

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-510219

(P2023-510219A)

(43)公表日 令和5年3月13日(2023.3.13)

(51)国際特許分類			F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	14/62	(2006.01)	C 0 7 K	14/62	Z N A	4 B 0 6 4
C 1 2 P	21/02	(2006.01)	C 1 2 P	21/02	E	4 C 0 7 6
A 6 1 K	38/28	(2006.01)	A 6 1 K	38/28		4 C 0 8 4
A 6 1 K	47/54	(2017.01)	A 6 1 K	47/54		4 H 0 4 5
A 6 1 K	47/10	(2017.01)	A 6 1 K	47/10		
			審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全114頁) 最終頁に続く
(21)出願番号 特願2022-540871(P2022-540871)			(71)出願人 522262991			
(86)(22)出願日 令和2年12月29日(2020.12.29)			ガン アンド リー ファーマスウーティ			
(85)翻訳文提出日 令和4年8月26日(2022.8.26)			カルズ カンパニー リミテッド			
(86)国際出願番号 PCT/CN2020/141023			G A N & L E E P H A R M A C E U			
(87)国際公開番号 WO2021/136296			T I C A L S C O . , L T D .			
(87)国際公開日 令和3年7月8日(2021.7.8)			中国 1 0 1 1 0 9 ペイジン トンジョウ			
(31)優先権主張番号 201911398378.0			ディストリクト, フォシャン, ナンフェ			
(32)優先日 令和1年12月30日(2019.12.30)			ン ウェスト 1スト ストリート ナンバ			
(33)優先権主張国・地域又は機関			ー・8			
中国(CN)			N O . 8 N A N F E N G W E S T 1			
(31)優先権主張番号 202011057926.6			S T S T R E E T , H U O X I A N ,			
(32)優先日 令和2年9月29日(2020.9.29)			T O N G Z H O U D I S T R I C T ,			
(33)優先権主張国・地域又は機関			B E I J I N G 1 0 1 1 0 9 , C H I			
中国(CN)			N A			
(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA			(74)代理人 100107766			
最終頁に続く			最終頁に続く			

(54)【発明の名称】 インスリン誘導体

(57)【要約】

本発明は、新規のアシル化インスリン、その薬物製剤、それと長時間作用型G L P - 1化合物との薬物組成物、及び上記アシル化インスリン、薬物製剤と薬物組成物の医薬用途に関する。上記新規のアシル化インスリンは、インスリンデグルデク又は他のインスリン誘導体と比べて、予想以上の顕著に増加した薬効を有し、より長い作用持続時間、より長いインビボ半減期、良好な生物学的利用能を有するとともに、より好ましい物理的安定性、化学的安定性を有する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

インスリン母体、アルブミン結合残基及び連結基 $L i n$ を含み、前記インスリン母体は、天然に存在するインスリン又はインスリン類似体であり、前記アルブミン結合残基は連結基 $L i n$ を介して前記インスリン母体に連結されるインスリン誘導体であって、前記連結基 $L i n$ は、少なくとも 20 個、好ましくは少なくとも 30 個、好ましくは少なくとも 40 個、好ましくは少なくとも 50 個、好ましくは少なくとも 65 個、好ましくは 20～200 個、好ましくは 30～180 個、好ましくは 61～180 個、好ましくは 66～180 個、好ましくは 72～120 個の炭素原子を有する親水性連結基であり、又は、前記連結基 $L i n$ は、少なくとも 11 個の中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基を含み、好ましくは、前記連結基 $L i n$ は、少なくとも 12 個の中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基を含み、好ましくは、前記連結基 $L i n$ は、12～20 個の中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基を含み、又は、前記連結基 $L i n$ は、少なくとも 20 個、好ましくは少なくとも 30 個、好ましくは少なくとも 42 個、好ましくは 15～120 個、好ましくは 30～100 個、好ましくは 42～80 個の炭素原子を有するアルキレングリコールを含み、及び前記アルブミン結合残基は、20～40 個の炭素原子を含み、好ましくは前記アルブミン結合残基は、20～40 個の炭素原子を有する線形又は分岐の親油性基を含み、好ましくは前記アルブミン結合残基は、20～26 個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪酸二酸（より好ましくは、20～24 個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪酸二酸）であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に前記脂肪酸のカルボキシ基及び前記脂肪酸二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されている、インスリン誘導体。

【請求項 2】

前記インスリン母体は、少なくとも 1 つのリジン残基を含み、前記アルブミン結合残基は連結基 $L i n$ を介して前記インスリン母体のリジン残基又は N 末端アミノ酸残基のアミノ基に連結される、請求項 1 に記載のインスリン誘導体。

【請求項 3】

1 つ又は複数の連結基 $I I$ をさらに含み、前記連結基 $I I$ は酸性アミノ酸残基であり、前記連結基 $I I$ は前記アルブミン結合残基と前記連結基 $L i n$ との間に連結され、及び／又は前記連結基 $L i n$ と前記インスリン母体との間に連結され、好ましくは、前記連結基 $I I$ は前記アルブミン結合残基と前記連結基 $L i n$ との間に連結される、請求項 1 又は 2 に記載のインスリン誘導体。

【請求項 4】

アシル化インスリンであるインスリン誘導体であって、前記アシル化インスリンのインスリン母体は天然に存在するインスリン又はインスリン類似体であり、且つ少なくとも 1 つのリジン残基を含み、前記アシル化インスリンのアシル基部分は前記インスリン母体のリジン残基又は N 末端アミノ酸残基のアミノ基に連結され、前記アシル基部分は式 (A)、すなわち、

$I I I - (I I)_m - (I)_n -$ (A) で示され、

ただし、

m は 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 又は 10 であり、 n は 11 以上の整数であり、好ましくは、 n は 11～30 の整数であり、

I は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

$I I$ は酸性アミノ酸残基であり、

$I I I$ は 20～26 個（好ましくは 20～24 個）の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪酸二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に前記脂肪酸二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

$I I I$ 、 $I I$ 及び I の間にはアミド結合で連結され、及び

$I I$ 及び I の式 (A) における出現順番は独立的に交換可能であり、

又は、

前記アシル基部分は式 (A')、すなわち、

$III - (II)_m - (I')_n - (A')$ で示され、

ただし、

m は 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 又は 10 であり、n' は整数であり、

I' は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

II は酸性アミノ酸残基であり、

III は 20～26 個（好ましくは 20～24 個）の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に前記脂肪酸のカルボキシ基及び前記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

III、II 及び I' の間にはアミド結合で連結され、

II 及び I' の式 (A') における出現順番は独立的に交換可能であり、及び

(I')_n の全炭素原子数は 20～200 個、好ましくは 30～180 個、好ましくは 42～180 個、好ましくは 61～180 個、好ましくは 66～180 個、好ましくは 72～120 個である、

インスリン誘導体。

【請求項 5】

アシル化インスリンであるインスリン誘導体であって、前記アシル化インスリンのインスリン母体は天然に存在するインスリン又はインスリン類似体であり、且つ少なくとも 1 つのリジン残基を含み、前記アシル化インスリンのアシル基部分は前記インスリン母体のリジン残基又は N 末端アミノ酸残基のアミノ基に連結され、前記アシル基部分は式 (A)、すなわち、

$III - (II)_m - (I)_n - (A)$ で示され、

ただし、

m は 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 又は 10 であり、n は 11、12、13、14、15、16、17、18、19 又は 20 の整数であり、

I は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

II は酸性アミノ酸残基であり、

III は 20～26 個（好ましくは 20～24 個）の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に前記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

III、II 及び I の間にはアミド結合で連結され、及び

II 及び I の式 (A) における出現順番は独立的に交換可能であり、

又は、

前記アシル基部分は式 (A')、すなわち、

$III - (II)_m - (I')_n - (A')$ で示され、

ただし、

m は 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 又は 10 であり、n' は整数であり、

I' は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

II は酸性アミノ酸残基であり、

III は 20～26 個（好ましくは 20～24 個）の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に前記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

III、II 及び I' の間にはアミド結合で連結され、

II 及び I' の式 (A') における出現順番は独立的に交換可能であり、及び

(I')_n の全炭素原子数は 42～180 個、好ましくは 61～180 個、好ましくは 66～180 個、好ましくは 72～120 個である、

インスリン誘導体。

【請求項 6】

n は 11、12、13、14、15、16、17 又は 18 であり、好ましくは、n は 1

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

【請求項 9】

前記アシル基部分は、前記インスリン母体のリジン残基の ϵ アミノ基に連結される、請求項 4～8 のいずれか一項に記載のインスリン誘導体。

【請求項 10】

前記インスリン母体のリジン残基は B 2 9 位に位置する、請求項 1～9 のいずれか一項に記載のインスリン誘導体。

【請求項 11】

前記インスリン母体は、des B 3 0 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、des B 3 0 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、des B 3 0 ヒトインスリン、ヒトインスリン、A 2 1 G ヒトインスリン、A 2 1 G、des B 3 0 ヒトインスリン、又は B 2 8 D ヒトインスリン、というインスリン又はインスリン類似体から選ばれ、好ましくは、前記インスリン母体は des B 3 0 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、des B 3 0 ヒトインスリン、又は A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、des B 3 0 ヒトインスリンである、請求項 1～10 のいずれか一項に記載のインスリン誘導体。

10

【請求項 12】

前記アシル化インスリンは、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- γ Glu-11xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- γ Glu-12xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- γ Glu- γ Glu-11xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- γ Glu- γ Glu-12xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル-11xOEG- γ Glu)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル-12xOEG- γ Glu)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル-11xOEG- γ Glu- γ Glu)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- β Asp-11xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- β Asp-12xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- α Glu-11xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- α Glu-12xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- α Glu- α Glu-11xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- α Glu- α Glu-12xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- α Asp-11xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- α Asp-12xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- γ Glu-13xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- γ Glu-14xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- γ Glu- γ Glu-13xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- γ Glu- γ Glu-14xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル-13xOEG- γ Glu)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル-14xOEG- γ Glu)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル-14xOEG- γ Glu- γ Glu)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル-13xOEG- γ Glu- γ Glu)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- β Asp-13xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- β Asp-14xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- α Glu-13xOEG)、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N (ϵ)-エイコサンジアシル- α Glu-14

20

30

40

50

50

ϵ) - トリコサンジアシル- γ Glu-12xOEG)、des B30 ヒトインスリン、
 B29K (N(ϵ)) - トリコサンジアシル- γ Glu-13xOEG)、des B30 ヒ
 トインスリン、B29K (N(ϵ)) - トリコサンジアシル- γ Glu-14xOEG)、
 des B30 ヒトインスリン、B29K (N(ϵ)) - テトラコサンジアシル- γ Glu-
 11xOEG)、des B30 ヒトインスリン、B29K (N(ϵ)) - テトラコサンジア
 シル- γ Glu-12xOEG)、des B30 ヒトインスリン、B29K (N(ϵ)) -
 テトラコサンジアシル- γ Glu-13xOEG)、des B30 ヒトインスリン、B2
 9K (N(ϵ)) - テトラコサンジアシル- γ Glu-14xOEG)、des B30 ヒト
 インスリン、B29K (N(ϵ)) - エイコサンジアシル- γ Glu-15xOEG)、d
 es B30 ヒトインスリン、B29K (N(ϵ)) - エイコサンジアシル- γ Glu-16
 xOEG)、des B30 ヒトインスリン、B29K (N(ϵ)) - ドコサンジアシル- γ
 Glu-15xOEG)、des B30 ヒトインスリン、又は B29K (N(ϵ)) - ドコ
 サンジアシル- γ Glu-16xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B
 16H、B25H、B29K (N(ϵ)) - エイコサンジアシル- γ Glu-11xOEG
)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ))
 - エイコサンジアシル- γ Glu-12xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A1
 4E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)) - エイコサンジアシル- γ Glu- γ Glu-
 11xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、
 B29K (N(ϵ)) - エイコサンジアシル- γ Glu- γ Glu-12xOEG)、de
 s B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)) - エイコ
 サンジアシル-11xOEG- γ Glu)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B
 16H、B25H、B29K (N(ϵ)) - エイコサンジアシル-12xOEG- γ Glu
)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ))
 - エイコサンジアシル-12xOEG- γ Glu- γ Glu)、des B30 ヒトインス
 リン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)) - エイコサンジアシル-11
 xOEG- γ Glu- γ Glu)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、
 B25H、B29K (N(ϵ)) - エイコサンジアシル- β Asp-11xOEG)、de
 s B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)) - エイコ
 サンジアシル- β Asp-12xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B
 16H、B25H、B29K (N(ϵ)) - エイコサンジアシル- α Glu-11xOEG
)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ))
 - エイコサンジアシル- α Glu-12xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A1
 4E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)) - エイコサンジアシル- α Glu- α G
 lu-11xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、
 B29K (N(ϵ)) - エイコサンジアシル- α Glu- α Glu-12xOEG)、de
 s B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)) - エイコ
 サンジアシル- α Asp-11xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B
 16H、B25H、B29K (N(ϵ)) - エイコサンジアシル- α Asp-12xOEG
)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ))
 - エイコサンジアシル- γ Glu-13xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A1
 4E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)) - エイコサンジアシル- γ Glu-14
 xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ))
 - エイコサンジアシル- γ Glu- γ Glu-13xOEG)、des B30 ヒ
 トインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)) - エイコサンジアシ
 ル
 - γ Glu- γ Glu-14xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B1
 6H、B25H、B29K (N(ϵ)) - エイコサンジアシル-13xOEG- γ Glu)
 、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)) -
 エイコサンジアシル-14xOEG- γ Glu)、des B30 ヒトインスリン、A14
 E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)) - エイコサンジアシル-14xOEG- γ

10

20

30

40

50

50

50

インスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N(ε) - エイコサンジアシル
 - β Asp - 11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B2
 5H、B29K (N(ε) - エイコサンジアシル - β Asp - 12xOEG)、desB
 30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N(ε) - エイコサン
 ジアシル - α Glu - 11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16
 E、B25H、B29K (N(ε) - エイコサンジアシル - α Glu - 12xOEG)、
 desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N(ε) - エ
 イコサンジアシル - α Glu - α Glu - 11xOEG)、desB30ヒトインスリン
 、A14E、B16E、B25H、B29K (N(ε) - エイコサンジアシル - α Glu
 - α Glu - 12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B2
 5H、B29K (N(ε) - エイコサンジアシル - α Asp - 11xOEG)、desB
 30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N(ε) - エイコサン
 ジアシル - α Asp - 12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16
 E、B25H、B29K (N(ε) - エイコサンジアシル - γ Glu - 13xOEG)、
 desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N(ε) - エ
 イコサンジアシル - γ Glu - 14xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E
 、B16E、B25H、B29K (N(ε) - エイコサンジアシル - γ Glu - γ Glu
 - 13xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B2
 9K (N(ε) - エイコサンジアシル - γ Glu - γ Glu - 14xOEG)、desB
 30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N(ε) - エイコサン
 ジアシル - 13xOEG - γ Glu)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16
 E、B25H、B29K (N(ε) - エイコサンジアシル - 14xOEG - γ Glu)、
 desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N(ε) - エ
 イ
 コサンジアシル - 14xOEG - γ Glu - γ Glu)、desB30ヒトインスリン、
 A14E、B16E、B25H、B29K (N(ε) - エイコサンジアシル - 13xOE
 G - γ Glu - γ Glu)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25
 H、B29K (N(ε) - エイコサンジアシル - β Asp - 13xOEG)、desB3
 0ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N(ε) - エイコサンジ
 アシル - β Asp - 14xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E
 、B25H、B29K (N(ε) - エイコサンジアシル - α Glu - 13xOEG)、d
 esB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N(ε) - エイ
 コサンジアシル - α Glu - 14xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、
 B16E、B25H、B29K (N(ε) - エイコサンジアシル - α Glu - α Glu -
 13xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29
 K (N(ε) - エイコサンジアシル - α Glu - α Glu - 14xOEG)、desB3
 0ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N(ε) - エイコサンジ
 アシル - α Asp - 13xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E
 、B25H、B29K (N(ε) - エイコサンジアシル - α Asp - 14xOEG)、d
 esB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N(ε) - ドコ
 サンジアシル - γ Glu - 11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B
 16E、B25H、B29K (N(ε) - ドコサンジアシル - γ Glu - 12xOEG)
 、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N(ε) - ド
 コサンジアシル - γ Glu - γ Glu - 11xOEG)、desB30ヒトインスリン
 、A14E、B16E、B25H、B29K (N(ε) - ドコサンジアシル - γ Glu -
 γ Glu - 12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25
 H、B29K (N(ε) - ドコサンジアシル - 11xOEG - γ Glu)、desB30
 ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N(ε) - ドコサンジアシ
 ル - 12xOEG - γ Glu)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B
 25H、B29K (N(ε) - ドコサンジアシル - 12xOEG - γ Glu - γ Glu)

10

20

30

40

50

50

10

20

30

40

50

50

、A14E、B16E、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-20xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-20xOEG)、desB30ヒトインスリン、又はA14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-24xOEG)、desB30ヒトインスリン、というインスリンから選ばれる、請求項4又は5に記載のインスリン誘導体。

【請求項14】

前記アシル化インスリンは、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、14E、B16E、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-18xOEG)、desB30ヒトインスリン、又はA14E、B16E、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、というインスリンから選ばれる、請求項4又は5に記載のインスリン誘導体。

【請求項15】

アシル化インスリンであるインスリン誘導体であって、前記アシル化インスリンのインスリン母体はA14E、B16H、B25H、desB30ヒトインスリン又はA14E、B16E、B25H、desB30ヒトインスリンであり、前記アシル化インスリンのアシル基部分は前記インスリン母体のリジン残基又はN末端アミノ酸残基のアミノ基に連結され、前記アシル基部分は式(D)、すなわち、

$W1 - (W2)_{m2} - (W3)_{n2} - (D)$ で示され、

ただし、

m2は0、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、n2は11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20であり、

W3は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

W2は酸性アミノ酸残基であり、

W1は20～24個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に前記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

W1、W2及びW3の間はアミド結合で連結され、及び

W2及びW3の式(D)における出現順番は独立的に交換可能であり、

又は、

前記アシル基部分は式(D')、すなわち、

$W1 - (W2)_{m2} - (W3')_{n2} - (D')$ で示され、

ただし、

m2は0、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、n2'は整数であり、

W3'は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

W2は酸性アミノ酸残基であり、

10

20

30

40

50

【請求項 16】

請求項 15 に記載のインスリン誘導体。

【請求項 17】

請求項 15 又は 16 に記載のインスリン誘導体。

50

【請求項 18】

式 (D) は、W3 の C 末端を介して前記インスリン母体のリジン残基又は N 末端アミノ酸残基のアミノ基に連結され、又は、式 (D') は、W3' の C 末端を介して前記インスリン母体のリジン残基又は N 末端アミノ酸残基のアミノ基に連結される、請求項 15～17 のいずれか一項に記載のインスリン誘導体。

【請求項 19】

前記アシル基部分は前記インスリン母体のリジン残基の ϵ アミノ基に連結される、請求項 15～18 のいずれか一項に記載のインスリン誘導体。

【請求項 20】

A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)-エイコサンジアシル- γ Glu-12xOEG)、desB30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)-ドコサンジアシル- γ Glu-12xOEG)、desB30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)-エイコサンジアシル- γ Glu-11xOEG)、desB30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)-ドコサンジアシル- γ Glu-11xOEG)、desB30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)-ヘンエイコサンジアシル- γ Glu-12xOEG)、desB30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)-トリコサンジアシル- γ Glu-12xOEG)、desB30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)-テトラコサンジアシル- γ Glu-12xOEG)、desB30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)-エイコサンジアシル- γ Glu-13xOEG)、desB30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)-エイコサンジアシル- γ Glu-14xOEG)、desB30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)-エイコサンジアシル- γ Glu-15xOEG)、desB30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)-ドコサンジアシル- γ Glu-13xOEG)、desB30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)-ドコサンジアシル- γ Glu-14xOEG)、desB30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)-ドコサンジアシル- γ Glu-15xOEG)、desB30 ヒトインスリン、又は A14E、B16H、B25H、B29K (N(ϵ)-ドコサンジアシル- γ Glu-18xOEG)、desB30 ヒトインスリン、というインスリンから選ばれる、請求項 4、5 又は 15 に記載のインスリン誘導体。

【請求項 21】

請求項 1～20 のいずれか一項に記載のインスリン誘導体、及び 1 種又は複数種の薬学的に許容可能な賦形剤を含む、薬物組成物。

【請求項 22】

少なくとも 1.5 モルの亜鉛イオン／6 モルのインスリン誘導体を含み、好ましくは少なくとも 2.2 モルの亜鉛イオン／6 モルのインスリン誘導体を含み、好ましくは少なくとも 3.5 モルの亜鉛イオン／6 モルのインスリン誘導体を含み、好ましくは少なくとも 4.5 モルの亜鉛イオン／6 モルのインスリン誘導体を含み、好ましくは 2.2～12 モルの亜鉛イオン／6 モルのインスリン誘導体を含み、より好ましくは 4.5～10 モルの亜鉛イオン／6 モルのインスリン誘導体を含み、より好ましくは 4.5～8 モルの亜鉛イオン／6 モルのインスリン誘導体を含み、より好ましくは 4.5～7.5 モルの亜鉛イオン／6 モルのインスリン誘導体を含み、より好ましくは 4.5～7.0 モルの亜鉛イオン／6 モルのインスリン誘導体を含み、より好ましくは 4.5～6.5 モルの亜鉛イオン／6 モルのインスリン誘導体を含み、及び／又は pH は 6.5～8.5 であり、好ましくは、pH は 6.8～8.2、好ましくは、pH は 7.0～8.2、好ましくは、pH は 7.2～7.6 であり、より好ましくは、pH は 7.4 又は 7.6 である、請求項 21 に記載の薬物組成物。

【請求項 23】

グリセリン、フェノール、 m -クレゾール、 NaCl 、及び／又は Na_2HPO_4 をさらに含み、好ましくは、グリセリン、フェノール、及び NaCl をさらに含み、好ましくは、グリセリン、フェノール、 m -クレゾール、及び NaCl をさらに含み、好ましくは、グリセリン、フェノール、 NaCl 及び Na_2HPO_4 をさらに含み、より好ましくは、グリセリン、フェノール、 m -クレゾール、 NaCl 及び Na_2HPO_4 をさらに含む、請求項 22 に記載の薬物組成物。

【請求項 24】

前記グリセリンの含有量は約 2.5 % (重量／重量) を超えず、好ましくは約 2 % (重量／重量) を超えず、好ましくは約 0.3 % ～ 約 2 % (重量／重量) であり、好ましくは約 0.5 % ～ 約 1.8 % (重量／重量) であり、好ましくは約 0.7 % ～ 約 1.8 % (重量／重量) であり、より好ましくは約 1 % ～ 約 1.8 % (重量／重量) であり、及び／又は

10

前記フェノールの含有量は約 16 ～ 80 mM であり、好ましくは約 25 ～ 75 mM、好ましくは約 30 ～ 70 mM、好ましくは約 45 ～ 70 mM、好ましくは約 45 ～ 65 mM であり、好ましくは約 45 mM、約 46 mM、約 47 mM、約 48 mM、約 49 mM、50 mM、約 51 mM、約 52 mM、約 53 mM、約 54 mM、約 55 mM、約 56 mM、約 57 mM、約 58 mM、約 59 mM、約 60 mM、約 61 mM、約 62 mM、約 63 mM、約 64 mM、又は約 65 mM であり、及び／又は

前記 m -クレゾールの含有量は約 0 ～ 35 mM であり、好ましくは約 0 ～ 19 mM、好ましくは約 0 ～ 15 mM であり、好ましくは約 0 mM、約 1 mM、約 2 mM、約 3 mM、約 4 mM、約 5 mM、約 6 mM、約 7 mM、約 8 mM、約 9 mM、約 10 mM、約 11 mM、約 12 mM、約 13 mM、約 14 mM、又は約 15 mM であり、及び／又は

20

前記 NaCl の含有量は約 0 ～ 150 mM であり、好ましくは約 5 ～ 120 mM、好ましくは約 10 ～ 120 mM、好ましくは約 10 ～ 100 mM であり、より好ましくは約 10 ～ 75 mM、より好ましくは約 10 ～ 50 mM、より好ましくは約 10 ～ 30 mM であり、及び／又は

前記 Na_2HPO_4 の含有量は約 0 ～ 75 mM であり、好ましくは約 5 ～ 60 mM であり、好ましくは約 50 mM より低く、より好ましくは約 25 mM より低く、より好ましくは約 15 mM より低く、及び／又は

30

前記アシル化インスリンの含有量は約 0.3 mM より高く、好ましくは約 0.6 mM より高く、好ましくは約 0.3 ～ 12 mM、好ましくは約 0.6 ～ 9.0 mM、好ましくは約 0.6 ～ 8.4 mM、好ましくは約 0.6 ～ 7.2 mM、好ましくは約 0.6 ～ 6.0 mM、好ましくは約 0.6 ～ 4.2 mM、好ましくは約 0.6 ～ 3.6 mM、好ましくは約 0.6 ～ 3.0 mM、好ましくは約 0.6 ～ 2.4 mM、好ましくは約 0.6 ～ 2.1 mM、好ましくは約 0.6 ～ 1.2 mM である、

請求項 23 に記載の薬物組成物。

【請求項 25】

前記インスリン誘導体は $\text{B29K}(\text{N}(\epsilon)\text{-エイコサンジアシル-}\gamma\text{Glu-11xOEG})$ 、 desB30 ヒトインスリン、 $\text{B29K}(\text{N}(\epsilon)\text{-エイコサンジアシル-}\gamma\text{Glu-12xOEG})$ 、 desB30 ヒトインスリン、 $\text{B29K}(\text{N}(\epsilon)\text{-ドコサンジアシル-}\gamma\text{Glu-11xOEG})$ 、 desB30 ヒトインスリン、 $\text{B29K}(\text{N}(\epsilon)\text{-ドコサンジアシル-}\gamma\text{Glu-12xOEG})$ 、 desB30 ヒトインスリン、 $\text{B29K}(\text{N}(\epsilon)\text{-エイコサンジアシル-}\gamma\text{Glu-13xOEG})$ 、 desB30 ヒトインスリン、 $\text{B29K}(\text{N}(\epsilon)\text{-エイコサンジアシル-}\gamma\text{Glu-14xOEG})$ 、 desB30 ヒトインスリン、 $\text{B29K}(\text{N}(\epsilon)\text{-ドコサンジアシル-}\gamma\text{Glu-13xOEG})$ 、 desB30 ヒトインスリン、 $\text{B29K}(\text{N}(\epsilon)\text{-ドコサンジアシル-}\gamma\text{Glu-14xOEG})$ 、 desB30 ヒトインスリン、 $\text{B29K}(\text{N}(\epsilon)\text{-エイコサンジアシル-}\gamma\text{Glu-15xOEG})$ 、 desB30 ヒトインスリン、 $\text{B29K}(\text{N}(\epsilon)\text{-ドコサンジアシル-}\gamma\text{Glu-15xOEG})$ 、 desB30 ヒトインスリン、 A14

40

50

E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γ Glu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γ Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γ Glu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γ Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γ Glu-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γ Glu-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γ Glu-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γ Glu-15xOEG)、desB30ヒトインスリン、又はA14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γ Glu-15xOEG)、desB30ヒトインスリンであり、好ましくは、前記アシル化インスリンはA14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γ Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、又はA14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γ Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリンである、請求項21~24のいずれか一項に記載の薬物組成物。

10

20

【請求項26】

約0.6~4.2mMの請求項1~20のいずれか一項に記載のインスリン誘導体と、約1%~約1.8%(重量/重量)のグリセリンと、約45~65mMのフェノールと、約4.5~6.5モルの亜鉛イオン/6モルのインスリン誘導体と、約10~120mMの塩化ナトリウムと、約0~15mMのm-クレゾールとを含み、pH値が約7.0~8.2であり、好ましくは、前記インスリン誘導体はB29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γ Glu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γ Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γ Glu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γ Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γ Glu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γ Glu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γ Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、又はA14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γ Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリンである、薬物組成物。

30

【請求項27】

約0.6mM又は1.2mMの請求項1~20のいずれか一項に記載のインスリン誘導体と、1.7%(重量/重量)のグリセリンと、約45mMのフェノールと、約10mMのm-クレゾールと、約6.5モルの亜鉛イオン/6モルのインスリン誘導体と、約20mMの塩化ナトリウムとを含み、pH値が約7.0~8.0であり、好ましくは、前記インスリン誘導体はA14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γ Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γ Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γ Glu-18xOEG)、desB30ヒトインスリン、又はA14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γ Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリンである、薬物組成物。

40

【請求項28】

50

約 0.6 mM ~ 4.2 mM の請求項 1 ~ 20 のいずれか一項に記載のインスリン誘導体と、約 1 % ~ 約 2 % (好ましくは約 1.5 % ~ 1.7 %) (重量 / 重量) のグリセリンと、約 15 mM ~ 60 mM (好ましくは約 30 mM ~ 60 mM、より好ましくは約 45 mM ~ 60 mM) のフェノールと、約 0 ~ 25 mM (好ましくは約 0 ~ 10 mM) の m-クレゾールと、約 1.5 ~ 7.0 (好ましくは約 2.2 ~ 4.5) モルの亜鉛イオン / 6 モルのインスリン誘導体と、約 10 ~ 120 mM (好ましくは約 20 ~ 50 mM) の塩化ナトリウムとを含み、pH 値が約 7.0 ~ 8.0 であり、好ましくは、前記インスリン誘導体は B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-11x OEG)、des B30 ヒトインスリン、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-12x OEG)、des B30 ヒトインスリン、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-11x OEG)、des B30 ヒトインスリン、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-12x OEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-11x OEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-11x OEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-12x OEG)、des B30 ヒトインスリン、又は A14E、B16H、B25H、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-12x OEG)、des B30 ヒトインスリンである、薬物組成物。

10

20

【請求項 29】

約 1.2 mM ~ 1.5 mM の請求項 1 ~ 20 のいずれか一項に記載のインスリンと、約 1.5 % ~ 1.7 % (重量 / 重量) のグリセリンと、約 45 mM ~ 60 mM のフェノールと、約 0 ~ 10 mM の m-クレゾールと、約 2.2 ~ 2.5 モルの亜鉛イオン / 6 モルのインスリン誘導体と、約 20 mM の塩化ナトリウムとを含み、pH 値が約 7.0 ~ 8.0 であり、好ましくは、前記インスリン誘導体は A14E、B16H、B25H、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-12x OEG)、des B30 ヒトインスリン、又は A14E、B16H、B25H、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-12x OEG)、des B30 ヒトインスリンである、薬物組成物。

30

40

【請求項 30】

インスリン分泌促進 GLP-1 化合物をさらに含み、好ましくは、N-ε²⁶ - (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、N-ε²⁶ - (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [Gly 8, Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、N-ε²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Aib 8, Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、N-ε²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8, Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチドから選ばれるインスリン分泌促進 GLP-1 化合物をさらに含む、請求項 21 ~ 29 のいずれか一項に記載の薬物組成物。

【請求項 31】

式 (B)、すなわち、

[Acyl - (L1)_r - (L2)_q] - G1 (B)

で示されるインスリン分泌促進 GLP-1 化合物、又はその薬学的に許容可能な塩、アミド又はエステルをさらに含み、

ただし、G1 は GLP-1 (7-37) (配列番号 15) に対応する位置 34 で Arg を有し、位置 8 で Ala 又は Gly を有する GLP-1 類似体であり、[Acyl - (L1)_r - (L2)_q] は前記 GLP-1 類似体の位置 26 の Lys 残基の ε アミノ基に連結さ

50

10

20

30

40

50

式 (B) において、A c y、L 1 及び L 2 の間はアミド結合で順に連結され、L 2 の C 末端は前記 G L P - 1 類似体の位置 2 6 の L y s 残基の ϵ アミノ基に連結される、請求項 3 1 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の薬物組成物。

【請求項 3 5】

前記インスリン分泌促進 G L P - 1 化合物は、

N - ϵ ^{2 6} - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (1 9 - カルボキシノナデカノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8、A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ϵ ^{2 6} - [2 - (2 - [2 - (4 - [1 9 - カルボキシノナデカノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8、A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ϵ ^{2 6} - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (2 1 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8、A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ϵ ^{2 6} - [2 - (2 - [2 - (4 - [2 1 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8、A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ϵ ^{2 6} - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (2 3 - カルボキシトリコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8、A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ϵ ^{2 6} - [2 - (2 - [2 - (4 - [2 3 - カルボキシトリコサノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8、A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ϵ ^{2 6} - (2 3 - カルボキシトリコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [G l y 8、A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ϵ ^{2 6} - (1 9 - カルボキシノナデカノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [G l y 8、A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ϵ ^{2 6} - (2 1 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [G l y 8、A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ϵ ^{2 6} - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (1 9 - カルボキシノナデカノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ϵ ^{2 6} - [2 - (2 - [2 - (4 - [1 9 - カルボキシノナデカノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ϵ ^{2 6} - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (2 1 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ϵ ^{2 6} - [2 - (2 - [2 - (4 - [2 1 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ϵ ^{2 6} - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (2 3 - カルボキシトリコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

10

20

30

40

50

$N-\epsilon^{26}-[2-(2-[2-(4-[23-\text{カルボキシトリコサノイルアミノ}]) - 4$
 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、
 $N-\epsilon^{26}-(23-\text{カルボキシトリコサノイルアミノ}) - 4$ (S) - カルボキシブチリル - [Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、
 $N-\epsilon^{26}-(19-\text{カルボキシノナデカノイルアミノ}) - 4$ (S) - カルボキシブチリル - [Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、
 $N-\epsilon^{26}-(21-\text{カルボキシヘンエイコサノイルアミノ}) - 4$ (S) - カルボキシブチリル - [Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、
 $N-\epsilon^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(20-\text{カルボキシエイコサノイルアミノ}) - 4$ (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8, Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、
 $N-\epsilon^{26}-[2-(2-[2-(4-[20-\text{カルボキシエイコサノイルアミノ}) - 4$ (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8, Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、
 $N-\epsilon^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(22-\text{カルボキシドコサノイルアミノ}) - 4$ (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8, Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、
 $N-\epsilon^{26}-[2-(2-[2-(4-[22-\text{カルボキシドコサノイルアミノ}) - 4$ (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8, Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、
 $N-\epsilon^{26}-(20-\text{カルボキシエイコサノイルアミノ}) - 4$ (S) - カルボキシブチリル - [Gly 8, Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、
 $N-\epsilon^{26}-(22-\text{カルボキシドコサノイルアミノ}) - 4$ (S) - カルボキシブチリル - [Gly 8, Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、
 $N-\epsilon^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(20-\text{カルボキシエイコサノイルアミノ}) - 4$ (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、
 $N-\epsilon^{26}-[2-(2-[2-(4-[20-\text{カルボキシエイコサノイルアミノ}) - 4$ (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、
 $N-\epsilon^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(22-\text{カルボキシドコサノイルアミノ}) - 4$ (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、
 $N-\epsilon^{26}-[2-(2-[2-(4-[22-\text{カルボキシドコサノイルアミノ}) - 4$ (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、
 $N-\epsilon^{26}-(20-\text{カルボキシエイコサノイルアミノ}) - 4$ (S) - カルボキシブチリル - [Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、又は
 $N-\epsilon^{26}-(22-\text{カルボキシドコサノイルアミノ}) - 4$ (S) - カルボキシブチリル - [Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド、という化合物から選ばれる、
 請求項 31～34 のいずれか一項に記載の薬物組成物。
 【請求項 36】
 前記インスリン分泌促進 GLP-1 化合物は、
 $N-\epsilon^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-\text{カルボキシノナデカノイルアミノ}) - 4$ (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチル

アミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、

$N-\epsilon^{26}$ -[2-(2-[2-(4-[19-カルボキシノナデカノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、

$N-\epsilon^{26}$ -(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Gly 8、Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、

$N-\epsilon^{26}$ -(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、

$N-\epsilon^{26}$ -[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、又は

$N-\epsilon^{26}$ -[2-(2-[2-(4-[21-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、という化合物から選ばれ、

好ましくは、前記インスリン分泌促進 GLP-1 化合物は、

$N-\epsilon^{26}$ -[2-(2-[2-(4-[19-カルボキシノナデカノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、又は $N-\epsilon^{26}$ -[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチドである、

請求項 31 に記載の薬物組成物。

【請求項 37】

速効型インスリンをさらに含む、請求項 21～29 のいずれか一項に記載の薬物組成物。

【請求項 38】

前記速効型インスリンは、Asp^{B28} ヒトインスリン、Lys^{B28} Pro^{B29} ヒトインスリン、Lys^{B3} Glu^{B29} ヒトインスリン、ヒトインスリン及び des^{B30} ヒトインスリンのうちの 1 つ又は複数から選ばれ、好ましくは、前記速効型インスリンは Asp^{B28} ヒトインスリン、Lys^{B28} Pro^{B29} ヒトインスリン、Lys^{B3} Glu^{B29} ヒトインスリン、ヒトインスリン又は des^{B30} ヒトインスリンである、請求項 37 に記載の薬物組成物。

【請求項 39】

薬物として使用される、請求項 1～20 のいずれか一項に記載のインスリン誘導体又は請求項 21～38 のいずれか一項に記載の薬物組成物。

【請求項 40】

糖尿病、高血糖症、及び／又は耐糖能低下を治療又は予防するための薬物として使用される、請求項 1～20 のいずれか一項に記載のインスリン誘導体又は請求項 21～38 のいずれか一項に記載の薬物組成物。

【請求項 41】

糖尿病、高血糖症、及び／又は耐糖能低下の治療又は予防に使用される、請求項 1～20 のいずれか一項に記載のインスリン誘導体又は請求項 21～38 のいずれか一項に記載の薬物組成物。

【請求項 42】

薬物の調製における、請求項 1～20 のいずれか一項に記載のインスリン誘導体又は請求項 21～38 のいずれか一項に記載の薬物組成物の用途であって、好ましくは、前記薬物は糖尿病、高血糖症、及び／又は耐糖能低下の治療又は予防に使用される、用途。

【請求項 43】

10

20

30

40

50

前記薬物は糖尿病の治療に使用され、前記インスリン誘導体は、1日おきに又はそれ以下の頻度で同じ患者に投与され、また、平均して少なくとも1か月、6か月又は1年の期間に、前記インスリン誘導体はそれ以上の頻度で同じ患者に投与されない、請求項42に記載の用途。

【請求項44】

前記薬物は糖尿病の治療に使用され、前記インスリン誘導体は週に2回又はそれ以下の頻度で投与され、また、平均して少なくとも1か月、6か月又は1年の期間に、前記インスリン誘導体はそれ以上の頻度で同じ患者に投与しない、請求項42又は43に記載の用途。

【請求項45】

前記薬物は糖尿病の治療に使用され、前記インスリン誘導体は週に1回又はそれ以下の頻度で投与され、また、平均して少なくとも1か月、6か月又は1年の期間に、前記インスリン誘導体はそれ以上の頻度で同じ患者に投与しない、請求項42～44のいずれか一項に記載の用途。

【請求項46】

糖尿病、高血糖症、及び／又は耐糖能低下を治療又は予防する方法であって、治療有効量の請求項1～20のいずれか一項に記載のインスリン誘導体又は請求項21～38のいずれか一項に記載の薬物組成物を投与することを含む、方法。

【請求項47】

アルブミンの存在下で、インスリン受容体へのインスリン誘導体の結合能力を向上させる方法であって、

連結基 $L i n$ を介してアルブミン結合残基を天然に存在するインスリン又はインスリン類似体に連結することで、前記インスリン誘導体を得ることを含み、そのうち、前記連結基 $L i n$ は少なくとも20個、好ましくは少なくとも30個、好ましくは少なくとも40個、好ましくは少なくとも50個、好ましくは少なくとも65個、好ましくは20～200個、好ましくは30～180個、好ましくは61～180個、好ましくは66～180個、好ましくは72～120個の炭素原子を有する親水性連結基であり、前記アルブミン結合残基は20～40個の炭素原子を含み、好ましくは、前記アルブミン結合残基は20～40個の炭素原子を有する線形又は分岐の親油性基を含み、好ましくは、前記アルブミン結合残基は、20～26個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸（より好ましくは、20～24個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸）であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に前記脂肪酸のカルボキシ基及び前記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、又は

式(A)又は式(A')により天然に存在するインスリン又はインスリン類似体を修飾することで、前記インスリン誘導体を得ることを含み、

式(A)は $I I I - (I I)_m - (I)_n - (A)$ であり、

ただし、 m は0、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、 n は11～30の整数であり、好ましくは、 n は11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20であり、

I は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

$I I$ は酸性アミノ酸残基であり、

$I I I$ は、20～40個の炭素原子を有する線形又は分岐の親油性基を含むアルブミン結合残基であり、好ましくは、 $I I I$ は20～26個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸（より好ましくは、20～24個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸）であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に前記脂肪酸のカルボキシ基及び前記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

$I I I$ 、 $I I$ 及び I の間にはアミド結合で連結され、及び

$I I$ 及び I の式(A)における出現順番は独立的に交換可能であり、

(A') は $I I I - (I I)_m - (I')_n - (A')$ であり、

ただし、

10

20

30

40

50

mは0、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、n'は整数であり、
 I'は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、
 IIは酸性アミノ酸残基であり、

IIIは、20～40個の炭素原子を有する線形又は分岐の親油性基を含むアルブミン結合残基であり、好ましくは、IIIは20～26個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸（より好ましくは、20～24個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸）であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に前記脂肪酸のカルボキシ基及び前記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

III、II及びIの間はアミド結合で連結され、

II及びI'の式(A')における出現順番は独立的に交換可能であり、及び

(I')_nの全炭素原子数は20～200個、好ましくは30～180個、好ましくは42～180個、好ましくは61～180個、好ましくは66～180個、好ましくは72～120個である、

方法。

【請求項48】

インスリン誘導体の効力を向上させる方法であって、

連結基Linを介してアルブミン結合残基を天然に存在するインスリン又はインスリン類似体に連結することで、前記インスリン誘導体を得ることを含み、そのうち、前記連結基Linは少なくとも20個、好ましくは少なくとも30個、好ましくは少なくとも40個、好ましくは少なくとも50個、好ましくは少なくとも65個、好ましくは20～200個、好ましくは30～180個、好ましくは61～180個、好ましくは66～180個、好ましくは72～120個の炭素原子を有する親水性連結基であり、前記アルブミン結合残基は20～40個の炭素原子を含み、好ましくは、前記アルブミン結合残基は20～40個の炭素原子を有する線形又は分岐の親油性基を含み、好ましくは、前記アルブミン結合残基は、20～26個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸（より好ましくは、20～24個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸）であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に前記脂肪酸のカルボキシ基及び前記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、又は

式(A)又は式(A')により天然に存在するインスリン又はインスリン類似体を修飾することで、前記インスリン誘導体を得ることを含み、

式(A)はIII-(II)_m-(I)_n-(A)であり、

ただし、mは0、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、nは11～30の整数であり、好ましくは、nは11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20であり、

Iは中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

IIは酸性アミノ酸残基であり、

IIIは、20～40個の炭素原子を有する線形又は分岐の親油性基を含むアルブミン結合残基であり、好ましくは、IIIは20～26個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸（より好ましくは、20～24個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸）であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に前記脂肪酸のカルボキシ基及び前記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

III、II及びIの間はアミド結合で連結され、及び

II及びIの式(A)における出現順番は独立的に交換可能であり、

(A')はIII-(II)_m-(I')_n-(A')であり、

ただし、

mは0、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、n'は整数であり、

I'は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

IIは酸性アミノ酸残基であり、

IIIは、20～40個の炭素原子を有する線形又は分岐の親油性基を含むアルブミン結合残基であり、好ましくは、IIIは20～26個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二

10

20

30

40

50

酸（より好ましくは、20～24個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸）であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に前記脂肪酸のカルボキシ基及び前記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

III、II及びI'の間はアミド結合で連結され、

II及びI'の式(A')における出現順番は独立的に交換可能であり、及び

(I')_nの全炭素原子数は20～200個、好ましくは30～180個、好ましくは42～180個、好ましくは61～180個、好ましくは66～180個、好ましくは72～120個である、

方法。

【請求項49】

前記天然に存在するインスリン又はインスリン類似体は、少なくとも1つのリジン残基を含み、連結基Lin、式(A)又は式(A')は、前記インスリン母体のリジン残基又はN末端アミノ酸残基のアミノ基に連結される、請求項47又は48に記載の方法。

【請求項50】

nは11、12、13、14、15、16、17又は18であり、好ましくは、nは11、12、13、14、15又は16であり、好ましくは、nは11、12、13、14又は15であり、及び／又は

mは1～6の整数であり、好ましくは、mは1、2、3又は4であり、好ましくは、mは1又は2であり、好ましくは、mは1であり、及び／又は

IIIは20～26個（好ましくは20～23個）の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、好ましくは、IIIは20、21又は22個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に前記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、及び／又は

前記インスリン母体は1つのリジン残基を含む、

請求項47又は48に記載の方法。

【請求項51】

Iは、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_4\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_4\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_4\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—NH—CO—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—NH—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、又は $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_4\text{—O—(CH}_2\text{)}_4\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ であり、好ましくは、Iは $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ であり、又は、I'は $\text{—HN—(CH}_2\text{—CH}_2\text{—O)}_{20}\text{—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{—CH}_2\text{—O)}_{22}\text{—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{—CH}_2\text{—O)}_{24}\text{—CH}_2\text{—CO—}$ 、又は $\text{—HN—(CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—O)}_{15}\text{—CH}_2\text{—CO—}$ であり、及び／又は

IIはγGlu、αGlu、βAsp、αAsp、γ-D-Glu、α-D-Glu、β

10

20

30

40

50

−D−Asp又はα−D−Aspから選ばれるアミノ酸残基であり、好ましくは、IIはγGlu又はβAspから選ばれ、及び／又は

IIIは $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{18}-\text{CO}-$ 、 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{19}-\text{CO}-$ 、 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{20}-\text{CO}-$ 、 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{21}-\text{CO}-$ 、 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{22}-\text{CO}-$ 又は $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{24}-\text{CO}-$ であり、好ましくは、IIIは $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{18}-\text{CO}-$ 、 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{20}-\text{CO}-$ 又は $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{22}-\text{CO}-$ である、

請求項47又は48に記載の方法。

【請求項52】

式(A)又は式(A')を、IのC末端を介して前記天然インスリン又はインスリン類似体のリジン残基又はN末端アミノ酸残基のアミノ基に連結する、請求項47〜51のいずれか一項に記載の方法。

【請求項53】

式(A)又は式(A')は前記インスリン母体のリジン残基のεアミノ基に連結される、請求項47〜52のいずれか一項に記載の方法。

【請求項54】

前記天然インスリン又はインスリン類似体のリジン残基はB29位に位置する、請求項47〜53のいずれか一項に記載の方法。

【請求項55】

前記天然に存在するインスリン又はインスリン類似体は、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、desB30ヒトインスリン、ヒトインスリン、A21Gヒトインスリン、A21G、desB30ヒトインスリン、又はB28Dヒトインスリン、というインスリン又はインスリン類似体から選ばれ、好ましくは、前記インスリン母体はdesB30ヒトインスリン又はA14E、B16H、B25H、desB30ヒトインスリンである、請求項47〜54のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、治療用ペプチドの分野に関し、具体的に、新規のインスリン誘導体、その薬物製剤、それと長時間作用型GLP-1化合物との薬物組成物、それと速効型インスリンとの薬物組成物、及び上記インスリン誘導体、薬物製剤と薬物組成物の医薬用途に関する。

【背景技術】

【0002】

インスリンは、膵臓のβ細胞から分泌されるポリペプチドホルモンである。インスリンは、A鎖とB鎖と命名された2本のポリペプチド鎖で構成され、上記A鎖とB鎖は、2つの鎖間ジスルフィド結合によって連結されている。ヒト、ブタ及びウシのインスリンにおいて、A鎖とB鎖はそれぞれ、21個と30個のアミノ酸残基を含む。しかし、2本の鎖の異なる位置に存在するアミノ酸残基は、種によって異なっている。遺伝子工学的改変の幅広い適用により、1つ又は複数のアミノ酸残基の置換、欠乏及び追加によって、天然に存在するインスリンの類似体を調製することが可能になる。

【0003】

インスリンは、糖尿病及びそれに関連する又はそれに起因する疾患の治療に使用することができ、正常な代謝調節の維持に必要なものである。しかし、ヒトインスリンなどの天然インスリンは作用時間が短いため、患者に頻繁に注射する必要があり、注射による多くの不快感を患者に感じさせてしまう。従って、インスリンの高頻度の注射による不便と不快感を改善するように、薬効が良く、作用時間がより長く、注射頻度がより低いインスリン誘導体又は類似体を得ることが取り組まれている。

【0004】

10

20

30

40

50

特許文献 1 には、市販の長時間作用型インスリンであるインスリンデテミルが開示されており、その分子構造は、ヒトインスリン B 鎖の 30 位のスレオニンを除き、B 鎖の第 29 位のリジン残基に炭素数 14 の脂肪酸一酸が連結されることを特徴とする。特許文献 2 には、市販の別の長時間作用型インスリンであるインスリンデグルデクが開示されており、インスリンデグルデクは、インスリンデテミルよりも作用時間が長い新規の超長時間作用型インスリンであり、その分子構造は、ヒトインスリン B 鎖の 30 位のスレオニンを除き、1 つのグルタミン酸分子によって炭素数 16 の脂肪酸二酸側鎖を B 29 位のリジン残基に連結することを特徴とする。特許文献 3 及び 4 には、PEG (PEGylated) 化で延長されたインスリンが開示されており、通常の未修飾のインスリンと比べて、PEG 化で延長されたインスリンは、より長い作用時間を有する。特許文献 5 及び 6 には、長時間作用型ヒトインスリン類似体のアシル化誘導体が開示されている。

10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献 1】国際公開第 1995/007931 号

【特許文献 2】国際公開第 2005/012347 号

【特許文献 3】中国特許 101573133 号明細書

【特許文献 4】国際公開第 2009/010428 号

【特許文献 5】国際公開第 2013/086927 号

【特許文献 6】国際公開第 2018/024186 号

20

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

しかし、今まで、1 日 1 回の皮下注射よりも低い頻度の基礎インスリン製品の市販は、まだ承認されていない。

従って、市販のインスリン（例えば、インスリンデグルデク）又は既知のインスリン誘導体と比べて、より良い薬効又は効能、より長い作用時間、より低い投与頻度、より優れた物理化学的特性を有するインスリン誘導体又は類似体は、今でも求められている。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明は、新規のインスリン誘導体（例えば、アシル化インスリン）を提供する。発明者は、大量の試験を通じて、上記新規のインスリン誘導体（例えば、アシル化インスリン）が市販のインスリンデグルデク（商品名「トレスーバ」）又は他の幾つかのインスリン誘導体と比べて、予想以上の顕著に向上した効力、効能又は薬効、より長い作用持続時間、より長いインビボ半減期、良好な生物学的利用能、より良い安全性を有するとともに、より好ましい物理的安定性、化学的安定性及び溶解度を有することを予想外に発見した。

30

【0008】

一態様において、本発明はインスリン誘導体を提供し、上記インスリン誘導体はインスリン母体、アルブミン結合残基及び連結基 Lin を含み、上記インスリン母体は天然に存在するインスリン又はインスリン類似体であり、上記アルブミン結合残基は連結基 Lin を介して上記インスリン母体に連結され、ただし、

40

上記連結基 Lin は、少なくとも 20 個、好ましくは少なくとも 30 個、好ましくは少なくとも 40 個、好ましくは少なくとも 50 個、好ましくは少なくとも 65 個、好ましくは 20 ~ 200 個、好ましくは 30 ~ 180 個、好ましくは 61 ~ 180 個、好ましくは 66 ~ 180 個、好ましくは 72 ~ 120 個の炭素原子を有する親水性連結基であり、又は、上記連結基 Lin は、少なくとも 11 個の中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基を含み、好ましくは、上記連結基 Lin は、少なくとも 12 個の中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基を含み、好ましくは、上記連結基 Lin は、12 ~ 20 個の中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基を含み、又は、上記連結基 Lin は、少なくとも 20 個、好ましくは少なくとも 30 個、好ましくは少なくとも 42 個、好

50

ましくは15～120個、好ましくは30～100個、好ましくは42～80個の炭素原子を有するアルキレングリコールを含み、及び

上記アルブミン結合残基は、20～40個の炭素原子を含み、好ましくは上記アルブミン結合残基は、20～40個の炭素原子を有する線形又は分岐の親油性基を含み、好ましくは上記アルブミン結合残基は、20～26個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸（より好ましくは、20～24個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸）であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪酸のカルボキシ基及び上記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されている。

【0009】

発明者は、大量の実験を通じて、本発明のインスリン誘導体における一定の長さのアルブミン結合残基と一定の長さの親水性連結基とを組み合わせることで、本発明のインスリン誘導体が既存のインスリン誘導体と比べて、相当する又はより長い作用時間を有すると共に、予想以上の顕著に向上した薬効を有し、また、アルブミンの存在下で、インスリン受容体に対する結合能力へのアルブミンによる影響が顕著に低下し、インスリン受容体に対する結合能力が顕著に向上したことを予想外に発見した。

【0010】

幾つかの実施形態において、上記インスリン母体は、少なくとも1つのリジン残基を含み、上記アルブミン結合残基は連結基Linを介して上記インスリン母体のリジン残基又はN末端アミノ酸残基のアミノ基に連結される。

【0011】

幾つかの実施形態において、上記インスリン誘導体は、1つ又は複数の連結基IIをさらに含み、上記連結基IIは酸性アミノ酸残基であり、上記連結基IIは上記アルブミン結合残基と上記連結基Linとの間に連結され、及び／又は上記連結基Linと上記インスリン母体との間に連結され、好ましくは、上記連結基IIは上記アルブミン結合残基と上記連結基Linとの間に連結される。

【0012】

本発明の別の態様において、アシル化インスリンであるインスリン誘導体を提供し、上記アシル化インスリンのインスリン母体は天然に存在するインスリン又はインスリン類似体であり、且つ少なくとも1つのリジン残基を含み、上記アシル化インスリンのアシル基部分は上記インスリン母体のリジン残基又はN末端アミノ酸残基のアミノ基に連結され、

上記アシル基部分は式(A)、すなわち、

ただし、

mは0、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、nは11以上の整数であり、好ましくは、nは11～30の整数であり、

Iは中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

IIは酸性アミノ酸残基であり、

IIIは20～26個（好ましくは20～24個）の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

III、II及びIの間はアミド結合で連結され、及び

II及びIの式(A)における出現順番は独立的に交換可能であり、

又は、

上記アシル基部分は式(A')、すなわち、

III'は20～26個（好ましくは20～24個）の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸であり、ただし、

ただし、

mは0、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、n'は整数であり、

I'は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

IIは酸性アミノ酸残基であり、

IIIは20～26個（好ましくは20～24個）の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二

10

20

30

40

50

酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪酸のカルボキシ基及び上記脂肪酸二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

III、II及びI'の間はアミド結合で連結され、

II及びI'の式(A')における出現順番は独立的に交換可能であり、及び

(I')_nの全炭素原子数は20~200個、好ましくは30~180個、好ましくは42~180個、好ましくは61~180個、好ましくは66~180個、好ましくは72~120個である。

【0013】

本発明の別の態様において、アシル化インスリンであるインスリン誘導体を提供し、上記アシル化インスリンのインスリン母体は天然に存在するインスリン又はインスリン類似体であり、且つ少なくとも1つのリジン残基を含み、上記アシル化インスリンのアシル基部分は上記インスリン母体のリジン残基又はN末端アミノ酸残基のアミノ基に連結され、上記アシル基部分は式(A)、すなわち、

III-(II)_m-(I)_n-(A)で示され、

ただし、

mは0、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、nは11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20の整数であり、

Iは中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

IIは酸性アミノ酸残基であり、

IIIは20~26個（好ましくは20~24個）の炭素原子を含む脂肪酸二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪酸二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

III、II及びIの間はアミド結合で連結され、及び

II及びIの式(A)における出現順番は独立的に交換可能であり、

又は、

上記アシル基部分は式(A')、すなわち、

III-(II)_m-(I')_n-(A')で示され、

ただし、

mは0、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、n'は整数であり、

I'は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

IIは酸性アミノ酸残基であり、

IIIは20~26個（好ましくは20~24個）の炭素原子を含む脂肪酸二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪酸二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

III、II及びI'の間はアミド結合で連結され、

II及びI'の式(A')における出現順番は独立的に交換可能であり、及び

(I')_nの全炭素原子数は42~180個、好ましくは61~180個、好ましくは66~180個、好ましくは72~120個である。

【0014】

幾つかの実施形態において、nは11、12、13、14、15、16、17又は18であり、好ましくは、nは11、12、13、14、15又は16であり、好ましくは、nは11、12、13、14又は15であり、及び／又は

mは1~6の整数であり、好ましくは、mは1、2、3又は4であり、好ましくは、mは1又は2であり、好ましくは、mは1であり、及び／又は

IIIは20~26個（好ましくは20~23個）の炭素原子を含む脂肪酸二酸であり、好ましくは、IIIは20、21又は22個の炭素原子を含む脂肪酸二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪酸二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、及び／又は

上記インスリン母体は1つのリジン残基を含む。

【0015】

幾つかの実施形態において、Iは $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_4\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_4\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—NH—CO—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—NH—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、又は $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_4\text{—O—(CH}_2\text{)}_4\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ であり、好ましくは、Iは $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ であり、又は、I'は $\text{—HN—(CH}_2\text{—CH}_2\text{—O)}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{—CH}_2\text{—O)}_2\text{—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{—CH}_2\text{—O)}_2\text{—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{—CH}_2\text{—O)}_4\text{—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{—CH}_2\text{—O)}_15\text{—CH}_2\text{—CO—}$ であり、及び／又は

10

20

IIは γGlu 、 αGlu 、 βAsp 、 αAsp 、 $\gamma\text{—D—Glu}$ 、 $\alpha\text{—D—Glu}$ 、 $\beta\text{—D—Asp}$ 又は $\alpha\text{—D—Asp}$ から選ばれるアミノ酸残基であり、好ましくは、IIは γGlu 又は βAsp から選ばれ、及び／又は

IIIは $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{18}\text{—CO—}$ 、 $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{19}\text{—CO—}$ 、 $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{20}\text{—CO—}$ 、 $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{21}\text{—CO—}$ 、 $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{22}\text{—CO—}$ 又は $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{24}\text{—CO—}$ であり、好ましくは、IIIは $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{18}\text{—CO—}$ 、 $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{19}\text{—CO—}$ 、 $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{20}\text{—CO—}$ 、 $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{21}\text{—CO—}$ 又は $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{22}\text{—CO—}$ であり、好ましくは、IIIは $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{18}\text{—CO—}$ 、 $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{20}\text{—CO—}$ 又は $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{22}\text{—CO—}$ である。

30

【0016】

幾つかの実施形態において、式(A)はIのC末端を介して上記インスリン母体のリジン残基又はN末端アミノ酸残基のアミノ基に連結され、又は式(A')はI'のC末端を介して上記インスリン母体のリジン残基又はN末端アミノ酸残基のアミノ基に連結される。幾つかの実施形態において、上記アシル基部分は、上記インスリン母体のリジン残基の ϵ アミノ基に連結される。

幾つかの実施形態において、上記インスリン母体のリジン残基はB29位に位置する。

40

【0017】

幾つかの実施形態において、上記インスリン母体は、desB30ヒトインスリン（配列番号1及び配列番号2、それぞれA鎖及びB鎖を表す）、A14E、B16H、B25H、desB30ヒトインスリン（配列番号3及び配列番号4、それぞれA鎖及びB鎖を表す）、A14E、B16E、B25H、desB30ヒトインスリン（配列番号5及び配列番号6、それぞれA鎖及びB鎖を表す）、ヒトインスリン（配列番号7及び配列番号8、それぞれA鎖及びB鎖を表す）、A21Gヒトインスリン（配列番号9及び配列番号10、それぞれA鎖及びB鎖を表す）、A21G、desB30ヒトインスリン（配列番号11及び配列番号12、それぞれA鎖及びB鎖を表す）、又はB28Dヒトインスリン（配列番号13及び配列番号14、それぞれA鎖及びB鎖を表す）、というインスリン又

50

はインスリン類似体から選ばれ、好ましくは、上記インスリン母体はdesB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、desB30ヒトインスリン、又はA14E、B16E、B25H、desB30ヒトインスリンである。

【0018】

幾つかの実施形態において、上記アシル化インスリンは、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-11xOEG-γGlu)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-12xOEG-γGlu)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-12xOEG-γGlu-γGlu)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-11xOEG-γGlu-γGlu)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-βAsp-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-βAsp-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-αGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-αGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-αGlu-αGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-αGlu-αGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-αAsp-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-αAsp-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-γGlu-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-γGlu-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-13xOEG-γGlu)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-14xOEG-γGlu)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-14xOEG-γGlu-γGlu)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-13xOEG-γGlu-γGlu)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-βAsp-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-βAsp-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-αGlu-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-αGlu-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-αGlu-αGlu-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-αGlu-αGlu-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-αAsp-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-αAsp-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ードコサンジアシル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ードコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ードコサンジアシル-γGlu-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ードコサンジアシル-γGlu-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ードコサンジアシル-11xOEG-γGlu)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-

10

20

30

40

50

ードコサンジアシル-12xOEG- γ Gl u)、desB30ヒトインスリン、B29
 K(N(ϵ)-ードコサンジアシル-12xOEG- γ Gl u- γ Gl u)、desB30
 ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-ードコサンジアシル-11xOEG- γ Gl u- γ
 Gl u)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-ードコサンジアシル- β A
 sp-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-ードコサンジ
 アシル- β A sp-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-
 ードコサンジアシル- α Gl u-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29
 K(N(ϵ)-ードコサンジアシル- α Gl u-12xOEG)、desB30ヒトインス
 リン、B29K(N(ϵ)-ードコサンジアシル- α Gl u- α Gl u-11xOEG)、
 desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-ードコサンジアシル- α Gl u- α Gl
 u-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-ードコサンジ
 アシル- α A sp-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-
 ードコサンジアシル- α A sp-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29
 K(N(ϵ)-ードコサンジアシル- γ Gl u-13xOEG)、desB30ヒトインス
 リン、B29K(N(ϵ)-ードコサンジアシル- γ Gl u-14xOEG)、desB3
 0ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-ードコサンジアシル- γ Gl u- γ Gl u-13
 xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-ードコサンジアシル- γ
 Gl u- γ Gl u-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-
 ードコサンジアシル-13xOEG- γ Gl u)、desB30ヒトインスリン、B29
 K(N(ϵ)-ードコサンジアシル-14xOEG- γ Gl u)、desB30ヒトインス
 リン、B29K(N(ϵ)-ードコサンジアシル-14xOEG- γ Gl u- γ Gl u)、
 desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-ードコサンジアシル-13xOEG-
 γ Gl u- γ Gl u)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-ードコサンジ
 アシル- β A sp-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-
 ードコサンジアシル- β A sp-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29
 K(N(ϵ)-ードコサンジアシル- α Gl u-13xOEG)、desB30ヒトインス
 リン、B29K(N(ϵ)-ードコサンジアシル- α Gl u-14xOEG)、desB3
 0ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-ードコサンジアシル- α Gl u- α Gl u-13
 xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-ードコサンジアシル- α
 Gl u- α Gl u-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-
 ードコサンジアシル- α A sp-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29
 K(N(ϵ)-ードコサンジアシル- α A sp-14xOEG)、desB30ヒトインス
 リン、B29K(N(ϵ)-ヘンエイコサンジアシル- γ Gl u-11xOEG)、de
 sB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-ヘンエイコサンジアシル- γ Gl u-1
 2xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-ヘンエイコサンジ
 アシル- γ Gl u-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-
 ヘンエイコサンジアシル- γ Gl u-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、B
 29K(N(ϵ)-トリコサンジアシル- γ Gl u-11xOEG)、desB30ヒト
 インスリン、B29K(N(ϵ)-トリコサンジアシル- γ Gl u-12xOEG)、d
 esB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-トリコサンジアシル- γ Gl u-13
 xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-トリコサンジアシル-
 γ Gl u-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-テトラ
 コサンジアシル- γ Gl u-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(
 N(ϵ)-テトラコサンジアシル- γ Gl u-12xOEG)、desB30ヒトインス
 リン、B29K(N(ϵ)-テトラコサンジアシル- γ Gl u-13xOEG)、des
 B30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-テトラコサンジアシル- γ Gl u-14x
 OEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-エイコサンジアシル- γ
 Gl u-15xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ϵ)-エイコサ
 ンジアシル- γ Gl u-16xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(
 ϵ)-ードコサンジアシル- γ Gl u-15xOEG)、desB30ヒトインスリン、又

10

20

30

40

50

はB29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-16xOEG)、desB30ヒ
 トインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシ
 ル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B
 25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、des
 B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサ
 ンジアシル-γGlu-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A1
 4E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-γG
 lu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、
 B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-11xOEG-γGlu)、desB30ヒ
 トインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシ
 ル-12xOEG-γGlu)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B
 25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-12xOEG-γGlu-γGlu
)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)
 -エイコサンジアシル-11xOEG-γGlu-γGlu)、desB30ヒトインス
 リン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-βA
 sp-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、
 B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-βAsp-12xOEG)、desB30ヒ
 トインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシ
 ル-αGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B
 25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-αGlu-12xOEG)、des
 B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサ
 ンジアシル-αGlu-αGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A1
 4E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-αGlu-αG
 lu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、
 B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-αAsp-11xOEG)、desB30ヒ
 トインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシ
 ル-αAsp-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B
 25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-13xOEG)、des
 B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサ
 ンジアシル-γGlu-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B1
 6H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-γGlu-13
 xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N
 (ε)-エイコサンジアシル-γGlu-γGlu-14xOEG)、desB30ヒト
 インスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル
 -13xOEG-γGlu)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B2
 5H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-14xOEG-γGlu)、desB
 30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサン
 ジアシル-14xOEG-γGlu-γGlu)、desB30ヒトインスリン、A14
 E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-13xOEG-γ
 Glu-γGlu)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B
 29K(N(ε)-エイコサンジアシル-βAsp-13xOEG)、desB30ヒト
 インスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル
 -βAsp-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B2
 5H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-αGlu-13xOEG)、desB
 30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサン
 ジアシル-αGlu-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16
 H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-αGlu-αGlu-13x
 OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N
 (ε)-エイコサンジアシル-αGlu-αGlu-14xOEG)、desB30ヒト

10

20

30

40

50

50

50

50

50

E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-18xOEG)、desB30ヒトインスリン、又はA14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-24xOEG)、desB30ヒトインスリン、というインスリンから選ばれる。

【0019】

幾つかの実施形態において、上記アシル化インスリンは、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-15xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-15xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-15xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-15xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-15xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-16xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-17xOEG

10

20

30

40

50

)、des B30 ヒトインスリン、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-16xOEG)、des B30 ヒトインスリン、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-17xOEG)、des B30 ヒトインスリン、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-18xOEG)、des B30 ヒトインスリン、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-19xOEG)、des B30 ヒトインスリン、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-18xOEG)、des B30 ヒトインスリン、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-19xOEG)、des B30 ヒトインスリン、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-20xOEG)、des B30 ヒトインスリン、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-20xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-16xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-17xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-16xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-17xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-18xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-19xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-18xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-19xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-20xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-20xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-16xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-17xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-16xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-17xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-18xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-19xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-18xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-19xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-20xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-20xOEG)、des B30 ヒトインスリン、又はA14E、B16H、B25H、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-24xOEG)、des B30 ヒトインスリン、というインスリンから選ばれる。

【0020】

幾つかの実施形態において、上記アシル化インスリンは、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-11xOEG)、des B30 ヒトインスリン、B29K (N (ε) - エイコサンジアシル-γ Glu-12xOEG)、des B30 ヒトインスリン、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-11xOEG)、des B30 ヒトインスリン、B29K (N (ε) - ドコサンジアシル-γ Glu-12xOEG)、des B30 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N (ε) - エイ

コサンジアシル- γ Glu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ϵ)-ドコサンジアシル- γ Glu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ϵ)-エイコサンジアシル- γ Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ϵ)-ドコサンジアシル- γ Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、14E、B16E、B25H、B29K(N(ϵ)-エイコサンジアシル- γ Glu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N(ϵ)-ドコサンジアシル- γ Glu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N(ϵ)-エイコサンジアシル- γ Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ϵ)-ドコサンジアシル- γ Glu-18xOEG)、desB30ヒトインスリン、又はA14E、B16E、B25H、B29K(N(ϵ)-ドコサンジアシル- γ Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、というインスリンから選ばれる。

10

【0021】

本発明の別の態様において、アシル化インスリンであるインスリン誘導体を提供し、上記アシル化インスリンのインスリン母体はA14E、B16H、B25H、desB30ヒトインスリン又はA14E、B16E、B25H、desB30ヒトインスリンであり、上記アシル化インスリンのアシル基部分は上記インスリン母体のリジン残基又はN末端アミノ酸残基のアミノ基に連結され、上記アシル基部分は式(D)、すなわち、

20

$W1-(W2)_{m2}-(W3)_{n2}-$ (D) で示され、
ただし、

$m2$ は0、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、 $n2$ は11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20であり、

$W3$ は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

$W2$ は酸性アミノ酸残基であり、

$W1$ は20～24個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

$W1$ 、 $W2$ 及び $W3$ の間はアミド結合で連結され、及び

$W2$ 及び $W3$ の式(D)における出現順番は独立的に交換可能であり、

30

又は、

上記アシル基部分は式(D')、すなわち、

$W1-(W2)_{m2}-(W3')_{n2}-$ (D') で示され、

ただし、

$m2$ は0、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、 $n2'$ は整数であり、

$W3'$ は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

$W2$ は酸性アミノ酸残基であり、

$W1$ は20～24個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

$W1$ 、 $W2$ 及び $W3$ の間はアミド結合で連結され、

40

$W2$ 及び $W3$ の式(D)における出現順番は独立的に交換可能であり、及び

$(W3')_{n2}$ の全炭素原子数は30～180個、42～180個であり、好ましくは61～180個、好ましくは66～180個、好ましくは72～120個である。

【0022】

幾つかの実施形態において、 $n2$ は11、12、13、14、15、16、17、18又は19であり、好ましくは、 $n2$ は11、12、13、14、15、16、17又は18であり、好ましくは、 $n2$ は11、12、13、14、15又は16であり、好ましくは、 $n2$ は11、12、13、14又は15であり、及び／又は

$m2$ は1～6の整数であり、好ましくは、 $m2$ は1、2、3又は4であり、好ましくは、

$m2$ は1又は2であり、好ましくは、 $m2$ は1であり、及び／又は

50

【 0 0 2 3 】

20

30

【 0 0 2 4 】

40

【 0 0 2 5 】

50

)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N (ε) -トリコサンジアシル-γ Glu-1 2 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N (ε) -テトラコサンジアシル-γ Glu-1 2 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N (ε) -エイコサンジアシル-γ Glu-1 3 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N (ε) -エイコサンジアシル-γ Glu-1 4 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N (ε) -エイコサンジアシル-γ Glu-1 5 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N (ε) -ドコサンジアシル-γ Glu-1 3 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N (ε) -ドコサンジアシル-γ Glu-1 4 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N (ε) -ドコサンジアシル-γ Glu-1 5 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、又は A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N (ε) -ドコサンジアシル-γ Glu-1 8 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、というインスリンから選ばれる。

10

【0026】

本発明の別の態様において、本発明の上記のインスリン誘導体、及び1種又は複数種の薬学的に許容可能な賦形剤を含む薬物組成物を提供する。

【0027】

幾つかの実施形態において、上記薬物組成物は、少なくとも1.5モルの亜鉛イオン／6モルのインスリン誘導体を含み、好ましくは少なくとも2.2モルの亜鉛イオン／6モルのインスリン誘導体を含み、好ましくは少なくとも3.5モルの亜鉛イオン／6モルのインスリン誘導体を含み、好ましくは少なくとも4.5モルの亜鉛イオン／6モルのインスリン誘導体を含み、より好ましくは4.5～12モルの亜鉛イオン／6モルのインスリン誘導体を含み、より好ましくは4.5～10モルの亜鉛イオン／6モルのインスリン誘導体を含み、より好ましくは4.5～8モルの亜鉛イオン／6モルのインスリン誘導体を含み、より好ましくは4.5～7.5モルの亜鉛イオン／6モルのインスリン誘導体を含み、より好ましくは4.5～7.0モルの亜鉛イオン／6モルのインスリン誘導体を含み、より好ましくは4.5～6.5モルの亜鉛イオン／6モルのインスリン誘導体を含み、及び／又は

20

幾つかの実施形態において、上記薬物組成物のpHは6.5～8.5であり、好ましくは、pHは6.8～8.2、好ましくは、pHは7.0～8.2、好ましくは、pHは7.2～7.6であり、より好ましくは、pHは7.4又は7.6である。

30

【0028】

幾つかの実施形態において、上記薬物組成物はグリセリン、フェノール、m-クレゾール、NaCl、及び／又はNa₂HPO₄をさらに含み、好ましくは、上記薬物組成物はグリセリン、フェノール、及びNaClをさらに含み、好ましくは、上記薬物組成物はグリセリン、フェノール、m-クレゾール、及びNaClをさらに含み、好ましくは、上記薬物組成物はグリセリン、フェノール、NaCl及びNa₂HPO₄をさらに含み、より好ましくは、上記薬物組成物はグリセリン、フェノール、m-クレゾール、NaCl及びNa₂HPO₄をさらに含む。

40

幾つかの実施形態において、上記グリセリンの含有量は約2.5% (重量／重量)を超えず、好ましくは約2% (重量／重量)を超えず、好ましくは約0.3%～約2% (重量／重量)であり、好ましくは約0.5%～約1.8% (重量／重量)であり、好ましくは約0.7%～約1.8% (重量／重量)であり、より好ましくは約1%～約1.8% (重量／重量)であり、及び／又は

上記フェノールの含有量は約16～80mMであり、好ましくは約25～75mM、好ましくは約30～70mM、好ましくは約45～70mM、好ましくは約45～65mMであり、好ましくは約45mM、約46mM、約47mM、約48mM、約49mM、50mM、約51mM、約52mM、約53mM、約54mM、約55mM、約56mM、約

50

57 mM、約58 mM、約59 mM、約60 mM、約61 mM、約62 mM、約63 mM、約64 mM、又は約65 mMであり、及び／又は

上記m-クレゾールの含有量は約0～35 mMであり、好ましくは約0～19 mM、好ましくは約0～15 mMであり、好ましくは約0 mM、約1 mM、約2 mM、約3 mM、約4 mM、約5 mM、約6 mM、約7 mM、約8 mM、約9 mM、約10 mM、約11 mM、約12 mM、約13 mM、約14 mM、又は約15 mMであり、及び／又は

上記NaClの含有量は約0～150 mMであり、好ましくは約5～120 mM、好ましくは約10～120 mM、好ましくは約10～100 mMであり、より好ましくは約10～75 mM、より好ましくは約10～50 mM、より好ましくは約10～30 mMであり、及び／又は

上記 Na_2HPO_4 の含有量は約0～75 mMであり、好ましくは約5～60 mMであり、好ましくは約50 mMより低く、より好ましくは約25 mMより低く、より好ましくは約15 mMより低く、及び／又は

上記アシル化インスリンの含有量は約0.3 mMより高く、好ましくは約0.6 mMより高く、好ましくは約0.3～12 mM、好ましくは約0.6～9.0 mM、好ましくは約0.6～8.4 mM、好ましくは約0.6～7.2 mM、好ましくは約0.6～6.0 mM、好ましくは約0.6～4.2 mM、好ましくは約0.6～3.6 mM、好ましくは約0.6～3.0 mM、好ましくは約0.6～2.4 mM、好ましくは約0.6～2.1 mM、好ましくは約0.6～1.2 mMである。

幾つかの実施形態において、上記インスリン誘導体はB29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-15xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-15xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-13xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-14xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-15xOEG)、desB30ヒトインスリン、又はA14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-15xOEG)、desB30ヒトインスリンであり、好ましくは、上記アシル化インスリンはA14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、又はA14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γGlu-12xOEG)、de

10

20

30

40

50

s B 3 0 ヒトインスリンである。

【0029】

本発明の別の態様において、約0.6～4.2 mMの本発明の上記のインスリン誘導体と、約1%～約1.8%（重量／重量）のグリセリンと、約45～65 mMのフェノールと、約4.5～6.5モルの亜鉛イオン／6モルのインスリン誘導体と、約10～120 mMの塩化ナトリウムと、約0～15 mMのm-クレゾールとを含み、pH値が約7.0～8.2である薬物組成物を提供し、好ましくは、上記インスリン誘導体はB 2 9 K（N（ε）-エイコサンジアシル-γ Glu-11xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K（N（ε）-エイコサンジアシル-γ Glu-12xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K（N（ε）-ドコサンジアシル-γ Glu-11xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K（N（ε）-ドコサンジアシル-γ Glu-12xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K（N（ε）-エイコサンジアシル-γ Glu-11xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K（N（ε）-ドコサンジアシル-γ Glu-11xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K（N（ε）-ドコサンジアシル-γ Glu-12xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリン、又はA 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K（N（ε）-ドコサンジアシル-γ Glu-12xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリンである。

10

【0030】

本発明の別の態様において、約0.6 mM又は1.2 mMの本発明の上記のインスリン誘導体と、1.7%（重量／重量）のグリセリンと、約45 mMのフェノールと、約10 mMのm-クレゾールと、約6.5モルの亜鉛イオン／6モルのインスリン誘導体と、約20 mMの塩化ナトリウムとを含み、pH値が約7.0～8.0である薬物組成物を提供し、好ましくは、上記インスリン誘導体はA 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K（N（ε）-エイコサンジアシル-γ Glu-12xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K（N（ε）-ドコサンジアシル-γ Glu-12xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K（N（ε）-ドコサンジアシル-γ Glu-18xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリン、又はA 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K（N（ε）-ドコサンジアシル-γ Glu-12xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリンである。

20

30

【0031】

本発明の別の態様において、約0.6 mM～4.2 mMの本発明の上記のインスリン誘導体と、約1%～約2%（好ましくは約1.5%～1.7%）（重量／重量）のグリセリンと、約15 mM～60 mM（好ましくは約30 mM～60 mM、より好ましくは約45 mM～60 mM）のフェノールと、約0～25 mM（好ましくは約0～10 mM）のm-クレゾールと、約1.5～7.0（好ましくは約2.2～4.5）モルの亜鉛イオン／6モルのインスリン誘導体と、約10～120 mM（好ましくは約20～50 mM）の塩化ナトリウムとを含み、pH値が約7.0～8.0である薬物組成物を提供し、好ましくは、上記インスリン誘導体はB 2 9 K（N（ε）-エイコサンジアシル-γ Glu-11xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K（N（ε）-エイコサンジアシル-γ Glu-12xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K（N（ε）-ドコサンジアシル-γ Glu-11xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K（N（ε）-ドコサンジアシル-γ Glu-12xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K（N（ε）-エイコサンジアシル-γ Glu-11xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K（N（ε）-ドコサンジアシル-γ Glu-11xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K（N（ε）-エイコサンジアシル-γ Glu-12xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリン、又はA 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K（N（ε）-ドコサンジアシル-γ Glu-12xOEG）、des B 3 0 ヒトインスリンである。

40

50

【0032】

本発明の別の態様において、約1.2mM～1.5mMの本発明の上記のインスリンと、約1.5%～1.7%（重量／重量）のグリセリンと、約45mM～60mMのフェノールと、約0～10mMのm-クレゾールと、約2.2～2.5モルの亜鉛イオン／6モルのインスリン誘導体と、約20mMの塩化ナトリウムとを含み、pH値が約7.0～8.0である薬物組成物を提供し、好ましくは、上記インスリン誘導体はA14E、B16H、B25H、B29K（N（ε）-エイコサンジアシル-γGlu-12xOEG）、desB30ヒトインスリン、又はA14E、B16H、B25H、B29K（N（ε）-ドコサンジアシル-γGlu-12xOEG）、desB30ヒトインスリンである。

【0033】

幾つかの実施形態において、上記薬物組成物は、インスリン分泌促進GLP-1化合物をさらに含み、好ましくは、上記薬物組成物は、N-ε²⁶-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、N-ε²⁶-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、N-ε²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ]エトキシ)エトキシ]アセチルアミノ)エトキシ]エトキシ]アセチル-[Aib8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、N-ε²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ]エトキシ)エトキシ]アセチルアミノ)エトキシ]エトキシ]アセチル-[Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチドから選ばれるインスリン分泌促進GLP-1化合物をさらに含む。

【0034】

幾つかの実施形態において、上記薬物組成物は、式（B）、すなわち、

$$[Acy-(L1)_r-(L2)_q]-G1 \quad (B)$$
 で示されるインスリン分泌促進GLP-1化合物、又はその薬学的に許容可能な塩、アミド又はエステルをさらに含み、
 ただし、G1はGLP-1(7-37)（配列番号15）に対応する位置34でArgを有し、位置8でAla又はGlyを有するGLP-1類似体であり、 $[Acy-(L1)_r-(L2)_q]$ は上記GLP-1類似体の位置26のLys残基のεアミノ基に連結される置換基であり、ただし、
 rは1～10の整数であり、qは0又は1～10の整数であり、
 Acyは20～24個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、
 L1はγGlu、αGlu、βAsp、αAsp、γ-D-Glu、α-D-Glu、β-D-Asp又はα-D-Aspから選ばれるアミノ酸残基であり、
 L2は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、
 Acy、L1及びL2の間はアミド結合で連結され、及び
 L1及びL2の式（B）における出現順番は独立的に交換可能である。
 幾つかの実施形態において、G1は[Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド（配列番号16）又は[Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド（配列番号17）であり、好ましくは[Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチドであり、及び／又は
 rは1、2、3、4、5又は6であり、好ましくは、rは1、2、3又は4であり、好ましくは、rは1又は2であり、好ましくは、rは1であり、及び／又は
 qは0、1、2、3、4、5、6、7又は8であり、好ましくは、qは0、1、2、3又は4であり、より好ましくは、qは0、1又は2であり、及び／又は
 Acyは20～23個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、好ましくは、Acyは20、21又は22個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は

10

20

30

40

50

【 0 0 3 5 】

$\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_4\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—、—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_4\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—、—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_4\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—、—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—、—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—、—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—、—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—NH—CO—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—、—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—NH—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—、—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—、—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—CH}_2\text{—CO—、又は—HN—(CH}_2\text{)}_4\text{—O—(CH}_2\text{)}_4\text{—O—CH}_2\text{—CO—であり、好ましくは、L2は—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—であり、及び／又は}$

L1はγGlu又はβAspから選ばれ、好ましくはL1はγGluであり、及び／又はAcyはHOOC-(CH₂)₁₈-CO-、HOOC-(CH₂)₁₉-CO-、HOOC-(CH₂)₂₀-CO-、HOOC-(CH₂)₂₁-CO-又はHOOC-(CH₂)₂₂-CO-であり、好ましくは、AcyはHOOC-(CH₂)₁₈-CO-、HOOC-(CH₂)₂₀-CO-又はHOOC-(CH₂)₂₂-CO-である。

【 0 0 3 6 】

幾つかの実施形態において、式（B）において、A c y、L 1 及び L 2 の間はアミド結合で順に連結され、L 2 の C 末端は上記 G L P - 1 類似体の位置 2 6 の L y s 残基の ε アミノ基に連結される。

【 0 0 3 7 】

幾つかの実施形態において、上記インスリン分泌促進GLP-1化合物は、

N-ε²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ]エトキシ)エトキシ]アセチルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、

N-ε²⁶-[2-(2-[2-(4-[19-カルボキシノナデカノイルアミノ]-4
(S)-カルボキシブチリルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、

N-ε²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-カルボキシヘンエイ
コサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ]エトキシ)エトキシ]アセ
チルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Gly8、Arg34]GLP-1-(
7-37)ペプチド、

N-ε²⁶-[2-(2-[2-(4-[21-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、

N-ε²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(2,3-カルボキシトリコサノイルアミノ)-4-(S)-カルボキシブチリルアミノ]エトキシ)エトキシ]アセチル

10

20

30

40

50

アミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、
 N-ε²⁶-[2-(2-[2-(4-[23-カルボキシトリコサノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、
 N-ε²⁶-(23-カルボキシトリコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Gly 8、Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、
 N-ε²⁶-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Gly 8、Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、
 N-ε²⁶-(21-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Gly 8、Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、
 N-ε²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、
 N-ε²⁶-[2-(2-[2-(4-[19-カルボキシノナデカノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、
 N-ε²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、
 N-ε²⁶-[2-(2-[2-(4-[21-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、
 N-ε²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(23-カルボキシトリコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、
 N-ε²⁶-[2-(2-[2-(4-[23-カルボキシトリコサノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、
 N-ε²⁶-(23-カルボキシトリコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、
 N-ε²⁶-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、
 N-ε²⁶-(21-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、
 N-ε²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(20-カルボキシエイコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、
 N-ε²⁶-[2-(2-[2-(4-[20-カルボキシエイコサノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、
 N-ε²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(22-カルボキシドコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、
 N-ε²⁶-[2-(2-[2-(4-[22-カルボキシドコサノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP-1-(7-37) ペプチド、

S) -カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチド、

N- ϵ^{26} -(20-カルボキシエイコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Gly 8、Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチド、

N- ϵ^{26} -(22-カルボキシドコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Gly 8、Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチド、

N- ϵ^{26} -[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(20-カルボキシエイコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチド、

N- ϵ^{26} -[2-(2-[2-(4-[20-カルボキシエイコサノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチド、

N- ϵ^{26} -[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(22-カルボキシドコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチド、

N- ϵ^{26} -[2-(2-[2-(4-[22-カルボキシドコサノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチド、

N- ϵ^{26} -(20-カルボキシエイコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチド、又は

N- ϵ^{26} -(22-カルボキシドコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチド、という化合物から選ばれる。

幾つかの実施形態において、上記インスリン分泌促進GLP-1化合物は、

N- ϵ^{26} -[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチド、

N- ϵ^{26} -[2-(2-[2-(4-[19-カルボキシノナデカノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチド、

N- ϵ^{26} -(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Gly 8、Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチド、

N- ϵ^{26} -(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチド、

N- ϵ^{26} -[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチド、又は

N- ϵ^{26} -[2-(2-[2-(4-[21-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチド、という化合物から選ばれ、

好ましくは、上記インスリン分泌促進GLP-1化合物は、

N- ϵ^{26} -[2-(2-[2-(4-[19-カルボキシノナデカノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチド、又はN- ϵ^{26} -[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチドである。

10

20

30

40

50

【0038】

幾つかの実施形態において、上記薬物組成物は速効型インスリンをさらに含む。

幾つかの実施形態において、上記速効型インスリンは、 $\text{Asp}^{\text{B}28}$ ヒトインスリン、 $\text{Lys}^{\text{B}28}\text{Pro}^{\text{B}29}$ ヒトインスリン、 $\text{Lys}^{\text{B}3}\text{Glu}^{\text{B}29}$ ヒトインスリン、ヒトインスリン及び $\text{desB}30$ ヒトインスリンのうちの1つ又は複数から選ばれ、好ましくは、上記速効型インスリンは、 $\text{Asp}^{\text{B}28}$ ヒトインスリン、 $\text{Lys}^{\text{B}28}\text{Pro}^{\text{B}29}$ ヒトインスリン、 $\text{Lys}^{\text{B}3}\text{Glu}^{\text{B}29}$ ヒトインスリン、ヒトインスリン又は $\text{desB}30$ ヒトインスリンである。

【0039】

発明者は、本発明の第1態様に記載のインスリン誘導体（例えば、アシル化インスリン）とインスリン分泌促進 GLP-1 化合物の薬物組成物又は複合製剤が上記アシル化インスリンの物理的安定性を低減しないだけでなく、複合製剤が単剤製剤よりも優れる物理的安定性を有することを予想外に発見した。他の長時間作用型インスリン誘導体（例えば、インスリンデグルデクとリラグルチド）の複合製剤と比べて、本発明の複合製剤の物理的安定性は、予想以上である。また、複合製剤は単剤製剤と比べて、さらに上記アシル化インスリンの化学的安定性を向上させる。

【0040】

別の態様において、本発明の上記のインスリン誘導体又は薬物組成物は、薬物として使用される。

別の態様において、本発明の上記のインスリン誘導体又は上記の薬物組成物は、糖尿病、高血糖症、及び／又は耐糖能低下を治療又は予防するための薬物として使用される。

別の態様において、本発明の上記のインスリン誘導体又は上記の薬物組成物は、糖尿病、高血糖症、及び／又は耐糖能低下の治療又は予防に使用される。

【0041】

別の態様において、薬物の調製における、本発明の上記のインスリン誘導体又は上記の薬物組成物の用途であり、好ましくは、上記薬物は糖尿病、高血糖症、及び／又は耐糖能低下の治療又は予防に使用される。

幾つかの実施形態において、上記薬物は糖尿病の治療に使用され、上記インスリン誘導体は1日おきに又はそれ以下の頻度で同じ患者に投与され、また、平均して少なくとも1か月、6か月又は1年の期間に、上記インスリン誘導体はそれ以上の頻度で同じ患者に投与されない。

【0042】

幾つかの実施形態において、上記薬物は糖尿病の治療に使用され、上記インスリン誘導体は週に2回又はそれ以下の頻度で投与され、また、平均して少なくとも1か月、6か月又は1年の期間に、上記インスリン誘導体はそれ以上の頻度で同じ患者に投与されない。

【0043】

幾つかの実施形態において、上記薬物は糖尿病の治療に使用され、上記インスリン誘導体は週に1回又はそれ以下の頻度で投与され、また、平均して少なくとも1か月、6か月又は1年の期間に、上記インスリン誘導体はそれ以上の頻度で同じ患者に投与されない。

【0044】

別の態様において、本発明は、糖尿病、高血糖症、及び／又は耐糖能低下を治療又は予防する方法であって、治療有効量の本発明の上記のインスリン誘導体又は上記の薬物組成物を投与することを含む方法を提供する。

【0045】

発明者は、本発明のインスリン誘導体（例えば、アシル化インスリン）が長い薬物動態的（以下、PKとも呼ばれる）特徴を有することで、糖尿病の患者への週に2回、週に1回又はそれ以下の頻度での皮下治療が可能になることを予想外に発見した。

【0046】

別の態様において、本発明は、アルブミンの存在下で、インスリン受容体へのインスリン誘導体の結合能力を向上させる方法を提供し、上記方法は、連結基 Lin を介してアル

10

20

30

40

50

ブミン結合残基を天然に存在するインスリン又はインスリン類似体に連結することで、上記インスリン誘導体を得ることを含み、そのうち、上記連結基 $L i n$ は少なくとも 20 個、好ましくは少なくとも 30 個、好ましくは少なくとも 40 個、好ましくは少なくとも 50 個、好ましくは少なくとも 65 個、好ましくは 20 ~ 200 個、好ましくは 30 ~ 180 個、好ましくは 61 ~ 180 個、好ましくは 66 ~ 180 個、好ましくは 72 ~ 120 個の炭素原子を有する親水性連結基であり、上記アルブミン結合残基は 20 ~ 40 個の炭素原子を含み、好ましくは、上記アルブミン結合残基は 20 ~ 40 個の炭素原子を有する線形又は分岐の親油性基を含み、好ましくは、上記アルブミン結合残基は 20 ~ 26 個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸（より好ましくは、20 ~ 24 個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸）であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪酸のカルボキシ基及び上記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、又は式 (A) 又は式 (A') により天然に存在するインスリン又はインスリン類似体を修飾することで、上記インスリン誘導体を得ることを含み、

式 (A) は $I I I - (I I)_m - (I)_n - (A)$ であり、

ただし、 m は 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 又は 10 であり、 n は 11、12、13、14、15、16、17、18、19 又は 20 であり、

I は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

$I I$ は酸性アミノ酸残基であり、

$I I I$ は、20 ~ 40 個の炭素原子を有する線形又は分岐の親油性基を含むアルブミン結合残基であり、好ましくは、 $I I I$ は 20 ~ 26 個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸（より好ましくは、20 ~ 24 個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸）であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪酸のカルボキシ基及び上記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

$I I I$ 、 $I I$ 及び I の間にはアミド結合で連結され、及び

$I I$ 及び I の式 (A) における出現順番は独立的に交換可能であり、

(A') は $I I I - (I I)_m - (I')_{n'} - (A')$ であり、

ただし、

m は 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 又は 10 であり、 n' は整数であり、

I' は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

$I I$ は酸性アミノ酸残基であり、

$I I I$ は、20 ~ 40 個の炭素原子を有する線形又は分岐の親油性基を含むアルブミン結合残基であり、好ましくは、 $I I I$ は 20 ~ 26 個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸（より好ましくは、20 ~ 24 個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸）であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪酸のカルボキシ基及び上記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

$I I I$ 、 $I I$ 及び I' の間にはアミド結合で連結され、

$I I$ 及び I' の式 (A') における出現順番は独立的に交換可能であり、及び

$(I')_{n'}$ の全炭素原子数は 20 ~ 200 個、好ましくは 30 ~ 180 個、好ましくは 42 ~ 180 個、好ましくは 61 ~ 180 個、好ましくは 66 ~ 180 個、好ましくは 72 ~ 120 個である。

【0047】

別の態様において、本発明は、インスリン誘導体の効力を向上させる方法を提供し、上記方法は、連結基 $L i n$ を介してアルブミン結合残基を天然に存在するインスリン又はインスリン類似体に連結することで、上記インスリン誘導体を得ることを含み、そのうち、上記連結基 $L i n$ は少なくとも 20 個、好ましくは少なくとも 30 個、好ましくは少なくとも 40 個、好ましくは少なくとも 50 個、好ましくは少なくとも 65 個、好ましくは 20 ~ 200 個、好ましくは 30 ~ 180 個、好ましくは 61 ~ 180 個、好ましくは 66 ~ 180 個、好ましくは 72 ~ 120 個の炭素原子を有する親水性連結基であり、上記アルブミン結合残基は 20 ~ 40 個の炭素原子を含み、好ましくは、上記アルブミン結合残基は 20 ~ 40 個の炭素原子を有する線形又は分岐の親油性基を含み、好ましくは、上記

アルブミン結合残基は20～26個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸（より好ましくは、20～24個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸）であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪酸のカルボキシ基及び上記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、又は

式(A)又は式(A')により天然に存在するインスリン又はインスリン類似体を修飾することで、上記インスリン誘導体を得ることを含み、

式(A)は $III-(II)_m-(I)_n-$ (A)であり、

ただし、mは0、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、nは11～30の整数であり、好ましくは、nは11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20であり、

Iは中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

IIは酸性アミノ酸残基であり、

IIIは、20～40個の炭素原子を有する線形又は分岐の親油性基を含むアルブミン結合残基であり、好ましくは、IIIは20～26個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸（より好ましくは、20～24個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸）であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪酸のカルボキシ基及び上記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

III、II及びIの間はアミド結合で連結され、及び

II及びIの式(A)における出現順番は独立的に交換可能であり、

(A')は $III-(II)_m-(I')_n-$ (A')であり、

ただし、

mは0、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、n'は整数であり、

I'は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

IIは酸性アミノ酸残基であり、

IIIは、20～40個の炭素原子を有する線形又は分岐の親油性基を含むアルブミン結合残基であり、好ましくは、IIIは20～26個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸（より好ましくは、20～24個の炭素原子を含む脂肪酸又は脂肪族二酸）であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪酸のカルボキシ基及び上記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

III、II及びI'の間はアミド結合で連結され、

II及びI'の式(A')における出現順番は独立的に交換可能であり、及び

(I')_nの全炭素原子数は20～200個、好ましくは30～180個、好ましくは42～180個、好ましくは61～180個、好ましくは66～180個、好ましくは72～120個である。

【0048】

幾つかの実施形態において、上記天然に存在するインスリン又はインスリン類似体は、少なくとも1つのリジン残基を含み、連結基Lin、式(A)又は式(A')は、上記インスリン母体のリジン残基又はN末端アミノ酸残基のアミノ基に連結される。

【0049】

幾つかの実施形態において、nは11、12、13、14、15、16、17又は18であり、好ましくは、nは11、12、13、14、15又は16であり、好ましくは、nは11、12、13、14又は15であり、及び／又はmは1～6の整数であり、好ましくは、mは1、2、3又は4であり、好ましくは、mは1又は2であり、好ましくは、mは1であり、及び／又は

IIIは20～26個（好ましくは20～23個）の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、好ましくは、IIIは20、21又は22個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、及び／又は

上記インスリン母体は1つのリジン残基を含む。

【0050】

10

20

30

40

50

幾つかの実施形態において、Iは $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_4\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_4\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—NH—CO—(CH}_2\text{)}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—NH—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—NH—CO—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—(CH}_2\text{)}_3\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、又は $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_4\text{—O—(CH}_2\text{)}_4\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ であり、好ましくは、Iは $\text{—HN—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—(CH}_2\text{)}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ であり、又は、I'は $\text{—HN—(CH}_2\text{—CH}_2\text{—O)}_2\text{—O—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{—CH}_2\text{—O)}_2\text{—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{—CH}_2\text{—O)}_2\text{—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{—CH}_2\text{—O)}_4\text{—CH}_2\text{—CO—}$ 、 $\text{—HN—(CH}_2\text{—CH}_2\text{—O)}_15\text{—CH}_2\text{—CO—}$ であり、及び／又は

10

20

30

IIは γGlu 、 αGlu 、 βAsp 、 αAsp 、 $\gamma\text{—D—Glu}$ 、 $\alpha\text{—D—Glu}$ 、 $\beta\text{—D—Asp}$ 又は $\alpha\text{—D—Asp}$ から選ばれるアミノ酸残基であり、好ましくは、IIは γGlu 又は βAsp から選ばれ、及び／又は

IIIは $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{18}\text{—CO—}$ 、 $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{19}\text{—CO—}$ 、 $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{20}\text{—CO—}$ 、 $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{21}\text{—CO—}$ 、 $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{22}\text{—CO—}$ 又は $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{24}\text{—CO—}$ であり、好ましくは、IIIは $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{18}\text{—CO—}$ 、 $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{20}\text{—CO—}$ 又は $\text{HOOC—(CH}_2\text{)}_{22}\text{—CO—}$ である。

幾つかの実施形態において、式(A)又は式(A')を、IのC末端を介して上記天然インスリン又はインスリン類似体のリジン残基又はN末端アミノ酸残基のアミノ基に連結する。

【0051】

幾つかの実施形態において、式(A)又は式(A')は、上記インスリン母体のリジン残基の ϵ アミノ基に連結される。

幾つかの実施形態において、上記天然インスリン又はインスリン類似体のリジン残基はB29位に位置する。

幾つかの実施形態において、上記天然に存在するインスリン又はインスリン類似体は、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、desB30ヒトインスリン、ヒトインスリン、A21Gヒトインスリン、A21G、desB30ヒトインスリン、又はB28Dヒトインスリン、というインスリン又はインスリン類似体から選ばれ、好ましくは、上記インスリン母体はdesB30ヒトインスリン又はA14E、B16H、B25H、desB30ヒトインスリンである。

40

【図面の簡単な説明】

【0052】

【図1a】本発明の実施例1と2の化合物、インスリンデグルデク及び溶媒(vehicle)の、db/dbマウスに対する血糖降下効果を示す。

50

【図 1 b】図 1 a に対応して、本発明の実施例 1 と 2 の化合物、インスリンデグルデク及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果の A U C を示す。

【図 2 a】本発明の実施例 1 と 2 の化合物、対照例 2 の化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果を示す。

【図 2 b】図 2 a に対応して、本発明の実施例 1 と 2 の化合物、対照例 2 の化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果の A U C を示す。

【図 3 a】本発明の実施例 1 ～ 3 の化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果及び作用時間を示す。

【図 3 b】図 3 a に対応して、本発明の実施例 1 ～ 3 の化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果の A U C を示す。

【図 4 a】本発明の実施例 2 の化合物、対照例 3 の化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果及び作用時間を示す。

【図 4 b】図 4 a に対応して、本発明の実施例 2 の化合物、対照例 3 の化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果の A U C を示す。

【図 5 a】本発明の対照例 3 ～ 4 の化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果及び作用時間を示す。

【図 5 b】図 5 a に対応して、本発明の対照例 3 ～ 4 の化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果の A U C を示す。

【図 6 a】本発明の対照例 5、実施例 1 3 と 1 4 の表題化合物及び溶媒の、S T Z 誘発性 1 型糖尿病 (T 1 D M) ラットに対する血糖降下効果を示す。

【図 6 b】図 6 a に対応して、本発明の対照例 5、実施例 1 3 と 1 4 の表題化合物及び溶媒の、S T Z 誘発性 1 型糖尿病 (T 1 D M) ラットに対する血糖降下効果の A U C を示す。

【図 7 a】本発明の実施例 2 の化合物、対照化合物 5 及び溶媒の、ストレプトゾトシン (S T Z) 誘発性 1 型糖尿病 (T 1 D M) 雌ラットに対する血糖降下効果を示す。

【図 7 b】図 7 a に対応して、本発明の実施例 2 の化合物、対照化合物 5 及び溶媒の、ストレプトゾトシン (S T Z) 誘発性 1 型糖尿病 (T 1 D M) 雌ラットに対する血糖降下効果の A U C を示す。

【図 8 a】2 % の H S A 及び 0 % の H S A の存在下で、本発明の化合物 1 5 及び対照化合物 5 のそれぞれのインスリン受容体への結合能力の状況を示す。

【図 8 b】2 % の H S A 及び 0 % の H S A の存在下で、本発明の化合物 1 5 及び対照化合物 5 のインスリン受容体への結合能力の状況を示す。

【図 9】2 % の H S A 及び 0 % の H S A の存在下で、本発明の化合物 1 7 及び対照化合物 2 のそれぞれのインスリン受容体への結合能力の状況を示す。

【図 1 0 a】2 % の H S A 及び 0 % の H S A の存在下で、本発明の化合物 1 6、化合物 1 8 及び対照化合物 5 のそれぞれのインスリン受容体への結合能力の状況を示す。

【図 1 0 b】2 % の H S A 及び 0 % の H S A の存在下で、本発明の化合物 1 6、化合物 1 8 及び対照化合物 5 のそれぞれのインスリン受容体への結合能力の状況を示す。

【発明を実施するための形態】

【0 0 5 3】

定義

ここで、インスリンという用語は、ヒトインスリンなどの天然に存在するインスリン、及びそのインスリン類似体、インスリン誘導体を含む。

インスリン類似体という用語は、形態上で、天然インスリンに存在する 1 つ又は複数のアミノ酸残基の欠乏及び／又は置換（置換え）、及び／又は 1 つ又は複数のアミノ酸残基の追加により、天然に存在するインスリン（例えば、ヒトインスリン）の構造から誘導可能な分子構造を有するポリペプチドを含む。追加及び／又は置換されるアミノ酸残基は、コード可能なアミノ酸残基、又は他の天然に存在するアミノ酸残基、又は純粋な合成アミノ酸残基であってよい。好ましくは、追加及び／又は置換されるアミノ酸残基はコード可能なアミノ酸残基である。

10

20

30

40

50

【0054】

ここで、「インスリン誘導体」という用語は、化学的に修飾された天然に存在するインスリン又はインスリン類似体を指し、この修飾は、例えば、インスリン骨格の1つ又は複数の位置への側鎖の導入、又はインスリン上のアミノ酸残基の基の酸化又は還元、又は遊離カルボキシ基のエステル基への変換、又は遊離アミノ基又はヒドロキシ基のアシル化であってよい。本発明のアシル化インスリンは、インスリン誘導体に属する。

【0055】

「インスリン母体」という用語は、インスリン誘導体又はアシル化インスリンのインスリン部分（本願では、母体インスリンとも呼ばれる）を指し、例えば、本発明において、インスリン誘導体又はアシル化インスリンの、側鎖に連結されていない、又はアシル基が追加されていない部分を指す。インスリン母体は、ヒトインスリンやブタインスリンなど、天然に存在するインスリンであってよい。一方、母体インスリンはインスリン類似体であってよい。

10

【0056】

ここで、「アミノ酸残基」という用語は、その中の水素原子が既にアミノ基から除去され、及び／又はヒドロキシ基が既にカルボキシ基から除去され、及び／又は水素原子が既にスルフヒドリル基から除去されたアミノ酸を含む。不正確に、アミノ酸残基はアミノ酸と呼ばれてよい。

【0057】

特に断りのない限り、本願に言及されたアミノ酸はいずれも、L-アミノ酸である。

20

【0058】

「アルブミン結合残基」という用語は、ヒト血清アルブミンに非共有的に結合可能な残基を指す。インスリンに連結されたアルブミン結合残基は通常、ヒト血清アルブミンに対して、例えば、約10 μ M未満、さらに約1 μ M未満の結合親和力を有する。アルブミン結合性は、「J. Biol. Chem. 277 (38)、35035-35042、(2002)」という文献に記載された表面プラズモン共鳴によって測定することができる。

【0059】

本願において、「親水性連結基」とは、少なくとも6個の非水素原子を含む化学部分（moiety）によりインスリン母体とアルブミン結合残基が分離された連結基であり、これらの非水素原子には、30～50%がN又はOである。

30

【0060】

「親油性」とは、脂肪、油、脂質及び親油性非極性溶剤（ヘキサン又はトルエンなど）に溶解する基の能力を指す。親油性基は、例えば脂肪、脂肪酸、脂肪族二酸などを含むが、これらに限定されず、一般的に「脂質尾部」を有し、これらの親油性基に存在する脂質尾部は、脂質尾部に二重結合が含まれているかどうかによって、飽和であっても、不飽和であってもよい。脂質尾部には、様々な長さを含んでもよく、例えば、7～12個の炭素を有する尾部（例えば、 C_{7-12} アルキル基又は C_{7-12} アルケニル基）、13～22個の炭素を有する尾部（例えば、 C_{13-22} アルキル基又は C_{13-22} アルケニル基）、又は23～30個の炭素を有する尾部（例えば、 C_{23-30} アルキル基又は C_{23-30} アルケニル基）である。

40

【0061】

ここで、アルキレングリコールという用語は、オリゴ／ポリアルキレングリコール部分及びモノアルキレングリコール部分を含む。モノアルキレングリコールとポリアルキレングリコールは、例えば、モノエチレングリコールとポリエチレングリコールに基づく鎖、モノプロピレングリコールとポリプロピレングリコールに基づく鎖、及びモノブチレングリコールとポリブチレングリコールに基づく鎖、即ち繰り返し単位である $-CH_2CH_2O-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2O-$ 又は $-CH_2CH_2CH_2CH_2O-$ に基づく鎖を含む。アルキレングリコール部分は、単分散（明確に定義された長さ／分子量を有する）であっても、多分散（明確に定義されていない長さ／平均分子量を有する）であってもよい。モノアルキレングリコール部分は、それぞれの末端に異なる基が含まれた $-OCH_2CH$

50

$2O-$ 、 $-OCH_2CH_2CH_2O-$ 又は $-OCH_2CH_2CH_2CH_2O-$ を含む。

【0062】

「脂肪酸」という用語は、少なくとも2つの炭素原子を有し、飽和又は不飽和である直鎖又は分岐鎖脂肪族カルボン酸を含む。脂肪酸の非限定的な例は、例えば、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸及びエイコサン酸である。

【0063】

ここで、「脂肪族二酸」という用語は、少なくとも2つの炭素原子を有し、飽和又は不飽和である直鎖又は分岐鎖脂肪族ジカルボン酸を含む。脂肪族二酸の非限定的な例は、アジピン酸、スベリン酸、セバシン酸、ドデカン二酸、テトラデカン二酸、ヘキサデカン二酸、ヘプタデカン二酸、オクタデカン二酸、エイコサン二酸、ドコサン二酸及びテトラコ

10

【0064】

本願において、速効型インスリンは、速効型の天然に存在するインスリン、インスリン類似体及びインスリン誘導体を含む。速効型インスリンは一般的に、例えば1～20分間以内に作用し始め、約1時間後にピークに達し、且つ3～5時間作用し続ける。

【0065】

「基礎インスリン」という用語は、通常又は正常なヒトインスリンよりも作用持続期間が長いインスリンを意味する。

【0066】

本願において、「化学的安定性」という用語は、化学的に、本発明のインスリン誘導体が所望の製剤において十分に安定していることを指す。すなわち、最終的な薬物生成物の有効期限を損なわない量の化学分解生成物のみが形成される。化学分解生成物は、脱アミド化生成物、イソアスパラギン酸エステル形成、二量体の形成、ラセミ化生成物、脱水プロセスなどから生じた生成物を含む。化学的安定性は、老化した試料又は製剤のHPLC分析によって測定することができる。

20

【0067】

本願において、「インスリン受容体への結合能力」とは、インスリンとインスリン受容体との間の相互作用を指し、このような相互作用の大きさ又は強度は、例えば、表面プラズモン共鳴(SPR)によって測定することができる。例えば、SPRによって測定する場合は、インスリンを含む溶液がインスリン受容体でコーティングされたチップを流れると、インスリンとインスリン受容体による相互作用により、SPRの偏向角が変化することになり、このような変化は通常、相対応答値で表され、一般的に、相対応答値が大きいほど、インスリン受容体への結合能力が高くなることを示す。

30

【0068】

高い物理的安定性は、フィブリル化傾向がヒトインスリンのフィブリル化傾向の50%よりも小さいことを意味する。フィブリル化は、所定の条件でフィブリルが形成され始めるまでの遅延時間によって説明できる。

【0069】

インスリン受容体及びIGF-1受容体親和力を有するポリペプチドは、適切な結合測定においてインスリン受容体及びヒトIGF-1受容体と相互作用可能なポリペプチドを指す。このような受容体の測定は、当該分野で周知のことである。

40

【0070】

本願において、「薬効」又は「効力」とは、ある作用又は効果(例えば、血糖降下)を生じる薬物又は活性化合物の能力を指す。例えば、同じ用量を投与する場合、本発明のインスリン誘導体はインスリンデグルク又は他の既存のインスリン誘導体と比べて、より高い血糖降下の効果又は作用が生じられる。

【0071】

「糖尿病」という用語は、1型糖尿病、2型糖尿病、妊娠糖尿病(妊娠中)、及び高血糖症を引き起こす他の状態を含む。この用語は、膵臓が不十分なインスリンを産生し、又は体の細胞がインスリンに適切に応答できないため、細胞によるグルコースの吸収が阻害

50

される代謝障害に使用される。その結果、グルコースは血中に蓄積する。

【0072】

1型糖尿病は、インスリン依存性糖尿病（IDDM）及び若年発症糖尿病とも呼ばれ、 β -細胞の破壊によって引き起こされ、一般的に、絶対的なインスリン欠乏になる。2型糖尿病は、非インスリン依存性糖尿病（NIDDM）及び成人発症糖尿病とも呼ばれ、主要なインスリン抵抗性、及びそれによる相対的なインスリン欠乏、及び／又はインスリン抵抗性を有する主要なインスリン分泌障害に関連している。

【0073】

本願に使用される「GLP-1類似体」又は「GLP-1の類似体」という用語は、ヒトグルカゴン様ペプチド-1（GLP-1（7-37））の変異体であるペプチド又は化合物を指し、そのうち、GLP-1（7-37）の1つ又は複数のアミノ酸残基が置換され、及び／又はその中の1つ又は複数のアミノ酸残基が欠乏され、及び／又はそれに1つ又は複数のアミノ酸残基が追加されている。具体的に、GLP-1（7-37）の配列は配列表中の配列番号15に示される。配列番号15に示される配列を有するペプチドは、「天然」GLP-1又は「天然」GLP-1（7-37）と呼ばれてもよい。

【0074】

配列表において、配列番号15の最初のアミノ酸残基（ヒスチジン）は、1と番号付けられている。しかし、以下では、この分野で確立された慣例に従って、当該ヒスチジン残基の番号は7と決められ、かつ、その後のアミノ酸残基もそれに従って番号付けられ、最後は番号37のグリシンである。従って、一般的に、本願で言及されるGLP-1（7-37）配列のアミノ酸残基の番号付け又は位置の番号付けは、位置7のHisで始まり、位置37のGlyで終わる配列である。

【0075】

[Gly8、Arg34] GLP-1-（7-37）ペプチドは、GLP-1（7-37）（配列番号15）の位置8及び位置34に対応する位置でそれぞれGly及びArgを有するGLP-1類似体である。[Arg34] GLP-1-（7-37）ペプチドは、GLP-1（7-37）（配列番号15）の位置34に対応する位置でArgを有するGLP-1類似体である。具体的に、[Gly8、Arg34] GLP-1-（7-37）ペプチド及び[Arg34] GLP-1-（7-37）ペプチドのアミノ酸配列は、それぞれ配列表中の配列番号16及び配列番号17に示される。

【0076】

GLP-1ペプチド又はその類似体の場合、本願に使用される「誘導体」という用語は、1つ又は複数の置換基が既に上記ペプチドと共有結合されている、化学的に修飾されたGLP-1ペプチド又は類似体を指す。置換基は、側鎖と呼ばれてもよい。

【0077】

本願において、インスリン又はGLP-1化合物の命名は、以下の原則に従って実施され、すなわち、ヒトインスリンに対する突然変異及び修飾（例えば、アシル化）、又は天然GLP-1（7-37）の突然変異及び修飾（例えば、アシル化）によって、名前が付けられる。アシル基部分の命名は、IUPAC命名法に従って、及び他の場合では、ペプチド命名法に従って命名される。例えば、下記のアシル基部分を命名する。

【0078】

10

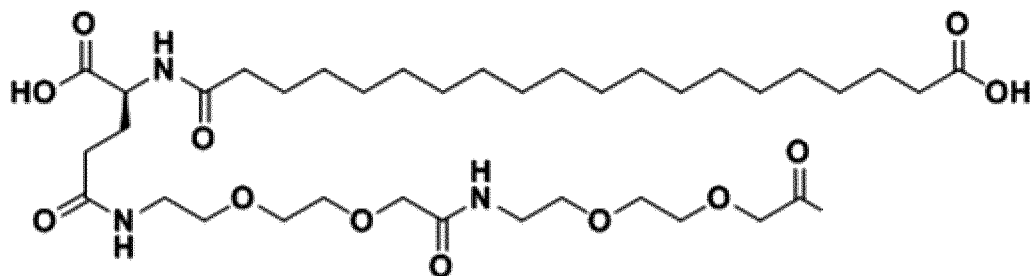
20

30

40

50

【化 1】



10

例えば、「エイコサンジアシル- γ Glu-OEG-OEG」、「エイコサンジアシル- γ Glu-2xOEG」又は「エイコサンジアシル-g Glu-2xOEG」又は「19-カルボキシノナデカノイル- γ Glu-OEG-OEG」と命名することができ、ただし、OEGは-NH(CH₂)₂O(CH₂)₂OCH₂CO-（即ち、2-[2-(2-アミノエトキシ)エトキシ]アセチル）という基の略語を示し、 γ Glu（及びg Glu）は、L配置であるアミノ酸 γ グルタミン酸の略語である。又は、アシル基部分は、IUPAC命名法（OpenEye、IUPAC形式）に従って命名することができる。当該命名法に従って、本発明の上記アシル基部分は、[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ]エトキシ)エトキシ]アセチルアミノ)エトキシ]エトキシ]アセチル、又は[2-[2-[2-[2-[2-[2-(4S)-4-カルボキシ-4-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)ブチリル]-アミノ]-エトキシ]-エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチルと呼ばれる。

20

【0079】

例えば、本発明の対照例2のインスリン（以下に示される配列／構造を有する）は、「B29K(N(ϵ)-エイコサンジアシル- γ Glu-2xOEG)、desB30ヒトインスリン」、「B29K(N ϵ -エイコサンジアシル- γ Glu-2xOEG)、desB30ヒトインスリン」、又は「B29K(N ϵ -エイコサンジアシル-g Glu-2xOEG)、desB30ヒトインスリン」と呼ばれ、ヒトインスリン中の位置B29のアミノ酸Kが既にB29のリジン残基の ϵ 窒素(N ϵ 又は(N(ϵ))と呼ばれる)で残基であるエイコサンジアシル-g Glu-2xOEGによりアシル化されて修飾され、且つヒトインスリン中の位置B30のアミノ酸Tが欠乏されていることを示す。また、例えば、対照例5のインスリン（以下に示される配列／構造を有する）は、「A14E、B16H、B25H、B29K(N ϵ エイコサンジアシル-g Glu-2xOEG)、desB30ヒトインスリン」又は「A14E、B16H、B25H、B29K(N(ϵ)-エイコサンジアシル- γ Glu-2xOEG)、desB30ヒトインスリン」と呼ばれ、ヒトインスリン中の位置A14のアミノ酸Yが既にEに突然変異され、ヒトインスリン中の位置B16のアミノ酸Yが既にHに突然変異されて、ヒトインスリン中の位置B25のアミノ酸Fが既にHに突然変異され、ヒトインスリン中の位置B29のアミノ酸Kが既にB29のリジン残基の ϵ 窒素(N ϵ と呼ばれる)で残基であるエイコサンジアシル-g Glu-2xOEGによりアシル化されて修飾され、且つヒトインスリン中の位置B30のアミノ酸Tが欠乏されていることを示す。

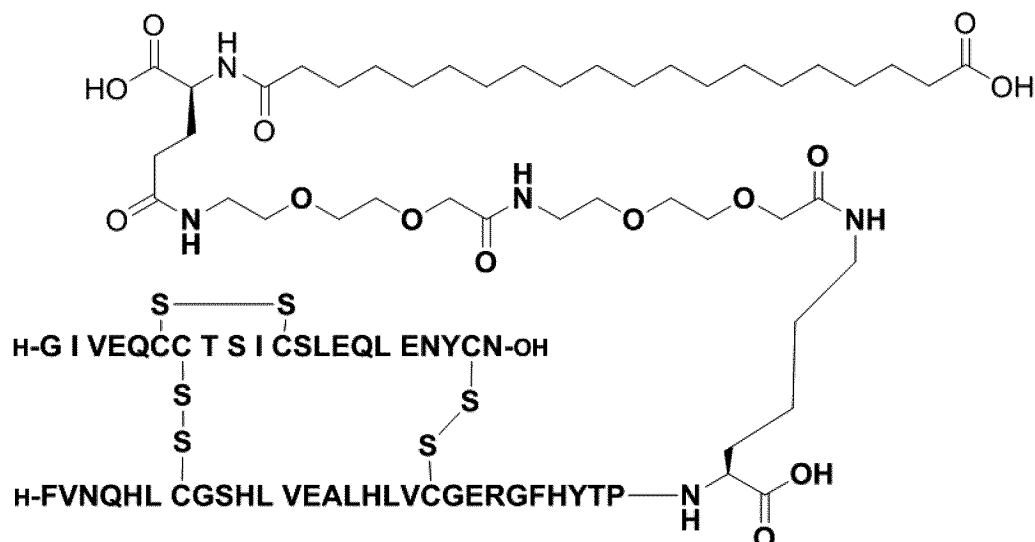
30

40

【0080】

50

【化 2】



10

本願において、「 $n \times \text{PEG}$ 」は、 $-\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{CO}-$ という基を示し、ただし、 n は整数である。例えば、「 $20 \times \text{PEG}$ 」は、 $-\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{20}\text{CH}_2\text{CO}-$ という基を示す。

20

【0081】

インスリンは、膵臓中の β -細胞から分泌されたポリペプチドホルモンであり、AとBその2本のポリペプチド鎖からなり、上記A鎖とB鎖は2つの鎖間ジスルフィド結合によって連結されている。また、上記A鎖は、1つの鎖内ジスルフィド結合を有することを特徴とする。

【0082】

微生物においてヒトインスリンを調製するには、主に3つの方法がある。2つは大腸菌に関するが、その1つは、細胞質において融合タンパク質を発現することによるものであり(Frank et al. (1981) in Peptides: Proceedings of the 7th American Peptide Chemistry symposium (Rich & Gross, eds.), Pierce Chemical Co., Rockford, III. ページ729~739)、もう1つは、細胞周辺腔に分泌できるようにシグナルペプチドを使用するものである(Chan et al. (1981) PNAS 78: 5401~5404)。3つ目の方法は、インスリン前駆体が培地に分泌されるように出芽酵母を使用するものである(Thim et al. (1986) PNAS 83: 6766~6770)。従来技術には、大腸菌又は出芽酵母においてインスリン前駆体を発現させる方法が多く開示されていて、例えば、米国特許第5,962,267号、WO95/16708、EP0055945、EP0163529、EP0347845及びEP0741188が参照される。

30

【0083】

インスリン類似体のベクターの構築、発現、処理及び精製は、当業者の公知の技術で実施することができる。例えば、米国特許第6500645号に開示されている公知の技術により、適切な宿主細胞において目標インスリン類似体をコードするDNA配列を発現させることで、上記インスリン類似体を調製することができる。例えば、下記の文献で報告された方法によりインスリン類似体を調製してもよい: Glendorf T、

40

(外1)

Sørensen AR、

Nishimura E, Pettersson I, & Kjeldsen T: Im

50

portance of the solvent-Exposed Residues of the Insulin B Chain α -Helix for Receptor Binding, Biochemistry 2008 47 4743-4751。当該文献では、オーバーラップエクステンションPCRにより、インスリンをコードするベクターに突然変異を導入する。インスリン類似体は、Ala-Ala-Lys小C-ペプチドを有するプレインスリン様融合タンパク質として出芽酵母菌株MT663において発現される。加水分解アクロモバクター (A. lyticus) エンドプロテアーゼにより、単鎖前駆体は、酵素的に二本鎖desB30類似体に変換される。

【0084】

単離されたインスリン類似体は、この分野での公知のアシル化方法により所望の位置でアシル化することができ、このようなインスリン類似体の例は、例えば、公開番号がCN1029977C、CN1043719A及びCN1148984Aである中国特許出願に記載されている。

【0085】

コードする各インスリン類似体のポリペプチドの核酸配列は、Beaucage et al. (1981) Tetrahedron Letters 22:1859~1869に記載された方法、又はMatthes et al. (1984) EMBO Journal 3:801~805に記載された方法などの確立された標準的な方法により合成して調製することができる。

【0086】

「賦形剤」という用語は、広義的に、活性治療成分以外の任意の成分を指す。賦形剤は、不活性物質、活性のない物質及び／又は薬学的活性のない物質であってもよい。賦形剤は、薬物組成物によって、例えば、担体、溶媒、希釈剤、錠剤補助剤とする、及び／又は活性物質の投与及び／又は吸収を改善するといった様々な目的に使用することができる。賦形剤の例としては、希釈剤、緩衝剤、防腐剤、張力調整剤（張性剤又は等張化剤とも呼ばれる）、キレート剤、界面活性剤、プロテアーゼ阻害剤、湿潤剤、乳化剤、抗酸化剤、充填剤、金属イオン、油性溶媒、タンパク質及び／又は双性イオン及び安定剤が含まれるが、これらに限定されない。

【0087】

薬学的活性成分及び様々な賦形剤の薬物組成物は、この分野で知られているものであり、例えば、Remington: The science and Practice of Pharmacy（例えば、第19版（1995）及びそれ以降の任意のバージョン）が参照される。

【0088】

患者の便宜上、患者は、本発明のアシル化インスリンの投与から本発明のアシル化インスリンの次の投与までの時間間隔（時間遅延）を日数で同じ長さ又はほぼ同じ長さにすることを好むと仮定する。さらに、患者は、アシル化インスリンを週に1回、すなわち、毎週の日曜日など、毎週の同じ曜日に投与することを好むと予想してもよい。1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、これは6日おきにアシル化インスリンを投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことになる。一部の患者にとっては、1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、5日おきに又はほぼ5日おきにアシル化インスリンを投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことが必要であり得る。他の患者にとっては、1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、4日おきに又はほぼ4日おきにアシル化インスリンを投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことが必要であり得る。他の患者にとっては、1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、3日おきに又はほぼ3日おきにアシル化インスリンを投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことが必要であり得る。さらに、他の患者は、1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、週に2回、例えば、各回の投与の間に約3~4日おきにアシル化インスリンを投与することが有利であると感じ得る。一部の患者にとっては、1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、2日おきに又はほぼ2日おきにアシル化インスリンを投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことが必要であ

10

20

30

40

50

り得る。他の患者にとっては、1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、1日おきに又はほぼ1日おきにアシル化インスリンを投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことが必要であり得る。一部の患者にとっては、1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、7日おきに又はほぼ7日おきにアシル化インスリンを投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことが必要であり得る。さらに、他の患者は、毎週、毎月又は毎年、正確な同じ長さの時間間隔（日数）でアシル化インスリンを投与しない可能性がある。1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、一部の患者は、場合によっては、5日～7日おきの時間間隔でアシル化インスリンを投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことができる。1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、他の患者は、場合によっては、4日～6日おきの時間間隔でアシル化インスリンを投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことができる。1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、さらに、他の患者は、場合によっては、3日～7日おきの時間間隔でアシル化インスリンを投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことができる。

10

20

30

40

50

【0089】

本発明の主な標的となる疾患及び病状は、糖尿病（1型又は2型）又は高血糖症を特徴とする他の病状であるというものの、大体、その中のインスリンの代謝作用が臨床的関連性又はメリットを有する代謝疾患及び病状であり、例えば、前糖尿病、耐糖能障害、メタボリックシンドローム、肥満、悪液質、インビボの β -細胞損傷／死亡、過食症や炎症などである。これらのタイプの病状はすべて、上記疾患又は病状を罹患した対象の安定した代謝状態から利益を得ることが知られている、又は考えられている。いずれにせよ、インスリンの投与を含む何れの治療方法も、本発明の教示を実施することにより変更することができ、これは、このような治療法が本願により提供される長時間作用型インスリンの投与を含むことを意味する。

実施例

以下の実施例は、限定的ではなく、例示的に提供される。

本願に使用される略語は以下の通りである。

OEGは、アミノ酸残基 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{OCH}_2\text{CO}-$ である。

OSuは、スクシンイミド-1-イルオキシ-2, 5-ジオキソ-ピロリジン-1-イルオキシである。

OtBuは、オキシ-tert-ブチルである。

HClは、塩化水素である。

γ Glu又はg Gluは、 γ -L-グルタミル基である。

NHSは、N-ヒドロキシスクシンイミドである。

DCCは、ジシクロヘキシルカルボジイミドである。

AE EAは、2-(2-(2-アミノエトキシ)エトキシ)酢酸である。

OHは、ヒドロキシラジカルである。

CH_3CN は、アセトニトリルである。

Glyは、グリシンである。

Argは、アルギニンである。

TFAは、トリフルオロ酢酸である。

HbA1cは、糖化ヘモグロビンである。

AUCは、時間-血糖曲線の曲線下面積である。

RUは、応答単位 (Response unit) である。

以下の実施例及び一般的な方法は、明細書と合成方案で決定された中間化合物と最終生成物を対象とする。以下の実施例により本発明の化合物の調製を詳しく説明するが、記載される化学反応は、本発明の化合物の調製への一般的な適用性によって開示される。場合によっては、上記反応は、上記の本発明の範囲内のすべての化合物に適用できない可能性がある。当業者は、このような状況が発生される化合物を容易に識別することができる。これらの場合、上記反応は、当業者に知られている通常の改善により、すなわち、干渉基への適切な保護により、他の通常の試薬への変更により、又は反応条件の通常の改善によ

り、うまく行うことができる。何れの調製方法においても、すべての原料は既知のものであり、又は既知の原料を使用して容易に調製することができる。何れの温度も摂氏で示され、特に明記のない限り、収率に言及する場合、すべての部分及び百分率は重量で示され、溶剤及び溶出液に言及する場合、すべての部分は体積で示される。

【実施例 1】

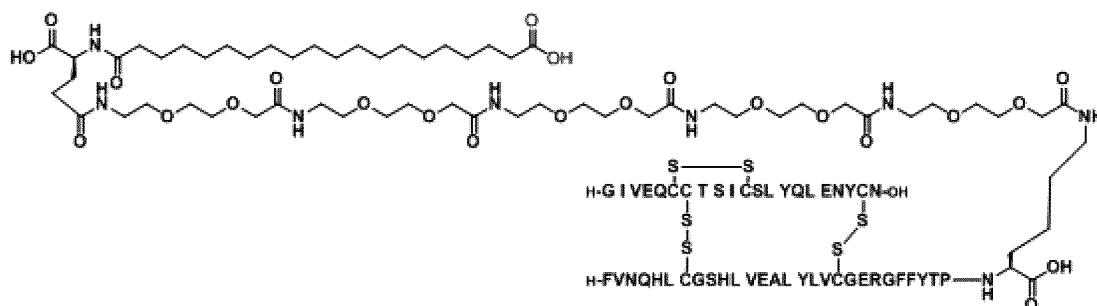
【0090】

B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γ Glu-5xOEG)、desB30ヒトインスリン(化合物1)

【0091】

【化3】

10



20

1、des(B30)ヒトインスリンの合成

des(B30)ヒトインスリンは、中国特許CN1056618Cの実施例11に記載の方法に従って調製される。

【0092】

2、目標インスリンの調製

desB30ヒトインスリン(5g、0.876mmol)を100mMのNa₂HPO₄水溶液(150mL)に溶解し、アセトニトリル(100mL)を加え、1NのNaOHでpH10~12.5にpHを調整した。tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(5xOEG-OSu)-OtBu(1.36g、0.964mmol)をアセトニトリル(50mL)に溶解し、インスリン溶液に徐々に加えた。pHを10~12.5に維持した。120分間後、反応混合物を水(150mL)に加え、1NのHCl水溶液でpHを5.0に調整した。遠心分離により沈殿を分離し、凍結乾燥させた。粗生成物をトリフルオロ酢酸(60mL)とジクロロメタン(60mL)の混合溶液に加え、室温下で30分間攪拌した。混合物を約30mLに濃縮し、氷冷したn-ヘプタン(300mL)に注ぎ、ろ過により沈殿した生成物を分離し、n-ヘプタンで2回洗浄した。真空で乾燥した後、イオン交換クロマトグラフィー(Resource Q、42.5%のエタノールにおける0.25%~1.25%の酢酸アンモニウム勾配、pH7.5)、逆相クロマトグラフィー(アセトニトリル、水、TFA)により精製し、精製された画分を合併し、1NのHClでpHを5.2に調整し、沈殿物を分離し、凍結乾燥させ、表題化合物1を得た。

30

40

LC-MS(エレクトロスプレー): m/z=1377.53[M+5H]⁵⁺

3、中間体tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(5xOEG-OSu)-OtBuの調製

3.1 tert-ブチルエイコサンジアシル-OSu

窒素ガス保護の条件下で、エイコサン二酸モノtert-ブチル(20g、50.17mmol)とNHS(5.77g、50.17mmol)をジクロロメタンに混合し、トリエチルアミン(13.95mL)を加え、得られた混濁混合物を室温下で攪拌してから、DCC(11.39g、55.19mmol)を加え、さらに一晩攪拌した。ろ過し、得られたろ液をほぼ乾燥になるまで濃縮させ、残留物を冷たい水及び酢酸エチルと混合し、20分間攪拌し、分液し、上層有機相に飽和食塩水を加えて洗浄し、分液後に上層有機相

50

を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させ、24.12 g (収率97%)のtert-ブチルエイコサンジアシル-O Suを得た。

LC-MS(Scie×100API): m/z=496.36(M+1)⁺

3.2 tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-Ot Bu

tert-ブチルエイコサンジアシル-O Su (24.12 g、48.66 mmol) をジクロロメタン (250 mL) に溶解して攪拌し、順にH-Glu-Ot Bu (10.88 g、53.53 mmol)、トリエチルアミン (12.49 mL)、水を加え、それを加熱して清澄な溶液を得て、当該溶液を室温下で4時間攪拌した。次に10%のクエン酸水溶液 (200 mL) を加え、分液し、下層有機相に飽和食塩水を加えて洗浄し、分液後に下層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させた。27.27 g (収率96%)のtert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-Ot Buを得た。

LC-MS(Scie×100API): m/z=584.44(M+1)⁺

3.3 tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(O Su)-Ot Bu

窒素ガス保護の条件下で、tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-Ot Bu (27.27 g、46.71 mmol) をジクロロメタン (300 mL) に溶解し、順にトリエチルアミン (11.99 mL) を加えて10 min 攪拌してから、NHS (5.38 g、50.17 mmol) とDCC (10.60 g、51.38 mmol) を加えた。室温下で混合物を一晩攪拌した。ろ過し、得られたろ液をほぼ乾燥になるまで濃縮させ、残留物を冷たい水及び酢酸エチルと混合し、20分間攪拌し、分液し、上層有機相に飽和食塩水を加えて洗浄し、分液後に上層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、メチルtert-ブチルエーテルを加え、30 min 攪拌し、吸引ろ過し、ろ過ケーキを真空で一晩乾燥させ、25.76 g (収率81%)のtert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(O Su)-Ot Buを得た。

LC-MS(Scie×100API): m/z=681.46(M+1)⁺

3.4 tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(2xOEG-OH)-Ot Bu

tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(O Su)-Ot Bu (25.76 g、37.83 mmol) をジクロロメタン (250 mL) に溶解して攪拌し、順に2x AEEA (11.66 g、37.83 mmol)、トリエチルアミン (9.71 mL)、水 (25 mL) を加え、それを加熱して清澄な溶液を得て、当該溶液を室温下で4時間攪拌した。次に10%のクエン酸水溶液 (200 mL) を加え、分液し、下層有機相に飽和食塩水を加えて洗浄し、分液後に下層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させた。30.75 g (収率93%)のtert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(2xOEG-OH)-Ot Buを得た。

LC-MS(Scie×100API): m/z=874.59(M+1)⁺

3.5 tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(2xOEG-OSu)-Ot Bu

窒素ガス保護の条件下で、tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(2xOEG-OH)-Ot Bu (30.75 g、35.18 mmol) をジクロロメタン (300 mL) に溶解し、トリエチルアミン (9.03 mL) を加えて10分間攪拌し、さらにNHS (4.05 g、35.18 mmol) を加えてから、DCC (7.98 g、38.70 mmol) を加えた。室温下で混合物を一晩攪拌した。ろ過し、得られたろ液をほぼ乾燥になるまで濃縮させ、残留物を冷たい水及び酢酸エチルと混合し、20分間攪拌し、分液し、上層有機相に飽和食塩水を加えて洗浄し、分液後に上層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させ、31.09 g (収率91%)のtert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(2xOEG-OSu)-Ot Buを得た。

LC-MS(Scie×100API): $m/z=971.61(M+1)^+$

3.6 tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(5xOEG-OH)-OtBu

tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(2xOEG-OSu)-OtBu (31.09g、32.01mmol) をジクロロメタン (350mL) に溶解して攪拌し、順に 3x AEEA (14.52g、32.01mmol)、トリエチルアミン (8.90mL)、水 (25mL) を加え、それを加熱して清澄な溶液を得て、当該溶液を室温下で4時間攪拌した。次に10%のクエン酸水溶液 (200mL) を加え、分液し、下層有機相に飽和食塩水を加えて洗浄し、分液後に下層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させた。38.99g (収率93%) の tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(5xOEG-OH)-OtBu を得た。

10

LC-MS(Scie×100API): $m/z=1309.81(M+1)^+$

3.7 tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(5xOEG-OSu)-OtBu

窒素ガス保護の条件下で、tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(5xOEG-OH)-OtBu (38.99g、29.77mmol) をジクロロメタン (400mL) に溶解し、トリエチルアミン (8.28mL) を加えて10分間攪拌し、さらに N HS (3.43g、29.77mmol) を加えてから、DCC (6.76g、32.75mmol) を加えた。室温下で混合物を一晩攪拌した。ろ過し、得られたろ液をほぼ乾燥になるまで濃縮させ、残留物を冷たい水及び酢酸エチルと混合し、20分間攪拌し、分液し、上層有機相に飽和食塩水を加えて洗浄し、分液後に上層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させ、38.11g (収率91%) の tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(5xOEG-OSu)-OtBu を得た。

20

LC-MS(Scie×100API): $m/z=1406.83(M+1)^+$

【実施例2】

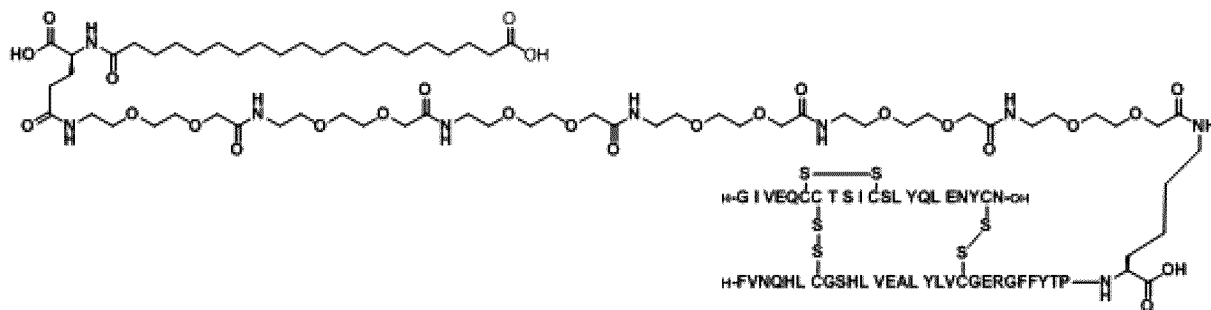
【0093】

B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γ Glu-6xOEG)、desB30ヒトインスリン (化合物2)

30

【0094】

【化4】



40

実施例1のパート2と類似する工程に従って化合物2を調製した。

LC-MS(エレクトロスプレー): $m/z=1406.28[M+5H]^{5+}$

中間体 tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(6xOEG-OSu)-OtBu の調製は、実施例1のパート3と類似する工程に従って行われた。

LC-MS(Scie×100API): $m/z=1551.90(M+1)^+$

【実施例3】

【0095】

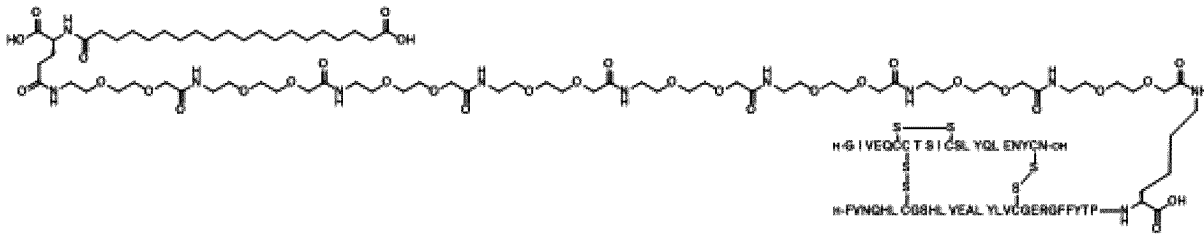
B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γ Glu-8xOEG)、desB30ヒ

50

トインスリン (化合物 3)

【0096】

【化5】



10

実施例 1 のパート 2 と類似する工程に従って化合物 3 を調製した。

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 1464.30 [M+5H]^+$

中間体 tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(8xOEG-OSu)-OtBu の調製は、実施例 1 のパート 3 と類似する工程に従って行われた。

LC-MS (Scie×100API) : $m/z = 1814.02 (M+1)^+$

【実施例 4】

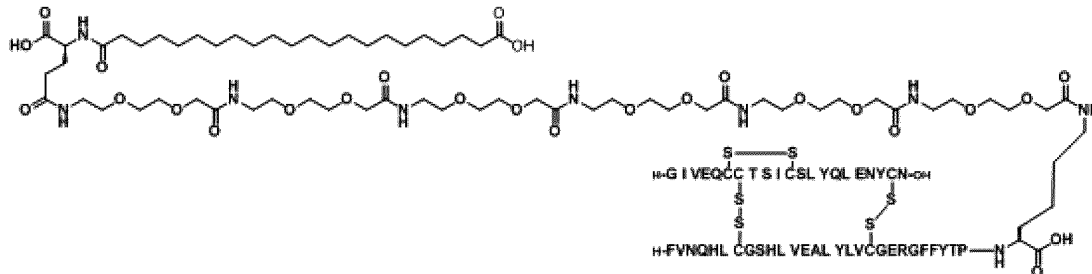
【0097】

B29K (N(ε)-ドコサンジアシル-γ Glu-6xOEG)、desB30 ヒトインスリン (化合物 4)

20

【0098】

【化6】



30

実施例 1 のパート 2 と類似する工程に従って化合物 4 を調製した。

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 1411.88 [M+5H]^+$

中間体 tert-ブチルドコサンジアシル-γ Glu-(6xOEG-OSu)-OtBu の調製は、実施例 1 のパート 3 と類似する工程に従って行われた。

LC-MS (Scie×100API) : $m/z = 1579.94 (M+1)^+$

対照例 1

B29K (N(ε)-ヘキサデカンジアシル-γ Glu)、desB30 ヒトインスリン (インスリンデグルデク、対照化合物 1)

対照化合物であるインスリンデグルデクは、特許 CN 105820233 A の実施例 4 に従って調製された。

40

【0099】

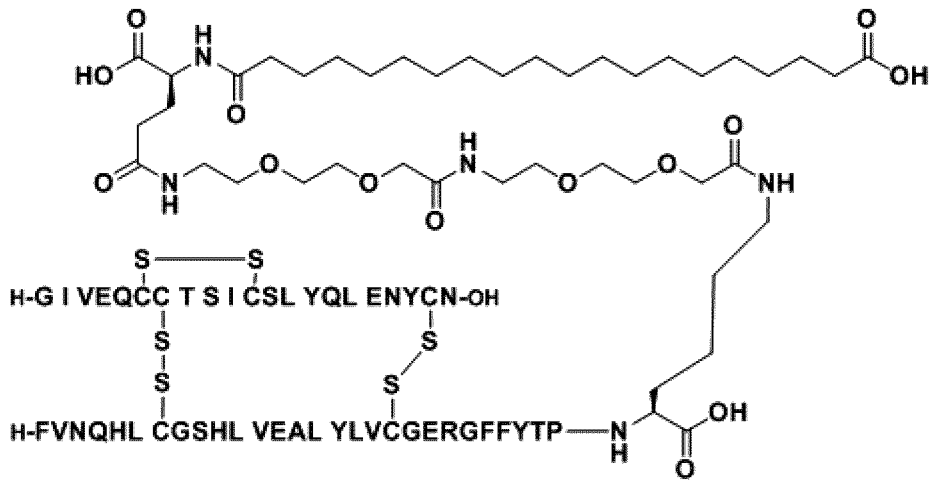
対照例 2

B29K (N(ε)-エイコサンジアシル-γ Glu-2xOEG)、desB30 ヒトインスリン (対照化合物 2)

【0100】

50

【化 7】



10

実施例 1 のパート 2 と類似する工程に従って対照化合物 2 を調製した。

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 1290.22 [M+5H]^{5+}$

中間体 tert-ブチルエイコサンジアル- γ Glu - (2x OEG) - O t Bu の調製は、実施例 1 のパート 3 と類似する工程に従って行われた。

LC-MS (Sciex 100 API) : $m/z = 971.61 (M+1)^+$

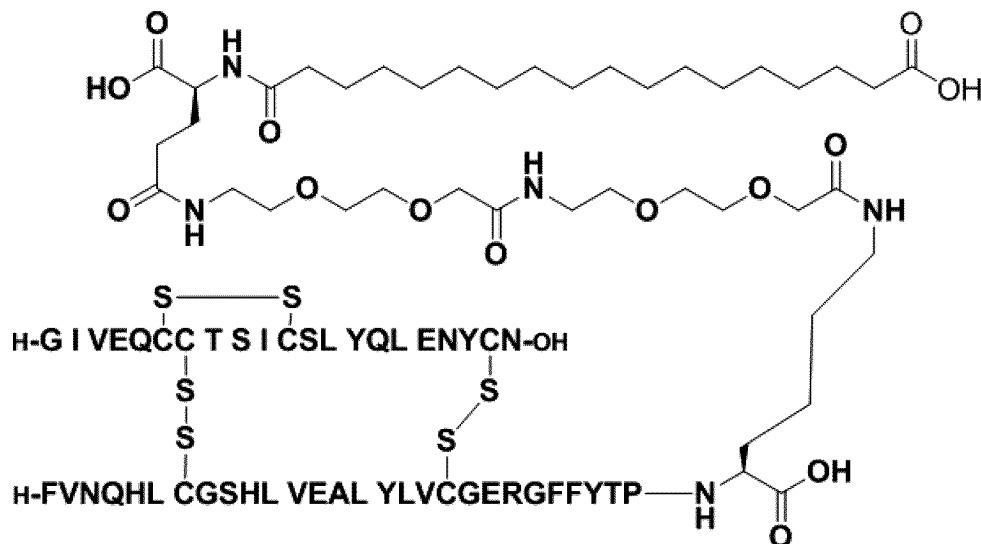
20

対照例 3

B 2 9 K (N (ε) - オクタデカンジアル- γ Glu - 2x OEG) 、 des B 3 0 ヒトインスリン (対照化合物 3)

【0101】

【化 8】



30

40

実施例 1 のパート 2 と類似する工程に従って対照化合物 3 を調製した。

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 1284.61 [M+5H]^{5+}$

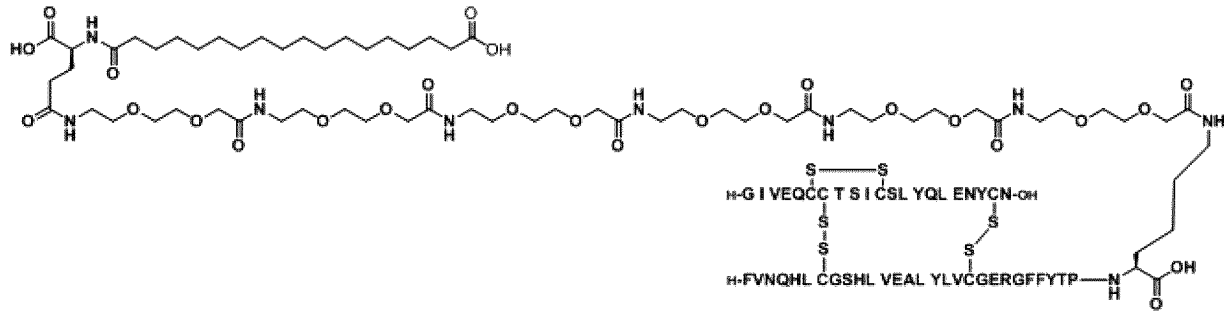
対照例 4

B 2 9 K (N (ε) - オクタデカンジアル- γ Glu - 6x OEG) 、 des B 3 0 ヒトインスリン (対照化合物 4)

【0102】

50

【化 9】



10

実施例 1 のパート 2 と類似する工程に従って対照化合物 4 を調製した。

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 1400.68 [M+5H]^5+$

【実施例 5】

【0103】

db/db マウスにおける薬効学的研究

この研究は、糖尿病の場合に、本発明のアシル化インスリンの血糖 (BG) への調節効果を確認することを目的とする。

肥満の糖尿病マウスモデル (db/db マウス) で、単回用量研究において実施例 1 ~ 3 のアシル化インスリン及び対照例 1 ~ 4 の対照化合物を試験した。9 U/kg 又は 10 U/kg の異なる用量で上記アシル化インスリンの血糖降下効果を試験した。

20

【0104】

8 ~ 9 週齢の雄 db/db (BKS/Lepr) マウスをバリア環境において適切な仕様の飼育ボックスで飼育し、標準餌と精製水を自由に摂取させ、環境条件を相対湿度 40 % ~ 60 %、温度 22 °C ~ 24 °C に制御した。1 ~ 2 週間の順応期間後、実験に使用し始めた。

【0105】

当日の実験開始前、時間 -1 / 1 h (午前 9 : 30) に基礎血糖を評価し、マウスの体重を測定した。ランダム血糖と体重によって、マウスを溶媒群又は治療群に適合させて割り当て、皮下に溶媒が注射され、又は、皮下にアシル化インスリン 9 U/kg 又は 10 U/kg が注射されるように処理し、そのうち、溶媒はグリセリン 19.6 mg/mL、フェノール 1.5 mg/mL、m-クレゾール 1.72 mg/mL を含み、亜鉛イオンの濃度は 55 µg/mL で、pH 値は 7.6 であった。

30

【0106】

1.8 又は 2 U/mL の投与濃度になるまで上記アシル化インスリンを溶媒に溶解し、投与体積は 5 mL/kg (即ち、50 µL/10 g の体重) であった。皮下投与 (S.C.) により、頸背部に皮下注射で 1 回投与した。約午前 10 : 30 (時間 0) にアシル化インスリンを投与し、投与期間に動物に水を摂取させるが絶食させ、投与の 3、6、9、12 及び 15 時間後のマウスの血糖を評価した。摂食をシミュレートするために、試験中に、15 時間の時点での血糖を検出した後に経口耐糖能試験 (OGTT) を開始し、グルコース溶液 (100 mg/mL、10 mL/kg) を胃内投与してから 30 min、60 min、120 min 及び 180 min 後に血糖を測定し、OGTT 実験を連続的に 3 回実施した。予備実験の結果によると、最終回の OGTT 実験では、試験化合物の薬効はほぼ無くなり、30 時間の血糖評価後に終了した。

40

【0107】

ラットの尾部をアルコール綿球で掃除し、使い捨ての採血針で尻尾から血滴を採取し、血糖値測定器及び付属の試験紙 (ロシュ) により測定した。それぞれの単回用量のアシル化インスリンについて、血糖-時間の用量応答曲線を作成した。

【0108】

本発明のアシル化インスリンの血糖に対する影響を説明するために、それぞれの単独の

50

用量応答曲線について、0 からモニタリングエンドポイントまでの血糖－時間の曲線下面積（AUC）を算出した。そのうち、AUC 値が小さいほど、血糖降下効果が良くなり、薬効が良くなることを示す。

【0109】

試験の結果：

本発明のアシル化インスリン及び対照化合物の db / db マウスにおける血糖降下効果は、図 1 a ～図 5 b、及び表 1 に示される通りであり、具体的に、

図 1 a 及び図 1 b は、化合物 1 及び化合物 2 などの本発明のアシル化インスリンの db / db マウスに対する血糖降下効果がインスリンデグルデクよりも顕著に優れるとともに、有効作用時間がインスリンデグルデクよりも延長したことを示している。

10

【0110】

図 2 a 及び図 2 b は、化合物 1 及び化合物 2 などの本発明のアシル化インスリンの db / db マウスに対する血糖降下効果も対照化合物 2 よりも顕著に優れ、本発明の化合物 1 及び化合物 2 の薬効が対照化合物 2 に対して、投与の 0 ～16.5 時間内にそれぞれ 39.5% 及び 45.1% 増加したことを示しており、表 1 に示されるとおりである。

【0111】

【表 1】

表 1 本発明のアシル化インスリンの対照化合物 2 に対して増加した薬効

化合物／対照化合物	実施例	対照化合物 2 に対する薬効増加の百分率
化合物 1	実施例 1	39.5%
化合物 2	実施例 2	45.1%
対照化合物 2	対照例 2	0%

20

対照化合物 2 に対する薬効増加の百分率 = $\left[\frac{AUC（試験化合物） - AUC（溶媒）}{AUC（対照化合物 2） - AUC（溶媒）} - 1 \right] \times 100\%$ 、ただし、試験化合物は本発明のアシル化インスリンを指す。

【0112】

図 3 a ～3 b は、本発明の化合物 1、化合物 2 及び化合物 3 がいずれも非常に優れた薬効を有し、且つ db / db マウスにおいて、30 時間までモニタリングした時にも依然として有効であり、顕著に延長した血糖降下作用時間を有することを示している。

30

【0113】

図 4 a ～5 b は、化合物 2 などの本発明のアシル化インスリンの db / db マウスに対する血糖降下効果が対照化合物 3 及び対照化合物 4 よりも顕著に優れたことを示している。

【実施例 6】

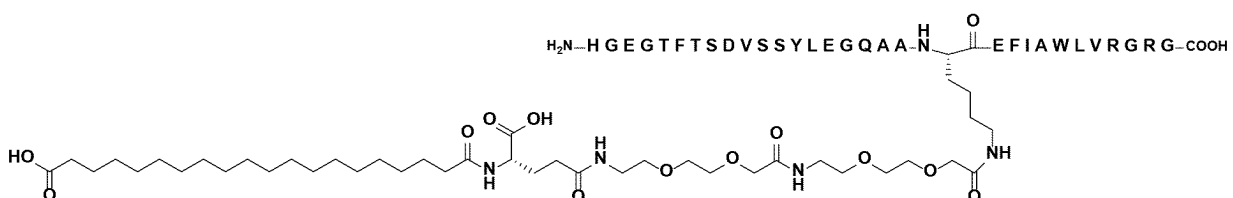
【0114】

$N - \epsilon^{26} - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (19 - \text{カルボキシノナデカノイルアミノ}) - 4 (S) - \text{カルボキシブチリルアミノ}] \text{エトキシ}) \text{エトキシ}] \text{アセチルアミノ}) \text{エトキシ}] \text{エトキシ}] \text{アセチル}] [Gly 8, Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) \text{ペプチド}$ （化合物 6）

40

【0115】

【化 10】



50

1、N-ε²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-カルボキシノナ
デカノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ]エトキシ)エトキシ]アセ
チルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Gly 8、Arg 34]GLP-1-(
7-37)ペプチドの調製

一般的なタンパク質組換え発現方法により、[Gly 8、Arg 34]GLP-1-(7-37)ペプチドを調製した(具体的な方法は、Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Fourth Edition)、Michael R. Green、Cold Spring Harbor Press、2012を参照する)。[Gly 8、Arg 34]GLP-1-(7-37)ペプチド(5g、1.48mmol)を100mMのNa₂HPO₄水溶液(150mL)に溶解し、アセ
トニトリル(100mL)を加え、1NのNaOHでpHをpH10~12.5に調整した。tert-ブチルエイコサンジアシル-γGlu(2xOEG-OSu)-OtBu
(1.59g、1.63mmol)をアセトニトリル(50mL)に溶解し、[Gly 8、Arg 34]GLP-1-(7-37)ペプチド溶液に徐々に加えた。pHを10~12.5に維持した。120分間後、反応混合物を水(150mL)に加え、1NのHCl
水溶液でpHを5.0に調整した。遠心分離により沈殿を分離し、凍結乾燥させた。粗生成物をトリフルオロ酢酸(60mL)とジクロロメタン(60mL)の混合溶液に加え、
室温下で30分間攪拌した。混合物を約30mLに濃縮し、氷冷したn-ヘプタン(300mL)に注ぎ、ろ過により沈殿した生成物を分離し、n-ヘプタンで2回洗浄した。真
空で乾燥した後、生成物をイオン交換クロマトグラフィー(Resource Q、42.5%のエタノールにおける0.25%~1.25%の酢酸アンモニウム勾配、pH7.5)、
逆相クロマトグラフィー(アセトニトリル、水、TFA)により精製し、精製された画分を合併し、1NのHClでpHを5.2に調整し、沈殿物を分離し、凍結乾燥させて表題化合物を得た。

10

20

LC-MS(エレクトロスプレー): m/z=1028.79[M+4H]⁴⁺

2、中間体tert-ブチルエイコサンジアシル-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBuの調製

2.1 tert-ブチルエイコサンジアシル-OSu

窒素ガス保護の条件下で、エイコサン二酸モノtert-ブチル(20g、50.17mmol)とNHS(5.77g、50.17mmol)をジクロロメタン(400mL)に混合し、トリエチルアミン(13.95mL)を加え、得られた混濁混合物を室温下で攪拌してから、DCC(11.39g、55.19mmol)を加え、それをさらに一晩攪拌した。ろ過し、得られたろ液をほぼ乾燥になるまで濃縮させ、残留物を冷たい水及び酢酸エチルと混合し、20分間攪拌し、分液し、上層有機相に飽和食塩水を加えて水洗し、分液後に上層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空中で一晩乾燥させ、24.12g(収率97%)のtert-ブチルエイコサンジアシル-OSuを得た。

30

LC-MS(Sciex100API): m/z=496.36(M+1)⁺

2.2 tert-ブチルエイコサンジアシル-γGlu-OtBu

tert-ブチルエイコサンジアシル-OSu(24.12g、48.66mmol)をジクロロメタン(250mL)に溶解して攪拌し、順にH-Glu-OtBu(10.8g、53.53mmol)、トリエチルアミン(12.49mL)、水(25mL)を加え、それを加熱して清澄な溶液を得て、当該溶液を室温下で4時間攪拌した。次に10%のクエン酸水溶液(200mL)を加え、分液し、下層有機相に飽和食塩水を加えて水洗し、分液後に下層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空中で一晩乾燥させた。27.27g(収率96%)のtert-ブチルエイコサンジアシル-γGlu-OtBuを得た。

40

LC-MS(Sciex100API): m/z=584.44(M+1)⁺

2.3 tert-ブチルエイコサンジアシル-γGlu(OSu)-OtBu

窒素ガス保護の条件下で、tert-ブチルエイコサンジアシル-γGlu-OtBu(

50

27.27 g、46.71 mmol) をジクロロメタン (300 mL) に溶解し、トリエチルアミン (11.99 mL) を加えて10分間攪拌し、さらにNHS (5.38 g、50.17 mmol) を加えてから、DCC (10.60 g、51.38 mmol) を加えた。室温下で混合物を一晩攪拌した。ろ過し、得られたろ液をほぼ乾燥になるまで濃縮させ、残留物を冷たい水及び酢酸エチルと混合し、20分間攪拌し、分液し、上層有機相に飽和食塩水を加えて水洗し、分液後に上層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、メチルtert-ブチルエーテルを加え、30分間攪拌し、吸引ろ過し、ろ過ケーキを真空で一晩乾燥させ、25.76 g (収率81%) のtert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(OSu)-OtBuを得た。

LC-MS(Scie×100API): m/z=681.46(M+1)⁺

2.4 tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(2xOEG-OH)-OtBu

tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(OSu)-OtBu (25.76 g、37.83 mmol) をジクロロメタン (250 mL) に溶解して攪拌し、順に2xAEA (11.66 g、37.83 mmol)、トリエチルアミン (9.71 mL)、水 (25 mL) を加え、それを加熱して清澄な溶液を得て、当該溶液を室温下で4時間攪拌した。次に10%のクエン酸水溶液 (200 mL) を加え、分液し、下層有機相に飽和食塩水を加えて水洗し、分液後に下層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させた。30.75 g (収率93%) のtert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(2xOEG-OH)-OtBuを得た。

LC-MS(Scie×100API): m/z=874.59(M+1)⁺

2.5 tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(2xOEG-OSu)-OtBu

窒素ガス保護の条件下で、tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(2xOEG-OH)-OtBu (30.75 g、35.18 mmol) をジクロロメタン (300 mL) に溶解し、トリエチルアミン (9.03 mL) を加えて10分間攪拌し、さらにNHS (4.05 g、35.18 mmol) を加えてから、DCC (7.98 g、38.70 mmol) を加えた。室温下で混合物を一晩攪拌した。ろ過し、得られたろ液をほぼ乾燥になるまで濃縮させ、残留物を冷たい水及び酢酸エチルと混合し、20分間攪拌し、分液し、上層有機相に飽和食塩水を加えて水洗し、分液後に上層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、ろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させ、31.09 g (収率91%) のtert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(2xOEG-OSu)-OtBuを得た。

LC-MS(Scie×100API): m/z=971.61(M+1)⁺

【実施例7】

【0116】

N-ε²⁶-[2-(2-[2-(4-[19-カルボキシノナデカノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Gly8, Arg34] GLP-1-(7-37) ペプチド (化合物7)

【0117】

10

20

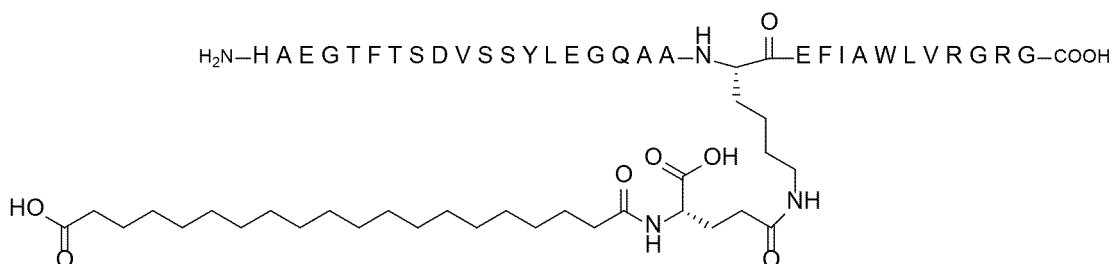
30

40

50

【 0 1 2 1 】

【化 1 3】



実施例 6 のパート 1 と類似する工程に従って、 $N-\epsilon^{26}-(19\text{-カルボキシノナデカノイルアミノ})-4(S)\text{-カルボキシブチリル-[Arg 34] GLP-1-(7-37)}$ ペプチドを調製した

10

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z=959.75[M+4H]^4+$

中間体 tert-ブチルエイコサンジアシル-γGlu-(OSu)-OtBu の調製は、実施例 6 のパート 2 と類似する工程に従って行われた。

LC-MS (Sciex 100 API) : $m/z=681.46(M+1)^+$

【実施例 10】

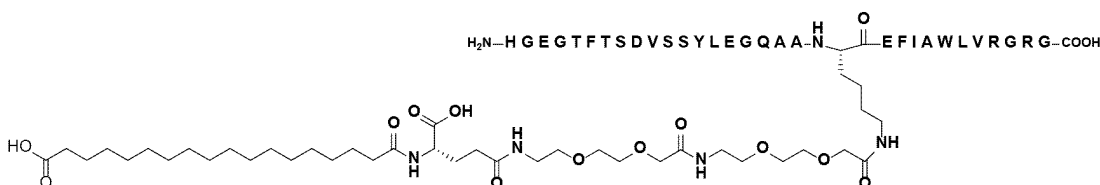
【0122】

$N-\epsilon^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(17\text{-カルボキシヘプタデカノイルアミノ})-4(S)\text{-カルボキシブチリルアミノ}] \text{エトキシ}) \text{エトキシ}] \text{アセチルアミノ}) \text{エトキシ}] \text{エトキシ}) \text{アセチル}] [Gly 8, Arg 34] GLP-1-(7-37)}$ ペプチド (化合物 10)

20

【0123】

【化 1 4】



30

実施例 6 のパート 1 と類似する工程に従って、 $N-\epsilon^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(17\text{-カルボキシヘプタデカノイルアミノ})-4(S)\text{-カルボキシブチリルアミノ}] \text{エトキシ}) \text{エトキシ}] \text{アセチルアミノ}) \text{エトキシ}] \text{エトキシ}) \text{アセチル}] [Gly 8, Arg 34] GLP-1-(7-37)}$ ペプチドを調製した

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z=1021.78[M+4H]^4+$

【実施例 11】

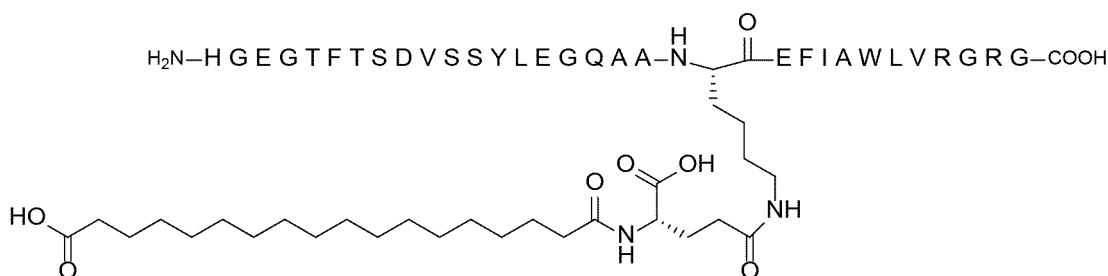
【0124】

$N-\epsilon^{26}-(17\text{-カルボキシヘプタデカノイルアミノ})-4(S)\text{-カルボキシブチリル-[Gly 8, Arg 34] GLP-1-(7-37)}$ ペプチド (化合物 11)

40

【0125】

【化 1 5】



50

実施例 6 のパート 1 と類似する工程に従って、 $N-\epsilon^{26}-(17\text{-カルボキシヘプタデカノイルアミノ})-4(S)\text{-カルボキシブチリル}-[Gly8, Arg34] GLP-1-(7-37)$ ペプチドを調製した

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z=949.24[M+4H]^4+$

中間体 $tert\text{-ブチルオクタデカンジアシル}-\gamma Glu-(OSu)-OtBu$ の調製は、実施例 6 のパート 2 と類似する工程に従って行われた。

LC-MS(Scie $\times$ 100API) : $m/z=653.43 (M+1)^+$

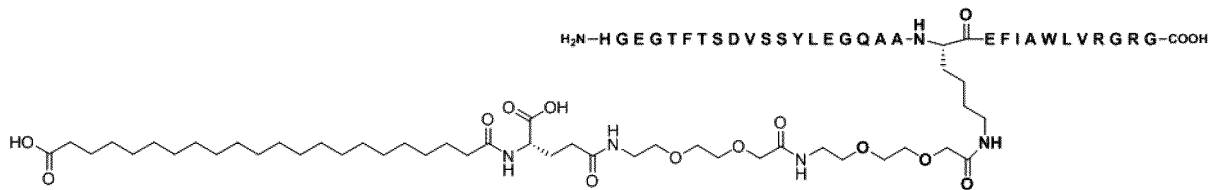
【実施例 12】

【0126】

$N-\epsilon^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21\text{-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ})-4(S)\text{-カルボキシブチリルアミノ}] \text{エトキシ}) \text{エトキシ}] \text{アセチルアミノ}) \text{エトキシ}] \text{エトキシ}) \text{アセチル}] [Gly8, Arg34] GLP-1-(7-37)$ ペプチド (化合物 12)

【0127】

【化 16】



実施例 6 のパート 1 と類似する工程に従って、 $N-\epsilon^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21\text{-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ})-4(S)\text{-カルボキシブチリルアミノ}] \text{エトキシ}) \text{エトキシ}] \text{アセチルアミノ}) \text{エトキシ}] \text{エトキシ}) \text{アセチル}] [Gly8, Arg34] GLP-1-(7-37)$ ペプチドを調製した

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z=1035.80[M+4H]^4+$

中間体 $tert\text{-ブチルドコサンジアシル}-\gamma Glu-(2xOEG-OSu)-OtBu$ の調製は、実施例 6 のパート 2 と類似する工程に従って行われた。

LC-MS(Scie $\times$ 100API) : $m/z=999.64(M+1)^+$

対照例 5

A14E、B16H、B25H、B29K ($N(\epsilon)\text{-エイコサンジアシル}-\gamma Glu-2xOEG$)、desB30 ヒトインスリン (対照化合物 5)

【0128】

10

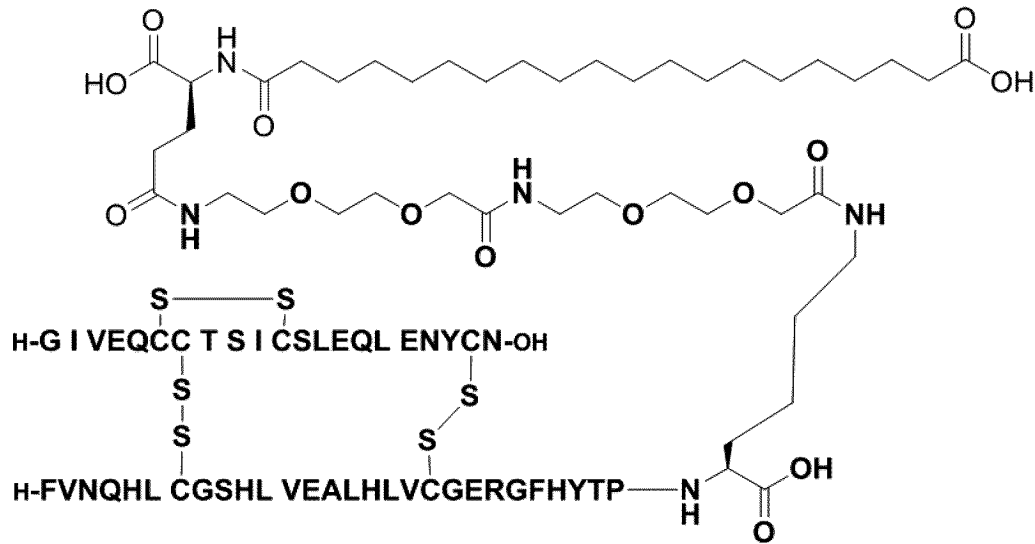
20

30

40

50

【化 17】



10

20

30

40

1、A14E、B16H、B25H、B29K (N(ε)-エイコサンジアシル-γ Glu-2xOEG)、desB30ヒトインスリンの調製
 通常のインスリン類似体の調製方法によりA14E、B16H、B25H、desB30ヒトインスリンを調製した（具体的な方法は、Glendorf T、
 (外2)
 Sørensen AR、

Nishimura E、Pettersson I、& Kjeldsen T: Importance of the solvent-Exposed Residues of the Insulin B Chain α-Helix for Receptor Binding、Biochemistry 2008 47 4743~4751
 を参照する)。A14E、B16H、B25H、desB30ヒトインスリン (5 g、0.888 mmol) を 100 mM の Na₂HPO₄ 水溶液 (150 mL) に溶解し、アセトニトリル (100 mL) を加え、1 N の NaOH で pH を pH 10~12.5 に調整した。tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(2xOEG-OSu)-OtBu (0.948 g、0.976 mmol) をアセトニトリル (50 mL) に溶解し、インスリン溶液に徐々に加えた。pH を 10~12.5 に維持した。120 分間後、反応混合物を水 (150 mL) に加え、1 N の HCl 水溶液で pH を 5.0 に調整した。遠心分離により沈殿を分離し、凍結乾燥させた。凍結乾燥した粗生成物をトリフルオロ酢酸 (60 mL) とジクロロメタン (60 mL) の混合溶液に加え、室温下で 30 分間攪拌した。混合物を約 30 mL に濃縮し、氷冷した n-ヘプタン (300 mL) に注ぎ、ろ過により沈殿した生成物を分離し、n-ヘプタンで 2 回洗浄した。真空で乾燥した後、イオン交換クロマトグラフィー (Resource Q、42.5% のエタノールにおける 0.25% ~ 1.25% の酢酸アンモニウム勾配、pH 7.5)、逆相クロマトグラフィー (アセトニトリル、水、TFA) により精製し、精製された画分を合併し、1 N の HCl で pH を 5.2 に調整し、沈殿物を分離し、凍結乾燥させ、対照化合物 5 を得た。

LC-MS (エレクトロスプレー) : m/z = 1063.6852 [M+6H]⁶⁺

2、中間体 tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(2xOEG-OSu)-OtBu の調製は、実施例 1 のパート 3 と類似する工程に従って行われた。

【0129】

2.1 tert-ブチルエイコサンジアシル-OSu

窒素ガス保護の条件下で、エイコサン二酸モノ tert-ブチル (20 g、50.17 m

50

mol)とNHS(5.77g、50.17mmol)をジクロロメタンに混合し、トリエチルアミン(13.95mL)を加え、得られた混濁混合物を室温下で攪拌してから、DCC(11.39g、55.19mmol)を加え、さらに一晚攪拌した。ろ過し、得られたろ液をほぼ乾燥になるまで濃縮させ、残留物を冷たい水及び酢酸エチルと混合し、20分間攪拌し、分液し、上層有機相に飽和食塩水を加えて洗浄し、分液後に上層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させ、24.12g(収率97%)のtert-ブチルエイコサンジアシル-Osuを得た。

LC-MS(Scie×100API): $m/z=496.36(M+1)^+$

2.2 tert-ブチルエイコサンジアシル-γGlu-OtBu

tert-ブチルエイコサンジアシル-Osu(24.12g、48.66mmol)をジクロロメタン(250mL)に溶解して攪拌し、順にH-Glu-OtBu(10.88g、53.53mmol)、トリエチルアミン(12.49mL)、水を加え、それを加熱して清澄な溶液を得て、当該溶液を室温下で4時間攪拌した。次に10%のクエン酸水溶液(200mL)を加え、分液し、下層有機相に飽和食塩水を加えて洗浄し、分液後に下層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させた。27.27g(収率96%)のtert-ブチルエイコサンジアシル-γGlu-OtBuを得た。

LC-MS(Scie×100API): $m/z=584.44(M+1)^+$

2.3 tert-ブチルエイコサンジアシル-γGlu-(Osu)-OtBu

窒素ガス保護の条件下で、tert-ブチルエイコサンジアシル-γGlu-OtBu(27.27g、46.71mmol)をジクロロメタン(300mL)に溶解し、トリエチルアミン(11.99mL)を加えて10min攪拌し、さらにNHS(5.38g、50.17mmol)を加えてから、DCC(10.60g、51.38mmol)を加えた。室温下で混合物を一晚攪拌した。ろ過し、得られたろ液をほぼ乾燥になるまで濃縮させ、残留物を冷たい水及び酢酸エチルと混合し、20分間攪拌し、分液し、上層有機相に飽和食塩水を加えて洗浄し、分液後に上層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、メチルtert-ブチルエーテルを加え、30min攪拌し、吸引ろ過し、ろ過ケーキを真空で一晩乾燥させ、25.76g(収率81%)のtert-ブチルエイコサンジアシル-γGlu-(Osu)-OtBuを得た。

LC-MS(Scie×100API): $m/z=681.46(M+1)^+$

2.4 tert-ブチルエイコサンジアシル-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu

tert-ブチルエイコサンジアシル-γGlu-(Osu)-OtBu(25.76g、37.83mmol)をジクロロメタン(250mL)に溶解して攪拌し、順に2xAEA(11.66g、37.83mmol)、トリエチルアミン(9.71mL)、水(25mL)を加え、それを加熱して清澄な溶液を得て、当該溶液を室温下で4時間攪拌した。次に10%のクエン酸水溶液(200mL)を加え、分液し、下層有機相に飽和食塩水を加えて洗浄し、分液後に下層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させた。30.75g(収率93%)のtert-ブチルエイコサンジアシル-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBuを得た。

LC-MS(Scie×100API): $m/z=874.59(M+1)^+$

2.5 tert-ブチルエイコサンジアシル-γGlu-(2xOEG-Osu)-OtBu

窒素ガス保護の条件下で、tert-ブチルエイコサンジアシル-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu(30.75g、35.18mmol)をジクロロメタン(300mL)に溶解し、トリエチルアミン(9.03mL)を加えて10分間攪拌し、さらにNHS(4.05g、35.18mmol)を加えてから、DCC(7.98g、38.7

10

20

30

40

50

0 mmol)を加えた。室温下で混合物を一晩攪拌した。ろ過し、得られたろ液をほぼ乾燥になるまで濃縮させ、残留物を冷たい水及び酢酸エチルと混合し、20分間攪拌し、分液し、上層有機相に飽和食塩水を加えて洗浄し、分液後に上層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させ、31.09 g (収率91%)のtert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(2xOEG-OSu)-OtBuを得た。

LC-MS(Sciex100API): $m/z = 971.61 (M+1)^+$

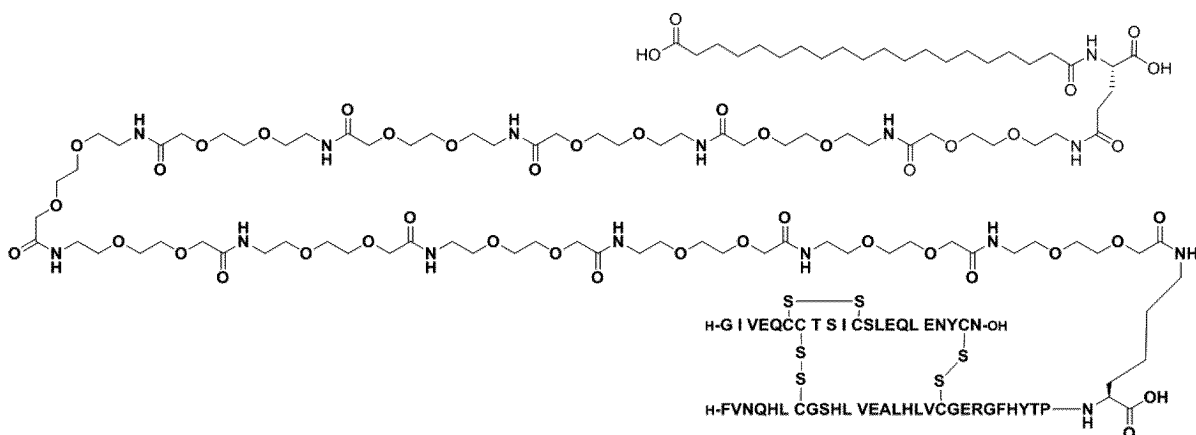
【実施例13】

【0130】

A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γ Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン (化合物15)

【0131】

【化18】



対照例5のパート1と類似する工程に従って、化合物A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-エイコサンジアシル-γ Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリンを調製した

LC-MS(エレクトロスプレー): $m/z = 1305.4716 [M+6H]^{6+}$

中間体tert-ブチルエイコサンジアシル-γ Glu-(12xOEG-OSu)-OtBuの調製は、対照例5のパート2と類似する工程に従って行われた。

LC-MS(Sciex100API): $m/z = 2423.35 (M+1)^+$

【実施例14】

【0132】

A14E、B16H、B25H、B29K(N(ε)-ドコサンジアシル-γ Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン (化合物16)

【0133】

10

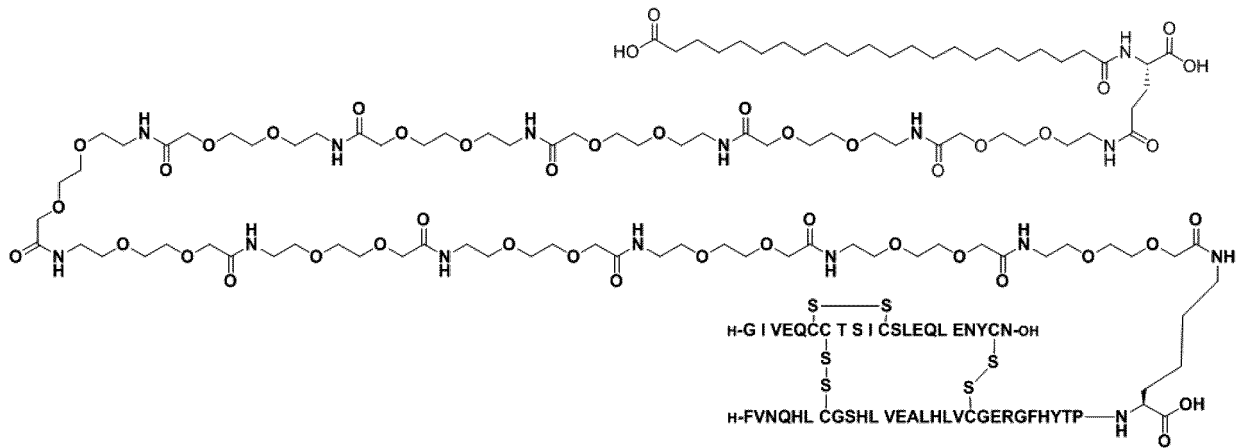
20

30

40

50

【化 1 9】



10

対照例 5 のパート 1 と類似する工程に従って、化合物 A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N (ε) -ドコサンジアシル-γ Glu-12x OEG)、des B 3 0 ヒトインスリンを調製した

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 1310.1425 [M+6H]^+$

中間体 tert-ブチルドコサンジアシル-γ Glu-(12x OEG-OSu)-OtBu の調製は、対照例 5 のパート 2 と類似する工程に従って行われた。

20

LC-MS (Sciex 100 API) : $m/z = 2451.38 (M+1)^+$ 。

【実施例 1 5】

【0 1 3 4】

ストレプトゾトシン (STZ) 誘発性 1 型糖尿病 (T1DM) ラットにおける薬効学的研究

体重 180 ~ 220 g の 8 週齢の SD ラット (雌と雄が半分ずつ) であった。バリア環境において適切な仕様の飼育ボックス (5 匹/ボックス) で飼育し、標準餌と精製水を自由に摂取させ、環境条件を相対湿度 40 % ~ 60 %、温度 22 °C ~ 24 °C に制御した。4 日間の順応期間後、12 h 絶食させ、ラットに 60 mg / kg でストレプトゾトシン (sigma) 溶液 (10 mg / mL、0.1 M のクエン酸緩衝液中) を腹腔内注射した。ストレプトゾトシンを 3 日投与した後、ランダム血糖の検出を実施し、血糖値が 20 mmol / L 以上のものを、後続の試験のために T1DM モデルラットとして選択した。

30

【0 1 3 5】

モデリングの 14 日後に試験を開始し、当日の実験開始前、時間 -1 / 1 h (午前 9 : 30) に基礎血糖を評価し、ラットの体重を測定した。ランダム血糖と体重によって、ラットを溶媒群又は治療群に適合させて割り当て、皮下に溶媒が注射され、又は、皮下に対照例 5、実施例 13 及び 14 の表題化合物 (即ち、対照化合物 5、化合物 15、化合物 16) がそれぞれ注射されるように処理し、その用量は 25 U / kg で、そのうち、溶媒はフェノール 5.65 mg / mL、グリセリン 15 mg / mL、リン酸水素二ナトリウム 0.708 mg / mL、塩化ナトリウム 0.585 mg / mL を含み、上記溶媒の pH 値は 7.6 であった。

40

【0 1 3 6】

25 U / mL の投与濃度になるまで上記アシル化インスリンを溶媒に溶解し、投与体積は 1 mL / kg (即ち、0.1 mL / 100 g の体重) であった。皮下投与により、頸背部に皮下投与し、毎回 4 日おきに 4 回繰り返し投与し、試験期間に SD ラットを自由に摂食させた。約午前 9 : 30 ~ 10 : 00 (時間 0) にアシル化インスリンを投与し、初回投与の 3 h、6 h、9 h、24 h、48 h、72 h、96 h 後にラットの血糖をモニタリングした後、毎回投与の 6 h 後及び 24 h ごとにラットの血糖を 1 回モニタリングした。

【0 1 3 7】

50

それぞれの単回用量のアシル化インスリンについて、血糖－時間の用量応答曲線を作成した。アシル化インスリンの血糖に対する影響を説明するために、それぞれの単独の用量応答曲線について、0からモニタリングエンドポイントまでの血糖－時間の曲線下面積（AUC）を算出した。

【0138】

【表2】

表2 本発明のアシル化インスリンの対照化合物5に対して増加した薬効

化合物／対照化合物	実施例	対照化合物5に対する薬効増加の百分率
化合物15	実施例13	125%
化合物16	実施例14	142%
対照化合物5	対照例5	0%

10

対照化合物5に対する薬効増加の百分率＝ $\left[\left(\text{AUC（試験化合物）} - \text{AUC（溶媒）} \right) / \left(\left(\text{AUC（対照化合物5）} - \text{AUC（溶媒）} \right) - 1 \right) \right] \times 100\%$ 、ただし、試験化合物は本発明のアシル化インスリンを指す。

【0139】

図6a～6b、表2に示すように、対照化合物5と比べて、本発明のアシル化インスリンは投与された後、1型糖尿病（T1DM）ラットにおいて予想以上の向上した血糖降下効果を有し、化合物15と化合物16の血糖降下効果はいずれも、対照化合物5よりも顕著に優れている。

20

【実施例16】

【0140】

本実験は、本発明のアシル化インスリン製剤の化学的安定性を測定することを目的とする。

アシル化インスリン製剤

4. 8mMの最終濃度（pH値は約10～11）になるように、実施例4の表題化合物である化合物4を0.1%のNaOH溶液に溶解し、下記の表中の各成分の量に従って、フェノール、m-クレゾール、酢酸亜鉛、グリセリン及び塩化ナトリウムを順に加え、最終インスリン濃度が1.2mM（200U/mL又は8.46mg/mL）であるアシル化インスリン製剤が作製されたが、ただし、Znの含有量はZn／6モルのアシル化インスリン（「Zn／6ins」と略す）で示される。

30

この実施例において、製剤の化学的安定性は、25℃及び37℃で14日間及び20日間保存した後の高分子量タンパク質（HMWP）の0日目に対する変化で示されてもよく、また、25℃及び37℃で14日間及び20日間保存した後の関連物質の量の変化で示されてもよい。

【0141】

高分子量タンパク質（HMWP）の測定

高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により高分子量タンパク質（HMWP）の含有量を測定し、型番と仕様がWaters Xbridge BEH 200A（7.8×300mm）、5μmであるカラムで、カラムの温度が30℃、試料セルの温度が5℃である時に、移動相を用いて0.5mL/minの流速で試験し、ただし、上記移動相は、600mLの0.1%のアルギニン溶液、150mLの氷酢酸及び250mLのアセトニトリルを含む。検出波長は276nmで、試料注入量は10μlであった。表3は、25℃及び37℃で、0日目に対する14日目及び20日目のHMWPの増加量を示している。

40

【0142】

50

【表 3】

表3

1. 2mM 化合物4 10mM m-クレゾール 17mg/mL グリセリン pH 7. 4	25℃ 14日目の 0日目に対する HMWPの増加 量 (%)	25℃ 20日目の 0日目に対するH MWPの増加量 (%)	37℃ 14日目の 0日目に対する HMWPの増加 量 (%)	37℃ 20日目の 0日目に対する HMWPの増加 量 (%)
30mMのフェノール+5. 5 Zn/6ins+10mMのNaCl	0. 06	0. 13	0. 37	0. 57
30mMのフェノール+6. 5 Zn/6ins+10mMのNaCl	0. 03	0. 07	0. 2	0. 35
30mMのフェノール+5. 5 Zn/6ins+30mMのNaCl	0. 05	0. 07	0. 34	0. 56
30mMのフェノール+6. 5 Zn/6ins+30mMのNaCl	0. 03	0. 04	0. 16	0. 28
60mMのフェノール+5. 5 Zn/6ins+10mMのNaCl	0. 05	0. 09	0. 41	0. 66
60mMのフェノール+6. 5 Zn/6ins+10mMのNaCl	0. 06	0. 06	0. 30	0. 49
60mMのフェノール+5. 5 Zn/6ins+30mMのNaCl	0. 08	0. 08	0. 36	0. 56
60mMのフェノール+6. 5 Zn/6ins+30mMのNaCl	0. 04	0. 08	0. 24	0. 43
45mMのフェノール+6. 0 Zn/6ins+20mMのNaCl	0. 04	0. 06	0. 28	0. 42

10

20

上記の表から、本発明の上記アシル化インスリン製剤におけるHMWPの量の経時変化は非常に遅く増加していることが分かり、上記アシル化インスリン製剤はいずれも、優れた化学的安定性を有することが明らかになる。特に、Znの含有量が6. 5 Zn/6insの場合は、5. 5 Zn/6insの場合と比べて、HMWPの量の増加がより遅くなる。

30

【0143】

関連物質の量の測定

高速液体クロマトグラフィー（HPLC）によりインスリン関連物質の含有量を測定し、Waters Kromasil 300A-5 μ m-C8（4. 6*250mm）カラムで、カラムの温度が40℃、試料セルの温度が室温である時に、溶出相を用いて1. 0 mL/minの流速で試験した。溶出は、以下からなる移動相で行われた。

A相は、0. 1 Mの無水硫酸ナトリウム、0. 1 Mのリン酸二水素ナトリウム二水和物、10%のアセトニトリル（v/v）を含み、NaOHでpH値を5. 0に調整した。

B相は50%のアセトニトリル（v/v）であった。

40

勾配：0～45minにおける45%/55%のA/Bから35%/65%のA/Bまでの線形変化、45～50minにおける20%/80%のA/Bまでの線形変化、50～60minにおける20%/80%のA/Bまでのアイソクラティック勾配、60～60. 1minにおける45%/55%のA/Bまでの線形変化、60. 1～70minにおける45%/55%のA/Bまでのアイソクラティック勾配。

表4は、37℃で、0日目に対する14日目及び20日目の関連物質の増加量を示している。

【0144】

50

【表 4】

表4

1. 2mM 化合物4 10mM m-クレゾール 17mg/mL グリセリン pH 7.4	37℃ 14日目の 0日目に対 する関連物 質の増加 (%)	37℃ 20日目の 0日目に対 する関連物 質の増加 (%)
30mMのフェノール+5. 5Zn/6ins+10 mMのNaCl	1.49	2.46
30mMのフェノール+6. 5Zn/6ins+10 mMのNaCl	1.61	2.79
30mMのフェノール+5. 5Zn/6ins+30 mMのNaCl	1.55	2.4
30mMのフェノール+6. 5Zn/6ins+30 mMのNaCl	1.58	2.63
60mMのフェノール+5. 5Zn/6ins+10 mMのNaCl	1.74	2.71
60mMのフェノール+6. 5Zn/6ins+10 mMのNaCl	1.69	2.94
60mMのフェノール+5. 5Zn/6ins+30 mMのNaCl	1.52	2.58
60mMのフェノール+6. 5Zn/6ins+30 mMのNaCl	1.56	2.8
45mMのフェノール+6. 0Zn/6ins+20 mMのNaCl	1.46	2.58

10

20

30

40

50

上記の表から、本発明の上記アシル化インスリン製剤におけるインスリン関連物質の量の経時変化も非常に遅く増加していることが分かり、上記アシル化インスリン製剤は非常に安定していることが明らかになる。

【実施例 17】

【0145】

本実験は、本発明のアシル化インスリン製剤の化学的安定性を測定することを目的とする。下記の表5～7中の各成分の量によって、実施例16と類似する工程に従って、表5～7中のアシル化インスリン製剤を調製した。また、実施例16と類似する工程に従って、HMWP及び関連物質の変化を測定した。下記の表5～7は、異なる配合法によるアシル化インスリン製剤のHMWP及び関連物質の変化を示している。

【0146】

【表 5】

表5

2. 1mM 化合物4 60mM フェノール 10mM m-クレゾール 20mM NaCl 15mg/mL グリセリン pH 7.4	37℃ 26日目の 0日目に対するHMW Pの増加量 (%)	37℃ 65日目の 0日目に対するHM WPの増加量 (%)	37℃ 65日間保存した HMWPの毎日の 増加率 (%)
2. 2 Zn/6ins	0.98	2.18	0.032
2. 5 Zn/6ins	0.99	2.42	0.037
3 Zn/6ins	0.79	1.68	0.026
4. 5 Zn/6ins	0.43	1.2	0.018

10

【0147】

【表 6】

表6

2. 1mM 化合物4 60mM フェノール 10mM m-クレゾール 15mg/mL グリセリン pH 7.4	37℃ 26日目の 0日目に対するHM WPの増加量 (%)	37℃ 65日目の 0日目に対する HMWPの増加 量 (%)	37℃ 65日間保存した HMWPの毎日の 増加率 (%)
10mM Na ₂ HPO ₄ +2. 2 Zn/6ins	0.88	1.84	0.028
10mM Na ₂ HPO ₄ +4. 5 Zn/6ins	0.20	0.55	0.008
30mM Na ₂ HPO ₄ +2. 2 Zn/6ins	0.67	1.47	0.023
30mM Na ₂ HPO ₄ +4. 5 Zn/6ins	0.27	0.61	0.009
2. 2 Zn/6ins	0.96	2.16	0.033
4. 5 Zn/6ins	0.46	1.33	0.020

20

30

【0148】

【表 7】

表7

0. 6mM 化合物2 60mM フェノール 15mg/mL グリセリン 5mM リン酸二水素 ナトリウム 10mM NaCl pH 7.6	37℃ 30日目の 0日目に対するHM WPの増加量 (%)	37℃ 30日間保存し たHMWPの毎 日の増加率 (%)	37℃ 30日目の 0日目に対する関連 物質の増加量 (%)	37℃ 30日間保存した 関連物質の毎日の 増加率 (%)
5. 5 Zn/6ins	0.45	0.0153	1.91	0.0637
6. 5 Zn/6ins	0.42	0.0140	1.50	0.0500
7 Zn/6ins	0.44	0.0147	1.58	0.0527
7. 5 Zn/6ins	0.51	0.0170	1.75	0.0583

40

50

上記の表から、本発明の上記アシル化インスリン製剤におけるHMWPの量、及び関連物質の量の経時変化は何れも遅く増加しており、特に、Znイオンの含有量が増え、又は Na_2HPO_4 が加えられた時に、HMWPの量、及び関連物質の量はより遅く増加していることが分かり、本発明で得られたアシル化インスリン製剤はいずれも、優れた化学的安定性を有することが明らかになる。

【実施例18】

【0149】

本実験は、本発明のアシル化インスリン製剤の化学的安定性を測定することを目的とする。下記の表8中の各成分の量によって、実施例16と類似する工程に従って、表8中のアシル化インスリン製剤を調製した。また、実施例16と類似する工程に従って、HMWP及び関連物質の変化を測定した。下記の表は、異なる配合法によるアシル化インスリン製剤のHMWP及び関連物質の変化を示している。

10

【0150】

【表8】

表8

60mM フェノール 4.5 Zn/6ins 15mg/mL グリセリン 5mM リン酸二水素ナトリウム 10mM m-クレゾール 10mM NaCl	37℃ 14日目の 0日目に対するHMWP の増加量 (%)	37℃ 14日間保存した時の 0日目に対する関連物 質の増加 (%)
0.6mM(100U) 化合物4	0.77	1.62
2.1mM(350U) 化合物4	0.57	1.08
3.0mM(500U) 化合物4	0.53	1.03
4.2mM(700U) 化合物4	0.45	1.29

20

上記の表から、本発明の上記アシル化インスリン製剤におけるHMWPの量、及び関連物質の量の経時変化は何れも遅く増加していることが分かり、本発明で得られたアシル化インスリン製剤はいずれも、優れた化学的安定性を有することが明らかになる。

30

【実施例19】

【0151】

本実験は、本発明のアシル化インスリン製剤の化学的安定性を測定することを目的とする。

【0152】

アシル化インスリン製剤

2.4mMの濃度になるように、化合物4を0.03%のNaOH溶液に溶解してから、4%のNaOH溶液でpH値を7.4に調整し、下記の表中の各成分の量に従って、フェノール、m-クレゾール、グリセリン及び塩化ナトリウムを混合させた後に化合物4の溶液に加え、pH値を7.4に調整した、次に下記の表中の酢酸亜鉛の量に従って、平均して3回に分けて化合物4の溶液に加え、pH値を最終値に調整した。最終インスリン濃度が1.2mM(200U/mL又は8.46mg/mL)であるアシル化インスリン製剤が作製されたが、ただし、Znの含有量はZn/6モルのアシル化インスリン(「Zn/6ins」と略す)で示される。

40

この実施例において、製剤の化学的安定性は、25℃及び37℃で14日間及び21日間保存した後の高分子量タンパク質(HMWP)の0日目に対する変化で示されてもよく、また、37℃で21日間保存した後の関連物質の量の変化で示されてもよい。

【0153】

高分子量タンパク質(HMWP)の測定

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により高分子量タンパク質(HMWP)の含有

50

量を測定し、型番と仕様がShodex™ PROTEIN KW-802.5 (8.0 mm×300 mm)であるカラムで、カラムの温度が30℃、試料セルの温度が5℃である時に、移動相を用いて0.5 mL/minの流速で試験し、ただし、上記移動相は、3 Lの0.1%のアルギニン溶液、750 mLの氷酢酸及び1250 mLのアセトニトリルを含む。検出波長は276 nmで、試料注入量は10 µlであった。表9は、25℃及び37℃で、0日目に対する14日目及び21日目のHMWPの増加量を示している。

【0154】

【表9】

表9

1. 2mM 化合物4 10mM m-クレゾール 17mg/mL グリセリン 45mM フェノール 6.5 Zn/6ins 20mM NaCl	25℃ 14日目の 0日目に対するH MWPの増加量 (%)	25℃ 21日目の 0日目に対するH MWPの増加量 (%)	37℃ 14日目の 0日目に対するH MWPの増加量 (%)	37℃ 21日目の 0日目に対するH MWPの増加量 (%)
pH 7.0	0.03	0.07	0.27	0.45
pH 7.2	0.02	0.06	0.25	0.34
pH 7.4	0.03	0.06	0.26	0.34
pH 7.6	0.01	0.06	0.25	0.35
pH 8.0	0.06	0.12	0.44	0.79

10

20

上記の表から、本発明のアシル化インスリン製剤の上記pH値の範囲におけるHMWPの量の経時変化は非常に遅く増加していることが分かり、本発明のアシル化インスリン製剤は上記pH値の範囲においていずれも、優れた化学的安定性を有することが明らかになる。

【0155】

関連物質の量の測定

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によりインスリン関連物質の含有量を測定し、Waters Kromasil 100A-3.5 µm-C8 (4.6×250 mm) カラムで、カラムの温度が40℃、試料セルの温度が10℃である時に、溶出相を用いて1.0 mL/minの流速で試験した。溶出は、以下からなる移動相で行われた。

30

A相は、0.1 Mの無水硫酸ナトリウム、0.1 Mのリン酸二水素ナトリウム二水和物、10%のアセトニトリル (v/v) を含み、濃リン酸でpH値を3.0に調整した。

B相は60%のアセトニトリル (v/v) であった。

勾配：0～40 minにおける41.3% / 58.7%のA / Bのアイソクラティック勾配、40～50 minにおける0% / 100%のA / Bまでの線形変化、50～51 minにおける41.3% / 58.7%のA / Bまでの線形変化、51～65 minにおける41.3% / 58.7%のA / Bまでのアイソクラティック勾配。表10は、37℃で、0日目に対する21日目の関連物質の増加量を示している。

40

【0156】

【表 10】

表10

1. 2mM 化合物4 10mM m-クレゾール 17mg/mL グリセリン 45mM フェノール 6.5 Zn/6ins 20mM NaCl	37℃ 21日目の 0日目に対する関連物質 の増加量 (%)
pH 7.0	2.43
pH 7.2	2.44
pH 7.4	2.22
pH 7.6	2.29
pH 8.0	3.34

10

上記の表から、本発明のアシル化インスリン製剤の上記 pH 値の範囲における関連物質の量の経時変化も非常に遅く、本発明の上記アシル化インスリン製剤はいずれも、優れた化学的安定性を有することが分かる。

【実施例 20】

【0157】

20

本実験は、本発明のアシル化インスリン製剤の化学的安定性を測定することを目的とする。下記の表 11 及び表 12 中の各成分の量によって、実施例 19 と類似する工程に従って、表 11 及び表 12 中のアシル化インスリン製剤を調製した。また、実施例 19 と類似する工程に従って、HMWP 及び関連物質の変化を測定した。下記の表 11 及び 12 は、異なる配合法によるアシル化インスリン製剤の HMWP 及び関連物質の変化を示している。

【0158】

【表 11】

表11

10mM m-クレ ゾール 17mg/mL グリセ リン 45mM フェノール 6.5 Zn/6ins 20mM NaCl pH 7.4	25℃ 22日目の 0日目に対するH MWPの増加量 (%)	25℃ 42日目の 0日目に対する HMWPの増加 量(%)	37℃ 22日目の 0日目に対するHM WPの増加量(%)	37℃ 42日目の 0日目に対するH MWPの増加量 (%)
100U 化合物4	0.06	0.13	0.25	0.75
200U 化合物4	0.03	0.07	0.18	0.55

30

40

【0159】

50

【表 1 2】

表12

10mM m-クレゾール 17mg/mL グリセリン 45mM フェノール 6.5 Zn/6ins 20mM NaCl pH 7.4	25℃ 42日目の 0日目に対する関連物質の増加量 (%)	37℃ 21日目の 0日目に対する関連物質の増加量 (%)	37℃ 42日目の 0日目に対する関連物質の増加量(%)
100U 化合物4	0.48	3.23	5.69
200U 化合物4	0.71	3.06	5.03

10

上記の表から、本発明の上記アシル化インスリン製剤におけるHMWPの量、及び関連物質の量の経時変化は何れも遅く増加していることが分かり、本発明で得られたアシル化インスリン製剤はいずれも、優れた化学的安定性を有することが明らかになる。

【実施例 2 1】

【0 1 6 0】

本実験は、本発明のアシル化インスリン製剤の化学的安定性を測定することを目的とする。

【0 1 6 1】

アシル化インスリン製剤

最終インスリン濃度の2倍になるように、化合物16を0.08%のNaOH溶液に溶解してから、4%のNaOH溶液でpH値を7.45に調整し、下記の表中の各成分の量に従って、フェノール、m-クレゾール、グリセリン及び塩化ナトリウムを混合させた後に化合物16の溶液に加え、pH値を7.4に調整した、次に下記の表中の酢酸亜鉛の量に従って、平均して3回に分けて化合物16の溶液に加え、pH値を7.4に調整した。最終インスリン濃度が1.2mM(9.43mg/mL)又は1.5mM(11.74mg/mL)であるアシル化インスリン製剤が作製された。

20

【0 1 6 2】

この実施例において、製剤の化学的安定性は、25℃及び37℃で14日間及び21日間保存した後の高分子量タンパク質(HMWP)の0日目に対する変化で示されてもよく、また、25℃及び37℃で14日間及び21日間保存した後の関連物質の量の変化で示されてもよい。

30

【0 1 6 3】

高分子量タンパク質(HMWP)の測定

実施例19と類似する工程に従って、HMWPの量を測定した。表13～15は、25℃及び37℃で、0日目に対する14日目及び21日目のHMWPの増加量を示している。

【0 1 6 4】

40

50

【表 1 3】

表13

1. 2mM 化合物16 10mM m-クレゾール 15mg/mL グリセリン 30mM フェノール pH 7. 4	25℃ 14日目の 0日目に対するHM WPの増加量 (%)	25℃ 21日目の 0日目に対する HMWPの増加 量 (%)	37℃ 14日目の 0日目に対するH MWPの増加量 (%)	37℃ 21日目の 0日目に対する HMWPの増加 量 (%)
2. 5 Zn/6ins+10 mM NaCl	0. 20	0. 32	0. 64	0. 83
4. 0 Zn/6ins+10 mM NaCl	0. 23	0. 31	0. 62	1. 05
7. 0 Zn/6ins+10 mM NaCl	0. 08	0. 11	0. 38	0. 89
2. 5 Zn/6ins+50 mM NaCl	0. 24	0. 33	0. 83	1. 39

10

【0 1 6 5】

【表 1 4】

表14

1. 5mM 化合物16 10mM m-クレゾール 15mg/mL グリセリン pH 7. 4	25℃ 14日目の 0日目に対するH MWPの増加量 (%)	25℃ 21日目の 0日目に対する HMWPの増加 量(%)	37℃ 14日目の 0日目に対するH MWPの増加量 (%)	37℃ 21日目の 0日目に対する HMWPの増加 量(%)
30mMのフェノール+2. 5Zn /6ins+10mMのNaCl	0. 12	0. 16	0. 46	0. 69
30mMのフェノール+7. 0Zn /6ins+10mMのNaCl	0. 05	0. 08	0. 27	0. 43
30mMのフェノール+2. 5Zn /6ins+50mMのNaCl	0. 15	0. 22	0. 46	0. 70
60mMのフェノール+7. 0Zn /6ins+10mMのNaCl	0. 03	0. 06	0. 22	0. 39
45mMのフェノール+4. 0Zn /6ins+30mMのNaCl	0. 13	0. 18	0. 47	0. 72
45mMのフェノール+5. 5Zn /6ins+30mMのNaCl	0. 09	0. 12	0. 33	0. 54

20

30

【0 1 6 6】

40

50

【表 15】

表15

1. 5mM 化合物16 20mM NaCl 15mg/mL グリセリン pH 7.4 4. 5 Zn/6ins	25℃ 14日目の 0日目に対するH MWPの増加量 (%)	25℃ 21日目の 0日目に対する HMWPの増加 量(%)	37℃ 14日目の 0日目に対する HMWPの増加 量(%)	37℃ 21日目の 0日目に対する HMWPの増加 量(%)
15mMのフェノール+10mM のm-クレゾール	0.07	0.15	0.42	0.63
35mMのフェノール+10mM のm-クレゾール	0.02	0.07	0.31	0.63
25mMのフェノール+25mM のm-クレゾール	0.10	0.13	0.44	0.75

10

上記の表から、本発明の上記アシル化インスリン製剤におけるHMWPの量の経時変化は非常に遅く増加していることが分かり、上記アシル化インスリン製剤はいずれも、優れた化学的安定性を有することが明らかになる。

【0167】

関連物質の量の測定

高速液体クロマトグラフィー（HPLC）によりインスリン関連物質の含有量を測定し、Waters Kromasil 300A-5 μ m-C4（4.6×150mm）カラムで、カラムの温度が40℃、試料セルの温度が10℃である時に、溶出相を用いて1.0mL/minの流速で試験した。溶出は、以下からなる移動相で行われた。

20

A相は、0.18Mの無水硫酸ナトリウム、10%のアセトニトリル（v/v）を含み、85%のリン酸でpH値を2.3に調整し、
B相は75%のアセトニトリル（v/v）であった。

勾配：0～40minにおける48%/52%のA/Bのアイソクラティック勾配、40～51minにおける0%/100%のA/Bまでの線形変化、51～65minにおける48%/52%のA/Bまでの線形変化。

表16～17は、25℃及び／又は37℃で、0日目に対する14日目及び／又は21日目の関連物質の増加量を示している。

30

【0168】

【表 16】

表16

1. 2mM 化合物16 10mM m-クレゾール 15mg/mL グリセリン 30mM フェノール pH 7.4	25℃ 14日目の 0日目に対する関 連物質の増加量 (%)	25℃ 21日目の 0日目に対する関 連物質の増加量 (%)	37℃ 14日目の 0日目に対する関 連物質の増加量 (%)	37℃ 21日目の 0日目に対する関 連物質の増加量 (%)
2. 5 Zn/6ins+10m M NaCl	0.65	0.68	1.67	2.37
4. 0 Zn/6ins+10m M NaCl	0.63	0.67	2.26	2.42
7. 0 Zn/6ins+10m M NaCl	0.40	0.47	1.13	2.12
2. 5 Zn/6ins+50m M NaCl	0.67	0.83	1.67	2.43

40

【0169】

50

【表 17】

表17

1. 5mM 化合物16 10mM m-クレゾール 15mg/mL グリセリン pH7. 4	25℃ 21日目の 0日目に対する関 連物質の増加量 (%)	37℃ 14日目の 0日目に対する関 連物質の増加量 (%)	37℃ 21日目の 0日目に対する 関連物質の増加 量(%)
30mMのフェノール+2. 5Zn/6ins+10mM のNaCl	0. 76	1. 08	1. 66
30mMのフェノール+7. 0Zn/6ins+10mM のNaCl	0. 60	1. 10	1. 58
30mMのフェノール+2. 5Zn/6ins+50mM のNaCl	0. 97	1. 28	1. 72
60mMのフェノール+7. 0Zn/6ins+10mM のNaCl	0. 51	1. 04	1. 50
45mMのフェノール+4. 0Zn/6ins+30mM のNaCl	0. 77	1. 14	1. 53
45mMのフェノール+5. 5Zn/6ins+30mM のNaCl	0. 59	1. 11	1. 25

10

20

【0170】

【表 18】

表18

1. 5mM 化合物16 20mM NaCl 15mg/mL グリセリン pH 7. 4 4. 5 Zn/6ins	37℃ 14日目の 0日目に対する関連物質 の増加量(%)	37℃ 21日目の 0日目に対する関連物 質の増加量(%)
15mMのフェノール+10mMのm-クレゾール	0. 60	0. 60
35mMのフェノール+10mMのm-クレゾール	0. 37	0. 52
25mMのフェノール+25mMのm-クレゾール	0. 55	0. 95

30

上記の表から、本発明の上記アシル化インスリン製剤におけるインスリン関連物質の量の経時変化も非常に遅く増加していることが分かり、上記アシル化インスリン製剤は非常に安定していることが明らかになる。

【実施例 22】

【0171】

本実験は、本発明のアシル化インスリン製剤の化学的安定性を測定することを目的とする。

【0172】

40

アシル化インスリン製剤

最終インスリン濃度の2倍になるように、化合物16を10mMの最終体積50%のリン酸水素二ナトリウム溶液に溶解してから、4%のNaOHでpH値を最終値に調整し、下記の表中の各成分の量に従って、フェノール、m-クレゾール、グリセリン及び塩化ナトリウムを混合させた後に化合物16の溶液に加え、pH値を最終値に調整した、次に下記の表中の酢酸亜鉛の量に従って、平均して3回に分けて化合物16の溶液に加え、pH値を最終値に調整した。最終インスリン濃度が1. 5mM (11. 74mg/mL)であるアシル化インスリン製剤が作製された。

【0173】

また、実施例19と類似する工程に従ってHMWPを測定し、実施例21と類似する工

50

程に従って関連物質の変化を測定した。下記の表 19 及び 20 は、異なる配合法によるアシル化インスリン製剤の HMWP 及び関連物質の変化を示している。

【0174】

【表 19】

表 19

1. 5mM 化合物16 10mM m-クレゾール 17mg/mL グリセリン 45mM フェノール 2. 2 Zn/6ins 20mM NaCl 5mM リン酸水素二ナトリウム	25℃ 14日目の 0日目に対するHMWPの増加量(%)	25℃ 28日目の 0日目に対するHMWPの増加量(%)	37℃ 14日目の 0日目に対するHMWPの増加量(%)	37℃ 28日目の 0日目に対するHMWPの増加量(%)
pH 6.5	0.10	0.19	0.53	1.11
pH 7.0	0.14	0.24	0.47	0.89
pH 7.5	0.14	0.27	0.44	0.96
pH 8.0	0.14	0.34	0.61	1.62

10

【0175】

【表 20】

表 20

1. 5mM 化合物16 10mM m-クレゾール 17mg/mL グリセリン 45mM フェノール 2. 2 Zn/6ins 20mM NaCl 5mM リン酸水素二ナトリウム	25℃ 14日目の 0日目に対する関連物質の増加量(%)	25℃ 21日目の 0日目に対する関連物質の増加量(%)	37℃ 14日目の 0日目に対する関連物質の増加量(%)	37℃ 21日目の 0日目に対する関連物質の増加量(%)
pH 6.5	0.71	0.76	1.45	1.81
pH 7.0	0.55	0.71	1.09	1.36
pH 7.5	0.63	0.69	1.11	1.46
pH 8.0	0.63	0.58	1.33	2.14

20

30

上記の表から、本発明の上記アシル化インスリン製剤における HMWP の量、及び関連物質の量の経時変化は何れも遅く増加していることが分かり、本発明で得られたアシル化インスリン製剤はいずれも、優れた化学的安定性を有することが明らかになる。

【実施例 23】

【0176】

ストレプトゾトシン (STZ) 誘発性 1 型糖尿病 (T1DM) ラットにおける薬効学的研究

40

体重 180～220 g の 8 週齢の雌ラットを、バリア環境において適切な仕様の飼育ボックス (5 匹/ボックス) で飼育し、標準餌と精製水を自由に摂取させ、環境条件を相対湿度 40%～60%、温度 22℃～24℃に制御した。4 日間の順応期間後、12 h 絶食させ、ラットに 60 mg/kg でストレプトゾトシン (sigma) 溶液 (10 mg/mL、0.1 M のクエン酸緩衝液中) を腹腔内注射した。投与後、ラットの突然の低血糖を防ぐように、飲用水にグルコース (20%) を適当に補給し、12 h 後に補給を中止した。ストレプトゾトシンを 4 日投与した後、ランダム血糖の検出を実施し、血糖値が 20 mmol/L 以上のものを、後続の試験のために T1DM モデルラットとして選択した。

【0177】

50

当日の実験開始前、時間－1 h（午前9：30）に基礎血糖を評価し、ラットの体重を測定した。ランダム血糖と体重によって、ラットを溶媒群又は治療群に割り当て、皮下に溶媒が注射され、又は、皮下に对照例5、実施例2の表題化合物（化合物2）がそれぞれ注射されるように処理し、その用量は67 U／kgで、そのうち、溶媒はフェノール60 mM、グリセリン15 mg／mL、リン酸水素二ナトリウム15 mM、塩化ナトリウム10 mMを含み、上記溶媒のpH値は7.6であった。

【0178】

67 U／mLの投与濃度になるまで上記アシル化インスリンを溶媒に溶解し、投与体積は1 mL／kg（即ち、0.1 mL／100 gの体重）であった。皮下投与（s.c.）により、頸背部の皮下に1回投与した。約午前9：30～10：00（時間0）にアシル化インスリンを投与し、投与の3 h、6 h、9 h、24 h、48 h、72 h、96 h、120 h後にラットの血糖をモニタリングした。

10

【0179】

それぞれ単回用量のアシル化インスリン（对照化合物5、化合物2）について、時間－血糖の用量応答曲線を作成した。アシル化インスリンの血糖に対する影響を説明するために、それぞれの単独の用量応答曲線について、0からモニタリングエンドポイントまでの血糖－時間の曲線下面積（AUC）を算出した。そのうち、AUC値が小さいほど、血糖降下効果が良くなり、薬効が良くなることを示す。

【0180】

実験結果は図7a及び図7bに示すように、对照化合物5の1型糖尿病（T1DM）雌ラットにおける血糖降下効果がアシル化インスリン化合物2よりも優れたことを示している。

20

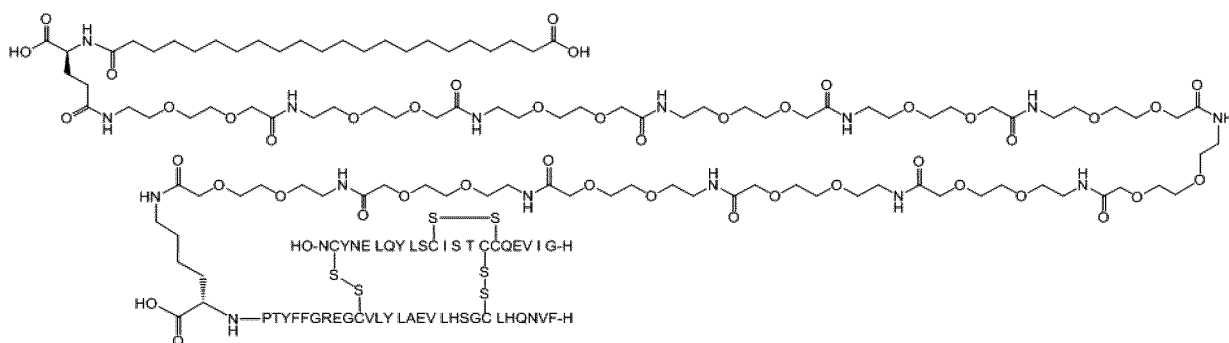
【実施例24】

【0181】

B29K（N（ε）－ドコサンジアシル－γ Glu－12xOEG）、desB30ヒトインスリン（化合物17）

【0182】

【化20】



30

実施例1のパート2と類似する工程に従って、化合物B29K（N（ε）－ドコサンジアシル－γ Glu－12xOEG）、desB30ヒトインスリンを調製した。

40

LC-MS（エレクトロスプレー）：m/z=1585.98[M+5H]⁵⁺

中間体tert-ブチルドコサンジアシル－γ Glu－（12xOEG－OSu）－OtBuの調製は、実施例1のパート3と類似する工程に従って行われた。

LC-MS（Sciex100API）：m/z=2451.38(M+1)⁺

【実施例25】

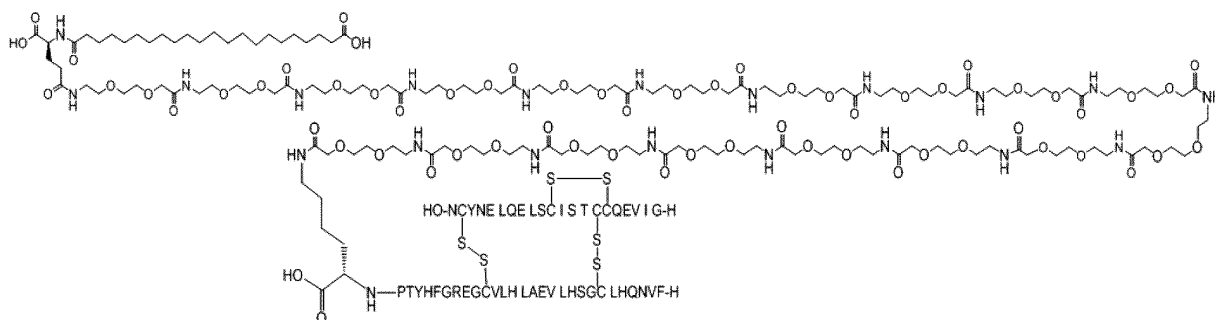
【0183】

A14E、B16H、B25H、B29K（N（ε）－ドコサンジアシル－γ Glu－18xOEG）、desB30ヒトインスリン（化合物18）

【0184】

50

【化 2 1】



10

対照例 5 のパート 1 と類似する工程に従って、化合物 A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N (ε) -ドコサンジアシル-γ G l u - 1 8 x O E G)、d e s B 3 0 ヒトインスリンを調製した

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 1247.47 [M+7H]^7+$

中間体 t e r t -ブチルドコサンジアシル-γ G l u - (1 8 x O E G - O S u) - O t B u の調製は、対照例 5 のパート 2 と類似する工程に従って行われた。

LC-MS (Scie × 100 API) : $m/z = 3320.83 (M+1)^+$

【実施例 2 6】

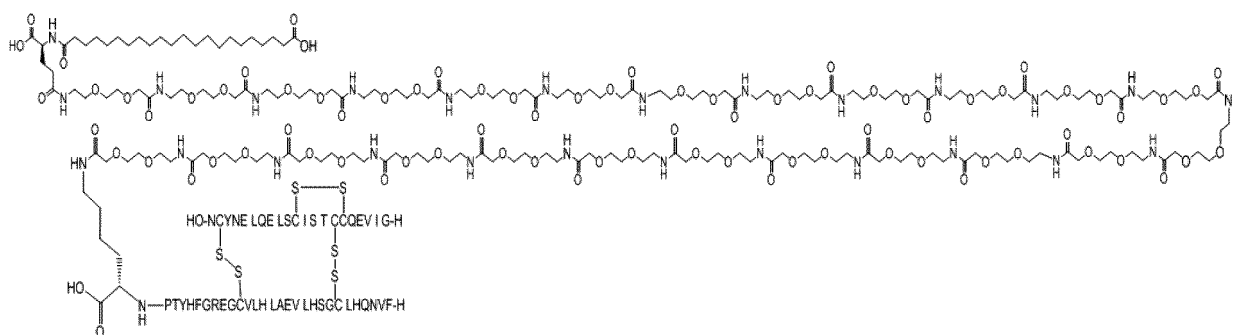
【0 1 8 5】

20

A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N (ε) -ドコサンジアシル-γ G l u - 2 4 x O E G)、d e s B 3 0 ヒトインスリン (化合物 1 9)

【0 1 8 6】

【化 2 2】



30

対照例 5 のパート 1 と類似する工程に従って、化合物 A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N (ε) -ドコサンジアシル-γ G l u - 2 4 x O E G)、d e s B 3 0 ヒトインスリンを調製した

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 873.35 [M+11H]^{11+}$

中間体 t e r t -ブチルドコサンジアシル-γ G l u - (2 4 x O E G - O S u) - O t B u の調製は、対照例 5 のパート 2 と類似する工程に従って行われた。

40

LC-MS (Scie × 100 API) : $m/z = 4192.27 (M+1)^+$

【実施例 2 7】

【0 1 8 7】

本発明のインスリン誘導体の受容体結合能力

この試験は、本発明のインスリン誘導体のインスリン受容体への結合能力を証明することを目的とする。

表面プラズモン共鳴 (SPR) 方法により、本発明の化合物 1 5 及び対照化合物 5 に対して、それぞれ、ヒト血清アルブミン (HSA) の非存在下及び 2 % の HSA の存在下で、h i s タグ付きのインスリン受容体 A 細胞外ドメイン (IRA、S i n o B i o l o g i c a l) との間の結合能力試験を行った。化合物 1 5 及び対照化合物 5 の試料の注入濃

50

度が12800nMと25600nMであるように、操作緩衝液(Running buffer)(Cytiva)又は2.0%のHSAを含む操作緩衝液で試料をそれぞれ希釈した。NTAセンサーチップ(Cytiva)を選択し、25℃の条件下でBiacore T200(Cytiva)でSPR分析を行った。10μL/minの流速で0.5MのNiCl₂(Cytiva)を60s注入してから、HBS-EP buffer(Cytiva)で洗浄した。IRA受容体がチップの表面に結合されるように、5μL/minの流速で3μg/mLのIRA受容体を180s注入した。その後、30μL/minの流速で試験されるインスリン誘導体の試料を60s注入し、60s解離した。注入したたびに、10μL/minの流速で350mMのEDTA(Cytiva)を60s注入してチップを再生し、最後にHBS-P buffer(Cytiva)で洗浄すると、次の試料を検出することができた。試料解離前の4sの応答(Response)値を受容体の結合能力試験結果として選択し、各試料に対して試験を3回繰り返し、測定結果は図8a及び図8bに示されている。

10

【0188】

図8a及び図8bは、2%のHSAの存在下(生理的条件をシミュレートした)で、0%のHSAの場合に対する化合物15及び対照化合物5の受容体結合能力の状況を示している。図8a及び図8bから分かるように、2%のHSAの存在下で、化合物15は、対照化合物5に対して、予想以上の顕著に向上した受容体結合能力を有し、本発明のインスリン誘導体化合物15の受容体結合能力へのアルブミンの影響は、対照化合物5よりも顕著に低下している。

20

【実施例28】

【0189】

本発明のインスリン誘導体の受容体結合能力

この試験は、本発明のインスリン誘導体のインスリン受容体への結合能力を証明することを目的とする。

化合物17及び対照化合物2の試料の注入濃度がともに400nMであることを除き、実施例27と類似する方法により、化合物17及び対照化合物2に対して、それぞれ、ヒト血清アルブミン(HSA)の非存在下及び2%のHSAの存在下で、IRAとの間の結合能力試験を行い、測定結果は図9に示されている。

【0190】

30

図9は、2%のHSAの存在下(生理的条件をシミュレートした)で、0%のHSAの場合に対する化合物17及び対照化合物2の受容体結合能力の状況を示している。図25から分かるように、2%のHSAの存在下で、化合物17は、対照化合物2に対して顕著に向上した受容体結合能力を有し、本発明のインスリン誘導体化合物17の受容体結合能力へのアルブミンの影響は、対照化合物2よりも顕著に低下している。

【0191】

これにより、アルブミンの存在下で、化合物17などの本発明のインスリン誘導体は、対照化合物2に対して予想以上の顕著に向上した受容体結合能力を有し、すなわち、本発明のインスリン誘導体の受容体結合能力へのアルブミンの影響は、対照化合物2よりも顕著に低下していることが明らかになる。

40

【実施例29】

【0192】

本発明のインスリン誘導体の受容体結合能力

この試験は、本発明のインスリン誘導体のインスリン受容体への結合能力を証明することを目的とする。

実施例27と類似する方法により、本発明のインスリン誘導体化合物16、化合物18及び対照化合物5に対して、それぞれ、ヒト血清アルブミン(HSA)の非存在下及び2%のHSA存在下で、IRAとの結合能力試験を行い、測定結果は図10a及び10bに示されている。

【0193】

50

図10a及び10bは、2%のHSAの存在下（生理的条件をシミュレートした）で、0%のHSAの場合に対する化合物16、化合物18及び対照化合物5の受容体結合能力の状況を示している。図10a及び10bから分かるように、2%のHSAの存在下で、化合物16、化合物18は、対照化合物5に対して、予想以上の顕著に向上した受容体結合能力を有し、本発明のインスリン誘導体の受容体結合能力へのアルブミンの影響は、対照化合物5よりも顕著に低下している。

【0194】

本発明は、上記の実施例により説明されたが、上記の実施例は、例示及び説明のためのものに過ぎず、本発明を記載された実施例の範囲内に制限する意図はないと理解すべきである。また、当業者は、本発明が上記の実施例に限定されず、本発明の教示に基づいてさらに多くの変形や修正を行うこともでき、これらの変形や修正はいずれも、本発明の請求範囲内に含まれると理解することができる。本発明の請求範囲は、添付した特許請求の範囲及びその等価な範囲により限定されている。

10

【0195】

配列

配列番号1：

DesB30ヒトインスリンA鎖：

Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln
Leu Glu Asn Tyr Cys Asn

配列番号2：

20

DesB30ヒトインスリンB鎖：

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu
Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys

配列番号3：

A14E、B16H、B25H、desB30ヒトインスリンA鎖：

Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Glu Gln L
eu Glu Asn Tyr Cys Asn

配列番号4：

A14E、B16H、B25H、desB30ヒトインスリンB鎖：

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu
His Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe His Tyr Thr Pro Lys

30

配列番号5：

A14E、B16E、B25H、desB30ヒトインスリンA鎖：

Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Glu Gln L
eu Glu Asn Tyr Cys Asn

配列番号6：

A14E、B16E、B25H、desB30ヒトインスリンB鎖：

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu
Glu Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe His Tyr Thr Pro Lys

配列番号7：

40

ヒトインスリンA鎖：

Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln L
eu Glu Asn Tyr Cys Asn

配列番号8：

ヒトインスリンB鎖：

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu
Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Thr

配列番号9：

A21GヒトインスリンA鎖：

Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln L

50

eu Glu Asn Tyr Cys Gly

配列番号10:

A 2 1 G ヒトインスリンB鎖:

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu
Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Thr

配列番号11:

A 2 1 G、des B 3 0 ヒトインスリンA鎖:

Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln L
eu Glu Asn Tyr Cys Gly

配列番号12:

A 2 1 G、des B 3 0 ヒトインスリンB鎖:

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu
Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys

配列番号13:

B 2 8 D ヒトインスリンA鎖:

Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln L
eu Glu Asn Tyr Cys Asn

配列番号14:

B 2 8 D ヒトインスリンB鎖:

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu
Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Asp Lys Thr

配列番号15:

GLP-1-(7-37) ペプチド

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu
Gly Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly

配列番号16:

[Gly 8、Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチド

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu
Gly Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Gly

配列番号17:

[Arg 3 4] GLP-1-(7-37) ペプチド

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu
Gly Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Gly

【図面】

【図1a】

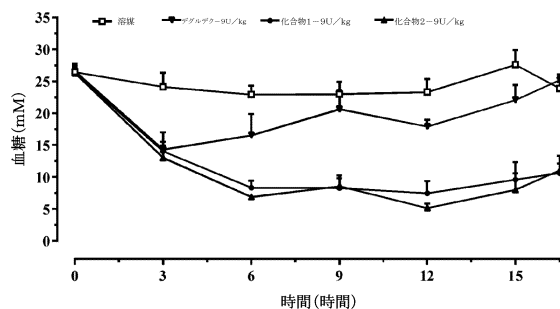


図1a

【図1b】

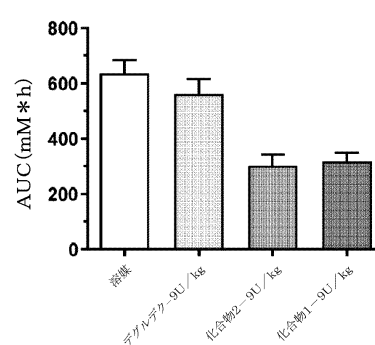


図1b

10

20

30

40

50

【図 2 a】

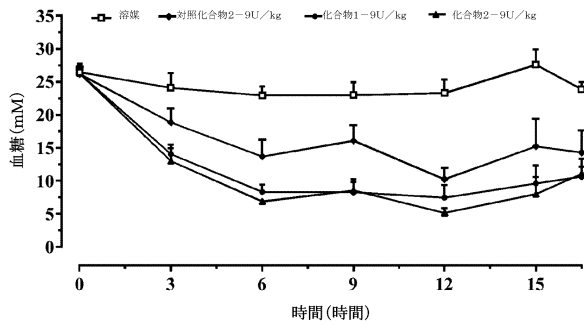


図2a

【図 2 b】

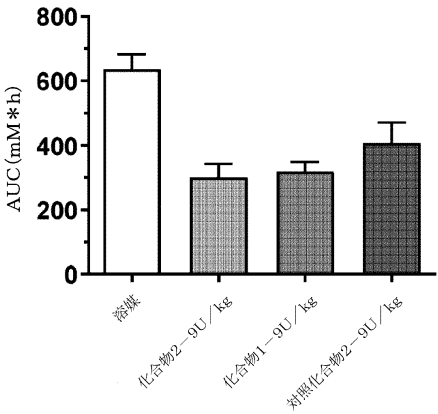


図2b

【図 3 a】

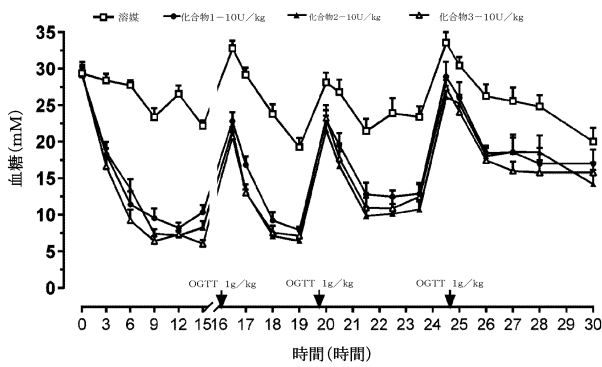


図3a

【図 3 b】

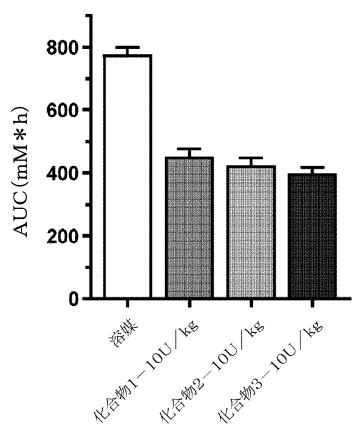


図3b

10

20

30

40

50

【図 4 a】

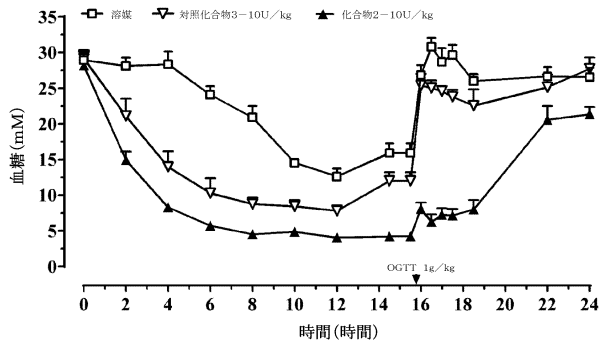


図4a

【図 4 b】

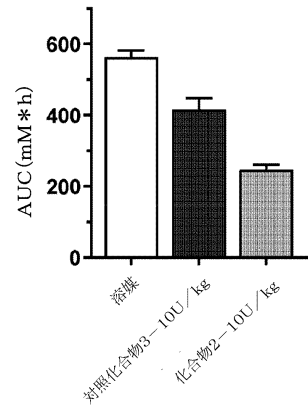


図4b

【図 5 a】

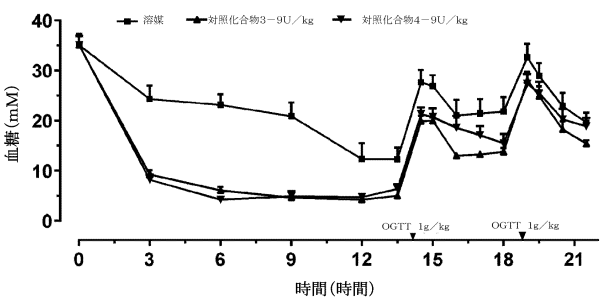


図5a

【図 5 b】

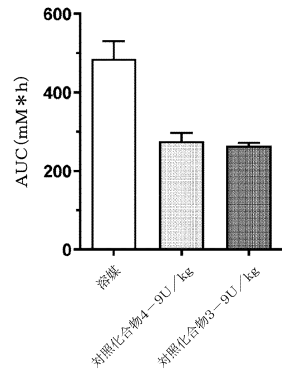


図5b

10

20

30

40

50

【 図 6 a 】

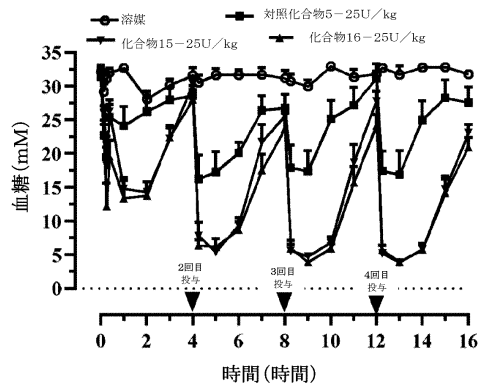


図6a

【 図 6 b 】

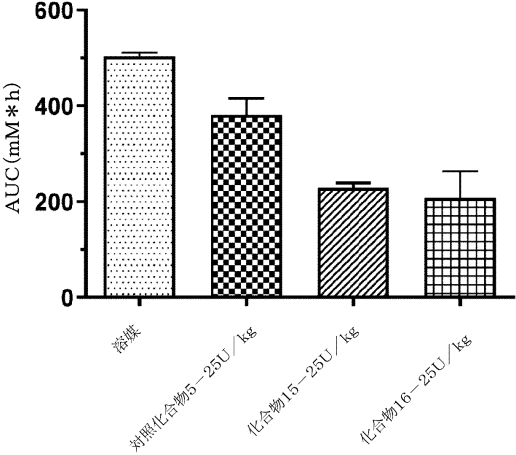


図6b

【 図 7 a 】

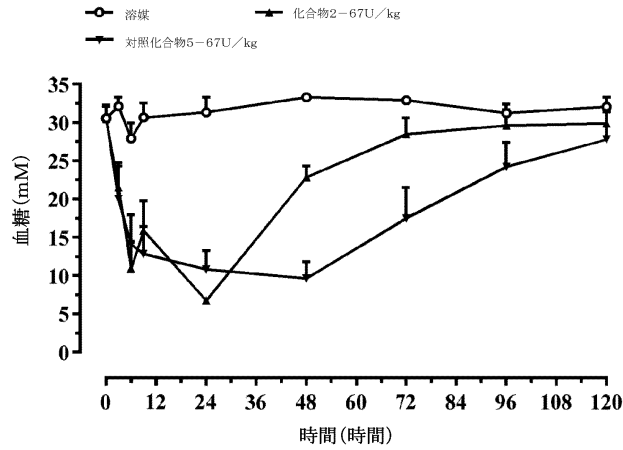


図7a

【 図 7 b 】

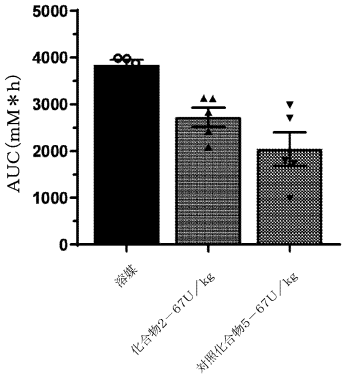


図7b

10

20

30

40

50

【 図 8 a 】

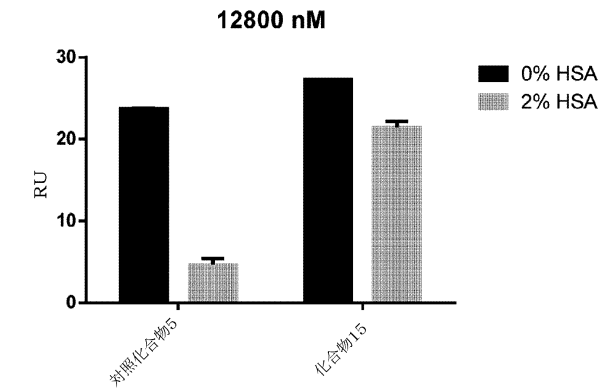


図8a

【 図 8 b 】

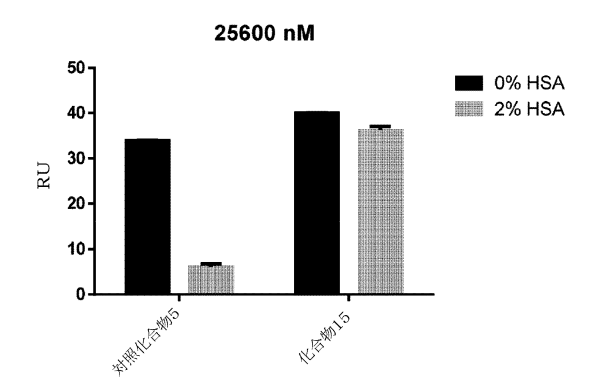


図8b

【 図 9 】

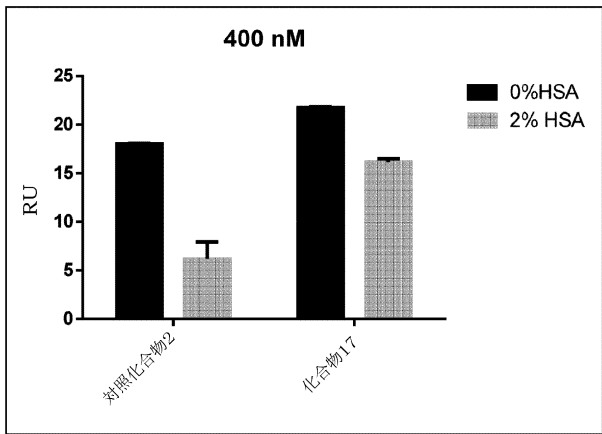


図9

【 図 1 0 a 】

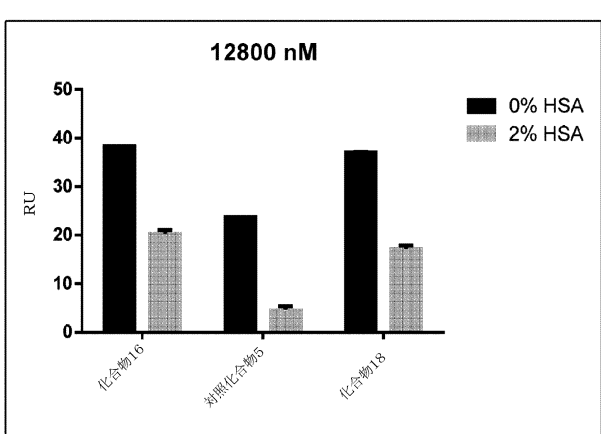


図10a

10

20

30

40

50

【図 1 0 b】

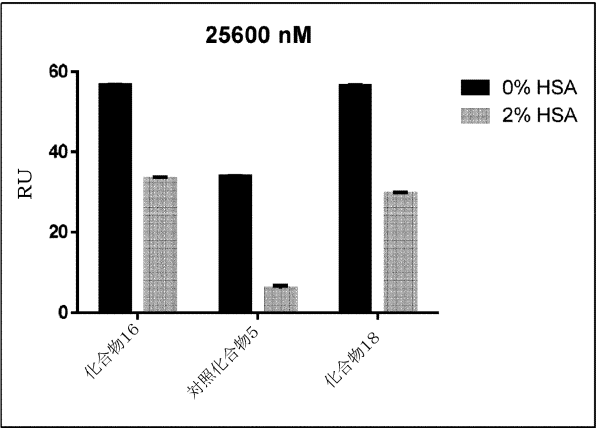


図10b

【配列表】

2023510219000001.app

10

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN2020/141023
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07K 14/62(2006.01)i; A61K 38/28(2006.01)i; A61P 3/10(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K; A61K; A61P Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS, SIPOABS, DWPI, CNTXT, EPTXT, WOTXT, USTXT, CNKI, web of science, NCBI, pubmed, baidu, 甘李药业股份有限公司/甘忠如, 胰岛素, insulin, GLP-1, 亚烷基二醇, Alkylene glycol, 脂肪酸, fatty acid, 酰化胰岛素, acylated insulin		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 101784563 A (NOVO NORDISK A/S) 21 July 2010 (2010-07-21) claim 1, and description, page 3, paragraph [0038], page 4, paragraph [0054] to page 5, paragraph [0056], pages 11 and 12, paragraphs [0104]-[0106], and page 16, paragraphs [0170] and [0179]	1-29, 37-55
Y	CN 101784563 A (NOVO NORDISK A/S) 21 July 2010 (2010-07-21) claim 1, and description, page 3, paragraph [0038], page 4, paragraph [0054] to page 5, paragraph [0056], pages 11 and 12, paragraphs [0104]-[0106], and page 16, paragraphs [0170] and [0179]	30-36, 39-46
Y	CN 101842386 A (NOVO NORDISK A/S) 22 September 2010 (2010-09-22) claims 1, 13 and 14, and description, page 20, paragraphs [0192]-[0194], page 35, paragraph [0334] to page 36, paragraph [0337]	30-36, 39-46
X	CN 102037008 A (NOVO NORDISK A/S) 27 April 2011 (2011-04-27) claims 1-12	1-29, 37-55
X	CN 101784562 A (NOVO NORDISK A/S) 21 July 2010 (2010-07-21) claims 1-6	1-29, 37-55
A	US 2019345215 A1 (ELI LILLY AND COMPANY) 14 November 2019 (2019-11-14) description, pages 1-9	1-55
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 11 March 2021		Date of mailing of the international search report 26 March 2021
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088 China		Authorized officer Telephone No.
Facsimile No. (86-10)62019451		

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/141023

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2018024186 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.) 08 February 2018 (2018-02-08) claims 1-18	1-55
A	WO 2017032798 A1 (NOVO NORDISK A/S) 02 March 2017 (2017-03-02) claims 1-34	1-55

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/141023

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☒ forming part of the international application as filed:

☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

☐ on paper or in the form of an image file.

b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/141023

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

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

1. ☒ Claims Nos.: **46-55**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
 - [1] Claim 46 relates to a method of treating or preventing diabetes mellitus, hyperglycemia, and/or impaired glucose tolerance, and claims 47-55 relate to a method of making an insulin derivative with an increased binding capacity to an insulin receptor and a method of making an insulin derivative with increased potency, which is a method of treating a disease as defined in PCT Rule 39.1(iv). However, a search is still made on the basis of its pharmaceutical use, i.e., an insulin derivative as described in any one of claims 1-20 or a pharmaceutical composition as described in any one of claims 21-38 in the preparation of a drug for the treatment or prevention of diabetes mellitus, hyperglycemia, and/or impaired glucose tolerance, with improved binding capacity to the insulin receptor or with improved potency.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/141023

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)
CN	101784563	A	21 July 2010	JP	5721432 B2	20 May 2015
				EP	2178910 B1	08 October 2014
				JP	2010535849 A	25 November 2010
				US	8962794 B2	24 February 2015
				WO	2009022006 A1	19 February 2009
				ES	2526924 T3	16 January 2015
				CN	101784563 B	04 February 2015
				US	2011098439 A1	28 April 2011
				EP	2178910 A1	28 April 2010
				US	9035020 B1	19 May 2015
				US	2015148521 A1	28 May 2015
CN	101842386	A	22 September 2010	EP	2190873 B1	22 July 2015
				ES	2550363 T3	06 November 2015
				US	2014296131 A1	02 October 2014
				EP	2190873 A1	02 June 2010
				JP	2010538049 A	09 December 2010
				US	2010292133 A1	18 November 2010
				WO	2009030774 A1	12 March 2009
CN	102037008	A	27 April 2011	US	9657079 B2	23 May 2017
				PT	2910570 T	24 January 2017
				DK	2910570 T3	30 January 2017
				DK	2254906 T3	23 January 2017
				EP	2910570 B1	12 October 2016
				EP	2254906 B1	05 October 2016
				HU	E032284 T2	28 September 2017
				BR	P10910348 A2	11 August 2020
				JP	2015155421 A	27 August 2015
				EP	2910571 B1	05 October 2016
				KR	20110004366 A	13 January 2011
				US	2014073564 A1	13 March 2014
				CN	102037008 B	31 August 2016
				RU	2010141481 A	27 April 2012
				EP	2910569 B1	05 October 2016
				IL	250548 A	31 March 2019
				US	8691759 B2	08 April 2014
				AU	2009226910 A1	24 September 2009
				CA	2718738 C	07 May 2019
				US	2011105720 A1	05 May 2011
				JP	2015147781 A	20 August 2015
				KR	20160073431 A	24 June 2016
				ZA	201006126 B	30 November 2011
				HU	E032287 T2	28 September 2017
				JP	5749155 B2	15 July 2015
				PT	2254906 T	03 January 2017
				ES	2611007 T3	04 May 2017
				US	9688737 B2	27 June 2017
				JP	2011515358 A	19 May 2011
				US	9045560 B2	02 June 2015
				EP	2910570 A1	26 August 2015
				EP	2254906 A1	01 December 2010

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (January 2015)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/141023

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
				CA	2718738	A1	24 September 2009
				EP	2910571	A1	26 August 2015
				KR	20160124929	A	28 October 2016
				AU	2009226910	B2	06 February 2014
				IL	250548	D0	30 March 2017
				RU	2571857	C2	20 December 2015
				EP	2910569	A1	26 August 2015
				MX	2010009850	A	30 September 2010
				IL	250549	A	31 December 2018
				KR	101755434	B1	10 July 2017
				IL	250549	D0	30 March 2017
				US	10259856	B2	16 April 2019
				JP	2015147782	A	20 August 2015
				IL	207748	D0	30 December 2010
				KR	101755529	B1	07 July 2017
				PL	2910570	T3	30 June 2017
				PL	2254906	T3	28 April 2017
				US	2015210748	A1	30 July 2015
CN	101784562	A	21 July 2010	RU	2514430	C2	27 April 2014
				EP	2178912	B1	08 July 2015
				AU	2008288413	A1	19 February 2009
				RU	2010107788	A	20 September 2011
				KR	20100053561	A	20 May 2010
				CA	2695970	A1	19 February 2009
				EP	2708554	A1	19 March 2014
				WO	2009022005	A1	19 February 2009
				JP	2010535851	A	25 November 2010
				ZA	201001416	B	29 June 2011
				US	2011098440	A1	28 April 2011
				ES	2548304	T3	15 October 2015
				EP	2178912	A1	28 April 2010
				BR	PI0823154	A2	07 July 2015
				MX	2010001645	A	10 March 2010
				US	9150633	B2	06 October 2015
				AU	2008288413	B2	26 September 2013
				CN	101784562	B	13 July 2016
US	2019345215	A1	14 November 2019	WO	2009022013	A1	19 February 2009
				JP	5730569	B2	10 June 2015
				AR	112353	A1	23 October 2019
				BR	112019021668	A2	12 May 2020
				EC	SP19083930	A	27 December 2019
				KR	20190141219	A	23 December 2019
				EA	201992272	A1	20 March 2020
				US	2018340015	A1	29 November 2018
				PE	20191836	A1	30 December 2019
				US	10597436	B2	24 March 2020
				IL	270813	D0	30 January 2020
				PH	12019502655	A1	08 June 2020
				WO	2018217573	A1	29 November 2018
				TW	I672315	B	21 September 2019

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (January 2015)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/141023

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
				CL	2019003259	A1	17 April 2020
				CR	23.05.2019	A	23 January 2020
				EP	3630165	A1	08 April 2020
				US	10400021	B2	03 September 2019
				CN	110691608	A	14 January 2020
				MX	2019014086	A	13 February 2020
				CA	3065078	A1	29 November 2018
				AU	2018273777	A1	31 October 2019
				TW	201904988	A	01 February 2019
				JP	2019536758	A	19 December 2019
				CO	2019012964	A2	17 January 2020
				JP	6665349	B2	13 March 2020
WO	2018024186	A1	08 February 2018	CN	108463468	A	28 August 2018
				EP	3495384	A4	26 February 2020
				US	2019169257	A1	06 June 2019
				JP	2019526537	A	19 September 2019
				TW	201805300	A	16 February 2018
				US	10815287	B2	27 October 2020
WO	2017032798	A1	02 March 2017	EP	3495384	A1	12 June 2019
				JP	2018531900	A	01 November 2018
				AU	2016311283	A1	15 February 2018
				AR	106364	A1	10 January 2018
				TW	201717998	A	01 June 2017
				CA	2996455	A1	02 March 2017
				US	2018305431	A1	25 October 2018
				BR	112018002416	A2	18 September 2018
				RU	2018107727	A3	28 November 2019
				CN	108026157	A	11 May 2018
				MX	2018002223	A	23 March 2018
				IL	257173	D0	28 June 2018
				AU	2016311283	B2	08 October 2020
				EP	3341403	A1	04 July 2018
				RU	2018107727	A	01 October 2019
				KR	20180038049	A	13 April 2018

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (January 2015)

10

20

30

40

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2020/141023

A. 主题的分类 C07K 14/62(2006.01)i; A61K 38/28(2006.01)i; A61P 3/10(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) C07K; A61K; A61P 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNABS, SIPOABS, DWPI, CNTXT, EPTXT, WOTXT, USTXT, CNKI, web of science, NCBI, pubmed, baidu, 甘李药业股份有限公司/甘忠如, 胰岛素, insulin, GLP-1, 亚烷基二醇, Alkylene glycol, 脂肪酸, fatty acid, 酰化胰岛素, acylated insulin		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 101784563 A (诺沃-诺迪斯克有限公司) 2010年 7月 21日 (2010 - 07 - 21) 权利要求1, 说明书第3页第38段, 第4页第54段-第5页第56段, 第11-12页第104-106段、第16页第170、179段	1-29, 37-55
Y	CN 101784563 A (诺沃-诺迪斯克有限公司) 2010年 7月 21日 (2010 - 07 - 21) 权利要求1, 说明书第3页第38段, 第4页第54段-第5页第56段, 第11-12页第104-106段、第16页第170、179段	30-36, 39-46
Y	CN 101842386 A (诺沃-诺迪斯克有限公司) 2010年 9月 22日 (2010 - 09 - 22) 权利要求1、13-14, 说明书第20页第192-194段、第35页第334段-第36页第337段	30-36, 39-46
X	CN 102037008 A (诺沃-诺迪斯克有限公司) 2011年 4月 27日 (2011 - 04 - 27) 权利要求1-12	1-29, 37-55
X	CN 101784562 A (诺沃-诺迪斯克有限公司) 2010年 7月 21日 (2010 - 07 - 21) 权利要求1-6	1-29, 37-55
A	US 2019345215 A1 (ELI LILLY AND COMPANY) 2019年 11月 14日 (2019 - 11 - 14) 说明书第1-9页	1-55
A	WO 2018024186 A1 (江苏恒瑞医药股份有限公司) 2018年 2月 8日 (2018 - 02 - 08) 权利要求1-18	1-55
☒ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期		国际检索报告邮寄日期
2021年 3月 11日		2021年 3月 26日
ISA/CN的名称和邮寄地址		受权官员
中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		陈皓 电话号码 86-(10)-53962068

PCT/ISA/210 表(第2页) (2015年1月)

10

20

30

40

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2020/141023

C. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	WO 2017032798 A1 (NOVO NORDISK A/S) 2017年 3月 2日 (2017 - 03 - 02) 权利要求1-34	1-55

10

20

30

40

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2020/141023

第I栏 核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列表进行的:

a. ☒ 作为国际申请的一部分提交的:

☒ 附件C/ST. 25文本文件形式

☐ 纸件或图形文件形式

b. ☐ 根据细则13之三. 1(a) 仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:

c. ☐ 仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:

☐ 附件C/ST. 25文本文件形式 (细则13之三. 1(a))

☐ 纸件或图形文件形式 (细则13之三. 1(b) 和行政规程第713段)

2. ☐ 另外, 在提交/提供了多个版本或副本的序列表的情况下, 提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围 (如适用) 的所需声明。

3. 补充意见:

10

20

30

40

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2020/141023

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. ☒ 权利要求： 46-55
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
[1] 权利要求46涉及一种治疗或预防糖尿病、高血糖症、和/或葡萄糖耐量削弱的方法，权利要求47-55涉及一种使胰岛素衍生物对胰岛素受体结合能力提高的方法以及使胰岛素衍生物效力提高的方法，其属于PCT Rule 39.1(iv)规定的疾病的治疗方法，但仍然基于其制药用途，即，一种如权利要求1-20任一项所述的胰岛素衍生物或权利要求21-38任一项所述的药物组合物在制备治疗或预防糖尿病、高血糖症、和/或葡萄糖耐量削弱的、对胰岛素受体结合能力提高的或是效力提高的药物中的应用，进行了检索。
2. ☐ 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索， 具体地说：
3. ☐ 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

10

20

30

40

50

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/141023

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	101784563	A	2010年 7月 21日	JP	5721432	B2	2015年 5月 20日
				EP	2178910	B1	2014年 10月 8日
				JP	2010535849	A	2010年 11月 25日
				US	8962794	B2	2015年 2月 24日
				WO	2009022006	A1	2009年 2月 19日
				ES	2526924	T3	2015年 1月 16日
				CN	101784563	B	2015年 2月 4日
				US	2011098439	A1	2011年 4月 28日
				EP	2178910	A1	2010年 4月 28日
				US	9035020	B1	2015年 5月 19日
				US	2015148521	A1	2015年 5月 28日
CN	101842386	A	2010年 9月 22日	EP	2190873	B1	2015年 7月 22日
				ES	2550363	T3	2015年 11月 6日
				US	2014296131	A1	2014年 10月 2日
				EP	2190873	A1	2010年 6月 2日
				JP	2010538049	A	2010年 12月 9日
				US	2010292133	A1	2010年 11月 18日
				WO	2009030774	A1	2009年 3月 12日
CN	102037008	A	2011年 4月 27日	US	9657079	B2	2017年 5月 23日
				PT	2910570	T	2017年 1月 24日
				DK	2910570	T3	2017年 1月 30日
				DK	2254906	T3	2017年 1月 23日
				EP	2910570	B1	2016年 10月 12日
				EP	2254906	B1	2016年 10月 5日
				HU	E032284	T2	2017年 9月 28日
				BR	PI0910348	A2	2020年 8月 11日
				JP	2015155421	A	2015年 8月 27日
				EP	2910571	B1	2016年 10月 5日
				KR	20110004366	A	2011年 1月 13日
				US	2014073564	A1	2014年 3月 13日
				CN	102037008	B	2016年 8月 31日
				RU	2010141481	A	2012年 4月 27日
				EP	2910569	B1	2016年 10月 5日
				IL	250548	A	2019年 3月 31日
				US	8691759	B2	2014年 4月 8日
				AU	2009226910	A1	2009年 9月 24日
				CA	2718738	C	2019年 5月 7日
				US	2011105720	A1	2011年 5月 5日
				JP	2015147781	A	2015年 8月 20日
				KR	20160073431	A	2016年 6月 24日
				ZA	201006126	B	2011年 11月 30日
				HU	E032287	T2	2017年 9月 28日
				JP	5749155	B2	2015年 7月 15日
				PT	2254906	T	2017年 1月 3日
				ES	2611007	T3	2017年 5月 4日
				US	9688737	B2	2017年 6月 27日
				JP	2011515358	A	2011年 5月 19日
				US	9045560	B2	2015年 6月 2日
				EP	2910570	A1	2015年 8月 26日
				EP	2254906	A1	2010年 12月 1日

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2015年1月)

10

20

30

40

50

国际检索报告 关于同族专利的信息				国际申请号 PCT/CN2020/141023			
检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利		公布日 (年/月/日)			
		CA	2718738	A1	2009年 9月 24日	10	
		EP	2910571	A1	2015年 8月 26日		
		KR	20160124929	A	2016年 10月 28日		
		AU	2009226910	B2	2014年 2月 6日		
		IL	250548	D0	2017年 3月 30日		
		RU	2571857	C2	2015年 12月 20日		
		EP	2910569	A1	2015年 8月 26日		
		MX	2010009850	A	2010年 9月 30日		
		IL	250549	A	2018年 12月 31日		
		KR	101755434	B1	2017年 7月 10日		
		IL	250549	D0	2017年 3月 30日		
		US	10259856	B2	2019年 4月 16日		
		JP	2015147782	A	2015年 8月 20日		
		IL	207748	D0	2010年 12月 30日		
		KR	101755529	B1	2017年 7月 7日		
		PL	2910570	T3	2017年 6月 30日		
		PL	2254906	T3	2017年 4月 28日		
		US	2015210748	A1	2015年 7月 30日		
CN	101784562	A	2010年 7月 21日	RU	2514430	C2	2014年 4月 27日
				EP	2178912	B1	2015年 7月 8日
				AU	2008288413	A1	2009年 2月 19日
				RU	2010107788	A	2011年 9月 20日
				KR	20100053561	A	2010年 5月 20日
				CA	2695970	A1	2009年 2月 19日
				EP	2708554	A1	2014年 3月 19日
				WO	2009022005	A1	2009年 2月 19日
				JP	2010535851	A	2010年 11月 25日
				ZA	201001416	B	2011年 6月 29日
				US	2011098440	A1	2011年 4月 28日
				ES	2548304	T3	2015年 10月 15日
				EP	2178912	A1	2010年 4月 28日
				BR	PI0823154	A2	2015年 7月 7日
				MX	2010001645	A	2010年 3月 10日
				US	9150633	B2	2015年 10月 6日
				AU	2008288413	B2	2013年 9月 26日
				CN	101784562	B	2016年 7月 13日
US	2019345215	A1	2019年 11月 14日	WO	2009022013	A1	2009年 2月 19日
				JP	5730569	B2	2015年 6月 10日
				AR	112353	A1	2019年 10月 23日
				BR	112019021668	A2	2020年 5月 12日
				EC	SP19083930	A	2019年 12月 27日
				KR	20190141219	A	2019年 12月 23日
				EA	201992272	A1	2020年 3月 20日
				US	2018340015	A1	2018年 11月 29日
				PE	20191836	A1	2019年 12月 30日
				US	10597436	B2	2020年 3月 24日
				IL	270813	D0	2020年 1月 30日
				PH	12019502655	A1	2020年 6月 8日
				WO	2018217573	A1	2018年 11月 29日
				TW	1672315	B	2019年 9月 21日

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2015年1月)

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/141023

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		CL 2019003259 A1	2020年 4月 17日
		CR 20190523 A	2020年 1月 23日
		EP 3630165 A1	2020年 4月 8日
		US 10400021 B2	2019年 9月 3日
		CN 110691608 A	2020年 1月 14日
		MX 2019014086 A	2020年 2月 13日
		CA 3065078 A1	2018年 11月 29日
		AU 2018273777 A1	2019年 10月 31日
		TW 201904988 A	2019年 2月 1日
		JP 2019536758 A	2019年 12月 19日
		CO 2019012964 A2	2020年 1月 17日
		JP 6665349 B2	2020年 3月 13日
WO 2018024186 A1	2018年 2月 8日	CN 108463468 A	2018年 8月 28日
		EP 3495384 A4	2020年 2月 26日
		US 2019169257 A1	2019年 6月 6日
		JP 2019526537 A	2019年 9月 19日
		TW 201805300 A	2018年 2月 16日
		US 10815287 B2	2020年 10月 27日
		EP 3495384 A1	2019年 6月 12日
WO 2017032798 A1	2017年 3月 2日	JP 2018531900 A	2018年 11月 1日
		AU 2016311283 A1	2018年 2月 15日
		AR 106364 A1	2018年 1月 10日
		TW 201717998 A	2017年 6月 1日
		CA 2996455 A1	2017年 3月 2日
		US 2018305431 A1	2018年 10月 25日
		BR 112018002416 A2	2018年 9月 18日
		RU 2018107727 A3	2019年 11月 28日
		CN 108026157 A	2018年 5月 11日
		MX 2018002223 A	2018年 3月 23日
		IL 257173 D0	2018年 6月 28日
		AU 2016311283 B2	2020年 10月 8日
		EP 3341403 A1	2018年 7月 4日
		RU 2018107727 A	2019年 10月 1日
		KR 20180038049 A	2018年 4月 13日

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2015年1月)

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K 47/02 (2006.01)

A 6 1 K 47/02

A 6 1 P 3/10 (2006.01)

A 6 1 P 3/10

A 6 1 K 38/22 (2006.01)

A 6 1 K 38/22

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

弁理士 伊東 忠重

(74)代理人 100107515

弁理士 廣田 浩一

(74)代理人 100070150

弁理士 伊東 忠彦

(72)発明者 ガン, ジョォンルー

中国 1 0 1 1 0 9 ベイジン トンジョウ ディストリクト, フォシャン, ナンフェン ウェスト
1スト ストリート ナンバー・8

(72)発明者 チェン, ウェイ

中国 1 0 1 1 0 9 ベイジン トンジョウ ディストリクト, フォシャン, ナンフェン ウェスト
1スト ストリート ナンバー・8

(72)発明者 ジャン, イニン

中国 1 0 1 1 0 9 ベイジン トンジョウ ディストリクト, フォシャン, ナンフェン ウェスト
1スト ストリート ナンバー・8

(72)発明者 シュエ, ファンカイ

中国 1 0 1 1 0 9 ベイジン トンジョウ ディストリクト, フォシャン, ナンフェン ウェスト
1スト ストリート ナンバー・8

(72)発明者 ツァイ, リンギュ

中国 1 0 1 1 0 9 ベイジン トンジョウ ディストリクト, フォシャン, ナンフェン ウェスト
1スト ストリート ナンバー・8

(72)発明者 ニウ, ジェンホン

中国 1 0 1 1 0 9 ベイジン トンジョウ ディストリクト, フォシャン, ナンフェン ウェスト
1スト ストリート ナンバー・8

(72)発明者 ム, ビン

中国 1 0 1 1 0 9 ベイジン トンジョウ ディストリクト, フォシャン, ナンフェン ウェスト
1スト ストリート ナンバー・8

F ターム (参考) 4B064 AG16 CA19 CC24

4C076 AA95 CC30 DD23 DD26 DD37 DD38 EE59 FF31

4C084 AA03 AA07 BA01 BA31 CA53 DB34 DB37 MA02 NA05 NA12
ZC03 ZC35

4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 CA40 DA37 EA20 FA10 FA74 GA23
GA25