿病薬）または胃排出を阻害または低減する薬剤または方法（かかる薬剤の例は本明細書に提示される）との組み合わせ（補助治療）で、それらを必要とする対象に投与することを含んでなる。1種または複数の他のホルモン生理活性を有するG I Pハイブリッド、例えば、プラムリンチド、エキセンディン、BNPの一部としてのG I P生理活性を提供することにより、1個または複数の選択可能な機能を備える化合物は、血漿グルコースの降下、インスリン分泌の増加などの、G I P生理活性の特性の追加的な利益を、他のインクレチン分子に付随する副作用なしに、有するであろう。例えば、本発明のG I P-s C Tハイブリッド化合物は、骨喪失および骨吸収の低下または軟骨代謝回転の低減（軟骨保護）などの、サケカルシトニンの選択可能な特性、および、血漿グルコース降下（本明細書に記載されるとおり抗異化態様に随伴する）および／または骨吸収の阻害および骨密度の維持または増加などの、G I Pの特性を有することができる。かかる選択可能な特性を備えるG I Pハイブリッドは、特に、糖尿病または救命救急管理中の対象など、血糖コントロールからも利益を得られる人々において、骨粗鬆症または軟骨高代謝回転の病態の処置を亢進できる。

10

20

【0014】

一実施形態において1個または複数の亢進された特性を有する新規G I P類似体を提供される。G I P類似体は、D P P-I Vに対する、またはヒト血漿中および／または腎刷子縁膜上に所見されるものなど、他のプロテアーゼに対する増加した耐性を有し、生体内半減期を増加させる。さらなる実施形態においてG I P類似体はアミノ酸4-30に少なくとも1個の置換、修飾、挿入または欠失を有する。これらの改変は、G I P受容体結合増加、受容体選択性増加、および／または化学的および／またはタンパク質加水分解手段による分解に対する抵抗性増加などの亢進された特性を提供できる。別の実施形態においてG I P類似体はさらに未変性G I P（1-30）、未変性G I P（1-14）、未変性G I P（19-30）または未変性G I P（1-42）に対し各分子の全長にわたり最小50%の配列同一性、および少なくとも1個のG I Pの生物学的特性を有する。特定の実施形態において、新規G I P類似体ポリペプチドは、Dアミノ酸などの、非天然アミノ酸を含む。さらなる実施形態においてG I P類似体またはハイブリッドは修飾され、脂肪酸アシル誘導体化によるなどの、低減された腎クリアランスを有する。

30

【0015】

別の実施形態において選択可能な特性を備える新規G I P含有ハイブリッドポリペプチドが提供される。ハイブリッドポリペプチドは少なくとも1種のホルモン活性を呈する。一実施形態においてG I Pハイブリッドポリペプチドは共に共有結合される少なくとも2個の生物学的に活性な（「生理活性」）ペプチドホルモンモジュールを含んでなり、ここで生理活性ペプチドホルモンモジュールの少なくとも1個はG I Pポリペプチドを含んでなる。他の生理活性ペプチドホルモンモジュールは、（a）未変性成分ペプチドホルモン、（b）ホルモン活性を保持する未変性成分ペプチドホルモンの類似体または誘導体、（c）ホルモン活性を保持する未変性成分ペプチドホルモンの断片、（d）ホルモン活性を保持する未変性成分ペプチドホルモンの類似体または誘導体の断片、（e）所望の化学的安定性、立体構造的安定性、代謝的安定性、生体利用能、器官／組織ターゲティング、受容体相互作用、プロテアーゼ阻害、血漿タンパク質結合、および／または他の薬物動態学的特徴をハイブリッドポリペプチドに対し供与する未変性成分ペプチドホルモンの構造モチーフ、または（f）所望の化学的安定性、立体構造的安定性、代謝的安定性、生体利用能、器官／組織ターゲティング、受容体相互作用、プロテアーゼ阻害、血漿タンパク質結合、および／または他の薬物動態学的特徴をハイブリッドポリペプチドに対し供与する未

40

50

変性成分ペプチドホルモンの類似体または誘導体の構造モチーフ、であり得る。(e)および(f)の構造モチーフはまとめて「ペプチドエンハンサー」と本明細書中では称されるであろう。ペプチドエンハンサーの例はT r p ケージ配列、特にエキセンディン-4に由来するものである。

【0016】

さらなる実施形態においてG I Pハイブリッドポリペプチドは共に共有結合される少なくとも2個の生理活性ペプチドホルモンモジュールを含んでなり、ここで生理活性ペプチドホルモンモジュールの少なくとも1個はG I Pポリペプチドからなるとともに、第2のモジュールは成分ペプチドホルモンの少なくとも1種のホルモン活性を呈する。生理活性ペプチドホルモンモジュールは、成分ペプチドホルモン、成分ペプチドホルモンの少なくとも1種のホルモン活性を呈する成分ペプチドホルモンの断片、成分ペプチドホルモンの少なくとも1種のホルモン活性を呈する成分ペプチドホルモンの類似体および誘導体、および成分ペプチドホルモンの少なくとも1種のホルモン活性を呈する成分ペプチドホルモンの類似体および誘導体の断片、より独立して選択される。

10

【0017】

一実施形態においてG I Pハイブリッドポリペプチドは少なくとも1個の追加的な生理活性ペプチドホルモンモジュールに共有結合される本発明の新規G I P類似体ポリペプチドを含んでなる。さらなる実施形態において生理活性ペプチドホルモンモジュールはペプチドエンハンサーである。一実施形態において本発明のG I Pハイブリッドポリペプチドは未変性G I P (1-30)、未変性G I P (1-14)、未変性G I P (19-30) または未変性G I P (1-42) に対しG I P部分の全長にわたり少なくとも50%の配列同一性を呈するであろう。特定の実施形態においてG I P部分は、t r p ケージモチーフなどの、ペプチドエンハンサーをさらに含んでなる新規G I P類似体を含んでなることができる。従って、G I Pハイブリッドは、t r p ケージモチーフなどのペプチドエンハンサーを備えるG I P類似体、その断片または誘導体であるとともに、亢進された特性を有し、別のホルモンまたは成長因子もしくはそれらの断片などの、追加的な生理活性ペプチドホルモンモジュールに共有結合されるG I P部分を含んでなることができる。

20

【0018】

G I Pハイブリッドポリペプチドにおける使用のための成分ペプチドホルモンとしては、アミリン、アドレノメデュリン (ADM)、カルシトニン (CT)、カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP)、インテルメジン、コレシストキニン (「CCK」)、レプチン、ペプチドYY (PYY)、グルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1)、グルカゴン様ペプチド2 (GLP-2)、オキシントモジュリン (OXM)、ナトリウム利尿ペプチド (例えばANP、BNP、CNPまたはウロジラチン)、ウロコルチンファミリーペプチド、例えば、Ucn-2およびUcn-3、ニューロメジンファミリーペプチド、例えばニューロメジンU25またはスプライスバリエント、エキセンディン-3およびエキセンディン-4が挙げられる。

30

【0019】

他のG I Pハイブリッド実施形態においてG I P部分は、ガストリン/CCK受容体リガンド、アミリン受容体リガンド、カルシトニン受容体リガンド、CGRP受容体リガンド、PYY受容体リガンド、EGF受容体リガンド、グルカゴン様ペプチド1受容体リガンド、グルカゴン様ペプチド2受容体リガンド、胃抑制ポリペプチド (GIP) 受容体リガンド、ケラチノサイト成長因子 (KGF) 受容体リガンド、ジペプチジルペプチダーゼIVインヒビター、REGタンパク質受容体リガンド、成長ホルモン受容体リガンド、プロラクチン (PRL) 受容体リガンド、インスリン様成長因子 (IGF) 受容体リガンド、PTH関連タンパク質 (PTHrP) 受容体リガンド、肝細胞増殖因子 (HGF) 受容体リガンド、骨形成タンパク質 (BMP) 受容体リガンド、トランスフォーミング成長因子 (TGF受容体リガンド、ラミニン受容体リガンド、血管作動性腸管ペプチド (VIP) 受容体リガンド、線維芽細胞増殖因子 (FGF) 受容体リガンド、神経成長因子 (NGF) 受容体リガンド、膵島新生関連タンパク質 (INGAP) 受容体リガンド、アクチ

40

50

ビンーA受容体リガンド、血管内皮増殖因子（VEGF）受容体リガンド、エリスロポエチン（EPO）受容体リガンド、脳下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド（PACAP）受容体リガンド、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）受容体リガンド、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）、血小板由来成長因子（PDGF）受容体リガンド、カンナビノイドCB1受容体アンタゴニスト、およびセクレチン受容体リガンド、と組み合わせられる。

【0020】

一実施形態において望ましいGIPハイブリッドポリペプチドは、N末端GIPまたは新規GIP類似体断片を、グルコース降下活性（例えば、抗糖尿病薬、エキセンディン）または胃排出を阻害または低減する能力を有するC末端ポリペプチドまたはその断片と組み合わせて含む。かかる望ましいGIPハイブリッドは、N末端GIP断片もしくは新規GIP類似体または誘導体断片を、C末端エキセンディン、GLP1、シムリン（プラムリンチド）、アミリン、CCK、ガストリン、PYY、セクレチン、GRP、ニューロメジン、ウロコルチン、カルシトニン、またはサケカルシトニン、ナトリウム利尿ペプチド（例えば、ANP、BNP、CNP、ウロジラチン）または類似体（例えばアミリン-sCT-アミリンキメラ）、それらの誘導体または断片と組み合わせて含む。他の実施形態において望ましいGIPハイブリッドは、C末端GIPまたは新規GIP類似体断片を、グルコース降下活性（例えば、抗糖尿病薬、エキセンディン）または胃排出を阻害または低減する能力を有するN末端ポリペプチドまたはその断片と組み合わせて含む。かかる実施形態において、キメラポリペプチドは、C末端GIP、新規GIP類似体、またはそれらの断片を、N末端エキセンディン、GLP1、シムリン（プラムリンチド）、アミリン、CCK、ガストリン、PYY、セクレチン、GRP、ニューロメジン、ウロコルチン、カルシトニン、またはサケカルシトニン、ナトリウム利尿ペプチドまたはそれらの類似体、誘導体または断片と組み合わせて含むことができる。

【0021】

他の実施形態においてペプチドエンハンサーは、エキセンディン、ヒトGLP-I、またはカエルGLP-Iなどの、第2のホルモン由来のテールまたは末端伸長部であるか、もしくは経験的に決定される。一実施形態においてペプチドエンハンサーはGIP部分と非相同のC末端テールまたは末端伸長部である。本明細書に記載される他のGIPハイブリッドと同様、ペプチドエンハンサー含有ハイブリッドの一実施形態において、GIP部分は未変性GIP、その活性断片、もしくはその類似体または誘導体であり得る。別の態様においてハイブリッドのGIP部分は、1つまたは複数の亢進された特性、例えばタンパク質消化に対する抵抗性増加（ひいては長期間半減期）、腎クリアランスを低減する脂肪酸アシル誘導体化を提供する少なくとも1個の修飾、置換、欠失または付加を含んでなる。一実施形態においてテールはTrpケージモチーフ配列を含んでなる。別の実施形態においてGIP類似体ポリペプチド部分はDアミノ酸などの、非天然アミノ酸を含み、例えばDPP-IVによるタンパク質分解速度を低減するべく阻害する。

【0022】

本発明はまた、代謝性疾患および障害、特に、糖尿病および糖尿病関連病態などの、血漿グルコースレベル、インスリンレベル、および／またはインスリン分泌の制御により軽減され得るそれらの、処置および予防を提供する。かかる病態および障害としては、高血圧症、異常脂質血症、心血管疾患、摂食障害、インスリン抵抗性、肥満、および、1型、2型、および妊娠糖尿病を含む、任意の種類の真性糖尿病、糖尿病合併症（例えばニューロパシー（例えばエキセンディンファミリーホルモンモジュールを含むGIPハイブリッドで処置する）、神経因性疼痛（例えばアミリンファミリーホルモンモジュールを含んでなるGIPハイブリッドで処置する）、網膜症、腎症、膵β細胞量不足の病態（例えば、エキセンディン-4およびGLP-Iの膵島新生作用に基づく）が挙げられるが、これらに限定はされない。従って、かかる病態を処置または予防する方法が提供され、ここで該方法は、治療的または予防的に有効量のGIP、または本発明の新規GIP類似体を含む、その類似体または誘導体、またはペプチドエンハンサーを有するものを含む、本発明の

G I P ハイブリッドを、それらを必要とする対象に投与することを含んでなる。一実施形態において本発明のポリペプチドは単剤治療として提供され得る。別の実施形態においてグルコースレベル上昇に付随する糖尿病または病態を処置するため、G I P 化合物はグルコース降下薬（例えば、抗糖尿病薬）または胃排出を阻害または低減する薬剤または方法を伴う補助治療において投与され得る。かかる薬剤の例は本明細書に提示される。例えば、一実施形態において対象、例えば、1 型、2 型または妊娠真性糖尿病を有する者の血糖レベルを低減するための補助治療方法であって、対象に、治療的に有効量のエキセンディンまたはエキセンディンアゴニストがペプチドであるなどのエキセンディンアゴニストを、本発明の G I P または新規 G I P 類似体を伴う補助治療において、または有効量の G I P -エキセンディンハイブリッドを投与することを含んでなる方法が提供される。

10

【0023】

本発明の化合物はまた、単独もしくはグルコース降下薬（例えば、抗糖尿病薬）または胃排出を阻害または低減する薬剤または方法との組み合わせで、膵臓島または細胞におけるグルコース応答性を増強、誘発、亢進または回復するためにも有用であり得る。これらの作用はまた、上記および全体として参照により本明細書に援用される、米国特許出願公開第 2004/0228846 号明細書に記載されるものなどの代謝障害に付随する病態を処置または予防するためにも使用される。

【0024】

別の態様において肥満を処置または予防する方法が提供され、ここで該方法は、治療的または予防的に有効量の G I P、または本発明の新規 G I P 類似体を含む、その類似体または誘導体、またはペプチドエンハンサーを有するものを含む、本発明の G I P ハイブリッドを、それらを必要とする対象に投与することを含んでなる。一実施形態において、対象は肥満または過体重対象である。「肥満」は一般的にボディマス指標が 30 超として定義されるが、本開示の目的上、ボディマス指標が 30 未満の者を含め、体重を低減することを必要とする、または希望する任意の対象が、「肥満」の範囲に含まれる。インスリン抵抗性である、グルコース不耐性である、または真性糖尿病の任意の型（例えば、1 型、2 型または妊娠糖尿病）を有する対象が本方法から利益を得ることができる。本発明の化合物はまた、脳卒中、癌（例えば、子宮内膜癌、乳癌、前立腺癌、および結腸癌）、胆嚢疾患、睡眠時無呼吸、受胎能低減、および変形性関節症を含む、肥満に付随する他の病態の処置または予防においても有用であり得る（ライツニキ（L y z n i c k i）ら、Am . F a m . P h y s . 63:2185 頁、2001 年を参照）。病態がグルコース亢進または高血糖に付随する場合、方法は、治療的または予防的に有効量の G I P 化合物を、単独もしくはグルコース降下薬（例えば、抗糖尿病薬）または胃排出を阻害または低減する薬剤または方法と組み合わせて投与することを含んでなる。

20

30

【0025】

さらに別の態様において、G I P 化合物、特に本発明の G I P ハイブリッドが、食物摂取量を低減する、食欲を低減する、満腹感を誘発する、栄養利用性を低減する、カロリー効率を低減する、体重減少を引き起こす、体組成に影響を及ぼす、体エネルギー含量またはエネルギー消費を変える、および脂質プロファイルを改善する（L D L コレステロールおよびトリグリセリドレベルを低減する、および／または H D L コレステロールレベルを変化させることを含む）方法において使用されることができ、ここで該方法は対象に、本発明の、有効量の G I P 化合物、特に G I P ハイブリッド化合物を投与することを含んでなる。一実施形態において、本発明の方法はそれを必要とする対象において栄養利用性を低減することにより軽減され得る病態または障害を処置または予防するために使用され、前記対象に治療的または予防的に有効量の本発明の G I P 化合物を投与することを含んでなる。病態および障害としては、高血圧症、異常脂質血症、心血管疾患、摂食障害、インスリン抵抗性、肥満、および 1 型、2 型、および妊娠糖尿病を含む、任意の種類の真性糖尿病、糖尿病合併症（ニューロパシー（例えば、エキセンディン-4 の神経栄養作用に基づく）、神経因性疼痛（例えば、アミリン作用に基づく）、網膜症、腎症、膵β細胞量不足の病態（例えば、エキセンディン-4 および G L P -1 の膵島新生作用に基づく）が挙

40

50

げられるが、これらには限定はされない。病態がグルコース上昇または高血糖に付随する場合、本方法は、治療的または予防的に有効量のG I P化合物を、単独もしくはグルコース降下薬（例えば、抗糖尿病薬）または胃排出を阻害または低減する薬剤または方法と組み合わせ投与することを含んでなる。

【0026】

本発明の化合物は、それを必要とする対象における食物摂取量低減、体重減少、および／または肥満処置の結果としての高血圧症の寛解に加え、低血圧およびそれに付随する病態を処置または予防するために使用されてもよい。

【0027】

別の態様においてG I P類似体およびハイブリッドは骨吸収の低下または阻害および骨密度の維持または増加に有用である。然るべき第2のホルモンモジュールと併用される時、G I Pハイブリッドはそれらの病態を処置するため、ならびに血漿カルシウムの減少、および／または鎮痛効果の誘発に、特に骨減少症および骨粗鬆症などの骨障害を処置するため、および有痛性ニューロパシーの処置に有用である。一実施形態においてかかるハイブリッドはエキセンディン、G L P 1、アミリンおよび／またはs C T部分を含む。例えば、本発明のG I P-s C TまたはG I P-アミリン／s C Tハイブリッド化合物は、骨喪失および骨吸収の低下または軟骨代謝回転の低減（軟骨保護）などの、サケカルシトニンまたはアミリン／s C T／アミリンキメラの選択可能な特性、および、血漿グルコース降下（本明細書に記載されるとおりの同化態様に随伴する）および／または骨吸収の阻害および骨密度の維持または増加などの、G I Pの特性を有することができる。かかる選択可能な特性を備えるG I Pハイブリッドは、骨粗鬆症または軟骨高代謝回転の病態の処置を、特に、糖尿病または救命救急管理中の対象など、血糖コントロールからも利益を得ることのできる人々において、亢進できる。

【0028】

G I P化合物、特にG I P類似体は、場合により非相同性C末端テールなどのペプチドエンハンサーをさらに含んでなる長期間半減期G I Pハイブリッド（例えばD P P-I V切断抵抗性（D-A l a 2、N-アセチルまたはN-ピログルタミル類似体など）、および有益な心血管作用を提供することで知られる他のホルモンモジュールを含んでなるG I Pハイブリッドであり、心血管疾患および関連病態を処置するために有用である。本明細書において実証されるとおり、G I P化合物は心収縮力（d p / d t）を増加させ、血圧を低下させ（例えば急性血管拡張により）、収縮期圧を低下させ、拡張期圧を低下させるとともに、心細胞に有益な直接作用を提供できる。G I P化合物はまた、代謝作用、例えばグルコース降下、インスリン分泌、β細胞増殖を介して、心機能も改善する。しかしながら、心血管系にも直接作用を提供することにより、G I P化合物は驚くべきことにさらに有益である。

【0029】

本発明の化合物はまた、過剰な胃分泌、過剰な腸電解質および水分分泌ならびに吸収低下に付随するいくつかの胃腸障害、例えば、感染性（例えば、ウイルス性または細菌性）下痢、炎症性下痢、短腸症候群、または外科手技、例えば、回腸造瘻術後に典型的に生じる下痢の処置または予防においても有用であり得る（例えば、「H a r r i s o n ' s p r i n c i p l e s o f I n t e r n a l M e d i c i n e」、M c G r a w H i l l I n c.、ニューヨーク、第12版を参照）。感染性下痢の例としては、限定なしに、急性ウイルス性下痢、急性細菌性下痢（例えば、サルモネラ、カンピロバクター、およびクロストリジウム）または原虫感染による下痢、または旅行者下痢症（例えば、ノーウォークウイルスまたはロタウイルス）が挙げられる。炎症性下痢の例としては、限定なしに、吸収不良症候群、熱帯性スプルー、慢性膵炎、クローン病、下痢、および過敏性腸症候群が挙げられる。G I Pおよび本発明のG I P化合物は、例えば、手術後の、またはコレラによる胃腸障害に関わる救急の、または生命を脅かす状態を処置または予防するために使用され得る。さらには、化合物は、特に悪液質の間の、後天性免疫不全症候群（A I D S）の患者において腸機能障害を処置するために使用され得る。化合物はまた、小

10

20

30

40

50

腸液および電解質分泌の阻害、および栄養輸送増大、ならびに胃腸管中の細胞増殖増加、例えば、脂肪組織における、脂肪分解の調節および哺乳動物中の血流の調節にも有用であり得る。本発明のG I P化合物はまた、その胃腸保護作用（例えば、胃分泌の阻害）による上記の病態の処置または予防にも有用であり得る。従って、本発明のG I P化合物は胃腸または粘膜損傷を処置するために使用されてもよい。例示的な損傷のタイプとしては、炎症性腸疾患、腸萎縮症、腸粘膜または腸粘膜機能の喪失により特徴づけられる病態、および、細胞毒性薬、放射線、毒性、感染および／または傷害への曝露によりもたらされ得るものを含む、胃腸管の他の病態が挙げられるが、これらには限定はされない。その上、本発明のこれらの化合物は、鎮痛薬、抗炎症薬、成長ホルモン、ヘパリン、または炎症性腸疾患または上記に列挙される他の病態を処置するために使用され得る任意の他の治療と併用されてもよい。

10

【0030】

別の実施形態においてG I P化合物は、胃炎、膵炎、バレット食道、胃食道逆流症（GERD）およびそれらに付随する病態の処置または予防に有用であり得る。かかる病態としては、胸やけ、胃／腸内容物の口または肺への逆流に伴う胸やけ、嚥下困難、咳嗽、間欠性喘鳴および声帯炎症（GERDに付随する病態）、食道糜爛、食道潰瘍、食道狭窄、バレット異形成（正常食道上皮の異常上皮との置換）、および肺吸引が挙げられ得るが、これらには限定はされない。G I P化合物は、胃酸の阻害、胆汁酸の阻害、および膵酵素の阻害などの、抗分泌特性を有することができる。その上、G I P化合物はまた、胃保護効果も有することができる。従って、本発明のG I P化合物は、胃炎、膵炎、バレット食

20

【0031】

本発明はまた、治療的または予防的に有効量の少なくとも1個の新規G I P類似体または本発明のG I Pハイブリッドポリペプチド、またはそれらの薬学的に許容される塩を、薬学的に許容される希釈剤、保存剤、可溶化剤、乳化剤、アジュバントおよび／またはG I P化合物の送達において有用な担体と共に含んでなる医薬組成物にも関する。

【0032】

これらおよび本発明の他の態様は以下の実施形態および詳細な説明への参照を伴いさらに明確に理解されるであろう。

30

【図面の簡単な説明】

【0033】

【図1A】エキセンディン-4 T r p ケージの図を提示する。図1Aは30%含水トリフルオロエタノール中のエキセンディン-4のNMR由来アンサンブル構造を示す。T r p ケージがエキセンディンの中央領域に向かって折り畳まれているのが確認され得る。

【図1B】エキセンディン-4 T r p ケージの図を提示する。図1Bはエキセンディン-4の溶液状態NMR構造アンサンブルからの代表的構造の「T r p ケージ」モチーフ（残基21-38）のC P K図を示す。

【図2】参照配列および本発明の新規G I P類似体配列の配列および受容体結合およびグルコース降下（非糖尿病N I H／スイスマウスにおける経口グルコース負荷試験（OGT

40

T））活性を提示する。

【図3A】OGTT後のグルコース移動範囲の抑制、およびN I H／スイスマウスにおけるG I Pおよび化合物Gの基礎グルコース降下活性を提示する。図3Aにおいて、棒は平均値±s dを表し、n = 6 ~ 10である。ペプチドがt = -5に一晩絶食させたMH／スイスマウスに腹腔内注入された。経管栄養（1.5 g / k g）がt = 0に与えられた。試料がt = 30分に採取された。血糖がOne Touch（登録商標）Ultra（登録商標）（ライフスキャン社（L i f e S c a n, I n c. ）、ジョンソン・エンド・ジョンソン社（J o h n s o n & J o h n s o n C o m p a n y ）、ミルピタス、カリフォルニア州）で計測された。* p < 0.05、対媒体対照；ANOVA、ダネット検定。化合物番号Gは（D - A l a 2）G I P（1 - 30）- P S S G A P P P S（配列番号1

50

）アミド形態：配列Y（D-A l 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 P S S G A P P P S - N H 2（配列番号186）である。化合物GはD P P - I V耐性を提供するN末端修飾およびC末端T r p ケージシールドの双方を有する。

【図3B】O G T T後のグルコース移動範囲の抑制、およびN I H／スイスマウスにおけるG I Pおよび化合物Gの基礎グルコース降下活性を提示する。図3Bにおいて、点は平均値±s e mを表し、n=8～15である。ペプチドがベースライン試料の直後t=0に2時間絶食させたN I H／スイスマウスに腹腔内注入された。試料がt=60、120、および180分に採取された。血糖がO n e T o u c h（登録商標）U l t r a（登録商標）（ライフスキャン社（L i f e S c a n, I n c.）、ジョンソン・エンド・ジョンソン社（J o h n s o n & J o h n s o n C o m p a n y）、ミルピタス、カリフォルニア州）で計測された。*p<0.05、対媒体対照；ANOVA、ダネット検定。

10

化合物番号Gは（D-A l a 2）G I P（1-30）-P S S G A P P P S（配列番号1）アミド形態：配列Y（D-A l 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 P S S G A P P P S - N H 2（配列番号186）である。化合物GはD P P - I V耐性を提供するN末端修飾およびC末端T r p ケージシールドの双方を有する。

【図4】糖尿病d b／d bマウスにおける化合物Gのグルコース降下作用の完全長G I Pおよびエキセンディン-4との比較を提示する。点は平均値±s e mを表す。n=6～10。ペプチドがベースライン試料の直後t=0に2時間絶食させたd b／d bマウスに腹腔内注入された。試料が60、120、および180分に採取された。血糖がO n e T o u c h（登録商標）U l t r a（登録商標）（ライフスキャン社（L i f e S c a n, I n c.）、ジョンソン・エンド・ジョンソン社（J o h n s o n & J o h n s o n C o m p a n y）、ミルピタス、カリフォルニア州）で計測された。*p<0.05、対媒体対照；ANOVA、ダネット検定。

20

【図5A】G I Pおよびアミリン／カルシトニン様類似体ペプチドを含んでなるG I Pハイブリッドの例を提示する。化合物はG I P活性（例えば、グルコース降下）および胃排出の低減の双方を有するであろう。

【図5B】G I Pおよびアミリン／カルシトニン様類似体ペプチドを含んでなるG I Pハイブリッドの例を提示する。化合物はG I P活性（例えば、グルコース降下）および胃排出の低減の双方を有するであろう。

【図5C】G I Pおよびアミリン／カルシトニン様類似体ペプチドを含んでなるG I Pハイブリッドの例を提示する。化合物はG I P活性（例えば、グルコース降下）および胃排出の低減の双方を有するであろう。

30

【図5D】G I Pおよびアミリン／カルシトニン様類似体ペプチドを含んでなるG I Pハイブリッドの例を提示する。化合物はG I P活性（例えば、グルコース降下）および胃排出の低減の双方を有するであろう。

【図6】本明細書中で言及される様々な化学基の構造を示す。

【図7】本明細書中で言及される様々な化学的F m o c誘導体の構造を示す。

【図8A】新規G I P類似体のグルコース降下効果を示す。図は、本明細書の類似体中の位置2位におけるD-アラニン置換がグルコース降下能を改善することを実証する。点は平均値±s e mを表す。ペプチドがベースライン試料の直後t=0に2時間絶食させたN I H／スイスマウスに腹腔内注入された。試料がt=60、120、180および240分に採取された。血糖がO n e T o u c h（登録商標）U l t r a（登録商標）（ライフスキャン社（L i f e S c a n, I n c.）、ジョンソン・エンド・ジョンソン社（J o h n s o n & J o h n s o n C o m p a n y）、ミルピタス、カリフォルニア州）で計測された。*p<0.05、対媒体対照；ANOVA、ダネット検定。

40

【図8B】新規G I P類似体のグルコース降下効果を示す。図は、本明細書の類似体中の位置2位におけるD-アラニン置換がグルコース降下能を改善することを実証する。点は平均値±s e mを表す。ペプチドがベースライン試料の直後t=0に2時間絶食させたN I H／スイスマウスに腹腔内注入された。試料がt=60、120、180および240分に採取された。血糖がO n e T o u c h（登録商標）U l t r a（登録商標）（ライフ

50

スキャン社 (LifeScan, Inc.)、ジョンソン・エンド・ジョンソン社 (Johnson & Johnson Company)、ミルピタス、カリフォルニア州) で計測された。* $p < 0.05$ 、対媒体対照; ANOVA、ダネット検定。

【図9】新規GIP類似体のグルコース降下効果、特にTrpケージの効果を示す。点は平均値±semを表す。ペプチドがベースライン試料の直後 $t = 0$ に2時間絶食させたNIH/スィスマウスに腹腔内注入された。試料が $t = 60$ 、 120 、 180 および 240 分に採取された。血糖がOneTouch (登録商標) Ultra (登録商標) (ライフスキャン社 (LifeScan, Inc.)、ジョンソン・エンド・ジョンソン社 (Johnson & Johnson Company)、ミルピタス、カリフォルニア州) で計測された。* $p < 0.05$ 、対媒体対照; ANOVA、ダネット検定。

10

【図10A】様々な類似体のグルコース降下効果を示す。本例において、Ac修飾およびPro3置換はグルコース降下能を有意には亢進しなかった。点は平均値±semを表す。ペプチドがベースライン試料の直後 $t = 0$ に2時間絶食させたNIH/スィスマウスに腹腔内注入された。試料が $t = 60$ 、 120 、 180 および 240 分に採取された。血糖がOneTouch (登録商標) Ultra (登録商標) (ライフスキャン社 (LifeScan, Inc.)、ジョンソン・エンド・ジョンソン社 (Johnson & Johnson Company)、ミルピタス、カリフォルニア州) で計測された。* $p < 0.05$ 、対媒体対照; ANOVA、ダネット検定。

【図10B】様々な類似体のグルコース降下効果を示す。本例において、Ac修飾およびPro3置換はグルコース降下能を有意には亢進しなかった。点は平均値±semを表す。ペプチドがベースライン試料の直後 $t = 0$ に2時間絶食させたNIH/スィスマウスに腹腔内注入された。試料が $t = 60$ 、 120 、 180 および 240 分に採取された。血糖がOneTouch (登録商標) Ultra (登録商標) (ライフスキャン社 (LifeScan, Inc.)、ジョンソン・エンド・ジョンソン社 (Johnson & Johnson Company)、ミルピタス、カリフォルニア州) で計測された。* $p < 0.05$ 、対媒体対照; ANOVA、ダネット検定。

20

【図11】例示的GIPハイブリッドである0601GIP3794の未変性GIPに対するより優れたプロテアーゼ耐性を実証する。

【図12. 15-12. 65】さらに例示的な類似体および本発明の参照ペプチドを示す。示される様々な修飾および変異体は本発明において使用されるべきものであるとともに、本明細書において考察されたとおり併用されてもよいことが意図される。例えば、用語のエキセンディンテールまたはエキセンディンtrpケージモチーフは描かれる任意のエキセンディンテール変異体を含み、これはシールド配列 (ペプチドエンハンサー) として有用である。さらに興味深いのは図に示されたとおりのカエルGLP1C末端伸長部であり、これはエキセンディンテールの代わりに使用され得るシールド配列のさらに別の例である。

30

【図13A】GIPハイブリッドによる食物摂取阻害および血糖降下を実証する。

【図13B】GIPハイブリッドによる食物摂取阻害および血糖降下を実証する。

【図14】食物摂取量アッセイにおけるGIPハイブリッドの効果。

【図15】食物摂取量アッセイにおけるGIPハイブリッドの効果。

40

【図16A】食物摂取量アッセイにおける化合物10の効果を実証する。

【図16B】食物摂取量アッセイにおけるsCTの効果を実証する。

【図17】GIPハイブリッドの血糖降下に対する効果を実証する。

【図18A】テスト化合物である、ヒトGIP (1-42) 遊離酸型の変化用量に応じた受容体活性化による全心筋細胞中でのcAMP産生を示す。

【図18B】テスト化合物である、GIPハイブリッド化合物Gの変化用量に応じた受容体活性化による全心筋細胞中でのcAMP産生を示す。

【図19A】覚醒ラットにおいて遠隔測定により測定されるときGIP化合物の投与に対する平均動脈圧の反応を示す。平均動脈圧は薬物投与前30分間にわたり計測される投与前値の%として表示される。

50

【図19B】覚醒ラットにおいて遠隔測定により測定されるときGIP化合物の投与に対する心拍数の反応を示す。

【図19C】覚醒ラットにおいて遠隔測定により測定されるときGIP化合物の投与に対する血圧における変化率(dp/dt)の反応を示す。図19CはGIP化合物に対する変力反応を反映する。血圧の変化率(dp/dt)は心収縮力の指標となる。

【図19D】覚醒ラットにおいて遠隔測定により測定されるときGIP化合物の投与に対する収縮期圧(図19D)の反応を示す。

【図19E】覚醒ラットにおいて遠隔測定により測定されるときGIP化合物の投与に対する拡張期圧(図19E)の反応を示す。

【図20A】エキセンディン-4と対照させたGIP(1-42)およびGIP-DPP-IV耐性類似体/エキセンディン-テールハイブリッドの食物摂取量に対する急性効果の不足を示す。膵ホルモンアミリンは期待どおり有意な効果を生じた。

【図20B】エキセンディン-4と対照させたGIP(1-42)およびGIP-DPP-IV耐性類似体/エキセンディン-テールハイブリッドの食物摂取量に対する急性効果の不足を示す。膵ホルモンアミリンは期待どおり有意な効果を生じた。

【図20C】エキセンディン-4と対照させたGIP(1-42)およびGIP-DPP-IV耐性類似体/エキセンディン-テールハイブリッドの食物摂取量に対する急性効果の欠如を示す。膵ホルモンアミリンは期待どおり有意な効果を生じた。

【図21】エキセンディン-4の効果と対照させ、食餌誘発性肥満マウスにおける体重減少に対する効果の欠如を示す。

【図22】哺乳動物および非哺乳動物GIPのアラインメントを提供する。位置Y1、E3、D9、S11、D15、F22、V23、L26、L27およびK32は全種にわたり保存されている。

【図23A】胃排出の緩徐化および細胞内カルシウムレベルの低減におけるGIP-アミリン/sCT/アミリンハイブリッドの有益な活性を示す。

【図23B】胃排出の緩徐化および細胞内カルシウムレベルの低減におけるGIP-アミリン/sCT/アミリンハイブリッドの有益な活性を示す。

【図24】本発明に有用なさらなるリンカーを示す。

【図25】本発明のGIP-アミリンファミリーハイブリッドによる体重の低下を示す。

【図26】本発明のGIP-アミリンファミリーハイブリッドの除脂肪保存の脂肪低下活性による体組成の改善を示す。

【図27】GIP類似体の例示的pH-対-溶解プロフィールおよびpH-対-溶解プロフィールを示す。

【発明を実施するための形態】

【0034】

胃抑制ポリペプチド(GIP)およびグルカゴン様ペプチド1(GLP-I)はインスリン分泌のそのグルコース依存性刺激を通じて強力な糖調節作用を発揮する消化管ペプチドホルモンである。結果的に、これらのインクレチンホルモンは低血糖症に対するリスクの低減された有望な抗糖尿病薬として大きな関心を集めている。GLP-I、GLP-I類似体および模倣物は2型糖尿病患者におけるグルコースレベルの調節において効果的であることが示されているが、GIPのインスリン分泌刺激効果は報告によれば、正常人と比較して、糖尿病対象において有意に低減する(16~18)。同一糖尿病対象におけるGIPではなくGLP-Iのインスリン分泌刺激作用の保持は、GIPシグナル伝達が2型糖尿病において妨害されること示唆する。膵β細胞におけるGIP受容体発現の低減は糖尿病対象における全体的なインクレチン効果の低減に寄与することが提言されている(19)。2型糖尿病対象におけるGIPに対するインスリン分泌刺激反応の低減にもかかわらず、GIPまたは類似体の薬理学的用量の増量投与は治療的有用性を有し得る可能性がある。注目すべきは、GIPにはGLP-Iペプチドの治療ウィンドウを制限してきたGLP-Iの胃腸効果が欠如しており(20)、それゆえより高用量の投与レジメンの可能性を容認する(21)。

10

20

30

40

50

【0035】

これらのインクレチンホルモンの治療開発における主要な障害の1つは生体内酵素分解によるそれらの短い作用持続時間である。酵素のジペプチジルペプチダーゼI V (DPP-I V) は生体内でのペプチドのN末端切断における中心的な役割を果たすとともに、最近では、中性エンドペプチダーゼ24. 11 (NEP) もまたその分解に関与しているとされている(22~26)。幾つかの研究が齧歯類糖尿病モデルにおけるDPP-I V耐性GIP類似体の生体内でのより大きな有効性を報告している(27~28)。

【0036】

本明細書において提供されるのは新規GIP類似体およびGIP含有ハイブリッドポリペプチド、またはそれらの誘導体であり、これらは亢進されたDPP-I V耐性、二重ホルモン活性、および改善された血漿半減期を含む、亢進された、または新規の特性を有する。糖尿病および糖尿病関連病態、および、高血圧症、異常脂質血症、心血管疾患、摂食障害、インスリン抵抗性、肥満、および1型、2型、および妊娠糖尿病を含む、任意の種類の真性糖尿病を含むが、これらには限定はされない、病態および障害などの、血漿グルコースレベル、インスリンレベル、および/またはインスリン分泌のコントロールにより軽減され得るものを含む代謝性疾患および障害を処置または予防する方法もまた提供される。本方法は、治療的または予防的に有効量のGIPまたはGIP類似体、それらの断片または誘導体もしくは本明細書に記載されるとおりの新規GIP類似体またはGIPハイブリッドもしくはそれらの誘導体を、単独(単剤治療)もしくは別の薬剤または治療、例えばグルコース降下薬(例えば、抗糖尿病薬)または胃排出を阻害または低減する薬剤または方法(かかる薬剤の例は本明細書に提示される)との組み合わせ(補助治療)で、それらを必要とする対象に投与することを含んでなる。

【0037】

新規GIP類似体および誘導体に加え、本発明は、糖尿病および糖尿病関連病態などの、血漿グルコースレベル、インスリンレベル、および/またはインスリン分泌のコントロールにより軽減され得る代謝性疾患および障害の処置および予防用薬剤として有用な、新規の、GIPを含む選択可能なハイブリッドポリペプチドに関する。かかる病態および障害としては、高血圧症、異常脂質血症、心血管疾患、摂食障害、インスリン抵抗性、肥満、および1型、2型、および妊娠糖尿病を含む、任意の種類の真性糖尿病が挙げられるが、これらには限定はされない。

【0038】

一態様において、本発明は、「生理活性」、例えば、治療有効性、機能の範囲、作用の持続時間、物理化学的特性、および/または他の薬物動態学的特性に基づき選択可能であり得る、生理学的、代謝的、および/または薬物動態学的に活性のペプチドモジュールのモジュール組立てに関する。

【0039】

理論により限定されることを意図せず、本発明は少なくともある部分「ツールボックス」アプローチに関し、ここで生理活性ペプチドホルモンモジュールは二元、三元またはより高い次元の組み合わせで連結され、選択可能な特性を備える新規の、効果的な治療薬を創製する。「生理活性ペプチドホルモンモジュール」はペプチドホルモン、ホルモン活性を備えるペプチド断片、または化学的、代謝的、および/または薬物動態学的安定性を供与するペプチドホルモンの他の構造モチーフであってもよい。ペプチドホルモンは、未変性ペプチドホルモン、ならびに、当該技術分野において知られた、および本明細書に記載されるとおりの、ペプチドホルモン類似体および誘導体を含み得る。

【0040】

本発明の一態様において、2個以上のペプチドホルモンの特定の物理化学的性質の単一モダリティへの組み合わせが、機能不全代謝回路中の幾つかの点における介入を促進できることが所見されている。かかるごとく、本発明の一態様において、選択可能な生理活性を単一ポリペプチド薬剤に組み込む、合理的に設計されたハイブリッドポリペプチドが提供される。一実施形態において、本発明の選択可能なハイブリッドポリペプチドは生理活

性モジュールを共有結合的に付着する化学的に安定なリンカーの使用に関し得る。別の実施形態において、本発明の選択可能なハイブリッドポリペプチドは切断可能なリンカーの使用に関し得、これはそれ自体が生理活性モジュールの一部であってもよく、またはその一部を形成してもよい。

【0041】

さらに、理論により限定されることを意図せず、本発明のハイブリッドポリペプチドの設計は一般的に、(1) 所望の有効性および治療使用のための生理活性ペプチドホルモンモジュールの同定、選択および対形成、および(2) 生理活性モジュール（例えば未変性ペプチドホルモン、ホルモン活性を備えるペプチドホルモン類似体または誘導体、ホルモン活性を備えるペプチドホルモン断片、安定化モチーフ等）の、直接または成分モジュールの生理活性の損失のないリンカー経由のいずれかでの共有結合に関し得る。特定の実施形態において、モジュール選択基準としては、(a) 相加または相乗効果などの、所望の治療または予防適応症用の所望の生体内有効性、(b) 複数の治療または予防適応症用の連結モジュールの任意選択的相乗作用または二重作用、および／または(c) 所望の化学的安定性、立体構造的安定性、代謝的安定性、生体利用能、器官／組織ターゲティング、受容体相互作用、プロテアーゼ阻害、血漿タンパク質結合、および／または他の薬物動態学的性質が挙げられ得るが、これらには限定はされない。

【0042】

GIP、GIP類似体および新規GIP類似体（表頭は本明細書中では構成化目的のみに使用されるとともに、いずれの方法においても記載される主題を限定すると解釈されるべきではない）。参照配列としては、ヒトGIP、切断GIP、ヒトGLP-I、エキセンディン-4、例示的Trpケージ、および例示的「シールド」配列（例えば短鎖および長鎖「エキセンディンテール」）が挙げられる。

【0043】

【表1】

配列番号	説明	配列
2	GIP(1-42) 酸	YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKGGKNDWKHNITQ-OH
293	GIP(1-30)	YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQK-NH2
4	GLP-1	HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGR-NH2
5	エキセンディン-4	HGEGTFTSDLKQMEEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS-NH2
6	Ex-4 テール/長鎖	KNGGPSSGAPPPS
1	Ex-4 テール/短鎖	PSSGAPPPS
7	Trp-ケージ	FIEWLKNGGPSSGAPPPS
421	カエル GLP-1 “テール”	PKKIRYS

【0044】

本明細書に開示される治療および本明細書に開示される新規GIPハイブリッドにおいて有用なものは、未変性GIPペプチドホルモン、ならびにその機能性ペプチド類似体および誘導体である。特定の例示的未変性ペプチド、ペプチド類似体および誘導体が本明細書に記載されるが、当該技術分野において知られたホルモン活性を呈する任意の既知のGIPペプチドが、本明細書中の新規GIP類似体またはハイブリッドの成分として、または本明細書に開示される新規の補助治療においてのいずれかで使用されてもよいことは認識されるべきである。一実施形態において、GIPペプチド類似体および誘導体は未変性GIPペプチドの少なくとも1種のホルモン活性を有する。特定の実施形態において、GIPペプチド類似体は未変性GIPペプチドが特異的結合能を有する受容体のアゴニストである。例示的GIPペプチド類似体および誘導体としては、参照により本明細書によって援用される、本明細書の参考文献中に記載されるものが挙げられる。本出願はGIPポリペプチド化合物を本明細書に記載される方法および治療における使用のためのGIP類

似体、新規G I P類似体、および新規G I Pハイブリッドとして記載するが、任意の好適なG I PアゴニストがG I P化合物の代わりに投与されてもよく、かかるアゴニストとしては、アゴニスト抗体ならびに抗体断片および誘導体、および小分子G I P受容体アゴニストが挙げられることがさらに意図される。従って、G I P化合物またはポリペプチドが特別な治療方法における使用に適応される時、別の実施形態においてG I Pアゴニスト、特にアゴニスト抗体またはその断片もしくは誘導体を使用されることが意図される。

【0045】

血清において、G I PはジペプチジルペプチダーゼI V (D P P-I V) により分解される。結果としてもたらされる短い生物学的半減期(生体内で約2分)はG I Pの治療使用を制限する。

10

【0046】

以下の参考文献は、本発明の新規G I P類似体およびG I Pハイブリッド用成分として提供するため、および様々な標的器官に対するそれら機能に基づく本発明の新規治療における使用を見出すために有用である様々なG I P類似体に関する。

【0047】

独国特許出願第19921537号明細書はインスリン産生β細胞の生存をその増殖の刺激およびそのプログラム細胞死の予防により延長する方法を開示する。具体的な目標は内在性インスリン含有量および血糖レベル上昇に対するインスリン反応を増加させることである。該発明の重要な要素は、インスリン産生β細胞中での、G L P-I、G I P、エキセンディン-4またはG L P-I受容体アゴニストまたはG I P受容体アゴニストなどのエフェクターの投与に応答してのプロテインキナーゼB/A k tの活性化である。

20

【0048】

欧州特許第0479210号明細書は、式G I P (1-13)-X-G I P (15-30)-Y (ここでXはM e t 以外のアミノ酸残基、およびYは、ホモセリン(ホモセリン-ラク톤を含め) (「H s e」と称される)、ホモセリンアミド(H s e-NH2)、H-G l y-L y s-L y s-A s n-A s p-T r p-L y s-H i s-A s n-I l e-T h r-G l n-H s e (配列番号8) またはH-G l y-L y s-L y s-A s n-A s p-T r p-L y s-H i s-A s n-I l e-T h r-G l n-H s e-NH2 (配列番号9) より選択される) のG I P類似体を開示する。

【0049】

2003年12月18日に公表された、ヒンケ(H i n k e)らによる米国特許出願公開第2003/0232761号明細書はG I PのC末端切断断片およびN末端修飾類似体ならびに低減されたペプチド結合またはD P P-I V耐性および長期間半減期を提供するジペプチジルペプチダーゼI V (D P P-I V) 特異的切断部位に近いアミノ酸の変換を伴う様々なG I P類似体を報告する。G I Pの有望な受容体結合部位間に異なるリンカーを備える類似体もまた報告されている。

30

【0050】

国際公開第98/24464号パンフレットは、本質的にG I Pの配列の位置7-30位に対応する24アミノ酸ポリペプチドからなるグルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド(G I P)のアнтаゴニスト、非インスリン依存性真性糖尿病の処置方法および非インスリン依存性真性糖尿病患者におけるグルコース耐性の改善方法を開示する。

40

【0051】

国際公開第00/58360号パンフレットおよび欧州特許第1171465号明細書は、インスリンの放出を刺激するペプチドを開示する。該開示はG I PをN末端修飾する方法および糖尿病の処置用ペプチド類似体の使用を提供する。該発明中に開示される特異的ペプチド類似体は、G I P (1-42) のN末端側終端由来の少なくとも15アミノ酸残基を含んでなる。別の実施形態において、T y r 1-グルシトールG I P (1-42) が開示される。

【0052】

国際公開第00/20592号パンフレットはG I Pもしくは骨密度または骨形成の維

50

持または増加用G I P類似体としてのG I Pの抗イディオタイプ抗体またはその断片を開示する。

【0053】

キューナーバッハ（Kuhn-Wache）ら（2000年）は増加したジペプチジルペプチダーゼI V耐性を備えるG I Pの類似体を開示する（キューナーバッハ（Kuhn-Wache）ら、「Langner & Ansorge, Cellular peptidases in Immune Functions and Diseases 2」、Kluwer Academic/Plenum Publishers、187-195頁）。

【0054】

オハルト（O'Harte）らおよびゴルト（Gault）らはG I P（1-30）類似体-Tyr1-グルシトール-G I Pおよび（Pro3）G I P表示DPP-I V耐性および亢進された生理活性を報告した。（オハルト（O'Harte）ら、「NH2-terminally modified gastric inhibitory polypeptide exhibits amino-peptidase resistance and enhanced antihyperglycemic activity、Diabetes 48、758-765頁（1999年）；およびゴルト（Gault）ら「Characterization of the cellular and metabolic effects of a novel enzyme-resistant antagonist of Glucose-dependent insulinotropic polypeptide」、Biochemical and Biophysical Research Communications 290、1420-1426頁（2002年）を参照）。

【0055】

当該技術分野において知られた特異的活性G I PおよびG I P類似体は次を含む：

【0056】

【表2】

配列番号	説明	配列
2	hGIP(1-42)	YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKGKKNDWK HNITQ
3	hGIP(1-30)	YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQK
10	マウス	YAEGTFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQRGKKSDWK HNITQ
11	ラット	YAEGTFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQKGKKNDWK HNLTQ
12	ブタ	YAEGTFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQKGKKSDWK HNITQ
13	ウシ	YAEGTFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQKGKKSDWIH NITQ
14	GIP(1-14)	YAEGTFISDYSIAM
15	GIP(19-30)	QQDFVNWLLAQK
16	GIP(3-42) アンタゴニスト	EGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKGKKNDWKHN ITQ

【0057】

特に興味深いのはジペプチジルペプチダーゼI V（DPP-I V）特異的切断部位において、またはその近くで修飾される類似体であり、これはDPP-I V耐性を改善するとともに結果として半減期を延長する。アミノ酸変換としてはG I Pの最初の3または4残

基の修飾および／または残基 2 と 3 との間の結合が挙げられ、これは DPP-IV により切断される。修飾および置換としては、N 末端修飾、L-アミノ酸、D-アミノ酸、タンパク質新生および非タンパク質新生アミノ酸が挙げられる。タンパク質新生アミノ酸は天然タンパク質由来 α-アミノ酸として定義される。非タンパク質新生アミノ酸は、一般の天然タンパク質の構成要素ではない、他の全てのアミノ酸として定義される。

【0058】

さらに興味深いのは本明細書に記載されるとおりの 1 つまたは複数の修飾を有するとともに、未変性 GIP (1-30)、未変性 GIP (1-26)、未変性 GIP (1-H)、未変性 GIP (1-39)、未変性 GIP (19-30)、未変性 GIP (19-26)、未変性 GIP (19-39)、未変性 GIP (19-42) または未変性 GIP (1-42) に対し GIP 部分の全長にわたり、少なくとも 50%、少なくとも 60%、少なくとも 65%、少なくとも 70%、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95% または少なくとも 98% の配列同一性を呈する新規 GIP 類似体である。

【0059】

特に興味深いのは、GIP の N 末端側終端、例えば、少なくとも 1 個のアミノ酸置換または修飾を位置 1-3 位で有するとともに生物学的に活性である、GIP (1-42) 由来の少なくとも 11、12、13、14 または 15 アミノ酸残基を含んでなる GIP 化合物である。これは、いずれも分子中に存在するか、もしくは導入される、少なくとも 1 個のリジン残基の ε-アミノ基での脂肪酸付加による修飾を含む。特定の修飾としては、GIP の Tyr1-グルシトール、例えば Tyr1-グルシトール GIP (1-42) または Tyr1-グルシトール GIP (1-30) が挙げられる。目的の GIP 類似体としては、位置 1、2 および／または 3 位における D-アミノ酸置換および／または N 末端糖化、アルキル化、アセチル化またはアシル化、または本明細書に記載される他の N 末端修飾からなる群より選択される置換または修飾を含んでなるものが挙げられる。さらに興味深いのは、位置 2 または 3 位におけるアミノ酸がリジン、セリン、4-アミノ酪酸アミノ酸、Aib、D-アラニン、サルコシンまたはプロリンにより置換される類似体である。位置 1、2、または 3 位における、およびより詳細には GIP の位置 2 位におけるさらなる例示的置換は、dAla、Val、dノルVal、dSer、Abu、dAbu、ホモSer、d-ホモSer、dPro、シクロプロピルAla、d-シクロプロピルAla、シクロヘキシルAla、d-シクロヘキシルAla、A(NMe)、Aib、およびシクロプロップGly である。

【0060】

一実施態様において、GIP 類似体またはハイブリッドは、受容体結合および活性化を保持しつつ、DPP-IV 切断を低下させるために位置 2 のセリンを有する。かくして、本明細書において特に考えられるのは、本明細書に開示された GIP 類似体およびハイブリッドの各々の Ser2 類似体である。一例として、位置 2 の dAla に代えてセリン置換を有する 0601GIP3794 の類似体が特に考えられる。

【0061】

さらに例示的な GIP 類似体化合物は N 末端において修飾を有し、その GIP 受容体結合を保持し、ここで N 末端修飾としては、H、イソカプ、イソBuOCO、オクチルグリシン、Y(NMe) およびサクシノイルが挙げられる。さらに例示的な GIP 化合物としては、その GIP 受容体結合および受容体活性化活性を保持しながら、脂肪酸修飾または本明細書に記載されるとおりの修飾の組み合わせを備えるものが挙げられる。例えば、N 末端修飾は位置 1、2 または 3 位における置換または修飾（これは本明細書に記載されるとおりの DPP-IV に対する耐性を供与する）または脂肪酸アシル誘導体修飾（これは腎クリアランスを低減できる）と併用され得る。別の例において、位置 1、2 または 3 位における置換または修飾は脂肪酸アシル誘導体と併用される。例えば N 末端オクチルグリシンは位置 1、2 位で D-アミノ酸と、または、特に位置 2 位で D-Ala と併用される。一実施形態において脂肪酸アシル置換は位置 16 位のリジンまたは位置 14 位のメチオ

ニンに対するオクチルグリシンである。他の実施形態において位置 14 位のメチオニンは欠失され、およびこれは、例えば、位置 16 または 30 位のリジンに対するオクチルグリシンとさらに併用され得る。別の置換は、例えばオクチル基またはパルミトイル基を伴う、位置 16 または 30 位のリジンのアシル化である。他の実施形態としては、オクチルグリシンが位置 16 または 30 位のリジンに対して、または位置 14 位のメチオニンに対して置換される脂肪酸アシル置換が挙げられる。酸化を除去または低減するため、位置 14 位のメチオニンが欠失、または例えばロイシンもしくは他の低分子量疎水性アミノ酸で、置換され、および／または位置 25 位のトリプトファンが欠失、または例えばフェニルアラニンで、置換される。

【0062】

10

一実施形態としては、G I P のアミノ酸 1-30 において少なくとも 1 または 2 個のアミノ酸欠失を有する類似体、アミノ酸 4-30 において 1 または 2 個の欠失を有する類似体、およびアミノ酸 4-15 において 1 個または複数の欠失を有する類似体、および G I P のアミノ酸 1-30、4-30 または 4-15 において 1 個のアミノ酸欠失を有する類似体がある。当然ながらかかる修飾は、D P P-I V 耐性を供与する、酸化を低減または除去する、腎クリアランスを低減する、受容体結合を改善する、または受容体活性化を改善する改変などの、本明細書に記載されるとおりの少なくとも 1 個の他の改変と併用され得ることが意図される。

【0063】

20

さらに例示的な置換は他の（非ヒト）種の G I P に由来するもの、例えばロイシンにより置き換えられるメチオニン 14、E により置き換えられる位置 9 または 21 位の D、アラニン、アルギニンまたはリジンにより置き換えられるヒスチジン 18、アラニン、アルギニンまたはヒスチジンにより置き換えられる位置 30 位のリジン、ロイシンにより置き換えられる位置 13 位のアラニン、およびセリンにより置き換えられる位置 28 位のアラニンである。

【0064】

一実施形態において G I P 類似体は次の修飾の 1 つまたは複数を有する：A b u、A l a、G l y、または S e r に対する d A l a 2；L e u に対する M e t 14；A l a、A r g、または L y s に対する H i s 1 S；G l u に対する A s p 21；A r g または H i s に対する L y s 30；および／または G l y（O c t）として N 末端。

30

【0065】

さらに例示的な G I P 修飾および組み合わせが次の化合物中に示される：

【0066】

【表 3】

配列番号	配列
3	YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQK
433	YaEGTFISDYSIALDKIAQQEFVNWLLAQR
434	YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAQR
435	YaEGTFISDYSIALDKIKQQEFVNWLLAQR
436	YaEGTFISDYSIALDKIAQQEFVNWLLAQH
437	YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAQH
438	YaEGTFISDYSIALDKIKQQEFVNWLLAQH
439	YaEGTFISDYSIAMDKIHQVKFVNWLLAQK
440	YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAQK
441	YaEGTFISDYSIALDKIKQQEFVNWLLAQK
442	YaEGTFISDYSIALDKIAQQEFVNWLLAQK
443	YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAQH
444	YaEGTFTADYSKALDKIHQQDFVNWLLAQK
445	YaEGTFTSDYSKALDKIHQQDFVNWLLAQK
446	YaEGTFISDYSKAMDKIRQQEFVNWLLAQK
447	YaEGTFISDYSIALEKIRQQKFVNWLLAQK
448	YaEGTFISDYSIALDKIRQQDFVEWLLAQK
449	YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAQK
450	YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAQK
451	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQFLFIEWLKNGG
452	YaEGTFISDYSIAMDKIRQQEFVNWLLAQK
453	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNFLLAQK
17	YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNFLLAQK

10

20

【0067】

従って、本明細書に記載される修飾は、D P P－I V耐性を供与する、酸化を低減または除去する、腎クリアランスを低減する、受容体結合を改善する、または受容体活性化を改善する改変など、本明細書に記載されるとおりの少なくとも1個の他の改変と併用され得ることが意図される。例えば、意図されるのは、同様に位置25位でのT r p置換用のP h eを有するG I P－D－A l a 2または－L－A l a 2類似体などの、本明細書に記載される1個または複数の置換または修飾を有する特定の類似体である。

30

【0068】

G I Pハイブリッドポリペプチド

生理活性ペプチドホルモンモジュール 本明細書中で考察されたとおり本発明のG I Pハイブリッドポリペプチド（「フィブリッド（p h y b r i d）」とも称される）は一般的に、共に共有結合された少なくとも2個の生理活性ペプチドホルモンモジュールを、モジュールの1つとしてのG I Pペプチドとともに含んでなる。生理活性ペプチドホルモンモジュールは、（a）未変性成分ペプチドホルモン、（b）ホルモン活性を保持する未変性成分ペプチドホルモンの類似体または誘導体、（c）ホルモン活性を保持する未変性成分ペプチドホルモンの断片、（d）ホルモン活性を保持する未変性成分ペプチドホルモンの類似体または誘導体の断片、（e）所望の化学的安定性、立体構造的安定性、代謝的安定性、生体利用能、器官／組織ターゲティング、受容体相互作用、プロテアーゼ阻害、血漿タンパク質結合、および／または他の薬物動態学的性質をハイブリッドポリペプチドに対し供与する未変性成分ペプチドホルモンの構造モチーフ、または（f）所望の化学的安定性、立体構造的安定性、代謝的安定性、生体利用能、器官／組織ターゲティング、受容体相互作用、プロテアーゼ阻害、血漿タンパク質結合、および／または他の薬物動態学的

40

50

性質をハイブリッドポリペプチドに対し供与する未変性成分ペプチドホルモンの類似体または誘導体の構造モチーフであってもよい。(e)および(f)の構造モチーフはまとめて本明細書においては「ペプチドエンハンサー」と称されるであろう。ペプチドエンハンサーの例はT r p ケージ配列、特に、E x - 4 短鎖または長鎖テールなどの、エキセンディン-4由来のものである。

【0069】

例示的生理活性ペプチドホルモンモジュールとしては、アミリン、ADM、CT、CGRP、インテルメジン、CKK(1-33)、CKK-8、レプチン、PYY(1-36)、PYY(3-36)、PYY-NPYキメラ、GLP-I(1-37)、GLP-1(7-37)、GLP-1(7-36)、GLP-2、OXM、GIP、エキセンディン-3、エキセンディン-4、カテスタチンファミリーペプチド、ナトリウム利尿ペプチドホルモン、ウロコルチンファミリーペプチド、例えば、Ucn-2およびUcn-3、ニューロメジンファミリーペプチド、例えばニューロメジンU25またはスプライス変異体、およびANP、BNP、CNPまたはウロジラチンより選択される未変性ペプチドホルモンが挙げられる。

10

【0070】

他の例示的生理活性ペプチドホルモンモジュールとしては、アミリン、ADM、CT、CGRP、インテルメジン、CKK、レプチン、PYY(1-36)、PYY(3-36)、GLP-1(1-37)、GLP-1(7-37)、GLP-1(7-36)、GLP-2、OXM、ナトリウム利尿ペプチドホルモン、ウロコルチンファミリーペプチド、例えば、Ucn-2およびUcn-3、ニューロメジンファミリーペプチド、例えばニューロメジンU25またはスプライス変異体、エキセンディン-3、およびエキセンディン-4より選択される成分ペプチドホルモンの類似体および誘導体が挙げられ、ここで該類似体または誘導体は成分ペプチドホルモンの少なくとも1種のホルモン活性を呈する。本明細書中でより完全に記載されるとともに当該技術分野において知られるように、類似体は成分ペプチドホルモンのアミノ酸配列の1つまたは複数の挿入、欠失、または置換を含んでなってもよいとともに、誘導体は類似体または成分ペプチドホルモンのアミノ酸残基の1つまたは複数の化学的修飾を含んでなってもよい。

20

【0071】

より具体的には、類似体および誘導体は上記に記載される、および／または当該技術分野において知られた任意のものより選択されてもよい。特に、本発明の生理活性ペプチドホルモンモジュールとして有用な少なくとも1種のホルモン活性を呈する例示的類似体および誘導体は以下を含む：

30

【0072】

【表 4】

アミリン:	² Ala-h-アミリン, ^{2,7} Ala-h-アミリン, ²⁸ Pro-h-アミリン, ^{25,28} Pro-h-アミリン, ^{2,5,28,29} Pro-h-アミリン, ²⁵ Pro, ²⁶ Val, ^{28,29} Pro-h-アミリン, ¹⁸ Arg, ^{25,28} Pro-h-アミリン, ¹⁸ Arg, ^{25,28,29} Pro-h-アミリン, ²⁵ Pro, ²⁶ Val, ^{28,29} Pro-h-アミリン, ¹⁸ Arg, ²³ Leu, ^{25,28,29} Pro-h-アミリン, ¹⁸ Arg ²³ Leu, ^{25,28} Pro-h-アミリン, および ^{2,7} -シクロ-[² Asp, ⁷ Lys]-h-アミリン
CT:	¹⁴ Glu-sCT, ¹⁸ Arg-sCT, ^{11,18} Arg-sCT, ¹⁴ Glu, ¹⁸ Arg-sCT, ¹⁴ Glu, ^{11,18} Arg-sCT
CGRP:	³⁶ D-Ser-CGRP, ³⁶ D-Thr-CGRP, ³⁶ D-Asp-CGRP, ³⁶ D-Asn-CGRP, ³⁶ Ser-CGRP, ³⁶ Hse-CGRP, ³⁶ Asp-CGRP, ³⁶ Thr-CGRP, ³⁶ Asn-CGRP
AFP-6:	TQAQLLRVGCNLSTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY (配列番号18), TQAQLLRVGCDTATCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY (配列番号19), TQAQLLRVGMVLGTMQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY (配列番号20), TQAQLLRVGCVLGTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVEPSSPHSY (配列番号21), TQAQLLRVGCVLGTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQESAPVEPSSPHSY (配列番号22),
CCK:	DY(OSO ₃ H)MGWMDF (配列番号23), DYMGWMDF (配列番号24), MGWMDF (配列番号25), GWWMDF (配列番号26), WMDF (配列番号27), KDY(OSO ₃ H)MGWMDF (配列番号28), KDYMGWMDF (配列番号29), KMGWMDF (配列番号30), KGWMDF (配列番号31), KWWMDF (配列番号32)
レプチン:	⁴³ Asp-レプチン, ⁴³ Glu-レプチン, ⁴⁸ Ala-レプチン, ⁴⁹ Glu-レプチン, ⁴⁹ デス-AA-レプチン, ⁷⁵ Ala-レプチン, ⁸⁹ Leu-レプチン, ⁹³ Asp-レプチン, ⁹³ Glu-レプチン, ⁹⁸ Ala-レプチン, ¹³⁹ Leu-レプチン,
PYY:	³ Leu-PYY, ³ Val-PYY, ⁴ Arg-PYY, ⁴ Gln-PYY, ⁴ Asn-PYY, ²⁵ Lys-PYY, ³⁴ Pro-PYY, ³⁴ His-PYY, ^{1,36} Tyr-PYY, ¹³ Pro ¹⁴ Ala-PYY, ³¹ Leu ³⁴ Pro-PYY, デス-AA-4-PYY
GLP-1	⁹ Gln-GLP-1(7-37), D- ⁹ Gln-GLP-1(7-37), ¹⁶ Thr- ¹⁸ Lys-GLP-1(7-37), ¹⁸ Lys-GLP-1(7-37), ⁸ Gly-GLP-1(7-36), ⁹ Gln-GLP-1(7-37), D- ⁹ Gln-GLP-1(7-37), acetyl- ⁹ Lys-GLP-1(7-37), ⁹ Thr-GLP-1(7-37), D- ⁹ Thr-GLP-1(7-37), ⁹ Asn-GLP-1(7-37), D- ⁹ Asn-GLP-1(7-37), ²² Ser ²³ Arg ²⁴ Arg ²⁶ Gln-GLP-1(7-37), ¹⁶ Thr ¹⁸ Lys-GLP-1(7-37), ¹⁸ Lys-GLP-1(7-37), ²³ Arg-GLP-1(7-37), ²⁴ Arg-GLP-1(7-37)
GIP	Y-dAla ² -GIP
エキセンデイン	¹⁴ Leu, ²⁵ Phe-エキセンデイン-4, ¹⁴ Leu, ²⁵ Phe-エキセンデイン-4, ⁵ Ala, ¹⁴ Leu, ²⁵ Phe-エキセンデイン-4, および ¹⁴ Leu, ²² Ala, ²⁵ Phe-エキセンデイン-4.

【0073】

当該技術分野において知られるように、かかるペプチド化合物は好ましくはアミド化されてもよいが、本発明の文意の範囲内では、別段に定めない限り場合により酸性型であってもよい。

【0074】

いまだ他の例示的生理活性ペプチドホルモンモジュールとしては、アミリン、ADM、CT、CGRP、インテルメジン、CCK、レプチン、PYY(1-36)、PYY(3-36)、GLP-1(1-37)、GLP-1(7-37)、GLP-1(7-36)、GLP-2、OXM、ナトリウム利尿ペプチド、ウロコルチンファミリーペプチド、例えば、Ucn-2およびUcn-3、ニューロメジンファミリーペプチド、例えばニューロメジンU25またはスプライス変異体、エキセンデイン-3、およびエキセンデイン-4より選択される成分ペプチドホルモンの断片が挙げられ、ここで該断片は成分ペプチドホルモンの少なくとも1種のホルモン活性を呈する。

【0075】

さらに他の例示的生理活性ペプチドホルモンモジュールとしては、アミリン、ADM、CT、CGRP、インテルメジン、CCK、レプチン、PYY(1-36)、PYY(3

10

20

30

40

50

ー 36)、本明細書に開示された特定の PYY-NPY キメラ配列、GLP-1 (1-37)、GLP-1 (7-37)、GLP-1 (7-36)、GLP-2、ヒトカテスタチン、OXM、ANP、BNP、CNP、ウロジラチン、Ucn-2 および Ucn-3、ニューロメジン U25 または スプライス 変異体、ニューロメジン S、エキセンディン-3 およびエキセンディン-4 より選択される成分ペプチドホルモンの類似体または誘導体の断片が挙げられ、ここで該断片は成分ペプチドホルモンの少なくとも 1 種のホルモン活性を呈する。さらに、本明細書中でより完全に記載されるとともに当該技術分野において知られるように、類似体は成分ペプチドホルモンのアミノ酸配列の 1 つまたは複数の挿入、欠失、または置換を含んでなってもよいとともに、誘導体は類似体または成分ペプチドホルモンのアミノ酸残基の 1 つまたは複数の化学的修飾を含んでなってもよい。

10

【0076】

少なくとも 1 種のホルモン活性を呈する特定の例示的断片としては以下が挙げられる。しかしながら、本明細書に記載される例示的断片を含む、当該技術分野において知られた断片と併用される上述の類似体および誘導体の組み合わせが企図されることは理解されるべきである。

【0077】

【表 5】

アミリン:	アミリン(1-36), アミリン(1-35), アミリン(1-20), アミリン(1-18), アミリン(1-17), アミリン(1-16), アミリン(1-15), アミリン(1-7)
CT:	CT(8-32), CT(8-27), CT(8-26), CT(8-10), CT(18-26), CT(18-27)
AFP-6:	AFP-6(18-27)
CCK:	CCK-8, CCK-5, CCK-4
レプチン:	レプチン(22-167), レプチン(56-73)
PYY:	PYY(1-35), PYY(1-30), PYY(1-25), PYY(1-15), PYY(1-10), PYY(2-36), PYY(3-36), PYY(4-36), PYY(5-36)
GLP-1	GLP-1(7-37), GLP-1(7-36), GLP-1(7-35)
GIP	GIP(1-14), GIP(1-30) またはより長鎖, GIP(1-39) またはより長鎖
エキセンディン	エキセンディン-4(1-27), エキセンディン-4(1-28), エキセンディン-4(1-29), エキセンディン-4(1-30) またはより長鎖

20

30

【0078】

さらに、当該技術分野において知られるように、かかるペプチド化合物は好ましくはアミド化されてもよいが、本発明の文意の範囲内では、別段に定めない限り場合により酸性型であってもよい。さらに、上記の例示的断片は、本明細書中で考察される、または当該技術分野において知られた任意の類似体または誘導体と併用されてもよい。例えば、例示的類似体断片としては、⁵Ala, ¹⁴Leu, ²⁵Phe-エキセンディン-4 (1-28)、¹⁴Leu, ²⁵Phe-エキセンディン-4 (1-27)、⁵Ala, ¹⁴Leu, ²⁵Phe-エキセンディン-4 (1-28)、¹⁴Leu, ²⁵Phe-エキセンディン-4 (1-27)、または開示される断片、類似体、および誘導体の任意の他の組み合わせが挙げられ得る。さらなる実施形態としては、NN2211 および ZP-10 が挙げられる。

40

【0079】

さらに他の例示的生理活性ペプチドモジュールとしては、「ペプチドエンハンサー」、すなわち、所望の化学的安定性、立体構造的安定性、代謝的安定性、生体利用能、器官／組織ターゲティング、受容体相互作用、プロテアーゼ阻害、血漿タンパク質結合、および

50

／または他の薬物動態学的性質をハイブリッドポリペプチドに対し供与する成分ペプチドホルモン（その類似体および誘導体を含む）の構造モチーフが挙げられる。例示的ペプチドエンハンサーとしては以下が挙げられる。

【0080】

【表6】

アミリンファミリー	アミリン(32-37), アミリン(33-37), アミリン(34-37), アミリン(35-37), アミリン(36-37), アミリン(37), ADM(47-52), ADM(48-52), ADM(49-52), ADM(50-52), ADM(51-52), ADM(52), CT(27-32), CT(27-32), CT(28-32), CT(29-32), CT(30-32), CT(31-32), CT(32), CGRP(32-37), CGRP(33-37), CGRP(34-37), CGRP(35-37), CGRP(36-37), CGRP(37), インテルメジン (42-47), インテルメジン (43-47), インテルメジン (44-47), インテルメジン (45-47), インテルメジン (46-47), インテルメジン (47)
PYY	PYY(25-36), PYY(26-36), PYY(27-36), PYY(28-36), PYY(29-36), PYY(30-36), PYY(31-36), PYY(32-36), PYY(25-35), PYY(26-35), PYY(27-35), PYY(28-35), PYY(29-35), PYY(30-35), PYY(31-35), PYY(32-35); P PY-NPY キメラ Ile, Lys, Pro, Glu, His, Pro, Gly, Glu, Asp, Ala, Ser, Pro, Glu, Glu, Leu, Ala, Arg, Tyr, Tyr, Ala, Ser, Leu, Arg, Ala, Tyr, Ile, Asn, Leu, Ile, Thr, Arg, Gln, Arg, Tyr (配列番号454)
GLP-1および2	カエル GLP-1(29-37); カエル GLP-1(30-37); カエル GLP-2(24-31), カエル GLP-2(25-31)
GIP	GIP(31-42), GIP(32-42), GIP(33-42), GIP(34-42), GIP(35-42), GIP(36-42), GIP(37-42), GIP(38-42), GIP(39-42), GIP(40-42), GIP(41-42), GIP(42)
エキセンディン-4	エキセンディン-4(31-39), エキセンディン-4(32-39), エキセンディン-4(33-39), エキセンディン-4(34-39), エキセンディン-4(35-39), エキセンディン-4(36-39), エキセンディン-4(37-39), エキセンディン-4(38-39), エキセンディン-4(39)

【0081】

さらに、本明細書に記載される生理活性ペプチドモジュールと共に併用される上述のGIP類似体および誘導体の組み合わせが企図されることは理解されるべきである。例えば、当該技術分野において知られた、および／または上述されるアミリンファミリーペプチドホルモン類似体および誘導体の最後の6アミノ酸残基もまた例示的生理活性ペプチドモジュールとして企図される。例えば、さらに本明細書中で考察されたとおり、例示的Trpケージ配列である、ペプチドエンハンサーEx-4短鎖テール、またはその類似体が任意のGIP類似体のC末端に付加されるとともに、さらなる実施形態において該ペプチドエンハンサーはリンカーを使用して付着される。

【0082】

一態様において、新規GIPハイブリッドは、未変性GIP(1-30)、未変性GIP(1-26)、未変性GIP(1-14)、未変性GIP(1-39)、未変性GIP(19-30)、未変性GIP(19-26)、未変性GIP(19-39)、未変性GIP(19-42)または未変性GIP(1-42)に対し当該GIP部分の全長にわたり、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%または少なくとも98%の配列同一性を呈するGIP部分を含む。

【0083】

従って、特定の実施形態においてGIPハイブリッドのGIP部分はtrpケージモチ

10

20

30

40

50

ーフを含んでなることができる。かかる望ましいG I Pハイブリッドとしては、N末端G I Pまたは新規G I P類似体断片が、グルコース降下活性（例えば、抗糖尿病薬、エキセンディン）または胃排出を阻害または低減する能力を有するC末端ポリペプチドまたはその断片と組み合わせて、挙げられる。かかる望ましいG I Pハイブリッドとしては、N末端G I P断片または新規G I P類似体断片が、C末端エキセンディン、G L P 1、シムリン（プラムリンチド）、アミリン、C C K、ガストリン、P Y Y、セクレチン、G R P、ニューロメジン、ウロコルチン、カルシトニン、またはサケカルシトニン、またはそれらの断片と組み合わせて、挙げられる。他の実施形態において望ましいG I Pハイブリッドとしては、C末端G I Pまたは新規G I P類似体断片が、グルコース降下活性（例えば、抗糖尿病薬、エキセンディン）または胃排出を阻害または低減する能力を有するN末端ポリペプチドまたはその断片と組み合わせて、挙げられる。かかる実施形態において、キメラポリペプチドとしては、C末端G I P、新規G I P類似体（この場合T r p ケージ形成配列が存在する）、またはその断片が、N末端エキセンディン、G L P 1、シムリン（プラムリンチド）、アミリン、C C K、ガストリン、P Y Y、セクレチン、G R P、ニューロメジン、ウロコルチン、カルシトニン、またはサケカルシトニン、またはそれらの断片と組み合わせて、挙げられ得る。

10

【0084】

他の実施形態においてG I Pまたは新規G I P類似体は、ガストリン／C C K受容体リガンド；アミリン受容体リガンド；カルシトニン受容体リガンド；C G R P受容体リガンド、P Y Y受容体リガンド、E G F受容体リガンド；グルカゴン様ペプチド1受容体リガンド；グルカゴン様ペプチド2受容体リガンド；胃抑制ポリペプチド（G I P）受容体リガンド；ケラチノサイト成長因子（K G F）受容体リガンド；ジペプチジルペプチダーゼI Vインヒビター；R E Gタンパク質受容体リガンド；成長ホルモン受容体リガンド；プロラクチン（P R L）受容体リガンド；インスリン様成長因子（I G F）受容体リガンド；P T H関連タンパク質（P T H r P）受容体リガンド；肝細胞増殖因子（H G F）受容体リガンド；骨形成タンパク質（B M P）受容体リガンド、トランスフォーミング成長因子（T G F受容体リガンド；ラミニン受容体リガンド；血管作動性腸管ペプチド（V I P）受容体リガンド；線維芽細胞増殖因子（F G F）受容体リガンド；神経成長因子（N G F）受容体リガンド；膵島新生関連タンパク質（I N G A P）受容体リガンド；アクチビン-A受容体リガンド；血管内皮増殖因子（V E G F）受容体リガンド；エリスロポエチン（E P O）受容体リガンド；脳下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド（P A C A P）受容体リガンド；顆粒球コロニー刺激因子（G - C S F）受容体リガンド；顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（G M - C S F）；血小板由来成長因子（P D G F）受容体リガンド、およびセクレチン受容体リガンドと併用される。

20

30

【0085】

本発明のポリペプチドは好ましくは、少なくともある部分、未変性ヒトG I Pの生物学的活性を保持する、例えば、本発明のポリペプチドは一般的に、G I Pアゴニストまたはアンタゴニストであるだろう。一実施形態において、本発明のポリペプチドは代謝病態および障害の処置および予防において生物学的活性を呈するであろう。さらに、本発明の新規G I P類似体ポリペプチドは内部リンカー化合物を含んでもよく、内部アミノ酸残基に化学的修飾を含んでもよく、またはN末端またはC末端残基で化学的に修飾されてもよい。さらに別の実施形態において、本発明のポリペプチドは天然Lアミノ酸残基および／または修飾された天然Lアミノ酸残基のみを含む。あるいは、別の実施形態において、本発明のポリペプチドは非天然アミノ酸残基を含まない。

40

【0086】

例示的G I Pハイブリッドの実施形態において、G I P部分は未変性G I Pのそれより優れたD P P - I V耐性を提供するべく修飾または置換されるG I P - N末端領域を含んでなる。

【0087】

例示的ペプチド成分ファミリー

50

未変性ペプチドホルモンは、その類似体および誘導体と同様、当該技術分野において知られている。参考のため、数個の未変性ペプチドホルモンの配列が本明細書に提供される。

【 0 0 8 8 】

例示的ペプチドホルモン

【 0 0 8 9 】

【表 7 - 1】

配列 番号	説明	配列	
33	ラットアミリン	KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY	10
34	h-アミリン	KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFGAILSSTNVGSNTY	
35	h-ADM	YRQSMNNFQGLRSFGCRFGTCTVQKLAHQIYQFTDKDKDNVAP RSKISPQGY	
36	s-CT	CSNLSTCVLGKLSQELHKLQTYPRNTTGSOTP	
37	h-CT	CGNLSTCMLGYTQDFNKFHTFPQTAIGVGAP	
38	h-CGRP α	ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNFVPTNVGSKAF	
39	h-CGRP β	ACNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKS NFVPTNVGSKAF	
40	h-AFP-6 (1-47)	TQAQLLRVGCVLGTCQVQNL SHRLWQLMGPAGRQDSAPVDP SPHSY	20
41	h-AFP-6 (8-47)	VGCVLGTCQVQNL SHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSPHSY	
42	マウスAFP-6 (1-47)	PHAQLLRVGCVLGTCQVQNL SHRLWQLVRPAGRRDSAPVDP SPHSY	
43	マウスAFP-6 (8-47)	VGCVLGTCQVQNL SHRLWQLVRPAGRRDSAPVDPSPHSY	
289	硫酸化CCK-8	DY(SO ₃)MGWMD	
45	h-レプチン	MHWGTLGGLFWLWPLYFYVQAVPIQKVQDDTKTLIKTIVTRIND ISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTL SKMDQTLAVYQQILTSMP SRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPWASGLETLDSLGGVL EASGYSTEVALSRLQGS LQDMLWQLDLSPGC	
46	h-PYY	YPIKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNLVTRQRY	30
47	h-PYY (3-36)	IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNLVTRQRY	
48	hGLP-1 (1-37)	HDEFERHAEGTFTSDVSSTLEGQA ALEFI AWLVKGRG	
49	カエルGLP-1	HAEGTYTNDVTEYLEEKAAKEFIEWLIKGP KKIRYS-OH;	
50	カエルGLP-1	HAEGTFTSDVTQQLDEKAAKEFIDWLINGGPSKEIIS-OH	
51	h-GLP-1 (7-36)	HAEGTFTSDVSSYLEGQA ALEFI AWLVKGR	
52	h-GLP-2	HADGSFSDEMNTILDNL AARDFINWLIETKITD	
53	カエルGLP-2	HAEGTFTNDMTNYLEEKAAKEFVGWLIKGRP-OH	
54	OXM	HSQGTFTSDYSKYLD SRRAQDFVQWLMNTKRNRNNIA	
55	エキセレンディン-3	HSDGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS	
5	エキセレンディン-4	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS	40
423	ウロコルチンII (マウス)	VILSLDVPIGLLRILLEQARYKAARNQAATNAQILAHV-NH ₂	
424	WP-24 (ウロコルチン)	WSPGARNQGGGARALLLLLAERFP-OH	

【 0 0 9 0 】

【表 7-2】

425	TV-18 (ウロコルチン)	TQSQRERAEQNRIIFDSV-NH ₂	
426	ヒトウロコルチン	DNPSLSIDLTFHLLRTLLELARTQSQRERAEQNRIIFDSV-NH ₂	
427	SE-20 (ウロコルチン-111/ストレスコピン)	SFHYLRSRDASSGEEEEEGKE-OH	
428	AI-13 (ウロコルチン-III/ストレスコピン)	AQAAANAHLMAQI-OH	
429	DA-21 (ウロコルチン)	DNPSLSIDLTFHLLRTLLELA-OH	10
430	TL-26 (ウロコルチン-III/ストレスコピン)	TKFTLSLDVPTNIMNLLFNIAKAKNL-OH	
431	ヒトウロコルチンIII	FTLSLDVPTNIMNLLFNIAKAKNLRAQAAANAHLMAQI-NH ₂	
432	FN-38 (SLM14)	FLFHYSKTQKLGKSNVVEELQSPFASQSRGYFLFRPRN-NH ₂	
456	アルファ-心房性ナトリウム利尿ペプチド (1-28) ヒト, ブタ, ウシ	SLRRSSCFGGRMDRIGASGLGCNSFRY-OH	
485	脳性ナトリウム利尿ペプチド, ラット; BNP, ラット	c(NSKMAHSSSCFGQKIDRIGAVSRLGCDGLRLF)-OH	20
486	脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP) (ヒト)	SPKMVQSGSGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRRH-OH	
487	C-TYPEナトリウム利尿ペプチド, ブタ; Cnp, ブタ	GLSKGCFGLKLDRI SMSGLGC-OH	
488	ニューロメジンU-8 (ブタ)	YFLFRPRN-NH ₂	
489	ニューロメジンU (ラット)	YKVNEYQGPVAPSGGFFLFRPRN-NH ₂	
490	ニューロメジンU-9	GYFLFRPRN-NH ₂	
491	ニューロメジン(U25), ヒト	FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-NH ₂	30

【0091】

これらのペプチドは一般的に、生理学的に発現される時C末端でアミド化されるが、本発明の目的には必要でない。言い換えれば、これらのペプチドのC末端は、本発明のGI Pハイブリッドポリペプチドと同様、遊離OHまたはNH₂基を有してもよい。これらのペプチドはまた、他の翻訳後修飾を有してもよい。当業者は、本発明のハイブリッドポリペプチドがまたN末端メチオニン残基を伴い構築されてもよいことを理解するであろう。

【0092】

本発明における使用のための例示的ペプチドモジュールは、双方がAJP受容体で活性なアペリン36および13の2形態で存在するアペリン(LVQPRGSRNGPGPWQGGRRKFRRRQRPRLSHKGPMPF-OH (配列番号493) および pERPRLSHKGPMPF-OH (配列番号494)) ; GPR10 (SRTHRHSMEIRTPDINPAWYASRGIRPVGRF-NH₂で等しく活性であるPRP31およびPRP20の2形態で存在するプロラクチン放出ペプチド (配列番号495) およびTPDINPAWYASRGIRPVGRF-NH₂ (配列番号496)) ; ビッグガストリンおよびミニガストリンとして存在し、活性の大部分がペントガストリン中の残基にあるガストリン(QLGPQGPPHLVADPSKKQGPWLEEEEEAYGWMDF-NH₂ (配列番号497) ; pEGPWLEEEEEAYGWMDF-NH₂ (配列番号498) ; β-AWMDF-NH₂ (配列番号499)) ; CCK33

10

20

30

40

50

またはCCK8（中枢－対－末梢；KAPSGRMSIVKNLQNLDPSHRISDRDYMGWMDF－NH₂（配列番号500）；DYMGWMDF－NH₂）（配列番号55）として存在するCCK；コルチスタチン17または29（QEGAPPQQSARRDRMPPCRNF FWKTFSSCK－OH（配列番号501）およびDRMPPCRNF FWKTFSSCK－OH（配列番号502））として存在するコルチスタチン；ソマトスタチン14または28（SANSNPAMAPRERKAGCKNFFWKTF TSC－OH（配列番号503）；AGCKNFFWKTF TSC－OH（配列番号504））として存在するソマトスタチン；C末端の10個のアミノ酸配列が大部分の活性を所有するGRP（VPLPAGGGTVLT KMYPRGNHWAVGHL M－NH₂（配列番号505）；GNHWAVGHL M－NH₂（配列番号506））；C末端の10個のアミノ酸領域が大部分の活性を所有するニューロメジンB（LSWDLPEPRSRASKIRVHSRGNLWATGHFM－NH₂（配列番号507）；GNLWATGHFM－NH₂（配列番号508））；C末端の9個のアミノ酸領域が大部分の活性を所有するニューロメジンS（ILQRGSGTA AVDFTKKDHTATWGRPF F LFRPRN－NH₂（配列番号492）；PFFLFRPRN－NH₂（配列番号509））；C末端の9個のアミノ酸領域が大部分の活性を所有するニューロメジンU（FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN－NH₂（配列番号491）；GYFLFRPRN－NH₂（配列番号490））；長鎖および短鎖形態として存在するニューロテンシン（KIPYILKRQLYENKPRRPYIL－OH（配列番号510）；QLYENKPRRPYIL－OH（配列番号511））；活性がそのC末端に主にあるKiss－1（GTSLSPPPESSGSPQQPGLSAPH SRQIPAPQGAVLVQREKDL PNYNWN SFGLRF－NH₂（配列番号512）；EKDL PNYNWN SFGLRF－NH₂（配列番号513））；C末端断片が活性を所有するRFアミド－3（SAGATANLPLRSGRNMEVSLVRRVPNLPQRF－NH₂（配列番号514）；VPNLPQRF－NH₂（配列番号515））；ダイノルフィンB（リモルフィン）のビッグダイノルフィン（A）として存在するダイノルフィン（YGGFLRRIRPKLKWDNQKRYGGFLRRQFKVVT－OH（配列番号516）およびYGGFLRRQFKVVT－OH（配列番号517））；C末端断片がY2受容体で活性であるPYY（YPIKPEAPGEDASPEELNRY YASLRHYLNLVTRQRY－NH₂（配列番号46）；SLRHYLNLVTRQRY－NH₂（配列番号518））；7～47領域が活性を保持するAFP－6（TQAQLLRVGCVLGTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSSPHSY－NH₂（配列番号40）；VGCVLGTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSSPHSY－NH₂（配列番号41））；アドレノメデュリン、カルシトニンおよびCGRPを含めたアミリンファミリー；C末端アミドが活性のために一般的に必要とされ、N末端伸長を寛容できるオキシトシンを含めたN末端伸長可能なペプチドモジュール（およびそれらのアナログおよび断片）をさらに含む。

【0093】

本発明における使用のための例示的なペプチドモジュールは、さらに、エンドセリンI、IIおよびIII：ETI（CSCSSLMDKECVYFCHLDIIWVNTPEHVVPYGLGSPRS－OH（配列番号519）；CSCSSLMDKECVYFCHLDIIW－OH（配列番号529））、ETII（CSCSSWLDKECVYFCHLDIIWVNTPEQTAPYGLGNPP－OH（配列番号521）；CSCSSWLDKECVYFCHLDIIW－OH（配列番号522））およびETIII（CTCFTYKDKECVYYCHLDIIWINTPEQTVPYGLSNYRG SFR－NH₂（配列番号523）；CTCFTYKDKECVYYCHLDIIW－OH（配列番号524））；活性がその最初の10残基に主にあるグレリ（GSSFLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQP－OH（配列番号525）；GSSFLSPEHQ－OH（配列番号526））；グルカゴン様活性を持つC末端で伸長されたグルカゴンであるオキシントモジュリンを含めたグルカゴン（HSQGTFTSDYSKYLD S RRA

10

20

30

40

50

QDFVQWLMNTKRNRRNNIA-OH（配列番号527）；HSQGTFTSDY
 SKYLD SRRRAQDFVQWLMNT-OH（配列番号528））；その活性がC
 末端アミドの有無で保持されたGLP-1/GLP-2；双方がGIP受容体で十分に活
 性であるGIP1-42およびGIP1-30の2形態で循環するGIP（YAEGT
 FISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKGKKNDWKHNITQ-OH（
 配列番号529）；YAEGT FISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQK-
 NH₂（配列番号530））；GPR7および8にて等しく活性であるNPW23および
 NPW30として存在する神経ペプチドW（WYKHVASPRYHTVGRAAGLL
 MGLRRSPYLW-OH（配列番号531）；WYKHVASPRYHTVGRAA
 GLLMGL-OH（配列番号532））；PACAP27および38の2形態で存在す
 るPACAP（HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRYKQ
 RVKNK-NH₂（配列番号533）；HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKK
 YLAAVL-NH₂（配列番号534））；PHIおよびPHV（HADGVFTSD
 FSKLLGQLSAKKYLESLMGKRVSSNIS EDPVPV-OH（配列番
 号535）；HADGVFTSDFSKLLGQLSAKKYLESLM-NH₂（配列
 番号536））；GRF29およびGRF40の2形態で存在するGRF（YADAI
 FTNSYRKVLGQLSARKLLQDIMSRQQGESNQERGARRARL-N
 H₂（配列番号537）；YADAI FTNSYRKVLGQLSARKLLQDIM
 S-OH（配列番号538））；全長PTH1-84の活性を所有するPTH1-34およ
 び1-37形態（SVSEIQLMHNLGKHLNSMERVEWLRKKLLQDVH
 NFVALGAPLAPRDAGSQRPRKKEDNVLVESHEKSLGEADK
 ADVNVLTKAKSQ（配列番号539）；SVSEIQLMHNLGKHLNSM
 ERVEWLRKKLLQDVHNFVAL-OH（配列番号540）；SVSEIQLM
 HNLGKHLNSMERVEWLRKKLLQDVHNF-OH（配列番号541））そ
 の1-36が全長1-86の活性を所有するPTH-RP（AVSEHQLLHDKGK
 SIQDLRRRFFLHHLIAEIHAEIRATSEVSPNSKPS PNTK
 NHPVRFSGDDEGRYLTQETNKVET YKEQPLKTPGKKKKKGK
 P-NH₂（配列番号542）；AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRFFLH
 HLIAEIHAEI-OH（配列番号543）） 短いγ-MSH1および長いγ-
 MSH1が類似する活性を有するγ-MSH（YVMGHFRWDRFGRN SSS
 SSSGAGQ-OH（配列番号544）；YVMGHFRWDRF-NH₂（配列番号
 545））；α-MSHがACTHの活性部分であるMSH（SYSMEHFRWGK
 PVGKKRRPVKVYPNGAEDESAEAFPLEF-OH（配列番号546）；
 SYSMEHFRWGKPV-NH₂（配列番号547））；およびA、Δおよびγエン
 ドルフィンがより大きなβエンドルフィンの活性サブペプチドであるエンドルフィン（Y
 GGFMTSEK SQTPLVTLFKNAIIKNAYKKGE-OH（配列番号54
 8）；YGGFMTSEK SQTPLVTLFKNAIIKNAY-OH（配列番号54
 9）；YGGFMTSEK SQTPLVTL-OH（配列番号373）；YGGFMTS
 EK SQTPLVT-OH（配列番号550））を含めたC末端で伸長可能なペプチドモ
 ジュールを含む。

【0094】

例えば、メラノコルチンは、α-メラニン細胞刺激ホルモン（α-MSH）および副腎
 皮質刺激ホルモン（ACTH）を含めたプロ-オピオメラノコルチン遺伝子からのペプチ
 ドであり、5つのメラノコルチン受容体MC1-5Rが知られている。MC4Rは、エネ
 ルギーバランスおよび肥満において役割を演じるようである。例えば、アンダーソン（A
 nderson）ら， Expert Opin. Ther. Patents 11:1
 583-1592（2001）， Speakeら， Expert Opin. The
 r. Patents 12:1631-1638（2002）， Bednarekら，
 Expert Opin. Ther. Patents 14:327-336（200
 4）参照。

10

20

30

40

50

【0095】

G I Pハイブリッドを含んでなることに加え、他の実施形態において本明細書に記載されるホルモンは、本発明のG I P類似体が同時投与される、補助治療において使用され得ることもまた意図される。

【0096】

アミリンファミリー 本明細書中で考察されるとおりG I Pまたは新規G I P類似体を伴う本発明に有用な成分ペプチドホルモンとしては、アミリン、アドレノメデュリン（「ADM」）、カルシトニン（「CT」）、カルシトニン遺伝子関連ペプチド（「CGRP」）、インテルメジン（「AFP-6」としても知られる）および関連ペプチドを含むアミリンファミリーペプチドホルモンが挙げられる。未変性アミリンファミリーペプチドホルモ

10

【0097】

代謝性疾患および障害に關与するペプチドホルモンの別のファミリーは、アミリン、カルシトニン、カルシトニン遺伝子関連ペプチド、アドレノメデュリン、およびインテルメジン（「AFP-6」としても知られる）を含む、ペプチドホルモンのアミリンファミリーである。アミリンは37アミノ酸ペプチドホルモンである。これはヒト2型糖尿病の膵島におけるアミロイド沈着の主要成分として単離、精製および化学的にキャラクタライズされた（クーパー（Cooper）ら、Proc. Natl. Acad. Sci., U S A、84:8628-8632頁（1987年））。アミリン分子は2個の翻訳後修飾を有する：C末端がアミド化されるとともに、位置2および7位のシステインがN末端ループを形成するべく架橋される。ヒトアミリン遺伝子のオープンリーディングフレーム配列は、LysのN末端コドンより前の、Lys-Arg二塩基性アミノ酸タンパク質分解切断シグナル、およびそのN末端位置におけるLys-Argタンパク質分解シグナルより前のGly、タンパク質アミド化酵素のPAMによるアミド化用典型配列の存在を示す（クーパー（Cooper）ら、Biochem. Biophys. Acta、1014:247-258頁（1989年））。「アドレノメデュリン」または「ADM」とは、ヒトペプチドホルモンおよびその種変異体を意味する。より詳しくは、ADMは、連続した酵素切断およびアミド化を介して185アミノ酸プレプロホルモンから生成される。このプロセスは、52アミノ酸生理活性ペプチドの遊離において最高に達する。「カルシトニン」または「CT」とは、サケカルシトニン（「sCT」）を含めたヒトペプチドホルモンおよびその種変異体を意味する。より詳しくは、CTはより大きなプロホルモンから切断された32アミノ酸ペプチドである。それは、アミノ末端がその環の形を担うことを引き起こす一本のジスルフィド結合を含む。カルシトニンプレ-mRNAの代替的スプライシングは、カルシトニン遺伝子関連ペプチドをコードするmRNAを与えることができ；そのペプチドは、神経および血管系において機能するようである。カルシトニン受容体はクローニングされ、7つの膜貫通のGタンパク質共役型受容体ファミリーのメンバーであることが示されている。「カルシトニン遺伝子関連ペプチド」または「CGRP」とは、いずれかの生理学的形態でのヒトペプチドホルモンおよびその種変異体を意味する。「インターメジン」または「AFP-6」とは、いずれかの生理学的形態でのヒトペプチドホルモンおよびその種変異体を意味する。

20

30

40

【0098】

アミリンは胃排出を調節するとともに、グルカゴン分泌および食物摂取を抑制し、ひいては血行中のグルコース出現速度を調節すると考えられている。アミリンはインスリンの作用を補完し、血行中からのグルコース消失速度および末梢組織によるその取り込みを調節すると見られる。これらの作用を支持する齧歯類およびヒトにおける実験的所見は、ア

50

ミリンが食後グルコースコントロールにおけるインスリンの効果を少なくとも3つの独立した機序により補完し、その全てがグルコース出現速度に影響を及ぼすことを示す。第一に、アミリンは食後グルカゴン分泌を抑制する。成人健常者と比較して、1型糖尿病患者は循環アミリンを有さないとともに2型糖尿病患者は低下した食後アミリン濃度を有する。さらには、循環アミリンと結合するアミリン特異的モノクローナル抗体の注入が、対照と比べ結果として大きなグルカゴン濃度上昇をさらにもたらす。これらの結果の双方が内在性アミリンの食後グルカゴン分泌の調節における生理学的役割を指し示す。第二に、アミリンは胃腸管運動および胃排出を緩徐する。最後に、ラットアミリンの視床下部内注射はラットにおいて摂食を低減するとともに神経伝達物質代謝を変化させることを示した。特定の試験において、食物摂取量はラットアミリンおよびラットCGRPの視床下部内注射後8時間まで有意に低減された。ヒト治験において、アミリン類似体のプラムリンチドは体重または体重増加を低減することを示した。アミリンは糖尿病および肥満などの代謝性病態の処置において有益であり得る。アミリンはまた、疼痛、骨障害、胃炎を処置するため、脂質、特にトリグリセリドを調節するため、または脂肪の優先的減少および除脂肪組織の保存など体組成に影響を及ぼすため使用されてもよい。

【0099】

ホルモンカルシトニン（CT）は誘発された高カルシウム血症に応答したその分泌およびその急速なカルシウム低下効果にちなんで名づけられた。これは、それ以来C細胞と呼ばれる甲状腺内の神経内分泌細胞中で産生されるとともにそこから分泌される。最研究の進んだCT（1-32）の作用は破骨細胞に対するその効果である。試験管内でのCTの効果としては、波状縁の急速な消失およびリソソーム酵素の放出低下が挙げられる。究極的には、CTによる破骨細胞機能の障害は結果として骨吸収の低下をもたらす。しかしながら、甲状腺摘除の症例における血清CTの慢性的な低減および甲状腺髄様癌において所見される血清CT増加のいずれも、血清カルシウムまたは骨量における変化に付随しないと見られる。それゆえ、CT（1-32）の主要機能は救急状態における急性高カルシウム血症に効くこと、および／または成長、妊娠、および授乳などの「カルシウムストレス」の期間中に骨格を保護することである可能性が最も高い。（ベッカー（Becker）、JCEM、89（4）：1512-1525頁（2004年）およびセクストン（Sexton）、Current Medicinal Chemistry 6：1067-1093頁（1999年）に概説される）。これと一致するのは、カルシトニンおよびCGRP-Iペプチドの双方を取り除くカルシトニン遺伝子ノックアウトマウスからの最近のデータであり、マウスが正常レベルの基礎カルシウム関連値だが増加した血漿カルシウム反応を有したことを明らかにした（クリハラ・H（Kurihara H）ら、Hypertens Res. 2003 Feb；26補遺：S105-8頁）。

【0100】

CTは血漿カルシウムレベルに対し効果を有するとともに破骨細胞機能を障害し、骨粗鬆症の処置に広く使用される。治療的に、サケCT（sCT）は最小の有害作用で骨密度を増加させるとともに骨折率を低下させると見られる。CTはまた、慢性骨障害であり結果として1つまたは複数の骨格領域において肥大または変形した骨をもたらす、骨パジェット病の治療としても過去25年間にわたり成功裏に使用されてきた。CTはまた、骨粗鬆症を被る間の骨痛に対するその鎮痛効果からも広く使用されるが、この効果についての機序は明確には理解されていない。

【0101】

カルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）は、その受容体が神経系および心血管系を含め体内に広く分布する神経ペプチドである。このペプチドは感覚神経伝達を調節すると思われるとともに今日までに発見された最も強力な内在性血管拡張ペプチドの1つである。CGRPについて報告された生物学的効果としては、炎症におけるサブスタンスPの調節、神経筋接合部でのニコチン受容体活性、腓膵素分泌の刺激、胃酸分泌の低減、末梢血管拡張、心促進、神経調節、カルシウム代謝の制御、骨形成刺激、インスリン分泌、体温上昇および食物摂取量低下が挙げられる。（ウィマラワンサ（Wimalawansa

）、「アミリン, calcitonin gene-related peptide, calcitonin and ADM: a peptide superfamily」、Crit Rev Neurobiol. 1997; 11 (2-3): 167-239 頁)。CGRPの重要な役割は、 α -CGRPの静脈内投与後の平均動脈圧の減少により証明されるとおり、様々な器官に対しその強力な血管拡張作用により血流を制御することである。血管拡張作用はまた、ホモ接合体ノックアウトCGRPマウスの最近の分析により支持され、これは末梢交換神経活性の増加により引き起こされる末梢血管耐性上昇および高血圧を実証した（クリハラ・H (Kurihara H) ら、「Targeted disruption of ADM and α CGRP genes reveals their distinct biological roles」Hypertens Res. 2003 Feb; 26 補遺: S105-8 頁）。このように、CGRPは他の作用のなかでもとりわけ、血管拡張効果、降圧効果および心拍数の増加を誘発するようである。

10

【0102】

CGRPのうっ血性心不全患者への持続注入は有害作用なしに血行動態機能に対し有益な持続効果を示しており、心不全における使用を示唆する。CGRP使用の他の適応症としては、腎不全、急性および慢性冠動脈虚血、不整脈の処置、レイノー現象などの他の末梢血管疾患、くも膜下出血、高血圧症、および肺高血圧症が挙げられる。妊娠中毒症および早産もまた、潜在的に処置可能である。（ウィマラワンサ (Wimalawansa) 、1997年）。最近の治療使用としては、片頭痛の処置用CGRPアンタゴニストの使用が挙げられる。

20

【0103】

アドレノメデュリン (ADM) はペプチドを含む組織で非含有組織よりさらに多くほぼ偏在的に発現される。ADMの公表されたレビュー、(ヒンソン, J. P. (Hinson, J. P.) ら、Endocrine Reviews (2000年) 21 (2): 138-167 頁) は、血管拡張、細胞増殖、ホルモン分泌の調節、およびナトリウム利尿を含む生物学的作用の範囲内の、心血管系、細胞増殖、中枢神経系および内分泌系に対するその効果を詳述する。ラット、ネコ、ヒツジ、およびヒトにおける試験ではADMの静脈内注入が結果として強力な持続的な低血圧をもたらすと同時に、CGRPと比較可能であることが確認される。しかしながら、麻酔下ラットにおけるADMの平均動脈圧に対する降圧効果はCGRPアンタゴニストCGRP8-37により阻害されず、この効果がCGRP受容体を介しては媒介されないことを示唆する。麻酔下、意識下または高血圧のラットへのヒトADMの急性または慢性投与は、結果として、心拍数、心拍出量および一回拍出量の同時上昇とともに、血圧の低下に伴い全末梢抵抗性に有意な低下をもたらす。

30

【0104】

ADMはまた、胚形成および分化における重要な因子として、およびラット内皮細胞のアポトーシス生存因子としても提言されている。これは最近のマウスADMノックアウト試験により支持され、ここでADM遺伝子の欠失したマウスホモ接合体は胚形成期の不完全血管形成を実証し、それゆえ妊娠中期で死亡した。ADM+/-ヘテロ接合体マウスは組織傷害に対する感受性とともに高血圧を有したことが報告された（クリハラ・H (Kurihara H) ら、Hypertens Res. 2003年 Feb; 26 補遺: S105-8 頁）。

40

【0105】

ADMは下垂体、副腎、生殖器官および睪などの内分泌器官に影響を及ぼす。ペプチドは下垂体からのACTH放出の阻害において役割を有すると見られる。副腎において、これはラットおよびヒトの双方における副腎皮質の分泌活性に影響を及ぼすと見られるとともに副腎の血流を増加させ、インタクトラットの副腎血管床中で血管拡張薬として作用する。ADMは雌性生殖管の至るところに存在することが示されているとともに血漿レベルは正常妊娠において上昇する。子癇前症ラットモデルにおける試験は、ADMが妊娠後期にラットに投与されると高血圧症を逆進させ得るとともに仔死亡率を低下し得ることを示

50

す。妊娠初期の動物または子癇前症モデルの非妊娠ラットにおいては同様の効果を有しなかったことから、これはADMが子宮胎盤心血管系において重要な調節役割を果たし得ることを示唆する。臍中で、ADMは経口グルコース負荷に対するインスリン反応を減弱および遅延させることから抑制役割を果たす可能性が最も高く、結果として初期のグルコースレベル上昇をもたらす。ADMはまた、腎機能にも影響を及ぼし得る。末梢投与されたボラスは平均動脈圧を有意に降下し得るとともに腎血流、糸球体濾過速度および尿流量を上昇させ得る。ある場合においては、Na⁺排泄の増加もまたある。

【0106】

ADMはまた骨および肺に対する他の末梢効果も有する。骨については、試験は心血管系および体液恒常性を超える役割を支持しているとともにADMがトランスフォーミング成長因子αなどの既知の骨芽細胞成長因子のものと比較可能な胎仔および成体齧歯類骨芽細胞に対し細胞増殖を増加させるべく作用することを実証している。骨粗鬆症研究における主要課題の1つは骨芽細胞刺激を介して骨量を増加させる治療を開発することであるためこれは臨床的に重要である。肺においては、ADMは肺血管拡張を引き起こすだけでなく、ヒスタミンまたはアセチルコリンにより誘発される気管支収縮を阻害しもする。ラットモデルにおいて肺高血圧症を処置するためのエアロゾル化ADMを使用する最近の試験は、平均肺動脈圧および全肺抵抗性がADM処置ラットにおいて生理食塩水を投与されたラットより顕著に降下したという事実により証明されるとおり、この病態の吸入処置が有効であることを示す。この結果は全身動脈圧または心拍数における変化なしに実現された（ナガヤ・N (Nagaya N) ら、*Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003; 285: H2125-31頁）。

【0107】

健常な対象において、ADMの静脈内注入は動脈圧を低減するとともに心拍数、心拍出量、cAMPの血漿レベル、プロラクチン、ノルエピネフリンおよびレンニンを刺激することが示されている。これらの患者において、観察される尿量またはナトリウム排出はほとんどまたは全く増加しなかった。心不全または慢性腎不全患者において、静脈内ADMは健常対象において観察されるものと同様の効果を有したとともに、投与される用量に応じて、利尿およびナトリウム利尿もまた誘発した（ニコルス、MG (Nicholls, MG) ら、*Peptides*. 2001; 22: 1745-1752頁）。実験的ADM処置はまた、動脈および肺高血圧症、敗血症性ショックおよび虚血／再灌流傷害においても有益であることが示されている（ベルトウスキ・J (Beltowski J.)、*Pol J Pharmacol*. 2004; 56: 5-27頁）。ADM処置の他の適応症としては、末梢血管疾患、くも膜下出血、高血圧症、妊娠中毒症および早産、ならびに骨粗鬆症が挙げられる。

【0108】

AFP-6（すなわち、インテルメジン）の発現は主に下垂体および胃腸管内である。AFP-6に特異的な受容体は報告されていないが、結合試験はAFP-6がアミリンファミリーの全ての既知の受容体に結合することを示す。AFP-6はSK-N-MCおよびL6細胞発現内在性CGRP受容体中のcAMP産生を増加させるとともに該細胞中でその受容体への結合において標識CGRPと競合することが示されている。公表された生体内試験において、AFP-6投与は、最も可能性の高いCRLR/RAMP受容体との相互作用を介し、正常および自発発症高血圧ラットの双方において血圧効果を導いた。マウスへの生体内投与は、胃排出および食物摂取量の抑制を導いた。（ロウ (Roh) ら、*J Biol Chem*. 2004 Feb 20; 279 (8): 7264-74頁）。

【0109】

アミリンファミリーペプチドホルモンの生物学的作用は一般的に、2個の密接に関連したII型Gタンパク質共役受容体(GPCR)、カルシトニン受容体(CTR)およびカルシトニン受容体様受容体(CRLR)への結合を介して媒介されることが報告されている。クローニングおよび機能性試験は、CGRP、ADM、およびアミリンがCTRまた

10

20

30

40

50

はCRLRおよび受容体活性修飾タンパク質(RAMP)の異なる組み合わせと相互作用することを示している。多くの細胞が複数のRAMPを発現する。RAMPおよびCTRまたはCRLRのいずれかの同時発現がカルシトニン、CGRP、ADM、およびアミリンの機能性受容体を生成するため必要とされることが考えられる。RAMPファミリーは30%未満の配列同一性を共有する3つのメンバー(RAMP1、-2、および-3)を含んでなるが、共通のトポロジカルな構成を有する。CRLRおよびRAMP1の同時発現はCGRP受容体の形成を導く。CRLRおよびRAMP2の同時発現はADM受容体の形成を導く。CRLRおよびRAMP3の同時発現はADMおよびCGRP受容体の形成を導く。hCTR2およびRAMP1の同時発現はアミリンおよびCGRP受容体の形成を導く。hCTR2およびRAMP3の同時発現はアミリン受容体の形成を導く。

10

【0110】

このようにアミリンファミリーホルモンモジュールを含んでなるGIPハイブリッドは、GIP機能に加え、考察されたとおりの、アミリンファミリーモジュール、例えば、アミリン、アミリン/sCT/アミリン、ADM、CGRPに付随する機能および使用を提供できる。

【0111】

一実施形態において、アミリン類似体および誘導体は未変性アミリンの少なくとも1種のホルモン活性を有する。特定の実施形態において、アミリン類似体は未変性アミリンが特異的結合能を有する受容体のアゴニストである。例示的アミリン類似体および誘導体としては、参照により本明細書によって援用される、米国特許出願公開第2003/0026812A1号明細書に記載されるものが挙げられる。

20

【0112】

例示的アミリン類似体としては以下のものが挙げられる：

【0113】

【表 8】

	^{25,28,29} Pro-h-アミリン (プラムリンチド)
	des- ¹ Lys-h-アミリン
	²⁵ Pro, ²⁶ Val, ^{28,29} Pro-h-アミリン
	¹⁸ Arg, ^{25,28} Pro-h-アミリン
	des- ¹ Lys, ¹⁸ Arg, ^{25,28} Pro-h-アミリン
	¹⁸ Arg, ^{25,28,29} Pro-h-アミリン
	des- ¹ Lys, ¹⁸ Arg, ^{25,28,29} Pro-h-アミリン
	des- ¹ , Lys ^{25,28,29} Pro-h-アミリン
	²⁵ Pro, ²⁶ Val, ^{28,29} Pro-h-アミリン
	²⁸ Pro-h-アミリン, 2,7-シクロ-[² Asp, ⁷ Lys]-h-アミリン
	²⁻³⁷ h-アミリン
	¹ Ala-h-アミリン
	² Ala-h-アミリン
	^{2,7} Ala-h-アミリン
	¹ Ser-h-アミリン
	²⁹ Pro-h-アミリン
	^{25,28} Pro-h-アミリン
	des- ¹ Lys, ^{25,28} Pro-h-アミリン
	²³ Leu, ²⁵ Pro, ²⁶ Val, ^{28,29} Pro-h-アミリン
	²³ Leu ²⁵ Pro ²⁶ Val ²⁸ Pro-h-アミリン
	des- ¹ Lys, ²³ Leu, ²⁵ Pro, ²⁶ Val, ²⁸ Pro-h-アミリン
	¹⁸ Arg, ²³ Leu, ²⁵ Pro, ²⁶ Val, ²⁸ Pro-h-アミリン
	¹⁸ Arg, ²³ Leu, ^{25,28,29} Pro-h-アミリン
	¹⁸ Arg ²³ Leu, ^{25,28} Pro-h-アミリン
	¹⁷ Ile, ²³ Leu, ^{25,28,29} Pro-h-アミリン
	¹⁷ Ile, ^{25,28,29} Pro-h-アミリン
	des- ¹ Lys, ¹⁷ Ile, ²³ Leu, ^{25,28,29} Pro-h-アミリン
	¹⁷ Ile, ¹⁸ Arg, ²³ Leu-h-アミリン
	¹⁷ Ile, ¹⁸ Arg, ²³ Leu, ²⁶ Val, ²⁹ Pro-h-アミリン
	¹⁷ Ile, ¹⁸ Arg, ²³ Leu, ²⁵ Pro, ²⁶ Val, ^{28,29} Pro-h-アミリン,
	¹³ Thr, ²¹ His, ²³ Leu, ²⁶ Ala, ²⁸ Leu, ²⁹ Pro, ³¹ Asp-h-アミリン
	¹³ Thr, ²¹ His, ²³ Leu, ²⁶ Ala, ²⁹ Pro, ³¹ Asp-h-アミリン
	des- ¹ Lys, ¹³ Thr, ²¹ His, ²³ Leu, ²⁶ Ala, ²⁸ Pro, ³¹ Asp-h-アミリン
	¹³ Thr, ¹⁸ Arg, ²¹ His, ²³ Leu, ²⁶ Ala, ²⁹ Pro, ³¹ Asp-h-アミリン
	¹³ Thr, ¹⁸ Arg, ²¹ His, ²³ Leu, ^{28,29} Pro, ³¹ Asp-h-アミリン
	¹³ Thr, ¹⁸ Arg, ²¹ His, ²³ Leu, ²⁵ Pro, ²⁶ Ala, ^{28,29} Pro, ³¹ Asp-h-アミリン

【0114】

当該技術分野において知られるように、かかるアミリン類似体は好ましくはアミド化されてもよいが、本発明の文意の範囲内では、別段に定めない限り場合により酸性型であってもよい。

【0115】

当該技術分野において知られた任意のADM類似体または誘導体が本発明と併せて使用されてもよい。一実施形態において、ADM類似体および誘導体は未変性ADMの少なくとも1種のホルモン活性を有する。特定の実施形態において、ADM類似体は未変性ADMが特異的結合能を有する受容体のアゴニストである。

【0116】

当該技術分野において知られた任意のCT類似体または誘導体が本発明と併せて使用されてもよい。一実施形態において、CT類似体および誘導体は未変性CTの少なくとも1種のホルモン活性を有する。特定の実施形態において、CT類似体は未変性CTが特異的結合能を有する受容体のアゴニストである。例示的CT類似体および誘導体としては、参照により本明細書によって援用される、米国特許第4,652,627号明細書、同第4,606,856号明細書、同第4,604,238号明細書、同第4,597,900号明細書、同第4,537,716号明細書、同第4,497,731号明細書、同第4,495,097号明細書、同第4,444,981号明細書、同第4,414,149号明細書、同第4,401,593号明細書、および同第4,397,780号明細書に記載されるものが挙げられる。

10

【0117】

例示的CT類似体としては以下のものが挙げられる：

【0118】

【表9】

	⁸ Gly-CT
	²² Leu-CT
	² Gly, ³ Ser, ⁸ Gly, ²² デス-Tyr-CT
	¹⁴ Glu-sCT,
	¹⁸ Arg-sCT,
	^{11,18} Arg-sCT,
	¹⁴ Glu, ¹⁸ Arg-sCT,
	¹⁴ Glu, ^{11,18} Arg-sCT

20

【0119】

当該技術分野において知られるように、かかるCT類似体は好ましくはアミド化されてもよいが、本発明の文意の範囲内では、別段に定めない限り場合により酸性型であってもよい。

【0120】

30

当該技術分野において知られた任意のCGRP類似体または誘導体が本発明と併せて使用されてもよい。一実施形態において、CGRP類似体および誘導体は未変性CGRPの少なくとも1種のホルモン活性を有する。特定の実施形態において、CGRP類似体は未変性CGRPが特異的結合能を有する受容体のアゴニストである。例示的CGRP類似体および誘導体としては、参照により本明細書によって援用される、米国特許第4,697,002号明細書、および同第4,687,839号明細書に記載されるものが挙げられる。

【0121】

例示的CGRP類似体としては以下のものが挙げられる：

【0122】

40

【表 1 0】

	³⁶ D-Ser-CGRP
	³⁶ D-Thr-CGRP
	³⁶ D-Asp-CGRP
	³⁶ D-Asn-CGRP
	³⁶ Ser-CGRP
	³⁶ Hse-CGRP
	³⁶ Asp-CGRP
	³⁶ Thr-CGRP
	³⁶ Asn-CGRP

10

【0 1 2 3】

当該技術分野において知られた任意の A F P-6 類似体または誘導体が本発明と併せて使用されてもよい。一実施形態において、A F P-6 類似体および誘導体は未変性 A F P-6 の少なくとも 1 種のホルモン活性を有する。特定の実施形態において、A F P-6 類似体は未変性 A F P-6 が特異的結合能を有する受容体のアゴニストである。例示的 A F P-6 類似体および誘導体としては、参照により本明細書によって援用される、国際公開第 2 0 0 3 / 0 2 2 3 0 4 号パンフレットに記載されるものが挙げられる。

【0 1 2 4】

20

例示的 A F P-6 類似体としては以下のものが挙げられる：

【0 1 2 5】

【表 1 1】

配列番号	配列
18	TQAQLLRVGCNLTSCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
19	TQAQLLRVGCDTATCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
20	TQAQLLRVGMVLGTMQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
21	TQAQLLRVGCVLGTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVEPSSPHSY
22	TQAQLLRVGCVLGTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQESAPVEPSSPHSY
56	TQAQLLRVGCVLGTCQVQNLSHRLWQL---RQDSAPVDPSSPHSY
57	TQAQLLRVGCVLGTCQVQNLSHRLWQL---DSAPVDPSSPHSY
58	RVGCVLGTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
59	VGCVLGTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVEPSSPHSY
60	VGCVLGTCQVQNLSHRLWQL---RQDSAPVEPSSPHSY
61	GCVLGTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
62	GCNTATCQVQNLSHRLWQL---RQDSAPVDPSSPHSY
63	GCNTATCQVQNLSHRLWQL---RQDSAPVEPSSPHSY
64	GCSNLTSCQVQNLSHRLWQL---RQDSAPVEPSSPHSY
65	GCGNLTSCQVQNLSHRLWQL---RQDSAPVEPSSPHSY
66	GCVLGTCQVQNLSHRLWQL---RQESAPVEPSSPHSY
67	CVLGTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
68	QVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
69	VQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
70	VQNLSHRL---QLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
71	GTMQVQNLSHRLWQL---RQDSAPVEPSSPHSY

30

40

【0 1 2 6】

50

当該技術分野において知られるように、かかる A F P-6 類似体は好ましくはアミド化されてもよいが、本発明の文意の範囲内では、別段に定めない限り場合により酸性型であってもよい。

【0127】

CCKファミリー hCCK (コレシストキニン) および種変異体を含むCCK、およびその様々な類似体が当該技術分野において知られている。一般に、CCKは、最初にヒトにおいて同定された33アミノ酸配列を有するとともに、報告によればブタ、ラット、ニワトリ、チンチラ、イヌおよびヒトにおいて実証されている生体内8アミノ酸C末端断片(「CCK-8」)を含む。他の種変異体としては、ブタ、イヌおよびモルモットにおいて所見される39アミノ酸配列、およびネコ、イヌおよびヒトにおいて所見される58アミノ酸、およびCCKおよびガストリンの双方と相同な47アミノ酸配列が挙げられる。C末端硫酸化チロシンオクタペプチド配列(CCK-8)が種間にわたり比較的保存されているとともに、齧歯類の末梢における生物学的活性の最小配列であり得る。このように、用語CCK-33は一般的にヒトCCK(1-33)を参照するであろう一方、CCK-8(CCK(26-33))は別段に定めない限り硫酸化および非硫酸化の双方において総称的にC末端オクタペプチドを参照するであろう。さらに、ペンタガストリンまたはCCK-5はC末端ペプチドCCK(29-33)を参照するであろうとともに、CCK-4はC末端テトラペプチドCCK(30-33)を参照するであろう。

10

【0128】

CCKは報告によれば1928年に胆嚢収縮を刺激するその能力による腸抽出物の調製から同定された。それ以来CCKの他の生物学的作用が、膵分泌の刺激、胃排出遅延、腸運動の刺激およびインスリン分泌の刺激を含め、報告されている。リーベルス(Lieberse)ら、Ann. N. Y. Acad. Sci. 713:268-272頁(1994年)を参照されたい。CCKの作用としては、同様に報告によれば、心血管機能、呼吸機能、神経毒性および発作、癌細胞増殖、無痛覚、睡眠、性および生殖行動、記憶、不安およびドーパミン介在性行動に対する効果も挙げられる。クローリーおよびコルウィン(Crawley and Corwin)、Peptides 15:731-755頁(1994年)。CCKの他の報告された効果としては、膵増殖の刺激、胆嚢収縮の刺激、胃酸分泌の阻害、膵ポリペプチド放出および蠕動の収縮成分が挙げられる。CCKの追加的な報告された効果としては血管拡張が挙げられる。ウォルシュ(Walsh)、「Gastrointestinal Hormones」『Physiology of the Gastrointestinal Tract』(第3版、1994年; Raven Press、ニューヨーク)。

20

30

【0129】

グルカゴン、CCKおよびボンベシンの組み合わせの注射が非絶食ラットにおける練乳テスト食の摂取の阻害を個々の化合物に伴い観察される阻害を上回って増大させたことが報告されている。ヒントン(Hinton)ら、Brain Res. Bull. 17:615-619頁(1986年)。グルカゴンおよびCCKがラットにおける偽摂食を相乗的に阻害することもまた報告されている。ルソテールおよびギアリー(LeSauter and Geary)、Am. J. Physiol. 253:R217-225頁(1987年); スミスおよびギブス(Smith and Gibbs)、Annals N. Y. Acad. Sci. 713:236-241頁(1994年)。エストラジオールおよびCCKが満腹感に対し相乗効果を有し得ることもまた示唆されている。デュラワ(Dulawa)ら、Peptides 15:913-918頁(1994年); スミスおよびギブス(Smith and Gibbs)、上記。その中の栄養に反応して小腸から生じるシグナルが相乗的にCCKと相互作用して食物摂取量を低減し得ることもまた提言されている。コックス(Cox)、Behav. Brain Res. 38:35-44頁(1990年)。加えて、CCKが数種において満腹感を誘発することが報告されている。例えば、ラットにおいて腹腔内に、ブタにおいて動脈内に、ネコおよびブタにおいて静脈内に、サル、ラット、イヌおよびヒツジにおいて脳室内に、および肥満およ

40

50

び非肥満ヒトにおいて静脈内に注射されたCCKにより摂食抑制が引き起こされたことが報告されている。リーベルス (L i e v e r s e) ら、上記を参照されたい。報告によればいくつかの研究室からの試験は、摂食における阻害に対する低用量のCCKの挙動特異性を、サルおよびラットの双方において食物に対する反応を非食物強化因子に対する反応と比較することにより、およびCCKが通常は食事摂取後に観察される挙動の配列 (すなわち、食後満腹配列) を誘発することを示すことにより、確認した。加えて、CCK後の挙動の食物摂取後の挙動との比較は報告によれば、単独またはCCKと組み合わせて、CCKと食物摂取との間の挙動類似性を明らかにしている。クローリーおよびコルウィン (C r a w l e y a n d C o r w i n)、上記。生理学的血漿濃度におけるCCKが非肥満および肥満ヒトの双方において食物摂取を阻害するとともに満腹感を増加させることもまた報告されている。リーベルス (L i e v e r s e) ら、上記を参照されたい。

10

【0130】

CCKは1966年に33アミノ酸ペプチドとしてキャラクタライズされた。クローリーおよびコルウィン (C r a w l e y a n d C o r w i n)、上記。CCKのアミノ酸配列の種特異的分子変異体が同定されている。報告によれば33アミノ酸配列および切断ペプチド、その8アミノ酸C末端配列 (CCK-8) が、ブタ、ラット、ニワトリ、チンチラ、イヌおよびヒトにおいて同定されている。報告によれば39アミノ酸配列が、ブタ、イヌおよびモルモットにおいて所見された。58アミノ酸配列が、ネコ、イヌおよびヒトにおいて所見されていることが報告された。報告によればカエルおよびカメはCCKおよびガストリンの双方と相同な47アミノ酸配列を示す。極めて新鮮なヒト腸は、CCK-83と呼ばれる、少量のさらに大きな分子を含むと報告されている。ラットにおいては、報告によれば主な中間型が同定されているとともに、CCK-22と呼ばれる。ウォルシュ (W a l s h)、「Gastrointestinal Hormones」『Physiology of the Gastrointestinal Tract』(第3版 1994年; Raven Press、ニューヨーク)。非硫酸化CCK-8およびテトラペプチド (CCK-4 (CCK (30-33) と呼ばれる) がラット脳において報告されている。C末端ペンタペプチド (CCK-4 (CCK (29-33) と呼ばれる) はCCKの構造的相同性、および神経ペプチドとの相同性も保存する。報告によればC末端硫酸化オクタペプチド配列のCCK-8は種間にわたり比較的保存されている。報告によれば、ラット甲状腺癌、ブタ脳、およびブタ腸由来のプレプロコレシストキニンをコードするcDNAのクローニングおよび配列解析はCCKに対する前駆物質をコードする345ヌクレオチドを明らかにしたが、これは115アミノ酸であるとともに以前単離されたとして報告された全てのCCK配列を含む。クローリーおよびコルウィン (C r a w l e y a n d C o r w i n)、上記。

20

30

【0131】

CCKは中枢神経系の至るところに、ならびに内分泌細胞および上部小腸の腸管神経内に分布すると言われる。CCKアゴニストとしては、CCKそれ自体 (CCK-33とも称される)、CCK-8 (CCK (26-33))、非硫酸化CCK-8、ペンタガストリン (CCK-5またはCCK (29-33))、およびテトラペプチド、CCK-4 (CCK (30-33)) が挙げられる。膵CCK受容体において、CCK-8は報告によれば非硫酸化CCK-8またはCCK-4より1000~5000大きい力価で結合を置換し、かつCCK-8は膵アミラーゼ分泌の刺激において非硫酸化CCK-8またはCCK-4よりおよそ1000倍強力であることが報告されている。クローリーおよびコルウィン (C r a w l e y a n d C o r w i n)、上記。大脳皮質由来のホモジネートにおいて、CCK受容体結合は非硫酸化CCK-8およびCCK-4により等モルであった濃度において硫酸化CCK-8より10倍または100倍多く置換されると言われた。同文献。報告によればCCK受容体は様々な組織中で同定されているとともに、2種の主なサブタイプ、A型受容体およびB型受容体が記載されている。A型受容体は、膵、胆嚢、幽門括約筋および求心性迷走神経線維を含む末梢組織、および脳の別々の領域において報告されている。A型受容体サブタイプ (CCKA) は硫酸化オクタペプチドに対し選択的で

40

50

あることが報告されている。B型受容体サブタイプ（CCKB）は脳の至るところで、および胃中で同定されているとともに、報告によれば硫酸化または全8アミノ酸を必要としない。レイデルベルガー（Reidelerger）、J. Nutr. 124（8補遺）1327S-1333S頁（1994年）；クロリーおよびコルウィン（Crawley and Corwin）、上記を参照されたい。

【0132】

CCK類似体用の様々な生体内および試験管内スクリーニング方法が当該技術分野において知られている。例としては、CCK様活性についてテストされるべき化合物の急速静脈内注射後のイヌまたはモルモット胆嚢の収縮に関する生体内アッセイ、およびウサギ胆嚢の条片を使用する試験管内アッセイが挙げられる。ウォルシュ（Walsh）、「Gastrointestinal Hormones」『Physiology of the Gastrointestinal Tract』（第3版 1994年；Raven Press、ニューヨーク）を参照されたい。

【0133】

特定の例示的CCKおよびCCK活性を備えるCCK類似体としては以下のものが挙げられる：

【0134】

【表12】

配列番号	配列
72	DY(SO ₃ H)MGWMDF
24	DYMGWMDF
25	MGWMDF
26	GWMD
27	WMDF
73	KDY(SO ₃ H)MGWMDF
29	KDYMGMDF
30	KMGWMDF
31	KGWMDF
32	KWMDF

【0135】

当該技術分野において知られるように、かかるCCKペプチドは好ましくはアミド化されてもよいが、本発明の文意の範囲内では、別段に定めない限り場合により酸性型であってもよい。

【0136】

レプチンファミリー 本発明に有用な成分ペプチドホルモンとしてはまた、レプチンファミリーペプチドホルモンも挙げられる。未変性レプチンファミリーペプチドホルモンは、機能性ペプチド類似体および誘導体と同様、当該技術分野において知られている。特定の例示的未変性ペプチド、ペプチド類似体および誘導体が本明細書に記載されるが、当該技術分野において知られたホルモン活性を呈する任意の既知のレプチンファミリーペプチドが本発明と併せて使用されてもよいことは認識されるべきである。

【0137】

このようにレプチンファミリーホルモンモジュールを含んでなるGIPハイブリッドは、GIP機能に加え、考察されるとおりの、レプチンファミリーモジュール、例えば、レプチン、レプチン断片に付随する機能および使用を提供できる。

【0138】

当該技術分野において知られた任意のレプチン類似体または誘導体が発明と併せて使用されてもよい。一実施形態において、レプチン類似体および誘導体は未変性レプチンの少なくとも1種のホルモン活性を有する。特定の実施形態において、レプチン類似体は未

変性レプチンが特異的結合能を有する受容体のアゴニストである。好ましいレプチン類似体および誘導体としては、例えば、その全てが参照により本明細書によって援用される、国際公開第2004/039832号パンフレット、国際公開第98/55139号パンフレット、国際公開第98/12224号パンフレット、および国際公開第97/02004号パンフレットに記載されるものが挙げられる。

【0139】

一実施態様において、レプチンペプチドには、WO97046585に開示されたMVP I Q K（配列番号551）、VQDDTK（配列番号552）、TLIK（配列番号553）、TIVTR（配列番号554）、INDISHTQSVSSK（配列番号555）、VTGLDFIPGLHPILTL SK（配列番号556）、NVIQISNDLE NLR（配列番号557）、DLLHVLAF SK（配列番号558）、SCHLPWA S G L E T L D S L G G V L E A S G Y S T E V V A L S R（配列番号559）およびL Q G S L Q D M L W Q L D L S P G C（配列番号560）が挙げられる。

10

【0140】

一実施態様において、レプチンペプチドは、アミノ酸配列X a a n - S e r - C y s - X a a 1 - L e u - P r o - X a a 2 - X a a 3 - X a a n（配列番号561）を有することもでき、ここに、X a a nは、長さがゼロであり得るか、またはC末端もしくはN末端のいずれかの1～7個の間のストレッチの全長ヒトもしくはマウスレプチン配列から誘導された近接ストレッチのペプチド残基であり得るか、またはレプチンペプチドは、長さが合計15個以下のアミノ酸である。別の実施態様において、X a a 1、X a a 2またはX a a 3はいずれのアミノ酸置換でも有り得る。まだ別の実施態様において、X a a 1、X a a 2またはX a a 3は全長のマウスまたはヒトレプチンにおける各残基のいずれの保存的アミノ酸置換でも有り得る。さらなる実施態様において、X a a 1は、H i sおよびS e rよりなる群から選択でき、X a a 2またはX a a 3は、いずれかのアミノ酸置換である。別の実施態様において、X a a 2は、T r pおよびG l nよりなる群から選択でき、X a a 1またはX a a 3は、いずれかのアミノ酸置換である。まだ別の実施態様において、X a a 3は、A l aおよびT h rよりなる群から選択でき、X a a 1またはX a a 2は、いずれかのアミノ酸置換である。別の実施態様において、X a a 1は、H i sおよびS e rよりなる群から選択され、X a a 2は、T r pおよびG l nよりなる群から選択され、X a a 3はA l aおよびT h rよりなる群から選択される。WO04039832参照。

20

30

【0141】

一実施態様において、レプチンペプチドは、i. p.（腹腔内）投与に際して、テスト動物における体重恒常性を変調する能力を所有する天然の全長ヒトまたはマウスレプチンのC末端アミノ酸残基（それらの成熟形態の位置95～101に対応する）およびそのD-アイソフォーム、断片、誘導体、類似体および相同体を含む。配列S C S L P Q Tの特定のマウスD置換ペプチドには、[D-S e r - 1] -、[D-C y s - 2] -、[D-S e r - 3] -、[D-L e u - 4] -、[D-P r o - 5] -、[D-G l n - 6] -、[D-T h r - 7] - S C S L P Q Tおよびすべての[D] S C S L P Q Tが挙げられる。S C H L P W Aの特定のヒトD-置換ペプチドには、[D-S e r - 1] -、[D-C y s - 2] -、[D-H i s - 3] -、[D-L e u - 4] -、[D-P r o - 5] -、[D-T r p - 6] -、[D-A l a - 7] - S C H L P W Aおよびすべての[D] - S C H L P W Aが挙げられる。加えて、そのS C H L P W AおよびS C S L P Q Tペプチドは、いずれかの2、3、4、5または6個の位置についてのD-アミノ酸置換を含み得る。また開示されるのは、天然のレプチンならびに、その断片、誘導体、類似体および相同体のN末端アミノ酸21-35、31-45、41-55および51-65を含むレプチン関連ペプチドである。本発明の追加のレプチンペプチドは、マウスおよび/またはヒト全長レプチンのアミノ酸配列61-75、71-85、81-95、91-105、106-120、116-130、126-140、136-150、146-160および156-167を含む。WO04039832参照。

40

50

【0142】

一実施態様において、レプチンは、配列 Ser Cys His Leu Pro Xaa Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Xaa Gly Ser Leu Xaa Asp Xaa Leu Xaa Xaa Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys (配列番号564) [式中、位置6のXaaはTrpまたはGln；位置36のXaaはGlnまたはGlu；位置40のXaaはGlnまたはGlu；位置42のXaaは、Ile、Leu、Metまたはメチオニンスルホキシド；位置44のXaaはTrpまたはGln；および位置45のXaaはGlnまたはGluである] である。別の実施態様において、前記のレプチンは、位置6のXaaはTrp；位置36のXaaはGln；位置40のXaaはGln；位置42のXaaはMet；位置44のXaaはTrp；および位置45のXaaはGlnである場合である。米国特許第5521283号明細書参照。

10

【0143】

一実施態様において、レプチンは、以下を含めた天然配列である。

マウスレプチン：Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Xaa Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys (配列番号565) [式中、位置28のXaaは、Glnまたは不存在である]；
ブタレプチン：Val Pro Ile Trp Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Ser Asp Ile Ser His Met Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Val Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Ile Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Leu Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Ser Ser Lys Ser Cys Pro Leu Pro Gln Ala Arg Ala Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys (配列番号566)；

20

30

40

ウシレプチン：Val Pro Ile Cys Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Xaa Ser Val Ser Ser Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Leu Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Ile Tyr Gln Gln Ile Leu Thr

50

Ser Leu Pro Ser Arg Asn Val Val Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Ala Ser Lys Ser Cys Pro Leu Pro Gln Val Arg Ala Leu Glu Ser Leu Glu Ser Leu Gly Val Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys (配列番号567) [式中、位置28のXaaは、Glnまたは不存在である] ;

ヒトレプチン: Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Xaa Xaa Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys (配列番号568) [式中、位置27のXaaは、ThrまたはAlaであって; 位置28のXaaは、Glnまたは不存在である] ;

10

20

アカゲザルレプチン: Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Ser Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Val Leu Thr Leu Ser Gln Met Asp Gln Thr Leu Ala Ile Tyr Gln Gln Ile Leu Ile Asn Leu Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Leu Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly Asp Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys (配列番号569) ; ; および

30

ラットレプチン: Val Pro Ile His Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ala Arg Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Leu Pro Ser Gln Asn Val Leu Gln Ile Ala His Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys Ser Leu Pro Gln Thr Arg Gly Leu Gln Lys Pro Glu Ser Leu Asp Gly Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser Pro G

40

50

l u C y s (配列番号570)。

【0144】

別の実施態様において、レプチンペプチド成分は、配列：Val Pro Ile Gln
Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr
Ile Val Thr Arg Ile Xaa Asp Ile Ser His Xaa
Xaa Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly
Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu Thr
Leu Ser Lys Xaa Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr
Gln Gln Ile Leu Thr Ser Xaa Pro Ser Arg Xaa
Val Ile Gln Ile Xaa Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg
Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser
Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr
Leu Asp Ser Leu Gly Gly

Val Leu Glu Ala Ser Xaa Tyr Ser Thr Glu Val Val
Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp
Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys

(配列番号571) [式中：位置22のXaaはAsn、AspまたはGlu；位置27
のXaaはThrまたはAla；位置28のXaaはGln、Gluまたは不存在；位置
54のXaaはMetまたはAla；位置68のXaaはMetまたはLeu；位置72
のXaaはAsn、AspまたはGlu；位置77のXaaはSerまたはAla；位置
118のXaaはGlyまたはLeu；該蛋白質は、以下のものよりなる群から選択され
る少なくとも1つの置換を有する：位置97のHisはSerまたはProと置換される
；位置100のTrpは、Gln、AlaまたはLeuと置換される；位置101のA
laは、ThrまたはValと置換される；位置102のSerは、Argと置換される
；位置103のGlyはAlaと置換される；位置105のGluは、Glnと置換され
る；位置106のThrは、LysまたはSerと置換される；位置107のLeuは、
Proと置換される；位置108のAspは、Gluと置換される；または位置111の
Glyは、Aspと置換される]

である。

【0145】

別の実施態様において、レプチンは、配列：Val Pro Ile Gln Lys Val
Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile
Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Xaa Gln Ser
Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp
Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu
Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln
Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val
Ile Gln Ile Xaa Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp
Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys
His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu
Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Xaa Tyr
Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln
Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp
Leu Ser Pro Gly Cys (配列番号572) [式中、前記蛋白質は、少なく
とも1つの置換、好ましくは1～5個の置換、最も好ましくは、位置27のXaaはThr
またはAla；位置77のXaaはSerまたはAla；位置118のXaaはGly
またはLeuであり；該蛋白質は、位置97のHisはSerと置換される；位置10
0のTrpはGlnと置換される；位置101のAlaはThrと置換される；位置10
5のGluはGlnと置換される；位置106のThrは、Lysと置換される；位置1
07のLeuはProと置換される；位置108のAspはGluと置換される；または

位置 1 1 1 の G l y は A s p と置換されるよりなる群から選択される 1 ～ 2 個の置換を有する] である。前記配列の追加の実施態様において、位置 2 7 の X a a は T h r ; 位置 7 7 の X a a は S e r ; 位置 1 1 8 の X a a は G l y であって ; 位置 9 7、1 0 0、1 0 1、1 0 5、1 0 6、1 0 7、1 0 8 および 1 1 1 のアミノ酸残基は、以下の表の通りである :

【 0 1 4 6 】

【表 1 3 - 1】

	97	100	101	105	106	107	108	111
天然ヒト	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Leu	Asp	Gly
	Ser	Trp	Ala	Glu	Thr	Leu	Asp	Gly
	His	Gln	Ala	Glu	Thr	Leu	Asp	Gly
	His	Trp	Thr	Glu	Thr	Leu	Asp	Gly
	His	Trp	Ala	Gln	Thr	Leu	Asp	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Leu	Asp	Asp
	Ser	Gln	Ala	Glu	Thr	Leu	Asp	Gly
	Ser	Trp	Thr	Glu	Thr	Leu	Asp	Gly
	Ser	Trp	Ala	Gln	Thr	Leu	Asp	Gly
	Ser	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Gly
	Ser	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Gly
	Ser	Trp	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly
	Ser	Trp	Ala	Glu	Thr	Leu	Asp	Asp
	His	Gln	Thr	Glu	Thr	Leu	Asp	Gly
	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Leu	Asp	Gly
	His	Gln	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Gly
	His	Gln	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Gly
	His	Gln	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly
	His	Gln	Ala	Glu	Thr	Leu	Asp	Asp
	His	Trp	Thr	Gln	Thr	Leu	Asp	Gly
	His	Trp	Thr	Glu	Lys	Leu	Asp	Gly
	His	Trp	Thr	Glu	Thr	Pro	Asp	Gly
	His	Trp	Thr	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly
	His	Trp	Thr	Glu	Thr	Leu	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Gln	Lys	Leu	Asp	Gly
	His	Trp	Ala	Gln	Thr	Pro	Asp	Gly
	His	Trp	Ala	Gln	Thr	Leu	Glu	Gly
	His	Trp	Ala	Gln	Thr	Leu	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Pro	Asp	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Glu	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Asp

【 0 1 4 7 】

【表 1 3 - 2】

	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Asp
	Ser	Gln	Thr	Glu	Thr	Leu	Asp	Gly
	Ser	Gln	Ala	Gln	Thr	Leu	Asp	Gly
	Ser	Gln	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Gly
	Ser	Gln	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Gly
	Ser	Gln	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly
	Ser	Gln	Ala	Glu	Thr	Leu	Asp	Asp
	Ser	Trp	Thr	Gln	Thr	Leu	Asp	Gly
	Ser	Trp	Thr	Glu	Lys	Leu	Asp	Gly
	Ser	Trp	Thr	Glu	Thr	Pro	Asp	Gly
	Ser	Trp	Thr	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly
	Ser	Trp	Thr	Glu	Thr	Leu	Asp	Asp
	Ser	Trp	Ala	Gln	Lys	Leu	Asp	Gly
	Ser	Trp	Ala	Gln	Thr	Pro	Asp	Gly
	Ser	Trp	Ala	Gln	Thr	Leu	Glu	Gly
	Ser	Trp	Ala	Gln	Thr	Leu	Asp	Asp
	Ser	Trp	Ala	Glu	Lys	Pro	Asp	Gly
	Ser	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Glu	Gly
	Ser	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Asp
	Ser	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly
	Ser	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Asp
	Ser	Trp	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Asp
	His	Gln	Thr	Gln	Thr	Leu	Asp	Gly
	His	Gln	Thr	Glu	Lys	Leu	Asp	Gly
	His	Gln	Thr	Glu	Thr	Pro	Asp	Gly
	His	Gln	Thr	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly
	His	Gln	Thr	Glu	Thr	Leu	Asp	Asp
	His	Gln	Ala	Gln	Lys	Leu	Asp	Gly
	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Pro	Asp	Gly
	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Leu	Glu	Gly
	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Leu	Asp	Asp
	His	Gln	Ala	Glu	Lys	Pro	Asp	Gly
	His	Gln	Ala	Glu	Lys	Leu	Glu	Gly
	His	Gln	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Asp

10

20

30

40

【表 1 3 - 3】

	His	Gln	Ala	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly
	His	Gln	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Asp
	His	Gln	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Asp
	His	Trp	Thr	Gln	Lys	Leu	Asp	Gly
	His	Trp	Thr	Gln	Thr	Pro	Asp	Gly
	His	Trp	Thr	Gln	Thr	Leu	Glu	Gly
	His	Trp	Thr	Gln	Thr	Leu	Asp	Asp
	His	Trp	Thr	Glu	Lys	Pro	Asp	Gly
	His	Trp	Thr	Glu	Lys	Leu	Glu	Gly
	His	Trp	Thr	Glu	Lys	Leu	Asp	Asp
	His	Trp	Thr	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly
	His	Trp	Thr	Glu	Thr	Pro	Asp	Asp
	His	Trp	Thr	Glu	Thr	Leu	Glu	Asp
	His	Trp	Ala	Gln	Lys	Pro	Asp	Gly
	His	Trp	Ala	Gln	Lys	Leu	Glu	Gly
	His	Trp	Ala	Gln	Lys	Leu	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Gln	Thr	Pro	Glu	Gly
	His	Trp	Ala	Gln	Thr	Pro	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Gln	Thr	Leu	Glu	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Pro	Glu	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Pro	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Glu	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Glu	Asp
	Ser	Gln	Thr	Gln	Thr	Leu	Asp	Gly
	Ser	Gln	Thr	Glu	Lys	Leu	Asp	Gly
	Ser	Gln	Thr	Glu	Thr	Pro	Asp	Gly
	Ser	Gln	Thr	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly
	Ser	Gln	Thr	Glu	Thr	Leu	Asp	Asp
	Ser	Gln	Ala	Gln	Lys	Leu	Asp	Gly
	Ser	Gln	Ala	Gln	Thr	Pro	Asp	Gly
	Ser	Gln	Ala	Gln	Thr	Leu	Glu	Gly
	Ser	Gln	Ala	Gln	Thr	Leu	Asp	Asp
	Ser	Gln	Ala	Glu	Lys	Pro	Asp	Gly
	Ser	Gln	Ala	Glu	Lys	Leu	Glu	Gly
	Ser	Gln	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Asp
	Ser	Gln	Ala	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly
	Ser	Gln	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Asp

10

20

30

40

【表 1 3 - 4】

	Ser	Gln	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Asp
	Ser	Trp	Thr	Gln	Lys	Leu	Asp	Gly
	Ser	Trp	Thr	Gln	Thr	Pro	Asp	Gly
	Ser	Trp	Thr	Gln	Thr	Leu	Glu	Gly
	Ser	Trp	Thr	Gln	Thr	Leu	Asp	Asp
	Ser	Trp	Thr	Glu	Lys	Pro	Asp	Gly
	Ser	Trp	Thr	Glu	Lys	Leu	Glu	Gly
	Ser	Trp	Thr	Glu	Lys	Leu	Asp	Asp
	Ser	Trp	Thr	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly
	Ser	Trp	Thr	Glu	Thr	Pro	Asp	Asp
	Ser	Trp	Thr	Glu	Thr	Leu	Glu	Asp
	Ser	Trp	Ala	Gln	Lys	Pro	Asp	Gly
	Ser	Trp	Ala	Gln	Lys	Leu	Glu	Gly
	Ser	Trp	Ala	Gln	Lys	Leu	Asp	Asp
	Ser	Trp	Ala	Gln	Thr	Pro	Glu	Gly
	Ser	Trp	Ala	Gln	Thr	Pro	Asp	Asp
	Ser	Trp	Ala	Gln	Thr	Leu	Glu	Asp
	Ser	Trp	Ala	Glu	Lys	Pro	Glu	Gly
	Ser	Trp	Ala	Glu	Lys	Pro	Asp	Asp
	Ser	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Glu	Asp
	Ser	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Glu	Asp
	His	Gln	Thr	Gln	Lys	Leu	Asp	Gly
	His	Gln	Thr	Gln	Thr	Pro	Asp	Gly
	His	Gln	Thr	Gln	Thr	Leu	Glu	Gly
	His	Gln	Thr	Gln	Thr	Leu	Asp	Asp
	His	Gln	Thr	Glu	Lys	Pro	Asp	Gly
	His	Gln	Thr	Glu	Lys	Leu	Glu	Gly
	His	Gln	Thr	Glu	Lys	Leu	Asp	Asp
	His	Gln	Thr	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly
	His	Gln	Thr	Glu	Thr	Pro	Asp	Asp
	His	Gln	Thr	Glu	Thr	Leu	Glu	Asp
	His	Gln	Ala	Gln	Lys	Pro	Asp	Gly
	His	Gln	Ala	Gln	Lys	Leu	Glu	Gly
	His	Gln	Ala	Gln	Lys	Leu	Asp	Asp
	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Pro	Glu	Gly
	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Pro	Asp	Asp
	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Leu	Glu	Asp

10

20

30

40

【0150】

一実施態様において、レプチンは、配列：I l e P r o G l y L e u H i s
P r o I l e L e u T h r L e u S e r L y s X a a A s p X a a
T h r L e u A l a V a l T y r X a a X a a I l e L e u T h r
S e r X a a P r o S e r A r g X a a V a l I l e X a a I l
e S e r X a a A s p L e u G l u X a a L e u A r g A s p L e
u L e u H i s V a l L e u A l a P h e S e r L y s S e r C y

50

s His Leu Pro Xaa Ala Ser Gly Leu Glu Thr
r Leu Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala
a Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Le
u Ser Arg Leu Xaa Gly Ser Leu Xaa Asp Xa
a Leu Xaa Xaa Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cy
s (配列番号：573) [式中、位置13のXaaはIle, Leu, Metまたは
メチオニンメチオニンスルホキシド；位置15のXaaはGlnまたはGlu；位置21
のXaaはGlnまたはGlu；位置22のXaaはGlnまたはGlu；位置27のX
aaはIle、Leu, Metまたはメチオニンスルホキシド；位置31のXaaはA
asn、AspまたはGln；位置34のXaaはGlnまたはGlu；位置37のXaa 10
はAsn, AspまたはGln；位置41のXaaはAsn、AspまたはGln；位
置59のXaaはTrpまたはGln；位置89のXaaはGlnまたはGlu；位置9
3のXaaはGlnまたはGlu；位置95のXaaはIle、Leu、Metまたはメ
チオニンスルホキシド；位置97のXaaはTrpまたはGlnであって；位置98のX
aaはGlnまたはGluである]である。別の実施態様において、前記式のレプチンは
、位置13のXaaはMet；位置15のXaaはGln；位置21のXaaはGln；
位置22のXaaはGln；位置27のXaaはMet；位置31のXaaはAsn；位
置34のXaaはGln；位置37のXaaはAsn；位置41のXaaはAsn；位置
59のXaaはTrp；位置89のXaaはGln；位置93のXaaはGln；位置9
5のXaaはMet；位置97のXaaはTrpであって；位置98のXaaはGlnを 20
有する。米国特許第5532336号明細書参照。

【0151】

例示的レプチン類似体としては、位置43のアミノ酸がAspまたはGluで置換され
る、位置48がAlaで置換される、位置49がGluで置換されるか、または不在であ
る、位置75がAlaで置換される、位置89がLeuで置換される、位置93がAsp
またはGluで置換される、位置98がAlaで置換される、位置117がSerで置換
される、位置139がLeuで置換される、位置167がSerで置換される、およびそ
れらの任意の組み合わせの場合のものが挙げられる。

【0152】

特定の例示的レプチンおよびレプチン活性を持つレプチン類似体としては以下のものが 30
挙げられる：

【0153】

【表 1 4】

	⁴³ Asp-レプチン
	⁴³ Glu-レプチン
	⁴⁸ Ala-レプチン
	⁴⁹ Glu-レプチン
	⁴⁹ Des-AA-レプチン
	⁷⁵ Ala-レプチン
	⁸⁹ Leu-レプチン
	⁹⁸ Asp-レプチン
	⁹⁸ Glu-レプチン
	⁹⁸ Ala-レプチン
	¹¹⁷ Ser-レプチン
	¹³⁹ Leu-レプチン
	¹⁶⁷ Ser-レプチン
	⁴³ Asp, ⁴⁹ Glu-レプチン
	⁴³ Asp, ⁷⁵ Ala-レプチン
	⁸⁹ Leu, ¹¹⁷ Ser-レプチン
	⁹⁸ Glu, ¹⁶⁷ Ser-レプチン

10

20

【0 1 5 4】

P P FまたはP Y Yファミリー 本発明に有用な成分ペプチドホルモンとしては、P Y Y、およびP Y Y-N P Yのキメラを含む、腓ポリペプチドファミリー（P P F）ペプチドホルモンもまた挙げられる。未変性P P Fペプチドホルモンは、機能性ペプチド類似体および誘導体と同様、当該技術分野において周知である。特定の例示的未変性ペプチド、ペプチド類似体および誘導体が本明細書に記載されるが、当該技術分野において知られたホルモン活性を呈する任意の既知のP Y Yファミリーペプチドが本発明と併せて使用されてもよいことは認識されるべきである。

【0 1 5 5】

代謝性疾患および障害に関与するペプチドホルモンのさらに別のファミリーは腓ポリペプチドファミリー（「P P F」）である。腓ポリペプチド（「P P」）はインスリン抽出物の混入物として発見され、機能的な重要性よりむしろ起源であるその器官によって名づけられた（キメル（K i m m e l）ら、Endocrinology 83:1323-30頁（1968年））。P Pは特有の構造モチーフを含む36アミノ酸ペプチドである。関連ペプチドがその後腸の抽出物中で発見され、NおよびC末端チロシンからペプチドY Y（「P Y Y」）と名づけられた（タテモト（T a t e m o t o）、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79:2514-8頁（1982年））。第3の関連ペプチドが後に脳の抽出物中に見出され、神経ペプチドY（「N P Y」）と名づけられた（タテモト（T a t e m o t o）、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79:5485-9頁（1982年）；タテモト（T a t e m o t o）ら、Nature 296:659-60頁（1982年））。

30

40

【0 1 5 6】

これら3個の関連ペプチドは様々な生物学的効果を発揮することが報告されている。P Pの効果としては腓分泌の阻害および胆嚢の弛緩が挙げられる。中枢投与されたP Pは視床下部および脳幹に局在する受容体により媒介され得る摂食に中程度の増加を生じさせる（ゲレルト（G e h l e r t）、Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 218:7-22頁（1998年）に概説される）。

【0 1 5 7】

P Y Yの放出は食事後に起こる。P Y Yの代替の分子型はP Y Y（3-36）である（

50

エバーレイン (Eberlein) ら、Peptides 10:797-803頁 (1989年) ; グラント (Grandt) ら、Regul. Pept. 51:151-9頁 (1994年))。この断片はヒトおよびイヌ腸抽出物中の全PYY様免疫応答のおよそ40%および絶食状態における全血漿PYY免疫応答の約36%から食事後わずかに50%を超えるまでを構成する。これは明らかにPYYのジペプチジルペプチダーゼ-IV (DPP4) 切断産物である。PYY (3-36) は報告によればY2およびY5受容体における選択的リガンドであり、これはN末端切断NPY類似体 (すなわち、NPY類似体のC末端断片) を選好する点において薬理的に固有のように見える。PYYの末梢投与は報告によれば胃酸分泌、胃運動性、膵外分泌 (ヨシナガ (Yoshinaga) ら、Am. J. Physiol. 263:G695-701頁 (1992年) ; グアン (Guan) ら、Endocrinology 128:911-6頁 (1991年) ; パパス (Pappas) ら、Gastroenterology 91:1386-9頁 (1986年))、胆嚢収縮および腸運動 (サバージュ (Savage) ら、Gut 28:166-70頁 (1987年)) を低減する。PYYの胃排出、胃運動性および胃酸分泌に対する中枢注射の効果は、後脳/脳幹中またはその周囲への直接注射後に見られるとおり (チェンおよびロジャース (Chen and Rogers)、Am. J. Physiol. 269:R787-92頁 (1995年) ; チェン (Chen) ら、Regul. Pept. 61:95-98頁 (1996年) ; ヤングおよびタッシュ (Yang and Tache)、Am. J. Physiol. 268:G943-8頁 (1995年) ; チェン (Chen) ら、Neurogastroenterol. Motil. 9:109-16頁 (1997年))、末梢注射後に観察されるそれらの効果とは異なり得る。例えば、中枢注射されたPYYは、胃酸分泌が刺激され、阻害はされなかった点において、末梢注射されたPYY (3-36) について本明細書に記載されるものとは反対のある効果を有した。胃運動性はTRH刺激との併用においてのみ抑制されたが、単独投与時にはされなかったとともに、実際にPP受容体との推定される相互作用を通じて高容量で刺激性であった。PYYは中枢投与後に食物および水分摂取を刺激することが示されている (モルリー (Morley) ら、Brain Res. 341:200-3頁 (1985年) ; コープ (Corp) ら、Am. J. Physiol. 259:R317-23頁 (1990年))。

【0158】

当該技術分野において知られた任意のPPF類似体または誘導体が本発明におけるGI成分と併せて使用されてもよい。一実施形態において、PPF類似体および誘導体は未変性PPFポリペプチドの少なくとも1種のホルモン活性を有する。特定の実施形態において、PPF類似体は未変性PPFポリペプチドが特異的結合能を有する受容体のアゴニストである。例示的PPF類似体および誘導体としては、それらの全体が参照により本明細書に援用される、国際公開第03/026591号パンフレットおよび国際公開第03/057235号パンフレットに記載されるものが挙げられる。

【0159】

一実施形態において、少なくとも1個のPPFホルモン活性を呈する好ましいPPF類似体および誘導体は一般的に、ポリプロリンモチーフおよびC末端テールモチーフを含む少なくとも2個のPYYモチーフを含んでなる。かかる類似体は一般的に、ここに出典明示して本明細書の一部とみなす、2004年2月11日に出版され、2006年6月22日にUS2006/013547A1として公開された米国仮特許出願第60/543,406号明細書に記載される。他の好ましいPPF類似体は、ここに出典明示して本明細書の一部とみなす、2005年8月25日にWO2005/077094として公開された、「Pancreatic Polypeptide Family Motifs and Polypeptides Comprising the Same」と題される、PCT/US第2005/004351号明細書に記載される。他の好ましいPPF類似体は、ここに出典明示して本明細書の一部とみなす、2006年6月22日にWO2006/066024として公開された、「Pancreatic Polypept

ide Family Motifs, Polypeptides and Methods Comprising the Same」と題される、PCT/US第2005/045471号明細書に記載される。背景を踏まえ、PYYファミリーペプチドが結合する受容体は一般的にY受容体と称されるとともに、研究はY受容体結合親和性における差異が二次および三次構造的差異と相関していることを示唆する。例えば、キエール（Keire）ら、Biochemistry 2000、39、9935-9942頁を参照されたい。未変性ブタPYYは残基23、24、および25での捻れ、残基12-14を中心とした反転、および残基30および31の近辺で折り畳まれるN末端により分離される残基17-22および25~33由来の2個のC末端らせん状セグメントを含むものとして特徴づけられている。さらに、完全長ブタPYYは、NおよびC末端中の残基間の疎水性相互作用により安定化されるPPフォールドを含むものとして特徴づけられている。同文献参照。

10

【0160】

「PYYモチーフ」は一般的に、生物学的活性に必須である、すなわち、生物学的活性がモチーフの不在下または妨害下で実質的に減少する未変性PPファミリーポリペプチドの、一次、二次、または三次の、構造的要素である。好ましいPYYモチーフとしては、未変性PPファミリーポリペプチドのN末端ポリプロリンII型モチーフ、未変性PPファミリーポリペプチドのII型β反転モチーフ、未変性PPファミリーポリペプチドのC末端側終端でのαらせんモチーフ、および未変性PPファミリーポリペプチドのC末端テールモチーフが挙げられる。より詳細には、N末端ポリプロリン領域において、未変性PPファミリーポリペプチドの残基5および8に対応するアミノ酸は一般的にプロリンとして保存されている。II型β反転モチーフは一般的に未変性PPファミリーポリペプチドの残基12-14に対応するアミノ酸を含むであろう。αらせんモチーフは一般的に未変性PPファミリーポリペプチドのおよそ残基14に対応するアミノ酸からC末端側終端に至るとともにそれを含む任意の箇所まで、αらせんモチーフが溶液中でαらせん反転が形成されるのに十分な数のアミノ酸残基を含む限り、伸長できる。αらせんモチーフはまた、αらせん反転が溶液中でなお形成される限り、未変性PPファミリー配列に対するアミノ酸置換、挿入および欠失も含むことができる。C末端テールモチーフは一般的に、未変性PPファミリーポリペプチドの最後のおよそ10残基、より好ましくは未変性PPファミリーポリペプチドの最後の7、6、または5残基、およびより好ましくはアミノ酸残基32-35に対応するアミノ酸を含む。

20

30

【0161】

好ましいPYY類似体としては、ポリプロリンモチーフおよび／またはC末端テールモチーフに対応しないPYY分子の範囲に内部欠失、挿入、および置換を伴うものが挙げられる。例えば、位置4、6、7、9、または10位での内部欠失が想定される。

【0162】

特に注目される別の実施態様において、成分ホルモンは、少なくともN末端ポリプロリンPPFモチーフおよびC末端テールPPFモチーフを含む、少なくとも2つのPPFモチーフを含むPPFポリペプチドである。本明細書に用いた「モチーフ」とは、特定の生化学的機能の特徴であるか、または独立して折り畳まれたドメインを規定するアミノ酸配列をいう。追加のPPFモチーフは、PP、PYYおよびNPYを含めたいずれかのPPファミリーポリペプチドのモチーフ、例えば、PYYのタイプIIβターン領域モチーフまたはPYYのC末端のα-らせんモチーフに対応できる。

40

【0163】

まだ別の実施態様において、PPFファミリー成分モジュールは、第2のPP、PYYまたはNPYポリペプチドの少なくとも1つの追加の断片に共有結合したPP、PYYまたはNPYポリペプチドの断片を含むPPFキメラポリペプチドであり、ここに、各PP、PYYまたはNPY断片はPPFモチーフを含む。あるいは、PPFキメラは、1、2、3または4個のポリペプチドセグメントに連結したPPファミリーポリペプチドの断片を含むことができ、ここに、少なくとも1つの連結したポリペプチドセグメントは、第2

50

の P P ファミリーポリペプチドの断片である。ある実施態様において、P P F ポリペプチドは、C 末端 N P Y 断片を持つ N 末端 P P 断片を含まない。P P F キメラポリペプチド成分モジュールは、全長の P Y Y (3 - 3 6) にわたり、未変性 P Y Y (3 - 3 6) に少なくとも 5 0 % の配列同一性を示すであろう。いくつかの実施態様において、かかるキメラポリペプチドは、全長の P Y Y (3 - 3 6) にわたり、少なくとも 6 0 % 、少なくとも 7 0 % 、少なくとも 8 0 % 、少なくとも 9 0 % 、少なくとも 9 2 % 、少なくとも 9 4 % または少なくとも 9 7 % の配列同一性を示すことができる。かかる P P F キメラポリペプチドは、未変性の P P に少なくとも 5 0 % 、少なくとも 6 0 % 、少なくとも 7 0 % 、少なくとも 8 0 % 、少なくとも 9 0 % 、少なくとも 9 2 % 、少なくとも 9 4 % または少なくとも 9 7 % の配列同一性を示すことができる。まだ別の実施態様において、かかる P P F キメラポリペプチドは、未変性の N P Y に少なくとも 5 0 % 、少なくとも 6 0 % 、少なくとも 7 0 % 、少なくとも 8 0 % 、少なくとも 9 0 % 、少なくとも 9 2 % 、少なくとも 9 4 % または少なくとも 9 7 % の配列同一性を示すことができる。いくつかの実施態様において、P P F キメラポリペプチドは、N 末端ポリプロリン P P F モチーフおよび C 末端テール P P F モチーフを含むことができる。これらの P P F キメラならびに他の P Y Y および P P 類似体は、2 0 0 6 年 6 月 2 2 日に公開された U S 2 0 0 6 / 0 1 3 5 4 7 A 1 に記載されている。一実施態様において、P P F ファミリーペプチドのいずれも、ハイブリッド成分として含有されないならば、第 2 の剤、例えば、第 2 の抗肥満剤として本明細書に記載したハイブリッドで提供できる。

10

【 0 1 6 4 】

20

さらに、P P F キメラポリペプチドは、少なくとも部分的に、未変性のヒト P P 、 P Y Y または N P Y の生物学的活性を一般的に保持するであろう。いくつかの実施態様において、P P F キメラポリペプチドは、代謝性疾患および障害の治療および予防における生物学的活性を示す。

【 0 1 6 5 】

P P F キメラのポリペプチド断片は、限定されるものではないが、直接的なアミド結合または化学的リンカー基を含めた当該技術分野において知られたいずれの方法においても一緒に共有結合できる。化学的リンカー基は、ポリペプチド立体構造を誘導または安定化するポリペプチド模倣物を含み得る。P P F キメラポリペプチドは、P Y Y - P P 、 P Y Y - N P Y 、 P P - P Y Y 、 P P - N P Y 、 N P Y - P P または N P Y - P Y Y キメラを含む。

30

【 0 1 6 6 】

P P F キメラは、長さが少なくとも 2 1 、 2 2 、 2 3 、 2 4 、 2 5 、 2 6 、 2 7 、 2 8 、 2 9 、 3 0 、 3 1 、 3 2 、 3 3 または 3 4 個のアミノ酸で有り得る。いくつかの実施態様において、P Y Y 類似体ペプチドは、天然 L - アミノ酸残基および／または修飾された天然の L - アミノ酸残基だけを含む。いくつかの実施態様において、P Y Y 類似体ポリペプチドは、非天然のアミノ酸残基を含まない。

【 0 1 6 7 】

いくつかの実施態様において、P P F キメラポリペプチドには、h P P (1 - 7) - p N P Y 、 h P P (1 - 1 7) - p N P Y 、 h P P (1 9 - 2 3) - p N P Y 、 h P P (1 9 - 2 3) - P r o ^{3 4} p N P Y 、 h P P (1 9 - 2 3) - H i s ^{3 4} p N P Y 、 r P P (1 9 - 2 3) - p N P Y 、 r P P (1 9 - 2 3) - P r o ^{3 4} p N P Y 、 r P P (1 9 - 2 3) - H i s ^{3 4} p N P Y 、 h P P (1 - 1 7) - H i s ^{3 4} p N P Y 、 p N P Y (1 - 7) - h P P 、 p N P Y (1 - 7 、 1 9 - 2 3) - h P P 、 c P P (1 - 7) - p N P Y (1 9 - 2 3) - h P P 、 c P P (1 - 7) - N P Y (1 9 - 2 3) - H i s ^{3 4} h P P 、 h P P (1 - 1 7) - H i s ^{3 4} p N P Y 、 h P P (1 9 - 2 3) - p N P Y 、 h P P (1 9 - 2 3) - P r o ^{3 4} p N P Y 、 p N P Y (1 - 7) - h P P 、 p N P Y (1 9 - 2 3) - h P P 、 p N P Y (1 9 - 2 3) - G l n ^{3 4} h P P 、 p N P Y (1 9 - 2 3) - H i s ^{3 4} h P P 、 p N P Y (1 9 - 2 3) - P h e ⁶ G l n ^{3 4} h P P 、 p N P Y (1 9 - 2 3) - P h e ⁶ H i s ^{3 4} h P P 、 p N P Y (1 - 7 、 1 9 - 2 3) - h P P

40

50

P、pNPY (1-7, 19-23) - Gln^{3 4} hPP、cPP (20-23) - Pro^{3 4} - pNPY、cPP (21-23) - Pro^{3 4} - pNPY、cPP (22-23) - Pro^{3 4} - pNPY、cPP (1-7) - Pro^{3 4} - pNPY、cPP (20-23) - Pro^{3 4} - pNPY、cPP (1-7, 20-23) - Pro^{3 4} - pNPY、cPP (1-7) - pNPY (19-23) - hPP、cPP (1-7) - pNPY (19-23) - His^{3 4} hPP、cPP (1-7) - gPP (19-23) - hPP、cPP (1-7) - pNPY (19-23) - Ala^{3 1} Aib^{3 2} Gln^{3 4} - hPP、cPP (1-7) - pNPY (19-23) - Ala^{3 1} Aib^{3 2} His^{3 4} - hPP、hPP (1-7) - Ala^{3 1} Aib^{3 2} - pNPY、hPP (1-17) - Ala^{3 1} Aib^{3 2} - pNPY、pNPY (1-7) - Ala^{3 1} Aib^{3 2} Gln^{3 4} - hPPまたはpNPY (1-7, 19-23) - Ala^{3 1} Aib^{3 2} Gln^{3 4} - hPPが挙げられる。

10

【0168】

いくつかの実施態様において、PPFキメラポリペプチドは、PPファミリー類似体ポリペプチドの断片を含むことができる。例えば、PPFキメラポリペプチドは、本明細書に記載されたPPF類似体ポリペプチドならびにPP類似体ポリペプチドおよびNPY類似体ポリペプチドを含み得る。

【0169】

本発明のGIPハイブリッドに用いる、または第2の剤としてGIPハイブリッドと投与されるYYY類似体ポリペプチドは、(食物摂取、胃排出、膵臓分泌、体組成または体重低下アッセイを含めた)本明細書に記載されたアッセイの一つにおける効力を有するものであり、それは、その同一アッセイ方法において、NPY、YYYまたはYYY (3-36)の効力に等しいまたはその効力より大きい。いくつかの実施態様において、GIPハイブリッド成分に用いるPPY類似体ポリペプチドは、例えば、肥満、インスリン抵抗性症候群(シンドロームX)または真性糖尿病のごとき代謝性疾患の処置に有用で有り得る。いくつかの実施態様において、GIPハイブリッドに用いるYYY類似体ポリペプチドは、PP、NPY、YYYまたはYYY (3-36)に比較して、製造の容易さ、安定性および/または処方の容易さの改善を示し得る。

20

【0170】

いくつかの実施態様において、PPFキメラポリペプチド成分部分は、栄養利用性の低下、食物摂取の低下、体重増加の効果、および/または代謝性疾患および障害の治療および予防に関して未変性のヒトYYYの生物学的活性の少なくとも約25%、または約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約95%、約98%、約99%パーセントからを保持する。別の実施態様において、GIPハイブリッドに用いるPPFキメラポリペプチドは、YYYアゴニスト活性の改善を示す。いくらかの実施態様において、PPFキメラポリペプチドは、栄養利用性の低下、食物摂取の低下、体重増加の効果、および/または代謝性疾患および障害の治療および予防に関して未変性のヒトYYYの生物学的活性の少なくとも約110%、約125%、約130%、約140%、約150%、約200%またはそれを超える生物活性を示す。

30

【0171】

より詳しくは、一態様において、PPFキメラポリペプチドは、YYYの断片に連結したPPの断片を含む。一実施態様において、PPFキメラポリペプチドは、そのC末端終端にてYYYまたはYYY類似体ポリペプチドのC末端断片に連結したPPまたはPP類似体ポリペプチドのN末端断片を含む。別の実施態様において、PPFキメラポリペプチドは、そのC末端終端にてPPまたはPP類似体ポリペプチドのC末端断片に連結したYYY、YYY (3-36)またはYYY類似体ポリペプチドのN末端断片を含む。

40

【0172】

いくつかの実施態様において、PPFキメラポリペプチドは、NPYの断片に連結したYYYの断片を含む。一実施態様において、PPFキメラポリペプチドは、そのC末端終端にてYYYまたはYYY類似体ポリペプチドのC末端断片に連結したYYY、YYY (

50

3-36) または P Y Y 類似体ポリペプチドの N 末端断片を含む。別の実施態様において、P P F キメラポリペプチドは、その C 末端終端にて P Y Y または P Y Y 類似体ポリペプチドの C 末端断片に連結した N P Y または N P Y 類似体ポリペプチドの N 末端断片を含む。

【0173】

いくつかの具体例において、P P F キメラポリペプチドは、N P Y の断片に連結した P P の断片を含む。一実施態様において、P P F キメラポリペプチドは、その C 末端終端にて N P Y または N P Y 類似体ポリペプチドの C 末端断片に連結した P P または P P 類似体ポリペプチドの N 末端断片を含む。別の実施態様において、P P F キメラポリペプチドは、その C 末端終端にて P P または P P 類似体ポリペプチドの C 末端断片に連結した N P Y または N P Y 類似体ポリペプチドの N 末端断片を含む。

10

【0174】

いくらかの実施態様において、P P、P P 類似体ポリペプチド、P Y Y、P Y Y (3-36)、P Y Y 類似体ポリペプチド、N P Y または N P Y 類似体ポリペプチドの断片は、P P、P P 類似体ポリペプチド、P Y Y、P Y Y (3-36)、P Y Y 類似体ポリペプチド、N P Y、または N P Y 類似体ポリペプチドの 4~20 個のアミノ酸残基をいずれかに含む断片である。いくつかの実施態様において、断片の長さが、長さが少なくとも 34 個のアミノ酸の最終 P P F キメラポリペプチドを得るように選択される。

【0175】

また、G I P ハイブリッドに用いた場合の P P F キメラポリペプチドは、限定されるものではないが、かかる P P F キメラポリペプチドのアミノ酸配列に対する置換、欠失および挿入ならびにそのいずれかの組合せを含めたさらなる修飾を含み得る。いくつかの実施態様において、P P F キメラポリペプチドは、「非必須の」アミノ酸残基の 1 またはそれを超える修飾を含む。「非必須の」アミノ酸残基は、注目する活性を消滅または実質的に低下させることなく、未変性のヒトアミノ酸配列において改変できる、すなわち、欠失または置換できる残基である。

20

【0176】

また、P P F キメラポリペプチドの誘導体は、G I P ハイブリッドに有用である。かかる誘導体には、ポリエチレングリコール（「PEG」）または種々の長さ（例えば、ステアрил、パルミトイル、オクタノイル、オレオイル等）の脂肪酸鎖のごとき 1 またはそれを超える水可溶ポリマー分子にコンジュゲートしたか、またはポリ-*h i s*、ポリ-*a r g*、ポリ-*l y s* およびポリ-*a l a* のごときポリアミノ酸の付加による P P F キメラポリペプチドが挙げられる。また、P P F キメラポリペプチドに対する修飾は、短鎖アルキルおよび拘束アルキル（例えば、分岐、環状、縮合、アダマンチル）ならびに芳香族基のごとき小分子置換を含むことができる。いくつかの実施態様において、水可溶性ポリマー分子は、約 500~約 20,000 ダルトンの範囲の分子量を有するであろう。

30

【0177】

かかるポリマー-コンジュゲーションおよび小分子置換修飾は、アミノ酸残基の N もしくは C 末端またはその側鎖にて特に生じてよく、それは P P F キメラポリペプチドの配列内のハイブリッドの形成に関与しない。あるいは、P P F キメラポリペプチドに沿った誘導体化の複数の部位が存在し得る。1 またはそれを超えるアミノ酸のリジン、アスパラギン酸、グルタミン酸またはシステインの置換は、誘導体化の追加の部位を提供し得る。例えば、米国特許第 5,824,784 号および第 5,824,778 号明細書参照。いくらかの実施態様において、P P F キメラポリペプチドは、1、2 または 3 個のポリマー分子にコンジュゲートし得る。

40

【0178】

いくつかの実施態様において、水可溶性ポリマー分子は、アミノ、カルボキシルまたはチオール基に連結され、N または C 末端によりまたはリジン、アスパラギン酸またはシステインの側鎖にて連結し得る。別法として、水可溶性ポリマー分子は、ジアミンおよびジカルボキシル基と連結し得る。いくつかの実施態様において、P P F キメラポリペプチド

50

は、1、2または3個のPEG分子にリジンアミノ酸のイプシロン基を介してコンジュゲートされる。

【0179】

また、PPFキメラポリペプチドには、1またはそれを超えるアミノ酸残基に対する化学的改変を含むPPFキメラポリペプチドが挙げられる。かかる化学的改変には、アミド化、グリコシル化、アシル化、硫酸化、リン酸化、アセチル化および環化が挙げられる。化学的改変は、PPFキメラポリペプチドの配列内のアミノ酸残基のNまたはC末端または側鎖にて特に生じ得る。一実施態様において、これらのペプチドのC末端は、遊離-OHまたは-NH₂基を有し得る。別の実施態様において、N末端は、イソブチルオキシカルボニル基、イソプロピルブチルオキシカルボニル基、n-ブトキシオキシカルボニル基、エトキシオキシカルボニル基、イソカプロイル基(isocap)、オクタニル基、オクチルグリシン基(G(Oct))または8-アミノオクタン酸基でキャップし得る。いくつかの実施態様において、環化は、ジスルフィド架橋の形成を介することができる。別法として、PYY類似体ポリペプチドに沿った複数の部位の化学的改変が存在し得る。

【0180】

いくつかの実施態様において、PPFキメラポリペプチドには、US2006/013547A1の配列番号238~347のアミノ酸配列を有するものが挙げられる。

【0181】

例示的PPFキメラポリペプチドは、式(VI)：

Xaa₁ Xaa₂ Xaa₃ Xaa₄ Pro Glu Xaa₇ Pro Xaa₉ Glu
Asp Xaa₁₂ Xaa₁₃ Xaa₁₄ Glu Xaa₁₆ Xaa₁₇ Xaa₁₈
Xaa₁₉ Tyr Xaa₂₁ Xaa₂₂ Xaa₂₃ Leu Xaa₂₅ Xaa₂₆
Tyr Xaa₂₈ Asn Xaa₃₀ Xaa₃₁ Thr Arg Gln Xaa₃₅
Xaa₃₆ (配列番号574)

[式中、Xaa₁はTyrまたは不存在；

Xaa₂はIle、Proまたは不存在；

Xaa₃はIle、BH-修飾Lys、Lys、ValまたはPro；

Xaa₄はLys、BH-修飾Lys、Ala、SerまたはArg；

Xaa₇はAla、GlyまたはHis；

Xaa₉はGlyまたはAla；

Xaa₁₂はAlaまたはPro；

Xaa₁₃はSerまたはPro；

Xaa₁₄はPro、AlaまたはSer；

Xaa₁₆はGluまたはAsp；

Xaa₁₇はLeuまたはIle；

Xaa₁₈はAsnまたはAla；

Xaa₁₉はArg、Lys、BH-修飾Lys、GlnまたはN(Me)Ala；

Xaa₂₁はTyr、Ala、Phe、LysまたはBH-修飾Lys；

Xaa₂₂はAlaまたはSer；

Xaa₂₃はSer、AlaまたはAsp；

Xaa₂₅はArg、LysまたはBH-修飾Lys；

Xaa₂₆はHis、AlaまたはArg；

Xaa₂₈はLeuまたはIle；

Xaa₃₀はLeuまたはMet；

Xaa₃₁はVal、IleまたはLeu；

Xaa₃₅はLys、BH-修飾LysまたはArg；および

Xaa₃₆はTyr、TrpまたはPheである]

のポリペプチドを含む。

【0182】

一実施態様において、式VIのPPFポリペプチドは、未変性のPPFポリペプチド、PYY(2-36)、Val3hPYY(3-36)、Lys25hPYY(3-36)、Lys25Ile28hPYY(3-36)、Lys25Ile31hPYY(3-36)、Lys25Leu31hPYY(3-36)、Lys25Phe36hPYY(3-36)、Ile28hPYY(3-36)、Ile31hPYY(3-36)、Leu31hPYY(3-36)、Phe36hPYY(3-36)、Leu31Phe36hPYY(3-36)またはPro13Ala14hPYYであることができる。

【0183】

当業者により認識されるように、式(VI)のポリペプチドは、遊離酸形態で有り得るか、またはC末端でアミド化し得る。

【0184】

いくつかの実施態様において、PPFポリペプチドは、未変性ヒトNPY(Tyr Pro Ser Lys Pro Asp Asn Pro Gly Glu Asp Ala Pro Ala Glu Asp Met Ala Arg Tyr Tyr Ser Ala Leu Arg His Tyr Ile Asn Leu Ile Thr Arg Gln Arg Tyr)(配列番号577)のアミノ酸残基18~36より実質的になるC末端断片に連結した未変性ヒトPYY(Tyr Pro Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr)(配列番号46)の最初の17アミノ酸残基より実質的になるN末端断片を含むこともでき、ここに、そのPYY断片のN末端の1またはそれを超えるアミノ酸残基が欠失または不存在で有り得、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個のアミノ酸置換は、PYYおよびNPY断片の各々になし得る。いくつかの実施態様において、PPFポリペプチドの最初の17個のアミノ酸より実質的になるN末端断片は、未変性PYYの最初の17個のアミノ酸に少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%または少なくとも97%の配列同一性を示し得る。いくつかの実施態様において、アミノ酸残基18~36より実質的になるPPFポリペプチドのC末端断片は、未変性NPYのアミノ酸残基18~36に少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%または少なくとも97%の配列同一性を示し得る。いくつかの実施態様において、PYYのN末端断片中のアミノ酸(例えば、位置5および8のプロリン、位置6、10および15のグルタミン酸塩、または位置11のアスパラギン酸塩)、および/またはNPYのC末端断片中のアミノ酸(例えば、位置20および27のチロシン、位置24のロイシン、または位置29のアスパラギン、位置32のトレオニン、位置33のアルギニンまたは位置34のグルタミン)が置換される。いくつかの実施態様において、PPFポリペプチドは、US2006/013547A1の配列番号266、267、274、282、320および436~480のアミノ酸配列を有するものを含む。いくつかの実施態様において、PPFポリペプチドは、N末端キャップをさらに含む。これらのPPFポリペプチドの例は、US2006/013547A1の配列番号282、320、437、441、444、445~447、452、454~459、461~464、466、468~470および472~480を含む。

【0185】

他のPPFポリペプチドは、式(VII)：

Xaa₁ Xaa₂ Pro Xaa₄ Pro Xaa₆ His Pro Xaa₉ Xaa₁₀
 Xaa₁₁ Xaa₁₂ Xaa₁₃ Xaa₁₄ Xaa₁₅ Xaa₁₆ Xaa₁₇ Ala Xaa₁₉ Tyr
 Xaa₂₁ Xaa₂₂ Xaa₂₃ Leu Xaa₂₅ Xaa₂₆ Xaa₂₇ Xaa₂₈ Xaa₂₉ Xaa₃₀

10

20

30

40

50

Xaa₃₁ Thr Arg Gln Arg Tyr (配列番号575),
 [式中、Xaa₁はTyrまたは不存在;
 Xaa₂はIle、Proまたは不存在;
 Xaa₄はLys、BH-修飾Lys、Ala、SerまたはArg;
 Xaa₆はGlu、Gln、Ala、Asn、AspまたはVal;
 Xaa₉はGlyまたはAla;
 Xaa₁₀はGlu、Ala、Asp、Asn、Gln、Gly、ProまたはAib;
 ;
 Xaa₁₁はGlu、Ala、Asp、Asn、Gln、Gly、ProまたはAib;
 ;
 Xaa₁₂はAlaまたはPro;
 Xaa₁₃はSerまたはPro;
 Xaa₁₄はPro、AlaまたはSer;
 Xaa₁₅はGlu、Ala、Asp、Asn、Gln、Gly、ProまたはAib;
 ;
 Xaa₁₆はGluまたはAsp;
 Xaa₁₇はLeuまたはIle;
 Xaa₁₉はArg、Lys、BH-修飾Lys、GlnまたはN(Me)Ala;
 Xaa₂₁はTyr、Ala、Phe、LysまたはBH-修飾Lys;
 Xaa₂₂はAlaまたはSer;
 Xaa₂₃はSer、AlaまたはAsp;
 Xaa₂₅はArg、LysまたはBH-修飾Lys;
 Xaa₂₆はHis、AlaまたはArg;
 Xaa₂₇はTyrまたはPhe;
 Xaa₂₈はLeuまたはIle;
 Xaa₂₉はAsnまたはGln;
 Xaa₃₀はLeuまたはMet;および
 Xaa₃₁はVal、IleまたはLeuである]のポリペプチドを含む。

【0186】

当業者により認識されるように、式VIIのポリペプチドは、GIPハイブリッド中のGIPまたは他のペプチドファミリー成分への結合に依存して、遊離酸形態で有り得るか、またはC末端でアミド化し得る。

【0187】

いくつかの実施態様において、PPFポリペプチドは、未変性ヒトNPY(US2006/013547A1の配列番号4)のアミノ酸残基18~36より実質的になるC末端断片に連結した未変性ヒトPYY(US2006/013547A1の配列番号2)の最初の17個のアミノ酸残基より実質的になるN末端断片を含むこともでき、ここに、そのPYY断片のN末端の1またはそれを超えるアミノ酸残基が欠失または不存在で有り得、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個のアミノ酸置換は、PYYおよびNPY断片の各々になし得る。いくつかの実施態様において、PPFポリペプチドの最初の17個のアミノ酸より実質的になるN末端断片は、未変性PYYの最初の17個のアミノ酸に少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%または少なくとも97%の配列同一性を示し得る。いくつかの実施態様において、アミノ酸残基18~36より実質的になるPPFポリペプチドのC末端断片は、未変性NPYのアミノ酸残基18-36に少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%または少なくとも97%の配列同一性を示し得る。いくつかの実施態様において、PYYのN末端断片中のアミノ酸(例えば、位置3、5および8のプロリンまたは位置7のヒスチジン)、および/またはNPYのC末端断片中のアミノ酸(例えば、位置18のアラニン、位置20および36のチロシン、位置24のロ

10

20

30

40

50

イシン、位置32のトレオニン、位置33のアルギニン、位置34のグルタミンまたは位置35のアルギニン)は置換されない。いくつかの実施態様において、PPFポリペプチドは、US2006/013547A1の配列番号266、437、438、439、442、462、469、470、471および472のごときPYY-NPYキメラのアミノ酸配列を有するもの、またはアミノ酸配列Ile、Lys、Pro、Glu、His、Pro、Gly、Glu、Asp、Ala、Ser、Pro、Glu、Glu、Leu、Ala、Arg、Tyr、Tyr、Ala、Ser、Leu、Arg、Ala、Tyr、Ile、Asn、Leu、Ile、Thr、Arg、Gln、Arg、Tyr-NH₂(配列番号456)を持つPYY-NPYキメラ化合物を含む。いくつかの実施態様において、PPFポリペプチドは、N末端キャップをさらに含む。これらのPPFポリペプチドの例は、US2006/013547A1の配列番号437、462、469、470および472を含む。例えば、US2006/013547A1の配列438は、Pro Lys Pro Glu His Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Ala Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg Ala Tyr Ile Asn Leu Ile Thr Arg Gln Arg Tyr(配列番号576)である。一実施態様において、本発明のハイブリッドは、特に、肥満を処置する、体重を低下させる、脂肪を低下または再分布する、およびカロリー摂取を低下させるのに有用なGIPハイブリッドにおいて、一つの成分として、US2006/013547A1の配列438またはアミノ酸配列Ile、Lys、Pro、Glu、His、Pro、Gly、Glu、Asp、Ala、Ser、Pro、Glu、Glu、Leu、Ala、Arg、Tyr、Tyr、Ala、Ser、Leu、Arg、Ala、Tyr、Ile、Asn、Leu、Ile、Thr、Arg、Gln、Arg、Tyr(配列番号456)を持つPYY-NPYキメラを含む。かかるGIPハイブリッドはまた、アミノ酸成分またはレプチン成分あるいは双方をさらに含有できる。

【0188】

PPFポリペプチドまたはPPFキメラ成分を含むGIPハイブリッドは、対象の体組成を改変することを含めた方法における使用を見出し、それはそのハイブリッドを対象に投与することを含み、ここに、ハイブリッドは、脂肪一対一除脂肪(lean)比を改変し、それにより、体組成を改変および改善する。一実施態様において、PPFポリペプチドは、アミノ酸配列Ile、Lys、Pro、Glu、His、Pro、Gly、Glu、Asp、Ala、Ser、Pro、Glu、Glu、Leu、Ala、Arg、Tyr、Tyr、Ala、Ser、Leu、Arg、Ala、Tyr、Ile、Asn、Leu、Ile、Thr、Arg、Gln、Arg、Tyr(配列番号456)を持つ、ならびにUS2006/013547A1からの以下の配列:配列番号266、267、274、282、320、436、437、438、439、440、441、442、443、444、445、446、447、448、449、450、451、452、453、454、455、456、457、458、459、460、461、462、463、464、465、466、467、468、469、470、471、472、473、474、475、476、477、478、479および480のPYY-NPYキメラ化合物よりなる群から選択されるアミノ酸配列を含むことができる。一実施態様において、体脂肪を低下させ、除脂肪体重を維持または増加させる。一実施態様において、体脂肪および除脂肪体重は、各々、パーセント体脂肪およびパーセント除脂肪体重として測定される。一つのさらなる実施態様において、体重を低下させる。別の実施態様において、体重を維持または増加させる。その化合物は末梢投与できる。PPFポリペプチドまたはPPFキメラまたはPPF含有GIPハイブリッドは、アミリン、アミリンアゴニストもしくはアミリン類似体アゴニスト、サケカルシトニン、コレシストキニン(CCK)もしくはCCKアゴニスト、レプチン(OB蛋白質)もしくはレプチンアゴニスト、エキセンディンもしくはエキセンディン類似体アゴニスト、GLP-1、GLP-1アゴニストもしくはGLP-1類似体アゴニスト、CCKもしくはCCKアゴニスト、カルシトニン、

10

20

30

40

50

カルシトニンアゴニスト、小分子カンナビノイドCB1受容体アゴニスト、リモナバン、
11β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ1インヒビター、シブトラミンおよび
フェンテルミンよりなる群から選択される少なくとも1つの他剤を対象に投与することを
さらに含む方法に用いることができる。一実施態様において、対象は体重超過または肥満
である。また別の実施態様において、PPFポリペプチドまたはPPFキメラ成分を含む
GIPハイブリッドは、対象における血漿中トリグリセリドレベルを優先的に低下させる
ための方法を含めた方法における使用を見出し、それは、血漿中トリグリセリドレベルを
低下させるのに有効な化合物の量を対象に投与することを含み、ここに、コレステロール
レベルは、より少ない範囲まで低下させる。さらなる実施態様において、トリグリセリド
レベルを低下させ、コレステロールレベルを低下させない。さらなる実施態様において、
トリグリセリドレベルを低下させ、LDLコレステロールレベルを低下させない。さらなる
実施態様において、トリグリセリドレベルを低下させ、LDLコレステロールレベルを
より小さな範囲まで低下させる。またさらなる実施態様においてまた、アミラーゼレベル
も低下させる。さらなる別の実施態様において、PPFポリペプチドまたはPPFキメラ
を含むGIPハイブリッドは、除脂肪体重を維持または増加しつつ、対象における体脂肪
または体脂肪増加を低下させる方法を含めた方法における使用を見出し、それは、除脂肪
体重を維持または増加しつつ、体脂肪または体脂肪増加を低下させるのに有効な化合物の
量を対象に投与することを含む。別の実施態様において、PPFポリペプチドまたはPPF
キメラを含むGIPハイブリッドは、対象における内臓体脂肪を低下させる方法を含めた
方法における使用を見出し、それは、内臓体脂肪を低下させ、除脂肪体重を維持または増
加させるのに有効な化合物の量を対象に投与することを含む。他の実施態様において、PP
FポリペプチドまたはPPFキメラを含むGIPハイブリッドは、対象における脂肪分布
を改変する方法を含めた方法における使用を見出す。一態様において、改変は、対象にお
ける内臓または異所性脂肪、またはその双方の代謝の増加から起因する。別の実施態様
において、PPFポリペプチドまたはPPFキメラを含むGIPハイブリッドは、対象にお
いて除脂肪量を保存および増加しつつ、脂肪酸β-酸化を増加させる方法を含めた方法に
おける使用を見出し、それは、除脂肪体重を保存または増加しつつ脂肪酸β-酸化を増加
させるのに有効な化合物の量を対象に投与することを含む。別の実施態様において、PP
FポリペプチドまたはPPFキメラを含むGIPハイブリッドは、対象において非アルコ
ール性脂肪性肝炎または脂肪萎縮症を処置する方法を含めた方法における使用を見出し、
それは、非アルコール性脂肪性肝炎または脂肪萎縮症を処置するのに有効な化合物の量を
対象に投与することを含む。前記の使用において特に注目されるGIPハイブリッドは、
さらにアミリン-sCT-アミリンハイブリッドのごときレプチンファミリーまたはアミ
リンファミリーあるいはその双方からの成分と組み合わせ、本明細書に記載されたPP
Fキメラを含有できる。GIP/PPF-キメラ/レプチンハイブリッドまたはGIP/
PPF-キメラ/アミリン-sCT-アミリンハイブリッドは、いずれの親化合物単独にも
優れた効果を提供するのであろう。またさらなる実施態様において、GIP/PPF-キ
メラ/レプチンハイブリッドは、アミリン-sCT-アミリンキメラのごときアミノミ
メティックと投与され、あるいはGIP/PPF-キメラ/アミリン-sCT-アミリン
ハイブリッドは、レプチンと共に投与される。

【0189】

インクレチンおよびインクレチン模倣物 本発明に有用な成分ペプチドホルモンとして
はまた、GLP-Iペプチドホルモンも挙げられる。未変性GLP-Iペプチドホルモン
は、GLP-I(1-37)、GLP-1(7-37)、およびGLP-I(7-36)
アミドを含め、機能性ペプチド類似体および誘導体と同様、当該技術分野において周知で
ある。本明細書で使用されるとき、GLP-IはGLP-Iペプチドホルモンの全ての未
変性型を参照する。特定の例示的未変性ペプチド、ペプチド類似体および誘導体が本明細
書に記載されるが、当該技術分野において知られたホルモン活性を呈する任意の既知のG
LP-Iペプチドが本発明と併せて使用されてもよいことは認識されるべきである。

【0190】

多くの代謝性疾患および障害の中樞はインスリンレベルおよび血糖レベルの調節にある。インスリン分泌はある部分、インクレチンと称される、分泌促進ホルモンにより調節され、これは腸内分泌細胞により産生される。インクレチンホルモン、グルカゴン様ペプチド-1 (「GLP-I」) は腸細胞により分泌されるペプチドホルモンであり、インスリン分泌に対し亢進効果を生むことが複数の試験で示されている。GLP-I はプログルカゴンから腸中でプロセシングされるとともに栄養誘発性インスリン放出を亢進する (クルシマン・B (Krcymann B) ら、Lancet、2:1300-1303頁 (1987年))。GLP-I の様々な切断形態が、インスリン分泌 (インスリン分泌刺激作用) および cAMP 形成を刺激することが知られている (例えば、モイソフ・S (Mojsov, S.)、Int. J. Pep. Pro. Res.、40:333-343頁 (1992年))。様々な試験管内研究室実験と、哺乳動物、特にヒトの、GLP-I、GLP-1 (7-36) アミド、および GLP-1 (7-37) 酸の外因性投与に対するインスリン分泌刺激反応との間の関係が確立されている (例えば、ノーク、M. A. (Naucek, M. A.) ら、Diabetologia、36:741-744頁 (1993年) ; グトニアック、M. (Gutniak, M.) ら、New Eng. J. of Med.、326(20):1316-1322頁 (1992年) ; ノーク、M. A. (Naucek, M. A.) ら、J. Clin. Invest.、91:301-307頁 (1993年) ; およびトレنز、B. (Thorens, B.) ら、Diabetes、42:1219-1225頁 (1993年) を参照)。

【0191】

GLP-I (7-36) アミドは、インスリン感受性を刺激することにより、および生理濃度でグルコース誘発性インスリン放出を亢進することにより、インスリン依存性糖尿病において明白な抗糖尿病誘発効果を発揮する (グトニアック・M. (Gutniak M.) ら、New Eng. J. Med.、326:1316-1322頁 (1992年))。非インスリン依存性糖尿病患者に対し投与されると、GLP-1 (7-36) アミドはインスリン放出を刺激し、グルカゴン分泌を降下させ、胃排出を亢進し、およびグルコース利用性を亢進する (ノーク (Naucek)、1993年; グトニアック (Gutniak)、1992年; ノーク (Naucek)、1993年)。しかしながら、GLP-I 型分子の糖尿病の長期治療への使用は、かかるペプチドの血清半減期がかなり短いため、複雑化されている。

【0192】

より詳細には、GLP-I は、160 アミノ酸プロホルモンであるプログルカゴン由来の30アミノ酸ペプチドである。膵および腸内の異なるプロホルモンコンバターゼの作用は結果としてグルカゴンおよび他の明確に定義されていないペプチドの産生をもたらす一方、プログルカゴンの切断は結果としてGLP-I およびGLP-2ならびに2個の他のペプチドの産生をもたらす。GLP-I のアミノ酸配列は全ての哺乳動物試験においてこれまで100%相同であり、決定的な生理学的役割を示唆する。GLP-I (7-37) 酸はC末端で切断されるとともにアミド化されてGLP-I (7-36) NH₂を形成する。遊離酸GLP-I (7-37) OH、およびアミドであるGLP-I (7-36) NH₂の生物学的効果および代謝回転は区別できない。慣例により、アミノ酸のナンバリングはプログルカゴン由来のプロセシングされたGLP-I (1-37) OHに基づく。生物学的に活性のGLP-I はさらなるプロセシングの結果、GLP-I (J-36) NH₂である。それゆえGLP-I (7-37) OHまたはGLP-I (7-36) NH₂の第1のアミノ酸は7Hisである。

【0193】

胃腸管において、GLP-I は腸、結腸および直腸粘膜のL細胞により、腔内グルコースによる刺激に反応して産生される。活性GLP-I の血漿半減期は5分未満であるとともに、その代謝クリアランス速度は約12~13分である (ホルスト (Hoist)、Gastroenterology 107(6):1848-55頁 (1994年))。GLP-I の代謝に関する主要なプロテアーゼはN末端His-Alaジペプチドを切断

するジペプチジルペプチダーゼ (DPP) IV (CD26) であり、ひいてはGLP-I受容体の不活性な、弱いアゴニストまたはアンタゴニストとして様々に記載される、代謝産物のGLP-I (9-37) OHまたはGLP-I (9-36) NH₂を産生する。GLP-I受容体 (GLP-IR) は463アミノ酸の受容体に結合されるGタンパク質であるとともに膵β細胞中、肺中、およびより少ない程度で脳、脂肪組織および腎中に局在する。GLP-I (7-37) OHまたはGLP-I (7-36) NH₂によるGLP-IRの刺激は結果としてアデニル酸シクラーゼ活性化、cAMP合成、膜脱分極、細胞内カルシウムの上昇およびグルコース誘発性インスリン分泌の増加をもたらす (ホルツ (Holz) ら、J. Biol. Chem. 270 (30) : 17749-57頁 (1995年))。

10

【0194】

GLP-Iは、食物摂取に反応して腸粘膜から分泌される強力なインスリン分泌促進物質である。GLP-Iの著明なインクレチン効果はGLP-IRノックアウトマウスがグルコース不耐性であるという事実によって強調される。静脈内注入されたGLP-Iのインクレチン反応は糖尿病対象において保たれるが、これらの患者における経口グルコースに対するインクレチン反応は損なわれる。注入または皮下注射によるGLP-I投与は糖尿病患者における空腹時グルコースレベルを制御するとともに、インスリン分泌のグルコース閾値を維持する (グトニャック (Gutniak) ら、N. Engl. J. Med. 326 : 1316-22頁 (1992年) ; ノーク (Nauck) ら、Diabet. Med. 13 : (9 補遺5) : S39-S43頁 (1996年) ; ノーク (Nauck) ら、J. Clin. Endocrinol. Metab. 76 : 912-917頁 (1993年))。GLP-Iは、スルホニル尿素薬に付随する低血糖症を回避しつつ生理学的様式でインスリン分泌の増大能を有する治療薬として驚異的な可能性を示している。

20

【0195】

GLP-Iのグルコース恒常性に対する他の重要な効果はグルカゴン分泌の抑制および胃運動性の阻害である。グルカゴンの膵α細胞分泌に対するGLP-I抑制作用は糖新生およびグリコーゲン分解の低減を介して肝グルコース産生の減少を導く。GLP-Iのこの抗グルカゴン効果は糖尿病患者において保たれる。

【0196】

胃運動性および胃分泌が阻害される、GLP-Iのいわゆる回腸制動効果は、迷走神経遠心性受容体を介して、または腸平滑筋に対する直接作用により効果が及ぼされる。胃酸分泌のGLP-Iによる低減は栄養利用性における誘導期に寄与し、ひいては急速なインスリン反応の必要性を除去する。要約すれば、GLP-Iの胃腸効果は有意にグルコースおよび脂肪酸吸収の遅延に寄与するとともにインスリン分泌およびグルコース恒常性を調節する。

30

【0197】

GLP-Iはまた、GLUT-Iトランスポーター、インスリン (インスリン遺伝子プロモーターとのPDX-Iの相互作用を介して)、およびヘキソキナーゼ-1などの、β細胞特異的遺伝子を誘発することも示されている。このようにGLP-Iは潜在的に、齧歯類実験により実証されたとおり、通常加齢に付随するグルコース不耐性を逆進させ得るであろう。加えて、GLP-Iは、β細胞不足の状態の間にβ細胞機能を回復することに加え、β細胞新生およびβ細胞量増加に寄与し得る。

40

【0198】

GLP-Iの中樞効果としては食物摂取量の減少と結びつく満腹感増加が挙げられ、視床効果は下部GLP-IRの作用を介して及ぼされる。II型糖尿病対象におけるGLP-Iの48時間連続皮下注入では、空腹感および食物摂取量を減少させたとともに満腹感を増加させた。これらの食欲減退効果はGLP-IRノックアウトマウスにはなかった。

【0199】

このようにインクレチンファミリーホルモンモジュールを含んでなるGIPハイブリッドは、GIP機能を有することに加え、考察されたとおりの、インクレチンファミリーモ

50

ジュール、例えばエキセンディン-4、GLP-1、GLP-2に付随する機能および使用を提供できる。

【0200】

当該技術分野において知られた任意のGLP-Iペプチド類似体または誘導体が本発明と併せて使用されてもよい。一実施形態において、GLP-Iペプチド類似体および誘導体は未変性GLP-Iペプチドの少なくとも1種のホルモン活性を有する。特定の実施形態において、GLP-Iペプチド類似体は未変性GLP-Iペプチドが特異的結合能を有する受容体のアゴニストである。例示的GLP-Iペプチド類似体および誘導体としては、例えば、参照により本明細書によって援用される、国際公開第91/11457号パンフレットに記載されるものが挙げられる。

10

【0201】

当該技術分野において知られたGLP-I類似体としては以下のものが挙げられる：

【0202】

【表15】

	⁹ Gln-GLP-1(7-37)
	D- ⁹ Gln-GLP-1(7-37)
	¹⁶ Thr- ¹⁸ Lys-GLP-1(7-37)
	¹⁸ Lys-GLP-1(7-37)
	⁸ Gly-GLP-1 (7-36)
	⁹ Gln-GLP-1 (7-37)
	D- ⁹ Gln-GLP-1 (7-37)
	アセチル- ⁹ Lys-GLP-1(7-37)
	⁹ Thr-GLP-1(7-37)
	D- ⁹ Thr-GLP-1 (7-37)
	⁹ Asn-GLP-1 (7-37)
	D- ⁹ Asn-GLP-1 (7-37)
	²² Ser ²³ Arg ²⁴ Arg ²⁶ Gln-GLP-1(7-37)
	¹⁶ Thr ¹⁸ Lys-GLP-1(7-37)
	¹⁸ Lys-GLP-1(7-37)
	²³ Arg-GLP-1(7-37)
	²⁴ Arg-GLP-1(7-37)

20

30

【0203】

当該技術分野において知られるように、かかるGLP-I類似体は好ましくはアミド化されてもよいが、本発明の文意の範囲内では、別段に定めない限り場合により酸性型であってもよい。

【0204】

他のGLP-I類似体および誘導体が、参照により本明細書に援用される米国特許第5,545,618号明細書に記載される。GLP-I類似体および誘導体の例示的な群としては、全体として参照により本明細書に援用される、米国特許第6,747,006号明細書に記載されるものが挙げられる。明示的に参照により援用される、米国特許第5,188,666号明細書に記載される分子の本発明における使用もまた企図される。本発明における使用のための分子の別の群としては、明示的に参照により本明細書に援用される、米国特許第5,512,549号明細書に記載される化合物が挙げられる。本発明における使用のためのGLP-I化合物の別の例示的な群は、参照により本明細書に援用される、国際公開第91/11457号パンフレットに開示される。

40

【0205】

50

別の実施形態においてG I Pまたは新規G I P類似体に伴い有用なのは、T r p ケー ジ
テール（例えば、トリプトファン（または同様の残基）（これは場合により記載されると
おり、例えば自然発生であるか、置換またはリンカーの一部として添加されるかのいずれ
かのホルモン中に有利に位置するトリプトファンの存在により、提供され得る）を伴うま
たは伴わないエキセンディンC末端配列）を伴うG L P 1 類似体である。これには以下の
ものが挙げられる：

G L P 1 (7 - 2 6) G l y 8 E x - 4 (2 1 - 3 9) :

H G E G T F T S D V S S Y L E G Q A A K L F I E W L K N G G P S S G A P P P S
- N H 2 (配列番号 7 4) ;

G L P 1 (7 - 3 3) (G 8 , E 3 0 , K 3 3) [E x - 4 (2 8 - 3 9)] : H G E G
T F T S D V S S Y L E G Q A A K E F I E W L K N G G P S S G A P P P S - N H 2 (10
配列番号 7 5) ;

G L P 1 (7 - 3 3) (G 8 , K 3 3) [E X 4 (2 8 - 3 9)] : H G E G T F T S D
V S S Y L E G Q A A K E F I A W L K N G G P S S G A P P P S - N H 2 (配列番号 7
6) ;

G L P 1 (7 - 3 3) G 8 [E x - 4 (2 8 - 3 9)] : H G E G T F T S D V S S Y L
E G Q A A K E F I A W L V N G G P S S G A P P P S - N H 2 (配列番号 7 7) ; およ
び

G L P 1 (7 - 3 5) G 8 [E x - 4 (3 0 - 3 9)] : H G E G T F T S D V S S Y L
E G Q A A K E F I A W L V K G G P S S G A P P P S - N H 2 (配列番号 7 8) 。 20

【 0 2 0 6 】

本発明のG I Pハイブリッドに有用な成分ペプチドホルモンとしてはまた、G L P - 2
ペプチドホルモンも挙げられる。未変性G L P - 2 ペプチドホルモン、例えば、ラットG
L P - 2 および、雄ウシG L P - 2、ブタG L P - 2、デグーG L P - 2、ウシG L P -
2、モルモットG L P - 2、ハムスターG L P - 2、ヒトG L P - 2、ニジマスG L P -
2、およびニワトリG L P - 2を含むその相同体が、機能性ペプチド類似体および誘導体
と同様、当該技術分野において周知である。特定の例示的未変性ペプチド、ペプチド類似
体および誘導体が本明細書に記載されるが、当該技術分野において知られたホルモン活性
を呈する任意の既知のG L P - 2 ペプチドが本発明と併せて使用されてもよいことは認識
されるべきである。 30

【 0 2 0 7 】

当該技術分野において知られた任意のG L P - 2 ペプチド類似体または誘導体が発明
と併せて使用されてもよい。一実施形態において、G L P - 2 ペプチド類似体および誘導
体は未変性G L P - 2 ペプチドの少なくとも1種のホルモン活性を有する。特定の実施形
態において、G L P - 2 ペプチド類似体は未変性G L P - 2 ペプチドが特異的結合能を有
する受容体のアゴニストである。例示的G L P - 2 ペプチド類似体および誘導体としては
、例えば、その双方が参照により本明細書によって援用される、米国特許出願第08/6
69,791号明細書およびP C T出願のP C T / C A第97/00252号明細書に記載
されるものが挙げられる。当該技術分野において知られた特異的G L P - 2 類似体とし
ては以下のものが挙げられる：A l aに対するG l yの置換によりD P P - I V耐性を供
するべく位置2位が改変されるラットまたはヒトG L P - 2。 40

【 0 2 0 8 】

本発明に有用な成分ペプチドホルモンとしてはまた、オキシントモジュリン (O X M)
ペプチドホルモンも挙げられる。未変性O X Mペプチドホルモンは、機能性ペプチド類似
体および誘導体と同様、当該技術分野において周知である。特定の例示的未変性ペプチド
、ペプチド類似体および誘導体が発明に記載されるが、当該技術分野において知られた
ホルモン活性を呈する任意の既知のO X Mペプチドが本発明と併せて使用されて
もよいことは認識されるべきである。

【 0 2 0 9 】

当該技術分野において知られた任意のO X Mペプチド類似体または誘導体が発明と併 50

せて使用されてもよい。一実施形態において、OXMペプチド類似体および誘導体は未変性OXMペプチドの少なくとも1種のホルモン活性を有する。特定の実施形態において、OXMペプチド類似体は未変性OXMペプチドが特異的結合能を有する受容体のアゴニストである。

【0210】

本発明に有用な成分ペプチドホルモンとしてはまた、エキセンディンペプチドホルモンも挙げられる。未変性エキセンディンペプチドホルモンは、機能性ペプチド類似体および誘導体と同様、当該技術分野において周知である。特定の例示的未変性ペプチド、ペプチド類似体および誘導体が本明細書に記載されるが、当該技術分野において知られたホルモン活性を呈する任意の既知のエキセンディンペプチドが本発明と併せて使用されてもよいことは認識されるべきである。

10

【0211】

エキセンディンはインスリン分泌に関与するペプチドの別のファミリーである。エキセンディンは、アリゾナに固有のトカゲであるヒラ・モンスター (*Gila-monster*)、およびメキシコドクトカゲ (*Mexican Beaded Lizard*) の唾液中に所見される。エキセンディン-3はヘロデルマ・ホルリドゥム (*Heloderma horridum*) の唾液中に存在し、およびエキセンディン-4はヘロデルマ・サスペクタム (*Heloderma suspectum*) の唾液中に存在する (エング, J. (Eng, J.) ら, *J. Biol. Chem.*、265:20259-62頁、1990年;エング, J. (Eng, J.) ら, *J. Biol. Chem.*、267:7402-05頁 (1992年))。エキセンディンはグルカゴン様ペプチドファミリーの数メンバーといくらかの配列類似性を有し、最高の同一性はGLP-Iに対し53%である (ゴーク (Goke) ら, *J. Biol. Chem.*、268:19650-55頁 (1993年))。

20

【0212】

エキセンディン-4はGLP-I受容体を、インスリン分泌TC1細胞上で、モルモット膵由来の散在する腺房細胞において、および胃由来の壁細胞において結合する;ペプチドはまた単離された胃中でソマトスタチン放出も刺激するとともにガストリン放出も阻害する (ゴーク (Goke) ら, *J. Biol. Chem.*、268:19650-55頁 (1993年);スケップ (Schepp) ら, *Eur. J. Pharmacol.*、69:183-91頁 (1994年);エイゼル (Eissele) ら, *Life Sci.*、55:629-34頁 (1994年))。エキセンディン-3およびエキセンディン-4は、膵腺房細胞上でGLP-I受容体を結合すること、膵腺房細胞中でcAMP産生を刺激すること、および膵腺房細胞からのアミラーゼ放出が所見された (マロトラ, R (Malhotra, R) ら, *Regulatory Peptides*、41:149-56頁 (1992年);ロフマン (Raufman) ら, *J. Biol. Chem.*、267:21432-37頁 (1992年);シング (Singh) ら, *Regul. Pept.*、53:47-59頁 (1994年))。真性糖尿病の処置および高血糖の予防のためのエキセンディン-3およびエキセンディン-4のインスリン分泌刺激活性の使用が提言されている (エング (Eng)、米国特許第5,424,286号明細書)。

30

40

【0213】

エキセンディン [9-39]、カルボキシアミド化分子、および断片3-39から9-39などの切断されたエキセンディンペプチドがGLP-Iの強力な、かつ選択的アンタゴニストであると報告されている (ゴーク (Goke) ら, *J. Biol. Chem.*、268:19650-55頁 (1993年);ロフマン, J. P. (Raufman, J. P.) ら, *J. Biol. Chem.*、266:2897-902頁 (1991年);スケップ, W. (Schepp, W.) ら, *Eur. J. Pharm.*、269:183-91頁 (1994年);モントローズ-ラフィザデ (Montrose-Rafizadeh) ら, *Diabetes*、45 (補遺2):152A頁 (1996年))。エキセンディン [9-39] が内在性GLP-Iを生体内で妨害する結果として、インスリン分

50

泌の低減がもたらされる（ワング（Wang）ら、J. Clin. Invest、95：417－21頁（1995年）；ダレッジオ（D'Alessio）ら、J. Clin. Invest、97：133－38頁（1996年））。明らかにGLP-Iのインスリン分泌刺激効果の原因である受容体がラット膵島細胞からクローニングされている（トレنز、B.（Thorens, B.）、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89：8641－8645頁（1992年））。エキセディンおよびエキセディン〔9－39〕はクローン化GLP-I受容体に結合する（ラット膵細胞GLP-I受容体：フェフマン・HC（Fehmann HC）ら、Peptides、15（3）：453－6頁（1994年）；ヒトGLP-I受容体：トレنز・B（Thorens B）ら、Diabetes、42（11）：1678－82頁（1993年））。クローン化GLP-I受容体をトランスフェクトされる細胞において、エキセディン－4はアゴニストである、すなわち、cAMPを増加させるが、一方エキセディン〔9－39〕はアンタゴニストである、すなわち、エキセディン－4およびGLP-Iの刺激作用を妨害する。同文献。

10

【0214】

より詳細には、エキセディン－4は、ヒラ・モンスター（Gila Monster）（ヘロデルマ・サスペクタム（Heloderma suspectum））の唾液中に所見される39アミノ酸C末端アミド化ペプチドであり、GLP-Iペプチド配列に対し53%のアミノ酸配列同一性を備える。例えば、エング、J.（Eng, J.）ら、「Isolation and Characterization of Exendin-4, and Exendin-3 Analogue from Heloderma suspectum Venom」、J. Bio. Chem.、267：11、7402－7405頁（1992年）、ヤング、A. A.（Young, A. A.）ら、「Glucose-Lowering and Insulin-Sensitizing Actions of Exendin-4」、Diabetes、第48巻、1026－1034頁、1999年5月を参照されたい。その活性の点では、エキセディン－4はGLP-I受容体の極めて特異的なアゴニストであるとともに、GLP-Iと同様、インスリン分泌を刺激することができる。それゆえ、GLP-Iと同様、エキセディン－4はインスリン分泌刺激ペプチドと見なされる。

20

【0215】

しかしながら、GLP-Iと異なり、エキセディン－4は、GLP-I配列を生体内で急速に分解するジペプチジルペプチダーゼIVに対するその耐性により、ヒトにおいて比較的長い半減期を有する。さらには、GLP-Iと比較したとき、エキセディン－4がより強いインスリン分泌刺激能を有するとともに、より低濃度のエキセディン－4がかかる刺激活性を得るため使用され得ることが示されている。例えば、参照により本明細書に援用される、米国特許第5,424,286号明細書を参照されたい。それゆえエキセディン－4ペプチドまたはその誘導体（かかる誘導体の例について、例えば、参照により本明細書に援用される、米国特許第6,528,486号明細書およびその対応する国際出願の国際公開第01/04156号パンフレットを参照）はインスリンレベルの調節不全に関する病態（例えば、糖尿病などの病態）の処置について、インスリンまたはGLP-Iのいずれよりも高い潜在的利用性を有する。このようにエキセディンファミリーホルモンモジュールを含んでなるGIPハイブリッドは、GIP機能を有することに加え、考察されるとおり、エキセディンファミリーモジュール、例えば、エキセディン－4、エキセディンテールに付随する機能および使用を提供できる。

30

40

【0216】

当該技術分野において知られた任意のエキセディンペプチド類似体または誘導体が発明と併せて使用されてもよい。一実施形態において、エキセディンペプチド類似体および誘導体は未変性エキセディンペプチドの少なくとも1種のホルモン活性を有する。特定の実施形態において、エキセディンペプチド類似体は未変性エキセディンペプチドが特異的結合能を有する受容体のアゴニストである。

50

【0217】

例示的エキセンディン類似体としては以下のものが挙げられる：

【0218】

【表16】

	¹⁴ Leu, ²⁵ Phe-エキセンディン-4
	⁵ Ala, ¹⁴ Leu, ²⁵ Phe-エキセンディン-4
	¹⁴ Leu, ²² Ala, ²⁵ Phe-エキセンディン-4

10

【0219】

当該技術分野において知られるように、かかるエキセンディン類似体は好ましくはアミド化されてもよいが、本発明の文意の範囲内では、別段に定めない限り場合により酸性型であってもよい。

【0220】

追加的な例示的エキセンディン類似体および誘導体が、1997年8月8日に出願された米国仮特許出願第60/055,404号明細書の利益を主張する、「Novel Exendin Agonist Compounds」と題される、1998年8月6日に出願されたPCT出願のPCT/US第98/16387号明細書に記載され、これらの双方が参照により本明細書に援用される。他のエキセンディン類似体および誘導体が、1997年11月14日に出願された米国仮特許出願第60/065,442号明細書の利益を主張する、「Novel Exendin Agonist Compounds」と題される、1998年11月13日に出願されたPCT出願のPCT/US第98/24210号明細書に記載され、これらの双方が参照により本明細書に援用される。いまだ他のエキセンディン類似体および誘導体が、1997年11月14日に出願された米国仮特許出願第60/066,029号明細書の利益を主張する、「Novel Exendin Agonist Compounds」と題される、1998年11月13日に出願されたPCT出願のPCT/US第98/24273号明細書に記載され、これらの双方が参照により本明細書に援用される。いまだ他のエキセンディン類似体および誘導体が、1996年8月8日に出願された米国特許出願第08/694,954号明細書の一部継続である、「Methods for Regulating Gastrointestinal Activity」と題される、1997年8月8日に出願されたPCT出願のPCT/US第97/14199号明細書に記載され、これらの双方が参照により本明細書に援用される。いまだ他のエキセンディン類似体および誘導体が、1997年1月7日に出願された米国仮特許出願第60/034,905号明細書に対する優先権を主張する、「Use of Exendins and Agonists Thereof for the Reduction of Food Intake」と題される、1998年1月7日に出願されたPCT出願のPCT/US第98/00449号明細書に記載され、これらの双方が参照により本明細書に援用される。さらに他のエキセンディン類似体および誘導体が、「Compositions for the Treatment and Prevention of Neuropathy」と題される、2003年12月19日に出願された米国特許出願公開第2004/0209803A1号明細書に記載され、ここに出典明示して本明細書の一部とみなす。

20

30

40

【0221】

カテスタチンファミリー クロモグラニンAのカテスタチン断片はニコチン性コリン作動性伝達の内在性インヒビターであり、カテコラミン分泌のネガティブフィードバック制御において機能する。我々はカテスタチンのアミノ酸配列における天然の多型を調査した。3種のヒト変異体が同定された：Gly364Ser、Pro370Leu、およびArg374Gln。

【0222】

50

ヒトカテスタチンにおける配列変異体（ヒトクロモグラニンA 352-372）およびヒトおよび他の哺乳動物における種間相同性が以下に示される。ヒトカテスタチンにおける変異位置のアミノ酸は太字で示される。カテスタチンのカルボキシ末端側における典型二塩基性タンパク質分解性切断部位が括弧〔RR〕に与えられる。ヒトクロモグラニンAについて、この〔RR〕部位はA r g 3 7 3 A r g 3 7 4である。さらなる実施形態において、一方または双方のアルギニンが不在の変異体が含まれる。カテスタチンファミリーメンバー、その類似体、誘導体または断片を含むG I Pハイブリッドが本発明の処置方法に使用を見出される。例えば、かかるハイブリッドは、高血圧症およびうっ血性心不全および関連病態を含む、本明細書中で考察されたとおりの心血管疾患および病態の処置に使用を見出されるであろう。活性G I Pホルモンモジュールと組み合わせて、化合物は本明細書に記載される救命救急病態に使用を見出されるであろう。カテスタチン種変異体としては以下のものが挙げられる：

【0223】

【表17】

マウス	RSMRLSFRTRGYGFRDPGLQL〔RR〕	CGA364-384 (配列番号79)
ラット	RSMRLSFRARGYGFRDPGLQL〔RR〕	CGA367-387 (配列番号80)
ウシ	RSMRLSFRARGYGFRGPGLQL〔RR〕	CGA344-364 (配列番号81)
ブタ	RSMRLSFRAPAYGFRGPGLQL〔RR〕	CGA343-363 (配列番号82)
ウマ	RSMKLSFRARAYGFRGPGLQL〔RR〕	CGA343-363 (配列番号83)
チンパンジー	SSMKLSFRARAYGFRGPGPQL〔RR〕	CGA354-374 (配列番号84)
ヒト:		
野生型	SSMKLSFRARAYGFRGPGPQL〔RR〕	CGA352-372 (配列番号85)
変異体	SSMKLSFRARAYSFRGPGPQL〔RR〕	(配列番号86)
変異体	SSMKLSFRARAYGFRGPGLQL〔RR〕	(配列番号87)
変異体	SSMKLSFRARAYGFRGPGPQL〔RQ〕	(配列番号88)

【0224】

ナトリウム利尿ペプチド ナトリウム利尿ペプチドは心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）、脳性ナトリウム利尿ペプチド（BNP）、およびC型ナトリウム利尿ペプチド（CNP）で構成されるホルモンのファミリーである。これらは3個の異なる前駆体プロホルモン、126アミノ酸ANP、108アミノ酸BNP、および104アミノ酸CNPとして合成されるとともに保存される。これらは別個の遺伝子により各々コードされるとともに異なる合成部位および調節機序を有する。ナトリウム利尿ペプチド親配列としては以下のものが挙げられる：

【0225】

10

20

30

【表 18】

配列番号	説明	配列
89	151 アミノ酸ヒトANPプレプロホルモン	MSSFSTTTVSFLLLLAFQLLGQTRANPMYNAVSNA DLMDFKNLLDHLEEKMPLEDEVVPPQVLSDPNEE AGAALSPLPEVPPWTGEVSPAQRDGGALGRGPWD SSDRSALLKSKLRALLTAPRSLRRSSCFGGMRDRIG AQSGLGCSFRY
90	134 アミノ酸ヒトBNPプレプロホルモン	MDPQTAPSRALLLLFLHLAFLGGRSHPLGSPGSA SDLETSGLQEQRNHLQGKLSLEQVEQTSLEPLQE SPRPTGVWKSREVATEGIRGHRKMVLYTLRAPRSP KMVQSGSCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRHH
91	126 アミノ酸ヒトCNPプレプロCNP	MHLSQLLACALLLTLLSLRPSEAKPGAPPKVPRT PAEELAEPQAAGGGQKKGDKAPGGGGANLKGDR SRLRLDLRVDTKSRAAWARLLQEHPNARKYKGAN KKGLSKGCFGLKLDRIGSMSGLGC

10

【0226】

ANPプロホルモン合成の主要部位はそれが151アミノ酸プレプロホルモンとして合成される心房筋細胞である。25アミノ酸シグナルペプチドのそのN末端側終端からの除去が小胞体中で起こり、ANPの心内での主要な貯蔵形態である126アミノ酸ANPプロホルモン（ProANP）が離れる。プロホルモンは4つの生物学的に活性なペプチドセグメントで構成される：アミノ酸1-30（ProANF1-30、長時間作用性Na刺激剤としても知られる）、31-67（ProANF31-67、血管拡張剤としても知られる）、79-98（ProANF79-98、カリウム排出剤としても知られる）、および99-126（ANF、心房性ナトリウム利尿因子としても知られる）。

20

【0227】

BNPは元来ブタ脳から単離されたが、ヒトにおいては左心室から合成されるとともに分泌される。配列解析はプレプロBNPが134残基から構成されるとともに切断されて108アミノ酸プロBNPになることを明らかにする。プロBNPのC末端側終端由来の32アミノ酸配列の切断は結果として、血漿中で生理学的活性型であるヒトBNP（77-108）をもたらす。

30

【0228】

CNPはナトリウム利尿ペプチド系の第3のメンバーであるとともに主にヒト血管内皮細胞、腎、およびブタ脳中に所見される。高濃度のCNPもまたヒト視床下部および中脳中に所見される。ヒトにおいて、プレプロCNPは23残基のそのN末端側終端からの切断によりプロCNPにプロセシングされる126アミノ酸前駆体である。この23アミノ酸配列はシグナルペプチドとして働く。末端22（105-126）アミノ酸はプロCNPから切断されてCNPの生物学的活性型を産生する。

40

【0229】

ウロジラチンはナトリウム利尿ペプチドファミリーの腎由来メンバーであるとともに同一のANPプロホルモンから形成され、およびアミノ酸95-126で構成される。4アミノ酸N末端伸長部を除き、これはANF（99-126）と同一である。ウロジラチンは腎中のナトリウムおよび水分処理の重要な調節因子、ならびにうっ血性心不全（CHF）患者におけるナトリウム排出の介在物質であると見られる。

【0230】

ナトリウム利尿ペプチドは高親和性受容体に標的細胞の表面上で結合することによりその生物学的効果を発揮する。NPRの3種のサブタイプ、NPR-A、NPR-B、およびNPR-Cが単離されている。結果的に、一実施形態においてナトリウム利尿受容体結合

50

用および／または活性化用ハイブリッドをスクリーニングする方法が提供される。プロホルモン変異体を含むナトリウム利尿ペプチドは多数のナトリウム利尿ペプチドホルモン活性を本発明のハイブリッドに供与できる。他の実施形態において興味深いのは、ナトリウム利尿アンタゴニストハイブリッドである。ナトリウム利尿とは過剰に多量のナトリウムの尿への排出である。ナトリウム利尿は、ナトリウム利尿において尿がことのほか塩気を含むことを除き、利尿（異常に大量の尿の排出）と同様である。ナトリウム利尿はある利尿薬および疾患（副腎の）に伴い起こるとともに、脱水症、嘔吐、低血圧、および突然死のリスクにより特徴づけられる塩類喪失症候群を導き得る。ANPプロホルモン（1-30、31-67、79-98、および99-126）の4個の独立した循環ペプチドの外因性投与は、生体内血管拡張、利尿、レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系の抑制およびナトリウム利尿および／またはカリウム尿亢進を生じさせる。ProANF 1-30、ProANF 31-67およびANF 99-126の各々が、血圧に対し最大の影響を有するProANF 31-67およびANF 99-126に伴うナトリウム利尿、血圧降下および利尿特性を有する。ANPペプチドにはカリウム恒常性に対する様々な効果がある：ProANF 79-98はカリウム排出を刺激するが、ProANF 31-67は髄質集合管細胞中でのNa/K-ATPアーゼの阻害によりカリウム消失を免れる。ANF 99-126に対し特異的であるのはアンジオテンシンII介在性アルドステロン分泌の用量依存性阻害であるが、proANF 31-67はプロスタグランジンを介してナトリウム利尿を誘発する特性を有する。

【0231】

BNPは正常ヒト中のANFと同様の生物学的効果を生む。BNPの正常男性への注入は、ナトリウム排出の2倍増加、血漿レニン、アンジオテンシンIIおよびアルドステロン分泌の50%低減、ならびに血漿量の低減を生じた。

【0232】

CNPは他のナトリウム利尿ペプチドと同様の心血管作用を誘発するがいかなる腎降下も媒介しないと見られる。CNPが麻酔下イヌにANFと等量で注入されると、血漿cGMPは平均動脈圧、右房圧および心拍出量の同時低減に伴い上昇したが、糸球体濾過速度、腎血流およびナトリウム排出は減少した。

【0233】

ナトリウム利尿ペプチドは心不全における治療上の利益を提供できる。うっ血性心不全（CHF）はバゾプレッシン、エンドセリンの増加に、およびレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系、および交換神経系の活性化に付随し、血管収縮、ナトリウムおよび水分貯留、ならびに血管および心臓のネガティブリモデリングを媒介する。これらの効果は心不全患者中でナトリウム利尿ペプチドのレベル上昇にもかかわらず生じる。本発明の一実施形態としては、CHFを含む、心関連疾患および病態の処置または予防のためのナトリウム利尿ペプチド活性の増加した、または治療的血清レベルを提供するハイブリッドがある。正常人へのANF注入は結果としてナトリウム排出および尿流速の持続的増加をもたらすことができるが、心不全患者においては腎反応における著しく有益な低減を得ることができる。BNP注入は心不全患者においてナトリウム排出を著しく増加させるとともに有意に有益な血行動態効果を発揮する。ANPと比較したとき、BNPの利尿およびナトリウム利尿効果は有意に高まる。BNPはANPより緩徐にクリアランスされるとともにアルドステロン分泌の抑制およびANPの血清レベルの増加を含む他の効果を発揮する。BNPペプチドはまた、症候性CHF入院患者において、肺毛細血管楔入圧、体血管抵抗、右房圧および収縮期血圧の有益な低下を、心係数上昇を伴い提供できる。非代償性心不全患者において、ナトリウム利尿ペプチドハイブリッドは有益な肺毛細血管楔入圧低下および呼吸困難スコア改善を提供できる。（呼吸困難は呼吸における困難の不快な感覚であり、典型的には心不全の初期に付随する）。1、2または3種のナトリウム利尿ホルモン機能を含むハイブリッドは、CHF患者、好ましくは非代償性であるCHF患者、慢性CHF患者、および高血圧症患者の予防的および治療的の双方の処置に有用である薬剤的に活性な組成物の投与方法を提供する。ハイブリッドのナトリウム利尿部分は、治療的

に有効量で治療的に有効な期間にわたり投与される時、治療的に有効量のナトリウム利尿ペプチドにかかる患者に提供するのに十分である。

【0234】

本明細書中で考察されるとおり治療的に有効なナトリウム利尿ペプチドまたはその類似体の任意のファミリーがG I Pハイブリッドの成分として使用され得る。有用なナトリウム利尿ペプチドとしては、例えば、心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）、脳性ナトリウム利尿ペプチド（BNPまたはB型ナトリウム利尿ペプチド）およびC型ナトリウム利尿ペプチド（CNP）が挙げられる。ナトリウム利尿ペプチドの有用な型の配列は、参照により本明細書に援用される、米国特許出願公開第2001/0027181号明細書に開示される。ANPの例としては、ヒトANP（カンガワ（Kangawa）ら、BBRC 118:131頁（1984年））、またはブタおよびラットANPを含む、様々な種由来のもの（カンガワ（Kangawa）ら、BBRC 121:585頁（1984年））が挙げられる。かかるANPは28アミノ酸を含んでなる。かかるANPは環状構造のANP（Cysに基づくジスルフィド結合の形成）、および該環状構造に続くC末端部分を有するペプチドとして投与されてもよい。かかるペプチドの例はANPの7位から28位でアミノ酸残基を有するペプチドであり、米国特許出願公開第2001/0027181号明細書に提供される。別の例はカエルANPである。本発明の方法に使用され得るBNPの特異例としては、ヒトBNP（hBNP）が挙げられる。ヒトBNPは32アミノ酸を含んでなるとともにジスルフィド結合の形成に関わり（スドウ（Sudo）ら、BBRC 159:1420頁（1989年））、および米国特許第5,114,923号明細書、同第5,674,710号明細書、同第5,674,710号明細書、および同第5,948,761号明細書の各々が参照により援用される。ヒト以外の起源の様々なBNPが、ブタBNPおよびラットBNPを含め、当該技術分野において周知であるとともに、使用され得る。さらなる例はニワトリBNPである。本発明の方法に使用され得るCNPの例としては、ブタCNPが挙げられる。ブタCNPは22アミノ酸を含んでなるとともに、上述のANPおよびBNP（スドウ（Sudo）ら、BBRC 168:863頁（1990年））（ヒトおよびラットは同一のアミノ酸配列を有する）、ニワトリCNP（アリムラ（Arimura）ら、BBRC 174:142頁（1991年））と同様、ジスルフィド結合の形成に関わる。カエルCNP（ヨシハラ（Yoshihara）ら、BBRC 173:591頁（1990年））もまた使用され得る。本明細書中で考察されるとおり、当業者は、既知の方法により、欠失、置換、添加または挿入などの修飾、および／または化学的修飾を、所望どおりの既知のナトリウム利尿ペプチドのアミノ酸配列内のアミノ酸残基に対し、適用できる。結果として生じる化合物は出発ANP、BNPまたはCNPの受容体に対し作用する活性を有する。それゆえ、この活性を有する類似体は本発明の方法に従う使用のためのハイブリッドに含まれる。

【0235】

別の実施形態において、1つまたは複数のナトリウム利尿機能を含むハイブリッドは高血圧症の処置に使用され得る。一実施形態においてナトリウム利尿ハイブリッドは心拍数に対し何ら有害効果を有さないであろうとともに不整脈は付随しない。一実施形態においてハイブリッドは少なくとも1、2または3種のナトリウム利尿ペプチド機能、例えば、ANPおよびBNP活性の双方を含んでなるであろう。1つまたは複数のナトリウム利尿ホルモン機能は、本明細書に記載されるとおりの、任意の他のホルモン機能またはペプチドエンハンサーと併用され得る。別の実施形態においてナトリウム利尿部分は、未変性ナトリウム利尿ペプチドのそれと比較した時、長時間の生体内半減期を有するより安定な類似体である。NEPなどの内在性酵素により望ましくない切断を防止する類似体もまた想定される。ハイブリッドを含むナトリウム利尿はさらにまた、高血圧症低減、利尿誘因、ナトリウム利尿誘因、血管伝導拡張または弛緩、ナトリウム利尿ペプチド受容体（NPR-Aなど）結合、腎からのレニン分泌抑制、副腎からのアルドステロン分泌抑制、心血管疾患および障害の処置、うっ血性心不全における心リモデリングの低減、阻止または逆進、腎疾患および障害の処置；虚血性脳卒中の処置または予防、および喘息の処置にも関す

る。ハイブリッドは患者に投与され得るが、これはナトリウム利尿、利尿および血管拡張を誘発することから有益であろう。ハイブリッドは単独または1つもしくは複数の次のタイプの化合物と組み合わせて投与され得る：ACEインヒビター、 β 遮断薬、利尿薬、スピロラクトン、ジゴキシン、抗凝固および抗血小板薬、およびアンジオテンシン受容体遮断薬。追加的な疾患または病態としては、腎障害および疾患、喘息、高血圧症および肺高血圧症が挙げられる。ハイブリッドはまた、炎症関連疾患、勃起不全および高コレステロール血症を処置するためにも有用である。

【0236】

ペプチドモジュール選択の考察、スペーサー、および連結基

本発明のGIPハイブリッドポリペプチドは一般的に、本発明の少なくとも2個の生理活性ペプチドホルモンモジュールを含んでなり、ここで該生理活性ペプチドホルモンモジュールの少なくとも1個は、典型的にはGIPモジュールであるが、少なくとも1種のホルモン活性を呈する。本発明の文意の範囲内において、生理活性ペプチドホルモンモジュールの少なくとも1個は、GIPペプチドホルモン、類似体、誘導体、断片、またはペプチドエンハンサーからなるであろう。少なくとも1種のホルモン活性を呈する生理活性ペプチドホルモンモジュールは、ハイブリッドポリペプチドのN末端側終端、ハイブリッドポリペプチドのC末端側終端に位置してもよく、またはハイブリッドポリペプチドが3個以上の生理活性ペプチドホルモンモジュールを含んでなる場合、ハイブリッドポリペプチドの内部に位置してもよい。

【0237】

特定の実施形態において、少なくとも1種のホルモン活性を呈する生理活性ペプチドホルモンモジュールは、生理活性ペプチドホルモンモジュールのC末端側終端がアミド化されるよう位置することが好ましくあり得る。生理活性ペプチドホルモンモジュールのC末端側終端のアミド化は、モジュールをハイブリッドペプチドのC末端側終端に位置させることにより、またはモジュールをC末端からN末端の方向にハイブリッドポリペプチドのN末端側終端で構成することにより、達成されてもよい。双方の構成において、生理活性ペプチドホルモンモジュールのC末端側終端はアミド化に利用可能である。具体的な成分ペプチドホルモンとして好ましくは、C末端アミド化の場合、アミリンファミリーペプチドホルモン、CCK、PYY、hGLP-1 (7-36) およびhGLP-2が挙げられ得る。具体的な成分ペプチドホルモンとしては、C末端アミド化が必ずしも例示的である必要のない場合（モジュールのC末端側終端での伸長が容易に耐容性を示す場合、別段に定められる）、エキセンディン-4、エキセンディン-4 (1-28)、GIP、GLP-1 (7-37)、カエルGLP-1 (7-36)、およびカエルGLP-2が挙げられる。しかしながら、これらの成分ペプチドホルモンがハイブリッドポリペプチドのC末端側終端に位置する場合、それらは場合によりなおアミド化されてもよいとともに、好ましくは場合により実際にアミド化されてもよい。

【0238】

生理活性ペプチドホルモンモジュールは当該技術分野において知られた任意の様式で共有結合されてもよい。安定な結合が使用されてもよく、または切断可能な結合が使用されてもよい。一実施形態において、第1のモジュールのカルボキシ基は第2のモジュールのアミノ基に直接連結されてもよい。別の実施形態において、連結基がモジュールを付着するため使用されてもよい。さらに、所望であれば、結合を安定化するため当該技術分野において知られたスペーサーまたは反転インデューサが用いられてもよい。例として、N末端に位置する生理活性ペプチドホルモンモジュールのC末端側終端のアミド化が所望でない場合、モジュールは第2のモジュールに直接、または、アルキル基；PEG；アミノ酸、例えば、Lys、Glu、 β -Ala；ポリアミノ酸、例えば、ポリHis、ポリArg、ポリLys、ポリAla、Gly-Lys-Arg (GKR) 等；二官能性リンカー（例えば、ピアス (Pierce) のカタログ、ロックフォード、IIを参照）；アミノカプロイル（「Aca」）、 β -アラニル、8-アミノ-3, 6-ジオキサオクタノイル、または当該技術分野において知られた他の切断可能および切断不可能なリンカーなどの

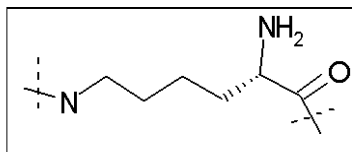
、当該技術分野において知られた任意の然るべき連結基を使用して、付着されてもよい。各々が明示的に描き出されるかのごとく、本明細書に具体的に記載されるのは、例示される各リンカー含有ハイブリッド中のリンカーがG l yリンカーにより置き換えられる、特異的ハイブリッドの実施形態、特にG l yリンカーがG l y-G l y-G l yである実施形態である。一例として、例示されるY A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K-リンカー-K C N T A T C V L G R L S Q E L H R L Q T Y P R T N T G S E T F（配列番号92）（本明細書の表を参照）について、そのG l yリンカー種類類似体もまた具体的に意図されるとともに開示される：この種はY A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K-G l y-G l y-G l y-K C N T A T C V L G R L S Q E L H R L Q T Y P R T N T G S E T F（配列番号92）である。一実施形態においてリンカーまたはスペーサーは1～30残基長、別の実施形態においては2～30残基、およびさらに別では3～30残基長、および全2～30からの任意の整数長である；各整数単位、例えば2、3、4、5、6、7等が企図される。一実施形態においてG l yリンカーが、および詳細な実施形態においては3残基リンカーG l y-G l y-G l yが使用される。

【 0 2 3 9 】

一実施形態において、リンカーは、例えば、0601GIP4619:

【 0 2 4 0 】

【化 1】



【 0 2 4 1 】

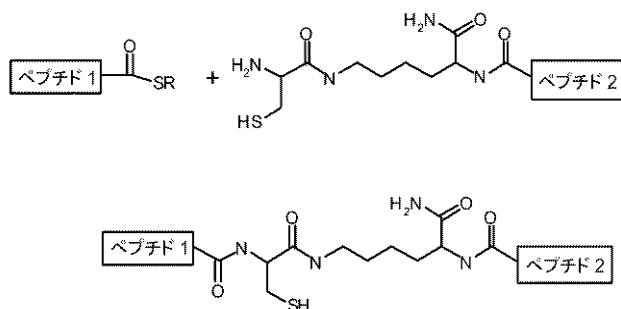
において用いた K ($N - \epsilon$ リンカー) である。

【 0 2 4 2 】

一実施形態において本明細書中で考察されるとおり G I P は第 2 の生理活性ホルモンモジュールに C 末端において C 末端方向に付着される。G I P の C 末端は、場合によりリンカーで、第 2 の生理活性ホルモンモジュールの C 末端に連結される。直交性化学反応が使用され、場合により本明細書に記載されるとおりのリンカーで、機能性ペプチドモジュールを連結してもよい。例えば、未変性の化学的連結化学反応が使用されてもよい。以下に示されるとおり、R が適当な脱離基である場合、ハイブリッドは C y s - L y s 結合を伴い生成され得る：

【 0 2 4 3 】

【化 2】

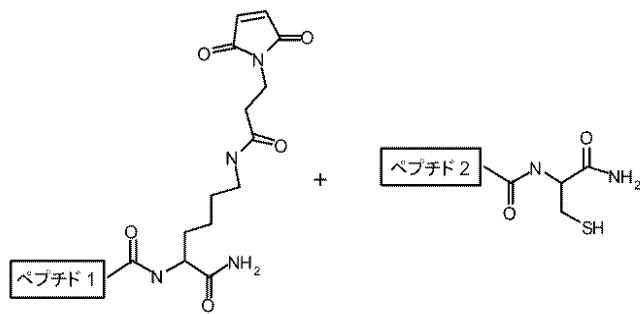


【 0 2 4 4 】

さらなる例においてハイブリッドは機能性モジュール：

【 0 2 4 5 】

【化 3】



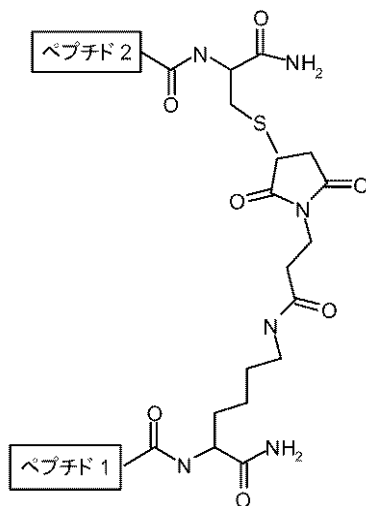
10

【0246】

を用いて調製して、

【0247】

【化 4】



20

30

【0248】

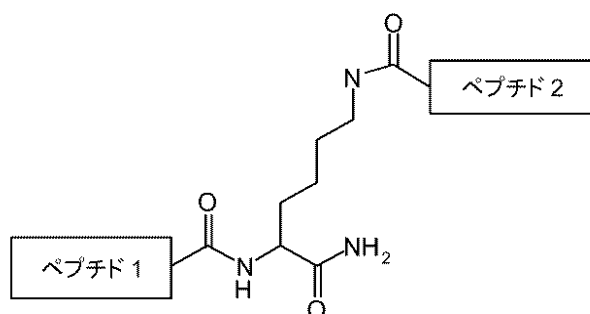
を生成できる。

【0249】

同様のアプローチを用いて、リジンリンカーを有するハイブリッドが創製され得る：

【0250】

【化 5】



40

【0251】

追加のリンカーを図 24 に示す。そのリンカーは、特に N 末端連結に対する N 末端に有用であるが、しかしながら、これらのリンカーの一方または両末端は G I P 化合物の C 末端に反応するように容易に適合できる。G I P 化合物の C 末端は、モジュールが生体内で

50

切断されない限りは、本明細書に示すように、G I PのN末端へのペプチドモジュールを連結する結果、受容体活性化を欠くために、G I P類似体または誘導体をG I P含有ハイブリッドの別のペプチド成分に連結するのに好ましい末端である。かかるN末端伸長は、血漿または膜プロテアーゼにより除去されない限りは、G I P化合物の血漿半減期を伸ばし、受容体活性化を防止または低下させるように作用することが知られている。

【0252】

特に興味深いのは、C末端がC末端に連結され、それらのそれぞれの受容体活性化N末端を妨げられないまま保つ、G I P－エキセンディンファミリーハイブリッドである。双方の分子の受容体活性化領域が、例えば本明細書中の任意のG I PおよびエキセンディンおよびG L P 1ファミリーペプチドおよび類似体、活性断片および誘導体を使用する、かかるハイブリッド中に存在する。例えばd A l a (2)－G I P (1－3 0) 類似体はテール・トゥ・テールの様式で、好適な連結化学反応を介し、エキセンディン－4に連結され得る。

【0253】

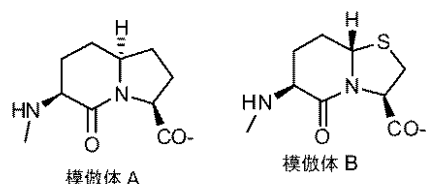
さらに、当業者により認識されるであろうとおり、本発明のペプチドはC末端でアミド化されてもよく、または遊離酸として存在してもよい。例示的实施形態において本発明のペプチドはC末端でアミド化される。N末端に位置する生理活性ペプチドホルモンモジュールのC末端側末端のアミド化が望ましい場合、モジュールはさらに当該技術分野において知られた任意の然るべき連結基を使用して第2のモジュールに付着されてもよい。より具体的には、少なくとも1種のホルモン活性を呈する生理活性ペプチドホルモンモジュールがC末端からN末端方向に構成されていた場合、結果としてアミノ基からアミノ基への結合をもたらし、例示的連結基としては、ジカルボン酸、アルキル基、P E G、およびL y s、C y s、ならびにG l uなどのアミノ酸が挙げられる。

【0254】

上述されるとおり、ハイブリッドポリペプチドはまた好ましくはスペーサーも含み、さらに生理活性ペプチドホルモンモジュールの結合を安定化してもよい。当該技術分野において知られた任意のスペーサーまたは反転インデューサが使用されてもよい。例として、参照されるβ反転模倣物としては、本明細書で説明される模倣体Aおよび模倣体B、またA l a－A i bおよびA l a－P r oジペプチドも挙げられる。これらのI U P A C名は模倣体A：N－(3 S， 6 S， 9 S)－2－オキソ－3－アミノ－1－アザビシクロ[4 . 3 . 0]－ノナン－9－カルボン酸、模倣体B：N－(3 S， 6 S， 9 R)－2－オキソ－3－アミノ－7－チア－1－アザビシクロ[4 . 3 . 0]－ノナン－9－カルボン酸である。

【0255】

【化6】



【0256】

アゴニストとは未変性ヒトホルモンの生物学的活性を誘発する化合物を意味する。例示的实施形態において、該用語はグルコース降下または未変性ヒトG I Pの他の活性において生物学的効果を誘発する化合物を参照する。新規G I P類似体は例えば、グルコース降下アッセイ、胃分泌阻害アッセイ、d P / d t アッセイ、血圧アッセイ、インスリン分泌アッセイ、骨密度アッセイ、または血漿安定性アッセイにおいて、好ましくは未変性ヒトG I Pと同様の、またはそれより優れた、および／またはG I P受容体アッセイにおいて、または標識G I Pを伴う競合的結合アッセイにおいて特異的に結合する、活性を有する。一実施形態において、アゴニストはかかるアッセイにおいて、1 μ Mより高い親和性で

、およびより好ましくは1～5 nmより高い親和性で、結合するであろう。別の実施形態においてアゴニスト（または場合によってはアンタゴニスト）IC50は、100マイクロモル未満または前後、50マイクロモル未満または前後、20マイクロモル未満または前後、および10マイクロモル未満または前後であるだろう。かかるアゴニストはTrp ケージモチーフ（例えばエキセンディンテールPSSGAPS（配列番号93）もしくは変異体）またはカエルGLP-1 テールあるいはそのテールの類似体または誘導体を持つGIP配列を有するポリペプチドを含み得る。

【0257】

「アミノ酸」および「アミノ酸残基」とは、天然アミノ酸、非天然アミノ酸、および修飾アミノ酸を意味する。異なる定めのない限り、アミノ酸に対する任意の参照は、一般的にまたは具体的に名前によって、それらの構造にかかる立体異性体を許容する場合、DおよびLの双方の立体異性体への参照を含む。天然アミノ酸としては、アラニン（Ala）、アルギニン（Arg）、アスパラギン（Asn）、アスパラギン酸（Asp）、システイン（Cys）、グルタミン（Gln）、グルタミン酸（Glu）、グリシン（Gly）、ヒスチジン（His）、イソロイシン（Ile）、ロイシン（Leu）、リジン（Lys）、メチオニン（Met）、フェニルアラニン（Phe）、プロリン（Pro）、セリン（Ser）、スレオニン（Thr）、トリプトファン（Trp）、チロシン（Tyr）およびバリン（Val）が挙げられる。非天然アミノ酸としては、ホモリジン、ホモアルギニン、カルボン酸アゼチジン、2-アミノアジピン酸、3-アミノアジピン酸、β-アラニン、アミノプロピオン酸、2-アミノ酪酸、4-アミノ酪酸、6-アミノカプロン酸、2-アミノヘプタン酸、2-アミノイソ酪酸、3-アミノイソ酪酸、2-アミノピメリン酸、第三級ブチルグリシン、2, 4-ジアミノイソ酪酸、デスモシン、2, 2'-ジアミノピメリン酸、2, 3-ジアミノプロピオン酸、N-エチルグリシン、N-エチルアスパラギン、ホモプロリン、ヒドロキシリジン、アロヒドロキシリジン、3-ヒドロキシプロリン、4-ヒドロキシプロリン、イソデスモシン、アロイソロイシン、N-メチルアラニン、N-メチルグリシン、N-メチルイソロイシン、N-メチルペンチルグリシン、N-メチルバリン、ナフトアラニン、ノルバリン、ノルロイシン、オルチニン、ペンチルグリシン、ピペコリン酸、チオプロリン、サルコシンおよびシトルリンが挙げられるが、これらには限定はされない。追加的な非天然アミノ酸としては、可逆的または不可逆的に、化学的に遮断されるか、またはそのN末端アミノ基もしくはその側鎖基上で化学的に修飾される修飾アミノ酸残基が挙げられ、例としては、側鎖官能基が別の官能基に化学的に修飾されるN-メチル化DおよびLアミノ酸または残基である。例えば、修飾アミノ酸としては、メチオニンスルホキシド；メチオニンスルホン；アスパラギン酸-（β-メチルエステル）、アスパラギン酸の修飾アミノ酸；N-エチルグリシン、グリシンの修飾アミノ酸；またはアラニカルボキサミド、アラニンの修飾アミノ酸が挙げられる。組み込まれ得る追加的な残基は、サンドバーグ（Sandberg）ら、J. Med. Chem. 41: 2481-91頁、1998年に記載される。

【0258】

「Ahx」とは6-アミノヘキサン酸を意味する。本明細書において使用されるとき：「5Apa」は5アミノ-ペンタノイルを意味し、「12Ado」は12-アミノドデカノイルを意味し、「PEG(8)」は3, 6, -ジオキシオクタノイルを意味し、および「PEG(13)」は1-アミノ-4, 7, 10-トリオキサ-13-トリデカンアミンサクシニモイルを意味する。加えて、次の略記がある：「ACN」または「CH3CN」はアセトニトリルを参照する。「Boc」、「tBoc」または「Tboc」はt-ブトキシカルボニルを参照する。「DCU」はN, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミドを参照する。「Fmoc」はフルオレニルメトキシカルボニルを参照する。「HBTU」は2-（1H-ベンゾトリアゾル-1-イル）-1, 1, 3, 3, -テトラメチルウロニウムヘキサフルオロリン酸を参照する。「HOBt」は1-ヒドロキシベンゾトリアゾール-水合物を参照する。「HomoP」または「HPro」はホモプロリンを参照する。「MeAla」または「Nme」はN-メチルアラニンを参照する。「Naph」はナフチ

ルアラニンを参照する。「pG」または「pGly」はペンチルグリシンを参照する。「tBuG」は第三級ブチルグリシンを参照する。「ThioP」または「tPro」はチオプロリンを参照する。「3Hyp」は3-ヒドロキシプロリンを参照する。「4Hyp」は4-ヒドロキシプロリンを参照する。「NAG」はN-アルキルグリシンを参照する。「NAPG」はN-アルキルペンチルグリシンを参照する。「Nervall」はノルバリンを参照する。「Norleu」はノルロイシンを参照する。「OctGly」はグリシンアミノ酸側基Hが8炭素飽和脂肪鎖で置き換えられるオクチルグリシンを参照する。

【0259】

さらに例示的な組み合わせおよび具体的実施形態

10

本発明のGIPハイブリッドポリペプチドを形成するための生理活性ペプチドホルモンモジュールの例示的組み合わせとしては、未変性ペプチドホルモン、少なくとも1種のホルモン活性を呈するペプチドホルモンの類似体および誘導体、少なくとも1種のホルモン活性を呈する未変性ペプチドホルモンの断片、少なくとも1種のホルモン活性を呈するペプチドホルモンの類似体および誘導体の断片、およびペプチドエンハンサーより選択される2個以上の生理活性ペプチドホルモンモジュールの組み合わせが挙げられ、ただし少なくとも1個のモジュールが少なくとも1種のホルモン活性を呈する。

【0260】

本発明のハイブリッドポリペプチドは少なくとも2個の生理活性ペプチドホルモンモジュールを含むであろうが、ここで少なくとも1個のモジュールは、GIPペプチドホルモン、類似体、誘導体、断片またはペプチドエンハンサーからなる。一実施形態において、成分ペプチドホルモンの少なくとも2個は異なるペプチドホルモンファミリー、例えば、アミリンファミリー、CCK、レプチンファミリー、PPF、プログルカゴンファミリー、ナトリウム利尿ペプチドファミリー、およびエキセンディンファミリーに由来する。例えば、GIPハイブリッドは、GIP部分を、テール配列を伴い、または伴わず、エキセンディン-アミリン/sCTハイブリッドなどの2個以上のホルモンモジュール（非GIPホルモンハイブリッド）またはアミリン-sCTキメラなどのホルモンキメラを含んでなる生理活性モジュールと併用され、含んでなることができる。

20

【0261】

特定の実施形態において、本発明のハイブリッドポリペプチドは少なくとも1種のホルモン活性を呈する2個以上のモジュールを含んでなってもよい。例えば、ハイブリッドポリペプチドは、少なくとも1個の追加的なペプチドホルモン類似体の断片に共有結合される、少なくとも1種のホルモン活性を呈する第1のペプチドホルモンまたは類似体の断片を含んでなってもよい。追加的な断片は場合により少なくとも1種のホルモン活性を呈してもよい。第1のペプチドホルモンは追加的なペプチドホルモンと同じであっても、または異なってもよく、ただし追加的なペプチドホルモンの少なくとも1つは第1のペプチドホルモンと異なるとともに、第1のホルモン活性は任意選択の追加的なホルモン活性と同じであっても、または異なってもよい。

30

【0262】

他の実施形態において、本発明のハイブリッドポリペプチドは少なくとも1種のホルモン活性を呈する1つまたは複数のモジュールを1つまたは複数のペプチドエンハンサーモジュールと組み合わせて含んでなってもよい。例えば、少なくとも1種のホルモン活性を呈する第1のペプチドホルモンの断片はペプチドエンハンサーに共有結合されてもよく、または少なくとも1種のホルモン活性を呈する第1のペプチドホルモンの断片は少なくとも1種のホルモン活性を呈する第2のペプチドホルモンに共有結合されてもよく、これもやはりペプチドエンハンサーに反転結合される。あるいは、ペプチドエンハンサーは安定化スパーサーとして2個のペプチドホルモンモジュールの間に位置してもよい。さらに、第1のペプチドホルモンは第2のペプチドホルモンと同じであっても、または異なってもよいとともに、第1のホルモン活性は第2のホルモン活性と同じであっても、または異なってもよい。

40

50

【0263】

別の実施形態において、本発明のハイブリッドポリペプチドは2、3、4、またはそれ以上の生理活性ペプチドホルモンモジュールを含んでなってもよい。例示的組み合わせとしては、ホルモン活性を備えるモジュールを1、2、または3個のペプチドエンハンサーと組み合わせて；ホルモン活性を備える2個のモジュールを1または2個のペプチドエンハンサーと組み合わせて；ホルモン活性を備える3個のモジュールを1個のペプチドエンハンサーと組み合わせて、等が挙げられる。

【0264】

成分ペプチドホルモンは好ましくは、アミリン、アドレノメデュリン、カルシトニン、カルシトニン遺伝子関連ペプチド、インテルメジン、コレシストキニン、レプチンペプチドYY、グルカゴン様ペプチド-1、グルカゴン様ペプチド2、オキシントモジュリン、ANP、BNP、CNP、ウロジラチン、GIP、GLP1またはエキセンディン-4より選択される。

【0265】

より詳細には、例示的モジュールの組み合わせとしては、少なくともGIPおよびアミリン（および／またはsCT）、BNP、CGRP、CT、CKK、レプチン、PYY、GLP1、およびエキセンディン-4の組み合わせに関するものが挙げられる。

【0266】

例示の実施形態において、GIPペプチドを含んでなる第1のモジュールは、少なくとも1種のホルモン活性を呈するアミリンペプチドを含んでなる第2の生理活性ペプチドホルモンモジュールに連結される。別の実施形態において、第2のモジュールはさらに、少なくとも1種のホルモン活性を呈するカルシトニンペプチドを含んでなる第3の生理活性ペプチドホルモンモジュールに連結される。さらに別の実施形態において、第3のモジュールはさらに、アミリンペプチドより選択されるペプチドエンハンサーを含んでなる第4の生理活性ペプチドホルモンモジュールに連結されてもよい。一実施形態において、第1のモジュールはハイブリッドポリペプチドのC末端側終端に位置してもよい。あるいは、第1のモジュールはハイブリッドポリペプチドのN末端側終端に位置してもよい。特定の実施形態において、βAlaまたはGlyなどのスペーサーまたはリンカーが、モジュールを連結することが所望であれば、挿入されてもよい。

【0267】

例示的エキセンディン-4ペプチドとしては、エキセンディン-4、エキセンディン-4(1-27)、エキセンディン-4(1-28)、¹4Leu、²5Phe-エキセンディン-4(1-28)、および⁵Ala、¹4Leu、²5Phe-エキセンディン-4(1-28)が挙げられる。エキセンディン(7-15)およびそのSer2類似体、HSEGTFTSD（配列番号94）もまた有用である。少なくとも1種のホルモン活性を呈する例示的アミリンペプチドとしては、アミリン、アミリン(1-17)、アミリン(1-16)、アミリン(1-15)、およびアミリン(1-7)などのアミリン断片、およびプラムリンチド、²Ala-h-アミリン、²,⁷Ala-h-アミリンなどのアミリン類似体、およびそれらの断片が挙げられる。少なくとも1種のホルモン活性を呈する例示的カルシトニンペプチドとしては、sCT、sCT(8-10)、sCT(8-27)などのsCT断片、および¹1,¹8Arg-sCT、¹8Arg-sCT、¹4Glu,¹8Arg-sCT、¹4Glu,¹1,¹8Arg-sCTなどのカルシトニン類似体、およびそれらの断片が挙げられる。例示的アミリンペプチドエンハンサーとしては、アミリン(32-37)、アミリン(33-37)、およびアミリン(34-37)、およびそれらの類似体が挙げられる。本発明との関連で有用なアミリン/sCTの組み合わせとしては、参照により本明細書に援用される、代理人ドケット第18528.835号、PCT/US第2005/004631号明細書「アミリン Family Agonist」に開示されるものが挙げられる。GIPを備える本発明のハイブリッドを創製するのに特に有用なアミリン/sCTキメラはアミリン-sCT-アミリンキメラ、例えばhアミリン(1-7)-¹1,¹8Arg-sCT(8-27)-アミリン(33-

10

20

30

40

50

37)であり、これは配列K C N T A T C V L G R L S Q E L H R L Q T Y P R T N T G S N T Y (配列番号95)を有するとともに、好ましくはそのC末端においてアミド型およびその類似体ならびに誘導体である(本明細書およびP C T / U S 第2005/004631号明細書に記載される)。

【0268】

一態様において、モジュールの組み合わせとしては、G I P、少なくとも1種のホルモン活性を呈するG I Pの断片、少なくとも1種のホルモン活性を呈するG I P類似体または誘導体、または少なくとも1種のホルモン活性を呈するG I P類似体の断片を含んでなる第1のモジュールを、C C K、少なくとも1種のホルモン活性を呈するC C Kの断片、少なくとも1種のホルモン活性を呈するC C K類似体または誘導体、または少なくとも1種のホルモン活性を呈するC C K類似体の断片を含んでなる第2のモジュールと組み合わせて含むものが挙げられる。例示的C C K化合物としては、C C K-8、およびC C K-8 (P h e (C H₂ S O₃))が挙げられる。一実施形態において、第1のモジュールはハイブリッドポリペプチドのC末端側終端に位置するとともに第2のモジュールはハイブリッドポリペプチドのN末端側終端に位置する。あるいは、第1のモジュールがハイブリッドポリペプチドのN末端側終端に位置してもよいとともに第2のモジュールがハイブリッドポリペプチドのC末端側終端に位置してもよい。特定の実施形態において、β-A l aまたはG l yなどのスペーサーまたはリンカーが、モジュールを付着することが所望であれば、挿入されてもよい。

【0269】

一態様において、例示的モジュールの組み合わせとしては、G I P、少なくとも1種のホルモン活性を呈するG I Pの断片、少なくとも1種のホルモン活性を呈するG I P類似体または誘導体、または少なくとも1種のホルモン活性を呈するG I P類似体の断片を含んでなる第1のモジュールを、アミリン、少なくとも1種のホルモン活性を呈するアミリンの断片、少なくとも1種のホルモン活性を呈するアミリン類似体または誘導体、または少なくとも1種のホルモン活性を呈するアミリン類似体の断片を含んでなる第2のモジュールと組み合わせて含むものが挙げられる。アミリンモジュールは本明細書に記載されたとおりのアミリン/s C T キメラであり得る。一実施形態において、第1のモジュールはハイブリッドポリペプチドのC末端側終端に位置するとともにペプチドエンハンサーはハイブリッドポリペプチドのN末端側終端に位置する。あるいは、第1のモジュールがハイブリッドポリペプチドのN末端側終端に位置するとともに第2のモジュールがハイブリッドポリペプチドのC末端側終端に位置する。特定の実施形態において、β A l aまたはG l yなどのスペーサーまたはリンカーが、モジュールを付着することが所望であれば、挿入されてもよい。

【0270】

さらに他の例示的モジュールの組み合わせとしては、第三級およびテトラハイブリッド分子としてのG I P、アミリンおよびカルシトニンの組み合わせを含むものが挙げられる。例示的組み合わせとしては、スペーサーまたは連結基を伴う、および伴わない、G I P / アミリン / カルシトニン; G I P / アミリン / カルシトニン / アミリン; アミリン / カルシトニン / G I P; およびアミリン / カルシトニン / アミリン / G I Pの組み合わせが挙げられる。各モジュールは独立してペプチドエンハンサーであってもよく、またはハイブリッドポリペプチドの所望の特性に応じて、ホルモン活性を呈してもよい。

【0271】

別の実施形態において、少なくとも1種のホルモン活性を呈する生理活性ペプチドホルモンモジュールの1個はG L P - I またはその類似体もしくは断片であるとともに、第2の生理活性ペプチドホルモンモジュールはG I Pを含んでなる。さらに別のかかるハイブリッドにおいて、ハイブリッドポリペプチドは第3の生理活性ペプチドホルモンモジュールを含んでなる。例示的第3の生理活性ペプチドホルモンモジュールとしては、アミリン(その類似体、誘導体および断片を含む)およびアミリン-s C T キメラ、P Y Y (その類似体、誘導体および断片を含む)およびC C K (その類似体、誘導体および断片を含む)

）が挙げられる。

【0272】

GIP-ニューロメジンペプチドハイブリッドの例示的化合物としては、
Y a G I P (1-30) - β - A l a - β - A l a - F N - 38 : 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 - β - A l a - β - A l a - F L F H Y S K
T Q K L G K S N V V E E L Q S P F A S Q S R G Y F L F R P K N - N H 2 (配列番号
96) ;

Y a G I P (1-30) - β - A l a - β - A l a - ニューロメジン (U25) : 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 - β - A l a - β - A l a -
F R V D E E F Q S P F A S Q S R G Y F L F R P R N - N H 2 (配列番号97) ; およ
び

10

Y a G I P (1-30) - β - A l a - β - A l a - ニューロメジン (TJ-9) : 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 - β - A l a - β - A l a
- G Y F L F R P R N - N H 2 (配列番号98)、が挙げられる。

【0273】

β - A l a - β - A l a スペーサーは任意選択であるとともに、G l y - G l y - G l
y、ミニPEG基、または当該技術分野において知られた他のリンカー、特に本明細書に
記載されるものと置き換えられ得る。

【0274】

GIPおよびナトリウム利尿ペプチドの例示的化合物としては、GIP-hBNPペプ
チドハイブリッドが、Y a G I P (1-30) - β - A l a - β - A l a - h B N P (こ
こでhBNPはS P K M V Q G S G C F G R E M D R I S S S S G L G C K V L R R H (こ
配列番号99)) およびY a G I P (1-30) - エキセンディン (31-39) - β -
A l a - β - A l a - h B N P (ここでhBNPはS P K M V Q G S G C F G R K M D R
I S S S S G L G C K V L R R H (配列番号99)) を含め、挙げられる。 β - A l a -
 β - A l a スペーサーは任意選択であるとともに、G l y - G l y - G l y、ミニPEG
基、または当該技術分野において知られた他のリンカー、特に本明細書に記載されるもの
と置き換えられ得る。

20

【0275】

実施形態としては以下のものが挙げられる：

30

【0276】

【表 19-1】

配列番号	配列
100	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGKLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY
101	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTLPRT NTGSNTY
102	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPPT NTGSNTY
103	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRT NVGSNTY
104	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTLPPT NVGSNTY
105	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLANFLHRLQTYPRT NTGSNTY
106	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-ACNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY
107	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNAATCVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY
108	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTAACVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY
109	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-CANLSTCVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY
110	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-CSNASTCVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY
111	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-CSNLATCVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY
112	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-CSNLSACVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY
113	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELHKLQTYPRT NTGSNTY
114	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSGTP
115	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-CSALSTCVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY
116	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCLLQQLQKLLQKLKQYPRT NTGSNTY

10

20

30

【0277】

40

【表 19-2】

117	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTASCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY
118	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTAVCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY
119	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELHRYPRTNTGSNTY
120	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGK (For)LSQELHK (For)LQTYPRTNTGSNTY
457	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTA (d-Thr) CVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY
458	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTA (dAh) CVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY
121	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-ACNTATCVLGRLSQELHK (PEG5000)LQTYPRTNTGSNTY
122	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTLQTYPRTNTGSNTY
123	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTLQTYPRTNTGSNTY
124	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGKLSQELHKLQTYPRTNTGSNTY
125	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTSTCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY
126	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCATQRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY
127	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCATQRLSQELHRLQTYPRTNVGSNTY
128	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTSTCATQRLANELVRLQTYPRTNVGSNTY
129	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTA (Hse) CVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY
130	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTA (Ahh) CVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY
131	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTA (Ahp) CVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY
132	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTAT (OP03H2) CVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY

10

20

30

40

【0278】

【表 19-3】

133	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLG(Orn)LSQELH(Orn) LQTYPRTNTGSNTY
134	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLG(Cit)LSQELH(Cit) LQTYPRTNTGSNTY
135	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLG(homoK)LSQELH(homoK) LQTYPRTNTGSNTY
136	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCMLGRYTQDFHRLQTYPRT NTGSNTY
137	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-DSNLSTKVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY
138	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KDNTATKVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY
139	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTN TGSNTY
140	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY(9Anc)
141	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY(L-オクチルグリシン)
142	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLG(homoR)LSQELH(homoR) LQTYPRTNTGSNTY
143	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-FCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY
144	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELH(Cit)LQT YPRTNTGSNTY
145	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELH(Orn)LQT YPRTNTGSNTY
146	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-ICNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY
147	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLG(Cit)LSQELHRLQT YPRTNTGSNTY
148	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY(4ABU)
149	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTSTCATQRLANELVRLQTYPRT NVGSEAF
150	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPTN VGSEAF

10

20

30

40

【0279】

【表 19-4】

151	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSRSLHRLQTYPRT NTGSNTY
152	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVTHRLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY
153	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLADFLHRLQTYPRT NTGSNTY
154	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTN TGSNT
155	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELHRLQNFVPR TNTGSNTY
156	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSETF
157	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-ACDTATCVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY
158	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSKAF
159	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCDTATCVTHRLAGLLRSRQTYPRT NTGSNTY
160	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLADALHRLQTYPRT NTGSNTY
161	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLAAFLHRLQTYPRT NTGSNTY
162	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-SCNTATCVLGRLADFLHRLQTYPRT NTGSNTY
163	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTMPRT NTGSNTY
164	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTVPRT NTGSNTY
165	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLNEYLHRLQTYPRT NTGSNTY
166	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-SCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRT NTGSNTY
167	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLTEFLHRLQTYPRT NTGSNTY
168	YAEGTFISDYS IAMDK IRQQDFVNWLLAQK-リンカー-KCNTATCVLGRLAEFLHRLQTYPRT NTGSNTY

10

20

30

40

【0280】

【表 19-5】

169	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K - リンカー - K C N T A T C V L G R L T D Y L H R L Q T Y P R T N T G S N T Y
170	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K - リンカー - K C N T A T C V L G R L A Q F L H R L Q T Y P R T N T G S N T Y
171	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K - リンカー - K C N T A T C V L G R L A D F L H R F Q T F P R T N T G S N T Y
172	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K - リンカー - K C N T A T C V L G R L A D F L H R F H T F P R T N T G S N T Y
173	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K - リンカー - K C N T A T C V L G R L A D F L H R F Q T F P R T N T G S G T P
174	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K - リンカー - C N T A T C V L G R L A D F L H R L Q T Y P R T T G S N T Y
175	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K - リンカー - K C D T A T C V L G R L S Q E L H R L Q T Y P R T N T G S N T Y
176	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K - リンカー - K C N T A T C V L G R L F D F L H R L Q T Y P R T N T G S N T Y
177	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K - リンカー - K C N T A T C V L G R L A A A L H R L Q T Y P R T N T G S N T Y
178	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K - リンカー - T C D T A T C V L G R L S Q E L H R L Q T Y P R T N T G S N T Y
179	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K - リンカー - C S N L S T C A T Q R L A N E L V R L Q T Y P R T N V G S N T Y
180	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K - リンカー - K C N T A T C A T Q R L A N E L V R L Q T Y P R T N V G S N T Y
181	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K - リンカー - C S N L S T C V L G R L S Q E L H R L Q T Y P R T N T G S N T Y
182	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K - リンカー - K C N T A T C V L G R L S Q E L H R L Q T Y P R T N T G S N T Y
	GIP (1-30) - (12 Ado) - h ア ミ リン (1-7) - ^{11,18} Arg - sCt (8-27) - h ア ミ リン (33-37)
	GIP (1-30) - (12 Ado) - ¹ Des - Lys - h ア ミ リン (1-7) - ^{11,18} Arg - sCt (8-27) - h ア ミ リン (33-37)
	GIP (1-30) - (3, 6-ジオキサオクタノイル) - h ア ミ リン (1-7) - ^{11,18} Arg - sCt (8-27) - h ア ミ リン (33-37)

10

20

30

【0281】

【表 19-6】

	GIP(1-30)-(3, 6-ジオキサオクタノイル)- ¹ デス-Lys-hアミリン(1-7), ^{11,18} Arg-sCt(8-27)-hアミリン(33-37)
	GIP(1-30)-(5 Apa)-hアミリン(1-7)- ^{11,18} Arg-sCt(8-27)-hアミリン(33-37)
	GIP(1-30)-(5 Apa)- ¹ デス-Lys-hアミリン(1-7)- ^{11,18} Arg-sCt(8-27)-hアミリン(33-37)
	GIP(1-30)-βAla-βAla-hアミリン(1-7)- ^{11,18} Arg-sCt(8-27)-hアミリン(33-37)
	GIP(1-30)-βAla-βAla- ¹ デス-Lys-hアミリン(1-7)- ^{11,18} Arg-sCt(27)-hアミリン(33-37)
	GIP(1-30)-(4, 7, 10-トリオキサ-13-トリデカンアミン サクシニミジル)-hアミリン(1-7) ^{11,18} Arg-sCt(8-27)-hアミリン(33-37)
	GIP(1-30)-(4, 7, 10-トリオキサ-13-トリデカンアミン サクシニミジル)- ¹ デス-Lys-hアミリン(1-7)- ^{11,18} Arg-sCt(8-27)-hアミリン(33-37)
	GIP(1-30)-(Gly-Gly-Gly)-hアミリン(1-7)- ^{11,18} Arg-sCt(8-27)-hアミリン(33-37)
	GIP(1-30)-(Gly-Gly-Gly)- ¹ デス-Lys-hアミリン(1-7)- ^{11,18} Arg-sCt(27)-hアミリン(33-37)
	GIP(1-30)-(4, 7, 10-トリオキサ-13-トリデカンアミン サクシニミジル)-hアミリン(1-7) ^{11,18} Arg-sCt(8-27)-hアミリン(33-37)
	GIP(1-30)-(4, 7, 10-トリオキサ-13-トリデカンアミン サクシニミジル)- ¹ デス-Lys-hアミリン(1-7)- ^{11,18} Arg-sCt(8-27)-hアミリン(33-37)

10

20

【0282】

さらなる例示的GIPハイブリッドは、GIPおよびニューロメジンハイブリッド、例えば、dAla2-GIP(1-30)-β-Ala-β-Ala-FN-38:

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 - β - A l a - β - A l a - F L F H Y S K T Q K L G K S N V V E E L Q S P F A S Q S R G Y F L F R P R N - N H 2 (配列番号459);

30

dAla2-GIP(1-30)-β-Ala-β-Ala-ニューロメジン(U25):

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 - β - A l a - β - A l a - F R V D E E F Q S P F A S Q S R G Y F L F R P R N - N H 2 (配列番号460); および

dAla2-GIP(1-30)-β-Ala-β-Ala-ニューロメジン(U-9):

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 - β - A l a - β - A l a - G Y F L F R P R N - N H 2 (配列番号461)を含む。

40

例えば、β-Ala-β-Alaスペーサーは任意であり、Gly-Gly-Gly、ミニ-PEG 基、または当該技術分野において知られた他のリンカー、特に本明細書に記載されたもので置換できる。

【0283】

例示的なGIPおよびナトリウム利尿ペプチドハイブリッドは、dAla2-GIP(1-30)-β-Ala-β-Ala-hBNP:

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 - β - A l a - β - A l a - S P K M V Q G S G C F G R K M D R I S S S S G L G C K V L R R H (配列番号462); および

50

d A l a 2 - G I P (1 - 3 0) - β - A l a - β - A l a - h B N P : 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 - β - A l a - β - A l a - S P K M V Q G S G C F G R K M D R I S S S S G L G C K V L R R H (配列番号 4 6 3) を含めた G I P - h B N P を含む。

【0284】

全体を通じて考察されているとおり、上記のハイブリッドを含む、本明細書の任意の実施形態において、考察されるとおりの追加的な改変が含まれ得る。例えば、上記のハイブリッドを含む、本明細書の任意の実施形態において、D P P - I V 耐性を供与するべく位置 1 (N 末端を含む)、2 または 3 位が修飾され得る。例えば、本明細書に具体的に例示されるのは、本明細書の各実施形態の D - A l a 2 類似体ならびに上記の種の各々である。

10

【0285】

G I P およびペプチドエンハンサーハイブリッド

ハイブリッドの一実施形態において、G I P は C 末端でペプチドエンハンサー、例えば、エキセンディンまたは G L P - I などの、別のホルモンのテールまたは C 末端部分により伸長され、亢進された生体内有効性を有する類似体を提供する。エキセンディン - 4 (図 1) は G L P - I と 5 3 % の相同性を共有する強力なインクレチン模倣物であるとともに、G L P - I の多くの重要な生物学的作用を反映する。G L P - I と異なり、エキセンディン - 4 は D P P - I V ペプチダーゼおよび N E P へのタンパク質分解切断に対しはるかに耐性が高い。これは G L P - I と比較してより大きく亢進された薬物動態を供するとともにヒトにおける生体内有効性を改善する。水性培地中および有機共溶媒を含有する培地中でのエキセンディン - 4 の円偏光二色性 (C D) および N M R 試験は配列 L F I E W L K N G G P S S G A P P P S (配列番号 1 8 3) (残基 2 1 - 3 9) を含む C 末端セグメントが P r o 3 7 の P h e 2 2 との、および P r o 3 8 の T r p 2 5 との相互作用の結果として生じる固有の疎水性 T r p ケージクラスターを形成することを明らかにする (2 9 ~ 3 1) 。この T r p ケージクラスターモチーフはペプチドにより表されるタンパク質様三次構造の第 1 の例であるとともに、生体内分子中でプロテアーゼ感受性部位を遮蔽することによりさらに高い代謝的安定性の供与に参与することができるであろう (3 2) 。

20

【0286】

従って、一態様において、例示的モジュールの組み合わせとしては、G I P、少なくとも 1 種のホルモン活性を呈する G I P の断片、少なくとも 1 種のホルモン活性を呈する G I P 類似体または誘導体、または少なくとも 1 種のホルモン活性を呈する G I P 類似体の断片を含んでなる第 1 のモジュールを、ペプチドエンハンサーと組み合わせて含むものが挙げられる。有用なペプチドエンハンサーは、本明細書に記載されるとおりの、エキセンディン - 4 およびカエル G L P テール、ならびに P Y Y (2 5 - 3 6)、P Y Y (3 0 - 3 6) および P Y Y (3 1 - 3 6) である。一実施形態において、第 1 のモジュールはハイブリッドポリペプチドの C 末端側終端に位置するとともにペプチドエンハンサーはハイブリッドポリペプチドの N 末端側終端に位置する。あるいは、第 1 のモジュールがハイブリッドポリペプチドの N 末端側終端に位置してもよいとともにペプチドエンハンサーがハイブリッドポリペプチドの C 末端側終端に位置してもよい。特定の実施形態において、 β A l a または G l y などのスペーサーまたはリンカーが、モジュールを付着することが所望であれば、挿入されてもよい。

30

40

【0287】

特定の目的の化合物は 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 P S S G A P P P S - N H 2 (化合物 0 6 0 1 G I P 3 7 9 4 ; D - A l a を位置 2 位で有するとともに、アミド型である) である。修飾を位置 2 位 (すなわち残基 2) または位置 2 および 3 (例えば、2 位にて S e r および 3 位にて A s p) に有する例示的化合物ならびにその G I P 受容体結合および受容体活性化活性としては、Y - 残基 2 - 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 P S S G A P P P S - N H 2 (ここで残基 2 および / または 3 が表に示される) が挙げられる (および図 1 2 を参照) :

50

【0288】

【表20】

化合物番号	残基2または残基2+3	GIP RBA	GIPRシクラーゼ
0601GIP3794	dAla	3.8	38
0601GIP4189	V	12	>1000
0601GIP4145	dノルV	83	10000
0601GIP4146	dSer	20	171
0601GIP4147	Abu	7.4	126
0601GIP4148	dAbu	34	248
0601GIP4186	ホモ-Ser	20	>1000
0601GIP4195	d-ホモSer	52	10000
0601GIP4164	dPro	501	10000
0601GIP4187	シクロプロピルAla	67	>1000
0601GIP4188	d-シクロプロピルAla	214	10000
0601GIP4181	シクロヘキシルAla	35.3151 (%阻害 10nM)	10000
0601GIP4182	d-シクロヘキシルAla	37.42591 (%阻害 10nM)	10000
0601GIP4237	A(NMe)	28	10000
0601GIP4324	Aib	104.7129 (%阻害 10nM)	13.4
CC	シクロプロプGly		
0601GIP4458	β Ala	51.122 (%阻害 10nM)	
0601GIP4215	Ser + Asp	4.5	57.6
0601GIP4389	Asp	66.554 (%阻害10nM)	128
0601GIP4703	dGlu	71.4 (%阻害10nM)	

【0289】

修飾をN末端に有するさらに例示的な化合物ならびにそのGIP受容体結合および受容体活性化活性としては、N末端-YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPS SGAPPPS-NH₂ (配列番号186) (ここでN末端修飾が表に示される) が挙げられる (および図12を参照) :

【0290】

【表21】

化合物番号	N-末端	GIP RBA	シクラーゼ
0601GIP3794	H	3.8	38
0601GIP4196	イソカプ	11	10000
0601GIP4180	イソBuOCO	88.0407 (%阻害 10nM)	386
0601GIP4178	オクチルグリシン	1.5	96
0601GIP4238	Y(NMe)	4.2	144
0601GIP4291	サクシノイル	179	10000

【0291】

様々なリンカーまたは脂肪酸修飾を備えるさらに例示的な化合物、または本明細書に記載されるとおりの修飾の組み合わせ、ならびにそのGIP受容体結合および受容体活性化活性が表に示される (および図12を参照)。OcgおよびOctGの双方が、オクチルグリシンを示すことに注目されたし。DNa1は、D-2-ナフチルアラニンアミノ酸を示す。

【0292】

【表 2 2 - 1】

化合物番号	配列	GIP RBA	シグラーゼ
0601GIP 3794	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号186)	3.8	38
0601GIP4290	YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAQK-bA1a-PSSGAPPPS-NH2 (配列番号464)	0.35	14
0601GIP4178	OctG-YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号391)	1.5 RIN, 0.170 IC50 HEK-GIPR 中	36.2
0601GIP4293	OctG-YAEGTFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号392)	0.12	20
0601GIP4292	OctG-YAEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAQHPSSGAPPPS-NH2 (配列番号393)	0.17	3.46
0601GIP4806	OctG-YAEGTFISDYSIAMDKIRQQEFVNWLLAQHPKKIRYS-NH2 (配列番号620)	101.3 (%阻害 10 nM)	
0601GIP4670	OctG-YAEGTFISDYSIAMDKIRQQEFVNWLLAQHPSSGAPPPS-NH2 (配列番号621)	96.9324(%阻害, 10nM)	
0601GIP4635	OctG-YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号622)	87.7032(%阻害, 10nM)	
0601GIP4636	OctG-YaEGTFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号623)	92.8656(%阻害, 10nM)	
0601GIP4637	OctG-YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAQHPSSGAPPPS-NH2 (配列番号624)	95.7634(%阻害, 10nM)	
0601GIP4543	OctG-YAPGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAQHPSSGAPPPS-NH2 (配列番号395)	85.4306(%阻害, 10nM)	
0601GIP	OctG-YaPGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAQHPSSGAPPPS-NH2 (配列番号618)	81.7225(%阻害, 10nM)	
0601GIP4712	OctG-YaEGTFISDYSIALDKIAQQEFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号625)	94.7(%阻害, 10nM)	
0601GIP4194	YaEGTFISDYSIAMD(OctG)IHQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号591)	68	933
0601GIP4252	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSS(OctG)APPPS-NH2 (配列番号599)	5.6	154
0601GIP4548	YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSS(OctG)APPPS-NH2 (配列番号396)	93.9341(%阻害, 10nM)	

10

20

30

【 0 2 9 3 】

【表 2 2 - 2】

0601GIP4549	YSEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSS(Oct G)APPPS-NH2 (配列番号397)	87.5173(%阻害, 10nM)		
0601GIP4550	YSDGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSS(Oct G)APPPS-NH2 (配列番号398)	78.9341(%阻害, 10nM)		
0601GIP4606	YaEGTFISDYSIALDKIHQQDFVNWLLAQKPSS(Oct G)APPPS-NH2 (配列番号626)	79.8162(%阻害, 10nM)		
0601GIP4607	YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAQKPSS(Oct G)APPPS-NH2 (配列番号627)	84.6962(%阻害, 10nM)		
0601GIP4325	YAEGTFISDYSIA(OctG)DKIHQQDFVNWLLAQK-NH2 (配列番号399)	106.9993 (%阻害, 10nM)	219	10
0601GIP4326	YaEGTFISDYSIA(OctG)DKIHQQDFVNWLLAQKPSS GAPPPS)-NH2 (配列番号611)	97.448 (%阻害, 10nM)	53	
0601GIP4671	YaEGTFISDYSIA(OctG)DKIHQQDFVNWLLAQKPK KIRYS-NH2 (配列番号628)	97.4262 (%阻害, 10nM)		
0601GIP4693	YaEGTFISDYSIA(OctG)DKIHQQDFVNWLLAQK(β-A)(β-A)PSSGAPPPS-NH2 (配列番号629)	91.6712 (%阻害, 10nM)		
0601GIP4755	YaEGTFISDYSIA(OctG)DKIAQQEFVNWLLAQKPSS GAPPPS-NH2 (配列番号630)	96.3 (%阻害, 10nM)		
0601GIP4547	YaEGTFISDYSIA(K(Oct))DKIHQQDFVNWLLAQKPS SGAPPPS-NH2 (配列番号619)	41.3078 (%阻害 10nM)		20
0601GIP4461	YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAP PPS(OctG)-NH2 (配列番号401)	95.785 (%阻害 10nM)		
0601GIP4581	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAP PPS(OctG)-NH2 (配列番号631)	97.512 (%阻害 10nM)		
0601GIP4583	K(イプシロン-NH-オクタノイル)-YaEGTFISYDSIA MDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS(OctG)-NH2 (配列番号632)	85.4997 (%阻害 10nM)		
0601GIP4585	K(イプシロン-NH-オクタノイル)-YaEGTFISDYSIA MDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列 番号633)	85.1781 (%阻害 10nM)		30
0601GIP4584	K(イプシロン-NH-(2-(2-(2メトキシエトキシ)エト キシ)アセトイル))-YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFV NWLLAQKPSSGAPPPS(OctG)-NH2 (配列番号634)	26.5178 (%阻害 10nM)		

【0 2 9 4】

【表 2 2 - 3】

0601GIP4833	YaEGTFISDYSIAKDKIHQQDFVNWLLAQKPKKK(イ プシロン-NH-(パルミ トイル)RYS-NH2 (配列番号6 35)			
0601GIP4586	K(イプシロン-NH-(2-(2-(2メ トキシエトキシ) エト キシ)アセトイル))-YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFV NWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号636)	19.2602 (%阻害 10nM)		
0601GIP4647	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQK(β -A)(β -A)PSSGAPPPS-NH2 (配列番号637)	76.6236(%阻害, 10nM)		
0601GIP4179	YaEGTFISDYSIALDKIHQQDFVNWLLAQK(β -A)(β -A)PSSGAPPPS-NH2 (配列番号587)	HEK-GIPR中3.3 RIN, 0.700 IC5 0	55.9	10
0601GIP4649	OctG-YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQK(β -A)(β -A)PSSGAPPPS-NH2 (配列番号638)	87.3376(%阻害, 10nM)		
0601GIP4642	YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQK(β -A)(β -A)PSSGAPPPS-NH2 (配列番号639)	82.0796(%阻害, 10nM)		
0601GIP4643	YaEGTFISDYSIAMDKIRQQEFVNWLLAQK(β -A)(β -A)PSSGAPPPS-NH2 (SEQ ID 640)	84.7142(%阻害, 10nM)		
0601GIP4644	YaEGTFISDYSIAMDKIRQQDFVEWLLAQK(β -A)(β -A)PSSGAPPPS-NH2 (配列番号641)	70.8009(%阻害, 10nM)		20
0601GIP4645	OctG-YaEGTFISDYSIAMDKIRQQEFVNWLLAQH(β -A)(β -A)PSSGAPPPS-NH2 (配列番号642)	82.1831(%阻害, 10nM)		
0601GIP4646	YaEGTFISDYSIAMDKIAQQEFVNWLLAQK(β -A)(β -A)PSSGAPPPS-NH2 (配列番号643)	82.1763(%阻害, 10nM)		
0601GIP4294	octG-YaEGTFISDYSIALDKIHQQDFVNWLLAQK(β -A)(β -A)PSSGAPPPS-NH2 (配列番号610)	0.92	282	
0601GIP4542	OctG-YaPGTFISDYSIALDKIHQQDFVNWLLAQK(β -A)(β -A)PSSGAPPPS-NH2 (配列番号617)	19.1733(%阻害, 10nM)		
0601GIP4541	OctG-YAPGTFISDYSIALDKIHQQDFVNWLLAQK(β -A)(β -A)PSSGAPPPS-NH2 (配列番号403)	14.3806(%阻害, 10nM)		30
0601GIP4191	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQK-8-アミ ノ 3,6-ジオキサオクタノイル-PSSGAPPPS-NH2 (配 列番号589)	10	81	
0601GIP4756	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQK(Aca)PSS GAPPPS-NH2 (配列番号644)	60.5(%阻害, 10n M)		

【 0 2 9 5】

【表 2 2 - 4】

0601GIP4562	YaEGT(D-Nal2]ISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQK PSSGAPPPS-NH2 (配列番号645)		
0601GIP4572	YaEGTFISD(D-Nal2)SIAMDKIHQQDFVNWLLAQK PSSGAPPPS-NH2 (配列番号646)	33.6497(%阻害, 10nM)	
0601GIP4573	YaEGTFISDYISIA(D-Nal2)DKIHQQDFVNWLLAQKP SSGAPPPS-NH2 (配列番号647)	57.9293(%阻害, 10nM)	
0601GIP4595	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQD(D-Nal2)VNWLLAQK PSSGAPPPS-NH2 (配列番号648)		
0601GIP4605	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVN(D-Nal2)LLAQKP SSGAPPPS-NH2 (配列番号649)	9.4012(%阻害, 1 0nM)	
0601GIP4609	YaEGTFISDYSIAMDK-(イプシロン-NH-(Aun-Aun -(2-(2メトキシエトキシ)-アセトイル)))-IHQQDF VNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号650)		

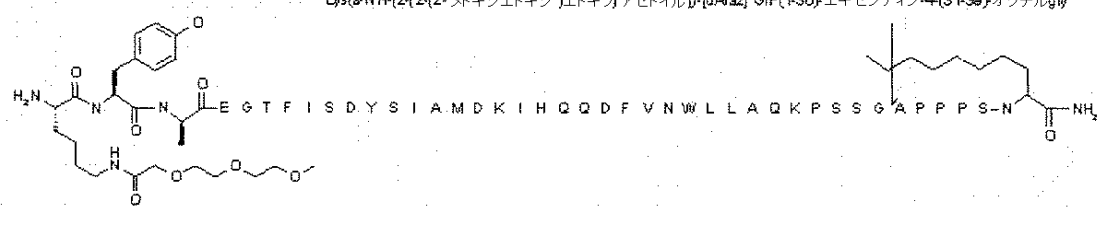
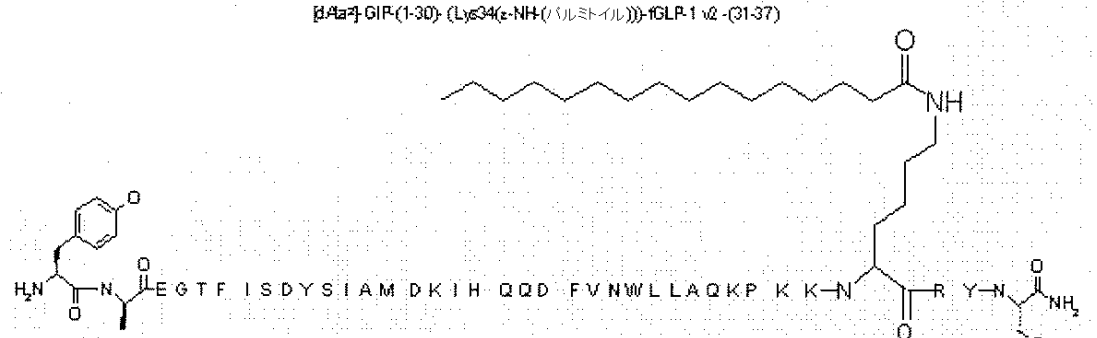
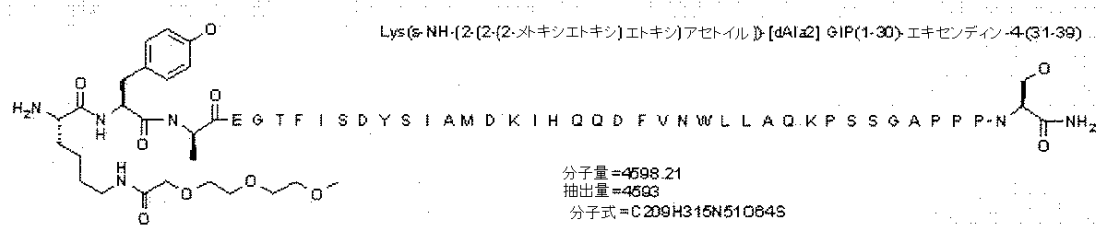
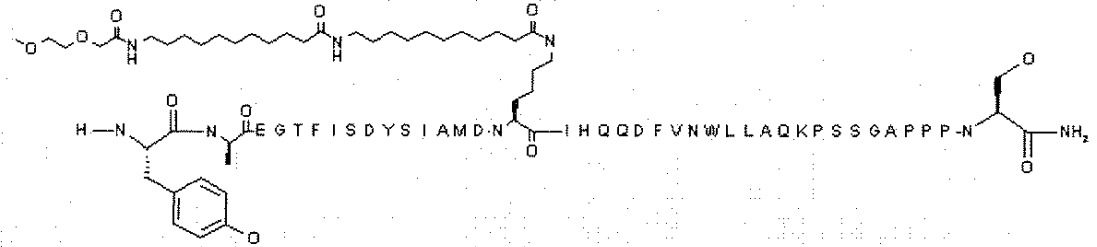
10

【0 2 9 6】

前記化合物のいくつかの別法の表現は以下の通りである：

【0 2 9 7】

【表 2 3】

0601GIP4584 (配列番号 634)
Lys(ε-NH-(2-(2-(2-メキシエトキシ)エトキシ)アセトイル))-[dAla²] GIP(1-30)-エキセンディン-4-(31-39)-オクチルgly 
0601GIP4833 (配列番号 635)
[dAla²] GIP(1-30)- (Lys34(ε-NH(ノルミトイル)))-rGLP-1 v2 -(31-37)  分子量=4658.53
0601GIP4586 (配列番号 636)
Lys(ε-NH-(2-(2-(2-メキシエトキシ)エトキシ)アセトイル))-[dAla²] GIP(1-30)-エキセンディン-4-(31-39)  分子量=4698.21 抽出量=4693 分子式=C209H315N51O84S
0601GIP4609 (配列番号 650)


【0298】

他の実施態様において、GIP化合物は、1またはそれを超える修飾または誘導体化を組み込む。例えば、0601GIP4294は、オクチルグリシルN-末端修飾およびβ-A1aリンカーの双方を含む。さらなる例示的化合物には以下が挙げられる：

【0299】

【表 2 4】

0601GIP4399	N-オクチルグリシン-YADGTFISDYIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH ₂ (配列番号376)	104.3139 (%阻害 10nM)	
0601GIP4390	YADGTFISDYIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKKIRYS-NH ₂ (配列番号377)	90.281 (%阻害 10nM)	
0601GIP4395	YSDGTFISDYIAMDKIHQQDFVNWLLAQK(β -A)PSSGAPPPS-NH ₂ (配列番号378)	74.626 (%阻害 10nM)	
0601GIP4387	N-オクチルグリシン-YSDGTFISDYIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH ₂ (配列番号379)	97.011 (%阻害 10nM)	
0601GIP4386	YSDGTFISDYIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKKIRYS-NH ₂ (配列番号406) (配列番号380)		

10

【0300】

さらに例示的な化合物が他の（非ヒト）種由来の修飾の組み込み、または本明細書に記載されるとおりの修飾の組み合わせを示し、およびそれらのGIP受容体結合および受容体活性化活性が表に示される（化合物0601GIP3794からの改変が太字のイタリック体で強調表示される；および図12もまた参照）。

20

【0301】

【表 2 5】

化合物番号	配列	GIP RBA	シクレーゼ ^a
0601GIP3794	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号186)	3.8	38
0601GIP4190	YaEGTFISDYSIALDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号588)	2.4	31
0601GIP4151	YaEGTFISEYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号581)	20	10000
0601GIP4152	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号582)	2.3	22
0601GIP4150	YaEGTFISDYSIAMDKIAQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号580)	1.6	14
0601GIP4153	YaEGTFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号583)	0.53	11.4
0601GIP4149	YaEGTFISDYSIAMDKIKQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号 579)	1.5	36
0601GIP4165	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQAPSSGAPPPS-NH2 (配列番号584)	21	40
0601GIP4176	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQRPSGAPPPS-NH2 (配列番号585)	4.8	28
0601GIP4177	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQPSSGAPPPS-NH2 (配列番号586)	2.9	11
0601GIP4213	YaEGTFISDYSITMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号592)		44
0601GIP4214	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLSQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号593)		145
0601GIP4694	YaEGTFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLEAQEPSSGA PPPS-NH2 (配列番号651)	8.1305(%阻害, 10nM)	

【0302】

一実施形態においてGIPハイブリッドまたはそのGIP部分は1つまたは複数の以下の修飾(式、N末端-YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQK-リンカー-PPSSGAPPPS-NH2(配列番号652)の参照用としてののみ)を有する: Abu、Ala、Gly、またはSerに対するdAla2; Leuに対するMet14; Ala、Arg、またはLysに対するHis18; Gluに対するAsp21; ArgまたはHisに対するLys30; Gly(Oct)としてN末端; および/またはbAla-bAlaまたはGly-Gly-Glyリンカー。さらなる実施形態においてかかる変更の1つまたは複数が化合物0601GIP3794に対しなされる。

【0303】

一実施態様において、ハイブリッドのGIP類似体またはGIP部分は、いずれかの1またはそれを超える以下の位置: Tyr1、Tyr10、Val23、Leu27および/またはPhe22での置換、修飾および/または置換を有しない。以下の表に示すように、0601GIP3794中の1またはそれを超えるこれらの位置でのアラニンにより置換の結果、(10nMペプチド濃度にて)受容体結合の25%未満の阻害を有する類似体を生じる。まだ別の実施態様において、GIP類似体およびハイブリッドは、1またはそ

れを超える T y r 1、T y 1 0、V a l 2 3、L e u 2 7 および／または P h e 2 2 のアラニン置換を含有しない。

【 0 3 0 4 】

【表 2 6】

0601GIP4958	AaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-N H2	9.4 (%阻害 1 0nM)
0601GIP4964	YaEGTFISDASIAMDKIHQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-N H2	15.7 (%阻害 10nM)
0601GIP4940	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDAVNWLLAQKPSSGAPPPS-N H2	21.9 (%阻害 10nM)
0601GIP4941	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFANWLLAQKPSSGAPPPS-N H2	-2.5' (%阻害 10nM)
0601GIP4945	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLAQKPSSGAPPPS-N H2	26.6 (%阻害 10nM)

10

【 0 3 0 5 】

まださらなる実施態様において、G I P 類似体またはハイブリッドは、0 6 0 1 G I P 3 7 9 4 に比較して1またはそれを超える位置でのアラニン置換を有することができ、以下の表に示された受容体結合を保持する。また、そのデータは、本明細書に記載された置換および修飾に対する寛容性であることを示す。

20

【 0 3 0 6 】

【表 2 7】

0601GIP4959	YaAGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPP PS-NH ₂	72.2 (%阻害 10nM)
0601GIP4960	YaEGAFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPP PS-NH ₂	55.9 (%阻害 10nM)
0601GIP4961	YaEGTAISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPP PS-NH ₂	47 (%阻害 10nM)
0601GIP4962	YaEGTFIADYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAP PPS-NH ₂	72 (%阻害 10nM)
0601GIP4963	YaEGTFISAYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPP PS-NH ₂	82.1 (%阻害 10nM)
0601GIP4967	YaEGTFISDYAIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAP PPS-NH ₂	90.2 (%阻害 10nM)
0601GIP4968	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAP PPS-NH ₂	82 (%阻害 10nM)
0601GIP4969	YaEGTFISDYSIAADKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPP PS-NH ₂	62.9 (%阻害 10nM)
0601GIP4970	YaEGTFISDYSIAMAKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPP PS-NH ₂	86.7 (%阻害 10nM)
0601GIP4935	YaEGTFISDYSIAMDAIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPP PS-NH ₂	61.4 (%阻害 10nM)
0601GIP4936	YaEGTFISDYSIAMDKAHQQDFVNWLLAQKPSSGAP PPS-NH ₂	84.6 (%阻害 10nM)
0601GIP4937	YaEGTFISDYSIAMDKIHAQDFVNWLLAQKPSSGAPP PS-NH ₂	85.4 (%阻害 10nM)
0601GIP4938	YaEGTFISDYSIAMDKIHQADFVNWLLAQKPSSGAPP PS-NH ₂	79.3 (%阻害 10nM)
0601GIP4939	YaEGTFISDYSIAMDKIHQAFVNWLLAQKPSSGAPP PS-NH ₂	91.9 (%阻害 10nM)
0601GIP4942	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVAWLLAQKPSSGAPP PS-NH ₂	78.8 (%阻害 10nM)
0601GIP4943	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNALLAQKPSSGAPP PS-NH ₂	49 (%阻害 10nM)
0601GIP4944	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWALAQPSSGAPP PS-NH ₂	65.7 (%阻害 10nM)
0601GIP4946	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAAKPSSGAPP PS-NH ₂	73.9 (%阻害 10nM)

10

20

30

40

【0 3 0 7】

本発明の化合物のGIP部分に使用され得るさらに例示的な修飾（0601GIP3794と比較して）、およびそれらを含む例示的化合物が、表に示される（および図12を参照）：

【0 3 0 8】

【表 28-1】

化合物番号	配列	GIP RBA	シクラーゼ*
0601GIP4263	YaEGTFISDYSIALDKIAQQEFVNWLLAQRPSGAPPPS-NH2 (配列番号600)	0.66	6.2
0601GIP4278	YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAQRPSGAPPPS-NH2 (配列番号601)	0.24	3.5
0601GIP4264	YaEGTFISDYSIALDKIKQQEFVNWLLAQRPSGAPPPS-NH2 (配列番号653)	2.1	14
0601GIP4279	YaEGTFISDYSIALDKIAQQEFVNWLLAHPSSGAPPPS-NH2 (配列番号602)	2.1	14
00	YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAHPSSGAPPPS-NH2 (配列番号654)		
PP	YaEGTFISDYSIALDKIKQQEFVNWLLAHPSSGAPPPS-NH2 (配列番号655)		
0601GIP4235	YaEGTFISDYSIAMDKIHQVKFVNWLLAKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号597)		
0601GIP4283	YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号603)	0.41	
0601GIP4284	YaEGTFISDYSIALDKIKQQEFVNWLLAKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号604)	1.8	
0601GIP4285	YaEGTFISDYSIALDKIAQQEFVNWLLAKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号605)	0.58	
0601GIP4286	YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAHPSSGAPPPS-NH2 (配列番号606)	1000	
0601GIP4287	YaEGTFTADYSKALDKIHQQDFVNWLLAKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号607)	27	
VV	YaEGTFTSDYSKALDKIHQQDFVNWLLAKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号656)		
WW	YaEGTFISDYSKAMDKIRQQEFVNWLLAKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号657)		
XX	YaEGTFISDYSIALEKIRQQKFVNWLLAKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号658)		
0601GIP4289	YaEGTFISDYSIALDKIRQQDFVEWLLAKPSSGAPPPS-NH2 (SEQ ID No 609)	0.58	22
ZZ	YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAQK-bA1a-PSSGAPPPS-NH2 (配列番号659)		

【表 28-2】

AAA	YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAQK-bA1a-PSSGAPPPS-NH2 (配列番号660)		
0601GIP4215	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQLFIEWLKNGGPSSGAPPPS-NH2 (配列番号374)		
0601GIP4288	YaEGTFISDYSIAMDKIRQQEFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号608)		
AAAA	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNFLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号661)		
BBBB	YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNFLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号185)		
0601GIP4696	YaEGTFISDYSIAMDKILQQDFVNWLSAQQPSSGAPPPS-NH2 (配列番号662)	17.0923 (%阻害, 10nM)	

10

【0310】

例示的類似体としてはまた、酸化を除去または低減するアミノ酸修飾も挙げられる。かかる置換としては、欠失またはメチオニン14のロイシンとの、および／またはトリプトファン25のフェニルアラニンとの置換が挙げられる。従って、具体的な例示的類似体としては1つまたは複数のかかる置換を有することによる本明細書に記載される各類似体の変異体が挙げられる。一例としては、Trp置換として位置25位でPheを有する0601GIP3794のD-A1a2およびL-A1a2類似体である化合物AAAAおよびBBBBである。

20

【0311】

さらなる例示的な「テール」修飾(0601GIP3794(配列番号186)と比較して)、例えば、単独または他の修飾および誘導体化と組み合わせたカエルGLP-1テール(PKKIRYS)(配列番号421)を有するものおよびそれらを有する例示的化合物が、受容体結合および活性化データとともに、以下の表に示される(および図12を参照)。Adoは、8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸であり、Aunは、11-アミノウンデカン酸である。

30

【0312】

【表 29-1】

化合物番号	配列番号	GIP RBA	GIPR シグラーゼ
0601GIP3794	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号186)	3.8	38
0601GIP4216 Trp ケージ "Leu21-Pro38"	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQLFIEWLKNGGPSSGAPPPS-NH2 (配列番号594)	12	122
0601GIP4233 fGLP1 テール	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKKIRYS-NH2 (配列番号595)	0.1	31
0601GIP4234 fGLP1 テール	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSKEIIS-NH2 (配列番号596)	3.4	83
0601GIP4236 ヘロ スペクチニン I テール	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKTSRPPS-NH2 (配列番号598)	0.62	29
0601GIP4798	LYaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPK KIRYS-NH2 (配列番号663)	82.3 (%阻害 10nM)	
0601GIP4799	LYaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPK KIRYS-NH2 (配列番号664)	91.6 (%阻害 10nM)	
0601GIP4801	IYaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKK IRYS-NH2 (配列番号665)	88.8 (%阻害 10nM)	
0601GIP4802	LYaEGTFISDYSIALDKIAQQEFVNWLLAQKPKK IRYS-NH2 (配列番号666)	87.3 (%阻害 10nM)	
0601GIP4803	LYaEGTFISDYSIALDKIAQQEFVNWLLAQKPK KIRYS-NH2 (配列番号667)	89.9 (%阻害 10nM)	
0601GIP4804	IYaEGTFISDYSIALDKIAQQEFVNWLLAQKPKKI RYS-NH2 (配列番号668)	85.3 (%阻害 10nM)	
0601GIP4766	メチル-YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLA QKPKKIRYS-NH2 (配列番号669)	94.5 (%阻害 10nM)	
	HaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKK IRYS-NH2 (配列番号670)		
	HGEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPK KIRYS-NH2 (配列番号671)		
	HAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPK KIRYS-NH2 (配列番号672)		
	HGEGTFISDYSIALDKIAQQEFVNWLLAQKPKKI RYS-NH2 (配列番号673)		

【0313】

10

20

30

40

【表 29-2】

	HGEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAQKPKKIRYS-NH2 (配列番号674)		
	HGEGTLISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKKIRYS-NH2 (SEQ ID No, 675)		
	YAibEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKKIRYS-NH2 (配列番号676)		
0601GIP4192	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKSGAPPPS-NH2 (SEQ ID NO 590)	7	135
0601GIP4807	YaEGTFISDYSIALDKIHQQDFVNWLLAQKPKKIRYS-NH2 (配列番号677)	96.1 (%阻害 10nM)	
0601GIP4233	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKKIRYS-NH2 (配列番号678)	0.1 RIN, 0.210, IC50 HEK-GIPR	31
0601GIP4327	YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKKIRYS-NH2 (配列番号405)	96.504 (%阻害 10nM)	92.6
0601GIP4762	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKKIRYS-OH (配列番号679)	79.1 (%阻害 10nM)	
0601GIP4386	YSDGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKKIRYS-NH2 (配列番号406)	IC50=156 nM RIN, 93.588 (%阻害 10nM)	56
0601GIP4698	グアニド-YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKKIRYS-NH2 (配列番号680)	78.3 (%阻害 10nM)	
0601GIP4791	グアニド-YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAQKPKKIRYS-NH2 (配列番号681)		
0601GIP4538	YSEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKKIRYS-NH2 (配列番号407)	94.2371 (%阻害 10nM)	
0601GIP4539	YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLAQKPKKIRYS-NH2 (配列番号615)	98.6752 (%阻害 10nM)	
0601GIP4540	YaEGTFISDYSIALDKIRQQDFVEWLLAQKPKKIRYS-NH2 (配列番号616)	92.2169 (%阻害 10nM)	
0601GIP4648	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQK(β -A)(β -A)PKKIRYS-NH2 (配列番号682)	85.1034 (%阻害 10nM)	
0601GIP4631	YaEGTFISDYSIALDKIAQQEFVNWLLAQKPKKIRYS-NH2 (配列番号683)	79.031 (%阻害 10nM)	

10

20

30

【0314】

【表 2 9 - 3】

0601GIP4805	OctG-YAEGTFISDYSIALDKIAQQEFVNWLLAQKP KKIRYS-NH2 (配列番号684)	83.5 (%阻害 1 0nM)	
0601GIP4561	OctG-YaEGTFISDYSIAMDKIRQQEFVNWLLAQKPK KIRYS-NH2 (配列番号685)		
0601GIP4673	OctG-YaEGTFISDYSIALDKIAQQEFVNWLLAQKPK KIRYS-NH2 (配列番号686)	94.9197 (%阻害 10nM)	
0601GIP4672	OctG-YaEGTFISDYSIALDKIAQQDFVEWLLAQKPK KIRYS-NH2 (配列番号687)	91.9031 (%阻害 10nM)	
0601GIP4713	Guan-YaEGTFISDYSIALDKIAQQEFVNWLLAQKPK KIRYS-NH2 (配列番号688)	86.7 (%阻害 1 0nM)	
0601GIP4711	Guan-YaEGTFISDYSIALDKIAQQDFVEWLLAQKPK KIRYS-NH2 (配列番号689)	95 (%阻害 10n M)	
0601GIP83	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSKEIIS -NH2 (配列番号690)	3.4	
0601GIP4710	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSKEIHH -OH (配列番号691)	79.2 (%阻害 1 0nM)	
0601GIP4765	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSKEIIS -OH (配列番号692)	67 (%阻害 10n M)	
0601GIP4236	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKTSRPP S-NH2 (配列番号598)	0.62	29
0601GIP4328	YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKTSRPP S-NH2 (配列番号408)	104.7575(%阻 害 10nM)	46.8
0601GIP4345	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKTSPPP- NH2 (配列番号612)	76.134(%阻害 10nM)	103
0601GIP4401	YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKTSRPP SS-NH2 (配列番号409)	102.8819(%阻 害 10nM)	
0601GIP4346	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKLIKLI KS-NH2 (配列番号613)	91.004(%阻害 10nM)	235
0601GIP4700	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKGKG KS-NH2 (配列番号693)	86.6(%阻害, 10 nM)	
0601GIP4400	YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQK-Ado-A un (配列番号410)	98.3705(%阻害 10nM)	
0601GIP4402	YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQ-K(N-イ ブシロン)-PSSGAPPPS-NH2 (配列番号614)	103.3047(%阻 害 10nM)	
0601GIP4619	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKGFVLW KGIQ-NH2 (配列番号694)	84.5725(%阻害 10nM)	

【0 3 1 5】

単独でまたは他の修飾および誘導体化と組み合わせて用いることができるさらにさらなる例示的「テール」修飾（カエル G L P 1 テール P K K I R Y S（配列番号 4 2 1）を組込む 0 6 0 1 G I P 4 2 3 3 に比較する）ならびにそれらを含む例示的な G I P 化合物を種々の活性と共に以下の表に示す。類似体 0 6 0 1 G I P 4 2 3 3 は、驚くべき高溶解度（例えば、pH 4～8 の 3 0 mM ヒスチジン緩衝液中の 5 m g / m l を超える溶解度）を有する G I P 類似体の例であり、それはカエル G L P - 1 の C 末端テールを含む。それが組込まれる G I P 類似体またはハイブリッドの溶解度を改善するさらなるかかるテール修飾は、0 6 0 1 G I P 4 9 5 1 に見出されるカエルテールおよびエキセンディンテール：P K K I P P P S（配列番号_____）のキメラである。このキメラテールは、溶解

10

20

30

40

50

度を改善するために本明細書に開示された他のG I P類似体およびハイブリッドに組込むことができる。また、以下の表に示すさらなる修飾および誘導体化は、G I P類似体またはハイブリッドに組込まれる場合に、例えば、ラットI V G T Tアッセイ中にテストされる作用期間、および血漿安定性を改善できる。生体内試験において、そのカエルテールを有する類似体の主要な切断部位は、I l e 3 4 - A r g 3 5 ペプチド結合であった。結果的に、一実施態様において、親ペプチドに比較して試験管内切断を低下させるためのこれらの2つの一方または双方での修飾、置換または誘導体化を有するG I P類似体またはハイブリッドである。(0601G I P 4 2 3 3に比較した)かかる修飾の例を以下の表に示し、本明細書に示したその他のG I P類似体およびハイブリッドのいずれかと共に用いることが考えられる。

【0316】

【表30-1】

		(%阻害 10n m, GIP-LF アッセイ)	OGTT/ GL(%)	基礎グルコース 低下80 n mol/Kg	溶解度	ラットIVGTT アッセイに おける期 間
0601 GIP4 233	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP KKIRYS-NH2	89 (%阻害 10nM); 0.1 2,0.41, 0.2 1 IC50 HE K-GIPR	-22 350 nmol/kg, -17 30 nmol/kg	-8~ -19% , AUC240	>5mg/ml	-120分 にて < 794
0601 GIP4 807	YaEGTFISDYSIALDKI HQQDFVNWLLAQKP KKIRYS-NH2	96.1 (%阻害 10nM)	-27, 30n mol/kg	-26%, AU C240		-120分 にて < 794
0601 GIP4 798	LYaEGTFISDYSIAMDK IHQQDFVNWLLAQKP KKIRYS-NH20601GIP	82.3 (%阻害 10nM)	-27, 30n mol/kg	-8%, AUC 240		-120分 にて < 3794
0601 GIP4 799	LYAEGTFISDYSIAMDK KIHQQDFVNWLLAQ KPKKIRYS-NH2	91.6 (%阻害 10nM)	-10, 30n mol/kg			
0601 GIP4 801	IYaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP KKIRYS-NH2	88.8(%阻害 10nM)	-23, 30n mol/kg	-1%, AUC 240		
0601 GIP4 802	LYaEGTFISDYSIALDK IAQQEFVNWLLAQKP KKIRYS-NH2	87.3(%阻害 10nM)	-28, 30n mol/kg	-15%, AU C240		-120分 にて < 794
0601 GIP4 803	LYAEGTFISDYSIALDK IAQQEFVNWLLAQKP KKIRYS-NH2	89.9(%阻害 10nM)	-16, 30n mol/kg			
0601 GIP4 804	IYaEGTFISDYSIALDKI AQQEFVNWLLAQKP KKIRYS-NH2	85.3(%阻害 10nM)	-15, 30n mol/kg			
0601 GIP4 951	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP KKIPPPS-NH2	102.6(%阻害 , 10nM)	-25, 30n mol/kg	-17%, AU C240	>5mg/ml	-120分 にて < 794

【0317】

【表 3 0 - 2】

0601 GIP4 838	HaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP KKIRYS-NH2	34.3(%阻害 10nM)				
0601 GIP4 839	HGEGTFISDYSIAMDK IHQQDFVNWLLAQKP KKIRYS-NH2	23.9(%阻害 10nM)				
0601 GIP4 840	HAEGTFISDYSIAMDK IHQQDFVNWLLAQKP KKIRYS-NH2	44.1(%阻害 10nM)				
0601 GIP4 841	HGEGTFISDYSIALDKI AQQEFVNWLLAQKP KKIRYS-NH2	56.6(%阻害 10nM)				
0601 GIP4 842	HGEGTFISDYSIALDKI RQQEFVNWLLAQKP KKIRYS-NH2	40.8(%阻害 10nM)				
0601 GIP4 843	HGEGTLISDYSIAMDK IHQQDFVNWLLAQKP KKIRYS-NH2	3(%阻害 10 nM)				
0601 GIP4 845	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNQLLAQKP KKIRYS-NH2	69.5(%阻害, 10nM)	-21, 30n mol/kg	-14%, AU C240		
0601 GIP4 865	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVQWLLAQKP KKIRYS-NH2	85.6(%阻害, 10nM)	-17, 30n mol/kg			
0601 GIP4 864	Y(Aib)EGTFISDYSIAM DKIHQQDFVNWLLA QKPKKIRYS-NH2	91.2(%阻害 10nM)	-13, 30n mol/kg			
0601 GIP4 814	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKA KKIRYS-NH2	88 (%阻害 10nM)	-22, 30n mol/kg	-16%, AU C240		
0601 GIP4 815	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP AKIRYS-NH2	89 (%阻害 10nM)	-23, 30n mol/kg	-14%, AU C240		-120分 にて < 794
0601 GIP4 816	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP KAIRYS-NH2	87.3 (%阻害 10nM)	-19, 30n mol/kg	-9%, AU C240		-120分 にて < 794

10

20

30

40

【 0 3 1 8 】

【表 3 0 - 3】

0601 GIP4 856	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP KKARYS-NH2	83.7 (%阻害 10nM)	-29, 30n mol/kg	-3%, AU C240		-120分 にて < 794
0601 GIP4 817	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP KKIAYS-NH2	80.5 (%阻害 10nM); 0. 45IC50Hek GIPR	-20, 30n mol/kg	-4%, AU C240		-120分 にて < 794
0601 GIP4 818	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP KKIRAS-NH2	76.1 (%阻害 10nM)	-23, 30n mol/kg	-9%, AU C240		
0601 GIP4 819	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP KKIRYA-NH2	80.4 (%阻害 10nM)	-26, 30n mol/kg	-15%, AU C240		
0601 GIP4 820	YaEGFISDYSIAMDKIH QQDFVNWLLAQKPSP KKIRYS-NH2	46 (%阻害 10nM)				
0601 GIP4 823	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP SPKKIRYS-NH2	94.1 (%阻害 10nM)	-23, 30n mol/kg	-23%, AU C240		-120分 にて < 794
0601 GIP4 821	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP KSARPS-NH2	93.5 (%阻害 10nM)	-28, 30n mol/kg	-5%, AU C240		-120分 にて < 794
0601 GIP4 822	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP KKLKPS-NH2	95.4 (%阻害 10nM)	-23, 30n mol/kg	-11%, AU C240		-120分 にて < 794
0601 GIP4 914	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP KKQRYs-NH2	96.3 (%阻害 10nM)				
0601 GIP4 913	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP KKIQYS-NH2	92.1 (%阻害 10nM)				
0601 GIP4 906	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGRYS-NH2		-28, 30n mol/kg	-15%, AU C240		
0601 GIP4 851	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP NKIRYS-NH2	87 (%阻害 10nM)				

10

20

30

40

【 0 3 1 9】

【表 3 0 - 4】

0601 GIP48 52	YaEGTFISDYSIAMDKIH QQDFVNWLLAQKPKN IRYS-NH2	90 (%阻害 1 0nM)				
0601 GIP48 55	YaEGTFISDYSIAMDKIH QQDFVNWLLAQKPKQ IRYS-NH2	78.8 (%阻害 10nM); IC50 =0.72HEKGI PR	-21, 30n mol/kg			-120分 にて < 794
0601 GIP48 53	YaEGTFISDYSIAMDKIH QQDFVNWLLAQKPKQ IRYS-NH2	91 (%阻害 1 0nM)	-25, 30n mol/kg	-20%, AU C240		-120分 にて < 794
0601 GIP48 54	YaEGTFISDYSIAMDKIH QQDFVNWLLAQKPKQ IRYS-NH2	93.5 (%阻害 10nM)	-14, 30n mol/kg			-120分 にて < 794
0601 GIP48 98	YaEGTFISDYSIAMDKIH QQDFVNWLLAQKPKSI RYS-NH2		-23, 30n mol/kg			
0601 GIP48 99	YaEGTFISDYSIAMDKIH QQDFVNWLLAQKPSKI RYS-NH2		-26, 30n mol/kg			
0601 GIP49 00	YaEGTFISDYSIAMDKIH QQDFVNWLLAQKPKQ IQYS-NH2		-29, 30n mol/kg			
0601 GIP49 04	YaEGTFISDYSIAMDKIH QQDFVNWLLAQKPKG KIRYS-NH2		-35, 30n mol/kg			
0601 GIP48 24	YaEGTFISDYSIAMDKIH QQDFVNWLLAQKPKK (OctG)RYS-NH2	92.9 (%阻害 10nM)	-15, 30n mol/kg			
0601 GIP48 25	YaEGTFISDYSIAMDKIH QQDFVNWLLAQKPKK IRYS(OctG)-NH2	77.5 (%阻害 10nM)	-22, 30n mol/kg	-15%, AU C240		
0601 GIP48 06	OctG-YAEGTFISDYSIA MDKIRQQEFVNWLLA QHPKKIRYS-NH2	101.3 (%阻害 10nM)	-14, 30n mol/kg	-5%, AUC 240		
0601 GIP48 05	OctG-YAEGTFISDYSIA LDKIAQQEFVNWLLA QKPKKIRYS-NH2	83.5 (%阻害 10nM)	-13, 30n mol/kg			

10

20

30

40

【 0 3 2 0 】

結果的に、一実施態様において、少なくとも1日、少なくとも3日または少なくとも7日間の40℃の加速安定性下のpH4～9、pH5～7、またはさらにpH6～7での25%未満、15%未満、10%未満または約5%未満の効力損失を有するGIP類似体である。まださらなる実施態様において、GIP類似体は、少なくとも1またはそれを超える約pH4、5、6、7、8または9で、およびさらに少なくとも3またはそれを超えるこれらのpH、さらにこれらのすべてのpHでさえ、少なくとも約1mg/ml、少なくとも約2mg/ml、少なくとも約3mg/ml、少なくとも約4mg/mlまたは少なくとも約5mg/mlを超える溶解度を有する。一実施態様において、GIP化合物は、

50

pH 6 の 30 mM ヒスチジン緩衝液中で少なくとも約 2.0 ml/ml および／または pH 6 の 30 mM ヒスチジン緩衝液中で少なくとも 5.0 ml/ml の溶解度を有する。またさらなる実施態様において、GIP 化合物は、40℃にて少なくとも 7 日間、pH 6 の 30 mM ヒスチジン緩衝液中で少なくとも約 80% 活性、少なくとも約 90% 活性、少なくとも約 95% 活性を保持する。

【0321】

GIP 類似体の溶解度を増加させる（0601GIP3794 に比較して、Leu14、Ala18 および Glu21 置換を有する 0601GIP4285（配列番号_____）に比較した）さらなる例示的な「テール」修飾は、0601GIP4285 に比較したそれらの作用期間を改善および／またはグルコース低下を増加させ、それは、単独で用い
10
るまたは他の修飾および誘導体化と組み合わせることができ、それらを含むその例示的な GIP 化合物をそれらの受容体結合および活性化データと共に以下の表に示す。例えば、0601GIP4285 に比較した 0601GIP4974 のテール領域、より詳細には修飾テール領域中の P についての N の置換は、他の GIP 化合物に取り込むことができるかかる修飾である。（以下の「Ocg」は、オクチルグリシンを意味する）。

【0322】

【表 3 1】

		(%阻害 10nmol/L, GIP-LFアッセイ)	OGTT/GL (%)	基礎 グルコース低下80 nmol/kg	溶解度	ラットIVGTTアッセイにおける期間
0601 GIP4 285	YaEGTFISDYSIALDKI AQQEFVNWLLAQKP SSGAPPPS-NH2	IC50=0.110, 0.22 HEK-GIPR)	-17, 30nmol/kg	-2%, AUC 240	<1mg/ml	-120分にて = 794
0601 GIP4 974	YaEGTFISDYSIALDKI AQQEFVNWLLAQKP SSGAPPNS-NH2	IC50 HEK-GIPR 0.18;	-21, 30nmol/kg; ED50 ~0.4nmol/kg	-19%, AUC 240	<1mg/ml	-120分にて > 794
0601 GIP4 992	YaEGTFISDYSIALDKI AQQEFVNWLLAQKP SSGAPPQS-NH2	85.8(%阻害, 10nM)	-18, 30nmol/kg	-17%, AUC 240		
0601 GIP4 979	YaEGTFISDYSIALDKI AQQEFVNWLLAQKP SSGAPPQSK-NH2	84.5(%阻害, 10nM)	-20, 30nmol/kg	-19%, AUC 240	<1mg/ml	-120分にて =794
0601 GIP5 074	YaEGTFISDYSIALDKI AQQEFVNWLLAQKP SSGAPPPSK-NH2	95.8(%阻害, 10nM)	-37, 30nmol/kg			
0601 GIP5 083	YaEGTFISDYSIALDKI AQQEFVNWLLKQKP SSGAPPPSNH2	98.9(%阻害, 10nM)	-23, 30nmol/kg			
0601 GIP5 084	YaEGTFISDYSIALDKI AQQEFVNWLLAQKP SSGKPPPS-NH2	99.4(%阻害, 10nM)	-22, 30nmol/kg			
0601 GIP5 085	YaEGTFISDYSIALDKI AQQEFVNWLLAQKP SSGAKPPS-NH2	98.1(%阻害, 10nM)	-26, 30nmol/kg			
0601 GIP5 095	YaEGTFISDYSIALDKI AQQEFVNWLLAQKP SSGAPKPS-NH2	98.9(%阻害, 10nM)	-22, 30nmol/kg			
0601 GIP5 096	YaEGTFISDYSIALDKI AQQEFVNWLLAQKP SSGAPPKS-NH2	98.2(%阻害, 10nM)	-18, 30nmol/kg			
0601 GIP5 097	YaEGTFISDYSIALDKI AQQEFVNWLLAQKP SSGAPPKSK-NH2	100.9%阻害, 10nM)	-21, 30nmol/kg			

10

20

30

40

【0 3 2 3】

さらなる例示的テール修飾を以下の表に記載する。その修飾は、血漿安定性の増加を提供する。一実施態様において、カエルGLP-1 テール領域は、蛋白質分解切断を防止または低下させるための「KK」配列でまたはその付近で置換または修飾される。かかる修飾テール領域は以下の表中に特定のGIP類似体の文脈において示されるが、結合したGIP部分の血漿安定性を増加させるかかる修飾テール配列は、血漿安定性およびより長い半減期の増強を提供するように本明細書に開示されたものを含めたいずれのGIP類似体または誘導体と用いられるものであることを意図する。修飾テールは、本明細書に記載された1またはそれを超えるGIP修飾または誘導体化と組み合わせることができる。さらに、修飾-カエル-テール含有GIP化合物は、GIPハイブリッドの特に有用な成分で

50

ある。さらなる実施態様において、安定性を増強するカエル G L P 1 テールおよびその類似体および誘導体は、本明細書に記載された G I P、エキセンディン、G L P 1 または他のペプチドホルモンと共に用いるエキセンディンテールに対する代替物として特に注目される。

【 0 3 2 4 】

【表 3 2】

0601GIP4814	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKAKKI RYS-NH2 (配列番号695)	88 (%阻害 10nM)	
0601GIP4815	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPAKI RYS-NH2 (配列番号696)	89 (%阻害 10nM)	
0601GIP4816	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKAI RYS-NH2 (配列番号697)	87.3 (%阻害 10nM)	
0601GIP4817	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKKI AYS-NH2 (配列番号698)	80.5 (%阻害 10nM)	
0601GIP4818	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKKI RAS-NH2 (配列番号699)	76.1 (%阻害 10nM)	
0601GIP4819	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKKI RYA-NH2 (配列番号700)	80.4 (%阻害 10nM)	
0601GIP4820	YaEGFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSPKK IRYS-NH2 (配列番号701)	46 (%阻害 10nM)	
0601GIP4823	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSPK KIRYS-NH2 (配列番号702)	94.1 (%阻害 10nM)	
0601GIP4821	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKSA RPS-NH2 (配列番号703)	93.5 (%阻害 10nM)	
0601GIP4822	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKK LKPS-NH2 (配列番号704)	95.4 (%阻害 10nM)	
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPNKI RYS-NH2 (配列番号705)		
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKNI RYS-NH2 (配列番号706)		
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKKI RYS-NH2 (配列番号707)		
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKQI RYS-NH2 (配列番号708)		
0601GIP4824	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKK(OctG)RYS-NH2 (配列番号709)	92.9 (%阻害 10nM)	
0601GIP4825	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPKKI RYS(OctG)-NH2 (配列番号710)	77.5 (%阻害 10nM)	

【 0 3 2 5 】

ヒト G I P または 0 6 0 1 G I P 4 2 8 8 に比較した G I P 類似体の溶解度、作用期間またはグルコース低下を改善し、単独で用いるまたは本明細書に開示した他の修飾および誘導体化と組み合わせた (0 6 0 1 G I P 3 7 9 4 に比較した L e u 1 4、G l u 1 5 および A r g 1 8 および G l u 2 1 置換を有する 0 6 0 1 G I P 4 2 8 8 (配列番号_____) に比較した) さらなる例示的な「テール」修飾、ならびにそれらを含む例示的な化合物を種々の活性と共に以下の表に示す。(以下の「O c g」は、オクチルグリシンを意味する)。

【 0 3 2 6 】

10

20

30

40

50

【表 3 3 - 1】

		(%阻害 10 nm, GIP-L F アッセイ)	OGTT/GL(%)	80 nmol/Kgのヘ プチド濃度で の基礎グルコース 低下	溶解 度	ラットIVGTT アッセイにお ける期間
0601 GIP4 288	YaEGTFISDYSIALE KIRQQEFVNWLLA QKPSSGAPPPS-NH 2	HEK-GIP R IC50 = 0.16	-19 350nm ol/kg, -24 30nmol/kg ED50~0.8n mol/kg	-9~-22%, AU C240	<1mg /ml	-240分 にて >794
0601 GIP5 040	YaEGTFISDYSIALE KIRQQEFVNWLLA QKPSSGAPPPS-NH 2	91.3(%阻 害 10nM)	-24, 30nmo l/kg	-16%, AUC24 0		
0601 GIP4 975	YaEGTFISDYSIALE KIRQQEFVNWLLA QKPSSGAPPNS-NH 2	GIPR-HE K IC50 = 0.1	-14 and -2 4, 30nmol/ kg	-3%~-14%, A UC240		-240分 にて >794
0601 GIP5 070	YaEGTFISDYSIALE KIRQQEFVNWLLA QKPSSGARPPS-NH 2	97.3 (%阻 害 10nM)	-30, 30nmo l/kg			
0601 GIP5 071	YaEGTFISDYSIALE KIRQQEFVNWLLA QKPSSGAKPPS-NH 2	97.8 (%阻 害 10nM)	-31, 30nmo l/kg			
0601 GIP5 072	YaEGTFISDYSIALE KIRQQEFVNWLLA QKPSSGAPKPS-NH 2	98.8 (%阻 害 10nM)	-22, 30nmo l/kg			
0601 GIP5 073	YaEGTFISDYSIALE KIRQQEFVNWLLA QKPSSGAPDPS-NH 2	91.1 (%阻 害 10nM)	-32, 30nmo l/kg			

10

20

30

【 0 3 2 7】

【表 3 3 - 2】

0601 GIP5 080	YaEGTFISDYSIALE KIRQQEFVNWLLA QKPSSGAPPKS-N H2	95.3 (%阻 害 10nM)	-32, 30nmo l/kg			
0601 GIP5 081	YaEGTFISDYSIALE KIRQQEFVNWLLK QKPSSGAPPS-NH 2	100(%阻害 10nM)	-28, 30nmo l/kg			
0601 GIP5 082	YaEGTFISDYSIALE KIRQQEFVNWLLK QKPSSGAPPKS-NH 2	99.7(%阻 害 10nM)	-24, 30nmo l/kg			
0601 GIP5 098	YaEGTFISDYSIALE KIRQQEFVNWLLA QKPSSGAPPNSK-N H2	97(%阻害 10nM)	-20, 30nmo l/kg			
0601 GIP4 996	YaEGTFISDYSIALD KIKQQEFVNWLLA QKPSSGAPPQS-NH 2	88.2 (%阻 害 10nM)	-14, 30nmo l/kg			

10

20

【0 3 2 8】

溶解度、作用期間および／またはグルコース低下活性を改善でき、単独で用いるまたは本明細書に開示した他の修飾および誘導体化と組み合わせた（エキセンディンテール P S S G A P P P S（配列番号_____）を組込む 0 6 0 1 G I P 3 7 9 4 に比較した）まださらにさらなる例示的な「テール」修飾、ならびにそれらを含む例示的な化合物を以下の表に示す。例えば、一実施態様において、G I P アナログまたはハイブリッドは、（その C 末端で）以下の表中の P S S G A P P N S のごときテール配列のいずれか 1 つを組込み、親化合物に比較してより大きな溶解度、作用期間の改善またはグルコース低下の改善を達成するであろう。別の実施態様において、G I P 類似体またはハイブリッドは、（0 6 0 1 G I P 3 7 9 4 に比較した）以下の表からのいずれかの 1 またはそれを超える非テールアミノ酸置換を組込み、溶解度、作用期間の改善またはグルコース低下の改善を達成できる。

30

【0 3 2 9】

【表 3 4 - 1】

		(%阻害 10n m,GIP-LF アッセイ)	OGTT /GL(%)	80 nmol/ Kgでの基 礎グルコース 低下	溶解 度	ラットIVGTTアッ セイにおける 期間
0601 GIP4 844	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNQLLAQKPS SGAPPPS-NH2	27(%阻害, 10nM); IC5 011HEKGI PR	-4, 30 nmol/k g			-120分にて 期間< 0601G IP3794
0601 GIP4 846	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVQWLLAQKP SSGAPPPS-NH2	79.6(%阻害, 10nM)	-25, 3 0nmol/ kg	-6%, AUC2 40		
0601 GIP4 866	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNNLLAQKPS SGAPPPS-NH2	47.9(%阻害, 10nM); IC 50=39HEK GIPR	+7, 30 nmol/k g			
0601 GIP4 901	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNSLLAQKPS SGAPPPS-NH2		-10, 3 0nmol/ kg			
0601 GIP4 867	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLNAQKP SSGAPPPS-NH2	0.3(%阻害, 10nM)				
0601 GIP4 868	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLSAQKP SSGAPPPS-NH2	8.1(%阻害, 10nM)				
0601 GIP4 869	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLQAQKP SSGAPPPS-NH2	18.9(%阻害, 10nM)				
0601 GIP4 858	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWNLAQKP SSGAPPPS-NH2	11.4(%阻害, 10nM)				
0601 GIP4 859	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWSLAQKP SSGAPPPS-NH2	4.5(%阻害, 10nM)				

10

20

30

【 0 3 3 0】

【表 3 4 - 2】

0601 GIP4 860	YaEGTFISDYIAMDKI HQQDFVNWQLAQKP SSGAPPPS-NH2	-1.8(%阻害, 10nM)				
0601 GIP4 861	YaEGTFISDYIAMDKI HQQDFVEWLKAQKP SSGAPPPS-NH2	17.4(%阻害, 10nM)				
0601 GIP4 862	YaEGTFISDYIAMDKI HQQDFVNNLNAQKPS SGAPPPS-NH2	-14.3(%阻害, 10nM)				
0601 GIP4 902	YaEGTFISDYIAMDKI HQQDFVNWLLKQKP SSGAPPPS-NH2		-19, 3 0nmol/ kg	-28, AUC 240		
0601 GIP4 909	YaEGTFISDYIAMDKI HQQDFVNWLLHQKP SSGAPPPS-NH2	55(%阻害, 10nM)				
0601 GIP4 911	YaEGTFISDYIAMDKI HQQDFVNWLLGQKP SSGAPPPS-NH2	79(%阻害, 10nM)				
0601 GIP4 910	YaEGTFISDYIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGHPPPS-NH2	78.8(%阻害, 10nM)				
0601 GIP4 847	YaEGTFISDYIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGNPPPS-NH2	70(%阻害, 10nM); IC5 0=1.3HEK GIPR	-20, 3 0nmol/ kg	-1 to -15 %, AUC240		-120分にて = 794
0601 GIP4 971	YaEGTFISDYIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGQPPPS-NH2	97.1(%阻害, 10nM)	-22, 3 0nmol/ kg	-15, AUC 240		
0601 GIP4 848	YaEGTFISDYIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGANPPS-NH2	75(%阻害, 10nM); IC5 0=0.93HEK GIPR	-22, 3 0nmol/ kg			-120分にて < 794

10

20

30

【 0 3 3 1】

【表 3 4 - 3】

0601 GIP4 849	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGAPNPS-NH2	66, 81.4(% 阻害, 10n M); IC50=0 .79HEKGIP R	-19, 3 0nmol/ kg			-120分にて =794
0601 GIP4 850	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGAPPNS-NH2	69(%阻害, 10nM);IC50 =0.64, 0.5, 0.41HEK GIPR	-21, 3 0nmol/ kg, ED 50~6nm ol/kg	-21% to 2% , AUC240	~1mg /ml	-120分にて =794
0601 GIP4 957	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGAPPQS-NH2	99.4(%阻害, 10nM); IC 50 HEK-G IPR 0.51;	-13 an d -22, 30nmo l/kg	-8%, AUC 240		-120分にて =794
0601 GIP5 029	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGAPPDS-NH2	GIPR-HEK IC50= 2.2	-22, 3 0nmol/ kg	-1%, AUC 240		
0601 GIP4 972	YaEGTFISDYSIALDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGAPPNS-NH2	101(%阻害, 10nM)	-17, 3 0nmol/ kg			
0601 GIP4 973	YaEGTFISDYSIALDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGAPPQS-NH2	102.3(%阻 害, 10nM)	-19, 3 0nmol/ kg	-17, AUC 240		
0601 GIP5 075	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGQPPQSK-NH2	83.7(%阻害, 10nM)	-30, 3 0nmol/ kg			
0601 GIP5 076	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGAPPQSK-NH2	90.9(%阻害, 10nM)	-30, 3 0nmol/ kg			
0601 GIP4 952	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGAPGPS-NH2	96.1(%阻害, 10nM)	-21, 3 0nmol/ kg	-1, AUC2 40		

10

20

30

【 0 3 3 2 】

【表 3 4 - 4】

0601 GIP4 948	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGKPPPS-NH2	93.7(%阻害, 10nM); GI PR-HEK I C50 = 0.4 2	-32, 3 0nmol/ kg	-14, AUC 240	>5mg /ml	-120分にて < 794
0601 GIP4 947	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGAPPKS-NH2	90.9(%阻害, 10nM), GI PR-HEK I C50=0.59	-29, 3 0nmol/ kg	-19, AUC 240	>5mg /ml	-120分にて < 794
0601 GIP4 949	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGKPPKS-NH2		-26, 3 0nmol/ kg	-16, AUC 240		
0601 GIP4 912	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGAQPPS-NH2	82.7(%阻害, 10nM)	-23, 3 0nmol/ kg			
0601 GIP4 905	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKP SSGAPGGS-NH2		-29, 3 0nmol/ kg	-11%, AU C240		
0601 GIP4 903	YaEGTFISDYSIAMDKI HQQDFVNWLLAQKG KKPSSGAPPPS-NH2		-27, 3 0nmol/ kg	-15%, AU C240		

10

20

【0 3 3 3】

まだ他の実施態様において、特にエキセンディンテール修飾と組み合わせた場合に溶解度の増加を提供するための以下の表に記載された修飾および特定の G I P 化合物である。F V N W L L A 領域に対する修飾は、エキセンディンテール自体に対する変更であるので溶解度を改善するために特に注目される。他の実施態様において、溶解度は、本明細書に示された、末端アミノ酸または内部アミノ酸、例えば、リジンのいずれかへの水可溶性ポリマー、例えば、P E G の付加により増強される。

30

【0 3 3 4】

【表 3 5 - 1】

0601GIP4767	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVEWLLAQKPKKIRY S-NH2 (配列番号711)	82.4(%阻害, 1 0nM)	
0601GIP4768	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVPWLLAQKPKKIRY S-NH2 (配列番号712)	17.9(%阻害, 1 0nM)	
0601GIP4769	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNELLAQKPKKIRY S-NH2 (配列番号713)	42.8(%阻害, 1 0nM)	
0601GIP4770	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNPLLAQKPKKIRY S-NH2 (配列番号714)	10.8(%阻害, 1 0nM)	
0601GIP4771	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLEAQKPKKIRY S-NH2 (配列番号715)	17.8(%阻害, 1 0nM)	10
0601GIP4772	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLP AQKPKKIRY S-NH2 (配列番号716)	0.2(%阻害, 10 nM)	
0601GIP4289	YaEGTFISDYSIALDKIRQQDFVEWLLAQKPSSGAP PPS-NH2 (配列番号609)	0.58	
0601GIP4708	Ado-Ado-YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLA QKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号717)	19.2(%阻害, 1 0nM)	
0601GIP4709	YaEGTFISYDSIAMDK-(イプシロン-NH-(Ado-Ado -Ado-(2-(2-メトキシetoxy)-アセトイル)))-IHQQD FVNWLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号718)	42.9(%阻害, 1 0nM)	20
0601GIP4763	((2-(2-メトキシエトキシ)-アセトイル)-Ado-Ado) -YaEGTFISYDSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSG APPPS-NH2 (配列番号719)	14.6(%阻害, 1 0nM)	
0601GIP4761	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGA PPPS-Ado-Ado-NH2 (配列番号720)	87.3(%阻害, 1 0nM)	
0601GIP4832	YaEGTFISDYSIAK(イプシロン-NH-(Ado-(2-(2-メ トキシエトキシ)-アセチオール)))DKIHQQDFVN WLLAQKPSSGAPPPS-NH2 (配列番号721)		
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNQLLAQKPSSGAP PPS-NH2 (配列番号722)		30
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNQLLAQKPKKIRY S-NH2(配列番号723)		
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVQWLLAQKPSSGA PPPS-NH2 (配列番号724)		

【 0 3 3 5】

【表 3 5 - 2】

	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVQWLLAQKPKKIR YS-NH2(配列番号725)		
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNNLLAQKPSSGAP PPS-NH2 (配列番号726)		
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLNAQKPSSGA PPPS-NH2 (配列番号727)		
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLSAQKPSSGAP PPS-NH2 (配列番号728)		
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLQAQKPSSGA PPPS-NH2 (配列番号729)		
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLAQKPSSGA PPPS-NH2 (配列番号730)		
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWSLAQKPSSGAP PPS-NH2 (配列番号731)		
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWQLAQKPSSGA PPPS-NH2 (配列番号732)		
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVEWLKAQKPSSGA PPPS-NH2 (配列番号733)		
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNNLNAQKPSSGAP PPS-NH2 (配列番号734)		
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGN PPPS-NH2 (配列番号735)		
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGA NPPS-NH2 (配列番号736)		
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGA PNPS-NH2 (配列番号737)		
	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSGA PPNS-NH2 (配列番号738)		

10

20

30

【0 3 3 6】

いくつかの前記化合物の代替的表示は以下の通りである：

【0 3 3 7】

【表 3 6】

0601GIP4708 (配列番号 717)	AR2734-28 (H-Ado-Ado) [Ala2] GIP-(1-30)-エキゼンティン-4-(31-39) 分子量=4510.18 分子式=C213H313N51O66S
0601GIP4709 (配列番号 718)	AR2734-30 Lys¹⁶ (ε-NH-(Ado-Ado-Ado-2-(2'-オキシエトキシ)アセチル))-[Ala2] GIP-(1-30)-エキゼンティン-4-(31-39) 分子量=4919.54 分子式=C222H338N52O72S
0601GIP4763 (配列番号 719)	((2-(2'-オキシエトキシ)アセチル)-(Ado-Ado) [Ala2] GIP-(1-30)-エキゼンティン-4-(31-39) 分子量=4716.30 分子式=C213H321N51O66S
0601GIP4832 (配列番号 721)	Lys¹⁶ (ε-NH-(Ado-2-(2'-オキシエトキシ)アセチル))-[Ala2] GIP-(1-30)-エキゼンティン-4-(31-39)

【0338】

まださらなる実施態様は、ヒトGIPに比較した、おおよびいくらかの実施態様において0601GIP3794より大きいまたは等しい、溶解度、グルコース低下または作用期間を提供し得る以下の表に記載された修飾および特定のGIP配列を含む。修飾は、以下の表に示された化合物のテール領域(PSSGAPPPS)または他の部分あるいは双方で存在し得る。修飾GIP配列および修飾テール配列は、他のGIP類似体またはハイブリッドに用いることができる。OGTTを介する受容体結合およびグルコース低下活性を示す。

【0339】

【表 3 7】

0601GI P4997	YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLA QHPSSGAPPQS-NH2	94 (%阻害 10nM)	-17, 30nmol/kg
0601GI P4998	YaEGTFISDYSIALDKIRQQKFVNWLLA QKPSSGAPPQS-NH2	84.9 (%阻害 10nM)	-11, 30nmol/kg
0601GI P4995	YaEGTFISDYSIALDKIRQQKFVNWLLA QKPSSGAPPNS-NH2	87.8(%阻害 10nM)	-7, 30nmol/kg
0601GI P4994	YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLA QHPSSGAPPNS-NH2	101.9(%阻害 10nM)	-16, 30nmol/kg
0601GI P5078	YaEGTFISDYSIALDKIRQQEFVNWLLA QKPSSGAPPKS-NH2	100.2 (%阻害 10nM)	-33, 30nmol/kg
0601GI P5079	YaEGTFISDYSIALDKIKQQEFVNWLLA QKPSSGAPPKS-NH2	98.6 (%阻害 10nM)	-28, 30nmol/kg
0601GI P5077	YaEGTFISDYSIALDKIHQQEFVNWLLA QKPSSGQPPQS-NH2	81.3 (%阻害 10nM)	-34, 30nmol/kg
0601GI P4993	YaEGTFISDYSIALDKIKQQEFVNWLLA QKPSSGAPPNS-NH2	91.7 (%阻害 10nM)	-19, 30nmol/kg
0601GI P4950	YaEGTFISDYSIAMDKIKQQDEVNWLLA QKPSSGAPPPS-NH2	4.7(%阻害, 10nM)	

10

20

【0 3 4 0】

一実施態様において、驚くべき高溶解度を持つG I P類似体であり、さらなる実施態様において、以下の表に示すように、ヒトG I Pより大きく、または0 6 0 1 G I P 3 7 9 4および0 6 0 1 G I P 4 8 5 0のいずれかまたは双方にほぼ等しいまたはより良好にグルコース低下を保持つつ、約p H 5～7で測定された0 6 0 1 G I P 3 7 9 4および0 6 0 1 G I P 4 8 5 0のいずれかまたは双方よりも驚くべき大きな溶解度を持つ。一実施態様において、その類似体は、3 0 m Mヒスチジンで緩衝されたp H 6. 0または3 0 m Mヒスチジンで緩衝されたp H 7. 0での0 6 0 1 G I P 3 7 9 4および0 6 0 1 G I P 4 8 5 0のいずれかまたは双方より大きな溶解度を有する。一実施態様において、溶解度および生理活性を供する0 6 0 1 G I P 3 7 9 4に比較した、類似体0 6 0 1 G I P 5 0 7 5、0 6 0 1 G I P 5 0 7 6、0 6 0 1 G I P 5 0 8 0、0 6 0 1 G I P 5 0 8 1、0 6 0 1 G I P 5 0 8 2および0 6 0 1 G I P 4 8 5 0の各々における1またはそれを超えるあるいはすべての修飾を含むG I P類似体またはハイブリッドである。一実施態様において、溶解度および生理活性を供する0 6 0 1 G I P 4 2 8 8に比較した、類似体0 6 0 1 G I P 5 0 7 0、1 6 5 0 7 1、0 6 0 1 G I P 5 0 7 2、0 6 0 1 G I P 5 0 7 3の各々における1またはそれを超えるあるいはすべての修飾を含むG I P類似体またはハイブリッドである。一実施態様において、溶解度および生理活性を供する0 6 0 1 G I P 4 2 3 3に比較した、類似体0 6 0 1 G I P 4 9 0 4における1またはそれを超えるあるいはすべての修飾を含むG I P類似体またはハイブリッドである。一実施態様において、類似体は、約5 m g / m lまたはそれを超える溶解度を有し、ヒトG I P、0 6 0 1 G I P 3 7 9 4および／または0 6 0 1 G I P 4 8 5 0 mを超えるまたはほぼそれを超えるグルコース低下をさらに保持する。一実施態様において、G I P類似体またはハイブリッドは、0 6 0 1 G I P 4 9 0 4、0 6 0 1 G I P 5 0 7 2、0 6 0 1 G I P 5 0 7 5、0 6 0 1 G I P 5 0 8 0、0 6 0 1 G I P 5 0 8 1、0 6 0 1 G I P 5 0 8 2、0 6 0 1 G I P 5 0 7 0、0 6 0 1 G I P 5 0 7 1、0 6 0 1 G I P 5 0 7 3または0 6 0 1 G I P 5 0 7 6であるか、またはそれらを含む。別の実施態様において、G I P類似体は、0 6 0 1 G I P 4 9 0 4、0 6 0 1 G I P 5 0 7 2、0 6 0 1 G I P 5 0 7 5、0 6 0 1 G I P 5 0

30

40

50

80、0601GIP5081、0601GIP5082であるか、またはそれらを含み、その類似体は、例えば、少なくとも3日間または少なくとも7日間、40℃での加速安定性試験により決定された溶液中での優れた安定性を示す。一つのかかる実施態様において、類似体0601GIP5080、0601GIP5081、0601GIP5082または0601GIP5072、あるいはこれらの配列を含む類似体またはハイブリッドである。（本明細書中の表において、「794」とは0601GIP3794を意味する。）

【0341】

【表38】

		OGTT	GL	DOA	溶解度/安定性
0601GIP3794	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVN WLLAQKPSSGAPPPS-NH2	=794	=794	=794	<1mg/ml
0601GIP4850	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVN WLLAQKPSSGAPPNS-NH2	=794	=794	=794	~1mg/ml
0601GIP5075	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVN WLLAQKPSSGQPPQSK-NH2	=794		-120分 にて <794	pH 5-9にて > 5mg
0601GIP5076	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVN WLLAQKPSSGAPPQSK-NH2	=794		-120分 にて =794	1 mg/ml
0601GIP5080	YaEGTFISDYSIALEKIRQQEFVN WLLAQKPSSGAPPKSK-NH2	=794	=794	提出	> 5 mg/ml
0601GIP5081	YaEGTFISDYSIALEKIRQQEFVN WLLKQKPSSGAPPPS-NH2	=794	=794	-120分 にて =794	> 5 mg/ml
0601GIP5082	YaEGTFISDYSIALEKIRQQEFVN WLLKQKPSSGAPPKS-NH2	=794	=794	-120分 にて =794	> 5 mg/ml
0601GIP5070	YaEGTFISDYSIALEKIRQQEFVN WLLAQKPSSGARPPS-NH2	=794			1 mg/ml
0601GIP5071	YaEGTFISDYSIALEKIRQQEFVN WLLAQKPSSGAKPPS-NH2	=794			1 mg/ml
0601GIP5072	YaEGTFISDYSIALEKIRQQEFVN WLLAQKPSSGAPKPS-NH2	=794			> 5 mg/ml
0601GIP5073	YaEGTFISDYSIALEKIRQQEFVN WLLAQKPSSGAPDPS-NH2	=794			1 mg/ml
0601GIP4904	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVN WLLAQKPKGKIRYS-NH2	>=794		-120分 にて <794	> 5 mg/ml

【0342】

さらなる実施態様において、前記の表およびさらに本明細書中の表および図の各々におけるGIP化合物のその類似体または誘導体あるいはハイブリッドであり、それは5個以下、4個以下、3個以下、2個以下、1個以下の本明細書に記載された置換、修飾および／または誘導体を有し、および／または親GIP化合物の全長にわたり前記の表または本明細書中の他の表または図の親GIP類似体に少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも

10

20

30

40

50

85%、少なくとも90%、少なくとも95%または少なくとも98%の配列同一性を示す。

【0343】

図12. 15~12. 65は本発明のさらに例示的な類似体および参照ペプチドを示す。示された様々な修飾および変異体は本発明に使用されるものであるとともに、本明細書中で考察されるとおり併用されてもよいことが意図される。例えば、用語エキセンディンテールまたはエキセンディンtrpケージモチーフは、シールド配列（ペプチドエンハンサー）として有用である、示される任意のエキセンディンテール変異体を含む。さらに興味深いのは図に示されるとおりのカエルGLP1C末端伸長部であり、これはエキセンディンテールの代わりに使用され得るシールド配列のさらに別の例である。例えば、一実施形態において本発明のGIP化合物はカエルGLP1「テール」配列を本明細書に記載されるとおりのペプチドエンハンサーとして含んでなる（および図12を参照）。特に興味深いのは化合物0601GIP4179、0601GIP4233、0601GIP4285、0601GIP4178、0601GIP4467である。他の実施態様において、「S」もしくはシールド領域またはC末端テールは、例えば、PSSGQPPQSK、PSSGAPPPQSK、PSSGAPPKSK、PSSGAPPPS、PSSGAPPKS、PSSGARPPS、PSSGAKPPS、PSSGAPKPS、PSSGAPDPSまたはPKGKIRYSを含めた本明細書に示したいずれのテールでも有り得る。さらに、「S」もしくはシールド領域またはC末端テールは、GIP化合物0601GIP3794、0601GIP4850、0601GIP5075、0601GIP5076、0601GIP5080、0601GIP5081、0601GIP5082、0601GIP5070、0601GIP5071、0601GIP5072、0601GIP5073または0601GIP4904からのものを含めた本明細書に示されたGIP類似体のいずれにおいても見出されるいずれのテールでも有り得る。

【0344】

さらに本明細書の任意のGIPモジュールのさらなる実施形態としては、セリン2、アスパラギン酸3（すなわち、S2、D3）、GIPのN末端の位置2および3位での二重置換がある。このように、本明細書に示される種および式の各々については、各S2、D3類似体が、それが記載されていたかのごとく、明示的に本明細書に開示されることが明確に意図される。本明細書に記載される他のDPP-IV耐性修飾と同様、S2、D3は1または2個またはそれ以上の他の修飾、例えば血漿減少（例えば腎クリアランス）および／または作用の持続時間増加のための脂肪酸アシル誘導体化と、および／またはC末端シールド配列と、および／またはGIP種アミノ酸置換と、併用され得る。当然ながらこれらのGIP類似体は直接またはGIPハイブリッドのGIP部分として使用され得る。

【0345】

約10nM未満で例外的なGIP受容体結合活性を示す例示的化合物（例えば図12を参照）としては、3.8nMでの0601GIP3794、0.41nMでの0601GIP4283、1.8nMでの0601GIP4284、0.58nMでの0601GIP4285、0.28nMでの0601GIP4288、0.58nMでの0601GIP4289、0.35nMでの0601GIP4290、7.4nMでの0601GIP4147、1.5nMでの0601GIP4178、0.12nMでの0601GIP4293、0.17nMでの0601GIP4292、4.2nMでの0601GIP4238、3.3nMでの0601GIP4179、0.92nMでの0601GIP4294、5.6nMでの0601GIP4252、3.8nMでの0601GIP3794、2.4nMでの0601GIP4190、2.3nMでの0601GIP4152、1.6nMでの0601GIP4150、0.53nMでの0601GIP4153、1.5nMでの0601GIP4149、4.8nMでの0601GIP4176、2.9nMでの0601GIP4177、7.9nMでの0601GIP4213、4.5nMでの0601GIP4215、0.66nMでの0601GIP4263、0.24nMでの0601GIP4278、0.4nMでの0601GIP4264、2.1nMでの06

01GIP4279、0.1nMでの0601GIP4233、3.4nMでの0601GIP4234、0.62nMでの0601GIP4236が挙げられる。これらの化合物はまたGIP受容体活性化および然るべき受容体特異性（例えば、然るべきハイブリッドモジュール不在下におけるGLP1-Rまたはグルカゴン受容体への結合の欠如）も表す。

【0346】

本明細書に実証されるとおり、本発明のDPP-IV耐性ハイブリッドは未変性GIPと比較して血漿安定性の増加を有する。例えば、0601GIP3796アミド型は5時間後のヒト血漿中に、GIP（1-42）酸性型の約60%とは対照的に、本質的に10%存在する。

10

【0347】

さらに、以下の表は、本発明のGIPペプチドならびにそれらの類似体および誘導体が本明細書に言及された所望の治療効果に直接的に関連する生体内活性を有することを示す。太字でマークされた化合物は、特に注目されるもので、それらは修飾および／または誘導体であり、本明細書中の他の修飾または誘導体と組み合わせてまたは他の修飾または誘導体と共に用いることができる。これらの化合物は、本発明のGIPハイブリッドにおいて特定の使用を見出す。太字化合物は、非常に有効な活性を示す。

【0348】

【表 3 9 - 1】

化合物番号	OGTT	基礎グルコース低下	IVGTT			基礎グルコース低下
	OGTT/GL(%) 350 nmol/Kg	80 nmol/Kgで基礎グルコース低下	インスリンPre IVGTTにおけるAUC変化	インスリンプロ IVGTTにおけるAUC変化	IVGTT > = < 0601GIP3794と比較	db/db における基礎グルコース低下
0601GIP3757	-22	-2%, t=120				
0601GIP4044		-2%, AUC180				
0601GIP4045		データ無し				
0601GIP3794	-21% 350nmol/kg, -17% 10nmol/kg, ED50 ~2nmol/kg	-7 to -20%, AUC240, -9%, AUC180	28.8 ±10.7	173.1±29.4	=	-33%, 80 nmol/kg, t=120
0601GIP4046		-5%, AUC180, -2%, AUC240				
0601GIP3793	-26	-2%, t=120				
0601GIP3756	-12					
0601GIP3974		8%, AUC240, 10% (80nmol/Kg) and 0% (100nmol/kg), t=120				

10

20

30

【 0 3 4 9】

【表 3 9 - 2】

0601GIP4429	-8, 30nmol/kg					
0601GIP4283	-14					
0601GIP4284	-21	-7%, AUC240				
0601GIP4405	-19, 30nmol/kg	-0%, AUC240				
0601GIP4406	-21, 30nmol/kg	-0%, AUC240				
0601GIP4403	-12, 30nmol/kg					
0601GIP4404	-15, 30nmol/kg					
0601GIP4285	-10 350nmol/kg, -17 30nmol/kg	-2%, AUC240	22.1+-10.7	206.2+-11.8	=	
0601GIP4286	-22, 30nmol/kg					
0601GIP4313	-5, 30nmol/kg					
0601GIP4288	-19					
0601GIP4344	-24, 30nmol/kg					
0601GIP4290	-17					
0601GIP4456	-3, 30nmol/kg					
0601GIP4457	4, 30nmol/kg					
0601GIP4460	-12, 30nmol/kg					
AC1540ヒト						-19% 80nmol/kg t=60および120
0601GIP3300		-2%, AUC240 800nmol/kgにて				
0601GIP3943		-8%, AUC180				
ニワトリ	-7, 30nmol/kg					
0601GIP3794	-21% 350nmol/kg, -17% 10nmol/kg, ED50 ~2nmol/kg	-7~ -20%, AUC240, -9%, AUC180	28.8 +-10.7	173.1+-29.4	=	-33%, 80nmol/kg, t=120

【 0 3 5 0】

【表 3 9 - 3】

0601GIP4190	-14					
0601GIP4152	-20					
0601GIP4150	-13					
0601GIP4153	-14					
0601GIP4149	-16%					
0601GIP4176	-10					
0601GIP4177	-19					
0601GIP4213	-17					
0601GIP4263	-17					
0601GIP4278	-12					
0601GIP4264	-12					
0601GIP4279	-7					
0601GIP4306	-20, 30nmol/kg	-5%, AU C240				
ツメガエル	-3, 30nmol/kg					
0601GIP4503	-4, 30nmol/kg					
0601GIP4504	-2, 30nmol/kg					
0601GIP4505	+9, 30nmol/kg					
0601GIP4506	-14, 30nmol/kg					
0601GIP4753	-22, 30nmol/kg	-13%, AU C240				
0601GIP4754	-20, 30nmol/kg	-13%, AU C240				
0601GIP4596	-7, 30nmol/kg					
0601GIP4465	-16, 30nmol/kg					
0601GIP4466	-20, 30nmol/kg	-26%, AU C240	17.3+-3. 3	113.9+- 18.9	<	
0601GIP4478	-7, 30nmol/kg					
0601GIP4467	-18, 30nmol/kg	-7%, AU C240				
0601GIP4479	-16, 30nmol/kg					
0601GIP4480	-12, 30nmol/kg					
0601GIP4571	-23, 30nmol/kg	-11%, AU C240				

10

20

30

【表 3 9 - 4】

0601GIP4551	-14, 30nmol/kg					
0601GIP4407	-9, 30nmol/kg					
0601GIP4650	-11, 30nmol/kg					
0601GIP4651	-7, 30nmol/kg					
0601GIP4576	-22, 30nmol/kg	-2%, AU C240				
0601GIP4507	-5, 30nmol/kg					
0601GIP4536	-15, 30nmol/kg					
0601GIP4537	-7, 30nmol/kg					
0601GIP4627	-17, 30nmol/kg					
0601GIP4391	-12, 30nmol/kg					
0601GIP4459	-7, 30nmol/kg					
0601GIP4147	-9					
0601GIP4324 BB	-23, 30nmol/kg	-23%, AU C240				
0601GIP4458	-14, 30nmol/kg					
0601GIP4215	-23	-0%, AU C240				
0601GIP4389	-6, 30nmol/kg					
0601GIP4399	-3, 30nmol/kg					
0601GIP4390	1, 30nmol/kg					
0601GIP4395	-11, 30nmol/kg	-0%, AU C240				
0601GIP4387	-7, 30nmol/kg					
0601GIP4386	-0, 30nmol/kg					
0601GIP4703	-18, 30nmol/kg					
0601GIP4180	-11, 30nmol/kg					
0601GIP4238	-25	-6%, AU C240				
0601GIP4392	-20, 30nmol/kg	-9%, AU C240				
0601GIP4577	-27, 30nmol/kg	-8%, AU C240				
0601GIP4790	-24, 30nmol/kg					
0601GIP4588	-8 to -20, 30nmol /kg					

10

20

30

40

【 0 3 5 2 】

【表 3 9 - 5】

0601GIP4331	-25および-16, 30nmol/kg	-13%, AU C240	17.4+-6. 5	131.3+- 15.5	=	
0601GIP4580	-17, 30nmol/kg	-2%, AU C240				
0601GIP4582	-23, 30nmol/kg	-5%, AU C240				
0601GIP4699	-18, 30nmol/kg					
0601GIP4764	-18, 30nmol/kg					
0601GIP4620	-8, 30nmol/kg					
0601GIP4359	-11, 30nmol/kg					
0601GIP4347	-10, 30nmol/kg					
0601GIP4384	-12, 30nmol/kg					
0601GIP4385	-8, 30nmol/kg					
0601GIP4608	-8, 30nmol/kg					
0601GIP4798	-27, 30nmol/kg					
0601GIP4799	-10, 30nmol/kg					
0601GIP4801	-23, 30nmol/kg					
0601GIP4766	-25, 30nmol/kg					
0601GIP4178	-20	-13%, AU C240	18.5+-6. 7	106.6+- 23.8	<	
0601GIP4293	-22	-13%, AU C240				
0601GIP4292	-24	-10%, AU C240	35.6+-5. 4	183.9+- 26.6	=	
0601GIP4806	-14, 30nmol/kg					
0601GIP4670	-24, 30nmol/kg	-14%, AU C240	27.3+-5. 7	175.9+- 19.0	=	
0601GIP4635	-17, 30nmol/kg					
0601GIP4636	-19, 30nmol/kg	-16%, AU C240				
0601GIP4637	-11, 30nmol/kg					
0601GIP4543	-0, 30nmol/kg					
0601GIP4544	-13, 30nmol/kg					
0601GIP4712	-10, 30nmol/kg					
0601GIP4252	-18	-7%, AU C240	11.9+-11 .7	1218.1+- -12.7	=	

【 0 3 5 3 】

10

20

30

40

【表 3 9 - 6】

0601GIP4548	-12, 30nmol/kg					
0601GIP4549	-13, 30nmol/kg					
0601GIP4550	-3, 30nmol/kg					
0601GIP4606	-18, 30nmol/kg	-9%, AU C240				
0601GIP4607	-4, 30nmol/kg					
0601GIP4326	-18および-25, 30nmol/kg	-8%, AU C240	37.6±7.0	154.9±17.3	=	
0601GIP4671	-24, 30nmol/kg	-14%, AU C240	29.1±4.5	243.7±20.6	=	
0601GIP4693	-17, 30nmol/kg					
0601GIP4755	-21, 30nmol/kg	-7%, AU C240				
0601GIP4547	+5, 30nmol/kg					
0601GIP4461	-20, 30nmol/kg	+12%, AU C240				
0601GIP4581	-20, 30nmol/kg	-12%, AU C240				
0601GIP4585	-15, 30nmol/kg	-4%, AU C240				
0601GIP4586	-15, 30nmol/kg	-9%, AU C240				
0601GIP4179	-23 350nmol/kg, -24 30nmol/kg	-17%, AU C240	52.4±9.6	206.8±30.1	=	
0601GIP4649	-14, 30nmol/kg					
0601GIP4642	-17, 30nmol/kg					
0601GIP4645	-24, 30nmol/kg					
0601GIP4294	-27	-10%, AU C240				
0601GIP4756	-21, 30nmol/kg	-1%, AU C240				
0601GIP4562	-10, 30nmol/kg					
0601GIP4572	+1, 30nmol/kg					
0601GIP4573	+10, 30nmol/kg					
0601GIP4609	-5, 30nmol/kg					

【 0 3 5 4】

10

20

30

40

【表 3 9 - 7】

0601GIP3794	-21% 350nmol/kg, -17% 10nmol/kg, ED50 ~2nmol/kg	-7 to -20% , AUC240, -9%, AUC 180	28.8 +-1 0.7	173.1+- 29.4	=	-33%, 80 nmol/kg, t=120
0601GIP4414	+3, 30nmol/kg					
0601GIP4415	+10, 30nmol/kg					
0601GIP4416	-0, 30nmol/kg					
0601GIP4417	+9, 30nmol/kg					
0601GIP4192	-16					
0601GIP4807	-27, 30nmol/kg					
0601GIP4233	-22 350nmol/kg, - 17 30nmol/kg	-11 to -18 %, AUC24 0	53.8+-14 .7	234.5+- 25.5	=	
0601GIP4327	-7, 30nmol/kg					
0601GIP4386	-0, 30nmol/kg					
0601GIP4698	-14, 30nmol/kg					
0601GIP4538	-9, 30nmol/kg					
0601GIP4539	-12, 30nmol/kg	-5%, AUC2 40				
0601GIP4540	-16, 30nmol/kg	-12%, AUC 240				
0601GIP4648	-20, 30nmol/kg	-8%, AUC2 40				
0601GIP4631	-14, 30nmol/kg					
0601GIP4805	-13, 30nmol/kg					
0601GIP4561	-15, 30nmol/kg	-8%, AUC2 40				
0601GIP4673	-23, 30nmol/kg	-21%, AU C240	51.9+-8. 1	205.5+- 21.0	=	
0601GIP4672	-21, 30nmol/kg	-9%, AUC2 40				
0601GIP4713	-21, 30nmol/kg	-12%, AUC 240				
0601GIP4711	-22, 30nmol/kg	-11%, AUC 240				

【表 3 9 - 8】

0601GIP4234	-17	-11%, AU C240				
0601GIP4710	-12, 30nmol/kg					
0601GIP4765	-12, 30nmol/kg					
0601GIP4236	-16	-12%, AU C240				
0601GIP4328	-2, 30nmol/kg					
0601GIP4345	30nmol/kgにて-14 , 250nmol/kgにて -25	-11%, AU C240				
0601GIP4401	1, 30nmol/kg					
0601GIP4346	-20, 30nmol/kg	-10%, AU C240				
0601GIP4700	-21, 30nmol/kg	-6%, AU C240				
0601GIP4400	-2, 30nmol/kg					
0601GIP4402	-8, 30nmol/kg					
0601GIP4619	-19, 30nmol/kg	-10%, AU C240	16.6+-1. 5	151.2+- 19.0	<	
0601GIP4767	-24, 30nmol/kg					
0601GIP4289	-24	-4%, AU C240				
0601GIP4708	-14, 30nmol/kg					
0601GIP4709	+4, 30nmol/kg					
0601GIP4761	-17, 30nmol/kg					

10

20

【 0 3 5 6】

30

本発明の実施形態はさらに以下を含む。また、以下は、各々の種およびそれから誘導できる亜種の記載を簡易表記方法で提供する。

【 0 3 5 7】

一実施形態において、新規 G I P 類似体または G I P ハイブリッドは式 D - L - C - S を含んでなるポリペプチドを含んでなり、ここで、
D はジペプチジルペプチダーゼ I V 耐性 G I P - N 末端領域を含んでなり、
L はリンカーを含んでなり、
C は G I P - C 末端領域を含んでなり、および
S はシールド領域を含んでなり；および
ここで L は場合により存在するとともに D または C の少なくとも 1 個が存在し、およびこ
ここで C が存在する時ひいては C - S が T r p ケージモチーフを含んでなるか、もしくは C
が不在である時ひいては L - S がさらに T r p ケージモチーフを含んでなるとともに、ポ
リペプチドが G I P 受容体結合および／または活性化活性を有する。D または C の少なく
とも 1 個が存在する時、少なくとも 1 個の当該 D または C は G I P 受容体活性化および／
または結合活性を有する。別の実施形態においては D および C の双方が存在する。D およ
び C の一方または双方が G I P 受容体活性化および／または結合活性を有し得る。一実施
形態においてポリペプチドは G I P 受容体の特異的に結合できる。典型的にはこの結合は
インクレチン受容体などの別の受容体、例えば、G L P 1 R への結合より少なくとも 2 倍
高いであろう。結合はインクレチン受容体などの別の受容体、例えば、G L P 1 R への結
合より少なくとも 5、10、50、または 100 倍さえ高くあり得る。一実施形態におい

40

50

て新規G I P類似体はG I Pアゴニスト活性を含んでなる。一実施形態においてポリペプチドはG I P受容体の特異的に活性化できる。典型的にはこの活性化はインクレチン受容体などの別の受容体、例えば、G L P 1 Rの活性化より少なくとも2倍高いであろう。活性化はインクレチン受容体などの別の受容体、例えば、G L P 1 Rの活性化より少なくとも3、4、5、10、50、または100倍さえ高くあり得る。

【0358】

別の実施形態においてポリペプチドは未変性G I Pの少なくとも1個の所望の活性を含んでなる。新規G I Pハイブリッドの所望の活性が未変性型のものより高い時、活性は少なくとも2倍高くあり得る。さらなる実施形態において所望の活性は未変性G I Pと比較した活性より少なくとも3、4、5、10、50、または100倍さえ高くあり得る。活性は、試験管内、生体外、または生体内での、受容体結合、受容体活性化、受容体アンタゴニズム、グルコース降下、胃分泌の阻害または低減、または任意の他の活性であってもよく、当該技術分野において周知であり得るか、または本明細書中に提供される。

10

【0359】

さらなる実施形態において新規G I P類似体またはハイブリッドのD領域は未変性G I Pの11N末端アミノ酸配列または未変性G I Pの14N末端アミノ酸配列を含んでなる。他の実施形態においてD領域は修飾または置換されたG I PのN末端部分を含んでなり、例えば国際公開第00/58360号パンフレット、欧州特許第1171465号明細書または米国特許出願公開第2003/0232761号明細書を参照されたい。

20

【0360】

さらなる実施形態において領域Cは未変性G I PのC末端アミノ酸19-26、未変性G I PのC末端アミノ酸19-30、未変性G I PのC末端アミノ酸19-39または未変性G I PのC末端アミノ酸19-42を含んでなる。1つのかかる実施形態において領域Cはヒト、マウス、ブタまたはラットG I Pのアミノ酸19-26、19-30、19-39または19-42を含んでなることができる。他の実施形態においてC領域は修飾または置換されたG I PのC末端部分を含んでなり、例えば米国特許出願公開第2003/0232761号明細書を参照されたい。

【0361】

一実施形態においてLは、D K I HまたはD K I Hを含む、未変性G I P由来の配列を含んでなる。さらなるかかる実施形態において新規G I P類似体のD-L-C部分は未変性G I Pのアミノ酸1-26、1-30、1-39、または1-42を含んでなる。1つのかかる実施形態において領域D-L-Cはヒト、マウス、ブタまたはラットG I Pのアミノ酸1-26、1-30、1-39または1-42を含んでなる（例えばリー（L i）ら、Regulatory Peptides 121（1-3）107-112頁（2004年）を参照）。いまださらなるかかる実施形態において新規G I P類似体のD-L-C部分は、D P P-I V耐性を含んでなるN末端で修飾または置換されたG I P（1-4位の任意の位置）のアミノ酸1-26、1-30、1-39、または1-42を含んでなり、例えば国際公開第00/58360号パンフレット、欧州特許第1171465号明細書または米国特許出願公開第2003/0232761号明細書を参照されたい。

30

【0362】

式D-L-C-Sの新規G I P化合物は、配列
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 P S S G A P P P S（
配列番号186）、

40

（T y r 1-グルシトール）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 P S S G A P P P S（配列番号187）、

（T y r 1-ピログルタミル）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 P S S G A P P P S（配列番号188）、

（T y r 1-グルシトール）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 P S S G A P P P S（配列番号187）、

（T y r 1-9-フルオレニルメトキシカルボニル）A E G T F I S D Y S I A M D K I

50

HQQDFVNWLLAQKPSSSGAPPPS (配列番号189)、
 (Tyrlーパルミチン酸) AEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLA
 QKPSSSGAPPPS (配列番号190)、
 YSEGTTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSSGAPPPS (配列番号191)、または
 YGEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSSGAPPPS (配列番号192)を含んでなることができる。

【0363】

別の実施形態において新規GIP化合物は、配列
 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 P S S G A P P P S (配列番号193)、
 (Tyrlーグルシトール) 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 P S S G A P P P S (配列番号194)、
 (Tyrlーピログルタミル) 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 P S S G A P P P S (配列番号195)、
 (Tyrlーグルシトール) 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 P S S G A P P P S (配列番号194)、
 (Tyrlー9ーフルオレニルメトキシカルボニル) 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 L K N D W K H N I T Q P S S G A P P P S (配列番号196)、
 (Tyrlーパルミチン酸) A E G T F I S D Y S L 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 P S S G A P P P S (配列番号197)、
 Y S E G T F I S D Y S I A M D K m Q Q D F V N W L L A Q K G K K N D W K H N I T Q P S S G A P P P S (配列番号198)、または
 Y G 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 P S S G A P P P S (配列番号199)を含んでなる。

【0364】

新規GIP化合物はまた、配列
 Y (D-Ala) 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 P S S G A P P P S (配列番号186)、
 Y A b u 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 P S S G A P P S (配列番号200)、または
 Y S a r 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 P S S G A P P S (配列番号201)も含んでなることができる。

【0365】

さらに別の実施形態において新規GIPハイブリッドは、配列
 Y (D-Ala) 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 P S S G A P P P S (配列番号193)、
 Y A b U 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 P S S G A P P P S (配列番号202)、または
 Y S a r 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 P S S G A P P P S (配列番号203)を含んでなる。

【0366】

新規GIP類似体またはハイブリッドの一実施形態において、Dは配列X1ーX2ーX3ーX4ーX5ーX6ーX7ーX8ーX9ーX10ーX11ーX12ーX13ーX14 (配列番号465)を含んでなり、ここでX1、X2、およびX3の少なくとも1個はDPPーIV耐性を提供するアミノ酸置換または修飾である。さらなるかかる実施形態においてDPPーIV耐性はX2とX3との間のペプチド模倣物結合を含んでなる修飾により提供される。かかる結合は、例えばX1ーX2ーX3がTyrlーAlaΨ (CH2NH)ーGluであるときのような、式Ψ (CH2NH)の低減されたペプチド結合として提供

され得る。さらなる実施形態において新規G I P類似体の任意の結合は式Ψ (CH₂NH) の低減されたペプチド結合、特にプロテアーゼまたはペプチダーゼ分解を受けやすいとして同定されるものである。さらなる実施形態において置換または修飾は、X 1、X 2 および／またはX 3におけるD-アミノ酸置換および／またはN末端の糖化、アルキル化、アセチル化またはアシル化を含んでなる。位置X 1-X 14は独立して選択され得る。他の実施形態において任意のまたはより多くのX 12-X 14が場合により不在である。

【0367】

興味深いのは新規G I P類似体またはハイブリッドであり、ここでX 2およびX 3はLys、Ser、4-アミノ酪酸アミノ酸、Aib、D-Ala、サルコシンまたはProである。N末端修飾は、糖化、アルキル化、アセチル化、アルキルオキシカルボニル化またはアリールアルコキシカルボニル化からなる群より独立して選択され得る。

10

【0368】

さらに別の実施形態においてX 1はTyr、脱アミノ-Tyr、D-Tyr、Ala、D-アミノ酸、Tyr-グルシトール、N-メチル化アミノ酸であり、および／またはN末端糖化、アルキル化、アセチル化、アルキルオキシカルボニル化、アリールアルコキシカルボニル化またはアシル化を含んでなる。さらなる実施形態においてX 1がTyrである時、ひいてはチロシン残基のN末端は、アルキル化、アルキルオキシカルボニル化、アリールアルコキシカルボニル化、スルホニル化、糖化、ホモセリン形成、ピログルタミン酸形成、アシル化、メチル化、t-ブチル化、t-ブチルオキシカルボニル化、4-メチルベンジル化、ベンジルオキシメチル化、ベンジルオキシカルボニル化、4-トルエンシルホニル化、ジフェニルメチル化、2-ブロモベンジルオキシカルボニル化、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル化、アシル化、ホルミル化、アセチル化、ベンジル化、ベンゾイル化、リン酸化、硫酸化、ペントース、デオキシヘキソース、グルコサミン、またはN-アセチルグルコサミンを伴う解糖化、ファルネシル化、ビオチン化、パルミトイル化、ステアロイル化、ゲラニルゲラニル化、グルタチオン化、およびリポ酸を伴う修飾により修飾され得る。いまださらなる実施形態においてX 1残基のN末端は、アルキル化、アルキルオキシカルボニル化、アリールアルコキシカルボニル化、スルホニル化、糖化、ホモセリン形成、ピログルタミン酸形成、アシル化、メチル化、t-ブチル化、t-ブチルオキシカルボニル化、4-メチルベンジル化、ベンジルオキシメチル化、ベンジルオキシカルボニル化、4-トルエンシルホニル化、ジフェニルメチル化、2-ブロモベンジルオキシカルボニル化、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル化、アシル化、ホルミル化、アセチル化、ベンジル化、ベンゾイル化、リン酸化、硫酸化、ペントース、デオキシヘキソース、グルコサミン、またはN-アセチルグルコサミンを伴う解糖化、ファルネシル化、ビオチン化、パルミトイル化、ステアロイル化、ゲラニルゲラニル化、グルタチオン化、およびリポ酸を伴う修飾により修飾され得る。

20

30

【0369】

さらに別の実施形態においてX 2は、Ala、AlaΨ (CH₂NH)、Ser、D-アミノ酸、Lys、4-アミノ酪酸アミノ酸、Aib、D-Ala、サルコシン、Pro、Gly、リン酸化Ser、Val、Leu、Ile、Thr、またはN-メチル化アミノ酸である。さらなる実施形態においてX 2は、未変性残基由来または本明細書に提供されるX 2残基由来の保存されたアミノ酸改変である。さらに別の実施形態においてX 2は任意の自然発生的アミノ酸である。なおさらなる実施形態においてX 2は、任意の非タンパク質新生アミノ酸である。

40

【0370】

さらに別の実施形態においてX 3は、Glu、D-Glu、L-Pro、(N-Me)Glu、Pro、D-アミノ酸、Lys、Ser、4-アミノ酪酸アミノ酸、Aib、D-Ala、サルコシン、Pro、またはN-メチル化アミノ酸である。さらなる実施形態においてX 3は、未変性残基由来または本明細書に提供されるX 3残基由来の保存されたアミノ酸改変である。さらに別の実施形態においてX 3は任意の自然発生的アミノ酸である。なおさらなる実施形態においてX 3は、任意の非タンパク質新生アミノ酸である。

50

【0371】

さらに別の実施形態においてX4は、GlyまたはAlaである。さらなる実施形態においてX4は、未変性残基由来または本明細書に提供されるX4残基由来の保存されたアミノ酸改変である。

【0372】

さらに別の実施形態においてX5は、ThrまたはSerである。

【0373】

さらに別の実施形態においてX6は、PheまたはAlaである。さらなる実施形態においてX6は、未変性残基由来または本明細書に提供されるX6残基由来の保存されたアミノ酸改変である。

10

【0374】

さらに別の実施形態においてX7は、IleまたはAlaである。さらなる実施形態においてX7は、未変性残基由来または本明細書に提供されるX7残基由来の保存されたアミノ酸改変である。

【0375】

さらに別の実施形態においてX8は、SerまたはAlaである。さらなる実施形態においてX8は、未変性残基由来または本明細書に提供されるX8残基由来の保存されたアミノ酸改変である。

【0376】

さらに別の実施形態においてX9は、AspまたはAlaである。さらなる実施形態においてX9は、未変性残基由来または本明細書に提供されるX9残基由来の保存されたアミノ酸改変である。

20

【0377】

さらに別の実施形態においてX10は、TyrまたはAlaである。さらなる実施形態においてX10は、未変性残基由来または本明細書に提供されるX10残基由来の保存されたアミノ酸改変である。

【0378】

さらに別の実施形態においてX11は、SerまたはAlaである。さらなる実施形態においてX11は、未変性残基由来または本明細書に提供されるX11残基由来の保存されたアミノ酸改変である。

30

【0379】

さらに別の実施形態においてX12は、Ile、Ala、Ser、またはLysである。さらなる実施形態においてX12は、未変性残基由来または本明細書に提供されるX12残基由来の保存されたアミノ酸改変である。さらに別の実施形態においてX12は任意の自然発生的アミノ酸である。なおさらなる実施形態においてX12は不在である。

【0380】

さらに別の実施形態においてX13は、Ala、Tyr、グルタミン、またはAspである。さらなる実施形態においてX13は、未変性残基由来または本明細書に提供されるX13残基由来の保存されたアミノ酸改変である。さらに別の実施形態においてX13は任意の自然発生的アミノ酸である。なおさらなる実施形態においてX13は不在である。

40

【0381】

さらに別の実施形態においてX14は、Met、Ala、またはLeuである。さらなる実施形態においてX14は、未変性残基由来または本明細書に提供されるX14残基由来の保存されたアミノ酸改変である。さらに別の実施形態においてX14は任意の自然発生的アミノ酸である。なおさらなる実施形態においてX14は不在である。

【0382】

特定の実施形態において新規GIP類似体およびハイブリッドの修飾されたD領域は配列Tyr-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Ile-Ser-Asp-Tyr-Ser-Ile-Tyr-Met（配列番号204）を含んでなる。

【0383】

50

特定の実施形態においてDは、配列

Ala-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Ile-Ser-Asp-Tyr-Ser-Ile-Ala-Met (配列番号205);
 Tyr-Ala-Ala-Gly-Thr-Phe-Ile-Ser-Asp-Tyr-Ser-Ile-Ala-Met (配列番号206);
 Tyr-Ala-Glu-Ala-Thr-Phe-Ile-Ser-Asp-Tyr-Ser-Ile-Ala-Met (配列番号207);
 Tyr-Ala-Glu-Gly-Ala-Phe-Ile-Ser-Asp-Tyr-Ser-Ile-Ala-Met (配列番号208);
 Tyr-Ala-Glu-Gly-Thr-Ala-Ile-Ser-Asp-Tyr-Ser-Ile-Ala-Met (配列番号209);
 Tyr-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Ala-Ser-Asp-Tyr-Ser-Ile-Ala-Met (配列番号210);
 Tyr-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Ile-Ala-Asp-Tyr-Ser-Ile-Ala-Met (配列番号211);
 Tyr-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Ile-Ser-Ala-Tyr-Ser-Ile-Ala-Met (配列番号212);
 Tyr-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Ile-Ser-Asp-Ala-Ser-Ile-Ala-Met (配列番号213);
 Tyr-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Ile-Ser-Asp-Tyr-Ala-Ile-Ala-Met (配列番号214);
 Tyr-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Ile-Ser-Asp-Tyr-Ser-Ala-Ala-Met (配列番号215);または
 Tyr-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Ile-Ser-Asp-Tyr-Ser-Ile-Ala-Ala (配列番号216)を含んでなる。

【0384】

なおさらなる実施形態においてDは、配列

TyrSerGluGlyThrPheIleSerAspTyrSerIleAlaMet (配列番号217); TyrGlyGluGlyThrPheIleSerAspTyrSerIleAlaMet (配列番号218);またはTyr-DAla-GluGlyThrPheIleSerAspTyrSerIleAlaMetを含んでなる。

【0385】

さらなる実施形態においてDは、配列

Y A E G T F I S D Y S I A M (配列番号14)、(Tyr1-グルシトール) A E G T F I S D Y S I A M (配列番号219)、(Tyr1-ピログルタミル) A E G T F I S D (配列番号220)、(Tyr1-グルシトール) A E G T F I S D Y S I A M (配列番号219)、(Tyr1-9-フルオレニルメトキシカルボニル) A E G T F I S D Y S I A M (配列番号221)、(Tyr1-パルミチン酸) A E G T F I S D Y S I A M (配列番号222)、Y S E G T F I S D Y S I A M (配列番号223)、またはY G E G T F I S D Y S I A M (配列番号224)を含んでなる。

【0386】

さらに他の実施形態においてDは配列Y (D-Ala) E G T F I S D Y S I A M、Y A b u A E G T F I S D Y S I A M (配列番号225)、またはY S a r A E G T F I S D Y S I A M (配列番号226)を含んでなる。

【0387】

なおさらなる実施形態において新規GIP類似体またはハイブリッド領域Dは、未変性GIP、例えば未変性GIPのアミノ酸1-11、1-12、1-13または1-14、好ましくはヒトGIPの対応する領域に対し、対応する各配列の全長にわたり、少なくとも60%、65%、70%、80%、85%、90%、95%、98%または100%の配列同一性を呈する。さらには、新規GIP類似体の領域Dはまた、修飾または置換され

たG I Pに対し、少なくとも50%、60%、65%、70%、80%、85%、90%、95%または100%までの配列同一性も呈し、例えば国際公開第00/58360号パンフレット、欧州特許第1171465号明細書または米国特許出願公開第2003/0232761号明細書を参照されたい。パーセント同一性は手作業で、またはベクターNTI (Vector NTI) (インビトロジェン (Invitrogen) ; カリフォルニア州カールズバッド) におけるアラインX (AlignX) モジュールもしくはグローバルアラインメント用のクラスタルW (ClustalW) アルゴリズムを用いる解析により決定され得る。未変性領域D G I P配列としては、ヒト、マウス、ラット、ブタまたはウシG I Pに由来するものが挙げられる。未変性G I P配列としては、ヒトG I P (1-42) (Y A E G T F I S D Y S L 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) (配列番号2)、マウスG I P (1-42) (Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q R G K K S D W K H N I T Q) (配列番号10)、ラットG I P (1-42) (Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K G K K N D W K H N L T Q) (配列番号11)、ブタG I P (1-42) (Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K G K K S D W K H N I T Q) (配列番号12)、またはウシG I P (1-42) (Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K G K K S D W I H N I T Q) (配列番号13) が挙げられる。さらに別の実施形態において領域Dは、ヒト、マウス、ラット、ブタまたはウシG I Pのアミノ酸1-11、1-12、1-13または1-14を含んでなり、例えばここで領域DはY A E G T F I S D Y S (配列番号227)、Y A E G T F I S D Y S I (配列番号228)、Y A E G T F I S D Y S I A (配列番号229) またはY A E G T F I S D Y S I A M (配列番号14) を含んでなる。なおさらなる実施形態において領域Dアミノ酸配列はさらに、位置X1、X2またはX3位の任意の1箇所に加え、修飾または置換されたアミノ酸を含んでなる。

【0388】

新規G I P類似体またはハイブリッドのある実施形態においてLは不在であり得る。他の実施形態においてLは、

- a) A h a、
- b) A h a - A l i a、
- c) A h a - A h a - A h a、
- d) アミノアルカン酸 (C5-C12)、
- e) G l u - L y s - G l u - L y s (配列番号230)、
- f) A l a - A l a - A l a - A l a (配列番号231)、
- g) アミノ酸残基、D-アミノ酸および非タンパク質新生アミノ酸からなる群より選択される12アミノ酸残基を含んでなるリンカーペプチド、
- h) G l u - L y s - G l u - G l u - L y s - G l u - L y s - G l u - G l u - L y s - G l u - L y s (配列番号232)、
- i) ω -NH₂-(CH_x)_n-COOH (式中n=10~34) の ω -アミノ脂肪酸 (飽和または不飽和) ; または
- j) 配列X15-X16-X17-X18 (配列番号466) (配列中X15~X18の各々は、独立して任意の自然発生的アミノ酸、非タンパク質新生アミノ酸、D-アミノ酸であるか、または不在である) を含んでなる。

【0389】

さらなる実施形態においてX15は、D、E、またはそれらもしくは未変性X15残基の保存されたアミノ酸改変である。さらなる実施形態においてX16は、K、G、E、またはそれらもしくは未変性X16残基の保存されたアミノ酸改変である。さらなる実施形態においてX17は、I、Q、E、またはそれらもしくは未変性X17残基の保存されたアミノ酸改変である。さらなる実施形態においてX18は、H、R、Aまたはそれらもしくは未変性X18残基の保存されたアミノ酸改変である。新規G I P類似体においてLは、配列D-K-I-HまたはD-K-I-Rを含んでなることができる。さらなる実施形

10

20

30

40

50

態においてLは修飾または置換されたアミノ酸を含んでなる。1つのかかる実施形態においてLは、第1の位置（例えばX16）において（ヘテロ）アリール基（双方とも場合により置換される）または3-7Cシクロアルキル基、1-10C（ヘテロ）アルキレン基、2-10C（ヘテロ）アルケニレン基、2-10C（ヘテロ）アルキニレン基またはフェニル基を、および第2のC末端に隣接する位置（例えばX17）において、1-10C（ヘテロ）アルキレン基、2-10C（ヘテロ）アルケニレン基、2-10C（ヘテロ）アルキニレン基、またはアミノ酸骨格中で-CO-を介して次の残基に連結されるフェニル基を含んでなる。なおさらなる実施形態において領域Lアミノ酸配列はさらに修飾または置換されたアミノ酸を含んでなる。

【0390】

本発明の一実施形態において領域Cは配列X19-X20-X21-X22-X23-X24-X25-X26-X27-X28-X29-X30（配列番号467）を含んでなり、各位置は独立して選択され、配列中、

X19は、Qまたはその保存されたアミノ酸置換であり、

X20は、Qまたはその保存されたアミノ酸置換であり、

X21は、Dまたはその保存されたアミノ酸置換であり、

X22は、F、Yまたはそれらの保存されたアミノ酸置換であり、

X23は、V、I、A、またはそれらのアミノ酸置換であり、

X24は、N、Qまたはそれらの保存されたアミノ酸置換であり、

X25は、W、F、Y、ナフチルアラニンまたはそれらの保存されたアミノ酸置換であり

、

X26は、L、Aまたはそれらの保存されたアミノ酸置換であり、

X27は、L、K、R、V、A、Iもしくはそれらの保存されたアミノ酸置換であるか、または不在であり、

X28は、A、N、D、K、R、Eもしくはそれらの保存されたアミノ酸置換であるか、または不在であり

X29は、Q、Gもしくはそれらの保存されたアミノ酸置換であるかまたは不在であり、および

X30は、K、G、R、G、P、Rもしくはそれらの保存されたアミノ酸置換であるかまたは不在である。

【0391】

さらなる態様においてX26-X30の任意の1、2、または3個が領域Cにおいて不在である。

【0392】

さらに別の実施形態において新規GIP類似体領域Cは、GIPの8-24個のC末端アミノ酸（ヒトGIP中の位置X19位（Gln）に対応するGIP中の位置から始まる）、少なくとも最初のかかる8アミノ酸（例えば、X19-27、X19-X28、X19-29など、位置X19-X26位を含んでなる）、少なくとも最初の12個のかかるアミノ酸（例えば、X19-X31、X19-X32、X19-X33、X19-X34、X19-X35、X19-X36、X19-X37、X19-X38など、位置X19-X30位を含んでなる）、少なくとも最初の21個のかかるアミノ酸（例えば、X19-X40、X19-X41など、位置X19-X39位を含んでなる）または少なくとも24個のかかるアミノ酸を含んでなる。とりわけこれらの実施形態においてX27-X30は独立して存在しても、または不在であってもよい。例えば、領域CはさらにGIPまたは未変性GIPの残基31-39を含んでなることができるとともに、X27-X30は場合により不在であってもよい。

【0393】

なおさらなる実施形態において新規GIP類似体またはハイブリッド領域Cは、未変性GIPの対応する領域、例えば未変性GIPのアミノ酸19-30、19-26、19-26または19-42に対し、各対応する配列の全長にわたり、少なくとも60%、65

10

20

30

40

50

%、70%、80%、85%、90%、95%、98%または100%の配列同一性を呈してもよい。さらには、新規GIP類似体の領域Cはまた、修飾または置換されたGIPに対し、少なくとも50%、60%、65%、70%、80%、85%、90%、95%、98%または100%までの配列同一性を呈してもよく、例えば国際公開第00/58360号パンフレット、欧州特許第1171465号明細書または米国特許出願公開第2003/0232761号明細書を参照されたい。未変性領域CのGIP配列としては、ヒト、マウス、ラット、ブタまたはウシGIP由来のものが挙げられる。未変性GIP配列としては、ヒトGIP(1-42)(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)(配列番号2)、マウスGIP(1-42)(Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q R G K K S D W K H N I T Q)(配列番号10)、ラットGIP(1-42)(Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K G K K N D W K H N L T Q)(配列番号11)、ブタGIP(1-42)(Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K G K K S D W K H N I T Q)(配列番号12)、またはウシGIP(1-42)(Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K G K K S D W I H N I T Q)(配列番号13)が挙げられる。さらに別の実施形態において領域Cは、ヒト、マウス、ラット、ブタまたはウシGIPのアミノ酸19~30、19~26、19~26または19~42を含んでなり、例えば領域CはG l n G l n A s p P h e V a l A s n T r p L e u L e u A l a G l n L y s(配列番号233)またはG l n G l n A s p P h e V a l A s n T r p L e u L e u A l a G l n A r g(配列番号234)を含んでなる。なおさらなる実施形態において領域Cアミノ酸配列は修飾または置換されたアミノ酸をさらに含んでなる。

【0394】

新規GIP類似体またはハイブリッドの一実施形態において領域Sは配列X31-X32-X33-X34-X35-X36-X37-X38-X39(配列番号468)を含んでなり、各々は独立して選択され、配列中、

X31は、Pro、ホモプロリン、3Hyp、4Hyp、チオプロリン、N-アルキルグリシン、N-アルキルペンチルグリシンまたはN-アルキルアラニン、G、Sであり；

X32は、Ser、Pro、His、ホモプロリン、3Hyp、4Hyp、チオプロリン、N-アルキルグリシン、N-アルキルペンチルグリシンまたはN-アルキルアラニンであり；

X33は、Ser、Arg、Thr、Trp、Lysであり；

X34は、Gly、Serであり；

X35は、Ala、Arg、Asp、Glu、Lys、Glyであり；

X36は、Pro、ホモプロリン、3Hyp、4Hyp、チオプロリン、N-アルキルグリシン、N-アルキルペンチルグリシンまたはN-アルキルアラニン、A、不在であり；

X37は、Pro、ホモプロリン、3Hyp、4Hyp、チオプロリン、N-アルキルグリシン、N-アルキルペンチルグリシンまたはN-アルキルアラニン、A、不在であり；

X38は、Pro、ホモプロリン、3Hyp、4Hyp、チオプロリン、N-アルキルグリシン、N-アルキルペンチルグリシンまたはN-アルキルアラニン、Ala、Arg、Lys、Hisであるか、または不在であり；および

X39は、Ser、Thr、Tyr、Leu、Ala、Lys、His、Pro、Lys、Arg、Gly、または不在であり、

ここでアミノ酸が不在の場合、ひいては全ての後続位置は不在である。

【0395】

さらなる実施形態においてX31-X39の少なくとも1個は、領域Sの実施形態について本明細書に列挙されるアミノ酸の保存された置換を含む。さらなる実施形態において領域SはProSerSerGlyAlaProProProSer(配列番号1)、ProSerSerGlyAlaProProPro(配列番号235)、ProSerSerGlyAlaProPro(配列番号236)、ProSerSerGlyAlaP

ro（配列番号237）、ProSerSerGlyAla（配列番号238）、ProSerSerGly（配列番号239）、またはProSerSerを含んでなる。いまださらなる実施形態において領域SはC末端アミドを含んでなる。なおさらなる実施形態において領域Sは、X37が、Pro、ホモプロリン、3Hyp、4Hyp、チオプロリン、N-アルキルグリシン、N-アルキルペンチルグリシンまたはN-アルキルアラニンである、Trpケージを形成するべく領域C内のTrpまたはTrp様残基との相互作用能を有する配列を含んでなる。なお別の実施形態において領域Sは、X31が、Pro、ホモプロリン、3Hyp、4Hyp、チオプロリン、N-アルキルグリシン、N-アルキルペンチルグリシンまたはN-アルキルアラニンである、Trpケージを形成するべく領域C内のTrpまたはTrp様残基との相互作用能を有する配列を含んでなる。いまださらなる実施形態において領域SはX31およびX37が双方ともPro、ホモプロリン、3Hyp、4Hyp、チオプロリン、N-アルキルグリシン、N-アルキルペンチルグリシンまたはN-アルキルアラニンであるとともにTrpケージを形成するべく領域C内のTrpまたはTrp様残基との相互作用能を有する配列を含んでなる。ある実施形態において領域Sは、領域Cを伴うTrpケージの形成能を有する5～14アミノ酸、5～10アミノ酸、または6～9アミノ酸の配列を含んでなる。

【0396】

他の実施態様において、S領域はカエルGLP1テール領域を含むか、または代替的に含む。GIP類似体0601GIP4673は、かかる化合物の例であり、また、それは溶解性を増加させるために疎水性を低下させるDPPPIV耐性N末端および修飾を有する。結果的に、さらなる実施態様において、GLP-1カエルテール含有GIP化合物およびハイブリッドは、本明細書に言及および例示された親化合物の溶解度を増加させる少なくとも1、2または3個の修飾をさらに含む。特に注目されるのは、カエルGLP-1テールがPKKIRYS（配列番号421）またはその類似体もしくは誘導体である実施態様である。一実施態様において、GIP類似体および誘導体、ならびにかかるGIP化合物を含むGIPハイブリッドは、レビー（Levy）らのPCT/US2006/005020に特に例示されたカエルGLP-1テールを含まないが、本明細書に開示された新規類似体および誘導体を含むであろう。本明細書に例示された各GIP類似体および誘導体について、第2の化合物が、本明細書に開示された新規なカエルテール領域が置換されるか、または本明細書に教示されたGIP化合物のC末端領域に付加される場合を明らかに意図することを明らかに意図する。この態様により、0601GIP4645のC末端PSSGAPPPS領域は、PKKIRYS（配列番号421）またはその新規な類似体もしくは誘導体で置換され、単独またはGIPハイブリッド成分のいずれかとして有用な新しいGIP化合物を生成するであろう。かかる特定の分子は、これにより明らかに意図され、各々が本明細書に個々にリストされるように記載される。

【0397】

一実施態様において、テールにおけるいずれか1つの位置をアラニンで置換したPKKIRYSテール（配列番号421）の類似体または誘導体、例えば、PAKIRYS（配列番号422）を有するGIP化合物である。一実施態様において、PKKIRYSテール（配列番号421）類似体は、プロリンおよびリジン間に挿入されたセリン-プロリンジペプチドを有する。一実施態様において、GIP化合物は、位置3、4および6のいずれか1、2または3個が、各々、セリン、アラニンおよびプロリンで置換されたPKKIRYSテール（配列番号421）類似体を有する。一実施態様において、PKKIRYSテール（配列番号421）類似体は、各々、リジン、ロイシンおよびプロリンで置換された位置4、5および7のいずれか1、2または3個を有する。PKKIRYSテール（配列番号421）を有する一実施態様において、位置2および3の少なくとも1または2個がアルパラギン、グルタミンまたはその双方で置換され、それは2～3個の結合にて蛋白質分解切断を有効に低下させるテール類似体である。PKKIRYSテール（配列番号421）を有する一実施態様において、位置2および3の少なくとも1または2個が置換または誘導体化されて、2～3個の結合にて蛋白質分解切断を有効に低下させるテール類似

体である。かかる置換または誘導体は、KK結合の切断を防止することが知られたものであり、本明細書に教示された容易に決定されるペプチド機能を維持するであろう。PKKIRYSテール（配列番号421）を有する一実施態様において、位置4および7の少なくとも1または2個がオクチルグリシンで置換され、それは2〜3個の結合にて蛋白質分解切断を有効に低下させるテール類似体である。さらに他の実施態様において、PKKIRYSテール（配列番号421）またはその類似体もしくは誘導体を、GIP類似体の親水性を増加させる修飾と組み合わせる。一実施態様において、位置N24、W25、L26またはL27の少なくとも1、2または3個は、より親水性のアミノ酸と置換される。一つのかかる実施態様において、より親水性のアミノ酸は、E、P、N、S、T、K、RまたはQでから選択される。一つのかかる実施態様において、N24は、E、PまたはQで置換される。一つのかかる実施態様において、W25は、E、P、NまたはQと置換される。一つのかかる実施態様において、L26またはL27のいずれかまたは双方は、E、P、Q、N、S、TまたはKと置換される。一つのかかる実施態様において、W25は、E、P、N、S、T、KまたはQと置換される。

10

【0398】

一実施形態において新規GIP類似体またはハイブリッドは修飾される。新規GIPハイブリッドは少なくとも1個のリジン残基のεアミノ基での脂肪酸付加による修飾を含んでなることができる。

【0399】

一実施形態において新規GIP類似体またはハイブリッドはGIP受容体アゴニストである。新規GIPハイブリッドはサイクリックAMP産生を増強できる。別の実施形態において新規GIPハイブリッドはGIP受容体アンタゴニストである。本明細書に開示されたGIP化合物およびハイブリッドはGIP受容体を結合し得るが、GIP受容体をかなりには活性化しないかもしれないと出願人は理解する。かかるGIP受容体アンタゴニストは、例えば、慢性的な投与において、おそらくインスリン抵抗性の増加により肥満関連糖尿病を処置するのに有用である（ガウルト（Gault）ら *Diabetes*（2005）54（8）：2436-3446 参照）。

20

【0400】

一実施形態において新規GIP類似体またはハイブリッドは式D-L-C-S（式中DはX2にD-アミノ酸アラニンを含んでなり、ならびに式中D、L、CおよびSは本明細書に定義されるとおりであるとともに本明細書の任意の他の実施形態である）の配列を含んでなる。例えば、さらなるかかる実施形態において領域CはGIP、特にヒトGIPのアミノ酸19-30を含んでなり、さらにより詳細には配列QQDFVNWLLAQK（配列番号15）を含んでなる。さらなるかかる実施形態においてLは、未変性GIP、特にヒトGIP由来の自然発生的配列X15-X18である。さらに例示的な実施形態においてSは、PSSGAPPPS（配列番号1）、PSSGAPPP（配列番号235）、PSSGAPP（配列番号236）、PSSGAP（配列番号237）、PSSGA（配列番号238）、またはPSSG（配列番号239）を含んでなる配列である。さらに別の実施形態において新規GIPハイブリッドは、配列：

30

Y(D-Ala)EGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPPSSGAPPPS（配列番号469）；

40

Y(D-Ala)EGTFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQRPSSGAPPPS（配列番号470）；

Y(D-Ala)EGTFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQKPPSSGAPPPS（配列番号471）；

Y(D-Ala)EGTFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQKPPSSGAPPPS（配列番号472）；または

Y(D-Ala)EGTFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQKPPSSGAPPPS（配列番号473）を含んでなる。

【0401】

50

さらなる例において、かかる新規D-A1a2含有GIP類似体またはハイブリッドの実施形態は上記の類似体の1個に対し少なくとも50%の配列同一性を呈するとともにD-A1aを位置X2位に含んでなる。追加的な実施形態において、該実施形態はさらに配列PSSGAPPPS（配列番号1）またはKNGGKPS SGA P P P S（配列番号240）を含んでなる。

【0402】

新規GIP類似体またはハイブリッドの一実施形態において領域Dは式X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14（配列番号474）（式中X1およびX2は不在である）を含んでなる。さらなる実施形態において領域Dは式X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14（配列番号578）（式中X1およびX2は不在であるとともにX3、X4またはX5の少なくとも1個は、例えば修飾もしくは置換または本明細書に定義されるとおりの結合の低減を伴う、DPP-IV耐性を提供するアミノ酸置換または修飾である。他のアミノ酸位置は本明細書に定義されるとおりである。新規GIP類似体またはハイブリッドの典型的なかかる実施形態はGIPアンタゴニスト活性を有する。

【0403】

一実施形態においてDは不在である。別の実施形態においてDが不在である時、新規GIP類似体はL-C-SまたはC-S（配列中、領域LまたはCは、プロテアーゼ耐性、特にDPP-IV耐性を提供するN末端修飾、置換または修飾を含んでなる）を含んでなることができる。いまださらなる実施形態としては、X18-X19-C-S（配列中、X18およびX19の一方または双方が不在であることで、X18-X19-X20、X19-X20-X21、およびX20-X21-X22について、X18、X19、X20、X21またはX22の少なくとも1個のアミノ酸置換もしくは修飾またはN末端修飾がDPP-IV耐性を提供する）がある。

【0404】

追加的な実施形態としては、配列

Y(DA1a)EGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPS SGA P P P S（配列番号186）、

Y(pSer)EGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPS SGA P P P S（配列番号241）、

YA(N-MeGlu)EGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPS SGA P P P S（配列番号242）、

YPEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPS SGA P P P S（配列番号243）、

YVEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPS SGA P P P S（配列番号244）、

(D-Tyr)AEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPS SGA P P P S（配列番号475）、または

YAPGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPS SGA P P P S（配列番号245）を含んでなる化合物が挙げられる。

【0405】

さらなる実施形態としては、配列

Y(DA1a)EGTFISDYSIAMDKmQQDFVNWLLAQKGKKNDWKHNITQPSSGA P P P S（配列番号193）、

Y(pSer)EGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKGKKNDWKHNITQPSSGA P P P S（配列番号246）、

YA(N-MeGlu)EGTFISDYSIAMDKTHQQDFVNWLLAQKGKKNDWKHNITQPSSGA P P P S（配列番号247）、

YPEGTFISDYSIAMDOHQDFVNWLLAQKGKKNDWKHNIT

10

20

30

40

50

Q P S S G A P P P S (配列番号248)、
Y V 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 P S S G A P P P S (配列番号249)、
(D-Tyr) 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 P S S G A P P P S (配列番号476)、または
Y A P G T F I S D Y S I A M D K J 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 P S S G A P P P S (配列番号250)を含んでなる化合物が挙げられる。

【0406】

さらなる実施形態において任意のG I Pポリペプチドは、N末端H i s、D-ヒスチジン、脱アミノ-ヒスチジン、2-アミノ-ヒスチジン、β-ヒドロキシ-ヒスチジン、ホモヒスチジン、α-フルオロメチル-ヒスチジン、α-メチルヒスチジンを含んでなる。追加的な実施形態としては、配列H G 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 P S S G A P P P S (配列番号251)またはH G 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 P S S G A P P P S (配列番号252)を含んでなる化合物が挙げられる。

【0407】

新規G I P類似体またはハイブリッドの一実施形態において、領域Lおよび/またはCは修飾または置換されたアミノ酸を含んでなる。特定の実施形態において新規G I P類似体は、C y s、D-C y s、ホモC y sまたはペニシラミンを含んでなる。さらなる実施形態においてリンカーLおよび/または領域Cは、C y s、D-C y s、ホモC y sまたはペニシラミンを含んでなる。これらのアミノ酸はp e g分子、脂質または他のペプチドもしくは反応分子などの他のS H含有分子との連結を付加するための修飾用部位として挿入される。別の実施形態において少なくとも1個のC y s、D-C y s、ホモC y sまたはペニシラミンは脂質またはp e g分子または反応基で修飾される。典型的には、0、1、2または3個のかかる残基が存在する。

【0408】

1つのかかる実施形態において領域Lおよび/またはCは少なくとも1個のC y s、D-C y s、ホモc y sまたはペニシラミン残基を含んでなる。新規G I P類似体の1つのかかる実施形態においてX 1 5~X 1 8またはX 3 1~X 4 0の少なくとも1個が、C y s、D-C y s、ホモc y sまたはペニシラミンである。さらなるかかる実施形態において、X 1 5~X 1 8またはX 3 1~X 4 0の2個以下が、C y s、D-C y s、ホモc y sまたはペニシラミンである。さらなる実施形態においてX 1 5~X 1 8またはX 3 1~X 4 0の1個以下が、C y s、D-C y s、ホモc y sまたはペニシラミンである。さらなるかかる実施形態においてX 1 5~X 1 8またはX 3 1~X 4 0の少なくとも1個が、C y s、D-C y s、ホモC y sまたはペニシラミンであるとともに前記残基の少なくとも1個が脂質により修飾される。

【0409】

ある実施形態において新規G I P類似体またはハイブリッドはペグ化アミノ酸を含んでなる。少なくとも1個のP E G分子がポリペプチドに付着され得る。1つのかかる実施形態において各p e g分子は化合物にD-C y s、ホモc y sもしくはペニシラミンまたはL y sアミノ酸において、またはカルボキシル末端アミノ酸に付着される。さらなるかかる実施形態において少なくとも1個のP E G分子は領域Lおよび/またはC内のアミノ酸に付着される。さらなる実施形態においてペグ化された新規G I P類似体は少なくとも1時間の排出半減期を有する。さらなる新規G I P類似体またはハイブリッドは1、2、または3個のp e g分子を含んでなることができる。さらなる実施形態においてX 1 5~X 1 8またはX 3 1~X 4 0の少なくとも1個が、C y s、D-C y s、ホモc y sまたはペニシラミンであるとともに前記残基の少なくとも1個がp e g分子に付着される。さらにはX 1 5~X 1 8またはX 3 1~X 4 0の少なくとも1、2または3個が、C y s、D-C y s、ホモc y sまたはペニシラミンであるとともに前記残基の少なくとも1、2または3個がp e g分子に付着される。

10

20

30

40

50

【0410】

本発明のG I P化合物は、反応基を付着または結合することにより修飾され得る。それによりG I P化合物は反応基を通じた血液成分への共有結合能を有する。反応基は典型的には、血液成分上のアミノ基、ヒドロキシル基、またはチオール基と共有結合し、それによりG I Pペプチドを血液成分に共有結合的に連結するであろう。一実施態様において、反応基は血液成分上のチオール基と反応するであろう。より好ましくは、反応基は血清アルブミン上のチオール基と反応するであろう。反応基は、共有結合の形成能を有する任意の数の化学反応体を含有してもよい。一実施態様において、反応基は血液成分上のチオール基との反応能を有しジスルフィド結合を形成するであろう。かかる反応基は、例えば、米国特許第6, 593, 295号明細書に見出される。特に注目される一実施態様において、G I P化合物は、徐放性放出に適した組成物を形成するためにアルブミンのごとき長命な血液成分とエクス・ビボにて反応させる。血液の他の適当な長命な成分には、免疫グロブリン、ヒト血清アルブミン、赤血球および血小板が挙げられる。

10

【0411】

チオール基を伴うジスルフィド結合の形成能を有する反応基としては、活性化ジスルフィド結合またはスルホン化Sを有するものが挙げられる。活性化ジスルフィド結合を有する反応基は、2, 2'-ジチオジピリジン(D T D P)、2, 2'-ジチオビス(5-ニトロピリジン)(N P Y S)、5, 5'-ジチオビス(2-ニトロ安息香酸)(エルマン試薬)、または6, 6'-ジチオジニコチン酸などの活性化基を備えるG I Pペプチドシステイン(またはシステイン類似体)を共役することにより得ることができる。活性化ジスルフィド結合を含む反応基は本明細書中では活性化ジスルフィド結合基と称される。加えて、活性化ジスルフィド結合基はメルカプト活性化カルボン酸を備えるG I Pペプチドのリジン側鎖をアシル化することにより得ることができる。本発明の別の例示的实施形態は、血液成分上のチオール基との反応能を有しチオエーテル結合を形成する反応基を利用することである。一実施態様において、かかる反応基は、 γ -マレイミドブチルアミド(G M B A)、マレイミドベンゾイルサクシニミド(M B S)、 γ -マレイミドブチルオキシサクシニミドエステル(G M B S)、およびマレイミドプロピオン酸(M P A)などの、マレイミド含有基由来の化学反応体を備えるG I Pペプチドを共役することにより得られるであろう。これらおよび他のマレイミド含有基は本明細書中でマレイミド基と称される。本発明の代替の実施形態において、G I P化合物の反応基は血液成分上の一級アミンへの共有結合能を有し、アミド結合を形成するであろう。一実施態様において、かかる反応基は、N H Sまたはスルホ-N H Sエステルを形成するN-ヒドロキシサクシニミド(N H S)またはN-ヒドロキシスルホサクシニミド(スルホ-N H S)を備えるG I Pペプチドを共役することにより得られるであろう。これらのサクシニミジル基は潜在的に血液成分タンパク質のN末端上の α -アミン基と、かかるアミン基が反応基にとって到達または利用可能であるならば、反応し得る。一実施態様において、リジンの ϵ -アミンはN H Sエステルと有意に反応する唯一のアミノ酸側鎖であることから、これらのサクシニミジル基は血液成分タンパク質中のリジンの ϵ -アミンと反応するであろう。さらに別の実施形態において本発明のG I P化合物は血液成分上のチオール基と共有結合するよう設計される反応基を含む。チオール基は生体内でアミノ基より少量であるため、チオール基への結合は典型的にはアミノ基への結合を上回る。これにより、アミノ基への結合と比較してチオール基への結合を介して標的とされる血液成分はより少なく、結果としてより高い結合特異性をもたらす。従って、例示的G I P化合物はマレイミド基または一実施態様において、スルホン化Sまたは活性化ジスルフィド結合基で修飾されるG I Pペプチドを含むであろう。本発明のG I P化合物は遊離チオール基を含む任意の数個の血液成分に結合してもよいが、G I P化合物は好ましくは血清アルブミン上のチオール基と共有結合するであろう。血清アルブミンは最も豊富な血液タンパク質であるとともに、タンパク質中のアミノ酸残基34(C y s 34)に位置する単一のチオール基を含有し、これは種間で高度に保存されている。G I P化合物の血清アルブミンへの結合は結合の特異性を提供するだけでなく、G I P化合物の血清アルブミンへの1:1結合を有する抱合体

20

30

40

50

の再現可能な形成をも提供する。G I P化合物および血清アルブミンの再現可能な抱合体はG I P化合物の投与に応じた結果であろうことから、この比1 : 1の再現性はG I P化合物の治療法としての使用に望ましい。さらには、G I P化合物および血清アルブミンの1 : 1抱合体の再現性は治療用抱合体を形成する生体外または試験管内アプローチに望ましい。抱合体は本発明のG I P化合物を血液と組み合わせることにより生体外で形成され、抱合体の形成、およびひいては抱合体含有血液の宿主への投与を可能にし得る。あるいは、G I P化合物－血清アルブミン抱合体は、G I P化合物を組換え血清アルブミンと組み合わせて投与され得る抱合体を形成することにより、試験管内で形成され得る。G I P化合物および血清アルブミンの1 : 1抱合体の再現性は、生体外投与または試験管内でのバッチごとの調製から再現可能な抱合体を提供する。

10

【0412】

別の実施形態において提供されるのは、ポリエチレングリコール (p e g) の1つまたは複数の分子、またはその誘導体に共有結合的に付着されるG I P化合物であって、ここで各p e gはC y sまたはL y sアミノ酸またはペプチドのカルボキシ末端で付着され、結果として少なくとも1時間、少なくとも4、6、10、15、20または24時間の半減期を備えるペグ化G I P化合物がもたらされる。一実施形態においてペグ化G I P化合物は、1、2または3残基で共有結合的に付着されるp e g分子を備える本明細書に教示される任意の新規G I P化合物配列を含んでなる。

【0413】

いまださらに企図される実施形態において上記または本明細書に提示される該実施形態は任意の整合的な組み合わせにおいて併用される。例えば領域Dについて記載する実施形態が領域Lについて記載する実施形態と併用され、領域Dおよび領域Lにおける併用された改変を有する新規G I P類似体の実施形態を記載し得る。類似体はさらに第2のホルモンモジュールと併用され、G I Pハイブリッドを形成し得る。

20

【0414】

別の実施形態において、本発明の新規G I P類似体またはハイブリッドポリペプチドは少なくとも25アミノ酸長のアミノ酸である。他の実施形態において、ポリペプチドは少なくとも21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、および54アミノ酸長までの各整数（例えばG I P (1-42) + 長鎖エキセンデインテール (27-39)）であってもよい。さらに、一実施形態において、本発明のポリペプチドは天然Lアミノ酸残基および／または修飾された天然Lアミノ酸残基のみを含む。あるいは、別の実施形態において、本発明のポリペプチドは非天然アミノ酸残基を含まない。

30

【0415】

さらに別の実施形態において、新規G I P類似体またはハイブリッドは、未変性G I P (1-42)、G I P (1-30)、G I P (1-26)、G I P (1-39)、G I P (19-30)、G I P (19-26)、G I P (19-39)、G I P (19-42)、G I P (1-11)、またはG I P (1-14) に対し、各対応する配列の全長にわたり、少なくとも60%、65%、70%、80%、85%、90%、95%または98%の配列同一性を呈してもよい。本発明のかかるポリペプチドはまた、修飾または置換されたG I Pに対し、少なくとも50%、60%、65%、70%、80%、85%、90%、95%または98%の配列同一性を呈してもよく、例えば国際公開第00/58360号パンフレット、欧州特許第1171465号明細書または米国特許出願公開第2003/0232761号明細書を参照されたい。さらに別の実施形態において新規G I P類似体のD-L-C領域は、未変性G I P (1-42)、G I P (1-30)、G I P (1-26)、G I P (1-39)、G I P (19-30)、G I P (19-26)、G I P (19-39)、G I P (19-42)、G I P (1-11)、またはG I P (1-14) に対し、各対応する配列の全長にわたり、少なくとも60%、65%、70%、80%、85%、90%、95%または98%の配列同一性を呈してもよい。未変性G I P配列としては、ヒトG I P (1-42) (Y A E G T F I S D Y S I A M D K I H Q Q D F V N

40

50

WLLAQKGKKNDWKHNITQ；配列番号2）、ヒトGIP（1-26）（YAEGETFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQK；配列番号3）、ヒトGIP（1-30）（YAEGETFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQK；配列番号3）、ヒトGIP（1-39）（YAEGETFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKGKKNDWKHN；配列番号254）、マウスGIP（1-42）（YAEGETFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQRGKKSDWKHNITQ；配列番号10）、マウスGIP（1-26）（YAEGETFISDYSIAMDKJRQQDFVNWLLAQK；配列番号255）、マウスGIP（1-30）（YAEGETFISDYSIAMDKmQQDFVNWLLAQK；配列番号256）、マウスGIP（1-39）（YAEGETFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQRGKKSDWKHN；配列番号257）、ラットGIP（1-42）YAEGETFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQKGKKNDWKHNLTQ（配列番号11）、ラットGIP（1-26）YAEGETFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQK（配列番号258）、ラットGIP（1-30）YAEGETFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQK（配列番号259）、ラットGIP（1-39）YAEGETFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQKGKKNDWKHN（配列番号260）、ブタGIP（1-42）YAEGETFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQKGKKSDWKHNITQ（配列番号12）、ブタGIP（1-26）YAEGETFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQK（配列番号261）、ブタGIP（1-30）YAEGETFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQK（配列番号262）、ブタGIP（1-39）YAEGETFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQKGKKSDWKHN（配列番号263）、ウシGIP（1-42）YAEGETFISDYSIAMDKRQQDFVNWLLAQKGKKSDWIHNITQ（配列番号13）、ウシGIP（1-26）YAEGETFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQK（配列番号264）、ウシGIP（1-30）YAEGETFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQK（配列番号265）、またはウシGIP（1-39）YAEGETFISDYSIAMDKIRQQDFVNWLLAQKGKKSDWIHN（配列番号266）に由来するものが挙げられる。

【0416】

さらに別の実施形態において、本発明の新規GIP類似体またはハイブリッドのS領域は、PSSGAPPPS（配列番号1）などの未変性Trpケージ配列に対し、少なくとも50%、60%、65%、70%、80%、85%、90%、95%または98%の配列同一性を呈してもよい。

【0417】

さらなる実施形態において本発明の新規GIP類似体またはハイブリッドポリペプチドは、本明細書に開示される新規GIP類似体配列に対し、少なくとも60%、65%、70%、80%、85%、90%、95%または98%の配列同一性を含んでなる配列を含んでなる。配列比較にも有用である、かかる新規GIP類似体またはハイブリッド配列としては、

YAEGETFISDYSIAMDKJHQQDFVNWLLAQKGKKNDWKHNITQPPSGAPPPS（配列番号267）（ヒトGIP（1-42）コア）、

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 P S S G A P P P S (配列番号186) (ヒトGIP(1-30)コア)、
 Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q R G K K S D W K H N I T Q P S S G A P P P S (配列番号268) (マウスGIP(1-42)コア)、
 Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q R P S S G A P P P S (配列番号269) (マウスGIP(1-30)コア)、
 Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K G K K N D W K H N L T Q P S S G A P P P S (配列番号270) (ラットGIP(1-42)コア)、
 Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K P S S G A P P P S (配列番号271) (ラットGIP(1-30)コア)、
 Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K G K K S D W K H N I T Q P S S G A P P P S (配列番号272) (ブタGIP(1-42)コア)、
 Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K P S S G A P P P S (配列番号273) (ブタGIP(1-30)コア)、
 Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K G K K S D W I H N I T Q P P S G A P P P S (配列番号274) (ウシGIP(1-42)コア)、またはY A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K P P S G A P P P S (配列番号275) (ウシGIP(1-30)コア)が挙げられる。

10

【0418】

上述される配列比較にも有用である、さらなる新規GIP類似体またはハイブリッド配列としては、

20

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 K N G G P S S G A P P P S (配列番号276) (ヒトGIP(1-26)コア)、
 Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L K N G G P S S G A P P P S (マウスGIP(配列番号277) (1-26)コア)、
 Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L K N G G P S S G A P P P S (配列番号278) (ラットGIP(1-26)コア)、
 Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L K N G G P S S G A P P P S (配列番号279) (ブタGIP(1-26)コア)、またはY A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L K N G G P P S G A P P P S (配列番号280) (ウシGIP(1-26)コア)が挙げられる。

30

【0419】

上述される配列比較にも有用である、さらなる新規GIP類似体またはハイブリッド配列としては、

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 P P S G A P P P S (配列番号281) (ヒトGIP(1-39)コア)、Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q R G K K S D W K H N P S S G A P P P S (配列番号282) (マウスGIP(1-39)コア)、Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K G K K N D W K H N P S S G A P P P S (配列番号283) (ラットGIP(1-39)コア)、Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K G K K S D W K H N P S S G A P P P S (配列番号284) (ブタGIP(1-39)コア)、またはY A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q Q D F V N W L L A Q K G K K S D W I H N P P S G A P P P S (配列番号285) (ウシGIP(1-39)コア)が挙げられる。

40

【0420】

さらに適用可能な考察および意図

本明細書に記載される組み合わせの各々の範囲内で、成分ペプチドホルモンまたはモジュールに対する参照は、類似体、誘導体、断片、ならびにそれらに関連するペプチドエンハンサーに対する参照を含むことが理解される。

【0421】

50

記述されるとおり、新規G I P類似体は好ましくはC末端でアミド化されるが、本発明の目的である必要はない。言い換えれば、これらのペプチドのC末端は、遊離OHまたはNH₂基を有してもよい。これらのペプチドはまた、他の翻訳後修飾を有してもよい。当業者は、本発明の新規G I P類似体ポリペプチドがまた、N末端メチオニン残基を伴い構築されてもよいことを理解するであろう。

【0422】

さらに他の実施形態において想定されるのは配列の各々の変異体であり、ここでG I P部分は本明細書に記載されるとおりの1、2または3個の修飾により修飾される。例示的修飾は、未変性G I Pのものより優れたD P P-I V耐性を供与するG I Pの第1（末端NH₂を含む）、第2または第3のN末端アミノ酸におけるものである。特に興味深いのは、少なくともD-A l a置換を位置2位に有する本明細書に記載されるとおりのG I P化合物である。

10

【0423】

より詳細には、一態様において、本発明は1つまたは複数のアミノ酸配列修飾を含む新規G I P類似体ポリペプチドに関する。かかる修飾は、置換、挿入、および／または欠失を、単独または組み合わせで含む。一態様において、G I P類似体またはハイブリッドポリペプチドは、「非必須」アミノ酸残基の1つまたは複数の修飾を含む。本発明の文意において、「非必須」アミノ酸残基は、未変性ヒトアミノ酸配列内でG I P類似体またはハイブリッドのG I Pまたは成分ペプチドホルモン受容体アゴニスト活性を無効にする、または実質的に低減することなく改変され得る、すなわち、欠失または置換され得る残基である。

20

【0424】

置換 一実施形態において、本発明のG I P類似体またはハイブリッドポリペプチドは、G I P、G I P（1-30）、G I P（1-14）、G I P（1-26）、G I P（1-39）、G I P（19-26）、G I P（19-30）、G I P（19-39）またはG I P（19-42）のアミノ酸配列または領域S内に、単独または1つもしくは複数の挿入または欠失と組み合わせて、1つまたは複数の置換を有してもよい。一実施態様において、置換はG I P類似体ポリペプチドのG I Pアゴニスト活性を無効にせず、または実質的に低減しない。一態様において、本発明は、単一の置換、または未変性ヒトG I Pのアミノ酸配列内の2個以上のアミノ酸残基の連続的または非連続的置換を有するG I P類似体ポリペプチドに関する。一実施態様において、本発明のG I P類似体ポリペプチドは、1、2、または3個のアミノ酸置換を含む。一実施形態において未変性G I Pはヒト、ラット、マウス、ブタまたはウシである。

30

【0425】

特に有用な置換としては、保存されたアミノ酸置換が挙げられる。「保存されたアミノ酸置換」は、アミノ酸残基が、同様の側鎖、または物理化学的性質（例えば、静電的、水素結合、等比体積、疎水性の特徴）を有するアミノ酸残基と置き換えられるものである。同様の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは当該技術分野において周知である。これらのファミリーは、塩基性側鎖（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、無電荷極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、メチオニン、システイン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン）、β-分岐側鎖（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）および芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）を備えるアミノ酸を含む。さらに他の実施形態において例示的な保存された置換が、以下の表中の列「例示的置換」のもとに示される。なお他の実施形態において保存された置換は、表頭「好ましい置換」の列に列挙されるアミノ酸より選択される。

40

【0426】

【表 4 0】

元の残基	例示的置換	好ましい置換
Ala (A)	val; leu; ile	val
Arg (R)	lys; gln; asn	lys
Asn (N)	gln; his; asp; lys; arg	gln
Asp (D)	glu; asn	glu
Cys (C)	ser; ala	ser
Gln (Q)	asn; glu	asn
Glu (E)	asp; gln	asp
Gly (G)	ala	ala
His (H)	asn; gln; lys; arg	arg
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; ノルロイシン	leu
Leu (L)	ノルロイシン; ile; val; met; ala; phe	ile
Lys (K)	arg; gln; asn	arg
Met (M)	leu; phe; ile	leu
Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	tyr
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	ser	ser
Trp (W)	tyr; phe	tyr
Tyr (Y)	trp; phe; thr; ser	phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; ノルロイシン	leu

【0 4 2 7】

場合により、新規 G I P 類似体またはハイブリッドは、比較されている配列と比較したとき、1 個以下の保存されたアミノ酸置換を、あるいは、比較されている配列と比較したとき、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 個以下の保存されたアミノ酸置換を有するであろう。

【0 4 2 8】

別の実施形態において、本発明の G I P 類似体またはハイブリッドポリペプチドは 1 つまたは複数の非天然および／または非アミノ酸、例えば、アミノ酸模倣物の置換を、G I P の配列内に含んでもよい。例示的实施形態において、G I P の配列内に挿入される非アミノ酸は、 $-NH-X-CO-$ [式中 $X = (CH_2)_n$ (式中、 n は 2 ~ 20) または $-NH-CH_2CH_2-(O-CH_2CH_2-O-)_m-CH_2-CO-$ (式中、 $m = 1 \sim 5$)] などの、 β 反転模倣物またはリンカー分子であってもよい。例示的リンカー分子としては、アミノカプロイル (「A c a」)、 β -アラニル、および 8-アミノ-3, 6-ジオキサオクタノイルが挙げられる。 β 反転模倣物は市販されている (バイオクアドラント社 (BioQuadrant Inc)、ケベック州、カナダ) とともに文献に記載されている (ヘインジアン (Hanesian) ら、Tetrahedron 12789-854 頁 (1997 年); グー (Gu) ら、Tetrahedron Letters 44: 5863-6 頁 (2003 年); ブルゲット (Bourguet) ら、Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 13: 1561-4 頁 (2003 年); グリエコ (Grieco) ら、Tetrahedron Letters 43: 6297-9 頁 (2002 年); スール (Souers) ら、Tetrahedron 57: 7431-48 頁 (2001 年); ツァイ (Tsai) ら、Bioorganic & Medicinal Chemistry 7: 29-38 頁 (1999 年); ヴィルジリオ (Virgilio) ら、Tetrahedron 53: 6635-44 頁 (1997 年))。例示的 β 反転模倣物としては、本明細書

に示される模倣体Aおよび模倣体Bが挙げられる。これらのIUPAC名は模倣体A：N-(3S, 6S, 9S)-2-オキソ-3-アミノ-1-アザビシクロ[4.3.0]-ノナン-9-カルボン酸である。模倣体B：N-(3S, 6S, 9R)-2-オキソ-3-アミノ-7-ミア-1-アザビシクロ[4.3.0]-ノナン-9-カルボン酸である。

【0429】

アミノ酸配列β反転模倣物置換を含んでなる例示的GIP類似体またはハイブリッドポリペプチドは未変性ヒトGIPを含み、ここで位置xおよびx+1位のアミノ酸が模倣体Aおよび模倣体Bからなる群より選択されるβ反転模倣物と置換され、ここでxは未変性ヒトGIPのアミノ酸位置8~14位のアミノ酸より選択される。(模倣体AおよびBに加え、Ala-AibおよびAla-Proジペプチドが良好な反転インデューサである)。これらのリンカーは特に、本発明のD-L-C-S新規GIP類似体の領域、領域「L」を含んでなるために有用である。

10

【0430】

欠失および切断 別の実施形態において、本発明のGIP類似体またはハイブリッドポリペプチドは未変性GIPのアミノ酸配列、または領域Sから欠失させた1つまたは複数のアミノ酸残基を、単独もしくは1つまたは複数の挿入または置換と組み合わせて、有してもよい。一態様において、本発明のGIP類似体またはハイブリッドポリペプチドは未変性GIPのN末端またはC末端から欠失させた1つまたは複数のアミノ酸残基を有してもよい。別の実施形態において、本発明のGIP類似体またはハイブリッドポリペプチドは、未変性GIP、GIP(1-14)、GIP(1-26)、GIP(1-30)、GIP(1-39)、GIP(19-26)、GIP(19-30)、GIP(19-39)またはGIP(19-42)のアミノ酸位置1~42または領域Sで欠失させた1つまたは複数のアミノ酸残基を有してもよい。かかる欠失は2個以上の連続的または非連続的欠失を含んでもよい。例示的实施形態において1個以下、2個以下、3個以下、4個以下、または5個以下のアミノ酸が未変性GIPから、GIP(1-30)、GIP(1-14)、GIP(1-26)、GIP(1-39)、GIP(19-30)、GIP(19-26)、GIP(19-39)またはGIP(19-42)から、もしくは例えば領域がエキセンディン(31-39)またはエキセンディン(27-39)である時などの領域Sから、欠失される。一実施形態において未変性GIPはヒト、ラット、マウス、ブタまたはウシである。

20

30

【0431】

一実施態様において、アゴニストとしての使用を意図する場合のGIP化合物、いずれの類似体、誘導体またはハイブリッドも、GIPのC末端配列の位置Y A E G T F I S D Y S I A M D (配列番号477)に対応する位置1~15のいずれか一つでの欠失を含まない。換言すれば、GIPの対応する1~15位置の各々は、それらが置換または誘導体化し得るが、存在であろう。さらなる実施態様において、アゴニストGIPは、GIPのC末端配列のG T F I S D Y S I A M D (配列番号478)に対応する位置4~15のいずれか一つでの欠失を含まない。換言すれば、GIPの対応する4~15位置の各々は、それらが置換または誘導体化されるが、存在するであろう。結果的に、アゴニストGIP化合物の実施態様において、1~15または4~15の各々が存在し、天然に発生したGIP種のその位置に存在するアミノ酸あるいはその置換または誘導体により占有されるであろう。アゴニストGIP化合物のさらに別の実施態様において、本明細書に記載された種々の実施態様から排除されるのは、示された適当な受容体結合活性または受容体活性化活性を示さないGIP化合物である。

40

【0432】

一実施態様において、アゴニストとしての使用を意図する場合のGIP化合物、いずれの類似体、誘導体またはハイブリッドも、GIPのC末端配列の位置Y A E G T F I S D Y S I A M D (配列番号477)に対応する位置1~15のいずれか一つでの欠失を含まない。換言すれば、GIPの対応する1~15位置の各々は、それらが置換または誘導体

50

化し得るが、存在であろう。さらなる実施態様において、アゴニストG I Pは、G I PのC末端配列のG T F I S D Y S I A M D（配列番号478）に対応する位置4～15のいずれか一つでの欠失を含まない。換言すれば、G I Pの対応する4～15位置の各々は、それらが置換または誘導体化されるが、存在するであろう。

【0433】

挿入 別の実施形態において、本発明のG I P類似体またはハイブリッドポリペプチドは、G I P（1-30）、G I P（1-14）、G I P（1-26）、G I P（1-39）、G I P（19-30）、G I P（19-26）、G I P（19-39）もしくはG I P（19-42）由来の未変性G I Pまたは領域Sのアミノ酸配列内に挿入される1つまたは複数のアミノ酸残基を、単独または1つまたは複数の欠失および／または置換と組み合わせ、有してもよい。一態様において、本発明は、単一の挿入、または2個以上のアミノ酸残基の、未変性G I P、G I P（1-30）、G I P（1-14）、G I P（1-26）、G I P（1-39）、G I P（19-30）、G I P（19-26）、G I P（19-39）もしくはG I P（19-42）、または領域S、例えばエキセンディン（27-39）およびエキセンディン（31-39）のアミノ酸配列への連続的または非連続的挿入を有するG I P類似体またはハイブリッドポリペプチドに関する。一実施形態において未変性G I Pはヒト、ラット、マウス、ブタまたはウシである。

【0434】

別の実施形態において、本発明のG I P類似体またはハイブリッドポリペプチドは、1つまたは複数の非天然アミノ酸および／または非アミノ酸の、G I P、G I P（1-30）、G I P（1-14）、G I P（1-26）、G I P（1-39）、G I P（19-30）、G I P（19-26）、G I P（19-39）もしくはG I P（19-42）、または領域S、例えばエキセンディン（27-39）およびエキセンディン（31-39）の配列への挿入を含んでもよい。例示的实施形態において、G I P、G I P（1-30）、G I P（1-14）、G I P（1-26）、G I P（1-39）、G I P（19-30）、G I P（19-26）、G I P（19-39）もしくはG I P（19-42）または領域S、例えばエキセンディン（27-39）およびエキセンディン（31-39）の配列内に挿入される非天然アミノ酸はβ反転模倣物またはリンカー分子であってもよい。さらなるかかる実施形態において未変性G I Pはヒト、ラット、マウス、ブタまたはウシであり得る。ある実施形態において領域Sは、T r p ケージ形成を選好するT r p（またはT r p 類似体）と相互作用するため、少なくともプロリン（またはプロリン類似体）をX37に保持する。さらに例示的な実施形態においてP r oは、同様にT r pとX25で相互作用するため、位置X31位に保持される。N末端で切断されたエキセンディン-4類似体（T r p ケージ）の場合、ヘリックスはT r p 25／P r o 31疎水性ステープルまたはT r p ケージの完全形成のいずれかによりキャッピングされない限り、有意には装着されないことが確立されている。後者の、完全T r p ケージ形成は、非常に有効なヘリックスC-キャップとして働く。また、P r oがX36、X37、X38ユニットで結合されていない、部分的に融解されたT r p ケージ種である、半ケージ構造の寄与についての証拠もある。

【0435】

従って、化合物は任意選択の連結基とともに示されるが、本明細書の配列の一実施形態において、リンカーはG l y リンカー、例えばG l y - G l y - G l y、またはβ A l a リンカー、例えばβ A l a - β A l a（これらの全てが具体的に想定される）である。特定の目的のリンカー分子としては、アミノカプロイル（「A c a」）、β-アラニル、および8-アミノ-3,6-ジオキサオクタノイルが挙げられる。さらなる他の実施形態においてβ反転模倣物を使用され、これとしては、模倣体A：N-（3S,6S,9S）-2-オキソ-3-アミノ-1-アザビシクロ[4.3.0]-ノナン-9-カルボン酸、模倣体B：N-（3S,6S,9R）-2-オキソ-3-アミノ-7-チア-1-アザビシクロ[4.3.0]-ノナン-9-カルボン酸、ならびにA l a - A i bおよびA l a - P r oジペプチドも挙げられる。

【0436】

別の実施形態において、本発明のG I P類似体またはハイブリッドポリペプチドはポリアミノ酸配列（例えば、ポリーh i s、ポリーa r g、ポリーl y s、ポリーa l a等）の挿入を、「伸長部」または「テール」として知られる、ポリペプチドの末端のいずれかに含んでもよい。

【0437】

ある実施形態においてアミノ酸配列挿入を含んでなる新規G I P類似体またはハイブリッドポリペプチドはアラニン置換を、未変性G I P、G I P（1－30）、G I P（1－14）、G I P（1－26）、G I P（1－39）、G I P（19－30）、G I P（19－26）、G I P（19－39）もしくはG I P（19－42）、または領域S、例えばエキセンディン（27－39）およびエキセンディン（31－39）の長さに沿った各アミノ酸位置で含む。

10

【0438】

誘導体 本発明はまた、G I P類似体およびハイブリッドポリペプチドの誘導体にも関する。かかる誘導体としては、ポリエチレングリコール（「PEG」）または様々な長さの脂肪酸鎖（例えば、ステアシル、パルミトイル、オクタノイル等）などの1つまたは複数の水溶性ポリマー分子に抱合されるか、またはポリーh i s、ポリーa r g、ポリーl y s、およびポリーa l aなどのポリアミノ酸の付加による、G I P類似体およびハイブリッドポリペプチドが挙げられる。ポリペプチドへの修飾としてはまた、短鎖アルキル基および制限付きのアルキル基（例えば、分枝、環状、融合、アダマンチル基）、および芳香族基などの小分子置換基が挙げられ得る。水溶性ポリマー分子は好ましくは約500～約20,000ダルトンの範囲をとる分子量を有するであろう。

20

【0439】

かかるポリマー抱合および小分子置換基修飾は、NもしくはC末端において、またはG I P類似体およびハイブリッドポリペプチドの配列内のアミノ酸残基の側鎖において、単独で起こってもよい。あるいは、G I P類似体およびハイブリッドポリペプチドに沿って誘導体化の複数の部位があってもよい。1つまたは複数のアミノ酸の、リジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、またはシステインとの置換が誘導体化のための追加的な部位を提供してもよい。例えば、米国特許第5,824,784号明細書および第5,824,778号明細書を参照されたい。一実施形態において、G I P類似体およびハイブリッドポリペプチドは、1、2、または3個のポリマー分子に抱合されてもよい。

30

【0440】

水溶性ポリマー分子は好ましくは、アミノ基、カルボキシ基、またはチオール基に連結されるとともに、NもしくはC末端により、またはリジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、またはシステインの側鎖で、連結されてもよい。あるいは、水溶性ポリマー分子はジアミン基およびジカルボキシル基と連結されてもよい。例示的实施形態において、本発明のG I P類似体およびハイブリッドポリペプチドは、リジンアミノ酸上のεアミノ基を介して1、2、または3個のPEG分子に抱合される。

【0441】

本発明のG I P類似体およびハイブリッドポリペプチド誘導体はまた、1つまたは複数のアミノ酸残基に対し化学変換を伴うG I P類似体およびハイブリッドポリペプチドも含む。かかる化学変換としては、アミド化、グリコシル化、アシル化、硫酸化、リン酸化、アセチル化、および環化が挙げられる。化学変換は、NもしくはC末端またはG I P類似体およびハイブリッドポリペプチドの配列内のアミノ酸残基の側鎖において単独で起こってもよい。一実施形態において、これらのペプチドのC末端は遊離OHまたはNH₂基を有してもよい。別の実施形態において、N末端側終端は、イソブチルオキシカルボニル基、イソプロピルオキシカルボニル基、N-ブチルオキシカルボニル基、エトキシカルボニル基、イソカプロイル基（イソカプ）、オクタニル基、オクチルグリシニ基（G（Oct））、または8-アミノオクタン酸基またはFmoc基でキャッピングされてもよい。例示的实施形態において、環化はジスルフィド架橋の形成を介し得る。あるいは、G I P類

40

50

似体およびハイブリッドポリペプチドに沿った化学変換の複数の部位があってもよい。

【0442】

多くの擬ペプチド結合は一般にペプチド構造および生物学的活性に影響を及ぼさないことが記載されている。このアプローチの一例はレトロインバーソ擬ペプチド結合を置換することである（「Biologically active retroinverso analogues of thymopentin」、シスト・A (Sisto A.) ら、Rivier, J. E. およびマーシャル, G. R. (Marshall, G. R.) 編「Peptides, Chemistry, Structure and Biology」、Escom、ライデン（1990年）、722-773頁）およびダルポZZ（Dalpizzo）ら（1993年）、Int. J. Peptide Protein Res.、41:561-566頁、参照により本明細書に援用される）。この修飾に従えば、ペプチドのアミノ酸配列は、ペプチド結合の1つまたは複数のレトロインバーソ擬ペプチド結合により置き換えられることを除き、本明細書に記載されるGIPの配列と同一であってもよい。かかる置換はN末端に作用するエキソペプチダーゼによりタンパク質分解に対する耐性を供するであろうことから、好ましくはほとんどのN末端ペプチド結合が置換される。さらなる修飾もまた、同様の構造の他の化学基を備えるアミノ酸の化学基を置き換えることによりなされ得る。別の好適な擬ペプチド結合は、生物学的活性の消失を全くまたはほとんど伴わない酵素的切断に対する安定性を亢進することで知られ、低減したアイソスター擬ペプチド結合である（クデール (Coudere) ら（1993年）、Int. J. Peptide Protein Res.、41:181-184頁、全体として参照により本明細書に援用される）。 10 20

【0443】

このように、これらのペプチドのアミノ酸配列は、ペプチド結合の1つまたは複数のアイソスター擬ペプチド結合により置き換えられることを除き、新規GIP類似体およびハイブリッドペプチドの配列と同一であってもよい。かかる置換はN末端に作用するエキソペプチダーゼによりタンパク質分解に対する耐性を供するであろうことから、好ましくはほとんどのN末端ペプチド結合が置換される。1つまたは複数の低減されたアイソスター擬ペプチド結合を伴うペプチドの合成は当該技術分野において周知である（クデール (Coudere) ら（1993年）、前掲）。他の例としては、ペプチド結合に置き換わるケトメチレンまたは硫化メチル結合の導入が挙げられる。 30

【0444】

別の実施形態においてDPP-IVによる切断の標的である第2および第3の残基間の結合が、本明細書に記載されるペプチダーゼ耐性結合に置き換えられる。

【0445】

GIP類似体およびハイブリッドペプチドのペプチド誘導体はペプチド模倣物の別のクラスを代表し、生物学的活性の重要な構造決定要因を保持するが、ペプチド結合を排除し、それによりタンパク質分解に対する耐性を供する（シモン (Simon) ら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、89:9367-9371頁（1992年）、全体として参照により本明細書に援用される）。ペプチドはN置換グリシンのオリゴマーである。多くのN-アルキル基が記載されており、各々が天然アミノ酸の側鎖に対応する（シモン (Simon) ら（1992年）、前掲）。GIPペプチドのアミノ酸の一部または全てが、置換されたアミノ酸に対応するN置換グリシンに置き換えられてもよい。 40

【0446】

一実施形態において新規GIP類似体またはハイブリッドポリペプチドは、上述された修飾、すなわち、欠失、挿入、および置換の組み合わせを含む。

【0447】

同様に本発明の範囲内に含まれるのは、式中で示されるアミノ酸残基が化学修飾または誘導体化（例えば、脂肪酸誘導体化、ペグ化、アミド化、グリコール化等を介した）される式のGIP類似体またはハイブリッドポリペプチドである。例示的实施形態としては、リジン残基、特に位置16または30位の誘導体化が挙げられる。同様に本発明の範囲内 50

で企図されるのは、示されるアミノ酸のD-アミノ酸残基である。別の実施形態において、例示的G I P類似体またはハイブリッドポリペプチドとしては、特に本明細書に記載されるとおりの活性部位に対応しない領域内に、内部欠失を備える式のポリペプチドが挙げられる。

【0448】

非天然アミノ酸の置換を含んでなる例示的G I P類似体またはハイブリッドポリペプチド。本発明のG I P類似体またはハイブリッドポリペプチドの例示的誘導体としては、ポリマー抱合G I P類似体またはハイブリッドポリペプチドが挙げられ、ここでG I P類似体またはハイブリッドポリペプチドは任意の上述の挿入、欠失、置換、またはそれらの組み合わせを含むとともに、ポリマー分子はリジン残基で抱合される。かくして、一実施態様において、G I P類似体またはG I P含有ハイブリッドは、位置14でのメチオニンの誘導体または置換であり、ヒトG I Pまたは親類似体に比較してより長い作用期間を有する。例えば、0601G I P4755におけるごとくメチオニン位置14でのオクチルグリシンは、生体内での化合物の作用期間を増加させる。作用期間は、この修飾により少なくとも4時間まで増加した。結果的に、一実施態様において、種々の長さのポリエチレングリコール（「PEG」）または脂肪酸鎖（例えば、ステアシル、パルミトイル、オクタノイル等）のとき、1またはそれを超える水可溶ポリマー分子に対するこの位置での、あるいはポリ-*his*、ポリ-*arg*、ポリ-*lys*、ポリ-*glu*およびポリ-*ala*のときポリアミノ酸の付加によりコンジュゲートしたG I P類似体およびハイブリッドポリペプチドである。また、ポリペプチドに対する修飾は、短いアルキルおよび拘束アルキル（例えば、分岐、環状、縮合、アダマンチル）のとき小分子置換、および芳香族基を含むことができる。

【0449】

さらに具体的に想定されるのは、本明細書の各G I P配列のD-*Ala*2変異体である（例えば、表を参照）。さらに他の実施形態において想定されるのは、G I P部分が本明細書に記載されるとおりの1、2または3個の修飾により修飾される上記の配列の各々の変異体である。例示的修飾は、未変性G I Pより優れたDPP-IV耐性を供与するG I Pの第1、第2または第3のN末端アミノ酸におけるものである。いまださらなる実施形態において新規G I P化合物はC末端アミドを含んでなる。

【0450】

さらなる実施形態において新規G I P類似体またはG I PハイブリッドはヒトG I P（1-30）アミドの少なくとも2倍の半減期を含んでなる。さらなる半減期は少なくとも6時間であり得る。

【0451】

別の実施形態としては、薬学的に許容される新規G I P類似体またはハイブリッドの塩がある。新規G I P類似体およびハイブリッドは、薬学的に許容される担体を含んでなる組成物中に調合され得る。

【0452】

一実施形態において位置14位でMetに置換されるロイシンを備えるエクセナチドの類似体が、ハイブリッド成分として、またはG I PハイブリッドのHGEGTFTSDL SKQL EEEAVRLFI EWLKN GGPSSGAPPPS-NH₂（配列番号286）を伴う補助治療においてのいずれかで使用される。

【0453】

一実施形態において、本発明のG I P類似体またはハイブリッドポリペプチドは、グルコース降下に関して未変性ヒトG I Pの生物学的活性の、少なくとも約25%、好ましくは約30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、または99%の割合を保持する。別の実施形態において、本発明のG I P類似体またはハイブリッドポリペプチドは改善されたG I Pアゴニスト活性を呈する。一実施形態において、本発明のG I P類似体またはハイブリッドポリペプチドは、未変性ヒトG I Pの、少なくとも約110%、125%、130%、140%、150%、200%、またはそれ以上

の生物学的活性を呈する。逆に、新規G I P類似体またはハイブリッドはアンタゴニストであり得る。

【0454】

例示的G I P類似体またはハイブリッドポリペプチドは、同一のアッセイ中でG I P（1-42）またはG I P（1-30）の効力と同等またはそれより高い効力を有するものである。あるいは、本発明の例示的G I P類似体またはハイブリッドポリペプチドは、G I P（1-42）またはG I P（1-30）と比較して、改善された製造の容易さ、安定性、および／または製剤の容易さを呈してもよい。

【0455】

本発明の新規G I P類似体、ならびにG I P類似体が、場合に応じて、本明細書に記述されるペプチドホルモンおよび成長因子用のアゴニストまたはアンタゴニストである小分子または抗体などの薬剤を伴い投与され得ることも企図される。

10

【0456】

エキセンディン-4の自然発生的C末端アミノ酸配列、特に本明細書に記載されるP S S G A P P P S（配列番号1）配列を有するG I Pハイブリッドのさらなる実施形態および使用において、具体的に除外されるのは、国際公開第2004/103390号パンフレットに記載されるとおりの「P'1」位置に修飾を有するものである。

【0457】

本発明の類似体およびハイブリッドポリペプチドのさらなる例が、配列表、表および実施例の欄に提供される。

20

【0458】

疾患病態または障害の処置または予防におけるハイブリッドポリペプチドのさらなる使用
代謝性疾患および障害は、肥満、糖尿病、異常脂質血症、インスリン抵抗性、細胞アポトーシス等を含め、多くの形態をとる。肥満およびその関連障害は、米国内および世界中で一般的であるとともに非常に深刻な公衆の健康問題である。上半身肥満は2型真性糖尿病として知られる最も強力な危険因子であるとともに、心血管疾患の強力な危険因子である。肥満は、高血圧症、アテローム性動脈硬化症、うっ血性心不全、脳卒中、胆嚢疾患、変形性関節症、睡眠時無呼吸、多嚢胞性卵巣症候群などの生殖障害、乳癌、前立腺癌、および結腸癌といった癌、および全身麻酔の合併症の発症率増加について認知されている危険因子である（例えば、コペルマン（K o p e l m a n）、Nature 404:635-43頁（2000年）を参照）。これは寿命を短くするとともに上記の併存症に加え、感染、静脈瘤、黒色表皮腫、湿疹、運動不耐性、インスリン抵抗性、高血圧症高コレステロール血症、胆石症、整形外科的傷害、および血栓塞栓性疾患などの障害の深刻なリスクを保有する（リッサネン（R i s s a n e n）ら、Br. Med. J. 301:835-7頁（1990年））。肥満はまた、インスリン抵抗性症候群、または「症候群X」と呼ばれる病態群についての危険因子でもある。肥満および関連障害の医療費についての最近の推定は、世界で1500億ドルである。肥満の病因は多因子であると考えられるが基本的な問題は肥満対象においては栄養利用性およびエネルギー消費が、脂肪組織が過剰になるまで均衡にならないことである。肥満は現在、不十分にしか処置可能でない、慢性的な、本質的に難治性の代謝性疾患である。肥満者の体重減少に有用な治療薬は彼らの健康
に対し重大で有益な効果を有し得るであろう。

30

40

【0459】

糖尿病は、不十分なインスリンの産生または利用の結果生じる高血糖および糖尿により特徴づけられる炭水化物代謝の障害である。糖尿病は先進諸国の大部分の人々の生活の質に重大な影響を及ぼす。不十分なインスリンの産生は1型糖尿病として特徴づけられるとともに不十分なインスリンの利用は2型糖尿病である。しかしながら、患者が顕性糖尿病を有すると診断されるよりはるか以前の発病を有する多くの異なる糖尿病関連疾患があることが今日広く認知されている。また、糖尿病におけるグルコース代謝の準最適なコントロールによる影響は、広域型の関連脂質および心血管障害も生じさせる。

【0460】

50

異常脂質血症、または血漿中のリポタンパク質の異常レベルは、糖尿病患者間で頻繁に起こる。異常脂質血症は典型的には、血漿トリグリセリド上昇、低HDL（高密度リポタンパク質）コレステロール、正常～上昇レベルのLDL（低密度リポタンパク質）コレステロールおよび低密度の血中LDL（低密度リポタンパク質）粒子のレベル上昇により特徴づけられる。異常脂質血症は、糖尿病対象間の冠動脈イベントおよび死亡の発生率上昇の主要な要因の1つである。疫学的試験は、糖尿病対象間の冠動脈血栓による死亡について非糖尿病対象と比較した時数倍の増加を示すことにより、これを確認している。糖尿病対象間の数個のリポタンパク質異常が記載されている。

【0461】

インスリン抵抗性は広範囲の濃度にわたりその生物学的作用を発揮するインスリンの能力の低下である。インスリン抵抗性において、体は異常に多量のインスリンを分泌してこの欠陥およびグルコース耐性発生障害の状態を補正する。欠陥インスリン作用の補正に失敗すると、血漿グルコース濃度は不可避免的に上昇し、結果として糖尿病の臨床状態をもたらす。インスリン抵抗性および関連高インスリン血症は、肥満、高血圧症、アテローム性動脈硬化症および2型糖尿病の一因となる役割を有することが認知されている。インスリン抵抗性の肥満、高血圧症および狭心症との関連は、共通の病因関連性としてインスリン抵抗性を有する症候群の症候群Xとして記載されている。

【0462】

アポトーシスは、正常な発達において生じる外因性および内因性シグナルにより調節される細胞自己破壊の活性プロセスである。アポトーシスが膵内分泌β細胞の調節において中心的な役割を果たすことは十分に考証されている。成体哺乳動物においてβ細胞量は動的变化に供されることでインスリン産生を適応させて妊娠および肥満などの特別な病態において正常血糖を維持するという証拠は増加している。β細胞量のコントロールは細胞増殖、成長およびプログラム細胞死（アポトーシス）の間の微妙な均衡に依存する。この均衡の妨害は、グルコース恒常性の障害を導き得る。例えば、グルコース不耐性は加齢に伴いβ細胞複製率が低減されると発症することは注目に値するとともに、ヒト剖検は非糖尿病対象と比較して非インスリン依存性真性糖尿病患者におけるβ細胞量の40～60%の低下を繰り返し示した。インスリン抵抗性は肥満の不変の付随物であるが、正常血糖は、その時点で2型糖尿病が始まる、β細胞がインスリンの需要増加に合致できなくなるまで、代償性高インスリン血症により維持されることが、一般的に合意されている。

【0463】

糖尿病に付随する複数の異常を処置する試みでは、異なる患者におけるこれらの異常性に対処するため、数種の抗糖尿病薬物の投与が促進されてきた。しかしながら、本明細書中で考察されるとおりのGIP類似体、GIPハイブリッドおよびGIPRアゴニストは、治療的に有効量で投与される時、単剤治療または補助治療のいずれかで、全体を通じて考察されるこれらおよび他の疾患および病態の処置または予防において、使用を見出す。

【0464】

胃抑制ポリペプチド（GIP）およびグルカゴン様ペプチド1（GLP-1）は、強力な糖調節作用をそのインスリン分泌のグルコース依存性刺激を通じ発揮する消化管ペプチドホルモンである。試験は、GIPおよびGLP-1が伴って作用し、それらのインクレチン効果を発揮することを示している〔1～3〕。結果的に、これらのインクレチンホルモンは、低血糖症のリスクを低減する有望な抗糖尿病薬として魅力的なかなりの利益を有する。GLP-1、GLP-1類似体およびエクセナチドなどの模倣物が、2型糖尿病患者においてグルコースレベルを調節するのに効果的であることが示されている一方、GIPのインスリン分泌効果は、正常人と比較して、糖尿病対象において有意に低減される〔4～6〕。同一の糖尿病対象におけるGIPではなくGLP-1のインスリン分泌作用の保持は、GIPシグナル伝達が2型糖尿病において障害されることを示唆する。膵β細胞中のGIP受容体発現の低減は、糖尿病対象においてインクレチン効果の全体的な低減に寄与することが提言されている〔7〕。この仮説は、ズッカー糖尿病肥満ラットにおいてβ細胞上のGIP受容体発現の減少および2型糖尿病患者の第一度近親者に見られるGIP

10

20

30

40

50

Pインクレチン効果の低減を示す齧歯類試験により支持される〔8－9〕。しかしながら、最近の試験は、G I Pのボーラス静脈内投与に対する2型糖尿病患者における血漿インスリンレベルの有意な上昇を示しており、これは持続G I P注入に伴うインスリン分泌の弱い上昇と顕著な対照をなす〔10〕。2型糖尿病患者および健常対照対象におけるG I Pボーラスに対する同様の相対的 β 細胞感受性は、特異的G I P受容体欠陥が起こりそうにないと見られることを示唆する〔10〕。それどころか、急性投与後および持続G I P投与中のインスリン分泌における差異は2型糖尿病患者におけるG I Pによるグルコースに対する後期インスリン反応の増幅障害を示すが、一方初期の反応はほぼ保持されている〔11－12〕。理論によって制約されないながら、G I Pのインクレチン効果が持続性高血糖の間に弱まる一方、G I Pまたはその類似体には、グルコースコントロールが糖尿病患者において改善されると、それらの個体中で健常対象におけるそれらの作用と同様の効力で作用する潜在能力があると考えられる。

10

【0465】

アミリン・ファーマシューティカルズ社（アミリン Pharmaceuticals, Inc.）は、単独のメトホルミン、単独のスルホニル尿素を使用して、またはメトホルミンとスルホニル尿素との組み合わせを使用して、標的血糖濃度を達成しない2型糖尿病患者におけるエクセナチドの効果を評価する3件の極めて重要な臨床試験を実施している。3件全ての試験が、HbA1cにより測定されるとき主要なグルコースコントロールのエンドポイントに達した。最高用量のエクセナチド（10 μ gを1日2回）に関する試験を完了する患者における第3相プログラムにわたるHbA1cの平均減少はおよそ1パーセントであった。加えて、これらの患者のおよそ40パーセントが7パーセント以下のHbA1c測定値を達成した。臨床データは、エクセナチドの有効性にもかかわらず、一部の糖尿病個体は正常グルコース濃度に到達できないことを示す。

20

【0466】

本発明の実施形態において、処置糖尿病患者における高血糖の低下（例えば、エクセナチドによるなど）はG I P介入の発端となる。2型糖尿病患者における慢性高血糖病態がG I Pのインスリン分泌反応を弱める一方、エクセナチド処置の結果生じる改善された血糖コントロールが β 細胞のG I P刺激に対する応答性を回復するであろう。それゆえ補助治療、例えば、G I Pまたは新規G I P類似体もしくはハイブリッドの薬理学的用量のG I Pハイブリッドの、エクセナチド（または他のグルコース降下薬もしくは薬剤または胃排出を低減もしくは阻害する方法）との同時投与により、糖尿病患者またはグルコース上昇に付随する病態を患う患者において所望の正常血糖を導くであろう。注目すべきは、G I PにはGLP-IのGLP-I処置中の悪心の発症に対し可能性のある寄与因子である胃排出効果が欠如している〔13～14〕とともに、これはペプチドの治療ウィンドウを制限する〔15〕。従って、より高用量のG I P投薬レジメンの使用が認められるべきである。

30

【0467】

現在、様々な程度の血糖コントロールを処方抗糖尿病薬（メトホルミン、スルホニル尿素、TZD等）が達成することができることから、G I Pもしくは新規G I P類似体またはハイブリッドの、任意のこれらの治療との組み合わせもまたグルコースレベルの正常化を導く改善された反応を誘発するはずである。

40

【0468】

従って、一実施形態において本発明の方法は、患者が、GLP-I、GLP-I類似体またはエキセンディン-4もしくは他の薬剤、例えばメトホルミン、スルホニル尿素、チアゾリジンジオン（TZD）、プラムリンチド、インスリン、アカルボース、ジペプチジルペプチダーゼ（DPP-IV）インヒビターなどの他の抗糖尿病薬による事前のグルコース降下を通じてG I P治療で準備刺激され得るという概念に基づく。DPP-IVインヒビターは周知であるとともに、例えば、それらの化合物について参照により本明細書に援用される、米国特許出願公開第20050004117号明細書、米国特許第6710040号明細書、および米国特許第6645995号明細書に記載される。腭組織上で作

50

用してインスリンを産生するスルホニル尿素（S F U）の例としては、グリメピリドである。

【0469】

代謝的に安定なG I P類似体もしくはハイブリッドまたは新規G I P類似体もしくはハイブリッドのエクセナチド（または他の抗糖尿病薬）との補助治療は、いずれかの単独よりも増加したインスリン分泌反応を、2型糖尿病患者などの、グルコース上昇に付随する病態を伴う患者に提供するであろう。かかる処置レジメンはグルコース濃度の正常化、β細胞機能の改善を導くとともに、β細胞上のその栄養活性を通じ疾患の進行を緩徐してインスリン治療の必要性を除去または低減するであろう。

【0470】

本発明のG I Pハイブリッドは、食物摂取量を低減する、食欲を低減する、カロリー摂取量を低減する、満腹感を誘発する、栄養利用性を低減する、体重減少を引き起こす、体組成に影響を及ぼす、体エネルギー含量またはエネルギー消費を変える、脂質プロファイルを改善する（L D Lコレステロールおよびトリグリセリドレベルを低減すること、および／またはH D Lコレステロールレベルを変化させることを含む）、胃腸管運動を緩徐化する、胃排出を遅延させる、食後血糖移動範囲を加減する、グルカゴン分泌を予防または阻害する、および血圧を低下させるために有用であり得る。一実施形態においてかかるG I Pハイブリッドは、エキセンディン、G L P 1、アミリンおよび／またはs C T部分を含む。

【0471】

抗肥満、体重低下、食物低下、代謝速度増加および体脂肪低下および／または脂肪再分布ハイブリッドとして特に注目されるのは、有効に食物摂取を低下できる、体組成を変更できる、脂肪を再分布できるおよび／または体重を低下できるエキセンディン、アミリン（例えば、アミリン-s C T-アミリンキメラ）、レプチンまたはP Y Y（例えば、P Y Y-N P Yキメラ）ファミリーモジュールを含むそれらのG I P含有ハイブリッドである。本明細書に言及された肥満および関連した病気および疾患を処置するために特に注目される実施態様において、例えば、エキセンディン-4またはその類似体もしくは誘導体、プラムリンチドのごときアミリン成分またはアミリン-s C T-アミリンキメラ、F N 3 8のごときF N 3 8ファミリーメンバーまたはその類似体または誘導体、US 2006/013547 A1の配列番号266、437、438、439、442、462、469、470、471および472のごときP Y Y-N P Yキメラまたはアミノ酸配列Ile, Lys, Pro, Glu, His, Pro, Gly, Glu, Asp, Ala, Ser, Pro, Glu, Glu, Leu, Ala, Arg, Tyr, Tyr, Ala, Ser, Leu, Arg, Ala, Tyr, Ile, Asn, Leu, Ile, Thr, Arg, Gln, Arg, Tyr（配列番号456）とのP Y Y-N P Yキメラ化合物を含むG I Pハイブリッドである。別の実施態様において、G I Pハイブリッドは、少なくとも1つ、好ましくは2つの成分を有することができ、それはC N Sに作用する。前脳（脳の終脳および間脳由来構成物）および後脳または脳幹（中脳、脳橋および髄質を含む）の特定の領域は、エネルギーバランスの制御に関与すると同定された。食物摂取および／または体重調節に関与する視床下部にある前脳構造または核は、例えば、弓状核（A R C）、室傍核（P V N）、視床下部背内側（D M H）、腹内側核（V M H）および視床下部外側野核（L H A）を含む。食物摂取および／または体重調節に関与する脳幹にある後脳構造または核は、例えば、孤束核（N S T）、最後野（A P）および外側傍小脳脚核（l P B N）を含む。完了運動制御系の要素を制御する脳幹核は、N S T、A Pおよびl P B Nのような後脳領域からの一次または二次投射により制御されるようである。N S T、A Pおよびl P B Nのすべては、それら自身の統合能力を（集合的および独立して）所有することが示されたことは注目されるべきである。C N S指令抗肥満剤は、食物摂取および／または体重調節に関与する脳幹にある後脳構造に作用する。かかる抗肥満剤の例は本明細書に記載されている。G I P化合物と組み合わせて抗肥満剤ハイブリッドを形成でき、G I P化合物と組み合わせて前脳および後脳の双方に対して活性を持つ抗肥満ハイブリッドを形成できるペプチドファミリーモジュールのさらなる例につき以下の表を参照されたし。かかる成分は、例えば、本明細書に記載されたもの

10

20

30

40

50

を含めた、神経ペプチド（NPY1）受容体アンタゴニスト、NPY5受容体アンタゴニスト、レプチンおよびレプチンアゴニスト、毛様体神経栄養因子（CNTF）およびCNTFアゴニスト、ペプチドYY（PYY）およびPYYアゴニスト、エキセンディンおよびエキセンディンアゴニスト、GLP-1およびGLP-1アゴニスト、グレリンおよびグレリンアンタゴニスト、コレシストキニン（CCK）およびCCKアゴニスト、ならびにアミリンおよびアミリンアゴニストを含む。さらなるペプチドファミリー成分および臨床ガイダンスは、ここに出典明示して本明細書の一部とみなす出願人らの同時係属特許出願PCT/US06/17529に見出すことができる。

【0472】

【表41】

個々の抗肥満標的および位置

シグナリング系	CNS領域	食物摂取役割	抗肥満剤
神経ペプチドY（NPY）	前脳（ARC/PVN）	摂取増加	NPY1およびNPY5受容体アゴニスト
レプチン	前脳（ARC）	摂取減少	レプチンまたはアゴニスト
毛様体神経栄養因子（CNTF）	前脳（ARC）	摂取減少	CNTF
ペプチドYY（PYY）	前脳（ARC）	摂取減少	PYY(3-36) アゴニスト
グルカゴン様ペプチド-1（GLP-1）	前脳（PVN）	摂取減少	エクセナチドおよび他のGLP-1リガンド、DPP-IVインヒビター
グレリン	前脳（ARC）	摂取増加	グレリンアンタゴニスト
コレシストキニン（CCK）	後脳（AP）	摂取減少	CCKアゴニスト
アミリン	後脳（AP）	摂取減少	アミリンアゴニスト、プラミリンチド、アミリン類似体
メラノコルチン（MC）	前脳（PVN/ARC）	アゴニスト摂取減少	MC4アゴニスト

【0473】

ある実施態様において、GIPハイブリッドは、GIP化合物に加えて1またはそれを超える主に前脳に作用するペプチドファミリー成分を含むことができる抗肥満剤である。他の実施態様において、ハイブリッドは、1またはそれを超える主に後脳に作用する抗肥満剤を含むことができる抗肥満剤である。例示的ペプチドファミリーおよび成分は、NPY1受容体アンタゴニスト、NPY5受容体アンタゴニスト、レプチンおよびレプチンアゴニストもしくは類似体、CNTF、NPY2受容体アゴニスト（例えば、PYY（3-36）またはPYY（3-36）アゴニスト）、エキセンディンおよびエキセンディンアゴニストもしくは類似体、GLP-1およびGLP-1アゴニストもしくは類似体、グレリンアンタゴニスト、CCKおよびCCKアゴニストもしくは類似体、ならびにアミリンまたはアミリンアゴニストもしくは類似体を含む。

【0474】

ある実施態様において、GIPハイブリッドおよびその使用法は、ARC、PVN、VMおよびLHのごとき視床下部のエネルギーバランスセンターを主に標的とする第1の成分を含む。一実施態様において、GIPハイブリッドは、第1の成分とは異なる作用の位置でまたは異なる作用機序を介して視床下部を標的ともする1またはそれを超える他のペプチドファミリー成分をさらに含有する。GIPハイブリッドが、1を超える他のペプ

10

20

30

40

50

チドファミリー成分を含有し、また、これらが視床下部を標的とする場合に、1を超える他のペプチドファミリーは、相互に同一の作用機序を介して同一の位置を標的とし得るか、またはそれらが、作用の異なる位置および／または異なる機序を標的とし得る。次いで、別の実施態様において、G I Pハイブリッドは、第1の成分とはおよび相互に異なる作用の位置または機序を介して抗肥満効果を含めた所望の1またはそれを超える追加の有利な治療効果、血液中グルコースの制御、心臓保護および／または高血圧の制御を提供する1またはそれを超える他のペプチドファミリー成分を含む。ある実施態様において、追加のペプチドファミリー成分は、N S T、A PおよびI P B Nのごとき後脳のエネルギーバランスセンターを主に標的とするものである。

【0475】

ある実施態様において、G I Pおよびその使用法は、N S T、A PおよびI P B Nのごとき後脳のエネルギーバランスセンターを主に標的とする第1の成分を含む。一実施態様において、G I Pハイブリッドは、第1の成分とはおよび相互に異なる作用の位置にて、または異なる作用の機序を介して視床下部を標的ともする1またはそれを超える他のペプチドファミリー成分さらに含有する。次いで、別の実施態様において、G I Pハイブリッドは、第1の成分とはおよび相互に異なる作用の位置または機序を介して抗肥満効果を含めた所望の1またはそれを超える追加の有利な治療効果、血液中グルコースの制御、心臓保護および／または高血圧の制御を提供する1またはそれを超える他のペプチドファミリー成分を含む。ある実施態様において、追加のペプチドファミリー成分は、A R C、P V N、V MおよびL Hのごとき視床下部のエネルギーバランスセンターを主に標的とするものである。

【0476】

本明細書に用いた「食物摂取および／または体重調節に關与する前脳構造に対して作用する」抗肥満剤は、前脳における特定の領域、例えば、特定の核および／または神経回路の活性を刺激または抑制する。この前脳の刺激または抑制は、身体に対する栄養利用能における低下に導く。本明細書に用いた「食物摂取および／または体重調節に關与する後脳構造に対して作用する」抗肥満剤は、後脳における特定の領域、例えば、特定の核および／または神経回路の活性を刺激または抑制する。この後脳の刺激または抑制の結果、身体に対する栄養利用能を低下させる。

【0477】

別の態様において、対象における代謝速度を増加させることによる脂肪量を低下させる方法が提供され、その方法は、対象の代謝速度を増加させることにより脂肪量を低下させるのに有効な量の抗肥満G I Pハイブリッドを投与することを含む。脂肪量は、合計体重のパーセンテージとして表すことができる。いくつかの態様において、脂肪量は、処置の経過にわたり、少なくとも1%、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%または少なくとも25%だけ低下する。一の態様において、対象の除脂肪量は、処置の経過にわたり減少しない。別の態様において、対象の除脂肪量は、処置の経過にわたり維持または増加する。別の態様において、対象は、カロリーダイエットの軽減またはダイエットの制限にある。「カロリーダイエットの軽減」とは、同一対象の通常のダイエットに比較してより少ない1日当たりのカロリーを摂取していることを意味する。一つの例において、対象は、1日当たり少なくとも50だけより少ないカロリーを消費している。他の例において、対象は、1日当たり少なくとも100、100、150、200、250、300、400、500、600、700、800、900または1000だけより少ないカロリーを消費している。

【0478】

一つの実施態様において、対象における脂肪分布の改変、脂肪量の低下またはその双方における使用方法が提供される。結果的に、体組成の改変が利益になる対象も、当該方法から利益を得ることができる。本明細書において意図される体組成の改変は、除脂肪体重の損失、維持または増加の最小化での体脂肪の損失または維持を含む。かかる状況において、体重は、増加ならびに減少し得る。結果的に、対象は、これらの用語が当該技術分野

において一般的に用いられるように、除脂肪、過体重または肥満で有り得る。また、提供される方法は、除脂肪量を保存しつつ、非脂肪組織中の脂肪を低下させることを含み得る。この方法についての使用は、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）またはリポジストロフィー（lipodystrophy）のごとき疾患の処置を含む。

【0479】

一実施態様において、対象における脂肪分布を改変する方法が提供され、当該方法は、対象における脂肪分布を改変するのに有効な量の抗肥満GIPハイブリッドを投与することを含む。一態様において、改変は、対象における内臓もしくは異所性脂肪、または双方の代謝の増加に起因する。「脂肪分布」とは、身体における脂肪沈着の位置を意味する。脂肪沈着のかかる位置は、例えば、皮下、内臓および異所性脂肪沈着を含む。「皮下脂肪」とは、皮膚表面直下の脂質の沈着を意味する。対象における皮下脂肪の量は、皮下脂肪の測定に利用可能ないずれかの方法を用いて測定できる。皮下脂肪の測定方法、例えば、ここに出典明示してその全てを本明細書の一部とみなす米国特許第6,530,886号に記載されたものは、当該技術分野において知られている。「異所性脂肪貯蔵」とは、除脂肪体量を構成する組織および器官内またはそれらの周囲の脂質沈着を意味する（例えば、骨格筋、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、血管）。一般的に、異所性脂肪貯蔵は、体内の古典的な脂肪組織沈着の外の脂肪の蓄積である。「内臓脂肪」とは、腹腔内脂肪組織としての脂肪の沈着を意味する。内臓脂肪は、重要な器官の周囲にあり、肝臓により代謝されて、血中コレステロールを生成できる。内臓脂肪は、多嚢胞性卵巣症候群、代謝性症候群および心血管疾患のごとき疾患のリスク増大と関連している。いくつかの実施態様において、方法は、皮下脂肪についてよりも少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%または50%大きい割合にて、内臓または異所性脂肪あるいは双方の代謝を含む。一態様において、この方法の結果、好ましい脂肪分布を生じる。一実施態様において、好ましい脂肪分布は、皮下脂肪対内臓脂肪、異所性脂肪または双方の割合の増加である。一態様において、方法は、例えば、筋肉細胞量における増加の結果としての除脂肪体量における増加を含む。

【0480】

別の実施態様において、対象における皮下脂肪の量を低下させる方法が提供され、当該方法は、対象における皮下脂肪の量を低下させるのに有効な量で抗肥満GIPハイブリッドをそれを必要とする対象に投与することを含む。一例において、皮下脂肪の量は、少なくとも約5%だけ対象において低下させる。他の例において、皮下脂肪の量は、抗肥満ハイブリッドの投与に先立ち、対象に比較して少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、40%または50%だけ低下させる。

【0481】

本明細書に記載された方法を用いて、対象における内臓脂肪の量を低下させることができる。一例において、内臓脂肪は、少なくとも約5%だけ対象において低下させる。他の例において、内臓脂肪は、抗肥満GIPの投与に先立ち、対象に比較して少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、40%または50%だけ対象において低下させる。内臓脂肪は、対象における内臓脂肪の量を決定するに利用可能ないずれかの手段を介して測定できる。かかる方法は、例えば、CTスキャンおよびMRIにより腹腔断層法を含む。内臓脂肪を決定する他の方法は、例えば、米国特許第6,864,415号、第6,850,797号および第6,487,445号に記載されている。

【0482】

一実施態様において、対象における異所性脂肪の蓄積を予防する、または異所性脂肪の量を低下させる方法が提供され、当該方法は、対象における異所性脂肪の蓄積を予防するまたは異所性脂肪の量を低下させるのに有効な量で抗肥満GIPハイブリッドをそれを必要とする対象に投与することを含む。一例において、異所性脂肪の量は、抗肥満ハイブリッドの投与に先立ち、少なくとも約5%だけ対象において低下させる。他の例において、異所性脂肪の量は、少なくとも約10%、または少なくとも15%、20%、25%、30%、40%または50%だけ対象において低下させる。別法として、異所性脂肪の量は

、対象における皮下脂肪に比較して、5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%または100%比例して低下させる。異所性脂肪は、異所性脂肪を測定するために利用可能ないずれかの方法を用いて対象において測定できる。

【0483】

別の実施態様において、方法は、対象におけるより好ましい脂肪分布を生成するために提供され、当該方法は、好ましい脂肪分布を生成するのに有効な量で抗肥満剤として有効であるGIPハイブリッドを対象に投与することを含む。一実施態様において、抗肥満GIPハイブリッドの投与は、対象における内臓脂肪または異所性脂肪、またはその双方の量を低下させる。一実施態様において、食物摂取もしくは体重調節または双方に關与する後脳構造に作用する少なくとも1つのファミリーモジュールと組み合わせた食物摂取もしくは体重調節または双方に關与する前脳構造に作用する少なくとも1つのファミリーモジュールを含む抗肥満ハイブリッドが投与される。一実施態様において、方法は、皮下脂肪における低下にわたり、内臓または異所性脂肪、あるいは双方の組合せの量を優先的に低下させる。かかる方法の結果、皮下脂肪対内臓脂肪または異所性脂肪のより高い割合を生じる。かかる改善された割合の結果、心血管疾患、嚢胞性卵巣症候群、代謝性症候群またはそのいずれかの組合せの発生のリスクを低下させる。一実施態様において、内臓または異所性脂肪は、皮下脂肪より5%多い割合にて代謝される。他の実施態様において、異所性または内臓脂肪は、皮下脂肪より少なくとも10%、15%、20%、25%、30%、50%、60%、70%、80%、90%または100%の割合にて代謝される。

【0484】

抗肥満につき特に注目されるのは、本明細書に言及された体重および脂肪組成関連処置が、エキセンディン、アミリン（例えば、アミリン-sCT-アミリンキメラ）、レプチンおよび／またはPPF（例えば、PYYアナログまたはPPY/NPYキメラ）ファミリーモジュールを含むGIPハイブリッドである。まださらなる実施態様において、GIPハイブリッドは、これらのペプチドファミリーモジュールの少なくとも2つを含む。GIPハイブリッドは、単独または、アミリン、レプチン、PYYまたはエキセンディンファミリーペプチドのごとき第2の抗肥満剤と組み合わせて投与できる。

【0485】

依然として別の態様において、糖質コルチコステロイドと組み合わせて投与された抗肥満剤として有用なGIPハイブリッドの治療上有効量の投与のための方法が提供される。糖質コルチコステロイドは、脂肪量を増加し、除脂肪量を減少する有害作用を有する。結果的に、抗肥満剤の組合せは、糖質コルチコステロイドの有害作用に対抗するために、糖質コルチコステロイド使用が有益である条件下で糖質コルチコステロイドと組み合わせて用いることができると考えられる。

【0486】

本明細書に言及したように、本発明のGIPハイブリッドは、追加の利益を得る、あるいはハイブリッドまたは他の剤のいずれかの効果を増強するために、1またはそれを超える他の剤と別々にまたは一緒に投与できる。例えば、抗肥満GIPハイブリッドは、処置および所望の処置結果を必要とする対象に適切なリスク因子に依存して、抗肥満剤または心保護もしくは抗高血圧剤と共に投与できる。ハイブリッドとの（別々または混合して；先立ち、同時または後の）投与用の例示的な抗肥満剤は、限定されるものではないが、パロキセチン、フルオキセチン、ヘンフルラミン、フルボキサミン、セルトラリンおよびイミプラミンを含めたセロトニン（5HT）輸送インヒビターを含む。また、抗肥満剤は、限定されるものではないが、デクスフェンフルラミン、フルオキセチン、シブトラミン（例えば、MERIDIA[®]）およびここに出典明示してその全てを本明細書の一部とみなす米国特許第6,365,633号およびPCT特許出願公開WO01/27060およびWO01/162341に記載されたものを含めた選択的セロトニン再取込みインヒビターを含む。かかる5HT輸送インヒビターおよびセロトニン再取込みインヒビター、アナログ、誘導体、調製物、処方、医薬組成物、用量、および投与経路は、従前に記載され

ている。

【0487】

また、抗肥満剤は、限定されるものではないが、ここに出典明示してそのすべてを本明細書の一部とみなす米国特許第3,914,250号；およびPCT出願公開WO02/36596、WO02/48124、WO02/10169、WO01/66548、WO02/44152；WO02/51844、WO02/40456およびWO02/40457を含めた選択的セロトニンアゴニストおよび選択的5-HT_{2C}受容体アゴニストを含む。かかる選択的セロトニンアゴニストおよび選択的5-HT_{2C}受容体アゴニスト、かかるアゴニストを含む組成物、およびその方法における使用に適当な投与経路は当該技術分野において知られている。例えば、ハルフォード (Halford) ら (2005) Curr. Drug Targets 6:201-213 およびバイントラウ (Weintraub) ら (1984) Arch. Intern. Med. 144:1143-1148 参照。

10

【0488】

また、抗肥満剤は、限定されるものではないが、リモナバン (Sanofi Synthelabo) およびSR-147778 (Sanofi Synthelabo) を含めた中枢カンナビノイド受容体 (そのCB-1受容体) のアンタゴニスト/インバースアゴニストを含む。CB-1アンタゴニスト/インバースアゴニスト、誘導体、調製物、処方、医薬組成物、用量および投与経路は、例えば、ここに出典明示してその全てを本明細書の一部とみなす米国特許第6,344,474号、第6,028,084号、第5,747,524号、第5,596,106号、第5,532,237号、第4,973,587号、第5,013,837号、第5,081,122号、第5,112,820号、第5,292,736号、第5,624,941；欧州特許出願第EP-656354号および第EP-658546号；ならびにPCT出願公開番号WO96/33159、WO98/33765、WO98/43636、WO98/43635、WO01/09120、WO98/31227、WO98/41519、WO98/37061、WO00/10967、WO00/10968、WO97/29079、WO99/02499、WO01/58869およびWO02/076949に従前に記載されている。

20

【0489】

また、抗肥満剤は、メラノコルチンおよびメラノコルチンアゴニストを含む。受容体MC4Rは、エネルギーバランスおよび肥満における役割を演じるようである。例えば、アンダーソン (Anderson) ら, Expert Opin. Ther. Patents 11:1583-1592 (2001), スピーク (Speake) ら, Expert Opin. Ther. Patents 12:1631-1638 (2002), ベドナレク (Bednarek) ら, Expert Opin. Ther. Patents 14:327-336 (2004) 参照。限定されるものではないが、MC4Rアゴニストを含めたメラノコルチンアゴニストおよび提供された方法における使用に適当なかかるアゴニストを含む組成物は、当該技術分野において知られている。MC4Rアゴニスト、MC4Rアゴニスト、誘導体、調製物、処方、医薬組成物、用量および投与経路は、例えば、ここに出典明示してその全てを本明細書の一部とみなす以下のPCT特許出願：WO03/007949、WO02/068388、WO02/068387、WO02/067869、WO03/040117、WO03/066587、WO03/068738、WO03/094918およびWO03/031410に従前に記載されている。

30

40

【0490】

また、抗肥満剤は、限定されるものではないが、2-メチル-6-(フェニルエチニル)-ピリジン (MPEP) および (3-[(2-メチル-1,3-チアゾール-4-イル)エチニル]ピリジン) (MTEP) のごとき化合物、およびアンダーソン (Anderson) ら J. Eur. J. Pharmacol. 473:35-40 (2003)；Cosfordら Bioorg. Med. Chem. Lett. 13(3):351-4 (2003)；およびアンダーソン (Anderson) ら J. Pharmacol.

50

Exp. Ther. 303:1044-1051 (2002)に記載されたそれらの化合物を含めた代謝型グルタミン酸サブタイプ5受容体(mGluR5)アンタゴニストを含む。

【0491】

また、抗肥満剤は、抗痙攣薬および体重損失を増加させることも示された抗痙攣薬として示されたトピラマート(TOPIMAX^R(Ortho McNeil Pharmaceuticals))を含む。

【0492】

また、抗肥満剤は、神経ペプチドY1(NPY1)アンタゴニストおよびNPY5アンタゴニストを含む。NPY1およびNPY5アンタゴニストは当該技術分野において知られている。例えば、Duhautilら(2000) Can. J. Physiol. Pharm. 78:173-185および米国特許第6,124,331号、第6,214,853号および第6,340,683参照。NPY1およびNPY5アンタゴニスト、誘導体、調製物、処方、医薬組成物、用量および投与経路は従前に記載されている。提供される組成物および方法に有用なNPY1アンタゴニストは、ここに出典明示してその全てを本明細書の一部とみなす米国特許第6,001,836号；およびPCT出願公開番号WO96/14307、WO01/23387、WO99/51600、WO01/85690、WO01/85098、WO01/85173およびWO01/89528を含む。本明細書に提供される組成物および方法に有用なNPY5アンタゴニストは、限定されるものではないが、米国特許第6,140,354号、第6,191,160号、第6,258,837号、第6,313,298号、第6,337,332号、第6,329,395号、第6,340,683号、第6,326,375号および第6,335,345号；欧州特許第EP-01010691号および第EP-01044970号；ならびにPCT特許公開番号WO97/19682、WO97/20820、WO97/20821、WO97/20822、WO97/20823、WO98/27063、WO00/64880、WO00/68197、WO00/69849、WO01/09120、WO01/85714、WO01/85730、WO01/07409、WO01/02379、WO01/23388、WO,01/23389、WO01/44201、WO01/62737、WO01/62738、WO01/09120、WO02/22592、WO0248152、WO02/49648およびWO01/14376に記載される化合物を含む。

【0493】

また、抗肥満剤は、T-226296(Takeda)のごときメラニン凝集ホルモン1受容体(MCH1R)アンタゴニストならびにメラニン凝集ホルモン2受容体(MCH2R)アンタゴニストを含めたメラニン凝集ホルモン(MCH)アンタゴニストを含む。MCH受容体アンタゴニスト、誘導体、調製物、処方、医薬組成物、用量および投与経路は、例えば、ここに出典明示してその全てを本明細書の一部とみなす米国特許出願公開番号2005/0009815、2005/0026915、2004/0152742、2004/0209865；PCT特許出願公開番号WO01/82925、WO01/87834、WO02/06245、WO02/04433およびWO02/51809；ならびに日本特許出願第JP 13226269号に従前に記載されている。

【0494】

また、抗肥満剤は、限定されるものではないが、PCT出願番号WO00/21509に記載されたものを含めて、オピオイドアンタゴニストを含む。本明細書に提供される組成物および方法に有用な特定のオピオイドアンタゴニストは、限定されるものではないが、ナルメフェン(REVEX^R)、3-メトキシナルトレキソン ナロキソン、ナルトレキソン、ナロキソナジン、β-フナルトレキサミン、デルタ1([D-Ala2, Leu5, Cys6]-エнкеファリン(DALCE)、ナルトリンドールイソチアシネートおよびノルービナルトルファミンを含む。

【0495】

また、抗肥満剤は、限定されるものではないが、PCT特許出願番号WO01/96302、WO01/68609、WO02/51232およびWO02/5183に記載されたものを含めたオレキシンアンタゴニストを含む。提供される組成物および使用方法に有用な特定のオレキシンアンタゴニストは、限定されるものではないが、SB-334867-Aを含む。

【0496】

また、抗肥満剤は、限定されるものではないが、別々に言及または投与されるハイブリッド成分で有り得るPYY3-36（例えば、バッテルハム（Batterham）ら（2003）Nature 418:650-654）、NPY3-36およびNアセチル [Leu(28, 31)] NPY 24-36（ホワイトスミス（White-Smith）ら（1999）Neuropeptides 33:526-533, TASP-V（Malisら（1999）Br. J. Pharmacol. 126:989-996）、シクロ-（28/32）-Ac-[Lys28-Glu32]-（25-36）-pNPY（カブレレ（Cabrele）ら（2000）J. Pept. Sci. 6:97-122のごとき他のY2アゴニストのごとき化合物を含めた神経ペプチドY2（NPY2）アゴニストを含む。また、提供された抗肥満剤は、限定されるものではないが、膵臓ペプチド（PP）（例えば、バッテルハム（Batterham）ら（2003）J. Clin. Endocrinol. Metab. 88:3989-3992）および1229U91（ラポシンホ（Raposinho）ら（2000）Neuroendocrinology 71:2-7）のごとき他のY4アゴニストのごとき化合物を含めた神経ペプチドY4（NPY4）を含む。NPY2アゴニストおよびNPY4アゴニスト、誘導体、調製物、処方、医薬組成物、用量および投与経路は、例えば、米国特許公開番号2002/0141985およびPCT出願公開番号WO2005/077094に従前に記載されている。

【0497】

また、抗肥満剤は、限定されるものではないが、PCT出願番号WO02/15905に記載されたもの、O-[3-(1H-イミダゾール-4-イル)プロパノール]バルバメート（Kieck-Kononowiczら（2000）Pharmazie 55:349-355）、ピペリジン含有ヒスタミンH3受容体アンタゴニスト（Lazewskara（2001）Pharmazie 56:927-932）、ベンゾフェノン誘導体および関連化合物（Sasseら（2001）Arch. Pharm. (Weinheim) 334:45-52）、置換N-フェニルカルバメート（Reidemesterら（2000）Pharmazie 55:83-86）およびプロキシファン誘導体（Sasseら（2000）J. Med. Chem. 43:3335-3343）を含めたヒスタミン3（H3）アンタゴニスト/インバースアゴニストを含む。提供される組成物および使用の方法に有用な特定のH3アンタゴニスト/インバースアゴニストは、限定されるものではないが、チオペラミド、3-(1H-イミダゾール-4-イル)プロピル N-(4-ペンテニル)カルバメート、クロベンプロピト、ヨードフェンプロピト、イモプロキシファンおよびGT2394（Gliatech）を含む。

【0498】

また、抗肥満剤は、コレシストキニン（CCK）およびCCKアゴニストを含む。使用のコレシストキニン-A（CCK-A）アゴニストは、限定されるものではないが、米国特許第5,739,106号に記載されたものを含む。特定のCCK-Aアゴニストは、限定されるものではないが、AR-R 15849、GI 181771、JMV-180、A-71378、A-71623およびSR146131を含む。

【0499】

また、抗肥満剤は、PCT出願公開番号WO01/87335およびWO02/08250に記載されたもののごときグレリンアンタゴニストを含む。また、グレリンアンタゴニストは、GHS（成長ホルモン分泌促進物質受容体）アンタゴニストとして知られている。従って、提供される組成物および方法は、グレリンアンタゴニストの代えて使用GH

10

20

30

40

50

S アнтаゴニストを考える。

【0500】

抗肥満剤は、オベスタチンならびにオベスタチン類似体およびアゴニストを含む。オベスタチンは、グレリンが誘導される同一前駆体、プレプログレリンから誘導されるペプチドである。例えば、ザング (Zhang) ら (2005) Science 310: 996-999; ノグエイラス (Nogueiras) ら (2005) Science 310: 985-986; パン (Pan) ら (2006) Peptides 27: 911-916 参照。グレリンの活性とは対照的に、オベスタチンは、食物摂取、胃排出活性、空腸運動性および体重増加を減少することにより、食欲不振ホルモンとして作用するようである。使用のオベスタチンペプチドは、限定されるものではないが、ザング (Zhang) ら (2005) Science 310: 996-999 に記載されたものを含む。

10

【0501】

そして、アミリノミメティックス、例えば、プラムリンチド、アミリン-sCT-アミリン、インクレチン、例えば、エキセンディン-4 および PYY 類似体は、GIP ハイブリッドと抗肥満剤としても投与できる抗肥満剤である。例えば、GIP-レプチンハイブリッドは、エキセンディン-4、PYY 類似体および／またはアミリンアナログと共に投与し得る。

【0502】

このように、特定の実施形態において、本発明のハイブリッドは、栄養利用性を低減することにより軽減され得る病態または障害の処置または予防に有用であり、前記対象に治療的または予防的に有効量の本発明の化合物を投与することを含んでなる。かかる病態および障害としては、摂食障害、インスリン抵抗性、肥満、異常食後高血糖、I 型、II 型、および妊娠糖尿病を含む、任意の種類の糖尿病、代謝症候群、ダンピング症候群、高血圧症、異常脂質血症、心血管疾患、高脂血症、睡眠時無呼吸、癌、肺高血圧症、胆嚢炎、および変形性関節症が挙げられるが、これらには限定はされない。一実施形態においてかかるハイブリッドは、エキセンディン、GLP1、アミリンおよび／または sCT 部分を含む。

20

【0503】

心血管病態または疾患の非限定的な例は、高血圧症、心筋虚血、および心筋再灌流である。本発明の化合物はまた、脳卒中、癌 (例えば、子宮内膜癌、乳癌、前立腺癌、および結腸癌)、胆嚢疾患、睡眠時無呼吸、受胎能低減、および変形性関節症を含む肥満に付随する他の病態の処置または予防にも有用であり得る (リズニキ (Lyznicki) ら、Am. Fam. Phys. 63: 2185 頁、2001 年)。他の実施形態において、本発明の化合物は、審美的理由から体組成を変成するため、人の肉体的能力を亢進するため、または低脂肪肉源を生産するため使用されてもよい。ハイブリッドは、筋量の有意な減少なしに脂肪を減少させることにより体組成を変えるために有用であり、そうして除脂肪体重を維持しながら望ましい体脂肪の消失を生み出す。一実施形態においてかかるハイブリッドは、エキセンディン、GLP1、アミリンおよび／または sCT 部分を含む。

30

【0504】

本発明の別の態様において、肥満を処置または予防する方法が提供され、ここで該方法は、治療的または予防的に有効量のハイブリッドポリペプチドをそれらを必要とする対象に投与することを含んでなる。例示的实施形態において、対象は肥満または過体重対象である。「肥満」は一般的にボディマス指標が 30 超として定義されるが、本開示の目的上、ボディマス指標が 30 未満の者を含め、体重を減少させることを必要とする、もしくは希望する任意の対象が「肥満」の範囲に含まれる。インスリン抵抗性、グルコース不耐性である、または任意の型の真性糖尿病 (例えば、1 型、2 または妊娠糖尿病) を有する対象が本ハイブリッドから利益を得ることができる。一実施形態においてかかる GIP ハイブリッドは、エキセンディン、PYY、GLP1、アミリンおよび／または sCT 部分を含む。

40

50

【0505】

本発明の他の態様において、食物摂取量を低減する、栄養利用性を低減する、体重減少を引き起こす、体組成に影響を及ぼす、および体エネルギー含量を変える、またはエネルギー消費を増加させる、真性糖尿病を処置する、および脂質プロファイルを改善する（LDLコレステロールおよびトリグリセリドレベルを低減することおよび／またはHDLコレステロールレベルを変化させることを含む）方法が提供され、ここで該方法は対象に有効量の本発明のハイブリッドポリペプチドを投与することを含んでなる。例示的实施形態において、本発明の方法は、それを必要とする対象において栄養利用性を低減することにより軽減され得る病態または障害を処置または予防するために使用され、前記対象に治療的または予防的に有効量の本発明のハイブリッドポリペプチドを投与することを含んでなる。かかる病態および障害としては、高血圧症、異常脂質血症、心血管疾患、摂食障害、インスリン抵抗性、肥満、および任意の型の真性糖尿病が挙げられるが、これらには限定はされない。一実施形態においてかかるハイブリッドは、エキセンディン、PYY、GLP1、アミリンおよび／またはsCT部分を含む。

10

【0506】

一実施形態においては、PPFまたはPYYファミリーメンバーはGIPハイブリッド成分を含んでなるとともに、理論により限定されることを意図せず、かかる末梢投与されたGIPハイブリッドポリペプチドの食物摂取量の低減、胃排出の遅延、栄養利用性の低減、および体重減少の誘因における効果は、PPファミリー内のものにおける、またはそれと同様の、1つまたは複数の固有の受容体クラスとの相互作用により測定されると考えられる。より詳細には、PYY選好（またはY7）受容体と同様の受容体が関与していると見られる。

20

【0507】

本発明に有用な追加的なアッセイとしては、GIPハイブリッド化合物、特に、エキセンディン、PPF、PYY、GLP1、アミリンおよび／またはsCT部分を含むものの、体組成に対する効果を測定できるものが挙げられる。例示的アッセイは代謝性疾患についての食餌誘発性肥満（DIO）マウスモデルの利用に関するものであり得る。処置期間に先立ち、C57BL/6J雄性マウスに高脂肪食（#D12331、脂肪からのカロリー58%；リサーチ・ダイエツツ社（Research Diets, Inc.）を6週間、4週齢で開始して摂食させ得る。試験中、マウスはその高脂肪食を食べ続けることができる。試験全体を通じ、水が適宜提供され得る。同年齢の非肥満マウスの一群に、代謝パラメータをDIO群と比較する目的で、低脂肪食（#D12329、脂肪からのカロリー11%）を摂食させ得る。

30

【0508】

DIOマウスは皮下（SC）肩甲骨内浸透圧ポンプを埋め込まれ、媒体（水中50%ジメチルスルホキシド（DMSO））または本発明の化合物のいずれかを送達し得る。この群のポンプは任意の量、例えば、本発明の化合物の1000 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ を7~28日間送達するよう設定され得る。体重および食物摂取量が、一定の間隔にわたり試験の全期間を通じ計測され得る。呼吸商（RQ、 CO_2 産生 $\div$ O_2 消費として定義される）および代謝率が動物全体の間接熱量測定法（オキシマックス（Oxymax）、コロンバス・インストルメンツ（Columbus Instruments）、コロンバス、オハイオ州）を使用して測定され得る。マウスはイソフルラン過量投与により安楽死させ得るとともに、脂肪症の指標（両側性副睾丸脂肪パッド重量）が計測され得る。その上、精巣上体重量の測定に先立ち、各マウスについて体組成（除脂肪量、脂肪量）が、二重エネルギーX線吸収測定法（DEXA）機器を使用して製造者の指示により（ルナ・ピクシマス（Lunar Piximus）、GEイメージング・システム（GE Imaging System））分析され得る。本発明の方法においては、GIPハイブリッド、特に、本明細書に記載されるアッセイの1つ（好ましくは、食物摂取量、胃排出、膵分泌、体重減少または体組成アッセイ）において同一のアッセイにおける成分ペプチドホルモンの効力より高い効力を有するエキセンディン、PPF、PYY、GLP1、アミリンおよび／ま

40

50

たは s C T 部分を含んでなるものが同定され得る。

【0509】

それを必要とする対象における、食物摂取量、体重減少の低減、または肥満の処置の結果としての高血圧症の寛解に加え、本発明の化合物は低血圧を処置するために使用され得る。

【0510】

別の一般的態様において、本発明のハイブリッドはグレリンの分泌を阻害するために使用されてもよい。従って、本発明の化合物が、プラダーウィリ症候群、全ての型の糖尿病およびその合併症、肥満、過食症、高脂血症、または栄養過剰に付随する他の障害などの、グレリン関連障害を処置または予防するためにこの機序を利用してよい。一実施形態においてかかるハイブリッドは、エキセンディン、GLP1、アミリンおよび／または s C T 部分を含む。

【0511】

本発明の化合物はまた、膵臓島または細胞におけるグルコース応答性の増強、誘発、亢進または回復にも有用であり得る。これらの作用は、上記および米国特許出願公開第 2004/0228846 号明細書に記載されるものなどの代謝障害に付随する病態の処置または予防に有用であり得る。かかる活性の測定用アッセイは当該技術分野において周知である。例えば、米国特許出願公開第 2004/0228846 号明細書（全体として参照により援用される）において、膵島単離および培養ならびに胎児膵島成熟の測定のためのアッセイが記載される。米国特許出願公開第 2004/0228846 号明細書の例においては、膵ポリペプチド（PP）、神経ペプチド Y（NPY）、神経ペプチド K（NPK）、PYY、セクレチン、グルカゴン様ペプチド-1（GLP-1）およびボンベシンを含む腸由来ホルモンペプチドがシグマ（Sigma）から購入された。コラゲナーゼ XI 型はシグマ（Sigma）から入手された。RPMI 1640 培地およびウシ胎仔血清はギブコ（Gibco）から入手された。抗インスリン抗体（ $[^{125}\text{I}]$ -RIA キット）を含むラジオイムノアッセイキットはセントルイスのリンコ（Linc）から購入された。

【0512】

分娩後ラット膵島が P-0 2 年齢ラットから採取された。成体ラット膵島が 6-8 週齢ラットから採取された。胎仔ラット膵島が次のとおり採取された。妊娠雌性ラットが妊娠 E 21 日で屠殺された。胎仔が子宮から取り除かれた。10-14 個の膵臓が各同腹仔から切開され、かつハンクス緩衝液中で 2 回洗浄された。膵臓は貯蔵され、6 ml の 1 mg/ml コラゲナーゼ（XI 型、シグマ（Sigma））中に懸濁され、かつ 37℃ で 8-10 分間、一定の振盪を伴いインキュベートされた。消化が氷冷ハンクス緩衝液の 10 容量を添加することにより停止された後、ハンクス緩衝液での 3 回の洗浄が続いた。次に膵島はフィコール勾配により精製され、かつ 10% ウシ胎仔血清（FBS）/RPMI 培地中で、1 μM の IBMX の添加を伴い、または伴わず、培養された。5 日間の終わりに、20 個の膵島が各管に厳選され、かつ静的インスリン放出についてアッセイされた。概して、膵島は最初に KRP 緩衝液で洗浄され、次に 1 ml の 3 mM（低）グルコース含有 KRP 緩衝液で 30 分間、37℃ で、一定の振盪を伴いインキュベートされた。上清を収集後、次に膵島は 17 mM（高）グルコースで 1 時間、37℃ でインキュベートされた。低または高グルコース刺激から放出されたインスリンが $[^{125}\text{I}]$ -RIA キットを使用してラジオイムノアッセイ（RIA）によりアッセイされた。E 21 胎仔膵島が 5 日間、200 ng/ml の PYY、PP、CCK、NPK、NPY、セクレチン、GLP-1 またはボンベシンの存在下で培養された。

【0513】

例示的生体内アッセイもまた、齧歯類標準餌ピューリナ（Purina）5008 を摂食させる全ての fa/fa 雄において自発的に糖尿病を発現する近交系（> F30 世代）ラットモデルである、ズッカー糖尿病肥満（ZDF）雄性ラットを使用して提供される。ZDF fa/fa 雄において、高血糖は約 7 週齢で発症し始めるとともにグルコースレベ

10

20

30

40

50

ル（摂食）は典型的に、10～11週齢までに500mg/DLに達する。インスリンレベル（摂食）は糖尿病進行中は高い。しかしながら、19週齢までにインスリンは非肥満対照同腹仔のおおよそそのレベルまで下落する。肥満ラットのトリグリセリドおよびコレステロールレベルは通常、非肥満ラットのそれより高い。アッセイにおいて、各群6匹のラットを伴う、7週齢ZDFラットの3群が14日間ALZAポンプによる注入処置を受けた：1）媒体対照、2）および3）2種の異なる用量を伴うPYY、それぞれ、100pmol/kg/時間および500pmol/kg/時間。7日目および14日目の注入前および注入後に4種の計測値がとられた：1）血漿グルコースレベル、2）血漿インスリンレベル、および3）血漿トリグリセリド（TG）レベル、ならびに経口グルコース耐性（OGTT）テスト。従って、これらのアッセイが、所望の活性についてテストするため、本発明の化合物を伴い使用され得る。

10

【0514】

ハイブリッドはまた、パーキンソン病、アルツハイマー病、ハンチントン病、ALS、脳卒中、ADD、および神経精神症候群を含むが、これらには限定はされない、ニューロン欠損または機能障害に付随する神経学的および神経系障害の治療的および予防的処置に、および哺乳動物における学習、記憶および認知を亢進または促進するためにも有用である。この点において特に有用であるのは、エキセンディンまたはGLP1活性部分を含む、より具体的には少なくともN末端7-15アミノ酸またはその類似体、例えばHSEGTFTSD（配列番号94）を含んでなる、GIPハイブリッドである。

【0515】

20

ハイブリッドポリペプチドについて企図される他の使用としては、アルツハイマー病の発病を処置、予防、または遅延するため中枢神経系中のアルミニウム（Al）濃度を低減する方法が挙げられる（全体として参照により援用される、米国特許第6,734,166号明細書を参照）。Alに対する効果の測定用アッセイは当該技術分野において周知であるとともに二倍体およびTsマウスを使用する米国特許第6,734,166号明細書に見出され得る。これらのマウスは個々にNalgene（登録商標）の商標メタボリックケージまたはポリプロピレンケージ中で飼育され、かつ実験前にケージに適応するよう3日が与えられた。マウスは、一切の食物が提供されない安楽死前16時間を除き、実験中は食物（LabDiet（登録商標）NIHラット・アンド・マウス／オート（Rat and Moust/Auto）6F5K52、セントルイス、ミズーリ州）および水を自由に入手できた。マウスは毎日、活性化合物または生理食塩水のいずれかの皮下注射を与えられた。マウスは13日目の終わりに一実験のため、および3日目に別の実験のため屠殺され、かつ試料が採取された。マウス脳試料は清浄なテフロンライナー中で計量され、かつ低微量元素級硝酸中のマイクロ波分解による分析用に調製された。次に試料はAl含有量について誘導結合プラズマ質量分析法を使用して分析された（ヌタール（Nuttall）ら、Annals of Clinical and Laboratory Science 25、3、264-271頁（1995年））。分析中の全ての組織の取り扱い、バックグラウンド汚染を最小化するためHEPA空気ろ過装置を利用して清浄な室内環境で行なわれた。

30

【0516】

40

本発明のハイブリッドは、高血圧性および糖尿病性腎症を含む腎症、ならびにインスリン抵抗性および代謝症候群に付随する腎症の予防および処置に有用である。ハイブリッドはこれらの目的を、他の中でもとりわけ、高血圧症、内皮機能、腎機能、および糸球体硬化症の悪化を改善または予防することにより達成する。一実施形態において、本発明は、高血圧性および糖尿病性腎症を含む腎症、またはインスリン抵抗性に関する腎症を予防または処置する方法を提供し、本発明の化合物を投与することを含んでなる。ハイブリッドは、低減した血管拡張能を有する、または糸球体硬化症または糸球体の流動性における任意の他の低減を有する患者における内皮機能の改善にさらなる使用が見出される。内皮機能におけるかかる改善は、高血圧症を低減すること、および糸球体の毛細管の機能を改善することの双方に役立つ。追加的な実施形態において、本発明の分子は、腎症からESR

50

Dへの進行を予防するため、タンパク尿症および／または糸球体硬化症を予防する、その進行を緩徐化する、それを処置する、または寛解するため、有用である。

【0517】

ハイブリッドは不整脈に罹患するリスクを低減する、不整脈を予防する、または処置するために有用である。ハイブリッドは、心虚血、心虚血－再灌流、およびうっ血性心不全の患者において抗不整脈効果を提供できる。例えば、インクレチンGLP-Iは、これらの障害を伴う患者における心傷害を低減するとともに回復を亢進することが所見されている。GLP-Iを含め、インクレチンはグルコース依存性インスリン分泌刺激ホルモンである。GLP-Iおよびエキセンディンは、危険な低血糖症を誘発することなしに効果的に末梢グルコース取り込みを亢進する。それらはまた、そのインスリン分泌刺激作用に依存せず、グルカゴン分泌も強く抑制するとともに、それにより血漿遊離脂肪酸（FFA）レベルをインスリンで達成され得るものを実質的に上回って強力に低減する。高レベルのFFAは心筋虚血の間の主要な毒性機序に関与するとされている。別の実施形態においてハイブリッドは不整脈の予防および処置に有用であり、確実に再灌流および虚血に付随する傷害を低減するとともに、患者の回復を亢進する。いまださらなる実施形態において急性脳卒中または出血後のハイブリッド処置、好ましくは静脈内投与は、重症低血糖症または他の有害副作用のリスクを伴わず、インスリン分泌の最適化、脳の同化作用の増加、グルカゴンの抑制によるインスリン有効性の亢進、および正常血糖または軽度低血糖の維持のための手段を提供する。一実施形態においてかかるGIPハイブリッドは、GLP1またはエキセンディン部分を含む。

10

20

【0518】

いまださらなる実施形態において、インスリン抵抗性の降下能またはインスリン感受性の増加能を有するハイブリッドは多嚢胞性卵巣症候群（PCOS）を処置するために有用である。本発明のハイブリッドの投与は、PCOS罹患対象におけるインスリン抵抗性を処置または予防できる。さらに別の実施形態においてハイブリッドはPCOS罹患対象における2型糖尿病の発病を予防する。さらにハイブリッドは、PCOS罹患対象における規則的な月経、排卵、または受胎能を回復できる。一実施形態においてかかるGIPハイブリッドは、GLP1受容体を結合および活性化するためのGLP1またはエキセンディン部分を含む。

【0519】

ホルモン成分モジュールの選択により本発明の化合物は、ある部分はその抗分泌性および抗運動性特性に関する、広い範囲の生物学的活性を呈することができる。化合物は、上皮細胞との直接的相互作用により、または、おそらくは、腸分泌を刺激するホルモンまたは神経伝達物質の分泌を阻害することにより、胃腸分泌を抑制し得る。抗分泌特性としては胃および／または膵分泌の阻害が挙げられるとともに、胃炎、膵炎、バレット食道、および胃食道逆流症を含む疾患および障害、ならびに胸やけ、胃／腸内容物の口または肺への逆流に伴う胸やけ、嚥下困難、咳嗽、間欠性喘鳴および声帯炎症（GERDに付随する病態）、食道糜爛、食道潰瘍、食道狭窄、バレット異形成（正常食道上皮の異常上皮との置換）、バレット食道腺癌、および肺吸引を含むそれらに付随する病態の処置または予防に有用であり得る。別の実施形態においてアミリンおよび／またはsCT部分を含むGIPハイブリッドは、バレット食道、胃食道逆流症（GERD）および本明細書に開示されたとおりのそれらに付随する病態などの、これらの疾患および病態の処置または予防に有用であり得る。かかるハイブリッドは、胃酸の阻害、胆汁酸の阻害、および膵酵素の阻害などの、特に有効な抗分泌特性を有する。その上、かかるハイブリッドは胃保護効果を有することができ、これにより特に、腸疾患ならびにバレット食道、および／またはGERDの、および本明細書に記載されたとおりの病態に関連または付随する病態の処置または予防において有用となる。

30

40

【0520】

本発明の化合物は、過剰な腸の電解質および水分分泌ならびに吸収低下に付随するあらゆる胃腸障害（例えば、Harrison's Principles of Inte

50

rnal Medicine、McGraw-Hill Inc、ニューヨーク、第12版を参照)、例えば、感染性下痢、炎症性下痢、短腸症候群、または外科手技、例えば、回腸造瘻術後に典型的に起こる下痢の処置において有用である。感染性下痢の例としては、限定なしに、急性ウイルス性下痢、急性細菌性下痢(例えば、サルモネラ、カンピロバクター、およびクロストリジウムまたは原虫感染に起因するもの)、または旅行者下痢症(例えば、ノーウォークウイルスまたはロタウイルス)が挙げられる。炎症性下痢の例としては、限定なしに、吸収不良症候群、熱帯性スプルー、慢性膵炎、クローン病、下痢、および過敏性腸症候群が挙げられる。本発明のペプチドが、例えば、手術後またはコレラによる、胃腸障害に関わる、救急の、または生命を脅かす状態を処置するために使用され得ることもまた発見されている。

10

【0521】

本発明の化合物はまた、腸損傷に付随する症状(例えば、下痢)を単に処置するのとは対照的な、胃腸を含む腸の損傷の処置または予防にも有用であり得る。腸に対するかかる損傷は、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、腸萎縮症、腸粘膜喪失、および/または腸粘膜機能の喪失であり得るか、もしくはその結果であり得る(全体として参照により本明細書に援用される、国際公開第03/105763号パンフレットを参照)。かかる活性用アッセイは、国際公開第03/105763号パンフレットに記載されるとおり、250~300グラムの範囲をとり、12:12の明暗サイクルで飼育されるとともに、齧歯類標準食(テクラド(Teklad)LM485、マディソン、ウィスコンシン州)および水分を適宜入手できる、11週齢雄性HSDラットを含む。動物は実験前24時間は絶食させた。慢性結腸炎症の単純かつ再現可能なラットモデルは、モリス・GP(Morris GP)ら、「Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon」、Gastroenterology. 1989; 96:795-803頁、によって以前に記載されている。これは相対的に長い炎症および潰瘍の持続時間を示すことから、特異的に制御された様式で結腸炎症性疾患の病態生理学を試験するとともに、潜在的にヒトにおける炎症性腸疾患に適用可能な新しい処置を評価する機会を与える。

20

【0522】

ラットは3%のイソフルオランで麻酔をかけられ、かつ37℃に設定された調節加温パッド上に置かれた。経管栄養針が7cm結腸内に直腸挿入された。50%エタノール(v/v)中に溶解されるハプテントリニトロベンゼンスルホン酸(TNBS)が、結腸の管腔内に経管栄養針を通じて用量30mg/kgで総量0.4~0.6mLを、マツェリン(Mazelin)ら、「Protective role of vagal afferents in experimentally-induced colitis in rats」Juton Nerv Syst. 73:38-45頁(1998年)に記載されるとおり、送達された。対照群は生理食塩水(NaCl 0.9%)を結腸内に投与された。結腸炎の誘発後4日目、結腸が麻酔下ラットから切除され、次にラットを断頭術により安楽死させた。切除された結腸および脾臓の重量が計測され、かつ該結腸は全体の形態損傷をスコア化するため撮影された。炎症が充血した領域および腸壁肥厚として確定された。

30

40

【0523】

別の態様において、GIPハイブリッドは、膵炎、膵癌、および胃炎の処置または予防、特に視鏡的逆行性胆道膵管造影(ERCP)を受けた患者における膵炎の処置および予防において、有用であり得る。GIPハイブリッドアゴニストを含むアミリンおよび/またはsCTは、ソマトスタチンと併用される時、驚くほどの治療効果を有し得る。従って、特定の実施形態において、膵炎を処置または予防する方法は、対象に、かかるハイブリッドを投与するステップおよびソマトスタチンならびにソマトスタチンアゴニストを投与することを含んでなる。本発明のハイブリッドポリペプチドはまた、パレット食道腺癌または膵腫瘍を処置または予防する(例えば、膵腫瘍の増殖を阻害する)ためにも使用され得る。本発明の方法は腫瘍細胞の増殖を低減するステップを含む。本発明に従い処置され

50

得る良性膵腫瘍細胞としては、漿液性嚢胞腺腫、小嚢胞腫瘍、および固形嚢胞性腫瘍が挙げられる。本方法はまた、膵管、腺房、または膵島から生じる癌腫などの悪性膵腫瘍細胞の増殖を低減するにも有効である。この点で特に有用なG I Pハイブリッドは、P Y YまたはP P Fファミリーのホルモンモジュール成分を含んでなるものである。米国特許第5, 574, 010号明細書（全体として参照により援用される）は抗増殖特性のテスト用例示的アッセイを提供する。例えば、' 010特許は、P A N C-1およびM i a P a C a-2が、米国菌株保存機関（A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n）、A T C C（ロックビル、メリーランド州）などの供給者から市販される2個のヒト膵腺癌細胞系であることを提供する。2個の腫瘍細胞は、10%のウシ胎仔血清、29.2 mg/Lのグルタミン、25 μgのゲンタマイシン、5 mlのペニシリン、10

ストレプトマイシン、およびファンギゾン溶液（J R H バイオサイエンス（B i o s c i e n c e s）、レネクサ、カンザス州）を補充されたR P M I-1640培地中セ氏37度で、N A P C O ウォータジャケット仕様の5% C O₂ インキュベーター内で成長させた。全ての細胞系が0.25%のトリプシン（クロネティクス（C l o n e t i c s）、サンディエゴ、カリフォルニア州）で1週間に1~2回、腫瘍細胞のコンフルエント単層が得られた時に解離された。細胞は、7分間500 gにおいて冷却遠心機中セ氏4度でペレット状にされ、かつトリプシン無添加R P M I 1640培地中で再懸濁された。生存細胞がトリパンブルーを伴う血球計スライド上で計数された。

【0524】

10,000、20,000、40,000および80,000個の各種細胞が各ウェルにつき培地総量200 μlで96ウェルマイクロ培養プレート（コスター（C o s t a r）、ケンブリッジ、マサチューセッツ州）に添加された。細胞はP Y Yまたはテストペプチドの添加前24時間に接着できるようにされた。新鮮培地がペプチドの添加前に交換された。膵腫瘍細胞のP Y Yまたはテスト化合物を伴うインビトロインキュベーションが6時間および36時間の長さで続行された。P Y Yが各ウェル（N=14）につき用量250 pmol、25 pmol、および2.5 pmolで細胞に添加された。テスト化合物が各ウェルにつき用量400 pmol、40 pmol、および4 pmolで細胞培養物に添加された。対照ウェルは2 μlの0.9%生理食塩水を与えられ、用量および接着された腫瘍細胞上の物理的妨害を模倣した。各96ウェルプレートは18対照ウェルを含有し、実験中各プレート内での比較を可能にした。96ウェルプレートは、異なる濃度のP Y Yおよびテスト化合物を伴いP A N C-1およびM i a P a C a-2細胞の双方において6回繰り返された。20

【0525】

インキュベーション期間の終わりに、臭化3-(4,5-ジメチルチアゾリル-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウム、M T r 臭化テトラゾリウム（シグマ（S i g m a）、セントルイス、ミズーリ州）が新鮮培地に0.5 mg/mlで添加された。培地は交換され、および腫瘍細胞が4時間M T T 臭化テトラゾリウムを伴い37℃でインキュベートされた。インキュベーションの終わりに、培地は吸引された。ホルマゾン結晶沈殿物が200 μlのジメチルスルホキシド（シグマ（S i g m a）、セントルイス、ミズーリ州）中に溶解された。可溶化ホルマゾンの定量化がE L I S A リーダー（モレキュラー・デバイス（M o l e c u l a r D e v i c e s）、メンロパーク、カリフォルニア州）上の500 nm波長での吸収示数を得ることにより実施された。M T T アッセイはミトコンドリアN A D H 依存性脱水素酵素活性を計測するとともに、インビトロでの腫瘍細胞の化学療法反応性の定量化において最高の感度および信頼性を有する方法とされている。40

（アレイ、M. C.（A l l e y, M. C.）ら、C a n c e r R e s.、48:589-601頁、1988年；カーマイケル、J.（C a r m i c h a e l, J.）ら、C a n c e r R e s.、47:936-942頁、1987年；マクヘール、A. P.（M c H a l e, A. P.）ら、C a n c e r L e t t.、41:315-321頁、1988年；およびサクストン、R. E.（S a x t o n, R. E.）ら、J. C l i n. L a s e r M e d. a n d S u r g.、10（5）:331-336頁、1992年）50

。550nmでの吸収示数の分析が、同一テスト条件のウェルを群化するとともに一元配置分散分析によって対照と様々なペプチド濃度処置との間に生じる差を検証することにより解析された。

【0526】

例示的生体内アッセイもまた提供される。ヒト膵管腺癌MiaPaCa-2が、ペプチドYYおよびテスト化合物による生体内成長阻害について調べられた。70,000~100,000個のヒトMiaPaCa-2細胞が48匹の雄性胸腺欠損マウスに同所移植された。1週間後、動物は、200pmol/kg/時間で微小浸透圧ポンプを通じ4週間、YYまたはテスト化合物のいずれかで処置された。対培養物は生理食塩水を与えられた。屠殺に際し、腫瘍サイズおよび質量の双方が計測された。対照マウスは、組織学分野により立証されるとおり、有意なヒト癌成長を膵内に有した。9週間目、対照マウスの90%が実質的な転移性疾患を有した。腫瘍はテスト処置マウスにおいて60.5%、およびYY処置マウスにおいて27%減少した。

【0527】

別の一般的な態様において、ハイブリッドは、骨吸収の減少、血漿カルシウムの減少、および/または鎮痛効果の誘発に、特に骨減少症および骨粗鬆症などの骨障害を処置するために、有用である。さらに別の実施形態において、ハイブリッドは疼痛および有痛性ニューロパシーを処置するために有用である。一実施形態においてかかるハイブリッドは、エキセンディン、GLP1、アミリンおよび/またはsCT部分を含む。例えば、本発明のGIP-sCTまたはGIP-アミリン/sCTハイブリッド化合物は、骨喪失および骨吸収の減少、もしくは軟骨代謝回転の低減（軟骨保護）などの、サケカルシトニンまたはアミリン/sCT/アミリンキメラの選択可能な特性、および血漿グルコースの降下（本明細書に記載されるとおりの抗異化態様に随伴する）および/または骨吸収の阻害または骨密度の維持または増加などの、GIPの特性を有し得る。選択可能な特性を備えるGIPハイブリッドは骨粗鬆症または軟骨代謝高回転の病態の処置を、特に、糖尿病または救命救急管理中の対象などの、血糖コントロールからも利益を得られる人々において、亢進できる。

【0528】

GIP化合物、特にGIP類似体、場合により異種C末端テールなどのペプチドエンハンサーをさらに含んでなる長期間半減期GIPハイブリッド（例えばDPP-IV切断抵抗性（D-Ala2、N-アセチルまたはN-ピログルタミル類似体などの）、および有益な心血管作用を提供することで知られる他のホルモンモジュールを含んでなるGIPハイブリッドが、心血管疾患および関連病態を処置するために有用である。本明細書において実証されるとおりGIP化合物は心収縮力（dp/dt）を増加させ、血圧を低下させ（例えば急性血管拡張により）、収縮期圧を低下させ、拡張期圧を低下させるとともに、心細胞に対する有益な直接作用を提供できる。GIP化合物はまた、代謝作用、例えばグルコース降下、インスリン分泌、β細胞増殖を介して、心機能も改善する。同様に心血管系に対し提供される直接作用により、GIP化合物は驚くべきことに治療上さらにより有益である。

【0529】

従って、本明細書に提供されるのは、治療的に有効量のGIP化合物を、かかる処置を必要とする患者に、単独または心血管への利益を提供する別の薬剤を伴ってのいずれかで投与することにより、心血管疾患および病態を処置、予防または軽減する方法である。本明細書全体を通じ考察される他の病態と同様、GIP化合物は、別の薬剤と同時に、連続的にまたは交互に投与され得る。

【0530】

従って、一実施形態において心血管疾患または病態は、高血圧症（第1期、第2期および第3期高血圧症、拡張期または収縮期を含む）、肺高血圧症、うっ血性心不全、心不全、一回拍出量低減、心筋症（拡張型、肥大型または拘束型）、心収縮力低下、心血管病態に付随する肺うっ血、肺および全身性水腫、心拍出量低下、異常左室機能、拡張期血圧異

10

20

30

40

50

常、心収縮力低減に付随する腎不全、心血管リスク増加（例えば正常拡張期圧に伴う収縮期圧上昇に付随する、正常収縮期圧に伴う拡張期圧上昇に付随する、拡張期および収縮期圧上昇に付随する、平均動脈圧上昇に付随する）および非虚血性または虚血性心組織変性（心筋梗塞由来など）である。一実施形態においてこれらの疾患および病態に付随する死亡率または罹患率のいずれかまたは双方が低減される。

【0531】

処置を必要とする患者としては、糖尿病である（例えば糖尿病性心筋症に罹患している）、肥満、集中治療を受けている、手術を受けている、またはそれらの組み合わせにある者、もしくはその他の正常な者が挙げられる。患者はかかる疾患または病態を有するリスクを有しているか、もしくはその恐れがある。例えば、さらなる心不全を予防する必要がある心筋梗塞後患者が本明細書の方法から利益を得られる。

10

【0532】

疾患または病態、例えば、心血管疾患または病態の予防は、疾患または病態の開始を予防するステップ、その開始を遅延するステップ、その進行または進展を予防するステップ、その進行または進展を緩徐するステップ、その進行または進展を遅延するステップ、およびその進行を進行期からより進行していない段階に逆進させるステップを含む。

【0533】

一実施形態において本方法はかかる疾患または病態の発病を処置または遅延するステップを提供する。例えば、収縮性傷害は一回拍出量を低下させ得ることで、次にはうっ血性心不全を誘起し得る。それゆえ一実施形態において心不全を処置するステップは、心収縮力低下、異常拡張期コンプライアンス、一回拍出量低減、高血圧、肺うっ血、および心拍出量低下を、限定なしに含む、心不全が根底にある病態の任意の1つまたは複数処置するステップを参照する。

20

【0534】

一実施形態において、変力反応を誘発する、血圧を低減する、拡張期圧を低減する、拡張期圧を低減する、血管拡張を増加させるための方法、または上記の任意の組み合わせが、グルコース降下、インスリン分泌、またはβ細胞増殖などの、GIPに随伴する有益な代謝作用を伴い、または伴わず提供され、かかる所望の有益な作用を提供するための治療的に有効量のGIP化合物の投与することを含んでなる。これらの方法は、かかる利益を必要とする患者において、心収縮力増加、血圧低下、拡張期圧低下、拡張期圧低下、血管拡張増加、または上記の組み合わせにより軽減され得る病態または障害の処置に有用である。

30

【0535】

変力化合物は変力効果を誘発する化合物であり（例えば、心臓の収縮力を増加させる）、例えば、うっ血性心不全の処置に有用であるとして認知されている。うっ血性心不全は、先進工業国における最も一般的な死因および身体障害の1つであり、約50%の5年死亡率を有する（「Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics」、第9版 McGraw Hill、ニューヨーク、809-838頁）。米国心臓協会（AHA: American Heart Association）により確立されたとおりの基準、テストおよび指針が、本明細書中で考察される心血管疾患および病態の診断に好適である。

40

【0536】

GIP化合物は、実質的な血圧の同時上昇を伴わない、所望の陽性変力効果を示す。心不全または心血管疾患もしくは病態を患う対象におけるかかる血圧変化は心機能のさらなる悪化を引き起こし得る。実際に本明細書において実証されたとおり、GIP化合物は血圧または血圧変化率を低下させるよう機能し得る。

【0537】

利用可能な変力薬に伴う問題は、変力性で、作用の急速な発現を伴い、作用の長期持続時間で（速成耐性の不在下での、持続的效果を含む）、毒性（治療量に対する毒の高割合）が低く、悪心効果が不在または低く、および簡便な（非静脈内）投与経路である治療の

50

必要性、および望ましさを説明する。G I P化合物はこれらの利益を提供できる。

【0538】

本発明のG I P化合物、特にエキセンディンテール（例えば化合物G）などのペプチドエンハンサーを備えるD P P-I V耐性G I P類似体を含んでなるG I Pハイブリッドのさらに有益な作用は、食欲減退効果の欠落または低減および悪心効果の不在または比較的僅かな悪心効果から生じ、これは全体を通じて考察される患者集団に重要であり得る。

【0539】

同様に提供されるのは、集中治療室（I C U）への入院が確実であるほど重症であるとともに抗または非異化治療からの利益が所見される者として例示される、危篤状態の患者を処置する方法であり、かかる処置を必要とする患者に治療的に有効量のG I P類似体またはハイブリッドを、単独で、または別の有益な薬剤とともに投与することを含んでなる。理論に限定されることなく、本方法は、これらの患者に利益をもたらすことが意図され、ここでG I Pアゴニスト類似体およびハイブリッドの効果は、インスリン／グルコース注入に付随する危険および複雑性なしに、および報告によれば一部のグルカゴン様ペプチド-1アゴニストの仕様に付随する副作用なしに、インスリン分泌を刺激するとともに集中的なインスリン治療（G I K治療；グルコース-インスリン-カリウム）に付随する利益をもたらす。さらに、G I Pは、食物の消化に応答したグルコースレベルの単純な間接的調節に加え、患者の代謝状態に好都合に影響を与え得ることが今日観察されている。従ってG I P化合物は危篤状態の患者において生じる死亡率および罹患率を低減するために有用である。

【0540】

本明細書において実証されたとおりG I P化合物はグルコース降下、インスリン分泌および／またはβ細胞増殖などの有益な代謝効果を提供する。G I P化合物はまた、心収縮力（d P/d t）を増加させること、血圧を低減させること（例えば急性血管拡張により）、および収縮期圧を低下させること、拡張期圧を低下させること、および心細胞に対し有益な直接作用を提供することにより、心機能も改善する。多くの危篤状態の患者は心血管疾患または病態を有するか、もしくはそのリスクがあるか、もしくはそれにより複雑化することから、これらの心血管作用は追加的な利益を提供できる。同様に心血管系に対し直接作用を提供することにより、G I P化合物には、驚くことに、付加的な治療価値を有する。

【0541】

従って、本明細書に提供されるのは、治療的に有効量のG I P化合物を、単独または所望の利益を提供する別の薬剤を伴ってのいずれかで、かかる処置を必要とする危篤状態の患者に投与することにより、救命救急の病態および疾患を処置、予防または軽減する方法である。本明細書全体を通じて考察される他の病態と同様、G I P化合物は、別の薬剤と同時に、連続的にまたは交互に投与され得る。

【0542】

「集中治療室」とは危篤状態の患者が処置される病院の一部であり得るとともに、当然ながら公式に「集中治療室」という名前を有しなくともよい。I C Uもまた、療養所、診療所、例えば、私立診療所、または同様のものを、同一または同様の活動がそこで実施されているのであれば、含む。

【0543】

用語「危篤状態の患者」とは、疾患または傷害により単一または複数の生命を脅かす急性臓器系不全を持続している、もしくはそれを持続する危険性のある患者、手術されているとともに合併症を併発している場合の患者、および重要臓器を先週中に手術されたか、もしくは先週中に大手術を受けた患者であり得る。危篤状態の患者とは、重要臓器の補助が必要で（人工呼吸または透析等を伴い機械的に、または変力物質または昇圧剤などを伴い薬理学的のいずれかで）、それなしには生存できないであろう患者であり得る。語句「救命救急」、「集中治療」および「危篤状態」は互換的に使用される。危篤状態の患者とは一般的に不安定な代謝状態にある者である。この不安定な代謝状態、例えば異化状態は

、基質代謝における変化の結果であり得、一部の栄養の相対的欠乏症および／または脂肪および筋肉の双方の酸化増加（例えば消耗）、望ましくないタンパク分解加速、高血糖ならびに高濃度の血清トリグリセリドおよび他の脂質を導き得る。危篤状態の患者の非限定的な例は、心臓手術、脳手術、胸部手術、腹部手術、血管手術、または移植術を必要とする患者、もしくは脳外傷、呼吸不全、重症疾患多発ニューロパシー、多発外傷または重度火傷を負う患者、または人工呼吸されている患者である。

【0544】

従って、一実施形態において救命救急疾患または病態は、医学的、外科的（例えば外傷）または冠動脈の医療として分類されるときともに、さらに敗血症および呼吸器の医療として分類され得る。特に興味深いのは、敗血症性ショックまたは心筋梗塞などの、GIK治療が正当であろうものの分類である。

10

【0545】

異化変化（例えば、体重の減少）は危篤状態の患者にとって有害危険因子である。ICUへのほとんどの入院が何らかの形態でカロリーを送達する静脈ラインを受けるにもかかわらず、ICUにおける栄養補給についてのカナダの試験は、典型的には、1日の所要量の58%のみが供給され、かつ26%のみが非経口栄養を受け取ったことを報告した。それゆえ体重減少などの異化効果の予防または軽減を必要とする危篤状態の患者が本明細書に提供されるとおりの治療的に有効量のGIP化合物を投与され、異化作用を予防または軽減する方法が提供される。処置を必要とする危篤状態の患者としては、非糖尿病患者（糖尿病または前糖尿病を有するとしては診断されない）、糖尿病患者、前糖尿病患者、および／または肥満者である患者が挙げられる。患者は、示される疾患または病態を有し得る、もしくは有する危険性があり得る。

20

【0546】

GIP化合物の使用により、GIK様の利益を誘起する際にGLP-Iに付随するリスクを最小化または回避できる。胃排出の緩徐化は、例えば、その動態を変えることによって、経口薬の送達を複雑化し得るとともに、栄養の取り込みを減少させ得る；例えば、GLP-Iアゴニスト、アミリンアゴニスト、CCKアゴニスト、およびセクレチンアゴニストは、胃排出を緩徐化する。本明細書に示されるとおり、治療の範囲内で、GIP化合物の用量は胃排出を緩徐しないか、または弱い効果のみを示すとともに、任意のイベントにおいてGLP-Iおよびエキセンディン4よりはるかに少ない。典型的にかかる効果が選択的アミリンアンタゴニスト、例えばプラムリンチドで阻止されたことは、該効果がアミリンのβ細胞分泌増大の間接的結果であったことを示し、アミリンはこれまで同定された胃排出の最も強力な内在性インヒビターである。GIP投与はこのように胃排出の直接的阻害には付随しない。重要なことには、GIPそれ自体はマウスにおいて急性的に食物摂取量を阻害しないことが本明細書に示されている。同様にGIPは食餌誘発性肥満マウスにおける体重減少を引き起こさない。GIP類似体ハイブリッド0601GIP3794も然りである。さらにGIPが、体重および肥満の減少に付随するGLP-Iアゴニストに比べ脂肪節約効果を発揮することが報告された。この脂肪節約効果はおそらく脂肪細胞中の抗脂肪分解効果、またはリポタンパク質リパーゼの促進、インスリンシグナル伝達の増幅、および／または脂肪酸の脂肪細胞脂質への取り込み増加などの効果に起因する。興味深いことに、0601GIP3794は、体重の同時減少なしに体タンパク質の増加を伴い体脂肪割合に軽微な減少を提供したことから、体組成が影響を受けたことを示している。体のエネルギー量の減少が救命救急における悪い予後を予測する一方、体のエネルギー量の貯蔵が有益な予後を促進することは十分に認知されている。体組成の改善を伴う、または伴わない、食欲不振誘発効果低下の不在、悪心減少の不在および／または体重減少の不在または低減は、危篤状態の患者など、異化効果を被る患者において有利である。GIP受容体mRNAは心組織中で検出されているにもかかわらず、心内でのホルモン結合は今日まで検出されていない。しかしながら、本明細書に示されるとおりGIPは心筋細胞に結合するとともにそれを活性化し、かつ生体内で陽性変力効果を示す。腎不全、特に急性腎不全の処置に関しては、ループ利尿薬および浸透圧利尿薬の使用などによって尿量

30

40

50

を達成するアプローチにより尿流量を亢進する試みにもかかわらず乏尿であり続ける患者においては、心収縮力を増加させる変力薬による介入が一般的に試みられている。それゆえ考察されるとおりG I P化合物は、易感染性心筋、および腎不全などの特定の他の病態を伴う、もしくはその危険性がある患者において、そのインスリン分泌作用とは無関係に、さらなる利益を提供する。さらに本方法は、心筋の保持を提供する治療的に有効量のG I P化合物を、それを必要とする患者に投与するステップを含み、さもないと異化状態において萎縮する傾向がある。

【0547】

従って、一実施形態において救命救急患者は、重病、敗血症、外傷後、手術後、ショック後、昏睡患者、ストレス誘発性高血糖（例えば血管イベント後）、脳卒中、心筋梗塞、急性腸間膜虚血、呼吸困難、人工呼吸器依存、腎不全、うっ血性心不全、水腫、冬眠心筋、心筋症（虚血性、糖尿病性）、BNP低下、駆出機能障害、高血圧症、ポリニューロパシー、虚血／再灌流傷害（例えば血栓溶解療法後、心臓手術後）、器官床の組織保護、心筋梗塞（死亡率、機能、総体症状）、急性冠症候群（安定／不安定狭心症、非Q波梗塞、ECG陽性）、伝導または律動の障害、乳頭機能障害、および／または肺水腫に付随する異化変化の疾患または病態を有する。例えば、一実施形態において本方法は、手術前または手術後異化変化を含む、かかる疾患または病態を減弱する、寛解させる、または低減するステップを含んでなり、それらのG I P化合物を必要とする患者に投与することを含んでなる。G I P化合物は治療上の利益、例えばAPACHEスコアの低減、死亡率の低減、入院日数の低減、再入院の必要性の低減、入院費用の低減として例えば計測される利益を提供するよう設計される。

【0548】

一実施形態においては、血流感染、敗血症または敗血症性ショックの発症を予防する、または減少させるための、救命救急に付随する罹患率を低減するための、救命救急に付随する死亡率（例えば院内死亡率）を低減するための、遷延性炎症の発症を予防する、または減少させるための、急性腎不全および／または腎代償療法の発生を予防する、または減少させるための、救命救急ポリニューロパシーの発症を予防する、または減少させるための、抗生物質の使用を低減するための、細胞の免疫介在性破壊の発症を予防する、または減少させるための、炎症および／または炎症反応マーカーにおける障害の可能性を低減するための、全身性炎症反応症候群（SIRS）の発症を予防する、または減少させるための、赤血球輸血量を低減するための、ストレス誘発性高血糖を低減するための、胆汁うっ滞から保護するための、侵襲的処置の必要性を低減するための、神経内膜水腫の発症を予防する、または減少させるための、透析または血液ろ過を減少させるための、重要臓器系補助の必要性を低減または除去するための、通常の経腸経路を通じて少なくとも約3分の1のカロリー必要量を可能にするための、多臓器不全のリスクまたは可能性を低減するための、敗血症または敗血症性ショックに付随する多臓器不全のリスクまたは可能性を低減するための、機械的換気補助の使用を低減するための、腎機能パラメータ障害の可能性を低減するための、高ビリルビン血症の可能性を低減するための、または、本明細書に記載される他の救命救急病態の1つまたは複数の発症を処置、予防または軽減もしくは低減するための、それを必要とする危篤状態の患者の処置方法であり、治療的に有効量のG I P化合物を投与することを含んでなる。さらなる実施形態において投与は、正常血糖、血糖降下、インスリン分泌、本明細書中で考察されるとおりの心血管上の利益、異化効果の低減、またはそれらの任意の組み合わせを実現する。

【0549】

救命救急患者としては、呼吸困難に罹患する者を挙げることができ、ここで患者は肺機能障害の結果として呼吸に困難を有する。患者は、酸素補給で調節し得る、もしくははし得るとは限らない、異なる程度の低酸素血症を呈し得る。呼吸困難が、肺炎、胃内容吸引、肺挫傷、脂肪塞栓症、溺水、吸入傷害、高地浮腫および再灌流性肺水腫などからの直接的肺傷害による、または敗血症、ショックおよび頻回輸血に伴う重症外傷、心肺バイパス、薬物過量投与、および急性膵炎からの間接的肺傷害による肺機能障害患者において起こり

得る。危篤状態の患者は慢性低酸素血症に付随する肺障害を有し得るが、これは結果として肺高血圧症と呼ばれる肺循環内圧の上昇をもたらし得る。危篤状態の患者は肺性心を有し得るが、これは肺動脈および心臓の右室における遷延性高血圧により引き起こされる心臓の右側の不全である。危篤状態の患者は急性呼吸促進症候群（ARDS）または慢性閉塞性肺疾患（COPD）を有し得るが、これとしては、同様に呼吸困難を引き起こす、肺気腫および慢性気管支炎が挙げられる。

【0550】

別の実施形態において救命救急患者はインスリン抵抗性などのグルコース代謝障害を伴う、だが顕性糖尿病ではない者、ならびに何らかの理由で消化管を通じ栄養を受け入れることができない患者である。かかる患者としては、手術患者、昏睡患者、ショック状態の患者、胃腸疾患患者、消化ホルモン疾患患者、および同様の者が挙げられる。特に、肥満患者、アテローム硬化症患者、血管疾患患者、妊娠糖尿病患者、肝硬変などの肝疾患患者、末端肥大症患者、コルチゾール処置またはクッシング病などのグルコルチコイド過剰患者、外傷、事故および手術などの後に起こるであろうものなどの対抗制御的ホルモン活性化患者、高トリグリセリド血症患者および慢性膵炎患者は、患者が低血糖または高血糖にかかることなく、望ましくない異化変化を低減しながら、および／または心血管上の利益を提供しながら、本発明に従い容易かつ好適に栄養を与えられ得る。

【0551】

一実施形態において、単独での、または他の薬剤を伴うGIP化合物の投与は、危篤状態の患者（集中治療を必要とする）における罹患率もしくは死亡率または彼らがICUに滞在する時間を低減する。罹患率の低減とは、危篤状態の患者が追加的な疾病、病態、または症状を発症するであろう可能性を低減する、または追加的な疾病、病態、または症状の重症度を低減することを意味する。例えば罹患率低減は菌血症もしくは敗血症または多臓器不全に付随する合併症の発症率を低下させることにより実現され得る。

【0552】

これらの指標は異常血糖者に限定される必要はないとともに、正常血糖が実現されることも必要としない。いずれもインスリン分泌性機序、またはインスリン分泌増加への応答性を有する人に制限されない。GIP耐性が2型糖尿病において報告されているにもかかわらず、GIPのインスリン分泌刺激効果に対する耐性は、異常血糖に誘発される急性ストレスを伴う者を含め、危篤状態の患者の特徴であるとは予期されていない。インスリン分泌の正常グルコース依存性刺激は危篤状態の患者の大部分で起こるであろうとともに、GIPに対し耐性を示すそれらの患者において有効性は、より高用量のGIPまたは本明細書に開示されるGIP類似体およびハイブリッドの使用に伴い達成され得る。

【0553】

このように一実施形態において、インスリン分泌刺激反応を誘発する、抗または非異化効果を提供する（例えば異化効果を低減する）、もしくは本明細書中で考察される心血管上の利益の任意の1つを提供する方法、または上記の任意の組み合わせが提供され、かかる所望の有益な作用を提供するため治療的に有効量のGIP化合物の投与を含んでなる。これらの方法は、好ましくは異化効果の低減と併せて、かかる利益を必要とする危篤状態の患者において、かかる効果により軽減され得る救命救急病態または障害の処置に有用である。

【0554】

GIP化合物としては、GIPならびにGIP類似体およびハイブリッド、特に本明細書に記載されるとおりの新規GIP類似体、長期間半減期GIPハイブリッド（例えばDPP-IV切断抵抗性（D-Ala²、N-アセチルまたはN-ピログルタミル類似体など）が挙げられ、場合により非相同C末端テールなどのペプチドエンハンサー、および救急または集中治療を受けている患者に有益な利益を提供することで知られる少なくとも1個のホルモンモジュールを含んでなるGIPハイブリッドをさらに含んでなる。例えば、特に有用な本発明のGIP化合物は、エキセンディンテール（例えば化合物G）などのペプチドエンハンサーを備えるDPP-IV耐性GIP類似体を含んでなるGIPハイブリ

ッド、またはG I P類似体およびアミリンファミリーまたはサケカルシトニンホルモンモジュールを含んでなるG I Pハイブリッドであり、これらは望ましいグルコース降下、インスリン分泌刺激および／または心血管上の利益を維持する間のそれらの食欲減退効果の欠如または低減により追加的に有益である。

【0555】

一実施形態においてG I P化合物の投与は非経口栄養に付随する問題を低減する。非常に頻繁に、健常な代謝の人に対してさえも、高血糖を誘起することなく所望の量のグルコースを注入することができない。これは救命救急患者において悪化し得る。G I P化合物の存在下での非経口栄養状態の間のインスリン分泌は、血漿グルコースの増加がG I P化合物なしより少なくなるよう制御され得る。それゆえその他より多量のグルコースが24時間10にわたり送達され得る。非経口栄養患者に見られるカロリー不足はこのようにより一層充足され得る。従って、提供されるのは、非食事性栄養向けの方法であって、非経口経路により非経口栄養を必要とする患者に、炭水化物、アミノ酸、脂質、遊離脂肪酸、モノまたはジグリセリド、グリセロールおよびそれらの任意の組み合わせからなる群より選択される栄養上有効量の1つまたは複数の栄養；およびG I P化合物を投与するステップを含んでなり、ここで栄養の投与は患者において血液1デシリットル当たり約80～180mgのグルコースの血糖レベルを生じさせるとともに、投与速度は患者1人1日当たり約1000gまでのグルコースまたはその同等物が送達されるよう計算される。さらなる実施形態において患者は通常の経腸経路を通じカロリー必要量の少なくとも約3分の1を、通常の経腸経路を通じカロリー必要量の少なくとも約半分を、または通常の経腸経路を通じカロリー必要量の少なくとも約3分の2を受け取る。栄養源が炭水化物である時、炭水化物源は1リットル当たり約2重量%～約50重量%のグルコースまたはリットル当たりのその同等の濃度で存在し得る。さらなる実施形態において栄養代謝の亢進は、グルコース代謝障害患者、手術患者、昏睡患者、ショック状態の患者、胃腸疾患患者、消化ホルモン疾患患者、肥満患者、アテローム硬化症患者、血管疾患患者、妊娠糖尿病患者、肝疾患患者、肝硬変患者、グルコルチコイド過剰患者、クッシング病患者、外傷または疾患後に起こる対抗制御のホルモン活性化患者、高トリグリセリド血症患者、または慢性膵炎患者における、非経口経路の、栄養上有効量の1つまたは複数の栄養またはそれらの任意の組み合わせおよび1つまたは複数のインスリン分泌刺激ペプチドを介して達成される。いまださらなる実施形態において非食事性経路を介して亢進された非経口栄養を必要とする患者は救命救急患者である。2030

【0556】

救命救急使用および非経口栄養亢進使用向け一実施形態において、G I P化合物は持続静脈内注入により投与され200mg/dl未満の、または80～150mg/dlの範囲の、または80～110mg/dlの範囲の血糖レベルを実現する。例えば、G I P化合物は血漿グルコースを1デシリットル当たり約160～180ミリグラムの「腎閾値」未満に維持するため投与され得る。高血糖を患っていない患者もまた、G I P化合物により提供される追加的抗異化および心血管上の利益を考慮して処置され得る。

【0557】

本明細書中で考察されるとおり、様々な経路による急性および慢性の双方の投与が救命救急使用向けおよび非経口栄養の亢進用に企図される。救命救急使用向け一実施形態において、G I P化合物は約0.1～100pmol/kg/分の間、約0.1～50pmol/kg/分の間、約0.5～30pmol/kg/分の間、約0.1～10pmol/kg/分の間、約0.5～5pmol/kg/分の間、または約1.0～3.0pmol/kg/分の間の速度で持続的に注入される。本明細書において考察されるとおり、G I P化合物はまた、例えばミクロスフェアまたはゲルマトリクスを含んでなる除放性製剤を介しても提供され得、および／または、経皮下、経鼻、静脈内または他の経路を介し、個別的または付加的投薬量を介しても投与され得る。G I P化合物は、手術などの救命救急の開始の前、最中および／または後に投与され得る。40

【0558】

G I P、G I P類似体、新規G I P類似体またはG I Pハイブリッド、またはそれらの誘導体の治療の有効量は、患者の性別、体重および年齢、血糖の調節不能の重症度、血糖を調節できない根本原因、グルコースまたは別の炭水化物源が同時に投与されるかどうか、投与経路および生体利用能、体内持続性、製剤および効力を限定なしに含む、因子の数に依存するであろう。所望の臨床結果を実現するべくG I P化合物の投与の用量および速度を設定することは通常の医師の技術範囲内である。

【0559】

ポリペプチド産生および精製

本明細書に記載されるポリペプチドは、当該技術分野において知られた標準的組換え技術または化学的ペプチド合成技術を使用して、例えば、自動または半自動ペプチド合成機、またはその双方を使用して調製されてもよい。

10

【0560】

本発明のポリペプチドは溶液中または固体支持体上で従来技術に従い合成され得る。かかる方法は、例えば、本明細書、およびそれらの全体が参照により本明細書に援用される、米国特許第6,610,824号明細書および米国特許第5,686,411号明細書および米国特許出願第454,533号明細書(1999年12月6日出願)に記載される。様々な自動合成機が市販されているとともに既知のプロトコルに従い使用され得る。例えば、スチュワートおよびヤング(Stewart and Young)、「Solid Phase Peptide Synthesis」、第2版、Pierce Chemical Co. (1984年);タム(Tam)ら、J. Am. Chem. Soc. 105:6442頁(1983年);メリフィールド(Merrifield)、Science 232:341-7頁(1986年);およびバラニーおよびメリフィールド(Barany and Merrifield)、「The Peptides」、グロスおよびメイエンホファー(Gross and Meienhofer)編、Academic Press、ニューヨーク、1-284頁(1979年)を参照されたい。固相ペプチド合成は自動ペプチド合成機(例えば、モデル430A、アプライド・バイオシステムズ社(Applied Biosystems Inc.)、フォスター・シティ、カリフォルニア州)で、NMP/HOBt(オプション1)システムおよびtBocまたはFmoc化学反応を使用して(「Applied Biosystems User's Manual for the ABI 430A Peptide Synthesizer」、バージョン1.3B 1988年7月1日、第6節、49-70頁、アプライド・バイオシステムズ社(Applied Biosystems, Inc.)、フォスター・シティ、カリフォルニア州を参照)、キャッピングを伴い実行されてもよい。ペプチドはまた、アドバンスド・ケムテック・シンセサイザー(Advanced Chem Tech Synthesizer)(モデルMPS350、ルイビル、ケンタッキー州)を使用して構築されてもよい。ペプチドはRP-HPLC(調製用および分析用)により、例えば、ウォーターズ・デルタ・プレップ(Waters Delta Prep)3000システムおよびC4、C8、またはC18調製カラム(10 μ 、2.2 $\times$ 25cm;バイダック(Vydac)、ヘスペリア、カリフォルニア州)を使用して精製されてもよい。ポリペプチドは「ネイティブ化学ライゲーション」などのコンバージョン法、およびその変化形により合成され得、ここで然るべき直交性反応末端を備える2個以上のペプチド断片が未変性アミド結合形成に連結される。新しく形成されたペプチドはさらに長いポリペプチドを作るべくさらに連結され得る。個々の出発ペプチドは所望のとおり誘導体化され得るか、もしくはライゲーションステップの後に誘導体化され得る。

20

30

40

【0561】

ペプチド類似体が、パイオニア(Pioneer)連続フローペプチド合成機(アプライド・バイオシステムズ(Applied Biosystems))でPAL-PEG-PS樹脂(アプライド・バイオシステムズ(Applied Biosystems))を使用して0.2mmol/g(0.25mmoleスケール)の負荷で合成された。

50

Fmocアミノ酸（4.0 eq、1.0 mmol）残基が4.0 eqのHBTU、4.0 eqのHOBT、8.0 eqのDIEAを使用して活性化され、および1時間樹脂に結合させた。Fmoc基はジメチルホルムアミド中の20%（v/v）ピペリジンを伴う処置により取り除かれた。ペプチドの固体支持体からの最終的な脱保護および切断が試薬B（93% TFA、3% フェノール、3% 水および1% トリイソプロピルシラン）を伴う樹脂の2～3時間の処置により実施された。切断されたペプチドはtert-ブチルメチルエーテルを使用して沈殿させ、遠心分離によりペレット状にし、および凍結乾燥させた。ペレットは水中（10～15 mL）に再溶解され、C-18カラムおよび0.1% TFA含有アセトニトリル／水勾配を使用する逆相HPLCを介してろ過および精製された。精製された産物は凍結乾燥されるとともにESI-MSおよび分析用HPLCにより解析され、純粋であること（>98%）が実証された。大部分の結果は全て、計算値と一致した。

10

【0562】

あるいは、ペプチドは、Symphony（登録商標）ペプチド合成機（プロテイン・テクノロジー社（Protein Technologies, Inc.）、ウォバートン、マサチューセッツ州）でリンク（Link）アミド樹脂（ノババイオケム（Novabiochem）、サンディエゴ、カリフォルニア州）を使用して0.050～0.100 mmolで0.43～0.49 mmol/gの負荷で構築された。Fmocアミノ酸（アプライド・バイオシステムズ社（Applied Biosystems, Inc.）5.0 eq、0.250～0.500 mmol）残基が1-メチル-2-ピロリジノン中に0.10 Mの濃度で溶解された。全ての他の試薬（HBTU、HOBTおよびN,N-ジイソプロピルエチルアミン）が0.55 Mのジメチルホルムアミド溶液として調製された。次にFmoc保護アミノ酸が、HBTU（2.0 eq、0.100～0.200 mmol）、HOBT（1.8 eq、0.090～0.18 mmol）、N,N-ジイソプロピルエチルアミン（2.4 eq、0.120～0.240 mmol）を使用して、2時間、樹脂結合アミノ酸に結合された。最後のアミノ酸結合後、ペプチドはジメチルホルムアミド中の20%（v/v）ピペリジンを使用して1時間脱保護された。ペプチド配列が完了すると、Symphony（登録商標）ペプチド合成機がプログラムされ樹脂を切断する。ペプチドの樹脂からのトリフルオロ酢酸（TFA）切断が、93% TFA、3% フェノール、3% 水および1% トリイソプロピルシランからなる試薬混合物を使用して実行された。切断されたペプチドはtert-ブチルメチルエーテルを使用して調製され、遠心分離によりペレット状にして凍結乾燥させた。ペレットは酢酸中に溶解され、凍結乾燥させた後水中に溶解され、18カラムおよび0.1% TFA含有アセトニトリル／水勾配を使用する逆相HPLCを介してろ過および精製された。分析用HPLCが使用されてペプチドの純度が評価され、および特性がLC/MSおよびMALDI-MSにより確認された。

20

30

【0563】

活性タンパク質は容易に合成され得るとともに、次に反応性ペプチドを同定するべく設計されるスクリーニングアッセイにおいて選別され得る。

【0564】

40

本発明の類似体およびハイブリッドポリペプチドはあるいは当該技術分野において知られた組換え技術により産生されてもよい。例えば、サムブルック（Sambrook）ら、「Molecular Cloning: A Laboratory Manual」、第2版、Cold Spring Harbor（1989年）を参照されたい。組換え技術により産生されるこれらのGIP類似体またはハイブリッドポリペプチドはポリヌクレオチドから発現させてもよい。当業者は、かかるGIP類似体またはハイブリッドポリペプチドをコードする、DNAおよびRNAを含むポリヌクレオチドが、コドン利用の縮重を考慮に入れ、例えばGIP、GLP1、アミリンといった野生型cDNAから得られてもよく、または所望のとおり操作されてもよいことは理解するであろう。これらのポリヌクレオチド配列は微生物宿主中でmRNAの転写および翻訳を促進するコドンを組み

50

込んでもよい。かかる工業的配列は当該技術分野において知られた方法に従い容易に構築され得る。例えば、国際公開第83/04053号パンフレットを参照されたい。上記のポリヌクレオチドはまた、場合によりN末端メチオニル残基をコードし得る。本発明に有用な非ペプチド化合物は当該技術分野において知られた方法により調製されてもよい。例えば、リン酸含有アミノ酸およびかかるアミノ酸を含むペプチドが当該技術分野において知られた方法を使用して調製されてもよい。例えば、バートレットおよびランデン (Bartlett and Landen)、Bioorg. Chem. 14: 356-77 頁 (1986年) を参照されたい。

【0565】

様々な発現ベクター／宿主系が利用されGIPポリペプチドコード配列を含有および発現してもよい。これらとしては、組換えバクテリオファージ、プラスミドまたはコスミドDNA発現ベクターで形質転換される細菌などの微生物；酵母発現ベクターで形質転換される酵母；ウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）に感染した昆虫細胞系；ウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザイクウイルス、CaMV；タバコモザイクウイルス、TMV）で形質転換されるか、もしくは細菌発現ベクター（例えば、TiまたはpBR322プラスミド）で形質転換される植物細胞系；または動物細胞系が挙げられるが、これらには限定はされない。組換えタンパク質産生に有用である哺乳動物細胞としては、VERO細胞、HeLa細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞系、COS細胞（COS-7など）、WI38、BHK、HepG2、3T3、RIN、MDCK、A549、PC12、K562および293細胞が挙げられるが、これらには限定はされない。タンパク質の組換え発現用例示的プロトコルは本明細書に記載される。

【0566】

かかるごとく、本発明によって提供されるポリヌクレオチド配列は、新しくかつ有用なウイルスおよびプラスミドDNAベクター、新しくかつ有用な形質転換および形質移入原核および真核宿主細胞（培養液中で成長した細菌、酵母、および哺乳動物細胞を含む）、および本GIPポリペプチドの発現能を有するかかる宿主細胞の新しくかつ有用な成長培養方法を生産するのに有用である。本明細書のGIP類似体またはハイブリッドをコードするポリヌクレオチド配列は、GIPまたは他のハイブリッドの成分ペプチドホルモンの産生不足が軽減されるであろう、またはかかるレベルの上昇の必要性に合致するであろう場合の例において、遺伝子治療に有用であり得る。

【0567】

本発明はまた本GIPポリペプチドの組換えDNA産生方法も提供する。提供されるのは、GIPポリペプチドをかかるGIPポリペプチドをコードする核酸を含む宿主細胞から産生する方法であって、(a)かかるDNA分子の発現を促進する条件下でかかるGIPポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む前記宿主細胞を培養するステップ；および(b)かかるGIPポリペプチドを採取するステップを含んでなる。

【0568】

宿主細胞は原核生物または真核生物であってもよいとともに、細菌、哺乳動物細胞（チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、サル細胞、ベビーハムスター腎細胞、癌細胞または他の細胞など）、酵母細胞、および昆虫細胞が挙げられる。

【0569】

組換えタンパク質の発現用哺乳動物宿主系もまた、当該技術分野において周知である。宿主細胞株は、発現タンパク質をプロセッシングする、またはタンパク質活性を提供するのに有用であろう特定の翻訳後修飾を生じさせる特定の能力から選択されてもよい。ポリペプチドのかかる修飾としては、アセチル化、カルボキシ化、グリコシル化、リン酸化、脂質化およびアシル化が挙げられるが、限定はされない。翻訳後プロセッシングは、「プレプロ」をタンパク質から切断するが、正確な挿入、折り畳みおよび／または機能に重要である。CHO、HeLa、MDCK、293、WI38、および同様のものなどの異なる宿主細胞は、かかる翻訳後活性の特異的細胞機構および特徴的機序を有するとともに、正確な修飾および外来タンパク質導入のプロセッシングを確実にするべく選択されてもよい。

【0570】

あるいは、酵母系が用いられて本発明のGIPポリペプチドを生成してもよい。GIPポリペプチドcDNAのコード領域はPCRにより増幅される。酵母プレープロ α リーダー配列をコードするDNAは酵母ゲノムDNAからPCR反応において α 接合因子遺伝子のヌクレオチド1-20を含む1つのプライマーおよびこの遺伝子のヌクレオチド255-235と相補的な別のプライマーを使用して増幅される（クルヤンおよびヘルスコヴィッツ（Kurjan and Herskowitz）、Cell、30：933-43頁（1982年））。プレープロ α リーダーコード配列およびGIPポリペプチドコード配列断片が酵母アルコール脱水素酵素（ADH2）プロモーターを含むプラスミドに連結されることで、プロモーターは成熟GIPポリペプチドに融合するプレープロ α 因子からなる融合タンパク質の発現を指図する。ローズおよびブローチ（Rose and Broach）、Meth. Enz. 185：234-79頁、ゴードル（Goeddel）編、Academic Press, Inc.、サンディエゴ、カリフォルニア州（1990年）により教示されるとおり、ベクターは、クローニング部位の下流のADH2転写ターミネーター、酵母「2-ミクロン」複製起点、酵母leu-2d遺伝子、酵母REP1およびREP2遺伝子、大腸菌 β -ラクタマーゼ遺伝子、および大腸菌複製起点をさらに含む。 β -ラクタマーゼおよびleu-2d遺伝子は、それぞれ細菌および酵母における選択を提供する。leu-2d遺伝子はまた酵母中のプラスミドのコピー数増加も促進してより高レベルの発現を誘発する。REP1およびREP2遺伝子はプラスミドコピー数の調節に関わるタンパク質をコードする。

10

20

【0571】

前の段落に記載されるDNAコンストラクトは既知の方法、例えば、リチウム酢酸処置を使用して酵母細胞に形質転換される（スチームズ（Steams）ら、Meth. Enz. 185：280-97頁（1990年））。ADH2プロモーターは成長培地中のグルコースの消耗に際し誘導される（プライス（Price）ら、Gene 55：287頁（1987年））。プレープロ α 配列は融合タンパク質の細胞からの分泌に効果を及ぼす。付随して、酵母KEX2タンパク質はプレープロ配列を成熟GIPポリペプチドから切断する（ビッター（Bitter）ら、Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 81：5330-4頁（1984年））。

【0572】

本発明のGIPポリペプチドはまた、市販の発現系、例えば、ピキア（Pichia）発現系（インビトロジェン（Invitrogen）、サンディエゴ、カリフォルニア州）を使用して、製造者の指示に従い、酵母中で組換え発現されてもよい。この系もまたプレープロ α 配列に依存して分泌を指図するが、インサートの転写はメタノールによる誘導に際しアルコールオキシダーゼ（AOX1）プロモーターにより駆動される。分泌されたGIPポリペプチドは、例えば、GIPポリペプチドを細菌および哺乳動物細胞上清から精製するために使用される方法により酵母成長培地から精製される。

30

【0573】

あるいは、GIPポリペプチドをコードするcDNAはバキュロウイルス発現ベクターpVL1393（ファーマンジェン（PharMingen）、サンディエゴ、カリフォルニア州）にクローニングされる。このGIP化合物コーディングベクターは次に、製造者の指示（ファーマンジェン（PharMingen））に従い使用され、スポドプテラ・フルギペルダ（Spodoptera frugiperda）細胞をSF9タンパク質フリー培地中で感染させるとともに組換えタンパク質を産生する。タンパク質はヘパリン-セファロースカラム（ファルマシア（Pharmacia）、ピスカタウェイ、ニュージャージー州）および連続分子サイジングカラム（アミコン（Amicon）、ビバリー、マサチューセッツ州）を使用して培地から精製されるとともに濃縮され、かつPBS中で再懸濁される。SDS-PAGE分析により単一のバンドが示されるとともにタンパク質サイズを確認し、およびプロトン（Proton）2090ペプチドシーケンサーでのエドマン法によりそのN末端配列を確認する。

40

50

【0574】

例えば、予測される成熟GIP類似体またはハイブリッドポリペプチドをコードするDNA配列は所望のプロモーターおよび、場合により、リーダー配列を含むプラスミドにクローニングされてもよい（例えば、ベッター（Better）ら、Science 240:1041-3頁（1988年）を参照）。このコンストラクトの配列は自動化されたシーケンシングにより確認されてもよい。プラスミドは次に、大腸菌、株MC1061に、細菌のCaCl₂インキュベーションおよび熱ショック処置を用いる標準的手順を使用して形質転換される（サムブルック（Sambrook）ら、上記）。形質転換細菌はカルベニシリンが補給されたLB培地中で成長させるとともに、発現タンパク質の産生が好適な培地中での成長により誘発される。存在するのであれば、リーダー配列は成熟GIP類似体またはハイブリッドポリペプチドの分泌に影響を及ぼすであろうとともに、分泌中に切断されるであろう。分泌された組換えタンパク質は細菌培地から本明細書に記載される方法により精製される。

10

【0575】

あるいは、本発明のGIPポリペプチドは昆虫系で発現させてもよい。タンパク質発現用昆虫系は当該技術分野において周知である。1つのかかる系において、オートグラフカリフォルニア核多角体病ウイルス（AcNPV）がスポドプテラ・フルギペルダ（Spodoptera frugiperda）細胞中またはトリコプルシア（Trichoplusia）幼虫において外来遺伝子を発現するベクターとして使用される。GIPポリペプチドコード配列はポリヘドリン遺伝子などのウイルスの非必須領域にクローニングされるとともに、ポリヘドリンプロモーターの制御下に配置される。GIP類似体またはハイブリッドポリペプチドの挿入が成功すると、ポリヘドリン遺伝子は不活性になるであろうとともにコートタンパク質のコートが欠如した組換えウイルスを産生するであろう。組換えウイルスは次に、GIP類似体またはハイブリッドポリペプチドが発現するS. フルギペルダ（frugiperda）細胞またはトリコプルシア（Trichoplusia）幼虫を感染させるため使用される（スミス（Smith）ら、J. Virol. 46:584頁（1983年）；エンゲルハルト（Engelhardt）ら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3224-7頁（1994年））。

20

【0576】

別の例において、GIPポリペプチドをコードするDNA配列はPCRにより増幅されてもよいとともに然るべきベクター、例えば、pGEX-3X（ファルマシア（Pharmacia）、ピスカタウエイ、ニュージャージー州）にクローニングされてもよい。pGEXベクターは、該ベクターによりコードされる、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ（GST）を含んでなる融合タンパク質、およびベクターのクローニング部位に挿入されるDNA断片によりコードされるタンパク質を産生するべく設計される。PCR用プライマーは、例えば、然るべき切断部位を含むよう生成されてもよい。組換え融合タンパク質は次に、融合タンパク質のGST部分から切断されてもよい。pGEX-3X/GIP類似体ポリペプチドコンストラクトは大腸菌XL-1ブルー細胞（ストラタジーン（Stratagene）、ラ・ホーヤ、カリフォルニア州）に形質転換されるとともに、個々の形質転換体は単離され、および37℃でLB培地（カルベニシリンを補給された）中、波長600nmの光学密度0.4で成長させ、後に4時間、0.5mMイソプロピルβ-D-チオガラクトピラノシド（シグマ・ケミカル社（Sigma Chemical Co.）、セントルイス、ミズーリ州）の存在下でさらなるインキュベーションが続く。個々の形質転換体由来のプラスミドDNAは精製されるとともに自動シーケンサーを使用して部分的に配列決定され、適切な方向で遺伝子インサートをコードする、所望のGIPポリペプチドの存在が確認される。

30

40

【0577】

融合タンパク質は、細菌中で不溶性封入体として産生されると予測されるが、次のとおり精製されてもよい。細胞が遠心分離により収集される；0.15MのNaCl、10mMのトリス、pH8、1mMのEDTA中で洗浄される；および0.1mg/mlのリゾ

50

チーム（シグマ・ケミカル社（Sigma Chemical Co.））で15分間、室温で処理される。ライセートは超音波処理により清澄化されるとともに、細胞デブリは遠心分離により10分間、12,000xgでペレット状にされる。融合タンパク質含有ペレットは50mMのトリス、pH8、および10mMのEDTA中で再懸濁され、50%のグリセロール上に層状に重ねられ、および30分間6000xgで遠心分離される。ペレットは Mg^{++} および Ca^{++} のない標準リン酸緩衝食塩水溶液（PBS）中で再懸濁される。融合タンパク質は変性SDSポリアクリルアミドゲル中で再懸濁されたペレットを分画することによりさらに精製される（サムブルック（Sambrook）ら、上記）。ゲルはタンパク質を可視化するため0.4MのKCl中に浸漬され、切除されるとともにSDS無しゲル泳動緩衝液中で電気溶出される。GST/GIPポリペプチド融合タンパク質が細菌中で可溶タンパク質として産生される場合、GST精製モジュール（ファルマシア・バイオテック（Pharmacia Biotech））を使用して精製されてもよい。

10

【0578】

融合タンパク質は消化に供されGSTを成熟GIP類似体またはハイブリッドポリペプチドから切断してもよい。消化反応（20~40 μ gの融合タンパク質、20~30単位のヒトトロンビン（0.5mlのPBS中4000U/mg（シグマ（Sigma）））は16~48時間、室温でインキュベートされるとともに変性SDS-PAGEゲル上に載せられ、反応産物を断片化する。ゲルは0.4MのKCl中に浸漬され、タンパク質バンドを可視化する。GIP類似体またはハイブリッドポリペプチドの期待分子量に対応するタンパク質バンドの特性が、自動シーケンサー（アプライド・バイオシステムズ（Applied Biosystems）モデル473A、フォスター・シティ、カリフォルニア州）を使用する部分アミノ酸配列解析により確認され得る。

20

【0579】

本発明のGIPポリペプチドの組換え発現の特に例示的な方法において、293細胞はGIP類似体またはハイブリッドポリペプチドcDNAを含むプラスミドをpCMVベクター（5'CMVプロモーター、3'HGHポリA配列）およびpSV2ネオ（新耐性遺伝子を含む）中にリン酸カルシウム法により同時形質移入されてもよい。一実施態様において、ベクターは形質移入前にSealで直線化されるべきである。同様に、組み込まれる新遺伝子を備える同様のpCMVベクターを使用する代替のコンストラクトが使用され得る。安定な細胞系は0.5mg/mLのG418（ネオマイシン様抗生物質）を含む成長培地の希釈を10~14日間制限することにより単一の細胞クローンより選択される。細胞系はGIP類似体またはハイブリッドポリペプチド発現についてELISAまたはウェスタンブロットによりスクリーニングされるとともに、高発現細胞系は大規模な成長に展開される。

30

【0580】

形質転換細胞は長期間、高収量タンパク質産生に使用されることが好ましいとともに、かかるものとして安定な発現が望ましい。かかる細胞が選択可能なマーカーを所望の発現カセットとともに含有するベクターで形質転換されると、細胞は選択培地に移される前に富栄養培地中で1~2日間成長することが可能となり得る。選択可能なマーカーは選択に対する耐性を付与するよう設計されるとともに、その存在により導入配列を成功裏に発現する細胞の成長および回収が可能となる。安定に形質転換された細胞の耐性凝集物は細胞に適切な組織培養技術を使用して増殖され得る。

40

【0581】

多くの選択系が組換えタンパク質産生用に形質転換された細胞を回収するため使用されてもよい。かかる選択系としては、tk⁻、hgprt⁻またはaprt⁻細胞中の、それぞれ、HSVチミジンキナーゼ、ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼおよびアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ遺伝子が挙げられるが、限定はされない。また、抗代謝産物耐性が、メトトレキサートに対する耐性を付与するdhfr、ミコフェノール酸に対する耐性を付与するgpt、アミノグリコシドに対する耐性を

50

付与するneo、また、クロルスルフロンに対する耐性を付与するG418、および、ハイグロマイシンに対する耐性を付与するhygroの選択の根拠として使用され得る。有用であり得る追加的な選択可能遺伝子としては、細胞がトリプトファンの代わりにインドールを利用することを可能にするtrpB、またはヒスチジンの代わりにヒスチノールを利用することを可能にするhisDが挙げられる。形質転換体の同定の可視指標を与えるマーカーとしては、アントシアニン、β-グルクロニダーゼおよびその基質、GUS、およびルシフェラーゼおよびその基質、ルシフェリンが挙げられる。

【0582】

本発明のGIPポリペプチドの多くは自動ペプチド合成および組換え技術の双方の組み合わせを使用して産生されてもよい。例えば、本発明のGIPポリペプチドはペグ化による欠失、置換、および挿入を含む修飾の組み合わせを含んでもよい。かかるGIPポリペプチドは段階的に産生されてもよい。第1の段階において、欠失、置換、挿入、およびそれらの任意の組み合わせの修飾を含む中間体GIPポリペプチドが、記載されるとおりの組換え技術により産生されてもよい。次に本明細書に記載されるとおりの任意選択の精製段階の後、中間体GIPポリペプチドは然るべきペグ化試薬（例えば、ネクター・トランスフォーミング・セラピューティクス製（NeKtar Transforming Therapeutics）、サンカルロス、カリフォルニア州）での化学的修飾を通じペグ化され、所望のGIPポリペプチドを産生してもよい。当業者は上述の手順が、欠失、置換、挿入、誘導体化、および当該技術分野において知られた修飾の他の手段より選択される修飾の組み合わせを含むGIPポリペプチドに適用するべく生成されてもよいとともに本発明により意図されることは理解するであろう。

【0583】

本発明により生成されるGIPポリペプチドを精製することが望ましくあり得る。ペプチド精製技術は当業者に周知である。これらの技術は、あるレベルで、細胞環境の未精製分画からポリペプチドおよび非ポリペプチド分画に関する。ポリペプチドを他のタンパク質から分離すると、当該ポリペプチドはクロマトグラフィーおよび電気泳動技術を使用してさらに精製され、部分的または完全な精製（または均質性のための精製）を実現してもよい。特に純粋ペプチドの調製に好適な分析方法是、イオン交換クロマトグラフィー、排除クロマトグラフィー、ポリアクリルアミドゲル電気泳動法、および等電点電気泳動法である。ペプチドを精製する特に有効な方法は、逆相HPLCに続き、液体クロマトグラフィー／質量分析（LC／MS）およびマトリックス支援レーザー脱離イオン化法（MALDI）質量分析による精製された産物のキャラクタリゼーションである。追加的な純度の確認はアミノ酸分析を判定することにより得られる。

【0584】

本発明の特定の態様は、精製に、および詳細な実施形態においては、コードされたタンパク質またはペプチドの、実質的な精製に関する。本明細書において使用されるとき用語「精製されたペプチド」は、他の成分から単離可能な組成物を参照することが意図され、ここでペプチドはその天然に得られる状態と比べ任意の程度まで精製される。それゆえ精製されたペプチドはまた、自然発生し得る環境が存在しないペプチドも参照する。

【0585】

一般に、「精製された」は、分画が様々な他の成分の除去に供されるとともに、その組成物がその発現される生物学的活性を実質的に保持するペプチド組成を参照するであろう。用語「実質的に精製された」が使用される場合、この表記は、ペプチドが組成物中の約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約95%またはそれ以上のペプチドを構成するなど、組成物中で主成分を形成する組成物を参照するであろう。

【0586】

ペプチド精製における使用に好適な様々な技術は当業者に周知であろう。これらとしては、例えば、硫酸アンモニウム、PEG、抗体、および同様のものを伴う沈殿；熱変性に続く、遠心分離；イオン交換、ゲルろ過、逆相、ヒドロキシルアパタイトおよび親和性クロマトグラフィーなどのクロマトグラフィー法；等電点電気泳動法；ゲル電気泳動法；お

よびかかるならびに他の技術の組み合わせが挙げられる。一般的に当該技術分野において周知であるとおり、様々な精製ステップを行う順番は変更され得ること、または特定のステップは省略され得るとともに、それでもなお結果として実質的に精製されたタンパク質またはペプチドの調製に好適な方法をもたらすことが考えられる。

【0587】

ペプチドが常にその最も精製された状態で提供されるための一般的な要件はない。実際に、実質的により低度に精製された産物が特定の実施形態において有用性を有するであろうことが企図される。部分的精製が、より少ない精製ステップを組み合わせで使用するにより、または同一の一般的精製スキームの異なる形態を利用することにより、達成されてもよい。例えば、HPLC機器を利用して実施されるカチオン交換カラムクロマトグラフィーが、一般的に結果として低圧クロマトグラフィー装置を利用する同一の技術より大きな「倍数」の精製をもたらすであろうことは理解される。より低度の相対的精製を呈する方法がタンパク質産物の総回収率、または発現タンパク質の活性の維持において、利点を有し得る。

10

【0588】

場合によりかかるGIPポリペプチドは本方法において得られる他の成分から精製および単離してもよい。ポリペプチドの精製方法は米国特許第5,849,883号明細書に見出される。これらの文献は、GCSF組成物の単離および精製の具体的な例示的方法を記載し、これは本発明のGIPポリペプチドを単離および精製するにおいて有用であり得る。これらの特許の開示を所与として、当業者がGIPポリペプチドを所与の原料から精製するため使用され得る多数の精製技術を十分に承知していることは明らかである。

20

【0589】

同様に、イオン交換および免疫親和性クロマトグラフィーの組み合わせが用いられて本発明の精製されたGIPポリペプチド組成物を産生してもよいことが企図される。

【0590】

医薬組成物

本発明はまた、治療的または予防的に有効量の少なくとも1個の本発明のGIPポリペプチド、またはその薬学的に許容される塩を、GIPポリペプチドの送達に有用な薬学的に許容される希釈剤、保存剤、可溶化剤、乳化剤、アジュバントおよび／または担体と共に含んでなる医薬組成物にも関する。かかる組成物は、様々な緩衝剤内容物の希釈剤（例えば、酢酸、クエン酸、酒石酸、リン酸、トリス-HCl）、pHおよびイオン強度；界面活性剤および可溶化剤などの添加剤（例えば、ソルビタンモノオレエート、レシチン、プルロニック（Pluronic）、トゥイーン（Tween）20&80、ポリソルベート（Polysorbate）20&80、プロピレングリコール、エタノール、PEG-40、ドデシル硫酸ナトリウム）、抗酸化剤（例えば、モノチオグリエルコール、アスコルビン酸、アセチルシステイン、亜硫酸塩（亜硫酸水素塩およびメタ重亜硫酸塩）、保存剤（例えば、フェノール、メタクレゾール、ベンジルアルコール、パラベン（メチル、プロピル、ブチル）、塩化ベンザルコニウム、クロロブタノール、チメルソール、フェニル水銀塩、（酢酸塩、ホウ酸塩、硝酸塩）、および等張化剤／膨張性薬剤（グリセリン、塩化ナトリウム、マンニトール、スクロース、トレハロース、デキストロース）；ポリ乳酸、ポリグリコール酸等の高分子化合物の微粒子製剤への材料の取り込みを、またはリポソームを伴って、含んでもよい。かかる組成物は本GIP類似体ポリペプチドの物理的状态、安定性、生体内放出速度、および生体内クリアランス速度に影響するであろう、例えば、「Remington's Pharmaceutical Sciences」1435-712頁、第18版、Mack Publishing Co.、イーストン、ペンシルベニア州（1990年）を参照されたい。

30

40

【0591】

場合によりGIPまたは新規GIP類似体は第2の活性薬剤と調合される（または補助治療においてそれとともに投与される、またはそれと共有結合されるか、もしくは融合される）ことができる。かかる薬剤はGIP効果を補足または亢進するであろう活性を含ん

50

でなることができる。一実施形態においてかかる薬剤はグルコース降下または抗糖尿病活性を有する。別の実施形態において薬剤は胃排出を阻害または低減する。他の実施形態において薬剤は、骨密度増加、食物摂取量低減、または同様のものなどの、任意の他の望ましい活性を含んでなることができる。

【0592】

一般に、本GIP類似体およびハイブリッドポリペプチドは、GIPおよび／または個々の成分ポリペプチド（ハイブリッドの場合）がそれらの薬理学的特性の観点において有用であると同様に有用であろう。一般的に、GIPポリペプチドは代謝病態および障害の処置または予防のため末梢投与される。特に、本発明の化合物は、グルコース降下薬、インスリン分泌刺激薬、胃分泌の低減または阻害、効果的な体重減少、栄養利用性低減、食物摂取量低減、食欲抑制、救命救急（集中）治療適用における死亡率および罹患率の改善、記憶改善および他の神経学的利益の提供、骨密度の増加または維持、効果的な心血管上の利益、心保護の提供、および本明細書中で考察されるとおりの効果的な他の治療上の利益としての活性を保有する。別の実施形態において、例示的使用は、糖尿病または糖尿病関連病態および障害、肥満、および心血管疾患ならびに病態の処置のためかかるハイブリッドポリペプチドを投与することである。本GIPポリペプチドは、注射用製剤、経口投与、経鼻投与、経肺投与、局所投与、または当業者が認知するであろうとおりの他の種類の投与を含め、末梢投与用に調合されてもよい。より詳細には、本発明に従う医薬組成物の投与は、標的組織がその経路を介して利用可能である限り、任意の一般的経路を介してもよい。例示的实施形態において、医薬組成物は任意の従来の末梢法により、例えば、静脈内、皮内、筋肉内、皮下、乳房内、腹腔内、髄腔内、球後、肺内（例えば、時限放出）により；経口、舌下、経鼻、頬側、気管内、経肛門、経腔、経粘膜、経肺または経皮送達により、坐薬により、または特定の部位での外科的移植により、対象に導入されてもよい。一実施形態において投与は非経口（静脈内、皮内、腹腔内、筋肉内および皮下を含む）である。

【0593】

処置はある期間にわたり単一の用量または複数の用量からなってもよい。本発明の組成物の制御された連続的放出もまた企図される。

【0594】

補足的活性成分もまた組成物中に組み込まれ得る。医師による使用向けに、化合物は、GIPまたは新規GIP類似体のある量を含む投薬量単位形態で、別の治療薬、例えば、グルコース降下薬、胃排出調節薬、脂質降下薬、または食物摂取阻害薬を伴い、または伴わず、提供されるであろう。例えば血糖のコントロールまたは胃排出のコントロールおよび胃排出が有益に緩徐または調節される病態における使用向けGIPまたは新規GIP類似体の治療有効量は、食後血糖レベルを減少させる量であり、好ましくは約8または9mM以下まで、もしくは血糖レベルが所望どおり低減されるような量である。糖尿病またはグルコース不耐性患者において、血漿グルコースレベルは正常人より高い。かかる人において、食後血糖レベルの有益な低減または「平滑化」が得られてもよい。当業者により認識されるであろうとおり、治療薬の有効量は、患者の健康状態、得られるべき血糖レベルもしくは胃排出の阻害レベル、または所望の食物摂取量低減レベル、および他の因子を含め、多くの因子に伴い変化するであろう。ある場合において、GIPポリペプチドおよび少なくとも1個の他の活性薬剤、例えば、エキセンディンまたはGLP1またはそれらのアゴニスト、アミリン、アミリンアゴニスト類似体、CCKまたはCCKアゴニスト、もしくはレプチンまたはレプチンアゴニストまたは小分子カンナビノイドCB1受容体アンタゴニスト、 β -ヒドロキシステロイド脱水素酵素-1インヒビター、シブトラミンおよび糖尿病または肥満の処置用に市販される他の薬物などの、別の食物摂取量低減、血漿グルコース降下または血漿脂質改変薬剤を、単一の組成物または投与用溶液と共に、提供することが簡便であるだろう。全体を通じて考察されているとおり、GIPポリペプチドは少なくとも1個の他のかかる活性薬剤を含んでなるGIPハイブリッドであってもよい。他の場合において、追加的薬剤を前記GIPポリペプチドと別個に投与することがより有

利であり得る。

【0595】

一実施形態においてGIPポリペプチドは、アミリンもしくはアミリン類似体アゴニスト、サケカルシトニン、コレシストキニン（CCK）またはCCKアゴニスト、レプチン（OBタンパク質）またはレプチンアゴニスト、エキセンディンまたはエキセンディン類似体アゴニスト、またはGLP-IもしくはGLP-I類似体アゴニストを含んでなる他の化合物および組成物を含むが、限定はされない、長期間または短期間の作用を呈して血糖を降下させる、胃排出を低減または阻害する、胃分泌を低減または阻害する、または栄養利用性を低減する1つまたは複数の他の化合物および組成物と、別個に、または共に投与されてもよい。好適なアミリンアゴニストとしては、例えば、[²⁵, ²⁸, ²⁹プロ-] ヒトアミリン（「プラムリンチド」としても知られるとともに、米国特許第5,686,511号明細書および米国特許第5,998,367号明細書に記載される）が挙げられる。使用されるCCKは好ましくはCCKオクタペプチド（CCK-8）、より好ましくはその硫酸化型である。レプチンは、例えば、（ペリモンテール（Pelleyunter）ら、Science 269:540-3頁（1995年）；ハラス（Hallas）ら、Science 269:543-6頁（1995年）；カンプフィールド（Campfield）ら、Science 269:546-9頁（1995年））において考察される。好適なエキセンディンとしてはエキセンディン-3およびエキセンディン-4が挙げられるとともに、エキセンディンアゴニスト化合物としては、例えば、PCT国際公開第99/07404号パンフレット、国際公開第99/25727号パンフレット、および国際公開第99/25728号パンフレットに記載されるものが挙げられる。好適な薬剤としてはまた、様々な抗糖尿病薬、例えばメトホルミン、スルホニル尿素、TZDも挙げられる。別の実施形態においてGIP類似体またはハイブリッド、例えば0601GIP3794の、インクレチン模倣物、例えば、エクセナチドまたはリラグルチドを伴う併用療法が提供される。さらなる実施形態において準治療量のインクレチン模倣物が使用され、これはGIP化合物と併用される時、治療上の利益を提供する。

【0596】

従って、一実施形態において、特に糖尿病患者またはグルコース不耐性者などのグルコースレベル上昇に付随する病態を被る患者、より詳細には血漿グルコースレベルが正常人より高い2型糖尿病患者において、かかる個人におけるGIP治療は、GIPまたは新規GIP類似体の投与の前またはそれと同時の食後血糖レベルの有益な低減または「平滑化」により利益をもたらすであろう。

【0597】

2型糖尿病患者におけるグルコースレベル調節に効果的であることが示されているGLP-I、GLP-I類似体およびエクセナチドなどの模倣物とは対照的に、GIPのインスリン分泌刺激効果は正常人と比較して糖尿病対象において有意に低減される。理論によって制約されないながら、GIPのインクレチン効果は持続性高血糖の間減弱される一方、GIPまたはその類似体は、糖尿病患者においてグルコースコントロールが改善されると、これらの個人において健常対象におけるその作用と同様の効力を伴い作用するであろうことが考えられる。このように本発明に従えばGIP非感受性はそれを必要とする患者において、然るべき薬剤または手段によるグルコース降下または食後血糖レベルの低減もしくは「平滑化」を、グルコース降下を可能にする、またはさらに遷延させるであろうGIPまたは新規GIP類似体の投与の前またはそれと同時に、実現することにより低減され得る。一実施形態において薬剤または手段はGIP投与の少なくとも1日前に提供される。別の実施形態において薬剤または手段はGIP投与前に提供されるとともに十分なグルコース降下が観察される。

【0598】

本明細書において述べられるとおり好適な薬剤としては、エクセナチド、メトホルミン、スルホニル尿素、またはそれらの組み合わせが挙げられる。主なグルコースコントロールのエンドポイントは当該技術分野において医師に周知の手段により計測され得る。1つ

の方法は単純に血糖レベルを食後に測定することである。もう1つは、当該技術分野において周知のとおりHbA1cレベルを計測することである。

【0599】

特に好適な標的集団は、グルコース降下薬（エクセナチドなど）での処置中に正常グルコース濃度を達成できない患者である。ヘモグロビンA1c（HbA1c）と呼ばれるある型のヘモグロビンが、グルコースがヘモグロビンに付着すると形成される。これは血糖レベルが高い時のみ起こる。ヘモグロビンA1cレベルは、例えば2～3ヶ月にわたる、対象の過去の平均血糖値を計測するため使用され得る。非糖尿病患者の正常HbA1c値はおよそ4.0～6.2パーセントである。米国糖尿病協会（American Diabetes Association）は、糖尿病からの合併症を最小化するため、糖尿病患者についてこれが7パーセント未満であるべきことを推奨している。エクセナチドなどのグルコース降下治療にもかかわらず、かなりの数の患者がいまだHbA1c上昇を伴ったままであり得る。結果的に、一実施形態においてHbA1cレベルが（グルコース降下薬での処置にもかかわらず）正常値、少なくとも7パーセント、少なくとも8パーセント、少なくとも9パーセントまたは少なくとも10パーセントを上回ったままのかかる対象は、本発明のGIP治療および新規補助治療処置に好適な対象である。さらに別の実施形態においてHbA1cレベルは正常より高いが、6.5%以下、7%以下、7.5%以下、8.0%以下、8.5%以下、9.0%以下、9.5%以下、または10%以下である。さらに別の実施形態において、HbA1cレベルの低減は単剤治療で正常レベルまで低減されないながら、好ましくは、本発明の新規補助治療GIP投与または適用前に、処置前レベルから少なくとも10パーセント、少なくとも20パーセント、少なくとも30、40、50、60、70、80または少なくとも90パーセント低減される。かかる患者においては、処置患者、例えば糖尿病患者における高血糖の低減（例えば、エクセナチドによるとき）がGIP非感受性を低減するよう患者を整えることから、GIPを伴う補助治療が本発明に従い指示される。2型糖尿病患者における慢性高血糖病態がGIPのインスリン分泌刺激反応を減弱させる一方、エクセナチド処置の結果から生じる血糖コントロール改善は、例えば、膵β細胞のGIP刺激に対する応答性を回復するであろう。それゆえエクセナチド（または他のグルコース降下薬または、グルコースを降下させる、または胃排出を低減または阻害する薬剤または方法）を備える薬理学的用量のGIPまたは新規GIP類似体のGIP治療または新規補助治療（例えば同時投与、GIPファイブリッド、GIP融合タンパク質）は糖尿病患者またはグルコース上昇に付随する病態を患う患者においてGIP感受性を実現するとともに所望の正常血糖を導くであろう。GIPにはGLP1の胃排出効果が欠如していることから、悪心が回避されてもよく、ひいてはGLP1より高用量のGIP投薬レジメンの使用が容認される。さらに別の実施形態において、GIP治療または新規補助治療はHbA1cレベルを少なくとも正常レベル、または少なくとも10パーセント、少なくとも20パーセント、少なくとも30、40、50、60、70、80または少なくとも90パーセントまで、処置前（GIP治療前または新規補助治療前）レベルから低減するであろう。

【0600】

いまださらなる実施形態において、GIP治療または新規補助治療は少なくとも相加的に、および好ましくは相乗的に作用して、用量、投薬、総量、頻度または本明細書に述べられるとおりの別の薬剤に付随する処置の程度を低減できる。例えば、かかるGIPまたは新規補助治療は結果として、総量、用量、投薬の頻度、または他の薬剤に付随する処置の長さにおける、少なくとも10、20、30、40、50、60、70、80または90%の低減をもたらすことができる。薬剤は、エキセンディン-4などのグルコース降下薬、または糖尿病または本発明の方法および組成物から利益を得る他の病態用の任意の他の薬剤であり得る。

【0601】

本発明のGIPポリペプチドは、遊離塩基、または、界面活性剤（例えば、ソルビタンモノオレエート、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート（トゥイーン（Twee

10

20

30

40

50

n) 20)、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート(トウイーン(Tween) 80)、レシチン、ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレン共重合体(プルロニック(Pluronic))、ヒドロキシプロピルセルロース、)または錯体生成剤(例えば、ヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン、スルホブチルエーテル- β -シクロデキストリン(カプチソール(Captisol))、ポリビニルピロリドン)と好適に混合される水中の薬理学的に許容される塩の溶液としての投与用に調製されてもよい。薬剤的に許容される塩としては酸付加塩(タンパク質の遊離アミノ基で形成される)が挙げられるとともにこれは、例えば、塩酸またはリン酸などの有機酸、または酢酸、シュウ酸、酒石酸、マンデル酸、および同様の酸などの有機酸で形成される。遊離カルボキシ基で形成される塩もまた、無機塩基、例えば、ナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、または水酸化第二鉄など、およびイソプロピルアミン、トリメチルアミン、ヒスチジン、プロカインおよび同様のものなどの有機塩基に由来し得る。かかる生成物は当業者に周知の手順により容易に調製される。分散液もまた、グリセロール、液体ポリエチレングリコール、およびそれらの混合物中および油中で調製され得る。通常の貯蔵および使用条件下で、これらの調剤は微生物の成長を予防するための保存剤を含む。

【0602】

一実施形態において、本発明の医薬組成物は、例えば、注射または注入を介する、非経口投与に好適となるよう調合される。一実施態様において、GIPポリペプチドは水性担体中、例えば、約3.0~約8.0のpH、好ましくは約3.5~約7.4、約3.5~約6.0、約3.5~約5.0または約3.7~約4.7のpHの緩衝溶液中に懸濁される。有用な緩衝液としては、酢酸ナトリウム/酢酸、乳酸ナトリウム/乳酸、アスコルビン酸、クエン酸ナトリウム-クエン酸、重炭酸ナトリウム/炭酸、コハク酸ナトリウム/コハク酸、ヒスチジン、安息香酸ナトリウム/安息香酸、およびナトリウムリン酸、およびトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンが挙げられる。持続製剤または徐放性調剤「デポー」の形態が使用されることで、治療的に有効量の調剤が経皮注射または送達後血流中に何時間または何日にもわたり送達されてもよい。

【0603】

注射可能な使用に好適な医薬組成物としては、滅菌水溶液または分散液および滅菌された注射可能な溶液または分散液の即時調製用滅菌粉末が挙げられる。全ての場合において、形態は無菌であるべきであるとともに容易に注射可能な程度まで流体であるべきである。製造および貯蔵の条件下において安定であることもまた本発明のGIPポリペプチドにとって望ましいとともに、細菌および真菌などの微生物の汚染作用に対し保護されなければならない。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール(例えば、ソルビトール、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコール、および同様のもの)、ジメチルアセトアミド、クレモルフォール(cremophor)EL、それらの好適な混合物、および油(例えば、大豆、ゴマ、ヒマシ、綿実、オレイン酸エチル、ミリスチン酸イソプロピル、グリコフロール、トウモロコシ)を含む、溶媒または分散液培地であり得る。適正な流動性が、例えば、レシチンなどのコーティングの使用により、分散液の場合に必要なとされる粒径の維持により、および界面活性剤の使用により維持され得る。微生物の作用の予防は、様々な抗細菌性抗真菌薬、例えば、メタクレゾール、ベンジルアルコール、パラベン(メチル、プロピル、ブチル)、クロロブタノール、フェノール、フェニル水銀塩(酢酸、ホウ酸、硝酸)、ソルビン酸、チメロサル、および同様のものによりもたらされ得る。多くの場合において、等張化剤(例えば、糖類、塩化ナトリウム)を含むことが好ましいであろう。注射可能な組成物の持続的吸収は組成物における吸収を遅延する薬剤(例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチン)の使用によりもたらされ得る。

【0604】

注射可能な滅菌溶液は、必要に応じて、活性化化合物を必要とされる量で然るべき溶媒中に上記に列挙される様々な他の成分を伴い取り込むことにより調製されてもよく、ろ過滅菌が続く。一般に、分散液は様々な滅菌された活性成分を塩基性分散培地および上記に列

10

20

30

40

50

挙げられるものからの必要とされる他の成分を含有する滅菌媒体中に取り込むことにより調製される。注射可能な滅菌溶液用滅菌粉末の場合において、調製の例示的方法は、活性成分の粉末に加え任意の追加的な所望の成分を予め滅菌ろ過されたそれらの溶液から産出する真空乾燥および凍結乾燥技術である。

【0605】

一般に、治療的または予防的に有効量の本GIPポリペプチドは、年齢、体重、およびレシピエントの疾患または代謝性病態もしくは障害の状態または重症度により決定されるであろう。例えば、「Remington's Pharmaceutical Sciences」697-773頁を参照されたい。ワンおよびハンソン(Wang and Hanson)、「Parenteral Formulations of Proteins and Peptides: Stability and Stabilizers」、Journal of Parenteral Science and Technology、Technical Report No. 10、補遺42:2S(1988年)もまた参照されたい。典型的には、約 $0.001\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日～約 $1000\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日の間の投薬量が使用されてもよいが、それ以上またはそれ以下が、技術のある医師が認めるであろうとおり、使用されてもよい。投薬は、製剤に応じて、1日1、2、3、4回またはそれ以上、または週に1回、月に1回、または3ヶ月に1回など、より少ない頻度であってもよいとともに、本明細書に記載されるとおりの他の組成物と併せてもよい。本発明は本明細書に引用される投薬量に限定されないことは留意されるべきである。

【0606】

然るべき投薬量は関連する用量反応データと併せて確立された代謝性病態または障害レベルの測定用アッセイの使用を通じ確定されてもよい。最終的な投薬量レジメンは、薬物の作用を調整する因子、例えば、薬物の特異的活性、損傷の重症度および患者の応答性、年齢、病態、体重、性別および患者の食事、任意の感染の重症度、投与時間および他の臨床的因子を考慮して、主治医により決定されるであろう。試験が行われるとき、特異的疾患および病態用の然るべき投薬量レベルおよび処置の持続時間に関して、さらなる情報が現れるであろう。

【0607】

有効量は典型的には、約 $0.5\sim 30\mu\text{g}\sim 5\text{mg}$ /日、好ましくは約 $10\sim 30\mu\text{g}\sim 2\text{mg}$ /日およびより好ましくは約 $5\sim 100\mu\text{g}\sim 1\text{mg}$ /日、最も好ましくは約 $5\mu\text{g}\sim 500\mu\text{g}$ /日の範囲で、 50kg の患者に対し、単一または分割用量および/または2、3、4回またはそれ以上の投与の、制御された連続的放出で投与されるであろう。一実施形態においてGIP化合物は、1日当たり約 $0.5\mu\text{g}\sim 5\text{mg}$ の用量を単一もしくは分割用量または制御された連続的放出で、または1用量当たり約 $0.01\mu\text{g}/\text{kg}\sim 500\mu\text{g}/\text{kg}$ で、より好ましくは約 $0.05\mu\text{g}/\text{kg}\sim 250\mu\text{g}/\text{kg}$ 、最も好ましくは約 $50\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満で、末梢投与される。

【0608】

従って、例示的用量は1日に与えられるべき薬物の総量および1日に投与される投与回数から算出され得る。例えば、例示的用量は、約 $0.125\mu\text{g}/\text{用量}$ ($0.5\mu\text{g}$ の1日4回投与)～約 $2\text{mg}/\text{用量}$ (2mg の1日1回投与)の範囲であり得る。他の投薬量は約 $0.01\sim 100\mu\text{g}/\text{kg}/\text{用量}$ の間であり得る。投与されるべき正確な用量は当業者により決定されてもよいとともに、特定の化合物の効力、ならびに年齢、体重および個人の病態に依存する。投与は、治療上の利益、例えば栄養利用性の抑制、食物摂取量、体重減少またはコントロール、血糖または血漿脂質の降下または調節、が所望である時はいつでも、例えば、症状の第1の徴候において、または肥満、真性糖尿病、またはインスリン抵抗性症候群の診断直後に、開始されるべきである。一実施形態においてGIP化合物は予防的に投与される。投与は任意の経路、例えば、注射、好ましくは皮下または筋肉内、経口、経鼻、経皮等によってもよい。特定の経路、例えば経口投与用投薬量は、低下する生体利用能を補うべく、例えば、約 $5\sim 100$ 倍だけ増量されてもよい。

【0609】

一般に、G I P化合物は、患者への投与のため、安定で安全な医薬組成物中に調合されてもよい。本発明の方法における使用に企図される医薬製剤は、およそ0.01~20% (w/v)、好ましくは0.05~10%のG I P化合物を含んでなってもよい。G I P化合物は、約3.0~約7.0の最終組成物のpHを可能とする、酢酸、リン酸、クエン酸またはグルタミン酸緩衝液中であってもよく、炭水化物または多価アルコールを等張性調整剤として、および場合により、m-クレゾール、ベンジルアルコール、メチル、エチル、プロピルおよびブチルパラベンおよびフェノールからなる群より選択されるおよそ0.005~5.0% (w/v)の保存剤を含む。かかる保存剤は一般的に、調合されたペプチドが複数回使用の産物に含まれるのであれば、含まれる。本発明の詳細な実施形態において、本発明の医薬製剤は、例えば、本実施形態において、約0.01%~約98% w/wの間、または約1~約98% w/wの間、または好ましくは80%~90% w/wの間、または好ましくは約0.01%~約50% w/wの間、またはより好ましくは約10%~約25% w/wの間のG I P化合物の濃度の範囲を含んでもよい。注射に十分な量の水が、溶液の所望の濃度を得るため使用されてもよい。本明細書に記載される医薬製剤は凍結乾燥されてもよい。例示的製剤は、pH 4.2、浸透圧調整剤として9.3%スクロースを含む10 mMの酢酸ナトリウム緩衝溶液中の1 mg/mLのG I P化合物であり得る。

10

【0610】

一実施形態において、医薬製剤が非経口投与される場合、組成物は、0.1 μg/kg ~100 mg/kg 体重/日、好ましくは1 μg/kg ~約50 mg/kg 体重/日の範囲をとるG I Pポリペプチドの用量を送達するような製剤である。例示的な1日の量は、下限が2、5、10、20、40、60または80から上限が80、100、150、200、または250までの範囲内であってもよい。非経口投与は初期ボラスに続く薬物製品の治療上の循環レベルを維持するための連続注入を伴い実行されてもよい。当業者は有効投薬量および投与レジメンを、優れた医療実践および個々の患者の臨床病態により決定されたとおり、容易に最適化するであろう。

20

【0611】

一実施態様において、ヒトの処置のためのG I P化合物、G I P類似体、誘導体またはハイブリッドのいずれの用量も、本明細書に示した用量のごとき同様の効果を導くためにマウスに用いた用量より約5~約50倍低いもので有り得る。さらなる実施態様において、ヒトについての用量は、マウスに用いたものより10~30倍低いもの、または例えば、約3~10 nmol/kg/日で有り得る。別の実施態様において、ヒトにおける用量は、約0.1~20 μg/kg/日で有り得、0.5~10 μg/kg/日で有り得、1~2 μg/kg/日で有り得る。これらの量は、1日当たり単回または複数回の投薬あるいは徐放性送達のいずれかで達成し得る。例えば、週1回摂取ならば徐放性組成物は、本明細書に言及された因子に依存して、および熟練した実践者に知られたG I P化合物の約0.1~1.0 ミリグラムにて提供できる。月1回または2か月に1回投薬は、結果的に調節されるであろう。万一、患者のコンプライアンスを危うくするであろう吐き気が生じた場合、段階的に上昇させた用量計画が用いられ、実質的な吐き気を導かない低用量から開始して、治療に有効な用量が達成されるまで用量を増加させる。

30

40

【0612】

投薬の頻度は薬剤および投与経路の薬物動態学的パラメータに依存するであろう。最適な医薬製剤は、投与経路および所望の投薬量に応じて当業者により決定されるであろう。例えば、「Remington's Pharmaceutical Sciences」、上記、1435-1712頁を参照されたい。かかる製剤は投与される薬剤の物理的状态、安定性、生体内放出速度および生体内クリアランス速度に影響し得る。投与経路に応じて、好適な用量は、体重、体表面積または器官サイズに従い計算されてもよい。然るべき処置用量を決定するために必要な計算のさらなる要件は日常的に当業者により不当な実験なしに、特に本明細書に開示される投薬量情報およびアッセイ、ならびに動物または

50

ヒト臨床治験で観察される薬物動態学的データに照らして、行われている。

【0613】

一実施形態において本発明の製剤は、本発明の活性成分（または本明細書に述べられる補助治療における使用に関する複数の活性成分）の送達能を少なくとも1時間の時間にわたり有する、液体、固体または半固体デポー、徐放性、または連続的放出製剤である。放出は24時間から4ヶ月の期間にわたって起こることができる。かかる徐放性または長時間放出製剤は、ある実施形態において、活性成分を、遅溶解性ペプチド結晶（例えば、米国特許第6,380,357号明細書に開示されるなど）などの緩徐な溶解形態または製剤に、マトリクスに、または、例えば、腸内コーティングまたは遅溶解性コーティング（例えば、活性成分のコーティングされた顆粒）などのコーティングに含んでなることができる。徐放性マトリクスは一般的に生分解性ポリマー、非生分解性ポリマー、ワックス、脂肪質等であるとともに、当該技術分野において周知である（例えば、米国特許第6,368,630号明細書および関連特許、米国特許第6,379,704号明細書および関連特許を参照）。加えて、非経口制御放出送達は、高分子マイクロカプセル、マトリクス、溶液、インプラントおよびデバイスを形成するとともにそれらを非経口的にまたは外科的手段により投与することにより実現され得る。これらの投薬形態は典型的には、ポリマーマトリクスまたはデバイスへのペプチドの一部の封入によってより低い生体利用能を有するであろう（例えば、米国特許第6,379,704号明細書、米国特許第6,379,703号明細書、および米国特許第6,296,842号明細書を参照）。

【0614】

一実施態様において、持続送達のためのGIP化合物、いずれかのGIP類似体、誘導体またはハイブリッドはマイクロカプセル化される。適当なポリマーマトリックスおよび賦形剤処方、ならびにそれらの調製方法は、例えば、2005年12月8日に公開されたUS2005271702に提供されている。そのマトリックスは、注射用微粒子として処方し得るか、または埋込み可能なデバイスとして設計し得る。生物学的に活性なGIP化合物の徐放性のためのかかる組成物は、その上、生物学的適合性ポリマー、GIP化合物および糖を含む、好ましくはそれらから実質的になる。糖は、製造、貯蔵および使用中にペプチドを安定化できる。徐放性組成物は、徐放性組成物の合計重量の約0.1%w/w~10%w/wのGIP化合物を含むことができる。GIPポリペプチドは、徐放性組成物の合計重量の約0.5%w/w~5%w/wで存在できる。一実施態様において、GIP化合物は、約2%~5%で存在するであろう。一実施態様において、最初のバーストを最小化し、徐放性期間を増加させるために、徐放性組成物は低多孔度を有することができる。かかる実施態様において、徐放性組成物は、約0.1mL/gまたはそれ未満の合計ポア体積を有する。加えて、合計ポア体積は、0.0~0.1mL/gおよび0.01~0.1mL/g未満で有り得る。例えば、一実施態様において、合計ポア体積は、水銀侵入ポロシメトリー（mercury intrusion porosimetry）を用いて決定された約0.1mL/gまたはそれ未満である。糖は、徐放性組成物の合計重量の約0.01%w/w~約10%w/wで存在できる。一実施態様において、糖は、徐放性組成物の合計重量の約0.1%w/w~約5%w/wで存在する。別の実施態様において、薬物および賦形剤（群）の合計の組み合わせたパーセント重量は、約2~約8%である。糖は、単糖類、二糖類、糖アルコールまたはその組合せから選択される。一実施態様において、糖は、スクロース、マンニトール、トレハロースおよびその組合せから選択される。いずれかの生物学的適合性の、生物分解性のポリマーを用い得るが、ポリマーは、ポリ（ラクチド）、ポリ（グリコリド）、ポリ（ラクチド- α -グリコリド）、ポリ（乳酸）、ポリ（グリコール酸）、ポリ（乳酸- α -グリコール酸）、ポリカプロラクトン、ポリカルボネート、ポリエステルアミド、ポリ無水物、ポリ（アミノ酸）、ポリオルトエステル、ポリシアノアクリレート、ポリ（p-ジオキサノン）、ポリ（シュウ酸アルキレン）、生物分解性ポリウレタン、そのブレンドおよびその共重合体よりなる群から選択できる。特に注目する一実施態様において、ポリマーは、ポリ（ラクチド- α -グリコリド）を含み、さらに、50:50ポリ（ラクチド- α -グリコリド）であるこ

とができ、さらに、約0.3および0.5 dL/gの間の固有粘度を有することができる。別の実施態様において、初期の放出を低下させ、望ましいCmax対Cave比を持つより長い持続性を提供するように機能する徐放性組成物が本明細書に記載された低多孔度を有する場合、追加の賦形剤が存在できる。かかる剤は、好ましくは、放出速度に対してほとんどまたは全く実質的な効果を有さない。かかる賦形剤は、製造、貯蔵または放出中の剤安定性を提供または増強するものを含む。適当な安定剤は、例えば、炭水化物、アミノ酸、脂肪酸および界面活性剤を含み、それは当業者に知られている。さらに、安定剤は、メチオニン、ビタミンC、ビタミンEおよびマレイン酸のごとき「抗酸化剤」を含む。抗酸化剤は、安定化された水性処方的一部分として存在でき、そのポリマー相に添加できる。さらに、pH緩衝液を添加できる。緩衝液は、弱酸およびその酸の関連する塩、または弱塩基およびその塩基の塩のいずれかを含有する溶液である。緩衝液は、所望のpHを維持して、製造、貯蔵または放出のいずれかの工程中の処方を安定化できる。例えば、緩衝液は、一塩基性リン酸塩もしくは二塩基性リン酸塩またはその組合せあるいは重炭酸アンモニウムのごとき揮発性緩衝液であることができる。他の緩衝液は、限定されるものではないが、酢酸塩、クエン酸塩、コハク酸塩および、グリシン、アルギニンおよびヒスチジンのごときアミノ酸を含む。緩衝液は、合計重量の約0%~約10%、または約10、15、20、25または30 mM未満で処方中に存在できる。

【0615】

本明細書中で考察されるとおり当業者は、処置のための、特にグルコース上昇に付随する病態のための、およびさらには補助治療において使用される時の、本発明のGIPまたは新規GIP類似体の頻度、タイミングおよび用量を容易に決定できる。例えば目的の薬剤のグルコース降下効果時間の経過にわたる用量反応関係が最初に決定され、続いて他の薬剤によって選択される用量に関連する追加されるGIPまたは新規GIP類似体との用量反応関係が決定され得る。一例において2型糖尿病患者は、一晩絶食後の、無作為化された、プラセボ、および様々な量の薬剤の皮下注射に続き、処置および評価される。注射は標準化Sustacal（登録商標）食（7 kcal/kg）の摂取の直前に与えられ、続く300分間に頻繁な間隔で血漿グルコース試料の採取が続く。血糖反応は5時間の血漿グルコース濃度中の時間加重平均（±SE）変化として定量化され得る。グルコース降下効果についてのED₅₀が決定されるとともに、食後血漿グルコース濃度を降下させる薬剤の然るべき用量が選択される。続いて、同様の試験において、この投薬量が患者に投与される一方、様々な用量のGIPまたは新規GIP類似体を投与することで、グルコース降下をさらに降下または遷延させるべく第1の薬剤と併せて作用するであろうGIPの然るべき用量を決定する。

【0616】

さらに、所望であれば、第1の薬剤がいつ、またはどのくらいの期間投与されたかに関連するGIP用量の投与のタイミングが調べられることで最適な投薬レジメンが同定される。例えば、ある用量のエクセナチドが1日目に与えられ、GIPの投与が2日目に、好ましくはエクセナチドのみの結果から生じるグルコース降下反応が観察されたうえで、続き得る。別の実施形態において、GIP投薬を伴う代替的な薬剤投薬が提供される。薬剤はGIP投与と交互に1期間おきに投与されてもよい。期間は、1、2、3、4、5、6、または7日間、1、2、3、または4週間、または1、2、3、4、5または6ヶ月であり得る。期間は、薬剤投与後2日目のGIP投与およびGIP処置後7日目の薬剤投与など、変動し得る。持続放出製剤または方法が各場合において期間を延長するであろう。さらに、GIPまたは新規GIP類似体はβ細胞新生治療または膵島またはβ細胞移植術を伴う（またはその休止後の）補助治療に提供され得、ここでβ細胞は数を増加させ、ひいては処置後のグルコース降下を提供する。結果的に、一実施形態においてかかる処置は、完全に正常血糖を作り出すわけではないが、とはいえ患者にグルコースレベルの十分な降下を提供し、これがGIPに対する耐性を減弱することでさらに、またはより正常なグルコースレベルが食後に実現される。

【0617】

一実施形態においてG I P投与の開始前少なくとも24時間に薬剤は投与されるであろう、または本方法は適用されるであろう。より具体的には介在期間は、24、36、48、60または72時間から4、5、6、7日間またはそれ以上まで、2、3、4、5、6週間またはそれ以上まで、または上記範囲内の時間または分単位の任意の特定の介在時間であり得る。あるいは、血糖レベルが、当該技術分野において知られた方法を使用して、薬剤の投与中および／または投与後に、グルコース降下薬の効果を計測するため当該技術分野において周知であろうとおり定期的または食後にモニタされ得る。G I Pの投与は次に、その時またはそれ以降G I Pまたは新規G I P類似体が投与され得る、G I Pに対する耐性の低減の指標となるある反応レベル、例えば血糖レベルを対象が示す時のいずれかに実施され得る。

10

【0618】

本明細書中で考察されるとおり、G I Pまたは新規G I P類似体を伴う補助治療の別の実施形態において、治療は、十二指腸（または他のより遠位の栄養感知G I P－セクレチン部位）までの栄養を緩徐化し、結果として薬剤または本方法の不在下と比較してグルコースレベルの降下をもたらす薬剤または本方法を含んでなる。さらに別の実施形態において補助治療は胃排出を遅延する薬剤または本方法を含んでなる。本明細書に記載されるなどの（例えば、グアーおよび食物繊維）、粘稠性減速剤に加え、薬剤は胃排出の薬理的減速剤を含むとともに、それにとって胃の緩徐化が生理的イベントである腸ホルモンを含む。かかる薬剤としては、アミリン（例えばプラムリンチド）のアゴニスト、G L P 1およびエキセンディン（例えばエクセナチド、N N 2 2 1 1、Z P－1 0、リラグルチド）のアゴニスト、C C Kのアゴニスト、P Y Yのアゴニスト、セクレチンのアゴニスト、G R Pのアゴニスト、ニューロメジンのアゴニスト、およびウロコルチンのアゴニストが挙げられる。さらなる実施形態としては、直接的または間接的に生理学的胃減速剤のアゴニストシグナル伝達を促進する薬剤がある。かかる薬剤としては、内在性胃減速剤の分泌促進物質、および、ジペプチジルジペプチダーゼインヒビターを含め、その分解酵素のインヒビター、または、特に腎臓における、そのクリアランスの他のインヒビターが挙げられる。他の実施形態としては、G I P分泌細胞での栄養刺激の出現を遅延させる治療方針がある。例としては、消化分泌液（例えば胃酸、膵酵素、胆汁）の阻害またはかかる分泌液の消化効果の阻害（例えば酸中和、酵素阻害、胆汁酸隔離）を通じた消化機能の調節が挙げられる。消化分泌の阻害は、これを直接的に実現する薬剤（例えばソマトスタチン、アミリン、カルシトニン、P Y Y）を介して、または内在性分泌促進経路を妨げる薬剤（例えば管腔C C K放出因子）により、起こり得る。一実施形態において補助治療はより緩徐な胃排出およびより少ない栄養取り込みを実現する、例えばG I P分泌細胞での栄養の流動を低減する方法を含んでなる。1つのかかる実施形態としては、胃バイパス手術、例えばルー・アン・Y（R o u x－E n－Y）胃バイパス手術ラップバンド、または栄養の流れを十二指腸から物理的に迂回させる物理的デバイスがある。

20

30

【0619】

さらに他の実施形態において補助治療は、胃減速剤の分泌を刺激する、またはその分解を緩徐する方法を含んでなる。既述のとおり、グアーガム摂取、例えば1食当たり10グラムのグアーガム粉末は一例である。別の薬剤としては、キサンタムゴムがある。他の栄養吸収の減速剤としては、食物繊維、例えば高繊維食において提供されるとおりのもの、ならびにパンおよびブラン中の粗繊維などが挙げられる。別の薬剤は、アカルボースなどのグルコシダーゼインヒビターであり、これはグルコース（およびフルクトース）が腸刷子縁ジサッカリダーゼにおいてスクロースから生成される速度を緩徐する。さらに別の薬剤はミグリトールで、別のグルコシダーゼインヒビターである。

40

【0620】

さらに別の実施形態において胃排出はペプチドまたはペプチドアゴニストを投与することにより実現または媒介される。ラットに基づけば、次のペプチドの用量が胃排出を緩徐するべく決定されているとともに、本発明の補助治療用薬剤として全般的に好適である：アミリン（例えば、60～600 μ g／日のプラムリンチド用量）；G L P 1またはエキ

50

センディンアゴニスト（例えば、 $10 \sim 50 \mu\text{g}/\text{日}$ のエクセナチド用量範囲）；CCK およびアゴニスト（参照により本明細書に援用される、ヤング（Young）ら「Dose-responses for the slowing of gastric emptying in a rodent model by glucagon-like peptide (7-36) NH₂、アミリン、コレシストキニン、and other possible regulators of nutrient uptake」、Metabolism 451-3頁（1996年）を参照）。他の薬剤としては、セクレチンおよびアゴニスト、CGRPおよびアゴニスト、ニューロメジンアゴニスト、ウロコルチンアゴニスト、GRPおよびボンベシンアゴニスト、ならびにPYYおよびアゴニストが挙げられる。

10

【0621】

本明細書の実施形態において、用量を決定する方法は緩徐の所望程度に基づくことができ、これは容易に決定され得る。例えば、プラムリンチドの治療量（ 30 、 60 、 $90 \mu\text{g}$ ；cong（Kong）ら「The effect of single doses of プラムリンチド on gastric emptying of two meals in men with IDDM」、Diabetologia. 41577-583頁（1998年）を参照）は胃の半分の排出時間をおよそ2倍にした。従って、一実施形態において補助治療は胃の半分の排出時間を約200%だけ増加させる薬剤または本方法を含んでなるが、他の実施形態において胃排出の $t_{1/2}$ は、約25%、50%、75%、100%、200%、300%超および400%またはそれ以上までも、増加し得る。

20

【0622】

例として、胃排出の緩徐化エクセナチドのED₅₀は約 $0.05 \mu\text{g}/\text{kg}$ （例えば、現行で使用されるおおよその臨床用量）で報告されている（コルターマン（Koltermann）ら「Dose-response for inhibition of glucagon secretion and gastric emptying by synthetic exendin-4 (AC2993) in subjects with type 2 diabetes」、Diabetes 49（補遺1）A114抄録460頁（2000年）を参照）。GIPまたは新規GIP類似体を伴う補助治療においてかかる緩徐化は増大した利益を対象に提供するであろう。結果的に、一実施形態において薬学的に許容される用量で同等な胃排出の緩徐化を提供する薬剤または本方法が好適な薬剤または方法である。全体を通じ考察されたとおり、補助治療の他の実施形態は哺乳動物アミリン、（25, 28, 29）プロリン-ヒトアミリン類似体（プラムリンチド）、およびサケカルシトニンを含んでなり、これらはなかで最も強力である。追加的に好適なペプチドおよびそれらのEC₅₀（EC（50）nmol/kg_{sem}（ μg でのEC（50））：プラムリンチド、 $0.09 \sim 0.08 \log (0.07 \mu\text{g})$ ；ヒトアミリン、 $0.19 \sim 0.11 \log (0.15 \mu\text{g})$ ；ラットアミリン、 $0.23 \sim 0.08 \log (0.18 \mu\text{g})$ ；サケカルシトニン、 $0.28 \sim 0.07 \log (0.19 \mu\text{g})$ ；ラットカルシトニン、 $0.94 \sim 0.18 \log (0.64 \mu\text{g})$ ；ラットCGRP、 $2.13 \sim 0.29 \log (1.62 \mu\text{g})$ ；GLP-I（7-36）NH₂、 $2.76 \sim 0.12 \log (1.82 \mu\text{g})$ ；セクレチン、 $3.09 \sim 0.20 \log (1.87 \mu\text{g})$ ；CCK-8、 $12.8 \sim 0.20 \log (2.93 \mu\text{g})$ ；ガストリン放出ペプチド、 $49.9 \sim 0.05 \log (28.5 \mu\text{g})$ ）（ゲデュラン（Gedulin）ら「Comparison of 21 peptides on inhibition of gastric emptying in conscious rats」、Dig. Dis. Week. A742（抄録2967頁）（1996年）；この試験は覚醒ラットにおける用量反応試験（ $n \approx 18$ ラット/ペプチド、ラット体重約200g）での21個のペプチドの胃排出を調節する効力および効果を報告した。ペプチドが非カロリー性色素標識メチルセルロースゲルを伴う経管栄養前5分に皮下注射された。動物は20分後に屠殺されたとともに胃の色素含有量が分光学的に計測され、排出が評価

30

40

50

された。10ペプチドのみが100 μ g/ラットまでの用量で完全に胃排出を阻害することが所見された。用量100 μ gで弱活性または不活性のいずれかであることが所見されたペプチドは、血管作動性腸管ペプチド(VIP)、胃抑制ペプチド(GIP)、腓ポリペプチド、神経ペプチドY、グルカゴン、インスリン(血漿グルコースが一定に維持された場合)、ガストリン、ソマトスタチン、下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド(PACAP38)、アドレノメデュリンおよび脱アミド化プラムリンチドであった。本発明の他の実施形態において薬剤は、抗体または抗体断片アゴニストもしくは小分子アゴニストなどの、本明細書に述べられる任意のペプチドのアゴニストを含んでなる。

【0623】

全体を通じ記載されるとおり、かかる薬剤(またはそれらの組み合わせ)は、別個に、またはGIPと共にのいずれかで投与され得るか、もしくはGIPを備えるキメラ分子、例えば、化学的に連結された融合体または組換え融合体のいずれかを含んでなることができる。全体を通じ記載されるとおり(例えば、本明細書に述べられる回数および期間を参照)、別個に投与される時、GIPは、薬剤または本方法の投与後の指定の時点で、または薬剤もしくは本方法の事前の投与により所望の効果、対象のGIP耐性の低減に付随するかかる効果が得られた時またはその直後に、投与され得る。

【0624】

本発明の医薬組成物および処置方法はヒト医学および獣医学の分野において有用であってもよいことは理解されるであろう。このように処置されるべき被験体は哺乳動物、好ましくはヒトまたは他の動物であってもよい。獣医療目的では、被験体としては、例えば、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマおよびヤギを含む家畜、イヌおよびネコなどのコンパニオンアニマル、外来および/または動物園の動物、マウス、ラット、ウサギ、モルモットおよびハムスターを含む実験動物、およびニワトリ、シチメンチョウ、アヒルおよびガチョウなどの家禽が挙げられる。

【0625】

加えて、本発明は本発明のGIP類似体またはハイブリッドポリペプチド、医薬応用として前記本発明のGIP化合物ポリペプチドを調製するために好適な成分、および医薬応用としてGIP化合物ポリペプチドおよび成分を使用するための指示書を含んでなるキットを企図する。

【0626】

以下の処方方法は、GIP化合物ならびに他の適当な薬物化合物で用いることができる。一般的には、医薬適用につきスクリーニングならびに医薬適用のためにペプチドまたは蛋白質候補物を処方しつつ、製剤科学者は、溶解性および物理的安定性および/または化学的安定性が同一pH範囲内に多少あるものであり、臨床使用のための十分に長い有効期間を処方および有するのを容易にする化合物を探求している。しかしながら、異なるpH範囲での溶解性および安定性の最大を有する化合物は、処方チャレンジを与える。これらの薬物候補物の溶解性および安定性が異なるpH範囲で生じるために、一般的な実践は、ペプチドが最も安定する溶解性を増強するために賦形剤をスクリーニングすることである。しかしながら、多くの場合、溶解性は溶解性エンハンサーによりわずかに増加したが、ペプチド/蛋白質の化学的安定性を危うくした。溶解性および物理的/化学的安定性が異なる範囲のpHにある例示的な生理活性GIP化合物は、AC163794、AC164326、AC164850、AC164190、AC164847、AC164957、AC164947およびAC164948を含む。例えば、この方法についての候補物である薬物化合物は、約pH6で至適な物理的/化学的安定性、等電点(例えば、pI~5)付近での不安定性および化学的安定性を有し得るが、処方についての所望のpH、例えば、pH4付近での所望の溶解性を欠く。対照的に、特性が同一pH範囲を共有する例示的な化合物は、AC164233、AC164815、AC164816、AC164853、AC164854およびAC164855を含む。

【0627】

ペプチドの溶解性および安定性が異なるpH範囲で生じかねないために、一般的な実践

10

20

30

40

50

は、ペプチドが最も安定する溶解性を増強するために賦形剤をスクリーニングすることである。しかしながら、多くの場合、溶解性は溶解性エンハンサーによりわずかに増加するが、ペプチド／蛋白質の化学的安定性を危うくする。しかしながら、本発明は、その問題に対する異なるアプローチに基づいている。方法は、薬物が最大に溶解し、至適に溶解する pH 範囲でまたは十分および所望の濃度にて薬物を可溶性にすることを伴う。長期の物理的または化学的な安定性（典型的には 1～7 日またはそれを超える日数の 40℃で、加速安定性試験により決定される）は、薬物が、引き続いての加工工程までおよび中にただ十分に安定であればよいので、この工程での関心事ではない。長期安定性とは、薬物が輸送中および治療使用に先立ち貯蔵される時間およびかかる条件下を意味する。濃縮された薬物溶液（第 1 の溶液）をバルク溶液として用いて、商業用バイアル等に充填し得る。次いで、薬物溶液を乾燥させて、水相を除去する。これは、典型的には、治療使用のためにバイアル形態または容器においてなされる。使用の直前または使用に際して、その乾燥物質を再構成させ、投与のために用いる。一実施態様において、薬物溶液 pH は、まず最適化されて、所望の薬物濃度（溶解度、mg/mL）（すなわち、第 1 の溶液）を達成する。第 2 には、第 1 の溶液を処理して、凍結乾燥によるごとく水相を除去する。乾燥した物質は安定な貯蔵形態を提供する。第 3 には、治療使用に先立ちまたは際して、凍結乾燥した物質を溶解された薬物が使用期間中安定である適当な投薬濃度であるように、緩衝された溶液で再構成される。

10

【0628】

広範囲の様々な緩衝液を種々の pH で用いて、注目する薬物化合物に関して製剤化学者に知られているように、蛋白質が最大、最適または所望の溶解性を有する第 1 の溶液を提供できる。一実施態様において、緩衝液は酢酸塩のごとく揮発性である。別の実施態様において、緩衝液は揮発性ではないが、使用に先立ち再構成に際して最終処方において化合物の安定性にかかりには影響しない。まだ別の実施態様において、緩衝液は、再構成に際して最終処方を含みその処方に寄与する。

20

【0629】

さらなる実施態様において、注目する薬物に関して製剤化学者により知られた浸透圧調節剤および／または分散／凍結保護物質を用いることができる。ペプチドおよびポリペプチド化合物について、これらの賦形剤は、マンニトール、スクロース、トレハロースまたはグリセロールを含むことができる。これらの化合物を、溶解性が有害に影響されないならば、第 1 の溶液中に含めることができるか、あるいは再構成媒体または希釈剤中に含むことができる。

30

【0630】

当該方法を用いて、これらの化合物が最適に安定である pH 範囲において低い固有溶解性を有する生物分子（例えば、ペプチドまたは蛋白質）を含有する薬物生成物を処方できる。これらの化合物が最適に安定である pH 範囲において低い固有溶解性を有しかねない適当な生物学的に活性な剤の他の例は、GLP-1 ペプチドおよび類似体、免疫グロブリン、抗体、サイトカイン（例えば、リンホカイン、モノカイン、ケモカイン）、血液凝固因子、造血性因子、インターロイキン（IL-2、IL-3、IL-4、IL-6）、インターフェロン（ β -IFN、 α -IFN および γ -IFN）、エリスロポエチン、ヌクレアーゼ、腫瘍壊死因子、コロニー刺激因子（例えば、GCSF、GM-CSF、MCSF）、インスリン、酵素（例えば、スーパーオキシドジスムターゼ、組織プラスミノゲンアクチベーター）、腫瘍抑制因子、血液蛋白質、ホルモンおよびホルモンアナログ（例えば、成長ホルモン、副腎皮質刺激ホルモンおよび黄体ホルモン放出ホルモン（LHRH））、ワクチン（例えば、腫瘍、細菌およびウイルス抗原）；ソマトスタチン；抗原；血液凝固因子；成長因子（例えば、神経成長因子、インスリン様成長因子）；蛋白質インヒビター、蛋白質アンタゴニストおよび蛋白質アゴニスト；アンチセンス分子のごとき核酸；オリゴヌクレオチド；およびリボザイムを含む。これらの化合物が最適に安定である pH 範囲において低い固有溶解性を有する限りは、方法における使用に適当な低分子量剤。

40

【0631】

50

以下は、例示的な溶液および処方を表す例であり、それは本明細書に示したG I P類似体と共に用いることができる。一実施態様、処方1において、第1の溶液は、約pH8.5（範囲：±0.5）にて約5.07%マンニトールを含む10mMトリス緩衝液（範囲：10～50mM）中で約2mg/mLの薬物（例えば、約0.5～5mg/mLの溶解度範囲を有するAC163794、AC164850またはAC164288）である。水相は、例えば、凍結乾燥により除去される。使用に先立ち、物質をpHを7（範囲：±0.5）に持っていくために（酸性）希釈剤で再構成する。別の実施態様、処方2において、第1の溶液は、約pH8.5（範囲：±0.5）にて約5.07%マンニトールを含む10mMグリシルグリシン緩衝液（範囲：10～50mM）中で約2mg/mLの薬物（例えば、AC163794、AC164850またはAC164288（範囲：約0.5～5mg/mL）である。水相は、例えば、凍結乾燥により除去される。使用に先立ち、物質はpHを7（範囲：±0.5）に持っていくために（酸性）希釈剤で再構成する。別の実施態様、処方3において、第1の溶液は、約pH8.5（範囲：±0.5）にて約5.07%マンニトールを含む10mMグリシン（範囲：10～50mM）中で約2mg/mLの薬物（例えば、AC163794、AC164850またはAC164288（範囲：約0.5～5mg/mL）である。水相は、例えば、凍結乾燥により除去される。使用に先立ち、物質はpHを7（範囲：±0.5）に持っていくために（酸性）希釈剤で再構成する。別の実施態様、処方4において、第1の溶液は、約pH8.5（範囲：±0.5）にて約5.07%マンニトールを含む10mMエタノールアミン緩衝液（範囲：10～50mM）中で約2mg/mLの薬物（例えば、AC163794、AC164850またはAC164288（範囲：約0.5～5mg/mL）である。水相は、例えば、凍結乾燥により除去される。使用に先立ち、物質はpHを7（範囲：±0.5）に持っていくために（酸性）希釈剤で再構成する。別の実施態様、処方5において、第1の溶液は、約pH8.0（範囲：-1.0）にて約5.07%マンニトールを含む10mMリン酸緩衝液（範囲：10～50mM）中で約2mg/mLの薬物（例えば、AC163794、AC164850またはAC164288（範囲：約0.5～5mg/mL）である。水相は、例えば、凍結乾燥により除去される。使用に先立ち、物質はpHを7（範囲：±0.5）に持っていくために（酸性）希釈剤で再構成する。

【0632】

本願は共有所有される以下を出典明示してそれらの全てを本明細書の一部とみなす：2005年2月11日に出版され、WO2005/077072として公開されたPCT/US05/04178；2005年2月11日に出版されたPCT/US2005/004351；2005年2月11日に出版されたPCT/US2005/004631；2005年12月15日に出版されたPCT/US2005/045471；米国特許出願第11/055,093号；2005年8月10日に出版された米国特許出願第11/201664号；および2005年8月17日に出版されたUS SN 206,903。本願は、本発明に関連し有益な化合物および使用を教示する。また、ここに出典明示して本明細書の一部とみなすのは、出願人の同時係属出願のLevyらのPCT/US2006/005020である。本明細書に開示された各実施態様に対する代替的な実施態様では、但し、PCT/US2006/005020に開示された特定のG I Pペプチド、類似体および誘導体が特に排除される。本明細書に開示された各実施態様に対する代替的な実施態様では、但し、PCT/US2006/005020に開示された特定のG I Pハイブリッドが特に排除される。本明細書に開示された各実施態様に対するまだ別の代替的な実施態様では、PCT/US2006/005020に特に言及されていない新規のG I Pハイブリッドを生成するために組み合わせた場合、またはPCT/US2006/005020に特に言及されない使用および処置方法のために組み合わせた場合を除いて、但し、PCT/US2006/005020に開示された特定のG I Pペプチド、類似体および誘導体が特に排除される。

【0633】

追加的参考文献

1. フェフマン・HC (Fehmann HC)、ゴーク・B (Goke B)、ゴーク・R (Goke R)、トラウトマン・ME (Trautmann ME)、アーノルド・R (Arnold R)、「Synergistic stimulatory effect of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide and glucose-dependent insulin-releasing polypeptide on the endocrine rat pancreas」、FEBS Lett. 1989年 252:109-12頁。

【0634】

2. ナウク・MA (Nauck MA)、バルテルス・E (Bartels E)、オルスコフ・C (Orskov C)、エベルト・R (Ebert R)、クロイツフェルト・W (Creutzfeldt W)、「Additive insulinotropic effects of exogenous synthetic human gastric inhibitory polypeptide and glucagon-like peptide-1-(7-36) amide infused at near-physiological insulinotropic hormone and glucose concentrations」、J Clin Endocrinol Metab. 1993年 76:912-7頁。

10

【0635】

3. ヴィルスボル・T (Vilsbøll T)、クラルプ・T (Krarup T)、マズバッド・S (Madsbad S)、ホルスト・JJ (Holst JJ)、「Both GLP-1 and GIP are insulinotropic at basal and postprandial glucose levels and contribute nearly equally to the incretin effect of a meal in healthy subjects」、Regul Pept. 2003年;114:115-21頁。

20

【0636】

4. ジョーンズ・IR (Jones IR)、オウエンズ・DR (Owens DR)、ムーディ・AJ (Moody AJ)、ルチオ・SD (Luzio SD)、モリス・T (Morris T)、ヘイズ・TM (Hayes TM)、「The effects of glucose-dependent insulinotropic polypeptide infused at physiological concentrations in normal subjects and type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients on glucose tolerance and beta-cell secretion」、Diabetologia. 1987年 30:707-12頁。

30

【0637】

5. ナウク・MA (Nauck MA)、ヘイムサット・MM (Heimesaat MM)、オルスコフ・C (Orskov C)、ホルスト・JJ (Holst JJ)、エベルト・R (Ebert R)、クロイツフェルト・W (Creutzfeldt W)、「Preserved incretin activity of glucagon-like peptide 1 [7-36 amide] but not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus」、J Clin Invest. 1993年 91:301-7頁。

40

【0638】

6. エラヒ・D (Elahi D)、マクアルーナーダイク・M (McAlloon-Dyke M)、フクナガ・NK (Fukagawa NK)、メネイリー・GS (Menelly GS)、スクラテル・AL (Sclater AL)、マイナケール・KL (Minaker KL)、ハベネール・JF (Habener JF)、アンデルセ

50

ン・DK (Andersen DK)、「The insulinotropic actions of glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) and glucagon-like peptide-1 (7-37) in normal and diabetic subjects」、Regul Pept. 1994年4月 14;51(1):63-74頁。

【0639】

7. ホルスト・JJ (Holst JJ)、グロマダ・J (Gromada J)、ナウク・MA (Nauck MA)、「The pathogenesis of NIDDM involves a defective expression of the GIP receptor」、Diabetologia. 1997年 40:984-6頁。

10

【0640】

8. リン・FC (Lynn FC)、パミール・N (Pamir N)、ング・EH (Ng EH)、マキントッシュ・CH (Mcintosh CH)、キーファー・TJ (Kieffer TJ)、ペダーソン・RA (Pederson RA)、「Defective glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor expression in diabetic fatty Zucker rats」、Diabetes. 2001年 50:1004-11頁。

20

【0641】

9. マイヤー・JJ (Meier JJ)、フッキング・K (Hucking K)、ホルスト・JJ (Holst JJ)、ディーコン・CF (Deacon CF)、シュミーゲル・WH (Schmiegel WH)、ナウク・MA (Nauck MA)、「Reduced insulinotropic effect of gastric inhibitory polypeptide in first-degree relatives of patients with type 2 diabetes」、Diabetes. 2001年 50:2497-504頁。

【0642】

10. マイヤー・JJ (Meier JJ)、ガルウィッツ・B (Gallwitz B)、カスク・B (Kask B)、ディーコン・CF (Deacon CF)、ホルスト・JJ (Holst JJ)、シュミット・WE (Schmidt WE)、ナウク・MA (Nauck MA)、「Stimulation of insulin secretion by intravenous bolus injection and continuous infusion of gastric inhibitory polypeptide in patients with type 2 diabetes and healthy control subjects」、Diabetes. 2004年 53 補遺3:S220-4頁。

30

【0643】

11. ヴィルスボル・T (VilSBoll T)、クノップ・FK (Knop FK)、クラルプ・T (Krarup T)、ヨハンセン・A (Johansen A)、マズバッド・S (Madsbad S)、ラルセン・S (Larsen S)、ハンセン・T (Hansen T)、ペダーセン・O (Pedersen O)、ホルスト・JJ (Holst JJ)、「The pathophysiology of diabetes involves a defective amplification of the late-phase insulin response to glucose by glucose-dependent insulinotropic polypeptide-regardless of etiology and phenotype」、J Clin Endocrinol Metab. 2003年 88:4897-903頁。

40

50

【0644】

12. ヴィルスボル・T (VilSBoll T)、クラルプ・T (Krarp T)、マズバッド・S (Madsbad S)、ホルスト・JJ (Holst JJ)、「Defective amplification of the late phase insulin response to glucose by GIP in obese Type II diabetic patients」、Diabetologia. 2002年 45:1111-9頁。

【0645】

13. ヤング・AA (Young AA)、ゲデュラン・BR (Gedulin BR)、リンク・TJ (Rink TJ)、「Dose-responses for the slowing of gastric emptying in a rodent model by glucagon-like peptide (7-36) NH₂, アミリン, コレシストキニン, and other possible regulators of nutrient uptake」、Metabolism. 1996年 45:1-3頁。

10

【0646】

14. マイヤー・JJ (Meier JJ)、ゴッツェ・O (Goetze O)、アンスティップ・J (Anstipp J)、ハーゲマン・D (Hagemann D)、ホルスト・JJ (Holst JJ)、シュミット・WE (Schmidt WE)、ガルウィッツ・B (Gallwitz B)、ナウク・MA (Nauck MA)、「Gastric inhibitory polypeptide does not inhibit gastric emptying in humans」、Am J Physiol Endocrinol Metab. 2004年 286:E621-5頁。

20

【0647】

15. キーファー・TJ (Kieffer TJ)、「Gastro-intestinal hormones GIP and GLP-I」、Ann Endocrinol 2004年 65:13-21頁。

【0648】

16. ジョーンズ・IR (Jones IR)、オウエンズ・DR (Owens DR)、ムーディ・AJ (Moody AJ)、ルチオ・SD (Luzio SD)、モリス・T (Morris T)、ヘイズ・TM (Hayes TM)、「The effects of glucose-dependent insulinotropic polypeptide infused at physiological concentrations in normal subjects and type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients on glucose tolerance and B-cell secretion」、Diabetologia. 1987年 30:707-12。

30

【0649】

17. ナウク・MA (Nauck MA)、ヘイムサット・MM (Heimesaat MM)、オルスコフ・C (Orskov C)、ホルスト・JJ (Holst JJ)、エベルト・R (Ebert R)、クロイツフェルト・W (Creutzfeldt W)、「Preserved incretin activity of glucagon-like peptide 1 [7-36 amide] but not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus」、J Clin Invest. 1993年 91:301-7頁。

40

【0650】

18. エラヒ・D (Elahi D)、マクアルーナーダイク・M (McAlooner

50

Dyke M)、フクナガ・NK (Fukagawa NK)、メネイリー・GS (Me neilly GS)、スクラテル・AL (Sclater AL)、マイナケール・KL (Minaker KL)、ハベネール・JF (Habener JF)、アンデルセン・DK (Andersen DK)、「The insulinotropic actions of glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) and glucagon-like peptide-1 (7-37) in normal and diabetic subjects」、Regul Pept. 1994年4月 14; 51 (1): 63-74 頁。

【0651】

10

19. ホルスト・JJ (Holst JJ)、グロマダ・J (Gromada J)、ナウク・MA (Nauck MA)、「The pathogenesis of NIDDM involves a defective expression of the GIP receptor」、Diabetologia. 1997年 40: 984-6。

【0652】

20. ヤング・AA (Young AA)、ゲデュラン・BR (Gedulin BR)、リンク・TJ (Rink TJ)、「Dose-responses for the slowing of gastric emptying in a rodent model by glucagon-like peptide (7-36) NH₂, Amylin, cholecystokinin, and other possible regulators of nutrient uptake」、Metabolism. 1996年 45: 1-3頁。

20

【0653】

21. キーフアー・TJ (Kieffer TJ)、「Gastro-intestinal hormones GIP and GLP-I」、Ann Endocrinol 2004年 65: 13-21。

【0654】

22. ディーコン・CF (Deacon CF)、ナウク・MA (Nauck MA)、トフトーニールセン・M (Toft-Nielsen M)、プリダル・L (Pridal L)、ウィルムス・B (Willms B)、ホルスト・JJ (Holst JJ)、「Both subcutaneously and intravenously administered glucagon-like peptide 1 are rapidly degraded from the NH₂-terminus in type II diabetic patients and in healthy subjects」、Diabetes 1995年 44: 1126-1131頁。

30

【0655】

23. ディーコン・CF (Deacon CF)、ヨハンセン・AH (Johnsen AH)、ホルスト・JJ (Holst JJ)、「Degradation of glucagon-like-peptide-1 by human plasma in vitro yields an N-terminally truncated peptide that is a major endogenous metabolite in vivo」、J. Clin. Endocrinol. Metab. 1995年 80: 952-957頁。

40

【0656】

24. キーフアー・TJ (Kieffer TJ)、マキントッシュ・CH (McIntosh CH)、ペダーソン・RA (Pederson RA)、「Degradation of glucose-dependent insulinotropic polypeptide and truncated glucagon-like

50

peptide 1 in vitro and in vivo by dipeptidyl peptidase IV」、Endocrinology. 1995年8月;136(8):3585-96頁。

【0657】

25. プラムボエック・A (Plamboeck A)、ホルスト・JJ (Holst JJ)、カー・RD (Carr RD)、ディーコン・CF (Deacon CF)、「Neutral endopeptidase 24.11 and dipeptidyl peptidase IV are both involved in regulating the metabolic stability of glucagon-like peptide-1 in vivo」、Adv Exp Med Biol. 2003年;524:303-12頁。

10

【0658】

26. フープーソドマン・K (Hupe-Sodmann K)、マクグレゴール・GP (McGregor GP)、ブライデンバーグ・R (Bridenbaugh R)、ゴーク・R (Goke R)、ゴーク・B (Goke B)、トーレ・H (Thole H)、ツィンメルマン・B (Zimmermann B)、フォイクト・K (Voigt K)、「Characterisation of the processing by human neutral endopeptidase 24.11 of GLP-I (7-36) amide and comparison of the substrate specificity of the enzyme for other glucagon-like peptides」、Regul Pept. 1995年8月 22;58(3):149-56頁。

20

【0659】

27. ゴールト・VA (Ghault VA)、フラット・PR (Flatt PR)、ハリオット・P (Harriott P)、ムーニー・MH (Mooney MH)、ベイリー・CJ (Bailey CJ)、オハルト・FP (O'Harte FP)、「Improved biological activity of Gly2- and Ser2-substituted analogues of glucose-dependent insulintrophic polypeptide」、J Endocrinol. 2003年1月;176(1):133-41頁。

30

【0660】

28. ハイंक・SA (Hinke SA)、ゲリング・RW (Gelling RW)、ペダーソン・RA (Pederson RA)、マンハルト・S (Manhart S)、ニアン・C (Nian C)、デムス・HU (Demuth HU)、マキントッシュ・CH (McIntosh CH)、「Dipeptidyl peptidase IV-resistant [D-Ala(2)] glucose-dependent insulintrophic polypeptide (GIP) improves glucose tolerance in normal and obese diabetic rats」、Diabetes. 2002年3月;51(3):652-61頁。

40

【0661】

29. フドソン・FM (Hudson FM)、アンデルセン・NH (Andersen NH)、「エクセナチド：NMR/CD evaluation of the medium dependence of conformation and aggregation state」、Biopolymers. 2004年 76:298-308頁。

【0662】

30. アンデルセン・NH (Andersen NH)、ブロドスキー・Y (Brodsky Y)、ネイディフ・JW (Neidigh JW)、プリケット・KS (Prickett KS)、「Medium-dependence of the seco

50

ndary structure of exendin-4 and glucagon-like-peptide-1」、Bioorg Med Chem. 2002年 10:79-85頁。

【0663】

31. ネイディフ・JW (Neidigh JW)、フェザンマイエル・RM (Fesinmeyer RM)、プリケット・KS (Prickett KS)、アンデルセン・NH (Andersen NH)、「Exendin-4 and glucagon-like-peptide-1:NMR structural comparisons in the solution and micelle-associated states」、Biochemistry. 2001年 40:13188-200頁。

10

【0664】

32. タム・A (Thum A)、フープソドマン・K (Hupe-Sodmann K)、ゴーク・R (Goke R)、フォイクト・K (Voigt K)、ゴーク・B (Goke B)、マクグレゴール・GP (McGregor GP)、「Endoproteolysis by isolated membrane peptidases reveal metabolic stability of glucagon-like peptide-1 analogs, exendins-3 and -4」、Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2002年 110:113-8頁。

20

【0665】

33. フェフマン・HC (Fehmann HC)、ゴーク・B (Goke B)、「Characterization of GIP (1-30) and GIP (1-42) as stimulators of proinsulin gene transcription」、Peptides. 1995年 16:1149-52頁。

【0666】

本出願の全体を通して様々な文献が参照される。これらの文献の全体としての開示は、本発明の関連する技術動向を完全に記載するため、本明細書によって参照により本出願に援用される。

【0667】

30

本発明の理解を補助するため、以下の実施例が挙げられる。本発明に関する実験は、当然ながら、以上で既知となった、またはこれ以降展開される、本発明および本発明のかかる変形例を具体的に限定するものとして解釈されるべきではなく、当業者の範囲内であろうそれらは本明細書に記載されるとともに以下に主張されるとおりの本発明の範囲内にあると考えられる。

【実施例】

【0668】

実施例は、本GIPポリペプチドの調製、およびインビトロおよび／または生体内での本発明のそれらのGIPポリペプチドのテストを説明する。

【0669】

40

実施例1. GIPポリペプチドの調製

本発明のペプチドは、シンフォニー (Symphony) ペプチド合成機 (プロテイン・テクノロジーズ社 (Protein Technologies, Inc.)) において、リンク (Link) アミド樹脂 (ノババイオケム (Novabiochem)) を使用して、0.050~0.100mmolでの0.43~0.49mmol/gの負荷または予め負荷された Wang Resin (Fmoc-Tyr(tBu)-Wang (Wang) 樹脂) 0.63mmol/g (ノババイオケム (Novabiochem)) を伴い構築されてもよい。Fmocアミノ酸 (5.0eq、0.250~.500mmol) 残基が1-メチル-2-ピロリジノン中に0.10Mの濃度で溶解される。他の全ての試薬 (HBTU、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール水和物およびN,N-ジ

50

イソプロピルエチルアミン)が0.55Mのジメチルホルムアミド溶液として調製される。Fmoc保護アミノ酸が次に、HBTU(2.0eq、0.100~0.200mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール水和物(1.8eq、0.090~0.18mmol)、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(2.4eq、0.120~0.240mmol)を使用して2時間、樹脂結合アミノ酸と結合される。最後のアミノ酸結合に続き、ペプチドが、ジメチルホルムアミド中の20%(v/v)ピペリジンを使用して1時間、脱保護される。ペプチド配列が完了すると、シンフォニー(Symphony)ペプチド合成機は樹脂を切断するようプログラムされる。ペプチドの樹脂からのトリフルオロ酢酸(TFA)切断は93%TFA、3%フェノール、3%水および1%トリイソプロピルシランを使用して1時間実行される。切断されたペプチドはtert-ブチルメチルエーテルを使用して沈殿させ、遠心分離によりペレット状にするとともに凍結乾燥させる。ペレットは水(10~15mL)中に再溶解され、ろ過されるとともに逆相HPLCを介しC18カラムおよび0.1%TFAを含有するアセトニトリル/水勾配を使用して精製される。結果としてもたらされるペプチドは逆相HPLCにより均質になるまで精製されるとともに純度がLCMSにより確認される。

10

【0670】

本発明のペプチドを脂肪酸(例えば、オクタン酸およびステアリン酸)でN-キャッピングする一般的な手順は次のとおりである:リンクアミド樹脂上のペプチド(0.1mmol)がNMP(5mL)中に懸濁される。個別のバイアル中で、HBTU(0.3mmol)、HOBt(0.3mmol)がDMF(5mL)中に溶解された後、DIEA(0.6mmol)の添加が続く。この溶液は樹脂に添加されるとともにこの懸濁液は2時間振盪される。溶液はろ過されるとともにNMP(5mL×4)およびCH₂Cl₂(20mL)で完全に洗浄され、乾燥されるとともにTFA切断に1時間供される。切断および精製後の所望のペプチドの収量は約40mgである。

20

【0671】

PEG修飾が溶液中のリジンの遊離ε-アミノ基または精製されたペプチドの末端アミノ基において、市販の活性化されたPEGエステルを使用して実行されてもよい。結果としてもたらされるペグ化誘導体は逆相HPLCにより均質になるまで精製されるとともに純度がLC/MSおよびMALDI-MSにより確認される。

【0672】

実施例2. 結合アッセイ

本発明のGIPポリペプチドは、様々な受容体、例えばGIPR、GLP-1R、アミン受容体においてテストされてもよく、結合アッセイは一般的に当業者に周知の結合アッセイ法を使用する。かかるアッセイとしては、本明細書に記載されるものが挙げられる。

30

【0673】

GIP受容体結合アッセイ:ヒトGIP受容体に対する親和性を有するGIP類似体ペプチドを同定するために、以下のアッセイを高処理能力様式で行った。細胞膜をヒトGIP受容体(HEK-GIPR)を安定に発現しているHEK細胞系の密集培養物から調製し、スナップ凍結し、使用まで-80℃にて貯蔵した。アッセイ時に、膜を氷上で解凍し、氷冷結合緩衝液(20mM HEPES pH 7.4、0.5% BSA、5 mM MgCl₂、1 mM CaCl₂、170 μMホスホラミドン、1.5 mMベスタチン-HCLおよび70 mMバシトラシン)中で0.02mg/mLまで希釈した。異種性結合アッセイを膜とアッセイ緩衝液中で希釈した30 pM 125I-GIPおよび10 nMの個々の未標識GIP類似体とを組み合わせることにより開始した。反応は、一定振盪での室温での90'の平衡まで進めるのを可能とされた。次いで、結合を放射性リガンドの結合および非結合性画分を分離する96ウェルガラスフィルタープレートを介する急速ろ過により終了させた。各類似体についての放射性リガンドの置換を、ヒトGIP(100%)により最大置換およびいずれの競合リガンドの不存在下での非特異的結合(0%)に対して計算した。50%を超える合計リガンドを置換する類似体ペプチドは、「陽性」テスト群に分離し、増加した濃度の未標識類似体(10 pM~1 μ

40

50

M最終濃度)で前記の様式を用いて正確なIC₅₀判定について再テストした。10nM未満のIC₅₀値を有するために50%を超える合計リガンドを置換する類似体ペプチドをスコアした。

【0674】

アミリン結合アッセイ：本発明のある例示的化合物のアミリン受容体への結合の評価はラット脳から調製される側坐核膜において次のとおり実行されてもよい。(200~250)グラムの雄性Sprague-Dawley(登録商標)ラットが断頭術により屠殺される。脳が取り出されるとともに冷リン酸緩衝生理食塩水(PBS)中に定置される。腹側表面から、切断が吻側から視床下部に向かって行われ、嗅索により外側に結合されるとともに45°の角度でそれらの管から内側に伸長される。この前脳基底組織は、側坐核を含むとともに領域Sを取り囲み、計量されるとともに氷冷20mMのHEPES緩衝液(20mMのHEPES酸、23℃でNaOHによりpH7.4に調節される)中で均質化される。膜は、新鮮な緩衝液中で遠心分離により15分間、48,000xgで、3回洗浄される。最終的な膜ペレットは0.2mMのフッ化フェニルメチルスルホニル(PMSF)を含有する20mMのHEPES緩衝液中に再懸濁される。

【0675】

¹²⁵I-アミリン結合を計測するため(ボーモン・K(Beaumont K)ら、Can J Physiol Pharmacol. 1995年7月;73(7):1025-9頁を参照)、4mgの原湿重量の組織からの膜が、12~16pMで¹²⁵I-アミリンを伴い、0.5mg/mlのバシトラシン、0.5mg/mlのウシ血清アルブミン、および0.2mMのPMSFを含有する20mMのHEPES緩衝液中でインキュベートされる。溶液は60分間、2℃でインキュベートされる。インキュベーションは、放射性標識ペプチドの非特異的結合を低減するため0.3%のポリエチレンイミン中に4時間予浸されるGF/Bガラス繊維フィルター(ワットマン社(Whatman Inc.))、クリフトン、ニュージャージー州)を通する過により終結される。フィルターはろ過直前に5mlの冷PBSで、およびろ過直後に15mlの冷PBSで洗浄される。フィルターが取り出されるとともにガンマカウンタにおいて77%の計数効率で放射性が評価される。競合曲線が 10^{-12} ~ 10^{-6} Mの非標識テスト化合物の存在下で結合を計測することにより生成されるとともに4パラメータのロジスティック方程式を使用する非線形回帰(インプロット(Inplot)プログラム;グラフPAD・ソフトウェア(GraphPAD Software)、サンディエゴ)により分析される。

【0676】

CGRP受容体結合アッセイ：本発明の化合物のCGRP受容体への結合の評価は、CGRP受容体を発現することで知られるSK-N-MC細胞から調製される膜を使用することを除き、本質的にアミリンについて記載されるとおりである(マフ、R(Muff, R)ら、Ann NY Acad. Sci. 1992年:657、106-16頁)。結合アッセイは、13,500cpm ¹²⁵I-hCGRP/ウェルまたは21.7pM/ウェル(アマシャム(Amersham))を使用することを除き、アミリンについて記載されるとおり実施される。

【0677】

アドレノメデュリン結合アッセイ：アドレノメデュリン受容体への結合が、アドレノメデュリン受容体を含むHUVEC(カトウ・J(Kato J)ら、Eur J Pharmacol. 1995年、289:383-5頁)を使用して、ウェル当たりの最適細胞数25~30,000を使用するサイクリックAMP用パーキンエルマー(Perkin Elmer)AlphaScreen(商標)アッセイを使用して調査される。cAMPレベルの上昇はHUVECについてはCHO細胞と比較して大きくない。かかるごとく、CHO細胞は所望であればアドレノメデュリン受容体を発現しないことから、これが陰性対照として選ばれてもよい。

【0678】

カルシトニン受容体結合アッセイ：カルシトニン受容体への結合がCHO細胞またはT

10

20

30

40

50

47D細胞を使用して調査されてもよく、これらもまた、当該技術分野において知られるように、カルシトニン受容体を発現する（マフ・R. (Muff R.) ら、Ann N Y Acad Sci. 1992、657:106-16頁およびケストナー・R. E. (Kuestner R. E.) ら、Mol Pharmacol. 1994年、46:246-55頁）。

【0679】

レプチン結合アッセイ：2つのインビトロバイオアッセイがレプチン結合および受容体活性化を評価するため日常的に使用される（例えば、ホワイト (White) ら、1997年、Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 94:10657-10662頁を参照）。アルカリホスファターゼ（「AP」）-レプチン（「OB」）融合タンパク質（「AP-OB」）が使用され、組換えマウスレプチン（陽性対照）またはペプチドの不在下または存在下で、長距離（シグナル伝達）型のマウスOB受容体（「OB-RL」）を形質移入されるCOS-7細胞により、レプチン結合の阻害を計測してもよい。シグナル伝達アッセイは、APレポーターおよびOB-RLコンストラクトを同時導入されるGT1-7細胞中で行われてもよい。マウスレプチンまたはペプチドの刺激に応答して分泌されたアルカリホスファターゼ（「SEAP」）活性が化学発光により計測されてもよい。

【0680】

Y1受容体結合アッセイ：膜は神経ペプチドY1受容体を内在的に発現するSK-N-MC細胞のコンフルエント培養物から調製される。膜は、60pMの[125I]-ヒトペプチドYY（2200Ci/mmol、パーキンエルマー・ライフ・サイエンス (PerkinElmer Life Sciences)）を伴い、および非標識テスト化合物を伴い、60分間、外界温度で96ウェルポリスチレンプレートにおいてインキュベートされる。次にウェル内容物が96ウェルガラス繊維プレート上にパーキンエルマー (PerkinElmer) プレートハーベスターを使用して回収される。乾燥させたガラス繊維プレートがシンチラントと併用されるとともにパーキンエルマー (PerkinElmer) シンチレーションカウンタで計数される。

【0681】

Y2受容体結合アッセイ：膜は神経ペプチドY2受容体を内在的に発現するSK-N-BE細胞のコンフルエント培養物から調製される。膜は、30pMの[125I]-ヒトペプチドYY（2200Ci/mmol、パーキンエルマー・ライフ・サイエンス (PerkinElmer Life Sciences)）を伴い、および非標識テスト化合物を伴い、60分間、外界温度で96ウェルポリスチレンプレートにおいて、インキュベートされる。次にウェル内容物が96ウェルガラス繊維プレート上にパーキンエルマー (PerkinElmer) プレートハーベスターを使用して回収される。乾燥させたガラス繊維プレートがシンチラントと併用されるとともにパーキンエルマー (PerkinElmer) シンチレーションカウンタで計数される。

【0682】

Y4受容体結合アッセイ：CHO-K1細胞は神経ペプチドY4遺伝子をコードするcDNAを一時的に形質移入されるとともに、次に48時間後、膜がコンフルエント細胞培養物から調製される。膜は、18pMの[125I]-ヒト胛ポリペプチド（2200Ci/mmol、パーキンエルマー・ライフ・サイエンス (PerkinElmer Life Sciences)）を伴い、および非標識テスト化合物を伴い、60分間、外界温度で96ウェルポリスチレンプレートにおいて、インキュベートされる。次にウェル内容物が96ウェルガラス繊維プレート上にパーキンエルマー (PerkinElmer) プレートハーベスターを使用して回収される。乾燥させたガラス繊維プレートがシンチラントと併用されるとともにパーキンエルマー (PerkinElmer) シンチレーションカウンタで計数される。

【0683】

Y5受容体結合アッセイ：CHO-K1細胞は神経ペプチドY5遺伝子をコードするc

10

20

30

40

50

DNAを一時的に形質移入されるとともに、次に48時間後、膜がコンフルエント細胞培養物から調製される。膜は、44 pMの[125I]-ヒトペプチドYY (2200 Ci/mmole、パーキンエルマー・ライフ・サイエンス (PerkinElmer Life Sciences)) を伴い、および非標識テスト化合物を伴い、60分間、外界温度で96ウェルポリスチレンプレートにおいてインキュベートされる。次にウェル内容物が96ウェルガラス繊維プレート上にパーキンエルマー (PerkinElmer) プレートハーベスターを使用して回収される。乾燥させたガラス繊維プレートがシンチラントと併用されるとともにパーキンエルマー (PerkinElmer) シンチレーションカウンタで計数される。

【0684】

GLP-I 受容体結合アッセイ：受容体源がRINm5F細胞膜であるとともに、リガンドが[125I] GLP-Iである結合置換アッセイを使用して、GLP-I 受容体結合活性および親和性が計測されてもよい。均質化されたRINm5F細胞膜は、20 mMのHEPES緩衝液中、40,000 cpm [125I] GLP-Iトレーサー、および異なる濃度のテスト化合物を伴い、2時間、23°C、一定の混合でインキュベートされる。反応混合物は、0.3% PEG溶液に予浸されるとともに氷冷リン酸緩衝食塩水ですすがれるガラスフィルターパッドを通してろ過される。結合数はシンチレーションカウンタを使用して測定される。結合親和性は、グラフパッド・プリズム (GraphPad Prism) ・ソフトウェア (グラフPAD・ソフトウェア社 (GraphPAD Software, Inc.)、サンディエゴ、カリフォルニア州) を使用して計算される。

【0685】

実施例3：マウス食物摂取量アッセイ

本発明のGIPハイブリッドポリペプチドは、マウス食物摂取量アッセイにおいて食欲抑制について、および食餌誘発性肥満 (DIO) マウスにおける体重増加に対するその効果についてテストされる。スクリーニングのための実験プロトコルが本明細書に記載される。

【0686】

雌性NIH/スwisマウス (8~24週齢) が0600の照明での12:12時間の明暗サイクル下で集団飼育される。水および標準ペレット状マウス固形飼料は、注記される事項を除き、適宜入手可能である。動物は実験1日前のおよそ1500時間から始め絶食させる。実験の朝、動物は実験群に分けられる。典型的な試験においては、マウス3匹/ケージでn=4ケージである。

【0687】

時間=0分、全ての動物は媒体または化合物の腹腔内注射を、典型的には約10 nmol/kg~75 nmol/kgの範囲をとる量で与えられるとともに、直ちに予め計量された量 (10~15 g) の標準固形飼料を与えられる。食物は、典型的には30、60、および120分で、取り除かれるとともに計量され、消費された食物の量を測定する (モルリー (Morley)、フルード (Flood) ら、Am. J. Physiol. 267:R178-R184頁、1994年)。食物摂取量が、例えば、30、60、120、180および/または240分の時点で残っている食物の重量を、最初に時間=0で提供された食物の重量から減じることにより計算される。有意な処置効果がANOVA (p<0.05) により同定される。有意な差が存在する場合、ダネット検定を使用して (プリズム (Prism) バージョン2.01、グラフPAD・ソフトウェア社 (GraphPAD Software Inc.)、サンディエゴ、カリフォルニア州) テスト平均値が対照平均値と比較される。

【0688】

食物摂取量アッセイにおける活性およびGIPとともに本明細書のハイブリッドの合成に使用される親分子の配列としては、以下のものが挙げられる：

【0689】

【表 4 2】

説明		60分 ED 50 (nmol/kg)	配列	マウス食物摂取量, % 基礎値%				用量
				30分	60分	120分	180分	
PYY(3-36) (配列番号: 47)	1	3	IKPEAPGEDASPEELN RYYASLRHYLNLVTRQ RY-NH ₂	-31	-38	-40	-26	10 nmol/ Kg
エキセンディン-4 (配列番号: 5)		5	HGEGTFTSDLSKQME EAVRLFIEWLKNGGPS SGAPPPS-NH ₂	-41	-60	-61	-60	4.8 nmol/ Kg
エキセンディン-4(1 -28) (配列番号: 287)	11	0.3	HGEGTFTSDLSKQME EAVRLFIEWLKN-NH ₂	-50	-62	-49	-49	16.3 nmol/ Kg
エキセンディン-4(1 -28) [Ala5, Leu14, Phe25] (配列番号: 288)	12	13	HGEGFTSDLSKQLEE EAVRLFIEFLKN-NH ₂	-53	-61	-50	-53	16.7 nmol/ Kg
ラットアミリン (配 列番号33)		9	KCNTATCATQRLANFL VRSSNNLGPVLPPTNV GSNTY-NH ₂	-58	-40	-36.5	-35.5	25 nmol/ Kg
hアミリン(1-7) ^{-11,18} Arg-sCT(8-27)-アミ リン(33-37) (配列番号: 95)	10	26	KCNTATCVLGRLSQEL HRLQTYPRINTGSNTY -NH ₂	-60	-47	-42.5	-32	25 nmol/ Kg
CCK-8 (配列番号: 289)		26	DY(S03) MGWMDF-N H ₂	-92	-56	-27		10 nmol/ Kg

【0690】

実施例 4 : 被肥満 C 5 7 B 1 / 6 (食餌誘発性肥満、または D I O) マウスにおける体重増加

雄性 C 5 7 B L / 6 マウス (試験開始時 4 週齢) に高脂肪 (H F、食餌性キロカロリーの 5 8 % が脂肪) または低脂肪 (L F、食餌性キロカロリーの 1 1 % が脂肪) 固形飼料を摂食させる。固形飼料で 4 週間後、各マウスは既定用量のハイブリッドポリペプチドを連続的に 2 週間皮下送達する浸透圧ポンプ (アルゼット (A l z e t) # 2 0 0 2) を移植される。体重および食物摂取量が毎週計測される (サーウィット (S u r w i t) ら、「Metabolism-Clinical and Experimental」, 44 : 645-51 頁、1995 年)。テスト化合物の効果は、処置群当たり少なくとも 14 マウスの % 体重変化 (すなわち、開始体重からの % 変化) の平均 + / - s d として表される (p < 0.05 ANOVA、ダネット検定、プリズム (P r i s m) バージョン 2.01、グラフ PAD・ソフトウェア社 (G r a p h P A D S o f t w a r e I n c.)、サンディエゴ、カリフォルニア州)。

【0691】

実施例 5 . G I P 化合物およびハイブリッドのさらなるテスト

有機共溶媒を含む水性培地中のエキセンディン-4 の円偏光二色性 (C D) および N M R 試験は、配列、L F E W L K N G G P S S G A P P P S (配列番号: 183) (残基 21-39) を含む C 末端セグメントが P r o 37 の P h e 22 との、および P r o 38 の T r p 25 との相互作用の結果もたらされる固有の疎水性 T r p ケージクラスターを形成

することを明らかにする（14～16）。興味深いことに、生体膜環境を模倣するミセル状態の、ドデシルホスホコリン（DPC）を含む水中でのTrpケージ形成の証拠はない。NMRスペクトルデータは8個のC末端残基の急速な部分運動を示し、これはおそらくはTrp残基のスホコリン頭部基とのエネルギー的に好ましい会合によりTrpケージが不安定化されるためである。このTrpケージクラスターモチーフはペプチドにより示されるタンパク質様三次構造の第1の例であるとともに、生体内分子中でプロテアーゼ感受性部位を遮蔽することによってより大きな代謝的安定性を供与することに関与し得るであろう（17）。

【0692】

このように、一実施態様において、GIP類似体またはハイブリッドは、これらのペプチドがエキセンディンテール配列を切断GIPペプチドのGIP-（1-30）およびGIP-（1-26）のC末端に付加することによりエキセンディン-4について報告されるTrpケージ構造を想定し得るという前提を伴い設計された。加えて、TyrおよびAla残基の、GIPのN末端での置換もまたDPP-IVペプチダーゼ分解に対する耐性を付与するべく行われた。これらの代謝的に安定なGIP類似体またはハイブリッドは、単剤治療として、またはエキセンディン-4（または他のGLP-Iアゴニスト）または、メトホルミン、スルホニル尿素、チアゾリジンジオン、プラムリンチドおよび2型糖尿病の処置用インスリンなどの抗糖尿病薬を伴う補助的治療として、使用され得る。

【0693】

類似体はNIHスイスまたは糖尿病db/dbマウスにおけるGIP受容体結合および急性グルコース降下アッセイによりスクリーニングされ得るとともに、スクリーニングされた。図2～4を参照されたい。インビトロGLP-Iおよびグルカゴン受容体結合カウンタースクリーニングが実行され、受容体特異性が評価された。これらのGIP類似体またはハイブリッドの酵素的安定性もまた、腎刷子縁膜抽出物、RINm5F細胞由来刷子縁膜および精製された中性エンドペプチダーゼ24.11を伴うペプチドのインキュベーションによりテストされ、LC-MS/MSによる切断産物の分析が続く（データは示さず）。

【0694】

類似体は、それらの抗糖尿病効果、特に、インスリン分泌増強（インシュリン分泌効果）およびグルコース降下作用を評価するためさらに特徴付けでき、特徴付けられた。例えば、正常マウスにおいて、化合物Gは、完全長GIPより有意に効果的であることが所見された（図3Aおよび3B）。図4に見られるとおり、化合物Gが糖尿病マウスモデルにおいてグルコースを降下させる、明白かつ長時間作用の効果を示す一方、10倍の高容量でのGIPの作用は中程度であるとともに時間に伴い減退する。化合物Gのグルコース降下プロファイルもまたエキセンディン-4（化合物K）のものと異なり、これはより急速な作用の開始を有する。

【0695】

実施例6. GIP類似体およびハイブリッドのグルコース降下効果の増強

新規GIP類似体またはハイブリッドの生体内でのグルコース降下効果が測定された。図8Aおよび8bはかかる一試験の結果を提供する。点は平均値±semを表す。ペプチドがベースライン試料直後のt=0で2時間絶食させたNIH/スウスマウスに腹腔内注射された。試料がt=60、120、180および240分に採取された。血糖がOne Touch（登録商標）Ultra（登録商標）（ライフスキャン社（LifeScan, Inc.）、ジョンソン・エンド・ジョンソン社（Johnson & Johnson Company）、ミルピタス、カリフォルニア州）で計測された。*p<0.05、対媒体対照；ANOVA、ダネット検定。

【0696】

テストされたのは以下であった：化合物番号A、ヒトGIP酸性型：YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKGKKNDWKHNITQ-OH（配列番号2）；

10

20

30

40

50

化合物番号 I、D-A l a 2 G I P 酸性型：

Y (D-A l a) E G T F I S D Y S I A] V n 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 (配列番号 479)；および化合物番号 G、D-A l a 2 G
I P (1-30)-P S S G A P P P S (配列番号 1) アミド型：

Y (D-A l 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 P S S G
A P P P S-NH2 (配列番号 186)。

【0697】

データは、本明細書の新規 G I P 類似体またはハイブリッドにおける D-アラニン置換位置 2 位が生体内グルコース降下能力を改善することを実証している。完全長への D-A l a の付加でさえ未修飾 G I P と比較してグルコース降下を改善する：改善された活性は最初の 1 時間において見られるが、時間に伴い減退する。対照的に、プロテアーゼ耐性 N 末端および T r p ケージ C 末端シールドの双方が存在する時、明らかに優れた、かつ驚くべきプロファイルが観察される。例えば、双方の側面を含んでなる類似体（化合物 G を参照）のプロファイルは、ピークが t = 120 分であるとともに未変性 G I P またはその D-A l a 2 版より持続的な活性を徐々に増加させる。

【0698】

図 9 は新規 G I P 類似体またはハイブリッドのグルコース降下効果、特に T r p ケージの効果を示す。点は平均値 ± s e m を表す。ペプチドがベースライン試料直後の t = 0 で 2 時間絶食させた N I H / スイスマウスに腹腔内注射された。試料が t = 60、120、180 および 240 分に採取された。血糖が One Touch (登録商標) U l t r a (登録商標) (ライフスキャン社 (L i f e S c a n, I n c.)、ジョンソン・エンド・ジョンソン社 (J o h n s o n & J o h n s o n C o m p a n y)、ミルピタス、カリフォルニア州) で計測された。* p < 0.05、対媒体対照；ANOVA、ダネット検定。

【0699】

テストされたのは以下であった：化合物番号 H、(D-A l a 2) G I P (1-30) アミド型：Y (D-A l 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-NH2 (配列番号 1)；および化合物番号 G、(D-A l a 2) G I P (1-30)-P S S G A P P P S アミド型：Y (D-A l 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 P S S G A P P P S-NH2 (配列番号 186)。

【0700】

データは、C 末端 T r p ケージ配列の存在が、特に切断 G I P 類似体またはハイブリッドにおいて、有意かつ驚くべき利益を G I P 活性に提供することを実証している。

【0701】

様々な類似体およびハイブリッドの生体内グルコース降下効果が測定されたとともに、図 10 A および 10 B に示された。この例において、A c 修飾および P r o 3 置換はグルコース降下能力を有意には亢進しなかった。点は平均値 ± s e m を表す。ペプチドがベースライン試料直後の t = 0 で 2 時間絶食させた N I H / スイスマウスに腹腔内注射された。試料が t = 60、120、180 および 240 分に採取された。血糖が One Touch (登録商標) U l t r a (登録商標) (ライフスキャン社 (L i f e S c a n, I n c.)、ジョンソン・エンド・ジョンソン社 (J o h n s o n & J o h n s o n C o m p a n y)、ミルピタス、カリフォルニア州) で計測された。* p < 0.05、対媒体対照；ANOVA、ダネット検定。

【0702】

テストされたのは以下であった：

化合物 A、ヒト G I P 酸性型：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 (配列番号 2)

化合物 B：(A c Y) (D-A l a) G I P (1-30)-P S S G A P P P S (配列番号 1) アミド型：

A c-Y (D A l 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 P S

10

20

30

40

50

SGAPPPS-NH₂ (配列番号455) ;

化合物C : (Ac-Y)GIP酸性型 :

ACY-AEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKGKKNDWK
HNITQPSSSGAPPPS (配列番号290) ;

化合物D、Pro3GIP(1-30)-PSSGAPPPSアミド : YAPGTFIS
DYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSSGAPPPS-NH₂ (配列番号
245) ;

化合物E、Pro3GIP(1-42)酸性型 : YAPGTFISDYSIAMDKIH
QQDFVNWLLAQKGKKNDWKHNITQ (配列番号291) ;

化合物F、Pro3GIP(1-30)アミド :

YAPGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQK-NH₂ (配列番号2
92) ; および

化合物G、(D-Ala²)GIP(1-30)-PSSGAPPPS (配列番号1)ア
ミド(0601GIP3794とも称される) :

Y(D-Ala)EGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKPSSG
APPPS-NH₂ (配列番号186)。

【0703】

静脈内グルコース負荷に応答しての様々なGIP類似体ハイブリッドのインスリン分泌効果を比較するため、GIP類似体ハイブリッドが静脈内グルコース負荷試験(IVGTTアッセイ)において100 pmol/kg/分の注入用量でラットにおいてテストされた。有意な生体内グルコース降下を示すGIP化合物が選択された。例えば、未変性GIPは基礎グルコース降下において全くまたはほとんど活性を示さないが、(0%および10%のOGTT反応での基礎グルコース降下(最大減少%))、類似体0601GIP4042および類似体ハイブリッド0601GIP3794および0601GIP4178は、それぞれ、極めて一時的に-11%、-20%を示したとともに、基礎グルコース降下について開始を-20%遅延し、およびOGTTアッセイにおいては「ND」(不検出)、-21%および-20%減少であった。0601GIP4178で開始が遅延されたことは、それがそこから緩徐に放出される血漿タンパク質と結合するという見解と一致する。

【0704】

GIP化合物およびハイブリッドの作用期間をIVGTTアッセイにおいて決定した。その典型的なIVGTTアッセイにおいて、テスト試料は、IV注射により投与した。試料のIV注射は、t=-30分にて開始し、t=90まで続けた。IVグルコースは、t=0にて与えた。IVGTTアッセイを用いて作用期間を決定するために、試料をグルコースの投与に先立ち示した1時点にて単回注射としてSC注射した(例えば、t=-240、-120、-60または-30)。IVグルコースは、t=0にて与えた。インスリンレベルは、AUCとして0~30分間にて決定した。ラットIVGTT作用期間アッセイ系における例示的活性を以下に示す

【0705】

【表 4 3】

化合物番号	標準IVGTT アッセイ	アッセイにおける作用期間			
		SC注射 T = -30分	SC注射 T = -60分	SC注射 T = -120分	SC注射 T = -240分
媒体(生理食塩水)	57	--	--	--	--
ヒトGIP	226	57	--	--	--
0601GIP3794	249	198	159	204	79
0601GIP4233	234	115	--	69	--
0601GIP4252	218	--	--	125	63

10

【0706】

GIP、0601GIP3794および0601GIP4042 (dAla2-GIP (1-42) 酸性型) は、規模においてエクセナチドおよびGLP-I の効果と同様に、インスリン分泌刺激反応の静脈内グルコース負荷 (IVGTTアッセイ) に対する有意な亢進を生じた (データは示さず)。0601GIP4178 (オクチルグリシン-GIP (1-30) -エキセンディン-4- (31-39)) は、おそらく血漿タンパク質とのオクチルグリシン基を介してのその会合による、インスリン分泌刺激反応の減少を示したが、これはさらに遷延さえされる作用の持続時間という代償的な利益を提供するであろう。GIP、0601GIP3794および0601GIP4178はグルコース負荷前のインスリンレベルにおいて有意な上昇を生じた。3個全ての類似体がグルコース負荷にตอบสนองしたグルコース移動範囲の有意な低下を生じた (データは示さず)。記載されるとおり、摂食させた、イソフルラン麻酔下HSD雄性ラットがインキュベートされたうえ、大腿動脈および静脈を介しカニューレ処置されたとともに1時間安定化させられた。安定化後、生理食塩水、GIP、またはGIP類似体ハイブリッドの静脈内注入が開始された (t = -30)。t = 0で、5.7 mmol/kgのD-グルコースの静脈内ボラスが2分間にわたり投与された。グルコース計測およびインスリン濃度用試料がグルコース注入の前後 (0~90分) の様々な時点で採取された。

20

30

【0707】

IVGTTアッセイにおいて活性であろう追加的なGIPハイブリッドとしては以下のものが挙げられる：

0601GIP4252 [dAla2] GIP- (1-30) - [オクチルグリシン34] エキセンディン-4 (31-39) ；

0601GIP4285 [dAla2、Leu14、Ala18、glu21] GIP- (1-30) -エキセンディン-4 (31-39) ；

0601GIP4233 [dAla2] GIP- (1-30) -fGLP-1v2- (31-37) ；および

0601GIP4179 [dAla2、Leu14、β-Ala31、β-Ala32] GIP- (1-32) -エキセンディン-4 (31-39) 。

40

【0708】

また、マウス島細胞を用いてインスリン分泌増強アッセイを行った。島細胞を以下の通り単離した。マウス島を従前に記載された技術で単離した (Gotoh M, Maki T, Kiyozumi T, Satomi S, Monaco AP (1985)。マウス膵臓島の単離についての改良方法。Transplantation 40 (4) : 437-438)。略言すれば、0.35 mg/ml Liberase RI (Roche Applied Science) を膵管に注射し、膵臓を37℃にて18分間消化した。島を900gにて20分間Histopaque-1077 (Sigma-Aldrich, Inc.) 不連続密度勾配遠心を用いてない外分泌組織から分

50

離した。インスリン分泌実験の前に、島を5% CO₂を含む37℃の10%ウシ胎仔血清、10 mM Hepes、100 U/ml ペニシリンおよび100 mg/ml ストレプトマイシンを補足したRPMI-1640 (Invitrogen) 中で2日間培養した。インスリン分泌試験管内アッセイを以下の通り行った。グルコースおよびペプチド誘導インスリン分泌をわずかな修飾を含む従前に記載された方法により行った (Tarkiewicz k, Garcia M, Omer A, Van Schilfgaarde R, Weir GC, De Vos P (2001) C-peptide responses after meal challenge in mice transplanted with microencapsulated rat islets. *Diabetologia* 44 (5): 646-53)。10
刺激前に、島を、0.5% BSAを補足し、1.67 mMグルコースを含有するRPMI-1640で3回洗浄し、プレインキュベートした。1時間のプレインキュベーション後に、島を再度3回洗浄して、残余のインスリンを除去し、島は刺激培地を含有する培養インサート (Millicell-PCF, Millicore) で24ウェルプレートに分注した。静置培養を37℃にて1時間三連にてウェル当たり約10個の島で行った。刺激培地は、1、10、100 nMの用量のGIP類似体を含む16.7 mMグルコースを含有した。インスリン分泌実験の終わりにて、島を含むインサートを除去し、培地を採取し、インスリンELISAアッセイ (Crystal Chem, Inc.) のために-20℃にて凍結した。酸エタノールを残った島からのインスリンの一晩抽出のために適用した。ウェル当たりの合計島インスリン含量を用いて、インスリン遊離結果を正規化した。20

【0709】

実施例7. ペプチド安定性およびプロテアーゼ耐性

プロテアーゼに対する耐性がフープソドマン (Hupe-Sodmann) らのプロトコル (Peptides 18 (5): 625-632 頁 (1997年)) に従い細胞系RINmF5を使用して測定された。この十分に分化した細胞系は一般的に膵β細胞モデルとして受け入れられている。指示されたGIP化合物 (30 μM) がRINmF5細胞膜抽出物を伴い37℃でインキュベートされ、かつ親ペプチドの年齢パーセントに比例するペプチドの分解が異なる間隔で6時間、LC-MSを使用してモニタされた。データ (図11を参照) はC末端にTrpケージシールド (例えば、エキセンディン-4テール) を備える [DA1a2]-GIP (1-30)-PSSGAPPPS-GIPハイブリッド (化合物G (0601GIP3794とも命名される) がシールドまたは完全長GIP (1-42) のないその親分子GIP (1-30) より安定であることを示す。従ってTrpケージシールドの付加は、ケージの不在または、未変性GIP-C末端配列などの代替の非ケージ形成配列と比較して驚くべきことに優れたプロテアーゼ耐性を提供する。さらにデータは、GIP (1-30) 切断が外来配列をそのC末端で適応させることができることともに、特に、Trpケージシールド配列を適応させることができることを示す。

【0710】

類似体もまたヒト血漿中での安定性についてテストした。略言すると、テスト化合物を水 (または必要に応じて非常に高い希釈度のDMSO) に溶解し、ヒト血漿またはヒト刷子縁膜 (hKBBM) 調製物に添加し、37℃で時点 (0、1、2、3、4、および5時間) にてインキュベートし、メタノール (1:4比) で抽出し、および上清がLC/MS/MSにより分析した。典型的には、GIP試料を1 mg/mL濃度での水中のペプチドのストック溶液から調製した。血漿安定性試料を最終濃度の20 μg/mLまでストック溶液でヒト血漿プールをスパイクすることにより調製した。hKBBM試料を5 μLの腎臓膜蛋白質 (10 mg/mLにて) を650 μLのPBSに添加し、次いで、最終濃度の20 μg/mLまでそのペプチドのストック溶液をスパイクすることにより調製した。37℃にて異なる時点 (0、1、2、3、4、5時間) でのインキュベーション後、25 μLの各試料をBioTek™ Precision™液体ハンドラーを用いて1%ギ

10

20

30

40

50

酸の水溶液で1:4に希釈した。50 µLのこの希釈試料をSymbiosis PharmaTM systemに注入し、オンライン固相抽出を行った。2ミクロンフィルターをプレカラムとして用いて、分析用(PLRPS, 1X20 mm)カラムの目詰まりを防止した。HPLCポンプ、RelianceTMオートサンプラーおよびオンライン固相抽出(SPE)は、質量分析(AnalystTM)ソフトウェアでドライバーにより制御された統合システム(Symbiosis PharmaTM, Spark Holland, Inc. のパーツであった。Applied Biosystems API 4000TM Qtrap質量分析計は、MRM検出を提供した。0.05%トリフルオロ酢酸(TFA)および0.005%ヘプタフルオロ酪酸(HFBA)の双方を含む、水よりなる溶媒Aおよびアセトニトリルよりなる溶媒Bを組み合わせた95:5から5:95までのHPLC勾配。合計分析時間は、試料当たり約3.6分であった。SPEカートリッジ(Hysphere GP樹脂, 2.0X4mm, 10-15 µm)を試料抽出に用いた。洗浄後、試料を分析的解析のためにメタノールで抽出した。ペプチドについての統合したピーク面積を用いて、以下のパラメーターを生成した: 1) すべてのペプチドについての0時点に対するすべての時点についての正規化された面積カウント; 2) すべてのペプチドについての計算された曲線下面積(AUC)、および3) 100%の値を与える(陽性対照)エキセンディン-4についてのAUCに対する正規化されたすべてのAUC。

【0711】

ヒト血漿安定性アッセイにおいて、「安定」がヒト血漿に対する5時間の処置で約90%超残留としてスコア化され、「中程度安定」が2時間で約75%超残留および5時間で約90%未満残留としてスコア化され、かつ「不安定」が2時間で約75%未満残留としてスコア化された。不安定類似体およびハイブリッドは一般的に、本明細書に提示される方法には不適であろう。例示的化合物がテストされた。安定としてスコア化された化合物は、0601GIP3794、0601GIP4150および0601GIP4233であった。中程度安定としてスコア化された化合物は、0601GIP4149、0601GIP4152、0601GIP4153、0601GIP4176、0601GIP4177、0601GIP4215、0601GIP4284、および0601GIP4289であった。不安定としてスコア化された化合物は、0601GIP1540、0601GIP4147、0601GIP4292、0601GIP4293、および0601GIP4294であった。オクチルグリシンを含有するGIP化合物0601GIP4178は不安定としてスコア化されたが、これはDPP-IV耐性であるとともに、血漿タンパク質に結合してその抽出および検出を複雑化する; それにもかかわらず、これは本明細書の方法の目的では安定化合物であると考えられる。GIP類似体ハイブリッド0601GIP3794およびC末端カエルGLP-1「テール」を有するGIP化合物はエキセンディン-4より驚くべきことに少なくとも安定またはより安定である。

【0712】

実施例8. さらに例示的GIP/アミリン-sCTハイブリッド

アミド型の、さらに例示的GIPハイブリッドが調製された。(本明細書において使用されるとき、小文字の単一アミノ酸コードは「D」アミノ酸を示す。例えば、YaEは位置2位のD-アラニンを示す)

【0713】

【表 4 4】

配列番号	化合物番号	説明	配列
186	1	GIP(1-30)dAla ² -エキセン ディン4(31-39)	YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLL AQKPSSGAPPPS
480	2	GIP(1-30)dAla ² -ミニPEG(8) -hアミリン(1-7)- ^{11,18} Arg-sC T(8-27)-アミリン(33-37)	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLL AQK-miniPEG(8)-K(CNTATC)VLGRLS QELHRLQTYPRNTGSENTY-NH2
481	3	GIP(1-30)dAla ² -bAla-bAla-h アミリン(1-7)- ^{11,18} Arg-sCT(8-27)-アミリン(33-37)	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLL AQK-bAla-bAla-K(CNTATC)VLGRLSQ ELHRLQTYPRNTGSENTY-NH2
51	4	GLP(7-36)	HAEGTFTSDVSSYLEGQAALFIWLV KGR
95	10	hアミリン(1-7)- ^{11,18} Arg-sC T(8-27)-アミリン(33-37)	KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTN TGSENTY-NH2
482		GIP(1-30)dAla ² -GlyGlyGly-h アミリン(1-7)- ^{11,18} Arg-sCT(8-27)-アミリン(33-37)	YaEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLL AQK-Gly-Gly-Gly-K(CNTATC)VLGRL SQELHRLQTYPRNTGSENTY-NH2

10

20

【0714】

化合物が本明細書に記載されるとおり受容体結合についてテストされた：

【0715】

【表 4 5】

化合物番号	GIP RBA	GLP RBA	CT RBA (C1A)	AMY RBA	CGRP RBA	シクラーゼ
3	0.10	448	0.15	0.20	108	199
4	0.13	664	0.12	0.30	110	215
10	Nd	nd	0.03	0.03	2.30	1.40
1	3.8	1000	nd	nd	nd	519

30

【0716】

ハイブリッドは効果的かつ選択的に関連受容体に結合し、かつそれを活性化した。

【0717】

化合物もまた本明細書に記載されるとおり食物摂取阻害、血糖降下アッセイおよび経口グルコース負荷試験（OGTT）においてアッセイされた。食物摂取アッセイ（図13A、14、15および16A～16B）において点はn=4ケージ（マウス3匹／ケージ）の平均値+/-s dを表す。ペプチドがt=0で腹腔内注射された。食物が注射直後に導入され、かつt=30、60、120、および180分での消費量が計測された。*p<0.05、対媒体対照；ANOVA、ダネット検定。

40

【0718】

図13Bにおいて棒は平均値+/-s dを表す。ペプチドがt=-5分で4時間絶食させたNIH／スイス雌性マウスに腹腔内注射された。経管栄養（1.5g/kg）がt=0で与えられた。試料がt=30分で採取された。*p<0.05、対媒体対照；ANOVA、ダネット検定。図17において点は平均値+/-s e mを表す。ペプチドがベースライン試料直後のt=0で2時間絶食させたNIH／スイスマウスに腹腔内注射された。試料がt=60、120および180分に採取された。血糖がONETOUCH ULTRA（ライフスキャン社（LifeScan, Inc.）、ミルピタス、カリフォルニア州）で計測された。*p<0.05、対媒体対照；ANOVA、ダネット検定。図23A

50

および 23B に示されるとおり G I P－アミリン／s C T／アミリンハイブリッドは胃排出を緩徐するとともに細胞内カルシウムを低減するが、これはアミリンファミリーホルモンモジュールの特質である。このようにこれらの G I P ハイブリッド化合物は G I P 類似体のインスリン分泌刺激作用（および他の作用）を胃排出効果またはアミリン模倣物の有益なカルシウム調節効果（例えば骨密度維持に関する）と組み合わせる。これらの G I P ハイブリッドの各々についての一実施形態において G l y リンカー、例えば G l y G l y G l y が使用される。アミリン－s C T－アミリンキメラは、媒体に比較して低い血液グルコースではなかったが、アミリン－s C T－アミリンキメラを含む G I P ハイブリッドは、血液グルコースを有効に低下させた。この活性を持つ G I P およびアミリンファミリーモジュールの例示的化合物は、0601GIP4090 および 0601GIP4091

10

【0719】

【表 46】

	GIP	アミリン-sCT-アミリンキメラ	ハイブリッド
食物摂取	活性でない	活性	活性
OGTT	減少	増加	減少
グルコース マウス	弱い	増加	減少
グルコース ラット	活性でない	増加	活性でない
胃排出	活性でない	活性	活性
iCa	活性でない	活性	活性
BWt (mDIO)	活性でない	活性でない	活性
体組成 (mDIO)	除脂肪体重に対する効果なし	活性でない	改善
心拍数 (ラット)	増加	増加	増加
MAP (ラット)	活性でない	活性でない	活性でない

20

【0720】

G I P ハイブリッドは、所望の受容体を結合および活性させ、ならびに G I P ハイブリッドの選択された特性と一致する生体内特定を示す。これをさらに以下に示す。カラム R B A 1 は、「G I P R B A (R I N) または (% 阻害 10 nM、G I P－L F)」を示し；カラム A 1 は、「インスリンプレ I V G T T における A U C 変化」；カラム A 2 は、「インスリンポスト I V G T T における A U C 変化」；カラム B 1 は、「基礎グルコース低下 8 n m o l / K g」；カラム I V 1 は、「0601GIP379 に比較し蛋白質 I V G T T 活性」；カラム C 1 は、「G L P / G I P / C T C Y C L A S E (R I N) V. 2 活性」を示す。

30

【0721】

【表 4 7】

化合物番号	RBA1	OGTT /GL(%) 350 n mol/Kg	B1	A1	A2	IV1	C1	GLP RBA	CT シ ラーゼ	CGR P RB A	CT R BA
0601 GIP4 091	0.1	-35	-9%, AU C18 0	31.8 +-5. 8	153. 2+-9 .9	<	199	448	40	108	0.15
0601 GIP4 090	0.13	-15	-13 %, AU C18 0				215	664	57	110	0.12
0601 GIP4 501									332		21.3

10

【 0 7 2 2 】

20

実施例 9. G I P 化合物の心筋細胞に対する直接作用

サイクリック AMP (アデノシン 3', 5'-環状モノリン酸) は G タンパク質共役受容体 (G P C R) シグナル伝達経路における重要な第 2 のメッセンジャーである。リガンドの受容体への結合が G タンパク質活性化を導き、これが次には、c AMP の細胞内レベルの調節を担う酵素である、アデニリルシクラーゼを調節する。c AMP レベルの計測値は受容体機能の指標として広く使用される。心筋細胞 G s および G i 共役受容体の活性化が c AMP 産生の尺度として測定された。

【 0 7 2 3 】

細胞単離。新生仔心筋細胞が市販の系を使用して単離された。セルトロン単離キット (Cellutron Isolation kit) (nc-6031) (セルトロン (Cellutron)、ニュージャージー州) およびプロトコルが細胞単離に使用された。スプラグドローリー (Sprague Dawley) 新生仔ラット (1~2 日齢) が断頭され、拍動心が消化緩衝液 (セルトロン (Cellutron) D1 緩衝液) 中に解体され細胞を解離した。15 個のラット心には、6 ml の緩衝液 (セルトロン (Cellutron) D2 緩衝液) での 8 個の消化物で十分である。再懸濁された細胞が緩衝液中 (セルトロン (Cellutron) D3 緩衝液) で、最適な分散液を可能にするとともに凝集塊を壊すためのピペット操作の必要性を最小化するのに十分な時間、インキュベートされた。第 1 の 2 個の消化物から遊離された細胞は、それらの有意な部分が赤血球細胞であることから、廃棄された。再懸濁された細胞がろ過され、および線維芽細胞を除去するため NS 培養液 (セルトロン (Cellutron)、ニュージャージー州) 中、インキュベーター内のプラスチック上で 1 時間予備播種することが可能であった。予備播種の 1 時間後、浮遊細胞が除去されるとともにフラスコが NS 培養液でリンスされる。浮遊細胞およびリンス培養液中の細胞が混合および計数された。残存赤血球細胞は、心筋細胞のものより小さく、計数されなかった。

30

40

【 0 7 2 4 】

細胞播種。実験 0 日目、細胞が単離され、NS 培養液中に 8, 000 / 384 ウェル、50, 000 / 96 ウェルまたは 500, 000 / 12 ウェルで 24 時間、播種された。1 日目、NS 培養液が新鮮 NS 培養液と交換された。推奨された NW (セルトロン (Cellutron)、ニュージャージー州) 培養液が典型のごとく十分な細胞増殖または形態を補助しなかったことが観察された。

50

【0725】

cAMPアッセイ。GIP化合物が、単離され、培養された心筋細胞に対するcAMP誘発についてテストされた。テスト化合物誘発性cAMPレベルが市販のシスビオ(CisBio)(ベッドフォード マサチューセッツ州)HTRF(登録商標)(均一時間分解蛍光)cAMP動的アッセイを使用してGs/Gi384-ウェル接着フォーマットにおいて、基本的には製造者により記載されるとおり、測定された(ガブリエル(Gabriel)ら、「High throughput screening technologies for direct cyclic AMP measurement」、Assay & Drug Dev. Technol. 2:291-303頁(2003年)およびセニ(Cenni)ら、「HTRF(登録商標)cyclic AMP assay:new optimized cell-based assay for better investigation of Gi coupled receptors」、Smart assay for screening、IIR Congress、チューリッヒ(スイス)(2003年)もまた参照)。用量反応が測定された。

10

【0726】

Gsアッセイのための陽性対照は10 μ Mのフォルスコリンであり、および陰性対照は緩衝液であった。Giアッセイのための陽性対照は緩衝液であり、および陰性対照は10 μ Mのフォルスコリンであった。テスト化合物が細胞を伴い30分間、セ氏37度で刺激緩衝液((200ml中に、198.3mlの1 $\times$ HBSS、1mlの1MのHepes、pH7.4まで1MのNaOHで滴定される670 μ lの30%BSAを含有する)中でインキュベートされた。産生されたcAMPを計測するため、細胞が溶解され、およびcAMPが製造者プロトコルに従いアッセイされた。例示的結果が図18A(GIP:ヒトGIP(1-42)酸性型)および18B(GIPハイブリッド化合物G)に示される。Y軸は620nMでとられる計測値によって除される665nMでとられる時間分解蛍光計測値の比である。本実験においてEC50はGIPハイブリッドについて11.7nMおよびGIPについて9.1nMであった。GLP-1およびエキセンディン-4は非常に低度から非有意の活性を示した(データは示さず)。さらに、3つの個々の心筋細胞Gs共役受容体活性化実験から、EC50(nM)はGIPについて15.6、ウロコルチンについて0.7およびGIPハイブリッド化合物Gについて29.8であった。ウロコルチンは陽性対照として使用される既知の心筋細胞Gs共役受容体アクチベーターである。GIPおよびGIPハイブリッドは典型的には、50%より大きい受容体活性化反応を示した。ウスディン(Usdin)ら(Endocrinology 133:2861-2870頁(1993年))は心臓、特に主要な血管の内皮の標識と一致する心内皮を含む、様々なラット組織におけるRNAに対するラットGIP受容体のクローニングおよびそのインサイツハイブリダイゼーションを報告した。結果はGIP化合物が心臓に対し直接作用を提供できることを示す。

20

30

【0727】

実施例10. GIP化合物の投与後の遠隔測定による覚醒ラットにおける循環系効果の計測

40

22.8 $\pm$ 0.8 $^{\circ}$ Cで12:12時間明暗サイクルにおいて飼育された雄性ハーラン・スプラグドローリー(Harlan Sprague Dawley)ラットが使用され、循環系に対するテスト化合物の効果を遠隔測定の使用を通じて試験した。実験は明サイクル中に実施された。遠隔測定により動脈圧、心拍数および動脈dp/dtを示すリアルタイム血行動態の読み取りが、覚醒の、非麻酔下の、無拘束ラットに埋め込まれた無線送信機を介して可能となる。本実施例において、ラットは、媒体、80nmol/kgのGIP(ヒトGIP(1-42)酸性型)、または80nmol/kgの0601GIP3794のいずれかを遠隔静脈内投薬により注射された。遠隔静脈内投薬は血管内留置アクセスポートを通じて実現された(アクセス・テクノロジーズ(Access Technologies)(スコキー、イリノイ州))。ポートは肩甲骨の間の皮膚直下にある筋

50

肉に固定される。カテーテルは頸静脈中に定置する。データは注射後60分まで収集された。

【0728】

図19A～Eに示されるとおりGIPハイブリッドの心拍数増加に対する効果はGIP（ヒトGIP（1-42）酸性型）（図19B）と比べて一過性であったが、GIPハイブリッドが平均動脈圧を低下させた一方でGIPは効果を有さなかった（図19A）とともに、双方の化合物が同様に dP/dt を増加させた（図19C）。図19Dおよび19EはGIPハイブリッドが媒体またはGIPのいずれと比較しても持続的な収縮期および拡張期圧降下を提供することを実証する。ハイブリッド0601GIP4091は、GIPおよびアミリン-sCT-アミリンキメラ化合物10のものと同様のこれらの心血管系パラメーターに対する有利な効果を有した。

10

【0729】

データからは、GIPがインタクトラットにおいて動脈圧を上昇することなしに陽性変力効果を示すことが確認され得る。GIPはまた、変時（心拍数上昇）効果も示す。GIPハイブリッドは、GIPと比較して、心促進を引き起こすこと、および動脈圧の低下を誘起することなく、変力効果の遷延を示す（本明細書では動脈圧（ dP/dt ）の上昇のピーク速度として示される）。従って、GIPハイブリッドは、心仕事量の増加に付随しない血管拡張および灌流上の利益を示すことができる。加えて、収縮期圧または拡張期圧のいずれかの、また双方を含め、持続性降下は、高血圧症ならびに心欠陥関連罹患率および死亡率イベントの低減に結びつく、認知された有益な心血管作用である。

20

【0730】

実施例11. GIPの体重減少に対する効果の欠如

GIP（1-42）およびGIP-DPP-IV耐性類似体／エキセンディンテールハイブリッド（0601GIP3794）の効果が、本明細書に記載されるとおりDIOマウスにおける食物摂取量および体重減少に対する効果についてテストされた。図20Aに示されるとおり、GIPはマウスにおける食物摂取を急性的には阻害しなかったことが観察された。比較して、10分の1の用量でのラットアミリンは、対照と比べ、30分以内に有意な減少を引き起こした。より遅い時点で（60、120分）食物摂取量を減少させるGIPの傾向はアミリン分泌のその刺激による間接効果であった可能性がある。点は $n=4$ ケージ（マウス3匹／ケージ）の平均値 $\pm$ sdを表す。ペプチドが $t=0$ で腹腔内注射された。食物が注射直後に導入され、消費量が $t=30$ 、60、および120分で計測された。 $*p<0.05$ 、対媒体対照；ANOVA、ダネット検定。同様にエキセンディンテールを含んでなるDPP-IV耐性GIP類似体ハイブリッドである、化合物0601GIP3794は、30分で媒体対照摂取との差異がない（図20B）ことに反映されるとおり食物摂取を急性的には阻害しなかった。GIPと同様、より遅い時点で（60、120分）食物摂取量を減少させるこの化合物の傾向はアミリン分泌のその刺激に起因する可能性がある。点は $n=4$ ケージ（マウス3匹／ケージ）の平均値 $\pm$ sdを表す。ペプチドが $t=0$ で腹腔内注射された。食物が注射直後に導入され、消費量が $t=30$ 、60、および120分で計測された。 $*p<0.05$ 、対媒体対照；ANOVA、ダネット検定。GIPおよびGIPアゴニストとは対照的に、エクセナチドおよびGLP1アゴニストは、アミリン分泌を刺激するその効果と無関係に、食物摂取を直接的および急性的に阻害する。食物摂取量の低減は第1の時点で出現する（図20C）。同様に、GLP-1およびエクセナチドの胃排出および食後グルコースプロファイルに対する効果が1型糖尿病対象において報告されており、効果はb細胞およびアミリンの存在に依存しないことを示している。

30

40

【0731】

図21に示されるとおり、GIPは食餌誘発性肥満マウスにおいて体重減少を引き起こさなかった。体重が高脂肪食の摂食により増加したマウス（HF生理食塩水群）において、小型浸透圧ポンプを介して2週間注入されたGIPは体重変化に対し効果を有さなかった。対照的に、30倍低速で注入されたエクセナチドは、低脂肪食を摂食させたマウス（

50

L F 群)において観察される体重変化まで低減した。* $p < 0.05$; ANOVA、対H F生理食塩水。これはG I Pの抗または非異化効果を実証する。対照的に、本明細書においてはアミリン／s C T／アミリンキメラなどの、第2のホルモンモジュールの然るべき選択を有するG I Pハイブリッドが食物摂取量の低減および体重減少を引き起こさなかったことが観察された。また、さらに、エキセンディンファミリーモジュールを含有するG I Pハイブリッドの結果、体重損失を生じる。エキセンディン-G I Pハイブリッド0601G I P4526 [H G E G T F T S D L S K Q M E E E A V R L F I E W L K N (β -A) (β -A) K (# C) -NH2] (配列番号484) [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 (β -A) (β -A) K #] (配列番号483) (ここに、この2つの分子はC末端からC末端へ連結した)は、第7日まで持続した10
体重の低下を示した。また、このハイブリッドは、マウスモデルにおいて食物摂取を低下させた。このハイブリッドは、G I PおよびG L P-1受容体の双方に結合し、それらを活性化した。

【0732】

実施例12. 溶解性および物理学的安定性

本明細書に記載された修飾を含むG I P類似体は、ヒトG I Pまたは0601G I P379のごとき親G I Pと比較して、優れた生理活性、作用期間および／または物理学的な安定性を保持しつつ、医薬処方、貯蔵および投与に対し、少なくともいくつかのp Hにて驚くべきことに良好な溶解性(少なくとも約1mg/mlまたは少なくとも約2.5mg/mlまたはさらに少なくとも約5mg/ml)を有する。以下の方法を用いて、種々の20
p Hにて溶解性ならびに物理学的および化学的な安定性を比較できる。以下の例示的なp Hおよび緩衝液を用いることができる: 30mMクエン酸塩中のp H3.0、30mM酢酸塩中のp H4.0、30mM酢酸塩中のp H5.0、30mMヒスチジン中のp H6.0、30mMヒスチジン中のp H7.0、30mMリン酸塩中のp H8.0および30mMホウ酸塩中のp H9.0。200mlの緩衝液をテストペプチドを含むバイアルに添加して、10mg/mlまたは5mg/ml溶液を達成する。約30秒間のボルテックス後、溶液の出現をF i b e r - L i t e下で観察する。緩衝液をその溶液の合計容積が1000mlに達するまで、200mlアリコートで添加し続ける。溶液の外観は、各200mlの緩衝液を添加した後記録する。ペプチド濃度に対する外観は、透明、わずかにかすんだ、かすんだ、濁ったとして記録した。一実施態様において、G I P類似体は、p H430
~8またはp H5~8での少なくとも2.5mg/ml濃度にて、およびさらにp H4~8またはp H5~7での少なくとも5mg/mlにて透明溶液を達成した。

【0733】

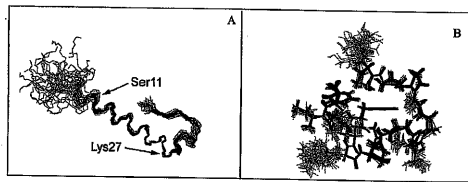
あるp Hでの安定性を評価するために、前記の溶液を2ml S c h o t t バイアルにろ過し、等しく3個のバイアルに分ける。各バイアルの栓をして、堅固に密閉した。第1のバイアルを7日間5℃にて、第2のバイアルを3日間40℃にて、第3のバイアルを7日間40℃にてインキュベートする。インキュベーション後に、すべての試料の外観をF i b e r - L i t e下で記録する。そのペプチド溶液が濁るかまたは沈殿するならば、その溶液をH P L C分析(V y d a c C18カラムを用いる逆相H P L C法)に先立ちろ過して、溶液中に残っている無傷のペプチドの量を決定する。あるいは、生理活性を測定40
できる。安定性は、計算[(テスト日の%ペプチド-5℃のT0での%ペプチド)/5℃のT0での%ペプチド]×100を用いてパーセント効力損失として記録する。図27は、0601G I P5082の例示的p H-対-溶解性プロフィールおよびp H-対-安定性プロフィールを示す。

【0734】

本発明は例示的实施例および実施形態に関して記載しているが、当業者には変形および変更が想起されるであろうことが理解される。それゆえ、付属する特許請求の範囲は、主張されるとおりの本発明の範囲内にある全てのかかる同等な変形を網羅することが意図される。

【図 1 A - 1 B】

Fig. 1



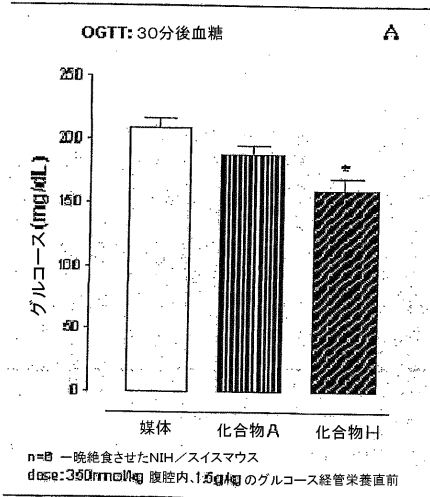
【図 2】

Fig. 2

配列番号	名前	配列	GIP RBA	GLP RBA	グルカゴン RBA	OGTT グルコース低下 (%)
2	GIPヒト	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQKQKNDWKNHTQ-OH	0.29	>1000	>1000	-10
413	GIP (1-30), アミド, ブタ	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-NH2	0.30	>1000	>1000	TBD
5	GIP (1-30), ヒト	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-OH	23	>1000	>1000	1
93	GIP (1-30), フェニル, ヒト	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQKSSGAPPPS-NH2	1.0	>1000	>1000	-9
414	GIP (1-30)-EX (31-39), アミド, ヒト	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQKSSGAPPPS-NH2	3.1	>1000	>1000	-22
294	HG-GIP (1-30), アミド, ヒト	HGEGTFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-NH2	301	>1000	>1000	-10
416	HG-GIP (1-30)-EX (31-39), アミド, ヒト	HGEGTFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQKSSGAPPPS-NH2	351	>1000	>1000	-12
298	YS-GIP (1-30), ヒト	YSEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-NH2	2.8	>1000	>1000	TBD
299	YS-GIP (1-30)-ヒト, アミド	YSEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-NH2	3.1	>1000	>1000	-26
418	YS-GIP (1-30)-EX (31-39), アミド, ヒト	YSEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQKSSGAPPPS-NH2	>1000	>1000	>1000	TBD
297	YG-GIP (1-30), アミド, ヒト	YGEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-OH	6.1	>1000	>1000	TBD
417	YG-GIP (1-30)-EX (31-39), アミド, ヒト	YGEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQKSSGAPPPS-NH2	9.8	>1000	>1000	TBD
5	Ya-GIP (1-30) ヒト	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQKSSGAPPPS-NH2	TBD	TBD	TBD	TBD
166	Ya-GIP (1-30)-EX (31-39), アミド, ヒト	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQKSSGAPPPS-NH2	TBD	TBD	TBD	TBD
236	Ad-GIP (1-42)-COOH	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQKQKNDWKNHTQ-OH	TBD	TBD	TBD	TBD
231	Pre3-GIP (1-42)-COOH	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQKQKNDWKNHTQ-OH	TBD	TBD	TBD	TBD
232	Pre3-GIP (1-30)-NH2	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-NH2	TBD	TBD	TBD	TBD
418	Pre3-GIP (1-30)-EX (31-39), アミド, ヒト	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQKSSGAPPPS-NH2	TBD	TBD	TBD	TBD
419	GIP (1-26)-EX (27-39)	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLKNGGPPSSGAPPPS-NH2	10	153	>1000	TBD
233	39/2 GIP (1-26)-EX (27-39)	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLKNGGPPSSGAPPPS-NH2	95	>1000	>1000	TBD

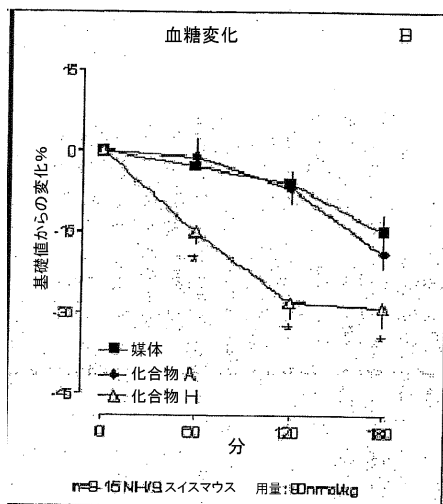
【図 3 A】

Fig. 3A



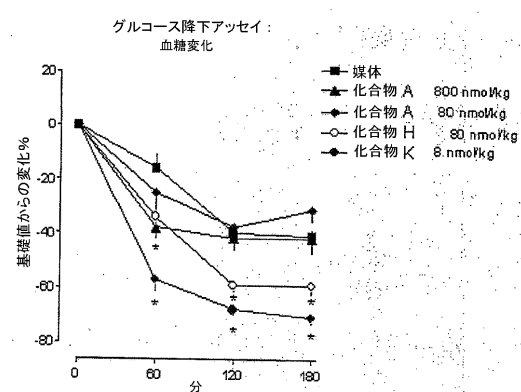
【図 3 B】

Fig. 3B



【図 4】

Fig. 4



【図 5 A】

Fig. 5A

配列番号	化合物番号	配列
100	0601GIP231	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
101	0601GIP232	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
102	0601GIP233	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
103	0601GIP234	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
104	0601GIP235	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
105	0601GIP237	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
106	0601GIP245	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
107	0601GIP247	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
108	0601GIP248	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
109	0601GIP249	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
110	0601GIP250	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
111	0601GIP260	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
112	0601GIP261	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
113	0601GIP262	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
114	0601GIP276	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
115	0601GIP354	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
116	0601GIP378	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
117	0601GIP379	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
118	0601GIP380	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
119	0601GIP417	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
120	0601GIP425	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
457	0601GIP426	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
458	0601GIP427	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
121	0601GIP440	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
122	0601GIP441	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
123	0601GIP442	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY
124	0601GIP464	YAEGETFSDYSIAMDKHQDFVNWLLAQK-リカル-- KONTATCVLGRSGLHRLQTYPRNTGSGNTY

【图 5 D】

Fig. 5D

配列番号	化合物番号	配列
178	0601GIP886	YAEGTFSIDSYAMDKIRQQDFVNWLLAQK-リカー- TCDTATCVLGRLSQELHRLQTYPTRTNGSNT
179	0601GIP1620	YAEGTFSIDSYAMDKIRQQDFVNWLLAQK-リカー- CNSLSTCAQRLAEVLRLQTYPTRTNGSNT
180	0601GIP2221	YAEGTFSIDSYAMDKIRQQDFVNWLLAQK-リカー- CNSLTCAQRLAEVLRLQTYPTRTNGSNT
181	0601GIP2306	YAEGTFSIDSYAMDKIRQQDFVNWLLAQK-リカー- CNSLSTCVLGRLSQELHRLQTYPTRTNGSNT
182	0601GIP2307	YAEGTFSIDSYAMDKIRQQDFVNWLLAQK-リカー- KNCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPTRTNGSNT

【图 6】

Fig. 6

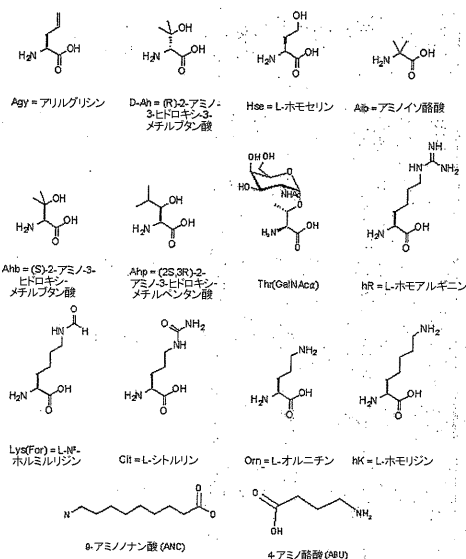


Fig. 5C

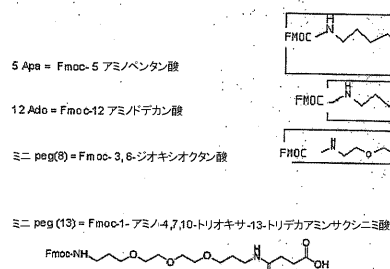
番号	化合物番号	配列
151	0601G1717	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q D F V N W L A A Q -リカ
152	0601G1718	K N T A T C V L G R S S L H R Q T P Y P R T N T G S N Y
153	0601G1719	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q D F V N W L A A Q -リカ
154	0601G1720	K N T A T C V L G R S O E H L R Q T P Y P R T N T G S N Y
155	0601G1721	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q D F V N W L A A Q -リカ
156	0601G1722	K N T A T C V L G R L A D F H L R Q T P Y P R T N T G S N Y
157	0601G1760	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q D F V N W L A A Q -リカ
158	0601G1761	K N T A T C V L G R S O E H L R Q T P Y P R T N T G S N Y
159	0601G1769	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q D F V N W L A A Q -リカ
160	0601G1770	K N T A T C V L G R S O E H L R Q T P Y P R T N T G S N Y
161	0601G1778	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q D F V N W L A A Q -リカ
162	0601G1779	K D C A T C V L R T H A G L S R S Q T P Y P R T N T G S N Y
163	0601G1784	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q D F V N W L A A Q -リカ
164	0601G1785	K N T A T C V L G R A D F H L R Q T P Y P R T N T G S N Y
165	0601G1787	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q D F V N W L A A Q -リカ
166	0601G1788	S C N A T C V L G R A D F H L R Q T P Y P R T N T G S N Y
167	0601G1789	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q D F V N W L A A Q -リカ
168	0601G1790	K N T A T C V L G R S O E H L R Q T P Y P R T N T G S N Y
169	0601G1799	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q D F V N W L A A Q -リカ
170	0601G1802	K N T A T C V L G R S O E H L R Q T P Y P R T N T G S N Y
171	0601G1810	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q D F V N W L A A Q -リカ
172	0601G1843	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q D F V N W L A A Q -リカ
173	0601G1844	K N T A T C V L G R A E L F H R Q T P Y P R T N T G S N Y
174	0601G1845	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q D F V N W L A A Q -リカ
175	0601G1847	K N T A T C V L G R Q D F H L R Q T P Y P R T N T G S N Y
176	0601G1848	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q D F V N W L A A Q -リカ
177	0601G1849	K N T A T C V L G R A D F H R Q T P Y P R T N T G S G P T
178	0601G1851	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q D F V N W L A A Q -リカ
179	0601G1852	K N T A T C V L G R S O E H L R Q T P Y P R T N T G S N Y
180	0601G1855	Y A E G T F I S D Y S I A M D K I R Q D F V N W L A A Q -リカ
181	0601G1856	K N T A T C V L G R A E L F H R Q T P Y P R T N T G S N Y

【图 7】

【图 9】

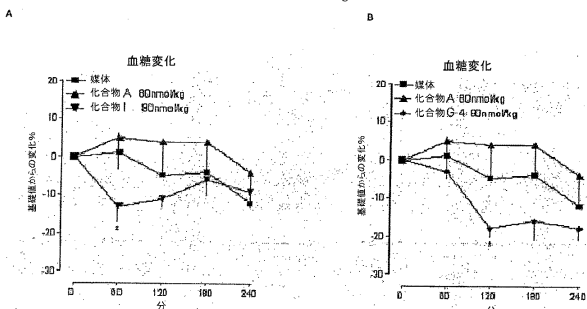
Fig. 7

Fig. 9



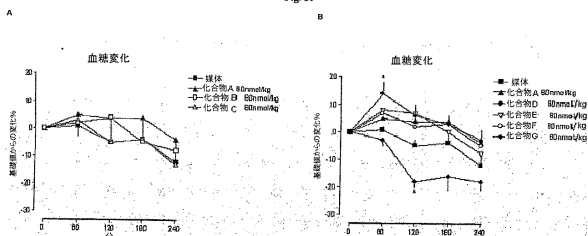
【图 8】

Fig. 8



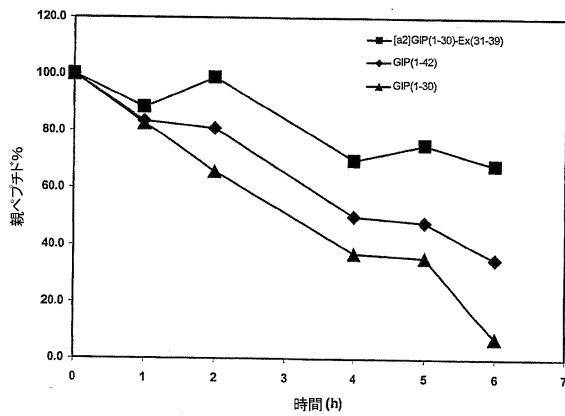
【义 10】

Fig. 10



【図 1 1】

Fig. 11



【図 1 2 - 1 5】

Fig. 12.15

配列番号	#	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	4	4											
307	000 101 P43 24	A	C	G	T	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	G	K	K	N	D	W	K	H	N	I	T	G
308	000 101 P43 24	A	C	G	T	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	G	K	K	N	D	W	K	H	N	I	T	G
309	000 101 P43 24	A	C	G	T	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	G	K	K	N	D	W	K	H	N	I	T	G
310	000 101 P43 24	A	C	G	T	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	G	K	K	N	D	W	K	H	N	I	T	G
311	000 101 P37 25	A	C	G	T	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	G	K	K	N	D	W	K	H	N	I	T	G
312	000 101 P38 25	A	C	G	T	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	G	K	K	N	D	W	K	H	N	I	T	G
313	000 101 P39 25	A	C	G	T	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	G	K	K	N	D	W	K	H	N	I	T	G
3	000 101 P39 25	A	C	G	T	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	G	K	K	N	D	W	K	H	N	I	T	G

【図 1 2 - 1 6】

Fig. 12.16

配列 番号	#	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	4	4		
	42																																	
314	000 101 P37 24	A	C	G	T	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	G	K	N	D
315	000 101 P37 24	H	G	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	G	K	N	D
316	000 101 P38 24	F	S	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	G	K	N	D
3	000 101 P40 24	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	G	K	N	D
317	000 101 P39 24	Y	A	P	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	G	K	N	D
	99																																	
318	000 101 P37 24	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	G	K	N	D
319	000 101 P40 24	A	C	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	G	K	N	D	
320	000 101 P40 45	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	G	K	N	D

【図 1 2 - 1 7】

Fig. 12.17

配列番号	#	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	4	4									
188	000 101 P37 54**	A	C	G	T	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
740	000 101 P40 48	A	C	G	T	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
321	000 101 P37 52	A	C	G	T	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
322	000 101 P37 52	A	C	G	T	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
323	000 101 P37 52	A	C	G	T	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
324	000 101 P38 58	A	C	G	T	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
325	000 101 P37 52	A	C	G	T	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
326	000 101 P37 52	A	C	G	T	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
741	000 101 P44 28	A	C	G	T	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2

【図 1 2 - 1 9】

Fig. 12.19

748	000 101 P41 50	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2	
697	000 101 P42 35	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2	
603	000 101 P42 35	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2	
604	000 101 P42 35	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2	
328	000 101 P41 50	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2	
329	000 101 P41 50	G (O L U S	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
330	000 101 P41 50	G	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
331	000 101 P44 03	N G ア ク ラ ル	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2

【図 1 2 - 1 8】

Fig. 12.18

327	# 000 101 P44 29	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	4	4											
			Y	A	E	Q	I	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
260	000 101 P41 52		Y	A	E	Q	I	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
742	000 101 P41 52		Y	A	E	Q	I	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
660	000 101 P42 35		Y	A	E	Q	I	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
743	000 101 P41 52		Y	A	E	Q	I	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
744	000 101 P41 52		Y	A	E	Q	I	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
745	000 101 P42 35		Y	A	E	Q	I	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2

【図 1 2 - 2 0】

【図 1 2 - 2 1】

Fig. 12.20

605	980 ICL P42 N5		Y A E G T F I S D V S I A L D K I I A C Q E F V N W L L A C K P S S G A P A P A S	X X Z
	748	JU U	V A E G T F I S D V S I A M D K I A C Q E F V N W L L A C K P S S G A P A P A S	X H Z
	606	000 ICL P42 N5	Y A E G T F I S D V S I A L D K I R C Q E F V N W L L A C H P S S G A P A P A S	Z H Z
	607	050 ICL P42 N5	Y A E G T F I S D V S K A L D K I I H Q Q Q F V N W L L A C K P S S G A P A S	H H Z
	749	B5 B	Y A E G T F I S D V S K A L D K I I H Q Q F V N W L L A C K P S S G A P A S	H H Z
	750	060 ICL P43	Y A E G T F I S D V S K A M D K I H Q Q F V N W L L A C K P S S G A P A S	N H Z
	608	13 ICL P42 C	Y A E G T F I S D V S I A L E K I R C Q E F V N W L L A C K P S S G A P A S	H H Z
	751	070 ICL P42 C	Y A E G T F I S D V S I A L E K I R C Q E F V N W L L A C K P S S G A P A S	N H Z
	752	080 ICL P42 C	Y A E G T F I S D V S I A L D K I R C Q E F V N W L L A C K P S S G A P A S	X H Z
	809	090 ICL P42 N5	Y A E G T F I S D V S I A L D K I R C Q E F V N W L L A C K P S S G A P A S	X H Z

Fig. 12.21

[illegible]

【図 1 2 - 2 2】

【図 1 2 - 2 3】

Fig. 12.22

341		Y	A	E	G	T	F	I	S	D	V	S	I	A	M	D	K	I	R	Q	Q	F	V	N	W	L	L	A	K	G	K	S	D	W	K	H	I	T	Q	H
342	000 P39	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	V	S	I	A	M	D	K	I	R	Q	Q	F	V	N	W	L	L	A	K	G	K	S	D	W	K	H	I	T	Q	H
343	000 P40 1G 52	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	V	S	I	A	M	D	K	I	R	Q	Q	F	V	N	W	L	L	A	K	G	K	S	D	W	K	H	I	T	Q	H
344	000 P41 51	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	V	S	I	A	M	D	K	I	R	Q	Q	F	V	N	W	L	L	A	K	G	K	S	D	W	K	H	I	T	Q	H
345		Y	S	E	A	T	L	A	S	D	V	S	I	A	M	D	K	I	R	Q	Q	F	V	N	W	L	L	A	K	G	K	S	D	W	K	H	I	T	Q	H
346		Y	S	E	A	I	L	A	S	D	V	S	I	A	M	D	K	I	R	Q	Q	F	V	N	W	L	L	A	K	G	K	S	D	W	K	H	I	T	Q	H
347		Y	A	E	S	T	I	A	S	D	V	S	I	A	M	D	K	I	R	Q	Q	F	V	N	W	L	L	A	K	G	K	S	D	W	K	H	I	T	Q	H
348	000 1G P41 50	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	V	S	I	A	M	D	K	I	R	Q	Q	F	V	N	W	L	L	A	K	G	K	S	D	W	K	H	I	T	Q	H
349	000 P41 51	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	V	S	I	A	M	D	K	I	R	Q	Q	F	V	N	W	L	L	A	K	G	K	S	D	W	K	H	I	T	Q	H
350	000 P41 52	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	V	S	I	A	M	D	K	I	R	Q	Q	F	V	N	W	L	L	A	K	G	K	S	D	W	K	H	I	T	Q	H

Fig. 12.23

580	000 100 200 300 400 500	Y	a	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	K	Q	D	F	V	N	W	L	A	K	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	Z
583	000 100 200 300 400 500	Y	a	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	K	Q	D	F	V	N	W	L	A	K	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	Z
579	000 100 200 300 400 500	Y	a	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	K	Q	D	F	V	N	W	L	A	K	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	Z
584	000 100 200 300 400 500	Y	a	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	K	Q	D	F	V	N	W	L	A	K	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	Z
585	000 100 200 300 400 500	Y	a	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	K	Q	D	F	V	N	W	L	A	K	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	Z
586	000 100 200 300 400 500	Y	a	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	K	Q	D	F	V	N	W	L	A	K	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	Z
582	000 100 200 300 400 500	Y	a	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	K	Q	D	F	V	N	W	L	A	K	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	Z
585	000 100 200 300 400 500	Y	a	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	K	Q	D	F	V	N	W	L	A	K	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	Z
590	000 100 200 300 400 500	Y	a	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	K	Q	D	F	V	N	W	L	A	K	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	Z

【図 12-31】

Fig. 12.31

375	000 101 P43 85	Y	S	D	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
376	000 101 P43 87	Y	S	D	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
380	000 101 P43 88	Y	S	D	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
381	000 101 P41 98	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
382	000 101 P41 80 EJ13 J31	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
770	000 101 P43 38	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
383	000 101 P43 90	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	L	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2

【図 12-33】

Fig. 12.33

386	000 101 P43 47	Y	S	D	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	L	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
785	000 101 P43 50	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
387	000 101 P43 47	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
786	000 101 P43 48	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
388	000 101 P43 48	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
787	000 101 P43 48	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2

【図 12-32】

Fig. 12.32

384	000 101 P43 80 EJ13 KK	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
780	000 101 P43 91	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
781	000 101 P42 91	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
782	000 101 P43 30	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
783	000 101 P43 30	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
784	000 101 P43 31	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	L	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
385	000 101 P43 31	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	L	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2

【図 12-34】

Fig. 12.34

389	000 101 P43 49	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
785	000 101 P43 49	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
390	000 101 P43 49	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
391	000 101 P41 78	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
392	000 101 P42 93	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
393	000 101 P42 94	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	L	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2

【図 12-35】

Fig. 12.35

394	000 101 P43 78	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
395	000 101 P43 78	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
396	000 101 P42 93	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
397	000 101 P42 92	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	L	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
398	000 101 P43 43	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	L	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
789	000 101 P43 43	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	L	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2

【図 12-37】

Fig. 12.37

397	000 101 P43 49	Y	S	D	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
398	000 101 P43 49	Y	S	D	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
790	000 101 P43 49	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	L	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
791	000 101 P43 49	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	L	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2

【図 12-36】

Fig. 12.36

391	000 101 P41 94	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
399	000 101 P42 52	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2
396	000 101 P43 48	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	A	Q	K	P	S	S	G	A	P	P	S	N	H	2

【図 12-38】

Fig. 12.38

																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	</
--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----

【図12-39】

Fig. 12.39

792	AR	P	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	S	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
587	060 102 P41	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	S	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2	
793	AD Q	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	S	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2	
	オキダリン																																										
402	AR	R	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	S	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
794	AS	S	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	S	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
795	AT	T	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	S	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
796	AU	U	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	S	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
	オキダリン																																										
798	AV	V	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	S	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
510	060 101 P42	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	S	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2	
	オキ																																										

【図12-40】

Fig. 12.40

617	060	101	P43	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	S	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
403	060	101	P43	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	S	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
589	060	101	P41	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	S	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
545	060	101	P43	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	S	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
798	060	101	P44	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	S	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
799	060	101	P44	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	S	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2

【図12-42】

Fig. 12.42

404	A22	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2	
511	BA	A	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
504	060 101 P42	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2	
505	060 101 P42	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2	
405	060 101 P43	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2	
406	060 101 P43	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2	
407	060 101 P43	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2	
515	060 101 P43	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2	
516	060 101 P43	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2	
585	060 101 P43	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2	

【図12-43】

Fig. 12.43

599	060	101	P42	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
598	060	101	P42	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
408	060	101	P43	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
512	060	101	P43	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
409	060	101	P44	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
513	060	101	P43	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
410	060	101	P44	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2

AdoはD-アミノ/3,5-ジオキサオウタン酸; Aunは11-アミノウンデン酸

【図12-41】

Fig. 12.41

500	060	101	P44	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
501	060	101	P44	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
502	060	101	P44	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
503	060	101	P44	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
504	060	101	P44	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
505	060	101	P44	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
506	060	101	P44	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
507	060	101	P44	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
508	060	101	P44	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
509	060	101	P44	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2
510	060	101	P44	Y	A	E	G	T	F	I	S	D	Y	S	I	A	M	D	K	I	H	Q	D	F	V	N	W	L	L	A	Q	K	P	S	G	A	P	P	P	S	N	H	2

【図 12-46】

Fig. 12.46

配列番号	説明または分類	化合物番号
314	GIP(1-30)-NH ₂ , ヒト	0601GIP3739
315	[His1, Gly2]GIP(1-30)-NH ₂	0601GIP3741
316	[Ser2]GIP(1-30)-NH ₂	0601GIP3942
-	[dAla2]GIP(1-30)-NH ₂	0601GIP4058
317	[Pro3]GIP(1-30)-NH ₂	0601GIP3979
	GIPエキセンディンテル	
318	GIP(1-30)-Ex(31-39)-NH ₂	0601GIP3757
319	Ac-[A10]GIP(1-30)-Ex(31-39)-NH ₂	0601GIP4044
320	[A10]GIP(1-30)-Ex(31-39)-NH ₂	0601GIP4045
-	[dAla2]GIP(1-30)-Ex(31-39)-NH ₂	0601GIP3794***
-	Ac-[dAla2]GIP(1-30)-Ex(31-39)-NH ₂	0601GIP4046

【図 12-48】

Fig. 12.48

配列番号	説明または分類	化合物番号
-		0601GIP4192
-		0601GIP4166
-	[dA2, E21, V27, K28, G29, R30]GIP(1-30)および [dA2, E21]GIP(1-26)-GLP1(33-36)	0601GIP4282およびAAA
-	[dA2, E21, V27, K28, G29, R30]GIP(1-30)-EX(31-39)および [dA2, E21, V27, K28, G29, R30]GIP(1-30)および [dA2, E21]GIP(1-26)-GLP1(33-36)-EX(31-39)	0601GIP4398
-	[dA2, E15, E16, E17, A18]GIP(1-30)-EX(31-39)	0601GIP4281
-	[dA2, E15, G16, Q17, A18, E21, V27, K28, G29, R30]GIP(1-30)- EX(31-39)	0601GIP4280
-	[d-Ala2, Glu9, Glu15, Ala18, Glu21]GIP(1-30)-エキセンディン-4-(31-39)	0601GIP4198
-	[dA2, V19, K20]GIP(1-30)-EX(31-39)	0601GIP4235

【図 12-47】

Fig. 12.47

配列番号	説明または分類	化合物番号
321	[Ser2]GIP(1-30)-Ex(31-39)-NH ₂	0601GIP3793
322	[Gly2]GIP(1-30)-Ex(31-39)-NH ₂	0601GIP3791
323	[His1, Gly2]GIP(1-30)-Ex(31-39)-NH ₂	0601GIP3756
324	[Pro3]GIP(1-30)-Ex(31-39)-NH ₂	0601GIP3974
325	GIP(1-26)-Ex(27-39)-NH ₂	0601GIP3786
326	[Gly2]GIP(1-26)-Ex(27-39)-NH ₂	0601GIP3785
	追加的類似体	
-		0601GIP4428
327		0601GIP4429

【図 12-49】

Fig. 12.49

配列番号	説明または分類	化合物番号
-	[dAla2, Leu14, Arg18, Glu21]GIP-(1-30)-エキセンディン-4-(31-39)	0601GIP4283
-	[dAla2, Leu14, Lys18, Glu21]GIP-(1-30)-エキセンディン-4-(31-39)	0601GIP4284***
328		0601GIP4405
329		0601GIP4406
330		0601GIP4403
331		0601GIP4404
-	[dAla2, Leu14, Ala18, Glu21]GIP-(1-30)-エキセンディン-4-(31-39)	0601GIP4285
-		UUU
-	[dAla2, Leu14, Arg18, Glu21, His30]GIP-(1-30)-エキセンディン-4-(31-39)	0601GIP4286
-	[dAla2, Thr7, Ala8, Lys12, Leu14]GIP-(1-30)-エキセンディン-4-(31-39)	0601GIP4287
-		BBB

【図 12-50】

Fig. 12.50

配列番号	説明または分類	化合物番号
-		0601GIP4313
-	[dAla2, Arg18, Glu21]GIP-(1-30)-エキセンディン-4-(31-39)	0601GIP4288
-		CCC
-		0601GIP4344
-	[dAla2, Leu14, Arg18, Glu24]GIP-(1-30)-エキセンディン-4-(31-39)	0601GIP4289***
-	[dAla2, Leu14, Arg18, Glu21, β-Ala31]GIP-(1-31)-エキセンディン-4-(31-39)	0601GIP4290
332		0601GIP4456
333		0601GIP4457
334		0601GIP4460
	さまざまな種由来の修飾を組み込んだ類似体および さまざまな種由来のGIP	
335	GIP(1-42)-OH, ヒト	
336	GIP(3-42)-OH, ヒト	0601GIP3300
337	GIP(1-42)-OH, ウシ	

【図 12-52】

Fig. 12.52

配列番号	説明または分類	化合物番号
-	[dAla2, Glu21]GIP(1-30)-エキセンディン(31-39)	0601GIP4152
-	[dAla2, Ala18]GIP(1-30)-エキセンディン(31-39)	0601GIP4150
-	[dAla2, Arg18]GIP(1-30)-エキセンディン(31-39)	0601GIP4153
-	[dAla2, Lys18]GIP(1-30)-エキセンディン(31-39)	0601GIP4149
-	[dAla2, Ala30]GIP(1-30)-エキセンディン(31-39)	0601GIP4165
-	[dAla2, Arg30]GIP(1-30)-エキセンディン(31-39)	0601GIP4176
-	[dAla2, His30]GIP(1-30)-エキセンディン(31-39)	0601GIP4177
-		0601GIP4213

【図 12-51】

Fig. 12.51

配列番号	説明または分類	化合物番号
338	GIP(1-42)-OH, ラット	
339	GIP(1-42)-OH, マウス	
340	GIP(1-42)-OH, オボッサム	
341	GIP(1-42)-OH, ブタ	
342	GIP(1-39)-OH, ブタ	0601GIP3943
343	GIP(1-30)-NH ₂ , ブタ	0601GIP2350
344	GIP, イヌ	
345	GIP, ニワトリ	
346	GIP, ツメガエル	
347	GIP, ゼブラフィッシュ (部分)	
-	[dAla2, Leu14]GIP(1-30)-エキセンディン(31-39)	0601GIP4190
-	[dAla2, Glu9]GIP(1-30)-エキセンディン(31-39)	0601GIP4151

【図 12-53】

Fig. 12.53

配列番号	説明または分類	化合物番号
-		0601GIP4214
-		0601GIP4263
-	[dAla2, Leu14, Arg18, Glu21, Arg30]GIP-(1-30)-エキセンディン-4-(31-39)	0601GIP4278
-		0601GIP4264
-	[dAla2, Leu14, Ala18, Glu21, His30]GIP-(1-30)-エキセンディン-4-(31-39)	0601GIP4279
-		0601GIP4314 および QQQ
348		0601GIP4306 および RRR
349		ツメガエル
350		0601GIP4503
-		0601GIP4504
-		0601GIP4505
-		0601GIP4506
-		VVV

【図 12-54】

Fig. 12.54

配列番号	説明または分類	化合物番号
-		WWW
-		XXX
351		ニワトリ
-		0601GIP4465
-		0601GIP4466
-		0601GIP4478
-		0601GIP4467
-		0601GIP4479
-		0601GIP4480
-		YYY
-		0601GIP4551
352		ZZZ
353		0601GIP4407
354		ABB
355		ACC

【図 12-56】

Fig. 12.56

配列番号	説明または分類	化合物番号
-	[dnorval2]GIP(1-30)エキセンティン(31-39) RN	0601GIP4145
-	[dSer2]GIP(1-30)エキセンティン(31-39) RN	0601GIP4146
361	[Abu2]GIP(1-30)エキセンティン(31-39) RN	0601GIP4147
362		0601GIP4318
363		0601GIP4362 および DDD
364	[dAbu2]GIP(1-30)エキセンティン(31-39) RN	0601GIP4148
365	[hSer]GIP(1-30)エキセンティン(31-39) RN	0601GIP4186
-		0601GIP4195
366	[dPro2]GIP(1-30)エキセンティン(31-39) LD	0601GIP4164
367	[シクロ7 ロッフ A]GIP(1-30)エキセンティン(31-39) RN	0601GIP4187

【図 12-55】

Fig. 12.55

配列番号	説明または分類	化合物番号
356		ADD
357	ゼブラフィッシュ (部分)	
-		0601GIP4507
-		0601GIP4536
-		0601GIP4537
-		AEE
358		0601GIP4391
359		0601GIP4459
-		AFF
-		AGG
360	位置1および/または2位での例示的修飾および位置2 および/または位置3位で修飾される0601GIP3794 類似体 [Val2]GIP(1-30)エキセンティン(31-39) LD	0601GIP4189

【図 12-57】

Fig. 12.57

配列番号	説明または分類	化合物番号
-	[dシクロ7 ロッフ A]GIP(1-30)エキセンティン(31-39) RN	0601GIP4188
368		0601GIP4181 および EEE
-		0601GIP4182
369		0601GIP4237
370		FFF
371		0601GIP4324 および GGG
372		HHH
373		0601GIP4458
374		0601GIP4215
375		0601GIP4389
376		0601GIP4399
377	fGLP1 テール追加	0601GIP4390
378		0601GIP4395

【図 12-58】

Fig. 12.58

配列番号	説明または分類	化合物番号
379		0601GIP4387
380		0601GIP4386
	例示的N末端修飾およびN末端修飾0601GIP3794類似体	
381		0601GIP4196
382		0601GIP4180 および JJJ
-		0601GIP4238***
383		0601GIP4392
384		0601GIP4369 および KKK
-		LLL
-	(N- サクシノイル) [dAla2]GIP-(1-30)-エキセンティン-4-(31-39)	0601GIP4291
-		0601GIP4330
-		AHH
-		0601GIP4331
385		All

【図 12-59】

Fig. 12.59

配列番号	説明または分類	化合物番号
386		AJJ
-		0601GIP4359
387		0601GIP4347
-		0601GIP4348
388		0601GIP4349
-		AKK
389		ALL
-		0601GIP4384
390		0601GIP4385
	脂肪酸／リンカー置換	
391	オクチルグリシン-GIP-(1-30)エキセンティン-(31-39)	0601GIP4178
392	(N-オクチルグリシン)-(Arg18)GIP-(1-30)-エキセンティン-4-(31-39)	0601GIP4293
393	(N-オクチルグリシン)-[Leu14,Arg18,Glu21,His30]GIP-(1-30)-エキセンティン-4-(31-39)	0601GIP4292***
394		AMM
-		0601GIP4178

【図 12-61】

Fig. 12.61

配列番号	説明または分類	化合物番号
-		AOO
399		0601GIP4325 および MMM
400		JA および NNN
-		0601GIP4328 および OOO
-		0601GIP4547 および PPP
401		0601GIP4461
-		APP
-		0601GIP4179
-		AQQ
402		ARR

【図 12-60】

Fig. 12.60

配列番号	説明または分類	化合物番号
-		0601GIP4293
-		0601GIP4292***
395		0601GIP4543
-		0601GIP4544
-		0601GIP4194
-		0601GIP4252
396		0601GIP4548
397		0601GIP4549
398		0601GIP4550
-		ANN

【図 12-62】

Fig. 12.62

配列番号	説明または分類	化合物番号
-		ASS
-		ATT
-		AUU
-		AVV
-	(N-オクチルグリシン)-[dAla2,Leu14, β -Ala31, β -Ala32]GIP-(1-32)-エキセンティン-4-(31-39)	0601GIP4294***
-		0601GIP4542
403		0601GIP4541
-		0601GIP4191
-		0601GIP4562
-	[Lys30,N-e] GIP-(1-30)-エキセンティン-4-(31-39)	0601GIP4402
-	欠失	
-		0601GIP4414
-		0601GIP4415
-		0601GIP4434
-		0601GIP4416

【図 12-63】

Fig. 12.63

配列番号	説明または分類	化合物番号
-		0601GIP4417
-		0601GIP4435
-		0601GIP4436
-		0601GIP4437
-		0601GIP4438
-		0601GIP4439
-		AWW
-		AXX
-		AYY
404		AZZ
-		BAA
-	エキセンティン由来の「Trp-ケージ」Leu21-Pro38を組み込む 0601GIP3794	
-		0601GIP4216
-	テール(Trp-ケージ)修飾	
-	fGLP1 テール	0601GIP4233

【図 12-64】

Fig. 12.64

配列番号	説明または分類	化合物番号
405		0601GIP4327 および SSS
406		0601GIP4386
407		0601GIP4538
-		0601GIP4539
-		0601GIP4540
-		0601GIP4561
-	rGLP1 テール変異体	0601GIP4234
-	[dA2]GIP(1-30)-HS2(31-38); HS= ヘロスベクチン-2	0601GIP4236
408		0601GIP4328 および TTT
-	[dA2]GIP(1-30)-ヘロデルミン (31-35)	0601GIP4345
409	GIP(1-30)-ヘロスベクチン1(31-38)	0601GIP4401
-		0601GIP4346

【図 12-65】

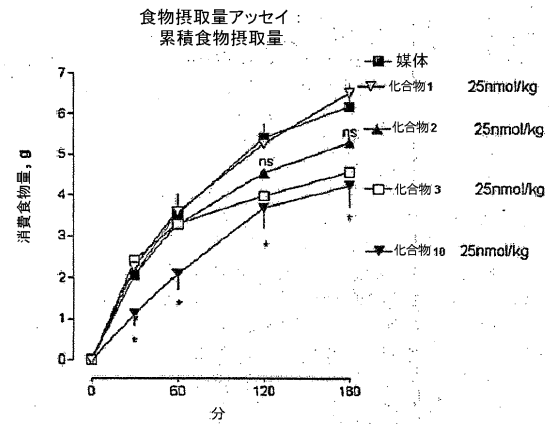
Fig. 12.65

配列番号	説明または分類	化合物番号
410		0601GIP4400

【図 13A】

Fig. 13A

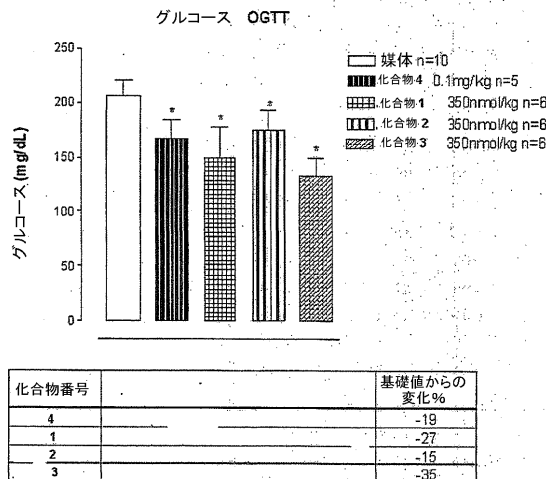
食物摂取量アッセイにおける本発明の化合物の効果



【図 13B】

Fig. 13B

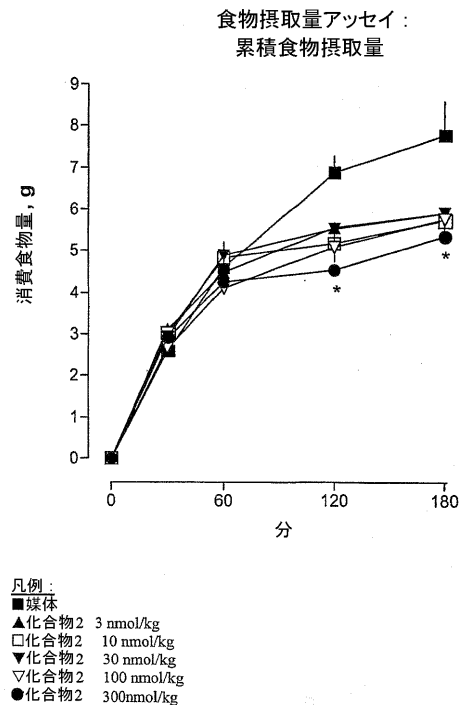
本発明の化合物の血糖に対する効果 (経口グルコース負荷試験)



【図 14】

Fig. 14

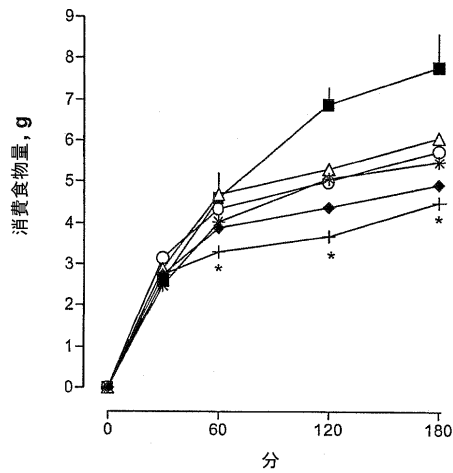
食物摂取量アッセイに対する本発明の化合物の効果



【図 15】

Fig. 15

食物摂取量アッセイに対する本発明の化合物の効果

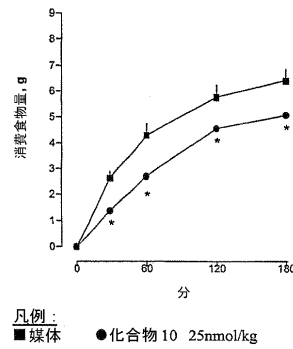
食物摂取量アッセイ：
累積食物摂取量

凡例：
 ■媒体
 ○化合物3 3nmol/kg
 △化合物3 10nmol/kg
 *化合物3 30nmol/kg
 ◆化合物3 100nmol/kg
 +化合物3 300nmol/kg

【図 16 A】

Fig. 16A

食物摂取量アッセイにおける化合物10の効果

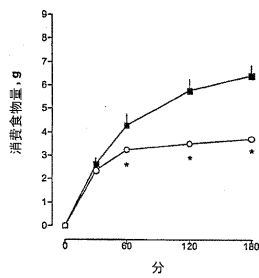
食物摂取量アッセイ：
累積食物摂取量

凡例：
 ■媒体
 ●化合物10 25nmol/kg

【図 16 B】

Fig. 16B

食物摂取量アッセイにおけるsCT(アミド型)の効果

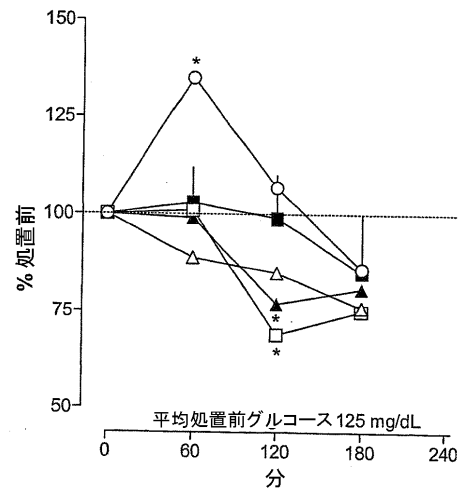
食物摂取量アッセイ：
累積食物摂取量

凡例：
 ■媒体
 ○sCT 25nmol/kg

【図 17】

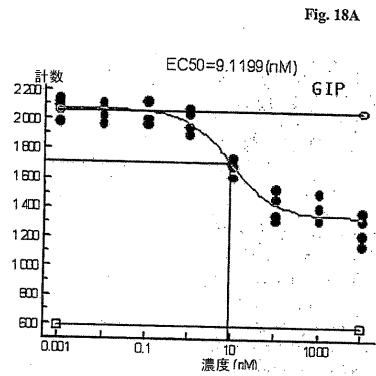
Fig. 17

本発明の化合物の血糖に対する効果

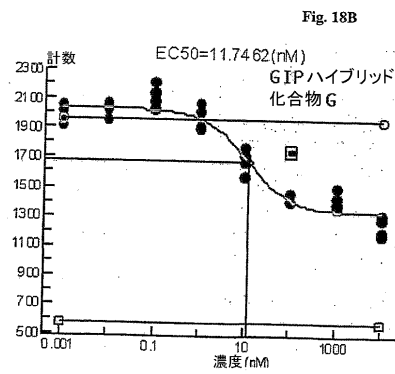
グルコースアッセイ：
血糖変化

凡例：
 ■媒体
 ○化合物10 160 nmol/kg
 △化合物3 160 nmol/kg
 □化合物2 160 nmol/kg
 ▲化合物1 160 nmol/kg

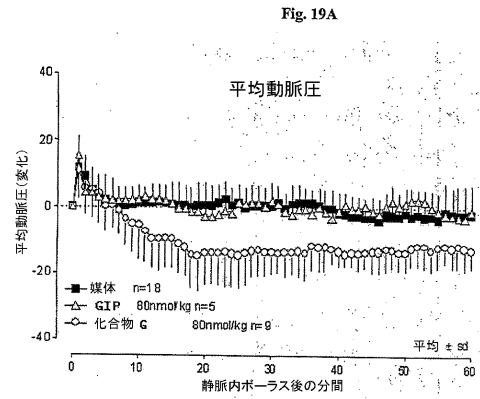
【図 18 A】



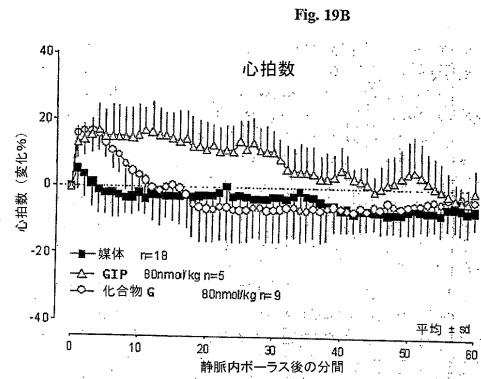
【図 18 B】



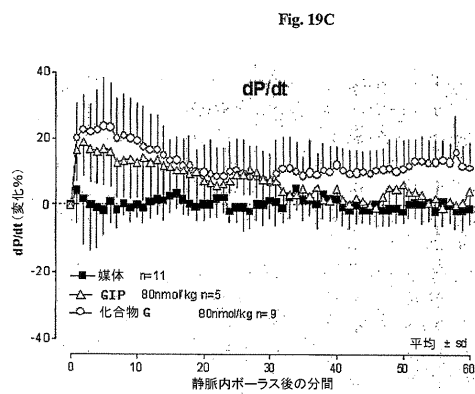
【図 19 A】



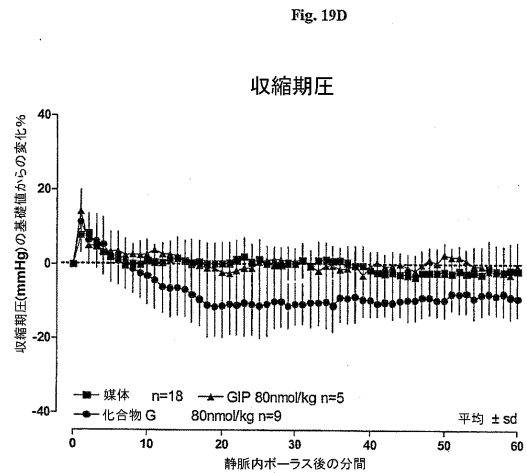
【図 19 B】



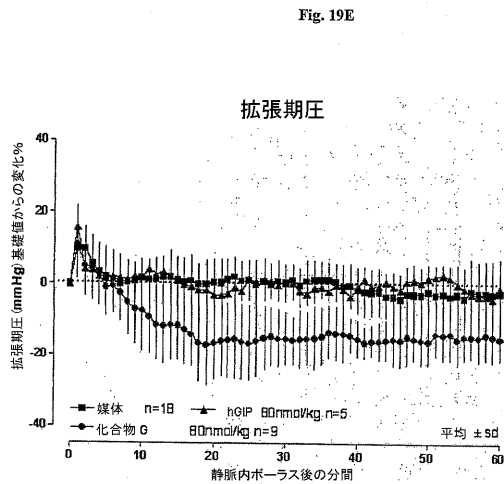
【図 19 C】



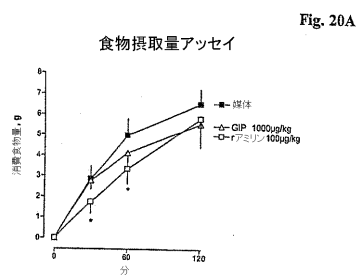
【図 19 D】



【図 19 E】

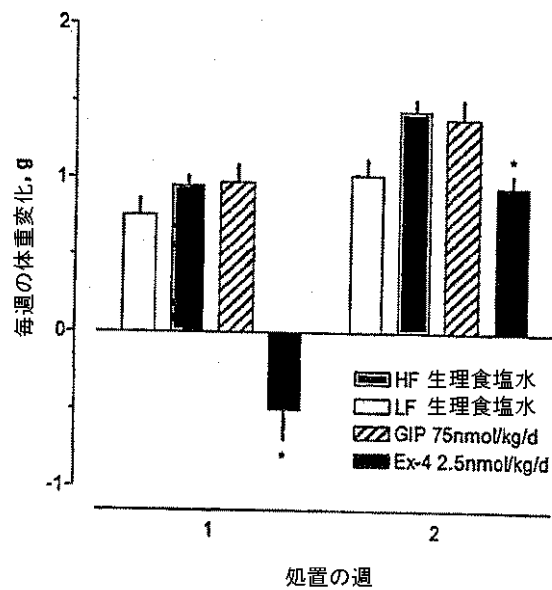


【図 20 A】

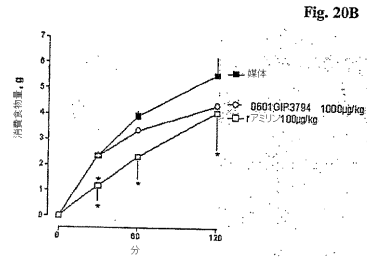


【図 21】

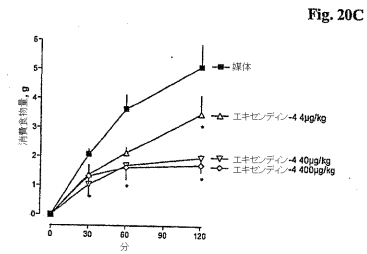
DIOマウスにおける体重減少



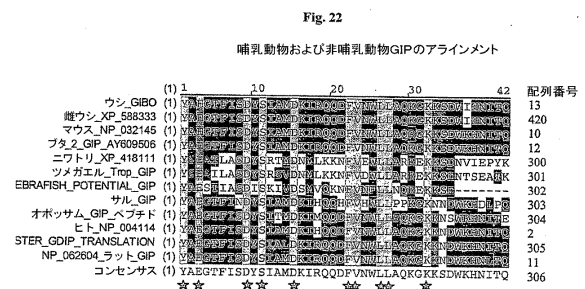
【図 20 B】



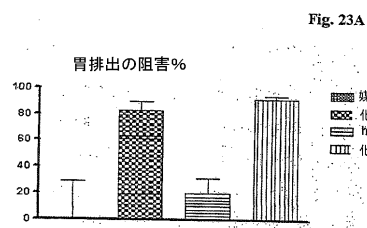
【図 20 C】



【図 22】

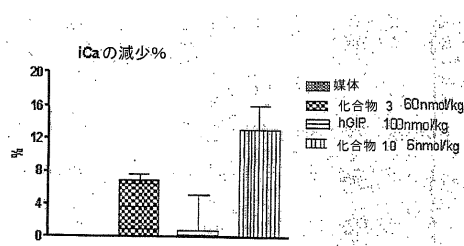


【図 23 A】



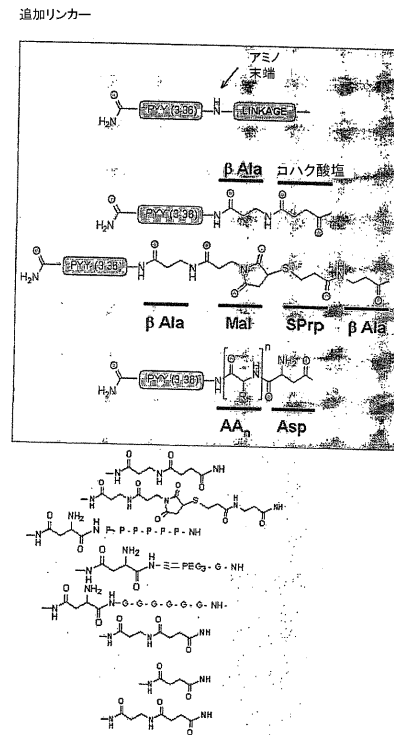
【図 23 B】

Fig. 23B



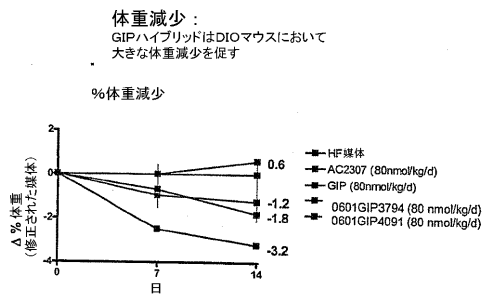
【図 24】

Fig. 24



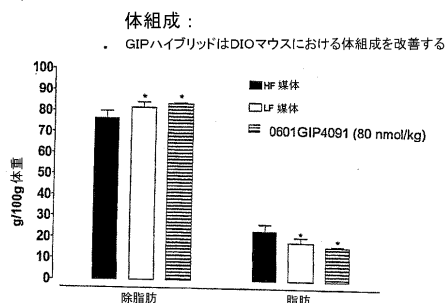
【図 25】

Fig. 25



【図 26】

Fig. 26

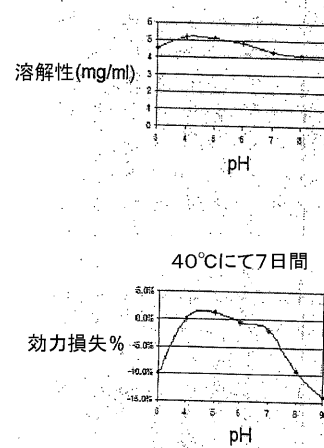


* P<0.05; HF媒体に対するT-テスト

GIPは脂質生成性であり、AC2307は効果を有しなかった

【図 27】

Fig. 27



【配列表】

0005399244000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 K 31/137	(2006.01)	A 6 1 K 31/137	
A 6 1 K 38/00	(2006.01)	A 6 1 K 37/02	
A 6 1 P 3/10	(2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 9/02	(2006.01)	A 6 1 P 9/02	
A 6 1 P 9/12	(2006.01)	A 6 1 P 9/12	
A 6 1 P 9/04	(2006.01)	A 6 1 P 9/04	
A 6 1 P 9/10	(2006.01)	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 13/12	(2006.01)	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 3/04	(2006.01)	A 6 1 P 3/04	

(73)特許権者 513094387

アストラゼネカ・ファーマシューティカルズ・リミテッド・パートナーシップ
A s t r a Z e n e c a P h a r m a c e u t i c a l s L P
アメリカ合衆国デラウェア州、ウィルミントン、コンコード・パイク1800番

(74)代理人 100081422

弁理士 田中 光雄

(74)代理人 100084146

弁理士 山崎 宏

(74)代理人 100156122

弁理士 佐藤 剛

(72)発明者 オディール・エスター・レビー

アメリカ合衆国92121カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ9360番

(72)発明者 アラン・ディ・パロン

アメリカ合衆国92121カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ9360番

(72)発明者 ローレンス・ジェイ・ドスーザ

アメリカ合衆国92121カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ9360番

(72)発明者 メアリー・エリクソン

アメリカ合衆国92121カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ9360番

(72)発明者 スーミトラ・ジー・ゴッシュ

アメリカ合衆国92121カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ9360番

(72)発明者 マイケル・アール・ハンリー

アメリカ合衆国92121カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ9360番

(72)発明者 サミュエル・ヤンセン

アメリカ合衆国92121カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ9360番

(72)発明者 キャロリン・エム・ジョドカ

アメリカ合衆国92121カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ9360番

(72)発明者 ダイアナ・ワイ・ルイス

アメリカ合衆国92121カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ9360番

- 番
(72)発明者 クリスティン・エム・マック
アメリカ合衆国 9 2 1 2 1 カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ 9 3 6 0
番
(72)発明者 デイビッド・ジー・パークス
アメリカ合衆国 9 2 1 2 1 カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ 9 3 6 0
番
(72)発明者 リチャード・エイ・ピットナー
アメリカ合衆国 9 2 1 2 1 カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ 9 3 6 0
番
(72)発明者 クリストファー・ジェイ・ソアレス
アメリカ合衆国 9 2 1 2 1 カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ 9 3 6 0
番
(72)発明者 ベド・スリバスタバ
アメリカ合衆国 9 2 1 2 1 カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ 9 3 6 0
番
(72)発明者 アンドリュー・エイ・ヤング
アメリカ合衆国 9 2 1 2 1 カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ 9 3 6 0
番
(72)発明者 タオ・レ
アメリカ合衆国 9 2 1 2 1 カリフォルニア州サンディエゴ、タウン・センター・ドライブ 9 3 6 0
番

審査官 三原 健治

- (56)参考文献 国際公開第 2 0 0 5 / 0 8 2 9 2 8 (WO, A 1)
国際公開第 2 0 0 5 / 0 7 7 0 7 2 (WO, A 1)
国際公開第 2 0 0 6 / 0 8 6 7 6 9 (WO, A 1)
Regul. Pept., Vol. 63 (1996) p. 17-22
Life Sci., Vol. 75 (2004) p. 1857-1870

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C 0 7 K 1 4 / 0 0 - 1 4 / 8 2 5
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (STN)