(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2016-503046
(P2016-503046A)
(43)公表日　平成28年2月1日(2016.2.1)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 14/605	(2006.01)	C07K	14/605	ZNA	4C084
A61K 38/26	(2006.01)	A61K	37/28		4H045
A61P 43/00	(2006.01)	A61P	43/00	111	
A61P 9/10	(2006.01)	A61P	9/10		
A61P 9/00	(2006.01)	A61P	9/00		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 140 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2015-548570 (P2015-548570)
(86)(22)出願日　平成25年12月19日 (2013.12.19)
(85)翻訳文提出日　平成27年8月17日 (2015.8.17)
(86)国際出願番号　PCT/EP2013/077357
(87)国際公開番号　WO2014/096179
(87)国際公開日　平成26年6月26日 (2014.6.26)
(31)優先権主張番号　12198295.3
(32)優先日　平成24年12月19日 (2012.12.19)
(33)優先権主張国　欧州特許庁 (EP)
(31)優先権主張番号　61/740,469
(32)優先日　平成24年12月21日 (2012.12.21)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　509091848
ノヴォ　ノルディスク　アー／エス
デンマーク，バウスヴェア　ディーケー－２８８０，ノヴォ　アレー
(74)代理人　100108453
弁理士　村山　靖彦
(74)代理人　100110364
弁理士　実広　信哉
(74)代理人　100133400
弁理士　阿部　達彦
(72)発明者　クレステャン・ベンゼル・トーヌ
デンマーク・ＤＫ－２８８０・バウスベア・ノヴォ・アレ・（番地なし）・ノヴォ・ノルディスク・アー／エス

最終頁に続く

(54)【発明の名称】コレステロール流出活性を有する新規ＧＬＰ－１受容体アゴニスト

(57)【要約】
本発明は、コレステロール流出を促進する新規なグルカゴン様タンパク質-1(GLP-1)受容体アゴニスト化合物を提供する。本発明は、新規グルカゴン様タンパク質-1(GLP-1)受容体アゴニスト化合物を含む組成物も提供し、治療における前記化合物の使用、患者への前記化合物の投与を含む治療方法、および医薬の製造における前記化合物の使用にも関する。

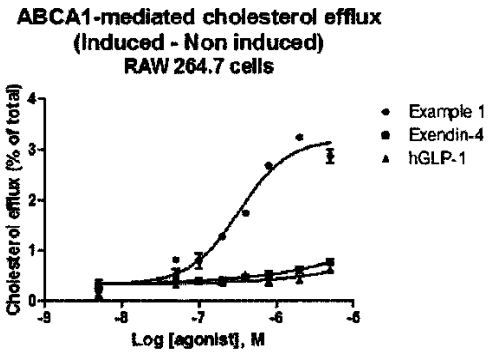


Fig. 2

【特許請求の範囲】
【請求項１】
αヘリックス構造に両親媒性ヘリックスを含むGLP-1受容体アゴニストペプチドであって、実施例6に記載される方法により測定した場合に、L-4Fの少なくとも65%のE_{max}のコレステロール流出活性およびL-4Fの効力より良好なEC_{50}として測定される効力を有するGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【請求項２】
少なくとも31個のアミノ酸残基を含む、請求項1に記載のGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【請求項３】
前記両親媒性ヘリックスが、少なくとも15個のアミノ酸残基を含む、請求項1または2に記載のGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【請求項４】
前記両親媒性ヘリックスが、親水性および親油性面を含む、請求項1から3のいずれか一項に記載のGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【請求項５】
前記親水性面が少なくとも6個のアミノ酸残基を含み、少なくとも4個のアミノ酸残基が帯電している、請求項4に記載のGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【請求項６】
前記親油性面が少なくとも7個のアミノ酸残基を含み、少なくとも6個のアミノ酸残基が親油性である、請求項4または5に記載のGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【請求項７】
配列番号9、配列番号10または配列番号11の配列と比較した場合に、60%以上、70%以上、80%以上、90%以上または95%以上の配列同一性を有し、追加で最大3個のAib置換を有するペプチドを含む、請求項1から6のいずれか一項に記載のGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【請求項８】
式Iのアミノ酸配列:
X_7-X_8-X_9-Gly-Thr-X_{12}-Thr-X_{14}-Asp-X_{16}-X_{17}-X_{18}-X_{19}-X_{20}-X_{21}-X_{22}-X_{23}-X_{24}-X_{25}-X_{26}-X_{27}-Phe-X_{29}-X_{30}-X_{31}-Leu-X_{33}-X_{34}-X_{35}-X_{36}-X_{37}-X_{38}-X_{39}-X_{40}-X_{41}-X_{42}-X_{43}-X_{44}-X_{45}-X_{46}-X_{47}-X_{48}-X_{49}-X_{50}
[式中、X_7はHisまたはデスアミノHisを表し;
X_8はAla、Gly、Gln、SerまたはAibを表し;
X_9はGlu、Asp、GlnまたはHisを表し;
X_{12}はPhe、TyrまたはLeuを表し;
X_{14}はSer、AsnまたはHisを表し;
X_{16}はVal、Tyr、Leu、IleまたはMetを表し;
X_{17}はSerまたはThrを表し;
X_{18}はSer、Lys、Arg、Glu、AsnまたはGlnを表し;
X_{19}はTyrまたはGlnを表し;
X_{20}はLeu、MetまたはTyrを表し;
X_{21}はGlu、AspまたはGlnを表し;
X_{22}はGly、Ser、Glu、Lys、AibまたはProを表し;
X_{23}はGln、Glu、Lys、Trp、ArgまたはAspを表し;
X_{24}はAla、Aib、LysまたはArgを表し;
X_{25}はAla、Val、Phe、His、Leu、Met、Trp、Tyr、IleまたはAibを表し;
X_{26}はLys、Asn、Glu、Arg、His、Gly、ValまたはGlnを表し;
X_{27}はGlu、Asp、Gln、Ala、His、Gly、Arg、Lys、AibまたはLeuを表し;
X_{29}はIleまたはValを表し;
X_{30}はAla、Val、Gln、Ile、Trp、Aib、Glu、ArgまたはLysを表し;

X_{31}はTrp、Gln、LysまたはHisを表し;
X_{33}はVal、Met、Ile、Leu、Thr、ArgまたはLysを表し;
X_{34}はLys、Glu、Asn、Asp、Gln、His、GlyまたはArgを表し;
X_{35}はGly、Lys、Arg、His、Ser、Thr、Aib、AlaまたはGlnを表し;
X_{36}はGly、Aib、Val、Leu、Ala、His、Ile、Met、Trp、TyrまたはPheを表し;
X_{37}はGly、Ala、Glu、Aib、His、Arg、Leu、Pro、LysまたはGlnを表し;
X_{38}はGlu、Ser、Asp、His、Gly、Glnもしくはアミドを表す、またはX_{38}は存在せず;
X_{39}はPhe、Leu、His、Ala、Ser、Ile、Met、Val、Trp、Tyr、Gly、Glu、Lysもしくはアミドを表す、またはX_{39}が存在せず;
X_{40}はLeu、Phe、Val、His、Gly、Ala、Ile、Met、Trp、Tyrもしくはアミドを表す、またはX_{40}は存在せず;
X_{41}はGlu、Asp、Ala、Gly、Lysもしくはアミドを表す、またはX_{41}は存在せず;
X_{42}はLeu、Pro、Lys、Argもしくはアミドを表す、またはX_{42}は存在せず;
X_{43}はLeu、Pro、Valもしくはアミドを表す、またはX_{43}は存在せず;
X_{44}はLysもしくはアミドを表す、またはX_{44}は存在せず;
X_{45}はGluもしくはアミドを表す、またはX_{45}は存在せず;
X_{46}はPhe、Ileもしくはアミドを表す、またはX_{46}は存在せず;
X_{47}はIleもしくはアミドを表す、またはX_{47}は存在せず;
X_{48}はAlaもしくはアミドを表す、またはX_{48}は存在せず;
X_{49}はTrpもしくはアミドを表す、またはX_{49}は存在せず;
X_{50}はアミドを表す、またはX_{50}は存在せず;
ただし、X_{38}、X_{39}、X_{40}、X_{41}、X_{42}、X_{43}、X_{44}、X_{45}、X_{46}、X_{47}、X_{48}、X_{49}またはX_{50}が存在しない場合に、下流の各アミノ酸残基も存在しない]
を含むGLP-1受容体アゴニストペプチドまたは薬学的に許容できるその塩、アミド、エステル、酸もしくはプロドラッグである、請求項1から7のいずれか一項に記載のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【請求項９】

X_7～X_{35}が、最大12個のアミノ酸置換を有するエキセンディン-4(1-29)、GLP-1(7-35)またはグルカゴンペプチド(1-29)を表す、請求項8に記載のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【請求項１０】

式Iのアミノ酸配列:

X_7-X_8-X_9-Gly-Thr-X_{12}-Thr-X_{14}-Asp-X_{16}-X_{17}-X_{18}-X_{19}-X_{20}-X_{21}-X_{22}-X_{23}-X_{24}-X_{25}-X_{26}-X_{27}-Phe-X_{29}-X_{30}-X_{31}-Leu-X_{33}-X_{34}-X_{35}-X_{36}-X_{37}-X_{38}-X_{39}-X_{40}-X_{41}-X_{42}-X_{43}-X_{44}-X_{45}-X_{46}-X_{47}-X_{48}-X_{49}-X_{50}

[式中、
X_7はHisまたはデスアミノHisを表し;
X_8はAla、Gly、SerまたはAibを表し;
X_9はGlu、Asp、GlnまたはHisを表し;
X_{12}はPhe、TyrまたはLeuを表し;
X_{14}はSer、AsnまたはHisを表し;
X_{16}はVal、Tyr、Leu、IleまたはMetを表し;
X_{17}はSerまたはThrを表し;
X_{18}はSer、Lys、Arg、Glu、AsnまたはGlnを表し;
X_{19}はTyrまたはGlnを表し;
X_{20}はLeu、MetまたはTyrを表し;
X_{21}はGlu、AspまたはGlnを表し;
X_{22}はGly、Ser、Glu、Pro、LysまたはAibを表し;
X_{23}はGln、Glu、Lys、TrpまたはAspを表し;
X_{24}はAla、Aib、LysまたはArgを表し;

X_{25}はAla、Val、Leu、IleまたはAibを表し;
X_{26}はLys、Asn、Glu、Arg、His、Gly、ValまたはGlnを表し;
X_{27}はGlu、Asp、Gln、Ala、His、Gly、Arg、Lys、AibまたはLeuを表し;
X_{29}はIleまたはValを表し;
X_{30}はAla、Val、Gln、Ile、Trp、Aib、Glu、ArgまたはLysを表し;
X_{31}はTrp、Gln、LysまたはHisを表し;
X_{33}はVal、Ile、Leu、Thr、ArgまたはLysを表し;
X_{34}-X_{35}-X_{36}-X_{37}-X_{38}-X_{39}は、以下のアミノ酸残基「Glu-Lys-Aib-Lys-Glu-Phe」によって構成される部分配列1を表し;またはその部分配列1中で、1つ、2つもしくは3つのアミノ酸残基が、
X_{34}位において[Asn、Gln、Lys、His、Gly、ArgまたはAsp];
X_{35}位において[Arg、Ala、His、Gln、AsnまたはAib];
X_{36}位において[Gly、Val、Leu、Phe、Ile、Trp、Tyr、Ala、MetまたはHis];
X_{37}位において[Arg、Ala、Leu、Gly、His、Gln、Asn、Aib、Ile、ValまたはPhe];
X_{38}位において[Asp、His、Gln、Ser、Gly、AsnまたはThr];および/または
X_{39}位において[Trp、Ala、Glu、Leu、Val、Gly、His、Lys、Ser、Thr、Tyr、Aib、IleまたはMet]
で置換されており;
X_{40}はLeu、Phe、Val、His、Tyrもしくはアミドを表す、またはX_{40}は存在せず;
X_{41}はGlu、Asp、Ala、Gly、Lysもしくはアミドを表す、またはX_{41}は存在せず;
X_{42}はLeu、Pro、Lys、Argもしくはアミドを表す、またはX_{42}は存在せず;
X_{43}はLeu、Pro、Valもしくはアミドを表す、またはX_{43}は存在せず;
X_{44}はLysもしくはアミドを表す、またはX_{44}は存在せず;
X_{45}はGluもしくはアミドを表す、またはX_{45}は存在せず;
X_{46}はPhe、Ileもしくはアミドを表す、またはX_{46}は存在せず;
X_{47}はIleもしくはアミドを表す、またはX_{47}は存在せず;
X_{48}はAlaもしくはアミドを表す、またはX_{48}は存在せず;
X_{49}はTrpもしくはアミドを表す、またはX_{49}は存在せず;
X_{50}はアミドを表す、またはX_{50}は存在せず;
ただし、
X_{41}、X_{42}、X_{43}、X_{44}、X_{45}、X_{46}、X_{47}、X_{48}、X_{49}またはX_{50}が存在しない場合に、下流の各アミノ酸残基も存在しない]
を含むGLP-1受容体アゴニストペプチドおよび薬学的に許容できるその塩、アミド、エステル、酸またはプロドラッグ。

【請求項１１】
最大10個の保存的突然変異を有し、最大45個のアミノ酸残基を保持している配列番号9のアミノ酸配列を含む、いずれか一項に記載のGLP-1受容体アゴニスト。

【請求項１２】
最大10個の保存的突然変異を持ち、最大45個のアミノ酸残基を保持している配列番号10のアミノ酸配列を含む、いずれか一項に記載のGLP-1受容体アゴニスト。

【請求項１３】
最大10個の保存的突然変異を持ち、最大45個のアミノ酸残基を保持している配列番号11のアミノ酸配列を含む、いずれか一項に記載のGLP-1受容体アゴニスト。

【請求項１４】
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib2,Gly16,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド;
[Aib8,Glu23,Aib24,Val25,Aib30,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-His-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-His-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Aib36,Lys37]-des-Lys34-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチドアミド;
[Aib2,Gly16,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド;
[Tyr12,Asn14,Thr17,Glu18,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Asp9,Leu12,Ile16,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[His14,Tyr20,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu;
[Aib8,Glu23,Val25,His31,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Asp23,Val25,Asp27,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Arg26,Glu34,Arg35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Leu36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Leu-Valアミド;
[Aib8,Trp23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Hisアミド;
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチド;
[Aib2,Gly16,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Glu28,Lys29]-グルカゴニル-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib2,Gly16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Glu28,Lys29]-グルカゴニル-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib2,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Glu28,Lys29]-グルカゴニル-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド;
[Asn14,Met16,Thr17,Asn18,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Gly36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Leu27,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンデ

ィン-4-(1-37)-ペプチドアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-His-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib2,Glu21,Lys29,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド；
[Aib2,Glu21,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド；
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド；
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド；
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド；
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド；
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド；
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド；
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド；
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34]-エキセンディン-4-(1-34)-ペプチドアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Arg26,Glu34,Arg35,Aib36,Arg37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Asn14,Met16,Thr17,Asn18,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Phe36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Ala-Pheアミド；
[Aib8,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Lys35,Aib36]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Lys24,Val25,Glu30,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Trp30,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Lys27,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Lys23,Arg24,Arg26,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Arg24,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys-Valアミド；
[Aib2,His3,Glu15,Glu16,Glu17,Ala18,Lys20,Glu21,Ile23,Ala24,Leu27,Glu28,Lys29]-グルカゴニル-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド；

[Glu15,Glu16,Gln17,Ala18,Lys20,Glu21,Ile23,Ala24,Leu27,Glu28,Lys29]-グルカゴニル-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド；
[Glu15,Glu16,Lys17,Ala18,Lys20,Glu21,Ile23,Ala24,Leu27,Glu28,Lys29]-グルカゴニル-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド；
[Glu15,Glu16,Lys17,Lys18,Lys20,Glu21,Ile23,Ala24,Leu27,Glu28,Lys29]-グルカゴニル-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド；
[Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Glu28,Lys29]-グルカゴニル-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Lys24,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys-Val-Lys-Glu-Pheアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Pheアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Gluアミド；
[Aib8,Glu23,Lys24,Val25,Glu34,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Val29,Gln30,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Gluアミド；
[Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Ala2,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Glu28,Lys29]-グルカゴニル-(1-29)-Val-Lys-Glu-Phe-Leuアミド；
[Ala2,Glu21,Lys29,Val30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34]-エキセンディン-4-(1-34)-ペプチドアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lysアミド；
[Aib8,Glu23,Lys24,Val25,Glu30,His31,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Val25,Gln27,Glu34,Lys35,Aib36,Ala37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Val25,Asn34,Lys35,Aib36,Ala37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Val25,Gln27,Asn34,Lys35,Aib36,Ala37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Val36]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Gly8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[デスアミノ-His7,Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Gly8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-His-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Gln30,Leu33,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Arg26,Val29,Gln30,Leu33,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Arg26,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；

[Aib8,Glu23,Val25,Val29,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Gln30,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Leu33,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Lys30,Glu34,Lys35,Leu36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Lys30,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Gln30,His31,Glu34,Lys35,Leu36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Leu37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Ser-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Leu33,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Trp-Leuアミド;
[Aib8,Lys23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Arg26,Glu34,Arg35,Val36,Arg37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Lysアミド;
[Gly8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Gly;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Phe36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Pheアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Gln26,Glu34,Ala35,Val36,Ala37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Gln26,Glu34,Gln35,Aib36,Gln37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Lys24,Val25,Glu30,His31,Glu34,Lys35,Phe36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Pheアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys-Val-Lys-Glu-Phe;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys-Val;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu;
[Aib8,Pro22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Val25,Gln27,Gln34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Gln-Phe-Leuアミド;
[Lys24,Glu34,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Hisアミド;
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Gluアミド;
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-His-Leuアミド;
[Glu34,Lys35,Val36]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Leu-Leuアミド;

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Lysアミド；
[Gly8,Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Lys-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu30,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Lys-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Gly36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Asp-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Gly-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Glu-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Gly-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Lys-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Leu-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Val-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Pheアミド；
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Pheアミド；
[Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys；
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys；
[Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-His-Leu-Glu-Lys；
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-His-Leu-Glu-Lys；
[Glu34,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys；
[Glu34,Lys35,Val36]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys；
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Asp-Lys；
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Arg；
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Tyrアミド；
[Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Pheアミド；
[Gly8,Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Pheアミド；
[Aib8,Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Pheアミド；
[Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Gly8,Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Glu23,Val25,Arg26,Glu34,Arg35,Val36,Arg37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys；

[Glu23,Val25,Arg26,His34,Arg35,Val36,Arg37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys;
[Glu34,His35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;および
[Glu34,Lys35,Val36,His37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド
からなる群から選択されるGLP-1受容体アゴニスト。

【請求項１５】

請求項1から14のいずれか一項に記載のGLP-1受容体アゴニストペプチドの治療上有効な量を、任意選択で1つ以上の薬学的に許容される担体または希釈剤と組み合わせて含む医薬組成物。

【請求項１６】

医薬として使用される、請求項1から14のいずれか一項に記載のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【請求項１７】

心血管疾患、内皮細胞機能不全、大血管障害、微小血管性障害、アテローム性動脈硬化症および高血圧などの脂質異常症、高コレステロール血症ならびに炎症と関連する疾患もしくは状態の治療;または糖尿病患者における、心血管疾患、内皮細胞機能不全、大血管障害、微小血管性障害、アテローム性動脈硬化症および高血圧から選択される疾患もしくは状態の治療に使用される、請求項1から14のいずれか一項に記載のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【請求項１８】

心血管疾患、内皮細胞機能不全、高脂血症、高トリグリセリド血症、高コレステロール血症、高リポタンパク血症、HDL欠乏症、ApoA-I欠乏症、冠動脈疾患、アテローム性動脈硬化症、高血圧、脳卒中、虚血、梗塞、心筋梗塞、出血、末梢血管疾患、再狭窄、急性冠動脈症候群または再灌流心筋障害、大血管障害および微小血管障害などの脂質異常症、炎症ならびに血管障害と関連する疾患もしくは状態を治療および/もしくは予防する;または糖尿病患者における、心血管疾患、内皮細胞機能不全、大血管障害、微小血管性障害、アテローム性動脈硬化症および高血圧から選択される疾患もしくは状態を治療するための医薬の製造における、請求項1から14のいずれか一項に記載のGLP-1受容体アゴニストペプチドの使用。

【請求項１９】

請求項1から14のいずれか一項に記載のGLP-1受容体アゴニストペプチドを薬学的に活性がある量投与することにより、心血管疾患、内皮細胞機能不全、高脂血症、高トリグリセリド血症、高コレステロール血症、高リポタンパク血症、HDL欠乏症、ApoA-I欠乏症、冠動脈疾患、アテローム性動脈硬化症、高血圧、脳卒中、虚血、梗塞、心筋梗塞、出血、末梢血管疾患、再狭窄、急性冠動脈症候群または再灌流心筋障害、大血管障害および微小血管性障害などの脂質異常症、炎症および血管障害と関連する疾患もしくは状態を治療および/もしくは予防する;または糖尿病患者における、心血管疾患、内皮細胞機能不全、大血管障害、微小血管性障害、アテローム性動脈硬化症および高血圧から選択される疾患もしくは状態を治療する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

配列表

10.3キロバイトの配列表を、2012年12月19日に作成し、参照により本明細書に組み込む。

【０００２】

本発明は、コレステロール流出を促進する新規なグルカゴン様タンパク質-1(GLP-1)受容体アゴニスト化合物を提供する。本発明は、新規グルカゴン様タンパク質-1(GLP-1)受容体アゴニスト化合物を含む組成物も提供し、治療における前記化合物の使用、患者への前記化合物の投与を含む治療方法、および医薬の製造における前記化合物の使用にも関す

る。

【背景技術】

【０００３】

糖尿病は、高血糖によって特徴づけられる一群の慢性疾患である。現代の医療は無数の生活様式を使用しており、医薬品介入は高血糖を予防および管理することを目指した。高血糖の管理にもかかわらず、世界中の糖尿病患者の疾病率および死亡率の主因は、心血管疾患(CVD)のままである(Valensi P、Picard S: Lipids, lipid-lowering therapy and diabetes complications; Diabetes Metab.、2011年、37(1) 15～24頁)。

【０００４】

CVDの主要な原因は、加速したアテローム性動脈硬化症;動脈壁における慢性炎症性疾患である(Farmer JA、Liao J: Evolving concepts of the role of high-density lipoprotein in protection from atherosclerosis; Curr. Atheroscler. Rep.、2011年、13 (2) 107～14頁)。アテローム性動脈硬化性プラーク形成は、血管壁の内層(すなわち内膜)における、主に血漿低密度リポタンパク質(LDL)に由来する過剰なコレステロールの沈着によって始まる。コレステロール含有LDLは、酸化またはさもなければ修飾され、常在マクロファージに取り込まれ、したがって常在マクロファージを脂質の充満した泡沫細胞に変える。コレステロールは、特異的な輸送体(ABCA-1およびABCG-1)によって血管壁、マクロファージおよび泡沫細胞から高密度リポタンパク質(HDL)粒子へと流出し、肝臓に輸送されて胆汁によって排泄され得る。このプロセスは、コレステロール逆輸送(RCT)として公知である。

【０００５】

低レベルのHDLまたはHDLの機能不全がCVDのリスク増加と相関していることを示唆する研究がある。2型糖尿病患者には、HDLレベルの低下およびHDLの機能不全がしばしばあり、したがってCVDのリスクが上昇する(Farbstein D、Levy AP: HDL dysfunction in diabetes: causes and possible treatments; Expert. Rev. Cardiovasc. Ther.、2012年、10 (3) 353～61頁;Barter P HDL-C: Role as a risk modifier; Atheroscler. Suppl.、2011年、12 (3) 267～70頁)。さらに、最近の研究は、コレステロール逆輸送(コレステロール流出容量として測定される)を発揮する血漿の能力が、心血管疾患のリスクを決定することも示唆している(Khera AV、Cuchel M、de la Llera-Moya M、Rodrigues A、Burke MF、Jafri K、French BC、Phillips JA、Mucksavage ML、Wilensky RL、Mohler ER、Rothblat GH、Rader DJ: Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis; N. Engl. J. Med.、2011年、13 364 (2) 127～35頁)。

【０００６】

被験者におけるApoA-IまたはそのバリアントApoA-I Milanoの静注がアテローム性動脈硬化症を有意に退行できることを示唆した研究もある(Nissen SE、Tsunoda T、Tuzcu EM、Schoenhagen P、Cooper CJ、Yasin M、Eaton GM、Lauer MA、Sheldon WS、Grines CL、Halpern S、Crowe T、Blankenship JC、Kerensky R; JAMA、2003年、5 290(17) 2292～2300頁)。しかしながら、ApoA-Iによる治療は、高いコストおよび静注または点滴の必要性のためかなりの制限があり、主に急性治療に対してだけ適当になる。

【０００７】

グルカゴン様タンパク質-1(GLP-1)受容体アゴニストペプチドは、2型糖尿病患者において血糖管理の改善、糖化ヘモグロビンA1c(HbA1c)の低減および全体的な脂質プロファイルの改善を伴う体重の低減など糖尿病患者にいくつかの有益な効果を有することが示された。3つの承認されたGLP-1受容体アゴニスト、ビクトーザ(登録商標)、バイエッタ(登録商標)およびバイデュレオン(登録商標)が、現在市販されている。これらの化合物は、ほとんどの場合、1つまたはいくつかの他の血糖低減薬と併用して摂取される。この利用可能な治療にもかかわらず、多くの糖尿病患者はまだ、不十分な血糖管理とHbA1cの上昇の両方を患っており、心血管疾患のリスク増加もある。

【０００８】

GLP-1およびエキセンディン-4は、GLP-1受容体のN末端に結合していてもコレステロー

ル流出活性を保有せず(Underwoodら、J. Biol. Chem.、2010年、285 723頁;およびRungeら、J. Biol. Chem.、2008年、283 11340頁)、一部が両親媒性のαヘリックス構造をとる。この作用が存在しない理由の考え得る解釈の1つは、ヘリックスの両親媒性部分がおよそ13残基の長さであり、これはコレステロール流出活性を促進するには短かすぎるということである。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００９】

【特許文献１】米国特許第5,424,286号
【特許文献２】WO 2006/044596
【特許文献３】WO 2009/032749
【特許文献４】WO 99/16459
【特許文献５】WO 2009/155366
【特許文献６】WO 2008/115303
【特許文献７】WO 2009/083549 A1
【特許文献８】WO 2010/052335 A1

【非特許文献】

【００１０】

【非特許文献１】Valensi P、Picard S: Lipids, lipid-lowering therapy and diabetes complications; Diabetes Metab.、2011年、37(1) 15～24頁
【非特許文献２】Farmer JA、Liao J: Evolving concepts of the role of high-density lipoprotein in protection from atherosclerosis; Curr. Atheroscler. Rep.、2011年、13 (2) 107～14頁
【非特許文献３】Farbstein D、Levy AP: HDL dysfunction in diabetes: causes and possible treatments; Expert. Rev. Cardiovasc. Ther.、2012年、10 (3) 353～61頁
【非特許文献４】Barter P HDL-C: Role as a risk modifier; Atheroscler. Suppl.、2011年、12 (3) 267～70頁
【非特許文献５】Khera AV、Cuchel M、de la Llera-Moya M、Rodrigues A、Burke MF、Jafri K、French BC、Phillips JA、Mucksavage ML、Wilensky RL、Mohler ER、Rothblat GH、Rader DJ: Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis; N. Engl. J. Med.、2011年、13 364 (2) 127～35頁
【非特許文献６】Nissen SE、Tsunoda T、Tuzcu EM、Schoenhagen P、Cooper CJ、Yasin M、Eaton GM、Lauer MA、Sheldon WS、Grines CL、Halpern S、Crowe T、Blankenship JC、Kerensky R; JAMA、2003年、5 290(17) 2292～2300頁
【非特許文献７】Underwoodら、J. Biol. Chem.、2010年、285 723頁
【非特許文献８】Rungeら、J. Biol. Chem.、2008年、283 11340頁
【非特許文献９】Needleman, S.B.およびWunsch, C.D.; Journal of Molecular Biology、1970年、48:443～453頁
【非特許文献１０】MyersおよびW. Miller in "Optimal Alignments in Linear Space" CABIOS (computer applications in the biosciences)、1988年、4 11～17頁
【非特許文献１１】Navabら; Apolipoprotein A-I Mimetic Peptides、Arterioscler Thromb Vasc Biol.、2005年;25:1325～1331頁
【非特許文献１２】Segrestら; PROTEINS Structure, Function, and Genetics、15349～359頁(1993)
【非特許文献１３】Stability of Protein Pharmaceuticals、Ahern. T.J.およびManning M.C.、Plenum Press、New York 1992年
【非特許文献１４】Johan GabrielssonおよびDaniel Weiner: Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Data Analysis. Concepts & Applications、第3版、Swedish Pharmaceutical Press、Stockholm、2000年
【非特許文献１５】Rowland, MおよびTozer TN: Clinical Pharmacokinetics: Concepts

and Applications、第3版、1995年、Williams Wilkins
【非特許文献１６】GreeneおよびWuts、「Protective Groups in Organic Synthesis」、John Wiley & Sons、1999年
【非特許文献１７】Florencio Zaragoza Doerwald、「Organic Synthesis on solid Phase」、Wiley-VCH Verlag GmbH、2000年
【非特許文献１８】「Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis」、W.C. ChanおよびP.D. White編、Oxford University Press、2000年
【非特許文献１９】Hodgsonら、The synthesis of peptides and proteins containing non-natural amino acids; Chemical Society Reviews、2004年、33 7 422～430頁
【非特許文献２０】Remington: The Science and Practice of Pharmacy、第19版(1995)
【非特許文献２１】W.R. Sampson (1999)、J. Pep. Sci.、5、403頁

【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【００１１】
良好な血液HbA1c管理とコレステロール流出活性の増大の両方をもたらす新規のGLP-1受容体アゴニストは、糖尿病患者における心血管疾患のリスクを低下させる治療の満たされていない必要性を解決できるので、糖尿病患者にとって大きな利益になり得る。したがって、GLP-1受容体アゴニストであるだけでなくコレステロール流出を促進する能力も有する新たなペプチドの開発は、非常に見込みがある治療手法を構成する。
【課題を解決するための手段】
【００１２】
本発明は、コレステロール流出を促進する新規のGLP-1受容体アゴニスト化合物、その組成物、治療における前記化合物の使用、患者への前記化合物の投与を含む治療方法、および医薬の製造における前記化合物の使用に関する。
【００１３】
一実施形態において、本発明は、αヘリックス構造に両親媒性ヘリックスを含む新規のGLP-1受容体アゴニストを提供する。
【００１４】
別の実施形態において、本発明は、αヘリックス構造に両親媒性ヘリックスを含む新規のGLP-1受容体アゴニストペプチドであって、実施例6の方法により測定した場合に、L-4Fの少なくとも65%のE_{max}のコレステロール流出活性およびL-4Fの効力より良好なEC_{50}として測定される効力を有するGLP-1受容体アゴニストペプチドを提供する。
【００１５】
第3の実施形態において、本発明は、αヘリックス構造に15個以上のアミノ酸残基を保持している両親媒性ヘリックスを含む新規のGLP-1受容体アゴニストを提供する。
【００１６】
第4の実施形態において、本発明のGLP-1受容体アゴニストは、コレステロール流出を促進し、さらにGLP-1受容体に結合しそれを活性化する。
【００１７】
第5の実施形態において、本発明は、コレステロール流出活性を有する新規のGLP-1受容体アゴニストを提供する。
【００１８】
さらなる実施形態において、本発明は、式Iのアミノ酸配列:
X_7-X_8-X_9-Gly-Thr-X_{12}-Thr-X_{14}-Asp-X_{16}-X_{17}-X_{18}-X_{19}-X_{20}-X_{21}-X_{22}-X_{23}-X_{24}-X_{25}-X_{26}-X_{27}-Phe-X_{29}-X_{30}-X_{31}-Leu-X_{33}-X_{34}-X_{35}-X_{36}-X_{37}-X_{38}-X_{39}-X_{40}-X_{41}-X_{42}-X_{43}-X_{44}-X_{45}-X_{46}-X_{47}-X_{48}-X_{49}-X_{50}
[式中、X_7はHisまたはデスアミノHisを表し;
X_8はAla、Gly、SerまたはAibを表し;
X_9はGlu、Asp、GlnまたはHisを表し;
X_{12}はPhe、TyrまたはLeuを表し;

X_{14}はSer、AsnまたはHisを表し;
X_{16}はVal、Tyr、Leu、IleまたはMetを表し;
X_{17}はSerまたはThrを表し;
X_{18}はSer、Lys、Arg、Glu、AsnまたはGlnを表し;
X_{19}はTyrまたはGlnを表し;
X_{20}はLeu、MetまたはTyrを表し;
X_{21}はGlu、AspまたはGlnを表し;
X_{22}はGly、Ser、Glu、Pro、LysまたはAibを表し;
X_{23}はGln、Glu、Lys、TrpまたはAspを表し;
X_{24}はAla、Aib、LysまたはArgを表し;
X_{25}はAla、Val、Leu、IleまたはAibを表し;
X_{26}はLys、Asn、Glu、Arg、His、Gly、ValまたはGlnを表し;
X_{27}はGlu、Asp、Gln、Ala、His、Gly、Arg、Lys、AibまたはLeuを表し;
X_{29}はIleまたはValを表し;
X_{30}はAla、Val、Gln、Ile、Trp、Aib、Glu、ArgまたはLysを表し;
X_{31}はTrp、Gln、LysまたはHisを表し;
X_{33}はVal、Ile、Leu、Thr、ArgまたはLysを表し;
X_{34}-X_{35}-X_{36}-X_{37}-X_{38}-X_{39}は、以下のアミノ酸残基「Glu-Lys-Aib-Lys-Glu-Phe」によって構成される部分配列1を表し;またはその部分配列1中で、1つ、2つもしくは3つのアミノ酸残基が、
X_{34}位において[Asn、Gln、Lys、His、Gly、ArgまたはAsp];
X_{35}位において[Arg、Ala、His、Gln、AsnまたはAib];
X_{36}位において[Gly、Val、Leu、Phe、Ile、Trp、Tyr、Ala、MetまたはHis];
X_{37}位において[Arg、Ala、Leu、Gly、His、Gln、Asn、Aib、Ile、ValまたはPhe];
X_{38}位において[Asp、His、Gln、Ser、Gly、AsnまたはThr];および/または
X_{39}位において[Trp、Ala、Glu、Leu、Val、Gly、His、Lys、Ser、Thr、Tyr、Aib、IleまたはMet]
で置換されており;
X_{40}はGly、Leu、Phe、Val、His、Tyrもしくはアミドを表す、またはX_{40}は存在せず;
X_{41}はGlu、Asp、Ala、Gly、Lysもしくはアミドを表す、またはX_{41}は存在せず;
X_{42}はLeu、Pro、Lys、Argもしくはアミドを表す、またはX_{42}は存在せず;
X_{43}はLeu、Pro、Valもしくはアミドを表す、またはX_{43}は存在せず;
X_{44}はLysもしくはアミドを表す、またはX_{44}は存在せず;
X_{45}はGluもしくはアミドを表す、またはX_{45}は存在せず;
X_{46}はPhe、Ileもしくはアミドを表す、またはX_{46}は存在せず;
X_{47}はIleもしくはアミドを表す、またはX_{47}は存在せず;
X_{48}はAlaもしくはアミドを表す、またはX_{48}は存在せず;
X_{49}はTrpもしくはアミドを表す、またはX_{49}は存在せず;
X_{50}はアミドを表す、またはX_{50}は存在せず;
ただし、
X_{41}、X_{42}、X_{43}、X_{44}、X_{45}、X_{46}、X_{47}、X_{48}、X_{49}またはX_{50}が存在しない場合に、下流の各アミノ酸残基も存在しない]
を含む新規のGLP-1受容体アゴニストおよび薬学的に許容できるその塩、アミド、エステル、酸またはプロドラッグを提供する。

【００１９】

さらに他の実施形態において、上記の通り、GLP-1受容体アゴニストペプチドは式Iのペプチドを表し、X_7～X_{35}は、最大10個のアミノ酸置換を有するExendin-4(1-29)を表す。

【００２０】

なおさらなる実施形態において、上記の通り、GLP-1受容体アゴニストペプチドは式Iのペプチドを表し、X_7～X_{35}は、最大10個のアミノ酸置換を有するGLP-1(7-35)を表す。

【００２１】
なおさらなる実施形態において、上記の通り、GLP-1受容体アゴニストペプチドは式Iのペプチドを表し、X_7～X_{35}は、最大10個のアミノ酸置換を有するグルカゴンペプチド(1-29)を表す。
【００２２】
本発明はさらに、本発明のGLP-1受容体アゴニストペプチドに関し、前記GLP-1受容体アゴニストペプチドは、C末端でApoA-I模倣体ペプチドと融合している。
【００２３】
本発明は、本発明のGLP-1受容体アゴニストペプチドを含む医薬組成物も提供する。
【００２４】
本発明は、医薬として使用されるGLP-1受容体アゴニストペプチドも提供する。
【００２５】
本発明は、ペプチド、その組成物、糖尿病、肥満、脂質異常症、炎症性疾患、高コレステロール血症、心血管疾患、アテローム性動脈硬化症、内皮細胞機能不全、大血管障害または微小血管性障害を含むがこれに限定されない疾患を治療または予防するための使用および方法も提供する。
【００２６】
一実施形態において、本発明のペプチドは、HbA1Cを低下させ、一方でコレステロール流出も促進する。
【００２７】
本発明は、新規のGLP-1受容体アゴニスト化合物を提供し、その化合物は、驚くべきことに、GLP-1受容体結合および活性化の効果と、コレステロール流出の促進の効果とを兼ね備え、したがって血糖の減少と糖尿病患者に見られる心血管系の合併症の予防または治療の両方を解決する新規の治療概念を提供する。
【００２８】
本発明は、典型的な実施形態の開示から明らかになるさらなる問題を解決することもできる。
【発明を実施するための形態】
【００２９】
本発明は、糖尿病と心血管疾患の両方を標的にするという長所を有する、すなわち、血糖を低下させるだけでなく心血管疾患のリスクも減少させる新規の二重作用ペプチドに関する。多くの糖尿病患者には心血管疾患の高いリスクがあるので、これは糖尿病治療において満たされていない必要性である。
【００３０】
本発明は、新規のGLP-1受容体アゴニストペプチドを提供し、その化合物は、驚くべきことに、GLP-1受容体結合および活性化の効果と、コレステロール流出の促進の効果とを兼ね備え、したがって血糖の減少と糖尿病患者に見られる心血管系の合併症の予防または治療の両方を解決する新規の治療概念を提供する。
【００３１】
本発明は、驚くべきことに、生理的に妥当な濃度でコレステロール流出活性を発揮するペプチドを提供する。天然のGLP-1およびExendin-4ペプチドは生理的に妥当な濃度でコレステロール流出活性を発揮しないので、これは驚くべきである(すなわち、EC_{50}は10μMを越える、図2を参照のこと)。
【００３２】
より具体的には、本発明は、二重作用の、すなわちGLP-1受容体に結合しそれを活性化させるだけでなくコレステロール流出も発揮する新規のGLP-1受容体アゴニストペプチドに関する。これらの二重作用ペプチドは、直接に、または脂質に結合することによってもしくは媒介物質を介してその効果を発揮する。媒介物質には、それだけには限らないが、HDL、ABC輸送体ならびに酸化および炎症に関わる媒介物質がある。
【００３３】

本発明のGLP-1受容体アゴニストペプチドは、高脂血症および高コレステロール血症、心血管疾患、内皮細胞機能不全、大血管障害、微小血管性障害またはアテローム性動脈硬化症など追加の合併症を伴う糖尿病もしくは肥満患者の治療または予防に使用できる。

【００３４】

GLP-1受容体アゴニスト

受容体アゴニストは、受容体に結合し、天然リガンドに特有の反応を誘発するペプチドと定義することができる。したがって、例えば、「GLP-1受容体アゴニスト」または「GLP-1受容体アゴニストペプチド」は、GLP-1受容体に結合する能力があり、それを活性化する能力がある化合物と定義される。

【００３５】

GLP-1ペプチドおよび類似体

本明細書では用語「GLP-1」、「GLP-1ペプチド」または「hGLP-1」とは、その配列が配列番号1として配列表に含まれるヒトグルカゴン様タンパク質-1[GLP-1(7-37)]、またはその類似体のことを指す。配列番号1の配列を有するペプチドを、「天然の」GLP-1と称することもできる。

【００３６】

ホモ・サピエンス(Homo sapiens)GLP-1(7-37)配列は、

HAEGTFTSDV SSYLEGQAAK EFIAWLVKGR G(配列番号1)

であり、ホモ・サピエンスGLP-1(7-35)配列は、

HAEGTFTSDV SSYLEGQAAK EFIAWLVKG(配列番号2)

である。

【００３７】

本明細書では用語「GLP-1類似体」または「GLP-1の類似体」とは、GLP-1(7-37)(配列番号1)またはGLP-1(7-35)(配列番号2)のバリアントであるペプチドまたは化合物のことを指す

【００３８】

配列表において、配列番号1の第1アミノ酸残基(すなわちヒスチジン)は、1番と指定される。しかしながら、当業者の慣習によると、以下ではこのヒスチジン残基を7番と称し、以降のアミノ酸残基はそれに応じて番号付けされ、グリシン37番で終わる。したがって通常、GLP-1(7-37)配列のアミノ酸残基番号または位置番号への本明細書におけるどの言及も、7位のHisで始まり37位のGlyで終わる配列になる。

【００３９】

式I(配列番号12)において番号付けする場合も同じ原則が使用され、すなわち、開始位置X_7は天然のGLP-1の7位のヒスチジンに対応し、天然のGLP-1(7-37)配列の37位に対応するX_{37}位で終わる。しかしながら、配列表では、配列番号12の第1アミノ酸残基(ヒスチジンまたはX7)は、1番に指定される。

【００４０】

同じ原則を、GLP-1(7-35)の番号付けに適用する:ヒスチジン残基を7番と称し、以降のアミノ酸残基はそれに応じて番号付けされ、グリシン35番で終わる。

【００４１】

本発明のGLP-1類似体は、i)変化したアミノ酸残基に対応する天然のGLP-1(7-37)またはGLP-1(7-35)のアミノ酸残基の番号(すなわち、天然のGLP-1において対応する位置)、およびii)実際の変化を参照することによって記述できる。

【００４２】

換言すれば、GLP-1類似体とは、天然のGLP-1(7-37)(配列番号1)またはGLP-1(7-35)(配列番号2)と比較した場合に、いくつかのアミノ酸残基が変化しているGLP-1(7-37)もしくはGLP-1(7-35)ペプチドである。これらの変化は、それぞれ独立に、1つ以上のアミノ酸置換、付加および/または欠失を表すことができる。

【００４３】

以下は、適切な類似体命名法の非限定的な例である。

【００４４】
配列番号1または配列番号2と比較した場合、指定した特定の変化を「含む」類似体は、さらなる変化を含むことができる。特定の実施形態において、類似体は指定した変化を「有する」
【００４５】
上記の例から明らかなように、アミノ酸残基は、その正式な表記、その1文字コードおよび/またはその3文字コードによって識別することができる。これらの3つの方法は、完全に同等である。
【００４６】
表現「と同等の位置」もしくは「対応する位置」は、天然のGLP-1(7-37)(配列番号1)またはGLP-1(7-35)(配列番号2)を参照することによりバリアントGLP-1(7-37)配列中の変化の部位を特徴づけるために使用できる。同等のもしくは対応する位置および変化の数は、例えば単純な手書きと視認により容易に推論することができ;ならびに/またはNeedleman-Wunschアルゴリズムに基づく「align」など標準的なタンパク質もしくはペプチド整列化プログラムを使用することができる。このアルゴリズムについては、Needleman, S.B.およびWunsch, C.D.; Journal of Molecular Biology、1970年、48:443～453頁に;整列プログラムについては、MyersおよびW. Miller in "Optimal Alignments in Linear Space" CABIOS (computer applications in the biosciences)、1988年、4 11～17頁に記述されている。整列化の場合、初期設定スコア行列BLOSUM62および初期設定単位行列を使用することができ、ギャップ中の1つ目の残基に対するペナルティは-12、好ましくは-10に、およびギャップ中のさらなる残基に対するペナルティは-2、好ましくは-0.5に設定することができる。
【００４７】
概要としては、下記のTable1(表1)に例示されるようにGLP-1受容体アゴニストペプチドを整列することができる:
【００４８】
【表１】

Table 1

	7	10	20	30
GLP-1(7-35)	HAE	GTFTSDVSSY	LEGQAAKEFI	AWLVKG
エキセンディン-4(1-29)	HGE	GTFTSDLSKQ	MEEEAVRLFI	EWLKNG
グルカゴン(1-29)	HSQ	GTFTSDYSKY	LDSRRAQDFV	QWLMNT
	1	4	14	24

【００４９】
例えばこの発明の文脈で使用される場合、用語「GLP-1ペプチド」とは、アミド(またはペプチド)結合によって相互接続した一連のアミノ酸を含む化合物のことを指す。
【００５０】
本発明のGLP-1受容体アゴニストペプチドは、本明細書に記載のアミノ酸配列を含む(すなわち、含むが、これに限定されない)任意のポリペプチドであってもよく、したがって追加のアミノ酸残基を含むことができる。
【００５１】
一実施形態において、本発明のGLP-1受容体アゴニストペプチドは、少なくとも31個のアミノ酸を含む。
【００５２】
別の実施形態において、本発明のGLP-1受容体アゴニストペプチドは、少なくとも32個、または少なくとも33個、または少なくとも34個のアミノ酸から構成される。
【００５３】
第3の実施形態において、本発明のGLP-1受容体アゴニストペプチドは、30個～46個のア

ミノ酸残基を保持する。
【００５４】
第4の実施形態において、本発明のGLP-1受容体アゴニストペプチドは、32個～42個のアミノ酸残基を保持する。
【００５５】
第5の実施形態において、本発明のGLP-1受容体アゴニストペプチドは、33個～40個のアミノ酸残基を保持する。
【００５６】
なおさらなる特定の実施形態において、GLP-1受容体アゴニストペプチドは、ペプチド結合によって相互接続したアミノ酸からなる。
【００５７】
アミノ酸は、アミン基およびカルボン酸基、ならびに任意選択で、しばしば側鎖と呼ばれる追加の基を1つ以上含有する分子である。
【００５８】
用語「アミノ酸」は、タンパク新生のアミノ酸(天然のアミノ酸および標準的なアミノ酸を含めた、遺伝暗号にコードされている)、および非タンパク新生(タンパク質中に見られない、および/または標準的な遺伝暗号にコードされていない)、ならびに合成アミノ酸を含む。したがって、アミノ酸は、タンパク新生アミノ酸、非タンパク新生アミノ酸、および/または合成アミノ酸の群から選択することができる。
【００５９】
遺伝暗号にコードされていないアミノ酸の非限定的な例は、γ-カルボキシグルタミン酸、オルニチン(Orn)、ノルロイシン(Nle)およびホスホセリンである。合成アミノ酸の非限定的な例は、Aib(α-アミノイソ酪酸)、β-アラニンおよびデスアミノヒスチジン(代替名イミダゾプロピオン酸、Impと略記する)である。
【００６０】
以下において、光学異性体について記載されていないGLP-1ペプチドの全てのアミノ酸は、(別段の指定がない限り)L-異性体を意味するものと理解されるべきである。
【００６１】
本発明のGLP-1受容体アゴニストペプチドは、GLP-1活性を有する。当技術分野で公知のように、この用語は、GLP-1受容体に結合し、シグナル伝達経路を開始し、それによりインスリン分泌作用または他の生理的効果をもたらす能力のことを指す。例えば、本発明の類似体は、本明細書の実施例2(in vitro)または実施例7(in vivo)に記述されるアッセイ使用して、GLP-1活性について試験できる。
【００６２】
エキセナチド
エキセナチドは、2型真性糖尿病の治療用の商用インクレチン模倣体であり、Amylin Pharmaceuticals社およびEli Lilly & Co.社によって製造販売されている。エキセナチドは、アメリカドクトカゲ[ヘロデルマ・ススペクツム(Heloderma suspectum)]の唾液中に見られるホルモンであるエキセンディン-4に基づき、ヒトGLP-1と類似の生物学的特性を示す。米国特許第5,424,286号は、すなわち哺乳動物においてエキセンディン-4(1-39)(配列番号3)の投与によってインスリン放出を刺激する方法に関する。
【００６３】
アメリカドクトカゲエキセンディン-4(1-39)配列は、
HGEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPS(配列番号3)
であり、エキセンディン-4(1-29)の配列は、
HGEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKNG(配列番号13)
である。
【００６４】
式I(配列番号12)において番号付けする場合、式Iの開始位置X_7は、エキセンディン-4(配列番号3および13)の1位のヒスチジンに対応し、エキセンディン-4配列(配列番号3およ

び13)の31位に対応するX_{37}位、またはエキセンディン-4(配列番号3)の39位に対応するX_{45}位で終わる。

【００６５】

しかしながら、配列表では、配列番号3および配列番号13の第1アミノ酸残基(ヒスチジンまたは式IのX_7)は、1番に指定される。配列番号3のエキセンディン-4アミノ酸1～39位は、式Iのアミノ酸X_7～X_{45}位と同じになる。同様に、エキセンディン-4(1-29)(配列番号13)のアミノ酸1～29位は、アミノ酸X_7～X_{35}位と同じになる。式Iにおいて番号付けする場合、配列番号3および配列番号13の第1アミノ酸残基(ヒスチジン)が、X_7に指定される。

【００６６】

グルカゴンペプチド

グルカゴン化合物における位置番号付けに関係しては、本明細書で定義されている通り、任意のアミノ酸置換、欠失および/または付加が、天然のヒトグルカゴン(1-29)(配列番号4)配列と比較して示される。式I(配列番号12)において番号付けする場合、式Iの開始位置X_7は天然のグルカゴン(配列番号4)の1位のヒスチジンに対応し、天然のグルカゴンの29位に対応するX_{35}位で終わる。しかしながら、配列表では、天然のグルカゴンの第1アミノ酸残基(ヒスチジンまたは式IのX_7)が、1番に指定される。ヒトグルカゴンアミノ酸1～29位は、本明細書において式Iのアミノ酸X_7～X_{35}位と同じになる。

【００６７】

ヒト(ホモ・サピエンス)グルカゴン(1-29)配列は、

HSQGTFTSDY SKYLDSRRAQ DFVQWLMNT(配列番号4)

である。

【００６８】

ペプチド

本明細書では用語「ポリペプチド」および「ペプチド」は、ペプチド結合によって接続した少なくとも5個の構成アミノ酸から構成される化合物を意味する。構成アミノ酸は、遺伝暗号にコードされるアミノ酸の群に由来してもよく、遺伝暗号にコードされない天然アミノ酸でも合成アミノ酸でもよい。遺伝暗号にコードされない天然アミノ酸は、例えばヒドロキシプロリン、γ-カルボキシグルタミン酸、オルニチン、ホスホセリン、D-アラニンおよびD-グルタミンである。合成アミノ酸は、化学合成によって製造されるアミノ酸、すなわちD-アラニンおよびD-ロイシンなど遺伝暗号にコードされるアミノ酸のD-異性体、Aib(α-アミノイソ酪酸)、Abu(α-アミノ酪酸)、Tle(t-ブチルグリシン)、β-アラニン、3-アミノメチル安息香酸、アントラニル酸を含む。

【００６９】

この発明の文脈において、3文字または1文字アミノ酸コードに基づくペプチド命名法の共通規則が、適用される。簡単には、アミノ酸構造の中心部は3文字コード(例えばAla、Lys)または1文字コード(例えばA、K)で表され、「D-」の後ろに3文字コードを続ける(例えばD-Ala、D-Lys)ことによりD-配置を特に指示しない限り、L-配置が仮定される。アミノ基での置換基は1つの水素原子を置き換え、その名前は3文字コードの前につけられ、一方でC末端置換基はカルボン酸ヒドロキシ基を置き換え、その名前は3文字コードの後に表示される。例えば、「アセチル-Gly-Gly-NH_2」は、CH_3-C(=O)-NH-CH_2-C(=O)-NH-CH_2-C(=O)-NH_2を表す。特に明記しない限り、アミノ酸は、N-2(α-窒素)原子とC-1(C=O)炭素原子とで形成されるアミド結合によってその隣接基と接続している。

【００７０】

本明細書でポリペプチドのことを指す用語「類似体」は、修飾されたペプチドを意味し、ペプチドの1つ以上のアミノ酸残基が他のアミノ酸残基によって置換されているおよび/または1つ以上のアミノ酸残基がペプチドから欠失しているおよび/または1つ以上のアミノ酸残基がペプチドに付加されている。アミノ酸残基のそのような付加または欠失は、ペプチドのN末端および/またはペプチドのC末端で起こり得る。単純なシステムを使用して、類似体について記述する。ペプチド類似体およびその誘導体の式は、IUPAC-IUB命名法にしたがって使用されるアミノ酸に対する標準的な1文字または3文字略語を使用して書か

れる。

【００７１】

配列整列化は、DNA、RNAまたはタンパク質の配列を並べて、配列間の機能的、構造的または進化的関係の結果であろう類似領域を識別する方法である。ヌクレオチドまたはアミノ酸残基の整列された配列は、マトリックス内の行として一般に表される。連続した列の中に同一または類似の文字が整列するように、残基の間にギャップが挿入される。

【００７２】

本発明の化合物の文脈において、類似性ならびに/または同一性は、当技術分野において公知の任意の適切なコンピュータプログラムおよび/もしくはアルゴリズムを使用して決定できる。アルゴリズムおよび整列化の型によって分類される利用可能なソフトウェアのより完全なリストは、配列整列化ソフトウェアで利用可能であるが、全体的な配列整列化作業に使用される一般的なソフトウェアツールには、整列化のためのClustalWおよびT-coffeeならびにデータベース検索のためのBLASTおよびFASTA3xがある。

【００７３】

本明細書では用語「配列同一性(%SI)」は、以下の式を使用して算出できる:

%SI=100% *(ペアワイズ整列化における同一残基の数)/(最も短い配列の長さ)

【００７４】

一実施形態において、本発明のさらなるペプチドの非限定的な例は以下の配列を含む:

HAEGTFTSDV SSYLEGEAVK EFIAWLVEKV KEFL(配列番号9);

HAQGTFTSDY SKYLDSKAAR EFVQWLLEKV KEFL(配列番号10);および

HAEGTFTSDL SKQMEEEAVR EFIEWLKNKV LEFL(配列番号11)。

【００７５】

左にN末端および右にC末端でペプチド一次構造を記す、すなわちアミノ酸位置の位置番号が増加する場合に、用語アミノ酸位置の「下流」とは、その位置の右側に位置するアミノ酸またはアミノ酸配列のことを意味する。

【００７６】

アポリポタンパク質

用語「アポリポタンパク質」または「apo」または「Apo」とは、脂質と結合してリポタンパク質を形成するいくつかの任意の水溶性タンパク質のことを指す。これらのリポタンパク質はサイズまたは浮揚密度によって分離することができ、一般にキロミクロン、VLDL、LDLおよびHDLに分類することができる。アポリポタンパク質には、交換不能なタンパク質Apo Bならびに交換可能なタンパク質、例えばApo A-I、Apo A-II、Apo A-IV、Apo C-I、Apo C-II、Apo C-III、Apo Eおよび血清アミロイドAなどの血清アミロイドタンパク質がある。

【００７７】

用語「アポリポタンパク質A-I」または「ApoA-I」とは、NおよびC末端ドメインを形成する243個のアミノ酸を含むポリペプチドのことを指す。ApoA-Iの残基44～243は、ABCA1または他のABC輸送体によるコレステロール流出を媒介するために必要な構造決定因子を含有する。ApoA-I(aa44～243)のこの領域は、プロリン残基によって隔てられた11または22アミノ酸の一連の10個の両親媒性αヘリックスから構成される。ApoA-Iの個々のαヘリックス部分は、一部には、正荷電を有する残基の相対的な分布によって定義され、クラスAまたはYに指定される。クラスAヘリックスは、界面陽イオン残基に加えて、極性表面の中央に向かって正荷電を有するアミノ酸を保有する。

【００７８】

ヒトApoA-I配列は以下の通りである:

DEPPQSPWDR VKDLATVYVD VLKDSGRDYV SQFEGSALGK QLNLKLLDNW DSVTSTFSKL REQLGPVTQE FWDNLEKETE GLRQEMSKDL EEVKAKVQPY LDDFQKKWQE EMELYRQKVE PLRAELQEGA RQKLHELQEK LSPLGEEMRD RARAHVDALR THLAPYSDEL RQRLAARLEA LKENGGARLA EYHAKATEHL STLSEKAKPA LEDLRQGLLP VLESFKVSFL SALEEYTKKL NTQ(配列番号5)。

【００７９】

ApoA-I模倣体
本明細書では用語「模倣体」は、分子の生物活性など別の分子の活性を模倣する分子であることを意味し、したがってApoA-I模倣体は、全長ApoA-Iの効果を模倣する。
【００８０】
本明細書では用語「ApoA-I模倣体」、「ApoA-I模倣体ペプチド」、「ApoA-I化合物」とは、ApoA-I模倣体ペプチド、ヒトApoA-I共通ペプチドの類似体または誘導体、ならびにその類似体、融合ペプチドおよび誘導体のことを指し、それらはApoA-I活性を維持しており、すなわちコレステロール流出を促進する。用語「ApoA-I模倣体」とは、当技術分野において公知のApoA-I様の作用を模倣することができる両親媒性ペプチド;例えばそれだけには限らないが、Navabら; Apolipoprotein A-I Mimetic Peptides、Arterioscler Thromb Vasc Biol.、2005年;25:1325～1331頁に記述されるペプチドのことを指し、それに限らないが、Segrestら; PROTEINS Structure, Function, and Genetics、15349～359頁(1993)に開示されたとされるそれを含める。ApoA-I模倣体の非限定的な例は、L-4F、D-4F、配列番号7、配列番号8、配列番号14および配列番号15である。
【００８１】
本明細書では用語「L-4F」は、ApoA-I模倣体、すなわちL-4Fを意味し、4FまたはL4Fとも呼ばれ、4つのフェニルアラニンアミノ酸を含有する合成模倣体である。L-4F(1-18)配列は、DWFKAFYDKV AEKFKEAF(配列番号6)である。
【００８２】
光学異性体について記載されていない全てのアミノ酸は、L-異性体を意味すると理解されるべきである。全てのアミノ酸がDアミノ酸である場合、D-4FはL-4Fと同じ配列である。
【００８３】
ApoA-I模倣体の他の非限定的な例の配列は、以下の配列を有する二重ヘリックス5A模倣体である:
DWLKAFYDKV AEKLKEAFPD WAKAAYDKAA EKAKEAA(配列番号7)(特にWO 2006/044596およびWO 2009/032749から公知である);
PVLDLFRELL NELLEALKQK LK(配列番号8)(特にWO 99/16459から公知である);
ELREKLEAWFELFREFLERF(配列番号14);および
EVRSKLEEWFAAFREFAEEFLARLKS(配列番号15)(特にWO 2009/155366およびWO 2008/115303から公知である)。
【００８４】
本発明の実施形態において、ApoA-I模倣体ペプチドにおいて最大18個のアミノ酸が修飾されている。本発明の他の実施形態において、ApoA-I模倣体ペプチドにおいて最大15個のアミノ酸が修飾されている。本発明のさらに他の実施形態において、ApoA-I模倣体ペプチドにおいて最大12個のアミノ酸が修飾されている。本発明のさらに他の実施形態において、ApoA-I模倣体ペプチドにおいて最大8個のアミノ酸が修飾されている。本発明のさらに他の実施形態において、ApoA-I模倣体ペプチドにおいて最大6個のアミノ酸が修飾されている。本発明のさらに他の実施形態において、ApoA-I模倣体ペプチドにおいて最大5個のアミノ酸が修飾されている。本発明のさらに他の実施形態において、ApoA-I模倣体ペプチドにおいて最大4個のアミノ酸が修飾されている。本発明のさらに他の実施形態において、ApoA-I模倣体ペプチドにおいて最大3個のアミノ酸が修飾されている。本発明のさらに他の実施形態において、ApoA-I模倣体ペプチドにおいて最大2個のアミノ酸が修飾されている。本発明のさらに他の実施形態において、ApoA-I模倣体ペプチドにおいて1個のアミノ酸が修飾されている。
【００８５】
追加の定義
本明細書で使用される用語「αヘリックス構造」とは、多くのタンパク質に共通の特異的な二次構造のことを指す。αヘリックス構造は、特異的な構造であり、ペプチドは、1つの残基の主鎖カルボニル酸素がペプチド配列中で4残基後の主鎖NHと水素結合を形成し

、ヘリックスの外側に全てのアミノ酸側鎖原子を曝露させる反復パターンに折りたたまれる。αヘリックス構造中のペプチドは、3.6アミノ酸残基毎に一周する。

【００８６】

本明細書では用語「両親媒性αヘリックス」、「両親媒性ペプチド」または「両親媒性ヘリックス」とは、ヘリックス形の二次構造をとった際に1つの表面を有することになるポリペプチド配列のことを指し、すなわちヘリックス軸に沿った一方の面が極性であり、親水性もしくは極性アミノ酸残基(非限定的な例は、Asp、Glu、Lys、Arg、His、Gly、Ser、Thr、Cys、AsnおよびGlnである)から主に構成され、ヘリックス軸に沿った他方の面が疎水性アミノ酸残基(非限定的な例は、Leu、Ala、Ile、Pro、Phe、Trp、Aib、TyrおよびMetである)を主に含む親油性もしくは無極性表面である。

【００８７】

本明細書では用語「親水面」または「極性面」とは、親水性もしくは極性アミノ酸残基(非限定的な例は、Asp、Glu、Lys、Arg、His、Gly、Ser、Thr、Cys、AsnおよびGlnである)から主に構成されるヘリックス軸に沿って露出した連続平面のことを指す。

【００８８】

本明細書では用語「親油性面」または「疎水面」とは、疎水性アミノ酸残基(非限定的な例は、Leu、Ala、Ile、Val、Pro、Phe、Trp、AibおよびMetである)から主に構成されるヘリックス軸に沿って露出した連続平面のことを指す。

【００８９】

本明細書では用語「保存的置換」とは、1つのペプチドアミノ酸残基と、電荷、サイズ、疎水性、親水性、同一官能基(例えば、水酸基)の存在および/もしくは芳香族性など類似の特徴を有する別のアミノ酸残基との、または両方の残基が親油性アミノ酸残基と分類される場合(非限定的な例は、SerとThr、LysとArg、PheとTrpおよびAspとGluである)の置換のことを指し、以下の4群の中での交換を含む:

I. Ala、Ser、Thr、Gly、Cys

II. Asp、Asn、Glu、Gln

III. His、Arg、Lys、Orn

IV. Met、Leu、Ile、Val、Cys、Phe、Tyr、Trp、Pro、Nle

【００９０】

本明細書では用語「親油性アミノ酸残基」または「疎水性アミノ酸残基」とは、側鎖が窒素もしくは酸素原子のいずれも含まない、あるいは含む場合には、酸素もしくは窒素原子に対する炭素原子の比率が7以上であるアミノ酸残基のことを指す。非限定的な例には、アミノ酸残基Ala、Cys、Phe、Ile、Leu、Met、Pro、Val、Trp、TyrおよびAibがある。

【００９１】

本明細書で使用される用語「親水性アミノ酸残基」または「極性アミノ酸残基」とは、GlyもしくはCys、あるいは側鎖に少なくとも1つの酸素もしくは窒素を含み、窒素もしくは酸素に対する炭素の比率が7以下のアミノ酸残基のことを指す。非限定的な例には、アミノ酸残基Cys、Asp、Glu、His、Lys、Asn、Gln、Arg、Ser、Gly、ThrおよびTyrがある。

【００９２】

本明細書では用語「荷電アミノ酸残基」とは、中性pHで荷電できる側鎖を有するアミノ酸残基のことを指す(非限定的な例は、Asp、Glu、Arg、LysおよびHisである)。

【００９３】

本明細書では用語「負荷電を有するアミノ酸残基」または「酸性アミノ酸残基」とは、中性pHで-1以下の電荷を有することができる側鎖を有するアミノ酸残基のことを指す(非限定的な例は、AspおよびGluである)。本明細書では用語「正荷電を有するアミノ酸残基」または「塩基性アミノ酸残基」とは、中性のpHで+1以上の電荷を有することができる側鎖を有するアミノ酸残基のことを指す(非限定的な例は、Arg、LysおよびHisである)。

【００９４】

1つのペプチドがC末端で別のペプチドに融合している関係では、用語「C末端で融合している」は、一方のペプチドの主鎖C末端カルボン酸と他方のペプチドの主鎖N末端アミノ

基の間でペプチド結合が形成されることを意味する。

【００９５】

用語「ABC」または「ATP結合カセット」とは、細胞膜を横断する脂質(例えばコレステロールおよびリン脂質)の制御された流出および流入に関与するマルチドメイン膜タンパク質のことを指す。ABC輸送体は、アデノシン三リン酸(ATP)加水分解のエネルギーを利用して、膜を横断する様々な基質の移動を含む特定の生物学的プロセスを実行する膜貫通タンパク質である。それらは、細胞外および細胞内膜を横断して代謝産物、脂質およびステロールならびに薬物を含めた多種多様な基質を輸送する。タンパク質は、ATP結合カセット(ABC)ドメインの配列および構成に基づいてABC輸送体に分類される。

【００９６】

ヒトには公知のABC輸送体が48個存在し、ヒト遺伝子解析機構によって7つのファミリーに分類されている。ABCAファミリーは、最大の輸送体(長さ2,100アミノ酸以上)のいくつかを含有する。それらのうちの5つは、17q24染色体の一群の中に位置する。とりわけ、これらの輸送体は、コレステロールおよび脂質の輸送に関与する。例は、ABCA1およびABCA12である。ABCGファミリーも、脂質、多様な薬物基質、胆汁、コレステロールおよび他のステロイドを輸送する。例は、ABCG1およびABCG2である。

【００９７】

用語「ABCA1」とは、ATP結合カセット輸送体ABCA1(ヒト輸送体サブファミリーABCAのメンバー1)のことを指し、コレステロール流出調節タンパク質(CERP)としても公知であり、ヒトにおいてABCA1遺伝子にコードされるタンパク質である。この輸送体は、細胞性コレステロールおよびリン脂質ホメオスタシスの主要な調節因子である。

【００９８】

コレステロール流出

動脈壁中のマクロファージもしくは泡沫細胞は、コレステロールをアポリポタンパク質および/もしくはHDLまたはこの発明のペプチドなどのアクセプターに放出または排出する。コレステロール流出を媒介する化合物は、細胞の外および細胞外区画へのコレステロールの放出を増強する。コレステロール流出は、細胞からのリン脂質の流出をしばしば伴う。適切な脂質アクセプター、例えばアポリポタンパク質またはペプチドの存在下で、コレステロールとリン脂質両方の協調した放出がHDLを生成する。したがって、コレステロールおよびリン脂質の流出過程は互いに連関しており、同義である。ABCA1依存的な脂質流出(またはABCA1依存的経路による脂質流出)とは、コレステロール流出を助長するアポリポタンパク質またはペプチドが細胞もしくは小胞と相互作用し、ABCA1輸送体によって助長される過程により細胞から脂質を流出させる過程のことを指す。

【００９９】

この発明は、コレステロール流出を促進するGLP-1受容体アゴニスト化合物に関する。実施例6に記載の通り、ここでは、用語「コレステロール流出」または「コレステロール流出活性」をマクロファージ細胞株からのコレステロールの流出と特に定義する。本発明の化合物は、L-4Fの少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、または少なくとも80%のE_{max}として測定される有効性、および実施例6に記載の通り測定されるL-4Fの効力より良好なEC_{50}として測定される効力を示す。コレステロール流出の効力は、EC_{50}値として表示できる。

【０１００】

最大半量有効濃度と定義されるEC_{50}値は、指定の曝露時間後の基準値と最大値の中間の反応を誘導する薬物、抗体または毒物の濃度のことを指す。それは、薬物の効力の尺度として一般的に用いられる。

【０１０１】

多くの異なる方程式を使用して、EC_{50}を導き出すことができる。1つの考え得る関数は以下の通りである:

【０１０２】

【数１】

$$Y = Bottom + \frac{Top - Bottom}{1 + \left(\frac{X}{EC_{50}}\right)^{-\text{ヒル係数}}}$$

【０１０３】

式中、Yは観測値であり、Bottomは最も低い観測値であり、Topは最も高い観測値(E_{max}に等しい)であり、ヒル係数は曲線の傾きの最大の絶対値を与える。

【０１０４】

用語「コレステロール逆輸送」または「コレステロール逆輸送活性」(略記「RCT」)とは、動脈壁細胞から肝臓もしくは他のステロイド産生器官へのコレステロール流出の仲介のことを指す。コレステロール逆輸送経路には、3つの主要な工程、i)コレステロール流出、すなわち末梢細胞の様々なプールからのコレステロールの初期除去工程と;ii)レシチン(lechitin)コレステロールアシル転移酵素(LCAT)の作用によるコレステロールエステル化、それにより流出したコレステロールの細胞への再流入を阻害する工程と;iii)HDLによるコレステロールエステルの取り込みおよびコレステロールエステル複合体の肝細胞への送達(deloivery)工程とがある。コレステロール流出およびコレステロール逆輸送(RCT)の強化は、抗アテローム性動脈硬化性の薬物治療の重要な標的と考えられる。

【０１０５】

本明細書では用語GLP-1受容体アゴニストペプチド製剤の「物理的安定性」とは、熱機械ストレスへのタンパク質の曝露ならびに/または疎水性表面および界面など不安定化界面および表面との相互作用の結果として、生物学的に不活性なおよび/または不溶性のタンパク質凝集体を形成するタンパク質の傾向のことを指す。水性タンパク質製剤の物理的安定性は、適切な容器(例えばカートリッジまたはバイアル)に充填した製剤を異なる温度で様々な時間、機械的/物理的ストレス(例えば攪拌)に曝露した後の、目視検査および/または混濁測定によって評価される。製剤の目視検査は、暗い背景で焦点を絞った光の中で実施される。製剤の混濁は、例えば0～3の規模で混濁の程度をランク付けする視覚的な点数(混濁を示さない製剤は視覚的な点数0に対応し、昼光の下で視覚的な混濁を示す製剤は視覚的な点数3に対応する)によって特徴づけられる。製剤は、昼光の下で視覚的な混濁を示す場合、タンパク質凝集に関して物理的に不安定と分類される。別法として、製剤の混濁は、当業者に周知の単純な濁度測定によって評価できる。水性タンパク質製剤の物理的安定性も、分光薬剤またはタンパク質の立体配座状態のプローブを使用することによって評価できる。プローブは、好ましくは、タンパク質の非天然の配座異性体に優先的に結合する小分子である。タンパク質構造の小分子分光プローブの一例は、チオフラビンTである。チオフラビンTは、アミロイド原線維の検出に広く使用されてきた蛍光色素である。原線維、および同様におそらく他のタンパク質配置の存在下でも、チオフラビンTは、原線維タンパク質形態に結合したときに、約450nmで最大の新たな励起および約482nmで増強された発光を引き起こす。結合していないチオフラビンTは、その波長で基本的に非蛍光性である。

【０１０６】

本明細書では用語タンパク質製剤の「化学的安定性」とは、天然のタンパク質構造と比較してより小さい生物学的効力の潜在性および/または免疫原性特性の増大の潜在性がある化学分解産物の形成をもたらす、共有結合性タンパク質構造における変化のことを指す。天然のタンパク質の型および性質ならびにタンパク質が曝露される環境に応じて、様々な化学分解産物が形成され得る。化学分解産物の量の増加は、タンパク質製剤の貯蔵および使用の間にしばしば見られる。大部分のタンパク質は、グルタミニルまたはアスパラギニル残基中の側鎖のアミド基が加水分解されて、遊離のカルボン酸またはアスパラギニル残基を形成し、それによってIsoAsp誘導体を形成する過程である脱アミドの傾向がある。他の分解経路には、2つ以上のタンパク質分子がアミド基転移および/またはジスルフィド

相互作用によって互いに共有結合し、共有結合している二量体、オリゴマーおよびポリマー分解産物の形成をもたらす高分子量産物の形成がある(Stability of Protein Pharmaceuticals、Ahern. T.J.およびManning M.C.、Plenum Press、New York 1992)。酸化(たとえばメチオニン残基の)は、化学分解の別の変形として言及できる。タンパク質製剤の化学的安定性は、異なる環境条件(例えば温度の上昇によって分解産物の形成はしばしば加速できる)に曝露した後に様々な時点で化学分解産物の量を測定することによって評価できる。個々の分解産物の量は、様々なクロマトグラフィー技術(例えばSEC-HPLCおよび/またはRP-HPLC)を使用して分子サイズおよび/または電荷に応じて分解産物を分離することによってしばしば決定される。HMWP産物は潜在的に免疫原性であり、生物学的に活性ではないので、低レベルのHMWPが有利である。

【０１０７】

用語「安定化された製剤」とは、物理的安定性が増大した、化学的安定性が増大したまたは物理的および化学的安定性が増大した製剤のことを指す。一般に、製剤は、有効期限に達するまで、使用および貯蔵の間(推奨される使用および貯蔵条件にしたがう)安定でなければならない。

【０１０８】

薬学的に許容できる塩、アミドまたはエステル

本発明の類似体および中間産物は、薬学的に許容できる塩、アミドまたはエステルの形態であることができる。

【０１０９】

例えば塩は、塩基と酸の化学反応、例えば、$2NH_3 + H_2SO_4 \rightarrow (NH_4)_2SO_4$によって形成される。

【０１１０】

塩は、塩基性塩、酸性塩であってもよく、またはいずれでなくてもよい(すなわち中性塩)。塩基性塩は、水中で水酸化物イオンおよび酸性塩はヒドロニウムイオンを生成する。

【０１１１】

本発明の類似体の塩は、それぞれ陰イオンまたは陽イオン基の間で付加陽イオンもしくは陰イオンを形成することができる。これらの基は、本発明の類似体のペプチド部分および/または側鎖に位置することができる。

【０１１２】

本発明の類似体の陰イオン基の非限定的な例は、側鎖中、およびもしあればペプチド部分中に遊離カルボキシル基を含む。ペプチド部分は、C末端に遊離カルボン酸基をしばしば含み、AspおよびGluなど内部酸性アミノ酸残基に遊離カルボキシル基を含むこともある。

【０１１３】

ペプチド部分における陽イオン基の非限定的な例は、N末端に遊離アミノ基を、および存在する場合にはHis、ArgおよびLysなどの内部塩基性アミノ酸残基の任意の遊離アミノ基を含む。

【０１１４】

本発明の類似体のエステルは、例えば、遊離カルボン酸基とアルコールもしくはフェノールとの反応によって形成することができ、その反応はアルコキシまたはアリールオキシ基による少なくとも1つの水酸基の置きかえをもたらす。

【０１１５】

エステル形成は、ペプチドのC末端に遊離カルボキシル基を、および/または側鎖に任意の遊離カルボキシル基を含むことができる。

【０１１６】

本発明の類似体のアミドは、例えば、遊離カルボン酸基とアミンもしくは置換されたアミンとの反応によって、または遊離もしくは置換されたアミノ基とカルボン酸との反応によって形成することができる。

【０１１７】
アミド形成は、ペプチドのC末端に遊離カルボキシル基、側鎖に任意の遊離カルボキシル基、ペプチドのN末端に遊離アミノ基、ならびに/またはペプチドおよび/もしくは側鎖中にペプチドの任意の遊離または置換されたアミノ基を含むことができる。
【０１１８】
特定の実施形態において、ペプチドは、薬学的に許容できる塩の形態である。別の特定の実施形態において、ペプチドは、薬学的に許容できるアミドの形態であり、好ましくはペプチドのC末端にアミド基を有する。なおさらなる特定の実施形態において、ペプチドは、薬学的に許容できるエステルの形態である。
【０１１９】
本明細書では用語「脂質異常症」とは、血中の一部または全ての脂質もしくはリポタンパク質の量の任意の変化に関連した障害のことを指す。脂質異常性障害(disordes)には、例えば高脂血症、高リポタンパク血症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、HDL欠乏症、ApoA-I欠乏症および心血管疾患(例えば冠動脈疾患、アテローム性動脈硬化症および再狭窄)がある。
【０１２０】
本明細書では用語「薬学的に許容される」は、通常の製薬用途に適している、すなわち患者に有害事象を引き起こさないことなどを意味する。
【０１２１】
本明細書では用語「賦形剤」は、通常医薬組成物に添加される化合物、例えば緩衝液、等張化剤、防腐剤などを意味する。
【０１２２】
本明細書では用語「有効な量」は、無治療と比較して患者の治療に効果がある十分な用量を意味する。
【０１２３】
本明細書では用語「医薬組成物」は、活性がある化合物もしくはその塩を緩衝液、防腐剤ならびに任意選択で張度調節剤および/または安定剤などの医薬品賦形剤と一緒に含む産物を意味する。したがって、医薬組成物は、医薬製剤としても当技術分野において公知である。
【０１２４】
本明細書では用語「疾患の治療」は、疾患、症状または障害を発症した患者の処置および管理を意味し、疾患の治療、予防または緩和を含む。治療の目的は、疾患、症状または障害に対抗することである。治療は、活性化合物を投与して、疾患、症状もしくは障害を排除または制御すること、および疾患、症状もしくは障害に関連する徴候または合併症を緩和すること、ならびに疾患、症状もしくは障害の予防を含む。
【０１２５】
用語「糖尿病」または「真性糖尿病」とは、1型糖尿病、2型糖尿病、妊娠糖尿病(妊娠中の)および高血糖症を引き起こす他の症状を含む。本用語は、膵臓が十分な量のインスリンを産生しない、または身体の細胞がインスリンに適切に反応せず、したがって細胞がグルコースを吸収できない代謝異常に対して使用される。その結果、グルコースは血液中に蓄積する。
【０１２６】
インスリン依存性糖尿病(IDDM)および若年性糖尿病とも呼ばれる1型糖尿病は、ベータ細胞破壊に起因し、通常完全なインスリン欠乏症をもたらす。
【０１２７】
2型糖尿病、別名インスリン非依存性糖尿病(NIDDM)および成人発症型糖尿病は、顕著なインスリン抵抗性、したがって相対的なインスリン欠乏および/またはインスリン抵抗性を伴う顕著なインスリン分泌欠損に関連する。
【０１２８】
用語「心血管疾患」または「CVD」とは、心臓または血管(動脈、毛細管および静脈)に

関わる疾患の分類のことを指す。心血管疾患とは、心血管系、主に心臓病、脳および腎臓の血管疾患ならびに末梢動脈疾患に影響を及ぼす任意の疾患のことを指す。心血管疾患の原因は多様であるが、アテローム性動脈硬化症および/または高血圧は最も頻度が高い。CVDの型には、冠状動脈性心臓病(虚血性心疾患または冠動脈疾患も)、心筋症(心筋の疾患)、高血圧性心疾患(高血圧に伴う心臓の疾患)、心不全、冠状動脈性心臓病、肺性心(右心室の不全)、不整脈(心リズムの異常)、炎症性心疾患[心内膜炎(心臓の内層、心内膜の炎症)、炎症性心臓肥大症および心筋症(心筋、心臓の筋性部の炎症)など]、心臓弁膜症、脳卒中および脳血管疾患;ならびに末梢動脈疾患がある。

【０１２９】

一実施形態において、本発明のペプチドを、スタチン(HMG-CoA還元酵素阻害薬)、例えばアトルバスタチン[リピトールおよびトルバスト(Torvast)]、フラバスタチン(レスコール)、ロバスタチン[メバコール、アルトコール(Altocor)、アルトプレブ]、ピタバスタチン(リバロ、ピタバ)、プラバスタチン(プラバコール、セレクチン、リポスタット)、ロスバスタチン(クレストール)もしくはシンバスタチン、またはフィブラート系のベザフィブラート(例えばベザリップ)、シプロフィブラート(例えばモダリム)、ゲムフィブロジル(例えばロピッド)、フェノフィブラート(例えばトライコア)と併用して、高脂血症、高トリグリセリド血症、高コレステロール血症および/またはアテローム性動脈硬化症などの心血管疾患を治療することができる。

【０１３０】

別の実施形態において、本発明のペプチドは、例えば、それだけには限らないがアスピリンなど抗菌性および/または抗炎症性薬剤と併用することができる。本発明のペプチドは、当業者に公知の降圧薬と併用できる。2つ以上の追加の療法を、本発明のペプチドの投与と併用できることは理解されよう。

【０１３１】

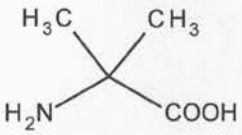
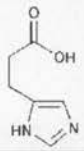
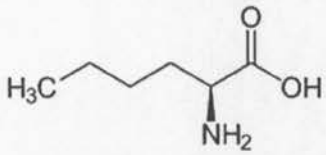
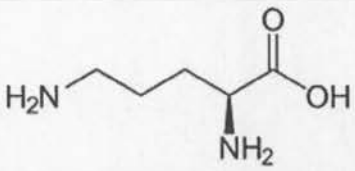
一実施形態において、本発明のペプチドを、高脂血症、高トリグリセリド血症、高コレステロール血症、高リポタンパク血症、HDL欠乏症、ApoA-I欠乏症、冠動脈疾患、アテローム性動脈硬化症、脳卒中、虚血、梗塞、心筋梗塞、出血、末梢血管疾患、再狭窄、急性冠動脈症候群または再灌流心筋障害などの脂質異常症もしくは血管障害を患っている動物またはヒトに、脂質異常症または血管障害を阻害もしくは治療するのに十分な量で投与できる。この使用に有効な量は、障害の重症度および対象の健康の全身状態によって決まることになる。ペプチドの治療上有効な量とは、徴候の自覚的な軽減または臨床医もしく他の資格のある観察者によって言及される他覚的に識別可能な改善のいずれかが得られる量である。

【０１３２】

本文脈において使用されるアミノ酸の略語は、以下の意味を有する:

【０１３３】

【表２】

アミノ酸 (3 文字コード)	アミノ酸 1 文字コード	説明
Aib		
Ala	A	アラニン
Asn	N	アスパラギン
Asp	D	アスパラギン酸
Arg	R	アルギニン
Cys	C	システイン
Gln	Q	グルタミン
Glu	E	グルタミン酸
Gly	G	グリシン
His	H	ヒスチジン
デスアミノヒスチジン (DesH)		イミダゾプロピオン酸 
Ile	I	イソロイシン
Leu	L	ロイシン
Lys	K	リジン
Met	M	メチオニン
ノルロイシン (Nle)		
オルニチン (Orn)		
Phe	F	フェニルアラニン
Pro	P	プロリン
Ser	S	セリン
Thr	T	トレオニン
Tyr	Y	チロシン
Trp	W	トリプトファン
Val	V	バリン

【０１３４】

機能特性

生物活性 - in vitro効力

特定の実施形態において、効力および/または活性とは、in vitro効力、すなわち機能的GLP-1受容体アッセイにおける成績、より具体的にはヒトGLP-1受容体を活性化する能力のことを指す。ヒトGLP-1受容体の反応は、例えばヒトGLP-1受容体を発現し、プロモーターおよびホタルルシフェラーゼ(CREルシフェラーゼ)遺伝子と結合されたcAMP反応要素(CRE)のDNAを含有する安定にトランスフェクトされたBHK細胞株におけるレポータ遺伝子アッセイで測定することができる。GLP-1受容体の活性化によりcAMPが産生されるとき、次にルシフェラーゼが発現される。ルシフェラーゼは、ルシフェリンを添加することによって決定することができ、酵素によってルシフェリンはオキシルシフェリンに変換され、生物発光を生じる、その発光が測定され、in vitro効力の尺度になる。そのようなアッセイの非限定的な一例については、実施例2に記述される。

【０１３５】

用語最大半量有効濃度(EC_{50})とは、用量反応曲線を参照することによる、基準値と最大値の中間の反応を誘導する濃度のことを一般に指す。EC_{50}は、化合物の効力の尺度として使用され、最大効果の50%が観察される濃度を表す。

【０１３６】

上記の通り本発明のペプチドのin vitro効力を決定することができ、論点のペプチドのEC_{50}が決定される。EC_{50}値が低いほど、効力はより高い。

【０１３７】

さらに特定の実施形態において、本発明のペプチドは、10000pMまたはそれを下回る、より好ましくは5000pMより低い、さらにより好ましくは1000pMより低い、最も好ましくは500pMより低いEC_{50}に相当する、実施例2の方法を使用して決定されるin vitro効力を有する。

【０１３８】

特定の実施形態において、効力および/または活性とは、in vitro効力、すなわちコレステロール流出を決定するアッセイ、より具体的には細胞外へのコレステロールの流出を測定する細胞もしくは組織に基づくアッセイにおける成績のことを指す。例えば、マウス単球/マクロファージ細胞株等の細胞、RAW 264.7またはそれだけには限らないが、ABCA1(および/またはABCG1)輸送体をトランスフェクトしたTHP-1、BHK細胞等の他の細胞、あるいは他の単球またはマクロファージ初代細胞もしくは細胞株を使用して、コレステロール流出アッセイを確立することができる。例えば、cAMPを使用してABCA1輸送体を上方制御することができ、それによりABCA1輸送体に特異的に媒介されるコレステロール流出の測定が可能になる。

【０１３９】

また、もしくは別法として、コレステロール流出は、3H-コレステロールと一緒に細胞をインキュベートし、その後培地に流出した標識コレステロールの放射活性を測定することによって培地に流出したコレステロールの量を測定することにより測定できる。非特異的コレステロール流出は、非誘導細胞(すなわち、cAMPによって誘導していない細胞)において測定することができる。ABCA1媒介流出は、誘導した流出と非誘導の流出の差から得ることができる。そのようなアッセイの1つ非限定的な例は、実施例6に記述される。

【０１４０】

さらに特定の実施形態において、本発明のペプチドは、2μMまたはそれを下回る、さらにより好ましくは1μMまたはそれを下回る、最も好ましくは0.8μMより低いEC_{50}効力に相当する、実施例6の方法を使用して決定されるin vitro効力を有する。

【０１４１】

さらに特定の実施形態において、本発明のペプチドは、L-4F のE_{max}の65%またはそれを上回る、最も好ましくはL-4F のE_{max}の75%またはそれを上回る、実施例6の方法で決定されるin vitro E_{max}を有する。

【０１４２】

本発明の化合物のコレステロール流出効力も、L-4Fと比較して表示できる。

【０１４３】
さらに特定の実施形態において、本発明の化合物のコレステロール流出効力は、L-4Fのそれまたはそれを下回るEC_{50}値を有する。
【０１４４】
生物活性 - in vivo薬理学
別の特定の実施形態において、本発明のペプチドまたはその類似体はin vivoで効力があり、その効力は、当技術分野で公知のように任意の適切な動物モデルおよび臨床試験において決定することができる。
【０１４５】
糖尿病db/dbマウスは適切な動物モデルの一例であり、例えば実施例7に記載の通り、そのようなマウスにおいて血糖低減効果をin vivoで決定することができる。
【０１４６】
コレステロール流出
第3の機能的態様によると、本発明のペプチドは、コレステロール流出活性を有する。コレステロール流出は、主にABCA1輸送体によって輸送される、マクロファージ細胞株からコレステロールを流出させる化合物の能力を測定することによりin vitroで評価される。
【０１４７】
コレステロール流出活性は、実施例6に記載の通りin vitroで決定される。
【０１４８】
ABCA1媒介流出は、誘導した流出と非誘導の流出の差から得ることができる。ソフトウェアによって算出され、μMで記録されたEC_{50}値、および%で表されたE_{max}値をTable6(表7)に示す。図2は、化合物1、hGLP-1およびエキセンディン-4のコレステロール流出曲線を示す。
【０１４９】
薬物動態プロファイル
第4の機能的態様によると、本発明のペプチドは、終末相半減期の延長など薬物動態特性を改善した。
【０１５０】
経口生物学的利用能の増大は、経口的に投与される用量のより大きな画分が体循環に届き、そこから分配されて薬理効果を呈し得ることを意味する。
【０１５１】
本発明のペプチドの薬物動態特性は、薬物動態(PK)研究において、in vivoで最適に決定できる。そのような研究を行って、医薬品化合物が、体内でどのように吸収、分布、排泄され、これらの過程が体内の化合物濃度にどのように影響を及ぼすかを経時的に評価する。
【０１５２】
医薬品開発の発見および前臨床相において、マウス、ラット、サル、イヌまたはブタなどの動物モデルを使用して、この特徴づけを実施することができる。これらのモデルのいずれかを使用して、本発明のペプチドの薬物動態特性を試験することができる。
【０１５３】
そのような研究において、動物は、妥当な製剤で、静脈内(i.v.)、皮下(s.c.)または経口(p.o.)のいずれかにより薬物の単回投与で一般に投与される。血液サンプルは、投薬後のあらかじめ決められた時点に採血され、サンプルは妥当な定量アッセイにより薬物濃度について分析される。これらの測定に基づいて、研究の化合物の時間-血漿濃度プロファイルがプロットされ、データのいわゆるノンコンパートメント薬物動態解析が実施される。
【０１５４】
ほとんどの化合物に関して、半対数プロットで描画した場合、血漿濃度プロファイルの終末部は線形になり、初期吸収および分布の後に、薬物が一定の配分率で身体から除去さ

れることを反映している。率(ラムダZまたはλ_z)は、プロットの終末部の傾きマイナスに等しい。この率から、$T_{1/2}=\ln(2)/\lambda_z$として終末相半減期も算出できる(例えばJohan GabrielssonおよびDaniel Weiner: Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Data Analysis. Concepts & Applications、第3版、Swedish Pharmaceutical Press、Stockholm、2000年を参照のこと)。

【０１５５】

i.v.投与後にクリアランスを決定することができ、血漿中濃度対時間プロファイルにおける曲線下面積(AUC)で割った用量(D)として定義される(Rowland, MおよびTozer TN: Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications、第3版、1995年、Williams Wilkins)。

【０１５６】

新たな薬物化合物の評価において、終末相半減期および/またはクリアランスの推定値は、投薬治療計画の評価に妥当であり、薬剤開発における重要な指標となる。

【０１５７】

薬物動態プロファイル-マウスにおけるin vivo半減期

第4の機能的態様によると、本発明のペプチドは、hGLP-1と比較して薬物動態特性が改善した。好ましくは、本発明のペプチドは、1日1回の投与に適した薬物動態特性を有する。

【０１５８】

特定の実施形態において、薬物動態特性は、i.v.およびs.c.投与後のマウスにおけるin vivo終末相半減期($T_{1/2}$)として決定できる。追加の実施形態において、終末相半減期は、少なくとも1時間、好ましくは少なくとも3時間、好ましくは少なくとも4時間、さらにより好ましくは少なくとも5時間、最も好ましくは少なくとも6時間である。

【０１５９】

i.v.およびs.c.投与後のマウスにおけるin vivo終末相半減期を決定するための適切なアッセイについて、本明細書の実施例8に開示する。

【０１６０】

薬物動態プロファイル-ミニブタにおけるin vivo半減期

第4の機能的態様によると、本発明のペプチドは、hGLP-1と比較して薬物動態特性が改善し、好ましくは、1日1回の投与に適している。

【０１６１】

特定の実施形態において、例えば本明細書の実施例9に記載の通り、薬物動態特性は、i.v.投与後のミニブタにおけるin vivo終末相半減期($T_{1/2}$)として決定できる。

【０１６２】

特定の実施形態において、ミニブタにおける終末相半減期は、少なくとも5時間、好ましくは少なくとも10時間、さらにより好ましくは少なくとも15時間、最も好ましくは少なくとも20時間である。

【０１６３】

生物物理学的特性

第5の態様によると、本発明のペプチドは、良好な生物物理学的特性を有する。これらの特性には、それだけには限らないが、物理的安定性および/または可溶性がある。これらのおよび他の生物物理学的特性は、タンパク質化学の技術分野において公知の標準的な方法を使用して測定できる。特定の実施形態において、これらの特性は、天然のGLP-1(配列番号1または配列番号2)と比較して改善されている。ペプチドの変化したオリゴマー特性は、生物物理学的特性の改善に少なくとも部分的に関与し得る。

【０１６４】

生物物理学的特性を調査するアッセイの非限定的な例について、実施例3、実施例4および実施例5に記述する。

【０１６５】

本発明のペプチドのさらなる特定の実施形態について、実験の項の前の「特定の実施形

態」および「さらなる特定の実施形態」と表題を付けた項に記述する。

【０１６６】

調製の方法

本発明のGLP-1受容体アゴニストペプチドは、ペプチドおよびペプチド誘導体を調製する従来の方法によって、特に実施例に記述される方法にしたがって得ることができる。

【０１６７】

本発明のGLP-1部分(またはその断片)は、例えば古典的なペプチド合成、例えば、t-BocもしくはFmoc化学を使用する固相ペプチド合成または他の確立された技術によって生成することができる。例えば、GreeneおよびWuts、「Protective Groups in Organic Synthesis」、John Wiley & Sons、1999年、Florencio Zaragoza Doerwald、「Organic Synthesis on solid Phase」、Wiley-VCH Verlag GmbH、2000年、「Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis」、W.C. ChanおよびP.D. White編、Oxford University Press、2000年を参照のこと。

【０１６８】

さらに、または別法として、それらは、組換え方法、すなわち類似体をコードしているDNA配列を含有し、適切な栄養培地中でペプチドを発現可能な条件下でペプチドを発現できる宿主細胞を培養することにより生成できる。これらのペプチドの発現に適した宿主細胞の非限定的な例は、大腸菌(Escherichia coli)、酵母(Saccharomyces cerevisiae)および哺乳動物のBHKまたはCHO細胞株である。

【０１６９】

非天然のアミノ酸および/または共有結合しているN末端モノもしくはジペプチド模倣体を含む本発明のペプチドは、例えば実験の項に記載の通り、またはHodgsonら、The synthesis of peptides and proteins containing non-natural amino acids; Chemical Society Reviews、2004年、33 7 422～430頁に記載の通り;または、「Semi-recombinant preparation of GLP-1 analogues」と名付けられたWO 2009/083549 A1に記載の通り生成することができる。

【０１７０】

本発明の多くのペプチドを調製する方法の特定の例は、実験の項に含まれる。

【０１７１】

医薬組成物

本発明のペプチドを含む医薬組成物または薬学的に許容されるその塩、アミドもしくはエステル、および薬学的に許容される賦形剤は、当技術分野で公知のように調製することができる。

【０１７２】

用語「賦形剤」とは、活性がある治療成分以外の任意の構成要素のことを広く指す。賦形剤は、非活性物質、不活性物質、および/または医薬として活性が無い物質であることができる。

【０１７３】

賦形剤は様々な目的、例えば担体、媒体、希釈剤として、ならびに/または有効成分の投与および/もしくは吸収を改善するために機能できる。

【０１７４】

様々な賦形剤を含む薬学的に活性がある成分の製剤は、当技術分野において公知であり、例えばRemington: The Science and Practice of Pharmacy[例えば第19版(1995)および任意の後の版]を参照のこと。

【０１７５】

賦形剤の非限定的な例は、溶媒、希釈剤、緩衝液、防腐剤、張度調整剤、キレート剤および安定剤である。

【０１７６】

製剤の例には、液体製剤、すなわち水を含む水性製剤がある。液体製剤は、溶液または懸濁液であることができる。水性製剤は、少なくとも50% w/w水、または水の少なくとも6

0%、70%、80%、もしくはさらに少なくとも90% w/wを通常含む。

【０１７７】

水性製剤のpHは、pH3～pH10のいずれであってもよく、例えば約7.0～約9.5;または約3.0～約9.0である。

【０１７８】

医薬組成物は、緩衝液を含むことができる。医薬組成物は、防腐剤を含むことができる。医薬組成物は、キレート剤を含むことができる。キレート剤は、例えばエチレンジアミン四酢酸(EDTA)、クエン酸およびアスパラギン酸の塩、ならびにその混合物から選択することができる。

【０１７９】

医薬組成物は、安定剤を含むことができる。安定剤は、例えば1つ以上の酸化防止剤、凝集阻害剤、界面活性剤および/または1つ以上のプロテアーゼ阻害剤であることができる。これらの様々な種類の安定剤の非限定的な例を、以下に開示する。

【０１８０】

用語「凝集体形成」とは、可溶性のままで存在し得るオリゴマーまたは溶液から沈殿する大きな可視凝集体の形成をもたらすポリペプチド分子間の物理的相互作用のことを指す。液体医薬組成物の貯蔵中のポリペプチドによる凝集体形成は、ポリペプチドの生物活性に悪影響を与える可能性があり、医薬組成物の治療効果の低下を招く。さらに、ポリペプチド含有医薬組成物を、点滴システムを使用して投与する場合、凝集体形成は管、膜またはポンプの詰まりなど他の問題の原因になることがある。

【０１８１】

医薬組成物は、組成物の貯蔵中のポリペプチドの凝集体形成を減少させるのに十分な量のアミノ酸塩基を含むことができる。用語「アミノ酸塩基」とは、1つ以上のアミノ酸(メチオニン、ヒスチジン、イミダゾール、アルギニン、リジン、イソロイシン、アスパラギン酸、トリプトファン、トレオニンなど)またはその類似体のことを指す。どのアミノ酸も、その遊離塩基の形態またはその塩の形態のいずれかで存在することができる。アミノ酸塩基の任意の立体異性体(すなわち、L、Dまたはその混合物)が、存在することができる。

【０１８２】

治療薬として作用しているポリペプチドが、メチオニン残基のメチオニンスルホキシドへの酸化の影響を受けやすいメチオニン残基を少なくとも1つ含むポリペプチドである場合、メチオニン(もしくは他の硫黄アミノ酸または類似のアミノ酸)を付加して、そのような酸化を阻害することができる。メチオニンの任意の立体異性体(LまたはD)またはその組合せを使用することができる。

【０１８３】

医薬組成物は、高分子量ポリマーまたは低分子化合物の群から選択される安定剤を含むことができる。医薬組成物は、それだけには限らないが、メチオニン酸化からポリペプチドを保護するメチオニンおよびEDTA、ならびに凍結融解または機械的剪断に関連した凝集からポリペプチドを保護する非イオン性界面活性剤など追加の安定化剤を含むことができる。

【０１８４】

医薬組成物は、1つ以上の界面活性剤を含むことができる。用語「界面活性剤」とは、水溶性(親水性)部分および脂溶性(親油性)部分から構成される任意の分子またはイオンのことを指す。界面活性剤は、例えば陰イオン性界面活性剤、陽イオン性界面活性剤、非イオン性界面活性剤および/または両性イオン性界面活性剤からなる群から選択することができる。

【０１８５】

医薬組成物は、1つ以上のプロテアーゼ阻害剤を含むことができる。

【０１８６】

医薬組成物の追加の、任意の成分には、例えば、湿潤剤、乳化剤、酸化防止剤、増量剤

、金属イオン、油性媒体、タンパク質(例えば、ヒト血清アルブミン、ゼラチン)および/または両性イオン(例えば、ベタイン、タウリン、アルギニン、グリシン、リジンおよびヒスチジンなどのアミノ酸)がある。

【０１８７】

投与用量は、0.01mg～100mgのペプチドまたは0.1～50mgもしくは1～25mgのペプチドを含有できる。

【０１８８】

本発明のGLP-1受容体アゴニストペプチドは、医薬組成物の形態で投与することができる。それは、いくつかの部位、例えば、表皮または粘膜部位などの局在部位;動脈内、静脈内または心臓内など吸収を省略する部位;および皮内、皮下、筋肉内または腹部内など吸収を含む部位でそれを必要とする患者に投与することができる。

【０１８９】

投薬経路は、例えば、舌;舌下;口腔;口腔内;経口;胃内;腸内;経鼻;細気管支、肺胞もしくはその組合せを経由するなどの経肺;非経口、表皮;真皮;経皮;結膜;尿管(uretal);膣;直腸;および/または目であることができる。

【０１９０】

組成物は、いくつかの剤形、例えば溶剤;懸濁剤;乳剤;マイクロ乳剤;多層乳剤;発泡剤;塗剤;パスタ剤;膏剤;軟膏;錠剤;コーティング錠;チューインガム;リンス剤;硬または軟ゼラチンカプセルなどのカプセル剤;坐薬;直腸カプセル;滴剤;ゲル剤;スプレー剤;粉剤;噴霧剤;吸入剤;点眼薬;眼軟膏;眼のリンス剤;膣のペッサリー;膣のリング;膣軟膏;注射液;in situゲル化、凝結、沈殿およびin situ結晶化などのin situ変換溶液;点滴溶液;または移植片として投与することができる。組成物は、錠剤、任意選択でコーティング剤、カプセル剤またはチューインガムであることができる。

【０１９１】

組成物は、例えば安定性、生物学的利用能および/または可溶性を改善するために、薬物担体もしくは薬物送達システムにさらに混ぜ合わせてもよい。特定の実施形態において、共有結合、疎水的および/または静電的相互作用によって、そのようなシステムに組成物を付着させることができる。そのような調合の目的は、例えば、有害作用を減少させ、時間療法を実現し、および/または患者の服薬順守を高めることである。

【０１９２】

組成物は、制御された、持続性、延長した、遅延性および/または徐放性薬物送達システムの製剤に使用することもできる。

【０１９３】

非経口投与は、注射器、任意選択でペン様注射器による、または点滴ポンプによる皮下、筋肉内、腹膜内もしくは静脈内注射によって実施できる。

【０１９４】

組成物は、液剤、懸濁剤または粉剤の形態で経鼻投与することができ;または液剤または粉剤スプレー剤の形態で経肺投与することができる。

【０１９５】

例えば、無針注射による、イオン導入パッチなどのパッチから、または例えば頬などの経粘膜経路を通しての経皮投与は、なおさらなる選択肢である。

【０１９６】

組成物は、安定化製剤であることができる。用語「安定化製剤」とは、物理的および/または化学的安定性、好ましくは両方が増大した製剤のことを指す。一般に、製剤は、有効期限に達するまで、使用および貯蔵の間(推奨される使用および貯蔵条件にしたがう)安定でなければならない。

【０１９７】

用語「物理的安定性」とは、熱機械ストレスへの曝露ならびに/または不安定化界面および表面(疎水性表面など)との相互作用の結果として、生物学的に不活性なおよび/または不溶性の凝集体を形成するポリペプチドの傾向のことを指す。水性ポリペプチド製剤の

物理的安定性は、異なる温度で様々な時間、機械的/物理的ストレス(例えば攪拌)に曝露した後の、目視検査および/または混濁測定によって評価できる。別法として、物理的安定性は、分光薬剤または例えばチオフラビンTなどポリペプチドの立体配座状態のプローブもしくは「疎水性パッチ」プローブを使用して評価できる。

【０１９８】

用語「化学的安定性」とは、完全なポリペプチドと比較して生物学的効力の低下および/または免疫原性効果の増大を潜在的に有する化学分解産物の形成をもたらすポリペプチド構造の化学変化(特に共有結合)のことを指す。化学的安定性は、異なる環境条件に曝露した後に様々な時点で、例えばSEC-HPLCおよび/またはRP-HPLCにより化学分解産物の量を測定することによって評価できる。

【０１９９】

本発明によるペプチドを用いる治療は、例えば糖尿病薬、肥満防止薬、食欲調整薬、抗高血圧薬、糖尿病に起因するもしくはそれと関連する合併症を治療および/または予防するための薬剤、ならびに肥満に起因するもしくはそれに関連する合併症および障害を治療および/または予防するための薬剤から選択される1つ以上の追加の薬理活性物質と併用することもできる。

【０２００】

これらの薬理活性物質の例は、インスリンおよびそれだけには限らないがランタス、別名インスリングラルギンなどのインスリン類似体、スルホニルウレア、ビグアナイド、メグリチニド、グルコシダーゼ阻害薬、グルカゴンアンタゴニスト、DPP-IV(ジペプチジルペプチダーゼ-IV)阻害剤、糖新生および/またはグリコーゲン分解の刺激に関与する肝臓酵素の阻害剤、グルコース取り込み変調剤、HMG CoA阻害剤(スタチン)のような抗脂質異常症薬など脂質代謝を修飾する化合物、食物摂取を低減する化合物、RXRアゴニストならびにβ細胞のATP依存性カリウムチャネルに対して作用する薬剤;コレスチラミン、コレスチポール、クロフィブレート、ゲムフィブロジル、ロバスタチン、プラバスタチン、シンバスタチン、プロブコール、デキストロチロキシン、ナテグリニド(neteglinide)、レパグリニド;アルプレノロール、アテノロール、チモロール、ピンドロール、プロプラノロールおよびメトプロロールなどのβ遮断薬、ベナゼプリル、カプトプリル、エナラプリル、フォシノプリル、リシノプリル、アラトリオプリル、キナプリルおよびラミプリルなどのACE(アンジオテンシン変換酵素)阻害剤、ニフェジピン、フェロジピン、ニカルジピン、イスラジピン、ニモジピン、ジルチアゼムおよびベラパミルなどのカルシウム遮断薬、ドキサゾシン、ウラピジル、プラゾシンおよびテラゾシンなどのα遮断薬; CART(コカインアンフェタミン調節転写産物)アゴニスト、オレキシンアンタゴニスト、TNF(腫瘍壊死因子)アゴニスト、CRF(副腎皮質刺激ホルモン放出因子)アゴニスト、CRF BP(副腎皮質刺激ホルモン放出因子結合タンパク質)アンタゴニスト、ウロコルチンアゴニスト、β3アゴニスト、セロトニン再取り込み阻害剤、セロトニンおよびノルアドレナリン再取り込み阻害剤、混合セロトニンおよびノルアドレナリン作動性化合物、5HT(セロトニン)アゴニスト、ガラニンアンタゴニスト、成長ホルモン、成長ホルモン放出化合物、TRH[甲状腺刺激ホルモン(thyreotropin)放出ホルモン]アゴニスト、UCP2もしくは3(脱共役タンパク質2または3)変調剤、DAアゴニスト[ブロモクリプチン、ドプレキシン(doprexin)]、リパーゼ/アミラーゼ阻害剤、RXR(レチノイドX受容体)変調剤、TRβアゴニスト;ヒスタミンH3アンタゴニストである。この発明によるペプチドを用いる治療は、胃結束もしくは胃バイパスなど血糖値および/または脂質ホメオスタシスに影響する手術と併用することもできる。

【０２０１】

医療適用

本発明は、医薬として使用されるペプチドにも関する。

【０２０２】

特定の実施形態において、本発明のペプチドは以下の薬物治療に使用することができ、その全てが、好ましくは1つまたは他の方法を糖尿病もしくは心血管疾患またはその2つの組合せと関連付ける:

(i)高血糖、2型糖尿病、耐糖能異常、1型糖尿病、インスリン非依存性糖尿病、MODY(若者の成人発症型糖尿病)、妊娠糖尿病および/もしくはHbA1Cの減少など糖尿病の全ての形態の予防ならびに/または治療;

(ii)2型糖尿病の進行など、糖尿病性疾患の進行の遅延もしくは予防、耐糖能異常(IGT)のインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延、および/またはインスリン非要求性2型糖尿病のインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延;

(iii)β-細胞アポトーシスの減少、β-細胞機能および/もしくはβ-細胞量の増大、ならびに/またはβ-細胞に対するグルコース感受性の回復などβ-細胞機能の改善;

(iv)認知障害の予防および/または治療;

(v)例えば、食物摂取の減少、体重の低下、食欲の抑制、飽満の誘導;抗精神病薬もしくはステロイドの投与によって誘導される過食障害、神経性過食症および/もしくは肥満の治療または予防;胃運動性の減少;および/または胃内容排出の遅延による、肥満など摂食障害の予防および/または治療;

(vi)末梢神経疾患を含めた神経障害;腎症;または網膜症など糖尿病合併症の予防および/もしくは治療;

(vii)脂質異常症の予防および/または治療、全血清脂質の低減;HDLの低減;小さい、高密度LDLの低減;VLDLの低減:トリグリセリドの低減;コレステロールの低減;HDLの増大;ヒトにおけるリポタンパク質[Lp(a)]の血漿レベルの低減;アポリポタンパク質[apo(a)]の生成の阻害など脂質指標の改善;

(iix)それだけには限らないが、高脂血症、高リポタンパク血症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、HDL欠乏症、ApoA-I欠乏症、冠状動脈性心臓病、アテローム性動脈硬化症、脳血栓、脳卒中、末梢血管疾患、再狭窄、急性冠動脈症候群、再灌流心筋障害、エックス症候群;心筋梗塞;脳虚血;左室肥大など初期心臓もしく初期心血管疾患;冠動脈疾患;本態性高血圧;急性高血圧性緊急症;心筋症;心不全;運動耐性;慢性心不全;不整脈;心律動異常;失神(syncopy);アテローム性動脈硬化症(atheroschlerosis);軽度の慢性心不全;狭心症;心臓バイパス再閉塞;間欠性跛行[閉塞性動脈硬化症(atheroschlerosis obliterens)];拡張機能障害;および/または収縮機能障害など心血管疾患の予防ならびに/または治療;

(ix)炎症性腸症候群;小腸症候群またはクローン病;消化不良;および/または胃潰瘍;など胃腸疾患の予防ならびに/または治療;

(x)非常に重篤な患者、重篤疾患多発性腎症(CIPNP)患者および/もしくは潜在的CIPNP患者の治療など重病の予防ならびに/または治療;重病またはCIPNPの発症の予防;患者における全身性炎症反応症候群(SIRS)の予防、治療および/または治癒;ならびに/または患者が入院中に菌血症、敗血症および/もしくは感染性ショックを患う可能性の予防または低減;ならびに/または

xi)多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の予防および/または治療。

【０２０３】

特定の実施形態において、適応は、適応(i)、(ii)および/もしくは(iii);または適応(v)、適応(vi)、適応(vii)および/もしくは適応(iix)など(i)～(iii)および(v)～(iix)からなる群から選択される。

【０２０４】

別の特定の実施形態において、適応は(i)である。さらに特定の実施形態において、適応は(v)である。なおさらなる特定の実施形態において、適応は(iix)である。

【０２０５】

下の適応が、特に好ましい:2型糖尿病および/または肥満および/または心血管疾患、特にアテローム性動脈硬化症。

【０２０６】

実施形態

本発明は、続く実施形態を参照することによりさらに定義することができる:

【０２０７】

1．コレステロール流出活性を有する、αヘリックス構造に両親媒性ヘリックスを含むGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２０８】

2．αヘリックス構造に両親媒性ヘリックスを含むGLP-1受容体アゴニストペプチドであって、実施例6の方法により測定した場合に、L-4Fの少なくとも65%のE_{max}のコレステロール流出活性およびL-4Fの効力より良好なEC_{50}として測定される効力を有するGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２０９】

3．少なくとも31個のアミノ酸残基を含む、実施形態2のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２１０】

4．少なくとも32個のアミノ酸残基を含む、実施形態2のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２１１】

5．少なくとも32個のアミノ酸残基を含む、実施形態2のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２１２】

6．少なくとも33個のアミノ酸残基を含む、実施形態2のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２１３】

7．少なくとも34個のアミノ酸残基を含む、実施形態2のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２１４】

8．前記両親媒性ヘリックスが少なくとも15個のアミノ酸残基を含む、実施形態1～7のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２１５】

9．前記両親媒性ヘリックスが少なくとも16個のアミノ酸残基を含む、実施形態1～7のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２１６】

10．前記両親媒性ヘリックスが少なくとも17個のアミノ酸残基を含む、実施形態1～7のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２１７】

11．前記両親媒性ヘリックスが少なくとも18個のアミノ酸残基を含む、実施形態1～7のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２１８】

12．前記両親媒性ヘリックスが、親水性および親油性面を含む、実施形態1～11のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２１９】

13．前記親水性面が少なくとも6個のアミノ酸残基を含み、少なくとも4個のアミノ酸残基が帯電している、実施形態12のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２２０】

14．前記親水性面が少なくとも6個のアミノ酸残基を含み、少なくとも5個のアミノ酸残基が帯電している、実施形態12のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２２１】

15．前記親水性面が少なくとも6個のアミノ酸残基を含み、少なくとも6個のアミノ酸残基が帯電している、実施形態12のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２２２】

16．前記荷電アミノ酸残基が少なくとも2つの負荷電を有するアミノ酸および少なくとも2つの正荷電を有するアミノ酸を含む、実施形態13～15のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２２３】
17. 前記親油性面が少なくとも7個のアミノ酸残基を含み、少なくとも6個のアミノ酸残基が親油性である、実施形態13～15のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【０２２４】
18. 前記親油性面が少なくとも7個のアミノ酸残基を含み、少なくとも7個のアミノ酸残基が親油性である、実施形態13～15のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【０２２５】
19. 前記親油性面が少なくとも8個のアミノ酸残基を含み、少なくとも7個のアミノ酸残基が親油性である、実施形態13～15のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【０２２６】
20. 前記親油性面が少なくとも8個のアミノ酸残基を含み、少なくとも8個のアミノ酸残基が親油性である、実施形態13～15のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【０２２７】
21. 実施形態22～37のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチドである、実施形態1～20のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【０２２８】
22. 式Iのアミノ酸配列:
X_7-X_8-X_9-Gly-Thr-X_{12}-Thr-X_{14}-Asp-X_{16}-X_{17}-X_{18}-X_{19}-X_{20}-X_{21}-X_{22}-X_{23}-X_{24}-X_{25}-X_{26}-X_{27}-Phe-X_{29}-X_{30}-X_{31}-Leu-X_{33}-X_{34}-X_{35}-X_{36}-X_{37}-X_{38}-X_{39}-X_{40}-X_{41}-X_{42}-X_{43}-X_{44}-X_{45}-X_{46}-X_{47}-X_{48}-X_{49}-X_{50}
[式中、X_7はHisまたはデスアミノHisを表し;
X_8はAla、Gly、SerまたはAibを表し;
X_9はGlu、Asp、GlnまたはHisを表し;
X_{12}はPhe、TyrまたはLeuを表し;
X_{14}はSer、AsnまたはHisを表し;
X_{16}はVal、Tyr、Leu、IleまたはMetを表し;
X_{17}はSerまたはThrを表し;
X_{18}はSer、Lys、Arg、Glu、AsnまたはGlnを表し;
X_{19}はTyrまたはGlnを表し;
X_{20}はLeu、MetまたはTyrを表し;
X_{21}はGlu、AspまたはGlnを表し;
X_{22}はGly、Ser、Glu、Lys、AibまたはProを表し;
X_{23}はGln、Glu、Lys、Trp、ArgまたはAspを表し;
X_{24}はAla、Aib、LysまたはArgを表し;
X_{25}はAla、Val、Phe、His、Leu、Met、Trp、Tyr、IleまたはAibを表し;
X_{26}はLys、Asn、Glu、Arg、His、Gly、ValまたはGlnを表し;
X_{27}はGlu、Asp、Gln、Ala、His、Gly、Arg、Lys、AibまたはLeuを表し;
X_{29}はIleまたはValを表し;
X_{30}はAla、Val、Gln、Ile、Trp、Aib、Glu、ArgまたはLysを表し;
X_{31}はTrp、Gln、LysまたはHisを表し;
X_{33}はVal、Met、Ile、Leu、Thr、ArgまたはLysを表し;
X_{34}はLys、Glu、Asn、Asp、Gln、His、GlyまたはArgを表し;
X_{35}はGly、Lys、Arg、His、Ser、Thr、Aib、AlaまたはGlnを表し;
X_{36}はGly、Aib、Val、Leu、Ala、His、Ile、Met、Trp、TyrまたはPheを表し;
X_{37}はGly、Ala、Glu、Aib、His、Arg、Leu、Pro、LysまたはGlnを表し;
X_{38}はGlu、Ser、Asp、His、Gly、Glnもしくはアミドを表し、またはX_{38}は存在せず;
X_{39}はPhe、Leu、His、Ala、Ser、Ile、Met、Val、Trp、Tyr、Gly、Glu、Lysもしくはアミドを表し、またはX_{39}は存在せず;
X_{40}はGly、Leu、Phe、Val、His、Gly、Ala、Ile、Met、Trp、Tyrもしくはアミドを表し、またはX_{40}は存在せず;

X_{41}はGlu、Asp、Ala、Gly、Lysもしくはアミドを表し、またはX_{41}は存在せず;
X_{42}はLeu、Pro、Lys、Argもしくはアミドを表し、またはX_{42}は存在せず;
X_{43}はLeu、Pro、Valもしくはアミドを表し、またはX_{43}は存在せず;
X_{44}はLysもしくはアミドを表し、またはX_{44}は存在せず;
X_{45}はGluもしくはアミドを表し、またはX_{45}は存在せず;
X_{46}はPhe、Ileもしくはアミドを表し、またはX_{46}は存在せず;
X_{47}はIleもしくはアミドを表し、またはX_{47}は存在せず;
X_{48}はAlaもしくはアミドを表し、またはX_{48}は存在せず;
X_{49}はTrpもしくはアミドを表し、またはX_{49}は存在せず;
X_{50}はアミドを表し、またはX_{50}は存在せず;
ただし、X_{38}、X_{39}、X_{40}、X_{41}、X_{42}、X_{43}、X_{44}、X_{45}、X_{46}、X_{47}、X_{48}、X_{49}またはX_{50}が存在しない場合に、下流の各アミノ酸残基も存在しない]
を含む、実施形態1～21のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチドまたは薬学的に許容できるその塩、アミド、エステル、酸もしくはプロドラッグ。

【０２２９】

23. X_7がHisまたはデスアミノHisを表し;
X_8がAla、Gly、SerまたはAibを表し;
X_9がGlu、Asp、GlnまたはHisを表し;
X_{12}がPhe、TyrまたはLeuを表し;
X_{14}がSer、AsnまたはHisを表し;
X_{16}がVal、Tyr、Leu、IleまたはMetを表し;
X_{17}がSerまたはThrを表し;
X_{18}がSer、Lys、GluまたはAsnを表し;
X_{19}がTyrまたはGlnを表し;
X_{20}がLeu、MetまたはTyrを表し;
X_{21}がGluまたはAspを表し;
X_{22}がGly、Ser、GluまたはProを表し;
X_{23}がGln、Glu、Lys、Trp、ArgまたはAspを表し;
X_{24}がAla、Aib、LysまたはArgを表し;
X_{25}がAlaまたはValを表し;
X_{26}がLys、ArgまたはGlnを表し;
X_{27}がGlu、Asp、Gln、LysまたはLeuを表し;
X_{29}がIleまたはValを表し;
X_{30}がAla、Val、Gln、Trp、Aib、GluまたはLysを表し;
X_{31}がTrp、LysまたはHisを表し;
X_{33}がVal、Met、LeuまたはLysを表し;
X_{34}がLys、Glu、Asn、GlnまたはHisを表し;
X_{35}がGly、Lys、Arg、His、Thr、AlaまたはGlnを表し;
X_{36}がGly、Aib、Val、LeuまたはPheを表し;
X_{37}がGly、Ala、His、Arg、Leu、Pro、LysまたはGlnを表し;
X_{38}がGlu、Ser、Asp、His、Gly、Glnもしくはアミドを表し、またはX_{38}が存在せず;
X_{39}がPhe、Leu、His、Ala、Val、Trp、Gly、Glu、Lysもしくはアミドを表し、またはX_{39}が存在せず;
X_{40}がLeu、Phe、Val、His、Tyrもしくはアミドを表し、またはX_{40}が存在せず;
X_{41}がGlu、Ala、Asp、Gly、Lysもしくはアミドを表し、またはX_{41}が存在せず;
X_{42}がLeu、Lys、Argもしくはアミドを表し、またはX_{42}が存在せず;
X_{43}がLeu、Valもしくはアミドを表し、またはX_{43}が存在せず;
X_{44}がLysもしくはアミドを表し、またはX_{44}が存在せず;
X_{45}がGluを表し、またはX_{45}が存在せず;
X_{46}がPheを表し、またはX_{46}が存在せず;

X_{47}がアミドを表し、またはX_{47}が存在せず;
X_{48}が存在せず;
X_{49}が存在せず;
X_{50}が存在せず;
ただし、X_{38}、X_{39}、X_{40}、X_{41}、X_{42}、X_{43}、X_{44}、X_{45}、X_{46}、X_{47}、X_{48}、X_{49}またはX_{50}が存在しない場合に、下流の各アミノ酸残基も存在しない、
上で定義した式Iのアミノ酸配列を含む、実施形態1～21のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチドまたは薬学的に許容できるその塩、アミド、エステル、酸もしくはプロドラッグ。

【０２３０】

24. X_7がHisを表し;
X_8がSerまたはAibを表し;
X_9がGlu、Asp、GlnまたはHisを表し;
X_{12}がPhe、TyrまたはLeuを表し;
X_{14}がSer、AsnまたはHisを表し;
X_{16}がVal、Tyr、Leu、IleまたはMetを表し;
X_{17}がSerまたはThrを表し;
X_{18}がSer、Lys、GluまたはAsnを表し;
X_{19}がTyrまたはGlnを表し;
X_{20}がLeu、MetまたはTyrを表し;
X_{21}がGluまたはAspを表し;
X_{22}がGly、SerまたはGluを表し;
X_{23}がGln、Glu、Lys、ArgまたはAspを表し;
X_{24}がAla、Aib、LysまたはArgを表し;
X_{25}がValを表し;
X_{26}がLysまたはArgを表し;
X_{27}がGlu、AspまたはLysを表し;
X_{29}がIleを表し;
X_{30}がAla、Trp、AibまたはGluを表し;
X_{31}がTrp、LysまたはHisを表し;
X_{33}がVal、Met、LeuまたはLysを表し;
X_{34}がLysまたはGluを表し;
X_{35}がGly、Lys、ArgまたはThrを表し;
X_{36}がGly、Aib、LeuまたはPheを表し;
X_{37}がGly、Arg、Leu、ProまたはLysを表し;
X_{38}がGluもしくはアミドを表し、またはX_{38}が存在せず;
X_{39}がPhe、Leu、HisもしくはAlaを表し、またはX_{39}が存在せず;
X_{40}がLeu、Phe、ValもしくはHisを表し、またはX_{40}が存在せず;
X_{41}がGluもしくはアミドを表し、またはX_{41}が存在せず;
X_{42}がLeuもしくはLysを表し、またはX_{42}が存在せず;
X_{43}がLeuもしくはValを表す、またはX_{43}が存在せず;
X_{44}がLysもしくはアミドを表し、またはX_{44}が存在せず;
X_{45}がGluを表し、またはX_{45}が存在せず;
X_{46}がPheを表し、またはX_{46}が存在せず;
X_{47}がアミドを表し、またはX_{47}が存在せず;
X_{48}が存在せず;
X_{49}が存在せず;
X_{50}が存在せず;
ただし、X_{38}、X_{39}、X_{40}、X_{41}、X_{42}、X_{43}、X_{44}、X_{45}、X_{46}、X_{47}、X_{48}、X_{49}またはX_{50}が存在しない場合に、下流の各アミノ酸残基も存在しない、

上で定義した式Iのアミノ酸配列を含む、実施形態1～21のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチドまたは薬学的に許容できるその塩、アミド、エステル、酸もしくはプロドラッグ。

【０２３１】

25. X_7～X_{35}が、最大12個のアミノ酸置換を持つエキセンディン-4(1-29)、GLP-1(7-35)またはグルカゴンペプチド(1-29)を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０２３２】

26. X_7～X_{35}が、最大10個のアミノ酸置換を有するエキセンディン-4(1-29)、GLP-1(7-35)またはグルカゴンペプチド(1-29)を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０２３３】

27. X_7～X_{35}が、最大10個のアミノ酸置換を有するエキセンディン-4(1-29)を表す、実施形態26のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２３４】

28. X_7～X_{35}が、最大5個のアミノ酸置換を持つエキセンディン-4(1-29)を表す、実施形態26のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２３５】

29. X_7～X_{35}が、最大12個のアミノ酸置換を持つGLP-1(7-35)を表す、実施形態26のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２３６】

30. X_7～X_{35}が、最大10個のアミノ酸置換を持つGLP-1(7-35)を表す、実施形態26のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２３７】

31. X_7～X_{35}が、最大9個のアミノ酸置換を持つGLP-1(7-35)を表す、実施形態26のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２３８】

32. X_7～X_{35}が、最大10個のアミノ酸置換を持つグルカゴンペプチド(1-29)を表す、実施形態26のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２３９】

33. 配列番号9、配列番号10または配列番号11に対して60%超、70%超、80%超、90%超または95%超の配列同一性を有し、追加で最大3個のAib置換を有するペプチドを含む、実施形態1～32のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２４０】

34. 配列番号9に対して60%超、70%超、80%超、90%超または95%超の配列同一性を持ち、追加で最大3個のAib置換を持つペプチドを含む、実施形態1～33のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２４１】

35. 配列番号10に対して60%超、70%超、80%超、90%超または95%超の配列同一性を持ち、追加で最大3個のAib置換を持つペプチドを含む、実施形態1～34のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２４２】

36. 配列番号11に対して60%超、70%超、80%超、90%超または95%超の配列同一性を持ち、追加で最大3個のAib置換を持つペプチドを含む、実施形態1～35のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２４３】

37. X_7がHisまたはデスアミノHisを表し;
X_8がAla、Gly、SerまたはAibを表し;
X_9がGlu、Asp、GlnまたはHisを表し;
X_{12}がPhe、TyrまたはLeuを表し;

X_{14}がSer、AsnまたはHisを表し；
X_{16}がVal、Tyr、Leu、IleまたはMetを表し；
X_{17}がSerまたはThrを表し；
X_{18}がSer、Lys、Arg、Glu、AsnまたはGlnを表し；
X_{19}がTyrまたはGlnを表し；
X_{20}がLeu、Met、TyrまたはLysを表し；
X_{21}がGlu、AspまたはGlnを表し；
X_{22}がGly、Ser、Glu、LysまたはAibを表し；
X_{23}がGln、Glu、Lys、Trp、ArgまたはAspを表し；
X_{24}がAla、Aib、LysまたはArgを表し；
X_{25}がAla、Val、Phe、His、Leu、Met、Trp、Tyr、IleまたはAibを表し；
X_{26}がLys、Asn、Glu、Arg、His、GlyまたはValを表し；
X_{27}がGlu、Asp、Gln、Ala、His、Gly、Arg、Lys、AibまたはLeuを表し；
X_{29}がIleまたはValを表し；
X_{30}がAla、Val、Gln、Ile、Trp、Aib、GluまたはArgを表し；
X_{31}がTrp、Gln、LysまたはHisを表し；
X_{33}がVal、Met、Ile、Leu、Thr、ArgまたはLysを表し；
X_{34}がLys、Glu、Asn、Asp、Gln、His、GlyまたはArgを表し；
X_{35}がGly、Lys、Arg、His、Ser、ThrまたはAibを表し；
X_{36}がGly、Aib、Val、Leu、Ala、His、Ile、Met、Trp、Tyr、Pheを表し；
X_{37}がGly、Ala、Glu、Aib、His、Arg、Leu、ProまたはLysを表し；
X_{38}がGlu、Ser、Asp、Hisもしくはアミドを表し、またはX_{38}は存在せず；
X_{39}がPhe、Leu、His、Ala、Ser、Ile、Met、Val、Trp、Tyrもしくはアミドを表し、またはX_{39}は存在せず；
X_{40}がLeu、Phe、Val、His、Gly、Ala、Ile、Met、Trp、Tyrもしくはアミドを表し、またはX_{40}は存在せず；
X_{41}がGlu、Alaもしくはアミドを表し、またはX_{41}は存在せず；
X_{42}がLeu、Pro、Lysもしくはアミドを表し、またはX_{42}は存在せず；
X_{43}がLeu、Pro、Valもしくはアミドを表し、またはX_{43}は存在せず；
X_{44}がLysもしくはアミドを表し、またはX_{44}は存在せず；
X_{45}がGluもしくはアミドを表し、またはX_{45}は存在せず；
X_{46}がPhe、Ileもしくはアミドを表し、またはX_{46}は存在せず；
X_{47}がIleもしくはアミドを表し、またはX_{47}は存在せず；
X_{48}がAlaもしくはアミドを表し、またはX_{48}は存在せず；
X_{49}がTrpもしくはアミドを表し、またはX_{49}は存在せず；
X_{50}がアミドを表し、またはX_{50}は存在せず；
ただし、X_{38}、X_{39}、X_{40}、X_{41}、X_{42}、X_{43}、X_{44}、X_{45}、X_{46}、X_{47}、X_{48}、X_{49}またはX_{50}が存在しない場合に、下流の各アミノ酸残基も存在しない、
上で定義した式Iのアミノ酸配列を含む、実施形態1～36のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチドまたは薬学的に許容できるその塩、アミド、エステル、酸もしくはプロドラッグ。

【０２４４】

38. 式Iのアミノ酸配列:

X_7-X_8-X_9-Gly-Thr-X_{12}-Thr-X_{14}-Asp-X_{16}-X_{17}-X_{18}-X_{19}-X_{20}-X_{21}-X_{22}-X_{23}-X_{24}-X_{25}-X_{26}-X_{27}-Phe-X_{29}-X_{30}-X_{31}-Leu-X_{33}-X_{34}-X_{35}-X_{36}-X_{37}-X_{38}-X_{39}-X_{40}-X_{41}-X_{42}-X_{43}-X_{44}-X_{45}-X_{46}-X_{47}-X_{48}-X_{49}-X_{50}

[式中、X_7は、HisまたはデスアミノHisを表し、
X_8はAla、Gly、SerまたはAibを表し；
X_9はGlu、Asp、GlnまたはHisを表し；
X_{12}はPhe、TyrまたはLeuを表し；

X_{14}はSer、AsnまたはHisを表し;
X_{16}はVal、Tyr、Leu、IleまたはMetを表し;
X_{17}はSerまたはThrを表し;
X_{18}はSer、Lys、Arg、Glu、AsnまたはGlnを表し;
X_{19}はTyrまたはGlnを表し;
X_{20}はLeu、MetまたはTyrを表し;
X_{21}はGlu、AspまたはGlnを表し;
X_{22}はGly、Ser、Glu、Pro、LysまたはAibを表し;
X_{23}はGln、Glu、Lys、TrpまたはAspを表し;
X_{24}はAla、Aib、LysまたはArgを表し;
X_{25}はAla、Val、Leu、IleまたはAibを表し;
X_{26}はLys、Asn、Glu、Arg、His、Gly、ValまたはGlnを表し;
X_{27}はGlu、Asp、Gln、Ala、His、Gly、Arg、Lys、AibまたはLeuを表し;
X_{29}はIleまたはValを表し;
X_{30}はAla、Val、Gln、Ile、Trp、Aib、Glu、ArgまたはLysを表し;
X_{31}はTrp、Gln、LysまたはHisを表し;
X_{33}はVal、Ile、Leu、Thr、ArgまたはLysを表し;
X_{34}-X_{35}-X_{36}-X_{37}-X_{38}-X_{39}は、以下のアミノ酸残基「Glu-Lys-Aib-Lys-Glu-Phe」によって構成される部分配列1を表し;またはその部分配列1中で、1つ、2つもしくは3つのアミノ酸残基が、
X_{34}位において[Asn、Gln、Lys、His、Gly、ArgまたはAsp];
X_{35}位において[Arg、Ala、His、Gln、Gly、AsnまたはAib];
X_{36}位において[Gly、Val、Leu、Phe、Ile、Trp、Tyr、Ala、MetまたはHis];
X_{37}位において[Arg、Ala、Leu、Gly、His、Gln、Asn、Aib、Ile、ValまたはPhe];
X_{38}位において[Asp、His、Gln、Ser、Gly、AsnまたはThr];および/または
X_{39}位において[Trp、Ala、Glu、Leu、Val、Gly、His、Lys、Ser、Thr、Tyr、Aib、IleまたはMet]
で置換されており;
X_{40}はLeu、Phe、Val、His、Tyrもしくはアミドを表し、またはX_{40}は存在せず;
X_{41}はGlu、Asp、Ala、Gly、Lysもしくはアミドを表し、またはX_{41}は存在せず;
X_{42}はLeu、Pro、Lys、Argもしくはアミドを表し、またはX_{42}は存在せず;
X_{43}はLeu、Pro、Valもしくはアミドを表し、またはX_{43}は存在せず;
X_{44}はLysもしくはアミドを表し、またはX_{44}は存在せず;
X_{45}はGluもしくはアミドを表し、またはX_{45}は存在せず;
X_{46}はPhe、Ileもしくはアミドを表し、またはX_{46}は存在せず;
X_{47}はIleもしくはアミドを表し、またはX_{47}は存在せず;
X_{48}はAlaもしくはアミドを表し、またはX_{48}は存在せず;
X_{49}はTrpもしくはアミドを表し、またはX_{49}は存在せず;
X_{50}はアミドを表し、またはX_{50}は存在せず;
ただし、
X_{41}、X_{42}、X_{43}、X_{44}、X_{45}、X_{46}、X_{47}、X_{48}、X_{49}またはX_{50}が存在しない場合に、下流の各アミノ酸残基も存在しない]
を含むGLP-1受容体アゴニストペプチドおよび薬学的に許容できるその塩、アミド、エステル、酸またはプロドラッグ。

【０２４５】

39. 部分配列1において、1つのアミノ酸残基が置換されている、実施形態38のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２４６】

40. 部分配列1において、2つのアミノ酸残基が置換されている、実施形態38のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２４７】
41. 部分配列1において、3つのアミノ酸残基が置換されている、実施形態38のGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【０２４８】
42. X_{34}位のGluが、Asn、Gln、Lys、HisまたはGlyに変化しており;および/または
X_{35}位のLysが、Arg、Ala、HisまたはGlnに変化しており;および/または
X_{36}位のAibが、Gly、Val、LeuまたはPheに変化しており;および/または
X_{37}位のLysが、Arg、Ala、Leu、Gly、HisまたはGlnに変化しており;および/または
X_{38}位のGluが、Asp、His、Gln、SerまたはGlyに変化しており;および/または
X_{39}位のPheが、Trp、Ala、Glu、Leu、Val、Gly、His、LysまたはSerに変化している、実施形態38～41のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【０２４９】
43. X_{34}位のGluが、Asn、Gln、LysまたはHisに変化しており;および/または
X_{35}位のLysが、Arg、Ala、HisまたはGlnに変化しており;および/または
X_{36}位のAibが、Gly、Val、LeuまたはPheに変化しており;および/または
X_{37}位のLysが、Arg、Ala、Leu、Gly、HisまたはGlnに変化しており;および/または
X_{38}位のGluが、Asp、His、Gln、SerまたはGlyに変化しており;および/または
X_{39}位のPheが、Trp、Ala、Glu、Leu、Val、Gly、HisまたはLysに変化している、実施形態42のGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【０２５０】
44. X_{34}位のGluが、LysまたはGlyに変化しており;および/または
X_{35}位のLysが、Argに変化しており;および/または
X_{36}位のAibが、Gly、LeuまたはPheに変化しており;および/または
X_{37}位のLysが、Arg、LeuまたはGlyに変化しており;および/または
X_{38}位のGluが、そのままであり;および/または
X_{39}位のPheが、Ala、Leu、HisまたはSerに変化している、実施形態41のGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【０２５１】
45. X_{34}-X_{35}-X_{36}-X_{37}-X_{38}-X_{39}-X_{40}が、以下のアミノ酸残基「Glu-Lys-Aib-Lys-Glu-Phe-Leu」で構成される部分配列2を表し;またはその部分配列2中で、1つ、2つもしくは3つのアミノ酸残基が、
X_{34}位において[Asn、Gln、Lys、His、Gly、ArgまたはAsp];
X_{35}位において[Arg、Ala、His、Gln、Gly、AsnまたはAib];
X_{36}位において[Gly、Val、Leu、Phe、Ile、Trp、Tyr、Ala、MetまたはHis];
X_{37}位において[Arg、Ala、Leu、Gly、His、Gln、Asn、Aib、Ile、ValまたはPhe];
X_{38}位において[Asp、His、Gln、Ser、Gly、AsnまたはThr];
X_{39}位において[Trp、Ala、Glu、Leu、Val、Gly、His、Lys、Ser、Thr、Tyr、Aib、IleまたはMet];
および/または
X_{40}位において[Phe、Gly、Val、Tyr、His、Ile、Trp、Ala、AibまたはMet]
で置換されている、実施形態38のGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【０２５２】
46. 部分配列2中で、1つのアミノ酸残基が置換されている、実施形態45のGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【０２５３】
47. 部分配列2中で、2つのアミノ酸残基が置換されている、実施形態45のGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【０２５４】
48. 部分配列2中で、3つのアミノ酸残基が置換されている、実施形態45のGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０２５５】
49. X_{34}位のGluが、Asn、Gln、Lys、HisまたはGlyに変化しており;および/または
X_{35}位のLysが、Arg、Ala、HisまたはGlnに変化しており;および/または
X_{36}位のAibが、Gly、Val、LeuまたはPheに変化しており;および/または
X_{37}位のLysが、Arg、Ala、Leu、Gly、HisまたはGlnに変化しており;および/または
X_{38}位のGluが、Asp、His、Gln、SerまたはGlyに変化しており;および/または
X_{39}位のPheが、Trp、Ala、Glu、Leu、Val、Gly、His、LysまたはSerに変化しており;および/または
X_{40}位のLeuが、Phe、Gly、Val、TyrまたはHisに変化している、実施形態46～48のいずれか1つのGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【０２５６】
50. X_{34}位のGluが、Lysに変化しており;および/または
X_{35}位のLysが、Argに変化しており;および/または
X_{36}位のAibが、Gly、LeuまたはPheに変化しており;および/または
X_{37}位のLysが、Arg、LeuまたはGlyに変化しており;および/または
X_{38}位のGluが、そのままであり;および/または
X_{39}位のPheが、Ala、LeuまたはHisに変化しており;および/または
X_{40}位のLeuが、Phe、ValまたはHisに変化している、実施形態49のGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【０２５７】
51. X_{38}が、Glu、Ser、AspまたはHisであり;
X_{39}が、Phe、Leu、His、Ala、Ser、Ile、Met、Val、TrpまたはTyrであり;および
X_{40}が、Leu、Phe、Val、His、Gly、Ala、Ile、Met、TrpまたはTyrである、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２５８】
52. X_{7}が、HisまたはデスアミノHisを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２５９】
53. X_{8}が、Ala、Gly、SerまたはAibを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２６０】
54. X_{8}が、Ala、Gly、SerまたはAibを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２６１】
55. X_{9}が、Glu、Asp、GlnまたはHisを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２６２】
56. X_{9}が、Glu、AspまたはGlnを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２６３】
57. X_{12}が、Phe、TyrまたはLeuを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２６４】
58. X_{14}が、Ser、AsnまたはHisを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２６５】
59. X_{16}が、Val、Tyr、Leu、IleまたはMetを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２６６】
60. X_{17}が、SerまたはThrを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体

アゴニスト。
【０２６７】
61. X_{18}が、Ser、Lys、Arg、Glu、AsnまたはGlnを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２６８】
62. X_{18}が、Ser、Lys、GluまたはAsnを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２６９】
63. X_{19}が、TyrまたはGlnを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２７０】
64. X_{20}が、Leu、Met、TyrまたはLysを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２７１】
65. X_{20}が、Leu、MetまたはTyrを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２７２】
66. X_{21}が、Glu、AspまたはGlnを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２７３】
67. X_{21}が、GluまたはAspを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２７４】
68. X_{22}が、Gly、Ser、Glu、Pro、LysまたはAibを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２７５】
69. X_{22}が、Gly、Ser、GluまたはProを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２７６】
70. X_{22}が、Gly、Ser、Glu、LysまたはAibを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２７７】
71. X_{22}が、Gly、SerまたはGluを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２７８】
72. X_{23}が、Gln、Glu、Lys、Trp、ArgまたはAspを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２７９】
73. X_{24}が、Ala、Aib、LysまたはArgを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２８０】
74. X_{25}が、Ala、Val、Phe、His、Leu、Met、Trp、Tyr、IleまたはAibを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２８１】
75. X_{25}が、Ala、Val、Leu、IleまたはAibを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２８２】
76. X_{25}が、AlaまたはValを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０２８３】

77. X_{26}が、Lys、Asn、Glu、Arg、His、Gly、ValまたはGlnを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０２８４】

78. X_{26}が、Lys、ArgまたはGlnを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０２８５】

79. X_{26}が、Lys、Asn、Glu、Arg、His、GlyまたはValである、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０２８６】

80. X_{26}が、Lys、ArgまたはGlnを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０２８７】

81. X_{26}が、LysまたはArgを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０２８８】

82. X_{27}が、Glu、Asp、Gln、Ala、His、Gly、Arg、Lys、AibまたはLeuである、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０２８９】

83. X_{27}が、Glu、Asp、Gln、LysまたはLeuを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０２９０】

84. X_{29}が、IleまたはValを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０２９１】

85. X_{30}が、Ala、Val、Gln、Ile、Trp、Aib、Glu、ArgまたはLysを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０２９２】

86. X_{30}が、Ala、Gln、Trp、Aib、GluまたはLysを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０２９３】

87. X_{30}が、Ala、Val、Gln、Ile、Trp、Aib、GluまたはArgである、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０２９４】

88. X_{30}が、Ala、Gln、Aib、GluまたはLysを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０２９５】

89. X_{31}が、Trp、Gln、LysまたはHisである、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０２９６】

90. X_{31}が、TrpまたはHisを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０２９７】

91. X_{33}が、Val、Met、Ile、Leu、Thr、ArgまたはLysである、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０２９８】

92. X_{33}が、Val、Ile、Leu、Thr、ArgまたはLysを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０２９９】

93. X_{33}が、Val、LeuまたはLysを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３００】
94. X_{33}が、Val、Met、LeuまたはLysを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３０１】
95. X_{34}-X_{35}-X_{36}-X_{37}-X_{38}-X_{39}が、以下のアミノ酸残基「Glu-Lys-Aib-Lys-Glu-Phe」によって構成される部分配列1を表し;X_7～X_{33}およびX_{40}～X_{50}が本明細書に定義される通りである、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３０２】
96. X_{34}-X_{35}-X_{36}-X_{37}-X_{38}-X_{39}-X_{40}が、以下のアミノ酸残基「Glu-Lys-Aib-Lys-Glu-Phe-Leu」で構成される部分配列2を表し、X_7～X_{33}およびX_{41}～X_{50}が、本明細書に定義される通りである、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３０３】
97. X_{34}がLys、Glu、Asn、Asp、Gln、His、GlyまたはArgである、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３０４】
98. X_{34}が、Lys、GluまたはAsnを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３０５】
99. X_{34}が、Asn、Gln、Lys、His、Gly、ArgまたはAspを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３０６】
100. X_{34}が、Asn、Gln、LysまたはHisを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３０７】
101. X_{35}が、Gly、Lys、Arg、His、Ser、ThrまたはAibである、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３０８】
102. X_{35}が、Gly、Lys、ArgまたはThrを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３０９】
103. X_{35}が、Arg、Ala、His、Gln、Gly、AsnまたはAibを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３１０】
104. X_{35}が、Arg、Ala、HisまたはGlnを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３１１】
105. X_{36}が、Gly、Aib、Val、Leu、Ala、His、Ile、Met、Trp、TyrまたはPheを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３１２】
106. X_{36}が、親油性残基またはGlyである、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３１３】
107. X_{36}が、Gly、Aib、Val、LeuまたはPheを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３１４】
108. X_{36}が、Gly、Val、Leu、Phe、Ile、Trp、Tyr、Ala、MetまたはHisを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３１５】
109. X_{36}が、Gly、Val、LeuまたはPheを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３１６】
110. X_{37}が、Gly、Ala、Glu、Aib、His、Arg、Leu、ProまたはLysである、実施形態1～109のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【０３１７】
111. X_{37}が、Gly、Ala、Arg、Leu、ProまたはLysを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３１８】
112. X_{37}が、Arg、Ala、Leu、Gly、His、Gln、Asn、Aib、Ile、ValまたはPheを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３１９】
113. X_{37}が、Arg、Ala、Leu、Gly、HisまたはGlnを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３２０】
114. X_{38}が、Glu、Ser、Asp、Hisもしくはアミドである、またはX_{38}が存在しない、実施形態1～113のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。
【０３２１】
115. X_{38}が、Glu、Ser、AspまたはHisである、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３２２】
116. X_{38}がGlu、Serもしくはアミドを表す、またはX_{38}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３２３】
117. X_{38}がAsp、His、Gln、Ser、Gly、AsnまたはThrを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３２４】
118. X_{38}がAsp、His、Gln、SerまたはGlyを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３２５】
119. X_{39}がPhe、Leu、His、Ala、Ser、Ile、Met、Val、Trp、Tyrもしくはアミドである、またはX_{39}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３２６】
120. X_{39}がPhe、Leu、His、Ala、Ser、Ile、Met、Val、TrpまたはTyrである、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３２７】
121. X_{39}がPheもしくはSerを表す、またはX_{39}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３２８】
122. X_{39}がTrp、Ala、Glu、Leu、Val、Gly、His、Lys、Ser、Thr、Tyr、Aib、IleまたはMetを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３２９】
123. X_{39}がTrp、Ala、Glu、Leu、Val、Gly、His、LysまたはSerを表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３３０】
124. X_{40}がLeu、Phe、Val、His、Gly、Ala、Ile、Met、Trp、Tyrもしくはアミドである、またはX_{40}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３３１】
125. X_{40}がLeu、Phe、Val、His、Gly、Ala、Ile、Met、TrpまたはTyrである、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３３２】
126. X_{40}がLeu、Glyもしくはアミドを表す、またはX_{40}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３３３】
127. X_{40}がLeu、Phe、Val、His、Tyrもしくはアミドを表す、またはX_{40}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３３４】
128. X_{41}がGlu、Alaもしくはアミドである、またはX_{41}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３３５】
129. X_{41}がGluもしくはAlaを表す、またはX_{41}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３３６】
130. X_{41}がGlu、Asp、Ala、Gly、Lysもしくはアミドを表す、またはX_{41}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３３７】
131. X_{42}がLeu、Pro、Lysもしくはアミドである、またはX_{42}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３３８】
132. X_{42}がLeuもしくはProを表す、またはX_{42}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３３９】
133. X_{42}がLeu、Pro、Lys、Argもしくはアミドを表す、またはX_{42}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３４０】
134. X_{43}がLeu、Pro、Valもしくはアミドである、またはX_{43}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３４１】
135. X_{43}がLeuもしくはProを表す、またはX_{43}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３４２】
136. X_{43}がLeu、Pro、Valもしくはアミドを表す、またはX_{43}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３４３】
137. X_{44}がLysもしくはアミドである、またはX_{44}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３４４】
138. X_{45}がGluもしくはアミドである、またはX_{45}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３４５】
139. X_{45}がGluである、またはX_{45}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３４６】
140. X_{46}がPhe、Ileもしくはアミドである、またはX_{46}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３４７】
141. X_{46}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３４８】
142. X_{47}がIleもしくはアミドである、またはX_{47}が存在しない、上で定義した式Iのア

ミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３４９】

143. X_{47}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３５０】

144. X_{48}がAlaもしくはアミドである、またはX_{48}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３５１】

145. X_{48}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３５２】

146. X_{49}がTrpもしくはアミドである、またはX_{49}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３５３】

147. X_{49}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３５４】

148. X_{50}がアミドである、またはX_{50}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３５５】

149. X_{50}が存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３５６】

150. X_{46}～X_{50}位の全て、X_{45}～X_{50}位の全て、X_{44}～X_{50}位の全てまたはX_{43}～X_{50}位の全てが存在しない、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３５７】

151. 以下の置換:X_{23}が荷電アミノ酸残基である、X_{25}が親油性アミノ酸残基である、X_{27}が負荷電を有するアミノ酸残基である、X_{34}が負荷電を有するアミノ酸残基である、X_{35}が正荷電を有するアミノ酸残基である、X_{37}が正荷電を有するアミノ酸残基である、X_{38}が負荷電を有するアミノ酸残基である、X_{39}が親油性アミノ酸残基である、および/またはX_{40}が親油性アミノ酸残基である、のうち少なくとも4つ、少なくとも5つまたは少なくとも6つが存在する、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３５８】

152. 以下の置換:X_{23}が荷電アミノ酸残基である、X_{25}が親油性アミノ酸残基である、X_{27}が負荷電を有するアミノ酸残基である、X_{34}が負荷電を有するアミノ酸残基である、X_{35}が正荷電を有するアミノ酸残基である、X_{36}が親油性アミノ酸残基である、X_{38}が負荷電を有するアミノ酸残基である、X_{39}が親油性アミノ酸残基であるおよび/または、X_{40}が親油性アミノ酸残基である、のうち少なくとも2つ、少なくとも3つまたは少なくとも4つが存在する、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３５９】

153. X_{25}、X_{29}、X_{36}、X_{39}およびX_{40}の少なくとも4つまたは少なくとも5つが親油性アミノ酸残基である、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３６０】

154. X_{23}、X_{26}、X_{27}、X_{30}、X_{33}、X_{34}、X_{35}、X_{37}およびX_{38}の少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つまたは少なくとも7つが極性アミノ酸残基である、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３６１】

155. X_{23}、X_{24}、X_{26}、X_{27}、X_{30}、X_{31}、X_{33}、X_{34}、X_{35}、X_{37}およびX_{38}の少なくとも4つまたは少なくとも5つが荷電アミノ酸残基である、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３６２】
156. X_{24}、X_{26}、X_{33}、X_{35}およびX_{37}の少なくとも2つが正荷電を有する残基である、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３６３】
157. X_{23}、X_{27}、X_{34}およびX_{38}の少なくとも2つが負荷電を有する残基である、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３６４】
158. X_7～X_{40}が、最大10個の保存的突然変異を有する配列番号9の1～33位を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３６５】
159. X_7～X_{40}が、最大9個の保存的突然変異を持つ配列番号9の1～33位を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３６６】
160. X_7～X_{40}が、最大8個の保存的突然変異を持つ配列番号9の1～33位を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３６７】
161. X_7～X_{40}が、最大7個の保存的突然変異を持つ配列番号9の1～33位を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３６８】
162. X_7～X_{40}が、最大6個の保存的突然変異を持つ配列番号9の1～33位を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３６９】
163. X_7～X_{40}が、最大5個の保存的突然変異を持つ配列番号9の1～33位を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３７０】
164. X_7～X_{40}が、最大10個の保存的突然変異を持つ配列番号10の1～33位を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３７１】
165. X_7～X_{40}が、最大9個の保存的突然変異を持つ配列番号10の1～33位を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３７２】
166. X_7～X_{40}が、最大8個の保存的突然変異を持つ配列番号10の1～33位を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３７３】
167. X_7～X_{40}が、最大7個の保存的突然変異を持つ配列番号10の1～33位を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３７４】
168. X_7～X_{40}が、最大6個の保存的突然変異を持つ配列番号10の1～33位を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３７５】
169. X_7～X_{40}が、最大5個の保存的突然変異を持つ配列番号10の1～33位を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３７６】
170. X_7～X_{40}が、最大10個の保存的突然変異を持つ配列番号11の1～33位を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３７７】
171. X_7～X_{40}が、最大9個の保存的突然変異を持つ配列番号11の1～33位を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。
【０３７８】
172. X_7～X_{40}が、最大8個の保存的突然変異を持つ配列番号11の1～33位を表す、上で

定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３７９】

173. X_7～X_{40}が、最大7個の保存的突然変異を持つ配列番号11の1～33位を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３８０】

174. X_7～X_{40}が、最大6個の保存的突然変異を持つ配列番号11の1～33位を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３８１】

175. X_7～X_{40}が、最大5個の保存的突然変異を持つ配列番号11の1～33位を表す、上で定義した式Iのアミノ酸配列を含むGLP-1受容体アゴニスト。

【０３８２】

176. 最大45個のアミノ酸残基、または最大44個のアミノ酸残基、または最大43個のアミノ酸残基、または最大42個のアミノ酸残基、または最大41個のアミノ酸残基、または最大40個のアミノ酸残基を保持している、実施形態158～175のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０３８３】

177. 3μM未満、2μM未満、1μM未満または0.5μM未満のin vitro EC_{50}効力のコレステロール流出がある、実施形態1～176のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０３８４】

178. 2μM未満のin vitro EC_{50}効力のコレステロール流出がある、実施形態177によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０３８５】

179. 1μM未満のin vitro EC_{50}効力のコレステロール流出がある、実施形態177によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０３８６】

180. 0.5μM未満のin vitro EC_{50}効力のコレステロール流出がある、実施形態177によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０３８７】

181. 天然のGLP-1の少なくとも25%、10%～25%または1%～10%のin vitro GLP-1効力がある、実施形態1～180のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０３８８】

182. 天然のGLP-1の少なくとも25%のin vitro GLP-1効力がある、実施形態181によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０３８９】

183. 天然のGLP-1の10%～25%のin vitro GLP-1効力がある、実施形態181によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０３９０】

184. 天然のGLP-1の1%～10%のin vitro GLP-1効力がある、実施形態181によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０３９１】

185. 3μM未満のin vitro EC_{50}効力のコレステロール流出、ならびに天然のGLP-1の少なくとも25%、10%～25%または1%～10%のin vitro GLP-1効力がある、実施形態1～184のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０３９２】

186. 2μM未満のin vitro EC_{50}効力のコレステロール流出、ならびに天然のGLP-1の少なくとも25%、10%～25%または1%～10%のin vitro GLP-1効力がある、実施形態185によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０３９３】

187. 1μM未満のin vitro EC_{50}効力のコレステロール流出、ならびに天然のGLP-1の少

なくとも25%、10%～25%または1%～10%のin vitro GLP-1効力がある、実施形態185によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０３９４】

188. 0.5μM未満のin vitro EC_{50}効力のコレステロール流出、ならびに天然のGLP-1の少なくとも25%、10%～25%または1%～10%のin vitro GLP-1効力がある、実施形態185によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０３９５】

189. 少なくとも30%/μM、少なくとも50%/μM、または少なくとも100%/μMのコレステロール流出E_{max}とEC_{50}の比(E_{max} / EC_{50})がある、実施形態1～188のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０３９６】

190. 少なくとも30%/μMのコレステロール流出E_{max}とEC_{50}の比(E_{max}/EC_{50})がある、実施形態189によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０３９７】

191. 少なくとも50%/μMのコレステロール流出E_{max}とEC_{50}の比(E_{max}/EC_{50})がある、実施形態189によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０３９８】

192. 少なくとも100%/μMのコレステロール流出E_{max}とEC_{50}の比(E_{max}/EC_{50})がある、実施形態189によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０３９９】

193. 実施例6の方法で決定された通り、ペプチドが、L-4FのE_{max}の65%もしくはそれを上回る;またはL-4FのE_{max}の75%もしくはそれを上回るin vitro E_{max}を示す、実施形態1～192のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４００】

194. GLP-1受容体アゴニストペプチドが、少なくとも1つ、最大4つまでのApoA-I模倣体ペプチド配列を含むペプチドに融合されており、任意選択でC末端アミドとして終わる、実施形態1～193のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４０１】

195. 前記GLP-1受容体アゴニストペプチドが、1つのApoA-I模倣体ペプチド配列を含むペプチドに融合されており、任意選択でC末端アミドとして終わる、実施形態194によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４０２】

196. 前記GLP-1受容体アゴニストペプチドが、2つのApoA-I模倣体ペプチド配列を含むペプチドに融合されており、任意選択でC末端アミドとして終わる、実施形態194によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４０３】

197. 前記GLP-1受容体アゴニストペプチドが、3つのApoA-I模倣体ペプチド配列を含むペプチドに融合されており、任意選択でC末端アミドとして終わる、実施形態194によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４０４】

198. 前記GLP-1受容体アゴニストペプチドが、4つのApoA-I模倣体ペプチド配列を含むペプチドに融合されており、任意選択でC末端アミドとして終わる、実施形態194によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４０５】

199. 前記ApoA-I模倣体ペプチドの少なくとも1つが、最大18個の保存的置換を有する配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号14または配列番号15から選択される、実施形態194～198のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４０６】

200. 前記ApoA-I模倣体ペプチドの少なくとも1つが、最大14個の保存的置換を持つ配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号14または配列番号15から選択される、実施形

態194～198のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４０７】

201. 前記ApoA-I模倣体ペプチドの少なくとも1つが、最大10個の保存的置換を持つ配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号14または配列番号15から選択される、実施形態194～198のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４０８】

202. 前記ApoA-I模倣体ペプチドの少なくとも1つが、最大5個の保存的置換を持つ配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号14または配列番号15から選択される、実施形態194～198のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４０９】

203. 前記ApoA-I模倣体ペプチドの少なくとも1つが、最大2個の保存的置換を持つ配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号14または配列番号15から選択される、実施形態194～198のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４１０】

204. 前記ApoA-I模倣体ペプチドの少なくとも1つが、最大1個の保存的置換を持つ配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号14または配列番号15から選択される、実施形態194～198のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４１１】

205. 前記ApoA-I模倣体ペプチド配列の少なくとも1つが、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号14または配列番号15である、実施形態194によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４１２】

206. 前記ApoA-I模倣体ペプチドの少なくとも1つが、配列番号6である、実施形態205によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４１３】

207. 前記ApoA-I模倣体ペプチドの少なくとも1つが、配列番号7である、実施形態205によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４１４】

208. 前記ApoA-I模倣体ペプチドの少なくとも1つが、配列番号8である、実施形態205によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４１５】

209. 前記ApoA-I模倣体ペプチドの少なくとも1つが、配列番号14である、実施形態205によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４１６】

210. 前記ApoA-I模倣体ペプチドの少なくとも1つが、配列番号15である、実施形態205によるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４１７】

211. [Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;

[Aib2,Gly16,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド;

[Aib8,Glu23,Aib24,Val25,Aib30,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-His-Leuアミド;

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-His-Leuアミド;

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;

[Aib8,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

;
[Aib8,Glu23,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド
;
[Aib8,Glu23,Val25,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド
;
[Aib8,Glu23,Val25,Aib36,Lys37]-des-Lys34-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチドアミド;
[Aib2,Gly16,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド;
[Tyr12,Asn14,Thr17,Glu18,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Asp9,Leu12,Ile16,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[His14,Tyr20,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu
;
[Aib8,Glu23,Val25,His31,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Asp23,Val25,Asp27,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Arg26,Glu34,Arg35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Leu36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Leu-Valアミド;
[Aib8,Trp23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Hisアミド;
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチド;
[Aib2,Gly16,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Glu28,Lys29]-グルカゴニル-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib2,Gly16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Glu28,Lys29]-グルカゴニル-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib2,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Glu28,Lys29]-グルカゴニル-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド;
[Asn14,Met16,Thr17,Asn18,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Gly36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Leu27,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド
;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-His-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド
;

[Aib2,Glu21,Lys29,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド;
[Aib2,Glu21,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド;
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド;
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド;
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド;
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Glu35,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド;
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド;
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド;
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Leu36,Leu37]-エキセンディン-4-(1-37)-ペプチドアミド;
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34]-エキセンディン-4-(1-34)-ペプチドアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Arg26,Glu34,Arg35,Aib36,Arg37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Asn14,Met16,Thr17,Asn18,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Phe36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Ala-Pheアミド;
[Aib8,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Lys35,Aib36]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Lys24,Val25,Glu30,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Trp30,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Lys27,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Lys23,Arg24,Arg26,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Arg24,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys-Valアミド;
[Aib2,His3,Glu15,Glu16,Glu17,Ala18,Lys20,Glu21,Ile23,Ala24,Leu27,Glu28,Lys29]-グルカゴニル-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド;
[Glu15,Glu16,Gln17,Ala18,Lys20,Glu21,Ile23,Ala24,Leu27,Glu28,Lys29]-グルカゴニル-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド;
[Glu15,Glu16,Lys17,Ala18,Lys20,Glu21,Ile23,Ala24,Leu27,Glu28,Lys29]-グルカゴニル-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド;
[Glu15,Glu16,Lys17,Lys18,Lys20,Glu21,Ile23,Ala24,Leu27,Glu28,Lys29]-グルカゴニル-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド;
[Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Glu28,Lys29]-グルカゴニル-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Ph

e-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Lys24,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys-Val-Lys-Glu-Pheアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Pheアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Gluアミド；
[Aib8,Glu23,Lys24,Val25,Glu34,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Val29,Gln30,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Gluアミド；
[Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Ala2,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Glu28,Lys29]-グルカゴニル-(1-29)-Val-Lys-Glu-Phe-Leuアミド；
[Ala2,Glu21,Lys29,Val30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34]-エキセンディン-4-(1-34)-ペプチドアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lysアミド；
[Aib8,Glu23,Lys24,Val25,Glu30,His31,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Val25,Gln27,Glu34,Lys35,Aib36,Ala37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Val25,Asn34,Lys35,Aib36,Ala37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Val25,Gln27,Asn34,Lys35,Aib36,Ala37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Val36]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Gly8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[デスアミノ-His7,Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Gly8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-His-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Gln30,Leu33,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Arg26,Val29,Gln30,Leu33,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Arg26,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Val29,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Gln30,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Leu33,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Lys30,Glu34,Lys35,Leu36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-P

he-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Lys30,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Gln30,His31,Glu34,Lys35,Leu36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Leu37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Ser-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Leu33,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Trp-Leuアミド；
[Aib8,Lys23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Arg26,Glu34,Arg35,Val36,Arg37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Lysアミド；
[Gly8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Gly；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Phe36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Pheアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Gln26,Glu34,Ala35,Val36,Ala37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Gln26,Glu34,Gln35,Aib36,Gln37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Lys24,Val25,Glu30,His31,Glu34,Lys35,Phe36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Pheアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys-Val-Lys-Glu-Phe；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys-Val；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu；
[Aib8,Pro22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Val25,Gln27,Gln34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Gln-Phe-Leuアミド；
[Lys24,Glu34,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Hisアミド；
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Gluアミド；
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-His-Leuアミド；
[Glu34,Lys35,Val36]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド；
[Aib8,Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Leu-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Lysアミド；
[Gly8,Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Lys-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu30,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Lys-Leuアミド；
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Gly36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu

アミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Asp-Phe-Leu
アミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Gly-Phe-Leu
アミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Glu-Leu
アミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Gly-Leu
アミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Lys-Leu
アミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Leu-Leu
アミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Val-Leu
アミド;
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Phe
アミド;
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Pheアミド;
[Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-
Lys;
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys;
[Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-His-Leu-Glu-
Lys;
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-His-Leu-Glu-Lys;
[Glu34,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys;
[Glu34,Lys35,Val36]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys;
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Asp-Lys;
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Arg;
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Tyrアミド;
[Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Pheア
ミド;
[Gly8,Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-P
heアミド;
[Aib8,Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-P
heアミド;
[Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Le
uアミド;
[Gly8,Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-P
he-Leuアミド;
[Aib8,Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-P
he-Leuアミド;
[Glu23,Val25,Arg26,Glu34,Arg35,Val36,Arg37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Le
u-Glu-Lys;
[Glu23,Val25,Arg26,His34,Arg35,Val36,Arg37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Le
u-Glu-Lys;
[Glu34,His35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド;および
[Glu34,Lys35,Val36,His37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド
からなる群から選択されるGLP-1受容体アゴニスト。

【０４１８】

本発明のさらなる実施形態:

212. 前記GLP-1受容体アゴニストが抗酸化剤である、実施形態1～211のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニスト。

【０４１９】

213. 前記GLP-1受容体アゴニストペプチドが抗炎症剤である、実施形態1～212のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４２０】

214. 前記GLP-1受容体アゴニストペプチドが、糖尿病患者におけるインスリン抵抗性を低下させる、実施形態1～213のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４２１】

215. 前記GLP-1受容体アゴニストペプチドが、糖尿病患者におけるHbA1Cレベルを改善する、実施形態1～214のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４２２】

216. 前記GLP-1受容体アゴニストペプチド1%により、糖尿病患者におけるHbA1Cレベルを改善する、実施形態1～215のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４２３】

217. 糖尿病患者において、少なくとも0.5%によりHbA1cが低減される、実施形態1～216のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニスト。

【０４２４】

218. 前記ペプチドの終末相半減期が延長される、実施形態1～217のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニスト。

【０４２５】

219. ミニブタにおける前記ペプチドの終末相半減期が、少なくとも5時間、少なくとも10時間、少なくとも15時間または少なくとも20時間である、実施形態1～218のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニスト。

【０４２６】

本発明の共通したさらなる実施形態は、以下の通りである:

220. 実施形態1～219のいずれか1つによるペプチドを医薬として活性がある量投与することにより、心血管疾患、内皮細胞機能不全、高脂血症、高トリグリセリド血症、高コレステロール血症、高リポタンパク血症、HDL欠乏症、ApoA-I欠乏症、冠動脈疾患、アテローム性動脈硬化症、高血圧、脳卒中、虚血、梗塞、心筋梗塞、出血、末梢血管疾患、再狭窄、急性冠動脈症候群または再灌流心筋障害、大血管障害および微小血管性障害などの脂質異常症、炎症および血管障害と関連する疾患もしくは状態を治療および/もしくは予防する;または糖尿病患者における、心血管疾患、内皮細胞機能不全、大血管障害、微小血管性障害、アテローム性動脈硬化症および高血圧から選択される疾患もしくは状態を治療する方法。

【０４２７】

221. 実施形態1～219のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチドの有効な量を、任意選択で1つ以上の追加の治療効果がある化合物と併用してそれを必要とする患者に投与することを含む、脂質異常症、高コレステロール血症および炎症と関連した疾患もしくは状態を治療するまたは予防する方法。

【０４２８】

222. そのような疾患または状態が、心血管疾患、内皮細胞機能不全、大血管障害、微小血管性障害、糖尿病、耐糖能異常(IGT)、アテローム性動脈硬化症および高血圧などの脂質異常症、高コレステロール血症ならびに炎症と関連する、実施形態220～221のいずれか1つの方法。

【０４２９】

223. 本発明によるGLP-1受容体アゴニストペプチドまたは医薬組成物の有効な量を、任意選択で1つ以上の追加の治療効果がある化合物と併用してそれを必要とする患者に投与することを含む、実施形態220～222のいずれか1つによる方法。

【０４３０】

224. 実施形態1～219のいずれか1つによる化合物の有効な量を、任意選択で1つ以上の追加の治療効果がある化合物と併用してそれを必要とする糖尿病患者に投与することを含む、糖尿病患者において、心血管疾患、内皮細胞機能不全、大血管障害、微小血管性障害、アテローム性動脈硬化症および高血圧から選択される疾患もしくは状態を治療する方法。

【０４３１】

225. 前記追加の治療効果がある化合物が、糖尿病薬、抗脂質異常症薬、抗高血圧薬、および脂質異常症、高コレステロール血症もしくは炎症に起因するまたはそれに関連する合併症の治療用薬剤から選択される、実施形態221～224のいずれか1つによる方法。

【０４３２】

226. 実施形態1～219のいずれか1つによる前記GLP-1受容体アゴニストペプチドを前記GLP-1受容体アゴニストペプチド約0.01mg～約1000mgを含む単位剤形で前記患者に投与する、実施形態221による方法。

【０４３３】

227. 実施形態1～219のいずれか1つによる前記GLP-1受容体アゴニストペプチドを前記患者に1日1回投与する、実施形態221～226のいずれか1つによる方法。

【０４３４】

228. 実施形態1～219のいずれか1つによる前記GLP-1受容体アゴニストペプチドを前記患者に1週間に1回投与する、実施形態221～226のいずれか1つによる方法。

【０４３５】

229. 実施形態1～219のいずれか1つによる前記GLP-1受容体アゴニストペプチドを非経口、経口、経鼻、口腔または舌下的に投与する、実施形態221～226のいずれか1つによる方法。

【０４３６】

230. 実施形態1～219のいずれか1つによる前記GLP-1受容体アゴニストペプチドを非経口的に投与する、実施形態221～226のいずれか1つによる方法。

【０４３７】

本発明のさらなる実施形態は、以下に関する:

231. 実施形態1～219のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチドを含む医薬組成物。

【０４３８】

232. 薬学的に許容される担体および/または賦形剤をさらに含む、実施形態231による医薬組成物。

【０４３９】

233. 実施形態1～218のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチドを薬学的に許容される物質および/または賦形剤と混合することを含む、実施形態231～232のいずれか1つによる医薬組成物を調製する方法。

【０４４０】

本発明のさらなる実施形態は、以下に関する:

234. 治療に使用する、実施形態1～219のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４４１】

235. 心血管疾患、内皮細胞機能不全、大血管障害、微小血管性障害、アテローム性動脈硬化症および高血圧などの脂質異常症、高コレステロール血症ならびに炎症と関連する疾患もしくは状態の治療;または糖尿病患者における、心血管疾患、内皮細胞機能不全、大血管障害、微小血管性障害、アテローム性動脈硬化症および高血圧から選択される疾患もしくは状態の治療に使用する、実施形態1～219のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４４２】

236. 心血管疾患、内皮細胞機能不全、大血管障害、微小血管性障害、アテローム性動

脈硬化症および高血圧の治療または予防における医薬品に使用する、実施形態1～219のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４４３】

237. 医薬として使用される、実施形態1～219のいずれか1つによるGLP-1受容体アゴニストペプチド。

【０４４４】

238. 心血管疾患、内皮細胞機能不全、高脂血症、高トリグリセリド血症、高コレステロール血症、高リポタンパク血症、HDL欠乏症、ApoA-I欠乏症、冠動脈疾患、アテローム性動脈硬化症、高血圧、脳卒中、虚血、梗塞、心筋梗塞、出血、末梢血管疾患、再狭窄、急性冠動脈症候群または再灌流心筋障害、大血管障害および微小血管障害などの脂質異常症、炎症ならびに血管障害と関連する疾患もしくは状態を治療および/もしくは予防する;
または糖尿病患者における、心血管疾患、内皮細胞機能不全、大血管障害、微小血管性障害、アテローム性動脈硬化症および高血圧から選択される疾患もしくは状態を治療するための、医薬の製造における、実施形態1～219のいずれか1つによる化合物の使用。

【０４４５】

本発明は、添付の図面を参照することによりさらに例示される。

【図面の簡単な説明】

【０４４６】

【図１】db/dbマウスに異なる用量(10nmol/kg、30nmol/kg、100nmol/kgおよび300nmol/kg体重)で皮下投与した場合の、(A)血糖に対する化合物1の急激な効果、および(B)化合物1の投薬の24時間後に測定した血漿中濃度を示す図である。

【図２】化合物1、エキセンディン-4およびhGLP-1のコレステロール流出活性を示す図である。

【図３Ａ】正常なマウスへの化合物1の単回静脈内投与(i.v.)または皮下(s.c.)投与後の血漿中濃度曲線を示す図である。

【図３Ｂ】正常なマウスへの実施例5の単回静脈内投与(i.v.)または皮下(s.c.)投与後の血漿中濃度曲線を示す図である。

【図４】ミニブタへの単回静脈内投与(i.v.)後の化合物1の血漿中濃度曲線を示す図である。

【図５】ミニブタへの単回静脈内投与(i.v.)後の化合物4の血漿中濃度曲線を示す図である。

【図６】ミニブタへの単回静脈内投与(i.v.)後の化合物5の血漿中濃度曲線を示す図である。

【図７】ミニブタへの単回静脈内投与(i.v.)後の化合物6の血漿中濃度曲線を示す図である。

【図８】ミニブタへの単回静脈内投与(i.v.)後の化合物7の血漿中濃度曲線を示す図である。

【図９】ミニブタへの単回静脈内投与(i.v.)後の化合物8の血漿中濃度曲線を示す図である。

【図１０】インキュベーション時間(日)に対してプロットした化合物1のサンプルの平均流体力学半径(nm)を示す図である。インキュベーション温度は37℃であり、サンプル濃度は、それぞれ0.9mg/mLおよび45.5mg/mLであった。エラーバーは、3回の測定の標準偏差を表す。

【図１１】インキュベーション時間(日)に対してプロットした化合物1のサンプルの標準化した散乱強度(カウント/秒)の平均を示す図である。インキュベーション温度は37℃であり、サンプル濃度は、それぞれ0.9mg/mLおよび45.5mg/mLであった。エラーバーは、3回の測定の標準偏差を表す。

【図１２】化合物1のpH可溶性曲線を示す図である。

【図１３】化合物1の原線維検出プローブとしてチオフラビンT使用する、機械的ストレスアッセイのデータを示す図である。ペプチドは、以下の4つの溶媒系(サンプルA～D)のい

ずれにおいても、45時間の実験の間に原線維形成の痕跡を示さなかった: サンプルA: 250μMペプチド、20mMリン酸緩衝液pH7.5; サンプルB: 250μMペプチド、20mMリン酸緩衝液pH7.5、25mM m-クレゾール; サンプルC: 250μMペプチド、20mMリン酸緩衝液pH7.5、150mM NaCl;および サンプルD: 250μMペプチド、20mMリン酸緩衝液pH7.5、25mM m-クレゾール、150mM NaCl。

【実施例】

【０４４７】

本発明は以下の例を参照してさらに例示されるが、請求されるように本発明の範囲を何ら制限しないものとする。

【０４４８】

(実施例1)

準備の実施例

ペプチド合成、in vitroのGLP-1受容体効力、生物物理学、in vitroのコレステロール流出活性、in vivoの抗糖尿病および薬物動態

この実験部分は、略語のリストから始まり、その後に本発明のペプチドを合成および特徴づける一般的な方法を含めた項が続く。次いで特定のGLP-1ペプチドの調製に関するいくつかの例を続け、最後にこれらペプチドの活性および特性に関するいくつかの実施例を含めた。

【０４４９】

略語のリスト

Aib:α-アミノイソ酪酸

API:医薬品有効成分

ApoA-I:アポリポタンパク質AI

AUC:曲線下面積

BHK:乳児ハムスター腎臓

Boc:t-ブチルオキシカルボニル

BSA:ウシ血清アルブミン

CAS:化学情報検索サービス機関

Clt:2-クロロトリチル

コリジン:2,4,6-トリメチルピリジン

DCM:ジクロロメタン

DesH:デスアミノヒスチジン(イミダゾプロピオン酸、impと称されることもある)

DIC:ジイソプロピルカルボジイミド

DIPEA:ジイソプロピルエチルアミン

DMEM:ダルベッコ変法イーグル培地(DMEM)

EDTA:エチレンジアミン四酢酸

EGTA:エチレングリコール四酢酸

Fmoc:9-フルオレニルメチルオキシカルボニル

HATU:(o-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェイト)

HBTU:(2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェイト)

HEPES:4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸

HFIP:1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロ-2-プロパノールまたはヘキサフルオロイソプロパノール

HOAt:1-ヒドロキシ-7-アザベンゾトリアゾール

HPLC:高速液体クロマトグラフィー

HSA:ヒト血清アルブミン

IBMX:3-イソブチル-1-メチルキサンチン

imp:イミダゾプロピオン酸(また、デスアミノヒスチジン、DesHとも称される)

i.v.:静脈内
ivDde:1-(4,4-ジメチル-2,6-ジオキソシクロヘキシリデン)-3-メチルブチル
LCMS:液体クロマトグラフィー質量分析
MALDI-MS:MALDI-TOF MSを参照のこと
MALDI-TOF MS:マトリックス支援レーザ脱離イオン化飛行時間型質量分析
MeOH:メタノール
Mmt:4-メトキシトリチル
Mtt:4-メチルトリチル
NMP:N-メチルピロリドン
OEG:8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸
OtBu:tert-ブチルエステル
Pbf:2,2,4,6,7-ペンタメチルジヒドロベンゾフラン-5-スルホニル
PBS:リン酸緩衝生理食塩水
Pen/Strep:ペニシリン/ストレプトマイシン
RP:逆相
RP-HPLC:逆相高速液体クロマトグラフィー
RT:室温
Rt:保持時間
s.c.:皮下
SEC-HPLC:サイズ排除高速液体クロマトグラフィー
SPA:シンチレーション近接アッセイ法
SPPS:固相ペプチド合成
tBu:tert-ブチル
TFA:トリフルオロ酢酸
TIS:トリイソプロピルシラン
トリス:トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンまたは2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-プロパン-1,3-ジオール
UPLC:超高性能液体クロマトグラフィー

【０４５０】

調製の一般的な方法

本項は、固相ペプチド合成の方法(アミノ酸の脱保護方法、樹脂からペプチドを切断し、精製する方法を含むSPPS法)、および得られたペプチドを検出し、特徴づける方法(LCMS、MALDIおよびUPLC法)に関する。

【０４５１】

ペプチドの固相合成は、それだけには限らないが、2-Fmoc-オキシ-4-メトキシベンジルまたは2,4,6-トリメトキシベンジルなど、酸性条件下で切断可能な基でジペプチドアミド結合が保護されているジペプチドの使用によって場合によっては改善できる。ペプチド中にセリンまたはトレオニンが存在する場合、シュードプロリンジペプチドを使用することができる(例えばNovabiochem社から入手可能である、W.R. Sampson (1999)、J. Pep. Sci.、5、403頁も参照のこと)。使用したFmoc保護されたアミノ酸誘導体は、推奨される標準的なFmoc-Ala-OH、Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Asn(Trt)-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Cys(Trt)-OH、Fmoc-Gln(Trt)-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-His(Trt)-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-Met-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Trp(Boc)-OH、Fmoc-Tyr(tBu)-OH、またはFmoc-Val-OHなどであり、例えばAnaspec社、Bachem社、Iris Biotech社またはNovabiochem社から供給される。

【０４５２】

特に指定されない場合、天然のL型アミノ酸が使用される。N末端アミノ酸は、αアミノ基でBoc保護されている[例えばN末端にHisを有するペプチドの場合Boc-His(Boc)-OH、またはBoc-His(Trt)-OH]。SPPSを使用するモジュラーアルブミン結合部分の接着の場合、以

下の適切に保護された構成要素、これらに限定されないが、Fmoc-8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸、Fmoc-トラネキサム酸、Fmoc-Glu-OtBu、オクタデカン二酸モノ-tert-ブチルエステル、ノナデカン二酸モノ-tert-ブチルエステル、テトラデカン二酸モノ-tert-ブチルエステルまたは4-[9-カルボキシノニロキシ(carboxynonyloxy)]安息香酸tert-ブチルエステルなどを使用した。下に記載する全ての操作は、250μmolの合成規模で実施した。

【０４５３】

樹脂に結合した保護されたペプチド主鎖の合成

方法:SPPS_P

SPPS_Pを、Protein Technologies社製(Tucson、AZ 85714 U.S.A.)のPrelude固相ペプチド合成装置で、充填樹脂、例えばRinkamide-Chematrix(0.5mmol/g)または低充填Fmoc-Gly-Wang(0.35mmol/g)に対して6倍過剰のFmoc-アミノ酸[300mM HOAtまたはOxyma Pure(登録商標)を含むNMP中に300mM]を使用して、250μmol規模で実施した。Fmoc-脱保護は、NMP中の20%ピペリジンを使用して実施した。カップリングは、NMP中で3:3:3:4のアミノ酸/[HOAtまたはOxyma Pure(登録商標)]/DIC/コリジンを使用して実施した。NMPおよびDCM表面洗浄(7mL、0.5分間、それぞれ2回×2回)を、脱保護とカップリング工程の間に実施した。カップリング時間は、通常60分間であった。Fmoc-Arg-(Pbf)-OH、Fmoc-Aib-OHまたはBoc-His(Trt)-OHを含むがこれに限らないくつかのアミノ酸は、「二重カップリングされた」、これは1回目のカップリング(例えば60分間)の後に、樹脂を排液し、さらなる試薬[アミノ酸、{HOAtまたはOxyma Pure(登録商標)}、DICおよびコリジン]を添加し、混合物を再び反応させた(例えば60分間)ことを意味する。

【０４５４】

方法:SPPS_L

SPPS_Lを、CEM Corp.社製(Matthews、NC 28106、U.S.A.)のマイクロ波を用いるLibertyペプチド合成装置で、充填樹脂、例えばRinkamide-Chematrix(0.5mmol/g)または低充填Fmoc-Gly-Wang(0.35mmol/g)に対して6倍過剰のFmoc-アミノ酸[300mM HOAtまたはOxyma Pure(登録商標)を含むNMP中に300mM]を使用して、250μmolまたは100μmol規模で実施した。Fmoc-脱保護は、NMP中の5%ピペリジンを使用して最高75℃で30秒間実施し、樹脂を排液し、NMPで洗浄した後に、Fmoc-脱保護を、75℃で2分間この回数繰り返した。カップリングは、NMP中で1:1:1のアミノ酸/[HOAtまたはOxyma Pure(登録商標)]/DICを使用して実施した。カップリング時間および温度は、通常最高75℃で5分間であった。より大規模な反応にはより長いカップリング時間、例えば10分間を使用した。ヒスチジンアミノ酸は、50℃で二重カップリングした、または前のアミノ酸が立体的に妨害されている(例えばAib)場合、四重カップリングした。アルギニンアミノ酸を、RTで25分間カップリングし、次いで75℃まで5分間加熱した。それだけには限らないがAibなどのいくつかのアミノ酸は、「二重カップリングされた」、これは1回目のカップリング(例えば75℃で5分間)の後に、樹脂を排液し、さらなる試薬[アミノ酸、{HOAtまたはOxyma Pure(登録商標)}およびDIC]を添加し、混合物を再び加熱する(例えば75℃で5分間)ことを意味する。NMP洗浄(5×10mL)を、脱保護とカップリング工程の間に実施した。

【０４５５】

側鎖が付着しているまたはしていない樹脂結合ペプチドの切断および精製

方法:CP_M1

合成後に、樹脂をDCMで洗浄し、TFA/TIS/水(95/2.5/2.5または92.5/5/2.5)を用いる2～3時間の処理によりペプチドを樹脂から切断し、その後にジエチルエーテルで沈殿させた。ペプチドを適切な溶媒(例えば30%酢酸など)に溶解し、C18、5μmカラムでアセトニトリル/水/TFAを使用する標準的なRP-HPLCで精製した。画分をUPLC、MALDIおよびLCMS法の組合せによって分析し、適当な画分をプールし、凍結乾燥した。

【０４５６】

検出および特徴づけの一般的な方法

LC-MS法

方法:LCMS_4

LCMS_4を、Waters社Acquity UPLCシステムとMicromass社製LCT Premier XE質量分析計とからなる構成で実施した。

【０４５７】

溶離剤:

A:0.1%ギ酸水溶液

B:0.1%ギ酸アセトニトリル溶液

【０４５８】

分析は、AとBの勾配で溶出されるカラムに適当な量(好ましくは2～10μL)のサンプルを注入することによりRTで実施した。UPLC条件、検出器設定および質量分析計設定は、以下の通りであった:カラム:Waters社Acquity UPLC BEH、C-18、1.7μm(2.1mm×50mm)。勾配:0.4mL/minで、4.0分間の間に直線で5%～95%アセトニトリル(別法として8.0分間)。検出:214nm[TUV(調整可能な紫外線検出器)からのアナログ出力]、MSイオン化モード:API-ES

スキャン:100～2000amu(別法として500～2000amu)、ステップ0.1amu。

【０４５９】

UPLC法

方法:B4_1

RP分析を、デュアルバンド検出器を付けたWaters社UPLCシステムを使用して実施した。214nmおよび254nmでの紫外線検出を、ACQUITY UPLC BEH130、C18、130Å、1.7μm、2.1mm×150mmのカラムを使用して、40℃で集めた。UPLCシステムを、A:99.95%H2O、0.05%TFA;B:99.95%CH3CN、0.05%TFAを含有する2つの溶離剤貯蔵槽に接続した。以下の直線勾配を使用した:流量0.40mL/minで16分間かけて95% A、5% Bから5% A、95% B。

【０４６０】

化合物1

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０４６１】

【化１】



【０４６２】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3859m/z;実測値:m/2:1930、m/3:1287、m/4:965;Rt-uv=2.4分。

UPLC(B4_1):Rt=9.9分。

【０４６３】

化合物2

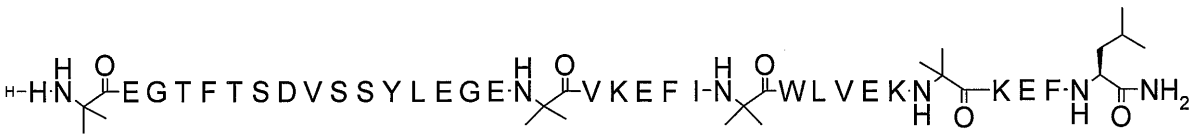
[Aib2,Gly16,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-Exendin-4-(1-37)-ペプチドアミド

【０４６４】

【化２】



【０４６５】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4338m/z;実測値:m/3:1447、m/4:1085、m/5:868;Rt-uv=2.4分。
UPLC(B4_1):Rt=10.2分。
【０４６６】
化合物3
[Aib8,Glu23,Aib24,Val25,Aib30,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド
【０４６７】
【化３】



【０４６８】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3887m/z;実測値:m/2:1945、m/3:1297、m/4:973;Rt-uv=2.4分。
UPLC(B4_1):Rt=10.1分。
【０４６９】
化合物4
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-His-Leuアミド
【０４７０】
【化４】



【０４７１】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3849m/z;実測値:m/2:1925、m/3:1284、m/4:963;Rt-uv=2.0分。
UPLC(B4_1):Rt=8.3分。
【０４７２】
化合物5
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-His-Leuアミド
【０４７３】

【化５】



【０４７４】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3863m/z;実測値:m/2:1933、m/3:1289、m/4:967;Rt-uv=2.1分。

UPLC(B4_1):Rt=7.9分。

【０４７５】

化合物6

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０４７６】

【化６】



【０４７７】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3873m/z;実測値:m/2:1938、m/3:1292、m/4:969;Rt-uv=2.5分。

UPLC(B4_1):Rt=10.3分。

【０４７８】

化合物7

[Aib8,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０４７９】

【化７】



【０４８０】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3858m/z;実測値:m/2:1930、m/3:1287、m/4:966;Rt-uv=2.4分。

UPLC(B4_1):Rt=9.9分。

【０４８１】

化合物8

[Aib8,Glu23,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０４８２】

【化８】



【０４８３】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3831m/z;実測値:m/2:1916、m/3:1278、m/4:958;Rt-uv=2.3分。

UPLC(B4_1):Rt=9.4分。

【０４８４】

化合物9

[Aib8,Glu23,Val25,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０４８５】

【化９】



【０４８６】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3858m/z;実測値:m/2:1930、m/3:1287、m/4:966;Rt-uv=2.2分。

UPLC(B4_1):Rt=9.3分。

【０４８７】

化合物10

[Aib8,Glu23,Val25,Aib36,Lys37]-des-Lys34-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０４８８】

【化１０】



【０４８９】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3659m/z;実測値:m/2:1930、m/3:1220、m/4:916;Rt-uv=2.3分。

UPLC(B4_1):Rt=7.9分。

【０４９０】

化合物11

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチドアミド

【０４９１】

【化１１】



【０４９２】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3470m/z;実測値:m/2:1736、m/3:1157、m/4:868;Rt-uv=2.0分

UPLC(B4_1):Rt=7.3分。

【０４９３】

化合物12

[Aib2,Gly16,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-Exendin-4-(1-37)-ペプチドアミド

【０４９４】

【化１２】



【０４９５】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値4322m/z;実測値:m/4:1082、m/5:866、m/6:721。

UPLC(B4_1):Rt=10.3分。

【０４９６】

化合物13

[Tyr12,Asn14,Thr17,Glu18,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０４９７】

【化１３】



【０４９８】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3944m/z;実測値:m/3:1316、m/4:987、m/5:790;Rt-uv=2.5分。

UPLC(B4_1):Rt=9.8分。

【０４９９】

化合物14

[Asp9,Leu12,Ile16,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０５００】

【化１４】



【０５０１】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3811m/z;実測値:m/3:1271、m/4:954、m/5:763;Rt-uv=2.5分。
UPLC(B4_1):Rt=9.9分。

【０５０２】
化合物15
[His14,Tyr20,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０５０３】
【化１５】



【０５０４】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3945m/z;実測値:m/3:1316、m/4:987、m/5:790;Rt-uv=2.4分。
UPLC(B4_1):Rt=9.3分。

【０５０５】
化合物16
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu

【０５０６】
【化１６】



【０５０７】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3860m/z;実測値:m/2:1931、m/3:1288、m/4:966;Rt-uv=2.4分。
UPLC(B4_1):Rt=8.7分。

【０５０８】
化合物17
[Aib8,Glu23,Val25,His31,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０５０９】

【化１７】



【０５１０】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3810m/z;実測値:m/2:1906、m/3:1271、m/4:954;Rt-uv=2.1分。

UPLC(B4_1):Rt=10.3分。

【０５１１】

化合物18

[Aib8,Asp23,Val25,Asp27,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０５１２】

【化１８】



【０５１３】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3831m/z;実測値:m/2:1917、m/3:1278、m/4:959;Rt-uv=2.4分。

UPLC(B4_1):Rt=10.0分

【０５１４】

化合物19

[Aib8,Glu23,Val25,Arg26,Glu34,Arg35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０５１５】

【化１９】



【０５１６】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3915m/z;実測値:m/3:1306、m/4:980、m/5:784;Rt-uv=2.1分。

UPLC(B4_1):Rt=9.4分。

【０５１７】

化合物20

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Leu36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Leu-Valアミド

【０５１８】
【化２０】



【０５１９】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3839m/z;実測値:m/3:1281、m/4:961、m/5:769;Rt-uv=2.2分。
UPLC(B4_1):Rt=9.8分。
【０５２０】
化合物21
[Aib8,Trp23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド
【０５２１】
【化２１】



【０５２２】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3917m/z;実測値:m/3:1307、m/4:980、m/5:785。
UPLC(B4_1):Rt=10.1分。
【０５２３】
化合物22
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Hisアミド
【０５２４】
【化２２】



【０５２５】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3883m/z;実測値:m/3:1295、m/4:972、m/5:778;Rt-uv=2.0分。
UPLC(B4_1):Rt=7.9分。
【０５２６】
化合物23
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-Exendin-4-(1-37)-ペプチド
【０５２７】

【化２３】



【０５２８】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4411m/z;実測値:m/3:1471、m/4:1104、m/5:883;Rt-uv=2.1分。
UPLC(B4_1):Rt=10.0分。
【０５２９】
化合物24
[Aib2,Gly16,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Glu28,Lys29]-Glucagonyl-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド
【０５３０】
【化２４】



【０５３１】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4005m/z;実測値:m/3:1336、m/4:1002、m/5:802;Rt-uv=2.3分。
UPLC(B4_1):Rt=8.5分。
【０５３２】
化合物25
[Aib2,Gly16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Glu28,Lys29]-Glucagonyl-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド
【０５３３】
【化２５】



【０５３４】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4090m/z;実測値:m/3:1364、m/4:1023、m/5:819;Rt-uv=2.1分。
UPLC(B4_1):Rt=7.9分。
【０５３５】
化合物26
[Aib2,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Glu28,Lys29]-Glucagonyl-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド
【０５３６】

【化２６】



【０５３７】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値4035m/z;実測値:m/3:1346、m/4:1010、m/5:808;Rt-uv=2.1分。

UPLC(B4_1):Rt=8.3分。

【０５３８】

化合物27

[Asn14,Met16,Thr17,Asn18,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Gly36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０５３９】

【化２７】



【０５４０】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3917m/z;実測値:m/3:1307、m/4:980、m/5:784;Rt-uv=2.3分。

UPLC(B4_1):Rt=8.7分。

【０５４１】

化合物28

[Aib8,Glu23,Val25,Leu27,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０５４２】

【化２８】



【０５４３】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3843m/z;実測値:m/3:1282、m/4:962、m/5:770。

UPLC(B4_1):Rt=10.0分。

【０５４４】

化合物29

[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-Exendin-4-(1-37)-ペプチドアミド

【０５４５】

【化２９】



【０５４６】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値4410m/z;実測値:m/3:1471、m/4:1103、m/5:883;Rt-uv=2.4分。

UPLC(B4_1):Rt=10.1分。

【０５４７】

化合物30

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０５４８】

【化３０】



【０５４９】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3788m/z;実測値:m/2:1895、m/3:1263、m/4:948;Rt-uv=2.5分。

UPLC(B4_1):Rt=10.5分。

【０５５０】

化合物31

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-His-Phe-Leuアミド

【０５５１】

【化３１】



【０５５２】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3867m/z;実測値:m/3:1290、m/4:968、m/5:775。

UPLC(B4_1):Rt=8.9分。

【０５５３】

化合物32

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０５５４】

【化３２】



【０５５５】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3788m/z;実測値:m/2:1895、m/3:1264、m/4:948;Rt-uv=2.5分。
UPLC(B4_1):Rt=10.2分。
【０５５６】
化合物33
[Aib2,Glu21,Lys29,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-Exendin-4-(1-37)-ペプチドアミド
【０５５７】
【化３３】



【０５５８】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4382m/z;実測値:m/4:1096、m/5:877;Rt-uv=2.1分。
UPLC(B4_1):Rt=9.0分。
【０５５９】
化合物34
[Aib2,Glu21,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-Exendin-4-(1-37)-ペプチドアミド
【０５６０】
【化３４】



【０５６１】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4339m/z;実測値:m/3:1447、m/4:1086、m/5:869;Rt-uv=2.3分。
UPLC(B4_1):Rt=10.6分。
【０５６２】
化合物35
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-Exendin-4-(1-37)-ペプチドアミド
【０５６３】

【化３５】



【０５６４】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4394m/z;実測値:m/4:1100、m/5:880;Rt-uv=2.1分。
UPLC(B4_1):Rt=8.8分。
【０５６５】
化合物36
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-Exendin-4-(1-37)-ペプチドアミド
【０５６６】
【化３６】



【０５６７】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4368m/z;実測値:m/4:1093、m/5:874;Rt-uv=2.2分。
UPLC(B4_1):Rt=9.8分。
【０５６８】
化合物37
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Leu34,Glu35,Leu36,Leu37]-Exendin-4-(1-37)-ペプチドアミド
【０５６９】
【化３７】



【０５７０】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4350m/z;実測値:m/3:1451、m/4:1088、m/5:871;Rt-uv=2.1分。
UPLC(B4_1):Rt=8.6分。
【０５７１】
化合物38
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Glu35,Leu36,Leu37]-Exendin-4-(1-37)-ペプチドアミド
【０５７２】

【化３８】



【０５７３】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4354m/z;実測値:m/3:1452、m/4:1089、m/5:872;Rt-uv=2.2分。
UPLC(B4_1):Rt=8.8分。

【０５７４】
化合物39
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu37]-Exendin-4-(1-37)-ペプチドアミド

【０５７５】
【化３９】



【０５７６】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4394m/z;実測値:m/3:1465、m/4:1099、m/5:880;Rt-uv=2.5分。
UPLC(B4_1):Rt=9.1分。

【０５７７】
化合物40
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Glu35,Leu36]-Exendin-4-(1-37)-ペプチドアミド

【０５７８】
【化４０】



【０５７９】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4394m/z;実測値:m/3:1466、m/4:1100、m/5:880。
UPLC(B4_1):Rt=8.8分。

【０５８０】
化合物41
[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34,Leu36,Leu37]-Exendin-4-(1-37)-ペプチドアミド

【０５８１】

【化４１】



【０５８２】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値4352m/z;実測値:m/3:1451、m/4:1089、m/5:871;Rt-uv=2.4分。

UPLC(B4_1):Rt=10.2分。

【０５８３】

化合物42

[Aib2,Glu21,Lys29,Aib30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34]-Exendin-4-(1-34)-ペプチドアミド

【０５８４】

【化４２】



【０５８５】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値4055m/z;実測値:m/3:1352、m/4:1015、m/5:812;Rt-uv=2.1分。

UPLC(B4_1):Rt=8.7分。

【０５８６】

化合物43

[Aib8,Glu23,Val25,Arg26,Glu34,Arg35,Aib36,Arg37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０５８７】

【化４３】



【０５８８】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3943m/z;実測値:m/3:1315、m/4:987、m/5:790;Rt-uv=2.3分。

UPLC(B4_1):Rt=9.6分。

【０５８９】

化合物44

[Asn14,Met16,Thr17,Asn18,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０５９０】

【化４４】



【０５９１】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3945m/z;実測値:m/3:1316、m/4:987、m/5:790;Rt-uv=2.3分。

UPLC(B4_1):Rt=9.9分。

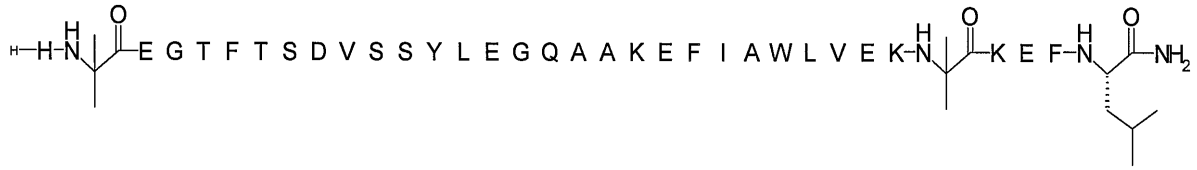
【０５９２】

化合物45

[Aib8,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０５９３】

【化４５】



【０５９４】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3830m/z;実測値:m/2:1916、m/3:1278、m/4:958;Rt-uv=2.3分。

UPLC(B4_1):Rt=9.4分。

【０５９５】

化合物46

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Phe36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Ala-Pheアミド

【０５９６】

【化４６】



【０５９７】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3879m/z;実測値:m/2:1941、m/3:1294、m/4:971;Rt-uv=2.3分。

UPLC(B4_1):Rt=9.4分

【０５９８】

化合物47

[Aib8,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０５９９】

【化４７】



【０６００】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3829m/z;実測値:m/3:1277、m/4:958、m/5:767;Rt-uv=1.8分。
UPLC(B4_1):Rt=8.9分。

【０６０１】
化合物48
[Aib8,Lys35,Aib36]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０６０２】
【化４８】



【０６０３】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3758m/z;実測値:m/3:1254、m/4:941、m/5:753;Rt-uv=1.8分
UPLC(B4_1):Rt=9.2分。

【０６０４】
化合物49
[Aib8,Glu23,Lys24,Val25,Glu30,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０６０５】
【化４９】



【０６０６】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3975m/z;実測値:m/3:1326、m/4:995、m/5:796;Rt-uv=1.8分。
UPLC(B4_1):Rt=9.2分。

【０６０７】
化合物50
[Aib8,Glu23,Val25,Trp30,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０６０８】

【化５０】



【０６０９】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3975m/z;実測値:m/3:1326、m/4:995、m/5:796;Rt-uv=1.9分。

UPLC(B4_1):Rt=10.0分。

【０６１０】

化合物51

[Aib8,Glu23,Val25,Lys27,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０６１１】

【化５１】



【０６１２】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3858m/z;実測値:m/3:1287、m/4:966、m/5:773;Rt-uv=2.2分。

UPLC(B4_1):Rt=9.4分

【０６１３】

化合物52

[Aib8,Lys23,Arg24,Arg26,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０６１４】

【化５２】



【０６１５】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3944m/z;実測値:m/3:1316、m/4:987、m/5:790;Rt-uv=2.0分。

UPLC(B4_1):Rt=8.3分。

【０６１６】

化合物53

[Aib8,Glu23,Arg24,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０６１７】

【化５３】



【０６１８】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3945m/z;実測値:m/3:1316、m/4:987、m/5:790;Rt-uv=2.2分。

UPLC(B4_1):Rt=9.0分。

【０６１９】

化合物54

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys-Valアミド

【０６２０】

【化５４】



【０６２１】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値4216m/z;実測値:m/3:1407、m/4:1055、m/5:844。

UPLC(B4_1):Rt=9.9分。

【０６２２】

化合物55

[Aib2,His3,Glu15,Glu16,Glu17,Ala18,Lys20,Glu21,Ile23,Ala24,Leu27,Glu28,Lys29]-Glucagonyl-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド

【０６２３】

【化５５】



【０６２４】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値4031m/z;実測値:m/3:1344、m/4:1009、m/5:807;Rt-uv=2.1分。

UPLC(B4_1):Rt=8.7分。

【０６２５】

化合物56

[Glu15,Glu16,Gln17,Ala18,Lys20,Glu21,Ile23,Ala24,Leu27,Glu28,Lys29]-Glucagonyl-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド

【０６２６】

【化５６】



【０６２７】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4023m/z;実測値:m/3:1342、m/4:1007、m/5:805;Rt-uv=2.1分。
UPLC(B4_1):Rt=8.8分。

【０６２８】
化合物57
[Glu15,Glu16,Lys17,Ala18,Lys20,Glu21,Ile23,Ala24,Leu27,Glu28,Lys29]-Glucagonyl-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド

【０６２９】
【化５７】



【０６３０】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4023m/z;実測値:m/3:1342、m/4:1007、m/5:805;Rt-uv=2.1分。
UPLC(B4_1):Rt=8.5分。

【０６３１】
化合物58
[Glu15,Glu16,Lys17,Lys18,Lys20,Glu21,Ile23,Ala24,Leu27,Glu28,Lys29]-Glucagonyl-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド

【０６３２】
【化５８】



【０６３３】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4080m/z;実測値:m/3:1361、m/4:1021、m/5:817;Rt-uv=1.9分。
UPLC(B4_1):Rt=7.9分。

【０６３４】
化合物59
[Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Glu28,Lys29]-Glucagonyl-(1-29)-Aib-Lys-Glu-Phe-Leuアミド

【０６３５】

【化５９】



【０６３６】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値4038m/z;実測値:m/3:1347、m/4:1010、m/5:808;Rt-uv=2.0分。

UPLC(B4_1):Rt=8.3分。

【０６３７】

化合物60

[Aib8,Glu23,Lys24,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０６３８】

【化６０】



【０６３９】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3917m/z;実測値:m/3:1306、m/4:980、m/5:784;Rt-uv=2.2分。

UPLC(B4_1):Rt=9.1分。

【０６４０】

化合物61

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys-Val-Lys-Glu-Pheアミド

【０６４１】

【化６１】



【０６４２】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値4620m/z;実測値:m/3:1542、m/4:1156、m/5:925;Rt-uv=2.4分。

UPLC(B4_1):Rt=9.8分。

【０６４３】

化合物62

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Pheアミド

【０６４４】

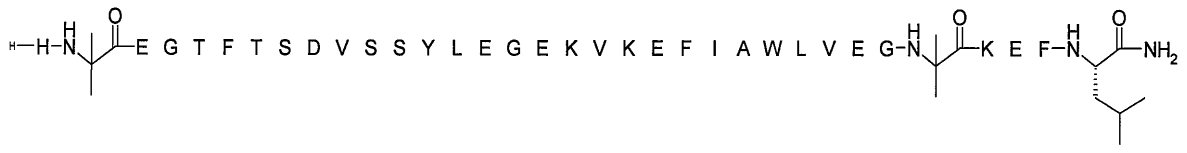
【化６２】



【０６４５】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3746m/z;実測値:m/3:1250、m/4:938、m/5 750;Rt-uv=2.9分。
UPLC(B4_1):Rt=8.5分。
【０６４６】
化合物63
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Gluアミド
【０６４７】
【化６３】



【０６４８】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3599m/z;実測値:m/3:1200、m/4:900;Rt-uv=2.1分。
UPLC(B4_1):Rt=7.8分。
【０６４９】
化合物64
[Aib8,Glu23,Lys24,Val25,Glu34,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド
【０６５０】
【化６４】



【０６５１】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3845m/z;実測値:m/3:1283、m/4:962;Rt-uv=2.4分。
UPLC(B4_1):Rt=9.2分。
【０６５２】
化合物65
[Aib8,Glu23,Val25,Val29,Gln30,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド
【０６５３】

【化６５】



【０６５４】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3902m/z;実測値:m/3:1302、m/4:976;Rt-uv=2.4分。

UPLC(B4_1):Rt=9.5分。

【０６５５】

化合物66

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Gluアミド

【０６５６】

【化６６】



【０６５７】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3989m/z;実測値:m/3:1331、m/4:997;Rt-uv=3.1分。

UPLC(B4_1):Rt=9.8分。

【０６５８】

化合物67

[Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０６５９】

【化６７】



【０６６０】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3859m/z;実測値:m/3:1278、m/4:959、m/5:767;Rt-uv=3.0分。

UPLC(B4_1):Rt=9.5分。

【０６６１】

化合物68

[Ala2,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Glu28,Lys29]-Glucagonyl-(1-29)-Val-Lys-Glu-Phe-Leuアミド

【０６６２】

【化６８】



【０６６３】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4036m/z;実測値:m/4. 1010、m/5:808;Rt-uv=2.8分。
UPLC(B4_1):Rt=8.3分。
【０６６４】
化合物69
[Ala2,Glu21,Lys29,Val30,Leu31,Glu32,Phe33,Leu34]-Exendin-4-(1-34)-ペプチドアミド
【０６６５】
【化６９】



【０６６６】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4055m/z;実測値:m/3:1352、m/4:1015;m/5 812,Rt-uv=2.2分。
UPLC(B4_1):Rt=8.8分。
【０６６７】
化合物70
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lysアミド
【０６６８】
【化７０】



【０６６９】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4117m/z;実測値:m/3:1373、m/4:1030、m/5 824;Rt-uv=2.4分。
UPLC(B4_1):Rt=9.2分。
【０６７０】
化合物71
[Aib8,Glu23,Lys24,Val25,Glu30,His31,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド
【０６７１】

【化７１】



【０６７２】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3925m/z;実測値:m/3:1310、m/4:982;m/5．786;Rt-uv=2.7分。

UPLC(B4_1):Rt=7.9分。

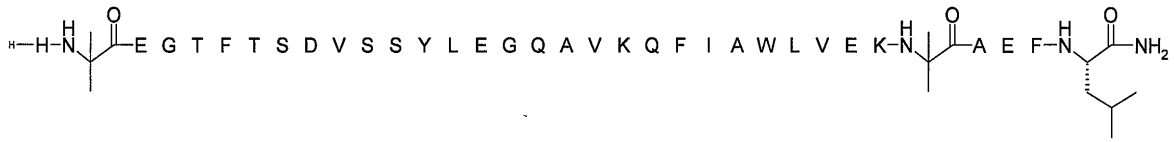
【０６７３】

化合物72

[Aib8,Val25,Gln27,Glu34,Lys35,Aib36,Ala37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０６７４】

【化７２】



【０６７５】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3800m/z;実測値:m/3:1268、m/4:951。

UPLC(B4_1):Rt=10.6分。

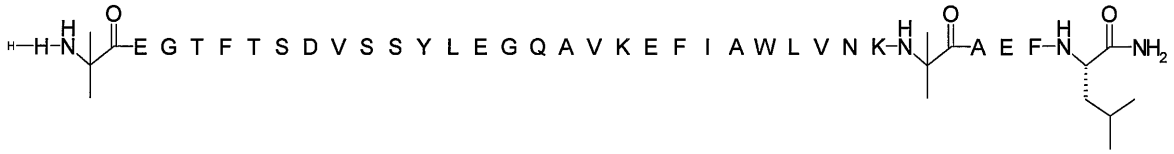
【０６７６】

化合物73

[Aib8,Val25,Asn34,Lys35,Aib36,Ala37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０６７７】

【化７３】



【０６７８】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3786m/z;実測値:m/3:1263、m/4:948。

UPLC(B4_1):Rt=10.5分。

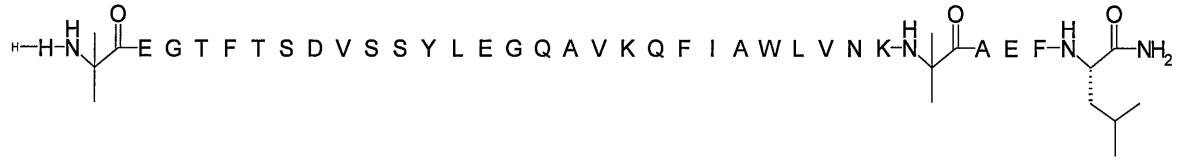
【０６７９】

化合物74

[Aib8,Val25,Gln27,Asn34,Lys35,Aib36,Ala37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０６８０】

【化７４】



【０６８１】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3785m/z;実測値:m/3:1263、m/4:948。
UPLC(B4_1):Rt=10.4分。

【０６８２】
化合物75
[Aib8,Val36]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０６８３】
【化７５】



【０６８４】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3701m/z;実測値:m/2:1851、m/3:1235、m/4:926;Rt-uv=2.9分。
UPLC(B4_1):Rt=9.6分。

【０６８５】
化合物76
[Gly8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０６８６】
【化７６】



【０６８７】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3845m/z;実測値:m/3:1283、m/4:962、m/5:770;Rt-uv=3.1分。
UPLC(B4_1):Rt=10.1分。

【０６８８】
化合物77
[desamino-His7,Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０６８９】

【化７７】



【０６９０】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3858m/z;実測値:m/3:1287、m/4:965;Rt-uv=3.2分。

UPLC(B4_1):Rt=10.6分。

【０６９１】

化合物78

[Gly8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-His-Leuアミド

【０６９２】

【化７８】



【０６９３】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3835m/z;実測値:m/3:1279、m/4:960、m/5:768;Rt-uv=2.9分。

UPLC(B4_1):Rt=8.2分。

【０６９４】

化合物79

[Aib8,Glu23,Val25,Gln30,Leu33,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０６９５】

【化７９】



【０６９６】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3930m/z;実測値:m/3:1311、m/4:983、m/5:787;Rt-uv=2.6分。

UPLC(B4_1):Rt=10.0分。

【０６９７】

化合物80

[Aib8,Glu23,Val25,Arg26,Val29,Gln30,Leu33,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０６９８】

【化８０】



【０６９９】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3944m/z;実測値:m/3:1316、m/4:987、m/5:790;Rt-uv=2.6分。

UPLC(B4_1):Rt=9.8分。

【０７００】

化合物81

[Aib8,Glu23,Val25,Arg26,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０７０１】

【化８１】



【０７０２】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3887m/z;実測値:m/3:1297、m/4:973、m/5:778;Rt-uv=2.6分。

UPLC(B4_1):Rt=9.9分。

【０７０３】

化合物82

[Aib8,Glu23,Val25,Val29,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０７０４】

【化８２】



【０７０５】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3845m/z;実測値:m/3:1283、m/4:962、m/5:770;Rt-uv=3.0分。

UPLC(B4_1):Rt=9.6分。

【０７０６】

化合物83

[Aib8,Glu23,Val25,Gln30,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０７０７】

【化８３】



【０７０８】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3916m/z;実測値:m/3:1306、m/4:980、m/5:784;Rt-uv=3.0分。
UPLC(B4_1):Rt=9.8分。
【０７０９】
化合物84
[Aib8,Glu23,Val25,Leu33,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド
【０７１０】
【化８４】



【０７１１】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3873m/z;実測値:m/3:1292、m/4:969、m/5:776;Rt-uv=3.1分。
UPLC(B4_1):Rt=10.0分。
【０７１２】
化合物85
[Aib8,Glu23,Val25,Lys30,Glu34,Lys35,Leu36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド
【０７１３】
【化８５】



【０７１４】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3944m/z;実測値:m/3:1316、m/4:987;Rt-uv=3.0分。
UPLC(B4_1):Rt=9.8分。
【０７１５】
化合物86
[Aib8,Glu23,Val25,Lys30,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド
【０７１６】
【化８６】



【０７１７】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3916m/z;実測値:m/3:1306、m/4:980;Rt-uv=3.0分。
UPLC(B4_1):Rt=9.4分。
【０７１８】
化合物87

[Aib8,Glu23,Val25,Gln30,His31,Glu34,Lys35,Leu36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０７１９】

【化８７】



【０７２０】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3895m/z;実測値:m/3:1299、m/4:975;Rt-uv=2.9分。

UPLC(B4_1):Rt=8.9分。

【０７２１】

化合物88

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Leu37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Ser-Phe-Leuアミド

【０７２２】

【化８８】



【０７２３】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3802m/z;実測値:m/2:1902、m/3:1268、m/4:951、m/5:761;Rt-uv=3.1分。

UPLC(B4_1):Rt=11.3分。

【０７２４】

化合物89

[Aib8,Glu23,Val25,Leu33,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Trp-Leuアミド

【０７２５】

【化８９】



【０７２６】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3912m/z;実測値:m/3:1305、m/4:979、m/5:783;Rt-uv=2.8分。

UPLC(B4_1):Rt=9.9分。

【０７２７】

化合物90

[Aib8,Lys23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０７２８】

【化９０】



【０７２９】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3858m/z;実測値:m/3:1287、m/4:966、m/5:773;Rt-uv=2.7分。

UPLC(B4_1):Rt=9.4分。

【０７３０】

化合物91

[Aib8,Glu23,Val25,Arg26,Glu34,Arg35,Val36,Arg37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Lysアミド

【０７３１】

【化９１】



【０７３２】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値4086m/z;実測値:m/3:1368、m/4:1022、m/5:818;Rt-uv=2.7分。

UPLC(B4_1):Rt=9.4分。

【０７３３】

化合物92

[Gly8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Gly

【０７３４】

【化９２】



【０７３５】

化合物92を発現させるために、エンテロキナーゼ切断部位(DDDDK)を含有するリンカーを介して化合物92のN末端と融合したhレプチンからなる融合ペプチドを発現する、pET11に基づく発現構築物を作製した。

【０７３６】

発現させた融合タンパク質の完全長配列は、以下の通りである:

VPIQKVQDDT KTLIKTIVTR INDISHTQSV SSKQKVTGLD FIPGLHPILT LSKMDQTLAV YQQILTSMPS RNV IQISNDL ENLRDLLHVL AFSKSCHLPW ASGLETLDSL GGVLEASGYS TEVVALSRLQ GSLQDMLWQL DLSPGC SKSR SKSRASGSDV KDDDDKHGEG TFTSDVSSYL EGEAVKEFIA WLVEKVKEFL G

【０７３７】

構築物を、社内で操作したTKO $Prc^{-/-}$株[Prcプロテアーゼノックアウトを追加で有する

特許出願(WO 2010/052335 A1)に公開されている株に基づく]に形質転換した。形質転換したクローンを、EC1培地を用いて振盪フラスコ中でOD_{600}が約1になるまで37℃で増殖させた。発現を、0.5mM IPTGで4時間誘導し、細胞を回収した。融合タンパク質は封入体として発現した。細胞を、50mM Tris、pH8.0を含有する溶解緩衝液に再懸濁し(1:10、w/w)、フレンチプレスによって溶解した。封入体を20,000g、4℃で1時間の遠心分離によって回収し、50mM Tris、8M尿素、pH8.0を含有する緩衝液に4mg/mLの濃度になるように可溶化し、4℃で3時間インキュベートした。20,000gで30分間の遠心分離後に、可溶化したレプチン-化合物92融合タンパク質を20mM Tris、pH8.0を含有する再折りたたみ緩衝液に8倍希釈し、次いでエンテロキナーゼを添加してレプチンタグを切断した。

【０７３８】

25℃で16時間実施した反応によりレプチンが融合タンパク質から切断されたので、レプチン含まない化合物92を得た。エンテロキナーゼ切断は、再折りたたみ過程に付随して起こった。エンテロキナーゼとレプチン-化合物92融合タンパク質との比率が1:2000のときに、再折りたたみおよび切断過程は最適であると思われた。

【０７３９】

尿素によるエンテロキナーゼの阻害を考慮すると、再折りたたみ緩衝液中の尿素の濃度は2Mを超えるべきでない。この場合、再折りたたみ緩衝液に1M尿素を使用した。最後に、QFF陰イオン交換クロマトグラフィー、続けてFEF逆相クロマトグラフィーによって化合物92を精製した。

【０７４０】

詳細には、50mM Tris、1M尿素、pH8.0を含有するサンプル緩衝液を使用する第1クロマトグラフィー工程としてQFFカラム(CV=5mL)を選択した。2つの緩衝液を移動相として使用し、緩衝液Aは20mM Tris、pH8.0を含有し、一方で緩衝液Bは20mM Tris、0.5M NaCl、pH8.0を含有した。100% A 10CVおよび0% B～100% BのNaCl勾配10CV(勾配中のAとBの混合物、例えば、0% Bの点ではAの濃度が100%になり、一方で100% Bの点ではAの濃度は0%になる)、次に100% B 10CVを続けて行うクロマトグラフィーの全体を通じて、流速5mL/minを使用した。化合物92をQFFに捕捉し、効率よく分離した。FEFクロマトグラフィーの前に、FEFの適用のためにQFFプールに20% ETOHを添加した。FEF(CV=3.14mL)による化合物92の精製は、50mM Tris、20% ETOH、pH8.0を含有するサンプル緩衝液を使用して行った。2つの緩衝液を移動相として使用した。緩衝液Aは20mM Tris、20% ETOH、pH8.0を含有し、一方で緩衝液Bは20mM Tris、90% ETOH、pH8.0を含有した。100% A 10CV、42.8% B 2CV、42.8% B～85.7% Bの勾配10CV、85.7% B～100% Bの勾配1CVおよび100% B 3CVで行うクロマトグラフィーの全体を通じて、流速1mL/minを使用した。

【０７４１】

上記のクロマトグラフィー手順にしたがって、精製した化合物92を1ミリグラム集めた。LC/MSによって正確に計った化合物92の分子量は、理論値と良く一致した(測定値:3900.9795、理論値:3900.95)。

【０７４２】

化合物93

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Phe36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Pheアミド

【０７４３】

【化９３】



【０７４４】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3956m/z;実測値:m/3:1319、m/4:990;m/5 792;Rt-uv=2.6分。
UPLC(B4_1):Rt=10.0分。

【０７４５】

化合物94
[Aib8,Glu23,Val25,Gln26,Glu34,Ala35,Val36,Ala37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０７４６】

【化９４】



【０７４７】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3759m/z;実測値:m/2:1880、m/3:1254、m/4:941;Rt-uv=12.8分。
UPLC(B4_1):Rt=3.3分。

【０７４８】

化合物95
[Aib8,Glu23,Val25,Gln26,Glu34,Gln35,Aib36,Gln37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０７４９】

【化９５】



【０７５０】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3859m/z;実測値:m/2:1930、m/3:1287;Rt-uv=2.92分。
UPLC(B4_1):Rt=11.2分。

【０７５１】

化合物96
[Aib8,Glu23,Lys24,Val25,Glu30,His31,Glu34,Lys35,Phe36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Pheアミド

【０７５２】

【化９６】



【０７５３】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4022m/z;実測値:m/3:1341、m/4:1006;m/5 805,Rt-uv=2.2分。

UPLC(B4_1):Rt=8.3分。

【０７５４】

化合物97

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys-Val-Lys-Glu-Phe

【０７５５】

【化９７】



【０７５６】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値4621.3m/z;実測値:m/3:1542、m/4:1156、m/5. 925。

UPLC(B4_1):Rt=9.6分。

【０７５７】

化合物98

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys-Val

【０７５８】

【化９８】



【０７５９】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値4216m/z;実測値:m/3:1406、m/4:1055、m/5 844。

UPLC(B4_1):Rt=9.8分。

【０７６０】

化合物99

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys

【０７６１】

【化９９】



【０７６２】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値4118m/z;実測値:m/3:1374、m/4:1030、m/5. 825。

UPLC(B4_1):Rt=9.1分。

【０７６３】

化合物100

[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu

【０７６４】

【化１００】



【０７６５】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3989m/z;実測値:m/3:1331、m/4:998;m/5 799。

UPLC(B4_1):Rt=9.6分。

【０７６６】

化合物101

[Aib8,Pro22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０７６７】

【化１０１】



【０７６８】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3899m/z;実測値:m/3. 1301、m/4. 976、m/5. 791。

UPLC(B4_1):Rt=9.8分。

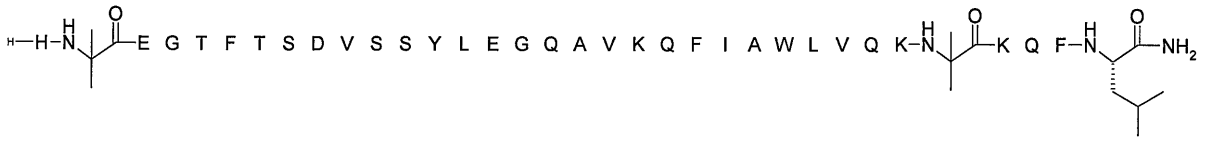
【０７６９】

化合物102

[Aib8,Val25,Gln27,Gln34,Lys35,Aib36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Gln-Phe-Leuアミド

【０７７０】

【化１０２】



【０７７１】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3855m/z;実測値:m/3:1286、m/4:965;m/5. 772。

UPLC(B4_1):Rt=9.6分。

【０７７２】

化合物103

[Lys24,Glu34,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０７７３】

【化１０３】



【０７７４】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3816m/z;実測値:m/3:1273、m/4:955、m/5. 764。
UPLC(B4_1):Rt=9.01分。

【０７７５】
化合物104
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０７７６】
【化１０４】



【０７７７】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3830m/z;実測値:m/3:1273、m/4:959;m/5 767。
UPLC(B4_1):Rt=9.5分。

【０７７８】
化合物105
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Hisアミド

【０７７９】
【化１０５】



【０７８０】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3854m/z;実測値:m/3:1286、m/4:964、m/5. 772。
UPLC(B4_1):Rt=7.6分。

【０７８１】
化合物106
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Gluアミド

【０７８２】
【化１０６】



【０７８３】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3960m/z;実測値:m/3:1321、m/4:991。
UPLC(B4_1):Rt=9.6分。
【０７８４】
化合物107
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-His-Leuアミド
【０７８５】
【化１０７】



【０７８６】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3820m/z;実測値:m/3:1275、m/4:956;m/5. 765。
UPLC(B4_1):Rt=7.6分。
【０７８７】
化合物108
[Glu34,Lys35,Val36]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド
【０７８８】
【化１０８】



【０７８９】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3759m/z;実測値:m/2:1881、m/3:1254、m/4:941;m/5 758。
UPLC(B4_1):Rt=9.6分。
【０７９０】
化合物109
[Aib8,Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Leu-Leuアミド
【０７９１】
【化１０９】



【０７９２】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3912m/z;実測値:m/2:1957、m/3:1305、m/4:979;Rt-uv=2.7分。
UPLC(B4_1):Rt=10.0分。
【０７９３】
化合物110
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Lysアミド

【０７９４】
【化１１０】



【０７９５】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3741m/z;実測値:m/2:1872、m/3:1248、m/4:937;Rt-uv=2.0分
UPLC(B4_1):Rt=7.5分。
【０７９６】
化合物111
[Gly8,Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Lys-Leuアミド
【０７９７】
【化１１１】



【０７９８】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3898m/z;実測値:m/2:1971、m/3:1314、m/4:986;Rt-uv=2.7分。
UPLC(B4_1):Rt=10.3分。
【０７９９】
化合物112
[Aib8,Glu23,Val25,Glu30,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Lys-Leuアミド
【０８００】
【化１１２】



【０８０１】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3912m/z;実測値:m/2:1958、m/3:1305、m/4:979;Rt-uv=2.2分。
UPLC(B4_1):Rt=8.1分。
【０８０２】
化合物113
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Gly36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド
【０８０３】
【化１１３】



【０８０４】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3831m/z;実測値:m/3、1278、m/4．959、m/5．767。
UPLC(B4_1):Rt=8.6分。
【０８０５】
化合物114
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Asp-Phe-Leuアミド
【０８０６】
【化１１４】



【０８０７】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3859m/z;実測値:m/4:966;Rt-uv=2.5分。
UPLC(B4_1):Rt=9.9分。
【０８０８】
化合物115
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Gly-Phe-Leuアミド
【０８０９】
【化１１５】



【０８１０】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3801m/z;実測値:m/3:1268、m/4:951、m/5:761。
UPLC(B4_1):Rt=9.4分。
【０８１１】
化合物116
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Glu-Leuアミド
【０８１２】
【化１１６】



【０８１３】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3855m/z;実測値:m/3:1286、m/4:965;Rt-uv=2.3分。
UPLC(B4_1):Rt=8.7分。

【０８１４】
化合物117
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Gly-Leuアミド
【０８１５】
【化１１７】



【０８１６】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3783m/z;実測値:m/3 1262、m/4:947、m/5. 758。
UPLC(B4_1):Rt=8.5分。
【０８１７】
化合物118
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Lys-Leuアミド
【０８１８】
【化１１８】



【０８１９】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3854m/z;実測値:m/3:1286、m/4:964;Rt-uv=2.1分。
UPLC(B4_1):Rt=8.2分。
【０８２０】
化合物119
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Leu-Leuアミド
【０８２１】
【化１１９】



【０８２２】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3839m/z;実測値:m/3:1281、m/4:961、m/5 769;Rt-uv=2.6分。
UPLC(B4_1):Rt=10.4分。
【０８２３】
化合物120
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Val-Leuアミド

【０８２４】
【化１２０】



【０８２５】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3825m/z;実測値:m/3:1276、m/4:957、m/5 766;Rt-uv=2.6分。
UPLC(B4_1):Rt=10.1分。
【０８２６】
化合物121
[Aib8,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Pheアミド
【０８２７】
【化１２１】



【０８２８】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3907m/z;実測値:m/3:1303、m/4:977、m/5 782;Rt-uv=2.6分。
UPLC(B4_1):Rt=16.8分。
【０８２９】
化合物122
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Pheアミド
【０８３０】
【化１２２】



【０８３１】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3717m/z;実測値:m/3. 1240、m/4:930、m/5. 745:
UPLC(B4_1):Rt=8.2分。
【０８３２】
化合物123
[Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys
【０８３３】

【化１２３】



【０８３４】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4118m/z;実測値:m/3:1373、m/4:1030、m/5．825。
UPLC(B4_1):Rt=9.4分。
【０８３５】
化合物124
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys
【０８３６】
【化１２４】



【０８３７】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4089m/z;実測値:m/3:1364、m/4:1023;m/5．819。
UPLC(B4_1):Rt=8.9分。
【０８３８】
化合物125
[Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-His-Leu-Glu-Ly
s
【０８３９】
【化１２５】



【０８４０】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4108m/z;実測値:m/3:1370、m/4:1028;Rt-uv=2,93分。
UPLC(B4_1):Rt=7.7分。
【０８４１】
化合物126
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-His-Leu-Glu-Lys
【０８４２】
【化１２６】



【０８４３】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4078m/z;実測値:m/3:1360、m/4:1021;m/5．816。
UPLC(B4_1):Rt=7.31分。
【０８４４】
化合物127
[Glu34,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys
【０８４５】

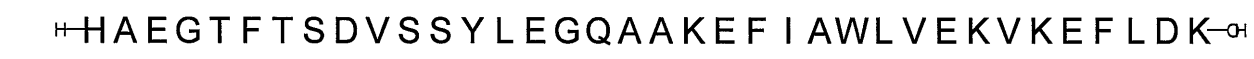
【化１２７】



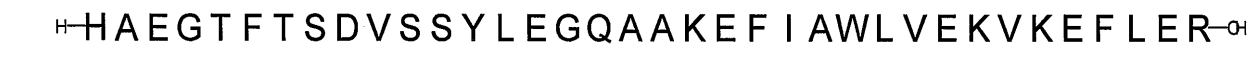
【０８４６】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4018m/z;実測値:m/3:1340、m/4:1005;m/5．805。
UPLC(B4_1):Rt=9.4分。
【０８４７】
化合物128
[Glu34,Lys35,Val36]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys
【０８４８】
【化１２８】



【０８４９】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4018m/z;実測値:m/3:1340、m/4:1006;m/5．805。
UPLC(B4_1):Rt=9.1分。
【０８５０】
化合物129
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Asp-Lys
【０８５１】
【化１２９】



【０８５２】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4075m/z;実測値:m/3:1359、m/4:1019;m/5．816。
UPLC(B4_1):Rt=8.8分。
【０８５３】
化合物130
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Arg
【０８５４】
【化１３０】



【０８５５】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4117m/z;実測値:m/3:1373、m/4:1030、m/5．824。
UPLC(B4_1):Rt=9.0分。
【０８５６】
化合物131
[Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Tyrアミド
【０８５７】

【化１３１】



【０８５８】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3880m/z;実測値:m/3:1294、m/4:971;m/5．777。
UPLC(B4_1):Rt=8.3分。
【０８５９】
化合物132
[Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Pheアミド
【０８６０】
【化１３２】



【０８６１】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3818m/z;実測値:m/3:1274、m/4:955;m/5．765。
UPLC(B4_1):Rt=8.6分。
【０８６２】
化合物133
[Gly8,Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Pheアミド
【０８６３】
【化１３３】



【０８６４】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3804m/z;実測値:m/3:1269、m/4:952;m/5 762Rt-uv=2.2分。
UPLC(B4_1):Rt=8.8分。
【０８６５】
化合物134
[Aib8,Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Pheアミド
【０８６６】

【化１３４】



【０８６７】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3832m/z;実測値:m/3:1278、m/4:959;Rt-uv=2.2分。
UPLC(B4_1):Rt=8.8分。

【０８６８】
化合物135
[Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu アミド

【０８６９】
【化１３５】



【０８７０】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3931m/z;実測値:m/3:1311、m/4:983、m/5 786;Rt-uv=2.4分。
UPLC(B4_1):Rt=10.0分。

【０８７１】
化合物136
[Gly8,Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０８７２】
【化１３６】



【０８７３】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3917m/z;実測値:m/3:1307、m/4:980;Rt-uv=2.4分。
UPLC(B4_1):Rt=10.1分。

【０８７４】
化合物137
[Aib8,Glu22,Glu23,Val25,Glu34,Lys35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０８７５】

【化１３７】



【０８７６】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3946m/z;実測値:m/3:1316、m/4:987;m/5．790。
UPLC(B4_1):Rt=9.9分。
【０８７７】
化合物138
[Glu23,Val25,Arg26,Glu34,Arg35,Val36,Arg37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys
【０８７８】
【化１３８】



【０８７９】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4202m/z;実測値:m/3:1401、m/4:1052;m/5．841。
UPLC(B4_1):Rt=9.1分。
【０８８０】
化合物139
[Glu23,Val25,Arg26,His34,Arg35,Val36,Arg37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leu-Glu-Lys
【０８８１】
【化１３９】



【０８８２】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値4210m/z;実測値:m/3:1404、m/4:1053;m/5．843。
UPLC(B4_1):Rt=8.6分。
【０８８３】
化合物140
[Glu34,His35,Val36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド
【０８８４】
【化１４０】



【０８８５】
調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。
LCMS(方法:LCMS_4):計算値3839m/z;実測値:m/3:1281、m/4:961;m/5．769。

UPLC(B4_1):Rt=9.1分。

【０８８６】

化合物141

[Glu34,Lys35,Val36,His37]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu-Phe-Leuアミド

【０８８７】

【化１４１】



【０８８８】

調製方法:SPPS_P、切断CP_M1。

LCMS(方法:LCMS_4):計算値3839m/z;実測値:m/3:1281、m/4:961;m/5. 769。

UPLC(B4_1):Rt=9.1分。

【０８８９】

(実施例2)

機能的GLP-1受容体測定

in vitro効力(CREルシフェラーゼ;全細胞)

この実施例の目的は、GLP-1受容体アゴニストペプチドのin vitro活性または効力を試験することである。全細胞アッセイにおけるin vitro効力は、ヒトGLP-1受容体活性化の尺度になる。

【０８９０】

発明を代表するGLP-1受容体アゴニストペプチド、すなわち化合物1～61の効力を下記の通り決定した。GLP-1(7-37)を、比較のために含めた。

【０８９１】

原理

in vitro効力は、レポータ遺伝子アッセイにおいてヒトGLP-1受容体の反応を測定することによって決定した。アッセイを、ヒトGLP-1受容体を発現し、プロモーターおよびホタルルシフェラーゼ(CREルシフェラーゼ)遺伝子と結合されたcAMP反応要素(CRE)のDNAを含有する安定にトランスフェクトされたBHK細胞株において実施した。ヒトGLP-1受容体が活性化すると、cAMPが産生され、次にルシフェラーゼタンパク質が発現される。アッセイインキュベーションが完了したら、ルシフェラーゼ基質(ルシフェリン)を添加し、酵素がルシフェリンをオキシルシフェリンに変換して、生物発光を生じる。発光は、アッセイに対する読み出しとして測定される。

【０８９２】

アルブミンに対するペプチドの結合を試験するために、アッセイを、血清アルブミンの非存在下およびかなり高濃度の血清アルブミンの存在下(最終アッセイ濃度1.0%)で実施した。血清アルブミンの存在下におけるin vitro効力、EC_{50}値の増加は、血清アルブミンに対する親和性を示すことになり、動物モデルにおける試験物質の持続的薬物動態プロファイルを予測する方法を表す。

【０８９３】

細胞培養および調製

このアッセイ使用した細胞(クローンFCW467-12A/KZ10-1)は、親細胞株としてBHKTS13を有するBHK細胞であった。細胞は、ヒトGLP-1受容体を発現するクローン(FCW467-12A)に由来し、CREルシフェラーゼを用いてさらにトランスフェクションすることによって樹立し、このクローンを得た。

【０８９４】

細胞を、細胞培養培地中で5% CO_2で培養した。それらを分注し、液体窒素中に貯蔵した。各アッセイの前に、アリコートを取り出し、PBSで2回洗浄した後に、アッセイ特異的な

緩衝液に所望の濃度で懸濁した。96穴プレートの場合、懸濁液は、5×10^3個細胞/ウェルの最終濃度を得られるように作製した。

【０８９５】

材料

以下の化学薬品を、アッセイに使用した:プルロニックF-68(10%)(Gibco社2404)、ヒト血清アルブミン(HSA)(Sigma社A9511)、オバルブミン(Sigma社A5503)、フェノールレッド非含有DMEM(Gibco社11880-028)、1M Hepes(Gibco社15630)、Glutamax 100x(Gibco社35050)およびsteadylite plus(PerkinElmer社6016757)。

【０８９６】

細胞培養培地は、10% FBS(ウシ胎仔血清)、1mg/mL G418、240nM MTX(メトトレキサート)および1% pen/strep(ペニシリン/ストレプトマイシン)を含むDMEM培地から構成された。アッセイ培地は、フェノールレッド非含有DMEM、10mM Hepesおよび1x Glutamaxから構成された。1%アッセイ緩衝液は、アッセイ培地中に2%オバルブミン、0.2%プルロニックF-68および2% HSAから構成された。0%アッセイ緩衝液は、アッセイ培地中に2%オバルブミンおよび0.2%プルロニックF-68から構成された。

【０８９７】

手順

1)細胞貯蔵物を、37℃水浴中で解凍した。

2)細胞を、PBSで3回洗浄した。

3)細胞を計数し、アッセイ培地に5×10^3個細胞/50μL(1×10^5個細胞/mL)になるよう調節した。細胞のアリコート50μLを、アッセイプレートの各ウェルに移した。

4)試験化合物および参照化合物の貯蔵物を、0% HSA CREルシフェラーゼアッセイ用として0%アッセイ緩衝液におよび1% HSA CREルシフェラーゼアッセイ用として1%アッセイ緩衝液に、0.2μMの濃度になるよう希釈した。以下の濃度を得るために、化合物を10倍希釈した:2×10^{-7}M、2×10^{-8}M; 2×10^{-9}M、2×10^{-10}M、2×10^{-11}M、2×10^{-12}M、2×10^{-13}Mおよび2×10^{-14}M。

5)化合物または対照液のアリコート50μLを、希釈プレートからアッセイプレートに移した。化合物を、以下の最終濃度で試験した:1×10^{-7}M、1×10^{-8}M; 1×10^{-9}M、1×10^{-10}M、1×10^{-11}M、1×10^{-12}M、1×10^{-13}Mおよび1×10^{-14}M。

6)アッセイプレートを、5% CO_2インキュベーター中で、37℃で3時間インキュベートした。

7)アッセイプレートをインキュベーターから取り出し、室温で15分間放置した。

8)steadylite plus試薬のアリコート100μLを、アッセイプレートの各ウェルに添加した(試薬は感光性だった)。

9)各アッセイプレートをアルミホイルで覆って、光から保護し、室温で30分間振盪した。

10)各アッセイプレートを、Packard社のTopCount NXT機器で読み取った。

【０８９８】

計算および結果

TopCount機器のデータを、GraphPad Prismソフトウェアに移した。ソフトウェアは、非線形回帰[log(アゴニスト)対反応]を実行する。ソフトウェアによって算出され、pMで記録されたEC_{50}値を以下のTable6(表7)に示す。

【０８９９】

各サンプルについて最低2つの複製を測定した。記録した値は、複製の平均である。

【０９００】

(実施例3)

物理的安定性アッセイ

動的光散乱

物理的安定性は、動的および静的光散乱によって評価することができる。動的光散乱において、水性サンプルに入射する散乱レーザ光のマイクロ秒変動を検出し、いわゆる自己

相関関数によって個別の種の拡散係数(Df)に転換する。便宜上、拡散係数は、サンプルが球体種からなると仮定して流体力学半径(Rh)で通常は記録される。さらに、半径から、分子量の経験的推定値が得られる。動的光散乱は非常に高感度であり、非常に少量の、製剤において望ましくない凝集種を解析することができる。より大きい種の発達は散乱強度を大幅に増加させるので、検出器によって記録される平均、静的強度は、サンプルの物理的安定性の全体の尺度としても機能する。ペプチドの物理的安定性を測定するために、ペプチドの水溶液にDLSを適用した。測定を、Wyatt社(Santa Barbara、CA)DynaPro DLSプレートリーダーで、25℃で実施し、測定の間サンプルを37℃に保った。サンプルは、最長2週間測定した。測定は、透明プラスチック箔(Thermo Fischer Scientific社、Waltham、MA)で密閉したCorning社3540 384ウェルマイクロタイタープレート(Corning社、NY)に25μLの三つ組で、測定当たり10秒間に20回取得で実施した。自己相関曲線を、Dynamics 7.1.7.16の正則化フィットで適合させ、得られた拡散係数を、球面形状と仮定して流体力学半径および分子量に転換した[Table2(表3)]。標準化した強度を、そのまま記録する。

【０９０１】

20mMリン酸pH7.5緩衝液中に0.9mg/mLまたは45.5mg/mL(それぞれ11.5mMおよび0.23mM)の濃度の化合物1に対するDLSの結果は、化合物1がオリゴマー(およそ4つのモノマーと一致する分子量)を形成し、そのオリゴマーがサンプル期間の全体を通じて安定なままだったことを示している[Table1およびTable2(表1および表3);図10および図11]。安定性およびオリゴマーサイズは、サンプル濃度(観察範囲で0.9～45.4mg/mL)に左右されないようであった。自己相関関数および標準化した静的強度から判断して、微量の凝集体だけが、サンプル濃度に影響されずに常に存在した。

【０９０２】

【表３】

Table 2

0.9mg/mL の化合物１のサンプルに由来する流体力学半径(平均および標準偏差)および標準化した強度

t(日)	R_h avg. (nm)	R_h S.D. (nm)	I_{norm} avg. (kcts)	I_{norm} S.D. (kcts)
0	2.32	0.09	1.15E+06	5.00E+004
1	2.31	0.21	1.48E+06	1.84E+005
4	1.94	0.20	3.76E+06	2.46E+006
8	2.26	0.08	1.27E+06	1.81E+005
13	2.44	0.09	2.25E+06	4.27E+005

【０９０３】

【表４】

Table 3

45.5mg/mL の化合物１のサンプルに由来する流体力学半径(平均および標準偏差)および標準化した強度

t(日)	R_h avg. (nm)	R_h S.D. (nm)	I_{norm} avg. (kcts)	I_{norm} S.D. (kcts)
0	2.13	0.05	8.33E+06	5.77E+005
1	2.27	0.01	9.29E+06	5.54E+005
4	2.27	0.12	1.04E+07	7.04E+005
6	2.35	0.03	6.55E+06	1.28E+006
14	2.28	0.16	7.18E+06	1.91E+006

【０９０４】

(実施例4)

可溶性アッセイ

pH可溶性曲線は、特定のpH範囲(例えばpH4～9の12点)における所与のpH値でのサンプル可溶性の表示である。1つの手法は、2つの緩衝液(例えばクエン酸100mM/リン酸200mM)からなる緩衝液混合物のpH勾配を作製し、濃縮したサンプル貯蔵物をスパイクし、次いで周囲温度に2日間サンプルを放置する。次いで、サンプルを遠心分離して、沈殿したサンプルを単離し、例えば、rpUPLC、紫外線吸光度または窒素検出を使用して上澄みの濃度を測定する。サンプル濃度2mg/mLで4～9のpH勾配を12段階で作製する緩衝液混合物(クエン酸100mM/リン酸200mM)にペプチド貯蔵物(MQにおよそ1.25)を添加することによってpH可溶性曲線を作製した。サンプルを25℃で2日間インキュベートし、4700gで遠心分離し、Nanodrop紫外線分光光度計(Thermo Fischer Scientific社、Waltham、MA)で、理論吸光係数6,990$cm^{-1}M^{-1}$を使用して、上澄みの濃度を測定した。

【０９０５】

Table4(表5)および図12のpH可溶性は、化合物1の可溶性プロファイルを示す。サンプル貯蔵物30μL(1.25mM)を、下記の12種類の緩衝液混合組成物に添加し、pHおよび濃度を測定した。

【０９０６】

【表５】

Table 4

pH 可溶性データ

pH 測定値	クエン酸 100mM (μL)	リン酸 200mM (μL)	上澄み濃度
4.15	77.4	42.6	0.009
4.50	70.32	49.68	0.002
4.95	63.9	56.1	0.005
5.29	58.2	61.8	0.021
5.75	53.1	66.9	0.270
6.10	47.46	72.54	0.228
6.42	40.68	79.32	0.234
6.76	32.7	87.3	0.249
7.21	21.18	98.82	0.233
7.65	10.98	109.02	0.244
8.29	5.1	114.9	0.254
8.65	0	120	0.247

【０９０７】

(実施例5)

機械的ストレス実験

チオフラビンTフィブリル化アッセイ

溶液中のペプチドの物理的安定性を決定するために、加速機械的ストレスアッセイを実施した。サンプルは、アッセイを開始する直前に調製した。サンプルは、pH3～9の範囲、ペプチド濃度0～20mMの範囲で調製することができる。サンプルは、リン酸、酢酸、Trisなどの緩衝液を含有することができる。サンプルは、フェノールまたはm-クレゾールなどの抗菌性保存剤を含有することができる。

【０９０８】

サンプルのpHは、NaOHおよびHCl使用して所望の値に合うよう調節した。チオフラビンTをH_2O中の保存溶液からサンプルに添加し、最終濃度5μMとした。

【０９０９】

各サンプルのアリコートを、各ウェルに200μLで96穴マイクロタイタープレート[Packard社OptiPlate(商標)-96、白ポリスチレン]に移した。各サンプルについて、データは、1

つのウェルに対してまたは2つ以上の複製(2つ以上のウェル)に対して記録することができる。プレートは、Tape Pad(Qiagen社)で密閉した。

【０９１０】

選択した温度でのインキュベーション、機械的ストレスおよびチオフラビンT蛍光の測定を、Fluoroskan Ascent FL蛍光プレートリーダー(Thermo Labsystems社)を使用して実施した。機械的ストレスの場合、例えば960rpmおよび1mmの振幅でオービタル振盪を使用することができる。蛍光測定は、444nmフィルターを通しての励起および485nmフィルターを通しての発光の測定を使用して実施した。蛍光は、実験の間に20分毎に測定した。

【０９１１】

チオフラビンTからの蛍光を、機械的ストレスの継続時間に対してプロットした。チオフラビンTからの蛍光の実質的な増加は、アミロイド原線維形成を示す。

【０９１２】

各サンプルのペプチド濃度を、機械的ストレスアッセイの前後に測定した。機械的ストレス後に、各サンプル組成物についてウェルのサンプルをプールし、遠心分離した(20000G、30分間、21℃)。上澄みを除去し、任意選択で濾過し(0.22μmフィルター)、ペプチド濃度を測定した。ペプチド濃度は、例えば窒素検出、NMR、紫外線吸光度、rpHPLCまたはUPLCを使用して測定できる。

【０９１３】

機械的ストレス前のペプチド濃度で割った機械的ストレス後のペプチド濃度を算出し、ペプチド回復と定義した。

【０９１４】

以下のサンプル組成物:

A．250μMペプチド、20mMリン酸緩衝液pH7.5;

B．250μMペプチド、20mMリン酸緩衝液pH7.5、25mM m-クレゾール;

C．250μMペプチド、20mMリン酸緩衝液pH7.5、150mM NaCl;

D．250μMペプチド、20mMリン酸緩衝液pH7.5、25mM m-クレゾール、150mM NaCl

中の化合物1に対する37℃で45時間の機械的ストレス実験の結果をTable5(表6)および図13に提示する。

【０９１５】

【表６】

Table 5

ペプチド回復データ

サンプルA: 250μMペプチド、20mMリン酸緩衝液pH7.5;サンプルB: 250μMペプチド、20mMリン酸緩衝液pH7.5、25mM m-クレゾール;サンプルC: 250μMペプチド、20mMリン酸緩衝液pH7.5、150mM NaCl;サンプルD: 250μMペプチド、20mMリン酸緩衝液pH7.5、25mM m-クレゾール、150mM NaClについて37℃で45時間の機械的ストレス後に決定した。

サンプル	ペプチド回復 (%)
A	103
B	100
C	103
D	103

【０９１６】

チオフラビンTからの蛍光に実質的な増加が観察されず、45時間のストレス後にペプチ

ドの完全な回復が見られたので、全てのサンプル組成物(A～D)においてペプチドは物理的に安定だった、図13の加速機械的ストレスアッセイを参照のこと。

【０９１７】

これにより、ペプチドを良好な物理的安定性で含む液体製剤が可能になる。

【０９１８】

(実施例6)

コレステロール流出アッセイ

コレステロール流出は、主にABCA1輸送体によって輸送される、マクロファージ細胞株からコレステロールを流出させる化合物の能力を測定することによりin vitroで評価した。8-(4-クロロフェニルチオ)アデノシン3',5'環状一リン酸ナトリウム塩(CPT-cAMP)を使用して、ABCA1輸送体を上方制御した。

【０９１９】

マウス単球/マクロファージ細胞株、RAW 264.7(ATCC登録番号#TIB-71)を、96穴プレート(NUNC社、cat. #167008)に播種し(約40,000個細胞/ウェル)、DMEM培地に3.5μCi 3H-コレステロール([1,2-3H(N)]-コレステロール(PerkinElmer社製、Cat. #NET139001MC)を含む培地中で30時間(37℃、5% CO_2)増殖させた。培地を除去し、細胞を1%ペニシリン/ストレプトマイシン(GIBCO社、Cat. #15140)を含むDMEM(Gibco社、Cat. #31966-021)で作られたアッセイ培地で1回洗浄した。

【０９２０】

その後、細胞を、0.1%ヒト血清アルブミン[(Sigma社、Cat. #A1887)、±0.3mM CPT-cAMP(Sigma社、Cat #C3912)]を含有するアッセイ培地で18時間(37℃、5% CO_2)インキュベートした。再び、培地を除去し、細胞をアッセイ培地で2回洗浄した。化合物を、0.1%ヒト血清アルブミンを含むアッセイ培地に希釈し、最終希釈100μLを、各ウェル中の細胞に添加し、4時間(37℃、5% CO_2)インキュベートした。インキュベーション時間の最後に、細胞を含まない培地を集め、Optiplate-96プレートに移した。シンチレーション液、Microscint 40(Sigma社T9284)180μLを、Optiplate-96プレート(PerkinElmer社、Cat. #6005290)に添加し、1分間混合し、30分間放置し、培地中に流出した標識コレステロールの放射活性をTopcounterで計数した。1% Triton X-100(Sigma T9284)を用いてプレート中で細胞を30分間溶解することにより、細胞中の標識コレステロール由来の放射活性を評価した。溶解物をOptiplate-96ウェルプレートに移し、Microscint 40 180μLを添加し、1分間混合し、次いで30分間放置した。細胞中に残っている標識コレステロールの放射活性を、マイクロプレートシンチレーションカウンタ(Topcounter NTX、Perkin Elmer社)で計数した。

【０９２１】

TopCounter機器のデータを、GraphPad Prismソフトウェアに移した。コレステロール流出を算出した:cpm培地/(cpm培地+cpm細胞溶解物)×100%。ABCA1媒介流出は、誘導した流出と非誘導の流出の差異から得られた。ソフトウェアによって算出され、μMで記録されたEC$_{50}$値をTable6(表7)に示す。図2は、化合物1、hGLP-1およびエキセンディン-4のコレステロール流出曲線を示す。

【０９２２】

各サンプルについて最低2つの複製を測定した。記録した値は、複製の平均である。

【０９２３】

【表７Ａ】

Table 6

コレステロール流出および本発明の化合物の GLP-1 受容体効力

化合物(番号)	4 時間コレステロール流出 EC_{50}(μM)	4 時間コレステロール流出 E_{max}(%)	GLP1R CRE luc 0%HSA EC_{50}(pM)平均値	GLP1R CRE luc 1%HSA EC_{50}(pM)平均値
グルカゴン			7073	5440
エキセンディン-4	>5	<10	5	4
GLP-1(7-37)	>5	<10	13	6
L-4F	2.80	108		
1	0.30	100	267	111
2	0.46	83	506	260
3	0.56	82	396	193
4	0.35	100	36	19
5	0.43	111	89	116
6	0.49	92	474	381
7	0.40	90	161	74
8	0.58	100	163	143
9	0.41	87	921	276
10	1.73	79	10	4
11	2.19	135	15	4
12	0.51	86	1513	552
13	0.40	91	202	104
14	0.30	96	222	62
15	0.57	91	338	101
16	0.68	105	703	162
17	0.98	102	66	20
18	0.54	89	4876	776
19	0.66	83	47	23
20	0.56	102	155	82
21	0.42	70	763	296
22	0.77	106	17	6
23	0.73	99	71	46
24	0.26	82	1629	908
25	0.40	68	591	297
26	0.20	87	393	153
27	0.89	93	79	28
28	0.23	78	269	104
29	0.31	81	289	137
30	0.84	75	34	13
31	0.45	84	205	62
32	0.56	85	39	13
33	0.68	87	46	22
34	1.19	94	67	32

【０９２４】

【表７Ｂ】

(【表７Ａ】の続き)

化合物(番号)	4時間コレステロール流出 EC_{50}(μM)	4時間コレステロール流出 E_{max}(%)	GLP1R CRE luc 0%HSA EC_{50}(pM)平均値	GLP1R CRE luc 1%HSA EC_{50}(pM)平均値
35	1.87	48	58	32
36	0.49	95	358	145
37	0.93	102	23	11
38	1.15	82	26	12
39	0.59	113	32	13
40	0.61	91	23	10
41	0.51	98	754	388
42	0.53	105	45	21
43	0.47	82	86	41
44	0.40	95	186	77
45	0.39	97	108	42
46	0.39	98	372	115
47	0.27	55	256	84
48	0.32	71	45	15
49	0.43	123	716	164
50	0.63	87	157	54
51	0.44	117	325	97
52	0.29	98	383	138
53	0.43	109	1081	273
54	0.76	121	472	131
55	0.33	96	80	49
56	0.21	101	118	61
57	0.08	59	86	44
58	0.35	109	1171	588
59	0.27	90	434	198
60	0.34	111	487	174
61	0.49	82	1474	514
62	0.62	111	22	15
63	1.95	135	14	5
64	0.36	100	461	111
65	0.41	96	126	37
66	0.28	102	101	39
67	0.45	120	440	171
68	0.27	95	971	231
69	0.41	110	31	20
70	0.30	91	157	56
71	1.45	130	1836	593
72	0.37	78	191	69
73	0.40	86	108	62
74	0.44	91	235	109
75	0.91	68	88	21

【０９２５】

【表７Ｃ】

(【表７Ｂ】の続き)

化合物(番号)	4時間コレステロール流出 EC_{50}(μM)	4時間コレステロール流出 E_{max}(%)	GLP1R CRE luc 0%HSA EC_{50}(pM)平均値	GLP1R CRE luc 1%HSA EC_{50}(pM)平均値
76	0.46	99	6085	1375
77	0.48	102	886	242
78	0.59	144	337	96
79	0.41	100	238	61
80	0.46	108	94	29
81	0.54	112	76	28
82	0.69	120	111	36
83	0.48	97	83	42
84	0.33	94	203	76
85	1.50	93	465	275
86	0.33	102	103	43
87	0.61	121	77	25
88	0.30	69	872	368
89	0.29	102	659	320
90	0.32	110	311	173
91	0.42	103	433	118
92	0.77	129	464	122
93	0.45	113	1220	431
94	1.85	74	622	273
95	0.76	59	156	40
96	0.41	123	5421	1156
97	0.41	125	72	21
98	0.43	132	63	18
99	0.29	99	73	19
100	0.69	104	47	17
101	0.28	92	7530	936
102	0.28	100	601	229
103	0.57	116	702	112
104	0.36	106	116	23
105	1.20	84	19	6
106	0.53	124	114	28
107	0.65	133	40	10
108	0.72	105	59	17
109	0.32	99	439	110
110	1.15	106	43	14
111	0.28	117	300	76
112	0.48	119	163	39
113	0.71	143	34	7
114	0.39	103	323	128
115	0.42	94	129	32
116	1.10	131	25	16

【０９２６】

【表７Ｄ】

(【表７Ｃ】の続き)

化合物(番号)	４時間コレステロール流出 EC_{50}(μM)	４時間コレステロール流出 E_{max}(%)	GLP1R CRE luc .0%HSA EC_{50}(pM)平均値	GLP1R CRE luc 1%HSA EC_{50}(pM)平均値
117	0.44	114	11	3
118	0.55	136	59	29
119	0.35	117	489	303
120	0.38	142	198	65
121	0.42	109	525	372
122	1.20	131	16	5
123	0.38	111	98	31
124	0.44	146	30	11
125	0.47	111	17	6
126	0.97	102	19	6
127	>4		85	23
128	1.00	112	41	13
129	0.38	111	45	12
130	0.40	125	34	11
131	0.33	90	37	14
132	0.48	111	20	10
133	0.39	105	104	27
134	0.46	134	29	12
135	0.36	117	299	114
136	0.44	125	974	302
137	0.48	108	116	34
138	0.58	96	41	17
139	0.41	104	39	14
140	0.68	87	103	24
141	0.83	130	107	30

【０９２７】

(実施例7)

db/dbマウスにおける抗糖尿病効果のin vivo研究

db/dbマウスにおいて、いくつかの用量レベルで投与した化合物1の血糖に対する急性効果について調査した。実験の目的は、db/dbマウスへの単回s.c.投与後の化合物1の血糖低減効果を決定することであった。

【０９２８】

動物

48匹の雄db/db(C57Bl/KS db/db)マウスをTaconic社から購入し、6週齢でNovo Nordisk A/S社動物部門に到着した。マウスを、動物部門の標準的な規則にしたがって飼育し、標準的な食事および水道水を自由に摂取させた。動物を、22～24℃の室温で飼い、動物部門のSOP(Novo Nordisk A/S社の実験動物の飼育)にしたがって、飼料および水を自由に摂取させながら5匹のマウス群で飼育した。

【０９２９】

実験は、到着の2週間後、マウスが8週齢のときに実行した。

【０９３０】

研究群

群A:媒体s.c.、注入量5μL/g(n=8)

群C:化合物1、10nmol/kg s.c.、注入量5μL/g(n=8)

群D:化合物1、30nmol/kg s.c.、注入量5μL/g(n=8)

群E:化合物1、100nmol/kg s.c.、注入量5μL/g(n=8)

群F:化合物1、300nmol/kg s.c.、注入量5μL/g(n=8)

【０９３１】

体重
投薬前に体重を測定した。
【０９３２】
投与化合物
試験化合物は、単回投与s.c.として投与した。
注入量s.c. = 5μL/g
化合物1の用量:用量反応10、30、100および300nmol/kg
【０９３３】
採血および分析
ランセットで毛細血管床を穿刺し、5μLのヘパリン化した毛細管を使用して血液をサンプル採取することによって尾部の先端から採血した全血サンプル5μLで血糖を測定した。次いでグルコース/乳酸システム溶液2500μLに毛細管を振って入れ、製造業者の指示にしたがってBiosen S_Line自動分析装置(EKF Diagnostics GmbH社、Magdeburg、Germany)で測定した。サンプルを、分析まで室温で保った。分析を延期した場合、サンプルを最長24時間4℃に保った。血液サンプルを、下記の時点: 0、30、60、120、180および240分、さらに24時間に採取した。24時間のサンプル採取後に、薬物曝露測定のために、血液を頬または眼血液からEDTAでコートした管にサンプル採取した。血漿50μLを各動物からピペットで取り、GLP-1の類似体用として開発した社内の免疫測定法で分析した。完全なN末端を有する化合物の血漿中濃度を、発光酸素チャネル免疫測定[Luminescence Oxygen Chanelling Immuno-assay(LOCI)]を使用して決定した。ドナービーズをストレプトアビジンでコートし、アクセプタービーズをペプチドのmid-/C-末端エピトープを認識するモノクローナル抗体とコンジュゲートした。N末端に特異的な他のモノクローナル抗体を、ビオチン化した。3つの反応物を分析物と組み合わせ、2部位ある免疫複合体を形成させた。複合体の照射は、ドナービーズから一重項酸素原子を放出させ、その原子はアクセプタービーズに導かれ、Envisionプレートリーダーで測定される化学発光を誘因した。光量は、化合物の濃度に比例した。
【０９３４】
投薬溶液
化合物1=55.8nmol/mL
化合物1=18.9nmol/mL
化合物1=5.1nmol/mL
化合物1=1.7nmol/mL
媒体: 50mMリン酸(Na2HPO4)、145mM塩化ナトリウム、50ppmポリソルベート80(0.05% Tween 80)、pH=7.4
【０９３５】
データ
化合物1は、用量依存的な方法で血糖を低減した(図1A)。化合物1は、少なくとも24時間の作用持続時間を有するようだった。化合物1の場合、投薬24時間後の血漿中濃度(図1B)は依然として非常に高く、この化合物の血漿中での比較的長い半減期を示した。
【０９３６】
(実施例8)
薬物動態のin vivo研究
本研究の目的は、正常なマウスにおける本発明の化合物の薬物動態特性を評価することである。本発明を代表する2つの化合物、すなわち化合物1および5を、静脈内および皮下投与後に評価に供する。
【０９３７】
動物
60匹の雌C57Bl/6Jマウスを Taconic社から購入し、6～7週齢でNovo Nordisk A/S社動物部門に到着した。マウスを、動物部門の標準的な規則にしたがって飼育し、標準的な食事および水道水を自由に摂取させた。動物を室温で飼い、動物部門のSOP(Novo Nordisk A/S

社の実験動物の飼育)にしたがって、飼料および水を自由に摂取させながら8匹のマウス群で飼育した。

【０９３８】

実験は、到着の1週後、マウスが7～8週齢のときに実行した。

【０９３９】

研究群

群1:15匹のマウスは、化合物1を皮下に(s.c.)投薬する

群2:15匹のマウスは、化合物1を静脈内に(i.v.)投薬する

群3:15匹のマウスは、化合物5を皮下に(s.c.)投薬する

群4:15匹のマウスは、化合物5を静脈内に(i.v.)投薬する

全てのマウスは、朝に投薬する。

【０９４０】

体重

投薬前に体重を測定した。

【０９４１】

投与ペプチドおよび投薬溶液

ペプチドを、s.c.またはi.v.いずれかの単回投与として投与する。

注入量s.c.=5μL/gマウス

注入量i.v.=5μL/gマウス

投薬s.c.化合物1、濃度64.6nmol/mL、投薬323nmol/kg

投薬i.v.化合物1、濃度19.9nmol/mL、投薬99nmol/kg

投薬s.c.化合物5、濃度12.4nmol/mL、投薬62nmol/kg

投薬i.v.化合物5、濃度27.0nmol/mL、投薬135nmol/kg

媒体:50mMリン酸(Na_2HPO_4)、145mM塩化ナトリウム、50ppmポリソルベート80(0.05% Tween 80)、pH=7.4

【０９４２】

血液サンプルおよび分析

スパースサンプリング法にしたがって、血液サンプルを2、15、30、60、120、180、240、360分、24時間および30時間に採血し、時点当たり3つのサンプル(=マウス)を採取し、各マウスは頬から2回(または最後のサンプルは眼から)採取したサンプルを有した。2回目のサンプル採取後に、マウスを屠殺した。完全なN末端を有する化合物の血漿中濃度を、発光酸素チャネル免疫測定(LOCI)を使用して決定した。ドナービーズをストレプトアビジンでコートし、アクセプタービーズをペプチドのmid-/C-末端エピトープを認識するモノクローナル抗体とコンジュゲートした。N末端に特異的な他のモノクローナル抗体を、ビオチン化した。3つの反応物を分析物と組み合わせ、2部位ある免疫複合体を形成させた。複合体の照射は、ドナービーズから一重項酸素原子を放出させ、その原子はアクセプタービーズに導かれ、Envisionプレートリーダーで測定される化学発光を誘因した。光量は、化合物の濃度に比例した。

【０９４３】

データおよび結果

図3において、化合物1の血漿中濃度を、線形と対数目盛両方で時間の関数として示す。

【０９４４】

図3はまた、化合物5の血漿中濃度を、線形と対数目盛両方で時間の関数として示す。

【０９４５】

薬物動態データを、Table7(表8)およびTable8(表9)に要約する(平均値のみ)。

【０９４６】

【表８】

Table 7

静脈内投与後のマウスにおける化合物１および化合物５の薬物動態評価に関するin vivo研究

化合物番号	RoA	$T_{½}$ (時間)	0時間での濃度 (pmol/l)	クリアランス (L/kg)	分布量 (L/kg)
1	i.v.	6.7	2094252	0.004686	0.045604
5	i.v.	5.9	1862933	0.005603	0.047986

【０９４７】

【表９】

Table 8

皮下投与後のマウスにおける化合物１および化合物５の薬物動態評価に関するin vivo研究

化合物番号	RoA	$T_{½}$ (時間)	C_{max} (pmol/l)	T_{max} (h)	クリアランス(L/h/kg)	分布量 (L/kg)	%
1	s.c.	11.5	1493333	4	0.009567	0.159180	49.0
5	s.c.	9.7	348667	4	0.008298	0.116427	67.5

【０９４８】

(実施例9)

薬物動態のin vivo研究

本研究の目的は、ミニブタにおける本発明の化合物の薬物動態特性を評価することである。本発明を代表する6つの化合物、すなわち化合物1、4、5、6、7および8を、静脈内投与後に評価に供した。

【０９４９】

動物

Goettingen雌ミニブタ、15～20kgを、Ellegaard Mini-pigs社、Denmarkから購入し、Novo Nordisk A/S社動物部門で飼育し、動物部門の通常の手順にしたがって飼い、扱った。最低2週間の順化後に、2本の永久中心静脈カテーテルを、各動物の尾側大静脈に実装した。手術後に、薬物動態実験の間、動物を通常の個別の檻に入れた。

【０９５０】

体重

動物を、毎週量った。動物は、投薬前の朝に絶食させたが、水は自由に摂取させ;投薬中に飼料を与えた。

【０９５１】

ペプチドおよび投薬溶液の投与

短い中心カテーテルよって静脈内注射を行い、投与後にカテーテルを最少10mLの無菌生理食塩水で洗い流した。試験物質を、0.05mL/kgの容量で、5nmol/kg、N = 3で投薬した。

【０９５２】

緩衝液:20mMリン酸、130mM塩化ナトリウム、0.05% Tween 80、pH=7.4

【０９５３】

【表１０】

試験物質 (化合物番号)	濃度 (nmol/ml)
1	92.3
4	99.9
5	97.5
6	98
7	95
8	95.5

【０９５４】

血液サンプルおよび分析

以下の予定にしたがって、血液サンプルを、中心カテーテルを通して採血した:予備投薬、5、15、30、45分、1時間、1.5時間、2時間、3時間、4時間、6時間、8時間、10時間、24時間、48時間、72時間、96時間、120時間、168時間、216時間、240時間、264時間および288時間。1日目に、カテーテルを延長チューブに連結し、1日目の最後に除去することになる。

【０９５５】

サンプル(0.8mL)を、カテーテルを通して採取した。安定化のためにEDTA緩衝液(8mM)を含有する試験管に血液を集めた。各血液サンプル採取後に、カテーテルを最小5mLの無菌の0.9% NaClおよび10IE/mLヘパリンで洗い流した。凝固のリスク増加させるカテーテル内の細菌増殖を防止するために無菌技術が要求された。

【０９５６】

遠心分離(10分間、4℃、1942g)まで、サンプルを湿った氷上に保った。その後、血漿(最低100μL)を直ぐにMicronic管に移し、分析まで-20℃で保った。血漿サンプルを、下に記述する免疫測定法によって分析した。LLOQは、500～1500pMであった。

【０９５７】

完全なN末端を有するペプチドの血漿中濃度を、発光酸素チャネル免疫測定(LOCI)を使用して決定した。ドナービーズをストレプトアビジンでコートし、アクセプタービーズをペプチドのmid-/C-末端エピトープを認識するモノクローナル抗体とコンジュゲートした。N末端に特異的な他のモノクローナル抗体を、ビオチン化した。3つの反応物を分析物と組み合わせ、2部位ある免疫複合体を形成させた。複合体の照射は、ドナービーズから一重項酸素原子を放出させ、その原子はアクセプタービーズに導かれ、Envisionプレートリーダーで測定される化学発光を誘因した。光量は、化合物の濃度に比例した。

【０９５８】

データおよび結果

血漿中濃度-時間プロファイルを、Phoenix(Pharsight Inc.社、Mountain View、CA, USA)を使用してノンコンパートメント薬物動態分析によって分析した。計算は、各動物からの個々の濃度-時間値を使用して実施した。

【０９５９】

$T_{1/2}$は、化合物1、化合物4、化合物5、化合物6、化合物7および化合物8についてそれぞれ33.7、20.6、23.0、38.7、27.3および32.8時間であった。Table9(表11)は、実験のデータを要約する。図4～図9は、時間の関数として血漿中濃度を示し、それぞれ線形および対数目盛で示す。

【０９６０】

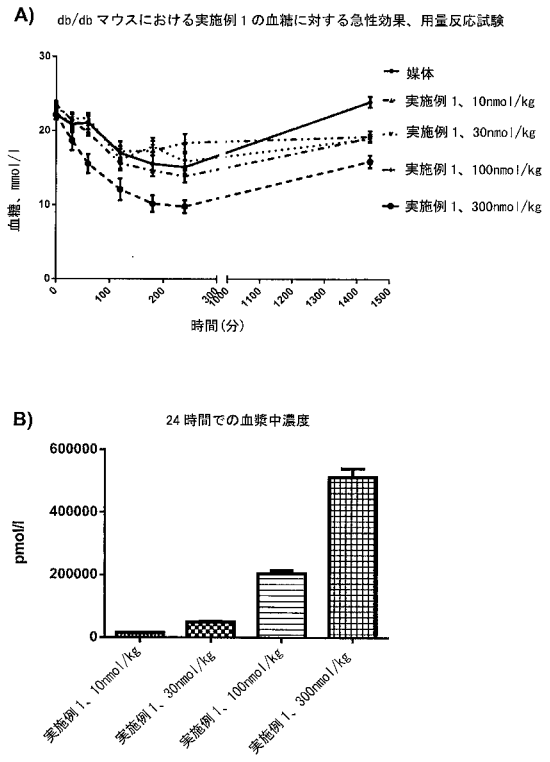
【表１１】

Table 9

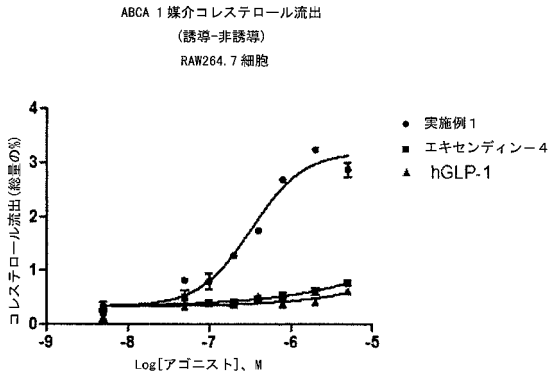
Goettingen ミニブタにおける静脈内投与後の本発明を代表するいくつかの化合物の薬物動態評価の in vivo 研究

化合物番号	C0 平均値 (pmol/L)	$T_{1/2}$ 平均値 (h)	クリアランス平均値 (L/h/kg)	分布量平均値 (L/kg)
1	57226	33.7	0.003295	0.160233
4	72094	20.6	0.003311	0.100274
5	63272	23.0	0.003871	0.128244
6	89499	38.7	0.001640	0.090428
7	51231	27.3	0.003705	0.145576
8	79676	32.9	0.003091	0.151675
11	114619	0.8	0.054855	0.061337
16	123149	42.8	0.001439	0.088881
26	122525	7.3	0.005212	0.054918
32	108124	51.3	0.001038	0.076859
45	147085	44.9	0.002386	0.154374
48	85458	8.3	0.006303	0.074285
49	131167	24.0	0.002680	0.087791
54	135705	40.7	0.001315	0.080192
61	53271	31.8	0.005899	0.270045
62	50607	16.7	0.002658	0.065388
64	86933	25.2	0.002411	0.087908
67	163171	33.0	0.001172	0.056037
76	135596	41.7	0.001057	0.063622
78	58365	20.6	0.004447	0.133991
87	154794	19.0	0.003469	0.095772
99	95771	53.2	0.001199	0.092087
107	59159	5.4	0.008036	0.061467
118	62866	11.2	0.004987	0.080915

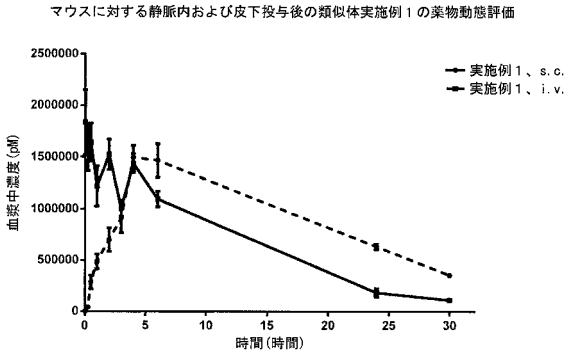
【図１】



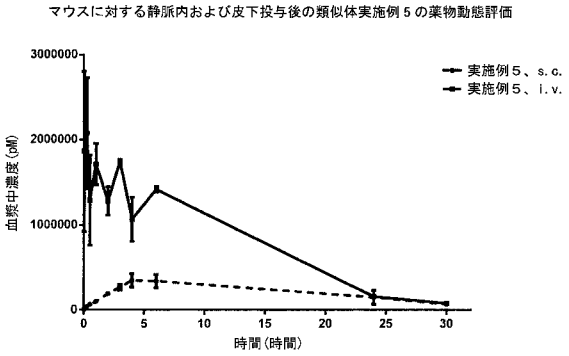
【図２】



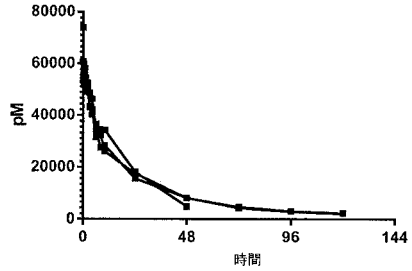
【図３Ａ】



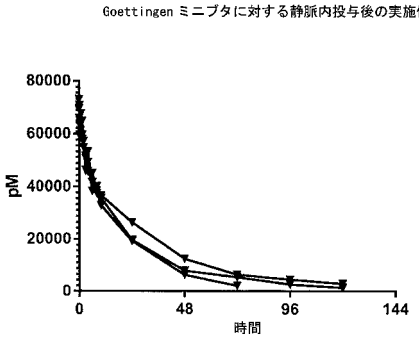
【図３Ｂ】



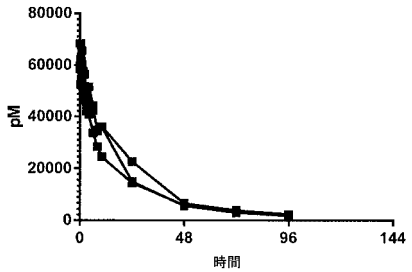
【図４】



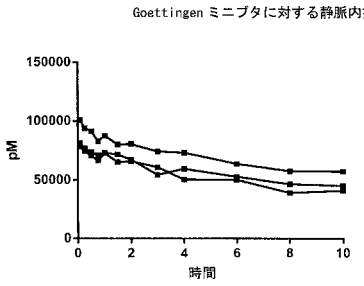
【図５】



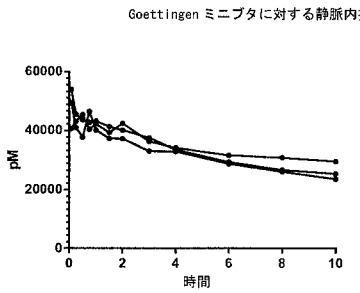
【図６】



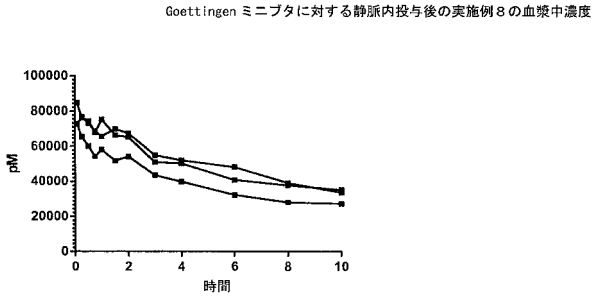
【図７】



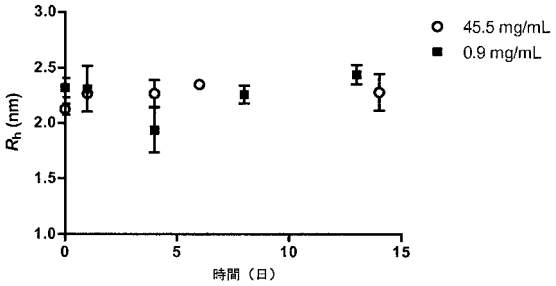
【図８】



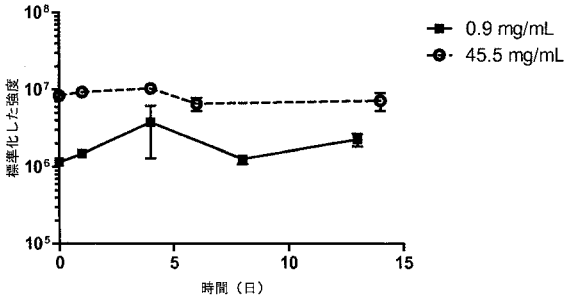
【図９】



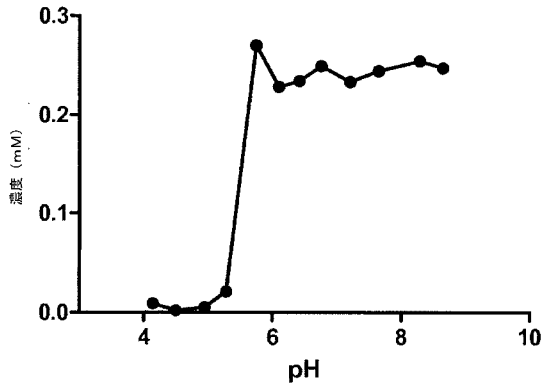
【図１０】



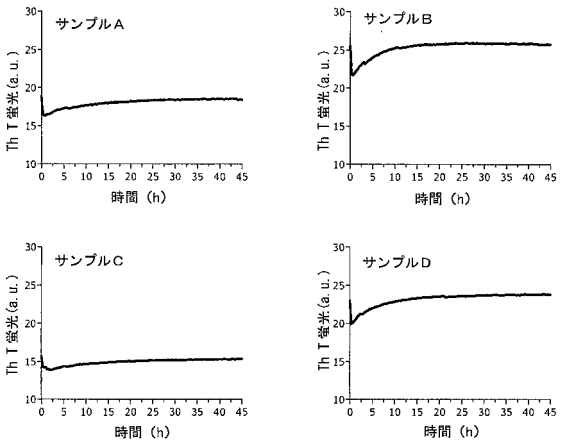
【図１１】



【図１２】



【図１３】



【配列表】
2016503046000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2013/077357

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 and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:

   a. (means)

   ☐ on paper

   ☒ in electronic form

   b. (time)

   ☒ in the international application as filed

   ☐ together with the international application in electronic form

   ☐ subsequently to this Authority for the purpose of search

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in 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/EP2013/077357

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K14/605
ADD.

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

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)
EPO-Internal, Sequence Search, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	S. RUNGE ET AL: "Crystal Structure of the Ligand-bound Glucagon-like Peptide-1 Receptor Extracellular Domain", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 283, no. 17, 3 March 2008 (2008-03-03), pages 11340-11347, XP055060531, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/jbc.M708740200 page 11340, left-hand column, lines 15-17, 18-20; figure 2 page 11343, left-hand column, lines 1-4, 14-16 page 11343, right-hand column, lines 43-45 ----- -/--	1-19

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
17 March 2014	24/03/2014

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Petri, Bernhard

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2013/077357

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	C. R. UNDERWOOD ET AL: "Crystal Structure of Glucagon-like Peptide-1 in Complex with the Extracellular Domain of the Glucagon-like Peptide-1 Receptor", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 285, no. 1, 1 January 2010 (2010-01-01), pages 723-730, XP055060541, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/jbc.M109.033829 page 723, left-hand column, line 19 page 724, left-hand column, paragraph 2-3	1-19
X	J. Z. DONG ET AL: "Discovery and characterization of taspoglutide, a novel analogue of human glucagon-like peptide-1, engineered for sustained therapeutic activity in type 2 diabetes", DIABETES, OBESITY AND METABOLISM, vol. 13, no. 1, 1 January 2011 (2011-01-01), pages 19-25, XP055049098, ISSN: 1462-8902, DOI: 10.1111/j.1463-1326.2010.01313.x	8,10
Y	page 20, left-hand column, lines 17-20, 26-29, 29-32	1-7,9, 11-19
Y	MICHAEL H DAVIDSON: "Cardiovascular Effects of Glucagonlike peptide 1 Agonists", AMERICAN JOURNAL OF CARDIOLOGY, vol. 108, no. 3, 2011, pages 33B-41B, XP028249081, ISSN: 0002-9149, DOI: 10.1016/J.AMJCARD.2011.03.046 [retrieved on 2011-04-01] figure 2; table 1	1-19
X	WO 2008/101017 A2 (INDIANA UNVERSITY RES AND TECH [US]; DAY JONATHAN [US]; PATTERSON JAME) 21 August 2008 (2008-08-21)	8,10
Y	sequences 500-501, 494-495, 488-489	1-7,9, 11-19
X	EP 1 359 159 A2 (SOD CONSEILS RECH APPLIC [FR] CONSEILS DE RECH SET D APPLIC [FR]) 5 November 2003 (2003-11-05)	8,10
Y	paragraph [0006]	1-7,9, 11-19

-/--

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2013/077357

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DATABASE Geneseq [Online] 27 November 2008 (2008-11-27), "Therapeutic isolated polypeptide, SEQ ID 4.", XP002696081, retrieved from EBI accession no. GSP:ATO06830 Database accession no. ATO06830 sequence ----- DATABASE Geneseq [Online] 9 July 1999 (1999-07-09), "Lecithin:cholesterol acyltransferase activation exhibiting peptide #243.", XP002696082, retrieved from EBI accession no. GSP:AAY18918 Database accession no. AAY18918 sequence ----- DATABASE Geneseq [Online] 9 July 1999 (1999-07-09), "Lecithin:cholesterol acyltransferase activation exhibiting peptide #4.", XP002696083, retrieved from EBI accession no. GSP:AAY18683 Database accession no. AAY18683 sequence ----- DATABASE Geneseq [Online] 15 May 2008 (2008-05-15), "Lipid efflux promoting peptide sequence, SEQ ID 338.", XP002696084, retrieved from EBI accession no. GSP:AOG45030 Database accession no. AOG45030 sequence ----- DATABASE Geneseq [Online] 1 April 2010 (2010-04-01), "N965-8 peptide with ABCA cholesterol efflux activity, SEQ:2.", XP002696085, retrieved from EBI accession no. GSP:AXV23883 Database accession no. AXV23883 sequence ----- -/--	1-19 1-19 1-19 1-19 1-19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2013/077357

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DAN DONNELLY: "The structure and function of the glucagon-like peptide-1 receptor and its ligands", BRITISH JOURNAL OF PHARMACOLOGY, vol. 166, no. 1, 1 May 2012 (2012-05-01), pages 27-41, XP055060540, ISSN: 0007-1188, DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01687.x figure 3	1-19
X	WO 99/29336 A1 (LILLY CO ELI [US]; HOFFMANN JAMES ARTHUR [US]) 17 June 1999 (1999-06-17) sequence 1	7
X	WO 2011/088837 A1 (ZEALAND PHARMA AS [DK]; PETERSEN JOERGEN SOEBERG [CH]; KJOELBYE ANNE L) 28 July 2011 (2011-07-28) sequences 154, 200	7
X	WO 03/011892 A2 (US GOV HEALTH & HUMAN SERV [US]; GREIG NIGEL H [US]; EGAN JOSEPHINE [U) 13 February 2003 (2003-02-13) sequence 11	7
X	J. K. BIELICKI ET AL: "A new HDL mimetic peptide that stimulates cellular cholesterol efflux with high efficiency greatly reduces atherosclerosis in mice", THE JOURNAL OF LIPID RESEARCH, vol. 51, no. 6, 1 June 2010 (2010-06-01), pages 1496-1503, XP55071388, ISSN: 0022-2275, DOI: 10.1194/jlr.M003665 page 1498, right-hand column, lines 1-11; figures 1, 2	1-19
Y	EPAND ET AL: "The amphipathic helix: its possible role in the interaction of glucagon and other peptide hormones with membrane receptor sites", TRENDS IN BIOCHEMICAL SCIENCES, ELSEVIER, HAYWARDS, GB, vol. 8, no. 6, 1 June 1983 (1983-06-01), pages 205-207, XP023569664, ISSN: 0968-0004, DOI: 10.1016/0968-0004(83)90212-8 [retrieved on 1983-06-01] page 205, middle column, line 26 - right-hand column, line 13 page 206, left-hand column, paragraph 2 - right-hand column, paragraph 1	1-19

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2013/077357

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2005/202532 A1 (BIELICKI JOHN K [US] ET AL) 15 September 2005 (2005-09-15) paragraph [0009]	1-19
X,P	WO 2013/164483 A1 (ZEALAND PHARMA AS [DK]) 7 November 2013 (2013-11-07)	7
Y,P	sequence 27	1-6,8-19
X	WO 2011/136361 A1 (SANWA KAGAKU KENKYUSHO CO LTD) 3 November 2011 (2011-11-03) sequence 32	7
X	WO 2010/096052 A1 (MERCK SHARP & DOHME [US]; ANGELETTI P IST RICHERCHE BIO [IT]; UNIV IND) 26 August 2010 (2010-08-26) sequence 57	7
X	WO 2011/134471 A1 (ZEALAND PHARMA AS [DK]; NEERUP TRINE SKOVLUND RYGE [DK]; OESTERLUND TO) 3 November 2011 (2011-11-03) sequence 71	7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2013/077357

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008101017 A2	21-08-2008	AR 065349 A1	03-06-2009
		AR 080904 A2	16-05-2012
		AU 2008216265 A1	21-08-2008
		BR PI0807728 A2	17-04-2012
		CA 2677932 A1	21-08-2008
		CL 4792008 A1	22-08-2008
		CN 101790538 A	28-07-2010
		CR 11028 A	29-10-2009
		DO P2009000194 A	30-06-2010
		EA 200901108 A1	26-02-2010
		EC SP099622 A	30-10-2009
		EP 2111414 A2	28-10-2009
		EP 2487184 A1	15-08-2012
		GT 200900229 A	21-01-2011
		HN 2009001593 A	13-08-2012
		JP 2011511753 A	14-04-2011
		KR 20090119876 A	20-11-2009
		MA 31242 B1	01-03-2010
		NZ 578948 A	30-03-2012
		PA 8769301 A1	18-12-2008
		PE 01082009 A1	15-02-2009
		PE 01592014 A1	08-02-2014
		TW 200848423 A	16-12-2008
		US 2010190701 A1	29-07-2010
		US 2013203660 A1	08-08-2013
		WO 2008101017 A2	21-08-2008
EP 1359159 A2	05-11-2003	NONE	
WO 9929336 A1	17-06-1999	AU 1617399 A	28-06-1999
		CA 2312190 A1	17-06-1999
		EP 1049486 A1	08-11-2000
		JP 2001525371 A	11-12-2001
		US 6358924 B1	19-03-2002
		WO 9929336 A1	17-06-1999
WO 2011088837 A1	28-07-2011	AU 2011206979 A1	02-08-2012
		CA 2786934 A1	28-07-2011
		CN 102892425 A	23-01-2013
		EA 201290540 A1	29-03-2013
		EP 2525809 A1	28-11-2012
		JP 2013517307 A	16-05-2013
		KR 20120128129 A	26-11-2012
		US 2013157953 A1	20-06-2013
		WO 2011088837 A1	28-07-2011
WO 03011892 A2	13-02-2003	AT 408414 T	15-10-2008
		AT 536881 T	15-12-2011
		AU 2002317599 B2	03-04-2008
		AU 2008202893 A1	24-07-2008
		CA 2455963 A1	13-02-2003
		EP 1411968 A2	28-04-2004
		EP 2022505 A2	11-02-2009
		EP 2275117 A1	19-01-2011
		JP 2005501058 A	13-01-2005
		JP 2010090129 A	22-04-2010
		JP 2013139447 A	18-07-2013
		US 2004242853 A1	02-12-2004

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2013/077357

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		US 2009253625 A1	08-10-2009
		US 2012329715 A1	27-12-2012
		WO 03011892 A2	13-02-2003
US 2005202532 A1	15-09-2005	AU 2004299486 A1	30-06-2005
		CA 2549529 A1	30-06-2005
		EP 1706131 A2	04-10-2006
		US 2005202532 A1	15-09-2005
		WO 2005058938 A2	30-06-2005
WO 2013164483 A1	07-11-2013	TW 201348252 A	01-12-2013
		WO 2013164483 A1	07-11-2013
WO 2011136361 A1	03-11-2011	AU 2011245980 A1	08-11-2012
		CA 2793715 A1	03-11-2011
		CN 102869676 A	09-01-2013
		EP 2565202 A1	06-03-2013
		KR 20130093470 A	22-08-2013
		US 2013123460 A1	16-05-2013
		WO 2011136361 A1	03-11-2011
WO 2010096052 A1	26-08-2010	AU 2009340439 A1	15-09-2011
		CA 2754350 A1	26-08-2010
		CN 102573872 A	11-07-2012
		EP 2398483 A1	28-12-2011
		JP 2012518035 A	09-08-2012
		PE 06212012 A1	08-06-2012
		RU 2011134596 A	27-03-2013
		SG 173791 A1	28-10-2011
		WO 2010096052 A1	26-08-2010
		WO 2010096142 A1	26-08-2010
WO 2011134471 A1	03-11-2011	AR 081339 A1	08-08-2012
		AU 2011247452 A1	15-11-2012
		CA 2797133 A1	03-11-2011
		CN 103003300 A	27-03-2013
		EA 201290964 A1	30-05-2013
		EP 2563808 A1	06-03-2013
		JP 2013525387 A	20-06-2013
		KR 20130098873 A	05-09-2013
		SG 184988 A1	29-11-2012
		US 2013143793 A1	06-06-2013
		WO 2011134471 A1	03-11-2011

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*9/12*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/12	
Ａ６１Ｐ	*3/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/06	
Ａ６１Ｐ	*29/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	29/00	
Ａ６１Ｐ	*3/10*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/10	

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

(72)発明者 ヘニング・トゥーヤセン
デンマーク・ＤＫ－２８８０・バウスベア・ノヴォ・アレ・（番地なし）・ノヴォ・ノルディスク・アー／エス
(72)発明者 ビッダ・シャロデ・ローリン
デンマーク・ＤＫ－２８８０・バウスベア・ノヴォ・アレ・（番地なし）・ノヴォ・ノルディスク・アー／エス
(72)発明者 ヤノス・ティボル・コドラ
デンマーク・ＤＫ－２８８０・バウスベア・ノヴォ・アレ・（番地なし）・ノヴォ・ノルディスク・アー／エス
(72)発明者 サルカ・エルボル・ラスムセン
デンマーク・ＤＫ－２８８０・バウスベア・ノヴォ・アレ・（番地なし）・ノヴォ・ノルディスク・アー／エス
(72)発明者 イェスパー・ラウ
デンマーク・ＤＫ－２８８０・バウスベア・ノヴォ・アレ・（番地なし）・ノヴォ・ノルディスク・アー／エス

Ｆターム(参考) 4C084 AA01 AA02 BA19 DB35 NA14 ZA361 ZA362 ZA421 ZA422 ZB111
ZB112 ZC331 ZC332 ZC351 ZC352
4H045 AA10 AA30 BA18 BA19 CA40 DA30 EA23 EA27 FA20