

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6594856号  
(P6594856)

(45) 発行日 令和1年10月23日 (2019. 10. 23)

(24) 登録日 令和1年10月4日 (2019. 10. 4)

(51) Int. Cl.	F I
<b>C O 7 K 14/605 (2006. 01)</b>	C O 7 K 14/605 Z N A
<b>C O 7 K 5/037 (2006. 01)</b>	C O 7 K 5/037
<b>A 6 1 K 38/26 (2006. 01)</b>	A 6 1 K 38/26
<b>A 6 1 P 3/04 (2006. 01)</b>	A 6 1 P 3/04
<b>A 6 1 P 3/10 (2006. 01)</b>	A 6 1 P 3/10

請求項の数 22 (全 213 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-508190 (P2016-508190)	(73) 特許権者	509091848
(86) (22) 出願日	平成26年4月22日 (2014. 4. 22)		ノヴォ ノルディスク アー／エス
(65) 公表番号	特表2016-526012 (P2016-526012A)		デンマーク、ハウスヴェア ディーケー
(43) 公表日	平成28年9月1日 (2016. 9. 1)		2880、ノヴォ アレー
(86) 国際出願番号	PCT/EP2014/058084	(74) 代理人	100108453
(87) 国際公開番号	W02014/170496		弁理士 村山 靖彦
(87) 国際公開日	平成26年10月23日 (2014. 10. 23)	(74) 代理人	100110364
審査請求日	平成29年4月10日 (2017. 4. 10)		弁理士 実広 信哉
(31) 優先権主張番号	13164272.0	(74) 代理人	100133400
(32) 優先日	平成25年4月18日 (2013. 4. 18)		弁理士 阿部 達彦
(33) 優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁 (EP)	(72) 発明者	ウルリヒ・ゼンスフース
(31) 優先権主張番号	61/814, 969		デンマーク・DK-2880・ハウスヴェ
(32) 優先日	平成25年4月23日 (2013. 4. 23)		ア・ノヴォ・アレー・(番地なし)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 医療用の安定な遅延性GLP-1／グルカゴン受容体コアゴニスト

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式Iのアミノ酸配列（配列番号4及び配列番号5に対応する）：

His-X<sub>2</sub>-X<sub>3</sub>-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X<sub>10</sub>-Ser-X<sub>12</sub>-Tyr-Leu-X<sub>15</sub>-X<sub>16</sub>-X<sub>17</sub>-X<sub>18</sub>-Ala-X<sub>20</sub>-X<sub>21</sub>-Phe-Val-X<sub>24</sub>-Trp-Leu-X<sub>27</sub>-X<sub>28</sub>-X<sub>29</sub>-X<sub>30</sub> [I]

[式中、

X<sub>2</sub>は、Aib、Acb、又はAcprを表し；X<sub>3</sub>は、Gln又はHisを表し；X<sub>10</sub>は、Leuを表し；X<sub>12</sub>は、Lys又はArgを表し；X<sub>15</sub>は、Asp又はGluを表し；X<sub>16</sub>は、Ser、Ala、Leu、Glu、Aib又はLysを表し；X<sub>17</sub>は、Arg又はLysを表し；X<sub>18</sub>は、Arg又はAlaを表し；X<sub>20</sub>は、Gln又はArgを表し；X<sub>21</sub>は、Asp、Glu又はSerを表し；X<sub>24</sub>は、Gln又はAlaを表し；X<sub>27</sub>は、Leuを表し；X<sub>28</sub>は、Asn、Ser又はLysを表し；X<sub>29</sub>は、Thr又はLysを表し；

10

20



$X_{30}$ はLysを表すか、又は $X_{30}$ は存在せず；

このアミノ酸配列は、12、16、17、18、20、21、24、28、29、及び／又は30位の1つ又は複数にリシン残基を含む]

からなるグルカゴン誘導体であって、

前記グルカゴン誘導体は、親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基を含み、前記負荷電部分の1個は、前記親油性部分から遠位にあり、前記置換基は、アミノ酸16、21、24、28、29、又は30位の1個の中のリシン残基の 位に結合しており；

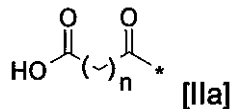
前記置換基が、式II：

$Z_1-Z_2-Z_3-Z_4-Z_5-Z_6-Z_7-Z_8-Z_9-Z_{10}-$  [II]

[式中、

$Z_1$ は、式IIaによる構造

【化1】



(式IIa中のnは6～20であり、記号\*は、隣接する基の窒素との結合点を表す)を表し； $Z_2$ 、 $Z_3$ 、 $Z_4$ 、 $Z_5$ 、 $Z_6$ 、 $Z_7$ 、 $Z_8$ 、 $Z_9$ 、 $Z_{10}$ は個別に、次のアミノ酸：Glu、Glu、Gly、Ser、Ala、Thr、及びAdoによって表されるか、又は存在せず、

残基 $Z_2 \sim Z_{10}$ の少なくとも2個は存在し、

前記置換基は、式IのLysの 位に結合しており、

$Z_1-Z_2-Z_3-Z_4-Z_5-Z_6-Z_7-Z_8-Z_9-Z_{10}$ は合わせて、少なくとも3個の負電荷を有する]を有し、

前記グルカゴン誘導体はC末端アミドであり、

グルカゴン(配列番号1)と比較して、3～10のアミノ酸残基改変を含む、グルカゴン誘導体

又は薬学的に許容されるその塩。

【請求項2】

グルカゴン受容体のアゴニスト及びGLP-1受容体のアゴニストである、請求項1に記載のグルカゴン誘導体又は薬学的に許容されるその塩。

【請求項3】

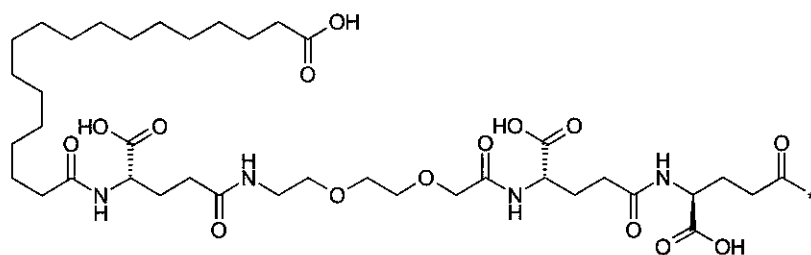
グルカゴン(配列番号1)と比較して、置換又は付加であるアミノ酸残基改変を含む、請求項1または2に記載のグルカゴン誘導体又は薬学的に許容されるその塩。

【請求項4】

前記置換基が、次の9つの式(Chem.A～Chem.I)のいずれか1つによる構造を表し、\*は、式IのLys残基の 位の窒素原子との結合点を示す、請求項1～3のいずれか一項に記載のグルカゴン誘導体、又は薬学的に許容されるその塩。

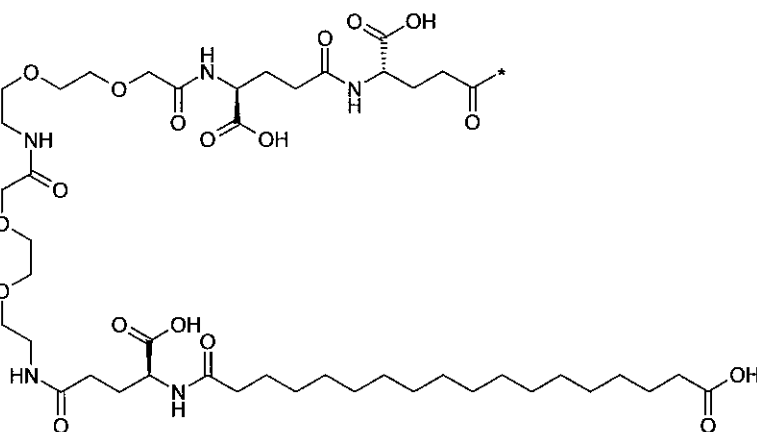


【化 2】



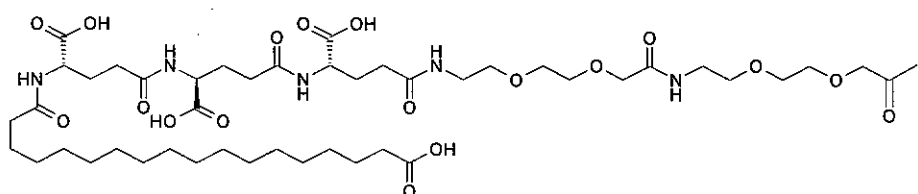
(Chem.A);

10



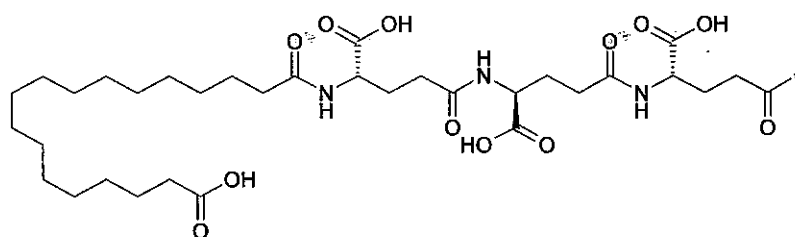
(Chem.B);

20

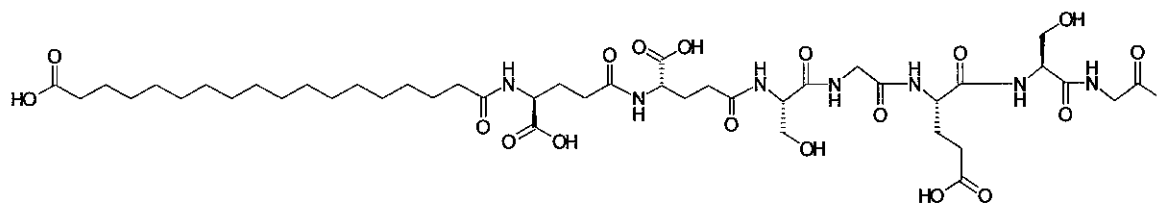


(Chem.C);

30



(Chem.D);

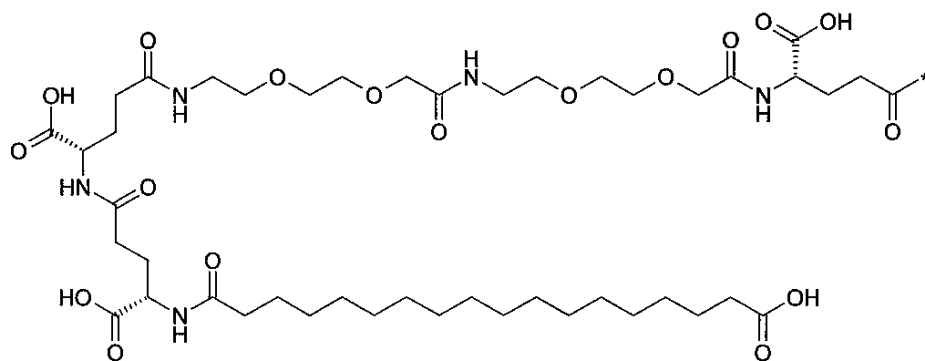


(Chem.E);

40

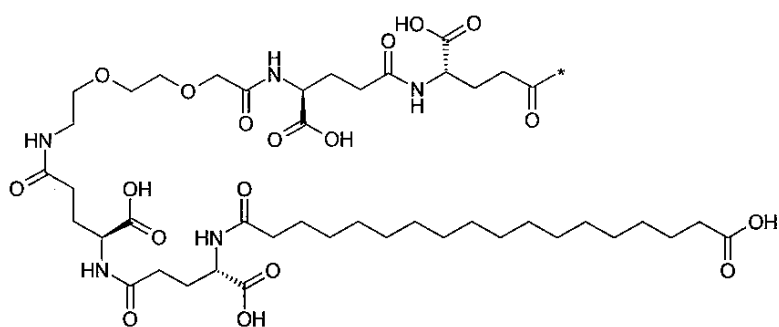


## 【化 3】



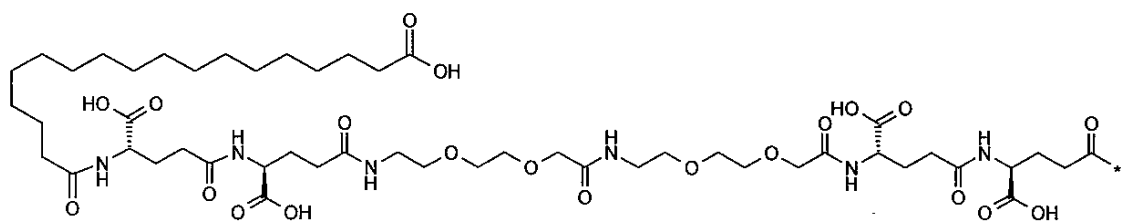
(Chem.F);

10



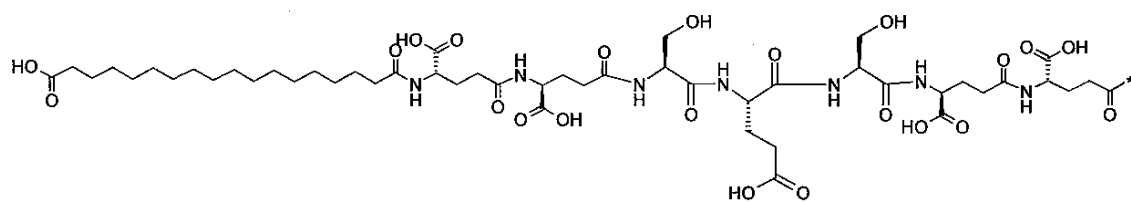
(Chem.G);

20



(Chem.H); 及び

30



(Chem.I).

## 【請求項 5】

N<sup>16</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Leu27,Ser28]-グルカゴンアミド

40

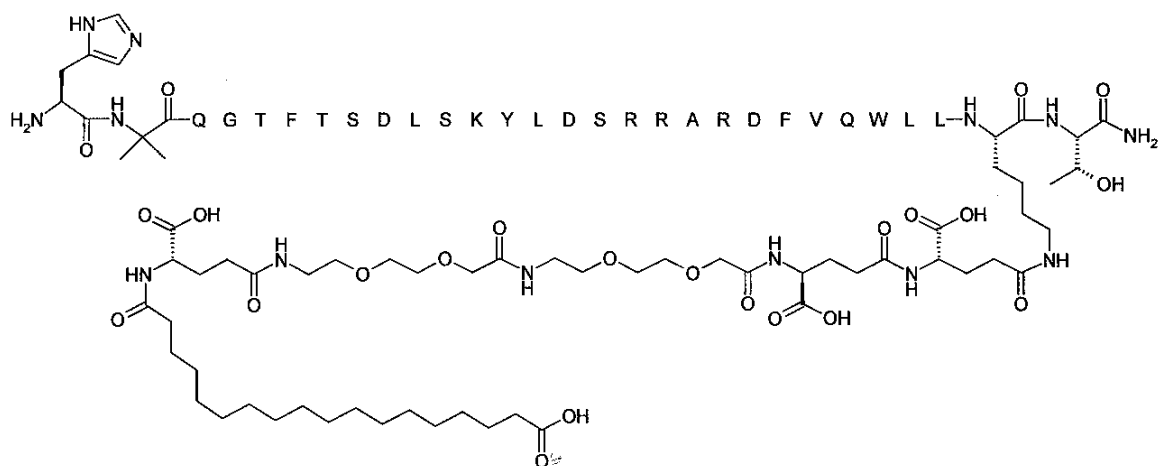


NC(=O)C[C@H](Cc1c[nH]cn1)C(=O)N(C(C)(C)C)C(=O)QGGTFTSDLSKYLDN[C@@H](CCCCNC(=O)R)C(=O)RRARDFVQWLLSNC(=O)C[C@H](O)C(N)=O

10

【化 5】

20



30

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド



Chemical structure of the *in vitro* synthesized peptide, *h*HLA-B\*57:01-p1, showing the N-terminal region (H2N) and the C-terminal region (NH2) with the peptide sequence: H2N-*h*HLA-B\*57:01-p1-NH2. The structure includes a long hydrophobic chain and a carboxylic acid group.

10

20

Chemical structure of the peptide sequence: NC(=O)C(Cc1c[nH]cn1)C(=O)N(C(C)(C)C)C(=O)O (labeled **Q**) followed by the sequence: **G T F T S D L S K Y L D S R R A R D F V Q W L L S T**. The structure also shows a long-chain fatty acid derivative (labeled **Q**) and a complex peptide chain with multiple amide bonds and a terminal amine group.

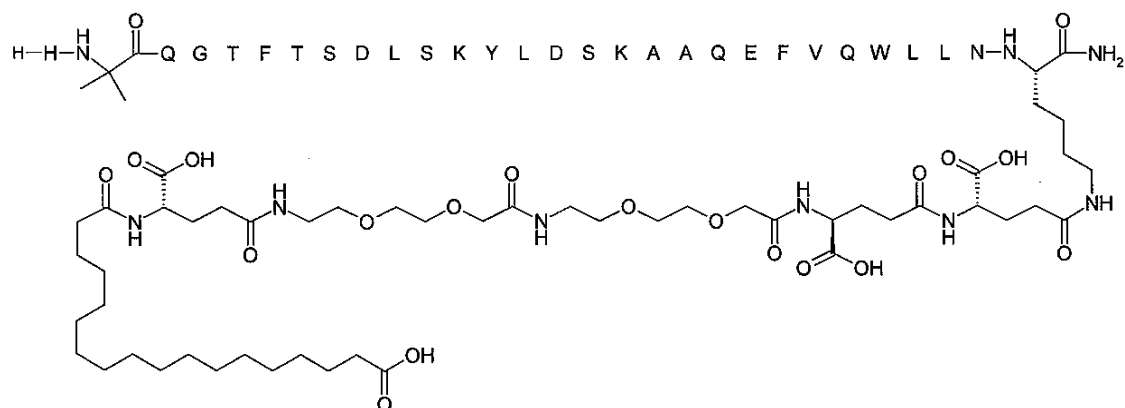
30

N<sup>16</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Glu21,Leu27]-グルカゴンアミド

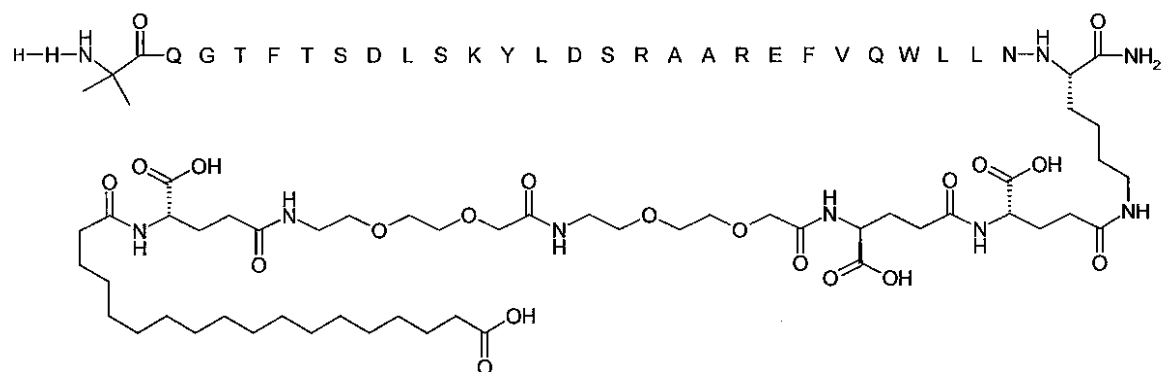


[illegible]

【化 9】



【化 1 0】



N<sup>16</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カ



【化 1 1】



20



40



[illegible]

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-グルカゴンアミド

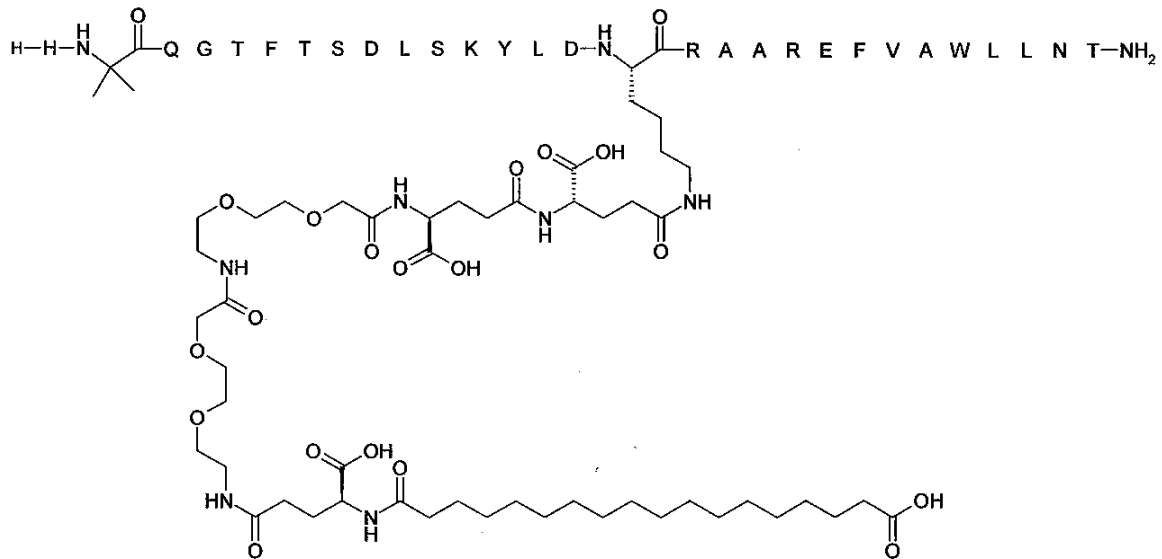
[illegible]

30

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-グルカゴンアミド



## 【化 1 5】

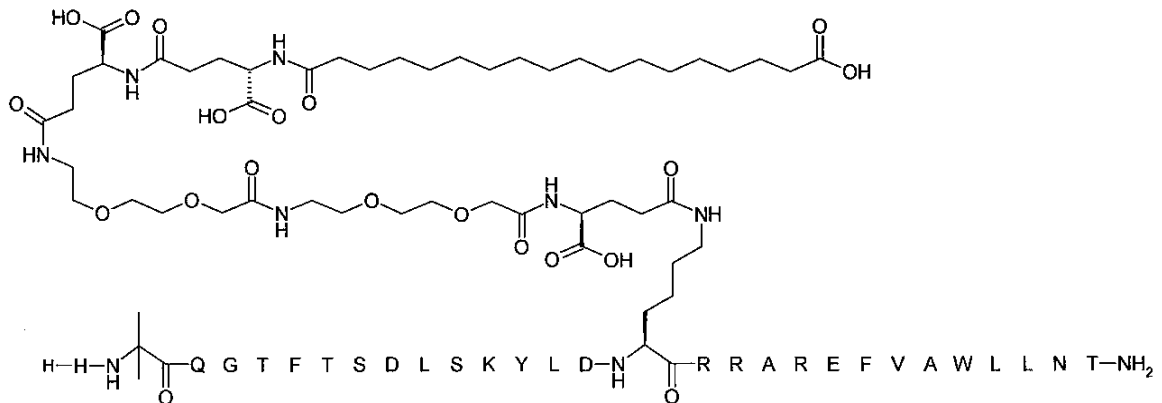


10

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-グルカゴンアミド

20

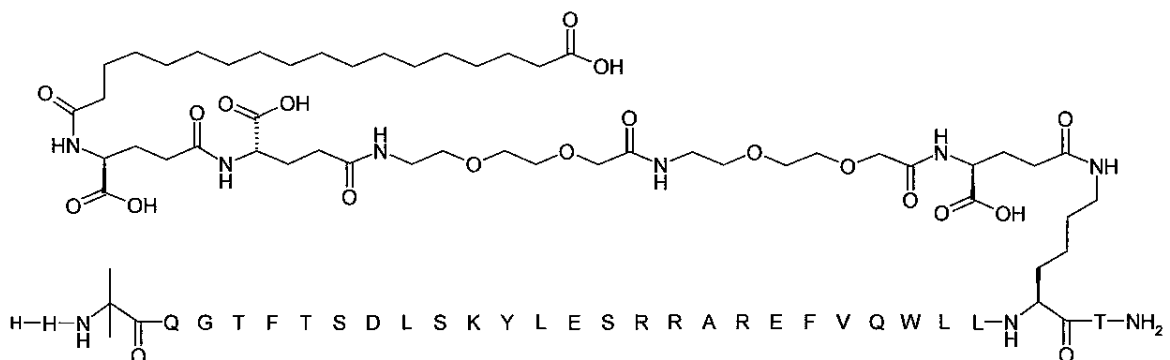
## 【化 1 6】



30

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

## 【化 1 7】

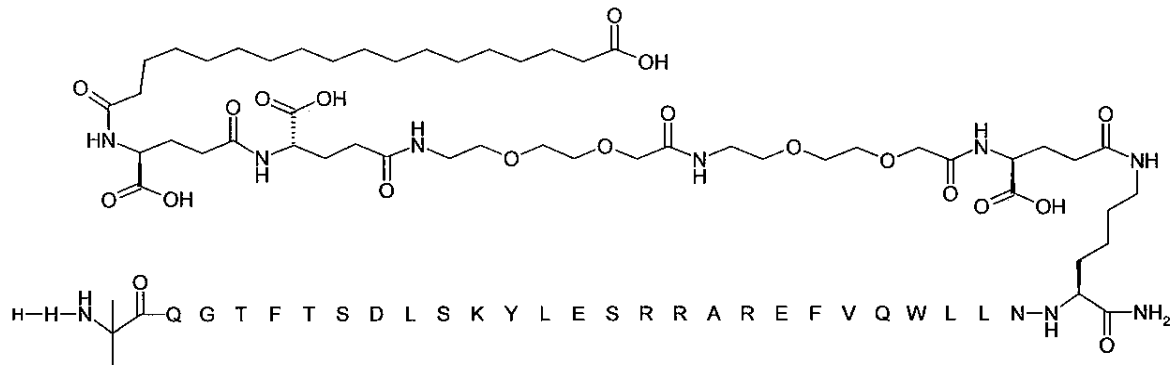


40

50

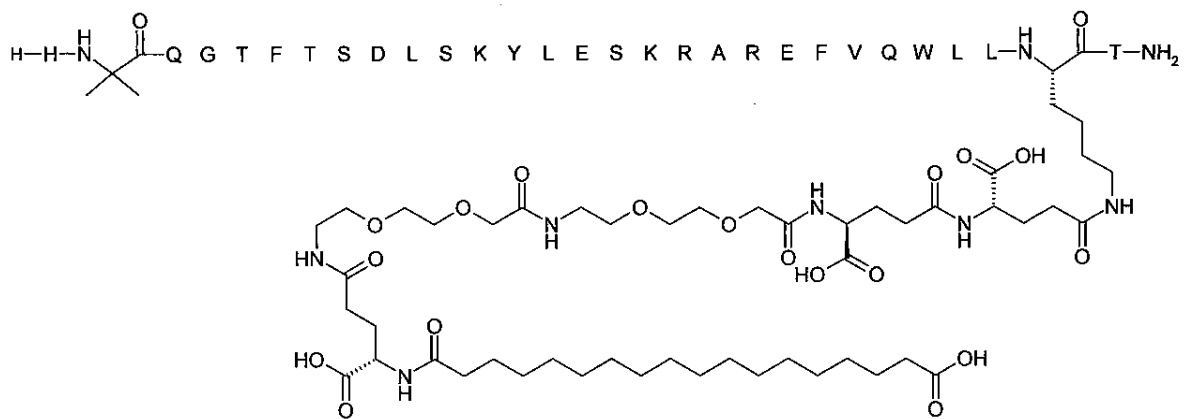


N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-グルカゴンアミド  
【化18】



10

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド  
【化19】



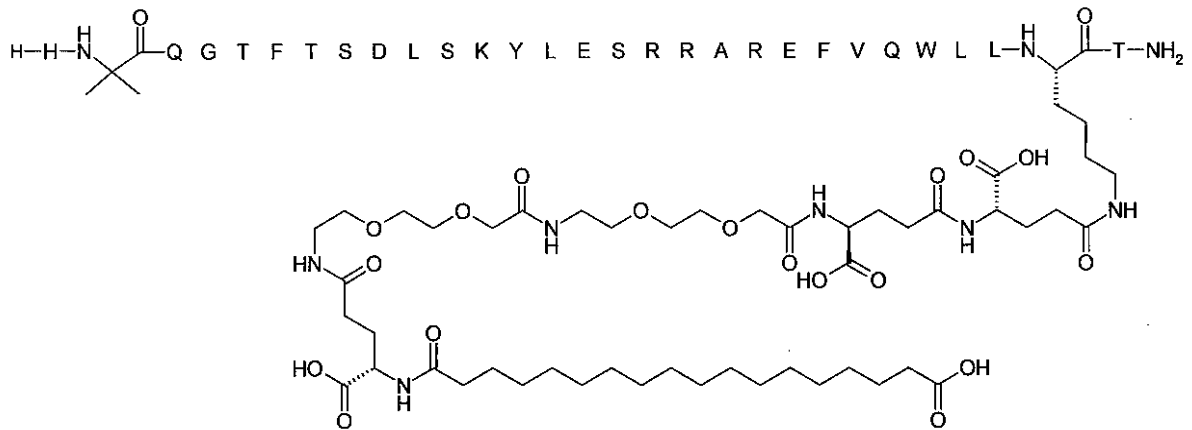
20

30

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

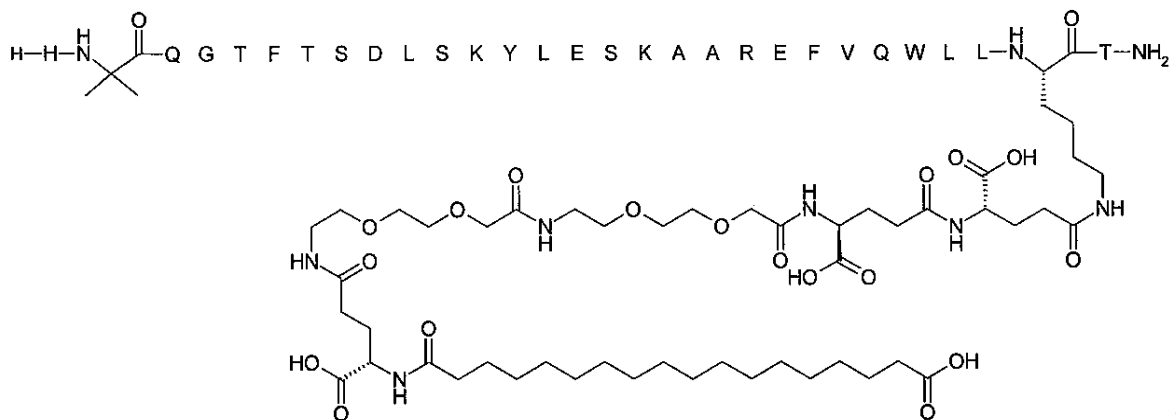


## 【化 2 0】



10

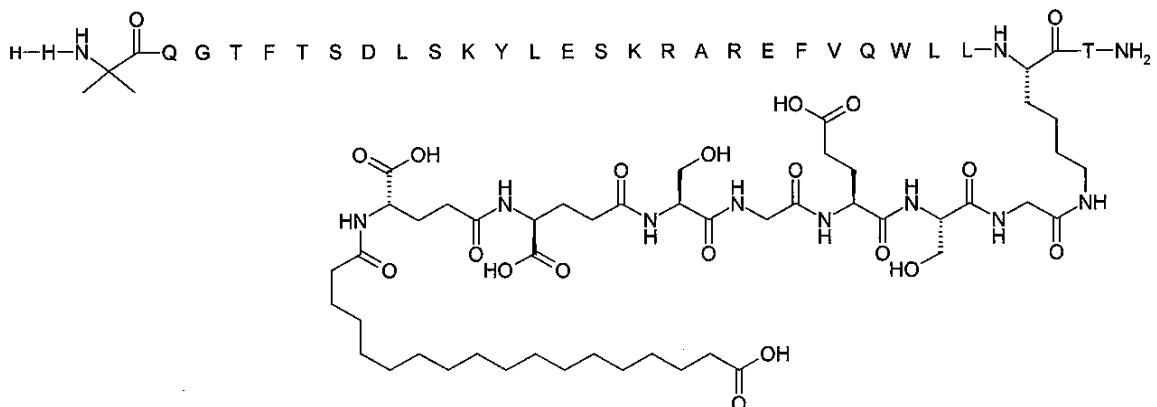
N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド  
【化 2 1】



20

30

N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド  
【化 2 2】



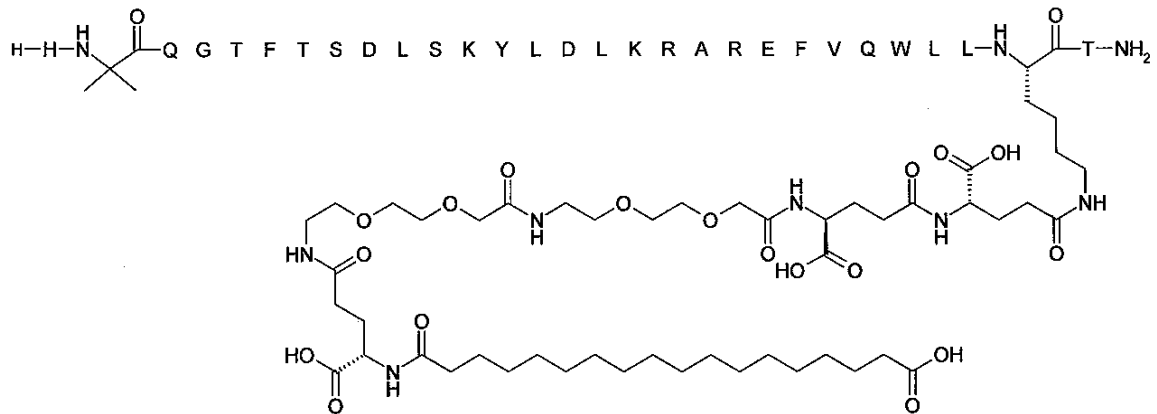
40

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

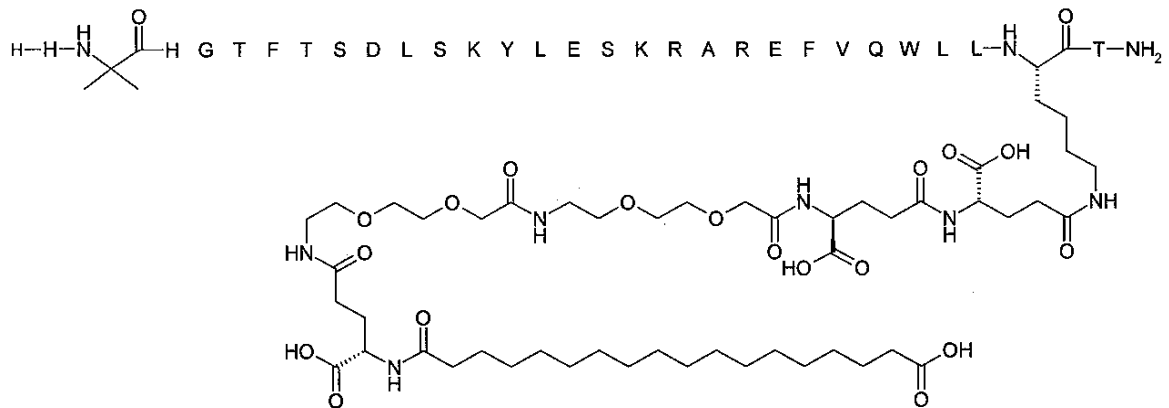
50



ルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エト  
 キシ]-アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノ  
 イル]-[Aib2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド  
 【化23】



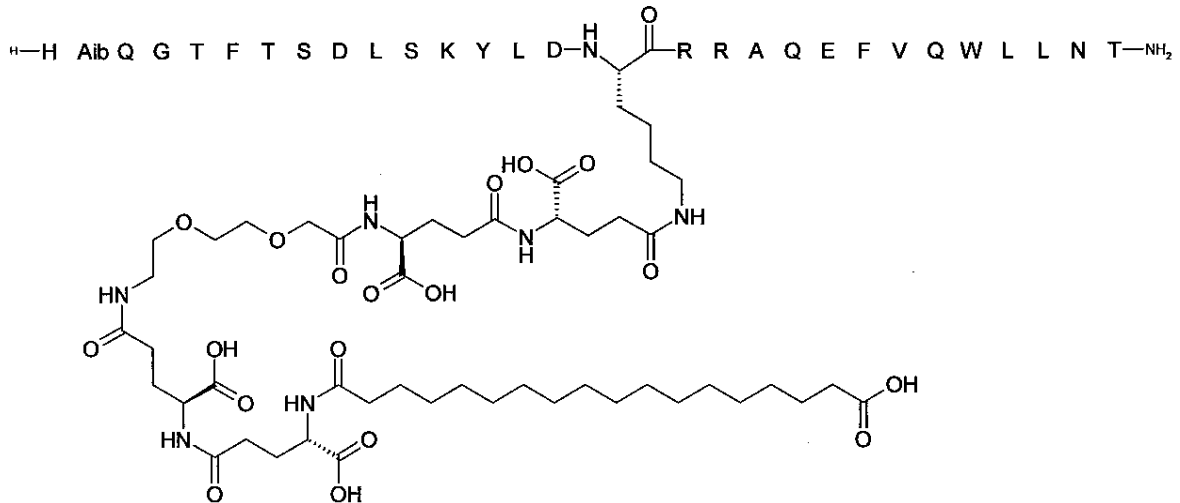
N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カル  
 ボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エト  
 キシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノ  
 イル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド  
 【化24】



N<sup>16</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-  
 -[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブ  
 タノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-  
 [Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Leu27]-グルカゴンアミド



## 【化 2 5】

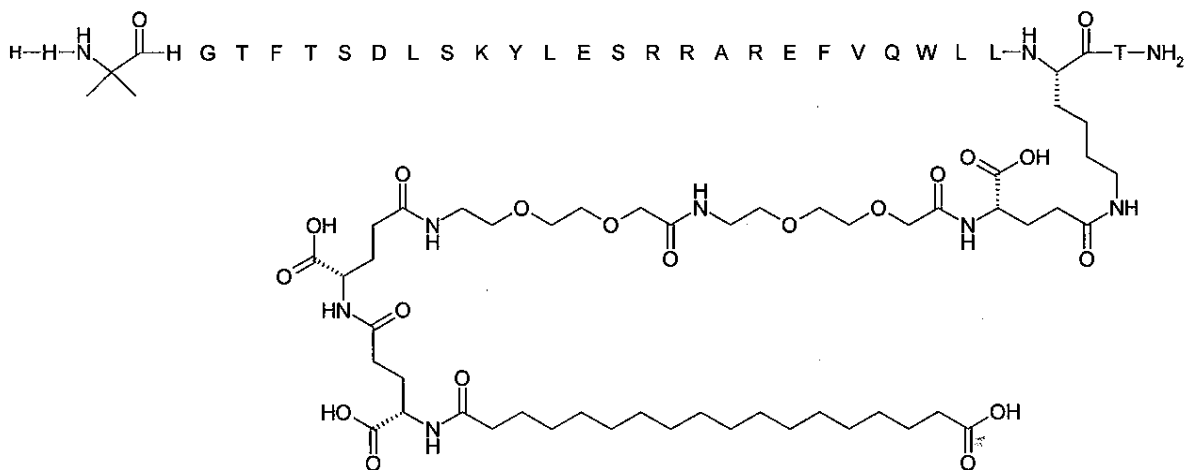


10

$\text{N}^{28}$ -[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib<sub>2</sub>,His<sub>3</sub>,Leu<sub>10</sub>,Glu<sub>15</sub>,Arg<sub>20</sub>,Glu<sub>21</sub>,Leu<sub>27</sub>,Lys<sub>28</sub>]-グルカゴンアミド

20

## 【化 2 6】

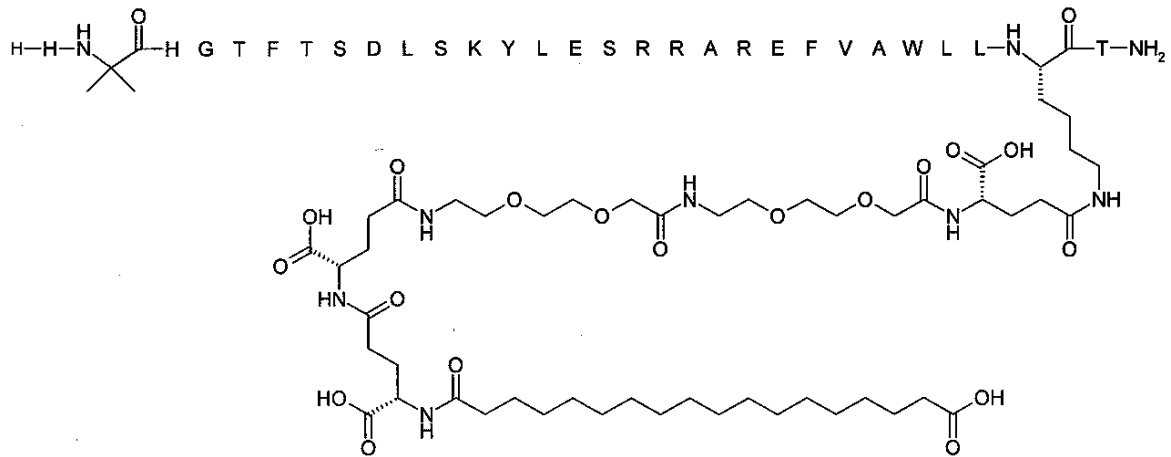


30

$\text{N}^{28}$ -[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib<sub>2</sub>,His<sub>3</sub>,Leu<sub>10</sub>,Glu<sub>15</sub>,Arg<sub>20</sub>,Glu<sub>21</sub>,Ala<sub>24</sub>,Leu<sub>27</sub>,Lys<sub>28</sub>]-グルカゴンアミド



## 【化 2 7】

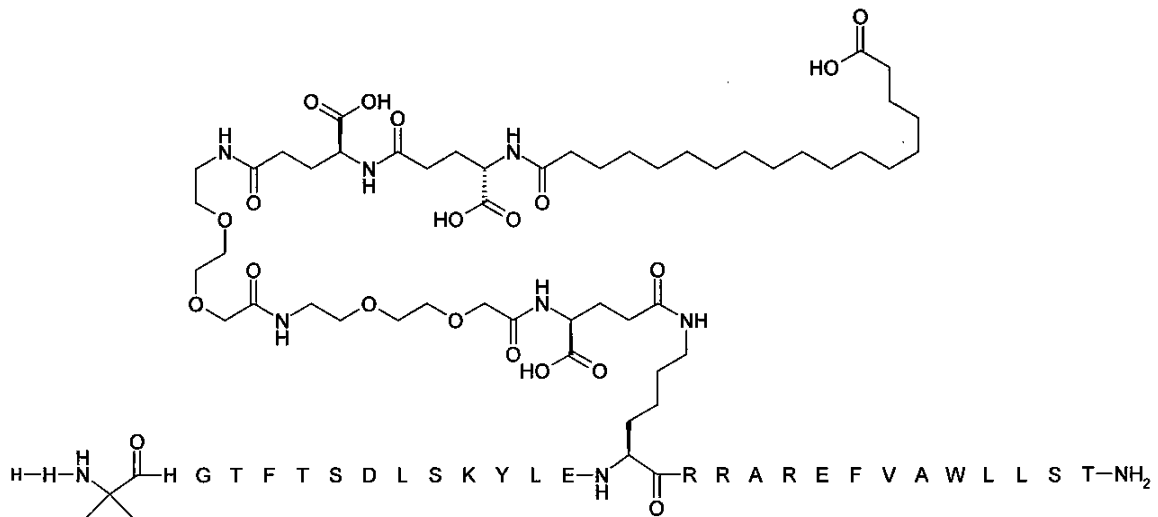


10

N<sup>16</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Ser28]-グルカゴンアミド

20

## 【化 2 8】



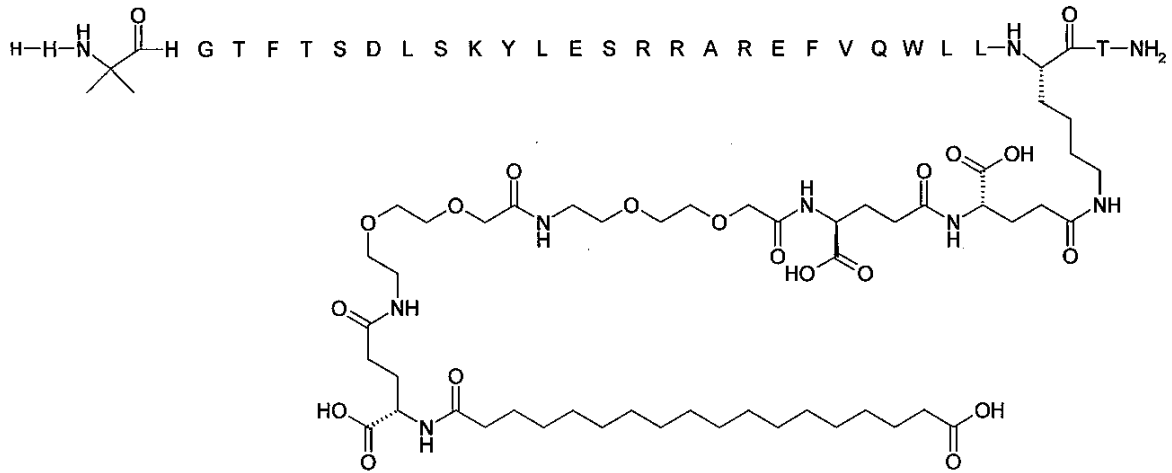
30

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40



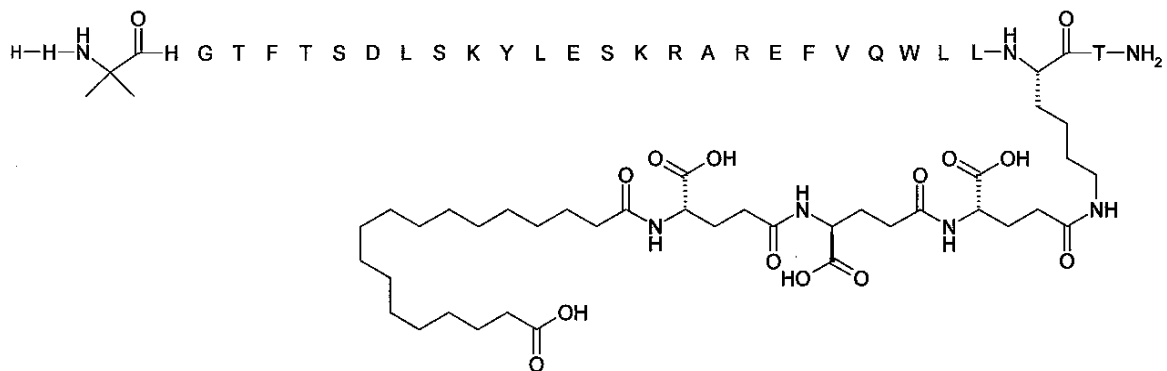
## 【化 2 9】



10

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ai b2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

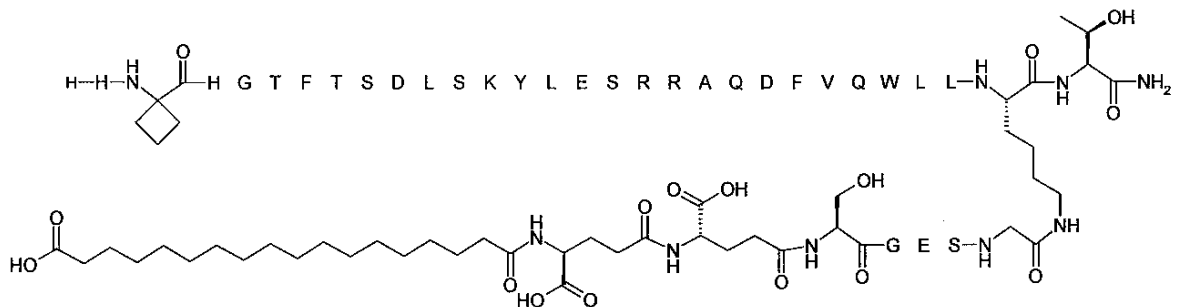
## 【化 3 0】



20

N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Ac b2,His3,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

## 【化 3 1】



40

N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Ac b2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

50



[illegible]

N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

[illegible]

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-  
-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチ  
ル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys2  
9]-グルカゴンアミド

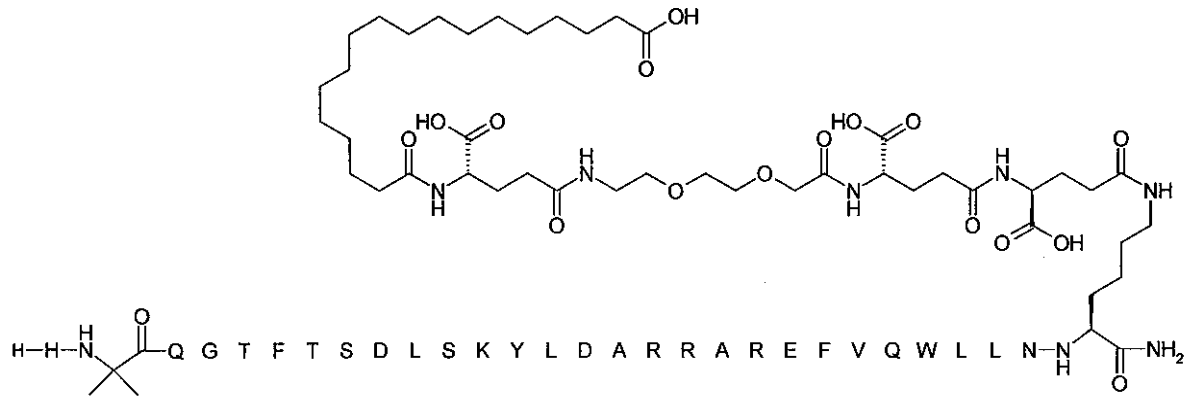
Chemical structure of the protein-ligand complex, showing the protein backbone (residues 1-20) and the ligand (a long-chain fatty acid derivative) bound to the protein.

40

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-グルカゴンアミド



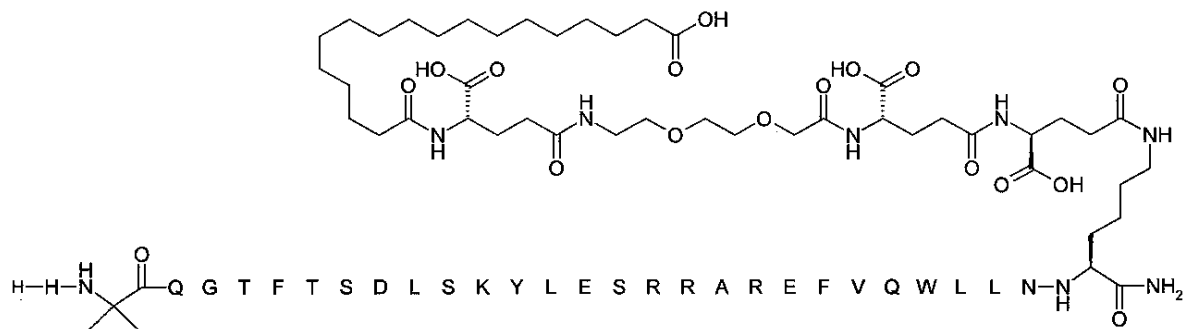
## 【化 3 5】



10

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-グルカゴンアミド

## 【化 3 6】

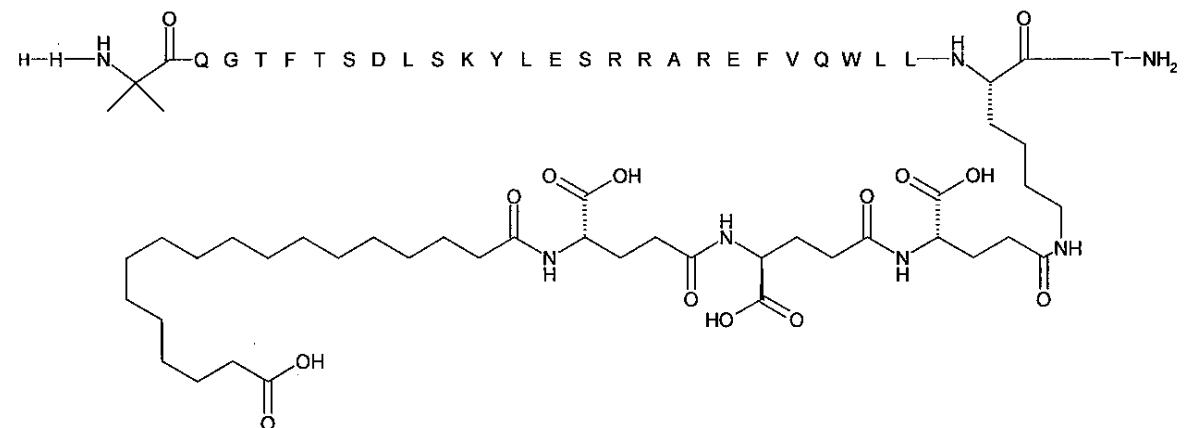


20

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

30

## 【化 3 7】

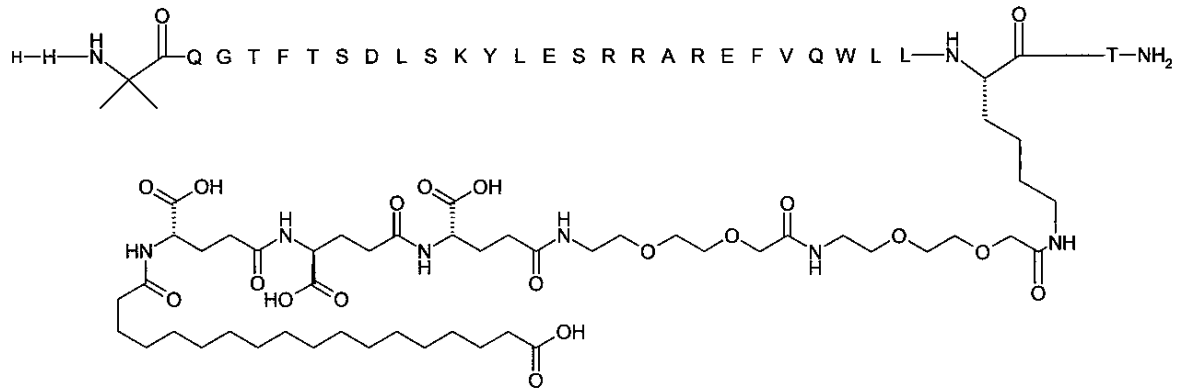


40

N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド



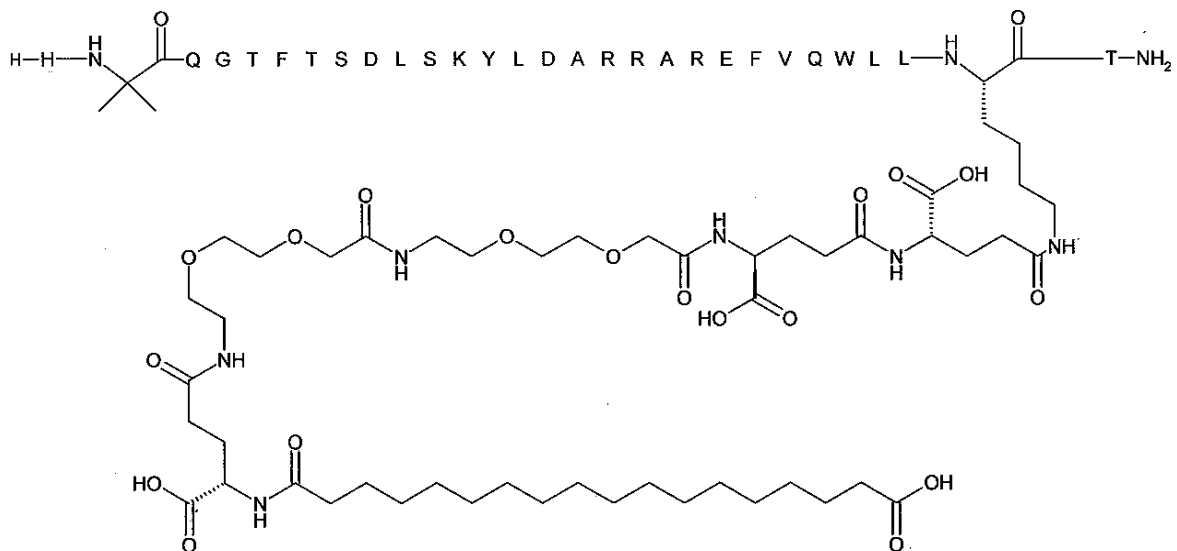
## 【化 3 8】



10

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

## 【化 3 9】



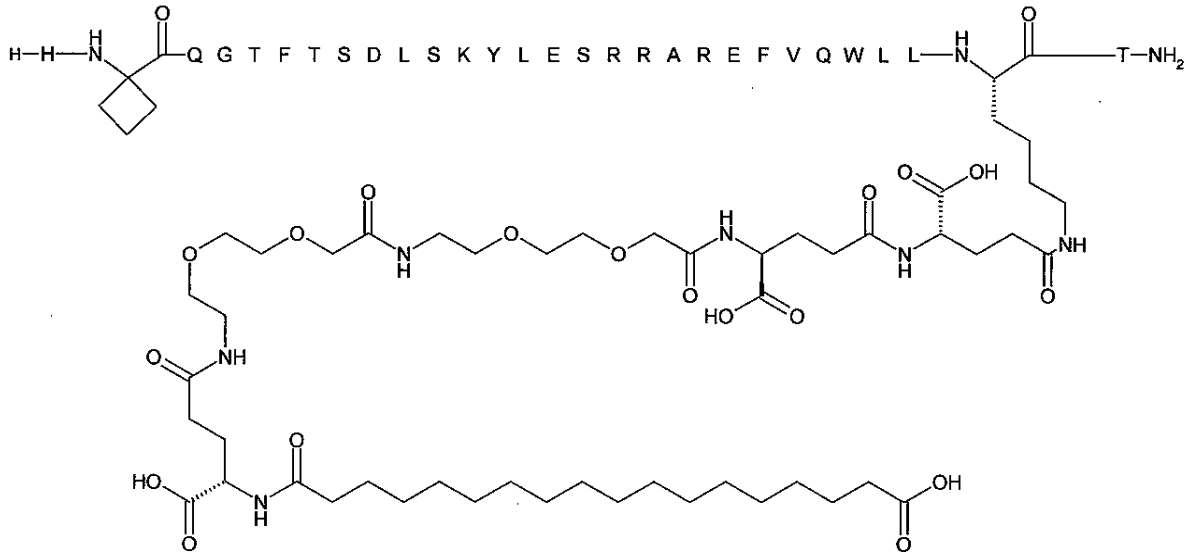
20

30

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド



## 【化 4 0】

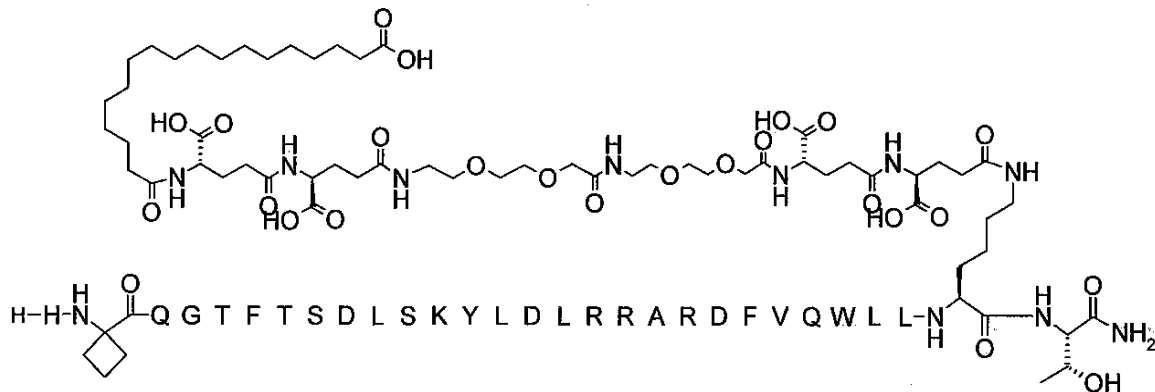


10

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

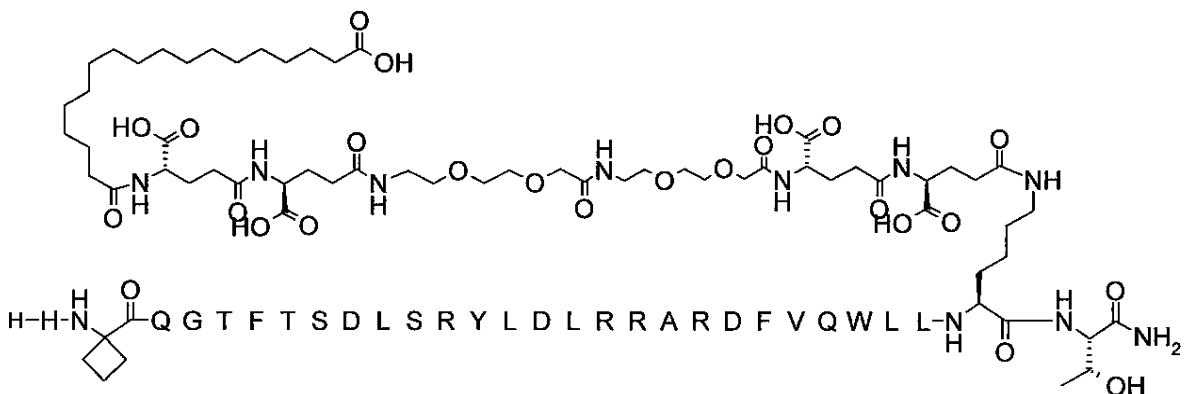
## 【化 4 1】



30

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2,Leu10,Arg12,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

## 【化 4 2】

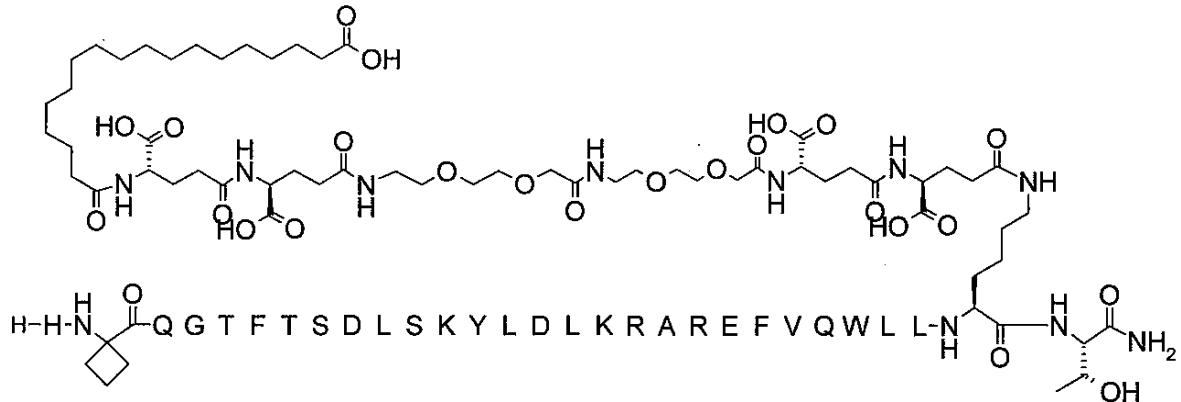


40

50

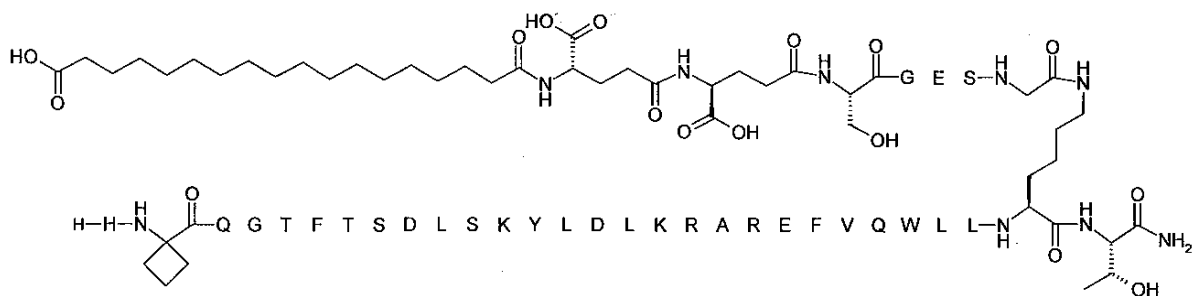


N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド  
【化43】



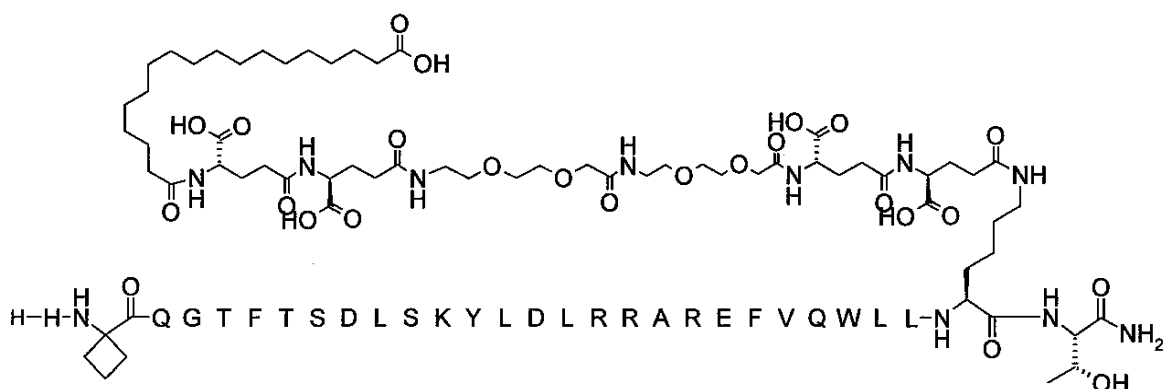
10

N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Ac2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド  
【化44】



30

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド  
【化45】



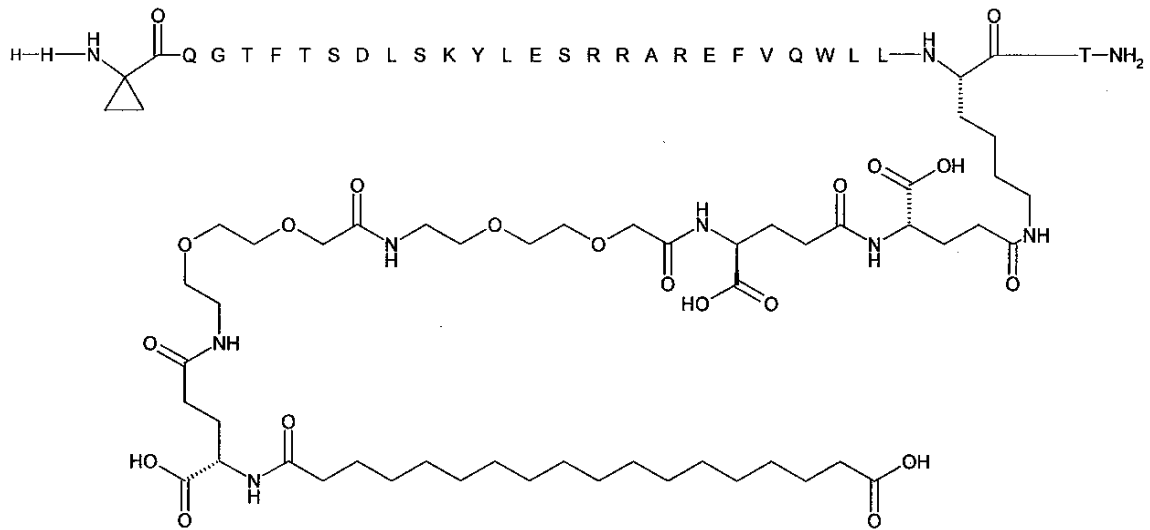
40

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

50



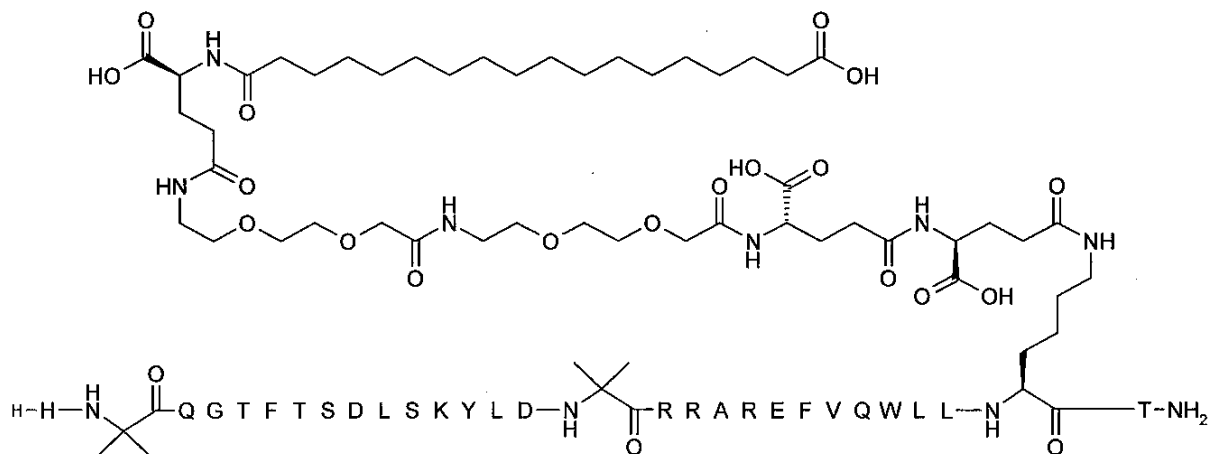
ルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Acpr2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド  
【化46】



10

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Aib16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド  
【化47】

20



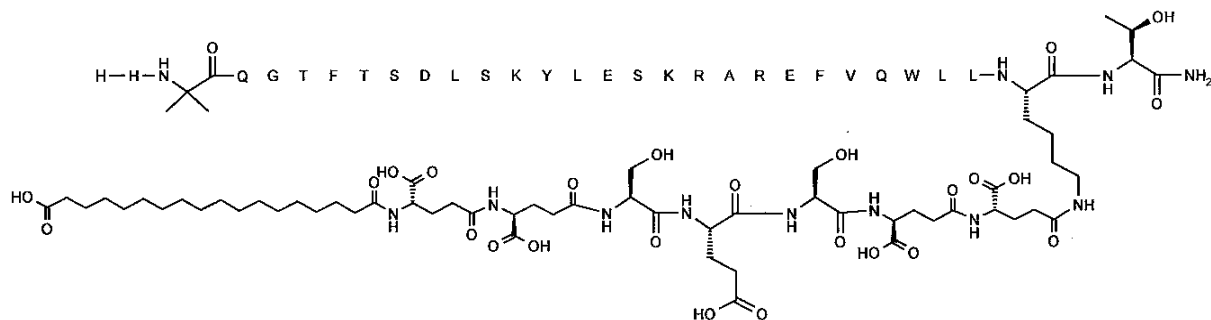
30

N<sup>28</sup>-(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

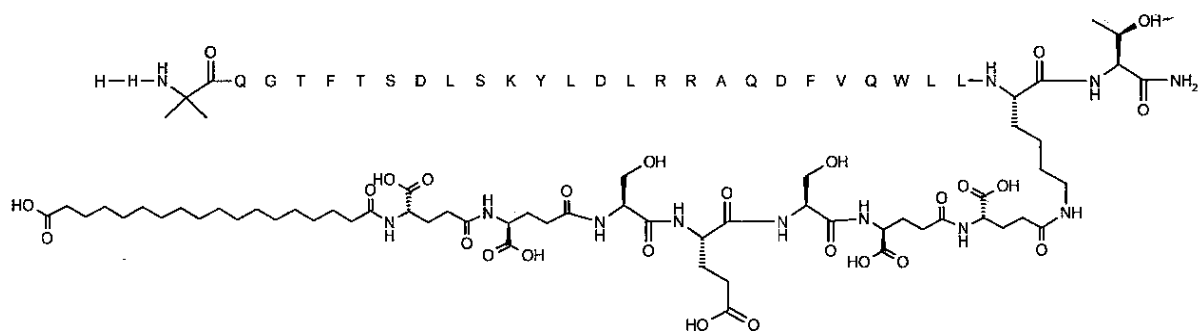


## 【化 4 8】



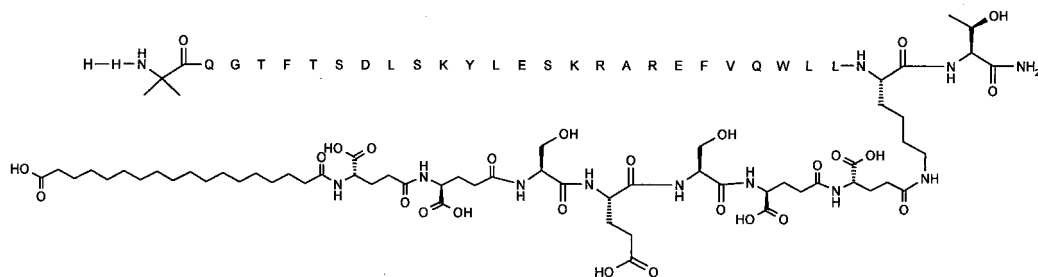
N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Leu16,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

## 【化 4 9】



N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

## 【化 5 0】



N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド



[illegible]

10

CC(C)(C)C(=O)NCC(=O)OCCOCCOC(=O)NCCOCCOC(=O)N[C@@H](CCC(=O)N[C@@H](CCC(=O)O)C(=O)O)C(=O)OCCOCCOC(=O)N[C@@H](CCC(=O)O)C(=O)O

20

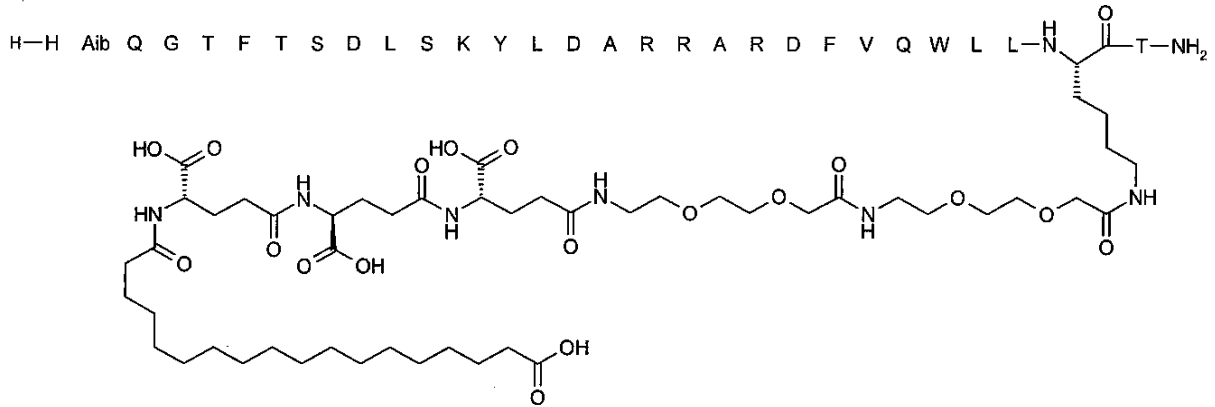
[illegible]

30

40



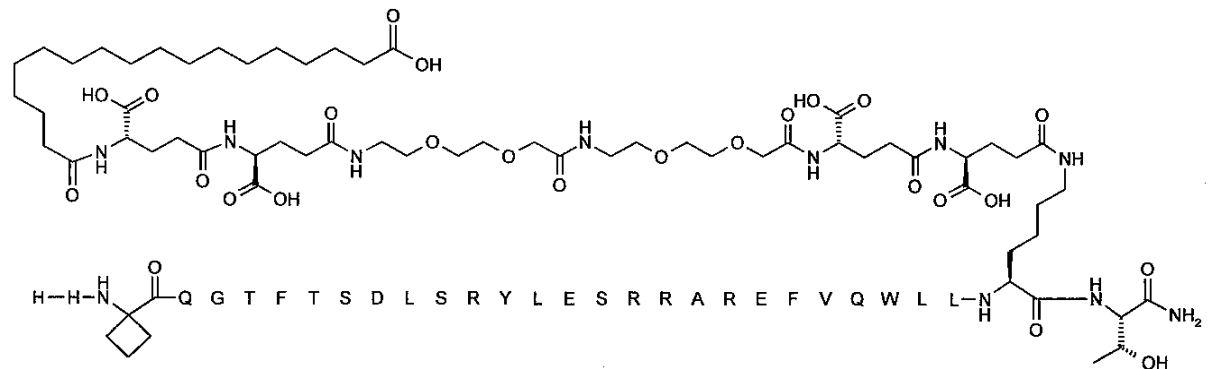
## 【化 5 4】



10

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

## 【化 5 5】

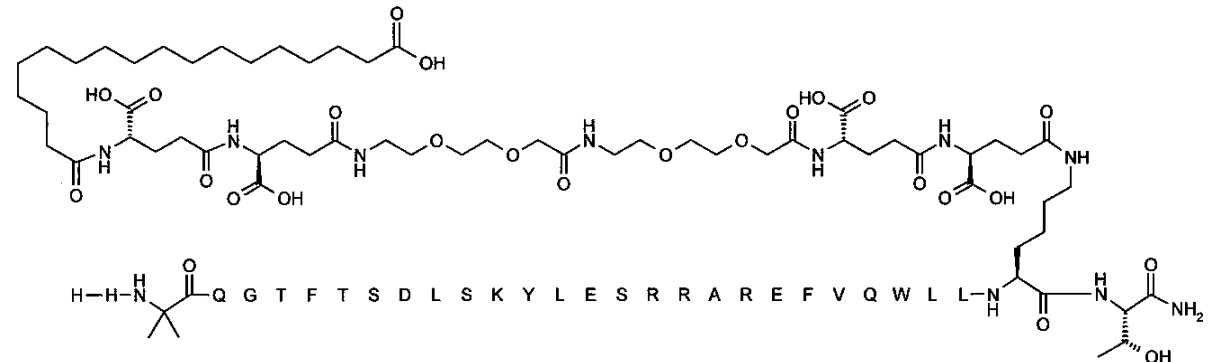


20

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

30

## 【化 5 6】



40

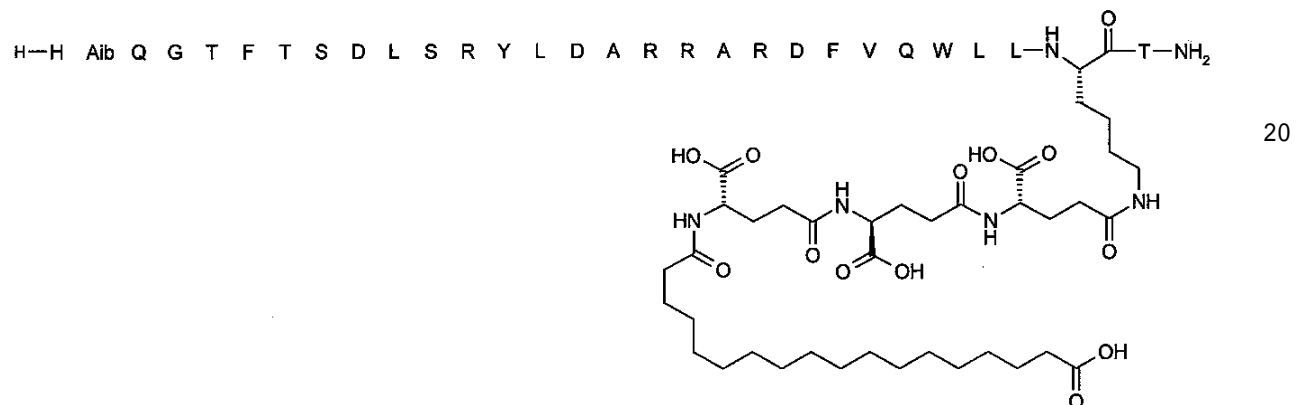
N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

50

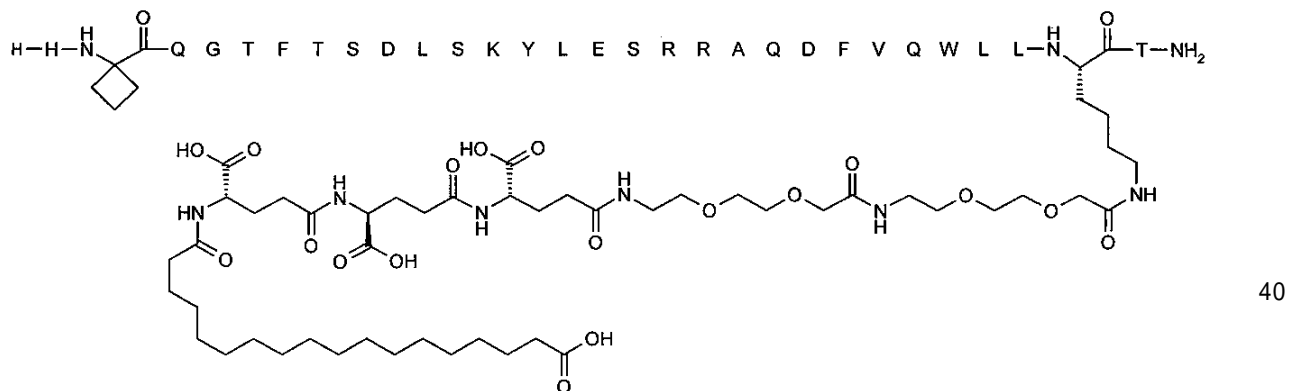


[illegible]

【化 5 8】



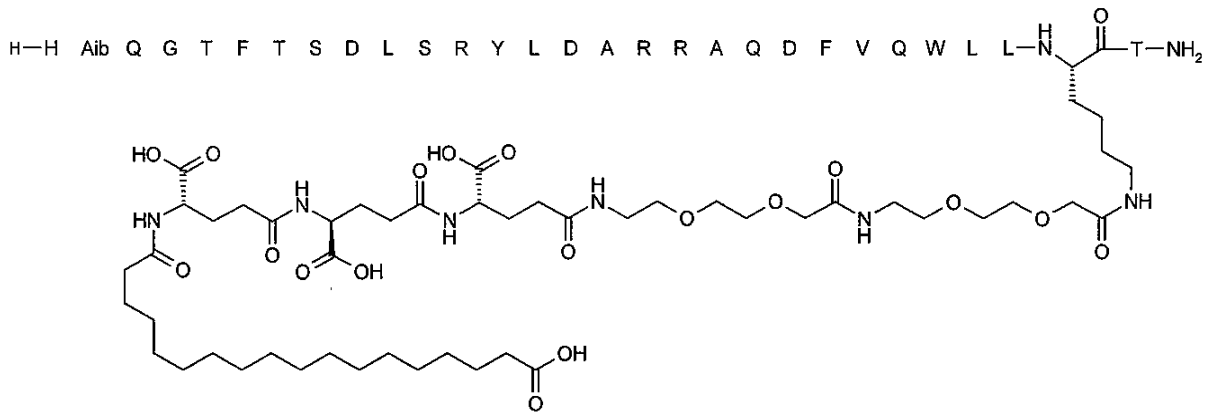
【化 5 9】



N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[ (4S)-4-カルボキシ-4-[[ (4S)-4-カルボキシ-4-[[ (4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド



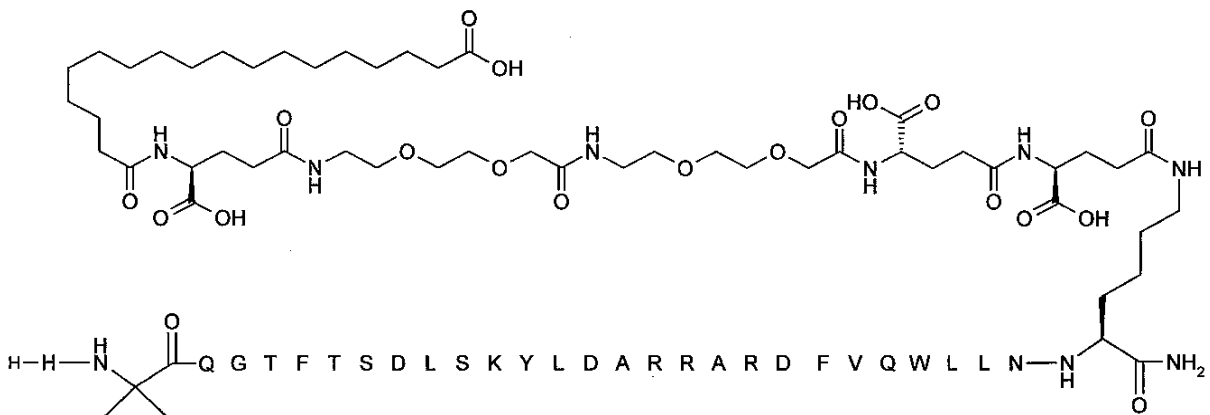
## 【化60】



10

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys29]-グルカゴンアミド

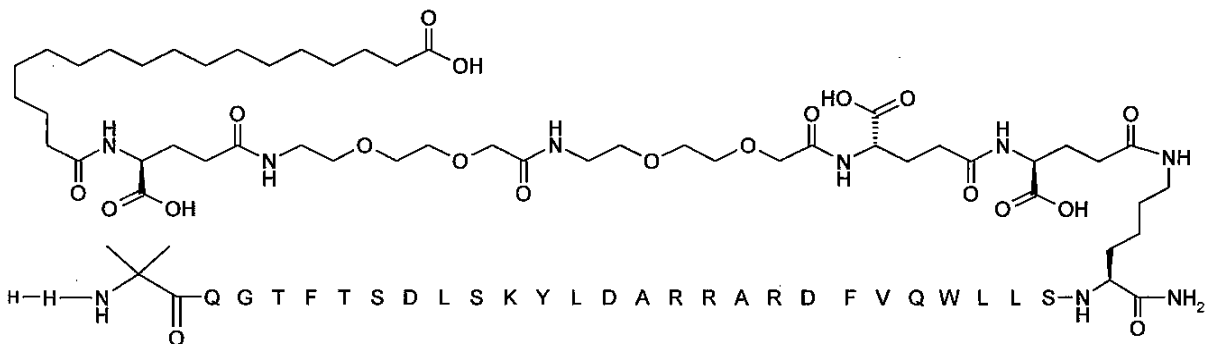
## 【化61】



20

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

## 【化62】



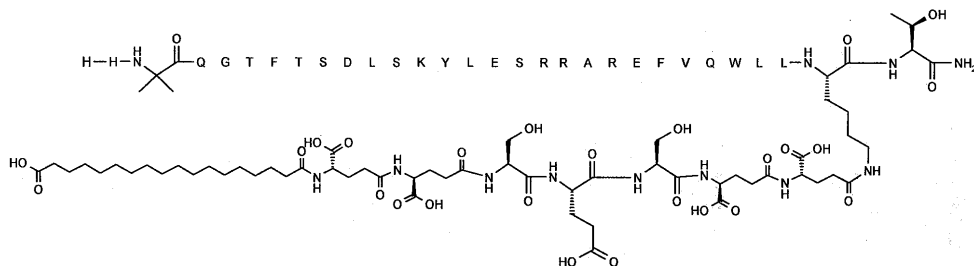
40

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

50



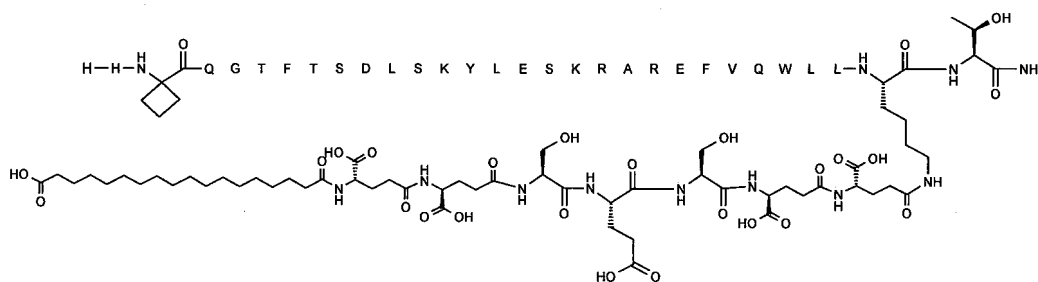
## 【化 6 3】



N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2, Leu10, Glu15, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28]-グルカゴンアミド

10

## 【化 6 4】



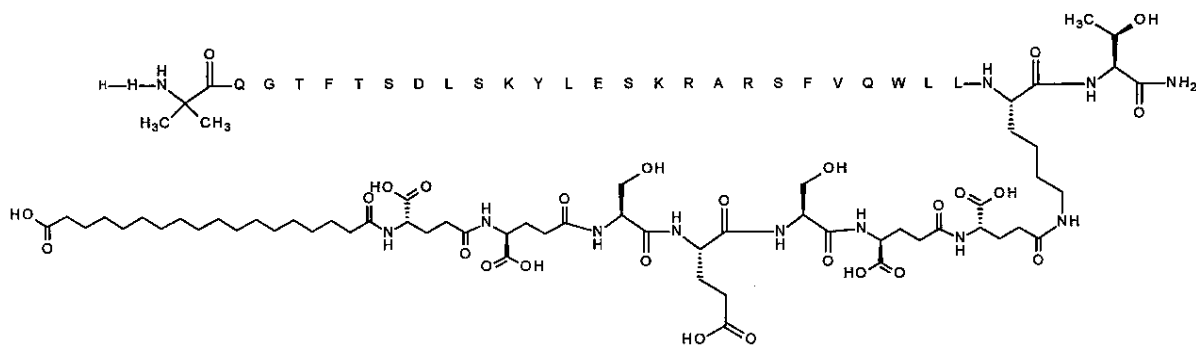
20

及び

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2, Leu10, Glu15, Lys17, Arg20, Ser21, Leu27, Lys28]-グルカゴンアミド

30

## 【化 6 5】



40

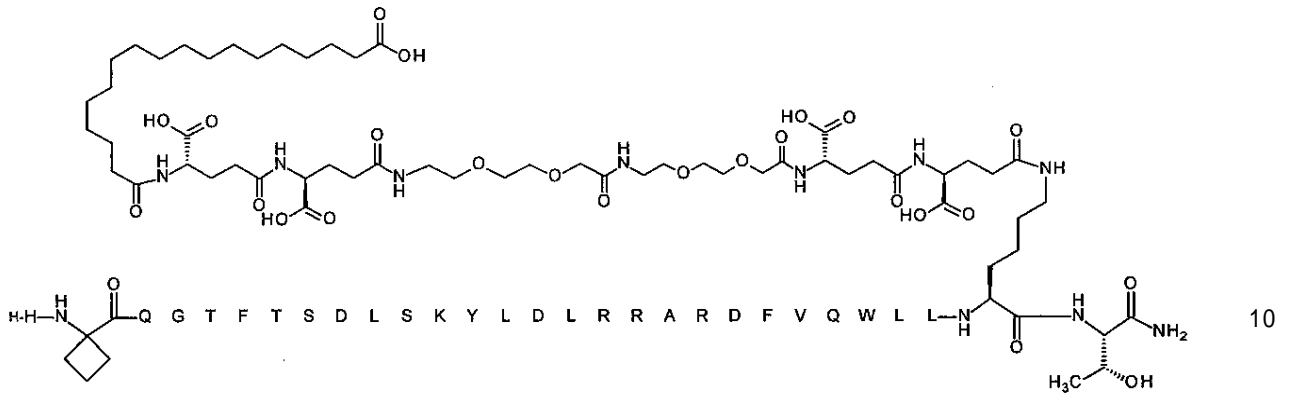
からなる群から選択される、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載のグルカゴン誘導体、又は薬学的に許容されるその塩。

## 【請求項 6】

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2, Leu10, Leu16, Arg20, Leu27, Lys28]-グルカゴンアミド



【化 6 6】

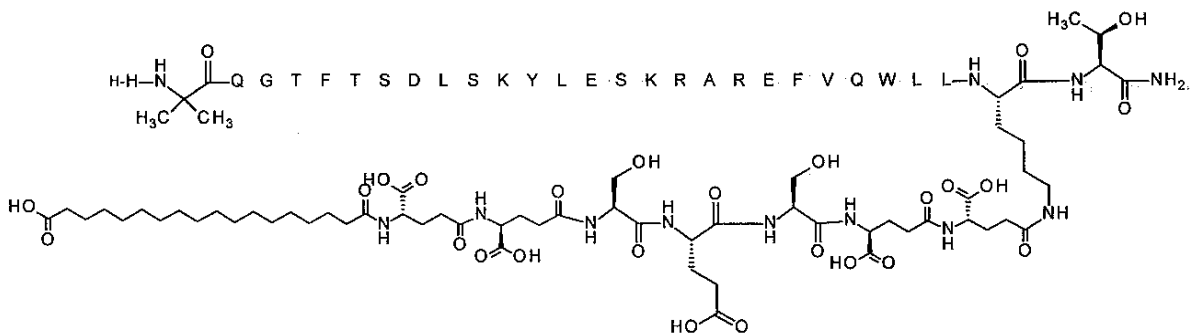


である、請求項 1 に記載のグルカゴン誘導体、又は薬学的に許容されるその塩。

**【請求項 7】**

N<sup>28</sup>(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

【化 6 7】



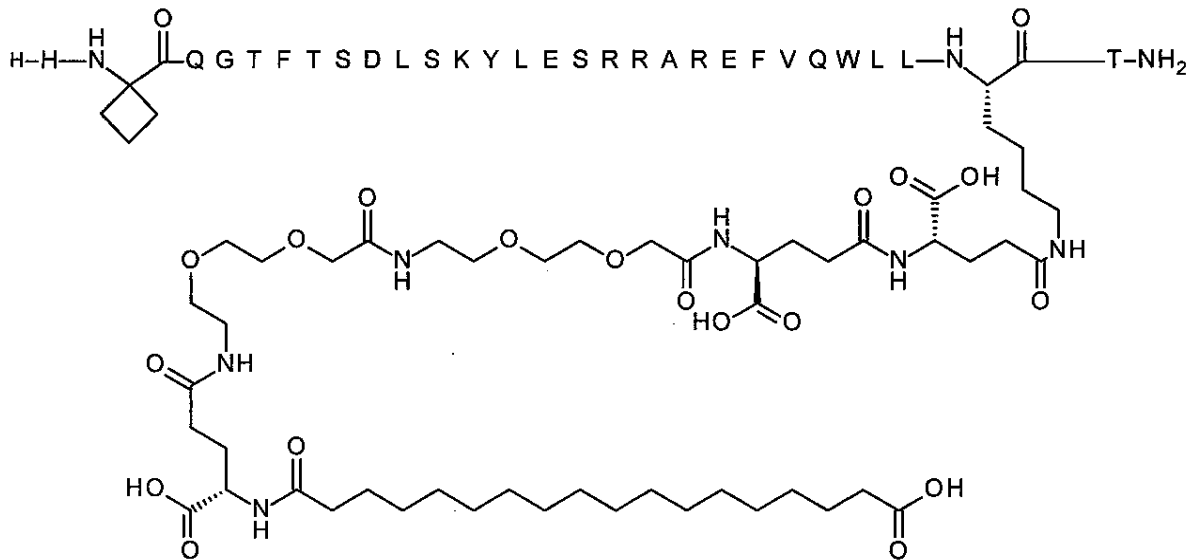
である、請求項 1 に記載のグルカゴン誘導体、又は薬学的に許容されるその塩。

**【請求項 8】**

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28]-グルカゴンアミド



## 【化 6 8】



10

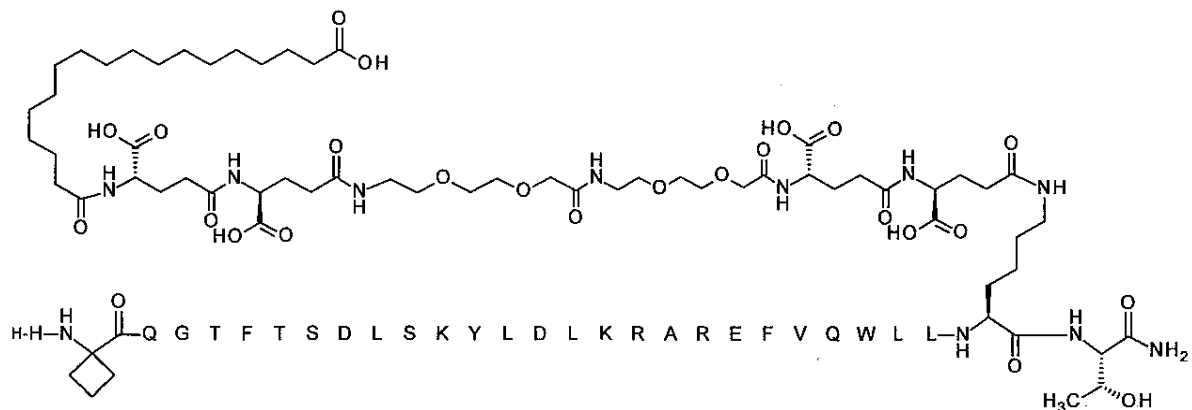
である、請求項 1 に記載のグルカゴン誘導体、又は薬学的に許容されるその塩。

## 【請求項 9】

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2, Leu10, Leu16, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【化 6 9】



30

である、請求項 1 に記載のグルカゴン誘導体、又は薬学的に許容されるその塩。

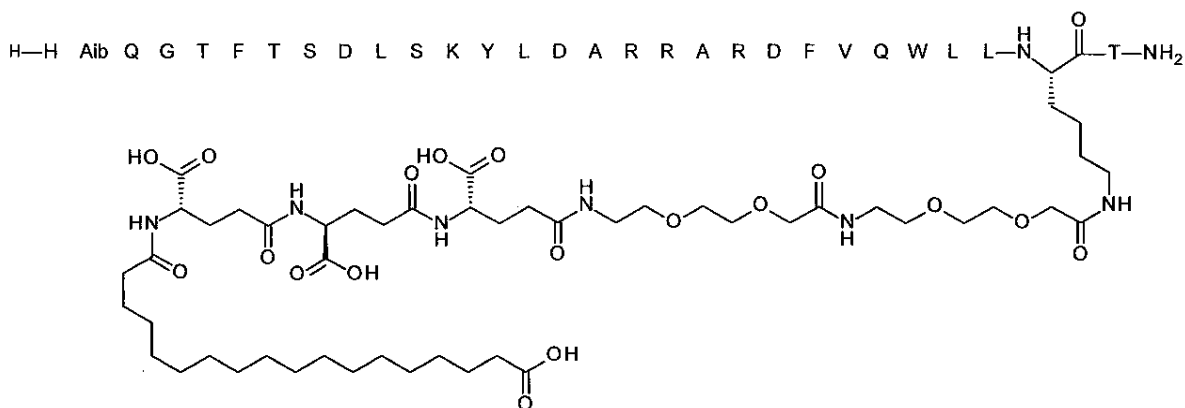
## 【請求項 10】

N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2, Leu10, Ala16, Arg20, Leu27, Lys28]-グルカゴンアミド

40



## 【化 7 0】



10

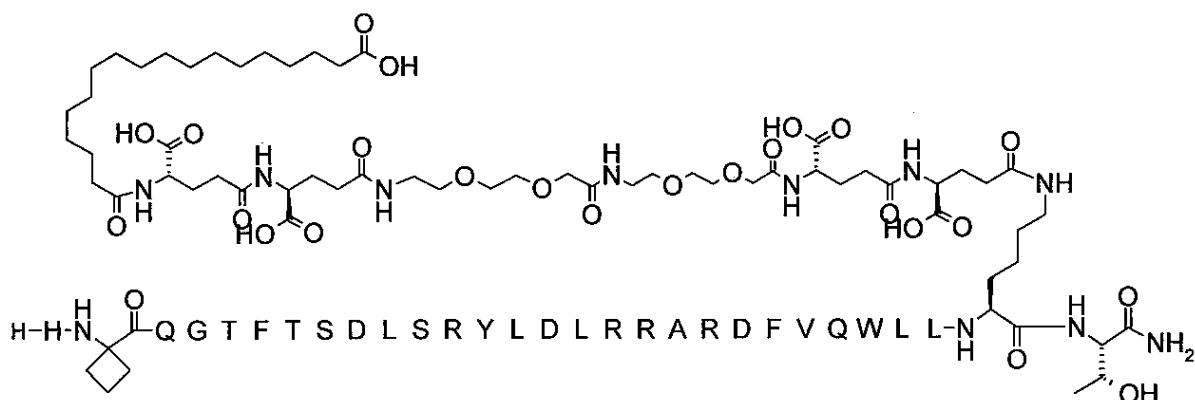
である、請求項 1 に記載のグルカゴン誘導体、又は薬学的に許容されるその塩。

## 【請求項 1 1】

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2,Leu10,Arg12,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

## 【化 7 1】

20



30

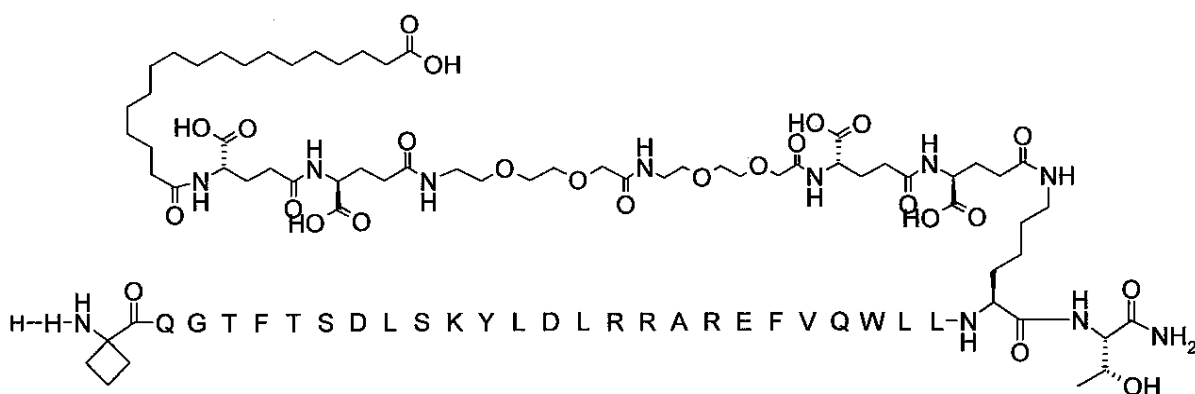
である、請求項 1 に記載のグルカゴン誘導体、又は薬学的に許容されるその塩。

## 【請求項 1 2】

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

## 【化 7 2】

40



50

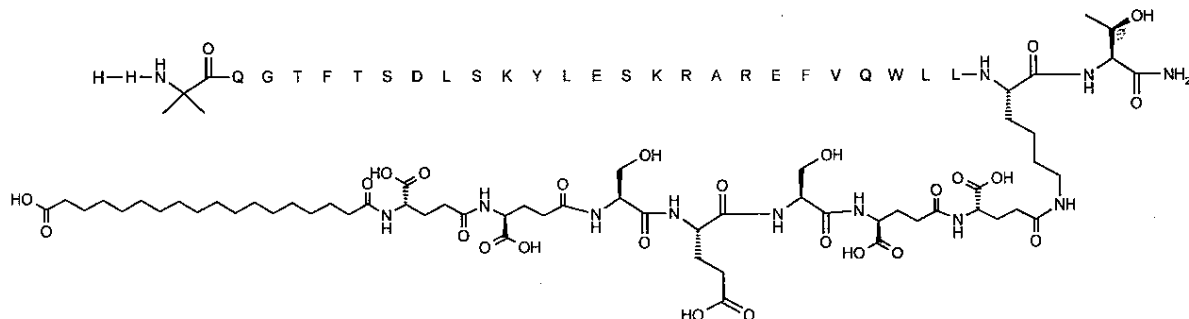


である、請求項 1 に記載のグルカゴン誘導体、又は薬学的に許容されるその塩。

【請求項 1 3】

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

【化 7 3】



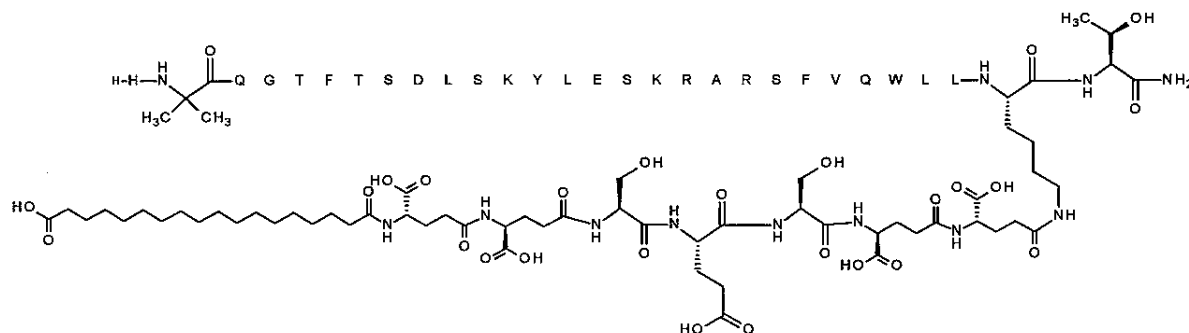
10

である、請求項 1 に記載のグルカゴン誘導体、又は薬学的に許容されるその塩。

【請求項 1 4】

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Ser21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

【化 7 4】



30

である、請求項 1 に記載のグルカゴン誘導体、又は薬学的に許容されるその塩。

【請求項 1 5】

C 末端アミド、及びグルカゴン（配列番号 1）と比較して次の改変：

- a) [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Leu27,Ser28] ;
- d) [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Lys28] ;
- e) [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29] ;
- f) [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28] ;
- g) [Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Glu21,Leu27] ;
- h) [Aib2,Leu10,Lys17,Ala18,Glu21,Leu27,Lys29] ;
- i) [Aib2,Leu10,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29] ;
- j) [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Leu27] ;
- l) [Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29] ;
- p) [Acb2,Leu10,Glu15,Glu16,Arg20,Leu27,Lys28] ;
- q) [Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27] ;
- r) [Aib2,Leu10,Lys16,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27] ;
- s) [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27] ;

40

50



t)	[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
u)	[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29] ;	
v)	[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
w)	[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
x)	[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
y)	[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
z)	[Aib2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
aa)	[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
cc)	[Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Leu27] ;	
dd)	[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	10
ee)	[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Lys28] ;	
ff)	[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Ser28] ;	
gg)	[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
hh)	[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
ii)	[Acb2,His3,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28] ;	
jj)	[Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]	
kk)	[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28] ;	
ll)	[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29] ;	
mm)	[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29] ;	
nn)	[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29] ;	20
oo)	[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
pp)	[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
qq)	[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
rr)	[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
ss)	[Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28] ;	
tt)	[Acb2,Leu10,Arg12,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28] ;	
uu)	[Acb2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
vv)	[Acb2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
ww)	[Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
xx)	[Acpr2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	30
yy)	[Aib2,Leu10,Aib16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
zz)	[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
aaa)	[Aib2,Leu10,Leu16,Leu27,Lys28] ;	
bbb)	[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
ccc)	[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28] ;	
ddd)	[Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
eee)	[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28] ;	
fff)	[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28] ;	
ggg)	[Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
hhh)	[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	40
iii)	[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
jjj)	[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28] ;	
kkk)	[Acb2,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28] ;	
lll)	[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28] ;	
mmm)	[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys29] ;	
nnn)	[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29] ;	
ooo)	[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
ppp)	[Aib2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;	
qqq)	[Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ; 又は	
rrr)	[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Ser21,Leu27,Lys28]	50



のいずれか 1 つを含む、請求項 1 に記載のグルカゴン誘導体の形態の中間体生成物、又は薬学的に許容されるその塩、アミド、若しくはエステル。

【請求項 16】

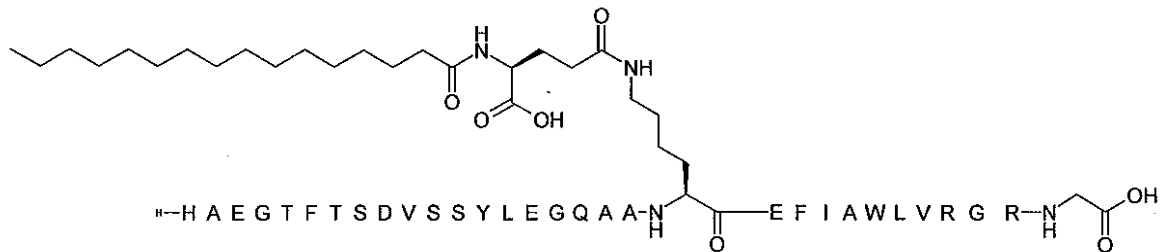
GLP-1 化合物又はインスリン化合物と組み合わせた、請求項 1 ～ 14 のいずれか一項に記載のグルカゴン誘導体、又は薬学的に許容されるその塩。

【請求項 17】

前記 GLP-1 化合物が、

N- 26-((S)-4-カルボキシ-4-ヘキサデカノイルアミノ-ブチリル)[Arg34]GLP-1-(7-37)

【化 75】

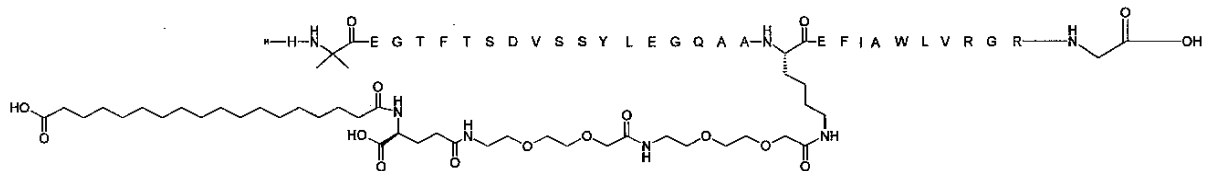


(Compound G1)

及び

N- 26-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブチリルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチル][Aib8,Arg34]GLP-1-(7-37) :

【化 76】



(Compound G3)

並びに薬学的に許容されるそれらの塩、アミド、アルキル、又はエステルからなる群から選択される、請求項 16 に記載のグルカゴン誘導体又は薬学的に許容されるその塩。

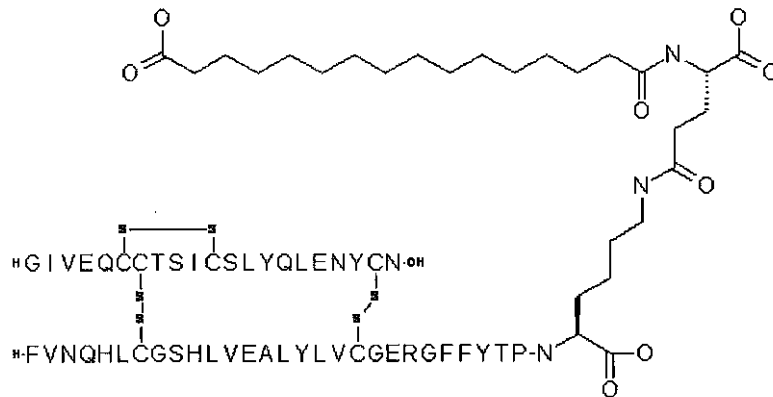
【請求項 18】

インスリン化合物が、

N- -B29-[(S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブチリル]デスB30ヒトインスリン



## 【化 77】



(Compound G5)

である、請求項 16 に記載のグルカゴン誘導体又は薬学的に許容されるその塩。

## 【請求項 19】

請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載のグルカゴン誘導体又は薬学的に許容されるその塩を含み、かつ 1 種又は複数の薬学的に許容される添加剤を含むか又は含まない医薬組成物。

## 【請求項 20】

医療において使用するための、1 種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられているか又は組み合わせられていない、請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載のグルカゴン誘導体又は薬学的に許容されるその塩。

## 【請求項 21】

肥満を治療し、過体重を予防し、かつ / 又は体重を減少させる際に使用するための、請求項 19 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 22】

高血糖症、2 型糖尿病、耐糖能障害、及び / 又は 1 型糖尿病を治療又は予防する際に使用するための、請求項 19 に記載の医薬組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、新規の安定な遷延性 (protracted) GLP-1/グルカゴン受容体コアゴニスト (co-agonist)、療法におけるそれらの使用、患者にそれを投与することを含む治療方法、及び医薬品の製造におけるそれらの使用に関する。

## 【0002】

## 配列表

2013年4月17日に作成された配列表は、3,390バイトであり、参照により本明細書に組み込まれる。

## 【背景技術】

## 【0003】

肥満発症率の上昇は、西側世界では、更に最近では、開発途上国でも流行といえる比率に達している。肥満は、心臓血管疾患及び2型糖尿病等の重大な併存症に関連している。現在、高い有効性で肥満を解消する唯一の治療は肥満外科手術であるが、この治療は、コストがかかり、危険性がある。薬理的介入は一般に有効性が低く、副作用を伴う。したがって、副作用がより少なく、かつ投与が便利なより有効な薬理的介入が、明らかに必要とされている。

## 【0004】

多数の胃腸ペプチドホルモンは、食欲不振誘発性 (例えば、CCK、GLP-1、PYY、セクレチン) 又は食欲促進性 (例えば、グレリン) のいずれかで、食物摂取の調節に関係してい

10

20

30

40

50



ると伝えられている[Moran TH: Gut peptides in the control of food intake; Int. J. Obes. (Lond). 2009 33 S7-10]。最近では、腸管L細胞中のプログルカゴン遺伝子からの生成物であるオキシントモジュリンは、げっ歯類及びヒトの両方において満腹を誘導し、体重を低減させることが示された [Cohen MAら: Oxyntomodulin suppresses appetite and reduces food intake in humans; J. Clin. Endocrinol. Metab, 2003 88 4696-4701; Dakin CLら: Oxyntomodulin inhibits food intake in the rat; Endocrinology 2001 142 4244-4250]。オキシントモジュリンは、それぞれGLP-1及びグルカゴンと比較すると低い効力ながらも、GLP-1及びグルカゴン受容体の両方を活性化するデュアルアゴニストである。より古い多くの研究は、体重制御における膵臓グルカゴンの関与を示したが、オキシントモジュリンの食欲不振誘発効果は、GLP-1受容体によって媒介されることが以前に推測された。2つの最近の刊行物が、グルカゴンを魅力的なターゲットとして示しており、デュアルアゴニストを構築し、ロックアウトモデルにおいて体重減少を比較することによって、同時にGLP-1/グルカゴン受容体をターゲットにする力を示しているようである [Pocai等; Glucagon-Like Peptide 1/Glucagon Receptor Dual Agonism Reverses Obesity in Mice; Diabetes, 2009, 58, 2258-2266; Day等; A new GLP-1 co-agonist eliminates obesity in rodents; Nat. Chem. Biol., 2009, 5, 749-757]。

#### 【 0 0 0 5 】

グルカゴンの生理学的作用の1つは、グリコーゲン分解及びグルコース生成を刺激することによって、低血糖状態において血糖値を上昇させることである。しかしながら、血糖値に対するグルカゴンの急性作用は、グルカゴンがほぼ生理的レベルで輸注されるときには中程度であるようである [Sherwin RSら: Hyperglucagonemia and blood glucose regulation in normal, obese and diabetic subjects; N. Engl. J. Med. 1976, 294, 455-461]。グルカゴン受容体活性化は、げっ歯類及びヒトの両方において、エネルギー消費を増大させ、食物摂取を減少させることも示されており [Habegger KMら: The metabolic actions of glucagon revisited; Nat. Rev. Endocrinol. 2010 6 689-697]、これらの作用は、げっ歯類において強固で持続的である。グルカゴンアゴニズムによる血糖値の上昇のリスクは、GLP-1アゴニズムの適切なレベルによって相殺され得る。上記2種の受容体に対してバランスのとれた作用を有するGLP-1/glucRコアゴニストは、耐糖能を損なうことなく、純粋なGLP-1アゴニストと比較して体重減少の改善を引き起こし得る。しかしながら、そのようなコアゴニストを医薬製品へと展開するには、半減期、安定性、溶解性、及び受容体活性に関連して、いくつかの障害がある。例えば、グルカゴンを、そのようなコアゴニストのための出発点として使用する場合、GLP-1受容体活性は、グルカゴン受容体での活性を損なうことなく確立されるべきである。更に、グルカゴンは本来的中性pHにおいて不溶性であるので、これは化学的及び物理的に不安定であり、in vivoでのその半減期はわずか数分に過ぎない。

#### 【 0 0 0 6 】

種々のGLP-1/グルカゴン受容体コアゴニストを開示しているいくつかの特許出願、例えば、WO2008/101017、WO2010/070255、WO2012/150503、及びWO2012/169798が当技術分野で公知である。

#### 【 0 0 0 7 】

まとめると、そのようなコアゴニストを医薬製品へと展開するには、いくつかの障害、特に：

- i) 受容体活性（グルコースバランスを損なうことなく、体重の確固とした減少を促進するために、コアゴニストのグルカゴン及びGLP-1受容体効力及び/又は結合親和性比は、バランスが取れているべきである）；
- ii) 作用の遷延性プロファイル（protracted profile）、すなわち、例えば1日1回又は週1回の投与を可能にするin vivo半減期；及び
- iii) 許容される溶解性、化学的、及び物理的安定性の問題がある。

#### 【 0 0 0 8 】



グルカゴンを、そのようなコアゴニストのための出発点として使用する場合、GLP-1受容体活性及び/又は親和性は、そのグルカゴン活性を損なうことなく確立されるべきである。天然のグルカゴンは本来的に中性pHでは不溶性であり、これは化学的及び物理的に不安定であり、in vivoでのその半減期はわずか数分にしか過ぎない。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0009】

【特許文献1】WO2008/101017

【特許文献2】WO2010/070255

【特許文献3】WO2012/150503

【特許文献4】WO2012/169798

【特許文献5】WO2009/083549

【非特許文献】

【0010】

【非特許文献1】Moran TH: Gut peptides in the control of food intake; Int. J. Obes. (Lond). 2009 33 S7-10

【非特許文献2】Cohen MAら: Oxyntomodulin suppresses appetite and reduces food intake in humans; J. Clin. Endocrinol. Metab. 2003 88 4696-4701

【非特許文献3】Dakin CLら: Oxyntomodulin inhibits food intake in the rat; Endocrinology 2001 142 4244-4250

【非特許文献4】Pocaiら: Glucagon-Like Peptide 1/Glucagon Receptor Dual Agonism Reverses Obesity in Mice; Diabetes, 2009, 58, 2258-2266

【非特許文献5】Dayら: A new GLP-1 co-agonist eliminates obesity in rodents; Nat. Chem. Biol., 2009, 5, 749-757

【非特許文献6】Sherwin RSら: Hyperglucagonemia and blood glucose regulation in normal, obese and diabetic subjects; N. Engl. J. Med. 1976, 294, 455-461

【非特許文献7】Habegger KMら: The metabolic actions of glucagon revisited; Nat. Rev. Endocrinol. 2010 6 689-697

【非特許文献8】Johan Gabrielsson及びDaniel Weiner: Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Data Analysis. Concepts & Applications, 3rd Ed., Swedish Pharmaceutical Press, Stockholm, 2000

【非特許文献9】Rowland, M及びTozer TN: Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications, 3rd edition, 1995 Williams Wilkins

【非特許文献10】Stability of Protein Pharmaceuticals, Ahern. T.J. & Manning M. C., Plenum Press, New York 1992

【非特許文献11】Remington's Pharmaceutical Sciences, 1985

【非特許文献12】Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, 1995

【非特許文献13】Naikiら; Anal. Biochem. 1989 177 244-249

【非特許文献14】LeVine; Methods. Enzymol. 1999 309 274-284

【非特許文献15】Nielsenら; Biochemistry 2001 40 6036-6046

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

本発明は、新規の安定な遷延性 (protracted) のGLP-1/グルカゴン受容体コアゴニスト (本明細書では「ペプチド」又は「誘導体」ともいい、特に、本明細書では「グルカゴン誘導体」という)、治療法における前記ペプチドの使用、患者に前記ペプチドを投与することを含む治療方法、並びに糖尿病、肥満、及び関連する疾患及び状態の治療を含む医療において使用するための医薬品の製造における前記ペプチドの使用に関する。

【課題を解決するための手段】



## 【 0 0 1 2 】

第1の実施形態では、本発明は、式Iのアミノ酸配列（配列番号4及び配列番号5に対応する）：

His-X<sub>2</sub>-X<sub>3</sub>-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X<sub>10</sub>-Ser-X<sub>12</sub>-Tyr-Leu-X<sub>15</sub>-X<sub>16</sub>-X<sub>17</sub>-X<sub>18</sub>-Ala-X<sub>20</sub>-X<sub>21</sub>-Phe-Val-X<sub>24</sub>-Trp-Leu-X<sub>27</sub>-X<sub>28</sub>-X<sub>29</sub>-X<sub>30</sub> [I]

[ 式中、

X<sub>2</sub>は、Aib、Acb、又はAcprを表し；

X<sub>3</sub>は、Gln又はHisを表し；

X<sub>10</sub>は、Leu、Ile、又はValを表し；

X<sub>12</sub>は、Lys又はArgを表し；

X<sub>15</sub>は、Asp又はGluを表し；

X<sub>16</sub>は、Ser、Ala、Leu、Thr、Glu、Aib、Ile、Val、又はLysを表し；

X<sub>17</sub>は、Arg又はLysを表し；

X<sub>18</sub>は、Arg、Ala、又はLysを表し；

X<sub>20</sub>は、Gln、Arg、Glu、Aib又はLysを表し；

X<sub>21</sub>は、Asp、Glu、Ser、又はLysを表し；

X<sub>24</sub>は、Gln、Ala、Arg、Glu、Aib、又はLysを表し；

X<sub>27</sub>は、Met、Leu、又はValを表し；

X<sub>28</sub>は、Asn、Ser、Thr、Gln、Ala、Gly、Glu、又はLysを表し；

X<sub>29</sub>は、Thr、Gly、Ser、Gln、Ala、Glu、又はLysを表し；

X<sub>30</sub>は、Lysを表すか、又はX<sub>30</sub>は、存在せず；

このアミノ酸配列は、12、16、17、18、20、21、24、28、29、及び/又は30位の1つ又は複数においてリシン残基を含む]

を含むグルカゴン誘導体であって、前記グルカゴン誘導体は、親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基を含み、前記負荷電部分の1個は、前記親油性部分から遠位にあり、前記置換基は、アミノ酸16、17、18、20、21、24、28、29、又は30位の1個の中のリシン残基の 位に結合しており；前記グルカゴン誘導体は、C末端アミドである、グルカゴン誘導体、又は薬学的に許容されるその塩若しくはプロドラッグに関する。

## 【 0 0 1 3 】

一実施形態では、本発明は、本発明によるグルカゴン誘導体を含み、任意選択により1種又は複数の薬学的に許容される添加剤を含んでいてもよい医薬組成物に関する。

## 【 0 0 1 4 】

一実施形態では、本発明は、C末端アミドと、グルカゴン（配列番号1）と比較して本明細書において定義する改変a)からppp)までのいずれか1つとを含む、グルカゴンペプチドの形態の中間体生成物、又は薬学的に許容されるその塩、アミド、若しくはエステルに関する。

## 【 0 0 1 5 】

一実施形態では、本発明は、医療において使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせていてもよい、本発明のグルカゴン誘導体に関する。

## 【 0 0 1 6 】

本発明は、例示的な実施形態の開示により明らかとなるであろう更なる問題を解決し得る。

## 【 発明を実施するための形態 】

## 【 0 0 1 7 】

本発明は、GLP-1及びグルカゴン受容体の両方を活性化するグルカゴン誘導体をもたらす新規のアミノ酸変異を、その他の変異及び負荷電部分を有する置換基と組み合わせて有する、GLP-1/グルカゴン受容体コアゴニストである新規のグルカゴン誘導体を提供する。本発明者らは、例えば、その他の置換に加えて少なくとも3個の負電荷を有する置換基を有する類似体において10位にロイシンを導入することで、物理的安定性が改善されたGLP-

10

20

30

40

50



1/グルカゴン受容体コアゴニストが生じる、すなわち、その類似体は、物理的安定性を評価するために使用されるアッセイにおいて原線維形成を示さないか、又はその遅延を示し、そのペプチドの回収率が一般に改善されることを発見した。更に、本発明者らは、驚くべきことに、本発明のグルカゴン誘導体は、グルカゴン受容体結合を低減させると同時に、多くの場合に、GLP-1受容体結合を改善させる傾向を有することを発見した。したがって、新規の変異（一つ又は複数）は、体重に対する所望の作用を得るために重要であるグルカゴン親和性とGLP-1親和性との間の割合を調整するためのツールとして使用することができ、血糖値を維持し得る。

#### 【 0 0 1 8 】

本発明者らは、本発明の化合物は、中性pH又はやや塩基性のpHで十分な水溶解性を有し、化学的安定性が改善されている、すなわち、上記類似体の化学的分解は低減されることを発見した。本発明者らは、本発明の化合物は、改善された薬物動態特性を有する、すなわち、これらはin vivoで遷延性半減期（prolonged life-time）を有することを発見した。更に、本発明の化合物は、皮下投与後に、体重の有意な減少を誘導する。

#### 【 0 0 1 9 】

本発明のグルカゴン誘導体は特に、式Iのアミノ酸配列（配列番号4及び配列番号5に対応）：

His-X<sub>2</sub>-X<sub>3</sub>-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X<sub>10</sub>-Ser-X<sub>12</sub>-Tyr-Leu-X<sub>15</sub>-X<sub>16</sub>-X<sub>17</sub>-X<sub>18</sub>-Ala-X<sub>20</sub>-X<sub>21</sub>-Phe-Val-X<sub>24</sub>-Trp-Leu-X<sub>27</sub>-X<sub>28</sub>-X<sub>29</sub>-X<sub>30</sub> [I]

[ 式中、

X<sub>2</sub>は、Aib、Acb、又はAcprを表し；

X<sub>3</sub>は、Gln又はHisを表し；

X<sub>10</sub>は、Leu、Ile、又はValを表し；

X<sub>12</sub>は、Lys又はArgを表し；

X<sub>15</sub>は、Asp又はGluを表し；

X<sub>16</sub>は、Ser、Ala、Leu、Thr、Glu、Aib、Ile、Val、又はLysを表し；

X<sub>17</sub>は、Arg又はLysを表し；

X<sub>18</sub>は、Arg、Ala、又はLysを表し；

X<sub>20</sub>は、Gln、Arg、Glu、Aib又はLysを表し；

X<sub>21</sub>は、Asp、Glu、Ser、又はLysを表し；

X<sub>24</sub>は、Gln、Ala、Arg、Glu、Aib、又はLysを表し；

X<sub>27</sub>は、Met、Leu、又はValを表し；

X<sub>28</sub>は、Asn、Ser、Thr、Gln、Ala、Gly、Glu、又はLysを表し；

X<sub>29</sub>は、Thr、Gly、Ser、Gln、Ala、Glu、又はLysを表し；

X<sub>30</sub>は、Lysを表すか、又はX<sub>30</sub>は存在せず；

このアミノ酸配列は、12、16、17、18、20、21、24、28、29、及び/又は30位の1つ又は複数にリシン残基を含む]を含むグルカゴン誘導体であって、前記グルカゴン誘導体は、親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基を含み、前記負荷電部分の1個は、親油性部分から遠位にあり、アミノ酸16、17、18、20、21、24、28、29、又は30位の1個の中のリシン残基の 1位に結合しており；前記グルカゴン誘導体はC末端アミドである、グルカゴン誘導体、又は薬学的に許容されるその塩若しくはプロドラッグとして特徴づけることができる。

#### 【 0 0 2 0 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、式Iのアミノ酸配列（配列番号2及び配列番号3に対応）：

His-X<sub>2</sub>-X<sub>3</sub>-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X<sub>10</sub>-Ser-X<sub>12</sub>-Tyr-Leu-X<sub>15</sub>-X<sub>16</sub>-X<sub>17</sub>-X<sub>18</sub>-Ala-X<sub>20</sub>-X<sub>21</sub>-Phe-Val-X<sub>24</sub>-Trp-Leu-X<sub>27</sub>-X<sub>28</sub>-X<sub>29</sub>-X<sub>30</sub> [I]

[ 式中、

X<sub>2</sub>は、Aib、Acb、又はAcprを表し；

X<sub>3</sub>は、Gln又はHisを表し；



$X_{10}$  は、Leu、Ile、又はValを表し；  
 $X_{12}$  は、Lys又はArgを表し；  
 $X_{15}$  は、Asp又はGluを表し；  
 $X_{16}$  は、Ser、Ala、Leu、Thr、Glu、Aib、Ile、Val、又はLysを表し；  
 $X_{17}$  は、Arg又はLysを表し；  
 $X_{18}$  は、Arg、Ala、又はLysを表し；  
 $X_{20}$  は、Gln、Arg、Glu、Aib又はLysを表し；  
 $X_{21}$  は、Asp、Glu、又はLysを表し；  
 $X_{24}$  は、Gln、Ala、Arg、Glu、Aib、又はLysを表し；  
 $X_{27}$  は、Met、Leu、又はValを表し；  
 $X_{28}$  は、Asn、Ser、Thr、Gln、Ala、Gly、Glu、又はLysを表し；  
 $X_{29}$  は、Thr、Gly、Ser、Gln、Ala、Glu、又はLysを表し；  
 $X_{30}$  は、Lysを表すか、又は $X_{30}$ は存在せず；

このアミノ酸配列は、12、16、17、18、20、21、24、28、29、及び/又は30位の1つ又は複数にリシン残基を含む]を含み；前記グルカゴン誘導体は、親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基を含み、前記負荷電部分の1個は、親油性部分から遠位にあり、アミノ酸16、17、18、20、21、24、28、29、又は30位の1個の中のリシン残基の1位に結合しており；前記グルカゴン誘導体はC末端アミドであり、又は薬学的に許容されるその塩又はプロドラッグである。

【0021】

一実施形態では、本発明は、GLP-1及びグルカゴン受容体コアゴニストであるグルカゴン誘導体ペプチドに関する。

【0022】

グルカゴンペプチド

本発明のグルカゴン誘導体のペプチドは、i) 改変されているアミノ酸残基に対応するヒトグルカゴン（配列番号1）中のアミノ酸残基の数（すなわち、グルカゴン（配列番号1）中の対応する位置）に対する言及、及びii) 実際の改変に対する言及によって記載され得る。グルカゴン化合物における位置番号付けについて：本目的では、任意のアミノ酸の置換、欠失、及び/又は付加は、天然ヒトグルカゴン（1～29）の配列（配列番号1）に対して示されている。ヒトグルカゴンアミノ酸1～29位は、本明細書において、アミノ酸 $X_1 \sim X_{29}$ 位と同じであることとする。ヒトグルカゴン（1～29）配列は、His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr（配列番号1）である。グルカゴン（1～30）は、C末端に1個のアミノ酸の伸長部を有するヒトグルカゴンを意味し、グルカゴン（1～31）は、C末端に2個のアミノ酸の伸長部を有するヒトグルカゴンを意味し、グルカゴン（1～32）は、C末端に3個のアミノ酸の伸長部を有するヒトグルカゴンを意味する。

【0023】

言い換えると、グルカゴン誘導体のペプチドは、ヒトグルカゴン（配列番号1）と比較した場合に、アミノ酸残基のいくつかの改変を有するグルカゴンペプチドである。これらの改変は、独立に、1つ又は複数のアミノ酸の置換、付加、及び/又は欠失を表し得る。例えば、「[Aib2、Leu10、Lys16、Arg20、Leu27、Ser28]-グルカゴンアミド」は、2位のアミノ酸がAibで置換されており、10位のアミノ酸がLeuで置換されており、16位のアミノ酸がLysで置換されており、20位のアミノ酸がArgで置換されており、27位のアミノ酸がLeuで置換されており、28位のアミノ酸がSerで置換されており、C末端カルボン酸がC末端アミドで置き換えられているグルカゴン（配列番号1）を指定している。

【0024】

ある種の規定の変化を「含む」類似体は、配列番号1と比較した場合に、更なる変化を含んでよい。特定の一実施形態では、類似体は、規定の変化を「有する」。

【0025】

一実施形態では、「ペプチド」及び「類似体」（例えば、「グルカゴンペプチド」、「



ペプチド類似体」、及び「グルカゴン類似体」を含む」という用語は、本明細書において互換的に使用され、本発明のグルカゴン誘導体のアミノ酸配列を指す。

【0026】

「位置」又は「対応する位置」という表現は、グルカゴン（配列番号1）を参照することによって、アミノ酸配列における変化の部位を特徴づけるために使用され得る。その位置、更には、変化の数は、例えば、単純な手書き及び視認によって、容易に推測される。

【0027】

「グルカゴン類似体」という用語は、本明細書で使用する場合、天然ペプチドの1個又は複数のアミノ酸残基が他のアミノ酸残基によって置換されていて、かつ/又は1個又は複数のアミノ酸残基がグルカゴン配列から欠失していて、かつ/又は1個又は複数のアミノ酸残基がペプチドに付加されているグルカゴン配列を指す。アミノ酸残基のそのような付加又は欠失は、ペプチドのN末端及び/又はペプチドのC末端で生じ得る。単純な系を、類似体を記載するために使用する。ペプチド類似体及びその誘導体の式を、IUPAC-IUB命名法に従って使用されるアミノ酸のための標準的な一文字又は三文字略語を使用して表す。

「類似体」という用語は、ポリペプチドに関して本明細書で使用する場合、ペプチドの1個又は複数のアミノ酸残基が他のアミノ酸残基によって置き換えられていて、かつ/又は1個又は複数のアミノ酸残基がペプチドから欠失していて、かつ/又は1個又は複数のアミノ酸残基がペプチドに付加されている改変ペプチドを意味する。アミノ酸残基のそのような付加又は欠失は、ペプチドのN末端及び/又はペプチドのC末端で生じ得る。

【0028】

「ポリペプチド」及び「ペプチド」という用語は、本明細書で使用する場合、ペプチド結合によって結合された少なくとも5個の構成アミノ酸からなる化合物を意味する。構成アミノ酸は、遺伝コードによってコードされるアミノ酸の群からのものであってよく、それらは、遺伝コードによってコードされない天然アミノ酸、更には合成アミノ酸であってもよい。遺伝コードによってコードされない天然アミノ酸は、例えば、ヒドロキシプロリン、 $\gamma$ -カルボキシグルタマート、オルニチン、ホスホセリン、D-アラニン、及びD-グルタミンである。合成アミノ酸は、化学合成によって製造されたアミノ酸、すなわち、D-アラニン及びD-ロイシン等の遺伝コードによってコードされるアミノ酸のD-異性体、Aib（ $\alpha$ -アミノイソ酪酸）、Acb（1-アミノシクロブタンカルボン酸）、Acpr（1-アミノシクロプロパンカルボン酸）、Abu（ $\beta$ -アミノ酪酸）、Tle（tert-ブチルグリシン）、 $\beta$ -アラニン、3-アミノメチル安息香酸、アントラニル酸を含む。

【0029】

上記の例から明らかなとおり、アミノ酸残基は、それらのフルネーム、それらの一文字コード、及び/又はそれらの三文字コードによって同定され得る。これらの3つの方式は、完全に同等である。一実施形態では、ペプチド類似体及びその誘導体を、IUPAC-IUB命名法に従って標準的な一文字又は三文字略語を使用して表す。本内容では、三文字又は一文字アミノ酸コードに基づくペプチド命名法のための共通規則を適用する。簡単には、アミノ酸構造の中央部分を、3文字コード（例えば、Ala、Lys）又は1文字コード（例えば、A、K）によって表し、D立体配置が特に三文字コードが続く「D-」（例えば、D-Ala、D-Lys）によって示されていない限り、L立体配置を想定する。アミノ基の置換基は、1個の水素原子に置き換わっており、その名称は、三文字コードの前に位置する一方で、C末端置換基は、カルボン酸ヒドロキシル基に置き換わっており、その名称は、三文字コードの後に現れる。例えば、「アセチル-Gly-Gly-NH<sub>2</sub>」は、CH<sub>3</sub>-C(=O)-NH-CH<sub>2</sub>-C(=O)-NH-CH<sub>2</sub>-C(=O)-NH<sub>2</sub>を表す。別段の指定がない限り、アミノ酸は、N-2（窒素）原子及びC-1（炭素）原子で形成されるアミド結合によって、それらの隣接する基に接続される。

【0030】

本内容で使用されるアミノ酸略語は、次の意味を有する：

【0031】

10

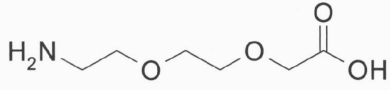
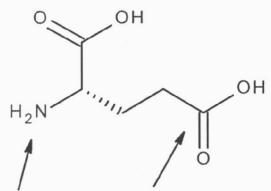
20

30

40



【表 1 A】

アミノ酸	説明
Acb	1-アミノシクロブタンカルボン酸
Acpr	1-アミノシクロプロパンカルボン酸
Ado	
Aib	2-アミノイソイソ酪酸
Ala	アラニン
Asn	アスパラギン
Asp	アスパラギン酸
Arg	アルギニン
Cit	シトルリン
Cys	システイン
Gln	グルタミン
Glu	グルタミン酸
γ-Glu	<p>及び鏡像異性体</p>  <p>α-窒素及びγ-カルボキシ基が2つの隣接する残基へのアミド結合を形成する</p>
Gly	グリシン
His	ヒスチジン
Hyp	4-ヒドロキシプロリン
Ile	イソロイシン
Leu	ロイシン

10

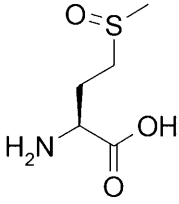
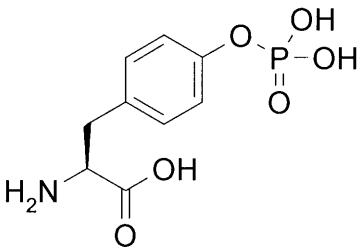
20

30

40



【表 1 B】

Lys	リシン
Met	メチオニン
Met(O)	
Orn	オルニチン
Phe	フェニルアラニン
Pro	プロリン
Ser	セリン
Thr	トレオニン
Tyr	チロシン
p(Tyr)	
Trp	トリプトファン
Val	バリン

10

20

30

## 【0033】

D-Ser、D-His等のD-で始まって3文字コードが続くアミノ酸略語は、対応するアミノ酸のD-鏡像異性体、例えば、D-セリン、D-ヒスチジン等を指す。

40

## 【0034】

「グルカゴンアミド」という用語は、C末端カルボン酸がC末端アミドで置き換えられているグルカゴンを意味する。

## 【0035】

グルカゴン誘導体は、グルカゴン（配列番号1）と比較して、合計15までのアミノ酸の相違（本発明では、改変ともいう）、例えば、1つ若しくは複数の付加、1つ若しくは複数の欠失、及び/又は1つ若しくは複数の置換を有する式Iのアミノ酸配列を含み得る。一実施形態では、式Iのアミノ酸配列は、グルカゴン（配列番号1）と比較して、3～15のアミノ酸残基の置換又は付加等の改変を含む。一実施形態では、式Iのアミノ酸配列は、グルカゴン（配列番号1）と比較して、4～15又は5～15のアミノ酸残基の置換又は付加等の改

50



変を含む。一実施形態では、式Iのアミノ酸配列は、グルカゴン（配列番号1）と比較して、14まで、例えば13まで、又は12まで等のアミノ酸残基の置換又は付加等の改変を含む。一実施形態では、式Iのアミノ酸配列は、グルカゴン（配列番号1）と比較して、11まで、例えば、10まで、又は9まで等のアミノ酸残基の置換又は付加等の改変を含む。一実施形態では、式Iのアミノ酸配列は、グルカゴン（配列番号1）と比較して、8まで、例えば、7まで、又は6まで等のアミノ酸残基の置換又は付加等の改変を含む。

# 【 0 0 3 6 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、  
 $X_2$  が、Aib、Acb、又はAcprを表し；  
 $X_3$  が、Gln又はHisを表し；  
 $X_{10}$  が、Leuを表し；  
 $X_{12}$  が、Lys又はArgを表し；  
 $X_{15}$  が、Asp又はGluを表し；  
 $X_{16}$  が、Ser、Ala、Leu、Thr、Glu、Aib、又はLysを表し；  
 $X_{17}$  が、Arg又はLysを表し；  
 $X_{18}$  が、Arg又はAlaを表し；  
 $X_{20}$  が、Gln、Arg、Glu、又はLysを表し；  
 $X_{21}$  が、Asp、Glu、又はLysを表し；  
 $X_{24}$  が、Gln、Ala、Arg、又はLysを表し；  
 $X_{27}$  が、Met、Leu、又はValを表し；  
 $X_{28}$  が、Asn、Ser、又はLysを表し；  
 $X_{29}$  が、Thr、Gly、又はLysを表し；  
 $X_{30}$  が、Lysを表すか、又は $X_{30}$  が、存在しない、  
 本明細書に記載の式Iのものである。

# 【 0 0 3 7 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、  
 $X_2$  が、Aib、Acb、又はAcprを表し；  
 $X_3$  が、Gln又はHisを表し；  
 $X_{10}$  が、Leuを表し；  
 $X_{12}$  が、Lys又はArgを表し；  
 $X_{15}$  が、Asp又はGluを表し；  
 $X_{16}$  が、Ser、Ala、Leu、Thr、Glu、又はLysを表し；  
 $X_{17}$  が、Arg又はLysを表し；  
 $X_{18}$  が、Arg又はAlaを表し；  
 $X_{20}$  が、Gln、Arg、Glu、又はLysを表し；  
 $X_{21}$  が、Asp、Glu、又はLysを表し；  
 $X_{24}$  が、Gln、Ala、Arg、又はLysを表し；  
 $X_{27}$  が、Met、Leu、又はValを表し；  
 $X_{28}$  が、Asn、Ser、又はLysを表し；  
 $X_{29}$  が、Thr、Gly、又はLysを表し；  
 $X_{30}$  が、Lysを表すか、又は $X_{30}$  が、存在しない、  
 本明細書に記載の式Iのものである。

# 【 0 0 3 8 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_2$  がAib、Acb、又はAcprを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_2$  がAibを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_2$  がAcbを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_2$  がAcprを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_3$  がGln、又はHisを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_3$  がGlnを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘



50



を表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{27}$ がMet、Leu、又はValを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{27}$ がLeu、又はValを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{27}$ がMetを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{27}$ がLeuを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{27}$ がValを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{28}$ がAsn、Ser、Thr、Gln、Ala、Gly、Glu、又はLysを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{28}$ がAsn、Ser、又はLysを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{28}$ がAsnを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{28}$ がSerを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{28}$ がLysを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{29}$ がThr、Gly、Ser、Gln、Ala、Glu、又はLysを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{29}$ がThr、Gly、又はLysを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{29}$ がGly、又はLysを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{29}$ がThrを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{29}$ がGlyを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{29}$ がLysを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{30}$ がLysを表すか、又は $X_{30}$ が存在しない、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{30}$ がLysを表す、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_{30}$ が存在しない、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $X_2$ がAibを表し； $X_{20}$ がArgを表し； $X_{21}$ がGluを表す、本明細書に記載の式Iのものである。

#### 【 0 0 3 9 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換：

[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Leu27,Ser28] ;  
 [Aib2,Leu10,Arg20,Lys21,Leu27,Ser28] ;  
 [Aib2,Leu10,Arg20,Lys24,Leu27,Ser28] ;  
 [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Lys28] ;  
 [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29] ;  
 [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28] ;  
 [Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Glu21,Leu27] ;  
 [Aib2,Leu10,Lys17,Ala18,Glu21,Leu27,Lys29] ;  
 [Aib2,Leu10,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29] ;  
 [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Leu27] ;  
 [Aib2,Leu10,Thr16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29] ;  
 [Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29] ;  
 [Aib2,Leu10,Glu16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29] ;  
 [Aib2,Leu10,Lys16,Glu20,Leu27,Ser28,Lys29] ;  
 [Aib2,Leu10,Thr16,Arg24,Leu27,Ser28,Lys29] ;  
 [Acb2,Leu10,Glu15,Glu16,Arg20,Leu27,Lys28] ;  
 [Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27] ;  
 [Aib2,Leu10,Lys16,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27] ;  
 [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27] ;  
 [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29] ;  
 [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;



[Aib2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 [Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Val27,Lys28,Gly29] ;  
 [Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Leu27] ;  
 [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Lys28] ;  
 [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Ser28] ;  
 [Acb2,His3,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28] ;  
 [Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28] ; 10  
 [Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29] ;  
 [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29] ;  
 [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 [Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 [Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28] ;  
 [Acb2,Leu10,Arg12,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28] ;  
 [Acb2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 [Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 [Acpr2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 [Aib2,Leu10,Aib16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ; 20  
 [Aib2,Leu10,Leu16,Leu27,Lys28] ;  
 [Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28] ;  
 [Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28] ;  
 [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28] ;  
 [Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 [Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28] ;  
 [Acb2,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28] ;  
 [Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28] ;  
 [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys29] ; 30  
 [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29] ; 及び  
 [Aib2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]  
 のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換：[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Leu27,Ser28] ; [Aib2,Leu10,Arg20,Lys21,Leu27,Ser28] ; 及び [Aib2,Leu10,Arg20,Lys24,Leu27,Ser28] のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換：[Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Lys28] ; [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29] ; 及び [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28] のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換：[Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Glu21,Leu27] 40  
 ; [Aib2,Leu10,Lys17,Ala18,Glu21,Leu27,Lys29] ; 及び [Aib2,Leu10,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29] のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換：[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Leu27] ; [Aib2,Leu10,Thr16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29] ; 及び [Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29] のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換：[Aib2,Leu10,Glu16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29] ; [Aib2,Leu10,Lys16,Glu20,Leu27,Ser28,Lys29] ; 及び [Aib2,Leu10,Thr16,Arg24,Leu27,Ser28,Lys29] のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換：[Acb2,Leu10,Glu15,Glu16,Arg20,Leu27,Lys28] ; [Aib2,Leu10,Lys16,Ly 50



s17,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27] ; 及び[Aib2,Leu10,Lys16,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換 : [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27] ; [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ; 及び[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換 : [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ; [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ; 及び[Aib2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換 : [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ; [Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Val27,Lys28,Gly29] ; 及び[Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Leu27]のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換 : [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ; [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Lys28] ; 及び[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Ser28]のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換 : [Acb2,His3,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28] ; [Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ; 及び[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28]のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換 : [Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29] ; [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29] ; 及び[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換 : [Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ; [Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28] ; 及び[Acb2,Leu10,Arg12,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換 : [Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ; 及び[Acpr2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換 : [Aib2,Leu10,Aib16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ; [Aib2,Leu10,Leu16,Leu27,Lys28] ; 及び[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換 : [Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ; [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28] ; 及び[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換 : [Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28] ; [Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28] ; 及び[Acb2,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28]のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換 : [Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28] ; [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys29] ; [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29] ; 及び[Aib2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換 : [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28] ; [Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ; 及び[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換 : [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ; [Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ; 及び[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換 : [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Ser21,Leu27,Lys2

10

20

30

40

50



8]を有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、次のアミノ酸置換：[Aib2,Val10,Ala16,Leu27,Lys28]を有するアミノ酸配列を含む、本明細書に記載の式Iのものである。

【0040】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、アミノ酸配列が、12、16、17、18、20、21、24、28、29、及び/又は30位の1つ又は複数にリシン残基を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、アミノ酸配列が、12、16、17、18、20、21、24、28、29、及び/又は30位の1つ、2つ、又は3つにリシン残基を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、アミノ酸配列が、12、16、17、18、20、21、24、28、29、及び/又は30位の1つ又は2つにリシン残基を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、アミノ酸配列が、12、16、17、18、20、21、24、28、29、及び/又は30位の2つに；特に、12及び28位にリシン残基を含む、本明細書に記載の式Iのものである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、アミノ酸配列が、12、16、17、18、20、21、24、28、29、又は30位にリシン残基を含む、本明細書に記載の式Iのものである。

10

【0041】

一実施形態では、式Iのアミノ酸配列は、式Iからなる。一実施形態では、 $X_2$ は、Aib、Acpr、又はAcprである。一実施形態では、 $X_3$ は、Hisを表す。一実施形態では、 $X_{10}$ は、Leu又はValを表す。一実施形態では、 $X_{12}$ は、Argを表す。一実施形態では、 $X_{15}$ は、Gluを表す。一実施形態では、 $X_{16}$ は、Ala、Glu、Leu、Lys、Thr、若しくはAib、例えば、Ala、Glu、若しくはLeu等、又はLys、Thr、若しくはAib等を表す。一実施形態では、 $X_{17}$ は、Lysを表す。一実施形態では、 $X_{18}$ は、Alaを表す。一実施形態では、 $X_{20}$ は、Arg、Lys、又はGluを表す。一実施形態では、 $X_{21}$ は、Lys、Glu、又はSerを表す。一実施形態では、 $X_{24}$ は、Ala、Arg、又はLysを表す。一実施形態では、 $X_{27}$ は、Leu又はValを表す。一実施形態では、 $X_{28}$ は、Lys又はSerを表す。一実施形態では、 $X_{29}$ は、Lys又はGlyを表す。一実施形態では、 $X_{30}$ は、Lysを表すか、又は $X_{30}$ は存在しない。

20

【0042】

グルカゴン誘導体

本発明は、グルカゴン誘導体に関する。「グルカゴン誘導体」という用語は、本明細書で使用する場合、少なくとも1個の置換基が非改変ペプチド又はその類似体には存在しない、すなわち、グルカゴンが共有結合で改変されている化学的に改変されたグルカゴン又はその類似体を意味する。典型的な改変は、アミド、炭水化物、アルキル基、アシル基、エステル等である。「誘導体」という用語は、ペプチドに関連して本明細書で使用する場合、少なくとも1個の置換基が非改変ペプチド又はその類似体には存在しない、すなわち、ペプチドが共有結合で改変されている化学的に改変されたペプチド又はその類似体を意味する。典型的な改変は、アミド、炭水化物、アルキル基、アシル基、エステル等である。一実施形態では、「グルカゴン誘導体」という用語は、本明細書で使用する場合、グルカゴン誘導体、グルカゴン化合物、本発明による化合物、本発明の化合物、式Iの化合物、グルカゴン類似体、グルカゴン類似体ヒトグルカゴン、ヒトグルカゴン(1~29)、グルカゴン(1~30)、グルカゴン(1~31)、グルカゴン(1~32)のグルカゴン誘導体又は誘導体、更には、グルカゴン活性を維持している類似体及びその融合ペプチドを意味する。

30

40

【0043】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、リシンの側鎖を介してグルカゴン類似体に共有結合で結合している置換基を含む。「置換基」という用語は、本明細書で使用する場合、水素に置き換わっている化学的部分又は基を意味する。

【0044】

「遠位にある」という用語は、本明細書で使用する場合、結合点から最も離れている(末端にある)ことを意味する。

【0045】

50



一実施形態では、「負荷電部分」という用語は、本明細書で使用する場合、以下のものに限定されないが、カルボン酸（例えば、Glu、ガンマ-Glu、Asp、又はベータ-Asp）、スルホン酸、又はテトラゾール部分等の負の電荷を持ち得る化学的部分を意味する。一実施形態では、「負荷電部分」という用語は、本明細書で使用する場合、これだけに限定されないが、カルボン酸、スルホン酸、又はテトラゾール部分等の負の電荷を有しうる化学的部分を意味する。一実施形態では、置換基は、3～10個の負荷電部分を有する。一実施形態では、置換基は、3、4、5、6、7、8、9又は10個の負荷電部分を有する。一実施形態では、置換基は、生理学的pHで負荷電である。一実施形態では、「負荷電部分」の数は、生理的pH（pH7.4）で決定される。一実施形態では、「負荷電部分」は、カルボン酸基である。

10

## 【0046】

「親油性部分」という用語は、本明細書で使用する場合、追加の置換基を有してもよい6個より多く、30個より少ない炭素原子を有する脂肪族又は環式炭化水素部分を意味する。

## 【0047】

「アルブミン結合残基」という用語は、本明細書で使用する場合、ヒト血清アルブミンに非共有結合で結合する残基を意味する。治療用ポリペプチドに結合しているアルブミン結合残基は典型的には、ヒト血清アルブミンに対して10  $\mu$ M未満、好ましくは1  $\mu$ M未満の親和性を有する。4～40個の炭素原子を含有する直鎖及び分枝親油性部分のなかに、幅広いアルブミン結合残基が知られている。

20

## 【0048】

本発明の化合物の「遷延性作用（protracted effect）」という用語は、それらが生物学的活性を発揮する期間が長時間に及ぶことを意味する。

## 【0049】

本内容では、「アゴニスト」という用語は、該当する受容体種類を活性化する物質（リガンド）を示すことが意図されている。

## 【0050】

一実施形態では、「\*」という記号は、化学構造を表す際に本明細書において使用する場合、誘導体中の隣接する位置への結合点を表す。

## 【0051】

30

一実施形態では、1個の置換基が、親油性部分及び3個以上の負荷電部分を含み、前記負荷電部分の1個が、親油性部分から遠位にあり、前記置換基が、前記グルカゴン誘導体の次のアミノ酸位：16、17、18、20、21、24、28、29、及び/又は30位の1個中のLysの位に結合している本明細書に記載の式Iのグルカゴン誘導体。一実施形態では、親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基は、16、21、24、28、29、又は30位においてリシン残基の位に結合している。一実施形態では、親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基は、16、21、24、28、29、又は30位においてリシン残基の位に結合している。一実施形態では、親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基は、16、24、28、29、又は30位においてリシン残基の位に結合している。一実施形態では、親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基は、24、28、29、又は30位においてリシン残基の位に結合している。一実施形態では、親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基は、28、29、及び30位においてリシン残基の位に結合している。一実施形態では、親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基は、28位においてリシン残基の位に結合している。

40

## 【0052】

一実施形態では、親油性部分及び3個以上の負荷電部分を含む置換基は、式II： $Z^1-Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}$ -(II)

[式中、

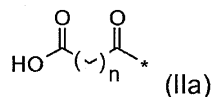
$Z^1$ -は、式IIaの構造

## 【0053】

50



## 【化 1】



## 【0054】

(式中、nは、6～20であり；記号\*は、隣接する架橋基の窒素との結合点を表す)を表し；

$Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}$ -は架橋基を表し、 $Z_2 \sim Z_{10}$ はそれぞれ個別に、次のアミノ酸残基：Glu、Glu、Gly、Ser、Ala、Thr、又はAdoのいずれか1個によって表されるか；又は残基 $Z^2 \sim Z^{10}$ の1個又は複数存在しないが；ただし、残基 $Z^2 \sim Z^{10}$ の少なくとも2個は存在することを条件とし；

10

$Z^1-Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}$ -は合わせて、少なくとも3個の負電荷を含有する]の置換基であり、

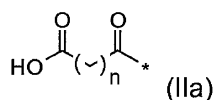
前記置換基は、式Iに従って、Lys残基の 位に結合している。

## 【0055】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は本明細書に記載の式Iのものであって、式IIの $Z^1$ が、式IIaによる構造：

## 【0056】

## 【化 2】



20

## 【0057】

(式中、nは、6～20の範囲の整数を表し；記号\*は、隣接する基の窒素との結合点を表す)を表し；

$Z_2$ 、 $Z_3$ 、 $Z_4$ 、 $Z_5$ 、 $Z_6$ 、 $Z_7$ 、 $Z_8$ 、 $Z_9$ 、 $Z_{10}$ が個別に、次のアミノ酸：Glu、Glu、Gly、Ser、Ala、Thr、及びAdoによって表されるか；又は $Z_2$ 、 $Z_3$ 、 $Z_4$ 、 $Z_5$ 、 $Z_6$ 、 $Z_7$ 、 $Z_8$ 、 $Z_9$ 、 $Z_{10}$ の1個又は複数個は存在せず；ただし、残基 $Z_2 \sim Z_{10}$ の少なくとも2個は存在することを条件とし； $Z_1-Z_2-Z_3-Z_4-Z_5-Z_6-Z_7-Z_8-Z_9-Z_{10}$ は合わせて、少なくとも3個の負電荷を含有し；

30

前記置換基は、ここで、式Iに従って、Lys残基の 位に結合している。  
を表す、。

## 【0058】

一実施形態では、式IIaの $Z^1$ 中のnは、14、16、又は18である(すなわち、それらを表す)。一実施形態では、式IIaの $Z^1$ 中のnは、14である。一実施形態では、式IIaの $Z^1$ 中のnは、16である。一実施形態では、式IIaの $Z^1$ 中のnは、18である。

## 【0059】

一実施形態では、 $Z_2 \sim Z_{10}$ がそれぞれ個別に、次のアミノ酸残基：Glu、Glu、Gly、Ser、又はAdo(Glu、Glu、若しくはGly等、又はSer若しくはAdo等)の1個によって表されるか；又は残基 $Z^2 \sim Z^{10}$ の1個又は複数存在せず；ただし、残基 $Z^2 \sim Z^{10}$ の少なくとも2個が存在することを条件とする $Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}$ -は、架橋基を表す。

40

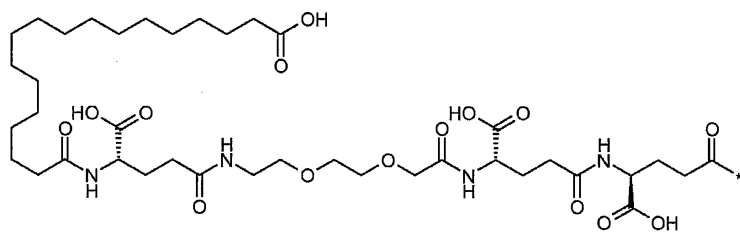
## 【0060】

一実施形態では、置換基は、以下の9つの式(Chem.A～Chem.I)のいずれか1つによる構造を表し、\*が、式IのLys残基の 位の窒素原子との結合点を示す：

## 【0061】



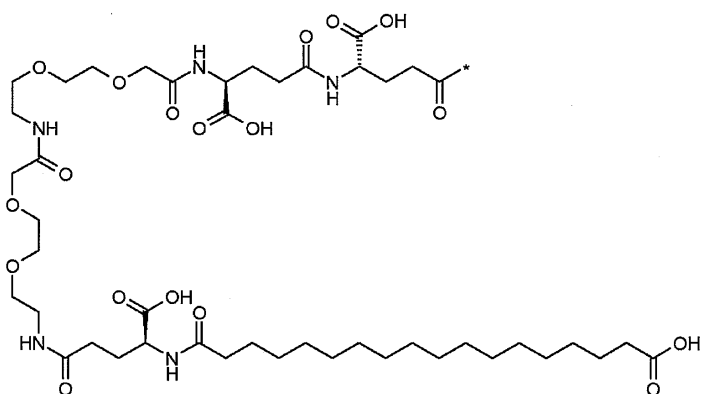
## 【化 3】



(Chem.A);

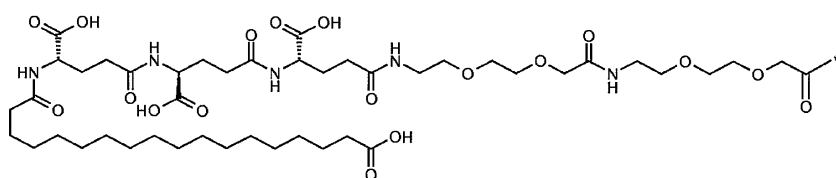


## 【化 4】

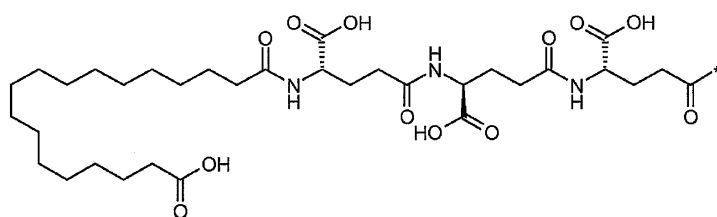


10

(Chem.B);

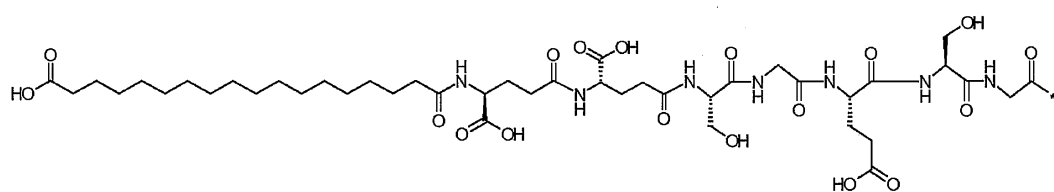


(Chem.C);



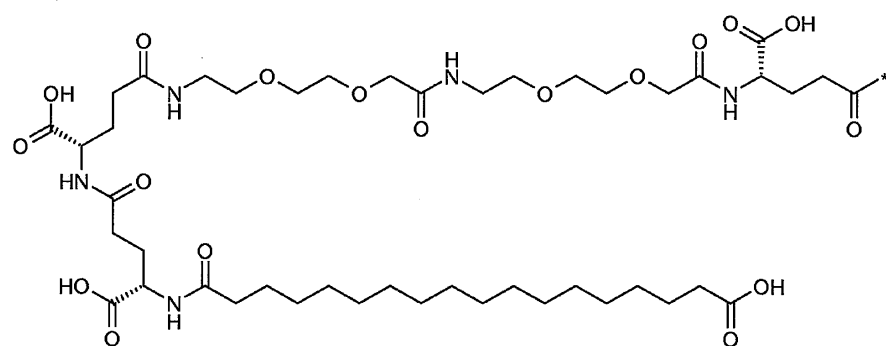
20

(Chem.D);



30

(Chem.E);

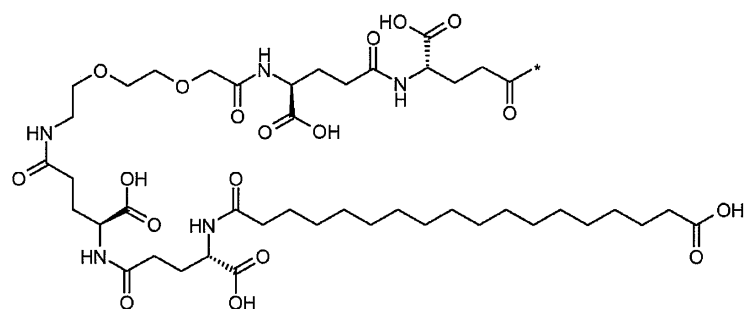


40

(Chem.F);

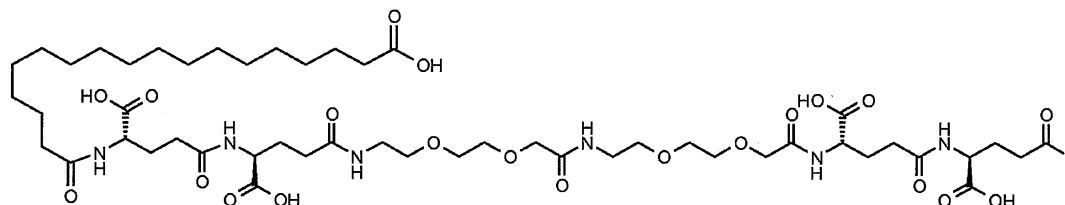


## 【化5】

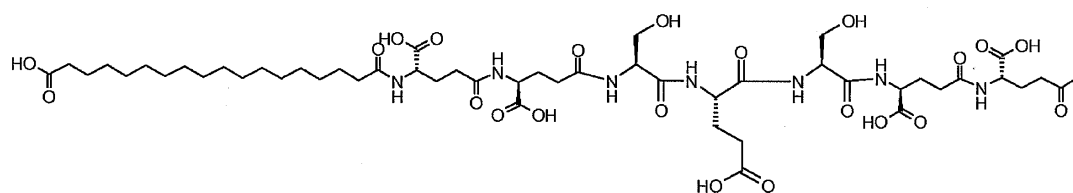


(Chem.G);

10



(Chem.H); 及び



(Chem.I).

20

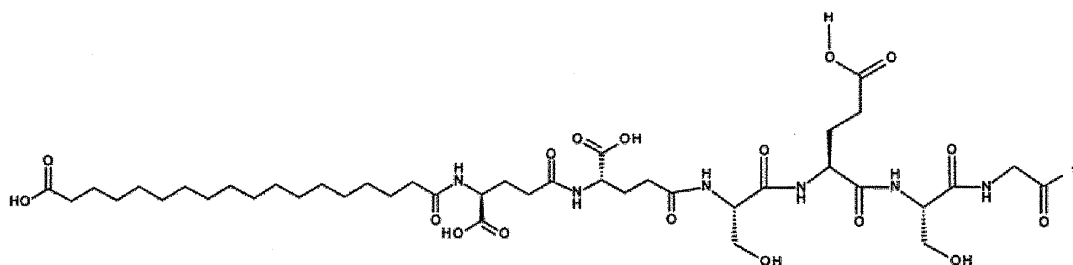
## 【0062】

一実施形態では、置換基は、式Chem.Jによる構造を表し、\*が、式IのLys残基の 位の窒素原子との結合点を示す：

## 【0063】

30

## 【化6】



(Chem.J).

40

## 【0064】

一実施形態では、上記置換基は、本明細書に記載の式Chem.A~Chem.Iのいずれか1つによる構造を表し、\*は、式IのLys残基の 位の窒素原子との結合点を示す。一実施形態では、置換基は、本明細書に記載の式Chem.Jによる構造を表し、\*は、式IのLys残基の 位の窒素原子との結合点を示す。一実施形態では、置換基は、本明細書に記載の式Chem.B、Chem.C、又はChem.Hによる構造を表し、\*は、式IのLys残基の 位の窒素原子との結合点を示す。

## 【0065】

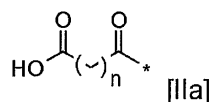
一実施形態では、Z<sub>1</sub>は、式IIaによる構造

50



【 0 0 6 6 】

【 化 7 】



【 0 0 6 7 】

(式IIa中のnは、6~20であり、記号\*は、隣接する基の窒素との結合点を表す)を表し;  
 $Z_2$ 、 $Z_3$ 、 $Z_4$ 、 $Z_5$ 、 $Z_6$ 、 $Z_7$ 、 $Z_8$ 、 $Z_9$ 、 $Z_{10}$ は個別に、次のアミノ酸: Glu、Glu、Gly、Ser、Ala、Thr、Adoによって表されるか、又は存在しない。一実施形態では、 $Z_2$ 、 $Z_3$ 、 $Z_4$ 、 $Z_5$ 、 $Z_6$ 、 $Z_7$ 、 $Z_8$ 、 $Z_9$ 、 $Z_{10}$ は個別に、次のアミノ酸: Glu、Glu、Gly、Ser、Adoによって表されるか、又は存在しない。

10

【 0 0 6 8 】

一実施形態では、前記負荷電部分の1個は、前記親油性部分から遠位にある。一実施形態では、上記置換基は、アルブミンに非共有結合で結合している。

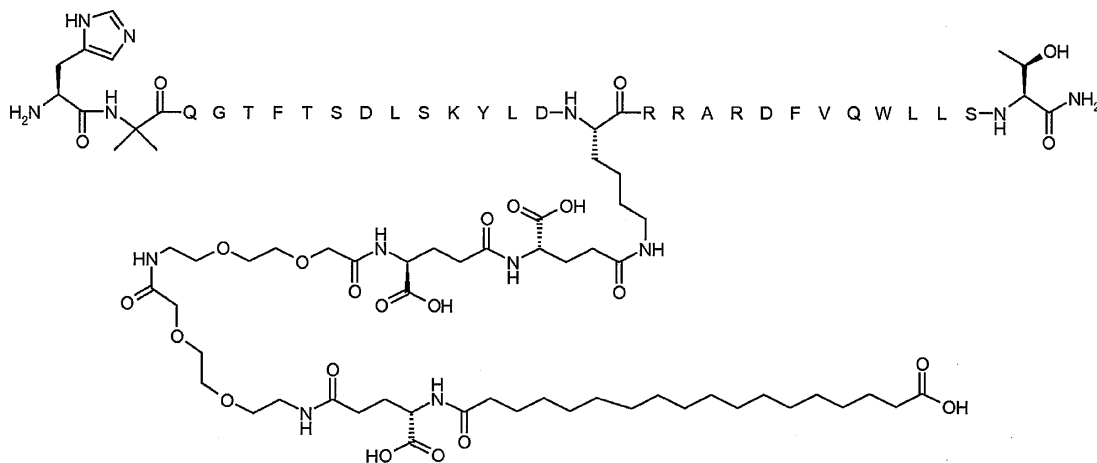
【 0 0 6 9 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $N^{16}$ -[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Leu27,Ser28]-グルカゴンアミド

20

【 0 0 7 0 】

【 化 8 】



【 0 0 7 1 】

である。

【 0 0 7 2 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $N^{21}$ -(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Arg20,Lys21,Leu27,Ser28]-グルカゴンアミド

40

【 0 0 7 3 】



[illegible]NC(Cc1c[nH]cn1)C(=O)N(C(C)(C)C)C(=O)QGGTFTSDLSKYLDSTRRARDFVNC(C(=O)W)C(C)CSC(C)[C@H](O)C(=O)N

【 0 0 7 9 】



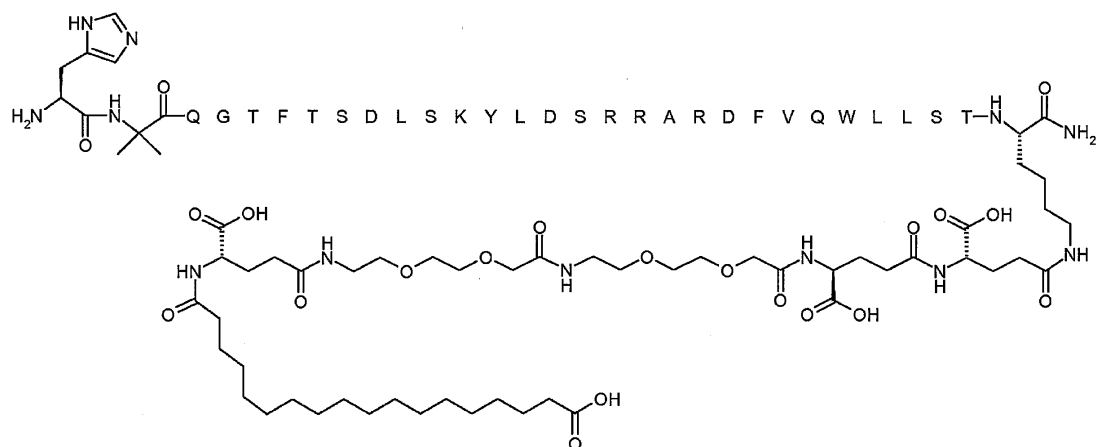
[illegible]

Chemical structure of the prodrug **1**, which is a peptide conjugate. The structure shows a peptide backbone with the sequence **G T F T S D L S K Y L D S R R A R D F V Q W L L S**. The C-terminus is modified with a prodrug moiety consisting of a long alkyl chain (18 carbons) and a carboxylic acid group, linked via an amide bond. The prodrug moiety is also linked to the peptide backbone via an amide bond.

【 0 0 8 5 】



## 【化 1 3】



## 【 0 0 8 6 】

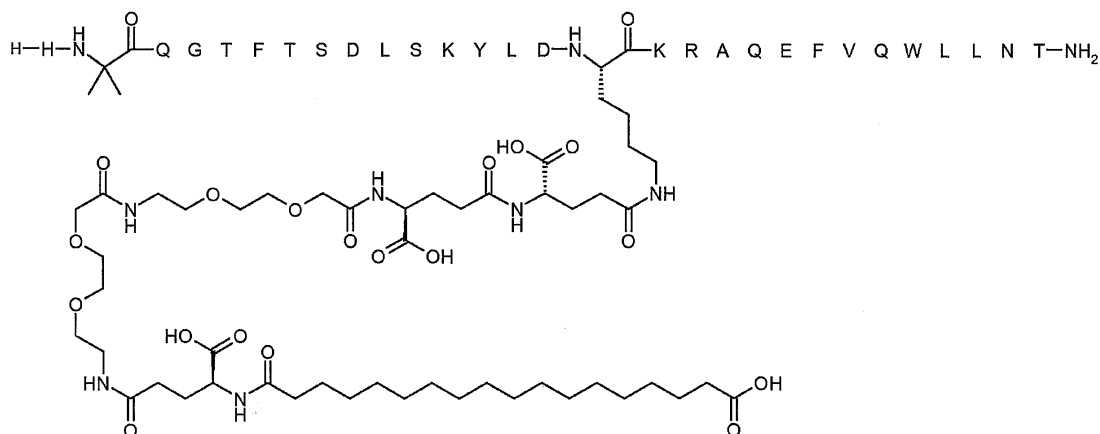
である。

## 【 0 0 8 7 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>16</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Glu21,Leu27]-グルカゴンアミド

## 【 0 0 8 8 】

## 【化 1 4】



## 【 0 0 8 9 】

である。

## 【 0 0 9 0 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys17,Ala18,Glu21,Leu27,Lys29]-グルカゴンアミド

## 【 0 0 9 1 】

10

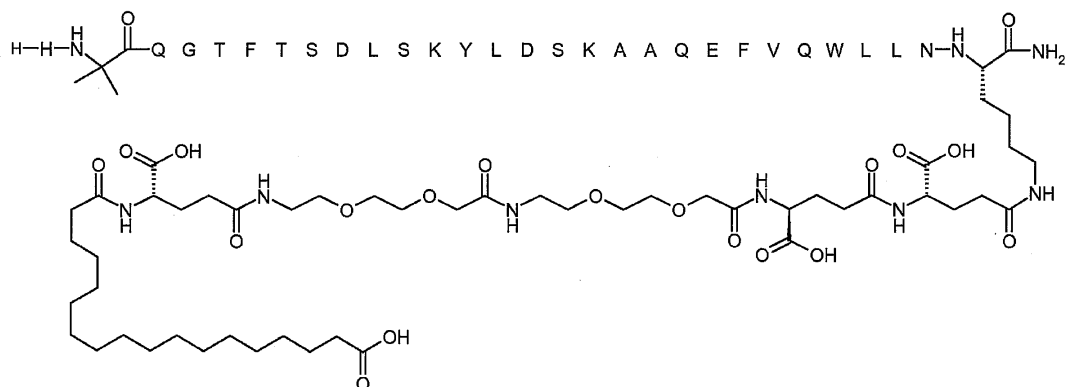
20

30

40



## 【化 1 5】



10

## 【 0 0 9 2 】

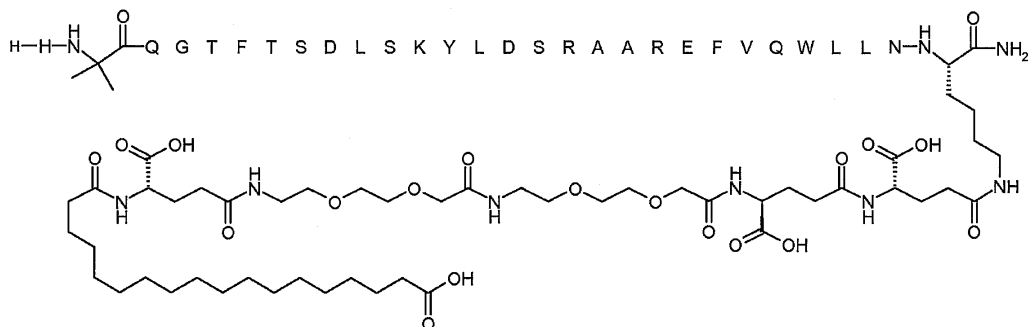
である。

## 【 0 0 9 3 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27, 20  
Lys29]-グルカゴンアミド

## 【 0 0 9 4 】

## 【化 1 6】



30

## 【 0 0 9 5 】

である。

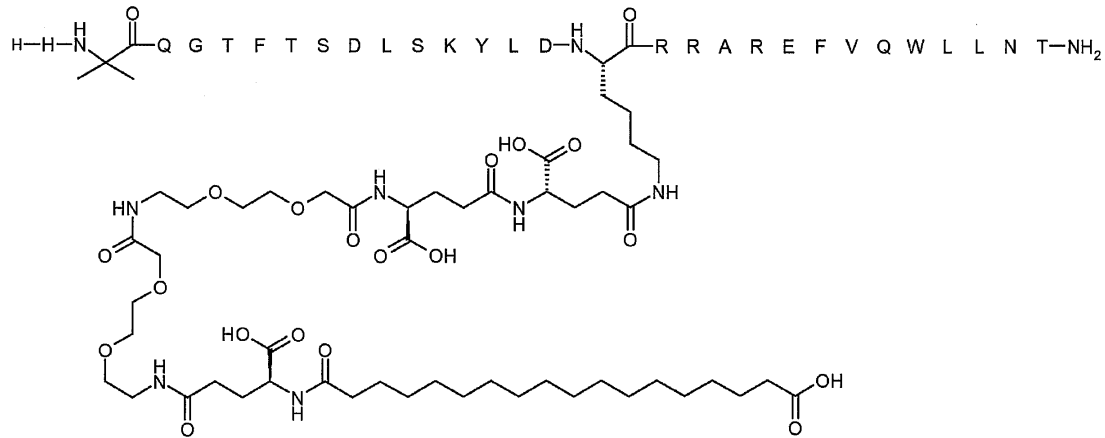
## 【 0 0 9 6 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>16</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Leu27] 40  
-グルカゴンアミド

## 【 0 0 9 7 】



## 【化 17】



10

## 【0098】

である。

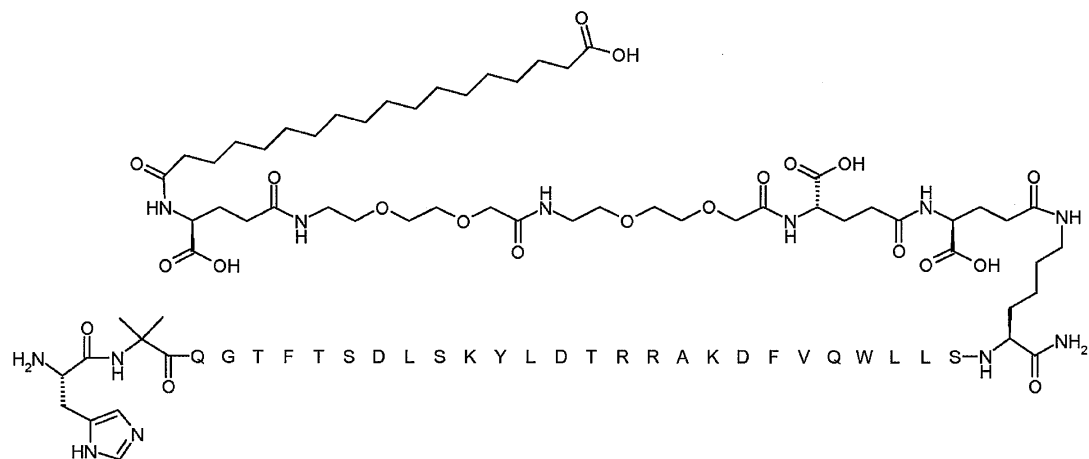
## 【0099】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Thr16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

20

## 【0100】

## 【化 18】



30

## 【0101】

である。

## 【0102】

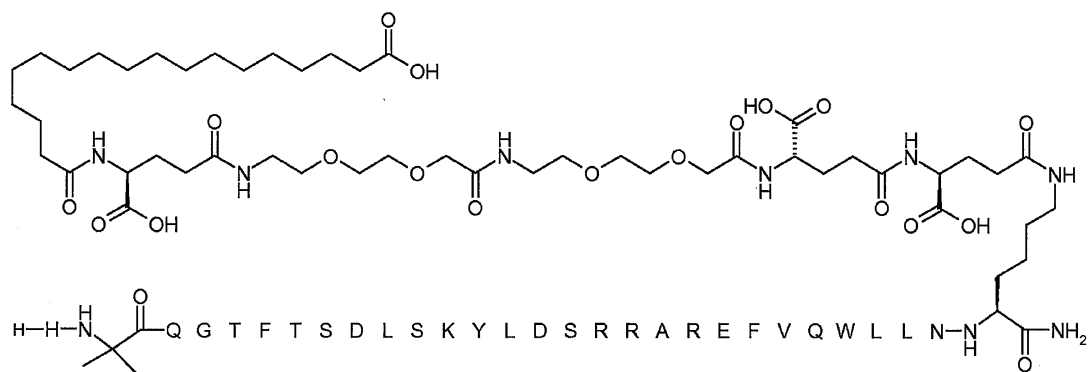
一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-グルカゴンアミド

40

## 【0103】



## 【化 19】



10

## 【0104】

である。

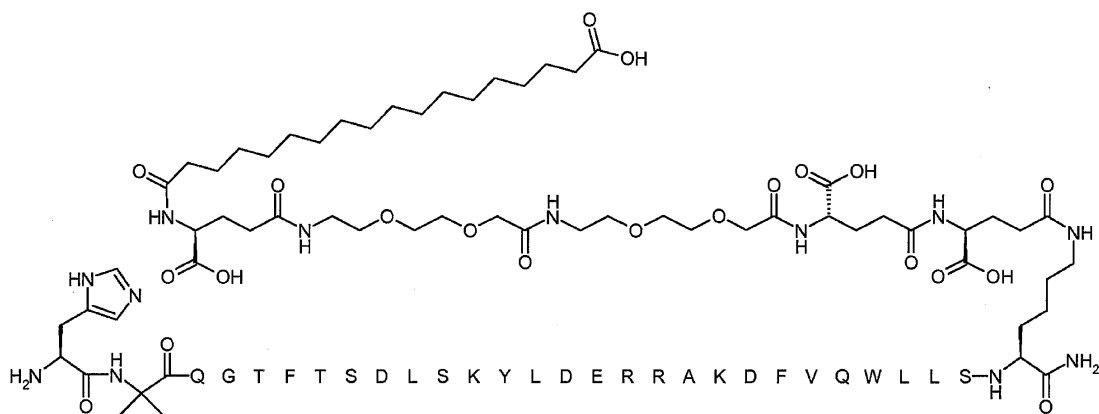
## 【0105】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

20

## 【0106】

## 【化 20】



30

## 【0107】

である。

## 【0108】

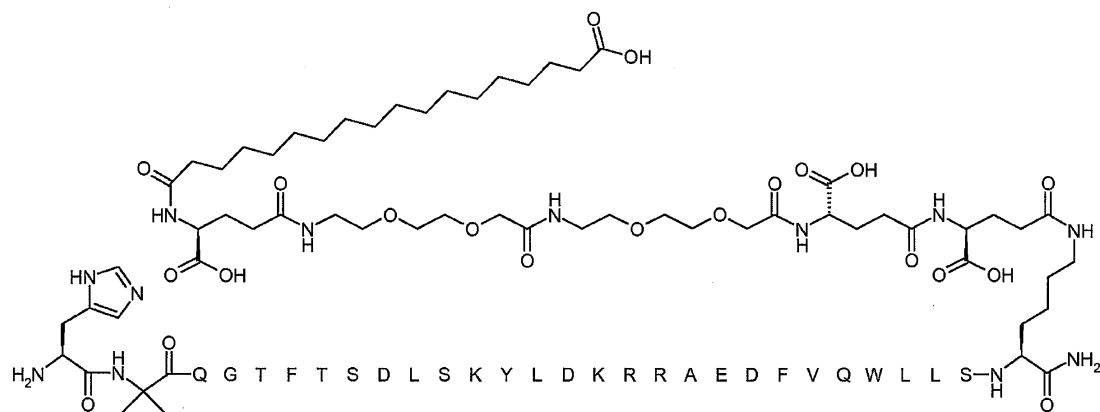
一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Glu20,Leu27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

40

## 【0109】



## 【化 2 1】



10

## 【0110】

である。

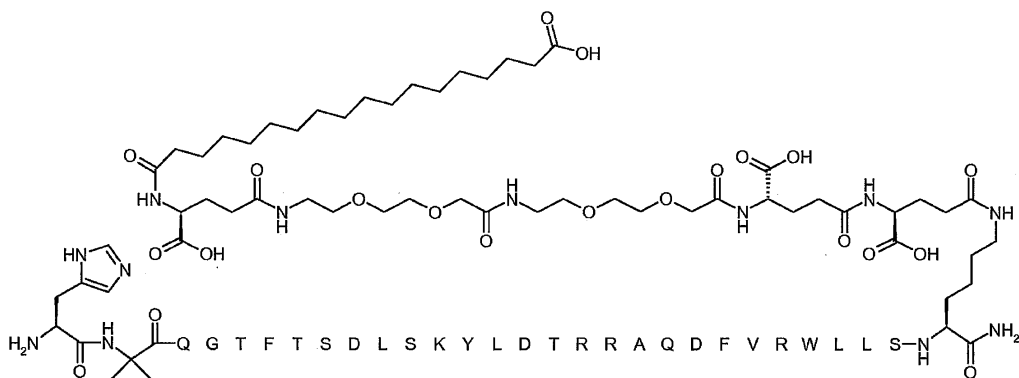
## 【0111】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Thr16,Arg24,Leu27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

20

## 【0112】

## 【化 2 2】



30

## 【0113】

である。

## 【0114】

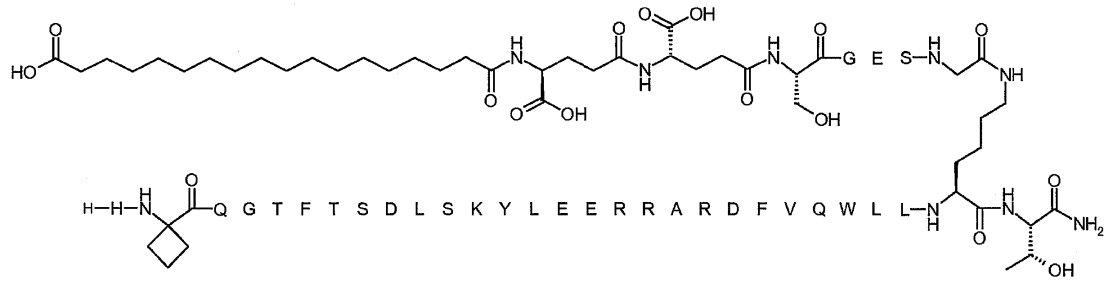
一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Acb2,Leu10,Glu15,Glu16,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【0115】



## 【化 2 3】



10

## 【 0 1 1 6 】

である。

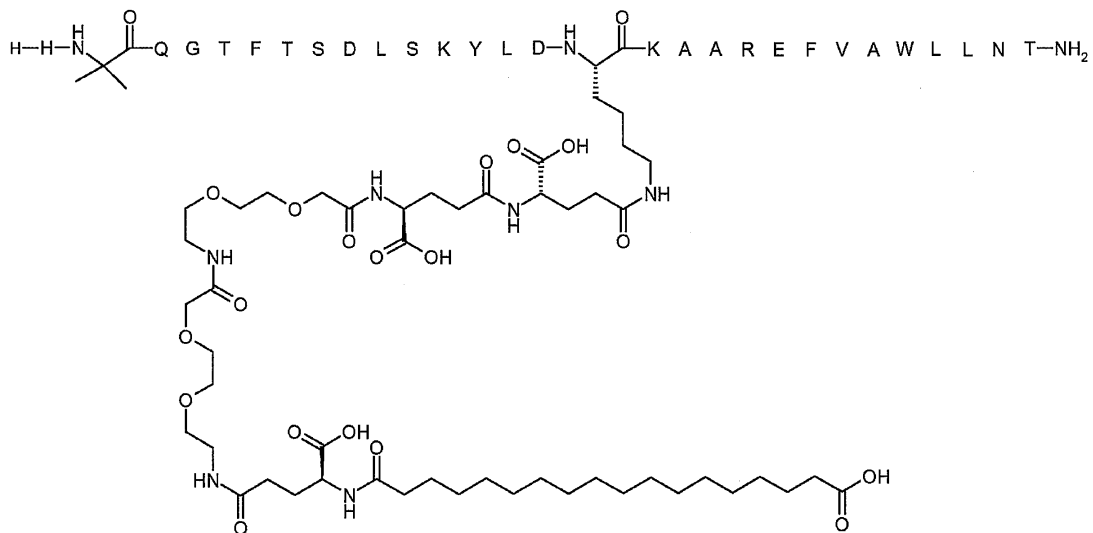
## 【 0 1 1 7 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-グルカゴンアミド

## 【 0 1 1 8 】

## 【化 2 4】

20



30

## 【 0 1 1 9 】

である。

## 【 0 1 2 0 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 1 2 1 】



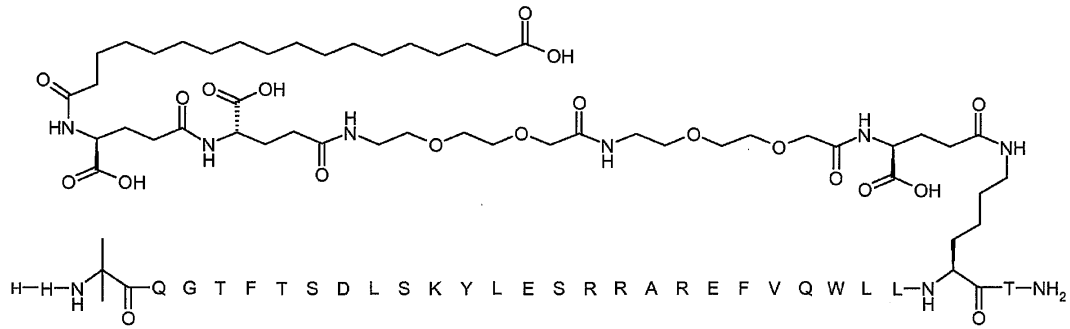
Chemical structure of the prodrug **1**, which is a poly(amide-ester) derivative of the peptide sequence **2**. The structure shows the peptide backbone with various side chains, including a long alkyl chain and a complex side chain containing multiple amide and ester groups. The structure is labeled with **1** and **2**.

[illegible]

【 0 1 2 7 】



## 【化 2 7】



10

## 【 0 1 2 8】

である。

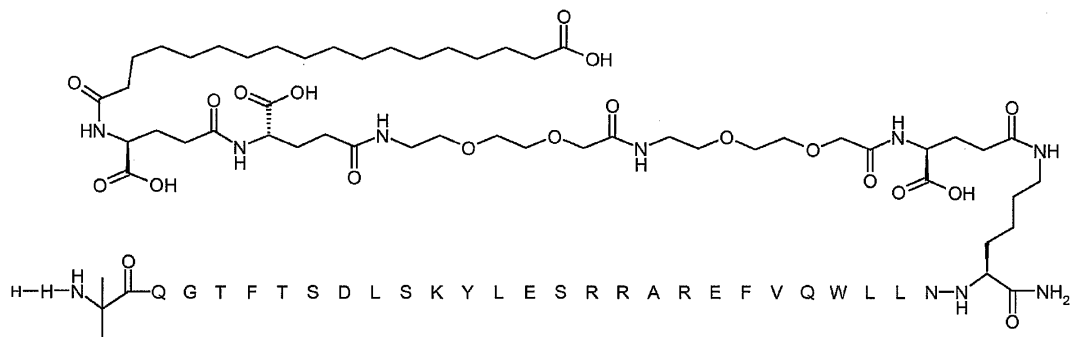
## 【 0 1 2 9】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-グルカゴンアミド

## 【 0 1 3 0】

20

## 【化 2 8】



30

## 【 0 1 3 1】

である。

## 【 0 1 3 2】

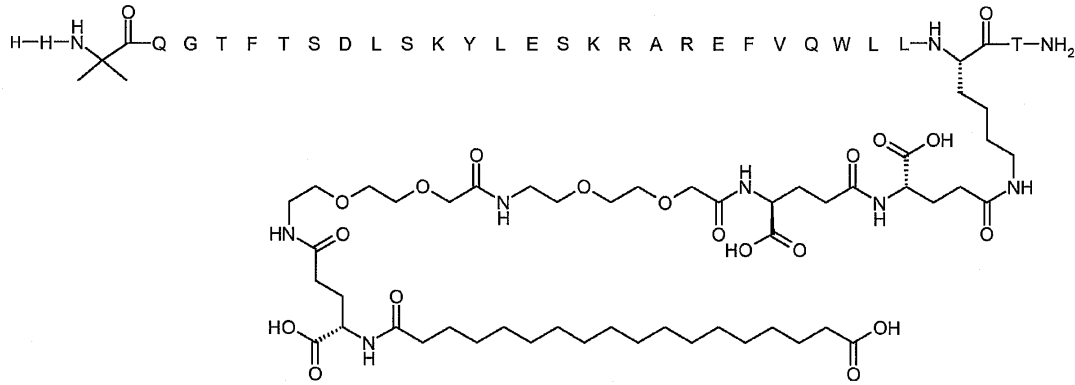
一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 1 3 3】



## 【化 29】



10

## 【0134】

である。

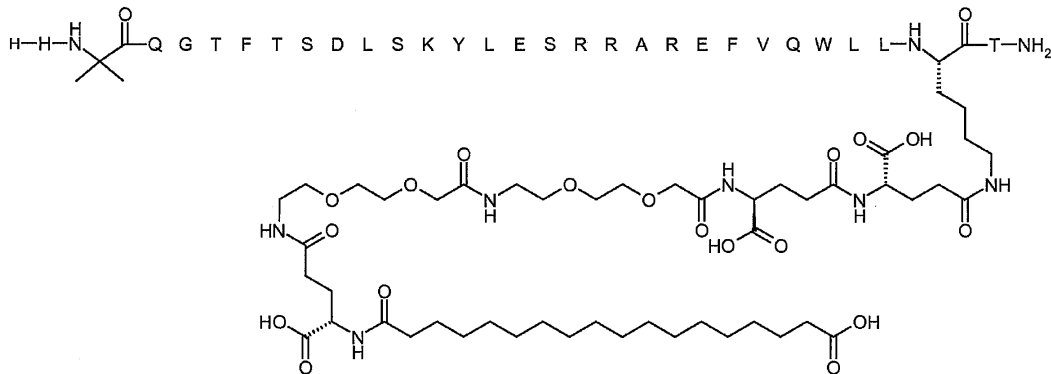
## 【0135】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【0136】

## 【化 30】



30

## 【0137】

である。

## 【0138】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

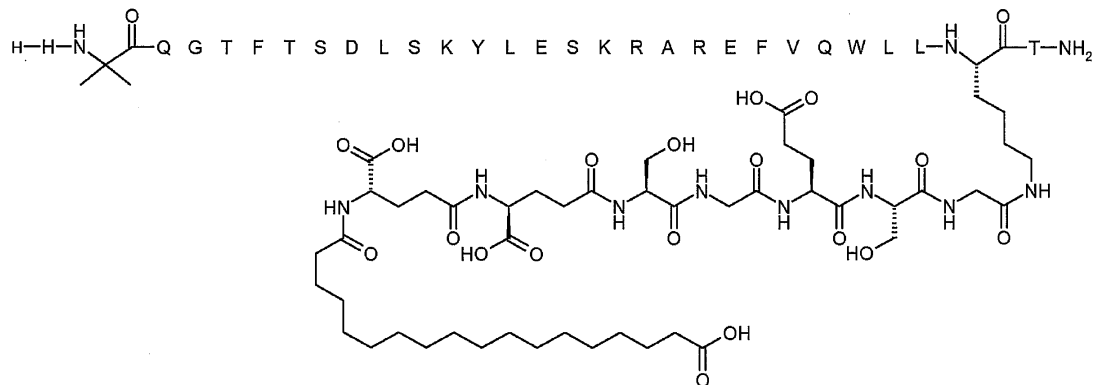
40

## 【0139】



[illegible]

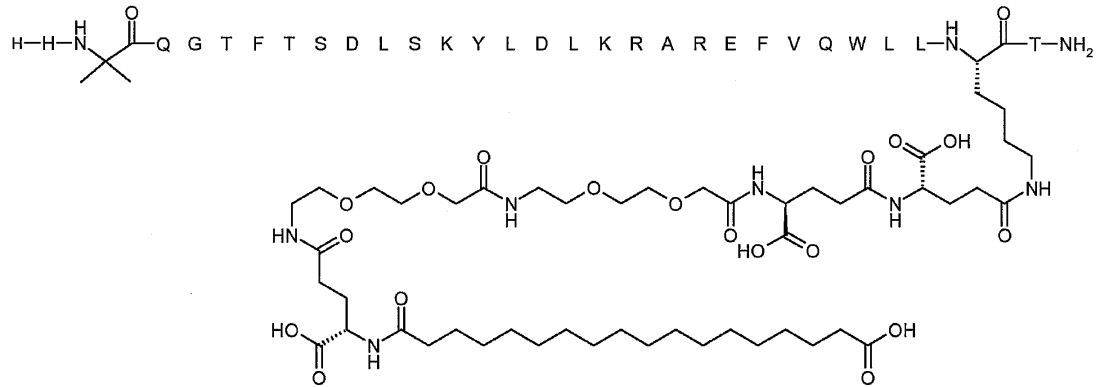
【化 3 2】



【 0 1 4 5 】



## 【化 3 3】



10

## 【 0 1 4 6 】

である。

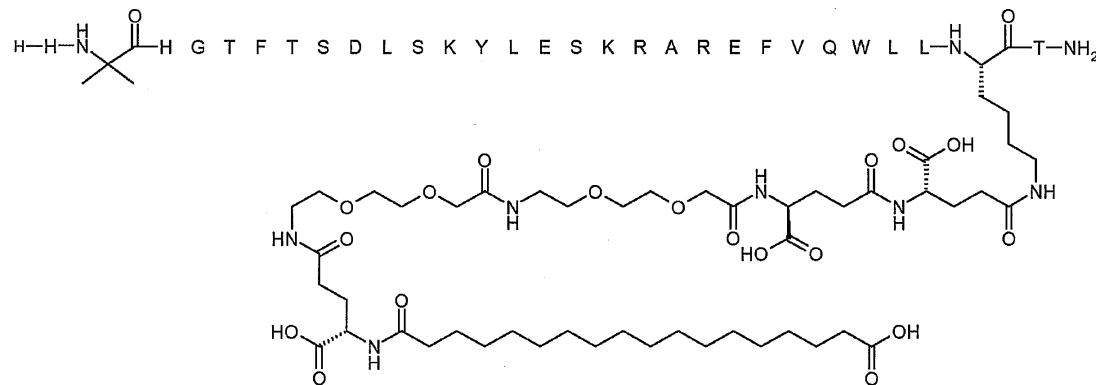
## 【 0 1 4 7 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 1 4 8 】

## 【化 3 4】



30

## 【 0 1 4 9 】

である。

## 【 0 1 5 0 】

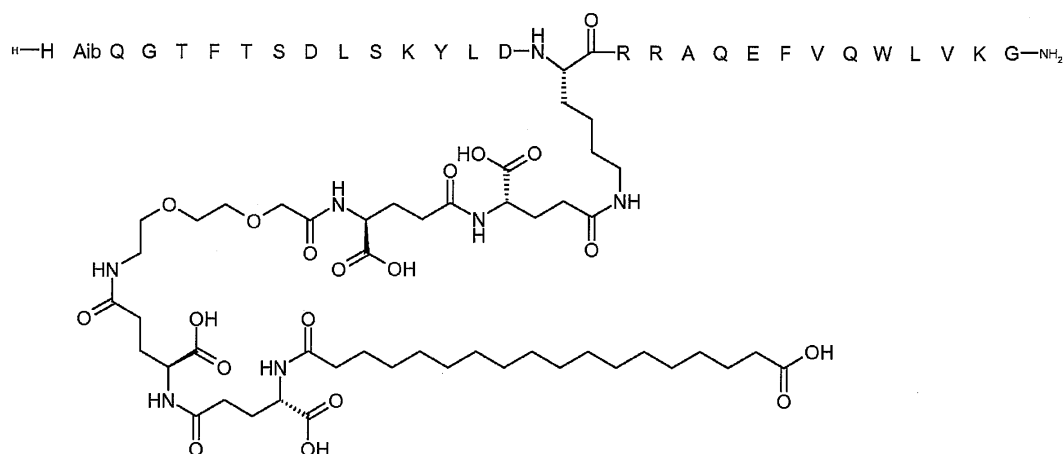
一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>16</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Val27,Lys28,Gly29]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 1 5 1 】



## 【化 3 5】



10

## 【 0 1 5 2】

である。

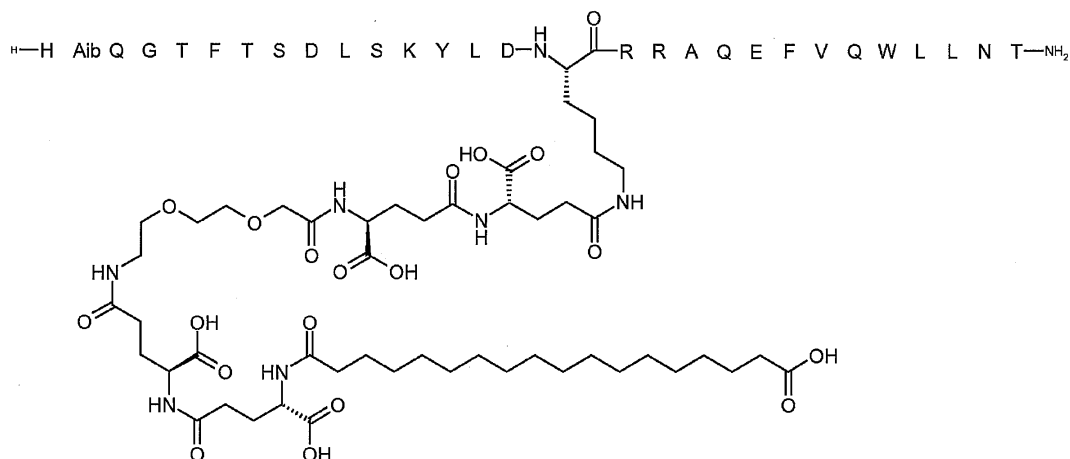
## 【 0 1 5 3】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>16</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Leu27]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 1 5 4】

## 【化 3 6】



30

## 【 0 1 5 5】

である。

## 【 0 1 5 6】

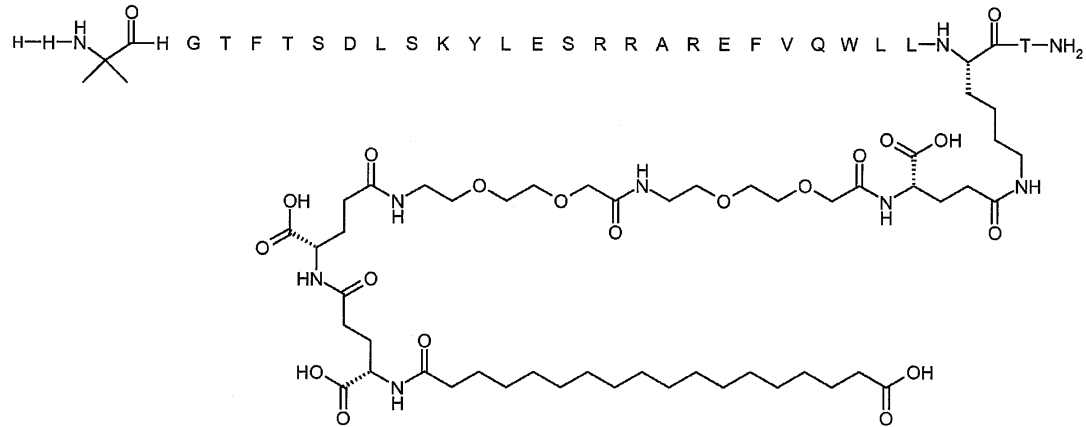
一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 1 5 7】



## 【化 3 7】



10

## 【 0 1 5 8】

である。

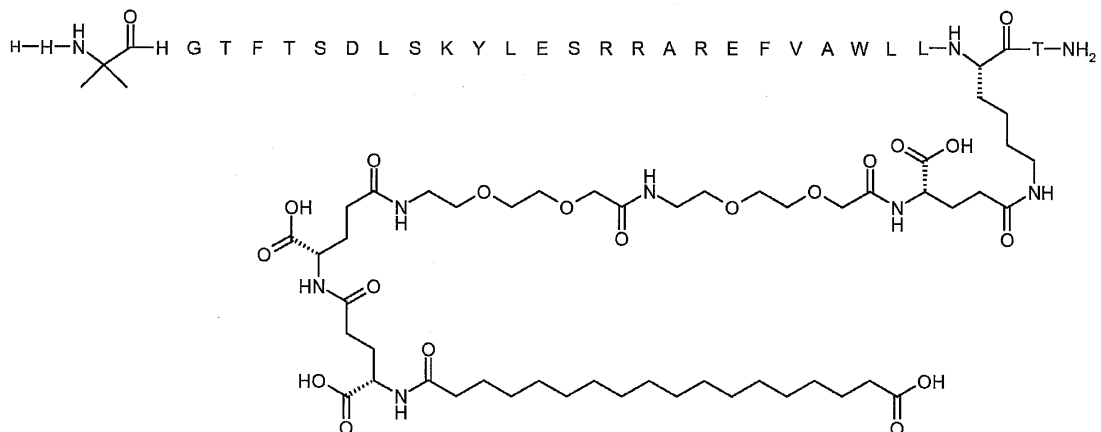
## 【 0 1 5 9】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 1 6 0】

## 【化 3 8】



30

## 【 0 1 6 1】

である。

## 【 0 1 6 2】

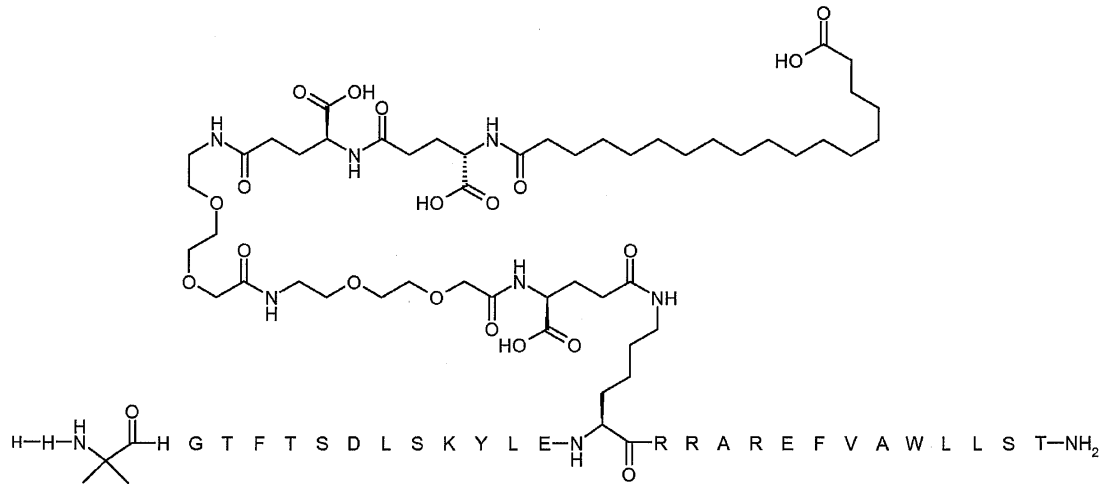
一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>16</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Ser28]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 1 6 3】



【化 3 9】



10

【 0 1 6 4】

である。

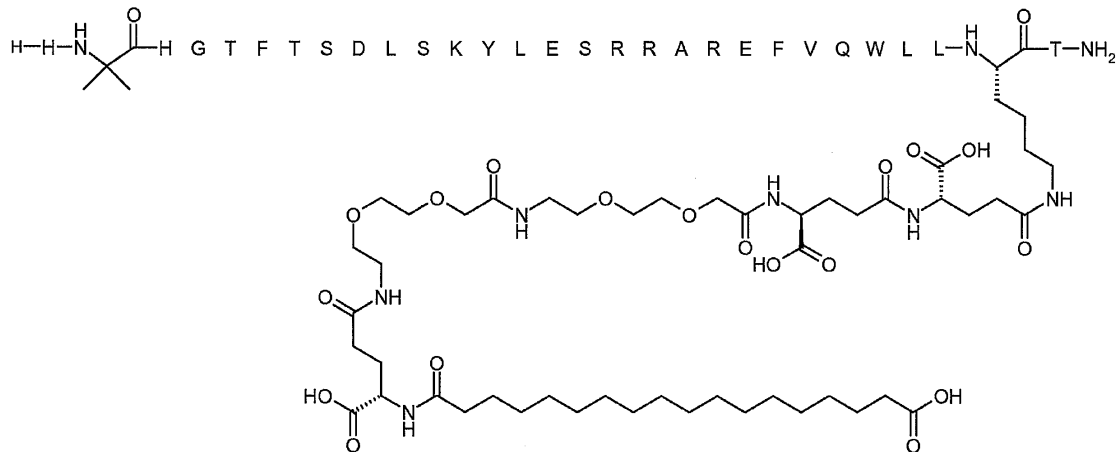
【 0 1 6 5】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

【 0 1 6 6】

【化 4 0】



30

【 0 1 6 7】

である。

【 0 1 6 8】

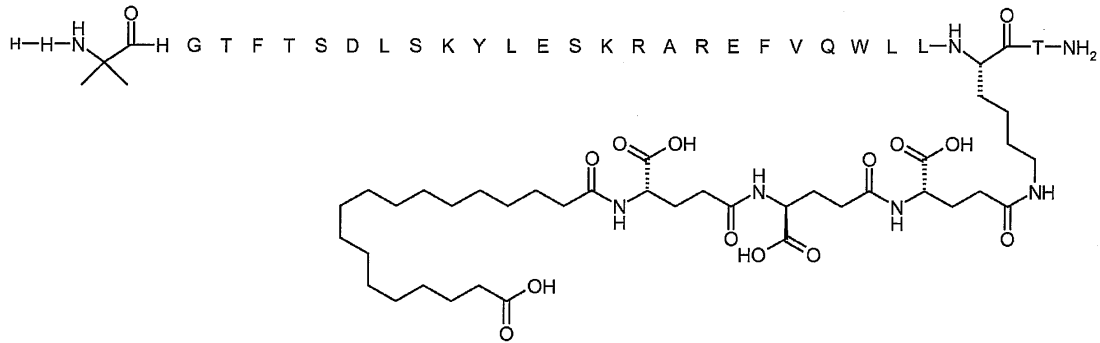
一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

【 0 1 6 9】



## 【化 4 1】



10

## 【 0 1 7 0 】

である。

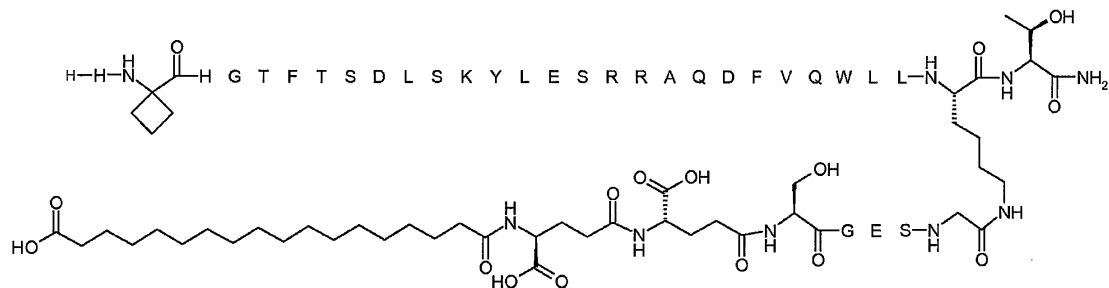
## 【 0 1 7 1 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Ac2,His3,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

## 【 0 1 7 2 】

20

## 【化 4 2】



30

## 【 0 1 7 3 】

である。

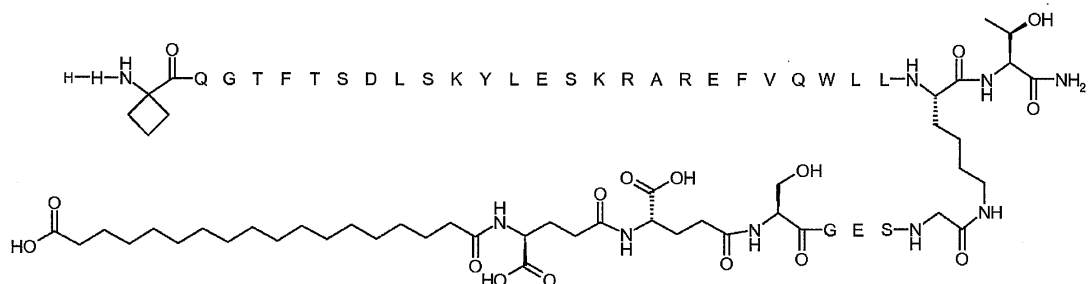
## 【 0 1 7 4 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Ac2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

## 【 0 1 7 5 】

## 【化 4 3】

40



## 【 0 1 7 6 】

50



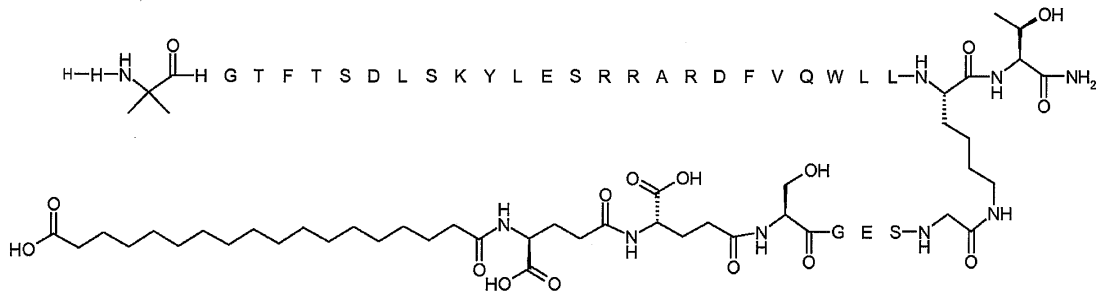
である。

【 0 1 7 7 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシ-プロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

【 0 1 7 8 】

【化 4 4】



10

【 0 1 7 9 】

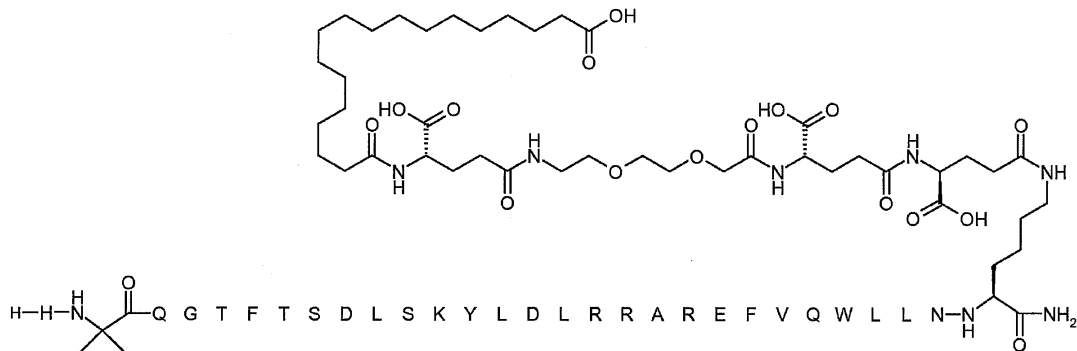
である。

【 0 1 8 0 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[[2-[[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-グルカゴンアミド

【 0 1 8 1 】

【化 4 5】



30

【 0 1 8 2 】

である。

【 0 1 8 3 】

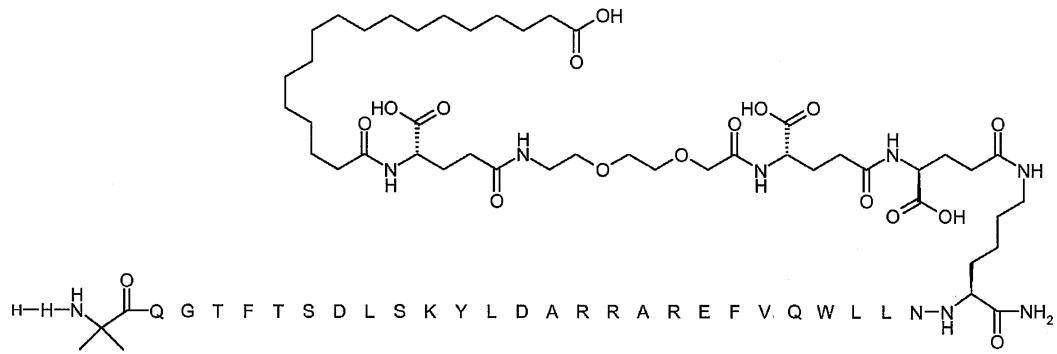
一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[[2-[[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-グルカゴンアミド

【 0 1 8 4 】

40



## 【化 4 6】



## 【 0 1 8 5】

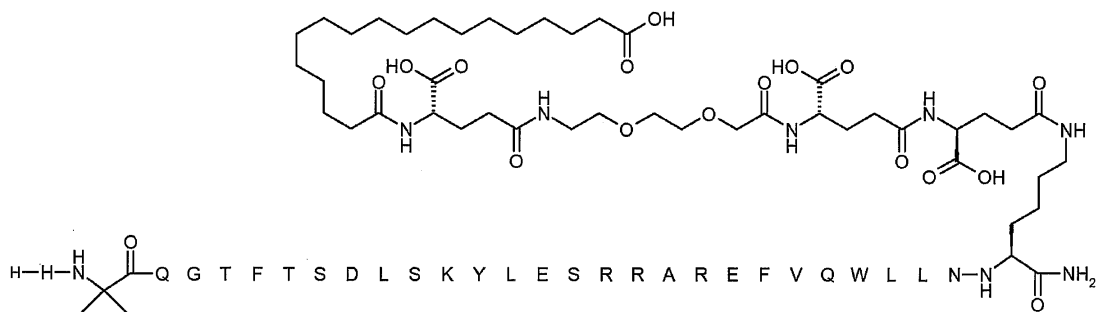
である。

## 【 0 1 8 6】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-グルカゴンアミド

## 【 0 1 8 7】

## 【化 4 7】



## 【 0 1 8 8】

である。

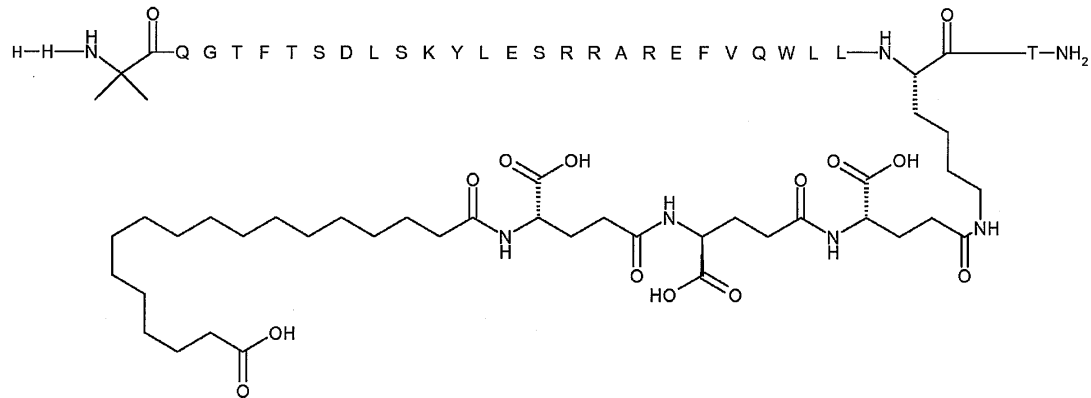
## 【 0 1 8 9】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

## 【 0 1 9 0】



## 【化 4 8】



10

## 【 0 1 9 1】

である。

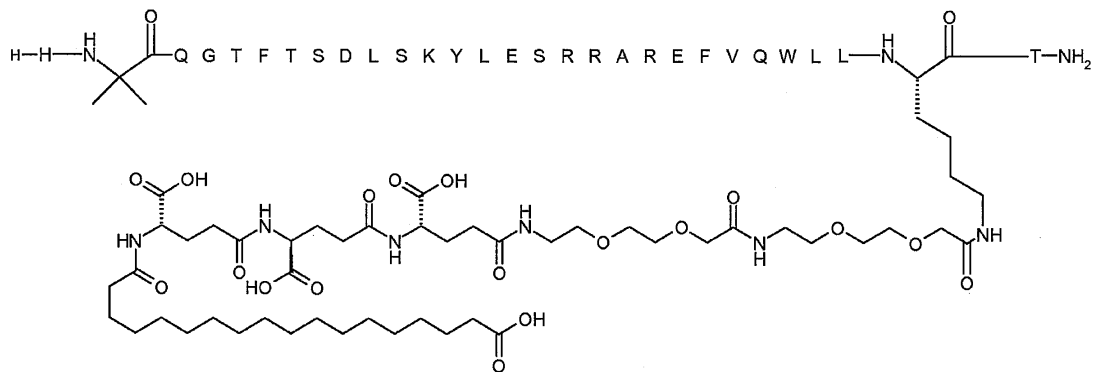
## 【 0 1 9 2】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 1 9 3】

## 【化 4 9】



30

## 【 0 1 9 4】

である。

## 【 0 1 9 5】

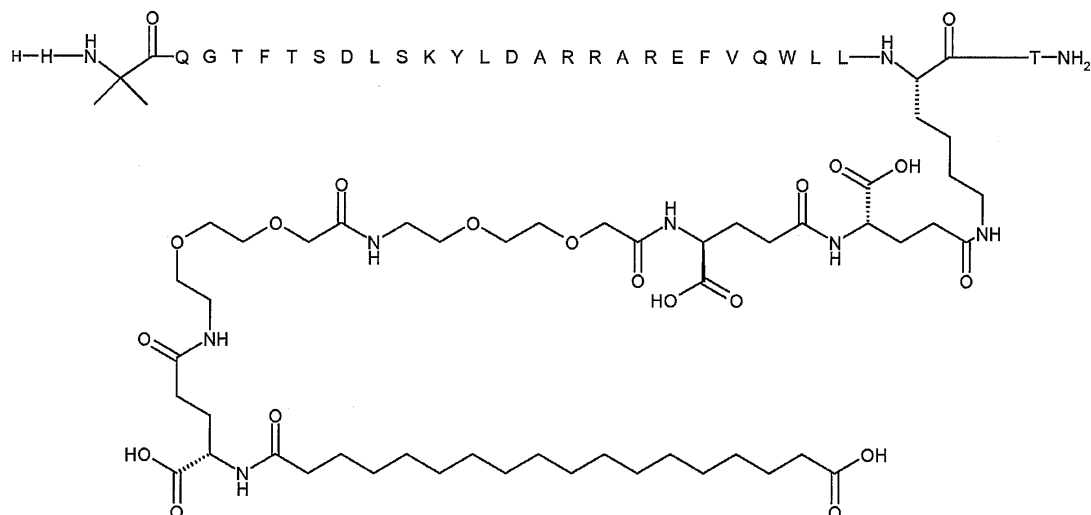
一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 1 9 6】



## 【化50】



10

## 【0197】

である。

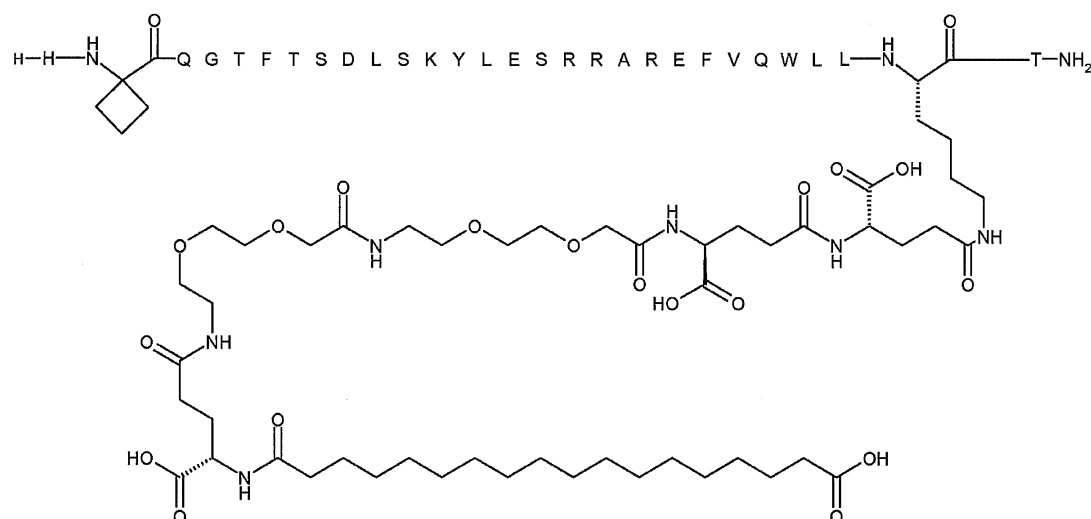
## 【0198】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【0199】

## 【化51】



30

40

## 【0200】

である。

## 【0201】

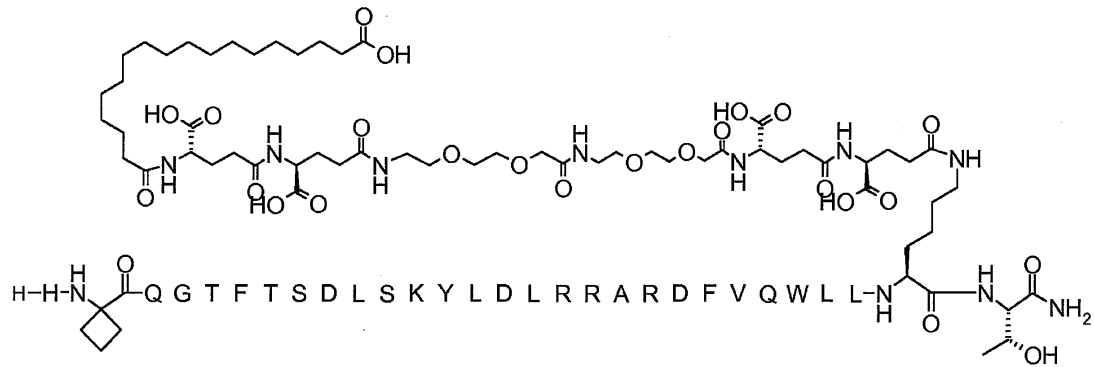
一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

## 【0202】

50



## 【化52】



10

## 【0203】

である。

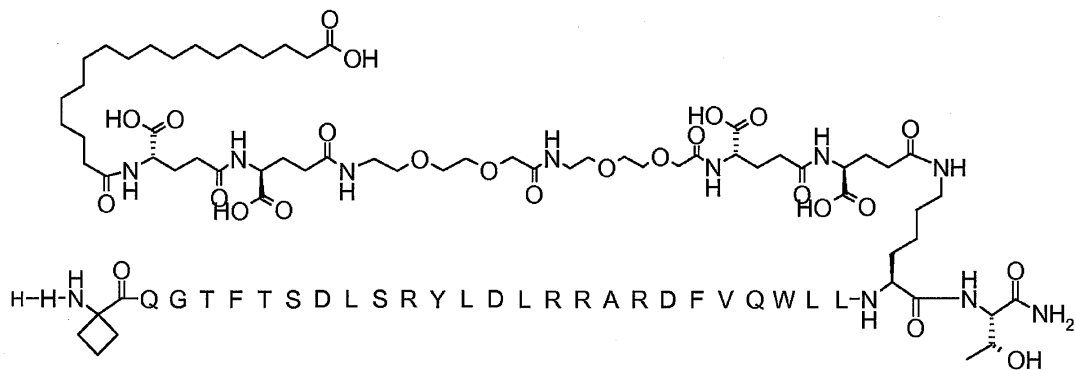
## 【0204】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2, Leu10, Arg12, Leu16, Arg20, Leu27, Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【0205】

## 【化53】



30

## 【0206】

である。

## 【0207】

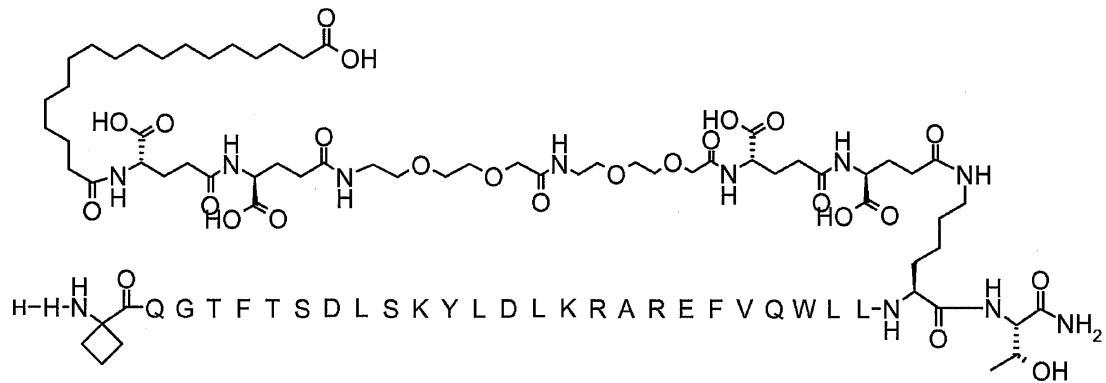
一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2, Leu10, Leu16, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【0208】



## 【化54】



10

## 【0209】

である。

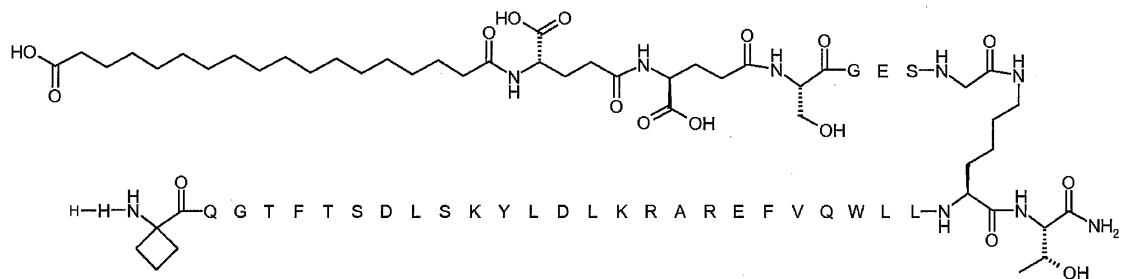
## 【0210】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Ac2, Leu10, Leu16, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【0211】

## 【化55】



30

## 【0212】

である。

## 【0213】

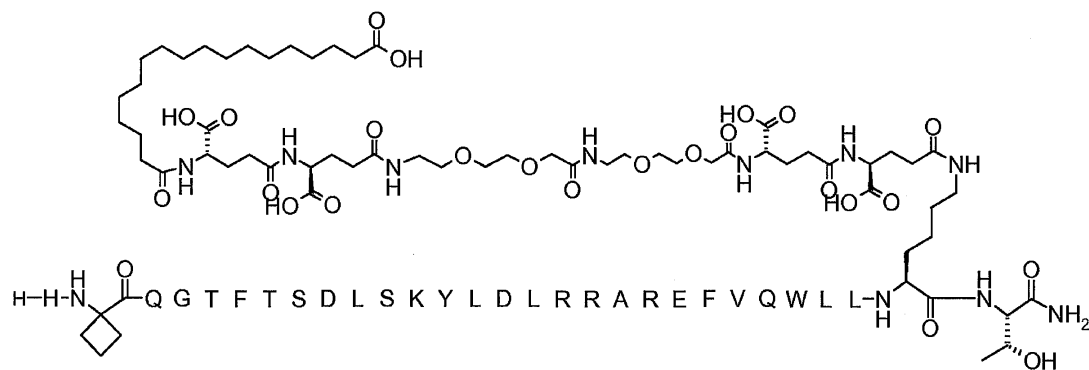
一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[[2-[[2-[[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2, Leu10, Leu16, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28]-グルカゴンアミド

## 【0214】

40



## 【化56】



10

## 【0215】

である。

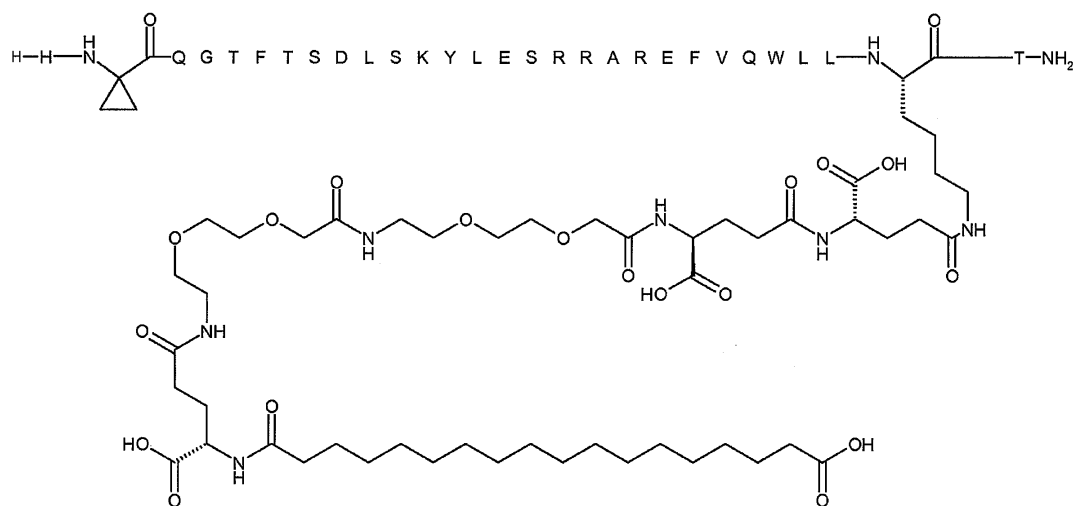
## 【0216】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Acpr 2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【0217】

## 【化57】



30

## 【0218】

である。

## 【0219】

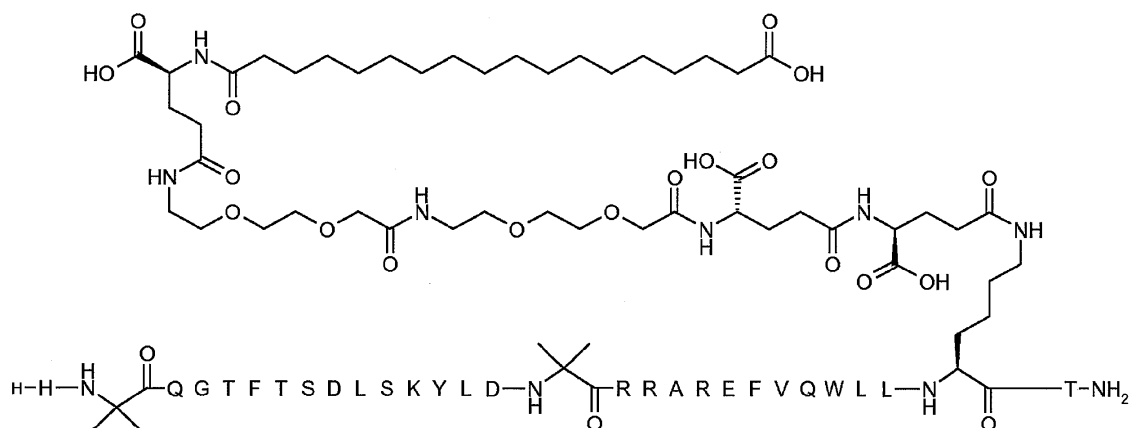
一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Aib16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【0220】



【化58】



10

【0221】

である。

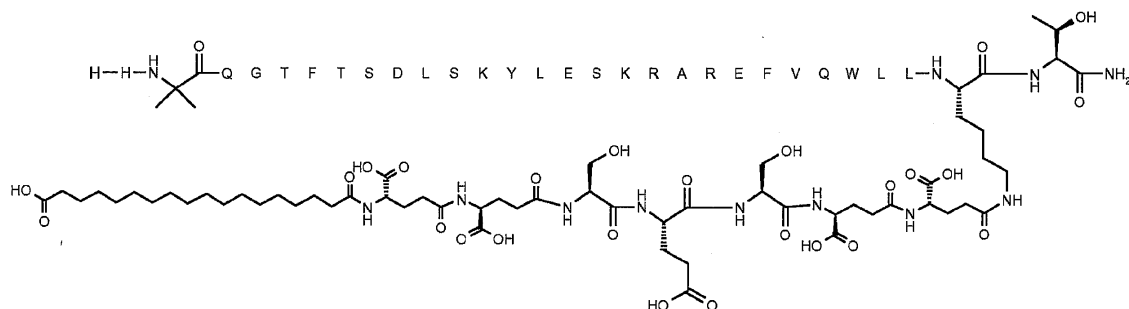
【0222】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

【0223】

【化59】



30

【0224】

である。

【0225】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Leu16,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

【0226】



CC(C)(C)NC(=O)QGGTTTSDLSKYLDLRRRAQDFVQWLLN[C@@H](CCCCN)C(=O)N[C@@H](C)C(=O)O

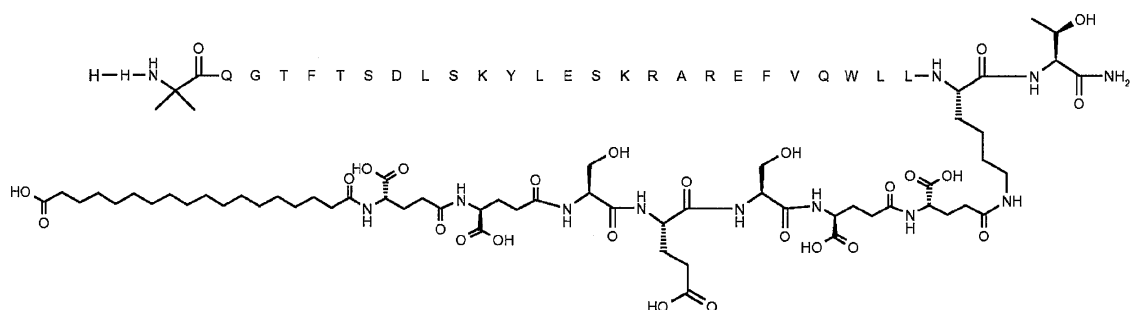
10

である。

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

【化 6 1】



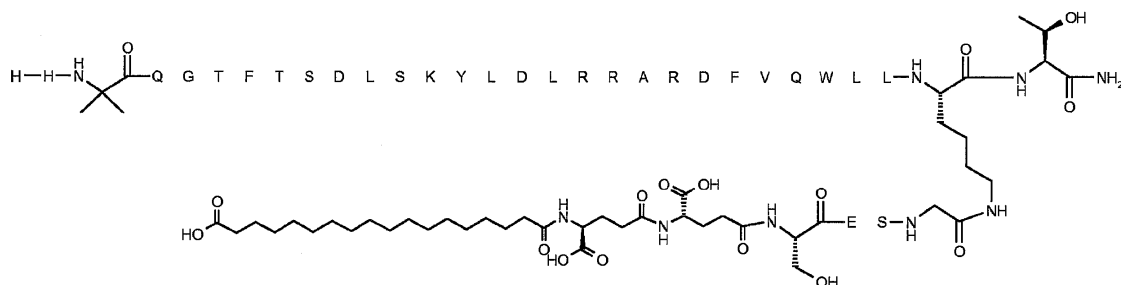
30

である。

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $N^{28}$ -[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

【化 6 2】

40



50



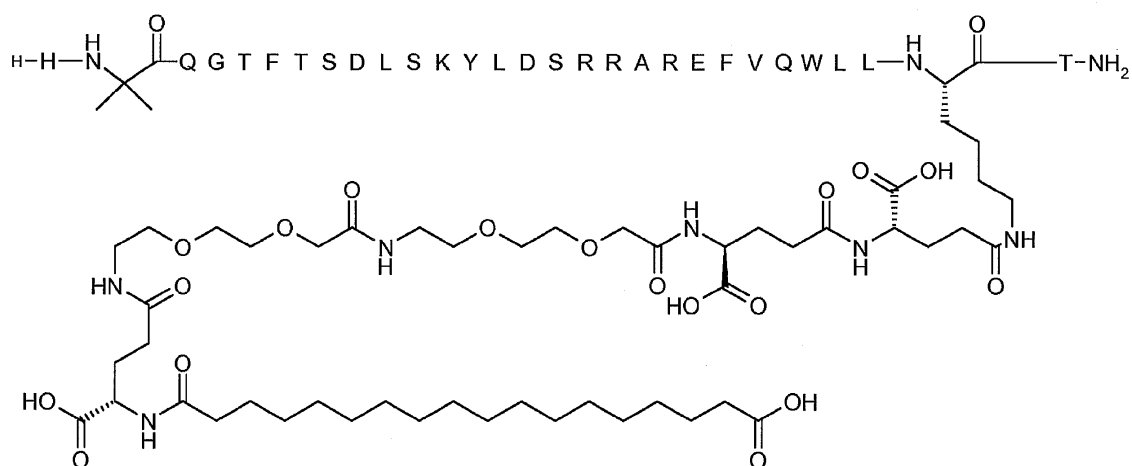
である。

【0234】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $N^{28}$ -[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

【0235】

【化63】



【0236】

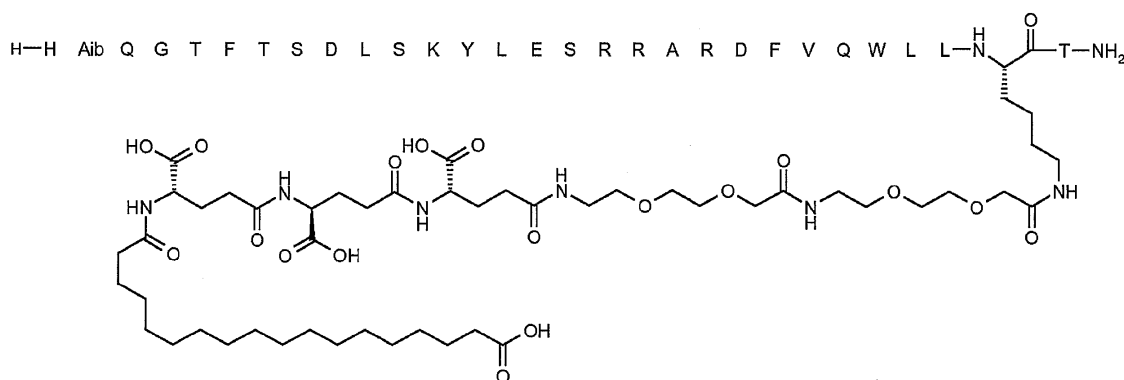
である。

【0237】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $N^{28}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

【0238】

【化64】



【0239】

である。

【0240】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $N^{28}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

10

20

30

40

50



【化 6 5】



20

【化 6 6】



40

【 0 2 4 7 】



CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)N[C@@H](CCCC(=O)N[C@@H](C(=O)O)CC(=O)NCCOCCOC(=O)NCCOCCOC(=O)N[C@@H](C(=O)O)CC(=O)N[C@@H](C(=O)O)CC(=O)NCCCC[C@@H](C(=O)N[C@@H](C(=O)O)C)C(=O)N[C@@H](C(=O)O)C

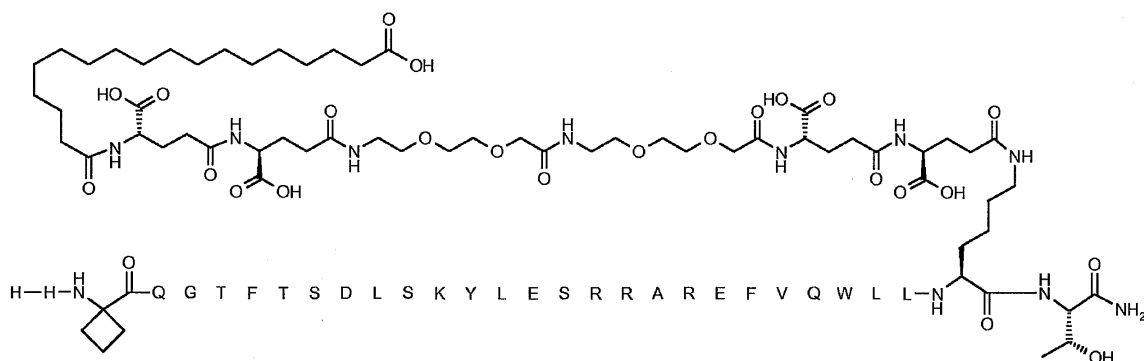
10

である。

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $N^{28}$ -[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【化 6 8】



30

である。

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

【 0 2 5 3 】



10

20

30

40

【 0 2 5 9 】



[illegible]

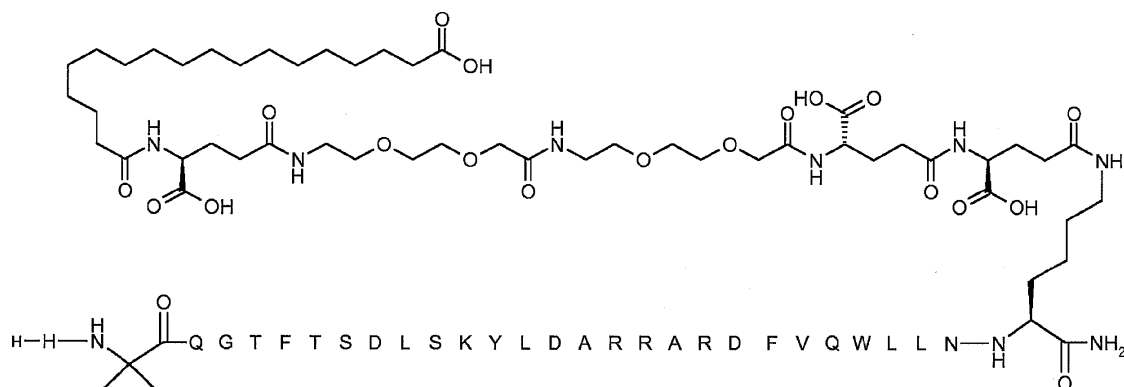
10

である。

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $N^{29}$ -[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys29]-グルカゴンアミド

20

## 【化 7 2】



30

である。

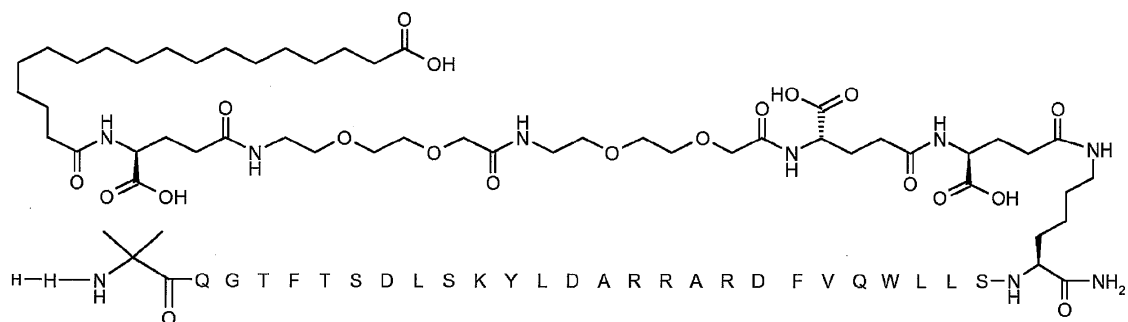
一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

40

【 0 2 6 5 】



## 【化 7 3】



10

## 【 0 2 6 6 】

である。

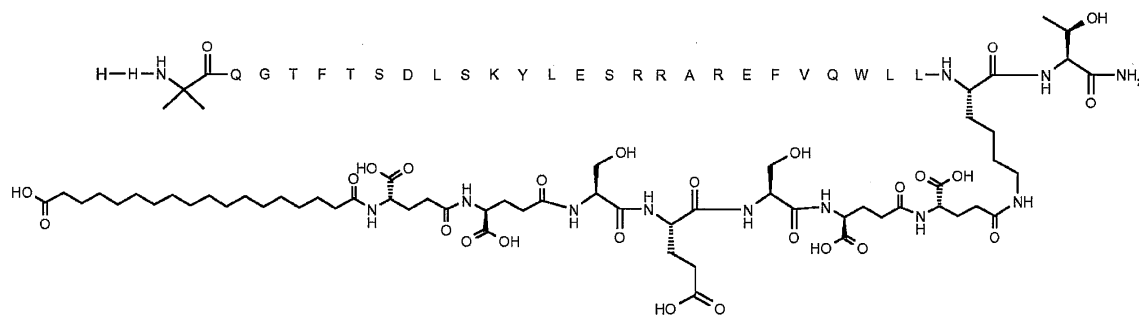
## 【 0 2 6 7 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 2 6 8 】

## 【化 7 4】



30

## 【 0 2 6 9 】

である。

## 【 0 2 7 0 】

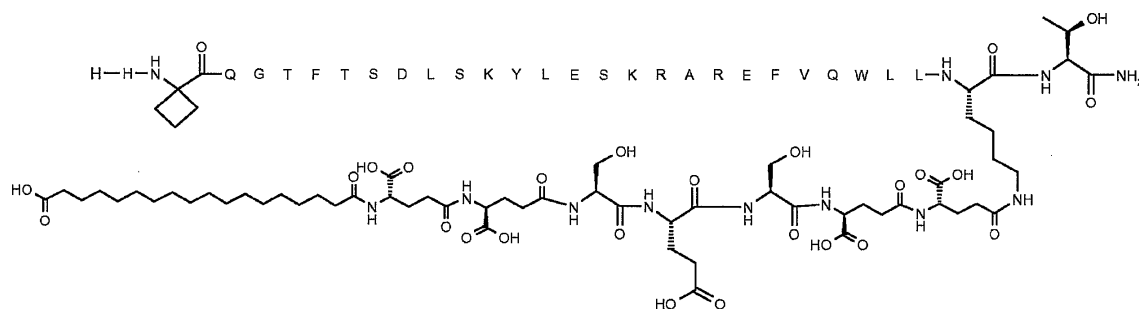
一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 2 7 1 】



## 【化 7 5】



10

## 【 0 2 7 2 】

である。

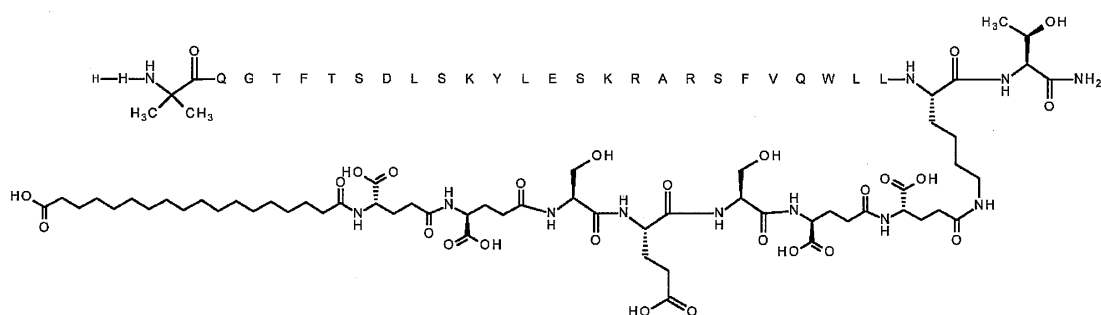
## 【 0 2 7 3 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Ser21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

## 【 0 2 7 4 】

## 【化 7 6】

20



30

## 【 0 2 7 5 】

である。

## 【 0 2 7 6 】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Val10,Ala16,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

## 【 0 2 7 7 】

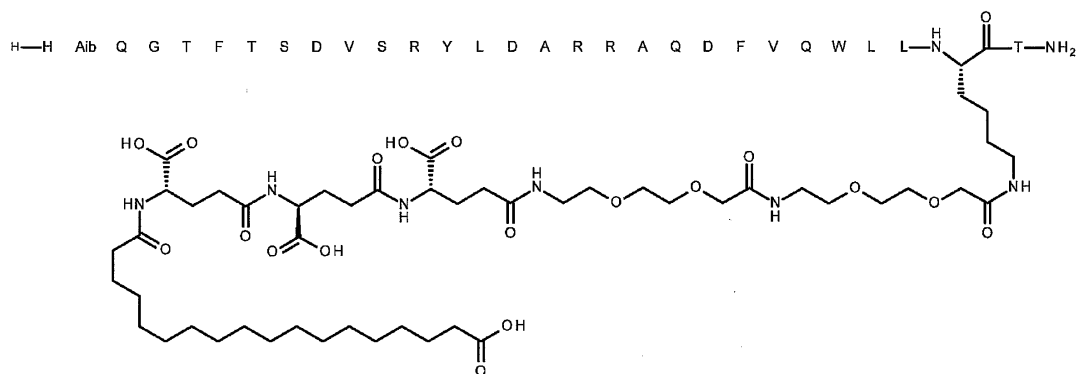


NCCCC[C@@H](NC(=O)T)C(=O)[N]CCCC[C@H](O)C(=O)NCCC[C@@H](O)C(=O)NCCC[C@H](O)C(=O)NCCOCCOCCOC(=O)NCCOCCOCCOC(=O)NCCC[C@@H](O)C(=O)NCCC[C@@H](O)C(=O)NCCC[C@@H](O)C(=O)NCCCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O[illegible]

【 0 2 8 3 】



## 【化 79】



10

## 【0284】

である。

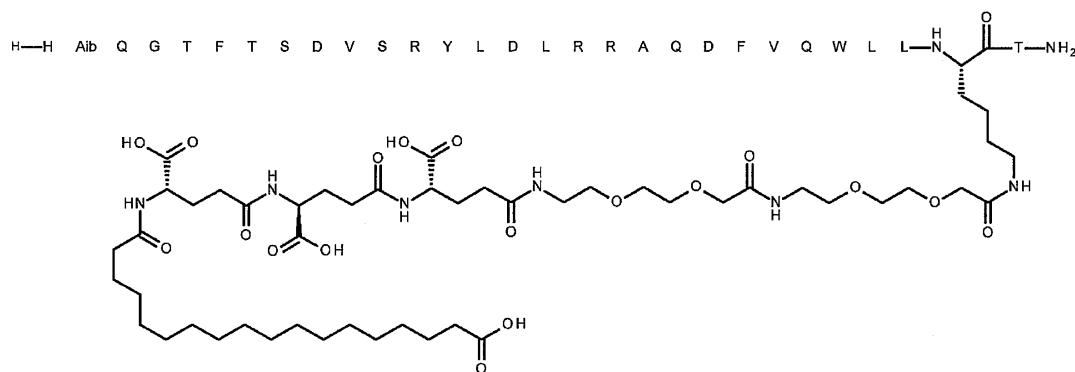
## 【0285】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Val10,Arg12,Leu16,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【0286】

## 【化 80】



30

## 【0287】

である。

## 【0288】

薬学的に許容される塩、アミド、又はエステル

本発明の誘導体、類似体、及び中間体生成物は、薬学的に許容される塩、アミド、又はエステルの形態であってよい。

40

## 【0289】

塩は例えば、塩基と酸との間の化学反応、例えば： $2\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  によって形成される。

## 【0290】

塩は、塩基性塩、酸性塩であってもよいし、いずれでもなくともよい（すなわち、中性塩）。水中で、塩基性塩は、ヒドロキシドイオンを生成し、酸性塩は、ヒドロニウムイオンを生成する。

## 【0291】

本発明の誘導体又は類似体の塩は、添加されたカチオン又はアニオンと、アニオン基又はカチオン基との間で、それぞれ形成され得る。これらの基は、ペプチド部分に、かつ/

50



又は本発明の類似体の側鎖に位置してよい。

【0292】

本発明の誘導体又は類似体のアニオン基の非限定的例には、側鎖中の、もしあるならば、更にはペプチド部分中の遊離カルボン酸基が含まれる。ペプチド部分は、多くの場合に、Asp及びGlu等の内部酸性アミノ酸残基に、遊離カルボン酸基を含む。

【0293】

ペプチド部分中のカチオン基の非限定的例には、N末端の遊離アミノ基、存在するならば、更には、His、Arg、及びLys等の内部塩基性アミノ酸残基の任意の遊離アミノ基が含まれる。

【0294】

本発明の誘導体又は類似体のエステルは、例えば、遊離カルボン酸基とアルコール又はフェノールとの反応によって形成されることができ、これはアルコキシ又はアリアルオキシ基による少なくとも1個のヒドロキシル基の置換をもたらす。

【0295】

エステル形成には、ペプチドのC末端にある遊離カルボン酸基、及び/又は側鎖中の任意の遊離カルボン酸基が関係しうる。

【0296】

本発明の誘導体又は類似体のアミドは、例えば、遊離カルボン酸基とアミン若しくは置換アミンとの反応によって、又は遊離若しくは置換アミノ基とカルボン酸との反応によって形成され得る。

【0297】

アミド形成には、ペプチドのC末端にある遊離カルボン酸基、側鎖中の任意の遊離カルボン酸基、ペプチドのN末端にある遊離アミノ基、及び/又はペプチド及び/又は側鎖中のペプチドの任意の遊離若しくは置換アミノ基が関係し得る。

【0298】

一実施形態では、誘導体又はペプチドは、薬学的に許容される塩の形態である。別の実施形態では、誘導体又はペプチドは、好ましくは、ペプチドのC末端にあるアミド基を有する薬学的に許容されるアミドの形態である。なお更なる一実施形態では、誘導体又はペプチドは、薬学的に許容されるエステルの形態である。

【0299】

「医薬組成物」という用語は、本明細書で使用する場合、活性化合物、例えば、本発明のグルカゴン誘導体又はその塩を、緩衝液、防腐剤、並びに任意選択により場合によって張性調整剤及び/又は安定剤等の医薬品添加剤と一緒に含む製品を意味する。したがって、医薬組成物は、当技術分野において、医薬製剤としても知られている。

【0300】

本発明に関し、「薬学的に許容される塩」という用語は、患者に対して有害ではない塩を示すことが意図されている。そのような塩には、薬学的に許容される酸付加塩、薬学的に許容される金属塩、アンモニウム、及びアルキル化アンモニウム塩が含まれる。酸付加塩には、無機酸、更には有機酸の塩が含まれる。

【0301】

「添加剤」という用語は、本明細書で使用する場合、医薬組成物に通常添加される化学化合物、例えば、緩衝剤、等張化剤、防腐剤等を意味する。

【0302】

本明細書において使用する場合、化合物、例えば、本発明のグルカゴン誘導体の「治療有効量」という用語は、所与の疾患及び/又はその合併症の臨床症状を治癒、緩和、又は部分的に停止するために十分な量を指す。これらを達成するために十分な量が、「治療有効量」と定義される。各目的についての有効量は、疾患又は損傷の重症度、更には、対象の体重及び全身状態に左右される。適切な投薬量の決定は、値のマトリックスを構築し、そのマトリックスの種々のポイントを試験することによって、日常的な実験によって達成することができ、これらはすべて、熟練した医師又は獣医師の通常の技能のレベルの範囲

10

20

30

40

50



内であることは理解されるであろう。

【0303】

「治療」、「治療する」という用語、及び他のその変形は、本明細書で使用する場合、疾患又は障害等の状態に対抗することを目的とした患者の管理及び看護を指す。この用語は、症状又はその合併症を緩和するため、疾患、障害、若しくは状態の進行を遅延させるため、疾患、障害、若しくは状態を治癒若しくは解消するため、並びに/又は、状態を予防するため（ここで、予防は、疾患、状態、又は障害と闘うことを目的とした患者の管理及び看護として理解され、症状又は合併症の発病を予防するための活性化合物（1つ又は複数）の投与を含む）に、該当する活性化合物（1つ又は複数）を投与すること等、患者が罹患している所与の状態のための治療の全範囲を含むことを意図されている。治療される患者は、好ましくは、哺乳動物、特に、ヒトであるが、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、又はブタ等の他の動物の治療も、本発明の範囲内である。

10

【0304】

「糖尿病（diabetes）」又は「糖尿病（diabetes mellitus）」という用語には、1型糖尿病、2型糖尿病、妊娠糖尿病（妊娠中）、及び高血糖を引き起こす他の状態が含まれる。上記用語は、膵臓が不十分な量のインスリンしか産生しないか、又は身体の細胞がインスリンに適切に応答することができずに、細胞によるグルコースの吸収が妨げられる代謝障害について使用される。結果として、グルコースが血中に蓄積する。

【0305】

インスリン依存型糖尿病（IDDM）及び若年発症糖尿病ともよばれる1型糖尿病は、ベータ細胞破壊に起因し、通常、絶対的インスリン欠乏に至る。

20

【0306】

非インスリン依存型糖尿病（NIDDM）及び成人発症型糖尿病としても知られている2型糖尿病は、顕著なインスリン抵抗性、したがって、相対的インスリン欠乏及び/又は主にインスリン抵抗性を伴うインスリン分泌不全に関連している。

【0307】

「正常血糖（euglycemia）」という用語は、本明細書で使用する場合、血中グルコースの正常濃度を意味する。これは、正常血糖（normoglycemia）ともいわれる。

【0308】

「肥満」という用語は、過剰な脂肪組織を意味する。エネルギー摂取が、エネルギー消費を上回る場合に、その過剰カロリーは脂肪組織に貯蔵され、この正味の黒字が長期になると肥満が生じる、すなわち、バランスを傾かせる2つの成分が存在し、いずれかの側（摂取又は消費）の異常が、肥満につながり得る。この内容において、肥満は最も多くは、健康リスクをもたらすあらゆる程度の過剰な脂肪組織とみなされる。正常な個体と肥満個体との間の識別は近似的に過ぎないが、肥満がもたらす健康リスクは、脂肪組織の増大とおそらく連続している。しかしながら、本発明の内容では、25を超える肥満指数（BMI=身長（メートル）の二乗で割った体重（キログラム））を有する個体が、肥満とみなされ得る。

30

【0309】

肥満又は過体重の治療又は予防に関連した目的で、すなわち、過剰な脂肪蓄積の低減又は予防に関連した目的で、任意選択により、上で開示した1種又は複数の追加の治療活性化合物又は物質と組み合わせ、本発明のグルカゴン誘導体を投与する場合、体重減少を達成するか、又は体重増加を予防することを目的として、外科的介入と組み合わせ、例えば、肥満外科手術の介入と組み合わせ、そのような投与を使用することが適していることがある。頻繁に使用される肥満外科手術の技術の例には、これらだけに限定されないが、次のものが含まれる：胃の一部をステーブラーで留めて新たな胃として機能する小型の前胃嚢（pre-stomach pouch）を作成する垂直帯胃形成術（「胃ステープリング」としても公知）；新たな胃として機能する小型の前胃嚢が、患者によってサイズ調整できるエラストマー（例えばシリコン）バンドを使用して作成される、例えば調整可能な胃バンドシステム（スウェーデン式調整可能胃バンド（SAGB）、LAP-BAND（商標）又はMIDband

40

50



(登録商標)等)を使用する胃バンディング;及び小型の胃嚢がステーブラーデバイスを使用して作成され、遠位小腸に接続され、小腸の上部がY字形に再付着される、胃バイパス手術、例えば「Roux-en-Y」バイパス。

【0310】

本発明のグルカゴン誘導体の投与(任意選択により、上で開示した1種又は複数の追加の治療活性化合物又は物質と組み合わせて)を、該当する肥満外科手術的介入を実施する前の期間にわたって、かつ/又はその後の期間にわたって行うことができる。多くの場合に、肥満外科手術的介入を行った後に、本発明の化合物の投与を開始することが好ましいことがある。

【0311】

10

本発明の化合物、及び本明細書において定義した抗肥満薬又は抗糖尿病薬は、同時に、又は順に投与することができる。これらの因子を、両方の化合物を含有する単一剤形で、又は第1の単位剤形としての本発明の化合物及び第2の単位剤形としての抗肥満薬若しくは抗糖尿病薬の製剤を含むキット・オブ・パーツの形態で供給することができる。本明細書を通じて、第1又は第2又は第3等の単位用量について述べるときはいつでも、これらは、投与の好ましい順序を示すものではなく、単に、便宜上の目的のために示されている。

【0312】

本発明の化合物の製剤及び抗肥満薬又は抗糖尿病薬の製剤の「同時」投与は、単一剤形での化合物の投与、又は15分未満、好ましくは10分未満、より好ましくは5分未満、より好ましくは2分未満の時間的分離での第1の薬剤の投与、続く、第2の薬剤の投与を意味する。いずれの因子を初めに投与してもよい。

20

【0313】

「順次」投与は、15分超の時間的分離での第1の薬剤の投与、続く、第2の薬剤の投与を意味する。2つの単位剤形のいずれを初めに投与してもよい。好ましくは、両方の製品を、同じ静脈内アクセスを介して注射する。

【0314】

すでに示したとおり、上で開示した治療方法又は適応のすべてにおいて、本発明の化合物を単独で投与することができる。しかしながら、これを、1種又は複数の追加の治療活性薬剤、物質、又は化合物と組み合わせて、順次、又は同時に投与することもできる。

【0315】

30

本発明による方法において使用する場合の本発明の化合物の典型的な投薬量は、1~3用量等、1つ又は複数の用量で投与して1日当たり約0.0001~約100mg/体重kg、好ましくは、約0.001~約10mg/体重kg、より好ましくは、1日当たり約0.001~約5mg/体重kg、例えば、約0.001~約10mg/体重kg、又は1日当たり約0.001~約5mg/体重kgの範囲である。正確な投薬量は、投与頻度及び投与様式、治療する対象の性別、年齢、体重、及び全身状態、治療する状態の性質及び重症度、治療する任意の随伴疾患、並びに当業者に明らかな他の因子に左右される。

【0316】

本発明の化合物は、例えば、1日1回よりも長い間隔での投与に十分適していると考えられる化合物を含み、したがって、適切に製剤化された本発明の化合物は、本明細書において開示する経路の1つ等の適切な投与経路による、例えば、週2回又は週1回投与に適し得る。

40

【0317】

上記のとおり、本発明の化合物は、1種又は複数の追加の治療活性化合物又は物質と組み合わせて投与又は適用することができ、適切な追加の化合物又は物質は、例えば、抗糖尿病薬、抗高脂血症薬、抗肥満薬、抗高血圧症薬、及び糖尿病から生じているか又は糖尿病に関連する合併症を治療するための薬剤から選択することができる。

【0318】

グルカゴンペプチドの誘導体の調製

一実施形態では、本発明は、本発明によるグルカゴン誘導体を調製する方法に関する。

50



本発明の誘導体は、下記の方法によって調製することができる。

### 【0319】

#### SPPS一般的方法

使用されるFmoc保護アミノ酸誘導体は、例えば、Anaspec社、Bachem社、Iris Biotech社、又はNovabioChemから供給される標準推奨の：Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Asn(Trt)-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Cys(Trt)-OH、Fmoc-Gln(Trt)-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-His(Trt)-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Lys(BOC)-OH、Fmoc-Met-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Trp(BOC)-OH、Fmoc-Tyr(tBu)-OH、Fmoc-Val-OH、及びFmoc-Lys(Mtt)-OHであってよい。他に規定されていなければ、アミノ酸の天然L型を用いる。N末端アミノ酸は、アルファアミノ基でBoc保護されている（例えば、N末端にHisを有するペプチドではBoc-His(Boc)-OH、又はBoc-His(Trt)-OH）。SPPSは、Protein Technologies社（Tucson、AZ 85714、米国）製のPrelude Solid Phase Peptide Synthesizerで、Fmocベースの化学を使用して行うことができる。C末端ペプチドアミドを調製するための適切な樹脂は、H-Rink Amide-ChemMatrix樹脂（例えば、0.52nmol/gを充填）又はRink Amide AMポリスチレン樹脂（Novabiochem、例えば、0.62mmol/gを充填）等である。Fmoc-脱保護は、NMP中の20%ピペリジンで達成される。ペプチドカップリングを、予備活性化せずに、DIC/HOAt/コリジン又はDIC/Oxyma Pure/コリジンのいずれかを使用して行う。アミノ酸/HOAt又はアミノ酸/Oxyma Pure溶液（3～10倍のモル過剰でのNMP中0.3M/0.3M）を、樹脂に添加し、続いて、同じモル当量のDIC（NMP中3M）を、続いて、コリジン（NMP中3M）を添加する。例えば、次の量の0.3MAミノ酸/HOAt溶液を、次のスケールの反応でのカップリングごとに使用することができる：スケール/mL、0.05mmol/1.5mL、0.10mmol/3.0mL、0.25mmol/7.5mL。Mtt基は、樹脂をHFIP/DCM（75：25）で洗浄し（2×2分）、DCMで洗浄し、樹脂をHFIP/DCM（75：25）に懸濁し（2×20分）、続いて、ピペリジン/NMP（20：80）、DCM（1×）、NMP（1×）、DCM（1×）、NMP（1×）で順次洗浄することによって除去することができる。

### 【0320】

#### 置換基の結合

上記の標準的なアミノ酸、Fmoc-8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸及びFmoc-Glu-OtBu等の適切に保護された構成単位を使用し、上記のPreludeペプチドシンセサイザーによって段階的に置換基を導入することができる。脂肪酸部分の導入は、これだけに限定されないが、オクタデカン二酸モノ-tert-ブチル-エステル等の構成単位を使用して達成することができる。各カップリング工程の後に、未反応のペプチド中間体を、酢酸無水物及びコリジンを過剰に（>10当量）使用して、キャッピングすることができる。

### 【0321】

リシンの $\alpha$ -窒素上への置換基の導入は、Mtt（Fmoc-Lys(Mtt)-OH）で保護されたリシンを使用して達成することができる。MTT基は、標準的な手順を使用して除去することができる。あるいは、リシンの $\epsilon$ -窒素を、ivDde基（Fmoc-Lys(ivDde)-OH）で保護することができるだろう。置換基におけるガンマ-Glu部分の組み込みは、アミノ酸Fmoc-Glu-OtBuとのカップリングによって達成することができる。

### 【0322】

置換基への各部分の導入は、長時間のカップリング時間（1×6時間）を使用し、続いて、無水酢酸で、又は別法では、酢酸/DIC/HOAt/コリジンでキャッピングすることで達成することができる。

### 【0323】

#### 樹脂からの切断

合成の後に樹脂をDCMで洗浄し、ペプチドを、TFA/TIS/水（95/2.5/2.5）で2～3時間処理して樹脂から切断し、続いてジエチルエーテルを用いて沈殿させる。沈殿物をジエチルエーテルで洗浄する。

### 【0324】

#### 精製及び定量化



粗製ペプチドを、水/MeCN(4:1)等の水及びMeCNの適切な混合物に溶かし、C18-シリカゲルを含むカラムでの逆相分取HPLC(Waters Deltaprep 4000又はGilson社)によって精製する。溶離は、0.1%TFAを含有する水中のMeCNの上昇勾配で行う。関連する画分を、分析HPLC又はUPLCによってチェックする。純粋なターゲットペプチドを含有する画分を混合し、減圧下で濃縮する。得られた溶液を分析し(HPLC、LCMS)、生成物(すなわち、誘導体)を、化学発光窒素特異的HPLC検出器(Antek 8060 HPLC-CLND)を使用して、又は280nmでのUV吸収を測定することによって定量化する。生成物をガラスバイアルに分配する。バイアルを、Milliporeガラスファイバープレフィルターでキャップする。凍結乾燥により、ペプチドトリフルオロ酢酸塩を白色の固体として得る。

【0325】

10

#### 機能特性

第1の機能性実施形態では、本発明のペプチドは、良好な親和性でGLP-1受容体及びグルカゴン受容体の両方に結合することができる。第2の機能性実施形態では、本発明のペプチドは、好ましくは、両方の受容体に対するそれらの効力に反映されるとおり、GLP-1及びグルカゴン受容体アゴニストである。また、第3の機能性実施形態では、これらは、改善された薬物動態特性を有する。さらに、あるいはそれらに代えて、第4の機能性実施形態では、それらは、良好な生物物理学的特性を有する。

【0326】

一実施形態では、本発明は、GLP-1受容体若しくはグルカゴン受容体に、又はそれら両方の受容体に対する向上した受容体性能及び/又は親和性をもつ新規なGLP-1/グルカゴンRコアゴニストを提供する。別の実施形態では、本発明は、安定性が改善された新規のGLP-1/グルカゴンRコアゴニストを提供する。別の実施形態では、本発明は、溶解性が改善された新規のGLP-1/グルカゴンRコアゴニストを提供する。別の実施形態では、本発明は、半減期が長くなった新規のGLP-1/グルカゴンRコアゴニストを提供する。

20

【0327】

グルカゴン及びGLP-1受容体に対する効力(すなわち、受容体活性化)及び親和性(すなわち、受容体結合)は、本明細書において実施例74~75に記載のアッセイによって測定することができる。

【0328】

種々のpH値における本発明の化合物の溶解性は、本明細書において機能特性セクションに記載されているとおりに測定することができる。

30

【0329】

本発明の化合物の物理的安定性は、本明細書において実施例76に記載のチオフラビン(ThT)原線維形成アッセイによって測定することができる。

【0330】

本発明のグルカゴン誘導体又は類似体の化学的安定性は、本明細書において実施例79に記載のとおり測定することができる。

【0331】

本発明のペプチドは、また、遷延性のin vivo半減期を有する。本発明のグルカゴン誘導体又は類似体の半減期は、マウス(本明細書において実施例78に記載のとおり)、ラット、及びミニブタを含む様々な種における薬物動態研究で決定することができる。

40

【0332】

体重減少に対する本発明のグルカゴン誘導体の作用は、本明細書において実施例77に記載のとおり、DIOマウスで決定することができる。

【0333】

一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、GLP-1受容体についてのとおり、グルカゴン受容体にも選択的である。

【0334】

#### GLP-1/グルカゴン受容体コアゴニスト

一実施形態では、本発明は、新規の安定な遷延性GLP-1/グルカゴン受容体コアゴニスト

50



を提供する。GLP-1/グルカゴン受容体コアゴニストは、GLP-1及びグルカゴン受容体の両方を活性化することができるペプチドと定義することができる。

【0335】

本発明の誘導体は、GLP-1受容体に対して1nM未満の $EC_{50}$ 及びグルカゴン受容体に対して10nM未満の $EC_{50}$ 、又はGLP-1受容体に対して100pM未満の $EC_{50}$ 及びグルカゴン受容体に対して100pM未満の $EC_{50}$ 、又はGLP-1受容体に対して50pM未満の $EC_{50}$ 及びグルカゴン受容体に対して100pM未満の $EC_{50}$ 、又はGLP-1受容体に対して10pM未満の $EC_{50}$ 及びグルカゴン受容体に対して50pM未満の $EC_{50}$ を示す。上述のとおり、受容体効力は、本明細書において実施例74に記載のアッセイを使用して決定することができる。

【0336】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $EC_{50}<100pM$ を有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対しては $EC_{50}<1nM$ のアゴニストである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $EC_{50}<50pM$ を有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対しては $EC_{50}<1nM$ のアゴニストである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $EC_{50}<10pM$ を有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対しては $EC_{50}<1nM$ のアゴニストである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $EC_{50}<50pM$ を有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対しては $EC_{50}<100pM$ のアゴニストである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $EC_{50}<10pM$ を有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対しては $EC_{50}<100pM$ のアゴニストである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $EC_{50}<10pM$ を有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対しては $EC_{50}<50pM$ のアゴニストである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $EC_{50}<1pM$ を有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対しては $EC_{50}<50pM$ のアゴニストである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $EC_{50}<10pM$ を有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対しては $EC_{50}<10pM$ のアゴニストである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、GLP-1受容体に対する $EC_{50}<$ グルカゴン受容体に対する $EC_{50}$ であるGLP-1/グルカゴンコアゴニストである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、GLP-1受容体に対する $EC_{50}$  (例えば、pMで) がグルカゴン受容体に対する $EC_{50}$  (例えば、pMで) よりも大きいGLP-1/グルカゴンコアゴニストである。

【0337】

グルカゴン受容体アゴニスト

受容体アゴニストは、受容体に結合して、天然リガンドに典型的な応答を誘発するペプチドとして定義することができる。「グルカゴンアゴニスト」という用語は、本明細書で使用する場合、ヒトグルカゴン受容体に結合して、それを完全に、又は部分的に活性化させる任意のグルカゴン誘導体を指す。一実施形態では、「グルカゴンアゴニスト」は、本明細書において実施例74に記載のアッセイによって測定して、10nM未満又は1nM若しくは100pM未満又は10pM未満の効力( $EC_{50}$ )で、グルカゴン受容体を活性化する任意のグルカゴン誘導体である

【0338】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、グルカゴン受容体のアゴニストである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $EC_{50}<10nM$ を有するグルカゴン受容体のアゴニストである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $EC_{50}<1nM$ を有するグルカゴン受容体のアゴニストである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $EC_{50}<100pM$ を有するグルカゴン受容体のアゴニストである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、 $EC_{50}<10pM$ を有するグルカゴン受容体のアゴニストである。効力、すなわち、グルカゴン受容体に対するグルカゴン誘導体の $EC_{50}$ は、本明細書において実施例74に記載のアッセイによって決定することができる。

【0339】

GLP-1受容体アゴニスト

受容体アゴニストは、受容体に結合して、天然リガンドに典型的な応答を誘発するペプチドとして定義することができる。したがって、例えば、「GLP-1受容体アゴニスト」又は「GLP-1受容体アゴニストペプチド」は、GLP-1受容体に結合して、それを活性化するこ



とができる化合物と定義することができる。

【0340】

本発明のコアゴニストペプチドは、GLP-1活性を有する。この用語は、GLP-1受容体に結合して、当技術分野で知られているインスリン分泌作用又は他の生理学的作用をもたらすシグナル伝達経路を開始する能力を指す。本発明の誘導体は、本明細書において実施例74に記載のアッセイを使用して、1nM未満又は100pM未満又は50pM未満又は10pM未満のEC<sub>50</sub>を示す。

【0341】

一実施形態では、グルカゴン誘導体は、GLP-1受容体のアゴニストである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、EC<sub>50</sub><100pMを有するGLP-1受容体のアゴニストである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、EC<sub>50</sub><50pMを有するGLP-1受容体のアゴニストである。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、EC<sub>50</sub><10pMを有するGLP-1受容体のアゴニストである。効力、すなわち、GLP-1受容体に対するグルカゴン誘導体のEC<sub>50</sub>は、本明細書において実施例74に記載のアッセイによって決定することができる。

【0342】

生物学的活性、in vitro親和性及び効力

一実施形態では、親和性とは、GLP-1受容体結合親和性アッセイ及びグルカゴン受容体結合親和性アッセイにおけるin vitro結合親和性、すなわち、性能をいい、更に特に、ヒトGLP-1受容体及びヒトグルカゴン受容体に結合する能力をいう。ヒトGLP-1受容体の結合親和性は、結合アッセイにおいて、例えば、ヒトGLP-1受容体を発現する安定的に形質移入されたBHK細胞株において測定することができる。放射標識されたGLP-1は、受容体に結合し、化合物によって競合的に置き換えられ得る。放射性リガンドの結合は、細胞膜に結合していて、放射能がビーズに近づくと、光を生成し、その光が測定されて、in vitro結合親和性の尺度となるシンチレーション近接アッセイ（SPA）ビーズの存在下で決定することができる。そのようなアッセイの非限定的例の1つは、本明細書において実施例75に記載されている。ヒトグルカゴン受容体の結合親和性は、結合親和性アッセイ、例えば、ヒトグルカゴン受容体を発現する安定的に形質移入されたBHK細胞株において測定することができる。放射標識されたグルカゴンは、受容体に結合し、化合物によって競合的に置き換えられ得る。放射性リガンドの結合は、細胞膜に結合していて、放射能がビーズに近づくと、光を生成し、その光が測定されて、in vitro結合親和性の尺度となるシンチレーション近接アッセイ（SPA）ビーズの存在下で決定することができる。

【0343】

50%阻害濃度（IC<sub>50</sub>）という用語は、一般に、用量反応曲線を参照することによって基線と最大間との間の中間に対応する放射性リガンド結合の特異的結合の50%に置き代わる競合化合物の濃度を指す。IC<sub>50</sub>は、化合物の結合親和性の尺度として使用され、その最大結合の50%が観察される濃度を表す。

【0344】

本発明のペプチドのin vitro結合は、上述したとおり測定することができ、該当するペプチドのIC<sub>50</sub>を測定することができる。IC<sub>50</sub>値が低いほど、結合親和性は良好である。

【0345】

GLP-1受容体に対するグルカゴン誘導体の親和性、すなわち、IC<sub>50</sub>は、本明細書において実施例75に記載のアッセイによって測定することができる。別の実施形態では、本発明のペプチドは、本明細書における実施例75の方法を使用して測定して、100nM以下、より好ましくは10nM未満、なおより好ましくは5nM未満、又は最も好ましくは1nM未満のIC<sub>50</sub>に対応するGLP-1受容体に対するin vitro結合親和性を有する。

【0346】

グルカゴン受容体に対するグルカゴン誘導体の親和性、すなわち、IC<sub>50</sub>は、本明細書において実施例75に記載のアッセイによって測定することができる。別の実施形態では、本発明のペプチドは、本明細書における実施例75の方法を使用して測定して、100nM以下、又は50nM未満、又は10nM未満のIC<sub>50</sub>に対応するグルカゴン受容体に対応するin vitro結合

10

20

30

40

50



親和性を有する。

【0347】

一実施形態では、効力は、*in vitro*効力、すなわち、機能性GLP-1受容体アッセイ及びグルカゴン受容体アッセイにおける性能、更に特に、ヒトGLP-1受容体及びヒトグルカゴン受容体を活性化する能力を指す。ヒトGLP-1受容体の応答は、レポーター遺伝子アッセイにおいて、例えば、ヒトGLP-1受容体を発現し、プロモーターにカップリングしたcAMP応答要素（CRE）のためのDNA及びホタルルシフェラーゼ（CREルシフェラーゼ）のための遺伝子を含む安定形質移入されたBHK細胞株において測定することができる。cAMPが、GLP-1受容体の活性化の結果として産生されると、次にこれは、ルシフェラーゼの発現をもたらす。ルシフェラーゼの発現は、酵素によってオキシルシフェリンに変換されて生物発光をもたらすルシフェリンを添加してこの発光を測定し、*in vitro*効力の尺度とすることによって決定することができる。そのようなアッセイの非限定的例の1つは、本明細書において実施例74に記載されている。ヒトグルカゴン受容体の応答は、レポーター遺伝子アッセイにおいて、例えば、ヒトグルカゴン受容体を発現し、プロモーターにカップリングしたcAMP応答要素（CRE）のためのDNA及びホタルルシフェラーゼ（CREルシフェラーゼ）のための遺伝子を含む安定形質移入されたBHK細胞系において測定することができる。cAMPが、グルカゴン受容体の活性化の結果として産生されると、次にこれは、ルシフェラーゼの発現をもたらす。ルシフェラーゼの発現は、酵素によってオキシルシフェリンに変換されて生物発光をもたらすルシフェリンを添加してこの発光を測定し、*in vitro*効力の尺度とすることによって決定することができる。そのようなアッセイの非限定的例の1つは、本明細書において実施例74に記載されている。

10

20

【0348】

50%効果濃度（ $EC_{50}$ ）という用語は、一般に、用量反応曲線を参照することによって、基線と最大間との間の応答中間を引き起こす濃度をいう。 $EC_{50}$ は、化合物の効力の尺度として用いられ、その最大作用の50%が観察される濃度を表す。

【0349】

本発明のペプチドの*in vitro*効力は、上記のとおり決定することができ、該当するペプチドの $EC_{50}$ を決定することができる。 $EC_{50}$ 値が低いほど、効力は良好である。

【0350】

生物学的活性、*in vivo*薬理学

30

別の実施形態では、本発明の誘導体又はペプチド（又はその類似体）は、*in vivo*で効力があり、これは、任意の適切な動物モデルにおいて、更には治験において、当技術分野で公知のとおり測定することができる。

【0351】

食事誘発性肥満（DIO）マウスは、適切な動物モデルの一例であり、体重、食物摂取、及び耐糖能に対する作用は、このモデルにおける亜慢性投与の間に評価することができる。体重及び血糖に対する作用は、例えば本明細書において実施例77に記載されているとおり、*in vivo*でそのようなマウスにおいて測定することができる。食物摂取は、動物を個別収容して1日当たり消費する食物を秤量することによって評価することができる。このモデルは、また、経口又は非経口糖負荷試験（OGTT又はIPGTT）を行うことによって、耐糖能に対する作用を評価するために用いることができる。これらの試験は、半絶食動物に経口又は非経口でグルコース負荷量を投与し、3時間まで、その後の血糖を測定することによって行う。

40

【0352】

薬物動態プロファイル

第3の機能性実施形態によれば、本発明のペプチドは、終末相半減期の増大等の改善された薬物動態特性を有する。

【0353】

本発明のペプチドの薬物動態特性は、薬物動態（PK）研究において*in-vivo*で適切に決定することができる。そのような研究は、医薬化合物が身体中でどのように吸収され、分

50



布し、かつ除去され、これらのプロセスが、時間経過にわたって身体中の化合物の濃度どのように影響を及ぼすかを評価するために行われる。

【0354】

医薬開発の創薬及び前臨床相では、マウス、ラット、サル、イヌ、又はブタ等の動物モデルを使用して、この特性解析を行うことができる。これらのモデルのいずれも、本発明のペプチドの薬物動態特性を試験するために使用することができる。

【0355】

そのような研究では、動物に、典型的には、関連する製剤で静脈内(i.v.)、皮下(s.c.)、又は経口(p.o.)のいずれかで単回用量の薬物を投与する。血液試料を、投与後の予め規定した時点で採取し、関連した定量アッセイを用いて、薬物の濃度について試料を分析する。これらの測定に基づき、研究対象の化合物についての時間-血漿中濃度プロファイルプロットし、データのいわゆる非コンパートメント薬物動態分析を行う。

10

【0356】

たいていの化合物について、当初の吸収及び分布後に、薬物が一定の分数率で身体から除去されることを反映して、血漿中濃度プロファイルの終末相部分は、片対数プロットで引くと線状となる。その率(ラムダZ又は $\lambda_z$ )は、プロットの終末相部分の傾斜のマイナスに等しい。この率から、 $T_{1/2} = \ln(2) / \lambda_z$ として終末相半減期も計算することができる(例えば、Johan Gabrielsson及びDaniel Weiner: Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Data Analysis. Concepts & Applications, 3rd Ed., Swedish Pharmaceutical Press, Stockholm, 2000を参照されたい)。

20

【0357】

クリアランスは、静脈内投与の後に決定することができ、血漿中濃度対時間プロファイルでの曲線下面積(AUC)で割った用量(D)と定義される(Rowland, M及びTozer TN: Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications, 3<sup>rd</sup> edition, 1995 Williams Wilkins)。

【0358】

終末相半減期及び/又はクリアランスの推定は投与計画の評価に関係しており、薬物開発における、新規薬物化合物の評価における重要なパラメーターである。

【0359】

薬物動態プロファイル、ラットにおけるin vivoでの半減期

30

第3の機能性実施形態によれば、本発明のペプチドは、hGLP-1又はhグルカゴンと比較して、改善された薬物動態特性を有する。好ましくは、本発明のペプチドは、1日1回以下の投与に適した薬物動態特性を有する。

【0360】

一実施形態では、薬物動態特性を、静脈内及び皮下投与後のラットにおけるin vivoでの終末相半減期( $T_{1/2}$ )として決定することができる。追加の実施形態では、終末相半減期は、少なくとも1時間、好ましくは少なくとも3時間、好ましくは少なくとも4時間、なおより好ましくは少なくとも5時間、又は最も好ましくは少なくとも6時間である。

【0361】

薬物動態プロファイル - マウスにおけるin vivoでの半減期

40

第3の機能性実施形態によれば、本発明のペプチドは、hGLP-1又はhグルカゴンと比較して、改善された薬物動態特性を有する。好ましくは、本発明のペプチドは、1日1回以下の投与に適した薬物動態特性を有する。

【0362】

一実施形態では、薬物動態特性を、静脈内及び皮下投与後のマウスにおけるin vivoでの終末相半減期( $T_{1/2}$ )として決定することができる。追加の実施形態では、終末相半減期は、少なくとも1時間、好ましくは少なくとも3時間、好ましくは少なくとも4時間、なおより好ましくは少なくとも5時間、又は最も好ましくは少なくとも6時間である。皮下投与後のマウスにおいて終末相半減期を決定するために適したアッセイは、本明細書において実施例78に開示している。

50



## 【0363】

薬物動態プロファイル - ミニブタにおけるin vivoでの半減期

第3の機能性実施形態によれば、本発明のペプチドは、hGLP-1（すなわち、ヒトGLP-1）又はhグルカゴン（すなわち、ヒトグルカゴン）と比較して、改善された薬物動態特性を有し、好ましくは、1日1回又は週1回の投与に適している。一実施形態では、薬物動態特性を、例えば、下記に記載のとおり、静脈内投与後のミニブタにおけるin vivoでの終末相半減期（ $T_{1/2}$ ）として決定することができる。

## 【0364】

一実施形態では、ミニブタにおける終末相半減期は、少なくとも5時間、好ましくは少なくとも10時間、なおより好ましくは少なくとも15時間、又は最も好ましくは少なくとも20時間である。

10

## 【0365】

グルカゴン誘導体のミニブタにおけるin vivoでの半減期は、次の方法に従って決定することができる：

この研究の目的は、ミニブタへの静脈内投与後のグルカゴン誘導体のin vivoでの薬物動態特性を決定することである。これは、他のパラメーターのなかで、該当する誘導体の終末相半減期及びクリアランスを決定する薬物動態(PK)研究において行われる。終末相半減期の増大及びクリアランスの低下は、研究に係る化合物が、身体からゆっくり排出されることを意味する。グルカゴン誘導体又は類似体については、これは、薬理学的作用期間の延長を伴う。

20

## 【0366】

Ellegaard Gottingen Minipigs (Dalmose, Denmark) から得た約7~14か月齢で体重約16~35kgの雌のGottingenミニブタをこの研究では使用する。ミニブタを、個別に（持続カテーテルを装着したブタ）又は群で飼育し、SDSミニブ飼料（Special Diets Services社、Essex, UK）を限定的に1日1回又は1日2回給餌する。

## 【0367】

いくつかの研究では、2本の持続中心静脈カテーテルを、少なくとも2週間の順応の後に、各動物の尾又は脳の大静脈に埋め込む。その動物を、外科手術の後で1週間回復させ、次いで、連続するグルカゴン誘導体の投与の間に適切な洗出し期間を伴う、繰り返し薬物動態研究のために使用する。他の研究では、動物を1週間順応させ、その後、動物を、連続するグルカゴン誘導体の投与の間に適切な洗出し期間を伴う繰り返し薬物動態研究のために使用する。それぞれの投与の際に、これらのブタに、1つの耳介静脈にベンフロン（venflon）を装着し、それを介して誘導体を投与する。血液採取を、頸静脈（v. jugularis）又は脳大静脈への静脈穿刺によって行う。

30

## 【0368】

動物を、投与前約18時間、及び投与後0~4時間、非絶食又は絶食させるが、期間全体にわたって、水は自由に摂らせる。

## 【0369】

グルカゴン誘導体を通常、50mMリン酸ナトリウム、145mM塩化ナトリウム、0.05% tween 80、pH7.4に、通常20~60nmol/mlの濃度まで溶かす。化合物の静脈内注射（通常、2~3nmol/kg、例えば、0.1ml/kgに対応する体積）を、1本のカテーテル又はベンフロンを介して投与し、投与後13日間までの予め規定した時点に血液を採取する（好ましくは、他のカテーテルを介してか、又は静脈穿刺によって）。血液試料（例えば、0.8ml）を、EDTA緩衝液（8mM）を含む管に収集し（時には、アプロチニン500KIU/血液mlを添加した）、次いで、4℃及び1942Gで10分間、遠心分離する。血漿を、ドライアイス上の微小管にピペット注入し、ELISA又はLC-MS等の適切な定量アッセイを使用して個々のグルカゴン誘導体の血漿中濃度について分析するまで、-20℃で保持する。

40

## 【0370】

これらの測定に基づき、試験した化合物について時間-血漿中濃度プロファイルをプロットし、データのいわゆる非コンパートメント薬物動態分析を、WinNonlin v. 5.0又はPh

50



oenix v. 6.2 (Pharsight社、Mountain View、CA、USA) 又は他PK分析用の関連したソフトウェアで行う。たいていの化合物について、当初の分布後に、薬物が一定の分数率で身体から除去されることを反映して、血漿-濃度プロファイルの終末相部分は、片対数プロットで引くと線状となる。その率(ラムダZ又は  $z$ )は、プロットの終末相部分の傾斜のマイナスに等しい。この率から、 $T_{1/2} = \ln(2) / z$ として終末相半減期も計算することができる(例えば、Johan Gabrielsson及びDaniel Weiner: Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Data Analysis. Concepts & Applications, 3rd Ed., Swedish Pharmaceutical Press, Stockholm (2000)を参照されたい)。クリアランスは、静脈内投与の後に決定することができ、血漿中濃度対時間プロファイルでの曲線下面積(AUC)で割った用量(D)と定義される(Rowland, M及びTozer TN: Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications, 3rd edition, 1995 Williams Wilkins)。

10

#### 【0371】

##### 物理化学的特性

第4の実施形態によれば、本発明のペプチドは、有利な物理化学的特性を有する。これらの特性には、以下に限定されないが、物理的安定性、化学的安定性、及び/又は溶解性が含まれる。これらの、及びその他の物理化学的特性は、タンパク質化学の分野で公知の標準的方法を使用して測定することができる。一実施形態では、これらの特性は、天然グルカゴン(配列番号1)と比較して、改善されている。ペプチドのペプチド自己会合特性のより顕著な自己会合が、改善された物理的安定性及び/又は溶解性に少なくとも部分的に寄与しうる。

20

#### 【0372】

生物物理学的特性を調査するためのアッセイの非限定的例は、本明細書において実施例76及び実施例79に記載されている。

#### 【0373】

一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、ThT原線維形成アッセイにおいて70%より高い回収率を有する。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、ThT原線維形成アッセイにおいて90%より高い回収率を有する。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、ThT原線維形成アッセイにおいて約100%の回収率を有する。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、ThT原線維形成アッセイにおいて7時間より長いラグタイムを有する。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、ThT原線維形成アッセイにおいて20時間より長いラグタイムを有する。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、ThT原線維形成アッセイにおいて45時間以上のラグタイムを有する。前記ThT原線維形成アッセイは、本明細書において実施例76に記載されているとおりである。

30

#### 【0374】

一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、化学的安定性アッセイにおいて14%未満の分解率を有する。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、化学的安定性アッセイにおいて13%未満の分解率を有する。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、化学的安定性アッセイにおいて12%未満の分解率を有する。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、化学的安定性アッセイにおいて10%未満の分解率を有する。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、化学的安定性アッセイにおいて9%未満の分解率を有する。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、化学的安定性アッセイにおいて7%未満の分解率を有する。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、化学的安定性アッセイにおいて5%未満の分解率を有する。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、化学的安定性アッセイにおいて3%未満の分解率を有する。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、化学的安定性アッセイにおいて2%未満の分解率を有する。一実施形態では、化学的安定性アッセイは、本明細書において実施例79に記載されているとおりである。

40

#### 【0375】

##### 安定性

GLP-1受容体アゴニストペプチド製剤の「物理的安定性」という用語は、本明細書で使

50



用する場合、熱機械的ストレスへのタンパク質の曝露及び/又は疎水性表面及び界面等の不安定化性の表面及び界面との相互作用の結果として、生物学的に不活性な、かつ/又は不溶性のタンパク質凝集物を形成するタンパク質の傾向をいう。水性タンパク質製剤の物理的安定性は、種々の温度で、様々な時間にわたって機械的/物理的応力（例えば、撹拌）に適切な容器（例えば、カートリッジ又はバイアル）に充填した製剤を曝露した後に、目視検査及び/又は混濁度測定的手段によって評価される。製剤の目視検査は、暗い背景で、鋭く集光された光の下で行う。製剤の混濁度は、例えば、0～3のスケールで混濁度をランク付けする視覚スコア（この際、混濁を示さない製剤が視覚スコア0に対応し、一方、昼光下で目視できる混濁を示す製剤が視覚スコア3に対応する）によって特徴づけられる。製剤は、一般に、昼光下で目視できる混濁を示す場合、タンパク質凝集に関して物理的に不安定であると分類される。別法では、製剤の混濁度は、当業者に周知の単純な混濁度測定によって評価され得る。水性タンパク質製剤の物理的安定性は、タンパク質の配座異性状態の分光剤（spectroscopic agent）又はプローブを使用することによって評価することもできる。プローブは、好ましくは、タンパク質の非天然配座異性体と優先的に結合する低分子である。タンパク質構造の小分子分光学的プローブの一例は、チオフラビンTである。チオフラビンTは、アミロイド原線維の検出に広く使用されている蛍光色素である。原線維の存在下で、他のタンパク質配置である可能性もあるが、チオフラビンTは、原線維形態と結合すると、約450nmにおける新たな励起極大及び約482nmにおける増強発光を生じる。結合しなかったチオフラビンTは、それらの波長において本質的に非蛍光性である。

10

20

#### 【0376】

タンパク質製剤の「化学的安定性」という用語は、本明細書で使用する場合、元のタンパク質構造と比較して潜在的に低い生物学的効力及び/又は潜在的に増大した免疫原性特性を有する化学的分解生成物の形成につながる共有結合タンパク質構造の変化をいう。元のタンパク質の種類及び性質並びにそれらのタンパク質が曝露される環境に応じて、様々な化学分解生成物が形成され得る。タンパク質製剤の貯蔵及び使用の間に、化学的分解生成物の量の増大が見られることが多い。多くのタンパク質は脱アミド化を生じやすく、この過程ではグルタミニル又はアスパラギニル残基中の側鎖アミド基が加水分解されて遊離カルボン酸を形成するか、又はアスパラギニル残基がIsoAsp誘導体を形成する。他の分解経路には、2個以上のタンパク質分子がアミド基転移及び/又はジスルフィド相互作用を介して相互に共有結合して、共有結合したダイマー、オリゴマー又はポリマー分解生成物の形成をもたらす、高分子量生成物の形成が関係する（Stability of Protein Pharmaceuticals, Ahern, T.J. & Manning M.C., Plenum Press, New York 1992）。酸化（例えばメチオニン残基の酸化）は、化学分解の別の形として挙げられる。タンパク質製剤の化学的安定性は、さまざまな環境条件への曝露後、様々な時点で化学分解生成物の量を測定することによって評価することができる（分解生成物の形成は、多くの場合、例えば温度を上昇することによって加速され得る）。それぞれ個々の分解生成物の量は、多くの場合に、分子のサイズ及び/又は電荷に応じて、様々なクロマトグラフィー技術（例えばSEC-HPLC及び/又はRP-HPLC）を用いる分解生成物の分離によって測定される。HMWP生成物は潜在的に免疫原性であり、生物学的に活性ではないので、低レベルのHMWPが有利である。

30

40

#### 【0377】

「安定化製剤」という用語は、物理的安定性を増大させたか、化学的安定性を増大させたか、又は物理的及び化学的安定性を増大させた製剤を指す。一般に、製剤は、有効期限に達するまでは、（推奨用途及び貯蔵条件の遵守の下での）使用及び貯蔵の間、安定でなくてはならない。

#### 【0378】

##### 溶解性

本発明に関連して、別途言及しない限り、「溶解性(の)」、「溶解性」、「水溶液に溶解性(の)」、「水溶性」、「水溶性(の)(water soluble)」、「水溶性の(water-soluble)」、「水溶性(water solubility)」、及び「水溶性(water-solubility)」という用語は、

50



水又は塩水溶液又は水性緩衝液、例えば、10mMリン酸溶液、又はその他の化合物を含有する水溶液への化合物の溶解性を指す。溶解性は、次のアッセイを使用して評価することができる。

【0379】

pH依存性溶解性アッセイ

ペプチド及びタンパク質の溶解性は、溶液のpHに左右される。多くの場合に、タンパク質又はペプチドは、その実効電荷がゼロである等電点(pI)で、又はその付近で沈殿する。低pH(すなわち、pIよりも低い)で、タンパク質及びペプチドは、典型的には、正に帯電しており、pIよりも高いpHでは負に帯電している。

【0380】

安定な薬物製品を製剤化することと、例えば、皮下注射によって患者にその薬物製品を投与することとの両方に適した所定のpHにおいて、十分な濃度で、治療用ペプチドが溶解性であると有利である

【0381】

溶解性対pHの曲線は、記載のとおり測定される：水中の製剤又はペプチド溶液を調製し、その一部(アリコット)にHCl及びNaOHを添加することによって所望の範囲のpH値に調節する。これらの試料を、室温で2~4日間放置して平衡化させる。次いで、試料を遠心分離する。各試料の少量のアリコットを、溶液中のタンパク質の濃度を測定するための逆HPLC分析のために抜き取る。各試料のpHを、遠心分離の後に測定し、各タンパク質の濃度を、測定されたpHに対して描く。

【0382】

本発明のいくつかの特徴を本明細書において例示及び説明してきたが、多くの改変形態、置換形態、変換形態、及び均等物が当業者には想到されよう。したがって、添付の特許請求の範囲は、本発明の真の意図の範囲内に該当するならば、すべてのそのような改変形態及び変換形態に及ぶことが意図されていることを理解されたい。

【0383】

本発明の化合物は、例えば、少なくとも0.1mmol/l、0.2mmol/l、少なくとも0.5mmol/l、少なくとも2mmol/l、少なくとも4mmol/l、少なくとも8mmol/l、少なくとも10mmol/l、又は少なくとも15mmol/lの溶解性を有する溶解性グルカゴン/GLP-1受容体コアゴニストであり得る。

【0384】

DPP-IV安定性

一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、DPP-IV保護されている。「DPP-IV保護(されている)」という用語は、ポリペプチドに関して本明細書で使用する場合、上記化合物を血漿ペプチダーゼジペプチジルアミノペプチダーゼ-4(DPP-IV)に対して耐性にするために化学的に改変されているポリペプチドを意味する。血漿中のDPP-IV酵素は、いくつかのペプチドホルモン、例えば、グルカゴン、GLP-1、GLP-2、オキシントモジュリン等の分解に関係していることが知られている。したがって、DPP-IVによる分解速度を低下させるために、DPP-IV媒介性加水分解を受けやすいポリペプチドの類似体及び誘導体を開発するためのかなりの努力が成されている。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、DPP-IV保護化合物である。一実施形態では、グルカゴン誘導体は、DPP-IV安定化されている。

【0385】

一実施形態では、本発明の化合物は、アルブミン非含有アッセイにおいて、DPP-IV開裂に対して安定化されている：

10  $\mu$ Mのペプチドを、0.005%Tween20が添加されているHEPES緩衝液中、37 °Cで、二重反復試験で、DPP-IV(2  $\mu$ g/ml)と共にインキュベートする。この実験では、ヒトGLP-1を陽性対照として使用する。3、15、30、60、120、及び240分目に、試料のアリコットを採取し、3倍体積のエタノールを添加して、反応を停止させる。試料を、親ペプチドについてLC-MSによって分析する。データを、一次反応速度に従ってプロットし、安定性を半減期として報告する。

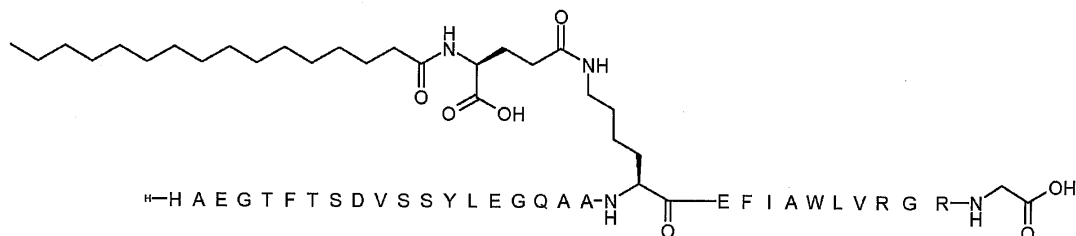


組合せ

【 0 3 8 7 】

【 0 3 8 8 】

【化 8 1】

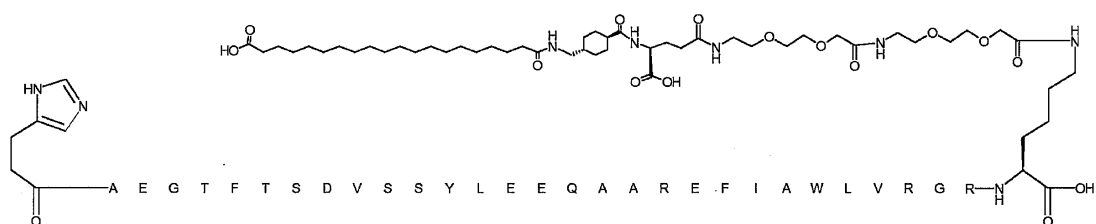


(Compound G1):

又は薬学的に許容されるその塩、アミド、アルキル、若しくはエステルである。一実施形態では、上記組み合わせのGLP-1化合物は、N- 37-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-カルボキシ-4-({trans-4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサノール}アミノ)ブチルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチル][デスアミノHis7,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]GLP-1-(7-37)：

【 0 3 9 0 】

【化 8 2】

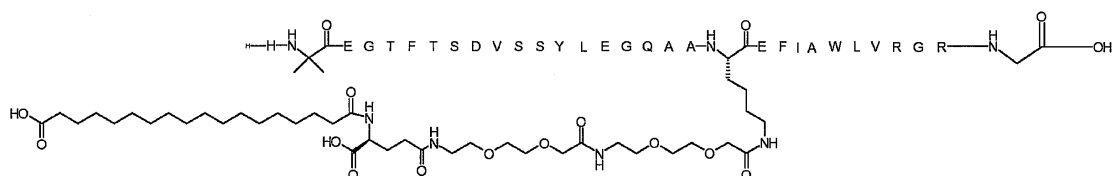


(Compound G2);

又は薬学的に許容されるその塩、アミド、アルキル、若しくはエステルである。一実施形態では、上記組み合わせのGLP-1化合物は、N- 26-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブチリルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチル][Aib8,Arg34]GLP-1-(7-37) :

【 0 3 9 2 】

【化 8 3】



(Compound G3);

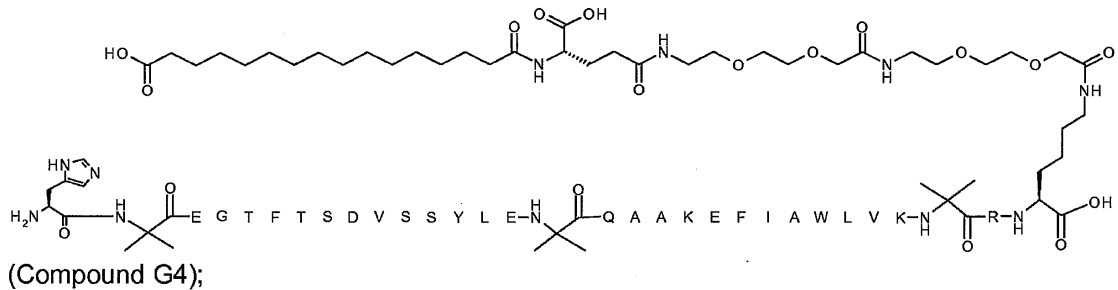


## 【0393】

又は薬学的に許容されるその塩、アミド、アルキル、若しくはエステルである。一実施形態では、上記組み合わせのGLP-1化合物は、N- -37-[2-(2-{2-[2-(2-{(S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシ-ペンタデカノイルアミノ)-ブチリルアミノ]-エトキシ}-エトキシ)-アセチルアミノ]-エトキシ}-エトキシ)-アセチル][Aib8,22,35,Lys37]GLP-1-(7-37) :

## 【0394】

## 【化84】



10

## 【0395】

又は薬学的に許容されるその塩、アミド、アルキル、若しくはエステルである。

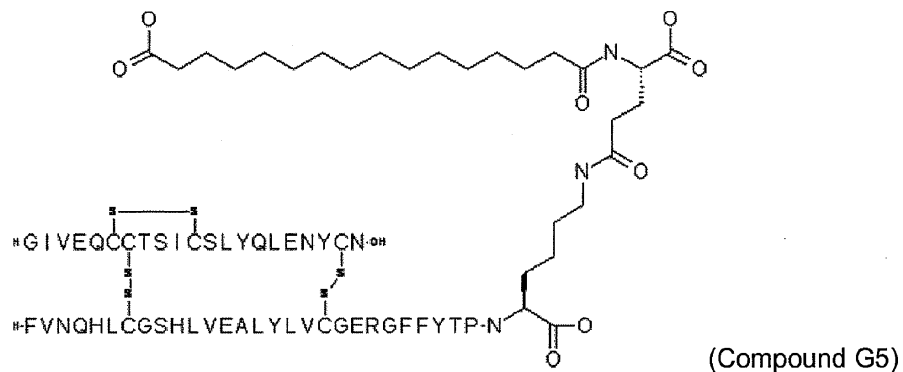
## 【0396】

一実施形態では、上記組み合わせのインスリン化合物は、N- -B29-[(S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブチリル]デスB30ヒトインスリン

20

## 【0397】

## 【化85】



30

## 【0398】

である。

## 【0399】

## 医薬組成物

一実施形態では、本発明は、本発明の誘導体と、1種又は複数の薬学的に許容される添加剤とを含む医薬組成物に関する。一実施形態では、上記組成物は、皮下(SC)、筋肉内(IM)、又は静脈内投与(IV)等の非経口投与に適している。「医薬組成物」及び「組成物」という用語は、本明細書において互換的に使用される。

40

## 【0400】

本発明の誘導体を含む医薬組成物は、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 1985又はRemington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, 1995に記載されている慣用技術によって調製することができる。

## 【0401】

一実施形態では、単位剤形での医薬組成物は、本明細書に記載のグルカゴン誘導体約0.01mg~約1000mg、例えば、約0.1mg~約500mg、約0.5mg~約5mg、例えば、約0.5mg~約200mg等を含む。一実施形態では、本発明は、本発明の誘導体を含む医薬組成物に関し、その

50



際、前記誘導体は、約0.01mg/mL～約25mg/mL、例えば、約0.05mg/mL～約5mg/mL及び約0.1mg/mL～約2mg/mL等の濃度で存在し、前記組成物は、2.0～10.0のpHを有する。前記医薬組成物は、本発明の誘導体を含んでよく、この際、前記誘導体は、約0.01mg/mL～約50mg/mLの濃度で存在し、前記組成物は、2.0～10.0のpHを有する。

【0402】

一実施形態では、医薬組成物は、本発明の誘導体の水溶液と、緩衝剤とを含み、この際、前記誘導体は、0.01mg/mL以上の濃度で存在し、前記組成物は、約2.0～約10.0のpHを有する。別の実施形態では、医薬組成物は、本発明の誘導体の水溶液と、緩衝剤とを含み、この際、前記誘導体は、0.01mg/mL以上の濃度で存在し、前記組成物は、約6.5～約8.5のpHを有する。

10

【0403】

一実施形態では、本発明の組成物は、約2.0～約10.0のpHを有する。別の実施形態では、組成物は、約6.5～約8.5のpHを有する。更なる一実施形態では、組成物は、約7.0～約8.5、例えば、約7.2～約8.2のpHを有する。

【0404】

組成物は、緩衝剤系、防腐剤(1又は複数)、等張化剤(1又は複数)、キレート化剤(1又は複数)、安定剤、及び界面活性剤を更に含んでもよい。一実施形態では、医薬組成物は、水性組成物、すなわち、水を含む組成物である。そのような組成物は、典型的には、溶液又は懸濁液である。本発明の更なる一実施形態では、医薬組成物は、水溶液である。「水性組成物」という用語は、少なくとも50%w/wの水を含む組成物と定義される。同様に、「水溶液」という用語は、少なくとも50%w/wの水を含む溶液と定義される。一実施形態では、組成物は、非水性有機溶媒を含む。

20

【0405】

別の実施形態では、医薬組成物は、例えば、医師又は患者が使用前に、溶媒及び/又は希釈剤を添加する凍結乾燥組成物である。

【0406】

別の実施形態では、医薬組成物は、何ら事前の溶解を伴うことなくすぐに使用することができる乾燥組成物(例えば、凍結乾燥又は噴霧乾燥)である。

【0407】

一実施形態では、本発明は、本発明の誘導体と、GLP-1、インスリン、又はその類似体及び/又は誘導体等の1種又は複数の他の活性成分とを含む組成物に関する。一実施形態では、本発明は、本発明の誘導体と、GLP-1、又はその類似体及び/又は誘導体とを含む組成物に関する。一実施形態では、本発明は、本発明の誘導体と、インスリン又はその類似体及び/又は誘導体とを含む組成物に関する。本発明の誘導体及び1種又は複数の他の活性成分を含む組成物は、「共製剤(co-formulation)」と称され得る。一実施形態では、そのような共製剤は、物理的に安定で、かつ/又は化学的に安定な組成物である。

30

【0408】

本発明の誘導体が中性pHで溶解性であり得るという事実は、インスリンとの共製剤を可能にし、より安定な血糖値及び低血糖事象の回数の低減、更には、糖尿病関連合併症のリスクの低減を可能にし得る。

40

【0409】

一実施形態では、医薬組成物は、1種又は複数の追加の治療活性化合物又は物質をさらに含む。一実施形態では、追加の治療活性化合物は、GLP-1化合物又はインスリン化合物である。一実施形態では、追加の治療活性化合物は、GLP-1化合物である。一実施形態では、追加の治療活性化合物は、インスリン化合物である。一実施形態では、追加の治療活性化合物は、GLP-1化合物であるN-26-((S)-4-カルボキシ-4-ヘキサデカノイルアミノ-ブチリル)[Arg34]GLP-1-(7-37)：

【0410】

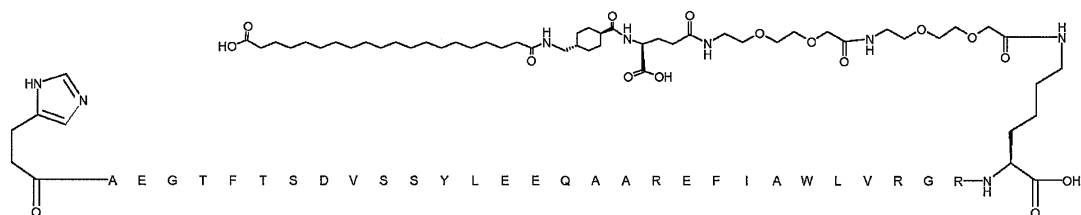


CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)N[C@@H](C(=O)O)C[C@@H](C(=O)NCCCC[C@@H](C(=O)N)C(=O)O)C(=O)N[C@@H](C(=O)O)C(=O)O

10

又は薬学的に許容されるその塩、アミド、アルキル、若しくはエステルである。一実施形態では、追加の治療活性化合物は、GLP-1化合物であるN- 37-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-カルボキシ-4-({trans-4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサノカルボニル}アミノ)ブチリルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチル][デスアミノHis7,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]GLP-1-(7-37)；

## 【化 8 7】

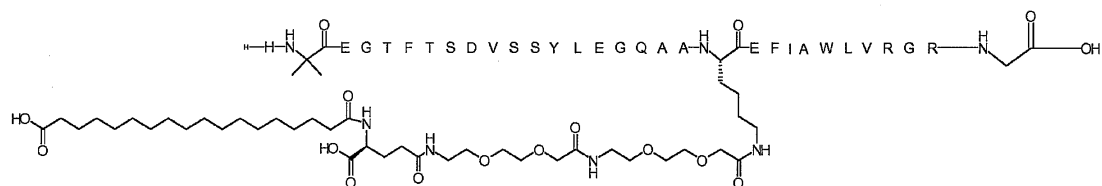


20

又は薬学的に許容されるその塩、アミド、アルキル、若しくはエステルである。一実施形態では、追加の治療活性化合物は、GLP-1化合物であるN- 26-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブチリルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチル][Aib8,Arg34]GLP-1-(7-37)：

## 30

## 【化 8 8】



40

又は薬学的に許容されるその塩、アミド、アルキル、若しくはエステルである。一実施形態では、追加の治療活性化化合物は、GLP-1化合物であるN- 37-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシ-ペンタデカノイルアミノ)-ブチリルアミノ]-エトキシ}-エトキシ)-アセチルアミノ]-エトキシ}-エトキシ)-アセチル][Aib8,22,35,Lys37]GLP-1-(7-37) :

【 0 4 1 6 】



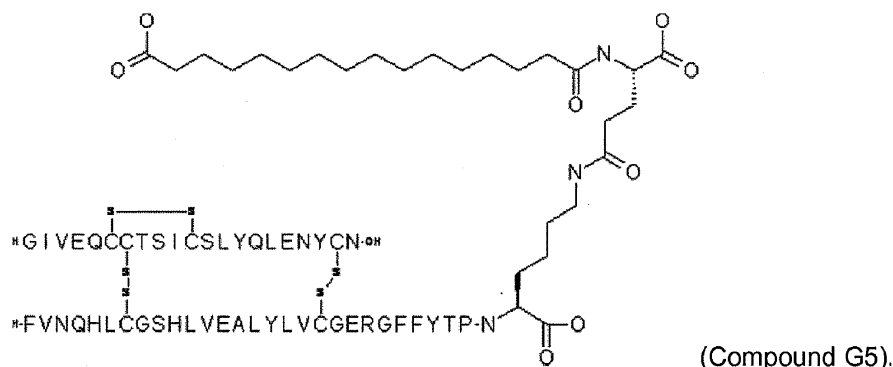
(Compound G4):

10

又は薬学的に許容されるその塩、アミド、アルキル、若しくはエステルである。

一実施形態では、追加の治療活性化合物は、インスリン化合物であるN-β-B29-[(S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブチリル]デスB30ヒトインスリン

## 【化 9 0】



20

である。一実施形態では、追加の治療活性化合物は、化合物G5の薬学的に許容される塩、アミド、アルキル、又はエステルである。

## 製劑投与

本発明の誘導体は、患者に非経口投与することができる。誘導体の投与経路は、筋肉内(IM)、皮下(SC)、又は静脈内(IV)であってよい。医師が、患者に投与すべき本発明の誘導体を含む組成物の投薬量を選択することが推奨される。

非経口投与は、シリンジ、任意選択により、ペン様シリンジを用いて、皮下、筋肉内、腹腔内、又は静脈内注射によって行うことができる。一実施形態では、本発明の誘導体を含む組成物は、グルカゴン投与用の既成のペン型デバイスにおいて使用することができる。別法では、非経口投与は、注入ポンプを用いて行うことができる。一実施形態では、本発明の誘導体を含む組成物は、グルカゴン投与用のポンプにおいて使用することができる。非経口投与は、経鼻投与であってよい。更なる選択肢として、本発明の誘導体を含むグルカゴン製剤は、例えば、無針注射によるか、若しくは貼付剤、任意選択により、イオン浸透貼付剤からの経皮投与、また経粘膜、例えば、頬側投与にも適し得る。

40

本発明による方法で使用する場合の本発明の誘導体又は組成物の典型的な投薬量は、1日当たり約0.0001～約1mg/体重kg、好ましくは、約0.001～約1mg/体重kg、より好ましくは、約0.005～約0.02mg/体重kgの範囲である。上記のとおり、本発明の誘導体を、1種又

50



は複数の追加の治療活性化合物又は物質と組み合わせる投与又は適用してもよく、適切な追加の化合物又は物質は、例えば、抗糖尿病薬、抗高脂血症薬、抗肥満薬、抗高血圧症薬、及び糖尿病から生じるか、又はそれに関連する合併症の治療薬から選択することができる。

【0424】

適切な抗糖尿病薬には、インスリン、インスリン誘導体又は類似体、GLP-1(グルカゴン様ペプチド-1)誘導体又は類似体[W098/08871(Novo Nordisk A/S社)に開示されているもの、又はエクセナチド(Byetta、Eli Lilly/Amylin; AVE0010、Sanofi-Aventis社)、タスポグルチド(Roche社)、アルビグルチド(Syncria、GlaxoSmithKline社)等の他のGLP-1類似体等]、アミリン、アミリン類似体(例えば、Symlin/Pramlintide)、さらには、経口活性血糖降下薬が含まれる。

10

【0425】

薬学的適応症

本発明は、また、医療において使用するための本発明の誘導体に関する。一実施形態では、本発明は、治療法において使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせたグルカゴン誘導体に関する、一実施形態では、「グルカゴン誘導体」及び「誘導体」という用語は、医療用途に関連して本明細書においては互換的に使用され、本発明のグルカゴン誘導体を指す。一実施形態では、用語「医薬品」及び「療法」は、本明細書において互換的に使用される。一実施形態では、本発明は、疾患又は障害、例えば、具体的な医療用途に関連して本明細書において上述した疾患又は障害の1種又は複数を治療又は予防する方法に関する。一実施形態では、本発明は、治療法において、例えば、本明細書において定義した具体的な医療用途において使用するための医薬品を調製するための方法に関する。

20

【0426】

一実施形態では、本発明は、医薬品において使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせた本発明のグルカゴン誘導体に関する。

【0427】

一実施形態では、誘導体を、低血糖の治療及び/又は予防のために使用する。一実施形態では、本発明は、低血糖を治療及び/又は予防するための方法であって、それを必要とする患者に、治療有効量の本発明の誘導体を投与することを含む方法に関する。

30

【0428】

一実施形態では、本発明は、2型糖尿病の治療又は予防において使用するためのグルカゴン誘導体に関する。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、耐糖能障害の治療において使用するためのものである。一実施形態では、本発明は、2型糖尿病の疾患進行を遅延又は予防する際に使用するためのグルカゴン誘導体に関する。一実施形態では、本発明は、2型糖尿病からインスリン要求性糖尿病への進行を遅延させる際に使用するのための、食欲を調製する際に使用するのための、体重減少の成功後の体重増加を予防する際に使用するのための、満腹感を誘導する際に使用するのための、体重減少の成功後の体重増加を予防する際に使用するのための、過体重又は肥満に関連する疾患又は状態を治療する際に使用するのための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わされた本発明のグルカゴン誘導体に関する。一実施形態では、本発明は、耐糖能障害(IGT)から2型糖尿病への進行を遅延させる際に使用するためのグルカゴン誘導体に関する。一実施形態では、本発明は、2型糖尿病からインスリン要求性糖尿病への進行を遅延させる際に使用するのためのグルカゴン誘導体に関する。

40

【0429】

一実施形態では、本発明は、低血糖、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、及び肥満を治療又は予防するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。一実施形態では、本発明は、低血糖、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、及び肥満の治療又は予防において使用するためのグル

50



カゴン誘導体に関する。

【0430】

一実施形態では、本発明は、肥満の治療又は過体重の予防において使用するためのグルカゴン誘導体に関する。一実施形態では、本発明は、肥満を治療するか、又は過体重を予防するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

【0431】

一実施形態では、本発明は、体重を減少させる際に使用し、食欲を調節する際に使用し、エネルギー消費を上昇させる際に使用し、満腹を誘導する際に使用し、体重減少の成功後の体重増加を予防する際に使用し、過体重又は肥満に関連した疾患又は状態を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。一実施形態では、本発明は、食物摂取を低減する際に使用するためのグルカゴン誘導体に関する。一実施形態では、本発明は、エネルギー消費を増大させる際に使用するためのグルカゴン誘導体に関する。一実施形態では、本発明は、体重を減少させる際に使用するためのグルカゴン誘導体に関する。一実施形態では、本発明は、食欲を調節する際に使用するためのグルカゴン誘導体に関する。一実施形態では、本発明は、満腹を誘導する際に使用するためのグルカゴン誘導体に関する。一実施形態では、本発明は、体重減少の成功後の体重増加を予防する際に使用するためのグルカゴン誘導体に関する。一実施形態では、本発明は、過体重又は肥満に関連する疾患又は状態を処置する際に使用するためのグルカゴン誘導体に関する。一実施形態では、本発明は、大食症を治療する際に使用するためのグルカゴン誘導体に関する。一実施形態では、本発明は、過食症を治療する際に使用するためのグルカゴン誘導体に関する。

【0432】

一実施形態では、本発明は、医薬品を調製するための本発明によるグルカゴン誘導体の使用に関する。

【0433】

一実施形態では、本発明は、高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、及び肥満を治療又は予防するための医薬品を調製するための本発明によるグルカゴン誘導体の使用に関する。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、及び肥満を治療又は予防する際に使用するものである。

【0434】

一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、アテローム硬化症を治療又は予防する際に使用するものである。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、高血圧を治療する際に使用するものである。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、脂質異常症を治療する際に使用するものである。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、冠動脈性心疾患を治療する際に使用するものである。一実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、脂肪肝を治療する際に使用するものである。

【0435】

一実施形態では、本発明は、食物摂取を低減させるための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

【0436】

一実施形態では、本発明は、エネルギー消費を上昇させる際に使用する方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

【0437】



一実施形態では、本発明は、体重を減少させる際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

【0438】

一実施形態では、本発明は、耐糖能障害(IGT)から2型糖尿病への進行を遅延させる際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

【0439】

一実施形態では、本発明は、2型糖尿病からインスリン要求性糖尿病への進行を遅延させる際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

【0440】

一実施形態では、本発明は、食欲を調節する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

【0441】

一実施形態では、本発明は、満腹を誘導する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

【0442】

一実施形態では、本発明は、体重減少の成功後の体重回復を予防する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

【0443】

一実施形態では、本発明は、過体重又は肥満に関連する疾患又は状況を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

【0444】

一実施形態では、本発明は、大食症を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

【0445】

一実施形態では、本発明は、過食症を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

【0446】

一実施形態では、本発明は、アテローム硬化症を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

【0447】

一実施形態では、本発明は、高血圧を治療する際に使用するための方法であって、それ

10

20

30

40

50



を必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

【0448】

一実施形態では、本発明は、2型糖尿病を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

【0449】

一実施形態では、本発明は、耐糖能障害を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

10

【0450】

一実施形態では、本発明は、脂質異常症を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

【0451】

一実施形態では、本発明は、冠状動脈性心疾患を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

20

【0452】

一実施形態では、本発明は、脂肪肝を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい本発明による有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法に関する。

【0453】

一実施形態では、本発明は、2型糖尿病における疾患進行を遅延又は予防するため、肥満を治療するか、又は過体重を予防するため、食物摂取を減少させるため、エネルギー消費を上昇させるため、体重を減少させるため、耐糖能障害(IGT)から2型糖尿病への進行を遅延させるため；2型糖尿病からインスリン要求性糖尿病への進行を遅延させるため；食欲を調節するため；満腹を誘導するため；体重減少の成功後に体重回復を予防するため；過体重又は肥満に関連する疾患又は状況を治療するため；大食症を治療するため；過食症を治療するため；アテローム硬化症、高血圧、2型糖尿病、IGT、脂質異常症、冠状動脈性心疾患、脂肪肝を処置するため、ベータ-ブロッカー中毒を治療するため、X線、CTスキャン、及びNMRスキャン等の技術を使用する胃腸管の調査に関連して有用な、胃腸管の運動を阻害するために使用するための医薬品を調製するための、本発明によるグルカゴン誘導体の使用に関する。

30

40

【0454】

一実施形態では、本発明は、新規の安定な遷延性GLP-1/グルカゴン受容体コアゴニスト、治療法における前記ペプチドの使用、患者に前記ペプチドを投与することを含む治療方法、並びに糖尿病、肥満、及び関連疾患及び条件を治療する際に使用するための医薬品を製造する際の前記ペプチドの使用に関する。

【0455】

一実施形態では、本発明の誘導体を、低血糖、インスリン誘発性低血糖、反応性低血糖、糖尿病性低血糖、非糖尿病性低血糖、空腹時低血糖、薬物誘発性低血糖、胃バイパス誘発性低血糖、妊娠時低血糖、アルコール誘発性低血糖、インスリノーマ、及び/又はフォン・ギールケ病を治療又は予防するために使用する。

50



## 【 0 4 5 6 】

一実施形態では、本発明の誘導体は、胃腸管の運動性を阻害する際に使用するためのものであり、これは、X線、CTスキャニング、及びNMRスキャニング等の技術を使用する胃腸管の調査に関連して有用である。

## 【 0 4 5 7 】

一実施形態では、上記の誘導体は、ベータ-ブロッカー中毒を治療する際に使用するためのものである。一実施形態では、誘導体は、脂肪肝を治療又は防止する際に使用するためのものである。一実施形態では、誘導体は、低血糖を治療又は防止する際に使用するためのものである。一実施形態では、誘導体は、インスリン誘発性低血糖を治療又は防止する際に使用するためのものである。一実施形態では、誘導体は、反応性低血糖を治療又は防止する際に使用するためのものである。一実施形態では、誘導体は、糖尿病性低血糖を治療又は防止する際に使用するためのものである。一実施形態では、誘導体は、非糖尿病性低血糖を治療又は防止する際に使用するためのものである。一実施形態では、誘導体は、空腹時低血糖を治療又は防止する際に使用するためのものである。一実施形態では、誘導体は、薬物誘発性低血糖を治療又は防止する際に使用するためのものである。一実施形態では、誘導体は、胃バイパス誘発性低血糖を治療又は防止する際に使用するためのものである。一実施形態では、誘導体は、妊娠時低血糖を治療又は防止する際に使用するためのものである。一実施形態では、誘導体は、アルコール誘発性低血糖を治療又は防止する際に使用するためのものである。一実施形態では、誘導体は、インスリノーマを治療又は防止する際に使用するためのものである。一実施形態では、誘導体は、フォン・ギールケ病を治療又は防止する際に使用するためのものである。

## 【 0 4 5 8 】

一実施形態では、上記の誘導体を、誘導体の治療有効量を提供する投薬計画で投与する。本明細書で使用する場合、本発明の誘導体の「治療有効量」という用語は、所定の疾患及び/又はその合併症の臨床症状を治癒するか、緩和するか、又は部分的に阻止するのに十分な量を指す。これを達成するのに適当な量は、「治療有効量」と定義される。各目的のための有効量は、疾患又は損傷の重症度、さらには、対象の体重及び全身状況に左右されることになる。適切な投薬量の決定は、日常的な試験法を使用して、マトリックス値を構築し、そのマトリックス中の異なる点を試験することによって達成することができ、これらはすべて訓練を受けた医師又は獣医の通常の技術水準の範囲内であることが理解されるであろう。

## 【 0 4 5 9 】

「治療」、「治療する」という用語、及び他のその変形は、本明細書で使用する場合、疾患又は障害等の状態に対抗することを目的とした患者の管理及び看護を指す。この用語は、症状及びその合併症を緩和するため、疾患、障害、若しくは状態の進行を遅延させるため、疾患、障害、若しくは状態を治癒若しくは解消するため、並びに/又は、状態を予防するため（ここで、予防は、疾患、状態、又は障害と闘うことを目的とした患者の管理及び看護として理解され、症状又は合併症の発病を予防するための該当する活性化化合物（1又は複数）の投与を含む）に、該当する活性化化合物（1又は複数）を投与すること等、患者が罹患している所定の状態のための治療の全範囲を含むことが意図されている。治療される患者は、好ましくは、哺乳動物、特に、ヒトであるが、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、又はブタ等の他の動物の治療も、本発明の範囲内である。

## 【 0 4 6 0 】

中間体生成物

一実施形態では、本発明は、C末端アミド、及びグルカゴン（配列番号1）と比較して次の改変のいずれか1つを含むグルカゴンペプチドの形態の中間体生成物に関する：

- a) [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Leu27,Ser28] ;
- b) [Aib2,Leu10,Arg20,Lys21,Leu27,Ser28] ;
- c) [Aib2,Leu10,Arg20,Lys24,Leu27,Ser28] ;
- d) [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Lys28] ;

10

20

30

40

50



- e) [Aib2, Leu10, Arg20, Leu27, Ser28, Lys29] ;
- f) [Aib2, Leu10, Arg20, Leu27, Ser28] ;
- g) [Aib2, Leu10, Lys16, Lys17, Glu21, Leu27] ;
- h) [Aib2, Leu10, Lys17, Ala18, Glu21, Leu27, Lys29] ;
- i) [Aib2, Leu10, Ala18, Arg20, Glu21, Leu27, Lys29] ;
- j) [Aib2, Leu10, Lys16, Arg20, Glu21, Leu27] ;
- k) [Aib2, Leu10, Thr16, Lys20, Leu27, Ser28, Lys29] ;
- l) [Aib2, Leu10, Arg20, Glu21, Leu27, Lys29] ;
- m) [Aib2, Leu10, Glu16, Lys20, Leu27, Ser28, Lys29] ;
- n) [Aib2, Leu10, Lys16, Glu20, Leu27, Ser28, Lys29] ; 10
- o) [Aib2, Leu10, Thr16, Arg24, Leu27, Ser28, Lys29] ;
- p) [Acb2, Leu10, Glu15, Glu16, Arg20, Leu27, Lys28] ;
- q) [Aib2, Leu10, Lys16, Lys17, Ala18, Arg20, Glu21, Ala24, Leu27] ;
- r) [Aib2, Leu10, Lys16, Ala18, Arg20, Glu21, Ala24, Leu27] ;
- s) [Aib2, Leu10, Lys16, Arg20, Glu21, Ala24, Leu27] ;
- t) [Aib2, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;
- u) [Aib2, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys29] ;
- v) [Aib2, Leu10, Glu15, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;
- w) [Aib2, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;
- x) [Aib2, Leu10, Glu15, Lys17, Ala18, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ; 20
- y) [Aib2, Leu10, Glu15, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;
- z) [Aib2, Leu10, Leu16, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;
- aa) [Aib2, His3, Leu10, Glu15, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;
- bb) [Aib2, Leu10, Lys16, Glu21, Val27, Lys28, Gly29] ;
- cc) [Aib2, Leu10, Lys16, Glu21, Leu27] ;
- dd) [Aib2, His3, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;
- ee) [Aib2, His3, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Ala24, Leu27, Lys28] ;
- ff) [Aib2, His3, Leu10, Glu15, Lys16, Arg20, Glu21, Ala24, Leu27, Ser28] ;
- gg) [Aib2, His3, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;
- hh) [Aib2, His3, Leu10, Glu15, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ; 30
- ii) [Acb2, His3, Leu10, Glu15, Leu27, Lys28] ;
- jj) [Acb2, Leu10, Glu15, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28]
- kk) [Aib2, His3, Leu10, Glu15, Arg20, Leu27, Lys28] ;
- ll) [Aib2, Leu10, Leu16, Arg20, Glu21, Leu27, Lys29] ;
- mm) [Aib2, Leu10, Ala16, Arg20, Glu21, Leu27, Lys29] ;
- nn) [Aib2, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys29] ;
- oo) [Aib2, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;
- pp) [Aib2, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;
- qq) [Aib2, Leu10, Ala16, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;
- rr) [Acb2, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ; 40
- ss) [Acb2, Leu10, Leu16, Arg20, Leu27, Lys28] ;
- tt) [Acb2, Leu10, Arg12, Leu16, Arg20, Leu27, Lys28] ;
- uu) [Acb2, Leu10, Leu16, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;
- vv) [Acb2, Leu10, Leu16, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;
- ww) [Acb2, Leu10, Leu16, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;
- xx) [Acpr2, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;
- yy) [Aib2, Leu10, Aib16, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;
- zz) [Aib2, Leu10, Glu15, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;
- aaa) [Aib2, Leu10, Leu16, Leu27, Lys28] ;
- bbb) [Aib2, Leu10, Glu15, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ; 50



ccc) [Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28] ;  
 ddd) [Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 eee) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28] ;  
 fff) [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28] ;  
 ggg) [Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 hhh) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 iii) [Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 jjj) [Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28] ;  
 kkk) [Acb2,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28] ;  
 lll) [Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28] ;  
 mmm) [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys29] ;  
 nnn) [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29] ;  
 ooo) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 ppp) [Aib2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 qqq) [Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28] ;  
 rrr) [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Ser21,Leu27,Lys28] ;  
 sss) [Aib2,Val10,Ala16,Leu27,Lys28] ;  
 ttt) [Aib2,Val10,Leu16,Leu27,Lys28] ;  
 uuu) [Aib2,Val10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28] ; 又は  
 vvv) [Aib2,Val10,Arg12,Leu16,Leu27,Lys28] ;  
 又は薬学的に許容されるそれらの塩、アミド、若しくはエステル。

10

## 【0461】

一実施形態では、本発明は、C末端アミド、及びグルカゴン（配列番号1）と比較して上記で定義したとおり改変a) ~ ppp)のいずれか1つを含むグルカゴンペプチドの形態の中間体生成物又は薬学的に許容されるその塩、アミド、若しくはエステルに関する。

## 【0462】

本発明のグルカゴン誘導体は、(i) 中間体グルカゴンペプチドの調製、続く(ii) 置換基の結合を含む段階的合成方法に従うことによって調製することができる。この方法の工程(i)は、保護アミノ酸を使用して、実験セクションに記載されているとおり標準的な固相合成法を使用して達成することができ；樹脂からの切断の後に、グルカゴンペプチドを、本明細書において実験セクションに記載されている分取HPLCを使用しての精製にかけて、中間体生成物を得ることができる。別法では、この方法の工程(i)、中間体生成物の調製を、WO2009/083549に記載の半組換え（semirecombinant）合成法を使用して実施することができる。この方法の工程(ii)、すなわち、最終生成物をもたらす中間体生成物への置換基の結合、更には、置換基自体の調製は、WO2009/083549に記載の方法を使用して達成することができる。

30

## 【0463】

## 発明の実施形態

本発明のグルカゴン誘導体は、次の非限定的実施形態の1つ又は複数によって更に特徴づけることができる：

40

1. 式Iのアミノ酸配列（配列番号4及び配列番号5に対応する）：

His-X<sub>2</sub>-X<sub>3</sub>-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X<sub>10</sub>-Ser-X<sub>12</sub>-Tyr-Leu-X<sub>15</sub>-X<sub>16</sub>-X<sub>17</sub>-X<sub>18</sub>-Ala-X<sub>20</sub>-X<sub>21</sub>-Phe-Val-X<sub>24</sub>-Trp-Leu-X<sub>27</sub>-X<sub>28</sub>-X<sub>29</sub>-X<sub>30</sub> [I]

[式中、

X<sub>2</sub>は、Aib、Acb、又はAcprを表し；

X<sub>3</sub>は、Gln又はHisを表し；

X<sub>10</sub>は、Leu、Ile、又はValを表し；

X<sub>12</sub>は、Lys又はArgを表し；

X<sub>15</sub>は、Asp又はGluを表し；

X<sub>16</sub>は、Ser、Ala、Leu、Thr、Glu、Aib、Ile、Val、又はLysを表し；

50



$X_{17}$  は、Arg又はLysを表し；  
 $X_{18}$  は、Arg、Ala、又はLysを表し；  
 $X_{20}$  は、Gln、Arg、Glu、Aib、又はLysを表し；  
 $X_{21}$  は、Asp、Glu、Ser、又はLysを表し；  
 $X_{24}$  は、Gln、Ala、Arg、Glu、Aib、又はLysを表し；  
 $X_{27}$  は、Met、Leu、又はValを表し；  
 $X_{28}$  は、Asn、Ser、Thr、Gln、Ala、Gly、Glu、又はLysを表し；  
 $X_{29}$  は、Thr、Gly、Ser、Gln、Ala、Glu、又はLysを表し；  
 $X_{30}$  は、Lysを表すか、又は $X_{30}$ は存在せず；

このアミノ酸配列は、12、16、17、18、20、21、24、28、29、及び/又は30位の1つ又は複数にリシン残基を含む] 10

を含むグルカゴン誘導体であって、前記グルカゴン誘導体は、親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基を含み、前記負荷電部分の1個は、親油性部分から遠位にあり、アミノ酸16、17、18、20、21、24、28、29、又は30位の1つ中のリシン残基の 1位に結合しており；前記グルカゴン誘導体はC末端アミドである、グルカゴン誘導体、又は薬学的に許容されるその塩又はプロドラッグ。

【 0 4 6 4 】

2. 式Iのアミノ酸配列（配列番号2及び配列番号3に対応する）：

His- $X_2$ - $X_3$ -Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp- $X_{10}$ -Ser- $X_{12}$ -Tyr-Leu- $X_{15}$ - $X_{16}$ - $X_{17}$ - $X_{18}$ -Ala- $X_{20}$ - $X_{21}$ -Phe-Val- $X_{24}$ -Trp-Leu- $X_{27}$ - $X_{28}$ - $X_{29}$ - $X_{30}$  [I] 20

[ 式中、

$X_2$  は、Aib、Acb、又はAcprを表し；  
 $X_3$  は、Gln又はHisを表し；  
 $X_{10}$  は、Leu、Ile、又はValを表し；  
 $X_{12}$  は、Lys又はArgを表し；  
 $X_{15}$  は、Asp又はGluを表し；  
 $X_{16}$  は、Ser、Ala、Leu、Thr、Glu、Aib、Ile、Val、又はLysを表し；  
 $X_{17}$  は、Arg又はLysを表し；  
 $X_{18}$  は、Arg、Ala、又はLysを表し；  
 $X_{20}$  は、Gln、Arg、Glu、Aib、又はLysを表し；  
 $X_{21}$  は、Asp、Glu、又はLysを表し；  
 $X_{24}$  は、Gln、Ala、Arg、Glu、Aib、又はLysを表し；  
 $X_{27}$  は、Met、Leu、又はValを表し；  
 $X_{28}$  は、Asn、Ser、Thr、Gln、Ala、Gly、Glu、又はLysを表し；  
 $X_{29}$  は、Thr、Gly、Ser、Gln、Ala、Glu、又はLysを表し；  
 $X_{30}$  は、Lysを表すか、又は $X_{30}$ は存在せず；

このアミノ酸配列は、12、16、17、18、20、21、24、28、29、及び/又は30位の1つ又は複数にリシン残基を含む] を含むグルカゴン誘導体であって、前記グルカゴン誘導体は、親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基を含み、前記負荷電部分の1個は、親油性部分から遠位にあり、アミノ酸16、17、18、20、21、24、28、29、又は30位の1つ中のリシン残基の 1位に結合しており；前記グルカゴン誘導体はC末端アミドである、グルカゴン誘導体、又は薬学的に許容されるその塩又はプロドラッグ。 40

【 0 4 6 5 】

3.  $X_2$  が、Aib、Acb、又はAcprを表し；

$X_3$  が、Gln又はHisを表し；  
 $X_{10}$  が、Leuを表し；  
 $X_{12}$  が、Lys又はArgを表し；  
 $X_{15}$  が、Asp又はGluを表し；  
 $X_{16}$  が、Ser、Ala、Leu、Thr、Glu、Aib、又はLysを表し；  
 $X_{17}$  が、Arg又はLysを表し；



$X_{18}$  が、Arg又はAlaを表し；  
 $X_{20}$  が、Gln、Arg、Glu、又はLysを表し；  
 $X_{21}$  が、Asp、Glu、又はLysを表し；  
 $X_{24}$  が、Gln、Ala、Arg、又はLysを表し；  
 $X_{27}$  が、Met、Leu、又はValを表し；  
 $X_{28}$  が、Asn、Ser、又はLysを表し；  
 $X_{29}$  が、Thr、Gly、又はLysを表し；  
 $X_{30}$  が、Lysを表すか、又は $X_{30}$ が存在しない、  
 上記の式Iのグルカゴン誘導体。

## 【 0 4 6 6 】

10

4. 置換基が、親油性部分及び3個以上の負荷電部分を含む置換基を含み、前記負荷電部分の1個は、親油性部分から遠位にあり、前記置換基が、上記グルカゴン誘導体の次のアミノ酸位16、17、18、20、21、24、28、29、及び/又は30位の1つ中のLysの位に結合している、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

## 【 0 4 6 7 】

5.  $X_2$  が、Aib、Acb、又はAcprを表し；  
 $X_3$  が、Gln又はHisを表し；  
 $X_{10}$  が、Leuを表し；  
 $X_{12}$  が、Lys又はArgを表し；  
 $X_{15}$  が、Asp又はGluを表し；  
 $X_{16}$  が、Ser、Ala、Leu、Thr、Glu、又はLysを表し；  
 $X_{17}$  が、Arg又はLysを表し；  
 $X_{18}$  が、Arg又はAlaを表し；  
 $X_{20}$  が、Gln、Arg、Glu、又はLysを表し；  
 $X_{21}$  が、Asp、Glu、又はLysを表し；  
 $X_{24}$  が、Gln、Ala、Arg、又はLysを表し；  
 $X_{27}$  が、Met、Leu、又はValを表し；  
 $X_{28}$  が、Asn、Ser、又はLysを表し；  
 $X_{29}$  が、Thr、Gly、又はLysを表し；  
 $X_{30}$  が、Lysを表すか、又は $X_{30}$ が存在しない、

20

30

上記の式Iのグルカゴン誘導体。

## 【 0 4 6 8 】

6.  $X_2$  がAib、Acb、又はAcprを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 7.  $X_2$  がAibを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 8.  $X_2$  がAcbを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 9.  $X_2$  がAcprを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

## 【 0 4 6 9 】

10.  $X_3$  がGln又はHisを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 11.  $X_3$  がGlnを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 12.  $X_3$  がHisを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

40

## 【 0 4 7 0 】

13.  $X_{10}$  がLeu、Ile、又はValを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 14.  $X_{10}$  がLeuを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 15.  $X_{10}$  がIleを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 16.  $X_{10}$  がValを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

## 【 0 4 7 1 】

17.  $X_{12}$  がLys又はArgを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 18.  $X_{12}$  がLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 19.  $X_{12}$  がArgを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

## 【 0 4 7 2 】

50



20.  $X_{15}$ がAsp又はGluを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

21.  $X_{15}$ がAspを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

22.  $X_{15}$ がGluを表す、先行実施形態のいずれか1つによるグルカゴン誘導体。

【0473】

23.  $X_{16}$ がSer、Ala、Leu、Thr、Glu、Aib、Ile、Val、又はLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

24.  $X_{16}$ がSer、Ala、Leu、Thr、Glu、Aib、又はLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

25.  $X_{16}$ がSer、Ala、Leu、Thr、Glu、又はLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

26.  $X_{16}$ がAla、Leu、Thr、Glu、又はLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

10

27.  $X_{16}$ がSerを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

28.  $X_{16}$ がAlaを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

29.  $X_{16}$ がLeuを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

30.  $X_{16}$ がThrを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

31.  $X_{16}$ がGluを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

32.  $X_{16}$ がLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

【0474】

33.  $X_{17}$ がArg又はLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

34.  $X_{17}$ がArgを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

35.  $X_{17}$ がLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

20

【0475】

36.  $X_{18}$ がArg又はAlaを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

37.  $X_{18}$ がArgを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

38.  $X_{18}$ がAlaを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

【0476】

39.  $X_{20}$ がGln、Arg、Glu、Aib、又はLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

40.  $X_{20}$ がGln、Arg、Glu、又はLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

41.  $X_{20}$ がGlnを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

42.  $X_{20}$ がArgを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

43.  $X_{20}$ がGluを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

30

44.  $X_{20}$ がLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

【0477】

45.  $X_{21}$ がAsp、Glu、又はLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

46.  $X_{21}$ がGlu又はLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

47.  $X_{21}$ がAspを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

48.  $X_{21}$ がGluを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

49.  $X_{21}$ がLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

【0478】

50.  $X_{24}$ がGln、Ala、Arg、Glu、Aib、又はLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

51.  $X_{24}$ がGln、Ala、Arg、又はLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

40

52.  $X_{24}$ がGlnを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

53.  $X_{24}$ がAlaを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

54.  $X_{24}$ がArgを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

55.  $X_{24}$ がLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

【0479】

56.  $X_{27}$ がMet、Leu、又はValを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

57.  $X_{27}$ がLeu又はValを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

58.  $X_{27}$ がMetを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

59.  $X_{27}$ がLeuを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

60.  $X_{27}$ がValを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

50



## 【 0 4 8 0 】

61.  $X_{28}$ がAsn、Ser、Thr、Gln、Ala、Gly、Glu、又はLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 62.  $X_{28}$ がAsn、Ser、又はLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 63.  $X_{28}$ がAsnを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 64.  $X_{28}$ がSerを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 65.  $X_{28}$ がLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

## 【 0 4 8 1 】

66.  $X_{29}$ がThr、Gly、Ser、Gln、Ala、Glu、又はLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 67.  $X_{29}$ がThr、Gly、又はLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 68.  $X_{29}$ がGly、又はLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 69.  $X_{29}$ がThrを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 70.  $X_{29}$ がGlyを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 71.  $X_{29}$ がLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

## 【 0 4 8 2 】

72.  $X_{30}$ がLysを表す、又は $X_{30}$ が存在しない、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 73.  $X_{30}$ がLysを表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。  
 74.  $X_{30}$ が存在しない、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

## 【 0 4 8 3 】

75.  $X_2$ が、Aibを表し；  
 $X_{20}$ が、Argを表し；  
 $X_{21}$ が、Gluを表す、  
 上記の式Iのグルカゴン誘導体。

## 【 0 4 8 4 】

76. 次のアミノ酸置換：  
 [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Leu27,Ser28]；  
 [Aib2,Leu10,Arg20,Lys21,Leu27,Ser28]；  
 [Aib2,Leu10,Arg20,Lys24,Leu27,Ser28]；  
 [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Lys28]；  
 [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]；  
 [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28]；  
 [Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Glu21,Leu27]；  
 [Aib2,Leu10,Lys17,Ala18,Glu21,Leu27,Lys29]；  
 [Aib2,Leu10,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]；  
 [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Leu27]；  
 [Aib2,Leu10,Thr16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29]；  
 [Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]；  
 [Aib2,Leu10,Glu16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29]；  
 [Aib2,Leu10,Lys16,Glu20,Leu27,Ser28,Lys29]；  
 [Aib2,Leu10,Thr16,Arg24,Leu27,Ser28,Lys29]；  
 [Acb2,Leu10,Glu15,Glu16,Arg20,Leu27,Lys28]；  
 [Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]；  
 [Aib2,Leu10,Lys16,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]；  
 [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]；  
 [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]；  
 [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]；  
 [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]；  
 [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]；  
 [Aib2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]；

10

20

30

40

50



[Aib2, His3, Leu10, Glu15, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;  
 [Aib2, Leu10, Lys16, Glu21, Val27, Lys28, Gly29] ;  
 [Aib2, Leu10, Lys16, Glu21, Leu27] ;  
 [Aib2, His3, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;  
 [Aib2, His3, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Ala24, Leu27, Lys28] ;  
 [Aib2, His3, Leu10, Glu15, Lys16, Arg20, Glu21, Ala24, Leu27, Ser28] ;  
 [Acb2, His3, Leu10, Glu15, Leu27, Lys28] ;  
 [Acb2, Leu10, Glu15, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;  
 [Aib2, His3, Leu10, Glu15, Arg20, Leu27, Lys28] ;  
 [Aib2, Leu10, Leu16, Arg20, Glu21, Leu27, Lys29] ;  
 [Aib2, Leu10, Ala16, Arg20, Glu21, Leu27, Lys29] ;  
 [Aib2, Leu10, Ala16, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;  
 [Acb2, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;  
 [Acb2, Leu10, Leu16, Arg20, Leu27, Lys28] ;  
 [Acb2, Leu10, Arg12, Leu16, Arg20, Leu27, Lys28] ;  
 [Acb2, Leu10, Leu16, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;  
 [Acb2, Leu10, Leu16, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;  
 [Acpr2, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;  
 [Aib2, Leu10, Aib16, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;  
 [Aib2, Leu10, Leu16, Leu27, Lys28] ;  
 [Aib2, Leu10, Leu16, Arg20, Leu27, Lys28] ;  
 [Aib2, Leu10, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;  
 [Aib2, Leu10, Glu15, Arg20, Leu27, Lys28] ;  
 [Aib2, Leu10, Ala16, Arg20, Leu27, Lys28] ;  
 [Acb2, Leu10, Arg12, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;  
 [Aib2, Leu10, Arg12, Ala16, Arg20, Leu27, Lys28] ;  
 [Acb2, Leu10, Glu15, Leu27, Lys28] ;  
 [Aib2, Leu10, Arg12, Ala16, Leu27, Lys28] ;  
 [Aib2, Leu10, Ala16, Arg20, Leu27, Lys29] ;  
 [Aib2, Leu10, Ala16, Arg20, Leu27, Ser28, Lys29] ; 及び  
 [Aib2, Leu10, Arg12, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28]  
 のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

【 0 4 8 5 】

77. 次のアミノ酸置換：

[Aib2, Leu10, Ala16, Arg20, Leu27, Lys28] ;  
 [Acb2, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ; 及び  
 [Aib2, Leu10, Glu15, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28]

のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

【 0 4 8 6 】

78. 次のアミノ酸置換：

[Aib2, Leu10, Glu15, Lys17, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ;  
 [Acb2, Leu10, Glu15, Arg20, Glu21, Leu27, Lys28] ; 及び  
 [Aib2, Leu10, Ala16, Arg20, Leu27, Lys28]

のいずれか1つを有するアミノ酸配列を含む、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

【 0 4 8 7 】

79. 次のアミノ酸置換：

[Aib2, Leu10, Glu15, Lys17, Arg20, Ser21, Leu27, Lys28]

を有するアミノ酸配列を含む、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

【 0 4 8 8 】

80. 次のアミノ酸置換：

10

20

30

40

50



[Aib2, Val10, Ala16, Leu27, Lys28]

を有するアミノ酸配列を含む、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

【0489】

81. アミノ酸配列が、12、16、17、18、20、21、24、28、29、及び/又は30位の1つ又は複数にリシン残基を含む、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

82. アミノ酸配列が、12、16、17、18、20、21、24、28、29、及び/又は30位の1つ、2つ、又は3つにリシン残基を含む、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

83. アミノ酸配列が、12、16、17、18、20、21、24、28、29、及び/又は30位の1つ又は2つにリシン残基を含む、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

84. アミノ酸配列が、12、16、17、18、20、21、24、28、29、及び/又は30位の2つ；特に、12及び28位にリシン残基を含む、上記の式Iのグルカゴン誘導体。 10

85. アミノ酸配列が、12、16、17、18、20、21、24、28、29、又は30位にリシン残基を含む、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

【0490】

86. 親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基が、16、21、24、28、29、又は30位のリシン残基の 位に結合している、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

87. 親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基が、16、21、24、28、29、又は30位のリシン残基の 位に結合している、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

88. 親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基が、16、24、28、29、又は30位のリシン残基の 位に結合している、上記の式Iのグルカゴン誘導体。 20

89. 親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基が、24、28、29、又は30位のリシン残基の 位に結合している、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

90. 親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基が、28、29、及び30位のリシン残基の 位に結合している、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

91. 親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基が、28位のリシン残基の 位に結合している、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

【0491】

92. 親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基が、式IIの置換基：

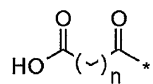
$Z^1-Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}$  -

[ 式中、

$Z^1$  - は、式IIaの構造

【0492】

【化91】



【0493】

(ここで、nは、6～20であり；記号\*は、隣接する架橋基の窒素との結合点を表す)を表し；

$Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}$  - は、架橋基を表し、 $Z_2 \sim Z_{10}$  はそれぞれ個別に、次のアミノ酸残基：Glu、Glu、Gly、Ser、Ala、Thr、又はAdoのいずれか1つによって表されるか；又は $Z^2 \sim Z^{10}$  の1個又は複数の残基は存在しないが；ただし、残基 $Z^2 \sim Z^{10}$  の少なくとも2個は存在することを条件とし；

$Z^1-Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}$  - は合わせて、少なくとも3個の負電荷を含有し；

前記置換基は、式IによるLys残基の 位に結合している]

である、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

【0494】

93. 式IIの $Z^1$  が、式IIaによる構造：

【0495】

10

20

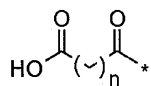
30

40

50



## 【化 9 2】



## 【 0 4 9 6 】

[ 式中、

nは、6～20の範囲の整数を表し；

記号\*は、隣接する基の窒素との結合点を表す ] を表し、

Z<sub>2</sub>、Z<sub>3</sub>、Z<sub>4</sub>、Z<sub>5</sub>、Z<sub>6</sub>、Z<sub>7</sub>、Z<sub>8</sub>、Z<sub>9</sub>、Z<sub>10</sub>が個別に、次のアミノ酸：Glu、Glu、Gly、Ser、Ala、Thr、及びAdoによって表されるか；又はZ<sub>2</sub>、Z<sub>3</sub>、Z<sub>4</sub>、Z<sub>5</sub>、Z<sub>6</sub>、Z<sub>7</sub>、Z<sub>8</sub>、Z<sub>9</sub>、Z<sub>10</sub>の1個又は複数は存在しなくてもよいが；ただし、残基Z<sub>2</sub>～Z<sub>10</sub>の少なくとも2個は存在することを条件とし；

Z<sub>1</sub>-Z<sub>2</sub>-Z<sub>3</sub>-Z<sub>4</sub>-Z<sub>5</sub>-Z<sub>6</sub>-Z<sub>7</sub>-Z<sub>8</sub>-Z<sub>9</sub>-Z<sub>10</sub>-は合わせて、少なくとも3個の負電荷を含有し；

前記置換基は、式IによるLys残基の 位に結合している、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

## 【 0 4 9 7 】

94. 式IIaのZ<sup>1</sup>中のnが、14、16、又は18を表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

95. 式IIaのZ<sup>1</sup>中のnが、14を表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

96. 式IIaのZ<sup>1</sup>中のnが、16を表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

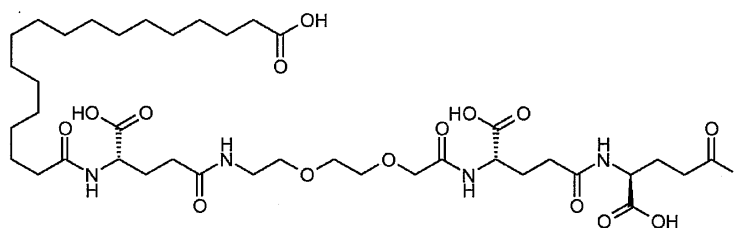
97. 式IIaのZ<sup>1</sup>中のnが、18を表す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

## 【 0 4 9 8 】

98. 前記置換基が、次の9つの式 (Chem.A～Chem.I) のいずれか1つによる構造を表し、\*は、式IのLys残基の 位の窒素原子との結合点を示す、上記の式Iのグルカゴン誘導体：

## 【 0 4 9 9 】

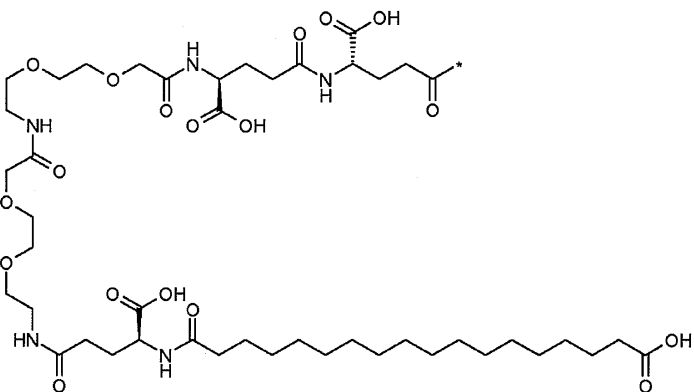
## 【化 9 3】



(Chem.A);

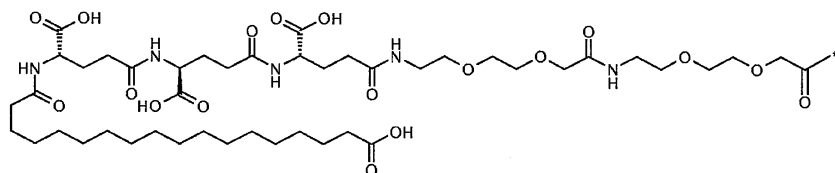


【化 9 4】



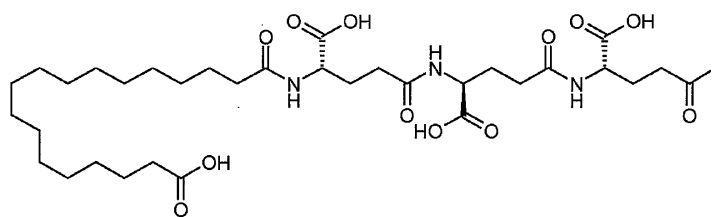
10

(Chem.B);

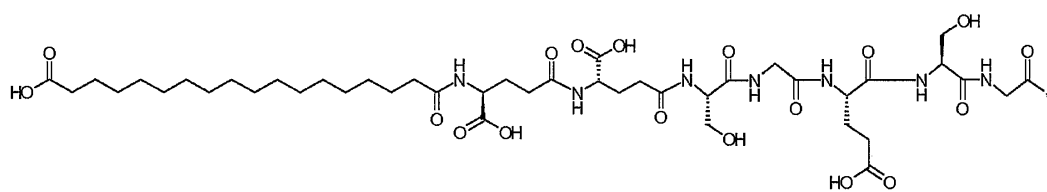


(Chem.C);

20

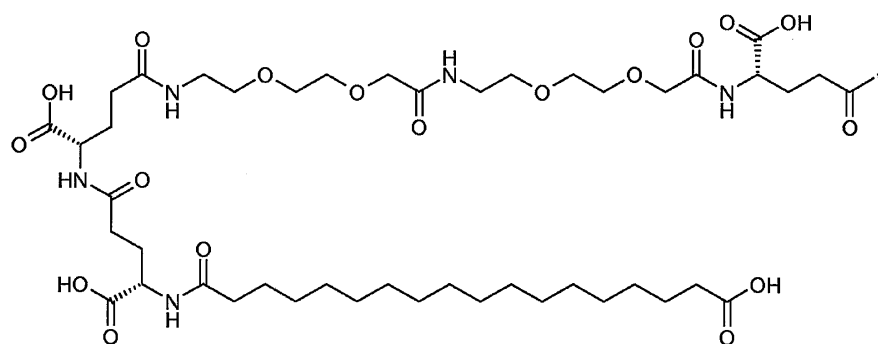


(Chem.D);



30

(Chem.E);

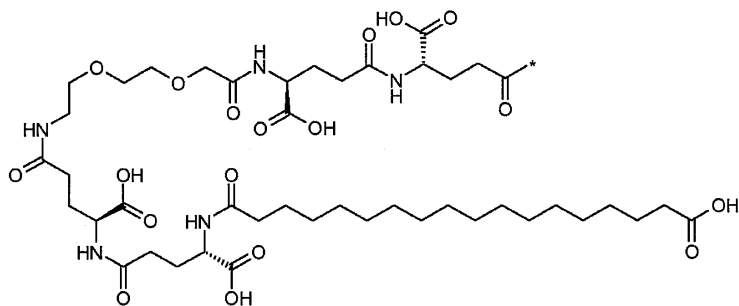


40

(Chem.F);

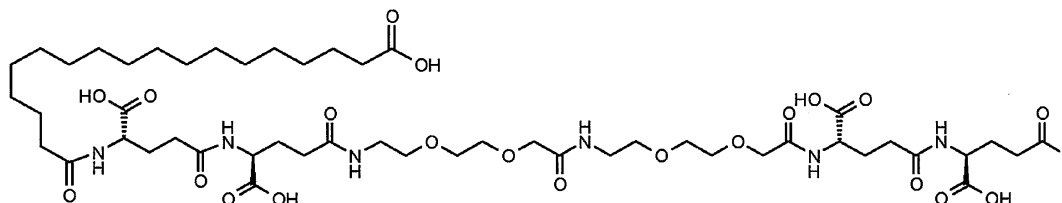


【化 9 5】



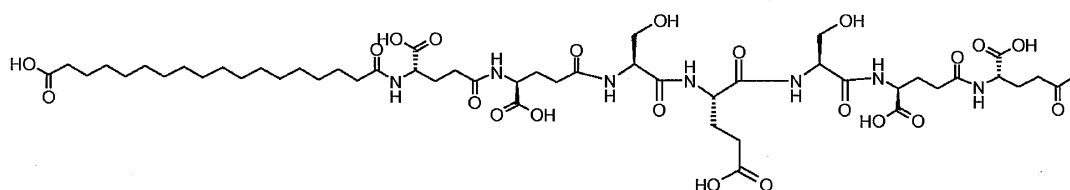
(Chem.G);

10



(Chem.H); 及び

20



(Chem.I).

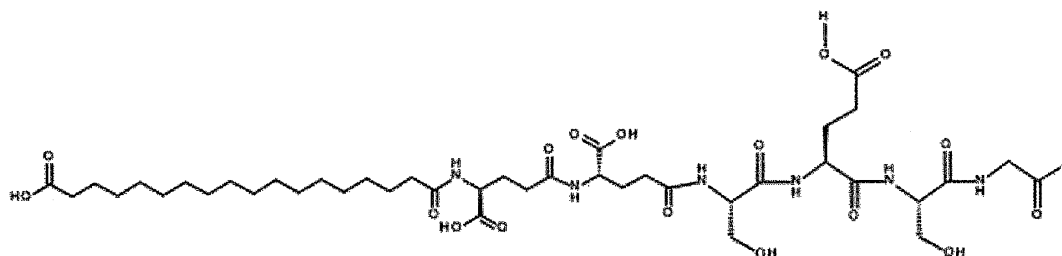
【 0 5 0 0】

99. 前記置換基が、次の式 (Chem.J) による構造を表し、\*が、式IのLys残基の 位の窒素原子との結合点を示す、上記の式Iのグルカゴン誘導体：

【 0 5 0 1】

30

【化 9 6】



(Chem.J).

40

【 0 5 0 2】

100. 前記置換基が、上記のChem.A ~ Chem.Iのいずれか1つによる構造を表し、\*が、式IによるLys残基の 位の窒素原子との結合点を示す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

101. 前記置換基が、上記の式Chem.B、Chem.C、若しくはChem.Hによるか、又は式Chem.Jによる構造を表し、\*が、式IによるLys残基の 位の窒素原子との結合点を示す、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

【 0 5 0 3】

102. N<sup>16</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]

50



N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド；

50



50



N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28

50



N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル

50



N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]ア

50



セチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド ;

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド ;

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド ;

N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Acb2,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド ;

N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド ;

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys29]-グルカゴンアミド ;

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド ;

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド ; 及び

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

からなる群から選択される本発明のグルカゴン誘導体。

【 0 5 0 4 】

103. N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Ser21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド ;

N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Val10,Leu16,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド ;

N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]ア

10

20

30

40

50



セチル]-[Aib2,Val10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド；及び

N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Val10,Arg12,Leu16,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

からなる群から選択される本発明のグルカゴン誘導体。

【0505】

104. N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Val10,Ala16,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミドである、本発明のグルカゴン誘導体。

10

【0506】

本発明の更なる実施形態は、以下に関する：

105. GLP-1及びグルカゴン受容体コアゴニストである、上記の式Iのグルカゴン誘導体。

106. 前記置換基が、アルブミンに非共有結合で結合している、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

107. 前記置換基が、生理学的pHで負荷電である、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

【0507】

20

108. DPPIV保護化合物である、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

109. DPPIV安定化されている、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

【0508】

110. グルカゴン受容体のアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

111. EC<sub>50</sub><10nMを有するグルカゴン受容体のアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

112. EC<sub>50</sub><1nMを有するグルカゴン受容体のアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

113. EC<sub>50</sub><100pMを有するグルカゴン受容体のアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

30

114. EC<sub>50</sub><10pMを有するグルカゴン受容体のアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

【0509】

115. GLP-1受容体のアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

116. EC<sub>50</sub><100pMを有するGLP-1受容体のアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

117. EC<sub>50</sub><50pMを有するGLP-1受容体のアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

40

118. EC<sub>50</sub><10pMを有するGLP-1受容体のアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

119. EC<sub>50</sub><100pMを有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対してはEC<sub>50</sub><1nMを有するアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

120. EC<sub>50</sub><50pMを有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対してはEC<sub>50</sub><1nMを有するアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

121. EC<sub>50</sub><10pMを有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対してはEC<sub>50</sub><1nMを有するアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

122. EC<sub>50</sub><50pMを有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対してはEC<sub>50</sub><100pMを有するアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

50



123. EC<sub>50</sub><10pMを有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対してはEC<sub>50</sub><100pMを有するアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

124. EC<sub>50</sub><10pMを有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対してはEC<sub>50</sub><50pMを有するアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

125. EC<sub>50</sub><1pMを有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対してはEC<sub>50</sub><50pMを有するアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

126. EC<sub>50</sub><10pMを有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対してはEC<sub>50</sub><10pMを有するアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

127. GLP-1受容体に対する $EC_{50}$ <グルカゴン受容体に対する $EC_{50}$ であるGLP-1/グルカゴン  
コアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

128. GLP-1受容体に対するEC<sub>50</sub>（例えば、pMで）がグルカゴン受容体に対するEC<sub>50</sub>（例えば、pMで）よりも大きいGLP-1/グルカゴンコアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

【 0 5 1 0 】

本発明の更なる実施形態は、次の組み合わせに関する：

129. GLP-1化合物又はインスリン化合物と組み合わせた、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

130. GLP-1化合物と組み合わせた、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

131. インスリン化合物と組み合わせた、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

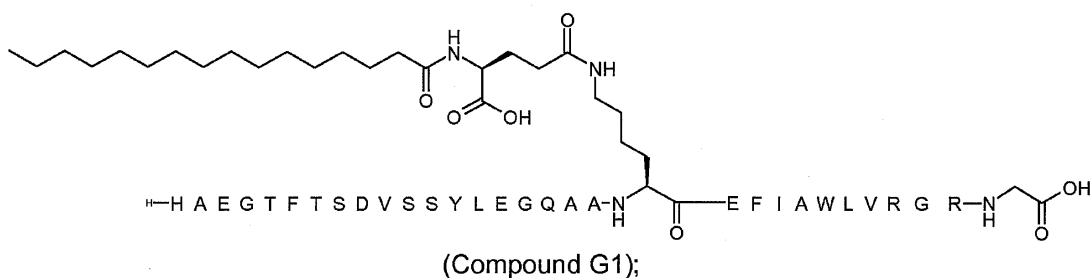
【 0 5 1 1 】

132. GLP-1化合物が、

N- 26-((S)-4-カルボキシ-4-ヘキサデカノイルアミノ-ブチリル)[Arg34]GLP-1-(7-37) :

【 0 5 1 2 】

【化 9 7】

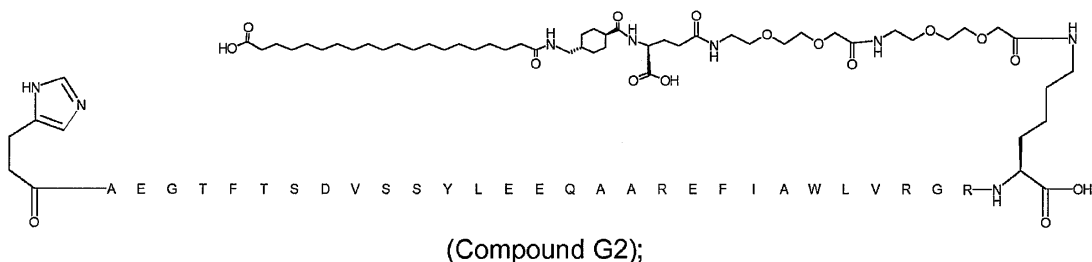


【 0 5 1 3 】

N-37-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-カルボキシ-4-({trans-4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサノール}アミノ)ブチリルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチル][デサミノHis7,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]GLP-1-(7-37) ;

【 0 5 1 4 】

【化 9 8】



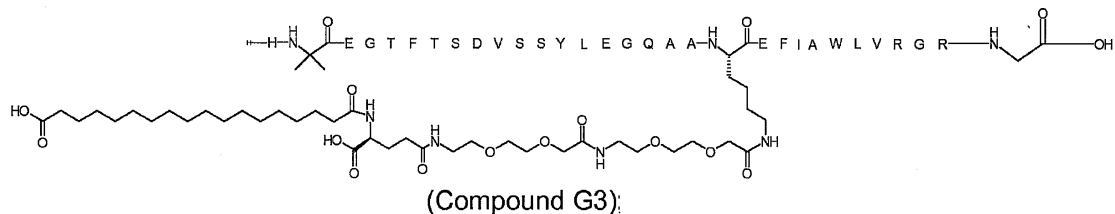


【 0 5 1 5 】

N- 26-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブチリルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチル][Aib8,Arg34]GLP-1-(7-37) :

【 0 5 1 6 】

【 化 9 9 】



10

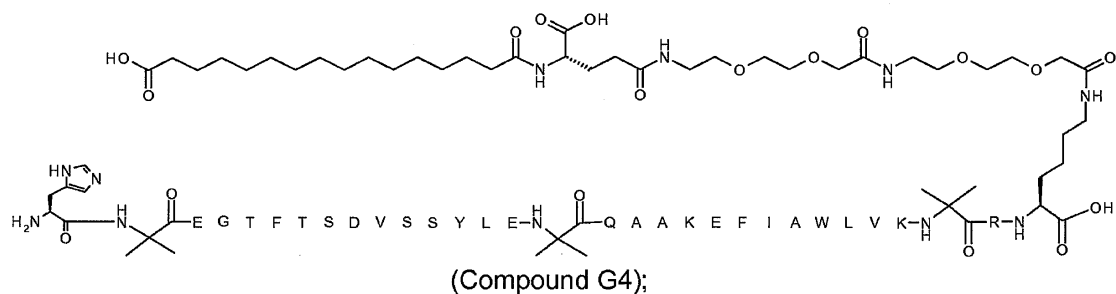
【 0 5 1 7 】

及び

N- 37-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシ-ペンタデカノイルアミノ)-ブチリルアミノ]-エトキシ}-エトキシ)-アセチルアミノ]-エトキシ}-エトキシ)-アセチル][Aib8,22,35,Lys37]GLP-1-(7-37) :

【 0 5 1 8 】

【 化 1 0 0 】



20

【 0 5 1 9 】

並びに薬学的に許容されるそれらの塩、アミド、アルキル、又はエステルからなる群から選択される、実施形態123~125のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

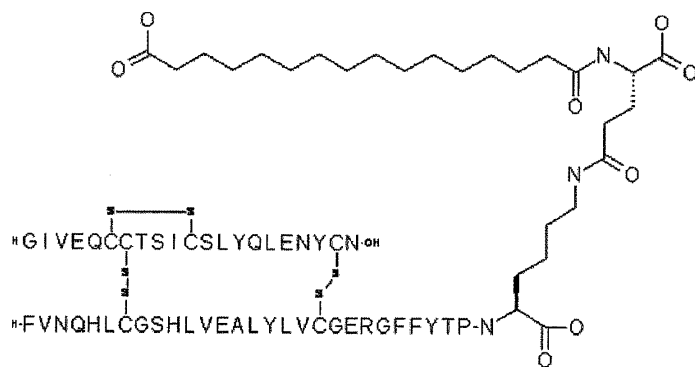
【 0 5 2 0 】

133. インスリン化合物が :

N- -B29-[(S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブチリル]デスB30ヒトインスリン

【 0 5 2 1 】

【 化 1 0 1 】



40

50



## 【 0 5 2 2 】

である、実施形態129～132のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

## 【 0 5 2 3 】

本発明の他の実施形態は、医薬組成物に関する：

134. 実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体を含み、任意選択により1種又は複数の薬学的に許容される添加剤を含んでもよい、医薬組成物。

135. 1種又は複数の追加の治療活性化合物又は物質を更に含む、実施形態134に記載の医薬組成物。

136. 前記追加の治療活性化合物がGLP-1化合物又はインスリン化合物である、実施形態135に記載の医薬組成物。

137. 前記追加の治療活性化合物がGLP-1化合物である、実施形態136に記載の医薬組成物。

138. 前記追加の治療活性化合物がインスリン化合物である、実施形態136又は137に記載の医薬組成物。

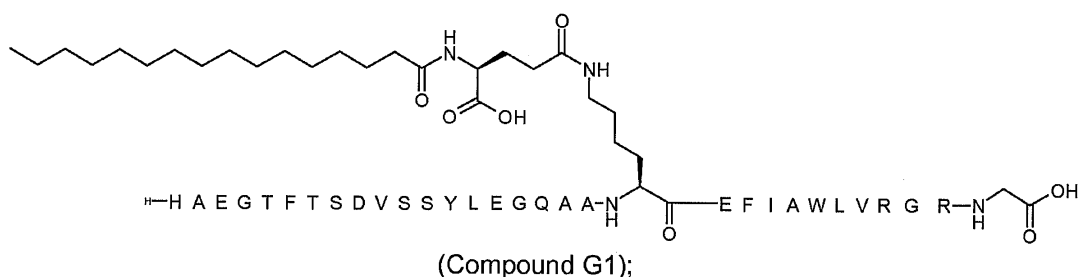
## 【 0 5 2 4 】

139. GLP-1化合物が、

N- 26-((S)-4-カルボキシ-4-ヘキサデカノイルアミノ-ブチリル)[Arg34]GLP-1-(7-37)：

## 【 0 5 2 5 】

## 【 化 1 0 2 】

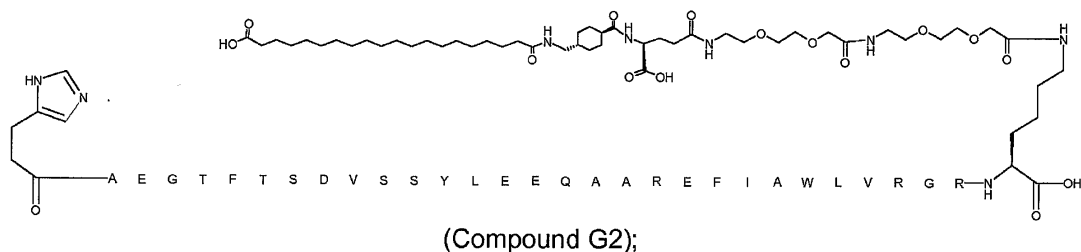


## 【 0 5 2 6 】

N- 37-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-カルボキシ-4-((trans-4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル)アミノ)ブチリルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチル][デサミノHis7,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]GLP-1-(7-37)：

## 【 0 5 2 7 】

## 【 化 1 0 3 】



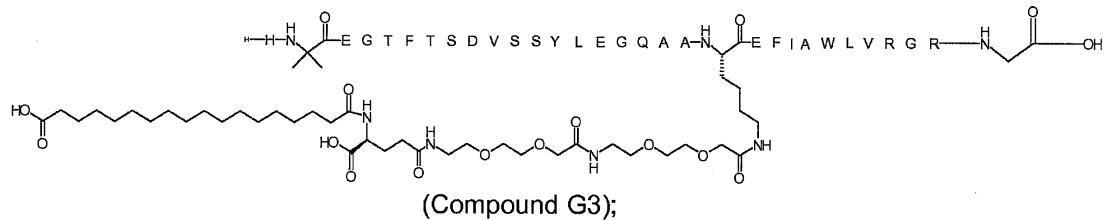
## 【 0 5 2 8 】

N- 26-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブチリルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチル][Arg34]GLP-1-(7-37)：

## 【 0 5 2 9 】



## 【化104】



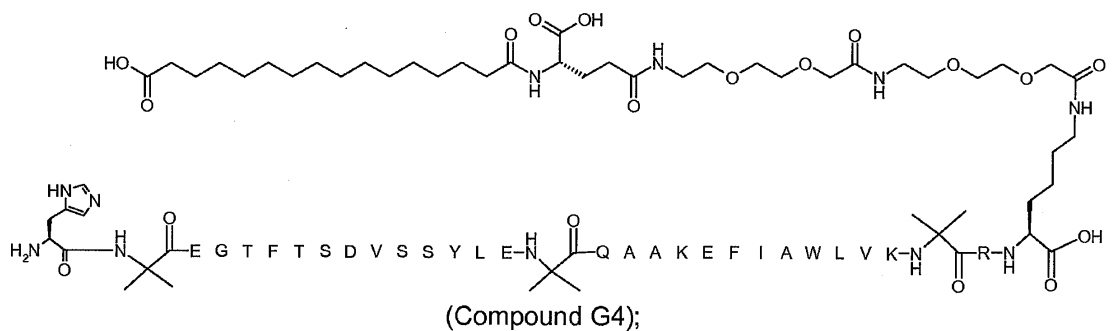
## 【0530】

及び

N- 37-[2-(2-{2-[2-(2-{(S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシ-ペンタデカノイルアミノ)-ブチリルアミノ]-エトキシ}-エトキシ)-アセチルアミノ]-エトキシ}-エトキシ)-アセチル][Aib8,22,35,Lys37]GLP-1-(7-37) :

## 【0531】

## 【化105】



## 【0532】

並びに薬学的に許容されるそれらの塩、アミド、アルキル、又はエステルからなる群から選択される、実施形態136～138のいずれか1つに記載の医薬組成物。

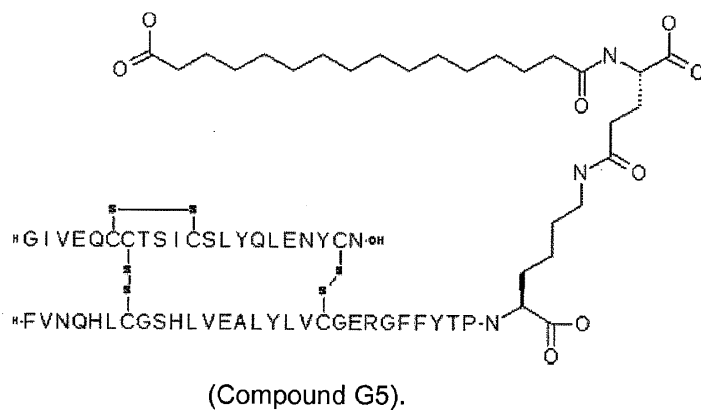
## 【0533】

140. インスリン化合物が、

N- -B29-[(S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブチリル]デスB30ヒトインスリン

## 【0534】

## 【化106】



## 【0535】

である、実施形態130～133のいずれか1つに記載の医薬組成物。

## 【0536】

141. 実施形態1～128のいずれかに記載のグルカゴン誘導体約0.01mg～約1000mg、例えば

10

20

30

40

50



、約0.1mg～約500mg、約0.5mg～約5mg、例えば、約0.5mg～約200mg等を含む単位剤形での、実施形態128～134のいずれか1つに記載の医薬組成物。

142. 非経口投与に適している、実施形態126～138のいずれか1つに記載の医薬組成物。

143. 治療法において使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

#### 【0537】

本発明の更なる実施形態は、次のものに関する：

144. 高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、及び肥満の治療又は予防において使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。 10

145. 2型糖尿病における疾患進行の遅延又は予防において使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

146. 肥満の治療又は過体重の予防において使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

147. 食物摂取を減少させるために使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。 20

148. エネルギー消費を上昇させる際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

149. 体重を減少させる際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

150. 耐糖能障害(IGT)から2型糖尿病への進行を遅延させる際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

151. 2型糖尿病からインスリン要求性糖尿病への進行を遅延させる際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。 30

152. 食欲を調節する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

153. 満腹を誘導する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

154. 体重減少の成功後の体重増加を予防する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。 40

155. 過体重又は肥満に関連する疾患又は状態を処置する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

#### 【0538】

156. 大食症を治療する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

157. 過食症を治療する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン 50



誘導体。

158. アテローム硬化症を治療するために使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

159. 高血圧を治療するために使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

160. 2型糖尿病を治療するために使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

10

161. 耐糖能障害を治療するために使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

162. 脂質異常症を治療するために使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

163. 冠状動脈性心疾患を治療するために使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

164. 脂肪肝を治療するために使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

20

【0539】

本発明の更なる実施形態は、次の方法に関する：

165. 低血糖、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、及び肥満を治療又は予防するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

166. 2型糖尿病における疾患進行を遅延又は予防するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

30

167. 肥満を治療するか、又は過体重を予防するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

168. 食物摂取を低減するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

169. エネルギー消費を上昇させる際に使用する方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

40

170. 体重を減少させる際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

171. 耐糖能障害(IGT)から2型糖尿病への進行を遅延させる際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

50



172. 2型糖尿病からインスリン要求性糖尿病への進行を遅延させる際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

173. 食欲を調節する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

174. 満腹を誘導する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

10

175. 体重減少の成功後の体重回復を予防する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

176. 過体重又は肥満に関連する疾患又は状況を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

177. 大食症を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

20

178. 過食症を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

【 0 5 4 0 】

179. アテローム硬化症を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

180. 高血圧を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

30

181. 2型糖尿病を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

182. 耐糖能障害を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

。

183. 脂質異常症を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

40

。

184. 冠状動脈性心疾患を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

185. 脂肪肝を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1～128のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

50



## 【 0 5 4 1 】

本発明の更なる実施形態は、次の使用に関する：

186. 医薬品を調製するための、実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体の使用。

187. 高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、及び肥満を治療又は予防するための医薬品を調製するための、実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体の使用。

188. 2型糖尿病における疾患進行を遅延又は予防するため、肥満を治療するか、又は過体重を予防するため、食物摂取を減少させるため、エネルギー消費を上昇させるため、体重を減少させるため、耐糖能障害(IGT)から2型糖尿病への進行を遅延させるため；2型糖尿病からインスリン要求性糖尿病への進行を遅延させるため；食欲を調節するため；満腹を誘導するため；体重減少の成功後に体重回復を予防するため；過体重又は肥満に関連する疾患又は状況を治療するため；大食症を治療するため；過食症を治療するため；アテローム硬化症、高血圧、2型糖尿病、IGT、脂質異常症、冠状動脈性心疾患、脂肪肝を処置するため、ベータ-ブロッカー中毒を治療するため、X線、CTスキャン、及びNMRスキャン等の技術を使用する胃腸管の調査に関連して有用な、胃腸管の運動を阻害するために使用するための医薬品を調製するための、実施形態1～128のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体の使用。

10

## 【 0 5 4 2 】

本発明の更なる実施形態は、次のものに関する：

20

189. ThT原線維形成アッセイにおいて70%超の回収率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

190. ThT原線維形成アッセイにおいて90%超の回収率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

191. ThT原線維形成アッセイにおいて約100%の回収率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

192. ThT原線維形成アッセイにおいて7時間超のラグタイムを有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

193. ThT原線維形成アッセイにおいて20時間超のラグタイムを有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

30

194. ThT原線維形成アッセイにおいて45時間超のラグタイムを有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

195. 前記ThT原線維形成アッセイが、本明細書において実施例76に記載されているとおりである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

196. 化学的安定性アッセイにおいて、14%未満の分解率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

197. 化学的安定性アッセイにおいて、13%未満の分解率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

198. 化学的安定性アッセイにおいて、12%未満の分解率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

40

199. 化学的安定性アッセイにおいて、10%未満の分解率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

200. 化学的安定性アッセイにおいて、9%未満の分解率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

201. 化学的安定性アッセイにおいて、7%未満の分解率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

202. 化学的安定性アッセイにおいて、5%未満の分解率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

203. 化学的安定性アッセイにおいて、3%未満の分解率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

50



204. 化学的安定性アッセイにおいて、2%未満の分解率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

205. 前記化学的安定性アッセイが、本明細書において実施例79に記載されているとおりである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

206. グルカゴン受容体についてと同様にGLP-1受容体についても選択的である、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

207. 医療において使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい先行実施形態のいずれかにおいて定義されているグルカゴン誘導体。

208. i) 肥満を治療し、過体重を予防し、かつ/若しくは体重を減少させ、かつ/又はii) 高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、及び/若しくは1型糖尿病を治療若しくは予防するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態207に記載のグルカゴン誘導体。

10

#### 【0543】

本発明の更なる実施形態

本発明は、次の更なる非限定的実施形態によって更に説明することができる：

1. (式I) (配列番号2及び配列番号3)：

His-X<sub>2</sub>-X<sub>3</sub>-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X<sub>10</sub>-Ser-X<sub>12</sub>-Tyr-Leu-X<sub>15</sub>-X<sub>16</sub>-X<sub>17</sub>-X<sub>18</sub>-Ala-X<sub>20</sub>-X<sub>21</sub>-Phe-Val-X<sub>24</sub>-Trp-Leu-X<sub>27</sub>-X<sub>28</sub>-X<sub>29</sub>-X<sub>30</sub> (式I)

[式中、

X<sub>2</sub>は、Aib、Acb、又はAcprであり、

X<sub>3</sub>は、Gln又はHisであり、

X<sub>10</sub>は、Leu、Ile、又はValであり、

X<sub>12</sub>は、Lys又はArgであり、

X<sub>15</sub>は、Asp又はGluであり、

X<sub>16</sub>は、Ser、Ala、Leu、Thr、Glu、Aib、Ile、Val、又はLysであり、

X<sub>17</sub>は、Arg又はLysであり、

X<sub>18</sub>は、Arg、Ala又はLysであり、

X<sub>20</sub>は、Gln、Arg、Glu、Aib、又はLysであり、

X<sub>21</sub>は、Asp、Glu、又はLysであり、

X<sub>24</sub>は、Gln、Ala、Arg、Glu、Aib、又はLysであり、

X<sub>27</sub>は、Met、Leu、又はValであり、

X<sub>28</sub>は、Asn、Ser、Thr、Gln、Ala、Gly、Glu、又はLysであり、

X<sub>29</sub>は、Thr、Gly、Ser、Gln、Ala、Glu、又はLysであり、

X<sub>30</sub>は、存在しないか、又はLysである]

及び親油性部分及び少なくとも3個の負荷電部分を含む置換基を含むグルカゴン誘導体であって、前記負荷電部分の1個は、親油性部分から遠位にあり、前記置換基は、前記グルカゴン誘導体の次のアミノ酸位：16、17、18、20、21、24、28、29、及び/又は30位の1個の中のリシン残基の1位に結合しており、前記グルカゴン誘導体はC末端アミドである、グルカゴン誘導体、又は薬学的に許容されるその塩若しくはプロドラッグ。

20

30

40

2. GLP-1及びグルカゴン受容体コアゴニストである、実施形態1に記載のグルカゴン誘導体。

#### 【0544】

3. X<sub>2</sub>がAibである、実施形態2に記載のグルカゴン誘導体。

4. X<sub>2</sub>がAcbである、実施形態2に記載のグルカゴン誘導体。

5. X<sub>2</sub>がAcprである、実施形態2に記載のグルカゴン誘導体。

#### 【0545】

6. X<sub>3</sub>がGlnである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

7. X<sub>3</sub>がHisである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

#### 【0546】

50



8.  $X_{10}$  がLeuである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。
9.  $X_{10}$  がIleである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。
10.  $X_{10}$  がValである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。  
【0547】
11.  $X_{12}$  がLysである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。
12.  $X_{12}$  がArgである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。  
【0548】
13.  $X_{15}$  がAspである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。
14.  $X_{15}$  がGluである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。  
【0549】
15.  $X_{16}$  がSer、Ala、Leu、Thr、Glu、又はLysである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。
16.  $X_{16}$  がSerである、実施形態15に記載のグルカゴン誘導体。
17.  $X_{16}$  がAla、Leu、Thr、Glu、又はLysである、実施形態15に記載のグルカゴン誘導体。
18.  $X_{16}$  がAlaである、実施形態15に記載のグルカゴン誘導体。
19.  $X_{16}$  がLeuである、実施形態15に記載のグルカゴン誘導体。
20.  $X_{16}$  がThrである、実施形態15に記載のグルカゴン誘導体。
21.  $X_{16}$  がGluである、実施形態15に記載のグルカゴン誘導体。
22.  $X_{16}$  がLysである、実施形態15に記載のグルカゴン誘導体。  
【0550】
23.  $X_{17}$  がArgである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。
24.  $X_{17}$  がLysである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。  
【0551】
25.  $X_{18}$  がArg又はAlaである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。
26.  $X_{18}$  がArgである、実施形態25に記載のグルカゴン誘導体。
27.  $X_{18}$  がAlaである、実施形態25に記載のグルカゴン誘導体。  
【0552】
28.  $X_{20}$  がGln、Arg、Glu、又はLysである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。
29.  $X_{20}$  がGlnである、実施形態28に記載のグルカゴン誘導体。
30.  $X_{20}$  がArgである、実施形態28に記載のグルカゴン誘導体。
31.  $X_{20}$  がGluである、実施形態28に記載のグルカゴン誘導体。
32.  $X_{20}$  がLysである、実施形態28に記載のグルカゴン誘導体。  
【0553】
33.  $X_{21}$  がAspである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。
34.  $X_{21}$  がGlu又はLysである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。
35.  $X_{21}$  がGluである、実施形態34に記載のグルカゴン誘導体。
36.  $X_{21}$  がLysである、実施形態34に記載のグルカゴン誘導体。  
【0554】
37.  $X_{24}$  がGln、Ala、Arg、又はLysである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。
38.  $X_{24}$  がGlnである、実施形態37に記載のグルカゴン誘導体。
39.  $X_{24}$  がAlaである、実施形態37に記載のグルカゴン誘導体。
40.  $X_{24}$  がArgである、実施形態37に記載のグルカゴン誘導体。
41.  $X_{24}$  がLysである、実施形態37に記載のグルカゴン誘導体。  
【0555】
42.  $X_{27}$  がMet、Leu、又はValである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。
43.  $X_{27}$  がMetである、実施形態42に記載のグルカゴン誘導体。
44.  $X_{27}$  がLeuである、実施形態42に記載のグルカゴン誘導体。



45.  $X_{27}$ がValである、実施形態42に記載のグルカゴン誘導体。

【 0 5 5 6 】

46.  $X_{28}$ がAsn、Ser、又はLysである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

47.  $X_{28}$ がAsnである、実施形態46に記載のグルカゴン誘導体。

48.  $X_{28}$ がSerである、実施形態46に記載のグルカゴン誘導体。

49.  $X_{28}$ がLysである、実施形態46に記載のグルカゴン誘導体。

【 0 5 5 7 】

50.  $X_{29}$ がThr、Gly、又はLysである、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

10

51.  $X_{29}$ がGly又はLysである、実施形態50に記載のグルカゴン誘導体。

52.  $X_{29}$ がThrである、実施形態50に記載のグルカゴン誘導体。

53.  $X_{29}$ がGlyである、実施形態50に記載のグルカゴン誘導体。

54.  $X_{29}$ がLysである、実施形態50に記載のグルカゴン誘導体。

【 0 5 5 8 】

55.  $X_{30}$ が存在しない、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

56.  $X_{30}$ がLysである、実施形態1～54のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

【 0 5 5 9 】

57.  $X_2$ がAibを表し、 $X_{20}$ がArgを表し、 $X_{21}$ がGluを表す、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

20

【 0 5 6 0 】

58. アミノ酸置換が、

(i) 2Acb、10L、12R、16L、20R、27L、28K；

(ii) 2Acb、10L、15E、16E、20R、27L、28K；

(iii) 2Acb、10L、15E、17K、20R、21E、27L、28K；

(iv) 2Acb、10L、15E、20R、21E、27L、28K；

(v) 2Acb、10L、16L、17K、20R、21E、27L、28K；

(vi) 2Acb、10L、16L、20R、21E、27L、28K；

(vii) 2Acb、10L、16L、20R、27L、28K；

(viii) 2Acb、3H、10L、15E、27L、28K；

30

(ix) 2Acpr、10L、15E、20R、21E、27L、28K；

(x) 2Aib、10L、15E、17K、18A、20R、21E、27L、28K；

(xi) 2Aib、10L、15E、17K、20R、21E、27L、28K；

(xii) 2Aib、10L、15E、20R、21E、27L、28K；

(xiii) 2Aib、10L、16A、20R、21E、27L、28K；

(xiv) 2Aib、10L、16E、20K、27L、28S、29K；

(xv) 2Aib、10L、16K、17K、18A、20R、21E、24A、27L；

(xvi) 2Aib、10L、16K、17K、21E、27L；

(xvii) 2Aib、10L、16K、18A、20R、21E、24A、27L；

(xviii) 2Aib、10L、16K、20E、27L、28S、29K；

40

(xix) 2Aib、10L、16K、20R、21E、24A、27L；

(xx) 2Aib、10L、16K、20R、21E、27L；

(xxi) 2Aib、10L、16K、20R、27L、28S；

(xxii) 2Aib、10L、16K、21E、27L；

(xxiii) 2Aib、10L、16K、21E、27V、28K、29G；

(xxiv) 2Aib、10L、16L、17K、20R、21E、27L、28K；

(xxv) 2Aib、10L、16L、20R、21E、27L、29K；

(xxvi) 2Aib、10L、16T、20K、27L、28S、29K；

(xxvii) 2Aib、10L、16T、24R、27L、28S、29K；

(xxviii) 2Aib、10L、17K、18A、21E、27L、29K；

50



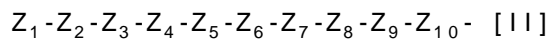
(xxix) 2Aib、10L、18A、20R、21E、27L、29K ;  
 (xxx) 2Aib、10L、20R、21E、23I、27L、29K ;  
 (xxxi) 2Aib、10L、20R、21E、27L、29K ;  
 (xxxii) 2Aib、10L、20R、21K、27L、28S ;  
 (xxxiii) 2Aib、10L、20R、24K、27L、28S ;  
 (xxxiv) 2Aib、10L、20R、27L、28K ;  
 (xxxv) 2Aib、10L、20R、27L、28S、29K ;  
 (xxxvi) 2Aib、10L、20R、27L、28S、30K ;  
 (xxxvii) 2Aib、3H、10L、15E、16K、20R、21E、24A、27L、28S ;  
 (xxxviii) 2Aib、3H、10L、15E、17K、20R、21E、27L、28K ;  
 (xxxix) 2Aib、3H、10L、15E、20R、21E、24A、27L、28K ;  
 (xl) 2Aib、3H、10L、15E、20R、21E、27L、28K又は  
 (xli) 2Aib、3H、10L、15E、20R、27L、28K

10

である、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

【 0 5 6 1 】

59. 前記置換基が、式II :



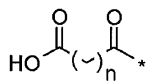
[ 式中、

$Z_1$  は、式IIaによる構造

【 0 5 6 2 】

20

【 化 1 0 7 】



【 0 5 6 3 】

(式IIa中のnは、6~20であり、式 $Z_1$ 中の記号\*は、隣接する基の窒素との結合点を表す) 表し;  $Z_2$ 、 $Z_3$ 、 $Z_4$ 、 $Z_5$ 、 $Z_6$ 、 $Z_7$ 、 $Z_8$ 、 $Z_9$ 、 $Z_{10}$ は個別に、次のアミノ酸: Glu、Glu、Gly、Ser、Ala、Thr、及びAdoによって表されるか、又は存在せず、

残基 $Z_2 \sim Z_{10}$ の少なくとも2個は存在し、

前記置換基は、式IのLysの 位に結合しており、

30

$Z_1-Z_2-Z_3-Z_4-Z_5-Z_6-Z_7-Z_8-Z_9-Z_{10}$ は合わせて、少なくとも3個の負電荷を含有する] を有する、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

60. 式IIの $Z_1$ 中のnが14、16、又は18である、実施形態59に記載のグルカゴン誘導体。

61. 式IIの $Z_1$ 中のnが14である、実施形態59に記載のグルカゴン誘導体。

62. 式IIの $Z_1$ 中のnが16である、実施形態59に記載のグルカゴン誘導体。

63. 式IIの $Z_1$ 中のnが18である、実施形態59に記載のグルカゴン誘導体。

【 0 5 6 4 】

64. 前記置換基が、下式の1つによる構造を表し、\*が、式IのLysの 位にある窒素との結合点を示す、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体 :

【 0 5 6 5 】

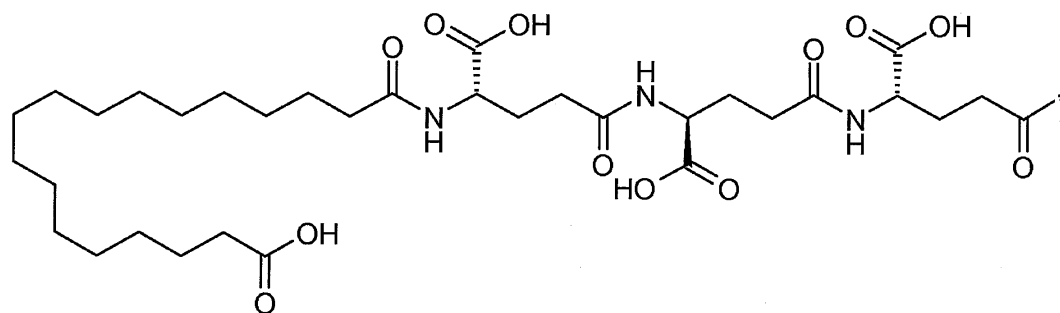
40



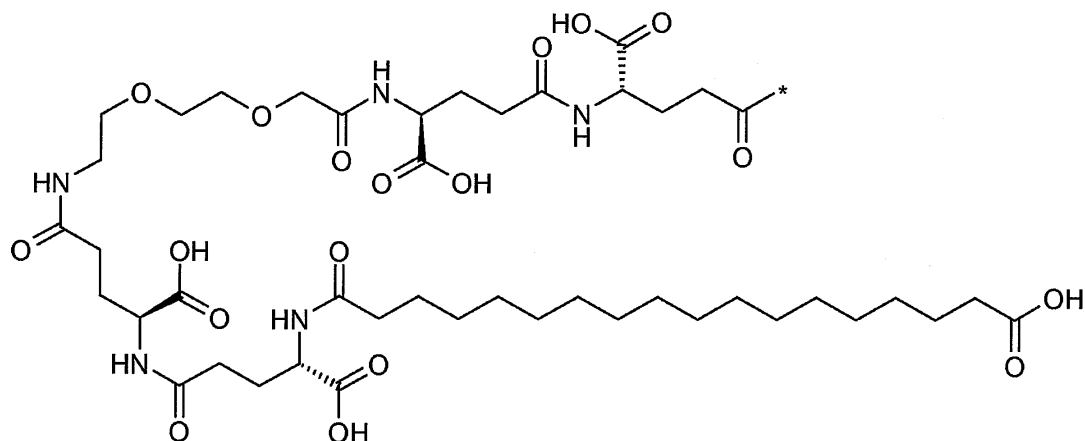
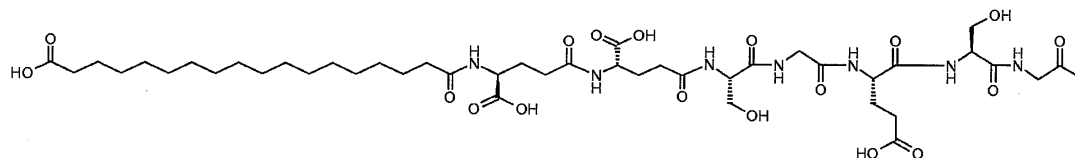
CCCCCCCCCCCC(=O)O[C@@H](C(=O)NCCC(=O)NCCOCCOC(=O)N[C@H](C(=O)O)CCC(=O)N[C@@H](C(=O)O)CCC(=O)O)C(=O)OO=C(O)CCCCNC(=O)[C@H](CCCNC(=O)COCCOC(=O)NCC(=O)OCCOC(=O)NCC(=O)O)C(=O)CCCCC(=O)OO=C(O)[C@H](N)CCCC(=O)NC(CCC(=O)O)CCC(=O)NC(CCC(=O)O)[C@@H](N)COCCOCCOC(=O)NCCOCCOCCOC(=O)\*



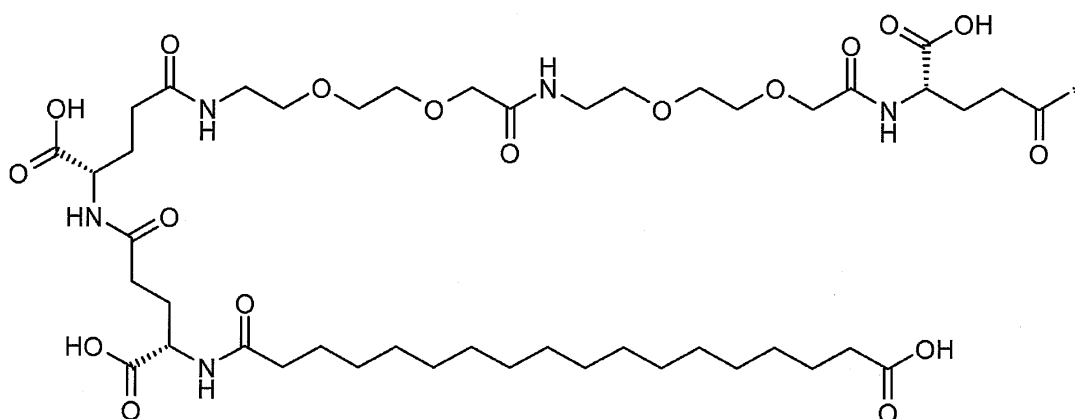
## 【化 1 0 9】



10



20



30

40

## 【 0 5 6 6】

65. 前記置換基が、アルミニウムに非共有結合で結合している、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

66. 前置換基が、生理学的pHで負荷電である、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

## 【 0 5 6 7】

67. Chem.1 ; Chem.2 ; Chem.3 ; Chem.4 ; Chem.5 ; Chem.6 ; Chem.7 ; Chem.8 ; Chem.9 ; Chem.10 ; Chem.11 ; Chem.12 ; Chem.13 ; Chem.14 ; Chem.15 ; Chem.16 ; Chem.17 ; Chem.18 ; Chem.19 ; Chem.20 ; Chem.21 ; Chem.22 ; Chem.23 ; Chem.24 ; Chem.25 ; Chem.26 ; Chem.27 ; Ch

50



em.28 ; Chem.29 ; Chem.30 ; Chem.31 ; Chem.32 ; Chem.33 ; Chem.34 ; Chem.35 ; Chem.36 ; Chem.37 ; Chem.38 ; Chem.39 ; Chem.40 ; Chem.41 ; Chem.42 ; Chem.43 ; Chem.44 ; Chem.45 ; Chem.46 ; Chem.47 ; Chem.48 ; Chem.49、及びChem.50からなる群から選択される、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

【 0 5 6 8 】

本発明の更なる実施形態は、以下に関する：

68. DPPIV保護化合物である、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

69. DPPIV安定化されている、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

【 0 5 6 9 】

70. グルカゴン受容体のアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。 10

71.  $EC_{50} < 10nM$ を有するグルカゴン受容体のアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

72.  $EC_{50} < 1nM$ を有するグルカゴン受容体のアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

73.  $EC_{50} < 100pM$ を有するグルカゴン受容体のアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

74.  $EC_{50} < 10pM$ を有するグルカゴン受容体のアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

【 0 5 7 0 】

75. GLP-1受容体のアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。 20

76.  $EC_{50} < 100pM$ を有するGLP-1受容体のアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

77.  $EC_{50} < 50pM$ を有するGLP-1受容体のアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

78.  $EC_{50} < 10pM$ を有するGLP-1受容体のアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

【 0 5 7 1 】

79.  $EC_{50} < 100pM$ を有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対しては $EC_{50} < 1nM$ を有するアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。 30

80.  $EC_{50} < 50pM$ を有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対しては $EC_{50} < 1nM$ を有するアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

81.  $EC_{50} < 10pM$ を有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対しては $EC_{50} < 1nM$ を有するアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

82.  $EC_{50} < 50pM$ を有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対しては $EC_{50} < 100pM$ を有するアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

83.  $EC_{50} < 10pM$ を有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対しては $EC_{50} < 100pM$ を有するアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

84.  $EC_{50} < 10pM$ を有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対しては $EC_{50} < 50pM$ を有するアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。 40

85.  $EC_{50} < 10pM$ を有するGLP-1受容体の、及びグルカゴン受容体に対しては $EC_{50} < 10pM$ を有するアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

86. GLP-1受容体に対する $EC_{50} < \text{グルカゴン受容体に対する} EC_{50}$ であるGLP-1/グルカゴンコアゴニストである、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

【 0 5 7 2 】

本発明の更なる実施形態は、次の組み合わせに関する：

87. GLP-1化合物又はインスリン化合物と組み合わせた、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

88. GLP-1化合物と組み合わせた、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体 50



89. インスリン化合物と組み合わせた、先行実施形態のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

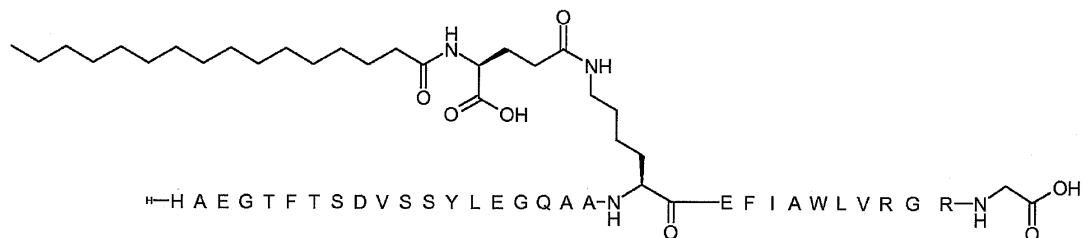
【0573】

90. GLP-1化合物が、

N<sup>26</sup>-((S)-4-カルボキシ-4-ヘキサデカノイルアミノ-ブチリル)[Arg34]GLP-1-(7-37) :

【0574】

【化110】



10

(compound G1);

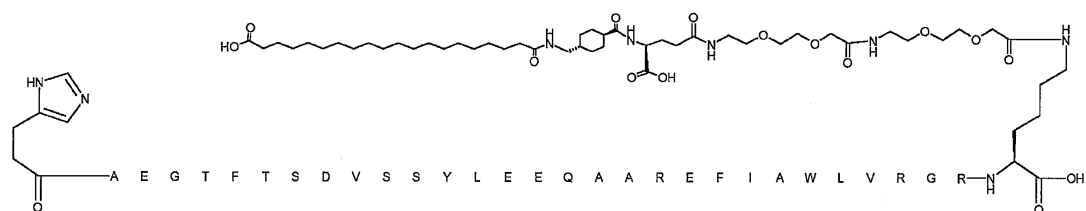
【0575】

N<sup>37</sup>-[2-(2-{2-[2-(2-{(S)-4-カルボキシ-4-({trans-4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル}アミノ)ブチリルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチル][DesaminoHis7,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]GLP-1-(7-37) :

20

【0576】

【化111】



30

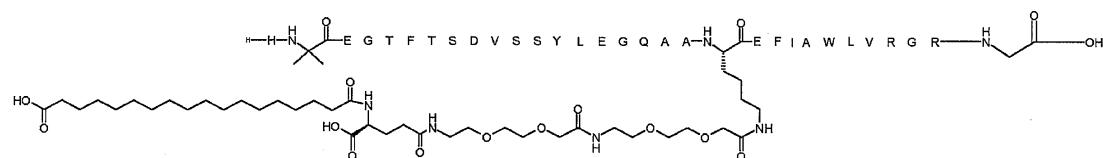
(compound G2);

【0577】

N<sup>26</sup>-[2-(2-{2-[2-(2-{(S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブチリルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチルアミノ]エトキシ}エトキシ)アセチル][Aib8,Arg34]GLP-1-(7-37) :

【0578】

【化112】



40

(compound G3);

【0579】

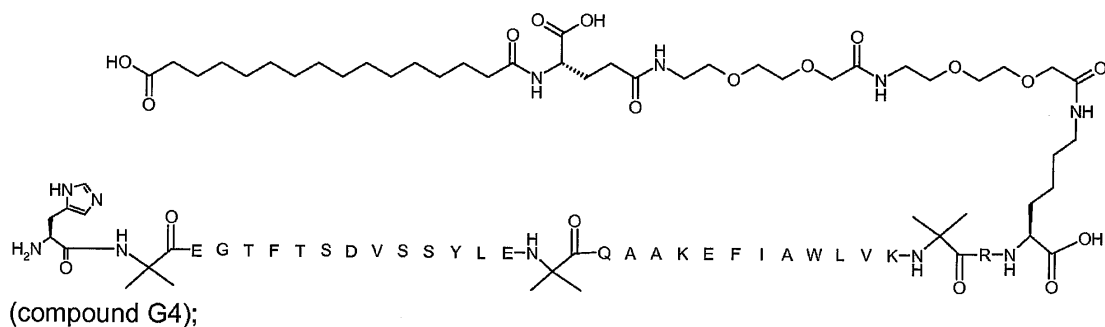
N<sup>37</sup>-[2-(2-{2-[2-(2-{(S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシ-ペンタデカノイルアミノ)-ブチリルアミノ]-エトキシ}-エトキシ)-アセチルアミノ]-エトキシ}-エトキシ)-アセチル][Aib8,22,35,Lys37]GLP-1-(7-37) :

【0580】

50



## 【化 1 1 3】



10

## 【 0 5 8 1】

並びに薬学的に許容されるそれらの塩、アミド、アルキル、又はエステルからなる群から選択される、実施形態88に記載のグルカゴン誘導体。

## 【 0 5 8 2】

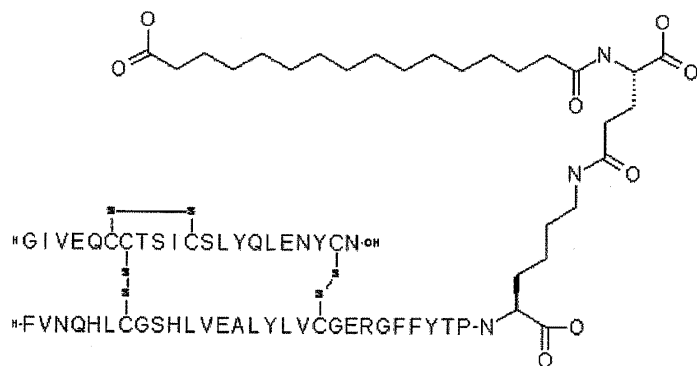
91. インスリン化合物が：

N- $\alpha$ -B29-[(S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブチリル]デスB30ヒトインスリン

## 【 0 5 8 3】

## 【化 1 1 4】

20



(compound G5);

30

## 【 0 5 8 4】

である、実施形態89に記載のグルカゴン誘導体。

## 【 0 5 8 5】

本発明の他の実施形態は、医薬組成物に関する：

92. 実施形態1～91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体を含む、医薬組成物。

93. 1種又は複数の追加の治療活性化合物又は物質を更に含む、実施形態92に記載の医薬組成物。

94. 前記追加の治療活性化合物がGLP-1化合物又はインスリン化合物である、実施形態93に記載の医薬組成物。

40

95. 前記追加の治療活性化合物がGLP-1化合物である、実施形態94に記載の医薬組成物。

96. 前記追加の治療活性化合物がインスリン化合物である、実施形態94に記載の医薬組成物。

## 【 0 5 8 6】

97. GLP-1化合物が、

N-26-((S)-4-カルボキシ-4-ヘキサデカノイルアミノ-ブチリル)[Arg34]GLP-1-(7-37)：

## 【 0 5 8 7】



CCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)N[C@@H](C(=O)O)C[C@H](NC(=O)NCCCC[C@@H](C(=O)N)C(=O)O)C(=O)NCC(=O)O

10

NC1=CC=NC=C1CC(=O)N[A]E[GTFTSDVSSYLEEQAAAREFAIWLVRGR]N[C@@H](CCCCC)C(=O)O

20

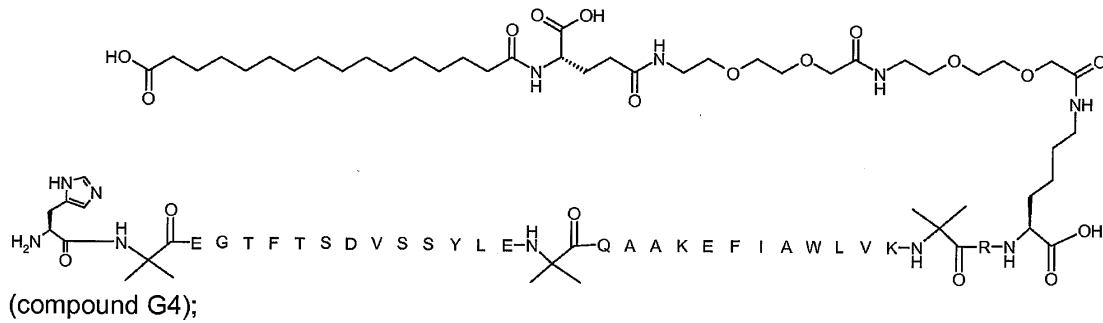
[illegible]

30

40



## 【化 1 1 8】



10

## 【 0 5 9 4】

並びに薬学的に許容されるそれらの塩、アミド、アルキル、又はエステルからなる群から選択される、実施形態95に記載の医薬組成物。

## 【 0 5 9 5】

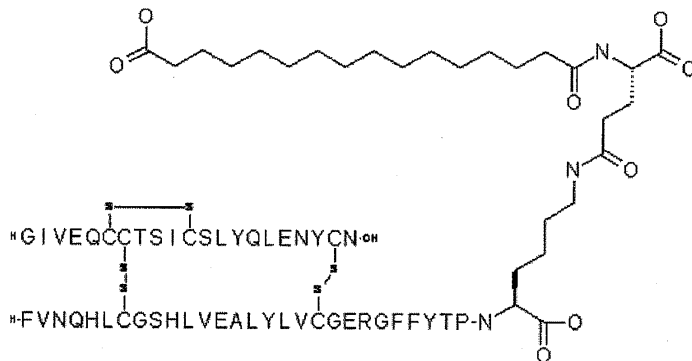
98. インスリン化合物が、

N- $\alpha$ -B29-[(S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブチリル]デスB30ヒトインスリン

## 【 0 5 9 6】

## 【化 1 1 9】

20



(compound G5).

30

## 【 0 5 9 7】

である、実施形態96に記載の医薬組成物。

## 【 0 5 9 8】

99. 実施形態1～91のいずれかに記載のグルカゴン誘導体約0.01mg～約1000mg、例えば、約0.1mg～約500mg、約0.5mg～約5mg、例えば、約0.5mg～約200mg等を含む単位剤形での、実施形態92～98のいずれか1つに記載の医薬組成物。

100. 非経口投与に適している、実施形態92～99のいずれか1つに記載の医薬組成物。

101. 療法において使用するための、実施形態1～91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

40

## 【 0 5 9 9】

本発明の更なる実施形態は、次のものに関する：

102. 高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、及び肥満の治療又は予防において使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わされていてもよい実施形態1～91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

103. 2型糖尿病における疾患進行の遅延又は予防において使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わされていてもよい実施形態1～91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

104. 肥満の治療又は過体重の予防において使用するための、任意選択により1種又は複数

50



の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

105. 食物摂取を減少させるために使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

106. エネルギー消費を上昇させる際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

107. 体重を減少させる際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

10

108. 耐糖能障害(IGT)から2型糖尿病への進行を遅延させる際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

109. 2型糖尿病からインスリン要求性糖尿病への進行を遅延させる際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

110. 食欲を調節する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

20

111. 満腹を誘導する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

112. 体重減少の成功後の体重増加を予防する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

113. 過体重又は肥満に関連する疾患又は状況を処置する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

114. 大食症を治療する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

30

115. 過食症を治療する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

116. アテローム硬化症を治療する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

117. 高血圧を治療する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

40

118. 2型糖尿病を治療する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

119. 耐糖能障害を治療する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

120. 脂質異常症を治療する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

50



121. 冠状動脈性心疾患を治療する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

122. 脂肪肝を治療する際に使用するための、任意選択により1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせられていてもよい実施形態1~91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体。

【0600】

本発明の更なる実施形態は、次の方法に関する：

123. 低血糖、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、及び肥満を治療又は予防するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1~91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

10

124. 2型糖尿病における疾患進行を遅延又は予防するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1~91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

125. 肥満を治療するか、又は過体重を予防するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1~91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

20

126. 食物摂取を低減するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1~91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

127. エネルギー消費を上昇させる際に使用する方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1~91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

128. 体重を減少させる際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1~91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

30

129. 耐糖能障害(IGT)から2型糖尿病への進行を遅延させる際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1~91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

130. 2型糖尿病からインスリン要求性糖尿病への進行を遅延させる際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1~91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

131. 食欲を調節する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1~91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

40

132. 満腹を誘導する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1~91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

133. 体重減少の成功後の体重回復を予防する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化合物と組み合わせて、実施形態1~91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

134. 過体重又は肥満に関連する疾患又は状況を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療

50



活性化化合物と組み合わせて、実施形態1～91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

135. 大食症を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせて、実施形態1～91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

136. 過食症を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせて、実施形態1～91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

137. アテローム硬化症を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせて、実施形態1～91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

10

138. 高血圧を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせて、実施形態1～91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

139. 2型糖尿病を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせて、実施形態1～91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む。

140. 耐糖能障害を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせて、実施形態1～91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

20

141. 脂質異常症を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせて、実施形態1～91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

142. 冠状動脈性心疾患を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせて、実施形態1～91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

30

143. 脂肪肝を治療する際に使用するための方法であって、それを必要とする患者に、任意選択により場合によっては1種又は複数の追加の治療活性化化合物と組み合わせて、実施形態1～91のいずれかに記載の有効量のグルカゴン誘導体を投与することを含む方法。

【0601】

本発明の更なる実施形態は、次の使用に関する：

144. 医薬品を調製するための、実施形態1～91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体の使用。

145. 高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、及び肥満を治療又は予防するための医薬品を調製するための、実施形態1～91のいずれか1つに記載のグルカゴン誘導体の使用。

40

146. 2型糖尿病における疾患進行を遅延又は予防するため、肥満を治療するか、又は過体重を予防するため、食物摂取を減少させるため、エネルギー消費を上昇させるため、体重を減少させるため、耐糖能障害(IGT)から2型糖尿病への進行を遅延させるため；2型糖尿病からインスリン要求性糖尿病への進行を遅延させるため；食欲を調節するため；満腹を誘導するため；体重減少の成功後に体重回復を予防するため；過体重又は肥満に関連する疾患又は状況を治療するため；大食症を治療するため；過食症を治療するため；アテローム硬化症、高血圧、2型糖尿病、IGT、脂質異常症、冠状動脈性心疾患、脂肪肝を処置するため、ベータ-ブロッカー中毒を治療するため、X線、CTスキャン、及びNMRスキャン等の技術を使用する胃腸管の調査に関連して有用な、胃腸管の運動を阻害するために使用するための医薬品を調製するための、実施形態1～91のいずれか1つに記載のグルカゴ

50



ン誘導体の使用。

【0602】

本発明の更なる実施形態は、次にものに関する：

147. ThT原線維形成アッセイにおいて70%超の回収率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

148. ThT原線維形成アッセイにおいて90%超の回収率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

149. ThT原線維形成アッセイにおいて約100%の回収率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

150. ThT原線維形成アッセイにおいて7時間超のラグタイムを有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。 10

151. ThT原線維形成アッセイにおいて20時間超のラグタイムを有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

152. ThT原線維形成アッセイにおいて45時間超のラグタイムを有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

153. 化学的安定性アッセイにおいて、14%未満の分解率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

154. 化学的安定性アッセイにおいて、13%未満の分解率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

155. 化学的安定性アッセイにおいて、12%未満の分解率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。 20

156. 化学的安定性アッセイにおいて、10%未満の分解率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

157. 化学的安定性アッセイにおいて、9%未満の分解率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

158. 化学的安定性アッセイにおいて、7%未満の分解率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

159. 化学的安定性アッセイにおいて、5%未満の分解率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

160. 化学的安定性アッセイにおいて、3%未満の分解率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。 30

161. 化学的安定性アッセイにおいて、2%未満の分解率を有する、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

162. グルカゴン受容体についてと同様にGLP-1受容体についても選択的である、先行実施形態のいずれかに記載のグルカゴン誘導体。

【実施例】

【0603】

本発明を、次の実施例を参照して更に例示するが、これらの実施例は、特許請求の範囲のとおりの本発明の範囲を何らかの方式で限定することを意図したものではない。

【0604】

略語のリスト

BOC：tert-ブチルオキシカルボニル

DCM：ジクロロメタン

DIC：ジイソプロピルカルボジイミド

Fmoc：9-フルオレニルメチルオキシカルボニル

HOAt：1-ヒドロキシ-7-アザベンゾトリアゾール

HPLC：高速液体クロマトグラフィー

LCMS：液体クロマトグラフィー質量分析

MeCN：アセトニトリル

Mtt：4-メチルトリチル

40

50



NMP : N-メチルピロリドン

Oxyma Pure : シアノ-ヒドロキシイミノ-酢酸エチルエステル

RP : 逆相

RP-HPLC : 逆相高速液体クロマトグラフィー

RT : 室温

Rt : 保持時間

SPPS : 固相ペプチド合成

TFA : トリフルオロ酢酸

TIPS : トリイソプロピルシラン

UPLC : 超高速液体クロマトグラフィー

10

# 【 0 6 0 5 】

## 一般方法

このセクションは、樹脂結合ペプチドを合成する方法（アミノ酸を脱保護する方法、樹脂からペプチドを切断する方法、及びそれを精製する方法を含むSPPS法）、更には、得られたペプチドを検出及び特性決定するための方法（LCMS及びUPLC法）に関する。

# 【 0 6 0 6 】

本明細書における実施例1～73の化合物を、下記の手順に従って調製し、精製し、分析した。

# 【 0 6 0 7 】

## SPPS一般方法

20

使用されるFmoc保護アミノ酸誘導体は、例えば、Anaspec社、Bachem社、Iris Biotech社、又はNovabioChemから供給される標準推奨品：Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Asn(Trt)-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Cys(Trt)-OH、Fmoc-Gln(Trt)-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-His(Trt)-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Lys(BOC)-OH、Fmoc-Met-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Trp(BOC)-OH、Fmoc-Tyr(tBu)-OH、Fmoc-Val-OH及びFmoc-Lys(Mtt)-OHであった。

# 【 0 6 0 8 】

N末端アミノ酸を、アルファアミノ基においてBoc保護する（例えば、N末端にHisを有するペプチドではBoc-His(Trt)-OH）。

# 【 0 6 0 9 】

30

リシンの窒素上への置換基の導入は、Mtt（Fmoc-Lys(Mtt)-OH）で保護されたリシンを使用して達成した。Fmoc-8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸、Fmoc-Glu-OtBu、更には、上記の保護された標準アミノ酸等の適切に保護された構成単位を、置換基の導入のために使用した。脂肪酸部分の導入を、オクタデカン二酸モノ-tert-ブチル-エステルを使用して達成した。

# 【 0 6 1 0 】

SPPSを、樹脂装填量に対して6倍過剰のFmoc-アミノ酸（300mM HOAt又はOxyma Pure（登録商標）を有するNMP中で300mM）を使用し、100又は250 μmol規模で、Protein Technologies社（Tucson, AZ 85714、米国）製のPrelude Solid Phase Peptide Synthesizerで行った。H-Rink Amide-ChemMatrix樹脂（例えば、0.52nmol/gを装填）又はRink Amide AMポリスチレン樹脂（Novabiochem、例えば、0.62mmol/gを装填）を固体支持体として使用した。Fmoc-脱保護を、NMP中20%ピペリジンを使用して行った。カップリングを、NMP中の3 : 3 : 3のアミノ酸 / (HOAt又はOxyma Pure（登録商標）) / DIC / コリジンを使用して行った。NMP及びDCMトップ洗浄（7ml、0.5分、各2×2）を、脱保護工程とカップリング工程との間に行った。カップリング時間は、一般に、60分であった。これだけに限定されないが、Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Aib-OH、又はBoc-His(Trt)-OHを含む一部のアミノ酸、更には、置換基になる構成単位を「二重カップリング」し、これは、第1のカップリング（例えば、60分）の後に、樹脂を排液し、更なる試薬（アミノ酸、(HOAt又はOxyma Pure（登録商標）)、DIC、及びコリジン）を加え、混合物を再び反応（例えば、60分）させることを意味する。Mtt基を、樹脂をHFIP/DCM(75 : 25)（2×2分）で洗浄し、DCMで洗浄し、HFIP/DCM(75 : 2

40

50



5) (2×20分) 中に樹脂を懸濁し、引き続いて、ピペリジン/NMP(20:80)、DCM(1×)、NMP(1×)、DCM(1×)、NMP(1×)で順に洗浄することによって除去した。

【0611】

樹脂からの切断

合成の後に、樹脂をDCMで洗浄し、ペプチドを、TFA/TIS/水(95/2.5/2.5)で2~3時間処理して樹脂から切断し、続いてジエチルエーテルで沈殿させた。沈殿物を、ジエチルエーテルで洗浄した。

【0612】

精製及び定量化

粗製ペプチドを、水/MeCN(4:1)等の水及びMeCNの適切な混合物に溶かし、C18-シリカゲルを含むカラムで逆相分取HPLC(Waters Deltaprep 4000又はGilson)によって精製した。溶離を、0.1%TFAを含有する水中のMeCNの上昇勾配で行った。関連する画分を、分析HPLC又はUPLCによってチェックする。純粋なターゲットペプチドを含有する画分を貯め、減圧下で濃縮した。得られた溶液を分析し(HPLC、LCMS)、生成物を、化学発光窒素特異的HPLC検出器(Antek 8060 HPLC-CLND)を使用して、又は280nmでのUV吸収を測定することによって定量化する。生成物をガラスバイアルに分配する。バイアルを、Milliporeガラスファイバープレフィルターでキャッピングする。凍結乾燥により、ペプチドトリフルオロ酢酸塩を白色の固体として得る。

【0613】

検出及び特性決定のための方法

LCMS法

方法: LCMS\_4

LCMS\_4を、Waters Acquity UPLCシステム及びMicromass社製のLCT Premier XE質量分析計からなる構成で行った。

溶離液:

A: 水中0.1%ギ酸

B: アセトニトリル中0.1%ギ酸

【0614】

A及びBの勾配で溶離させるカラムに、適切な体積の試料(好ましくは、2~10 µl)を注入することによって室温で分析を行った。UPLC条件、検出器設定、及び質量分析計設定は次のとおりであった: カラム: Waters Acquity UPLC BEH、C-18、1.7 µm、2.1mm×50mm。勾配: 0.4ml/分で4.0分(別法では、8.0分)の間に直線的に5%~95%アセトニトリル。検出: 214nm(TUV(Tunable UV検出器)から誘導体/類似体アウトプット)MSイオン化モード: API-ES

スキャン: 100~2000amu(別法では、500~2000amu)、0.1amuステップ。

【0615】

方法: LCMS01v01

【0616】

10

20

30



【表 2】

システム	LC-システム: Waters Acquity UPLC カラム: Waters Acquity UPLC BEH、C-18、1.7 $\mu$ m、2.1mm $\times$ 50mm 検出器: Waters(Micromass) LCT Premier XE
検出器構成	イオン化方法: ES 走査範囲: 500~2000amu 操作モード: W モード ポジティブ/ネガティブ: ポジティブモード コーン電圧: 50V 走査時間 1 走査間遅延: 0.0
条件	直線勾配: 5%~95%B 勾配ランタイム: 4.0 分 総ランタイム: 7.0 分 流速: 0.4ml/分 カラム温度: 40°C
溶離液	溶媒 A: 99.90%MQ 水、0.1%ギ酸 溶媒 B: 99.90%アセトニトリル、0.1%ギ酸 溶媒 C: NA
結果の仕様及び確認	実測質量は、化合物の実測質量である 実測 M/z は、化合物の実測分子イオン((M+z)/z)である 算出質量は、所望の化合物の分子量である 算出 M/z は、所望の化合物の分子量(M+z)/z である

10

20

30

【 0 6 1 7 】

方法 : LCMS13v01

【 0 6 1 8 】



【表 3】

システム	システム: Waters Acquity UPLC SQD 2000 Column: Acquity UPLC BEH 1.7 $\mu$ C18 100 Å 2.1 × 100 mm 検出器: UV: PDA、SQD 2000
検出器構成	イオン化方法: ES+ 走査範囲: 500~2000 コーン電圧: 60V 走査時間 0.5
条件	直線勾配: 10%~90%B 勾配ランタイム: 3 分 総ランタイム: 4 分 流速: 0.3ml/分 カラム温度: 40°C PDA: 210~400nm
溶離液	溶媒 A: 99.90%H <sub>2</sub> O、0.1%TFA 溶媒 B: 99.90%CH <sub>3</sub> CN、0.1%TFA 溶媒 C: NA
結果の仕様及び確認	実測質量は、化合物の実測質量である 実測 M/z は、化合物の実測分子イオン((M+z)/z)である 算出質量は、所望の化合物の分子量である 算出 M/z は、所望の化合物の分子量(M+z)/z である

10

20

## 【 0 6 1 9 】

30

UPLC法

方法 : 04\_A9\_1

RP-分析を、デュアルバンド検出器を備えたWaters UPLCシステムを使用して行った。214nm及び254nmでのUV検出を、ACQUITY UPLC BEH Shield RP18、C18、1.7 $\mu$ m、2.1mm × 150mmカラム、60 を使用して行った。

## 【 0 6 2 0 】

UPLCシステムを、

A : 90%H<sub>2</sub>O/10%CH<sub>3</sub>CN中の200mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 20mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 20mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、pH7.2 ;B : 70%CH<sub>3</sub>CN、30%H<sub>2</sub>O

を含有する2つの溶離液貯槽に接続した。

40

## 【 0 6 2 1 】

次のステップ勾配を使用した : 0.40ml / 分の流速で、3分かけて90%A、10%Bから80%A、20%B、17分かけて80%A、20%Bから50%A、50%B。

## 【 0 6 2 2 】

方法 : 09\_B2\_1

RP分析を、デュアルバンド検出器を備えたWaters UPLCシステムを使用して行った。214nm及び254nmでのUV検出は、ACQUITY UPLC BEH130、C18、130 、1.7 $\mu$ m、2.1mm × 150mmカラム、40 を使用して行った。

## 【 0 6 2 3 】

UPLCシステムを、

50



A : 99.95%H<sub>2</sub>O、0.05%TFA ;

B : 99.95%CH<sub>3</sub>CN、0.05%TFA

を含有する2つの溶離液貯槽に接続した。

【 0 6 2 4 】

次の直線勾配を使用した : 0.40ml / 分の流速で16分かけて95%A、5%Bから40%A、60%B。

【 0 6 2 5 】

方法 : 09\_B4\_1

RP分析を、デュアルバンド検出器を備えたWaters UPLCシステムを使用して行った。214 nm及び254nmでのUV検出は、ACQUITY UPLC BEH130、C18、130 、1.7um、2.1mm × 150mmカラム、40 を使用して行った。

10

【 0 6 2 6 】

UPLCシステムを、

A : 99.95%H<sub>2</sub>O、0.05%TFA ;

B : 99.95%CH<sub>3</sub>CN、0.05%TFA

を含有する2つの溶離液貯槽に接続した。

【 0 6 2 7 】

次の直線勾配を使用した : 0.40ml / 分の流速で16分かけて95%A、5%Bから5%A、95%B。

【 0 6 2 8 】

方法 : 10\_B4\_1

RP分析を、デュアルバンド検出器を備えたWaters UPLCシステムを使用して行った。214 nm及び254nmでのUV検出は、ACQUITY UPLC BEHC18、1.7um、2.1mm × 150mmカラム、40 を使用して行った。

20

【 0 6 2 9 】

UPLCシステムを、

A : 99.95%H<sub>2</sub>O、0.05%TFA ;

B : 99.95%CH<sub>3</sub>CN、0.05%TFA

を含有する2つの溶離液貯槽に接続した。

【 0 6 3 0 】

次の直線勾配を使用した : 0.40ml / 分の流速で16分かけて95%A、5%Bから5%A、95%B。

【 0 6 3 1 】

方法 : UPLC01v01

30

【 0 6 3 2 】



【表 4】

システム	システム: Waters Acquity UPLC システム カラム: ACQUITY UPLC BEH C18、1.7um、2.1mm×150mm カラム 検出器: Waters Acquity TUV 検出器
検出器構成	214nm 及び 254nm
条件	直線勾配: 5%から 60%B 勾配ランタイム: 16 分 総ランタイム: 20 分 流速: 0.40ml/分(固定) カラム温度: 40℃
溶離液	溶媒 A: 99.95%水、0.05%トリフルオロ酢酸 溶媒 B: 99.95%アセトニトリル、0.05%トリフルオロ酢酸

10

【 0 6 3 3 】

方法 : UPLC02v01

【 0 6 3 4 】

20

【表 5】

システム	システム: Waters Acquity UPLC システム カラム: ACQUITY UPLC BEH C18、1.7um、2.1mm×150mm カラム 検出器: Waters Acquity TUV 検出器
検出器構成	214nm 及び 254nm
条件	直線勾配: 5%から 95%B 勾配ランタイム: 16 分 流速: 0.40ml/分(固定) カラム温度: 40℃
溶離液	溶媒 A: 99.95%水、0.05%トリフルオロ酢酸 溶媒 B: 99.95%アセトニトリル、0.05%トリフルオロ酢酸

30

【 0 6 3 5 】

( 実施例1 )

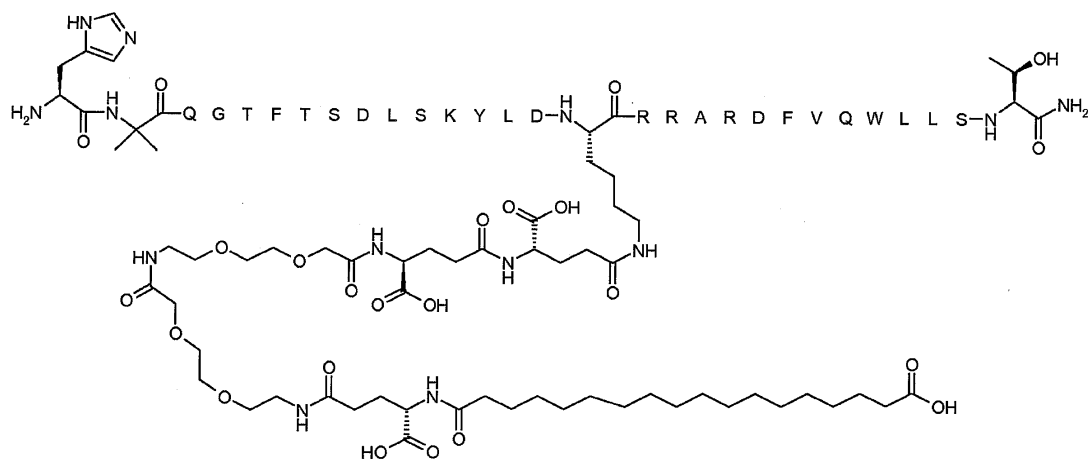
N<sup>16</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Leu27,Ser28]-グルカゴンアミド

【 0 6 3 6 】

40



## 【化 1 2 0】



10

## 【 0 6 3 7】

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間=15.8分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.3分 ; m/3 : 1429 ; m/4 : 1108 ; m/5 : 887

UPLC法 : 10\_B4\_1 ; 保持時間=8.2分

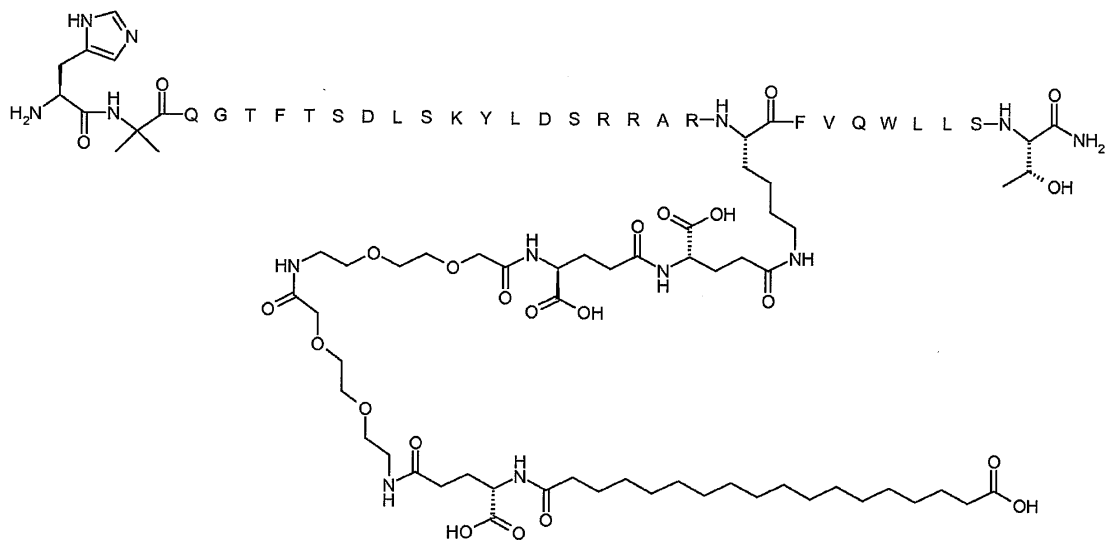
## 【 0 6 3 8】

( 実施例2 )

N<sup>21</sup>-(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Arg20,Lys21,Leu27,Ser28]-グルカゴンアミド

## 【 0 6 3 9】

## 【化 1 2 1】



30

40

## 【 0 6 4 0】

UPLC法 : 10\_B4\_1 ; 保持時間= 8.18分

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間= 17.4分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.29 ; m/3 : 1468 ; m/4 : 1101 ; m/5 : 885

## 【 0 6 4 1】

( 実施例3 )

N<sup>24</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エト

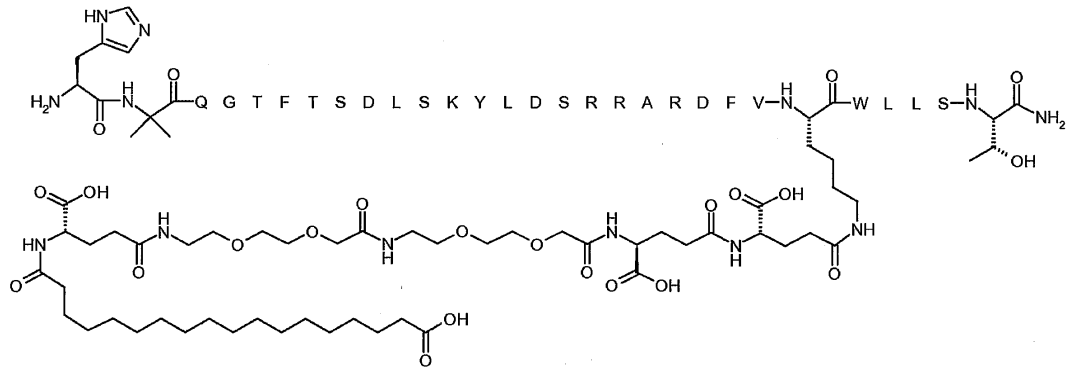
50



キシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Arg20,Lys24,Leu27,Ser28]-グルカゴンアミド

【0642】

【化122】



10

【0643】

UPLC法：09\_B4\_1；保持時間= 8.4分

UPLC法：04\_A9\_1；保持時間= 17.4分

LC-MS法：LCMS\_4；保持時間=2.4分；m/3：1464；m/4：1098；m/5：879

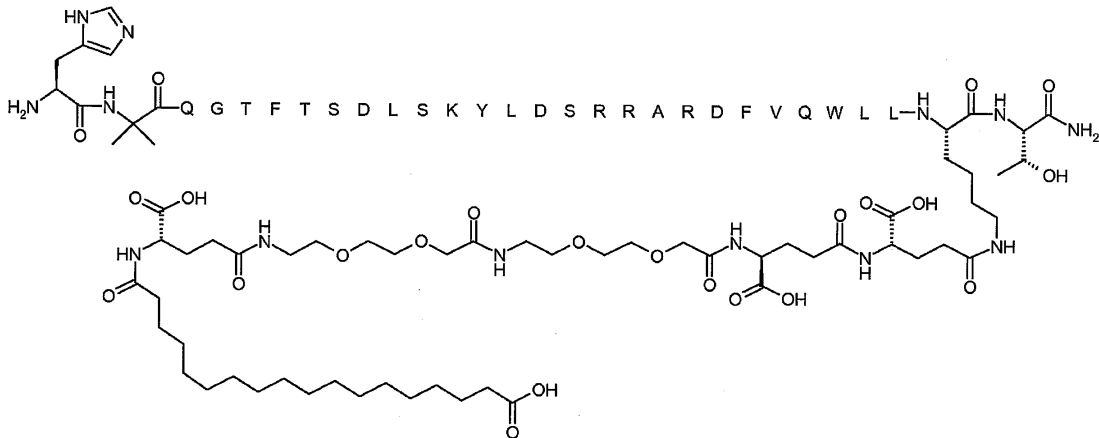
【0644】

(実施例4)

N<sup>28</sup> - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

【0645】

【化123】



30

【0646】

UPLC法：10\_B4\_1；保持時間= 8.2分

UPLC法：04\_A9\_1；保持時間= 16.2分

LC-MS法：LCMS\_4；保持時間=2.3分；m/3：1477；m/4：1108；m/5：887

【0647】

(実施例5)

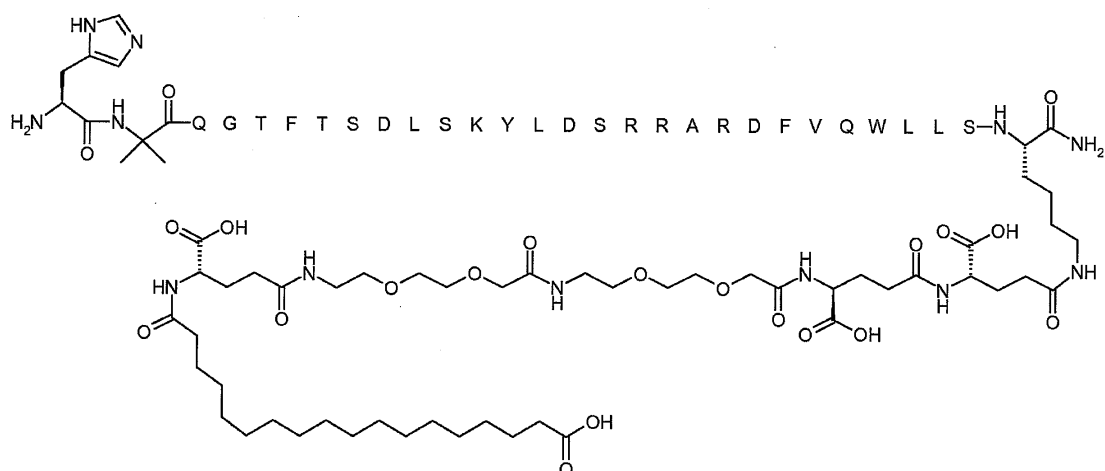
N<sup>29</sup> - [(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

50



【 0 6 4 8 】

【 化 1 2 4 】



【 0 6 4 9 】

UPLC法 : 10\_B4\_1 ; 保持時間= 8.3分

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間= 15.2分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.3分 ; m/3 : 1473 ; m/4 : 1105 ; m/5 : 884

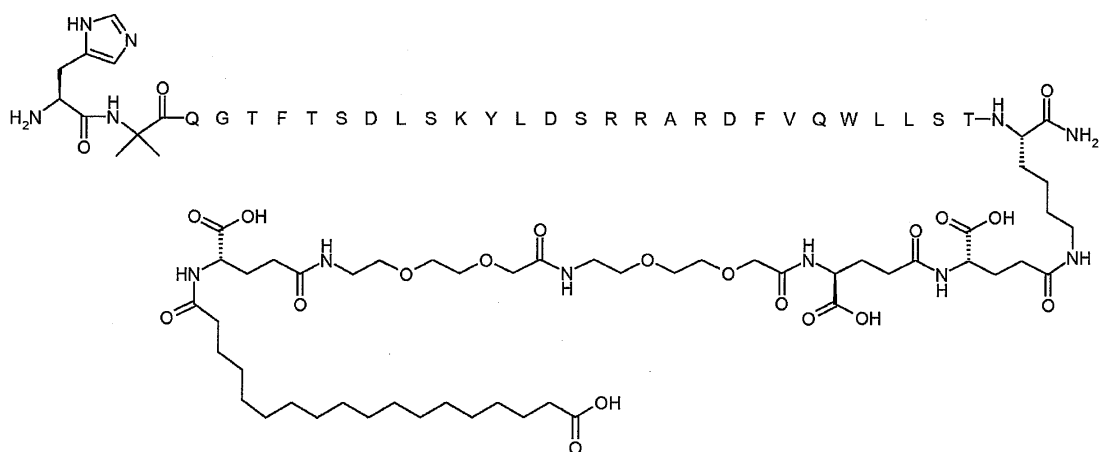
【 0 6 5 0 】

( 実施例6 )

N - ([Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28]-グルカゴニル)-N{ }[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]Lysアミド

【 0 6 5 1 】

【 化 1 2 5 】



【 0 6 5 2 】

UPLC法 : 10\_B4\_1 ; 保持時間= 8.0分

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間= 14.2分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.3分 ; m/4 : 1130 ; m/5 : 904 ; m/6 : 754

【 0 6 5 3 】

( 実施例7 )

N<sup>16</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノ

10

20

30

40

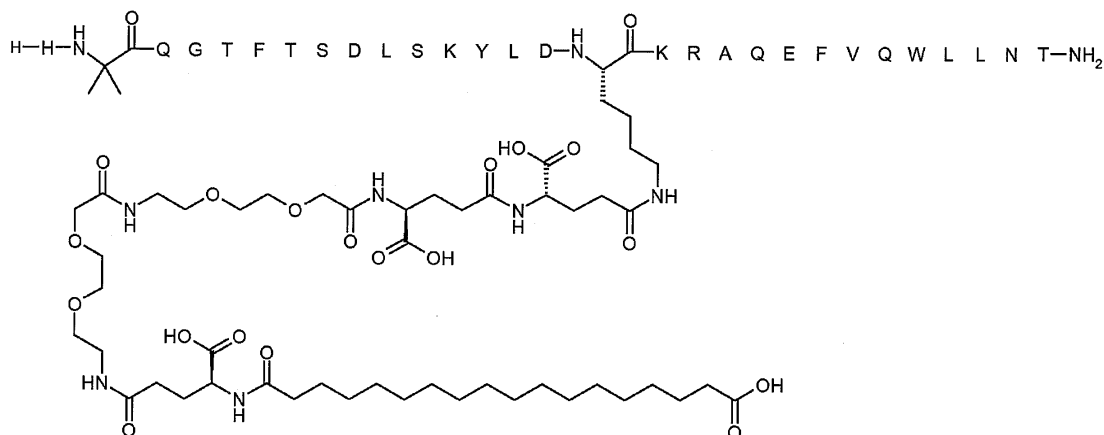
50



イル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Glu21,Leu27]-グルカゴンアミド

【 0 6 5 4 】

【 化 1 2 6 】



10

【 0 6 5 5 】

UPLC法 : 10\_B4\_1 ; 保持時間=8.3分

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間=15.3分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.3分, m/3 : 1472 ; m/4 : 1104 ; m/5 : 883

20

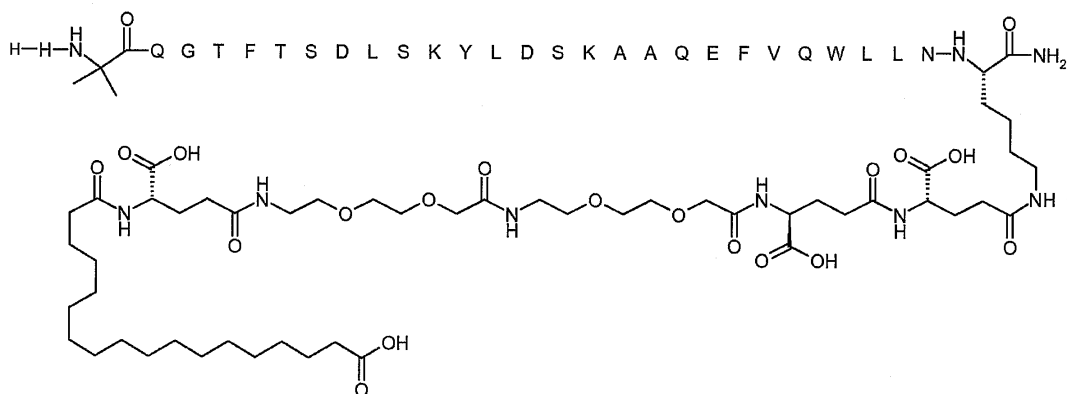
【 0 6 5 6 】

( 実施例8 )

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys17,Ala18,Glu21,Leu27,Lys29]-グルカゴンアミド

【 0 6 5 7 】

【 化 1 2 7 】



30

【 0 6 5 8 】

UPLC法 : 10\_B4\_1 ; 保持時間=8.9分

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間=16.2分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.3分, m/3 : 1439 ; m/4 : 1079 ; m/5 : 863

【 0 6 5 9 】

( 実施例9 )

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-グルカゴンアミド

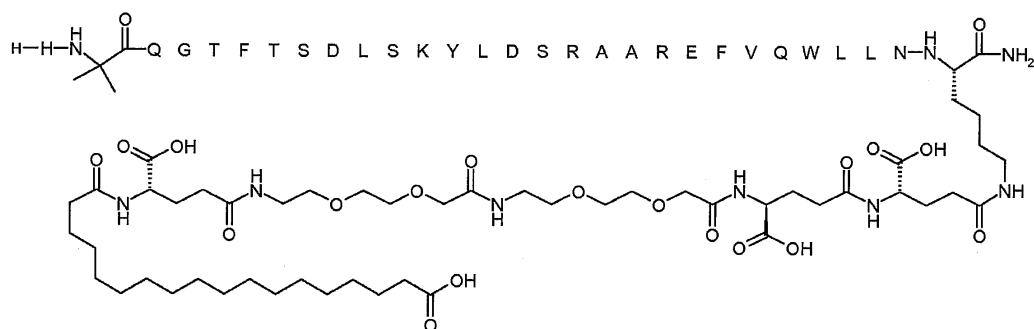
40

50



【 0 6 6 0 】

【 化 1 2 8 】



10

【 0 6 6 1 】

UPLC法 : 10\_B4\_1 ; 保持時間=8.6分

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間=16.7分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.3分, m/3 : 1458 ; m/4 : 1093 ; m/5 : 875

【 0 6 6 2 】

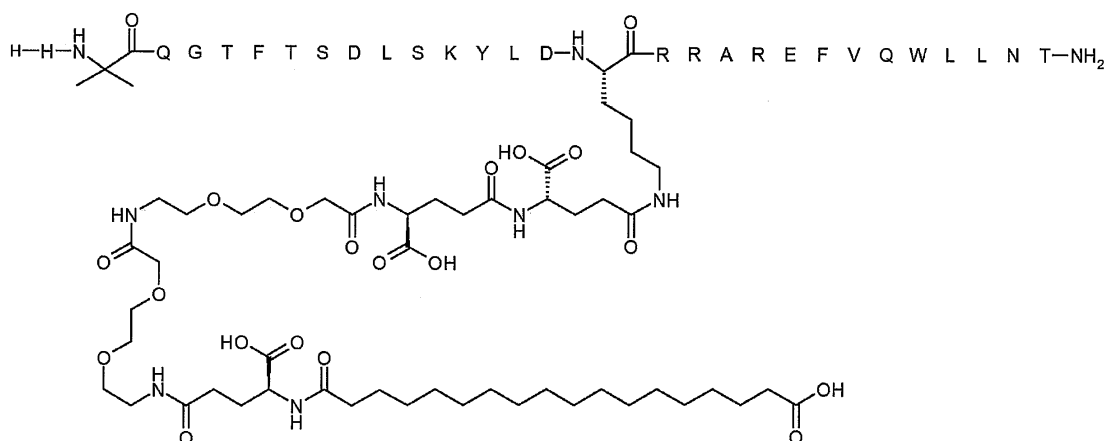
(実施例10)

N<sup>16</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Leu27]-グルカゴンアミド

20

【 0 6 6 3 】

【 化 1 2 9 】



30

【 0 6 6 4 】

UPLC法 : 10\_B4\_1 ; 保持時間=8.0分

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間=16.6分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.2分, m/3 : 1491 ; m/4 : 1118 ; m/5 : 895

【 0 6 6 5 】

(実施例11)

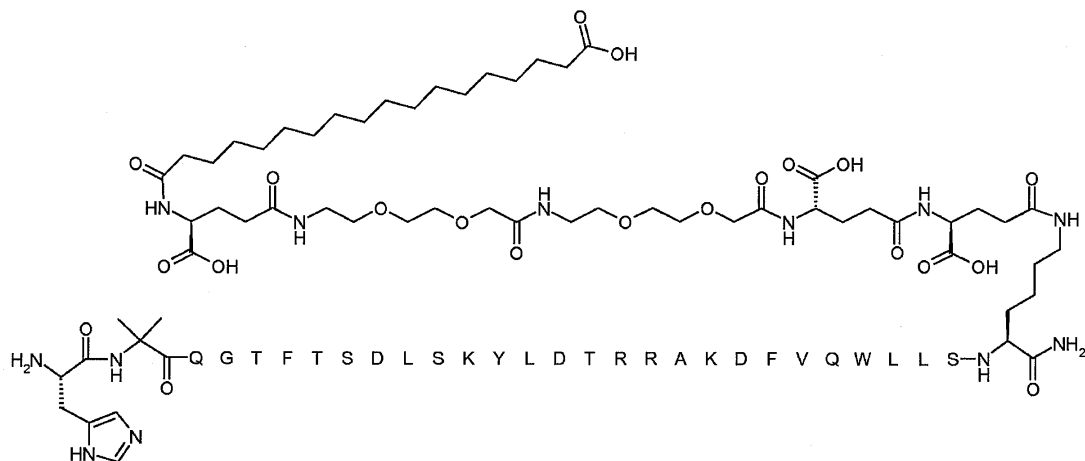
N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Thr16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

40

【 0 6 6 6 】



## 10



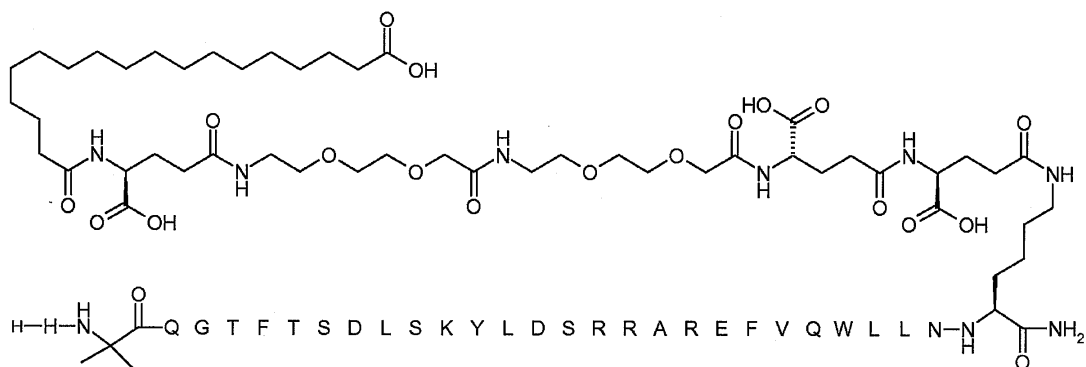
## 20

LC-MS法： LCMS\_4； 保持時間=2.28分； m/6： 734

( 实施例 12 )

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-グルカゴンアミド

【化 1 3 1】



## 40

UPLC法： 04\_A9\_1； 保持時間=14.7分

LC-MS法： LCMS\_4； 保持時間=2.2分， m/3： 1486； m/4： 1115； m/5： 892

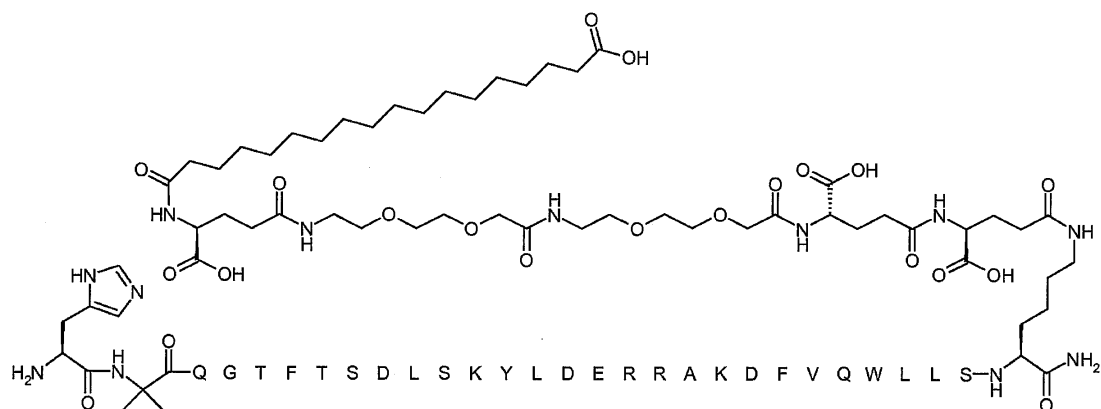
( 实施例13 )

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

【 0 6 7 2 】



## 【化 1 3 2】



10

## 【 0 6 7 3】

UPLC法： 09\_B2\_1； 保持時間= 12.4分

LC-MS法： LCMS\_4； 保持時間=2.2分； m/6： 739

## 【 0 6 7 4】

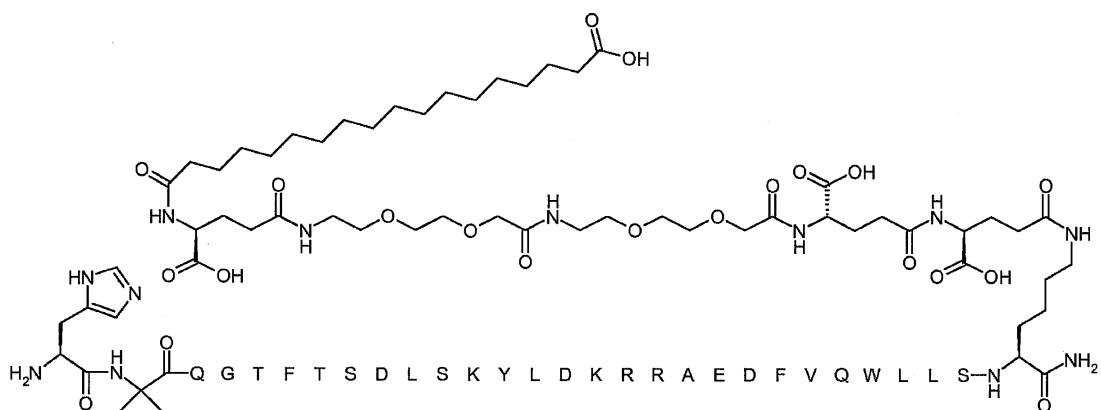
(実施例14)

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Glu20,Leu27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 6 7 5】

## 【化 1 3 3】



30

## 【 0 6 7 6】

UPLC法： 09\_B2\_1； 保持時間= 12.5分

UPLC法： 04\_A9\_1； 保持時間= 13.4分

LC-MS法： LCMS\_4； 保持時間=2.3分； m/3： 1108； m/4： 1006； m/5： 886

40

## 【 0 6 7 7】

(実施例15)

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Thr16,Arg24,Leu27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

## 【 0 6 7 8】



10

N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Ac2,Leu10,Glu15,Glu16,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

[illegible]

30

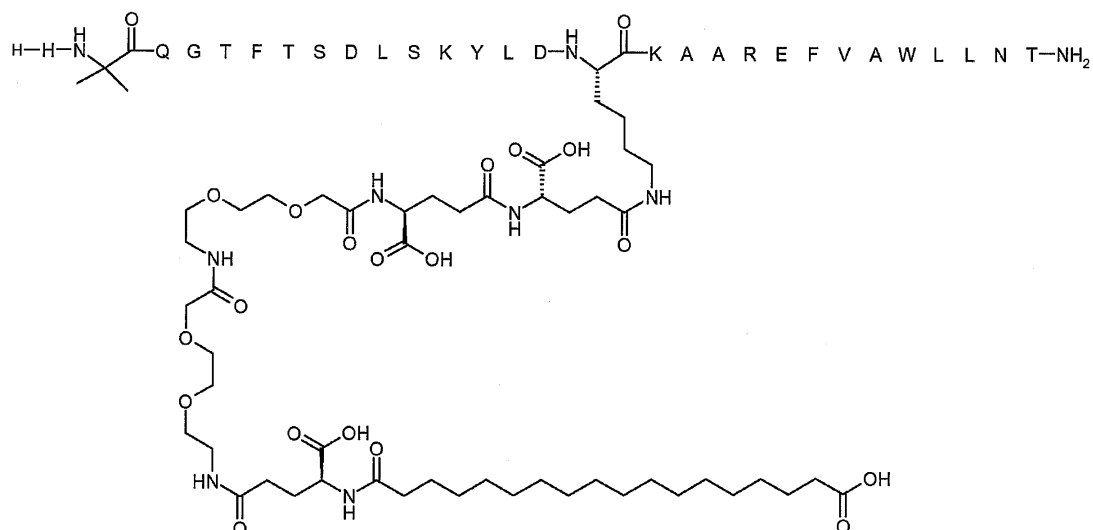
N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-グルカゴンアミド

40

【 0 6 8 4 】



【化 1 3 6】



【 0 6 8 5 】

UPLC法：09\_B4\_1；保持時間=8.5分

UPLC法：04 A9 1；保持時間=15.6分

LC-MS法： LCMS\_4； 保持時間=2.3分， m/3： 1433； m/4： 1075； m/5： 860

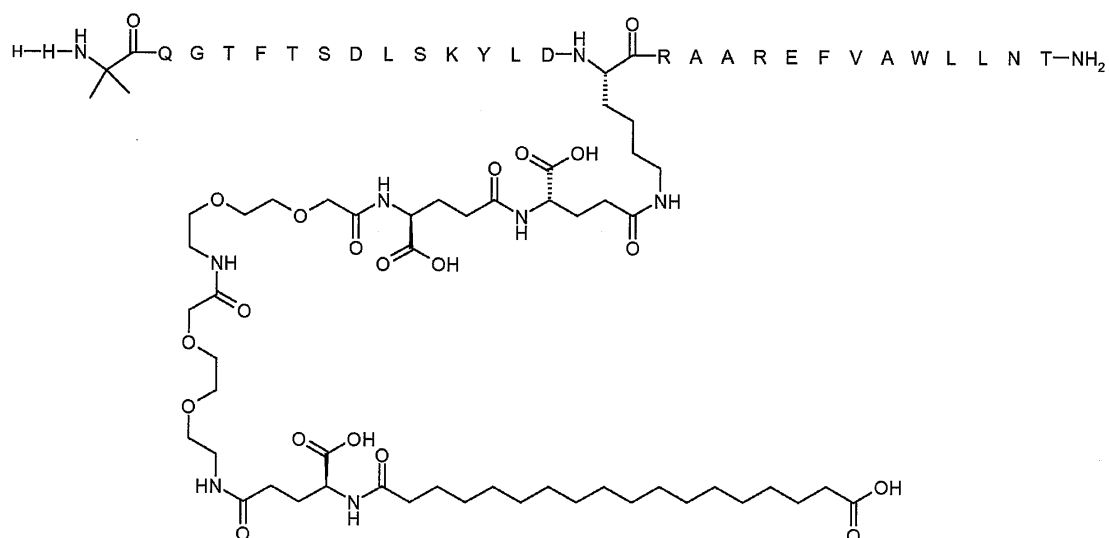
【 0 6 8 6 】

( 实施例18 )

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-グルカゴンアミド

【 0 6 8 7 】

【化 1 3 7】



【 0 6 8 8 】

UPLC法： 09\_B4\_1； 保持時間=8.4分

UPLC法：04 A9 1；保持時間=16.0分

LC-MS法：LCMS 4；保持時間=2.3分，m/3：1443；m/4：1082；m/5：866

【 0 6 8 9 】

( 实施例19 )

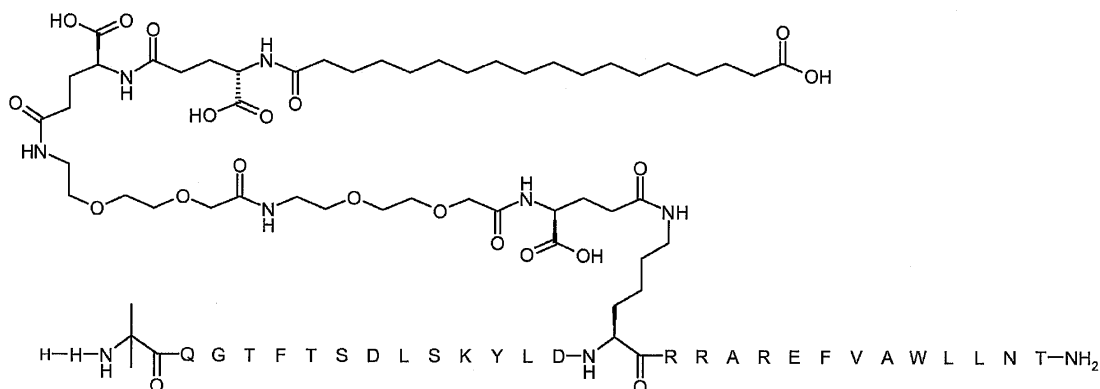
N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [(4S)-4-カルボキシ-4-[ [(4S)-4-カ



ルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-グルカゴンアミド

【0690】

【化138】



10

【0691】

UPLC法：UPLC01v01：保持時間=12.2分

LC-MS法：LCMS01v01：保持時間=1.9分, m/3 1471；m/4 1103；m/5 882

20

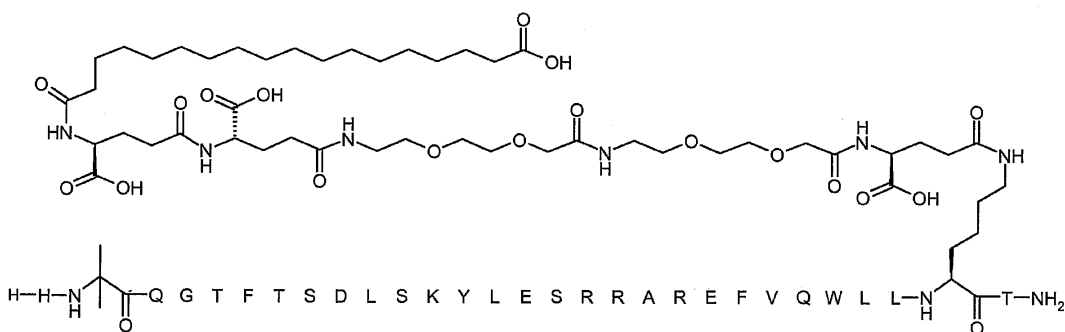
【0692】

(実施例20)

N<sup>29</sup>-(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

【0693】

【化139】



30

【0694】

UPLC法：UPLC01v01：保持時間=12.3分

LC-MS法：LCMS01v01：保持時間=1.8分, m/3 1485；m/4 1114；m/5 891

40

【0695】

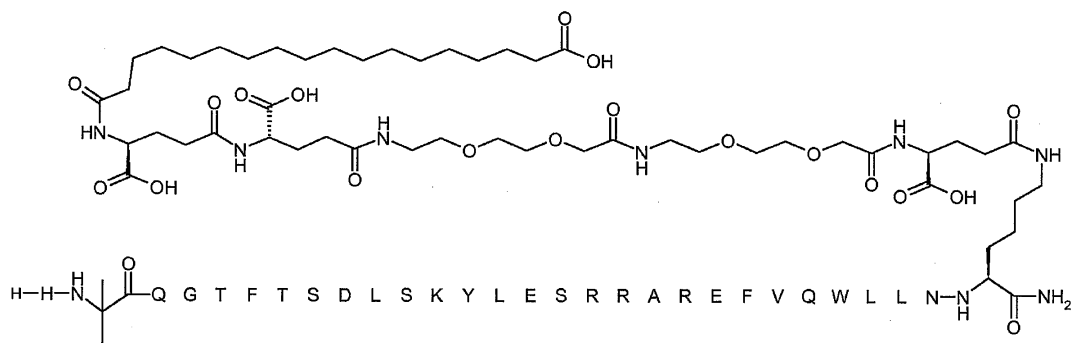
(実施例21)

N<sup>29</sup>-(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-グルカゴンアミド

【0696】



## 【化 1 4 0】



10

## 【 0 6 9 7】

UPLC法 : UPLC01v01 : 保持時間= 12.1分

LC-MS法 : 保持時間=1.8分, m/3 1490 ; m/4 1117 ; m/5 894

## 【 0 6 9 8】

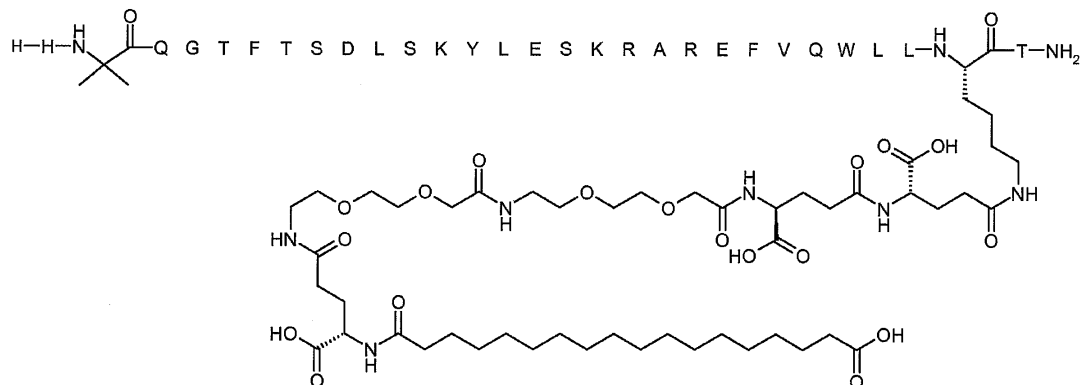
( 実施例22 )

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 6 9 9】

## 【化 1 4 1】



30

## 【 0 7 0 0】

UPLC法 : 09\_B2\_1 ; 保持時間=12.5分

UPLC法 : 04\_A10\_1 ; 保持時間=9.7分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.6分, m/3 : 1476 ; m/4 : 1107 ; m/5 : 886

## 【 0 7 0 1】

( 実施例23 )

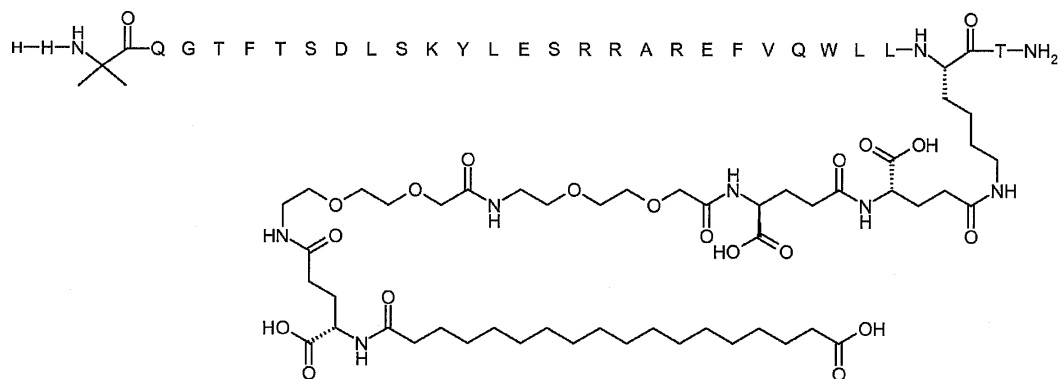
N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 7 0 2】



## 【化 1 4 2】



10

## 【 0 7 0 3】

UPLC法 : 09\_B2\_1 ; 保持時間=12.5分

UPLC法 : 04\_A10\_1 ; 保持時間=9.7分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.6分, m/3 : 1486 ; m/4 : 1114 ; m/5 : 892

## 【 0 7 0 4】

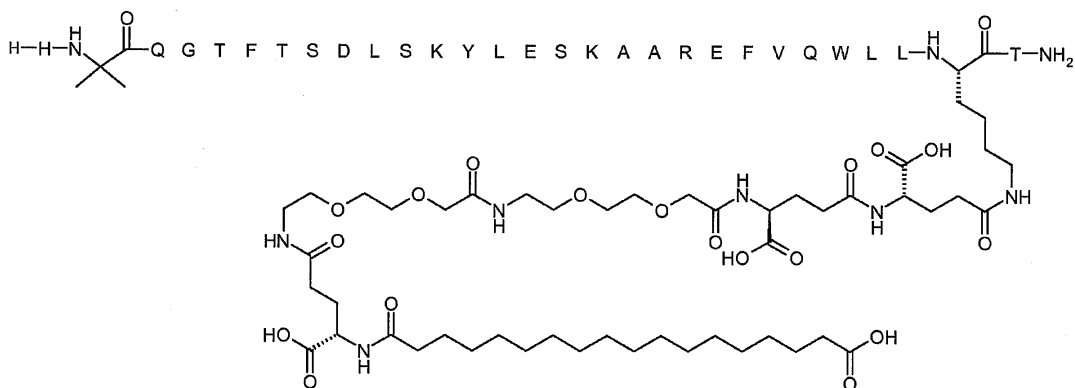
(実施例24)

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 7 0 5】

## 【化 1 4 3】



30

## 【 0 7 0 6】

UPLC法 : 09\_B2\_1 ; 保持時間=13.4分

UPLC法 : 04\_A10\_1 ; 保持時間=10.1分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.8分, m/3 : 1448 ; m/4 : 1086 ; m/5 : 869

## 【 0 7 0 7】

(実施例25)

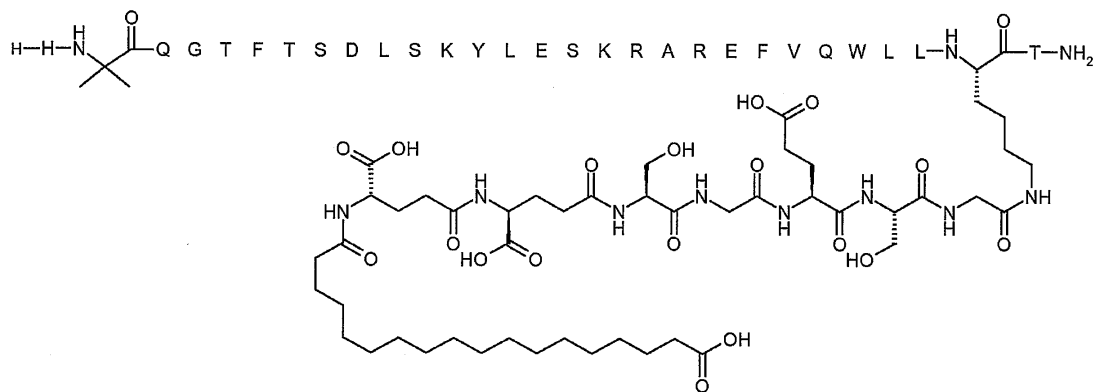
N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 7 0 8】



## 【化 1 4 4】



10

## 【 0 7 0 9】

UPLC法 : 09\_B2\_1 ; 保持時間=12.6分

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間=12.2分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=1.7分, m/3 : 1475 ; m/4 : 1107 ; m/5 : 885

## 【 0 7 1 0】

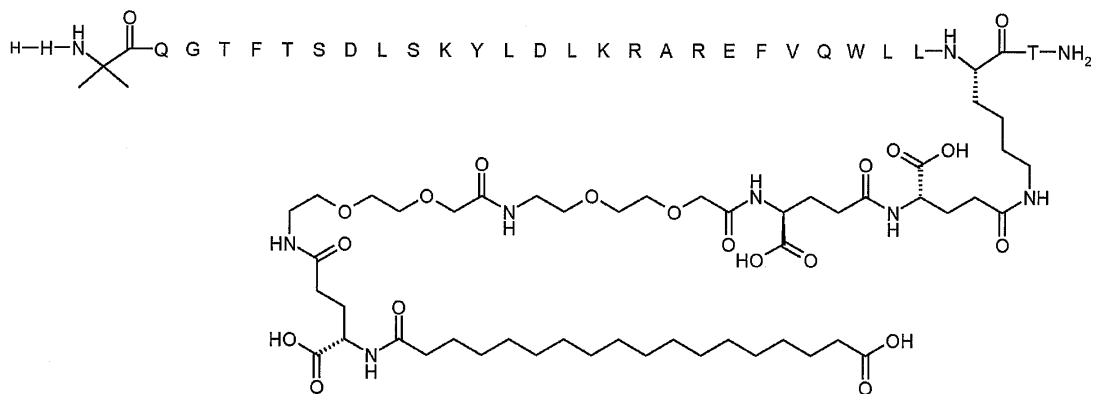
(実施例26)

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]-アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 7 1 1】

## 【化 1 4 5】



30

## 【 0 7 1 2】

UPLC法 : 09\_B2\_1 ; 保持時間=13.3分

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間=17.5分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=1.8分, m/3 : 1481 ; m/4 : 1111 ; m/5 : 889

## 【 0 7 1 3】

(実施例27)

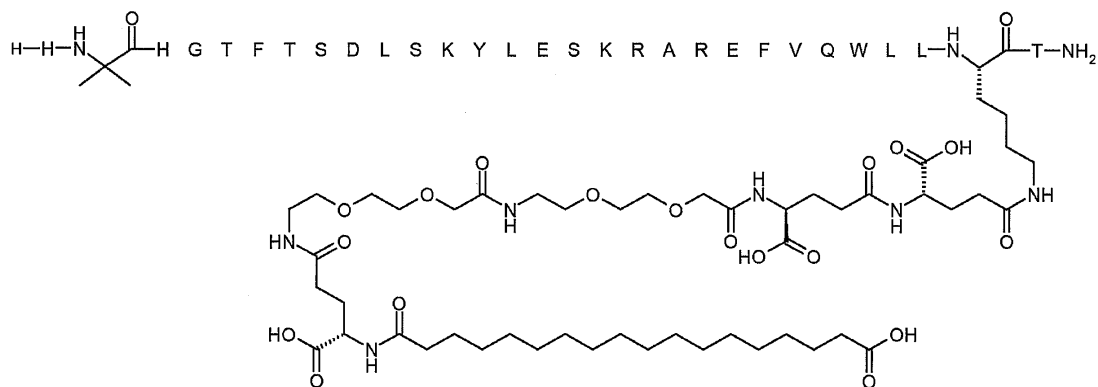
N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 7 1 4】



## 【化 1 4 6】



10

## 【 0 7 1 5】

UPLC法： 09\_B2\_1； 保持時間=12.6分

UPLC法： 04\_A9\_1； 保持時間=12.7分

LC-MS法： LCMS\_4； 保持時間=1.7分， m/3： 1479； m/4： 1110； m/5： 888

## 【 0 7 1 6】

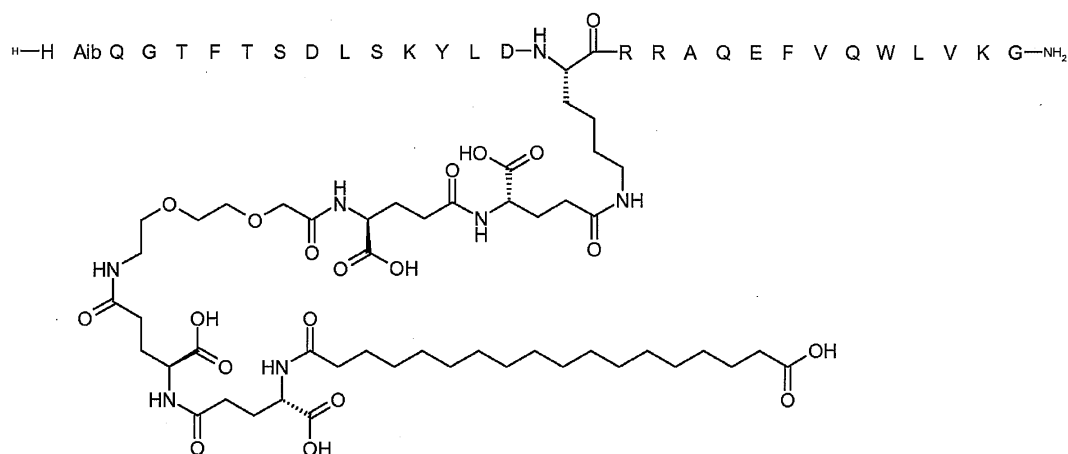
(実施例28)

N<sup>16</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-  
-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブ  
タノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-  
[Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Val27,Lys28,Gly29]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 7 1 7】

## 【化 1 4 7】



30

## 【 0 7 1 8】

UPLC法： UPLC02v01； 保持時間= 7.7分

LC-MS法： LCMS13v01； 保持時間=2.1分， m/3： 1461； m/4： 1096

40

## 【 0 7 1 9】

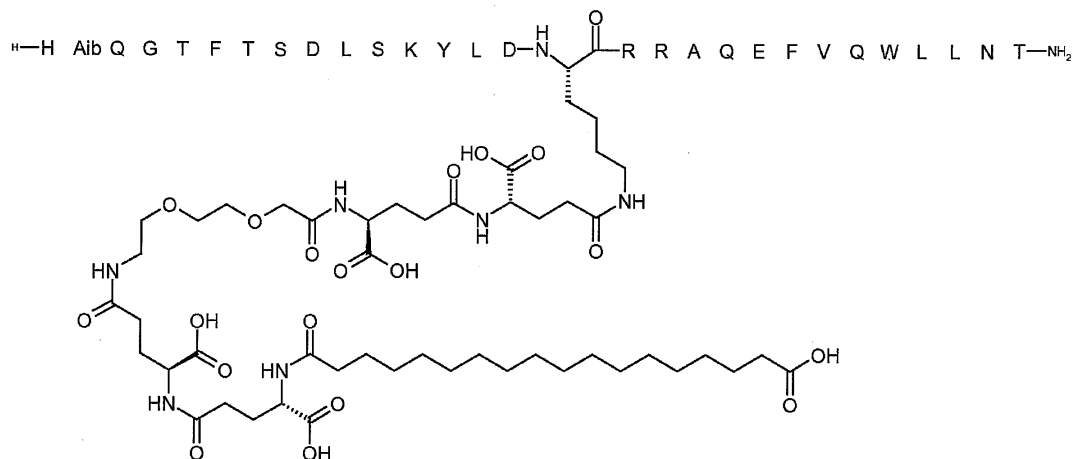
(実施例29)

N<sup>16</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-  
-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブ  
タノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-  
[Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Leu27]-グルカゴンアミド

## 【 0 7 2 0】



## 【化 1 4 8】



10

## 【 0 7 2 1】

UPLC法 : UPLC02v01 ; 保持時間= 8.1分

LC-MS法 : LCMS13v01 ; 保持時間=2.2分, m/3 : 1476 ; m/4 : 1107

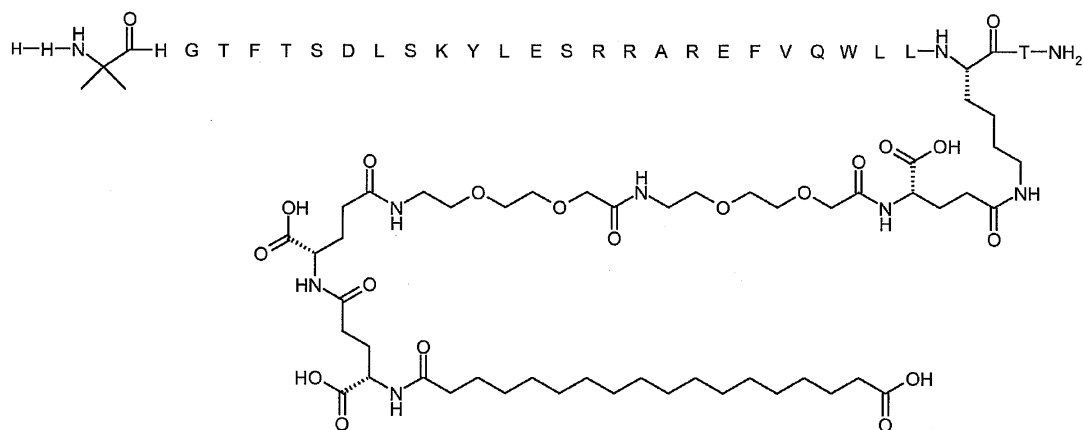
## 【 0 7 2 2】

(実施例30)

$\text{N}^{28}$ -[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

## 【 0 7 2 3】

## 【化 1 4 9】



30

## 【 0 7 2 4】

UPLC法 : 09\_B2\_1 ; 保持時間=12.1分

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間=14.3分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.1分, m/3 : 1489 ; m/4 : 1117 ; m/5 : 893

## 【 0 7 2 5】

(実施例31)

$\text{N}^{28}$ -[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

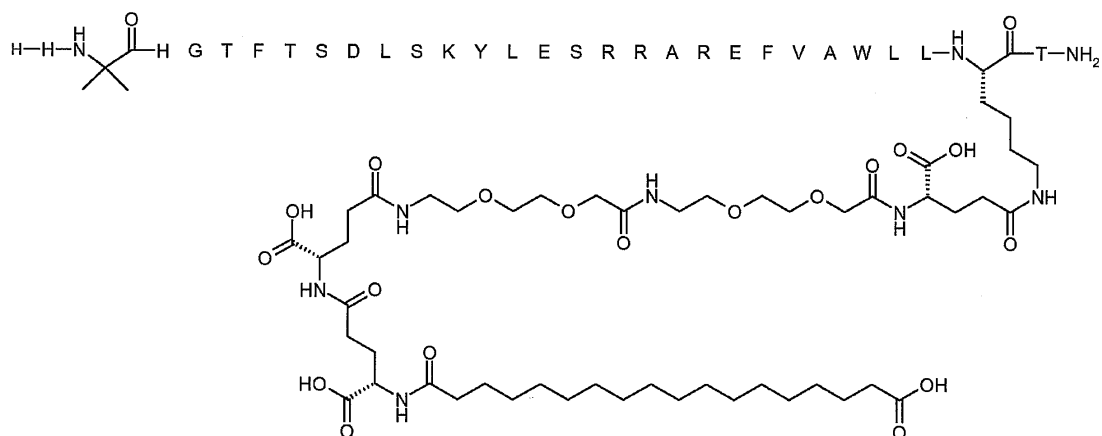
## 【 0 7 2 6】

40

50



## 【化 1 5 0】



10

## 【 0 7 2 7】

UPLC法 : 09\_B2\_1 ; 保持時間=12.2分

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間=14.2分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.2分, m/4 : 1102 ; m/5 : 882

## 【 0 7 2 8】

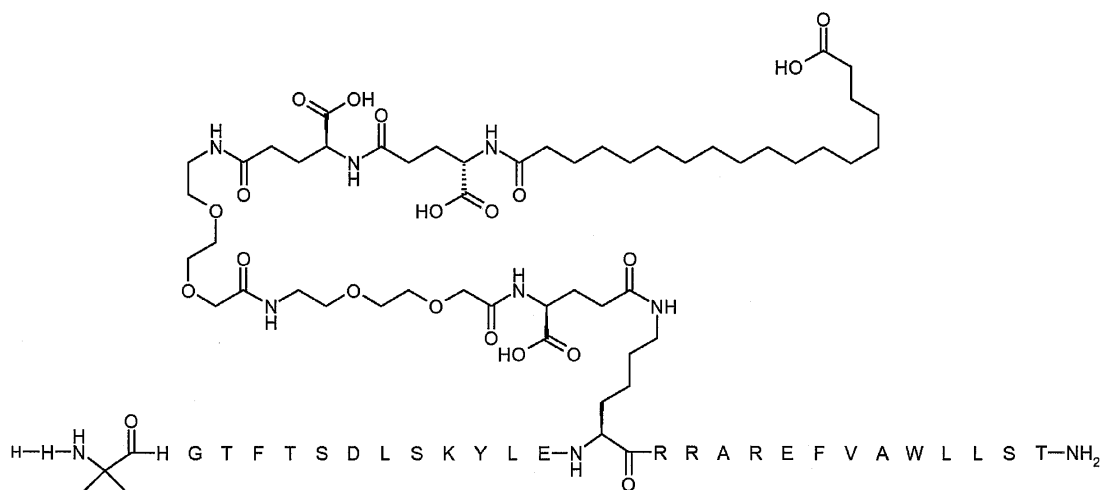
(実施例32)

N<sup>16</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Ser28]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 7 2 9】

## 【化 1 5 1】



30

40

## 【 0 7 3 0】

UPLC法 : 09\_B2\_1 ; 保持時間=12.1分

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間=14.1分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.1分, m/4 : 1102 ; m/5 : 882

## 【 0 7 3 1】

(実施例33)

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノ

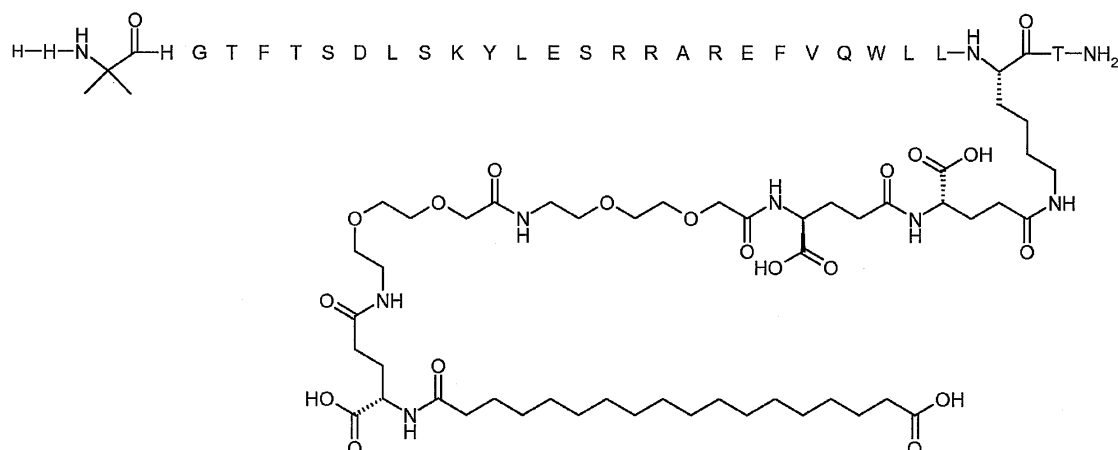
50



イル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

【 0 7 3 2 】

【 化 1 5 2 】



10

【 0 7 3 3 】

UPLC法 : 09\_B2\_1 ; 保持時間=12.2分

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間=15.2分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.0分, m/3 : 1489 ; m/4 : 1117 ; m/5 : 893

20

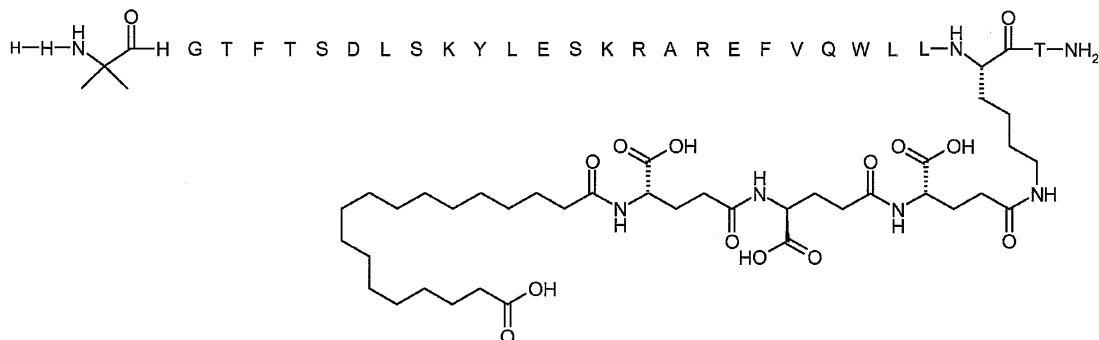
【 0 7 3 4 】

( 実施例34 )

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

【 0 7 3 5 】

【 化 1 5 3 】



30

【 0 7 3 6 】

UPLC法 : 09\_B2\_1 ; 保持時間=12.2分

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間=14.9分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.0分, m/3 : 1383 ; m/4 : 1037 ; m/5 : 830

40

【 0 7 3 7 】

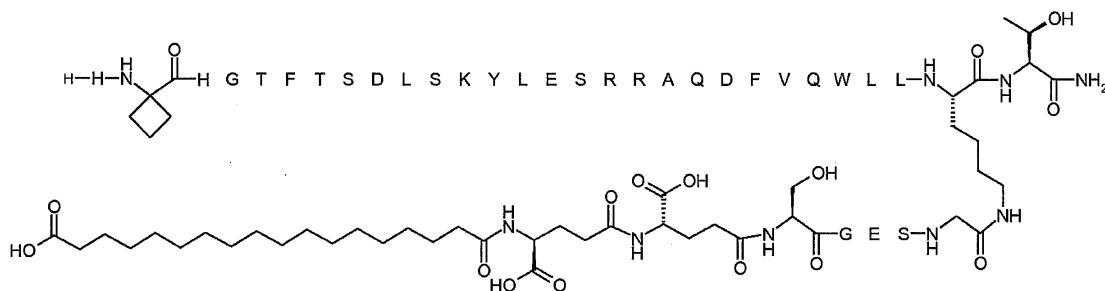
( 実施例35 )

N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

【 0 7 3 8 】



## 【化 1 5 4】



10

## 【 0 7 3 9】

UPLC法： UPLC02v01 保持時間= 8.14分

LC-MS法： LCMS01v01； 保持時間=2.1； m/3：1478； m/5：1109； m/6：887

## 【 0 7 4 0】

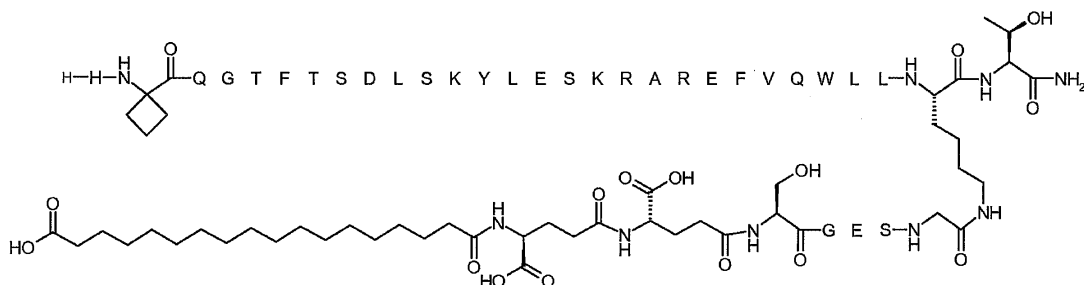
(実施例36)

N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Ac2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 7 4 1】

## 【化 1 5 5】



30

## 【 0 7 4 2】

UPLC法： UPLC02v01： 保持時間=7.9分

LC-MS法： LCMS01v01： 保持時間=2.1； m/3：1480； m/4：1110； m/5：888

## 【 0 7 4 3】

(実施例37)

N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 7 4 4】



[illegible]

10

20

CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)OCC(=O)N[C@@H](CCCC(=O)NCCOCCOCC(=O)N[C@@H](CCCC(=O)NCC(=O)O)CCCC(=O)N)CCCC(=O)NCC(=O)O

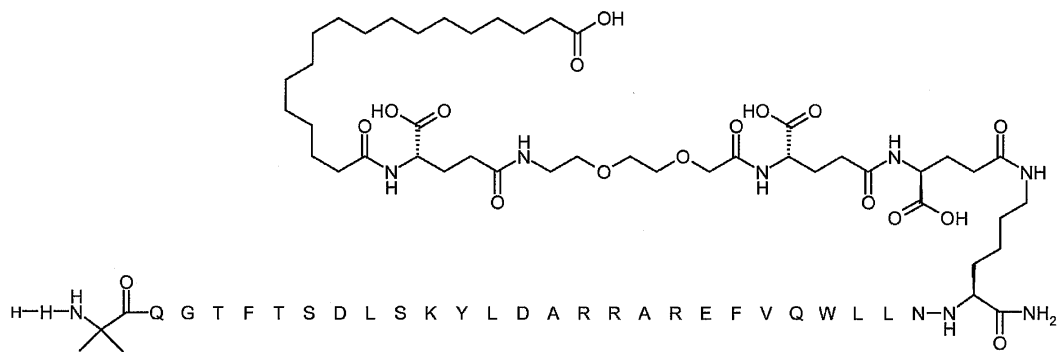
30

40

【 0 7 5 0 】



## 【化 1 5 8】



10

## 【 0 7 5 1】

UPLC法 : 09\_B2\_1 ; 保持時間=12.3分

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間=16.0分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.8分, m/3 : 1432 ; m/4 : 1074 ; m/5 : 859

## 【 0 7 5 2】

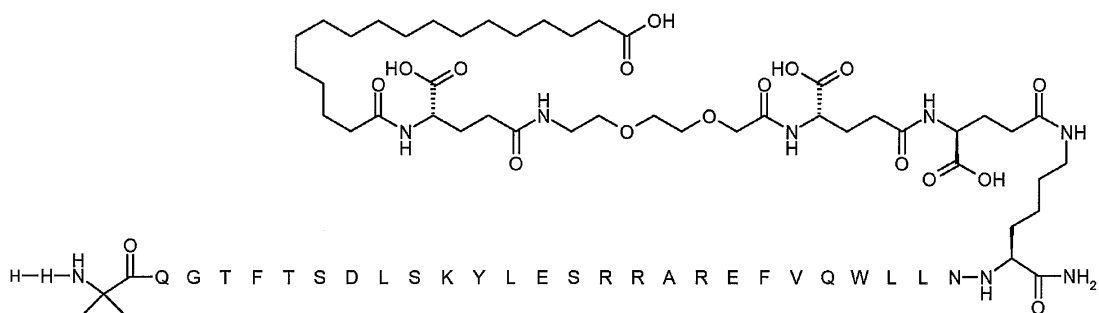
(実施例40)

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 7 5 3】

## 【化 1 5 9】



30

## 【 0 7 5 4】

UPLC法 : 09\_B2\_1 ; 保持時間=12.2分

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間=13.9分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.7分, m/3 : 1442 ; m/4 : 1081 ; m/5 : 865

## 【 0 7 5 5】

(実施例41)

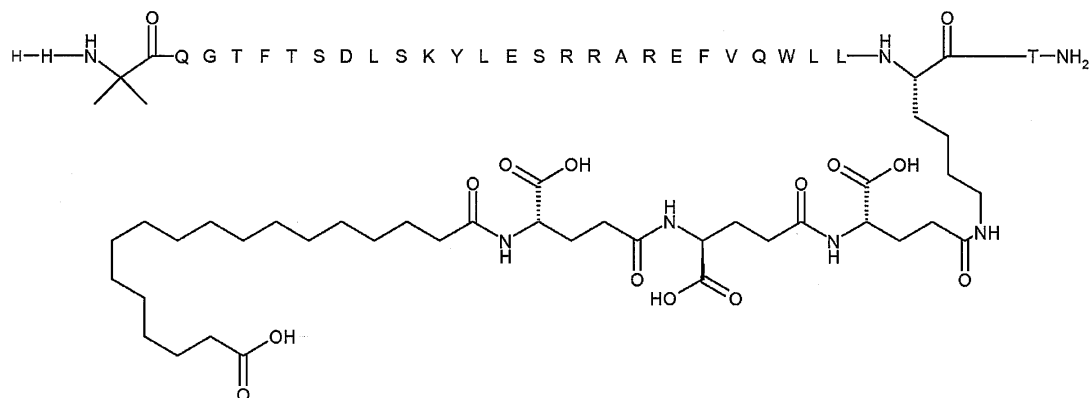
N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 7 5 6】



## 【化160】



10

## 【0757】

UPLC法： 09\_B2\_1； 保持時間=12.3分

UPLC法： 04\_A9\_1； 保持時間=15.1分

LC-MS法： LCMS\_4； 保持時間=2.3分， m/3： 1389； m/4： 1042； m/5： 834

## 【0758】

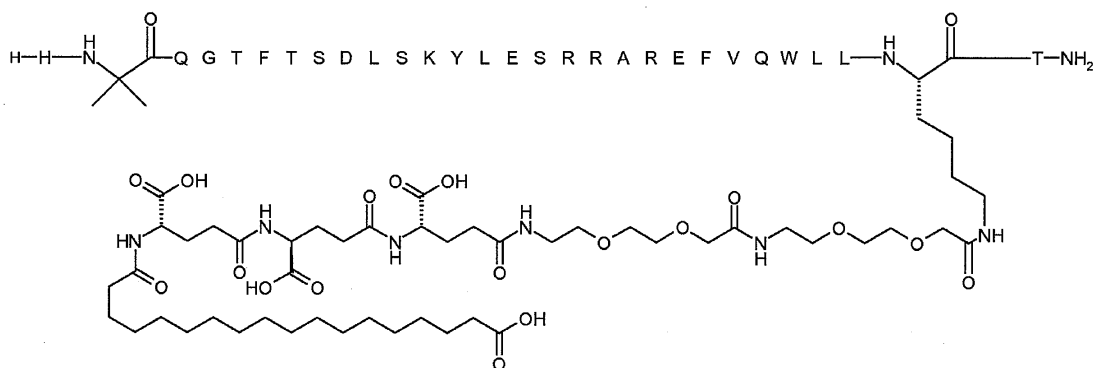
(実施例42)

N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【0759】

## 【化161】



30

## 【0760】

UPLC法： 09\_B2\_1； 保持時間=12.2分

UPLC法： 04\_A9\_1； 保持時間=14.7分

LC-MS法： LCMS\_4； 保持時間=2.3分， m/3： 1486； m/4： 1114； m/5： 892

## 【0761】

(実施例43)

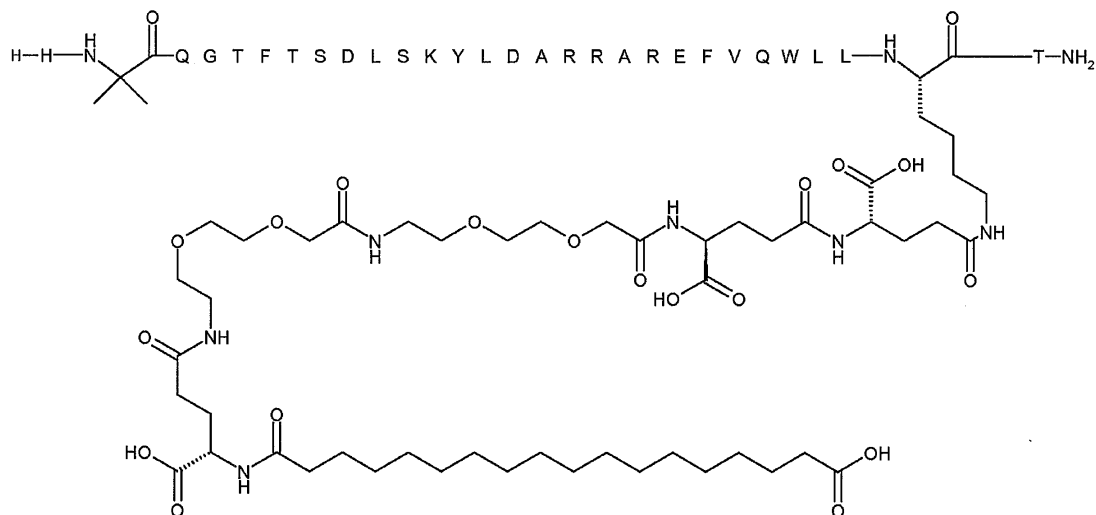
N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【0762】



## 【化 1 6 2】



10

## 【 0 7 6 3】

UPLC法 : 09\_B2\_1 ; 保持時間=12.4分

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間=17.2分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.4分, m/3 : 1476 ; m/4 : 1107 ; m/5 : 886

20

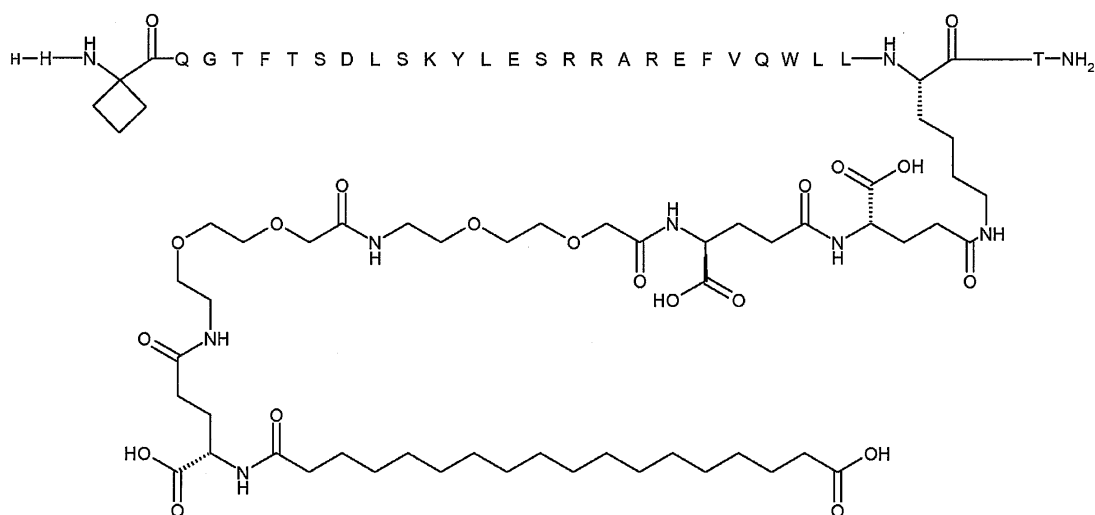
## 【 0 7 6 4】

(実施例44)

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

## 【 0 7 6 5】

## 【化 1 6 3】



30

40

## 【 0 7 6 6】

UPLC法 : 09\_B2\_1 ; 保持時間=12.3分

UPLC法 : 04\_A9\_1 ; 保持時間=15.2分

LC-MS法 : LCMS\_4 ; 保持時間=2.3分, m/3 : 1490 ; m/4 : 1117 ; m/5 : 894

## 【 0 7 6 7】

(実施例45)

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カ

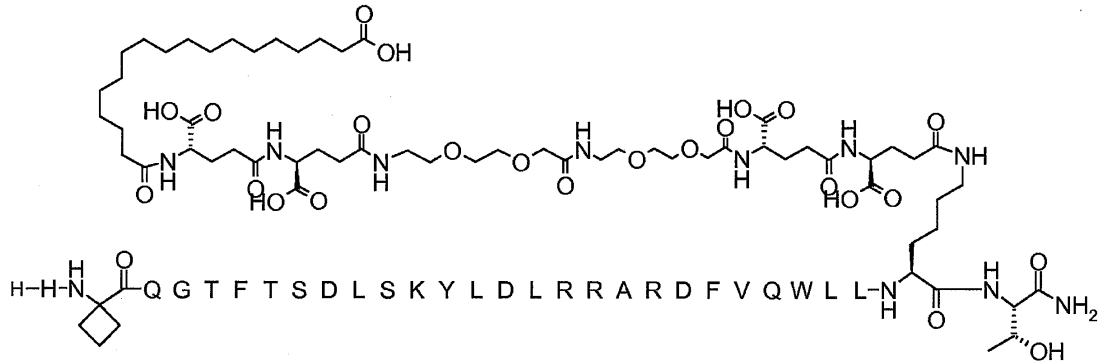
50



ルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

【0768】

【化164】



【0769】

UPLC法：UPLC02v01 保持時間= 8.4分

LC-MS法：LCMS01v01； 保持時間=2.7分； m/3：1532； m/5：1150； m/6：920

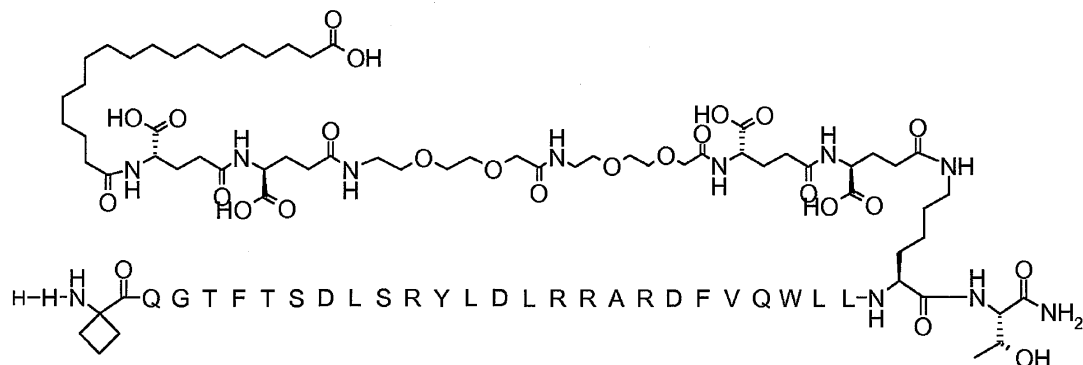
【0770】

(実施例46)

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2,Leu10,Arg12,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

【0771】

【化165】



【0772】

UPLC法：UPLC02v01 保持時間= 8.4分

LC-MS法：LCMS01v01； 保持時間=2.7分； m/3：1542； m/5：1157； m/6：925

【0773】

(実施例47)

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

10

20

30

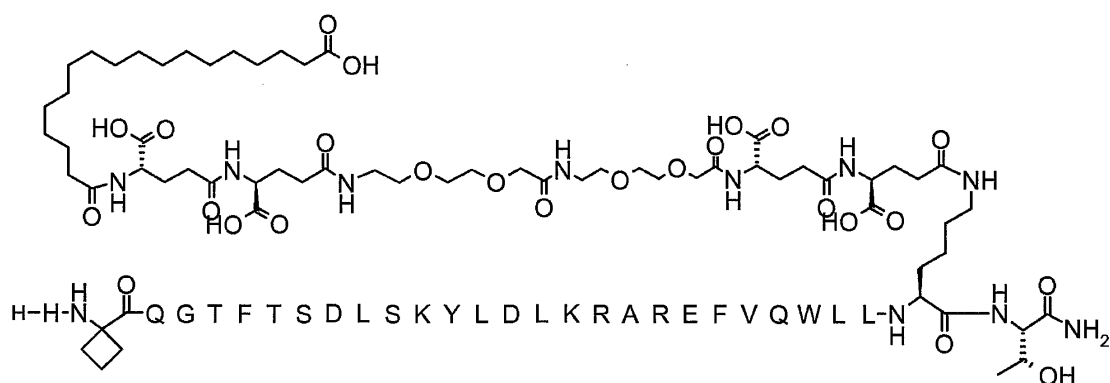
40

50



【 0 7 7 4 】

【 化 1 6 6 】



【 0 7 7 5 】

UPLC法 : UPLC02v01 : 保持時間=8.4分

LC-MS法 : LCMS01v01 : 保持時間=2.7分 ; m/3 : 1528 ; m/4 : 1146 ; m/5 : 917

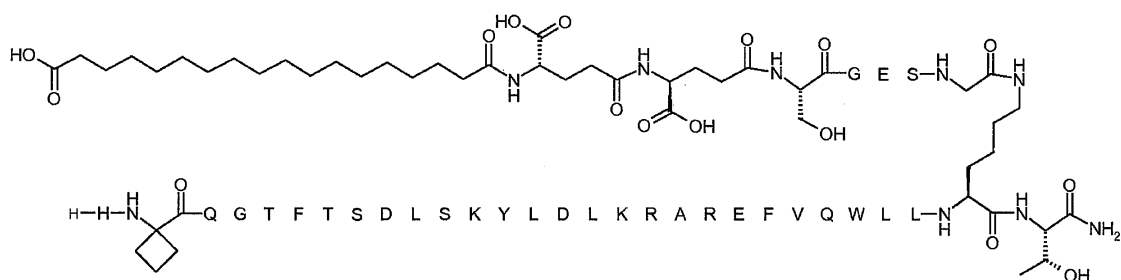
【 0 7 7 6 】

( 実施例48 )

N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Acb2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

【 0 7 7 7 】

【 化 1 6 7 】



【 0 7 7 8 】

UPLC法 : UPLC02v01 : 保持時間=8.3分

LC-MS法 : LCMS01v01 : 保持時間=2.1分 ; m/3 : 1484 ; m/4 : 1113 ; m/5 : 891

【 0 7 7 9 】

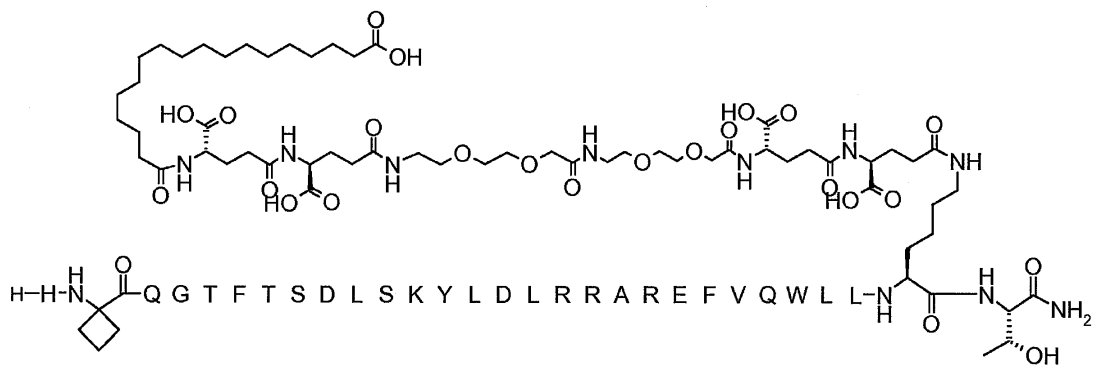
( 実施例49 )

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[[2-[[2-[[2-[[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

【 0 7 8 0 】



## 10



## 20

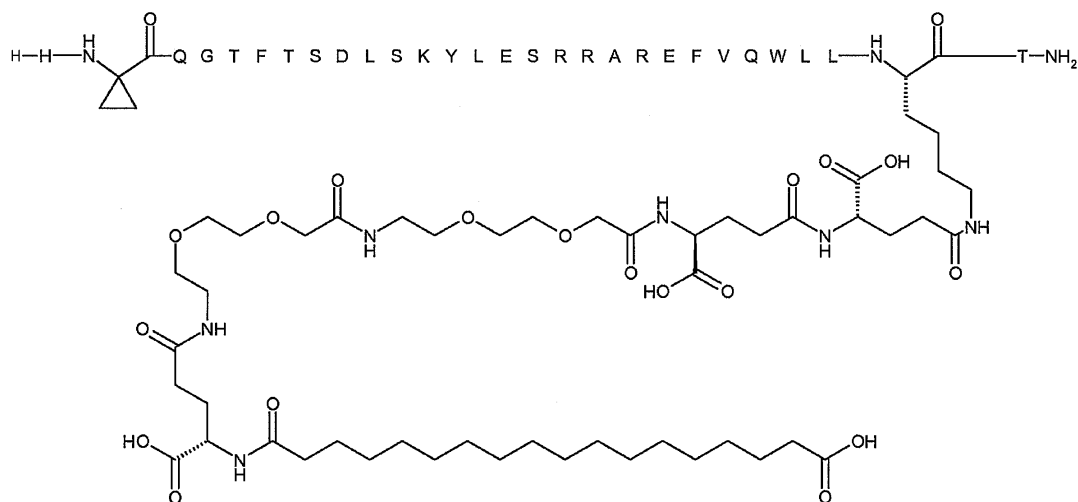
UPLC法： 04\_A9\_1； 保持時間=14.5分

LC-MS法： LCMS\_4； 保持時間=2.4分， m/3： 1485； m/4： 1114； m/5： 891

( 实施例50 )

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Acpr2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

【化 1 6 9】



## 40

UPLC法： 04\_A9\_1； 保持時間=14.5分

LC-MS法： LCMS\_4； 保持時間=2.4分， m/3： 1485； m/4： 1114； m/5： 891

( 实施例51 )

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Aib16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

## 50



NC(=O)C[C@H](CCCC[C@H](N)C(=O)NCCCCC(=O)O)C(=O)O

10

## 20

[illegible]

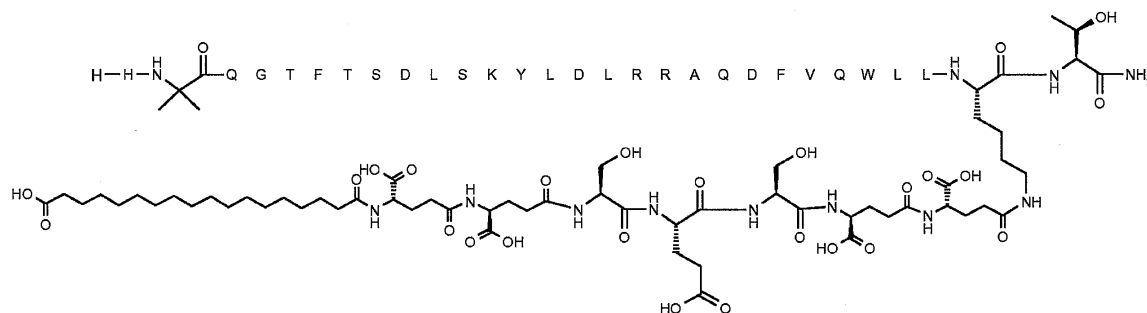
30

## 40

【 0 7 9 2 】



## 【化 1 7 2】



10

## 【 0 7 9 3】

UPLC法 : UPLC02v01 : 保持時間=8.5分

LC-MS法 : LCMS01v01 : 保持時間=2.8分 ;  $m/1 = 4569$  ;  $m/3 = 1523$  ;  $m/4 = 1143$  ;  $m/5 = 915$ 

## 【 0 7 9 4】

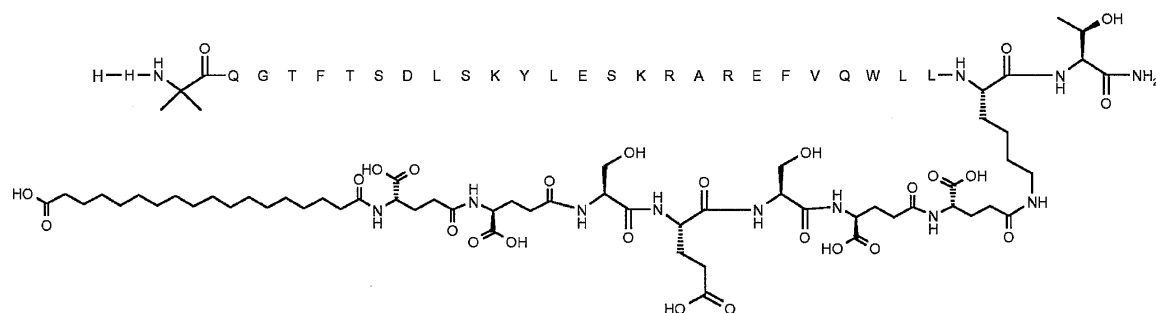
(実施例54)

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 7 9 5】

## 【化 1 7 3】



30

## 【 0 7 9 6】

UPLC法 : UPLC02v01 : 保持時間=8.0分

LC-MS法 : LCMS01v01 : 保持時間=2.5分 ;  $m/3 = 1524$  ;  $m/4 = 1143$  ;  $m/5 = 915$  ;  $m/z = 4571$ 

## 【 0 7 9 7】

(実施例55)

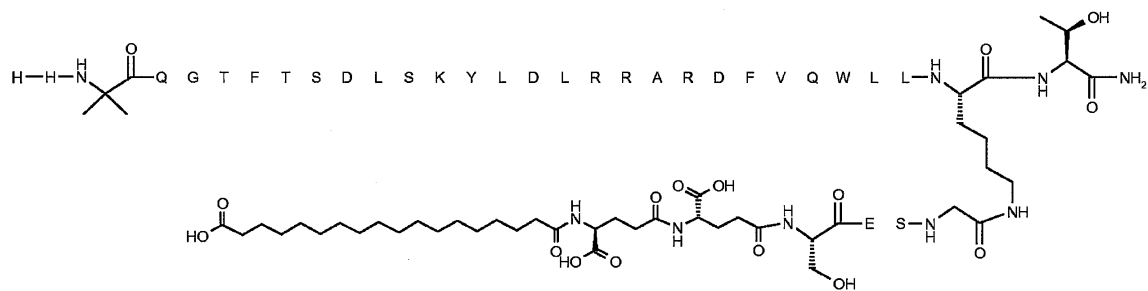
N<sup>28</sup>-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 7 9 8】



## 【化 1 7 4】



10

## 【 0 7 9 9 】

UPLC法 : UPLC02v01 : 保持時間=8.4分

LC-MS法 : LCMS01v01 : 保持時間=2.8分 ;  $m/3 = 1466$  ;  $m/4 = 1100$  ;  $m/5 = 880$  ;  $m/z = 4395$ 

## 【 0 8 0 0 】

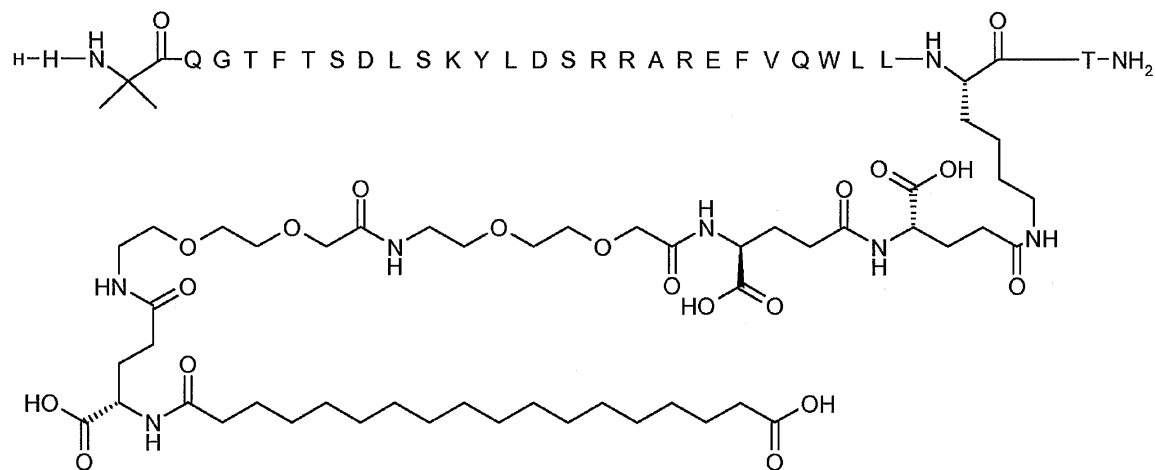
(実施例56)

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 8 0 1 】

## 【化 1 7 5】



30

## 【 0 8 0 2 】

UPLC法 : UPLC01v01 : 保持時間=12.386分

LC-MS法 : LCMS01v01 :  $m/3 = 1481.4$  ;  $m/4 = 1111.03$  ;  $m/5 = 889.3$ 

## 【 0 8 0 3 】

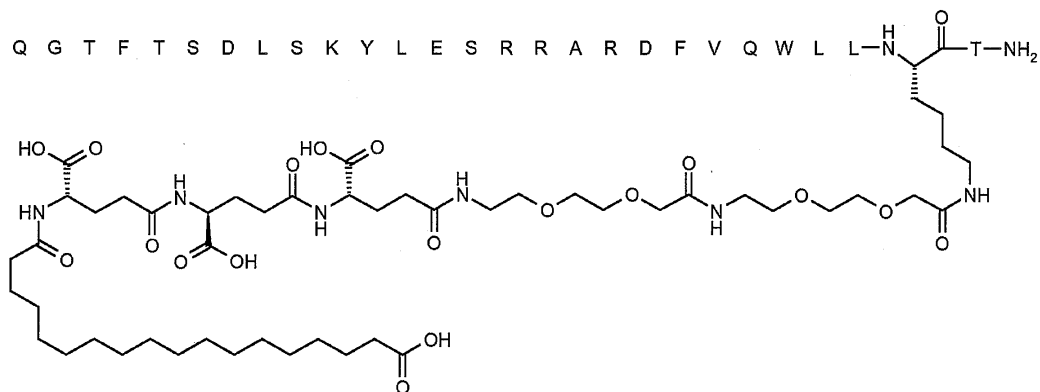
(実施例57)

N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 8 0 4 】



$$\text{H}-\text{H} \quad \text{Aib} \quad \text{Q} \quad \text{G} \quad \text{T} \quad \text{F} \quad \text{T} \quad \text{S} \quad \text{D} \quad \text{L} \quad \text{S} \quad \text{K} \quad \text{Y} \quad \text{L} \quad \text{E} \quad \text{S} \quad \text{R} \quad \text{R} \quad \text{A} \quad \text{R} \quad \text{D} \quad \text{F} \quad \text{V} \quad \text{Q} \quad \text{W} \quad \text{L} \quad \text{L}-\text{N} \begin{array}{c} \text{H} \\ \diagup \\ \text{C}=\text{T}-\text{NH}_2 \end{array}$$


10

UPLC法： UPLC02v01： 保持時間=8.0分

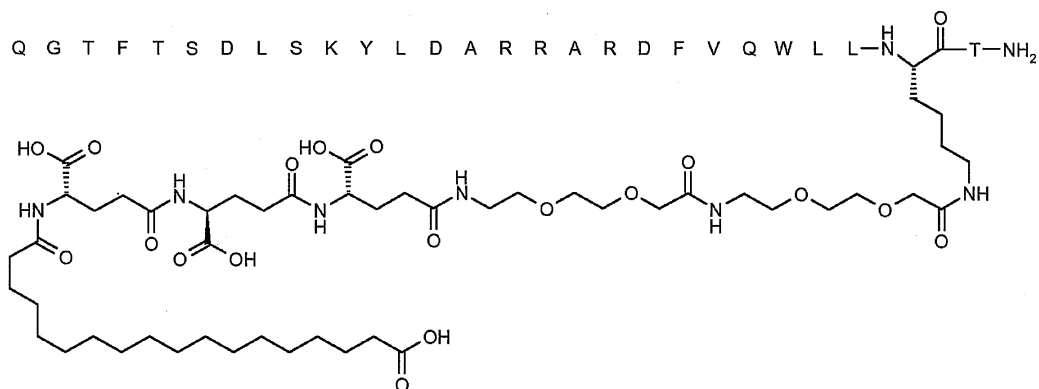
LC-MS法： LCMS13v01： 保持時間=2.2分； m/3 = 1480.8； m/4 = 1111.04

( 实施例58 )

N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[ (4S)-4-カルボキシ-4-[[ (4S)-4-カルボキシ-4-[[ (4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【化 1 7 7】

$$\text{H}-\text{H} \quad \text{Aib} \quad \text{Q} \quad \text{G} \quad \text{T} \quad \text{F} \quad \text{T} \quad \text{S} \quad \text{D} \quad \text{L} \quad \text{S} \quad \text{K} \quad \text{Y} \quad \text{L} \quad \text{D} \quad \text{A} \quad \text{R} \quad \text{R} \quad \text{A} \quad \text{R} \quad \text{D} \quad \text{F} \quad \text{V} \quad \text{Q} \quad \text{W} \quad \text{L} \quad \text{L}-\text{N} \begin{array}{l} \text{H} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}=\text{C} \end{array} \text{T}-\text{NH}_2$$


30

UPLC法： UPLC02v01： 保持時間=8.7分

LC-MS法： LCMS13v01： 保持時間=2.2分；  $m/3 = 1471.05$ ；  $m/4 = 1103.69$

( 实施例59 )

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

【 0 8 1 0 】



[illegible]

10

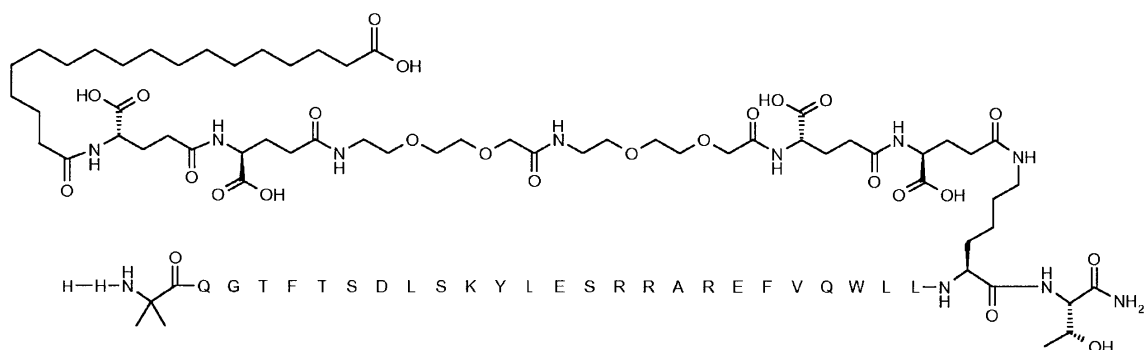
LC-MS法 : LCMS01v01 : m/3 = 1542 ; m/4 = 1157 ; m/5 = 926 ; m/z = 4626

( 实施例60 )

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

【化 1 7 9】



30

LC-MS法： LCMS01v01： 保持時間=2.0分； m/1 = 4587； m/3 = 1529； m/4 = 1147； m/5 = 918

( 实施例61 )

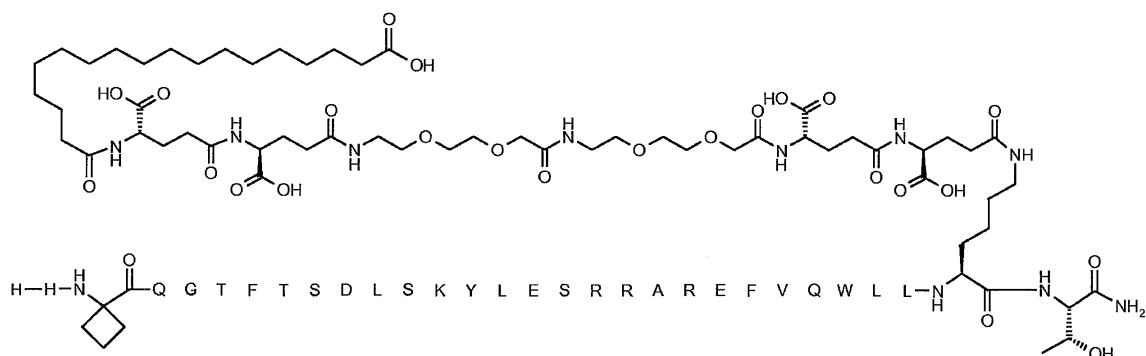
N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Ac2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

【 0 8 1 6 】



## 【化 1 8 0】



10

## 【 0 8 1 7】

UPLC法 : UPLC02v01 : 保持時間=8.2分

LC-MS法 : LCMS01v01 : 保持時間=2.1分 ;  $m/1 = 4598$  ;  $m/4 = 1150$  ;  $m/5 = 920$ 

## 【 0 8 1 8】

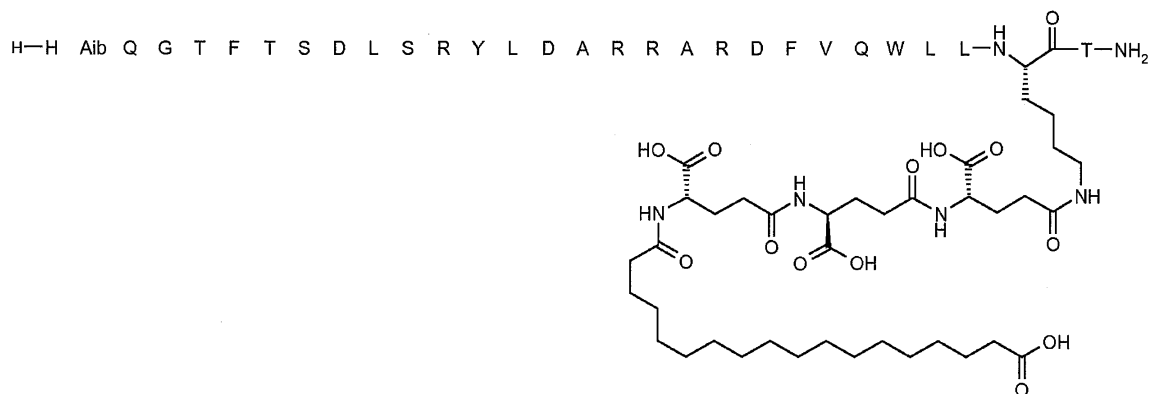
(実施例62)

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 8 1 9】

## 【化 1 8 1】



30

## 【 0 8 2 0】

UPLC法 : UPLC02v01 : 保持時間=8.2分

LC-MS法 : LCMS13v01 : 保持時間=2.3分 ;  $m/3 = 1384.04$  ;  $m/4 = 1038.14$ 

## 【 0 8 2 1】

(実施例63)

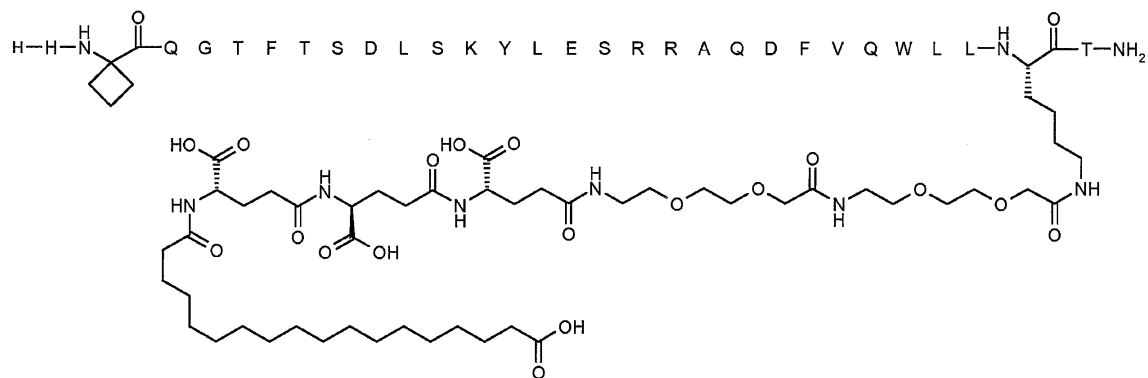
N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Acb2,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 8 2 2】



## 【化 1 8 2】



10

## 【 0 8 2 3】

UPLC法 : UPLC02v01 : 保持時間=8.3分

LC-MS法 : LCMS13v01 : 保持時間=2.2分 ;  $m/3 = 1476.15$  ;  $m/4 = 1107.36$ 

## 【 0 8 2 4】

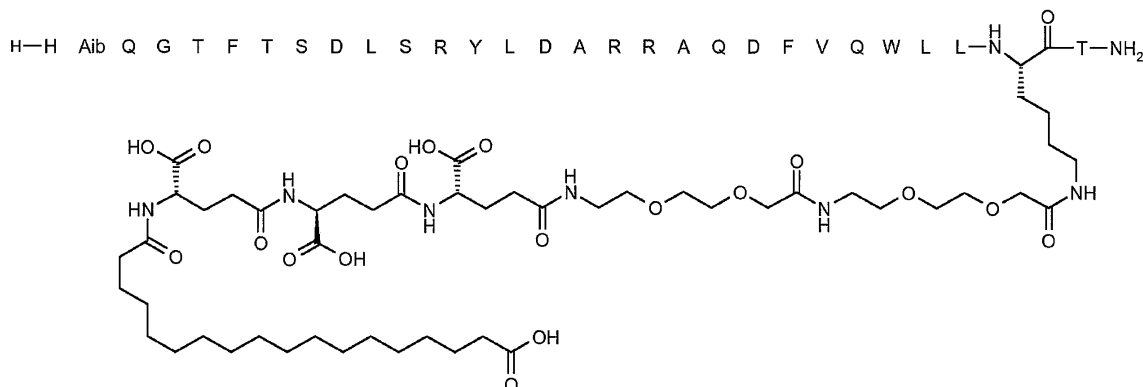
(実施例64)

N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 8 2 5】

## 【化 1 8 3】



30

## 【 0 8 2 6】

UPLC法 : UPLC02v01 : 保持時間=8.3分

LC-MS法 : LCMS13v01 : 保持時間=2.2分 ;  $m/3 = 1471.27$  ;  $m/4 = 1103.76$ 

## 【 0 8 2 7】

(実施例65)

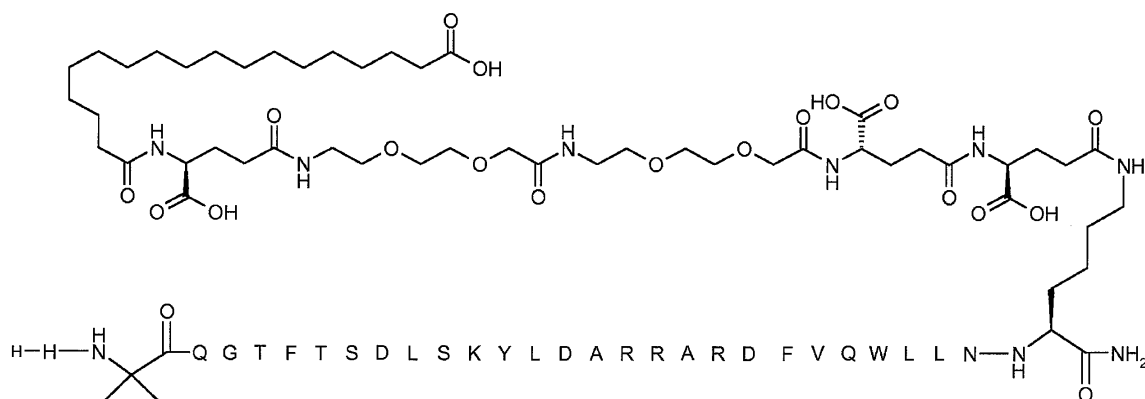
N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys29]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 8 2 8】



## 【化 1 8 4】



10

## 【 0 8 2 9】

UPLC法 : UPLC02v01 : 保持時間=8.1分

LC-MS法 : LCMS01v01 : 保持時間=2.2分 ; m/3 = 1476 ; m/4 = 1107 ; m/5 = 886

## 【 0 8 3 0】

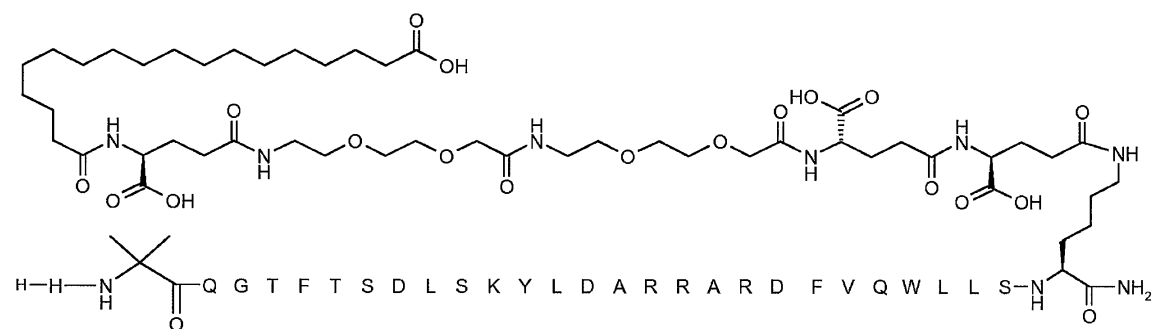
(実施例66)

N<sup>29</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 8 3 1】

## 【化 1 8 5】



30

## 【 0 8 3 2】

UPLC法 : UPLC02v01 : 保持時間=8.2分

LC-MS法 : LCMS01v01 : 保持時間=2.2分 ; m/3 = 1467 ; m/4 = 1100 ; m/5 = 880

## 【 0 8 3 3】

(実施例67)

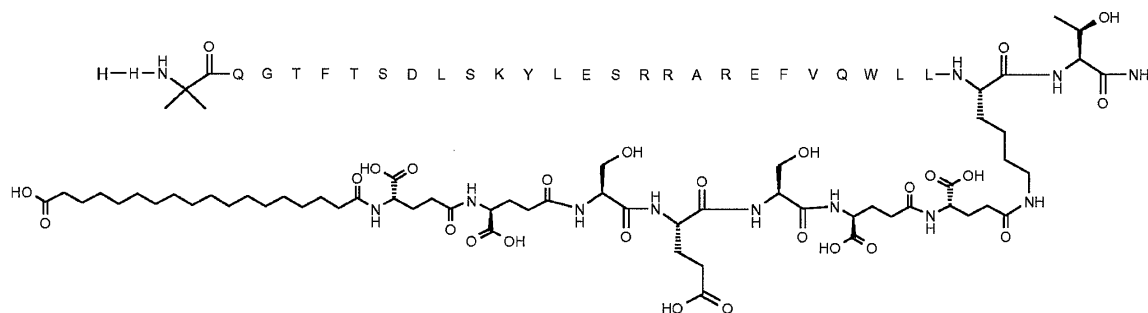
N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 8 3 4】



## 【化 1 8 6】



10

## 【 0 8 3 5】

UPLC法 : UPLC02v01 : 保持時間=8.0分

LC-MS法 : LCMS01v01 : 保持時間=2.1分 ;  $m/3 = 1533$  ;  $m/4 = 1150$  ;  $m/5 = 920$ 

## 【 0 8 3 6】

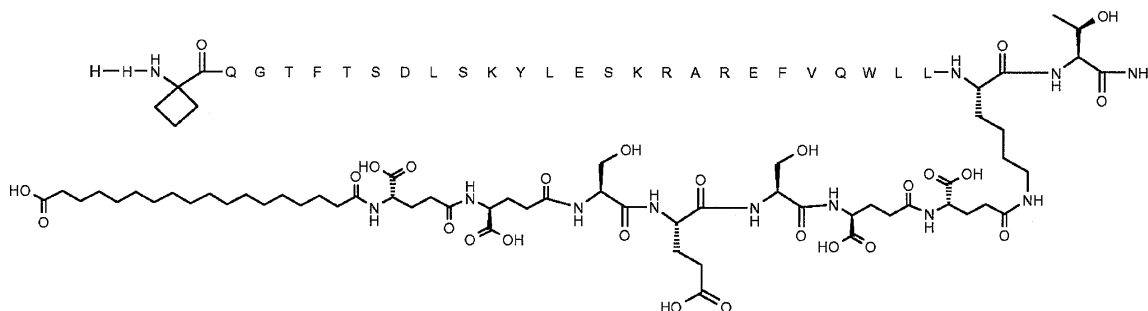
(実施例68)

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 8 3 7】

## 【化 1 8 7】



30

## 【 0 8 3 8】

UPLC法 : UPLC02v01 : 保持時間=7.9分

LC-MS法 : LCMS01v01 : 保持時間=2.0分 ;  $m/3 = 1528$  ;  $m/4 = 1146$  ;  $m/5 = 917$ 

## 【 0 8 3 9】

(実施例69)

N<sup>28</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-カルボキシ-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Ser21,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 8 4 0】

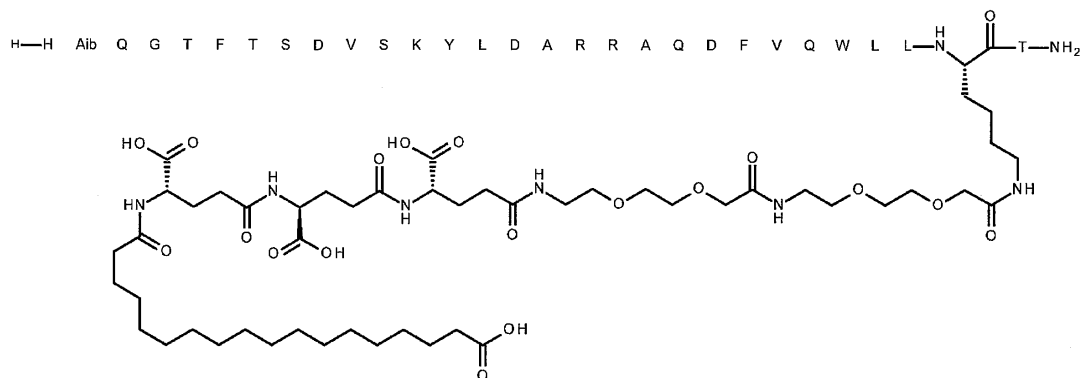


[illegible]

10

## 20

【化 1 8 9】



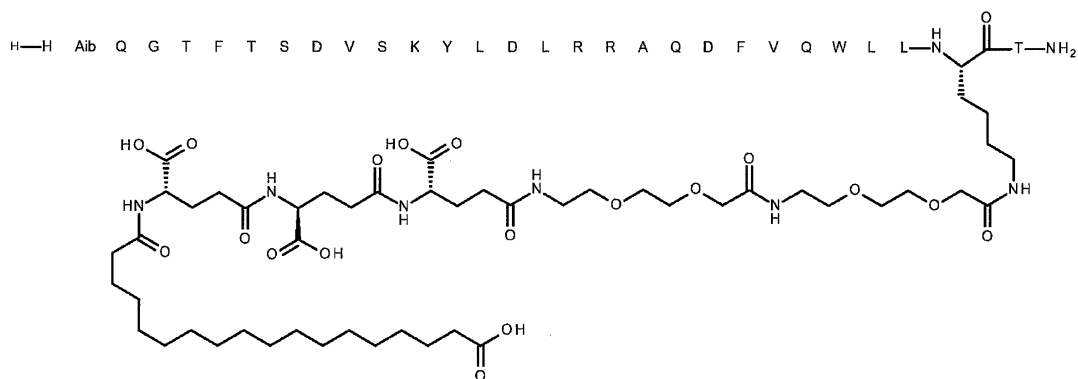
30

## 40

【 0 8 4 6 】



## 【化 1 9 0】



10

## 【 0 8 4 7】

UPLC法： UPLC02v01： 保持時間=8.5分

LC-MS法： LCMS13v01： 保持時間=2.3分； m/3 = 1471； m/4 = 1104

## 【 0 8 4 8】

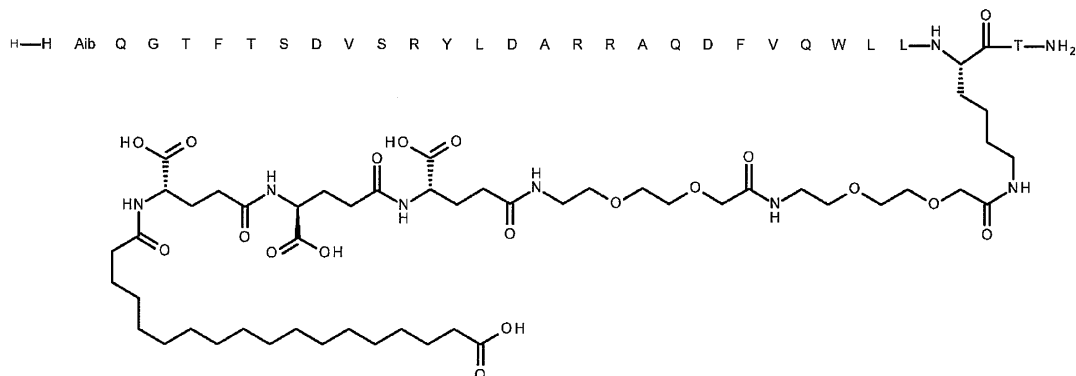
(実施例72)

N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Val10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

20

## 【 0 8 4 9】

## 【化 1 9 1】



30

## 【 0 8 5 0】

UPLC法： UPLC02v01： 保持時間=8.4分

LC-MS法： LCMS13v01： 保持時間=2.3分； m/3 = 1467； m/4 = 1100

## 【 0 8 5 1】

(実施例73)

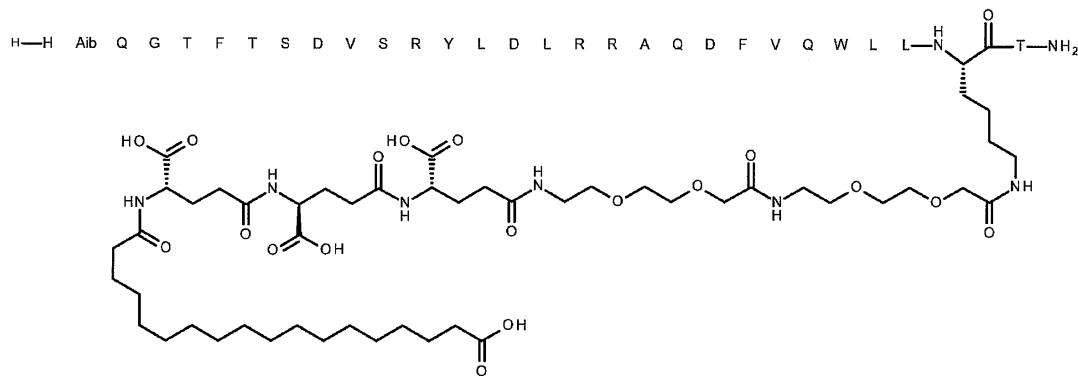
N<sup>28</sup>-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Val10,Arg12,Leu16,Leu27,Lys28]-グルカゴンアミド

40

## 【 0 8 5 2】



## 【化 1 9 2】



10

## 【 0 8 5 3】

UPLC法： UPLC02v01： 保持時間=8.5分

LC-MS法： LCMS13v01： 保持時間=2.3分；  $m/3 = 1481$ ；  $m/4 = 1111$ 

## 【 0 8 5 4】

(実施例74)

GLP-1及びグルカゴン受容体効力

この実施例の目的は、*in vitro*での本発明のグルカゴン誘導体の効力を試験することであつた。*in vitro*効力は、全細胞アッセイにおけるヒトGLP-1受容体又はグルカゴン受容体活性化のそれぞれの尺度である。

20

## 【 0 8 5 5】

原理

*in vitro*効力を、レポーター遺伝子アッセイにおいて、ヒトGLP-1又はグルカゴン受容体の応答をそれぞれ測定することによって測定した。このアッセイを、例えば、ヒトGLP-1受容体又はヒトグルカゴン受容体のいずれかを発現し、プロモーターにカップリングしたcAMP応答要素(CRE)のためのDNA及びホタルルシフェラーゼ(CREルシフェラーゼ)のための遺伝子を含有する安定形質移入されたBHK細胞株において行った。ヒトGLP-1又はグルカゴン受容体がそれぞれ活性化されると、cAMPの産生が生じ、次いで、このcAMPは、ルシフェラーゼタンパク質を発現させた。アッセイインキュベーションが完了したとき、ルシフェラーゼ基質(ルシフェリン)を添加すると、この酵素は、ルシフェリンをオキシルシフェリンに変換し、生物発光を生じる。そのルミネセンスを、アッセイについての読み取りとして測定した。

30

## 【 0 8 5 6】

(a) GLP-1受容体活性化

細胞培養及び調製

このアッセイで使用する細胞(クローンFCW467-12A/KZ10-1)は、親細胞株としてBHKTS13を有するBHK細胞であつた。この細胞は、ヒトGLP-1受容体を発現するクローン(FCW467-12A)に由来し、現在のクローンを得るためにCREルシフェラーゼを更に形質移入することによって樹立した。

40

## 【 0 8 5 7】

上記細胞を、10%FBS、 $1 \times \text{GlutaMAX}$ 、 $1\text{mg/ml}$  G418、 $240\text{nM}$  MTX(メトトレキサート)、及び1%pen/strep(ペニシリン/ストレプトマイシン)を含むDMEM培地中、5% $\text{CO}_2$ で培養した。これらを分割し、液体窒素中で貯蔵した。各アッセイの前に、アリコットを取り、PBS中で3回洗浄し、その後、アッセイ培地中に所望の濃度で懸濁した。96ウェルプレートでは、 $5 \times 10^3$ 細胞/ウェルの最終濃度が得られるように懸濁を行った。

## 【 0 8 5 8】

材料

次の薬品をアッセイにおいて使用した： $\text{Pluronic F-68}$ (10%)(Gibco 2404)、オボアルブミン(Sigma A5503)、DMEM w/oフェノールレッド(Gibco 11880-028)、1M HEPES(Gibco 156

50



30)、Glutamax 100x(Gibco 35050)、及びsteady lite plus(PerkinElmer 6016757)。

【 0 8 5 9 】

アッセイ培地は、DMEM w/oフェノールレッド、10mM Hepes、1×GlutaMAX、2%オボアルブミン、及び0.2%Pluronic F-68からなった。

【 0 8 6 0 】

手順

細胞ストックを、37℃水浴内で解凍した。細胞をPBS中で3回洗浄した。細胞をカウントし、アッセイ培地中で $5 \times 10^3$ 細胞/50  $\mu$ l ( $1 \times 10^5$ 細胞/ml) に調整した。細胞50  $\mu$ l アリコットを、アッセイプレート内の各ウェルに移した。

【 0 8 6 1 】

試験化合物及び参照化合物のストックを、アッセイ培地中で0.2  $\mu$ Mの濃度まで希釈した。化合物を10倍希釈して、次の濃度を得た： $2 \times 10^{-6}$ M、 $2 \times 10^{-7}$ M、 $2 \times 10^{-8}$ M； $2 \times 10^{-9}$ M、 $2 \times 10^{-10}$ M、 $2 \times 10^{-11}$ M、 $2 \times 10^{-12}$ M、及び $2 \times 10^{-13}$ M。各化合物について、ブランクアッセイ培地対照も含まれていた。

【 0 8 6 2 】

化合物又はブランクの50  $\mu$ l アリコットを、希釈プレートからアッセイプレートに移した。化合物を、次の最終濃度で試験した： $1 \times 10^{-6}$ M、 $1 \times 10^{-7}$ M、 $1 \times 10^{-8}$ M； $1 \times 10^{-9}$ M、 $1 \times 10^{-10}$ M、 $1 \times 10^{-11}$ M及び $1 \times 10^{-12}$ M、及び $1 \times 10^{-13}$ M。

【 0 8 6 3 】

アッセイプレートを、37℃で、5%CO<sub>2</sub>インキュベーター中で、3時間インキュベートした。アッセイプレートをインキュベーターから取り出し、室温で15分間放置した。steady lite plus試薬の100  $\mu$ l アリコットを、アッセイプレートの各ウェルに添加した(試薬は、感光性である)。各アッセイプレートをアルミニウムホイルで覆って光から保護し、室温で30分間振盪した。各アッセイプレートをPerkin Elmer社TopCount NXT機器で読み取った。

【 0 8 6 4 】

計算

TopCount機器からのデータを、GraphPad Prismソフトウェアに移した。このソフトウェアは、非線形回帰(log(アゴニスト)対応変数スロープ(4パラメーター))を行った。EC<sub>50</sub>値をこのソフトウェアによって計算し、pMで報告した。データを表6に示す。

【 0 8 6 5 】

(b) グルカゴン受容体活性化

細胞培養及び調製

このアッセイで使用する細胞(クローンpLJ6'-4-25)は、CREルシフェラーゼ遺伝子を発現する親細胞としてBHK570を有するBHK細胞(クローンBHK/KZ10-20-48)であり、ヒトグルカゴン受容体(pHZ-1ベクター中のクローンpLJ6')を更に形質移入することによって樹立した。

【 0 8 6 6 】

上記細胞を、10%FBS、1×GlutaMAX、1mg/ml G418、240nM MTX(メトトレキサート)、及び1%pen/strep(ペニシリン/ストレプトマイシン)を含むDMEM培地中、5%CO<sub>2</sub>で培養した。これらを分割し、液体窒素中で貯蔵した。各アッセイの前に、アリコットを取り、PBS中で3回洗浄し、その後、アッセイ培地中に所望の濃度で懸濁した。96ウェルプレートでは、 $5 \times 10^3$ 細胞/ウェルの最終濃度が得られるように懸濁を行った。

【 0 8 6 7 】

材料

次の薬品をアッセイにおいて使用した：Pluronic F-68(10%)(Gibco 2404)、オボアルブミン(Sigma A5503)、DMEM w/oフェノールレッド(Gibco 11880-028)、1M Hepes(Gibco 15630)、Glutamax 100x(Gibco 35050)、及びsteady lite plus(PerkinElmer 6016757)。

【 0 8 6 8 】

アッセイ培地は、DMEM w/oフェノールレッド、10mM Hepes、1×GlutaMAX、2%オボアル

10

20

30

40

50



ブミン、及び0.2%Pluronic F-68からなる。

【0869】

手順

細胞ストックを、37℃水浴内で解凍した。細胞をPBS中で3回洗浄した。細胞をカウントし、アッセイ培地中で $5 \times 10^3$ 細胞/50  $\mu$ l ( $1 \times 10^5$ 細胞/ml) に調整した。細胞50  $\mu$ l アリコットを、アッセイプレート内の各ウェルに移した。

【0870】

試験化合物及び参照化合物のストックを、アッセイ培地中で0.2  $\mu$ Mの濃度まで希釈した。化合物を10倍希釈して、次の濃度を得た： $2 \times 10^{-6}$ M、 $2 \times 10^{-7}$ M、 $2 \times 10^{-8}$ M； $2 \times 10^{-9}$ M、 $2 \times 10^{-10}$ M、 $2 \times 10^{-11}$ M、 $2 \times 10^{-12}$ M、及び $2 \times 10^{-13}$ M。各化合物について、

10

ブランクアッセイ培地対照も含めた。

【0871】

化合物又はブランクの50  $\mu$ l アリコットを、希釈プレートからアッセイプレートに移した。化合物を、次の最終濃度で試験した： $1 \times 10^{-6}$ M、 $1 \times 10^{-7}$ M、 $1 \times 10^{-8}$ M； $1 \times 10^{-9}$ M、 $1 \times 10^{-10}$ M、 $1 \times 10^{-11}$ M及び $1 \times 10^{-12}$ M、及び $1 \times 10^{-13}$ M。

【0872】

アッセイプレートを、37℃で、5%CO<sub>2</sub>インキュベーター中で、3時間インキュベートした。アッセイプレートを、インキュベーターから取り出し、室温で15分間放置した。steady lite plus試薬の100  $\mu$ l アリコットを、アッセイプレートの各ウェルに添加した（試薬は、感光性である）。各アッセイプレートをアルミニウムホイルで覆って光から保護し、室温で30分間振盪した。各アッセイプレートをPerkin Elmer社TopCount NXT機器で読み取った。

20

【0873】

計算

TopCount機器からのデータを、GraphPad Prismソフトウェアに移した。このソフトウェアは、非線形回帰（log(アゴニスト)対応答変数スロープ(4パラメーター)）を行った。EC<sub>50</sub>値を、このソフトウェアによって計算し、pMで報告した。データを表6に示す。

【0874】

（実施例75）

GLP-1及びグルカゴン受容体結合

30

(a) GLP-1受容体結合

このアッセイの目的は、本発明のグルカゴン誘導体のin vitro受容体結合活性を試験することであった。受容体結合は、ヒトGLP-1受容体についての化合物の親和性の尺度である。

【0875】

原理

ヒトGLP-1受容体への各化合物の受容体結合を、置き換え結合アッセイにおいて測定した。この種のアッセイでは、標識リガンド（この場合、<sup>125</sup>I-GLP-1）を、受容体に結合させる。各誘導体を、ヒトGLP-1受容体を含有する単離膜に一連の濃度で添加し、標識されたりリガンドが置換させるのをモニターした。受容体結合を、標識リガンドの半数が受容体から置き換えられた濃度、IC<sub>50</sub>値として報告した。

40

【0876】

アルブミンに対する誘導体の結合を試験するために、アッセイを、血清アルブミンの非常に低い濃度（最大0.001%最終アッセイ濃度）で、更には、血清アルブミンのより高い濃度（2.0%最終アッセイ濃度）の存在下で行うことができる。血清アルブミンの存在下でのIC<sub>50</sub>値の上昇は血清アルブミンに対する親和性を示し、動物モデルにおける試験物質の遷延性薬物動態プロファイルを予測する方法となる。

【0877】

材料

次の薬品を、アッセイにおいて使用した：DMEM w/oフェノールレッド（Gibco 11880-02

50



8)、Pen/strep (Invitrogen 15140-122)、G418 (Invitrogen 10131-027)、1M Hepes (Gibco 15630)、EDTA (Invitrogen 15575-038)、PBS (Invitrogen 14190-094)、ウシ胎児血清 (Invitrogen 16140-071)、EGTA、 $\text{MgCl}_2$  (Merck社1.05832.1000)、Tween 20 (Amresco社0850C335)、SPA粒子 (コムギ麦芽凝集素(WGA) SPAビーズ、Perkin Elmer社RPNQ0001)、 $[125\text{I}]\text{-GLP-1}-(7-36)\text{NH}_2$  (社内製造)、OptiPlate (登録商標)-96 (Perkin Elmer社)。

#### 【0878】

緩衝液1は、20mM Na-HEPES及び10mM EDTAからなり、pHを7.4に調整した。

#### 【0879】

緩衝液2は、20mM Na-HEPES及び0.1mM EDTAからなり、pHを7.4に調整した。

10

#### 【0880】

アッセイ緩衝液は、5mM EGTA、5mM  $\text{MgCl}_2$ 、0.005%Tween 20を補充された50mM HEPESからなり、pHを7.4に調整した。

#### 【0881】

#### 細胞培養及び膜調製

このアッセイにおいて使用した細胞 (クローンFCW467-12A) は、親細胞株としてBHKTS13を有するBHK細胞であった。この細胞は、ヒトGLP-1受容体を発現する。

#### 【0882】

この細胞を、5% $\text{CO}_2$ で、DMEM、10%ウシ胎児血清、1%Pen/Strep (ペニシリン/ストレプトマイシン)、及び1.0mg/mlの選択マーカーG418中で成長させた。膜調製物を作成するために、細胞を、集密度約80%まで成長させた。細胞を、リン酸緩衝生理食塩水中で2回洗浄して採取した。細胞を、短時間の遠心分離を使用してペレット化し、細胞ペレットを氷上に維持した。細胞ペレットを、適切な量の緩衝液1 (例えば、10ml) 中で、20~30秒間、ULTRA-THURAX分散機器で均質化した。このホモジネートを、15分間、遠心分離した。そのペレットを10mlの緩衝液2中に再懸濁し (均質化)、遠心分離した。この工程をもう1回繰り返した。得られたペレットを、緩衝液2に再懸濁し、タンパク質濃度を測定した。膜を分割し、-80℃で貯蔵した。

20

#### 【0883】

#### 手順

1. 受容体結合アッセイでは、アッセイ緩衝液50  $\mu\text{l}$ を、アッセイプレートの各ウェルに添加した。
2. 試験化合物を連続希釈して、次の濃度を得た： $8 \times 10\text{EE}-7\text{M}$ 、 $8 \times 10\text{EE}-8\text{M}$ 、 $8 \times 10\text{EE}-9\text{M}$ 、 $8 \times 10\text{EE}-10\text{M}$ 、 $8 \times 10\text{EE}-11\text{M}$ 、 $8 \times 10\text{EE}-12\text{M}$ 、及び $8 \times 10\text{EE}-13\text{M}$ 。25  $\mu\text{l}$ を、アッセイプレート内の適切なウェルに添加した。
3. 細胞膜アリコットを解凍し、それらの作業濃度に希釈した。50  $\mu\text{l}$ を、アッセイプレート内の各ウェルに添加した。
4. WGA SPAビーズを、20mg/mlでアッセイ緩衝液に懸濁させた。懸濁液を、アッセイプレートに添加する直前に、アッセイ緩衝液中で10mg/mlに希釈した。50  $\mu\text{l}$ を、アッセイプレート内の各ウェルに添加した。
5. インキュベーションを、アッセイプレートの各ウェルに $[125\text{I}]\text{-GLP-1}-(7-36)\text{NH}_2$ の480pM溶液25  $\mu\text{l}$ を添加することによって開始した。全カウント/ウェルを測定するために、アリコット25  $\mu\text{l}$ を取っておいた。
6. アッセイプレートを、30℃で2時間インキュベートした。
7. アッセイプレートを、10分間遠心分離した。
8. アッセイプレートを、Perkin Elmer社TopCount NXT機器において読み取った。

30

40

#### 【0884】

#### 計算

TopCount機器からのデータを、GraphPad Prismソフトウェアに移した。このソフトウェアは、反復試験について値を平均し、非線形回帰を行った。 $\text{IC}_{50}$ 値を、このソフトウェアによって計算し、nMで報告した。データを表6に示す。

50



## 【0885】

## (b) グルカゴン受容体結合

このアッセイの目的は、本発明のグルカゴン誘導体のin vitro受容体結合活性（すなわち、親和性）を試験することであった。受容体結合活性は、ヒトグルカゴン受容体についての誘導体の親和性の尺度である。

## 【0886】

## 原理

ヒトグルカゴン受容体への各化合物の受容体結合を、置き換え結合アッセイにおいて測定した。この種のアッセイでは、標識リガンド（この場合、<sup>125</sup>Iグルカゴン）を、受容体に結合させる。各誘導体を、ヒトグルカゴン受容体を含有する単離膜に一連の濃度で添加し、標識リガンドの置換をモニターする。受容体結合を、標識リガンドの半数が受容体から置き換えられた濃度であるIC<sub>50</sub>値として報告した。

## 【0887】

アルブミンとの誘導体の結合を試験するために、血清アルブミンの非常に低い濃度（最大0.001%最終アッセイ濃度）で、更には、血清アルブミンのより高い濃度（0.2%最終アッセイ濃度）の存在下でアッセイを行うことができる。血清アルブミンの存在下でのIC<sub>50</sub>値の上昇は、血清アルブミンに対する親和性を示し、動物モデルにおける試験物質の遷延性薬物動態プロファイルを予測する方法となる。

## 【0888】

## 材料

次の薬品を、このアッセイにおいて使用した：DMEM w Glutamax（Gibco 61965-026）、Pen/strep（Invitrogen 15140-122）、G418（Invitrogen 10131-027）、Versene（Gibco 15040）、1M Hepes（Gibco 15630）、PBS（Invitrogen 14190-094）、ウシ胎児血清（Invitrogen 16140-071）、MgCl<sub>2</sub>（Merck社1.05832.1000）、EDTA（Invitrogen 15575-038）、CaCl<sub>2</sub>（Sigma、C5080）、Tween 20（Amresco社0850C335）、オボアルブミン（Sigma A5503）、SPA粒子（コムギ麦芽凝集素(WGA) SPAビーズ、Perkin Elmer社RPNQ0001）、[<sup>125</sup>I]-グルカゴン（社内製造）、OptiPlate(登録商標)-96（Packard 6005290）。

## 【0889】

HME緩衝液は、25mM HEPES、2mM MgCl<sub>2</sub>、及び1mM EDTAからなり、pHを7.4に調整した。アッセイ緩衝液は、5mM MgCl<sub>2</sub>、1mM CaCl<sub>2</sub>、0.02%Tween20、及び0.1%オボアルブミンを補充された50mM HEPESからなり、pHを7.4に調整した。

## 【0890】

## 細胞培養及び膜調製

このアッセイにおいて使用した細胞（クローンBHK hGCGR A3<sup>+</sup>25）は、ヒトグルカゴン受容体をコードするcDNAを含む発現プラスミドを安定形質移入されたBHK細胞であった。

## 【0891】

この細胞を、5%CO<sub>2</sub>で、DMEM、10%ウシ胎児血清、1%Pen/Strep（ペニシリン/ストレプトマイシン）、及び1.0mg/mlの選択マーカーG418中で成長させた。膜調製物を作成するために、細胞を、集密度約80%まで成長させた。細胞をリン酸緩衝生理食塩水中で2回洗浄し採取した。短時間の遠心分離を使用して細胞をペレット化し、細胞ペレットを氷上に維持した。HME緩衝液約5mlを添加することによって細胞を溶解し、ピペット操作によって混合し、液体窒素中で急速凍結させる。迅速に解凍し、10mlまでHME緩衝液を添加する。細胞ペレットを、20～30秒間、ULTRA-THURRAX分散機器で均質化した。このホモジネートを、4で10分間、20,000×Gで遠心分離した。そのペレットをHME緩衝液1～2ml中に再懸濁し（均質化）した。タンパク質濃度を決定した。膜を分割し、液体窒素中で急速冷凍し、-80℃で貯蔵した。

## 【0892】

## 手順

1. 受容体結合アッセイでは、アッセイ緩衝液50μlを、アッセイプレートの各ウェルに添加した。



2. 試験化合物を連続希釈して、次の濃度を得た：8×10EE-7M、8×10EE-8M、8×10EE-9M、8×10EE-10M、8×10EE-11M、8×10EE-12M、及び8×10EE-13M。25 µlを、アッセイプレート内の適切なウェルに添加した。
3. 細胞膜アリコットを解凍し、それらの作業濃度に希釈した。50 µlを、アッセイプレート内の各ウェルに添加した。
4. WGA SPAビーズを、20mg/mlでアッセイ緩衝液に懸濁した。懸濁液を、アッセイプレートに添加する直前に、アッセイ緩衝液中で10mg/mlに希釈した。50 µlを、アッセイプレート内の各ウェルに添加した。
5. インキュベーションを、アッセイプレートの各ウェルに[125I]-グルカゴンの480pM溶液25 µlを添加することによって開始した。全カウント/ウェルを測定するために、アリコット25 µlを取っておいた。
6. アッセイプレートを、25 °Cで2時間インキュベートした。
7. アッセイプレートを、10分間、1500rpmで遠心分離した。
8. アッセイプレートを、Perkin Elmer社TopCount NXT機器において読み取った。

【0893】

計算

TopCount機器からのデータを、GraphPad Prismソフトウェアに移した。このソフトウェアは、反復試験について値を平均し、非線形回帰を行った。IC<sub>50</sub>値を、このソフトウェアによって計算し、nMで報告した。データを表6に示す。

【0894】

(実施例76)

ペプチド製剤の物理的安定性を評価するためのチオフラビンT(ThT)原線維形成アッセイ

このアッセイの目的は、水溶液中での本発明のグルカゴン誘導体の物理的安定性を評価することであった。

【0895】

低いペプチドの物理的安定性は、試料中で、秩序のとれた糸様高分子構造として観察されるアミロイド原線維形成をもたらしうる、これは最後には、ゲル形成をもたらす。これは、従来、試料の目視検査により測定されている。しかしながら、その種の測定は、非常に主観的であり、観察者に左右される。したがって、小分子インジケータプローブの適用が、更により有利である。チオフラビンT(ThT)は、そのようなプローブであり、原線維に結合した場合に明瞭な蛍光サインを示す[Naiki等; Anal. Biochem. 1989 177 244-249; LeVine; Methods. Enzymol. 1999 309 274-284]。

【0896】

原線維形成のための時間経過は、次の式を有するS字曲線によって示すことができる[Nielsen等; Biochemistry 2001 40 6036-6046]：

【0897】

【数1】

$$F = f_i + m_i t + \frac{f_f + m_f t}{1 + e^{-[(t-t_0)/\tau]}}$$

Eq. (1)

【0898】

式中、Fは、時間tにおけるThT蛍光である。定数t<sub>0</sub>は、最大蛍光の50%に達するために必要な時間である。原線維形成を示す2つの重要なパラメーターは、t<sub>0</sub>-2 によって計算されるラグタイムと、見掛け速度定数kappである1/τ である。

【0899】

10

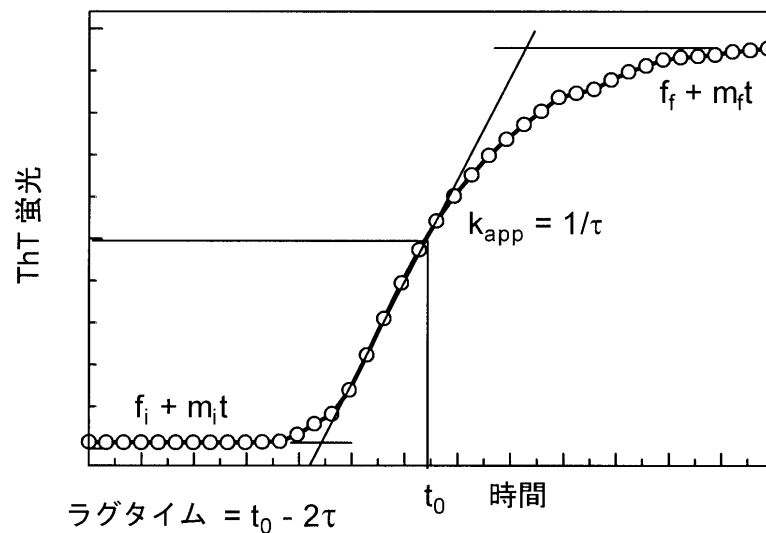
20

30

40



【表 6】



10

## 【 0 9 0 0 】

ペプチドの部分的に折り畳まれた中間体の形成は、原線維形成のための一般的開始機構として示唆されている。これらの中間体のいくつかが核形成してテンプレートを形成し、その上に更なる中間体が集合でき、原線維形成が進行する。ラグタイムは、核の臨界質量が構築される間隔に対応し、見掛け速度定数は、原線維自体が形成される速度である。

20

## 【 0 9 0 1 】

試料を、各アッセイ前に新たに調製した。各試料組成物は、説明文において記載されている。試料のpHを、適切な量の濃NaOH及びHClを使用して所望の値に調整した。チオフラビンTを、H<sub>2</sub>O中の保存溶液から1 μMの最終濃度まで、試料に添加した。

## 【 0 9 0 2 】

200 μlの試料アリコット（10mM HEPES緩衝液、pH7.5中の250 μMグルカゴン誘導体/類似体）を、96ウェルマイクロタイタープレート（Packard OptiPlate(登録商標)-96、白色ポリスチレン）に入れた。通常、各試料（1試験条件に対応）の4又は8のレプリカを、ウェルの1列に入れた。プレートをScotch Pad（Qiagen社）で密封した。

30

## 【 0 9 0 3 】

所定の温度でのインキュベーション、振盪、及びThT蛍光発光の測定を、Fluoroskan Ascent FL蛍光プレートリーダー（Thermo Labsystems社）において行った。温度を37 に設定し、プレートを、1mmの振幅で960rpmに調節した楕円振盪でインキュベートした。蛍光測定を、444nmフィルターを通しての励起及び485nmフィルターを通しての発光の測定を使用して行った。

## 【 0 9 0 4 】

各試験を、プレートをアッセイ温度で10分間インキュベートすることによって開始した。プレートを、所望の期間にわたって20分ごとに測定した。各測定の間に、プレートを振盪し、上記のとおり加熱した。

40

## 【 0 9 0 5 】

ThTアッセイの完了の後に、各試料の4つ又は8つのレプリカを貯めておき、18 で30分間、20000rpmで遠心分離した。上清を0.22 μmフィルターを通して濾過し、アリコットをHPLCバイアルに移した。

## 【 0 9 0 6 】

当初試料中、及び濾過上清中のペプチドの濃度を、適切な標準を参照として用いて、逆相HPLCによって測定した。画分パーセンテージである、当初試料濃度から構成される濾過試料の濃度を、回収率で報告した。

## 【 0 9 0 7 】

50



測定点を、更なる加工のためにMicrosoft Excelフォーマットで保存し、曲線表示及びフィッティングを、GraphPad Prismを使用して行った。原線維が存在しない状態でのThTからのバックグラウンド発光は無視できた。データポイントは典型的には、4つ又は8つの試料の平均であった。

【0908】

データセットを、式(1)にフィットさせることができる。しかしながら、原線維形成前のラグタイムは、ThT蛍光がバックグラウンドレベルを有意に超えて上昇する時点を同定する曲線の目視検査によって評価することができる。表6に示したデータは、本発明の化合物の向上した物理的安定性を強く確認するものであった。

【0909】

(実施例77)

食事誘発性肥満(DIO)マウスにおけるin vivo試験

この試験の目的は、DIOマウスにおけるin vivoでの体重及び血糖に対する実施例8及び実施例12からのグルカゴン-GLP-1Rコアゴニストの作用を調べることであった。リラグルチド(商品名Victoza(登録商標)でNovo Nordisk A/S社によって市販されているヒトGLP-1類似体)を比較のために含めた。

【0910】

Jackson Lab(米国)から入手した雄のc57bl/6Jマウスに、高脂肪食(Research Diets D12451、脂肪45%kcal)を給餌して、年齢の一致する痩せた対照マウスと比較して約50%過体重を得た。DIOマウスは、正常血糖、インスリン抵抗性、及び肥満によって特徴づけられる。約40gの体重を有するDIOマウスを、群の間で同程度の体重及び体脂肪率となるように、動物8匹からなる群に割り振った。

【0911】

コアゴニスト、すなわち、グルカゴン誘導体は、50mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、145mM NaCl、及び0.05%Tween 80、pH7.4に溶かし、一方、リラグルチドは、6mg/ml Victoza(登録商標)penから、0.5%ラット血清アルブミンを含有するDPBS緩衝液(Invitrogen)中で希釈した。ビヒクル処理動物は、50mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、145mM NaCl、及び0.05%Tween 80、pH7.4を投与された。化合物及びビヒクルを、消灯直前に1日1回、皮下に5週間投与した(1ml/kg)。この試験の最初の半期では、コアゴニストを、5nmol/kgの用量で投与し、試験の第2の半期では、コアゴニストを10nmol/kgの用量で投与した。比較のために、同様に1日1回皮下投与される100nmol/kgの用量でのリラグルチドが含まれた。体重を投与期間の間に1日1回、投与前にモニターした。非空腹時血糖を、投与前に、投与開始日及び投与期間の間に週1回測定した。血糖を測定するための血液は、尾の先端の毛細血管から採取し、血糖を、グルコースオキシダーゼ法に基づき、グルコース分析器(Biosen 5040)を使用して測定した。

【0912】

5週間の処置期間の終了時の体重減少/体重及び5週間の処置期間の間の血糖曲線下面積を、以下の表に示す。

【0913】

10

20

30



## 【表 7】

表 1  
5 週間の処置後の正規化体重

化合物	5 週目の、基線に対する体重百分率(平均±SD)	体重
ビヒクル	103%±2%	42g±4g
リラグルチド	87%±4%	36g±5g*
実施例 8	88%±8%	36g±5g*
実施例 12	75%±8%	31g±2g**

\*p<0.05; \*\*p<0.001 対ビヒクル、一元 ANOVA、Bonferoni 事後検定

## 【 0 9 1 4 】

## 【表 8】

表 2  
5 週間の処置期間の間に測定された血糖曲線下面積

化合物	AUC 血糖 <sub>(週 1~5)</sub> (平均±SD)
ビヒクル	243mM*日±16mM*日
リラグルチド	208mM*日±10mM*日***
実施例 8	187mM*日±11mM*日***
実施例 12	206mM*日±16mM*日***

\*\*\*p<0.001 対ビヒクル、一元 ANOVA、Bonferoni 事後検定

## 【 0 9 1 5 】

表 1 及び表 2 の結果は、本発明のグルカゴン-GLP-1Rコアゴニスト誘導体は、in vivoで生物学的に活性であり、体重を有効に減少させ、これは、実施例12からの化合物では単独のリラグルチドを上回る傾向がある一方、血糖は、ビヒクルで処置した動物及びリラグルチドで処置した動物と比較して改善された状態を維持していることを示している。

## 【 0 9 1 6 】

(実施例78)

マウスにおける薬物動態プロファイル

このアッセイの目的は、マウスにおける本発明のグルカゴン誘導体の薬物動態プロファイルを評価することであった。

## 【 0 9 1 7 】

グルカゴン-GLP1コアゴニストの薬物動態プロファイルを、正常な雄のc57/BL6マウス(およそその体重：30グラム)において、各時点(例えば：t=0.25、0.5、1、3、6、10、24

10

20

30

40

50



、30、及び48時間)で例えばマウス3匹が代表となるスパースサンプリング設計で試験を行った。化合物を、 $t=0$ で10nmol/kgの単回皮下投与として投与した。

【0918】

グルカゴン-GLP1コアゴニスト化合物の血漿中レベルを、ELISA/LOCIアッセイ(本明細書における実施例80を参照されたい)を使用して測定した。化合物の半減期( $T_{1/2}$ )、最大濃度( $C_{max}$ )及び最大濃度のための時間( $T_{max}$ )等の薬物動態計算を、PCベースのソフトウェアPhoenix(Pharsight社、Certara社製のWinNonLin version 6.3)を使用して行った。

【0919】

結果は、本発明のグルカゴン-GLP1コアゴニストの遷延性作用(protracted effect)を強く確認するものであった。

【0920】

【表9】

表3

平均半減期( $T_{1/2}$ )、最大濃度( $C_{max}$ )、最大濃度のための時間( $T_{max}$ )

化合物	$T_{1/2}$ (時間)	$C_{max}$ (pM)	$T_{max}$ (時間)
実施例 8	23	45,000	3
実施例 12	14	24,400	3

【0921】

(実施例79)

化学的安定性評価

このアッセイの目的は、水溶液での本発明のグルカゴン誘導体の化学的安定性を評価することであった。

【0922】

グルカゴン誘導体又は類似体の化学的安定性を、RP-UPLC分離及びUV検出によって調べた。凍結乾燥試料を、8mMリン酸緩衝液pH8.6に溶かし、続いて、333  $\mu$ Mの最終濃度まで、HClを使用してpH7.3に調整した。試料を、5 及び37 で14日間インキュベートし、RP-UPLC分析を続けた。純度を、各クロマトグラムにおける総積算ピークの全面積に対する主なピークの面積百分率として定義した。37 で14日間の後の純度低下を、5 で14日間インキュベートした後の試料の純度で割った、5 と37 でインキュベートした試料の間の純度の差違として測定した。

【0923】

RP-UPLC分析を、A: MQ-水中の0.05%TFA、B: アセトニトリル中の0.05%TFAからなる移動相系を使用して50 及び0.4mL/分の流速で操作されるWaters BEH130、2.1mm  $\times$  150mm、1.7  $\mu$ mカラムを使用して行った。UV検出を215nmで行った。試料の多くで使用した典型的な勾配プロファイルを以下に示す。

【0924】

10

20

30

40



## 【表 1 0】

表 4

RP-UPLC 分析で使した典型的な勾配プロフィール

時間(分)	%B
注入	20
30	60
31	99
37	99
39	20
40	20
45	20

10

20

## 【 0 9 2 5】

誘導体又は類似体の多数と比較してかなり異なる保持時間で溶離する一部の個々の誘導体又は類似体については、勾配プロフィールを多少調整して、試料全体で、より良好な純度評価を可能にした。このデータは、本発明のグルカゴン誘導体の向上した化学的安定性を確認するものであった。

## 【 0 9 2 6】



## 【表 1 1】

表 5

GLP-1/グルカゴン受容体コアゴニストの化学的安定性  
 示されているデータは、37°Cでの 14 日間の後の純度低下  
 (パーセント(%))である

化合物	純度低下; 37°Cで 14 日間
実施例 8	9
実施例 12	8
実施例 16	3
実施例 22	1
実施例 23	2
実施例 25	1
実施例 26	2
実施例 27	5
実施例 34	5
実施例 36	2
実施例 38	2
実施例 39	3
実施例 40	2
実施例 41	1
実施例 42	3
実施例 43	2
実施例 44	2
実施例 45	3
実施例 46	1
実施例 47	3
実施例 48	2
実施例 49	2
実施例 51	3
実施例 54	1
実施例 55	2
実施例 57	1
実施例 58	2
実施例 60	4
実施例 56	4
実施例 62	2
実施例 63	1
実施例 65	3
実施例 66	2
実施例 68	3
実施例 67	4
実施例 69	2
実施例 70	2

10

20

30

40

## 【0 9 2 7】

(実施例 80)

血漿中のペプチドを測定するためのELISA/LOCIアッセイ

このアッセイの目的は、血漿中のGLP-1/グルカゴン受容体コアゴニストの量を決定することであった。

50



## 【0928】

発光酸素チャネリング・イムノアッセイ (Luminescence Oxygen Channeling Immunoassay; LOCI) を使用してペプチドレベルについて試料を分析した。ドナービーズをストレプトアビジンでコーティングした。アクセプタービーズを、リンカー中のgGluに特異的なモノクローナル抗体 (NN454-1F31) とコンジュゲートさせる一方で、グルカゴンに特異的な第2のモノクローナル抗体 (1F120) をビオチン化した。3つの反応剤を分析物と混合し、2部位 (two-sited) 免疫複合体を形成した。この複合体に光を当てると、ドナービーズから一重項酸素原子が放出された。それらは、アクセプタービーズへと運ばれて化学発光を引き起こし、その化学発光をEnVisionプレートリーダーにおいて測定した。放出光の量は、ペプチドの濃度に比例する。

10

## 【0929】

1  $\mu$ Lの試料 / 校正物質 / 対照を、384ウェルLOCIプレートのウェルに入れ、続いて、抗体コーティングしたアクセプタービーズ (0.5  $\mu$ g/ウェル) 及びビオチン化抗体の混合物15  $\mu$ Lを入れた。プレートを、21~22 で終夜インキュベートした。インキュベーションの後に、ストレプトアビジンコーティングしたドナービーズ30  $\mu$ L (2  $\mu$ g/ウェル) を各ウェルに添加し、21~22 で30分間インキュベートした。プレートを680nmレーザーによって励起させた後に、520~645nmの帯域幅を有するフィルターを用いて、21~22 で、Envisionプレートリーダーで読み取った。1ウェル当たりの全測定時間は、励起時間70msを含めて210msであった。

## 【0930】

20

次の表は、上記の実施例において記載したように得られた本発明のグルカゴン誘導体のデータを示している。

## 【0931】



【表 1 2 A】

表 6

GLP-1/グルカゴン受容体コアゴニストについての  $EC_{50}$ （本明細書において実施例 74 に記載のアッセイ）及び  $IC_{50}$ （本明細書において実施例 75 に記載のアッセイ）値、並びに物理的安定性データ（本明細書において実施例 76 に記載のアッセイ）

化合物の実施 例番号	$EC_{50}$ GLP-1R [pM] (実施例 74)	$EC_{50}$ GlucR [pM] (実施例 74)	$IC_{50}$ GLP-1R [nM] (実施例 75)	$IC_{50}$ GlucR [nM] (実施例 75)	THT アッセイ イラグタイム (実施例 76)	THT アッセイ 回収率 (実施例 76)
1	8.0	54.0			45.0	100.0
2	44.0	97.0			7.0	2.0
3	6.0	60.0			45.0	100.0
4	4.0	16.0			45.0	100.0
5	5.0	109.0			45.0	100.0
6	20.0	1210.0			45.0	100.0
7			2.4	1.1	45.0	100.0
8	29.6	1128.1	1.1	6.7	45.0	98.0
9	3.2	698.9	.2	380.8	8.0	45.0
10	9.2	42.3	.5	1.2	7.0	11.0
11	15.0	672.0				
12	14.7	104.0	.5	7.0	45.0	100.0
13	6.0	1430.0				
14	28.0	599.0				
15	20.0	190.0				
16	5.8	113.1	.2	3.9	45.0	100.0
17			.2	53.0	45.0	92.6
18	2.3	220.3	.1	11.0	45.0	103.3
19	4.7	39.9	.9	8.5	6.7	5.0
20	4.4	62.4	.4	6.7	6.0	5.0
21	2.7	240.3	.3	51.0	18.0	33.0
22	11.8	87.1	.2	7.1	45.0	100.0
23	22.1	77.3	.3	6.4	45.0	104.0
24	11.9	506.3	.2	61.0	28.0	105.0
25	5.7	44.7	.2	5.1	45.0	104.0
26	9.0	8.7	.5	4.0	45.0	100.0
27	4.1	1.7	.9	.7	42.0	98.0
28	29.5	1328.0	1.6	148.0		
39	26.6	58.8	1.4	5.9	33.0	77.0



【表 1 2 B】

化合物の実施 例番号	EC <sub>50</sub> GLP-1R [pM] (実施例 74)	EC <sub>50</sub> GlucR [pM] (実施例 74)	IC <sub>50</sub> GLP-1R [nM] (実施例 75)	IC <sub>50</sub> GlucR [nM] (実施例 75)	THT アッセイ イラグタイ ム (実施例 76)	THT アッセイ 回収率 (実施例 76)
30	35.7	4.8	1.4	.5	45.0	100
31	19.5	2.9	1.5	.8	45.0	100
32	32.7	6.8	3.9	1.9	45.0	100
33	14.6	3.6	.6	2.0	45	100
34	14.7	2.9	.2	.2	45	100
35	3.0	1.0	2.6	.7	45	119
36	2.0	4.0	.2	.6	45	131
37	4.0	2.0	.2	.1	45	50
38	13.0	24.0	1.2	29.4	45	99
39	4.0	12.0	.3	5.6	45	98
40	4.0	136.0	.4	37.7	40	96
41	7.0	29.0	.3	1.2	45	100
42	3.0	32.0	.3	38.2	45	100
43	5.0	2.0	.3	5.6	45	105
44	3.0	10.0	.3	7.2	45	105
45	18.0	6.0	.4	4.5	45	105
46	21.0	16.0	1.1	8.5	45	105
47	17.0	5.0	.2	1.5	45	105
48	44.0	8.0	.2	3.1	45	105
49	17.0	4.0	.4	1.7	45	104
50	11.0	280.0	2.2	26.2	28	80
51	6.0	4.0	.7	1.4	45	104
52	4.0	16.0	.2		45	88
53	11.0	7.0	1.9		45	100
54	2.7	12.7	.2	1.7	45	100
55	27.0	30.5	1.1	18.4	45	100
56	5.3	6.3	.3	2.1	45	100
57	3.0	129.0	.2	19.0	45	100
58	4.3	11.3	.2	2.6	45	100
59	4.0	17.0	.2	1.4	12	9
60	6.0	54.0	.2	4.0	45	100
61	6.0	11.0	.3	1.8	20	27



【表 1 2 C】

化合物の実施 例番号	EC <sub>50</sub> GLP-1R [pM] (実施例 74)	EC <sub>50</sub> GlucR [pM] (実施例 74)	IC <sub>50</sub> GLP-1R [nM] (実施例 75)	IC <sub>50</sub> GlucR [nM] (実施例 75)	THT アッセイ ラグタイム (実施例 76)	THT アッセイ 回収率 (実施例 76)
62	8.0	10.0	.2	3.9	45	100
63	7.0	24.0	.8	7.7	45	100
64	3.0	20.0	.9	5.5	19	27
65	6.0	44.0	.5	17.0	45	100
66	5.0	47.0	.6	10.4	45	104
67	4.0	10.0	.3	1.5	45	100
68	7.0	5.0	.3	.6	45	100
69	7.0	68.0	0.2	9.5	45	105
70	1.5	30.0	0.2	3.2	45	106
71	4.0	17.0	0.7	5.7	45	100
72	3.0	57.0	0.5	11.3	31	98
73	5.0	49.0	1.5	16.2	22	88

10

20

## 【 0 9 3 4 】

本発明のいくつかの特徴を本明細書において例示及び説明してきたが、多くの改変形態、置換形態、変換形態、及び均等物が当業者には想起されよう。したがって、添付の特許請求の範囲は、本発明の真の意図に該当するそのようなすべての改変形態及び変換形態に及ぶことが意図されていることを理解されたい。

## 【配列表】

0006594856000001.app

30



## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
A 6 1 P 43/00 (2006.01) A 6 1 P 43/00 1 1 1

(31)優先権主張番号 13196656.6

(32)優先日 平成25年12月11日(2013.12.11)

(33)優先権主張国・地域又は機関  
欧州特許庁(EP)

## 前置審査

(72)発明者 トーマス・クルーセ  
デンマーク・DK - 2 8 8 0・パウスヴェア・ノヴォ・アレー・(番地なし)  
(72)発明者 イェスベル・エフ・ラウ  
デンマーク・DK - 2 8 8 0・パウスヴェア・ノヴォ・アレー・(番地なし)

審査官 田中 晴絵

(56)参考文献 特表2014-527975(JP,A)  
特表2011-524418(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
C 0 7 K 1 4 / 6 0 5  
A 6 1 K 3 8 / 2 6  
A 6 1 P 3 / 0 4  
A 6 1 P 3 / 1 0  
A 6 1 P 4 3 / 0 0  
C 0 7 K 5 / 0 3 7  
CAplus/REGISTRY(STN)