

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6126097号
(P6126097)

(45) 発行日 平成29年5月10日(2017.5.10)

(24) 登録日 平成29年4月14日(2017.4.14)

(51) Int.Cl.	F 1		
C07K 14/605	(2006.01)	C07K 14/605	Z N A
A61K 38/22	(2006.01)	A61K 37/24	
A61K 38/26	(2006.01)	A61K 37/28	
A61K 47/50	(2017.01)	A61K 47/48	
A61K 47/42	(2017.01)	A61K 47/42	

請求項の数 14 (全 112 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2014-528963 (P2014-528963)
(86) (22) 出願日	平成24年9月6日(2012.9.6)
(65) 公表番号	特表2014-529629 (P2014-529629A)
(43) 公表日	平成26年11月13日(2014.11.13)
(86) 國際出願番号	PCT/EP2012/067364
(87) 國際公開番号	W02013/037690
(87) 國際公開日	平成25年3月21日(2013.3.21)
審査請求日	平成27年8月12日(2015.8.12)
(31) 優先権主張番号	11180265.8
(32) 優先日	平成23年9月6日(2011.9.6)
(33) 優先権主張国	欧洲特許庁(EP)
(31) 優先権主張番号	61/532,323
(32) 優先日	平成23年9月8日(2011.9.8)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(73) 特許権者	509091848 ノヴォ ノルディスク アー/エス デンマーク、パウスヴェア ディーケー 2880, ノヴォ アレー
(73) 特許権者	514056171 イエスパ・ラウ デンマーク・DK-2880・パウスヴェ ア・ノヴォ・アレー・(番地なし)
(74) 代理人	100108453 弁理士 村山 靖彦
(74) 代理人	100064908 弁理士 志賀 正武
(74) 代理人	100089037 弁理士 渡邊 隆

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 GLP-1誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

GLP-1ペプチドの誘導体であって、
ペプチドは、2つのみのLys残基、すなわち、第1および第2のLys残基、ならびにGLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して最大で8個のアミノ酸の変化を有し、

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Lys残基のアミノ基に付着している2つの延長部分を含み、

前記延長部分は、Chem.15、およびChem.16:

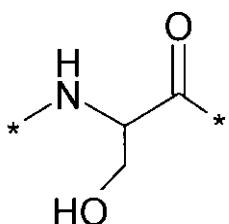
Chem.15:HOOC-(CH₂)_x-CO-*

Chem.16:HOOC-C₆H₄-O-(CH₂)_y-CO-*

(式中、xは、10~16の範囲の整数であり、yは、8~12の範囲の整数である)から選択され
、前記リンカーは、1つ以上のAA1-AA2-AA3

(式中、AA1は、第1のリンカー要素、Chem.1

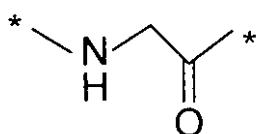
【化1】



10

第2のリンカー要素、Chem.2

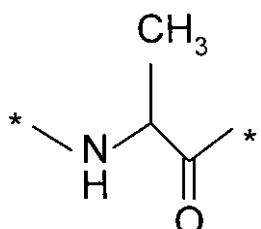
【化2】



20

または第3のリンカー要素、Chem.7

【化3】



30

であり、AA2は、Chem.1またはChem.2であり、
AA3は、Chem.1である)ならびに、第4のリンカー要素、Chem.5

【化4】



40

および/または、第5のリンカー要素、Chem.12: *-NH-(CH2)4-CH(NH2)-CO-*
のみからなるペプチドリンカーである、

誘導体、または前記誘導体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】

50

前記リンカーが、2回のChem.1を含む、請求項1に記載の誘導体。

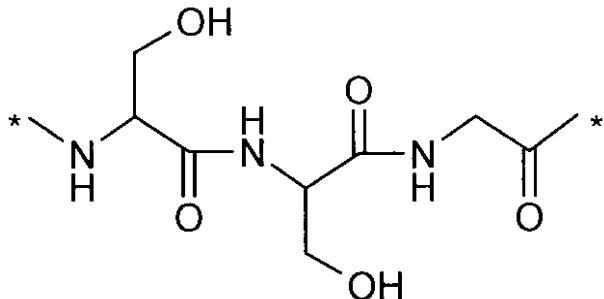
【請求項3】

前記リンカーが、第2のリンカー要素、Chem.2、または、第3のリンカー要素、Chem.7を含む、請求項1から2のいずれか一項に記載の誘導体。

【請求項4】

前記リンカーが、下記の通りの第1および第2のリンカー要素の組合せ、Chem.3:

【化5】



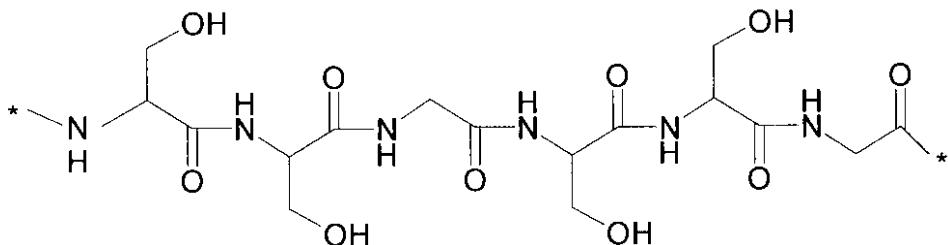
10

を含む、請求項1から3のいずれか一項に記載の誘導体。

【請求項5】

前記リンカーが、下記の通りの第1および第2のリンカー要素の組合せ、Chem.4:

【化6】



30

を含む、請求項1から4のいずれか一項に記載の誘導体。

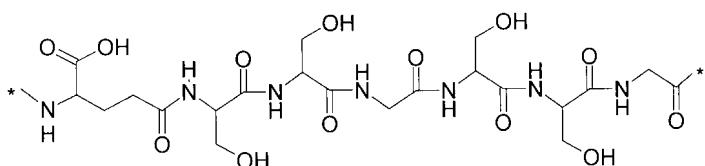
【請求項6】

前記リンカーが、第4のリンカー要素、Chem.5を含む、請求項1から5のいずれか一項に記載の誘導体。

【請求項7】

前記リンカーが、Chem.6:

【化7】



40

を含む、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】

前記リンカーが、第5のリンカー要素、Chem.12を含む、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】

50

前記GLP-1ペプチドが、式1

式1: Xaa₇-Xaa₈-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈

のGLP-1ペプチドを含み、式中、

Xaa₇は、L-ヒスチジン、イミダゾプロピオニル、D-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、D-ヒドロキシ-ヒスチジン、ホモヒスチジン、N-アセチル-ヒスチジン、N-ホルミル-ヒスチジン、D-フルオロメチル-ヒスチジン、D-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、

10

Xaa₈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、

Xaa₁₆は、ValまたはLeuであり、

Xaa₁₈は、SerまたはLysであり、

Xaa₁₉は、TyrまたはGlnであり、

Xaa₂₀は、LeuまたはMetであり、

Xaa₂₂は、Gly、Glu、Lys、またはAibであり、

Xaa₂₃は、Gln、Glu、またはArgであり、

20

Xaa₂₅は、AlaまたはValであり、

Xaa₂₆は、Val、His、Lys、またはArgであり、

Xaa₂₇は、Glu、Leu、またはLysであり、

Xaa₃₀は、Ala、Glu、Lys、またはArgであり、

Xaa₃₁は、Trp、Lys、またはHisであり、

Xaa₃₃は、ValまたはLysであり、

Xaa₃₄は、Lys、Glu、Asn、Gly、Gln、His、Arg、または存在せず、

Xaa₃₅は、Gly、Aib、または存在せず、

Xaa₃₆は、Arg、Gly、Lys、または存在せず、

Xaa₃₇は、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys、Arg、または存在せず、

30

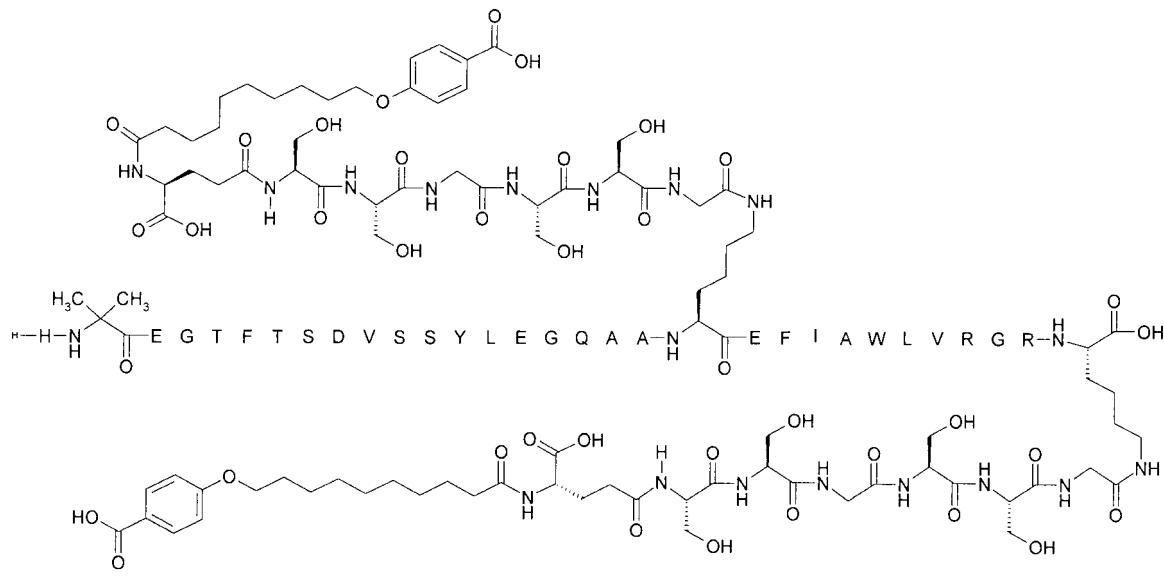
Xaa₃₈は、Ser、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys、Arg、または存在しない、請求項1から8のいずれかに記載の誘導体。

【請求項10】

下記から選択される化合物:

【化 8】

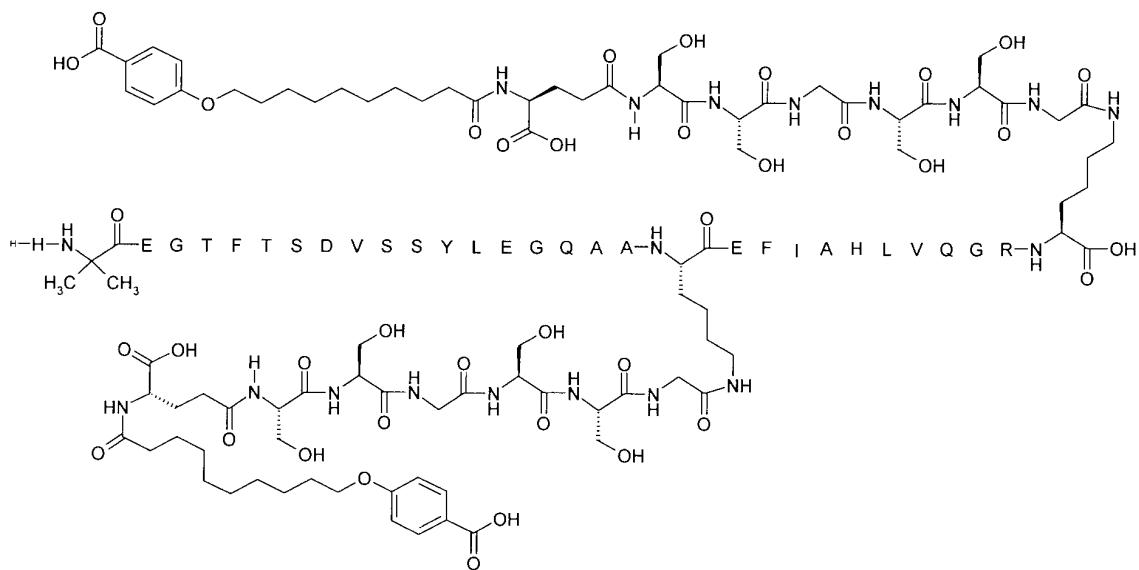
Chem. 20:



N²⁶-[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[2S]-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N³⁷-[2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[2S]-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸, Arg³⁴, Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド;

【化 9】

Chem. 21:

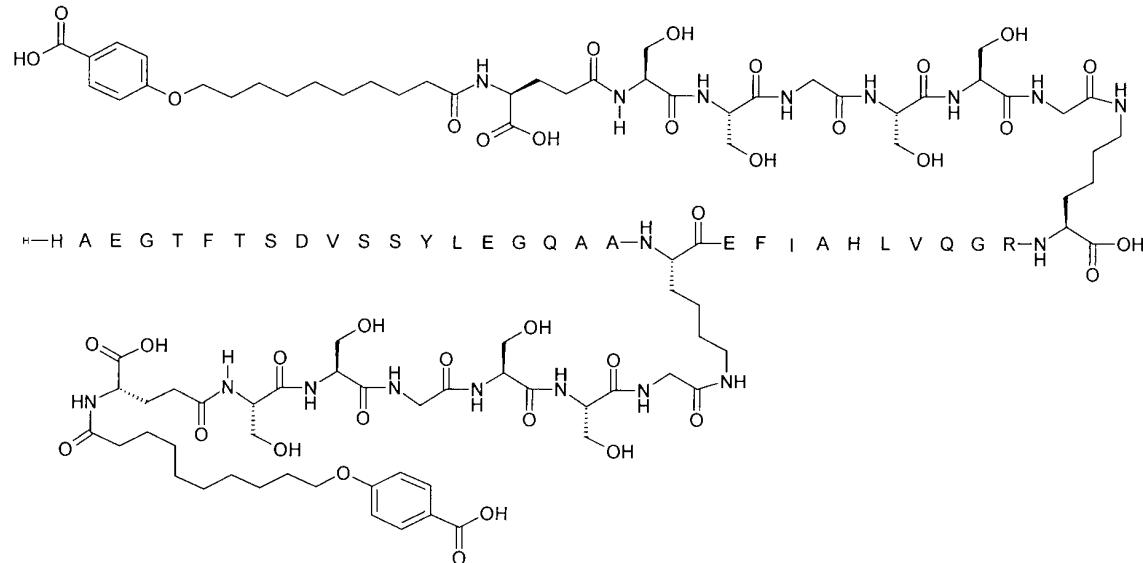


N²⁶-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N³⁷-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノ

ルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸,His³¹,Gln³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド；

【化10】

Chem. 22:



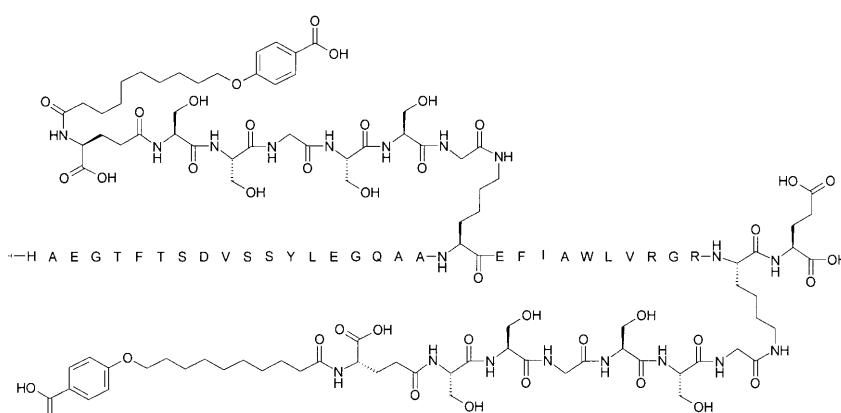
10

N²⁶-[2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N³⁷-[2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[His³¹,Gln³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド；

【化11】

30

Chem. 23:



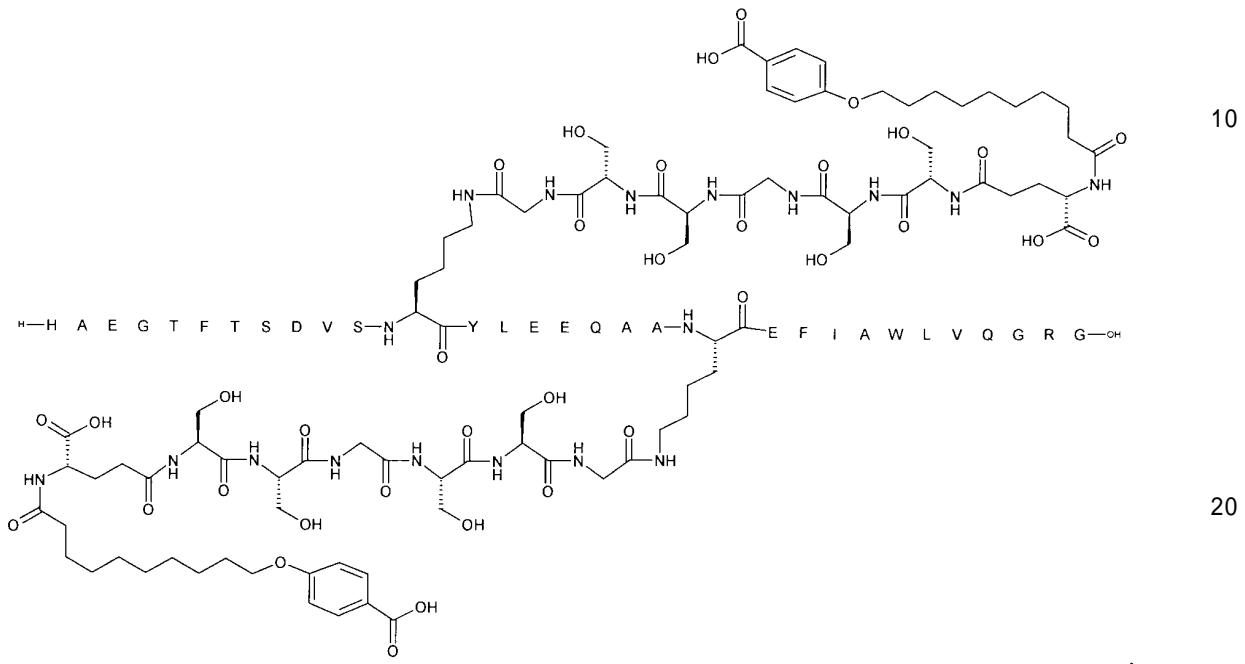
40

N²⁶-[2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N³⁷-[2-[(2S)-2-[(2S)-2-

50

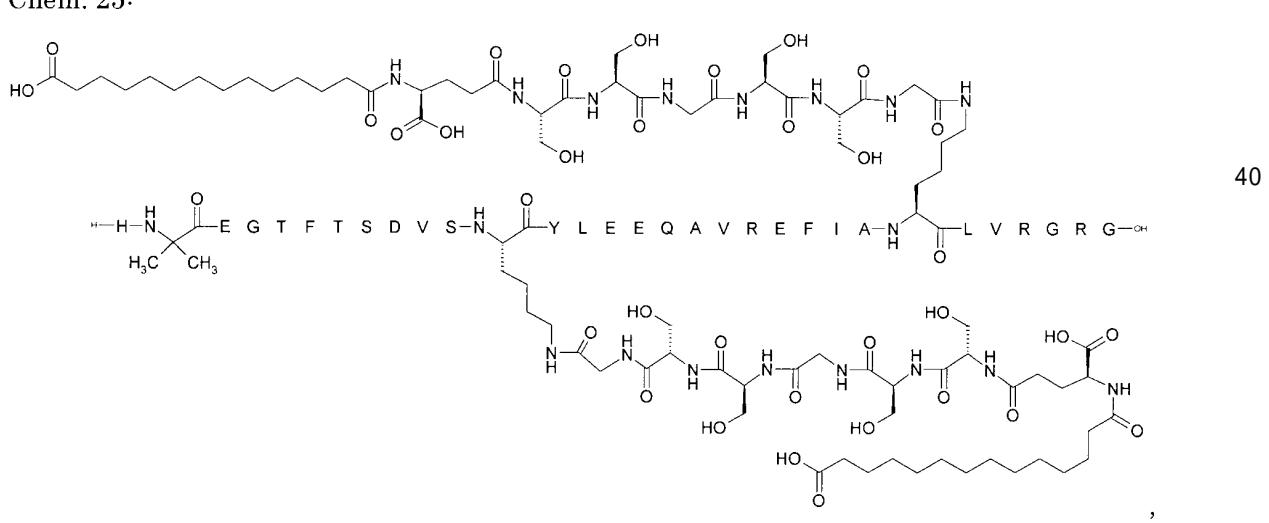
[[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[4S]-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Arg³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu；
【化12】

Chem. 24:



N¹⁸-[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド
【化13】

Chem. 25:



N¹⁸-[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[4S]-4-カルボキシ-4-(13-カル

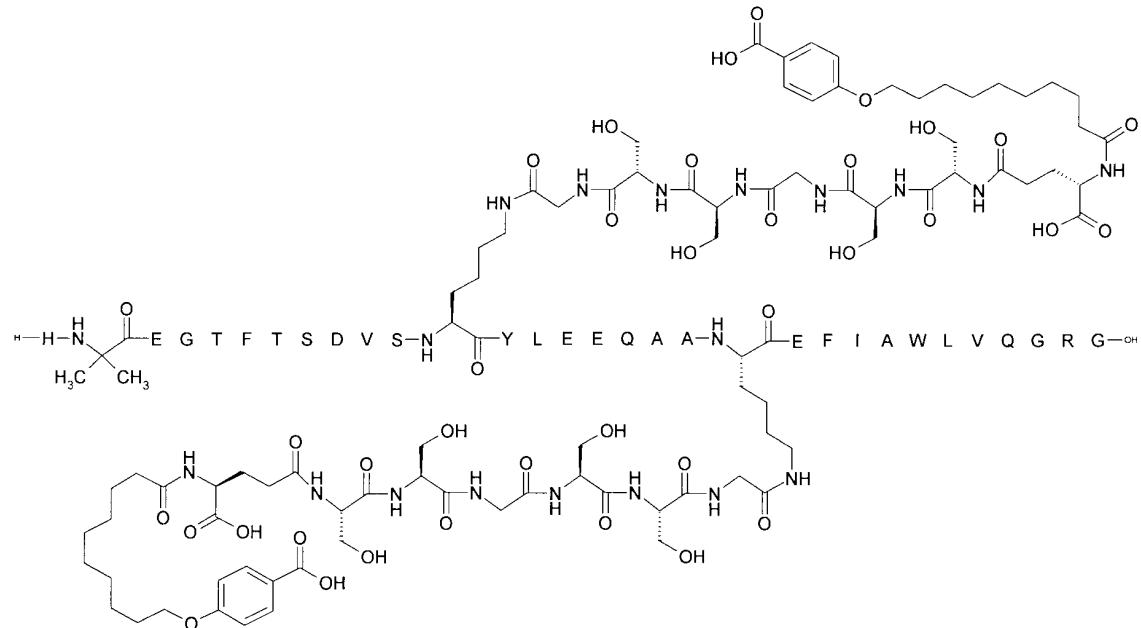
50

ボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル],N³¹-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アセチル]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Val²⁵,Arg²⁶,Lys³¹,Arg³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド；

【化14】

Chem. 26:

10



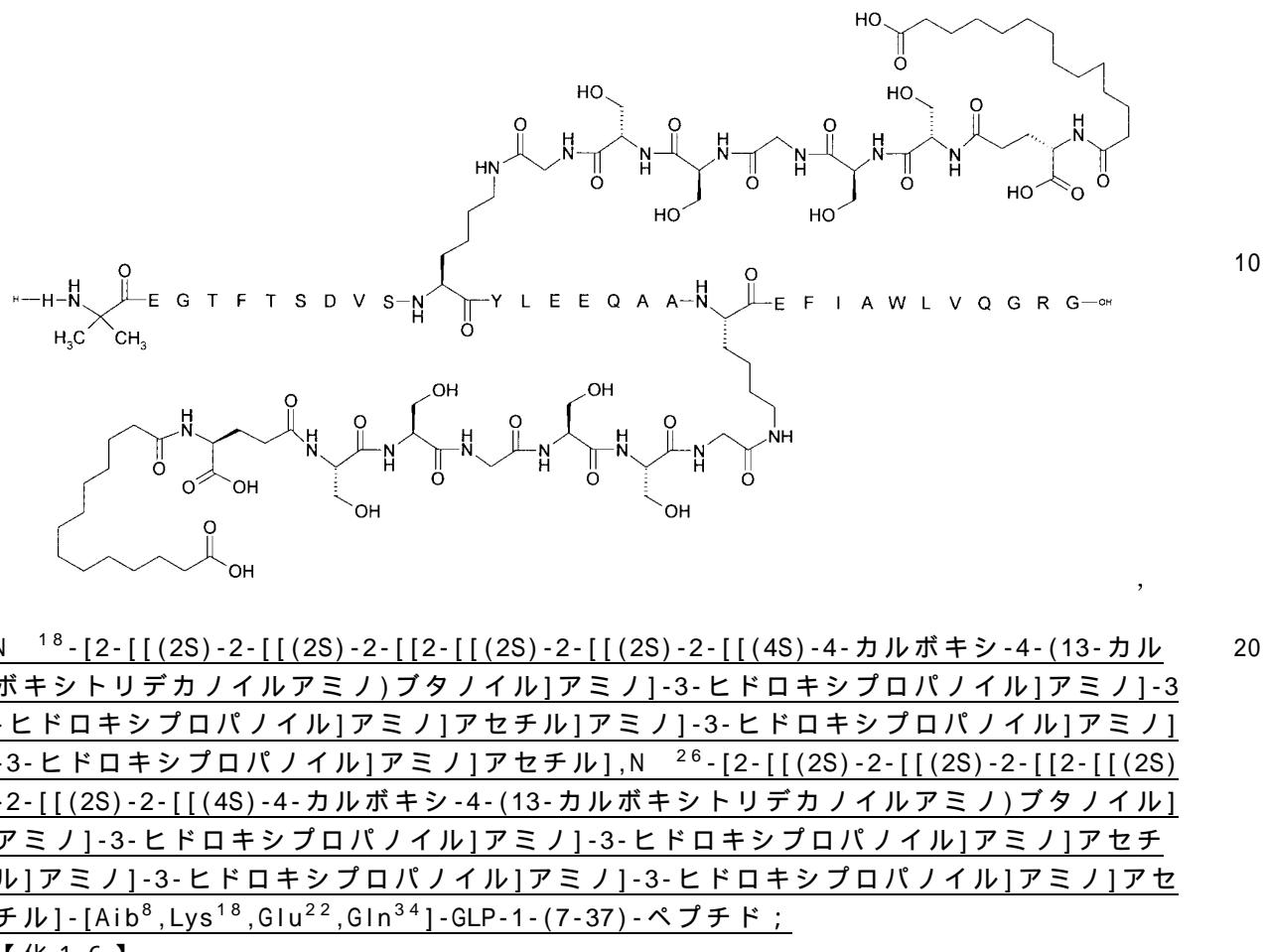
20

N¹⁸-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド；

30

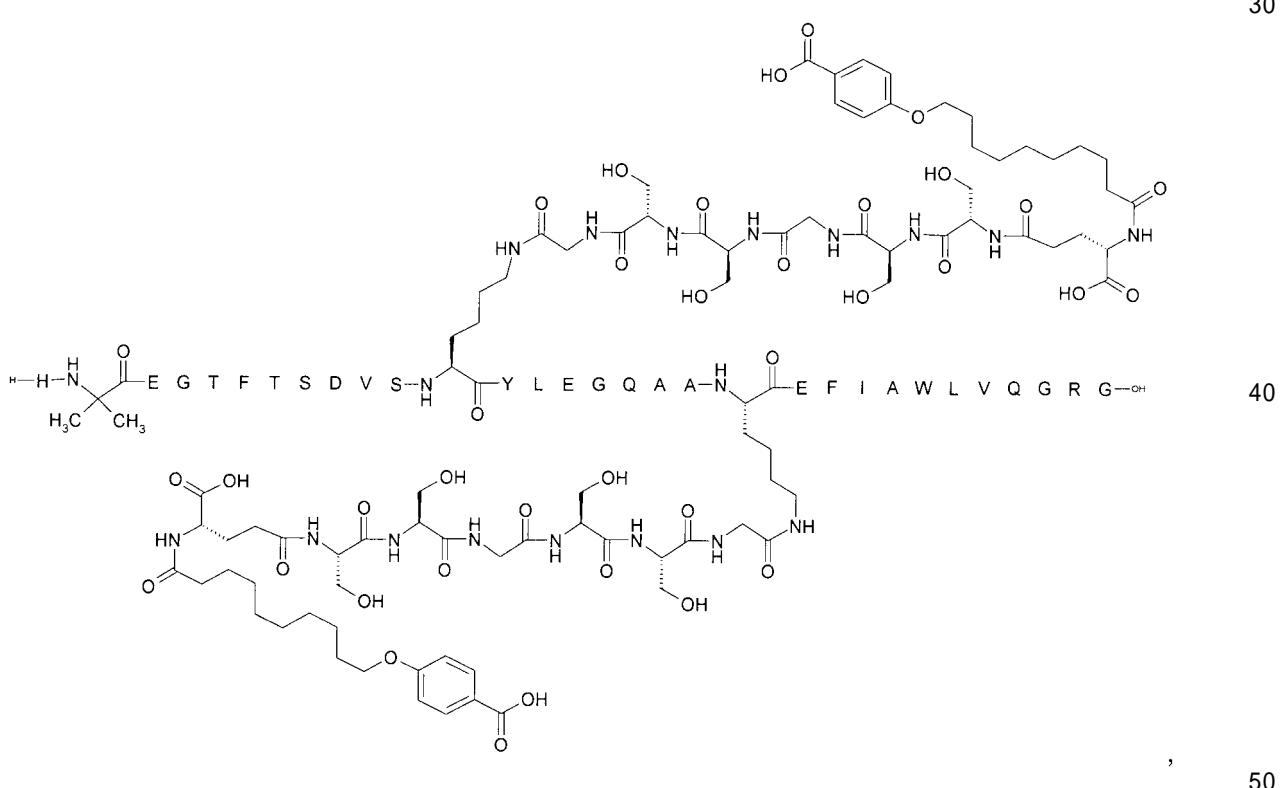
【化 15】

Chem. 27:



【化 16】

Chem. 28:

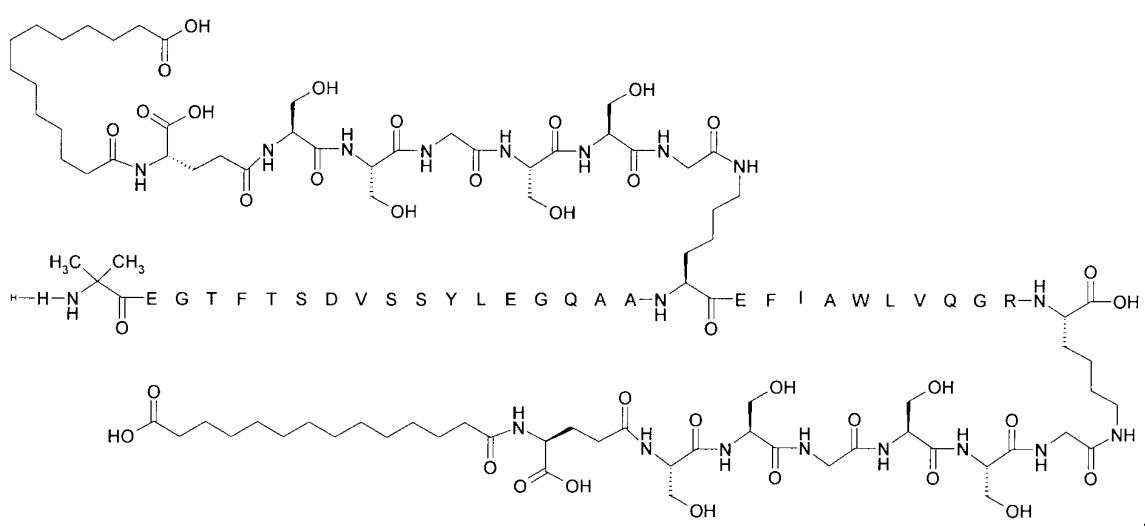


N¹⁸-[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[4S]-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N²⁶-[2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[4S]-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸, Lys¹⁸, Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド；

【化17】

10

Chem. 29:



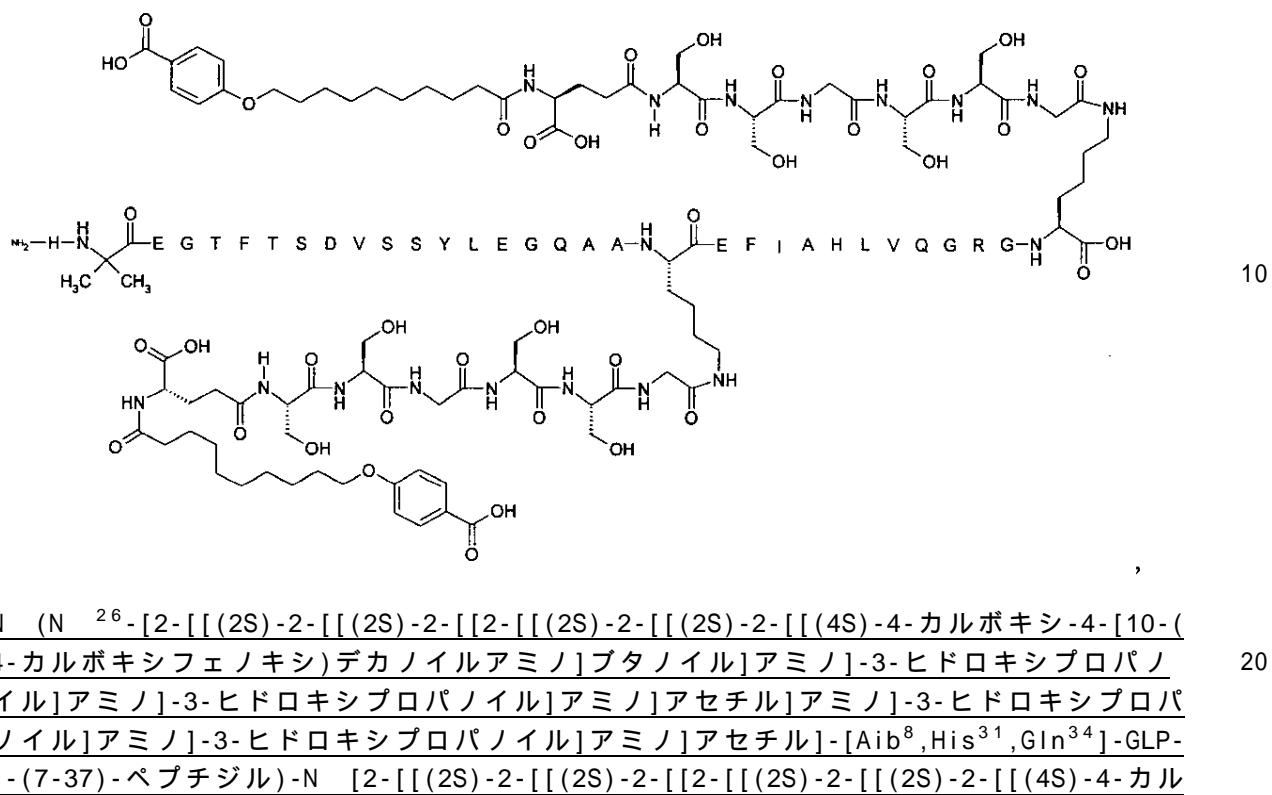
20

N²⁶-[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[2S]-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N³⁷-[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸, Gln³⁴, Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド；

30

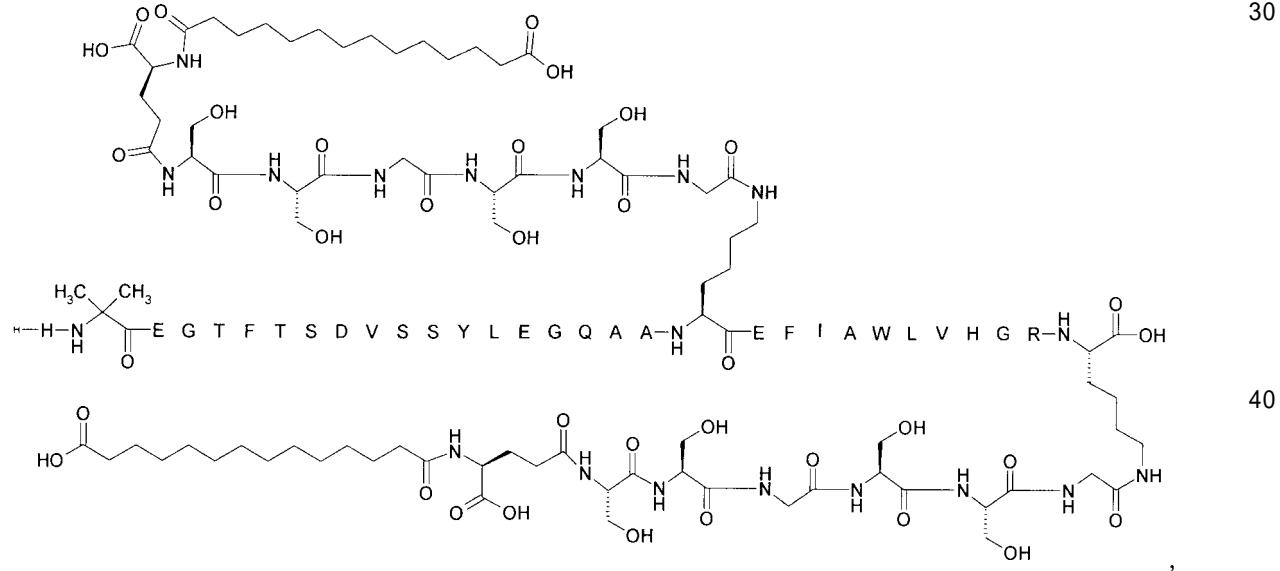
【化 1 8】

Chem. 30:



【化 1 9 】

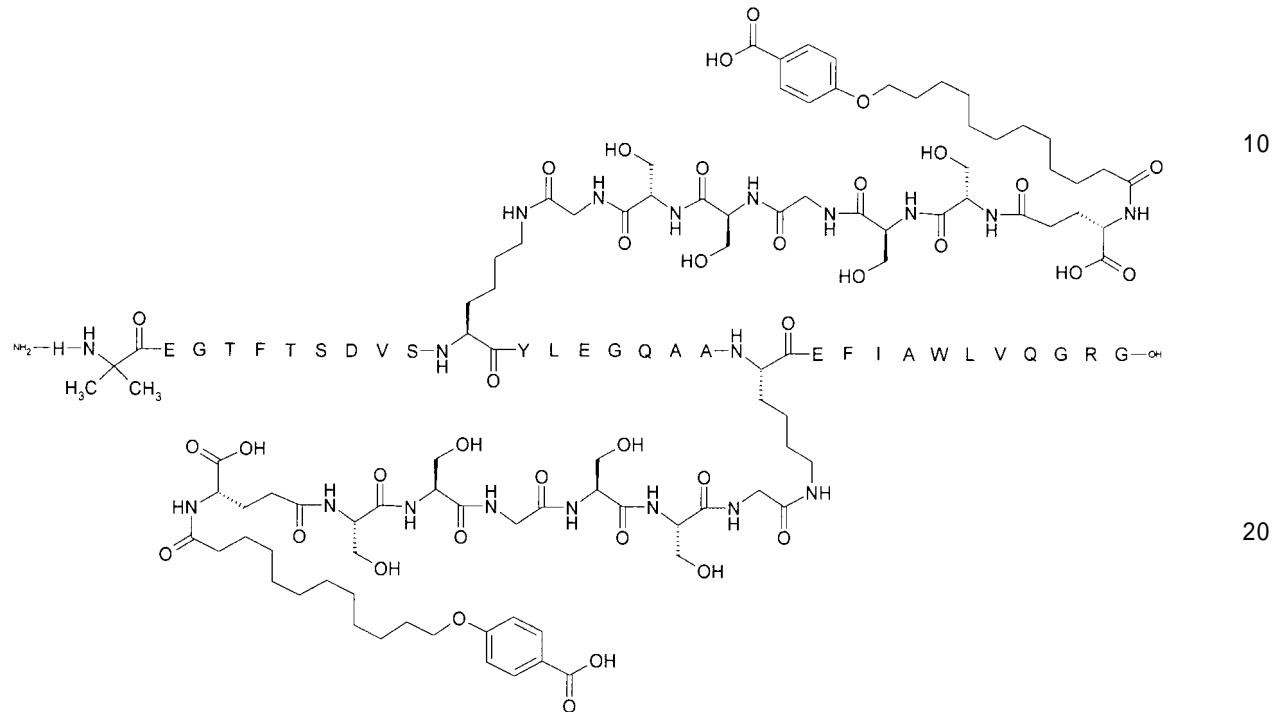
Chem. 31:



N²⁶-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N³⁷-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸,His³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド；
【化20】

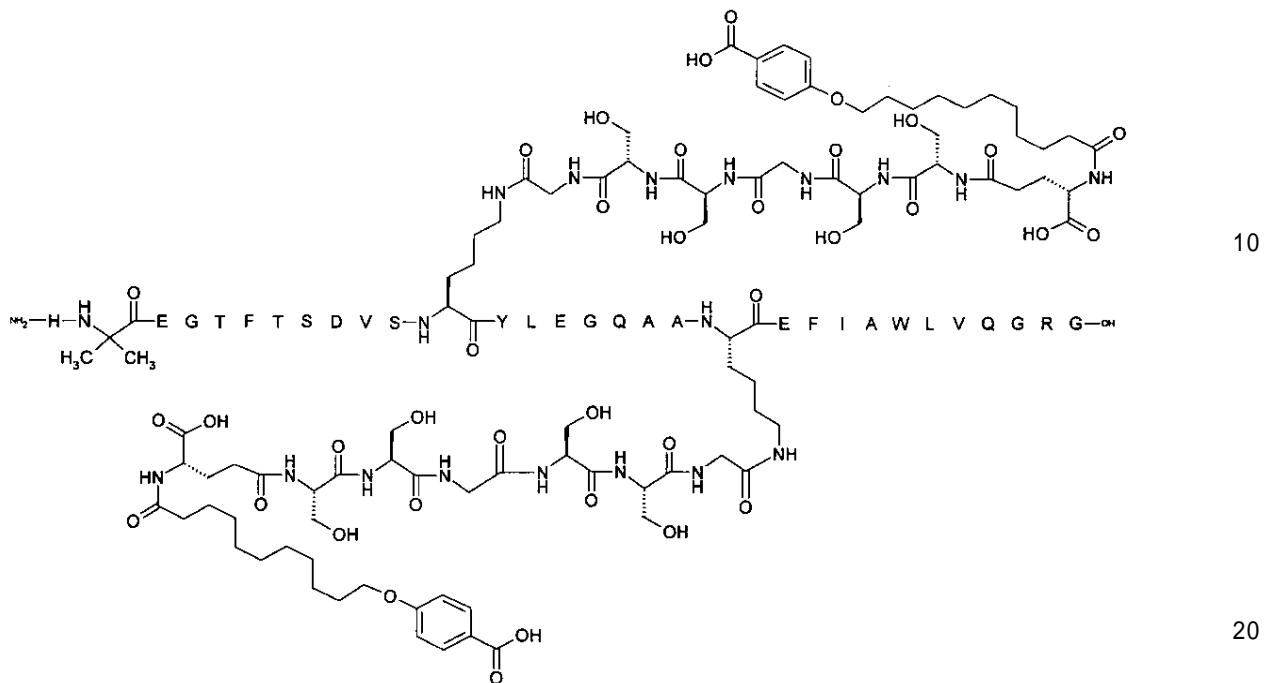
Chem. 32:



N¹⁸-[2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N²⁶-[2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド；
30

【化 2 1】

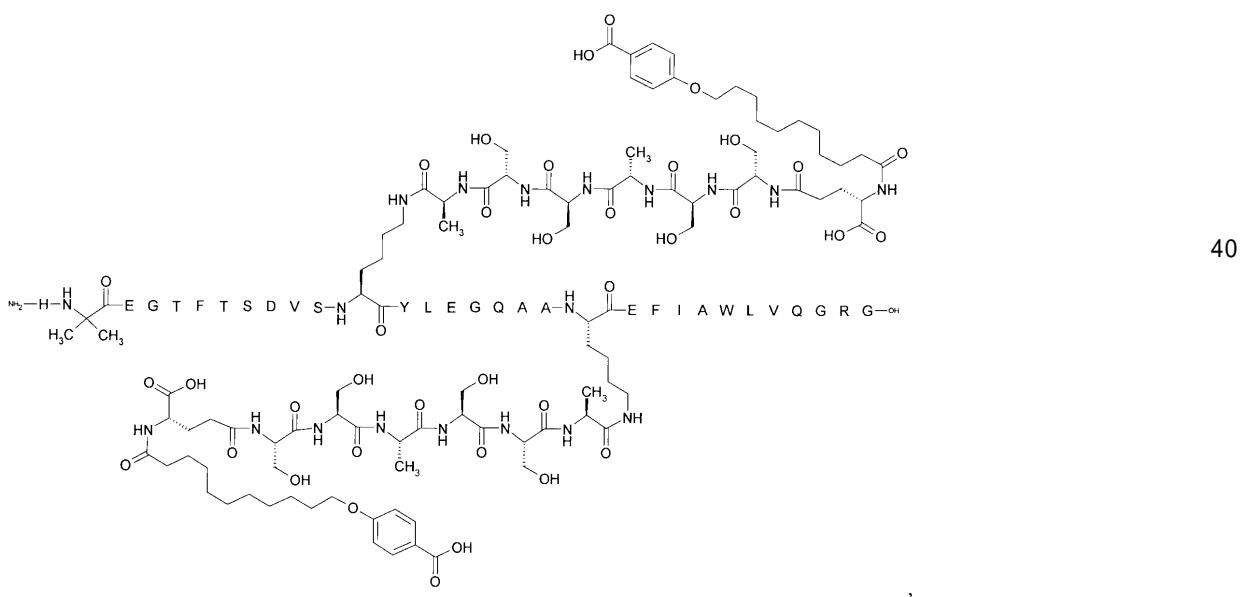
Chem. 33:



N¹⁸-[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[4S]-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N²⁶-[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[4S]-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸, Lys¹⁸, Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド；

【化 2 2】

Chem. 34:



N¹⁸-[(2S)-2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[4S]-4-カルボキシ-4-

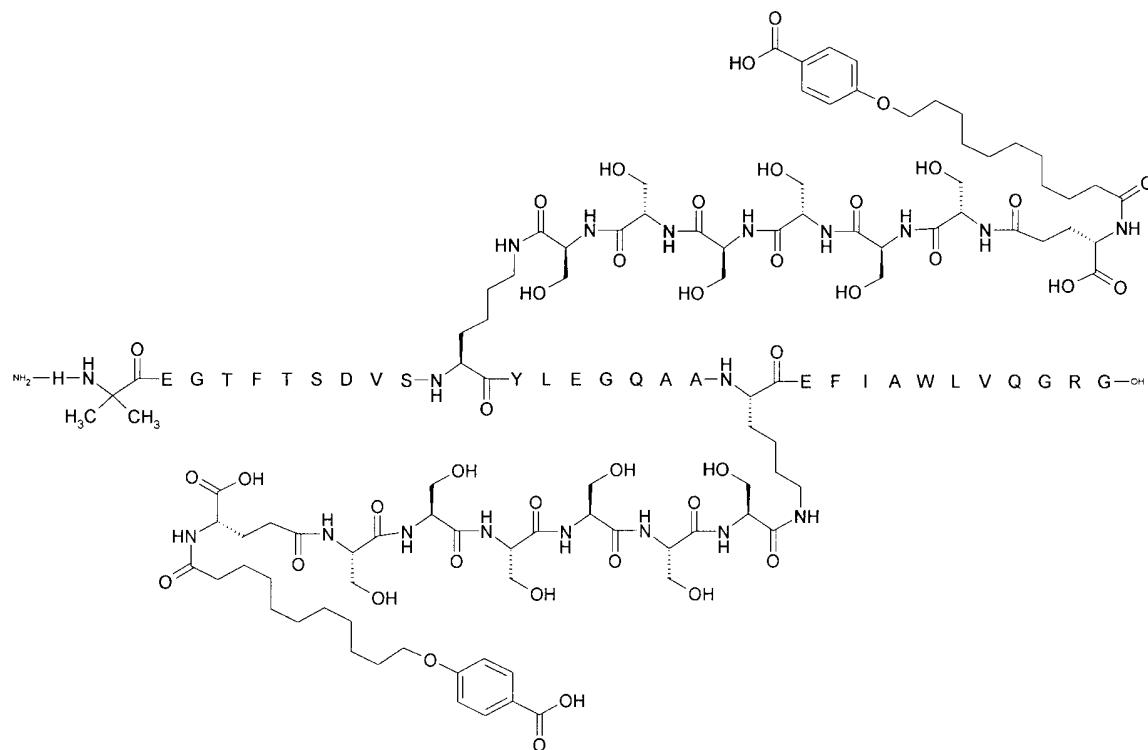
50

-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]プロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]プロパノイル],N²⁶
 -[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]プロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド；

【化23】

Chem. 35:

10



20

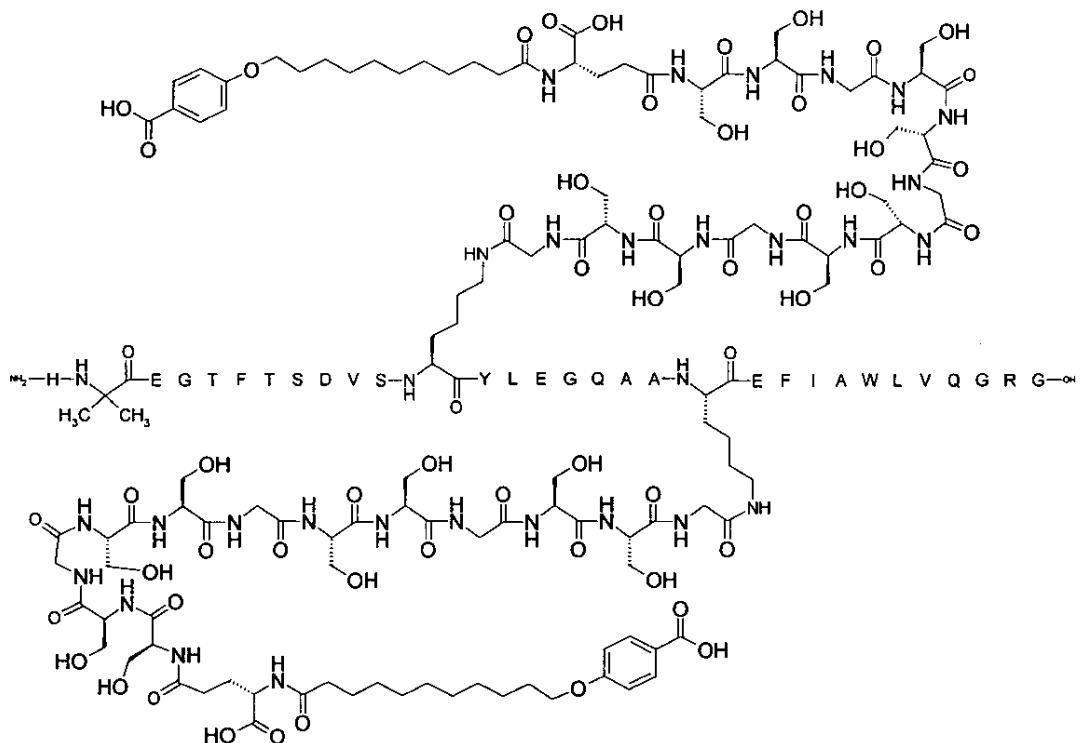
30

N¹⁸-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル],N²⁶-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド；

40

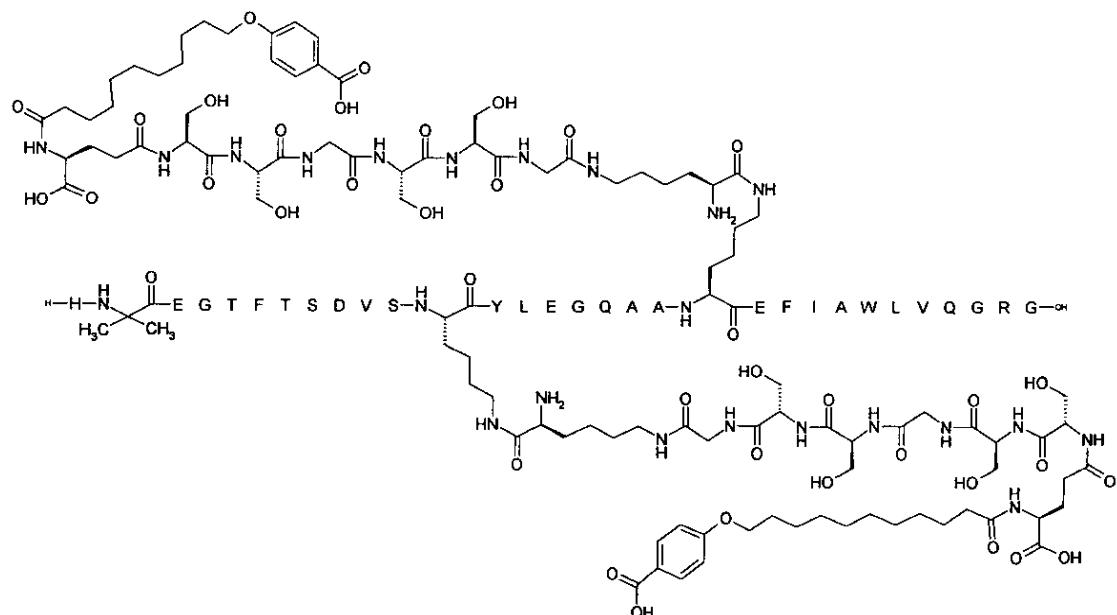
【化 2 4】

Chem. 36:



【化 25】

Chem. 37:



10

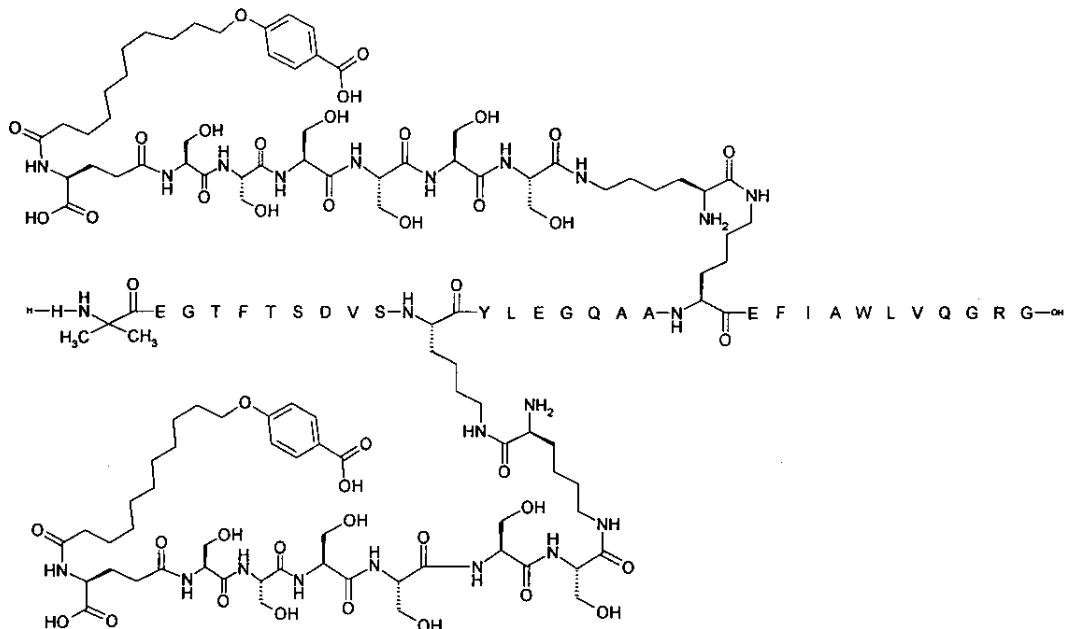
20

N¹⁸-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル], N²⁶-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib⁸, Lys¹⁸, Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド;

30

【化 2 6】

Chem. 38:



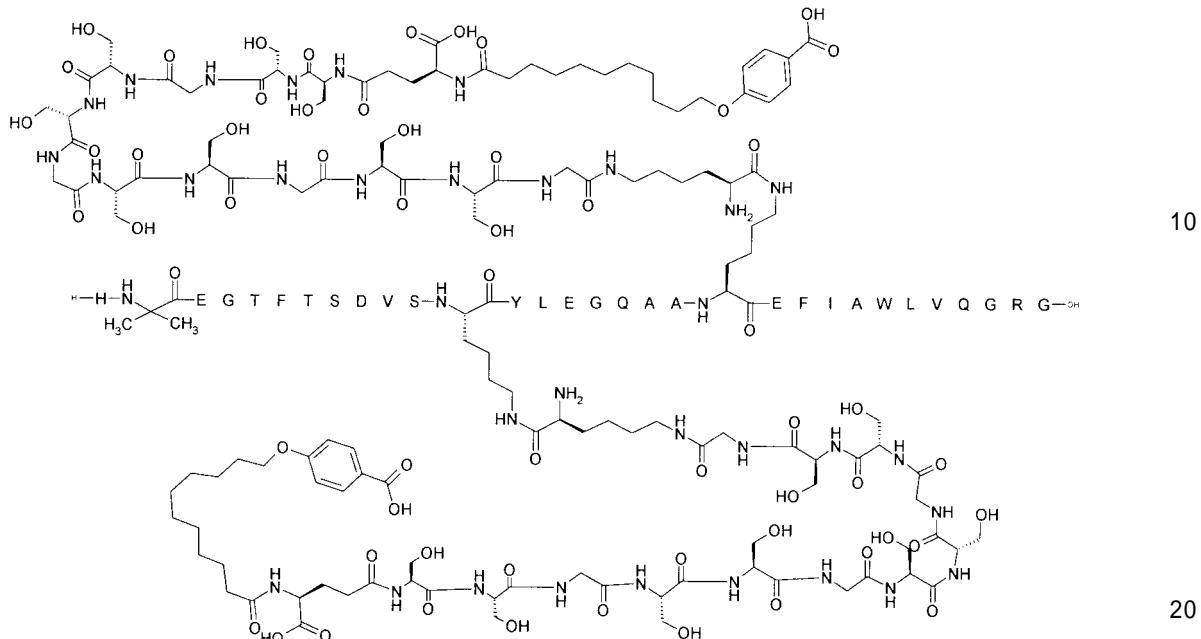
10

20

30

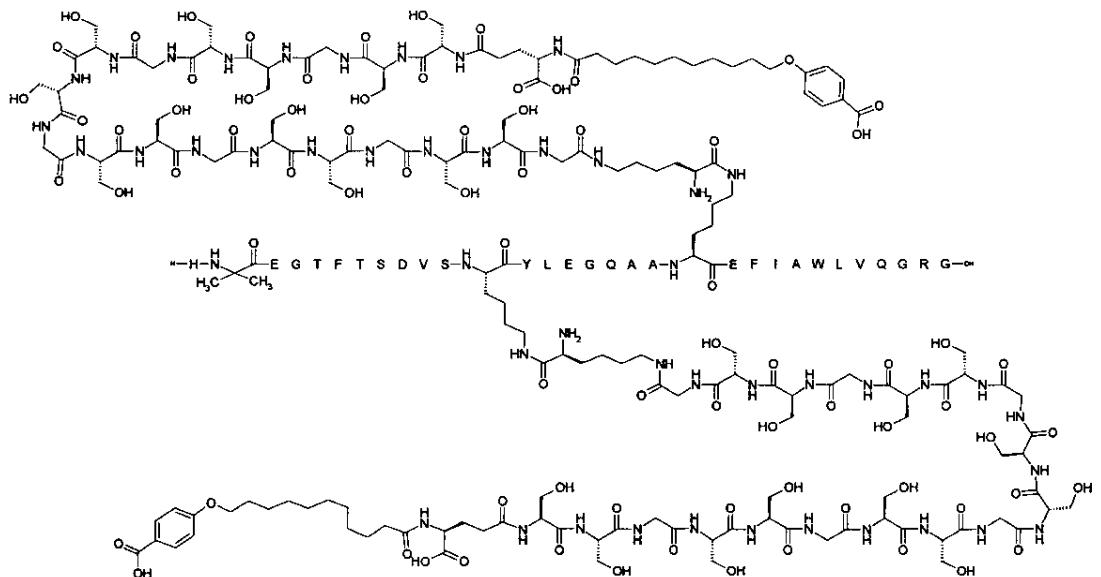
【化 2 7】

Chem. 39:



【化 2 8】

Chem. 40:

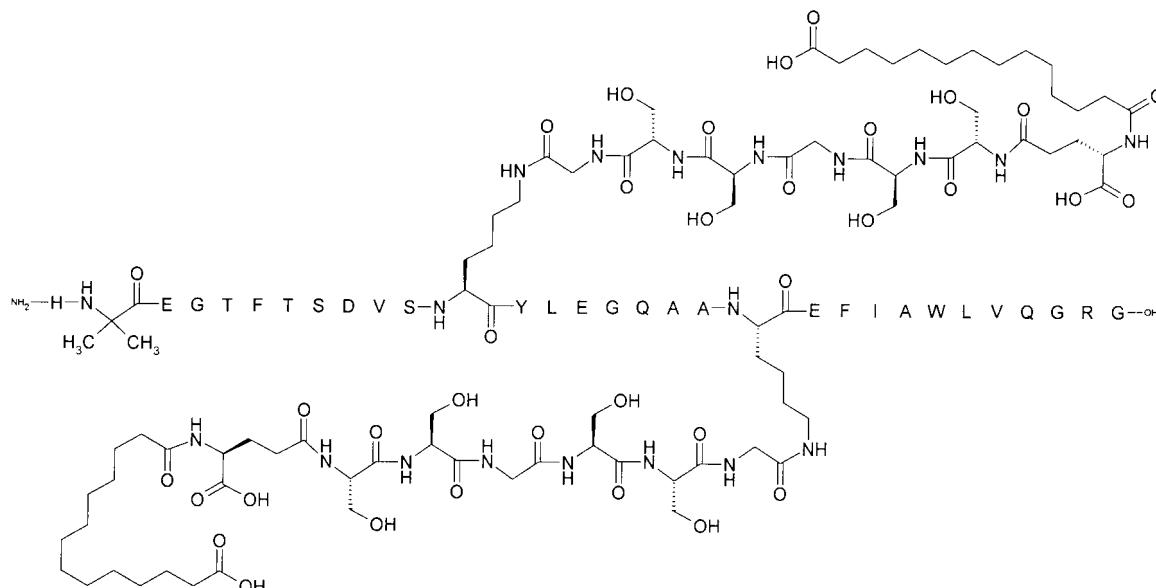


10

20

【化 29】

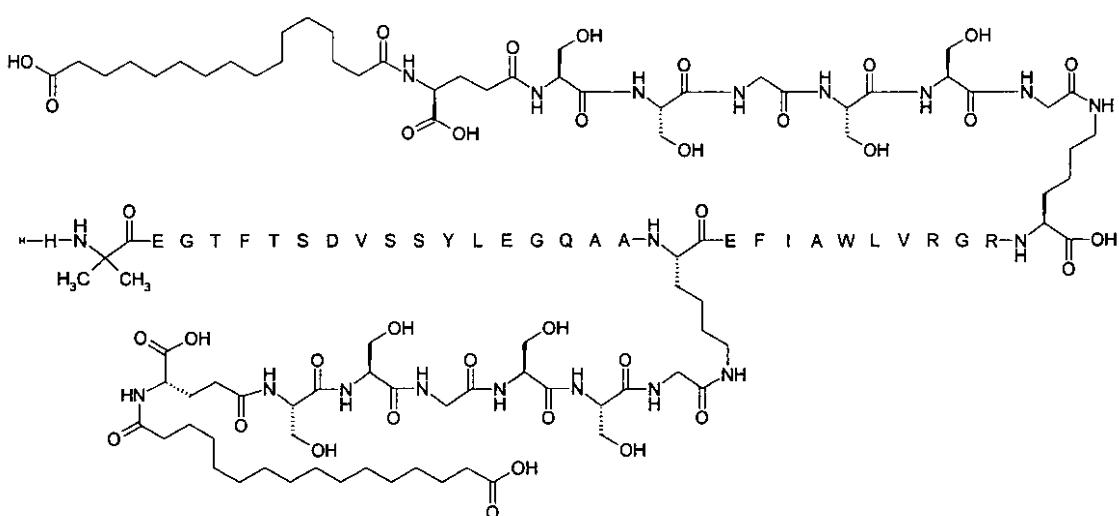
Chem. 41:



N¹⁸-[2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-[Aib⁸, Lys¹⁸, Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド；

【化 30】

Chem. 42:



N²⁶-[2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペントデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(15-カルボキシペントデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-[Aib⁸, Lys¹⁸, Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド；

10

20

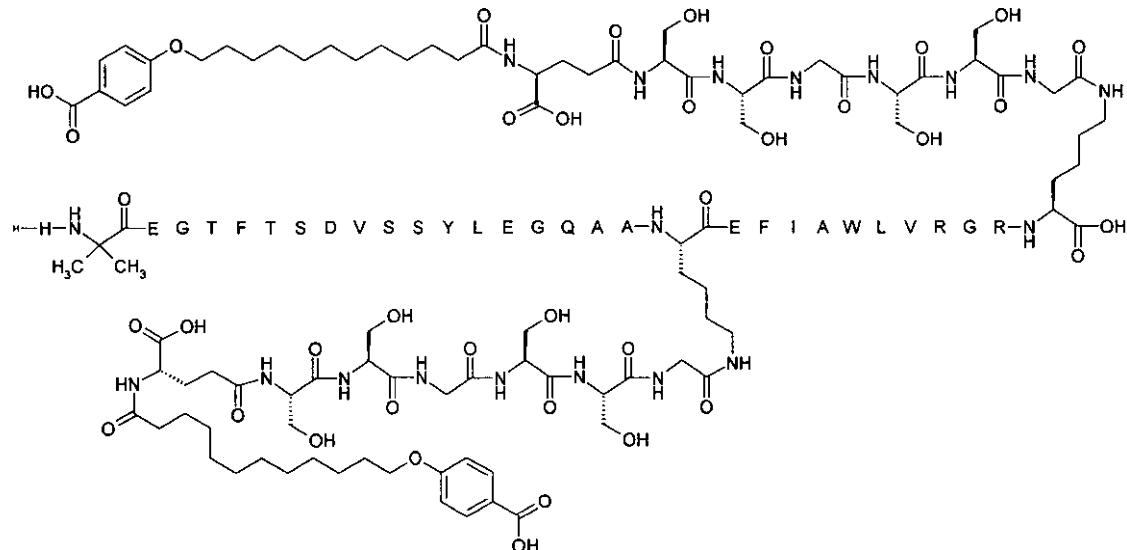
30

40

50

イル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸,Arg³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド；
【化31】

Chem. 43:



10

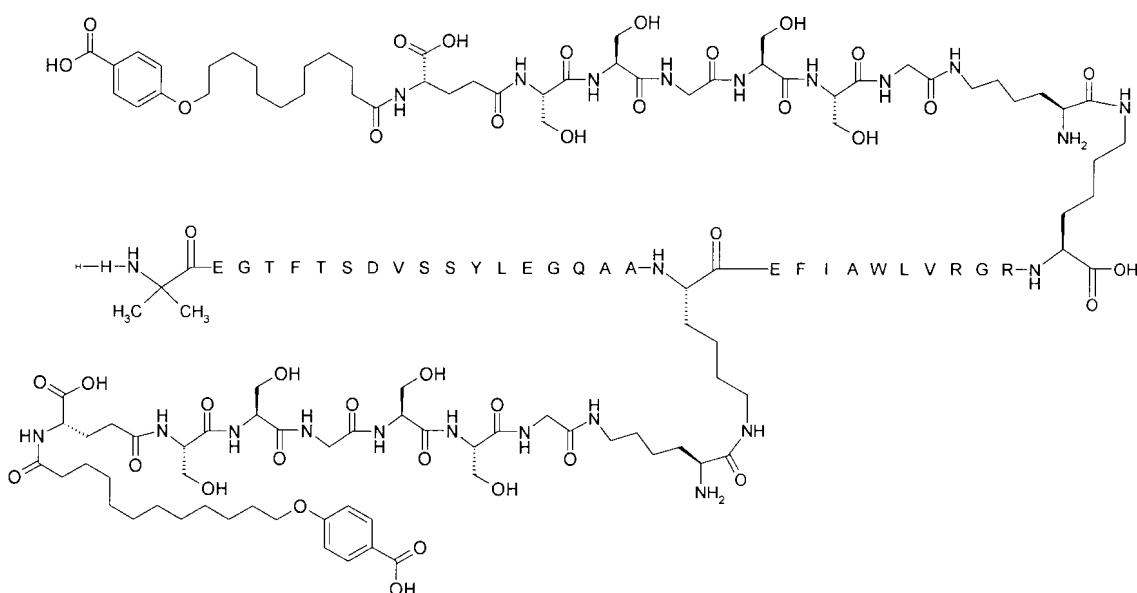
20

N²⁶-[2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-N³⁷-[2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸,Arg³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド；

【化32】

30

Chem. 44:



40

N²⁶-[(2S)-2-アミノ-6-[(2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2-[(2S)-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]-3-ヒ

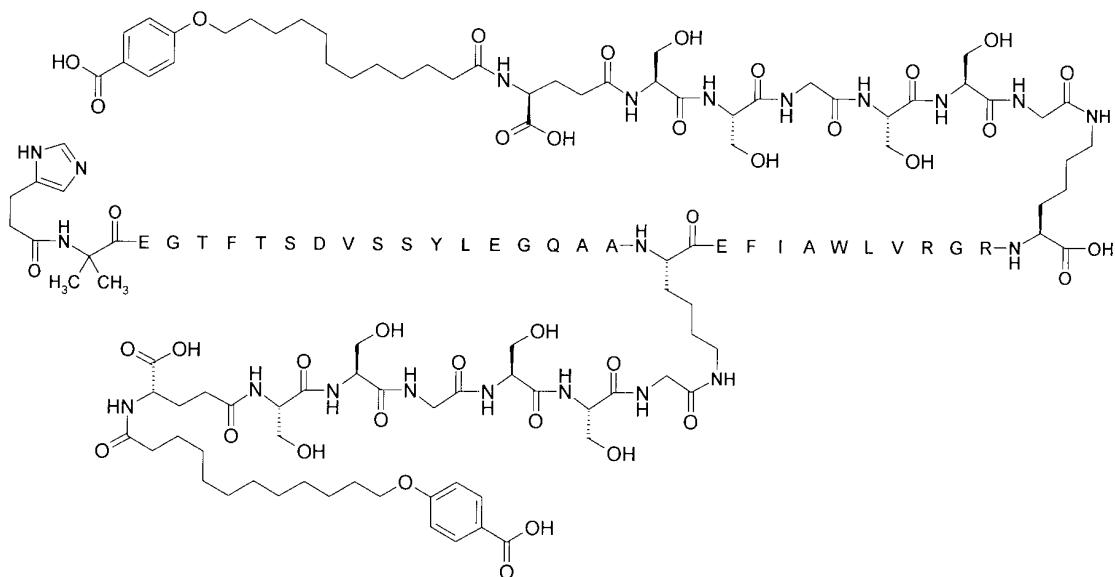
50

ドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル],N³⁷-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib⁸,Arg³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド；

【化33】

Chem. 45:

10



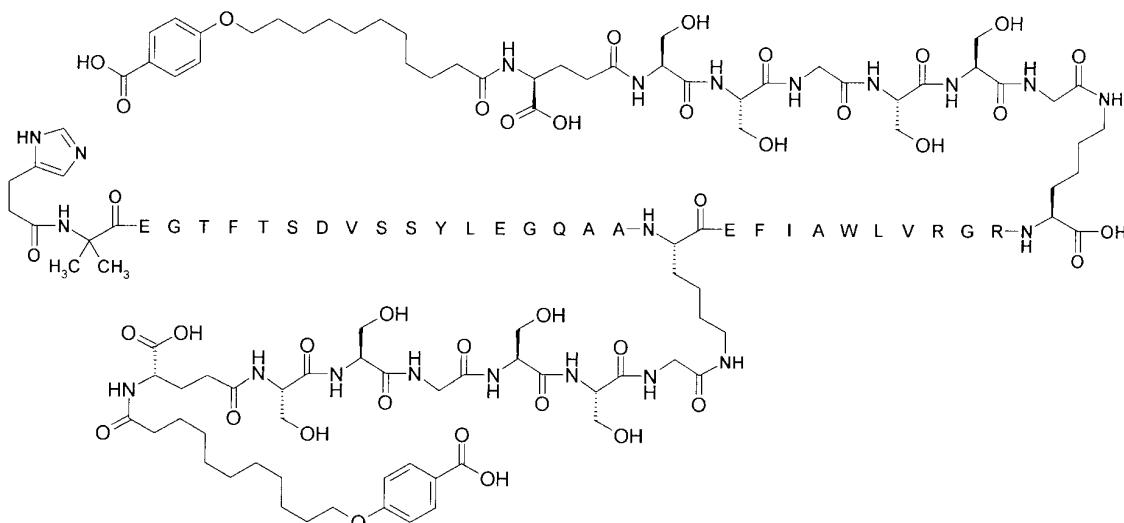
20

N²⁶-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル],N³⁷-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Imp⁷,Aib⁸,Arg³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド；

30

【化 3 4】

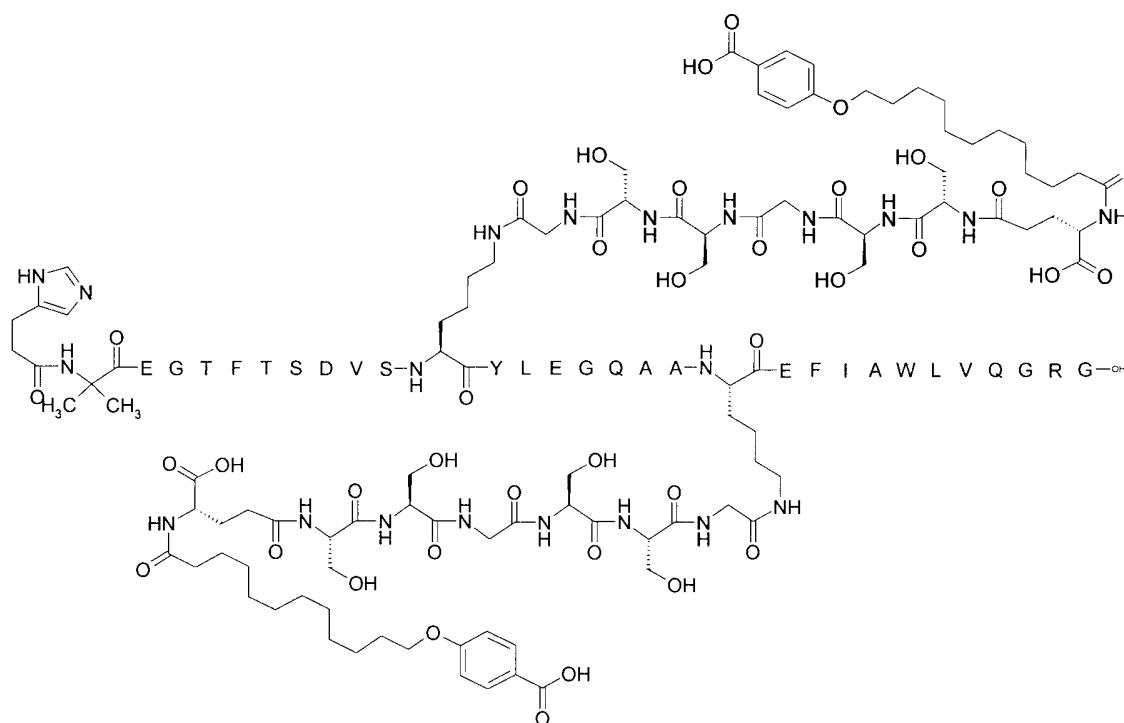
Chem. 46:



N²⁶-[2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アセチル], N³⁷-[2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アセチル]-[Imp⁷, Aib⁸, Arg³⁴, Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド;

【化 3 5】

Chem. 47:



N¹⁸-[2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイ

10

20

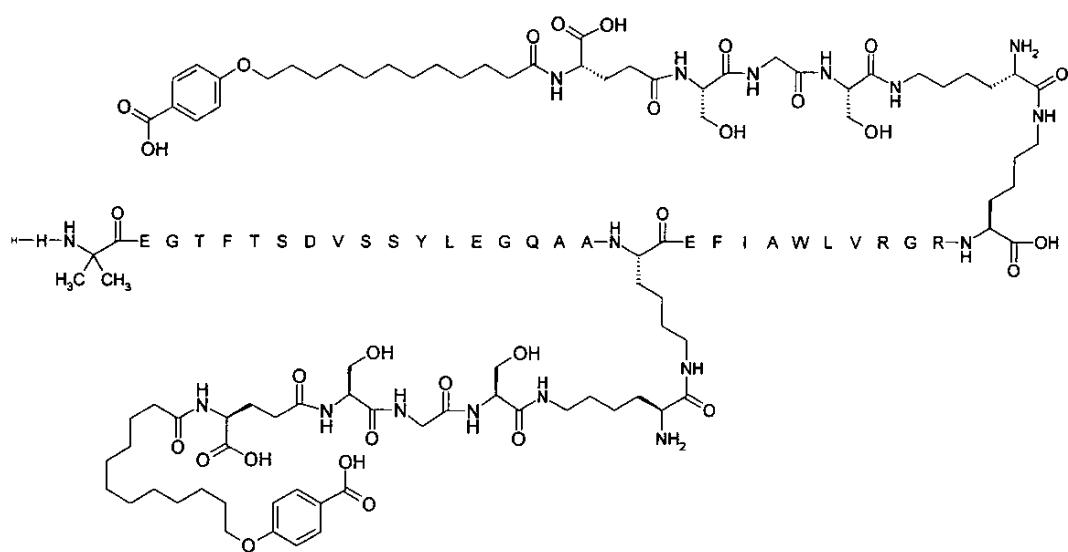
30

40

50

ル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル],N²⁶-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Imp⁷,Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド;
【化36】

Chem. 48:



N²⁶-[(2S)-2-アミノ-6-[(2S)-2-[[2-[[[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ヘキサノイル],N³⁷-[(2S)-2-アミノ-6-[(2S)-2-[[2-[[[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib⁸,Arg³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド;

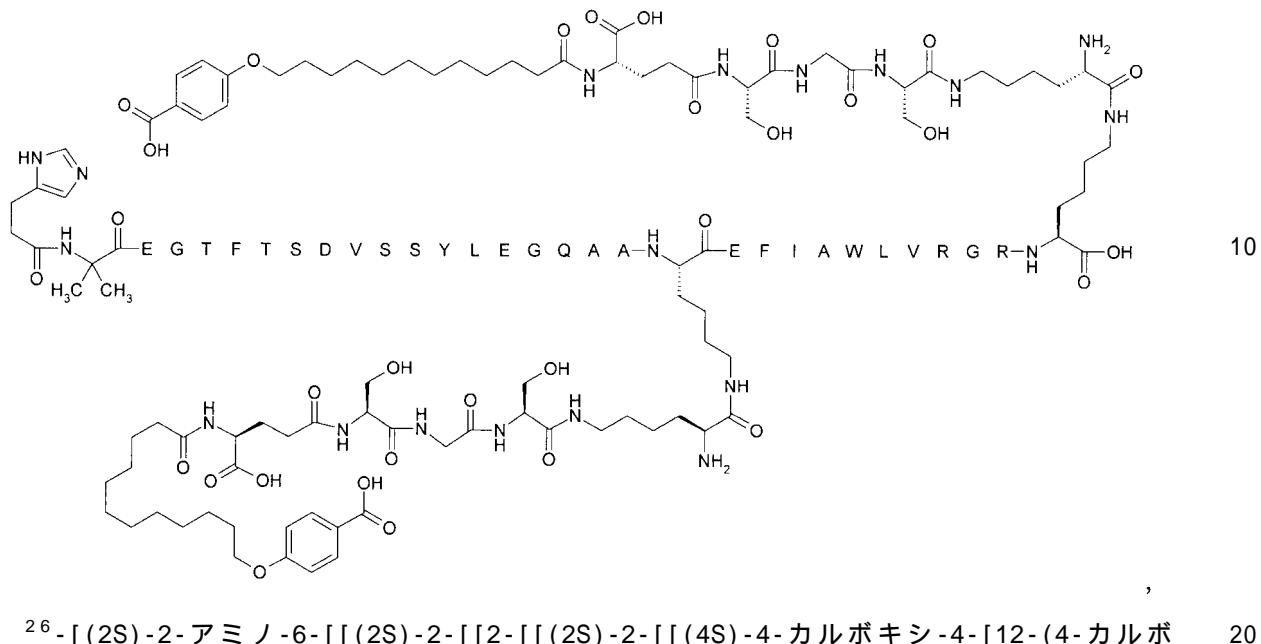
10

20

30

【化37】

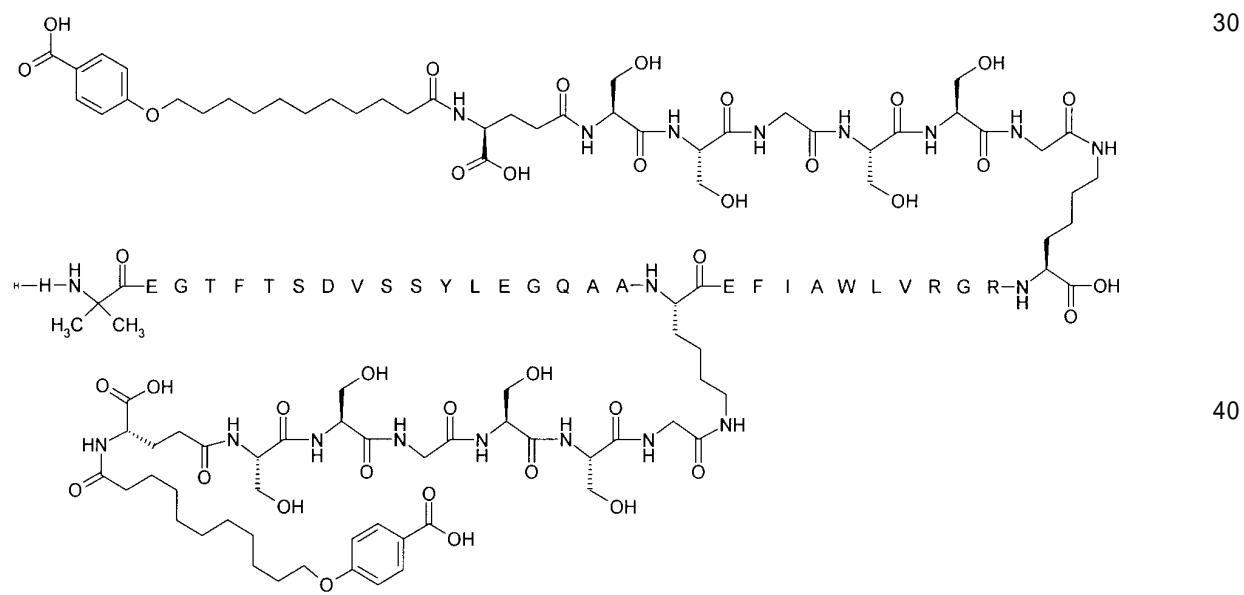
Chem. 49:



N²⁶-[(2S)-2-アミノ-6-[(2S)-2-[[2-[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ヘキサノイル], N³⁷-[(2S)-2-アミノ-6-[(2S)-2-[[2-[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Imp⁷, Aib⁸, Arg³⁴, Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド; および

【化38】

Chem. 50:



N²⁶-[2-[(2S)-2-[(2S)-2-[[2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N³⁷-[2-[(2S)-2-[[2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウン

50

デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸,Arg³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド；
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 1 1】

請求項1から10のいずれか一項に記載の誘導体、および薬学的に許容される添加剤を含む医薬組成物。

【請求項 1 2】

医薬として使用するための、請求項1から10のいずれかに記載の誘導体。

【請求項 1 3】

全ての形態の糖尿病および関連する疾患、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、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10のいずれかに記載の誘導体。

【請求項 1 4】

全ての形態の糖尿病および関連する疾患、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、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10のいずれかに記載の誘導体の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、GLP-1誘導体、より特に、^{*}-NH-CH(CH₂OH)-CO-^{*}を含むリンカーによってアシル化されているGLP-1ペプチドに関する。本発明はまた、これらの誘導体の薬学的用途に関する。

【0 0 0 2】

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、3.77KBであり、2012年8月16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】

【0 0 0 3】

US5525491Aは、2つ以上のタンパク質ドメインを結合して、融合タンパク質を形成するためのセリンに富んだペプチドリンカーを開示している。

【0 0 0 4】

US7271149B2は、GLP-1融合タンパク質のためのグリシンに富んだペプチドリンカーを開示している。

【0 0 0 5】

US2007/0135338A1は、セリンおよびグリシンを含有するリンカー配列を組み込んだGLP-1CH1欠失mimetobodyポリペプチドを開示している。

【0 0 0 6】

US2010/0292133A1およびUS2011/0082079A1は、リンカーとして、Cysを除くアミノ酸、またはGly-Lysなどのジペプチドを組み込んだGLP-1誘導体を開示している。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0 0 0 7】

【特許文献 1】US5525491A

【特許文献 2】US7271149B2

【特許文献 3】US2007/0135338A1

10

20

30

40

50

【特許文献 4】US2010/0292133A1

【特許文献 5】US2011/0082079A1

【特許文献 6】WO2011/080103

【特許文献 7】WO09/030738

【特許文献 8】WO2008/145728

【特許文献 9】PCT/EP2012/056642

【特許文献 10】WO2009/083549A1

【特許文献 11】WO2006/082204

【特許文献 12】WO98/08871A1

【特許文献 13】WO06/097537A2

【特許文献 14】WO2011/080102

【特許文献 15】WO2012/062803

【非特許文献】

【0 0 0 8】

【非特許文献 1】Needleman, S.B. および Wunsch, C.D.、(1970年)、Journal of Molecular Biology、48:443 ~ 453頁

【非特許文献 2】Myers および W. Miller、「Optimal Alignments in Linear Space」、CA BIOS(computer applications in the biosciences)(1988年)4:11 ~ 17頁

【非特許文献 3】Chemoinformatics:A textbook、Johann Gasteiger および Thomas Engel(編)、Wiley-VCH Verlag、2003年

【非特許文献 4】J. Chem. Inf. Model.、2008年、48、542 ~ 549頁

【非特許文献 5】J. Chem. Inf. Comput. Sci.、2004年、44、170 ~ 178頁

【非特許文献 6】J. Med. Chem.、2004年、47、2743 ~ 2749頁

【非特許文献 7】J. Chem. Inf. Model.、2010年、50、742 ~ 754頁

【非特許文献 8】SciTegic Pipeline Pilot Chemistry Collection:Basic Chemistry User Guide、2008年3月

【非特許文献 9】SciTegic Pipeline Pilot Data Modeling Collection、2008年

【非特許文献 10】http://www.tripos.com/tripos_resources/fileroot/pdfs/Unity_111408.pdf

【非特許文献 11】http://www.tripos.com/data/SYBYL/SYBYL_072505.pdf

【非特許文献 12】「Principles of Biochemistry」、AL Lehninger、DL Nelson、MM Cox、第2版、Worth Publishers、1993年、763頁

【非特許文献 13】J.Pharm.Sci.、2008年、4155 ~ 66頁

【非特許文献 14】Greene および Wuts、「Protective Groups in Organic Synthesis」、John Wiley & Sons、1999年

【非特許文献 15】Florencio Zaragoza Dorwald、「Organic Synthesis on solid Phase」、Wiley-VCH Verlag GmbH、2000年

【非特許文献 16】「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 17】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 18】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 19】W.R. Sampson(1999年)、J. Pep. Sci.、5、403

【非特許文献 20】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 21】Novobiochem2011/2012からのカタログ

【非特許文献 22】W.R. Sampson(1999年)、J. Pep. Sci. 5、403頁

【発明の概要】

10

20

30

40

50

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

本発明は、GLP-1(7-37)(配列番号3)またはその類似体の誘導体に関する。

【課題を解決するための手段】

【0010】

これらの誘導体において、アルブミン結合側鎖は、それぞれ、アミノ酸セリンのジラジカルである^{*}-NH-CH(CH₂OH)-CO-^{*}を含むリンカーを介して、GLP-1ペプチドの2つ以上のLys残基に、すなわち、Lysのアミノ基に共有結合で付着している。

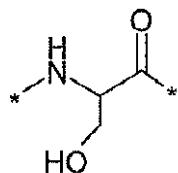
【0011】

より特に、本発明は、2つのLys残基、すなわち、第1および第2のLys残基、ならびにGLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して最大で8個のアミノ酸の変化を有するGLP-1ペプチドの誘導体に関し、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Lys残基のアミノ基に付着している2つの延長部分を含み、延長部分は、Chem.15:HOOC-(CH₂)_x-CO-^{*}、およびChem.16:HOOC-C₆H₄-O-(CH₂)_y-CO-^{*}(式中、xは、10~16の範囲の整数であり、yは、8~12の範囲の整数である)から選択され、リンカーは、第1のリンカー要素を含む。

【0012】

【化1】

Chem. 1:



20

【0013】

本発明はまた、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して下記のアミノ酸の変化:(8Aib、34H、37K);または(7Imp、8Aib、34R、37K)を含むGLP-1ペプチドに関する。

【0014】

本発明はまた、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して下記のアミノ酸の変化:(8Aib、34H、37K);(7Imp、8Aib、34R、37K);または(7Imp、8Aib、18K、34Q)を有するGLP-1ペプチドに関する。

30

【0015】

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/もしくは多囊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、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、このようなペプチドまたは誘導体に関する。

【0016】

本発明の誘導体は、生物活性がある。特に、本発明の誘導体は、受容体を活性化するキヤパシティーと合わせた、相対的に低濃度でGLP-1受容体に結合するこれらの能力によって反映されるように、完全GLP-1受容体アゴニストである。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。また、または代わりに、本発明の誘導体は、高い水溶解性および/または溶解速度を有する。

40

【0017】

これらの特性は、皮下、静脈内、および/または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】

【0018】

50

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 =イプシロン; δ =ガンマ; ϵ =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、 $\mu\alpha=u\alpha$ 、または $\mu M=uM$)。

【0019】

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。

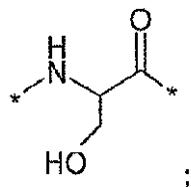
【0020】

本発明は、GLP-1ペプチドの誘導体に関し、ペプチドは、2つのみのLys残基、すなわち、第1および第2のLys残基、ならびにGLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して最大で8個のアミノ酸の変化を有し、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Lys残基のアミノ基に付着している2つの延長部分を含み、延長部分は、Chem.15:HOOC-(CH₂)_x-CO-*、およびChem.16:HOOC-C₆H₄-O-(CH₂)_y-CO-* (式中、xは、10~16の範囲の整数であり、yは、8~12の範囲の整数である)から選択され、リンカーは、第1のリンカー要素、Chem.1:

10

【0021】

【化2】



20

【0022】

またはその薬学的に許容される塩、アミド、もしくはエステルを含む。

【0023】

特定の実施形態において、Chem.1は、アミノ酸セリン(Ser)のジラジカルを表す。

【0024】

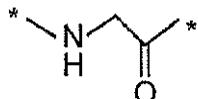
さらなる特定の実施形態において、リンカーは、それぞれ、第2または第3のリンカー要素、Chem.2またはChem.3をさらに含む。

30

【0025】

【化3】

Chem.2:

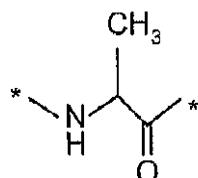


【0026】

【化4】

Chem.3:

40



【0027】

Chem.2は、アミノ酸グリシン(Gly)のジラジカルを、Chem.3は、アミノ酸アラニン(Ala)のジラジカルを表す。

【0028】

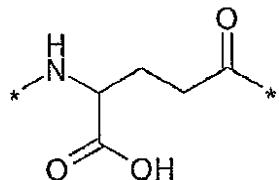
50

またさらなる特定の実施形態において、リンカーは、第4のリンカー要素、Chem.5をさらに含み、

【0029】

【化5】

Chem.5:



10

【0030】

Chem.5は、アミノ酸 グルタミン酸(手短に言えば、-Glu、またはgGlu)のジラジカルを表す。

【0031】

またさらなる実施形態において、リンカーは、第5のリンカー要素であるChem.12: *-NH-(CH₂)₄-CH(NH₂)-CO-* (アミノ酸-Lys、手短に言えば、eps-Lysのジラジカルを表す)をさらに含む。

【0032】

下記は、本発明の誘導体において使用するためのリンカーの非限定的例であり、Gluは-Gluを意味し、Lysは-Lysを意味する。

20

Glu-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly (配列番号2); Glu-Ser-Ser-Ala-Ser-Ser-Ala (配列番号6); Glu-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly (配列番号7); Glu-Ser-Ser-Ser-Ser-Ser-Ser (配列番号8); Glu-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-Lys (配列番号9); Glu-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-Lys (配列番号10); Glu-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-Lys (配列番号11); Glu-Ser-Ser-Ser-Ser-Ser-Ser-Ser-Lys (配列番号12); および Glu-Ser-Gly-Ser-Lys (配列番号13)。

【0033】

したがって、例えば、配列番号9は、下記の配列を意味する(かつ代わりに、下記のように記載し得る):gGlu-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-eps-Lys。同じことが、逆に、本明細書において他の配列に、すなわち、配列番号2および6~13のそれぞれにも当てはまる。

30

【0034】

GLP-1ペプチドおよび類似体

「GLP-1ペプチド」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))(この配列は、配列番号3として配列リストに含まれる)またはその類似体であるGLP-1類似体を意味する。

【0035】

配列番号3の配列を有するペプチドはまた、天然GLP-1と示し得る。「GLP-1類似体」または「GLP-1の類似体」という用語は、本明細書において使用する場合、天然ヒトGLP-1(配列番号3)のバリエントであるペプチド、または化合物を意味する。

40

【0036】

配列リストにおいて、配列番号3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。

【0037】

本発明の誘導体のGLP-1類似体は、i)変化しているアミノ酸残基に対応する天然GLP-1(7

50

-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考することにより記載し得る。

【0038】

本発明の誘導体のGLP-1類似体は、少なくとも2つのLys残基を含む。例えば、これは、GLP-1(7-37)の18位に対応する位置において第1のリシン残基を含み得る。この類似体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、このような類似体は、K¹⁸-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、この類似体は、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)。

10

【0039】

別の例として、18位において第1のLys残基を含む類似体はまた、1つまたは複数の他の位置においてリシン、例えば、31位において1つのさらなるLys残基を含み得る。このような類似体は、K¹⁸,K³¹-GLP-1(7-37)と示され、ただし、K¹⁸-およびK³¹-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。

【0040】

本発明の誘導体の部分を形成するGLP-1類似体は、天然GLP-1(配列番号3)と比較したときに、最大で8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3)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。

20

【0041】

下記は、適正な類似体命名法の非限定的な例である。

【0042】

例えば、類似体[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(-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。この類似体はまた、GLP-1(7-37)への言及が暗示される場合、短く示してもよい(8Aib、18K、22E、25V、26R、31K、34R)。

30

【0043】

別の例として、類似体[Arg³⁴,Lys³⁷,Glu³⁸]-GLP-1(7-37)は、天然GLP-1と比較したとき、アルギニンによる34位におけるリシンの置換、リシンによる37位におけるグリシンの置換、およびC末端へのグルタミン酸の付加によって変化しているGLP-1(7-37)ペプチドを示す。この類似体はまた、GLP-1(7-37)への言及が暗示される場合、(34R、37K、38E)と短く示してもよい。

【0044】

またさらなる例として、Aib⁸を含む類似体は、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、 -アミノイソ酪酸(Aib)による8位におけるアラニンの置換を含む。この類似体は、配列番号3と比較してさらなる変化を含み得る。

40

【0045】

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。

【0046】

「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3)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

50

、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」、CA BIOS(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。

【0047】

10

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、Sequence_1は、配列番号3であり、Sequence_2は、その類似体(34R、37K、38E)である。

```
# 1: Sequence_1
# 2: Sequence_2
# 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:32
# 同一性:29/32(90.6%)
# 類似性:30/32(93.8%)
# ギャップ:1/32(3.1%)
# スコア:150.0
#=====
```

配列_1	1 HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRG-	31
	: .	
配列_2	1 HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVRGRKE	32

【0048】

20

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。

【0049】

30

「ペプチド」という用語は、例えば、リンカーならびに本発明の誘導体のGLP-1類似体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。ペプチドリンカーは、少なくとも3個のアミノ酸を含む。GLP-1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。

【0050】

特定の実施形態では、GLP-1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。

40

【0051】

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。

【0052】

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。

【0053】

「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

50

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。

【0054】

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、-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(-アミノイソ酪酸)、-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。

【0055】

以下において、光学異性体が述べられていないGLP-1ペプチドの各アミノ酸は、L-異性体を意味すると理解される(他に特定しない限り)。

10

【0056】

リンカーのアミノ酸要素(Glyを除く)は、2つの光学異性体の形態のいずれかで存在し得る。したがって、Chem.1(Ser)、Chem.5(gGlu)、Chem.7(Ala)、および/またはChem.12(eps-Lys)のそれぞれは、D型、L型、またはこれらの混合物(D/L)を表し得る。特定の実施形態において、これらのそれぞれは、L-異性体である。他の特定の実施形態において、これらのそれぞれは、D-異性体である。さらなる特定の実施形態において、これらのそれぞれは、D-およびL-異性体の混合物である。またさらなる特定の実施形態において、i)リンカーの少なくとも1つ、好ましくはそれぞれのSer残基は、L型であり; ii)リンカーの少なくとも1つ、好ましくはそれぞれのAla残基は、L型であり、iii)リンカーの少なくとも1つ、好ましくはそれぞれのgGlu残基は、L型であり;かつ/またはiii)リンカーの少なくとも1つ、好ましくはそれぞれのeps-Lys残基は、L型である。

20

【0057】

周知であるように、L-およびD-仕様は、そこから問題のアミノ酸を合成することができる、グリセルアルデヒドの異性体の光学活性を意味する。代わりに、(S)および(R)命名法を使用して、立体化学配置を定義し得る。本目的のために、L-記号は(S)記号に対応し、D-記号は(R)記号に対応する。

【0058】

本発明のGLP-1誘導体および類似体は、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、本発明の類似体および誘導体は、本明細書において実施例32～33に記載したアッセイの1つまたは複数を使用して、GLP-1活性について試験することができる。本明細書において実施例34に記載したGLP-1受容体結合アッセイはまた、GLP-1活性の尺度として使用し得る。

30

【0059】

GLP-1誘導体

「誘導体」という用語は、GLP-1ペプチドまたは類似体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ペプチドまたは類似体を意味し、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。

40

【0060】

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。

【0061】

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

50

、または反対の末端の付近にあってよい。

【0062】

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。

【0063】

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。

【0064】

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。

10

【0065】

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)。

【0066】

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-アミノ基への参照と理解される。

【0067】

リンカーを介して第1および第2のK残基(例えば、K¹⁸およびK³¹)に付着している2つの延長部分を有する誘導体は、第1および第2のリシン残基の-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31位において、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。

20

【0068】

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、用語が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.12、およびChem.15～16であり、これらの構造を下記に示す。

30

【0069】

本発明の一態様において、2つの延長部分のそれぞれは、Chem.15およびChem.16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。

Chem.15:HOOC-(CH₂)_x-CO-*

Chem.16:HOOC-C₆H₄-O-(CH₂)_y-CO-*

(式中、xは、10～16の範囲の整数であり、yは、8～12の範囲の整数である)。

【0070】

一実施形態において、*- (CH₂)_x-*は、直鎖状アルキレンを意味する。

【0071】

40

別の実施形態において、*- (CH₂)_y-*は、直鎖状アルキレンを意味する。

【0072】

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、*-C₆H₄-*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、芳香族フェノキシラジカルは、独立に、パラである。

【0073】

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。

【0074】

他の特定の実施形態において、2つの延長部分は、同様であり、好ましくは、実質的に

50

同一であり、または最も好ましくは、同一である。

【0075】

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。

【0076】

「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。

【0077】

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。

【0078】

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)。

【0079】

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。

【0080】

本発明の2つのリンカーの類似性はまた、上記で言及したような当技術分野において公知のペプチドアラインメントプログラム、例えば、「align」を使用して決定し得る。

【0081】

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。

【0082】

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。

【0083】

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。

【0084】

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。

【0085】

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 Pipeli

10

20

30

40

50

ne 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。

【0086】

15頁において、特定の側鎖をそのメチルエステルと比較する類似性計算の一例を組み込んでいるWO2011/080103について言及する。

【0087】

特定の実施形態において、本発明の2つのリンカーは、少なくとも90%同一、好ましくは少なくとも94%同一、より好ましくは少なくとも96%同一、さらにより好ましくは少なくとも98%同一、または最も好ましくは少なくとも99%同一である。

10

【0088】

別の実施形態において、2つのリンカーは、少なくとも50%同一、好ましくは少なくとも60%同一、より好ましくは少なくとも70%同一、または最も好ましくは少なくとも80%同一であり、上記のような設定を有するプログラム「align」を使用する。

【0089】

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。

【0090】

特定の実施形態において、本発明の誘導体において使用されるリンカーは、アミノ酸SerおよびGlyを含む。一実施形態において、リンカーは、トリ-ペプチドモチーフSer-Ser-Glyを含む。モチーフは、例えば、2回繰り返し得る。したがって、別の実施形態において、リンカーは、ヘキサ-ペプチドモチーフSer-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly(配列番号1)を含む。

20

【0091】

リンカーは、gGlu、すなわち、例えば、gGlu-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly(配列番号2)のヘプタ-ペプチドモチーフをさらに含み得る。

【0092】

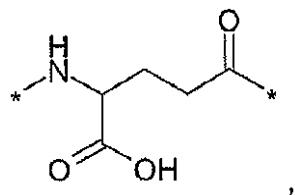
特定の実施形態において、gGluは、Chem.5の構造を有する。

【0093】

【化6】

Chem. 5:

30



【0094】

このリンカー要素はまた、どのような場合でも、例えば、Serリンカー要素のN末端への、またはリシンの -アミノ基などへの結合のためにここで使用される、アミノ酸グルタミン酸のカルボキシ基であるという事実によって、 -Glu、または短くgGluと称し得る。

40

【0095】

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。

【0096】

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

50

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的なプロトコルは、例えば、W009/030738、116～118頁に見出される。

【0097】

薬学的に許容される塩、アミド、またはエステル

本発明のペプチドおよび誘導体は、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。

【0098】

塩は、例えば、塩基および酸の間の化学反応、例えば: $2\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ によって形成される。

10

【0099】

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。

【0100】

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。

【0101】

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。

20

【0102】

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。

【0103】

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がもたらされる。

30

【0104】

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。

【0105】

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。

【0106】

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。

40

【0107】

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。

【0108】

機能特性

第1の態様において、本発明の誘導体は、非常に良好な効力を有する。また、または代

50

わりに、第2の態様において、本発明の誘導体は、低濃度のアルブミンでGLP-1受容体に非常に良好に結合する。好ましくは、本発明の誘導体は、受容体を活性化するキャパシティーと合わせた、GLP-1受容体に強力に結合するこれらの能力によって反映されるように、完全GLP-1受容体アゴニストである。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、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4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5の態様において、本発明の誘導体は、高い水溶解性および/または溶解速度を有する。

【0109】

生物活性(効力)

10

第1の態様によると、本発明の誘導体は、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、驚いたことに良好な効力を有する。これは、今までにそのクラスで最高と考えられるそれぞれの比較化合物と比較したとき、特にそうである。比較化合物は、実験のパート、「比較化合物」という見出しがあるセクションにおいて考察する。

【0110】

特定の実施形態において、効力および/または活性は、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性能、より特に、ヒトGLP-1受容体を活性化する能力を意味する。

【0111】

インビトロの効力は、例えば、ヒトGLP-1受容体を発現している膜を含有する培地において、および/またはヒトGLP-1受容体を発現している全細胞によるアッセイにおいて決定し得る。

20

【0112】

例えば、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からの精製された形質膜は、問題のGLP-1類似体または誘導体で刺激してもよく、cAMP産生の効力は、例えば、実施例32に例えば記載されているように、特異的抗体を使用して捕捉し得る、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て測定する。

【0113】

また、または代わりに、ヒトGLP-1受容体の反応は、レポーター遺伝子アッセイにおいて、例えば、ヒトGLP-1受容体を発現しており、かつプロモーターにカップリングしているcAMP応答配列(CRE)についてのDNA、およびホタルルシフェラーゼ(CREルシフェラーゼ)についての遺伝子を含有する、安定的にトランスフェクトされたBHK細胞系において測定し得る。GLP-1受容体の活性化の結果としてcAMPが産生されるとき、これはルシフェラーゼの発現をもたらす。ルシフェラーゼは、ルシフェリン(酵素によってオキシルシフェリンに変換され、バイオルミネセンスを生じる)を加えることによって決定してもよく、バイオルミネセンスは測定され、インビトロの効力の尺度となる。このようなアッセイの1つの非限定的例は、実施例33に記載されている。

30

【0114】

最大半減有効濃度(EC₅₀)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。EC₅₀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。

40

【0115】

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EC₅₀が決定される。EC₅₀値が低いほど、効力は良好である。

【0116】

特定の実施形態において、本発明の誘導体は、AlphaScreen膜をベースとするアッセイにおいて、500pM以下、より好ましくは400pM未満、さらにより好ましくは300pM未満、または最も好ましくは200pM未満のEC₅₀に対応するインビトロの効力を有する。

【0117】

50

さらなる特定の実施形態において、本発明の誘導体は、CRE-ルシフェラーゼ全細胞アッセイにおいて、100pM以下、好ましくは75pM未満、より好ましくは50pM未満、さらにより好ましくは25pM未満、または最も好ましくは10pM未満のEC₅₀に対応するインビトロの効力を有する。

【0118】

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。

【0119】

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、および体重低下作用は、例えば、WO2011/080103の実施例53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。

【0120】

受容体結合/低アルブミン

第2の態様によると、本発明の誘導体は、低濃度のアルブミンでGLP-1受容体に非常に良好に結合する。これは、実施例34に記載されているように決定し得る。

【0121】

一般に、低アルブミン濃度でのGLP-1受容体への結合は、低い阻害濃度(IC₅₀)値に対応して、できる限り良好であるべきである。

【0122】

一例として、本発明の誘導体の特定の実施形態において、0.001%HSA(低アルブミン)の存在下でのGLP-1受容体結合親和性(IC₅₀)は、50nM未満、好ましくは20nM未満、またより好ましくは10nM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1.0nM未満である。

【0123】

GLP-1受容体アゴニスト

受容体アゴニストは、受容体に結合し、かつ天然リガンドに特有である反応を誘発する構造的類似体として定義し得る。完全アゴニストは、天然リガンドと同じ規模の反応を誘発するものと定義し得る(例えば、「Principles of Biochemistry」、AL Lehninger、DL Nelson、MM Cox、第2版、Worth Publishers、1993年、763頁を参照されたい)。

【0124】

特定の実施形態において、本発明の誘導体は、完全GLP-1受容体アゴニストである。完全GLP-1受容体アゴニストは、(i)受容体結合親和性アッセイ(例えば、本明細書における実施例34のもの)において、50nM以下のIC₅₀値でGLP-1受容体に結合し;かつ(ii)レポーター遺伝子アッセイ(例えば、本明細書における実施例33のもの)において、100pM以下のEC₅₀値で、および/またはcAMPアッセイ(例えば、本明細書における実施例32のもの)において、500pM以下のEC₅₀値で、受容体を活性化させる、例えば、GLP-1(7-37)(配列番号3)の構造的類似体と定義し得る。

【0125】

延長-ミニブタにおけるインビボでの半減期

第3の態様によると、本発明の誘導体は、延長性である。特定の実施形態において、延長は、WO2011/080103の実施例54に記載されているように、ミニブタにおいてi.v.投与後のインビボでの末端半減期(T_{1/2})として決定し得る。

【0126】

特定の実施形態において、本発明の誘導体は、ミニブタにおいてi.v.投与後に、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時間の末端半減期(T_{1/2})を有する。

【0127】

またさらなる特定の実施形態において、本発明の誘導体は、ミニブタにおいてi.v.投与

10

20

30

40

50

後に、少なくとも50時間、好ましくは少なくとも55時間、より好ましくは少なくとも60時間、さらにより好ましくは少なくとも65時間、または最も好ましくは少なくとも70時間の末端半減期($T_{1/2}$)を有する。

【0128】

またさらなる特定の実施形態において、本発明の誘導体は、ミニブタにおいてi.v.投与後に、少なくとも75時間、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85時間の末端半減期($T_{1/2}$)を有する。

【0129】

本発明の延長性の誘導体は好ましくはまた、本明細書の下記に含まれる特定の実施形態およびさらなる特定の実施形態に定義されているような、非常に良好な効力を有する。

10

【0130】

本発明の延長性の誘導体は好ましくはまた、本明細書の下記に含まれる特定の実施形態およびさらなる特定の実施形態に定義されているような、GLP-1受容体に非常に良好に結合する。

【0131】

経口バイオアベイラビリティー

第4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。

【0132】

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。

20

【0133】

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(を有する)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。

【0134】

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(分解および/または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。

30

【0135】

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、(用量で除したAUC-静脈内)で除した(用量で除したAUC-経口)である。

【0136】

特定の実施形態において、本発明の誘導体は、リラグルチドの絶対的経口バイオアベイラビリティーより、および/また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、リラグルチドの絶対的経口バイオアベイラビリティーの、および/また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。

40

【0137】

50

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。

【0138】

経口バイオアベイラビリティーは、PCT/EP2012/056642の実施例40に記載されているように、SNACを有する製剤において、例えば、ラットの腸への注射および/または経口胃管栄養研究において推定し得る。

【0139】

水溶解性

いくつかのペプチド薬剤について、経口経路による高濃度の送達は達成するのが困難である。これは、少なくとも部分的に難溶解性が原因であり得る。第5の態様において、本発明の誘導体は、高い水溶解性および/または溶解速度を有する。これは、薬学的に有効な経口生成物を得るために重要ないくつかの特性の1つである。特定の実施形態において、本発明の誘導体は、最も近い従来技術と比較して、より高い水溶解性を有する。また、または代わりに、本発明の誘導体は、水性緩衝液中でより速く溶解する。ペプチドの絶対溶解度は、当技術分野において公知の異なる方法を使用して測定することができる。例えば、J.Pharm.Sci.、2008年、4155～66頁を参照されたい。ペプチドの溶解および/または溶解性をミリグラムスケールで測定するために、例えば、Pion Instruments(www.pion-in-c.com)からの機器、例えば、ファイバーUV分光法によってリアルタイムで濃度を測定するための多用途の機器であるμDISS Profiler(商標)を使用することができる。

10

20

【0140】

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」および「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。

【0141】

生成工程

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

【0142】

本発明の誘導体のGLP-1部分、すなわち、K¹⁸-GLP-1(7-37)またはその類似体は、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 Dörrwald、「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。

30

【0143】

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、類似体をコードし、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内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產生し得る。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。

40

【0144】

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。

【0145】

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。

50

【0146】

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。

【0147】

「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。

【0148】

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。

10

【0149】

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)。

【0150】

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。

【0151】

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。

20

【0152】

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。

【0153】

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。

30

【0154】

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、シトロート、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。

【0155】

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、プロノポル、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。

40

【0156】

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

50

、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、フルラン、デキストリン、シクロデキストリン、およびHPCD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。

10

【0157】

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。

【0158】

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。

【0159】

「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。

20

【0160】

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)、またはその類似体を意味する。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。

30

【0161】

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類似体)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。

40

【0162】

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。

【0163】

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。

50

【0164】

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。

【0165】

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。

10

【0166】

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、增量剤、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。

【0167】

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。

20

【0168】

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。

【0169】

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。

【0170】

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。

30

【0171】

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。

40

【0172】

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。

【0173】

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てもよい。

【0174】

50

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。

【0175】

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。

【0176】

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。

10

【0177】

「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、搅拌)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。

【0178】

「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。

20

【0179】

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類似体)、食物摂取量を減少させる化合物、RXRアゴニスト、および 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;コレステラミン、コレステチポール、クロフィブロート、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; -遮断薬、例えば、アルブレノロール、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、ベナゼブリル、カプトブリル、エナラブリル、フォシノブリル、リシノブリル、アラトリオブリル、キナブリルおよびラミブリル、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 -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(メラノコルチニン4)アゴニスト、オレキシンアンタゴニスト、TNF(腫瘍壞死因子)アゴニスト、CRF(コルチコトロビン放出因子)アゴニスト、CRF BP(コルチコトロビン放出因子結合タンパク質)アンタゴニスト、ウロコルチノンアゴニスト、 3アゴニスト、オキシントモジュリンおよび類似体、MSH(メラニン細胞刺激ホルモン)アゴニ

30

40

50

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、ボンベシニアゴニスト、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、レプチニアゴニスト、DAアゴニスト(プロモクリプチン、ドブレキシン)、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、TR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類似体)、ガストリンおよびガストリン類似体である。

【0180】

10

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。

【0181】

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。

【0182】

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)細胞機能の改善、例えば、細胞のアポトーシスの減少、細胞機能および/または細胞塊の増加、ならびに/あるいは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/またはインビトロでのアポリポタンパク質(apo(a))の生成の阻害;

(viii)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

20

30

40

50

(xi) 多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の予防および/または治療。

【0183】

特定の実施形態において、適応症は、(i)~(iii)および(v)~(ix)、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(ix)からなる群から選択される。

【0184】

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、(ix)である。

【0185】

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。

10

【0186】

特定の実施形態

1. GLP-1ペプチドの誘導体であって、

ペプチドは、2つのLys残基、すなわち、第1および第2のLys残基、ならびにGLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して最大で8個のアミノ酸の変化を有し、

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Lys残基のアミノ基に付着している2つの延長部分を有し、

延長部分は、Chem.15、およびChem.16:

Chem.15: HOOC-(CH₂)_x-CO-*

20

Chem.16: HOOC-C₆H₄-O-(CH₂)_y-CO-*

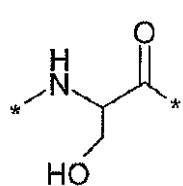
(式中、xは、10~16の範囲の整数であり、yは、8~12の範囲の整数である)から選択され、

、
リンカーは、第1のリンカー要素、Chem.1:

【0187】

【化7】

Chem.1:



30

【0188】

を含む誘導体、または前記誘導体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、2回のChem.1を含む、実施形態1の誘導体。

3. リンカーが、4回のChem.1を含む、実施形態1の誘導体。

4. リンカーが、6回のChem.1を含む、実施形態1の誘導体。

5. リンカーが、8回のChem.1を含む、実施形態1の誘導体。

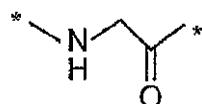
6. リンカーが、12回のChem.1を含む、実施形態1の誘導体。

40

7. リンカーが、第2のリンカー要素、Chem.2:

【0189】

【化8】



【0190】

をさらに含む、実施形態1~3、または5~6のいずれかの誘導体。

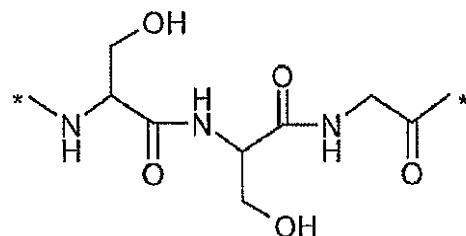
50

8. リンカーが、下記の通りの第1および第2のリンカー要素の組合せ、Chem.3:

【0191】

【化9】

Chem. 3:



10

【0192】

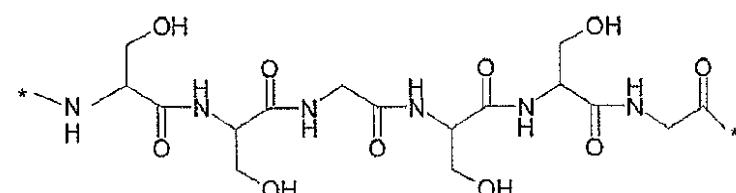
を含む、実施形態7の誘導体。

9. リンカーが、下記の通りの第1および第2のリンカー要素の組合せ、Chem.4:

【0193】

【化10】

Chem. 4:



20

【0194】

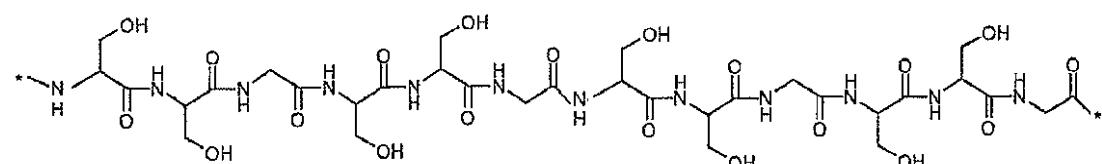
を含む、実施形態7～8のいずれかの誘導体。

10. リンカーが、下記の通りの第1および第2のリンカー要素の組合せ、Chem.10:

【0195】

【化11】

Chem. 10:



30

【0196】

を含む、実施形態7～9のいずれかの誘導体。

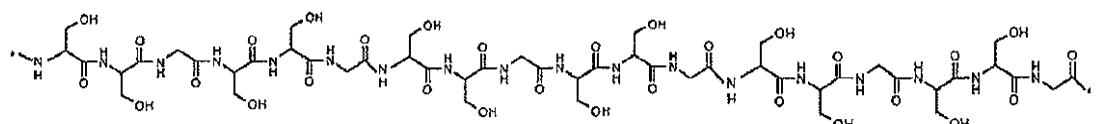
11. リンカーが、下記の通りの第1および第2のリンカー要素の組合せ、Chem.11:

【0197】

【化12】

40

Chem. 11:



【0198】

を含む、実施形態7～10のいずれかの誘導体。

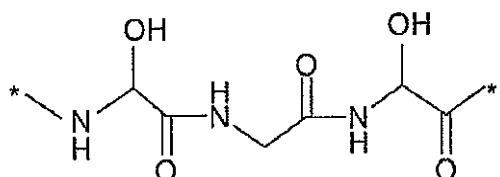
12. リンカーが、下記の通りの第1および第2のリンカー要素の組合せ、Chem.8:

【0199】

50

【化13】

Chem. 8:



【0200】

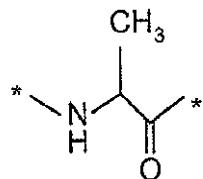
を含む、実施形態7の誘導体。

10

13. リンカーが、第3のリンカー要素、Chem.7:

【0201】

【化14】



【0202】

20

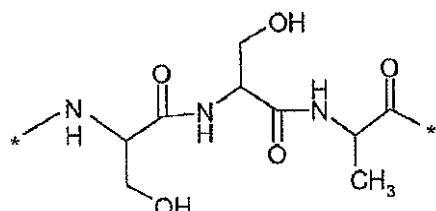
をさらに含む、実施形態1~3のいずれかの誘導体。

14. リンカーが、下記の通りの第1および第3のリンカー要素の組合せ、Chem.9:

【0203】

【化15】

Chem. 9:



30

【0204】

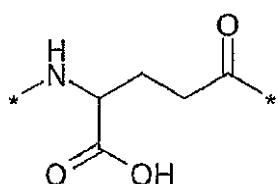
を含む、実施形態13の誘導体。

15. リンカーが、第4のリンカー要素、Chem.5:

【0205】

【化16】

Chem. 5:



40

【0206】

をさらに含む、実施形態1~14のいずれかの誘導体。

16. Chem.5が、その*-NH末端において延長部分のカルボニル基に結合している、実施形態15の誘導体。

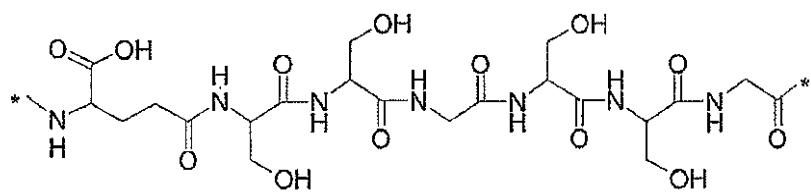
17. リンカーが、Chem.6:

【0207】

50

【化17】

Chem. 6:



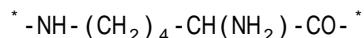
【0208】

を含む、実施形態1～3、7～9、または15～16のいずれかの誘導体。

10

18. リンカーが、第5のリンカー要素、Chem.12:

Chem.12:



をさらに含む、実施形態1～12、または15～17のいずれかの誘導体。

19. Chem.12が、そのCO-^{*}末端においてGLP-1ペプチドの第1または第2のLys残基の アミノ基に結合している、実施形態18の誘導体。

20. 1回のChem.5および2回のChem.9を含む、実施形態1～3、または13～16のいずれかの誘導体。

21. 1回のChem.5および4回のChem.3を含む、実施形態1～5、7～10、または15～16のいずれかの誘導体。

20

22. 1回のChem.5および6回のChem.1を含む、実施形態1～4または15～16のいずれかの誘導体。

23. 1回のChem.5、2回のChem.3、および1回のChem.12を含む、実施形態1～3、7～9、15～16または18～19のいずれかの誘導体。

24. 1回のChem.5、4回のChem.3、および1回のChem.12を含む、実施形態1～5、7～10、15～16または18～19のいずれかの誘導体。

25. 1回のChem.5、6回のChem.3、および1回のChem.12を含む、実施形態1～11、15～16または18～19のいずれかの誘導体。

26. 1回のChem.5、6回のChem.1、および1回のChem.12を含む、実施形態1～4、15～16または18～19のいずれかの誘導体。

30

27. 1回のChem.5、1回のChem.8、および1回のChem.12を含む、実施形態1～2、7、12、15～16または18～19のいずれかの誘導体。

28. リンカーが、その^{*}-NH末端においてアミド結合を介して延長部分のカルボニル基に結合しており、かつそのCO-^{*}末端においてアミド結合を介してGLP-1ペプチドの第1または第2のLys残基の アミノ基に結合しているChem.6からなる、実施形態1～3、7～9、または15～17のいずれかの誘導体。29. リンカーが、「Chem.5-Chem.9-Chem.9」からなり、示した配列(すなわち、^{*}-NH末端を左に、およびCO-^{*}末端を右に伴う)において、リンカー要素Chem.5、Chem.9、およびChem.9が、アミド結合を介して相互結合しており、リンカーはさらに、アミド結合を介して^{*}-NH末端において延長部分のカルボニル基に結合しており、かつCO-^{*}末端においてGLP-1ペプチドの第1または第2のLys残基の アミノ基に結合している、実施形態1～3、13～16、または20のいずれかの誘導体。

40

30. リンカーが、「Chem.5-Chem.3-Chem.3-Chem.3-Chem.3」からなり、示した配列(すなわち、^{*}-NH末端を左に、およびCO-^{*}末端を右に伴う)において、リンカー要素Chem.5、Chem.3、Chem.3、Chem.3、およびChem.3が、アミド結合を介して相互結合しており、リンカーはさらに、アミド結合を介して^{*}-NH末端において延長部分のカルボニル基に結合しており、かつCO-^{*}末端においてGLP-1ペプチドの第1または第2のLys残基の アミノ基に結合している、実施形態1～5、7～10、15～16、または21のいずれかの誘導体。31. リンカーが、「Chem.5-Chem.1-Chem.1-Chem.1-Chem.1-Chem.1」からなり、示した配列(すなわち、^{*}-NH末端を左に、およびCO-^{*}末端を右に伴う)において、リンカー要

50

素Chem.5、Chem.1、Chem.1、Chem.1、Chem.1、Chem.1、およびChem.1が、アミド結合を介して相互結合しており、リンカーはさらに、アミド結合を介して^{*}-NH末端において延長部分のカルボニル基に結合しており、かつCO-^{*}末端においてGLP-1ペプチドの第1または第2のLys残基のアミノ基に結合している、実施形態1~4、または15~16、または22のいずれかの誘導体。

32. リンカーが、「Chem.5-Chem.3-Chem.3-Chem.12」からなり、示した配列(すなわち、^{*}-NH末端を左に、およびCO-^{*}末端を右に伴う)において、リンカー要素Chem.5、Chem.3、Chem.3、およびChem.12が、アミド結合を介して相互結合しており、リンカーはさらに、アミド結合を介して^{*}-NH末端において延長部分のカルボニル基に結合しており、かつCO-^{*}末端においてGLP-1ペプチドの第1または第2のLys残基のアミノ基に結合している、実施形態1~3、7~9、15~16、18~19、または23のいずれかの誘導体。 10

33. リンカーが、「Chem.5-Chem.3-Chem.3-Chem.3-Chem.3-Chem.12」からなり、示した配列(すなわち、^{*}-NH末端を左に、およびCO-^{*}末端を右に伴う)において、リンカー要素Chem.5、Chem.3、Chem.3、Chem.3、Chem.3、およびChem.12が、アミド結合を介して相互結合しており、リンカーはさらに、アミド結合を介して^{*}-NH末端において延長部分のカルボニル基に結合しており、かつCO-^{*}末端においてGLP-1ペプチドの第1または第2のLys残基のアミノ基に結合している、実施形態1~5、7~10、15~16、18~19、または24のいずれかの誘導体。

34. リンカーが、「Chem.5-Chem.3-Chem.3-Chem.3-Chem.3-Chem.3-Chem.12」からなり、示した配列(すなわち、^{*}-NH末端を左に、およびCO-^{*}末端を右に伴う)において、リンカー要素Chem.5、Chem.3、Chem.3、Chem.3、Chem.3、Chem.3、およびChem.12が、アミド結合を介して相互結合しており、リンカーはさらに、アミド結合を介して^{*}-NH末端において延長部分のカルボニル基に結合しており、かつCO-^{*}末端においてGLP-1ペプチドの第1または第2のLys残基のアミノ基に結合している、実施形態1~11、15~16、18~19、または25のいずれかの誘導体。 20

35. リンカーが、「Chem.5-Chem.1-Chem.1-Chem.1-Chem.1-Chem.1-Chem.12」からなり、示した配列(すなわち、^{*}-NH末端を左に、およびCO-^{*}末端を右に伴う)において、リンカー要素Chem.5、Chem.1、Chem.1、Chem.1、Chem.1、Chem.1、Chem.1、およびChem.12が、アミド結合を介して相互結合しており、リンカーはさらに、アミド結合を介して^{*}-NH末端において延長部分のカルボニル基に結合しており、かつCO-^{*}末端においてGLP-1ペプチドの第1または第2のLys残基のアミノ基に結合している、実施形態1~4、15~16、18~19、または26のいずれかの誘導体。 30

36. リンカーが、「Chem.5-Chem.8-Chem.12」からなり、示した配列(すなわち、^{*}-NH末端を左に、およびCO-^{*}末端を右に伴う)において、リンカー要素Chem.5、Chem.8、およびChem.12が、アミド結合を介して相互結合しており、リンカーはさらに、アミド結合を介して^{*}-NH末端において延長部分のカルボニル基に結合しており、かつCO-^{*}末端においてGLP-1ペプチドの第1または第2のLys残基のアミノ基に結合している、実施形態1~2、7、12、15~16、18~19、または27のいずれかの誘導体。

37. Chem.1が、Serである、実施形態1~36のいずれかの誘導体。

38. Chem.2が、Glyである、実施形態1~37のいずれかの誘導体。 40

39. Chem.3が、Ser-Ser-Glyである、実施形態1~38のいずれかの誘導体。

40. Chem.4が、Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly(配列番号1)である、実施形態1~39のいずれかの誘導体。

41. Chem.5が、gGluである、実施形態1~40のいずれかの誘導体。

42. Chem.6が、gGlu-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly(配列番号2)である、実施形態1~41のいずれかの誘導体。

43. Chem.7が、Alaである、実施形態1~42のいずれかの誘導体。

44. Chem.8が、Ser-Gly-Serである、実施形態1~43のいずれかの誘導体。

45. Chem.9が、Ser-Ser-Alaである、実施形態1~44のいずれかの誘導体。

46. Chem.10が、Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly(配列番号4)である、 50

実施形態1～45のいずれかの誘導体。

47. Chem.11が、Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly(配列番号5)である、実施形態1～46のいずれかの誘導体。

48. Chem.12が、eps-Lysである、実施形態1～47のいずれかの誘導体。

49. リンカーが、gGlu-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly(配列番号2)である、実施形態1～3、7～9、15～17、または28のいずれかの誘導体。

50. リンカーが、gGlu-Ser-Ser-Ala-Ser-Ser-Ala(配列番号6)である、実施形態1～3、13～16、20、または29のいずれかの誘導体。

51. リンカーが、gGlu-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly(配列番号7)である、実施形態1～5、7～10、15～16、21、または30のいずれかの誘導体。 10

52. リンカーが、gGlu-Ser-Ser-Ser-Ser-Ser(配列番号8)である、実施形態1～4、または15～16、22、または31のいずれかの誘導体。

53. リンカーが、gGlu-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-eps-Lys(配列番号9)である、実施形態1～3、7～9、15～16、18～19、23、または32のいずれかの誘導体。

54. リンカーが、gGlu-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-eps-Lys(配列番号10)である、実施形態1～5、7～10、15～16、18～19、24、または33のいずれかの誘導体。

55. リンカーが、gGlu-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly-eps-Lys(配列番号11)である、実施形態1～11、15～16、18～19、25、または34のいずれかの誘導体。 20

56. リンカーが、gGlu-Ser-Ser-Ser-Ser-Ser-eps-Lys(配列番号12)である、実施形態1～4、15～16、18～19、26、または35のいずれかの誘導体。

57. リンカーが、gGlu-Ser-Gly-Ser-eps-Lys(配列番号13)である、実施形態1～2、7、12、15～16、18～19、27、または36のいずれかの誘導体。

58. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7-37)(配列番号3)またはその類似体である、実施形態1～57のいずれかの誘導体。

59. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最大で8個のアミノ酸の変化を有する、実施形態58の誘導体。

60. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最大で7個のアミノ酸の変化を有する、実施形態58～59のいずれかの誘導体。 30

61. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最大で6個のアミノ酸の変化を有する、実施形態58～60のいずれかの誘導体。

62. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最大で5個のアミノ酸の変化を有する、実施形態58～61のいずれかの誘導体。

63. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最大で4個のアミノ酸の変化を有する、実施形態58～62のいずれかの誘導体。

64. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最大で3個のアミノ酸の変化を有する、実施形態58～63のいずれかの誘導体。

65. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、7個のアミノ酸の変化を有する、実施形態58～64のいずれかの誘導体。 40

66. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、4個のアミノ酸の変化を有する、実施形態58～65のいずれかの誘導体。

67. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、3個のアミノ酸の変化を有する、実施形態58～66のいずれかの誘導体。

68. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最小で3個のアミノ酸の変化を有する、実施形態58～67のいずれかの誘導体。

69. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最小で4個のアミノ酸の変化を有する、実施形態58～68のいずれかの誘導体。

70. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最小で5個のアミノ酸の変化を有する、実施形態58～69のいずれかの誘導体。 50

71. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最小で6個のアミノ酸の変化を有する、実施形態58～70のいずれかの誘導体。

72. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最小で7個のアミノ酸の変化を有する、実施形態58～71のいずれかの誘導体。

73. アミノ酸の変化が、独立に、置換、欠失、および付加から選択される、実施形態1～72のいずれかの誘導体。

74. アミノ酸の変化が、独立に、置換および付加から選択される、実施形態1～73のいずれかの誘導体。

75. アミノ酸の変化が、置換である、実施形態1～74のいずれかの誘導体。

76. GLP-1ペプチドが、式IのGLP-1ペプチドを含み、

10

式I:Xaa₇-Xaa₈-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈

であり、式中、

Xaa⁷は、L-ヒスチジン、イミダゾロピオニル、D-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、D-ヒドロキシ-ヒスチジン、ホモヒスチジン、N-アセチル-ヒスチジン、N-ホルミル-ヒスチジン、D-フルオロメチル-ヒスチジン、D-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、

Xaa₈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、

20

Xaa₁₆は、ValまたはLeuであり、

Xaa₁₈は、SerまたはLysであり、

Xaa₁₉は、TyrまたはGlnであり、

Xaa₂₀は、LeuまたはMetであり、

Xaa₂₂は、Gly、Glu、Lys、またはAibであり、

Xaa₂₃は、Gln、Glu、またはArgであり、

Xaa₂₅は、AlaまたはValであり、

30

Xaa₂₆は、Val、His、Lys、またはArgであり、

Xaa₂₇は、Glu、Leu、またはLysであり、

Xaa₃₀は、Ala、Glu、Lys、またはArgであり、

Xaa₃₁は、Trp、Lys、またはHisであり、

Xaa₃₃は、ValまたはLysであり、

Xaa₃₄は、Lys、Glu、Asn、Gly、Gln、His、Arg、または存在せず、

Xaa₃₅は、Gly、Aib、または存在せず、

Xaa₃₆は、Arg、Gly、Lys、または存在せず、

Xaa₃₇は、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys、Arg、または存在せず、

Xaa₃₈は、Ser、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys、Arg、または存在しない、実施形態1～75のいずれかの誘導体。

40

77. GLP-1ペプチドが、式IのGLP-1ペプチドである、実施形態1～76のいずれかの誘導体。

78. 式Iのペプチドが、GLP-1(7-37)(配列番号3)の類似体である、実施形態76～77のいずれかの誘導体。

79. Xaa₃₇が存在しない場合、Xaa₃₈もまた存在しない、実施形態76～78のいずれかの誘導体。

80. Xaa₃₆が存在しない場合、Xaa₃₇、およびXaa₃₈もまた存在しない、実施形態76～79のいずれかの誘導体。

81. Xaa₃₅が存在しない場合、Xaa₃₆、Xaa₃₇、およびXaa₃₈もまた存在しない、実施形態76～80のいずれかの誘導体。

50

82. 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76～81のいずれかの誘導体。

83. Xaa_7 が、L-ヒスチジンまたはイミダゾプロピオニルであり、 Xaa_8 が、AlaまたはAibであり、 Xaa_{16} が、Valであり、 Xaa_{18} が、SerまたはLysであり、 Xaa_{19} が、Tyr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、Lys、またはHisであり、 Xaa_{33} が、Valであり、 Xaa_{34} が、Lys、Gln、His、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またはLysであり、 Xaa_{38} が、Gly、Lys、または存在しない、実施形態76～82のいずれかの誘導体。

84. GLP-1ペプチドが、His⁷を含む、実施形態1～83のいずれかの誘導体。

10

85. GLP-1ペプチドが、Imp⁷を含む、実施形態1～83のいずれかの誘導体。

86. GLP-1ペプチドが、Ala⁸を含む、実施形態1～85のいずれかの誘導体。

87. GLP-1ペプチドが、Aib⁸を含む、実施形態1～85のいずれかの誘導体。

88. GLP-1ペプチドが、Val¹⁶を含む、実施形態1～87のいずれかの誘導体。

89. GLP-1ペプチドが、Ser¹⁸を含む、実施形態1～88のいずれかの誘導体。

90. GLP-1ペプチドが、Lys¹⁸を含む、実施形態1～88のいずれかの誘導体。

91. GLP-1ペプチドが、Tyr¹⁹を含む、実施形態1～90のいずれかの誘導体。

92. GLP-1ペプチドが、Leu²⁰を含む、実施形態1～91のいずれかの誘導体。

93. GLP-1ペプチドが、Gly²²を含む、実施形態1～92のいずれかの誘導体。

94. GLP-1ペプチドが、Glu²²を含む、実施形態1～92のいずれかの誘導体。

20

95. GLP-1ペプチドが、Gln²³を含む、実施形態1～94のいずれかの誘導体。

96. GLP-1ペプチドが、Ala²⁵を含む、実施形態1～95のいずれかの誘導体。

97. GLP-1ペプチドが、Val²⁵を含む、実施形態1～95のいずれかの誘導体。

98. GLP-1ペプチドが、Lys²⁶を含む、実施形態1～97のいずれかの誘導体。

99. GLP-1ペプチドが、Arg²⁶を含む、実施形態1～97のいずれかの誘導体。

100. GLP-1ペプチドが、Glu²⁷を含む、実施形態1～99のいずれかの誘導体。

101. GLP-1ペプチドが、Ala³⁰を含む、実施形態1～100のいずれかの誘導体。

102. GLP-1ペプチドが、His³¹を含む、実施形態1～101のいずれかの誘導体。

103. GLP-1ペプチドが、Trp³¹を含む、実施形態1～101のいずれかの誘導体。

104. GLP-1ペプチドが、Lys³¹を含む、実施形態1～101のいずれかの誘導体。

30

105. GLP-1ペプチドが、Val³³を含む、実施形態1～104のいずれかの誘導体。

106. GLP-1ペプチドが、Gln³⁴を含む、実施形態1～105のいずれかの誘導体。

107. GLP-1ペプチドが、Arg³⁴を含む、実施形態1～105のいずれかの誘導体。

108. GLP-1ペプチドが、His³⁴を含む、実施形態1～105のいずれかの誘導体。

109. GLP-1ペプチドが、Lys³⁴を含む、実施形態1～105のいずれかの誘導体。

110. GLP-1ペプチドが、Gly³⁵を含む、実施形態1～109のいずれかの誘導体。

111. GLP-1ペプチドが、Arg³⁶を含む、実施形態1～110のいずれかの誘導体。

112. GLP-1ペプチドが、Gly³⁷を含む、実施形態1～111のいずれかの誘導体。

113. GLP-1ペプチドが、Lys³⁷を含む、実施形態1～111のいずれかの誘導体。

114. GLP-1ペプチドが、Lys³⁸を含む、実施形態1～113のいずれかの誘導体。

40

115. GLP-1ペプチドにおいて、 Xaa^{38} が存在しない、実施形態1～113のいずれかの誘導体。

116. GLP-1ペプチドが、Glu³⁸を含む、実施形態1～113のいずれかの誘導体。

117. GLP-1ペプチドが、2つのみのLys残基を有する、実施形態1～116のいずれかの誘導体。

。

118. 2つのLys残基が、Lys²⁶およびLys³⁷である、実施形態1～117のいずれかの誘導体。

119. 2つのLys残基が、Lys¹⁸およびLys²⁶である、実施形態1～117のいずれかの誘導体。

120. 2つのLys残基が、Lys¹⁸およびLys³¹である、実施形態1～117のいずれかの誘導体。

121. 2つのLys残基が、Lys²⁶およびLys³⁸である、実施形態1～117のいずれかの誘導体。

122. GLP-1ペプチドが、Gln³⁴、His³⁴、またはArg³⁴を含む、実施形態117～121のいずれかの誘導体。

50

123. GLP-1ペプチドが、Arg²⁶を含む、実施形態120または122のいずれかの誘導体。

124. GLP-1ペプチドが、Arg²⁶およびArg³⁴を含む、実施形態123の誘導体。

125. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、下記のアミノ酸の変化:(i) 8Aib、34R、37K; (ii) 8Aib、31H、34Q、37K; (iii) 31H、34Q、37K; (iv) 34R、37K、38E; (v) 18K、22E、34Q; (vi) 8Aib、18K、22E、25V、26R、31K、34R; (vii) 8Aib、18K、22E、34Q; (viii) 8Aib、18K、34Q; (ix) 8Aib、34Q、37K; (x) 8Aib、34H、37K; (xi) 8Aib、31H、34Q、38K; (xii) 7Imp、8Aib、34R、37K; または(xiv) 7Imp、8Aib、18K、34Qを含む、実施形態1～124のいずれかの誘導体。

126. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、下記のアミノ酸の変化:(i) 8Aib、34R、37K; (ii) 8Aib、31H、34Q、37K; (iii) 31H、34Q、37K; (iv) 34R、37K、38E; (v) 18K、22E、34Q; (vi) 8Aib、18K、22E、25V、26R、31K、34R; (vii) 8Aib、18K、22E、34Q; (viii) 8Aib、18K、34Q; (ix) 8Aib、34Q、37K; (x) 8Aib、34H、37K; (xi) 8Aib、31H、34Q、38K; (xii) 7Imp、8Aib、34R、37K; または(xiv) 7Imp、8Aib、18K、34Qを含む、実施形態1～125のいずれかの誘導体。 10

127. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、下記のアミノ酸の変化:(i) 8Aib、34R、37K; (ii) 8Aib、31H、34Q、37K; (iii) 31H、34Q、37K; (iv) 34R、37K、38E; (v) 18K、22E、34Q; (vi) 8Aib、18K、22E、25V、26R、31K、34R; (vii) 8Aib、18K、22E、34Q; (viii) 8Aib、18K、34Q; (ix) 8Aib、34Q、37K; (x) 8Aib、34H、37K; (xi) 8Aib、31H、34Q、38K; (xii) 7Imp、8Aib、34R、37K; または(xiv) 7Imp、8Aib、18K、34Qを有する、実施形態1～126のいずれかの誘導体。 20

128. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、下記のアミノ酸の変化:(i) 8Aib、34R、37K; (ii) 8Aib、31H、34Q、37K; (iii) 31H、34Q、37K; (iv) 34R、37K、38E; (v) 18K、22E、34Q; (vi) 8Aib、18K、22E、25V、26R、31K、34R; (vii) 8Aib、18K、22E、34Q; (viii) 8Aib、18K、34Q; (ix) 8Aib、34Q、37K; (x) 8Aib、34H、37K; (xi) 8Aib、31H、34Q、38K; (xii) 7Imp、8Aib、34R、37K; または(xiv) 7Imp、8Aib、18K、34Qを有する、実施形態1～127のいずれかの誘導体。 20

129. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、下記のアミノ酸の変化:(ix) 8Aib、18K、34Qを有さない、実施形態1～128のいずれかの誘導体。

130. GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較したアミノ酸の変化の数が、筆記および目視によって同定される、実施形態1～129のいずれかの誘導体。 30

131. アミノ酸の変化の処理および位置が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較するものであり、筆記および目視によって同定される、実施形態1～130のいずれかの誘導体。

132. アミノ酸の変化の処理および位置が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較するものであり、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の使用によって同定される、実施形態1～131のいずれかの誘導体。

133. 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132の誘導体。

134. 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132～133のいずれかの誘導体。

135. スコアリングマトリックスが、BLOSUM62である、実施形態132～134のいずれかの誘導体。 40

136. 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132～135のいずれかの誘導体。

137. 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0.5)である、実施形態132～136のいずれかの誘導体。

138. xが、偶数である、実施形態1～137のいずれかの誘導体。

139. xが、12または14である、実施形態1～138のいずれかの誘導体。

140. xが、12である、実施形態1～139のいずれかの誘導体。

141. xが、14である、実施形態1～139のいずれかの誘導体。

142. yが、9、10または11である、実施形態1～141のいずれかの誘導体。 50

143.yが、9である、実施形態1～142のいずれかの誘導体。

144.yが、10である、実施形態1～142のいずれかの誘導体。

145.yが、11である、実施形態1～142のいずれかの誘導体。

146. 延長部分が、Chem.15である、実施形態1～145のいずれかの誘導体。

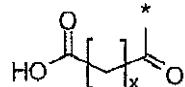
147. 延長部分が、Chem.16である、実施形態1～145のいずれかの誘導体。

148. Chem.15が、Chem.15a:

【0209】

【化18】

Chem.15a:



10

【0210】

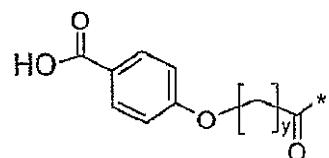
によって表される、実施形態1～146のいずれかの誘導体。

149. Chem.16が、Chem.16a:

【0211】

【化19】

Chem.16a:



20

【0212】

によって表される、実施形態1～145または147のいずれかの誘導体。

150. 2つの延長部分が、実質的に同一である、実施形態1～149のいずれかの誘導体。

151. 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1～150のいずれかの誘導体。

30

152. 2つのリンカーが、実質的に同一である、実施形態1～151のいずれかの誘導体。

153. 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1～152のいずれかの誘導体。

154. 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1～153のいずれかの誘導体。

155. 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; 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1～154のいずれかの誘導体。

40

156. 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、2つのフィンガープリントの類似性を計算するために谷本係数が好ましくは使用される、実施形態151、153、または155のいずれかの誘導体。

157. リンカーが、ペプチドである、実施形態1～156のいずれかの誘導体。

158. リンカーが、5～20個のアミノ酸残基を含むペプチドである、実施形態1～157のいず

50

れかの誘導体。

159. リンカーが、3~7個のアミノ酸残基を含むペプチドである、実施形態1~158のいずれかの誘導体。

160. リンカーが、3~7個のアミノ酸残基からなるペプチドである、実施形態1~159のいずれかの誘導体。

161. リンカーが、5~20個のアミノ酸残基からなるペプチドである、実施形態1~159のいずれかの誘導体。

162. リンカーが、5、7、8、13、15、または20個のアミノ酸残基を含む、実施形態158または159のいずれかの誘導体。

163. リンカーが、5、7、8、13、15、または20個のアミノ酸残基からなる、実施形態162の誘導体。 10

164. リンカーが、各Lys残基の -アミノ基に付着している、実施形態1~163のいずれかの誘導体。

165. リンカーのC末端が、各Lys残基の -アミノ基に付着している、実施形態1~164のいずれかの誘導体。

166. 延長部分およびリンカーが、アミド結合を介して相互結合している、実施形態1~165のいずれかの誘導体。

167. リンカーのN末端が、延長部分の*-CO末端に付着している、実施形態1~166のいずれかの誘導体。

168. 下記から選択される、好ましくは、実施形態1~167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、およびChem.50;またはChem.20~Chem.50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。 20

169. 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1~31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;またはこれらの化合物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。

170. 実施形態169の化合物である、実施形態168の化合物。

171. GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して下記のアミノ酸の変化:(x)8Aib、34H、37K;もしくは(xii)7Imp、8Aib、34R、37Kを含むGLP-1ペプチド;または(x)もしくは(xii)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。 30

172. GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して下記のアミノ酸の変化:(x)8Aib、34H、37K;(xii)7Imp、8Aib、34R、37K;もしくは(xiv)7Imp、8Aib、18K、34Qを有するGLP-1ペプチド;または(x)、(xii)、もしくは(xiv)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。

173. GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して他のアミノ酸の修飾を有さない、実施形態172のペプチド。

174. アミノ酸の変化の処理および位置が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較するものであり、実施形態130~137のいずれかに記載されているように同定される、実施形態171~173のいずれかのペプチド。 40

175. GLP-1活性を有する、実施形態1~174のいずれかの誘導体。

176. 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175の誘導体。

177. 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176の誘導体。

178. a)3000pM未満、好ましくは、2600pM未満、より好ましくは、2400pM未満、さらにより好ましくは、2000pM未満、または最も好ましくは、1500pM未満;

b)1000pM未満、好ましくは、1600pM未満、より好ましくは、1400pM未満、さらにより好ましくは、1200pM未満、または最も好ましくは、900pM未満; 50

c)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、250pM未満、または最も好ましくは、200pM未満;あるいは

d)150pM未満、好ましくは、125pM未満、より好ましくは、100pM未満、さらにより好ましくは、60pM未満、または最も好ましくは、50pM未満

のEC₅₀に対応する効力を有する、実施形態1～177のいずれかの誘導体。

179. 効力が、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EC₅₀として決定される、実施形態178の誘導体。

180. 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)を使用する、実施形態179の誘導体。

181. 機能的受容体アッセイを、cAMPの決定のために使用する、実施形態179～180のいずれかの誘導体。 10

182. アッセイが、内因的に形成されたcAMPと外因的に加えたビオチンcAMPとの間の競合に基づく、実施形態179～181のいずれかの誘導体。

183. cAMPを、特異的抗体を使用して捕捉する、実施形態179～182のいずれかの誘導体。

184. アッセイが、AlphaScreen cAMPアッセイ、好ましくは本明細書において実施例32において記載されているものである、実施形態179～183のいずれかの誘導体。

185. ヒトGLP-1受容体の活性化を、レポーター遺伝子アッセイにおいて測定する、実施形態176のいずれかの誘導体。

186. レポーター遺伝子アッセイが、ヒトGLP-1受容体を発現しており、かつプロモーターにカップリングしているcAMP応答配列(CRE)についてのDNA、およびホタルルシフェラーゼ(CREルシフェラーゼ)についての遺伝子を含有する、安定的にトランスフェクトされたBHK細胞系を使用する、実施形態186の誘導体。 20

187. ルシフェラーゼを、ルシフェリン(オキシリルシフェリンに変換され、バイオルミネセンスを生じる)を加えることによって決定し、バイオルミネセンスを測定し、インビトロの効力の尺度となる、実施形態186の誘導体。

188. アッセイが、実施例33に記載される、実施形態185～187のいずれかの誘導体。

189. 100pM以下、好ましくは75pM未満、より好ましくは50pM未満、さらにより好ましくは25pM未満、または最も好ましくは10pM未満のEC₅₀に対応するインビトロの効力を有する、実施形態185～188のいずれかの誘導体。

190. 実施形態175～189のいずれかに定義されているようなGLP-1活性を有する、実施形態171～174のいずれかのペプチド。 30

191. 0.005%、好ましくは0.001%HSA(低アルブミン)の存在下で、GLP-1受容体結合親和性(IC₅₀)が、

a)50nM未満、好ましくは25nM未満、またより好ましくは20nM未満、さらにより好ましくは10nM未満、または最も好ましくは5.0nM未満であり;あるいは

b)1.0nM未満、またはより好ましくは0.50nM未満である、実施形態1～189のいずれかの誘導体。

192. 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¹²⁵I-GLP-1の移動によって測定する、実施形態191の誘導体。

193. 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192の誘導体。 40

194. IC₅₀値が、受容体からの¹²⁵I-GLP-1の50%を移動させる濃度として決定される、実施形態191～193のいずれかの誘導体。

195. 実施形態191～194のいずれかに定義されているようなGLP-1受容体に結合することができる、実施形態171～174または190のいずれかのペプチド。

196. 実施形態171～174、190、および/もしくは195のいずれかによるペプチド、または実施形態1～170、175～189、および/もしくは191～194のいずれかによる誘導体;ならびに薬学的に許容される添加剤を含む医薬組成物。

197. 医薬品として使用するための、実施形態171～174、190、および/もしくは195のいず 50

れかによるペプチド、または実施形態1～170、175～189、および/もしくは191～194のいずれかによる誘導体。

198. 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/もしくは多囊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、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171～174、190、および/もしくは195のいずれかによるペプチド、または実施形態1～170、175～189、および/もしくは191～194のいずれかによる誘導体。

199. 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/もしくは多囊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、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171～174、190、および/もしくは195のいずれかによるペプチドの使用、または実施形態1～170、175～189、および/もしくは191～194のいずれかによる誘導体の使用。

200. 医薬的活性量の実施形態171～174、190、および/もしくは195のいずれかによるペプチド、または実施形態1～170、175～189、および/もしくは191～194のいずれかによる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/もしくは多囊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、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。

【0213】

さらなる特定の実施形態

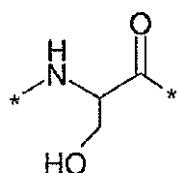
下記は、本発明のさらなる特定の実施形態である。

1. ペプチドが、少なくとも2つのLys残基を含み、延長部分が、Chem.1:

【0214】

【化20】

Chem. 1:



【0215】

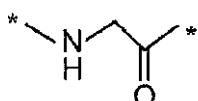
を含むリンカーを介して、各Lys残基のアミノ基に付着している、GLP-1ペプチドの誘導体。

2. リンカーが、Chem.2:

【0216】

【化21】

Chem. 2:



【0217】

をさらに含む、実施形態1～2のいずれかの誘導体。

3. リンカーが、Chem.3:

10

20

30

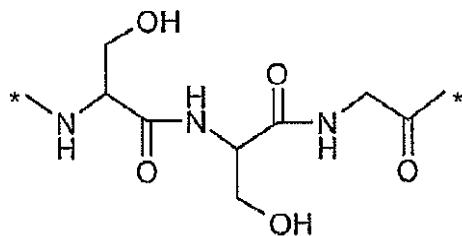
40

50

【0218】

【化22】

Chem. 3:



10

【0219】

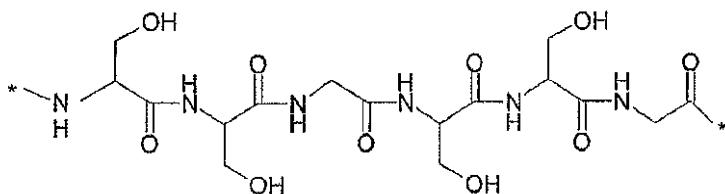
を含む、実施形態1～2のいずれかの誘導体。

4. リンカーが、Chem. 4:

【0220】

【化23】

Chem. 4:



20

【0221】

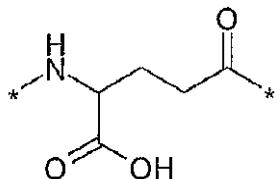
を含む、実施形態1～3のいずれかの誘導体。

5. リンカーが、Chem. 5:

【0222】

【化24】

Chem. 5:



30

【0223】

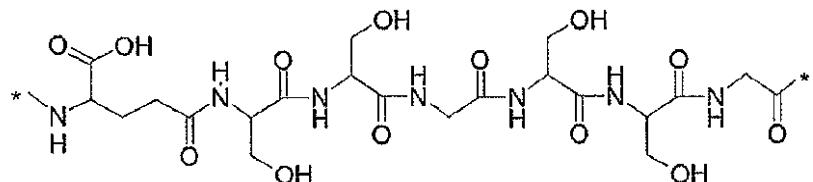
をさらに含む、実施形態1～4のいずれかの誘導体。

6. リンカーが、Chem. 6:

【0224】

【化25】

Chem. 6:



40

【0225】

を含む、実施形態1～5のいずれかの誘導体。

7. リンカーが、Chem. 6からなる、実施形態1～6のいずれかの誘導体。

50

8. Serを含む、実施形態1~7のいずれかの誘導体。

9. リンカーが、Glyをさらに含む、実施形態1~8のいずれかの誘導体。

10. リンカーが、Ser-Ser-Glyをさらに含む、実施形態1~9のいずれかの誘導体。

11. リンカーが、Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly(配列番号1)を含む、実施形態1~10のいずれかの誘導体。

12. リンカーが、Gluをさらに含む、実施形態1~11のいずれかの誘導体。

13. リンカーが、Glu-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly(配列番号2)を含む、実施形態1~12のいずれかの誘導体。

14. リンカーが、Glu-Ser-Ser-Gly-Ser-Ser-Gly(配列番号2)からなる、実施形態1~3のいずれかの誘導体。 10

15. Gluが、Chem.5のgGluである、実施形態12~14のいずれかの誘導体。

16. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7-37)(配列番号3)またはその類似体である、実施形態1~15のいずれかの誘導体。

17. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最大で10個のアミノ酸の変化を有する、実施形態16の誘導体。

18. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最大で9個のアミノ酸の変化を有する、実施形態16~17のいずれかの誘導体。

19. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最大で8個のアミノ酸の変化を有する、実施形態16~18のいずれかの誘導体。

20. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最大で7個のアミノ酸の変化を有する、実施形態16~19のいずれかの誘導体。 20

21. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最大で6個のアミノ酸の変化を有する、実施形態16~20のいずれかの誘導体。

22. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最大で5個のアミノ酸の変化を有する、実施形態16~21のいずれかの誘導体。

23. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最大で4個のアミノ酸の変化を有する、実施形態16~22のいずれかの誘導体。

24. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、最大で3個のアミノ酸の変化を有する、実施形態16~23のいずれかの誘導体。

25. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、7個のアミノ酸の変化を有する、実施形態16~20のいずれかの誘導体。 30

26. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、4個のアミノ酸の変化を有する、実施形態16~23のいずれかの誘導体。

27. 類似体が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、3個のアミノ酸の変化を有する、実施形態16~24のいずれかの誘導体。

28. アミノ酸の変化が、独立に、置換、欠失、および付加から選択される、実施形態17~27のいずれかの誘導体。

29. アミノ酸の変化が、独立に、置換および付加から選択される、実施形態17~28のいずれかの誘導体。

30. アミノ酸の変化が、置換である、実施形態17~29のいずれかの誘導体。 40

31. GLP-1ペプチドが、式IのGLP-1ペプチドを含み、

式I: Xaa₇-Xaa₈-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Lys-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈

式中、

Xaa⁷は、L-ヒスチジン、イミダゾロピオニル、D-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、D-ヒドロキシ-ヒスチジン、ホモヒスチジン、N-D-アセチル-ヒスチジン、N-D-ホルミル-ヒスチジン、D-フルオロメチル-ヒスチジン、D-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、 50

Xaa₈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、

Xaa₁₆は、ValまたはLeuであり、

Xaa₁₈は、SerまたはLysであり、

Xaa₁₉は、TyrまたはGlnであり、

Xaa₂₀は、LeuまたはMetであり、

Xaa₂₂は、Gly、Glu、Lys、またはAibであり、

Xaa₂₃は、Gln、Glu、またはArgであり、

Xaa₂₅は、AlaまたはValであり、

Xaa₂₆は、Val、His、Lys、またはArgであり、

Xaa₂₇は、Glu、Leu、またはLysであり、

Xaa₃₀は、Ala、Glu、Lys、またはArgであり、

Xaa₃₁は、Trp、Lys、またはHisであり、

Xaa₃₃は、ValまたはLysであり、

Xaa₃₄は、Lys、Glu、Asn、Gly、Gln、Arg、または存在せず、

Xaa₃₅は、Gly、Aib、または存在せず、

Xaa₃₆は、Arg、Gly、Lys、または存在せず、

Xaa₃₇は、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys、Arg、または存在せず、

Xaa₃₈は、Ser、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys、Arg、または存在しない、実施形態1～30のいずれかの誘導体。

32.GLP-1ペプチドが、式IのGLP-1ペプチドである、実施形態1～31のいずれかの誘導体。

33.式Iのペプチドが、GLP-1(7-37)(配列番号3)の類似体である、実施形態31～32のいずれかの誘導体。

34.Xaa₃₇が存在しない場合、Xaa₃₈もまた存在しない、実施形態31～33のいずれかの誘導体。

35.Xaa₃₆が存在しない場合、Xaa₃₇、およびXaa₃₈もまた存在しない、実施形態31～34のいずれかの誘導体。

36.Xaa₃₅が存在しない場合、Xaa₃₆、Xaa₃₇、およびXaa₃₈もまた存在しない、実施形態31～35のいずれかの誘導体。

37.Xaa₃₄が存在しない場合、Xaa₃₅、Xaa₃₆、Xaa₃₇、およびXaa₃₈もまた存在しない、実施形態31～36のいずれかの誘導体。

38.Xaa₇が、L-ヒスチジンであり、Xaa₈が、AlaまたはAibであり、Xaa₁₆が、Valであり、Xaa₁₈が、SerまたはLysであり、Xaa₁₉が、Tyrであり、Xaa₂₀が、Leuであり、Xaa₂₂が、GlyまたはGluであり、Xaa₂₃が、Glnであり、Xaa₂₅が、AlaまたはValであり、Xaa₂₆が、LysまたはArgであり、Xaa₂₇が、Gluであり、Xaa₃₀が、Alaであり、Xaa₃₁が、Trp、Lys、またはHisであり、Xaa₃₃が、Valであり、Xaa₃₄が、Lys、Gln、またはArgであり、Xaa₃₅が、Glyであり、Xaa₃₆が、Argであり、Xaa₃₇が、GlyまたはLysであり、Xaa₃₈が、Gluまたは存在しない、実施形態31～37のいずれかの誘導体。

39.GLP-1ペプチドが、Aib⁸を含む、実施形態1～38のいずれかの誘導体。

40.GLP-1ペプチドが、Gln³⁴を含む、実施形態1～39のいずれかの誘導体。

41.GLP-1ペプチドが、Arg³⁴を含む、実施形態1～40のいずれかの誘導体。

42.GLP-1ペプチドが、Glu²²を含む、実施形態1～41のいずれかの誘導体。

43.GLP-1ペプチドが、2つのLys残基を含む、実施形態1～42のいずれかの誘導体。

44.GLP-1ペプチドが、2つのみのLys残基を有する、実施形態1～43のいずれかの誘導体。

45.GLP-1ペプチドが、Lys²⁶およびLys³⁷を含む、実施形態1～44のいずれかの誘導体。

46.GLP-1ペプチドが、Lys¹⁸およびLys²⁶を含む、実施形態1～44のいずれかの誘導体。

47.GLP-1ペプチドが、Gln³⁴またはArg³⁴を含む、実施形態45および46のいずれかの誘導体。

。

48. GLP-1ペプチドが、Lys¹⁸およびLys³¹を含む、実施形態1～44のいずれかの誘導体。

49. GLP-1ペプチドが、Arg²⁶およびArg³⁴を含む、実施形態48の誘導体。

50. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、下記のアミノ酸の変化:(i) 8Aib、34R、37K; (ii) 8Aib、31H、34Q、37K; (iii) 31H、34Q、37K; (iv) 34R、37K、38E; (v) 18K、22E、34Q; (vi) 8Aib、18K、22E、25V、26R、31K、34R; (vii) 8Aib、18K、22E、34Q; (viii) 8Aib、18K、22E、34Q; (ix) 8Aib、18K、34Q; または(x) 8Aib、34Q、37Kを含む、実施形態1～49のいずれかの誘導体。

51. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して、下記のアミノ酸の変化:(i) 8Aib、34R、37K; (ii) 8Aib、31H、34Q、37K; (iii) 31H、34Q、37K; (iv) 34R、37K、38E; (v) 18K、22E、34Q; (vi) 8Aib、18K、22E、25V、26R、31K、34R; (vii) 8Aib、18K、22E、34Q; (viii) 8Aib、18K、22E、34Q; (ix) 8Aib、18K、34Q; または(x) 8Aib、34Q、37Kを有する、実施形態1～50のいずれかの誘導体。

52. GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較したアミノ酸の変化の数が、筆記および目視によって同定される、実施形態1～51のいずれかの誘導体。

53. アミノ酸の変化の処理および位置が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較するものであり、筆記および目視によって同定される、実施形態1～52のいずれかの誘導体。

54. アミノ酸の変化の処理および位置が、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較するものであり、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の使用によって同定される、実施形態1～53のいずれかの誘導体。

55. 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54の誘導体。

56. 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54～55のいずれかの誘導体。

57. スコアリングマトリックスが、BLOSUM62である、実施形態54～56のいずれかの誘導体。

58. 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54～57のいずれかの誘導体。

59. 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0.5)である、実施形態54～58のいずれかの誘導体。

60. 延長部分が、Chem. 15およびChem. 16:

Chem. 15:HOOC-(CH₂)_x-CO-*

Chem. 16:HOOC-C₆H₄-O-(CH₂)_y-CO-*

(式中、xは、6～18の範囲の整数であり、yは、3～11の範囲の整数である)から選択される、実施形態1～59のいずれかの誘導体。

61. xが、偶数である、実施形態60の誘導体。

62. xが、12である、実施形態60～61のいずれかの誘導体。

63. yが、奇数である、実施形態60～62のいずれかの誘導体。

64. yが、7、9、または14である、実施形態60～63のいずれかの誘導体。

65. yが、9である、実施形態60～64のいずれかの誘導体。

66. yが、偶数である、実施形態60～62のいずれかの誘導体。

67. yが、10である、実施形態66の誘導体。

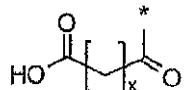
68. 延長部分が、Chem. 15である、実施形態60～67のいずれかの誘導体。

69. 延長部分が、Chem. 16である、実施形態60～67のいずれかの誘導体。

70. Chem. 15が、Chem. 15a:

【0 2 2 6】

【化26】



Chem. 15a:

10

20

30

40

50

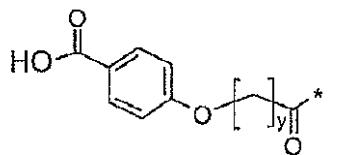
【0227】

によって表される、実施形態60～68のいずれかの誘導体。

71. Chem. 16が、Chem. 16a:

【0228】

【化27】



Chem. 16a:

10

【0229】

によって表される、実施形態60～67および69の誘導体。

72. 少なくとも2つの延長部分が、実質的に同一である、実施形態1～71のいずれかの誘導体。

73. 少なくとも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1～72のいずれかの誘導体。

74. 少なくとも2つのリンカーが、実質的に同一である、実施形態1～73のいずれかの誘導体。

20

75. 少なくとも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1～74のいずれかの誘導体。

76. 延長部分およびリンカーからなる少なくとも2つの側鎖が、実質的に同一である、実施形態1～75のいずれかの誘導体。

77. 延長部分およびリンカーからなる少なくとも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; 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1～76のいずれかの誘導体。

30

78. 比較する少なくとも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、2つのフィンガープリントの類似性を計算するために谷本係数が好ましくは使用される、実施形態73、75、または77のいずれかの誘導体。

79. リンカーが、ペプチドである、実施形態1～78のいずれかの誘導体。

80. リンカーが、3～7個のアミノ酸残基を含むペプチドである、実施形態1～79のいずれかの誘導体。

81. リンカーが、3～7個のアミノ酸残基からなるペプチドである、実施形態1～80のいずれかの誘導体。

40

82. リンカーが、各Lys残基の -アミノ基に付着している、実施形態1～81のいずれかの誘導体。

83. リンカーのC末端が、各Lys残基の -アミノ基に付着している、実施形態1～82のいずれかの誘導体。

84. 延長部分およびリンカーが、アミド結合を介して相互結合している、実施形態1～83のいずれかの誘導体。

85. リンカーのN末端が、延長部分の*-CO末端に付着している、実施形態1～84のいずれかの誘導体。

86. 下記から選択される、好ましくは、実施形態1～85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、およびCh

50

em.29; 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。

87. 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1～10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。

88. 実施形態87の化合物である、実施形態86の化合物。

89. GLP-1活性を有する、実施形態1～82のいずれかの誘導体。

90. 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89の誘導体。

91. 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90の誘導体。

92. a) 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、250pM未満、または最も好ましくは、200pM未満; 10

b) 150pM未満、好ましくは、125pM未満、より好ましくは、100pM未満、さらにより好ましくは、60pM未満、または最も好ましくは、50pM未満;

のEC₅₀に対応する効力を有する、実施形態1～91のいずれかの誘導体。

93. 効力が、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EC₅₀として決定される、実施形態92の誘導体。

94. 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)を使用する、実施形態93の誘導体。

95. 機能的受容体アッセイを、cAMPの決定のために使用する、実施形態93～94のいずれかの誘導体。 20

96. アッセイが、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く、実施形態93～95のいずれかの誘導体。

97. cAMPを、特異的抗体を使用して捕捉する、実施形態93～96のいずれかの誘導体。

98. アッセイが、AlphaScreen cAMPアッセイ、好ましくは本明細書において実施例11において記載されているものである、実施形態93～97のいずれかの誘導体。

99. 0.005%HSA(低アルブミン)の存在下で、GLP-1受容体結合親和性(IC₅₀)が、

a) 50nM未満、好ましくは25nM未満、またより好ましくは20nM未満、さらにより好ましくは10nM未満、または最も好ましくは5.0nM未満であり; あるいは

b) 1.0nM未満、またはより好ましくは0.50nM未満である、実施形態1～98のいずれかの誘導体。 30

100. 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¹²⁵I-GLP-1の移動によって測定する、実施形態99の誘導体。

101. 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100の誘導体。

102. IC₅₀値が、受容体からの¹²⁵I-GLP-1の50%を移動させる濃度として決定される、実施形態99～101のいずれかの誘導体。

103. 実施形態1～102のいずれかによる誘導体、ならびに薬学的に許容される添加剤を含む医薬組成物。

104. 医薬品として使用するための、実施形態1～102のいずれかによる誘導体。 40

105. 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/もしくは多囊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、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1～102のいずれかの誘導体。

106. 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/もしくは多囊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、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1～92のいずれかの誘導体の使用。 50

107. 医薬的活性量の実施形態1～102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/もしくは多囊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、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。

【0230】

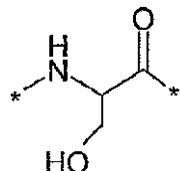
下記は、本発明のまたさらなる特定の実施形態である。

i). ペプチドが、少なくとも2つのLys残基を含み、延長部分が、Chem.1:

【0231】

【化28】

10



【0232】

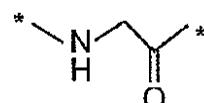
を含むリンカーを介して、各Lys残基のアミノ基に付着している、GLP-1ペプチドの誘導体。

ii). リンカーが、Chem.2:

20

【0233】

【化29】



【0234】

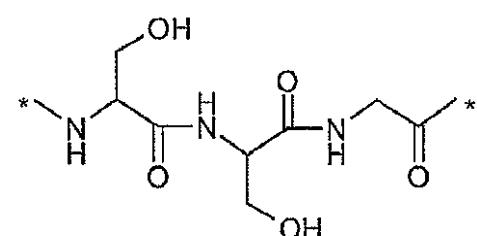
をさらに含む、実施形態1～2のいずれかの誘導体。

iii). リンカーが、Chem.3:

30

【0235】

【化30】



【0236】

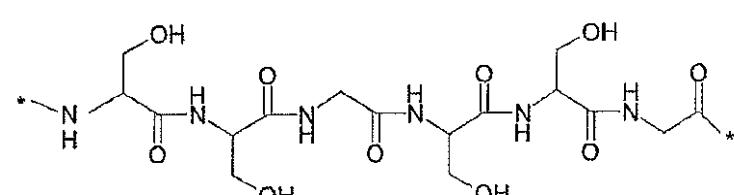
40

を含む、実施形態i)～ii)のいずれかの誘導体。

iv). リンカーが、Chem.4:

【0237】

【化31】



50

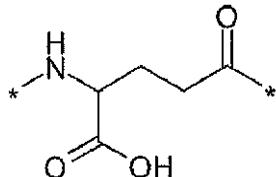
【0238】

を含む、実施形態i)~iii)のいずれかの誘導体。

v). リンカーが、Chem.5:

【0239】

【化32】



10

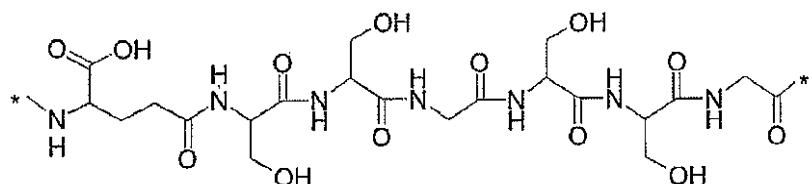
【0240】

をさらに含む、実施形態i)~iv)のいずれかの誘導体。

vi). リンカーが、Chem.6:

【0241】

【化33】



20

【0242】

をさらに含む、実施形態i)~v)のいずれかの誘導体。

vii). GLP-1ペプチドが、GLP-1(7-37)(配列番号3)と比較して最大で10個のアミノ酸の変化を有する、GLP-1(7-37)(配列番号3)またはその類似体である、実施形態i)~vi)のいずれかの誘導体。

viii). 延長部分が、Chem.15およびChem.16:

Chem.15:HOOC-(CH₂)_x-CO-*

Chem.16:HOOC-C₆H₄-O-(CH₂)_y-CO-*

30

(式中、xは、6~18の範囲の整数であり、yは、3~11の範囲の整数である)から選択される、実施形態i)~vii)のいずれかの誘導体。

ix). 下記:Chem.20、Chem.21、Chem.22、Chem.23、Chem.24、Chem.25、Chem.26、Chem.27、Chem.28、およびChem.29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。

x). 実施形態i)~ix)のいずれかによる誘導体、ならびに薬学的に許容される添加剤を含む医薬組成物。

xi). 医薬品として使用するための、実施形態i)~ix)のいずれかによる誘導体。

xii). 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、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i)~ix)のいずれかの誘導体。

40

xiii). 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、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i)~ix)のいずれかの誘導体の使用。

xiv). 医薬的活性量の実施形態i)~ix)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

50

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、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。

【0243】

(実施例)

この実験パートは、略語のリストから開始し、本発明の類似体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、これらの類似体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)。

【0244】

実施例は、本発明を例示する役割を果たす。

【0245】

略語の一覧

Aib: -アミノイソ酪酸

API:活性医薬成分

AUC:曲線下面積

BHK:ベビーハムスター腎臓

Boc:t-ブチルオキシカルボニル

BSA:ウシ血清アルブミン

CAS:化学情報検索サービス機関

CIt: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

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

Fmoc:9-フルオレニルメチルオキシカルボニル

HATU:(0-(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-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

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

LCMS:液体クロマトグラフィー質量分析

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

10

20

30

40

50

NMP:N-メチルピロリドン	
OEG:8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸	
0tBu: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	
Pen/Strep:ペニシリン/ストレプトマイシン	
RP:逆相	
RP-HPLC:逆相高速液体クロマトグラフィー	
RT:室温	10
Rt:保持時間	
s.c.:皮下	
SEC-HPLC:サイズ排除高速液体クロマトグラフィー	
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	
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	
UPLC:超高速液体クロマトグラフィー	20
【0246】	
材料および方法	
材料	
N-,N--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)	30
2-(2-メトキシエトキシ)酢酸(CAS16024-56-9)	
N-,N--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-アミノカブリル酸(CAS126631-93-4)	
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2)	
5、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)。	40
【0247】	
【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)	
【0248】	
(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-プロモデカノエートをエチル9-プロモノナノエートに置き換える(CAS28598-81-4))	50

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(

【0249】

【数2】

¹H NMR スペクトル(300 MHz, CDCl₃, 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)

【0250】

)(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))。 10

【0251】

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)。

【0252】

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、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、250 μmolの合成スケールで行った。 30 40

【0253】

1.樹脂結合保護ペプチド骨格の合成

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(0-(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 50

でFmoc戦略に従って、3倍または4倍過剰なFmoc-アミノ酸で、250 μmol または1000 μmol 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、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)。

【0254】

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またはOxyma Pure(登録商標)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250 μmol スケールにて行った。NMP中の20%ビ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またはOxyma Pure(登録商標))/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またはOxyma Pure(登録商標))、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。

【0255】

方法:SPPS_CS

ペプチド骨格は、NMP中のエチル2-シアノ-2-(ヒドロキシイミノ)アセテートおよびジイソプロピルカルボジイミドが媒介するカップリングを用いるプロトコルを使用して、4倍過剰な事前活性化したFmoc-アミノ酸で、250 μmol ~ 6000 μmol スケールにてカスタムビルトのCS Bioペプチド合成機で標準的Fmoc戦略によって合成した。UVモニタリングを用いて、NMP中の20%ビペリジンによる処理によって完全なFmoc脱保護を確実にした。場合によっては二重カップリングを使用したが、これは、第1のカップリングの後に、樹脂から液体を排出させ、より事前活性化したFmoc-アミノ酸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した出発樹脂は、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。使用した保護されたアミノ酸誘導体は、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、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

10

20

30

40

50

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、catalogue from Novobiochem、2011年/2012年もしくはより新しい版、またはW.R.Sampson(1999年)、J.Pep.Sci.5、403頁を参照されたい)。

【0256】

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またはOxyma Pure(登録商標)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250 μmolまたは100 μmol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またはOxyma Pure(登録商標))/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またはOxyma Pure(登録商標))、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。

【0257】

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。

【0258】

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%DIPPEA(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。

【0259】

方法:SC_P

10

20

30

40

50

N- -リシン保護基がMttであった場合、Mtt基を未希釈のHFIP(3×15分)によって除去し、それに続いてDCMによる洗浄、およびアシル化をPreludeペプチド合成機で行った(10当量のFmoc-AA、10当量のDICおよび10当量のHOAt、10当量のコリジン(30分)およびNMP中の2%ピペリジン、Fmoc-基を除去)。Fmoc-Glu-OtBuを、4時間二重カップリングした。同様の条件を使用して、末端残基を付着させた。

【0260】

方法:SC_A

N- -リシン保護基がMttであった場合、Mtt-脱保護を、ヘキサフルオロイソプロパノール(5~10ml×2、それぞれ10分、0.12~0.25mmolスケール)による処理、それに続くDCM(8ml×6)による洗浄によって行った。Fmocアミノ酸およびアルブミン結合部分を、NMP(N-メチルピロリドン)中の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(0-(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)が媒介するカップリング、およびFmoc保護基の脱保護のUVモニタリングを用いるメーカーが供給したFastMoc UVプロトコルを使用して、4倍過剰なFmoc-アミノ酸およびアルブミン結合部分で、125 μmolまたは250 μmolスケールにてApplied Biosystems433ペプチド合成機でFmoc戦略を使用して樹脂結合ペプチドのアシル化によってペプチドに付着させ、場合によっては、二重カップリングを使用した。

【0261】

方法:SC_CS

N- -リシン保護基を、上記のように除去した。リシン残基の化学修飾を、NMP中のエチル2-シアノ-2-(ヒドロキシイミノ)アセテートおよびジイソプロピルカルボジイミドが媒介するカップリングを用いるプロトコルを使用して、4倍過剰な事前活性化したFmoc-アミノ酸で250 μmol~6000 μmolスケールにてカスタムビルトのCS Bioペプチド合成機で標準的Fmoc戦略によって合成した。UVモニタリングを用いて、NMP中の20%ピペリジンによる処理によって完全なFmoc脱保護を確実にした。場合によっては二重カップリングを使用したが、これは、第1のカップリング後に、樹脂から液体を排出させ、より事前活性化したFmoc-アミノ酸を加えることを意味する。使用した保護されたアミノ酸誘導体は、標準的Fmoc-アミノ酸(例えば、Anaspec、もしくはNovabiochemから供給)または通常の有機合成によって作製された合成酸であった。

【0262】

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、5 μM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。

【0263】

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_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を行った。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、2~10 μl)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、1.7 μm、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)からの類似体の結果)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

10

20

30

40

50

。

【0264】

方法:LCMS_AP

LCMS_APを、Micromass Quattro micro API質量分析計を使用して行い、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、4μm、75 × 4.6mm。勾配:7分に亘り1.0ml/分で5%～95%B。

【0265】

10

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、130、1.7μm、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Na₂SO₄、0.04MのH₃PO₄、10%CH₃CN(pH3.5);B:70%CH₃CN、30%H₂O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。

【0266】

方法:B7_1

20

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、130、1.7μm、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Na₂SO₄、0.04MのH₃PO₄、10%CH₃CN(pH3.5);B:70%CH₃CN、30%H₂O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。

【0267】

方法:A3_1

30

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、130、1.7μm、2.1mm × 150mmカラム、40)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:90%H₂O、10%CH₃CN、0.25Mの炭酸水素アンモニウム;B:70%CH₃CN、30%H₂O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。

【0268】

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、130、1.7μm、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%H₂O、20%CH₃CN、pH7.3;B:80%CH₃CN、20%H₂O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。

【0269】

40

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、130、1.7μm、2.1mm × 150mmカラム、40)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:99.95%H₂O、0.05%TFA;B:99.95%CH₃CN、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。

【0270】

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、1.7μm、2.1mm × 150m

50

カラム、50 を使用して集めた。UPLCシステムを、A:99.95%H₂O、0.05%TFA; B:99.95%CH₃CN、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。7.0%A、30%Bから40%A、60%B、12分に亘り0.40mL/分の流量。

【 0 2 7 1 】

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、 $2.1 \times 150\text{mm}$ カラム、60 を使用して集めた。UPLCシステムを、A:0.045Mの $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 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。

〔 0 2 7 2 〕

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、130、1.7μm、2.1mm×150mmカラム、30)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:99.95%H₂O、0.05%TFA;B:99.95%CH₃CN、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。

[0 2 7 3]

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、130、1.7μm、2.1mm×150mmカラム、40)を使用して集めた。UPLCシステムを、A:99.95%H₂O、0.05%TFA;B:99.95%CH₃CN、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0.40mL/分の流量。

[0 2 7 4]

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、kinetex1.7 μ m C18、100、 2.1×150 mmカラム、60を使用して集めた。UPLCシステムを、A:0.09Mの $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 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。

[0 2 7 5]

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。-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。

[0 2 7 6]

B、特定の実施例の化合物

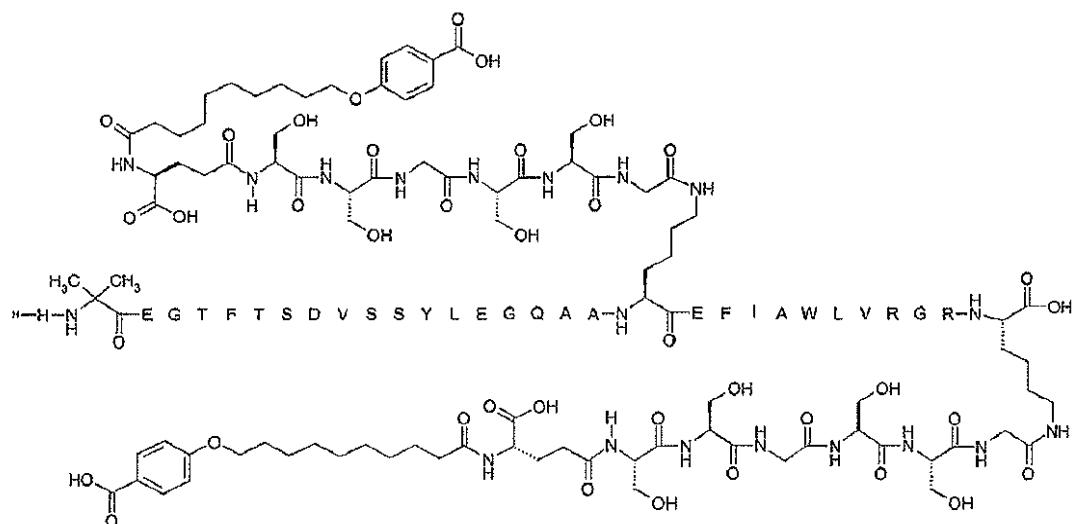
(塞施例1)

ノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸,Arg³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.20:

【0277】

【化34】



10

【0278】

調製方法: SPPS_A, SC_A, CP_M1

UPLC法: B2_1:Rt=12.52分

UPLC法: B5_1:Rt=5.50分

UPLC法: A3_1:Rt=9.20分

LCMS法: LCMS_4:Rt=2.22分; m/z:1744; m/z:1308; m/z:1347

【0279】

(実施例2)

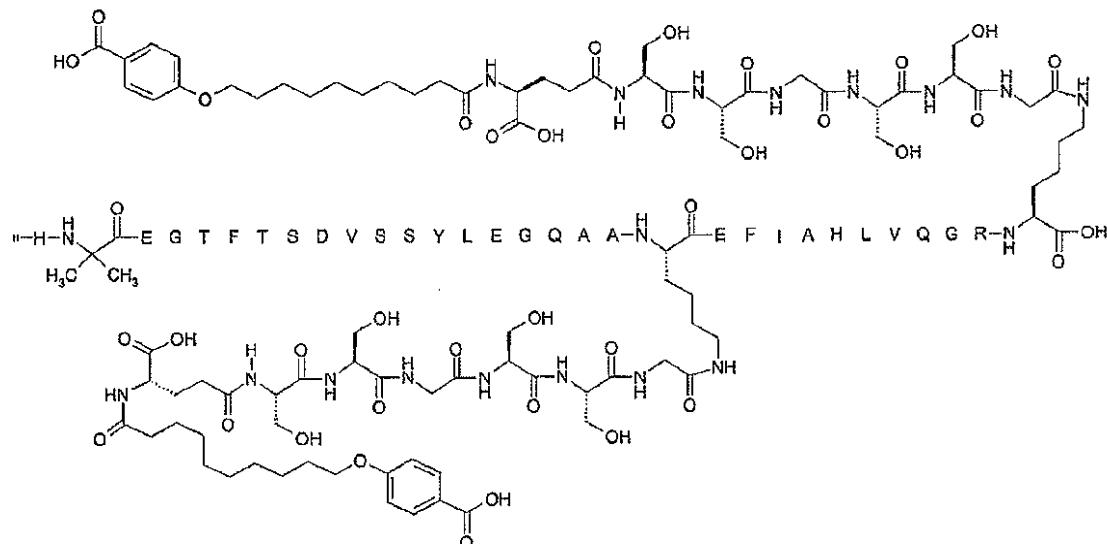
N²⁶-[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N³⁷-[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸, His³¹, Gln³⁴, Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

30

Chem.21:

【0280】

【化35】



【0281】

調製方法: SPPS_A, SC_A, CP_M1

UPLC法: B2_1: Rt=11.57分

UPLC法: B7_1: Rt=7.74分

UPLC法: A3_1: Rt=6.56分

LCMS法: LCMS_4: Rt=1.98分; m/z: 1718; m/z: 1289; m/z: 1032

【0282】

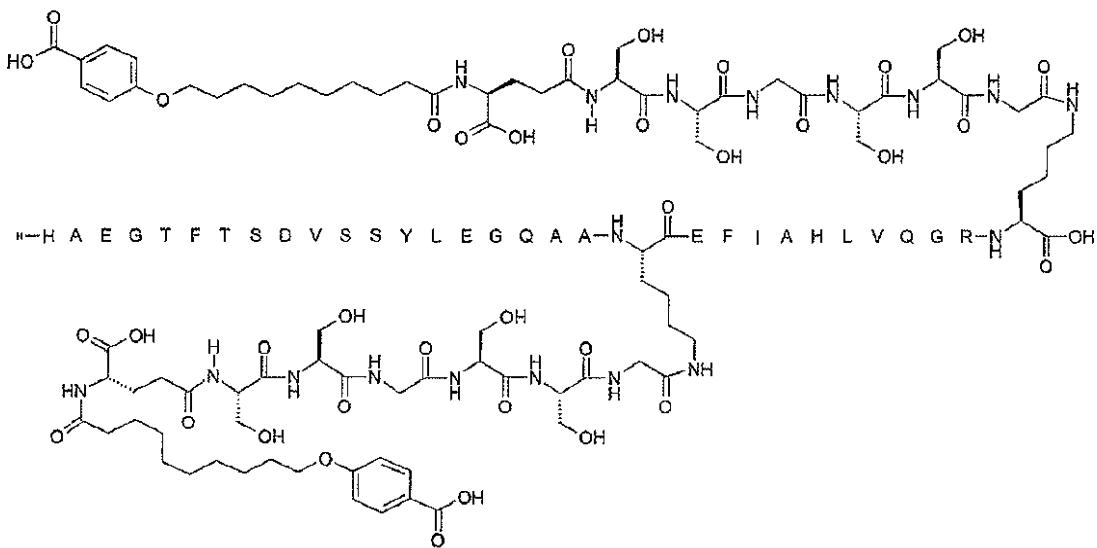
(実施例3)

N²⁶-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N³⁷-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[His³¹, Gln³⁴, Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.22:

【0283】

【化36】



10

20

30

40

50

【0284】

調製方法: SPPS_A, SC_A, CP_M1

UPLC法: B14_1: Rt=5.39分

UPLC法: A6_1: Rt=4.15分

LCMS法: LCMS_4: Rt=1.98分; m/z: 1713; m/z: 1285; m/z: 1028

【0285】

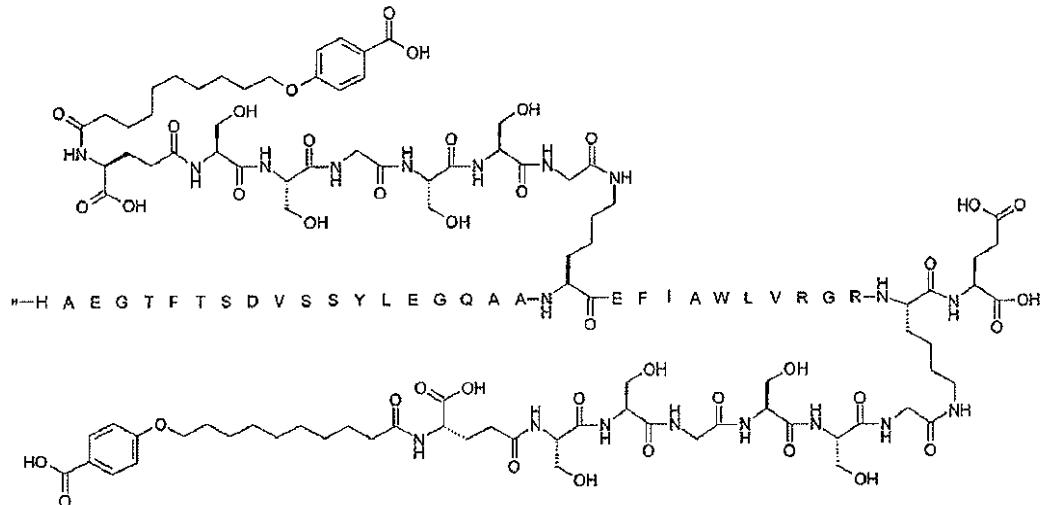
(実施例4)

N²⁶-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N³⁷-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Arg³⁴, Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル-Glu

Chem.23:

【0286】

【化37】



【0287】

調製方法: SPPS_A, SC_A, CP_M1

UPLC法: B14_1: Rt=10.77分

UPLC法: A6_1: Rt=4.13分

LCMS法: LCMS_4: Rt=2.06分; m/z: 1783; m/z: 1337; m/z: 1070

【0288】

(実施例5)

N¹⁸-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Lys¹⁸, Glu²², Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.24:

【0289】

10

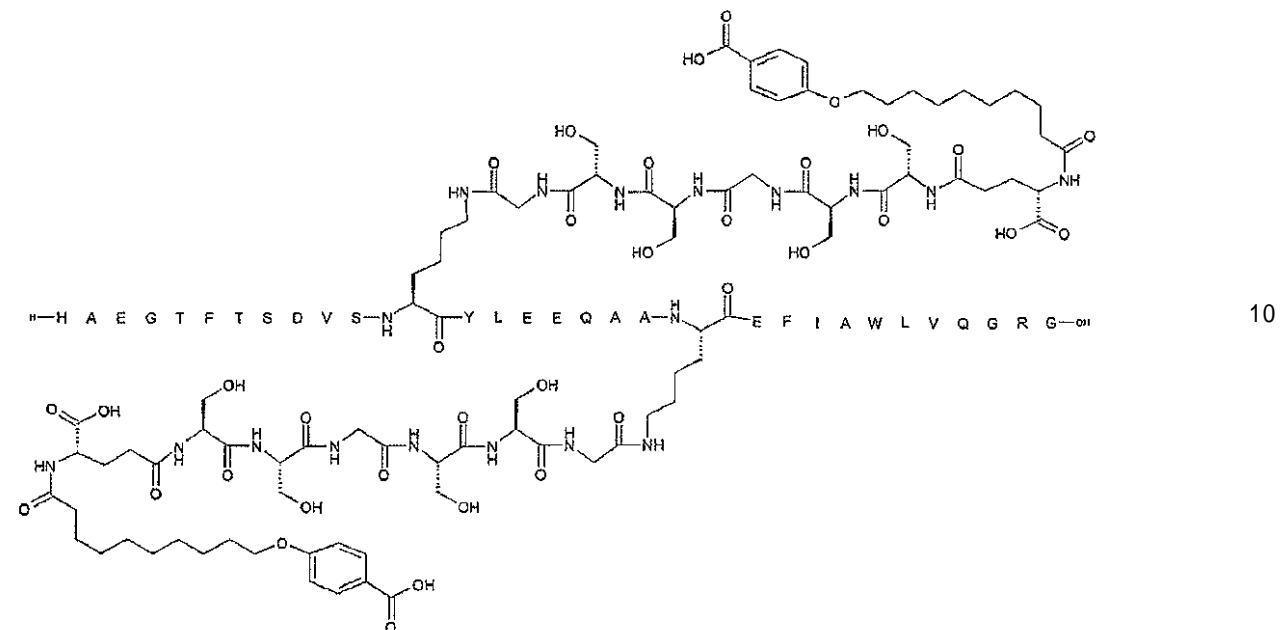
20

30

40

50

【化38】



【0290】

調製方法:SPPS_A, SC_A, CP_M1

20

UPLC法:B14_1:Rt=6.77分

UPLC法:A6_1:Rt=9.03分

LCMS法:LCMS_4:Rt=2.06分;m/3:1744;m/4:1308;m/5:1047

【0291】

(実施例6)

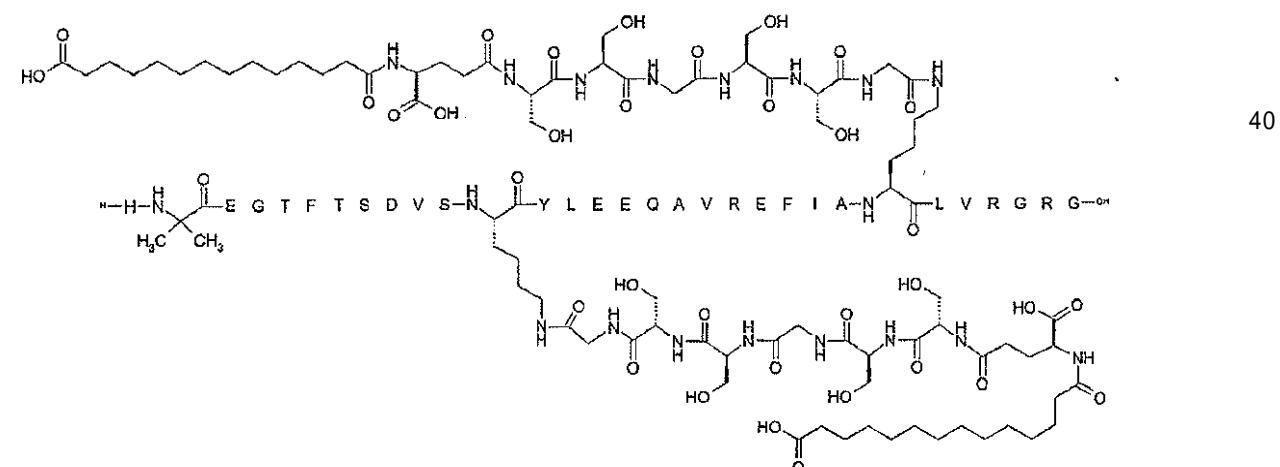
N¹⁸-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N³¹-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Val²⁵,Arg²⁶,Lys³¹,Arg³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

30

Chem.25:

【0292】

【化39】



【0293】

50

調製方法: SPPS_A, SC_A, CP_M1

UPLC法:B14_1:R_t=4.83分

UPLC法:A6_1:R_t=5.45分

LCMS法:LCMS_4:Rt=1.94分;m/3:1725;m/4:1294;m/5:1035

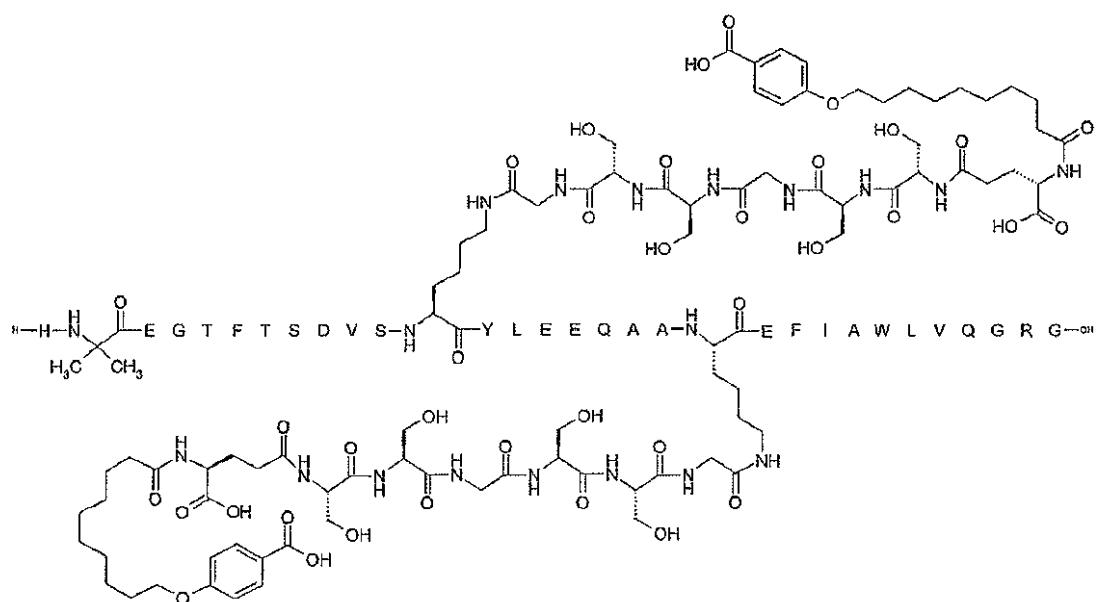
【 0 2 9 4 】

(実施例7)

Chem. 26:

〔 0 2 9 5 〕

【化 4 0 】



【 0 2 9 6 】

調製方法: SPPS A, SC A, CP M1

UPLC法:B14_1:R_t=6.69min,

LCMS法:LCMS_4:Rt=2.27min;m/3:1749;m/4:1312;m/5:1050

【 0 2 9 7 】

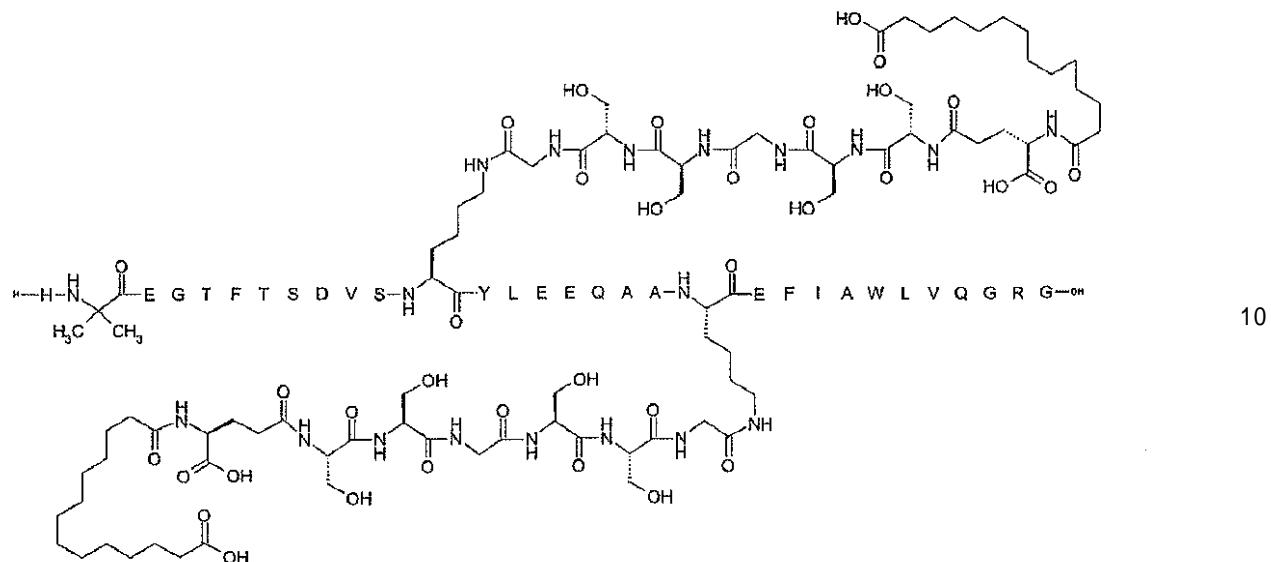
(実施例8)

N¹⁸-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N²⁶-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸, Lys¹⁸, Glu²², Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem. 27:

【 0 2 9 8 】

【化41】



【0299】

調製方法: SPPS_A, SC_A, CP_M1

UPLC法: B14_1: Rt=6.46分

20

LCMS法: LCMS_4: Rt=2.29分; m/3:1716; m/4:1287; m/5:1030

【0300】

(実施例9)

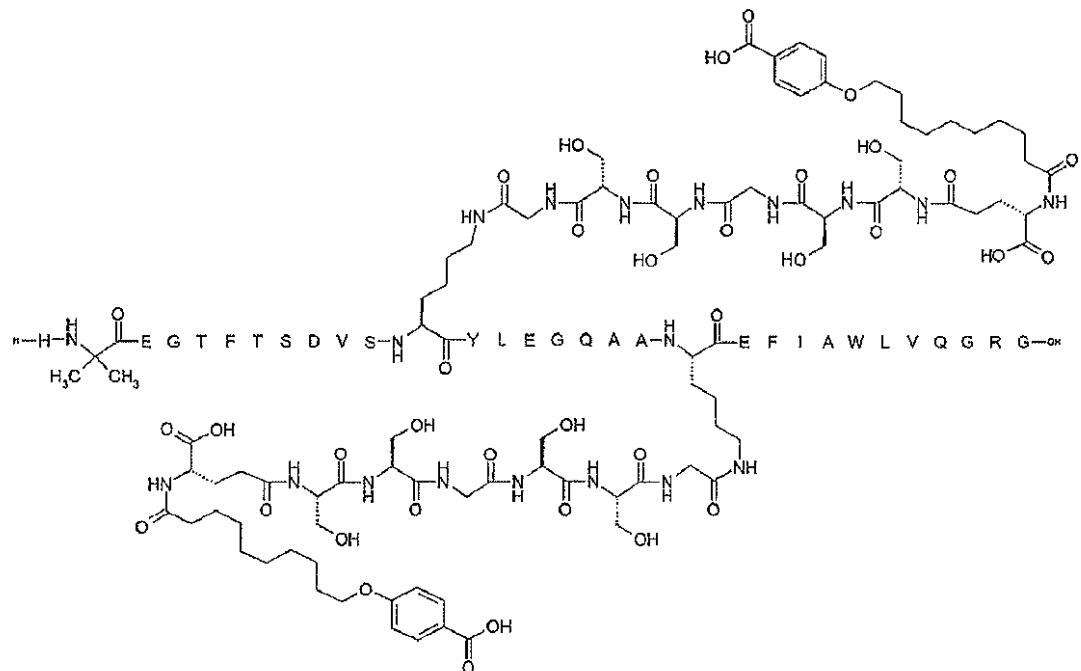
$\text{N}^{18}-[2-[(2S)-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], \text{N}^{26}-[2-[(2S)-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib^8, Lys^{18}, Gln^{34}]-GLP-1-(7-37)-ペプチド$

30

Chem.28:

【0301】

【化42】



10

20

【0302】

調製方法: SPPS_P, SC_P, CP_M1

UPLC法: B31_1: Rt=14.9分

UPLC法: A6_1: Rt=4.9分

Mw 5174の理論的分子量を、方法: Maldi_MS: 5173によって確認した

【0303】

(実施例10)

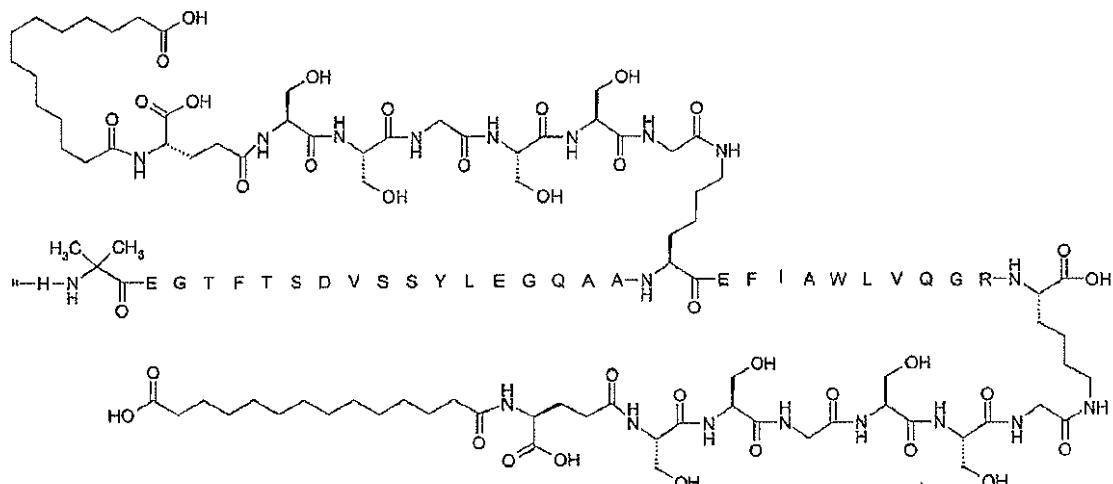
N²⁶-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N³⁷-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(13-カルボキシトリデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アセチル]-[Aib⁸, Gln³⁴, Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

30

Chem.29:

【0304】

【化43】



10

【0305】

調製方法:SPPS_A, SC_A, CP_M1

UPLC法:B4_1:Rt=8.51分,

UPLC法:A6_1:Rt=6.36分,

LCMS法:LCMS_4:Rt=2.27分;m/3:1703;m/4:1277;m/5:1030

20

【0306】

(実施例11)

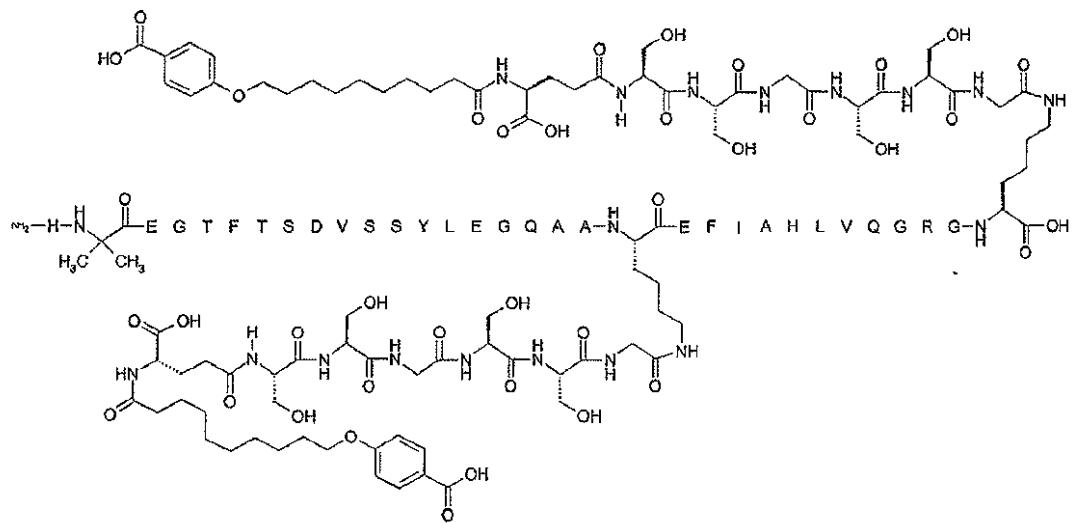
N (N²⁶-[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[4S]-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸, His³¹, Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチジル)-N [2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[4S]-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]Lys

30

Chem.30:

【0307】

【化44】



40

【0308】

調製方法:SPPS_A, SC_A, CP_M1

50

UPLC法:B2_1:Rt=11.72分

UPLC法:A3_1:Rt=6.46分

LCMS法:LCMS_4:Rt=2.20分;m/3:1738;m/4:1304;m/5:1043

【0309】

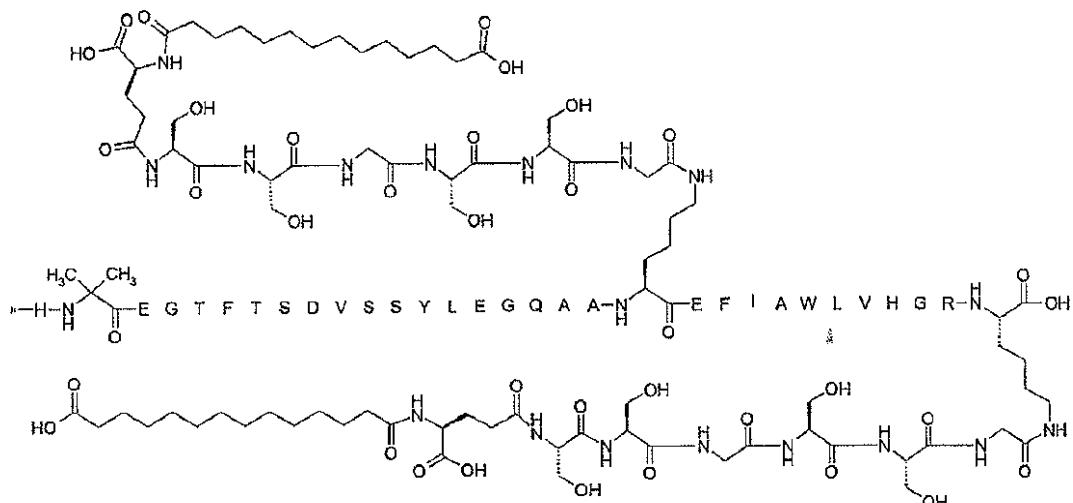
(実施例12)

N²⁶-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル],N³⁷-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸,His³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.31:

【0310】

【化45】



20

【0311】

調製方法:SPPS_A,SC_A,CP_M1

UPLC法:B4_1:Rt=8.33分

LCMS法:LCMS_4:Rt=2.13分;m/3:1705;m/4:1279;m/5:1023

【0312】

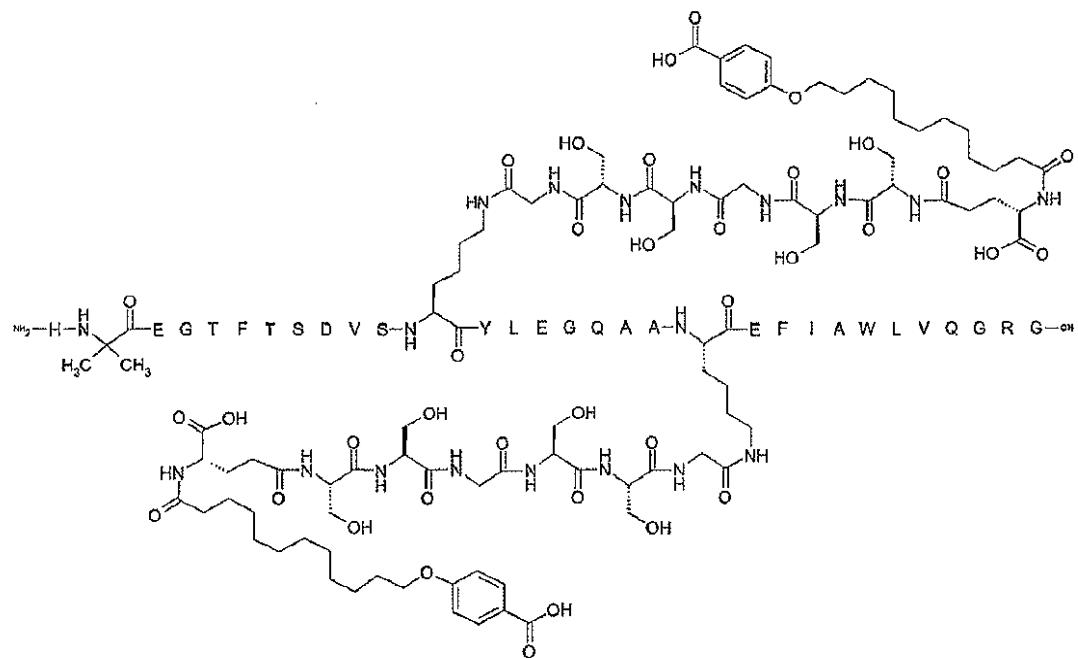
(実施例13)

N¹⁸-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル],N²⁶-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸,Gln¹⁸,Lys³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.32:

【0313】

【化46】



10

20

【0314】

調製方法: SPPS_P; SC_P; CP_M1

UPLC法: AP_B4_1; Rt=9.17分

LCMS法: LCMS_AP; m/z=1745

【0315】

(実施例14)

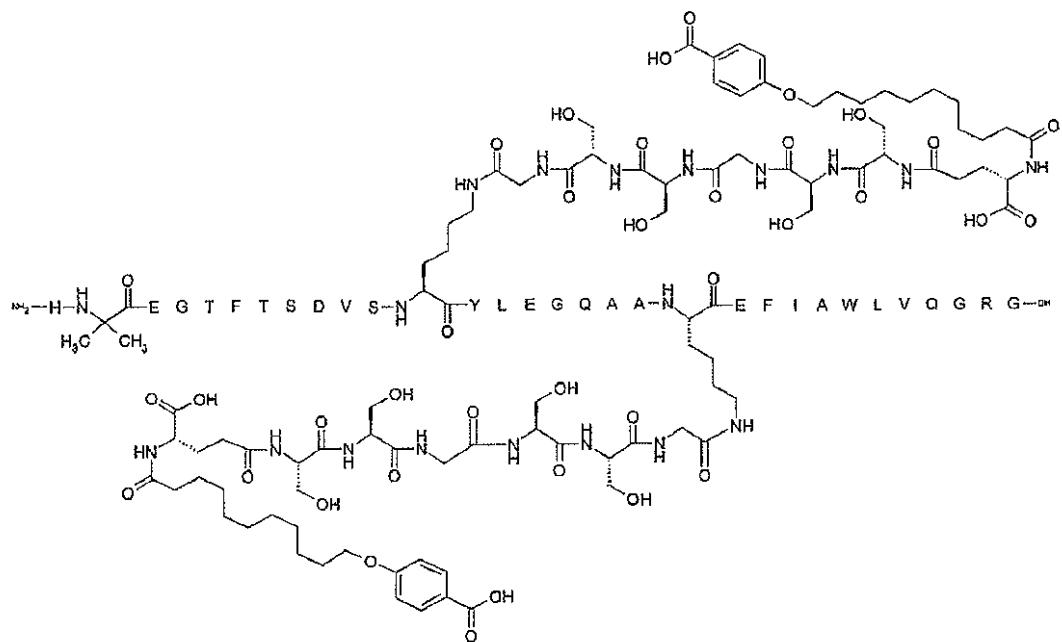
N¹⁸-[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[4S]-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N²⁶-[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[4S]-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸, Lys¹⁸, Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

30

Chem.33:

【0316】

【化47】



10

【0317】

20

調製方法:SPPS_P,SC_P,CP_M1

UPLC法:B4_1:Rt=8.65分

LCMS法:LCMS_4:Rt=2.33分;m/3:1735;m/4:1302

【0318】

(実施例15)

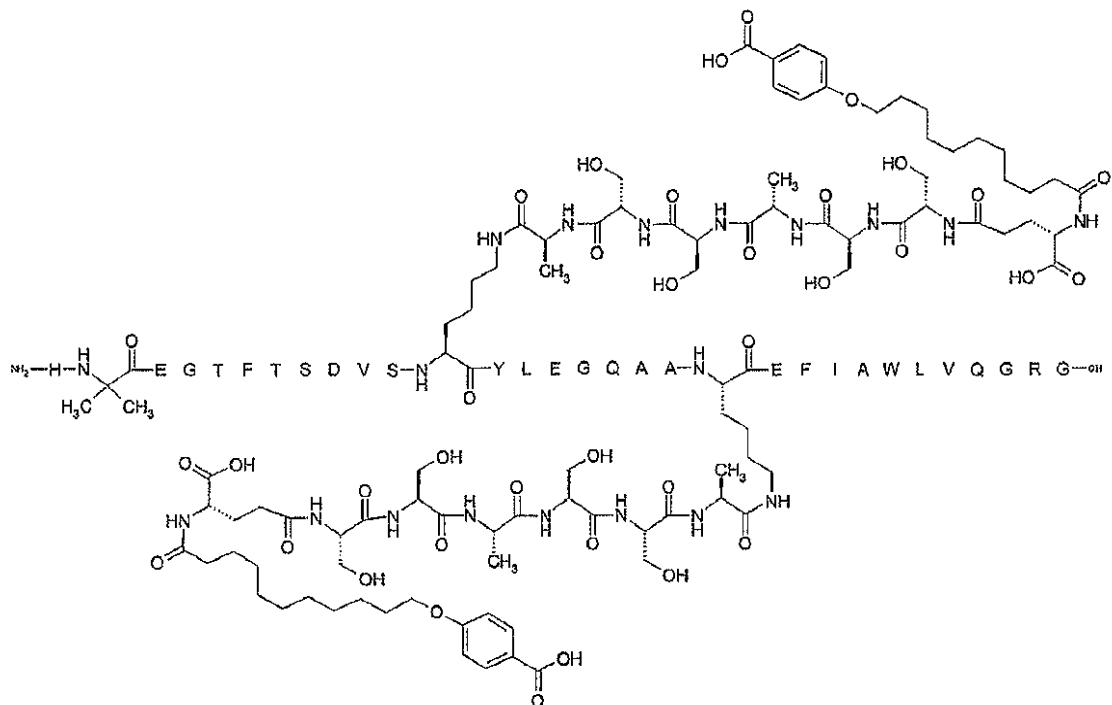
N¹⁸-[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-
-[[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキ
シプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]プロパノイル]アミノ]-3-ヒ
ドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]プロパノイル],N²⁶
-[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[11-
-[[4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロ
パノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]プロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキ
シプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]プロパノイル]-[Aib⁸,Lys¹⁸
,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

30

Chem.34:

【0319】

【化 4 8】



[0 3 2 0]

調製方法:SPPS P.SC P.CP M1

UPLC法: B4 1; Rt=8.70分

LCMS法:LCMS 4:Rt=2.33分;m/z:1753;m/z:1315

〔 0 3 2 1 〕

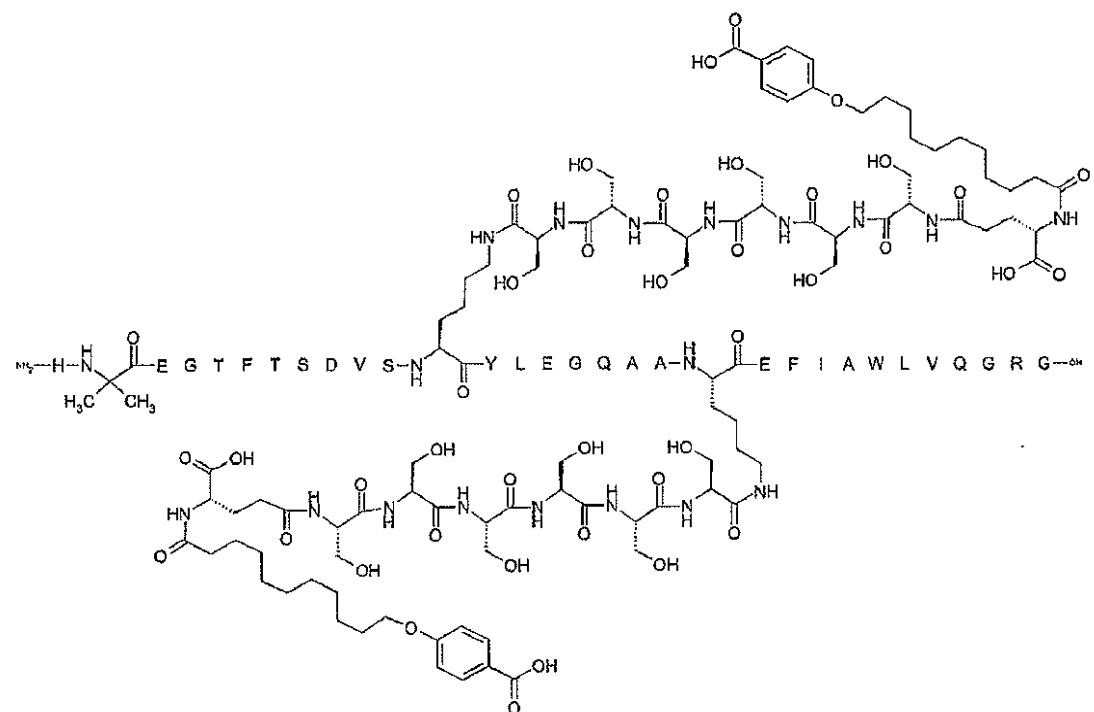
(实施例16)

N¹⁸-[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-
-[[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキ
シプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル
]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒ
ドロキシプロパノイル], N²⁶-[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-
-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイ
ル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒ
ドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロ
パノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]-[Aib⁸, Lys¹⁸, Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプ
チド

Chem. 35:

【 0 3 2 2 】

【化 4 9】



【 0 3 2 3 】

調製方法:SPPS_P,SC_P,CP_M1

UPLC法 : B4_1:R_t=8.61分

LCMS法:LCMS_4:Rt=2.33分;m/z:1775;m/z:1331

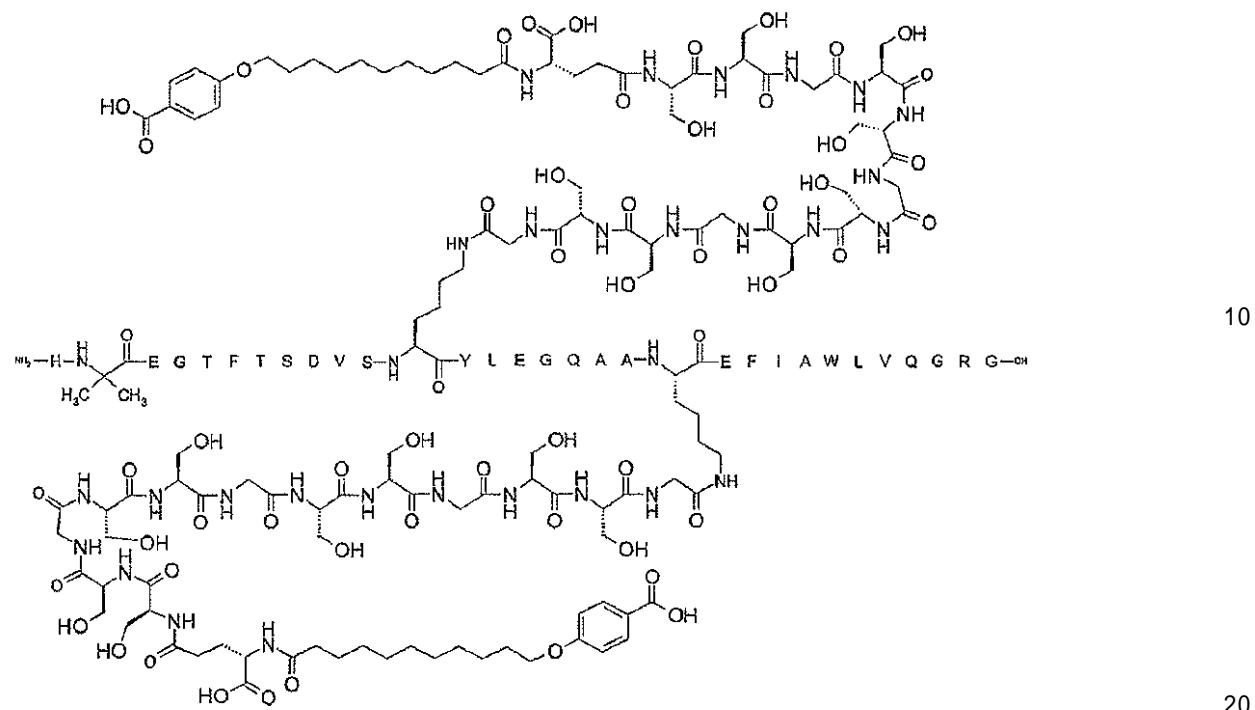
【 0 3 2 4 】

(実施例17)

Chem. 36:

【 0 3 2 5 】

【化 5 0】



【 0 3 2 6 】

調製方法: SPPS_P, SC_P, CP_M1

UPLC法: B4_1: Rt=8.28分

LCMS法: LCMS_4: Rt=2.50分; m/4: 1533; m/5: 1226

【 0 3 2 7 】

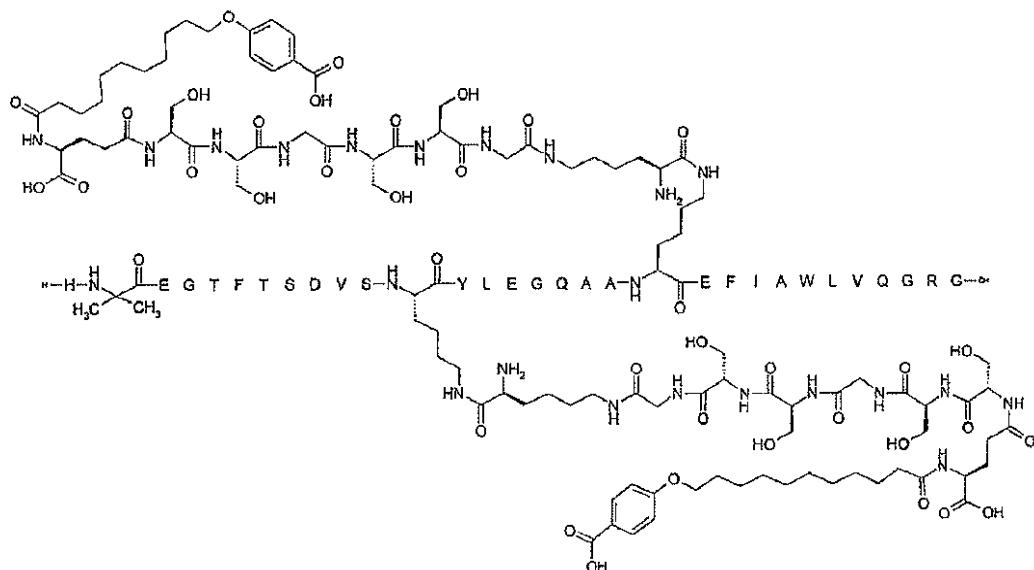
(実施例18)

N¹⁸-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[[[(2S)-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル], N²⁶-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[[[(2S)-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib⁸, Lys¹⁸, Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.37:

【 0 3 2 8 】

【化 5 1】



10

【 0 3 2 9 】

調製方法:SPPS_P,SC_P,CP_M1

UPLC法:B4_1:R_t=8.11分

LCMS法:LCMS_AP:Rt=4.79分;m/z:1820;m/z:1365

20

〔 0 3 3 0 〕

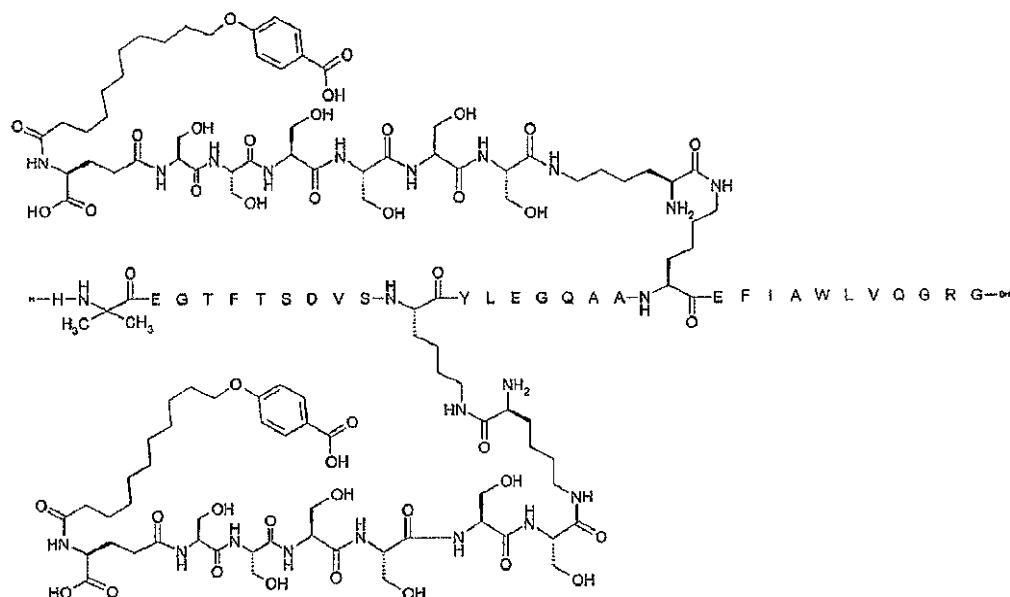
(実施例19)

30

Chem. 38:

【 0 3 3 1 】

【化52】



10

【0332】

調製方法: SPPS_P, SC_P, CP_M1

20

UPLC法: B4_1: Rt=8.61分

LCMS法: LCMS_4: Rt=2.20分; m/3:1860; m/4:1395; m/5:1117

【0333】

(実施例20)

N¹⁸-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[2-[[[(2S)-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル], N²⁶-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[[[(2S)-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]-[Aib⁸, Lys¹⁸, Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

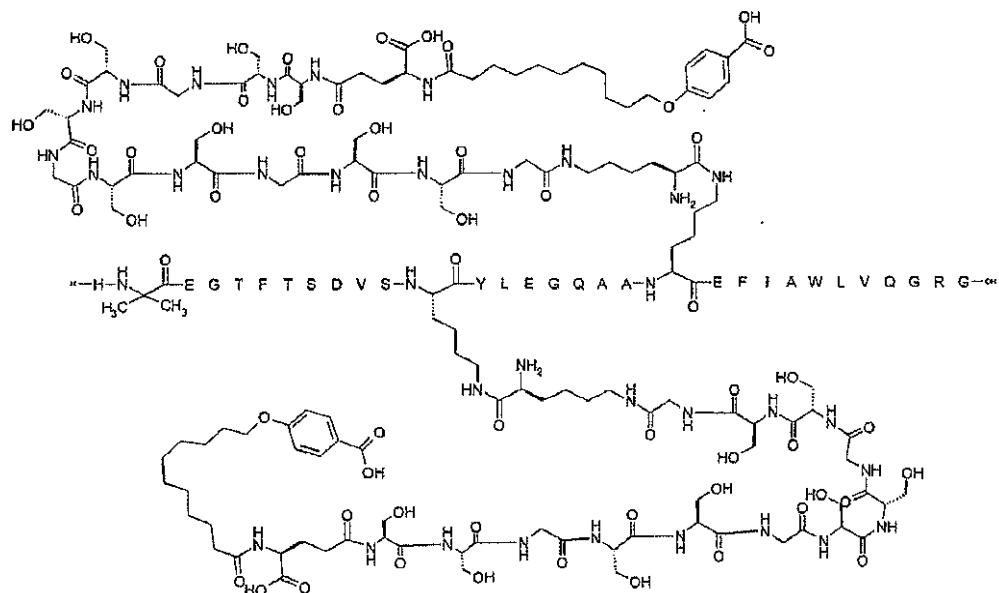
30

Chem.39:

40

【0334】

【化 5 3】



10

〔 0 3 3 5 〕

調製方法:SPPS P, SC P, CP M1

20

UPLC法 : B4_1:R_t=7.85分

LCMS法:LCMS 4:Rt=2.58分;m/4:1597;m/5:1277

〔 0 3 3 6 〕

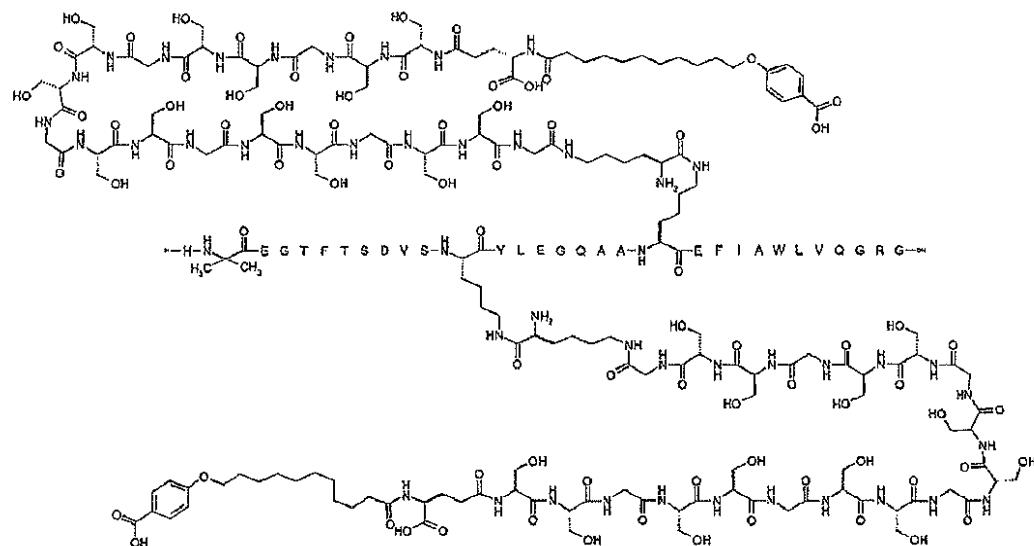
(实施例21)

30

Chem. 40:

〔 0 3 3 7 〕

【化54】



【0338】

調製方法: SPPS_P, SC_P, CP_M1

UPLC法: B29_1: Rt=8.42分

LCMS法: LCMS_4: Rt=2.52分; m/4: 1828; m/5: 1463

【0339】

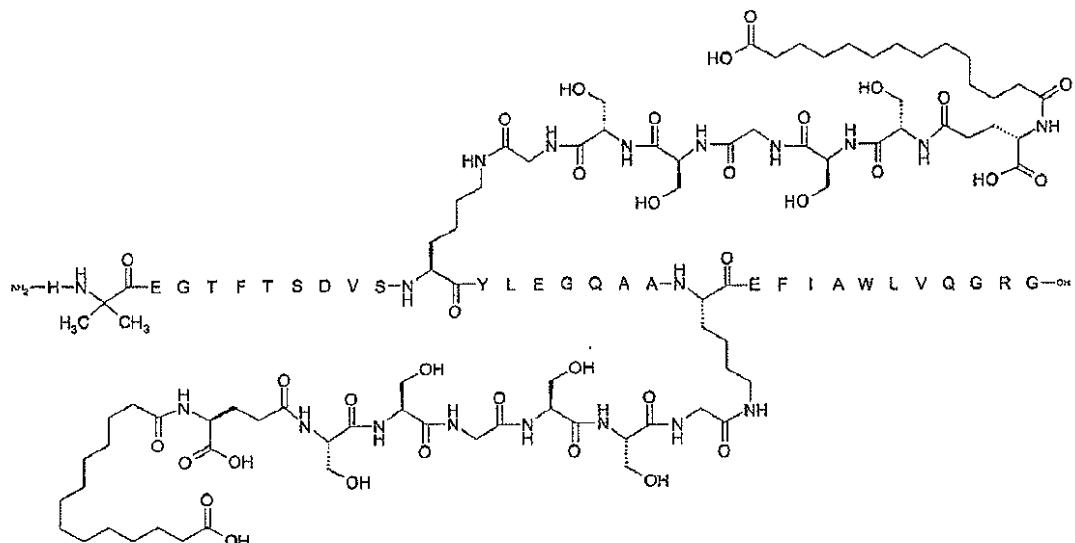
(実施例22)

N^{18} -[2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N^{26} -[2-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸, Lys¹⁸, Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem. 41:

【0340】

【化55】



【0341】

調製方法: SPPS_P, SC_P, CP_M1

10

20

30

40

50

UPLC法:B2_1:Rt=8.27分

UPLC法:A6_1:Rt=4.85分

LCMS法:LCMS_4:Rt=2.4分;m/4:1269

【0342】

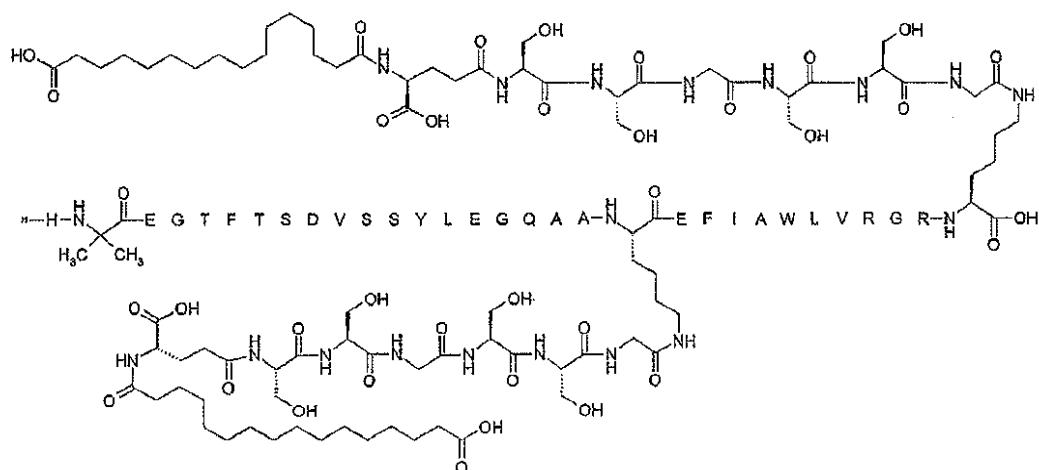
(実施例23)

N²⁶-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N³⁷-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[2S)-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸, Arg³⁴, Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.42:

【0343】

【化56】



10

20

30

【0344】

調製方法:SPPS_P,SC_A,CP_M1

UPLC法:B4_1:Rt=8.76分

LCMS法:LCMS_4:Rt=2.27分;m/3:1731;m/4:1298;m/5:1039

【0345】

(実施例24)

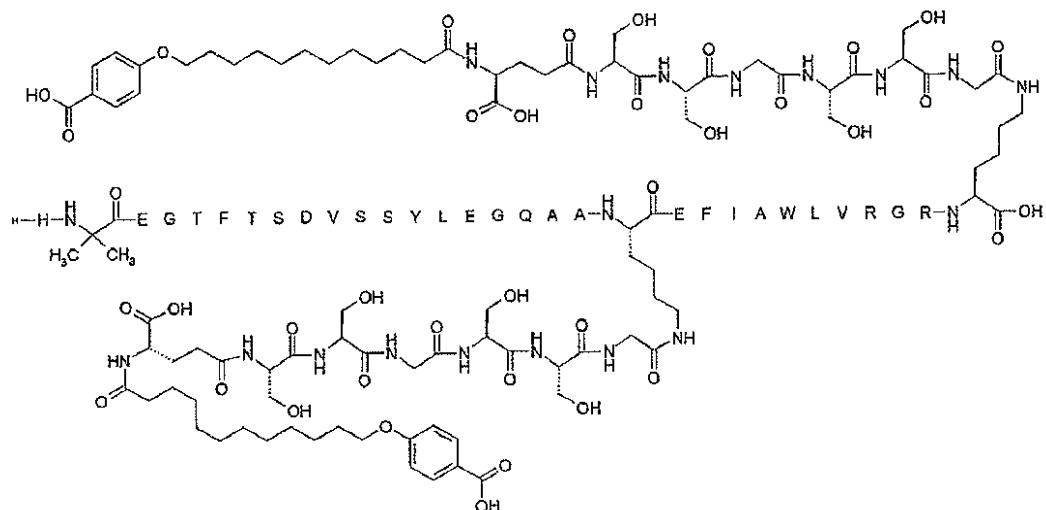
N²⁶-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N³⁷-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸, Arg³⁴, Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

40

Chem.43:

【0346】

【化57】



10

【0347】

調製方法:SPPS_P,SC_A,CP_M1

UPLC法:B4_1:Rt=8.67分

LCMS法:LCMS_4:Rt=2.40分;m/3:1763;m/4:1322

【0348】

20

(実施例25)

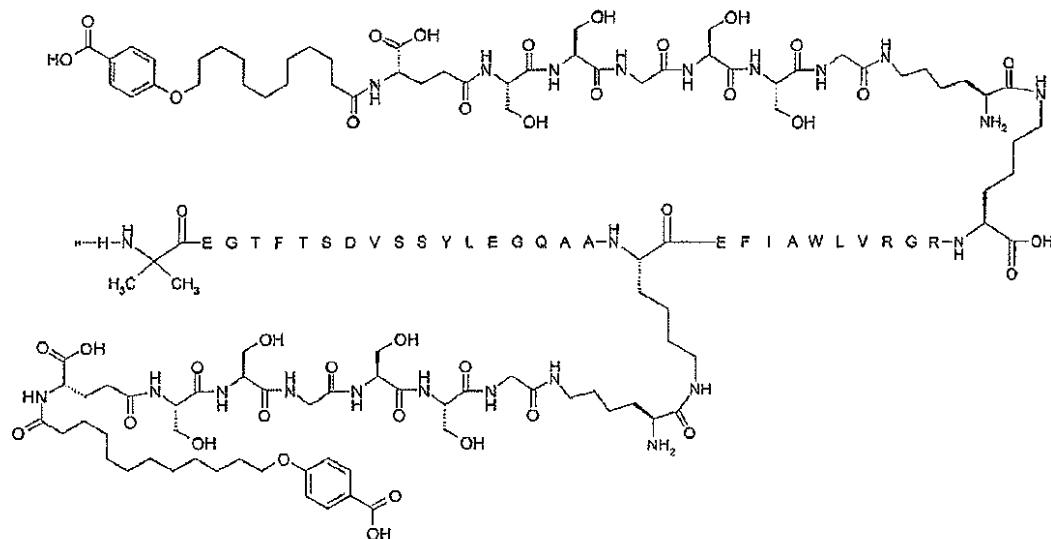
N^{26} -[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル], N^{37} -[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[2-[[[(2S)-2-[([(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib⁸,Arg³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

30

Chem.44:

【0349】

【化58】



40

【0350】

調製方法:SPPS_L,SC_A,CP_M1

50

UPLC法:B4_1:Rt=8.70分

LCMS法:LCMS_4:Rt=2.10分;m/3:1849;m/4:1387;m/5:1110

【0351】

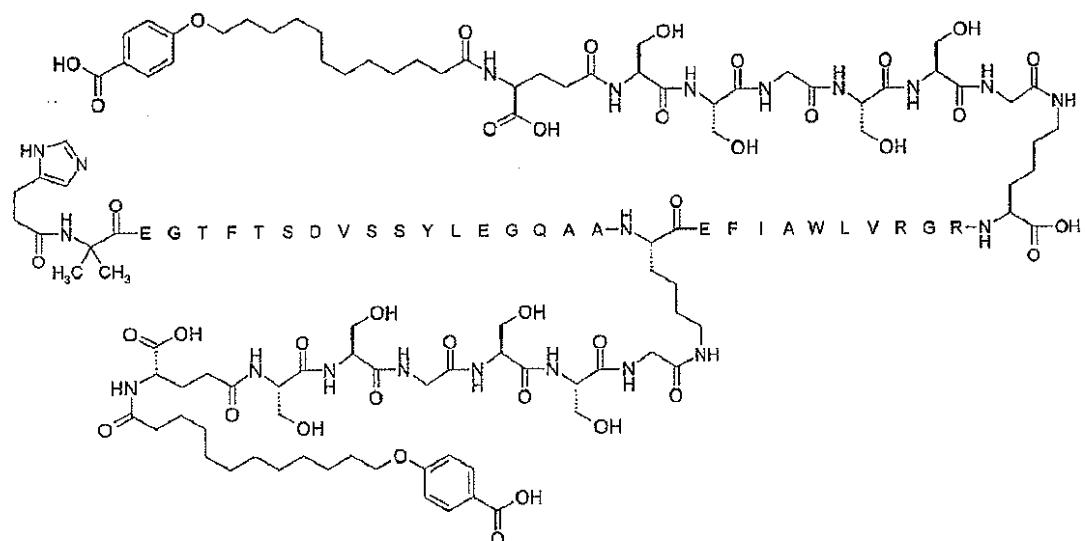
(実施例26)

N²⁶-[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル],N³⁷-[2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[2S]-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]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Imp⁷,Aib⁸,Arg³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.45:

【0352】

【化59】



【0353】

調製方法:SPPS_P;SC_P;CP_M1

UPLC法:B4_1:Rt=8.9分

LCMS法:LCMS_4:Rt=2.35分;m/3:1758;m/4:1319;m/5:1055

【0354】

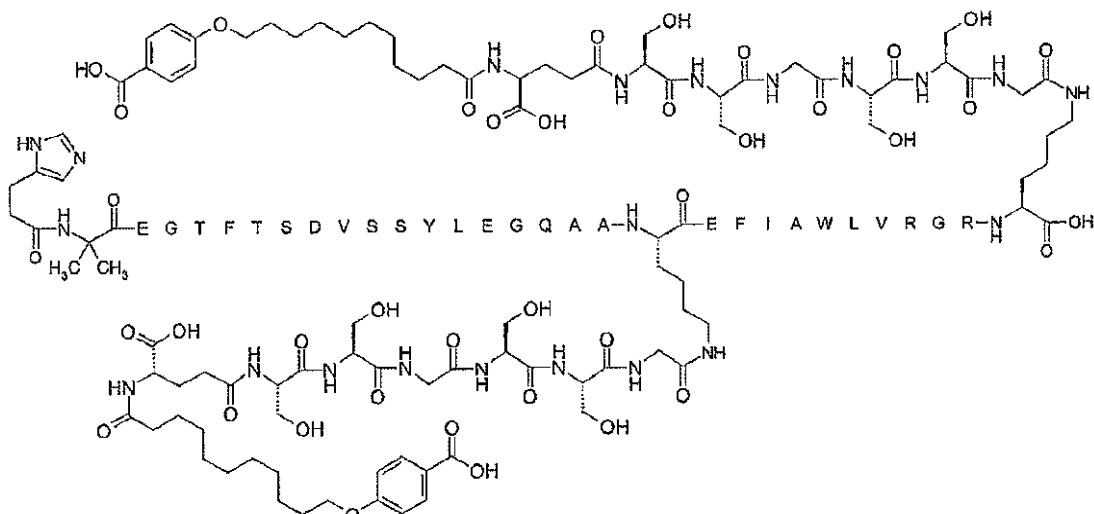
(実施例27)

N²⁶-[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[4S]-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル],N³⁷-[2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[4S]-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Imp⁷,Aib⁸,Arg³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.46:

【0355】

【化 6 0】



10

〔 0 3 5 6 〕

調製方法: SPPS_P; SC_P; CP_M1

UPLC法:AP B4 1:R_t=8.5分

LCMS法:LCMS_4:R_t=2.28分,m/3=1749;m/4=1312

20

【 0 3 5 7 】

(実施例28)

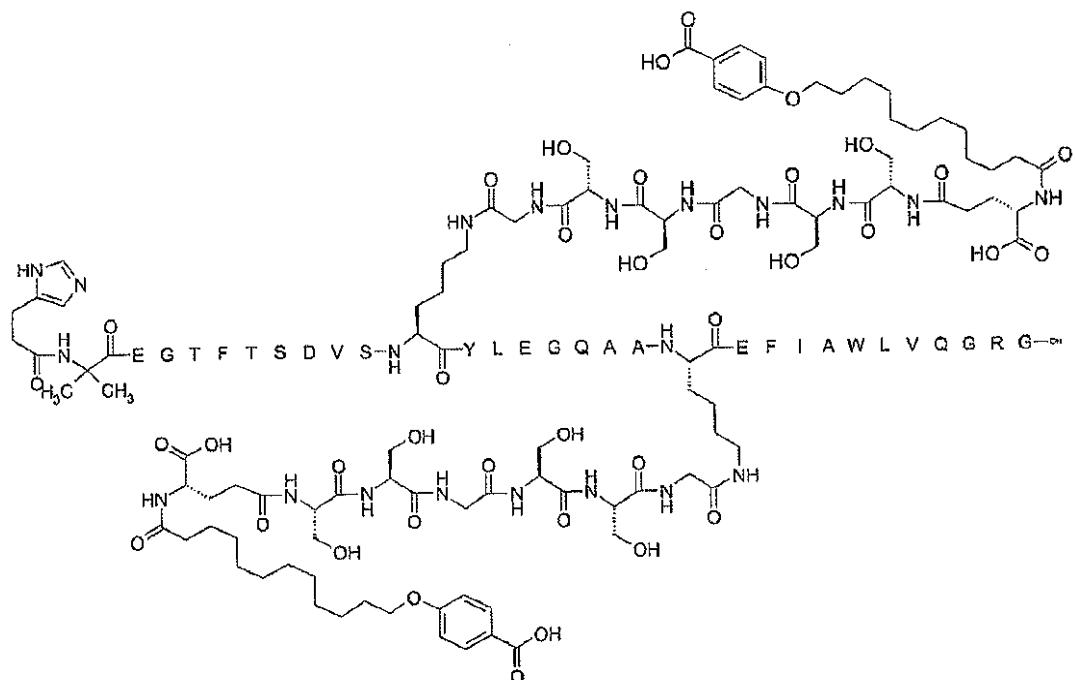
N¹⁸-[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[4S)-4-カルボキシ-4-[12-(カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N²⁶-[2-[[2S)-2-[[2-[[2S)-2-[[2S)-2-[[4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Imp⁷, Aib⁸, Lys¹⁸, Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

30

Chem. 47:

〔 0 3 5 8 〕

【化 6 1】



10

20

【0359】

調製方法: SPPS_P; SC_P; CP_M1

UPLC法: AP_B4_1: Rt=9.3分

LCMS法: LCMS_4: Rt=2.45分, m/z=1739; m/z=1305

【0360】

(実施例29)

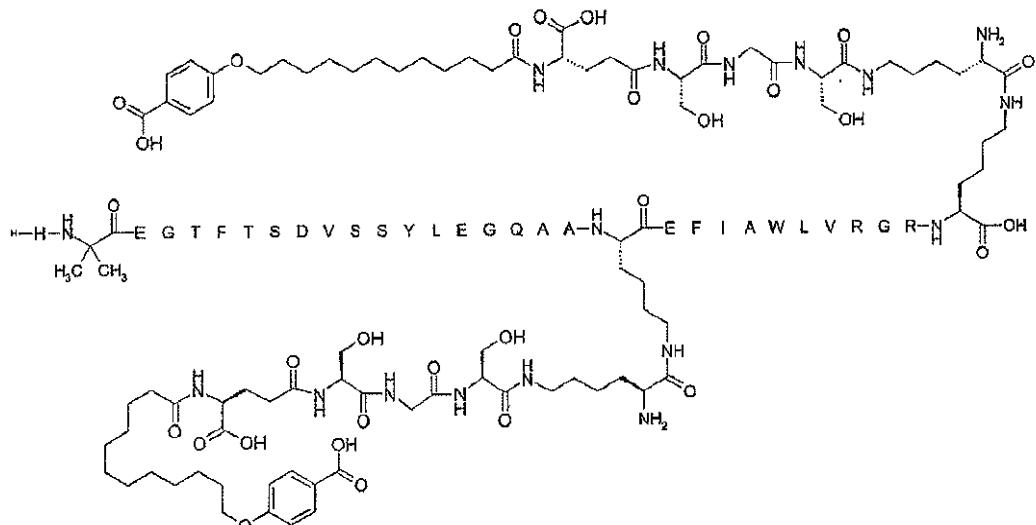
N^{26} -[(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ヘキサノイル], N^{37} -[(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib⁸, Arg³⁴, Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem. 48:

【0361】

30

【化 6 2】



10

〔 0 3 6 2 〕

調製方法: SPPS_P; SC_P; CP_M1

UPLC法:AP B4 1:R_t=8.4分

LCMS法:LCMS_4:Rt=2.15分, m/z=1695; m/z=1271

20

〔 0 3 6 3 〕

(実施例30)

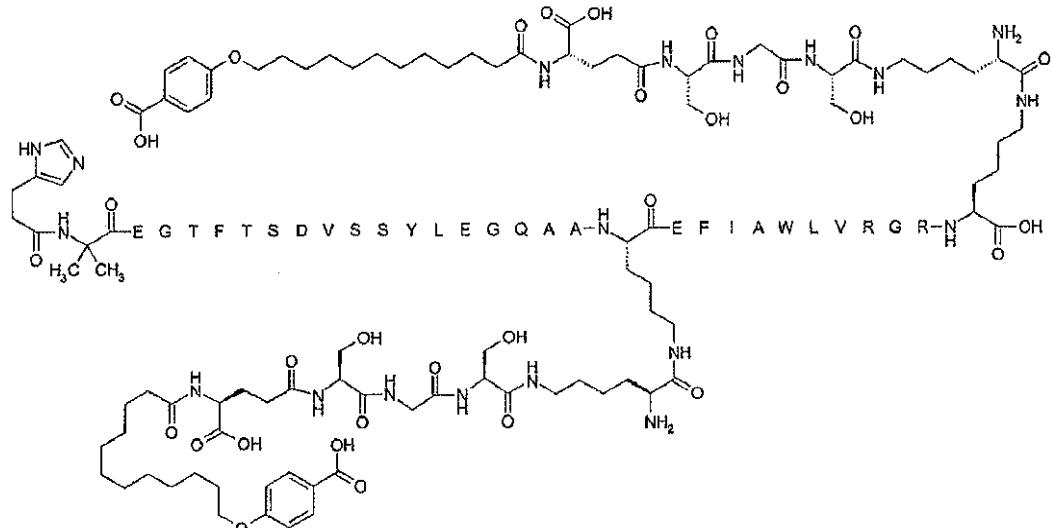
N²⁶-[(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ヘキサノイル],N³⁷-[(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(4-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Imp⁷,Aib⁸,Arg³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem. 49:

30

【 0 3 6 4 】

【化 6 3】



40

【 0 3 6 5 】

調製方法: SPPS_P; SC_P; CP_M1

UPLC法:AP_B4_1:Rt=8.5分

50

LCMS法:LCMS_4:Rt=2.2分, m/z=1690; m/z=1268

【0366】

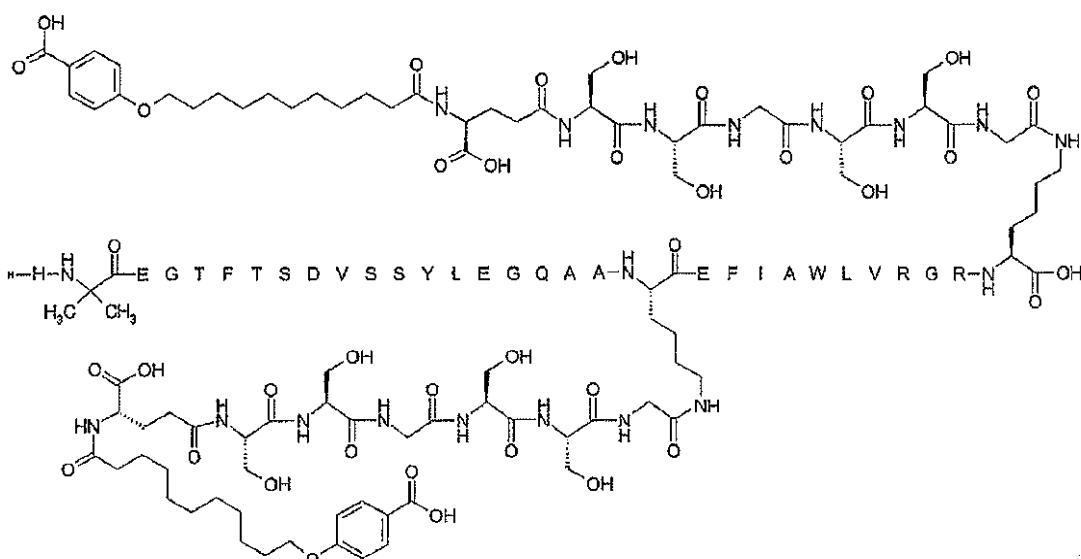
(実施例31)

N²⁶-[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[4S]-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル], N³⁷-[2-[[2S]-2-[[2-[[2S]-2-[[2S]-2-[[4S]-4-カルボキシ-4-[11-(4-カルボキシフェノキシ)ウンデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]アセチル]-[Aib⁸, Arg³⁴, Lys³⁷] -GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.50:

【0367】

【化64】



10

20

30

【0368】

調製方法:SPPS_CS; SPPS_L; SC_CS; CP_M1

UPLC法:B4_1:Rt=8.47分

LCMS法:LCMS_4:Rt=2.20分; m/z:1754; m/z:1316; m/z:1053

【0369】

比較化合物

いくつかの比較化合物を、本出願において言及する。

【0370】

Novo Nordisk A/Sによって市販されている1日1回投与のためのモノアシル化されたGLP-1誘導体であるリラグルチド(商品名VICTOZA(登録商標))は、W098/08871A1(実施例37)に開示されている。

40

【0371】

Novo Nordisk A/Sによって開発された週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は、W006/097537A2(実施例4)に開示されている。

【0372】

下記で言及した比較化合物は、W02011/080103、W02011/080102、またはW02012/062803に開示されている。これらは、リンカーにおいてのみ本発明の化合物と異なるという意味で、直接の比較化合物である。比較化合物のリンカーは、「gGlu-2xOEG」リンカーと称し得る。このリンカーは、過去において非常に頻繁に使用されてきており、非常に良好なリンカーであると証明してきた。gGlu-2xOEGリンカーは、いくつかの従前の公開資料にお

50

いて、例えば、WO2011/080103において記載されている(Chem.5、5a(OEG)および6(gGlu)を参照されたい)。

【0373】

本明細書において使用される命名法に関して、本発明者らは、比較例の番号に「a」を加えた。例えば、実施例1の化合物に対する直接コンパレーターは実施例1aの化合物であり、実施例2の化合物に対する直接コンパレーターは、実施例2aの化合物であるなどである(強調は筆者による)。本明細書において実施例の化合物のうち10種は、当技術分野において公知の上記のような直接コンパレーターを有する。残りの実施例の化合物については、これは当てはまらない。したがって、残りの化合物については、公知の対応する直接コンパレーター化合物は存在しない。

10

【0374】

(実施例)

(実施例1a)

WO2011/080103における実施例2の化合物、Chem.21。

(実施例2a)

WO2011/080103における実施例17の化合物、Chem.36。

(実施例3a)

WO2011/080103における実施例33の化合物、Chem.52。

(実施例4a)

WO2011/080103における実施例46の化合物、Chem.65。

20

(実施例5a)

WO2012/062803における実施例38の化合物、Chem.57。

(実施例6a)

WO2012/062803における実施例74の化合物、Chem.93。

(実施例7a)

WO2012/062803における実施例2の化合物、Chem.21。

(実施例9a)

WO2012/062803における実施例92の化合物、Chem.111。

(実施例22a)

WO2012/062803における実施例141の化合物、Chem.189。

30

(実施例23a)

WO2011/080103における実施例3の化合物、Chem.22。

【0375】

薬理学的方法

(実施例32)

インビトロの効力(AlphaScreen;膜)

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。

【0376】

実施例1～31、ならびに比較例1a～7a、9a、22a、および23a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。

40

【0377】

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類似体または誘導体で刺激し、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。

50

【0378】

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%CO₂で、DMEM、5%FCS、1%Pen/Strep(ペニシリン/ストレプトマイシン)および0.5mg/mlの選択マーカーG418中で増殖させた。

【0379】

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。 10

【0380】

フラットボトム96ウェルプレート(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。

【0381】

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。 20

【0382】

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MgCl₂、6H₂O(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15879):0.5mM;ATP(Sigma、カタログ番号A7699):1mM;GTP(Sigma、カタログ番号G8877):1μM。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。 30

【0383】

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類似体または誘導体、例えば、GLP-1化合物の下記の8つの濃度:(10⁻⁷M、10⁻⁸M、10⁻⁹M、10⁻¹⁰M、10⁻¹¹M、10⁻¹²M、10⁻¹³Mおよび10⁻¹⁴M)、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。

【0384】

膜/アクセプタービーズ

膜は、0.6mg/mlに対応する6μg/ウェルの濃度でhGLP-1/BHK467-12A細胞から調製した(ウェル毎に使用する膜の量は変化し得る) 40

【0385】

「膜なし」:AlphaScreen緩衝液中のアクセプタービーズ(15μg/ml、最終)

【0386】

「6μg/ウェルの膜」:AlphaScreen緩衝液中の膜+アクセプタービーズ(15μg/ml、最終)

【0387】

一定分量(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た。

【0388】

一定分量(10μl)の「6μg/ウェルの膜」を、GLP-1および類似体に加えた(2連または3連ウェルでウェル毎に)。 50

【0389】

陽性対照:10 μlの「膜なし」+10 μlのAlphaScreen緩衝液

【0390】

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

【0391】

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(できるだけ暗く)、または緑色の光の中で行った。全ての希釈は氷上で行った。

【0392】

手順

1. AlphaScreen緩衝液を作製する。 10
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、暗中室温で20~30分インキュベートすることによって)。
4. cAMP/GLP-1/類似体を、プレートに加える:ウェル毎に10 μl。
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10 μl。
6. ドナービーズを加える:ウェル毎に30 μl。
7. プレートをアルミホイルで包み、振盪機上で室温にて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。 20

【0393】

結果

EC₅₀[pM]値を、Graph-Pad Prismソフトウェア(バージョン5)を使用して計算したが、下記のTable 1(表1)において示す。それぞれの本発明の化合物についてのEC₅₀[pM]値は、Nを計算することによって、それぞれの比較化合物に関連し得る:

N=100 × (EC₅₀(比較化合物)/EC₅₀(本発明の化合物))。このように、数値Nは、それぞれの比較化合物に対する本発明の化合物のインビトロの効力の改善の百分率を示す。

【0394】

【表 1 A】

Table 1

実施例番号	インビトロの効力 (AlphaScreen cAMP;膜)	
	EC ₅₀ [pM]	
1	32	10
1a	112	
2	116	
2a	582	
3	137	
3a	506	
4	48	
4a	101	
5	95	
5a	224	
6	34	20
6a	62	
7	110	
7a	395	
8	230	
9	276	
9a	1589	
10	31	
11	381	
12	145	
13	314	30
14	261	
15	183	
16	146	
17	171	
18	89	
19	181	
20	350	
21	486	
22	307	
22a	1139	

【0 3 9 5】

【表1B】

23	2500	
23a	1683	
24	166	
25	252	
26	446	
27	138	10
28	460	
29	238	
30	276	
31	27	

【0396】

全ての試験した誘導体の効力を、インビトロで確認した。

【0397】

単独の例外(実施例23の化合物)を除いて、誘導体は、500pM以下のEC₅₀に対応する驚くほど良好なインビトロの効力を有した。17種の誘導体は、200pM以下のEC₅₀を有してさらににより強力であり、7種の誘導体は、100pM以下のEC₅₀に対応する非常に良好な効力を有した。 20

【0398】

同じ例外を除いて、本発明の化合物のインビトロの効力は一般に、比較化合物と比較して2~5倍改善した。

【0399】

(実施例33)

インビトロの効力(CREルシフェラーゼ;全細胞)

この実施例の目的は、GLP-1誘導体のインビトロの活性または効力を試験することである。全細胞アッセイにおいて、インビトロの効力は、ヒトGLP-1受容体活性化の尺度である。 30

【0400】

実施例1~31ならびに比較例1a~7a、9a、22a、および23aのGLP-1誘導体の効力は、下記のように決定した。

【0401】

原理

インビトロの効力は、レポーター遺伝子アッセイにおいてヒトGLP-1受容体の反応を測定することによって決定した。アッセイは、ヒトGLP-1受容体を発現しており、かつプロモーターにカップリングしているcAMP応答配列(CRE)についてのDNA、およびホタルルシフェラーゼ(CREルシフェラーゼ)についての遺伝子を含有する、安定的にトランスフェクトされたBHK細胞系において行った。ヒトGLP-1受容体が活性化されたとき、これはcAMPの産生をもたらし、これはルシフェラーゼタンパク質の発現をもたらす。アッセイインキュベーションが完了したとき、ルシフェラーゼ基質(ルシフェリン)を加えたが、酵素はルシフェリンをオキシルシフェリンに変換し、バイオルミネセンスを生じさせる。ルミネセンスを測定し、これはアッセイについての読み出し情報であった。 40

【0402】

細胞培養および調製

このアッセイにおいて使用した細胞(クローンFCW467-12A/KZ10-1)は、BHK細胞であった(親細胞系としてBHKTS13)。細胞はヒトGLP-1受容体を発現しているクローン(FCW467-12A) 50

に由来し、CREルシフェラーゼによるさらなるトランスフェクションによって確立し、現在のクローンを得た。

【0403】

細胞を、細胞培養培地において5%CO₂で培養した。これらを分取し、液体窒素中で保存した。各アッセイの前に、一定分量を取り出し、PBS中で2回洗浄し、その後、アッセイ特異的緩衝液に所望の濃度で懸濁した。96ウェルプレートについて、懸濁液を作製し、5×10³個の細胞/ウェルの最終濃度を得た。

【0404】

材料

下記の化学物質を、アッセイにおいて使用した。プルロニックF-68(10%)(Gibco2404)、ヒト血清アルブミン(HSA)(Sigma A9511)、オボアルブミン(Sigma A5503)、DMEM w/oフェノールレッド(Gibco11880-028)、1MのHEPES(Gibco15630)、Glutamax100×(Gibco35050)およびsteady lite plus(PerkinElmer6016757)。

10

【0405】

細胞培養培地は、10%FBS(ウシ胎仔血清)、1mg/mlのG418、240nMのMTX(メトトレキサト)および1%pen/strep(ペニシリン/ストレプトマイシンからなった。アッセイ培地は、DMEM w/oフェノールレッド、10mMのHepesおよび1×Glutamaxからなった。1%アッセイ緩衝液は、アッセイ培地中の2%オボアルブミン、0.2%プルロニックF-68および2%HSAからなった。0%アッセイ緩衝液は、アッセイ培地中の2%オボアルブミンおよび0.2%プルロニックF-68からなった。

20

【0406】

手順

1)細胞ストックを、37 の水浴中で解凍した。
2)細胞を、PBS中で3回洗浄した。
3)アッセイ培地において、細胞を計数し、5×10³個の細胞/50 μl(1×10⁵個の細胞/ml)に調節した。50 μl分量の細胞を、アッセイプレートにおける各ウェルに移した。

4)試験化合物および参照化合物のストックを、0%HSA CREルシフェラーゼアッセイのために0%アッセイ緩衝液、およびHSA CREルシフェラーゼアッセイのために1%アッセイ緩衝液において、0.2 μMの濃度に希釈した。化合物を10倍に希釈し、下記の濃度を得た:2×10⁻⁷ M、2×10⁻⁸ M;2×10⁻⁹ M、2×10⁻¹⁰ M、2×10⁻¹¹ M、2×10⁻¹² Mおよび2×10⁻¹³ M。各化合物について、ブランクアッセイ緩衝液対照をまた含んだ。

30

5)50 μl分量の化合物またはブランクを、3連で希釈プレートからアッセイプレートに移した。化合物を下記の最終濃度で試験した。1×10⁻⁷ M、1×10⁻⁸ M;1×10⁻⁹ M、1×10⁻¹⁰ M、1×10⁻¹¹ M、1×10⁻¹² Mおよび1×10⁻¹³ M。

6)アッセイプレートを、5%CO₂インキュベーターにおいて37 にて3時間インキュベートした。

7)アッセイプレートをインキュベーターから取り出し、15分間室温で静置した。

8)100 μl分量のsteady lite plus試薬を、アッセイプレートの各ウェルに加えた(試薬は、感光性であった)。

9)各アッセイプレートをアルミホイルで覆い、これを光から保護し、室温で30分間振盪した。

40

10)各アッセイプレートを、Packard TopCount NXT機器で読み取った。

【0407】

計算および結果

TopCount機器からの結果を、GraphPad Prism5ソフトウェアに移行した。ソフトウェアは、3連それぞれについて値を平均し、非線形回帰を行う(log(アゴニスト)対反応-可変傾斜(4つのパラメーター))。EC₅₀値はソフトウェアによって計算したが、下記のTable 2(表2)に示す(pMで)。

【0408】

【表 2 A】

Table 2:

実施例番号	EC ₅₀ [pM]	インビトロの効力 (CRE-ルシフェラーゼ)、 低アルブミン、	
		10	20
1	4.3		
1a	6.7		
2	23		
2a	132		
3	31		
3a	124		
4	8.0		
4a	40		
5	5.3		
5a	25		
6	7.5		
6a	62		
7	6.8		
7a	17		
8	34		
9	12		
9a	60		
10	22		
11	n.d.*		
12	9.8		
13	9.6		
14	5.6		
15	15		
16	8.3		
17	29		
18	6.8		
19	11		
20	22		
21	47		
22	60		
22a	174		

【表2B】

23	6.1	
23a	41	
24	5.2	
25	4.6	
26	5.8	
27	4.3	10
28	5.0	
29	5.0	
30	9.4	
31	2.8	

* 試験のために入手不可能

【0410】

全ての試験した誘導体の効力は、インピトロで確認した。

【0411】

全ての試験した誘導体は驚いたことに、100pM以下のEC₅₀に対応する良好なインピトロの効力を有した。22種の誘導体は、20pM以下のEC₅₀を有してさらにより強力であり、19種の誘導体は、10pM以下のEC₅₀に対応する非常に良好な効力を有した。 20

【0412】

本発明の化合物のインピトロの効力は一般に、比較化合物と比較して2~8倍改善した。

【0413】

(実施例34)

GLP-1受容体結合

この実験の目的は、GLP-1受容体へのGLP-1誘導体の結合を調査することである。これは、インピトロの実験で下記のように行われる。

【0414】

ヒトGLP-1受容体への、実施例1~31ならびに比較例1a~7a、9a、22a、および23aのGLP-1誘導体の結合親和性を、受容体から¹²⁵I-GLP-1を移動させるGLP-1誘導体の能力によって測定した。低濃度のアルブミン(0.001%-トレーサー中のその残留量に対応する)でアッセイを行った。 30

【0415】

条件

種(インピトロ):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

【0416】

細胞培養および膜精製

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%CO₂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。

【0417】

細胞(概ね80%コンフルエンス)をPBS中で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、それに続いてこれらを1000rpmで5分間の遠心分離によって分離した。細胞/細胞ペレットは、それに続くステップにおいて可能な

40

50

範囲内で氷上に保持しなければならない。細胞ペレットを、適切な量の緩衝液1(細胞の量によるが、例えば、10ml)中でUltrathurraxによって20~30秒間ホモジナイズした。ホモジネートを、20000rpmで15分間遠心した。ペレットを、10mlの緩衝液2中で再懸濁(ホモジナイズ)し、再遠心した。このステップをもう一度繰り返した。このように得られたペレットを緩衝液2に再懸濁し、タンパク質濃度を決定した。膜は-80°で保存した。

緩衝液1:20mMのNa-HEPES+10mMのEDTA、pH7.4

緩衝液2:20mMのNa-HEPES+0.1mMのEDTA、pH7.4

【 0 4 1 8 】

結合アッセイ:

SPA:

10

試験化合物、膜、SPA-粒子および $[^{125}\text{I}]$ -GLP-1(7-36)NH₂を、アッセイ緩衝液に希釈した。50ul(マイクロリットル)の緩衝液(0.001%HSAを含有する「低アルブミン」実験)を、0ptiplateに加え、25ulの試験化合物を加えた。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5~10μgの膜タンパク質/試料を、加えた(50μl)。SPA-粒子(コムギ胚芽凝集素SPAビーズ、Perkin Elmer、#RPNQ0001)を、0.5mg/ウェル(50μl)の量で加えた。インキュベーションを、 $[^{125}\text{I}]$ -GLP-1-(7-36)NH₂(49.880DPM、25μl)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。

【 0 4 1 9 】

20

アッセイ緩衝液:

50mMのHEPES

5mMのEGTA

5mMのMgCl₂

0.005%Tween20

pH7.4

HSAは、SIGMA A1653であった。

【 0 4 2 0 】

計算

IC₅₀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った。

30

【 0 4 2 1 】

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IC₅₀値に対応して、できる限り良好であるべきである。

【 0 4 2 2 】

結果

本発明の各化合物についてのIC₅₀[nM]値を、それぞれの比較化合物のIC₅₀[nM]値と一緒に下記のTable 3(表3)に示す。IC₅₀[nM]値は、Nを計算することによって、それぞれの比較化合物のIC₅₀[nM]値と関連し得る:

N=100 × (IC₅₀(比較化合物)/IC₅₀(本発明の化合物))。このように、数値Nは、それぞれの比較化合物に対する本発明の化合物の受容体結合の改善の百分率を示す。

40

【 0 4 2 3 】

【表 3 A】

Table 3

実施例番号	IC ₅₀ [nM] (低アルブミン)
1	0.34
1a	2.27
2	8.99
2a	44.50
3	11.60
3a	51.50
4	0.58
4a	2.77
5	1.63
5a	5.80
6	0.43
6a	0.80
7	0.91
7a	7.03
8	8.50
9	1.55
9a	8.09
10	1.72
11	12.80
12	4.61
13	0.84
14	0.37
15	0.50
16	0.54
17	1.34
18	0.48
19	0.42
20	2.27
21	4.87
22	10.50
22a	48.40
23	0.43
23a	3.55

【0 4 2 4】

【表 3 B】

24	0.19
25	0.27
26	0.53
27	0.69
28	0.96
29	0.27
30	0.18
31	0.17

10

【0425】

全ての試験した誘導体は、低濃度のアルブミンでGLP-1受容体に結合することができた。

【0426】

本発明の全ての誘導体は、13nM未満のIC₅₀(低アルブミン)値で受容体に密接に結合し、26種は、5.0nM未満であり、19種は、1.0nM未満であった。

【0427】

20

Table 3(表3)から推察できるように、本発明の化合物の受容体結合は一般に、比較化合物と比較して3~8倍改善した。

【0428】

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】

0006126097000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P 3/10
A 6 1 P	1/14	(2006.01)	A 6 1 P 1/14
A 6 1 P	9/00	(2006.01)	A 6 1 P 9/00
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P 1/04
A 6 1 P	15/08	(2006.01)	A 6 1 P 15/08
A 6 1 P	5/48	(2006.01)	A 6 1 P 5/48
A 6 1 P	3/06	(2006.01)	A 6 1 P 3/06

(74)代理人 100110364

弁理士 実広 信哉

(72)発明者 イエスパ・ラウ

デンマーク・DK-2880・バウスヴェア・ノヴォ・アレー・(番地なし)

(72)発明者 パウ・プロク

デンマーク・DK-2880・バウスヴェア・ノヴォ・アレー・(番地なし)

(72)発明者 ヤコブ・コフォード

デンマーク・DK-2880・バウスヴェア・ノヴォ・アレー・(番地なし)

(72)発明者 パトリク・ガリバイ

デンマーク・DK-2880・バウスヴェア・ノヴォ・アレー・(番地なし)

審査官 上村 直子

(56)参考文献 特表2002-512175(JP, A)

国際公開第2011/080102(WO, A2)

国際公開第2011/080103(WO, A1)

特表2000-500505(JP, A)

特表平08-504209(JP, A)

特表平06-508985(JP, A)

Journal of medicinal Chemistry, 2000年, 43(9), p.1664-1669

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 07 K 1/00 - 19/00

C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)