

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成29年4月6日(2017.4.6)

【公表番号】特表2016-512255(P2016-512255A)

【公表日】平成28年4月25日(2016.4.25)

【年通号数】公開・登録公報2016-025

【出願番号】特願2016-500671(P2016-500671)

【国際特許分類】

C 0 7 K 14/62 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 0 7 K 14/575 (2006.01)

C 0 7 K 14/605 (2006.01)

C 0 7 K 14/65 (2006.01)

A 6 1 K 38/28 (2006.01)

A 6 1 K 38/26 (2006.01)

A 6 1 P 3/10 (2006.01)

C 1 2 P 21/02 (2006.01)

【F I】

C 0 7 K 14/62

C 0 7 K 19/00 Z N A

C 0 7 K 14/575

C 0 7 K 14/605

C 0 7 K 14/65

A 6 1 K 37/26

A 6 1 K 37/28

A 6 1 P 3/10

C 1 2 P 21/02 E

【手続補正書】

【提出日】平成29年3月3日(2017.3.3)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

グルカゴン関連ペプチド及びインスリンペプチドを含むインスリンアゴニスト/インクレチン複合物であって、該グルカゴン関連ペプチドが、該インスリンペプチドに直に又はリンカーを介して連結されている、前記複合物。

【請求項2】

該グルカゴン関連ペプチドのC - 末端領域が、A鎖のA9、A14及びA15、B鎖のB1、B2、B10、B22、B28又はB29位から成る群から選択される位置のアミノ酸の側鎖、B鎖のN - 末端アルファアミン、B鎖のカルボキシ末端、及び単一鎖インスリンアナログのA鎖及びB鎖を連結する連結部分の任意の位置のアミノ酸側鎖から別個に選択される位置を介してインスリンペプチドに共有結合により連結されている、請求項1に記載の複合物。

【請求項3】

該グルカゴン関連ペプチドのカルボキシ末端が、該インスリンペプチドのB鎖のアミノ末端に共有結合により連結されている、請求項1に記載の複合物。

【請求項4】

該インスリンペプチドが単一鎖インスリンアナログである、請求項1-3のいずれか1項に記載の複合物。

【請求項5】

該グルカゴン関連ペプチドが、単一鎖インスリンアナログのA鎖及びB鎖を連結する連結部分のアミノ酸のアミノ酸側鎖に連結されている、請求項4に記載の複合物。

【請求項6】

該インスリンペプチドが二鎖インスリンアナログであり、かつ前記複合物が第一及び第二のグルカゴン関連ペプチドを含み、各グルカゴン関連ペプチドが別個に、該B鎖のアミノ末端、該A鎖のカルボキシ末端及び該B鎖のカルボキシ末端から成る群から選択される位置で該インスリンペプチドに共有結合により連結されている、請求項1に記載の複合物。

【請求項7】

該グルカゴン関連ペプチドが以下を含む、請求項1-6のいずれか1項に記載の複合物：

(i) アミノ酸配列X1 - X2 - Gln - Gly - Thr - Phe - Thr - Ser - Asp - Tyr - Ser - Lys - Tyr - Leu - Asp - Ser - Arg - Arg - Ala - Gln - Asp - Phe - Val - Gln - Trp - Leu - Met - Z (配列番号:839) であって、前記に対して1つから3つのアミノ酸改変を有するもの：式中、X1及び/又はX2は、ジペプチジルペプチダーゼIV (DPP - IV) による切断に対するグルカゴン関連ペプチドの感受性を減少させる非天然の (配列番号:701と対比して) アミノ酸であり、

Zは、Asn - Thr - COOH及びY - COOHから成る群から選択され (式中Yは1つから2つのアミノ酸)、さらにまた、

(1) ラクタム架橋がi位のアミノ酸及びi+4位のアミノ酸の側鎖を接続するか (式中iは12、16、20又は24)、又は

(2) グルカゴン関連ペプチドの16、20、21及び24位のアミノ酸の1つ、2つ、3つ又は全てが、
- 二置換アミノ酸で置換され、
かつ前記グルカゴン関連ペプチドがグルカゴンアゴニスト活性を有する、前記アミノ酸配列；

(ii) 配列番号:701のアミノ酸配列であって、前記配列が

28位のAsnの荷電アミノ酸による置換、

28位のAsnのAsp、Glu、システイン酸及びホモシステイン酸から成る群から選択される荷電アミノ酸による置換、

28位におけるAsn、Asp又はGluによる置換、

28位におけるGluによる置換、

29位のThrの荷電アミノ酸による置換、

29位のThrのLys、Arg、His、Asp、Glu、システイン酸及びホモシステイン酸から成る群から選択される荷電アミノ酸による置換、

29位におけるAsp、Glu又はLysによる置換、

29位におけるGluによる置換、

29位の後ろに1から3つの荷電アミノ酸の挿入、

29位の後にGlu又はLysの挿入、

29位の後にGly - Lys又はLys - Lysの挿入、

又は前記の組み合わせ、

及びグループA若しくはグループB又は前記の組み合わせから選択される少なくとも1つのアミノ酸改変、

から成る群から選択される少なくとも1つのアミノ酸改変を含むように改変され、

ここで、グループAは、16位のSerのThr又はA1Bによる置換から成る群から選択されるアミノ酸改変であり、さらに

グループBは、

1位のHisのジペプチジルペプチダーゼIV (DPP - IV) による切断に対する当該グルカゴ

ン関連ペプチドの感受性を減少させる非天然アミノ酸による置換、

2位のSerのジペプチジルペプチダーゼIV (DPP - IV) による切断に対する当該グルカゴン関連ペプチドの感受性を減少させる非天然アミノ酸による置換、

10位のTyrのPhe又はValによる置換、

12位のLysのArgによる置換、

20位のGlnのAla又はAIBによる置換、

21位のAspのGluによる置換、

24位のGlnのAla又はAIBによる置換、

27位のMetのLeu又はNieによる置換、

又は前記の組み合わせから成る群から選択されるアミノ酸改変であり、

かつ前記グルカゴン関連ペプチドがグルカゴンアゴニスト活性を有する、前記アミノ酸配列；

(iii) 配列番号:701のグルカゴン関連ペプチドであって、前記ペプチドが、

(a) GIPアゴニスト活性を付与する、1位のアミノ酸改変、

(b) (1) i位及びi+4位のアミノ酸の側鎖間又はj位及びj+3位のアミノ酸の側鎖間のラクタム架橋(式中iは12、13、16、17、20又は24で、jは17である)、又は(2)該アナログの16、20、21及び24位のアミノ酸の1つ、2つ、3つ又は全ての、-二置換アミノ酸による置換、

(c) 27、28及び29位の1つ、2つ又は全てのアミノ酸改変、及び

(d) 1つから6つの更なるアミノ酸改変、

を含むように改変され、ここで該アナログのGIP受容体活性化のためのEC50が約10nM以下である、前記グルカゴン関連ペプチド；

(iv) 配列番号:72又は配列番号:72のアナログの配列であって、ここで前記アナログが、1、2、3、5、7、10、11、13、14、17、18、19、21、24、27、28及び29位から選択される1つから3つのアミノ酸改変によって配列番号:72と異なり、

前記グルカゴン関連ペプチドが、GLP - 1受容体で天然のGLP - 1の活性の少なくとも20%を示す、前記配列；

(v) 10を超えないアミノ酸改変によって配列番号:701と異なるアミノ酸であって、16、20、21及び/又は24位にAIBによる1つ以上のアミノ酸置換並びにジペプチジルペプチダーゼIVによる切断に対する感受性の減少を提供する1位及び/又は2位のアミノ酸改変を含み、前記グルカゴン関連ペプチドが、GLP - 1受容体で天然のGLP - 1の活性の少なくとも20%を示す、前記アミノ酸。

【請求項 8】

前記インスリンペプチドがA鎖及びB鎖を含み、前記A鎖が配列GIVX₄X₅CCX₈X₉X₁₀CX₁₂LX₁₄X₁₅LX₁₇X₁₈YCX₂₁-R₁₃(配列番号:19)を含み、前記B鎖が配列R₂₂-X₂₅LGCX₂₉X₃₀LVX₃₃X₃₄LYLVCGX₄₁X₄₂GFX₄₅(配列番号:20)を含む、請求項7に記載の複合物；

式中、

X₄は、グルタミン酸又はアスパラギン酸であり、

X₅は、グルタミン又はグルタミン酸であり、

X₈は、ヒスチジン、スレオニン又はフェニルアラニンであり、

X₉は、セリン、アルギニン、リジン、オルニチン又はアラニンであり、

X₁₀は、イソロイシン又はセリンであり、

X₁₂は、セリン又はアスパラギン酸であり、

X₁₄は、チロシン、アルギニン、リジン、オルニチン又はアラニンであり、

X₁₅は、グルタミン、グルタミン酸、アルギニン、アラニン、リジン、オルニチン又はロイシンであり、

X₁₇は、グルタミン酸、アスパラギン酸、アスパラギン、リジン、オルニチン又はグルタミンであり、

X₁₈は、メチオニン、アスパラギン、グルタミン、アスパラギン酸、グルタミン酸又はスレオニンであり、

X_{21} は、アラニン、グリシン、セリン、バリン、スレオニン、イソロイシン、ロイシン、グルタミン、グルタミン酸、アスパラギン、アスパラギン酸、ヒスチジン、トリプトファン、チロシン及びメチオニンから成る群から選択され、

X_{25} は、ヒスチジン又はスレオニンであり、

X_{29} は、アラニン、グリシン及びセリンから成る群から選択され、

X_{30} は、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、ホモシステイン酸及びシステイン酸から成る群から選択され、

X_{33} は、アスパラギン酸及びグルタミン酸から成る群から選択され、

X_{34} は、アラニン及びスレオニンから成る群から選択され、

X_{41} は、グルタミン酸、アスパラギン酸又はアスパラギンから成る群から選択され、

X_{42} は、アラニン、オルニチン、リジン及びアルギニンから成る群から選択され、

X_{45} は、チロシン又はフェニルアラニンであり、

R_{22} は、AYRPSE (配列番号:14)、FVNQ (配列番号:12)、PGPE (配列番号:11)、グリシン - プロリン - グルタミン酸トリペプチド、バリン - アスパラギン - グルタミントリペプチド、プロリン - グルタミン酸ジペプチド、アスパラギン - グルタミンジペプチド、グルタミン、グルタミン酸及びN - 末端アミンから成る群から選択され、さらに

R_{13} はCOOH又はCONH₂である。

【請求項 9】

前記A鎖が配列GIVEQCCX₈X₉ICSLYQLENYCX₂₁ - R₁₃ (配列番号:73)を含み、前記B鎖が配列R₂₂ - X₂₅LCGX₃₀X₃₃X₃₄LYLVCGX₄₁X₄₂GFX₄₅ (配列番号:20)を含む、請求項8に記載の複合物：

式中、

X_8 は、ヒスチジン又はスレオニンであり、

X_9 は、セリン、リジン又はアラニンであり、

X_{21} は、アラニン、グリシン又はアスパラギンであり、

X_{25} は、ヒスチジン又はスレオニンであり、

X_{29} は、アラニン、グリシン及びセリンから成る群から選択され、

X_{30} は、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、ホモシステイン酸及びシステイン酸から成る群から選択され、

X_{33} は、アスパラギン酸及びグルタミン酸から成る群から選択され、

X_{34} は、アラニン及びスレオニンから成る群から選択され、

X_{41} は、グルタミン酸、アスパラギン酸又はアスパラギンから成る群から選択され、

X_{42} は、アラニン、オルニチン、リジン及びアルギニンから成る群から選択され、

X_{45} は、チロシン又はフェニルアラニンであり、

R_{22} は、FVNQ (配列番号:12)、バリン - アスパラギン - グルタミントリペプチド、アスパラギン - グルタミンジペプチド、グルタミン及びN - 末端アミンから成る群から選択され、

さらに R_{13} はCOOH又はCONH₂である。

【請求項 10】

前記A鎖が配列GIVDECCX₈X₉SCDLRRLEMX₁₉CX₂₁ - R₁₃ (配列番号:74)を含み、前記B鎖が配列R₂₂ - X₂₅LCGAX₃₀LVDALYLVCADX₄₂GFY (配列番号:75)を含む、請求項8に記載の複合物：

式中、

X_8 は、フェニルアラニン又はヒスチジンであり、

X_9 は、アルギニン、オルニチン又はアラニンであり、

X_{19} は、チロシン、4 - メトキシ - フェニルアラニン又は4 - アミノ - フェニルアラニンであり、

X_{21} は、アラニン又はアスパラギンであり、

X_{25} は、ヒスチジン又はスレオニンであり、

X_{30} は、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、ホモシステイン酸及びシステイン

酸から成る群から選択され、

X_{42} は、アラニン、オルニチン及びアルギニンから成る群から選択され、 R_{13} はCOOH又はCO NH_2 であり、

R_{22} は、AYRPSE（配列番号:14）、FVNQ（配列番号:12）、PGPE（配列番号:11）、グリシン - プロリン - グルタミン酸トリペプチド、バリン - アスパラギン - グルタミントリペプチド、プロリン - グルタミン酸ジペプチド、アスパラギン - グルタミンジペプチド、グルタミン、グルタミン酸及びN - 末端アミンから成る群から選択され、さらに

R_{13} はCOOH又はCONH $_2$ である。

【請求項 1 1】

前記B鎖が配列 $R_{22} - X_{25}LCGX_{29}X_{30}LVX_{33}X_{34}LYLVCGX_{41}X_{42}GFX_{45}YT - Z_1 - B_1$ （配列番号:142）を含む、請求項8に記載の複合物：

式中、

Z_1 は、アスパルテート - リジン、リジン - プロリン及びプロリン - リジンから成る群から選択されるジペプチドであり、さらに

B_1 は、スレオニン、アラニン又はスレオニン - アルギニン - アルギニントリペプチドから成る群から選択される。

【請求項 1 2】

前記A鎖が配列GIVEQCCTSICSLYQLENYCN - R_{13} （配列番号:1）を含み、前記B鎖が配列FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKT（配列番号:2）を含む、請求項8に記載の複合物。

【請求項 1 3】

該インスリンペプチドが単一鎖インスリンであり、さらにB及びA鎖を継ぎ合わせるペプチドリンカーが、SSSSKAPPPSLPSPSRLPGSDTPILPQR（配列番号:52）、SSSSRAPPPSLPSPSRLPGSDTPILPQK（配列番号:51）、GAGSSSX $_{57}X_{58}$ （配列番号:76）、GYGSSSX $_{57}X_{58}$ （配列番号:21）及びGYGSSSX $_{57}X_{58}$ APQT（配列番号:77）から成る群から選択される、請求項8 - 12のいずれか1項に記載の複合物：

式中、 X_{57} 及び X_{58} は別個にアルギニン、リジン又はオルニチンである。

【請求項 1 4】

該ペプチドリンカーがGYGSSSR（配列番号:18）及びGAGSSSR（配列番号:22）から成る群から選択される、請求項13に記載の複合物。

【請求項 1 5】

該グルカゴン関連ペプチドが配列番号:72又は配列番号:72のアナログの配列を含み、前記アナログが、1、2、3、5、7、10、11、13、14、17、18、19、21、24、27、28及び29位から選択される、1つから3つのアミノ酸改変によって配列番号:72と異なり、該グルカゴン関連ペプチドが、12及び16、16及び20、20及び24、又は24及び28位のアミノ酸の側鎖間に分子内橋を含む、請求項8 - 14のいずれか1項に記載の複合物又は医薬的に許容できるその塩。

【請求項 1 6】

該グルカゴン関連ペプチドが、16及び20位のアミノ酸の間に塩橋又はラクタム架橋を含む、請求項15に記載の複合物。

【請求項 1 7】

前記グルカゴン関連ペプチドのカルボキシ末端に連結されている、配列番号:78、79及び80から成る群から選択されるペプチドをさらに含む、請求項15又は16に記載の複合物。

【請求項 1 8】

該グルカゴン関連ペプチドの3位のアミノ酸がグルタミン酸である、請求項15 - 17のいずれか1項に記載の複合物。

【請求項 1 9】

該グルカゴン関連ペプチドの28位のアミノ酸がAsp、Asn又はLysであり、かつ該グルカゴン関連ペプチドの29位のアミノ酸がGly又はThrである、請求項18に記載の複合物。

【請求項 2 0】

該グルカゴン関連ペプチドの16位のアミノ酸がグルタミン酸であり、該グルカゴン関連

ペプチドの20位のアミノ酸がリジンであり、かつ該グルカゴン関連ペプチドのC - 末端カルボン酸基がアミドで取り替えられ、場合によって該グルカゴン関連ペプチドの16位のグルタミン酸及び20位のリジンの間でラクタム架橋を有する、請求項15 - 19のいずれか1項に記載の複合物。

【請求項 2 1】

該グルカゴン関連ペプチドの1位又は2位のアミノ酸が、ジペプチジルペプチダーゼIV (DPP - IV) による切断に対する感受性の減少を示すように改変される、請求項20に記載の複合物。

【請求項 2 2】

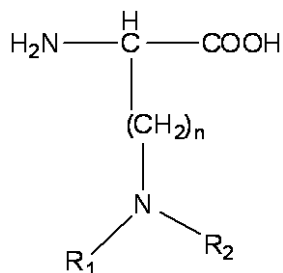
該グルカゴン関連ペプチドが以下から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項9 - 12のいずれか1項に記載の複合物：

- i . 配列番号:81、
- j . 配列番号:83、
- k . 配列番号:89、
- l . 配列番号:84 - 88のいずれか1つ、
- m . 配列番号:100 - 103のいずれか1つ、
- n . 配列番号:108であって、20位のアミノ酸がアルギニン、オルニチン及びシトルリンから成る群から選択されるもの、
- o . 配列番号:98、99、109 - 112、104 - 106、及び配列番号:72のいずれか1つであって、該ペプチドの28位のXaaがアスパラギン又はアスパラギン酸で、該ペプチドの29位のXaaがスレオニン又はグリシンで、かつ該ペプチドのC - 末端がさらに配列番号:78、配列番号:79、COOH又はCONH₂を含むもの、及び
- p . 配列番号:251、319及び510のいずれか1つ。

【請求項 2 3】

- 該グルカゴン関連ペプチドが、GIPアゴニスト活性を有するグルカゴン (配列番号:701) のアナログを含み、前記アナログが、
- (a) GIPアゴニスト活性を付与する1位のアミノ酸改変 (場合によって1位のアミノ酸はイミダゾール側鎖を欠くアミノ酸)、
 - (b) 16位のSerの下記式IVのアミノ酸によるアミノ酸置換

【化 1】



[式IV]

- (式中、nは1から7であり、R1及びR2の各々は別個にH、C₁ - C₁₈アルキル、(C₁ - C₁₈アルキル)OH、(C₁ - C₁₈アルキル)NH₂、(C₁ - C₁₈アルキル)SH、(C₀ - C₄アルキル)(C₃ - C₆)シクロアルキル、(C₀ - C₄アルキル)(C₂ - C₅複素環)、(C₀ - C₄アルキル)(C₆ - C₁₀アリール)R₇、及び(C₁ - C₄アルキル)(C₃ - C₉ヘテロアリール)から成る群から選択され、R₇はH又はOHであり、さらに式IVのアミノ酸の側鎖は遊離アミノ基を含み、式IVのアミノ酸は場合によってホモLys、Lys、Orn又は2,4 - ジアミノ酪酸 (Dab) である)、
- (c) 該アナログの16、20、21及び24位のアミノ酸の1つ、2つ、3つ又は全ての、 - 二置換アミノ酸による置換、
 - (d) 27、28及び29位の1つ、2つ又は全てにおけるアミノ酸改変、及び
 - (e) 該グルカゴン配列 (配列番号:701) に対する1つから9つの更なるアミノ酸改変、という上記改変の1つ以上を含み、

GIP受容体活性化のための該アナログのEC50が約10nM以下である、請求項8 - 14のいずれか1項に記載の複合物。

【請求項 2 4】

該グルカゴン関連ペプチドが、

- (a) 1位のアミノ酸が大きな芳香族アミノ酸（場合によってTyr）であり、さらに
- (b) (i) 27位のMetの大きな脂肪族アミノ酸（場合によってLeu）による置換、(ii) 28位のAsnの小さな脂肪族アミノ酸（場合によってAla）による置換か、若しくは(iii) 29位のThrの小さな脂肪族アミノ酸（場合によってGly）による置換、又は該アナログが(i)、(ii)及び(iii)の組み合わせを含むという改変を含む、請求項23に記載の複合物。

【請求項 2 5】

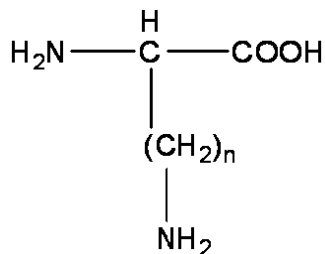
該グルカゴン関連ペプチドがさらに、C - 末端から29位アミノ酸に設けられた位置で前記ペプチドに連結されているGPSSGAPPPS（配列番号:95）又はXGPSSGAPPPS（配列番号:96）のアミノ酸配列を含む、請求項23又は24に記載の複合物。

【請求項 2 6】

該グルカゴン関連ペプチドがさらに、

- (a) 2位のSerのD - Ser、Ala、D - Ala、Gly、N - メチル - Ser、AIB、Val又は - アミノ - N - 酪酸による置換、
- (b) 3位のGlnのGluによる置換、
- (c) 10位のアミノ酸Tyrのアシル基又はアルキル基に共有結合により連結されている側鎖を含むアミノ酸、場合によって下記式Iのアミノ酸による置換

【化 2】



- (式中、n = 1から4)、
- (d) 該アナログのC - 末端アミノ酸として、アシル基又はアルキル基に共有結合により連結されている側鎖を含むアミノ酸、場合によって式Iのアミノ酸の付加、
- (e) 12位のLysのIleによる置換、
- (f) 17位のArgのGlnによる置換、
- (g) 18位のArgのAlaによる置換、
- (h) 21位のAspのGluによる置換、
- (i) 24位のGlnのAsnによる置換、及び
- (j) C - 末端アミノ酸のカルボン酸の中性荷電基、場合によってアミドによる取り替え、という上記改変の1つ以上を含む、請求項23 - 25のいずれか1項に記載の複合物。

【請求項 2 7】

該グルカゴン関連ペプチドが配列番号:227、228、229又は230のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、前記配列がさらに、GPSSGAPPPS（配列番号:820）又はXGPSSGAPPPS（配列番号:1096）（式中Xは任意のアミノ酸）のアミノ酸配列の末端延長をC - 末端から29位アミノ酸を含む、請求項23 - 25のいずれか1項に記載の複合物。

【請求項 2 8】

該グルカゴン関連ペプチドが、配列番号:920 - 964、146 - 164、166、192 - 207、209 - 221及び223から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項23に記載の複合物。

【請求項 2 9】

該グルカゴン関連ペプチドが配列番号:701又は改変配列番号:701の配列を含み、前記改変配列番号:701が、該グルカゴン関連ペプチドのC - 末端から27位のアミノ酸の位置に1つ

、2つ、又は3つ以上の荷電アミノ酸及び配列番号:701に対して7つまでの追加のアミノ酸改変を含む、請求項8 - 14のいずれか1項に記載の複合物。

【請求項30】

該荷電アミノ酸がGlu又はAspである、請求項29に記載の複合物。

【請求項31】

該グルカゴン関連ペプチドが、HAEGTFTSDVSSYLEEQAAREFIAWLVRGRG (配列番号:700)、HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRG (配列番号:703)、HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFICWLVKGR (配列番号:717)、HSQGTFTSDYSKYLDSSRAQDFVQWLMNT (配列番号:701) 又はHSQGTFTSDYSKYLDERRAQDFVQWLMNT (配列番号:699) の配列を含む、請求項8 - 14のいずれか1項に記載の複合物。

【請求項32】

該インスリンペプチドが、配列GPEX₂₅LCGAX₃₀LVDALYLVCGDX₄₂GFYFNX₄₈X₄₉GAGSSSRRGIVDECCX₈RSCDLRRLENYCN - R₁₃ (配列番号:144)、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTGAGSSSRGIVEQCCTSIICSLYQLENYCN - R₁₃ (配列番号:143) 又はGPEHLGCAHLVDALYLVCGDRGFYFNDRGAGSSSRRGIVDECCHRSCLRRLENYCN (配列番号:145) を含む単一鎖インスリンアナログである、請求項15、22、23、29及び31のいずれか1項に記載の複合物：

式中、

X₈は、フェニルアラニン又はヒスチジンであり、

X₂₅は、ヒスチジン又はスレオニンであり、

X₃₀は、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、ホモシステイン酸又はシステイン酸であり、

X₄₂は、アラニン、オルニチン又はアルギニンであり、

X₄₈は、リジン又はアスパラギン酸であり、

X₄₉は、プロリン、オルニチン又はアルギニンであり、さらに

R₁₃はCOOH又はCONH₂である。

【請求項33】

さらに構造U - Jを含む、請求項1 - 32のいずれか1項に記載の複合物の誘導体であって、式中、Uはアミノ酸又はヒドロキシ酸であり、Jは、Jのカルボキシル部分と該複合物のアミンとの間のアミド結合を介して前記複合物に連結されているN - アルキル化アミノ酸であり、ここで、U、J又はU - Jが連結されている該複合物のアミノ酸は非コードアミノ酸であり、さらに該複合物からU - Jが化学的に切断される半減期 (t_{1/2}) が、生理学的条件下のPBS中で少なくとも約1時間から約1週間である、前記複合物の誘導体。

【請求項34】

X₁₉が4 - アミノフェニルアラニンであり、かつ該複合物がさらに構造U - Jを含むジペプチドを含み、式中、Uはアミノ酸又はヒドロキシ酸であり、Jは、Jのカルボキシル部分とA19位の4 - アミノフェニルアラニンのパラアミンとの間のアミド結合を介して前記インスリンペプチドに連結されているN - アルキル化アミノ酸である、請求項10に記載の複合物。

【請求項35】

構造U - Jに共有結合により連結されている親水性部分をさらに含む、請求項33又は34に記載の複合物。

【請求項36】

親水性部分が、前記複合物のアミノ酸の側鎖に共有結合により連結されている、請求項1から35のいずれか1項に記載の複合物。

【請求項37】

親水性部分が、A14、A15、B0、B1、B10、B22、B28、B29又は天然のグルカゴン (配列番号:701) の16、17、20、21、24若しくは29の対応する1つ以上の位置に、又は該グルカゴン関連ペプチドのC - 末端領域に共有結合により連結されている、請求項36に記載の複合物。

【請求項38】

該親水性部分がポリエチレングリコールである、請求項35、36又は37に記載の複合物。

【請求項 39】

あるアミノ酸側鎖に共有結合により連結されているアシル基又はアルキル基をさらに含む、請求項1から38のいずれか1項に記載の複合物。

【請求項 40】

前記アシル基又はアルキル基が、天然のグルカゴン（配列番号:701）の10位に対応するグルカゴン関連ペプチドの位置に、又はインスリンペプチドのA14、A15、B0、B1、B10、B22、B28、B29から選択される1つ以上の位置に、又は構造U-Jのアミノ酸の側鎖に共有結合により連結されている、請求項39に記載の複合物。

【請求項 41】

請求項1から40のいずれか1項に記載の複合物、又は医薬的に許容できるその塩、及び医薬的に許容できる担体を含む医薬組成物。

【請求項 42】

インスリンアゴニスト/インクレチン複合物をその必要がある患者に投与するためのキットであって、前記キットが請求項41に記載の医薬組成物及び前記組成物を患者に投与するための装置を含む、前記キット。

【請求項 43】

請求項41に記載の組成物の複合物又は医薬的に許容できるその塩の、糖尿病治療薬の製造のための使用。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0261

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0261】

図13は、GLP-1、GLP1-DP8、GLP1A22-DP8、GLP1-DP8A19、Glu-DP8及びGluE16-DP8のin vitro GLP-1受容体活性（EC₅₀値）を提示する。GLP1A22-DP8はインスリンとGLP-1との複合物を表し、前記複合物では22位はアラニンで置換されてある（GLP-1活性を効果的に除去することが判明している改変である）。EC₅₀値は、GLP-1、GLP1-DP8及びGLP1-DP8A19は強力なGLP-1受容体アゴニストであるが、GLP1A22-DP8、Glu-DP8及びGluE16-DP8はGLP-1受容体でより低い活性を有することを示している。したがって、複合物は期待される活性を示す。

GLP1-D8及びGlu-DP8複合物を、血中グルコースレベルを低下させるそれらの能力についてin vivoで試験した。in vivoの結果はin vitroの受容体データと一致した。図14A - 14Bは、DP8（図14A）又はGLP1-DP8A19（図14B）を投与したC57BL/6マウスにおける血中グルコースレベルに対する前記列挙複合物の天然インスリンと対比したin vivo効果を示す。D8は首尾よく血中グルコースを低下させたが、GLP1-DP8A19は血中グルコースレベルを有意には低下させることができなかった。図15A - 15Cは、Glu-DP8A19（図15A）又はGLP1A22-DP8（図15B）又はGluE3/DP8（図15C）を投与したC57BL/6マウスにおける血中グルコースレベルに対する前記列挙複合物の天然インスリンと対比したin vivo効果を示す。Glu-DP8A19複合物はインスリン活性を欠くが、グルカゴン刺激インスリン分泌の結果としてin vivoで血中グルコース低下をなお誘発する。GLP1A22-DP8は、22位の置換の結果としてグルカゴン活性を減少させたが、しかしながら、複合物のインスリン成分は血中グルコース減少活性を提供し、したがって複合物はインスリンの約1/5の活性を有する。GluE3/DP8はE3位における置換によりグルカゴン活性を減少させたが、しかしながら当該複合物は、天然のインスリンと対比してわずかに弱められたグルコース低下活性を有する。

本発明のまた別の態様は、以下のとおりであってもよい。

〔1〕グルカゴン関連ペプチド及びインスリンペプチドを含むインスリンアゴニスト/インクレチン複合物であって、該グルカゴン関連ペプチドが、該インスリンペプチドに直に

又はリンカーを介して連結されている、前記複合物。

〔2〕該グルカゴン関連ペプチドのC-末端領域が、A鎖のA9、A14及びA15、B鎖のB1、B2、B10、B22、B28又はB29位から成る群から選択される位置のアミノ酸の側鎖、B鎖のN-末端アルファアミン、B鎖のカルボキシ末端、及び単一鎖インスリンアナログのA鎖及びB鎖を連結する連結部分の任意の位置のアミノ酸側鎖から別個に選択される位置を介してインスリンペプチドに共有結合により連結されている、前記〔1〕に記載の複合物。

〔3〕該グルカゴン関連ペプチドのカルボキシ末端が、該インスリンペプチドのB鎖のアミノ末端に共有結合により連結されている、前記〔1〕に記載の複合物。

〔4〕該インスリンペプチドが単一鎖インスリンアナログである、前記〔1〕-〔3〕のいずれか1項に記載の複合物。

〔5〕該グルカゴン関連ペプチドが、単一鎖インスリンアナログのA鎖及びB鎖を連結する連結部分のアミノ酸のアミノ酸側鎖に連結されている、前記〔4〕に記載の複合物。

〔6〕該インスリンペプチドが二鎖インスリンアナログであり、かつ前記複合物が第一及び第二のグルカゴン関連ペプチドを含み、各グルカゴン関連ペプチドが、該B鎖のアミノ末端、該A鎖のカルボキシ末端及び該B鎖のカルボキシ末端から成る群から選択される位置で該インスリンペプチドに共有結合により連結されている、前記〔1〕に記載の複合物。

〔7〕該グルカゴン関連ペプチドが以下を含む、前記〔1〕-〔6〕のいずれか1項に記載の複合物：

(i) アミノ酸配列X1 - X2 - Gln - Gly - Thr - Phe - Thr - Ser - Asp - Tyr - Ser - Lys - Tyr - Leu - Asp - Ser - Arg - Arg - Ala - Gln - Asp - Phe - Val - Gln - Trp - Leu - Met - Z (配列番号:839) であって、前記に対して1つから3つのアミノ酸改変を有するもの：式中、X1及び/又はX2は、ジペプチジルペプチダーゼIV (DPP - IV) による切断に対するグルカゴン関連ペプチドの感受性を減少させる非天然の (配列番号:701と対比して) アミノ酸であり、

Zは、Asn - Thr - COOH及びY - COOHから成る群から選択され (式中Yは1つから2つのアミノ酸)、さらにまた、

(1) ラクタム架橋がi位のアミノ酸及びi+4位のアミノ酸の側鎖を接続するか (式中iは12、16、20又は24)、又は

(2) グルカゴン関連ペプチドの16、20、21及び24位のアミノ酸の1つ、2つ、3つ又は全てが、-二置換アミノ酸で置換され、

かつ前記グルカゴン関連ペプチドがグルカゴンアゴニスト活性を有する、前記アミノ酸配列；

(ii) 配列番号:701のアミノ酸配列であって、前記配列が

28位のAsnの荷電アミノ酸による置換、

28位のAsnのAsp、Glu、システイン酸及びホモシステイン酸から成る群から選択される荷電アミノ酸による置換、

28位におけるAsn、Asp又はGluによる置換、

28位におけるGluによる置換、

29位のThrの荷電アミノ酸による置換、

29位のThrのLys、Arg、His、Asp、Glu、システイン酸及びホモシステイン酸から成る群から選択される荷電アミノ酸による置換、

29位におけるAsp、Glu又はLysによる置換、

29位におけるGluによる置換、

29位の後ろに1から3つの荷電アミノ酸の挿入、

29位の後にGlu又はLysの挿入、

29位の後にGly - Lys又はLys - Lysの挿入、

又は前記の組み合わせ、

及びグループA若しくはグループB又は前記の組み合わせから選択される少なくとも1つのアミノ酸改変、

から成る群から選択される少なくとも1つのアミノ酸改変を含むように改変され、

ここで、グループAは、16位のSerのThr又はAIBによる置換から成る群から選択されるアミノ酸改変であり、さらに

グループBは、

1位のHisのジペプチジルペプチダーゼIV (DPP - IV) による切断に対する当該グルカゴン関連ペプチドの感受性を減少させる非天然アミノ酸による置換、

2位のSerのジペプチジルペプチダーゼIV (DPP - IV) による切断に対する当該グルカゴン関連ペプチドの感受性を減少させる非天然アミノ酸による置換、

10位のTyrのPhe又はValによる置換、

12位のLysのArgによる置換、

20位のGlnのAla又はAIBによる置換、

21位のAspのGluによる置換、

24位のGlnのAla又はAIBによる置換、

27位のMetのLeu又はNieによる置換、

又は前記の組み合わせから成る群から選択されるアミノ酸改変であり、

かつ前記グルカゴン関連ペプチドがグルカゴンアゴニスト活性を有する、前記アミノ酸配列；

(iii) 配列番号:701のグルカゴン関連ペプチドであって、前記ペプチドが、

(a) GIPアゴニスト活性を付与する、1位のアミノ酸改変、

(b) (1) i位及びi+4位のアミノ酸の側鎖間又はj位及びj+3位のアミノ酸の側鎖間のラクタム架橋(式中iは12、13、16、17、20又は24で、jは17である)、又は(2)該アナログの16、20、21及び24位のアミノ酸の1つ、2つ、3つ又は全ての、-二置換アミノ酸による置換、

(c) 27、28及び29位の1つ、2つ又は全てのアミノ酸改変、及び

(d) 1つから6つの更なるアミノ酸改変、

を含むように改変され、ここで該アナログのGIP受容体活性化のためのEC50が約10nM以下である、前記グルカゴン関連ペプチド；

(iv) 配列番号:72又は配列番号:72のアナログの配列であって、ここで前記アナログが、1、2、3、5、7、10、11、13、14、17、18、19、21、24、27、28及び29位から選択される1つから3つのアミノ酸改変によって配列番号:72と異なり、

前記グルカゴン関連ペプチドが、GLP - 1受容体で天然のGLP - 1の活性の少なくとも20%を示す、前記配列；

(v) 10を超えないアミノ酸改変によって配列番号:701と異なるアミノ酸であって、16、20、21及び/又は24位にAIBによる1つ以上のアミノ酸置換並びにジペプチジルペプチダーゼIVによる切断に対する感受性の減少を提供する1位及び/又は2位のアミノ酸改変を含み、前記グルカゴン関連ペプチドが、GLP - 1受容体で天然のGLP - 1の活性の少なくとも20%を示す、前記アミノ酸。

〔8〕前記インスリンペプチドがA鎖及びB鎖を含み、前記A鎖が配列GIVX₄X₅CCX₈X₉X₁₀CX₁₂LX₁₄X₁₅LX₁₇X₁₈YCX₂₁-R₁₃(配列番号:19)を含み、前記B鎖が配列R₂₂-X₂₅LCGX₂₉X₃₀LVX₃₃X₃₄LYLVCGX₄₁X₄₂GFX₄₅(配列番号:20)を含む、前記〔7〕に記載の複合物；

式中、

X₄は、グルタミン酸又はアスパラギン酸であり、

X₅は、グルタミン又はグルタミン酸であり、

X₈は、ヒスチジン、スレオニン又はフェニルアラニンであり、

X₉は、セリン、アルギニン、リジン、オルニチン又はアラニンであり、

X₁₀は、イソロイシン又はセリンであり、

X₁₂は、セリン又はアスパラギン酸であり、

X₁₄は、チロシン、アルギニン、リジン、オルニチン又はアラニンであり、

X₁₅は、グルタミン、グルタミン酸、アルギニン、アラニン、リジン、オルニチン又はロイシンであり、

X₁₇は、グルタミン酸、アスパラギン酸、アスパラギン、リジン、オルニチン又はグルタミンであり、

X₁₈は、メチオニン、アスパラギン、グルタミン、アスパラギン酸、グルタミン酸又はスレオニンであり、

X₂₁は、アラニン、グリシン、セリン、バリン、スレオニン、イソロイシン、ロイシン、グルタミン、グルタミン酸、アスパラギン、アスパラギン酸、ヒスチジン、トリプトファン、チロシン及びメチオニンから成る群から選択され、

X₂₅は、ヒスチジン又はスレオニンであり、

X₂₉は、アラニン、グリシン及びセリンから成る群から選択され、

X₃₀は、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、ホモシステイン酸及びシステイン酸から成る群から選択され、

X₃₃は、アスパラギン酸及びグルタミン酸から成る群から選択され、

X₃₄は、アラニン及びスレオニンから成る群から選択され、

X₄₁は、グルタミン酸、アスパラギン酸又はアスパラギンから成る群から選択され、

X₄₂は、アラニン、オルニチン、リジン及びアルギニンから成る群から選択され、

X₄₅は、チロシン又はフェニルアラニンであり、

R₂₂は、AYRPSE (配列番号:14)、FVNQ (配列番号:12)、PGPE (配列番号:11)、グリシン - プロリン - グルタミン酸トリペプチド、バリン - アスパラギン - グルタミントリペプチド、プロリン - グルタミン酸ジペプチド、アスパラギン - グルタミンジペプチド、グルタミン、グルタミン酸及びN - 末端アミンから成る群から選択され、さらに

R₁₃はCOOH又はCONH₂である。

〔 9 〕前記A鎖が配列GIVEQCCX₈X₉ICSLYQLENYCX₂₁ - R₁₃ (配列番号:73)を含み、前記B鎖が配列R₂₂ - X₂₅LCGX₂₉X₃₀LVX₃₃X₃₄LYLVCGX₄₁X₄₂GFX₄₅ (配列番号:20)を含む、前記〔 8 〕に記載の複合物：

式中、

X₈は、ヒスチジン又はスレオニンであり、

X₉は、セリン、リジン又はアラニンであり、

X₂₁は、アラニン、グリシン又はアスパラギンであり、

X₂₅は、ヒスチジン又はスレオニンであり、

X₂₉は、アラニン、グリシン及びセリンから成る群から選択され、

X₃₀は、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、ホモシステイン酸及びシステイン酸から成る群から選択され、

X₃₃は、アスパラギン酸及びグルタミン酸から成る群から選択され、

X₃₄は、アラニン及びスレオニンから成る群から選択され、

X₄₁は、グルタミン酸、アスパラギン酸又はアスパラギンから成る群から選択され、

X₄₂は、アラニン、オルニチン、リジン及びアルギニンから成る群から選択され、

X₄₅は、チロシン又はフェニルアラニンであり、

R₂₂は、FVNQ (配列番号:12)、バリン - アスパラギン - グルタミントリペプチド、アスパラギン - グルタミンジペプチド、グルタミン及びN - 末端アミンから成る群から選択され

、

さらにR₁₃はCOOH又はCONH₂である。

〔 10 〕前記A鎖が配列GIVDECCX₈X₉SCDLRRLEMX₁₉CX₂₁ - R₁₃ (配列番号:74)を含み、前記B鎖が配列R₂₂ - X₂₅LCGAX₃₀LVDALYLVCGDX₄₂GFY (配列番号:75)を含む、前記〔 8 〕に記載の複合物：

式中、

X₈は、フェニルアラニン又はヒスチジンであり、

X₉は、アルギニン、オルニチン又はアラニンであり、

X₁₉は、チロシン、4 - メトキシ - フェニルアラニン又は4 - アミノ - フェニルアラニンであり、

X₂₁は、アラニン又はアスパラギンであり、

X₂₅は、ヒスチジン又はスレオニンであり、

X₃₀は、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、ホモシステイン酸及びシステイン酸から成る群から選択され、

X₄₂は、アラニン、オルニチン及びアルギニンから成る群から選択され、R₁₃はCOOH又はCONH₂であり、

R₂₂は、AYRPSE（配列番号:14）、FVNQ（配列番号:12）、PGPE（配列番号:11）、グリシン - プロリン - グルタミン酸トリペプチド、バリン - アスパラギン - グルタミントリペプチド、プロリン - グルタミン酸ジペプチド、アスパラギン - グルタミンジペプチド、グルタミン、グルタミン酸及びN - 末端アミンから成る群から選択され、さらに

R₁₃はCOOH又はCONH₂である。

〔11〕前記B鎖が配列R₂₂ - X₂₅LCGX₂₉X₃₀LVX₃₃X₃₄LYLVCGX₄₁X₄₂GFX₄₅YT - Z₁ - B₁（配列番号:142）を含む、前記〔8〕に記載の複合物：

式中、

Z₁は、アスパルテート - リジン、リジン - プロリン及びプロリン - リジンから成る群から選択されるジペプチドであり、さらに

B₁は、スレオニン、アラニン又はスレオニン - アルギニン - アルギニントリペプチドから成る群から選択される。

〔12〕前記A鎖が配列GIVEQCCTSI CSLYQLENYCN - R₁₃（配列番号:1）を含み、前記B鎖が配列FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKT（配列番号:2）を含む、前記〔8〕に記載の複合物。

〔13〕該インスリンペプチドが単一鎖インスリンであり、さらにB及びA鎖を継ぎ合わせるペプチドリンカーが、SSSSKAPPPSLPSPSRLPGPSDTPILPQR（配列番号:52）、SSSSRAPPPSLPSPSRLPGPSDTPILPQK（配列番号:51）、GAGSSSX₅₇X₅₈（配列番号:76）、GYGSSSX₅₇X₅₈（配列番号:21）及びGYGSSSX₅₇X₅₈APQT（配列番号:77）から成る群から選択される、前記〔8〕 - 〔12〕のいずれか1項に記載の複合物：

式中、X₅₇及びX₅₈は別個にアルギニン、リジン又はオルニチンである。

〔14〕該ペプチドリンカーがGYGSSSR（配列番号:18）及びGAGSSSR（配列番号:22）から成る群から選択される、前記〔13〕に記載の複合物。

〔15〕該グルカゴン関連ペプチドが配列番号:72又は配列番号:72のアナログの配列を含み、前記アナログが、1、2、3、5、7、10、11、13、14、17、18、19、21、24、27、28及び29位から選択される、1つから3つのアミノ酸改変によって配列番号:72と異なり、該グルカゴン関連ペプチドが、12及び16、16及び20、20及び24、又は24及び28位のアミノ酸の側鎖間に分子内橋を含む、前記〔8〕 - 〔14〕のいずれか1項に記載の複合物又は医薬的に許容できるその塩。

〔16〕該グルカゴン関連ペプチドが、16及び20位のアミノ酸の間に塩橋又はラクタム架橋を含む、前記〔15〕に記載の複合物。

〔17〕前記グルカゴン関連ペプチドのカルボキシ末端に連結されている、配列番号:78、79及び80から成る群から選択されるペプチドをさらに含む、前記〔15〕又は〔16〕に記載の複合物。

〔18〕該グルカゴン関連ペプチドの3位のアミノ酸がグルタミン酸である、前記〔15〕 - 〔17〕のいずれか1項に記載の複合物。

〔19〕該グルカゴン関連ペプチドの28位のアミノ酸がAsp、Asn又はLysであり、かつ該グルカゴン関連ペプチドの29位のアミノ酸がGly又はThrである、前記〔18〕に記載の複合物。

〔20〕該グルカゴン関連ペプチドの16位のアミノ酸がグルタミン酸であり、該グルカゴン関連ペプチドの20位のアミノ酸がリジンであり、かつ該グルカゴン関連ペプチドのC - 末端カルボン酸基がアミドで取り替えられ、場合によって該グルカゴン関連ペプチドの16位のグルタミン酸及び20位のリジンの間でラクタム架橋を有する、前記〔15〕 - 〔19〕のいずれか1項に記載の複合物。

〔21〕該グルカゴン関連ペプチドの1位又は2位のアミノ酸が、ジペプチジルペプチダーゼIV（DPP - IV）による切断に対する感受性の減少を示すように改変される、前記〔20〕

に記載の複合物。

〔 2 2 〕該グルカゴン関連ペプチドが以下から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、前記〔 9 〕 - 〔 12 〕のいずれか1項に記載の複合物：

i . 配列番号 : 81、

j . 配列番号 : 83、

k . 配列番号 : 89、

l . 配列番号 : 84 - 88のいずれか1つ、

m . 配列番号 : 100 - 103のいずれか1つ、

n . 配列番号 : 108であって、20位のアミノ酸がアルギニン、オルニチン及びシトルリンから成る群から選択されるもの、

o . 配列番号 : 98、99、109 - 112、104 - 106、及び配列番号 : 72のいずれか1つであって、該ペプチドの28位のXaaがアスパラギン又はアスパラギン酸で、該ペプチドの29位のXaaがスレオニン又はグリシンで、かつ該ペプチドのC - 末端がさらに配列番号 : 78、配列番号 : 79、COOH又はCONH₂を含むもの、及び

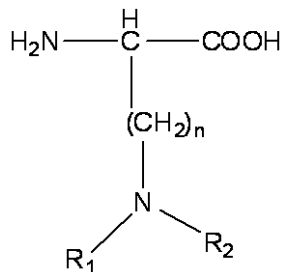
p . 配列番号 : 251、319及び510のいずれか1つ。

〔 2 3 〕該グルカゴン関連ペプチドが、GIPアゴニスト活性を有するグルカゴン（配列番号 : 701）のアナログを含み、前記アナログが、

（ a ） GIPアゴニスト活性を付与する1位のアミノ酸改変（場合によって1位のアミノ酸はイミダゾール側鎖を欠くアミノ酸）、

（ b ） 16位のSerの下記式IVのアミノ酸によるアミノ酸置換

【化 1】



〔式 IV〕

（式中、nは1から7であり、R₁及びR₂は別個にH、C₁ - C₁₈アルキル、(C₁ - C₁₈アルキル)OH、(C₁ - C₁₈アルキル)NH₂、(C₁ - C₁₈アルキル)SH、(C₀ - C₄アルキル)(C₃ - C₆)シクロアルキル、(C₀ - C₄アルキル)(C₂ - C₅複素環)、(C₀ - C₄アルキル)(C₆ - C₁₀アリール)R₇、及び(C₁ - C₄アルキル)(C₃ - C₉ヘテロアリール)から成る群から選択され、R₇はH又はOHであり、さらに式IVのアミノ酸の側鎖は遊離アミノ基を含み、式IVのアミノ酸は場合によってホモLys、Lys、Orn又は2,4 - ジアミノ酪酸（Dab）である）、

（ c ）該アナログの16、20、21及び24位のアミノ酸の1つ、2つ、3つ又は全ての、 - 二置換アミノ酸による置換、

（ d ）27、28及び29位の1つ、2つ又は全てにおけるアミノ酸改変、及び

（ e ）該グルカゴン配列（配列番号 : 701）に対する1つから9つの更なるアミノ酸改変、という上記改変の1つ以上を含み、

GIP受容体活性化のための該アナログのEC₅₀が約10nM以下である、前記〔 8 〕 - 〔 14 〕のいずれか1項に記載の複合物。

〔 2 4 〕該グルカゴン関連ペプチドが、

（ a ）1位のアミノ酸が大きな芳香族アミノ酸（場合によってTyr）であり、さらに

（ b ）（ i ）27位のMetの大きな脂肪族アミノ酸（場合によってLeu）による置換、（ ii ）28位のAsnの小さな脂肪族アミノ酸（場合によってAla）による置換か、若しくは（ iii ）29位のThrの小さな脂肪族アミノ酸（場合によってGly）による置換、又は該アナログが（ i ）、（ ii ）及び（ iii ）の組み合わせを含むという改変を含む、前記〔 23 〕に記載の複合物。

〔 2 5 〕該グルカゴン関連ペプチドがさらに、C - 末端から29位アミノ酸に設けられた位置で前記ペプチドに連結されているGPSSGAPPPS (配列番号:95) 又はXGPSSGAPPPS (配列番号:96) を含む、前記〔 23 〕又は〔 24 〕に記載の複合物。

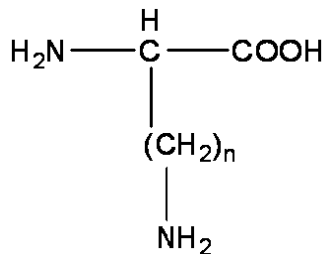
〔 2 6 〕該グルカゴン関連ペプチドがさらに、

(a) 2位のSerのD - Ser、Ala、D - Ala、Gly、N - メチル - Ser、AlB、Val又は - アミノ - N - 酪酸による置換、

(b) 3位のGlnのGluによる置換、

(c) 10位のアミノ酸Tyrのアシル基又はアルキル基に共有結合により連結されている側鎖を含むアミノ酸、場合によって下記式Iのアミノ酸による置換

【化 2】



(式中、n = 1から4)、

(d) 該アナログのC - 末端アミノ酸として、アシル基又はアルキル基に共有結合により連結されている側鎖を含むアミノ酸、場合によって式Iのアミノ酸の付加、

(e) 12位のLysのIleによる置換、

(f) 17位のArgのGlnによる置換、

(g) 18位のArgのAlaによる置換、

(h) 21位のAspのGluによる置換、

(i) 24位のGlnのAsnによる置換、及び

(j) C - 末端アミノ酸のカルボン酸の中性荷電基、場合によってアミドによる取り替え、という上記改変の1つ以上を含む、前記〔 23 〕 - 〔 25 〕のいずれか1項に記載の複合物。

〔 2 7 〕該グルカゴン関連ペプチドが配列番号:227、228、229又は230のいずれか1つのアミノ酸配列を含み、前記配列がさらに、GPSSGAPPPS (配列番号:820) 又はXGPSSGAPPPS (配列番号:1096) (式中Xは任意のアミノ酸) のアミノ酸配列の末端延長をC - 末端から29位アミノ酸に含む、前記〔 23 〕 - 〔 25 〕のいずれか1項に記載の複合物。

〔 2 8 〕該グルカゴン関連ペプチドが、配列番号:920 - 964、146 - 164、166、192 - 207、209 - 221及び223から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、前記〔 23 〕に記載の複合物。

〔 2 9 〕該グルカゴン関連ペプチドが配列番号:701又は改変配列番号:701の配列を含み、前記改変配列番号:701が、該グルカゴン関連ペプチドのC - 末端から27位のアミノ酸の位置に1つ、2つ、又は3つ以上の荷電アミノ酸及び配列番号:701に対して7つまでの追加のアミノ酸改変を含む、前記〔 8 〕 - 〔 14 〕のいずれか1項に記載の複合物。

〔 3 0 〕該荷電アミノ酸がGlu又はAspである、前記〔 29 〕に記載の複合物。

〔 3 1 〕該グルカゴン関連ペプチドが、HAEGTFTSDVSSYLEEQAAAREFIAWLVRGRG (配列番号:700)、HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRG (配列番号:703)、HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFICWL VKGR (配列番号:717)、HSQGTFTSDYSKYLDSSRAQDFVQWLMNT (配列番号:701) 又はHSQGTFTSD YSKYLDERRAQDFVQWLMNT (配列番号:699) の配列を含む、前記〔 8 〕 - 〔 14 〕のいずれか1項に記載の複合物。

〔 3 2 〕該インスリンペプチドが、配列GPEX₂₅LCGAX₃₀LVDALYLVC GD₄₂GFYFNX₄₈X₄₉GAGSSS RRGIVDECCX₈RSCDLRRLENYCN - R₁₃ (配列番号:144)、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTGAG SSSRRGIVEQCCTSI CSLYQLENYCN - R₁₃ (配列番号:143) 又はGPEHLCGAHLVDALYLVC GDRGFYFNDRG AGSSRRGIVDECCHRSCLRRLENYCN (配列番号:145) を含む単一鎖インスリンアナログである、前記〔 15 〕、〔 22 〕、〔 23 〕、〔 29 〕及び31のいずれか1項に記載の複合物：

式中、

X₈は、フェニルアラニン又はヒスチジンであり、

X₂₅は、ヒスチジン又はスレオニンであり、

X₃₀は、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、ホモシステイン酸及びシステイン酸であり、

X₄₂は、アラニン、オルニチン又はアルギニンであり、

X₄₈は、リジン又はアスパラギン酸であり、

X₄₉は、プロリン、オルニチン又はアルギニンであり、さらに

R₁₃はCOOH又はCONH₂である。

〔33〕さらに構造U-Jを含む、前記〔1〕-〔32〕のいずれか1項に記載の複合物の誘導体であって、式中、Uはアミノ酸又はヒドロキシル酸であり、Jは、Jのカルボキシル部分と該複合物のアミンとの間のアミド結合を介して前記複合物に連結されているN-アルキル化アミノ酸であり、ここで、U、J又はU-Jが連結されている該複合物のアミノ酸は非コードアミノ酸であり、さらに該複合物からU-Jが化学的に切断される半減期(t_{1/2})が、生理学的条件下のPBS中で少なくとも約1時間から約1週間である、前記複合物の誘導体。

〔34〕X₁₉が4-アミノフェニルアラニンであり、かつ該複合物がさらに構造U-Jを含むジペプチドを含み、式中、Uはアミノ酸又はヒドロキシル酸であり、Jは、Jのカルボキシル部分とA19位の4-アミノフェニルアラニンのパラアミンとの間のアミド結合を介して前記インスリンペプチドに連結されているN-アルキル化アミノ酸である、前記〔10〕に記載の複合物。

〔35〕構造U-Jに共有結合により連結されている親水性部分をさらに含む、前記〔33〕又は〔34〕に記載の複合物。

〔36〕親水性部分が、前記複合物のアミノ酸の側鎖に共有結合により連結されている、前記〔1〕から〔35〕のいずれか1項に記載の複合物。

〔37〕親水性部分が、A14、A15、B0、B1、B10、B22、B28、B29又は天然のグルカゴン(配列番号:701)の16、17、20、21、24若しくは29の対応する1つ以上の位置に、又は該グルカゴン関連ペプチドのC-末端領域に共有結合により連結されている、前記〔36〕に記載の複合物。

〔38〕該親水性部分がポリエチレングリコールである、前記〔35〕、〔36〕又は〔37〕に記載の複合物。

〔39〕あるアミノ酸側鎖に共有結合により連結されているアシル基又はアルキル基をさらに含む、前記〔1〕から〔38〕のいずれか1項に記載の複合物。

〔40〕前記アシル基又はアルキル基が、天然のグルカゴン(配列番号:701)の10位に対応するグルカゴン関連ペプチドの位置に、又はインスリンペプチドのA14、A15、B0、B1、B10、B22、B28、B29から選択される1つ以上の位置に、又は構造U-Jのアミノ酸の側鎖に共有結合に取り連結されている、前記〔39〕に記載の複合物。

〔41〕前記〔1〕から〔40〕のいずれか1項に記載の複合物、又は医薬的に許容できるその塩、及び医薬的に許容できる担体を含む医薬組成物。

〔42〕インスリンアゴニスト/インクレチン複合物をその必要がある患者に投与するためのキットであって、前記キットが前記〔41〕に記載の医薬組成物及び前記組成物を患者に投与するための装置を含む、前記キット。

〔43〕前記〔41〕に記載の組成物の複合物又は医薬的に許容できるその塩の糖尿病治療のための使用。