

FIG. 2

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

インスリン A 鎖ペプチド及びインスリン B 鎖ペプチドを含むペプチドであって、前記インスリン B 鎖ペプチドは、少なくとも 32 のアミノ酸残基を含み、前記インスリン B 鎖ペプチドの前記アミノ酸残基のうちの少なくとも 3 つは、リシン残基である、前記ペプチド。

【請求項 2】

前記インスリン A 鎖ペプチドは、野生型ヒトインスリン A 鎖ペプチドと少なくとも 70 % 同一である、請求項 1 に記載のペプチド。

【請求項 3】

前記インスリン A 鎖ペプチドは、G I V E Q C C T S I C S L Y Q L E N Y C N（配列番号 1）の配列を含む、請求項 1 に記載のペプチド。

【請求項 4】

前記インスリン A 鎖ペプチドは、G I V E Q C C T S I C S L Y Q L E N Y C G（配列番号 3）の配列を含む、請求項 1 に記載のペプチド。

【請求項 5】

前記インスリン B 鎖ペプチドは、少なくとも 34 のアミノ酸残基を含む、請求項 1 に記載のペプチド。

【請求項 6】

位置 B 29 のアミノ酸は、リシン残基である、請求項 1 に記載のペプチド。

【請求項 7】

前記リシン残基は、修飾されていない、請求項 6 に記載のペプチド。

【請求項 8】

位置 B 33 のアミノ酸は、リシン残基である、請求項 1 に記載のペプチド。

【請求項 9】

前記リシン残基は、修飾されている、請求項 8 に記載のペプチド。

【請求項 10】

位置 B 34 のアミノ酸は、リシン残基である、請求項 1 に記載のペプチド。

【請求項 11】

前記リシン残基は、修飾されている、請求項 10 に記載のペプチド。

【請求項 12】

位置 B 29 のアミノ酸、位置 B 33 のアミノ酸、及び位置 B 34 のアミノ酸のそれぞれがリシン残基である、請求項 1 に記載のペプチド。

【請求項 13】

前記 B 29 リシン残基は、修飾されておらず、前記 B 33 及び B 34 リシン残基のそれぞれは、修飾されている、請求項 12 に記載のペプチド。

【請求項 14】

前記インスリン B 鎖ペプチドは、F V N Q H L C G S H L V E A L Y L V C G E R G F F Y T P K T（配列番号 2）の配列を含む、請求項 1 に記載のペプチド。

【請求項 15】

前記インスリン B 鎖ペプチドは、F V N Q H L C G S H L V E A L Y L V C G E R G F F Y T P K T R（配列番号 4）、F V N Q H L C G S H L V E A L Y L V C G E R G F F Y T P K T R R（配列番号 5）、または F V N Q H L C G S H L V E A L Y L V C G E R G F F Y T P K T R R R（配列番号 6）の配列を含む、請求項 1 に記載のペプチド。

【請求項 16】

前記インスリン B 鎖ペプチドは、F V N Q H L C G S H L V E A L Y L V C G E R G F F Y T P K T R K K（配列番号 8）の配列を含む、請求項 1 に記載のペプチド。

【請求項 17】

前記インスリン A 鎖ペプチド及び前記インスリン B 鎖ペプチドは、少なくとも 1 つのジスルフィド結合を介して結合している、請求項 1 に記載のペプチド。

10

20

30

40

50

【請求項 18】

前記リシン残基のうちの少なくとも2つは、前記インスリンB鎖ペプチドのC末端にある、請求項1に記載のペプチド。

【請求項 19】

前記ペプチドは、単量体である、請求項1に記載のペプチド。

【請求項 20】

前記インスリンA鎖ペプチド及び前記インスリンB鎖ペプチドは、少なくとも1つのジスルフィド結合を介して結合し、前記インスリンA鎖ペプチドは、GIVEQCCHRICSLYQLENYCN（配列番号1）の配列を含み、前記インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPTKTRKK（配列番号8）の配列を含む、請求項1に記載のペプチド。

10

【請求項 21】

前記B33リシン残基及び前記B34リシン残基の一方または両方が、修飾されている、請求項20に記載のペプチド。

【請求項 22】

少なくとも1つの有機ホウ酸基に直接結合している、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドを含む、前記ペプチド。

【請求項 23】

前記インスリンA鎖ペプチドは、GIVEQCCTSI CSLYQLENYCN（配列番号1）またはGIVEQCCTSI CSLYQLENYCG（配列番号3）の配列を含み、前記インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPTKT（配列番号2）、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPTKTRR（配列番号5）、またはFVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPTKTRKK（配列番号8）の配列を含む、請求項22に記載のペプチド。

20

【請求項 24】

位置B29のアミノ酸、位置B33のアミノ酸、及び位置B34のアミノ酸のそれぞれがリシン残基である、請求項22に記載のペプチド。

【請求項 25】

前記B29リシン残基は、修飾されていない、請求項24に記載のペプチド。

【請求項 26】

前記B33及びB34リシン残基のそれぞれは、修飾されている、請求項24に記載のペプチド。

30

【請求項 27】

前記ペプチドは、2つの有機ホウ酸基に直接結合している、請求項22に記載のペプチド。

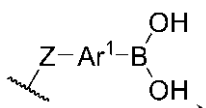
【請求項 28】

前記ペプチドは、リシン残基を介して少なくとも1つの有機ホウ酸基に直接結合している、請求項22に記載のペプチド。

【請求項 29】

前記有機ホウ酸基は、式：

40



によって表される構造を有し、式中、Zは、C（O）及びSO₂から選択され、Ar¹は、五員アリール、五員ヘテロアリール、六員アリール、及び六員ヘテロアリールから選択され、ハロゲン、-CN、-NO₂、-OH、C1～C4アルキル、C1～C4ハロアルキル、C1～C4ヒドロキシアルキル、C1～C4アルコキシ、C1～C4アルキルアミノ、及び（C1～C4）（C1～C4）ジアルキルアミノから独立して選択される0、1、2、または3つの基で置換されている、請求項22に記載のペプチド。

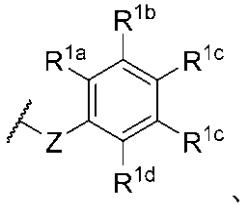
【請求項 30】

50

Ar^1 は、六員アリール及び六員ヘテロアリールから選択され、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OH$ 、 $C1\sim C4$ アルキル、 $C1\sim C4$ ハロアルキル、 $C1\sim C4$ ヒドロキシアルキル、 $C1\sim C4$ アルコキシ、 $C1\sim C4$ アルキルアミノ、及び $(C1\sim C4)(C1\sim C4)$ ジアルキルアミノから独立して選択される0、1、2、または3つの基で置換されている、請求項29に記載のペプチド。

【請求項31】

前記有機ホウ酸基は、式：



10

によって表される構造を有し、式中、 R^{1a} 、 R^{1b} 、 R^{1c} 、 R^{1d} 、及び R^{1e} のそれぞれは、水素、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OH$ 、 $C1\sim C4$ アルキル、 $C1\sim C4$ ハロアルキル、 $C1\sim C4$ ヒドロキシアルキル、 $C1\sim C4$ アルコキシ、 $C1\sim C4$ アルキルアミノ、及び $(C1\sim C4)(C1\sim C4)$ ジアルキルアミノから独立して選択され、ただし、 R^{1a} 、 R^{1b} 、 R^{1c} 、 R^{1d} 、及び R^{1e} のうちの1つは、 $-B(OH)_2$ である、請求項29に記載のペプチド。

20

【請求項32】

R^{1c} は、 $-B(OH)_2$ である、請求項29に記載のペプチド。

【請求項33】

R^{1a} 、 R^{1b} 、 R^{1c} 、 R^{1d} 、及び R^{1e} のうちの1つは、ハロゲンである、請求項29に記載のペプチド。

【請求項34】

R^{1a} 、 R^{1b} 、 R^{1c} 、 R^{1d} 、及び R^{1e} のうちの1つは、 $-F$ である、請求項29に記載のペプチド。

【請求項35】

R^{1a} は、ハロゲンである、請求項29に記載のペプチド。

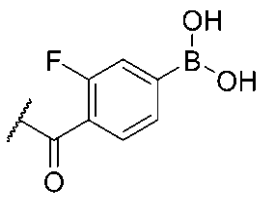
30

【請求項36】

R^{1a} は、 $-F$ である、請求項29に記載のペプチド。

【請求項37】

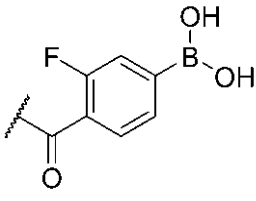
前記有機ホウ酸基は、下記式によって表される構造を有する、請求項29に記載のペプチド



40

【請求項38】

前記インスリンA鎖ペプチドは、GIVEQCCTSI CSLYQLENYCG（配列番号3）の配列を含み、前記インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALLYLVCGERGFFYTTPKTRKK（配列番号8）の配列を含み、前記B29リシン残基は、修飾されておらず、前記B33リシン残基及び前記B34リシン残基のそれぞれは、有機ホウ酸基に直接結合しており、前記有機ホウ酸基は、下記式によって表される構造を有する、請求項22に記載のペプチド



【請求項 39】

請求項 1 または請求項 22 に記載のペプチド及び薬学上許容されるキャリアを含む、医薬組成物。

10

【請求項 40】

対象の糖尿病を処置する方法であって、前記対象に治療上有効量の請求項 1 または請求項 22 に記載のペプチドを投与し、それによって、前記対象の糖尿病を処置することを含む、前記方法。

【請求項 41】

前記対象は、哺乳動物である、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 42】

前記哺乳動物は、ヒトである、請求項 41 に記載の方法。

【請求項 43】

糖尿病は、I 型糖尿病である、請求項 40 に記載の方法。

20

【請求項 44】

前記対象は、前記投与する工程の前に糖尿病の処置の必要があると診断されている、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 45】

糖尿病の処置を必要とする対象を特定する工程をさらに含む、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 46】

糖尿病は、I 型糖尿病である、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 47】

少なくとも 1 つの細胞におけるインスリン受容体活性化を改変する方法であって、少なくとも 1 つの細胞を有効量の請求項 1 または請求項 22 に記載のペプチドと接触させ、それによって、少なくとも 1 つの細胞におけるインスリン受容体活性化を高めることを含む、前記方法。

30

【請求項 48】

改変することは、高めることである、請求項 47 に記載の方法。

【請求項 49】

前記細胞は、ヒト細胞である、請求項 47 に記載の方法。

【請求項 50】

対象への投与により接触させる、請求項 47 に記載の方法。

【請求項 51】

前記対象は、前記投与する工程の前に糖尿病の処置の必要があると診断されている、請求項 50 に記載の方法。

40

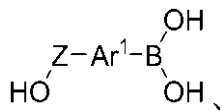
【請求項 52】

対象の血糖を低下させる方法であって、前記対象に治療上有効量の請求項 1 または請求項 22 に記載のペプチドを投与し、それによって、前記対象の血糖を低下させることを含む、方法。

【請求項 53】

有機ホウ酸基に直接結合した、インスリン B 鎖ペプチドを生成する方法であって、ペプチド結合インスリン B 鎖樹脂を、式：

50



によって表される構造を有するフェニルボロン酸と反応させる工程と、前記樹脂を切断し、それによって前記インスリンB鎖ペプチドを生成する工程とを含み、式中、Zは、C（O）及びSO₂から選択され、

Ar¹は、五員アリール、五員ヘテロアリール、六員アリール、及び六員ヘテロアリールから選択され、ハロゲン、-CN、-NO₂、-OH、C1～C4アルキル、C1～C4ハロアルキル、C1～C4ヒドロキシアルキル、C1～C4アルコキシ、C1～C4アルキルアミノ、及び（C1～C4）（C1～C4）ジアルキルアミノから独立して選択される0、1、2、または3つの基で置換されている、前記方法。

【請求項54】

前記インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRKK（配列番号8）の配列を含む、請求項53に記載の方法。

【請求項55】

前記インスリンB鎖ペプチドは、位置B29に無修飾リシン残基であるアミノ酸を含む、請求項53に記載の方法。

【請求項56】

前記インスリンB鎖ペプチドは、位置B33及び位置B34のそれぞれに修飾リシン残基であるアミノ酸を含む、請求項53に記載の方法。

【請求項57】

前記インスリンB鎖ペプチドをインスリンA鎖ペプチドと結合させる工程をさらに含む、請求項53に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2018年4月16日に出願された米国特許出願第62/658,372号の利益を主張するものであり、参照によってその全体を本明細書に組み込んだものとする。

【0002】

配列表の参照

2019年4月15日に作成され、3,080バイトのサイズを有する2019年4月15日にテキストファイル名「21101_0369P1_ST25.txt」として提出された配列表は、米国特許法施行規則第1.52条(e)(5)項に従って、参照によって本明細書に組み込んだものとする。

【背景技術】

【0003】

ほぼ一世紀前のインスリンの発見以来、インスリンの設計における多くの進歩が糖尿病のヒトの血糖管理の改善を可能にしてきたが、低血糖のリスクが依然として厳格な血糖管理に対する大きな障壁である（Brownlee and Hirsch（2006）

JAMA: The Journal of the American Medical Association 295（14）: 1707-8; Frier, B. M.（2014）Nature Reviews Endocrinology 10（12）: 711）。課題の1つは、市販のインスリンアナログは循環血糖に応じて生物活性を調節できないため、治療指数が低いことである。この難題に対処するために、

膵β細胞におけるグルコース刺激によるインスリン分泌を模倣するためのグルコース応答性インスリン（GRI）、または「スマート」インスリンの概念が提言された（Brownlee and Cerami（1979）Science 206（44

10

20

30

40

50

23) : 1190-1191; Zaykov et al. (2016) Nature Reviews Drug Discovery 15 (6) : 425; Bak h et al. (2017) Nature Chemistry 9 (10) : 937)。現在までに、レクチンからのグルコース誘発シグナル (Kaarsholm et al. (2018) Diabetes 67 (2) : 299-308; Yang et al. (2018) JCI Insight 3 (1))、グルコースオキシダーゼ (Yu et al. (2015) Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 112 (27) : 8260-5; Gu et al. (2013) ACS Nano 7 (5) : 4194-201 10)、グルコース輸送体 (Wang et al. (2017) Advanced Materials 29 (18))、及びフェニルボロン酸 (phenyl boronic acid, PBA) (Guo et al. (2015) Advanced Healthcare Materials 4 (12) : 1796-1801; Chou et al. (2015) Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 112 (8) : 2401-6) を使用したGRIを作り出す多くの研究が展開された。グルコース応答特性を作り出すためのPBAの使用は、PBAが他の感知因子と比較してサイズが小さく、インスリン吸収特性を変えるために活用することができる特性である、グルコースなどのシス-1, 2-またはシス-1, 3-ジオールと可逆 20的に結合することにより、ボロン酸に負電荷をもたらすことが知られているため特に有用である。したがって、化学修飾インスリン誘導体は、GRI設計のための有望な候補である (Rege et al. (2017) Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity 24 (4) : 267-278)。

【0004】

インスリングルルギン (Lantus (登録商標)) は、糖尿病のヒトに一般的に使用される長時間作用型インスリンである。インスリングルルギンの作用が延長されるメカニズムは、B鎖への2つのアルギニン残基の付加によるものであり、それがインスリンの等電点 (pI) を6.7に高めるため、生理的なpHにおける溶解性が低下する (Owen 30s and Griffiths (2002) International Journal of Clinical Practice 56 (6) : 460-466; Heinemann et al. (2000) Diabetes Care 23 (5) : 644-649)。注射されると、インスリングルルギンは、注射部位に沈殿し、吸収のために非常にゆっくりと六量体、二量体、及び単量体に変換されるため、インビボにおいて持続する安定したインスリンの血流への移行をもたらす。インスリングルルギンの持続性の利点にもかかわらず、血糖管理を向上させ、さらに医原性低血糖を防ぐためにグルコース応答特性を加えることは、未だに実現し難い。これら及び他のニーズは、本発明によって満たされる。

【発明の概要】

【0005】

本明細書において具現化され、広く記載されている本発明の目的によると、本発明は、一態様において、糖尿病の処置に有用なインスリンベースのペプチドに関する。

【0006】

したがって、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドを含むペプチドであって、インスリンB鎖ペプチドは、少なくとも32のアミノ酸残基を含み、インスリンB鎖ペプチドのアミノ酸残基のうちの少なくとも3つは、リシン残基である、ペプチドが開示される。

【0007】

インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドを含むペプチドであって、B鎖ペ 50

プチドは、アミノ酸 10 及びアミノ酸 20 に置換を含み、A 鎖ペプチドに少なくとも 1 つの置換をさらに含む、ペプチドが開示される。ある場合には、A 鎖ペプチドにある少なくとも 1 つの置換は、T 8 H、T 8 Y、T 8 K、または S 9 R である。

【0008】

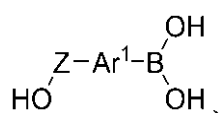
インスリン A 鎖ペプチド及びインスリン B 鎖ペプチドを含むペプチドであって、少なくとも 1 つの有機ホウ酸 (organic borate) 基に直接結合している、ペプチドも開示される。

【0009】

開示されているペプチドを生成する方法も開示される。

【0010】

有機ホウ酸基に直接結合したインスリン B 鎖ペプチドを生成する方法であって、ペプチド結合インスリン B 鎖樹脂を、式：



によって表される構造を有するフェニルボロン酸と反応させる工程と、樹脂を切断し、それによってインスリン B 鎖ペプチドを生成する工程とを含み、式中、Z は、C (O) 及び S O₂ から選択され、A r¹ は、五員アリール、五員ヘテロアリール、六員アリール、及び六員ヘテロアリールから選択され、ハロゲン、-C N、-N O₂、-O H、C 1 ~ C 4 アルキル、C 1 ~ C 4 ハロアルキル、C 1 ~ C 4 ヒドロキシアルキル、C 1 ~ C 4 アルコキシ、C 1 ~ C 4 アルキルアミノ、及び (C 1 ~ C 4) (C 1 ~ C 4) ジアルキルアミノから独立して選択される 0、1、2、または 3 つの基で置換される、方法も開示される。

【0011】

治療上有効量の開示されているペプチド及び薬学上許容されるキャリアを含む医薬組成物も開示される。

【0012】

対象の糖尿病を処置する方法であって、対象に治療上有効量の開示されているペプチドを投与し、それによって、対象の糖尿病を処置することを含む、方法も開示される。

【0013】

少なくとも 1 つの細胞におけるインスリン受容体活性化を改変する方法であって、少なくとも 1 つの細胞を有効量の開示されているペプチドと接触させ、それによって、少なくとも 1 つの細胞におけるインスリン受容体活性化を高めることを含む、方法も開示される。

【0014】

対象の血糖を低下させる方法であって、対象に治療上有効量の開示されているペプチドを投与し、それによって、対象の血糖を低下させることを含む、方法も開示される。

【0015】

本開示の方法及び組成物のさらなる利点は、一部は以下の説明に記載され、一部は説明から理解され、本開示の方法及び組成物の実施によって習得され得る。本開示の方法及び組成物の利点は、特に添付の特許請求の範囲で示している要素及び組み合わせによって実現及び達成される。当然のことながら、上記の全般的な説明及び以下の詳細な説明はともに、例示及び説明にすぎず、特許請求されたとおりの本発明を限定するものではない。

【0016】

添付の図面は、この明細書の一部に組み込まれ、これを構成し、本開示の方法及び組成物のいくつかの実施形態を図示しており、この説明と併せて、本開示の方法及び組成物の原理を説明する役目を果たしている。

【図面の簡単な説明】

【0017】

【図 1 A】化合物番号 5 (I n s A (G)) の液体クロマトグラフィー (L C) トレース

10

20

30

40

50

(上側パネル)及びマスマススペクトロメトリー(MS)スペクトルの代表的な概略図を示す。化合物番号は、図4Bに示すものと対応する。

【図1B】化合物番号9、InsBの液体クロマトグラフィー(LC)トレース(上側パネル)及びマスマススペクトロメトリー(MS)スペクトルの代表的な概略図を示す。化合物番号は、図4Bに示すものと対応する。

【図1C】化合物番号10(スマートグラルギン)の液体クロマトグラフィー(LC)トレース(上側パネル)及びマスマススペクトロメトリー(MS)スペクトルの代表的な概略図を示す。化合物番号は、図4Bに示すものと対応する。

【図2】フェニルボロン酸含有残基を有するインスリンアナログの代表的なイメージを示す。

【図3】スマートグラルギンの化学合成を説明する代表的な概略図を示す。

【図4A】グルコース応答性スマートグラルギンの提示される設計を説明する代表的な概略図を示す。

【図4B】グルコース応答性スマートグラルギンの提示される設計を説明する代表的な概略図を示す。

【図5A】インスリン誘導体のキャラクタリゼーションに関する代表的なデータを示す。

【図5B】インスリン誘導体のキャラクタリゼーションに関する代表的なデータを示す。

【図5C】インスリン誘導体のキャラクタリゼーションに関する代表的なデータを示す。

【図5D】インスリン誘導体のキャラクタリゼーションに関する代表的なデータを示す。

【図5E】インスリン誘導体のキャラクタリゼーションに関する代表的なデータを示す。

【図6A】インスリン誘導体のグルコースクランプ試験に関する代表的なデータを示す。

【図6B】インスリン誘導体のグルコースクランプ試験に関する代表的なデータを示す。

【図6C】インスリン誘導体のグルコースクランプ試験に関する代表的なデータを示す。

【図6D】インスリン誘導体のグルコースクランプ試験に関する代表的なデータを示す。

【図7A】インスリン耐性試験の結果を示す代表的なデータを示す。

【図7B】インスリン耐性試験の結果を示す代表的なデータを示す。

【図8】向上したグルコース応答性を有するグルコース応答性インスリン誘導体の設計及び合成を示す代表的なイメージを示す。

【発明を実施するための形態】

【0018】

本発明のさらなる利点は、一部は以下の説明に記載され、一部は説明から明らかになるか、本発明の実施によって習得され得る。本発明の利点は、特に添付の特許請求の範囲に示される要素及び組み合わせにより、理解及び達成されることになる。当然のことながら、上記の全般的な説明及び以下の詳細な説明は、両方とも、例示及び説明にすぎず、特許請求されるとおりの本発明を限定するものではない。

【0019】

本開示の方法及び組成物は、特定の実施形態の以下の詳細な説明及びそこに含まれる実施例、ならびに図及びそれらの前後の説明を参照することによって、より容易に理解され得る。

【0020】

本開示の方法及び組成物は、指定がない限り、特定の合成方法、特定の分析技術、また

10

20

30

40

50

は特定の試薬に限定されないため、変化する場合もあることが理解されるべきである。また、当然のことながら、本明細書において使用される術語は、特定の実施形態を単に記載する目的のためのものであり、限定することは意図しない。

【0021】

本開示の方法及び組成物に用いられ得る、それらと併せて用いられ得る、それらの調製に用いられ得る、またはそれらの生成物である、材料、組成物、及び成分が開示される。これら及び他の材料は、本明細書において開示され、これらの材料の組み合わせ、サブセット、相互作用、群などが開示される場合、これら化合物の様々な個別のまたはまとめた組み合わせ及び変形のそれぞれについての具体的な言及が明白に開示され得ないとしても、それぞれが、具体的に想定され、本明細書に記載されていると理解される。例えば、ペプチドが開示され、論じられ、このペプチドを含む多数の分子に対して行われ得る多数の改変が論じられる場合、反対のことが具体的に示されない限り、このペプチドのそれぞれ及び全ての組み合わせ及び変形、ならびに可能な改変が具体的に想定される。すなわち、分子A、B、及びCからなるクラスならびに分子D、E、及びFからなるクラスが開示され、組み合わせ分子の例として、A-Dが開示される場合、それぞれ個別に列挙されなかったとしても、各組み合わせが個別に及び集合的に想定される。したがって、この例では、A、B及びC；D、E及びF、ならびにA-Dの組み合わせの例の開示から、A-E、A-F、B-D、B-E、B-F、C-D、C-E及びC-Fの組み合わせのそれぞれが具体的に想定され、開示されていると見なされるべきである。同様に、これらの任意のサブセットまたは組み合わせはまた、具体的に想定され、開示される。したがって、例えば、A、B及びC；D、E及びF、ならびにA-Dの組み合わせの例の開示から、A-E、B-F及びC-Eというサブグループが具体的に想定され、開示されていると見なされるべきである。この概念は、本開示の組成物を生成及び使用する方法の工程を含むが、それに限定されない、本出願の全ての態様に当てはまる。したがって、実施され得る多様な追加の工程がある場合、当然のことながら、これらの追加工程のそれぞれは、本開示の方法の任意の特定の実施形態または実施形態の組み合わせにより実施され得ること、及びそのような組み合わせのそれぞれが、具体的に想定され、開示されると見なされるべきである。

【0022】

A. 定義

当然のことながら、本開示の方法及び組成物は、変化する場合もあるため、記載されている特定の方法、プロトコル、及び試薬に限定されない。本明細書で使用される術語は、特定の実施形態を説明するためのものにすぎず、添付の特許請求の範囲によってのみ限定される本発明の範囲を限定する意図はないことも理解されるべきである。

【0023】

本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用される、単数形「a」、「an」及び「the」は、文脈が明らかに別のことを指示していない限り、複数の指示対象を含むことに留意しなければならない。したがって、例えば、「ペプチド (a peptide)」の言及は、複数のそのようなペプチドを含み、「このペプチド (the peptide)」の言及は、1つ以上のペプチド及び当業者に既知のそれらの等価物などである。

【0024】

本明細書中で使用される場合、複数の項目、構造要素、構成要素、及び／または材料は、都合上、一般的なリストとして提示される場合もある。ただし、これらのリストは、このリストの各要素が個別に個々の固有の要素と特定されたかのように解釈されるべきである。したがって、そのようなリストのいかなる個別の要素も、反対の指示なく、単に一般的な群におけるそれらの提示に基づいて、同じリストの任意の他の要素の事実上の等価物と解釈されるべきではない。

【0025】

「任意選択の」または「任意選択で」は、その後に記載される事象、状況または材料が生じる場合も、もしくは生じない場合も、または存在する場合も、もしくは存在しない場

10

20

30

40

50

合もあり、その記載が、事象、状況または材料が生じるか、または存在する場合及びそれが生じないか、または存在しない場合を含むことを意味する。

【0026】

範囲は、「約」1つの特定の値から、及び／または「約」別の特定の値までとして本明細書において表される場合もある。そのような範囲が表される場合、文脈が具体的に別のことを示さない限り、一方の特定の値から及び／または他方の特定の値までの範囲も具体的に想定され、開示されていると見なされる。同様に、先行する「約」の使用によって、値が近似値として表される場合、当然のことながら、文脈が具体的に別のことを示さない限り、特定の値が、開示されていると見なされるべき別の具体的に想定される実施形態を形成する。さらに当然のことながら、文脈が具体的に別のことを示さない限り、範囲の各端点は、両方とも、他の端点と関連しても、他の端点と無関係でも重要である。最後に、当然のことながら、文脈が具体的に別のことを示さない限り、明確に開示されている範囲内に含まれる個々の値及び値の部分範囲も全て具体的に想定され、開示されていると見なされるべきである。特定の場合に、これらの実施形態の一部または全てが明確に開示されているかどうかにかかわらず、上記が当てはまる。

【0027】

明細書及び結びの特許請求の範囲における、組成物中の特定要素または成分の重量部についての記述は、その要素または成分と、組成物または物品中の重量部で表される任意の他の要素または成分との間の重量の関係性を示す。すなわち、2重量部の成分X及び5重量部の成分Yを含有する化合物において、X及びYは、重量比2：5で存在し、さらなる成分が化合物に含有されているかどうかに関わらず、そのような比で存在する。

【0028】

成分の重量パーセント（重量％）は、特に別のことが指定されない限り、その成分が含まれている製剤または組成物の合計重量に基づく。

【0029】

本明細書の記載及び特許請求の範囲全体にわたって、文言「含む（comprise）」ならびにその文言の変形、例えば「含むこと（comprising）」及び「含む（comprises）」は、「含むが、～に限定されない」を意味しており、例えば、他の添加物、成分、整数または工程を除外する意図はない。特に、1つ以上の工程または操作を含むものと指定される方法においては、（工程が「～からなること」などの限定する用語を含まない限り）各工程が列挙されているものを含むことが具体的に想定され、これは、各工程が、例えば、その工程において列挙されていないその他の添加物、成分、整数または工程を除外することを意図しないことを意味する。

【0030】

「A鎖ペプチド」及び「B鎖ペプチド」という用語は、「インスリンA鎖ペプチド」及び「インスリンB鎖ペプチド」と置き換え可能である。

【0031】

「療法、治療用物質（therapeutic）」という用語は、疾患または状態を処置することが可能な、または疾患または状態と関連づけられる1つ以上の症状を回復させることが可能な処置、治療、または薬物を指す。本明細書中で使用される場合、療法、治療用物質（therapeutic）は、タンパク質、ペプチド、核酸（例えば、CpGオリゴヌクレオチド）、小分子、ワクチン、アレルゲン性抽出物、抗体、遺伝子療法、その他の生物製剤または小分子を含むが、それらに限定されない、治療用化合物を指すことがある。

【0032】

本明細書中で使用される場合、「対象」または「患者」という用語は、例えば、実験、診断、及び／または治療目的で本発明のペプチドまたは組成物が投与されてもよい任意の生物を指す。典型的な対象としては、動物が挙げられる（例えば、哺乳動物、例えば、非ヒト霊長類、及びヒト；鳥類；家庭動物または家畜、例えば、ネコ、イヌ、ヒツジ、ヤギ、ウシ、ウマ及びブタ；実験動物、例えば、マウス、ラット及びモルモット；ウサギ；魚

類；は虫類；動物園及び野生の動物）。典型的には、「対象」は、哺乳動物、例えば、ヒト及び霊長類などを含む、動物である。

【0033】

本明細書中で使用される場合、「処置すること」という用語は、部分的または完全に、特定の疾患、障害、及び／または状態の1つ以上の症状または特徴の発症を減少させること、改善すること、軽減すること、遅らせること、その進行を阻害すること、もしくは遅くすること、その重症度を低下させること、及び／またはその発生率を低下させることを指す。疾患、障害、及び／または状態と関連づけられる病状を発症するリスクを低下させるために疾患、障害、及び／または状態の徴候を示さない対象に及び／または疾患、障害、及び／または状態の初期の徴候のみを示す対象に処置が施されてもよい。例えば、疾患、障害、及び／または状態は、1型糖尿病または任意の他のインスリン関連状態であってもよい。

10

【0034】

本明細書中で使用される場合、「予防する」または「予防すること」という用語は、ある物事が発生する、特に有害作用により発生することを、不可能にする、回避する、除去する、未然に防ぐ、停止させる、または妨害することを示す。当然ながら、減少させる、阻害する、または予防するが本明細書中使用される場合、特に記載がない限り、その他の2つの用語の使用も明確に開示されている。

【0035】

本明細書中で使用される場合、「診断された」という用語は、当業者、例えば、医師により理学的検査を受けており、本明細書中で開示される化合物、組成物、または方法により診断または処置が可能な状態を有することがわかっていることを意味する。本開示の方法の一部の態様において、対象は、例えば、投与する工程の前に疾患または障害、例えば、糖尿病の処置が必要であると診断されている。本明細書中で使用される場合、「障害の処置が必要であると特定された」などの語句は、障害の処置の必要性に基づいて対象を選択することを指す。同定は、1つの態様において、診断を下した個人とは異なる個人により行うことが可能であることが企図される。さらなる態様において、投与は、その後に行われる投与を行う人物により行うことが可能であることも企図される。

20

【0036】

本明細書中使用される場合、「投与する」及び「投与」という用語は、対象に医薬製剤を提供する任意の方法を示す。そのような方法は、当業者に周知であり、そのような方法として、経口投与、経皮投与、吸入投与、経鼻投与、外用投与、腔内投与、点眼、耳内投与、脳内投与、直腸投与、ならびに静脈内投与、動脈内投与、筋肉内投与、及び皮下投与などの注射をはじめとする非経口投与が挙げられるが、これらに限定されない。投与は、連続的または断続的であることが可能である。様々な態様において、製剤は、治療的に投与することができる；すなわち、既存の疾患または症状を治療するために投与される。さらなる様々な態様において、調製物は、予防的に投与することができる；すなわち、疾患または状態の予防のために投与される。

30

【0037】

「接触させること」という用語は、本明細書中で使用される場合、直接的；すなわち、標的自身と相互作用することによるか、または間接的；すなわち、標的の活性が依存している別の分子、共因子、因子、またはタンパク質と相互作用することによるかのいずれかで、開示されている化合物と、細胞、標的受容体、または他の生物学的実体とを、化合物が標的（例えば、受容体、細胞など）の活性に影響を及ぼすことが可能な様式で、一緒にすることを指す。

40

【0038】

本明細書中使用される場合、「有効量」及び「～に有効な量」という用語は、所望の結果を達成するのに、または望ましくない症状に影響を及ぼすのに十分な量を示す。例えば、「治療上有効量」は、所望の治療結果を達成するのに、または望ましくない症候に影響を及ぼすのに十分であるが、一般に有害副作用を引き起こすのには不十分である量を示す

50

。任意の特定患者に関する具体的な治療上有効量レベルは、各種要因に依存することになり、そのような要因として、治療される障害及び障害の重篤度；使用される特定組成物；患者の年齢、体重、全体的な健康状態、性別、及び食事；投与時間；投与経路；使用される特定化合物の排出速度；治療期間；使用される特定化合物と組み合わせるまたは同時発生的に使用される薬物、ならびに医薬分野で周知の要因などが挙げられる。例えば、化合物の用量を、所望の治療効果を達成するために必要なものより低いレベルで開始し、所望の効果が達成されるまで投薬量を漸増していくことは、十分当業者の技術内にある。所望であれば、有効な一日量を投与の目的で複数用量に分割することができる。その結果、1回の用量の組成物は、そのような量、すなわち一日量を構成するその約数の量を含むことができる。投薬量は、任意の禁忌事象において個々の医師により調節可能である。投薬量は変更可能であり、1日間または数日間、1日1回または複数回の用量投与で投与することができる。所定の医薬製品クラスについて適切な投薬量についてのガイダンスは、文献に見つけることができる。さらなる様々な態様において、調製物は、「予防的有効量」で、すなわち、疾患または状態の予防に有効な量で、投与することができる。

10

【0039】

アミノ酸「修飾」または「修飾」アミノ酸という用語は、アミノ酸の置換、あるいはアミノ酸への化学基の付加及び／またはアミノ酸からの化学基の除去によるアミノ酸の誘導を指し、ヒトタンパク質に一般的に見られる20のアミノ酸のいずれか、ならびに非定型または天然に生じないアミノ酸による置換を含む。非定型アミノ酸の商業的供給業者としては、Sigma-Aldrich (Milwaukee, Wis.)、ChemPeptide Inc. (Miami, Fla.)、及びGenzyme Pharmaceuticals (Cambridge, Mass.)が挙げられる。非定型アミノ酸は、商業的供給業者から購入されても、新規に合成されても、または天然に生じるアミノ酸から化学修飾されても、もしくは誘導されてもよい。

20

【0040】

本明細書中で使用される場合、アミノ酸「置換」とは、異なるアミノ酸残基による1つのアミノ酸残基の置換を指す。置換アミノ酸は、ヒトタンパク質に一般的に見られる20のアミノ酸のいずれか、ならびに非定型または天然に生じないアミノ酸であってもよい。

【0041】

本開示による化合物は、ヒドロキシルまたはアミノ官能基で、アルコキシ、アミノ酸などの基をプロドラッグ形成部分として用いて、プロドラッグを形成することができる。例えば、ヒドロキシメチルの位置は、モノ、ジ、またはトリホスファートを形成することができ、繰り返すが、これらのホスファートはプロドラッグを形成することができる。そのようなプロドラッグ誘導体の調製は、様々な文献で説明されている（例えば：Alexander et al., J. Med. Chem. 1988, 31, 318；Aligas-Martin et al., PCT WO 2000/041531, p. 30）。こうした誘導体の調製で変換される窒素官能基は、本開示の化合物の窒素原子のうちの1つ（または複数）である。

30

【0042】

本明細書中開示される化合物の「誘導体」とは、それらの薬学上許容される塩、プロドラッグ、重水素化形、放射性標識化形、異性体、溶媒和物、及びそれらの組み合わせである。この文脈において言及される「組み合わせ」は、以下の群のうち少なくとも2種に属する誘導体を示す：薬学上許容される塩、プロドラッグ、重水素化形、放射性標識化形、異性体、及び溶媒和物。放射性標識化形の例として、トリチウム、リン-32、ヨウ素-129、炭素-11、フッ素-18などで標識された化合物が挙げられる。

40

【0043】

「薬学上許容される塩」は、親化合物がその酸または塩基塩を形成することにより修飾された、開示される化合物の誘導体を示す。本開示の化合物は、多種多様な有機酸及び無機酸と酸付加塩を形成し、製薬化学で使用されることが多い生理学的に許容される塩を含む。そのような塩も、本開示の一部である。そのような塩の形成に使用される典型的な無

50

機酸として、塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硝酸、硫酸、リン酸、次亜リン酸などが挙げられる。有機酸、例えば、脂肪族モノ及びジカルボン酸、フェニル置換アルカン酸、ヒドロキシアルカン酸及びヒドロキシアルカン二酸、芳香族酸、脂肪族及び芳香族スルホン酸などから生じる塩も、使用可能である。したがって、そのような薬学上許容される塩として、酢酸塩、フェニル酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、アクリル酸塩、アスコルビン酸塩、安息香酸塩、クロロ安息香酸塩、ジニトロ安息香酸塩、ヒドロキシ安息香酸塩、メトキシ安息香酸塩、メチル安息香酸塩、*o*-アセトキシ安息香酸塩、ナフタレン-2-安息香酸塩、臭化物、イソ酪酸塩、フェニル酪酸塩、 β -ヒドロキシ酪酸塩、ブチン-1, 4-ジオアート、ヘキシン-1, 4-ジオアート、カプリン酸塩、カプリル酸塩、塩化物、ケイヒ酸塩、クエン酸塩、ギ酸塩、フマル酸塩、グリコール酸塩、ヘプタン酸塩、馬尿酸塩、乳酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、ヒドロキシマレイン酸塩、マロン酸塩、マンデル酸塩、メシル酸塩、ニコチン酸塩、イソニコチン酸塩、硝酸塩、シュウ酸塩、フタル酸塩、テレフタル酸塩、リン酸塩、リン酸一水素塩、リン酸二水素塩、メタリン酸塩、ピロリン酸塩、プロピオル酸塩、プロピオン酸塩、フェニルプロピオン酸塩、サリチル酸塩、セバシン酸塩、コハク酸塩、スベリン酸塩、硫酸塩、重硫酸塩、ピロ硫酸塩、亜硫酸塩、重亜硫酸塩、スルホン酸塩、ベンゼン-スルホン酸塩、*p*-プロモベンゼン-スルホン酸塩、クロロベンゼン-スルホン酸塩、エタン-スルホン酸塩、2-ヒドロキシエタン-スルホン酸塩、メタン-スルホン酸塩、ナフタレン-1-スルホン酸塩、ナフタレン-2-スルホン酸塩、*p*-トルエン-スルホン酸塩、キシレン-スルホン酸塩、酒石酸塩などが挙げられる。

10

【0044】

20

当然のことながら、本開示の化合物は、特に記載がない限り、分子の様々な可能な原子での全ての光学異性体及び立体異性体に関する。化合物は、結晶化、クロマトグラフィー、または合成により、それらの純粋な鏡像異性体またはジアステレオマーとして分離または調製することが可能である。

【0045】

「脱離基」という用語は、結合電子を考慮した上で、安定種として置き換わることが可能な電子求引能力を持つ原子（または原子の集団）を示す。安定脱離基の例として、トリフラート、メシラート、トシラート、プロシラートをはじめとするスルホン酸エステル、及びハライドが挙げられる。

【0046】

30

本明細書中使用される場合、「置換された」という用語は、有機化合物の全ての許容される置換基を含むことが企図される。広範囲の態様において、許容される置換基には、有機化合物の非環式及び環式、分岐鎖及び直鎖、炭素環式及び複素環式、ならびに芳香族及び非芳香族の置換基が含まれる。例示の置換基として、例えば、以下に記載されるものが挙げられる。許容される置換基は、適切な有機化合物に対して1つまたは複数であることが可能であり、同じであるか異なっていることが可能である。本開示の目的に関して、窒素などのヘテロ原子は、ヘテロ原子の原子価を満たす、本明細書中記載される有機化合物の、水素置換基、及び／または任意の許容される置換基を有することができる。本開示は、いかなる様式においても、有機化合物の許容される置換基により限定されることを意図しない。同じく、「置換」または「～で置換された」という用語は、そのような置換が、置換される原子及び置換基の許容される原子価に従っていること、及び置換が、安定化合物、例えば再配置、環化、脱離などにより自発的に変換を起こすことがない化合物をもたらすことという暗黙の条件を含む。ある特定の態様において、別途明白に否定されない限り、個々の置換基は、さらに任意選択で置換可能である（すなわち、さらに置換されるまたは無置換である）ことも企図される。

40

【0047】

様々な用語の定義において、「 A^1 」、「 A^2 」、「 A^3 」、及び「 A^4 」が、本明細書中、様々な特定置換基を表す総称記号として使用される。これらの記号は、本明細書中開示されるものに限定されず、任意の置換基であることが可能であり、1つの文章である特定の置換基であると定義される場合でも、別の文章では、それらはまた他の置換基として定

50

義することができる。

【0048】

「アルキル」という用語は、本明細書中使用される場合、1～24個の炭素原子を持つ分岐鎖及び直鎖の飽和炭化水素基であり、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、s-ブチル、t-ブチル、n-ペンチル、イソペンチル、s-ペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル、ドデシル、テトラデシル、ヘキサデシル、エイコシル、テトラコシルなどがある。アルキル基は、置換または無置換であることも可能である。アルキル基は、1つまたは複数の基で置換可能であり、そのような基として、本明細書中記載されるとおりの、任意選択で置換されたアルキル、シクロアルキル、アルコキシ、アミノ、エーテル、ハライド、ヒドロキシ、ニトロ、シリル、スルホーオキシ、またはチオールが挙げられるが、これらに限定されない。「低級アルキル」基とは、1～6個（例えば、1～4個）の炭素原子を有するアルキル基である。

10

【0049】

本明細書全体を通じて、「アルキル」は、概して、無置換アルキル基及び置換アルキル基の両方を示すのに使用される；しかしながら、置換アルキル基は、本明細書中、アルキル基の特定置換基（複数可）を同定することにより具体的に示される場合もある。例えば、「ハロゲン化アルキル」という用語は、1つまたは複数のハライド、例えば、フッ素、塩素、臭素、またはヨウ素で置換されたアルキル基を具体的に示す。「アルコキシアルキル」という用語は、以下で記載されるとおり、1つまたは複数のアルコキシ基で置換されたアルキル基を具体的に示す。「アルキルアミノ」という用語は、以下で記載されるとおり、1つまたは複数のアミノ基で置換されたアルキル基を具体的に示す、などである。1つの文章で「アルキル」が使用され、別の文章で「アルキルアルコール」などの特定用語が使用される場合、「アルキル」という用語が「アルキルアルコール」などの特定用語も示すことはないことをほのめかすという意味ではない。

20

【0050】

この慣行は、本明細書中記載される他の基にも用いられる。すなわち、「シクロアルキル」などの用語は、無置換及び置換シクロアルキル部分の両方を示すものの、それだけでなく、置換部分を、本明細書中具体的に同定することができる；例えば、特定の置換シクロアルキルは、「アルキルシクロアルキル」と示される場合がある。同様に、置換アルコキシは、例えば、「ハロゲン化アルコキシ」と示される場合があり、特定の置換アルケニルは、例えば、「アルケニルアルコール」の場合がある、などである。繰り返すが、「シクロアルキル」などの一般用語及び「アルキルシクロアルキル」などの特定用語の使用についての慣行は、一般用語が特定用語を含むこともないことをほのめかすという意味ではない。

30

【0051】

「シクロアルキル」という用語は、本明細書中使用される場合、少なくとも3個の炭素原子で構成される非芳香族炭素系環である。シクロアルキル基の例として、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、ノルボルニルなどが挙げられるが、これらに限定されない。「ヘテロシクロアルキル」という用語は、上記で定義されるとおりのシクロアルキル基のうちの1種であり、「シクロアルキル」という用語の意味の範疇にあるが、環の炭素原子の少なくとも1個はヘテロ原子で置き換えられているものであり、ヘテロ原子は、例えば、窒素、酸素、硫黄、またはリンであるが、これらに限定されない。シクロアルキル基及びヘテロシクロアルキル基は、置換または無置換であることが可能である。シクロアルキル基及びヘテロシクロアルキル基は、1つまたは複数の基で置換可能であり、そのような基として、本明細書中記載されるとおりの、任意選択で置換されたアルキル、シクロアルキル、アルコキシ、アミノ、エーテル、ハライド、ヒドロキシ、ニトロ、シリル、スルホーオキシ、またはチオールが挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0052】

50

「ポリアルキレン基」という用語は、本明細書中使用される場合、互いに結合した2つ以上の CH_2 基を有する基である。ポリアルキレン基は、式 $-(\text{CH}_2)_a-$ により表すことができ、式中、「a」は、2～500の整数である。

【0053】

「アルコキシ」及び「アルコキシル」という用語は、本明細書中使用される場合、エーテル結合を通じて結合したアルキルまたはシクロアルキル基を示すのに使用される；すなわち、「アルコキシ」基は、 $-\text{OA}^1$ として定義することができ、式中、 A^1 は、上記で定義されるとおりのアルキルまたはシクロアルキルである。「アルコキシ」は、今記載されたとおりのアルコキシ基の重合体も含む；すなわち、アルコキシは、 $-\text{OA}^1-\text{OA}^2$ または $-\text{OA}^1-(\text{OA}^2)_a-\text{OA}^3$ などのポリエーテルであることが可能であり、式中、「a」は、1～200の整数であり、ならびに A^1 、 A^2 、及び A^3 は、アルキル及び／またはシクロアルキル基である。

【0054】

「アルケニル」という用語は、本明細書中使用される場合、2～24個の炭素原子で構成され、少なくとも1つの炭素炭素二重結合を有する構造式を持つ炭化水素である。 $(\text{A}^1\text{A}^2)\text{C}=\text{C}(\text{A}^3\text{A}^4)$ などの非対称構造は、E異性体及びZ異性体の両方を含むものとする。これは、本明細書中、式中に非対称アルケンが存在する構造式において推定可能であり、または、結合記号 $\text{C}=\text{C}$ により明確に示すことが可能である。アルケニル基は、1つまたは複数の基で置換可能であり、そのような基として、本明細書中記載されるとおりの、任意選択で置換されたアルキル、シクロアルキル、アルコキシ、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、アリール、ヘテロアリール、アルデヒド、アミノ、カルボン酸、エステル、エーテル、ハライド、ヒドロキシ、ケトン、アジド、ニトロ、シリル、スルホオキシ、またはチオールが挙げられるが、これらに限定されない。

【0055】

「シクロアルケニル」という用語は、本明細書中使用される場合、少なくとも3個の炭素原子で構成され、少なくとも1つの炭素炭素二重結合、すなわち、 $\text{C}=\text{C}$ を有する非芳香族炭素系環である。シクロアルケニル基の例として、シクロプロペニル、シクロブテニル、シクロペンテニル、シクロペンタジエニル、シクロヘキセニル、シクロヘキサジエニル、ノルボルネニルなどが挙げられるが、これらに限定されない。「ヘテロシクロアルケニル」という用語は、上記で定義されるとおりのシクロアルケニル基のうちの1種であり、「シクロアルケニル」という用語の意味の範疇にあるが、環の炭素原子の少なくとも1個はヘテロ原子で置き換えられているものであり、ヘテロ原子は、例えば、窒素、酸素、硫黄、またはリンであるが、これらに限定されない。シクロアルケニル基及びヘテロシクロアルケニル基は、置換または無置換であることが可能である。シクロアルケニル基及びヘテロシクロアルケニル基は、1つまたは複数の基で置換可能であり、そのような基として、本明細書中記載されるとおりの、任意選択で置換されたアルキル、シクロアルキル、アルコキシ、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、アリール、ヘテロアリール、アルデヒド、アミノ、カルボン酸、エステル、エーテル、ハライド、ヒドロキシ、ケトン、アジド、ニトロ、シリル、スルホオキシ、またはチオールが挙げられるが、これらに限定されない。

【0056】

「アルキニル」という用語は、本明細書中使用される場合、2～24個の炭素原子で構成され、少なくとも1つの炭素炭素三重結合を有する構造式を持つ炭化水素である。アルキニル基は、無置換であることも可能であるが、1つまたは複数の基で置換することも可能であり、そのような基として、本明細書中記載されるとおりの、任意選択で置換されたアルキル、シクロアルキル、アルコキシ、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、アリール、ヘテロアリール、アルデヒド、アミノ、カルボン酸、エステル、エーテル、ハライド、ヒドロキシ、ケトン、アジド、ニトロ、シリル、スルホオキシ、またはチオールが挙げられるが、これらに限定されない。

【0057】

「シクロアルキニル」という用語は、本明細書中使用される場合、少なくとも7個の炭素原子で構成され、少なくとも1つの炭素炭素三重結合を有する非芳香族炭素系環である。シクロアルキニル基の例として、シクロヘプチニル、シクロオクチニル、シクロノニルなどが挙げられるが、これらに限定されない。「ヘテロシクロアルキニル」という用語は、上記で定義されるとおりのシクロアルケニル基のうちの1種であり、「シクロアルキニル」という用語の意味の範疇にあるが、環の炭素原子の少なくとも1個はヘテロ原子で置き換えられているものであり、ヘテロ原子は、例えば、窒素、酸素、硫黄、またはリンであるが、これらに限定されない。シクロアルキニル基及びヘテロシクロアルキニル基は、置換または無置換であることが可能である。シクロアルキニル基及びヘテロシクロアルキニル基は、1つまたは複数の基で置換可能であり、そのような基として、本明細書中記載されるとおりの、任意選択で置換されたアルキル、シクロアルキル、アルコキシ、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、アリール、ヘテロアリール、アルデヒド、アミノ、カルボン酸、エステル、エーテル、ハライド、ヒドロキシ、ケトン、アジド、ニトロ、シリル、スルホオキシ、またはチオールが挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0058】

「アリール」という用語は、本明細書中使用される場合、任意の炭素系芳香族基を有する基であり、そのような基として、ベンゼン、ナフタレン、フェニル、ビフェニル、フェノキシベンゼンなどが挙げられるが、これらに限定されない。「アリール」という用語は、「ヘテロアリール」も含み、ヘテロアリールは、芳香族基の環内に組み込まれた少なくとも1個のヘテロ原子を有する芳香族基を有する基と定義される。ヘテロ原子の例として、窒素、酸素、硫黄、及びリンが挙げられるが、これらに限定されない。同様に、「非ヘテロアリール」という用語は、これも「アリール」という用語に含まれるが、ヘテロ原子を含まない芳香族基を有する基と定義される。アリール基は、置換または無置換であることが可能である。アリール基は、1つまたは複数の基で置換可能であり、そのような基として、本明細書中記載されるとおりの、任意選択で置換されたアルキル、シクロアルキル、アルコキシ、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、アリール、ヘテロアリール、アルデヒド、アミノ、カルボン酸、エステル、エーテル、ハライド、ヒドロキシ、ケトン、アジド、ニトロ、シリル、スルホオキシ、またはチオールが挙げられるが、これらに限定されない。「ビアリール」という用語は、アリール基のうちの特定種類であり、「アリール」の定義に含まれる。ビアリールは、ナフタレンでそうになっているように縮合環構造を介して結合してひとまとまりになった、またはビフェニルでそうになっているように1つ以上の炭素・炭素結合を介して結合した、2つのアリール基を指す。

20

30

【0059】

「アルデヒド」という用語は、本明細書中で使用される場合、式-C(O)Hによって表される。本明細書全体を通じて、「C(O)」は、カルボニル基、すなわち、C=Oの簡略表記である。

【0060】

「アミン」または「アミノ」という用語は、本明細書中で使用される場合、式-N A¹ A²により表され、式中、A¹及びA²は、独立して、水素、または本明細書中で記載されるとおりの、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、アリール、またはヘテロアリール基であることが可能である。

40

【0061】

「アルキルアミノ」という用語は、本明細書中使用される場合、式-NH(ーアルキル)により表され、式中、アルキルは、本明細書中記載されるとおりである。代表例として、メチルアミノ基、エチルアミノ基、プロピルアミノ基、イソプロピルアミノ基、ブチルアミノ基、イソブチルアミノ基、(sec-ブチル)アミノ基、(tert-ブチル)アミノ基、ペンチルアミノ基、イソペンチルアミノ基、(tert-ペンチル)アミノ基、

50

ヘキシルアミノ基などが挙げられるが、これらに限定されない。

【0062】

「ジアルキルアミノ」という用語は、本明細書中使用される場合、式 $-N(-アルキル)_2$ により表され、式中、アルキルは、本明細書中記載されるとおりである。代表例として、ジメチルアミノ基、ジエチルアミノ基、ジプロピルアミノ基、ジイソプロピルアミノ基、ジブチルアミノ基、ジイソブチルアミノ基、ジ(sec-ブチル)アミノ基、ジ(tert-ブチル)アミノ基、ジペンチルアミノ基、ジイソペンチルアミノ基、ジ(tert-ペンチル)アミノ基、ジヘキシルアミノ基、N-エチル-N-メチルアミノ基、N-メチル-N-プロピルアミノ基、N-エチル-N-プロピルアミノ基などが挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0063】

「カルボン酸」という用語は、本明細書中使用される場合、式 $-C(O)OH$ により表される。

【0064】

「エステル」という用語は、本明細書中使用される場合、式 $-OC(O)A^1$ または $-C(O)OA^1$ により表され、式中、 A^1 は、本明細書中記載されるとおりの、任意選択で置換されたアルキル、シクロアルキル、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、アリール、またはヘテロアリール基であることが可能である。「ポリエステル」という用語は、本明細書中使用される場合、式 $-(A^1O(O)C-A^2-C(O)O)_a-$ または $-(A^1O(O)C-A^2-OC(O))_a-$ により表され、式中、 A^1 及び A^2 は、独立して、本明細書中記載されるとおりの、任意選択で置換されたアルキル、シクロアルキル、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、アリール、またはヘテロアリール基であることが可能であり、「a」は、1~500の整数である。「ポリエステル」は、用語として、カルボン酸基を少なくとも2つ有する化合物と、ヒドロキシル基を少なくとも2つ有する化合物との反応により生成する基を記載するのに使用される。

20

【0065】

「エーテル」という用語は、本明細書中使用される場合、式 A^1OA^2 により表され、式中、 A^1 及び A^2 は、独立して、本明細書中記載されるとおりの、任意選択で置換されたアルキル、シクロアルキル、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、アリール、またはヘテロアリール基であることが可能である。「ポリエーテル」という用語は、本明細書中使用される場合、式 $-(A^1O-A^2O)_a-$ により表され、式中、 A^1 及び A^2 は、独立して、本明細書中記載されるとおりの、任意選択で置換されたアルキル、シクロアルキル、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、アリール、またはヘテロアリール基であることが可能であり、「a」は、1~500の整数である。ポリエーテル基の例として、ポリエチレンオキシド、ポリプロピレンオキシド、及びポリブチレンオキシドが挙げられる。

30

【0066】

「ハライド」という用語は、本明細書中使用される場合、ハロゲンであるフッ素、塩素、臭素、及びヨウ素を示す。

40

【0067】

「複素環」という用語は、本明細書中使用される場合、単環及び多環の芳香族または非芳香族の環系であって、環員のうちの少なくとも1つは炭素以外であるものを示す。複素環として、ピリジン、ピリミジン、フラン、チオフェン、ピロール、イソオキサゾール、イソチアゾール、ピラゾール、オキサゾール、チアゾール、イミダゾール、オキサゾール(1, 2, 3-オキサジアゾール、1, 2, 5-オキサジアゾール、及び1, 3, 4-オキサジアゾールを含む)、チアジアゾール(1, 2, 3-チアジアゾール、1, 2, 5-チアジアゾール、及び1, 3, 4-チアジアゾールを含む)、トリアゾール(1, 2, 3-トリアゾール、1, 3, 4-トリアゾールを含む)、テトラゾール(1, 2, 3, 4-テトラゾール及び1, 2, 4, 5-テトラゾールを含む)、ピリジン、ピリダジン、ピリ

50

ミジン、ピラジン、トリアジン（1，2，4-トリアジン及び1，3，5-トリアジンを含む）、テトラジン（1，2，4，5-テトラジンを含む）、ピロリジン、ペペリジン、ピペラジン、モルホリン、アゼチジン、テトラヒドロピラン、テトラヒドロフラン、ジオキサンなどが挙げられる。

【0068】

「ヒドロキシル」という用語は、本明細書中使用される場合、式-OHにより表される。

【0069】

「ケトン」という用語は、本明細書中使用される場合、式 $A^1C(O)A^2$ により表され、式中、 A^1 及び A^2 は、独立して、本明細書に記載されるとおりの、任意選択で置換されたアルキル、シクロアルキル、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、アリール、またはヘテロアリール基であることが可能である。

10

【0070】

「アジド」という用語は、本明細書中使用される場合、式-N₃により表される。

【0071】

「ニトロ」という用語は、本明細書中使用される場合、式-NO₂により表される。

【0072】

「ニトリル」という用語は、本明細書中使用される場合、式-CNにより表される。

【0073】

「シリル」という用語は、本明細書中使用される場合、式-SiA¹A²A³により表され、式中、 A^1 、 A^2 、及び A^3 は、独立して、水素、あるいは本明細書に記載されるとおりの、任意選択で置換されたアルキル、シクロアルキル、アルコキシ、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、アリール、またはヘテロアリール基であることが可能である。

20

【0074】

「スルホーオキシ」という用語は、本明細書中使用される場合、式-S(O)A¹、-S(O)₂A¹、-OS(O)₂A¹、または-OS(O)₂OA¹により表され、式中、 A^1 は、水素、あるいは本明細書に記載されるとおりの、任意選択で置換されたアルキル、シクロアルキル、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、アリール、またはヘテロアリール基であることが可能である。本明細書全体を通じて、「S(O)」は、S=Oの簡略表記である。「スルホニル」という用語は、本明細書中、式-S(O)₂A¹により表されるスルホーオキシ基を示すのに使用され、式中、 A^1 は、水素、あるいは本明細書に記載されるとおりの、任意選択で置換されたアルキル、シクロアルキル、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、アリール、またはヘテロアリール基であることが可能である。「スルホン」という用語は、本明細書中使用される場合、式A¹S(O)₂A²により表され、式中、 A^1 及び A^2 は、独立して、本明細書に記載されるとおりの、任意選択で置換されたアルキル、シクロアルキル、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、アリール、またはヘテロアリール基であることが可能である。「スルホキシド」という用語は、本明細書中使用される場合、式A¹S(O)A²により表され、式中、 A^1 及び A^2 は、独立して、本明細書に記載されるとおりの、任意選択で置換されたアルキル、シクロアルキル、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、シクロアルキニル、アリール、またはヘテロアリール基であることが可能である。

30

40

【0075】

「チオール」という用語は、本明細書中使用される場合、式-SHにより表される。

【0076】

「R¹」、「R²」、「R³」、「Rⁿ」、式中、nは整数である、は、本明細書中使用される場合、独立して、上記に列挙される基のうち1つまたは複数を有することができる。例えば、R¹が直鎖アルキル基である場合、アルキル基の水素原子のうち1つは、任意選択で、ヒドロキシル基、アルコキシ基、アルキル基、ハライドと置き換えることができる

50

、などである。選択された基に応じて、第一の基を第二の基中に組み込むことも可能であるし、あるいは、第一の基を第二の基にぶら下げる（すなわち、結合させる）ことも可能である。例えば、「アミノ基を有するアルキル基」という語句を用いた場合、アミノ基は、アルキル基の骨格内に組み込まれていることが可能である。あるいは、アミノ基は、アルキル基の骨格に結合していることが可能である。選択された基（複数可）の性質は、第一の基が第二の基に埋め込まれているのか結合しているのかに依存することになる。

【0077】

本明細書中記載されるとおり、本発明の化合物は、「任意選択で置換された」部分を有する場合がある。一般に、「置換された」という用語は、「任意選択で」という用語が先行するかどうかに関わらず、指定された部分の1つまたは複数の水素が、適切な置換基と置き換わっていることを意味する。特に記載がない限り、「任意選択で置換された」基は、その基の置換可能な位置それぞれで適切な置換基を有することができ、任意の所定の構造中の複数の位置で、指定された基から選択される複数の置換基により置換可能である場合、置換基は各位置において同じであっても異なってもよい。本発明が想定する置換基の組み合わせは、好ましくは、安定または化学的に実現可能な化合物の形成をもたらすものである。ある特定の態様において、明白に否定されない限り、個別の置換基は、さらに任意選択で置換可能である（すなわち、さらに置換されているまたは無置換である）ことも同じく企図される。

【0078】

「安定な」という用語は、本明細書中で使用される場合、化合物を生成、検出、及びある特定の態様において、化合物を回収、精製、ならびに本明細書中で開示される目的のうちの1つ以上のために使用することを可能にする条件に、その化合物を供した場合に、実質的に変化することがない化合物を指す。

【0079】

「任意選択で置換された」基の置換可能な炭素原子の適切な一価置換基とは、独立して、ハロゲン； $-(CH_2)_{0-4}R^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}OR^\circ$ ； $-O(CH_2)_{0-4}R^\circ$ 、 $-O-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}CH(OR^\circ)_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}SR^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}Ph$ 、この基は R° で置換可能である； $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$ 、この基は R° で置換可能である； $-CH=CHPh$ 、この基は R° で置換可能である； $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}$ -ピリジル、この基は R° で置換可能である； $-NO_2$ ； $-CN$ ； $-N_3$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)R^\circ$ ； $-N(R^\circ)C(S)R^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$ ； $-N(R^\circ)C(S)NR^\circ_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)OR^\circ$ ； $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)R^\circ$ ； $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$ ； $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)OR^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)R^\circ$ ； $-C(S)R^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)SR^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)OSiR^\circ_3$ ； $-(CH_2)_{0-4}OC(O)R^\circ$ ； $-OC(O)(CH_2)_{0-4}SR^\circ$ 、 $-SC(S)SR^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}SC(O)R^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)NR^\circ_2$ ； $-C(S)NR^\circ_2$ ； $-C(S)SR^\circ$ ； $-SC(S)SR^\circ$ 、 $-(CH_2)_{0-4}OC(O)NR^\circ_2$ ； $-C(O)N(OR^\circ)R^\circ$ ； $-C(O)C(O)R^\circ$ ； $-C(O)CH_2C(O)R^\circ$ ； $-C(NOR^\circ)R^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}SSR^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2R^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2OR^\circ$ ； $-(CH_2)_{0-4}OS(O)_2R^\circ$ ； $-S(O)_2NR^\circ_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}S(O)R^\circ$ ； $-N(R^\circ)S(O)_2NR^\circ_2$ ； $-N(R^\circ)S(O)_2R^\circ$ ； $-N(OR^\circ)R^\circ$ ； $-C(NH)NR^\circ_2$ ； $-P(O)_2R^\circ$ ； $-P(O)R^\circ_2$ ； $-OP(O)R^\circ_2$ ； $-OP(O)(OR^\circ)_2$ ； SiR°_3 ； $-(C_{1-4}$ 直鎖または分岐鎖アルキレン) $O-N(R^\circ)_2$ ；または $-(C_{1-4}$ 直鎖または分岐鎖アルキレン) $C(O)O-N(R^\circ)_2$ であり、式中、各 R° は、以下で定義されたとおり置換可能であり、独立して、水素、 C_{1-6} 脂肪族、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ 、 $-CH_2-$ （五～六員ヘテロアリール環）、または五～六員の飽和、部分不飽和、もしくはアリール環であり、この環は、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される0～4個のヘテロ原子を

10

20

30

40

50

有し、あるいは上記の定義に関わらず、2つの独立して出現する R° は、それらの間に存在する原子（複数可）と一緒にあって、三～十二員の飽和、部分不飽和、またはアリールの単環式もしくは二環式環を形成し、この環は、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される0～4個のヘテロ原子を有し、以下に定義されるとおりに置換可能である。

【0080】

R° （または2つの独立して出現する R° がそれらの間に存在する原子と一緒にあって形成された環）の適切な一価置換基とは、独立して、ハロゲン、 $-(CH_2)_{0-2}R^\bullet$ 、 $-(ハロR^\bullet)$ 、 $-(CH_2)_{0-2}OH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}OR^\bullet$ 、 $-(CH_2)_{0-2}CH(OR^\bullet)_2$ ； $-O(ハロR^\bullet)$ 、 $-CN$ 、 $-N_3$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)R^\bullet$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)OR^\bullet$ 、 $-(CH_2)_{0-2}SR^\bullet$ 、 $-(CH_2)_{0-2}SH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NH_2$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NHR^\bullet$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NR^\bullet_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SiR^\bullet_3$ 、 $-OSiR^\bullet_3$ 、 $-C(O)SR^\bullet$ 、 $-(C_{1-4}直鎖または分岐鎖アルキレン)C(O)OR^\bullet$ 、または $-SSR^\bullet$ であり、式中、各 $R^\bullet$ は、無置換であるか、または「ハロ」が先行する場合、1つ以上のハロゲンでのみ置換されており、独立して、 C_{1-4} 脂肪族、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ 、または五～六員の飽和、部分不飽和、もしくはアリール環から選択され、この環は、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される0～4個のヘテロ原子を有する。 R° の飽和炭素原子の適切な二価置換基として、 $=O$ 及び $=S$ が挙げられる。

【0081】

「任意選択で置換された」基の飽和炭素原子の適切な二価置換基として、以下が挙げられる： $=O$ 、 $=S$ 、 $=NNR^*_2$ 、 $=NNHC(O)R^*$ 、 $=NNHC(O)OR^*$ 、 $=NHS(O)_2R^*$ 、 $=NR^*$ 、 $=NOR^*$ 、 $-O(C(R^*_2))_{2-3}O-$ 、または $-S(C(R^*_2))_{2-3}S-$ 、式中、各独立して出現する R^* は、水素、以下に定義されるとおりに置換可能な C_{1-6} 脂肪族、または無置換の五～六員の飽和、部分不飽和、またはアリール環から選択され、この環は、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される0～4個のヘテロ原子を有する。「任意選択で置換された」基の隣接した置換可能な炭素と結合する適切な二価置換基として、以下が挙げられる： $-O(CR^*_2)_{2-3}O-$ 、式中、各独立して出現する R^* は、水素、以下に定義されるとおりに置換可能な C_{1-6} 脂肪族、または無置換の五～六員の飽和、部分不飽和、またはアリール環から選択され、この環は、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される0～4個のヘテロ原子を有する。

【0082】

R^* の脂肪族基の適切な置換基として、ハロゲン、 $-R^\bullet$ 、 $-(ハロR^\bullet)$ 、 $-OH$ 、 $-OR^\bullet$ 、 $-O(ハロR^\bullet)$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OR^\bullet$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^\bullet$ 、 $-NR^\bullet_2$ 、または $-NO_2$ が挙げられ、式中、各 $R^\bullet$ は、無置換であるか、または「ハロ」が先行する場合、1つ以上のハロゲンでのみ置換されており、独立して、 C_{1-4} 脂肪族、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ 、または五～六員の飽和、部分不飽和、もしくはアリール環であり、この環は、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される0～4個のヘテロ原子を有する。

【0083】

「任意選択で置換された」基の置換可能な窒素の適切な置換基として、 $-R^\dagger$ 、 $-NR^\dagger_2$ 、 $-C(O)R^\dagger$ 、 $-C(O)OR^\dagger$ 、 $-C(O)C(O)R^\dagger$ 、 $-C(O)CH_2C(O)R^\dagger$ 、 $-S(O)_2R^\dagger$ 、 $-S(O)_2NR^\dagger_2$ 、 $-C(S)NR^\dagger_2$ 、 $-C(NH)NR^\dagger_2$ 、または $-N(R^\dagger)S(O)_2R^\dagger$ が挙げられ；式中、各 $R^\dagger$ は、独立して、水素、 C_{1-6} 脂肪族、これは以下に定義されるとおりに置換可能である、または無置換の $-OPh$ 、または無置換の五～六員の飽和、部分不飽和、もしくはアリール環であり、この環は、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される0～4個のヘテロ原子を有し、あるいは上記の定義に関わらず、2つの独立して出現する $R^\dagger$ は、それらの間に存在する原子（複数可）と一緒にあって、無置換の三～十二員の飽和、部分不飽和、またはアリールの単環式もしくは二環式環を形成し、この環は、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される0～4個のヘテロ原子を有する。

【0084】

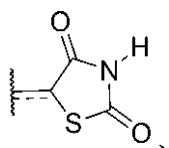
R[†]の脂肪族基の適切な置換基は、独立して、ハロゲン、 $-R^{\bullet}$ 、 $-(ハロR^{\bullet})$ 、 $-OH$ 、 $-OR^{\bullet}$ 、 $-O(ハロR^{\bullet})$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OR^{\bullet}$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^{\bullet}$ 、 $-NR^{\bullet}_2$ 、または $-NO_2$ であり、式中、各 $R^{\bullet}$ は、無置換であるか、または「ハロ」が先行する場合、1つ以上のハロゲンでのみ置換されており、独立して、 C_{1-4} 脂肪族、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ 、または五～六員の飽和、部分不飽和、もしくはアリアル環であり、この環は、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される0～4個のヘテロ原子を有する。

【0085】

「有機残基」という用語により、炭素含有残基、すなわち、少なくとも1個の炭素原子を含む残基を定義し、そのような残基として、本明細書中の上で定義される、炭素含有基、残基、またはラジカルが挙げられるが、これらに限定されない。有機残基は、様々なヘテロ原子を含有することができ、またはヘテロ原子を通じて別の分子と結合することができ、ヘテロ原子として、酸素、窒素、硫黄、リンなどが挙げられる。有機残基の例として、アルキルまたは置換アルキル、アルコキシまたは置換アルコキシ、一もしくは二置換アミノ、アミド基などが挙げられるが、これらに限定されない。有機残基は、好ましくは、1～18個の炭素原子、1～15個の炭素原子、1～12個の炭素原子、1～8個の炭素原子、1～6個の炭素原子、または1～4個の炭素原子を有することができる。さらなる態様において、有機残基は、2～18個の炭素原子、2～15個の炭素原子、2～12個の炭素原子、2～8個の炭素原子、2～4個の炭素原子、または2～4個の炭素原子を有することができる。

【0086】

「残基」という用語と非常に近い類義語として「ラジカル」という用語があり、この用語は、本明細書及び結びの特許請求の範囲において使用される場合、本明細書中記載される分子の断片、基、またはサブ構造を示し、その分子がどのように調製されるかを問わない。例えば、特定化合物中の2，4-チアゾリジンジオンラジカルは、以下の構造：



を有し、チアゾリジンジオンがその化合物の調製に使用されたかどうかを問わない。実施形態によっては、ラジカル（例えば、アルキル）は、それに結合した1つまたは複数の「置換基ラジカル」を有することにより、さらに修飾可能である（すなわち、置換アルキル）。所定のラジカル中の原子の個数は、本明細書中いずれかの箇所で否定されない限り、本発明にとって重要ではない。

【0087】

「有機ラジカル」は、この用語が本明細書中定義及び使用される場合、1個または複数の炭素原子を有する。有機ラジカルは、例えば、1～26個の炭素原子、1～18個の炭素原子、1～12個の炭素原子、1～8個の炭素原子、1～6個の炭素原子、または1～4個の炭素原子を有することができる。さらなる態様において、有機ラジカルは、2～26個の炭素原子、2～18個の炭素原子、2～12個の炭素原子、2～8個の炭素原子、2～6個の炭素原子、または2～4個の炭素原子を有することができる。有機ラジカルは、有機ラジカルの炭素原子の少なくともいくつかの水素結合を有することが多い。無機原子を含まない有機ラジカルの一例は、5，6，7，8-テトラヒドロ-2-ナフチルラジカルである。いくつかの実施形態において、有機ラジカルは、それと結合したか、その中で結合した、ハロゲン、酸素、硫黄、窒素、リンなどを含む1～10個の無機ヘテロ原子を含むことができる。有機ラジカルの例として、アルキル、置換アルキル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、一置換アミノ、二置換アミノ、アシルオキシ、シアノ、カルボキシ、カルボアルコキシ、アルキルカルボキサミド、置換アルキルカルボキサミド、ジ

アルキルカルボキサミド、置換ジアルキルカルボキサミド、アルキルスルホニル、アルキルスルフィニル、チオアルキル、チオハロアルキル、アルコキシ、置換アルコキシ、ハロアルキル、ハロアルコキシ、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、または置換ヘテロシクリルラジカルが挙げられるが、これらに限定されず、これらの用語は、本明細書中の別の箇所で定義される。ヘテロ原子を含む有機ラジカルのいくつかの限定ではなく例として、アルコキシラジカル、トリフルオロメトキシラジカル、アセトキシラジカル、ジメチルアミノラジカルなどが挙げられる。

【0088】

「無機ラジカル」は、この用語が本明細書中定義及び使用される場合、炭素原子を有さず、したがって、炭素以外の原子のみを有する。無機ラジカルは、水素、窒素、酸素、ケイ素、リン、硫黄、セレン、ならびにハロゲン、例えば、フッ素、塩素、臭素、及びヨウ素から選択される原子の結合した組み合わせを含み、原子は個別に、またはそれらの化学的に安定な組み合わせと一緒に結合して表すことが可能である。無機ラジカルは、10個以下、または好ましくは、1～6個もしくは1～4個の、上記で列挙されるとおりの無機原子を有し、これらは互いに結合している。無機ラジカルの例として、アミノ、ヒドロキシ、ハロゲン、ニトロ、チオール、硫酸ラジカル、リン酸ラジカル、及び一般的に知られる無機ラジカルなどが挙げられるが、これらに限定されない。無機ラジカルは、その中で結合した周期表の金属元素（例えば、アルカリ金属、アルカリ土類金属、遷移金属、ランタニド金属、またはアクチニド金属）を有さないが、そのような金属イオンは、場合によっては、アニオン性無機ラジカル、例えば、硫酸ラジカル、リン酸ラジカル、または同様なアニオン性無機ラジカルの薬学上許容されるカチオンとして機能することができる。無機ラジカルは、本明細書中の別の場所で別に具体的に示されていない限り、メタロイド元素、例えば、ホウ素、アルミニウム、ガリウム、ゲルマニウム、ヒ素、スズ、鉛、もしくはテルル、または希ガス元素を含まない。

【0089】

本明細書中に記載されている化合物は、1つ以上の二重結合を含むことができ、したがって、シス／トランス（E／Z）異性体、ならびに他の配座異性体を生じる可能性がある。特に否定されない限り、本発明は、全てのそのような可能な異性体、ならびにそのような異性体の混合物を含む。

【0090】

特に否定されない限り、実線のみで示された化学結合を有し、くさび形または点線で示された化学結合を持たない式は、可能な異性体それぞれ、例えば、鏡像異性体及びジアステレオマーのそれぞれ、ならびに異性体混合物、例えばラセミ混合物または不均等混合物などを企図している。本明細書中に記載される化合物は1つまたは複数の不斉中心を有する可能性があり、したがって、ジアステレオマー及び光学異性体を生じる可能性がある。特に否定されない限り、本発明は、全てのそのような可能なジアステレオマー、ならびにそれらのラセミ混合物、それらの実質的に純粋に分離された鏡像異性体、全ての可能な幾何異性体、及びそれらの薬学上許容される塩を含む。立体異性体の混合物、ならびに単離された特定の立体異性体も、同じく含まれる。そのような化合物を調製するために用いられる合成手順の過程中、または当業者に既知のラセミ化もしくはエピマー化手順の使用において、そのような手順の生成物は、立体異性体の混合物である可能性がある。

【0091】

多くの有機化合物は、面偏光の面を回転させる能力を有する光学活性形で存在する。光学活性化合物の説明では、接頭文字D及びLまたはR及びSを用いて、分子の絶対配置をそのキラル中心（複数可）に関して示す。接頭文字d及びlまたは（+）及び（-）は、化合物による面偏光の回転の方向を指定するために用いられ、（-）またはlは、化合物が左旋性であることを意味する。接頭文字（+）またはdを持つ化合物は、右旋性である。所定の化学構造について、こうした化合物は、立体異性体と呼ばれ、それらが互いに重ね合わせることをできない鏡像であることを除けば、同一である。特定の立体異性体は、鏡像異性体とも称することができ、そのような異性体の混合物は、鏡像異性体混合物と呼

ばれる場合が多い。鏡像異性体の 50 : 50 混合物は、ラセミ混合物と呼ばれる。本明細書中記載される化合物の多くは、1 つまたは複数のキラル中心を有する可能性があり、したがって、異なる鏡像異性体形で存在する可能性がある。所望であれば、キラル炭素は、アスタリスク (*) を付けて指定することができる。開示される式中、キラル炭素との結合が、直線で示される場合、当然のことながら、キラル炭素の (R) 配置及び (S) 配置の両方、及びしたがって、両方の鏡像異性体ならびにその混合物が、その式に包含される。当該分野で使用されるとおり、キラル炭素について絶対配置を指定することが望ましい場合、キラル炭素との結合の一方は、くさび形で示すことができ (原子への結合は面より手前)、他方は、一連の短い平行線またはそれによるくさびとして示すことができる (原子への結合は面より向こう側)。カーン・インゴルド・プレローグ体系を用いて、キラル炭素に対する (R) または (S) 配置を割り当てることができる。

10

【0092】

開示される化合物が 1 つのキラル中心を有する場合、その化合物は、2 種の鏡像異性体形で存在する。特に具体的に否定されない限り、開示される化合物は、両方の鏡像異性体及び鏡像異性体混合物、例えば、ラセミ混合物と称する特定の 50 : 50 混合物などを含む。鏡像異性体は、当業者に既知の方法により分割可能であり、そのような方法として、例えば、ジアステレオ異性体塩の形成、これらは、例えば、結晶化により分離可能である (CRC Handbook of Optical Resolutions via Diastereomeric Salt Formation by David Kozma (CRC Press, 2001) を参照) ; ジアステレオ異性体誘導体または錯体の形成、これらは、例えば、結晶化、気液もしくは液体クロマトグラフィーにより分離可能である ; 一方の鏡像異性体と鏡像異性体特異的試薬との選択的反応、例えば、酵素エステル化反応 ; あるいはキラル環境下での気液もしくは液体液体クロマトグラフィー、例えば、キラル支持体、例えば、キラル試薬を担持したシリカまたはキラル溶媒の存在下で行うものなどがある。当然のことながら、所望の鏡像異性体が上記の分離手順の 1 つにより別の化学的実体へと変換される場合、さらなる工程により、所望の鏡像異性体形を放出させることができる。あるいは、特定の鏡像異性体を、光学活性な試薬、物質、触媒、または溶媒を用いて不斉合成することにより、あるいは不斉異性化反応により一方の鏡像異性体を他方へと変換することにより、合成することができる。

20

【0093】

開示される化合物中のキラル炭素における特定の絶対配置の指定は、その化合物の指定された鏡像異性体形が、鏡像体過剰 (e. e.) で提供可能であることを意味すると理解される。鏡像体過剰とは、本明細書中使用される場合、特定の鏡像異性体が 50 % 超、例えば、60 % 超、70 % 超、75 % 超、80 % 超、85 % 超、90 % 超、95 % 超、98 % 超、または 99 % 超で存在することである。1 つの態様において、指定された鏡像異性体は、実質的に、他方の鏡像異性体を含まない。例えば、「R」形のある化合物は、その化合物の「S」形を実質的に含まないことが可能であり、したがって、「S」型の鏡像体過剰にある。反対に、「S」形のある化合物は、その化合物の「R」形を実質的に含まないことが可能であり、したがって、「R」型の鏡像体過剰にある。

30

【0094】

開示される化合物が 2 つ以上のキラル炭素を有する場合、その化合物は、2 種より多い光学異性体を有する可能性があり、ジアステレオ異性体形で存在する可能性がある例えば、2 つのキラル炭素が存在する場合、化合物は、最大 4 種の光学異性体及び 2 組の鏡像異性体対 ((S, S) / (R, R) 及び (R, S) / (S, R)) を有する可能性がある。鏡像異性体の対 (例えば、(S, S) / (R, R)) は、互いに鏡像である立体異性体である。鏡像ではない立体異性体 (例えば、(S, S) 及び (R, S)) は、ジアステレオ異性体である。ジアステレオ異性体対は、当業者に既知の方法、例えば、クロマトグラフィーまたは結晶化により分離することができ、各対に含まれる個々の鏡像異性体は、上記のとおり分離することができる。別途具体的に排除されない限り、開示される化合物は、その化合物の各ジアステレオ異性体及びそれらの混合物を含む。

40

50

【0095】

本明細書に記載される化合物は、原子を、それらの自然な同位体存在度及び自然ではない存在度の両方で、含む。開示される化合物は、記載されたものと同一であるが、ただし、1個または複数の原子が、自然で典型的に見つかる原子質量または質量数とは異なる原子質量または質量数を有する原子により置き換えられているという事実がある同位体標識化すなわち同位体置換された化合物であることが可能である。本発明の化合物に組み込むことが可能な同位体の例として、水素、炭素、窒素、酸素、リン、フッ素、及び塩素の同位体、例えば、それぞれ、 ^2H 、 ^3H 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{17}O 、 ^{35}S 、 ^{18}F 、及び ^{36}Cl などが挙げられる。化合物は、さらに、化合物のプロドラッグを含み、上記の同位体及び／または他の原子の他の同位体を有するそれら化合物またはそれらプロドラッグの薬学上許容される塩は、本発明の範囲内にある。ある特定の同位体標識された本発明の化合物、例えば、 ^3H 及び ^{14}C などの放射性同位元素が組み込まれたものは、薬物及び／または基質組織分布アッセイに有用である。トリチウム化、すなわち、 ^3H 同位体、及び炭素-14、すなわち、 ^{14}C 同位体は、それらの調製しやすさ及び検出性から、特に好適である。さらに、より重い同位体、例えば重水素、すなわち、 ^2H での置換は、代謝安定性の向上、例えば、インビボ半減期の延長または必要投薬量の減少などから生じる特定の治療上の利点を提供する可能性があり、したがって、状況によっては好適である可能性がある。同位体標識された本発明の化合物及びそのプロドラッグは、概して、以下の手順を実行する上で、容易に入手可能な同位体標識された試薬で、同位体標識されていない試薬を置き換えることにより、調製することができる。

10

20

【0096】

本発明で記載される化合物は、溶媒和物として存在することができる。「溶媒和物」は、溶媒と溶質の相互作用により形成される化合物を示し、これには水和物が含まれる。溶媒和物は、通常、化学量論的または非化学量論的割合いずれかで、結晶構造内に溶媒分子を包含する結晶性固体付加体である。場合によっては、溶媒和物を調製するのに使用される溶媒は、水溶液であり、そうすると溶媒和物は、水和物と称される場合が多い。化合物は、水和物として存在することができ、水和物は、例えば、溶媒から、または水溶液から結晶化させることにより、得ることができる。これに関して、1、2、3、または任意数の溶媒和物または水分子を、本発明による化合物と組み合わせて、溶媒和物及び水和物を形成させることができる。特に否定されない限り、本発明は、全てのそのような可能な溶媒和物を含む。

30

【0097】

「共結晶」という用語は、非共有結合相互作用を通じてそれらの安定性に寄与する2種以上の分子の物理的会合を意味する。この分子複合体のうちの1つ以上の成分が、結晶格子の安定な枠組みを提供する。ある特定の場において、無水和物または溶媒和物として、ゲスト分子が結晶格子に組み込まれる。例えば、' ' Crystal Engineering of the Composition of Pharmaceutical Phases. Do Pharmaceutical Co-crystals Represent a New Path to Improved Medicines? ' ' Almarasson, O., et. al., The Royal Society of Chemistry, 1889-1896, 2004を参照。共結晶の例として、p-トルエンスルホン酸及びベンゼンスルホン酸が挙げられる。

40

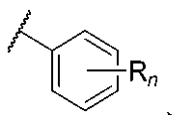
【0098】

化学物質は、異なる秩序状態で存在する固体を形成することが知られており、それらは、結晶多形または結晶変態と呼ばれる。多形物質の異なる結晶変態は、それらの物性が大きく異なっている場合がある。本発明による化合物は、様々な結晶形で存在する可能性があり、特定の変態結晶が準安定である可能性がある。特に否定されない限り、本発明は、全てのそのような可能な結晶形を含む。

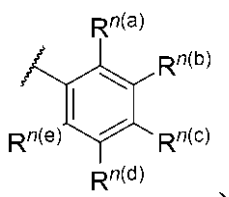
【0099】

態様によっては、化合物の構造は、以下の式により表すことができ：

50



これは、以下の式と等価であると理解され：



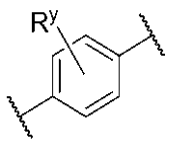
10

式中、 n は、典型的には整数である。すなわち、 R^n は、5つの独立した置換基、 $R^{n(a)}$ 、 $R^{n(b)}$ 、 $R^{n(c)}$ 、 $R^{n(d)}$ 、 $R^{n(e)}$ を表すと理解される。そのような場合のそれぞれにおいて、5つの R^n はそれぞれ、水素または列挙された置換基であることが可能である。「独立した置換基」は、各 R 置換基を独立して定義することが可能であることを意味する。例えば、一例において、 $R^{n(a)}$ がハロゲンである場合、その例において $R^{n(b)}$ は、必ずしもハロゲンではない。

【0100】

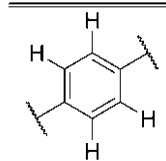
なおさらなる態様のいくつかにおいて、化合物の構造は、以下の式により表すことができる：

20



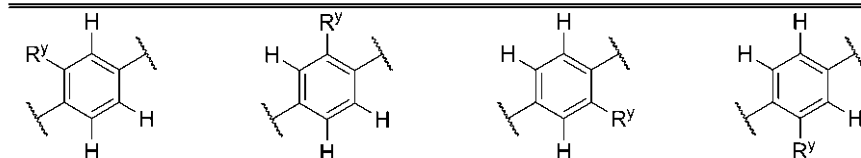
式中、 R^y は、例えば、 A^1 、 A^2 、及び A^3 から選択される0～2つの独立した置換基を表し、この式は、以下の式の群と等価であると理解される：

式中、 R^y が0個の独立した置換基を表す場合



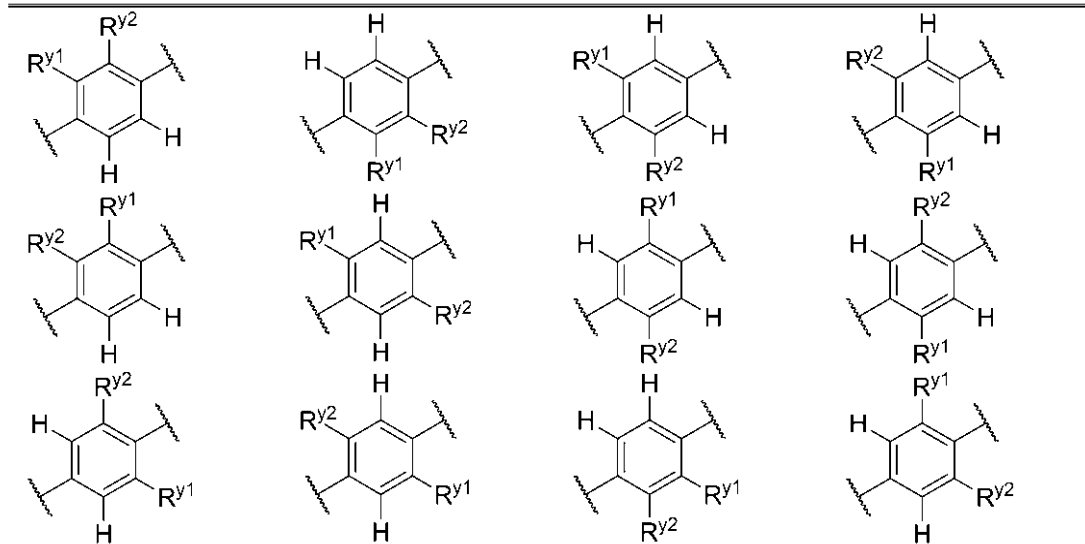
30

式中、 R^y が1つの独立した置換基を表す場合



40

式中、 R^y が2つの独立した置換基を表す場合



10

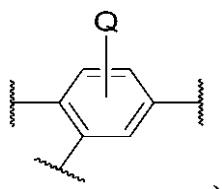
【0101】

繰り返すが、「独立した置換基」は、各R置換基を独立して定義することが可能であることを意味する。例えば、一例において、 R^{y1} が A^1 である場合、その例において R^{y2} は、必ずしも A^1 ではない。

20

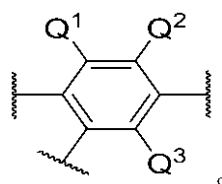
【0102】

さらなる態様のいくつかにおいて、化合物の構造は、以下の式により表すことができ、



式中、例えば、Qは、水素及びAから独立して選択される3つの置換基を含み、このことは、以下の式と等価であると理解される：

30

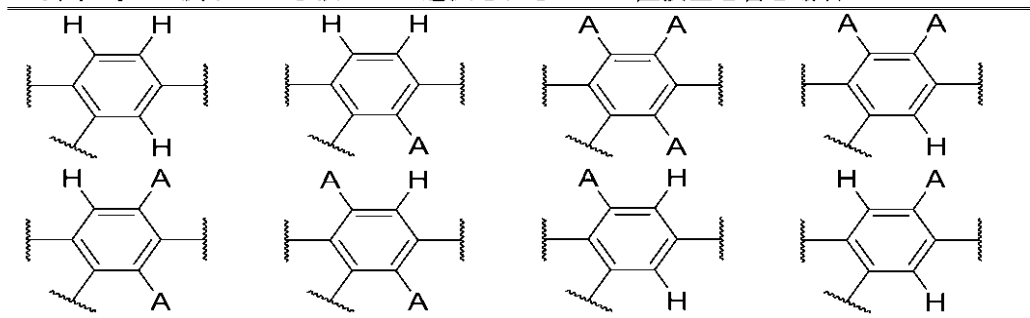


【0103】

繰り返すが、「独立した置換基」は、各Q置換基が独立して水素またはAであると定義されることを意味し、このことは、以下の式の群と等価であると理解される：

40

式中、QがH及びAから独立して選択される3つの置換基を含む場合



10

【0104】

本明細書中開示されるある特定の材料、化合物、組成物、及び成分は、市販品を入手可能であるか、または当業者に一般的に知られる技法を用いて容易に合成可能である。例えば、開示される化合物及び組成物の調製で使用される出発物質及び試薬は、Aldrich Chemical Co., (Milwaukee, Wis.), Acros Organics (Morris Plains, N. J.), Fisher Scientific (Pittsburgh, Pa.), またはSigma (St. Louis, Mo.) などの販売業者から入手可能であるか、参照文献に記載の手順に従って当業者に既知の方法により調製されるかのいずれかであり、参照文献としては、例えば、Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, Volumes 1-17 (John Wiley and Sons, 1991); Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Volumes 1-5 and Supplementals (Elsevier Science Publishers, 1989); Organic Reactions, Volumes 1-40 (John Wiley and Sons, 1991); March's Advanced Organic Chemistry, (John Wiley and Sons, 4th Edition); 及び Larock's Comprehensive Organic Transformations (VCH Publishers Inc., 1989) がある。

20

30

【0105】

特に明白に記載されない限り、本明細書中記載される方法のいずれにおいても、その工程が特定の順序で行われることを必要とすると解釈されることを、いかなるやり方でも意図しない。したがって、方法請求項が、その方法の工程が従うべき順序を実際に列挙していない、またはその請求項もしくは説明において、工程が特定順序に限定されるべきであると別途具体的に記載されていない場合、あらゆる側面において、順序が推定されることをいかなるやり方でも意図しない。これは、工程または操作フローの配置に関する論理事項、文法構成または句読点から生じる単純解釈、及び明細書中記載される態様の数または種類をはじめとする、あらゆる可能な非明記の解釈根拠に対して成り立つ。

40

【0106】

開示されるのは、本発明の組成物の調製に使用される成分、ならびに本明細書中開示される方法内で使用される組成物自身である。これら及び他の材料は、本明細書中開示され、また、これらの材料の組み合わせ、サブセット、相互作用、群などが開示される場合、これら化合物の様々な個別のまたはまとめたの組み合わせ及び配列それぞれについての具体的な言及が明白に開示され得ないとしても、それぞれが、具体的に企図され、本明細書中記載されると理解される。例えば、特定化合物が開示及び記載され、その化合物を含む複数の分子に対して行うことが可能な複数の修飾が説明される場合、具体的に否定されない限り、その化合物と、可能な修飾とのありとあらゆる組み合わせ及び配列が、具体的に企図される。すなわち、分子A、B、及びCからなるクラスならびに分子D、E、及びF

50

からなるクラスが開示され、組み合わせ分子の一例として、A-Dが開示される場合、それぞれ個別に列挙されなかったとしても、各組み合わせが個別に及び集合的に企図され、これは組み合わせ、A-E、A-F、B-D、B-E、B-F、C-D、C-E、及びC-Fが開示されていると見なされることを意味する。同様に、これらの任意のサブセットまたは組み合わせも開示されている。すなわち、例えば、A-E、B-F、及びC-Eからなるサブグループも開示されていると見なされると思われる。この概念は、本出願の全ての態様に当てはまり、態様として、本発明の組成物の作成法及び使用法の工程が挙げられるが、これらに限定されない。すなわち、実行可能な各種追加工程が存在する場合、当然のことながら、これら追加工程のそれぞれは、本発明の方法の任意の特定の実施形態または実施形態の組み合わせで、実行可能である。

10

【0107】

他に定義されない限り、本明細書中で使用する全ての技術用語及び科学用語は、本開示の方法及び組成物が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書に記載のものと同様または等価のいずれの方法及び材料も本発明の方法及び組成物の実施または試験に使用することができるが、特に有用な方法、デバイス、及び材料は、記載されるとおりである。本明細書において引用される出版物及び引用される資料は、参照により具体的に組み込まれる。本明細書におけるいずれも、本発明が先行発明を理由にそのような開示に先行する資格がないことを認めるものと解釈されるべきではない。いかなる参考文献も先行技術を構成することを認めるものではない。参考文献の考察は、筆者が主張することを述べており、出願人は、引用文献の正確性及び妥当性を吟味する権利を有する。本明細書において多くの出版物が参照されているが、そのような参考文献は、これらのいかなる文書も当該技術分野における共通の一般知識の一部を形成していると認めるものではないことは明確に理解されるであろう。

20

【0108】

B. ペプチド

一態様において、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドを含むペプチドであって、インスリンB鎖ペプチドは、少なくとも32のアミノ酸残基を含み、インスリンB鎖ペプチドのアミノ酸残基のうちの少なくとも3つは、リシン残基である、ペプチドが開示されている。

30

【0109】

一態様において、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドを含むペプチドであって、少なくとも1つの有機ホウ酸基に直接結合している、ペプチドが開示されている。

【0110】

野生型インスリンは、A鎖ペプチド及びB鎖ペプチドを含む。野生型ヒトインスリンA鎖は、配列GIVEQCCTSLYQLENYCN（配列番号1）によって表される。野生型ヒトインスリンB鎖は、配列FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKT（配列番号2）によって表される。

【0111】

様々な態様において、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドは、少なくとも1つのジスルフィド結合を介して結合されている。別の態様において、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドは、少なくとも2つのジスルフィド結合を介して結合されている。

40

【0112】

様々な態様において、本開示のペプチドは、単量体である。言い換えると、様々な態様において、本開示のペプチドは、野生型インスリンよりも二量体、四量体、六量体などを形成する可能性が低い。

【0113】

様々な態様において、インスリンA鎖ペプチドは、野生型ヒトインスリンA鎖ペプチドと少なくとも70%同一である。ある場合には、インスリンA鎖ペプチドは、野生型ヒト

50

インスリンA鎖ペプチドと少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99%同一である。ある場合には、同一性パーセントは、本開示のペプチドのN末端またはC末端からの1つ以上のアミノ酸の欠失によって達することができる。

【0114】

様々な態様において、インスリンA鎖ペプチドは、GIVEQCCTSI C SLYQL ENYCN（配列番号1）の配列を含む。別の態様において、インスリンA鎖ペプチドは、GIVEQCCTSI C SLYQL ENYCG（配列番号3）の配列を含む。

【0115】

様々な態様において、インスリンB鎖ペプチドは、野生型ヒトインスリンB鎖ペプチドと少なくとも70%同一である。別の態様において、インスリンB鎖ペプチドは、野生型ヒトインスリンB鎖ペプチドと少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、または99%同一である。さらに別の態様において、同一性パーセントは、本開示のペプチドのN末端またはC末端からの1つ以上のアミノ酸の欠失によって達することができる。さらに別の態様において、同一性パーセントは、本開示のペプチドのN末端またはC末端からの1つ以上のアミノ酸の付加によって達することができる。

10

【0116】

様々な態様において、インスリンB鎖ペプチドは、少なくとも33のアミノ酸残基を含む。別の態様において、インスリンB鎖ペプチドは、少なくとも34のアミノ酸残基を含む。

【0117】

様々な態様において、位置B29のアミノ酸は、リシン残基である。別の態様において、B29リシン残基は、修飾されている。さらに別の態様において、B29リシン残基は、修飾されていない。

20

【0118】

様々な態様において、位置B33のアミノ酸は、リシン残基である。別の態様において、B33リシン残基は、修飾されている。さらに別の態様において、B33リシン残基は、修飾されていない。

【0119】

様々な態様において、位置B34のアミノ酸は、リシン残基である。別の態様において、B34リシン残基は、修飾されている。さらに別の態様において、B34リシン残基は、修飾されていない。

30

【0120】

様々な態様において、位置B29のアミノ酸及び位置B33のアミノ酸は、リシン残基である。別の態様において、位置B29のアミノ酸及び位置B34のアミノ酸は、リシン残基である。さらに別の態様において、位置B33のアミノ酸及び位置B34のアミノ酸は、リシン残基である。さらに別の態様において、位置B29のアミノ酸、位置B33のアミノ酸、及び位置B34のアミノ酸は、リシン残基である。

【0121】

様々な態様において、B29リシン残基は、修飾されておらず、B33及びB34リシン残基のそれぞれは、修飾されている。別の態様において、B33リシン残基は、修飾されておらず、B29及びB34リシン残基のそれぞれは、修飾されている。さらに別の態様において、B34リシン残基は、修飾されておらず、B29及びB33リシン残基のそれぞれは、修飾されている。さらに別の態様において、B29、B33、及びB34リシン残基のそれぞれは、修飾されている。さらに別の態様において、B29、B33、及びB34リシン残基のそれぞれは、修飾されていない。

40

【0122】

様々な態様において、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPTKTR（配列番号2）の配列を含む。別の態様において、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVLCGERGFFYTPTKTR（配列番号4）、FVNQHLCGSHLVEALYLVLCGERGFFYTPTKTR

50

R（配列番号5）、またはFVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRRR（配列番号6）の配列を含む。さらに別の態様において、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTR（配列番号4）またはFVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRRR（配列番号6）の配列を含む。さらに別の態様において、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRRR（配列番号5）またはFVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRRR（配列番号6）の配列を含む。さらに別の態様において、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRRR（配列番号5）の配列を含む。さらに別の態様において、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRRR（配列番号6）の配列を含む。

10

【0123】

様々な態様において、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRK（配列番号7）の配列を含む。別の態様において、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRKK（配列番号8）の配列を含む。

【0124】

様々な態様において、リシン残基のうちの少なくとも1つは、インスリンB鎖ペプチドのC末端にある。別の態様において、リシン残基のうちの少なくとも2つは、インスリンB鎖ペプチドのC末端にある。さらに別の態様において、リシン残基のうちの3つは、インスリンB鎖ペプチドのC末端にある。

20

【0125】

様々な態様において、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドは、少なくとも1つのジスルフィド結合を介して結合され、インスリンA鎖ペプチドは、GIVEQCCHRICSLYQLENYCN（配列番号1）の配列を含み、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRKK（配列番号8）の配列を含む。別の態様において、B33リシン残基及びB34リシン残基の一方または両方が、修飾されている。さらに別の態様において、B33リシン残基及びB34リシン残基の一方が、修飾されている。さらに別の態様において、B33リシン残基は、修飾されている。さらに別の態様において、B34リシン残基は、修飾されている。さらに別の態様において、B33リシン残基及びB34リシン残基の両方が、修飾されている。

30

【0126】

様々な態様において、インスリンA鎖ペプチドは、GIVEQCCTSLICSLYQLENYCN（配列番号1）またはGIVEQCCTSLICSLYQLENYCG（配列番号3）の配列を含み、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKT（配列番号2）、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRR（配列番号5）、またはFVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRKK（配列番号8）の配列を含む。別の態様において、インスリンA鎖ペプチドは、GIVEQCCTSLICSLYQLENYCN（配列番号1）またはGIVEQCCTSLICSLYQLENYCG（配列番号3）の配列を含み、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRR（配列番号5）またはFVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRKK（配列番号8）の配列を含む。さらに別の態様において、インスリンA鎖ペプチドは、GIVEQCCTSLICSLYQLENYCN（配列番号1）またはGIVEQCCTSLICSLYQLENYCG（配列番号3）の配列を含み、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRKK（配列番号8）の配列を含む。

40

50

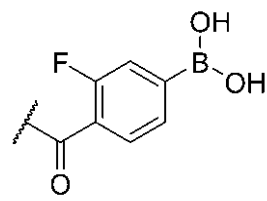
【0127】

様々な態様において、インスリンA鎖ペプチドは、GIVEQCCTSI C SLYQL ENYCN（配列番号1）の配列を含み、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKT（配列番号2）、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRR（配列番号5）、またはFVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRKK（配列番号8）の配列を含む。別の態様において、インスリンA鎖ペプチドは、GIVEQCCTSI C SLYQL ENYCG（配列番号3）の配列を含み、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKT（配列番号2）、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRR（配列番号5）、またはFVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRKK（配列番号8）の配列を含む。

10

【0128】

様々な態様において、インスリンA鎖ペプチドは、GIVEQCCTSI C SLYQL ENYCG（配列番号3）の配列を含み、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRKK（配列番号8）の配列を含み、B29リシン残基は、修飾されておらず、B33リシン残基及びB34リシン残基のそれぞれは、有機ホウ酸基に直接結合しており、有機ホウ酸基のそれぞれの出現は、下記式によって表される構造を有する



20

【0129】

様々な態様において、ペプチドは、2つの有機ホウ酸基に直接結合している。

【0130】

様々な態様において、ペプチドは、リシン残基を介して少なくとも1つの有機ホウ酸基に直接結合している。別の態様において、ペプチドは、リシン残基を介して1つの有機ホウ酸基に直接結合している。さらに別の態様において、ペプチドは、2つのリシン残基を介して2つの有機ホウ酸基に直接結合している。

30

【0131】

様々な態様において、本開示のペプチドは、1つ以上の非天然アミノ酸、修飾アミノ酸、または合成アミノ酸アナログを含むことができる。そのようなアミノ酸としては、一般的なアミノ酸のD異性体、2,4-ジアミノ酪酸、 α -アミノイソ酪酸、4-アミノ酪酸、2-アミノ酪酸、6-アミノヘキサ酸、2-アミノイソ酪酸、3-アミノプロピオン酸、オルニチン、ノルロイシン、ノルバリン、ヒドロキシプロリン、サルコシン、シトルリン、ホモシトルリン、システイン酸、 ϵ -ブチルグリシン、 ϵ -ブチルアラニン、フェニルグリシン、シクロヘキシルアラニン、シクロペンチルアラニン、 β -アラニン、フルオロアミノ酸、デザイナーアミノ酸、例えば、 β -メチルアミノ酸、 $C\alpha$ -メチルアミノ酸、 $N\alpha$ -メチルアミノ酸、及びアミノ酸アナログ全般が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、ビオチン化、ベンジル化、グリコシル化、アセチル化、リン酸化、アミド化、既知の保護/ブロック基による誘導体化、タンパク質分解切断、抗体分子またはその他の細胞リガンドへの結合などによって合成中または合成後に特異的に修飾されたペプチドも範囲内に含まれる。理論に縛られることを望まないが、これらの修飾がペプチドの安定性及び/または生物活性を高めるのに役立つ場合もある。

40

【0132】

様々な態様において、少なくとも1つのジスルフィド結合を介してB鎖ペプチドと結合したA鎖ペプチドを有する治療用タンパク質であって、インスリンB鎖ペプチドは、少な

50

くとも32のアミノ酸残基を含み、インスリンB鎖ペプチドのアミノ酸残基のうちの少なくとも3つは、リシン残基である、治療用タンパク質が開示されている。理論に縛られることを望まないが、本開示の治療用タンパク質は、医薬組成物に利用することができ、例えば、糖尿病などの障害の処置に関連して使用することができることが理解される。

【0133】

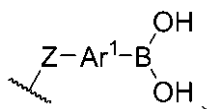
1. 有機ホウ酸基

一態様において、本開示のペプチドは、少なくとも1つの有機ホウ酸基と直接結合している。別の態様において、本開示のペプチドは、1つの有機ホウ酸基と直接結合している。さらに別の態様において、本開示のペプチドは、複数の有機ホウ酸基と直接結合している。さらに別の態様において、本開示のペプチドは、2つの有機ホウ酸基と直接結合している。

10

【0134】

様々な態様において、有機ホウ酸基は、式：

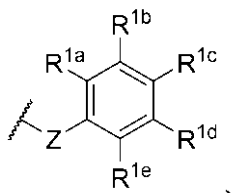


によって表される構造を有し、式中、Zは、C(O)及びSO₂から選択され、Ar¹は、五員アリール、五員ヘテロアリール、六員アリール、及び六員ヘテロアリールから選択され、ハロゲン、-CN、-NO₂、-OH、C1~C4アルキル、C1~C4ハロアルキル、C1~C4ヒドロキシアルキル、C1~C4アルコキシ、C1~C4アルキルアミノ、及び(C1~C4)(C1~C4)ジアルキルアミノから独立して選択される0、1、2、または3つの基で置換される。

20

【0135】

様々な態様において、有機ホウ酸基は、式：



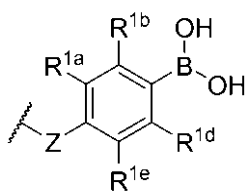
30

によって表される構造を有し、式中、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、及びR^{1e}のそれぞれは、水素、ハロゲン、-CN、-NO₂、-OH、C1~C4アルキル、C1~C4ハロアルキル、C1~C4ヒドロキシアルキル、C1~C4アルコキシ、C1~C4アルキルアミノ、(C1~C4)(C1~C4)ジアルキルアミノ、及び-B(OH)₂から独立して選択される、ただし、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、及びR^{1e}のうちの1つ及び1つのみが、-B(OH)₂である。

【0136】

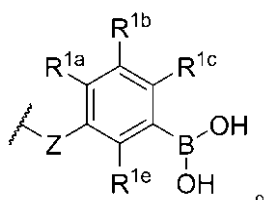
様々な態様において、有機ホウ酸基は、下記式によって表される構造を有する

40



【0137】

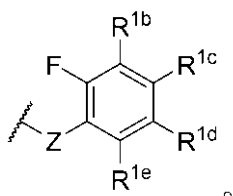
様々な態様において、有機ホウ酸基は、下記式によって表される構造を有する



【 0 1 3 8 】

様々な態様において、有機ホウ酸基は、下記式によって表される構造を有する

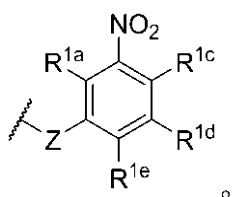
10



【 0 1 3 9 】

様々な態様において、有機ホウ酸基は、下記式によって表される構造を有する

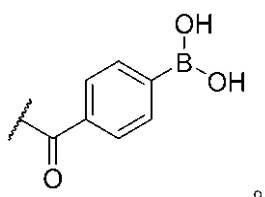
20



【 0 1 4 0 】

様々な態様において、有機ホウ酸基は、下記式によって表される構造を有する

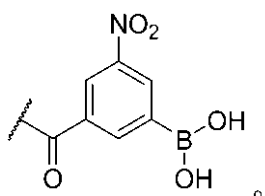
30



【 0 1 4 1 】

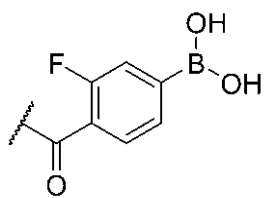
様々な態様において、有機ホウ酸基は、下記式によって表される構造を有する

40



【 0 1 4 2 】

様々な態様において、有機ホウ酸基は、下記式によって表される構造を有する



【 0 1 4 3 】

50

a. Z 基

一態様において、Zは、C(O)及びSO₂から選択される。別の態様において、Zは、C(O)である。さらに別の態様において、Zは、SO₂である。

【0144】

b. R^{1A}、R^{1B}、R^{1C}、R^{1D}、及びR^{1E}基

一態様において、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、及びR^{1e}のそれぞれは、水素、ハロゲン、-CN、-NO₂、-OH、C1～C4アルキル、C1～C4ハロアルキル、C1～C4ヒドロキシアルキル、C1～C4アルコキシ、C1～C4アルキルアミノ、(C1～C4)(C1～C4)ジアルキルアミノ、及び-B(OH)₂から独立して選択される、ただし、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、及びR^{1e}のうちの1つ及び1つのみが、-B(OH)₂である。別の態様において、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、及びR^{1e}のそれぞれは、水素及び-B(OH)₂から独立して選択される。

10

【0145】

別の態様において、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}及びR^{1e}のそれぞれは、水素、-F、-Cl、-CN、-NO₂、-OH、C1～C4アルキル、C1～C4ハロアルキル、C1～C4ヒドロキシアルキル、C1～C4アルコキシ、C1～C4アルキルアミノ、(C1～C4)(C1～C4)ジアルキルアミノ、及び-B(OH)₂から独立して選択される。さらに別の態様において、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、及びR^{1e}のそれぞれは、水素、-F、-Cl、-CN、-NO₂、-OH、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、-CF₃、-CHF₂、-CH₂F、-CH₂CH₂F、-CH(CH₃)CH₂F、-CH₂CH₂CH₂F、-CCl₃、-CHCl₂、-CH₂Cl、-CH₂CH₂Cl、-CH(CH₃)CH₂Cl、-CH₂CH₂CH₂Cl、-CH₂OH、-CH₂CH₂OH、-CH(CH₃)CH₂OH、-CH₂CH₂CH₂OH、-OCH₃、-OCH₂CH₃、-OCH(CH₃)₂、-OCH₂CH₂CH₃、-NHCH₃、-NHCH₂CH₃、-NHCH(CH₃)₂、-NHCH₂CH₂CH₃、-N(CH₃)₂、-N(CH₃)CH₂CH₃、-N(CH₂CH₃)CH₂CH₃、-N(CH₃)CH(CH₃)₂、-N(CH₃)CH₂CH₂CH₃、及び-B(OH)₂から独立して選択される。さらに別の態様において、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}及びR^{1e}のそれぞれは、水素、-F、-Cl、-CN、-NO₂、-OH、メチル、エチル、-CF₃、-CHF₂、-CH₂F、-CH₂CH₂F、-CCl₃、-CHCl₂、-CH₂Cl、-CH₂CH₂Cl、-CH₂OH、-CH₂CH₂OH、-OCH₃、-OCH₂CH₃、-NHCH₃、-NHCH₂CH₃、-N(CH₃)₂、-N(CH₃)CH₂CH₃、-N(CH₂CH₃)CH₂CH₃、及び-B(OH)₂から独立して選択される。さらに別の態様において、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}及びR^{1e}のそれぞれは、水素、-F、-Cl、-CN、-NO₂、-OH、メチル、-CF₃、-CHF₂、-CH₂F、-CCl₃、-CHCl₂、-CH₂Cl、-CH₂CH₂Cl、-CH₂OH、-OCH₃、-OCH₂CH₃、-NHCH₃、-N(CH₃)₂、及び-B(OH)₂から独立して選択される。

20

30

【0146】

別の態様において、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、及びR^{1e}のそれぞれは、水素、ハロゲン及び-B(OH)₂から独立して選択される。さらに別の態様において、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、及びR^{1e}のそれぞれは、水素、-F、-Cl、-Br、及び-B(OH)₂から独立して選択される。さらに別の態様において、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、及びR^{1e}のそれぞれは、水素、-F、-Cl、及び-B(OH)₂から独立して選択される。さらに別の態様において、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、及びR^{1e}のそれぞれは、水素、-F及び-B(OH)₂から独立して選択される。

40

【0147】

別の態様において、R^{1a}は、-B(OH)₂である。さらに別の態様において、R^{1b}は、-B(OH)₂である。さらに別の態様において、R^{1c}は、-B(OH)₂である。さらに別の態様において、R^{1d}は、-B(OH)₂である。さらに別の態様において、R^{1e}は、-B(OH)₂である。

【0148】

50

別の態様において、 R^{1a} 、 R^{1b} 、 R^{1c} 、 R^{1d} 、及び R^{1e} のうちの1つは、ハロゲンである。別の態様において、 R^{1a} 、 R^{1b} 、 R^{1c} 、 R^{1d} 、及び R^{1e} のうちの1つは、 $-F$ である。

【0149】

別の態様において、 R^{1a} は、ハロゲンである。さらに別の態様において、 R^{1a} は、 $-F$ である。

【0150】

c. Ar^1 基

一態様において、 Ar^1 は、五員アリール、五員ヘテロアリール、六員アリール、及び六員ヘテロアリールから選択され、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OH$ 、 $C1\sim C4$ アルキル、 $C1\sim C4$ ハロアルキル、 $C1\sim C4$ ヒドロキシアルキル、 $C1\sim C4$ アルコキシ、 $C1\sim C4$ アルキルアミノ、及び $(C1\sim C4)(C1\sim C4)$ ジアルキルアミノから独立して選択される0、1、2、または3つの基で置換される。別の態様において、 Ar^1 は、五員アリール、五員ヘテロアリール、六員アリール、及び六員ヘテロアリールから選択され、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OH$ 、 $C1\sim C4$ アルキル、 $C1\sim C4$ ハロアルキル、 $C1\sim C4$ ヒドロキシアルキル、 $C1\sim C4$ アルコキシ、 $C1\sim C4$ アルキルアミノ、及び $(C1\sim C4)(C1\sim C4)$ ジアルキルアミノから独立して選択される0、1、または2つの基で置換される。さらに別の態様において、 Ar^1 は、五員アリール、五員ヘテロアリール、六員アリール、及び六員ヘテロアリールから選択され、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OH$ 、 $C1\sim C4$ アルキル、 $C1\sim C4$ ハロアルキル、 $C1\sim C4$ ヒドロキシアルキル、 $C1\sim C4$ アルコキシ、 $C1\sim C4$ アルキルアミノ、及び $(C1\sim C4)(C1\sim C4)$ ジアルキルアミノから選択される0または1つの基で置換される。さらに別の態様において、 Ar^1 は、五員アリール、五員ヘテロアリール、六員アリール、及び六員ヘテロアリールから選択され、無置換である。

【0151】

様々な態様において、 Ar^1 は、五員アリール及び五員ヘテロアリールから選択され、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OH$ 、 $C1\sim C4$ アルキル、 $C1\sim C4$ ハロアルキル、 $C1\sim C4$ ヒドロキシアルキル、 $C1\sim C4$ アルコキシ、 $C1\sim C4$ アルキルアミノ、及び $(C1\sim C4)(C1\sim C4)$ ジアルキルアミノから独立して選択される0、1、2、または3つの基で置換される。別の態様において、 Ar^1 は、五員アリール及び五員ヘテロアリールから選択され、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OH$ 、 $C1\sim C4$ アルキル、 $C1\sim C4$ ハロアルキル、 $C1\sim C4$ ヒドロキシアルキル、 $C1\sim C4$ アルコキシ、 $C1\sim C4$ アルキルアミノ、及び $(C1\sim C4)(C1\sim C4)$ ジアルキルアミノから独立して選択される0、1、または2つの基で置換される。さらに別の態様において、 Ar^1 は、五員アリール及び五員ヘテロアリールから選択され、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OH$ 、 $C1\sim C4$ アルキル、 $C1\sim C4$ ハロアルキル、 $C1\sim C4$ ヒドロキシアルキル、 $C1\sim C4$ アルコキシ、 $C1\sim C4$ アルキルアミノ、及び $(C1\sim C4)(C1\sim C4)$ ジアルキルアミノから選択される0または1つの基で置換される。さらに別の態様において、 Ar^1 は、五員アリール及び五員ヘテロアリールから選択され、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OH$ 、 $C1\sim C4$ アルキル、 $C1\sim C4$ ハロアルキル、 $C1\sim C4$ ヒドロキシアルキル、 $C1\sim C4$ アルコキシ、 $C1\sim C4$ アルキルアミノ、及び $(C1\sim C4)(C1\sim C4)$ ジアルキルアミノから選択される基で一置換される。さらに別の態様において、 Ar^1 は、五員アリール及び五員ヘテロアリールから選択され、無置換である。

【0152】

様々な態様において、 Ar^1 は、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-OH$ 、 $C1\sim C4$ アル

キル、C 1～C 4 ハロアルキル、C 1～C 4 ヒドロキシアルキル、C 1～C 4 アルコキシ、C 1～C 4 アルキルアミノ、及び (C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから独立して選択される 0、1、2、または 3 つの基で置換された五員アリールである。別の態様において、Ar¹は、ハロゲン、-CN、-NO₂、-OH、C 1～C 4 アルキル、C 1～C 4 ハロアルキル、C 1～C 4 ヒドロキシアルキル、C 1～C 4 アルコキシ、C 1～C 4 アルキルアミノ、及び (C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから独立して選択される 0、1、または 2 つの基で置換された五員アリールである。さらに別の態様において、Ar¹は、ハロゲン、-CN、-NO₂、-OH、C 1～C 4 アルキル、C 1～C 4 ハロアルキル、C 1～C 4 ヒドロキシアルキル、C 1～C 4 アルコキシ、C 1～C 4 アルキルアミノ、及び (C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから選択される 0 または 1 つの基で置換された五員アリールである。さらに別の態様において、Ar¹は、ハロゲン、-CN、-NO₂、-OH、C 1～C 4 アルキル、C 1～C 4 ハロアルキル、C 1～C 4 ヒドロキシアルキル、C 1～C 4 アルコキシ、C 1～C 4 アルキルアミノ、及び (C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから選択される基で一置換された五員アリールである。さらに別の態様において、Ar¹は、無置換の五員アリールである。

10

【0153】

様々な態様において、Ar¹は、ハロゲン、-CN、-NO₂、-OH、C 1～C 4 アルキル、C 1～C 4 ハロアルキル、C 1～C 4 ヒドロキシアルキル、C 1～C 4 アルコキシ、C 1～C 4 アルキルアミノ、及び (C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから独立して選択される 0、1、2、または 3 つの基で置換された五員ヘテロアリールである。五員ヘテロアリールの例としては、フラニル、ピロリル、チオフェニル、イミダゾリル、ピラゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、及びチアゾリルが挙げられるが、これらに限定されない。別の態様において、Ar¹は、ハロゲン、-CN、-NO₂、-OH、C 1～C 4 アルキル、C 1～C 4 ハロアルキル、C 1～C 4 ヒドロキシアルキル、C 1～C 4 アルコキシ、C 1～C 4 アルキルアミノ、及び (C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから独立して選択される 0、1、または 2 つの基で置換された五員ヘテロアリールである。さらに別の態様において、Ar¹は、ハロゲン、-CN、-NO₂、-OH、C 1～C 4 アルキル、C 1～C 4 ハロアルキル、C 1～C 4 ヒドロキシアルキル、C 1～C 4 アルコキシ、C 1～C 4 アルキルアミノ、及び (C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから選択される 0 または 1 つの基で置換された五員ヘテロアリールである。さらに別の態様において、Ar¹は、ハロゲン、-CN、-NO₂、-OH、C 1～C 4 アルキル、C 1～C 4 ハロアルキル、C 1～C 4 ヒドロキシアルキル、C 1～C 4 アルコキシ、C 1～C 4 アルキルアミノ、及び (C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから選択される基で一置換された五員ヘテロアリールである。さらに別の態様において、Ar¹は、無置換の五員ヘテロアリールである。

20

30

【0154】

様々な態様において、Ar¹は、六員アリール及び六員ヘテロアリールから選択され、ハロゲン、-CN、-NO₂、-OH、C 1～C 4 アルキル、C 1～C 4 ハロアルキル、C 1～C 4 ヒドロキシアルキル、C 1～C 4 アルコキシ、C 1～C 4 アルキルアミノ、及び (C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから独立して選択される 0、1、2、または 3 つの基で置換される。別の態様において、Ar¹は、六員アリール及び六員ヘテロアリールから選択され、ハロゲン、-CN、-NO₂、-OH、C 1～C 4 アルキル、C 1～C 4 ハロアルキル、C 1～C 4 ヒドロキシアルキル、C 1～C 4 アルコキシ、C 1～C 4 アルキルアミノ、及び (C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから独立して選択される 0、1、または 2 つの基で置換される。さらに別の態様において、Ar¹は、六員アリール及び六員ヘテロアリールから選択され、ハロゲン、-CN、-NO₂、-OH、C 1～C 4 アルキル、C 1～C 4 ハロアルキル、C 1～C 4 ヒドロキシアルキル、C 1～C 4 アルコキシ、C 1～C 4 アルキルアミノ、及び (C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから選択される 0 または 1 つの基で置換される。さらに別の態様において、Ar¹は、六員アリール及び六員ヘテロアリールから選択され、ハロゲン、-CN、

40

50

—NO₂、—OH、C 1～C 4アルキル、C 1～C 4ハロアルキル、C 1～C 4ヒドロキシアルキル、C 1～C 4アルコキシ、C 1～C 4アルキルアミノ、及び(C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから選択される基で一置換される。さらに別の態様において、Ar¹は、六員アリール及び六員ヘテロアリールから選択され、無置換である。

【0155】

様々な態様において、Ar¹は、ハロゲン、—CN、—NO₂、—OH、C 1～C 4アルキル、C 1～C 4ハロアルキル、C 1～C 4ヒドロキシアルキル、C 1～C 4アルコキシ、C 1～C 4アルキルアミノ、及び(C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから独立して選択される0、1、2、または3つの基で置換された六員アリールである。別の態様において、Ar¹は、ハロゲン、—CN、—NO₂、—OH、C 1～C 4アルキル、C 1～C 4ハロアルキル、C 1～C 4ヒドロキシアルキル、C 1～C 4アルコキシ、C 1～C 4アルキルアミノ、及び(C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから独立して選択される0、1、または2つの基で置換された六員アリールである。さらに別の態様において、Ar¹は、ハロゲン、—CN、—NO₂、—OH、C 1～C 4アルキル、C 1～C 4ハロアルキル、C 1～C 4ヒドロキシアルキル、C 1～C 4アルコキシ、C 1～C 4アルキルアミノ、及び(C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから選択される0または1つの基で置換された六員アリールである。さらに別の態様において、Ar¹は、ハロゲン、—CN、—NO₂、—OH、C 1～C 4アルキル、C 1～C 4ハロアルキル、C 1～C 4ヒドロキシアルキル、C 1～C 4アルコキシ、C 1～C 4アルキルアミノ、及び(C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから選択される基で一置換された六員アリールである。さらに別の態様において、Ar¹は、無置換の六員アリールである。

10

20

【0156】

様々な態様において、Ar¹は、ハロゲン、—CN、—NO₂、—OH、C 1～C 4アルキル、C 1～C 4ハロアルキル、C 1～C 4ヒドロキシアルキル、C 1～C 4アルコキシ、C 1～C 4アルキルアミノ、及び(C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから独立して選択される0、1、2、または3つの基で置換された六員ヘテロアリールである。六員ヘテロアリールの例としては、ピリジニル、ピラジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、1, 2, 3-トリアジニル、1, 2, 4-トリアジニル、及び1, 3, 5-トリアジニルが挙げられるが、これらに限定されない。別の態様において、Ar¹は、ハロゲン、—CN、—NO₂、—OH、C 1～C 4アルキル、C 1～C 4ハロアルキル、C 1～C 4ヒドロキシアルキル、C 1～C 4アルコキシ、C 1～C 4アルキルアミノ、及び(C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから独立して選択される0、1、または2つの基で置換された六員ヘテロアリールである。さらに別の態様において、Ar¹は、ハロゲン、—CN、—NO₂、—OH、C 1～C 4アルキル、C 1～C 4ハロアルキル、C 1～C 4ヒドロキシアルキル、C 1～C 4アルコキシ、C 1～C 4アルキルアミノ、及び(C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから選択される0または1つの基で置換された六員ヘテロアリールである。さらに別の態様において、Ar¹は、ハロゲン、—CN、—NO₂、—OH、C 1～C 4アルキル、C 1～C 4ハロアルキル、C 1～C 4ヒドロキシアルキル、C 1～C 4アルコキシ、C 1～C 4アルキルアミノ、及び(C 1～C 4) (C 1～C 4) ジアルキルアミノから選択される基で一置換された六員ヘテロアリールである。さらに別の態様において、Ar¹は、無置換の六員ヘテロアリールである。

30

40

【0157】

C. 医薬組成物

一態様において、治療上有効量の1つ以上の本開示のペプチド及び薬学上許容されるキャリアを含む医薬組成物が開示される。したがって、様々な態様において、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドを含む治療上有効量のペプチドを含む医薬組成物であって、インスリンB鎖ペプチドは、少なくとも32のアミノ酸残基を含み、インスリンB鎖ペプチドのアミノ酸残基のうちの少なくとも3つは、リシン残基である、医薬組成物が開示される。様々なさらなる態様において、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドを含む治療上有効量のペプチドを含む医薬組成物であって、ペプチドは、少

50

なくとも1つの有機ホウ酸基に直接結合している、医薬組成物が開示される。

【0158】

様々な態様において、グルコース依存的な溶解性を有するインスリン誘導体を含む組成物が開示される。別の態様において、グルコース結合時、負電荷の発生のためインスリン誘導体組成物の等電点（pI）が低下する。したがって、低血糖条件の間、インスリンはインスリングルギンのような微結晶のままであるが、血糖レベルが上昇すると、溶解性が高まり、インスリンを単量体にし、バイオアベイラビリティが高まる。

【0159】

様々な態様において、本開示のペプチドは、薬学上許容されるキャリア中において、またはそれとともに製剤化すること及び／または投与することができる。本明細書中で使用される場合、「薬学上許容されるキャリア」という用語は、滅菌の水性または非水性の、溶液、分散液、懸濁液またはエマルジョン、ならびに使用直前に滅菌注射液または分散液へと再構築するための滅菌粉末を指す。適切な水性及び非水性の、キャリア、希釈剤、溶媒、またはビヒクルの例として、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど）、カルボキシメチルセルロース及びそれらの適切な混合物、植物油（例えば、オリーブ油など）、ならびにオレイン酸エチルなどの注射用有機エステルが挙げられる。適正な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティング材の使用によって、分散液の場合には必要とされる粒径の維持によって、及び界面活性剤の使用によって、維持することができる。これらの組成物はまた、防腐剤、湿潤剤、乳化剤、及び分散剤などのアジュバントを含んでもよい。微生物の作用の予防は、様々な抗菌剤及び抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸などを含めることによって確実にすることができる。糖、塩化ナトリウムなどの等張化剤を含むことが望ましい場合もある。注射可能な医薬形態の持続的吸収は、吸収を遅延させるモノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンなどの薬剤を含めることによってもたすことができる。注射可能なデポー形態は、ポリラクチド・ポリグリコリド、ポリ（オルトエステル）及びポリ（無水物）などの生分解性ポリマー中に薬物のマイクロカプセル化マトリックスを形成することによって作製される。ポリマーに対する薬物の比及び利用される特定のポリマーの性質により、薬物放出の速度を制御することができる。注入可能なデポー製剤はまた、体組織と適合したリポソームまたはマイクロエマルジョン中に薬物を封入することによって作製される。注射可能な製剤は、例えば、細菌を保持するフィルターに通して濾過することにより、または使用直前に滅菌水または他の滅菌注射可能媒体に溶解または分散され得る滅菌固体組成物の形態で滅菌剤を組み込むことによって、滅菌することができる。適した不活性キャリアとしては、ラクトースなどの糖を挙げることができる。望ましくは、活性成分の粒子の少なくとも95重量%が0.01から10マイクロメートルの範囲の有効な粒度を有する。

【0160】

したがって、本明細書中で開示されている組成物は、脂質、例えば、カチオン性リポソーム（例えば、DOTMA、DOPE、DC-コレステロール）またはアニオン性リポソームなどのリポソームを含んでもよい。リポソームは、必要に応じて、特定の細胞の標的化を促進するためのタンパク質をさらに含んでもよい。ペプチド及びカチオン性リポソームを含む組成物の投与は、血液、標的とする臓器に投与されても、または気道の細胞を標的とするよう気道に吸入されてもよい。例えば、本明細書に記載されているペプチドまたは核酸配列及びカチオン性リポソームを含む組成物は、対象の肺細胞に投与されてもよい。リポソームに関しては、例えば、Brigham et al. Am. J. Resp. Cell. Mol. Biol. 1:95-100 (1989); Felgner et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:7413-7417 (1987); 米国特許第4,897,355号を参照。さらに、化合物は、マクロファージなどの特定の細胞タイプを標的とすることが可能なマイクロカプセルの成分として投与されてもよく、または、この場合、マイクロカプセルからの化合物の拡散または化合物の送達が特定の速度または投与量に合わせて設計される。

【0161】

様々な態様において、本明細書に記載されている任意の本開示のペプチド、または薬学上許容されるその塩もしくは溶媒和物、及び薬学上許容されるキャリア、緩衝剤、または希釈剤を含む医薬組成物が開示される。様々な態様において、医薬組成物のペプチドは、送達ビヒクル中にカプセル化される。別の態様において、送達ビヒクルは、リボソーム、マイクロカプセル、またはナノ粒子である。さらに別の態様において、送達ビヒクルは、ベグ化される。

【0162】

本明細書に記載されている方法において、組成物の細胞への送達は、様々なメカニズムによるものであってもよい。上で定義されたとおり、任意の1つ以上の本明細書に記載されているペプチドを含み、さらに薬学上許容されるキャリアなどのキャリアを含んでもよい組成物が本明細書中で開示される。例えば、本明細書中で開示されているペプチド、及び薬学上許容されるキャリアを含む医薬組成物が開示される。

10

【0163】

様々な態様において、本開示のペプチドを含む医薬組成物が開示される。すなわち、治療上有効量の少なくとも1つの開示されているペプチドまたは開示されている方法の少なくとも1つの生成物及び薬学上許容されるキャリアを含む医薬組成物を提供することができる。

【0164】

様々な態様において、本開示の医薬組成物は、活性成分として（薬学上許容されるその塩（複数可）を含む）本開示のペプチド、薬学上許容されるキャリア、及び、任意選択で、その他の治療用成分またはアジュバントを含む。本発明の組成物は、経口、直腸、局所、及び非経口（皮下、筋肉内、及び静脈内を含む）投与に適したものを含むが、どのような症例であれ、最適な経路は、その特定の宿主、ならびに活性成分が投与されている状態の性質及び重篤度に依存することになる。医薬組成物は、都合よく単位剤形で提示されてもよく、薬学分野で周知である任意の方法により調製することができる。

20

【0165】

様々な態様において、薬学上許容されるキャリアまたは希釈剤及び、活性成分として、治療上有効量の開示されているペプチド、開示されている生成する方法の生成物、薬学上許容されるその塩、溶媒和物、もしくは多形、その水和物、その溶媒和物、その多形、またはその立体化学的異性体を含む医薬組成物が開示される。別の態様において、開示されているペプチド、開示されている生成する方法の生成物、薬学上許容されるその塩、溶媒和物、もしくは多形、その水和物、その溶媒和物、その多形、またはその立体化学的異性体、あるいはその任意のサブグループもしくは組み合わせが、投与のための様々な医薬形態に製剤化されてもよい。

30

【0166】

本明細書中で使用される、「薬学上許容される塩」は、薬学上許容される非毒性の塩基または酸から調製される塩を指す。本発明の化合物が酸性の場合、その対応する塩を無機塩基及び有機塩基を含む薬学上許容される無毒性の塩基から都合よく調製することができる。そのような無機塩基から誘導される塩としては、アルミニウム、アンモニウム、カルシウム、銅（copperic）、銅（copperous）、第二鉄、第一鉄、リチウム、マグネシウム、マンガン（manganic）、マンガン（manganous）、カリウム、ナトリウム、亜鉛及び同種のものの塩が挙げられる。アンモニウム、カルシウム、マグネシウム、カリウム及びナトリウム塩が特に好ましい。薬学上許容される無毒性の有機塩基から誘導される塩としては、一級、二級及び三級アミン、ならびに環式アミン及び天然及び合成置換アミンなどの置換アミンの塩が挙げられる。塩を形成することができるその他の薬学上許容される無毒性の有機塩基としては、イオン交換樹脂、例えば、アルギニン、ベタイン、カフェイン、コリン、N, N'-ジベンジルエチレンジアミン、ジエチルアミン、2-ジエチルアミノエタノール、2-ジメチルアミノエタノール、エタノールアミン、エチレンジアミン、N-エチルモルホリン、N-エチルピペリジン、グルカ

40

50

ミン、グルコサミン、ヒスチジン、ヒドラバミン、イソプロピルアミン、リジン、メチルグルカミン、モルホリン、ピペラジン、ピペリジン、ポリアミン樹脂、プロカイン、プリン、テオブロミン、トリエチルアミン、トリメチルアミン、トリプロピルアミン、トロメタミンなどが挙げられる。

【0167】

本明細書中で使用される場合、「薬学上許容される無毒性の酸」という用語は、無機酸、有機酸、及びそれから調製される塩、例えば、酢酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、カンファースルホン酸、クエン酸、エタンスルホン酸、フマル酸、グルコン酸、グルタミン酸、臭化水素酸、塩酸、イセチオン酸、乳酸、マレイン酸、リンゴ酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、粘液酸、硝酸、パモ酸、パントテン酸、リン酸、コハク酸、硫酸、酒石酸、p-トルエンスルホン酸などを含む。クエン酸、臭化水素酸、塩酸、マレイン酸、リン酸、硫酸、及び酒石酸が好ましい。

10

【0168】

治療的使用に対しては、本開示の化合物の塩は、対イオンが薬学上許容されるものである。しかしながら、薬学上許容されない酸及び塩基の塩もまた、例えば、薬学上許容される化合物の調製または精製に使用される場合もある。薬学上許容されるか否かにかかわらず、すべての塩が本発明の範囲内に含まれる。

【0169】

本明細書の上下で記述される薬学上許容される酸及び塩基付加塩は、本開示の化合物を形成することができる治療上有効な無毒性の酸及び塩基付加塩の形態を含むことを意味する。薬学上許容される酸付加塩は、塩基形態をそのような適切な酸で処理することによって都合よく得ることができる。適切な酸は、例えば、無機酸、例えば、ハロゲン化水素酸、例えば、塩酸もしくは臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸及び同種のものの酸；または有機酸、例えば、酢酸、プロパン酸、ヒドロキシ酢酸、乳酸、ピルビン酸、シュウ酸（すなわち、エタン二酸）、マロン酸、コハク酸（すなわち、ブタン二酸）、マレイン酸、フマル酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、シクラミン酸、サリチル酸、p-アミノサリチル酸、パモ酸及び同種のものの酸を含む。反対に、上記塩形態が適切な塩基による処理によって遊離塩基形態に変換されてもよい。

20

【0170】

酸性プロトンを含む本開示の化合物も、適切な有機及び無機塩基による処理によってその無毒性の金属またはアミン付加塩形態に変換されてもよい。適切な塩基塩形態は、例えば、アンモニウム塩、アルカリ及びアルカリ土類金属塩、例えば、リチウム、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム塩など、有機塩基、例えば、一級、二級及び三級脂肪族及び芳香族アミン、例えば、メチルアミン、エチルアミン、プロピルアミン、イソプロピルアミン、4つのブチルアミン異性体、ジメチルアミン、ジエチルアミン、ジエタノールアミン、ジプロピルアミン、ジイソプロピルアミン、ジ-n-ブチルアミン、ピロリジン、ピペリジン、モルホリン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、キヌクリジン、ピリジン、キノリン及びイソキノリンとの塩；ベンザチン、N-メチル-D-グルカミン、ヒドラバミン塩、ならびに例えば、アルギニン、リジンなどのアミノ酸との塩を含む。反対に、塩形態が酸による処理によって遊離酸形態に変換されてもよい。

30

40

【0171】

実際には、本発明の本明細書に記載されているペプチド、または薬学上許容されるその塩は、従来の医薬品合成技術により医薬キャリアとの均質混合物中に活性成分として混合されてもよい。キャリアは、投与、例えば、経口または（静脈内を含む）非経口投与に望ましい調製物の形態に応じて多種の形態を取り得る。したがって、本発明の医薬組成物は、それぞれが所定量の活性成分を含むカプセル、カシェ剤または錠剤などの経口投与に適した個別の単位として提示することができる。さらに、組成物は、粉末、顆粒、溶液、水性液体中の懸濁液、非水性液体、水中油型エマルジョンまたは油中水型液体エマルジョン

50

として提示することができる。上記の一般的な剤形に加えて、本発明の化合物、及び／または薬学上許容されるその塩（複数可）はまた、制御放出手段及び／または送達装置によって投与することができる。組成物は、薬学の任意の方法によって調製することができる。一般に、そのような方法は、活性成分を1つ以上の必要な成分を構成するキャリアと会合させる工程を含む。一般に、組成物は、活性成分を液体キャリアもしくは微粉化固体キャリア、またはそれらの両方と均一かつ密接に混合することによって調製される。その後、生成物は、所望の外見に都合よく成形されてもよい。

【0172】

投与の容易性及び投薬量の均一性のために、上記医薬組成物を単位剤形に製剤化することがとりわけ有利である。本明細書中で使用される単位剤形は、単位用量として適した物理的に別個の単位を指し、それぞれの単位が必要とされる医薬キャリアと共同で所望の治療効果をもたらすよう算出された所定量の活性成分を含む。そのような単位剤形の例は、錠剤（分割錠またはコーティング錠を含む）、カプセル、丸剤、粉末小包、カシェ剤、座剤、注射用溶液または懸濁液など、及びその分離した複数である。

【0173】

したがって、本発明の医薬組成物は、薬学上許容されるキャリア及び本発明の化合物または化合物の薬学上許容される塩を含んでもよい。「薬学上許容される」とは、当業者に周知のとおり、活性成分のあらゆる劣化を最小限にするため及び対象におけるあらゆる有害な副作用を最小限にするために選択されるであろう材料またはキャリアを意味する。本発明の化合物、または薬学上許容されるその塩はまた、1つ以上の他の治療上有効な化合物と組み合わせて医薬組成物に含まれてもよい。

【0174】

利用される医薬キャリアは、例えば、固体、液体、または気体が可能である。固体キャリアの例としては、ラクトース、白土、スクロース、タルク、ゼラチン、寒天、ペクチン、アラビアゴム、ステアリン酸マグネシウム、及びステアリン酸が挙げられる。液体キャリアの例は、液糖、ピーナッツ油、オリーブ油、及び水である。ガス状キャリアの例としては、二酸化炭素及び窒素が挙げられる。キャリアのその他の例としては、ミリスチルホスファチジル（DMPC）、リン酸緩衝食塩水または多胞性リポソームが挙げられる。例えば、PG：PC：コレステロール：ペプチドまたはPC：ペプチドが本発明においてキャリアとして使用されてもよい。その他の適した薬学上許容されるキャリア及びそれらの製剤は、Remington：The Science and Practice of Pharmacy（19th ed.）ed. A. R. Gennaro， Mack Publishing Company， Easton， PA 1995に記載されている。典型的には、適切な量の薬学上許容される塩を製剤に用いて、製剤を等張にする。薬学的上許容されるキャリアの他の例としては、生理食塩水、リンゲル液、及びデキストロース溶液が挙げられるが、これらに限定されない。溶液のpHは、約5から約8、または約7から7.5が可能である。さらなるキャリアとしては、組成物を含む固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスなどの持続放出調製物が挙げられ、そのマトリックスは、成形物の形態、例えば、フィルム、（血管形成術の間に血管に挿入される）ステント、リポソームまたは微粒子である。特定のキャリアは、例えば、投与経路及び投与される組成物の濃度に応じてさらに好適になる場合があることは当業者には明白であろう。最も典型的には、これらは、滅菌水、生理的食塩水、及び生理的なpHの緩衝溶液などの溶液を含む、薬物のヒトへの投与のための標準的なキャリアであろう。

【0175】

医薬組成物中における本開示のペプチドの溶解性及び／または安定性を向上させるために、 α -、 β -もしくは γ -サイクロデキストリンまたはそれらの誘導体、特に、ヒドロキシアルキル置換サイクロデキストリン、例えば、2-ヒドロキシプロピル β -サイクロデキストリンもしくはスルホブチル β -サイクロデキストリンを利用するのが有利な可能性がある。アルコールなどの共溶媒も医薬組成物中における本発明による化合物の溶解性及び／または安定性を向上させる場合がある。

【0176】

医薬組成物はまた、本発明のポリペプチド、ペプチド、核酸、ベクターの意図される活性が損なわれない限り、キャリア、増粘剤、希釈剤、緩衝剤、保存料なども含むことができる。医薬組成物はまた、（本発明の組成物に加えて）1つ以上の活性成分、例えば、抗菌剤、抗炎症剤、麻酔薬などを含んでもよい。医薬組成物は、局所処置が所望されるか、または全身処置が所望されるかに応じて、さらに処置される領域に応じて多数の方法で投与することができる。

【0177】

投与の容易さの理由から経口投与が好ましく、錠剤及びカプセルが最も有利な経口用単位剤形であり、この場合、固体医薬キャリアが利用されるのは明白である。経口用剤形のための組成物の調製に、任意の都合のよい医薬媒体を利用することができる。経口用液体調製物、例えば、懸濁剤、エリキシル剤及び液剤を形成するために、例えば、水、グリコール、油、アルコール、香味料、保存料、着色剤などを使用することができ、経口用固体調製物、例えば、散剤、カプセル剤及び錠剤を形成するためにキャリア、例えば、デンプン、糖、微結晶性セルロース、希釈剤、造粒剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤などを使用することができる。投与の容易さの理由から、錠剤及びカプセルが好ましい経口用投与単位であり、それによって、固体医薬キャリアが利用される。任意選択で、錠剤は、標準的な湿式技法または乾式技法によりコーティングすることができる。

【0178】

経口投与のための組成物として、粉末もしくは顆粒、水もしくは非水性媒体中の懸濁液もしくは溶液、カプセル、小袋、または錠剤が挙げられる。増粘剤、香味剤、希釈剤、乳化剤、分散補助剤、または結合剤が望ましい場合もある。一部の組成物は、場合によって、無機酸、例えば、塩酸、臭化水素酸、過塩素酸、硝酸、チオシアン酸、硫酸、及びリン酸、ならびに有機酸、例えば、ギ酸、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、乳酸、ピルビン酸、シュウ酸、マロン酸、コハク酸、マレイン酸、及びフマル酸との反応によって、または無機塩基、例えば、水酸化ナトリウム、水酸化アンモニウム、水酸化カリウム、ならびに有機塩基、例えば、モノ、ジ、トリアルキル及びアリールアミン及び置換エタノールアミンとの反応によって形成される薬学上許容される酸または塩基付加塩として投与される場合もある。

【0179】

本発明の組成物を含む錠剤は、圧縮または型成形により任意選択で1つ以上の補助成分またはアジュバントとともに調製することができる。圧縮錠は、任意選択で結合剤、滑沢剤、不活性希釈剤、界面活性剤または分散剤と混合された粉末または顆粒などの自由流動形態の活性成分を適切な機械で圧縮することによって調製することができる。湿製錠は、適切な機械において、湿った粉末化合物と不活性液体希釈剤の混合物を型成形することによって作製することができる。

【0180】

本発明の医薬組成物は、活性成分としてs P R R（または薬学上許容されるその塩）などのペプチド、薬学上許容されるキャリア、及び任意選択で1つ以上の追加の治療用薬剤またはアジュバントを含む。本組成物は、経口、直腸、局所、及び非経口（皮下、筋肉内、及び静脈内を含む）投与に適した組成物を含むが、どのような症例であれ、最適な経路は、その特定の宿主、ならびに活性成分が投与されている状態の性質及び重篤度に依存することになる。医薬組成物は、都合よく単位剤形で提示することができ、薬学分野で周知である任意の方法により調製することができる。

【0181】

非経口投与に適した本発明の医薬組成物は、活性化合物の水中の溶液または懸濁液として調製することができる。例えば、ヒドロキシプロピルセルロースなどの適した界面活性剤が含まれてもよい。分散液はまた、グリセロール、液体ポリエチレングリコール、または油中のそれらの混合物中に調製することができる。さらに、微生物の有害な増殖を防ぐために保存料が含まれてもよい。

【0182】

注射使用に適した本発明の医薬組成物としては、滅菌水溶液または分散液が挙げられる。さらに、組成物は、そのような注射可能な滅菌溶液または分散液の即時の調製のための滅菌粉末の形態であってもよい。典型的には、最終的な注射可能な形態は、滅菌されていなければならない、容易に注射できるために事実上に流動性でなければならない。医薬組成物は、製造及び保管の条件下で安定でなければならないため、好ましくは、細菌及び真菌などの微生物の汚染作用から保護されなければならない。キャリアは、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、及び液体ポリエチレングリコール）、植物油、及び適したそれらの混合物を含む溶媒または分散媒であってもよい。

10

【0183】

例えば、キャリアが生理食塩水、グルコース溶液または生理的食塩水とグルコース溶液の混合物を含む注射用溶液が調製されてもよい。注射用懸濁液も調製されてもよく、その場合、適切な液体キャリア、懸濁化剤などが利用されてもよい。使用直前に液体形態調製物に変えられることが意図される固体形態調製物も含まれる。

【0184】

非経口投与の調製物としては、滅菌水性または非水性溶液、懸濁液、及びエマルジョンが挙げられる。非水性溶媒の例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油、例えば、オリーブ油、及び注射可能な有機エステル、例えば、オレイン酸エチルである。水性キャリアとしては、水、アルコール／水性溶液、エマルジョンまたは懸濁液が挙げられ、生理食塩水及び緩衝媒体を含む。非経口ビヒクルとしては、塩化ナトリウム溶液、リンゲルデキストロース、デキストロース及び塩化ナトリウム、乳酸リンゲルまたは固定油が挙げられる。静脈内ビヒクルとしては、体液及び栄養補充液、電解質補充液（例えば、リンゲルデキストロースに基づくものなど）が挙げられる。例えば、抗菌剤、抗酸化剤、キレート剤、及び不活性ガスなどの保存剤及び他の添加物も、存在してもよい。

20

【0185】

本発明の医薬組成物は、例えば、エアロゾル、クリーム、軟膏、ローション、散布剤、口内洗浄剤、含嗽剤などの局所使用に適した形態が可能である。さらに、組成物は、経皮デバイスにおける使用に適した形態が可能である。こうした製剤は、本発明の化合物、または薬学上許容されるその塩を利用して従来の加工方法により調製することができる。例として、クリームまたは軟膏は、親水性材料及び水を、約5wt%から約10wt%の化合物とともに混合することによって調製され、所望の粘度を有するクリームまたは軟膏を生成する。

30

【0186】

経皮投与に適した組成物において、キャリアは、任意選択で少ない割合で任意の性質の適切な添加物と組み合わせられた任意選択で浸透促進剤及び／または適した湿潤剤を含み、この添加物は皮膚に重大な悪影響をもたらしさない。上記添加物は、皮膚への投与を容易にする場合もあり、及び／または所望の組成物を調製するのに役に立つ場合もある。これらの組成物は、様々な方法で、例えば、経皮パッチとして、スポットオンとして、軟膏として投与されてもよい。

40

【0187】

本発明の医薬組成物は、直腸投与に適した形態であってもよく、この場合、キャリアは、固体である。混合物が単位用量座剤を形成するのが好ましい。適したキャリアとしては、カカオバター及び当該技術分野において一般的に使用される他の材料が挙げられる。座剤は、最初に組成物を軟化した、または溶けたキャリア（複数可）と混合し、続いて冷却し、型中で成形することによって都合よく形成することができる。

【0188】

局所投与のための製剤としては、軟膏、ローション、クリーム、ゲル、ドロップ、坐剤、スプレー、液体、及び粉末を挙げることができる。従来の医薬キャリア、水性、粉末、または油性基剤、増粘剤などが、望ましい場合がある。

50

【0189】

上記のキャリア成分に加えて、上記の医薬製剤は、必要に応じて、1つ以上のさらなるキャリア成分、例えば、希釈剤、緩衝剤、香味料、結合剤、界面活性剤、増粘剤、滑沢剤、保存料（抗酸化剤を含む）などを含んでもよい。さらに、製剤を対象とするレシピエントの血液と等張にするためにその他のアジュバントが含まれてもよい。開示されているペプチド、及び／または薬学上許容されるその塩を含む組成物はまた、粉末または液体濃縮物形態で調製されてもよい。

【0190】

投与の厳密な投与量及び頻度は、当業者に周知のとおり、特定の開示されているペプチド、開示されている生成する方法の生成物、薬学上許容されるその塩、溶媒和物、もしくは多形、その水和物、その溶媒和物、その多形、またはその立体化学的異性体；処置されている特定の状態及び処置されている状態の重篤度；投与量が投与される対象の病歴に固有の様々な要因、例えば、年齢；特定の対象の体重、性別、障害の程度及び全身の健康状態、ならびに個体が摂取している可能性のあるその他の薬剤によって決まる。さらに、上記の有効な1日当たりの量が処置される対象の応答に応じて及び／または組成物を処方する医師の評価に応じて増減される場合があることは明白である。

【0191】

投与様式に応じて、医薬組成物は、0.05から99重量%、好ましくは0.1から70重量%、より好ましくは0.1から50重量%の活性成分、及び1から99.95重量%、好ましくは30から99.9重量%、より好ましくは50から99.9重量%の薬学上許容されるキャリアを含むことになり、すべてのパーセンテージは、組成物の合計重量に基づく。

【0192】

インスリン受容体活性を高める必要がある処置条件において、適切な投与量レベルは、一般に1日当たり患者の体重1kgに対して約0.01から1000mgになり、単回または複数用量で投与することができる。様々な態様において、投与量レベルは、1日当たり約0.1から約500mg/kg、1日当たり約0.1から250mg/kg、または1日当たり約0.5から100mg/kgになる。適した投与量レベルは、1日当たり約0.01から1000mg/kg、1日当たり約0.01から500mg/kg、1日当たり約0.01から250mg/kg、1日当たり約0.05から100mg/kg、または1日当たり約0.1から50mg/kgが可能である。この範囲内において、投与量は、1日当たり0.05から0.5、0.5から5.0または5.0から50mg/kgが可能である。経口投与に関して、組成物は、処置される患者の投与量の、症状による調節のために、好ましくは、1.0から1000ミリグラムの活性成分、特に、1.0、5.0、10、15、20、25、50、75、100、150、200、250、300、400、500、600、750、800、900及び1000ミリグラムの活性成分を含む錠剤の形態で提供される。組成物は、1日1から4回、好ましくは1日1回または2回のレジメンで投与することができる。この投与レジメンは、最適な治療応答をもたらすように調節することができる。

【0193】

本明細書の上下において記載されるそのような単位用量は、1日1回を超えて、例えば、1日2、3、4、5または6回投与されてもよい。様々な態様において、そのような単位用量は、1日当たり1または2回投与することができ、その結果、70kgの成人に対する合計投与量は、各投与に対して対象の体重1kg当たり0.001から約15mgの範囲である。別の態様において、投与量は、各投与に対して対象の体重1kg当たり0.01から約1.5mgであり、そのような治療は、何週、または何ヶ月、ある場合には、何年間に延長することができる。ただし、当然のことながら、任意の特定の患者に対する特定の用量レベルは、当業者によって十分に理解されているとおり、利用される特定の組成物の活性；処置されている個体の年齢、体重、全身の健康状態、性別及び食事；投与の時間及び経路；排出の速度；予め投与されている他の薬物；ならびに治療を受けている特

定の疾患の重篤度を含む、様々な要因により決まることになる。

【0194】

一般的な投与量は、1日1回、もしくは1日に複数回摂取される1つの1mgから約100mgの錠剤もしくは1mgから約300mg、または1日1回摂取され、比例して高い含有量の活性成分を含む1つの持続放出カプセルまたは錠剤であってもよい。持続放出効果は、様々なpH値で溶解するカプセル材料によって、浸透圧によってゆっくりと放出するカプセルによって、または制御放出の任意の他の既知の手段によって得ることができる。

【0195】

別の態様において、投与量は、100U～300Uバイアル、例えば、100U～200Uバイアル、200U～300Uバイアル、または150U～250Uバイアルが可能である。それは、1日に1回または1日に複数回摂取されてもよい。様々な態様において、それは、毎日、週に1回、または月に1回摂取されてもよい。

【0196】

ある場合には、当業者には明白なとおり、これらの範囲外の投与量を使用する必要がある場合がある。さらに、なお、臨床医または治療医師は、個々の患者の応答と併せて、治療を開始、中止、調節または終了する方法及び時期がわかる。

【0197】

本発明は、哺乳動物（例えば、ヒト）においてインスリン受容体活性を調節するため（例えば、1型糖尿病の処置）の医薬の製造のための方法であって、1つ以上の開示されているペプチドまたは組成物を、薬学上許容されるキャリアまたは希釈剤と混合することを含む方法にさらに関する。したがって、一態様において、本発明は、医薬を製造するための方法であって、少なくとも1つの開示されているペプチドを、薬学上許容されるキャリアまたは希釈剤と混合することを含む、方法に関する。

【0198】

本開示の医薬組成物は、インスリン関連状態の処置に一般に利用される他の治療上有効な化合物をさらに含んでもよい。

【0199】

当然のことながら、本開示の組成物は、本開示のペプチドから調製することができる。同じく当然のことながら、本開示の組成物は、本開示の使用する方法において利用することができる。

【0200】

既に言及されているとおり、本発明は、治療上有効量の開示されているペプチド、薬学上許容されるその塩、溶媒和物、もしくは多形、その水和物、その溶媒和物、その多形、及び薬学上許容されるキャリアを含む医薬組成物に関する。さらに、本発明は、薬学上許容されるキャリアが治療上有効量の開示されているペプチドと密接に混合されることを特徴とする医薬組成物を調製するためのプロセスに関する。

【0201】

既に言及されているとおり、本発明はまた、開示されているペプチドまたはその他の薬物に有用性がある場合もあるため、開示されているペプチド、薬学上許容されるその塩、溶媒和物、または多形、及び1つ以上のその他の薬物を含む、疾患または状態のリスクの処置、予防、抑制、改善、または低減に関する医薬組成物ならびに医薬の製造のためのそのような組成物の使用に関する。本発明はまた、開示されているペプチド、薬学上許容されるその塩、溶媒和物、または多形、及び抗がん治療剤の組み合わせに関する。様々なさらなる態様において、本発明はまた、開示されているペプチド、薬学上許容されるその塩、溶媒和物、または多形の組み合わせに関する。本発明はまた、薬剤として使用するためのそのような組み合わせに関する。そのような組み合わせまたは生成物の様々な薬物は、薬学上許容されるキャリアまたは希釈剤とともに単一の調製物に組み合わされてもよく、またはそれらはそれぞれ、薬学上許容されるキャリアまたは希釈剤とともに別個の調製物として存在してもよい。

【0202】

様々な態様において、本開示のペプチドは、 $10 \sim 300 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ の量で投与されてもよい。別の態様において、投与レジメンは、1つ以上の本開示のペプチドの単回投与を含んでもよい。さらに別の態様において、投与レジメンとしては、1つ以上の本開示のペプチドを、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50または52週間、週1回、週2回、週3回、週4回、週5回、週6回、または週7回投与することを挙げることができる。

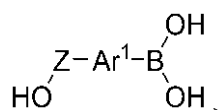
【0203】

様々な態様において、本開示のペプチドは、針及びシリンジ、ペン、ポンプ、吸入器、注入ポート、または噴射式注射器により投与することができる。

【0204】

D. ペプチドを生成する方法

一態様において、開示されているペプチドを生成する方法が開示される。したがって、様々な態様において、有機ホウ酸基に直接結合したインスリンB鎖ペプチドを生成する方法であって、ペプチド結合インスリンB鎖樹脂を、式：



によって表される構造を有するフェニルボロン酸と反応させる工程と、樹脂を切断し、それによってインスリンB鎖ペプチドを生成する工程とを含み、式中、Zは、C(O)及びSO₂から選択され、Ar¹は、五員アリール、五員ヘテロアリール、六員アリール、及び六員ヘテロアリールから選択され、ハロゲン、-CN、-NO₂、-OH、C₁～C₄アルキル、C₁～C₄ハロアルキル、C₁～C₄ヒドロキシアルキル、C₁～C₄アルコキシ、C₁～C₄アルキルアミノ、及び(C₁～C₄)(C₁～C₄)ジアルキルアミノから独立して選択される0、1、2、または3つの基で置換される、方法が開示される。

【0205】

様々な態様において、位置B29のアミノ酸は、リシン残基である。別の態様において、B29リシン残基は、修飾されている。さらに別の態様において、B29リシン残基は、修飾されていない。

【0206】

様々な態様において、位置B33のアミノ酸は、リシン残基である。別の態様において、B33リシン残基は、修飾されている。さらに別の態様において、B33リシン残基は、修飾されていない。

【0207】

様々な態様において、位置B34のアミノ酸は、リシン残基である。別の態様において、B34リシン残基は、修飾されている。さらに別の態様において、B34リシン残基は、修飾されていない。

【0208】

様々な態様において、位置B29のアミノ酸及び位置B33のアミノ酸は、リシン残基である。別の態様において、位置B29のアミノ酸及び位置B34のアミノ酸は、リシン残基である。さらに別の態様において、位置B33のアミノ酸及び位置B34のアミノ酸は、リシン残基である。さらに別の態様において、位置B29のアミノ酸、位置B33のアミノ酸、及び位置B34のアミノ酸は、リシン残基である。

【0209】

様々な態様において、B29リシン残基は、修飾されておらず、B33及びB34リシン残基のそれぞれは、修飾されている。別の態様において、B33リシン残基は、修飾されておらず、B29及びB34リシン残基のそれぞれは、修飾されている。さらに別の態

10

20

30

40

50

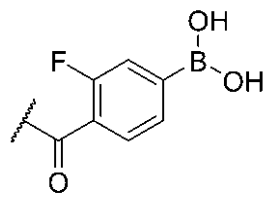
様において、B 3 4 リシン残基は、修飾されておらず、B 2 9 及び B 3 3 リシン残基のそれぞれは、修飾されている。さらに別の態様において、B 2 9、B 3 3、及び B 3 4 リシン残基のそれぞれは、修飾されている。さらに別の態様において、B 2 9、B 3 3、及び B 3 4 リシン残基のそれぞれは、修飾されていない。

【0210】

様々な態様において、インスリン B 鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRKK（配列番号 8）の配列を含む。

【0211】

様々な態様において、インスリン A 鎖ペプチドは、GIVEQCCTSICSLYQLENYCG（配列番号 3）の配列を含み、インスリン B 鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKTRKK（配列番号 8）の配列を含み、B 2 9 リシン残基は、修飾されておらず、B 3 3 リシン残基及び B 3 4 リシン残基のそれぞれは、有機ホウ酸基に直接結合しており、有機ホウ酸基のそれぞれの出現は、下記式によって表される構造を有する



【0212】

様々な態様において、方法は、インスリン B 鎖ペプチドをインスリン A 鎖ペプチドと結合させる工程さらに含む。

【0213】

E. インスリン受容体活性化を改変する方法

一態様において、対象におけるインスリン受容体活性化を改変する方法であって、有効量の本開示のペプチドまたは医薬組成物のいずれか 1 つを、それを必要とする対象に投与することを含む、方法が開示される。別の態様において、それを必要とする対象は、標準的な活性化レベルと比較してインスリン受容体活性化が低下していることがわかっている対象であってもよい。さらに別の態様において、インスリン受容体活性化の標準的な活性化レベルは、健康な個体において確認されたレベルに基づいてもよい。さらに別の態様において、インスリン受容体活性化の標準的な活性化レベルは、インスリン受容体活性化を高める必要があると判断される前に処置されている対象において確認されたレベルに基づいてもよい。

【0214】

一態様において、少なくとも 1 つの細胞におけるインスリン受容体活性化を改変する方法であって、少なくとも 1 つの細胞を、有効量の本開示のペプチドまたは医薬組成物のいずれか 1 つと接触させ、それによって、少なくとも 1 つの細胞におけるインスリン受容体活性化を高めることを含む方法、が開示される。

【0215】

様々な態様において、改変することは、高めることである。

【0216】

例えば、対象におけるインスリン受容体活性化を改変する方法であって、対象にインスリン A 鎖ペプチド及びインスリン B 鎖ペプチドを含む有効量のペプチドを投与し、それによって、対象におけるインスリン受容体活性化を改変することを含み、インスリン B 鎖ペプチドは、少なくとも 32 のアミノ酸残基を含み、インスリン B 鎖ペプチドのアミノ酸残基のうちの少なくとも 3 つは、リシン残基である、方法が開示される。さらに、対象におけるインスリン受容体活性化を改変する方法であって、対象にインスリン A 鎖ペプチド及びインスリン B 鎖ペプチドを含む有効量のペプチドを投与し、それによって、対象におけ

るインスリン受容体活性化を改変することを含み、ペプチドは、少なくとも1つの有機ホウ酸基に直接結合している、方法が開示される。

【0217】

例えば、少なくとも1つの細胞におけるインスリン受容体活性化を改変する方法であって、少なくとも1つの細胞を、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドを含む有効量のペプチドと接触させ、それによって、少なくとも1つの細胞におけるインスリン受容体活性化を改変することを含み、インスリンB鎖ペプチドは、少なくとも32のアミノ酸残基を含み、インスリンB鎖ペプチドのアミノ酸残基のうちの少なくとも3つは、リシン残基である、方法が開示される。さらに、少なくとも1つの細胞におけるインスリン受容体活性化を改変する方法であって、少なくとも1つの細胞を、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドを含む有効量のペプチドと接触させ、それによって、少なくとも1つの細胞におけるインスリン受容体活性化を改変することを含み、ペプチドは、少なくとも1つの有機ホウ酸基に直接結合している、方法が開示される。

10

【0218】

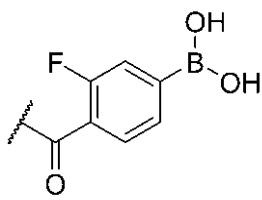
様々な態様において、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドは、少なくとも1つのジスルフィド結合を介して結合され、インスリンA鎖ペプチドは、GIVEQCCHRICSLYQLENYCN（配列番号1）の配列を含み、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTTPKTRKK（配列番号8）の配列を含む。別の態様において、B33リシン残基及びB34リシン残基の一方または両方が、修飾されている。さらに別の態様において、B33リシン残基及びB34リシン残基の一方が、修飾されている。さらに別の態様において、B33リシン残基は、修飾されている。さらに別の態様において、B34リシン残基は、修飾されている。さらに別の態様において、B33リシン残基及びB34リシン残基の両方が、修飾されている。

20

【0219】

様々な態様において、インスリンA鎖ペプチドは、GIVEQCCTSLICSLYQLENYCG（配列番号3）の配列を含み、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTTPKTRKK（配列番号8）の配列を含み、B29リシン残基は、修飾されておらず、B33リシン残基及びB34リシン残基のそれぞれは、有機ホウ酸基に直接結合しており、有機ホウ酸基のそれぞれの出現は、下記式によって表される構造を有する

30



【0220】

様々な態様において、細胞は、哺乳動物細胞である。別の態様において、細胞は、ヒト細胞である。

40

【0221】

様々な態様では、接触させることは、対象への投与による。別の態様において、対象は、投与する工程の前に、糖尿病の処置の必要があると診断されている。さらに別の態様において、方法は、糖尿病の処置を必要とする対象を特定する工程をさらに含む。

【0222】

様々な態様において、糖尿病は、1型糖尿病である。別の態様において、糖尿病は、2型糖尿病である。さらに別の態様において、糖尿病は、妊娠糖尿病である。

【0223】

様々な態様において、対象は、哺乳動物である。別の態様において、哺乳動物は、ヒト

50

である。

【0224】

F. 血糖を低下させる方法

一態様において、対象の血糖を低下させる方法であって、治療上有効量の本開示のペプチドまたは医薬組成物のいずれか1つを、それを必要とする対象に投与することを含む、方法が開示される。様々な態様において、それを必要とする対象は、標準的な血糖レベルと比較して血糖が高いことがわかっている対象であってもよい。別の態様において、インスリン受容体活性化の標準的な活性化レベルは、健康な個体において確認されたレベルに基づいてもよい。さらに別の態様において、インスリン受容体活性化の標準的な活性化レベルは、インスリン受容体活性化を高める必要があると判断される前に処置されている対象において確認されたレベルに基づいてもよい。

10

【0225】

例えば、対象の血糖を低下させる方法であって、対象に、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドを含む治療上有効量のペプチドを投与し、それによって、対象の血糖を低下させることを含み、インスリンB鎖ペプチドは、少なくとも32のアミノ酸残基を含み、インスリンB鎖ペプチドのアミノ酸残基のうちの少なくとも3つは、リシン残基である、方法が開示される。さらに、対象の血糖を低下させる方法であって、対象に、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドを含む治療上有効量のペプチドを投与し、それによって、対象の血糖を低下させることを含み、ペプチドは、少なくとも1つの有機ホウ酸基に直接結合している、方法が開示される。

20

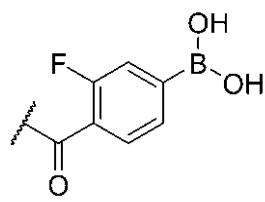
【0226】

様々な態様において、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドは、少なくとも1つのジスルフィド結合を介して結合され、インスリンA鎖ペプチドは、GIVEQCCHRICSLYQLENYCN（配列番号1）の配列を含み、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTTPKTRKK（配列番号8）の配列を含む。別の態様において、B33リシン残基及びB34リシン残基の一方または両方が、修飾されている。さらに別の態様において、B33リシン残基及びB34リシン残基の一方が、修飾されている。さらに別の態様において、B33リシン残基は、修飾されている。さらに別の態様において、B34リシン残基は、修飾されている。さらに別の態様において、B33リシン残基及びB34リシン残基の両方が、修飾されている。

30

【0227】

様々な態様において、インスリンA鎖ペプチドは、GIVEQCCTSLICSLYQLENYCG（配列番号3）の配列を含み、インスリンB鎖ペプチドは、FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTTPKTRKK（配列番号8）の配列を含み、B29リシン残基は、修飾されておらず、B33リシン残基及びB34リシン残基のそれぞれは、有機ホウ酸基に直接結合しており、有機ホウ酸基のそれぞれの出現は、下記式によって表される構造を有する



40

【0228】

様々な態様において、対象は、哺乳動物である。別の態様において、哺乳動物は、ヒトである。

【0229】

別の態様において、対象は、投与する工程の前に、血糖を低下させる必要があると診断

50

されている。さらに別の態様において、方法は、血糖を低下させる必要がある対象を特定する工程をさらに含む。

【0230】

別の態様において、対象は、例えば、糖尿病及び高血糖などの高血圧と関連づけられる障害と診断されている。さらに別の態様において、方法は、例えば、糖尿病及び高血糖などの高血圧と関連づけられる障害の処置の必要がある対象を特定する工程をさらに含む。

【0231】

別の態様において、対象は、投与する工程の前に、糖尿病の処置の必要があると診断されている。さらに別の態様において、方法は、糖尿病の処置を必要とする対象を特定する工程をさらに含む。

10

【0232】

様々な態様において、糖尿病は、1型糖尿病である。別の態様において、糖尿病は、2型糖尿病である。さらに別の態様において、糖尿病は、妊娠糖尿病である。

【0233】

G. ペプチドを使用する方法

本明細書において、溶解性が増加し、グルコース濃度が上昇した改良型インスリン（すなわち、スマートインスリン）が記載されている。理論に縛られることを望まないが、活性がインビボにおいて循環血中グルコースレベルによって調節されるスマートインスリンを注射することの2つの利点としては、（1）グルコースレベルが高いときにはいつも皮下のデポー剤からグルコース応答性インスリン（GRI）誘導体が放出されるため、インスリンの過小量投与の誤りが著しく減少すること；及び（2）グルコースレベルが低下し始めるとGRIアナログが不活化されることになり、それにより、低血糖のリスクが低下するため、インスリンの過剰投与の誤りが著しく減少するであろうことが挙げられる。慢性高血糖の結果である糖化ヘモグロビンの量の多さは、心血管疾患、腎障害及び網膜症などの合併症と関連するため、グルコース応答性インスリンアナログによる処置によってもたらされる正常血糖は治療価値を向上させた。GRIアナログは、糖尿病のヒトの低血糖の障壁を低減することができる。

20

【0234】

開示されているとおり、一態様において、スマートインスリンは、高グルコース条件においてインスリングルギンと同様の活性を有する。本技術の一態様によると、スマートインスリンは、インスリン分子にフェニルボロン酸（PBA）を含む。例えば、グルコースと結合することによって負電荷を持つPBA・グルコース複合体は、インスリンの等電点（pI）を低下させることができるため、高グルコース濃度においてインスリンの溶解性を高めて、より急速な血流への移行を可能にする。

30

【0235】

したがって、様々な態様において、本発明のペプチド及び医薬組成物は、糖尿病を処置または抑制することにおいて有用である。障害を処置または抑制するために、ペプチド及びペプチドを含む医薬組成物は、それを必要とする対象、例えば、脊椎動物、例えば、哺乳動物、魚、トリ、は虫類、または両生類などに投与される。対象は、ヒト、非ヒト霊長類、ウマ、ブタ、ウサギ、イヌ、ヒツジ、ヤギ、ウシ、ネコ、モルモット、または齧歯類が可能である。この用語は、特定の年齢または性別を示さない。すなわち、成人及び新生児対象、ならびに胎児が、男性女性を問わず、包含されることを意図する。対象は、好ましくは、ヒトなどの哺乳動物である。対象は、化合物または組成物の投与の前に、糖尿病の処置の必要があると診断されていてもよい。

40

【0236】

ペプチドまたは組成物は、任意の方法に従って、対象に投与することができる。そのような方法は、当業者に周知であり、経口投与、経皮投与、吸入による投与、経鼻投与、局所投与、腔内投与、点眼、耳内投与、脳内投与、直腸投与、舌下投与、頬側投与、ならびに静脈内投与、動脈内投与、筋肉内投与、及び皮下投与などの注射を含む非経口投与が挙げられるが、これらに限定されない。投与は、連続的でも断続的でも可能である。調製物

50

は、治療的に投与することができる；すなわち、既存の疾患または状態を処置するために投与される。調製物はまた、予防的に投与することができる；すなわち、疾患または状態の予防のために投与される。

【0237】

ペプチドの治療上有効量または投薬量は、広範囲の限度内で変更可能である。そのような投薬量は、特定のそれぞれの場合において、投与される特定のペプチド（複数可）、投与経路、処置されている状態、ならびに処置されている患者を含む、個別の要件に合わせて調節される。一般に、体重約70Kg以上の成人に対する経口または非経口投与の場合、約10mgから約10,000mg、好ましくは約200mgから約1,000mgの1日の投薬量が適切であるはずであるが、上限を超える場合もある。1日の投薬量は、単回用量として、または分割用量で、あるいは非経口投与の場合、持続点滴として、投与することができる。単回用量の組成物は、まとめて1日の用量となるようなペプチドまたは組成物の量、またはその分割量を含むことができる。投薬量は、万一禁忌の場合には、個別の医師により調節されることがある。投薬量は変更可能であり、毎日の1回または複数の用量の投与において、1日間または数日間の間、投与される。

10

【0238】

1. 処置方法

本明細書中で開示されているペプチドは、糖尿病を処置または抑制するのに有用である。したがって、開示される化合物を含む治療上有効量の組成物を対象に投与することを含む方法が提供される。

20

【0239】

a. 糖尿病の処置

一態様において、対象の糖尿病を処置する方法であって、対象に有効量の少なくとも1つの開示されているペプチドを投与する工程を含む、方法が開示される。

【0240】

したがって、対象の糖尿病を処置する方法であって、対象に、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドを含む治療上有効量のペプチドを投与し、それによって、対象の糖尿病を処置することを含み、インスリンB鎖ペプチドは、少なくとも32のアミノ酸残基を含み、インスリンB鎖ペプチドのアミノ酸残基のうちの少なくとも3つは、リシン残基である、方法が開示される。

30

【0241】

様々な態様において、対象の糖尿病を処置する方法であって、対象に、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドを含む治療上有効量のペプチドを投与し、それによって、対象の糖尿病を処置することを含み、ペプチドは、少なくとも1つの有機ホウ酸基に直接結合している、方法が開示される。

【0242】

別の態様において、対象は、投与する工程の前に、糖尿病の処置の必要があると診断されている。

【0243】

別の態様において、対象は、哺乳動物である。別の態様において、哺乳動物は、ヒトである。

40

【0244】

別の態様において、方法は、糖尿病の処置を必要とする対象を特定する工程をさらに含む。

【0245】

別の態様において、方法は、糖尿病を治療または抑制することがわかっている治療上有効量の少なくとも1つの薬剤を投与する工程をさらに含む。糖尿病を治療または抑制することがわかっている薬剤の例としては、速効型インスリン、短時間作用型インスリン、中時間作用型インスリン、長時間作用型インスリン、メトホルミン、アミリンアナログ、及びGLP-1受容体アゴニスト（例えば、アルビグルチド、デュラグルチド、エキセナチ

50

ド、エキセナチド持続放出性、及びリラグルチド）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0246】

別の態様において、少なくとも1つの化合物及び少なくとも1つの薬剤は、連続投与される。さらに別の態様において、少なくとも1つの化合物及び少なくとも1つの薬剤は、同時投与される。

【0247】

さらなる態様において、少なくとも1つの化合物及び少なくとも1つの薬剤は、合剤化される。さらに別の態様において、少なくとも1つの化合物及び少なくとも1つの薬剤は、同一パッケージに入れられる。

10

【0248】

様々な態様において、糖尿病は、1型糖尿病である。別の態様において、糖尿病は、2型糖尿病である。さらに別の態様において、糖尿病は、妊娠糖尿病である。

【0249】

2. 化合物の使用

一態様において、本発明は、開示されているペプチドまたは開示されている方法の生成物の使用に関する。別の態様において、使用は、哺乳動物の糖尿病の処置のための医薬の製造に関する。

【0250】

本開示の化合物及び生成物の使用も提供される。一態様において、本発明は、少なくとも1つの開示されているペプチドの使用に関する。別の態様において、使用されるペプチドは、開示されている生成する方法の生成物である。

20

【0251】

別の態様において、使用は、治療上有効量の開示されているペプチドまたは開示されている生成する方法の生成物を含む、医薬として使用するための医薬組成物を調製するためのプロセスに関する。

【0252】

別の態様において、使用は、治療上有効量の開示されているペプチドまたは開示されている生成する方法の生成物を含む医薬組成物を調製するためのプロセスであって、薬学上許容されるキャリアは、治療上有効量のペプチドまたは開示されている生成する方法の生成物と密接に混合される、プロセスに関する。

30

【0253】

様々な態様において、使用は、哺乳動物の糖尿病の処置に関する。一態様において、使用は、哺乳動物がヒトであることを特徴とする。一態様において、使用は、糖尿病が1型糖尿病であることを特徴とする。

【0254】

別の態様において、使用は、哺乳動物の糖尿病の処置のための医薬の製造に関する。

【0255】

当然のことながら、本開示の使用は、本開示のペプチド、開示されている生成する方法の生成物、方法、組成物、及びキットに関連して、利用することができる。別の態様において、本発明は、哺乳動物の糖尿病の処置のための医薬の製造における開示されているペプチドまたは開示されている生成物の使用に関する。

40

【0256】

3. 医薬の製造

一態様において、本発明は、哺乳動物の糖尿病を処置するための医薬の製造のための方法であって、治療上有効量の開示されているペプチドまたは開示されている方法の生成物を、薬学上許容されるキャリアまたは希釈剤と組み合わせることを含む、方法に関する。

【0257】

これらの用途に関して、本方法は、糖尿病の処置に有効な治療上有効量のペプチドの動物、特に、哺乳動物、より詳細には、ヒトへの投与を含む。動物、特に、ヒトに投与され

50

る用量は、本発明の文脈において、妥当な時間枠にわたり動物において治療応答に影響を及ぼすのに十分でなければならない。当業者なら、投薬量が、動物の状態及び動物の体重を含む、様々な要因に依存することを認識するであろう。

【0258】

典型的な処置において投与される本開示のペプチドの合計量は、好ましくは、1日の用量当たりマウスに関して約10mg/体重kgから約1000mg/体重kgの間、ヒトに関して約100mg/体重kgから約500mg/体重kgの間、より好ましくは200mg/体重kgから約400mg/体重kgの間である。この合計量は、典型的には、約24ヶ月にわたり約1日1回から約1日3回、好ましくは約12ヶ月間にわたり1日2回、一連のより少ない用量として投与されるが、必ずしもそうである必要はない。

10

【0259】

用量の規模も、投与の経路、タイミング、及び頻度、ならびにペプチドの投与に付随する可能性があるあらゆる有害な副作用の存在、性質、及び程度、ならびに所望の生理効果により決定されることになる。様々な状態または疾患状態、特に、慢性状態または疾患状態は、複数回の投与を含む長期の処置を必要とする可能性があることは、当業者に認識されるであろう。

【0260】

したがって、一態様において、本発明は、医薬の製造であって、開示されているペプチドまたは開示されている生成する方法の生成物、あるいは薬学上許容されるその塩、溶媒和物、多形を、薬学上許容されるキャリアまたは希釈剤と組み合わせることを含む、製造に関する。

20

【0261】

4. キット

一態様において、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドを含むペプチドであって、インスリンB鎖ペプチドは、少なくとも32のアミノ酸残基を含み、インスリンB鎖ペプチドのアミノ酸残基のうちの少なくとも3つは、リシン残基である、ペプチドと、(a)糖尿病を治療することがわかっている薬剤；(b)糖尿病の処置のためにペプチドを投与するための説明書；(b)糖尿病を処置するための説明書；(c)血糖を低下させるための説明書のうちの1つ以上とを含むキットが開示される。

【0262】

一態様において、インスリンA鎖ペプチド及びインスリンB鎖ペプチドを含むペプチドであって、ペプチドは、少なくとも1つの有機ホウ酸基に直接結合している、ペプチドと、(a)糖尿病を治療することがわかっている薬剤；(b)糖尿病の処置のためにペプチドを投与するための説明書；(b)糖尿病を処置するための説明書；(c)血糖を低下させるための説明書のうちの1つ以上とを含む、キットが開示される。

30

【0263】

糖尿病を治療することがわかっている薬剤の例としては、インスリン産生を増加させることがわかっている薬剤、体のインスリンの使用を向上させることがわかっている薬剤、及びデンプンの消化を部分的に阻止することがわかっている薬剤が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

40

【0264】

別の態様において、ペプチド及び薬剤は、合剤化される。別の態様において、ペプチド及び薬剤は、同一パッケージに入れられる。

【0265】

別の態様において、ペプチド及び薬剤は、連続投与される。さらに別の態様において、ペプチド及び薬剤は、同時投与される。

【0266】

キットはまた、他の成分と同一パッケージに入れられた、合剤化された、及び／または共送達される化合物及び／または生成物を含むこともできる。例えば、製薬企業、薬品販売業者、医師、調剤薬局、または薬剤師は、開示される化合物及び／または生成物、なら

50

びに患者に送達するための別の要素を含むキットを提供することができる。

【0267】

当然ながら、開示されるキットは、開示される化合物、生成物、及び医薬組成物から調製することができる。同じく当然ながら、開示されるキットは、開示される使用法に関連して使用することができる。

【0268】

上記の説明は、本開示を例示及び説明する。また、本開示は、好適な実施形態のみを示し説明しているが、上記のとおり、当然のことながら、様々な他の組み合わせ、修飾、及び環境で使用する事が可能であり、上記の教示及び／または関連分野の技術または知識に相応して、本明細書中表現されるとおりの本発明の概念の範囲内で変更または修飾することが可能である。本明細書中上記に記載される実施形態は、さらに、本出願者が知るかぎりの最適な態様を説明すること、及び他の当業者がそのような実施形態または他の実施形態において、その特定の応用または用途によって必要となる様々な修飾とともに本開示を利用することを可能にすることを意図する。したがって、本説明は、本明細書中開示される形式に本発明を限定することを意図しない。同じく、添付の特許請求の範囲は、代替実施形態を包含することを意図する。

【0269】

本明細書中引用される全ての刊行物及び特許出願は、ありとあらゆる目的で、個別の刊行物及び特許出願がそれぞれ、具体的及び個別に参照として援用されると記載されるのと同程度に、本明細書中参照として援用される。本開示と、本明細書中参照として援用される刊行物または特許出願のいずれかとの間に矛盾が存在する場合、本開示が優先される。

【実施例】

【0270】

インスリングルギンは、B鎖のC末端に2つの付加的なアルギニン残基を有し、これが、生理的なpH下において天然のインスリンと比較して等電点(pI)を高め、溶解性を低下させる。ある態様において、インスリン誘導体は、インスリンに組み込まれるPBA基及び正電荷を持つ基の両方を用いて合成され、生物活性を保持する。この例によると、低血糖条件において、これらの修飾インスリン分子は、ほとんど不溶性のままである。しかしながら、血糖レベルが上昇するにつれ、平衡がシフトし、遊離グルコースがPBA形成負電荷と結合することになり、pIを低下させる。別の態様において、PBA基自体の組み込みが溶解性を5分の1に低下させる。さらに別の態様において、同様の溶解性プロフィールを有する他のスマートグルギンを使用することもできる。さらに別の態様において、異なるPBA基が使用されてもよい。異なるPBA及びアミノ酸の組み合わせが、異なるグルコース応答特性及び溶解性をもたらすことになる。さらに別の態様において、溶解性を高めるためにArg-Gluなどのアミノ酸の組み合わせが使用されてもよい。Arg-Gluは、pIに影響を及ぼさないゼロの正味電荷を有する。さらに、側鎖の極性官能基は、全体的な溶解性を高めることができる。さらに別の態様において、(1または2つの)PBA基をB鎖に組み込むことができる。さらに別の態様において、簡潔にするためにA鎖のC末端の溶解性基は、付加される(Arg-Glu)_n、n:1~3である。グルギンと同様の初めの溶解性及び100から400mg/dLグルコースの間に>5倍の溶解性差を有するその他の誘導体を利用可能であることに留意することは重要である。

【0271】

様々な態様において、生物活性のままであるアナログを特定する受容体活性化アッセイにおいて合成されたアナログを試験する。別の態様において、アナログとIRの間の結合を確認するために、放射標識インスリンを使用したインスリン受容体(IR)結合アッセイを使用する。インスリングルギンに対して少なくとも85%の受容体活性化及び結合の効力を有するインスリンアナログを、さらなるキャラクタリゼーションのために選択することができる。

【0272】

10

20

30

40

50

様々な態様において、インスリン分子の構造的、または配列改変は、インスリン受容体（IR）及び／またはインスリン様増殖因子1受容体（IGF1R）に対する改変された結合親和性及び活性をもたらす場合もある。さらに、インスリンシグナル伝達の活性化はまた、代謝作用（グルコースの取り込みを誘導する）及び分裂促進作用（成長及び増殖）につながる場合もある。別の態様において、インスリン誘導体は、ヒトインスリンと比較して改変された代謝作用及び分裂促進作用を有する場合もある。例えば、インスリンX10（B10 Aspヒトインスリン）は、インビトロにおいて細胞増殖及びインビボにおいて腫瘍形成を誘導する場合もある。

【0273】

「スマートグラルギン」の設計及び合成ならびにそのグルコース応答特性については、本明細書中に記載されている。スマートグラルギンは、インビトロにおいてインスリングラルギンと同様の生物活性を有する。変化するグルコース濃度下において、インスリングラルギンと比較してスマートグラルギンはほぼ3倍のインビボ活性の差を示し、低血糖の発生率を著しく低下させたことがさらに示されている。したがって、理論に縛られることを望まないが、スマートグラルギンインスリンは、タンパク質の溶解性に基いてグルコースが関係するインスリンの制御を実現する新しい設計である。

【0274】

以下の調製物及び例は、当業者が本発明をより明確に理解すること及び本発明を実施することを可能にするために示されている。それらは、本発明の範囲を限定するものと見なされるべきではなく、単に説明のための、代表例にすぎないと見なされるべきである。

【0275】

1. 一般情報

すべてのFmoc-アミノ酸、試薬、及び溶媒は、精製せずに使用した。Fmoc-アミノ酸、カップリング試薬及び2-クロロトリチルクロリド樹脂（カタログ番号03498）を、Chem Impex International, Incから購入した。Rink Amide MBHA樹脂HL（カタログ番号855118）及びNovasyn TGA樹脂（カタログ番号855005）をNovabiochemから入手し、Rink amide ChemMatrix樹脂（カタログ番号7-600-1310）をBiotageから購入した。N, N'-ジメチルホルムアミド（DMF）、ジクロロメタン（DCM）、アセトニトリル（ACN）、メタノール（MeOH）、ジエチルエーテル（Et₂O）、酢酸（AcOH）及びトリフルオロ酢酸（TFA）をFisher Scientificから入手した。ピペリジン、トリイソプロピルシラン（TIS）、ヒドロキシベンゾトリアゾール（HOBt）、N, N'-ジイソプロピルカルボジイミド（DIC）、2, 2-ジチオジピリジン（DTDP）、2, 2-ジチオビス（5-ニトロピリジン）（DTNP）をSigma Aldrichから入手した。1-[ビス（ジメチルアミノ）メチレン]-1H-1, 2, 3-トリアゾロ[4, 5-b]ピリジニウム3-オキシド・ヘキサフルオロホスファート（HATU）をChem Impex Internationalから購入した。イソアシルジベプチドBoc-Ser[Fmoc-Thr(tBu)]-OHをNovabiochemから購入した。

【0276】

LC-MSシステム：Agilent 6120 Quadrupole LC/MSシステム、0.4 mL/分で0から95%の含水アセトニトリル（0.1%ギ酸）の直線勾配を用いてXBridge C18 5 µm（50×2.1 mm）カラムにおいて。

【0277】

一般的なRP-HPLC条件：A鎖及びAB鎖二量体はすべて、5 mL/分の流量で60分にわたる15%から50%の含水アセトニトリル（0.1%トリフルオロ酢酸）の直線勾配を用いてPhenomenax Luna C18カラム（5 µm、100 Å、250×21.2 mm）によって、または3 mL/分の流量で40分にわたる15%から50%の含水アセトニトリル（0.1%トリフルオロ酢酸）の直線勾配を用いてPhenomenax Jupiter C18カラム（5 µm、300 Å、250×10 mm）によっ

てのいずれかで精製した。

【0278】

B鎖はすべて、5 mL／分の流量で60分にわたるか、または3 mL／分の流量で40分にわたる30％から65％の含水アセトニトリル（0.1％トリフルオロ酢酸）の異なる勾配を用いた同様の方法によって精製した。

【0279】

Fmoc固相合成を使用してBiotage自動化マイクロ波ペプチド合成装置（Initiator + Alstra（商標））によってA鎖を合成した。標準的なHATU／DIEAプロトコルを用いて0.1 mmolスケールでペプチド合成を行った。Fmoc脱保護に関しては、DMF中の20％ピペリジンを添加し、25℃で5分間2回混合した。アミノ酸結合に関しては、DMF中に0.2 M Fmoc-保護アミノ酸、0.2 M HATU（カップリング試薬）、及び1.0 M DIEA（塩基）を調製した。各サイクルにおいて、5当量のアミノ酸、5当量のカップリング試薬、及び10当量の塩基を、反応容器に添加し、75℃で5分間混合した（システイン及びヒスチジンに関しては、50℃で10分間混合；アルギニンに関しては、50℃で15分間混合及び2回結合）。ペプチド鎖の完成時、樹脂をDCMで洗浄し、真空を使用して乾燥した。その後、ペプチドをTFAによって切断し、冷えたエチルエーテルによりさらに沈殿させ、続いてHPLC精製及び凍結乾燥を行った。

10

【0280】

B鎖は、Prelude Xペプチド合成装置によって加熱せずに合成した。合成プロトコルは、結合時間を除いてA鎖で使用したものと同じにした。アミノ酸結合に関しては、反応を、窒素通気を用いて25℃で30分間混合した。詳細なスマートグラルギン合成プロトコルについては、本明細書中の別の場所に記載されている。

20

【0281】

2. ペプチド合成

Biotage自動化マイクロ波ペプチド合成装置を使用して0.1 mmol Rink amide ChemMatrix樹脂（0.54 mmol／g）上でA鎖（InsA（G））の合成を行った。C末端アミノ酸Asnを、側鎖カルボキシル基によりFmoc-Asp-OtBuとして樹脂と結合させた。イソアシルージペプチドBoc-Ser[Fmoc-Thr（tBu）]-OHを1つの残基として使用し、他と同じように標準的なプロトコルによって結合した。ペプチド結合樹脂を新しい25％β-メルカプトエタノール（15 mL）で1.5時間、2回処理し、DMF（15 mL×3）及びDCM（15 mL×3）で完全に洗浄した。その後、10 mL DCM中のDTNP（310 mg、10当量）を樹脂に添加し、1時間振盪した。その樹脂をDMF（15 mL×3）及びDCM（15 mL×3）で再び洗浄し、DCM（10 mL）中の1％TFA、5％TISで2分間5回処理した。最後にその樹脂を、DCM（10 mL）中で1時間振盪した後、それをTFA／TIS／H₂O（9 mL／500 µL／500 µL）によって2時間切断した。

30

【0282】

B鎖R2の合成は、加熱せずにPrelude Xペプチド合成装置を使用して0.1 mmol 2-クロロトリチルクロリド樹脂（0.4 mmol／g）上で行った。Fmoc-Arg（pbf）-OH／DIEA（樹脂に応じて4／4当量）を使用して手動で樹脂にC末端Argを付加した。鎖の構築は、一般情報のセクションに記載されているとおりに行った。

40

【0283】

B鎖RP2の合成は、加熱せずにPrelude Xペプチド合成装置を使用して0.1 mmol 2-クロロトリチルクロリド樹脂（0.4 mmol／g）上で行った。鎖の構築は、一般情報のセクションに記載されているとおりに行った。フェニルボロン酸は、Dde-保護Lysを介して組み込んだ。それは、標準的なアミノ酸として結合させた。N末端アミノ酸Pheを、Boc-Phe-OHを使用して結合した。合成後、ペプチド

50

結合樹脂を、2%ヒドラジンで5分間2回処理して、Lys上のDde基を除去した。DMF及びDCMにより洗浄した後、フェニルボロン酸を、4-カルボキシフェニルボロン酸(332 mg、20当量)、HOBt(270 mg、20当量)及びDIC(313 μ L、20当量)を12時間または4-カルボキシフェニルボロン酸(66 mg、4当量)、HATU(152 mg、4当量)及びDIEA(70 μ L、4当量)を45分間2回使用してlysに組み込んだ。最後に、DTDP(330 mg、15当量)とともにTFA/TIS/H₂O(4.5 mL/250 μ L/250 μ L)により、樹脂を2時間切断した。B鎖RF2の合成は、4-カルボキシ-3-フルオロフェニルボロン酸の使用以外は同じ様式で合成した。

【0284】

3. インスリンアナログの調製

二段法を使用してA及びB鎖を組み合わせることによってインスリンアナログを調製した。A鎖(4 mg、1.63 μ mol)及びB鎖(7.2 mg、1.62 μ mol)を、鎖結合バッファー(6M 尿素、0.2M NH₄OAc、pH4.5、0.8 mL)中で混合した。組み合わせ反応を、25℃で4時間進行させた後、RP-HPLCによって精製した。その後、プールした画分を1M NH₄HCO₃によってpH8に調節し、凍結乾燥した。

【0285】

凍結乾燥粉末(10 mg、1.47 μ mol)を、25℃のAcOH(200 μ L)及びH₂O(800 μ L)の混合溶媒中に溶解させ、穏やかに攪拌しながら新たに調製したヨウ素(11.2 mg、44.1 μ mol) AcOH(3 mL)溶液で10分間処理した。

【0286】

ヨウ素の色(紫)が消えるまで1Mアスコルビン酸の添加によって酸化をクエンチした。最終溶液を、H₂O(16 mL)によって希釈し、一般情報のセクションに記載されるとおりに精製した。

【0287】

4. インビトロ受容体結合アッセイ

Hisタグ付きIR(アイソフォームB)エクトドメインを96ウェルプレートに固定した。放射標識インスリンを使用する代わりに、Eu修飾インスリンを使用した。340 nm励起及び612 nm蛍光フィルターを用いて時間分解蛍光を測定した。このアッセイは、最近報告されたものである(Menting et al., (2016) Nat Struct Mol Biol)。結合アッセイを使用すると、天然のインスリンと比較してスマートグラルギンの結合親和性が約2分の1に低下することがわかった。これは、インスリングラルギンIR親和性についての文献データと一致する(図5A)。

【0288】

5. インビトロ生物活性アッセイ

ヒトインスリン、インスリングラルギン、及びスマートグラルギンの生物活性を測定するために、ヒトIR-Bを過剰発現するマウス線維芽細胞株、NIH 3T3(A. Morrione, Thomas Jefferson Universityからの寄贈品)においてpAkt Ser473レベルを測定した。親3T3細胞のものと比較してIR発現のレベルを評価するために、細胞を、ウエスタンブロッティングによって確認し、NIH 3T3細胞は、親のものよりもおよそ10倍高い発現レベルを示した。NIH 3T3細胞株を、10%FBS、100 U/mLペニシリン・ストربتマイシン(Thermo Fisher Scientific)及び2 μ g/mLピューロマイシン(Thermo Fisher Scientific)を含むDMEM(Thermo Fisher Scientific)中で培養し、マイコプラズマ汚染がないことが示された。アッセイのために、1%FBSを含む培養培地を入れた96ウェルプレートに各ウェル当たり40,000細胞を播いた。24時間後、50 μ Lのインスリン溶液を、元の培地を除去した後に各ウェルにピペットで分注した。30分の処理後、インスリン溶

10

20

30

40

50

液を除去し、HTRF pAkt Ser473キット (Cisbio、64AKSPEH) を使用して、pAkt Ser473の細胞内レベルを測定した。

【0289】

簡単にいえば、細胞を最初に細胞溶解緩衝液 (各ウェル当たり50 μ L) により穏やかな振盪下で1時間処理した。その後、16 μ Lの細胞ライセートを、白い384ウェルプレート中の4 μ Lの検出試薬に添加した。4時間のインキュベーション後、プレートをSynergy Neoプレートリーダー (BioTek) において読み取り、そのデータを製造業者の手順に従って処理した。このアッセイを合計4回繰り返した (生物学的反復)。平均EC₅₀値及びその95%信頼区間を、非線形回帰 (一部位) 分析による曲線フィッティング後に (Prism8を使用して) 算出した。

10

【0290】

6. 付加的な予測生物活性アッセイ

完全な活性化を確認するために、選択したインスリン誘導体を、インスリンシグナル伝達経路の他の重要なタンパク質に対する影響についてさらに試験する。最初に、IRのリン酸化を、ウエスタンブロットを使用して測定して、受容体リン酸化を確認する。第2に、インスリン受容体基質1 (IRS-1) のリン酸化を、ウエスタンブロットを使用して測定する。第3に、IRがインスリンによって活性化されると、pGSK-3レベルの低下が予想されるため、グリコーゲンシンターゼキナーゼ3 (GSK-3) のリン酸化も測定する。筋肉及び肝臓細胞への周知のインスリン作用のため、C2C12及びHepG2両細胞株におけるインスリンシグナル伝達活性化に関してもGRI誘導体を評価する。

20

【0291】

7. 円偏光二色性

すべてのCDスペクトルは、AVIV Model 410分光光度計 (AVIV) において1mm QS石英キュベット (Starna) 中の水中で25℃において記録した。1sの平均時間で1nm分解能において波長スキャンを実施した。ダブルスキャンからのデータを平均し、ブランクを引いて、以下の方程式によって平均残基楕円率に正規化する: $[\theta] = 100 \times \theta / C \times l \times (n - 1)$ 、式中、Cは、mM単位のタンパク質の濃度であり、lは、センチメートル単位の光路長であり、nは、タンパク質中の残基の数である。CD実験に使用したタンパク質サンプルの濃度は100 μ Mであった。

【0292】

8. 溶解性測定

エッペンドルフチューブに1mgのペプチドを添加し、様々な濃度のグルコース (0~400mg/dl) を含む100 μ lのPBS緩衝液 (pH5、7、及び9) 中に懸濁させた。ペプチドを過剰に添加して、底部に完全に溶解しなかったペプチドがある飽和溶液を生成した。サンプルを5分間ボルテックスして、一晚穏やかに振盪した。その後、それを12,000rpmで10分間遠心分離した。飽和ペプチド溶液の濃度を、280nmにおける吸光度及び計算された吸光係数に基づいてNanodropによって求めた。

30

【0293】

9. 動物

体重が250~300gの雄のSprague-Dawleyラット (SASCO SD、系統コード: 400; Charles River Laboratories, Inc.、Wilmington、MA) を、ポリアクリルケージに収容し、ユタ大学において標準的な収容条件 (室温22~24℃、12時間の明暗サイクル) 下に維持した。動物は、食物及び水に自由にアクセスし、実験手順の前の1週間扱いに慣れさせた。すべての手順は、実験動物の管理及び使用に関するUnited States National Institutes of Health (NIH) Guideに従って実施し、ユタ大学のInstitutional Animal Care and Use Committee (IACUC) によって承認された。

40

【0294】

10. グラルギンサンプル調製

50

市販の Lantus (100 U/ml) を HPLC によって精製して、インスリン グラルギンを得た。凍結乾燥インスリン グラルギン及びスマート グラルギンの両方を市販の Lantus 希釈剤 (30 µg 亜鉛、2.7 mg m-クレゾール、20 mg グリセロール 85%、20 µg ポリソルベート 20) と同様の成分を含む (3.63 mg/ml) 希釈緩衝液、pH 4 に溶解させた。

【0295】

11. 血管手術

ラットは、ケタミン/キシラジン (5 mg/kg のキシラジンとともに 75 mg/kg のケタミン) の腹腔内注入により麻酔し、無菌条件下において首の前面の正中線に切開を行って、血管カテーテルを埋め込んだ。micro-renathane カテーテル (MRE 025、Braintree Scientific Inc.、Braintree、MA) を右の頸静脈に挿入し、別のカテーテル (MRE 033) を左の頸動脈に埋め込んだ。開存性を維持するために、すべてのカテーテルを、ヘパリン (1,000 単位/ml; USP) 中の 40% ポリビニルピロリドン (Sigma、MO) で満たし、首の後ろに配置するよう皮下に通した。その後、動物を、動物設備に入れる前にホームケージで回復させた。

【0296】

12. 改変型正常血糖及び高血糖 クランプ

スマート及び市販の グラルギンインスリンの両方の作用を評価するために、改変型正常血糖及び高血糖 クランプをそれぞれ非糖尿病及び糖尿病ラットにおいて実施した。これらの改変型 グルコースクランプでは、(従来のグルコースクランプにおいて行われるであろう静脈内注入とは対照的に) 単回用量の皮下注射の投与後にインスリンの吸収特性を調査した。正常血糖クランプのために、血管手術の1週間後に、非糖尿病対照ラットを一晩絶食させ、動脈及び静脈カテーテルをイソフルラン麻酔下で露出させ、それぞれ、血液サンプル採取のため、及び注入ポンプに取り付けるためにコネクターにより延長した。90 分間の安静時間後に、血糖値測定器 (Ascensia Contour BG モニター、Bayer HealthCare、IN) を使用して覚醒している無拘束のラットから得た動脈血サンプルから基礎グルコースレベルを測定した。ベースライン血糖測定後に、すべてのラットに、市販の グラルギンインスリン (すなわち 0.5 mg/kg) または合成スマート グラルギンインスリン (0.5 mg/kg) のいずれかを皮下注射した。クランプ全体をとおして10分間隔で血糖を測定し、絶え間ない調節可能なデキストロース (50% w/v) の静脈内注入を使用して、4時間正常血糖 (90~110 mg/dl) を維持した。

【0297】

高血糖クランプのために、血管手術の4日後、ラットにストレプトゾトシン (STZ; 65 mg/kg) を腹腔内注射して、糖尿病を誘発した。糖尿病ラットは、インスリンのバイオアベイラビリティに対する高グルコースレベルの影響を調査するために理想的な上昇した血中及び間質グルコース濃度の利点があったため、糖尿病ラットをこれらの研究のために選択した。STZ 注射の3日後及び一晩の絶食後、すべての糖尿病ラットに、市販の グラルギンインスリン (すなわち、0.5 mg/kg) または合成スマート グラルギンインスリン (0.5 mg/kg) のいずれかを皮下注射し、ラットを4時間、高血糖レベル (約 400 mg/dl) に固定したことを除いて同様のクランププロトコルを受けさせた。

【0298】

13. インスリン耐性試験 (ITT)

4~5時間の絶食後、STZ 糖尿病ラットに対してインスリン耐性試験 (ITT) を実施した。ベースライン血糖レベルを得た後、ラットに、市販の グラルギンインスリン (1 mg/kg) または合成スマート グラルギンインスリン (1 mg/kg) のいずれかを皮下注射した。血糖値測定器 (Ascensia Contour BG モニター、Bayer HealthCare、IN) を使用して4時間にわたって15分毎に血糖レベル

を評価するために尾静脈サンプルを得た。

【0299】

14. 統計分析

結果は、平均±平均の標準誤差 (SEM) として表す。データは、スチューデント (対になっていない) 「t」検定によって分析した。反復測定分散分析 (二元配置) を行って、4 時間にわたるグルコースクランプ及び I T T に関するデータを分析した。事後分析をチューキー多重比較検定によって行った。5 % 確率のレベルを統計学的に有意と見なした。

【0300】

15. インスリンアナログの開発

固相ペプチド合成を使用することによってスマートグラルギンの化学合成を実現した (図 3)。A 及び B 鎖を別々に合成した。厳しいペプチド結合条件下における P B A の分解を回避するために、L y s (D d e) 残基を利用して B 鎖全体が合成された後の遅い段階で P B A を組み込んだ。制御された様式で 3 つすべてのジスルフィド結合を形成するために、L i u e t a l. (2014) *Angewandte Chemie Int. Ed.* 53 (15): 3983-3987 による以前の報告に記載されるとおり 4 つの異なる C y s 保護基を使用した。最初に、A 6 C y s (S - t B u) を、メルカプトエタノールを使用して脱保護した後、続いて 2, 2' - ジチオビス (5 - ニトロピリジン) (D T N P) で活性化した。次に、A 11 C y s (M m t) を、1 % T F A を使用して脱保護して、チオールを得た。その後、ジスルフィド置換反応により A 6 - A 11 分子内ジスルフィド結合を形成した。その後、A 鎖を樹脂から切断して、A 7 C y s (A c m) 及び A 20 フリーの C y s (T r t の脱保護) を得た。その後、同様のジスルフィド置換反応により A 及び B 鎖を結合した。最後のジスルフィド結合形成は、ヨウ素を使用して形成して、H P L C 精製後にスマートグラルギンを得た (純度 > 98 %)。生理的な p H に対して同様の p K a のため、2 - フルオロフェニル硼酸を使用した (図 4 A) (M a t s u m o t o e t a l. (2012) *Angewandte Chemie* 51 (9): 2124-8)。

【0301】

図 3 を参照すると、スマートグラルギンは、2 つの鎖として合成した後、続いて直行する保護基を使用して鎖を組み合わせた。

【0302】

図 4 A を参照すると、高グルコース条件下において、グルコース結合時に平衡が中性硼酸基から負電荷の硼酸複合体にシフトする。図 4 B を参照すると、インスリン グラルギンは、皮下のデポー剤からゆっくりと持続して放出されるが、スマートグラルギンは、上昇したグルコースレベルに応じて放出された。

【0303】

P B A の組み込みがインスリンの二次構造に影響があるかどうかを判断するために、近紫外円偏光二色性 (C D) を使用してインスリンを評価した。全てのインスリン分子が、本質的に α - ヘリックス二次構造と一致した C D スペクトルを有することが確認される (図 5 B)。インビトロにおける生物活性を測定するために、生物活性の指標として p A k t レベルを使用して細胞ベースのインスリン受容体活性化アッセイを実施した (図 5 C)。インスリン グラルギン及びスマートグラルギンはともに、シグナル活性化に対する同様の $E C_{50}$ (12 nM) を有する。天然のヒトインスリンは、インスリン グラルギンよりも 2 倍高い生物活性を有し、これは、文献の報告と一致している (V a r e w i j c k a n d J a n s s e n (2012) *Endocrine-related cancer* 19 (5): F63-F75)。次に、両グラルギン分子の溶解性プロフィールを測定した。インスリン グラルギン及びスマートグラルギンはともに、p H = 5 及び p H = 9 において高い溶解性を有し、p H = 7 では、はるかに低い溶解性を有し、これは、インスリン グラルギンの生化学的設計と一致している (図 5 D)。しかしながら、p H = 7 において、スマートグラルギンの溶解性は、インスリン グラルギンの溶解性の 4 分の 1 よ

り低い (0.06 対 0.28 mg/mL) ことが示された。理論に縛られることを望まないが、これは、PBAの疎水性の性質による可能性が高い。次に、様々なグルコース濃度を用いて $\text{pH}=7$ における溶解性プロファイルを測定した (図 5 E)。インスリン グラルギンは、 0 から 400 mg/mL グルコースで同じ溶解性を有するが、スマート グラルギンは、同じ範囲にわたり約 2.5 倍高まる溶解性を有する。理論に縛られることを望まないが、この結果は、スマート グラルギンは、ボロン酸複合体の負電荷及び親水性の糖の結合のため、高グルコース条件において高い溶解性を有するという仮説を裏付け、それにより、グルコース応答性の生化学的根拠を示す。

【0304】

図 5 Bを参照すると、ヒトインスリン、インスリン グラルギン、及びスマート グラルギンの円偏光二色スペクトルが示されている。図 5 Cを参照すると、測定値として pAkte レベルを使用したインスリン受容体を活性化するインスリンアナログのインビトロ活性が示されている。 $\text{pH}=5$ 、 7 、及び 9 におけるインスリン グラルギン及びスマート グラルギンの溶解性プロファイルが図 5 Dに示されている。 0 から 400 mg/dL のグルコース濃度を用いた $\text{pH}=7$ におけるインスリン グラルギン及びスマート グラルギンの溶解性プロファイルが図 5 Eに示されている。グラルギンは、すべての条件で同様の溶解性を有するが、スマート グラルギンは、高グルコース条件で高い溶解性を有する (100 と 400 mg/dL の間で約 2 倍高まる)。

【0305】

インビボにおけるスマート グラルギンのグルコース応答性を確認するために、正常血糖及び高血糖クランプ試験を実施して、スマート グラルギン及び市販のインスリン グラルギンの両方のインビボにおける生物学的活性を比較及び対比した。インスリン (0.5 mg/kg) の皮下注射後、正常血糖及び高血糖クランププロトコルの両方の間の、インスリン グラルギン及びスマート グラルギン処置ラットの両方に関する血糖レベルは、よく一致していた (実験設計による) (図 6 A)。高血糖クランプ (約 400 mg/dL グルコース) の間に、スマート グラルギン処置ラットに対する高血糖を維持するのに必要とされるグルコース注入率は、インスリン グラルギン処置ラットの注入率の 88% であった (図 6 B)。しかしながら、正常血糖クランプ (約 100 mg/dL グルコース) の間、スマート グラルギン処置ラットの外来性グルコース注入率は、(インスリン グラルギン処置ラットの注入率の約 30% にまで) 著しく減少し (図 6 B)、この差は、極めて有意であった ($P<0.01$)。理論に縛られることを望まないが、この結果は、スマート グラルギンは、高血糖条件下においてはインスリン グラルギンと同様のインビボ生物活性を有するが、正常血糖条件下では大幅に低下した活性を有することを示す。この相対的な生物活性の 2.9 倍の差は、インビボにおけるスマート グラルギンのグルコース応答性を示している。

【0306】

図 6 Aを参照すると、それぞれ非糖尿病対照ラット及びストレプトゾトシン (STZ) 糖尿病ラットにおいて実施された正常血糖 (約 100 mg/dL) 及び高血糖 (約 400 mg/dL) クランプの間の血糖レベル (mg/dL) が示されている。正常血糖及び高血糖クランプの両方において、 $t=0$ におけるベースラインの読み取り後に、ラットに、インスリン グラルギン (0.5 mg/kg) またはスマート グラルギン (0.5 mg/kg) のいずれかを皮下注射した。データを平均 $\pm \text{SEM}$ ($n=5\sim6$ /群) として表す。反復測定分散分析 (二元配置) に続いてチューキー比較を用いた事後検定。デキストロース: 50% 。

【0307】

図 6 Bを参照すると、正常血糖 (約 100 mg/dL) 及び高血糖 (約 400 mg/dL) クランプの最後の 1 時間の間の平均グルコース注入率 (1 kg 当たり $\text{m}\times\text{分}$) が示されている。正常血糖及び高血糖クランプの両方において、ラットに、インスリン グラルギン (0.5 mg/kg) またはスマート グラルギン (0.5 mg/kg) のいずれかを皮下注射した。データを平均 $\pm \text{SEM}$ ($n=5\sim6$ /群) として表す。グラルギンに対する

* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ ；スチューデント「t」（対になっていない）検定。

【0308】

図6C及び図6Dを参照すると、それぞれ、非糖尿病対照ラット及びストレプトゾトシン（STZ）糖尿病ラットにおいて実施された正常血糖（図6C、約 100mg/dl ）及び高血糖（図6D、約 400mg/dl ）クランプの間のGIR（ mg/kg/分 ）が示されている。正常血糖及び高血糖クランプの両方において、 $t = 0$ におけるベースラインの読み取り後に、ラットに、インスリングラルギン（ 0.5mg/kg ）またはスマートグラルギン（ 0.5mg/kg ）のいずれかを皮下注射した。デキストロース：50%。

【0309】

クランプ試験のこの結果から、スマートグラルギンが、低血糖を引き起こす可能性が低い可能性もあることが仮定された。インスリン誘発性低血糖の可能性を評価するために、STZ誘発糖尿病ラットにおいて高用量（ 1mg/kg ）インスリン耐性試験（ITT）を実施した。血糖クランプ条件ではない場合、インスリングラルギン及びスマートグラルギン（ 1mg/kg ）の両方の皮下投与は血糖レベルを低下させた（図7A）。インスリングラルギン処置ラットにおいて達した最下点の血糖レベルは約 40mg/dl であった。持続的なインスリンの吸収／作用の証拠は、2時間を超える低血糖の維持によって示された。この持続的なインスリンの作用は、特に印象的であり、その理由は、低血糖に対する対抗制御的な応答の（可能性がある）状況においてそれが維持されているためである。反対に、等しい用量のスマートグラルギンは、血糖のより段階的な低下及び約 102mg/dl の最下点の血糖レベルをもたらした。これらのインスリンの血糖降下力を計るために、血糖が低血糖（ $< 70\text{mg/dl}$ ）のままであった持続時間を計った。スマートグラルギン処置ラットは、市販のグラルギン処置ラットと比較して著しく短い持続時間しか低血糖のままでなかった（図7B）。理論に縛られることを望まないが、この15倍低い血糖降下力は、スマートグラルギンがインスリングラルギンと比較して低血糖を引き起こすリスクが低いことを予測することを示している。

【0310】

図7Aを参照すると、STZ糖尿病ラットにおいて実施されたインスリン耐性試験（ITT）の間の血糖レベル（ mg/dl ）が示されている。ベースライン血糖の読み取り値を得た後、ラットに、インスリングラルギン（ 1mg/kg ）またはスマートグラルギン（ 1mg/kg ）のいずれかを皮下注射した。データを平均 $\pm$ SEM（ $n = 5 \sim 6$ /群）として表す。反復測定分散分析（二元配置）に続いてチューキー比較を用いた事後検定。

【0311】

図7Bを参照すると、ラットにインスリングラルギン（ 1mg/kg ）またはスマートグラルギン（ 1mg/kg ）のいずれかが注射されたITTの間の、血糖レベルが 70mg/dl 未満のままである時間（分）が示されている。データを平均 $\pm$ SEM（ $n = 5 \sim 6$ /群）として表す。グラルギンに対する** $P < 0.01$ ；スチューデント「t」（対になっていない）検定。

【0312】

この調査は、インスリンの治療指数を高める目的で着手した。この新技術は、生理的なpHにおけるグルコース依存的溶解性を可能にするスマートグラルギンへインスリングラルギンを変換するためのフェニルボロン酸の使用に基づくものであった。市販のインスリングラルギンの皮下のデポー剤からの血流への安定した放出とは異なり、インビボ生物活性プロファイル（図7B）は、スマートグラルギンが高グルコース条件下において比較的高い吸収及び低グルコース条件下において著しく低い吸収を示すことを示唆するであろう。興味深いことに、（正常血糖条件下における）皮下のデポー剤からの低いインスリン吸収率は、スマートグラルギンにインスリン作用の持続時間を延長する理論上の利点を与えるであろう。このGRI誘導体の別の固有の利点は、公開された他のGRI設計との適合性である。例えば、スマートグラルギンは、場合によって、マンノース受容体を標的とする最近のMerc k法に基づいてスマートグラルギン・炭水化物複合体を作り出すよう改

10

20

30

40

50

変することもできる (Kaarsholm et al., (2018) Diabetes 67 (2): 299-308; Yang et al., (2018) JCI Insight 3 (1))。この2つの設計は、完全に異なる作用メカニズムを有するため、そのような組み合わせは、グルコース応答性をさらに向上させる可能性がある。

【0313】

インスリン誘発性低血糖は、インスリン治療の最も深刻な急性合併症である。速効型及び長時間作用型インスリンアナログの導入により、天然のインスリンと比較して低血糖のリスクの低下がもたらされたが、これらのインスリンアナログは、一旦注射されると、血流へのインスリン吸収が、継続的で、周囲のグルコース濃度とは無関係であるため、依然として治療域が狭い (Berenson et al., (2011) Annals of the New York Academy of Sciences 1243: E40-E54) (図4B)。インスリン作用の認識と一致して、薬理学的用量の市販のインスリングラルギンが長期の低血糖を引き起こしたことが示されている (図7B)。しかしながら、等モル用量のグルコース応答性スマートグラルギンは、(1) 血糖レベルの102 mg/dlの最下点への低下; 及び(2) 15分の1に短縮された低血糖の持続時間によって示される低血糖にする力が低いことが示された。理論に縛られることを望まないが、いくつかの要因が、この有益な発見に寄与した可能性もある。第1に、血糖クランプ実験の定常状態部分の間に確認された相対的な生物活性測定値に関係なく、スマートグラルギンを用いたインスリン耐性試験の間の(インスリングラルギンと比較して)より段階的な血糖レベルの低下は、皮下注射後のよりゆっくりとした吸収を示している (図7A)。生理的なpHにおけるスマートグラルギンのこの低下した吸収率は、インビトロにおける所見と一致し (図5D)、PBAの疎水性の性質に対応する可能性がある。第2に、高血糖条件下におけるスマートグラルギンの12%低い生物活性が、この確認された効果にわずかに寄与した可能性もある。第3に、血糖が正常血糖に近づいたとき、正常血糖において著しく低下したスマートグラルギンの溶解性 (図5E及び図7B) が低血糖の発生を予防したことが示されている。注目すべきは、スマートグラルギン及び市販のインスリングラルギンは、インビトロにおいてインスリン受容体シグナル伝達を活性化する同一の生物活性を示すため、スマートグラルギンのインビボ活性のこのよりゆっくりとした開始及び低さは、本質的なインスリン刺激活性の低下によるものではないことが示されている (図5C)。要約すると、スマートグラルギンは、インビトロ (図5D) において示され、さらにインビボ (図7A) において示される作用のゆっくりとした開始によっても示されるとおり、全般的な溶解性の低下を示し、さらに、スマートインスリンは、インビトロ (図5E) 及びインビボ (図6B) での高グルコース条件下において高い相対的溶解性を示し、それによりグルコース応答特性を実証した。総合的に、これらの新しい発見は、グラルギンの全般的な溶解性をグルコース応答様式で変えることによってインスリンの生物活性プロフィールを操作することが可能であることを示す。

【0314】

要約すると、グルコース応答性スマートグラルギン合成のための根拠が提供される。これは、インスリングラルギンと比較して低血糖を予防することにおいて優れていることが示されている。グルコース応答特性を有するインスリン誘導体の急速な臨床開発は、インスリンで処置される糖尿病のヒトを助け、低血糖のリスクを最小限に抑えながら血糖目標を実現することができる。

【0315】

16. 予測例: グルコース応答性を最大にするグルコース応答性インスリン (GRI) 誘導体の設計及び化学合成

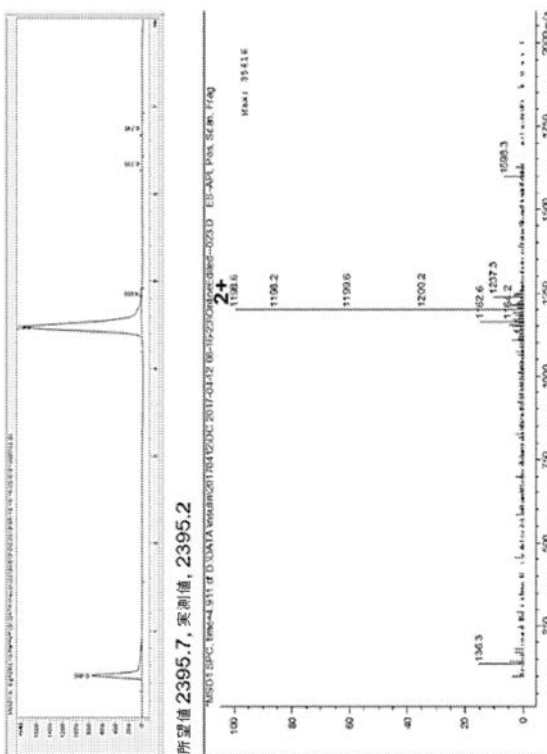
インスリングラルギンは、B鎖のC末端に2つの付加的なアルギニン残基を有し、これが、生理的なpH下において天然のインスリンと比較してpIの上昇及び溶解性の低下につながる。ここでの目標は、生物活性を保持しながらもインスリンに組み込まれたPBA基及び正荷電を持つ基の両方を有するインスリン誘導体を合成することである。低血糖条件下において、これらの改変インスリン分子は、ほとんど不溶性のままである。しかしなが

ら、血糖レベルが上昇するにつれ、平衡がシフトし、遊離グルコースがPBAに結合して、負電荷を形成し、pIを低下させる（図4Bを参照）。グラルギンの長時間作用特性を十分に利用し、グルコース応答性を最大にするために、pH7において比較的低い溶解性を維持しながらグルコース感知PBA基を有するインスリン誘導体が合成されることになる。この場合、異なるPBA及びアミノ酸の組み合わせが、異なるグルコース応答特性及び溶解性をもたらすことになる（PBAは、芳香族で、疎水性であるため、ベースライン溶解性を低下させることになる）。スマートグラルギンのベースライン溶解性は、インスリングラルギンの溶解性よりも既に4倍低い。この制約を克服するため、溶解性を高めるためのArg-Gluなどのアミノ酸の組み合わせを調査する。Arg-Gluは、ゼロの正味電荷を有するため、pIに影響を及ぼさない。さらに、側鎖の極性官能基は、全体的な溶解性を高めるであろう。PBA基（3、4、5）がB鎖に組み込まれることになるため、溶解性基（Arg-Glu）_n、n=1~2はA鎖のC末端に組み込まれることになる（図8）。様々なPBAを、グルコース応答性を向上させることと関連するグルコース感知特性に関して評価する。グルコース結合は、PBAのpK_aに極めて依存的であるため、7.0から7.8の範囲のpK_aを有するPBAを使用する（図8）。したがって、合計18のインスリン誘導体が合成されることになる。

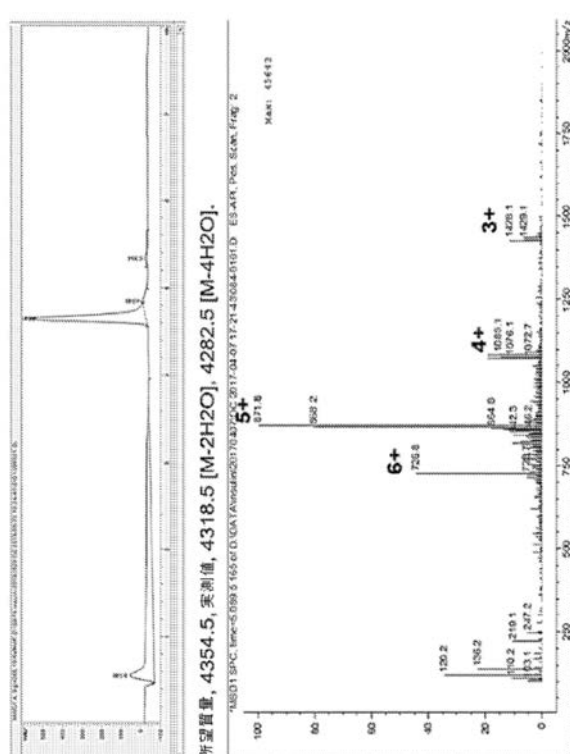
【0316】

様々な修飾及び改変を、本発明の範囲及び趣旨から逸脱することなく本発明に行うことが可能であることは、当業者には明らかであろう。本発明の他の態様は、明細書及び本明細書中開示される本発明の実施を検討することにより当業者に明らかとなるだろう。明細書及び例は、例示にすぎないと解釈されることを意図し、本発明の真の範囲及び趣旨は、以下の特許請求の範囲により示される。

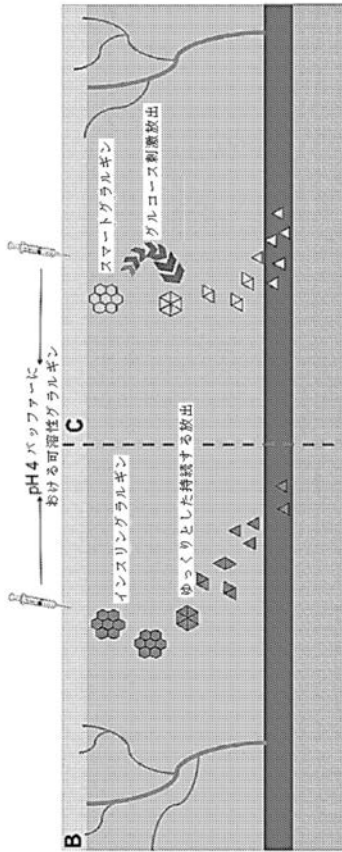
【図1A】



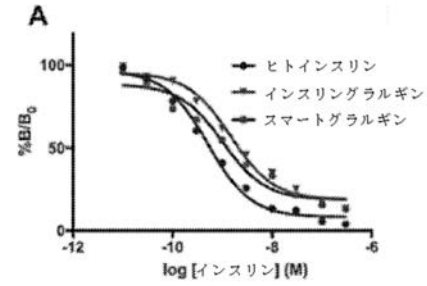
【図1B】



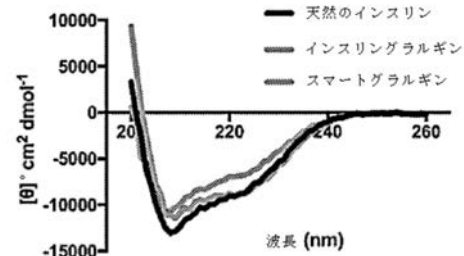
【図 4 B】



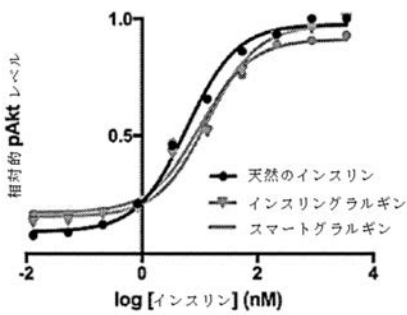
【図 5 A】



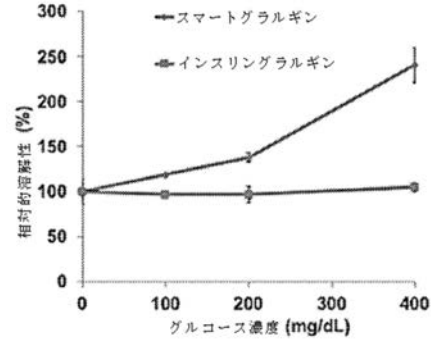
【図 5 B】



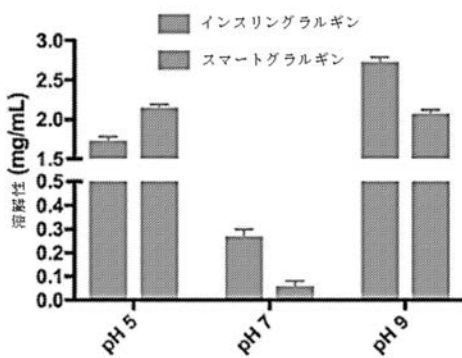
【図 5 C】



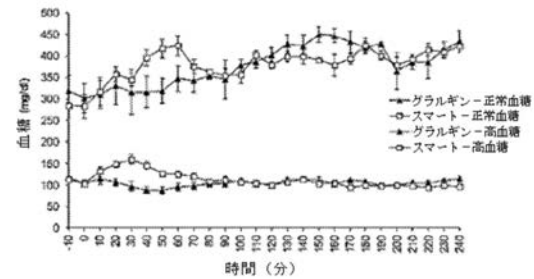
【図 5 E】



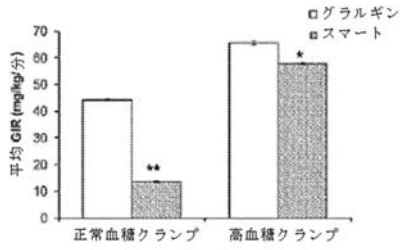
【図 5 D】



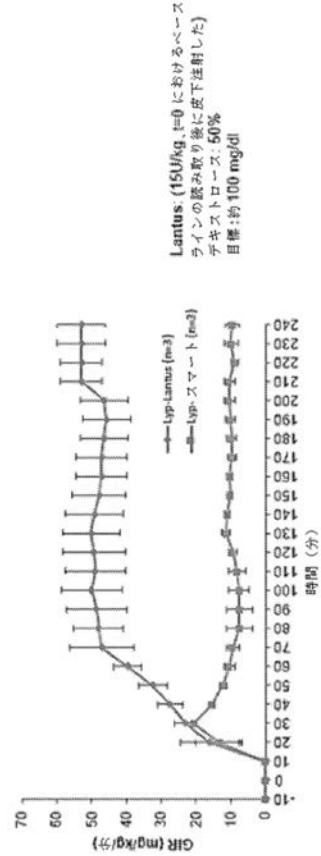
【図 6 A】



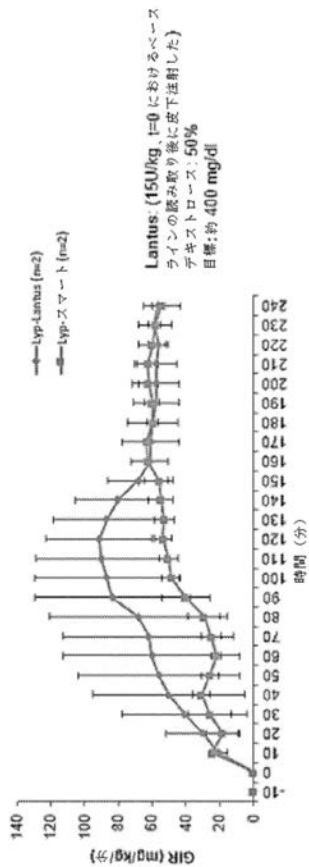
【図 6 B】



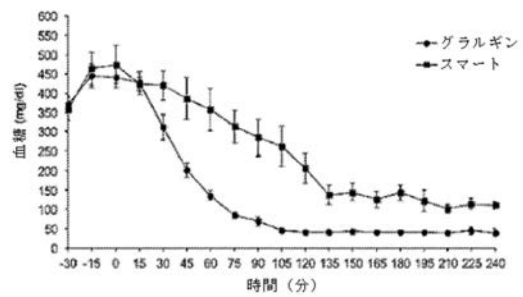
【図 6 C】



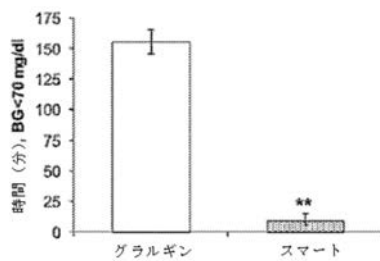
【図 6 D】



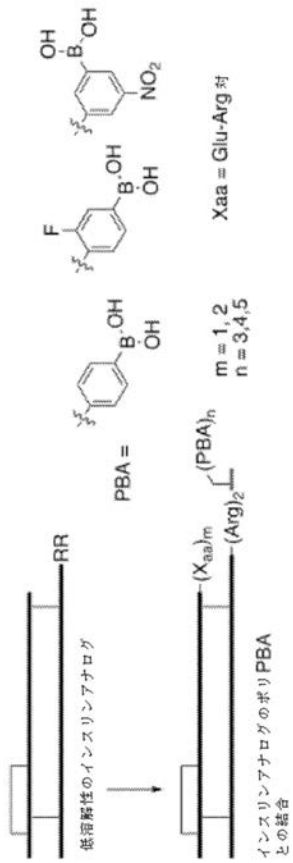
【図 7 A】



【図 7 B】



【図 8】



【配列表】

2021521230000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US19/27484

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC - A61K 31/192, 31/69, 38/16, 38/17, 38/28; A61P 3/08, 3/10; C07K 14/435, 14/47, 14/62 (2019.01) CPC - A61K 31/192, 31/69, 38/16, 38/17, 38/28; A61P 3/08, 3/10; C07K 14/435, 14/62, 14/4713 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) See Search History document Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X -- Y	US 2017/0360895 A1 (CASE WESTERN RESERVE UNIVERSITY) 21 December 2017; abstract; paragraphs [0006], [0034], [0035], [0036], [0040], [0043], [0056], [0059], [0060], [0069], [0071], [0072], [0075]; Table 2; Claim 15; Figures 1D, 2A	1-3, 5-7, 14, 17-19, 39/1, 40/1, 41/40/1, 42/41/40/1, 43/40/1, 44/40/1, 45/40/1, 46/40/1, 47/1, 48/47/1, 49/47/1, 50/47/1, 51/50/47/1, 52/1 ----- 23
X -- Y -- A	US 2003/0186846 A1 (HOEG-JENSEN, T et al.) 2 October 2003; abstract; paragraphs [0017], [0033], [0037], [0038], [0059], [0070], [0072], [0074], [0075], [0076], [0093], [0137], [0150], [0154]; Formula A, Formula J, Formula U; Formula Y; Formula Z; Formula AB, Formula AA; Formula AB; Table 1; Figure 1	22, 27-37, 39/22, 40/22, 41/40/22, 42/41/40/22, 43/40/22, 44/40/22, 45/40/22, 46/40/22, 47/22, 48/47/22, 49/47/22, 50/47/22, 51/50/47/22, 52/22 ----- 23 ----- 53, 55, 57
D, A	(CHOU, DH et al.) Glucose-responsive insulin activity by covalent modification with aliphatic phenylboronic acid conjugates. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. 24 February 2015, Epub 9 February 2015, Vol. 112, No. 8; pages 2401-2406; Figure 1; DOI: 10.1073/pnas.1424684112	53, 55, 57
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "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 03 September 2019 (03.09.2019)		Date of mailing of the international search report 30 SEP 2019
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Shane Thomas Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US19/27484

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2015/0320837 A1 (MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY) 12 November 2015; paragraphs [0025], [0280], Figure 2	53, 55, 57
A	— (VIKOVA, J et al.) Rational steering of insulin binding specificity by intra-chain chemical crosslinking. Scientific Reports. 21 January 2016, Vol. 6, No. 19431; page 9, 2nd paragraph; DOI: 10.1038/srep19431	53, 55, 57
A	— (TAKEI, C et al.) Sugar-Responsive Layer-by-Layer Film Composed of Phenylboronic Acid-Appended Insulin and Poly(vinyl alcohol). Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 1 April 2018, Vol. 66, No. 4; pages 368-374; DOI: 10.1248/cpb.c17-00817	1-3, 5-7, 14, 17-19, 22-23, 27-37, 39/1, 39/22, 40/1, 40/22, 41/40/1, 41/40/22, 42/41/40/1, 42/41/40/22, 43/40/1, 43/40/22, 44/40/1, 44/40/22, 45/40/1, 45/40/22, 46/40/1, 46/40/22, 47/1, 47/22, 48/47/1, 48/47/22, 49/47/1, 49/47/22, 50/47/1, 50/47/22, 51/50/47/1, 51/50/47/22, 52/1, 52/22, 53, 55, 57
A	WO 2016/179568 A1 (PROTOMER TECHNOLOGIES, INC.) 10 November 2016	1-3, 5-7, 14, 17-19, 22-23, 27-37, 39/1, 39/22, 40/1, 40/22, 41/40/1, 41/40/22, 42/41/40/1, 42/41/40/22, 43/40/1, 43/40/22, 44/40/1, 44/40/22, 45/40/1, 45/40/22, 46/40/1, 46/40/22, 47/1, 47/22, 48/47/1, 48/47/22, 49/47/1, 49/47/22, 50/47/1, 50/47/22, 51/50/47/1, 51/50/47/22, 52/1, 52/22, 53, 55, 57
P, Y	— (DISOTUJAR, MM et al.) Synthesis of hydrophobic insulin-based peptides using a helping hand strategy. Organic & Biomolecular Chemistry. 2018, Epub 21 June 2018, Vol. 17; pages 1703-1708; DOI: 10.1039/C8OB01212A	53, 55, 57

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US19/27484

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

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

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

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

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

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

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

-Please see supplemental page-

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-57; A chain encompassing SEQ ID NO: 1 (insulin A chain); B chain encompassing SEQ ID NO: 2 with two C-terminally appended lysine residues (insulin B chain)

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US19/27484

Continued from Box No. III: Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Groups I+, Claims 1-57, an A chain encompassing SEQ ID NO: 1 (insulin A chain) and a B chain encompassing SEQ ID NO: 2 with two C-terminally appended lysine residues (insulin B chain) are directed toward a peptide comprising an insulin A chain peptide and an insulin B chain peptide; a pharmaceutical composition comprising the peptide, methods associated therewith, and a method for making the insulin B chain peptide.

The peptides, compositions and methods will be searched to the extent they encompass an A chain encompassing SEQ ID NO: 1 (first exemplary insulin A chain) and a B chain encompassing SEQ ID NO: 2 with two C-terminally appended lysine residues (first exemplary insulin B chain). Applicant is invited to elect additional insulin A chain and/or B chain sequence(s), with specified SEQ ID NO: for each, or with specified substitution(s) at specified site(s) of a SEQ ID NO., such that the sequence of each elected species is fully specified (i.e. no optional or variable residues or substituents), and available as an option within at least one searchable claim, to be searched. Additional insulin A chain and/or B chain sequence(s) will be searched upon the payment of additional fees. It is believed that claims 1-3, 5-7, 14, 17-19, 22, 23 (in-part), 27-37, 39-53, 55 and 57 encompass this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass SEQ ID NO: 1 (insulin A chain) and SEQ ID NO: 2 with two C-terminally appended lysine residues (insulin B chain). Applicants must specify the searchable claims that encompass any additionally elected insulin A chain and/or B chain sequence(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be an insulin A chain encompassing SEQ ID NO: 3 (insulin A chain).

Groups I+ share the technical features including: a peptide comprising an insulin A chain peptide and an insulin B chain peptide, wherein the insulin B chain peptide comprises at least 32 amino acid residues, and wherein at least three of the amino acid residues of the insulin B chain peptide are lysine residues; a pharmaceutical composition comprising the peptide and a pharmaceutically acceptable carrier; a method of treating diabetes in a subject, the method comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of the peptide, thereby treating diabetes in the subject; a method of modifying insulin receptor activation in at least one cell, the method comprising contacting at least one cell with an effective amount of the peptide, thereby increasing insulin receptor activation in at least one cell; a method of lowering blood sugar in a subject, the method comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of the peptide, thereby lowering blood sugar in the subject; a peptide comprising an insulin A chain peptide and an insulin B chain peptide, wherein the peptide is directly conjugated to at least one organic borate group; and a method of making an insulin B chain peptide, wherein the insulin B chain peptide is directly conjugated to an organic borate group, the method comprising the step of reacting a peptide-bound insulin B chain resin with a phenylboronic acid having a structure represented by a formula: HO-Z-Ar1-B(OH)2; wherein Z is selected from C(O) and SO2; wherein Ar1 is selected from 5-membered aryl, 5-membered heteroaryl, 6-membered aryl, and 6-membered heteroaryl and is substituted with 0, 1, 2, or 3 groups independently selected from halogen, -CN, -NO2, -OH, C1-C4 alkyl, C1-C4 haloalkyl, C1-C4 hydroxyalkyl, C1-C4 alkoxy, C1-C4 alkylamino, and (C1-C4)(C1-C4) dialkylamino, and cleaving the resin, thereby making the insulin B chain peptide.

However, these shared technical features are previously disclosed by US 2017/0360895 A1 to Case Western Reserve University (hereinafter 'Western') in view of the article 'Glucose-responsive insulin activity by covalent modification with aliphatic phenylboronic acid conjugates' by Hung-Chieh Chou et al. (hereinafter 'Chou'), and the abstract of the article entitled 'Insulins with built-in glucose sensors for glucose responsive insulin release' by Hoeg-Jensen et al. (hereinafter 'Hoeg-Jensen').

Western discloses a peptide comprising an insulin A chain peptide and an insulin B chain peptide (a peptide comprising an insulin A chain peptide and an insulin B chain peptide; paragraph [0036]), wherein the insulin B chain peptide comprises at least 32 amino acid residues (wherein the B chain includes C-terminal amino acid extensions including B31:lys and B32:lys (wherein the insulin B chain peptide comprises at least 32 amino acid residues); paragraphs [0067], [0072]), and wherein at least three of the amino acid residues of the insulin B chain peptide are lysine residues (wherein the B chain includes C-terminal amino acid extensions including B31:lys and B32:lys (wherein at least three of the amino acid residues of the insulin B chain peptide are lysine residues); paragraphs [0067], [0072]); a pharmaceutical composition comprising the peptide and a pharmaceutically acceptable carrier (a pharmaceutical composition comprising the peptide and a pharmaceutically acceptable carrier; paragraph [0069]); a method of treating diabetes in a subject (a method of treating diabetes in a subject; paragraphs [0034], [0060], [0069]), the method comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of the peptide, thereby treating diabetes in the subject (the method comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of the peptide, thereby treating diabetes in the subject; paragraphs [0034], [0060], [0069]); a method of modifying insulin receptor activation in at least one cell (a method comprising administering an insulin analog with affinity for an insulin receptor (a method of modifying insulin receptor activation in at least one cell); paragraphs [0027], [0030], [0034]), the method comprising contacting at least one cell with an effective amount of the peptide, thereby increasing insulin receptor activation in at least one cell (the method comprising administering to a subject (contacting at least one cell with) an effective amount of the peptide, thereby increasing insulin receptor activation in at least one cell; paragraphs [0027], [0030], [0034]); a method of lowering blood sugar in a subject (a method of treating diabetes in a subject, including controlling blood glucose (a method of lowering blood sugar in a subject); paragraphs [0034], [0060], [0069], Claim 14), the method comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of the peptide, thereby lowering blood sugar in the subject (the method comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of the peptide, thereby lowering blood sugar in the subject; paragraphs [0034], [0060], [0069], Claim 14). Western further discloses wherein the insulin peptides are made by total chemical synthesis (wherein the insulin peptides are made by total chemical synthesis; paragraph [0087]); and insulin analogs which include attached elements (insulin analogs which include attached elements; paragraph [0043]).

****Continued Within the Next Supplemental Box****

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US19/27484

-***Continued from Previous Supplemental Box.***-

Western does not disclose wherein the peptide is directly conjugated to at least one organic borate group; and a method of making an insulin B chain peptide, wherein the insulin B chain peptide is directly conjugated to an organic borate group, the method comprising the step of reacting a peptide-bound insulin B chain resin with a phenylboronic acid having a structure represented by a formula: HO-Z-Ar1-B(OH)₂; wherein Z is selected from C(O) and SO₂; wherein Ar1 is selected from 5-membered aryl, 5-membered heteroaryl, 6-membered aryl, and 6-membered heteroaryl and is substituted with 0, 1, 2, or 3 groups independently selected from halogen, -CN, -NO₂, -OH, C1-C4 alkyl, C1-C4 haloalkyl, C1-C4 hydroxyalkyl, C1-C4 alkoxy, C1-C4 alkylamino, and (C1-C4)(C1-C4) dialkylamino, and cleaving the resin, thereby making the insulin B chain peptide

Chou discloses attachment of a moiety comprising a phenylboronic acid (attachment of a moiety comprising a phenylboronic acid; Figure 1A) having a structure represented by a formula: HO-Z-Ar1-B(OH)₂; wherein Z is C(O) (having a structure represented by a formula: HO-Z-Ar1-B(OH)₂; wherein Z is C(O); Figure 1A); wherein Ar1 is 6-membered aryl and is substituted with 0, or 1, halogen groups (wherein Ar1 is 6-membered aryl and is substituted with 0, or 1, halogen groups; Figure 1A) to a lysine of an insulin chain (to a lysine of an insulin chain; Figure 1C).

Hoeg-Jensen discloses derivatization of insulin with phenylboronic acids at lysine residues (derivatization of insulin with phenylboronic acids at lysine residues; abstract).

It would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time the invention was made to have to have modified the disclosure of Western to have used a resin as a substrate for the total chemical synthesis of one or more insulin peptide chains, as disclosed by Western, in order to provide a controlled means of providing and washing reagents for the addition of successive amino acids that comprise the peptide. It further would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time the invention was made to have to have modified the disclosure of Western to have directly modified one or more lysine residues in the insulin peptide with a phenylboronic acid moiety, as disclosed by Hoeg-Jensen, in order to provide for the production of insulin peptides with glucose-responsive insulin release, as disclosed by Hoeg-Jensen. It additionally would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time the invention was made to have to have modified the disclosure of Western to have used the phenylboronic acid compounds disclosed by Chou for the production of functionalized insulin analogs during total chemical synthesis on a resin, in order to better enable the reaction to be conducted so as to react one or more lysine residues at the C-terminus of the peptide, based on the disclosure of Western.

Since none of the special technical features of the Groups I+ Inventions is found in more than one of the Inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by a combination of the Western, Chou, and Hoeg-Jensen references, unity of invention is lacking.

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/17 (2006.01) C 1 2 N 15/17

(81)指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(74)代理人 100123777
弁理士 市川 さつき

(74)代理人 100111796
弁理士 服部 博信

(74)代理人 100123766
弁理士 松田 七重

(72)発明者 チョウ ダニー ホンージェ
アメリカ合衆国 ユタ州 84112 ソルト レイク シティー ノース メディカル ドライ
ブ イースト 15

Fターム(参考) 4B065 AA91X AA93Y BB19
4C084 AA02 AA03 BA44 DB34 NA06 ZC35
4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 CA40 DA37 EA20 FA33 FA50