(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2016-188246
(P2016-188246A)
(43)公開日　平成28年11月4日(2016.11.4)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 14/605	(2006.01)	C07K	14/605	ZNA	4C076
A61P 3/10	(2006.01)	A61P	3/10		4C084
A61P 9/00	(2006.01)	A61P	9/00		4H045
A61P 1/00	(2006.01)	A61P	1/00		
A61P 15/08	(2006.01)	A61P	15/08		

審査請求 有　請求項の数 15　ＯＬ　外国語出願　（全 108 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2016-151098 (P2016-151098)
(22)出願日　平成28年8月1日 (2016.8.1)
(62)分割の表示　特願2013-538180 (P2013-538180)の分割
原出願日　平成23年11月9日 (2011.11.9)
(31)優先権主張番号　61/497,123
(32)優先日　平成23年6月15日 (2011.6.15)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　11169276.0
(32)優先日　平成23年6月9日 (2011.6.9)
(33)優先権主張国　欧州特許庁 (EP)
(31)優先権主張番号　61/414,221
(32)優先日　平成22年11月16日 (2010.11.16)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　509091848
ノヴォ　ノルディスク　アー／エス
デンマーク，バウスヴェア　ディーケー－２８８０，ノヴォ　アレー
(74)代理人　100108453
弁理士　村山　靖彦
(74)代理人　100110364
弁理士　実広　信哉
(74)代理人　100133400
弁理士　阿部　達彦
(72)発明者　ヤコブ・コフォード
デンマーク・ＤＫ－２８８０・バウスヴェア・ノヴォ・アレ・（番地なし）

最終頁に続く

(54)【発明の名称】リンカーを有する二重アシル化されたＧＬＰ－１誘導体

(57)【要約】
【課題】グルカゴン様ペプチド1(GLP-1)のアナログの誘導体を提供すること。
【解決手段】GLP-1アナログの誘導体であって、アナログは、GLP-1(7-37)の18位に対応する位置において第1のK残基、別の位置において第2のK残基、およびGLP-1(7-37)と比較して最大で12個のアミノ酸の変化を含み、誘導体は、リンカーを介して、それぞれ、前記第1および第2のK残基に付着している2つの延長部分を含み、延長部分は、Chem.2:HOOC-C_6H_4-O-$(CH_2)_y$-CO-*およびChem.1:HOOC-$(CH_2)_x$-CO-*から選択され、リンカーは、Chem.3:*-NH-$(CH_2)_q$-CH[$(CH_2)_w$-NH_2] -CO-*を含む、誘導体;またはその薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステルにより、上記課題を解決する。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
GLP-1アナログの誘導体であって、
アナログは、GLP-1(7-37)(配列番号1)の18位に対応する位置において第1のK残基、別の位置において第2のK残基、およびGLP-1(7-37)と比較して最大で12個のアミノ酸の変化を含み、
誘導体は、リンカーを介して、それぞれ、前記第1および第2のK残基に付着している2つの延長部分を含み、
前記延長部分は、Chem.2、およびChem.1:
Chem.2:HOOC-C_6H_4-O-$(CH_2)_y$-CO-*
Chem.1:HOOC-$(CH_2)_x$-CO-*
(式中、xは、6～18の範囲の整数であり、yは、3～17の範囲の整数である)から選択され、
前記リンカーは、
Chem.3:*-NH-$(CH_2)_q$-CH[$(CH_2)_w$-NH_2] -CO-*
(式中、qは、0～5の範囲の整数であり、wは、0～5の範囲の整数である)を含む、誘導体;またはその薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステル。
【請求項２】
前記第1のK残基が、K^{18}と示される、請求項1に記載の誘導体。
【請求項３】
前記第2のK残基が、K^Tと示される、請求項1または2に記載の誘導体。
【請求項４】
Tが、19～37の範囲から選択される整数である、請求項3に記載の誘導体。
【請求項５】
Tが、22、26、27、30、31、34、または37である、請求項3または4に記載の誘導体。
【請求項６】
前記アナログが、式I
式I:Xaa_7-Xaa_8-Glu-Gly-Thr-Xaa_{12}-Thr-Ser-Asp-Xaa_{16}-Ser-Lys-Xaa_{19}-Xaa_{20}-Glu-Xaa_{22}-Xaa_{23}-Ala-Xaa_{25}-Xaa_{26}-Xaa_{27}-Phe-Ile-Xaa_{30}-Xaa_{31}-Leu-Xaa_{33}-Xaa_{34}-Xaa_{35}-Xaa_{36}-Xaa_{37}-Xaa_{38}
のGLP-1アナログを含み、式中、
Xaa_7は、L-ヒスチジン、イミダゾプロピオニル、α-ヒドロキシ-ヒスチジン、D-ヒスチジン、デスアミノ-ヒスチジン、2-アミノ-ヒスチジン、β-ヒドロキシ-ヒスチジン、ホモヒスチジン、N^{α}-アセチル-ヒスチジン、N^{α}-ホルミル-ヒスチジン、α-フルオロメチル-ヒスチジン、α-メチル-ヒスチジン、3-ピリジルアラニン、2-ピリジルアラニン、または4-ピリジルアラニンであり、
Xaa_8は、Ala、Gly、Val、Leu、Ile、Thr、Ser、Lys、Aib、(1-アミノシクロプロピル)カルボン酸、(1-アミノシクロブチル)カルボン酸、(1-アミノシクロペンチル)カルボン酸、(1-アミノシクロヘキシル)カルボン酸、(1-アミノシクロヘプチル)カルボン酸、または(1-アミノシクロオクチル)カルボン酸であり、
Xaa_{12}は、PheまたはLeuであり、
Xaa_{16}は、ValまたはLeuであり、
Xaa_{19}は、TyrまたはGlnであり、
Xaa_{20}は、LeuまたはMetであり、
Xaa_{22}は、Gly、Glu、Lys、またはAibであり、
Xaa_{23}は、Gln、Glu、またはArgであり、
Xaa_{25}は、AlaまたはValであり、
Xaa_{26}は、Val、His、Lys、またはArgであり、
Xaa_{27}は、Glu、Leu、またはLysであり、
Xaa_{30}は、Ala、Glu、Lys、またはArgであり、
Xaa_{31}は、Trp、Lys、またはHisであり、

Xaa_{33}は、ValまたはLysであり、
Xaa_{34}は、Lys、Glu、Asn、Gly、Gln、Arg、His、または存在せず、
Xaa_{35}は、Gly、Aib、または存在せず、
Xaa_{36}は、Arg、Gly、Lys、または存在せず、
Xaa_{37}は、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys、Arg、または存在せず、
Xaa_{38}は、Ser、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys、Arg、または存在しない、請求項1から5のいずれかに一項に記載の誘導体。

【請求項７】

xが、10、12、14、16、または18である、請求項1から6のいずれか一項に記載の誘導体。

【請求項８】

yが、7、8、9、または11である、請求項1から7のいずれか一項に記載の誘導体。

【請求項９】

前記アナログが、前記第1および前記第2のK残基以外のK残基を含まない、請求項1から8のいずれか一項に記載の誘導体。

【請求項１０】

前記アナログのC末端アミノ酸のカルボン酸基が、カルボン酸アミドに変換されている、請求項1から9のいずれか一項に記載の誘導体。

【請求項１１】

下記から選択される化合物:Chem.20、Chem.21、Chem.22、Chem.23、Chem.24、Chem.25、Chem.26、Chem.27、Chem.28、Chem.29、Chem.30、Chem.31、Chem.32、Chem.33、Chem.34、Chem.35、Chem.36、Chem.37、Chem.38、Chem.39、Chem.40、Chem.41、Chem.42、Chem.43、Chem.44、Chem.45、Chem.46、Chem.47、Chem.48、Chem.49、Chem.50、Chem.51、Chem.52、Chem.53、Chem.54、Chem.55、Chem.56、Chem.57、Chem.58、Chem.59、Chem.60、Chem.61、Chem.62、Chem.63、Chem.64、Chem.65、Chem.66、Chem.67、Chem.68、Chem.69、Chem.70、Chem.71、Chem.72、Chem.73、Chem.74、Chem.75、Chem.76、またはChem.77;またはその薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステル。

【請求項１２】

医薬として使用するための、請求項1から11のいずれか一項に記載の誘導体。

【請求項１３】

全ての形態の糖尿病および関連する疾患、例えば、摂食障害、心血管疾患、胃腸疾患、糖尿病性合併症、重篤疾患、および/もしくは多嚢胞性卵巣症候群の治療および/もしくは予防において使用するため、ならびに/または脂質パラメーターを改善するため、β細胞機能を改善するため、ならびに/または糖尿病性疾患の進行を遅延もしくは予防するための、請求項1から12のいずれか一項に記載の誘導体。

【請求項１４】

全ての形態の糖尿病および関連する疾患、例えば、摂食障害、心血管疾患、胃腸疾患、糖尿病性合併症、重篤疾患、および/もしくは多嚢胞性卵巣症候群の治療および/もしくは予防のため、ならびに/または脂質パラメーターを改善するため、β細胞機能を改善するため、ならびに/または糖尿病性疾患の進行を遅延もしくは予防するための医薬の製造における、請求項1から12のいずれか一項に記載の誘導体の使用。

【請求項１５】

医薬的活性量の請求項1から12のいずれか一項に記載の誘導体を投与することにより、全ての形態の糖尿病および関連する疾患、例えば、摂食障害、心血管疾患、胃腸疾患、糖尿病性合併症、重篤疾患、および/もしくは多嚢胞性卵巣症候群を治療もしくは予防するため、ならびに/または脂質パラメーターを改善するため、β細胞機能を改善するため、ならびに/または糖尿病性疾患の進行を遅延もしくは予防するための方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、グルカゴン様ペプチド1(GLP-1)のアナログの誘導体、より特に、新規のリンカーを介して、ペプチドのK^{18}および別のK残基において二重アシル化された、GLP-1誘導体、ならびにこれらの薬学的用途に関する。

【０００２】

関連出願への参照

本出願は、2010年11月9日に出願されたEP10190515.6および2011年6月9日に出願されたEP11169276.0の優先権を主張する。本出願はまた、米国特許法の元で、2010年11月16日に出願された米国特許仮出願第61/414,221号、および2011年6月15日に出願された米国特許仮出願第61/497,123号の利益を主張する。これらの4つの出願のそれぞれは、参照により本明細書中にその全体が組み込まれている。

【０００３】

配列リストの参照による組込み

「配列リスト」という表題の配列リストは、1000バイトであり、2011年10月25日に作成され、参照により本明細書中に組み込まれている。

【背景技術】

【０００４】

WO99/43706は、いくつかの$K^{18、26}$および$K^{18、34}$誘導体を含めたいくつかのモノアシル化および二重アシル化されたGLP-1誘導体を開示している。

【０００５】

本出願の優先日後に公表されたWO2011/080103は、$K^{26、37}$において二重アシル化されたいくつかのGLP-1誘導体を開示している。

【０００６】

WO06/097537は、Novo Nordisk A/Sによって開発されている週1回投与のためのモノアシル化されたGLP-1誘導体であるセマグルチド(実施例4)を含めたいくつかのGLP-1誘導体を開示している。

【０００７】

Angewandte Chemie International Edition、2008年、第47巻、3196～3201頁は、マウス血清アルブミン(MSA)およびヒト血清アルブミン(HSA)の両方との安定的な非共有結合相互作用を示すと称されている4-(p-ヨードフェニル)酪酸誘導体の1クラスの発見および特徴付けについて報告している。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００８】

【特許文献１】WO99/43706
【特許文献２】WO2011/080103
【特許文献３】WO06/097537
【特許文献４】WO09/030738
【特許文献５】WO2008/145728
【特許文献６】WO2009/083549A1
【特許文献７】WO2006/082204
【特許文献８】EP511600

【非特許文献】

【０００９】

【非特許文献１】Angewandte Chemie International Edition、2008年、第47巻、3196～3201頁
【非特許文献２】Needleman, S.B.およびWunsch, C.D.、(1970年)、Journal of Molecular Biology、48:443～453頁
【非特許文献３】MyersおよびW. Miller、「Optimal Alignments in Linear Space」、CABIOS(computer applications in the biosciences)(1988年)4:11～17頁
【非特許文献４】Chemoinformatics:A textbook、Johann GasteigerおよびThomas Engel(

編)、Wiley-VCH Verlag、2003年
【非特許文献５】J. Chem. Inf. Model.、2008年、48、542～549頁
【非特許文献６】J. Chem. Inf. Comput. Sci.、2004年、44、170～178頁
【非特許文献７】J. Med. Chem.、2004年、47、2743～2749頁
【非特許文献８】J. Chem. Inf. Model.、2010年、50、742～754頁
【非特許文献９】SciTegic Pipeline Pilot Chemistry Collection:Basic Chemistry User Guide、2008年3月
【非特許文献１０】SciTegic Pipeline Pilot Data Modeling Collection、2008年
【非特許文献１１】http://www.tripos.com/tripos_resources/fileroot/pdfs/Unity_111408.pdf
【非特許文献１２】http://www.tripos.com/data/SYBYL/SYBYL_072505.pdf
【非特許文献１３】GreeneおよびWuts、「Protective Groups in Organic Synthesis」、John Wiley & Sons、1999年
【非特許文献１４】「Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis」、編W.C. ChanおよびP.D. White、Oxford University Press、2000年
【非特許文献１５】Hodgsonら:「The synthesis of peptides and proteins containing non-natural amino acids」、Chemical Society Reviews、第33巻、第7番(2004年)、422～430頁
【非特許文献１６】Remington:The Science and Practice of Pharmacy、例えば、第19版(1995年)、および任意のより最近の版
【非特許文献１７】W.R. Sampson(1999年)、J. Pep. Sci.、5、403
【非特許文献１８】Novobiochem2009/2010からのカタログ、もしくはより新しいバージョン
【非特許文献１９】Journal of Medicinal Chemistry(2000年)、第43巻、第9号、1664～669頁
【非特許文献２０】PoulsenおよびJensen、Journal of Biomolecular Screening、2007年、第12巻、240～247頁

【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【００１０】
本発明は、GLP-1ペプチドの誘導体に関する。
【００１１】
誘導体は、18位における天然セリンを置換しているリシンにおいて、および別のリシン残基においてアシル化されている。他のリシン残基は、天然リシン、または別のアミノ酸残基を置換しているリシンでよい。側鎖は、アルブミン結合部分である。側鎖は、好ましくは、両方とも任意選択で置換されている末端もしくは遠位のフェニルまたはフェノキシ基を有する、脂肪二酸、および脂肪酸から選択される延長部分を含む。脂肪酸または脂肪二酸のカルボキシ基は、任意選択でリンカーを介して、好ましくは、そのε-アミノ基において、GLP-1ペプチドのリシン残基にアシル化されている。GLP-1ペプチドは、GLP-1(7-37)と比較して全部で12個までのアミノ酸の差異(例えば、1つもしくは複数の付加、1つもしくは複数の欠失、および/または1つもしくは複数の置換)を有するGLP-1(7-37)(配列番号1)のアナログであり得る。延長部分は、リンカーを介してペプチドに付着している。リンカーは、モノまたはオリゴエチレングリコール単位として一緒に逐次的に連結し得る1つもしくは複数のエチレングリコール単位を含み得る。リンカーは、遊離アミノ基(-NH_2置換基)を含み、*-NH末端およびCO-*末端を有するジラジカルである。
【００１２】
さらに特に、本発明は、GLP-1アナログの誘導体、またはその薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステルに関し、このアナログは、GLP-1(7-37)(配列番号1)の18位に対応する位置において第1のK残基、別の位置において第2のK残基、およびGLP-1(7-37)と比較して最大で12個のアミノ酸の変化を含み、この誘導体は、それぞれ、リンカーを介して

、それぞれ、前記第1および第2のK残基に付着している2つの延長部分を含み、延長部分は、Chem.1、およびChem.2:
Chem.1:HOOC-$(CH_2)_x$-CO-*;およびChem.2:HOOC-C_6H_4-O-$(CH_2)_y$-CO-*
(式中、xは、6～18の範囲の整数であり、yは、3～17の範囲の整数である)から選択され、リンカーは、Chem.3:*-NH-$(CH_2)_q$-CH[$(CH_2)_w$-NH_2] -CO-*
(式中、qは、0～5の範囲の整数であり、wは、0～5の範囲の整数である)を含む。

【００１３】

本発明はまた、医薬として使用するため、特に、全ての形態の糖尿病および関連する疾患、例えば、摂食障害、心血管疾患、胃腸疾患、糖尿病性合併症、重篤疾患、および/もしくは多嚢胞性卵巣症候群の治療および/もしくは予防において使用するため、ならびに/または脂質パラメーターを改善するため、β細胞機能を改善するため、ならびに/または糖尿病性疾患の進行を遅延もしくは予防するための、このような誘導体に関する。

【００１４】

本発明はさらに、本発明のGLP-1誘導体のGLP-1ペプチドの形態の中間生成物に関する。

【００１５】

本発明の誘導体は、生物活性がある。また、または代わりに、本発明の誘導体は、延長性の薬物動態プロファイルを有する。また、または代わりに、本発明の誘導体は、高い経口バイオアベイラビリティーを有する。これらの特性は、皮下、静脈内、および/または特に、経口投与のための次世代のGLP-1化合物の開発において重要である。

【発明を実施するための形態】

【００１６】

以下において、ギリシャ文字は、それらの記号または対応する記載された名称によって表してもよい(例えば、α=アルファ;β=ベータ;γ=ガンマ;δ=デルタ;ε=イプシロン;ζ=ゼータ;ω=オメガなど)。また、ギリシャ文字のμは、「u」で表してもよい(例えば、μl=ul、またはμM=uM)。

【００１７】

化学式におけるアスタリスク(*)は、i)付着点、ii)ラジカル、および/またはiii)非共有電子を示す。

【００１８】

本発明は、GLP-1アナログの誘導体、またはその薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステルに関し、このアナログは、GLP-1(7-37)(配列番号1)の18位に対応する位置において第1のK残基、別の位置において第2のK残基、およびGLP-1(7-37)と比較して最大で12個のアミノ酸の変化を含み、この誘導体は、リンカーを介して、それぞれ、前記第1および第2のK残基に付着している2つの延長部分を含み、延長部分は、Chem.1:HOOC-$(CH_2)_x$-CO-*、およびChem.2:HOOC-C_6H_4-O-$(CH_2)_y$-CO-*(式中、xは、6～18の範囲の整数であり、yは、3～17の範囲の整数である)から選択され、リンカーは、Chem.3:*-NH-$(CH_2)_q$-CH[$(CH_2)_w$-NH_2]-CO-*(式中、qは、0～5の範囲の整数であり、wは、0～5の範囲の整数である)を含む。

【００１９】

GLP-1アナログ

「GLP-1アナログ」または「GLP-1のアナログ」という用語は、本明細書において使用する場合、ヒトグルカゴン様ペプチド-1(GLP-1(7-37))のバリアントであるペプチド、または化合物を意味し、この配列は、配列リストにおいて配列番号1として含まれている。配列番号1の配列を有するペプチドはまた、天然GLP-1と示し得る。

【００２０】

配列リストにおいて、配列番号1の第1のアミノ酸残基(ヒスチジン)を、第1番と割り当てる。しかし以下において、当技術分野の慣習によると、このヒスチジン残基は、第7番と称され、それに続くアミノ酸残基は、それに応じて付番され、グリシン第37番で終わる。したがって一般に、本明細書においてアミノ酸残基番号またはGLP-1(7-37)配列の位置番号について任意に参照することは、7位におけるHisで開始し、37位におけるGlyで終了

する配列について参照することである。

【００２１】

本発明の誘導体のGLP-1アナログは、i)変化しているアミノ酸残基に対応する天然GLP-1(7-37)におけるアミノ酸残基の数(すなわち、天然GLP-1における対応する位置)について、およびii)実際の変化について参照することにより記載し得る。

【００２２】

本発明の誘導体のGLP-1アナログは、GLP-1(7-37)の18位に対応する位置において第1のリシン残基を含む。このアナログのアミノ酸配列が天然GLP-1のアミノ酸配列とその他の点で同一である場合、このようなアナログは、K^{18}-GLP-1(7-37)と示し得る。この命名は、天然GLP-1のアミノ酸配列をそれに応じて表し、ここで18位におけるセリンは、リシンで置換されている。付け加えて言うと、このアナログは、26位において第2のLys残基、および34位において第3のLys残基を含む(すなわち、GLP-1(7-37)の天然リシン)。

【００２３】

本発明の誘導体のGLP-1アナログは、別の位置において第2のリシン残基をさらに含み、この位置は、「T」と示し得る。Tは、それに応じて18位以外の任意の他の位置を表す。

【００２４】

例えば、Tは、26を表してもよく、この場合、アナログは、18位におけるリシンに加えて、天然GLP-1における26位に対応する位置においてリシンを含む。このようなアナログは、やはりK^{18}-GLP-1(7-37)と示されるが、ただし、K^{18}-置換を除いて、そのアミノ酸配列は、天然GLP-1のアミノ酸配列と同一である。

【００２５】

別の例として、Tは、34を表してもよく、この場合、アナログは、18位におけるリシンに加えて、天然GLP-1における34位に対応する位置においてリシンを含む。このようなアナログは、またさらにK^{18}-GLP-1(7-37)と示されるが、ただし、K^{18}-置換を除いて、そのアミノ酸配列は、天然GLP-1のアミノ酸配列と同一である。

【００２６】

しかし、Tはまた、18、26、または34以外の7～37の範囲の数を表し得る。このようなアナログは、K^{18}、K^{T}-GLP-1(7-37)と示されるが、ただし、K^{18}-置換およびK^{T}-置換を除いて、そのアミノ酸配列は、天然GLP-1のアミノ酸配列と同一である。

【００２７】

本発明の誘導体の部分を形成するGLP-1アナログは、天然GLP-1(配列番号1)と比較したときに、最大で12個のアミノ酸の変化を含み、好ましくは有する。すなわち、これは、いくつかのアミノ酸残基が、天然GLP-1(7-37)(配列番号1)と比較したときに変化している、GLP-1ペプチドである。これらの変化は、独立に、1つまたは複数のアミノ酸の置換、付加、および/または欠失を表し得る。

【００２８】

下記は、適正なアナログ命名法の非限定的な例である。

【００２９】

例えば、アナログ[Aib8,Lys18,Glu22,Val25,Arg26,Lys31,Arg34]-GLP-1-(7-37)は、GLP-1(7-37)ペプチドを示し、これは、天然GLP-1と比較したとき、下記の置換によって変化している:Aib(α-アミノイソ酪酸)による8位におけるアラニンの置換、リシンによる18位におけるセリンの置換、グルタミン酸による22位におけるグリシンの置換、バリンによる25位におけるアラニンの置換、アルギニンによる26位におけるリシンの置換、リシンによる31位におけるトリプトファンの置換、およびアルギニンによる34位におけるリシンの置換。このアナログはまた、(8Aib、18K、22E、25V、26R、31K、34R)と短く示し得る。

【００３０】

別の例として、アナログ[Lys18、Glu22、Arg26、Lys27、His31、Gly34]-GLP-1-(7-34)は、GLP-1(7-37)ペプチドを示し、これは、天然GLP-1と比較したとき、リシンによる18位におけるセリンの置換、グルタミン酸による22位におけるグリシンの置換、アルギニンによる26位におけるリシンの置換、リシンによる27位におけるグルタミン酸の置換、ヒスチ

ジンによる31位におけるトリプトファンの置換、グリシンによる34位におけるリシンの置換によって、および35位、36位、37位におけるグリシン-アルギニン-グリシンのC末端の欠失によって変化している。このアナログはまた、GLP-1(7-37)への言及が暗示される場合、(18K、22E、26R、27K、31H、34G、des35-37)と短く示してもよく、「des」は、欠失を表す。

【００３１】

またさらなる例として、Imp^7、および/または(Aib^8もしくはS^8)を含むアナログは、GLP-1(7-37)ペプチドを意味し、これは、天然GLP-1と比較したとき、イミダゾプロピオン酸(Imp)による7位におけるヒスチジンの置換、および/またはα-アミノイソ酪酸(Aib)、もしくはセリンによる8位におけるアラニンの置換を含む。このアナログは、配列番号1と比較してさらなる変化を含み得る。

【００３２】

上記の例から明らかなように、アミノ酸残基は、これらの完全な名称、これらの1文字コード、および/またはこれらの3文字コードによって同定し得る。これらの3つの方法は、完全に同等である。

【００３３】

「と等しい位置」または「対応する位置」という表現を使用して、天然GLP-1(7-37)(配列番号1)を参照することにより、GLP-1配列における変化の部位を特徴付けることができる。同等または対応する位置は、例えば、単純な筆記および目視によって容易に推定され、かつ/またはNeedleman-Wunschアラインメントである「アラインメント」などの、標準的タンパク質またはペプチドアラインメントプログラムを使用し得る。アルゴリズムは、Needleman, S.B.およびWunsch, C.D.、(1970年)、Journal of Molecular Biology、48:443～453頁、およびMyersおよびW. Miller、「Optimal Alignments in Linear Space」、CABIOS(computer applications in the biosciences)(1988年)4:11～17頁によるアラインプログラムに記載されている。アラインメントのために、デフォルトスコアリングマトリックスBLOSUM62およびデフォルト同一性マトリックスを使用してもよく、ギャップにおける第1の残基についてのペナルティは、-10(マイナス10)で設定してもよく、ギャップにおけるさらなる残基についてのペナルティは、-0.5(マイナス0.5)で設定してもよい。

【００３４】

このようなアラインメントの一例は、本明細書において下記で挿入されており、ここで、配列第1番は、配列番号1であり、配列第2番は、そのアナログ(18K、22E、26R、27K、31H、34G、des35-37)である。

```
# 1:GLP-1(7-37)
# 2:GLP-1(7-37)アナログ
# マトリックス:EBLOSUM62
# ギャップ_ペナルティ:10.0
# 伸長_ペナルティ:0.5
# 長さ:31
# 同一性:22/31(71.0%)
# 類似性:24/31(77.4%)
# ギャップ:3/31(9.7%)
# スコア:105.0
```

【００３５】

【表１】

```
1       1 HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRG 31
          ||||||||||.|||.|||::|||.||.
2       1 HAEGTFTSDVSKYLEEQAARKFIAHLVG--- 28
```

【００３６】

非天然アミノ酸、例えば、Impおよび/またはAibが配列に含まれている場合、これらは、アラインメントの目的のために、Xで置き換えてもよい。必要に応じて、Xは、後で手作業によって補正することができる。

【００３７】

「ペプチド」という用語は、例えば、本発明の誘導体のGLP-1アナログの状況において使用されるように、アミド(または、ペプチド)結合によって相互結合している一連のアミノ酸を含む化合物を意味する。

【００３８】

本発明のペプチドは、ペプチド結合によって結合している少なくとも5個の構成アミノ酸を含む。特定の実施形態において、ペプチドは、少なくとも10個の、好ましくは、少なくとも15個の、より好ましくは、少なくとも20個の、さらにより好ましくは、少なくとも25個の、または最も好ましくは、少なくとも27個のアミノ酸を含む。

【００３９】

特定の実施形態では、ペプチドは、少なくとも5個の構成アミノ酸から構成され、好ましくは、少なくとも10個の、少なくとも15個の、少なくとも20個の、少なくとも25個のアミノ酸から構成され、または最も好ましくは、少なくとも27個のアミノ酸から構成される。またさらなる特定の実施形態において、ペプチドは、少なくとも28個の、少なくとも29個の、少なくとも30個の、少なくとも31個の、または少なくとも32個のアミノ酸から構成される。

【００４０】

またさらなる特定の実施形態において、ペプチドは、ペプチド結合によって相互結合しているアミノ酸からなる。

【００４１】

アミノ酸は、アミン基およびカルボン酸基、ならびに任意選択で、アミノ酸側鎖と称されることが多い1種または複数のさらなる基を含有する分子である。

【００４２】

「アミノ酸」という用語には、タンパク新生アミノ酸(遺伝コードによってコードされる、天然アミノ酸、および標準的アミノ酸を含める)、ならびに非タンパク新生アミノ酸(タンパク質において見出されない、および/または標準的遺伝コードにおいてコードされていない)、ならびに合成アミノ酸が含まれる。したがって、アミノ酸は、タンパク新生アミノ酸、非タンパク新生アミノ酸、および/または合成アミノ酸の群から選択し得る。

【００４３】

遺伝コードによってコードされないアミノ酸の非限定的な例は、γ-カルボキシグルタメート、オルニチン、およびホスホセリンである。合成アミノ酸の非限定的な例は、アミノ酸のD-異性体、例えば、D-アラニンおよびD-ロイシン、Aib(α-アミノイソ酪酸)、β-アラニン、およびデス-アミノ-ヒスチジン(desH、代替名、イミダゾプロピオン酸、略名、Imp)である。

【００４４】

以下において、光学異性体が述べられていない全てのアミノ酸は、L-異性体を意味すると理解される(他に特定しない限り)。

【００４５】

本発明のGLP-1誘導体およびアナログは、GLP-1活性を有する。この用語は、GLP-1受容体に結合し、シグナル伝達経路を開始させて、当技術分野において公知のようなインスリン分泌性作用または他の生理学的作用をもたらす能力を意味する。例えば、本発明のアナログおよび誘導体は、本明細書において実施例59に記載されているインビトロの効力アッセイを使用して、GLP-1活性について適切に試験し得る。

【００４６】

GLP-1誘導体

「誘導体」という用語は、GLP-1ペプチドまたはアナログとの関連で本明細書において使用する場合、化学修飾されたGLP-1ペプチドまたはアナログを意味し、ここで、1個また

は複数の置換基は、ペプチドに共有結合で付着している。置換基はまた、側鎖と称してもよい。

【００４７】

特定の実施形態において、側鎖は、アルブミンと共に非共有結合性凝集物を形成することができ、それによって血流による誘導体の循環を促進し、また、GLP-1-誘導体およびアルブミンの凝集物はゆっくりとのみ崩壊して、活性医薬成分を放出するという事実によって、誘導体の作用時間を延長させる作用を有する。したがって、置換基、または側鎖は、全体として、アルブミン結合部分と称してもよい。

【００４８】

別の特定の実施形態において、アルブミン結合部分は、特に、アルブミン結合、それによって延長に関連した一部分を含み、この一部分は、それに応じて延長部分と称してもよい。延長部分は、ペプチドへのその付着点に対して、アルブミン結合部分の反対の末端に、または反対の末端の付近にあってよい。

【００４９】

またさらなる特定の実施形態において、アルブミン結合部分は、延長部分とペプチドへの付着点との間の一部分を含み、この一部分は、リンカー、リンカー部分、スペーサーなどと称してもよい。

【００５０】

特定の実施形態では、延長部分は、生理学的pH(7.4)で、親油性であり、かつ/または負に帯電している。

【００５１】

アルブミン結合部分、延長部分、またはリンカーは、アシル化によってGLP-1ペプチドのリシン残基に共有結合で付着し得る。

【００５２】

好ましい実施形態において、好ましくは、延長部分およびリンカーを含む、アルブミン結合部分の活性エステルは、アミド結合の形成下で、リシン残基のアミノ基、好ましくは、そのεアミノ基に共有結合で連結している(この工程は、アシル化と称される)。

【００５３】

特に明記しない限り、リシン残基のアシル化について参照するとき、そのε-アミノ基への参照と理解される。

【００５４】

リンカーを介して第1および第2のK残基(例えば、K^{18}およびK^{T})に付着している2つの延長部分を含む誘導体は、第1および第2のリシン残基のε-アミノ基において、例えば、GLP-1ペプチドのそれぞれ、18位およびTにおいて、2回アシル化された、二重アシル化された、または二連アシル化された誘導体と称してもよい。

【００５５】

本目的のために、「アルブミン結合部分」、「延長部分」、および「リンカー」という用語は、分子自体およびそのラジカルを含む。1つまたは他の形態が意味されるかどうかは、用語か使用される状況から明らかである。好ましい実施形態において、これらの用語は、ラジカルを意味する。ラジカルは好ましくは、カルボニル基および/またはアミノ基と関連して、すなわち、1つまたは2つの非共有電子(*)によって1つまたは複数のアミド結合を形成するのに適している。このようなラジカルの例は、Chem.1、Chem.2、およびChem.3であり、これらの構造を下記に示す。

【００５６】

一態様において、各延長部分は、Chem.1:HOOC-$(CH_2)_x$-CO-*、およびChem.2:HOOC-C_6H_4-O-$(CH_2)_y$-CO-*から独立に選択される延長部分を含み、またはこれらからなる
(式中、xは、6～18の範囲の整数であり、yは、3～17の範囲の整数である)。

【００５７】

一実施形態において、*-$(CH_2)_x$-*は、直鎖状または分岐状、好ましくは、直鎖状アルキレン(xは、6～18の範囲の整数である)を意味する。

【００５８】
別の実施形態において、*-$(CH_2)_y$-*は、直鎖状または分岐状、好ましくは、直鎖状アルキレン(yは、3～17の範囲の整数である)を意味する。
【００５９】
命名法は当技術分野で通常の通りであり、例えば、上記の式において、*-COOHは、カルボキシを意味し、*-C_6H_4-*は、フェニレンを意味し、*-CO-*は、カルボニル(O=C<**)を意味する。特定の実施形態では、フェニレンラジカルは、それぞれ、オルト、メタ、またはパラである。
【００６０】
特定の実施形態において、本発明の誘導体は、GLP-1(7-37)(配列番号1)の18位に対応する位置において第1のK残基に付着している第1の延長部分、および別の位置において第2のK残基に付着している第2の延長部分を有する。
【００６１】
別の特定の実施形態において、2つのアルブミン結合部分(すなわち、全側鎖)は、同様であり、好ましくは、実質的に同一であり、または最も好ましくは、同一である。
【００６２】
またさらなる特定の実施形態において、2つの延長部分(または、第1および第2の延長部分)は、同様であり、好ましくは実質的に同一であり、または最も好ましくは、同一である。
【００６３】
またさらなる特定の実施形態において、2つのリンカーは、同様であり、好ましくは、実質的に同一であり、または最も好ましくは、同一である。
【００６４】
「実質的に同一な」という用語は、1種もしくは複数の塩、エステル、および/またはアミドの形成;好ましくは、1種もしくは複数の塩、メチルエステル、および単純なアミドの形成;より好ましくは、2種以下の塩、メチルエステル、および/または単純なアミドの形成;さらにより好ましくは、1種以下の塩、メチルエステル、および/または単純なアミドの形成;あるいは最も好ましくは、1種以下の塩の形成による、同一であることからの差異を含む。
【００６５】
化合物、例えば、アルブミン結合部分、延長部分、およびリンカーとの関連で、類似性および/または同一性は、当技術分野において公知の任意の適切なコンピュータプログラムおよび/またはアルゴリズムを使用して決定し得る。
【００６６】
例えば、2つの延長部分、2つのリンカー、および/または2つの全側鎖の類似性は、分子フィンガープリントを使用して適切に決定し得る。フィンガープリントは、化学構造を表す数学的方法である(例えば、Chemoinformatics:A textbook、Johann GasteigerおよびThomas Engel(編)、Wiley-VCH Verlag、2003年を参照されたい)。
【００６７】
適切なフィンガープリントの例には、これらに限定されないが、UNITYフィンガープリント、MDLフィンガープリント、および/またはECFPフィンガープリント、例えば、ECFP_6フィンガープリント(ECFPは、拡張連結性フィンガープリントの略語である)が含まれる。
【００６８】
特定の実施形態では、2つの延長部分、2つのリンカー、および/または2つの全側鎖は、a)ECFP_6フィンガープリント;b)UNITYフィンガープリント;および/またはc)MDLフィンガープリントとして表される。
【００６９】
2つのフィンガープリントの類似性を計算するために、a)、b)またはc)が使用されようとも、谷本係数を好ましくは使用する。
【００７０】

特定の実施形態では、a)、b)またはc)を使用しようとも、それぞれ、2つの延長部分、2つのリンカー、および/または2つの全側鎖は、少なくとも0.5(50%);好ましくは、少なくとも0.6(60%);より好ましくは、少なくとも0.7(70%)、または少なくとも0.8(80%);さらにより好ましくは、少なくとも0.9(90%);または最も好ましくは、少なくとも0.99(99%)の類似性、例えば、1.0(100%)の類似性を有する。

【００７１】

UNITYフィンガープリントは、プログラムSYBYL(Tripos、1699 South Hanley Road、St. Louis、MO63144-2319、USAから入手可能)を使用して計算し得る。ECFP_6およびMDLフィンガープリントは、プログラムPipeline Pilot(Accelrys Inc.、10188 Telesis Court、Suite 100、San Diego,CA92121、USAから入手可能)を使用して計算し得る。さらなる詳細については、例えば、J. Chem. Inf. Model.、2008年、48、542～549頁;J. Chem. Inf. Comput. Sci.、2004年、44、170～178頁;J. Med. Chem.、2004年、47、2743～2749頁;J. Chem. Inf. Model.、2010年、50、742～754頁;およびSciTegic Pipeline Pilot Chemistry Collection:Basic Chemistry User Guide、2008年3月、SciTegic Pipeline Pilot Data Modeling Collection、2008年(両方ともAccelrys Software Inc.、San Diego、USから)、ならびにガイドhttp://www.tripos.com/tripos_resources/fileroot/pdfs/Unity_111408.pdf、およびhttp://www.tripos.com/data/SYBYL/SYBYL_072505.pdfを参照されたい。

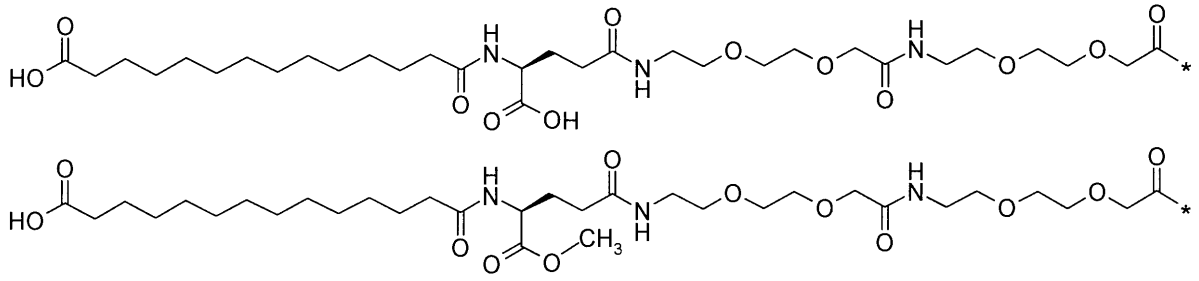
【００７２】

類似性計算の一例を本明細書において下記で挿入し、そこにおいて公知のGLP-1誘導体の公知の全側鎖を、そのメチルエステルと比較したが、2つの側鎖を、本明細書において下記で示す。

Chem.36a:

【００７３】

【化１】



【００７４】

a)ECFP_6フィンガープリントを使用して、類似性は0.798であり、b)UNITYフィンガープリントを使用して、類似性は0.957であり、MDLフィンガープリントを使用して、類似性は0.905である。

【００７５】

2つの同一の側鎖(アルブミン結合部分)の場合、誘導体は、対称的と示し得る。

【００７６】

本発明の誘導体の2つのリンカーのそれぞれは、下記の第1のリンカー要素(A):Chem.3:*-NH-$(CH_2)_q$-CH[$(CH_2)_w$-NH_2]-CO-*(式中、qは、0～5の範囲の整数であり、wは、0～5の範囲の整数である)を含む。

【００７７】

特定の実施形態において、第1の延長部分は、上記の第1のリンカー要素を含む第1のリンカーを介して、GLP-1(7-37)(配列番号1)の18位に対応する位置において第1のK残基に付着しており、第2の延長部分は、上記の第1のリンカー要素を含む第2のリンカーを介して、別の位置において第2のK残基に付着している。

【００７８】

Chem.3のこの第1のリンカー要素を含むリンカーの非限定的な例には、オルニチン、リ

シン、およびホモリシンのジラジカルが含まれる(それぞれ、α-バージョンまたはω-バージョン)。オルニチンとは、2,5-ジアミノペンタン酸を意味し、リシンとは、2,6-ジアミノヘキサン酸を意味し、ホモリシンとは、2,7-ジアミノヘプタン酸を意味する。

【００７９】

α-バージョンでは、q=0である。すなわち、αとは、これが、(*-NHに対して)ラジカル化された、(-CO-*ラジカルに対して)α位におけるアミノ基であるという事実を意味する。w=3、4、および5であるとき、Chem.3式とは、それぞれ、α-オルニチン(α-Orn;Chem.9)、α-リシン(α-Lys;Chem.7)、およびα-ホモリシン(α-Homolys;Chem.11)を意味する。

【００８０】

ωバージョンでは、w=0である。すなわち、ωとは、これが、(*-NHに対して)ラジカル化された、アルキル置換基鎖の遠位C原子におけるアミノ基であるという事実を意味する。q=3、4、および5であるとき、Chem.3式とは、それぞれ、δ-オルニチン(δ-Orn;Chem.8)、ε-リシン(eps-Lys;Chem.6)、およびζ-ホモリシン(ζ-Homolys;Chem.10)を意味する。

【００８１】

好ましい実施形態において、これらのリンカーは、それらのL型である。リンカーは、1回または2回のChem.3を含み得る。zが2であるとき、Chem.3要素は、好ましくはアミド結合を介して相互結合している。例えば、リンカーは、2回のε-Lys(2×eps-Lys;2×Chem.6)を含み得る。

【００８２】

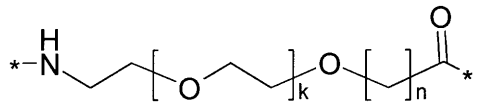
リンカー(第1および第2のリンカーのそれぞれ)は、下記に定義するような第2(B)、第3(C)、および/または第4(D)のリンカー要素から独立に選択される1つまたは複数のさらなるリンカー要素をさらに(すなわち、1回または2回の第1のリンカー要素(A)に加えて)含み得る。

第2のリンカー要素(B):

Chem.12:

【００８３】

【化２】



,

【００８４】

(式中、kは、1～5の範囲の整数であり、nは、1～5の範囲の整数である)。

【００８５】

特定の実施形態において、k=1およびn=1であるとき、このリンカー要素は、OEG、または8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸と示してもよく、かつ/またはこのリンカー要素は、下記の式:

Chem.12a: *-NH-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-*

によって表してもよい。

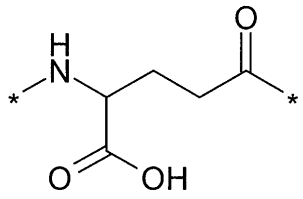
【００８６】

第3のリンカー要素(C)、グルタミン酸(Glu)(下記の2つのバージョンのいずれか)である:

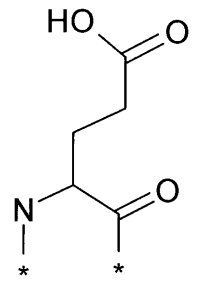
Chem.14:

【００８７】

【化３】



【００８８】
または、
Chem.15:
【００８９】
【化４】



.

【００９０】
Chem.14バージョンにおいて、第3のリンカー要素はまた、これが別のリンカー要素への、またはリシンのε-アミノ基への結合のためにここで使用される、アミノ酸であるグルタミン酸のγカルボキシ基であるという事実によって、γ-Glu、または短くgGluと称し得る。Chem.15バージョンにおいて、第3のリンカー要素はまた、これが結合のために使用されるαカルボキシ基であるという事実によって、α-Glu、または短くaGluと称し得る。
【００９１】
特定の実施形態では、Chem.14は、a)L型、またはb)D型である。
【００９２】
第4のリンカー要素(D):
Chem.16: *-NH-$(CH_2)_s$-CO-*
(式中、sは、3～13の範囲の整数である)。
【００９３】
Chem.16において、基*-$(CH_2)_s$-*は、直鎖状または分岐状、好ましくは直鎖状アルキレンを表し得る。
【００９４】
またさらなる特定の実施形態において、リンカーは、a)6～41個のC原子;および/またはb)4～28個のヘテロ原子を有する。ヘテロ原子の特定および非限定的な例は、N原子、およびO原子である。H原子は、ヘテロ原子ではない。
【００９５】
特定の実施形態において、各リンカーは、アミド結合を介して相互結合しており、示した配列において、Chem.14および2回のChem.6からなり、その*-NH末端において延長部分の*-CO末端に結合しており、またその*-CO末端においてGLP-1アナログの、第1または第2のK残基のεアミノ基に結合している。
【００９６】
例えば、第1のリンカーは、アミド結合を介して相互結合しており、示した配列にあり、その*-NH末端において第1の延長部分の*-CO末端に結合しており、その*-CO末端におい

てGLP-1アナログの第1のK残基のεアミノ基に結合している、Chem.14および2回のChem.6からなり;第2のリンカーは、アミド結合を介して相互結合しており、示した配列にあり、その*-NH末端において第2の延長部分の*-CO末端に結合しており、その*-CO末端においてGLP-1アナログの第2のK残基のεアミノ基に結合している、Chem.14および2回のChem.6からなる。

【００９７】

言うまでもなく、良好な秩序のためだけに、ここでおよび下記において、「示した配列において」という語句は、最初に言及したリンカー要素(ここで、Chem.14)の*-NH末端が、延長部の*-CO末端に結合しており、最後に言及したリンカー要素(ここで、2回のChem.6の最後の1つ)の*-CO末端が、GLP-1アナログの当該のK残基のεアミノ基に結合していることを意味する。

【００９８】

他の特定の実施形態において、各リンカー(第1および第2のリンカー)は、アミド結合を介して相互結合しており、示した配列にあり、その*-NH末端において延長部分の*-CO末端に結合しており、その*-CO末端においてGLP-1アナログの第1または第2のK残基のεアミノ基に結合している、Chem.14、2回のChem.13、およびChem.6からなる。

【００９９】

例えば、第1のリンカーは、アミド結合を介して相互結合しており、示した配列にあり、その*-NH末端において第1の延長部分の*-CO末端に結合しており、その*-CO末端においてGLP-1アナログの第1のK残基のεアミノ基に結合している、Chem.14、2回のChem.13、およびChem.6からなり;第2のリンカーは、アミド結合を介して相互結合しており、示した配列にあり、その*-NH末端において第2の延長部分の*-CO末端に結合しており、その*-CO末端においてGLP-1アナログの第2のK残基のεアミノ基に結合している、Chem.14、2回のChem.13、およびChem.6からなる。

【０１００】

さらなる特定の実施形態(58～66と付番)を、下記でさらに一覧表示し、「例えば、--」で開始する文において、これらの特定の実施形態を、リンカー(Chem.14、2×Chem.6)および(Chem.14、2×Chem.13、およびChem.6)について上記で説明した通りの対応する方法で再配合してきたさらなる実施形態は、特に参照により本明細書中に組み込まれている。

【０１０１】

またさらなる特定の実施形態において、本発明は、以下に関する:

(a)GLP-1アナログの誘導体であって、このアナログは、GLP-1(7-37)(配列番号1)の18位に対応する位置において第1のK残基、GLP-1(7-37)(配列番号1)の26位において第2のK残基、およびGLP-1(7-37)と比較して最大で4個のアミノ酸の変化を含み、この誘導体は、リンカーを介して、それぞれ、前記第1および第2のK残基に付着している2つの延長部分を含み、延長部分は、Chem.1:HOOC-$(CH_2)_x$-CO-*、またはChem.2:HOOC-C_6H_4-O-$(CH_2)_y$-CO-*(式中、xは、12であり、yは9または11である)であり、リンカーは、Chem.3:*-NH-$(CH_2)_q$-CH[$(CH_2)_w$-NH_2]-CO-*(式中、qは、4であり、wは、0である)を含む、誘導体;またはその薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステル。

(b)リンカーが、アミド結合を介して相互結合しており、示した配列において、Chem.14および2回のChem.6からなり、その*-NH末端において延長部分の*-CO末端に結合しており、その*-CO末端においてGLP-1アナログの第1または第2のK残基のεアミノ基に結合している、(a)の誘導体。

(c)リンカーが、アミド結合を介して相互結合しており、示した配列において、Chem.14、2回のChem.13、およびChem.6からなり、その*-NH末端において延長部分の*-CO末端に結合しており、その*-CO末端においてGLP-1アナログの第1または第2のK残基のεアミノ基に結合している、(a)の誘導体。

(d)アナログが、変化K^{18}に加えて、Q^{34}をさらに含む、(a)、(b)、または(c)のいずれかの誘導体。

(e)アナログが、Aib^8を含む、(a)、(b)、(c)、または(d)のいずれかの誘導体。

(f)アナログが、E^{22}を含む、(a)、(b)、(c)、(d)、または(e)のいずれかの誘導体。
(g)アナログが、式I
Xaa_7-Xaa_8-Glu-Gly-Thr-Xaa_{12}-Thr-Ser-Asp-Xaa_{16}-Ser-Lys-Xaa_{19}-Xaa_{20}-Glu-Xaa_{22}-Xaa_{23}-Ala-Xaa_{25}-Xaa_{26}-Xaa_{27}-Phe-Ile-Xaa_{30}-Xaa_{31}-Leu-Xaa_{33}-Xaa_{34}-Xaa_{35}-Xaa_{36}-Xaa_{37}-Xaa_{38}
を含み、好ましくは有し、式中、
Xaa_7は、Hisまたはデスアミノ-ヒスチジン(イミダゾプロピオニル)であり、Xaa_8は、Aibであり、Xaa_{12}は、Pheであり、Xaa_{16}は、Valであり、Xaa_{19}は、Tyrであり、Xaa_{20}は、Leuであり、Xaa_{22}は、GlyまたはGluであり、Xaa_{23}は、Glnであり、Xaa_{25}は、AlaまたはValであり、Xaa_{26}は、Lysであり、Xaa_{27}は、Gluであり、Xaa_{30}は、Alaであり、Xaa_{31}は、Trpであり、Xaa_{33}は、Valであり、Xaa_{34}は、Glnであり、Xaa_{35}は、Glyであり、Xaa_{36}は、Argであり、Xaa_{37}は、Glyであり、Xaa_{38}は、存在しない、(a)、(b)、(c)、(d)、(e)、または(f)のいずれかの誘導体。
(h)Chem.24、Chem.25、Chem.30、Chem.38、Chem.37、およびChem.39から選択される化合物;またはその薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステル。
(i)500pM未満、好ましくは、400pM未満、より好ましくは、300pM未満、さらにより好ましくは、200pM未満、または最も好ましくは、100pM未満のEC_{50}に対応する効力を有し、効力は、安定的なトランスフェクトされた細胞系、例えば、BHK467-12A(tk-ts13)を使用して、ヒトGLP-1受容体を含有する培地におけるcAMPの形成の刺激についてのEC_{50}として決定され、cAMPは、例えば、内因的に形成されたcAMPと外因的に加えたビオチン標識cAMPとの間の競合に基づき、かつ、例えば、特異的抗体を使用してcAMPを捕捉する、機能的受容体アッセイ、例えば、実施例59に記載されているような、例えば、AlphaScreen cAMPアッセイを使用して決定される、実施形態(a)、(b)、(c)、(d)、(e)、(f)、(g)、または(h)のいずれかの誘導体。
(j)GLP-1受容体結合親和性(IC_{50})が、0.005%HSA(低アルブミン)の存在下で、10nM未満、好ましくは、8.0nM未満、またより好ましくは、6.0nM未満、さらにより好ましくは、4.0nM未満、または最も好ましくは、2.00nM未満であり、GLP-1受容体への結合親和性が、例えば、SPA結合アッセイを使用して、受容体からの^{125}I-GLP-1の移動によって測定され、GLP-1受容体が、安定的なトランスフェクトされたベビーハムスター腎細胞系、例えば、BHK tk-ts13を使用して調製され、IC_{50}値が、受容体からの^{125}I-GLP-1の50%を移動させる濃度として決定される、実施形態(a)、(b)、(c)、(d)、(e)、(f)、(g)、(h)、または(i)のいずれかの誘導体。
(k)ラットにおけるi.v.投与後の末端半減期($T_{1/2}$)が、セマグルチドの末端半減期の少なくとも3倍であり、半減期は、例えば、実施例65に記載されているように、ラットにおけるインビボの薬物動態研究において決定される、実施形態(a)、(b)、(c)、(d)、(e)、(f)、(g)、(h)、(i)、または(j)のいずれかの誘導体。
(l)ラットにおけるインビボでの経口胃管栄養補給実験において、30～180分の時点で、用量補正した血漿曝露のAUC((分×pM/pmol)の単位)が、少なくとも20、好ましくは少なくとも40、より好ましくは少なくとも60、または最も好ましくは少なくとも75であり;AUCを、実施例62に記載した通りに決定し得る、実施形態(a)、(b)、(c)、(d)、(e)、(f)、(g)、(h)、(i)、(j)、または(k)のいずれかの誘導体。

【０１０２】

本発明の誘導体は、同じ分子式および結合した原子の配列を有する異なる立体異性体の形態で存在し得るが、空間中のこれらの原子の三次元の配向のみが異なる。本発明の例示的な誘導体の立体異性は、実験セクションにおいて、標準的な命名法を使用して名称および構造で示される。特に明記しない限り、本発明は、特許請求した誘導体の全ての立体異性体の形態に関する。

【０１０３】

本発明のGLP-1誘導体の血漿中濃度は、任意の適切な方法を使用して決定し得る。例えば、LC-MS(液体クロマトグラフィー質量分析)、または免疫アッセイ、例えば、RIA(放射

線免疫アッセイ)、ELISA(酵素結合免疫吸着アッセイ)、およびLOCI(発光酸素チャネリング免疫アッセイ)を使用し得る。適切なRIAおよびELISAアッセイのための一般のプロトコルは、例えば、WO09/030738、116～118頁に見出される。好ましいアッセイは、本明細書において150に記載されているLOCIアッセイである。

【０１０４】

中間生成物

本発明はまた、GLP-1(7-37)(配列番号1)と比較して下記の変化: (a)7Imp、8Aib、18K、22E、34Q;(b)7Imp、18K、22E、25V、26R、31K、34R;または(c)8Aib、18K、19Q、22E、34Q;を含むGLP-1アナログまたはその薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステルの形態の中間生成物に関する。

【０１０５】

薬学的に許容される塩、アミド、またはエステル

本発明のアナログおよび誘導体は、薬学的に許容される塩、アミド、またはエステルの形態でよい。

【０１０６】

塩は、例えば、塩基および酸の間の化学反応、例えば:$2NH_3+H_2SO_4 \rightarrow (NH_4)_2SO_4$によって形成される。

【０１０７】

塩は、塩基性塩、酸性塩でよく、または塩は、どちらでなくてもよい(すなわち、中性塩)。塩基性塩は、水中で、水酸化イオンを生成し、酸性塩は、ヒドロニウムイオンを生成する。

【０１０８】

本発明の誘導体の塩は、それぞれ、アニオン基またはカチオン基と反応する、加えたカチオンまたはアニオンによって形成し得る。これらの基は、本発明の誘導体のペプチド部分において、および/または側鎖において位置し得る。

【０１０９】

本発明の誘導体のアニオン基の非限定的な例には、側鎖における、もしあれば、ペプチド部分における遊離カルボキシル基が含まれる。ペプチド部分は、C末端において遊離カルボン酸基を含むことが多く、ペプチド部分はまた、内部の酸アミノ酸残基、例えば、AspおよびGluにおいて遊離カルボキシル基を含み得る。

【０１１０】

ペプチド部分におけるカチオン基の非限定的な例には、N末端における遊離アミノ基、および存在する場合、内部の塩基性アミノ酸残基、例えば、His、Arg、およびLysの任意の遊離アミノ基が含まれる。

【０１１１】

本発明の誘導体のエステルは、例えば、遊離カルボン酸基とアルコールまたはフェノールとの反応によって形成されてもよく、これによって、アルコキシまたはアリールオキシ基による少なくとも1つのヒドロキシル基の置換えがもたらされる。

【０１１２】

エステル形成は、ペプチドのC末端における遊離カルボキシル基、および/または側鎖中の任意の遊離カルボキシル基が関与し得る。

【０１１３】

本発明の誘導体のアミドは、例えば、遊離カルボン酸基の活性型とアミンもしくは置換アミンとの反応によって、または遊離もしくは置換アミノ基とカルボン酸の活性型との反応によって形成し得る。

【０１１４】

アミド形成は、ペプチドおよび/または側鎖における、ペプチドのC末端における遊離カルボキシル基、側鎖中の任意の遊離カルボキシル基、ペプチドのN末端における遊離アミノ基、および/またはペプチドの任意の遊離もしくは置換アミノ基が関与し得る。

【０１１５】

特定の実施形態において、ペプチドまたは誘導体は、薬学的に許容される塩の形態である。他の特定の実施形態において、誘導体は、薬学的に許容されるアミドの形態であり、好ましくは、ペプチドのC末端におけるアミド基を有する。またさらなる特定の実施形態において、ペプチドまたは誘導体は、薬学的に許容されるエステルの形態である。

【０１１６】

機能特性

第1の態様において、本発明の誘導体は、良好な効力を有する。また、または代わりに、第2の態様において、本発明の誘導体は、延長性の薬物動態プロファイルを有する。また、または代わりに、第3の態様において、本発明の誘導体は、高い経口バイオアベイラビリティーを有する。また、または代わりに、第4の態様において、本発明の誘導体は、良好な生物物理学的特性を有する。

【０１１７】

生物活性(効力)

第1の態様によると、本発明の誘導体、および構成物GLP-1ペプチドそれ自体(K^{18}-GLP-1(7-37)またはそのアナログなど)は、生物活性があり、または強力である。実際は、本発明の誘導体は、驚くほど良好な効力を有する。これは、第2のアシル化位置が、GLP-1(7-37)(配列番号1)の26位前後に対応する位置にあるときに、特にそうであるように思われる。この理論に束縛されるものではないが、これは、特定のリンカーの遊離アミノ基と関連し得ることが意図されている。

【０１１８】

特定の実施形態において、効力および/または活性とは、インビトロの効力、すなわち、機能的GLP-1受容体アッセイにおける能力を意味し、さらに特にクローン化ヒトGLP-1受容体を発現している細胞系におけるcAMP形成を刺激する能力を意味する。

【０１１９】

ヒトGLP-1受容体を含有する培地におけるcAMPの形成の刺激は、好ましくは、安定的なトランスフェクトされた細胞系、例えば、BHK467-12A(tk-ts13)を使用して、かつ/またはcAMPの決定のために、例えば、内因的に形成されたcAMPと外因的に加えたビオチン標識cAMPとの間の競合に基づいた機能的受容体アッセイを使用して決定してもよく、このアッセイにおいて、cAMPはより好ましくは、特異的抗体を使用して捕捉され、かつ/またはさらにより好ましいアッセイは、AlphaScreen cAMPアッセイであり、最も好ましくは、実施例59に記載されているものである。

【０１２０】

最大半減有効濃度(EC_{50})という用語は一般に、用量反応曲線を参照することにより、ベースラインと最大との中間の反応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、その最大作用の50%が観察される濃度を表す。

【０１２１】

本発明の誘導体のインビトロの効力は、上記のように決定してもよく、当該の誘導体のEC_{50}が決定される。EC_{50}が低いほど、効力は良好である。

【０１２２】

特定の実施形態において、培地は、下記の組成を有する(最終のアッセイにおける濃度):50mMのTRIS-HCl;5mMのHEPES;10mMの$MgCl_2$、$6H_2O$;150mMのNaCl;0.01%Tween;0.1%BSA;0.5mMのIBMX;1mMのATP;1uMのGTP。第1の代替の培地は、50mMのTRIS-HCl;5mMのHEPES;10mMの$MgCl_2$、$6H_2O$;150mMのNaCl;0.01%Tweenである。第2の代替の培地は、50mMのTris-HCl、1mMのEGTA、1.5mMの$MgSO_4$、1.7mMのATP、20mMのGTP、2mMの3-イソブチル-1-メチルキサンチン(IBMX)、0.01%Tween-20、pH7.4である。

【０１２３】

さらなる特定の実施形態において、本発明の誘導体は、10000pM以下、より好ましくは、5000pM未満、さらにより好ましくは、1000pM未満、または最も好ましくは、500pM未満のEC_{50}に対応するインビトロの効力を有する。

【０１２４】

GLP-1受容体に結合する本発明の誘導体の能力はまた、GLP-1活性(受容体親和性)の尺度として使用し得る。この能力は、実施例60に記載されているように決定し得る。一般に、低アルブミン濃度でのGLP-1受容体への結合は、低いIC_{50}値に対応して、できる限り良好であるべきである。特定の実施形態では、本発明の誘導体のIC_{50}値は、0.005%HSA(低アルブミン)の存在下で、セマグルチドについての対応するIC_{50}値未満、好ましくはその90%未満、より好ましくはその80%未満、さらにより好ましくはその70%未満、または最も好ましくはその50%未満である。

【０１２５】

別の特定の実施形態において、本発明の誘導体は、インビボで強力であり、これは任意の適切な動物モデルにおいて、および臨床試験において、当技術分野において公知のように決定してもよい。

【０１２６】

糖尿病性db/dbマウスは、適切な動物モデルの一例であり、血中グルコース低下作用、および/または体重低下作用は、例えば、実施例63に記載されているように、このようなマウスにおいてインビボで決定し得る。

【０１２７】

LYDブタは、適切な動物モデルの別の例であり、食物摂取量の減少は、例えば、実施例64に記載されているように、このようなブタにおいてインビボで決定し得る。

【０１２８】

延長-受容体結合/低アルブミンおよび高アルブミン

第2の態様によると、本発明の誘導体は、延長性である。

【０１２９】

それぞれ、低濃度および高濃度のアルブミンの存在下で、本発明の誘導体がGLP-1受容体に結合する能力は、実施例60に記載されているように決定し得る。

【０１３０】

一般に、低アルブミン濃度でのGLP-1受容体への結合は、低いIC_{50}値に対応して、できる限り良好であるべきである。

【０１３１】

高アルブミン濃度でのIC_{50}値は、GLP-1受容体への誘導体の結合に対するアルブミンの影響の尺度である。公知のように、GLP-1誘導体はまた、アルブミンに結合する。これは一般に、血漿中のGLP-1誘導体の寿命を延長させる望ましい作用である。したがって、高アルブミンでのIC_{50}値は一般に、GLP-1受容体への結合と競合するアルブミン結合に起因する、GLP-1受容体への結合の減少に対応して、低アルブミンでのIC_{50}値より高い。

【０１３２】

したがって、高い比(IC_{50}値(高アルブミン)/IC_{50}値(低アルブミン))は、当該の誘導体がアルブミンに良好に結合し(長い半減期を有してもよく)、かつまたそれ自体がGLP-1受容体に良好に結合する(IC_{50}値(高アルブミン)は高く、IC_{50}値(低アルブミン)は低い)という指標と考えてもよい。他方、アルブミン結合は、必ずしも望ましいとは限らないことがあり、またはアルブミンへの結合は、強力となり得る。したがって、IC_{50}(低アルブミン)/IC_{50}(高アルブミン)についての望ましい範囲、および高/低の比は、使用目的およびこのような使用を取り巻く状況によって、ならびに潜在的な当該の他の化合物の特性によって、化合物毎に変化し得る。

【０１３３】

一例として、特定の一実施形態において、比(高/低)、すなわち、[2.0%ヒト血清アルブミン(HSA)の存在下でのGLP-1受容体結合親和性(IC_{50})を、0.005%HSAの存在下でのGLP-1受容体結合親和性(IC_{50})で割った商]は、少なくとも1、好ましくは、少なくとも10、より好ましくは、少なくとも20、さらにより好ましくは、少なくとも30、または最も好ましくは、少なくとも50である。

【０１３４】

延長-インビボでの半減期

第2の態様によると、本発明の誘導体は、延長性である。

【０１３５】

延長は、実施例65に記載されているように、i.v.投与後のラットにおけるインビボでの末端半減期($T_{1/2}$)として決定し得る。特定の実施形態では、ラットにおける半減期は、少なくとも7時間、好ましくは、少なくとも10時間、さらにより好ましくは、少なくとも20時間、または最も好ましくは、少なくとも30時間である。

【０１３６】

あるいは、延長は、実施例66に記載されているように、例えば、i.v.投与後のミニブタにおけるインビボでの末端半減期($T_{1/2}$)として別の動物種において決定し得る。特定の実施形態では、ミニブタにおける末端半減期は、少なくとも8時間、好ましくは、少なくとも24時間、さらにより好ましくは、少なくとも40時間、または最も好ましくは、少なくとも60時間である。

【０１３７】

驚いたことに、本発明者らは、高い効力、および同時に好ましくは、良好な半減期を有する、本発明の目的である新規なクラスのGLP-1誘導体を同定した。

【０１３８】

経口バイオアベイラビリティー

第3の態様によると、本発明の誘導体は、高い経口バイオアベイラビリティーを有する。

【０１３９】

市販のGLP-1誘導体の経口バイオアベイラビリティーは、非常に低い。i.v.またはs.c.投与のために開発中のGLP-1誘導体の経口バイオアベイラビリティーはまた低い。

【０１４０】

したがって、当技術分野で改善された経口バイオアベイラビリティーのGLP-1誘導体が求められている。このような誘導体は、主にこれらの効力が一般に満足できる限り、および/またはこれらの半減期がまた一般に満足できる限り、経口投与のための適切な候補であり得る。

【０１４１】

一般に、バイオアベイラビリティーという用語は、未変化で体循環に達する、活性医薬成分(API)、例えば、本発明の誘導体の投与した用量の画分を意味する。定義によると、APIを静脈内に投与するとき、そのバイオアベイラビリティーは、100%である。しかし、APIを他の経路(経口的など)によって投与するとき、そのバイオアベイラビリティーは減少する(不完全な吸収および初回通過代謝によって)。バイオアベイラビリティーについての知識は、非静脈内投与経路についての投与量を計算するときに重要である。

【０１４２】

絶対的経口バイオアベイラビリティーは、経口投与の後の体循環におけるAPIのバイオアベイラビリティー(曲線下面積、またはAUCとして推定する)と、静脈内投与の後の同じAPIのバイオアベイラビリティーとを比較する。絶対的経口バイオアベイラビリティーは、同じAPIの対応する静脈内投与と比較した、非静脈内投与によって吸収されるAPIの画分である。異なる用量が使用される場合、比較は用量標準化しなくてはならない。結果的に、各AUCは、投与された対応する用量で割ることによって補正される。

【０１４３】

血漿API濃度対時間のプロットを、経口および静脈内投与の両方の後に作製する。絶対的バイオアベイラビリティー(F)は、用量補正AUC-経口をAUC-静脈内で割った商である。

【０１４４】

特定の実施形態において、本発明の誘導体は、セマグルチドの絶対的経口バイオアベイラビリティーより、好ましくは、少なくとも10%高い、より好ましくは、少なくとも20%高い、さらにより好ましくは、少なくとも30%高い、または最も好ましくは、少なくとも40%高い絶対的経口バイオアベイラビリティーを有する。さらなる特定の実施形態において、本発明の誘導体は、セマグルチドの絶対的経口バイオアベイラビリティーの少なくとも1.

5倍、好ましくは、少なくとも2.0倍、より好ましくは、少なくとも3.0倍、さらにより好ましくは、少なくとも4.0倍、または最も好ましくは、少なくとも5.0倍である絶対的経口バイオアベイラビリティーを有する。

【０１４５】

経口バイオアベイラビリティーを試験する前に、本発明の誘導体は、例えば、WO2008/145728に記載されている製剤の任意の1つまたは複数を使用して、インスリン分泌性化合物の経口製剤の当技術分野において公知のように適切に製剤し得る。

【０１４６】

実施例61および62に記載されているいくつかの試験が開発されたが、これは経口バイオアベイラビリティーの許容される予測を与えることが見出された。これらの試験によると、ラットの腸管腔中へのGLP-1誘導体の直接の注入の後、またはラットへの経口胃管栄養補給の後、血漿中のその濃度(曝露)を決定し、t=30分についての血漿濃度(pmol/l)を投与溶液の濃度(umol/l)で割った比を計算し;または30～180分の時点の、用量補正した血漿曝露のAUCを計算する(分×pM/pmol)。これらの数値は、経口/腸のバイオアベイラビリティーの尺度であり、これらは、実際の経口バイオアベイラビリティーデータと相関することが予想される。

【０１４７】

生物物理学的特性

第4の態様によると、本発明のペプチド/誘導体は、良好な生物物理学的特性を有する。これらの特性には、これらに限定されないが、物理的安定性および/または溶解性が含まれる。これらおよび他の生物物理学的特性は、タンパク質化学の当技術分野において公知の標準的方法を使用して測定し得る。特定の実施形態において、これらの特性は、天然GLP-1(配列番号1)と比較して改善されている。ペプチド/誘導体の変化したオリゴマー特性は、改善された生物物理学的特性に少なくとも部分的に関与し得る。

【０１４８】

本発明の誘導体のさらなる特定の実施形態は、実験セクションの前の「特定の実施形態」、「さらなる特定の実施形態」、および「またさらにさらなる特定の実施形態」と見出しがあるセクションに記載されている。

【０１４９】

生成工程

ペプチド様GLP-1(7-37)およびGLP-1アナログの生成は、当技術分野で周知である。

【０１５０】

本発明の誘導体のGLP-1部分、すなわち、K^{18}-GLP-1(7-37)またはそのアナログは、例えば、古典的ペプチド合成、例えば、t-BocもしくはFmoc化学または他の確立された技術を使用した固相ペプチド合成によって生成し得る。例えば、GreeneおよびWuts、「Protective Groups in Organic Synthesis」、John Wiley & Sons、1999年、Florencio Zaragoza Dorwald、「Organic Synthesis on solid Phase」、Wiley-VCH Verlag GmbH、2000年、および「Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis」、編W.C. ChanおよびP.D. White、Oxford University Press、2000年を参照されたい。

【０１５１】

また、または代わりに、これらは、組換え法によって、すなわち、アナログをコードし、かつペプチドの発現を可能とする条件下で適切な栄養培地中でペプチドを発現することができる、DNA配列を含有する宿主細胞を培養することによって産生し得る。これらのペプチドの発現に適した宿主細胞の非限定的な例は、大腸菌(Escherichia coli)、サッカロマイセス・セレビシエ(Saccharomyces cerevisiae)、および哺乳動物のBHKまたはCHO細胞系である。

【０１５２】

非天然アミノ酸および/または共有結合で付着したN-末端モノまたはジペプチド模倣物を含む本発明のこれらの誘導体は、例えば、実験パートに記載されているように生成し得る。または例えば、Hodgsonら:「The synthesis of peptides and proteins containing

non-natural amino acids」、Chemical Society Reviews、第33巻、第7番(2004年)、422～430頁;および「Semi-recombinant preparation of GLP-1 analogues」という表題のWO2009/083549A1を参照されたい。

【０１５３】

いくつかの本発明の誘導体を調製する方法の具体例を、実験パートに含める。

【０１５４】

医薬組成物

本発明の誘導体、またはその薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステル、および薬学的に許容される添加剤を含む医薬組成物は、当技術分野において公知のように調製し得る。

【０１５５】

「添加剤」という用語は、活性治療成分以外の任意の構成要素を広範に意味する。添加剤は、活性のない物質、不活性物質、および/または非医学的活性物質でよい。

【０１５６】

添加剤は、例えば、担体、ビヒクル、賦形剤、錠剤助剤として、ならびに/または活性物質の投与および/もしくは吸収を改善するための、様々な目的を果たし得る。

【０１５７】

様々な添加剤を有する医薬的活性成分の製剤は、当技術分野において公知である。例えば、Remington:The Science and Practice of Pharmacy(例えば、第19版(1995年)、および任意のより最近の版を参照されたい)。

【０１５８】

添加剤の非限定的な例は、溶剤、賦形剤、緩衝液、保存剤、等張化剤、キレート剤、および安定剤である。

【０１５９】

製剤の例には、液体製剤、すなわち、水性製剤、すなわち、水を含む製剤が含まれる。液体製剤は、溶液剤または懸濁剤でよい。水性製剤は典型的には、少なくとも50%w/wの水、または少なくとも60%w/w、70%w/w、80%w/w、またはさらに少なくとも90%w/wの水を含む。

【０１６０】

代わりに、医薬組成物は、固体製剤、例えば、凍結乾燥もしくは噴霧乾燥した組成物でよく、これはそのまま使用してもよく、またはこれに、医師もしくは患者が、溶剤および/もしくは賦形剤を使用前に加える。

【０１６１】

水性製剤におけるpHは、pH3～pH10のいずれか、例えば、約7.0～約9.5、または約3.0～約7.0でよい。

【０１６２】

医薬組成物は、緩衝液を含み得る。緩衝液は、例えば、酢酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、シトレート、グリシルグリシン、ヒスチジン、グリシン、リシン、アルギニン、リン酸二水素ナトリウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸ナトリウム、およびトリス(ヒドロキシメチル)-アミノメタン、ビシン、トリシン、リンゴ酸、スクシネート、マレイン酸、フマル酸、酒石酸、アスパラギン酸、およびこれらの混合物からなる群から選択し得る。

【０１６３】

医薬組成物は、保存剤を含み得る。保存剤は、例えば、フェノール、o-クレゾール、m-クレゾール、p-クレゾール、p-ヒドロキシ安息香酸メチル、p-ヒドロキシ安息香酸プロピル、2-フェノキシエタノール、ブチルp-ヒドロキシベンゾエート、2-フェニルエタノール、ベンジルアルコール、クロロブタノール、およびチメロサール、ブロノポル、安息香酸、イミド尿素、クロルヘキシジン、デヒドロ酢酸ナトリウム、クロロクレゾール、p-ヒドロオキシ安息香酸エチル、塩化ベンゼトニウム、クロルフェネシン(3p-クロロフェノキシプロパン-1,2-ジオール)、およびこれらの混合物からなる群から選択し得る。保存剤は、

0.1mg/ml～20mg/mlの濃度で存在し得る。

【０１６４】

医薬組成物は、等張剤を含み得る。等張剤は、例えば、塩(例えば、塩化ナトリウム)、糖または糖アルコール、アミノ酸(例えば、グリシン、ヒスチジン、アルギニン、リシン、イソロイシン、アスパラギン酸、トリプトファン、トレオニン)、アルジトール(例えば、グリセロール(グリセリン)、1,2-プロパンジオール(プロピレングリコール)、1,3-プロパンジオール、1,3-ブタンジオール)、ポリエチレングリコール(例えば、PEG400)、およびこれらの混合物からなる群から選択し得る。任意の糖、例えば、単糖類、二糖類、もしくは多糖類、または水溶性グルカン、例えば、フルクトース、グルコース、マンノース、ソルボース、キシロース、マルトース、ラクトース、スクロース、トレハロース、デキストラン、プルラン、デキストリン、シクロデキストリン、αおよびβHPCDを含み、可溶性デンプン、ヒドロキシエチルデンプン、ならびにカルボキシメチルセルロース-Naを使用し得る。糖アルコールは、少なくとも1つの-OH基を有するC4～C8炭化水素と定義され、例えば、マンニトール、ソルビトール、イノシトール、ガラクチトール、ズルシトール、キシリトール、およびアラビトールが含まれる。

【０１６５】

医薬組成物は、キレート剤を含み得る。キレート剤は、例えば、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、クエン酸、およびアスパラギン酸の塩、ならびにこれらの混合物から選択し得る。

【０１６６】

医薬組成物は、安定剤を含み得る。安定剤は、例えば、1種もしくは複数の酸化阻害剤、凝集阻害剤、界面活性剤、および/または1種もしくは複数のプロテアーゼ阻害剤でよい。

【０１６７】

「凝集物形成」という用語は、可溶性のままであり得るオリゴマー、または溶液から沈殿する大きな目に見える凝集物の形成をもたらす、ポリペプチド分子の間の物理的相互作用を意味する。液体医薬組成物の貯蔵の間のポリペプチドによる凝集物形成は、このポリペプチドの生物活性に悪影響を与えることが可能であり、医薬組成物の治療有効性の喪失をもたらす。さらに、凝集物の形成によって、注入システムを使用してポリペプチド含有医薬組成物が投与されたとき、管類、膜、またはポンプの閉塞などの他の問題をもたらし得る。

【０１６８】

医薬組成物は、組成物の貯蔵の間のペプチドの凝集物形成を減少させるのに十分な量のアミノ酸塩基を含み得る。「アミノ酸塩基」という用語は、1種もしくは複数のアミノ酸(メチオニン、ヒスチジン、イミダゾール、アルギニン、リシン、イソロイシン、アスパラギン酸、トリプトファン、トレオニンなど)、またはそのアナログを意味する。任意のアミノ酸は、その遊離塩基の形態でまたはその塩の形態で存在し得る。アミノ酸塩基の任意の立体異性体(すなわち、L、D、またはこれらの混合物)が存在し得る。ペプチドが、このような酸化の影響を受けやすい少なくとも1つのメチオニン残基を含むポリペプチドであるとき、メチオニン(または、他の含硫アミノ酸またはアミノ酸アナログ)を加えて、メチオニンスルホキシドへのメチオニン残基の酸化を阻害してもよい。メチオニンの任意の立体異性体(LもしくはD)またはこれらの組合せを使用することができる。

【０１６９】

医薬組成物は、高分子ポリマーまたは低分子化合物の群から選択される安定剤を含み得る。安定剤は、例えば、ポリエチレングリコール(例えば、PEG3350)、ポリビニルアルコール(PVA)、ポリビニルピロリドン、カルボキシ/ヒドロキシセルロースまたはその誘導体(例えば、HPC、HPC-SL、HPC-LおよびHPMC)、シクロデキストリン、イオウ含有物質、例えば、モノチオグリセロール、チオグリコール酸および2-メチルチオエタノール、ならびに異なる塩(例えば、塩化ナトリウム)から選択し得る。

【０１７０】

医薬組成物は、これらに限定されないがメチオニンおよびEDTAなどのさらなる安定化剤(ポリペプチドをメチオニン酸化から保護する)、および非イオン性界面活性剤(ポリペプチドを冷凍-解凍または機械的剪断と関連する凝集から保護する)を含み得る。

【０１７１】

医薬組成物は、1種または複数の界面活性剤、例えば、界面活性剤、少なくとも1種の界面活性剤、または2種の異なる界面活性剤を含み得る。「界面活性剤」という用語は、水溶性(親水性)パート、および脂溶性(親油性)パートから構成される任意の分子またはイオンを意味する。界面活性剤は、例えば、アニオン性界面活性剤、カチオン性界面活性剤、非イオン性界面活性剤、および/または双性イオン性界面活性剤からなる群から選択し得る。

【０１７２】

医薬組成物は、1種または複数のプロテアーゼ阻害剤、例えば、EDTA(エチレンジアミン四酢酸)、および/またはベンズアミジンHClを含み得る。医薬組成物のさらなる任意選択の成分には、例えば、湿潤剤、乳化剤、抗酸化剤、増量剤、金属イオン、油性ビヒクル、タンパク質(例えば、ヒト血清アルブミン、ゼラチン)、ならびに/または双生イオン(例えば、アミノ酸、例えば、ベタイン、タウリン、アルギニン、グリシン、リシンおよびヒスチジン)が含まれる。

【０１７３】

またさらに、医薬組成物は、例えば、WO2008/145728に記載されている製剤の任意の1つまたは複数を使用して、インスリン分泌性化合物の経口製剤の当技術分野において公知のように製剤し得る。

【０１７４】

投与された用量は、0.01mg～100mgの誘導体、または0.01～50mg、または0.01～20mg、または0.01mg～10mgの誘導体を含有し得る。

【０１７５】

誘導体は、医薬組成物の形態で投与し得る。誘導体は、それを必要としている患者に、いくつかの部位で、例えば、局所部位、例えば、皮膚または粘膜部位で;吸収を迂回する部位で、例えば、動脈中、静脈中、または心臓中;および吸収が関与する部位で、例えば、皮膚中、皮膚下、筋肉中、または腹部中に投与し得る。

【０１７６】

投与経路は、例えば、舌;舌下;口腔;口中;経口;胃内;腸内;経鼻;肺、例えば、細気管支、肺胞、もしくはこれらの組合せを通して;非経口、表皮;皮膚;経皮的;結膜;尿道;膣;直腸;および/または眼でよい。特定の実施形態において、投与経路は、経口による。

【０１７７】

組成物は、例えば、溶液剤;懸濁剤;乳剤;マイクロエマルジョン;多層乳剤;フォーム剤;膏薬;ペースト剤;貼付剤;軟膏剤;錠剤;コーティング錠剤;チューインガム;リンス;カプセル剤、例えば、硬質または軟質ゼラチンカプセル剤;坐剤;直腸用カプセル剤;ドロップ剤;ゲル剤;スプレー剤;散剤;エアゾール剤;吸入剤;点眼薬;眼病用軟膏剤;眼病用リンス;膣のペッサリー;膣のリング;膣用軟膏剤;注射液;インサイチュで変形する溶液剤、例えば、インサイチュでゲル化、硬化、沈殿し、インサイチュで結晶化するもの;輸液;またはインプラントとしていくつかの剤形で投与し得る。組成物は、例えば、安定性、バイオアベイラビリティー、および/または溶解性を改善するために、薬物担体または薬物送達系中にさらに配合し得る。組成物は、共有結合性、疎水性、および/または静電相互作用によって、このような系に付着し得る。このような配合の目的は、例えば、有害作用を減少させ、時間療法を達成し、かつ/または患者の薬剤服用順守を増加させることでよい。

【０１７８】

組成物はまた、制御放出、持続性放出、延長性放出、遅延放出、および/または持続放出の薬物送達系の製剤において使用し得る。

【０１７９】

非経口投与は、シリンジ、任意選択でペン様シリンジを用いて、または注入ポンプを用

いて、皮下、筋内、腹腔内、または静脈内注射によって行ってもよい。

【０１８０】

組成物は、溶液剤、懸濁剤、もしくは散剤の形態で経鼻で投与してもよく、または組成物は、液体もしくは粉末スプレーの形態で肺に投与し得る。

【０１８１】

経皮的投与(例えば、無針注射によって、パッチ、例えば、イオン泳動的パッチから、または経粘膜的経路を介して、例えば、口腔から)は、またさらなるオプションである。

【０１８２】

組成物は、安定化した製剤でよい。「安定化した製剤」という用語は、増加した物理的および/または化学的安定性、好ましくは、両方を有する製剤を意味する。一般に、製剤は、(推奨される使用および貯蔵条件に従って)有効期限に到達するまで使用および貯蔵の間安定的でなくてはならない。

【０１８３】

「物理的安定性」という用語は、熱機械的応力への曝露、ならびに/または不安定な界面および表面(疎水性表面など)との相互作用の結果として、生物学的に不活性および/または不溶性の凝集物を形成するポリペプチドの傾向を意味する。水性ポリペプチド製剤の物理的安定性は、外観検査によって、および/または異なる温度での様々な期間の機械的/物理的応力(例えば、撹拌)への曝露の後の混濁度測定によって評価し得る。代わりに、物理的安定性は、分光学的薬剤、またはポリペプチドの立体配置的状態のプローブ、例えば、チオフラビンTまたは「疎水性パッチ」プローブを使用して評価し得る。

【０１８４】

「化学的安定性」という用語は、未変化のポリペプチドと比較して、減少した生物学的効力、および/または増加した免疫原性作用を潜在的に有する化学分解生成物の形成をもたらす、ポリペプチド構造における化学的(特に、共有結合性)変化を意味する。化学的安定性は、例えば、SEC-HPLC、および/またはRP-HPLCによって、異なる環境条件への曝露の後の様々な時点での化学分解生成物の量を測定することによって評価することができる。

【０１８５】

本発明による誘導体による治療はまた、例えば、抗糖尿病剤、抗肥満剤、食欲調節剤、降圧剤、糖尿病からもたらされる、またはそれと関連する合併症の治療および/もしくは予防のための薬剤、ならびに肥満症からもたらされる、またはそれと関連する合併症および障害の治療および/もしくは予防のための薬剤から選択される1種または複数のさらなる薬理学的活性物質と合わせてもよい。これらの薬理学的活性物質の例は、インスリン、スルホニル尿素、ビグアニド、メグリチニド、グルコシダーゼ阻害剤、グルカゴンアンタゴニスト、DPP-IV(ジペプチジルペプチダーゼ-IV)阻害剤、糖新生および/またはグリコーゲン分解の刺激に関与する肝酵素阻害剤、グルコース取込みモジュレーター、脂質代謝を変化させる化合物、例えば、抗高脂血症剤、例えば、HMG CoA阻害剤(スタチン)、胃抑制ポリペプチド(GIPアナログ)、食物摂取量を減少させる化合物、RXRアゴニスト、およびβ細胞のATP-依存性カリウムチャネルに対して作用する薬剤;コレスチラミン、コレスチポール、クロフィブラート、ゲムフィブロジル、ロバスタチン、プラバスタチン、シンバスタチン、プロブコール、デキストロサイロキシン、ナテグリニド、レパグリニド;β-遮断薬、例えば、アルプレノロール、アテノロール、チモロール、ピンドロール、プロプラノロールおよびメトプロロール、ACE(アンジオテンシン変換酵素)阻害剤、例えば、ベナゼプリル、カプトプリル、エナラプリル、フォシノプリル、リシノプリル、アラトリオプリル、キナプリルおよびラミプリル、カルシウムチャネル遮断薬、例えば、ニフェジピン、フェロジピン、ニカルジピン、イスラジピン、ニモジピン、ジルチアゼムおよびベラパミル、ならびにα-遮断薬、例えば、ドキサゾシン、ウラピジル、プラゾシンおよびテラゾシン;CART(コカインアンフェタミン制御転写物)アゴニスト、NPY(ニューロペプチドY)アンタゴニスト、PYYアゴニスト、Y2受容体アゴニスト、Y4受容体アゴニスト、混合Y2/Y4受容体アゴニスト、MC4(メラノコルチン4)アゴニスト、オレキシンアンタゴニスト、TNF(腫瘍壊死因子)アゴニスト、CRF(コルチコトロピン放出因子)アゴニスト、CRF BP(コルチコト

ロピン放出因子結合タンパク質)アンタゴニスト、ウロコルチンアゴニスト、β3アゴニスト、オキシントモジュリンおよびアナログ、MSH(メラニン細胞刺激ホルモン)アゴニスト、MCH(メラニン形成細胞濃縮ホルモン)アンタゴニスト、CCK(コレシストキニン)アゴニスト、セロトニン再取込み阻害剤、セロトニンおよびノルアドレナリン再取込み阻害剤、混合セロトニンおよびノルアドレナリン作動性化合物、5HT(セロトニン)アゴニスト、ボンベシンアゴニスト、ガラニンアンタゴニスト、成長ホルモン、成長ホルモン放出化合物、TRH(甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン)アゴニスト、UCP2または3(脱共役タンパク質2または3)モジュレーター、レプチンアゴニスト、DAアゴニスト(ブロモクリプチン、ドプレキシン)、リパーゼ/アミラーゼ阻害剤、RXR(レチノイドX受容体)モジュレーター、TRβアゴニスト;ヒスタミンH3アンタゴニスト、胃抑制ポリペプチドアゴニストまたはアンタゴニスト(GIPアナログ)、ガストリンおよびガストリンアナログである。

【０１８６】

本発明による誘導体による治療はまた、グルコースレベル、および/または脂質恒常性に影響を与える手術、例えば、胃緊縛または胃バイパスと合わせてもよい。

【０１８７】

医薬品の適応症

本発明はまたは、医薬として使用するための本発明の誘導体に関する。

【０１８８】

特定の実施形態では、本発明の誘導体は、好ましくは全てがどちらにしても糖尿病に関連する、下記の医学的治療のために使用してもよい。

(i)全ての形態の糖尿病、例えば、高血糖症、2型糖尿病、耐糖能異常、1型糖尿病、インスリン非依存性糖尿病、MODY(若年者の成人発症型糖尿病)、妊娠糖尿病の予防および/または治療、ならびに/あるいはHbA1Cの低下;

(ii)糖尿病性疾患の進行(2型糖尿病の進行など)の遅延または予防、耐糖能異常(IGT)からインスリンを必要とする2型糖尿病への進行の遅延、および/またはインスリンを必要としない2型糖尿病からインスリンを必要とする2型糖尿病への進行の遅延;

(iii)β細胞機能の改善、例えば、β細胞のアポトーシスの減少、β細胞機能および/またはβ細胞塊の増加、ならびに/あるいはβ細胞に対するグルコース感受性の回復;

(iv)認知障害の予防および/または治療;

(v)例えば、食物摂取量を減少させ、体重を低下させ、食欲を抑制し、満腹を誘発し;過食障害、神経性過食症、および/または抗精神病剤もしくはステロイドの投与によって誘発される肥満症を治療または予防し;胃運動性を低下させ;かつ/あるいは胃内容物排出を遅延させることによる、摂食障害、例えば、肥満症の予防および/または治療;

(vi)糖尿病性合併症、例えば、末梢性ニューロパシーを含めたニューロパシー;ネフロパシー;あるいは網膜症の予防および/または治療;

(vii)脂質パラメーターの改善、例えば、異脂肪血症の予防および/または治療、総血清脂質の低下;HDLの低下;小さく密なLDLの低下;VLDLの低下:トリグリセリドの低下;コレステロールの低下;HDLの増加;ヒトにおけるリポタンパク質(Lp(a))の血漿レベルの低下;インビトロおよび/またはインビボでのアポリポタンパク質(apo(a))の生成の阻害;

(iix)心血管疾患、例えば、症候群X;アテローム性動脈硬化症;心筋梗塞;冠動脈心疾患;脳卒中、脳虚血;早期心臓疾患もしくは早期心血管疾患、例えば、左室肥大;冠動脈疾患;本態性高血圧症;急性高血圧性緊急症;心筋症;心臓不全;運動耐性;慢性心不全;不整脈;心律動異常;失神;アテローム性動脈硬化症;軽度の慢性心不全;狭心症;心臓バイパス再閉塞;間欠性跛行(閉塞性動脈硬化症);拡張機能障害;および/または収縮機能障害の予防および/または治療;

(ix)胃腸疾患、例えば、炎症性腸症候群;小腸症候群、もしくはクローン病;消化不良;および/または胃潰瘍の予防および/または治療;

(x)重篤疾患の予防および/または治療、例えば、危篤状態の患者、重篤疾患ポリネフロパシー(CIPNP)患者、および/または潜在的CIPNP患者の治療;重篤疾患またはCIPNPの発生の予防;患者における全身性炎症反応症候群(SIRS)の予防、治療および/または治癒;ならび

に/あるいは入院の間に菌血症、敗血症、および/または敗血症性ショックを患う患者の可能性の予防または減少のため;ならびに/あるいは
(xi)多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の予防および/または治療。

【０１８９】

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

【０１９０】

他の特定の実施形態において、適応症は、(i)である。さらなる特定の実施形態において、適応症は、(v)である。またさらなる特定の実施形態において、適応症は、(iix)である。

【０１９１】

下記の適応症が、特に好ましい:2型糖尿病、および/または肥満症。

【０１９２】

特定の実施形態

下記は、本発明の特定の実施形態である:

1.GLP-1アナログの誘導体であって、
このアナログは、GLP-1(7-37)(配列番号1)の18位に対応する位置において第1のK残基、別の位置において第2のK残基、およびGLP-1(7-37)と比較して最大で12個のアミノ酸の変化を含み、
この誘導体は、リンカーを介して、それぞれ、前記第1および第2のK残基に付着している2つの延長部分を含み、
延長部分は、Chem.1、およびChem.2:
Chem.1:HOOC-$(CH_2)_x$-CO-*
Chem.2:HOOC-C_6H_4-O-$(CH_2)_y$-CO-*
(式中、xは、6～18の範囲の整数であり、yは、3～17の範囲の整数である)から選択され、
リンカーは、
Chem.3:*-NH-$(CH_2)_q$-CH[$(CH_2)_w$-NH_2]-CO-*、
(式中、qは、0～5の範囲の整数であり、wは、0～5の範囲の整数である)を含む、誘導体;またはその薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステル。

2.リンカーが、z回のChem.3を含み、zが、1～2の範囲の整数である、実施形態1の誘導体。

3.zが、1である、実施形態2の誘導体。

4.zが、2である、実施形態2の誘導体。

5.zが2であるとき、Chem.3要素は、アミド結合を介して相互結合している、実施形態2および4のいずれかの誘導体。

6.wが、0である、実施形態1～5のいずれかの誘導体。

7.qが、3～5の範囲の整数である、実施形態1～6のいずれかの誘導体。

8.リンカーが、Chem.4:*-NH-$(CH_2)_q$-CH(NH_2)-CO-*(式中、qは、3～5の範囲の整数である)を含む、実施形態1～7のいずれかの誘導体。

9.qが、3である、実施形態1～8のいずれかの誘導体。

10.qが、4である、実施形態1～8のいずれかの誘導体。

11.qが、5である、実施形態1～8のいずれかの誘導体。

12.qが、0である、実施形態1～5のいずれかの誘導体。

13.wが、3～5の範囲の整数である、実施形態1～5、および12のいずれかの誘導体。

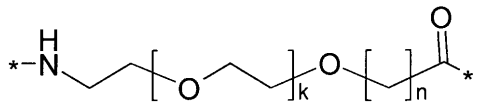
14.リンカーが、Chem.5:*-NH-CH[$(CH_2)_w$-NH_2]-CO-*(式中、wは、3～5の範囲の整数である)を含む、実施形態1～5、および12～13のいずれかの誘導体。

15.wが、3である、実施形態1～5、および12～14のいずれかの誘導体。

16.wが、4である、実施形態1～5、および12～14のいずれかの誘導体。

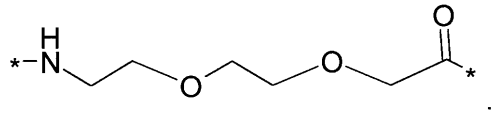
17.wが、5である、実施形態1～5、および12～14のいずれかの誘導体。

18.Chem.3、Chem.4、またはChem.5が、それぞれ、リシンのジラジカルである、実施形態1～8、10、12～14、および16のいずれかの誘導体。
19.リンカーが、
Chem.6:*-NH-$(CH_2)_4$-CH(NH_2)-CO-*
を含む、実施形態1～8、10、および18のいずれかの誘導体。
20.リンカーが、
2×Chem.6:*-NH-$(CH_2)_4$-CH(NH_2)-CO-NH-$(CH_2)_4$-CH(NH_2)-CO-*
を含む、実施形態1～2、4～8、10、および18のいずれかの誘導体。
21.リンカーが、
Chem.7:*-NH-CH[$(CH_2)_4$- NH_2]-CO- *
を含む、実施形態1～5、12～14、16、および18のいずれかの誘導体。
22.リシンが、L-リシンである、実施形態18～21のいずれかの誘導体。
23.Chem.3、Chem.4、またはChem.5が、それぞれ、オルニチンのジラジカルである、実施形態1～9、および12～15のいずれかの誘導体。
24.リンカーが、
Chem.8:*-NH-$(CH_2)_3$-CH(NH_2)-CO- *
を含む、実施形態1～9、および23のいずれかの誘導体。
25.リンカーが、
Chem.9:*-NH-CH[$(CH_2)_3$- NH_2]-CO- *
を含む、実施形態1～5、12～15、および23のいずれかの誘導体。
26.リンカーが、L-オルニチンである、実施形態23～25のいずれかの誘導体。
27.Chem.3、Chem.4、またはChem.5が、それぞれ、ホモリシンのジラジカルである、実施形態1～8、11～14、および17のいずれかの誘導体。
28.リンカーが、
Chem.10:*-NH-$(CH_2)_5$-CH(NH_2)-CO-*
を含む、実施形態1～8、11、および27のいずれかの誘導体。
29.リンカーが、
Chem.11:*-NH-CH[$(CH_2)_5$- NH_2]-CO-*
を含む、実施形態1～5、12～14、17、および27のいずれかの誘導体。
30.リンカーが、L-ホモリシンを含む、実施形態27～29のいずれかの誘導体。
31.Chem.3、Chem.4、Chem.5、Chem.6、2×Chem.6、Chem.7、Chem.8、Chem.9、Chem.10、またはChem.11が、それぞれ、第1のリンカー要素である、実施形態1～30のいずれかの誘導体。
32.リンカーが、第2のリンカー要素、Chem.12:
Chem.12:
【０１９３】
【化５】



【０１９４】
(式中、kは、1～5の範囲の整数であり、nは、1～5の範囲の整数である)を含む、実施形態1～31のいずれかの誘導体。
33.kが、1である、実施形態32の誘導体。
34.nが、1である、実施形態32～33のいずれかの誘導体。
35.第2のリンカー要素が、
Chem.13:
【０１９５】

【化６】



【０１９６】

である、実施形態32～34のいずれかの誘導体。

36.Chem.13が、m回含まれ、mが、0、または1～10の範囲の整数である、実施形態32～35のいずれかの誘導体。

37.mが、0、1または2である、実施形態36の誘導体。

38.mが、0である、実施形態36～37のいずれかの誘導体。

39.mが、1である、実施形態36～37のいずれかの誘導体。

40.mが、2である、実施形態36～37のいずれかの誘導体。

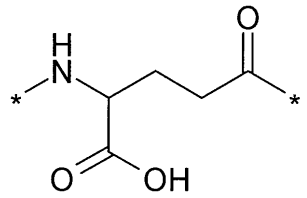
41.mが1と異なるとき、Chem.13要素が、アミド結合を介して相互結合している、実施形態36～37、および40のいずれかの誘導体。

42.リンカーが、Chem.14およびChem.15から選択される第3のリンカー要素を含む、実施形態1～41のいずれかの誘導体。

Chem.14:

【０１９７】

【化７】



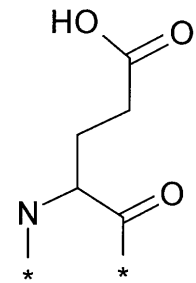
【０１９８】

および

Chem.15:

【０１９９】

【化８】



【０２００】

43.第3のリンカー要素が、Chem.14である、実施形態42の誘導体。

44.Chem.14が、p回含まれ、pが、0、または1～3の範囲の整数である、実施形態43の誘導体。

45.pが、0である、実施形態44の誘導体。

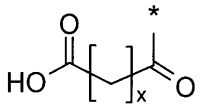
46.pが、1である、実施形態44の誘導体。

47.pが、2である、実施形態44の誘導体。

48.pが、3である、実施形態44の誘導体。

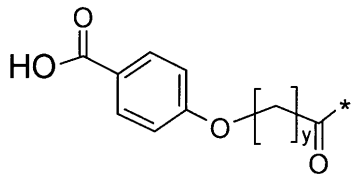
49.Chem.14が、L-Gluのジラジカルである、実施形態42～48のいずれかの誘導体。
50.pが、0と異なり、かつ1と異なるとき、Chem.14要素が、アミド結合を介して相互結合している、実施形態42～44、および47～49のいずれかの誘導体。
51.リンカーが、第4のリンカー要素:
Chem.16:*-NH-$(CH_2)_s$-CO-*
(式中、sは、3～13の範囲の整数である)を含む、実施形態1～50のいずれかの誘導体。
52.sが、5、7、または11;好ましくは7である、実施形態51の誘導体。
53.第4のリンカー要素が、
Chem.17:
*-NH-$(CH_2)_7$-CO-*である、実施形態52の誘導体。
54.Chem.16が、アミノオクタン酸のジラジカルである、実施形態51～53のいずれかの誘導体。
55.リンカーおよび延長部分が、アミド結合を介して相互結合している、実施形態1～54のいずれかの誘導体。
56.リンカーおよびGLP-1アナログが、アミド結合を介して相互結合している、実施形態1～55のいずれかの誘導体。
57.リンカーが、第1または第2のK残基のε-アミノ基に付着している、実施形態1～55のいずれかの誘導体。
58.リンカーが、アミド結合を介して相互結合しており、示した配列にあり、その*-NH末端において延長部分の*-CO末端に結合しており、その*-CO末端においてGLP-1アナログの第1または第2のK残基のεアミノ基に結合している、Chem.14およびChem.6からなる、実施形態1～3、6～8、10、18～19、22、32～38、42～44、46、および49のいずれかの誘導体。
59.リンカーが、アミド結合を介して相互結合しており、示した配列において、Chem.14、および2回のChem.6からなり、その*-NH末端において延長部分の*-CO末端に結合しており、その*-CO末端においてGLP-1アナログの第1または第2のK残基のεアミノ基に結合している、実施形態1～2、4～5、6～8、10、18～20、22、32～38、42～44、46、および49のいずれかの誘導体。
60.リンカーが、アミド結合を介して相互結合しており、示した配列において、2回のChem.14、およびChem.6からなり、その*-NH末端において延長部分の*-CO末端に結合しており、その*-CO末端においてGLP-1アナログの第1または第2のK残基のεアミノ基に結合している、実施形態1～3、6～8、10、18～19、22、32～38、42～44、47、および49のいずれかの誘導体。
61.リンカーが、アミド結合を介して相互結合しており、示した配列において、3回のChem.14、およびChem.6からなり、その*-NH末端において延長部分の*-CO末端に結合しており、その*-CO末端においてGLP-1アナログの第1または第2のK残基のεアミノ基に結合している、実施形態1～3、6～8、10、18～19、22、32～38、42～44、48、および49のいずれかの誘導体。
62.リンカーが、アミド結合を介して相互結合しており、示した配列において、Chem.13、およびChem.6からなり、その*-NH末端において延長部分の*-CO末端に結合しており、その*-CO末端においてGLP-1アナログの第1または第2のK残基のεアミノ基に結合している、実施形態1～3、6～8、10、18～19、22、32～38、42～44、48、および49のいずれかの誘導体。
63.リンカーが、アミド結合を介して相互結合しており、示した配列において、Chem.14、Chem.13、およびChem.6からなり、その*-NH末端において延長部分の*-CO末端に結合しており、その*-CO末端においてGLP-1アナログの第1または第2のK残基のεアミノ基に結合している、実施形態1～3、6～8、10、18～19、22、32～37、39、42～44、46、および49のいずれかの誘導体。
64.リンカーが、アミド結合を介して相互結合しており、示した配列において、Chem.14、2回のChem.13、およびChem.6からなり、その*-NH末端において延長部分の*-CO末端に結合しており、その*-CO末端においてGLP-1アナログの第1または第2のK残基のεアミノ基に結

合している、実施形態1～3、6～8、10、18～19、22、32～37、40～44、46、および49のいずれかの誘導体。
65.リンカーが、アミド結合を介して相互結合しており、示した配列において、Chem.13、Chem.14、Chem.13、およびChem.6からなり、その*-NH末端において延長部分の*-CO末端に結合しており、その*-CO末端においてGLP-1アナログの第1または第2のK残基のεアミノ基に結合している、実施形態1～3、6～8、10、18～19、22、32～37、40、42～44、46、および49のいずれかの誘導体。
66.リンカーが、アミド結合を介して相互結合しており、示した配列において、Chem.17、Chem.14、および2回のChem.6からなり、その*-NH末端において延長部分の*-CO末端に結合しており、その*-CO末端においてGLP-1アナログの第1または第2のK残基のεアミノ基に結合している、実施形態1～2、4、6～8、10、18～20、22、32～38、42～44、46、および49のいずれかの誘導体。
67.延長部分が、Chem.1である、実施形態1～66のいずれかの誘導体。
68.xが、偶数である、実施形態67の誘導体。
69.xが、10～18の範囲の整数である、実施形態67～68のいずれかの誘導体。
70.xが、12である、実施形態67～69のいずれかの誘導体。
71.xが、14である、実施形態67～69のいずれかの誘導体。
72.xが、16である、実施形態67～69のいずれかの誘導体。
73.xが、18である、実施形態67～69のいずれかの誘導体。
74.延長部分が、Chem.2である、実施形態1～66のいずれかの誘導体。
75.yが、奇数である、実施形態74の誘導体。
76.yが、7～11の範囲の整数である、実施形態74～75のいずれかの誘導体。
77.yが、9である、実施形態74～76のいずれかの誘導体。
78.yが、11である、実施形態74～76のいずれかの誘導体。
79.Chem.1が、Chem1aによって表される、実施形態1～73のいずれかの誘導体。
Chem.1a:
【０２０１】
【化９】



.

【０２０２】
80.Chem.2が、Chem2aによって表される、実施形態1～66および74～78のいずれかの誘導体。
Chem.2a:
【０２０３】
【化１０】



.

【０２０４】
81.2つの延長部分が、実質的に同一である、実施形態1～80のいずれかの誘導体。
82.2つの延長部分が、少なくとも0.5;好ましくは、少なくとも0.6;より好ましくは、少な

くとも0.7、または少なくとも0.8;さらにより好ましくは、少なくとも0.9;または最も好ましくは、少なくとも0.99の類似性、例えば、1.0の類似性を有する、実施形態1～81のいずれかの誘導体。
83.2つのリンカーが、実質的に同一である、実施形態1～82のいずれかの誘導体。
84.2つのリンカーが、少なくとも0.5;好ましくは、少なくとも0.6;より好ましくは、少なくとも0.7、または少なくとも0.8;さらにより好ましくは、少なくとも0.9;または最も好ましくは、少なくとも0.99の類似性、例えば、1.0の類似性を有する、実施形態1～83のいずれかの誘導体。
85.延長部分およびリンカーからなる2つの側鎖が、実質的に同一である、実施形態1～84のいずれかの誘導体。
86.延長部分およびリンカーからなる2つの側鎖が、少なくとも0.5;好ましくは、少なくとも0.6の類似性;より好ましくは、少なくとも0.7の類似性、または少なくとも0.8の類似性;さらにより好ましくは、少なくとも0.9の類似性;または最も好ましくは、少なくとも0.99の類似性、例えば、1.0の類似性を有する、実施形態1～85のいずれかの誘導体。
87.比較する2つの化学構造が、フィンガープリント、例えば、a)ECFP_6フィンガープリント;b)UNITYフィンガープリント;および/またはc)MDLフィンガープリントとして表され、a)、b)およびc)のそれぞれについて、谷本係数が、2つのフィンガープリントの類似性を計算するために好ましくは使用される、実施形態81～86のいずれかの誘導体。
88.第1のK残基が、K^{18}と示される、実施形態1～87のいずれかの誘導体。
89.第2のK残基が、GLP-1(7-37)(配列番号1)のT位に対応する位置にある、実施形態1～88のいずれかの誘導体。
90.第2のK残基が、K^{T}と示される、実施形態1～89のいずれかの誘導体。
91.Tが、7～17の範囲からまたは19～37の範囲から選択される整数である、実施形態89～90のいずれかの誘導体。
92.Tが、12～17の範囲から選択される整数である、実施形態89～91のいずれかの誘導体。
93.Tが、19～37の範囲から選択される、実施形態89～92のいずれかの誘導体。
94.Tが、22、26、27、30、31、34、および37からなる群から選択される、実施形態89～93のいずれかの誘導体。
95.T=22である、実施形態89～93のいずれかの誘導体。
96.T=26である、実施形態89～93のいずれかの誘導体。
97.T=27である、実施形態89～93のいずれかの誘導体。
98.T=30である、実施形態89～93のいずれかの誘導体。
99.T=31である、実施形態89～93のいずれかの誘導体。
100.T=34である、実施形態89～93のいずれかの誘導体。
101.T=37である、実施形態89～93のいずれかの誘導体。
102.Tが、26または31である、実施形態89～93のいずれかの誘導体。
103.GLP-1(7-37)(配列番号1)の18位に対応する位置が、筆記および目視によって同定される、実施形態1～102のいずれかの誘導体。
104.GLP-1(7-37)(配列番号1)のT位に対応する位置が、筆記および目視によって同定される、実施形態89～103のいずれかの誘導体。
105.アミノ酸の変化の数が、GLP-1(7-37)(配列番号1)と比較して、筆記および目視によって同定される、実施形態1～104のいずれかの誘導体。
106.GLP-1(7-37)(配列番号1)の18位に対応する位置が、標準的タンパク質またはペプチドアラインメントプログラムを使用することによって同定される、実施形態1～105のいずれかの誘導体。
107.GLP-1(7-37)(配列番号1)のT位に対応する位置が、標準的タンパク質またはペプチドアラインメントプログラムを使用することによって同定される、実施形態89～106のいずれかの誘導体。
108.アミノ酸の変化の数が、GLP-1(7-37)(配列番号1)と比較して、標準的タンパク質またはペプチドアラインメントプログラムを使用することによって同定される、実施形態1～1

07のいずれかの誘導体。
109.アラインメントプログラムが、Needleman-Wunschアラインメントである、実施形態107～108のいずれかの誘導体。
110.デフォルトスコアリングマトリックスおよびデフォルト同一性マトリックスが使用される、実施形態107～109のいずれかの誘導体。
111.スコアリングマトリックスが、BLOSUM62である、実施形態107～110のいずれかの誘導体。
112.ギャップにおける第1の残基についてのペナルティが、-10(マイナス10)である、実施形態107～111のいずれかの誘導体。
113.ギャップにおけるさらなる残基についてのペナルティが、-0.5(マイナスポイント5)である、実施形態107～112のいずれかの誘導体。
114.アナログが、第1および第2のK残基以外のK残基を含まない、実施形態1～113のいずれかの誘導体。
115.最大で12個のアミノ酸の変化が、GLP-1(7-37)(配列番号1)における下記の位置(7、8、12、18、19、22、23、25、26、27、30、31、34、35、36、および37)に対応する1つまたは複数の位置にある、実施形態1～114のいずれかの誘導体。
116.最大で12個のアミノ酸の変化が、GLP-1(7-37)(配列番号1)における下記の位置(7、8、18、19、22、23、25、26、27、30、31、34、35、36、および37)に対応する1つまたは複数の位置にある、実施形態1～115のいずれかの誘導体。
117.アナログが、K^{18}を含む、実施形態1～116のいずれかの誘導体。
118.アナログが、下記の変化:Imp^{7}、Aib^{8}またはS^{8}、L^{12}、Q^{19}、K^{22}またはE^{22}、R^{23}またはE^{23}、V^{25}、R^{26}またはH^{26}またはV^{26}、K^{27}またはL^{27}またはH^{27}、K^{30}またはE^{30}、K^{31}またはH^{31}、G^{34}またはR^{34}またはQ^{34}またはDes^{34}またはH^{34}、Des^{35}、Des^{36}、K^{37}またはDes^{37}の少なくとも1つを含む、実施形態1～117のいずれかの誘導体。
119.第2のK残基が、K^{22}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、i)Des^{34}、G^{34}、R^{34}、およびQ^{34}から選択される変化、ならびにii)R^{26}、H^{26}、およびV^{26}から選択される変化をさらに含む、実施形態1～118のいずれかの誘導体。
120.第2のK残基が、K^{22}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、Q^{34}およびR^{26}をさらに含む、実施形態1～119のいずれかの誘導体。
121.第2のK残基が、K^{26}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、G^{34}、R^{34}、H^{34}、およびQ^{34}から、好ましくはR^{34}、およびQ^{34}から選択される変化をさらに含む、実施形態1～118のいずれかの誘導体。
122.第2のK残基が、K^{26}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、R^{34}をさらに含む、実施形態1～118および121のいずれかの誘導体。
123.第2のK残基が、K^{26}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、Q^{34}をさらに含む、実施形態1～118および121のいずれかの誘導体。
124.第2のK残基が、K^{26}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、H^{34}をさらに含む、実施形態1～118および121のいずれかの誘導体。
125.第2のK残基が、K^{27}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、i)Des^{34}、G^{34}、R^{34}、およびQ^{34}から選択される変化、ならびにii)R^{26}、H^{26}、およびV^{26}から選択される変化をさらに含む、実施形態1～118のいずれかの誘導体。
126.第2のK残基が、K^{27}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、Q^{34}およびR^{26}をさらに含む、実施形態1～118および125のいずれかの誘導体。
127.第2のK残基が、K^{27}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、R^{34}およびR^{26}をさらに含む、実施形態1～118および125のいずれかの誘導体。
128.第2のK残基が、K^{27}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、G^{34}およびR^{26}をさらに含む、実施形態1～118および125のいずれかの誘導体。
129.第2のK残基が、K^{27}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、Q^{34}およびH^{26}をさらに含む、実施形態1～118および125のいずれかの誘導体。
130.第2のK残基が、K^{27}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、R^{34}およびH^{26}をさらに含

む、実施形態1～118および125のいずれかの誘導体。
131.第2のK残基が、K^{27}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、R^{34}およびV^{26}をさらに含む、実施形態1～118および125のいずれかの誘導体。
132.第2のK残基が、K^{30}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、i)Des^{34}、G^{34}、R^{34}、およびQ^{34}から選択される変化、ならびにii)R^{26}、H^{26}、およびV^{26}から選択される変化をさらに含む、実施形態1～118のいずれかの誘導体。
133.第2のK残基が、K^{30}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、R^{34}およびR^{26}をさらに含む、実施形態1～118および132のいずれかの誘導体。
134.第2のK残基が、K^{30}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、G^{34}およびR^{26}をさらに含む、実施形態1～118および132のいずれかの誘導体。
135.第2のK残基が、K^{30}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、R^{34}およびH^{26}をさらに含む、実施形態1～118および132のいずれかの誘導体。
136.第2のK残基が、K^{31}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、i)Des^{34}、G^{34}、R^{34}、およびQ^{34}から選択される変化、ならびにii)R^{26}、H^{26}、およびV^{26}から選択される変化をさらに含む、実施形態1～118および132のいずれかの誘導体。
137.第2のK残基が、K^{31}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、Des^{34}およびR^{26}をさらに含む、実施形態1～118のいずれかの誘導体。
138.第2のK残基が、K^{31}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、Q^{34}およびR^{26}をさらに含む、実施形態1～118および137のいずれかの誘導体。
139.第2のK残基が、K^{31}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、R^{34}およびR^{26}をさらに含む、実施形態1～118および137のいずれかの誘導体。
140.第2のK残基が、K^{31}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、G^{34}およびR^{26}をさらに含む、実施形態1～118および137のいずれかの誘導体。
141.第2のK残基が、K^{31}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、R^{34}およびH^{26}をさらに含む、実施形態1～118および137のいずれかの誘導体。
142.第2のK残基が、K^{31}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、G^{34}およびH^{26}をさらに含む、実施形態1～118および137のいずれかの誘導体。
143.第2のK残基が、K^{34}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、R^{26}、H^{26}、およびV^{26}から選択される変化をさらに含む、実施形態1～118のいずれかの誘導体。
144.第2のK残基が、K^{34}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、R^{26}をさらに含む、実施形態1～118および143のいずれかの誘導体。
145.第2のK残基が、K^{37}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、i)Des^{34}、G^{34}、R^{34}、およびQ^{34}から選択される変化、ならびにii)R^{26}、H^{26}、およびV^{26}から選択される変化をさらに含む、実施形態1～118のいずれかの誘導体。
146.第2のK残基が、K^{37}であり、アナログが、変化K^{18}に加えて、R^{34}およびR^{26}をさらに含む、実施形態1～118および145のいずれかの誘導体。
147.アナログが、下記の変化:Imp^{7}、Aib^{8}もしくはS^{8}、L^{12}、Q^{19}、E^{22}、R^{23}もしくはE^{23}、V^{25}、L^{27}またはH^{27}、E^{30}、H^{31}、Des^{34}、Des^{35}、Des^{36}、またはDes^{37}の少なくとも1つを含む、実施形態1～146のいずれかの誘導体。
148.アナログが、下記の変化:Imp^{7}、Aib^{8}、Q^{19}、E^{22}、R^{23}もしくはE^{23}、V^{25}、L^{27}またはH^{27}、E^{30}、H^{31}、Des^{34}、Des^{35}、Des^{36}、またはDes^{37}の少なくとも1つ、好ましくは下記の変化: Imp^{7}、Aib^{8}、Q^{19}、E^{22}、またはV^{25}の少なくとも1つを含む、実施形態1～147のいずれかの誘導体。
149.34位に対応する位置におけるアミノ酸残基が欠失している場合(Des^{34})、35～37位に対応する位置におけるアミノ酸残基がまた欠失している(Des^{35}、Des^{36}、およびDes^{37})、実施形態115～148のいずれかの誘導体。
150.35位に対応する位置におけるアミノ酸残基が欠失している場合(Des^{35})、36～37位に対応する位置におけるアミノ酸残基がまた欠失している(Des^{36}およびDes^{37})、実施形態115～148のいずれかの誘導体。
151.36位に対応する位置におけるアミノ酸残基が欠失している場合(Des^{36})、37位に対応

する位置におけるアミノ酸残基がまた欠失している(Des^{37})、実施形態115～148のいずれかの誘導体。
152.アナログが、Imp^{7}を含む、実施形態1～151のいずれかの誘導体。
153.アナログが、Aib^{8}を含む、実施形態1～152のいずれかの誘導体。
154.アナログが、S^{8}を含む、実施形態1～152のいずれかの誘導体。
155.アナログが、L^{12}を含む、実施形態1～154のいずれかの誘導体。
156.アナログが、Q^{19}を含む、実施形態1～155のいずれかの誘導体。
157.アナログが、E^{22}を含む、実施形態1～156のいずれかの誘導体。
158.アナログが、R^{23}を含む、実施形態1～157のいずれかの誘導体。
159.アナログが、E^{23}を含む、実施形態1～156のいずれかの誘導体。
160.アナログが、V^{25}を含む、実施形態1～159のいずれかの誘導体。
161.アナログが、L^{27}を含む、実施形態1～160のいずれかの誘導体。
162.アナログが、H^{27}を含む、実施形態1～161のいずれかの誘導体。
163.アナログが、E^{30}を含む、実施形態1～162のいずれかの誘導体。
164.アナログが、H^{31}を含む、実施形態1～163のいずれかの誘導体。
165.アナログにおける変化の決定のために、アナログのアミノ酸配列を、天然GLP-1(7-37)(配列番号1)のアミノ酸配列と比較する、実施形態1～164のいずれかの誘導体。
166.天然GLP-1(7-37)(配列番号1)における特定の位置に対応するアナログにおける位置を決定するために、アナログのアミノ酸配列を、天然GLP-1(7-37)(配列番号1)のアミノ酸配列と比較する、実施形態1～165のいずれかの誘導体。
167.アナログのアミノ酸配列と、GLP-1(7-37)(配列番号1)のアミノ酸配列との比較が、筆記および目視によって行われる、実施形態1～166のいずれかの誘導体。
168.アナログのアミノ酸配列と、GLP-1(7-37)(配列番号1)のアミノ酸配列との比較が、標準的タンパク質またはペプチドアラインメントプログラムを使用することによって行われる、実施形態1～167のいずれかの誘導体。
169.アラインメントプログラムが、Needleman-Wunschアラインメントである、実施形態168の誘導体。
170.デフォルトスコアリングマトリックスおよびデフォルト同一性マトリックスが使用される、実施形態168～169のいずれかの誘導体。
171.スコアリングマトリックスが、BLOSUM62である、実施形態168～170のいずれかの誘導体。
172.ギャップにおける第1の残基についてのペナルティが、-10(マイナス10)である、実施形態168～171のいずれかの誘導体。
173.ギャップにおけるさらなる残基についてのペナルティが、-0.5(マイナスポイント5)である、実施形態168～172のいずれかの誘導体。
174.GLP-1(7-37)(配列番号1)の示した位置のいずれかに対応する位置を、筆記および目視によって同定する、実施形態168～173のいずれかの誘導体。
175.GLP-1(7-37)(配列番号1)の示した位置のいずれかに対応する位置を、実施形態103～111のいずれかにおいて18位およびT位について記載されているように同定する、実施形態168～173のいずれかの誘導体。
176.GLP-1(7-33)の誘導体(配列番号1のアミノ酸1～27)である、実施形態1～175のいずれかの誘導体。
177.GLP-1(7-34)の誘導体(配列番号1のアミノ酸1～28)である、実施形態1～175のいずれかの誘導体。
178.GLP-1(7-35)の誘導体(配列番号1のアミノ酸1～29)である、実施形態1～175のいずれかの誘導体。
179.アナログが、最大で11個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
180.アナログが、最大で10個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。

181.アナログが、最大で9個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
182.アナログが、最大で8個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
183.アナログが、最大で7個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
184.アナログが、最大で6個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
185.アナログが、最大で5個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
186.アナログが、最大で4個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
187.アナログが、最大で3個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
188.アナログが、最大で2個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
189.アナログが、最小で1個のアミノ酸の修飾を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
190.アナログが、最小で2個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
191.アナログが、最小で3個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
192.アナログが、最小で4個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
193.アナログが、最小で5個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
194.アナログが、最小で6個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
195.アナログが、最小で7個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
196.アナログが、最小で8個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
197.アナログが、最小で9個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
198.アナログが、最小で10個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
199.アナログが、最小で11個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
200.アナログが、1個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
201.アナログが、2個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
202.アナログが、3個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
203.アナログが、4個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
204.アナログが、5個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
205.アナログが、6個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
206.アナログが、7個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
207.アナログが、8個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
208.アナログが、9個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
209.アナログが、10個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
210.アナログが、11個のアミノ酸の変化を有する、実施形態1～178のいずれかの誘導体。
211.変化が、独立に、置換、付加、および/または欠失である、実施形態1～210のいずれ

かの誘導体。
212.変化が、独立に、置換、および/または欠失である、実施形態1～210のいずれかの誘導体。
213.変化が、置換である、実施形態1～212のいずれかの誘導体。
214.変化が、欠失である、実施形態1～213のいずれかの誘導体。
215.アナログが、a)式IのGLP-1アナログを含み、かつ/またはb)式IのGLP-1アナログ
式I:Xaa_7-Xaa_8-Glu-Gly-Thr-Xaa_{12}-Thr-Ser-Asp-Xaa_{16}-Ser-Lys-Xaa_{19}-Xaa_{20}-Glu-Xaa_{22}-Xaa_{23}-Ala-Xaa_{25}-Xaa_{26}-Xaa_{27}-Phe-Ile-Xaa_{30}-Xaa_{31}-Leu-Xaa_{33}-Xaa_{34}-Xaa_{35}-Xaa_{36}-Xaa_{37}-Xaa_{38}
であり、式中、
Xaa^7は、L-ヒスチジン、イミダゾプロピオニル、α-ヒドロキシ-ヒスチジン、D-ヒスチジン、デスアミノ-ヒスチジン、2-アミノ-ヒスチジン、β-ヒドロキシ-ヒスチジン、ホモヒスチジン、N^{α}-アセチル-ヒスチジン、N^{α}-ホルミル-ヒスチジン、α-フルオロメチル-ヒスチジン、α-メチル-ヒスチジン、3-ピリジルアラニン、2-ピリジルアラニン、または4-ピリジルアラニンであり、
Xaa_8は、Ala、Gly、Val、Leu、Ile、Thr、Ser、Lys、Aib、(1-アミノシクロプロピル)カルボン酸、(1-アミノシクロブチル)カルボン酸、(1-アミノシクロペンチル)カルボン酸、(1-アミノシクロヘキシル)カルボン酸、(1-アミノシクロヘプチル)カルボン酸、または(1-アミノシクロオクチル)カルボン酸であり、
Xaa_{12}は、PheまたはLeuであり、
Xaa_{16}は、ValまたはLeuであり、
Xaa_{19}は、TyrまたはGlnであり、
Xaa_{20}は、LeuまたはMetであり、
Xaa_{22}は、Gly、Glu、Lys、またはAibであり、
Xaa_{23}は、Gln、Glu、またはArgであり、
Xaa_{25}は、AlaまたはValであり、
Xaa_{26}は、Val、His、Lys、またはArgであり、
Xaa_{27}は、Glu、Leu、またはLysであり、
Xaa_{30}は、Ala、Glu、Lys、またはArgであり、
Xaa_{31}は、Trp、Lys、またはHisであり、
Xaa_{33}は、ValまたはLysであり、
Xaa_{34}は、Lys、Glu、Asn、Gly、Gln、Arg、His、または存在せず、
Xaa_{35}は、Gly、Aib、または存在せず、
Xaa_{36}は、Arg、Gly、Lys、または存在せず、
Xaa_{37}は、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys、Arg、または存在せず、
Xaa_{38}は、Ser、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys、Arg、または存在しない、実施形態1～214のいずれかの誘導体。
216.式Iのペプチドが、GLP-1(7-37)(配列番号1)のアナログである、実施形態215の誘導体。
217.Xaa_{37}が存在しない場合、Xaa_{38}もまた存在しない、実施形態215～216のいずれかの誘導体。
218.Xaa_{36}が存在しない場合、Xaa_{37}、およびXaa_{38}もまた存在しない、実施形態215～217のいずれかの誘導体。
219.Xaa_{35}が存在しない場合、Xaa_{36}、Xaa_{37}、およびXaa_{38}もまた存在しない、実施形態215～218のいずれかの誘導体。
220.Xaa_{34}が存在しない場合、Xaa_{35}、Xaa_{36}、Xaa_{37}、およびXaa_{38}もまた存在しない、実施形態215～219のいずれかの誘導体。
221.Xaa_7が、Hisまたはデスアミノ-ヒスチジン(イミダゾプロピオニル)であり、Xaa_8が、Ala、SerまたはAibであり、Xaa_{12}が、PheまたはLeuであり、Xaa_{16}が、Valであり、Xaa_{19}が、Tyrであり、Xaa_{20}が、Leuであり、Xaa_{22}が、Gly、Glu、またはLysであり、Xaa_{23}が、

Gln、Glu、またはArgであり、Xaa_{25}が、AlaまたはValであり、Xaa_{26}が、Val、His、Lys、またはArgであり、Xaa_{27}が、Glu、Leu、またはLysであり、Xaa_{30}が、Ala、Glu、またはLysであり、Xaa_{31}が、Trp、Lys、またはHisであり、Xaa_{33}が、Valであり、Xaa_{34}が、Lys、Gly、Gln、Arg、His、または存在せず、Xaa_{35}が、Glyまたは存在せず、Xaa_{35}が、Argまたは存在せず、Xaa_{37}が、Gly、Lys、または存在せず、Xaa_{38}が、存在しない、実施形態215～220のいずれかの誘導体。

222.Xaa_{7}が、Hisまたはデスアミノ-ヒスチジンであり、Xaa_{8}が、AlaまたはAibであり、Xaa_{12}が、Pheであり、Xaa_{16}が、Valであり、Xaa_{19}が、Tyrであり、Xaa_{20}が、Leuであり、Xaa_{22}が、Gly、Glu、またはLysであり、Xaa_{23}が、Gln、Glu、またはArgであり、Xaa_{25}が、AlaまたはValであり、Xaa_{26}が、Val、His、Lys、またはArgであり、Xaa_{27}が、Glu、Leu、またはLysであり、Xaa_{30}が、Ala、Glu、またはLysであり、Xaa_{31}が、Trp、Lys、またはHisであり、Xaa_{33}が、Valであり、Xaa_{34}が、Lys、Gly、Gln、Arg、His、または存在せず、Xaa_{35}が、Glyまたは存在せず、Xaa_{36}が、Argまたは存在せず、Xaa_{37}が、Gly、Lys、または存在せず、Xaa_{38}が、存在しない、実施形態215～221のいずれかの誘導体。

223.Xaa_{7}が、Hisまたはデスアミノ-ヒスチジンであり、Xaa_{8}が、AlaまたはAibであり、Xaa_{12}が、Pheであり、Xaa_{16}が、Valであり、Xaa_{19}が、TyrまたはGlnであり、Xaa_{20}が、Leuであり、Xaa_{22}が、GlyまたはGluであり、Xaa_{23}が、Glnであり、Xaa_{25}が、AlaまたはValであり、Xaa_{26}が、LysまたはArgであり、Xaa_{27}が、Gluであり、Xaa_{30}が、Alaであり、Xaa_{31}が、TrpまたはLysであり、Xaa_{33}が、Valであり、Xaa_{34}が、Lys、Gln、またはArgであり、Xaa_{35}が、Glyであり、Xaa_{36}が、Argであり、Xaa_{37}が、Glyであり、Xaa_{38}が、存在しない、実施形態215～222のいずれかの誘導体。

224.Xaa_{7}が、Hisである、実施形態215～223のいずれかの誘導体。

225.Xaa_{7}が、デスアミノ-ヒスチジン(イミダゾプロピオニル)である、実施形態215～223のいずれかの誘導体。

226.Xaa_{8}が、Alaである、実施形態215～225のいずれかの誘導体。

227.Xaa_{8}が、Serである、実施形態215～225のいずれかの誘導体。

228.Xaa_{8}が、Aibである、実施形態215～225のいずれかの誘導体。

229.Xaa_{12}が、Pheである、実施形態215～228のいずれかの誘導体。

230.Xaa_{12}が、Leuである、実施形態215～228のいずれかの誘導体。

231.Xaa_{16}が、Valである、実施形態215～230のいずれかの誘導体。

232.Xaa_{19}が、Tyrである、実施形態215～231のいずれかの誘導体。

233.Xaa_{20}が、Leuである、実施形態215～232のいずれかの誘導体。

234.Xaa_{22}が、Glyである、実施形態215～233のいずれかの誘導体。

235.Xaa_{22}が、Gluである、実施形態215～233のいずれかの誘導体。

236.Xaa_{22}が、Lysである、実施形態215～233のいずれかの誘導体。

237.Xaa_{23}が、Glnである、実施形態215～236のいずれかの誘導体。

238.Xaa_{23}が、Gluである、実施形態215～236のいずれかの誘導体。

239.Xaa_{23}が、Argである、実施形態215～236のいずれかの誘導体。

240.Xaa_{25}が、Alaである、実施形態215～239のいずれかの誘導体。

241.Xaa_{25}が、Valである、実施形態215～239のいずれかの誘導体。

242.Xaa_{26}が、Hisである、実施形態215～241のいずれかの誘導体。

243.Xaa_{26}が、Lysである、実施形態215～241のいずれかの誘導体。

244.Xaa_{26}が、Argである、実施形態215～241のいずれかの誘導体。

245.Xaa_{27}が、Gluである、実施形態215～244のいずれかの誘導体。

246.Xaa_{27}が、Leuである、実施形態215～244のいずれかの誘導体。

247.Xaa_{27}が、Lysである、実施形態215～244のいずれかの誘導体。

248.Xaa_{30}が、Alaである、実施形態215～247のいずれかの誘導体。

249.Xaa_{30}が、Gluである、実施形態215～247のいずれかの誘導体。

250.Xaa_{30}が、Lysである、実施形態215～247のいずれかの誘導体。

251.Xaa_{31}が、Trpである、実施形態215～250のいずれかの誘導体。

252.Xaa_{31}が、Lysである、実施形態215～250のいずれかの誘導体。
253.Xaa_{31}が、Hisである、実施形態215～250のいずれかの誘導体。
254.Xaa_{33}が、Valである、実施形態215～253のいずれかの誘導体。
255.Xaa_{34}が、Lysである、実施形態215～254のいずれかの誘導体。
256.Xaa_{34}が、Glyである、実施形態215～254のいずれかの誘導体。
257.Xaa_{34}が、Glnである、実施形態215～254のいずれかの誘導体。
258.Xaa_{34}が、Argである、実施形態215～254のいずれかの誘導体。
259.Xaa_{34}が、Hisである、実施形態215～254のいずれかの誘導体。
260.Xaa_{34}が、存在しない、実施形態215～254のいずれかの誘導体。
261.Xaa_{35}が、Glyである、実施形態215～260のいずれかの誘導体。
262.Xaa_{35}が、存在しない、実施形態215～260のいずれかの誘導体。
263.Xaa_{36}が、Argである、実施形態215～262のいずれかの誘導体。
264.Xaa_{36}が、存在しない、実施形態215～262のいずれかの誘導体。
265.Xaa_{37}が、Glyである、実施形態215～264のいずれかの誘導体。
266.Xaa_{37}が、Lysである、実施形態215～265のいずれかの誘導体。
267.Xaa_{37}が、存在しない、実施形態215～266のいずれかの誘導体。
268.Xaa_{38}が、存在しない、実施形態215～267のいずれかの誘導体。
269.アナログが、GLP-1(7-37)(配列番号1)と比較して、下記のアミノ酸の変化:
(i)8Aib、18K、34R;(ii)8Aib、18K、34Q;(iii)8Aib、18K、22E、34R;(iv)8Aib、18K、22E、34Q;(v)8Aib、12L、18K、34Q;(vi)7Imp、18K、22E、34Q;(vii)18K、34R;(iix)18K、34Q;(ix)18K、22E、34R;(x)18K、22E、34Q;(xi)18K、26R、31K、34R;(xii)18K、26H、31K、34R;(xiii)18K、26H、27K、34Q;(xiv)18K、22K、26R、34Q;(xv)18K、25V、26R、31K、34R;(xvi)18K、22E、26R、31K、34R;(xvii)18K、22E、26H、27K、34R;(iixx)18K、22E、26H、27K、34Q;(ixx)18K、22E、26H、27K、31H、34R;(xx)18K、22E、26H、27K、31H、34Q;(xxi)18K、22E、25V、26R、31K、34R;(xxii)18K、22E、25V、26R、31K、34Q;(xxiii)18K、22E、25V、26R、31K、34G;(xxiv)18K、22E、25V、26R、27K、34R;(xxv)18K、22E、25V、26R、27K、34Q;(xxvi)18K、22E、25V、26R、27K、31H、34R;(xxvii)18K、22E、25V、26R、27K、31H、34Q;(iixxx)18K、22E、23E、25V、26R、27K、34R;(ixxx)18K、22E、23E、25V、26R、27K、34Q;(xxx)18K、22E、25V、26R、31K、34G、des35-37;(xxxi)18K、22E、25V、26R、31H、des35-37;(xxxii)18K、22E、25V、26R、30K、34G、des35-37;(xxxiii)18K、22E、25V、26R、30K、31H、34G、des35-37;(xxxiv)18K、22E、25V、26R、27L、30K、34G、des35-37);(xxxv)18K、22E、26R、31K、34G、des35-37;(xxxvi)18K、22E、26R、27K、31H、34G、des35-37;(xxxvii)7Imp、18K、22E、26R、34R、37K;(iixxxx)7Imp、18K、22E、26R、27K、31H、34G、des35-37;(ixxxx)7Imp、18K、22E、25V、26R、31K、34G、des35-37;(xxxx)7Imp、8Aib、18K、22E、25V、26R、31K、34G、des35-37;(xxxxi)8S、18K、22E、25V、26R、31K、34G、des35-37;(xxxxii)8Aib、18K、26V、27K、34R;(xxxxiii)8Aib、18K、26H、30K、34R、des36-37;(xxxxiv)8Aib、18K、25V、26R、31K、34R;(xxxxv)8Aib、18K、22E、34R、des36-37;(xxxxvi)8Aib、18K、22E、26R、34R、37K;(xxxxvii)8Aib、18K、22E、26R、31K、34R;(iixxxxx)8Aib、18K、22E、26R、31K、34G、des35-37;(ixxxxx)8Aib、18K、22E、26R、30K、34R、des36-37;(xxxxx)8Aib、18K、22E、26R、30K、34R;(xxxxxi)8Aib、18K、22E、26R、27K、31H、34R、des36-37;(xxxxxii)8Aib、18K、22E、25V、26R、31K、des34-37;(xxxxxiii)8Aib、18K、22E、25V、26R、31K、34R;(xxxxxiv)8Aib、18K、22E、25V、26R、31K、34G、des35-37;(xxxxxv)8Aib、18K、22E、25V、26R、30E、31K、34G、des35-37;(xxxxxvi)8Aib、18K、22E、25V、26R、27L、des35-37;(xxxxxvii)8Aib、18K、22E、25V、26R、27K、34Q;(iixxxxxx)8Aib、18K、22E、25V、26R、27K、31H、34G、des35-37;(ixxxxxx)8Aib、18K、22E、25V、26H、31K、34G、des35-37;(xxxxxx)8Aib、18K、22E、23R、25V、26R、31K、34G、des35-37;(xxxxxxi)18K、22E、25V、26R、27L、30K、34G、des35-37;(xxxxxxii)7Imp、18K、22E、26R、27K、34Q;(xxxxxxiii)8Aib、18K、34H;(xxxxxxiv)7Imp、8Aib、18K、22E、34Q;(xxxxxxv)7Imp、18K、22E、25V、26R、31K、34R;または(xxxxxxvi)8Aib、18K、19Q、22E、34Qを含む、実施形態1～268のいずれかの誘導体。

270.アナログが、GLP-1(7-37)(配列番号1)と比較して、下記のアミノ酸の変化:
(i)8Aib、18K、34R;(ii)8Aib、18K、34Q;(iii)8Aib、18K、22E、34R;(iv)8Aib、18K、22E、34Q;(v)8Aib、12L、18K、34Q;(vi)7Imp、18K、22E、34Q;(vii)18K、34R;(iix)18K、34Q;(ix)18K、22E、34R;(x)18K、22E、34Q;(xi)18K、26R、31K、34R;(xii)18K、26H、31K、34R;(xiii)18K、26H、27K、34Q;(xiv)18K、22K、26R、34Q;(xv)18K、25V、26R、31K、34R;(xvi)18K、22E、26R、31K、34R;(xvii)18K、22E、26H、27K、34R;(iixx)18K、22E、26H、27K、34Q;(ixx)18K、22E、26H、27K、31H、34R;(xx)18K、22E、26H、27K、31H、34Q;(xxi)18K、22E、25V、26R、31K、34R;(xxii)18K、22E、25V、26R、31K、34Q;(xxiii)18K、22E、25V、26R、31K、34G;(xxiv)18K、22E、25V、26R、27K、34R;(xxv)18K、22E、25V、26R、27K、34Q;(xxvi)18K、22E、25V、26R、27K、31H、34R;(xxvii)18K、22E、25V、26R、27K、31H、34Q;(iixxx)18K、22E、23E、25V、26R、27K、34R;(ixxx)18K、22E、23E、25V、26R、27K、34Q;(xxx)18K、22E、25V、26R、31K、34G、des35-37;(xxxi)18K、22E、25V、26R、31H、des35-37;(xxxii)18K、22E、25V、26R、30K、34G、des35-37;(xxxiii)18K、22E、25V、26R、30K、31H、34G、des35-37;(xxxiv)18K、22E、25V、26R、27L、30K、34G、des35-37);(xxxv)18K、22E、26R、31K、34G、des35-37;(xxxvi)18K、22E、26R、27K、31H、34G、des35-37;(xxxvii)7Imp、18K、22E、26R、34R、37K;(iixxxx)7Imp、18K、22E、26R、27K、31H、34G、des35-37;(ixxxx)7Imp、18K、22E、25V、26R、31K、34G、des35-37;(xxxx)7Imp、8Aib、18K、22E、25V、26R、31K、34G、des35-37;(xxxxi)8S、18K、22E、25V、26R、31K、34G、des35-37;(xxxxii)8Aib、18K、26V、27K、34R;(xxxxiii)8Aib、18K、26H、30K、34R、des36-37;(xxxxiv)8Aib、18K、25V、26R、31K、34R;(xxxxv)8Aib、18K、22E、34R、des36-37;(xxxxvi)8Aib、18K、22E、26R、34R、37K;(xxxxvii)8Aib、18K、22E、26R、31K、34R;(iixxxxx)8Aib、18K、22E、26R、31K、34G、des35-37;(ixxxxx)8Aib、18K、22E、26R、30K、34R、des36-37;(xxxxx)8Aib、18K、22E、26R、30K、34R;(xxxxxi)8Aib、18K、22E、26R、27K、31H、34R、des36-37;(xxxxxii)8Aib、18K、22E、25V、26R、31K、des34-37;(xxxxxiii)8Aib、18K、22E、25V、26R、31K、34R;(xxxxxiv)8Aib、18K、22E、25V、26R、31K、34G、des35-37;(xxxxxv)8Aib、18K、22E、25V、26R、30E、31K、34G、des35-37;(xxxxxvi)8Aib、18K、22E、25V、26R、27L、des35-37;(xxxxxvii)8Aib、18K、22E、25V、26R、27K、34Q;(iixxxxxx)8Aib、18K、22E、25V、26R、27K、31H、34G、des35-37;(ixxxxxx)8Aib、18K、22E、25V、26H、31K、34G、des35-37;(xxxxxx)8Aib、18K、22E、23R、25V、26R、31K、34G、des35-37;(xxxxxxi)18K、22E、25V、26R、27L、30K、34G、des35-37;(xxxxxxii)7Imp、18K、22E、26R、27K、34Q;(xxxxxxiii)8Aib、18K、34H;(xxxxxxiv)7Imp、8Aib、18K、22E、34Q;(xxxxxxv)7Imp、18K、22E、25V、26R、31K、34R;または(xxxxxxvi)8Aib、18K、19Q、22E、34Qを有する、実施形態1～269のいずれかの誘導体。
271.アナログが、C末端アミドを含むように修飾されている、実施形態1～270のいずれかの誘導体。
272.アナログのC末端アミノ酸のカルボン酸基が、カルボン酸アミドに変換されている、実施形態1～271のいずれかの誘導体。
273.カルボン酸アミドに変換されたカルボン酸基が、C末端アミノ酸の側鎖中に存在しない、実施形態272の誘導体。
274.アナログが、C末端カルボン酸を有する、実施形態1～270のいずれかの誘導体。
275.下記から選択される、好ましくは、実施形態1～275のいずれかによる化合物:Chem.20、Chem.21、Chem.22、Chem.23、Chem.24、Chem.25、Chem.26、Chem.27、Chem.28、Chem.29、Chem.30、Chem.31、Chem.32、Chem.33、Chem.34、Chem.35、Chem.36、Chem.37、Chem.38、Chem.39、Chem.40、Chem.41、Chem.42、Chem.43、Chem.44、Chem.45、Chem.46、Chem.47、Chem.48、Chem.49、Chem.50、Chem.51、Chem.52、Chem.53、Chem.54、Chem.55、Chem.56、Chem.57、Chem.58、Chem.59、Chem.60、Chem.61、Chem.62、Chem.63、Chem.64、Chem.65、Chem.66、Chem.67、Chem.68、Chem.69、Chem.70、Chem.71、Chem.72、Chem.73、Chem.74、Chem.75、Chem.76、またはChem.77;またはその薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステル。
276.下記から選択される、好ましくは、実施形態1～275のいずれかによる化合物:Chem.20

、Chem.21、Chem.22、Chem.23、Chem.24、Chem.25、Chem.26、Chem.27、Chem.29、Chem.30、Chem.31、Chem.32、Chem.33、Chem.34、Chem.38、またはChem.39;またはその薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステル。
277.その名称によって特徴付けられ、本明細書において実施例1～58の化合物の名称のそれぞれのリストから選択される化合物;またはその薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステル。
278.その名称によって特徴付けられ、本明細書において実施例1～8、10～15、および19～20の化合物の名称のそれぞれのリストから選択される化合物;またはその薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステル。
279.実施形態275の化合物である、実施形態277の化合物。
280.実施形態276の化合物である、実施形態278の化合物。
281.GLP-1活性を有する、実施形態1～280のいずれかの誘導体。
282.GLP-1活性が、ヒトGLP-1受容体を活性化する能力を意味する、実施形態281の誘導体。
283.ヒトGLP-1受容体の活性化が、cAMP生成の効力としてインビトロのアッセイにおいて測定される、実施形態282の誘導体。
284.a)18000pM未満、好ましくは、10000pM未満、より好ましくは、5000pM未満、さらにより好ましくは、4000pM未満、または最も好ましくは、3000pM未満;
b)2000pM未満、好ましくは、1200pM未満、より好ましくは、1000pM未満、さらにより好ましくは、800pM未満、または最も好ましくは、600pM未満;
c)400pM未満、好ましくは、300pM未満、より好ましくは、200pM未満、さらにより好ましくは、150pM未満、または最も好ましくは、100pM未満;あるいは
d)80pM未満、好ましくは、60pM未満、より好ましくは、50pM未満、さらにより好ましくは、40pM未満、または最も好ましくは、30pM未満
のEC_{50}に対応する効力を有する、実施形態1～283のいずれかの誘導体。
285.効力が、好ましくは、安定的なトランスフェクトされた細胞系、例えば、BHK467-12A(tk-ts13)を使用して、かつ/またはcAMPの決定のために、例えば、内因的に形成されたcAMPと外因的に加えたビオチン標識cAMPとの間の競合に基づいた機能的受容体アッセイを使用して、ヒトGLP-1受容体を含有する培地におけるcAMPの形成の刺激についてのEC_{50}として決定され、アッセイにおいて、cAMPはより好ましくは、特異的抗体を使用して捕捉され、かつ/またはさらにより好ましいアッセイが、AlphaScreen cAMPアッセイ、最も好ましくは、実施例59において記載したものである、実施形態284の誘導体。
286.比[2.0%HSA(高アルブミン)の存在下でのGLP-1受容体結合親和性(IC_{50}、nM)を、0.005%HSA(低アルブミン)の存在下でのGLP-1受容体結合親和性(IC_{50}、nM)で割った商]が、
a)少なくとも1、好ましくは、少なくとも10、より好ましくは、少なくとも20、さらにより好ましくは、少なくとも30、または最も好ましくは、少なくとも40;
b)少なくとも50、好ましくは、少なくとも60、より好ましくは、少なくとも70、さらにより好ましくは、少なくとも80、または最も好ましくは、少なくとも90;
c)少なくとも100、好ましくは、少なくとも200、より好ましくは、少なくとも300、またより好ましくは、少なくとも400、さらにより好ましくは、少なくとも500、または最も好ましくは、少なくとも600;
d)少なくとも700、好ましくは、少なくとも800、より好ましくは、少なくとも900、またより好ましくは、少なくとも1000、さらにより好ましくは、少なくとも1200、または最も好ましくは、少なくとも1400;あるいは
e)少なくとも1500、好ましくは、少なくとも1800、より好ましくは、少なくとも2000、またより好ましくは、少なくとも2300、さらにより好ましくは、少なくとも2500、または最も好ましくは、少なくとも2800である、実施形態1～285のいずれかの誘導体。
287.0.005%HSA(低アルブミン)の存在下でのGLP-1受容体結合親和性(IC_{50})が、
a)1000nM未満、好ましくは、500nM未満、より好ましくは、100nM未満、または最も好ましくは、50nM未満;

b)10nM未満、好ましくは、8.0nM未満、またより好ましくは、6.0nM未満、さらにより好ましくは、5.0nM未満、または最も好ましくは、2.00nM未満;あるいは
c)1.00nM未満、好ましくは、0.50nM未満、さらにより好ましくは、0.25nM未満、または最も好ましくは、0.15nM未満である、実施形態1～286のいずれかの誘導体。
288.2.0%HSA(高アルブミン)の存在下でのGLP-1受容体結合親和性(IC_{50})が、
a)1000nM未満、好ましくは800nM未満;
b)700nM未満、好ましくは、500nM未満、より好ましくは、300nM未満;あるいは
c)200nM未満、好ましくは、100nM未満、またはより好ましくは、50nM未満である、実施形態1～287のいずれかの誘導体。
289.GLP-1受容体への結合親和性を、好ましくは、SPA結合アッセイを使用して、受容体からの^{125}I-GLP-1の移動によって測定する、実施形態286～288のいずれかの誘導体。
290.GLP-1受容体を、安定的なトランスフェクトされた細胞系、好ましくは、ハムスター細胞系、より好ましくは、ベビーハムスター腎細胞系、例えば、BHK tk-ts13を使用して調製する、実施形態289の誘導体。
291.IC_{50}値が、受容体からの^{125}I-GLP-1の50%を移動させる濃度として決定される、実施形態286～290のいずれかの誘導体。
292.セマグルチドの経口バイオアベイラビリティーより高い、経口バイオアベイラビリティー、好ましくは、絶対的経口バイオアベイラビリティーを有する、実施形態1～291のいずれかの誘導体。
293.リラグルチドの経口バイオアベイラビリティーより高い、経口バイオアベイラビリティー、好ましくは、絶対的経口バイオアベイラビリティーを有する、実施形態1～292のいずれかの誘導体。
294.経口バイオアベイラビリティーを、ラットにおいて腸管腔中への直接の注入後の血漿中曝露としてインビボで測定する、実施形態292～293のいずれかの誘導体。
295.ラットの空腸への誘導体の溶液の注入の30分後に決定した誘導体の血漿濃度(pM)を、注入した溶液の濃度(μM)(30分での用量補正した曝露)で割った商が、
a)少なくとも20、好ましくは、少なくとも40、より好ましくは、少なくとも45、さらにより好ましくは、少なくとも50、または最も好ましくは、少なくとも60;あるいは
b)少なくとも70、好ましくは、少なくとも80、または最も好ましくは、少なくとも100である、実施形態1～294のいずれかの誘導体。
296.ラットの空腸への誘導体の溶液の注入の30分後に決定した誘導体の血漿濃度(pM)を、注入した溶液の濃度(μM)(30分での用量補正した曝露)で割った商が、少なくとも110、好ましくは、少なくとも120、より好ましくは、少なくとも130、またより好ましくは、少なくとも140、さらにより好ましくは、少なくとも150、または最も好ましくは、少なくとも160である、実施形態1～295のいずれかの誘導体。
297.ラットの空腸への誘導体の溶液の注入の30分後に決定した誘導体の血漿濃度(pM)を、注入した溶液の濃度(μM)(30分での用量補正した曝露)で割った商が、少なくとも180、好ましくは、少なくとも190、より好ましくは、少なくとも200、またより好ましくは、少なくとも210、さらにより好ましくは、少なくとも220、または最も好ましくは、少なくとも230である、実施形態1～296のいずれかの誘導体。
298.ラットの空腸への誘導体の溶液の注入の30分後に決定した誘導体の血漿濃度(pM)を、注入した溶液の濃度(μM)(30分での用量補正した曝露)で割った商が、少なくとも240、好ましくは、少なくとも250、より好ましくは、少なくとも260、または最も好ましくは、少なくとも270である、実施形態1～297のいずれかの誘導体。
299.GLP-1誘導体を、55mg/mlのカプリン酸ナトリウムの溶液中で1000uMの濃度で試験する、実施形態292～298のいずれかの誘導体。
300.30～180分の時点の、用量補正した(すなわち、注入した誘導体の用量(pmol)で割った)血漿曝露曲線(すなわち、血漿中濃度(pM)対時間)のAUCを決定する(すなわち、結果を、(分×pM/pmol)で、または単純に分/Lで示す)、実施形態1～294のいずれかの誘導体。
301.用量補正した血漿曝露曲線のAUCが、

a)少なくとも50分/L、好ましくは少なくとも100分/L、またはより好ましくは少なくとも150分/L;
b)少なくとも200分/L、好ましくは少なくとも250分/L、より好ましくは少なくとも300分/L、または最も好ましくは少なくとも320分/L;あるいは
c)セマグルチドについての対応するAUC値の、少なくとも1.5倍、好ましくは少なくとも2倍、より好ましくは少なくとも3倍、または最も好ましくは少なくとも4倍
である、実施形態300の誘導体。
302.経口バイオアベイラビリティーを、ラットにおいて、経口胃管栄養補給後の血漿中曝露としてインビボで測定する、実施形態1～293のいずれかの誘導体。
303.30～180分の時点の、用量補正した(すなわち、投与した誘導体の用量(pmol)で割った)血漿曝露曲線(すなわち、血漿中濃度(pM)対時間)のAUCを決定する(すなわち、結果を、(分×pM/pmol)で、または単純に分/Lで示し得る)、実施形態302の誘導体。
304.用量補正した血漿曝露曲線のAUCが、
a)少なくとも10分/L、好ましくは少なくとも20分/L、またはより好ましくは少なくとも30分/L;
b)少なくとも40分/L、好ましくは少なくとも50分/L、より好ましくは少なくとも60分/L、または最も好ましくは少なくとも70分/L;あるいは
c)セマグルチドについての対応するAUC値の少なくとも1.5倍、好ましくは少なくとも2倍、より好ましくは少なくとも3倍、または最も好ましくは少なくとも4倍
である、実施形態303の誘導体。
305.GLP-1誘導体を、250mg/mlのN-[8-(2-ヒドロキシベンゾイル)アミノ]カプリル酸ナトリウム(SNAC)の溶液において約1000uMの濃度で試験する、実施形態300～304のいずれかの誘導体。
306.好ましくは、概ね240gの到着時の体重を有する雄性Sprague-Dawleyラットを使用する、実施形態292～305のいずれかの誘導体。
307.ラットを、実験の前に概ね18時間絶食させる、実施形態292～306のいずれかの誘導体。
308.絶食させた後、およびそれぞれ、空腸中への誘導体の注入、または経口胃管栄養補給の前に、ラットに全身麻酔をかける、実施形態292～307のいずれかの誘導体。
309.腸管腔中への注入のために、誘導体を、空腸の近位部(十二指腸について10cm遠位)または中腸(盲腸について50cm近位)に、好ましくは空腸の近位部に投与する、実施形態292～308のいずれかの誘導体。
310.100μlの誘導体を、1mlのシリンジを有するカテーテルを通して空腸管腔中に注入し、続いて200μlの空気を、別のシリンジで空腸管腔中に押し入れ、次いでカテーテルへの逆流を防止するために、これをカテーテルに結合したままとする、実施形態292～309のいずれかの誘導体。
311.血液試料(200ul)を、尾静脈からEDTAチューブ中に所望の間隔(0分、10分、30分、60分、120分および240分などの時点)で集め、5分遠心分離する(10000G、4℃で20分以内)、実施形態292～310のいずれかの誘導体。
312.血漿(例えば、75ul)を分離し、直ちに冷凍し、誘導体の血漿濃度について分析するまで-20℃で保持する、実施形態292～311のいずれかの誘導体。
313.LOCI(発光酸素チャネリング免疫アッセイ)を、誘導体の血漿濃度を分析するために使用する、実施形態292～312のいずれかの誘導体。
314.誘導体が、db/dbマウスにおいて血中グルコースをインビボで低下させるのに有効である、実施形態1～313のいずれかの誘導体。
315.誘導体が、db/dbマウスにおいて体重をインビボで低下させるのに有効である、実施形態1～314のいずれかの誘導体。
316.db/dbマウスを、適切な範囲の用量のGLP-1誘導体でs.c.処置し、血中グルコースおよび/または体重を適正な間隔で決定する、実施形態314～316のいずれかの誘導体。
317.GLP-1誘導体の用量が、0.3nmol/kg、1.0nmol/kg、3.0nmol/kg、10nmol/kg、30nmol/k

g、および100nmol/kgであり、kgが、マウスの体重を意味する、実施形態313～316のいずれかの誘導体。
318.対照群を、ビヒクル(s.c.)、好ましくは、GLP-1誘導体が溶解される培地(例えば、下記の組成(50mMのリン酸ナトリウム、145mMの塩化ナトリウム、0.05%Tween80、pH7.4)を有する)で処置する、実施形態313～317のいずれかの誘導体。
319.-1/2時間の時点(投与(t=0)の30分前)で、ならびに1時間、2時間、4時間、および8時間の時点で、血中グルコースを決定し、かつ/またはマウスを秤量する、実施形態313～318のいずれかの誘導体。
320.グルコースオキシダーゼ法を使用して、グルコース濃度を測定する、実施形態313～319のいずれかの誘導体。
321.(i)ED_{50}(体重(BW))を、誘導体の皮下投与の8時間後の、δ(例えば、減少)BWに対する最大半量効果を生じさせる用量として計算し;かつ/または
(ii)ED_{50}(血中グルコース(BG))を、アナログの皮下投与の8時間および/または24時間後の、AUC(曲線下面積)δ(例えば、減少)BGに対して最大半量効果を生じさせる用量として計算する、実施形態313～320のいずれかの誘導体。
322.好ましくは、最大反応を明確に定義して、シグモイド用量反応関係が存在する、実施形態313～321のいずれかの誘導体。
323.ED_{50}(BG)8時間が、5.0nmol/kg未満、好ましくは、4.0nmol/kg未満、より好ましくは、3.0nmol/kg未満、さらにより好ましくは、2.0nmol/kg未満、または最も好ましくは、1.0nmol/kg未満である、実施形態313～322のいずれかの誘導体。
324.ED_{50}(BW)8時間が、
a)10nmol/kg未満、好ましくは、8nmol/kg未満、さらにより好ましくは、6.0nmol/kg未満、または最も好ましくは、5.0nmol/kg未満;あるいは
b)4.0nmol/kg未満、好ましくは、3.0nmol/kg未満、さらにより好ましくは、2.0nmol/kg未満、または最も好ましくは、1.0nmol/kg未満
である、実施形態313～323のいずれかの誘導体。
325.ブタにおけるPD研究において、誘導体の単回用量のs.c.投与後、ビヒクル処置対照群と比較して、1日目、2日目、3日目、および/または4日目に食物摂取量を減少させる、実施形態1～324のいずれかの誘導体。
326.実施例64に記載されているように、研究を行い、データを収集および分析する、実施形態325の誘導体。
327.リラグルチドより延長性の作用プロファイルを有する、実施形態1～326のいずれかの誘導体。
328.延長とは、関連する動物種、例えば、db/dbマウス、ラット、ブタ、および/または、好ましくは、ミニブタにおけるインビボでの半減期を意味し;誘導体を、i)s.c.、および/または、ii)i.v.;好ましくは、ii)i.v.で投与する、実施形態327の誘導体。
329.ラットにおけるi.v.投与後の末端半減期($T_{1/2}$)が、セマグルチドの末端半減期($T_{1/2}$)より高い、実施形態1～328のいずれかの誘導体。
330.ラットにおけるi.v.投与後の末端半減期($T_{1/2}$)が、セマグルチドの末端半減期($T_{1/2}$)の少なくとも2倍である、実施形態1～329のいずれかの誘導体。
331.ラットにおけるi.v.投与後の末端半減期($T_{1/2}$)が、セマグルチドの末端半減期($T_{1/2}$)の少なくとも3倍である、実施形態1～330のいずれかの誘導体。
332.ラットにおけるi.v.投与後の末端半減期($T_{1/2}$)が、セマグルチドの末端半減期($T_{1/2}$)の少なくとも4倍である、実施形態1～331のいずれかの誘導体。
333.ラットにおけるi.v.投与後の末端半減期($T_{1/2}$)が、セマグルチドの末端半減期($T_{1/2}$)の少なくとも5倍である、実施形態1～332のいずれかの誘導体。
334.例えば、実施例65に記載されているように、半減期をラットにおいてインビボの薬物動態研究において決定する、実施形態1～333のいずれかの誘導体。
335.ミニブタにおけるi.v.投与後の末端半減期($T_{1/2}$)が、
a)少なくとも8時間、好ましくは、少なくとも16時間、より好ましくは、少なくとも24時

間、さらにより好ましくは、少なくとも32時間、または最も好ましくは、少なくとも40時間;あるいは
b)少なくとも50時間、好ましくは、少なくとも58時間、より好ましくは、少なくとも70時間、さらにより好ましくは、少なくとも80時間、または最も好ましくは、少なくとも84時間
である、実施形態1～334のいずれかの誘導体。
336.ミニブタが、雄性Gottingenミニブタである、実施形態335の誘導体。
337.ミニブタが、7～14カ月齢であり、好ましくは、16～35kgの体重である、実施形態335～336のいずれかの誘導体。
338.ミニブタを、個々に収容し、好ましくは、SDSミニブタ食餌を1日1回または2回摂食させる、実施形態335～337のいずれかの誘導体。
339.少なくとも2週間の順化の後に、誘導体をi.v.で投与する、実施形態335～338のいずれかの誘導体。
340.動物を投与の前に概ね18時間、および投与の後に少なくとも4時間絶食させ、全期間の間に水に自由にアクセスさせる、実施形態335～339のいずれかの誘導体。
341.GLP-1誘導体が、50mMのリン酸ナトリウム、145mMの塩化ナトリウム、0.05%Tween80、pH7.4に、適切な濃度、好ましくは、20～60nmol/mlで溶解している、実施形態335～340のいずれかの誘導体。
342.誘導体の静脈内注射が、1～2nmol/kgに対応する容量で与えられる、実施形態335～341のいずれかの誘導体。
343.GLP-1(7-37)(配列番号1)と比較して下記の変化: (a)7Imp、8Aib、18K、22E、34Q;(b)7Imp、18K、22E、25V、26R、31K、34R;もしくは(c)8Aib、18K、19Q、22E、34Qを含む、GLP-1アナログの形態の中間生成物;または(a)～(c)のアナログのいずれかの薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステル。
344.GLP-1(7-37)(配列番号1)の下記のアナログ:(a)7Imp、8Aib、18K、22E、34Q;(b)7Imp、18K、22E、25V、26R、31K、34R;もしくは(c)8Aib、18K、19Q、22E、34Qから選択されるGLP-1アナログの形態の中間生成物;または(a)～(c)のアナログのいずれか薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステル。
345.C末端アミドを含む、実施形態343～344のいずれかのアナログ。
346.アナログのC末端アミノ酸のカルボン酸基が、カルボン酸アミドに変換されている、実施形態343～345のいずれかのアナログ。
347.カルボン酸アミドに変換されたカルボン酸基が、C末端アミノ酸の側鎖中に存在しない、実施形態346のアナログ。
348.C末端カルボン酸を含む、実施形態343～344のいずれかのアナログ。
349.GLP-1(7-37)(配列番号1)との比較が、筆記および目視によって行われる、実施形態343～348のいずれかのアナログ。
350.GLP-1(7-37)(配列番号1)との比較が、標準的タンパク質またはペプチドアラインメントプログラムを使用することによって行われる、実施形態343～349のいずれかのアナログ。
351.アラインメントプログラムが、Needleman-Wunschアラインメントである、実施形態350のアナログ。
352.デフォルトスコアリングマトリックスおよびデフォルト同一性マトリックスが使用される、実施形態350～351のいずれかのアナログ。
353.スコアリングマトリックスが、BLOSUM62である、実施形態350～352のいずれかのアナログ。
354.ギャップにおける第1の残基についてのペナルティが、-10(マイナス10)である、実施形態350～353のいずれかのアナログ。
355.ギャップにおけるさらなる残基についてのペナルティが、-0.5(マイナスポイント5)である、実施形態350～354のいずれかのアナログ。
356.医薬として使用するための、実施形態1～342のいずれかの誘導体。

357.全ての形態の糖尿病および関連する疾患、例えば、摂食障害、心血管疾患、胃腸疾患、糖尿病性合併症、重篤疾患、および/もしくは多嚢胞性卵巣症候群の治療および/もしくは予防において使用するため、ならびに/または脂質パラメーターを改善するため、β細胞機能を改善するため、ならびに/または糖尿病性疾患の進行を遅延もしくは予防するための、実施形態1～342のいずれかの誘導体。
358.全ての形態の糖尿病および関連する疾患、例えば、摂食障害、心血管疾患、胃腸疾患、糖尿病性合併症、重篤疾患、および/もしくは多嚢胞性卵巣症候群の治療および/もしくは予防のため、ならびに/または脂質パラメーターを改善するため、β細胞機能を改善するため、ならびに/または糖尿病性疾患の進行を遅延もしくは予防するための医薬の製造における、実施形態1～342のいずれかの誘導体の使用。
359.医薬的活性量の実施形態1～342のいずれかに記載の誘導体を投与することにより、全ての形態の糖尿病および関連する疾患、例えば、摂食障害、心血管疾患、胃腸疾患、糖尿病性合併症、重篤疾患、および/もしくは多嚢胞性卵巣症候群を治療もしくは予防するための、ならびに/または脂質パラメーターを改善するため、β細胞機能を改善するため、ならびに/または糖尿病性疾患の進行を遅延もしくは予防するための方法。

【０２０５】

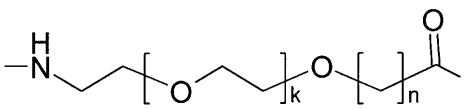
さらなる特定の実施形態

下記(A)は、本発明のさらなる特定の実施形態である。

1. GLP-1アナログの誘導体であって、
GLP-1(7-37)(配列番号1)の18位に対応する位置において第1のK残基、別の位置において第2のK残基、およびGLP-1(7-37)と比較して最大で12個のアミノ酸の修飾を含み、
誘導体は、リンカーを介して、それぞれ、前記第1および第2のK残基に付着している2つの延長部分を含み、
前記延長部分は、Chem.A、Chem.B、およびChem.C:
Chem.A:HOOC-$(CH_2)_x$-CO-
Chem.B: R^1-CO-C_6H_4-O-$(CH_2)_y$-CO-
Chem.C:R^2-C_6H_4-$(CH_2)_z$-CO-
(式中、xは、6～18の範囲の整数であり、yは、3～11の範囲の整数であり、zは、1～5の範囲の整数であり、R^1は、-OHであり、R^2は、150Da以下のモル質量を有する基である)から選択され、
前記リンカーは、
Chem.D:

【０２０６】

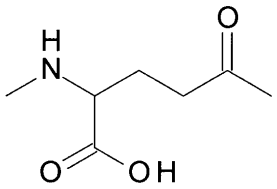
【化１１】



【０２０７】

(式中、kは、1～5の範囲の整数であり、nは、1～5の範囲の整数である)を含む、誘導体;またはその薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステル。
2.Chem.Dが、第1のリンカー要素である、実施形態1の誘導体。
3.kが、1である、実施形態1～2のいずれか1つの誘導体。
4.nが、1である、実施形態1～3のいずれか1つの誘導体。
5.Chem.Dが、m回含まれ、mが、1～10の範囲の整数である、実施形態1～4のいずれか1つの誘導体。
6.mが、1～6の範囲の整数であり、好ましくは、mが、1、2、4、または6であり、より好ましくは、mが、1、2、または4であり、さらにより好ましくは、mが、1または4であり、または最も好ましくは、mが、2である、実施形態5の誘導体。

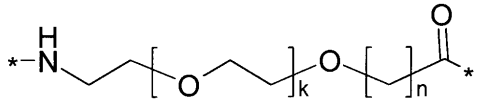
7.mが1と異なるときに、Chem.4要素が、アミド結合を介して相互結合している、実施形態5～6のいずれか1つの誘導体。
8.リンカーが、第2のリンカー要素をさらに含む、実施形態1～7のいずれか1つの誘導体。
9.第2のリンカー要素が、
Chem.E:
【０２０８】
【化１２】



.

【０２０９】
である、実施形態8の誘導体。
10.Chem.Eが、p回含まれ、pが、1～3の範囲の整数である、実施形態9の誘導体。
11.pが、1、2、または3であり、好ましくは、2または3であり、または最も好ましくは、1である、実施形態10の誘導体。
12.Chem.Eが、L-GluまたはD-Gluの、好ましくは、L-Gluのラジカルである、実施形態9～11のいずれか1つの誘導体。
13.pが1と異なるとき、Chem.E要素が、アミド結合を介して相互結合している、実施形態10～12のいずれか1つの誘導体。
14.リンカーが、第3のリンカー要素をさらに含む、実施形態1～13のいずれか1つの誘導体。
15.第3のリンカー要素が、Chem.F:-NH-$(CH_2)_q$-CHR^3-CO-
(式中、qは、2～12の範囲の整数であり、R^3は、アミノ(NH_2)である)である、実施形態14の誘導体。
16.qが、4、6、または10である、実施形態15の誘導体。
17.Chem.Fが、リシンのラジカルである、実施形態15～16のいずれか1つの誘導体。
18.ラジカル化されたアミノ基が、ε位にある、実施形態17の誘導体。
【０２１０】
またさらにさらなる特定の実施形態
　下記(B)は、本発明のまたさらにさらなる特定の実施形態である:
B
8.GLP-1アナログの誘導体であって、
このアナログは、GLP-1(7-37)(配列番号1)の18位に対応する位置において第1のK残基、別の位置において第2のK残基、およびGLP-1(7-37)と比較して最大で12個のアミノ酸の変化を含み、
この誘導体は、リンカーを介して、それぞれ、前記第1および第2のK残基に付着している2つの延長部分を含み、
延長部分は、Chem.A、Chem.B、およびChem.C:
Chem.A:HOOC-$(CH_2)_x$-CO-*
Chem.B:HOOC-C_6H_4-O-$(CH_2)_y$-CO-*
Chem.C:R^2-C_6H_4-$(CH_2)_z$-CO-*
(式中、xは、6～18の範囲の整数であり、yは、3～17の範囲の整数であり、zは、1～5の範囲の整数であり、R^2は、150Da以下のモル質量を有する基である)から選択され、
リンカーは、
Chem.D:
【０２１１】

【化１３】



【０２１２】

(式中、kは、1～5の範囲の整数であり、nは、1～5の範囲の整数である)を含む、誘導体;またはその薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステル。

9.Chem.Dが、第1のリンカー要素である、実施形態1、および4～8のいずれかの誘導体。

10.kが、1である、実施形態9の誘導体。

11.nが、1である、実施形態9～10のいずれかの誘導体。

12.Chem.Dが、m回含まれ、mが、1～10の範囲の整数である、実施形態9～11のいずれかの誘導体。

13.mが、1～6の範囲の整数である、実施形態12の誘導体。

14.mが、1、2、4、または6である、実施形態12～13のいずれかの誘導体。

15.mが、1である、実施形態12～14のいずれかの誘導体。

16.mが、2である、実施形態12～14のいずれかの誘導体。

17.mが、4である、実施形態12～14のいずれかの誘導体。

18.mが、6である、実施形態12～14のいずれかの誘導体。

19.mが、1と異なるとき、Chem.D要素は、アミド結合を介して相互結合している、実施形態12～14、および16～18のいずれかの誘導体。

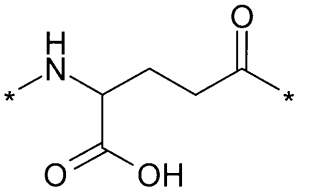
20.リンカーが、第2の任意選択のリンカー要素を含む、実施形態8～19のいずれかの誘導体。

21.第2のリンカー要素が、Chem.E1およびChem.E2:

Chem.E1:

【０２１３】

【化１４】

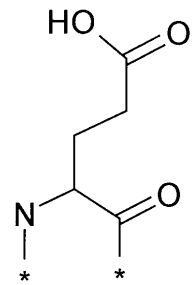


【０２１４】

Chem.E2:

【０２１５】

【化１５】



【０２１６】

から選択される、実施形態20の誘導体。

22.第2のリンカー要素が、Chem.E1である、実施形態20～21のいずれかの誘導体。

23.Chem.E1が、p回含まれ、pが、0、または1～3の範囲の整数である、実施形態22の誘導体。
24.pが、0である、実施形態23の誘導体。
25.pが、1である、実施形態23の誘導体。
26.pが、2である、実施形態23の誘導体。
27.pが、3である、実施形態23の誘導体。
28.Chem.E1が、L-GluまたはD-Gluのジラジカルである、実施形態21～27のいずれかの誘導体。
29.Chem.E1が、L-Gluのジラジカルである、実施形態28の誘導体。
30.pが、0と異なり、かつ1と異なるとき、Chem.E1要素が、アミド結合を介して相互結合している、実施形態23～29のいずれかの誘導体。
31.リンカーが、第3の任意選択のリンカー要素を含む、実施形態23～30のいずれかの誘導体。
32.第3のリンカー要素が、
Chem.F: *-NH-$(CH_2)_q$-CHR^3-CO-*
(式中、qは、2～12の範囲の整数であり、R^3は、アミノ(NH_2)である)である、実施形態31の誘導体。
33.qが、4である、実施形態32の誘導体。
34.qが、6である、実施形態32の誘導体。
35.qが、10である、実施形態32の誘導体。
37.R^3が、アミノ(NH_2)である、実施形態32～35のいずれかの誘導体。
38.Chem.Fが、リシンのジラジカルである、実施形態32～37のいずれかの誘導体。

【０２１７】

上記のAまたはBの実施形態のいずれかと、本明細書において上記で一覧表示した特定の実施形態1～359のいずれかとの組合せは、本明細書中に参照により特に組み込まれている。

【０２１８】

(実施例)

この実験パートは、略語のリストから開始し、本発明のアナログおよび誘導体を合成し特徴付けるための一般の方法を含むセクションが続く。次いで、特定のGLP-1誘導体の調製に関するいくつかの実施例が続き、最後に、これらのアナログおよび誘導体の活性および特性に関するいくつかの実施例が含まれる(薬理学的方法と見出しがあるセクション)。

【０２１９】

実施例は、本発明を例示する役割を果たす。

【０２２０】

略語の一覧
Aib:α-アミノイソ酪酸
API:活性医薬成分
AUC:曲線下面積
BG:血中グルコース
BHK:ベビーハムスター腎臓
BW:体重
Boc:t-ブチルオキシカルボニル
Bom:ベンジルオキシメチル
BSA:ウシ血清アルブミン
Bzl:ベンジル
CAS:化学情報検索サービス機関
Clt:2-クロロトリチル
コリジン:2,4,6-トリメチルピリジン
DCM:ジクロロメタン

Dde:1-(4,4-ジメチル-2,6-ジオキソシクロヘキシリデン)エチル
DesH:デス-アミノヒスチジン(イミダゾプロピオン酸、Impともまた称してよい)
DIC:ジイソプロピルカルボジイミド
DIPEA:ジイソプロピルエチルアミン
DMEM:ダルベッコ変法イーグル培地(DMEM)
EDTA:エチレンジアミン四酢酸
EGTA:エチレングリコール四酢酸
FCS:ウシ胎仔血清
Fmoc:9-フルオレニルメチルオキシカルボニル
HATU:(O-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート)
HBTU:(2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル-)-1,1,3,3テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート)
HEPES:4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸
HFIP:1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロ-2-プロパノールまたはヘキサフルオロイソプロパノール
HOAt:1-ヒドロキシ-7-アザベンゾトリアゾール
HOBt:1-ヒドロキシベンゾトリアゾール
HPLC:高速液体クロマトグラフィー
HSA:ヒト血清アルブミン
IBMX:3-イソブチル-1-メチルキサンチン
Imp:イミダゾプロピオン酸(デス-アミノヒスチジン、DesHともまた称してよい)
i.v:静脈内
ivDde:1-(4,4-ジメチル-2,6-ジオキソシクロヘキシリデン)-3-メチルブチル
IVGTT:静脈内グルコース負荷試験
LCMS:液体クロマトグラフィー質量分析
LYD:Landrace Yorkshire Duroc
MALDI-MS:MALDI-TOF MSを参照されたい
MALDI-TOF MS:マトリックス支援レーザー脱離/イオン化飛行時間型質量分析
MeOH:メタノール
Mmt:4-メトキシトリチル
Mtt:4-メチルトリチル
NMP:N-メチルピロリドン
OBz:ベンゾイルエステル
OEG:8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸
OPfp:ペンタフルオロフェノキシ
OPnp:パラ-ニトロフェノキシ
OSu:O-スクシンイミジルエステル(ヒドロキシスクシンイミドエステル)
OtBu:tertブチルエステル
Pbf:2,2,4,6,7-ペンタメチルジヒドロベンゾフラン-5-スルホニル
PBS:リン酸緩衝生理食塩水
PD:薬力学
Pen/Strep:ペニシリン/ストレプトマイシン
PK:薬物動態学
RP:逆相
RP-HPLC:逆相高速液体クロマトグラフィー
RT:室温
Rt:保持時間
s.c.:皮下
SD:標準偏差

SEC-HPLC:サイズ排除高速液体クロマトグラフィー
SEM:平均の標準誤差
SPA:シンチレーション近接アッセイ
SPPS:固相ペプチド合成
tBu:tertブチル
TFA:トリフルオロ酢酸
TIS:トリイソプロピルシラン
TLC:薄層クロマトグラフィー
Tos:トシレート(または、パラ-トルエンスルホニル)
Tris:トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンまたは2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-プロパン-1,3-ジオール
Trt:トリフェニルメチル(トリチル)
Trx:トラネキサム酸
UPLC:超高速液体クロマトグラフィー
【０２２１】
材料および方法
材料
N-α,N-β-ジ-Fmoc-L-2,3-ジアミノプロピオン酸(CAS201473-90-7)
3,5-ジ-tert-ブチル-4-ヒドロキシ安息香酸(CAS1421-49-4)
3,5-ジ-tert-ブチル安息香酸(CAS16225-26-6)
Fmoc-8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸(CAS166108-71-0)
17-(9-フルオレニルメチルオキシカルボニル-アミノ)-9-アザ-3,6,12,15-テトラオキサ-10-オン-ヘプタデカン酸(IRIS Biotech GmbH)
Fmoc-L-グルタミン酸1-tert-ブチルエステル(CAS84793-07-7)
2-(2-メトキシエトキシ)酢酸(CAS16024-56-9)
N-α,N-ε-ビス(9-フルオレニルメチルオキシカルボニル)-L-リシン(CAS78081-87-5)
1-[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]ピペリジン-4-カルボン酸(CAS148928-15-8)
FMOC-8-アミノカプリル酸(CAS126631-93-4)
4-フェニル酪酸(CAS1716-12-7)
4-(4-ニトロフェニル)酪酸(CAS5600-62-4)
4-(4-クロロフェニル)酪酸(CAS4619-18-5)
FMOC-6-アミノヘキサン酸(CAS88574-06-5)
FMOC-12-アミノドデカン酸(CAS128917-74-8)
4-(9-カルボキシ-ノニルオキシ)-安息香酸tert-ブチルエステル(WO2006/082204の実施例25、ステップ1および2に記載されているように調製)
4-(8-カルボキシ-オクチルオキシ)-安息香酸tert-ブチルエステル(M.p.:71～72℃。
【０２２２】
【数１】

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$, δ_H): 7.93 (d, J=8.9 Hz, 2 H); 6.88 (d, J=8.9 Hz, 2 H); 4.00 (t, J=6.4 Hz, 2 H); 2.36 (t, J=7.4 Hz, 2 H); 1.80 (m, 2 H); 1.65 (m, 2 H);1.59 (s, 9 H); 1.53-1.30 (m, 8 H)

【０２２３】
(WO2006/082204の実施例25、ステップ1および2に記載されているように調製、メチル10-ブロモデカノエートをエチル9-ブロモノナノエートに置き換える(CAS28598-81-4))
4-(7-カルボキシ-ヘプチルオキシ)-安息香酸tert-ブチルエステル(
【０２２４】

【数２】

^{1}H NMR スペクトル (300 MHz, $CDCl_3$, δ_H): 7.93 (d, J=9.0 Hz, 2 H); 6.88 (d, J=9.0 Hz, 2 H); 4.00 (t, J=6.5 Hz, 2 H); 2.37 (t, J=7.4 Hz, 2 H); 1.80 (m, 2 H); 1.64 (m, 2 H);1.59 (s, 9 H); 1.53-1.33 (m, 6 H)

【０２２５】
)(WO2006/082204の実施例25、ステップ1および2に記載されているように調製、メチル10-ブロモデカノエートをエチル7-ブロモヘプタノエートに置き換える(CAS29823-18-5))。

【０２２６】
化学的方法
このセクションは、2つに分かれる:一般の方法に関するセクションA(調製(A1);ならびに検出および特徴付け(A2))、ならびにセクションB(いくつかの特定の実施例の化合物の調製および特徴付けが記載されている)。

【０２２７】
A、一般の方法
A1、調製方法
このセクションは、固相ペプチド合成のための方法(アミノ酸の脱保護のための方法、樹脂からペプチドを切断する方法、およびその精製の方法を含めた、SPPS法)、ならびにこのように得られたペプチドを検出し特徴付けるための方法(LCMS、MALDI、およびUPLC法)に関する。ペプチドの固相合成は、場合によっては、ジペプチドアミド結合上で酸性条件下にて切断することができる基(これらに限定されないが、2-Fmoc-オキシ-4-メトキシベンジル、または2,4,6-トリメトキシベンジルなど)で保護されたジペプチドを使用することによって改善し得る。セリンまたはトレオニンがペプチド中に存在する場合、疑似プロリンジペプチドを使用し得る(例えば、Novabiochemから入手可能、W.R. Sampson(1999年)、J. Pep. Sci.、5、403をまた参照されたい)。使用されるFmoc保護されたアミノ酸誘導体は、推奨される標準であった:Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Asn(Trt)-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Cys(Trt)-OH、Fmoc-Gln(Trt)-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-His(Trt)-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-Met-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Trp(Boc)-OH、Fmoc-Tyr(tBu)-OH、または、Fmoc-Val-OHなど(例えば、Anaspec、Bachem、Iris Biotech、またはNovabiochemから供給)。これ以上特定されない場合、アミノ酸の天然L型を使用する。N末端アミノ酸は、αアミノ基においてBoc保護されていた(例えば、N末端においてHisを有するペプチドについて、Boc-His(Boc)-OH、またはBoc-His(Trt)-OH)。SPPSを使用するモジュールアルブミン結合部分付着の場合、下記の適切に保護された構造単位(これらに限定されないが、Fmoc-8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸、Fmoc-トラネキサム酸、Fmoc-Glu-OtBu、オクタデカン二酸モノ-tert-ブチルエステル、ノナデカン二酸モノ-tert-ブチルエステル、テトラデカン二酸モノ-tert-ブチルエステル、または4-(9-カルボキシノニルオキシ)安息香酸tert-ブチルエステルなど)を使用した。下記で述べた全ての操作は、250μmolの合成スケールで行った。

【０２２８】
1.樹脂結合保護ペプチド骨格の合成
方法:SPPS_P
SPPS_Pを、樹脂充填に対して6倍過剰なFmoc-アミノ酸(300mMのHOAtを有するNMP中300mM)、例えば、低充填Fmoc-Gly-Wang(0.35mmol/g)を使用して、Protein Technologies(Tucson、AZ85714、U.S.A.)からのPrelude固相ペプチド合成機で250μmolスケールにて行った。NMP中の20%ピペリジンを使用して、Fmoc脱保護を行った。NMP中の3:3:3:4のアミノ酸/HOAt/DIC/コリジンを使用して、カップリングを行った。脱保護およびカップリングステップの間に、NMPおよびDCMのトップ洗浄(7ml、0.5分、それぞれ2×2)を行った。カップリング

時間は一般に、60分であった。これらに限定されないが、Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Aib-OHまたはBoc-His(Trt)-OHを含めたいくつかのアミノ酸を、「二重カップリング」させた。これは、最初のカップリングの後(例えば、60分)、樹脂から液体を排出させ、さらなる試薬を加え(アミノ酸、HOAt、DIC、およびコリジン)、混合物を再び反応させる(例えば、60分)ことを意味する。

【０２２９】

方法:SPPS_L

SPPS_Lを、樹脂充填に対して6倍過剰なFmoc-アミノ酸(300mMのHOAtを有するNMP中300mM)、例えば、低充填Fmoc-Gly-Wang(0.35mmol/g)を使用して、CEM Corp.(Matthews、NC28106、U.S.A.)からのマイクロ波ベースのLibertyペプチド合成機で250μmolまたは100μmolスケールにて行った。75℃までで30秒間、NMP中の5%ピペリジンを使用してFmoc脱保護を行ったが、樹脂から液体を排出させ、NMPで洗浄した後、Fmoc脱保護を、今回は75℃で2分間繰り返した。NMP中の1:1:1のアミノ酸/HOAt/DICを使用して、カップリングを行った。カップリング時間および温度は一般に、75℃までで5分であった。より大きなスケールの反応のためにより長いカップリング時間、例えば、10分を使用した。ヒスチジンアミノ酸を、50℃で二重カップリングし、または前のアミノ酸に立体障害があった場合(例えば、Aib)、四重カップリングした。アルギニンアミノ酸をRTで25分間カップリングし、次いで、75℃に5分間加熱した。これらに限定されないがAibなどのいくつかのアミノ酸を、「二重カップリング」したが、これは最初のカップリング(例えば、75℃で5分)後に、樹脂から液体を排出させ、さらなる試薬(アミノ酸、HOAtおよびDIC)を加え、混合物を再び加熱する(例えば、75℃で5分)ことを意味する。脱保護およびカップリングステップの間に、NMP洗浄(5×10ml)を行った。

【０２３０】

方法:SPPS_A

保護されたペプチジル樹脂を、Fmoc保護基の脱保護のNMPおよびUVモニタリングにおけるHBTU(2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル-)-1,1,3,3テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート)またはHATU(O-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート)を媒介するカップリングを用いる、メーカーが供給するFastMoc UVプロトコルを使用して、Applied Biosystems433ペプチド合成機でFmoc戦略に従って、3倍または4倍過剰なFmoc-アミノ酸で、250μmolまたは1000μmolスケールにて合成した。場合によっては二重カップリングを使用したが、これは、最初のカップリングの後に、樹脂から液体を排出させ、さらなるFmoc-アミノ酸および試薬を加えることを意味する。ペプチドアミドの合成のために使用される出発樹脂は、Rink-アミド樹脂および事前充填Wang(例えば、低充填Fmoc-Gly-WangもしくはFmoc-Lys(Mtt)-wang)、またはカルボキシC末端を有するペプチドについてクロロトリチル樹脂であった。使用された保護されたアミノ酸誘導体は、非天然アミノ酸、例えば、Fmoc-Aib-OH(Fmoc-アミノイソ酪酸)を例外として、ABI433A合成機に適した事前秤量したカートリッジ中で供給される標準的Fmoc-アミノ酸(例えば、Anaspec、またはNovabiochemから供給)であった。N末端アミノ酸を、αアミノ基においてBoc保護した(例えば、N-末端においてHisを有するペプチドについて、Boc-His(Boc)-OHまたはBoc-His(Trt)-OHを使用した)。配列中のリシンのεアミノ基を、アルブミン結合部分およびスペーサーの付着のための経路によって、Mtt、Mmt、Dde、ivDde、またはBocで保護した。ペプチドの合成は、場合によっては、ジペプチドアミド結合上で酸性条件下にて切断することができる基(これらに限定されないが、2-Fmoc-オキシ-4-メトキシベンジル、または2,4,6-トリメトキシベンジルなど)で保護されたジペプチドを使用することによって改善し得る。セリンまたはトレオニンがペプチド中に存在する場合、疑似プロリンジペプチドの使用を使用し得る(例えば、Novobiochem2009/2010からのカタログ、もしくはより新しいバージョン、またはW.R. Sampson(1999年)、J. Pep. Sci.、5、403を参照されたい)。

【０２３１】

方法:SPPS_M

SPPS_Mは、手作業のFmoc化学を使用した保護されたペプチジル樹脂の合成を意味する。カップリング化学は、4～10倍モル過剰の、NMP中のDIC/HOAt/コリジンであった。カップリング条件は、室温で1～6時間であった。NMP中の20～25%ピペリジン(3×20ml、各10分)、それに続くNMP洗浄(4×20mL)によってFmoc脱保護を行った。

【０２３２】

2.側鎖の合成

脂肪二酸のモノエステル

トルエン中のBoc-無水DMAP t-ブタノールによるC8、C10、C12、C14、C16およびC18二酸の一晩の還流によって、主にt-ブチルモノエステルを得る。得られるのは、後処理後の一酸、二酸およびジエステルの混合物である。洗浄、ショートプラグシリカ濾過および結晶化によって、精製を行う。

【０２３３】

3.樹脂結合保護ペプチド骨格への側鎖の付着

アシル化がリシン側鎖上に存在するとき、アシル化されるリシンのεアミノ基を、延長部分およびリンカーの付着のための経路によって、Mtt、Mmt、Dde、ivDde、またはBocで保護した。NMP中の2%ヒドラジン(2×20ml、各10分)、それに続くNMP洗浄(4×20ml)によって、Dde-脱保護またはivDde-脱保護を行った。DCM中の2%TFAおよび2～3%TIS(5×20ml、各10分)、それに続くDCM(2×20ml)、DCM中の10%MeOHおよび5%DIPEA(2×20ml)、およびNMP(4×20ml)洗浄によって、またはヘキサフルオロイソプロパノール/DCM(75:25、5×20ml、各10分)による処理、続いて上記のような洗浄によって、Mtt-またはMmt-脱保護を行った。場合によっては、Mtt基を、Libertyペプチド合成機の自動化ステップによって除去した。室温で30分間ヘキサフルオロイソプロパノールまたはヘキサフルオロイソプロパノール/DCM(75:25)によって、それに続くDCM(7ml×5)による洗浄、それに続くNMP洗浄(7ml×5)によって、Mtt脱保護を行った。延長部分および/またはリンカーは、樹脂結合ペプチドのアシル化によって、または保護されていないペプチドの溶液中のアシル化によって、ペプチドに付着させることができる。保護されたペプチジル樹脂への延長部分および/またはリンカーの付着の場合、付着は、SPPSを使用したモジュールおよび適切に保護された構造単位でよい。

【０２３４】

方法:SC_P

N-ε-リシン保護基を、上記のように除去し、上記のような適切に保護された構造単位を使用して、Preludeペプチド合成機による1つまたは複数の自動化ステップによってリシンの化学修飾を行った。二重カップリングを、SPPS_Pに記載されているようにカップリング毎に3時間行った。

【０２３５】

方法:SC_L

N-ε-リシン保護基を、上記のように除去し、上記のような適切に保護された構造単位を使用して、Libertyペプチド合成機による1つまたは複数の自動化ステップによってリシンの化学修飾を行った。二重カップリングを、SPPS_Lに記載されているように行った。

【０２３６】

方法:SC_A

N-ε-リシン保護基を上記のように除去し、SPPS_Aに記載されているように、適切に保護された構造単位を使用して、ABIペプチド合成機による1つまたは複数の自動化ステップによってリシンの化学修飾を行った。

【０２３７】

方法:SC_M1

N-ε-リシン保護基を、上記のように除去した。活性化された(活性エステルまたは対称性無水物)延長部分またはリンカー、例えば、オクタデカン二酸モノ-(2,5-ジオキソ-ピロリジン-1-イル)エステル(Ebashiら、EP511600、樹脂結合ペプチドに対して4モル当量)を、NMP(25mL)に溶解し、樹脂に加え、室温で一晩振盪した。反応混合物を濾過し、樹脂をN

MP、DCM、2-プロパノール、メタノールおよびジエチルエーテルで十分に洗浄した。

【０２３８】

方法:SC_M2

N-ε-リシン保護基を、上記のように除去した。延長部分を、NMP/DCM(1:1、10ml)に溶解した。活性化試薬、例えば、HOBt(樹脂に対して4モル当量)およびDIC(樹脂に対して4モル当量)を加え、溶液を15分間撹拌した。溶液を樹脂に加え、DIPEA(樹脂に対して4モル当量)を加えた。樹脂を室温で2～24時間振盪した。樹脂をNMP(2×20ml)、NMP/DCM(1:1、2×20ml)およびDCM(2×20ml)で洗浄した。

【０２３９】

方法:SC_M3

活性化された(活性エステルまたは対称性無水物)延長部分またはリンカー、例えば、オクタデカン二酸モノ-(2,5-ジオキソ-ピロリジン-1-イル)エステル(Ebashiら、EP511600)(ペプチドに対して1～1.5モル当量)を、有機溶媒、例えば、アセトニトリル、THF、DMF、DMSOまたは水/有機溶媒の混合物(1～2ml)に溶解し、10モル当量のDIPEAと一緒に、ペプチドの水溶液(10～20ml)に加えた。延長部分上の保護基、例えば、tert-ブチルの場合、反応混合物を一晩凍結乾燥し、単離した粗ペプチドをその後脱保護した。tert-ブチル保護基の場合、トリフルオロ酢酸、水およびトリイソプロピルシランの混合物(90:5:5)にペプチドを溶解することによって脱保護を行った。30分後、混合物を真空中で蒸発させ、粗ペプチドを下記で記載するように分取HPLCによって精製した。

【０２４０】

4.付着した側鎖を有する、または有さない樹脂結合ペプチドの切断、および精製

方法:CP_M1

合成後、樹脂をDCMで洗浄し、TFA/TIS/水(95/2.5/2.5または92.5/5/2.5)による2～3時間の処理、それに続くジエチルエーテルによる沈殿によって、ペプチドを樹脂から切断した。ペプチドを適切な溶媒(例えば、30%酢酸など)に溶解し、アセトニトリル/水/TFAを使用するC18、5μMのカラム上での標準的RP-HPLCによって精製した。画分を、UPLC、MALDIおよびLCMS法の組合せによって分析し、適正な画分をプールし、凍結乾燥した。

【０２４１】

方法:CP_L1

合成後、樹脂をDCMで洗浄し、CEM Accent Microvawe切断システム(CEM Corp.、North Carolina)を使用することによってペプチドを樹脂から切断した。樹脂からの切断を、TFA/TIS/水(95/2.5/2.5)による処理、それに続くジエチルエーテルによる沈殿によって38℃で30分間行った。ペプチドを適切な溶媒(例えば、30%酢酸など)に溶解し、アセトニトリル/水/TFAを使用して、C18、5μMカラム上の標準的RP-HPLCによって精製した。画分を、UPLC、MALDIおよびLCMS法の組合せによって分析し、適正な画分をプールし、凍結乾燥した。

【０２４２】

A2、検出および特徴付けのための一般の方法

1.LC-MS法

方法:LCMS_1

Agilent1200シリーズHPLCシステムからの溶出の後、Agilent Technologies LC/MSD TOF(G1969A)質量分析計を使用して、試料の質量を同定した。タンパク質スペクトルのデコンボリューションを、Agilentのタンパク質確認ソフトウェアで計算した。溶離液:A:水中の0.1%トリフルオロ酢酸;B:アセトニトリル中の0.1%トリフルオロ酢酸。カラム:Zorbax5u、300SB-C3、4.8×50mm。勾配:15分に亘り25%～95%B。

【０２４３】

方法:LCMS_2

Perkin Elmerシリーズ200HPLCシステムからの溶出の後、Perkin Elmer Sciex API3000質量分析計を使用して、試料の質量を同定した。溶離液:A:水中の0.05%トリフルオロ酢酸;B:アセトニトリル中の0.05%トリフルオロ酢酸。カラム:Waters Xterra MS C-18×3mm、id、5μm。勾配:1.5ml/分で7.5分に亘り5%～90%B。

【０２４４】
方法:LCMS_3
Waters Alliance HT HPLCシステムからの溶出の後、Waters Micromass ZQ質量分析計を使用して、試料の質量を同定した。溶離液:A:水中の0.1%トリフルオロ酢酸;B:アセトニトリル中の0.1%トリフルオロ酢酸。カラム:Phenomenex、Jupiter C4 50×4.60mm、id、5μm。勾配:7.5分に亘り1.0ml/分で10%～90%B。
【０２４５】
方法:LCMS_4
LCMS_4を、Waters Acquity UPLCシステムおよびMicromassからのLCT Premier XE質量分析計からなる設定で行った。溶離液:A:水中の0.1%ギ酸、B:アセトニトリル中の0.1%ギ酸。分析は、適正な容量の試料(好ましくは、2～10μl)をカラム(AおよびBの勾配で溶出した)に注入することによってRTで行った。UPLC条件、検出器の設定および質量分析計の設定は、カラム:Waters Acquity UPLC BEH、C-18、1.7μm、2.1mm×50mmであった。勾配:4.0分(代わりに、8.0分)の間、0.4ml/分で直線状の5%～95%アセトニトリル。検出:214nm(TUV(チューナブル紫外吸光検出器)からのアナログの結果)MSイオン化モード:API-ESスキャン:100～2000原子質量単位(代わりに、500～2000原子質量単位)、ステップ0.1原子質量単位。
【０２４６】
方法:LCMS_AP
Micromass Quatro micro API質量分析計を使用して、Waters2525二成分勾配モジュール、Waters2767サンプルマネージャー、Waters2996フォトダイオードアレイ検出器およびWaters2420ELS検出器から構成されるHPLCシステムからの溶出の後、試料の質量を同定した。溶離液:A:水中の0.1%トリフルオロ酢酸;B:アセトニトリル中の0.1%トリフルオロ酢酸。カラム:Phenomenex Synergi MAXRP、4um、75×4,6mm。勾配:7分に亘り1.0ml/分で5%～95%B。
【０２４７】
2.UPLC法
方法:B5_1
RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った。214nmおよび254nmでのUV検出を、ACQUITY UPLC BEH130(C18、130Å、1.7um、2.1mm×150mmカラム、40℃)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:0.2MNa_2SO_4、0.04MH_3PO_4、10%CH_3CN(pH3.5);B:70%CH_3CN、30%H_2Oを含有する2つの溶離液レザバーに結合した。下記の直線勾配を使用した。60%A、40%Bから30%A、70%B、8分に亘り0.40ml/分の流量。
【０２４８】
方法:B7_1
RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った。214nmおよび254nmでのUV検出を、ACQUITY UPLC BEH130(C18、130Å、1.7um、2.1mm×150mmカラム、40℃)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:0.2MNa_2SO_4、0.04MH_3PO_4、10%CH_3CN(pH3.5);B:70%CH_3CN、30%H_2Oを含有する2つの溶離液レザバーに結合した。下記の直線勾配を使用した。80%A、20%Bから40%A、60%B、8分に亘り0.40ml/分の流量。
【０２４９】
方法:B9_1
RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った。214nmおよび254nmでのUV検出を、ACQUITY UPLC BEH130(C18、130Å、1.7um、2.1mm×150mmカラム、40℃)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:0.2MNa_2SO_4、0.04MH_3PO_4、10%CH_3CN(pH3.5);B:70%CH_3CN、30%H_2Oを含有する2つの溶離液レザバーに結合した。下記の直線勾配を使用した。70%A、30%Bから20%A、80%B、8分に亘り0.40ml/分の流量。
【０２５０】
方法:A2_1
RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った

。214nmおよび254nmでのUV検出を、ACQUITY UPLC BEH130(C18、130Å、1.7um、2.1mm×150mmカラム、40℃)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:90%H_2O、10%CH_3CN、0.25Mの炭酸水素アンモニウム;B:70%CH_3CN、30%H_2Oを含有する2つの溶離液レザバーに結合した。下記の直線勾配を使用した。90%A、10%Bから60%A、40%B、16分に亘り0.40ml/分の流量。

【０２５１】

方法:A3_1

RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った。214nmおよび254nmでのUV検出を、ACQUITY UPLC BEH130(C18、130Å、1.7um、2.1mm×150mmカラム、40℃)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:90%H_2O、10%CH_3CN、0.25Mの炭酸水素アンモニウム;B:70%CH_3CN、30%H_2Oを含有する2つの溶離液レザバーに結合した。下記の直線勾配を使用した。75%A、25%Bから45%A、55%B、16分に亘り0.40ml/分の流量。

【０２５２】

方法:A4_1

RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った。214nmおよび254nmでのUV検出を、ACQUITY UPLC BEH130(C18、130Å、1.7um、2.1mm×150mmカラム、40℃)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:90%H_2O、10%CH_3CN、0.25Mの炭酸水素アンモニウム;B:70%CH_3CN、30%H_2Oを含有する2つの溶離液レザバーに結合した。下記の直線勾配を使用した。65%A、35%Bから25%A、65%B、16分に亘り0.40ml/分の流量。

【０２５３】

方法:A6_1

RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った。214nmおよび254nmでのUV検出を、ACQUITY UPLC BEH130(C18、130Å、1.7um、2.1mm×150mmカラム、40℃)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:10mMのTRIS、15mMの硫酸アンモニウム、80%H_2O、20%CH_3CN、pH7.3;B:80%CH_3CN、20%H_2Oを含有する2つの溶離液レザバーに結合した。下記の直線勾配を使用した。95%A、5%Bから10%A、90%B、16分に亘り0.35ml/分の流量。

【０２５４】

方法:A7_1

RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った。214nmおよび254nmでのUV検出を、ACQUITY UPLC BEH130(C18、130Å、1.7um、2.1mm×150mmカラム、40℃)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:10mMのTRIS、15mMの硫酸アンモニウム、80%H_2O、20%CH_3CN、pH7.3;B:80%CH_3CN、20%H_2Oを含有する2つの溶離液レザバーに結合した。下記の直線勾配を使用した。95%A、5%Bから40%A、60%B、16分に亘り0.40ml/分の流量。

【０２５５】

方法:B2_1

RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った。214nmおよび254nmでのUV検出を、ACQUITY UPLC BEH130(C18、130Å、1.7um、2.1mm×150mmカラム、40℃)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:99.95%H_2O、0.05%TFA;B:99.95%CH_3CN、0.05%TFAを含有する2つの溶離液レザバーに結合した。下記の直線勾配を使用した。95%A、5%Bから40%A、60%B、16分に亘り0.40ml/分の流量。

【０２５６】

方法:B4_1

RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った。214nmおよび254nmでのUV検出を、ACQUITY UPLC BEH130(C18、130Å、1.7um、2.1mm×150mmカラム、40℃)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:99.95%H_2O、0.05%TFA;B:99.95%CH_3CN、0.05%TFAを含有する2つの溶離液レザバーに結合した。下記の直線勾配を使用した。95%A、5%Bから95%A、5%B、16分に亘り0.40ml/分の流量。

【０２５７】

方法:B10_1

RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った。214nmおよび254nmでのUV検出を、ACQUITY UPLC BEH130(C18、130Å、1.7um、2.1mm×150mmカラム、40℃)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:0.2MのNa_2SO_4、0.04MのH_3PO_4、10%CH_3CN(pH3.5);B:70%CH_3CN、30%H_2Oを含有する2つの溶離液レザバーに結合した。下記の直線勾配を使用した。40%A、60%Bから20%A、80%B、8分に亘り0.40ml/分の流量。

【０２５８】

方法:B14_1

RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った。214nmおよび254nmでのUV検出を、ACQUITY UPLC BEH Shield RP18、1.7um、2.1mm×150mmカラム、50℃を使用して集めた。UPLCシステムを、A:99.95%H_2O、0.05%TFA;B:99.95%CH_3CN、0.05%TFAを含有する2つの溶離液レザバーに結合した。下記の直線勾配を使用した。70%A、30%Bから40%A、60%B、12分に亘り0.40ml/分の流量。

【０２５９】

方法:B8_1

RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った。214nmおよび254nmでのUV検出を、ACQUITY UPLC BEH130(C18、130Å、1.7um、2.1mm×150mmカラム、40℃)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:0.2MのNa_2SO_4、0.04MのH_3PO_4、10%CH_3CN(pH3.5);B:70%CH_3CN、30%H_2Oを含有する2つの溶離液レザバーに結合した。下記の直線勾配を使用した。50%A、50%Bから20%A、80%B、8分に亘り0.40ml/分の流量。

【０２６０】

方法:B29_1

RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った。215nmおよび254nmでのUV検出を、kinetex1.7u C18、100A、2.1×150mmカラム、60℃を使用して集めた。UPLCシステムを、A:0.045Mの$(NH_4)_2HPO_4$を有する90%水および10% CH_3CN、pH3.6、B:20%イソプロパノール、20%水および60%CH_3CNを含有する2つの溶離液レザバーに結合した。下記のステップ勾配を使用した:2分に亘り35%Bおよび65%A、次いで、15分に亘り35%B、65%Aから65%B、35%A、次いで、3分に亘り65%B、35%Aから80%B、20%A、0.5ml/分の流量。

【０２６１】

方法:B31_1

RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った。215nmおよび254nmでのUV検出を、kinetex1.7u C18、100A、2.1×150mmカラム、60℃を使用して集めた。UPLCシステムを、A:0.045Mの$(NH_4)_2HPO_4$を有する90%水および10%MeCN、pH3.6、B:20%イソプロパノール、20%水および60%CH_3CNを含有する2つの溶離液レザバーに結合した。下記のステップ勾配を使用した:2分に亘り25%Bおよび75%A、次いで、15分に亘り25%B、75%Aから55%B、45%A、次いで、3分に亘り55%B、45%Aから80%B、20%A、0.5ml/分の流量。

【０２６２】

方法:AP_B4_1

RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った。214nmおよび254nmでのUV検出を、ACQUITY UPLC BEH130(C18、130Å、1.7um、2.1mm×150mmカラム、30℃)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:99.95%H_2O、0.05%TFA;B:99.95%CH_3CN、0.05%TFAを含有する2つの溶離液レザバーに結合した。下記の直線勾配を使用した。95%A、5%Bから5%A、95%B、16分に亘り0.30ml/分の流量。

【０２６３】

方法:A9_1

RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った。214nmおよび254nmでのUV検出を、ACQUITY UPLC BEH Shield RP18(C18、1.7um、2.1mm×150mmカラム、60℃)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:90%H_2O/10%CH_3CN中の200mMのNa_2SO_4+20mMのNa_2HPO_4+20mMのNaH_2PO_4、pH7.2;B:70%CH_3CN、30%H_2Oを含有する2つの溶離

液レザバーに結合した。下記のステップ勾配を使用した:3分に亘り90%A、10%Bから80%A、20%B、17分に亘り80%A、20%Bから50%A、50%B、0.40ml/分の流量。

【０２６４】

方法:B30_1

RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った。215nmおよび254nmでのUV検出を、kinetex 1.7u(C18、100A 2.1×150mmカラム、60℃)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:0.09M $(NH_4)_2HPO_4$および10%MeCN、pH3.6;B:20%イソプロパノール、20%水、および60%CH_3CNを含有する2つの溶離液レザバーに結合した。下記のステップ勾配を使用した。2分に亘り45%Bおよび55%A、次いで、15分に亘り45%B、55%Aから75%B、25%A、次いで3分に亘り75%B、25%Aから90%B、10%A、0.5ml/分の流量。

【０２６５】

方法:B39_2

RP-分析を、デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用して行った。214nmおよび254nmでのUV検出を、ACQUITY UPLC BEH(C18、1.7um、2.1mm×50mmカラム、40℃)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:99.95%H_2O、0.05%TFA;B:99.95%CH_3CN、0.05%TFAを含有する2つの溶離液レザバーに結合した。下記の直線勾配を使用した。70%A、30%Bから50%A、50%B、3.5分に亘り0.450ml/分の流量。

【０２６６】

3.MALDI-MS法

方法:MALDI_MS

分子量を、マトリックス支援レーザー脱離およびイオン化飛行時間型質量分析を使用して決定し、MicroflexまたはAutoflex(Bruker)に記録した。α-シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸のマトリックスを使用した。

【０２６７】

B、特定の実施例の化合物

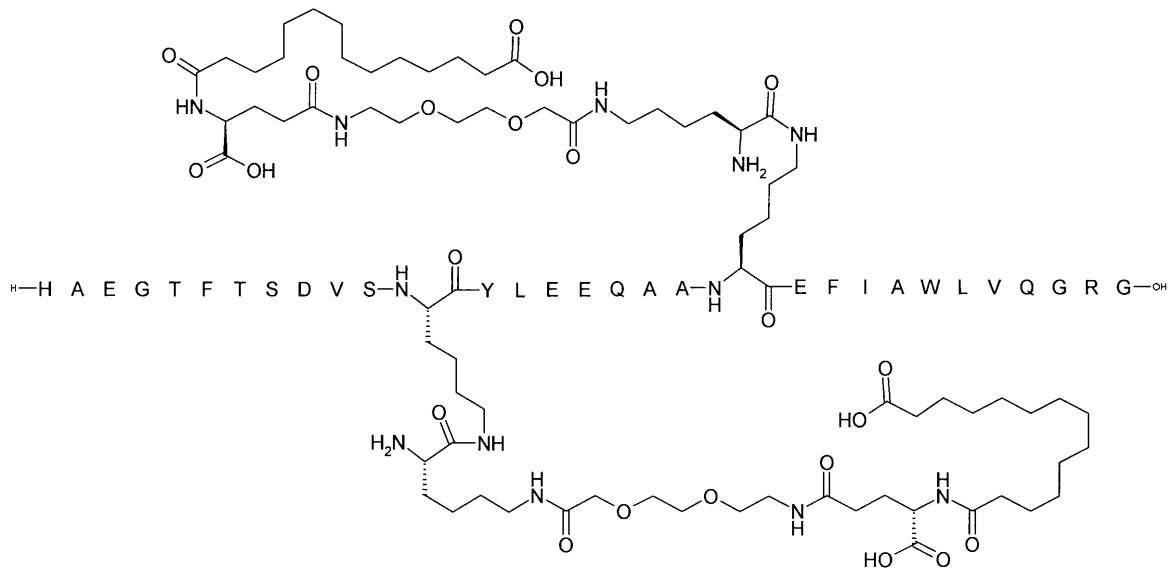
(実施例1)

$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル]-[Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

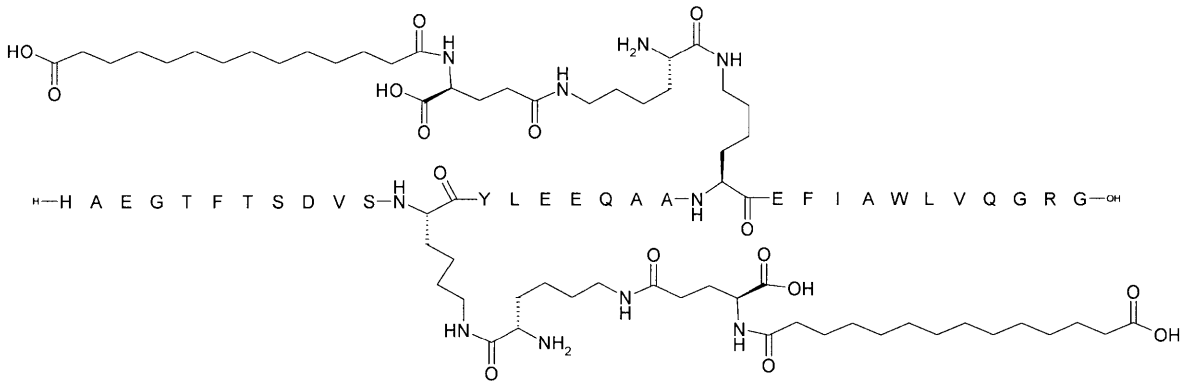
Chem.20:

【０２６８】

【化１６】

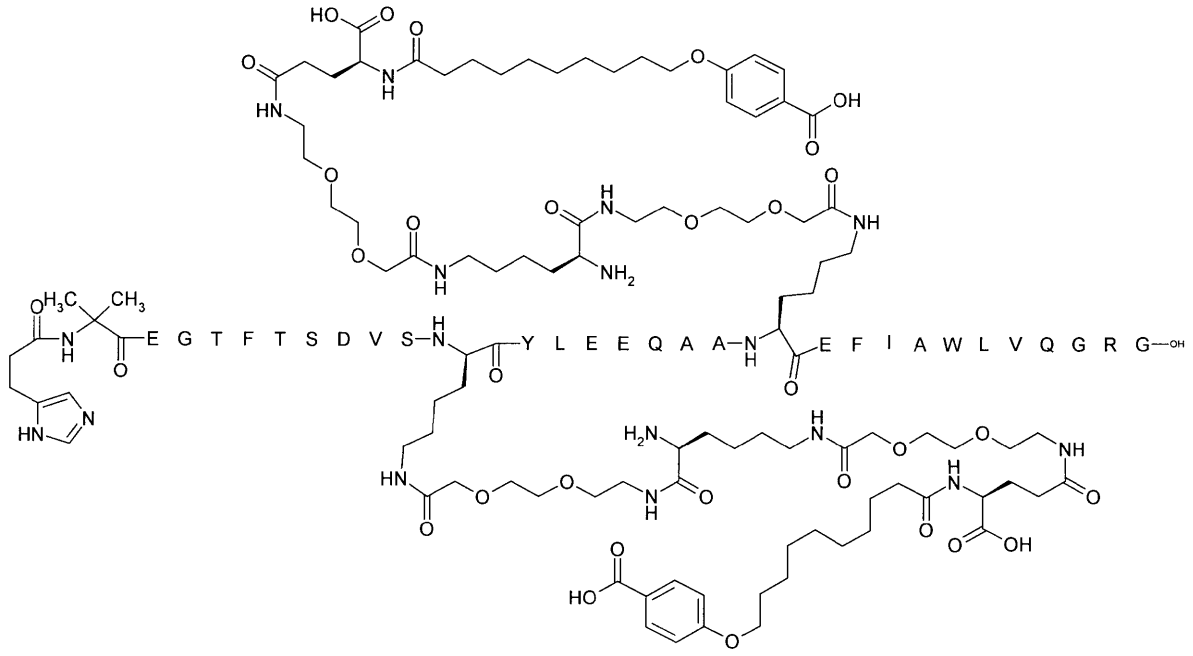


【０２６９】
調製方法　SPPS_L;SC_L;CP_M1
LCMS法(LCMS_4):Rt=2.11分、m/z:4754.6;M/3:1585;M/4:1189;M/5:951
UPLC法(B4_1): Rt=8.25
UPLC法(A9_1): Rt=9.95
【０２７０】
(実施例2)
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド
Chem.21:
【０２７１】
【化１７】



【０２７２】
調製方法　SPPS_L;SC_L;CP_M1
UPLC法(B4_1): Rt=8.49分
UPLC法(B9_1): Rt=4.99分
【０２７３】
(実施例3)
$N^{\varepsilon 18}$-[2-[2-[2-[[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)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]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル],$N^{\varepsilon 26}$-[2-[2-[2-[[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)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]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Imp^{7},Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド
Chem.22:
【０２７４】

【化１８】



【０２７５】

調製方法　SPPS_L;SC_L;CP_M1

UPLC法(B4_1): Rt=8.53分

UPLC法(A6_1): Rt=5.02分

LCMS法(LCMS_4): Rt=2.22分;m/3=1715;m/4=1286;m/5=1030

【０２７６】

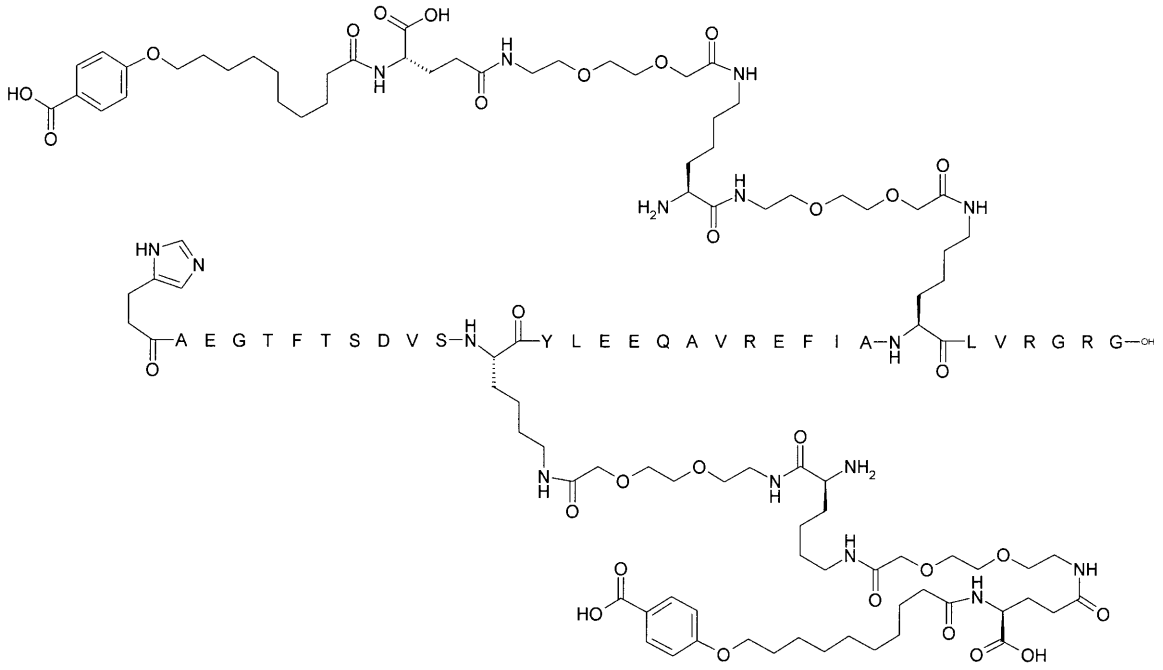
(実施例4)

$N^{\varepsilon 18}$-[2-[2-[2-[[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)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]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル],$N^{\varepsilon 31}$-[2-[2-[2-[[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)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]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Imp^{7},Lys^{18},Glu^{22},Val^{25},Arg^{26},Lys^{31},Arg^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.23:

【０２７７】

【化１９】



【０２７８】

調製方法　SPPS_L;SC_L;CP_M1

UPLC法(B4_1): Rt=7.72分

UPLC法(A9_1): Rt=11.71分

LCMS法(LCMS_4): Rt=2.22分;m/4=1289;m/5=1031;m/6=860

【０２７９】

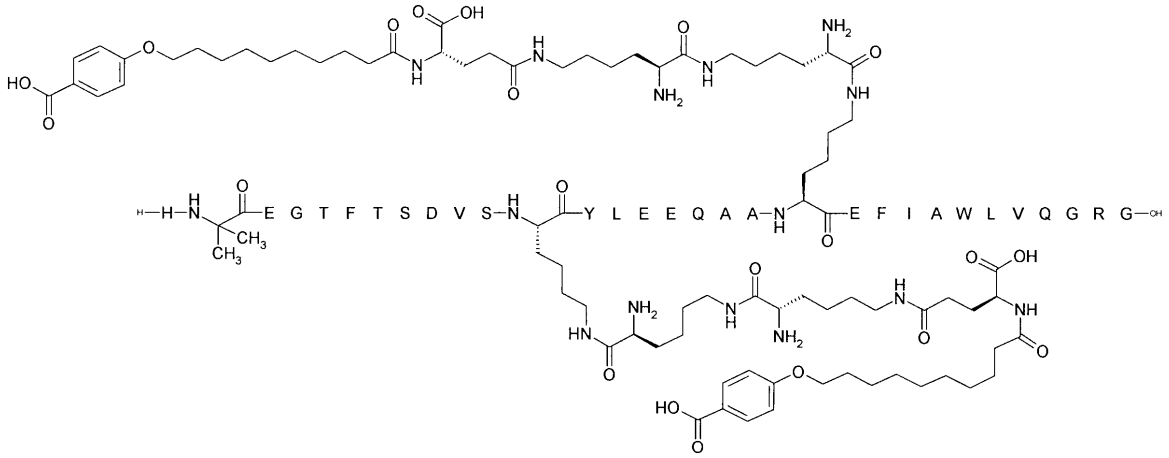
(実施例5)

$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル],
$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.24:

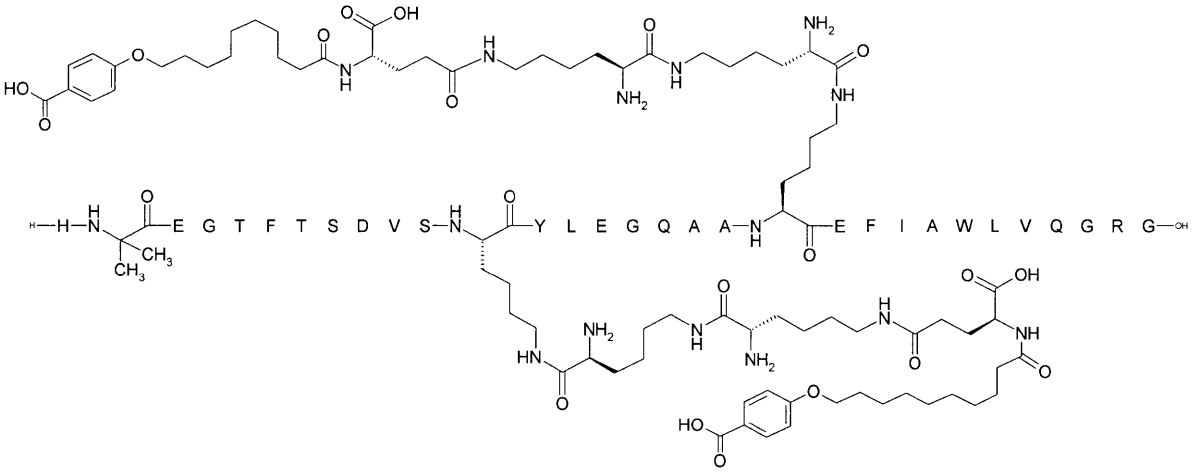
【０２８０】

【化２０】



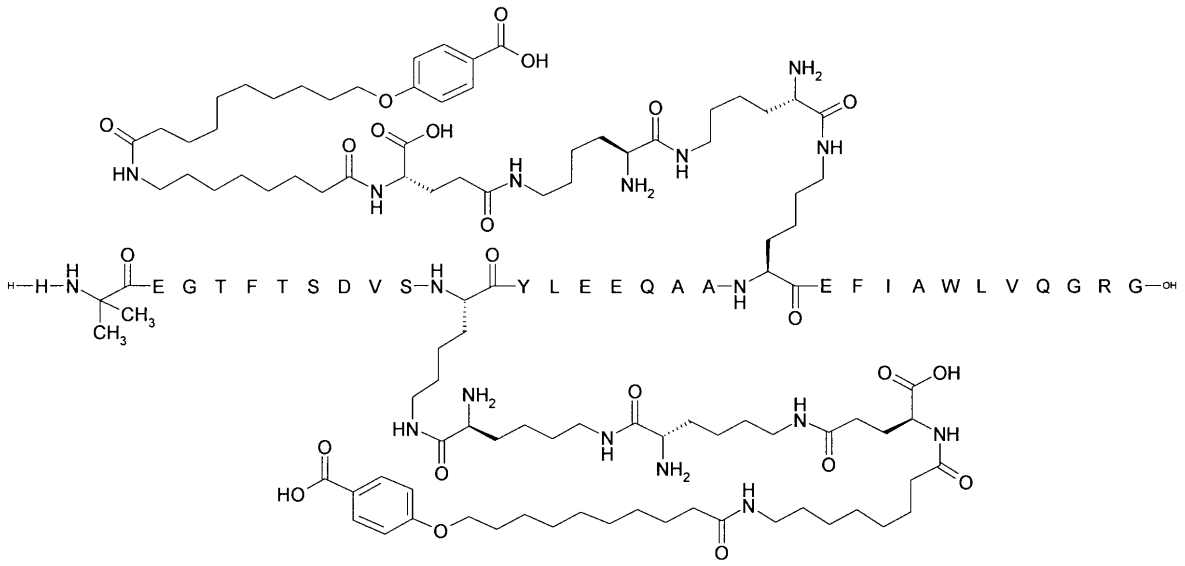
【０２８１】

調製方法　SPPS_P;SC_P;CP_M1
UPLC法(A9_1): Rt=10.7分
UPLC法(A6_1): Rt=5.6分
4834.5Daの理論的分子量を、方法:Maldi_MSによって確認した:m/z 4833.5
【０２８２】
(実施例6)
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド
Chem.25:
【０２８３】
【化２１】



【０２８４】
調製方法　SPPS_P;SC_P;CP_M1
UPLC法(B31_1): Rt=14.0分
UPLC法(A6_1): Rt=6.2分
4762Daの理論的分子量を、方法:Maldi_MSによって確認した:m/z 4759
【０２８５】
(実施例7)
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[8-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]オクタノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[8-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]オクタノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド
Chem.26:
【０２８６】

【化２２】



【０２８７】

調製方法　SPPS_P;SC_P;CP_M1

UPLC法(B31_1): Rt=17.1分

UPLC法(A6_1): Rt=5.9分

5116.9Daの理論的分子量を、方法:Maldi_MSによって確認した:m/z 5114

【０２８８】

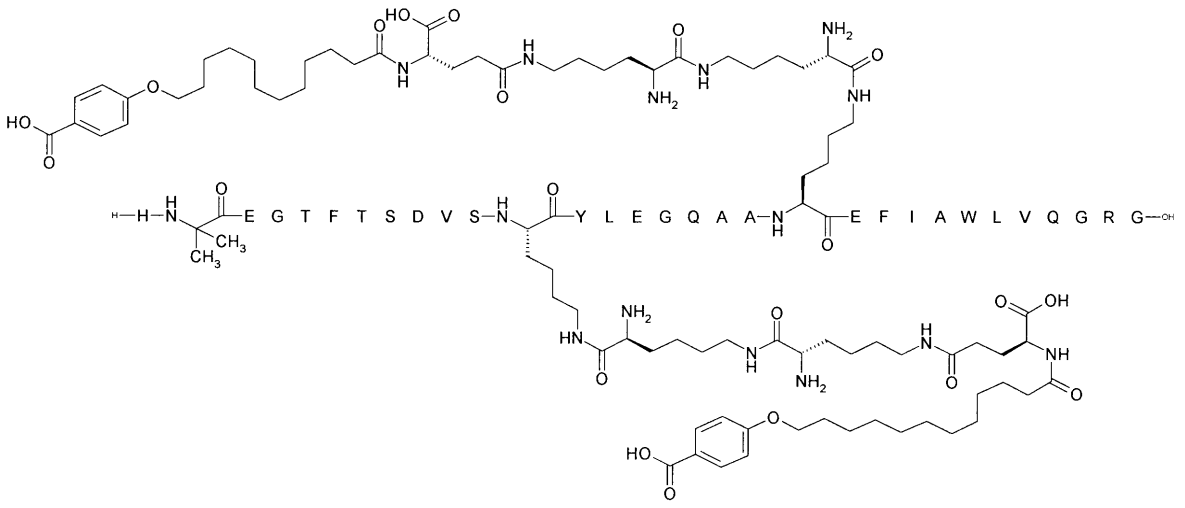
(実施例8)

$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.27:

【０２８９】

【化２３】

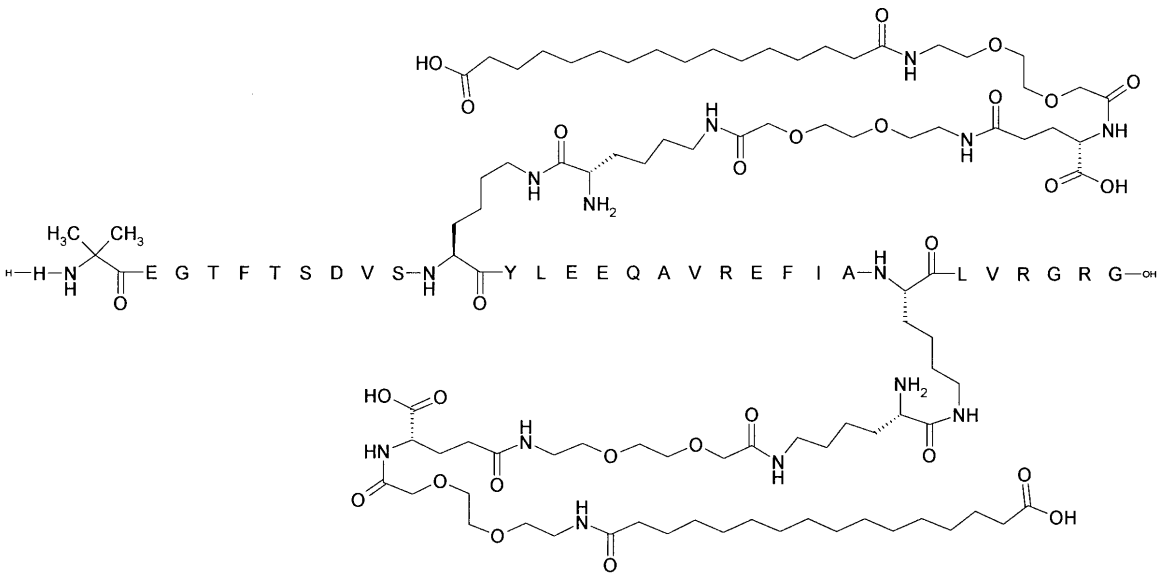


【０２９０】

調製方法　SPPS_P;SC_P;CP_M1

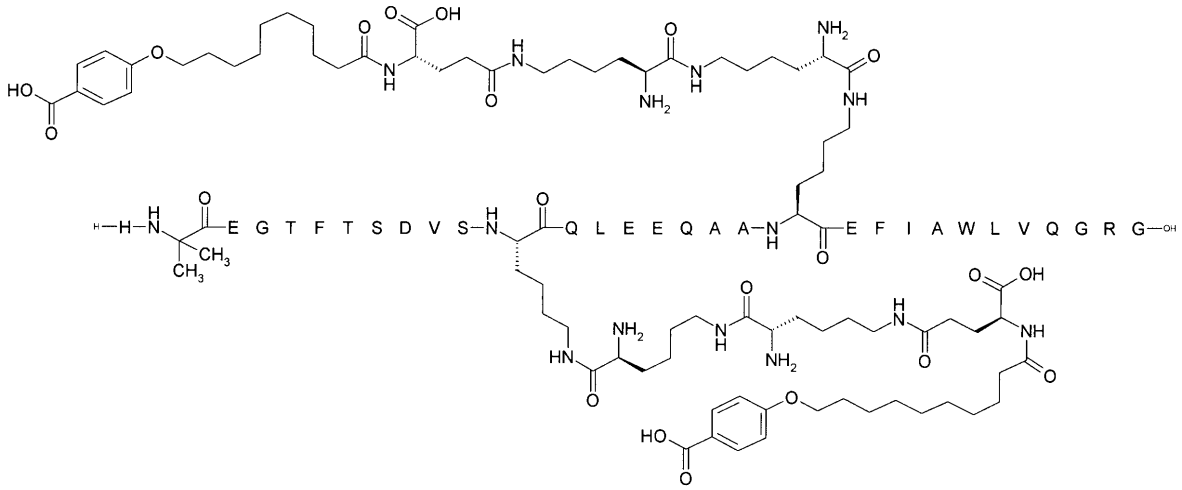
UPLC法(B31_1): Rt=17.0分

UPLC法(A6_1): Rt=6.9分
4818.6Daの理論的分子量を、方法:Maldi_MSによって確認した:m/z 4817
【０２９１】
実施例9
上記の一般法を使用して、実施例の化合物と同様に、下記の化合物を調製し、特徴付ける。
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)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]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 31}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)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]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Val^{25},Arg^{26},Lys^{31},Arg^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド
Chem.28:
【０２９２】
【化２４】



【０２９３】
(実施例10)
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{19},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド
Chem.29:
【０２９４】

【化２５】



【０２９５】

調製方法　SPPS_P;SC_P;CP_M1

UPLC法(B31_1): Rt=14.5分

UPLC法(A6_1): Rt=5.2分

4799.4Daの理論的分子量を、方法:Maldi_MSによって確認した:m/z 4799.6

【０２９６】

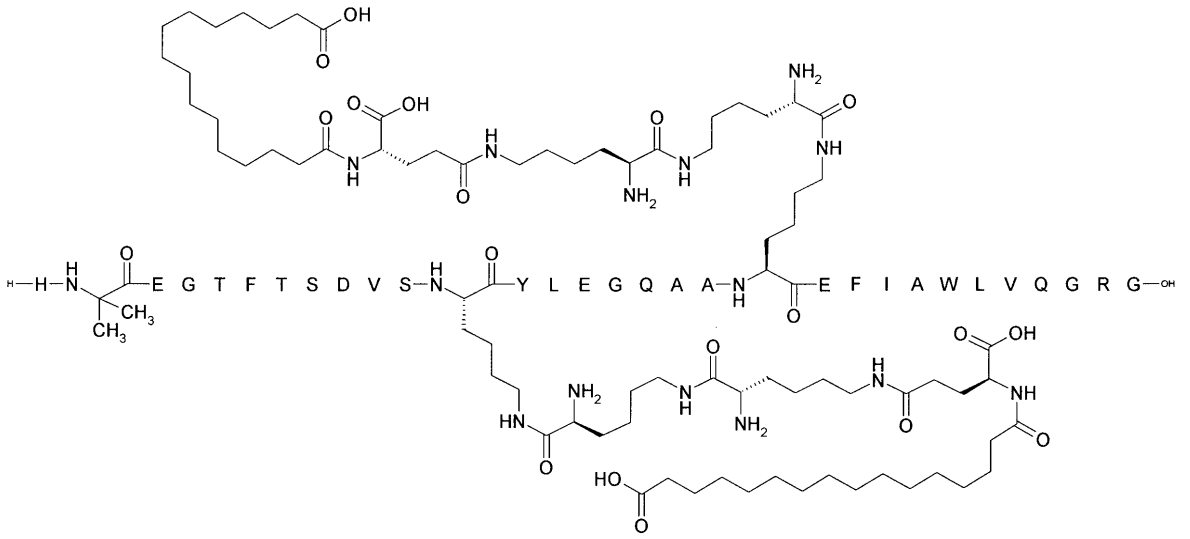
(実施例11)

$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.30:

【０２９７】

【化２６】

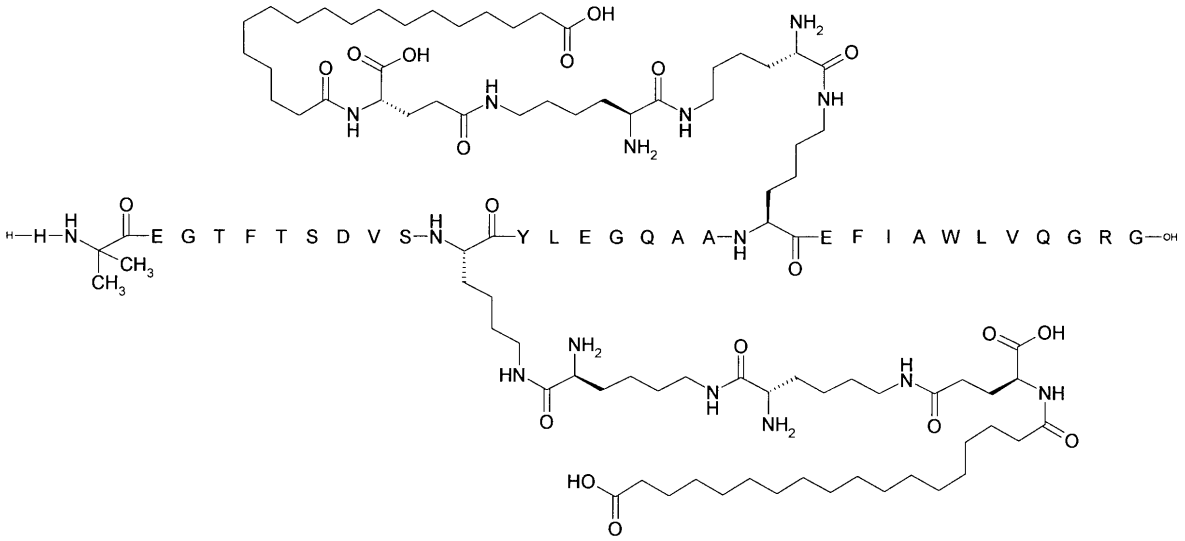


【０２９８】

調製方法　SPPS_P;SC_P;CP_M1

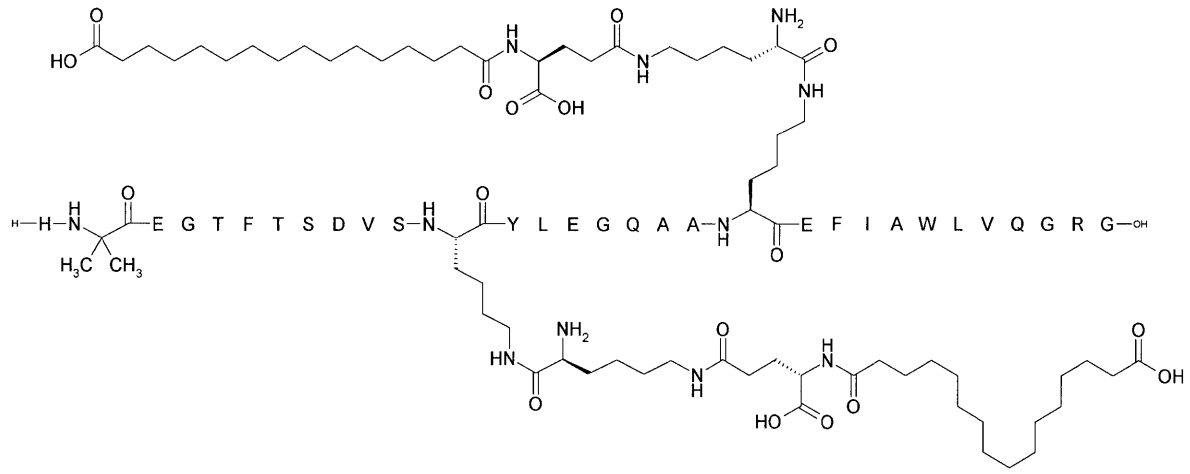
UPLC法(B31_1): Rt=17.9分

UPLC法(A6_1): Rt=7.6分
4718.5Daの理論的分子量を、方法:Maldi_MSによって確認した:m/z 4716.98
【０２９９】
(実施例12)
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド
Chem.31:
【０３００】
【化２７】



【０３０１】
調製方法　SPPS_P;SC_P;CP_M1
UPLC法(B31_1): Rt=19.4分
UPLC法(A6_1): Rt=8.5分
4774.6Daの理論的分子量を、方法:Maldi_MSによって確認した:m/z 4773.8
【０３０２】
(実施例13)
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド
Chem.32:
【０３０３】

【化２８】



【０３０４】

調製方法　SPPS_P;SC_P;CP_M1

UPLC法(AP_B4_1): Rt=9.04分

LCMS法(LCMS_AP): Rt=5.61分;m/3=1488;m/4=1116

【０３０５】

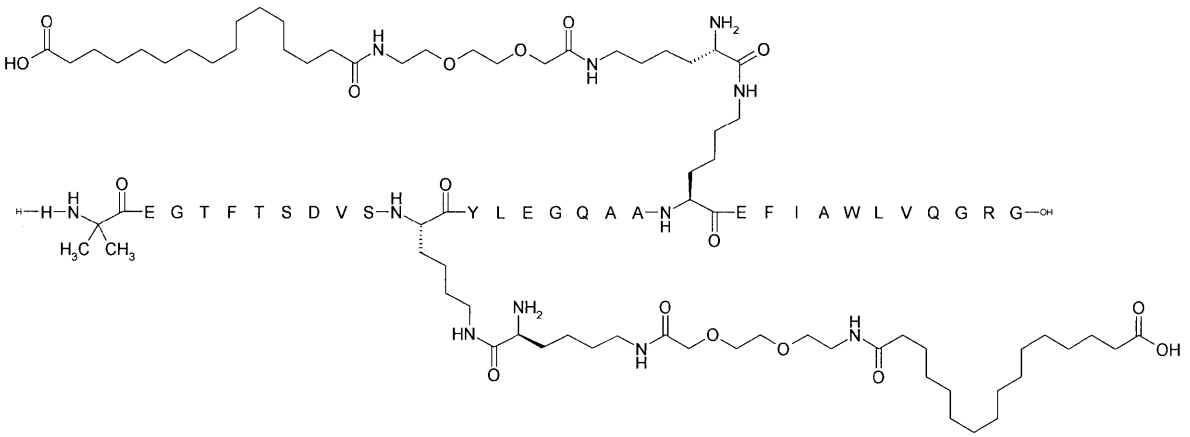
(実施例14)

N$^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル],N$^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.33:

【０３０６】

【化２９】



【０３０７】

調製方法　SPPS_P;SC_P;CP_M1

UPLC法(AP_B4_1):Rt=9.35分

LCMS法(LCMS_AP):Rt=5.71分;m/3=1499;m/4=1124

【０３０８】

(実施例15)

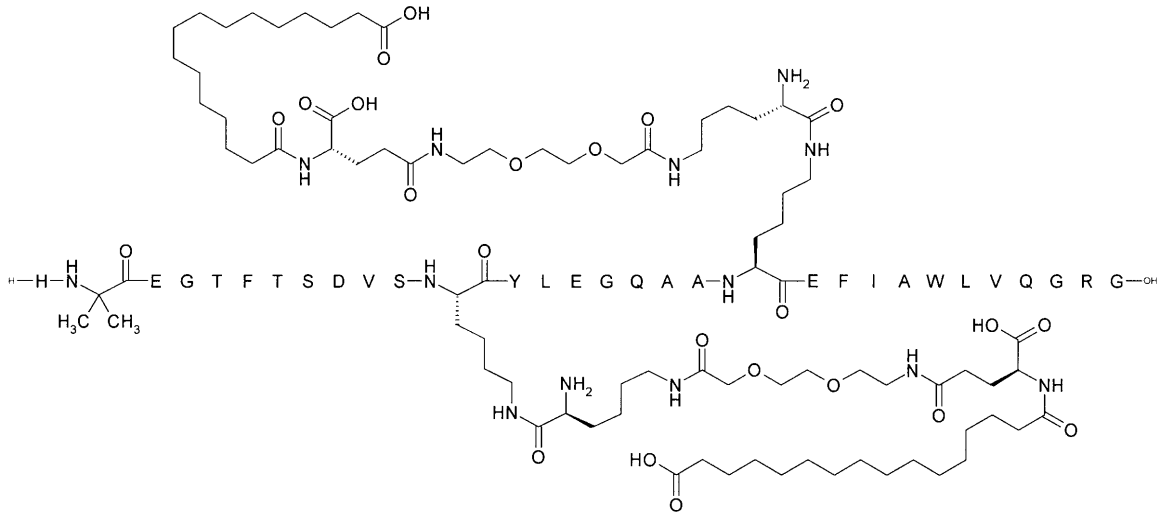
N$^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル],N$^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノ

イルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.34:

【０３０９】

【化３０】



【０３１０】

調製方法　SPPS_P;SC_P;CP_M1

UPLC法(AP_B4_1): Rt=9.00分

LCMS法(LCMS_AP): Rt=5.57分;m/3=1585;m/4=1189

【０３１１】

(実施例16)

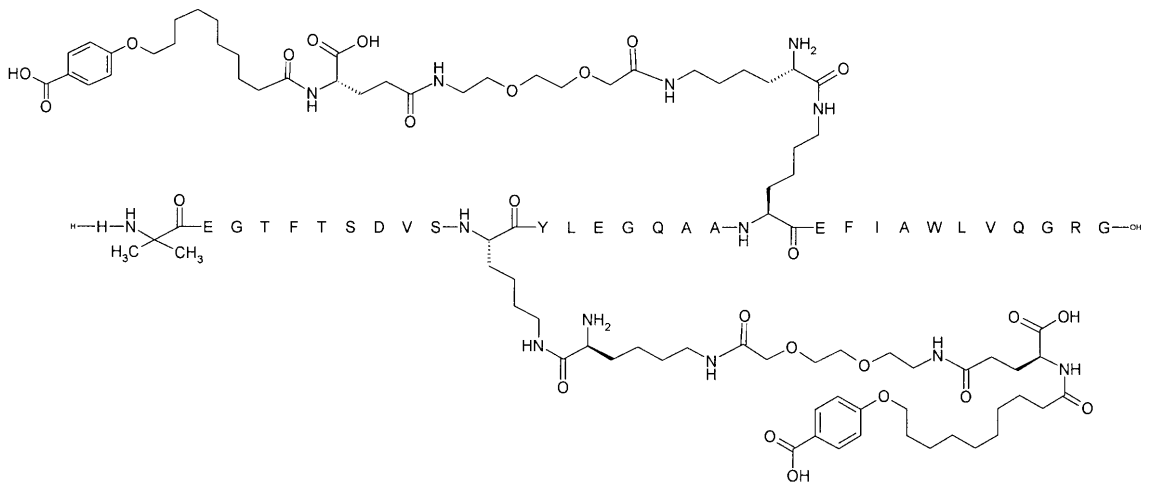
上記の一般法を使用して、実施例の化合物と同様に、下記の化合物を調製し、特徴付ける。

N$^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)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]ヘキサノイル],N$^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)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]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.35:

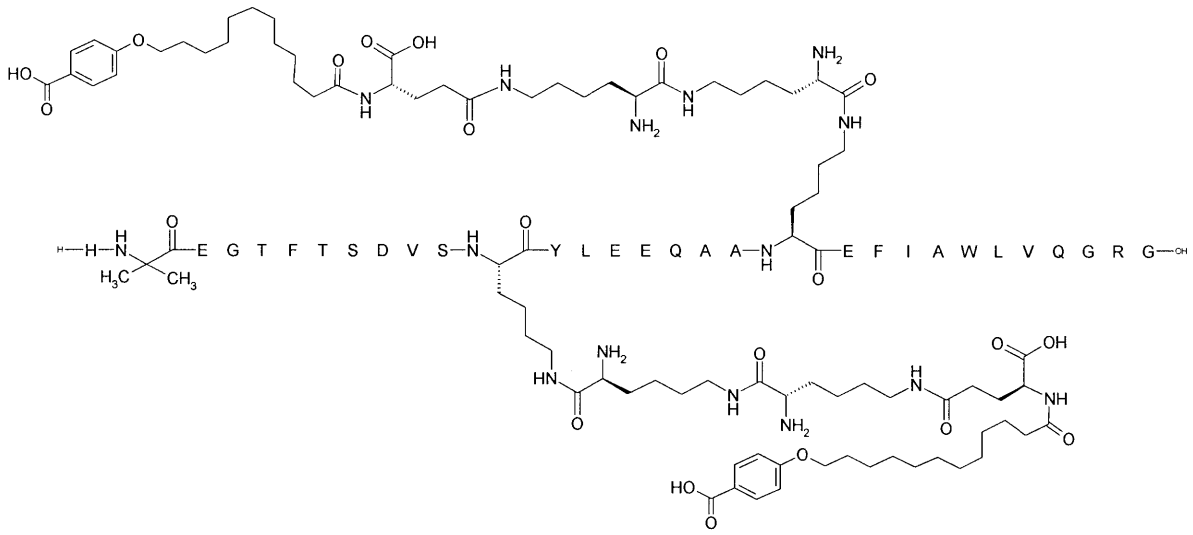
【０３１２】

【化３１】



【０３１３】
(実施例17)
上記の一般法を使用して、実施例の化合物と同様に、下記の化合物を調製し、特徴付ける。
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド
Chem.36:

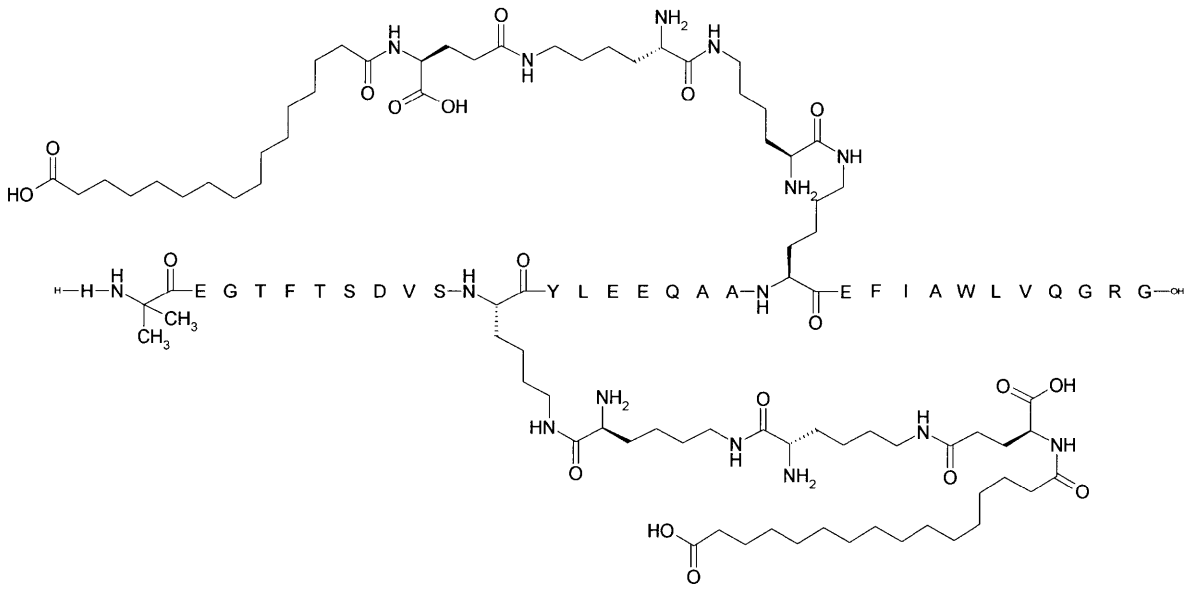
【０３１４】
【化３２】



【０３１５】
(実施例18)
上記の一般法を使用して、実施例の化合物と同様に、下記の化合物を調製し、特徴付ける。
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド
Chem.37:

【０３１６】

【化３３】



【０３１７】

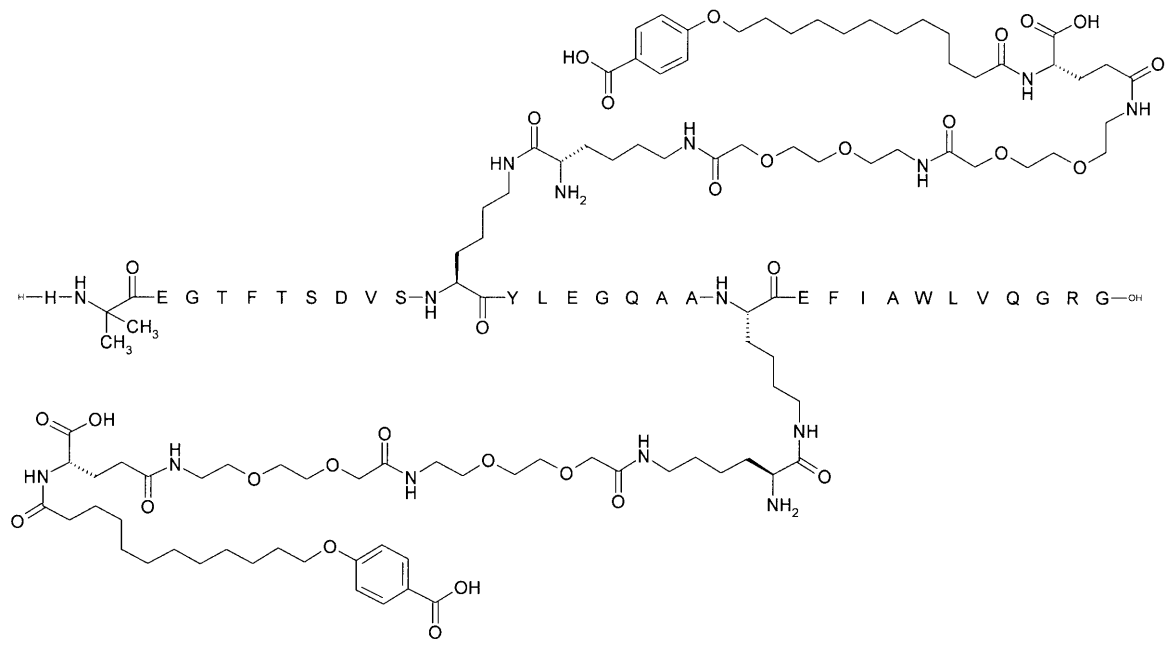
(実施例19)

$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]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]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]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]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.38:

【０３１８】

【化３４】



【０３１９】

調製方法　SPPS_P;SC_P;CP_M1

UPLC法(A6_1): Rt=8.8分

5142.8Daの理論的分子量を、方法:Maldi_MSによって確認した:m/z 5140.6

【０３２０】

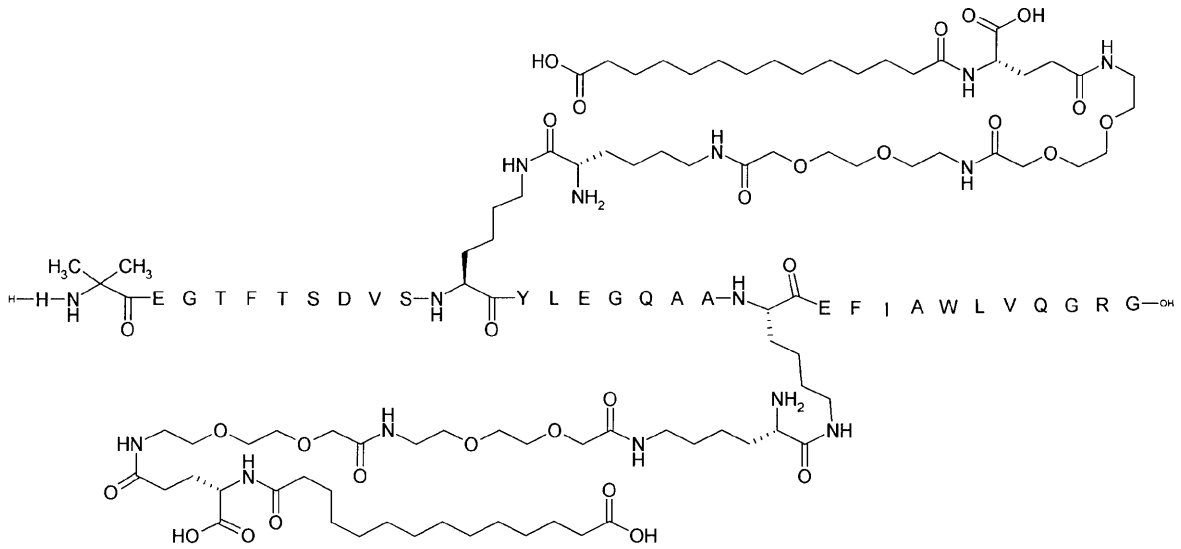
(実施例20)

$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)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]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)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]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.39:

【０３２１】

【化３５】



【０３２２】

調製方法　SPPS_P;SC_P;CP_M1

LCMS法(LCMS_AP): Rt=6.44分;m/3=1662;m/4=1247

【０３２３】

上記の一般法を使用して、実施例の化合物と同様に、下記の化合物を調製し、特徴付ける。

【０３２４】

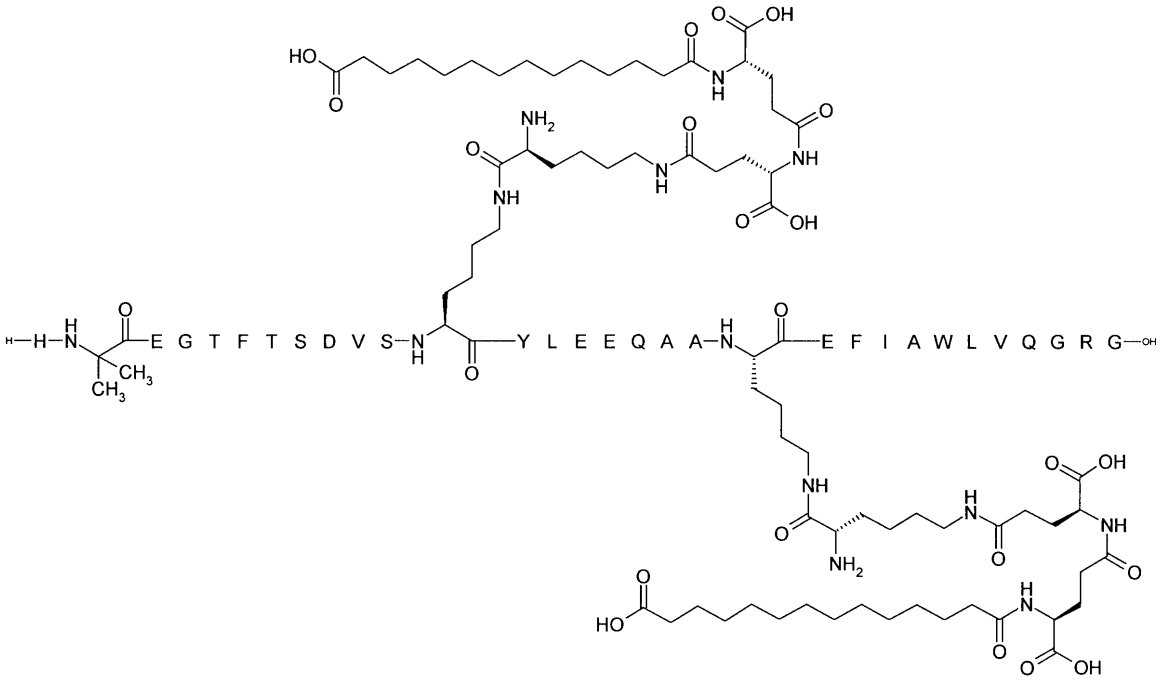
(実施例21)

$N^{\varepsilon 18}$}-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.40:

【０３２５】

【化３６】



【０３２６】

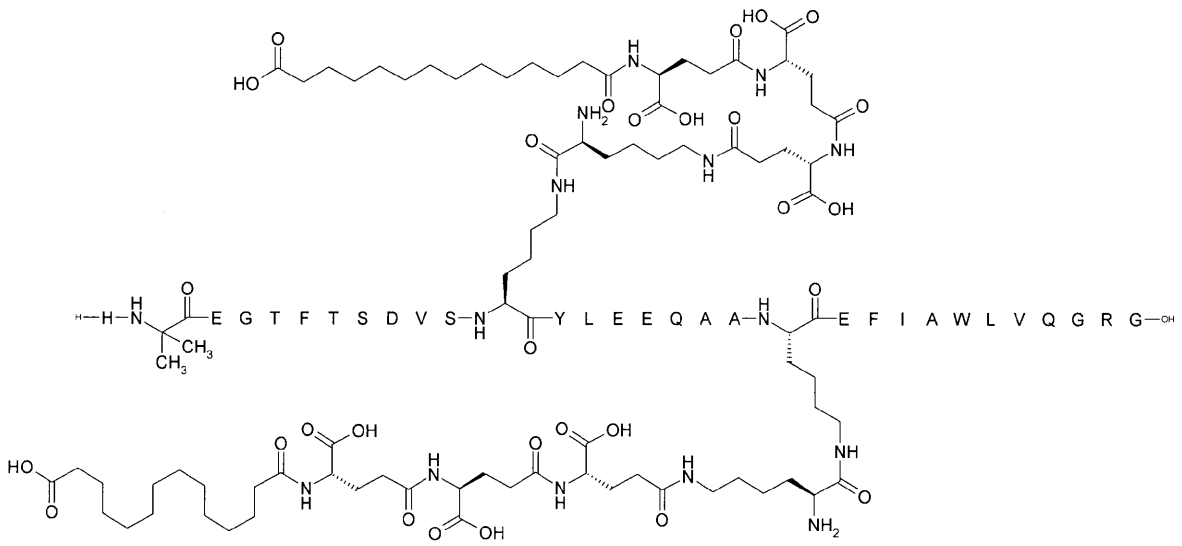
(実施例22)

$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.41:

【０３２７】

【化３７】



【０３２８】

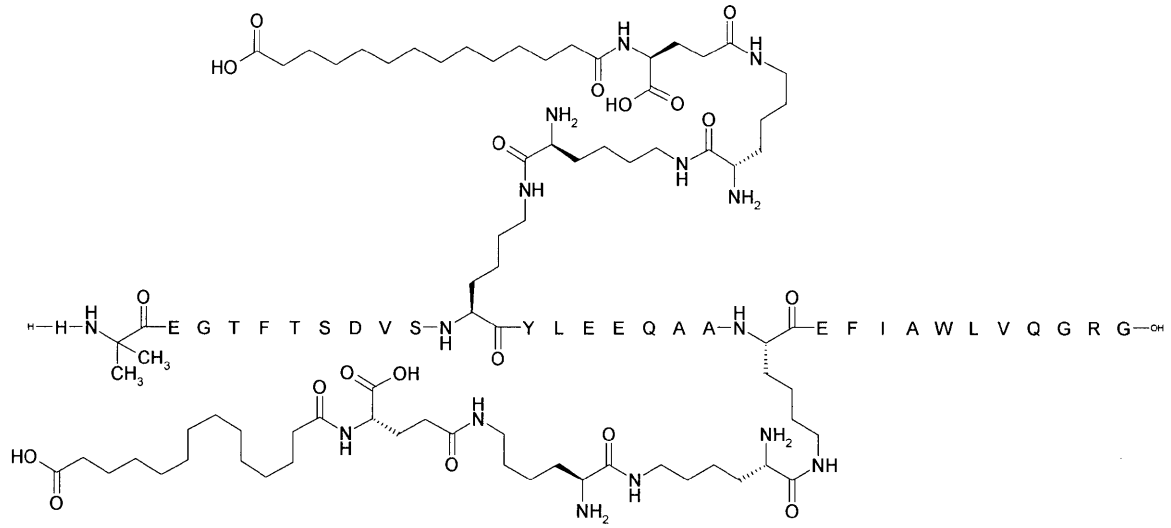
(実施例23)

$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.42:

【０３２９】

【化３８】



【０３３０】

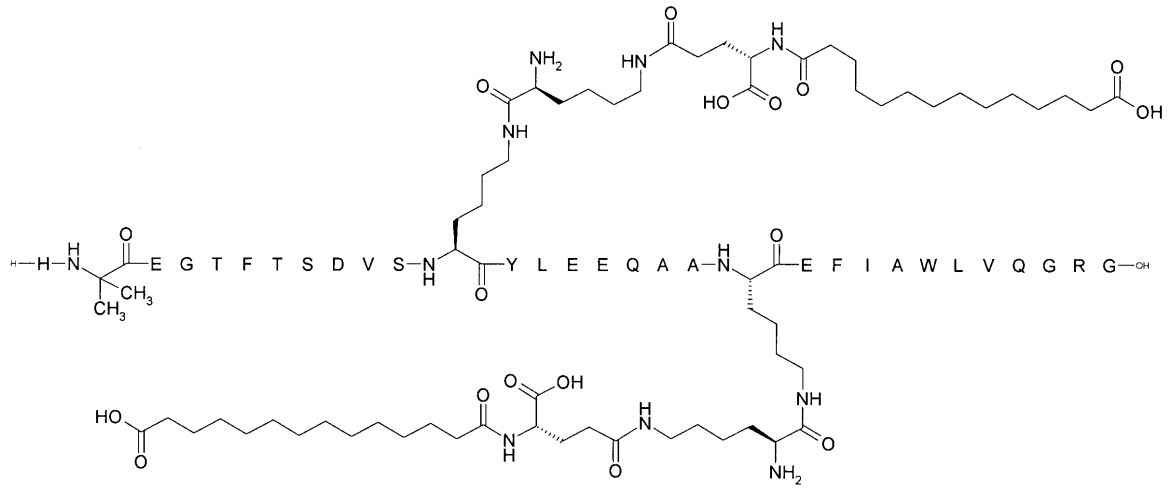
(実施例24)

$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.43:

【０３３１】

【化３９】



【０３３２】

(実施例25)

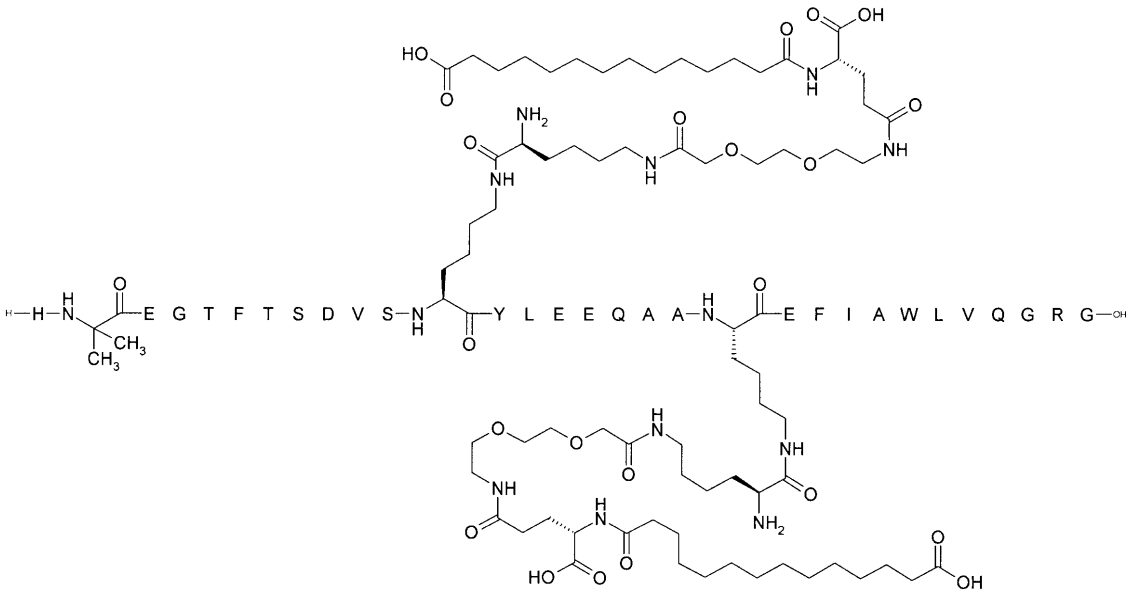
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノ

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]ヘキサノイル],N$^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.44:

【０３３３】

【化４０】



【０３３４】

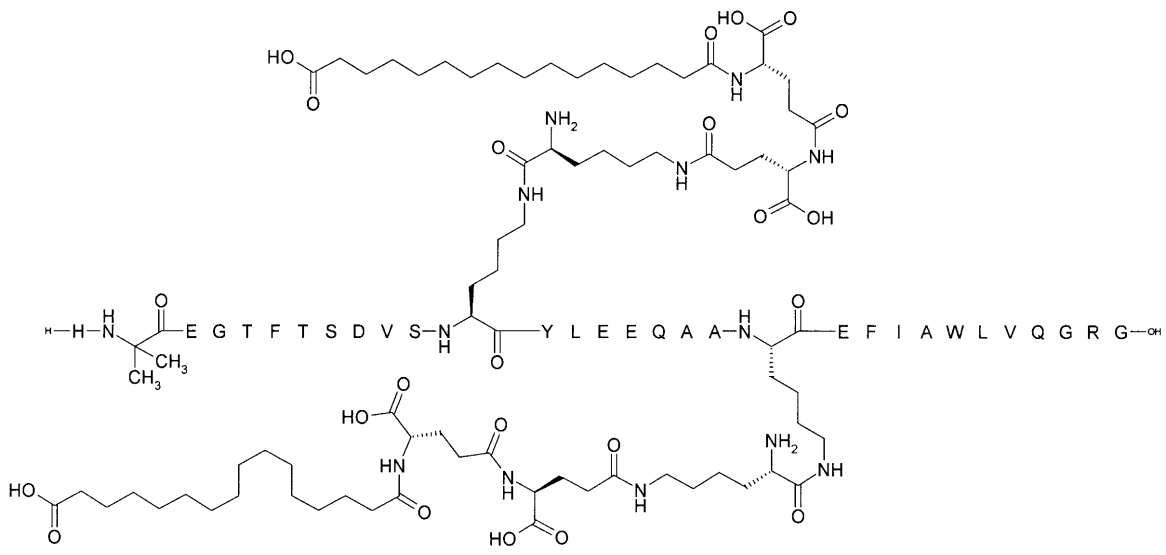
(実施例26)

N$^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル],N$^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

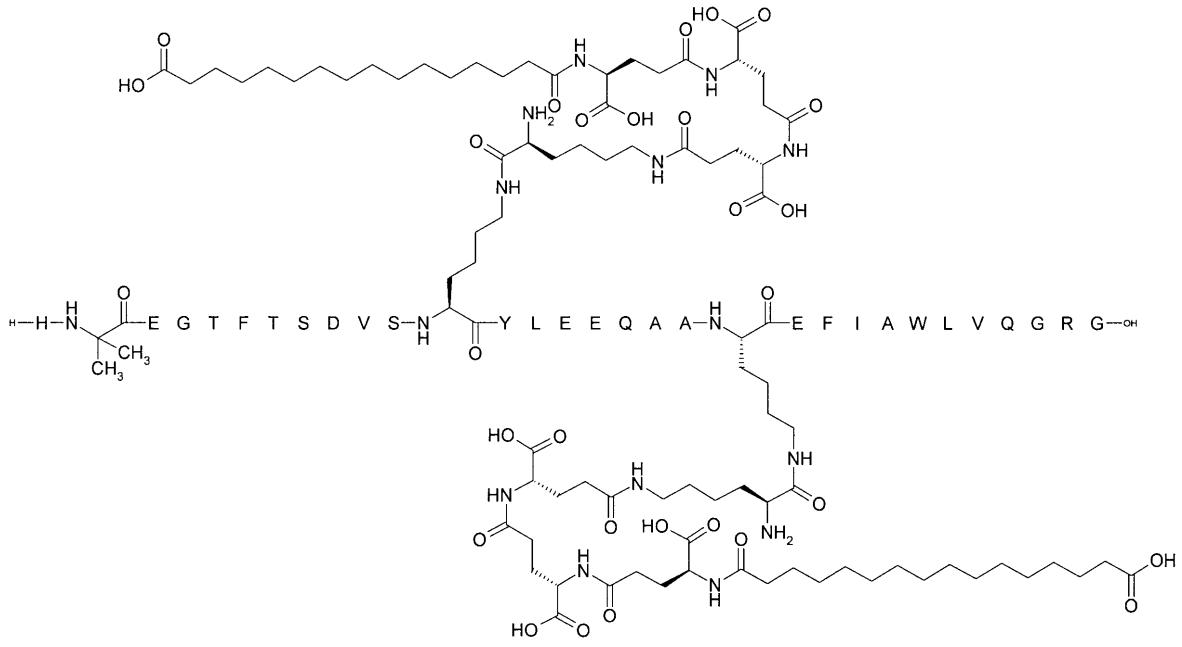
Chem.45:

【０３３５】

【化４１】

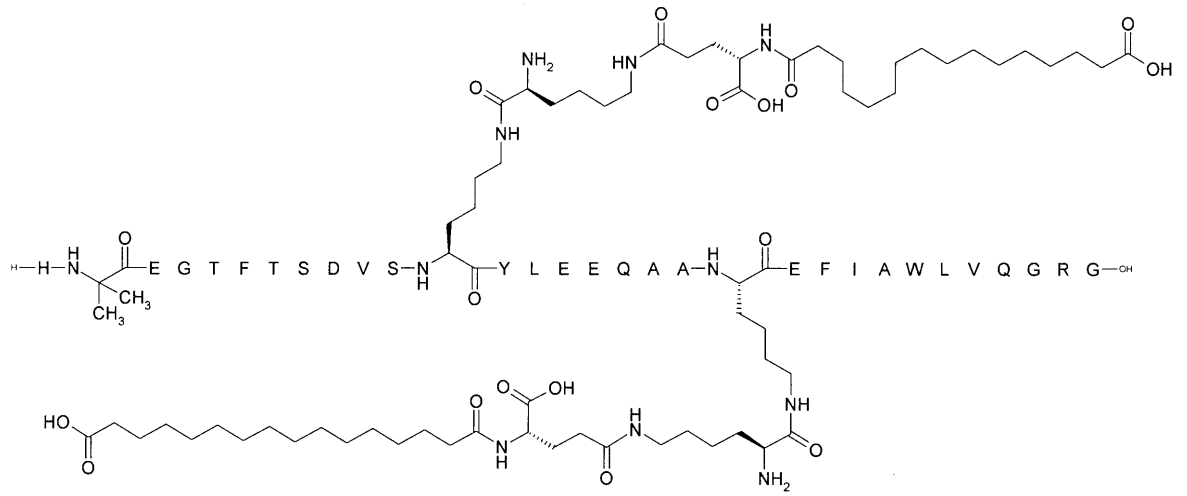


【０３３６】
(実施例27)
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド
Chem.46:
【０３３７】
【化４２】



【０３３８】
(実施例28)
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド
Chem.47:
【０３３９】

【化４３】



【０３４０】

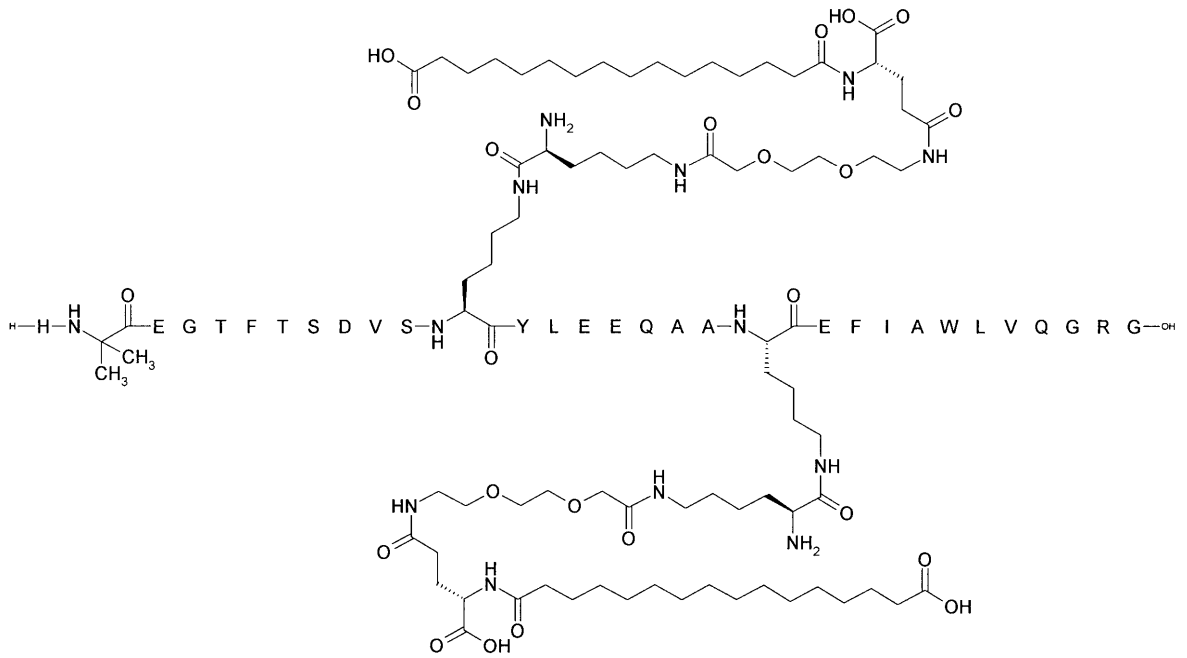
(実施例29)

Nε18-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル],Nε26-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib8,Lys18,Glu22,Gln34]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.48:

【０３４１】

【化４４】



【０３４２】

(実施例30)

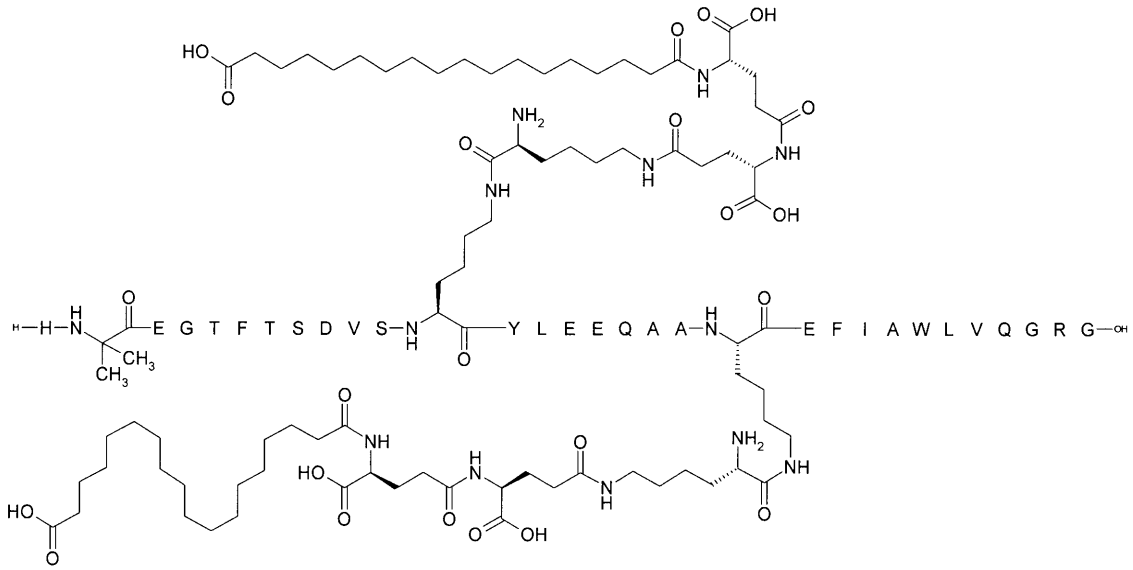
Nε18-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル],Nε26-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプ

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]ヘキサノイル]-[Aib[8],Lys[18],Glu[22],Gln[34]]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.49:

【０３４３】

【化４５】



【０３４４】

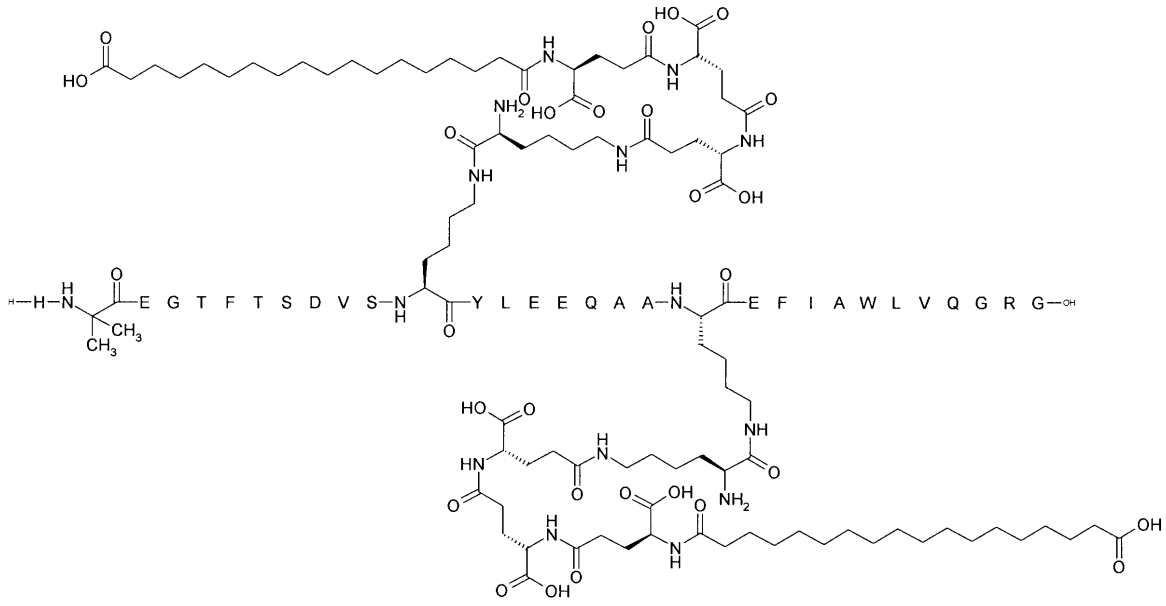
(実施例31)

N[ε 18]-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[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]ヘキサノイル],N[ε 26]}-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[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]ヘキサノイル]-[Aib[8],Lys[18],Glu[22],Gln[34]]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.50:

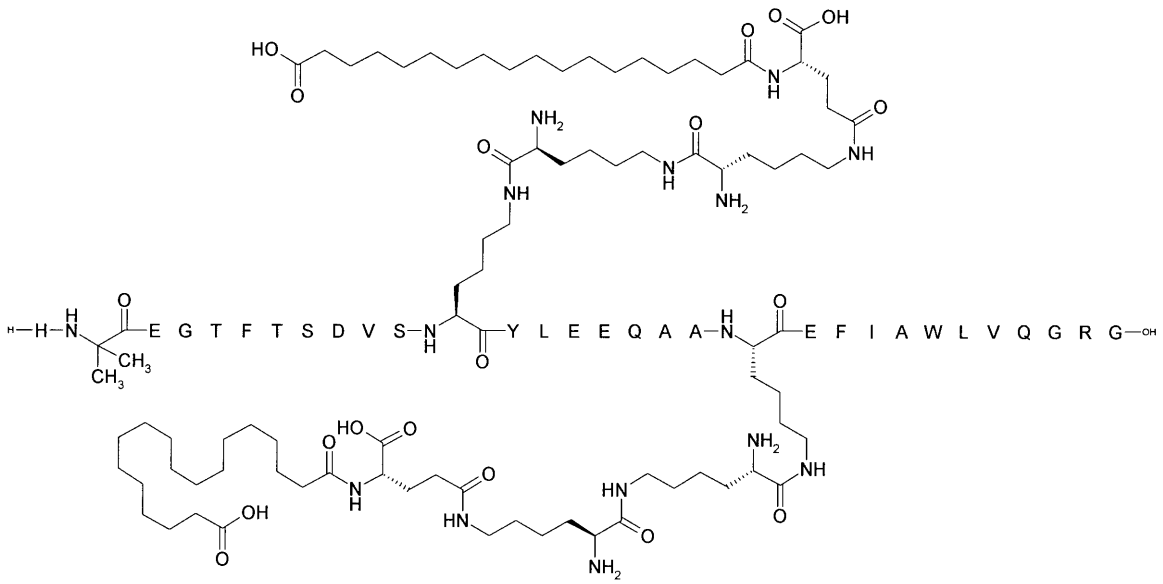
【０３４５】

【化４６】

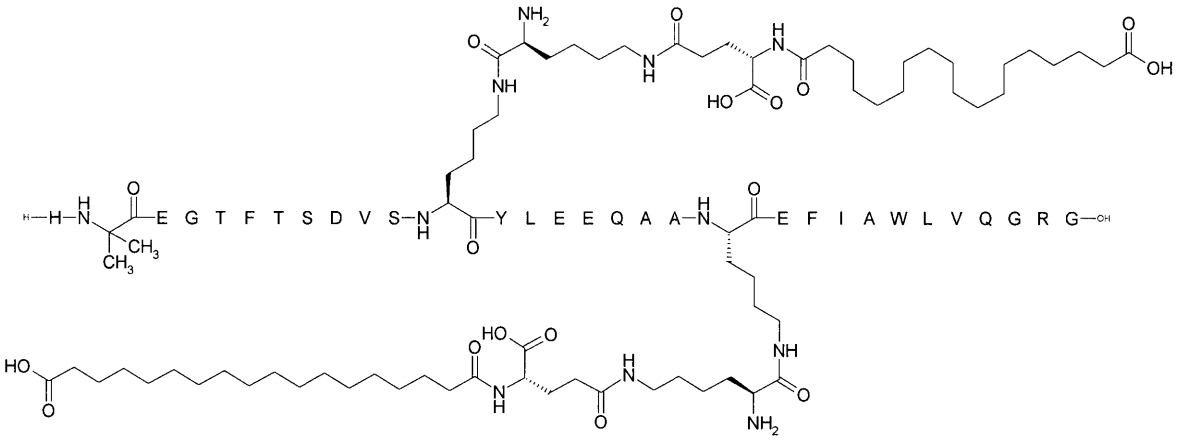


【０３４６】

(実施例32)
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^8,Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド
Chem.51:
【０３４７】
【化４７】



【０３４８】
(実施例33)
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^8,Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド
Chem.52:
【０３４９】
【化４８】



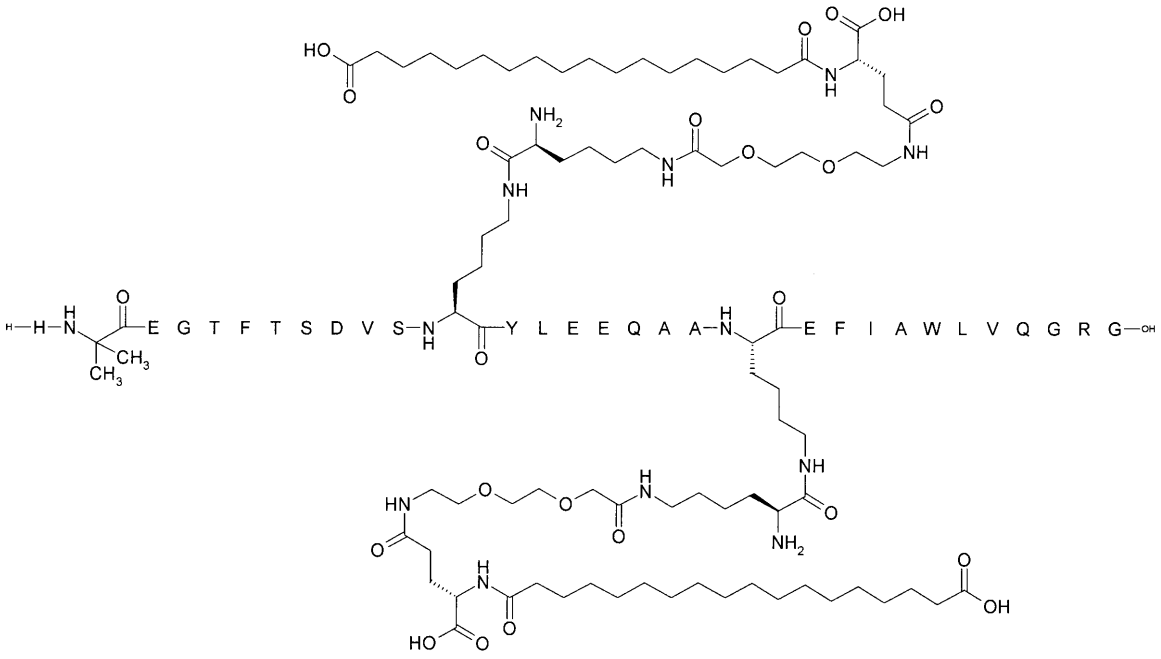
【０３５０】
(実施例34)

$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[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]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[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]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.53:

【０３５１】

【化４９】



【０３５２】

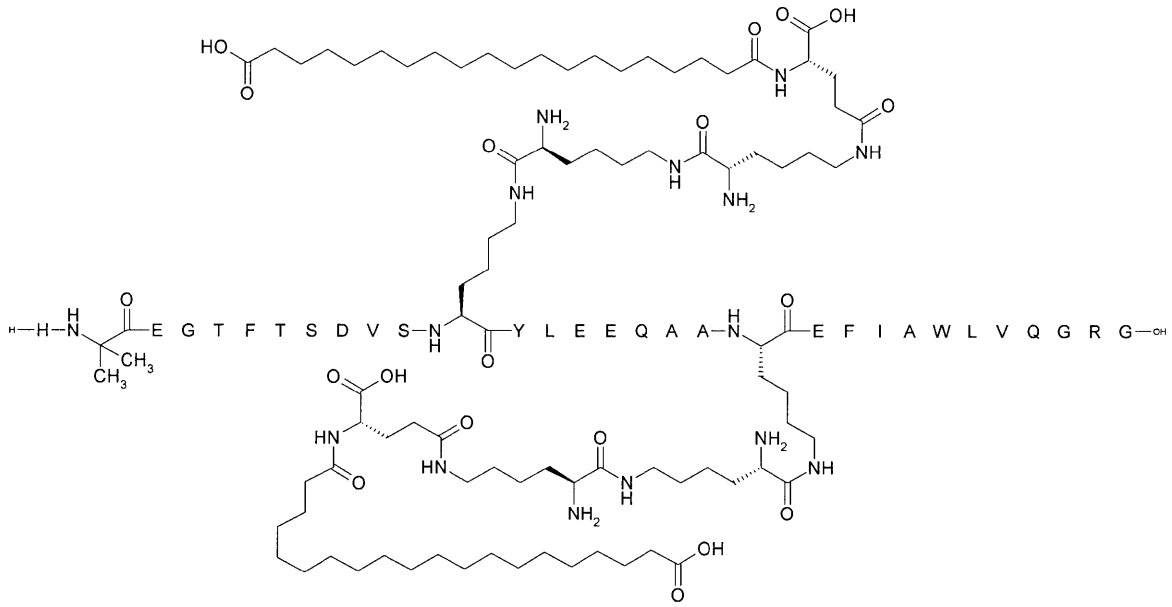
(実施例35)

$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.54:

【０３５３】

【化５０】



【０３５４】

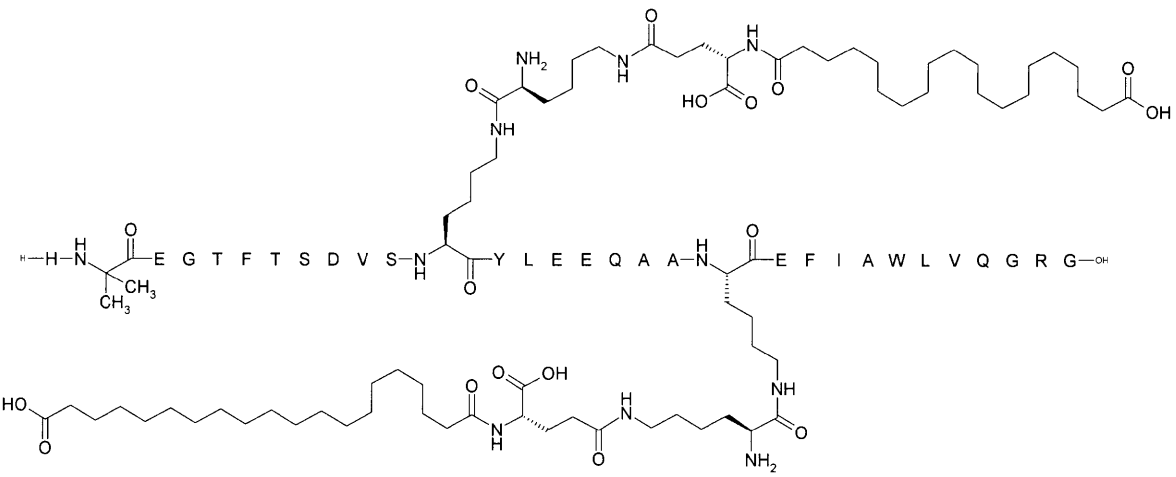
(実施例36)

$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.55:

【０３５５】

【化５１】



【０３５６】

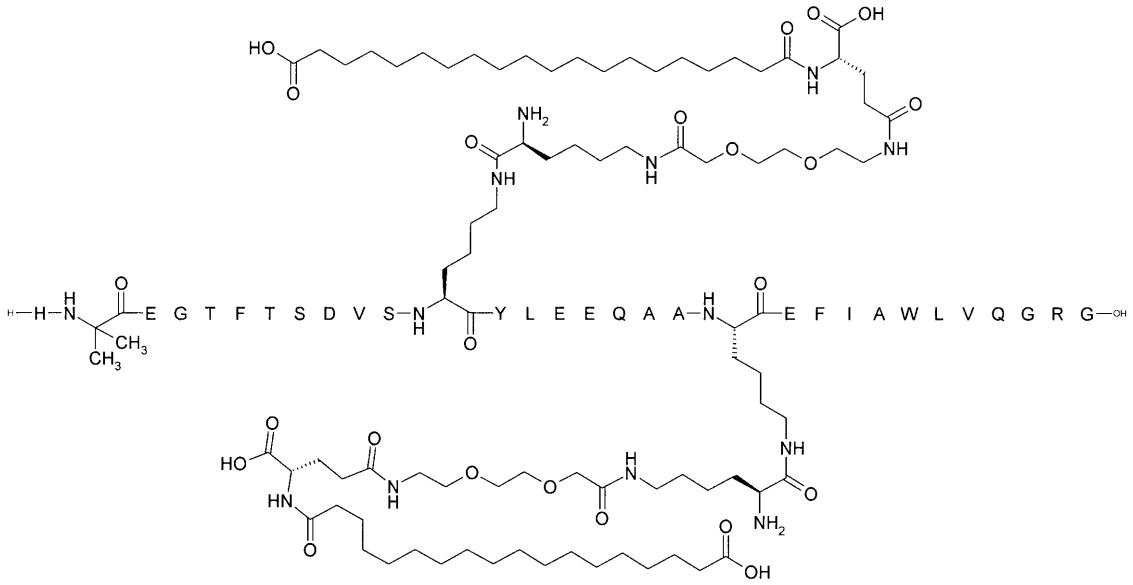
(実施例37)

$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[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]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.56:

【０３５７】

【化５２】



【０３５８】

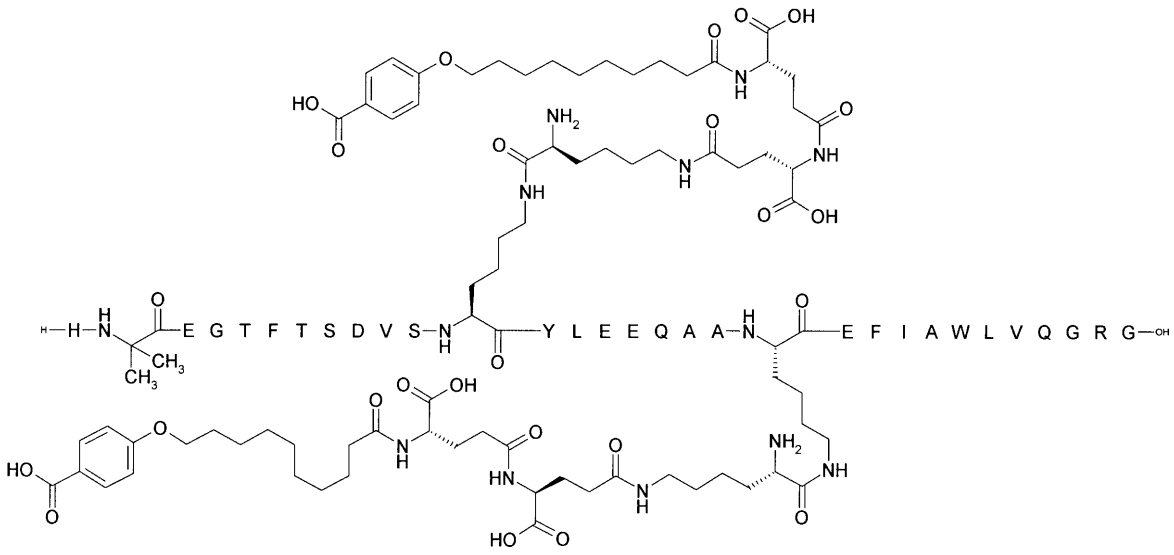
(実施例38)

$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.57:

【０３５９】

【化５３】



【０３６０】

(実施例39)

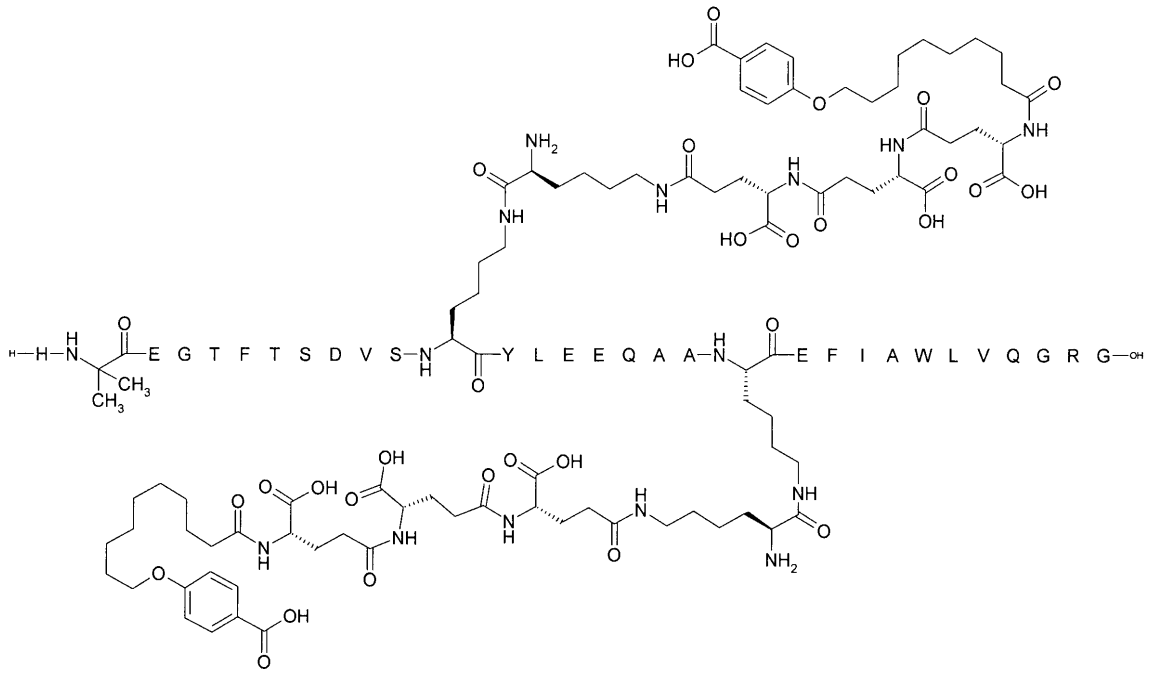
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイ

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]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.58:

【０３６１】

【化５４】



【０３６２】

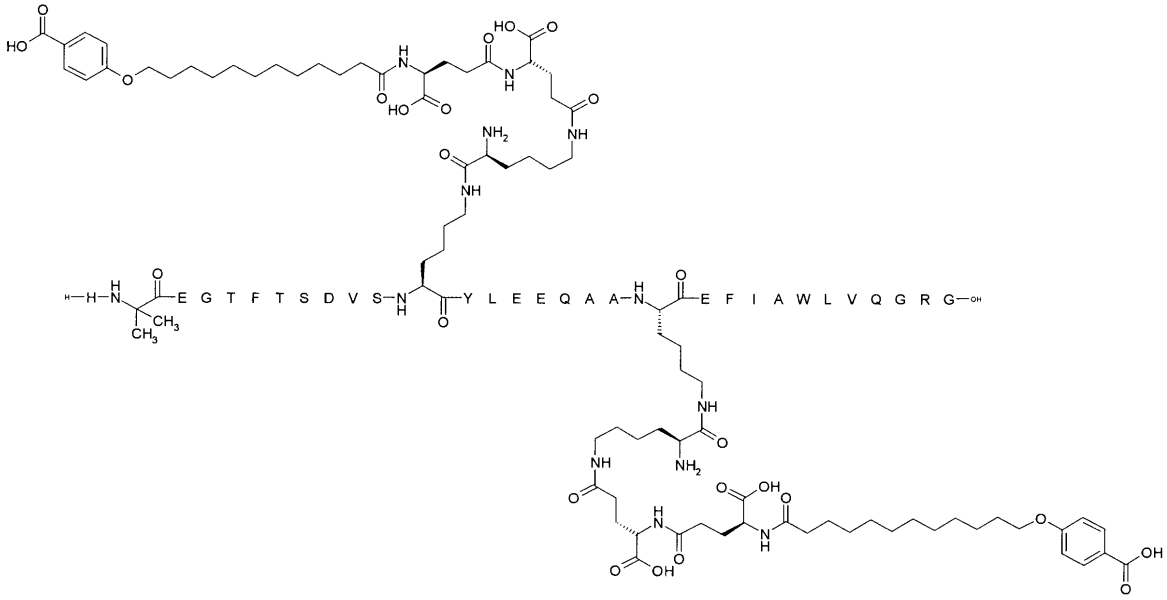
(実施例40)

N$^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル],N$^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib8,Lys18,Glu22,Gln34]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.59:

【０３６３】

【化５５】



【０３６４】

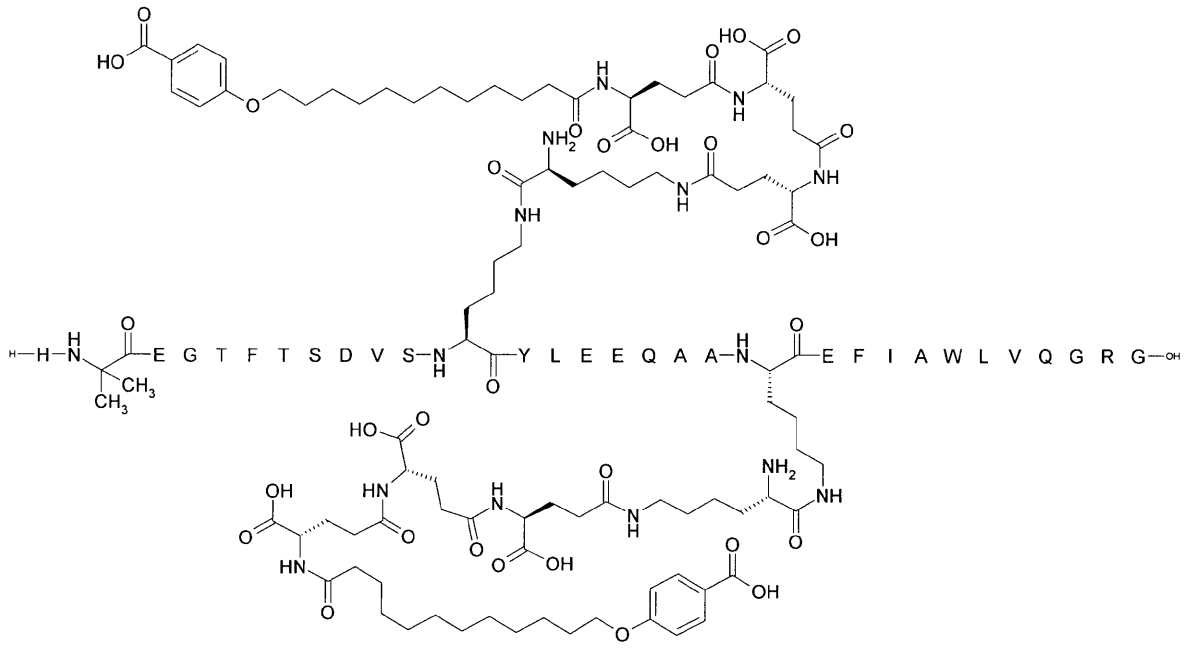
(実施例41)

$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-カルボキシ-4-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^8,Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.60:

【０３６５】

【化５６】



【０３６６】

(実施例42)

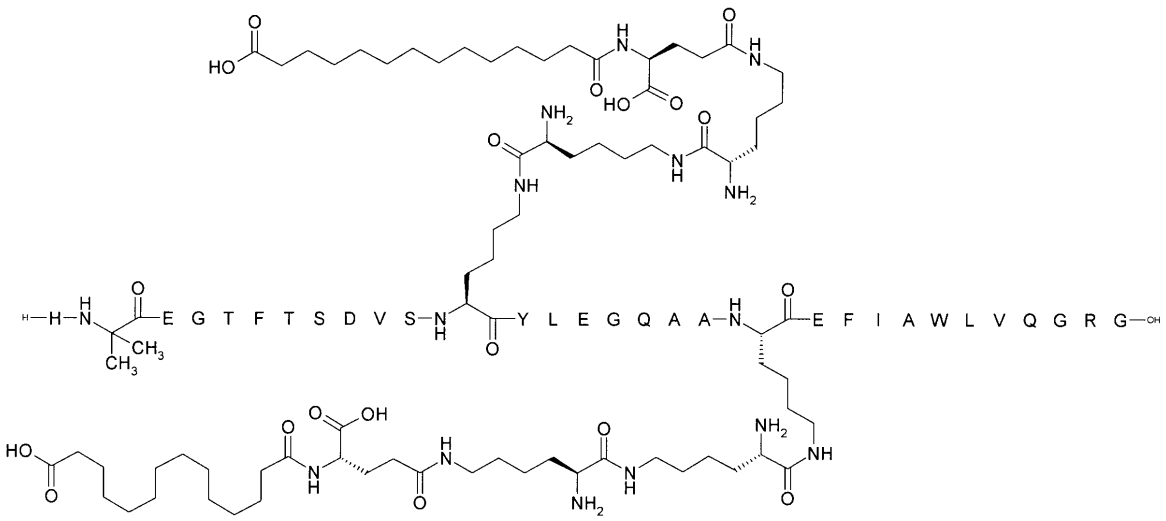
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシト

リデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル],N$^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.61:

【０３６７】

【化５７】



【０３６８】

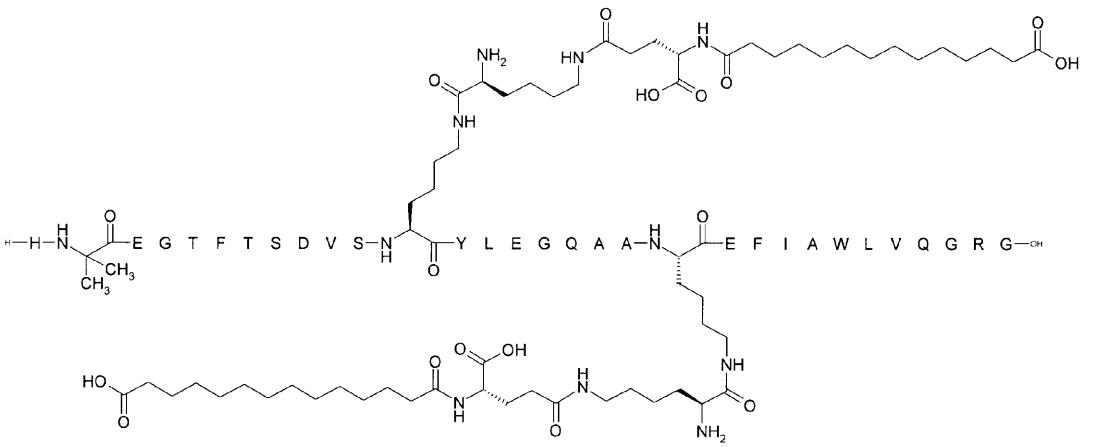
(実施例43)

N$^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル],N$^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.62:

【０３６９】

【化５８】

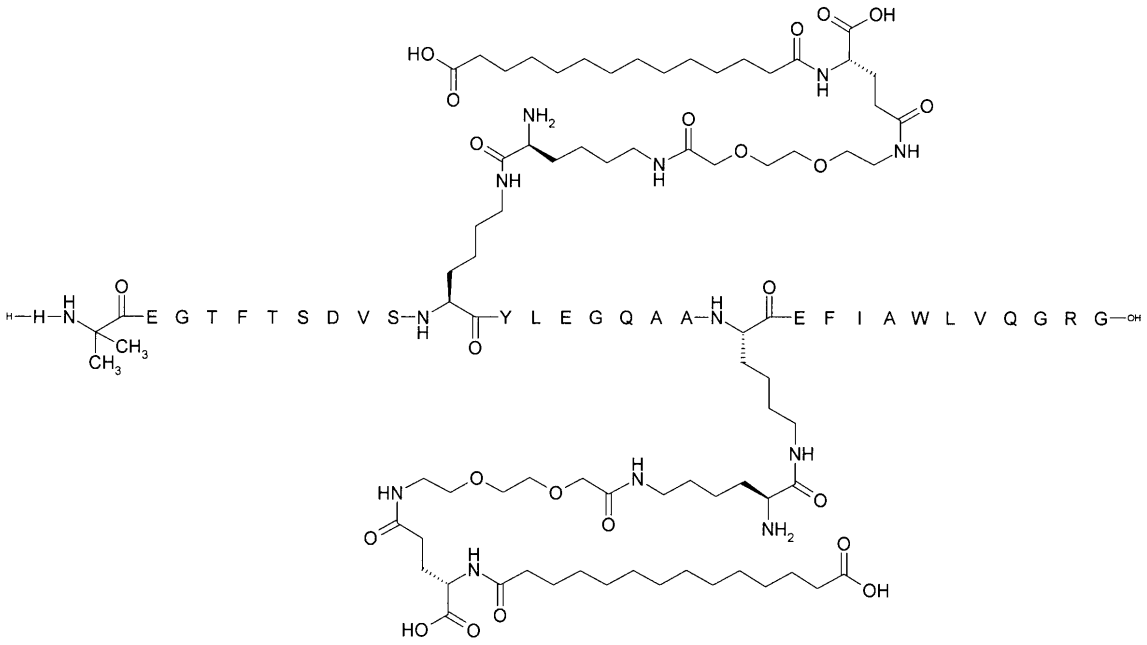


【０３７０】

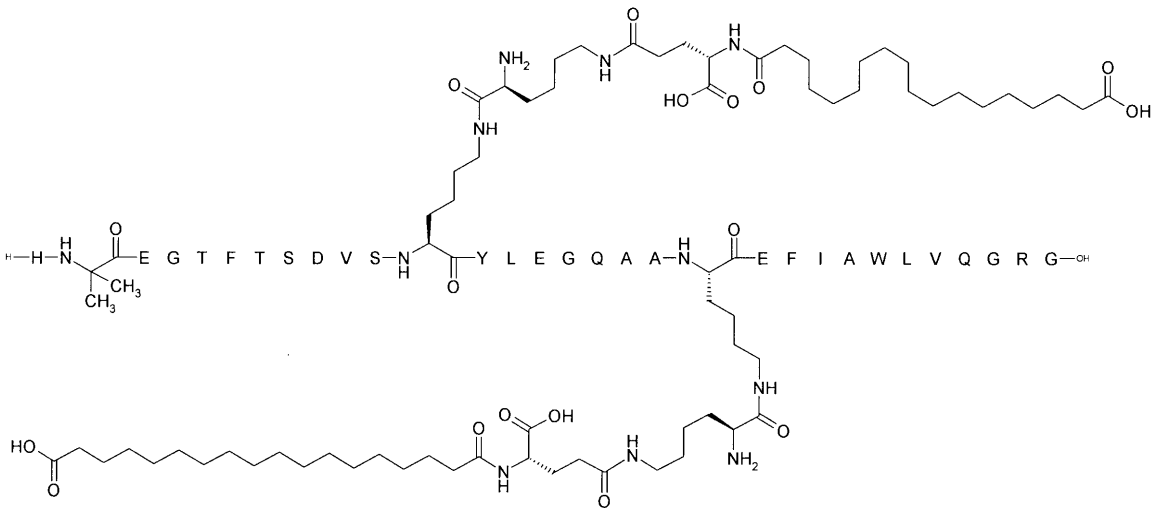
(実施例44)

N$^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル],N$^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]

-GLP-1-(7-37)-ペプチド
Chem.63:
【０３７１】
【化５９】



【０３７２】
(実施例45)
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド
Chem.64:
【０３７３】
【化６０】



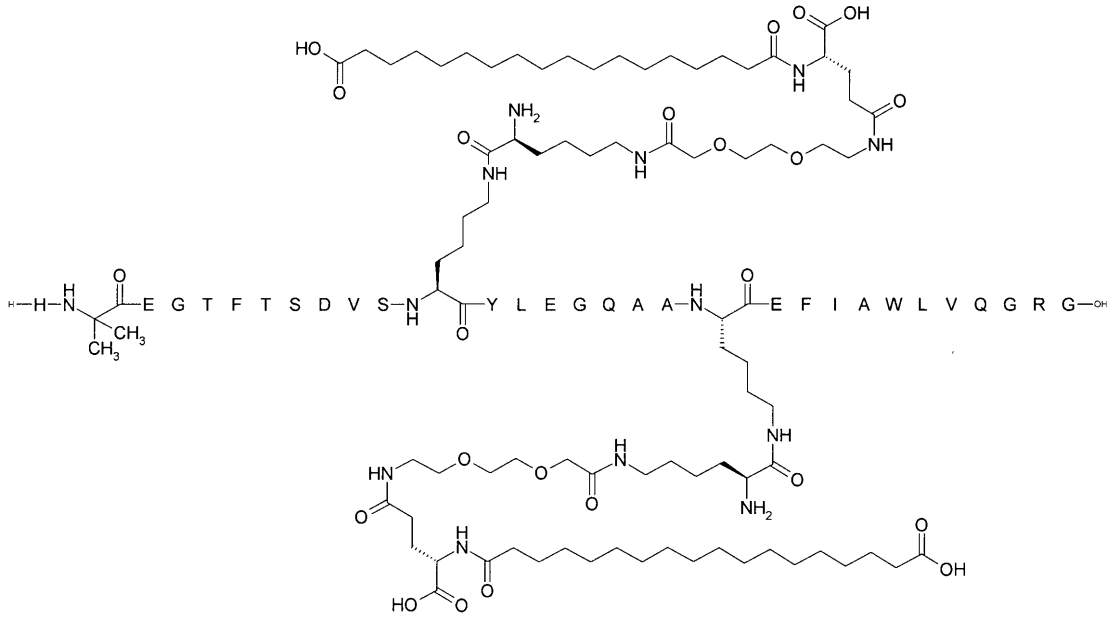
【０３７４】
(実施例46)
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[

(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[4-カルボキシ-4-(17-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]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.65:

【０３７５】

【化６１】



【０３７６】

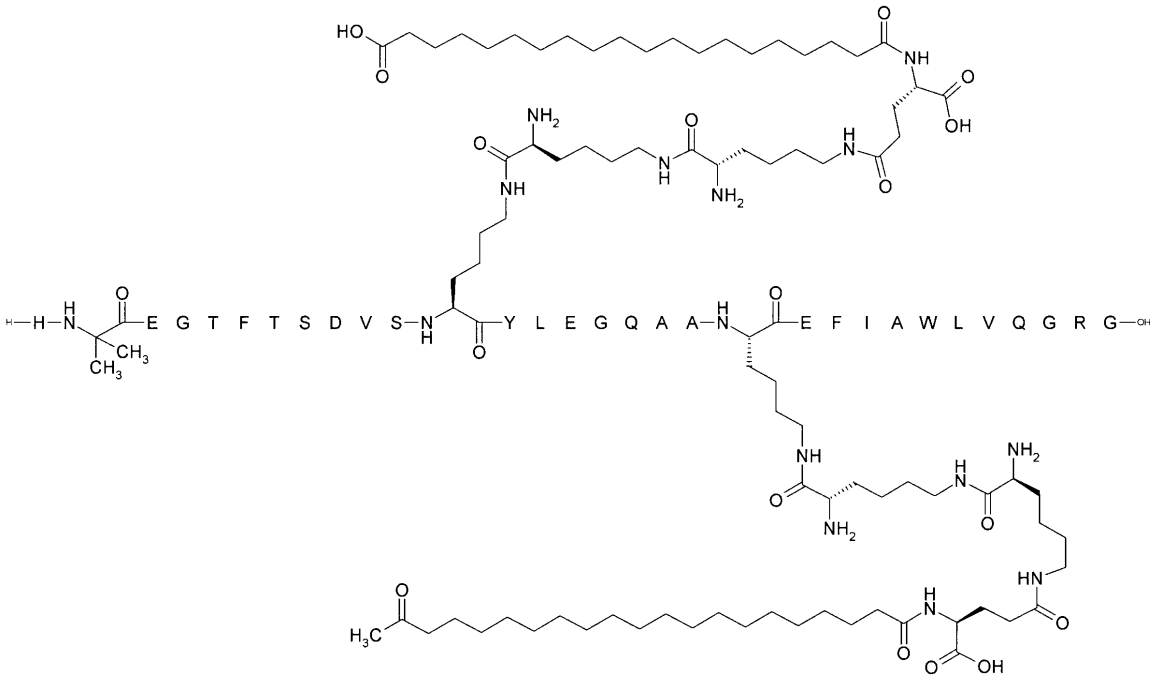
(実施例47)

N$^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル],N$^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.66:

【０３７７】

【化６２】



【０３７８】

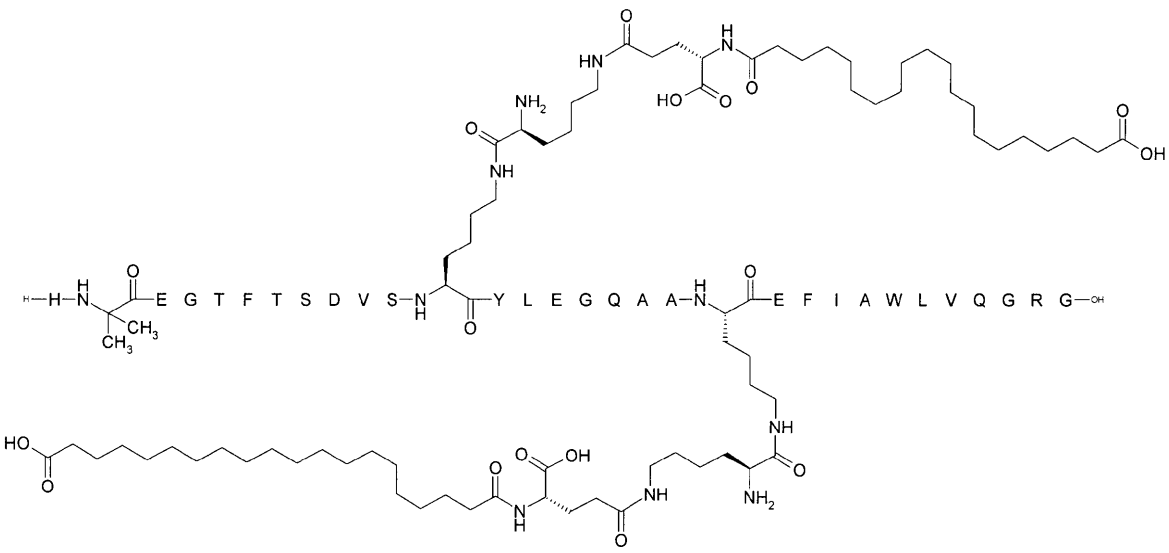
(実施例48)

Nε18-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル],Nε26-[(2S)-2-アミノ-6-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib8,Lys18,Gln34]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.67:

【０３７９】

【化６３】



【０３８０】

(実施例49)

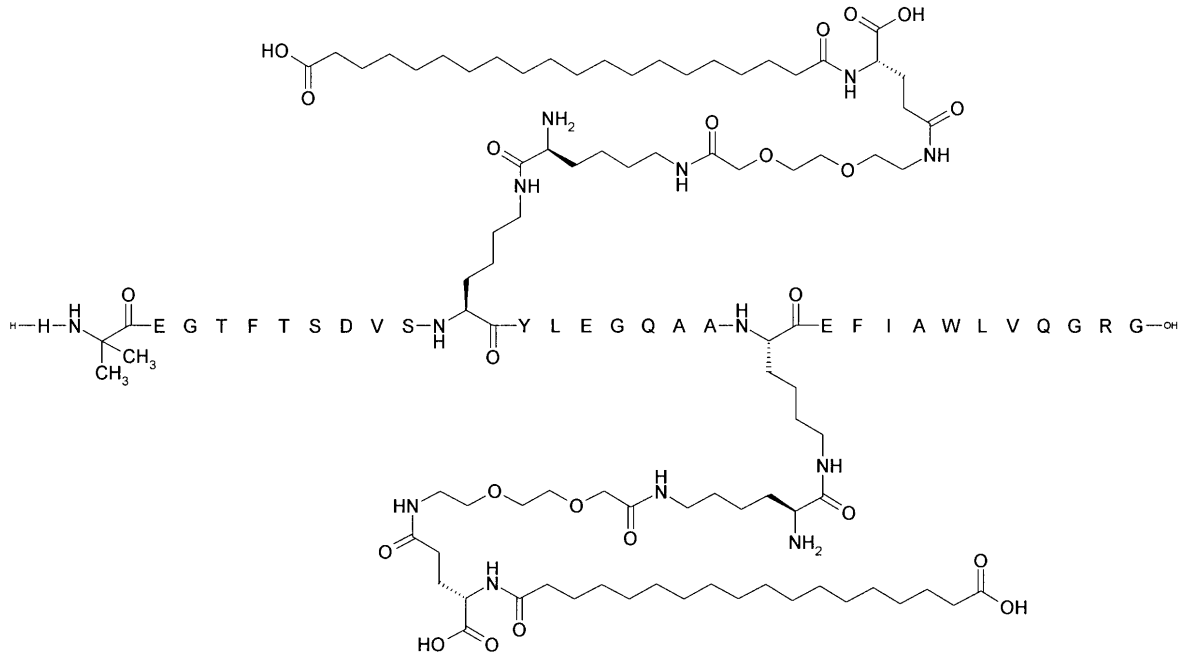
Nε18-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[4-カルボキシ-4-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル],Nε26-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブ

タノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.68:

【０３８１】

【化６４】



【０３８２】

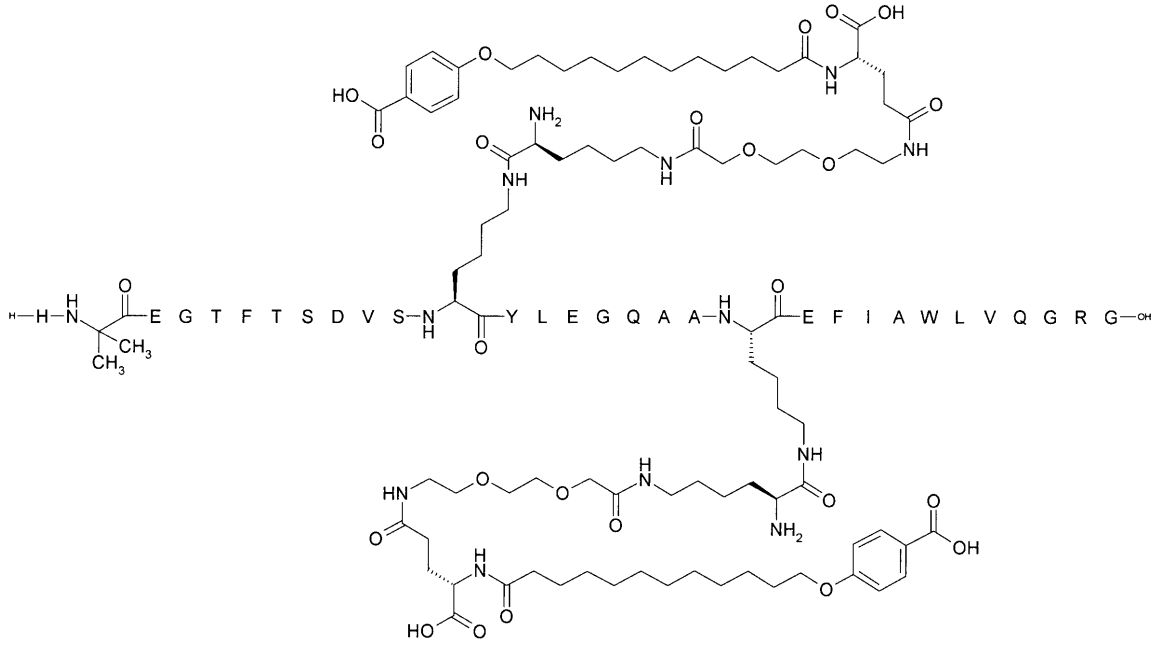
(実施例50)

N$^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル],N$^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.69:

【０３８３】

【化６５】



【０３８４】

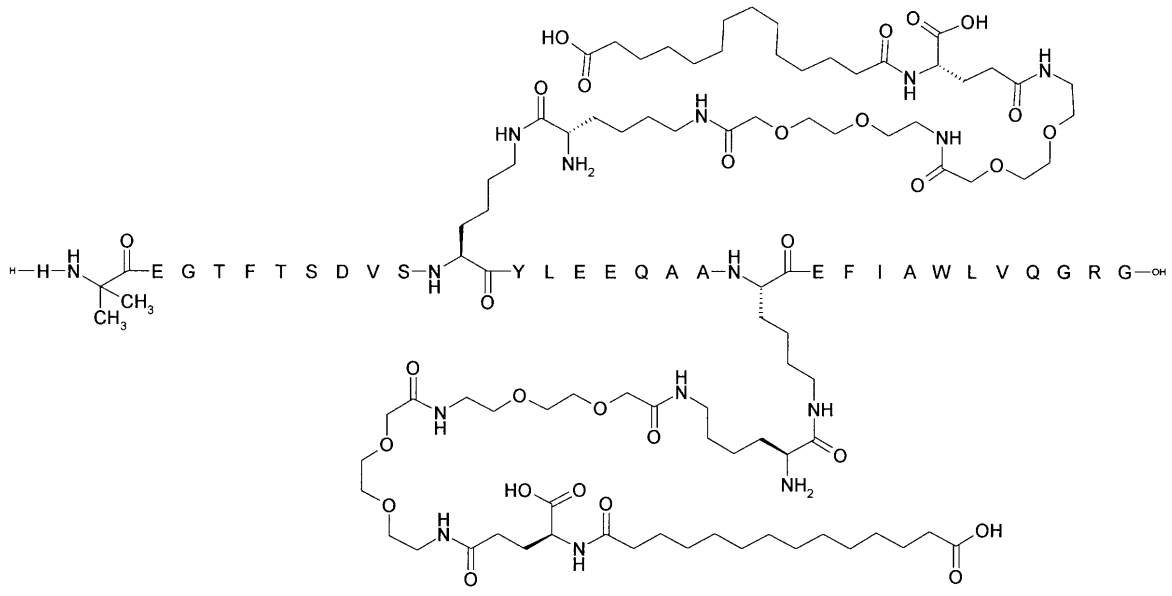
(実施例51)

Nε18-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)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]ヘキサノイル],Nε26-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)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]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.70:

【０３８５】

【化６６】



【０３８６】

(実施例52)

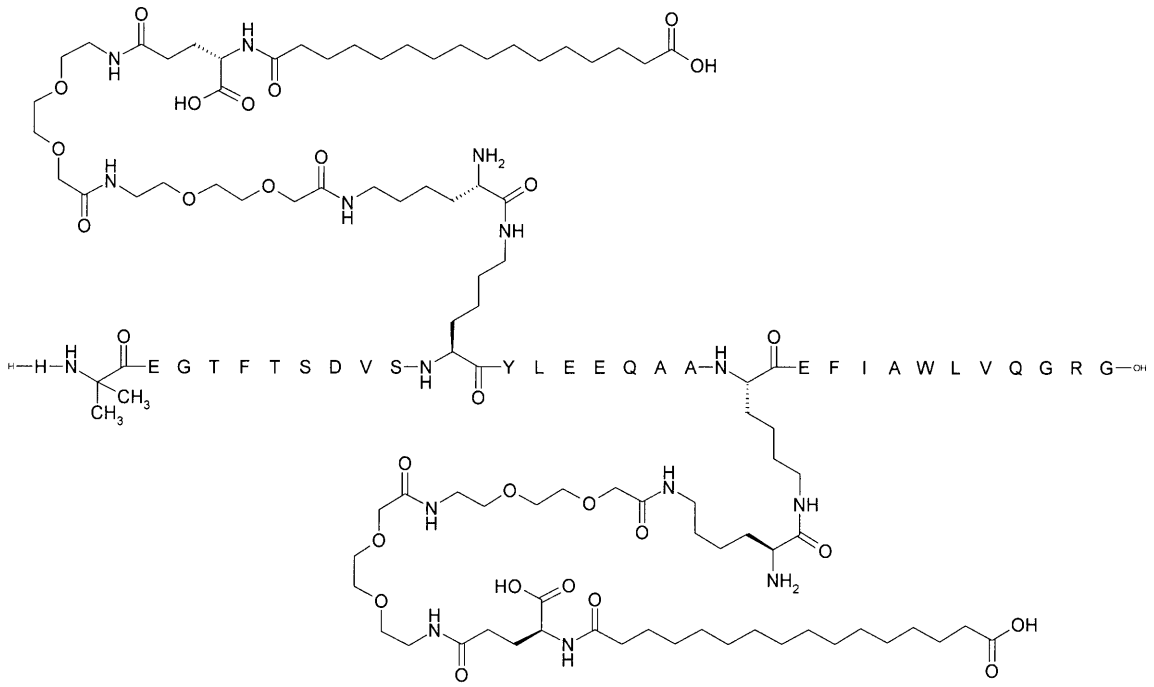
Nε18-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシ

ペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]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]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]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]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.71:

【０３８７】

【化６７】



【０３８８】

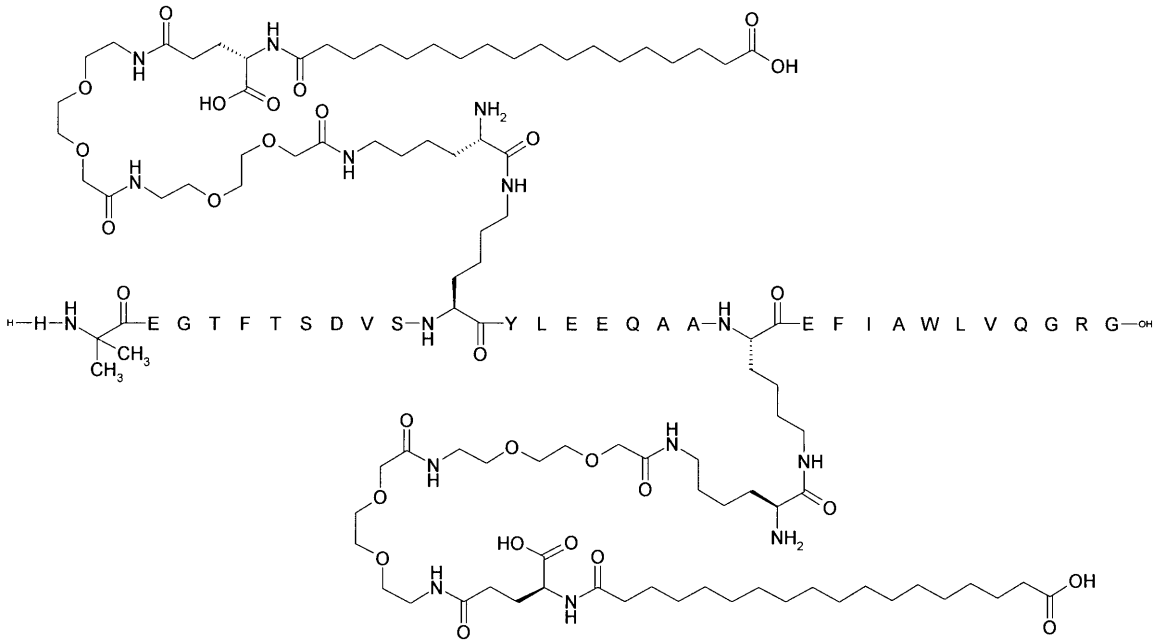
(実施例53)

$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[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]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[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]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.72:

【０３８９】

【化６８】



【０３９０】

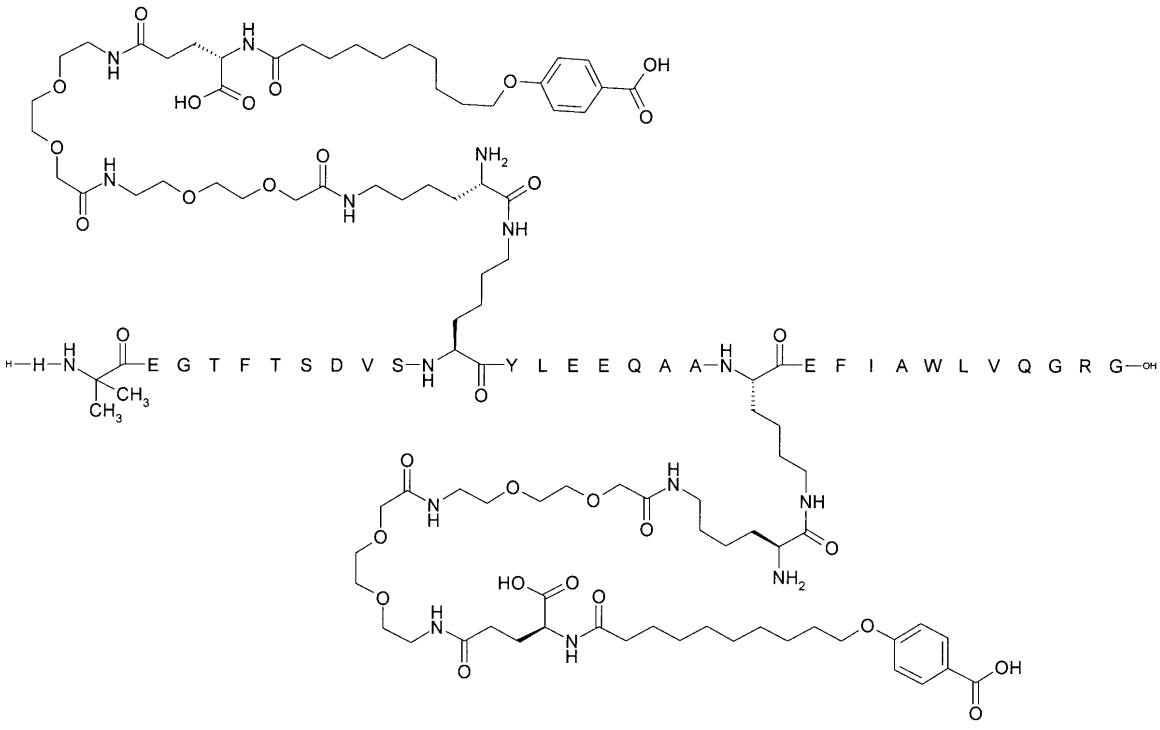
(実施例54)

$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)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]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)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]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

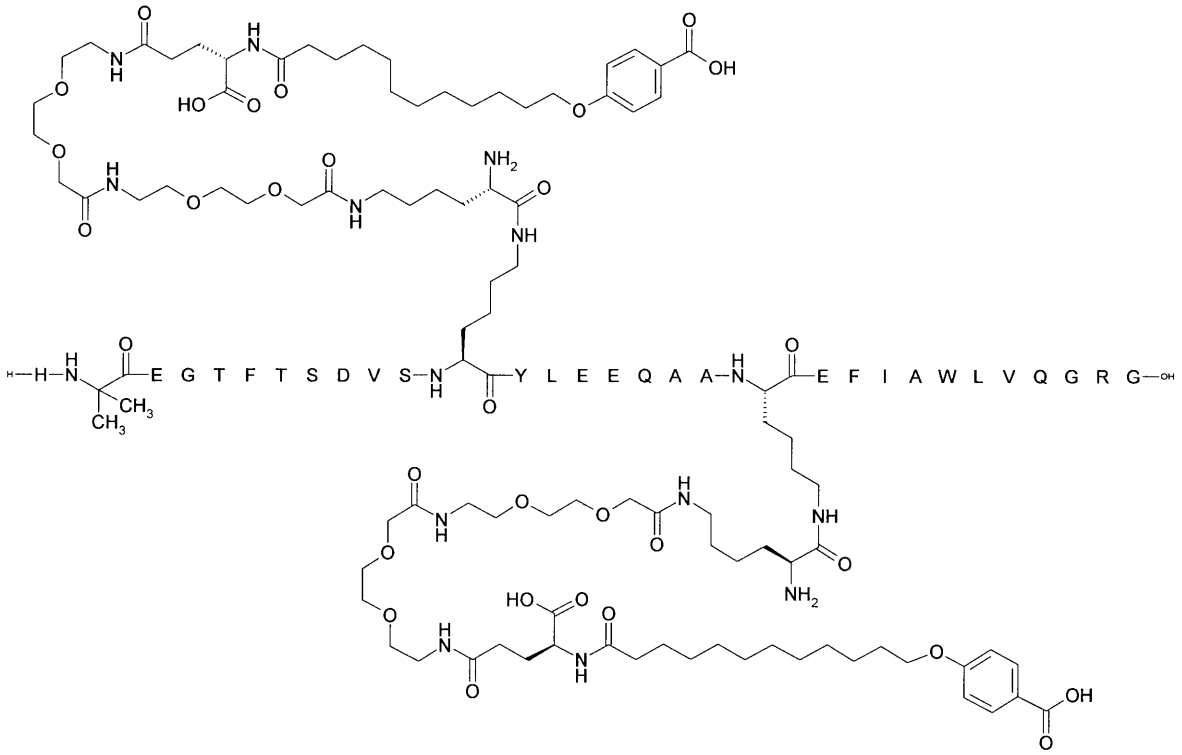
Chem.73:

【０３９１】

【化６９】

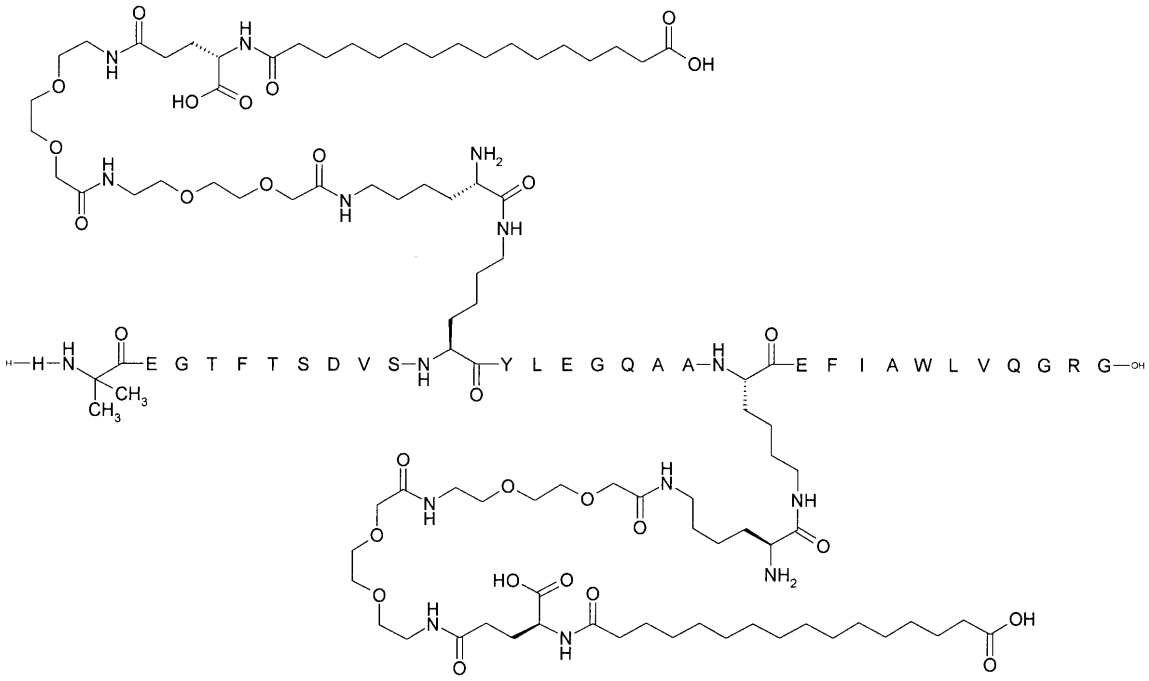


【０３９２】
(実施例55)
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Glu^{22},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド
Chem.74:
【０３９３】
【化７０】



【０３９４】
(実施例56)
$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]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]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペンタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]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]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド
Chem.75:
【０３９５】

【化７１】



【０３９６】

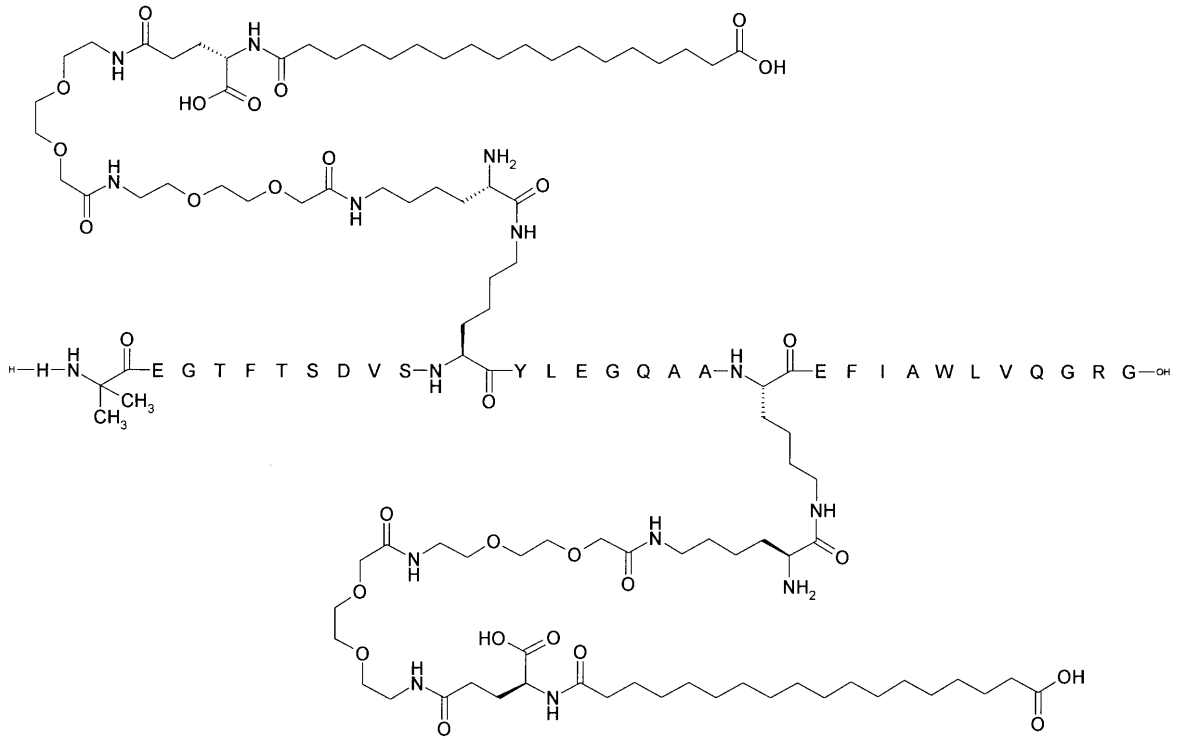
(実施例57)

N$^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[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]ヘキサノイル],N$^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[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]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.76:

【０３９７】

【化７２】



【０３９８】

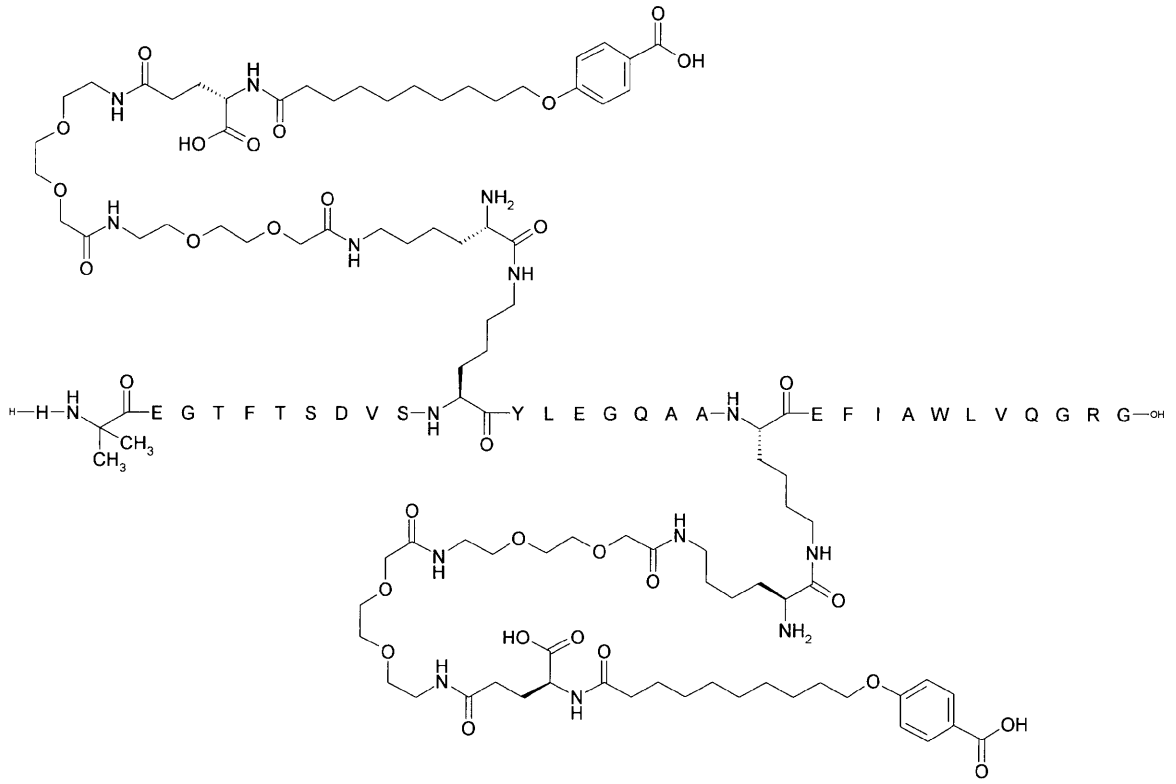
(実施例58)

$N^{\varepsilon 18}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)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]ヘキサノイル],$N^{\varepsilon 26}$-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)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]ヘキサノイル]-[Aib^{8},Lys^{18},Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.77:

【０３９９】

【化７３】



【０４００】

生物学的方法

(実施例59)

インビトロでの効力

この実施例の目的は、GLP-1誘導体のインビトロでの活性または効力を試験することである。

【０４０１】

実施例1～8、10～15、および19のGLP-1誘導体の効力を、下記のように、すなわち、ヒトGLP-1受容体を発現している膜を含有する培地におけるサイクリックAMP(cAMP)の形成の刺激として決定した。

【０４０２】

原理

ヒトGLP-1受容体を発現している安定的なトランスフェクトされた細胞系、BHK467-12A(tk-ts13)からの精製した形質膜を、当該のGLP-1誘導体で刺激し、cAMP生成の効力を、Perkin Elmer Life SciencesからのAlphaScreenTM cAMPアッセイキットを使用して測定した。AlphaScreenアッセイの基本的原理は、内因性cAMPと外因的に加えたビオチン-cAMPとの間の競合である。cAMPの捕捉は、アクセプタービーズに結合している特異的抗体を使用することによって達成される。

【０４０３】

膜の細胞培養および調製

安定的なトランスフェクトされた細胞系および高発現しているクローンを、スクリーニングのために選択した。細胞を、5%CO_2で、DMEM、10%FCS、1%Pen/Strep(ペニシリン/ストレプトマイシン)および1.0mg/mlの選択マーカーG418中で増殖させた。

【０４０４】

概ね80%コンフルエンスの細胞を、PBSで2回洗浄し、Versene(エチレンジアミン四酢酸のテトラナトリウム塩の水溶液)と共に収集し、1000rpmで5分遠心分離し、上清を除去した。さらなるステップは、全て氷上で行った。細胞ペレットを、10mlの緩衝液1(20mMのNa

-HEPES、10mMのEDTA、pH=7.4)中でUltrathuraxによって20～30秒間ホモジナイズし、20,000rpmで15分遠心分離し、ペレットを10mlの緩衝液2(20mMのNa-HEPES、0.1mMのEDTA、pH=7.4)に再懸濁させた。懸濁液を20～30秒間ホモジナイズし、20,000rpmで15分遠心分離した。緩衝液2への懸濁、ホモジナイゼーションおよび遠心分離を1回繰り返し、膜を緩衝液2に再懸濁させた。タンパク質濃度を決定し、膜を使用するまで-80℃で保存した。

【０４０５】

1/2面積96ウェルプレート(フラットボトム)(Costarカタログ番号:3693)でアッセイを行った。ウェル毎の最終容量は、50μlであった。

【０４０６】

溶液および試薬

Perkin Elmer Life SciencesからのAlphaScreen cAMPアッセイキット(カタログ番号:6760625M);抗-cAMPアクセプタービーズ(10U/μl)、ストレプトアビジンドナービーズ(10U/μl)およびビオチン化-cAMP(133U/μl)を含有。

【０４０７】

AlphaScreen緩衝液、pH=7.4:50mMのTRIS-HCl(Sigma、カタログ番号:T3253);5mMのHEPES(Sigma、カタログ番号:H3375);10mMの$MgCl_2$、$6H_2O$(Merck、カタログ番号:5833);150mMのNaCl(Sigma、カタログ番号:S9625);0.01%Tween(Merck、カタログ番号:822184)。下記を、使用前にAlphaScreen緩衝液に加えた(最終濃度を示す):BSA(Sigma、カタログ番号A7906):0.1%;IBMX(Sigma、カタログ番号I5879):0.5mM;ATP(Sigma、カタログ番号A7699):1mM;GTP(Sigma、カタログ番号G8877):1uM。

cAMP標準(アッセイにおける希釈係数=5):cAMP溶液:5μLのcAMP-ストック(5mM)+495μLのAlphaScreen緩衝液。

【０４０８】

AlphaScreen緩衝液中の適切な希釈系列を、cAMP標準、および試験するGLP-1誘導体、例えば、GLP-1化合物の下記の8つの濃度:(10^{-7}M、10^{-8}M、10^{-9}M、10^{-10}M、10^{-11}M、10^{-12}M、10^{-13}Mおよび10^{-14}M)、ならびに、例えば、10^{-6}～3×10^{-11}の系列のcAMPについて調製した。

【０４０９】

膜/アクセプタービーズ

hGLP-1/BHK467-12A膜を使用;0.6mg/mlに対応する3μg/ウェル(ウェル毎に使用する膜の量は変化し得る)

【０４１０】

「膜なし」:AlphaScreen緩衝液中のアクセプタービーズ(2単位/ウェル、最終)

【０４１１】

「3μg/ウェルの膜」:AlphaScreen緩衝液中の膜+アクセプタービーズ(2単位/ウェル、最終)

【０４１２】

10μlの「膜なし」を、cAMP標準(2連でウェル毎)ならびに陽性および陰性対照に加える。

【０４１３】

10μlの「3μg/ウェルの膜」を、GLP-1誘導体に加える(2連/3連でウェル毎)。

【０４１４】

陽性対照:10μlの「膜なし」+10μlのAlphaScreen緩衝液。

【０４１５】

陰性対照:10μlの「膜なし」+10μlのcAMPストック溶液(50μM)。

【０４１６】

ビーズは直接の光に対して感受性であるため、いかなる取扱いも、暗中(できるだけ暗く)で、または緑色の光の中であった。全ての希釈は氷上で行った。

【０４１７】

手順

1.AlphaScreen緩衝液を作製する。
2.GLP-1誘導体/cAMP標準をAlphaScreen緩衝液に溶解および希釈する。
3.ドナービーズ溶液を作製する(ストレプトアビジンドナービーズ(2単位/ウェル)およびビオチン化cAMP(1.2単位/ウェル)を混合し、暗中RTで20～30分インキュベートすることによって)。
4.cAMP/GLP-1誘導体を、プレートに加える:ウェル毎に10μl。
5.膜/アクセプタービーズ溶液を調製し、これをプレートに加える:ウェル毎に10μl。
6.ドナービーズを加える:ウェル毎に30μl。
7.プレートをアルミホイルで包み、振盪機上でRTにて3時間(非常にゆっくりと)インキュベートする。
8.AlphaScreenで計数する。各プレートをAlphaScreenにおいて計数の前に3分間プレインキュベートする。

【０４１８】

結果

EC_{50}[nM]値は、Graph-Pad Prismソフトウェア(バージョン5)を使用して計算した。

【０４１９】

インビトロでの全ての誘導体の効力を確認した。13種の誘導体は、1200pM以下のEC_{50}に対応するインビトロの効力を有した;11種の誘導体は、500pM以下でのEC_{50}に対応してまたさらに改善された効力を有した;7種の誘導体は、200pM以下でのEC_{50}に対応して非常に強力であった;2種の誘導体は、100pM以下のEC_{50}に対応する非常に良好な効力を有した。

【０４２０】

比較のために、Journal of Medicinal Chemistry(2000年)、第43巻、第9号、1664～669頁の表1における化合物番号13(ビス-C12-二酸でK^{26}、^{34}においてアシル化されたGLP-1(7-37))は、1200pMのEC_{50}に対応するインビトロの効力を有した。

【０４２１】

必要に応じて、GLP-1に関して倍の変動は、EC_{50}(GLP-1)/EC_{50}(アナログ)-3693.2として計算し得る。

【０４２２】

(実施例60)

GLP-1受容体結合

この実験の目的は、GLP-1受容体へのGLP-1誘導体の結合、および結合がアルブミンの存在によってどのように潜在的に影響されるかを調査することである。これは、インビトロの実験で下記のように行われる。

【０４２３】

ヒトGLP-1受容体への、実施例1～8、10～15、および19のGLP-1誘導体の結合親和性を、受容体から^{125}I-GLP-1を移動させるGLP-1誘導体の能力によって測定した。アルブミンの存在下での受容体への誘導体の結合を試験するために、低濃度のアルブミン(0.005%-トレーサー中のその残留量に対応する)、および高濃度のアルブミン(2.0%を加える)でアッセイを行った。結合親和性、IC_{50}におけるシフトは、当該の誘導体がアルブミンに結合する指標であり、それによって動物モデルにおける当該の誘導体の潜在的な延長性の薬物動態プロファイルの予測となる。

【０４２４】

条件

種(インビトロ):ハムスター
生物学的エンドポイント:受容体結合
アッセイ法:SPA
受容体:GLP-1受容体
細胞系:BHK tk-ts13

【０４２５】

膜の細胞培養および調製

安定的なトランスフェクトされた細胞系および高発現しているクローンを、スクリーニングのために選択した。細胞を、5%CO_2で、DMEM、10%FCS、1%Pen/Strep(ペニシリン/ストレプトマイシン)および1.0mg/mlの選択マーカーG418中で増殖させた。

【０４２６】

概ね80%コンフルエンスの細胞を、PBSで2回洗浄し、Versene(エチレンジアミン四酢酸のテトラナトリウム塩の水溶液)と共に収集し、1000rpmで5分遠心分離し、上清を除去した。さらなるステップは、全て氷上で行った。細胞ペレットを、適切な量(しかし、例えば、10～20ml)の緩衝液1(20mMのNa-HEPES、10mMのEDTA、pH=7.4)中でUltrathuraxによって20～30秒間ホモジナイズし、20,000rpmで15分遠心分離し、ペレットを適切な量(しかし、例えば、10～20ml)の緩衝液2(20mMのNa-HEPES、0.1mMのEDTA、pH=7.4)に再懸濁させた。懸濁液を20～30秒間ホモジナイズし、20,000rpmで15分遠心分離した。緩衝液2への懸濁、ホモジナイゼーションおよび遠心分離を、もう一度繰り返し、膜を緩衝液2に再懸濁させた。タンパク質濃度を決定し、膜を使用するまで-80℃で保存した。

【０４２７】

SPA結合アッセイ:

試験化合物、膜、SPA-粒子および[^{125}I]-GLP-1(7-36)NH_2を、アッセイ緩衝液に希釈した。25ul(マイクロリットル)の試験化合物を、Optiplateに加える。HSA(2%HSAを含有する「高アルブミン」実験)、または緩衝液(0.005%HSAを含有する「低アルブミン」実験)を加えた(50ul)。0.1～0.2mgのタンパク質/ml(各膜調製のために好ましくは、最適化される)に対応する5～10ugのタンパク質/試料を、加えた(50ul)。SPA-粒子(コムギ胚芽凝集素SPAビーズ、Perkin Elmer、#RPNQ0001)を、0.5mg/ウェル(50ul)の量で加えた。インキュベーションを、[^{125}I]-GLP-1(7-36)NH_2(49.880DPM、25ulに対応する最終濃度0.06nM)と共に開始した。プレートをPlateSealerで密封し、振盪しながら30℃で120分間インキュベートした。プレートを遠心分離(1500rpm、10分)し、Topcounterで計数した。

【０４２８】

アッセイ緩衝液:

50mMのHEPES
5mMのEGTA
5mMの$MgCl_2$
0.005%Tween20
pH7.4

HSAは、SIGMA A1653であった。

【０４２９】

計算

IC_{50}値は、受容体からの^{125}I-GLP-1の50%を移動させる濃度として曲線から読み取り、[(IC_{50}/nM)高HSA]/[(IC_{50}/nM)低HSA]の比を決定した。

【０４３０】

一般に、低アルブミン濃度でのGLP-1受容体への結合は、低いIC_{50}値に対応して、できる限り良好であるべきである。

【０４３１】

高アルブミン濃度でのIC_{50}値は、GLP-1受容体への誘導体の結合に対するアルブミンの影響の尺度である。公知のように、GLP-1誘導体はまた、アルブミンに結合する。これは一般に、血漿中のGLP-1誘導体の寿命を延長させる望ましい作用である。したがって、高アルブミンでのIC_{50}値は一般に、GLP-1受容体への結合と競合するアルブミン結合に起因する、GLP-1受容体への結合の減少に対応して、低アルブミンでのIC_{50}値より高い。

【０４３２】

したがって、高い比(IC_{50}値(高アルブミン)/IC_{50}値(低アルブミン))は、当該の誘導体がアルブミンに良好に結合し(長い半減期を有してもよく)、かつまたそれ自体がGLP-1受容体に良好に結合する(IC_{50}値(高アルブミン)は高く、IC_{50}値(低アルブミン)は低い)という指標と考えてもよい。

【０４３３】
結果
下記の結果を得たが、「比」とは、[(IC_{50}/nM)高HSA]/[(IC_{50}/nM)低HSA]を意味する。
【０４３４】
全ての誘導体は、10超の比を有し;13種の誘導体は、50超であり、11種の誘導体は、100超であり、8種の誘導体は、500超であり、4種の誘導体は、1000超の比を有した。
【０４３５】
さらにIC_{50}(低アルブミン)に関して、全ての誘導体は、35nM未満のIC_{50}(低アルブミン)を有し;14種の誘導体は、15nM未満であり、13種の誘導体は、10nM未満であり、12種の誘導体は、5.0nM未満であり、10種の誘導体は、1.0nM未満であり、6種の誘導体は、0.50nM未満であった。
【０４３６】
最後に、IC_{50}(高アルブミン)に関して、10種の誘導体は、1000nM未満であり;7種の誘導体は、500nM未満であり、3種の誘導体は、250nM未満であった。
【０４３７】
(実施例61)
経口バイオアベイラビリティーの推定-ラットにおける消化管注入(カプリン酸ナトリウム)
この実験の目的は、GLP-1誘導体の経口バイオアベイラビリティーを推定することである。この目的のために、GLP-1誘導体の腸管腔中への直接の注入後の血漿中曝露を、下記に記載されているように、ラットにおいてインビボで研究した。GLP-1誘導体を、55mg/mlのカプリン酸ナトリウムの溶液中で1000uMの濃度で試験した。
【０４３８】
概ね240gの到着時の体重を有する32匹の雄性Sprague-DawleyラットをTaconic(Denmark)から得て、単純な無作為化によって群毎に4匹のラットで異なる処置に割り当てた。ラットを実験の前に概ね18時間絶食させ、全身麻酔(Hypnorm/Dormicum)にかけた。
【０４３９】
GLP-1誘導体を、空腸の近位部(十二指腸について10cm遠位)または中腸(盲腸について50cm近位)に投与した。PE50-カテーテル(10cm長さ)を空腸に挿入し、空腸中に少なくとも1.5cm進め、投与前に先端の遠位で3/0縫合糸によって消化管およびカテーテルの周りを結紮することによって固定し、漏れまたはカテーテルの移動を防止した。カテーテルをシリンジおよび針を伴わずに入れ、切開部を創傷クリップで閉じる前に、2mlの食塩水を腹部に投与した。
【０４４０】
100μlのそれぞれのGLP-1誘導体を、1mlのシリンジを有するカテーテルを通して空腸管腔中に注入した。続いて、200μlの空気を別のシリンジで空腸管腔中に押し入れ、カテーテルを「フラッシュ」した。カテーテルへの逆流を防止するために、このシリンジをカテーテルに結合したままとした。
【０４４１】
血液試料(200ul)を、尾静脈からEDTAチューブ中に所望の間隔(通常、0分、10分、30分、60分、120分および240分の時点)で集め、5分遠心分離した(10000G、4℃で20分以内)。血漿(75ul)をMicronicチューブに分離し、直ちに冷凍し、PoulsenおよびJensen、Journal of Biomolecular Screening、2007年、第12巻、240～247頁によってインスリンの決定について一般に記載されているように、LOCI(発光酸素チャネリング免疫アッセイ)によってそれぞれのGLP-1誘導体の血漿濃度について分析するまで-20℃で保持した。ドナービーズは、ストレプトアビジンでコーティングし、一方、アクセプタービーズは、ペプチドの中央/C末端エピトープを認識するモノクローナル抗体と結合させた。N末端に特異的な別のモノクローナル抗体を、ビオチン化した。3種の反応物を分析物と合わせ、2部位免疫複合体を形成させた。複合体を照射すると、ドナービーズから一重項酸素原子が放出し、これはアクセプタービーズ中に導かれ、化学発光を誘発したが、これをEnvisionプレートリー

ダーで測定した。光の量は、化合物の濃度と比例した。

【０４４２】

血液採取後、ラットを麻酔下で屠殺し、腹部を開き、正確なカテーテルの配置を確認した。

【０４４３】

平均(n=4)血漿濃度(pmol/l)を、時間の関数として決定した。血漿濃度(pmol/l)を投与溶液の濃度(μmol/l)で割った比を、各処置について計算し、腸のバイオアベイラビリティーの代替的測定値として、t=30分(空腸中への化合物の注入の30分後)についての結果を評価した(30分での用量補正した曝露)。用量補正した曝露は、実際のバイオアベイラビリティーと相関すると予想される。

【０４４４】

30分での用量補正した曝露とは、(空腸中への化合物の注入30分後の血漿濃度(pM))を、(投与溶液中の化合物の濃度(pM))で割った商を意味する。

【０４４５】

(実施例62)

経口バイオアベイラビリティーの推定-ラットにおける消化管注入および経口胃管栄養補給(SNAC)

この実験の目的は、ラットモデルにおけるGLP-1誘導体の経口バイオアベイラビリティーを推定することである。手短に言えば、GLP-1誘導体のN-[8-(2-ヒドロキシベンゾイル)アミノ]カプリル酸ナトリウム(SNAC)溶液を、消化管注入によって(腸に)、または経口胃管栄養補給によって(胃に)投与し、それに続くGLP-1誘導体の血漿中曝露を測定する。

【０４４６】

250mg/mlのSNACのストック溶液は、SNAC(12.5g)を高度に純粋な実験用水(MilliQ)(50.0ml)に溶解することによって調製した。pHを、1NのNaOH(水溶液)で約8.5に調節した。

【０４４７】

所望の量のそれぞれのGLP-1誘導体をSNACストック溶液に溶解することによって、250mg/mlのSNAC中の、約1000uM(800～1200uM)の、それぞれ、実施例5～8、11～13、および15のGLP-1誘導体を有する溶液を調製した。GLP-1誘導体の濃度を、現況技術の方法、例えば、CLND-HPLC(HPLCのための化学発光窒素検出)によって投与前に決定した。

【０４４８】

概ね240gの到着時の体重を有する32匹の雄性Sprague-Dawleyラットは、Taconic(Denmark)から得て、単純な無作為化によって群毎に8匹のラットで異なる処置に割り当てた。全てのラットをグリッド上で実験前に概ね18時間絶食させた。

【０４４９】

消化管注入のために、実験の日に、ラットに全身麻酔(Hypnorm/Dormicum)をかけ、全実験の間麻酔し続けた。実施例5～7のGLP-1誘導体を、空腸の近位部(十二指腸について10cm遠位)に投与した。PE50-カテーテル(10cm長さ)を空腸に挿入し、空腸中に少なくとも1.5cm進め、投与前に消化管の周りを結紮することによって固定した。さらに、カテーテルに先端の遠位で3/0縫合糸を施し、漏れまたはカテーテルの移動を防止した。カテーテルをシリンジおよび針を伴わずに入れ、切開部を創傷クリップで閉じる前に、2mlの食塩水を腹部に投与した。

【０４５０】

100μlのそれぞれのGLP-1誘導体のSNAC溶液を、1mlのシリンジを有するカテーテルを通して空腸管腔中に注入した。続いて、200μlの空気を別のシリンジで空腸管腔に押し入れ、カテーテルを「フラッシュ」した。カテーテルへの逆流を防止するために、このシリンジをカテーテルに結合したままとした。

【０４５１】

血液試料(200ul)を、尾静脈からEDTAチューブ中に所望の間隔(通常、0分、30分、60分、120分および180分の時点)で集めた。

【０４５２】

経口胃管栄養補給では、全実験の間、動物は意識があった。

【０４５３】

それぞれ、実施例5～8、11～13、および15のGLP-1誘導体のSNAC溶液(100μl)を、経口胃管栄養補給によって胃に直接投与した。

【０４５４】

血液試料(200ul)を、舌下の神経叢からEDTAチューブ中に、所望の間隔(通常、0分、30分、60分、120分および180分の時点)で集めた。

【０４５５】

全ての得られた血液試料を氷上に保持し、5分間遠心分離した(10000G、4℃で20分以内)。血漿(75ul)をMicronicチューブに分離し、直ちに冷凍し、PoulsenおよびJensen、Journal of Biomolecular Screening、2007年、第12巻、240～247頁によってインスリンの決定について一般に記載されているように、LOCI(発光酸素チャネリング免疫アッセイ)によってそれぞれのGLP-1誘導体の血漿濃度について分析するまで-20℃で保持した。ドナービーズは、ストレプトアビジンでコーティングし、一方、アクセプタービーズは、ペプチドの中央/C末端エピトープを認識するモノクローナル抗体と結合させた。N末端に特異的な別のモノクローナル抗体を、ビオチン化した。3種の反応物を分析物と合わせ、2部位免疫複合体を形成させた。複合体を照射すると、ドナービーズから一重項酸素原子が放出し、これはアクセプタービーズ中に導かれ、化学発光を誘発したが、これをEnvisionプレートリーダーで測定した。光の量は、化合物の濃度と比例した。

【０４５６】

血液採取後に、全てのラットを麻酔下で屠殺し、消化管注入ラットの腹部を開き、正確なカテーテルの配置を確認した。

【０４５７】

平均(n=8)血漿濃度(pmol/l)を、時間の関数として決定した。30～180(分)の時点の血漿曝露(pmol/l)対時間曲線のAUCを、用量補正した(すなわち、投与した溶液中の誘導体の量(用量)(pmol)で割った)。30～180分の時点の、このように用量補正した血漿曝露のAUC(分×pM/pmol=分/Lの単位を有する)を、ラットモデルにおけるこれらの吸収に関して誘導体を順位付ける尺度であるバイオアベイラビリティーの代替的測定値として使用した。

【０４５８】

下記の結果を得た。

【０４５９】

消化管注入実験について、30～180分の時点の、試験したGLP-1誘導体についての用量補正した血漿曝露のAUCは、170～322(分×pM/pmol)の範囲であった。3種の試験した化合物の2種は、250(分×pM/pmol)超であった。

【０４６０】

経口胃管栄養補給実験について、30～180分の時点の、試験したGLP-1誘導体についての用量補正した血漿曝露のAUCは、18～75(分×pM/pmol)の範囲であった。8種の試験した化合物のうち、6種は、20(分×pM/pmol)超であり、4種は、40(分×pM/pmol)超であり、2種は、60(分×pM/pmol)超であった。

【０４６１】

(実施例63)

血中グルコースおよび体重に対する作用-PD db/dbマウス

研究の目的は、糖尿病性の状態における血中グルコース(BG)および体重(BW)に対するGLP-1誘導体の作用を検証することである。

【０４６２】

下記に記載されているように、GLP-1誘導体を、肥満の糖尿病性マウスモデル(db/dbマウス)で用量反応研究において試験した。

【０４６３】

生まれたときからNIH31食餌(NIH31Mげっ歯類用食餌、Taconic Farms、Inc.、USから市販されている。www.taconic.comを参照されたい)を摂食させた50匹のdb/dbマウス(Taconi

c、Denmark)を、7～9週齢で研究に登録した。マウスは標準的飼料(例えば、Altromin1324、Brogaarden、Gentofte、Denmark)および水道水に自由にアクセスさせ、24℃に保持した。

【０４６４】

1～2週間の順化後、基礎血中グルコースを、連続2日で2回評価した(すなわち、9am)。最も低い血中グルコース値を有する8匹のマウスを、実験から除外した。平均血中グルコース値に基づいて、残りの42匹のマウスをさらなる実験法のために選択し、対応する血中グルコース値を有する7つの群(n=6)に割り当てた。マウスを、5日の期間、4回まで実験において使用した。最後の実験の後に、マウスを安楽死させた。

【０４６５】

7つの群は、下記のように処置を受けた。

1:ビヒクル、s.c.
2:GLP-1誘導体、0.3nmol/kg、s.c.
3:GLP-1誘導体、1.0nmol/kg、s.c.
4:GLP-1誘導体、3.0nmol/kg、s.c.
5:GLP-1誘導体、10nmol/kg、s.c.
6:GLP-1誘導体、30nmol/kg、s.c.
7:GLP-1誘導体、100nmol/kg、s.c.
ビヒクル:50mMのリン酸ナトリウム、145mMの塩化ナトリウム、0.05%Tween80、pH7.4。

【０４６６】

GLP-1誘導体を、0.05nmol/ml、0.17nmol/ml、0.5nmol/ml、1.7nmol/ml、5.0nmol/mlおよび17.0nmol/mlの濃度に、ビヒクルに溶解した。動物に、6ml/kgの投与容量でs.c.投与した(すなわち、50gのマウス毎に300μl)。

【０４６７】

投与の日に、-1/2時間の時点(8.30am)で血中グルコースを評価した(マウスを秤量した後)。GLP-1誘導体を、概ね9am(0時点)に投与した。投与の日において、1時間、2時間、4時間および8時間の時点(10am、11am、1pmおよび5pm)で血中グルコースを評価した。

【０４６８】

それに続く日に、投与後、24時間および48時間の時点(ならびに所望の場合、また、投与後、72時間、および96時間の時点)、すなわち、2日目および3日目の9amに(ならびに所望の場合、4日目および5日目の9amに)、血中グルコースを評価する。毎日、血中グルコースの試料採取に続いてマウスを秤量した。

【０４６９】

マウスを個々にデジタルウェイトで秤量した。

【０４７０】

血中グルコースの測定のための試料は、意識のあるマウスの尾の先端の毛細管から得た。血液(10μl)をヘパリン処理した毛細管に集め、500μlのグルコース緩衝液(EKF system solution、Eppendorf、Germany)に移した。グルコース濃度を、グルコースオキシダーゼ法を使用して測定した(グルコース分析器Biosen5040、EKF Diagnostic、GmbH、Barleben、Germany)。分析まで試料を室温で1時間まで保持した。分析を延期しなくてはならない場合、試料を4℃で最大で24時間保持した。

【０４７１】

ED_{50}は、最大半減効果を生じさせる用量である(nmol/kg)。この値は、下記で説明するように、誘導体が体重を低下させる能力、および血中グルコースを低下させる能力を基準として計算する。

【０４７２】

体重についてのED_{50}は、誘導体の皮下投与の24時間後に、ΔBWに対して最大半量効果を生じさせる用量として計算する。例えば、24時間後の体重の最大減少が4.0gである場合、ED_{50}体重は、24時間後に2.0gの体重減少を生じさせる用量(nmol/kg)である。この用量(ED_{50}体重)は、用量反応曲線から読み取ってもよい。

【０４７３】
血中グルコースについてのED_{50}は、アナログの皮下投与の8時間後に、AUCδBGに対して最大半量効果を生じさせる用量として計算する。
【０４７４】
ED_{50}値は、最大反応を明確に定義して、適切なシグモイド用量反応関係が存在する場合のみ計算し得る。したがって、これが当てはまらない場合、当該の誘導体を、シグモイド用量反応関係が得られるまで、異なる範囲の用量で再試験する。
【０４７５】
(実施例64)
食物摂取量に対する作用-PD LYDブタ
この実験の目的は、ブタにおいて食物摂取量に対するGLP-1誘導体の作用を調査することである。これは、下記のような薬力学的(PD)研究において行う。食物摂取量を、ビヒクル処置対照群と比較して、単回用量のGLP-1誘導体の投与の1日、2日、3日、および4日後に測定する。
【０４７６】
概ね3カ月齢、概ね30～35kgの体重の雌性Landrace Yorkshire Duroc(LYD)ブタを使用した(群毎にn=3～4)。動物は、動物施設への順化の間、1～2週間群で収容した。実験期間の間、動物を、個々の食物摂取量の測定のために、月曜日の朝から金曜日の午後まで個々の檻に入れた。動物に順化および実験期間の間の両方で常に、ブタ飼料(Svinefoder、Antonio)を自由に摂食させた。食物摂取量は、15分毎に飼料の重量をロギングすることによってオンラインでモニターした。使用したシステムは、Mpigwin(Ellegaard Systems、Faaborg、Denmark)であった。
【０４７７】
GLP-1誘導体を、リン酸緩衝液(50mMのホスフェート、0.05%Tween80、pH8)に、0.3nmol/kg、1nmol/kg、3nmol/kg、10nmol/kgまたは30nmol/kgの用量に対応する、12nmol/ml、40nmol/ml、120nmol/ml、400nmol/mlまたは1200nmol/mlの濃度で溶解した。リン酸緩衝液は、ビヒクルの役割を果たした。動物に、1日目の朝にGLP-1誘導体またはビヒクル(投与容量0.025ml/kg)の単回皮下用量を投与し、投与後に食物摂取量を3～4日間測定した。各研究の最終日の投与3～4日後に、GLP-1誘導体の血漿曝露の測定のための血液試料を、麻酔した動物の心臓から採取した。動物はその後、ペントバルビトンの心臓内過剰投与によって安楽死させた。GLP-1誘導体の血漿含量を、ELISAまたは同様の抗体をベースとするアッセイを使用して分析した。
【０４７８】
食物摂取量を、3～4研究日それぞれの24時間食物摂取量の平均±SEMとして計算した。ビヒクル群対GLP-1誘導体群における4日の24時間食物摂取量の統計的比較は、一元配置または二元配置ANOVA反復測定、続いてボンフェローニ事後試験を使用して行った。
【０４７９】
実施例1、5、および6の誘導体を、3nM/kgの投与量で上記のように試験した。誘導体の2種は、1日目(0～24時間)および2日目(24～48時間)に、ビヒクル処置群と比較して食物摂取量を有意に減少させた。これらの1種はまた、3日目(48～72時間)および4日目(72～96時間)に、食物摂取量を有意に減少させた。予想どおりに、誘導体の食物摂取量を減少させる作用は、誘導体の末端半減期によって、研究期間中に1日毎に減少した。
【０４８０】
(実施例65)
ラットにおける半減期-PKラット
この実施例の目的は、ラットにおけるインビボでの半減期を調査することである。
【０４８１】
ラットにおいてインビボの薬物動態研究を、下記に記載されているように、3つのGLP-1誘導体(実施例5、7、および11の化合物)で行った。
【０４８２】

400～600gの体重を有する同じ週齢の雄性Sprague-DawleyラットをTaconic(Denmark)から得て、各群における全ての動物が同様の体重であるように、体重について単純な無作為化によって群毎に概ね3～6匹のラットで処置に割り当てる。

【０４８３】

GLP-1誘導体(概ね6nmole/ml)は、50mMのリン酸ナトリウム、145mMの塩化ナトリウム、0.05%Tween80、pH7.4に溶解した。化合物の静脈内注射(1.0ml/kg)を、右頸静脈にインプラントしたカテーテルによって与えた。投与後5日間、血液を舌下静脈から試料採取した。血液試料(200μl)を、EDTA緩衝液(8mM)中に集め、次いで4℃および10000Gで5分間遠心分離した。血漿試料を、それぞれのGLP-1化合物の血漿濃度について分析するまで-20℃で保持した。

【０４８４】

GLP-1化合物の血漿濃度は、PoulsenおよびJensen、Journal of Biomolecular Screening、2007年、第12巻、240～247頁によってインスリンの決定について一般に記載されているように発光酸素チャネリング免疫アッセイ(LOCI)を使用して決定した。ドナービーズは、ストレプトアビジンでコーティングし、一方、アクセプタービーズは、ペプチドの中央/C末端エピトープを認識するモノクローナル抗体と結合させた。N末端特異的な別のモノクローナル抗体を、ビオチン化した。3種の反応物を分析物と合わせ、2部位免疫複合体を形成させた。複合体を照射すると、ドナービーズから一重項酸素原子が放出し、これはアクセプタービーズ中に導かれ、化学発光を誘発したが、これをEnvisionプレートリーダーで測定した。光の量は、化合物の濃度と比例した。

【０４８５】

血漿濃度-時間プロファイルを、WinNonlin(バージョン5.0、Pharsight Inc.、Mountain View、CA、USA)を使用して分析し、半減期($T_{1/2}$)を、各動物からの個々の血漿濃度-時間プロファイルを使用して計算した。

【０４８６】

全ての試験した誘導体は10時間超、2種は15超、および1種は20時間超の半減期を有した。

【０４８７】

(実施例66)

ミニブタにおける半減期-PKミニブタ

この研究の目的は、ミニブタへのi.v.投与の後のGLP-1誘導体のインビボでの延長、すなわち、これらの作用時間の延長を決定することである。これは、当該の誘導体の末端半減期を決定する薬物動態学的(PK)研究において行われる。末端半減期とは一般に、最初の分布相の後に測定して、特定の血漿濃度を半減させるのにかかる期間を意味する。

【０４８８】

概ね7～14カ月齢および概ね16～35kgの体重の雄性Gottingenミニブタ(Ellegaard Gottingenミニブタ A/S、Dalmose、Denmark)を、研究において使用した。ミニブタを個々に収容し、SDSミニブタ食餌(Special Diets Services、Essex、UK)を1日1回または2回制限的に摂食させた。少なくとも2週間の順化の後、2つの永久中心静脈カテーテルを、各動物の下大静脈または上大静脈にインプラントした。動物は手術後に1週間回復させ、次いで投与の間に適切な休薬期間を取って繰り返される薬物動態研究のために使用した。

【０４８９】

動物に投与の前概ね18時間および投与の後少なくとも4時間絶食させたが、全期間の間に水に自由にアクセスさせた。

【０４９０】

実施例5、6、8、および11のGLP-1誘導体を、50mMのリン酸ナトリウム、145mMの塩化ナトリウム、0.05%Tween80、pH7.4に通常20～60nmol/mlの濃度まで溶解した。

【０４９１】

化合物の静脈内注射(容量は通常1～2nmol/kgに対応する)を、1つのカテーテルによって与え、投与後13日まで事前に定めた時点において血液を試料採取した(好ましくは、他の

カテーテルによって)。血液試料をEDTA緩衝液(8mM)中で集め、次いで、4℃および1942Gで10分間遠心分離した。

【０４９２】

血漿を、ドライアイス上のMicronicチューブ中にピペットで移し、ELISAまたは同様の抗体をベースとするアッセイまたはLC-MSを使用してそれぞれのGLP-1化合物の血漿濃度について分析するまで-20℃で保持した。個々の血漿濃度-時間プロファイルを、WinNonlin v.5.0(Pharsight Inc.、Mountain View、CA、USA)でノンコンパートメントモデルによって分析し、このように得られた末端半減期(調和平均)を決定した。

【０４９３】

下記の結果を得た:全ての誘導体は5時間超;3種の誘導体は25時間超;および1種の誘導体は50時間超の末端半減期を有した。

【０４９４】

本発明の特定の特徴を本明細書に例示および記載してきた一方で、多くの修正、置換、変化、および同等物がいまや当業者には思い当たるであろう。したがって、添付の特許請求の範囲は、本発明の真の範囲に入るものとして全てのこのような修正および変更を包含することを意図することが理解される。

【配列表】

2016188246000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ 3/06	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/06	
Ａ６１Ｐ 43/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１０５
Ａ６１Ｋ 38/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	37/02	
Ａ６１Ｐ 1/14	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	1/14	
Ａ６１Ｋ 47/48	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/48	

(31)優先権主張番号 10190515.6
(32)優先日 平成22年11月9日(2010.11.9)
(33)優先権主張国 欧州特許庁(EP)

(72)発明者 イェスペル・ラウ
デンマーク・ＤＫ－２８８０・バウスヴェア・ノヴォ・アレ・（番地なし）
(72)発明者 ラルス・リンデロート
デンマーク・ＤＫ－２８８０・バウスヴェア・ノヴォ・アレ・（番地なし）
(72)発明者 パトリック・ウィリアム・ガリバイ
デンマーク・ＤＫ－２８８０・バウスヴェア・ノヴォ・アレ・（番地なし）
(72)発明者 トーマス・クルーセ
デンマーク・ＤＫ－２８８０・バウスヴェア・ノヴォ・アレ・（番地なし）

Ｆターム(参考) 4C076 BB01 BB13 BB16 CC11 CC16 CC17 CC21 CC26 CC30 DD52
EE41 FF68
4C084 AA02 AA07 BA01 BA19 CA59 DB35 MA52 MA65 NA10 NA14
ZA361 ZA362 ZA661 ZA662 ZA691 ZA692 ZA811 ZA812 ZB211 ZB212
ZC331 ZC332 ZC351 ZC352
4H045 AA10 AA30 BA19 BA50 DA30 EA27 FA33

【外国語明細書】
2016188246000001.pdf