(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2017-525656
(P2017-525656A)
(43)公表日　平成29年9月7日(2017.9.7)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 14/605	***(2006.01)***	C07K	14/605	ZNA	4C084
A61K 38/26	***(2006.01)***	A61K	38/26		4H045
A61K 45/00	***(2006.01)***	A61K	45/00		
A61P 3/10	***(2006.01)***	A61P	3/10		
A61P 3/04	***(2006.01)***	A61P	3/04		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 143 頁）

(21)出願番号　特願2016-571125 (P2016-571125)
(86)(22)出願日　平成27年6月3日 (2015.6.3)
(85)翻訳文提出日　平成29年1月4日 (2017.1.4)
(86)国際出願番号　PCT/EP2015/062401
(87)国際公開番号　WO2015/185640
(87)国際公開日　平成27年12月10日 (2015.12.10)
(31)優先権主張番号　14171105.1
(32)優先日　平成26年6月4日 (2014.6.4)
(33)優先権主張国　欧州特許庁 (EP)

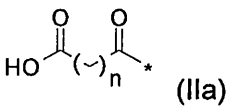
(71)出願人　509091848
ノヴォ　ノルディスク　アー／エス
デンマーク，バウスヴェア　ディーケー－２８８０，ノヴォ　アレー
(74)代理人　100108453
弁理士　村山　靖彦
(74)代理人　100110364
弁理士　実広　信哉
(74)代理人　100133400
弁理士　阿部　達彦
(72)発明者　ウルリヒ・ゼンスフース
デンマーク・ＤＫ－２８８０・バウスヴェア・ノヴォ・アレー・（番地なし）

最終頁に続く

(54)【発明の名称】医療用のＧＬＰ－１／グルカゴン受容体コアゴニスト

(57)【要約】
本発明は、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、並びに前記グルカゴン誘導体の医療での使用、例えば糖尿病、肥満並びに関連する疾患及び状態の処置での使用に関する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
式I:
X^1-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-Ile-X^{28}-X^{29}-X^{30} (I)
(式中、
X^1はHis又はImpを表し、
X^2はAib又はAcbを表し、
X^3はGln又はHisを表し、
X^{10}はTyr、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、Lys又はGlnを表し、
X^{18}はArg、Ala又はLysを表し、
X^{20}はGln、Arg又はLysを表し、
X^{21}はAsp、Glu又はLysを表し、
X^{24}はGln、Ala、Arg、Glu又はLys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}は存在しないか、又はLysを表す)
のアミノ酸配列を含むグルカゴン誘導体又はその薬学的に許容される塩であって、
式Iの前記アミノ酸配列は、12位、16位、17位、18位、20位、21位、24位、28位、29位及び/又は30位のうち1つ又は複数にリシン残基を含み、
前記グルカゴン誘導体は、親油性部分と少なくとも3個の負電荷部分とを含む置換基を含み、前記負電荷部分のうち1つが親油性部分から遠位であり、前記置換基は、16位、17位、18位、20位、21位、24位、28位、29位又は30位のアミノ酸のうち1つのリシン残基のイプシロン位に付着しており、
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。
【請求項２】
GLP-1/グルカゴン受容体コアゴニストである、請求項1に記載のグルカゴン誘導体。
【請求項３】
前記置換基が、3個、4個又は5個の負電荷部分を含む、請求項1又は2に記載のグルカゴン誘導体。
【請求項４】
親油性部分と少なくとも3個の負電荷部分とを含む前記置換基が、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:
【化１】



(IIa)

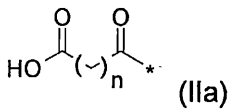
(式中、
nは6～20であり、
記号*は、隣接する基の窒素への付着点を表す)
に従う構造を表し、
Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-はリンカーを表し、ここでZ^2からZ^{10}のそれぞれは個々に、下記のアミノ酸残基:Glu、ガンマ-Glu(gGlu)、Gly、Ser、Ala、Thr及び/若しくはAdo

のうちいずれか1つで表されるか、又は残基Z^2からZ^{10}のうち1つ若しくは複数は存在せず、ただし残基Z^2からZ^{10}のうち少なくとも2つは存在し、
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個の負電荷部分を含む}
で表される置換基であり、
前記置換基は式Iのアミノ酸配列中のLysのイプシロン位に付着している、請求項1から3のいずれか一項に記載のグルカゴン誘導体。

【請求項５】

Z^1が、式IIa:

【化２】



(IIa)

(式中、nは12から18の範囲の整数を表す)
の脂肪二酸を表す、請求項1から4のいずれか一項に記載のグルカゴン誘導体。

【請求項６】

前記置換基が、24位、28位又は29位のうち1つのリシン残基のイプシロン位に付着している、請求項1から5のいずれか一項に記載のグルカゴン誘導体。

【請求項７】

式Iの前記アミノ酸配列が、ヒトグルカゴン(配列番号1)と比較して3～15個のアミノ酸残基改変、例えば置換又は付加を有する、請求項1から6のいずれか一項に記載のグルカゴン誘導体。

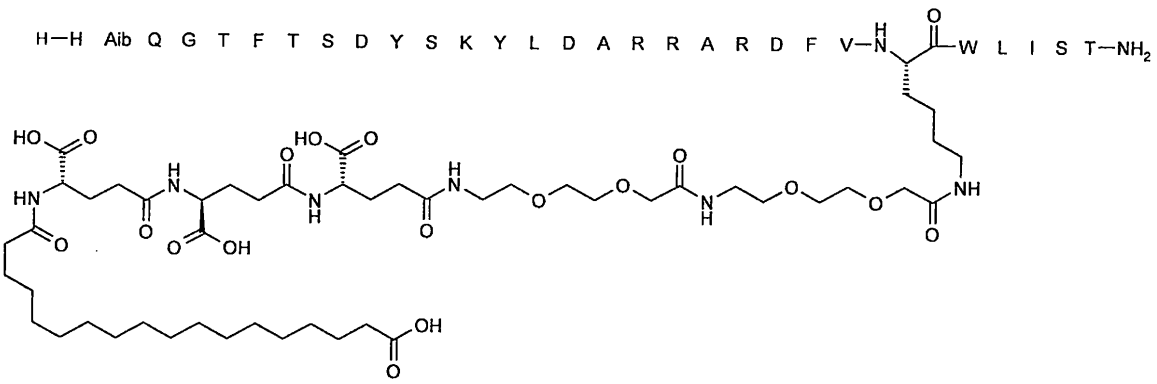
【請求項８】

Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-が、
gGlu-Ado-gGlu-;
gGlu-Ado-2xgGlu-;
gGlu-2xAdo-2xgGlu-;
2xgGlu-;
2xgGlu-Ado-;
2xgGlu-Ado-gGlu-;
2xgGlu-Ado-gGlu-Ado-;
2xgGlu-Ado-2xgGlu-;
2xgGlu-2xAdo-;
2xgGlu-2xAdo-gGlu;
2xgGlu-2xAdo-2xgGlu-;
2xgGlu-Ser-Gly-Glu-Ser-;
2xgGlu-Ser-Gly-Glu-Ser-Gly-;
3xgGlu-;
3xgGlu-Ado-;
3xgGlu-2xAdo-;及び
2xgGlu-Ado-gGlu-Ado-gGlu-Ado-gGlu-
からなる群から選択されるリンカーを表す、請求項1から7のいずれか一項に記載のグルカゴン誘導体。

【請求項９】

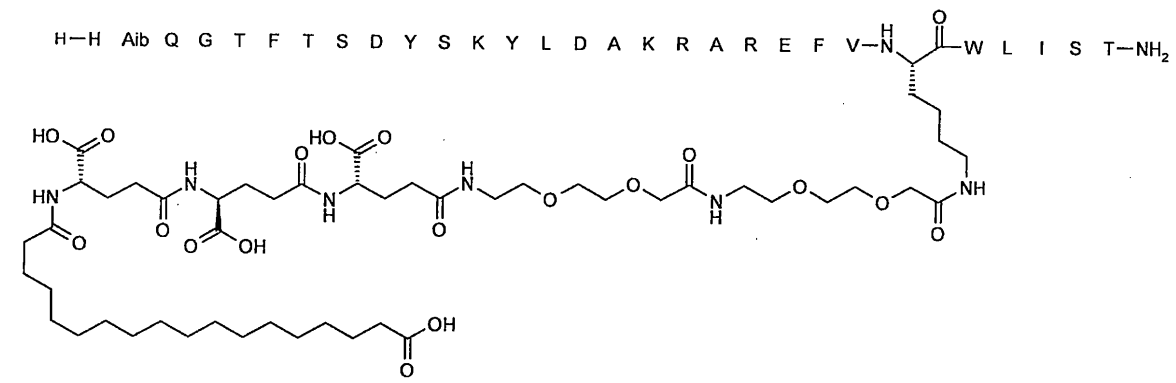
X^1がHis又はImpを表し、
X^3がGlnを表し、
X^{10}がTyr、Leu、Ile又はValを表し、
X^{16}がSer、Ala、Leu又はValを表し、
X^{17}がArg又はLysを表し、
X^{18}がArgを表し、

X^{20}がGln又はArgを表し、
X^{21}がAsp又はGluを表し、
X^{24}がGln、Ala又はLysを表し、
X^{28}がAsn、Ser又はLysを表し、
X^{29}がThr又はLysを表し、
X^{30}が存在せず、
前記置換基が、24位、28位及び29位のアミノ酸のうち1つのリシン残基のイプシロン位に付着している、請求項1から8のいずれか一項に記載のグルカゴン誘導体。
【請求項１０】
X^{24}がGln又はAlaを表し、
X^{28}がAsn又はSerを表し、
X^{29}がLysを表し、
X^{30}が存在せず、
前記置換基が、29位のリシン残基のイプシロン位に付着している、請求項1から9のいずれか一項に記載のグルカゴン誘導体。
【請求項１１】
X^{24}がGln又はAlaを表し、
X^{28}がLysを表し、
X^{29}がThrを表し、
X^{30}が存在せず、
前記置換基が、28位のリシン残基のイプシロン位に付着している、請求項1から10のいずれか一項に記載のグルカゴン誘導体。
【請求項１２】
X^{24}がLysを表し、
X^{28}がAsn又はSerを表し、
X^{29}がThrを表し、
X^{30}が存在せず、
前記置換基が、24位のリシン残基のイプシロン位に付着している、請求項1から11のいずれか一項に記載のグルカゴン誘導体。
【請求項１３】
$N^{\varepsilon 24}$-[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,Ala16,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド
化学式1:
【化３】

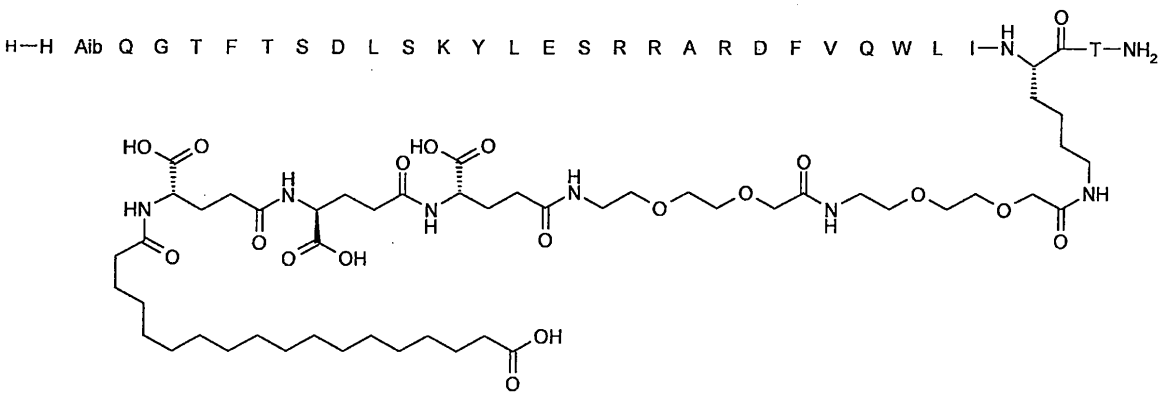


;$N^{\varepsilon 24}$-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]ア

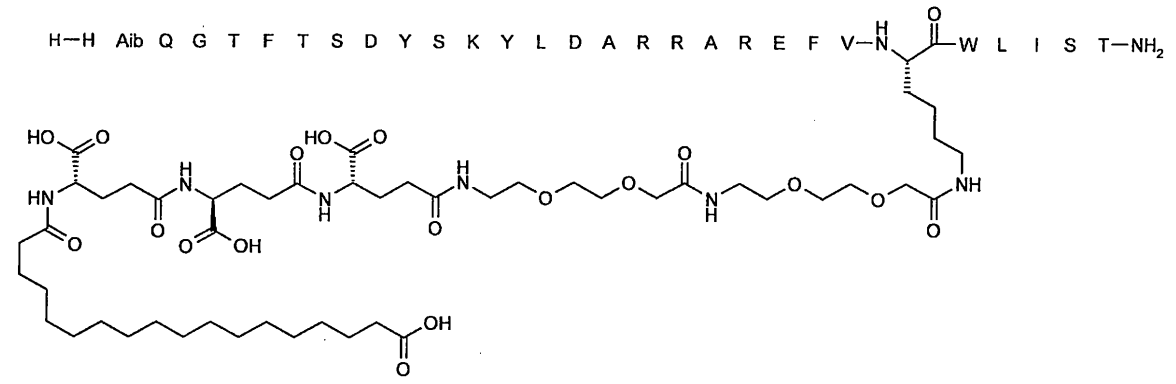
セチル]-[Aib2,Ala16,Lys17,Arg20,Glu21,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド
化学式2:
【化４】



;N$^{\varepsilon 28}$-[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,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式3:
【化５】

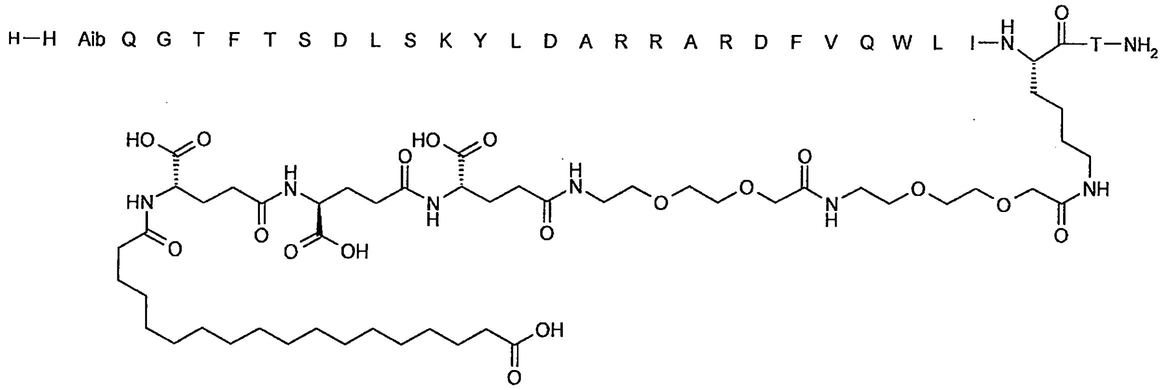


;N$^{\varepsilon 24}$-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Ala16,Arg20,Glu21,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド
化学式4:
【化６】

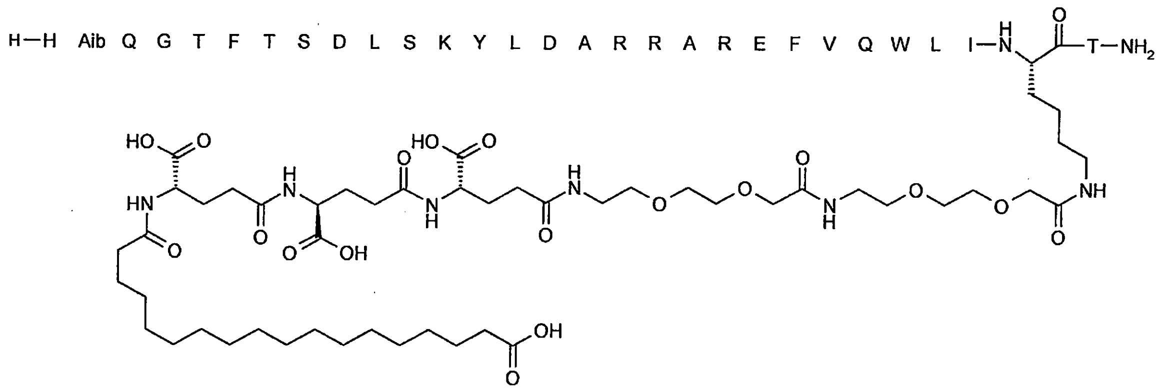


;N$^{\varepsilon 28}$-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]

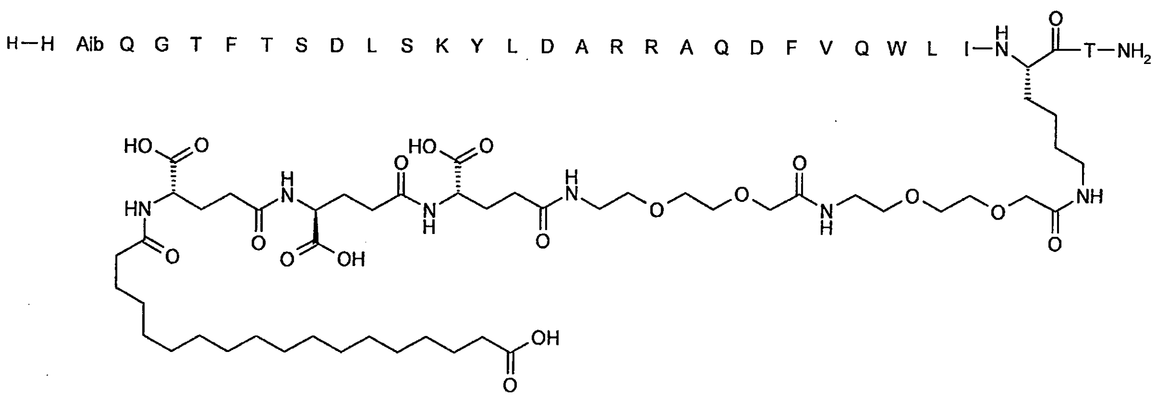
アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式5:
【化7】



;$N^{\varepsilon 28}$-[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,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式6:
【化8】



;$N^{\varepsilon 28}$-[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,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式7:
【化9】

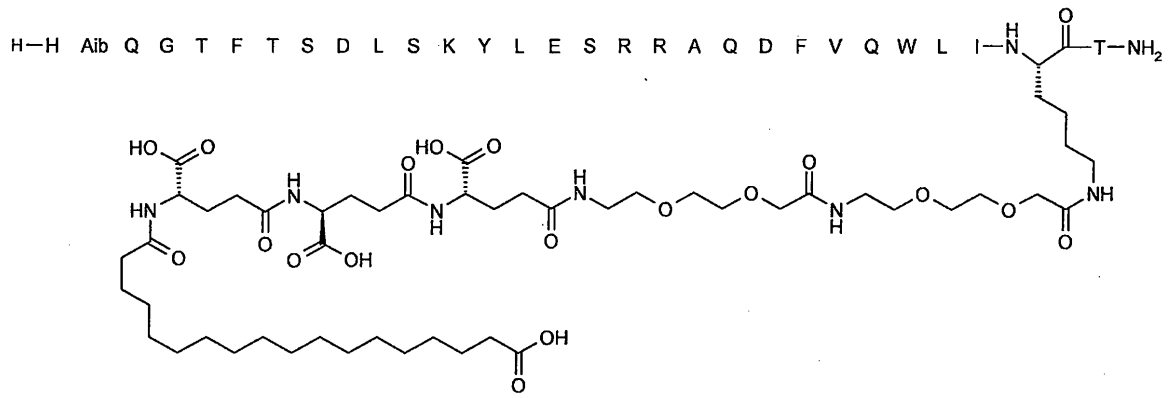


;$N^{\varepsilon 28}$-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-

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,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式8:

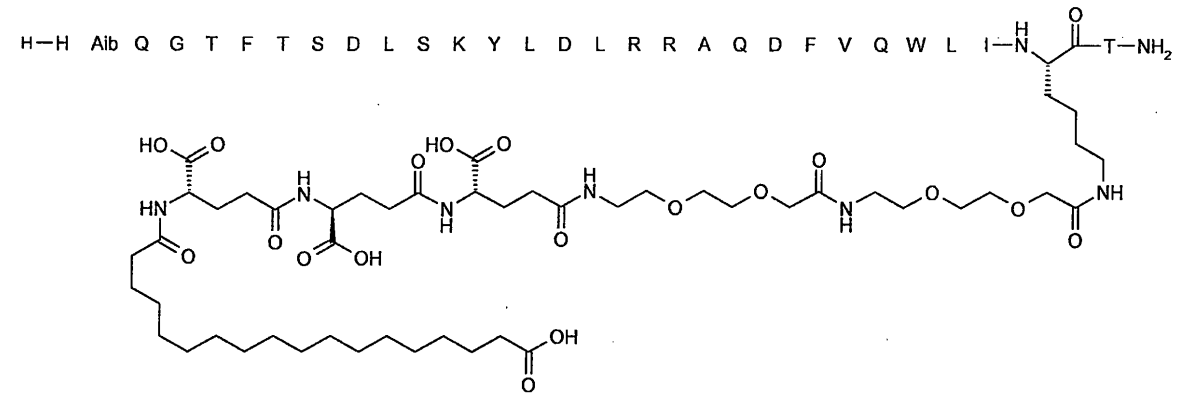
【化１０】



;$N^{\varepsilon 28}$-[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,Leu16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式9:

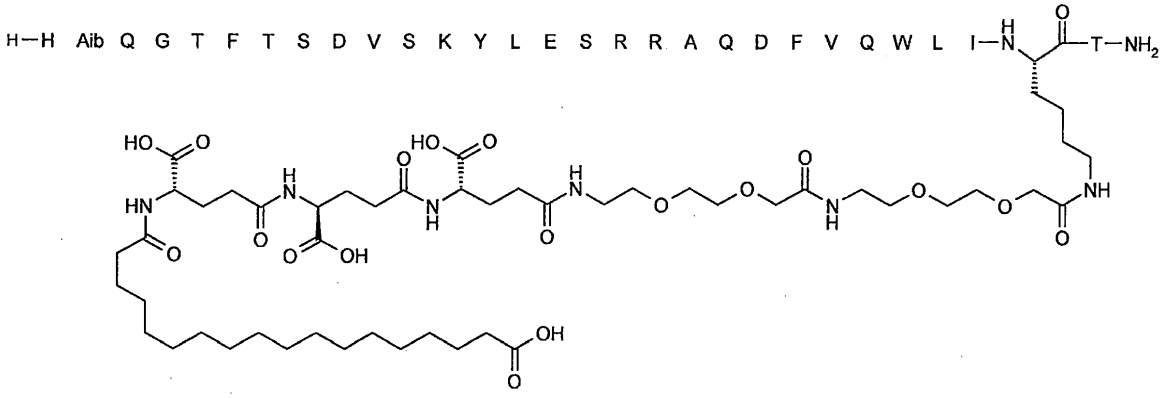
【化１１】



;$N^{\varepsilon 28}$-[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,Val10,Glu15,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式10:

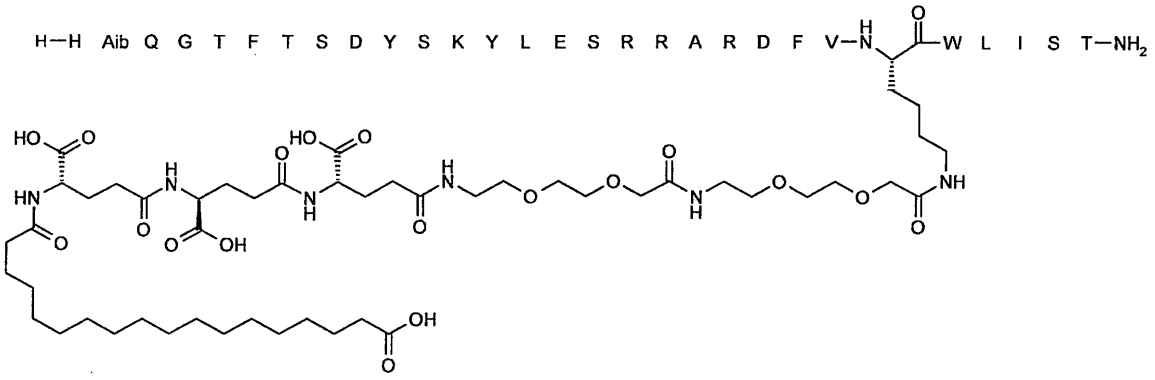
【化１２】



;N$^{\varepsilon 24}$-[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,Glu15,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド

化学式11:

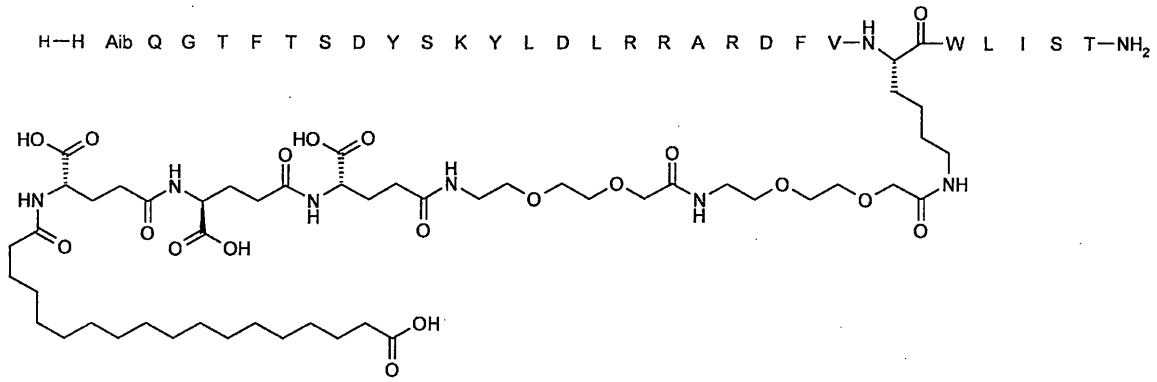
【化１３】



;N$^{\varepsilon 24}$-[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,Leu16,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド

化学式12:

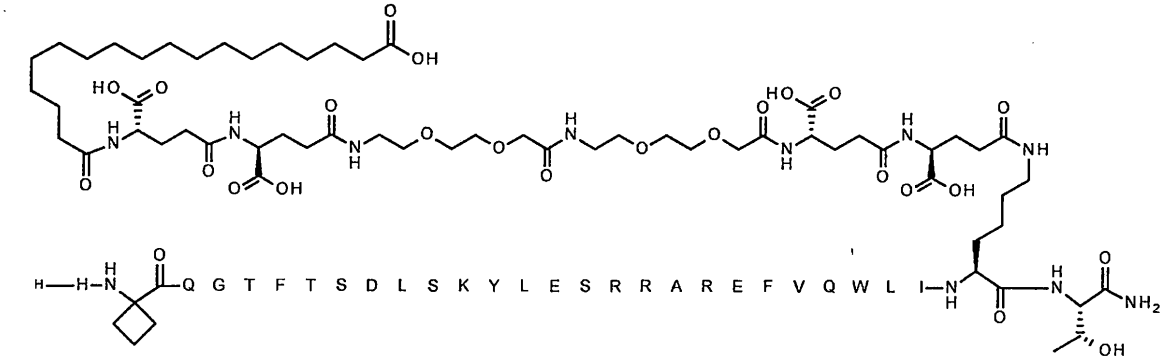
【化１４】



;N$^{\varepsilon 28}$-[(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]-[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式13:

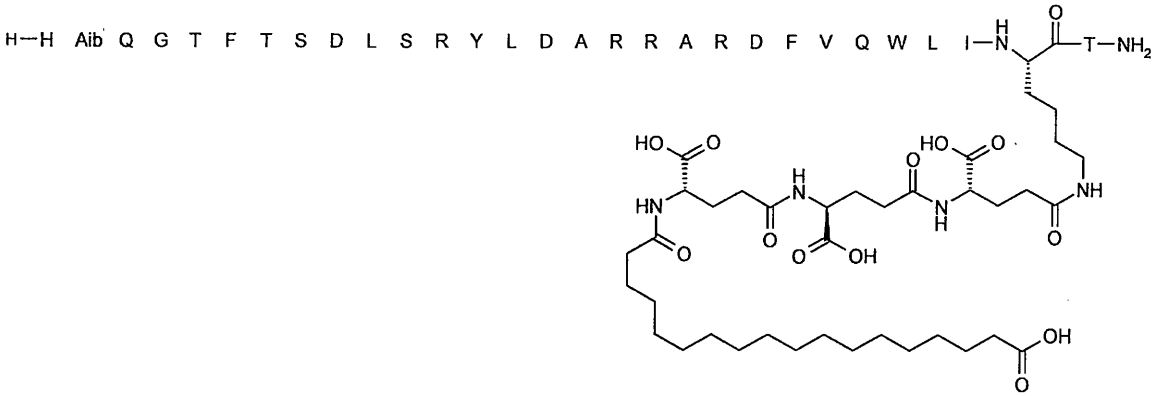
【化１５】



;N$^{\varepsilon 28}$-[(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,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式14:

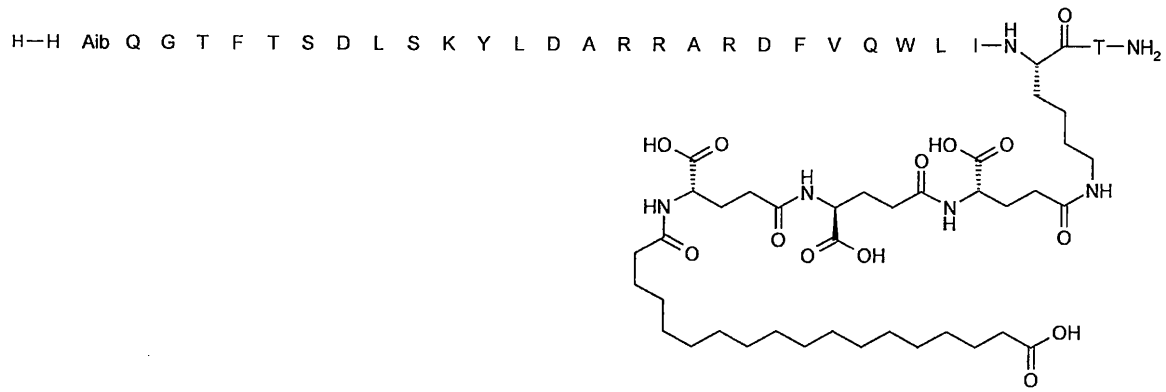
【化１６】



;N$^{\varepsilon 28}$-[(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,Ala16,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式15:

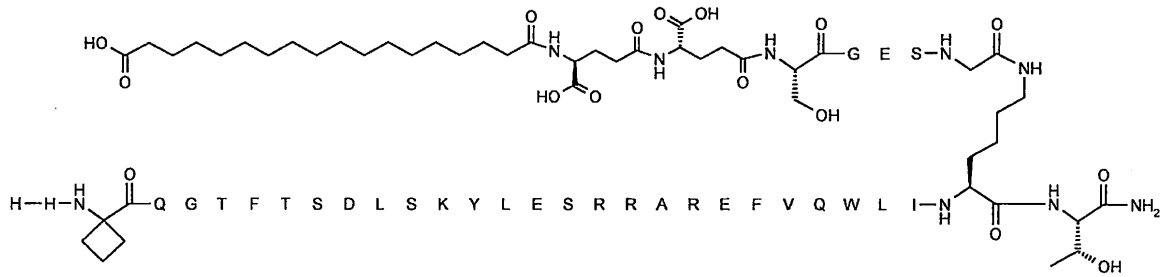
【化１７】



;N$^{\varepsilon 28}$-[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,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式16:

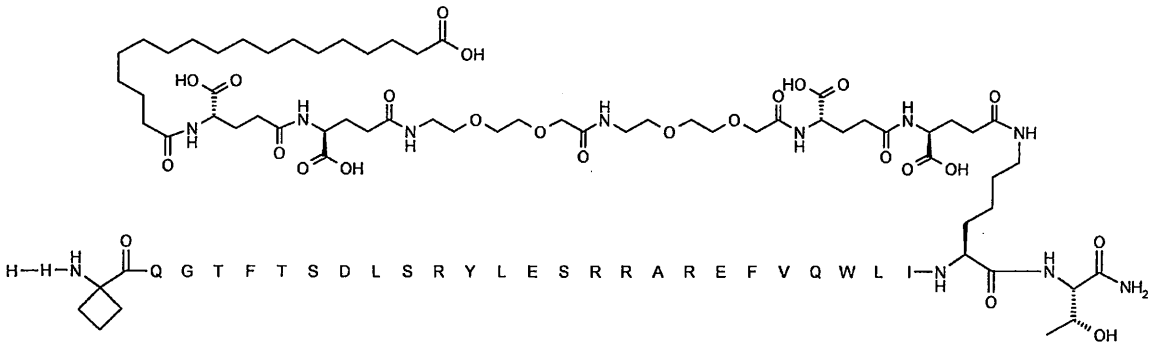
【化１８】



;N$^{\varepsilon 28}$-[(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]-[Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式17:

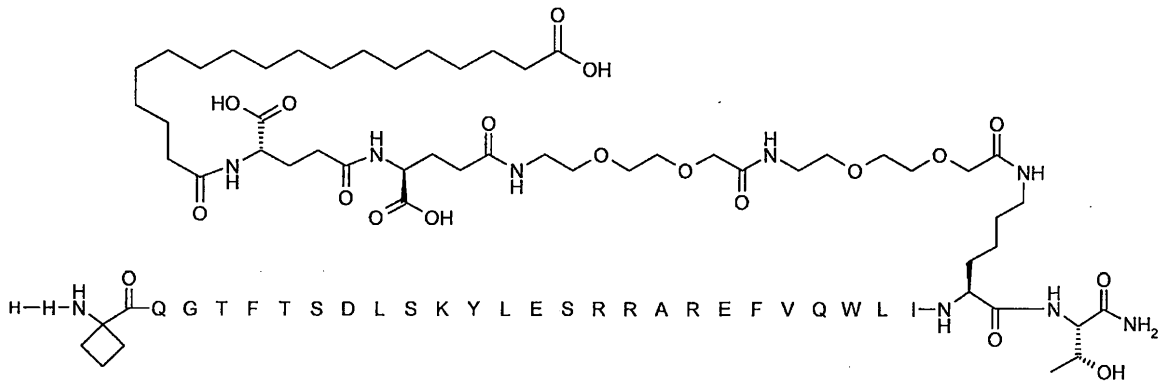
【化１９】



;N$^{\varepsilon 28}$-[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]-[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式18:

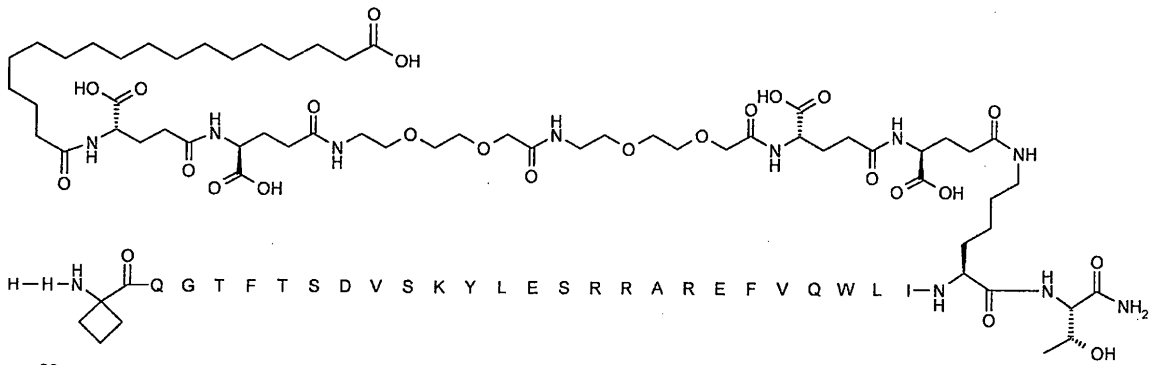
【化２０】



;N$^{\varepsilon 28}$-[(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]-[Acb2,Val10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式19:

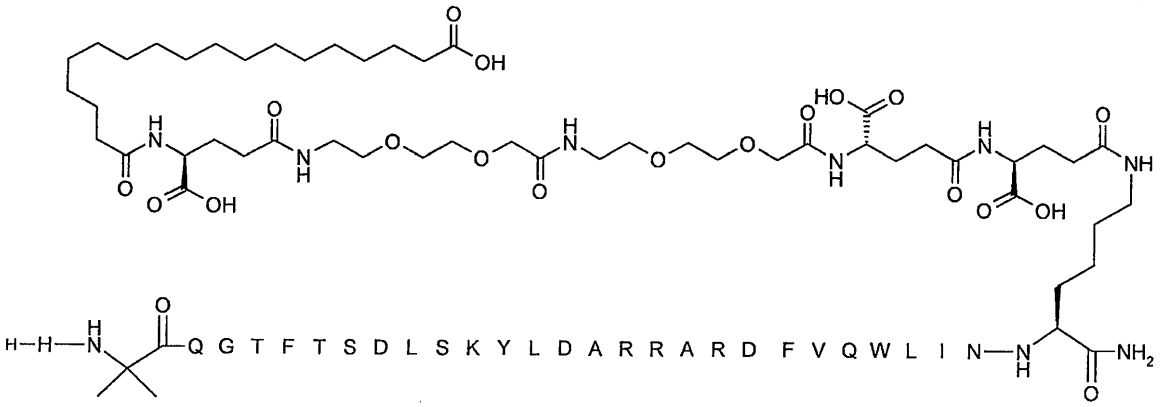
【化２１】



;N$^{\varepsilon 29}$-[(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,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式20:

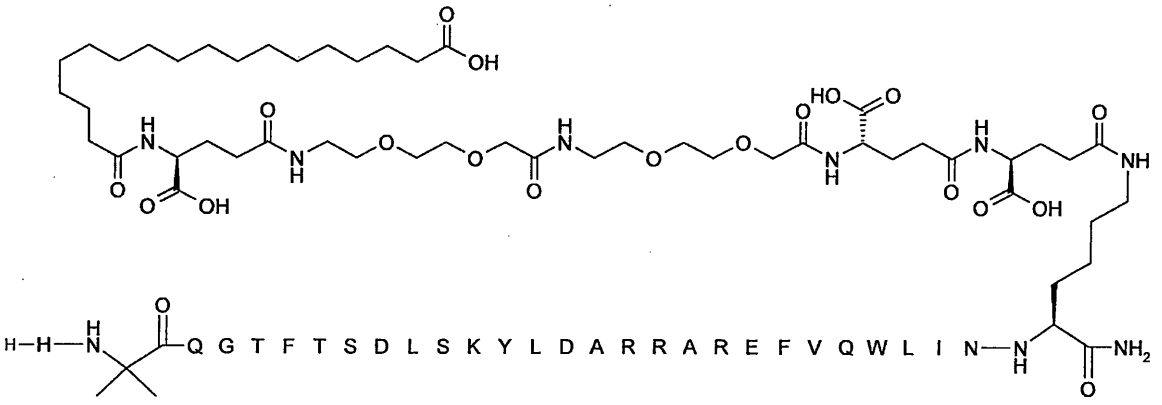
【化２２】



;N$^{\varepsilon 29}$-[(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,Glu21,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式21:

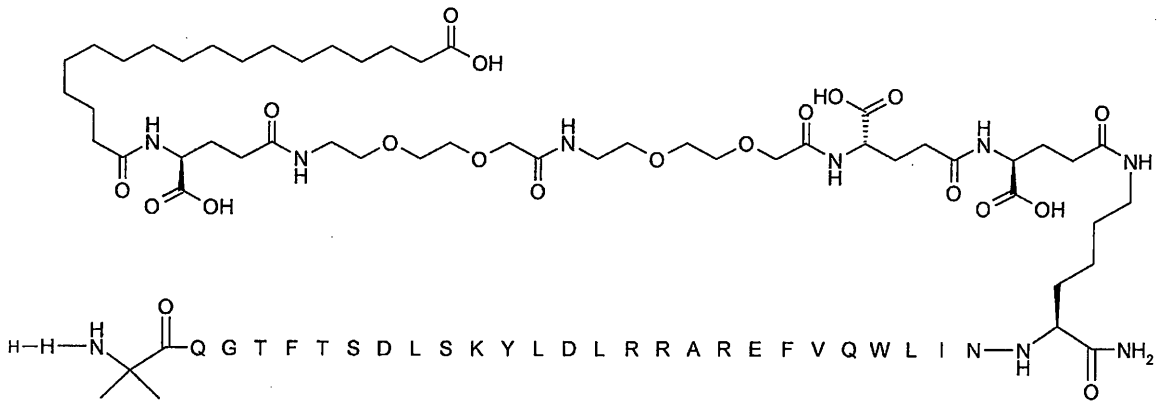
【化２３】



;N$^{\varepsilon 29}$-[(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,Leu16,Arg20,Glu21,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式22:

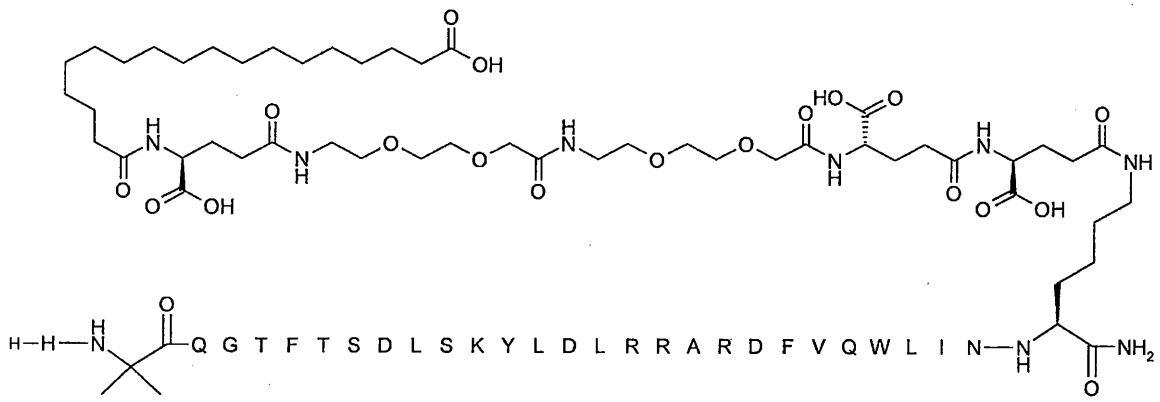
【化２４】



;$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Leu16,Arg20,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式23:

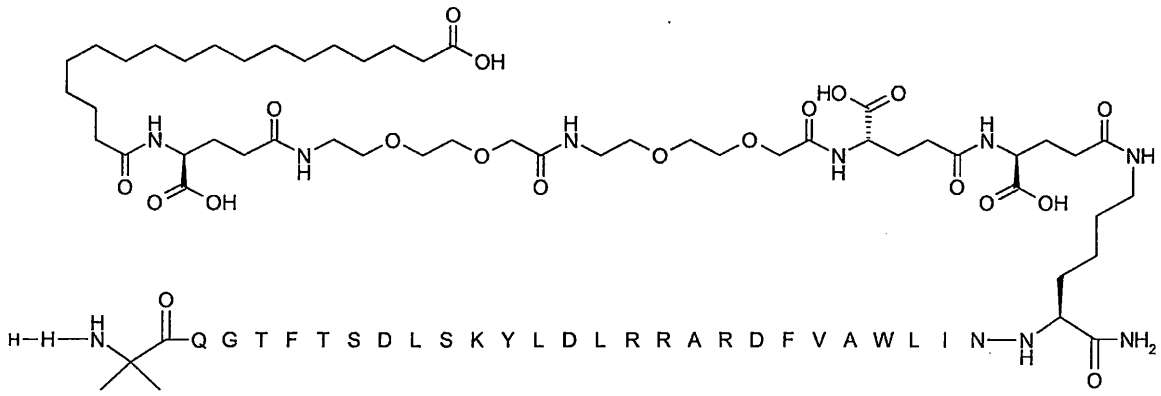
【化２５】



;$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド

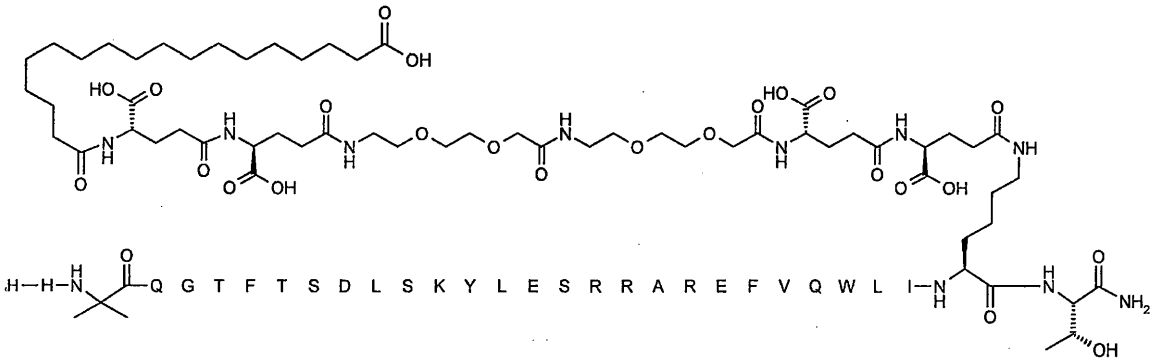
化学式24:

【化２６】

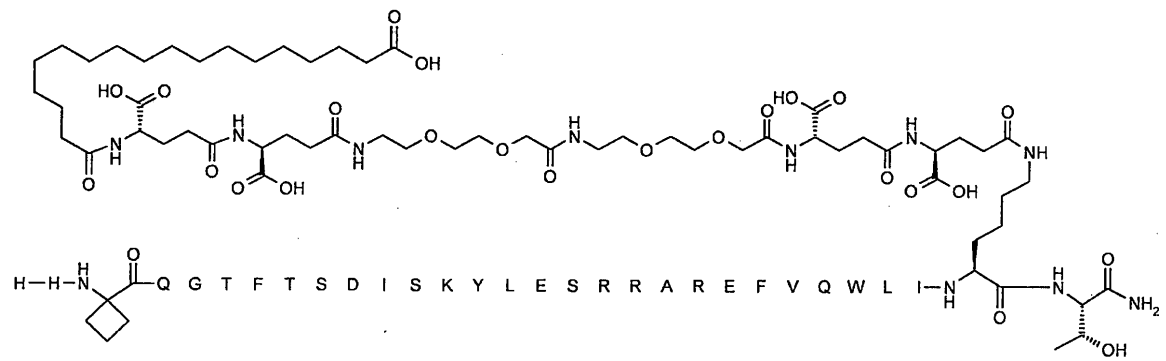


;$N^{\varepsilon 28}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile2

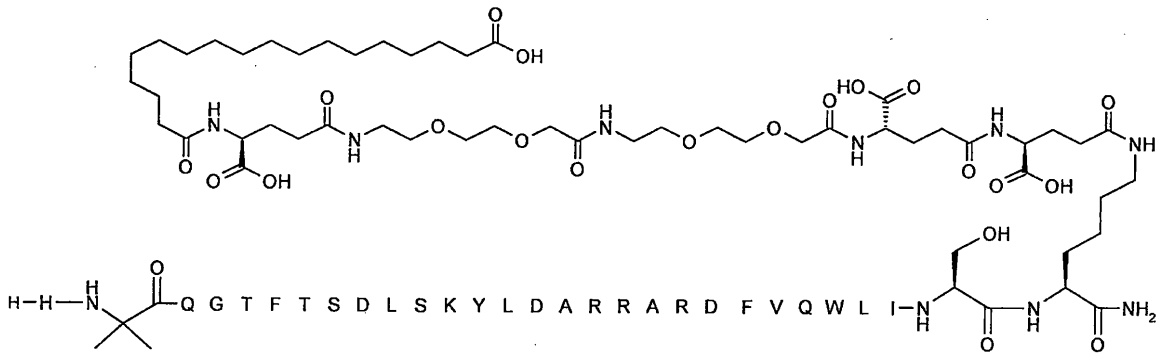
7,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式25:
【化２７】



;N$^{\varepsilon 28}$-[(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]-[Acb2,Ile10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式26:
【化２８】

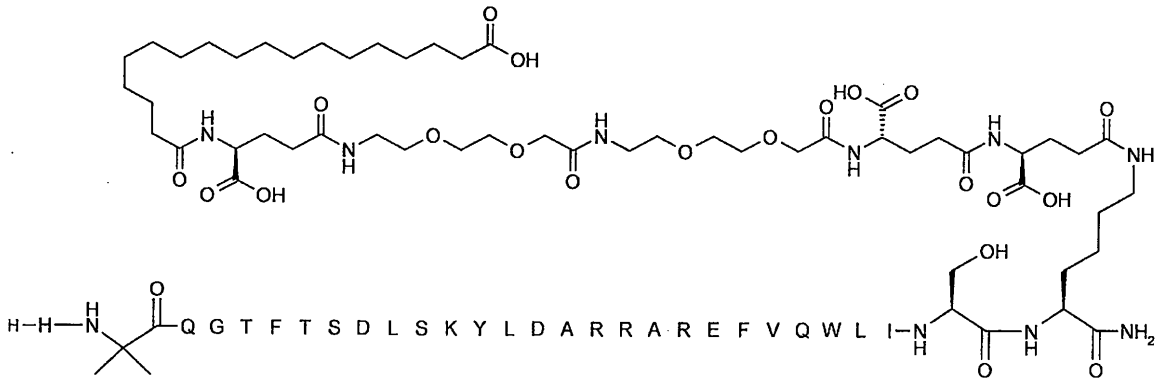


;N$^{\varepsilon 29}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド
化学式27:
【化２９】



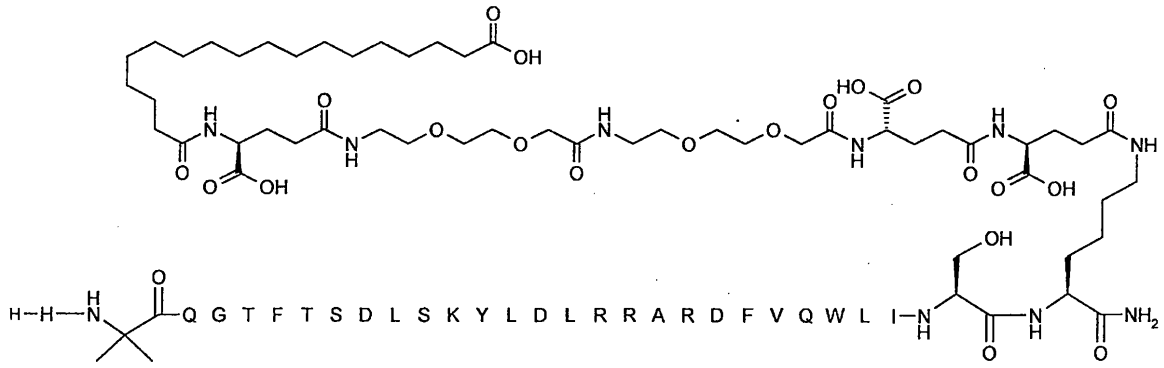
;N$^{\varepsilon 29}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式28:
【化３０】



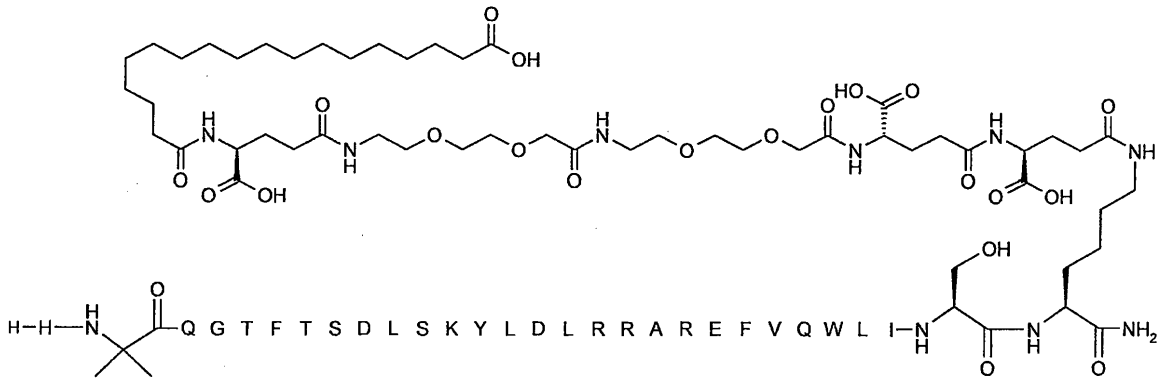
;$N^{\varepsilon 29}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式29:
【化３１】



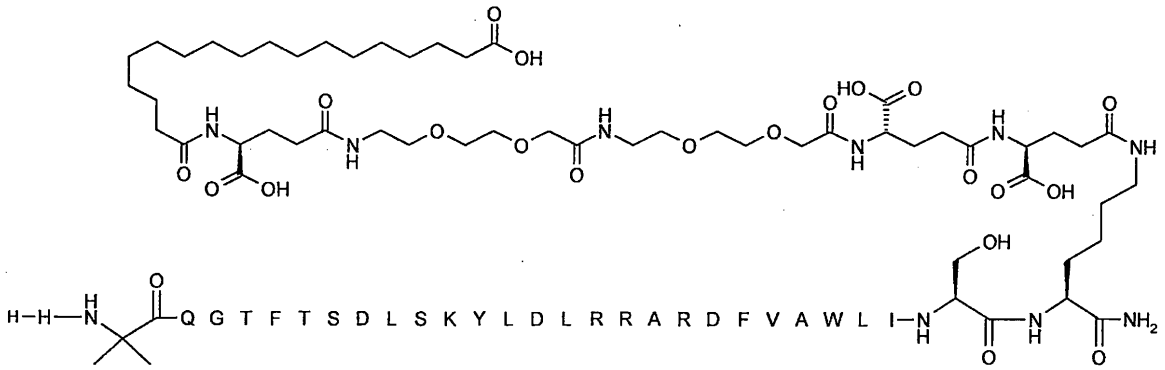
;$N^{\varepsilon 29}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式30:
【化３２】



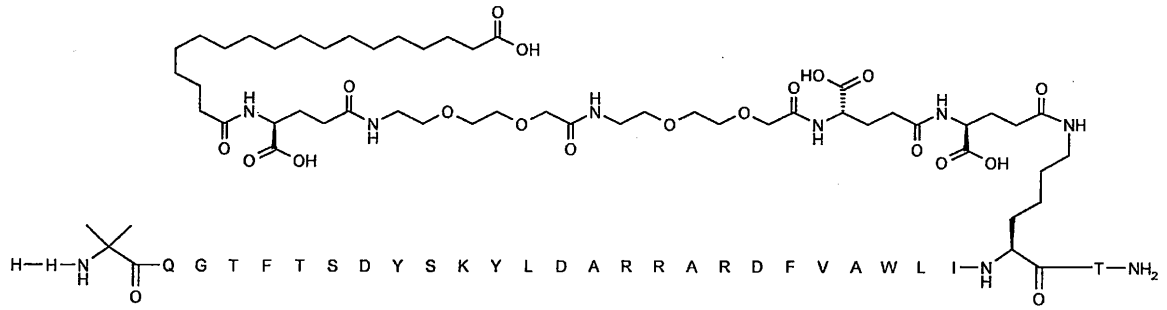
;$N^{\varepsilon 29}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式31:
【化３３】



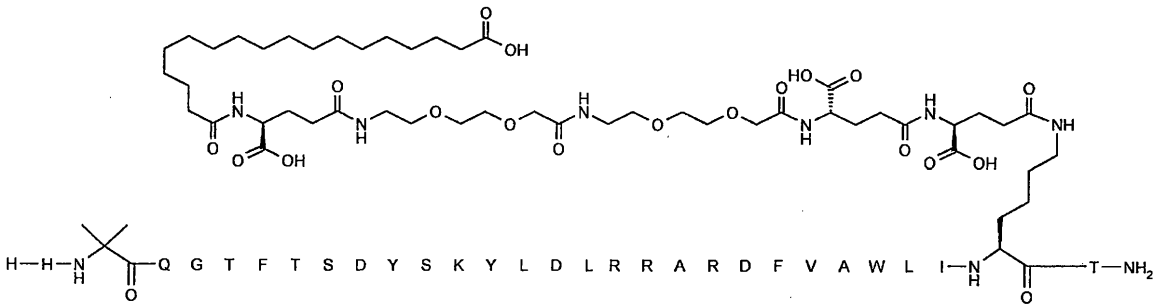
;$N^{\varepsilon 28}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Ala16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式32:
【化３４】



;$N^{\varepsilon 28}$-[(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,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

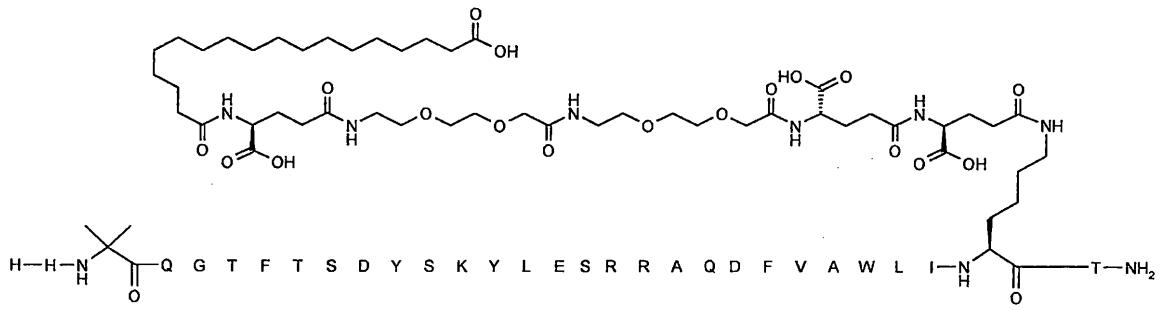
化学式33:
【化３５】



;$N^{\varepsilon 28}$-[(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,Glu15,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式34:

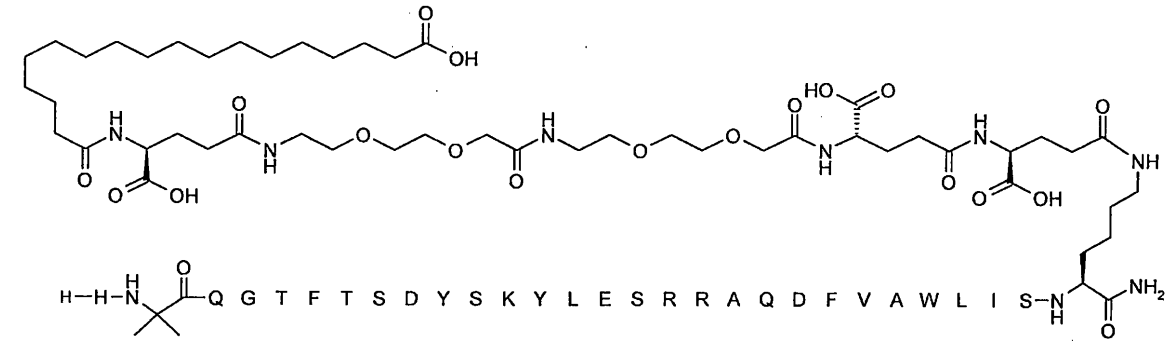
【化３６】



;$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Glu15,Ala24,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式35:

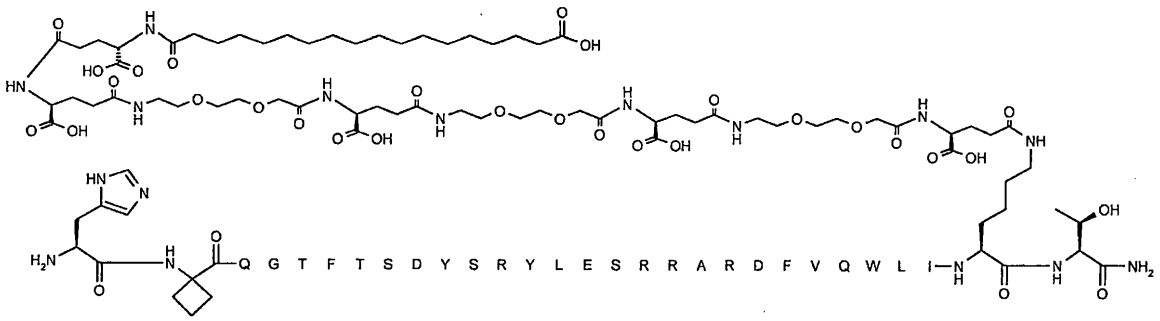
【化３７】



;$N^{\varepsilon 28}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[(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]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Acb2,Arg12,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

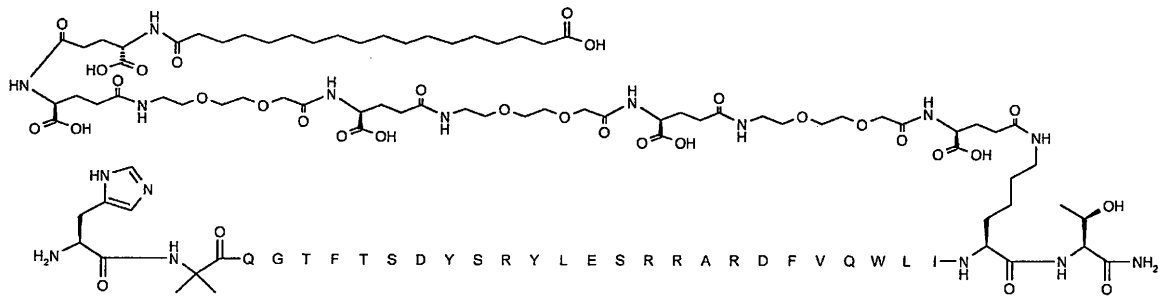
化学式36:

【化３８】



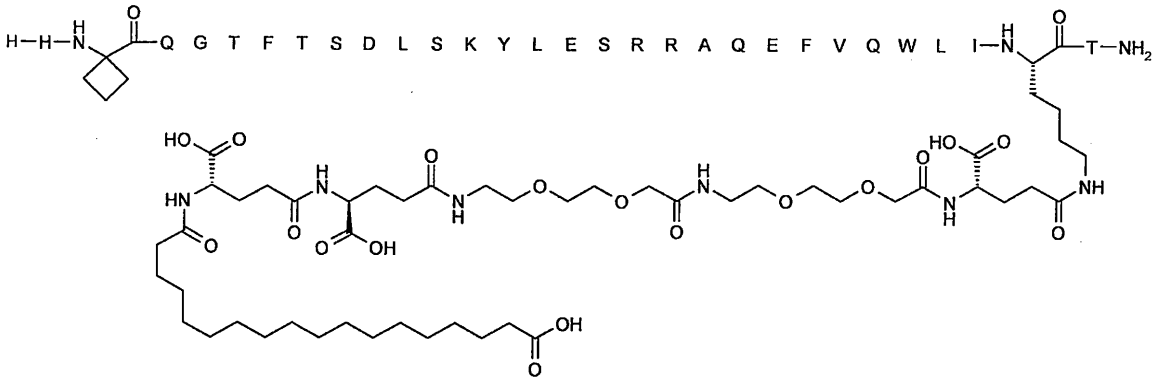
;$N^{\varepsilon 28}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Arg12,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式37:
【化３９】



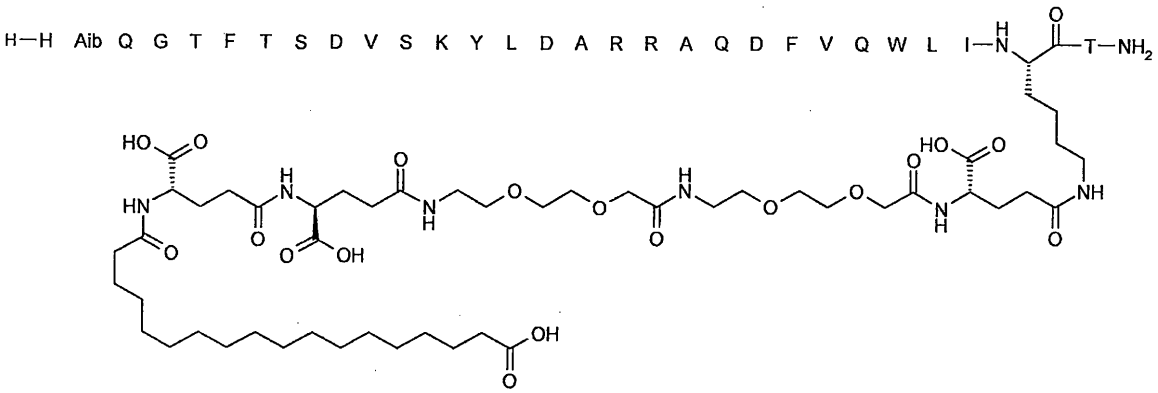
;N$^{\varepsilon 28}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Acb2,Leu10,Glu15,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式38:
【化４０】



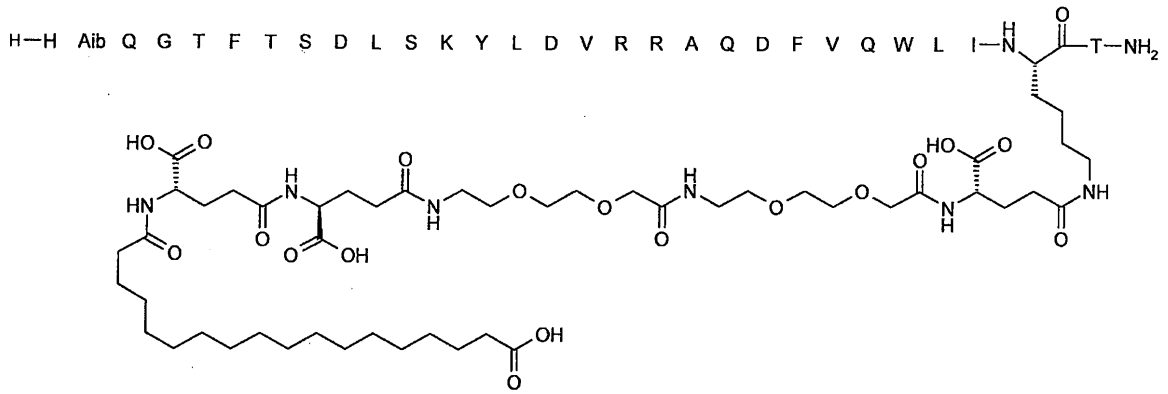
;N$^{\varepsilon 28}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Val10,Ala16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式39:
【化４１】



;及びN$^{\varepsilon 28}$-[(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,Leu10,Val16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式40:
【化４２】



からなる群から選択される、請求項1から12のいずれか一項に記載のグルカゴン誘導体。
【請求項１４】
1種若しくは複数の追加の治療上有効な化合物、例えばGLP-1化合物と、又はインスリン化合物と組み合わされた、請求項1から13のいずれか一項に記載のグルカゴン誘導体。
【請求項１５】
請求項1から14のいずれか一項に記載のグルカゴン誘導体と、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。
【請求項１６】
医療で使用するための、例えば肥満、高血糖、2型糖尿病、耐糖能障害及び/又は1型糖尿病の処置又は予防で使用するための、任意選択で1種又は複数の追加の治療上有効な化合物と組み合わされた、請求項1から14のいずれか一項に記載のグルカゴン誘導体。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、GLP-1/グルカゴン受容体コアゴニスト(co-agonist)である新規のグルカゴン誘導体、及びこのグルカゴン誘導体の医療での使用に関する。
【背景技術】
【０００２】
肥満発生率の上昇は西欧諸国で多発しており、最近では、発展途上国でも多発している。肥満は、循環器疾患及び2型糖尿病等の重要な共存症と関連する。現在、高い有効性で肥満を解消する唯一の処置は肥満手術であるが、この処置は費用が嵩み危険でもある。薬理学的介入は一般に有効性が低く、副作用を伴う。従って、副作用がほとんどなく投与が容易である、より有効な薬理学的介入が明らかに必要とされている。
【０００３】
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)のいずれかであることから、食物摂取の調節に関与する言われている。近年、腸の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、齧歯類及びヒトの両方において満腹感を誘発して体重を減少させることが分った[Cohen MA他: Oxyntomodulin suppresses appetite and reduces food intake in humans; J. Clin. Endocrinol. Metab. 2003 88 4696～4701頁、Dakin CL他: Oxyntomodulin inhibits food intake in the rat; Endocrinology 2001 142 4244～4250頁]。オキシントモジュリンは、GLP-1及びグルカゴンそれぞれと比較して効力は低いが、GLP-1受容体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。多数のより古い研究により、体重の制御での膵臓グルカゴンの関与が示されていたが、オキシントモジュリンの食欲不振誘発効果はGLP-1受容体により媒介されると既に推測されていた。2報の近年の論文が、魅力的な標的としてグルカゴンを示すとされており、デュアルアゴニストを構築し、ノックアウトモデルにおける体重減少効果を比較することにより、同時にGL

P-1/グルカゴン受容体を標的に定める力を明らかにした[Pocai他; Glucagon-Like Peptide 1/Glucagon Receptor Dual Agonism Reverses Obesity in Mice; Diabetes、2009、58、2258～2266頁、Day JW他: A new GLP-1 co-agonist eliminates obesity in rodents; Nat. Chem. Biol. 2009 5 749～757頁]。

【０００４】

グルカゴンの1つの生理学的効果は、グリコーゲン分解及び糖新生を刺激することにより、低血糖状態での血糖値を上昇させることである。しかしながら、血糖値へのグルカゴンの急性効果は、グルカゴンがほぼ生理学的レベルで注入される場合には控えめであると思われる[Sherwin RS他: Hyperglucaonemia and blood glucose regulation in normal, obese and diabetic subjects; N. Engl. J. Med. 1976 294 455～461頁]。グルカゴン受容体の活性化により、齧歯類及びヒトの両方においてエネルギー消費が増大し食物摂取が減少することも分っており[Habegger KM他: The metabolic actions of glucagon revisited; Nat. Rev. Endocrinol. 2010 6 689～697頁]、これらの効果は齧歯類において頑強であり持続的である。

【０００５】

グルカゴンアゴニズムに起因する血糖値上昇のリスクは、GLP-1アゴニズムの適切なレベルにより相殺され得る。従って、2種の受容体に対して均衡の取れた効果を有するGLP-1/グルカゴン受容体コアゴニストが望ましい。なぜならば、このGLP-1/グルカゴン受容体コアゴニストは、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からである。しかしながら、そのようなコアゴニストの医薬製品への開発ではいくつかの障害が存在しており、特に半減期、安定性、溶解性及び受容体活性に関していくつかの障害が存在する。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破壊することなく確立されることが必要である。更に、グルカゴンは中性pHでは本質的には不溶性であることから、グルカゴンは化学的に及び物理的に不安定であり、グルカゴンのin vivoでの半減期はわずか数分である。

【０００６】

例えば、WO2007/056362、WO2008/101017、WO2010/070255、WO2012/150503及びWO2012/169798に開示されているもの等の、様々なGLP-1/グルカゴン受容体コアゴニストを開示するいくつかの特許出願が当分野で既知である。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００７】

【特許文献１】WO2007/056362
【特許文献２】WO2008/101017
【特許文献３】WO2010/070255
【特許文献４】WO2012/150503
【特許文献５】WO2012/169798
【特許文献６】WO2009/083549
【特許文献７】WO98/08871

【非特許文献】

【０００８】

【非特許文献１】Cohen MA他: Oxyntomodulin suppresses appetite and reduces food intake in humans; J. Clin. Endocrinol. Metab. 2003 88 4696～4701頁
【非特許文献２】Dakin CL他: Oxyntomodulin inhibits food intake in the rat; Endocrinology 2001 142 4244～4250頁
【非特許文献３】Pocai他; Glucagon-Like Peptide 1/Glucagon Receptor Dual Agonism Reverses Obesity in Mice; Diabetes、2009、58、2258～2266頁
【非特許文献４】Day JW他: A new GLP-1 co-agonist eliminates obesity in rodents; Nat. Chem. Biol. 2009 5 749～757頁

【非特許文献５】Sherwin RS他: Hyperglucaonemia and blood glucose regulation in normal, obese and diabetic subjects; N. Engl. J. Med. 1976 294 455～461頁
【非特許文献６】Habegger KM他: The metabolic actions of glucagon revisited; Nat. Rev. Endocrinol. 2010 6 689～697頁
【非特許文献７】http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/AminoAcid/AA1n2.html#AA1
【非特許文献８】Johan Gabrielsson及びDaniel Weiner: Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Data Analysis. Concepts & Applications、第3版、Swedish Pharmaceutical Press、Stockholm(2000)
【非特許文献９】Rowland, M及びTozer TN: Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications、第3版、1995 Williams Wilkins
【非特許文献１０】Schmittschmitt及びScholtz、Protein Science、12、10、2374～2378頁、2003
【非特許文献１１】Beaven他、European J. Biochem. 11 (1969) 37～42頁
【非特許文献１２】Stability of Protein Pharmaceuticals、Ahern. T.J. & Manning M. C.、Plenum Press、New York 1992
【非特許文献１３】Formulation Consideration for Proteins Susceptible to Asparagine Deamidation and Aspartate Isomerization、Wakankar及びBorchardt、Journal of Pharmaceutical Sciences、2006、第95巻、第11号、2321頁
【非特許文献１４】Remington's Pharmaceutical Sciences、1985
【非特許文献１５】Remington: The Science and Practice of Pharmacy、第19版、1995
【非特許文献１６】Naiki他(1989) Anal. Biochem. 177、244～249頁
【非特許文献１７】LeVine(1999) Methods. Enzymol. 309、274～284頁
【非特許文献１８】Nielsen他(2001) Biochemistry 40、6036～6046頁

【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００９】
一部の実施形態では、本発明は、
式I:
X^1-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-Ile-X^{28}-X^{29}-X^{30} (I)
(式中、
X^1はHis又はImpを表し、
X^2はAib又はAcbを表し、
X^3はGln又はHisを表し、
X^{10}はTyr、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、Lys又はGlnを表し、
X^{18}はArg、Ala又はLysを表し、
X^{20}はGln、Arg又はLysを表し、
X^{21}はAsp、Glu又はLysを表し、
X^{24}はGln、Ala、Arg、Glu又はLys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}は存在しないか、又はLysを表す)
のアミノ酸配列を含むグルカゴン誘導体又はその薬学的に許容される塩であって、
式Iの前記アミノ酸配列は、12位、16位、17位、18位、20位、21位、24位、28位、29位及び/又は30位のうち1つ又は複数にリシン残基を含み、
前記グルカゴン誘導体は、親油性部分と少なくとも3個の負電荷部分とを含む置換基を

含み、前記負電荷部分のうち1つが親油性部分から遠位であり、前記置換基は、16位、17位、18位、20位、21位、24位、28位、29位又は30位のアミノ酸のうち1つのリシン残基のイプシロン位に付着しており、

前記グルカゴン誘導体が、C末端アミドである、グルカゴン誘導体に関する。

【００１０】

一部の実施形態では、本発明は、本明細書で定義されるグルカゴン誘導体の医療での使用に関する。

【発明を実施するための形態】

【００１１】

本発明は、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(即ち、GLP-1/グルカゴン受容体に対する二重の生物活性を有するグルカゴン誘導体)と、前記グルカゴン誘導体の医療での(例えば、糖尿病、肥満並びに関連する疾患及び状態の処置での)使用とに関する。

【００１２】

本発明のグルカゴン誘導体は、GLP-1受容体及びグルカゴン受容体の両方を活性化し、i)アミノ酸改変の組合せ及びii)負電荷部分を有する置換基を含む。具体的には、本発明のグルカゴン誘導体は、ヒトグルカゴンと比較して27位にアミノ酸置換イソロイシンを含む。本発明のグルカゴン誘導体は、3～10個の負電荷部分を有する置換基を更に含み、前記置換基はアミノ酸の側鎖(例えばリシンの側鎖の窒素原子)に共有結合的に付着している。

【００１３】

本発明者らは驚いたことに、本発明のグルカゴン誘導体は、例えば27位にロイシンを有する同一の化合物と比較して、グルカゴン受容体結合の低下を示し、同時にGLP-1受容体結合の改善を示すことを発見した。従って、本発明のグルカゴン誘導体の新規のアミノ酸改変は、体重に対する所望の効果を得るのに重要であるグルカゴン親和性とGLP-1親和性との間の比率を調整するためのツールとして使用し、血糖値を維持することができる。

【００１４】

更に、本発明者らは、本発明のグルカゴン誘導体が物理的に安定であることができること、即ち、このグルカゴン誘導体が、物理的安定性を評価するために使用したアッセイにおいて原線維形成を示さず、又は原線維形成の遅延を示し、この化合物の回収率が改善されたことを発見した。本発明者らは、本発明のグルカゴン誘導体が中性pH又はやや塩基性pHで十分な水溶性を有することができ、化学的安定性が改善されていること、即ち、このグルカゴン誘導体の化学的分解が低減されることを発見した。発明者らは、本発明のグルカゴン誘導体が改善された薬物動態特性を有することができること、即ち、このグルカゴン誘導体が例えばヒトグルカゴンと比較してin vivoでの半減期が長期にわたることを発見した。更に、本発明のグルカゴン誘導体は、皮下投与後に体重の有意な減少を誘導することができる。本明細書に記載したアッセイ(I)及びアッセイ(II)を使用して、グルカゴン受容体及びGLP-1受容体に対する本発明のグルカゴン誘導体の活性及び親和性それぞれを測定することができる。様々なpH値での本発明のグルカゴン誘導体の溶解性を本明細書に記載したように測定することができる(例えば機能特性の章を参照されたい)。本発明のグルカゴン誘導体の物理的安定性を、本明細書のアッセイ(III)に記載した方法で測定することができる。本発明のグルカゴン誘導体の化学的安定性を、本明細書のアッセイ(V)に記載したように測定することができる。このグルカゴン誘導体の半減期を、マウス(例えば、本明細書のアッセイ(IV)に記載した方法で使用する)、ラット又はミニブタ等の種における薬物動態研究で測定することができる。本発明のグルカゴン誘導体により引き起こされる体重減少を、本発明のグルカゴン誘導体のDIOマウスへの投与及びビヒクルのみの投与との体重への効果の比較により測定することができる。

【００１５】

一部の実施形態では、本発明は、

式I:

X^1-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-Ile-X^{28}-X^{29}-X^{30} (I)
(式中、
X^1はHis又はImpを表し、
X^2はAib又はAcbを表し、
X^3はGln又はHisを表し、
X^{10}はTyr、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、Lys又はGlnを表し、
X^{18}はArg、Ala又はLysを表し、
X^{20}はGln、Arg又はLysを表し、
X^{21}はAsp、Glu又はLysを表し、
X^{24}はGln、Ala、Arg、Glu又はLys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}は存在しないか、又はLysを表す)
のアミノ酸配列を含むグルカゴン誘導体又はその薬学的に許容される塩であって、
式Iの前記アミノ酸配列は、12位、16位、17位、18位、20位、21位、24位、28位、29位及び/又は30位のうち1つ又は複数にリシン残基を含み、
前記グルカゴン誘導体は、親油性部分と少なくとも3個の負電荷部分とを含む置換基を含み、前記負電荷部分のうち1つが親油性部分から遠位であり、前記置換基は、16位、17位、18位、20位、21位、24位、28位、29位又は30位のアミノ酸のうち1つのリシン残基のイプシロン位に付着しており、
前記グルカゴン誘導体はC末端アミドである、グルカゴン誘導体に関する。

【００１６】

グルカゴンペプチド及び類似体

用語「グルカゴンペプチド」は、本明細書で使用する場合、配列が配列番号1又はこの配列番号1の類似体として配列表に含まれるヒトグルカゴンを意味する。配列番号1の配列を有するペプチドはまた、本明細書において単に「グルカゴン」とも称され得る。一部の実施形態では、本明細書で使用する場合、用語「ヒトグルカゴン」及び「グルカゴン」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)を意味する。

【００１７】

用語「グルカゴン類似体」は、本明細書で使用する場合、グルカゴン(配列番号1)の多様体であるペプチド又は化合物を意味する。本明細書における式Iのアミノ酸配列はグルカゴン類似体の一例である。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体又はその薬学的に許容される塩は、式I:
X^1-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-Ile-X^{28}-X^{29}-X^{30} (I)
(式中、
X^1はHis又はImpを表し、
X^2はAib又はAcbを表し、
X^3はGln又はHisを表し、
X^{10}はTyr、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、Lys又はGlnを表し、
X^{18}はArg、Ala又はLysを表し、

X^{20}はGln、Arg又はLysを表し、
X^{21}はAsp、Glu又はLysを表し、
X^{24}はGln、Ala、Arg、Glu又はLys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}は存在しないか、又はLysを表す)
のアミノ酸配列を含み、
式Iの前記アミノ酸配列は、12位、16位、17位、18位、20位、21位、24位、28位、29位及び/又は30位のうち1つ又は複数にリシン残基を含み、前記グルカゴン誘導体は、親油性部分と少なくとも3個の負電荷部分とを含む置換基を含み、前記負電荷部分のうち1個が親油性部分から遠位であり、前記置換基は、16位、17位、18位、20位、21位、24位、28位、29位又は30位のアミノ酸のうち1つのリシン残基のイプシロン位に付着しており、前記グルカゴン誘導体はC末端アミドである。

【００１８】

本発明の誘導体のグルカゴン類似体を、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字{即ち、グルカゴン(配列番号1)中の対応する位置}及びii)実際の改変への言及により説明することができる。下記は、適切な類似体命名の非限定的な例である。

【００１９】

換言すると、本グルカゴン類似体は、ヒトグルカゴン(配列番号1)と比較した場合に多数のアミノ酸残基が改変されているグルカゴンペプチドである。これらの改変は独立して、1個又は複数個のアミノ酸の置換、付加及び/又は欠失を表すことができる。例えば、「[Imp1,His3,Glu15,Lys24,Leu27,Ser28]-グルカゴン」は、1位のアミノ酸がImpで置換されており、3位のアミノ酸がHisで置換されており、15位のアミノ酸がGluで置換されており、24位のアミノ酸がLys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で置換されているグルカゴン(配列番号1)を示す。

【００２０】

ある特定の変化を「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むことができる。特定の実施形態では、類似体は、特定の変化「からなる」、又は特定の変化を「有する」。

【００２１】

上記の例から明らかであるように、アミノ酸残基を、その完全な名称、その1文字コード及び/又はその3文字コードにより識別することができる。これら3種の方法は完全に等価である。一部の実施形態では、本グルカゴン類似体及び本グルカゴン誘導体は、IUPAC-IUB命名法に従って標準的な1文字コード又は3文字コードを使用して描かれている。

【００２２】

語句「位置」又は「対応する位置」を、グルカゴン(配列番号1)への言及によりグルカゴン類似体配列中での変化部位を特徴付けるために使用することができる。この位置及び変化の数は、例えば単純な手書き及び視認により容易に推定される。

【００２３】

用語「ペプチド」は、例えば本発明の誘導体のグルカゴン類似体に関連して使用する場合、アミド(又はペプチド)結合により相互接続されている一連のアミノ酸を含む化合物を意味する。本発明のグルカゴン誘導体は、ペプチド結合により接続された少なくとも5個の構成アミノ酸を含む。特定の実施形態では、ペプチドは、a)i)29個若しくはii)30個のアミノ酸を含む、又はb)i)29個若しくはii)30個のアミノ酸からなる。更に特定の実施形態では、ペプチドは、ペプチド結合により相互接続されたアミノ酸からなる。

【００２４】

アミノ酸はアミノ基とカルボン酸基とを含む分子であり、任意選択で1種又は複数の追加の基(側鎖と称されることが多い)も含む分子である。用語「アミノ酸」は、本明細書で使用する場合、(20種の標準的なアミノ酸の中の)コード化アミノ酸と非コード化アミノ酸

とを含む。コード化アミノ酸は、遺伝暗号によりコードされているアミノ酸である(IUPACの表1、3AA-1章、http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/AminoAcid/AA1n2.html#AA1)。非コード化アミノ酸は、天然(例えばヒト)のペプチド中に及び/若しくはタンパク質中に見出されない、又は標準的な細胞機構により産生されない(例えば翻訳後改変に晒されている場合がある)。非コード化アミノ酸の非限定的な例は、Aib(アルファ-アミノイソ酪酸)、des-アミノ-ヒスチジン{3-(イミダゾール-4-イル)プロピオン酸、代替名称イミダゾプロピオン酸(imidazopropionic acid)、Impと略される}及びコード化アミノ酸のD-異性体である。本明細書において、Impは、アミノ基を含まないがアミノ酸と定義される。

【００２５】

以下において、光学異性体が述べられていないペプチド(例えば本グルカゴン類似体又は本グルカゴン誘導体)の全てのアミノ酸は、(別途指定されない限り)L-異性体を意味すると理解しなければならない。

【００２６】

本グルカゴン誘導体は、ヒトグルカゴン(配列番号1)と比較して、式Iのアミノ酸配列中に合計で最大15個のアミノ酸改変(例えば、1個若しくは複数個の付加、1個若しくは複数個の欠失、及び/又は1個若しくは複数個の置換)を含むことができる。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、ヒトグルカゴン(配列番号1)と比較して、3～15個のアミノ酸残基改変、例えば置換又は付加を有する式Iのアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、ヒトグルカゴン(配列番号1)と比較して、最大で14個(例えば最大で13個又は最大で12個)のアミノ酸残基改変、例えば置換又は付加を有する式Iのアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、ヒトグルカゴン(配列番号1)と比較して、最大で11個(例えば最大で10個又は最大で9個)のアミノ酸残基改変、例えば置換又は付加を有する式Iのアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、ヒトグルカゴン(配列番号1)と比較して、最大で8個(例えば最大で7個又は最大で6個)のアミノ酸残基改変、例えば置換又は付加を有する式Iのアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、ヒトグルカゴン(配列番号1)と比較して、最大で5個(例えば最大で4個又は最大で3個)のアミノ酸残基改変、例えば置換又は付加を有する式Iのアミノ酸配列を含む。

【００２７】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、本明細書で定義した式Iのアミノ酸配列を含み、式中、

X^1はHis又はImp1を表し、
X^2はAib又はAcbを表し、
X^3はGlnを表し、
X^{10}はTyr、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又はValを表し、
X^{17}はArg又はLysを表し、
X^{18}はArgを表し、
X^{20}はGln又はArgを表し、
X^{21}はAsp又はGluを表し、
X^{24}はGln、Ala又はLysを表し、
X^{28}はAsn、Ser又はLysを表し、
X^{29}はThr又はLysを表し、
X^{30}は存在しない。

【００２８】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は式Iのアミノ酸配列を含み、式中、

X^1はHis又はImp1を表し、
X^2はAib又はAcbを表し、

X^3はGlnを表し、
X^{10}はTyr又はLeu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又はLeuを表し、
X^{17}はArgを表し、
X^{18}はArgを表し、
X^{20}はGln又はArgを表し、
X^{21}はAsp又はGluを表し、
X^{24}はGln、Ala又はLysを表し、
X^{28}はSer又はLysを表し、
X^{29}はThr又はLysを表し、
X^{30}は存在しない。

【００２９】
一部の実施形態では、X^1はHis又はImplを表す。

【００３０】
一部の実施形態では、X^2はAib又はAcbを表す。

【００３１】
一部の実施形態では、X^3はGln又はHisを表す。

【００３２】
一部の実施形態では、X^3はGlnを表す。

【００３３】
一部の実施形態では、X^{10}はTyr、Leu、Ile又はValを表す。

【００３４】
一部の実施形態では、X^{10}はTyr、Leu又はValを表す。

【００３５】
一部の実施形態では、X^{10}はTyr又はLeuを表す。

【００３６】
一部の実施形態では、X^{12}はLys又はArgを表す。

【００３７】
一部の実施形態では、X^{15}はAsp又はGluを表す。

【００３８】
一部の実施形態では、X^{16}はSer、Ala、Leu、Thr、Glu、Aib、Ile、Val又はLysを表す。

【００３９】
一部の実施形態では、X^{16}はSer、Ala、Leu又はValを表す。

【００４０】
一部の実施形態では、X^{16}はSer、Ala又はLeuを表す。

【００４１】
一部の実施形態では、X^{17}はArg、Lys又はGlnを表す。

【００４２】
一部の実施形態では、X^{17}はArg又はLysを表す。

【００４３】
一部の実施形態では、X^{17}はArgを表す。

【００４４】
一部の実施形態では、X^{18}はArg、Ala又はLysを表す。

【００４５】
一部の実施形態では、X^{18}はArgを表す。

【００４６】
一部の実施形態では、X^{20}はGln、Arg又はLysを表す。

【００４７】

一部の実施形態では、X^{20}はGln又はArgを表す。
【００４８】
一部の実施形態では、X^{21}はAsp、Glu又はLysを表す。
【００４９】
一部の実施形態では、X^{21}はAsp又はGluを表す。
【００５０】
一部の実施形態では、X^{24}はGln、Ala、Arg、Glu又はLysを表す。
【００５１】
一部の実施形態では、X^{24}はGln、Ala又はLysを表す。
【００５２】
一部の実施形態では、X^{24}はGln又はLysを表す。
【００５３】
一部の実施形態では、X^{28}はAsn、Ser、Thr、Gln、Ala、Gly、Glu又はLysを表す。
【００５４】
一部の実施形態では、X^{28}はAsn、Ser又はLysを表す。
【００５５】
一部の実施形態では、X^{28}はSer又はLysを表す。
【００５６】
一部の実施形態では、X^{29}はThr、Gly、Ser、Gln、Ala、Glu又はLysを表す。
【００５７】
一部の実施形態では、X^{29}はThr又はLysを表す。
【００５８】
一部の実施形態では、X^{30}は存在しないか、又はLysを表す。
【００５９】
一部の実施形態では、X^{30}は存在しない。
【００６０】
一部の実施形態では、本グルカゴン類似体又は本グルカゴン誘導体は、X^{30}のC末端にアミノ酸残基が付加されていない。
【００６１】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、
[Aib2,Ala16,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Ala16,Lys17,Arg20,Glu21,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Ala16,Arg20,Glu21,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Glu15,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Val10,Glu15,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Glu15,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu16,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Val10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;

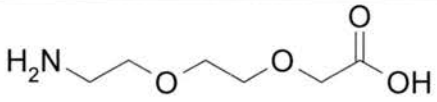
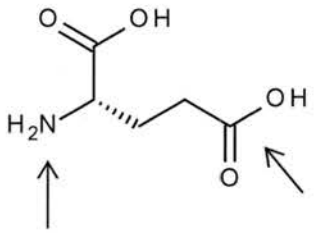
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Ile10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Ala16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Glu15,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Glu15,Ala24,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Arg12,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Arg12,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Glu15,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Val10,Ala16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;及び
[Aib2,Leu10,Val16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【００６２】

本文脈で使用するアミノ酸略語は下記の意味を有する。

【００６３】

【表１】

アミノ酸(3文字コード)	アミノ酸(1文字コード)	説明
Acb	n/a[1]	1-アミノシクロブタンカルボン酸
Acpr	n/a	1-アミノシクロプロパンカルボン酸
Ado	n/a	
Aib	n/a	2-アミノイソ酪酸
Ala	A	アラニン
Asn	N	アスパラギン
Asp	D	アスパラギン酸
Arg	R	アルギニン
Cit	n/a	シトルリン
Cys	C	システイン
Gln	Q	グルタミン
Glu	E	グルタミン酸
γ-Glu	n/a	 アミドからのアルファ-窒素(a-窒素)及びガンマ-カルボキシ(g-カルボキシ)基が、2 個の隣接した残基に結合する。本明細書において、γ-Glu は「ガンマ-Glu」又は「gGlu」とも称される。
Gly	G	グリシン
His	H	ヒスチジン
Hyp	n/a	4-ヒドロキシプロリン
Ile	I	イソロイシン
Leu	L	ロイシン
Lys	K	リシン
Met	M	メチオニン
Orn	n/a	オルニチン
Phe	F	フェニルアラニン
Pro	P	プロリン
Ser	S	セリン
Thr	T	トレオニン
Tyr	Y	チロシン
Trp	W	トリプトファン
Val	V	バリン

1)「n/a」は該当なしである

【００６４】

D-Ser、D-His等のDで始まり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-ヒスチジン等を意味する。

【００６５】

グルカゴン誘導体

本発明は、グルカゴン類似体の誘導体であるグルカゴン誘導体に関する。用語「誘導体」は、グルカゴン類似体等のグルカゴンペプチドに関連して本明細書で使用する場合、1個又は複数個の置換基がグルカゴンペプチドに共有結合的に付着している化学的に改変されたグルカゴンペプチドを意味する。用語「置換基」は、本明細書で使用する場合、水素原子を置き換える化学部分又は化学基を意味する。誘導体は、アミド、炭水化物、アルキル基、アシル基、エステル等から選択される1種又は複数の改変を含むことができる。

【００６６】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、親油性部分と少なくとも3個の負電荷部分とを含む置換基を含み、前記負電荷部分のうち1つが親油性部分から遠位であり、前記置換基は、式Iの16位、17位、18位、20位、21位、24位、28位、29位又は30位のアミノ酸のうち1つのリシン残基のイプシロン位に付着している。一部の実施形態では、用語「遠位」は、置換基中の負電荷部分に関して使用する場合、本グルカゴン誘導体のアミノ酸配列(例えば式I)への付着点から離れて位置する置換基の末端を意味する。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、親油性部分と少なくとも3個の負電荷部分とを含む置換基を含み、前記負電荷部分のうち少なくとも1つが親油性部分から遠位であり、前記置換基は、式Iの16位、17位、18位、20位、21位、24位、28位、29位又は30位のアミノ酸のうち1つのリシン残基のイプシロン位に付着している。

【００６７】

用語「親油性部分」は、本明細書で使用する場合、6個超で30個未満の炭素原子を有する脂肪族部分又は環式炭化水素部分を意味しており、前記炭化水素部分は追加の置換基を含むことができる。

【００６８】

用語「負電荷部分」は、本明細書で使用する場合、負電荷を有し得る化学部分を意味しており、この化学部分として、アミノ酸部分(例えば、Glu、ガンマ-Glu、Asp若しくはベータ-Asp、カルボン酸、スルホン酸、又はテトラゾール部分)が挙げられるがこれらに限定されない。負電荷部分の数は、生理学的pH(pH7.4)で決定することができる。負電荷部分はカルボン酸基であることができる。

【００６９】

一部の実施形態では、置換基は、式Iの16位、17位、18位、20位、21位、24位、28位、29位又は30位のうち1つのリシン残基のイプシロン位に付着している。一部の実施形態では、置換基は、式Iの24位、28位又は29位のうち1つのリシン残基のイプシロン位に付着している。一部の実施形態では、置換基は式Iの24位のリシン残基のイプシロン位に付着している。一部の実施形態では、置換基は式Iの28位のリシン残基のイプシロン位に付着している。一部の実施形態では、置換基は式Iの29位のリシン残基のイプシロン位に付着している。

【００７０】

一部の実施形態では、置換基は3個、4個又は5個の負電荷部分を含む。一部の実施形態では、置換基は3個又は4個の負耐電部分を含む。一部の実施形態では、置換基は3個の負電荷部分を含む。

【００７１】

一部の実施形態では、置換基はアルブミンに非共有結合的に結合している。

【００７２】

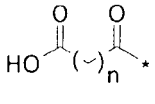
一部の実施形態では、置換基は生理学的pHで負電荷を有する。

【００７３】

一部の実施形態では、置換基は、親油性部分と少なくとも3個の負電荷部分とを含み、式II:

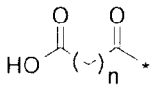
Z^1-Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}- (II)

{式中、
Z^1は、式IIa:
【００７４】
【化１】



(IIa)

【００７５】
(式中、
nは6～20であり、
記号*は、隣接する基の窒素への付着点を表す)
に従う構造を表し、
Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-はリンカーを表し、ここでZ^2からZ^{10}のそれぞれは個々に、下記のアミノ酸残基:Glu、ガンマ-Glu(gGlu)、Gly、Ser、Ala、Thr及び/若しくはAdoのうちいずれか1つで表されるか、又は残基Z^2からZ^{10}のうち1つ若しくは複数は存在せず、ただし残基Z^2からZ^{10}のうち少なくとも2つは存在し、
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個の負電荷部分を含む}
で表される置換基であり、
前記置換基は式Iのアミノ酸配列中のLysのイプシロン位に付着している。
【００７６】
一部の実施形態では、Z^1は、式IIa:
【００７７】
【化２】



(IIa)

【００７８】
(式中、nは12から18の範囲の整数を表す)の脂肪二酸を表す。一部の実施形態では、式IIa中のnは12、14、16又は18を表す。一部の実施形態では、式IIa中のnは16である(即ち、Z^1は17-カルボキシヘプタデカノイルを表す)。
【００７９】
一部の実施形態では、式II:Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-はリンカーを表し、ここでZ^2からZ^{10}のそれぞれは個々に、下記のアミノ酸残基:Glu、gGlu、Gly、Ser、Ala、Thr及び/若しくはAdoのうちいずれか1つで表されるか、又は残基Z^2からZ^{10}のうち1つ若しくは複数は存在せず、ただし残基Z^2からZ^{10}のうち少なくとも2つは存在し、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個の負電荷部分を含む。
【００８０】
一部の実施形態では、Z^2、Z^3、Z^4、Z^5、Z^6、Z^7、Z^8、Z^9及びZ^{10}は個々に、下記のアミノ酸残基:Glu、gGlu、Gly、Ser及び/若しくはAdoのうちいずれか1つで表される、又は残基Z^2からZ^{10}のうち1つ若しくは複数は存在せず、ただし残基Z^2からZ^{10}のうち少なくとも2つは存在する。一部の実施形態では、Z^2、Z^3、Z^4、Z^5、Z^6、Z^7、Z^8、Z^9及びZ^{10}は個々に、下記のアミノ酸残基:gGlu及び/若しくはAdoのうちいずれか1つで表される、又は残基Z^2からZ^{10}のうち1つ若しくは複数は存在せず、ただし残基Z^2からZ^{10}のうち少なくとも2つは存在する。一部の実施形態では、残基Z^2からZ^{10}のうち少なくとも3つが存在する。一部の実施形態では、残基Z^2からZ^{10}のうち少なくとも4つが存在する。一部の実施形態では、残基Z^2からZ^{10}のうち少なくとも5つが存在する。一部の実施形態では、残基Z^2からZ^{10}のうち少なくとも6つが存在する。
【００８１】

一部の実施形態では、Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-は、
gGlu-Ado-gGlu-;
gGlu-Ado-2xgGlu-;
gGlu-2xAdo-2xgGlu-;
2xgGlu-;
2xgGlu-Ado-;
2xgGlu-Ado-gGlu-;
2xgGlu-Ado-gGlu-Ado-;
2xgGlu-Ado-2xgGlu-;
2xgGlu-2xAdo-;
2xgGlu-2xAdo-gGlu;
2xgGlu-2xAdo-2xgGlu-;
2xgGlu-Ser-Gly-Glu-Ser-;
2xgGlu-Ser-Gly-Glu-Ser-Gly-;
3xgGlu-;
3xgGlu-Ado-;
3xgGlu-2xAdo-;及び
2xgGlu-Ado-gGlu-Ado-gGlu-Ado-gGlu-
からなる群から選択されるリンカーを表す。

【００８２】

一部の実施形態では、Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-は、
2xgGlu-2xAdo-gGlu-;
gGlu-2xAdo-2xgGlu-;
2xgGlu-2xAdo-;
2xgGlu-2xAdo-2xgGlu-;
2xgGlu-Ser-Gly-Glu-Ser-Gly-;
3xgGlu-;
3xgGlu-2xAdo-;及び
2xgGlu-Ado-gGlu-Ado-gGlu-Ado-gGlu-からなる群から選択されるリンカーを表す。一部の実施形態では、Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-は、リンカー2xgGlu-2xAdo-gGlu-を表す。一部の実施形態では、Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-は、リンカーgGlu-2xAdo-2xgGlu-を表す。一部の実施形態では、Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-は、リンカー2xgGlu-2xAdo-を表す。一部の実施形態では、Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-は、リンカー2xgGlu-2xAdo-2xgGlu-を表す。一部の実施形態では、Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-は、リンカー2xgGlu-Ser-Gly-Glu-Ser-Gly-を表す。一部の実施形態では、Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-は、リンカー3xgGlu-を表す。一部の実施形態では、Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-は、リンカー3xgGlu-2xAdo-を表す。一部の実施形態では、Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-は、リンカー2xgGlu-Ado-gGlu-Ado-gGlu-Ado-gGlu-を表す。

【００８３】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は式Iのアミノ酸配列を含み、式中、
X^1はHis又はImpを表し、
X^3はGlnを表し、
X^{10}はTyr、Leu、Ile又はValを表し、
X^{16}はSer、Ala、Leu又はValを表し、
X^{17}はArg又はLysを表し、
X^{18}はArgを表し、
X^{20}はGln又はArgを表し、
X^{21}はAsp又はGluを表し、
X^{24}はGln、Ala又はLysを表し、
X^{28}はAsn、Ser又はLysを表し、

X^{29}はThr又はLysを表し、
X^{30}は存在せず、
前記置換基は、24位、28位及び29位のうち1つのリシン残基のイプシロン位に付着している。

【００８４】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は式Iのアミノ酸配列を含み、式中、
X^{1}はHis又はImpを表し、
X^{3}はGlnを表し、
X^{10}はTyr又はLeuを表し、
X^{16}はSer、Ala又はLeuを表し、
X^{17}はArgを表し、
X^{18}はArgを表し、
X^{20}はGln又はArgを表し、
X^{21}はAsp又はGluを表し、
X^{24}はGln、Ala又はLysを表し、
X^{28}はSer又はLysを表し、
X^{29}はThr又はLysを表し、
X^{30}は存在せず、
前記置換基は、24位、28位及び29位のアミノ酸のうち1つのリシン残基のイプシロン位に付着している。

【００８５】

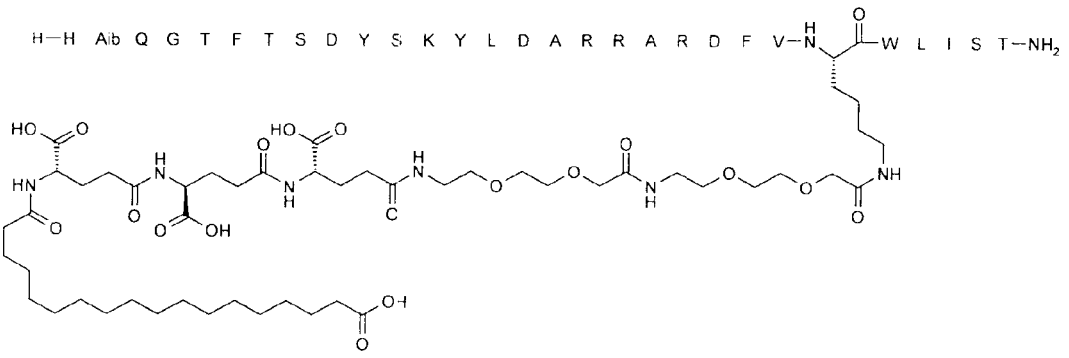
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は式Iのアミノ酸配列を含み、式中、X^{24}はGln又はAlaを表し、X^{28}はAsn又はSerを表し、X^{29}はLysを表し、X^{30}は存在せず、前記置換基は29位のリシン残基のイプシロン位に付着している。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は式Iのアミノ酸配列を含み、式中、X^{24}はGln又はAlaを表し、X^{28}はLysを表し、X^{29}はThrを表し、X^{30}は存在せず、前記置換基は28位のリシン残基のイプシロン位に付着している。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は式Iのアミノ酸配列を含み、式中、X^{24}はLysを表し、X^{28}はAsn又はSerを表し、X^{29}はThrを表し、X^{30}は存在せず、前記置換基は24位のリシン残基のイプシロン位に付着している。

【００８６】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は
$N^{\varepsilon 24}$-[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,Ala16,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド
化学式1:

【００８７】

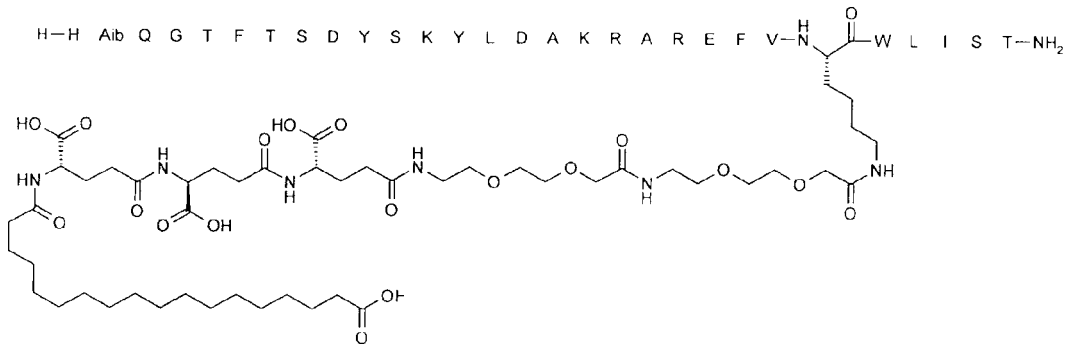
【化３】



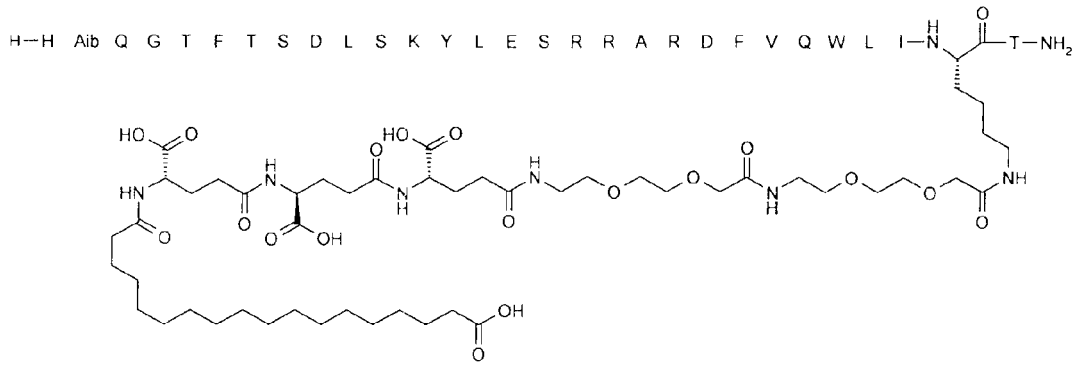
【００８８】

である。

【００８９】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 24}$-[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,Ala16,Lys17,Arg20,Glu21,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド
化学式2:
【００９０】
【化４】

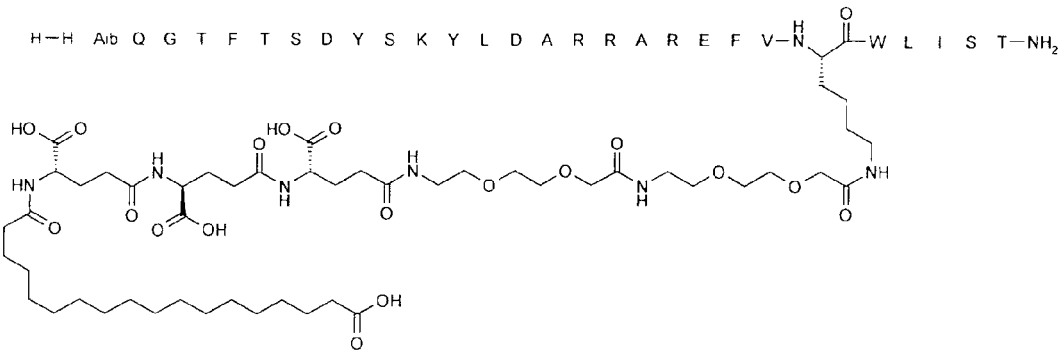


【００９１】
である。
【００９２】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式3:
【００９３】
【化５】

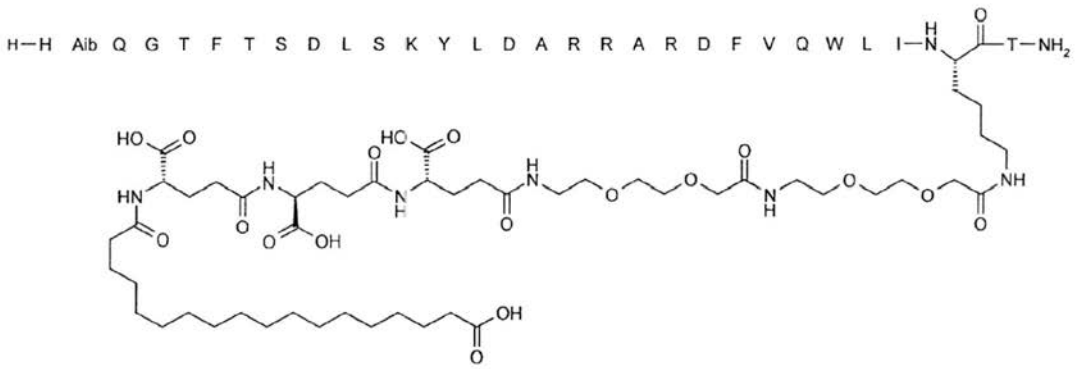


【００９４】
である。
【００９５】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 24}$-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Ala16,Arg20,Glu21,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド
化学式4:
【００９６】

【化６】

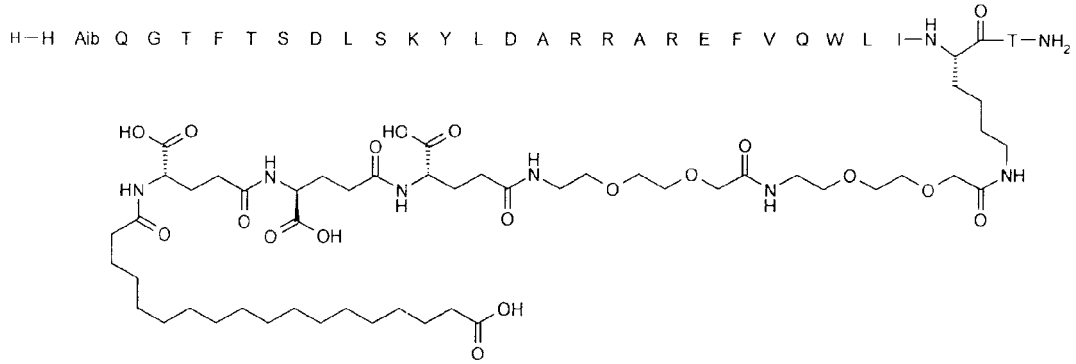


【００９７】
である。
【００９８】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式5:
【００９９】
【化７】

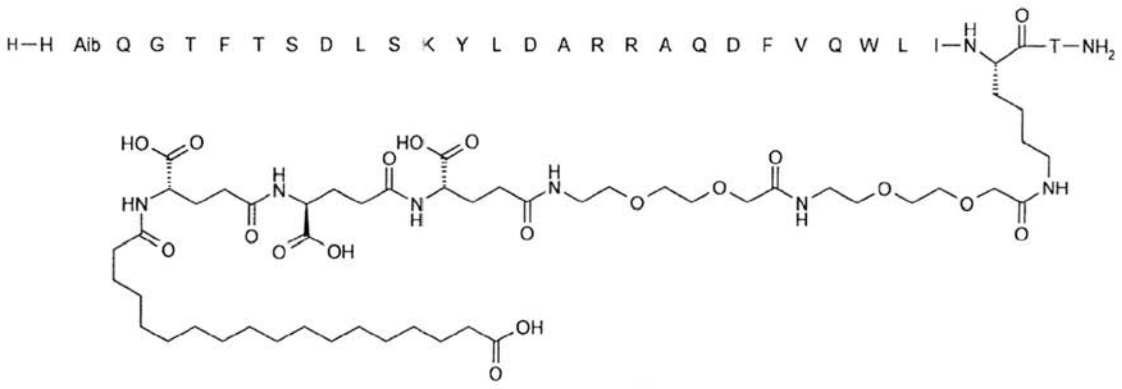


【０１００】
である。
【０１０１】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式6:
【０１０２】

【化８】

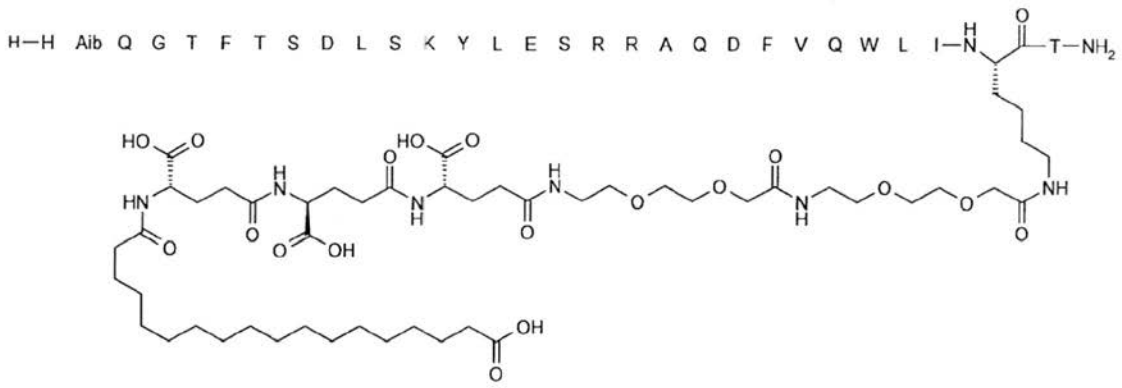


【０１０３】
である。
【０１０４】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式7:
【０１０５】
【化９】

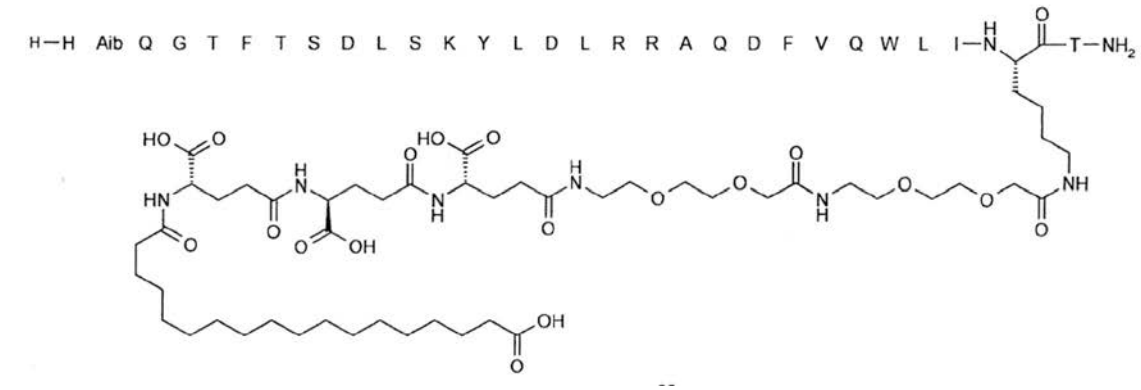


【０１０６】
である。
【０１０７】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式8:
【０１０８】

【化１０】

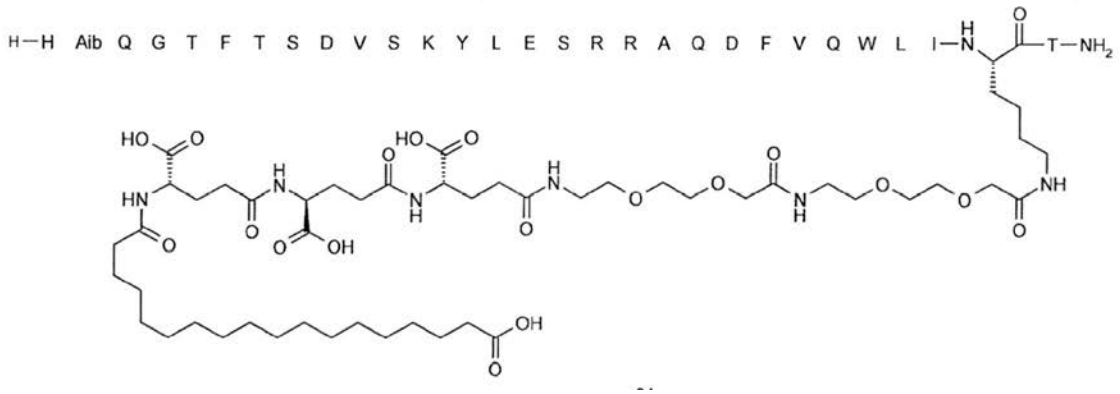


【０１０９】
である。
【０１１０】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Leu16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式9:
【０１１１】
【化１１】

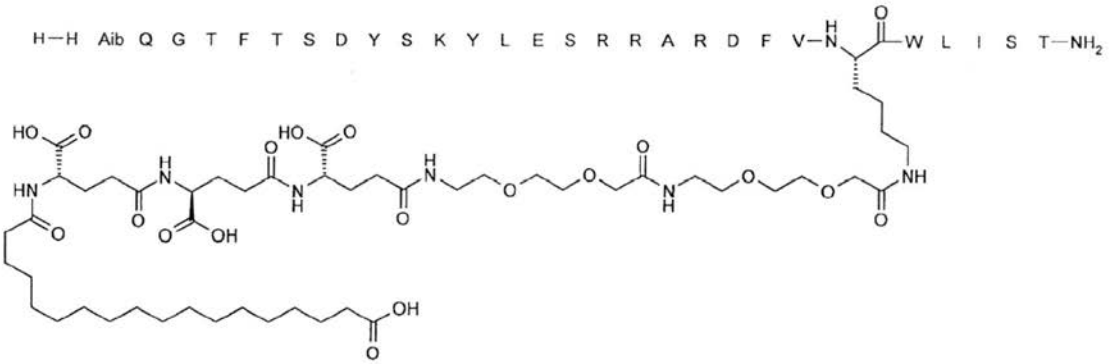


【０１１２】
である。
【０１１３】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Val10,Glu15,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式10:
【０１１４】

【化１２】

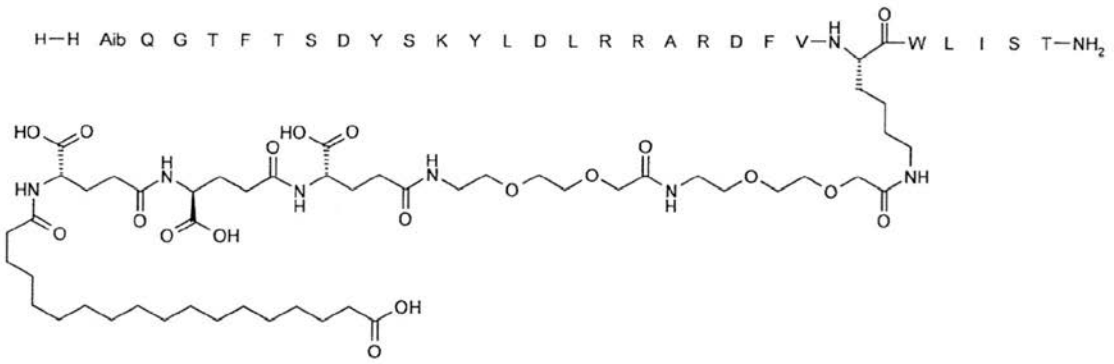


【０１１５】
である。
【０１１６】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 24}$-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Glu15,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド
化学式11:
【０１１７】
【化１３】

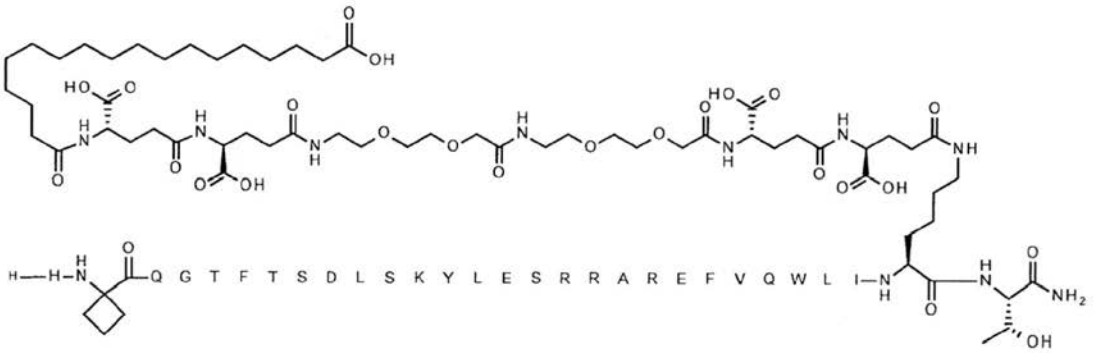


【０１１８】
である。
【０１１９】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 24}$-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu16,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド
化学式12:
【０１２０】

【化１４】

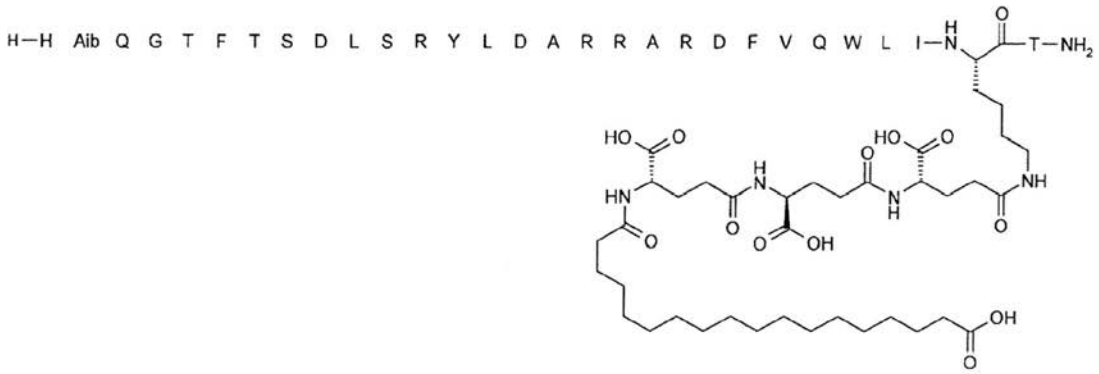


【０１２１】
である。
【０１２２】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式13:
【０１２３】
【化１５】

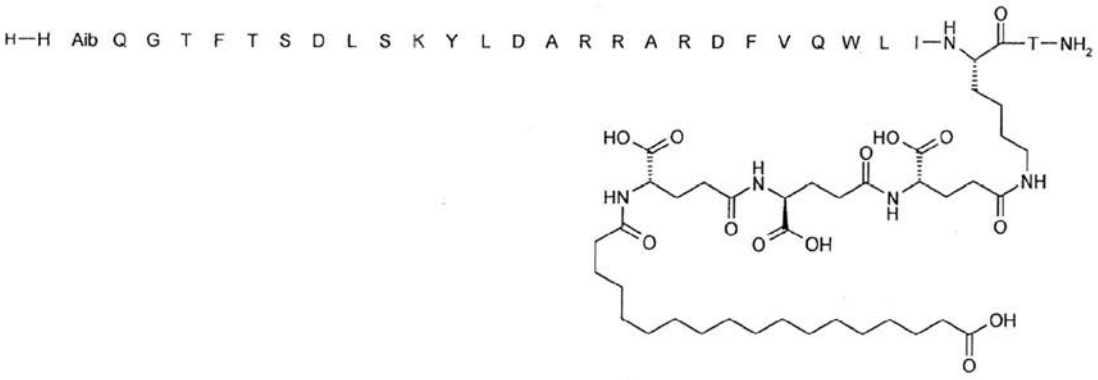


【０１２４】
である。
【０１２５】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式14:
【０１２６】

【化１６】

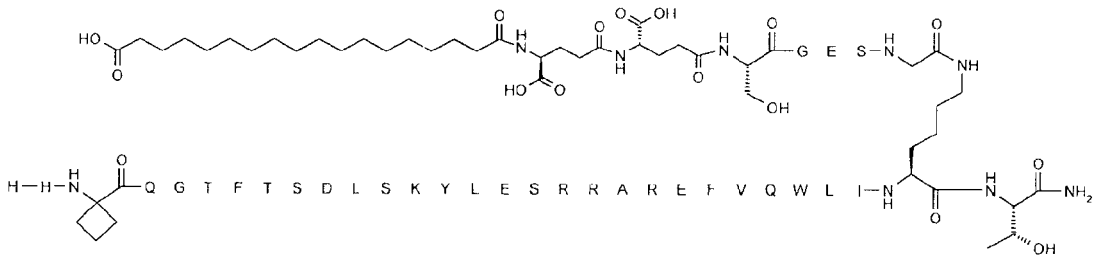


【０１２７】
である。
【０１２８】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式15:
【０１２９】
【化１７】



【０１３０】
である。
【０１３１】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[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,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式16:
【０１３２】

【化１８】



【０１３３】

である。

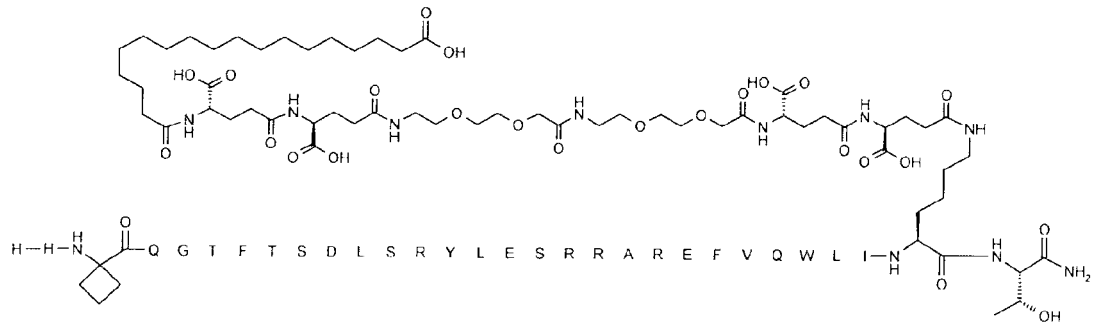
【０１３４】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[(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]-[Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式17:

【０１３５】

【化１９】



【０１３６】

である。

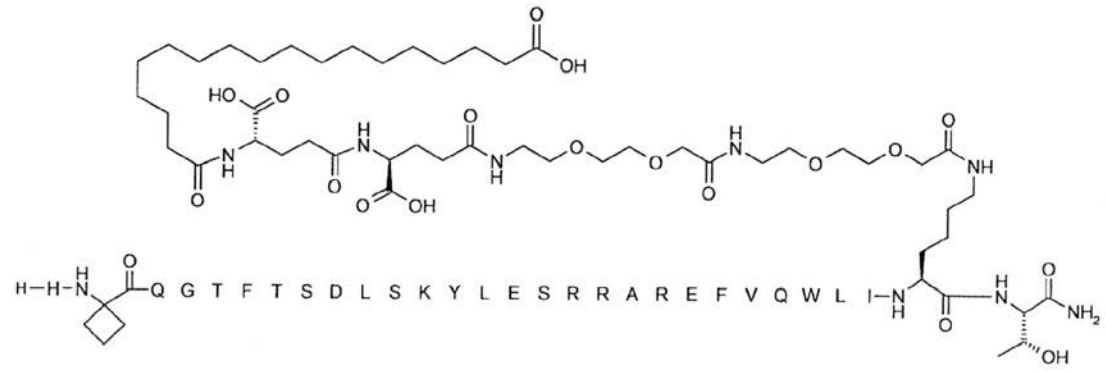
【０１３７】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[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]-[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式18:

【０１３８】

【化２０】



【０１３９】

である。

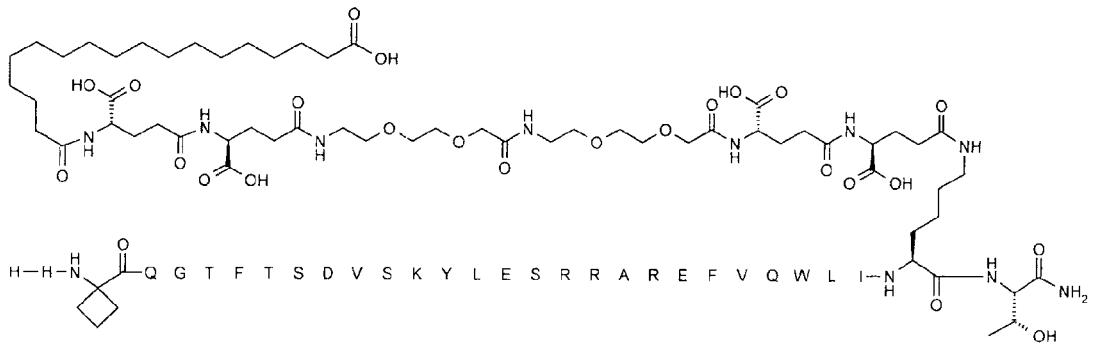
【０１４０】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[(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]-[Acb2,Val10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式19:

【０１４１】

【化２１】



【０１４２】

である。

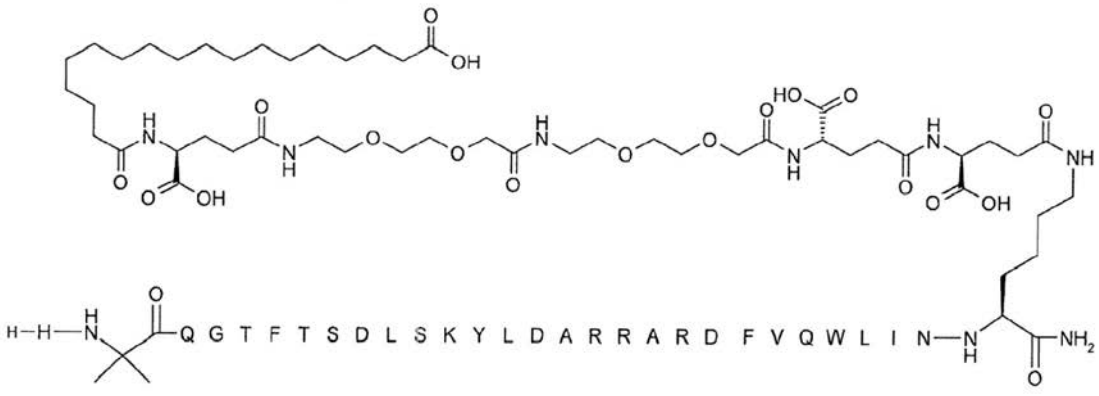
【０１４３】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式20:

【０１４４】

【化２２】



【０１４５】

である。

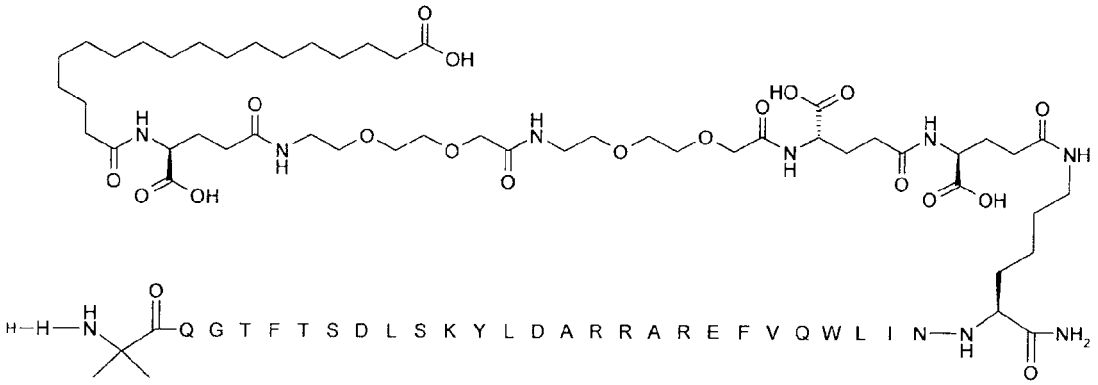
【０１４６】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Glu21,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式21:

【０１４７】

【化２３】



【０１４８】

である。

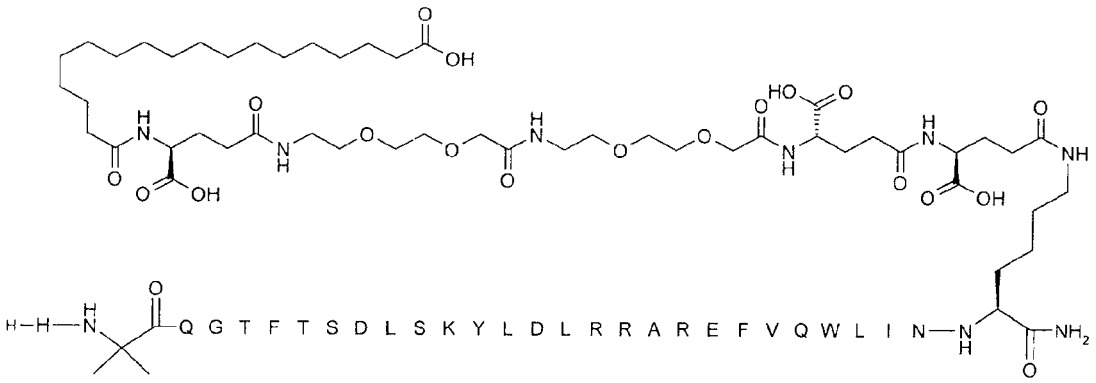
【０１４９】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Leu16,Arg20,Glu21,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式22:

【０１５０】

【化２４】



【０１５１】

である。

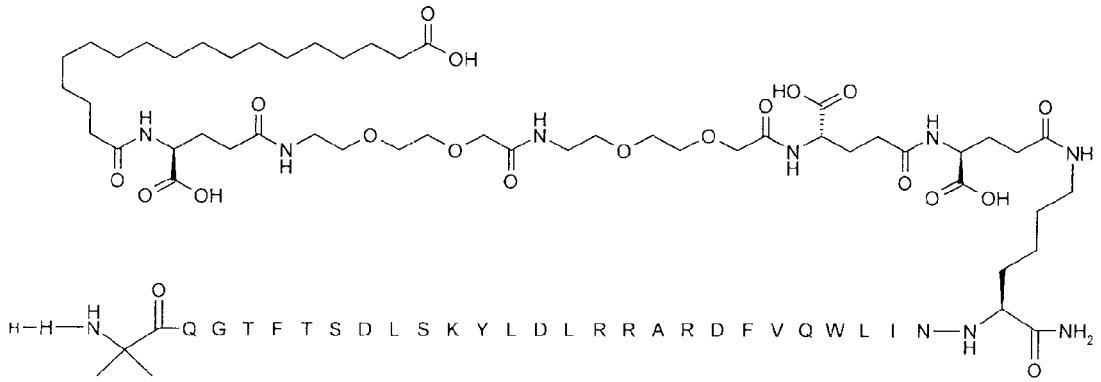
【０１５２】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Leu16,Arg20,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式23:

【０１５３】

【化２５】



【０１５４】

である。

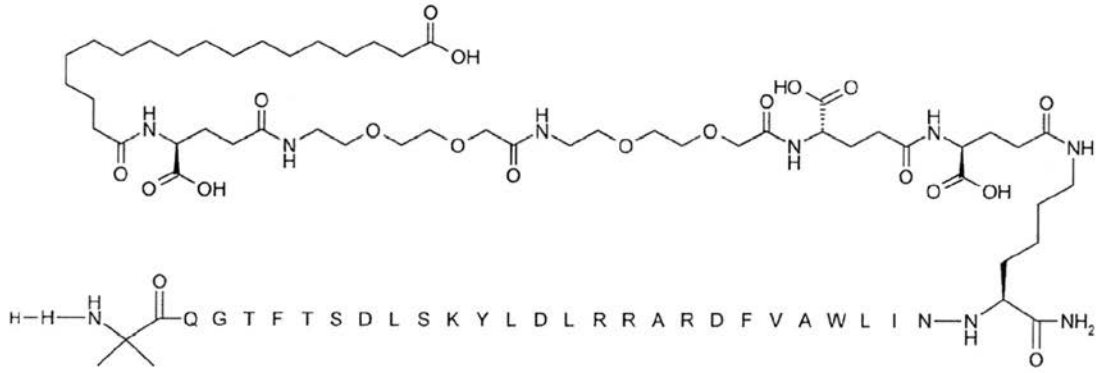
【０１５５】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式24:

【０１５６】

【化２６】



【０１５７】

である。

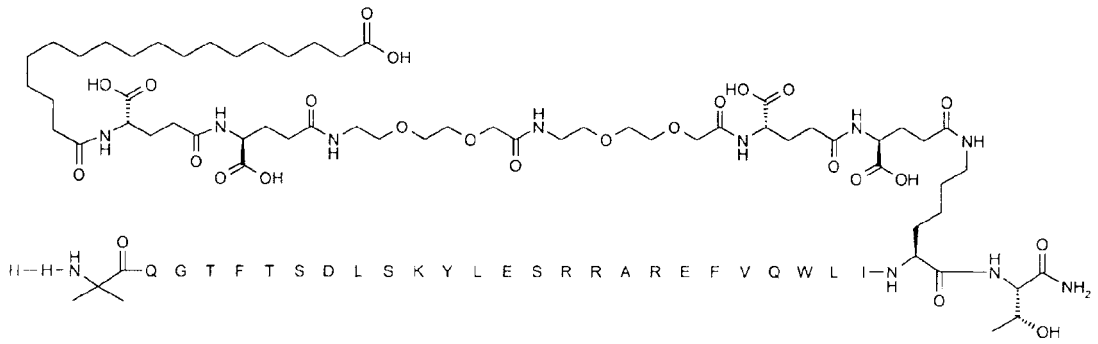
【０１５８】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[(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]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

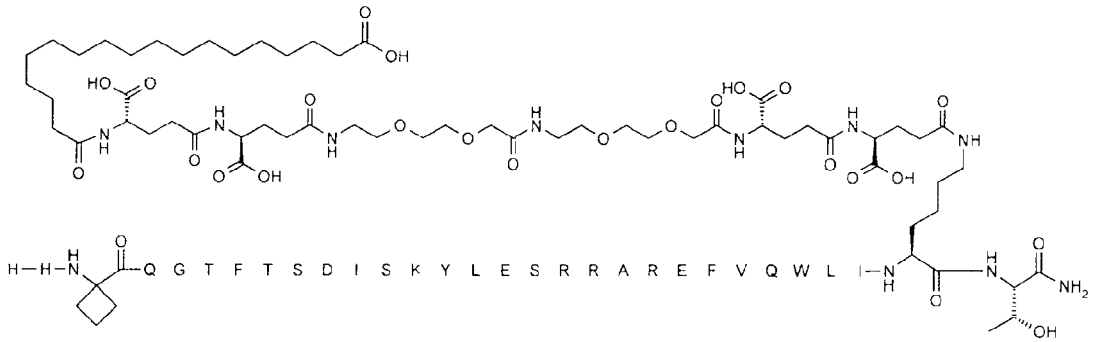
化学式25:

【０１５９】

【化２７】

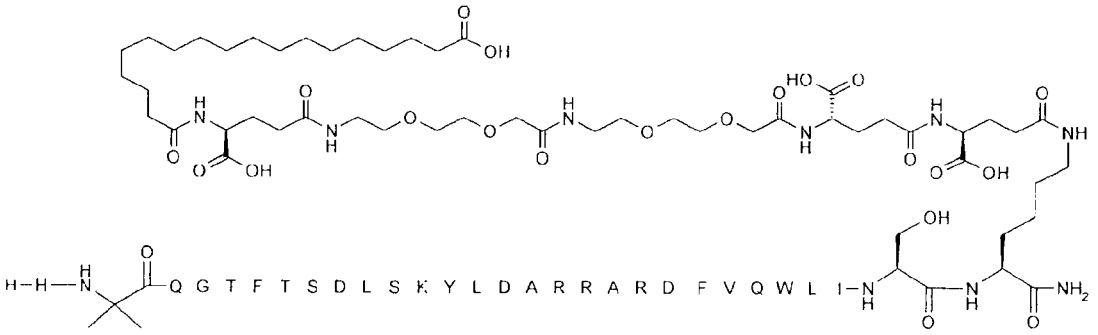


【０１６０】
である。
【０１６１】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Acb2,Ile10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式26:
【０１６２】
【化２８】

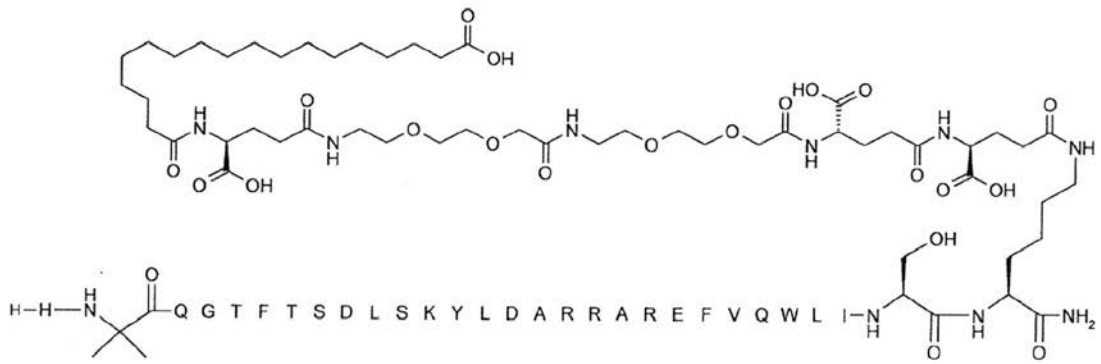


【０１６３】
である。
【０１６４】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 29}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド
化学式27:
【０１６５】

【化２９】

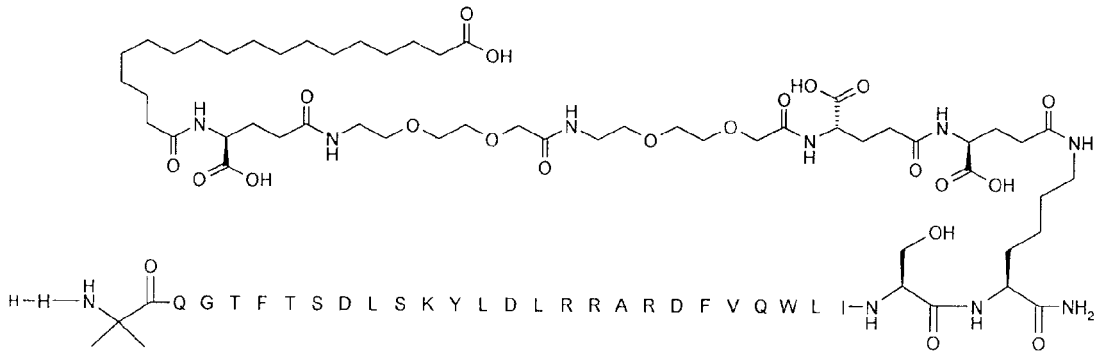


【０１６６】
である。
【０１６７】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 29}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド
化学式28:
【０１６８】
【化３０】



【０１６９】
である。
【０１７０】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Leu16,Arg20,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド
化学式29:
【０１７１】

【化３１】



【０１７２】

である。

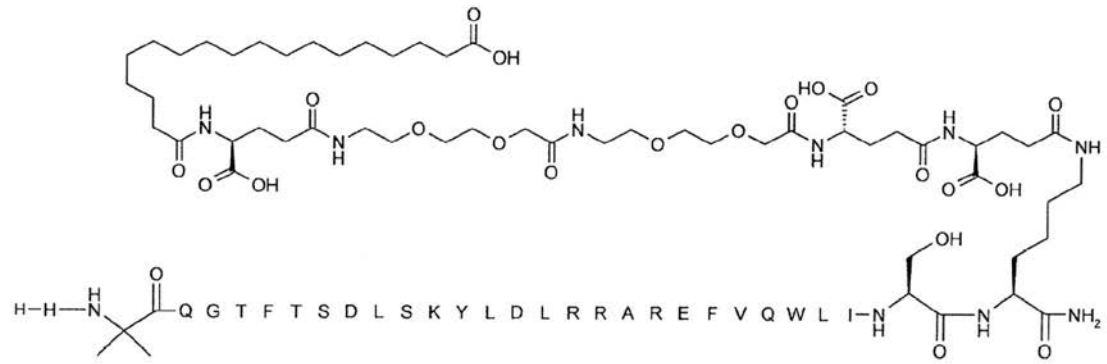
【０１７３】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 29}$-[(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-(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,Arg20,Glu21,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式30:

【０１７４】

【化３２】



【０１７５】

である。

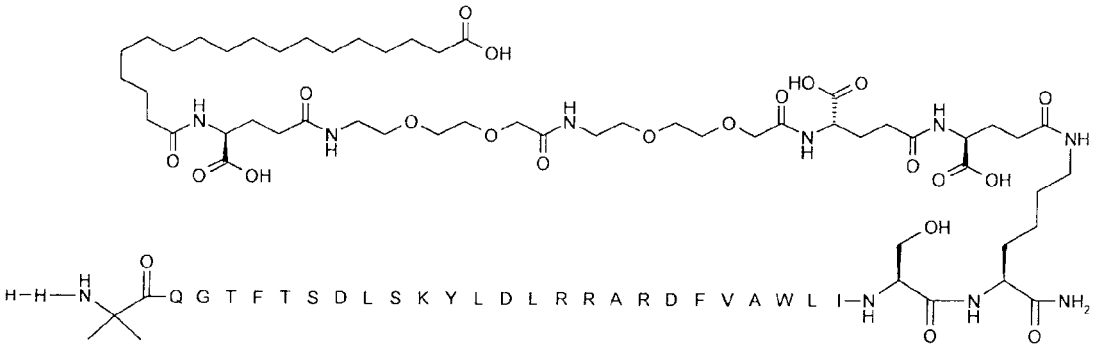
【０１７６】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 29}$-[(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-(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,Arg20,Ala24,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

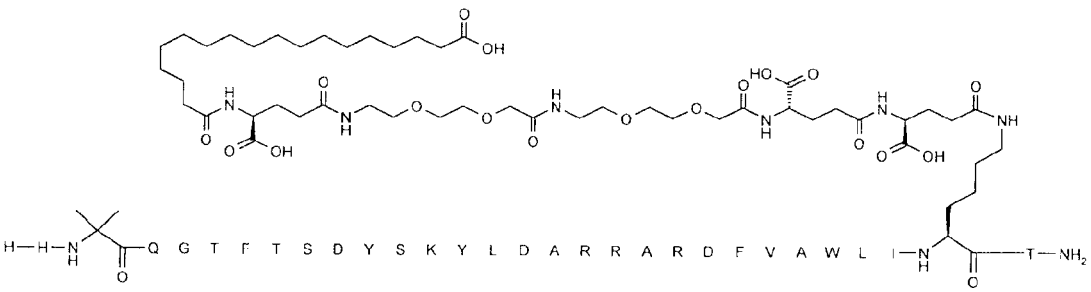
化学式31:

【０１７７】

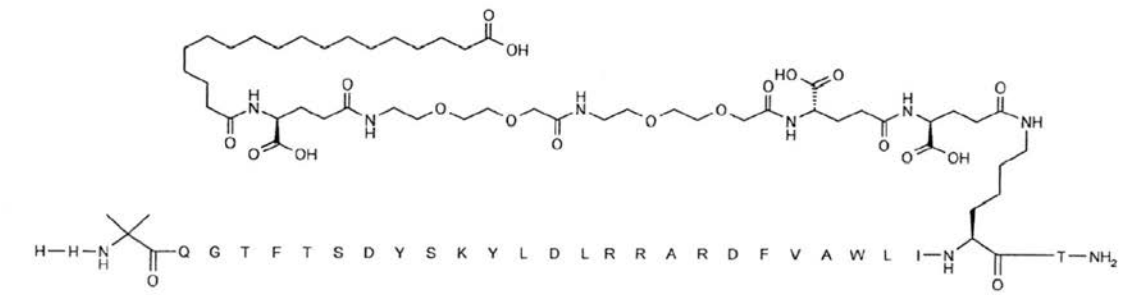
【化３３】



【０１７８】
である。
【０１７９】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[(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,Ala16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式32:
【０１８０】
【化３４】



【０１８１】
である。
【０１８２】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[(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,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式33:
【０１８３】
【化３５】



【０１８４】

である。

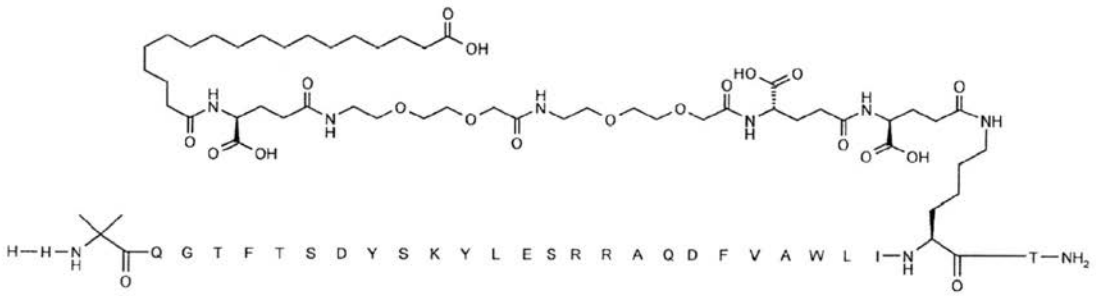
【０１８５】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[(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,Glu15,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式34:

【０１８６】

【化３６】



【０１８７】

である。

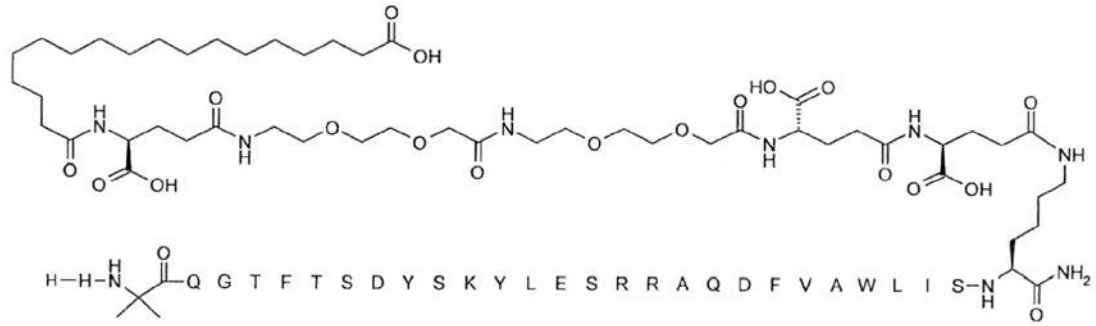
【０１８８】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Glu15,Ala24,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式35:

【０１８９】

【化３７】



【０１９０】

である。

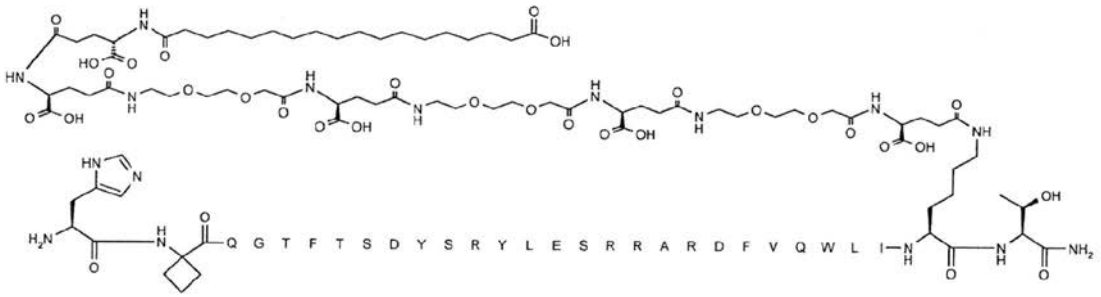
【０１９１】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[(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]エトキシ]エトキシ]アセチル]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]-[Acb2,Arg12,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式36:

【０１９２】

【化３８】



【０１９３】

である。

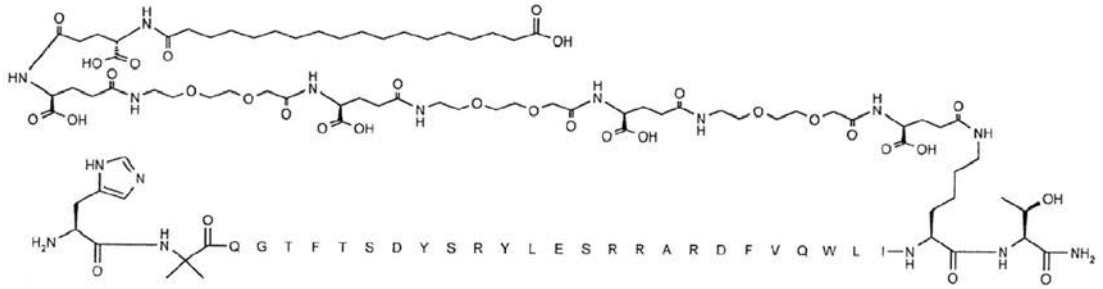
【０１９４】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[(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]エトキシ]エトキシ]アセチル]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]-[Aib2,Arg12,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式37:

【０１９５】

【化３９】



【０１９６】

である。

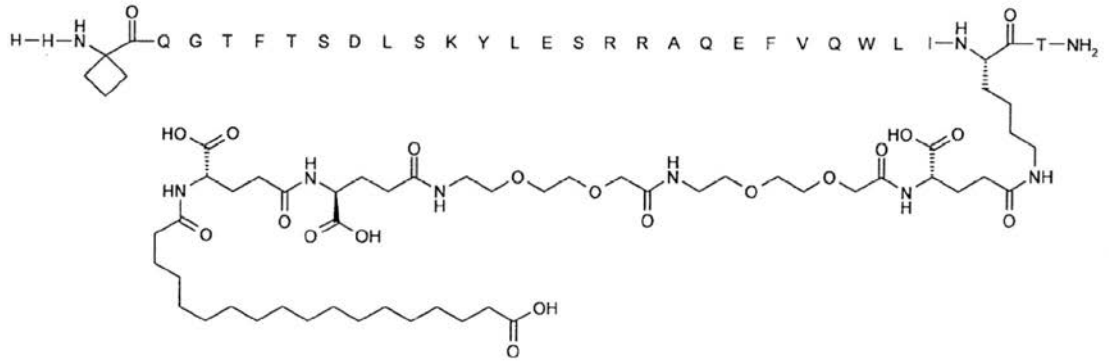
【０１９７】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[(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]-[Acb2,Leu10,Glu15,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

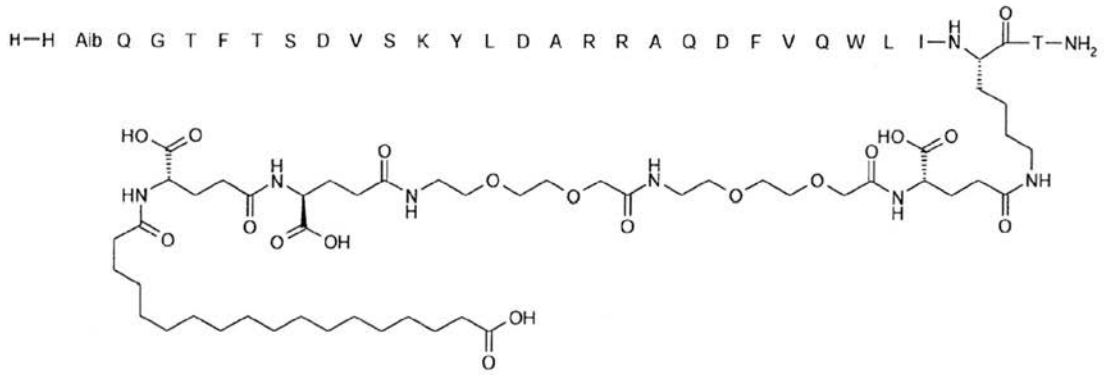
化学式38:

【０１９８】

【化４０】

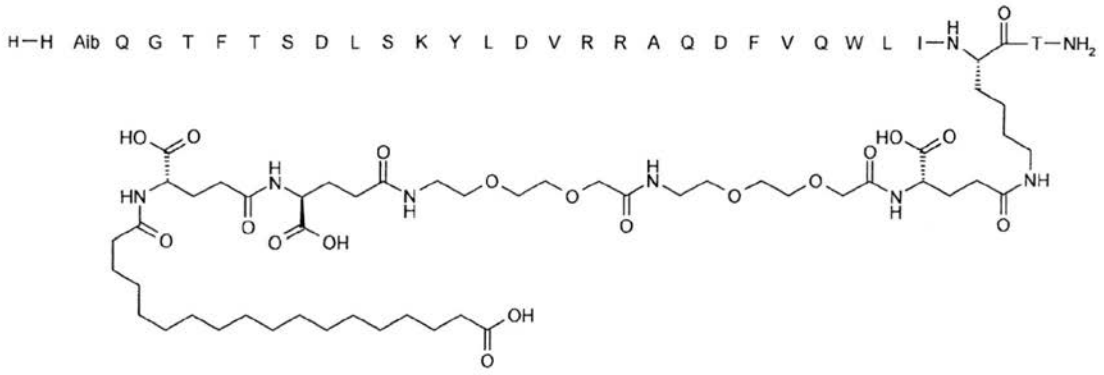


【０１９９】
である。
【０２００】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Val10,Ala16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式39:
【０２０１】
【化４１】



【０２０２】
である。
【０２０３】
一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は$N^{\varepsilon 28}$-[(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,Leu10,Val16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式40:
【０２０４】

【化４２】



【０２０５】
である。
【０２０６】
グルカゴンペプチドの誘導体の調製
本発明の誘導体を、下記で説明する方法により調製することができる。
【０２０７】
SPPSの一般的方法
使用するFmoc保護アミノ酸誘導体は、例えばAnaspec社、Bachem社、Iris Biotech社、又はNovabioChem社から供給される標準推奨: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であることができる。Impを組み込むために3-(N-1-トリチル-イミダゾール-4-イル)-プロピオン酸を使用する。
【０２０８】
SPPSを、Protein Technologies社(Tucson、AZ 85714 U.S.A.)のPrelude Solid Phase Peptide Synthesizerで、Fmocベースの化学を使用して実施することができる。C末端カルボン酸の調製に適した樹脂は、アミノ酸がプレ充填されたWang樹脂{例えばFmoc-Thr(tBu)-Wang樹脂(低充填、0.35mmol/g)}である。置換基がC末端リシンに付着している場合では、適切な樹脂はプレ充填fmoc-Lys(Mtt)-Wangである。C末端ペプチドアミドの調製に適した樹脂は、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社、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、予め活性化させることなく、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実施する。この樹脂にアミノ酸/HOAt溶液又はアミノ酸/Oxyma Pure溶液(3～10倍のモル過剰でNMP中に0.3M/0.3M)を添加し、続いて同じモル当量のDIC(NMP中に3M)を添加し、続いてコリジン(NMP中に3M)を添加する。例えば、下記の量の0.3Mアミノ酸/HOAt溶液を、下記のスケール反応用のカップリング毎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。この樹脂をHFIP/DCM(75:25)(2回×2分)で洗浄し、DCMで洗浄し、この樹脂をHFIP/DCM(75:25)(2回×20分)に懸濁させてMtt基を除去することができ、その後、洗浄後に置換基をリシン部分のイプシロン位に導入することできる。
【０２０９】
置換基の付着
上に記載した標準的なアミノ酸、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て、上に記載したPreludeペプチド合成機により段階的手順で置換基を導入することができる。オクタデカン二酸モノ-tert-ブチル-エステルが挙げられるがこれに限定されない構成単位を使用して、脂肪酸部分の導入を達成することができる。各カップリング工程後、無水酢酸及びコリジンを過剰(>10当量)に

使用して、未反応のペプチド中間体をキャップすることができる。

【０２１０】

各カップリング工程後、無水酢酸及びコリジンを過剰(>10当量)に使用して、未反応のペプチド中間体をキャップすることができる。

【０２１１】

リシンのイプシロン-窒素上での置換基の導入を、Mttで保護したリシン{Fmoc-Lys(Mtt)-OH}を使用して達成する。或いは、リシンのイプシロン-窒素をivDde基で保護することができる可能性がある{Fmoc-Lys(ivDde)-OH}。置換基へのガンマ-Glu部分の組み込みを、アミノ酸Fmoc-Glu-OtBuとのカップリングにより達成することができる。

【０２１２】

長期にわたるカップリング時間(1回×6時間)を使用し、続いて無水酢酸で或いは酢酸/DIC/HOAt/コリジンでキャップすることにより、置換基への各部分の導入を達成することができる。NMP中の無水酢酸(10当量)及びコリジン(20当量)を使用して、置換基上の末端窒素のアセチル化を達成する。

【０２１３】

樹脂からの切断

合成後、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る。沈殿物をジエチルエーテルで洗浄する。

【０２１４】

精製及び定量化

粗ペプチドを水/MeCN(4:1)等の水及びMeCNの適切な混合物に溶解させ、C18-シリカゲルが入ったカラムによる逆相分取HPLC(Waters社のDeltaprep 4000又はGilson社)で精製する。0.1%TFAを含む水中でのMeCNの上昇勾配で溶出を実施する。関連する画分を分析HPLC又は分析UPLCでチェックする。純粋な標的ペプチドを含む画分を混合し、減圧下で濃縮する。得られる溶液を分析し(HPLC、LCMS)、化学発光窒素特異的(chemiluminescent nitrogen specific)HPLC検出器(Antek社の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り、生成物(即ち本誘導体)を定量化する。この生成物をガラスバイアルに分注する。これらのバイアルに、Millipore社のガラス繊維プレフィルタでキャップする。凍結乾燥により、ペプチドトリフルオロ酢酸塩を白色固体として得る。

【０２１５】

中間生成物

一部の実施形態では、本発明は、ヒトグルカゴン(配列番号1)と比較して下記の改変を含むグルカゴン類似体の形態の中間生成物又はこれらの薬学的に許容される塩に関する:

[Aib2,Ala16,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Ala16,Lys17,Arg20,Glu21,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Ala16,Arg20,Glu21,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Glu15,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Val10,Glu15,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Glu15,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu16,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;

[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Val10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Ile10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Ala16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Glu15,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Glu15,Ala24,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Arg12,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Arg12,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Glu15,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Val10,Ala16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;及び
[Aib2,Leu10,Val16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド。

【０２１６】

一部の実施形態では、本発明は中間生成物又はこれらの薬学的に許容される塩に関し、この中間生成物において、グルカゴン類似体はグルカゴン(配列番号1)の下記の類似体から選択される:

[Aib2,Ala16,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Ala16,Lys17,Arg20,Glu21,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Ala16,Arg20,Glu21,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Glu15,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Val10,Glu15,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Glu15,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu16,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Val10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;

[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Ile10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Ala16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Glu15,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Glu15,Ala24,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Arg12,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Arg12,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Glu15,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Val10,Ala16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;及び
[Aib2,Leu10,Val16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド。

【０２１７】

本発明のグルカゴン誘導体は、(i)中間グルカゴンペプチドの調製、続いて(ii)置換基の付着を含む段階的合成方法により調製することができる。この方法の工程(i)を、保護アミノ酸を使用して実験の章に記載されているような標準的な固相合成を使用して達成することができ、樹脂からの切断後、グルカゴンペプチドを本明細書の実験の章に記載されているような分取HPLCを使用して精製にかけて中間生成物を得ることができる。或いは、この方法の工程(i)、中間生成物の調製を、WO2009/083549に記載されている半組み換え合成を使用して実行することができる。この方法の工程(ii)、即ち最終生成物を生じる中間生成物への置換基の付着、及び置換基自体の調製を、WO2009/083549に記載されている方法を使用して達成することができる。

【０２１８】

薬学的に許容される塩、アミド又はエステル

本発明の誘導体又は中間生成物は、薬学的に許容される塩、アミド又はエステルの形態であることができる。塩は、例えば塩基と酸との間の化学反応{例えば$2NH_3+H_2SO_4 \rightarrow (NH_4)_2SO_4$}により形成される。塩は、塩基性塩、酸性塩であることができる、又は塩はいずれでなくもよい(即ち塩は中性塩であることができる)。水中では、塩基性塩は水酸化物イオンを生成し、酸性塩はヒドロニウムイオンを生成する。

【０２１９】

本発明の誘導体又は中間生成物の塩は、アニオン基又はカチオン基それぞれの間で、添加されるカチオン又はアニオンにより形成され得る。これらの基は、本発明の誘導体又は中間生成物のペプチド部分中に及び/又は側鎖(例えば置換基)中に位置することができる。

【０２２０】

本発明の誘導体又は中間生成物のアニオン基の非限定的な例として、側鎖(例えば置換基)中の及び存在する場合にはペプチド部分中の遊離カルボン酸基が挙げられる。ペプチド部分は、Asp及びGlu等の内部酸性アミノ酸残基で遊離カルボン酸基を含むことが多い。

【０２２１】

ペプチド部分中のカチオン基の非限定的な例として、N末端の遊離アミノ基、並びに存在する場合には内部塩基性アミノ酸残基(例えばHis、Arg及びLys)の任意の遊離アミノ基が挙げられる。

【０２２２】

本発明の誘導体又は中間生成物のエステルは、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り形成され得、この反応により、アルコキシ基又はアリールオキシ基によって少なくとも1個の水酸基が置き換えられる。エステル形成には、ペプチド

のC末端の遊離カルボン酸基及び/又は側鎖(例えば置換基)中の任意の遊離カルボン酸基が関与することができる。

【０２２３】

本発明の類似体及び誘導体のアミドは、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り形成され得る、又は遊離アミノ基若しくは置換アミノ基とカルボン酸との反応により形成され得る。

【０２２４】

アミド形成には、ペプチドのC末端の遊離カルボン酸基、側鎖(例えば置換基)中の任意の遊離カルボン酸基、ペプチドのN末端の遊離カルボン酸基、並びに/又はペプチド中の及び/若しくは側鎖(例えば置換基)中のペプチドの任意の遊離アミノ基若しくは置換アミノ基が関与することができる。

【０２２５】

本文脈では、用語「薬学的に許容される塩」は、患者に対して有害ではない塩を示すように意図されている。そのような塩として、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挙げられる。酸付加塩として、無機酸の塩及び有機酸の塩が挙げられる。

【０２２６】

一部の実施形態では、ペプチドは薬学的に許容される塩の形態である。一部の実施形態では、ペプチドは薬学的に許容されるアミドの形態であり、好ましくは、ペプチドC末端で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。一部の実施形態では、ペプチドは薬学的に許容されるエステルの形態である。

【０２２７】

機能特性

本発明のグルカゴン誘導体は、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。換言すると、本発明のグルカゴン誘導体は、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の両方であり、本明細書において「GLP-1/グルカゴン受容体コアゴニスト」とも称される。一部の実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体は、GLP-1及びグルカゴンの両方の受容体に対する効力が反映されているような、GLP-1及びグルカゴンの受容体アゴニストである。

【０２２８】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、グルカゴン受容体よりもGLP-1受容体に対して低いEC_{50}値を有する。

【０２２９】

更に、又は或いは、一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、例えばヒトグルカゴン(配列番号1)と比較してグルカゴン受容体に対する良好な受容体結合及び効力を有する。

【０２３０】

更に、又は或いは、一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、例えばヒトGLP-1(配列番号1)と比較してGLP-1受容体に対する良好な受容体結合及び効力を有する。

【０２３１】

更に、又は或いは、一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は薬物動態特性が改善されている。

【０２３２】

更に、又は或いは、一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、例えばヒトグルカゴン(配列番号1)と比較して遅延性の誘導体である。

【０２３３】

更に、又は或いは、一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は化学的に安定であり、例えばヒトグルカゴン(配列番号1)と比較して化学的安定性が改善されている。

【０２３４】

更に、又は或いは、一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は物理的に安定であり、

例えばヒトグルカゴン(配列番号1)と比較して物理的安定性が改善されている。

【０２３５】

更に、又は或いは、一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、例えばヒトグルカゴン(配列番号1)と比較して高溶解性である。

【０２３６】

受容体結合及び効力

本発明の誘導体はGLP-1/グルカゴン受容体コアゴニストであり、即ちGLP-1受容体アゴニスト及びグルカゴン受容体アゴニストの両方である。

【０２３７】

受容体アゴニストを、受容体に結合して天然リガンドの典型的な応答を誘発するペプチド(例えばグルカゴン誘導体)と定義することができる。そのため、例えば「GLP-1受容体アゴニスト」を、ヒトGLP-1受容体に結合することができ、このヒトGLP-1受容体を完全に又は部分的に活性化させることができる化合物と定義することができる。同様に、用語「グルカゴン受容体アゴニスト」は、本明細書で使用する場合、グルカゴン受容体に結合することができ、このグルカゴン受容体を完全に又は部分的に活性化させることができる化合物と定義され得る。天然リガンドの典型的な応答は、アデニル酸シクラーゼの活性化及び細胞内cAMPのレベルの増加等の細胞内シグナル伝達経路の活性化であることができ、当分野で既知であるような生理学的効果を媒介する。例えば、用語「GLP-1受容体活性」は、GLP-1受容体に結合して、インスリン分泌作用又は当分野で既知であるようなその他の生理学的効果を生じるシグナル伝達経路を開始させる能力を意味する。

【０２３８】

本発明の誘導体又は類似体を、本明細書に記載したアッセイ(I)(a)若しくはアッセイ(II)(a)を使用してGLP-1受容体活性に関して試験することができる、又は本明細書に記載したアッセイ(I)(b)若しくはアッセイ(II)(b)を使用してグルカゴン受容体活性に関して試験することができる。一部の実施形態では、用語「受容体活性」は、本明細書で使用する場合、受容体アゴニストの効果を意味する。

【０２３９】

一部の実施形態では、用語「グルカゴン受容体」は、本明細書で使用する場合、ヒトグルカゴン受容体を意味する。一部の実施形態では、用語「GLP-1受容体」は、本明細書で使用する場合、ヒトGLP-1受容体を意味する。

【０２４０】

生理学的活性-in vitroでの親和性及び効力

一部の実施形態では、用語「親和性」又は「受容体結合」は、本明細書で使用する場合、in vitroでの結合親和性を意味しており、即ち、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での性能を意味しており、更には特に、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意味する。ヒトGLP-1受容体の結合親和性を結合アッセイで測定することができ、例えばヒトGLP-1受容体を発現する安定的にトランスフェクトされたBHK細胞系で測定することができる。放射性標識された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を、細胞膜に結合するシンチレーション近接アッセイ(SPA)ビーズを添加することにより測定し、放射能がビーズに近接する場合には、測定する光が生成され、この光はin vitroでの結合親和性の尺度である。結合親和性を測定するためのアッセイの1つの非限定的な例を本明細書のアッセイ(II)に記載する。ヒトグルカゴン受容体の結合親和性を結合親和性アッセイで測定することができ、例えば、ヒトグルカゴン受容体を発現する安定的にトランスフェクトされたBHK細胞系で測定することができる。放射性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を、細胞膜に結合するシンチレーション近接アッセイ(SPA)ビーズを添加することにより測定し、放射能がビーズに近接する場合には、測定する光が生成され、この光はin vitroでの結合親和性の尺度である。

【０２４１】

用語50%阻害濃度(IC_{50})は一般に、用量応答曲線を参照して、基線と最大と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%を置き換える競合化合物の濃度を意味する。IC_{50}は化合物の結合親和性の尺度として使用され、この化合物の最大結合の50%が観測される濃度を表す。

【０２４２】

本発明のグルカゴン誘導体のin vitroでの結合を上に記載したように測定することができ、問題となるペプチドのIC_{50}を測定することができる。IC_{50}値が低いほど、結合親和性は良好である。

【０２４３】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、100nM以下、より好ましくは10nM未満、更により好ましくは5nM未満、最も好ましくは1nM未満のIC_{50}に対応する、GLP-1受容体に対するin vitroでの結合親和性{本明細書のアッセイ(II)(a)に記載した方法を使用して測定する}を有する。

【０２４４】

本グルカゴン誘導体は、100nM以下、又は50nM未満、又は10nM未満のIC_{50}に対応する、グルカゴン受容体に対するin vitroでの結合親和性{本明細書のアッセイ(II)(b)に記載した方法を使用して測定する}を有することができる。

【０２４５】

一部の実施形態では、効力及び/又は活性はin vitroでの効力を意味しており、即ち、機能性GLP-1受容体アッセイ及び機能性グルカゴン受容体アッセイでの性能を意味しており、更には特に、ヒトGLP-1受容体及びヒトグルカゴン受容体を活性化させる能力を意味する。ヒトGLP-1受容体の応答をレポーター遺伝子アッセイで測定することができ、例えば、ヒトGLP-1受容体を発現し、プロモーターに連結されたcAMP応答要素(CRE)に関するDNA及びホタルルシフェラーゼ(CREルシフェラーゼ)に関する遺伝子を含む安定的にトランスフェクトされたBHK細胞系で測定することができる。GLP-1受容体の活性化の結果としてcAMPが産生されると、次いでルシフェラーゼが発現される。ルシフェラーゼの発現を、酵素によりオキシルリフェリンに変換されて生物発光を生じるルシフェリンを添加することにより測定することができ、この生物発光を測定し、この生物発光はin vitroでの効力の尺度である。受容体効力の測定用のアッセイの1つの非限定的な例を本明細書のアッセイ(I)に記載する。ヒトグルカゴン受容体の応答をレポーター遺伝子アッセイで測定することができ、例えば、ヒトグルカゴン受容体を発現し、プロモーターに連結されたcAMP応答要素(CRE)に関するDNA及びホタルルシフェラーゼ(CREルシフェラーゼ)に関する遺伝子を含む安定的にトランスフェクトされたBHK細胞系で測定することができる。グルカゴン受容体の活性化の結果としてcAMPが産生されると、次いでルシフェラーゼが発現される。ルシフェラーゼの発現を、酵素によりオキシルリフェリンに変換されて生物発光を生じるルシフェリンを添加することにより測定することができ、この生物発光を測定し、この生物発光はin vitroでの効力の尺度である。

【０２４６】

用語50%効果濃度(EC_{50})は一般に、用量応答曲線を参照して、基線と最大との応答中間を誘発する濃度を意味する。EC_{50}は化合物の効力の尺度として使用され、この化合物の最大効果の50%が観測される濃度を表す。

【０２４７】

本発明のグルカゴン誘導体のin vitroでの効力を上に記載したように測定することができ、問題のペプチドのEC_{50}を測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。

【０２４８】

GLP-1/グルカゴン受容体コアゴニスト

GLP-1/グルカゴン受容体コアゴニストを、GLP-1受容体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。本発明の誘導体は、GLP-1受容体に対して1nM未満のEC_{50}を有し、グルカゴン受容体に対して10nM未満のEC_{50}を有する

。一部の実施形態では、本発明の誘導体は、GLP-1受容体に対して100pM未満のEC_{50}を有し、グルカゴン受容体に対して100pM未満のEC_{50}を有する、又はGLP-1受容体に対して50pM未満のEC_{50}を有し、グルカゴン受容体に対して100pM未満のEC_{50}を有する、又はGLP-1受容体に対して10pM未満のEC_{50}を有し、グルカゴン受容体に対して50pM未満のEC_{50}を有する。EC_{50}を、本明細書のアッセイ(I)に記載したように測定することができる。

【０２４９】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、グルカゴン受容体よりもGLP-1受容体に対して低いEC_{50}値を有する。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、このグルカゴン誘導体のグルカゴン受容体に対するEC_{50}とGLP-1受容体に対するEC_{50}との比が100から250の範囲であり、例えば50から100の範囲であり、20から50の範囲であり、10から20の範囲であり、又は1から10の範囲である。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、このグルカゴン誘導体のグルカゴン受容体に対するEC_{50}値とGLP-1受容体に対するEC_{50}との比が50から100の範囲である。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、このグルカゴン誘導体のグルカゴン受容体に対するEC_{50}値とGLP-1受容体に対するEC_{50}との比が20から50の範囲である。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、このグルカゴン誘導体のグルカゴン受容体に対するEC_{50}値とGLP-1受容体に対するEC_{50}との比が10から20の範囲である。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、このグルカゴン誘導体のグルカゴン受容体に対するEC_{50}値とGLP-1受容体に対するEC_{50}との比が1から10の範囲である。一部の実施形態では、GLP-1受容体に対するEC_{50}を、本明細書に記載したアッセイ(I)(a)に従って測定する。一部の実施形態では、グルカゴン受容体に対するEC_{50}を、本明細書に記載したアッセイ(I)(b)に従って測定する。

【０２５０】

本グルカゴン誘導体は、10nM未満又は1nM未満又は100pM未満又は10pM未満の、グルカゴン受容体に対する効力(EC_{50})を有することができる。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、グルカゴン受容体に対する10nM未満のEC_{50}を有する。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、グルカゴン受容体に対する1nM未満のEC_{50}を有する。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、グルカゴン受容体に対する100pM未満のEC_{50}を有する。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、グルカゴン受容体に対する10pM未満のEC_{50}を有する。

【０２５１】

本発明のグルカゴン誘導体は、1nM未満又は100pM未満又は50pM未満又は10pM未満の、GLP-1受容体に対するEC_{50}を有することができる。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、GLP-1受容体に対する100pM未満のEC_{50}を有する。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、GLP-1受容体に対する50pM未満のEC_{50}を有する。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、GLP-1受容体に対する10pM未満のEC_{50}を有する。

【０２５２】

本発明のグルカゴン誘導体のGLP-1受容体に対する効力(即ちEC_{50})を、本明細書に記載したアッセイ(I)(a)に従って測定することができる。本発明のグルカゴン誘導体のグルカゴン受容体に対する効力(即ちEC_{50})を、本明細書に記載したアッセイ(I)(b)に従って測定することができる。

【０２５３】

生物学的活性-in vivoでの薬理学

一部の実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体はin vivoで効力があり、これは、任意の適切な動物モデル及び臨床試験において当分野で既知であるように測定することができる。

【０２５４】

飼料誘発性肥満(DIO)マウスは適切な動物モデルの一例であり、体重、食物摂取及び耐糖性に対する効果を、このモデルでの亜慢性投与中に評価することができる。体重及び血糖への効果を、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。動物を個々に飼育し、1日当たりに消費される食物を秤量することにより、食物摂取を評価すること

ができる。このモデルを使用して、経口耐糖試験又はi.p.耐糖試験(OGTT又はIPGTT)を実施することにより、耐糖に対する効果も評価することができる。これらの試験を、半絶食動物に経口又はi.p.でグルコース負荷を投与し、その後、最大3時間にわたり血糖を測定することにより実施する。

【０２５５】

薬物動態プロファイル

本発明のグルカゴン誘導体は、例えばヒトGLP-1又はヒトグルカゴンと比較して、終末相半減期の増加等の改善された薬物動態特性を有することができる。好ましくは、本発明のグルカゴン誘導体は、1日に1回の投与又はそれ未満に適した薬物動態特性を有する。

【０２５６】

本発明のグルカゴン誘導体の薬物動態特性を、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。そのような研究を行なって、身体中において医薬化合物がどのようにして吸収され、分布し、そして除去されるか、及びこれらのプロセスが時間の経過と共に身体中において化合物の濃度にどのようにして影響を及ぼすかを評価する。

【０２５７】

医薬開発の発見及び前臨床相では、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、このキャラクタリゼーションを実施することができる。これらのモデルのいずれかを使用して、本発明のグルカゴン誘導体の薬物動態特性を試験することができる。

【０２５８】

そのような研究では、典型的には、単回用量の薬物を、関連する製剤で静脈内(i.v.)、皮下(s.c.)又は経口(p.o.)のいずれかにて動物に投与する。投与後の所定の時点で血液サンプルを採取し、サンプルを、関連する定量アッセイにより薬物の濃度に関して分析する。この測定に基づいて、研究化合物に関する時間-血漿中濃度プロファイルをプロットし、いわゆるデータの非コンパートメント薬物動態分析(non-compartmental pharmacokinetic analysis)を実施する。

【０２５９】

ほとんどの化合物の場合、最初の吸収及び分布後に薬物が一定のわずかな割合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部分は、片対数プロット中に描いた場合に直線状になるだろう。この割合(ラムダZ又はλ_z)は、プロットの終末部分のマイナス傾斜に等しい。この割合から、$t1/2=\ln(2)/\lambda_z$として終末相半減期を計算することもできる{例えばJohan Gabrielsson及びDaniel Weiner: Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Data Analysis. Concepts & Applications、第3版、Swedish Pharmaceutical Press、Stockholm(2000)を参照されたい}。

【０２６０】

i.v.投与後にクリアランスを決定することができ、このクリアランスを、血漿中濃度対時間プロファイルでの曲線下面積(AUC)で除算した用量(D)と定義する(Rowland, M及びTozer TN: Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications、第3版、1995 Williams Wilkins)。

【０２６１】

終末相半減期及び/又はクリアランスの推定は投与レジメンの評価に関連しており、薬物開発において及び新規薬物化合物の評価において重要なパラメーターである。

【０２６２】

薬物動態プロファイル-ラットにおけるin vivoでの半減期

本グルカゴン誘導体の薬物動態特性を、i.v.投与後の及びs.c.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。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体の終末相半減期は少なくとも1時間であり、好ましくは少なくとも3時間であり、好ましくは少なくとも4時間であり、更により好ましくは少なくとも5時間であり、又は最も好ましくは少なくとも6時間である。

【０２６３】

薬物動態プロファイル-マウスにおけるin vivoでの半減期

本発明のグルカゴン誘導体は、ヒトGLP-1又は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することができる。好ましくは、本発明のグルカゴン誘導体は、1日に1回の投与又はそれ未満に適した薬物動態特性を有する。

【０２６４】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体の薬物動態特性を、i.v.投与後の及びs.c.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。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体の終末相半減期は少なくとも1時間であり、好ましくは少なくとも3時間であり、好ましくは少なくとも4時間であり、更により好ましくは少なくとも5時間であり、又は最も好ましくは少なくとも6時間である。s.c.投与後のマウスにおける本グルカゴン誘導体の終末相半減期を測定するのに適したアッセイを本明細書のアッセイ(IV)に記載する。

【０２６５】

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

本発明のグルカゴン誘導体はhGLP-1と比較して改善され、好ましくは1日に1回又は1週に1回の投与に適する薬物動態特性を有することができる。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体の薬物動態特性を、例えば下に記載するように、i.v.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。

【０２６６】

一部の実施形態では、ミニブタにおける本グルカゴン誘導体の終末相半減期は少なくとも5時間であり、好ましくは少なくとも10時間であり、更により好ましくは少なくとも15時間であり、又は最も好ましくは少なくとも20時間である。

【０２６７】

この研究の目的は、ミニブタへのi.v.投与後の本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。このことを、その他のパラメーターの中で、問題の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)研究で行なう。終末相半減期の増加及びクリアランスの低減は、研究化合物が身体から緩やかに除去されることを意味する。グルカゴン誘導体の場合、これは薬理学的効果の持続期間の延長を伴う。

【０２６８】

約7～14カ月齢で約16～35kgの体重の雌のGottingenミニブタをEllegaard Gottingen Minipigs社{デンマーク、ダルモーセ(Dalmose)}から得て、この研究で使用する。このミニブタを個々に(持続性カテーテルを有するブタ)又は群で飼育し、SDSミニブタ飼料(Special Diets Services社、Essex、UK)を限定的に1日に1回又は2回で給餌する。

【０２６９】

いくつかの研究では、2本の持続性中心静脈カテーテルを、少なくとも2週の順応の後に、各動物の尾又は頭蓋の大静脈に埋め込む。この動物を手術から1週にわたり回復させ、次いで、連続するグルカゴン誘導体投与の間に適切な洗い出し期間を有する反復薬物動態研究に使用する。その他の研究では、この動物を1週にわたり順応させ、その後、この動物を、連続するグルカゴン誘導体投与の間に適切な洗い出し期間を有する反復薬物動態研究に使用する。各投与のときに、このブタの1つの耳静脈中にベンフロン(venflon)を装着し、このベンフロンを介して誘導体を投与した。血液サンプリングを、頸静脈又は頭蓋の大静脈中の静脈穿刺により実施する。

【０２７０】

この動物を、投与前約18時間及び投与後0から4時間にわたり絶食させない、又は絶食させるが、期間全体にわたり水を自由に利用させる。

【０２７１】

通常、グルカゴン誘導体を、50mMリン酸ナトリウム、145mM塩化ナトリウム、0.05%tween80、pH7.4に通常は20～60nmol/mlの濃度まで溶解させる。化合物の静脈内注射(通常は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日まで所定の時点で(好ましくは、その他のカテーテルを介して又は静

脈穿刺により)血液をサンプリングする。血液サンプル(例えば0.8ml)を、EDTA緩衝液(8mM)(時には、血液1ml当たりアプロチニン500KIUを添加した)が入った管に採取し、次いで、10分にわたり4℃及び1942Gで遠心分離する。血漿をドライアイス上のMicronic管中にピペットで移し、ELISA又はLC-MSのような適切な定量アッセイを使用して各グルカゴン誘導体の血漿中濃度に関して分析するまで-20℃で保持する。

【０２７２】

この測定に基づいて、研究化合物に関する時間-血漿中濃度プロファイルをプロットし、WinNonlin v.5.0若しくはPhoenix v.6.2(Pharsight Inc.社、Mountain View、CA、USA)又はPK分析用のその他の関連するソフトウェアで、いわゆるデータの非コンパートメント薬物動態分析を実施する。ほとんどの化合物の場合、最初の分布後に薬物が一定のわずかな割合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部分は、片対数プロット中に描いた場合に直線状になるだろう。この割合(ラムダZ又はλ_z)は、プロットの終末部分のマイナス傾斜に等しい。この割合から、$t1/2=\ln(2)/\lambda_z$として終末相半減期を計算することもできる{例えばJohan Gabrielsson及びDaniel Weiner: Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Data Analysis. Concepts & Applications、第3版、Swedish Pharmaceutical Press、Stockholm(2000)を参照されたい}。クリアランスを、血漿中濃度対時間プロファイルでの曲線下面積(AUC)で除算した用量(D)と定義する(Rowland, M及びTozer TN: Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications、第3版、1995 Williams Wilkins)。

【０２７３】

物理的安定性

ペプチドは物理的状態の様々な変化を受ける場合がある。ペプチドは、ある種の一連の条件では溶解性の欠如に起因して沈殿する場合があり、例えばpHの変化に起因してアミノ酸側鎖上で反発する電荷の中和に起因して沈殿する場合がある。別の物理的変化はアミロイド原線維の形成であり、これは、ベータ-シートに富む高分子原線維構造への構造変化を伴う。凝集に起因するあまり組織的ではない構造的繰り返しにより、その他の高分子構造が形成され得る。後者の2つの場合、ペプチド物質は最終的に沈殿物として観測され得る。実際には、これらの物理的変化は、ある程度相互に関係があり得、例えば溶解性対pH及び原線維形成は関連している[Schmittschmitt及びScholtz、Protein Science、12、10、2374～2378頁、2003]。更に、目視検査のみでこれらの現象を区別することは非常に困難であり、従って、これらの変化の結果は、一般用語「沈殿物」で記載されることが多い。

【０２７４】

物理的状態のその他の変化として、溶液からのペプチドの含有量の低下として観測される表面への吸着、及び液体溶液からゲルへの変化が挙げられる。それにもかかわらず、沈殿物の観測は、その性質又はゲルの形成に関係なく、この沈殿物の貯蔵及び使用期間中に注射可能な薬剤の場合に問題である。

【０２７５】

グルカゴンは、中性pHでは非常に低い水溶性を有しており、このことにより、中性pHでの医薬組成物は不可能である。酸性pHで溶解させた場合であっても、グルカゴンは濃度及び温度に依存して様々な相転移を受ける場合があり、そのため、物理的には非常に不安定である。グルカゴンの試料を塩酸に溶解させた後、試料の粘度が低く、溶液が十分に透明であるラグ相が生じ得る。数時間後、粘度が上昇し始め、このことはゲル形成を示す(Beaven他、European J. Biochem. 11 (1969) 37～42頁)。プラトーに達した後、粘度が再び低下し始め、同時に原線維が現れて溶液から沈殿し得る。このプロセスに播種することができ、少量の予め形成したゲルを付加することによりラグ相が減少する。ゲルの形成及び原線維形成は、加熱及び振盪(両方とも、このプロセスの速度を上げる)等の物理的ストレスに非常に依存する。

【０２７６】

誘導体又は組成物の用語「物理的安定性」は、本明細書で使用する場合、ペプチド及び

/若しくはタンパク質(即ち、本明細書におけるグルカゴン誘導体)の熱-機械的ストレスへの曝露並びに/又は疎水性の表面及び界面等の不安定な表面及び界面との相互作用の結果として、このペプチド及び/又はタンパク質の生物学的に不活性な及び/又は不溶性の凝集体を形成するペプチド及び/又はタンパク質の傾向を意味する。適切な容器(例えばカートリッジ又はバイアル)に充填された水性のペプチド組成物及び/又はタンパク質組成物を、様々な期間にわたり様々な温度で機械的/物理的ストレス(例えば撹拌)に曝露した後、目視検査及び/又は濁度測定により、このペプチド組成物及び/又はタンパク質組成物の物理的安定性を評価する。この組成物の目視検査を、暗い背景により鋭く収束させた光中で実施する。この組成物の濁度を、例えば0から3のスケールで濁度の程度をランク付ける目視スコアにより特徴付ける(濁度を示さない組成物は目視スコア0に対応し、日光下で目視できる濁度を示す組成物は目視スコア3に対応する)。組成物が日光下で目視できる濁度を示す場合、この組成物を、タンパク質凝集に関して物理的に不安定と分類することができる。或いは、当業者に公知の単純な濁度測定により、この組成物の濁度を評価することができる。水性のペプチド組成物及び/又はタンパク質組成物の物理的安定性を、ペプチド及び/又はタンパク質の立体配座状態の分光剤(spectroscopic agent)又はプローブを使用することにより評価することもできる。このプローブは好ましくは、ペプチド及び/又はタンパク質の非天然配座異性体に優先的に結合する小分子である。ペプチド構造及び/又はタンパク質構造の小分子分光プローブの一例はチオフラビンTである。チオフラビンTは、アミロイド原線維を検出するために広く使用されている蛍光色素である。原線維、場合によっては更にその他のペプチド配置及び/又はタンパク質配置の存在下では、チオフラビンTは、原線維ペプチド形態及び/又は原線維タンパク質形態に結合した場合に約450nmで新たな励起極大を生じて約482nmで増強発光を生じる。未結合のチオフラビンTは、これらの波長では本質的に非蛍光である。

【０２７７】

その他の小分子を、天然から非天然状態へのペプチド構造及び/又はタンパク質構造の変化のプローブとして使用することができる。例えば、ペプチド及び/又はタンパク質の露出した疎水性パッチに優先的に結合する「疎水性パッチ」プローブ。この疎水性パッチは一般に、天然状態ではペプチド及び/又はタンパク質の三次構造内に埋もれているが、ペプチド及び/又はタンパク質がほどけ始めると又は変性し始めると露出するようになる。これら小分子、分光プローブの例は、例えばアントラセン、アクリジン、フェナントロリン等の芳香族の疎水性色素である。

【０２７８】

本誘導体の物理的安定性を、本明細書に記載したアッセイ(III)(即ちThT原線維形成アッセイ)での回収率及び/又はラグタイムにより測定することができる。一部の実施形態では、物理的に安定な誘導体は、本明細書に記載したアッセイ(III)において70%超の回収率及び/又は7時間超のラグタイムを有する。

【０２７９】

一部の実施形態では、本誘導体は、本明細書に記載したアッセイ(III)等のThT原線維形成アッセイにおいて70%超の回収率を有する。一部の実施形態では、本誘導体は、本明細書に記載したアッセイ(III)等のThT原線維形成アッセイにおいて95%超又は98%超等の90%超の回収率を有する。一部の実施形態では、本誘導体は、本明細書に記載したアッセイ(III)等のThT原線維形成アッセイにおいて約100%の回収率を有する。

【０２８０】

一部の実施形態では、本誘導体は、本明細書に記載したアッセイ(III)等のThT原線維形成アッセイにおいて20時間超又は45時間超等の7時間超のラグタイムを有する。

【０２８１】

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、ThT原線維形成アッセイにおいて70%超の回収率を有する。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、ThT原線維形成アッセイにおいて90%超の回収率を有する。一部の実施形態では、本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。一部の実施形態では、本グルカゴン誘

導体は、ThT原線維形成アッセイにおいて7時間超のラグタイムを有する。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、ThT原線維形成アッセイにおいて20時間超のラグタイムを有する。一部の実施形態では、本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。一部の実施形態では、ThT原線維形成アッセイは、本明細書に記載したアッセイ(III)である。

【０２８２】

化学的安定性

誘導体又は組成物の用語「化学的安定性」は、本明細書で使用する場合、天然ペプチド(例えばヒトグルカゴン)構造と比較して、潜在的な低い生物学的効力及び/又は潜在的な増大した免疫原性特性を有する化学的分解産物の形成をもたらすペプチド構造での化学的共有結合変化を意味する。天然ペプチドの種類及び性質並びにこのペプチドが曝露される環境に応じて、様々な化学的分解産物が形成され得る。化学的分解の排除はおそらく完全に回避され得ず、化学的分解産物の量の増加は、長期にわたる貯蔵の間に見られることが多い。ほとんどのペプチドは、グルタミニル残基中の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プロセスである脱アミドを受けやすい。その他の分解経路は、2個以上のペプチド分子が、共有結合した二量体、オリゴマー及びポリマー分解産物の形成をもたらすアミド基転移及び/又はジスルフィド相互作用を介して互いに共有結合する高分子量変換産物の形成を伴う(Stability of Protein Pharmaceuticals、Ahern. T.J. & Manning M.C.、Plenum Press、New York 1992)。(例えばメチオニン残基の)酸化を、化学的分解の別の変種として述べることができる。アスパラギン又はアスパラギン酸を含むペプチドは、対応するイソアスパラギン酸異性体を生じ、D-異性体及びL-異性体の両方が形成され得る中間体アスパルチミド(aspartimide)の形成により異性化を受けやすい可能性がある。アスパルチミド中間体は、D-アスパラギン酸異性体の形成ももたらし得る。(Formulation Consideration for Proteins Susceptible to Asparagine Deamidation and Aspartate Isomerization、Wakankar及びBorchardt、Journal of Pharmaceutical Sciences、2006、第95巻、第11号、2321頁)。最後に、ペプチドは、ペプチド断片又は単一アミノ酸がペプチド結合の加水分解により切断される加水切断も受ける場合がある。

【０２８３】

様々な環境条件(分解産物の形成は例えば昇温により促進され得ることが多い)への曝露後に様々な時点で化学的分解産物の量を測定することにより、組成物の化学的安定性を評価することができる。様々なクロマトグラフィー技術(例えばSE-HPLC及び/又はRP-UPLC)を使用する、分子のサイズ及び/又は電荷に応じた分解産物の分離により、個々の分解産物の量を測定することが多い。

【０２８４】

そのため、上で概説したように、「安定した組成物」は、物理的安定性が増大している、化学的安定性が増大している、又は物理的安定性と化学的安定性とが増大している組成物を意味する。一般に、組成物は、有効期限が到達するまで(推奨される使用条件及び貯蔵条件に従って)使用中に及び貯蔵中に安定でなければならない。

【０２８５】

本明細書に記載したアッセイ(V)での化学的分解の測定により、本誘導体の化学的安定性を測定することができる。一部の実施形態では、本誘導体は、化学的安定性アッセイにおいて14%未満が分解している。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、化学的安定性アッセイにおいて13%未満が分解している。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、化学的安定性アッセイにおいて12%未満が分解している。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、化学的安定性アッセイにおいて10%未満が分解している。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、化学的安定性アッセイにおいて9%未満が分解している。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、化学的安定性アッセイにおいて7%未満が分解している。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、化学的安定性アッセイにおいて5%未満が分解している。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、化学的安定

性アッセイにおいて3%未満が分解している。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体は、化学的安定性アッセイにおいて2%未満が分解している。一部の実施形態では、化学的に安定な誘導体は、4%未満、3%未満又は2%未満等の5%未満が化学的に分解しており、前記化学的分解を、本明細書に記載したアッセイ(V)により測定することができる。

【０２８６】

溶解性

本文脈では、別途言及しない限り、用語「可溶な、可溶性の」、「溶解性、溶解度」、「水溶液に可溶な」、「水溶性(aqueous solubility)」、「水溶性の(water soluble)」、「水溶性の(water-soluble)」、「水溶性(water solubility)」及び「水溶性(water-solubility)」は、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む水溶液)に対する化合物の溶解性を意味する。下記のアッセイを使用して溶解性を評価することができる。

【０２８７】

pH依存性の溶解性アッセイ

ペプチド及びタンパク質の溶解性は溶液のpHに依存する。多くの場合、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)で又はこの等電点(pI)付近で沈殿する。低pH(即ち、pIよりも低いpH)では、タンパク質及びペプチドは典型的には正電荷を有し、pIよりも高いpHではタンパク質及びペプチドは負電荷を有する。

【０２８８】

治療用ペプチドにとって、所与のpH(安定した薬物製品の製剤化及びこの薬物製品の例えば皮下注射による患者への投与の両方に適している)において治療用ペプチドが十分な濃度で可溶であることが有利である。

【０２８９】

溶解度対pHの曲線を以下に記載するように測定する:製剤又はペプチドの水溶液を調製し、HCl及びNaOHを添加することによりアリコートを所望の範囲のpH値に調整する。この試料を2～4日にわたり室温で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ートを、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。遠心分離後に各試料のpHを測定し、各タンパク質の濃度を、測定したpHに対して描く。

【０２９０】

本発明の化合物は、例えば溶解度が少なくとも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である可溶性グルカゴン/GLP-1受容体コアゴニストであることができる

【０２９１】

DPP-IV安定性

一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体はDPPIV保護化合物である。一部の実施形態では、本グルカゴン誘導体はDPPIV安定化化合物である。

【０２９２】

DPP-IV安定性を、下記のアッセイを使用して測定することができる:10μMのペプチドを、0.005%Tween20を添加したHEPES緩衝液中で37℃にて2回、DPP-IV(2μg/ml)と共にインキュベートする。この実験では、ヒトGLP-1を陽性コントロールとして使用する。3分、15分、30分、60分、120分及び240分で試料のアリコートを採取し、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関してLC-MSにより分析する。データを一次速度式に従ってプロットし、安定性を半減期として報告する。

【０２９３】

組合せ

一部の実施形態では、本発明は、GLP-1化合物等の1種若しくは複数の追加の治療上有効な化合物又はインスリン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。一部の実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体はGLP-1化合物と組み合わされている。一

部の実施形態では、本発明のグルカゴン誘導体はインスリン化合物と組み合わされている。

【０２９４】

本明細書で使用する場合、「GLP-1化合物」は、GLP-1受容体を活性化させることができるが例えばグルカゴン受容体を活性化させることができない化合物である。

【０２９５】

本明細書で使用する場合、「インスリン化合物」は、インスリン受容体を活性化させることができる化合物である。

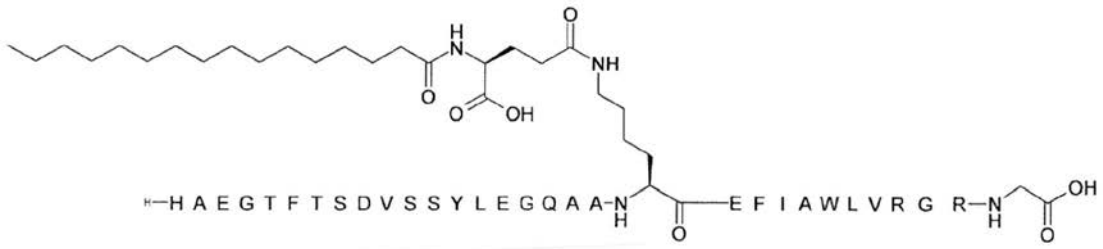
【０２９６】

一部の実施形態では、この組合せのGLP-1化合物は、

N-ε26-((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):

【０２９７】

【化４３】



(化合物 G1)

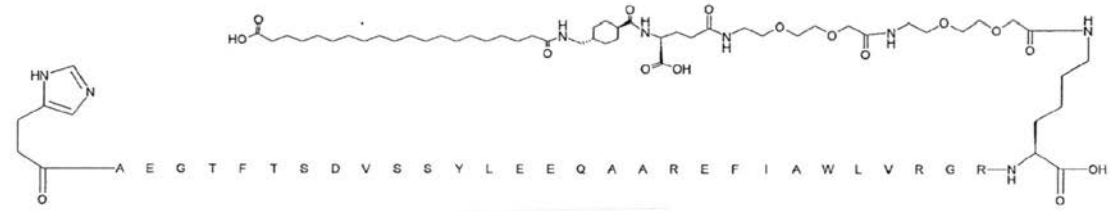
【０２９８】

(化合物G1);

N-ε37-[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][デスアミノHis7,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]GLP-1-(7-37):

【０２９９】

【化４４】



(化合物 G2)

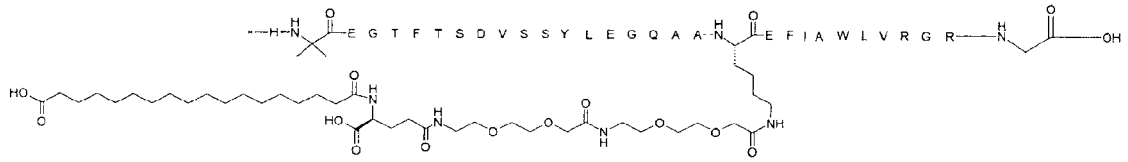
【０３００】

(化合物G2);

N-ε26-[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):

【０３０１】

【化４５】



(化合物 G3)

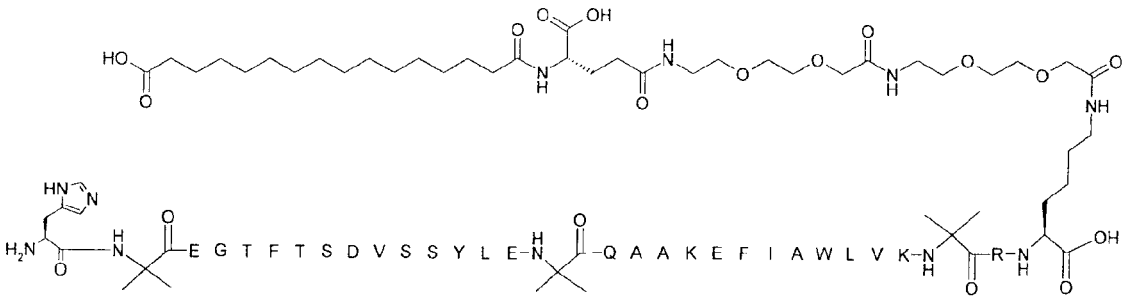
【０３０２】

(化合物G3);

N-ε37-[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):

【０３０３】

【化４６】



(化合物 G4)

【０３０４】

(化合物G4);

及びこれらの薬学的に許容される塩、アミド、アルキル又はエステル

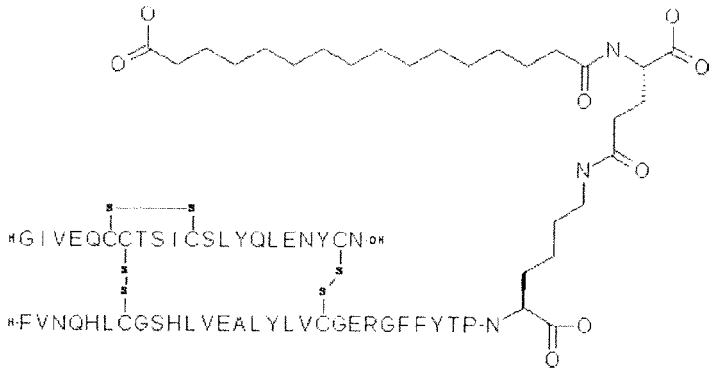
からなる群から選択される。

【０３０５】

一部の実施形態では、この組合せのインスリン化合物は、N-イプシロン-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]desB30ヒトインスリン

【０３０６】

【化４７】



(化合物 G5)

【０３０７】

である。

【０３０８】

医薬組成物

一部の実施形態では、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。一部の実施形態では、本組成物は、SC投与、IM投与又はIV投与等の非経口投与に適している。用語「医薬組成物」は、本明細書で使用する場合、有効な化合物又はこの塩を、緩衝液、防腐剤、並びに任意選択で浸透張力調節剤及び/又は安定剤等の医薬用添加剤と一緒に含む製品を意味する。そのため、医薬組成物は医薬製剤として当分野で既知でもある。用語「医薬組成物」及び「組成物」は本明細書において互換的に使用される。

【０３０９】

本発明の誘導体を含む医薬組成物を、例えばRemington's Pharmaceutical Sciences、1985又はRemington: The Science and Practice of Pharmacy、第19版、1995に記載されているような従来技術により調製することができる。

【０３１０】

一部の実施形態では、本発明は、本発明の誘導体を含む医薬組成物に関し、前記グルカゴン誘導体は、約0.05mg/mLから約5mg/mL及び約0.1mg/mLから約2mg/mL等の約0.01mg/mLから約25mg/mLの濃度で存在し、前記組成物は2.0から10.0のpHを有する。本医薬組成物は本発明の誘導体を含むことができ、前記グルカゴン誘導体は約0.01mg/mLから約50mg/mLの濃度で存在し、前記組成物は2.0から10.0のpHを有する。

【０３１１】

一部の実施形態では、本医薬組成物は本発明の誘導体の水溶液と緩衝液とを含み、前記グルカゴン誘導体は、0.01mg/mL以上の濃度で存在し、前記組成物は約2.0から約10.0のpHを有する。一部の実施形態では、本医薬組成物は本発明の誘導体の水溶液と緩衝液とを含み、前記グルカゴン誘導体は0.01mg/mL以上の濃度で存在し、前記組成物は約6.5から約8.5のpHを有する。

【０３１２】

一部の実施形態では、本発明の組成物は約2.0から約10.0のpHを有する。一部の実施形態では、本組成物は約6.5から約8.5のpHを有する。一部の実施形態では、本組成物は約7.2から約8.2等の約7.0から約8.5のpHを有する。

【０３１３】

本組成物は、緩衝系、防腐剤、等張剤、キレート化剤、安定剤及び界面活性剤を更に含むことができる。一部の実施形態では、本医薬組成物は水性組成物であり、即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。本発明の一部の実施形態では、本医薬組成物は水溶液である。用語「水性組成物」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、用語「水溶液」は、少なくとも50%w/wの水を含む溶液と定義される。一部の実施形態では、本組成物は非水性有機溶媒を含む。

【０３１４】

一部の実施形態では、本医薬組成物は、使用前に例えば医師又は患者により溶媒及び/又は希釈剤が添加される凍結乾燥組成物である。

【０３１５】

一部の実施形態では、本医薬組成物は、事前に溶解させることなく使用可能な乾燥(例えば凍結乾燥又は噴霧乾燥)組成物である。

【０３１６】

一部の実施形態では、本発明は、本発明の誘導体と、GLP-1、インスリン又はこれらの類似体及び/若しくは誘導体等の1種又は複数のその他の有効成分とを含む組成物に関する。一部の実施形態では、本発明は、本発明の誘導体と、GLP-1又はこの類似体及び/若しくは誘導体とを含む組成物に関する。一部の実施形態では、本発明は、本発明の誘導体と、インスリン又はこの類似体及び/若しくは誘導体とを含む組成物に関する。本発明の誘導体と、1種又は複数のその他の有効成分とを含む組成物を「共製剤」と称することもできる。一部の実施形態では、そのような共製剤は、物理的に安定な及び/又は化学的に安定な組成物である。

【０３１７】

本発明の誘導体が中性pHで可溶性であるという事実により、インスリンとの共製剤が可

能であり、より安定な血糖値及び低血糖発作の回数の低減並びに糖尿病関連合併症のリスクの低減が可能である。

【０３１８】

用語「添加剤」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合物(例えば緩衝剤、等張化剤、防腐剤)を意味する。

【０３１９】

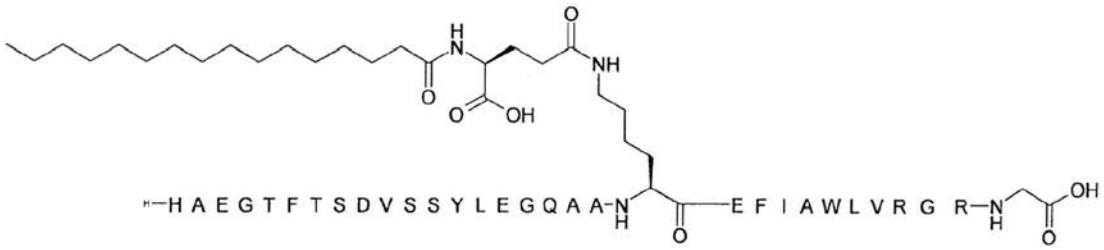
一部の実施形態では、本医薬組成物は、1種又は複数の追加の治療上有効な化合物又は物質を更に含む。一部の実施形態では、追加の治療上有効な化合物はGLP-1化合物又はインスリン化合物である。一部の実施形態では、追加の治療上有効な化合物はGLP-1化合物である。一部の実施形態では、追加の治療上有効な化合物はインスリン化合物である。一部の実施形態では、GLP-1化合物は、

【０３２０】

N-ε26-((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)(化合物G1):

【０３２１】

【化４８】

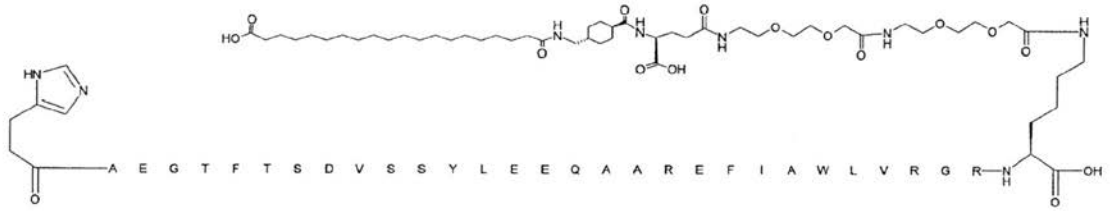


【０３２２】

;N-ε37-[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][デスアミノHis7,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]GLP-1-(7-37)(化合物G2):

【０３２３】

【化４９】

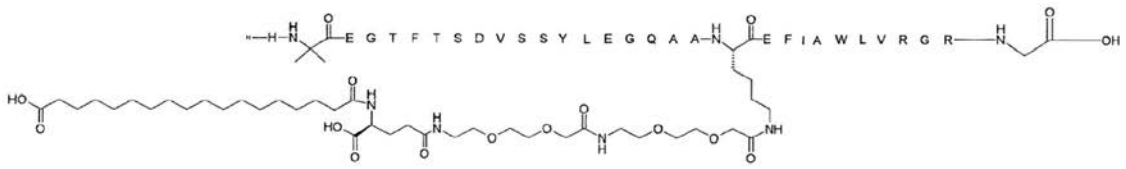


【０３２４】

;N-ε26-[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)(化合物G3):

【０３２５】

【化５０】



【０３２６】

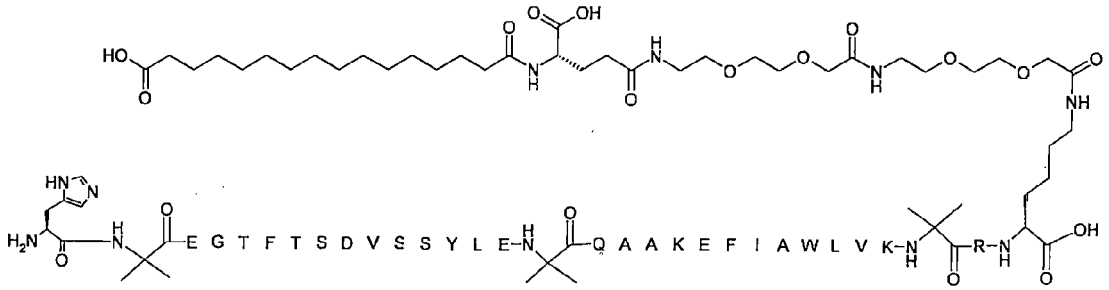
;及び

N-ε37-[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)

(化合物G4):

【０３２７】

【化５１】



【０３２８】

及びこれらの薬学的に許容される塩、アミド、アルキル又はエステル

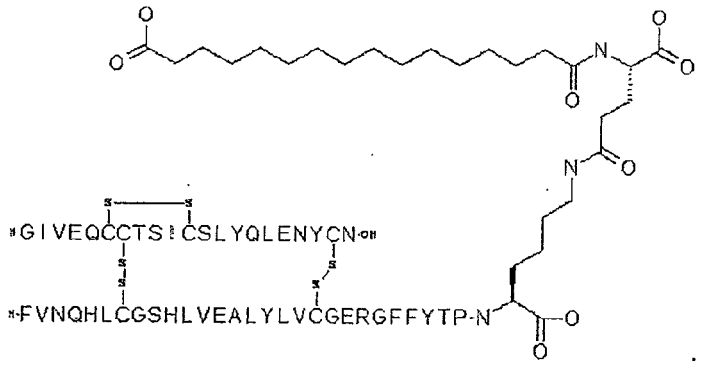
からなる群から選択される。

【０３２９】

一部の実施形態では、インスリン化合物は、N-イプシロン-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]desB30ヒトインスリン(化合物G5):

【０３３０】

【化５２】



【０３３１】

である。

【０３３２】

一部の実施形態では、本医薬組成物は、上記の実施形態のいずれか一つで定義したグルカゴン誘導体を約0.01mgから約1000mg(例えば約0.1mgから約500mg、約0.5mgから約5mg、例えば約0.5mgから約200mg)含む単位剤形である。

【０３３３】

一部の実施形態では、本医薬組成物は非経口投与に適している。

【０３３４】
薬剤投与
本発明の誘導体を患者に非経口投与することができる。本誘導体の投与経路は、筋肉内(IM)、皮下(SC)又は静脈内(IV)であることができる。患者に投与される本発明の誘導体を含む組成物の投与量が医師により選択されることが推奨される。
【０３３５】
シリンジを用い、任意選択でペン様シリンジを用いる皮下注射、筋肉内注射、腹腔内注射又は静脈内注射により、非経口投与を実施することができる。一部の実施形態では、本発明の誘導体を含む組成物を、グルカゴン投与用の既製のペン型デバイスで使用することができる。或いは、注入ポンプを用いて非経口投与を実施することができる。一部の実施形態では、本発明の誘導体を含む組成物をグルカゴン投与用のポンプで使用することができる。非経口投与は経鼻投与であることができる。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を、例えば無針注射による若しくはパッチ{任意選択でイオン導入パッチ(iontophoretic patch)}からの経皮投与又は経粘膜(例えば口腔内)投与に適合させることもできる。
【０３３６】
本発明に係る方法で用いる場合の本発明の誘導体又は組成物の典型的な投与量は、1日当たり約0.0001から約1mg/体重kgの範囲であり、好ましくは約0.001から約1mg/体重kgの範囲であり、より好ましくは約0.005から約0.02mg/体重kgの範囲である。上に記載したように、本発明の誘導体を、1種又は複数の追加の治療上有効な化合物又は物質と組み合わせて投与することができ、又は適用することができ、適切な追加の化合物又は物質を、例えば抗糖尿病薬、抗高脂血症薬、抗肥満薬、降圧薬、及び糖尿病に起因する又は糖尿病に関連する合併症の処置薬から選択することができる。
【０３３７】
適切な抗糖尿病薬として、インスリン、インスリンの誘導体又は類似体、GLP-1(グルカゴン様ペプチド-1)の誘導体又は類似体[例えば、WO98/08871(Novo Nordisk A/S社)に記載されているもの、又はその他のGLP-1類似体、例えばエキセナチド(Byetta、Eli Lilly/Amylin社;AVE0010、Sanofi-Aventis社)、タスポグルチド(Roche社)、アルビグルチド(Syncria、GlaxoSmithKline社)]、アミリン、アミリン類似体(例えばSymlin/Pramlintide)及び経口活性血糖降下薬が挙げられる。
【０３３８】
肥満又は過体重の処置又は予防に関連した目的のために、即ち、過剰な体脂肪蓄積の低減又は予防に関連した目的のために、1種又は複数の上で開示した追加の治療上有効な化合物又は物質と任意選択で組み合わせて本発明のグルカゴン誘導体を投与する場合、体重減少の達成又は体重増加の予防を目的とした外科的介入と組み合わせて、例えば肥満の外科的介入と組み合わせて、そのような投与を用いることが妥当な場合がある。頻繁に使用される肥満外科手術の例として下記が挙げられるがこれらに限定されない:胃の一部をステープラで留めて、新たな胃として機能するより小さいプレ胃嚢(pre-stomach pouch)を作成する垂直帯胃形成術{「胃ステープリング(stomach stapling)」としても知られている};患者によりサイズを調整可能なエラストマー(例えばシリコーン)バンドを使用して、新たな胃として機能する小さいプレ胃嚢を作成する、例えば調整可能な胃緊縛システム{例えばSwedish Adjustable Gastric Band(SAGB)、LAP-BAND(商標)又はMIDband(商標)}を使用する胃緊縛術;及び小さい胃嚢を、ステープラーデバイスを使用して作成し、遠位小腸に接続し、小腸の上部をY字形に再付着させる胃バイパス手術、例えば「Roux-en-Y」バイパス。
【０３３９】
問題の肥満の外科的介入の実行前の期間にわたり及び/又はその後の期間にわたり、(任意選択で、上で開示した1種又は複数の追加の治療上有効な化合物と組み合わせて)本発明のグルカゴン誘導体の投与を行なうことができる。多くの場合、肥満の外科的介入を行なった後に、本発明の化合物の投与を開始することが好ましい場合がある。

【０３４０】
本発明のグルカゴン誘導体、及び本明細書で定義した抗肥満薬又は抗糖尿病薬を、同時に又は順次に投与することができる。これらの因子を、両方の化合物を含む単回投与形態で、又は第1の単位剤形としての本発明のグルカゴン誘導体の製剤及び第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(kit-of-parts)の形態で、供給することができる。本明細書全体を通して第1又は第2又は第3等の単位用量を述べる際には常に、このことは投与の好ましい順序を示さず、単に便宜上の目的のために示される。
【０３４１】
本発明のグルカゴン誘導体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分以下、好ましくは10分以下、より好ましくは5分以下、より好ましくは2分以下の時間分離での第1の薬剤の投与、続いて第2の薬剤の投与を意味する。いずれの因子も最初に投与することができる。
【０３４２】
「順次」投与は、15分超の時間分離での第1の薬剤の投与、続いて第2の薬剤の投与を意味する。2種の単位剤形のいずれも最初に投与することができる。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。
【０３４３】
既に示したように、上で開示した治療法又は治療適応の全てにおいて、本発明のグルカゴン誘導体を単独で投与することができる。しかしながら、1種又は複数の追加の治療上有効な化合物と組み合わせて、順次に又は同時に投与することもできる。
【０３４４】
本発明の化合物(例えばグルカゴン誘導体)の典型的な投与量は、本発明に係る方法で用いる場合、1回から3回の用量等の1回又は複数回の用量で投与される1日当たり約0.0001から約100mg/体重kgの範囲であり、好ましくは約0.001から約10mg/体重kgの範囲であり、より好ましくは1日当たり約0.001から約5mg/体重kgの範囲であり、例えば1日当たり約0.001から約10mg/体重kgの範囲である、又は1日当たり約0.001から約5mg/体重kgの範囲である。正確な投与量は、投与の頻度及び様式、処置する対象の性別、年齢、体重及び全身状態、処置する状態の性質及び重症度、処置する任意の合併症、並びに当業者に明らかなその他の因子に左右されるだろう。
【０３４５】
本発明の化合物は、例えば1日に1回よりも長い間隔での投与に十分に適すると考えられる化合物を含み、そのため、本発明の適切に製剤化された化合物は、本明細書で開示した経路のいずれか一つ等の適切な投与経路による例えば1週に2回又は1週に1回の投与に適することができる。
【０３４６】
上に記載したように、本発明の化合物を1種又は複数の追加の治療上有効な化合物又は物質と組み合わせて投与する又は適用することができ、適切な追加の化合物又は物質を、例えば抗糖尿病薬、抗高脂血症薬、抗肥満薬、降圧薬、及び糖尿病に起因する又は糖尿病に関連する合併症の処置薬から選択することができる。
【０３４７】
薬学的適応
一部の実施形態では、本発明は、任意選択で1種又は複数の追加の治療上有効な化合物と組み合わされた、医療で使用するための本明細書に記載したグルカゴン誘導体に関する。
【０３４８】
本明細書で使用する場合、化合物(例えばグルカゴン誘導体)の用語「治療上有効な量」は、所与の疾患及び/又はこの合併症の臨床症状の治癒、緩和又は部分的な抑止に十分な量を意味する。これを達成するのに十分な量が「治療上有効な量」と定義される。各目的に有効な量は、疾患又は傷害の重症度並びに対象の体重及び全身状態に左右されるだろう

。適切な投与量の決定を、値のマトリックスを構築し、このマトリックス中の様々なポイントを試験することにより、日常的な実験を使用して達成することができ、これらは全て、熟練した医師又は獣医の通常の技術のレベル内であることが理解されるだろう。

【０３４９】

用語「処置」、「処置する」及びこれらのその他の変化形は、本明細書で使用する場合、疾患又は傷害等の状態と闘うこと目的とした患者の管理及びケアを意味する。この用語は、症状若しくはこの合併症を緩和するための、症状、傷害若しくは状態の進行を遅延させるための、疾患、傷害若しくは状態を治癒するため若しくは除去するための、及び/又は状態を予防するための(ここで、予防は、疾患、状態若しくは傷害と闘うことを目的とした患者の管理及びケアと理解すべきであり、症状若しくは合併症の発症を予防するための問題の有効な化合物の投与を含む)、問題の有効な化合物の投与等の、患者が罹患している所与の状態のための処置の全範囲を含むように意図されている。処置する患者は好ましくは哺乳動物であり、特にヒトであるが、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ又はブタ等のその他の動物の処置も本発明の範囲内である。

【０３５０】

用語「糖尿病(diabetes)」又は「糖尿病(diabetes mellitus)」には、1型糖尿病、2型糖尿病、妊娠性糖尿病(妊娠中)、及び高血糖を引き起こすその他の状態が含まれる。この用語は、膵臓が十分な量のインスリンを産生しない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細胞のグルコース吸収が妨げられる代謝異常に関して使用される。結果として、血液中にグルコースが蓄積される。

【０３５１】

1型糖尿病{インスリン依存性糖尿病(IDDM)及び若年発症型糖尿病とも呼ばれる}はベータ細胞破壊に起因し、通常は絶対的インスリン欠乏を引き起こす。

【０３５２】

2型糖尿病{インスリン非依存性糖尿病(NIDDM)及び成人発症型糖尿病とも呼ばれる}は顕著なインスリン耐性に関連しており、そのため相対的インスリン欠乏及び/又はインスリン耐性を有する主なインスリン分泌欠損に関連する。

【０３５３】

用語「正常血糖(euglycaemia)」は、本明細書で使用する場合、血中グルコースの正常な濃度を意味する。正常血糖(normoglycaemia)とも呼ばれる。

【０３５４】

用語「肥満」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、この過剰カロリーは脂肪組織に貯蔵され、この正味の正のバランスが長期にわたると肥満が生じる{即ち、体重バランスに対する2種の成分が存在し、いずれかの側(摂取又は消費)の異常が肥満を引き起こす可能性がある}。これに関して、肥満は大抵、健康リスクをもたらすある程度の過剰な脂肪組織と見なされる。正常な個体と肥満の個体との間の区別は近似的にすぎないが、肥満によりもたらされる健康リスクはおそらく脂肪組織の増大との連続である。しかしながら、本発明に関連して、25を超える肥満度指数{BMI=身長(メートル)の二乗で除算した体重(キログラム)}を有する個体が肥満と見なすことができる。

【０３５５】

一部の実施形態では、本発明は、肥満の処置又は過体重の予防で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。一部の実施形態では、本発明は、食物摂取の低減で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。一部の実施形態では、本発明は、エネルギー消費の増大で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。一部の実施形態では、本発明は、体重の減少で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。一部の実施形態では、本発明は、食欲の制御で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。一部の実施形態では、本発明は、満腹感の誘導で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。一部の実施形態では、本発明は、体重減少の成功後の体重の再増加の予防で使用す

るための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。一部の実施形態では、本発明は、過体重又は肥満に関連する疾患又は状態の処置で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。一部の実施形態では、本発明は、過食症の処置で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。一部の実施形態では、本発明は、過食の処置で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。

【０３５６】

一部の実施形態では、本発明は、粥状動脈硬化の処置で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。一部の実施形態では、本発明は、高血圧の処置で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。一部の実施形態では、本発明は、脂質異常症の処置で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。一部の実施形態では、本発明は、冠動脈心疾患の処置で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。一部の実施形態では、本発明は、脂肪肝の処置で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。

【０３５７】

一部の実施形態では、本発明は、2型糖尿病の処置で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。一部の実施形態では、本発明は、耐糖能障害の処置で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。一部の実施形態では、本発明は、2型糖尿病での疾患進行の遅延又は予防で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。一部の実施形態では、本発明は、耐糖能障害(IGT)から2型糖尿病への進行の遅延で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。一部の実施形態では、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の遅延で使用するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体に関する。

【０３５８】

一部の実施形態では、本発明は、任意選択で1種又は複数の追加の治療上有効な化合物と組み合わされた、本明細書で定義したグルカゴン誘導体の有効な量を、それを必要とする患者に投与する工程を含む、肥満を処置する、過体重を予防する、食物摂取を低減させる、エネルギー消費を増大させる、体重を減少させる、食欲を制御する、満腹感を誘導する、体重減少の成功後の体重の再増加を予防する、過体重若しくは肥満に関連する疾患若しくは状態を処置する、過食症を処置する又は過食を処置する方法に関する。

【０３５９】

一部の実施形態では、本発明は、任意選択で1種又は複数の追加の治療上有効な化合物と組み合わされた、本明細書で定義したグルカゴン誘導体の有効な量を、それを必要とする患者に投与する工程を含む、粥状動脈硬化、高血圧、脂質異常症、冠動脈心疾患又は脂肪肝を処置する方法に関する。

【０３６０】

一部の実施形態では、本発明は、任意選択で1種又は複数の追加の治療上有効な化合物と組み合わされた、本明細書で定義したグルカゴン誘導体の有効な量を、それを必要とする患者に投与する工程を含む、2型糖尿病を処置する方法、耐糖能障害を処置する方法、耐糖能障害(IGT)から2型糖尿病への進行を遅延させる方法、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方法に関する。

【０３６１】

一部の実施形態では、本発明は、薬剤を調製するための、本明細書で定義したグルカゴン誘導体の使用に関する。一部の実施形態では、本発明は、肥満、高血糖、2型糖尿病、耐糖能障害及び1型糖尿病の処置用の又は予防用の薬剤を調製するための、上記の実施形態のいずれか一つで定義したグルカゴン誘導体の使用に関する。

【０３６２】

本発明の実施形態

本発明を、下記の非限定的な実施形態により更に説明することができる。

【０３６３】

1.式I:

X^1-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-Ile-X^{28}-X^{29}-X^{30} (I)
(式中、
X^1はHis又はImpを表し、
X^2はAib又はAcbを表し、
X^3はGln又はHisを表し、
X^{10}はTyr、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、Lys又はGlnを表し、
X^{18}はArg、Ala又はLysを表し、
X^{20}はGln、Arg又はLysを表し、
X^{21}はAsp、Glu又はLysを表し、
X^{24}はGln、Ala、Arg、Glu又はLys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}は存在しないか、又はLysを表す)
のアミノ酸配列を含むグルカゴン誘導体又はその薬学的に許容される塩であって、
式Iの前記アミノ酸配列は、12位、16位、17位、18位、20位、21位、24位、28位、29位及び/又は30位のうち1つ又は複数にリシン残基を含み、
前記グルカゴン誘導体は、親油性部分と少なくとも3個の負電荷部分とを含む置換基を含み、前記負電荷部分のうち1つが親油性部分から遠位であり、前記置換基は、16位、17位、18位、20位、21位、24位、28位、29位又は30位のアミノ酸のうち1つのリシン残基のイプシロン位に付着しており、
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。

【０３６４】

2.X^1がHis又はImp1を表し、
X^2がAib又はAcbを表し、
X^3がGlnを表し、
X^{10}がTyr、Leu、Ile又はVal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又はValを表し、
X^{17}がArg又はLysを表し、
X^{18}がArgを表し、
X^{20}がGln又はArgを表し、
X^{21}がAsp又はGluを表し、
X^{24}がGln、Ala又はLysを表し、
X^{28}がAsn、Ser又はLysを表し、
X^{29}がThr又はLysを表し、
X^{30}が存在しない、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３６５】

3.X^1がHis又はImp1を表し、
X^2がAib又はAcbを表し、
X^3がGlnを表し、
X^{10}がTyr又は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又はLeuを表し、

X^{17}がArgを表し、
X^{18}がArgを表し、
X^{20}がGln又はArgを表し、
X^{21}がAsp又はGluを表し、
X^{24}がGln、Ala又はLysを表し、
X^{28}がSer又はLysを表し、
X^{29}がThr又はLysを表し、
X^{30}が存在しない、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３６６】

4.X^{1}がHis又はImpを表し、
X^{3}がGlnを表し、
X^{10}がTyr、Leu、Ile又はValを表し、
X^{16}がSer、Ala、Leu又はValを表し、
X^{17}がArg又はLysを表し、
X^{18}がArgを表し、
X^{20}がGln又はArgを表し、
X^{21}がAsp又はGluを表し、
X^{24}がGln、Ala又はLysを表し、
X^{28}がAsn、Ser又はLysを表し、
X^{29}がThr又はLysを表し、
X^{30}が存在せず、
前記置換基が、24位、28位及び29位のアミノ酸のうち1つのリシン残基のイプシロン位に付着している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３６７】

5.X^{1}がHis又はImpを表し、
X^{3}がGlnを表し、
X^{10}がTyr又はLeuを表し、
X^{16}がSer、Ala又はLeuを表し、
X^{17}がArgを表し、
X^{18}がArgを表し、
X^{20}がGln又はArgを表し、
X^{21}がAsp又はGluを表し、
X^{24}がGln、Ala又はLysを表し、
X^{28}がSer又はLysを表し、
X^{29}がThr又はLysを表し、
X^{30}が存在せず、
前記置換基が、24位、28位及び29位のアミノ酸のうち1つのリシン残基のイプシロン位に付着している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３６８】

6.X^{24}がGln又はAlaを表し、
X^{28}がAsn又はSerを表し、
X^{29}がLysを表し、
X^{30}が存在せず、
前記置換基が、29位のリシン残基のイプシロン位に付着している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３６９】

7.X^{24}がGln又はAlaを表し、
X^{28}がLysを表し、
X^{29}がThr表し、
X^{30}が存在せず、

前記置換基が、28位のリシン残基のイプシロン位に付着している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３７０】

8.X^{24}がLysを表し、

X^{28}がAsn又はSerを表し、

X^{29}がThrを表し、

X^{30}が存在せず、

前記置換基が、24位のリシン残基のイプシロン位に付着している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３７１】

9.式Iの前記アミノ酸配列が、ヒトグルカゴン(配列番号1)と比較して3～15個のアミノ酸残基改変、例えば置換又は付加を有する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３７２】

10.式Iの前記アミノ酸配列が、ヒトグルカゴン(配列番号1)と比較して、最大で13個又は最大で12個等の最大で14個のアミノ酸残基改変、例えば置換又は付加を有する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３７３】

11.式Iの前記アミノ酸配列が、ヒトグルカゴン(配列番号1)と比較して、最大で10個又は最大で9個等の最大で11個のアミノ酸残基改変、例えば置換又は付加を有する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３７４】

12.式Iの前記アミノ酸配列が、ヒトグルカゴン(配列番号1)と比較して、最大で7個又は最大で6個等の最大で8個のアミノ酸残基改変、例えば置換又は付加を有する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３７５】

13.ヒトグルカゴン(配列番号1)と比較して、式Iの前記アミノ酸配列中に最大で5個のアミノ酸残基改変、例えば置換又は付加を含む、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３７６】

14.X^{1}がHis又はImp1を表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３７７】

15.X^{2}がAib又はAcbを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３７８】

16.X^{3}がGln又はHisを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３７９】

17.X^{3}がGlnを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３８０】

18.X^{10}がTyr、Leu、Ile又はValを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３８１】

19.X^{10}がTyrを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３８２】

20.X^{10}がLeuを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３８３】

21.X^{10}がValを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３８４】

22.X^{12}がLys又はArgを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３８５】

23.X^{15}がAsp又はGluを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３８６】

24.X^{16}がSer、Ala、Leu、Thr、Glu、Aib、Ile、Val又はLysを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３８７】

25.X^{16}がSer、Ala、Leu又はValを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３８８】

26.X^{16}がSer、Ala又はLeuを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３８９】

27.X^{17}がArg、Lys又はGlnを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３９０】

28.X^{17}がArg又はLysを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３９１】

29.X^{17}がArgを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３９２】

30.X^{18}がArg、Ala又はLysを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３９３】

31.X^{18}がArgを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３９４】

32.X^{20}がGln、Arg又はLysを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３９５】

33.X^{20}がGln又はArgを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３９６】

34.X^{21}がAsp、Glu又はLysを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３９７】

35.X^{21}がAsp又はGluを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３９８】

36.X^{24}がGln、Ala、Arg、Glu又はLysを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０３９９】

37.X^{24}がGln、Ala又はLysを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４００】

38.X^{24}がGlnを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４０１】

39.X^{24}がAlaを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４０２】

40.X^{24}がLysを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４０３】

41.X^{28}がAsn、Ser、Thr、Gln、Ala、Gly、Glu又はLysを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４０４】

42.X^{28}がAsnを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４０５】

43.X^{28}がSerを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４０６】

44.X^{28}がLysを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４０７】

45.X^{28}がSer又はLysを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４０８】

46.X^{29}がThr、Gly、Ser、Gln、Ala、Glu又はLysを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４０９】

47.X^{29}がThrを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４１０】

48.X^{29}がLysを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４１１】

49.X^{30}が存在しないか、又はLysを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４１２】

50.X^{30}が存在しない、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４１３】

51.

[Aib2,Ala16,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Ala16,Lys17,Arg20,Glu21,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Ala16,Arg20,Glu21,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Glu15,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Val10,Glu15,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Glu15,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu16,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Val10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド;

[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Ile10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Ala16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Glu15,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Glu15,Ala24,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Arg12,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Arg12,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Acb2,Leu10,Glu15,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;
[Aib2,Val10,Ala16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド;及び
[Aib2,Leu10,Val16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４１４】

52.前記置換基が、16位、17位、18位、20位、21位、24位、28位、29位又は30位のうち1箇所のリシン残基のイプシロン位に付着している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４１５】

53.前記置換基が、24位、28位又は29位のうち1箇所のリシン残基のイプシロン位に付着している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４１６】

54.前記置換基が、24位のリシン残基のイプシロン位に付着している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４１７】

55.X^{24}がLysを表し、前記置換基が24位のリシン残基のイプシロン位に付着している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４１８】

56.X^{28}がLysを表し、前記置換基が28位のリシン残基のイプシロン位に付着している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４１９】

57.X^{29}がLysを表し、前記置換基が29位のリシン残基のイプシロン位に付着している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４２０】

58.前記置換基が3個、4個又は5個の負電荷部分を含む、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４２１】

59.前記置換基が3個又は4個の負電荷部分を含む、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４２２】

60.前記置換基が3個の負電荷部分を含む、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４２３】

61.前記置換基がアルブミンに非共有結合的に結合している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４２４】

62.前記置換基が生理学的pHで負電荷を有する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４２５】

63.親油性部分と少なくとも3個の負電荷部分とを含む前記置換基が、式II:

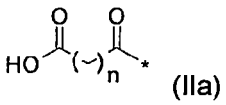
Z^1-Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}- (II)

{式中、

Z^1は、式IIa:

【０４２６】

【化５３】



(IIa)

【０４２７】

(式中、

nは6～20であり、

記号*は、隣接する基の窒素への付着点を表す)

に従う構造を表し、

Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-はリンカーを表し、このリンカー中、各Z^2からZ^{10}は個々に、下記のアミノ酸残基:Glu、ガンマ-Glu(gGlu)、Gly、Ser、Ala、Thr及び/若しくはAdoのうちいずれか1つで表され、又は残基Z^2からZ^{10}のうち1つ若しくは複数は存在せず、しかしながら残基Z^2からZ^{10}のうち少なくとも2つは存在し、

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個の負電荷部分を含む}

で表される置換基であり、

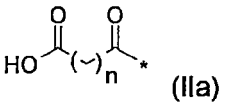
前記置換基は式Iのアミノ酸配列中のLysのイプシロン位に付着している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４２８】

64.Z^1が、式IIa:

【０４２９】

【化５４】



(IIa)

【０４３０】

(式中、nは12から18の範囲の整数を表す)

の脂肪二酸を表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４３１】

65.式IIa中のnが12、14、16又は18を表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４３２】

66.式IIa中のnが16である(即ち、Z^1が17-カルボキシヘプタデカノイルを表す)、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４３３】

67.式II Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-がリンカーを表し、ここでZ^2からZ^{10}のそれぞれは個々に、下記のアミノ酸残基:Glu、gGlu、Gly、Ser、Ala、Thr及び/若しくはAdoのうちいずれか1つで表されるか、又は残基Z^2からZ^{10}のうち1つ若しくは複数は存在せず、ただし残基Z^2からZ^{10}のうち少なくとも2つは存在し、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個の負電荷部分を含む、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４３４】
68.Z^2、Z^3、Z^4、Z^5、Z^6、Z^7、Z^8、Z^9及びZ^{10}は個々に、下記のアミノ酸残基:Glu、gGlu、Gly、Ser及び/若しくはAdoのうちいずれか1つで表される、又は残基Z^2からZ^{10}のうち1つ若しくは複数は存在せず、ただし残基Z^2からZ^{10}のうち少なくとも2つは存在する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０４３５】
69.Z^2、Z^3、Z^4、Z^5、Z^6、Z^7、Z^8、Z^9及びZ^{10}が個々に、下記のアミノ酸残基:gGlu及び/若しくはAdoのうちいずれか1つで表される、又は残基Z^2からZ^{10}のうち1つ若しくは複数は存在せず、ただし残基Z^2からZ^{10}のうち少なくとも2つは存在する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０４３６】
70.残基Z^2からZ^{10}のうち少なくとも3つが存在する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０４３７】
71.残基Z^2からZ^{10}のうち少なくとも4つが存在する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０４３８】
72.残基Z^2からZ^{10}のうち少なくとも5つが存在する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０４３９】
73.残基Z^2からZ^{10}のうち少なくとも6つが存在する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０４４０】
74.Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-が、
gGlu-Ado-gGlu-;
gGlu-Ado-2xgGlu-;
gGlu-2xAdo-2xgGlu-;
2xgGlu-;
2xgGlu-Ado-;
2xgGlu-Ado-gGlu-;
2xgGlu-Ado-gGlu-Ado-;
2xgGlu-Ado-2xgGlu-;
2xgGlu-2xAdo-;
2xgGlu-2xAdo-gGlu;
2xgGlu-2xAdo-2xgGlu-;
2xgGlu-Ser-Gly-Glu-Ser-;
2xgGlu-Ser-Gly-Glu-Ser-Gly-;
3xgGlu-;
3xgGlu-Ado-;
3xgGlu-2xAdo-;及び
2xgGlu-Ado-gGlu-Ado-gGlu-Ado-gGlu-
からなる群から選択されるリンカーを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０４４１】
75.Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-が、
2xgGlu-2xAdo-gGlu-;
gGlu-2xAdo-2xgGlu-;
2xgGlu-2xAdo-;
2xgGlu-2xAdo-2xgGlu-;
2xgGlu-Ser-Gly-Glu-Ser-Gly-;

3xgGlu-;
3xgGlu-2xAdo-;及び
2xgGlu-Ado-gGlu-Ado-gGlu-Ado-gGlu-
からなる群から選択されるリンカーを表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４４２】

76.Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-がリンカー2xgGlu-2xAdo-gGlu-を表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４４３】

77.Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-がリンカーgGlu-2xAdo-2xgGlu-を表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４４４】

78.Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-がリンカー2xgGlu-2xAdo-を表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４４５】

79.Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-がリンカー2xgGlu-2xAdo-2xgGlu-を表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４４６】

80.Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-がリンカー2xgGlu-Ser-Gly-Glu-Ser-Gly-を表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４４７】

81.Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-がリンカー3xgGlu-を表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４４８】

82.Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-がリンカー3xgGlu-2xAdo-を表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４４９】

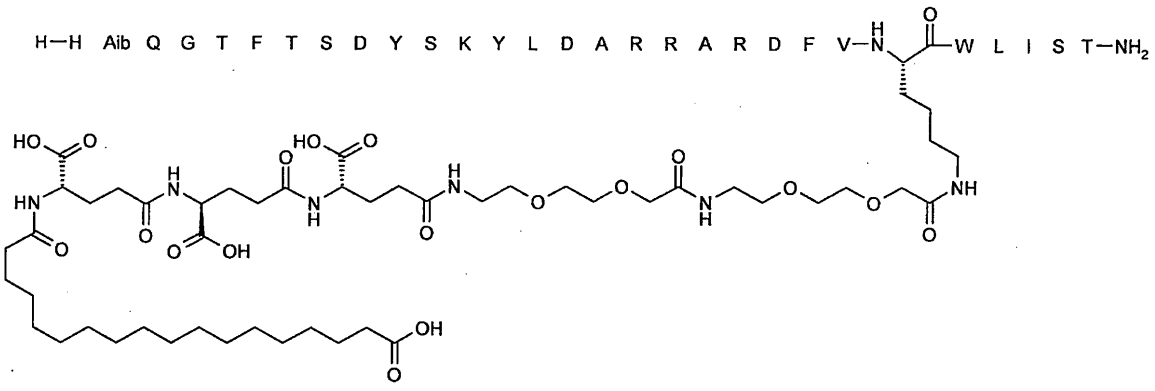
83.Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}-がリンカー2xgGlu-Ado-gGlu-Ado-gGlu-Ado-gGlu-を表す、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０４５０】

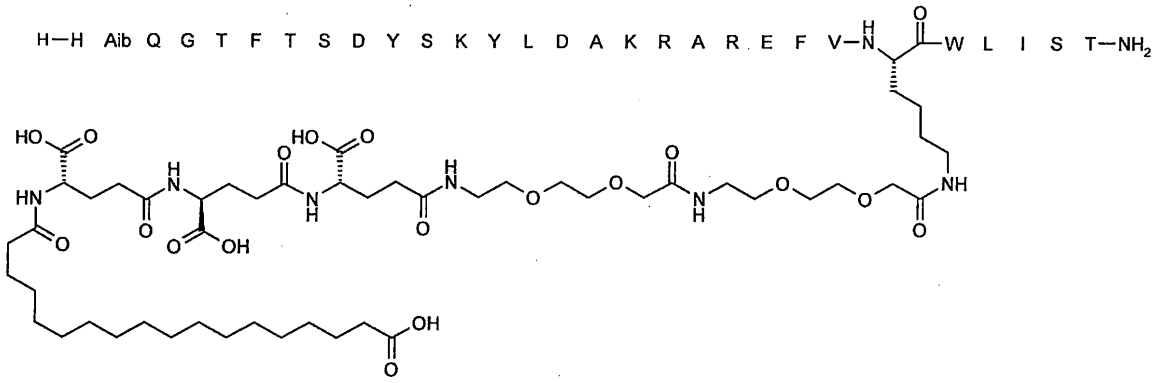
84.
$N^{\varepsilon 24}$-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Ala16,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド
化学式1:

【０４５１】

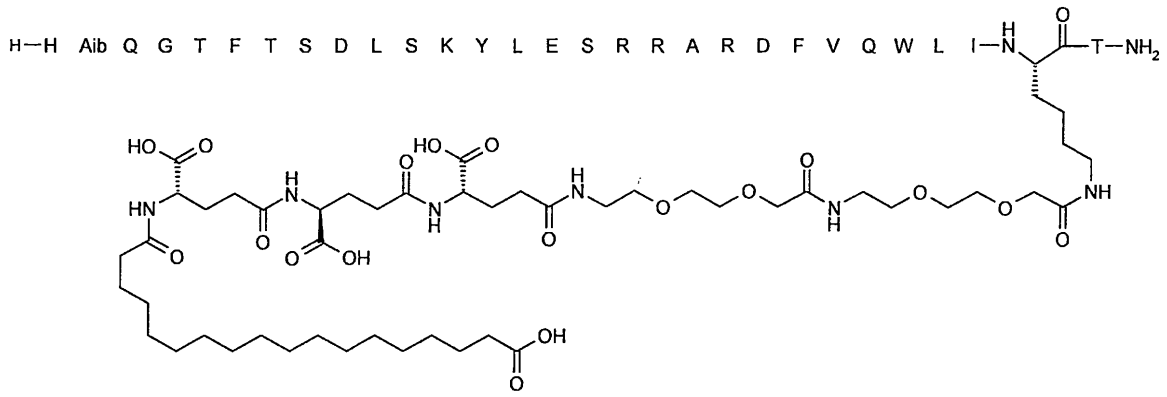
【化５５】



【０４５２】
;Nε24-[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,Ala16,Lys17,Arg20,Glu21,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド
化学式2:
【０４５３】
【化５６】

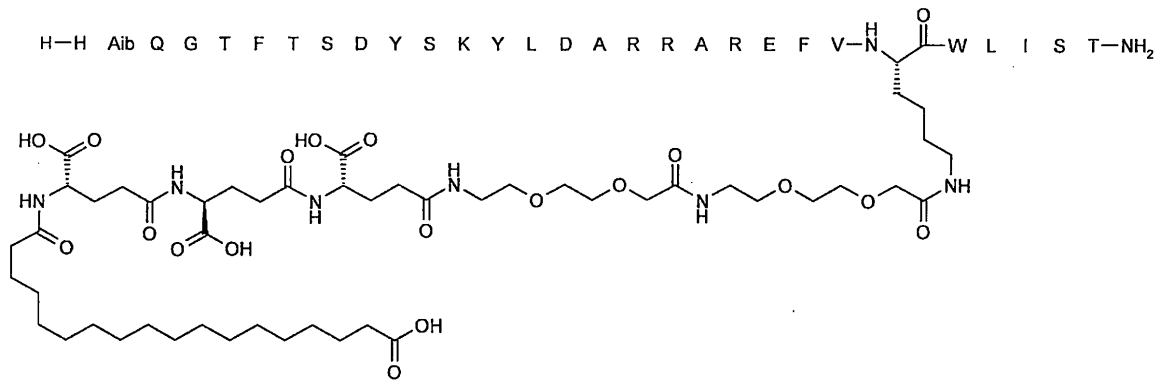


【０４５４】
;Nε28-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式3:
【０４５５】
【化５７】



【０４５６】
;Nε24-[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,Ala16,Arg20,Glu21,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド
化学式4:
【０４５７】

【化５８】



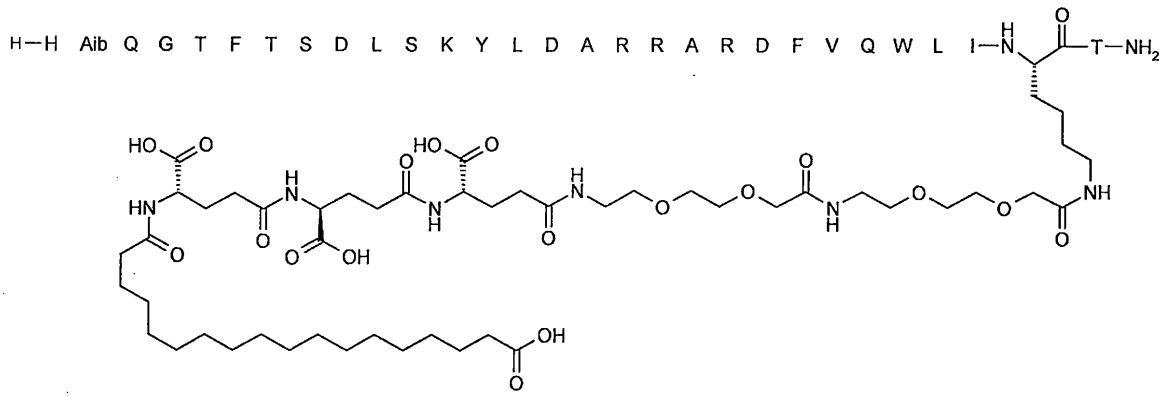
【０４５８】

;$N^{\varepsilon 28}$-[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,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式5:

【０４５９】

【化５９】



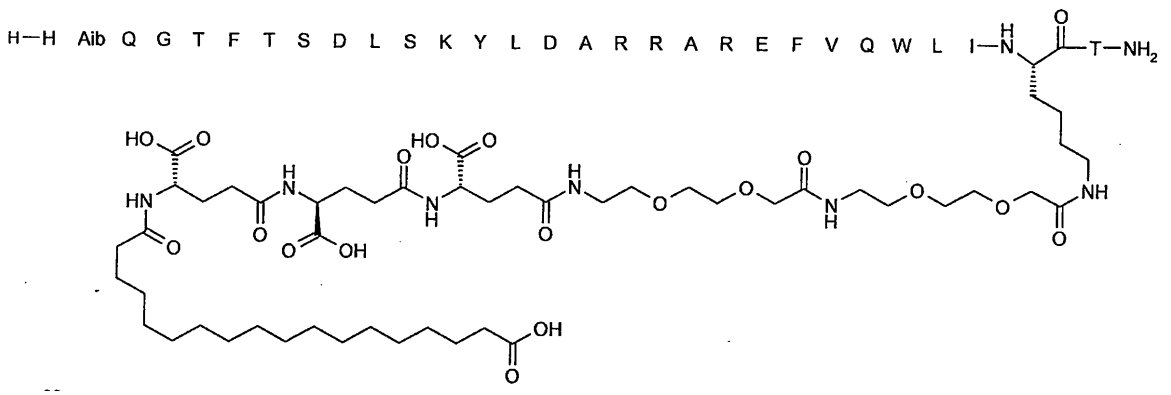
【０４６０】

;$N^{\varepsilon 28}$-[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,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

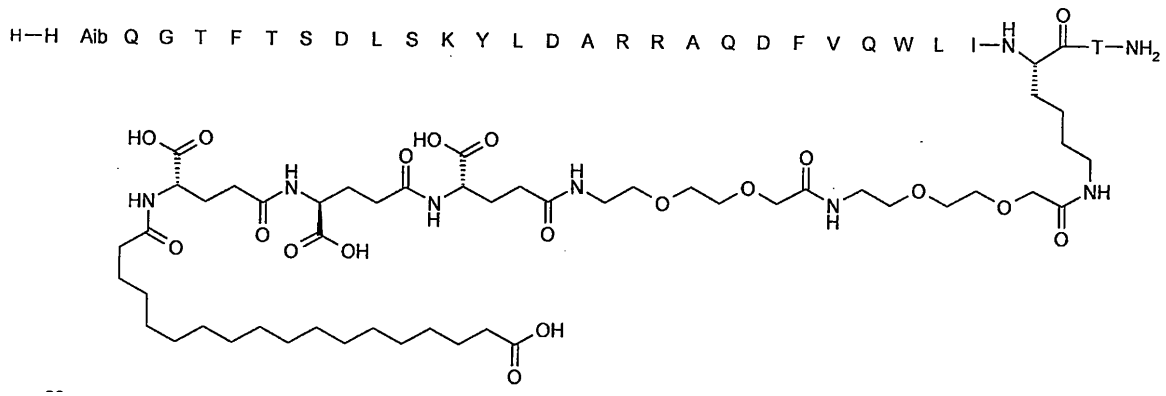
化学式6:

【０４６１】

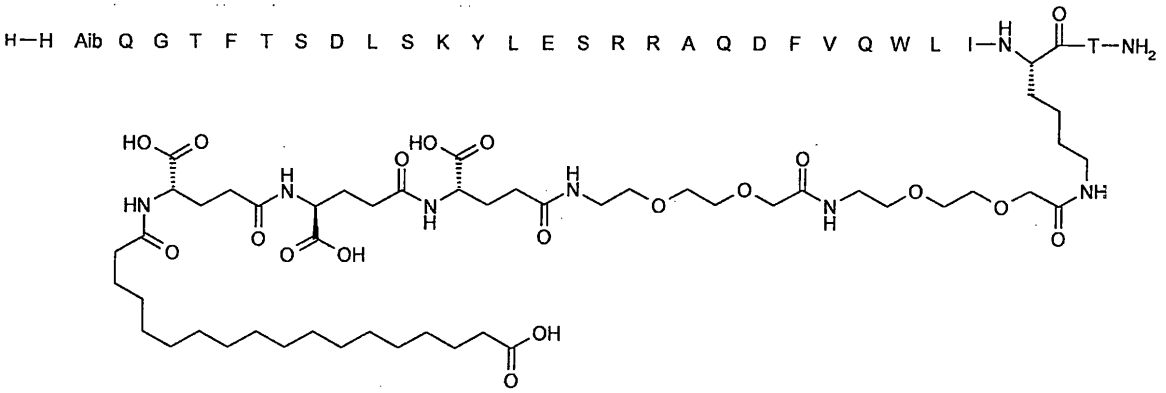
【化６０】



【０４６２】
;Nε28-[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,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式7:
【０４６３】
【化６１】

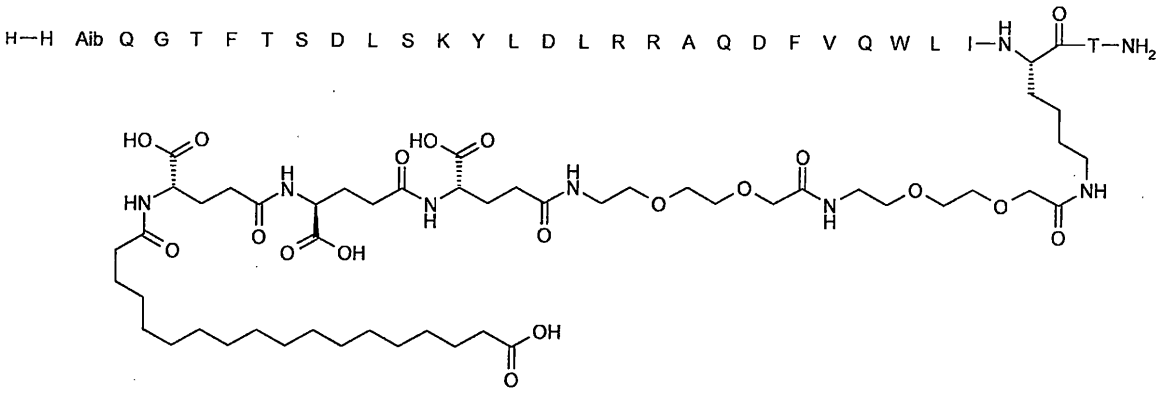


【０４６４】
;Nε28-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib2,Leu10,Glu15,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式8:
【０４６５】
【化６２】



【０４６６】
;Nε28-[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,Leu16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式9:
【０４６７】

【化６３】



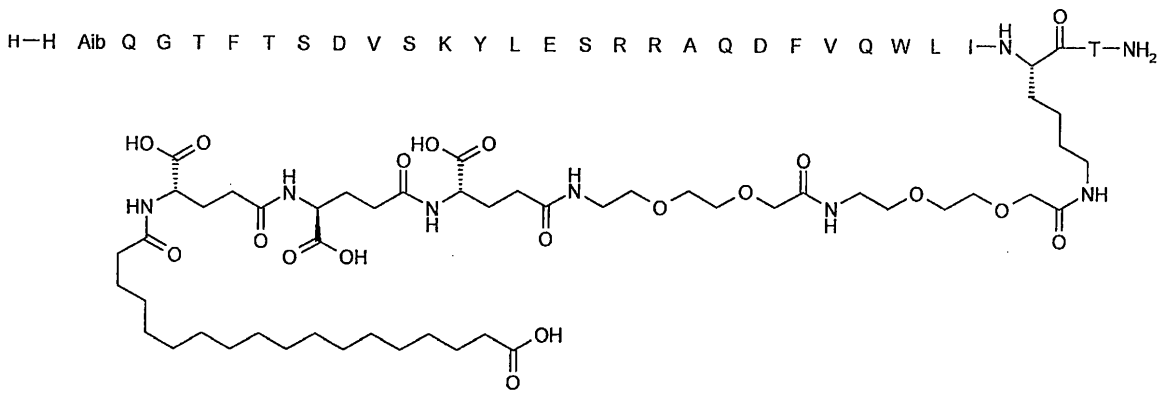
【０４６８】

;$N^{\varepsilon 28}$-[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,Val10,Glu15,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式10:

【０４６９】

【化６４】



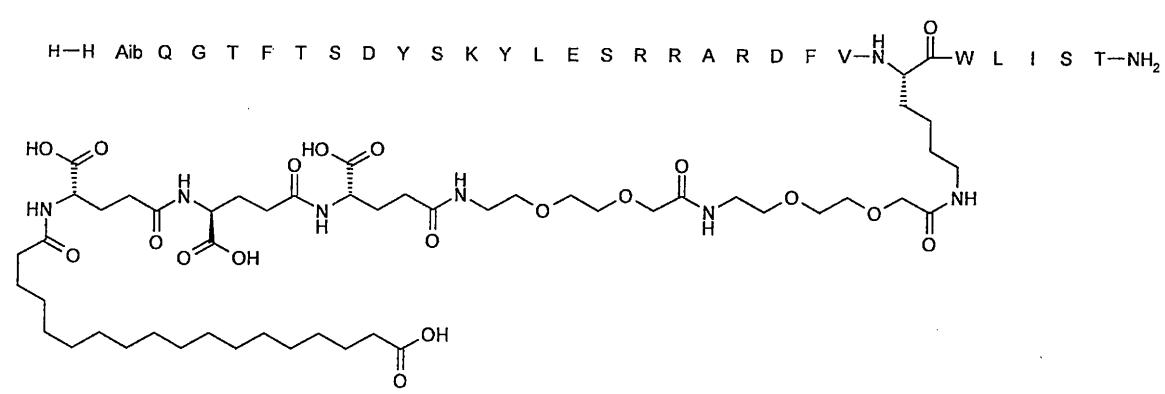
【０４７０】

;$N^{\varepsilon 24}$-[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,Glu15,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド

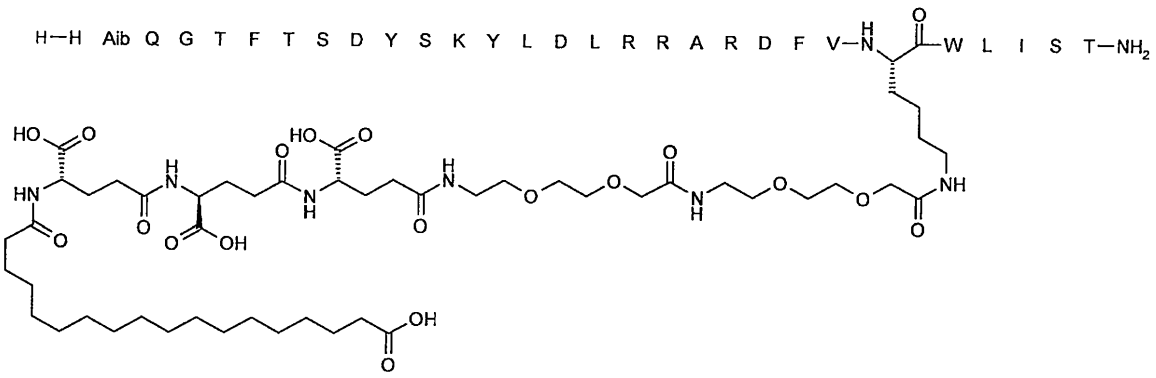
化学式11:

【０４７１】

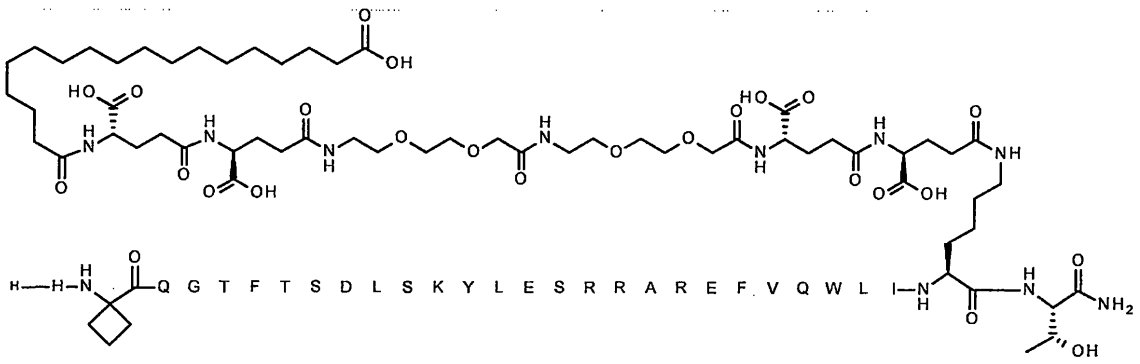
【化６５】



【０４７２】
;Nε24-[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,Leu16,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド
化学式12:
【０４７３】
【化６６】

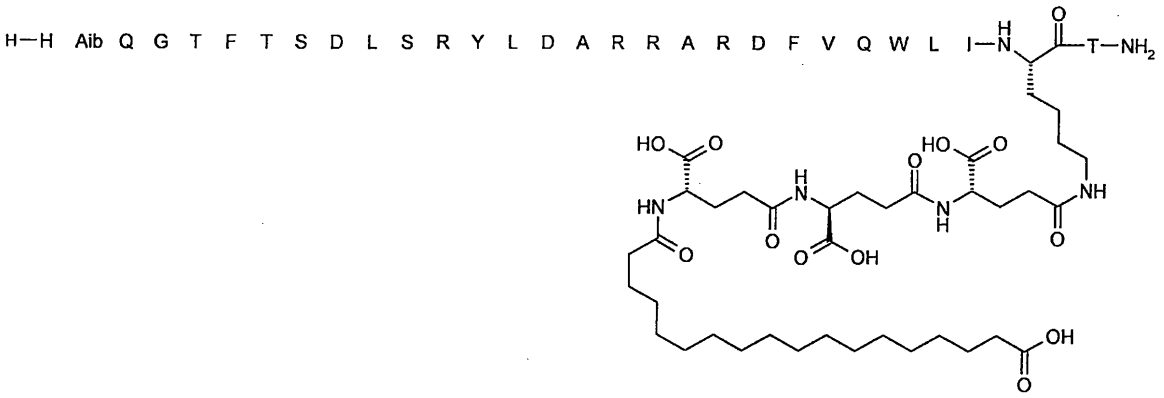


【０４７４】
;Nε28-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式13:
【０４７５】
【化６７】



【０４７６】
;Nε28-[(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,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド
化学式14:
【０４７７】

【化６８】



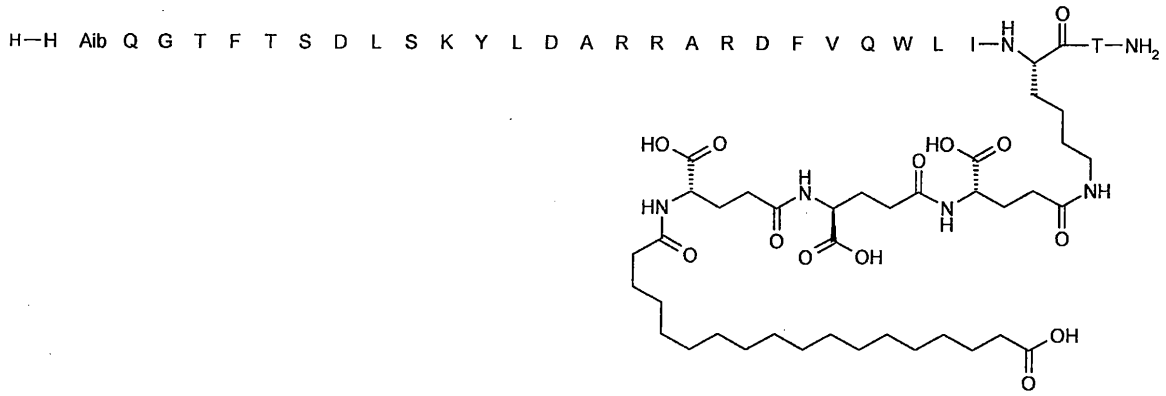
【０４７８】

;$N^{\varepsilon 28}$-[(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,Ala16,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式15:

【０４７９】

【化６９】



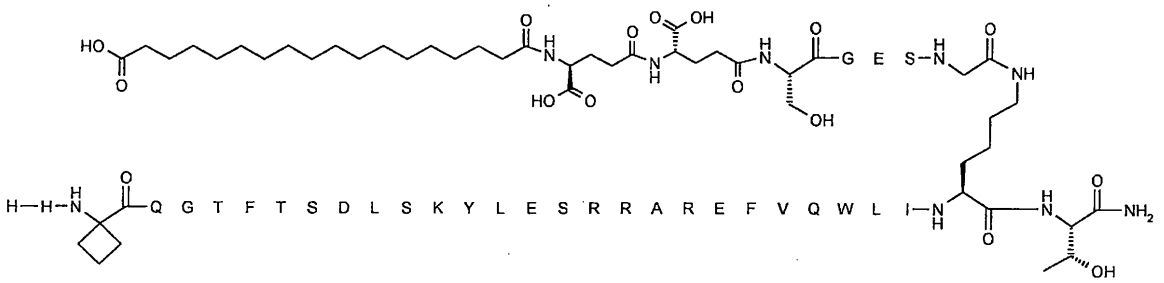
【０４８０】

;$N^{\varepsilon 28}$-[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,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式16:

【０４８１】

【化７０】



【０４８２】

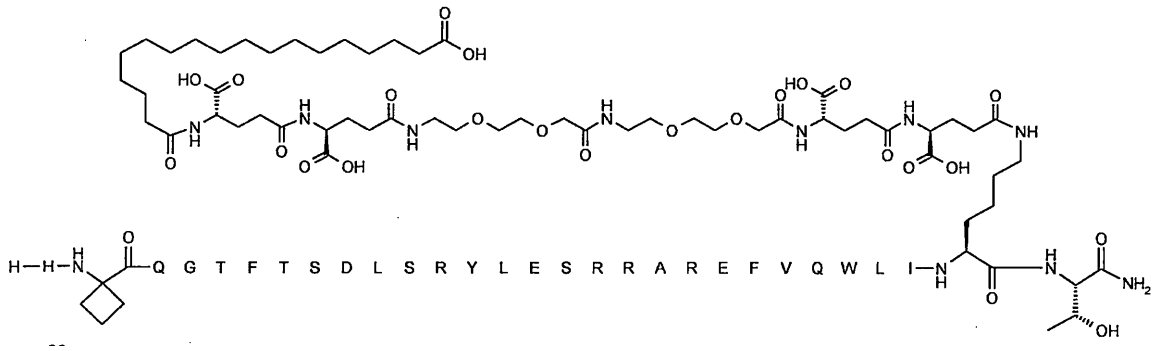
;$N^{\varepsilon 28}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイ

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]-[Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式17:

【０４８３】

【化７１】



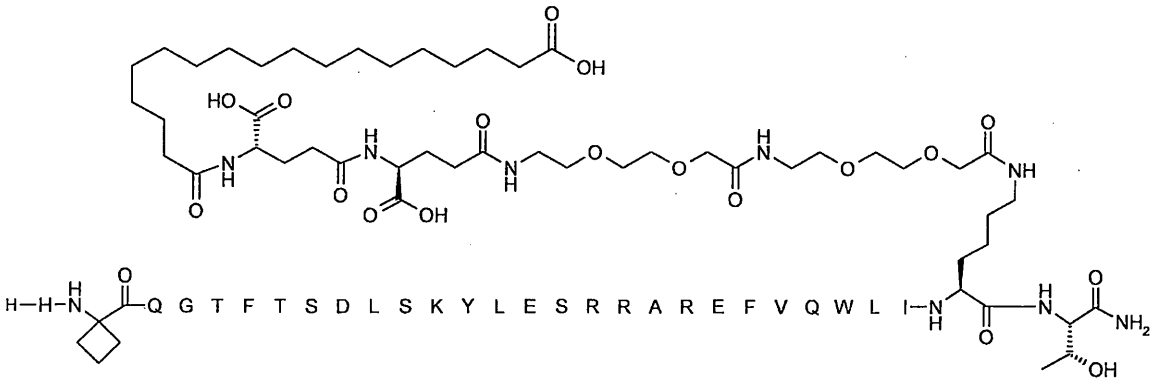
【０４８４】

;N$^{\varepsilon 28}$-[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]-[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式18:

【０４８５】

【化７２】



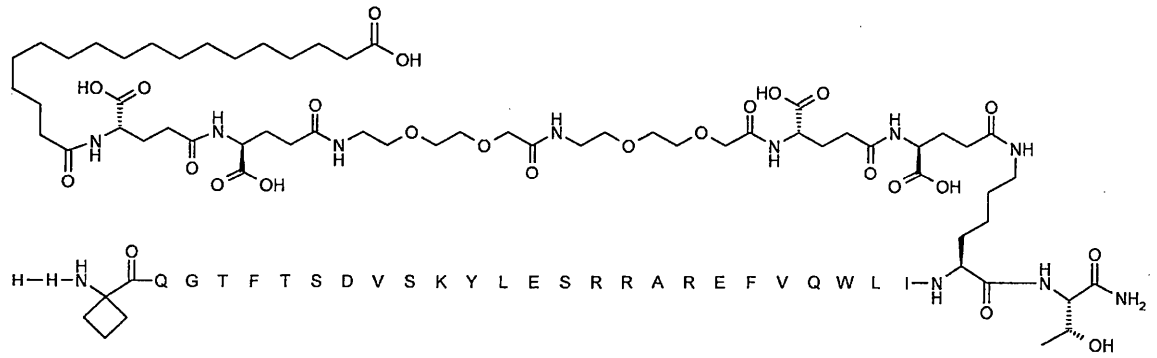
【０４８６】

;N$^{\varepsilon 28}$-[(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]-[Acb2,Val10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式19:

【０４８７】

【化７３】



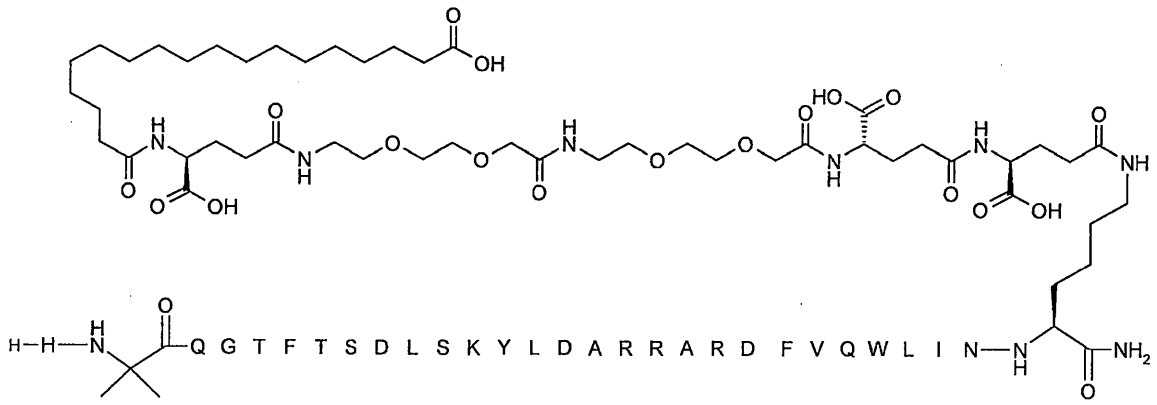
【０４８８】

;N$^{\varepsilon 29}$-[(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,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式20:

【０４８９】

【化７４】



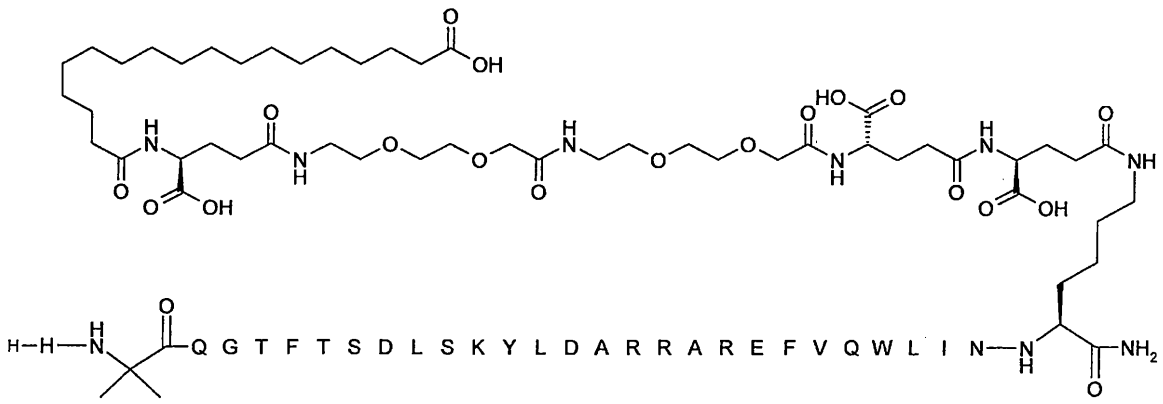
【０４９０】

;N$^{\varepsilon 29}$-[(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,Glu21,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド

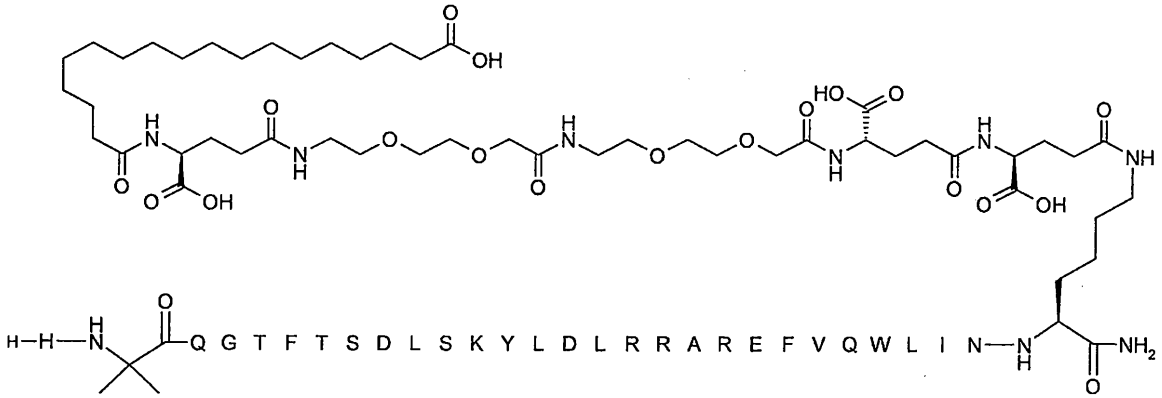
化学式21:

【０４９１】

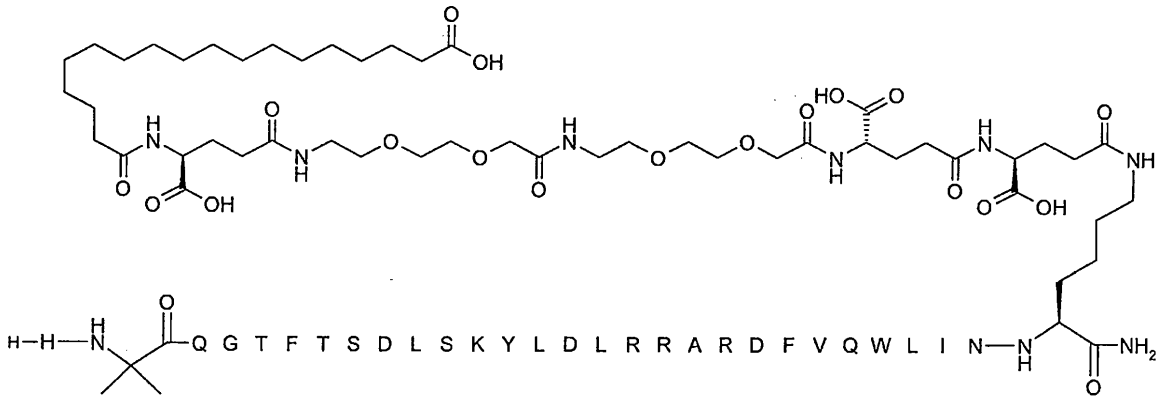
【化７５】



【０４９２】
;Nε29-[(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,Arg20,Glu21,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド
化学式22:
【０４９３】
【化７６】

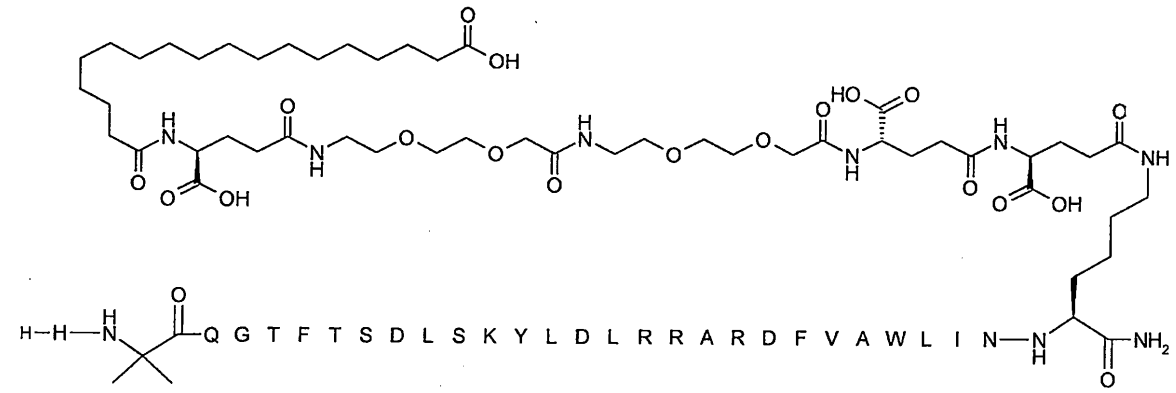


【０４９４】
;Nε29-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド
化学式23:
【０４９５】
【化７７】



【０４９６】
;Nε29-[(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,Arg20,Ala24,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド
化学式24:
【０４９７】

【化７８】



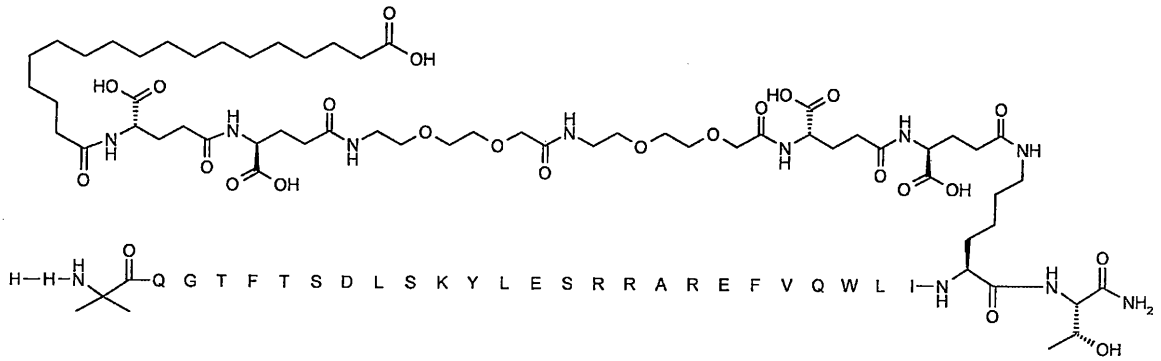
【０４９８】

;N$^{\varepsilon 28}$-[(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]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式25:

【０４９９】

【化７９】



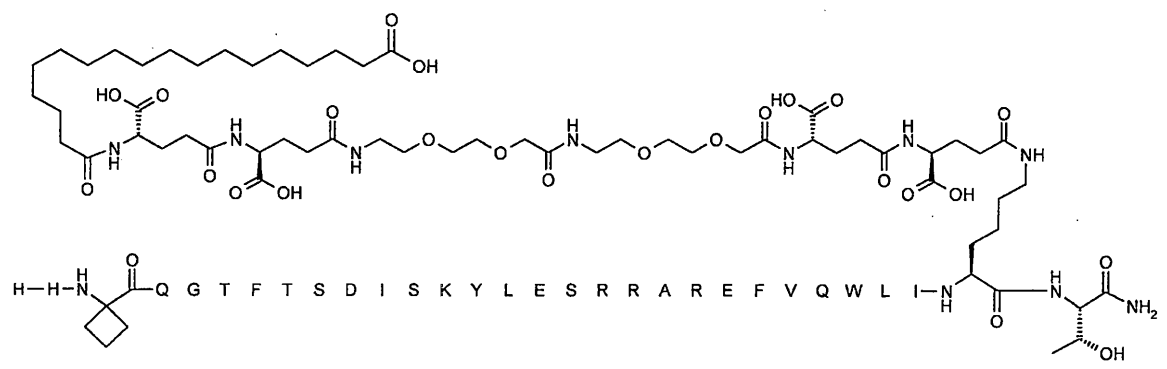
【０５００】

;N$^{\varepsilon 28}$-[(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]-[Acb2,Ile10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

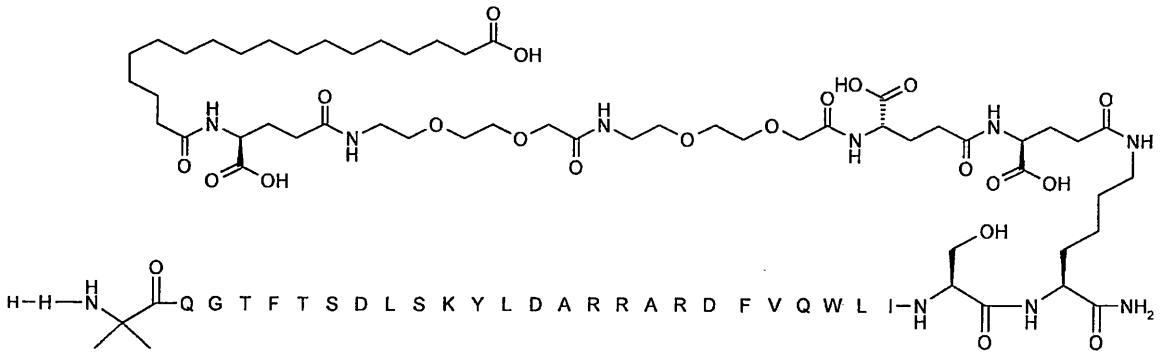
化学式26:

【０５０１】

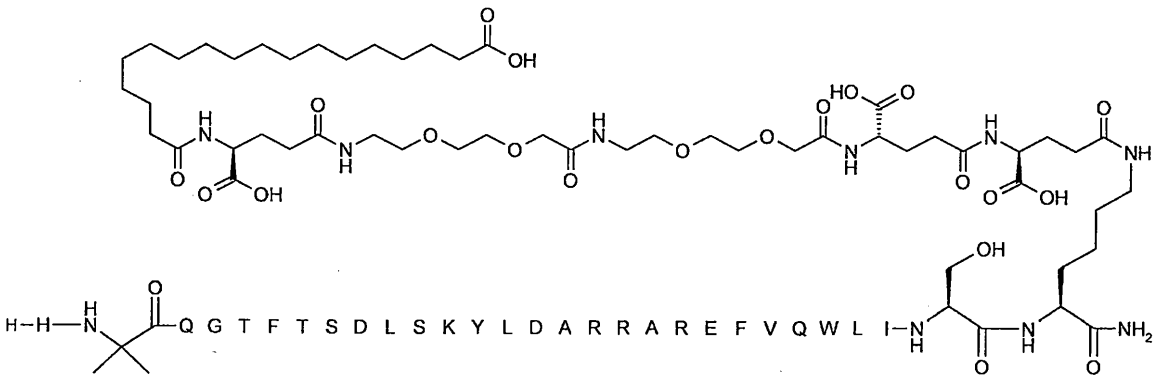
【化８０】



【０５０２】
;$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド
化学式27:
【０５０３】
【化８１】

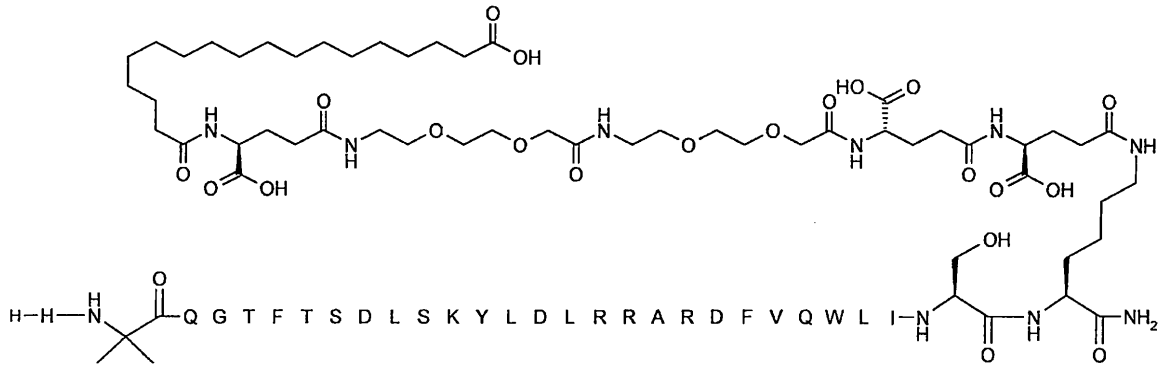


【０５０４】
;$N^{\varepsilon 29}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド
化学式28:
【０５０５】
【化８２】



【０５０６】
;$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Leu16,Arg20,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド
化学式29:
【０５０７】

【化８３】



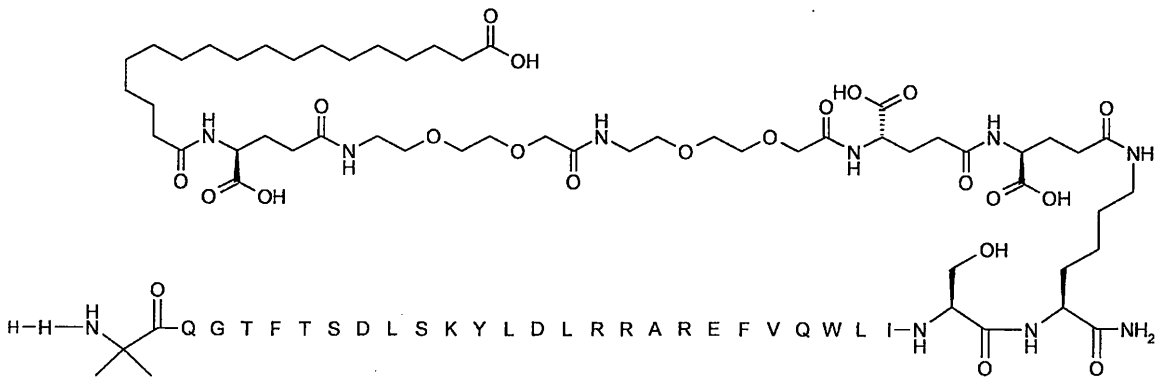
【０５０８】

;N$^{\varepsilon 29}$-[(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,Leu16,Arg20,Glu21,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式30:

【０５０９】

【化８４】



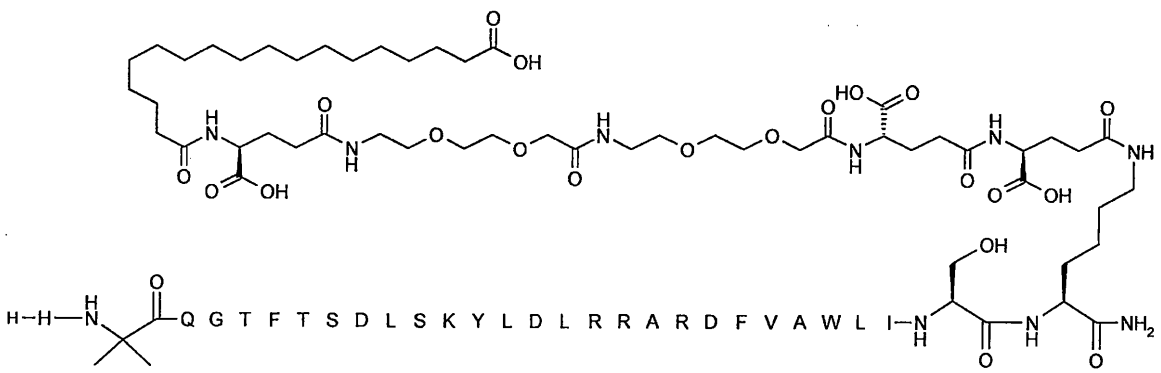
【０５１０】

;N$^{\varepsilon 29}$-[(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,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式31:

【０５１１】

【化８５】



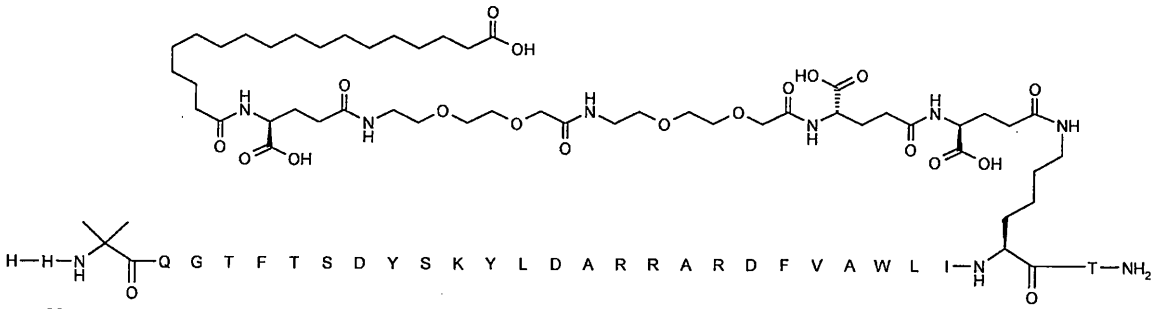
【０５１２】

;N$^{\varepsilon 28}$-[(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,Ala16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式32:

【０５１３】

【化８６】



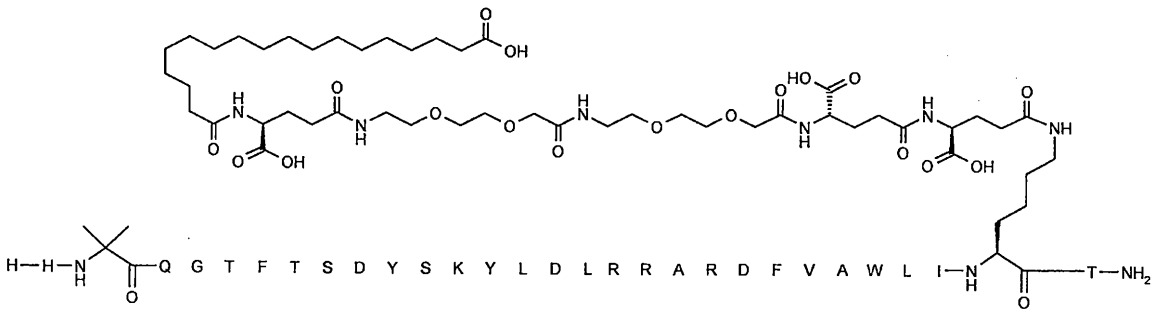
【０５１４】

;N$^{\varepsilon 28}$-[(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,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式33:

【０５１５】

【化８７】



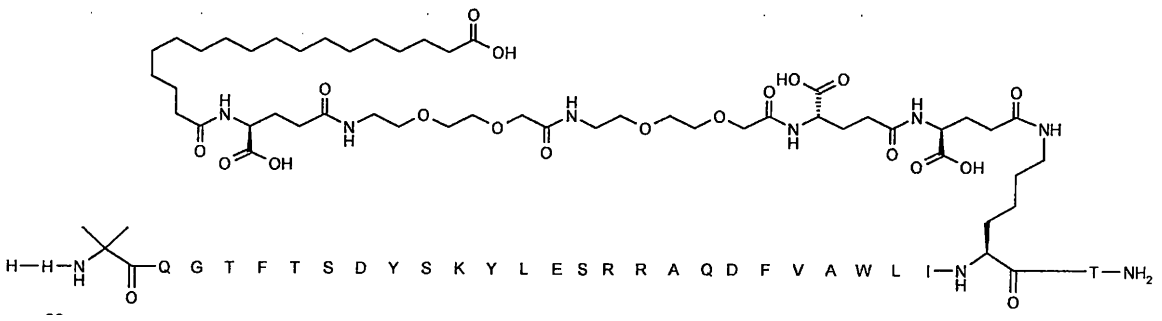
【０５１６】

;N$^{\varepsilon 28}$-[(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,Glu15,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式34:

【０５１７】

【化８８】



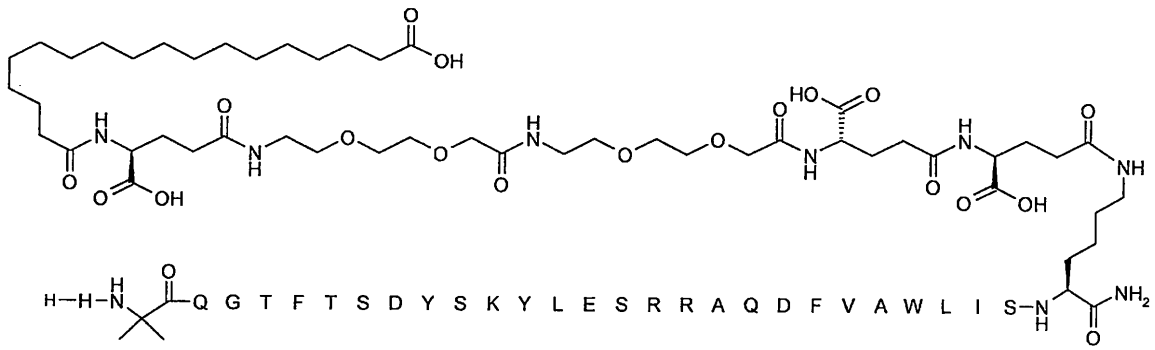
【０５１８】

;N$^{\varepsilon 29}$-[(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,Glu15,Ala24,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式35:

【０５１９】

【化８９】



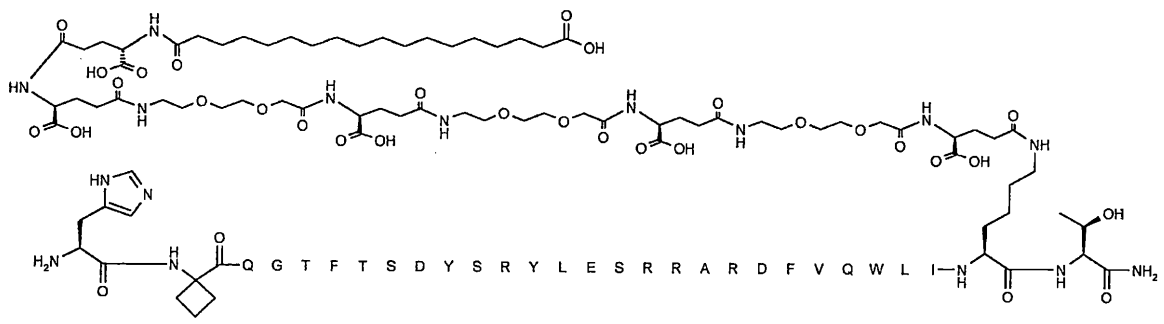
【０５２０】

;N$^{\varepsilon 28}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[(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]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Acb2,Arg12,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式36:

【０５２１】

【化９０】



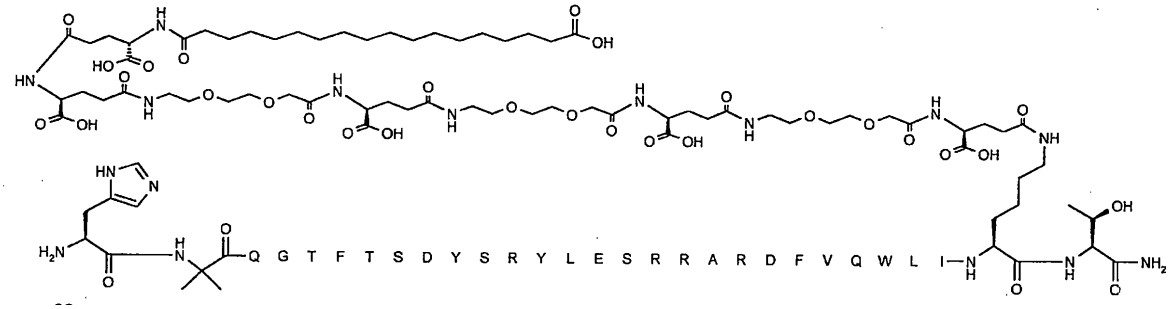
【０５２２】

;N$^{\varepsilon 28}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[(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]エトキシ]エトキシ]アセチル]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]-[Aib2,Arg12,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式37:

【０５２３】

【化９１】



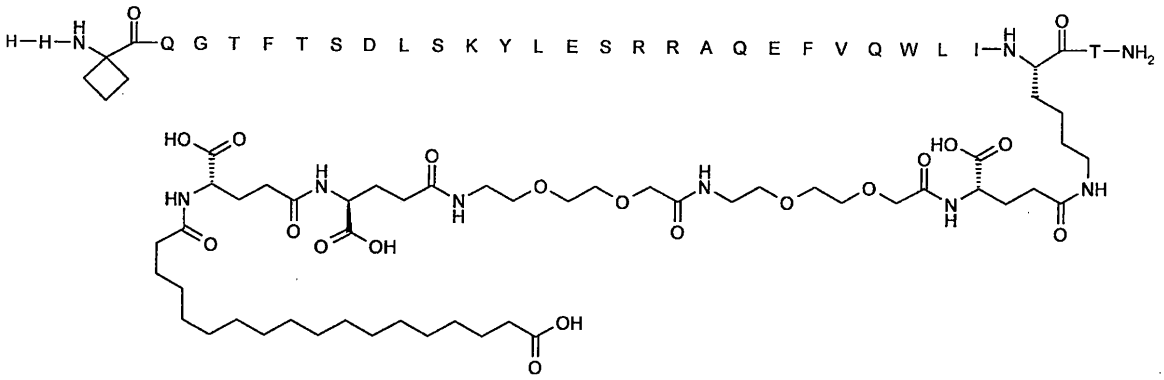
【０５２４】

;N$^{\varepsilon 28}$-[(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]-[Acb2,Leu10,Glu15,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式38:

【０５２５】

【化９２】



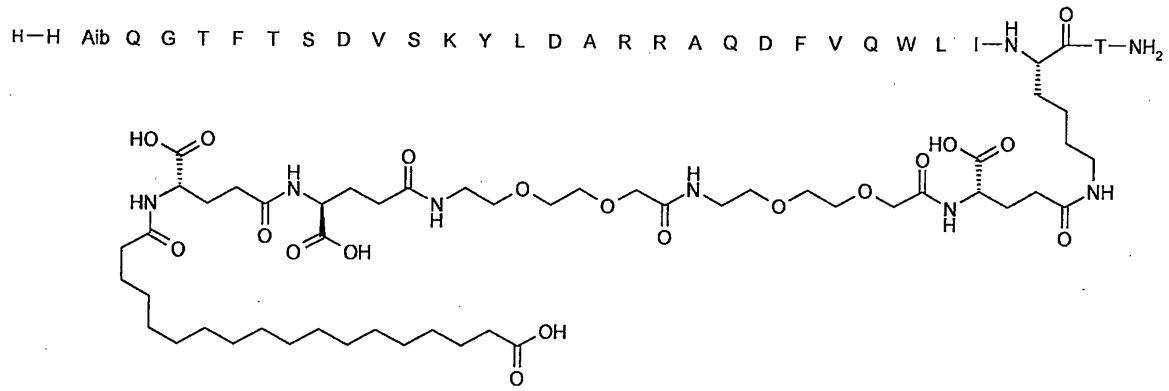
【０５２６】

;N$^{\varepsilon 28}$-[(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,Val10,Ala16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式39:

【０５２７】

【化９３】



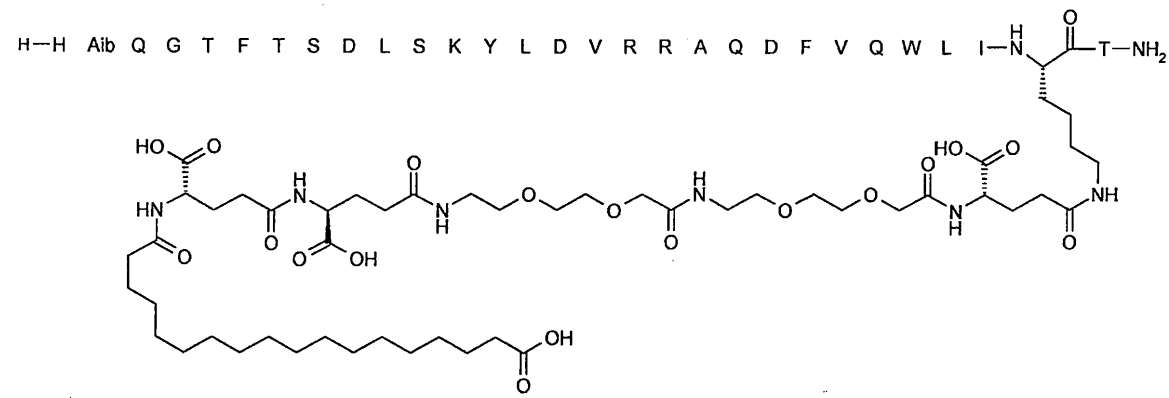
【０５２８】

;及びN$^{\varepsilon 28}$-[(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,Leu10,Val16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式40:

【０５２９】

【化９４】



【０５３０】

からなる群から選択される、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５３１】

85.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、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５３２】

86.グルカゴン受容体に対するEC_{50}値とGLP-1受容体に対するEC_{50}との比が、50から100の範囲、20から50の範囲、10から20の範囲又は1から10の範囲等の100から250の範囲である、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５３３】

87.グルカゴン受容体に対するEC_{50}値とGLP-1受容体に対するEC_{50}との比が、50から100の範囲である、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５３４】

88.グルカゴン受容体に対するEC_{50}値とGLP-1受容体に対するEC_{50}との比が、20から50の範囲である、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５３５】

89.グルカゴン受容体に対するEC_{50}値とGLP-1受容体に対するEC_{50}との比が、10から20の範囲である、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５３６】

90.グルカゴン受容体に対するEC_{50}値とGLP-1受容体に対するEC_{50}との比が、1から10の範囲である、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５３７】

91.グルカゴン受容体に対するEC_{50}値とGLP-1受容体に対するEC_{50}との比が、1から10の範囲である、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５３８】

92.グルカゴン受容体に対して10nM未満のEC_{50}を有する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５３９】

93.グルカゴン受容体に対して1nM未満のEC_{50}を有する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５４０】

94.グルカゴン受容体に対して100pM未満のEC_{50}を有する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５４１】

95.グルカゴン受容体に対して10pM未満のEC_{50}を有する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５４２】

96.GLP-1受容体に対して100pM未満のEC_{50}を有する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５４３】

97.GLP-1受容体に対して50pM未満のEC_{50}を有する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５４４】

98.GLP-1受容体に対して10pM未満のEC_{50}を有する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５４５】

99.グルカゴン受容体よりもGLP-1受容体に対して低いEC_{50}値を有する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５４６】

100.前記GLP-1受容体に対するEC_{50}を、本明細書に記載したアッセイ(I)(a)に従って測定する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５４７】

101.前記グルカゴン受容体に対するEC_{50}を、本明細書に記載したアッセイ(I)(b)に従って測定する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５４８】

102.ThT原線維形成アッセイにおいて70%超の回収率を有する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５４９】

103.ThT原線維形成アッセイにおいて90%超の回収率を有する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５５０】

104.ThT原線維形成アッセイにおいて約100%の回収率を有する、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５５１】

105.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、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５５２】

106.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、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５５３】
107.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、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０５５４】
108.前記ThT原線維形成アッセイが本明細書に記載したアッセイ(III)である、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０５５５】
109.化学的安定性アッセイにおいて14%未満が分解している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０５５６】
110.化学的安定性アッセイにおいて13%未満が分解している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０５５７】
111.化学的安定性アッセイにおいて12%未満が分解している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０５５８】
112.化学的安定性アッセイにおいて10%未満が分解している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０５５９】
113.化学的安定性アッセイにおいて9%未満が分解している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０５６０】
114.化学的安定性アッセイにおいて7%未満が分解している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０５６１】
115.化学的安定性アッセイにおいて5%未満が分解している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０５６２】
116.化学的安定性アッセイにおいて3%未満が分解している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０５６３】
117.化学的安定性アッセイにおいて2%未満が分解している、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０５６４】
118.前記化学的安定性アッセイが本明細書に記載したアッセイ(V)である、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０５６５】
119.DPPIV保護化合物である、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０５６６】
120.DPPIV安定化化合物である、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０５６７】
121.1種若しくは複数の追加の治療上有効な化合物、例えばGLP-1化合物と、又はインスリン化合物と組み合わされた上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０５６８】
122.GLP-1化合物と組み合わされた上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０５６９】
123.インスリン化合物と組み合わされた上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカ

ゴン誘導体。

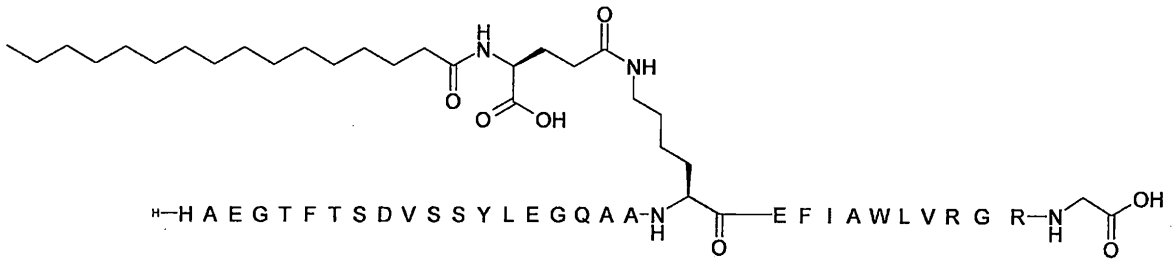
【０５７０】

124.GLP-1化合物が、

N-ε26-((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):

【０５７１】

【化９５】



(化合物 G1)

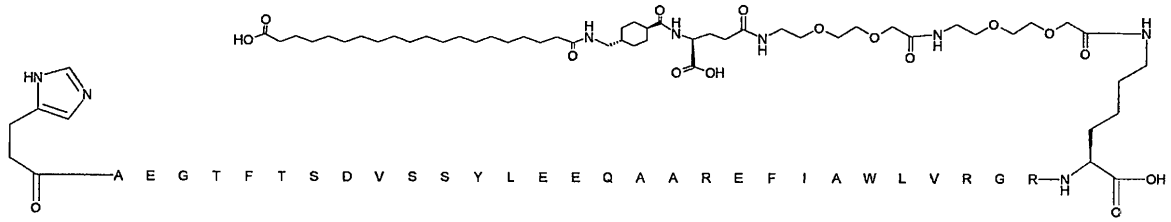
【０５７２】

(化合物G1);

N-ε37-[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][デスアミノHis7,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]GLP-1-(7-37):

【０５７３】

【化９６】



(化合物 G2)

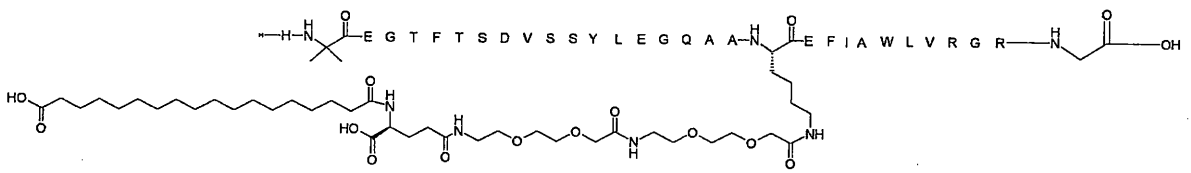
【０５７４】

(化合物G2);

N-ε26-[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):

【０５７５】

【化９７】



(化合物 G3)

【０５７６】

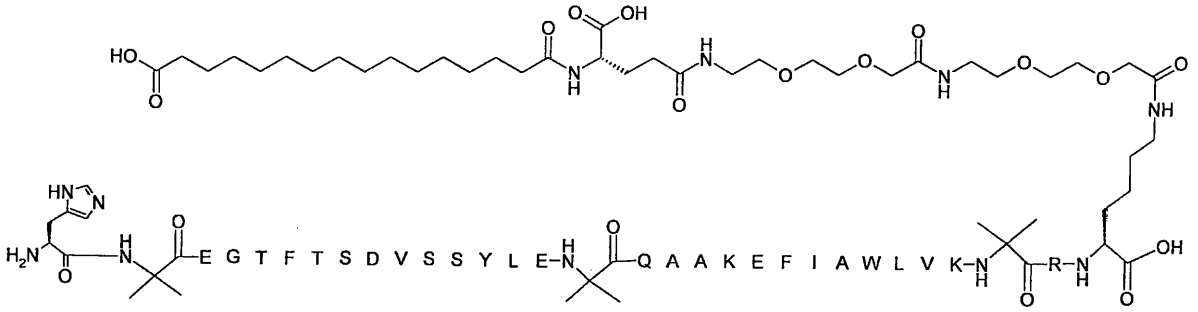
(化合物G3);

N-ε37-[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):

【０５７７】

【化９８】



(化合物 G4)

【０５７８】

(化合物G4);

及びこれらの薬学的に許容される塩、アミド、アルキル又はエステル

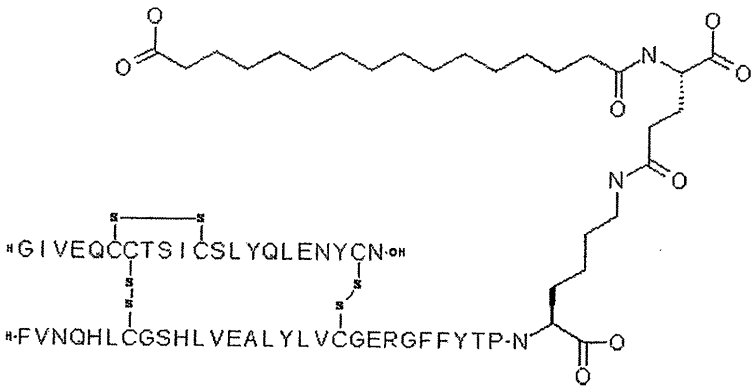
からなる群から選択される、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５７９】

125.インスリン化合物がN-イプシロン-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]desB30ヒトインスリン

【０５８０】

【化９９】



(化合物 G5)

【０５８１】

である、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。

【０５８２】

126.上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体と、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。

【０５８３】

127.1種又は複数の追加の治療上有効な化合物又は物質を更に含む上記の実施形態に記載の医薬組成物。

【０５８４】

128.前記追加の治療上有効な化合物がGLP-1化合物又はインスリン化合物である、上記の実施形態のいずれか一つに記載の医薬組成物。

【０５８５】

129.前記追加の治療上有効な化合物がGLP-1化合物である、上記の実施形態のいずれか一つに記載の医薬組成物。

【０５８６】

130.前記追加の治療上有効な化合物がインスリン化合物である、上記の実施形態のいずれか一つに記載の医薬組成物。

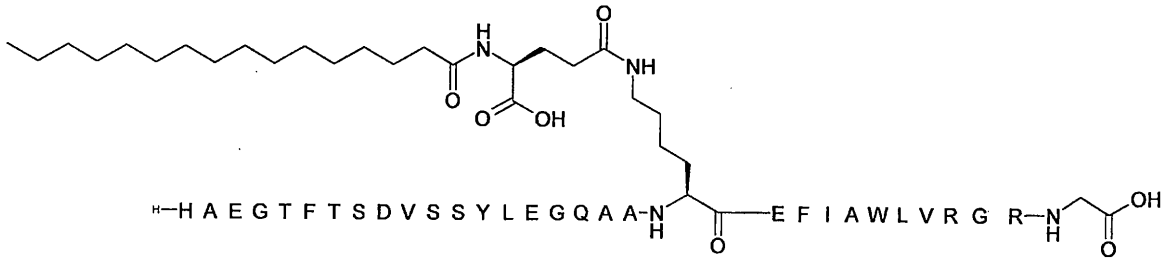
【０５８７】

131.GLP-1化合物が、

N-ε26-((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)(化合物G1):

【０５８８】

【化１００】

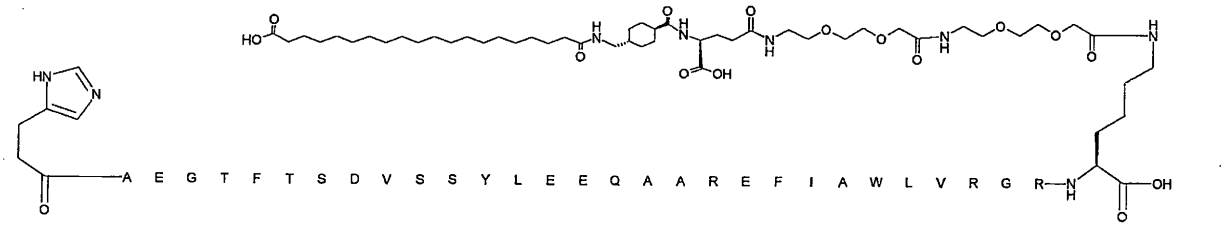


【０５８９】

;N-ε37-[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][デスアミノHis7,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]GLP-1-(7-37)(化合物G2):

【０５９０】

【化１０１】

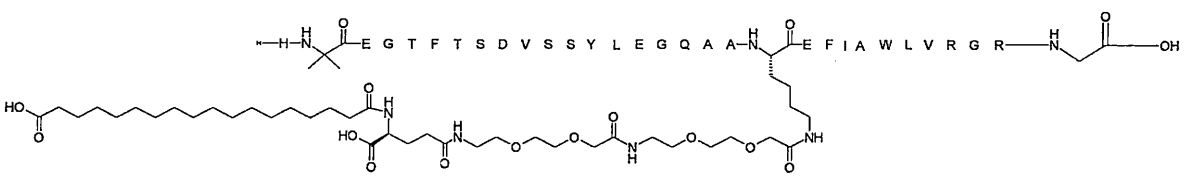


【０５９１】

;N-ε26-[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)(化合物G3):

【０５９２】

【化１０２】

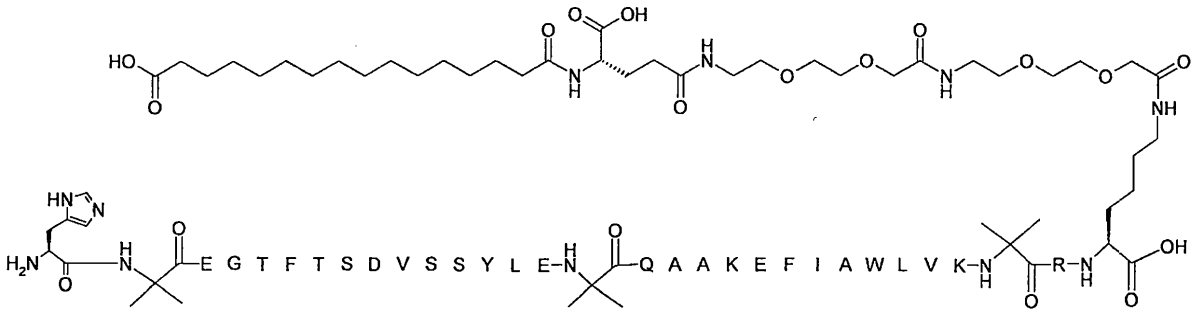


【０５９３】

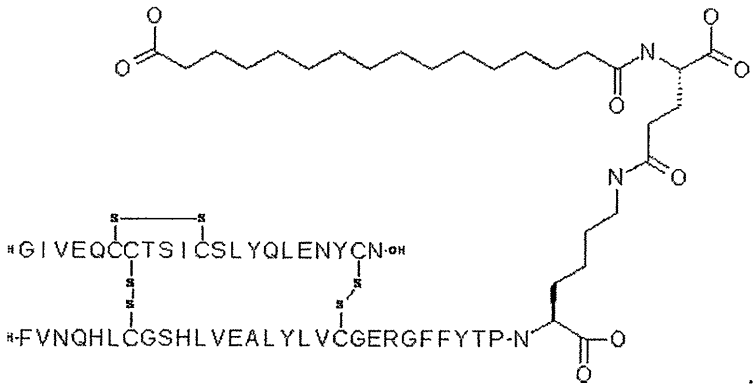
;及び

N-ε37-[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)
(化合物G4):
【０５９４】
【化１０３】



【０５９５】
及びこれらの薬学的に許容される塩、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、上記の実施形態のいずれか一つに記載の医薬組成物。
【０５９６】
132.インスリン化合物がN-イプシロン-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]desB30ヒトインスリン(化合物G5):
【０５９７】
【化１０４】



【０５９８】
である、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０５９９】
133.上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体を約0.01mgから約1000mg、例えば約0.1mgから約500mg、約0.5mgから約5mg、例えば約0.5mgから約200mg含む単位剤形である上記の実施形態のいずれか一つに記載の医薬組成物。
【０６００】
134.非経口投与に適している上記の実施形態のいずれか一つに記載の医薬組成物。
【０６０１】
135.医療で使用するための、任意選択で1種又は複数の追加の治療上有効な化合物と組み合わされた、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０６０２】
136.肥満、高血糖、2型糖尿病、耐糖能障害及び/又は1型糖尿病の処置又は予防で使用するための、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０６０３】
137.肥満の処置又は予防で使用するための、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグ

ルカゴン誘導体。
【０６０４】
138.高血糖、2型糖尿病、耐糖能障害及び/又は1型糖尿病の処置又は予防で使用するための、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０６０５】
139.肥満の処置若しくは予防又は過体重の予防で使用するための、食物摂取の低減で使用するための、エネルギー消費の増大で使用するための、食欲の制御で使用するための、満腹感の誘導で使用するための、体重減少の成功後の体重の再増加の予防で使用するための、過体重若しくは肥満に関連する疾患若しくは状態の処置で使用するための、過食症の処置で使用するための、及び/又は過食の処置で使用するための、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０６０６】
140.2型糖尿病の処置若しくは予防で使用するための、耐糖能障害の処置で使用するための、2型糖尿病での疾患進行の遅延若しくは予防で使用するための、耐糖能障害(IGT)から2型糖尿病への進行の遅延で使用するための、及び/又は2型糖尿病からインスリン要求性糖尿病への進行の遅延で使用するための、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０６０７】
141.粥状動脈硬化、高血圧、脂質異常症、冠動脈心疾患及び/又は脂肪肝の処置又は予防で使用するための、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体。
【０６０８】
142.任意選択で1種又は複数の追加の治療上有効な化合物と組み合わされた、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体の有効な量を、それを必要とする患者に投与する工程を含む、肥満を処置する又は過体重を予防する方法。
【０６０９】
143.任意選択で1種又は複数の追加の治療上有効な化合物と組み合わされた、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体の有効な量を、それを必要とする患者に投与する工程を含む、肥満を処置する若しくは過体重を予防する、食物摂取を低減させる、エネルギー消費を増大させる、体重を減少させる、食欲を制御する、満腹感を誘導する、体重減少の成功後の体重の再増加を予防する、過体重若しくは肥満に関連する疾患若しくは状態を処置する、過食症を処置する、及び/又は過食を処置する方法。
【０６１０】
144.任意選択で1種又は複数の追加の治療上有効な化合物と組み合わされた、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体の有効な量を、それを必要とする患者に投与する工程を含む、2型糖尿病、耐糖能障害を処置する若しくは予防する、2型糖尿病での疾患進行を遅延させる若しくは予防する、耐糖能障害(IGT)から2型糖尿病への進行を遅延させる、及び/又は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方法。
【０６１１】
145.任意選択で1種又は複数の追加の治療上有効な化合物と組み合わされた、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体の有効な量を、それを必要とする患者に投与する工程を含む、粥状動脈硬化を処置する若しくは予防する、高血圧を処置する、脂質異常症を処置する、冠動脈心疾患を処置する、及び/又は脂肪肝を処置する方法。
【０６１２】
146.薬剤を調製するための、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体の使用。
【０６１３】
147.肥満、高血糖、2型糖尿病、耐糖能障害及び1型糖尿病の処置用の又は予防用の薬剤を調製するための、上記の実施形態のいずれか一つに記載のグルカゴン誘導体の使用。
【実施例】
【０６１４】

下記の実施例を参照して本発明を更に説明するが、下記の実施例は、特許請求の範囲のように本発明の範囲を限定するようには決して意図されていない。

【０６１５】

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

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

10EE:10の乗数(例えば、「10EE(X)」は数字10の(X)乗又は単に数字$10^{(X)}$を意味しており、即ち5×10EE3は5×10^{3}である)

【０６１６】

一般的方法

この章は、樹脂結合ペプチドを合成する方法(SPPS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このペプチドを精製する方法を含む)、並びに得られたペプチドを検出する及びキャラクタライズする方法(LCMS法及びUPLC法)に関する。

【０６１７】

SPPSの一般的方法

使用したFmoc保護アミノ酸誘導体は、例えばAnaspec社、Bachem社、Iris Biotech社又はNovabioChem社から供給される標準推奨: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。

【０６１８】

Protein Technologies社(Tucson、AZ 85714 U.S.A.)のPrelude Solid Phase Peptide SynthesizerでFmocベースの化学を使用してSPPSを実施した。C末端ペプチドアミドの調製に適した樹脂は、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社:例えば0.62mmol/gを充填)等であった。N末端アルファアミノ基をBocで保護した。

【０６１９】

Fmoc脱保護をNMP中の20%ピペリジンで達成した。ペプチドカップリングを、予め活性化させることなくDIC/HOAt/コリジン又はDIC/Oxyma Pure/コリジンを使用して実施した。アミノ酸/HOAt溶液又はアミノ酸/Oxyma Pure溶液(3～10倍のモル過剰でNMP中に0.3M/0.3M)を樹脂に添加し、続いて同モル当量のDIC(NMP中に3M)を添加し、続いてコリジン(NMP中に3M)を添加した。例えば、下記のスケール反応に関するカップリング当たり下記の量の0.3

Mアミノ酸/HOAt溶液を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。樹脂をHFIP/DCM(75:25)(2回×2分)で洗浄し、DCMで洗浄し、樹脂をHFIP/DCM(75:25)(2回×20分)中に懸濁させ、その後、ピペリジン/NMP(20:80)、DCM(1回)、NMP(1回)、DCM(1回)、NMP(1回)で順に洗浄することにより、Mtt基を除去する。

【０６２０】

リシンのイプシロン窒素上での置換基の導入を、Mttで保護したリシン{Fmoc-Lys(Mtt)-OH}を使用して達成する。同様に、オルニチン側鎖上に側鎖が存在する場合、アシル化されるオルニチンのデルタアミノ基をMttで保護した{例えばFmoc-Orn(Mtt)-OH}。或いは、リシンのイプシロン窒素をivDde基で保護してもよい{Fmoc-Lys(ivDde)-OH}。同様に、オルニチンのデルタアミノ基をivDde基で保護してもよい{Fmoc-Lys(ivDde)-OH}。側鎖でのガンマ-Glu部分の組み込みを、アミノ酸Fmoc-Glu-OtBuとのカップリングにより達成した。

【０６２１】

長期にわたるカップリング時間(1回×6時間)を使用し、続いて無水酢酸で或いは酢酸/DIC/HOAt/コリジンでキャップすることにより、側鎖での各部分の導入を達成することができる。NMP中の無水酢酸(10当量)及びコリジン(20当量)を使用して、置換基上の末端窒素のアセチル化を達成する。

【０６２２】

置換基の付着

アミノ酸及び脂肪酸誘導体がFmoc-Ado-OH、Fmoc-Glu-OtBu及びオクタデカン二酸モノ-tert-ブチルエステル(又は類似体C8、C10、C12-、C14～C16-、C20-二酸モノ-tert-ブチルエステル)を含む改変を有する、適切に保護された構成単位を使用して、上に記載したPreludeペプチド合成機により段階的手順で置換基を導入することができる。各カップリング工程後、無水酢酸及びコリジンを過剰(>10当量)に使用して、未反応のペプチド中間体をキャップすることができる。

【０６２３】

樹脂からの切断

合成後、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。

【０６２４】

精製及び定量化

粗ペプチドを水/MeCN(4:1)等の水及びMeCNの適切な混合物に溶解させ、C18-シリカゲルが入ったカラムによる逆相分取HPLC(Waters社のDeltaprep 4000又はGilson社)で精製する。0.1%TFAを含む水中でのMeCNの上昇勾配で溶出を実施する。関連する画分を分析HPLC又は分析UPLCでチェックする。純粋な標的ペプチドを含む画分を混合し、減圧下で濃縮する。得られた溶液を分析し(HPLC、LCMS)、化学発光窒素特異的HPLC検出器(Antek社の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り、生成物を定量化する。この生成物をガラスバイアルに分注する。これらのバイアルに、Millipore社のガラス繊維プレフィルタでキャップする。凍結乾燥により、ペプチドトリフルオロ酢酸塩を白色固体として得る。

【０６２５】

検出及びキャラクタリゼーションの方法

LCMS法

【０６２６】

【表２】

方法:LCMS01v01

システム	LC-システム:Waters 社の Acquity UPLC カラム:Waters 社の Acquity UPLC BEH、C-18、1.7μm、2.1mm×50mm 検出器:Waters 社(Micromass) LCT Premier XE
検出器の設定	イオン化法:ES 走査範囲:500～2000amu 動作モード:W モード 陽性/陰性:陽性モード コーン電圧:50V 走査時間 1.0 秒
条件	直線勾配:5%から 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℃
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
結果の詳細及び検証	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

【０６２７】

【表３】

方法:LCMS13v01

システム	システム:Waters 社　Acquity UPLC SQD 2000 カラム:Acquity UPLC BEH 1.7μ　C18 100Å　2.1×100mm 検出器:UV:PDA、SQD 2000
検出器の設定	イオン化法:ES+ 走査範囲:500～2000 コーン電圧:60V 走査時間 0.5 秒
条件	直線勾配:10%から 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℃ PDA:210～400nm
溶離液	溶媒 A:99.90%H2O、0.1%TFA 溶媒 B:99.90%CH3CN、0.1%TFA 溶媒 C:NA
結果の詳細及び検証	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

【０６２８】

UPLC法

【０６２９】

【表４】

方法:UPLC01v01

システム	システム:Waters 社の 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 社の Acquity TUV 検出器
検出器の設定	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

【０６３０】

【表５】

方法:UPLC02v01

システム	システム:Waters 社の 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 社の Acquity TUV 検出器
検出器の設定	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

【０６３１】

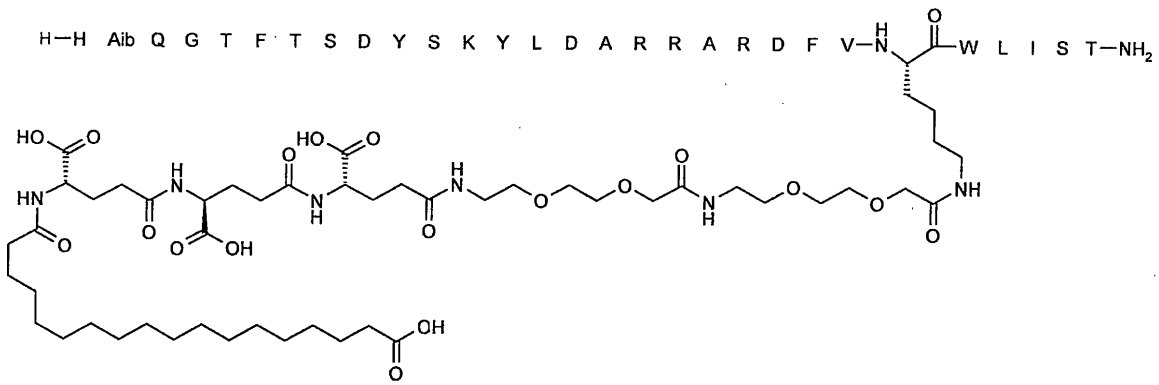
(実施例1)

$N^{\varepsilon 24}$-[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,Ala16,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド

化学式1:

【０６３２】

【化１０５】



【０６３３】

UPLC02v01:Rt=8.0分

LCMS13v01:RT=2.2分;m/3=1474;m/4=1106

【０６３４】

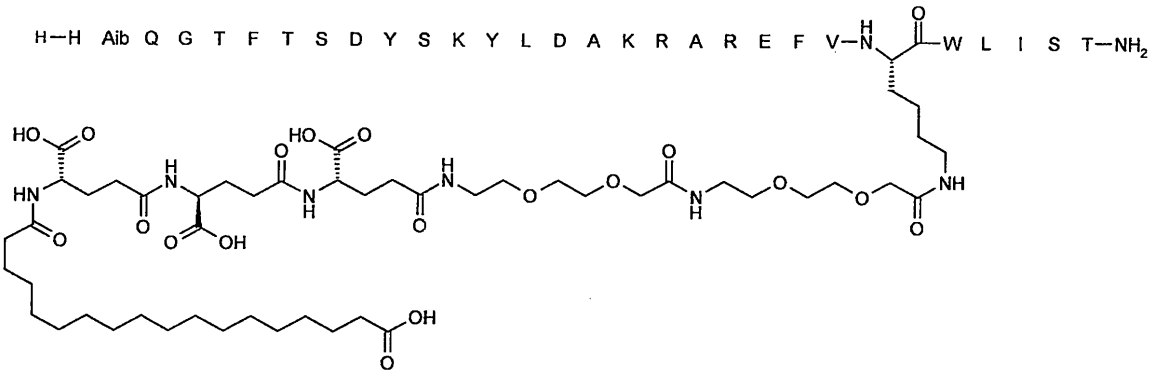
(実施例2)

$N^{\varepsilon 24}$-[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,Ala16,Lys17,Arg20,Glu21,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド

化学式2:

【０６３５】

【化１０６】



【０６３６】

UPLC02v01:Rt=7.9分

LCMS13v01:Rt=2.2分;m/3=1469.6;m/4=1102.8

【０６３７】

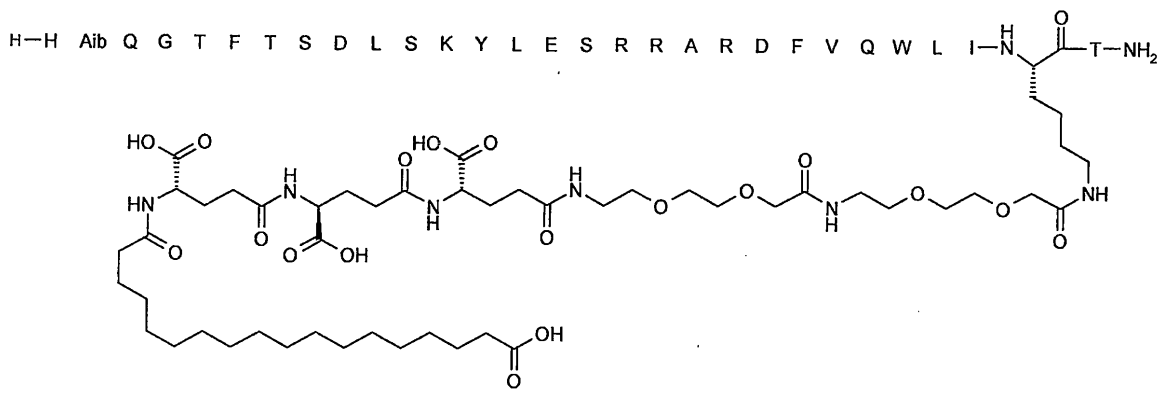
(実施例3)

$N^{\varepsilon 28}$-[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,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式3:

【０６３８】

【化１０７】



【０６３９】

UPLC02v01:Rt=8.0分

LCMS13v01:Rt=2.2分;m/3=1481;m/4=1111

【０６４０】

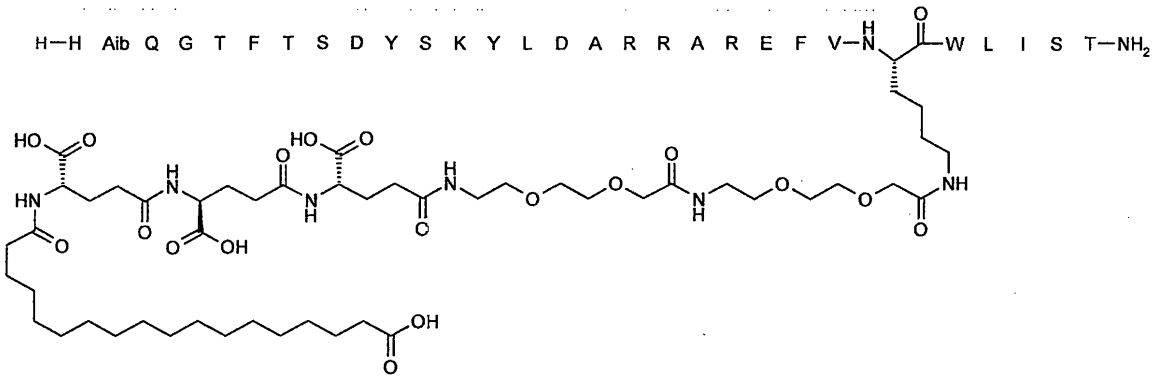
(実施例4)

$N^{\varepsilon 24}$-[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,Ala16,Arg20,Glu21,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド

化学式4:

【０６４１】

【化１０８】



【０６４２】

UPLC02v01:Rt=7.9分

LCMS13v01:Rt=2.2分;m/3=1479;m/4=1109

【０６４３】

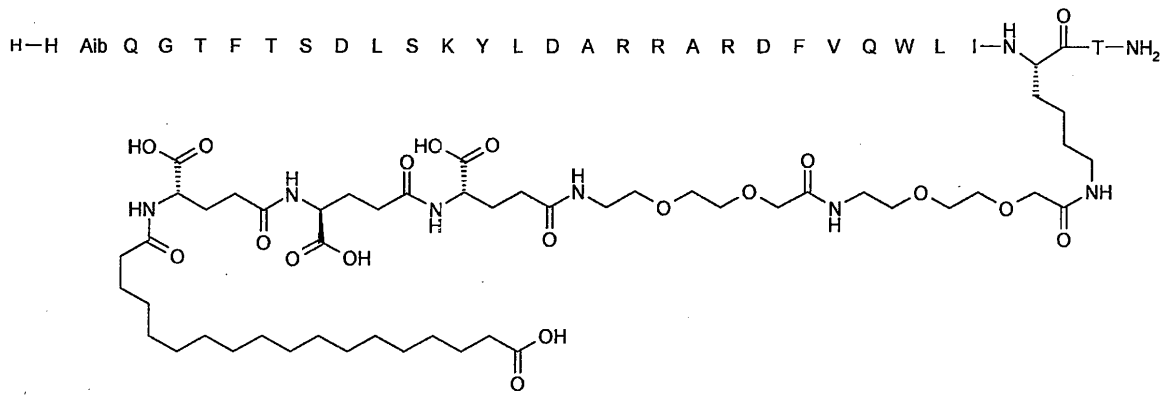
(実施例5)

$N^{\varepsilon 28}$-[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,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式5:

【０６４４】

【化１０９】



【０６４５】

UPLC02v01:Rt=8.4分

LCMS13v01:Rt=2.2分;m/3=1471;m/4=1104

【０６４６】

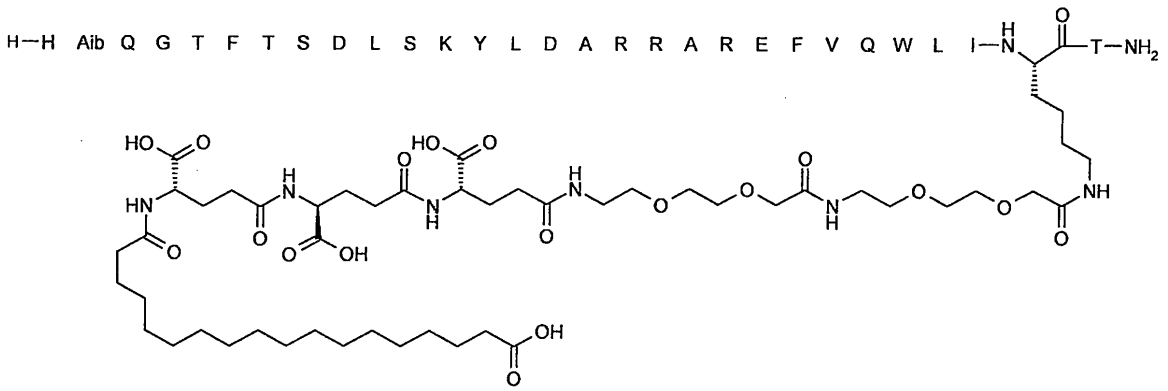
(実施例6)

$N^{\varepsilon 28}$-[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,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式6:

【０６４７】

【化１１０】



【０６４８】

UPLC02v01:Rt=8.4分

LCMS13v01:Rt=2.1分;m/3=1476;m/4=1107

【０６４９】

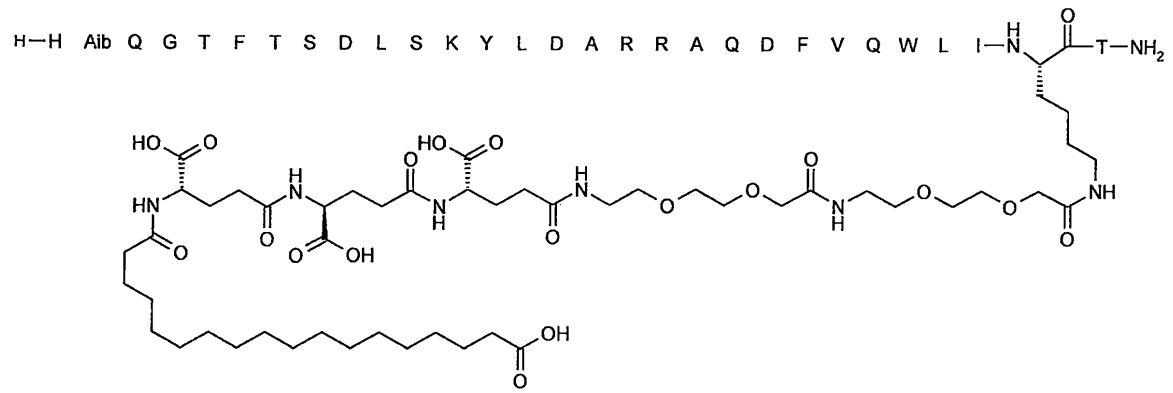
(実施例7)

$N^{\varepsilon 28}$-[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,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式7:

【０６５０】

【化１１１】



【０６５１】

UPLC02v01:Rt=8.6分

LCMS13v01:Rt=2.2分;m/3=1462;m/4=1097

【０６５２】

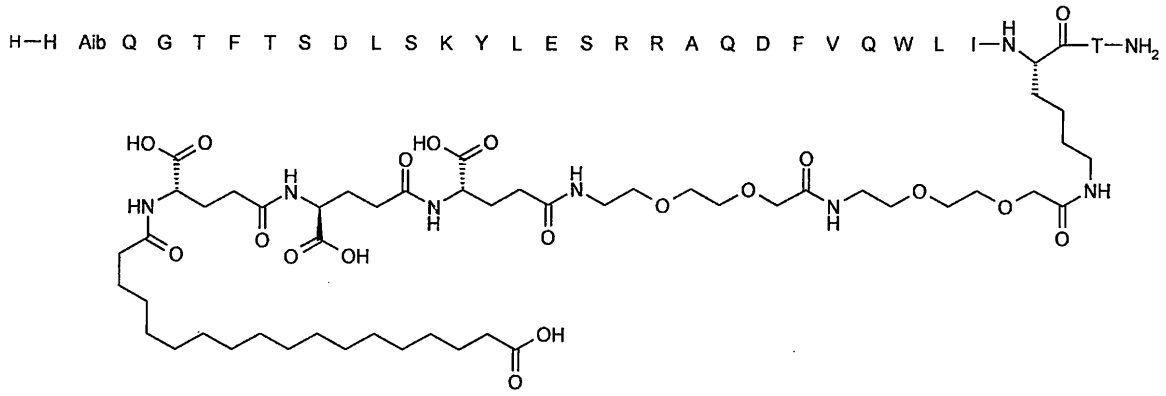
(実施例8)

$N^{\varepsilon 28}$-[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,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式8:

【０６５３】

【化１１２】



【０６５４】

UPLC02v01:Rt=8.4分

LCMS13v01:Rt=2.2分;m/3=1472;m/4=1104

【０６５５】

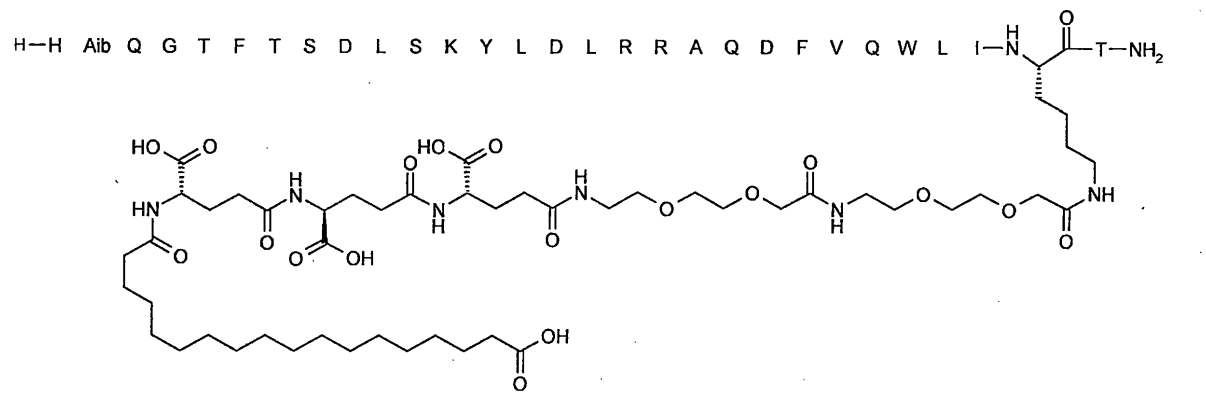
(実施例9)

$N^{\varepsilon 28}$-[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,Leu16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式9:

【０６５６】

【化１１３】



【０６５７】

UPLC02v01:Rt=8.6分

LCMS13v01:Rt=2.2分;m/3=1476;m/4=1107

【０６５８】

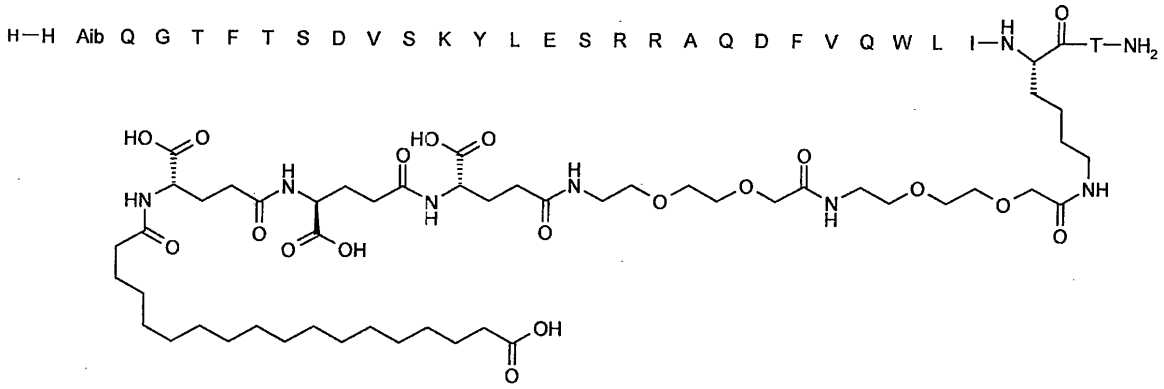
(実施例10)

$N^{\varepsilon 28}$-[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,Val10,Glu15,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式10:

【０６５９】

【化１１４】



【０６６０】

UPLC02v01:Rt=8.5分

LCMS13v01:Rt=2.2分;m/3=1467;m/4=1101

【０６６１】

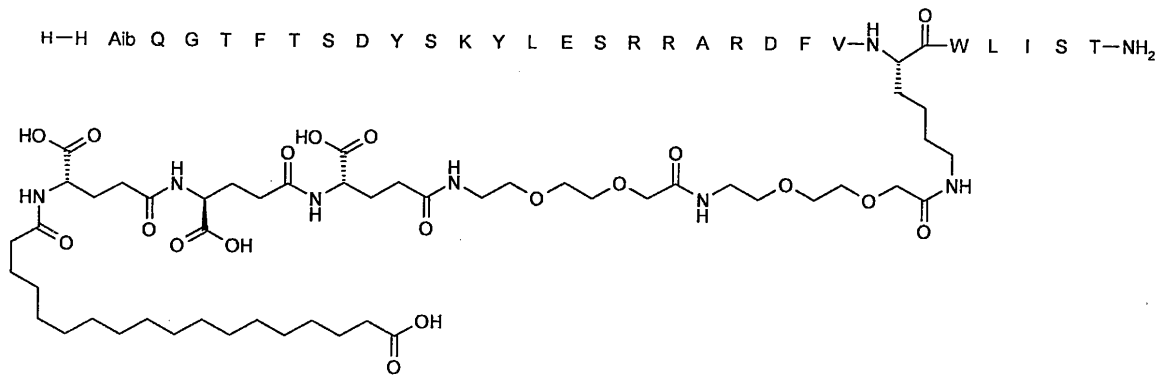
(実施例11)

$N^{\varepsilon 24}$-[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,Glu15,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド

化学式11:

【０６６２】

【化１１５】



【０６６３】

UPLC02v01:RT=8.1分

LCMS13v01:Rt=2.1分;m/3=1484;m/4=1114

【０６６４】

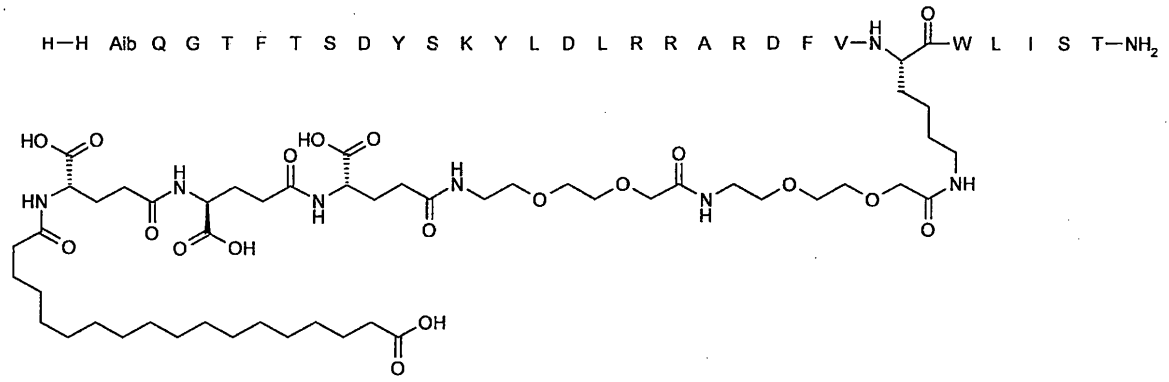
(実施例12)

$N^{\varepsilon 24}$-[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,Leu16,Arg20,Lys24,Ile27,Ser28]-グルカゴンアミド

化学式12:

【０６６５】

【化１１６】



【０６６６】

UPLC02v01:Rt=8.4分

LCMS13v01:Rt=2.2分;m/3=1488;m/4=1117

【０６６７】

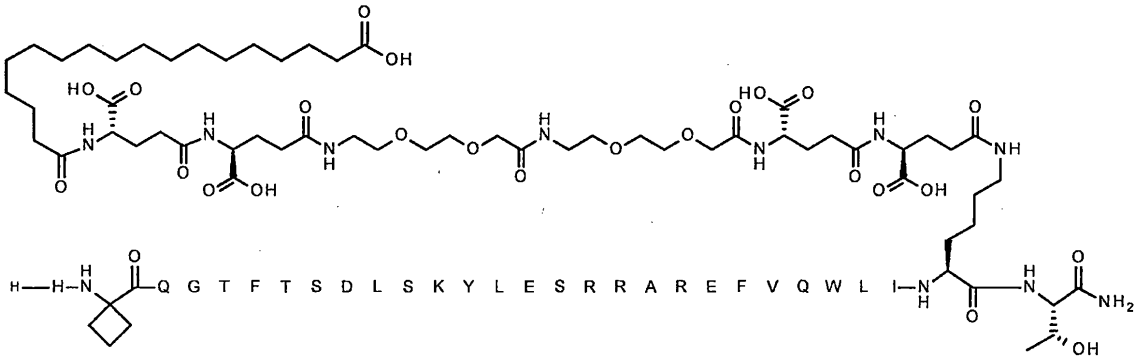
(実施例13)

$N^{\varepsilon 28}$-[(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]-[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式13:

【０６６８】

【化１１７】



【０６６９】

UPLC02v01:Rt=8.1分

LCMS01v01:Rt=2.1分;m/4=1150;m/5=920;m/5=767

【０６７０】

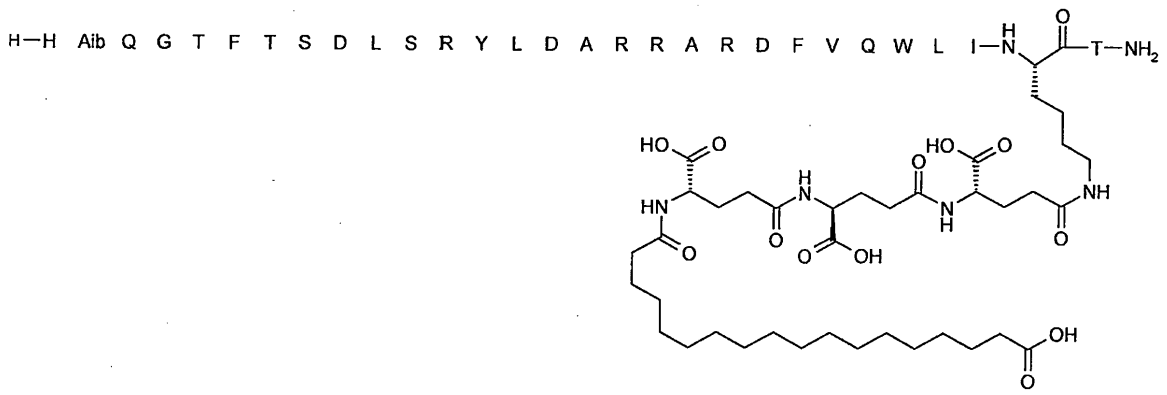
(実施例14)

$N^{\varepsilon 28}$-[(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,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式14:

【０６７１】

【化１１８】



【０６７２】

UPLC02v01:Rt=8.1分

LCMS13v01:Rt=2.2分;m/3=1384;m/4=1038

【０６７３】

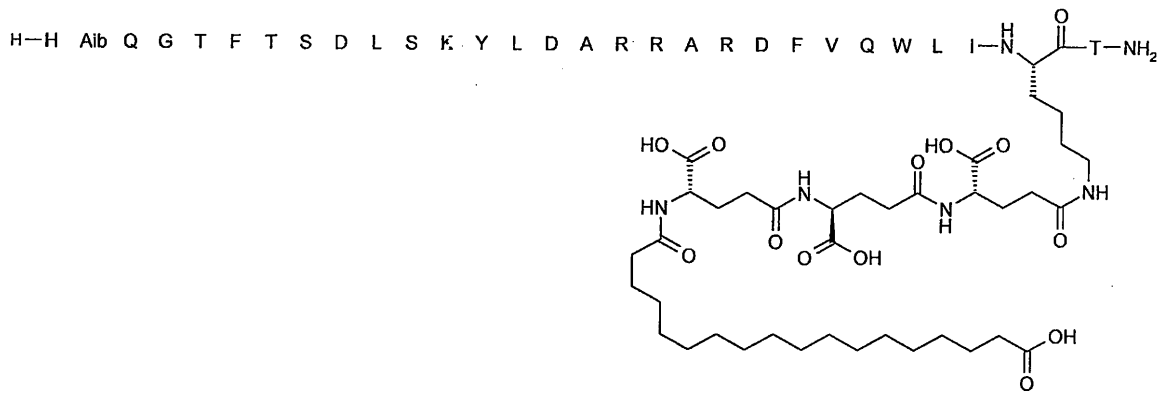
(実施例15)

$N^{\varepsilon 28}$-[(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,Ala16,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式15:

【０６７４】

【化１１９】



【０６７５】

UPLC02v01:Rt=8.1分

LCMS13v01:Rt=2.3分;m/3=1374;m/4=1031

【０６７６】

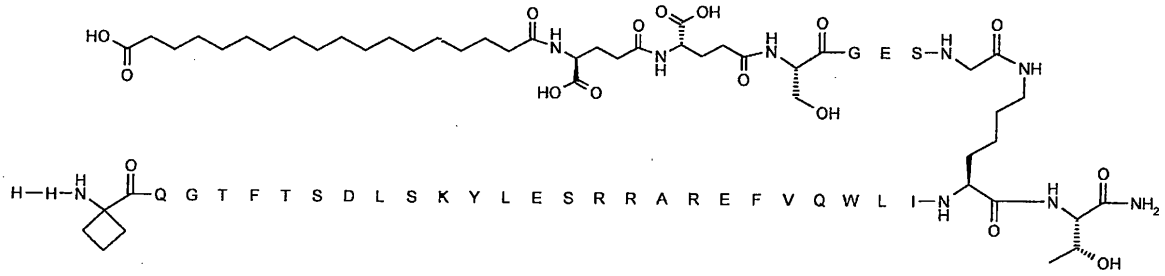
(実施例16)

$N^{\varepsilon 28}$-[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,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式16:

【０６７７】

【化１２０】



【０６７８】

UPLC02v01:Rt=7.9分

LCMS01v01:Rt=2.0分;m/3=1490;m/4=1117;m/5=894

【０６７９】

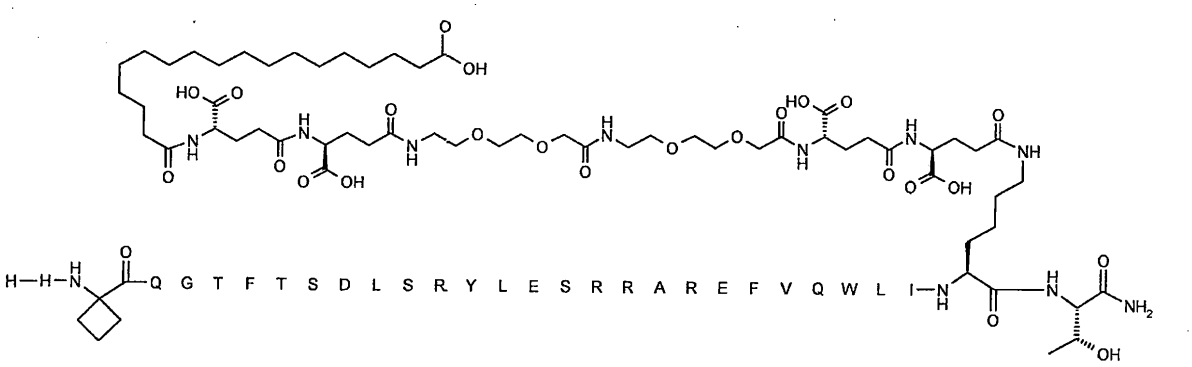
(実施例17)

Nε28-[(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,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式17:

【０６８０】

【化１２１】



【０６８１】

UPLC02v01:Rt=8.0分

LCMS01v01:Rt=2.1分;m/3=1542;m/4=1157;m/5=926

【０６８２】

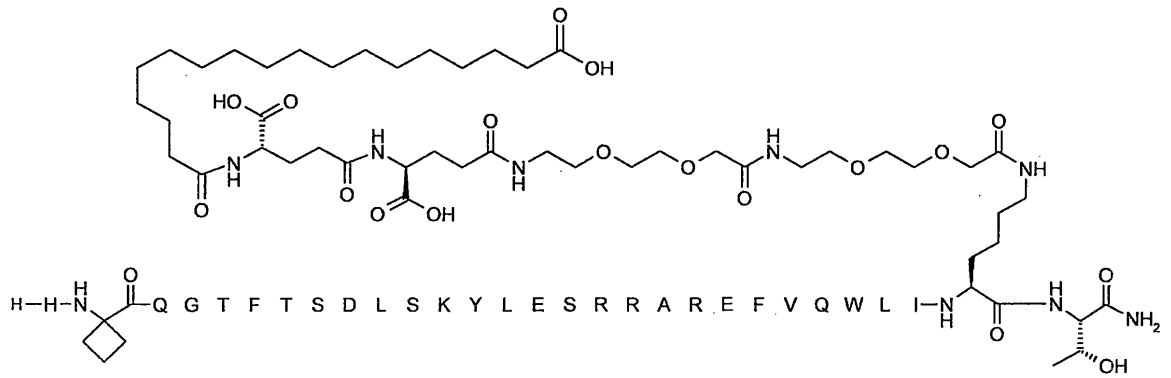
(実施例18)

Nε28-[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]-[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式18:

【０６８３】

【化１２２】



【０６８４】

UPLC02v01:Rt=8.1分

LCMS01v01:Rt=2.0分;m/3=1447;m/4=1086;m/5=869

【０６８５】

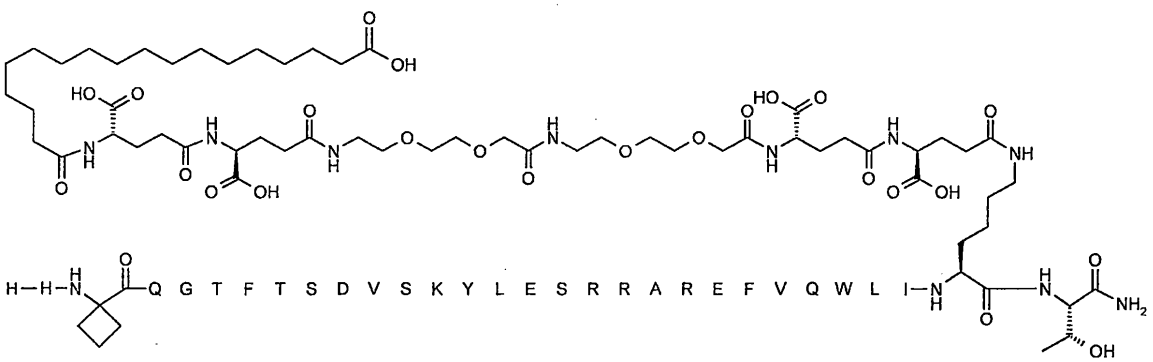
(実施例19)

$N^{\varepsilon 28}$-[(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]-[Acb2,Val10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式19:

【０６８６】

【化１２３】



【０６８７】

UPLC02v01:Rt=7.9分

LCMS01v01:Rt=2.0分;m/3=1528;m/4=1147;m/5=917

【０６８８】

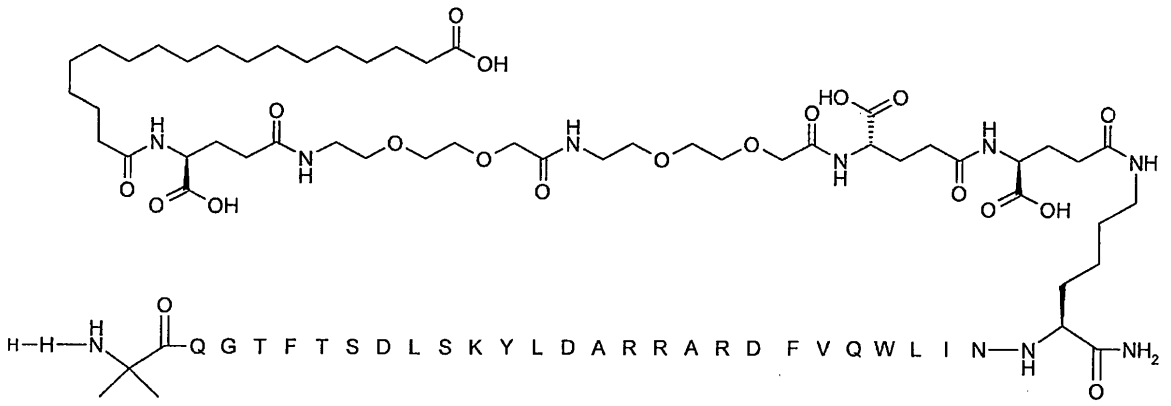
(実施例20)

$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式20:

【０６８９】

【化１２４】



【０６９０】

UPLC02v01:Rt=8.0分

LCMS01v01:Rt=2.2分;m/3=1476;m/4=1107;m/5=886

【０６９１】

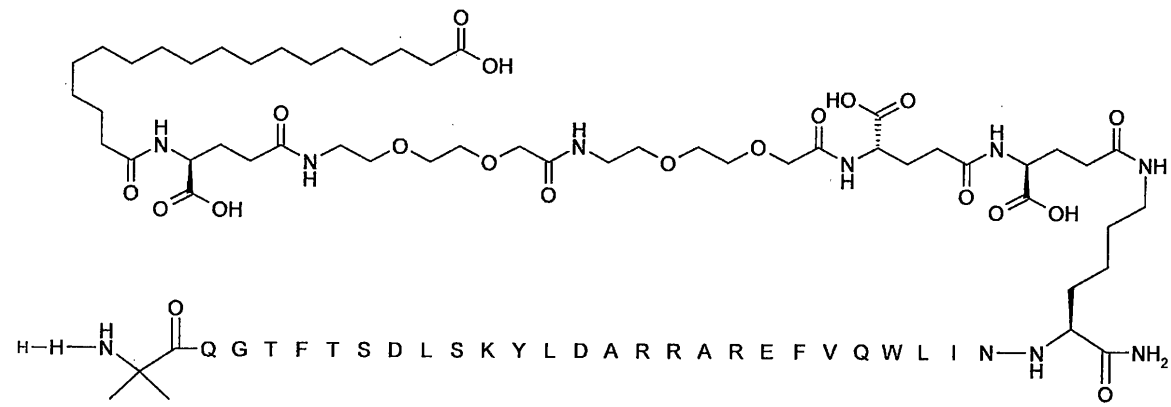
(実施例21)

$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Glu21,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式21:

【０６９２】

【化１２５】



【０６９３】

UPLC02v01:Rt=8.0分

LCMS01v01:Rt=2.1分;m/3=1480;m/4=1111;m/5=889

【０６９４】

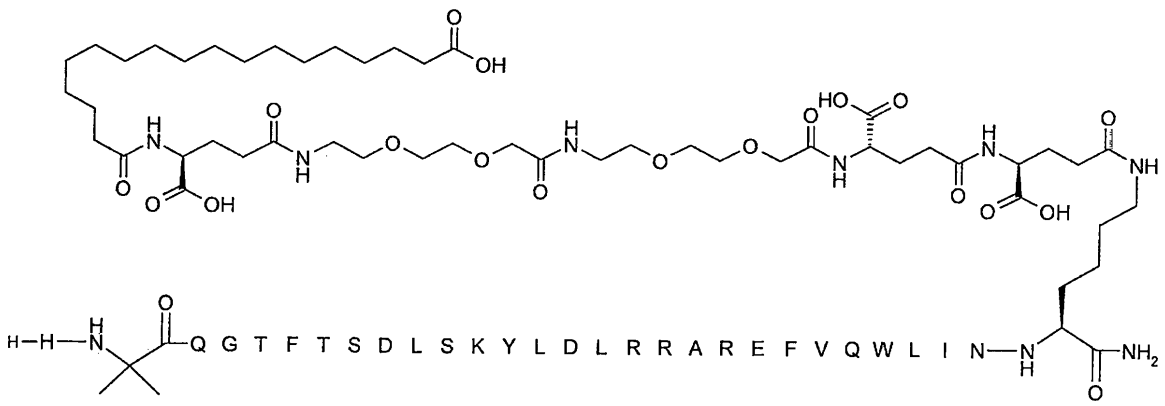
(実施例22)

$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Leu16,Arg20,Glu21,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式22:

【０６９５】

【化１２６】



【０６９６】

UPLC02v01:Rt=8.3分

LCMS01v01:Rt=2.2分;m/3=1494;m/4=1121;m/5=897

【０６９７】

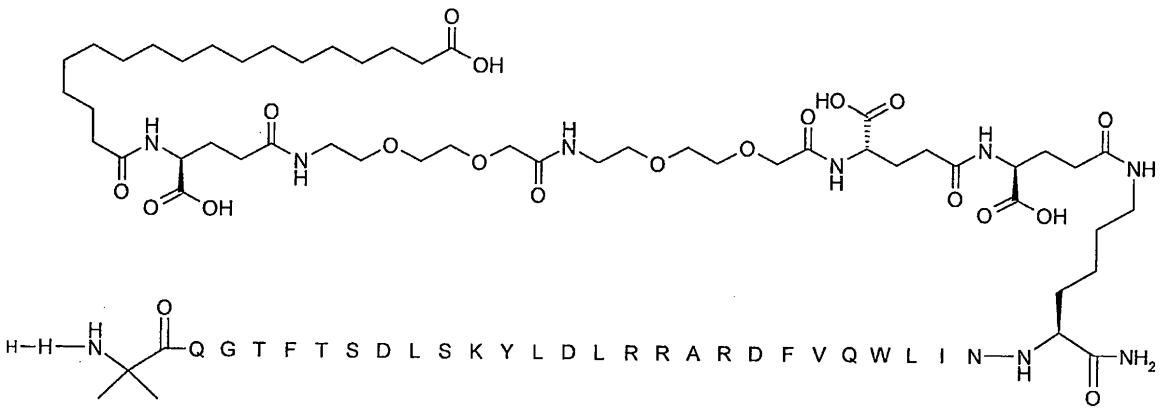
(実施例23)

$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Leu16,Arg20,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式23:

【０６９８】

【化１２７】



【０６９９】

UPLC02v01:Rt=8.2分

LCMS01v01:Rt=2.2分;m/3=1490;m/4=1118;m/5=894

【０７００】

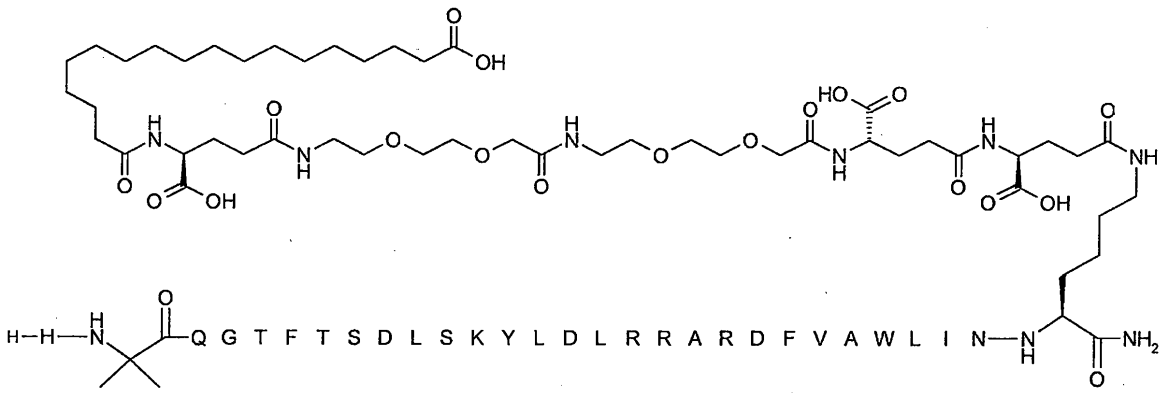
(実施例24)

$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式24:

【０７０１】

【化１２８】



【０７０２】

UPLC02v01:Rt=7.9分

LCMS01v01:Rt=2.1分;m/3=1473;m/4=1105;m/5=884

【０７０３】

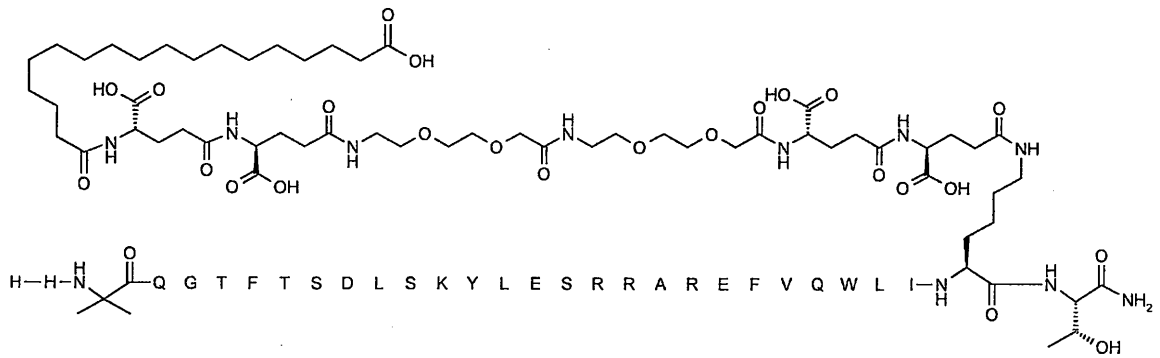
(実施例25)

$N^{\varepsilon 28}$-[(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]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式25:

【０７０４】

【化１２９】



【０７０５】

UPLC02v01:Rt=7.9分

LCMS01v01:Rt=2.0分;m/1=4586;m/3=1529;m/4=1147;m/5=918

【０７０６】

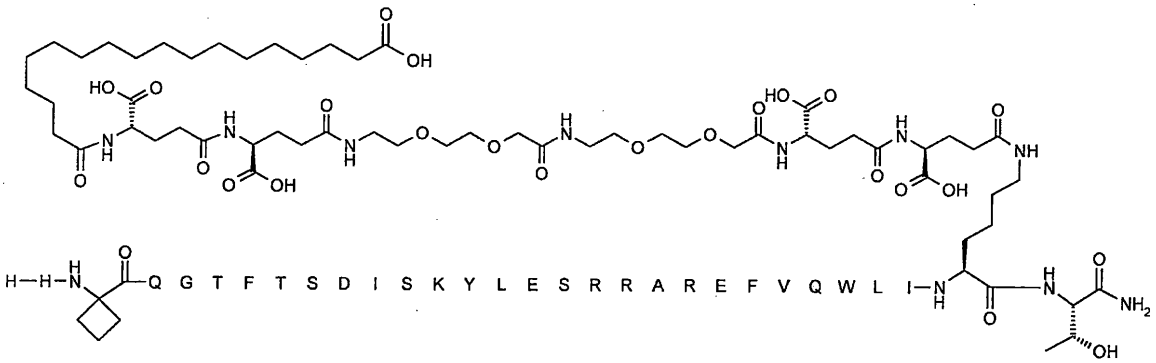
(実施例26)

$N^{\varepsilon 28}$-[(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]-[Acb2,Ile10,Glu15,Arg20,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式26:

【０７０７】

【化１３０】



【０７０８】

UPLC02v01:Rt=7.9分

LCMS01v01:Rt=2.1分;m/3=1533;m/4=1150;m/5=920

【０７０９】

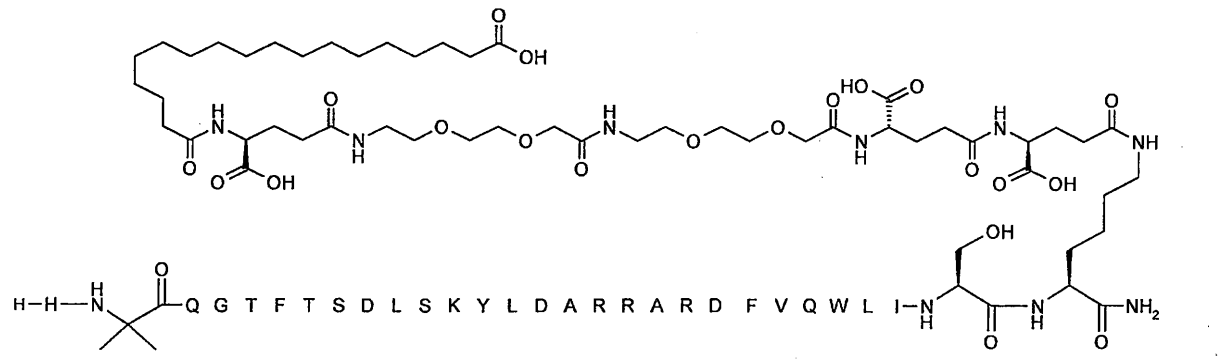
(実施例27)

$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式27:

【０７１０】

【化１３１】



【０７１１】

UPLC02v01:Rt=8.2分

LCMS01v01:Rt=2.2分;m/z=4398;m/3=1466;m/4=1100;m/5=880

【０７１２】

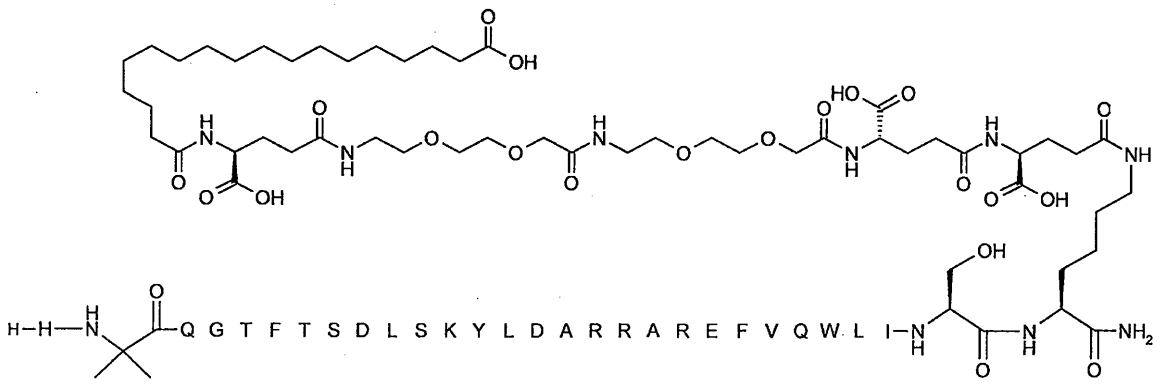
(実施例28)

$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Glu21,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式28:

【０７１３】

【化１３２】



【０７１４】

UPLC02v01:Rt=8.0分

LCMS01v01:Rt=2.2分;m/3=1472;m/4=1104;m/5=884

【０７１５】

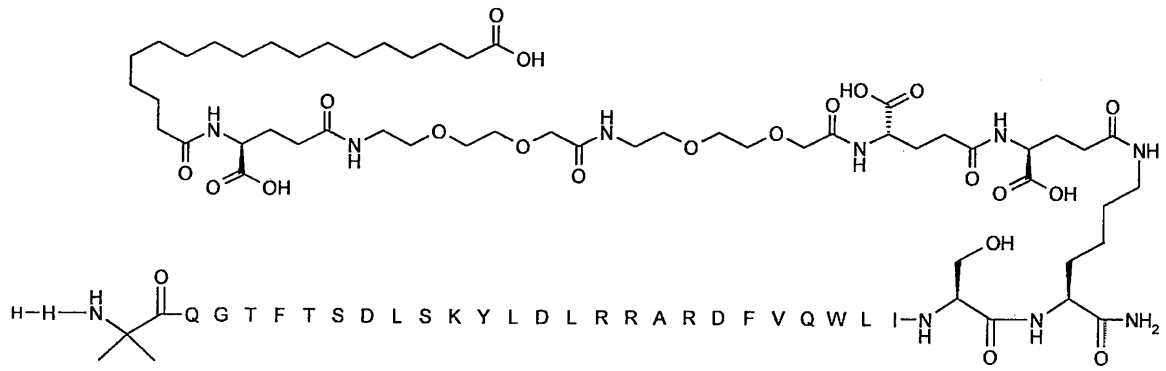
(実施例29)

$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Leu16,Arg20,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式29:

【０７１６】

【化１３３】



【０７１７】

UPLC02v01:Rt=8.3分

LCMS01v01:Rt=2.3分;m/3=1481;m/4=1111;m/5=889

【０７１８】

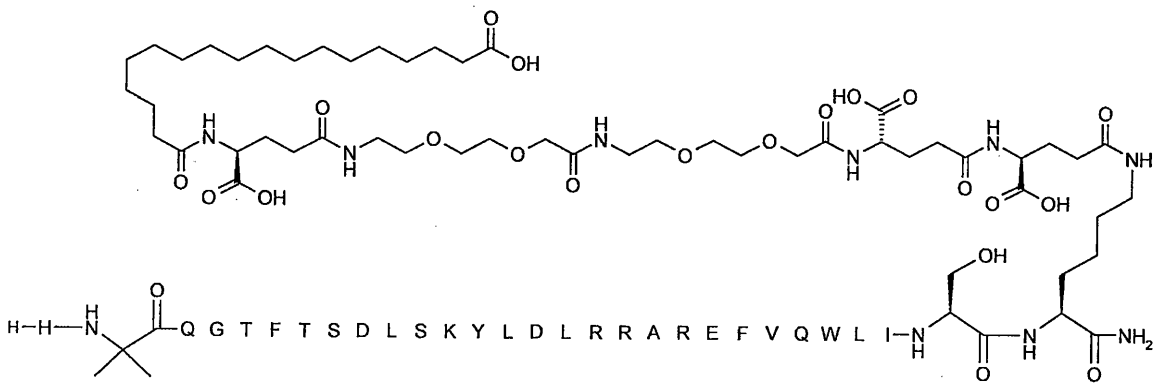
(実施例30)

$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Leu16,Arg20,Glu21,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式30:

【０７１９】

【化１３４】



【０７２０】

UPLC02v01:Rt=8.3分

LCMS01v01:Rt=2.3分;m/3=1485;m/4=1114;m/5=892

【０７２１】

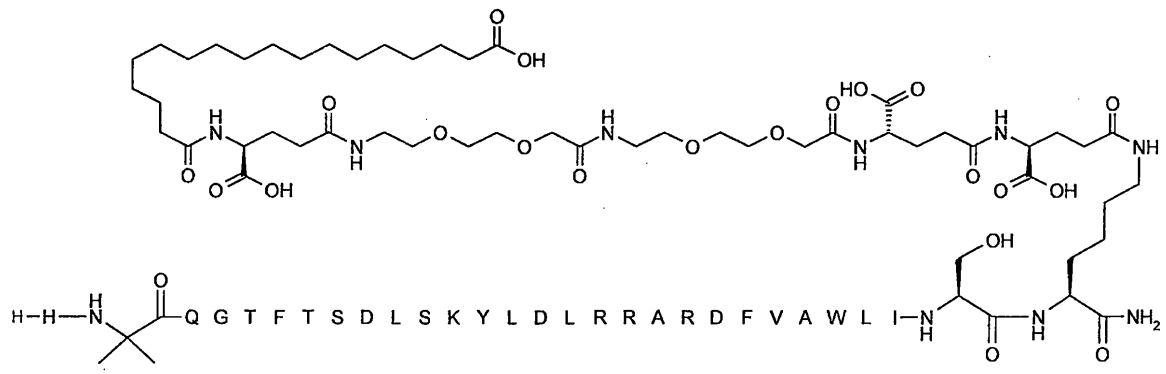
(実施例31)

$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式31:

【０７２２】

【化１３５】



【０７２３】

UPLC02v01:Rt=8.3分

LCMS01v01:Rt=2.3分;m/4=1097;m/5=877

【０７２４】

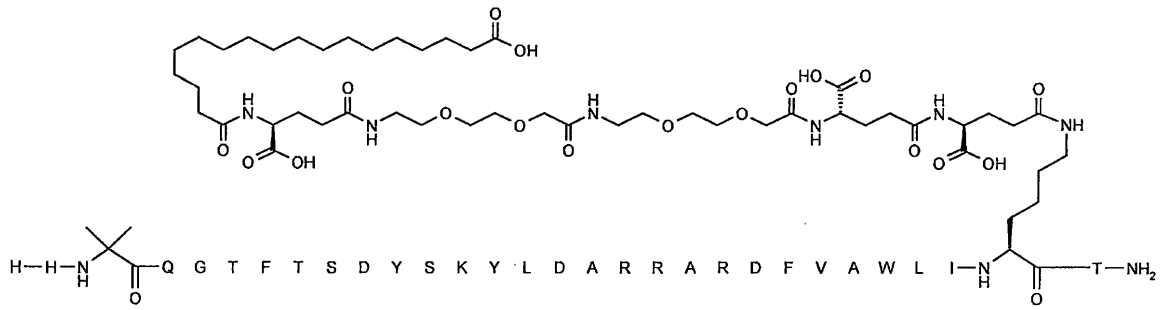
(実施例32)

$N^{\varepsilon 28}$-[(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,Ala16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式32:

【０７２５】

【化１３６】



【０７２６】

UPLC02v01:Rt=8.1分

LCMS01v01:Rt=2.2分;m/3=1469;m/4=1102;m/5=882

【０７２７】

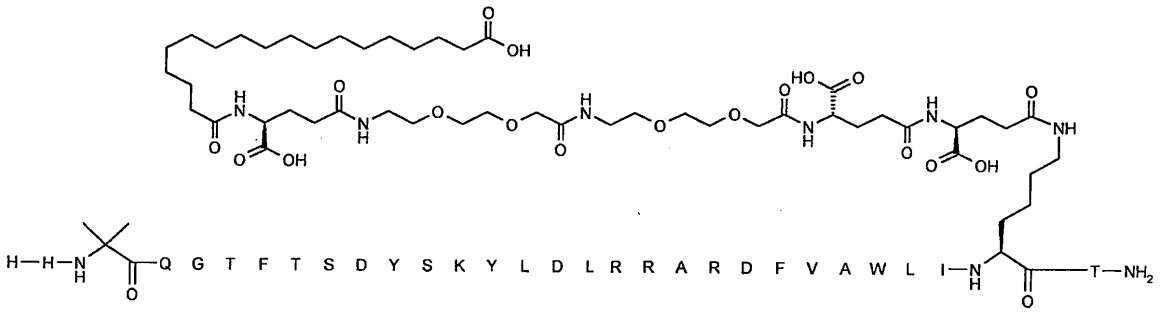
(実施例33)

$N^{\varepsilon 28}$-[(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,Leu16,Arg20,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式33:

【０７２８】

【化１３７】



【０７２９】

UPLC02v01:Rt=8.3分

LCMS01v01:Rt=2.2分;m/3=1483;m/4=1112;m/5=890

【０７３０】

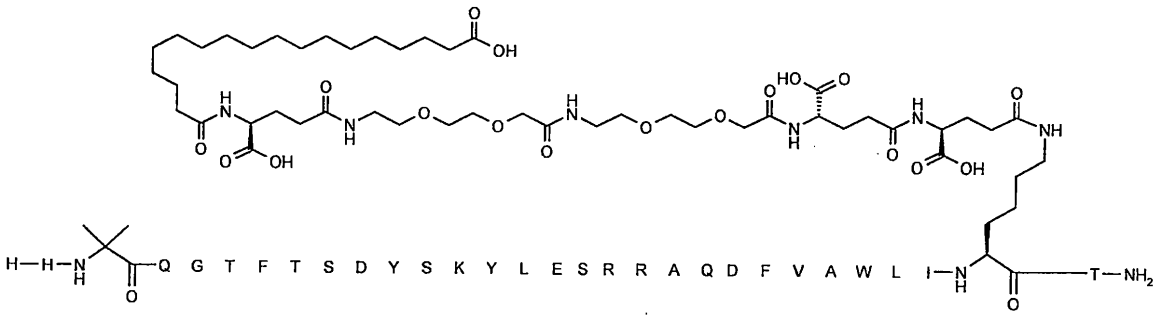
(実施例34)

$N^{\varepsilon 28}$-[(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,Glu15,Ala24,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式34:

【０７３１】

【化１３８】



【０７３２】

UPLC02v01:Rt=8.2分

LCMS01v01:Rt=2.3分;m/3=1469;m/4=1103

【０７３３】

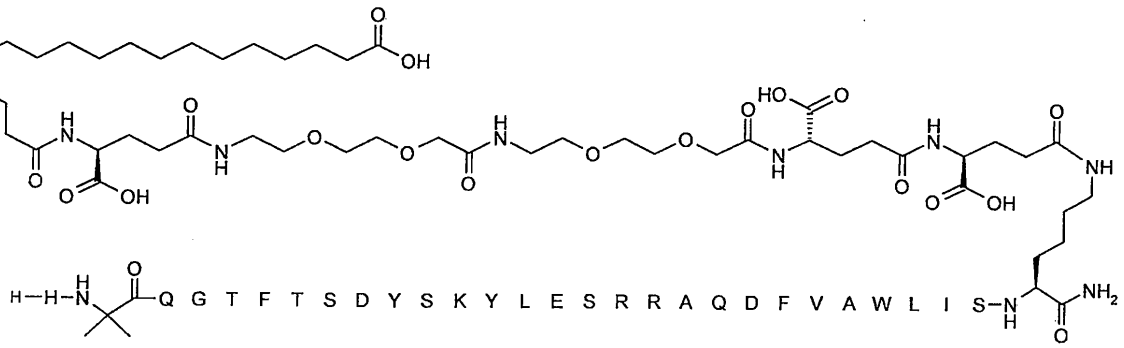
(実施例35)

$N^{\varepsilon 29}$-[(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,Glu15,Ala24,Ile27,Ser28,Lys29]-グルカゴンアミド

化学式35:

【０７３４】

【化１３９】



【０７３５】

UPLC02v01:Rt=8.2分

LCMS01v01:Rt=2.4;m/3=1465;m/4=1099

【０７３６】

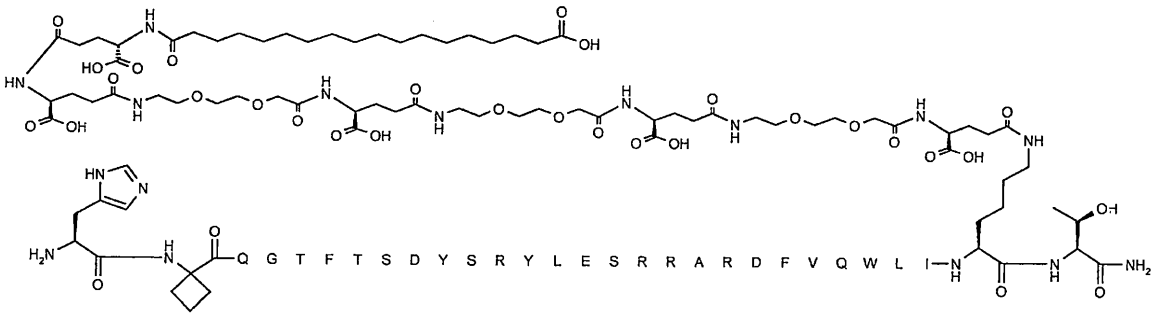
(実施例36)

$N^{\varepsilon 28}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[(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]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]-[Acb2,Arg12,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式36:

【０７３７】

【化１４０】



【０７３８】

UPLC02v01:Rt=7.8分

LCMS01v01:Rt=1.9;m/3=1646;m/4=1235;m/5=988

【０７３９】

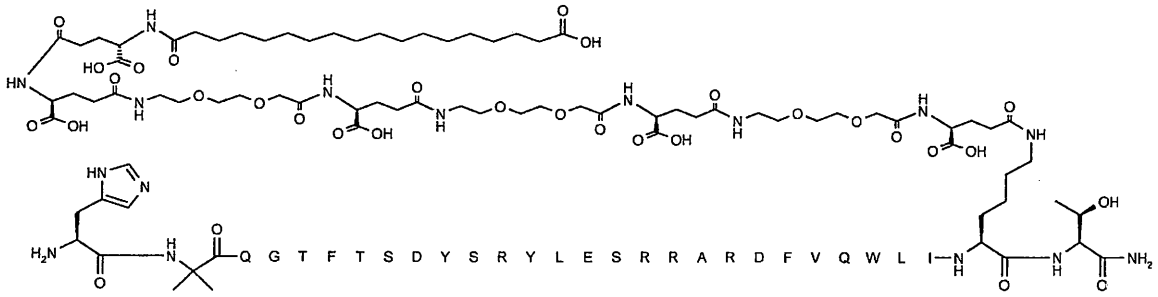
(実施例37)

$N^{\varepsilon 28}$-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-[[(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]エトキシ]エトキシ]アセチル]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]-[Aib2,Arg12,Glu15,Arg20,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式37:

【０７４０】

【化１４１】



【０７４１】

UPLC02v01:Rt=7.8分

LCMS01v01:Rt=1.9分;m/3=1641;m/4=1231;m/5=985

【０７４２】

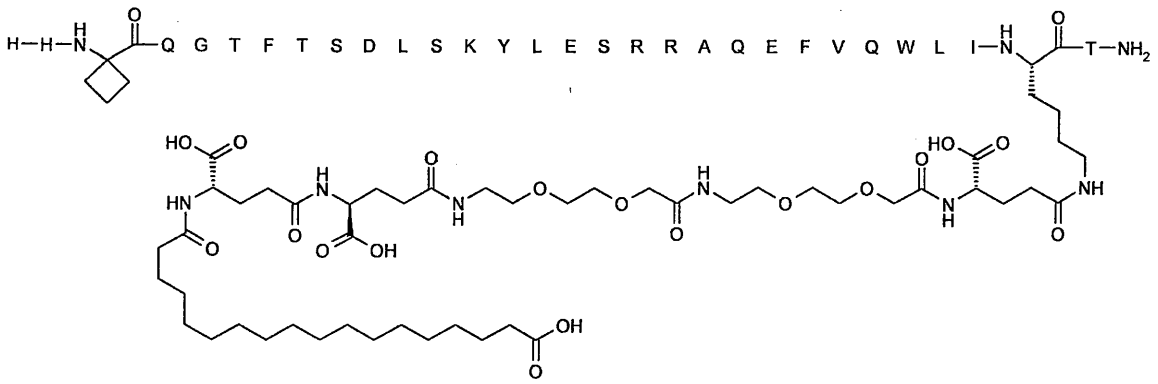
(実施例38)

$N^{\varepsilon 28}$-[(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]-[Acb2,Leu10,Glu15,Glu21,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式38:

【０７４３】

【化１４２】



【０７４４】

UPLC02v01:Rt=8.2分

LCMS13v01:Rt=2.2分;m/3=1480;m/4=1111

【０７４５】

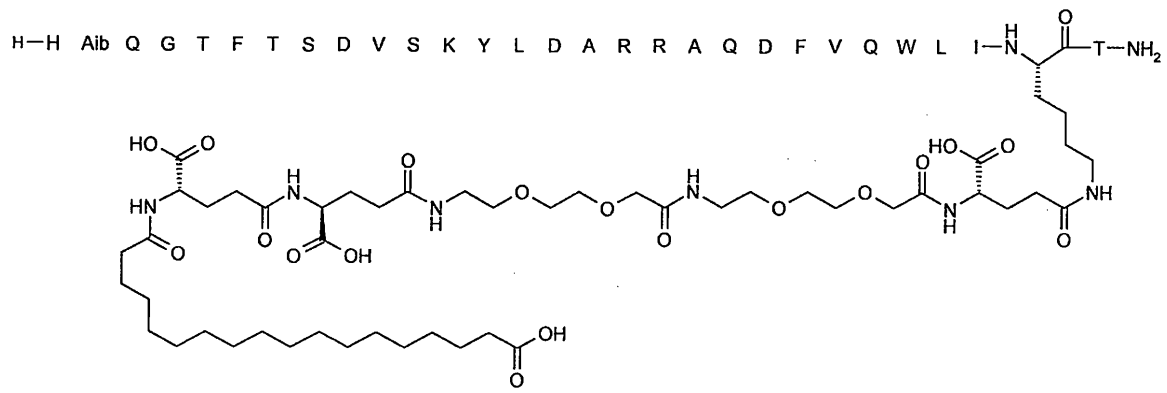
(実施例39)

$N^{\varepsilon 28}$-[(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,Val10,Ala16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式39:

【０７４６】

【化１４３】



【０７４７】

UPLC02v01:Rt=8.9分

LCMS13v01:Rt=2.2分;m/3=1458;m/4=1093

【０７４８】

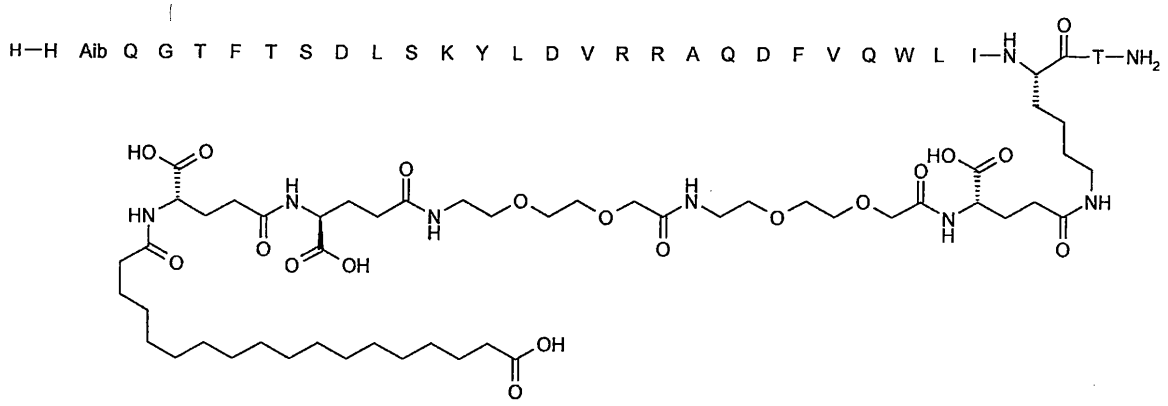
(実施例40)

$N^{\varepsilon 28}$-[(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,Leu10,Val16,Ile27,Lys28]-グルカゴンアミド

化学式40:

【０７４９】

【化１４４】



【０７５０】

UPLC02v01:Rt=8.8分

LCMS13v01:Rt=2.3分;m/3=11044;m/4=1471

【０７５１】

アッセイ(I):GLP-1受容体効力及びグルカゴン受容体効力

この実験の目的は、in vitroでの本発明のグルカゴン誘導体の活性又は効力を試験することであった。in vitroでの効力は、全細胞アッセイにおけるヒトGLP-1受容体(GLP-1R)又はグルカゴン受容体(グルカゴンR)それぞれの活性化の尺度である。

【０７５２】

原理

レポーター遺伝子アッセイにおいてヒトGLP-1受容体又はヒトグルカゴン受容体それぞれの応答を測定することにより、in vitroでの効力を測定した。このアッセイを、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、プロモーターに連結されたcAMP応答要素(CRE)に関するDNA及びホタルルシフェラーゼ(CREルシフェラーゼ)に関する遺伝子を含む安定的にトランスフェクトされたBHK細胞系で実施した。ヒトGLP-1受容体又はヒトグルカゴン受容体がそれぞれ活性化されるとcAMPが産生され、次に、ルシフェラーゼタンパク質が発現された。アッセイインキュベーションが完了するとルシフェラーゼ基質(ルシフェリン)を添加し、酵素によりルシフェリンがオキシルシフェリンへと変換され、生物発光が生じた。この発光を、アッセイに関する読み取りとして測定した。

【０７５３】

(a)GLP-1受容体の活性化

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、親細胞系としてBHKTS13を有するBHK細胞であった。この細胞は、ヒトGLP-1受容体を発現するクローン(FCW467-12A)に由来しており、この細胞を、現在のクローンを得るためにCREルシフェラーゼを更にトランスフェクトすることにより確立した。

【０７５４】

この細胞を、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培地中で5%CO2にて培養した。この細胞を等分し、液体窒素中で保存した。各アッセイ前にアリコートを取り、PBSで3回洗浄した後に、アッセイ培地中に所望の濃度で懸濁させた。96ウェルプレートの場合、5×10EE3個の細胞/ウェルの最終濃度が得られるように懸濁を行なった。

【０７５５】

材料

このアッセイでは下記の化学物質を使用した:Pluronic F-68(10%)(Gibco社、2404)、オボアルブミン(Sigma社、A5503)、DMEM w/oフェノールレッド(Gibco社、11880-028)、1M Hepes(Gibco社、15630)、Glutamax 100x(Gibco社、35050)及びsteadylite plus(PerkinElmer社、6016757)。アッセイ培地は、DMEM w/oフェノールレッド、10mM Hepes、1×GlutaMA

X、2%オボアルブミン及び0.2% Pluronic F-68からなった。

【０７５６】

手順

細胞ストックを37℃の水浴中で解凍した。細胞をPBSで3回洗浄した。細胞を計数し、アッセイ培地で5×10EE3個の細胞/50μl(1×10EE5個の細胞/ml)に調整した。細胞の50μlアリコートをアッセイプレート中の各ウェルに移した。試験化合物及び参照化合物のストックを、アッセイ培地で0.2μMの濃度まで希釈した。化合物を10倍希釈して下記の濃度を得た:2×10EE-6M、2×10EE-7M、2×10EE-8M、2×10EE-9M、2×10EE-10M、2×10EE-11M、2×10EE-12M及び2×10EE-13M。各化合物につきブランクアッセイ培地コントロールも含めた。

【０７５７】

化合物又はブランクの50μlアリコートを、希釈プレートからアッセイプレートに移した。化合物を下記の最終濃度で試験した:1×10EE-6M、1×10EE-7M、1×10EE-8M、1×10EE-9M、1×10EE-10M、1×10EE-11M及び1×10EE-12M及び1×10EE-13M。

【０７５８】

アッセイプレートを、37℃で5%CO2インキュベーター中において3時間にわたり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、15分にわたり室温で放置した。アッセイプレートの各ウェルにsteadylite plus試薬の100μlアリコートを添加した(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分にわたり振盪した。各アッセイプレートをPerkin Elmer社のTopCount NXT機器で読み取った。

【０７５９】

算出

TopCount機器からのデータをGraphPad Prismソフトウェアに移した。このソフトウェアにより、非線形回帰{log(アゴニスト)対応答-変数勾配(4パラメーター)}を実施した。このソフトウェアによりEC_{50}値を算出し、pMで報告した。

【０７６０】

(b)グルカゴン受容体の活性化

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系として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')で更にトランスフェクトすることにより確立した。

【０７６１】

この細胞を、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培地中で5%CO2にて培養した。この細胞を等分し、液体窒素中で保存した。各アッセイ前にアリコートを取り、PBSで3回洗浄した後に、アッセイ培地中に所望の濃度で懸濁させた。96ウェルプレートの場合、5×10EE3個の細胞/ウェルの最終濃度が得られるように懸濁を行なった。

【０７６２】

材料

このアッセイでは下記の化学物質を使用した:Pluronic F-68(10%)(Gibco社、2404)、オボアルブミン(Sigma社、A5503)、DMEM w/oフェノールレッド(Gibco社、11880-028)、1M Hepes(Gibco社、15630)、Glutamax 100x(Gibco社、35050)及びsteadylite plus(PerkinElmer社、6016757)。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。

【０７６３】

手順

細胞ストックを37℃の水浴中で解凍した。細胞をPBSで3回洗浄した。細胞を計数し、アッセイ培地で5×10EE3個の細胞/50μl(1×10EE5個の細胞/ml)に調整した。細胞の50μlア

リコートをアッセイプレート中の各ウェルに移した。

【０７６４】

試験化合物及び参照化合物のストックを、アッセイ培地で0.2μMの濃度まで希釈した。化合物を10倍希釈して下記の濃度を得た:2×10EE-6M、2×10EE-7M、2×10EE-8M、2×10EE-9M、2×10EE-10M、2×10EE-11M、2×10EE-12M及び2×10EE-13M。各化合物につきブランクアッセイ培地コントロールも含めた。

【０７６５】

化合物又はブランクの50μlアリコートを、希釈プレートからアッセイプレートに移した。化合物を下記の最終濃度で試験した:1×10EE-6M、1×10EE-7M、1×10EE-8M、1×10EE-9M、1×10EE-10M、1×10EE-11M及び1×10EE-12M及び1×10EE-13M。

【０７６６】

アッセイプレートを、37℃で5%CO2インキュベーター中において3時間にわたり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、15分にわたり室温で放置した。アッセイプレートの各ウェルにsteadylite plus試薬の100μlアリコートを添加した(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分にわたり振盪した。各アッセイプレートをPerkin Elmer社のTopCount NXT機器で読み取った。

【０７６７】

算出

TopCount機器からのデータをGraphPad Prismソフトウェアに移した。このソフトウェアにより、非線形回帰{log(アゴニスト)対応答-変数勾配(4パラメーター)}を実施した。このソフトウェアによりEC_{50}値を算出し、pMで報告した。

【０７６８】

アッセイ(II):GLP-1及び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での受容体結合活性を試験することである。

【０７６９】

(a)GLP-1受容体結合

GLP-1受容体(GLP-1R)結合は、ヒトGLP-1受容体に対する化合物の親和性の尺度である。

【０７７０】

原理

ヒトGLP-1受容体への各化合物の受容体結合を置換結合アッセイで測定した。この種のアッセイでは、標識されたリガンド(この場合は125I-GLP-1)を受容体に結合させた。各誘導体を、ヒトGLP-1受容体を含む単離膜に一連の濃度で添加し、標識されたリガンドの置換をモニタリングした。受容体結合を、標識されたリガンドの半分が受容体から置換された濃度、即ちIC_{50}値として報告した。

【０７７１】

アルブミンに対する誘導体の結合を試験するために、このアッセイを、非常に低い濃度の血清アルブミン(最大0.001%最終アッセイ濃度)で及び(大幅に)より高い濃度の血清アルブミン(2.0%最終アッセイ濃度)の存在下で実施することができた。血清アルブミンの存在下でのIC_{50}値の増加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遅延性の薬物動態プロファイルを予測する方法を表す。

【０７７２】

材料

このアッセイでは下記の化学物質を使用した:DMEM w/oフェノールレッド(Gibco社、11880-028)、Pen/strep(Invitrogen社、15140-122)、G418(Invitrogen社、10131-027)、1M Hepes(Gibco社、15630)、EDTA(Invitrogen社、15575-038)、PBS(Invitrogen社、14190-094)、ウシ胎仔血清(Invitrogen社、16140-071)、EGTA、MgCl2(Merck社、1.05832.1000)、Tween 20(Amresco社、0850C335)、SPA粒子{コムギ胚芽凝集素(WGA)SPAビーズ、Perkin Elmer社のRPNQ0001}、[125I]-GLP-1]-(7-36)NH2(内製)、OptiPlateTM-96 (Perkin Elmer社)。

【０７７３】
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。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。アッセイ緩衝液は、5mM EGTAが補充された50mM HEPES、5mM MgCl2、0.005%Tween 20からなり、pHを7.4に調整した。
【０７７４】
細胞培養及び膜調製
このアッセイで使用する細胞(クローンFCW467-12A)は、親細胞系として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。
【０７７５】
この細胞を、DMEM、10%ウシ胎仔血清、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中において5%CO2で増殖させた。膜調製物を作成するために、この細胞を約80%のコンフルエンスまで増殖させた。この細胞をリン酸緩衝生理食塩水で2回洗浄して採取した。この細胞を、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で維持した。この細胞ペレットを、適切な量の緩衝液1(例えば10ml)中において20～30秒にわたりULTRA-THURRAX分散機器によりホモジナイズした。ホモジネートを15分にわたり遠心分離した。このペレットを10ml緩衝液2に再懸濁させ(ホモジナイズし)、遠心分離した。この工程をもう1度繰り返した。得られたペレットを緩衝液2に再懸濁させ、タンパク質濃度を測定した。膜を等分し、-80℃で貯蔵した。
【０７７６】
手順
1.受容体結合アッセイの場合、50μlのアッセイ緩衝液をアッセイプレートの各ウェルに添加した。
2.試験化合物を連続的に希釈して下記の濃度を得た:8×10EE-7M、8×10EE-8M、8×10EE-9M、8×10EE-10M、8×10EE-11M、8×10EE-12M及び8×10EE-13M。25μlをアッセイプレート中の適切なウェルに添加した。
3.細胞膜アリコートを解凍し、その作業濃度まで希釈した。50μlをアッセイプレート中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、アッセイ緩衝液で10mg/mlに希釈した直後にアッセイプレートに添加した。50μlをアッセイプレート中の各ウェルに添加した。
5.[125I]-GLP-1]-(7-36)NH2の480pM溶液25μlをアッセイプレートの各ウェルに添加することにより、インキュベーションを開始させた。総カウント/ウェルを測定するために25μlアリコートを確保した。
6.アッセイプレートを30℃で2時間にわたりインキュベートした。
7.アッセイプレートを10分にわたり遠心分離した。
8.アッセイプレートをPerkin Elmer社のTopCount NXT機器中で読み取った。
【０７７７】
算出
TopCount機器からのデータをGraphPad Prismソフトウェアに移した。このソフトウェアにより反復に関する値を平均化し、非線形回帰を実施した。このソフトウェアによりIC_{50}値を算出し、nMで報告した。
【０７７８】
(b)グルカゴン受容体結合
グルカゴン受容体(グルカゴンR)結合活性は、ヒトグルカゴン受容体に対する誘導体の親和性の尺度である。
【０７７９】
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換結合アッセイで測定した。この種のアッセイでは、標識されたリガンド(この場合は125I-グルカゴン)を受容体に結合させた。各誘導体を、ヒトグルカゴン受容体を含む単離膜に一連の濃度で添加し、標識され

たリガンドの置換をモニタリングした。受容体結合を、標識されたリガンドの半分が受容体から置換された濃度、即ちIC_{50}値として報告した。

【０７８０】

アルブミンに対する誘導体の結合を試験するために、このアッセイを、非常に低い濃度の血清アルブミン(最大0.001%最終アッセイ濃度)で及びより高い濃度の血清アルブミン(0.2%最終アッセイ濃度)の存在下で実施することができた。血清アルブミンの存在下でのIC_{50}値の増加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遅延性の薬物動態プロファイルを予測する方法を表す。

【０７８１】

材料

このアッセイでは下記の化学物質を使用した:DMEM w Glutamax(Gibco社、61965-026)、Pen/strep(Invitrogen社、15140-122)、G418(Invitrogen社、10131-027)、Versene(Gibco社、15040)、1M Hepes(Gibco社、15630)、PBS(Invitrogen社、14190-094)、ウシ胎仔血清(Invitrogen社、16140-071)、MgCl2(Merck社、1.05832.1000)、EDTA(Invitrogen社、15575-038)、CaCl2(Sigma社、C5080)、Tween 20(Amresco社、0850C335)、オボアルブミン(Sigma社、A5503)、SPA粒子{コムギ胚芽凝集素(WGA)SPAビーズ、Perkin Elmer社のRPNQ0001)、[125I]-グルカゴン(内製)、OptiPlateTM-96(Packard 6005290)。

【０７８２】

HME緩衝液は25mM HEPES、2mM MgCl2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 MgCl2が補充された50mM HEPES、1mM CaCl2、0.02%Tween 20及び0.1%オボアルブミンからなり、pHを7.4に調整した。

【０７８３】

細胞培養及び膜調製

このアッセイで使用する細胞(クローンBHK hGCGR A3*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的にトランスフェクトしたBHK細胞であった。

【０７８４】

この細胞を、DMEM、10%ウシ胎仔血清、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中において5%CO2で増殖させた。膜調製物を作成するために、この細胞を約80%のコンフルエンスまで増殖させた。この細胞をリン酸緩衝生理食塩水で2回洗浄して採取した。この細胞を、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で維持した。約5ml HME緩衝液を添加して細胞を溶解させ、ピペット操作により混合し、液体窒素中で急速に凍結させた。素早く解凍し、10mlまでHME緩衝液を添加した。細胞ペレットを、20～30秒にわたりULTRA-THURRAX分散機器でホモジナイズした。ホモジネートを10分にわたり20.000×G、4℃で遠心分離した。このペレットを1～2ml HME緩衝液に再懸濁させた(ホモジナイズした)。タンパク質濃度を測定した。膜を等分し、液体窒素中で急速に凍結させて-80℃で貯蔵した。

【０７８５】

手順

1.受容体結合アッセイの場合、50μlのアッセイ緩衝液をアッセイプレートの各ウェルに添加した。

2.試験化合物を連続的に希釈して下記の濃度を得た:8×10EE-7M、8×10EE-8M、8×10EE-9M、8×10EE-10M、8×10EE-11M、8×10EE-12M及び8×10EE-13M。25μlをアッセイプレート中の適切なウェルに添加した。

3.細胞膜アリコートを解凍し、その作業濃度まで希釈した。50μlをアッセイプレート中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、アッセイ緩衝液で10mg/mlに希釈した直後にアッセイプレートに添加した。50μlをアッセイプレート中の各ウェルに添加した。

5.[125I]-グルカゴンの480pM溶液25μlをアッセイプレートの各ウェルに添加すること

により、インキュベーションを開始させた。総カウント/ウェルを測定するために25μlアリコートを確保した。

6.アッセイプレートを25℃で2時間にわたりインキュベートした。

7.アッセイプレートを10分にわたり1500rpmにて遠心分離した。

8.アッセイプレートをPerkin Elmer社のTopCount NXT機器中で読み取った。

【０７８６】

算出

TopCount機器からのデータをGraphPad Prismソフトウェアに移した。このソフトウェアにより反復に関する値を平均化し、非線形回帰を実施した。

【０７８７】

アッセイ(III):ペプチド製剤の物理的安定性を評価するための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る。

【０７８８】

ペプチドの低い物理的安定性により、試料中において秩序だった糸様高分子構造として観測されるアミロイド原線維が形成される場合があり、この形成により最終的にはゲルが形成される場合がある。このことは従来、試料の目視検査により測定されている。しかしながら、この種の測定は非常に主観的であり、観測者によって左右される。従って、小分子インジケーター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、原線維に結合する場合に明瞭な蛍光サインを有する[Naiki他(1989) Anal. Biochem. 177、244～249頁、LeVine(1999) Methods. Enzymol. 309、274～284頁]。

【０７８９】

原線維形成に関する時間経過を、下記の式を有するS字形曲線により説明することができる[Nielsen他(2001) Biochemistry 40、6036～6046頁]。

【０７９０】

【数１】

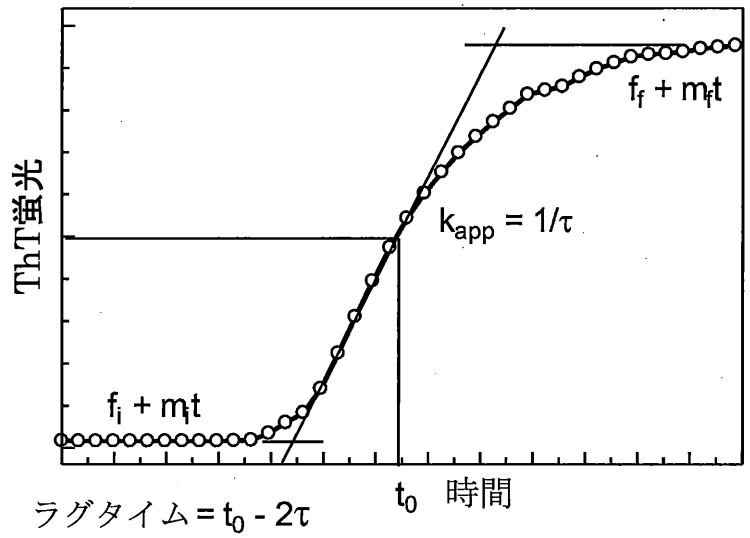
$$F = f_i + m_i t + \frac{f_f + m_f t}{1 + e^{-[(t-t_0)/\tau]}} \quad \text{式(1)}$$

【０７９１】

式中、Fは時間tでのThT蛍光である。定数t0は、最大蛍光の50%に達するのに必要な時間である。原線維形成を説明する2種の重要パラメーターは、t0-2τにより算出されるラグタイム及び見掛けの速度定数kaap 1/τである。

【０７９２】

【表６】



【０７９３】

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な開始機構として示唆されている。この中間体の一部が核形成してテンプレートを形成し、このテンプレートの上に中間体が更に集合して原線維形成が進行し得る。ラグタイムは、核の臨界質量が構築される間隔に相当し、見掛けの速度定数は、原線維自体が形成される速度である。

【０７９４】

各アッセイ前に試料を新たに調製した。各試料組成物は説明文に記載されている。適切な量の高濃度のNaOH及びHClを使用して、試料のpHを所望の値に調整した。チオフラビンTを、H_2O中のストック溶液からの試料に１μMの最終濃度まで添加した。

【０７９５】

200μlの試料アリコート(10mM HEPES緩衝液中の250μMのグルカゴン誘導体、pH7.5)を96ウェルマイクロタイタープレート{Packard OptiPlate(商標)-96、白色ポリスチレン}に入れた。通常、各試料の4個又は8個のレプリカ(1つの試験条件に対応する)をウェルの1列に入れた。このプレートをScotch Pad(Qiagen社)で密封した。

【０７９６】

所与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)中で行なった。温度を37℃に調整した。プレートを、振幅が1mmである960rpmに調整したオービタルシェイキングによりインキュベートした。444nmフィルタを通した励起及び485nmフィルタを通した発光の測定を使用して蛍光測定を行なった。

【０７９７】

各実行を、プレートを10分にわたりアッセイ温度でインキュベートすることにより開始した。プレートを所望の期間にわたり20分毎に測定した。各測定の間にプレートを振盪し、記載したように加熱した。

【０７９８】

ThTアッセイの完了後、各試料の4個又は8個のレプリカをプールし、18℃で30分にわたり20000rpmにて遠心分離した。上清を0.22μmフィルタに通してろ過し、アリコートをHPLCバイアルに移した。

【０７９９】

参照として適切な標準を使用する逆相HPLCにより、最初の試料中におけるペプチドの濃度、及びろ過後の上清中におけるペプチドの濃度を測定した。最初の試料濃度が占めるろ過後の試料の濃度であるパーセント割合を回収率として報告した。

【０８００】
測定点を、更なる処理のためにMicrosoft Excelフォーマットで保存し、GraphPad Prismを使用して曲線の描画及びフィッティングを実施した。原線維が存在しないThTからのバックグラウンド発光は無視できる程であった。データポイントは典型的には4個又は8個の試料の平均であり、標準偏差エラーバーで示される。同じ実験(即ち、同じプレート上の試料)で得られたデータのみを、実験間での原線維形成の相対的測定を確保する同じグラフに示す。
【０８０１】
データセットを式(1)にフィットさせることができた。しかしながら、原線維形成前のラグタイムを、ThT蛍光がバックグランドレベルを有意に超えて増加する時点を同定する曲線の目視検査により評価することができた。
【０８０２】
アッセイ(IV):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。
【０８０３】
グルカゴン誘導体の薬物動態プロファイルを、正常な雄のc57/BL6マウス(おおよその体重:30グラム)、各時点(例えばt=0.25時間、0.5時間、1時間、3時間、6時間、10時間、24時間、30時間及び48時間)で表される例えば3匹のマウスを有するn=12で試験することができた。試験化合物を、10nmol/kgの単回皮下投与として投与することができた。
【０８０４】
ELISA/LOCIアッセイ又はLCMSを使用して、グルカゴン誘導体の血漿中レベルを測定することができた。PCベースのソフトウェアPhoenix(Pharsight社、Certara社のWinNonLinバージョン6.3)を使用して、半減期($T_{1/2}$)、最大濃度(C_{max})及び最大濃度の時間(T_{max})等の化合物の薬物動態を算出することができた。
【０８０５】
アッセイ(V):化学的安定性の評価
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化学的安定性を評価することであった。
【０８０６】
グルカゴン誘導体の化学的安定性を、RP-UPLC分離及びUV検出で調べることができた。凍結乾燥試料を8mMリン酸緩衝液pH8.6に溶解させ、続いて333μMの最終濃度までHClを使用してpH7.3に調整した。試料を5℃で及び37℃で14日にわたりインキュベートし、続いてRP-UPLC分析を行なった。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パーセントとして定義した。37℃での14日後の純度低下を、5℃でインキュベートした試料と37℃でインキュベートした試料との間の純度の差異として測定し、5℃での14日にわたるインキュベーション後の試料の純度で除算した。
【０８０７】
RP-UPLC分析を、A:MQ水中の0.05%TFA、B:アセトニトリル中0.05%TFAからなる移動相系を使用し、50℃及び0.4mL/分の流速で操作されるWaters社のBEH130 2.1mm×150mm、1.7μmカラムを使用して実施した。UV検出を215nmで実施した。ほんどの試料で使用した典型的な勾配プロファイルを下記に示す。
【０８０８】

【表７】

Table 4.RP-UPLC分析で使用した典型的な勾配プロファイル

時間(分)	%B
注入	20
30	60
31	99
37	99
39	20
40	20
45	20

【０８０９】

大部分の誘導体と比較して大幅に異なる保持時間で溶出する一部の個々の誘導体に関して、勾配プロファイルへのある程度の調整により、試料全体でのより良好な純度評価の比較が可能になった。

【０８１０】

(実施例42: グルカゴン誘導体の受容体効力及び結合並びに物理的安定性のデータ)

本明細書のアッセイ(I)、アッセイ(II)及びアッセイ(III)に記載した方法に従って、本発明のグルカゴン誘導体に関して、GLP-1受容体効力(EC_{50})及び結合(IC_{50})並びにグルカゴン受容体効力(EC_{50})及び結合(IC_{50})、並びに物理的安定性を測定した。アッセイ(I)及びアッセイ(II)を血清アルブミンの非存在下で実行した。アッセイ(III)をpH7.5で実行した。結果をTable 1(表8)に示す。

【０８１１】

【表８Ａ】

Table 1　ヒトGLP-1受容体及びヒトグルカゴン受容体に対するEC_{50}値及びIC_{50}値、並びにTHTアッセイで評価したグルカゴン誘導体の物理的安定性

グルカゴン誘導体	GLP-1R EC_{50}(pM) [アッセイ(I)(a)]	GLP-1R IC_{50}(nM) [アッセイ(II)(a)]	グルカゴンR EC_{50}(pM)、[アッセイ(I)(b)]	グルカゴンR IC_{50}(nM) [アッセイ(II)(b)]	ThTアッセイラグタイム(時間) [アッセイ(III)、pH7.5]	ThTアッセイ回収率(%)、[アッセイ(III)、pH7.5]
化学式1	3.5	.9	17.5	11.3	45.0	108.0
化学式2	2.0	.3	10.0	7.5	33.0	4.0
化学式3	2.0	.1	245.0	31.6	45.0	100.0
化学式4	3.0	.1	12.0	3.9	26.0	16.0
化学式5	5.5	.1	29.0	6.7	45.0	100.0
化学式6	5.0	.1	14.0	3.7	34.0	71.0
化学式7	2.0	.3	32.0	6.0	45.0	107.0
化学式8	7.0	.1	517.0	27.6	45.0	104.0
化学式9	10.0	.5	44.0	17.3	45.0	105.0
化学式10	3.0	.1	748.0	42.4	45.0	100.0
化学式11	8.0	.5	428.0	52.0	45.0	104.0
化学式12	29.0	2.8	108.0	95.9	45.0	104.0
化学式13	4.0	.1	23.0	1.8		
化学式14	2.0	.1	9.0	6.4	45.0	106.0
化学式15	4.0	.0	7.0	1.7	45.0	104.0
化学式16	5.0	.0	13.0	2.7	16.0	5.0
化学式17	4.0	.1	45.0	4.3	12.3	9.0
化学式18	4.0	.1	32.0	11.1	5.0	.0
化学式19	6.0	.0	37.0	2.5	45.0	100.0
化学式20	4.0	.1	70.0	13.6	45.0	100.0
化学式21	3.0	.1	31.0	8.7	45.0	100.0
化学式22		.3		67.3	45.0	92.0
化学式23		.3		83.2	45.0	100.0
化学式24	3.0	.4	55.0	14.0	45.0	100.0
化学式25	2.0	.1	52.0	11.2	23.0	86.0
化学式26	2.0	.4	42.0	10.1	45.0	105.0
化学式27	3.0	.2	66.0	19.1	45.0	100.0
化学式28	3.0	.2	36.0	8.6	45.0	100.0
化学式29		1.0		64.7	45.0	100.0
化学式30		.9		71.2	45.0	100.0
化学式31		1.1		144.0	45.0	100.0

【０８１２】

【表８Ｂ】

化学式 32	2.0	.3	7.0	.9	45.0	100.0
化学式 33	7.0	2.3	8.0	6.9	45.0	100.0
化学式 34	3.0	2.2	66.0	7.0	45.0	100.0
化学式 35		2.2		60	45.0	100.0
化学式 36	4.0	1.5	22.0	6.5	3.7	46.0
化学式 37	4.0	1.5	98.0	6.6	6.3	96.0
化学式 38	2.0	.3	12.0	2.7	45.0	100.0
化学式 39	1.0	.1	24.0	4.6	45.0	90.0
化学式 40	3.0	1.2	30.0	7.1	45.0	111.0

【０８１３】

Table 1(表8)の結果から、グルカゴン誘導体はGLP-1受容体を優先するGLP-1/グルカゴン受容体コアゴニストであることが分る。加えて、これらの結果から、ほとんどのグルカゴン誘導体は、ThT原線維形成アッセイで評価した非常に高い物理的安定性を示すことが分る。

【０８１４】

本発明のある特定の特徴を本明細書で示している及び説明しているが、ここで当業者は多くの改変、置換、変更及び等価なものに想到すると予想される。従って、添付した特許請求の範囲は、本発明の真の趣旨に含まれるような全てのそのような改変及び変更を包含するように意図されていることを理解しなければならない。

【配列表】

2017525656000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2015/062401

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K38/26 C07K14/605 A61K47/48
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2011/117415 A1 (NOVO NORDISK AS [DK]; LAU JESPER F [DK]; KRUSE THOMAS [DK]; LINDEROTH) 29 September 2011 (2011-09-29) the whole document -----	1-16
Y	WO 2013/041678 A1 (NOVO NORDISK AS [DK]) 28 March 2013 (2013-03-28) the whole document -----	1-16

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
1 July 2015	13/07/2015

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

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2015/062401

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2011117415 A1	29-09-2011	AU 2011231503 A1	27-09-2012
		CA 2792663 A1	29-09-2011
		CN 102918055 A	06-02-2013
		CN 102918056 A	06-02-2013
		EP 2552950 A1	06-02-2013
		EP 2552951 A1	06-02-2013
		JP 2013523618 A	17-06-2013
		JP 2013523619 A	17-06-2013
		KR 20130018410 A	21-02-2013
		RU 2012144289 A	10-05-2014
		US 2013035285 A1	07-02-2013
		US 2013143798 A1	06-06-2013
		WO 2011117415 A1	29-09-2011
		WO 2011117416 A1	29-09-2011
WO 2013041678 A1	28-03-2013	AR 088161 A1	14-05-2014
		AU 2012311484 A1	06-03-2014
		CA 2849673 A1	28-03-2013
		CN 104093735 A	08-10-2014
		EP 2758426 A1	30-07-2014
		JP 2014527975 A	23-10-2014
		KR 20140070612 A	10-06-2014
		US 2013079278 A1	28-03-2013
		US 2013288958 A1	31-10-2013
		WO 2013041678 A1	28-03-2013

フロントページの続き

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

(72)発明者 イェスパー・エフ・ラウ
デンマーク・ＤＫ－２８８０・バウスヴェア・ノヴォ・アレー・（番地なし）
(72)発明者 トーマス・クルーゼ
デンマーク・ＤＫ－２８８０・バウスヴェア・ノヴォ・アレー・（番地なし）

Ｆターム(参考) 4C084 AA02 AA07 AA19 BA01 BA08 BA19 BA31 DB35 NA12 ZA701
ZA702 ZC351 ZC352
4H045 AA10 AA20 AA30 BA18 CA40 DA30 EA20 FA34 FA59