

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2015-502380

(P2015-502380A)

(43) 公表日 平成27年1月22日 (2015.1.22)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 K 14/605 (2006.01)	C O 7 K 14/605 Z N A	4 B O 2 4
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 A	4 B O 6 5
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 C O 7 6
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 C O 8 4
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	4 H O 4 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 40 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2014-547973 (P2014-547973)	(71) 出願人	502453045
(86) (22) 出願日	平成24年12月19日 (2012.12.19)		ジーランド ファーマ アクティーゼルス
(85) 翻訳文提出日	平成26年8月13日 (2014.8.13)		カブ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2012/076137		デンマーク国, デーコー 2600 グロ
(87) 国際公開番号	W02013/092703		ストルップ, スメデランド 36
(87) 国際公開日	平成25年6月27日 (2013.6.27)	(71) 出願人	503385923
(31) 優先権主張番号	61/579,888		ベーリンガー インゲルハイム インター
(32) 優先日	平成23年12月23日 (2011.12.23)		ナショナル ゲゼルシャフト ミット ベ
(33) 優先権主張国	米国 (US)		シュレンクテル ハフツング
			ドイツ連邦共和国 55216 インゲル
			ハイム アム ライン ビンガー シュト
			ラーセ 173
		(74) 代理人	100099759
			弁理士 青木 篤
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 グルカゴン類似体

(57) 【要約】

本発明は、グルカゴン類似体ペプチド並びにその体重減少の促進又は体重増加の防止のための使用及び肥満又は過剰な体重及び関連する症状の治療のための使用を提供する。当該化合物は、血糖管理を促進し、及び/又は糖尿病を治療するためにも使用され得る。当該化合物は、特に、ヒト・グルカゴンと比較して G L P - 1 受容体に対する選択性が増大していることにより、それらの効果を媒介し得る。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の式：



〔式中、

R^1 は H、 C_{1-4} アルキル、アセチル、ホルミル、ベンゾイル又はトリフルオロアセチルであり；

R^2 は OH 又は NH_2 であり；

X は、式 I：

H i s - X 2 - X 3 - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - T y r - S e r - X 1 2 - T y r - L e u - A s p - X 1 6 - A r g - A r g - A l a - X 2 0 - A s p - P h e - I l e - X 2 4 - T r p - L e u - X 2 7 - X 2 8 - X 2 9 (I) 10

{ 式中、

X 2 は、S e r、D - S e r、及び A i b から選択され；

X 3 は、G l n、H i s、及び P r o から選択され；

X 1 2 は、L y s、及び Y から選択され；

X 1 6 は、G l u、及び Y から選択され；

X 2 0 は、L y s、及び Y から選択され；

X 2 4 は、G l u、及び Y から選択され；

X 2 7 は、L e u、及び Y から選択され； 20

X 2 8 は、S e r、及び Y 選択され、又は不在であり；

X 2 9 は、A l a 又は不在であり；

1 つ以上の X 1 2、X 1 6、X 1 7、X 2 0、X 2 7 及び X 2 8 が Y であり；

各残基 Y が独立して L y s、C y s 及び O r n から選択され；

1 つ以上のアミノ酸残基 Y の側鎖が、以下の式：

(i) Z^1 (式中、 Z^1 は、Y の側鎖と直接連結した親油性部分である) 又は

(i i) $Z^1 Z^2$ (式中、 Z^1 は親油性部分、 Z^2 はスペーサーであり、 Z^1 は Z^2 を介して Y の側鎖と連結する)

を有する親油性置換基と連結する }

で表されるペプチドであり；そして 30

Z は不在、又は A l a、L e u、S e r、T h r、T y r、C y s、G l u、L y s、A r g、D b u、D p r 及び O r n からなる群から独立して選択される 1 ~ 2 0 個のアミノ酸単位の配列を有する]

で表される化合物、又はその医薬として許容される塩。

【請求項 2】

X が、式 I a：

H i s - X 2 - G l n - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - T y r - S e r - L y s - T y r - L e u - A s p - X 1 6 - A r g - A r g - A l a - X 2 0 - A s p - P h e - I l e - X 2 4 - T r p - L e u - X 2 7 - X 2 8 - A l a (I a) 40

〔 式中、

X 2 は、S e r、D - S e r 及び A i b から選択され；

X 1 6 は、G l u 及び Y から選択され；

X 2 0 は、L y s 及び Y から選択され；

X 2 4 は、G l u 及び Y から選択され；

X 2 7 は、L e u 及び Y から選択され；そして

X 2 8 は、S e r 及び Y から選択される]

で表される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

X が以下の配列

H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D K R R A K D F I E W L L S A； 50

H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I E W L L S A ;
 H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I K W L L S A ;
 H S Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I K W L L S A ;
 H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I E W L K S A ; 又は
 H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I E W L L K A
 を有する、請求項 1 又は 2 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 4】

X が、以下の配列

H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D K * R R A K D F I E W L L S A ;
 H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K * D F I E W L L S A ;
 H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I K * W L L S A ;
 H S Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I K * W L L S A ;
 H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I E W L K * S A ; 又は
 H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I E W L L K * A ;
 を有し、K * が、親油性置換基が連結した L y s 残基を示す、請求項 3 に記載の化合物。

10

【請求項 5】

以下の式

$R^1 - X - Z - R^2$

[式中、

R^1 は H、 C_{1-4} アルキル、アセチル、ホルミル、ベンゾイル又はトリフルオロアセチルであり；

20

R^2 は OH 又は NH_2 であり；

X は、式 I I

H i s - X 2 - X 3 - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - T y r - S e
 r - X 1 2 - T y r - L e u - A s p - X 1 6 - X 1 7 - A r g - A l a - X 2 0 - A s
 p - P h e - I l e - X 2 4 - T r p - L e u - X 2 7 - X 2 8 - X 2 9 (I I)

{ 式中、

X 2 は、S e r、D - S e r 及び A i b から選択され；

X 3 は、G l n、H i s 及び P r o から選択され；

X 1 2 は、A r g、L y s 及び Y から選択され；

30

X 1 6 は、G l u 及び Y から選択され；

X 1 7 は、A r g 及び Y から選択され；

X 2 0 は、L y s、A r g 及び Y から選択され；

X 2 4 は、G l u 及び Y から選択され；

X 2 7 は、L e u 及び Y から選択され；

X 2 8 は、S e r 及び Y から選択され、又は不在であり；

X 2 9 は A l a 又は不在であり；

ここで X 1 2 及び / 又は X 2 0 が A r g であり；

ここで X 1 2、X 1 6、X 1 7、X 2 0、X 2 4、X 2 7 及び X 2 8 の 1 つ以上が Y であ
 り；

40

各残基 Y が独立して L y s、C y s 及び O r n から選択され；

1 つ以上のアミノ酸残基 Y の側鎖が、以下の式：

(i) Z^1 (式中、 Z^1 は、Y の側鎖と直接連結した親油性部分である) 又は

(i i) $Z^1 Z^2$ (式中、 Z^1 は親油性部分、 Z^2 はスペーサーであり、 Z^1 は Z^2 を介
 して Y の側鎖と連結する)

を有する親油性置換基と連結する }

で表されるペプチドであり；そして

Z は不在、又は A l a、L e u、S e r、T h r、T y r、C y s、G l u、L y s、A
 r g、D b u、D p r 及び O r n からなる群から独立して選択される 1 ~ 2 0 個のアミノ
 酸単位の配列を有する]

50

で表される化合物、又はその医薬として許容される塩。

【請求項 6】

X 1 2 が A r g である、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 7】

X が式 I I a :

H i s - X 2 - X 3 - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - T y r - S e
r - A r g - T y r - L e u - A s p - X 1 6 - X 1 7 - A r g - A l a - X 2 0 - A s
p - P h e - I l e - X 2 4 - T r p - L e u - L e u - S e r - A l a (I I a)

[式中、

X 2 は、S e r、D - S e r 及び A i b から選択され；

X 3 は、G l n、H i s 及び P r o から選択され；

X 1 6 は、G l u 及び Y から選択され；

X 1 7 は、A r g 及び Y から選択され；

X 2 0 は、A r g 及び L y s から選択され；そして

X 2 4 は、G l u 及び Y から選択される]

で表される、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 8】

X が、式 I I b :

H i s - X 2 - X 3 - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - T y r - S e
r - A r g - T y r - L e u - A s p - G l u - X 1 7 - A r g - A l a - A r g - A s
p - P h e - I l e - G l u - T r p - L e u - L e u - S e r - A l a (I I b)

[式中、

X 2 は S e r、D - S e r 及び A i b から選択され；

X 3 は G l n、H i s 及び P r o から選択され；そして

X 1 7 は Y である]

で表される、請求項 7 に記載の化合物。

【請求項 9】

X が、以下の配列

H S Q G T F T S D Y S R Y L D E K R A R D F I E W L L S A ;
H - D S e r - Q G T F T S D Y S R Y L D E K R A R D F I E W L L S A ;
H - A i b - Q G T F T S D Y S R Y L D E K R A R D F I E W L L S A ;
H S H G T F T S D Y S R Y L D E K R A R D F I E W L L S A ;
H - D S e r - H G T F T S D Y S R Y L D E K R A R D F I E W L L S A ;
H - A i b - G T F T S D Y S R Y L D E K R A R D F I E W L L S A ;
H S P G T F T S D Y S R Y L D E K R A R D F I E W L L S A ;
H - D S e r - P G T F T S D Y S R Y L D E K R A R D F I E W L L S A ;
H - A i b - P G T F T S D Y S R Y L D E K R A R D F I E W L L S A ; 又は
H - A i b - Q G T F T S D Y S R Y L D E K R A K D F I E W L L S A

を有する、請求項 5 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 10】

X が、以下の配列

H S Q G T F T S D Y S R Y L D E K * R A R D F I E W L L S A ;
H - D S e r - Q G T F T S D Y S R Y L D E K * R A R D F I E W L L S A ;
H - A i b - Q G T F T S D Y S R Y L D E K * R A R D F I E W L L S A ;
H S H G T F T S D Y S R Y L D E K * R A R D F I E W L L S A ;
H - D S e r - H G T F T S D Y S R Y L D E K * R A R D F I E W L L S A ;
H - A i b - G T F T S D Y S R Y L D E K * R A R D F I E W L L S A ;
H S P G T F T S D Y S R Y L D E K * R A R D F I E W L L S A ;
H - D S e r - P G T F T S D Y S R Y L D E K * R A R D F I E W L L S A ;
H - A i b - P G T F T S D Y S R Y L D E K * R A R D F I E W L L S A ; 又は

H - A i b - Q G T F T S D Y S R Y L D E K * R A K D F I E W L L S A ;

を有し、K * が、親油性置換基が連結した L y s 残基を示す、請求項 9 に記載の化合物。

【請求項 1 1】

以下の式：

$R^1 - X - Z - R^2$

[式中、

R^1 は H、 C_{1-4} アルキル、アセチル、ホルミル、ベンゾイル又はトリフルオロアセチルであり；

R^2 は OH 又は NH_2 であり；

X は、式 I：

H i s - X₂ - X₃ - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - T y r - S e r - X₁₂ - T y r - L e u - A s p - X₁₆ - A r g - A r g - A l a - X₂₀ - A s p - P h e - I l e - X₂₄ - T r p - L e u - X₂₇ - X₂₈ - X₂₉ (I)

{ 式中、

X₂ は、S e r、D - S e r、及び A i b から選択され；

X₃ は、G l n、H i s、及び P r o から選択され；

X₁₂ は、L y s、及び Y から選択され；

X₁₆ は、G l u、及び Y から選択され；

X₁₇ は、A r g、及び Y から選択され；

X₂₀ は、L y s、及び Y から選択され；

X₂₄ は、G l u、及び Y から選択され；

X₂₇ は、L e u、及び Y から選択され；

X₂₈ は、S e r、及び Y 選択され、又は不在であり；

X₂₉ は、A l a 又は不在であり；

X₂ が S e r 又は A i b である場合、X₃ は H i s 又は P r o であり、X₃ が G l n である場合、X₂ は D - S e r であり；

1 つ以上の X₁₂、X₁₆、X₁₇、X₂₀、X₂₄、X₂₇ 及び X₂₈ が Y であり；

各残基 Y が独立して L y s、C y s 及び O r n から選択され；

X の 1 つ以上のアミノ酸残基 Y の側鎖が、以下の式：

(i) Z^1 (式中、 Z^1 は、Y の側鎖と直接連結した親油性部分である) 又は

(i i) $Z^1 Z^2$ (式中、 Z^1 は親油性部分、 Z^2 はスペーサーであり、 Z^1 は Z^2 を介して Y の側鎖と連結する)

を有する親油性置換基と連結する }

で表されるペプチドであり；そして

Z は不在、又は A l a、L e u、S e r、T h r、T y r、C y s、G l u、L y s、A r g、D b u、D p r 及び O r n からなる群から独立して選択される 1 ~ 20 個のアミノ酸単位の配列を有する]

で表される化合物、又はその医薬として許容される塩。

【請求項 1 2】

X が、式 I I I a：

H i s - X₂ - X₃ - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - T y r - S e r - X₁₂ - T y r - L e u - A s p - X₁₆ - X₁₇ - A r g - A l a - X₂₀ - A s p - P h e - I l e - X₂₄ - T r p - L e u - L e u - S e r - A l a (I I I a)

[式中、

X₂ は、S e r、D - S e r 及び A i b から選択され；

X₃ は、G l n、H i s 及び P r o から選択され；

X₁₂ は、L y s 及び Y から選択され；

X₁₆ は、G l u 及び Y から選択され；

X₁₇ は、A r g 及び Y から選択され；

X₂₀ は、L y s 及び Y から選択され；そして

X 2 4 は、G l u 及び Y から選択される]
で表される、請求項 1 1 に記載の化合物。

【請求項 1 3】

X が、式 I I I b :

H i s - X 2 - X 3 - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - T y r - S e
r - L y s - T y r - L e u - A s p - G l u - X 1 7 - A r g - A l a - L y s - A s
p - P h e - I l e - G l u - T r p - L e u - L e u - S e r - A l a (I I I b)

[式中、

X 2 は、S e r、D - S e r 及び A i b から選択され；

X 3 は、G l n、H i s 及び P r o から選択され；そして

X 1 7 は Y である]

で表される、請求項 1 2 に記載の化合物。

【請求項 1 4】

X が、以下の配列：

H - D S e r - Q G T F T S D Y S K Y L D E K R A K D F I E W L L S A ；

H S H G T F T S D Y S K Y L D E K R A K D F I E W L L S A ；

H - D S e r - H G T F T S D Y S K Y L D E K R A K D F I E W L L S A ；

H S P G T F T S D Y S K Y L D E K R A K D F I E W L L S A ；又は

H - D S e r - P G T F T S D Y S K Y L D E K R A K D F I E W L L S A

を有する、請求項 1 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 1 5】

X が、以下の配列：

H - D S e r - Q G T F T S D Y S K Y L D E K * R A K D F I E W L L S A ；

H S H G T F T S D Y S K Y L D E K * R A K D F I E W L L S A ；

H - D S e r - H G T F T S D Y S K Y L D E K * R A K D F I E W L L S A ；

H S P G T F T S D Y S K Y L D E K * R A K D F I E W L L S A ；又は

H - D S e r - P G T F T S D Y S K Y L D E K * R A K D F I E W L L S A ；

を有し、K * が、親油性置換基が連結した L y s 残基を示す、請求項 1 4 に記載の化合物。

【請求項 1 6】

ペプチド X が残基 Y を 1 つだけ含有する、請求項 1 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 1 7】

残基 Y が L y s である、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 1 8】

Z が、L y s₃、L y s₄、L y s₅、L y s₆ 及び L y s₇ から選択される、請求項 1 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 1 9】

Z が不在である、請求項 1 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 2 0】

Z¹ が、ヘキサデカノイル or オクタデカノイル部分を含有する、請求項 1 ~ 1 9 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 2 1】

親油性置換基がヘキサデカノイル - i s o G l u 又はオクタデカノイル - i s o - G l u である、請求項 2 0 に記載の化合物。

【請求項 2 2】

R¹ が H である、請求項 1 ~ 2 1 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 2 3】

R² が N H₂ である、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 2 4】

10

20

30

40

50

1つ以上のアミノ酸側鎖がポリマー部分と連結している、請求項1～23のいずれか1項に記載の化合物。

【請求項25】

ペプチドX中の1つ以上のアミノ酸側鎖がポリマー部分と連結している、請求項24に記載の化合物。

【請求項26】

以下の式：

H - H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u)
- R R A K D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物1]；

H - H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物2]； 10

H - H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - W L L S A - N H ₂ [化合物3]；

H - H S Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - W L L S A - N H ₂ [化合物4]；

H - H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I E W L - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - S A - N H ₂ [化合物5]；又は

H - H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I E W L L - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - A - N H ₂ [化合物6]；

で表される請求項1に記載の化合物又はその医薬として許容される塩。 20

【請求項27】

以下の式：

H - H S Q G T F T S D Y S R Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A R D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物7]；

H - H - D S e r - Q G T F T S D Y S R Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A R D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物8]；

H - H - A i b - Q G T F T S D Y S R Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A R D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物9]；

H - H S H G T F T S D Y S R Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A R D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物10]； 30

H - H - D S e r - H G T F T S D Y S R Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A R D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物11]；

H - H - A i b - H G T F T S D Y S R Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A R D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物12]；

H - H S P G T F T S D Y S R Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A R D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物13]；

H - H - D S e r - P G T F T S D Y S R Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A R D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物14]；

H - H - A i b - P G T F T S D Y S R Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A R D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物15]又は 40

H - H - A i b - Q G T F T S D Y S R Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A K D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物16]；

で表される、請求項5に記載の化合物、又はその医薬として許容される塩。

【請求項28】

以下の：

H - H - D S e r - Q G T F T S D Y S K Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A K D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物17]；

H - H S H G T F T S D Y S K Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A K D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物18]；

H - H - D S e r - H G T F T S D Y S K Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l 50

u) - R A K D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物 1 9] ;
H - H S P G T F T S D Y S K Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A
K D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物 2 0] ; 又は
H - H - D S e r - P G T F T S D Y S K Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A K D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物 2 1] ;

で表される請求項 1 1 に記載の化合物、又はその医薬として許容される塩。

【請求項 2 9】

以下の式：

H - H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E - K (オクタデカノイル - i s o G l u) - R A K D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物 2 2] ;
H - H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A K D F I E W L L S A - O H [化合物 2 3] ; 及び
H - H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E - K (オクタデカノイル - i s o G l u) - R A K D F I E W L L S A - O H [化合物 2 4] ;

10

の群から選択される式で表される化合物又はその医薬として許容される塩。

【請求項 3 0】

請求項 1 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の化合物、又はその塩若しくは誘導体を、担体との混合物として含有する組成物。

【請求項 3 1】

医薬として許容され、前記担体が医薬として許容される、請求項 3 0 に記載の組成物。

20

【請求項 3 2】

請求項 1 ~ 1 9 のいずれか 1 項に定義されるペプチド X - Z をコードする、単離された核酸。

【請求項 3 3】

請求項 3 2 に記載の核酸を含有するベクター。

【請求項 3 4】

請求項 3 2 に記載の核酸又は請求項 3 3 に記載のベクターを含有する宿主細胞。

【請求項 3 5】

医学的治療方法に使用される、請求項 1 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 3 6】

個体の体重増加を防止する、又は体重減少を促進する方法に使用される、請求項 1 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の化合物。

30

【請求項 3 7】

個体中の循環 L D L レベルを低下させる、及び / 又は H D L / L D L の比率を増大させる方法に使用される、請求項 1 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 3 8】

過剰な体重により引き起こされ、又は特徴付けられる症状を治療する方法に使用される、請求項 1 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 3 9】

個体の、肥満、病的肥満、手術前の病的肥満、肥満に関連した炎症、肥満に関連した胆嚢疾患、肥満が誘導する睡眠時無呼吸、I 型糖尿病、II 型糖尿病、妊娠性糖尿病、代謝性疾患、高血圧、アテローム促進性異常脂質血症、アテローム性動脈硬化、動脈硬化、冠動脈性心疾患、末梢動脈疾患、脳卒中又は微小血管疾患を予防及び / 又は治療する方法に使用される、請求項 1 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の化合物。

40

【請求項 4 0】

肥満、脂質異常症、糖尿病又は高血圧を治療する薬剤との組み合わせ治療の一部として投与される、請求項 3 5 ~ 3 9 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 4 1】

前記肥満を治療する薬剤が、グルカゴン様ペプチド受容体 1 アゴニスト、ペプチド YY 受容体アゴニスト又はその類似体、カンナビノイド受容体 1 アンタゴニスト、リパーゼ阻

50

害剤、メラノコルチン受容体 4 アゴニスト、又はメラニン凝集ホルモン受容体 1 アンタゴニストである、請求項 40 に記載の化合物。

【請求項 42】

前記高血圧を治療する薬剤が、アンジオテンシン変換酵素阻害剤、アンジオテンシン I 受容体ブロッカー、利尿剤、ベータブロッカー又はカルシウムチャンネルブロッカーである、請求項 40 に記載の化合物。

【請求項 43】

脂質異常症を治療する薬剤が、スタチン、フィブラート、ナイアシン及び / 又はコレステロール吸収阻害剤である、請求項 40 に記載の化合物。

【請求項 44】

前記糖尿病を治療する薬剤が、メトホルミン、スルホニル尿素、グリニド、DPP - IV 阻害剤、グリタゾン、GLP - 1 アゴニスト、インスリン又はインスリン類似体である、請求項 40 に記載の化合物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、グルカゴン類似体ペプチド、並びにその医学的使用、例えば過剰な食物摂取、肥満及び過剰な体重及び関連する症状、並びにコレステロールの増大の治療等における使用に関する。当該化合物は、血糖管理を促進し、及び / 又は糖尿病を治療するためにも使用され得る。

【背景技術】

【0002】

プレプログルカゴンは、158 アミノ酸残基の前駆ポリペプチドであり、グルカゴン (Glu)、グルカゴン様ペプチド 1 (GLP - 1)、グルカゴン様ペプチド 2 (GLP - 2)、及びオキシントモジュリン (OXM) を含む、様々な構造的に関連するプログルカゴン由来ペプチドを形成するように、組織内で様々なプロセッシングされる。これらの分子は、広範な生理的機能、例えばグルコース恒常性、インスリン分泌、胃内容排出及び腸の成長 (intestinal growth)、及び食物摂取の制御等に関与する。

【0003】

グルカゴンは、プレプログルカゴンの第 53 ~ 81 アミノ酸に相当する、配列 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr を持つ 29 個のアミノ酸のペプチドである。オキシントモジュリン (OXM) は、配列 Lys Arg Asn Arg Asn Asn Ile Ala を持つ「介在ペプチド 1」若しくは IP 1 と呼ばれるオクタペプチド・カルボキシ末端伸長 (プレプログルカゴンの第 82 ~ 89 アミノ酸) を伴ったグルカゴンの完全な 29 個のアミノ酸配列を含んでいる 37 個のアミノ酸のペプチドである；よって、ヒト・オキシントモジュリンの完全な配列は、His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn Arg Asn Asn Ile Ala である。GLP 1 の主要な生物学的に活性な断片は、30 個のアミノ酸であって、プレプログルカゴンの第 98 ~ 127 アミノ酸に相当する C 末端がアミド化されたペプチドとして産生される。

【0004】

グルカゴンは、肝細胞上のグルカゴン受容体に結合し、肝臓がグリコーゲン分解によってグリコーゲンの形で保存されたグルコースの放出を引き起こすことによって血中のグルコースレベルを維持するのに役立っている。これらの蓄えが使い果たされたとき、グルカゴンは、糖新生によって追加のグルコースを合成するように肝臓を刺激する。このグルコースが血流内に放出され、低血糖の発生を予防する。

10

20

30

40

50

【0005】

OXMは、食物摂取に対応し、且つ、食事のカロリー量に比例して血液中に放出される。OXMが、ヒトの食欲を抑制し、そして食物摂取を阻害することが明らかにされた(Cohenら、Journal of Endocrinology and Metabolism、第88号、4696~4701頁、2003年；WO 2003/022304)。オキシントモジュリンで処理したラットがペアフィード・ラットに比べてわずかな体重増加しか示さなかったので、(GLP 1のそれと同様である)オキシントモジュリンの食欲抑制作用に加えて(Bloom, Endocrinology 2004, 145, 2687)、OXMはさらに別の機構によって体重に作用しているはずである。OXMによる肥満齧歯動物の処置はさらに、それらの耐糖能を改善し(Parlevlietら、Am J Physiol Endocrinol Metab、第294号、E142~7頁、2008年)、且つ、体重増加を抑制する(WO 2003/022304)。

10

【0006】

OXMは、グルカゴン受容体とGLP 1受容体の両方を、GLP 1受容体よりもグルカゴン受容体を二倍強力に活性化するが、それは、天然のグルカゴン及びGLP 1がそれらのそれぞれの受容体に対するほど強力でない。GLP 1受容体よりもグルカゴン受容体に関して強い優先傾向があるとはいえ、ヒト・グルカゴンもまた両方の受容体を活性化することができる。その一方、GLP 1はグルカゴン受容体を活性化することができない。オキシントモジュリンの作用機序は十分に理解されていない。特に、ホルモンの効果が伝達されるのが、GLP 1受容体やグルカゴン受容体を通じてなのか、1若しくは複数の同定されていない受容体を通じてなのか知られていない。

20

【0007】

他のペプチドが、グルカゴン受容体とGLP 1の両方に結合し、そして活性化すること(Hjortら、Journal of Biological Chemistry、第269号、30121~30124頁、1994年)、及び体重増加を抑制し、且つ、食物摂取を低減すること(WO 2006/134340, WO 2007/100535, WO 2008/10101, WO 2008/152403, WO 2009/155257 and WO 2009/155258)が知られている。

30

【0008】

糖尿病、特に2型糖尿病は、21世紀に広く蔓延している疾患であり、推定で世界の人口の5%が、当該疾患に罹患している。糖尿病に関連する死亡者数は堅調に増加しており、近年では年間380万人と推定され、これは、現在利用可能な治療手段が十分な血糖コントロールを達成出来ていないことを反映している。従って、血糖コントロールのより効果的な方法が望まれている。

【0009】

肥満は、世界的に高まっている健康問題であり、そして様々な疾患、特に心血管疾患(CVD)、2型糖尿病、閉塞型睡眠時無呼吸症、特定のタイプの癌、及び骨関節炎と関連している。その結果、肥満は平均余命を短くすることがわかった。世界保健機構による2005年の予測によれば、世界中で4億人の成人(年齢>15歳)が肥満体に分類される。米国では、現在、肥満は、喫煙に次いで2番目に多い予防可能な死因であると考えられている。

40

【0010】

肥満の増加は、糖尿病の増加を促進するので、2型糖尿病を患っている人の約90%が肥満に分類され得る。世界中には2億4600万人が糖尿病を患っていて、2025年までには、3億8000万人が糖尿病を患うであろうと推定されている。多くの人が、高い/異常なLDL及びトリグリセリド、そして低いHDLを含めた付加的な心血管疾患の危険因子を有する。

【0011】

更なる症状は、高血圧、アテローム促進性異常脂質血症、アテローム性動脈硬化、冠動

50

脈性心疾患、脳卒中及び肥満に関連した炎症等の代謝性疾患に関連している。従って、潜在的な代謝性疾患の治療は、その後の症状に対して正の影響を有し得る。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

従って、代謝性及び関連する疾患、例えば肥満、脂質異常症及び糖尿病を治療する医学的な強い要求が存在する。

【課題を解決するための手段】

【0013】

第一の側面において、本発明は、以下の式：

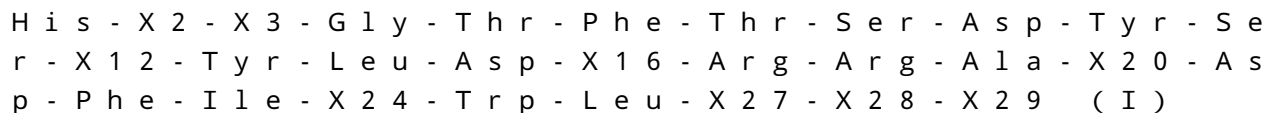


[式中、

R^1 は H、 C_{1-4} アルキル、アセチル、ホルミル、ベンゾイル又はトリフルオロアセチルであり；

R^2 は OH 又は NH_2 であり；

X は、式 I：



{ 式中、

X_2 は、Ser、D-Ser、及びAibから選択され；

X_3 は、Gln、His、及びProから選択され；

X_{12} は、Lys、及びYから選択され；

X_{16} は、Glu、及びYから選択され；

X_{20} は、Lys、及びYから選択され；

X_{24} は、Glu、及びYから選択され；

X_{27} は、Leu、及びYから選択され；

X_{28} は、Ser、及びY選択され、又は不在であり；

X_{29} は、Ala又は不在であり；

1つ以上の X_{12} 、 X_{16} 、 X_{17} 、 X_{20} 、 X_{27} 及び X_{28} がYであり；

各残基Yが独立してLys、Cys及びOrnから選択され；

1つ以上のアミノ酸残基Yの側鎖が、以下の式：

(i) Z^1 (式中、 Z^1 は、Yの側鎖と直接連結した親油性部分である) 又は

(ii) $Z^1 Z^2$ (式中、 Z^1 は親油性部分、 Z^2 はスペーサーであり、 Z^1 は Z^2 を介してYの側鎖と連結する)

を有する親油性置換基と連結する}

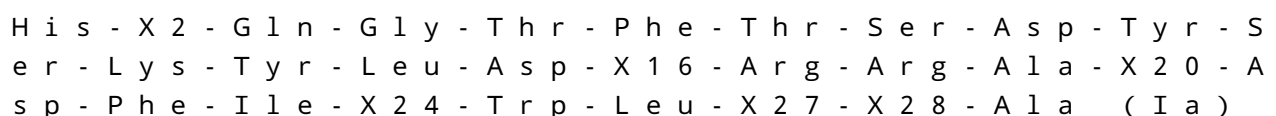
で表されるペプチドであり；そして

Zは不在、又はAla、Leu、Ser、Thr、Tyr、Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr及びOrnからなる群から独立して選択される1~20個のアミノ酸単位の配列を有する]

で表される化合物、又はその医薬として許容される塩を提供する。

【0014】

ペプチドXは、式Ia：



[式中、

X_2 は、Ser、D-Ser及びAibから選択され；

X_{16} は、Glu及びYから選択され；

X_{20} は、Lys及びYから選択され；

X 2 4 は、G l u 及び Y から選択され；
 X 2 7 は、L e u 及び Y から選択され；そして
 X 2 8 は、S e r 及び Y から選択される]
 で表されるものであってもよい。

【 0 0 1 5 】

ペプチド X が以下の配列

H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D K R R A K D F I E W L L S A ;
 H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I E W L L S A ;
 H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I K W L L S A ;
 H S Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I K W L L S A ;
 H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I E W L K S A ; 又は
 H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I E W L L K A
 を有するものであってもよい。

10

【 0 0 1 6 】

例えば、ペプチド X が、以下の配列

H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D K * R R A K D F I E W L L S A ;
 H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K * D F I E W L L S A ;
 H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I K * W L L S A ;
 H S Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I K * W L L S A ;
 H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I E W L K * S A ; 又は
 H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I E W L L K * A ;
 を有するものであってもよい。ここで K * は、親油性置換基が連結した L y s 残基を示す。

20

【 0 0 1 7 】

例えば、前記化合物は、以下の式：

H - H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u)
 - R R A K D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物 1] ;
 H - H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A - K (ヘキサデカノイル - i s o
 G l u) - D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物 2] ;
 H - H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I - K (ヘキサデカノイル
 - i s o G l u) - W L L S A - N H ₂ [化合物 3] ;
 H - H S Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I - K (ヘキサデカノイル - i s o
 G l u) - W L L S A - N H ₂ [化合物 4] ;
 H - H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I E W L - K (ヘキサデカ
 ノイル - i s o G l u) - S A - N H ₂ [化合物 5] ; 又は
 H - H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E R R A K D F I E W L L - K (ヘキサデ
 カノイル - i s o G l u) - A - N H ₂ [化合物 6] ;
 で表されるもの、又はその医薬として許容される塩であってもよい。

30

【 0 0 1 8 】

第二の側面において、本発明は、以下の式

40

$R^1 - X - Z - R^2$

[式中、

R^1 は H、C₁ - ₄ アルキル、アセチル、ホルミル、ベンゾイル又はトリフルオロアセチルであり；

R^2 は OH 又は NH₂ であり；

X は、式 I I

H i s - X 2 - X 3 - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - T y r - S e
 r - X 1 2 - T y r - L e u - A s p - X 1 6 - X 1 7 - A r g - A l a - X 2 0 - A s
 p - P h e - I l e - X 2 4 - T r p - L e u - X 2 7 - X 2 8 - X 2 9 (I I)

{ 式中、

50

X 2 は、S e r、D - S e r 及び A i b から選択され；
 X 3 は、G l n、H i s 及び P r o から選択され；
 X 1 2 は、A r g、L y s 及び Y から選択され；
 X 1 6 は、G l u 及び Y から選択され；
 X 1 7 は、A r g 及び Y から選択され；
 X 2 0 は、L y s、A r g 及び Y から選択され；
 X 2 4 は、G l u 及び Y から選択され；
 X 2 7 は、L e u 及び Y から選択され；
 X 2 8 は、S e r 及び Y から選択され、又は不在であり；
 X 2 9 は A l a 又は不在であり；

10

ここで X 1 2 及び / 又は X 2 0 が A r g であり；
 ここで X 1 2、X 1 6、X 1 7、X 2 0、X 2 4、X 2 7 及び X 2 8 の 1 つ以上が Y であり；

各残基 Y が独立して L y s、C y s 及び O r n から選択され；

1 つ以上のアミノ酸残基 Y の側鎖が、以下の式：

(i) Z^1 (式中、 Z^1 は、Y の側鎖と直接連結した親油性部分である) 又は

(i i) $Z^1 Z^2$ (式中、 Z^1 は親油性部分、 Z^2 はスペーサーであり、 Z^1 は Z^2 を介して Y の側鎖と連結する)

を有する親油性置換基と連結する }

で表されるペプチドであり；そして

20

Z は不在、又は A l a、L e u、S e r、T h r、T y r、C y s、G l u、L y s、A r g、D b u、D p r 及び O r n からなる群から独立して選択される 1 ~ 2 0 個のアミノ酸単位の配列を有する }

で表される化合物、又はその医薬として許容される塩を提供する。

【 0 0 1 9 】

望ましくは、X 1 2 は A r g であってもよい。

【 0 0 2 0 】

ペプチド X が式 I I a：

H i s - X 2 - X 3 - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - T y r - S e
 r - A r g - T y r - L e u - A s p - X 1 6 - X 1 7 - A r g - A l a - X 2 0 - A s
 p - P h e - I l e - X 2 4 - T r p - L e u - L e u - S e r - A l a (I I a)

30

[式中、

X 2 は、S e r、D - S e r 及び A i b から選択され；

X 3 は、G l n、H i s 及び P r o から選択され；

X 1 6 は、G l u 及び Y から選択され；

X 1 7 は、A r g 及び Y から選択され；

X 2 0 は、A r g 及び L y s から選択され；そして

X 2 4 は、G l u 及び Y から選択される]

で表されるものであってもよい。

40

【 0 0 2 1 】

ペプチド X が、式 I I b：

H i s - X 2 - X 3 - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - T y r - S e
 r - A r g - T y r - L e u - A s p - G l u - X 1 7 - A r g - A l a - A r g - A s
 p - P h e - I l e - G l u - T r p - L e u - L e u - S e r - A l a (I I b)

[式中、

X 2 は S e r、D - S e r 及び A i b から選択され；

X 3 は G l n、H i s 及び P r o から選択され；そして

X 1 7 は Y である]

で表されるものであってもよい。

50

【 0 0 2 2 】

例えば、ペプチドXが、以下の配列

HSQGTFTSDYSR YLDEK RARDFIEWLLSA ;
 H - D S e r - QGTFTSDYSR YLDEK RARDFIEWLLSA ;
 H - A i b - QGTFTSDYSR YLDEK RARDFIEWLLSA ;
 HSHGTFTSDYSR YLDEK RARDFIEWLLSA ;
 H - D S e r - HGTFTSDYSR YLDEK RARDFIEWLLSA ;
 H - A i b - GTFTSDYSR YLDEK RARDFIEWLLSA ;
 HSPGTFTSDYSR YLDEK RARDFIEWLLSA ;
 H - D S e r - PGTFTSDYSR YLDEK RARDFIEWLLSA ;
 H - A i b - PGTFTSDYSR YLDEK RARDFIEWLLSA ; 又は
 H - A i b - QGTFTSDYSR YLDEK RAKDFIEWLLSA
 を有するものであってもよい。

10

【0023】

例えば、Xが、以下の配列

HSQGTFTSDYSR YLDEK * RARDFIEWLLSA ;
 H - D S e r - QGTFTSDYSR YLDEK * RARDFIEWLLSA ;
 H - A i b - QGTFTSDYSR YLDEK * RARDFIEWLLSA ;
 HSHGTFTSDYSR YLDEK * RARDFIEWLLSA ;
 H - D S e r - HGTFTSDYSR YLDEK * RARDFIEWLLSA ;
 H - A i b - GTFTSDYSR YLDEK * RARDFIEWLLSA ;
 HSPGTFTSDYSR YLDEK * RARDFIEWLLSA ;
 H - D S e r - PGTFTSDYSR YLDEK * RARDFIEWLLSA ;
 H - A i b - PGTFTSDYSR YLDEK * RARDFIEWLLSA ; 又は
 H - A i b - QGTFTSDYSR YLDEK * RAKDFIEWLLSA ;
 を有するものであってもよい。ここでK*は、親油性置換基が連結したLys残基を示す。

20

【0024】

前記化合物は、以下の式：

H - HSQGTFTSDYSR YLDE - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A
 R D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物7] ;
 H - H - D S e r - QGTFTSDYSR YLDE - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u)
 u) - R A R D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物8] ;
 H - H - A i b - QGTFTSDYSR YLDE - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u)
 u) - R A R D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物9] ;
 H - HSHGTFTSDYSR YLDE - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A
 R D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物10] ;
 H - H - D S e r - HGTFTSDYSR YLDE - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u)
 u) - R A R D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物11] ;
 H - H - A i b - HGTFTSDYSR YLDE - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u)
 u) - R A R D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物12] ;
 H - HSPGTFTSDYSR YLDE - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A
 R D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物13] ;
 H - H - D S e r - PGTFTSDYSR YLDE - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u)
 u) - R A R D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物14] ;
 H - H - A i b - PGTFTSDYSR YLDE - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u)
 u) - R A R D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物15] 又は
 H - H - A i b - QGTFTSDYSR YLDE - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u)
 u) - R A K D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物16] ;
 で表される化合物、又はその医薬として許容される塩であってもよい。

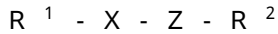
30

40

【0025】

50

第三の側面において、本発明は、以下の式：

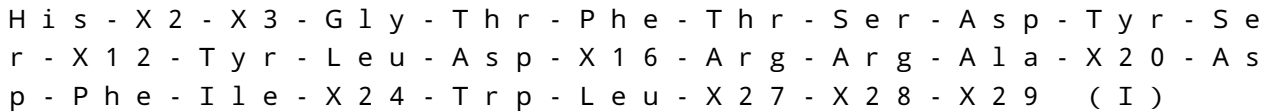


[式中、

R^1 は H、 C_{1-4} アルキル、アセチル、ホルミル、ベンゾイル又はトリフルオロアセチルであり；

R^2 は OH 又は NH_2 であり；

X は、式 I：



10

{ 式中、

X_2 は、Ser、D-Ser、及び Aib から選択され；

X_3 は、Gln、His、及び Pro から選択され；

X_{12} は、Lys、及び Y から選択され；

X_{16} は、Glu、及び Y から選択され；

X_{17} は、Arg、及び Y から選択され；

X_{20} は、Lys、及び Y から選択され；

X_{24} は、Glu、及び Y から選択され；

X_{27} は、Leu、及び Y から選択され；

X_{28} は、Ser、及び Y から選択され、又は不在であり；

20

X_{29} は、Ala 又は不在であり；

X_2 が Ser 又は Aib である場合、 X_3 は His 又は Pro であり、 X_3 が Gln である場合、 X_2 は D-Ser であり；

1 つ以上の X_{12} 、 X_{16} 、 X_{17} 、 X_{20} 、 X_{24} 、 X_{27} 及び X_{28} が Y であり；

各残基 Y が独立して Lys、Cys 及び Orn から選択され；

X の 1 つ以上のアミノ酸残基 Y の側鎖が、以下の式：

(i) Z^1 (式中、 Z^1 は、Y の側鎖と直接連結した親油性部分である) 又は

(ii) $Z^1 Z^2$ (式中、 Z^1 は親油性部分、 Z^2 はスペーサーであり、 Z^1 は Z^2 を介して Y の側鎖と連結する)

を有する親油性置換基と連結する }

30

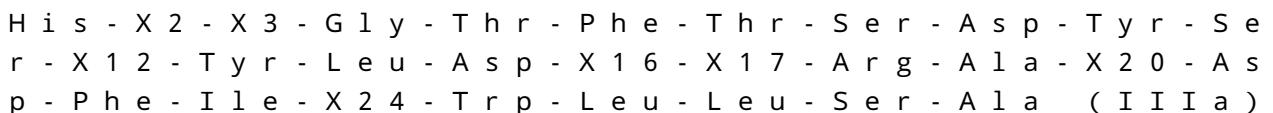
で表されるペプチドであり；そして

Z は不在、又は Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr 及び Orn からなる群から独立して選択される 1 ~ 20 個のアミノ酸単位の配列を有する]

で表される化合物、又はその医薬として許容される塩を提供する。

【 0 0 2 6 】

ペプチド X が、式 III a：



40

[式中、

X_2 は、Ser、D-Ser 及び Aib から選択され；

X_3 は、Gln、His 及び Pro から選択され；

X_{12} は、Lys 及び Y から選択され；

X_{16} は、Glu 及び Y から選択され；

X_{17} は、Arg 及び Y から選択され；

X_{20} は、Lys 及び Y から選択され；そして

X_{24} は、Glu 及び Y から選択される]

で表されるものであってもよい。

【 0 0 2 7 】

50

ペプチドXが、式IIIB:

H i s - X 2 - X 3 - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - T y r - S e r - L y s - T y r - L e u - A s p - G l u - X 1 7 - A r g - A l a - L y s - A s p - P h e - I l e - G l u - T r p - L e u - L e u - S e r - A l a (I I I b)

[式中、

X 2 は、S e r、D - S e r 及び A i b から選択され；

X 3 は、G l n、H i s 及び P r o から選択され；そして

X 1 7 は Y である]

で表されるものであってもよい。

【 0 0 2 8 】

10

ペプチドXが、以下の配列：

H - D S e r - Q G T F T S D Y S K Y L D E K R A K D F I E W L L S A ；

H S H G T F T S D Y S K Y L D E K R A K D F I E W L L S A ；

H - D S e r - H G T F T S D Y S K Y L D E K R A K D F I E W L L S A ；

H S P G T F T S D Y S K Y L D E K R A K D F I E W L L S A ；又は

H - D S e r - P G T F T S D Y S K Y L D E K R A K D F I E W L L S A

を有するものであってもよい。

【 0 0 2 9 】

ペプチドXが、以下の配列：

H - D S e r - Q G T F T S D Y S K Y L D E K * R A K D F I E W L L S A ；

20

H S H G T F T S D Y S K Y L D E K * R A K D F I E W L L S A ；

H - D S e r - H G T F T S D Y S K Y L D E K * R A K D F I E W L L S A ；

H S P G T F T S D Y S K Y L D E K * R A K D F I E W L L S A ；又は

H - D S e r - P G T F T S D Y S K Y L D E K * R A K D F I E W L L S A ；

を有するものであってもよい。K * は、親油性置換基が連結した L y s 残基を示す。

【 0 0 3 0 】

前記化合物は、以下の：

H - H - D S e r - Q G T F T S D Y S K Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A K D F I E W L L S A - N H 2 [化合物 1 7] ；

H - H S H G T F T S D Y S K Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A K D F I E W L L S A - N H 2 [化合物 1 8] ；

30

H - H - D S e r - H G T F T S D Y S K Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A K D F I E W L L S A - N H 2 [化合物 1 9] ；

H - H S P G T F T S D Y S K Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A K D F I E W L L S A - N H 2 [化合物 2 0] ；又は

H - H - D S e r - P G T F T S D Y S K Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A K D F I E W L L S A - N H 2 [化合物 2 1] ；

で表される化合物、又はその医薬として許容される塩であってもよい。

【 0 0 3 1 】

本発明の上記側面のいずれかにおいて、望ましくは、ペプチドXが残基Yを1つだけ含有する。

40

【 0 0 3 2 】

ペプチドXが1つ又は1つ以上の残基Yを含有する場合、当該残基Yは、L y s であってよい。

【 0 0 3 3 】

更に、本発明は、上記本発明の3つの態様のいずれかにおいてX - Zとして規定したペプチド、即ち、残基Yのいずれかに親油性置換基を付加する前の本発明のいずれかのペプチド骨格をコードする、単離された核酸(DNA又はRNAのいずれであってよい)を提供する。当然、これは、X - Zにおける各残基が、核酸翻訳によりタンパク質に含まれる20種類の天然に存在するアミノ酸のいずれかである場合のみ該当する。更に、そのよ

50

うな核酸を含有する発現ベクター、及びそのような核酸又は発現ベクターを含有する宿主細胞も提供される。

【0034】

第四の側面において、以下の式：

H - H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E - K (オクタデカノイル - i s o G l u) - R A K D F I E W L L S A - N H ₂ [化合物 2 2] ；

H - H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E - K (ヘキサデカノイル - i s o G l u) - R A K D F I E W L L S A - O H [化合物 2 3] ；及び

H - H - A i b - Q G T F T S D Y S K Y L D E - K (オクタデカノイル - i s o G l u) - R A K D F I E W L L S A - O H [化合物 2 4] ；

の群から選択される式で表される化合物が提供される。

【0035】

更に、本発明は、本発明の化合物、核酸、発現ベクター又は宿主細胞を担体との混合物として含有する組成物を提供する。好ましい態様において、当該組成物は医薬として許容される組成物であり、当該担体は、医薬として許容される担体である。当該組成物は、本発明の化合物の医薬として許容される塩を含有していてもよい。

【0036】

加えて、本発明は、医学的治療方法に使用される、上記本発明のいずれかの側面の化合物又は組成物も提供する。

【0037】

本発明の化合物は、特に、体重増加の防止又は体重減少の促進に使用される。「防止」とは、その治療をしない場合と比較して阻害又は減少していることを意味し、体重増加を完全に停止させることを必ずしも意味しない。前記ペプチドは、食物摂取の減少及び／又はエネルギー消費の増大を引き起こし、その結果、体重に対して観察された結果をもたらす。

【0038】

体重に対する効果とは独立して、本発明の化合物は、循環 LDL レベルの低下及び HDL / LDL 比率の増大する、循環コレステロールレベルに対する有益な効果を有する。

【0039】

前記化合物は、体重に対する効果とは独立して、血糖コントロールに対する有益な効果を追加的に有する。そのような化合物は、I 型糖尿病や妊娠性糖尿病等の過剰な体重や肥満と直接関連の無い症状において治療的に有用であり得ることが想定される。

【0040】

肥満又は過剰な体重により引き起こされ又は悪化する症状における前記化合物の使用は当然除外されることはない。実際に、それらのグルコース制御及び体重に対する効果は、そのような症状の治療にとってそれらを特に適したものにしている。

【0041】

従って、本発明の化合物は、過剰な体重により引き起こされる、又は特徴付けられるいずれかの症状の直接又は間接の治療、例えば肥満、病的肥満、肥満に関連した炎症、肥満に関連した胆嚢疾患、肥満が誘導する睡眠時無呼吸等の治療及び／又は予防に使用出来る。それらは、代謝性疾患、I 型糖尿病、II 型糖尿病、高血圧、アテローム促進性異常脂質血症、アテローム性動脈硬化、動脈硬化、冠動脈性心疾患又は脳卒中の予防に使用されてもよい。本発明の化合物のこれらの症状に対する効果は、当該化合物の体重に対する効果と関連していても、独立したものであってもよい。

【0042】

従って、本発明は、個体の体重増加を防止する、又は体重減少を促進する方法に使用される本発明の化合物を提供する。また、本発明は、個体の体重増加を防止する、又は体重減少を促進するための医薬の製造における本発明の化合物の使用も提供する。また、本発明は、個体に対する本発明の化合物の投与を含む、個体の体重増加を防止する、又は体重減少を促進する方法も提供する。

10

20

30

40

50

【 0 0 4 3 】

更に、本発明は、個体中の循環LDLレベルを低下させる、及び／又はHDL／LDLの比率を増大させる方法に使用される本発明の化合物を提供する。また、本発明は、個体中の循環LDLレベルを低下させる、及び／又はHDL／LDLの比率を増大させるための医薬の製造における本発明の化合物の使用も提供する。また、本発明は、個体に対する本発明の化合物の投与を含む、個体中の循環LDLレベルを低下させる、及び／又はHDL／LDLの比率を増大させる方法も提供する。

【 0 0 4 4 】

本発明は、更に、過剰な体重により引き起こされ、又は特徴付けられる症状を予防又は治療する方法に使用される本発明の化合物を提供する。また、本発明は、過剰な体重により引き起こされ、又は特徴付けられる症状を予防又は治療するための医薬の製造における本発明の化合物の使用も提供する。また、本発明は、個体に対する本発明の化合物の投与を含む、過剰な体重により引き起こされ、又は特徴付けられる症状を予防又は治療する方法も提供する。

10

【 0 0 4 5 】

更に本発明は、個体の、肥満、病的肥満、手術前の病的肥満、肥満に関連した炎症、肥満に関連した胆嚢疾患、肥満が誘導する睡眠時無呼吸、I型糖尿病、II型糖尿病、妊娠性糖尿病、代謝性疾患、高血圧、アテローム促進性異常脂質血症、アテローム性動脈硬化、動脈硬化、冠動脈性心疾患、末梢動脈疾患、脳卒中又は微小血管疾患を予防及び／又は治療する方法に使用される本発明の化合物を提供する。また、本発明は、そのような症状を予防又は治療するための医薬の製造における本発明の化合物の使用も提供する。また、本発明は、個体に対する本発明の化合物の投与を含む、そのような症状を予防又は治療する方法も提供する。

20

【 0 0 4 6 】

更に、本発明は、肥満、脂質異常症、糖尿病又は高血圧を治療する薬剤と組み合わせて使用される、本発明の化合物を提供する。また、本発明は、肥満、脂質異常症、糖尿病又は高血圧を治療する薬剤と組み合わせて使用される医薬の製造における本発明の化合物の使用も提供する。また、本発明は、肥満、脂質異常症、糖尿病又は高血圧を治療する薬剤と組み合わせて本発明の化合物を個体に投与することを含む治療方法を提供する。また、本発明は、肥満、脂質異常症、糖尿病又は高血圧を治療する薬剤と本発明の化合物を含有する医薬組成物を提供する。

30

【 0 0 4 7 】

前記肥満を治療する薬剤は、グルカゴン様ペプチド受容体1アゴニスト、ペプチドYY受容体アゴニスト又はその類似体、カンナビノイド受容体1アンタゴニスト、リパーゼ阻害剤、メラノコルチン受容体4アゴニスト、又はメラニン凝集ホルモン受容体1アンタゴニストであってもよい。

【 0 0 4 8 】

前記高血圧を治療する薬剤は、アンジオテンシン変換酵素阻害剤、アンジオテンシンII受容体ブロッカー、利尿剤、ベータブロッカー又はカルシウムチャンネルブロッカーであってもよい。

40

【 0 0 4 9 】

脂質異常症を治療する薬剤は、スタチン、フィブラート、ナイアシン及び／又はコレステロール吸収阻害剤であってもよい。

【 0 0 5 0 】

前記糖尿病を治療する薬剤は、メトホルミン、スルホニル尿素、グリニド、DPP-IV阻害剤、グリタゾン、GLP-1アゴニスト、インスリン又はインスリン類似体であってもよい。

【 0 0 5 1 】

既に記載したように、本発明は、先に記載した核酸配列を、その発現を指示する配列と任意に組み合わせて含んでなる発現ベクター、及びその発現ベクターを含んでいる宿主細

50

胞まで広がる。好ましくは、宿主細胞は、本発明の化合物、又は本発明の化合物のペプチド骨格 X - Z を発現し、そして分泌できる。より一層更なる態様では、本発明は、前記化合物の製造方法であって、その化合物を発現するのに好適な条件下で宿主細胞を培養し、そしてこうして産生された化合物を精製することを含んでなる方法を提供する。当該方法は、適切なアミノ酸の位置に、親油性置換基を添加する工程を更に含んでもよい。

【0052】

本発明は、医療処置での使用のための、本発明の核酸、本発明の発現ベクター、又は本発明の化合物を発現し、そして分泌できる宿主細胞をさらに提供する。前記の核酸、発現ベクター、及び宿主細胞が、本発明の化合物自体を用いて処置し得る本明細書中に記載の障害のいずれかの処置のために使用され得ることは理解される。そのため、本発明の化合物を含んでなる治療用組成物、本発明の化合物の投与、又はいずれかの治療のためのその使用は、文脈が他のものを求めている場合を除いて、本発明の核酸、発現ベクター又は宿主細胞の同等な使用を包含すると解釈されるべきである。

10

【発明の効果】

【0053】

発明の詳細な記載

この明細書を通して、天然アミノ酸についての慣習的な一文字表記及び三文字表記、並びにその他のアミノについての一般に認められている三文字表記、例えば A i b (アミノイソ酪酸)、O r n (オルニチン)、D b u (2 , 4 ジアミノ酪酸)、D - S e r (S e r の D 型) 及び D p r (2 , 3 ジアミノプロパン酸) などが使用される。

20

【0054】

「天然グルカゴン」という用語は、配列 H H i s S e r G l n G l y T h r P h e T h r S e r A s p T y r S e r L y s T y r L e u A s p S e r A r g A r g A l a G l n A s p P h e V a l G l n T r p L e u M e t A s n T h r O H (配列番号 1) を有する天然ヒト・グルカゴンを指す。

【0055】

本発明は、先に規定した化合物を提供する。誤解を避けるために、本明細書中に示した定義において、ペプチド X の配列は、変動を認めると記述された位置においてのみ、そして言及した選択枝の中でのみ変動することが一般に意図される。配列 X 内のアミノ酸は、従来の N 末端から C 末端の向きに 1 から 29 まで連続して付番されると考えられる。従って、X 内の「位置」についての言及は、天然ヒト・グルカゴン及びその他の分子内の位置に対して言及しなくてはならないと解釈されるべきである。

30

【0056】

いずれかの特定の理論に縛られることを望むものではないが、天然グルカゴンの 27、28 及び 29 位の残基は、グルカゴン受容体におけるペプチドの顕著な選択性を与えるように思われる。

【0057】

本発明の化合物中のこれらの位置において存在する残基は、グルカゴン受容体における効力の顕著な低減の可能性なしに、G L P 1 受容体における効力及び / 又は選択性を増強し得る。

40

【0058】

(例えば L e u 又は L y s 、特に L e u による) 27 位の天然の M e t 残基の置換はさらに、酸化の可能性を低下させ、それで化合物の化学的安定性を増強する。

【0059】

(例えば S e r 、A r g 又は A l a による) 28 位の天然の A s n 残基の置換はさらに、酸性溶液中での脱アミド化の可能性を低下させ、それで化合物の化学的安定性を増強する。

【0060】

20 及び 24 位の天然の G l n 残基の一方又は両方の置換はさらに、酸性溶液中の脱ア

50

ミド化の可能性を低減し、それで化合物の化学的安定性を増強する。24位の残基は、G l u、A s p、L y s、A r g又はA l aであり得る。

【0061】

位置12、16、17、20、24、27及び28の天然のアミノ酸の1つ以上が適切なアミノ酸Yで置換されることにより、親油性置換基との連結が可能となる。これらの位置における残基Yは、独立してC y s、O r n又はL y sであってもよい。より具体的には、これらの残基の1つ以上がC y sであってもよい。更に、これらの位置における1つ以上の残基がL y sであってもよい。当該化合物が2つ以上のY残基を含有するとき、それらは同一（全てC y s、全てO r n又は全てL y s）であっても相違していてもよい。幾つかの態様において、望ましくは、各ペプチドXが、Yを1つだけ含有する。残基YはL y sであってもよい。

10

【0062】

既に関示したように、本発明の化合物は、例えばW O 9 9 / 4 6 2 8 3に記載のとおり、例えばグルカゴン類似体ペプチドの立体構造及び/又は二次構造を安定させるために、そして/あるいはグルカゴン類似体ペプチドに酵素分解に対してより抵抗性をもたせるために、1～20個のアミノ酸から成るC末端ペプチド配列Zを含んでなることもできる。

【0063】

存在する場合、Zは、1～20個のアミノ酸残基、例えば1～15個の範囲内、より好ましくは1～10個の範囲内、特に1～7個の範囲内のアミノ酸残基、例えば1、2、3、4、5、6又は7個のアミノ酸残基、例えば6個のアミノ酸残基など、から成るペプチド配列を表す。ペプチド配列Z内のそれぞれアミノ酸残基は、独立に、A l a、L e u、S e r、T h r、T y r、C y s、G l u、L y s、A r g、D b u（2，4 ジアミノ酪酸）、D p r（2，3 ジアミノプロパン酸）及びO r n（オルニチン）から選択され得る。好ましくは、前記アミノ酸残基は、S e r、T h r、T y r、G l u、L y s、A r g、D b u、D p r及びO r nから選択され、より好ましくはG l u、L y s、及びC y sだけから選択され得る。先に触れたアミノ酸はD型又はL型の立体配置のいずれかをとることができるが、好ましくはL型の立体配置をとっている。特に好ましい配列Zは、3、4、5、6又は7個の連続したリジン残基（すなわちL y s₃、L y s₄、L y s₅、L y s₆又はL y s₇）であり、そして特に5又は6個の連続したリジン残基から成る配列である。Zのその他の代表的な配列は、W O 0 1 / 0 4 1 5 6に示されている。あるいは、配列ZのC末端残基は、C y s残基であってもよい。これは、化合物の修飾（例えばペグ化、又はアルブミンとの連結）を助けることができる。そのような実施形態では、配列Zは、例えば長さが1アミノ酸（すなわち、Z = C y s）だけでも、長さが2、3、4、5、6アミノ酸又はさらに多くのアミノ酸であってもよい。そのため、他のアミノ酸がペプチドXと末端のC y s残基の間のスペーサーとして機能する。

20

30

【0064】

ペプチド配列Zは、（配列L y s A r g A s n A r g A s n A s n I l e A l aを持っている）ヒトO X MのI P 1部分の対応する配列と25%以下の配列同一性しかない。

【0065】

別のポリペプチド配列（例えばI P 1）に関する所定のペプチド又はポリペプチド配列の「パーセント（%）アミノ酸配列同一性」は、2つが互いに整列された場合にもう一方のポリペプチドの対応する配列内の対応するアミノ酸残基と同一である所定のペプチド配列内のアミノ酸残基のパーセンテージとして計算され、必要であれば、最適な整列のためにギャップが導入される。%同一性の値は、W U B L A S T 2（A l t s c h u l r a、M e t h o d s i n E n z y m o l o g y、第266号：460～480頁（1996年））によって測定されてもよい。W U B L A S T 2はいくつかの検索パラメーターを使用するが、その大部分は初期値に設定される。調整可能なパラメーターは、以下の値：重複スパン＝1、重複フラクション＝0.125、ワード閾値（T）＝11に設定される。%アミノ酸配列同一性値は、参照配列の残基総数（整列スコアを最大にするた

40

50

めにWU BLAST 2によって参照配列内に導入されたギャップは無視される)で割って、100を掛けた、WU BLAST 2によって測定された合致している同一残基数によって決定される。

【0066】

よって、IP 1の8個のアミノ酸と最適に整列させたとき、Zは、IP 1の対応するアミノ酸と同一であるアミノ酸を2個以下しか持たない。

【0067】

幾つかの態様において、Zは本発明の化合物中に存在しない。

【0068】

ペプチドXのアミノ酸残基Yにおける1つ以上の側鎖は、親油性置換基 Z^1 又は Z^1Z^2 と連結している。従って、親油性置換基 Z^1 は、アミノ酸側鎖の原子と直接共有結合してもよく、あるいはスペーサー Z^2 を介してアミノ酸側鎖と連結した親油性部分 Z^1 を含んでもよい。親油性置換基 Z^1 又は Z^1Z^2 は、追加で、必要に応じて、ペプチドZの部分であるアミノ酸の側鎖と連結してもよい。

10

【0069】

理論に縛られることを望むものではないが、親油性置換基が血流中でアルブミンに結合し、それによって酵素的分解からの本発明の化合物を保護することで化合物の半減期を延長できると考えられている。スペーサーは、存在する場合には、化合物と親油性置換基の間隔を提供するために使用される。

【0070】

20

親油性置換基(又は好ましくは部分)は、エステル、スルホニルエステル、チオエステル、アミド又はスルホンアミドを介してアミノ酸側鎖又はスペーサーに取り付けられ得る。従って、好ましくは、親油性置換基としては、エステル、スルホニルエステル、チオエステル、アミド又はスルホンアミドの一部を形成するアシル基、スルホニル基、N原子、O原子又はS原子が挙げられることは理解される。好ましくは、親油性置換基内のアシル基は、アミノ酸側鎖又はスペーサーとアミド又はエステルの一部を形成する。

【0071】

親油性置換基(又は部分)には、4~30個のC原子を持つ炭化水素鎖であり、又はそれらが含まれ得る。好ましくは、それは8又は12個のC原子を持ち、そして好ましくは、それは24個以下のC原子、又は20個以下のC原子を持つ。炭化水素鎖は、直鎖であっても分岐鎖であってもよく、且つ、飽和であっても不飽和であってもよい。当然のことながら、炭化水素鎖は、アミノ酸側鎖又はスペーサーへの結合部の一部を形成する部分、例えばアシル基、スルホニル基、N原子、O原子又はS原子により好ましくは置換される。最も好ましくは、炭化水素鎖はアシルによって置換され、従って、炭化水素鎖はアルカノイル基、例えばデカノイル(カプロイル)、ドデカノイル(ラウロイル)、テトラデカノイル(ミリストイル)、ヘキサデカノイル(パルミトイル)、ヘプタデカノイル、オクタデカノイル(ソテアロイル)、エイコサノイル又はドコサノイルの一部となり得る。

30

【0072】

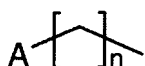
従って、各 Z^1 は、デカノイル(カプロイル)、ドデカノイル(ラウロイル)、テトラデカノイル(ミリストイル)、ヘキサデカノイル(パルミトイル)、ヘプタデカノイル、オクタデカノイル(ソテアロイル)、エイコサノイル又はドコサノイルであり、又はそれらを含んでもよい。

40

【0073】

従って、親油性置換基は、以下に示した式を持つこともできる。

【化1】



【0074】

50

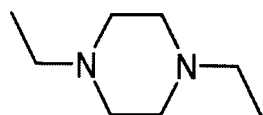
A は、例えばアシル基、スルホニル基、NH、N アルキル、O 原子又は S 原子であり得るが、好ましくはアシルであり得、n は、3 ~ 29 の整数であるが、好ましくは少なくとも 7 であるか又は少なくとも 11 であり、そして好ましくは 23 未満であり、より好ましくは 19 未満である。

【0075】

炭化水素鎖はさらに置換されることもできる。例えば、それは、NH₂、OH 及び COOH から選択される最大 3 つの置換基によりさらに置換されることもできる。炭化水素鎖がさらに置換されるのであれば、好ましくは、それは 1 つの置換基だけでさらに置換される。あるいは又は加えて、炭化水素鎖は、例えば以下に示したような、シクロアルカン又はヘテロシクロアルカンを含むこともできる：

10

【化 2】



【0076】

好ましくは、シクロアルカン又はヘテロシクロアルカンは、六員環である。最も好ましくは、それはピペリジンである。

20

【0077】

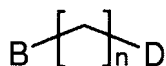
あるいは、親油性置換基は、シクロペンタノフェナントレン骨格に基づいていてもよく、それは部分的に又は完全に不飽和であっても、飽和されていてもよい。それぞれの骨格の炭素原子は、Me 又は OH により置換されていてもよい。例えば、親油性置換基は、コリル (cheryl)、デオキシコリル又はリトコリルであってもよい。

【0078】

以上のように、親油性置換基は、スペーサーによってアミノ酸側鎖に結合されることもできる。存在している場合には、スペーサーは、親油性置換基とアミノ酸側鎖に取り付けられる。スペーサーは、エステル、スルホニルエステル、チオエステル、アミド又はスルホンアミドによって独立に親油性置換基とアミノ酸側鎖に取り付けられることもできる。従って、それは、アシル、スルホニル、N 原子、O 原子又は S 原子から独立に選択される 2 つの部分を含むこともできる。スペーサーは、以下の式：

30

【化 3】



{ 式中、B 及び D は、それぞれ独立に、アシル、スルホニル、NH、N アルキル、O 原子又は S 原子から選択され、好ましくはアシル及び NH から選択される。 } を持つこともできる。好ましくは、n は、1 ~ 10 の整数であり、好ましくは 1 ~ 5 の整数である。スペーサーは、C₁₋₆ アルキル、C₀₋₆ アルキル・アミン、C₀₋₆ アルキル・ヒドロキシ及び C₀₋₆ アルキル・カルボキシから選択される 1 若しくは複数の置換基によりさらに置換されることもできる。

40

【0079】

あるいは、スペーサーは、先の式の 2 以上の反復単位を持つこともできる。B、D、及び n は、各反復単位に関してそれぞれ独立に選択される。隣接している反復単位は、それらのそれぞれの B 及び D 部分を介して互いに共有結合され得る。例えば、隣接している反復単位の B 及び D 部分は、一緒にエステル、スルホニルエステル、チオエステル、アミド又はスルホンアミドを形成し得る。スペーサーの各末端の遊離 B 及び D 単位は、先に記載のように、アミノ酸側鎖や親油性置換基に取り付けられる。

50

【0080】

好ましくは、スペーサーには、5つ以下、4つ以下、又は3つ以下の反復単位である。
最も好ましくはスペーサーには、2つの反復単位、又は単一の単位である。

【0081】

スペーサー（又は反復単位があるのであれば、スペーサーの1つ又は複数の反復単位）は、例えば、天然のアミノ酸であっても、非天然のアミノ酸であってもよい。当然のことながら、官能性側鎖を持つアミノ酸に関して、B及び/又はDは、アミノ酸の側鎖内の部分であってもよい。スペーサーは、どの天然のアミノ酸であっても、どの非天然のアミノ酸であってもよい。例えば、スペーサー（又は反復単位があるのであれば、スペーサーの1つ又は複数の反復単位）は、Gly、Pro、Ala、Val、Leu、Ile、Met、Cys、Phe、Tyr、Trp、His、Lys、Arg、Gln、Asn、Glu、Glu、Asp、Ser、Thr、Gaba、Aib、Ala、5 アミノペンタノイル、6 アミノヘキサノイル、7 アミノヘプタノイル、8 アミノオクタノイル、9 アミノノナノイル又は10 アミノデカノイルであり得る。

10

【0082】

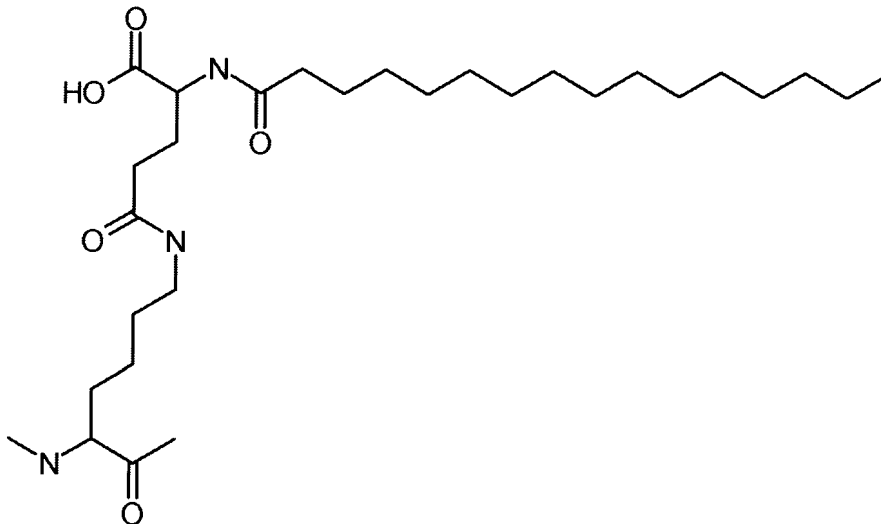
例えば、スペーサーは、Glu、Gaba、Ala及びGlyから選択される単一アミノ酸であり得る。

【0083】

親油性置換基及びスペーサーの例として、ヘキサデカノイル - iso - グルタミン酸を以下の式に示す。

20

【化4】



30

【0084】

ここで、本発明の化合物中のLysは、アミド部分を介することによってGlu（スペーサー）に共有結合で取り付けられる。ヘキサデカノイル（パルミトイル）は、アミド部分を介してGluスペーサーに共有結合で取り付けられる。

40

【0085】

あるいは又は加えて、本発明の化合物内の1つ又は複数のアミノ酸側鎖は、例えば溶解性、及び/又は生体内（例えば血漿中での）半減期、及び/又は生物学的利用能を増強するために、重合体部分に結合させることもできる。そのような修飾はさらに、治療用タンパク質やペプチドのクリアランス（例えば腎クリアランス）を低減することが知られている。

【0086】

重合体部分は、水溶性（両親媒性（amphiphilic）又は親水性）であり、無毒性であり、且つ、医薬的に不活性であることが好ましい。好適な重合体部分には、ポリ

50

エチレングリコール (P E G)、P E G のホモポリマー若しくはコポリマー、P E G のモノメチル置換重合体 (m P E G)、及びポリオキシエチレン・グリセロール (P O G) が含まれる。例えば、Int . J . Hematology、第 68 号：1 頁 (1998 年)；Bioconjugate Chem .、第 6 号：150 頁 (1995 年)；及び Crit . Rev . Therap . Drug Carrier Sys .、第 9 号：249 頁 (1992 年) を参照のこと。

【 0087 】

他の好適な重合体残基には、ポリ アミノ酸、例えばポリ リシン、ポリ アスパラギン酸及びポリ グルタミン酸などが含まれる (例えば、Gombotz ら (1995 年)、Bioconjugate Chem .、第 6 号：332 ~ 351 頁；Hudecz ら (1992 年)、Bioconjugate Chem .、第 3 号、49 ~ 57 頁；Tsukada ら (1984 年)、J . Natl . Cancer Inst .、第 73 号：721 ~ 729 頁；及び Pratesi ら (1985 年)、Br . J . Cancer、第 52 号：841 ~ 848 頁を参照のこと)。

10

【 0088 】

重合体部分は、直鎖であっても分岐鎖であってもよい。それは、500 ~ 40000 Da、例えば 500 ~ 10000 Da、1000 ~ 5000 Da、10000 ~ 20000 Da、又は 20000 ~ 40000 Da の分子量を持ち得る。

【 0089 】

本発明の化合物は 2 つ以上のそのような部分を含んでなることもできるが、その場合、そのような部分全部の総分子量は一般に、先に与えられた範囲内に収まる。

20

【 0090 】

重合体部分は、アミノ酸側鎖のアミノ、カルボキシル又はチオール基に (共有結合によって) 連結され得る。好ましい例は、Cys 残基のチオール基や Lys 残基のイプシロン・アミノ基であり、そして Asp 及び Glu 残基のカルボキシル基もまた使用され得る。

【 0091 】

当業者 (The skilled reader) は、連結反応を実施するのに使用できる好適な技術をよく知っている。例えば、メトキシ基を保有する PEG 部分は、Nektar Therapeutics AL からの市販されている試薬を使用したマレイミド結合によって Cys チオール基と連結できる。また、WO2008/101017 及び好適な化学の詳細について先に引用した引用文献も参照のこと。

30

【 0092 】

他の側面において、本発明の化合物中、例えばペプチド X 中の 1 つ以上の側鎖は、ポリマー部分と連結している。

【 0093 】

更なる側面において、本発明は、上記発明の化合物、又はその塩若しくは誘導体を、担体との混合物として含有する組成物を提供する。

【 0094 】

「その誘導体」という用語は、前記化合物のいずれかの誘導体を指す。誘導体は、前記化合物の、全ての化学的改変物、全ての保存的異形 (conservative variant)、全てのプロドラッグ及び全ての代謝物を含む。

40

【 0095 】

本発明は、下記の症状を治療する医薬の製造における、本発明の化合物の使用も提供する。

【 0096 】

また、本発明は、医薬として許容され、前記担体が医薬として許容される担体である組成物も提供する。

【 0097 】

ペプチド合成

本願発明の化合物は、標準的な合成方法、遺伝子組み換え発現系、又はその他の最先端

50

の方法のいずれかによって製造され得る。よって、グルカゴン類似体は、例えば以下の：

(a) 固相法又は液相法を用いて段階的に若しくは断片組立によってペプチドを合成し、そして最終的なペプチド生成物を単離及び精製する段階；

(b) 宿主細胞内でペプチド X - Z (即ち本発明の化合物のペプチド骨格) をコードする核酸構築物を発現させ、そして発現産物を宿主細胞培養物から回収する段階；又は

(c) ペプチド X - Z (即ち本発明の化合物のペプチド骨格) をコードする核酸構築物の無細胞試験管内発現をおこない、そして発現産物を回収する段階；

を含んでなる方法、あるいは、ペプチドの断片を得るための (a)、(b)、及び (c) の方法のいずれかの組み合わせと、それに続いて断片をつなぎ合わせてペプチドを得、そしてそのペプチドを回収すること、を含めた多くのやり方で合成され得る。典型的には、方法 (b) 及び (c) は、合成後のペプチド骨格内の適切な位置に、親油性置換基を付加することにより補足され得る。方法 (a) において、誘導体化されたアミノ酸は、合成過程で直接組み込まれてもよく、又は親油性置換基は、その後付加されてもよい。

【0098】

固相又は液相ペプチド合成を用いて本発明の類似体を合成することが好ましい。これに関連して、参考文献は、WO 98 / 11125、そして中でも Fields, GB 2,002 年、「Principles and practice of solid-phase peptide synthesis」: Synthetic Peptides (第2版) 中、及び本明細書中の実施例に与えられている。

【0099】

組み換え発現のために、通常、本発明の核酸断片は、好適なベクター内に挿入されて、本発明の核酸断片を保有するクローニングベクター又は発現ベクターを形成する；そのような新規ベクターもまた本発明の不可欠な要素である。適用の目的及びタイプにより、ベクターは、プラスミド、ファージ、コスミド、ミニ染色体、又はウイルスの形態であり得るが、特定の細胞において一時的に発現されるだけである裸の DNA もまた重要なベクターである。本発明の好ましいクローニングベクター及び発現ベクター (プラスミドベクター) は、自動複製が可能であり；それにより、その後のクローニングのための高レベルの発現又は高レベルの複製のための高いコピー数を可能にする。

【0100】

一般的な概要では、発現ベクターは、5' 3' の方向で、且つ、作動できるように連結された状態で以下の要素を含んでなる：本発明の核酸断片の発現を駆動するためのプロモーター、任意には (細胞外相又は該当する場合にはペリプラズマ内への) 分泌を可能にするリーダーペプチドをコードする核酸配列、本発明のペプチドをコードする核酸断片、及び任意にはターミネータをコードする核酸配列。それらは、追加の要素、例えば選択マーカーや複製開始点などを含んでもよい。生産株又は細胞株の中で発現ベクターを操作する場合、ベクターが宿主細胞ゲノム内に組み込まれることができるのは好ましいことであり得る。当業者は、好適なベクターに非常に詳しいので、それらの具体的な必要性に従ってベクターを設計できる。

【0101】

本発明のベクターは、本発明の化合物を産生するように宿主細胞を形質転換するために使用される。(本発明の不可欠な要素でもある) そのような形質転換細胞は、本発明の核酸断片及びベクターの伝播のために使用される、又は本発明のペプチドの遺伝子組み換え産生のために使用される培養細胞又は細胞株であることができる。

【0102】

本発明の好ましい形質転換細胞は、微生物、例えば細菌 (例えばエシェリキア (Escherichia) 属 (例えば E. コリ (E. coli))、バチルス (Bacillus) 属 (例えばバチルス・ズブチリス (Bacillus subtilis))、サルモネラ (Salmonella) 属、若しくはマイコバクテリウム (Mycobacterium) 属 (好ましくは非病原性のもの、例えば M. ボビス (M. bovis) BCG)、酵母 (例えばサッカロミセス・セレビシエ (Saccharomyces ce

10

20

30

40

50

revisia e) 及びピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) など)、及び原虫などである。あるいは、形質転換細胞は、多細胞生物に由来することもある、すなわち、それは、真菌細胞、昆虫細胞藻類細胞、植物細胞、又は哺乳動物細胞であってもよい。クローニング及び/又は最適化された発現を目的として、形質転換細胞が本発明の核酸断片を複製することができるのが好ましい。核酸断片を発現する細胞は、本発明の有用な実施形態である；それらは本発明のペプチドの小規模又は大規模な調製のために使用できる。

【0103】

形質転換細胞によって本発明のペプチドを製造するとき、必須ではないが、発現産物が培地中に分泌されると都合がよい。

10

【0104】

X - Z の組換え発現は、X - Z 中の各残基が、通常の核酸翻訳によりタンパク質に組み込まれる20種類の天然に存在するアミノ酸の1つである場合のみ適切であると理解され得る。しかしながら、非在来 (non-conventional) のアミノ酸を導入し得る改変された翻訳系が知られており、必要に応じてそのような系が使用されてもよい。

【0105】

本発明の化合物を合成する経路の例を、下記に示す。当業者は、選択された任意の化合物に応じて当該プロセスを自由に最適化するために、示された手順を応用することが出来る。

【0106】

20

有効性

GLP 1 又はグルカゴン (Glu) 受容体への関連化合物の結合を、アゴニスト活性の指標として使用できるが、一般に、関連受容体へのかかる化合物の結合によって引き起こされる細胞内シグナル伝達を計測する生物学的アッセイを使用することが好ましい。例えば、グルカゴン作動薬によるグルカゴン受容体の活性化は、細胞サイクリックAMP (cAMP) 形成を刺激する。同様に、GLP 1 作動薬によるGLP 1 受容体の活性化は、細胞cAMP形成を刺激する。よって、これらの2つの受容体のうちの一方を発現している好適な細胞におけるcAMPの産生は、関連する受容体活性を観察するのに使用できる。従って、それぞれ一方の受容体を発現しているが、もう一方を発現していない細胞型の好適な対の使用は、両タイプの受容体に対するアゴニスト活性を測定するのに使用できる。

30

【0107】

当業者は好適なアッセイ形式を認識し、そして実施例が以下に提供されている。GLP 1 受容体及び/又はグルカゴン受容体は、実施例に記載のとおり受容体の配列を持つことができる。例えば、アッセイには、一次受入番号GI: 4503947のヒト・グルカゴン受容体 (グルカゴンR) 及び/又は一次受入番号GI: 166795283のヒト・グルカゴン様ペプチド1受容体 (GLP 1R) を使用することもできる (前駆タンパク質の配列に関する場合には、シグナル配列を欠いた成熟タンパク質をアッセイに利用することはもちろん理解されるべきである)。

【0108】

40

所定の受容体における作動薬の効力の数値的評価基準としてEC₅₀値が使用されることもある。EC₅₀値は、特定のアッセイにおいてその化合物の最大活性の半分を達成するのに必要とされる化合物の濃度の評価基準である。よって、例えば、特定のアッセイにおいて天然グルカゴンのEC₅₀ [GLP 1] より低いEC₅₀ [GLP 1] を有する化合物は、グルカゴンよりも高いGLP 1 受容体アゴニスト能力を有すると考えることができる。

【0109】

この明細書に記載の化合物は、通常、Glu GLP 1 二重作動薬である、すなわち、それらはグルカゴン受容体とGLP 1 受容体の両方においてcAMP形成を刺激することができる。それぞれの受容体の刺激は独立したアッセイにより計測され、その後互い

50

に比較できる。

【0110】

所定の化合物に関する G L P 1 受容体についての E C₅₀ 値 (E C₅₀ [G L P 1 R]) とグルカゴン受容体についての E C₅₀ 値 (E C₅₀ [グルカゴン R]) を比較することによって、その化合物の相対グルカゴン選択性 (%) が求められる：

相対グルカゴン R 選択性 [化合物] = (1 / E C₅₀ [グルカゴン R]) × 100 / (1 / E C₅₀ [グルカゴン R] + 1 / E C₅₀ [G L P 1 R])

【0111】

相対 G L P 1 R 選択性も同様に求められる：

相対 G L P 1 R 選択性 [化合物] = (1 / E C₅₀ [G L P 1 R]) × 100 / (1 / E C₅₀ [グルカゴン R] + 1 / E C₅₀ [G L P 1 R]) 10

【0112】

化合物の相対的選択性は、G L P 1 又はグルカゴン受容体に対するその効果をもう片方の受容体に対するその効果と直接比較することを可能にする。例えば、より高い化合物の相対 G L P 1 選択性は、グルカゴン受容体と比較したときに G L P 1 受容体に対してその化合物がより効果的であるということである。

【0113】

以下で記載したアッセイを使用して、我々は、ヒト・グルカゴンに関する相対 G L P 1 選択性が約 5 % であることを求めた。

【0114】

本発明の化合物は、ヒト・グルカゴンに比べてより高い相対 G L P 1 R 選択性を有する。よって、特定のレベルのグルカゴン R アゴニスト活性に関して、化合物は、グルカゴンに比べてより高いレベルの G L P 1 R アゴニスト活性 (すなわち、G L P 1 受容体においてより優れた効力) を示す。当然のことながら、グルカゴン受容体及び G L P 1 受容体における特定の化合物の絶対効力は、適当な相対 G L P 1 R 選択性が達成されている限り、天然ヒト・グルカゴンより高くても、より低くても、又はほぼ同等であってもよい。 20

【0115】

それにもかかわらず、本願発明の化合物は、ヒト・グルカゴンより低い E C₅₀ [G L P 1 R] を有することもある。化合物は、グルカゴンより低い E C₅₀ [G L P 1 R] を有することもある一方で、ヒト・グルカゴンのものより 10 倍弱高い、ヒト・グルカゴンのものより 5 倍弱高い、又はヒト・グルカゴンのものより 2 倍弱高い E C₅₀ [グルカゴン R] を維持している。 30

【0116】

本発明の化合物は、ヒト・グルカゴンのものより 2 倍弱である E C₅₀ [グルカゴン R] を有することができる。化合物は、ヒト・グルカゴンのものの 2 倍弱である E C₅₀ [グルカゴン R] を有することができ、且つ、ヒト・グルカゴンのものの半分未満、ヒト・グルカゴンのものの 5 分の 1 未満、又はヒト・グルカゴンのものの 10 分の 1 未満である E C₅₀ [G L P 1 R] を有する。 40

【0117】

化合物の相対 G L P 1 選択性は、5 % ~ 95 % であり得る。例えば、化合物は、5 ~ 20 %、10 ~ 30 %、20 ~ 50 %、30 ~ 70 %、又は 50 ~ 80 % ; 又は 30 ~ 50 %、40 ~ 60 %、50 ~ 70 % 又は 75 ~ 95 % の相対選択性を有し得る。 40

【0118】

本発明の化合物は、限定されないが、カルシトニン遺伝子関連ペプチド 1 (C G R P 1)、コルチコトロピン放出因子 1 及び 2 (C R F 1 及び C R F 2)、胃抑制ポリペプチド (G I P)、グルカゴン様ペプチド 1 及び 2 (G L P - 1 及び G L P - 2)、グルカゴン (G C G R)、セクレチン、ゴナドトロピン放出ホルモン (G n R H)、パラチロイドホルモン 1 及び 2 (P T H 1 及び P T H 2)、血管作動性腸管ペプチド等の、他のクラス B G P C R 受容体に対しても効果を有してもよい。 50

【 0 1 1 9 】

治療上の使用

本発明の化合物は、肥満、脂質異常症及び糖尿病を含む代謝性疾患において、魅力的な治療選択肢を提供し得る。

【 0 1 2 0 】

メタボリック症候群は、人の代謝的なリスク因子群を特徴とする。それらには、腹筋肥満（腹筋内臓周りの過剰な脂肪組織）、アテローム形成性脂質異常症（高いトリグリセリド、低いHDLコレステロール及び／又は高いLDLコレステロールを含めた血液脂質異常であって、それが動脈壁におけるプラークの蓄積を助長する）、高血圧（高血圧症）、インスリン抵抗性及び耐糖能異常、血栓形成促進状態（例えば、高い血中フィブリノゲン又はプラスミノゲンアクチベーター 1）、及び炎症促進状態（例えば、高い血中C反応性タンパク質）が含まれる。

10

【 0 1 2 1 】

メタボリック症候群をわずらっている人は、2型糖尿病、並びに冠動脈性心疾患及び動脈硬化症のその他の発現（例えば脳卒中や末梢血管疾患）に関連した他の疾患の高いリスクがある。この症候群の主要な潜在するリスク因子は、腹筋肥満、インスリン抵抗性及び耐糖能異常、血栓形成促進状態（例えば、高い血中フィブリノゲン又はプラスミノゲンアクチベーター 1）、及び炎症促進状態（例えば、高い血中C反応性タンパク質）であると思われる。

20

【 0 1 2 2 】

糖尿病は、インスリン分泌、インスリン作用、又は双方の欠如に起因する高血糖を特徴とする代謝性疾患のグループを含む。糖尿病の急性兆候は、過剰な尿生成、結果として生じる代償性口渴及び水分摂取増加、霧視、原因不明の体重減少、嗜眠、及びエネルギー代謝における変化を含む。糖尿病の慢性高血糖は、長期の損傷、機能障害、及び様々な器官、特に眼、腎臓、神経、心臓及び血管の不全と関係がある。糖尿病は、病原性特性に基づいて、1型糖尿病、2型糖尿病及び妊娠性糖尿病に分類される。

【 0 1 2 3 】

1型糖尿病は、インスリン分泌膵臓β細胞の自己免疫破壊によって生じる全糖尿病症例の5 - 10%を占める。

【 0 1 2 4 】

2型糖尿病は、糖尿病症例の90 - 95%を占め、一連の複合的な代謝性障害の結果である。2型糖尿病は、診断閾値以下の血漿グルコースレベルを維持するのに不十分となる内因性のインスリン生成の結果である。

30

【 0 1 2 5 】

妊娠性糖尿病は、妊娠中に確認されるグルコース不耐性の任意の程度を意味する。

【 0 1 2 6 】

糖尿病前症は、空腹時血中ブドウ糖不良及び耐糖能障害を含み、血糖値が上昇したが糖尿病の臨床診断に設定されるレベル以下である場合に生じる状態を意味する。

【 0 1 2 7 】

2型糖尿病及び糖尿病前症の人の比率が高いことは、腹部肥満症（腹部内臓周囲の過剰な脂肪組織）、アテローム生成脂質異常症（動脈壁でプラークの発達を助長する、高トリグリセリド、低HDLコレステロール及び／又は高LDLコレステロールを含む血液脂質異常）、血圧上昇（高血圧）症、血栓形成促進性状態（例えば、血液中の高いフィブリノゲン又はプラスミノゲン活性化因子インヒビター 1）、及び炎症誘発状態（例えば、血液中のC反応性タンパク質の増加）を含むさらなる代謝性危険因子の高有病率に起因する罹患率及び死亡率のリスクが高まっている状態である。

40

【 0 1 2 8 】

一方で、肥満症は、糖尿病前症、2型糖尿病、及び例えば、あるタイプの癌、閉塞型睡眠時無呼吸症及び胆嚢疾患を進行するリスクを高める。

【 0 1 2 9 】

50

脂質異常症は、循環器疾患のリスクの増加と関係がある。血漿HDL濃度と動脈硬化性疾患のリスクとの間に逆相関が存在するので、高比重リポタンパク質(HDL)は、臨床上重要である。動脈硬化性プラークに貯蔵されるコレステロールの大部分はLDLに由来し、従って低密度リポタンパク質(LDL)の濃度の上昇はアテローム性動脈硬化と密接に関係がある。HDL/LDL比は、アテローム性動脈硬化症、特に冠動脈アテローム性動脈硬化症の臨床上のリスク指標である。

【0130】

何らかの特定の理論に拘束されるべきではないが、本発明の化合物は、Glucagon-1の二機能アゴニストとして振る舞う(dual agonist)。二機能アゴニストは、脂質代謝に対するグルカゴンの効果と、食物摂取に対するGLP-1の効果を併せ持っている。それらは、過剰な脂肪の蓄積の防止及び持続的な体重減少の誘導を促進する相乗効果をもたらす。前記化合物のあるものは、体重に対する何らかの効果とは独立して、グルコースコントロールに対して直接有益な効果をも有し得る。

10

【0131】

二機能Glucagon-1アゴニストの相乗効果は、高コレステロール及びLDL等の心臓血管のリスク因子の減少をももたらし得て、それらは体重に対するそれらの効果と全く独立したものであってもよい。

【0132】

本発明の化合物は、体重増加の防止、体重減少の促進、過剰な体重の減少又は病的な肥満を含む肥満の治療(例えば食欲、食事、食物摂取、カロリー摂取、及び/又はエネルギー消費のコントロールによる)、及び過剰な体重により引き起こされ、又は特徴付けられる関連する疾患及び健康状態を改善するための、薬剤として使用され得る。これらは、限定されないが、肥満、病的肥満、手術前の病的肥満、肥満に関連した炎症、肥満に関連した胆嚢疾患、及び肥満が誘導する睡眠時無呼吸を含む。また、本発明の化合物は代謝疾患、高血圧、II型糖尿病、アテローム促進性異常脂質血症、アテローム性動脈硬化、動脈硬化、冠動脈性心疾患、末梢動脈疾患、脳卒中又は微小血管疾患の治療に用いられてもよい。これらは全て、肥満に関連し得る症状である。しかしながら、本発明の化合物のこれらの症状に対する効果は、体重に対する効果を全体的又は部分的に經由して媒介されても、又はそれらに独立していてもよい。更に、それらのグルコースコントロールに対する直接的な効果を介して、本発明の化合物は、上記症状のいずれか、又は、I型糖尿病及び妊娠性糖尿病を含む、必ずしも過剰な体重に関連し、又は引き起こされない他の疾患の治療に有用であってもよい。

20

30

【0133】

本発明の化合物は、更に、循環LDLレベルの低下及び/又はHDL/LDL比率の増大のための薬剤として使用され得る。

【0134】

組み合わせ治療

上記のように、本発明の化合物に続く参照は、その医薬として許容される塩又は溶媒和物、及び2つ以上の異なる本発明の化合物を含有する組成物にも及ぶと理解されるべきである。

40

【0135】

本発明の化合物は、肥満、高血圧、脂質異常症又は糖尿病の治療剤との組み合わせ治療の一部として投与されてもよい。

【0136】

そのような場合、前記2つの有効成分は、一緒に又は個別に与えられてもよく、同一の若しくは個別の製剤の部分として与えられてもよい。

【0137】

従って、前記化合物又はその塩は、更に、限定されないが、グルカゴン様ペプチド受容体1アゴニスト、ペプチドYY受容体アゴニスト又はその類似体、カンナビノイド受容体1アンタゴニスト、リパーゼ阻害剤、メラノコルチン受容体4アゴニスト、又はメラニン

50

凝集ホルモン受容体 1 アンタゴニストを含む、抗肥満剤との組み合わせにおいて使用されてもよい。

【0138】

本発明の化合物又はその塩は、限定されないが、アンジオテンシン変換酵素阻害剤、アンジオテンシン II 受容体ブロッカー、利尿剤、ベータブロッカー又はカルシウムチャンネルブロッカーを含む、抗高血圧剤との組み合わせにおいて使用されてもよい。

【0139】

本発明の化合物又はその塩は、限定されないが、スタチン、フィブラート、ナイアシン及び / 又はコレステロール吸収阻害剤を含む、脂質異常症の薬剤との組み合わせにおいて使用されてもよい。

10

【0140】

更に、本発明の化合物又はその塩は、メトホルミン、スルホニル尿素、グリニド、DPP-IV 阻害剤、グリタゾン、異なる GLP-1 アゴニスト又はインスリンを含む、抗糖尿病剤との組み合わせにおいて使用されてもよい。好ましい態様において、本発明の化合物又はその塩は、インスリン、DPP-IV 阻害剤、スルホニル尿素又はメトホルミン、特にスルホニル尿素又はメトホルミンと組み合わせて、適切な血糖コントロールを達成するために使用される。より好ましい態様において、本発明の化合物又はその塩は、適切な血糖コントロールを達成するため、インスリン又はインスリン類似体と組み合わせて使用される。インスリン類似体の例は、限定されないが、Lantus、Novorapid、Humalog、Novomix、及び Actraphane HM を含む。

20

【0141】

医薬組成物

本発明の化合物又はその塩は、保存又は投与のために調製された医薬組成物として製剤化されてもよく、典型的には、治療有効量の本発明の化合物又はその塩を、医薬として許容される担体中に含有する。

【0142】

そのような組成物は、固体、ペースト又は液体の形態であってもよく、それらは具体的な投与経路及び / 又は患者の要求に関連して、選択及び最適化されてもよい。そのような形態は、本来的に当業者に公知である。

【0143】

本発明に用いられる化合物の治療有効量は、投与経路、処置されている哺乳類のタイプ、及び検討中の特定の哺乳類の身体的特徴によって決まるであろう。この量を決定するこれらの因子及びそれらの関係は、医薬分野における当業者に周知である。この量及び投与方法は、最適な効果を達成するために適合させることができ、そして医薬分野における当業者に周知の体重、食事、併用処方等の因子及び他の因子によって決定することができる。ヒトの使用に最も適切な投与量サイズ及び投与計画は、本発明によって得られる結果によって導くことができ、そして適切にデザインされた臨床試験において確認することができる。

30

【0144】

有効投与量及び治療プロトコールは、従来手段によって決定することができ、実験動物において低用量で開始し、続いて効果をモニターしながら投与量を増加させ、そしてさらに投与計画を体系的に変化させる。特定の対象に対する最適な投与量を決定する場合に、臨床医は多数の因子を考慮することができる。このような考慮は、当業者に周知である。

40

【0145】

用語「医薬的に許容される担体」とは、任意の標準的な医薬担体を含む。治療上の使用のための医薬的に許容される担体は、医薬分野で周知であり、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985) に記載される。例えば、弱酸性又は生理的 pH の無菌生理食塩水及びリン酸緩衝生理食塩水を使用することができる。pH 緩衝剤は、リン酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、トリス (ヒドロキシメチル

50

）アミノメタン（トリス）、N - トリス（ヒドロキシメチル）メチル - 3 - アミノプロパンスルホン酸（TAPS）、炭酸ジアンモニウム、好ましい緩衝液であるジエタノールアミン、ヒスチジン、アルギニン、リジン、又は酢酸塩又はこれらの混合物である。さらに、当該用語は、ヒトを含む動物における使用のための米国薬局方において列記される任意の薬剤を含む。

【0146】

用語「医薬的に許容される塩」とは、本願の化合物の塩を意味する。塩とは、例えば酸付加塩及び塩基性塩等の医薬として許容される塩を含む。酸付加塩の例は、塩酸塩、クエン酸塩及び酢酸塩を含む。塩基性塩の例は、陽イオンが、例えばナトリウム及びカリウム等のアルカリ金属、例えばカルシウム等のアルカリ土類金属、及びアンモニウムイオン + N (R3)3 (R4) (式中、R3及びR4は独立して、任意には置換C1 - 6 - アルキル、任意には置換C2 - 6 - アルケニル、任意には置換アリール、又は任意には置換ヘテロアリールを指定する) から選択される塩を含む。医薬として許容される塩の他の例は、「Remington's Pharmaceutical Sciences」、17th edition, Ed. Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mark Publishing Company, Easton, PA, U.S.A., 1985及び最新版、及びEncyclopaedia of Pharmaceutical Technologyに記載される。

10

【0147】

「治療」とは、有益な又は望ましい臨床結果を得るためのアプローチである。本発明の目的において、有益な又は望ましい臨床結果とは、検出可能か否かによらず、（部分的又は全体的な）症状の軽減、疾患の範囲の減少、疾患の安定化（すなわち、悪化していない）状態、疾患進行の遅延又は緩徐化、病状の回復又は寛解、及び緩解を含むがこれらに限定されない。「治療」とは、治療を受けない場合の期待生存と比較した生存の延長もまた意味し得る。「治療」とは、疾患の病状の発生又は変質の防止を意図して行われる治療介入である。従って、「治療」とは、治療及び予防手段の双方を意味する。治療を必要とする対象には、既に障害に罹患している対象及び障害が予防され得る対象が含まれる。

20

【0148】

医薬組成物は、単位剤形とすることができる。このような形態において、組成物は活性成分の適切な量を含む単位用量に分けられる。単位剤形はパッケージ剤形とすることも可能である。ここでパッケージは、例えば剤形の離散量を含むパッケージ錠剤、カプセル剤、及びバイアル又はアンプル中の粉末剤としてもよい。単位剤形は、そのまま単一のカプセル剤、カシェ (cachet)、又は錠剤としてもよく、又はこれらのパッケージ形態のいずれかの適切な数としてもよい。それは、単一用量の注射可能形態、例えばペンの形態で供することができる。幾つかの態様において、パッケージ形態は、使用の指示を記載したラベル又は挿入物を含む。組成物は、任意の適した投与経路及び投与手段のために製剤することができる。医薬的に許容される担体又は希釈剤は、経口、直腸、経鼻、局所（口腔内又は舌下を含む）、腔内又は非経口（皮下、筋肉内、静脈内、皮内、及び経皮を含む）投与に適した製剤に使用されるものを含む。製剤は、単位剤形の便利な形を取ることができ、医薬の分野の周知の任意の方法によって調製することができる。

30

40

【0149】

皮下又は経皮の投与方法は、本明細書に記載される化合物に特に適し得る。更に、本発明の組成物は、共有結合、疎水結合及び静電相互作用等を介して、更に化合物の安定性を促進し、生体利用効率を増大し、溶解度を増大し、副作用を軽減し、当業者に公知の時間療法を達成し、及び患者の服薬遵守を増大させる、薬物担体、薬物送達系、及び、進歩した薬物送達系、及びそれらの組み合わせと、組み合わせられてもよい。薬物担体、薬物送達系、及び、進歩した薬物送達系の例として、限定されないが、ポリマー、例えばセルロース及び誘導体、多糖類、例えばデキストラン及び誘導体、澱粉及び誘導体、ポリ（ビニルアルコール）、アクリレート及びメタクリレートポリマー、ポリ乳酸及びポリグリコール酸及びそれらのブロックコポリマー、ポリエチレングリコール、担体タンパク質、例え

50

ばアルブミン、ゲル、例えば熱ゲル化系、例えば当業者に周知のブロックコポリマー系、ミセル、リポソーム、マイクロスフィア、ナノパーティクル、液体結晶及びその分産物、L2相及びその分産物、当業者に周知の脂質-水系中の相挙動、ポリマーミセル、複エマルジョン(multiple emulsion)、自己乳化剤、自己マイクロ乳化剤、シクロデキストリン及びその誘導体、並びにデンドリマーが挙げられる。

【実施例】

【0150】

方法

グルカゴン類似体の一般的な合成

固相ペプチド合成(SPPS)を、NMP中のポリスチレン樹脂(TentaGel S Ram)上で標準のFmoc法を使用して、マイクロウェーブ補助シンセサイザー上で行った。塩基としてのDIEAと共に、HATUをカップリング剤として使用した。ペピジン(NMP中20%)を、脱保護に使用した。擬似プロリン(pseudoproline): 適用可能な場合に、Fmoc-Phe-Thr(.Psi.Me, Me pro)-OH及びFmoc-Asp-Ser(.Psi., Me, Me pro)-OH(NovaBiochemから購入)を使用した。

【0151】

ここで使用されている略語の意味を以下に示す。

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

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

DCM: ジクロロメタン

DMF: N,N-ジメチルホルムアミド

DIEA: ジイソプロピルエチルアミン

EtOH: エタノール

Et₂O: ジエチルエーテル

HATU: N-[(ジメチルアミノ)-1H-1,2,3-トリアゾル[4,5-b]ピリジン-1-イルメチレン]-N-メチルエタンアミニウムヘキサフルオロリン酸N-オキシド

MeCN: アセトニトリル

NMP: N-メチルピロリドン

TFA: トリフルオロ酢酸

TIS: トリイソプロピルシラン

【0152】

切断:

未精製ペプチドを、2時間の室温で95/2.5/2.5%(v/v)TFA/TIS/水の処理によって樹脂から切断した。配列にメチオニンを有するペプチドに関して、95/5%(v/v)TFA/EDT混合物を使用した。ほとんどのTFAを減圧下で除去し、未精製ペプチドを沈殿させジエチルエーテルで洗浄し、常温で乾燥させ一定重量とした。

【0153】

アシル化グルカゴン類似体の一般的な合成

アシル化されるリジン上のイブシロンアミンを除いて、側鎖基上で樹脂にさらに結合させ完全に保護したペプチドでリジン残基の側鎖上でアシル化したことを除いて、ペプチド主鎖をグルカゴン類似体の一般的な合成に関する上記の通り合成した。アシル化するリジンは、Fmoc-Lys(ivDde)-OH又はFmoc-Lys(Dde)-OHを使用して取り込んだ。ペプチドのN末端を、NMP中でBoc₂Oを使用してBoc基で保護した。ペプチドを樹脂に結合させたまま、NMP中の5%ヒドラジン水和物を使用してivDde保護基を選択的に切断した。続いて、上記の標準ペプチドカップリング方法

を使用してピペリジンで脱保護し脂肪酸でアシル化した、Fmoc-Glu-OtBuのようなスパーサーアミノ酸と最初に、脱保護されたリジン側鎖を結合させた。あるいは、N末端におけるヒスチジンをBoc-His(Boc)-OHとして最初から取り込むことができる。樹脂からの切断及び精製を上記の通り行った。

【0154】

代替的な手法は、脂肪酸の容易な組み込みのためのFmoc-Lys(ヘキサデカノイル-isoGlu(tBu))-OH、及び標準的な合成手順の一部としてのリンカーの使用である。

【0155】

ヒト・グルカゴン及びGLP-1受容体を発現している株化細胞の産生

ヒト・グルカゴン受容体(グルカゴン-R)(初期受入番号P47871)又はヒト・グルカゴン様ペプチド1受容体(GLP-1R)(初期受入番号P43220)をコードしているcDNAを、cDNAクローンBC104854(MGC:132514/IMAGE:8143857)又はBC112126(MGC:138331/IMAGE:8327594)からそれぞれクローン化した。サブクロニングのための末端制限酵素部位をコードしているプライマーを使用して、グルカゴン-R又はGLP-1RをコードしているDNAをPCRによって増幅した。5'末端プライマーは、効率的な翻訳を保証するための近接コザック共通配列をさらにコードした。グルカゴン-R及びGLP-1RをコードしているDNAの忠実度を、DNA配列決定によって確認した。グルカゴン-R又はGLP-1RをコードしているPCR産物を、ネオマイシン(G418)抵抗性マーカーを含む哺乳類の発現ベクター中にサブクローン化した。

【0156】

グルカゴン-R又はGLP-1Rをコードしている哺乳類の発現ベクターを、標準的なリン酸カルシウム形質導入方法によってHEK293細胞中に形質導入した。形質導入の48時間後に、制限希釈クローニングのために細胞を播種し、培地中で1mg/mlのG418で選択した。3週間後に、グルカゴン-R及びGLP-1R発現細胞の12個の生存コロニーを採取し増殖させ、下記の通りグルカゴン-R及びGLP-1R効果アッセイ中で試験した。1つのグルカゴン-R発現クローン及び1つのGLP-1R発現クローンを、化合物プロファイリングのために選択した。

【0157】

グルカゴン受容体及びGLP-1受容体効果アッセイ

ヒト・グルカゴンR、又はヒトGLP-1Rを発現しているHEK293細胞を、0.01%ポリ-L-リジンでコーティングした96-ウェルのマイクロタイタープレート中に40,000細胞/ウェルで播種し、100µl成長培地において培養しながら1日間成長させた。分析の日に、成長培地を除去し細胞を200µlタイロート緩衝液で1度洗浄した。試験ペプチド、100µMのIBMX、及び6mMのグルコースの増加濃度を含む100µlのタイロート緩衝液中で、細胞を37で15分間インキュベートした。反応を25µlの0.5M HClの付加によって停止し、氷上で60分間インキュベートした。Perkin-Elmerから購入したフラッシュプレート(登録商標)cAMPキットを使用して、説明書通りに、cAMP含有量を評価した。基準化合物(グルカゴン及びGLP-1)と比較したEC₅₀及び相対効力を、コンピューターを利用したカーブフィッティングによって評価した。

【0158】

実施例1：化合物1の合成

H-H-Aib-QGTF TSDY S K Y L D-K(ヘキサデカノイル-isoGlu)-RRAKDFIEWLLSA-NH₂(化合物1)

当該ペプチドは、TentaGel SRam樹脂(1.04g; 0.25mmol/g)を使用してCEMLiberty Peptide Synthesizer上で合成され、上記のFmoc-Phe-Thr(-Me, Me-Pro)-OH及びFmoc-Lys(ヘキサデカノイル-isoGlu(tBu))-OH(Cor

10

20

30

40

50

den Pharma)を使用したFmoc化学は、DMF/DCM (2:1, 8 ml)中に溶解された396 mgが、HATU (190 mg)と手動で組み合わせられた。当該溶液を前記樹脂に添加し、それからDIEA (86 µl)を添加した。当該樹脂を4時間静かに攪拌し、そしてDMFで洗浄した(8×2分)。

【0159】

当該ペプチドを、上記のように樹脂から切り離した。未精製ペプチドを、Geminiカラム(5×25 cm; 10 µm; C18)上、緩衝剤A (0.1% TFA; aq.)及び緩衝剤B (0.1% TFA; 90% MeCN; aq.)の混合物の流速35 ml/minで精製した。当該産物を、20%~70%の緩衝剤Bの線形勾配を用いて、47分掛けて溶出させ、分画(9 ml)を、分画回収手段を用いて回収した。関連する分画を、分析HPLC及びMSを用いて分析し、保存し、凍結乾燥して、白色の粉末を得た(88 mg; 95%)。その分子量は、MSにより3826.03 Daと判定された(Calc. 3826.05 Da)。

10

【0160】

実施例2：グルカゴン及びGLP-1受容体の活性

表1 GLP-1受容体又はグルカゴン受容体を発現するHEK293細胞におけるcAMP生産のEC50値

【表1】

20

化合物	EC50 (nM)	
	グルカゴン受容体	GLP-1 受容体
1	0.15	0.12
2	0.35	0.36
4	0.79	1.31
7	0.06	0.06
8	0.20	0.20
9	0.10	0.05
10	0.06	0.47
11	0.09	0.15
12	0.14	0.06
14	0.19	0.12
15	0.42	0.06
16	0.11	0.06
17	0.05	0.07
18	0.09	0.09
21	0.21	0.08

30

【配列表】

2015502380000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2012/076137

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K38/26 C07K14/605
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K C07K

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2010/070255 A1 (ZEALAND PHARMA AS [DK]; MEIER EDDI [DK]; RIBER DITTE [DK]; SKOVGAARD M) 24 June 2010 (2010-06-24) page 11 - page 14; table 3 -----	1-4, 16-26, 30-44
A	WO 2011/088837 A1 (ZEALAND PHARMA AS [DK]; PETERSEN JOERGEN SOEBERG [CH]; KJOELBYE ANNE L) 28 July 2011 (2011-07-28) -----	1-4, 16-26, 30-44

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

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 April 2013

Date of mailing of the international search report

20/09/2013

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mabit, Hélène

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2012/076137**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

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

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

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

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

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

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

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-4, 16-26, 30-44(all partially)

Remark on Protest

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

International Application No. PCT/ EP2012/ 076137

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-4, 16-26, 30-44(all partially)

Subject-matter of claims 1-4, 16-26, 30-44 partially wherein X has the sequence H-Aib-QGTFTSDYSKYLDKRRAKDFIEWLLSA

2-6. claims: 1-4, 16-26, 30-44(all partially)

Subject-matter of claims 1-4, 16-26, 30-44 partially wherein the peptide X has the sequence

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLLSA (Invention 2),
H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIKWLLSA (Invention 3),
HSQGTFTSDYSKYLDKRRAKDFIEWLLSA (Invention 4),
H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLLSA (invention 5),
H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLLA (Invention 6),
respectively.

7. claims: 1-4, 16-26, 30-44(all partially)

Subject-matter of claims 1-4, 16-26, 30-44 partially wherein the peptide X has a sequence which falls into the scope of claim 1 but which is not already encompassed in inventions 1-6. Each peptide represents a separate invention.

8. claims: 5-10, 27(completely); 16-25, 30-44(partially)

Compounds which fall into the scope of claim 5 and subject-matter related thereof.

9. claims: 11-15, 28(completely); 16-25, 30-44(partially)

Compounds which fall into the scope of claim 11 and subject-matter related thereof.

10. claims: 29(completely); 30-44(partially)

Subject-matter related to compound 22, 23, and 24 as defined in claim 29 and subject-matter related thereof.

International application No

PCT/EP2012/076137

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 5/10 (2006.01)		C 1 2 N 5/00 1 0 1	
A 6 1 K 48/00 (2006.01)		A 6 1 K 48/00	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)		A 6 1 K 45/00	
A 6 1 P 3/04 (2006.01)		A 6 1 P 3/04	
A 6 1 P 3/06 (2006.01)		A 6 1 P 3/06	
A 6 1 P 3/10 (2006.01)		A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 3/00 (2006.01)		A 6 1 P 3/00	
A 6 1 P 9/12 (2006.01)		A 6 1 P 9/12	
A 6 1 P 9/10 (2006.01)		A 6 1 P 9/10 1 0 1	
A 6 1 P 9/00 (2006.01)		A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)		A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)		A 6 1 P 43/00 1 2 1	
A 6 1 P 1/16 (2006.01)		A 6 1 P 29/00	
A 6 1 K 47/48 (2006.01)		A 6 1 P 1/16	
A 6 1 K 38/26 (2006.01)		A 6 1 K 47/48	
		A 6 1 K 37/28	

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

(74)代理人 100077517

弁理士 石田 敬

(74)代理人 100087871

弁理士 福本 積

(74)代理人 100087413

弁理士 古賀 哲次

(74)代理人 100117019

弁理士 渡辺 陽一

(74)代理人 100150810

弁理士 武居 良太郎

(74)代理人 100182730

弁理士 大島 浩明

(72)発明者 ディーター ボルフガンク ハンブレヒト

ドイツ連邦共和国, 5 5 2 1 6 インゲルハイム アム ライン, ピンガー シュトラーセ 1 7 3, ベーリンガー インゲルハイム ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハフツング, コーポレイト パテンツ

(72)発明者 ヤコブ リンド トルボルウ

デンマーク国, デーコー - 2 7 3 0 ヘアレウ, ブデルプバイ 5

(72)発明者 ディッテ リベル

デンマーク国, デーコー - 2 7 0 0 ブロンスホイ, デグネモーセ アレ 6 4

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA80 CA01 CA04 CA09 CA11 CA20 DA01 DA02 DA05

DA11 EA04 GA11 HA01 HA09 HA11

4B065	AA01X	AA57X	AA87X	AA90X	AA90Y	AB01	AC14	BA01	CA24	CA44
4C076	AA94	CC04	CC09	CC11	CC21	EE23	EE26	EE41	FF31	
4C084	AA02	AA07	AA13	AA19	BA01	BA37	DB35	MA02	NA14	ZA362
	ZA452	ZA702	ZA752	ZB112	ZC212	ZC332	ZC352	ZC752		
4H045	AA10	AA20	AA30	BA10	BA56	CA40	EA20	FA33	FA74	