

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-510218

(P2023-510218A)

(43)公表日 令和5年3月13日(2023.3.13)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 K 14/605 (2006.01)	C 0 7 K 14/605	Z N A 4 C 0 8 4
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	4 H 0 4 5
A 6 1 P 3/04 (2006.01)	A 6 1 P 3/04	
A 6 1 K 38/26 (2006.01)	A 6 1 K 38/26	
A 6 1 K 38/28 (2006.01)	A 6 1 K 38/28	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全94頁)

(21)出願番号	特願2022-540870(P2022-540870)	(71)出願人	522262991
(86)(22)出願日	令和2年12月29日(2020.12.29)		ガン アンド リー ファーマスウーティ
(85)翻訳文提出日	令和4年8月25日(2022.8.25)		カルズ カンパニー リミテッド
(86)国際出願番号	PCT/CN2020/141057		G A N & L E E P H A R M A C E U
(87)国際公開番号	WO2021/136303		T I C A L S C O . , L T D .
(87)国際公開日	令和3年7月8日(2021.7.8)		中国 1 0 1 1 0 9 ペイジン トンジョウ
(31)優先権主張番号	201911397405.2		ディストリクト, フォシャン, ナンフェ
(32)優先日	令和1年12月30日(2019.12.30)		ン ウェスト 1スト ストリート ナンバ
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)		- 8
			N O . 8 N A N F E N G W E S T 1
(31)優先権主張番号	202011053306.5		S T S T R E E T , H U O X I A N ,
(32)優先日	令和2年9月29日(2020.9.29)		T O N G Z H O U D I S T R I C T ,
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)		B E I J I N G 1 0 1 1 0 9 , C H I
			N A
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(74)代理人	100107766
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 長時間作用型G L P - 1化合物

(57)【要約】

本発明は、新規の長時間作用型G L P - 1化合物、即ち、新規のG L P - 1誘導体に関する。上記新規のG L P - 1誘導体は、リラグルチド、セマグルチドなどの市販されているG L P - 1誘導体と比べて、相当する又はより良い効力、薬効や効能、より長い又は相当する体内作用持続時間又は体内半減期、より優れた又は相当するG L P - 1受容体結合親和力、より優れた又は相当するD P P - I V安定性を有する。

は

AcyはHOOC-(CH₂)₁₈-CO-、HOOC-(CH₂)₁₉-CO-、HOOC-(CH₂)₂₀-CO-、HOOC-(CH₂)₂₁-CO-又はHOOC-(CH₂)₂₂-CO-であり、好ましくは、AcyはHOOC-(CH₂)₁₈-CO-、HOOC-(CH₂)₂₀-CO-又はHOOC-(CH₂)₂₂-CO-である、請求項1又は2に記載の化合物。

【請求項4】

式(B)において、Acy、L1及びL2の間は順にアミド結合で連結され、L2のC末端は前記GLP-1類似体の位置26のLys残基のアミノ基に連結される、請求項1～3のいずれか一項に記載の化合物。

10

【請求項5】

前記化合物は、

N-²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ]エトキシ)エトキシ]アセチルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、

N-²⁶-[2-(2-[2-(4-[19-カルボキシノナデカノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、

N-²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ]エトキシ)エトキシ]アセチルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、

20

N-²⁶-[2-(2-[2-(4-[21-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、

N-²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(23-カルボキシトリコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ]エトキシ)エトキシ]アセチルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、

30

N-²⁶-[2-(2-[2-(4-[23-カルボキシトリコサノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、

N-²⁶-(23-カルボキシトリコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、

N-²⁶-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、

N-²⁶-(21-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリル-[Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、

N-²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ]エトキシ)エトキシ]アセチルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、

40

N-²⁶-[2-(2-[2-(4-[19-カルボキシノナデカノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、

N-²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ]エトキシ)エトキシ]アセチルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、

50

N - ²⁶ - (22 - カルボキシドコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、という化合物から選ばれ、
好ましくは、前記化合物は、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (19 - カルボキシノナデカノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [19 - カルボキシノナデカノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、

N - ²⁶ - (19 - カルボキシノナデカノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [Gly 8、Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、

N - ²⁶ - (19 - カルボキシノナデカノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (21 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、又は

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [21 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、という化合物から選ばれる、
請求項 1 に記載の化合物。

10

20

30

40

50

【請求項 6】

請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の化合物と、薬学的に許容可能な賦形剤とを含む、薬物製剤。

【請求項 7】

前記薬学的に許容可能な賦形剤は、緩衝剤、防腐剤、等張化剤、安定剤及びキレート剤のうちの 1 つ又は複数から選ばれ、好ましくは、前記薬学的に許容可能な賦形剤は緩衝剤、防腐剤及び等張化剤である、請求項 6 に記載の薬物製剤。

【請求項 8】

前記等張化剤は、塩化ナトリウム、プロピレングリコール、マンニトール、ソルビトール、グリセリン、グルコース及びキシリトールの 1 つ又は複数から選ばれ、好ましくはプロピレングリコール、マンニトール又は塩化ナトリウムであり、及び/又は

前記防腐剤は、フェノール、m - 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、p - ヒドロキシ安息香酸ブチル、2 - フェニルエタノール、及びベンジルアルコールのうちの 1 つ又は複数から選ばれ、好ましくはフェノール又は m - クレゾールであり、及び/又は

前記緩衝剤は、酢酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、クエン酸塩、グリシルグリシン、ヒスチジン、グリシン、リジン、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、及びトリス (ヒドロキシメチル) - アミノメタンのうちの 1 つ又は複数から選ばれ、好ましくは酢酸ナトリウム、クエン酸塩、リン酸二水素ナトリウム、又はリン酸水素二ナトリウムである、
請求項 6 ~ 7 のいずれか一項に記載の薬物製剤。

【請求項 9】

前記製剤の pH は約 6 . 0 ~ 約 10 . 0、好ましくは約 6 . 5 ~ 約 10 . 0、好ましくは約 6 . 5 ~ 約 9 . 5、好ましくは約 6 . 5 ~ 約 8 . 5、より好ましくは約 7 . 0 ~ 約 8 . 5、より好ましくは約 7 . 0 ~ 約 8 . 1、さらに好ましくは約 7 . 3 ~ 約 8 . 1 である、請求項 6 ~ 8 のいずれか一項に記載の薬物製剤。

【請求項 10】

約 0 . 1 ~ 1 . 2 m M、好ましくは約 0 . 2 ~ 1 m M、好ましくは約 0 . 3 ~ 0 . 7 m

M、より好ましくは約0.48~0.6mMの請求項1~5のいずれか一項に記載の化合物と、

約10~1500mM、好ましくは約13~800mM、好ましくは約65~400mM、好ましくは約90~240mM、好ましくは約150~250mM、好ましくは約180~200mM、より好ましくは約183~195mMであり、好ましくは、プロピレングリコール、グリセリン、マンニトール又は塩化ナトリウムのうちの1つ又は複数から選ばれる等張化剤と、

約1~200mM、好ましくは約5~150mM、好ましくは約10~100mM、好ましくは約20~85mM、好ましくは約30~75mM、好ましくは約45~60mM、より好ましくは約50~60mMであり、好ましくは、フェノール又はm-クレゾールのうちの1つ又は複数から選ばれる防腐剤と、

約3~35mM、好ましくは約5~20mM、より好ましくは約5~15mM、より好ましくは約7~10mMであり、酢酸ナトリウム、クエン酸塩、リン酸二水素ナトリウム又はリン酸水素二ナトリウムのうちの1つ又は複数から選ばれる緩衝剤と、を含み、及びpHは約6.0~約10.0、好ましくは約6.5~約9.5、好ましくは約6.5~約8.5、より好ましくは約7.0~約8.5、より好ましくは約7.0~約8.1、さらに好ましくは約7.3~約8.1である、

薬物製剤。

【請求項11】

約0.3~0.7mM、より好ましくは約0.48~0.6mMのN²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(4-(21-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ]エトキシ)エトキシ]アセチルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、又はN²⁶-[2-(2-[2-(4-[19-カルボキシノナデカノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチドと、

約180~200mM、より好ましくは約183~195mMのプロピレングリコールと、

約45~60mM、より好ましくは約50~60mMのフェノールと、

約5~15mMであり、好ましくは約7~10mMのリン酸水素二ナトリウムである緩衝剤と、を含み、及び

pHは約6.5~約8.5、より好ましくは約7.0~約8.5、さらに好ましくは約7.3~約8.3である、

薬物製剤。

【請求項12】

約0.5mMのN²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-カルボキシヘンエイコサノイルアミノ)-4(S)-カルボキシブチリルアミノ]エトキシ)エトキシ]アセチルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、又はN²⁶-[2-(2-[2-(4-[19-カルボキシノナデカノイルアミノ]-4(S)-カルボキシブチリルアミノ]エトキシ]エトキシ)アセチル][Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチドと、

約184mMのプロピレングリコールと、

約58.5mMのフェノールと、

約10mMのリン酸水素二ナトリウムと、を含み、及び

pHは約6.5~約8.5、より好ましくは約7.0~約8.5、より好ましくは約7.0~約8.1、さらに好ましくは約7.3~約8.1である、

薬物製剤。

【請求項13】

約2.0mg/mLのN²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(2

1 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、又は N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [1 9 - カルボキシノナデカノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチドと、

約 1 4 m g / m L のプロピレングリコールと、

約 5 . 5 m g / m L のフェノールと、

約 1 . 4 2 m g / m L のリン酸水素二ナトリウムと、を含み、及び

p H は約 6 . 5 ~ 約 8 . 5、より好ましくは約 7 . 0 ~ 約 8 . 5、より好ましくは約 7 . 0 ~ 約 8 . 1、さらに好ましくは約 7 . 3 ~ 約 8 . 1 である、

薬物製剤。

【請求項 1 4】

請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の化合物と、アシル化インスリンとを含み、好ましくは、前記アシル化インスリンは、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - O E G)、d e s B 3 0 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - G l u - 2 x O E G)、d e s B 3 0 ヒトインスリン、又は B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 1 2 x P E G)、d e s B 3 0 ヒトインスリンであり、

さらに好ましくは、前記アシル化インスリンは、そのインスリン母体が天然に存在するインスリン又はインスリン類似体であり、且つ少なくとも 1 つのリジン残基が含まれ、そのアシル基部分が前記インスリン母体のリジン残基又は N 末端アミノ酸残基のアミノ基に連結されているアシル化インスリンであり、前記アシル基部分は式 (A)、すなわち、

$I I I - (I I)_m - (I)_n - (A)$ で示され、

ただし、

m は 0 又は 1 ~ 1 0 の整数であり、n は 5 ~ 3 0 (好ましくは 5 ~ 2 0) の整数であり、

I は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

I I は酸性アミノ酸残基であり、

I I I は 2 0 ~ 2 4 個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に前記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

I I I、I I 及び I の間にはアミド結合で連結され、及び

I I 及び I の式 (A) における出現順番は独立的に交換可能である、

薬物組成物。

【請求項 1 5】

n は 5 ~ 1 5 の整数であり、好ましくは、n は 5、6、7、8、9、1 0、1 1、1 2、1 3 又は 1 4、好ましくは、n は 5、6、7、8、9、1 0、1 1 又は 1 2、好ましくは、n は 5、6、7、8、9 又は 1 0、好ましくは、n は 5、6、7、8 又は 9、好ましくは、n は 5、6、7 又は 8 であり、及び / 又は

m は 1 ~ 6 の整数であり、好ましくは、m は 1、2、3 又は 4 であり、好ましくは、m は 1 又は 2 であり、好ましくは、m は 1 であり、及び / 又は

I I I は 2 0 ~ 2 3 個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、好ましくは、I I I は 2 0、2 1 又は 2 2 個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に前記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、及び / 又は

前記インスリン母体は 1 つのリジン残基を含む、

請求項 1 4 に記載の薬物組成物。

【請求項 1 6】

I は、 $- H N - (C H_2)_2 - O - (C H_2)_2 - O - C H_2 - C O -$ 、 $- H N - (C H_2)_2 - O - (C H_2)_2 - O - (C H_2)_2 - O - (C H_2)_2 - O - (C H_2)_2 - C O -$ 、 $- H N - (C H_2)_2 - O - (C H_2)_2 - O - (C H_2)_2 - O - (C H_2)_2 - O - (C H_2)_2 - O - (C H_2)_2 - O - (C H_2)_2 - C O -$ 、 $- H N - (C H_2)$

10

20

30

40

50

$2 - O - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_2 - CO -$ 、 $-HN - (CH_2)_3 - O - (CH_2)_4 - O - (CH_2)_3 - NH - CO -$ 、 $-HN - (CH_2)_3 - O - (CH_2)_4 - O - (CH_2)_3 - NH - CO - CH_2 - O - CH_2 - CO -$ 、
 $-HN - (CH_2)_3 - O - (CH_2)_4 - O - (CH_2)_3 - NH - CO - (CH_2)_2 - CO -$ 、 $-HN - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_2 - O - CH_2 - CO - CH_2 - O - CH_2 - CO -$ 、
 $-HN - (CH_2)_3 - O - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_3 - NH - CO - (CH_2)_2 - CO -$ 、
 $-HN - (CH_2)_3 - O - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_3 - NH - CO - CH_2 - O - CH_2 - CO -$ 、
 $-HN - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_2 - NH - CO - (CH_2)_2 - CO -$ 、
 $-HN - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_2 - NH - CO - CH_2 - O - CH_2 - CO -$ 、
 $-HN - (CH_2)_3 - O - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_3 - NH - CO - CH_2 - O - CH_2 - CO -$ 、
 $-HN - (CH_2)_3 - O - (CH_2)_3 - O - CH_2 - CO -$ 、又は $-HN - (CH_2)_4 - O - (CH_2)_4 - O - CH_2 - CO -$ であり、好ましくは、Iは $-HN - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_2 - O - CH_2 - CO -$ であり、及び/又は

IIは Glu、Glu、Asp、Asp、 $-D - Glu$ 、 $-D - Glu$ 、 $-D - Asp$ 又は $-D - Asp$ から選ばれるアミノ酸残基であり、及び/又は

IIIは $HOOC - (CH_2)_{18} - CO -$ 、 $HOOC - (CH_2)_{19} - CO -$ 、 $HOOC - (CH_2)_{20} - CO -$ 、 $HOOC - (CH_2)_{21} - CO -$ 又は $HOOC - (CH_2)_{22} - CO -$ である、

請求項14又は15に記載の薬物組成物。

【請求項17】

式(A)は、IのC末端により前記インスリン母体のリジン残基又はN末端アミノ酸残基のアミノ基に連結されている、請求項14～16のいずれか一項に記載の薬物組成物。

【請求項18】

前記アシル基部分は、前記インスリン母体のリジン残基のアミノ基に連結されている、請求項14～17のいずれか一項に記載の薬物組成物。

【請求項19】

前記インスリン母体のリジン残基は、B29位に位置する、請求項14～18のいずれか一項に記載の薬物組成物。

【請求項20】

前記インスリン母体は、des B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、des B30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、des B30ヒトインスリン、ヒトインスリン、A21Gヒトインスリン、A21G、des B30ヒトインスリン、又はB28Dヒトインスリン、というインスリン又はインスリン類似体から選ばれる、請求項14～19のいずれか一項に記載の薬物組成物。

【請求項21】

前記アシル化インスリンは、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 5 x OEG)、des B30ヒトインスリン、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 6 x OEG)、des B30ヒトインスリン、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - Glu - 5 x OEG)、des B30ヒトインスリン、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - Glu - 6 x OEG)、des B30ヒトインスリン、B29K(N() - エイコサンジアシル - 5 x OEG - Glu)、des B30ヒトインスリン、B29K(N() - エイコサンジアシル - 6 x OEG - Glu)、des B30ヒトインスリン、B29K(N() - エイコサンジアシル - 6 x OEG - Glu - Glu)、des B30ヒトインスリン、B29K(N() - エイコサンジアシル - 5 x OEG - Glu - Glu)、des B30ヒトインスリン、B29K(N() - エイコサンジアシル - Asp - 5 x OEG)、des B30ヒトインスリン、B29K(N() - エイコサンジアシル - Asp - 6 x OEG)、

29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - Glu - 8xOEG)、desB30
 ヒトインスリン、B29K(N() - ドコサンジアシル - 7xOEG - Glu)、
 desB30ヒトインスリン、B29K(N() - ドコサンジアシル - 8xOEG -
 Glu)、desB30ヒトインスリン、B29K(N() - ドコサンジアシル - 8x
 OEG - Glu - Glu)、desB30ヒトインスリン、B29K(N() - ド
 コサンジアシル - 7xOEG - Glu - Glu)、desB30ヒトインスリン、B
 29K(N() - ドコサンジアシル - Asp - 7xOEG)、desB30ヒトイン
 スリン、B29K(N() - ドコサンジアシル - Asp - 8xOEG)、desB3
 0ヒトインスリン、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 7xOEG)、
 desB30ヒトインスリン、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 8x
 OEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N() - ドコサンジアシル - G
 lu - Glu - 7xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N() - ド
 コサンジアシル - Glu - Glu - 8xOEG)、desB30ヒトインスリン、B
 29K(N() - ドコサンジアシル - Asp - 7xOEG)、desB30ヒトイン
 スリン、B29K(N() - ドコサンジアシル - Asp - 8xOEG)、desB3
 0ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジア
 シル - Glu - 7xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B
 25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 8xOEG)、desB3
 0ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジア
 シル - Glu - Glu - 7xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B
 16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - Glu - 8x
 OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N
 () - ドコサンジアシル - 7xOEG - Glu)、desB30ヒトインスリン、A
 14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - 8xOEG -
 Glu)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N
 () - ドコサンジアシル - 8xOEG - Glu - Glu)、desB30ヒトイン
 スリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - 7x
 OEG - Glu - Glu)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B
 25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Asp - 7xOEG)、desB3
 0ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジア
 シル - Asp - 8xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B
 25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 7xOEG)、desB3
 0ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジア
 シル - Glu - 8xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B
 25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - Glu - 7xOEG)、
 desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - ド
 コサンジアシル - Glu - Glu - 8xOEG)、desB30ヒトインスリン、A
 14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Asp - 7x
 OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N
 () - ドコサンジアシル - Asp - 8xOEG)、desB30ヒトインスリン、A
 14E、B16E、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 7x
 OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N
 () - ドコサンジアシル - Glu - 8xOEG)、desB30ヒトインスリン、A
 14E、B16E、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - G
 lu - 7xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B
 2
 9K(N() - ドコサンジアシル - Glu - Glu - 8xOEG)、desB30
 ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシ
 ル - 7xOEG - Glu)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16E、B2
 5H、B29K(N() - ドコサンジアシル - 8xOEG - Glu)、desB30

10

20

30

40

50

E G)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - G l u - 1 0 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 9 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 1 0 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - G l u - 1 1 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - G l u - 1 2 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 1 1 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 1 2 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、又は A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 1 8 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、というインスリンから選ばれ、

好ましくは、前記アシル化インスリンは、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - G l u - 5 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - G l u - 6 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 5 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 6 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - G l u - 8 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 8 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - G l u - 6 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - G l u - 1 2 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 6 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 1 0 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、又は A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 1 2 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、というインスリンから選ばれ、

好ましくは、前記アシル化インスリンは、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - G l u - 6 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - G l u - 1 2 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 6 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 1 0 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - G l u - 1 0 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、又は A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 1 2 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、というインスリンから選ばれる、

請求項 1 4 に記載の薬物組成物。

【請求項 2 2】

薬物として用いられる、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の化合物、請求項 6 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の薬物製剤又は請求項 1 4 ~ 2 1 のいずれか一項に記載の薬物組成物。

【請求項 2 3】

高血糖症、糖尿病、及び / 又は肥満症の治療又は予防に用いられる、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の化合物、請求項 6 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の薬物製剤又は請求項

10

20

30

40

50

14～21のいずれか一項に記載の薬物組成物。

【請求項24】

高血糖症、糖尿病、及び/又は肥満症を治療又は予防するための薬物の調製における、請求項1～5のいずれか一項に記載の化合物、請求項6～13のいずれか一項に記載の薬物製剤又は請求項14～21のいずれか一項に記載の薬物組成物の使用。

【請求項25】

高血糖症、糖尿病、及び/又は肥満症を治療又は予防する方法であって、治療有効量の請求項1～5のいずれか一項に記載の化合物、請求項6～13のいずれか一項に記載の薬物製剤又は請求項14～21のいずれか一項に記載の薬物組成物を投与することを含む、方法。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、治療用ペプチドの分野に関し、具体的に、新規の長時間作用型GLP-1化合物、その薬物製剤、それと長時間作用型インスリンとの薬物組成物、及び上記化合物、薬物製剤と薬物組成物の医薬用途に関する。

【背景技術】

【0002】

グルカゴン様ペプチド1 (GLP-1) 及びその類似体と誘導体は、1型と2型糖尿病の治療に非常に有効であるが、高いクリアランスは、これらの化合物の有効性を制限してしまう。体内で作用がより長く続けられるGLP-1化合物を提供するために、一連の異なる方法は既に、グルカゴン様ペプチド1 (GLP-1) の構造を修飾するために適用された。例えば、WO99/43708には、C末端アミノ酸残基に連結した親油性置換体を有するGLP-1 (7-35) 及びGLP-1 (7-36) 誘導体が開示されている。特許文献1には、アシル化したGLP-1類似体が開示されている。特許文献2には、患者の体内に注射するための活性化したインスリン分泌促進ペプチドが開示されている。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0003】

【特許文献1】国際公開第00/34331号

30

【特許文献2】国際公開第00/69911号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

現在市販されているGLP-1類薬物は、例えば、1日に2回投与される天然のGLP-1類似体であるエキセナチド (Exenatide)、1日に1回投与される、ヘキサデカン酸で修飾されたGLP-1化合物であるリラグルチド (Liraglutide) 及びエキセナチドの構造を改変・修飾して得られた新規分子であるリキシセナチド (Lixisenatide)、週に1回投与されるセマグルチド (Semaglutide)、エキセナチドマイクロスフェア (ExenatideLAR)、アビグルチド (Abiglutide)、デュラグルチド (Dulaglutide) (トルリシティとも称する) 及びポリエチレングリコールロキセナチド (Polyethylene Glycol Loxenatide) がある。その中で、エキセナチドマイクロスフェアは、マイクロカプセル化の方法によりエキセナチドをポリ乳酸グリコール酸共重合体マトリックスに包み込んで調製して得られたものであり、アビグルチドは、2本の修飾されたGLP-1ペプチド鎖を二量体形でヒトアルブミンと融合して組換え融合タンパク質になるものであり、デュラグルチドは、修飾されたGLP-1鎖をジスルフィド結合により組換えG4免疫グロブリンのFc断片に融合して得られたものであり、ポリエチレングリコールロキセナチドは、エキセナチドの化学構造式を基にしてアミノ酸を改変してポリエチレングリコールで修飾されてなるものであり、セマグルチドは主に、GLP-1 (7-37) ペプチドに

40

50

において非タンパク性アミノ酸 A i b で第 8 位の A l a を置換することにより 1 週 1 回が達成されたが、セマグルチドに非タンパク性アミノ酸が存在しているため、天然のアミノ酸と比べ、人体において未知の様々な潜在的な副作用のリスクがあり得る。

【 0 0 0 5 】

一方では、より優れた薬物の選択肢を糖尿病患者へ提供するために、市販されている種類の薬物、例えば、リラグルチド、デュラグルチドとセマグルチドと比べ、より良い効力、薬効や効能を有し、より小さい潜在的な副作用のリスクを有し、より良い体重減少・食事抑制効果を有し、より長い又は相当する体内作用持続時間若しくは体内半減期を有することが可能な化合物を開発する必要がある。

【 0 0 0 6 】

もう一方では、世界中に 2 型糖尿病患者が急速に増えるにつれて、投与がより簡単で、より効果的な薬物への要望が大きくなっている。例えば、インスリン及び G L P - 1 ペプチドという 2 つの活性成分を含む複合製剤は、非常に効果的な治療剤である可能性がある。従って、より優れた物理的・化学的安定性、より長い作用時間、及びより良い薬効を相乗的に達成することができる複合製剤は、現在でも依然として必要とされている。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 7 】

従来技術の少なくとも 1 つの欠陥を克服又は改善し、或いは有用な代用品を提供するために、本発明の第 1 態様は、新規の G L P - 1 化合物 (G L P - 1 誘導体とも称する) を提供する。上記新規の G L P - 1 化合物は、リラグルチド、デュラグルチド、セマグルチドなどの市販されている G L P - 1 誘導体と比べて、より良い効力、薬効や効能、より小さい潜在的な副作用のリスク、より良い体重減少効果、より長い体内作用持続時間若しくは体内半減期、より優れた又は相当する G L P - 1 受容体結合親和力を有するとともに、より優れた又は相当する D P P - I V 安定性を有する。また、本発明に係る長時間作用型 G L P - 1 化合物及び本発明により提供される長時間作用型インスリンの薬物組成物又は複合製剤は、上記 G L P - 1 化合物及び上記インスリン化合物の物理的安定性を低減させないだけでなく、複合製剤は単剤よりも優れた物理的安定性を有する。他の長時間作用型 G L P - 1 化合物の複合製剤 (例えば、リラグルチド及びインスリンデグデルクの複合製剤) と比べて、本発明の複合製剤の物理的安定性は、予想以上である。さらに、複合製剤は単剤と比べて、上記 G L P - 1 化合物及びアシル化インスリンの化学的安定性も向上させる。本発明に係る G L P - 1 化合物、及び本発明により提供される上記 G L P - 1 化合物とインスリン化合物を含む複合製剤は、何れも長い薬物動態的 (以下、P K とも称する) 特徴を好適に実現することができることで、糖尿病患者への週に 2 回、週に 1 回、2 週に 1 回又はそれ以下の頻度での皮下治療が可能になる。

【 0 0 0 8 】

本発明の第 1 態様により提供される G L P - 1 化合物は、式 B の化合物、又はその薬学的に許容可能な塩、アミド若しくはエステルであり、



ただし、G 1 は、G L P - 1 (7 - 3 7) (配列番号 1) の位置 3 4 に対応する位置で A r g を有し、及び位置 8 に対応する位置で A l a 又は G l y を有する G L P - 1 類似体であり、[A c y - (L 1) r - (L 2) q] は、上記 G L P - 1 類似体の位置 2 6 の L y s 残基の アミノ基に連結された置換基であり、ただし

r は 1 ~ 1 0 の整数であり、q は 0 又は 1 ~ 1 0 の整数であり、

A c y は 2 0 ~ 2 4 個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に前記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、

L 1 は G l u、 G l u、 A s p、 A s p、 - D - G l u、 - D - G l u、 - D - A s p 又は - D - A s p から選ばれるアミノ酸残基であり、

L 2 は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、

A c y、L 1 及び L 2 の間はアミド結合で連結され、及び

L 1 及び L 2 の式 (B) における出現順番は独立的に交換可能である。

10

20

30

40

50

【0009】

一実施形態において、G1は[Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド又は[Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチドであり、好ましくは[Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチドである。

一実施形態において、rは1、2、3、4、5又は6であり、好ましくは、rは1、2、3又は4であり、好ましくは、rは1又は2であり、好ましくは、rは1である。

【0010】

別の実施形態において、qは0、1、2、3、4、5、6、7又は8であり、好ましくは、qは0、1、2、3又は4であり、より好ましくは、qは0、1又は2である。

【0011】

一実施形態において、Acyは20～23個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、好ましくは、Acyは20、21、又は22個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されている。

【0012】

一実施形態において、L2は、-HN-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-CH₂-CO-、-HN-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-CO-、-HN-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-CO-、-HN-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-CO-、-HN-(CH₂)₃-O-(CH₂)₄-O-(CH₂)₃-NH-CO-O-、-HN-(CH₂)₃-O-(CH₂)₄-O-(CH₂)₃-NH-CO-CH₂-O-CH₂-CO-、-HN-(CH₂)₃-O-(CH₂)₄-O-(CH₂)₃-NH-CO-(CH₂)₂-CO-、-HN-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-CH₂-CO-CH₂-O-CH₂-CO-、-HN-(CH₂)₃-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₃-NH-CO-CH₂-O-CH₂-CO-、-HN-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-NH-CO-(CH₂)₂-CO-、-HN-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-NH-CO-CH₂-O-CH₂-CO-、-HN-(CH₂)₃-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₃-NH-CO-CH₂-O-CH₂-CO-、又は-HN-(CH₂)₄-O-(CH₂)₄-O-CH₂-CO-であり、好ましくは、L2は-HN-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-CH₂-CO-である。

【0013】

一実施形態において、L1はGlu又はAspから選ばれ、好ましくはL1はGluである。

一実施形態において、AcyはHOOC-(CH₂)₁₈-CO-、HOOC-(CH₂)₁₉-CO-、HOOC-(CH₂)₂₀-CO-、HOOC-(CH₂)₂₁-CO-又はHOOC-(CH₂)₂₂-CO-であり、好ましくは、AcyはHOOC-(CH₂)₁₈-CO-、HOOC-(CH₂)₂₀-CO-又はHOOC-(CH₂)₂₂-CO-である。

【0014】

一実施形態において、式(B)において、Acy、L1及びL2の間は順にアミド結合で連結され、L2のC末端は上記GLP-1類似体の位置26のLys残基のアミノ基に連結される。

【0015】

一実施形態において、本発明の第1態様に記載の化合物は、

N-²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-カルボキシノナデカ

10

20

30

40

50

ノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチル
アミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP - 1 - (7 -
37) ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [19 - カルボキシノナデカノイルアミノ] - 4
(S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Ar
g 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (21 - カルボキシヘンエイ
コサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセ
チルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP - 1 - (7 -
37) ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [21 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ]
- 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、
Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (23 - カルボキシトリコサ
ノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチル
アミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP - 1 - (7 -
37) ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [23 - カルボキシトリコサノイルアミノ] - 4
(S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Ar
g 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、

N - ²⁶ - (23 - カルボキシトリコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリ
ル - [Gly 8、Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、

N - ²⁶ - (19 - カルボキシノナデカノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリ
ル - [Gly 8、Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、

N - ²⁶ - (21 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブ
チリル - [Gly 8、Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (19 - カルボキシノナデカ
ノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチル
アミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプ
チド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [19 - カルボキシノナデカノイルアミノ] - 4
(S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34] G
LP - 1 - (7 - 37) ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (21 - カルボキシヘンエイ
コサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセ
チルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37)
ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [21 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ]
- 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34
] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (23 - カルボキシトリコサ
ノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチル
アミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプ
チド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [23 - カルボキシトリコサノイルアミノ] - 4
(S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34] G
LP - 1 - (7 - 37) ペプチド、

N - ²⁶ - (23 - カルボキシトリコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリ
ル - [Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、

N - ²⁶ - (19 - カルボキシノナデカノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリ

10

20

30

40

50

ル - [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、又は
 N - ²⁶ - (2 1 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、という化合物から選ばれる。

【 0 0 1 6 】

一実施形態において、本発明の第 1 態様に記載の化合物は、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (1 9 - カルボキシノナデカノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

10

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [1 9 - カルボキシノナデカノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ²⁶ - (1 9 - カルボキシノナデカノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ²⁶ - (1 9 - カルボキシノナデカノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (2 1 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

20

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [2 1 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (2 0 - カルボキシエイコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [2 0 - カルボキシエイコサノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

30

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (2 2 - カルボキシドコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [2 2 - カルボキシドコサノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ²⁶ - (2 0 - カルボキシエイコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

40

N - ²⁶ - (2 2 - カルボキシドコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (2 0 - カルボキシエイコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [2 0 - カルボキシエイコサノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (2 2 - カルボキシドコサノ

50

イルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [22 - カルボキシドコサノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、

N - ²⁶ - (20 - カルボキシエイコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、又は

N - ²⁶ - (22 - カルボキシドコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、という化合物から選ばれる。

10

【0017】

一実施形態において、本発明の第1態様に記載の化合物は、

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [19 - カルボキシノナデカノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8, Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、又は N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (21 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8, Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、という化合物から選ばれる。

【0018】

20

本発明第2態様は、本発明の第1態様に記載の化合物と、薬学的に許容可能な賦形剤とを含む薬物製剤を提供する。

【0019】

一実施形態において、上記薬学的に許容可能な賦形剤は、緩衝剤、防腐剤、等張化剤、安定剤及びキレート剤のうちの一つ又は複数から選ばれる。別の実施形態において、上記薬学的に許容可能な賦形剤は、緩衝剤、防腐剤及び等張化剤である。

【0020】

一実施形態において、上記薬物製剤は、本発明の第1態様に記載の化合物、等張化剤、防腐剤及び緩衝剤を含む。好ましくは、上記薬物製剤において、本発明の第1態様に記載の化合物は、N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [19 - カルボキシノナデカノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8, Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド、又は N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (21 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8, Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチドである。

30

【0021】

一実施形態において、上記等張化剤は、塩化ナトリウム、プロピレングリコール、マンニトール、ソルビトール、グリセリン、グルコース及びキシリトールの一つ又は複数から選ばれ、好ましくはプロピレングリコール、マンニトール又は塩化ナトリウムである。

40

【0022】

別の実施形態において、上記防腐剤は、フェノール、m - 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、p - ヒドロキシ安息香酸ブチル、2 - フェニルエタノール、及びベンジルアルコールのうちの一つ又は複数から選ばれ、好ましくはフェノール又はm - クレゾールである。

【0023】

別の実施形態において、上記緩衝剤は、酢酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、クエン酸塩、グリシルグリシン、ヒスチジン、グリシン、リジン、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、及びトリス(ヒドロキシメチル) - アミノメタンのうちの一つ又は複数から選ばれ、好ましくは酢酸ナトリウム、クエン酸塩

50

、リン酸二水素ナトリウム、又はリン酸水素二ナトリウムである。

【0024】

一実施形態において、上記製剤のpHは約6.0～約10.0、好ましくは約6.5～約10.0、好ましくは約6.5～約9.5、好ましくは約6.5～約8.5、より好ましくは約7.0～約8.5、より好ましくは約7.0～約8.1、さらに好ましくは約7.3～約8.1である。

【0025】

一実施形態において、上記薬物製剤は、

約0.1～1.2mM、好ましくは約0.2～1mM、好ましくは約0.3～0.7mM、より好ましくは約0.48～0.6mMの本発明の第1態様に記載の化合物と、

約10～1500mM、好ましくは約13～800mM、好ましくは約65～400mM、好ましくは約90～240mM、好ましくは約150～250mM、好ましくは約180～200mM、より好ましくは約183～195mMであり、好ましくは、プロピレングリコール、グリセリン、マンニトール又は塩化ナトリウムのうちの1つ又は複数から選

ばれる等張化剤と、

約1～200mM、好ましくは約5～150mM、好ましくは約10～100mM、好ましくは約20～85mM、好ましくは約30～75mM、好ましくは約45～60mM、より好ましくは約50～60mMであり、好ましくは、フェノール又はm-クレゾールのうちの1つ又は複数から選ばれる防腐剤と、

約3～35mM、好ましくは約5～20mM、より好ましくは約5～15mM、より好ましくは約7～10mMであり、酢酸ナトリウム、クエン酸塩、リン酸二水素ナトリウム又はリン酸水素二ナトリウムのうちの1つ又は複数から選ばれる緩衝剤と、を含み、及び上記薬物製剤のpHは約6.0～約10.0、好ましくは約6.5～約9.5、好ましくは約6.5～約8.5、より好ましくは約7.0～約8.5、より好ましくは約7.0～約8.1、さらに好ましくは約7.3～約8.1である。

【0026】

別の実施形態において、上記薬物製剤は、約0.3～0.7mM、より好ましくは約0.48～0.6mMのN - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (2 1 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8 , A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、又はN - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [1 9 - カルボキシノナデカノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8 , A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチドと、約180～200mM、より好ましくは約183～195mMのプロピレングリコールと、約45～60mM、より好ましくは約50～60mMのフェノールと、約5～15mMであり、好ましくは約7～10mMのリン酸水素二ナトリウムである緩衝剤と、を含み、及び、上記薬物製剤のpHは約6.5～約8.5、より好ましくは約7.0～約8.5、さらに好ましくは約7.3～約8.3である。

【0027】

別の実施形態において、上記薬物製剤は、約0.5mMのN - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (2 1 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8 , A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、又はN - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [1 9 - カルボキシノナデカノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8 , A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチドと、約184mMのプロピレングリコールと、約58.5mMのフェノールと、約10mMのリン酸水素二ナトリウムと、を含み、及び、上記薬物製剤のpHは約6.5～約8.5、より好ましくは約7.0～約8.5、より好ましくは約7.0～約8.1、さらに好ましくは約7.3～約8.1である。

【0028】

10

20

30

40

50

別の実施形態において、上記薬物製剤は、約 2.0 mg/mL の N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (21 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ] エトキシ) エトキシ] アセチルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、又は N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [19 - カルボキシノナデカノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチドと、約 1.4 mg/mL のプロピレングリコールと、約 5.5 mg/mL のフェノールと、約 1.42 mg/mL のリン酸水素ナトリウムと、を含み、及び

上記薬物製剤の pH は約 6.5 ~ 約 8.5、より好ましくは約 7.0 ~ 約 8.5、より好ましくは約 7.0 ~ 約 8.1、さらに好ましくは約 7.3 ~ 約 8.1 である。

【 0 0 2 9 】

本発明の第 3 態様は、本発明の第 1 態様に記載の G L P - 1 化合物と、アシル化インスリンを含む薬物組成物を提供する。

【 0 0 3 0 】

一実施形態において、上記アシル化インスリンは、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - O E G)、d e s B 3 0 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - G l u - 2 x O E G)、d e s B 3 0 ヒトインスリン、又は B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 1 2 x P E G)、d e s B 3 0 ヒトインスリンである。

【 0 0 3 1 】

一実施形態において、上記アシル化インスリンは、そのインスリン母体が天然に存在するインスリン又はインスリン類似体であり、且つ少なくとも 1 つのリジン残基が含まれ、そのアシル基部分が上記インスリン母体のリジン残基又は N 末端アミノ酸残基のアミノ基に連結されているアシル化インスリンであり、上記アシル基部分は式 (A)、すなわち、I I I - (I I) m - (I) n - (A) で示され、ただし、m は 0 又は 1 ~ 1 0 の整数であり、n は 5 ~ 2 0 の整数であり、I は中性で、アルキレングリコールを含むアミノ酸残基であり、I I は酸性アミノ酸残基であり、I I I は 2 0 ~ 2 4 個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されており、I I I、I I 及び I の間はアミド結合で連結され、及び、I I と I の式 (A) における出現順番は独立的に交換可能である。

【 0 0 3 2 】

一実施形態において、n は 5 ~ 1 5 であり、好ましくは、n は 5、6、7、8、9、10、11、12、13 又は 14、好ましくは、n は 5、6、7、8、9、10、11 又は 12、好ましくは、n は 5、6、7、8、9 又は 10、好ましくは、n は 5、6、7、8 又は 9、好ましくは、n は 5、6、7 又は 8 である。

別の実施形態において、m は 1 ~ 6 であり、好ましくは、m は 1、2、3 又は 4 であり、好ましくは、m は 1 又は 2 であり、好ましくは、m は 1 である。

【 0 0 3 3 】

さらに別の実施形態において、I I I は 2 0 ~ 2 3 個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、好ましくは、I I I は 2 0、2 1 又は 2 2 個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、ただし、形態上で、ヒドロキシ基は、既に上記脂肪族二酸のカルボキシ基のうちの一つから除去されている。

【 0 0 3 4 】

別の実施形態において、上記インスリン母体は 1 つのリジン残基を含む。

一実施形態において、I は、- H N - (C H 2) 2 - O - (C H 2) 2 - O - C H 2 - C O -、- H N - (C H 2) 2 - O - (C H 2) 2 - O - (C H 2) 2 - O - (C H 2) 2 - O - (C H 2) 2 - C O -、- H N - (C H 2) 2 - O - (C H 2) 2 - O - (C H 2) 2 - O - (C H 2) 2 - O - (C H 2) 2 - O - (C H 2) 2 - O - (C H 2) 2 - O - (C H 2) 2 - C O -、- H N - (C H 2) 2 - O - (C H 2) 2 - O - (C H 2) 2 - O - (C H 2) 2 - O - (C H 2) 2 - O - (

$\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2$
 $- \text{CO} -$ 、 $-\text{HN} - (\text{CH}_2)_3 - \text{O} - (\text{CH}_2)_4 - \text{O} - (\text{CH}_2)_3 - \text{NH} - \text{CO} -$
 $-\text{HN} - (\text{CH}_2)_3 - \text{O} - (\text{CH}_2)_4 - \text{O} - (\text{CH}_2)_3 - \text{NH} - \text{CO} - \text{CH}_2 -$
 $\text{O} - \text{CH}_2 - \text{CO} -$ 、 $-\text{HN} - (\text{CH}_2)_3 - \text{O} - (\text{CH}_2)_4 - \text{O} - (\text{CH}_2)_3 - \text{N}$
 $\text{H} - \text{CO} - (\text{CH}_2)_2 - \text{CO} -$ 、 $-\text{HN} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - \text{CH}_2$
 $- \text{CO} - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CO} -$ 、 $-\text{HN} - (\text{CH}_2)_3 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} -$
 $(\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_3 - \text{NH} - \text{CO} - (\text{CH}_2)_2 - \text{CO} -$ 、 $-\text{HN} - (\text{CH}_2)$
 $)_3 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_3 - \text{NH} - \text{CO} - \text{CH}_2 - \text{O}$
 $- \text{CH}_2 - \text{CO} -$ 、 $-\text{HN} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{NH}$
 $- \text{CO} - (\text{CH}_2)_2 - \text{CO} -$ 、 $-\text{HN} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)$
 $)_2 - \text{NH} - \text{CO} - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CO} -$ 、 $-\text{HN} - (\text{CH}_2)_3 - \text{O} - (\text{CH}_2)$
 $)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_3 - \text{NH} - \text{CO} - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CO} -$
 $-\text{HN} - (\text{CH}_2)_3 - \text{O} - (\text{CH}_2)_3 - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CO} -$ 、又は $-\text{HN} - (\text{CH}$
 $)_2)_4 - \text{O} - (\text{CH}_2)_4 - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CO} -$ であり、好ましくは、Iは $-\text{HN} - (\text{C}$
 $)_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CO} -$ である。

【0035】

別の実施形態において、IIは Glu、Glu、Asp、Asp、-D-Glu、
 -D-Glu、-D-Asp又は -D-Aspから選ばれるアミノ酸残基で
 あり、好ましくは、IIは Glu又は Aspから選ばれる。

一実施形態において、IIIは $\text{HOOC} - (\text{CH}_2)_{18} - \text{CO} -$ 、 $\text{HOOC} - (\text{CH}_2)$
 $)_{19} - \text{CO} -$ 、 $\text{HOOC} - (\text{CH}_2)_{20} - \text{CO} -$ 、 $\text{HOOC} - (\text{CH}_2)_{21} - \text{CO} -$
 又は $\text{HOOC} - (\text{CH}_2)_{22} - \text{CO} -$ であり、好ましくは、IIIは $\text{HOOC} - (\text{CH}$
 $)_{2})_{18} - \text{CO} -$ 、 $\text{HOOC} - (\text{CH}_2)_{20} - \text{CO} -$ 又は $\text{HOOC} - (\text{CH}_2)_{22} - \text{C}$
 $\text{O} -$ である。

【0036】

一実施形態において、式(A)は、IのC末端により上記インスリン母体のリジン残基
 又はN末端アミノ酸残基のアミノ基に連結されている。

一実施形態において、上記アシル基部分は上記インスリン母体のリジン残基の アミノ基
 に連結されている。

一実施形態において、上記インスリン母体のリジン残基はB29位に位置する。

一実施形態において、上記インスリン母体は、desB30ヒトインスリン(配列番号4
 及び配列番号5、それぞれA鎖及びB鎖を示す)、A14E、B16H、B25H、des
 B30ヒトインスリン(配列番号6及び配列番号7、それぞれA鎖及びB鎖を示す)、
 A14E、B16E、B25H、desB30ヒトインスリン(配列番号8及び配列番号
 9、それぞれA鎖及びB鎖を示す)、ヒトインスリン(配列番号10及び配列番号11、
 それぞれA鎖及びB鎖を示す)、A21Gヒトインスリン(配列番号12及び配列番号1
 3、それぞれA鎖及びB鎖を示す)、A21G、desB30ヒトインスリン(配列番号
 14及び配列番号15、それぞれA鎖及びB鎖を示す)、又はB28Dヒトインスリン(
 配列番号16及び配列番号17、それぞれA鎖及びB鎖を示す)、というインスリン又は
 インスリン類似体から選ばれる。

【0037】

一実施形態において、上記アシル化インスリンは、B29K(N()-エイコサンジ
 アシル-Glu-5xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N()-
 エイコサンジアシル-Glu-6xOEG)、desB30ヒトインスリン、B29K
 (N()-エイコサンジアシル-Glu-Glu-5xOEG)、desB30ヒ
 トインスリン、B29K(N()-エイコサンジアシル-Glu-Glu-6xO
 EG)、desB30ヒトインスリン、B29K(N()-エイコサンジアシル-5x
 OEG-Glu)、desB30ヒトインスリン、B29K(N()-エイコサンジ
 アシル-6xOEG-Glu)、desB30ヒトインスリン、B29K(N()-
 エイコサンジアシル-6xOEG-Glu-Glu)、desB30ヒトインスリン

シル - Glu - Glu - 8 x OEG)、
 des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ド
 コサンジアシル - 7 x OEG - Glu)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B
 1 6 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - 8 x OEG - Glu)、
 des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ド
 コサンジアシル - 8 x OEG - Glu - Glu)、des B 30 ヒトインスリン、A
 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - 7 x OEG -
 Glu - Glu)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B
 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - Asp - 7 x OEG)、des B 30 ヒトイン
 スリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - A
 sp - 8 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B
 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 7 x OEG)、des B 30 ヒトイン
 スリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G
 lu - 8 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B
 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - Glu - Glu - 7 x OEG)、des B 3
 0 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジア
 シル - Glu - Glu - 8 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B
 1 6 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - Asp - 7 x OEG)、
 des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ド
 コサンジアシル - Asp - 8 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、B 2 9 K (N
 () - ヘンエイコサンジアシル - Glu - 5 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、
 B 2 9 K (N () - ヘンエイコサンジアシル - Glu - 6 x OEG)、des B
 3 0 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ヘンエイコ
 サンジアシル - Glu - 5 x OEG)、
 des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ヘ
 ンエイコサンジアシル - Glu - 6 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4
 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ヘンエイコサンジアシル - Glu - 5
 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N
 () - ヘンエイコサンジアシル - Glu - 6 x OEG)、des B 30 ヒトインス
 リン、B 2 9 K (N () - ヘンエイコサンジアシル - Glu - 7 x OEG)、des
 B 3 0 ヒトインスリン、B 2 9 K (N () - ヘンエイコサンジアシル - Glu - 8 x
 OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N
 () - ヘンエイコサンジアシル - Glu - 7 x OEG)、des B 30 ヒトインスリ
 ン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ヘンエイコサンジアシル -
 Glu - 8 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、
 B 2 9 K (N () - ヘンエイコサンジアシル - Glu - 7 x OEG)、des B 3 0
 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ヘンエイコサン
 ジアシル - Glu - 8 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、B 2 9 K (N ()
 - トリコサンジアシル - Glu - 5 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、B 2 9
 K (N () - トリコサンジアシル - Glu - 6 x OEG)、des B 30 ヒトインス
 リン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - トリコサンジアシル - G
 lu - 5 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B
 2 9 K (N () - トリコサンジアシル - Glu - 6 x OEG)、des B 30 ヒトイ
 ンスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - トリコサンジアシル -
 Glu - 5 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H
 、B 2 9 K (N () - トリコサンジアシル - Glu - 6 x OEG)、des B 3 0 ヒ
 トインスリン、B 2 9 K (N () - トリコサンジアシル - Glu - 7 x OEG)、d
 es B 30 ヒトインスリン、B 2 9 K (N () - トリコサンジアシル - Glu - 8 x
 OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N
 () - トリコサンジアシル - Glu - 7 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、

10

20

30

40

50

) - ドコサンジアシル - Glu - 9 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 1 0 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 1 1 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ヘンエイコサンジアシル - Glu - 1 2 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - トリコサンジアシル - Glu - 1 2 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - テトラコサンジアシル - Glu - 1 2 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 9 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 1 0 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 1 1 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 9 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 1 0 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 1 1 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、B 2 9 K (N () - ヘンエイコサンジアシル - Glu - 1 2 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、B 2 9 K (N () - トリコサンジアシル - Glu - 1 2 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、B 2 9 K (N () - テトラコサンジアシル - Glu - 1 2 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 1 8 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、又は A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 2 4 x OEG)、des B 30 ヒトインスリン、というインスリンから選ばれる。

【0038】

発明者は、本発明の第1態様に記載の化合物及びアシル化インスリンの薬物組成物が上記化合物の物理的安定性を低減させないだけでなく、複合製剤が単剤よりも優れた物理的安定性を有すると予期せずに発見した。他の長時間作用型インスリン誘導体（例えば、インスリンデグルデク及びリラグルチド）の複合製剤と比べて、本発明の複合製剤の物理的安定性は、予想以上である。また、複合製剤は単剤製剤と比べて、さらに上記アシル化インスリンの化学的安定性を向上させる。

【0039】

本発明の第4態様は、薬物として用いられる、本発明の第1態様に記載の化合物、本発明の第2態様に記載の薬物製剤又は本発明の第3態様に記載の薬物組成物の使用を提供する。

【0040】

一実施形態において、本発明の第1態様に記載の化合物、本発明の第2態様に記載の薬物製剤又は本発明の第3態様に記載の薬物組成物は、高血糖症、糖尿病、及び/又は肥満症の治療又は予防に用いられる。

【0041】

本発明の第5態様は、高血糖症、糖尿病、及び/又は肥満症を治療又は予防するための薬物の調製における、本発明の第1態様に記載の化合物、本発明の第2態様に記載の薬物製剤又は本発明の第3態様に記載の薬物組成物の使用を提供する。

【0042】

本発明の第6態様は、高血糖症、糖尿病、及び/又は肥満症を治療又は予防する方法を提供し、上記方法は、治療有効量の本発明の第1態様に記載の化合物、本発明の第2態様に記載の薬物製剤又は本発明の第3態様に記載の薬物組成物を投与することを含み、上記疾病は例えば、高血糖症、糖尿病及び肥満症を含むが、これらに限定されない。

【図面の簡単な説明】

【0043】

【図1a】本発明の実施例1～3の表題化合物、リラグルチド及び溶媒 (v e h i c l e

）の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果及び作用時間を示し、その中で、縦座標の百分率は、投与前基線血糖を基準にして、投与後の各モニタリングポイントでの血糖をそれと比べて得られた、対応する時点での血糖百分率である（以下同様）。

【図 1 b】図 1 a に対応して、本発明の実施例 1 ~ 3 の表題化合物、リラグルチド及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果の A U C を示す。

【図 2 a】本発明の実施例 2 の表題化合物、セマグルチド及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果及び作用時間を示す。

【図 2 b】図 2 a に対応して、本発明の実施例 2 の表題化合物、セマグルチド及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果の A U C を示す。

【図 3 a】本発明の実施例 3 ~ 4 の表題化合物、リラグルチド及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果及び作用時間を示す。 10

【図 3 b】図 3 a に対応して、本発明の実施例 3 ~ 4 の表題化合物、リラグルチド及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果の A U C を示す。

【図 4 a】本発明の実施例 1 ~ 3 の表題化合物、対照例 3 ~ 4 の表題化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果及び作用時間を示す。

【図 4 b】図 4 a に対応して、本発明の実施例 1 ~ 3 の表題化合物、対照例 3 ~ 4 の表題化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果の A U C を示す。

【図 5 a】本発明の実施例 1 1 の表題化合物（100 μ g / kg 及び 300 μ g / kg の用量である場合）、対照例 2 の表題化合物、溶媒（モデル対照群）の、高脂肪食誘導性肥満 C 5 7 B L マウス又は正常マウス（正常対照）に対する血糖降下効果及び作用時間を示す。 20

【図 5 b】図 5 a に対応して、本発明の実施例 1 1 の表題化合物、対照例 2 の表題化合物、溶媒（モデル対照群）の、高脂肪食誘導性肥満 C 5 7 B L マウス又は正常マウス（正常対照）に対する血糖降下効果の A U C を示す。

【図 5 c】本発明の実施例 1 1 の表題化合物、対照例 2 の表題化合物、溶媒（モデル対照群）の、高脂肪食誘導性肥満 C 5 7 B L マウス又は正常マウス（正常対照）に対する体重減少効果を示す。

【図 6 a】本発明の実施例 1 1 の表題化合物、対照例 2 の表題化合物、溶媒（モデル対照群）の、高脂肪食誘導性肥満 C 5 7 B L マウス又は正常マウス（正常対照）に対する、初回投与の 4 8 時間後に i p G T T が行われる場合の血糖降下効果を示す。 30

【図 6 b】図 6 a に対応して、本発明の実施例 1 1 の表題化合物、対照例 2 の表題化合物、溶媒（モデル対照群）の、高脂肪食誘導性肥満 C 5 7 B L マウス又は正常マウス（正常対照）に対する、初回投与の 4 8 時間後に i p G T T が行われる場合の血糖降下効果の A U C を示す。

【図 7 a】本発明の実施例 2 の表題化合物、対照例 2 の表題化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果を示す。

【図 7 b】図 7 a に対応して、本発明の実施例 2 の表題化合物、対照例 2 の表題化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果の A U C を示す。

【図 7 c】本発明の実施例 2 の表題化合物、対照例 2 の表題化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する摂食量の制御効果を示す。 40

【図 7 d】本発明の実施例 2 の表題化合物、対照例 2 の表題化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する摂水量の制御効果を示す。

【図 8 a】本発明の実施例 1 1 の表題化合物、対照例 2 の表題化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する長時間血糖降下効果を示す。

【図 8 b】図 8 a に対応して、本発明の実施例 1 1 の表題化合物、対照例 2 の表題化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する長時間血糖降下効果の A U C を示す。

【図 8 c】本発明の実施例 1 1 の表題化合物、対照例 2 の表題化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する長時間体重減少効果を示す。

【図 8 d】本発明の実施例 1 1 の表題化合物、対照例 2 の表題化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する長時間摂食量の制御効果を示す。 50

【図 8 e】本発明の実施例 1 1 の表題化合物、対照例 2 の表題化合物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する長時間摂水量の制御効果を示す。

【図 9 a】本発明の実施例 1 1 の表題化合物、実施例 2 の表題化合物、デュラグルチド及び溶媒の、K k a y マウスに対する血糖降下効果を示す。

【図 9 b】図 9 a に対応して、本発明の実施例 1 1 の表題化合物、実施例 2 の表題化合物、デュラグルチド及び溶媒の、K k a y マウスに対する血糖降下効果の A U C を示す。

【図 9 c】本発明の実施例 1 1 の表題化合物、実施例 2 の表題化合物、デュラグルチド及び溶媒の、K k a y マウスに対する H b A 1 c 降下効果を示す。

【図 1 0 a】本発明の実施例 1 1 の表題化合物、デュラグルチド、溶媒（モデル対照群）の、d b / d b マウス又は正常マウス（正常対照）に対する長時間血糖降下効果を示す。

10

【図 1 0 b】図 1 0 a に対応して、本発明の実施例 1 1 の表題化合物、デュラグルチド、溶媒（モデル対照群）の、d b / d b マウス又は正常マウス（正常対照）に対する長時間血糖降下効果の A U C を示す。

【図 1 0 c】本発明の実施例 1 1 の表題化合物、デュラグルチド、溶媒（モデル対照群）を d b / d b マウス又は正常マウス（正常対照）に投与する場合の注射前、3 回目、5 回目及び 1 1 回目の注射後のランダム血糖値を示す。

【図 1 0 d】本発明の実施例 1 1 の表題化合物、デュラグルチド、溶媒（モデル対照群）の、d b / d b マウス又は正常マウス（正常対照）に対する、初回投与の 4 8 時間後に i p G T T が行われる場合の血糖降下効果を示す。

【図 1 0 e】図 1 0 d に対応して、本発明の実施例 1 1 の表題化合物、デュラグルチド、溶媒（モデル対照群）の、d b / d b マウス又は正常マウス（正常対照）に対する、初回投与の 4 8 時間後に i p G T T が行われる場合の血糖降下効果の A U C を示す。

20

【図 1 1 a】本発明の実施例 1 1 の表題化合物、デュラグルチド、溶媒（モデル対照群）の、高脂肪食誘導性肥満 C 5 7 B L マウス又は正常マウス（正常対照）に対する長時間体重減少効果を示す。

【図 1 1 b】本発明の実施例 1 1 の表題化合物、デュラグルチド及び溶媒（モデル対照群）の、高脂肪食誘導性肥満 C 5 7 B L マウスに対する長時間摂食量の制御効果を示す。

【図 1 1 c】本発明の実施例 1 1 の表題化合物、デュラグルチド及び溶媒（モデル対照群）の、高脂肪食誘導性肥満 C 5 7 B L 雌マウスに対する卵巣周辺脂肪減少効果を示す。

【図 1 1 d】本発明の実施例 1 1 の表題化合物、デュラグルチド及び溶媒（モデル対照群）の、高脂肪食誘導性肥満 C 5 7 B L 雄マウスに対する精巣上体脂肪減少効果を示す。

30

【発明を実施するための形態】

【0 0 4 4】

定義

G L P - 1 類似体、及び G L P - 1 誘導体

本願に使用される「G L P - 1 類似体」又は「G L P - 1 の類似体」という用語は、ヒトグルカゴン様ペプチド - 1 (G L P - 1 (7 - 3 7)) の変異体であるペプチド又は化合物を指し、そのうち、G L P - 1 (7 - 3 7) の 1 つ又は複数のアミノ酸残基が置換され、及び / 又はその中の 1 つ又は複数のアミノ酸残基が欠乏され、及び / 又はそれに 1 つ又は複数のアミノ酸残基が追加されている。具体的に、G L P - 1 (7 - 3 7) の配列は配列表中の配列番号 1 に示される。配列番号 1 に示される配列を有するペプチドは、「天然」G L P - 1 又は「天然」G L P - 1 (7 - 3 7) と呼ばれてもよい。

40

【0 0 4 5】

配列表において、配列番号 1 の最初のアミノ酸残基（ヒスチジン）は、1 と番号付けられている。しかし、以下では、この分野で確立された慣例に従って、当該ヒスチジン残基の番号は 7 と決められ、かつ、その後のアミノ酸残基もそれに従って番号付けられ、最後は番号 3 7 のグリシンである。従って、一般的に、本願で言及される G L P - 1 (7 - 3 7) 配列のアミノ酸残基の番号付け又は位置の番号付けは、位置 7 の H i s で始まり、位置 3 7 の G l y で終わる配列である。

【0 0 4 6】

50

[G l y 8、A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチドは、G L P - 1 (7 - 3 7) (配列番号 1) の位置 8 及び位置 3 4 に対応する位置でそれぞれ G l y 及び A r g を有する G L P - 1 類似体であり、[A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチドは、G L P - 1 (7 - 3 7) (配列番号 1) の位置 3 4 に対応する位置で A r g を有する G L P - 1 類似体である。具体的に、[G l y 8、A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド及び [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチドのアミノ酸配列は、それぞれ配列表中の配列番号 2 及び配列番号 3 に示される。

【 0 0 4 7 】

G L P - 1 ペプチド又はその類似体の場合、本願に使用される「誘導体」という用語は、1 つ又は複数の置換基が既に上記ペプチドと共有結合されている、化学的に修飾された G L P - 1 ペプチド又は類似体を指す。置換基は、側鎖と呼ばれてもよい。

10

【 0 0 4 8 】

特に断りのない限り、リジン残基とのアシル化に言及する場合は、その - アミノ基と行うと理解する。

【 0 0 4 9 】

本発明に係る式 (B) の G L P - 1 誘導体は、異なる立体異性体形態があってもよく、それらは、同じ分子式及び連結する原子配列を有するが、その原子空間の 3 次元方向にのみ異なる。特に断りのない限り、本発明は、請求される誘導体の全ての立体異性体形態に関する。

【 0 0 5 0 】

「ペプチド」という用語は、例えば、本発明に係る G L P - 1 類似体に用いられる場合、アミド (又はペプチド) 結合により互いに連結される一連のアミノ酸を含む化合物を指す。

20

【 0 0 5 1 】

一具体的な実施形態において、ペプチドは、大体又は主に、アミド結合により互いに連結されるアミノ酸からなる (例えば、モル質量の少なくとも 5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 % 又は少なくとも 9 0 %)。別の具体的な実施形態において、ペプチドは、ペプチド結合により互いに連結されるアミノ酸からなる。

【 0 0 5 2 】

アミノ酸は、アミノ基及びカルボン酸基を含む分子であり、任意選択的に 1 つ又は複数の追加の基が含まれ、通常、側鎖と呼ばれる。

30

【 0 0 5 3 】

「アミノ酸」という用語は、タンパク性アミノ酸 (遺伝暗号でコードされ、天然アミノ酸と標準アミノ酸を含む)、及び非タンパク性 (タンパク質に発見されない、及び / 又は標準遺伝暗号においてコードされていない) と合成アミノ酸を含む。非タンパク質由来のアミノ酸は、ペプチド結合によりペプチドに組み込まれることが可能な部分であるが、タンパク質由来のアミノ酸ではない。合成された非タンパク由来のアミノ酸は、化学合成により産生されたアミノ酸、即ち、遺伝暗号でコードされたアミノ酸の D - 異性体、例えば D - アラニン及び D - ロイシン、A i b (- アミノイソ酪酸)、A b u (- アミノ酪酸)、3 - アミノメチル安息香酸、o - アミノ安息香酸、脱アミノ - ヒスチジン、例えば - アラニンなどのアミノ酸の類似体、D - ヒスチジン、脱アミノ - ヒスチジン、2 - アミノ - ヒスチジン、- ヒドロキシ - ヒスチジン、及びホモヒスチジン (h o m o h i s t i d i n e) などを含む。

40

【 0 0 5 4 】

遺伝暗号によりコードされていないアミノ酸の非限定的な例は、- カルボキシグルタミン酸、オルニチン、D - アラニン、D - グルタミン及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 - アラニン及び D - ロイシン、A i b (- アミノイソ酪酸)、- アラニン及び d e s - アミノ - ヒスチジン (d e s H、代替名称：イミダゾリルプロピオン酸、略語：I m p) である。

【 0 0 5 5 】

50

以下、光学異性体と明記されていないアミノ酸は全て、L-異性体であると理解する（特に断りのない限り）。

【0056】

薬学的に許容可能な塩、アミド又はエステル

本発明に係るGLP-1誘導体、類似体及び中間生成物は、薬学的に許容可能な塩、アミド又はエステルの形態にしてよい。塩は塩基性塩、酸性塩又は中性塩であってもよい。水中において、塩基性塩は水酸化物イオンを生じ、酸性塩はヒドロニウムイオンを生じる。本発明に係る誘導体の塩は、それぞれアニオン基又はカチオン基と反応した追加のカチオン又はアニオンにより形成されてもよい。これらの基は、ペプチド部分内に、及び/又は本発明に係る誘導体の側鎖内に位置してもよい。

10

【0057】

本発明に係る誘導体のアニオン基の非限定的な例は、側鎖（ある場合）及びペプチド部分における遊離カルボキシ基を含む。ペプチド部分は通常、C末端の遊離カルボン酸を含み、内部酸性アミノ酸残基、例えば、Asp及びGluにおける遊離カルボキシ基を含んでもよい。

【0058】

ペプチド部分のカチオン基の非限定的な例は、N末端の遊離アミノ基（ある場合）、及び内部塩基性アミノ酸残基、例えばHis、Arg及びLysにおける何れかの遊離アミノ基を含む。

【0059】

本発明に係る誘導体のエステルは、例えば、遊離カルボン酸基とアルコール又はフェノールとの反応により形成されてよく、それで、少なくとも1つのヒドロキシ基がアルコキシ基又はアリアルコキシ基で置換されることになる。エステルの形成は、ペプチドのC末端の遊離カルボキシ基、及び/又は側鎖の何れかの遊離カルボキシ基に関わってよい。

20

【0060】

本発明に係る誘導体のアミドは、例えば、遊離カルボン酸基とアミン又は置換アミンとの反応により、或いは、遊離又は置換アミノ基とカルボン酸との反応により生成されてよい。アミドの形成は、ペプチドのC末端の遊離カルボキシ基、側鎖の何れかの遊離カルボキシ基、ペプチドのN末端の遊離アミノ基、及び/又は、ペプチド及び/又は側鎖における何れかの遊離又は置換のペプチドアミノ基に関わってよい。

30

【0061】

一具体的な実施形態において、本発明に係るGLP-1化合物又はGLP-1誘導体は、薬学的に許容可能な塩の形態にしている。別の具体的な実施形態において、薬学的に許容可能なアミドの形態にすることは、ペプチドのC末端にアミド基を有することが好ましい。更なる具体的な実施形態において、ペプチド又は誘導体は、薬学的に許容可能なエステルの形態にしている。

【0062】

本発明に係るGLP-1(7-37)のペプチド及びGLP-1類似体の調製方法は、当該分野における公知のものである。本発明に係る誘導体のGLP-1ペプチド部分（又はその断片）及び本発明に係るGLP-1類似体は、例えば、t-Boc又はFmoc化学法を用いた固相ペプチド合成や他の完全な技術のような伝統的なペプチド合成により製造することができ、例えば、Greene及びWuts、「Protective Groups in Organic Synthesis」、John Wiley & Sons、1999、Florencio Zaragoza「Organic Synthesis on solid Phase」、Wiley-VCH Verlag GmbH、2000、及びW.C.Chan及びP.D.Whiteにより編集された「Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis」、Oxford University Press、2000を参照する。

40

【0063】

一実施形態において、本発明に係る完全なGLP-1類似体、例えば、[Gly8、A

50

rg 34] GLP-1-(7-37)ペプチドは、組換え法により、即ち、宿主細胞を培養することにより産生することができ、当該宿主細胞は、この類似体をコードするDNA配列を含み、このペプチドの発現が許容される条件下で適当な栄養培地において当該ペプチドを発現することができる。これらのペプチドの発現に適する宿主細胞の非限定的な例は、大腸菌 (*Escherichia coli*)、出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 及び哺乳動物BHK又はCHO細胞系である。幾つかの実施形態において、製造プロセス法におけるこの完全組換え発酵工程は、例えば、製造の経済性から考えると、需要を満たしている。

【0064】

GLP-1化合物主鎖を含む融合タンパク質封入体を変性・再生し、正確な立体配座を含む融合タンパク質を得て、酵素切断、沈殿析出、遠心分離などの一連の処理をした後、高い含有量のGLP-1化合物主鎖を得る。イオン交換クロマトグラフィーにより精製し、処理した後、純度が比較的高いGLP-1化合物主鎖を得る。

10

【0065】

「賦形剤」という用語は、広義的に、活性治療成分以外の任意の成分を指す。賦形剤は、不活性物質、活性のない物質及び/又は薬学的活性のない物質であってもよい。

【0066】

賦形剤は、例えば、担体、溶媒、希釈剤、錠剤助剤とする、及び/又は、投与及び/又は活性物質の吸収を改善するといった様々な目的に使用することができる。

【0067】

薬物活性成分と異なる賦形剤との配合は、当該分野で知られているものであり、例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy (例えば、第19版(1995)と任意の更新版)を参照する。

20

【0068】

賦形剤の非限定的な例は、溶剤、希釈剤、緩衝剤、防腐剤、等張化剤、キレート剤及び安定剤である。

【0069】

本発明に係るGLP-1誘導体及び類似体は、GLP-1活性を有する。GLP-1活性を有するとは、GLP-1受容体と結合してシグナル伝達経路を引き起こしてインスリン分泌促進作用や他の生理的効果を奏する能力を指す。

30

【0070】

一具体的な実施形態において、効力、効能及び/又は活性とは、体外効能、即ち、機能的GLP-1受容体測定中の表現であり、さらに特に、クローンのヒトGLP-1受容体を発現する細胞系におけるcAMP形成への刺激能力である。

【0071】

別の具体的な実施形態において、本発明に係る誘導体は体内で強力であり、任意の適当な動物モデル及び臨床試験において、当該分野で知られている方法により測定することができる。例えば、糖尿病性db/dbマウスは、適当な動物モデルの一例であり、このようなマウス体内では、例えば、本発明の実施例部分に記載されるように、血糖降下効果を測定することができる。

40

【0072】

「インスリン」という用語は、ヒトインスリンなどの天然に存在するインスリン、及びそのインスリン類似体、インスリン誘導体を含む。

【0073】

「インスリン類似体」という用語は、形態上で、天然インスリンに存在する1つ又は複数のアミノ酸残基の欠乏及び/又は置換(置き換え)、及び/又は、少なくとも1つのアミノ酸残基の添加により、天然に存在するインスリン(例えばヒトインスリン)の構造から誘導可能な分子構造を有するポリペプチドを含む。好ましくは、置換されるアミノ酸残基は、コード可能なアミノ酸残基である。

【0074】

50

ここで、「インスリン誘導体」という用語は、化学的に修飾された天然に存在するインスリン又はインスリン類似体を指し、この修飾は、例えば、インスリン骨格の1つ又は複数の位置への側鎖の導入、又はインスリン上のアミノ酸残基の基の酸化又は還元、又は遊離カルボキシ基のエステル基への変換、又は遊離アミノ基又はヒドロキシ基のアシル化であってよい。本発明のアシル化インスリンは、インスリン誘導体に属する。

【0075】

「インスリン母体」という用語は、インスリン誘導体又はアシル化インスリンのインスリン部分（本明細書において母体インスリンとも称する）を指し、例えば、本発明では、アシル化インスリンにおけるアシルが付けられていない部分を指す。インスリン母体は、ヒトインスリンやブタインスリンなど、天然に存在するインスリンであってよい。一方、母体インスリンはインスリン類似体であってよい。

10

【0076】

ここで、「アミノ酸残基」という用語は、その中の水素原子が既にアミノ基から除去され、及び/又はヒドロキシ基が既にカルボキシ基から除去され、及び/又は水素原子が既にスルフヒドリル基から除去されたアミノ酸を含む。不正確に、アミノ酸残基はアミノ酸と呼ばれてよい。

【0077】

特に断りのない限り、本願に言及されたアミノ酸はいずれも、L-アミノ酸である。

【0078】

ここで、アルキレングリコールという用語は、オリゴ/ポリアルキレングリコール部分及びモノアルキレングリコール部分を含む。モノアルキレングリコール及びポリアルキレングリコールは、例えば、モノエチレングリコールとポリエチレングリコールに基づいた鎖、モノプロピレングリコールとポリプロピレングリコールに基づいた鎖、及びモノブチレングリコールとポリブチレングリコールに基づいた鎖、即ち繰り返し単位である $-CH_2CH_2O-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2O-$ 又は $-CH_2CH_2CH_2CH_2O-$ に基づいた鎖を含む。アルキレングリコール部分は、単分散（明確に定義された長さ/分子量を有する）であっても、多分散（明確に定義されていない長さ/平均分子量を有する）であってもよい。モノアルキレングリコール部分は、それぞれの末端に異なる基が含まれた $-OCH_2CH_2O-$ 、 $-OCH_2CH_2CH_2O-$ 又は $-OCH_2CH_2CH_2CH_2O-$ を含む。

20

30

【0079】

「脂肪酸」という用語は、少なくとも2つの炭素原子を有し、飽和又は不飽和である直鎖又は分岐鎖脂肪族カルボン酸を含む。脂肪酸の非限定的な例は、例えば、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸及びエイコサン酸である。

【0080】

ここで、「脂肪族二酸」という用語は、少なくとも2つの炭素原子を有し、飽和又は不飽和である直鎖又は分岐鎖脂肪族ジカルボン酸を含む。脂肪族二酸の非限定的な例は、アジピン酸、スベリン酸、セバシン酸、ドデカン二酸、テトラデカン二酸、ヘキサデカン二酸、ヘプタデカン二酸、オクタデカン二酸、エイコサン二酸、ドコサン二酸及びテトラコサン二酸である。

40

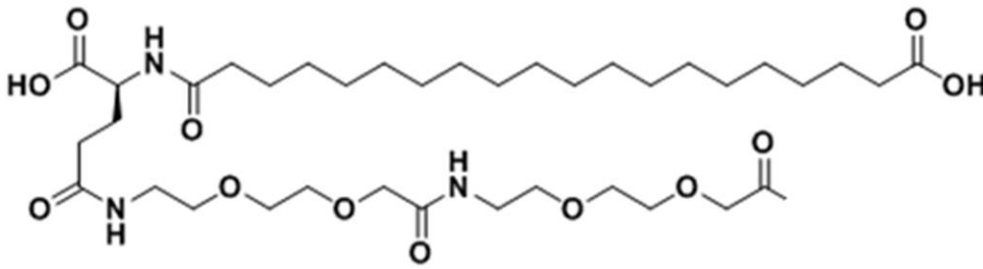
【0081】

本願において、インスリン又はGLP-1化合物の命名は、以下の原則に従って実施され、すなわち、ヒトインスリンに対する突然変異及び修飾（例えば、アシル化）、又は天然GLP-1（7-37）の突然変異及び修飾（例えば、アシル化）によって、名前が付けられる。アシル基部分の命名は、IUPAC命名法に従って、及び他の場合には、ペプチド命名法に従って命名される。例えば、下記のアシル基部分を命名する。

【0082】

50

【化 1】



10

例えば、「エイコサンジアシル - Glu - OEG - OEG」、「エイコサンジアシル - Glu - 2xOEG」又は「エイコサンジアシル - gGlu - 2xOEG」、「19 - カルボキシノナデカノイル - Glu - 2xOEG」又は「19 - カルボキシノナデカノイル - Glu - OEG - OEG」と命名することができ、そのうち、OEGは、-NH(CH₂)₂O(CH₂)₂OCH₂CO - (即ち、2 - [2 - (2 - アミノエトキシ)エトキシ]アセチル)という基の略称を示し、Glu(及びgGlu)は、L配置であるアミノ酸 グルタミン酸の略語である。又は、アシル基部分は、IUPAC命名法(OpenEye、IUPAC形式)に従って命名することができる。当該命名法に従って、本発明の上記アシル基部分は、「[2 - [2 - [2 - [2 - [2 - [(4S) - 4 - カルボキシ - 4 - (19 - カルボキシノナデカノイルアミノ)ブチリル] - アミノ] - エトキシ] - エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]」又は「[2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (19 - カルボキシノナデカノイルアミノ) - 4(S) - カルボキシブチリルアミノ]エトキシ)エトキシ]アセチルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル]」と称される。

20

【0083】

例えば、本発明の実施例6のインスリン(以下に示される配列/構造を有する)は、「B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 5xOEG)、desB30ヒトインスリン」、「B29K(N - エイコサンジアシル - Glu - 5xOEG)、desB30ヒトインスリン」又は「B29K(N - エイコサンジアシル - gGlu - 5xOEG)、desB30ヒトインスリン」と称され、ヒトインスリン中の位置B29のアミノ酸Kが既にB29のリジン残基の窒素(N又は(N()と称する)で残基であるエイコサンジアシル - gGlu - 2xOEGによりアシル化されことで修飾され、且つヒトインスリン中の位置B30のアミノ酸Tが欠乏されることを示す。また、例えば、対照例5のインスリン(以下に示される配列/構造を有する)は、「A14E、B16H、B25H、B29K(N - エイコサンジアシル - gGlu - 2xOEG)、desB30ヒトインスリン」又は「A14E、B16H、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 2xOEG)、desB30ヒトインスリン」と呼ばれ、ヒトインスリン中の位置A14のアミノ酸Yが既にEに突然変異され、ヒトインスリン中の位置B16のアミノ酸Yが既にHに突然変異されて、ヒトインスリン中の位置B25のアミノ酸Fが既にHに突然変異され、ヒトインスリン中の位置B29のアミノ酸Kが既にB29のリジン残基の窒素(Nと呼ばれる)で残基であるエイコサンジアシル - gGlu - 2xOEGによりアシル化されて修飾され、且つヒトインスリン中の位置B30のアミノ酸Tが欠乏されていることを示す。

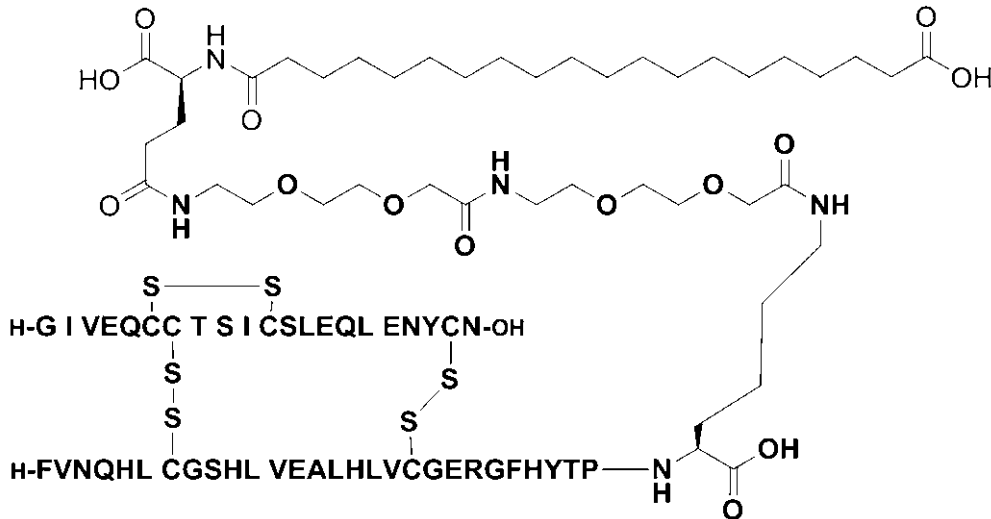
30

40

【0084】

50

【化2】



10

本明細書において、「 $n \times \text{PEG}$ 」は、 $-\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{CO}-$ を示し、ただし、 n が整数である。例えば、「 $12 \times \text{PEG}$ 」は、 $-\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{12}\text{CH}_2\text{CO}-$ という基を示す。

【0085】

20

インスリンは、膵臓中の β -細胞から分泌されたポリペプチドホルモンであり、AとBその2本のポリペプチド鎖からなり、上記A鎖とB鎖は2つの鎖間ジスルフィド結合によって連結されている。また、上記A鎖は、1つの鎖内ジスルフィド結合を有することを特徴とする。

【0086】

微生物においてヒトインスリンを調製するには、主に3つの方法がある。2つは大腸菌に関するが、その1つは、細胞質において融合タンパク質を発現することによるものであり(Frank et al. (1981) in Peptides: Proceedings of the 7th American Peptide Chemistry Symposium (Rich & Gross, eds.), Pierce Chemical Co., Rockford, ILL. ページ729~739)、もう1つは、細胞周辺腔に分泌できるようにシグナルペプチドを使用するものである(Chan et al. (1981) PNAS 78: 5401-5404)。3つ目の方法は、インスリン前駆体が培地に分泌されるように出芽酵母を使用するものである(Thim et al. (1986) PNAS 83: 6766~6770)。従来技術には、大腸菌又は出芽酵母においてインスリン前駆体を発現させる方法が多く開示されていて、例えば、米国特許第5,962,267号、WO95/16708、EP0055945、EP0163529、EP0347845及びEP0741188が参照される。

30

【0087】

インスリン類似体のベクターの構築、発現、処理及び精製は、当業者の公知の技術で実施することができる。例えば、米国特許第6500645号に開示されている公知の技術により、適切な宿主細胞において目標インスリン類似体をコードするDNA配列を発現させることで、上記インスリン類似体を調製することができる。例えば、下記の文献で報告された方法によりインスリン類似体を調製してもよい: Glendorf T、(外1)

40

Sørensen AR、

Nishimura E, Pettersson I, & Kjeldsen T: Importance of the Solvent-Exposed Residues

50

of the Insulin B Chain - Helix for Receptor Binding, *Biochemistry* 2008 47 4743 - 4751。当該文献では、オーバーラップエクステンションPCRにより、インスリンをコードするベクターに突然変異を導入する。インスリン類似体は、Ala-Ala-Lys小C-ペプチドを有するブレインスリン様融合タンパク質として出芽酵母菌株MT663において発現される。加水分解アクロモバクター (*A. lyticus*) エンドプロテアーゼにより、単鎖前駆体は、酵素的に二本鎖desB30類似体に変換される。

【0088】

単離されたインスリン類似体は、この分野での公知のアシル化方法により所望の位置でアシル化することができ、このようなインスリン類似体の例は、例えば、公開番号がCN 1029977C、CN1043719A及びCN1148984Aである中国特許出願に記載されている。

【0089】

コードする各インスリン類似体のポリペプチドの核酸配列は、Beaucage et al. (1981) *Tetrahedron Letters* 22:1859~1869に記載された方法、又はMatthes et al. (1984) *EMBO Journal* 3:801~805に記載された方法などの確立された標準的な方法により合成して調製することができる。

【0090】

以下、実施例により本発明をさらに説明する。これらの実施例は、本発明の請求範囲を制限するものではないと注意すべきである。

【0091】

実施例

略語

cAMPは、環状アデノシンーリン酸である。

BHKは、ベビーハムスター腎臓細胞である。

DNAは、デオキシリボ核酸である。

Na₂HPO₄は、リン酸水素二ナトリウムである。

NaOHは、水酸化ナトリウムである。

OEGは、アミノ酸残基 - NH(CH₂)₂O(CH₂)₂OCH₂CO - である。

OSuは、スクシンイミド - 1 - イルオキシ - 2, 5 - ジオキソ - ピロリジン - 1 - イルオキシである。

OtBuは、オキシ - tert - ブチルである。

HClは、塩化水素である。

Gluc又はglucは、L - グルタミル基である。

NHSは、N - ヒドロキシスクシンイミドである。

DCCは、ジシクロヘキシルカルボジイミドである。

EEEAは、2 - (2 - (2 - アミノエトキシ)エトキシ)酢酸である。

OHは、ヒドロキシラジカルである。

Glyは、グリシンである。

ARGは、アルギニンである。

TFAは、トリフルオロ酢酸である。

HbA1cは、糖化ヘモグロビンである。

【実施例1】

【0092】

表題化合物：N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (19 - カルボキシノナデカノイルアミノ) - 4(S) - カルボキシブチリルアミノ]エトキシ)エトキシ]アセチルアミノ)エトキシ]エトキシ]アセチル][Gly₈, Arg₃₄]GLP - 1 - (7 - 37)ペプチド (化合物1)

【0093】

10

20

30

40

50

%のクエン酸水溶液(200 mL)を加え、分液し、下層有機相に飽和食塩水を加えて水洗し、分液後に下層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させた。27.27 g(収率96%)のtert-ブチルエイコサンジアシル-Glu-OtBuを得た。

LC-MS(Sciex 100API): m/z = 584.44(M+1)⁺

2.3 tert-ブチルエイコサンジアシル-Glu(OSu)-OtBu
窒素ガス保護の条件下で、tert-ブチルエイコサンジアシル-Glu-OtBu(27.27 g、46.71 mmol)をジクロロメタン(300 mL)に溶解し、トリエチルアミン(11.99 mL)を加えて10分間攪拌し、さらにNHS(5.38 g、50.17 mmol)を加えてから、DCC(10.60 g、51.38 mmol)を加えた。室温下で混合物を一晩攪拌した。ろ過し、得られたろ液をほぼ乾燥になるまで濃縮させ、残留物を冷たい水及び酢酸エチルと混合し、20分間攪拌し、分液し、上層有機相に飽和食塩水を加えて水洗し、分液後に上層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、メチルtert-ブチルエーテルを加え、30分間攪拌し、吸引ろ過し、ろ過ケーキを真空で一晩乾燥させ、25.76 g(収率81%)のtert-ブチルエイコサンジアシル-Glu-(OSu)-OtBuを得た。

LC-MS(Sciex 100API): m/z = 681.46(M+1)⁺

2.4 tert-ブチルエイコサンジアシル-Glu-(2xOEG-OH)-OtBu

tert-ブチルエイコサンジアシル-Glu-(OSu)-OtBu(25.76 g、37.83 mmol)をジクロロメタン(250 mL)に溶解して攪拌し、順に2xAEA(11.66 g、37.83 mmol)、トリエチルアミン(9.71 mL)、水(25 mL)を加え、それを加熱して清澄な溶液を得て、当該溶液を室温下で4時間攪拌した。次に10%のクエン酸水溶液(200 mL)を加え、分液し、下層有機相に飽和食塩水を加えて水洗し、分液後に下層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させた。30.75 g(収率93%)のtert-ブチルエイコサンジアシル-Glu-(2xOEG-OH)-OtBuを得た。

LC-MS(Sciex 100API): m/z = 874.59(M+1)⁺

2.5 tert-ブチルエイコサンジアシル-Glu-(2xOEG-OSu)-OtBu

窒素ガス保護の条件下で、tert-ブチルエイコサンジアシル-Glu-(2xOEG-OH)-OtBu(30.75 g、35.18 mmol)をジクロロメタン(300 mL)に溶解し、トリエチルアミン(9.03 mL)を加えて10分間攪拌し、さらにNHS(4.05 g、35.18 mmol)を加えてから、DCC(7.98 g、38.70 mmol)を加えた。室温下で混合物を一晩攪拌した。ろ過し、得られたろ液をほぼ乾燥になるまで濃縮させ、残留物を冷たい水及び酢酸エチルと混合し、20分間攪拌し、分液し、上層有機相に飽和食塩水を加えて水洗し、分液後に上層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、ろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させ、31.09 g(収率91%)のtert-ブチルエイコサンジアシル-Glu-(2xOEG-OSu)-OtBuを得た。

LC-MS(Sciex 100API): m/z = 971.61(M+1)⁺

【実施例2】

【0094】

表題化合物: N-²⁶-[2-(2-[2-(4-[19-カルボキシノナデカノイルアミノ])-4(S)-カルボキシブチルアミノ)エトキシ]エトキシ)アセチル][Gly8, Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド(化合物2)

【0095】

10

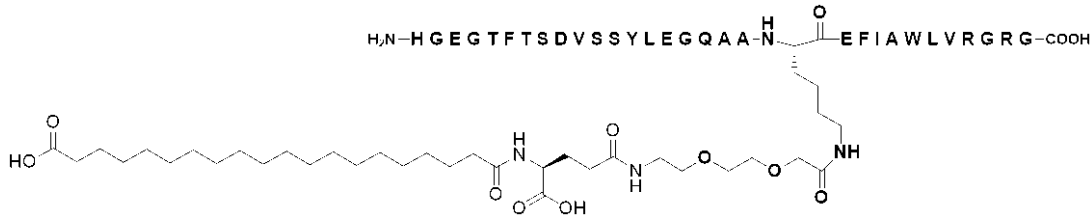
20

30

40

50

【化 4】



実施例 1 のパート 1 と類似する工程に従って、N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [19 - カルボキシノナデカノイルアミノ] - 4 (S) - カルボキシブチリルアミノ) エトキシ] エトキシ) アセチル] [Gly 8、Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチドを調製した

LC - MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 992.52 [M+4H]^{4+}$

中間体 tert - ブチルエイコサンジアシル - Glu - (OEG - OSu) - OtBu の調製は、実施例 1 のパート 2 と類似する工程に従って行われた。

LC - MS (Sciex 100API) : $m/z = 826.54 (M+1)^+$

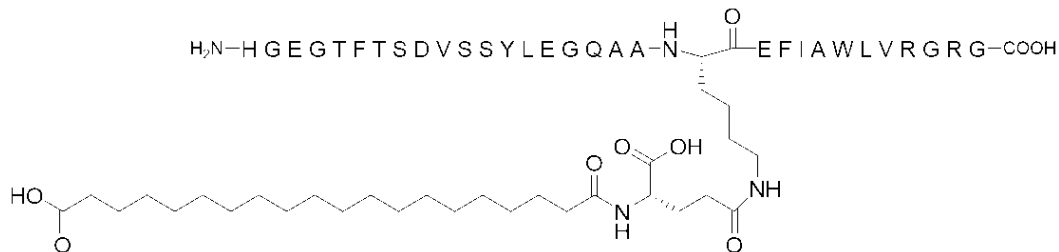
【実施例 3】

【0096】

表題化合物 : N - ²⁶ - (19 - カルボキシノナデカノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [Gly 8、Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド (化合物 3)

【0097】

【化 5】



実施例 1 のパート 1 と類似する工程に従って、N - ²⁶ - (19 - カルボキシノナデカノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [Gly 8、Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチドを調製した

LC - MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 956.25 [M+4H]^{4+}$

中間体 tert - ブチルエイコサンジアシル - Glu - (OSu) - OtBu の調製は、実施例 1 のパート 2 と類似する工程に従って行われた。

LC - MS (Sciex 100API) : $m/z = 681.46 (M+1)^+$

【実施例 4】

【0098】

表題化合物 : N - ²⁶ - (19 - カルボキシノナデカノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド (化合物 4)

【0099】

10

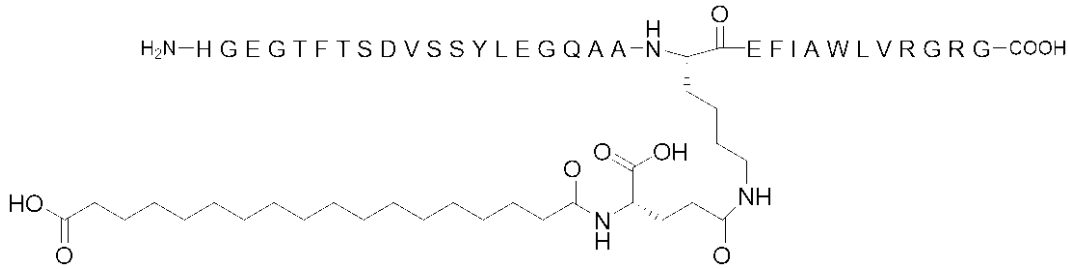
20

30

40

50

【化 8】



実施例 1 のパート 1 と類似する工程に従って、N - 26 - (17 - カルボキシヘプタデ
カノイルアミノ) - 4 (S) - カルボキシブチリル - [Gly 8、Arg 34] GLP -
1 - (7 - 37) ペプチドを調製した

LC - MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 949.24 [M+4H]^{4+}$

中間体 t e r t - ブチルオクタデカンジアシル - Glu - (O S u) - O t B u の調製
 は、実施例 1 のパート 2 と類似する工程に従って行われた。

LC-MS (Sciex 100API) : $m/z = 653.43 (M+1)^+$

【実施例 5】

【0104】

db / db マウスにおける薬効学的研究

本研究は、糖尿病の場合に、本発明に係る GLP - 1 誘導体の高血糖 (BG) への調節効果
 を確認することを目的とする。

【0105】

肥満の 2 型糖尿病 (T2DM) マウスモデル (db / db マウス) では、単回用量研究
 において実施例 1 ~ 4 及び対照例 1 ~ 4 の表題化合物 (GLP - 1 誘導体とも称する) を
 試験した。100 $\mu\text{g} / \text{kg}$ の用量で上記 GLP - 1 誘導体による血糖降下の薬効効果を
 試験した。

【0106】

8 ~ 9 週齢の雄 db / db (BKS / Lep r) マウスをバリア環境において適当な仕
 様の飼育ボックスで飼育し、標準餌及び精製水を自由に摂取させ、環境条件を相対湿度 4
 0 % ~ 60 %、温度 22 ~ 24 に制御した。1 ~ 2 週間の順応期間後、実験に使用し
 始めた。

【0107】

当日の実験開始前、約午前 9 : 30 に基礎血糖を評価し、マウスの体重を測定した。ラン
 ダム血糖と体重によって、マウスを溶媒群又は治療群に適合させて割り当て、溶媒が皮
 下注射され、又は GLP - 1 誘導体 100 $\mu\text{g} / \text{kg}$ が皮下注射されるように処理し、そ
 のうち、溶媒は、プロピレングリコール 14 mg / mL 、フェノール 5.5 mg / mL 、
 リン酸水素二ナトリウム 1.133 mg / mL を含み、上記溶媒の pH は 8.12 であっ
 た。

【0108】

20 $\mu\text{g} / \text{mL}$ の投与濃度になるまで上記 GLP - 1 誘導体を溶媒に溶解し、投与体積
 は 5 mL / kg (即ち、50 $\mu\text{l} / 10\text{g}$ の体重) であった。皮下投与により、頸背部に
 皮下注射で 1 回投与した。約午前 10 : 30 (時間 0) に、対応する GLP - 1 誘導体を
 投与し、投与期間に動物に餌と水を自由に摂取させ、投与の 2、4、6、8、10、12
 、24、48 及び 72 時間後にマウスの血糖を評価した。ラットの尾部をアルコール綿球
 で掃除し、使い捨ての採血針で尻尾から血滴を採取し、血糖値測定器及び付属の試験紙 (ロ
 シュ) により測定した。投与の 24、48 及び 72 h 後にそれぞれマウスの摂食量及び
 各マウスの体重を測った。

【0109】

投与前基線血糖を基準にして、投与後の各々のモニタリングポイントでの血糖をそれと
 比べて、対応する時点での血糖百分率を得て、それぞれの単回用量の GLP - 1 誘導体に

ついて血糖百分率の時間に対する用量反応曲線を作成し、GLP-1誘導体による血糖への影響を定量的に説明するために、それぞれ個別の用量応答曲線について、0～72時間の血糖百分率-時間の曲線下面積(AUC_{0-72h})を算出した。そのうち、AUCは時間-血糖百分率曲線の曲線下面積であり、AUC値が小さいほど、血糖降下効果が良くなり、薬効が良くなることを示す。

【0110】

図1a～4bは、本発明に係るGLP-1誘導体が予想以上の向上した薬効を有することを示しており、例えば、実施例1～4の表題化合物によるdb/dbマウスの血糖降下効果は、リラグルチド及び対照例3～4の化合物よりも明らかに優れている。特に本発明の実施例2の化合物の血糖降下効果は、セマグルチドよりも優れている。さらに、本発明に係るGLP-1誘導体、例えば、実施例1～4の化合物は、db/dbマウスにおける有効作用時間がリラグルチド及び対照例3～4の化合物と比べて明らかに長くなり、特に実施例2の化合物は、db/dbマウスにおける血糖降下有効作用時間がセマグルチドよりも長い。

10

【実施例6】

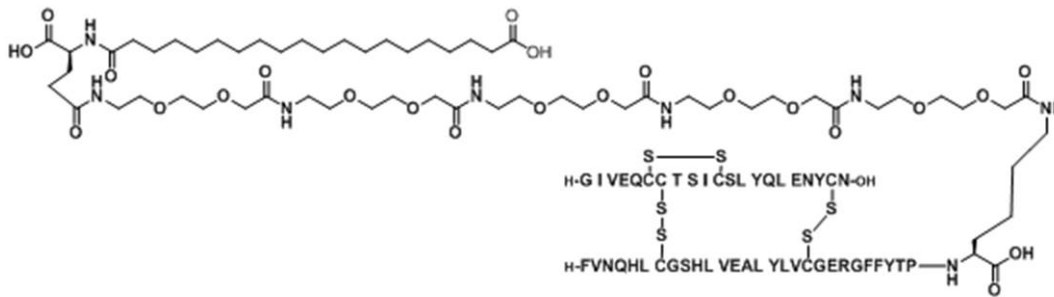
【0111】

B29K(N()-エイコサンジアシル-Glu-5xOEG)、desB30ヒトインスリン(化合物5)

【0112】

【化9】

20



30

1、des(B30)ヒトインスリンの合成

des(B30)ヒトインスリンは、中国特許CN1056618Cの実施例101に記載された方法により調製した。

【0113】

2、目標インスリンの調製

desB30ヒトインスリン(5g、0.876mmol)を100mMのNa₂HPO₄水溶液(150mL)に溶解し、アセトニトリル(100mL)を加え、1NのNaOHでpH10～12.5にpHを調整した。tert-ブチルエイコサンジアシル-Glu-(5xOEG-OSu)-OtBu(1.36g、0.964mmol)をアセトニトリル(50mL)に溶解し、インスリン溶液に徐々に加えた。pHを10～12.5に維持した。120分間後、反応混合物を水(150mL)に加え、1NのHCl水溶液でpHを5.0に調整した。遠心分離により沈殿を分離し、凍結乾燥させた。粗生成物をトリフルオロ酢酸(60mL)とジクロロメタン(60mL)の混合溶液に加え、室温下で30分間攪拌した。混合物を約30mLに濃縮し、氷冷したn-ヘプタン(300mL)に注ぎ、ろ過により沈殿した生成物を分離し、n-ヘプタンで2回洗浄した。真空で乾燥した後、イオン交換クロマトグラフィー(Resource Q、42.5%のエタノールにおける0.25%～1.25%の酢酸アンモニウム勾配、pH7.5)、逆相クロマトグラフィー(アセトニトリル、水、TFA)により精製し、精製された画分を合併し、1NのHClでpHを5.2に調整し、沈殿物を分離し、凍結乾燥させ、表題化合物である化合物5を得た。

40

50

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 1377.53 [M+5H]^{5+}$

3、中間体 *tert*-ブチルエイコサンジアシル - Glu - (5xOEG - OSu) - OtBu の調製

3.1 *tert*-ブチルエイコサンジアシル - OSu

窒素ガス保護の条件下で、エイコサン二酸モノ*tert*-ブチル (20 g、50.17 mmol) と NHS (5.77 g、50.17 mmol) をジクロロメタンに混合し、トリエチルアミン (13.95 mL) を加え、得られた混濁混合物を室温下で攪拌してから、DCC (11.39 g、55.19 mmol) を加え、さらに一晩攪拌した。ろ過し、得られたろ液をほぼ乾燥になるまで濃縮させ、残留物を冷たい水及び酢酸エチルと混合し、20分間攪拌し、分液し、上層有機相に飽和食塩水を加えて水洗し、分液後に上層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させ、24.12 g (収率97%) の *tert*-ブチルエイコサンジアシル - OSu を得た。 10

LC-MS (Sciex 100API) : $m/z = 496.36 (M+1)^+$

3.2 *tert*-ブチルエイコサンジアシル - Glu - OtBu

tert-ブチルエイコサンジアシル - OSu (24.12 g、48.66 mmol) をジクロロメタン (250 mL) に溶解して攪拌し、順に H-Glu - OtBu (10.88 g、53.53 mmol)、トリエチルアミン (12.49 mL)、水を加え、それを加熱して清澄な溶液を得て、当該溶液を室温下で4時間攪拌した。次に10%のクエン酸水溶液 (200 mL) を加え、分液し、下層有機相に飽和食塩水を加えて水洗し、分液後に下層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させた。27.27 g (収率96%) の *tert*-ブチルエイコサンジアシル - Glu - OtBu を得た。 20

LC-MS (Sciex 100API) : $m/z = 584.44 (M+1)^+$

3.3 *tert*-ブチルエイコサンジアシル - Glu - (OSu) - OtBu

窒素ガス保護の条件下で、*tert*-ブチルエイコサンジアシル - Glu - OtBu (27.27 g、46.71 mmol) をジクロロメタン (300 mL) に溶解し、順にトリエチルアミン (11.99 mL) を加えて10分間攪拌し、さらに NHS (5.38 g、50.17 mmol) を加えてから、DCC (10.60 g、51.38 mmol) を加えた。室温下で混合物を一晩攪拌した。ろ過し、得られたろ液をほぼ乾燥になるまで濃縮させ、残留物を冷たい水及び酢酸エチルと混合し、20分間攪拌し、分液し、上層有機相に飽和食塩水を加えて水洗し、分液後に上層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、メチル*tert*-ブチルエーテルを加え、30分間攪拌し、吸引ろ過し、ろ過ケーキを真空で一晩乾燥させ、25.76 g (収率81%) の *tert*-ブチルエイコサンジアシル - Glu - (OSu) - OtBu を得た。 30

LC-MS (Sciex 100API) : $m/z = 681.46 (M+1)^+$

3.4 *tert*-ブチルエイコサンジアシル - Glu - (2xOEG - OH) - OtBu

tert-ブチルエイコサンジアシル - Glu - (OSu) - OtBu (25.76 g、37.83 mmol) をジクロロメタン (250 mL) に溶解して攪拌し、順に 2x AEEA (11.66 g、37.83 mmol)、トリエチルアミン (9.71 mL)、水 (25 mL) を加え、それを加熱して清澄な溶液を得て、当該溶液を室温下で4時間攪拌した。次に10%のクエン酸水溶液 (200 mL) を加え、分液し、下層有機相に飽和食塩水を加えて水洗し、分液後に下層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させた。30.75 g (収率93%) の *tert*-ブチルエイコサンジアシル - Glu - (2xOEG - OH) - OtBu を得た。 40

LC-MS (Sciex 100API) : $m/z = 874.59 (M+1)^+$

3.5 *tert*-ブチルエイコサンジアシル - Glu - (2xOEG - OSu) - 50

O t B u

窒素ガス保護の条件下で、tert-ブチルエイコサンジアシル - Glu - (2 x OEG - OH) - OtBu (30.75 g、35.18 mmol) をジクロロメタン (300 mL) に溶解し、トリエチルアミン (9.03 mL) を加えて10分間攪拌し、さらにNH₄SCl (4.05 g、35.18 mmol) を加えてから、DCC (7.98 g、38.70 mmol) を加えた。室温下で混合物を一晩攪拌した。ろ過し、得られたる液をほぼ乾燥になるまで濃縮させ、残留物を冷たい水及び酢酸エチルと混合し、20分間攪拌し、分液し、上層有機相に飽和食塩水を加えて水洗し、分液後に上層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させ、31.09 g (収率91%) のtert-ブチルエイコサンジアシル - Glu - (2 x OEG - OSu) - OtBuを得た。 10

LC-MS(Sciex 100API) : m/z = 971.61(M+1)⁺

3.6 tert-ブチルエイコサンジアシル - Glu - (5 x OEG - OH) - OtBu

tert-ブチルエイコサンジアシル - Glu - (2 x OEG - OSu) - OtBu (31.09 g、32.01 mmol) をジクロロメタン (350 mL) に溶解して攪拌し、順に3 x AEEA (14.52 g、32.01 mmol)、トリエチルアミン (8.90 mL)、水 (25 mL) を加え、それを加熱して清澄な溶液を得て、当該溶液を室温下で4時間攪拌した。次に10%のクエン酸水溶液 (200 mL) を加え、分液し、下層有機相に飽和食塩水を加えて水洗し、分液後に下層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、ろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させた。38.99 g (収率93%) のtert-ブチルエイコサンジアシル - Glu - (5 x OEG - OH) - OtBuを得た。 20

LC-MS(Sciex 100API) : m/z = 1309.81(M+1)⁺

3.7 tert-ブチルエイコサンジアシル - Glu - (5 x OEG - OSu) - OtBu

窒素ガス保護の条件下で、tert-ブチルエイコサンジアシル - Glu - (5 x OEG - OH) - OtBu (38.99 g、29.77 mmol) をジクロロメタン (400 mL) に溶解し、トリエチルアミン (8.28 mL) を加えて10分間攪拌し、さらにNH₄SCl (3.43 g、29.77 mmol) を加えてから、DCC (6.76 g、32.75 mmol) を加えた。室温下で混合物を一晩攪拌した。ろ過し、得られたる液をほぼ乾燥になるまで濃縮させ、残留物を冷たい水及び酢酸エチルと混合し、20分間攪拌し、分液し、上層有機相に飽和食塩水を加えて洗浄し、分液後に上層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させ、38.11 g (収率91%) のtert-ブチルエイコサンジアシル - Glu - (5 x OEG - OSu) - OtBuを得た。 30

LC-MS(Sciex 100API) : m/z = 1406.83(M+1)⁺

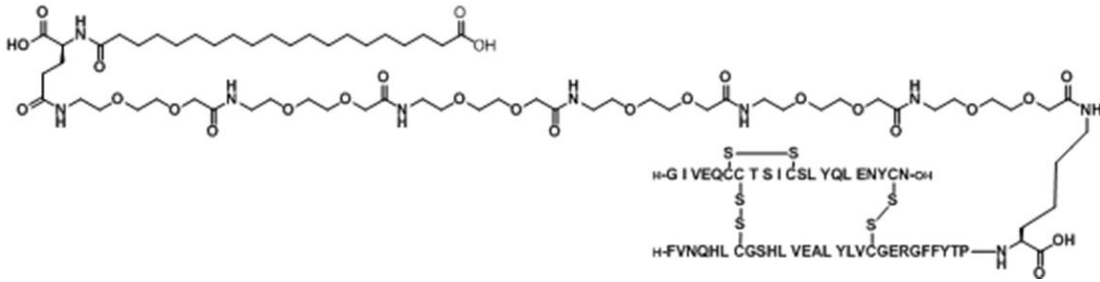
【実施例7】

【0114】

B29K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 6 x OEG)、desB30ヒトインスリン (化合物6) 40

【0115】

【化10】



実施例6のパート2と類似する工程に従って化合物6を調製した。

10

LC-MS (エレクトロスプレー) : m/z = 1406.28 [M+5H]⁵⁺

中間体 tert-ブチルエイコサンジアシル - Glu - (6 x OEG - OSu) - OtBuの調製は、実施例6のパート3と類似する工程に従って行われた。

LC-MS (Sciex 100API) : m/z = 1551.90 (M+1)⁺

【実施例8】

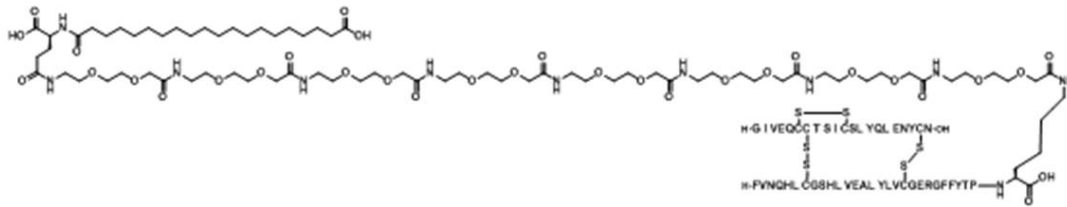
【0116】

B29K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 8 x OEG)、desB30ヒトインスリン (化合物7)

【0117】

【化11】

20



実施例6のパート2と類似する工程に従って化合物7を調製した。

LC-MS (エレクトロスプレー) : m/z = 1464.30 [M+5H]⁵⁺

中間体 tert-ブチルエイコサンジアシル - Glu - (8 x OEG - OSu) - OtBuの調製は、実施例6のパート3と類似する工程に従って行われた。

30

LC-MS (Sciex 100API) : m/z = 1814.02 (M+1)⁺

【実施例9】

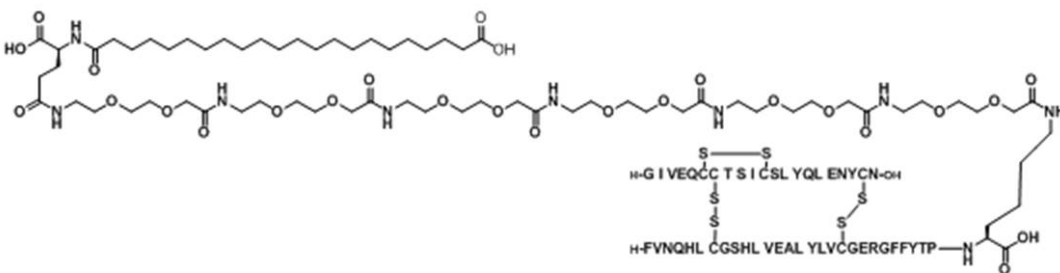
【0118】

B29K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 6 x OEG)、desB30ヒトインスリン (化合物8)

【0119】

【化12】

40



実施例6のパート2と類似する工程に従って化合物8を調製した。

LC-MS (エレクトロスプレー) : m/z = 1411.88 [M+5H]⁵⁺

中間体 tert-ブチルドコサンジアシル - Glu - (6 x OEG - OSu) - OtBuの調製は、実施例6のパート3と類似する工程に従って行われた。

50

LC-MS(Sciex 100API) : $m/z = 1579.94(M+1)^+$

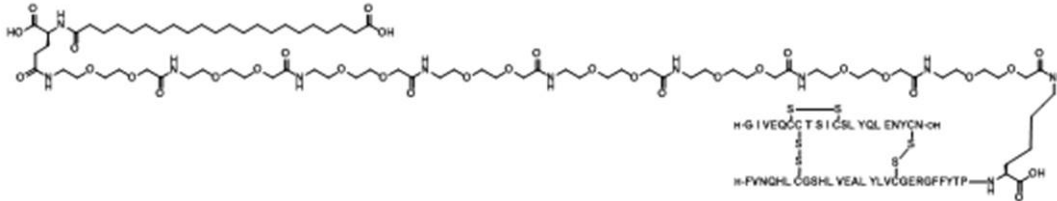
【実施例 10】

【0120】

B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 8xOEG)、desB30ヒトインスリン (化合物9)

【0121】

【化13】



実施例6のパート2と類似する工程に従って化合物9を調製した。

LC-MS(エレクトロスプレー) : $m/z = 1469.91[M+5H]^5+$

中間体 tert - ブチルドコサンジアシル - Glu - (8xOEG - OSu) - OtBu の調製は、実施例6のパート3と類似する工程に従って行われた。

LC-MS(Sciex 100API) : $m/z = 1870.08(M+1)^+$

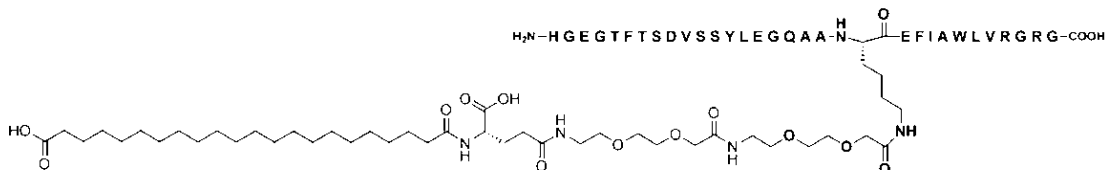
【実施例 11】

【0122】

表題化合物 : N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (21 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ) - 4(S) - カルボキシブチリルアミノ]エトキシ)エトキシ]アセチルアミノ)エトキシ]エトキシ]アセチル][Gly8、Arg34]GLP-1 - (7-37)ペプチド (化合物10)

【0123】

【化14】



実施例1のパート1と類似する工程に従って、N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (21 - カルボキシヘンエイコサノイルアミノ) - 4(S) - カルボキシブチリルアミノ]エトキシ)エトキシ]アセチルアミノ)エトキシ]エトキシ]アセチル][Gly8、Arg34]GLP-1 - (7-37)ペプチドを調製した

LC-MS(エレクトロスプレー) : $m/z = 1035.80[M+4H]^4+$

中間体 tert - ブチルドコサンジアシル - Glu - (2xOEG - OSu) - OtBu の調製は、実施例1のパート2と類似する工程に従って行われた。

LC-MS(Sciex 100API) : $m/z = 999.64(M+1)^+$

【実施例 12】

【0124】

体外効力又は活性

この実施例は、本発明に係るGLP-1誘導体の体外効力又は活性を試験することを目的とする。

GLP-1Rを発現した細胞を再生させ、ham's-F12培地で、上記細胞を25mLの細胞培養フラスコに接種し、37℃で、5%のCO₂で一晩培養した。実験当日に本発明の実施例11の表題化合物(化合物10)及びリラグルチドを150µg/mLにそれぞれ配合してから、サンプルを750ng/mL、150ng/mL、30ng/mL

10

20

30

40

50

、6 ng/mL、1.2 ng/mL、0.24 ng/mL、0.048 ng/mL、0.0096 ng/mL及び0.00192 ng/mLに勾配希釈した。細胞濃度を 1×10^5 個の細胞/mLに調整し、各ウェルに細胞200 μ l及び希釈後のサンプル200 μ lを加え、均一に混合した後、3つの平行ウェルで100 μ lを新しい96ウェルプレートに吸い込み、細胞インキュベータにおいて、4時間培養した後、ルシフェラーゼ試薬を加え、振とうして均一に混合した後、96ウェルプレートから新しい96ウェルの白い平底プレートに転移し、マイクロプレートリーダーによりシグナル値を読み取り、データをGraph Pad Prism 6で処理し、EC₅₀を算出した。体外効力実験は、異なる日に4回繰り返した。

【0125】

【表1】

10

表1:体外効力

実験対象	EC ₅₀ (nM)
リラグルチド	0.439
化合物10	0.677

20

実験の結果から分かるように、本発明に係るGLP-1誘導体は十分な体外効力を有し、その体外活性はリラグルチドに近く、それがGLP-1受容体アゴニスト活性を有することを確認した。

【実施例13】

【0126】

高脂肪食誘導性肥満C57BLマウスにおける薬効学的実験

本研究は、本発明に係るGLP-1誘導体の、高脂肪食誘導性肥満C57BLマウスにおける血糖への調節効果及び体重減少効果を確認することを目的とする。

5週齢、体重17~22gのC57BLマウス(雄と雌が半分ずつ)を、バリア環境において適当な仕様の飼育ボックス(3~5匹/ボックス)で飼育し、高脂肪食誘導群に高脂肪飼料及び精製水を自由に摂取させ、正常対照群に標準餌及び精製水を自由に摂取させ、環境条件を相対湿度40%~60%、温度22~24に制御し、10週間飼育し、体重が正常対照群マウスの体重よりも30%~50%超えたマウスを選択して薬効を評価した。

30

【0127】

当日の実験開始前、時間-1/1h(午前9:30)に基礎血糖を評価し、マウスの体重を測定した。ランダム血糖と体重によって、高脂肪食誘導群のマウスを溶媒群(即ち、モデル対照群)又は治療群に適合させて割り当て、溶媒が皮下注射され、又は対照化合物であるセマグルチド100 μ g/kgが皮下注射され、又は本発明の実施例11の表題化合物100 μ g/kg及び300 μ g/kgが皮下注射されるように処理した。そのうち、溶媒は、プロピレングリコール14 mg/mL、フェノール5.5 mg/mL、リン酸水素二ナトリウム1.133 mg/mLを含み、上記溶媒のpHは7.4であった。皮下投与により、頸背部の皮下に1回投与した(5 μ l/gの体重)。約午前10:30(時間0)にGLP-1誘導体を投与し、投与の3、6、24、48及び72時間後にマウスの血糖を評価した。同時に、毎日マウスの体重をモニタリングした。

40

【0128】

それぞれの単回用量のGLP-1誘導体について、血糖-時間曲線を作成した。そのうち、は、所定時間の実際血糖から基線を引いたもので、ただし、基線は時間0での血糖である。従って、これらの曲線において、y=0は基線を示す。それぞれの単独の用量

50

応答曲線について、0 からモニタリングエンドポイントまでの血糖 - 時間の曲線下面積差 (A U C) を算出し、 A U C 値が小さいほど、血糖降下効果が良くなり、薬効が良くなることを示す。

【 0 1 2 9 】

初回投与の 4 8 時間後に腹腔内糖負荷試験 (i p G T T) 実験を 1 回行ったが、その手順は、所定時点で尾の先で採血して空腹時血糖 (0 m i n) を測定し、そしてグルコース溶液 (2 0 0 m g / m L 、 1 0 m L / k g) を腹腔内投与し、そして糖負荷の 3 0 m i n 、 6 0 m i n 及び 1 2 0 m i n 後に血糖を測定した。

【 0 1 3 0 】

ラットの尾部をアルコール綿球で掃除し、使い捨ての採血針で尻尾から血滴を採取し、血糖値測定器 (ロシュ) 及び付属の試験紙により測定した。

10

【 0 1 3 1 】

それぞれの単回用量の G L P - 1 誘導体について、血糖の時間に対する用量応答曲線、毎日体重変化の時間に対する用量応答曲線を作成した。本発明に係る G L P - 1 誘導体による血糖への影響をより直観的で定量的に説明するために、それぞれの単独の用量応答曲線について、0 からモニタリングエンドポイントまでの相対的な血糖 - 時間の曲線下面積差 (A U C) を算出した。そのうち、 A U C 値が小さいほど、血糖降下効果が良くなり、薬効が良くなることを示す。

【 0 1 3 2 】

図 5 a ~ 6 b は、本発明に係る G L P - 1 誘導体が予想以上の向上した薬効を有することを示しており、例えば、実施例 1 1 の化合物 1 0 による高脂肪食誘導性肥満 C 5 7 B L マウスの血糖降下効果は、同用量の場合に、市販されている対照化合物であるセマグルチドと比べて有意差がなく、さらに定量の図 5 b 及び図 6 b から、本発明に係る G L P - 1 誘導体の血糖降下効果がセマグルチドよりもやや優れていることが見られる。特に投与の 7 2 h 後に、同用量の化合物 1 0 群の血糖平均値は、同用量のセマグルチド群の血糖平均値よりも低い。また、本発明に係る G L P - 1 誘導体の血糖降下効果は用量依存性を有し、本発明に係る G L P - 1 用量の増加につれて、その血糖降下効果が顕著に向上する。

20

【 0 1 3 3 】

図 6 a ~ 6 b に示すように、 i p G T T 実験において、実施例 1 1 の化合物 1 0 は、溶媒と比べて、高脂肪食誘導性肥満 C 5 7 B L マウスへの初回投与の 4 8 時間後に i p G T T 実験を行った後、血糖に対して顕著な抑制作用を有するとともに、同用量のセマグルチドの血糖降下効果よりもやや優れている。

30

【 0 1 3 4 】

図 5 c は、本発明に係る G L P - 1 誘導体、例えば実施例 1 1 の化合物 1 0 が優れた体重減少効果を有し、その体重減少効果がセマグルチドよりも優れていることを示す。

【 実施例 1 4 】

【 0 1 3 5 】

2 型糖尿病 d b / d b マウスにおける薬効学的研究

本研究は、糖尿病の場合に本発明に係る G L P - 1 誘導体の血糖への調節効果を確認することを目的とする。

40

d b / d b マウスでは、0 . 3 、 1 、 3 、 1 0 、 3 0 及び 1 0 0 n m o l / k g の異なる用量で実施例 1 1 の表題化合物及び対照化合物であるリラグルチドの血糖降下効果を試験し、 E D ₅₀ を求めた。

8 ~ 9 週齢の雄 d b / d b (B K S / L e p r) マウスをバリア環境において適当な仕様の飼育ボックスで飼育し、標準餌及び精製水を自由に摂取させ、環境条件を相対湿度 4 0 % ~ 6 0 % 、温度 2 2 ~ 2 4 に制御した。1 ~ 2 週間の順応期間後、実験に使用し始めた。

【 0 1 3 6 】

当日の実験開始前、午前 9 : 0 0 に基礎血糖を評価し、マウスの体重を測定した。ランダム血糖と体重によって、糖尿病マウスを溶媒群又は治療群に適合させて割り当て、溶媒

50

が皮下注射され、又は実施例 11 の化合物若しくは対照群化合物であるリラグルチド 0.3、1、3、10、30 及び 100 nmol/kg が皮下注射されるように処理し、そのうち、溶媒は、プロピレングリコール 14 mg/mL、フェノール 5.5 mg/mL、リン酸水素二ナトリウム 1.133 mg/mL を含み、上記溶媒の pH は 7.4 であった。

【0137】

皮下投与 (50 µl / 10 g の体重) により、頸背部に皮下注射で 1 回投与した。約午前 10:00 (時間 0) に実施例 11 の化合物を投与し、投与の 1、2、3、6、12、24、48 及び 72 時間後にマウスの血糖を評価した。

【0138】

ラットの尾部をアルコール綿球で掃除し、使い捨ての採血針で尻尾から血滴を採取し、血糖値測定器 (ロシュ) 及び付属の試験紙により測定した。 10

それぞれの単回用量の GLP-1 誘導体について、血糖の時間に対する用量応答曲線を作成した。は、所定時間の実際血糖から基線を引いたもので、ただし、基線は時間 0 の血糖である。GLP-1 誘導体による血糖への影響を説明するために、それぞれ個別の用量応答曲線について、0 ~ 72 時間の血糖の曲線下面積 AUC を算出し、AUC に対して有効用量 50% (ED₅₀、基線と最大効果との間の半分の応答を生じた GLP-1 誘導体用量) を算出した。下記の表 2 には、得られた ED₅₀ 値が示されている。

【0139】

【表 2】

表 2: db/db マウスにおける血糖への影響の ED₅₀ 値 20

サンプル名	ED ₅₀ (nmol/kg)
リラグルチド	9.68
化合物 10	8.42

試験の結果から、本発明に係る化合物 10 の体内血糖降下薬効は、リラグルチドよりも明らかに優れていることが分かる。

【実施例 15】

【0140】

2 型糖尿病 db/db マウスにおける薬効学的研究
本研究は、本発明 GLP-1 誘導体による血糖、摂食量及び摂水量への制御を確認することを目的とする。

2 型糖尿病 db/db マウスでは、単回用量研究において実施例 2 の表題化合物及び対照化合物であるセマグルチドを試験した。

8 ~ 9 週齢の雄 db/db (BKS/Lepr) マウスをバリア環境において適当な仕様の飼育ボックスで飼育し、標準餌及び精製水を自由に摂取させ、環境条件を相対湿度 40% ~ 60%、温度 22 ~ 24 に制御した。1 ~ 2 週間の順応期間後、実験に使用し始めた。

【0141】

当日の実験開始前、約午前 9:00 に基礎血糖を評価し、マウスの体重を測定した。ランダム血糖と体重によって、糖尿病マウスを溶媒群又は治療群に適合させて割り当て、溶媒が皮下注射され、又は実施例 2 の化合物若しくは対照群化合物であるセマグルチド 100 µg/kg が皮下注射されるように処理し、そのうち、溶媒は、プロピレングリコール 14 mg/mL、フェノール 5.5 mg/mL、及びリン酸水素二ナトリウム 1.133 mg/mL を含み、pH 7.4 であった。

【0142】

20 µg/mL の投与濃度になるまで上記 GLP-1 誘導体を溶媒に溶解し、皮下投与 (50 µl / 10 g の体重) により、頸背部に皮下注射で 1 回投与した。約午前 10:00 (時間 0) に、実施例 2 の化合物を投与し、投与の 1、2、3、6、12、24、48 40 50

及び72時間後にマウスの血糖を評価した。ラットの尾部をアルコール綿球で掃除し、使い捨ての採血針で尻尾から血滴を採取し、血糖値測定器（ロシュ）及び付属の試験紙により測定した。同時に、毎日マウスの摂食量及び摂水量を測った。

【0143】

それぞれの単回用量のGLP-1誘導体について、血糖の時間に対する用量応答曲線、摂食量の時間に対する用量応答曲線、及び摂水量の時間に対する用量応答曲線を作成した。本発明に係るGLP-1誘導体による血糖への影響を説明するために、それぞれの単独の用量応答曲線について、0からモニタリングエンドポイントまでの血糖-時間の曲線下面積差（AUC）を算出した。そのうち、AUC値が小さいほど、血糖降下効果が良くなり、薬効が良くなることを示す。

10

【0144】

図7a～図7dは、本発明に係るGLP-1誘導体が投与後に、予想以上の向上した血糖降下薬効、向上した摂食量及び摂水量への抑制効果を有することを示している。これは、実施例2の表題化合物の投与後にdb/dbマウスに対する血糖降下効果が同用量でのセマグルチドよりも優れていることをさらに証明している。また、実施例2の表題化合物は摂食量及び摂水量を効果的に制御することができ、その効果がセマグルチドよりも優れており、本発明に係るGLP-1誘導体がより良い体重減少効果を有することが示唆されている。

【実施例16】

【0145】

20

2型糖尿病db/dbマウスにおける長時間薬効学的研究

本研究は、本発明に係るGLP-1誘導体による2型糖尿病db/dbマウスへの長時間血糖降下効果、体重減少、及び食事制御効果を確認することを目的とする。

【0146】

2型糖尿病db/dbマウスで実施例11のGLP-1誘導体及び対照化合物であるセマグルチドを試験した。GLP-1誘導体を100と300 μ g/kgの異なる用量で、及びセマグルチドを100 μ g/kgの用量でマウスに投与し、上記GLP-1誘導体と対照化合物であるセマグルチドの血糖降下、体重減少、摂食量と摂水量の低減効果を測定した。

【0147】

30

8～9週齢の雄db/db（BKS/Lepr）マウスをバリア環境において適当な仕様の飼育ボックスで飼育し、標準餌及び精製水を自由に摂取させ、環境条件を相対湿度40%～60%、温度22～24に制御した。1～2週間の順応期間後、実験に使用し始めた。

【0148】

当日の実験開始前、約午前9:00に基礎血糖を評価し、マウスの体重を測定した。ランダム血糖と体重によって、糖尿病マウスを溶媒群又は治療群に適合させて割り当て、溶媒が皮下注射され、又はGLP-1誘導体100と300 μ g/kgが皮下注射され、又は対照化合物であるセマグルチド100 μ g/kgが皮下注射されるように処理した。そのうち、溶媒は、プロピレングリコール14mg/mL、フェノール5.5mg/mL、リン酸水素二ナトリウム1.133mg/mLを含み、上記溶媒のpHは7.4であった。

40

【0149】

皮下投与（50 μ l/10gの体重）により、頸背部に皮下注射で投与し、約午前10:00（時間0）にGLP-1誘導体を投与し、それぞれ0、3、7、10、13、16、19、22、25、28日目に投与し、毎回投与前及び最後の投与の72時間後にマウスの血糖を評価した。0～17日目に、毎日マウスの体重、摂食量及び摂水量を測り、17日目の後に、3日ごとに1回マウスの体重、摂食量及び摂水量をモニタリングした。

【0150】

図8a～8fは、本発明に係るGLP-1誘導体が長時間投与後にも、予想以上の向上

50

した血糖降下薬効、向上した体重減少効果、及び摂食・摂水量への抑制効果を有することを示している。図 8 a 及び 8 b に示すように、同用量のセマグルチドと比べて、実施例 1 1 の化合物 1 0 は長時間投与後に、d b / d b マウスに対してより優れた血糖降下効果を有する。図 8 c ~ 8 d に示すように、同用量のセマグルチドと比べて、本発明に係る G L P - 1 誘導体、例えば、実施例 1 1 の表題化合物は、より良い体重減少効果及び摂食・摂水量の抑制効果を有する。

【実施例 1 7】

【0 1 5 1】

2 型糖尿病 K k a y マウスにおける長時間薬効学的研究

本研究は、本発明に係る G L P - 1 誘導体による 2 型糖尿病 K k a y マウスへの血糖降下効果を確認することを目的とする。 10

2 型糖尿病 K k a y マウスで実施例 1 1 の化合物 1 0、実施例 2 の化合物 2、及び対照化合物であるデュラグルチド（トルリシティとも称する）を試験した。化合物 1 0 及び化合物 2 を 1 0 0 と 3 0 0 μ g / k g の異なる用量で、デュラグルチドを 6 0 0 μ g / k g の用量でマウスに投与し、本発明に係る G L P - 1 誘導体及び対照化合物であるデュラグルチドの血糖降下効果と H b A 1 c の効果を測定した。

1 2 ~ 1 4 週齢の雄 K k a y マウスをバリア環境において適当な仕様の飼育ボックスで飼育し、標準餌及び精製水を自由に摂取させ、環境条件を相対湿度 4 0 % ~ 6 0 %、温度 2 2 ~ 2 4 に制御した。1 ~ 2 週間の順応期間後、実験に使用し始めた。

【0 1 5 2】

当日の実験開始前、約午前 9 : 0 0 に基礎血糖を評価し、マウスの体重を測定した。ランダム血糖と体重によって、糖尿病マウスを溶媒群又は治療群に適合させて割り当て、溶媒が皮下注射され、又は本発明に係る G L P - 1 誘導体 1 0 0 と 3 0 0 μ g / k g が皮下注射され、又は対照化合物であるデュラグルチド 6 0 0 μ g / k g が皮下注射されるように処理した。そのうち、溶媒は、プロピレングリコール 1 4 m g / m L、フェノール 5 . 5 m g / m L、リン酸水素二ナトリウム 1 . 1 3 3 m g / m L を含み、p H 7 . 4 であった。 20

【0 1 5 3】

皮下投与（5 0 μ l / 1 0 g の体重）により、頸背部に皮下注射で投与し、約午前 1 0 : 0 0（時間 0）に本発明に係る G L P - 1 誘導体、デュラグルチド又は溶媒を投与し、2 日ごとに 1 回投与し、1 6 回連続投与し、初回投与の 3 h、6 h、1 日及び 2 日後にマウスの血糖を評価し、最後投与の 4 8 h 後に E D T A 抗凝を取って H b A 1 c を検出した。 30

【0 1 5 4】

図 9 a ~ 9 b は、本発明に係る G L P - 1 誘導体が投与後に、予想以上の向上した血糖降下薬効を有し、実施例 1 1 及び実施例 2 の表題化合物による K k a y マウスの血糖降下効果がデュラグルチドよりも明らかに優れていることを示している。図 9 c は、本発明に係る G L P - 1 誘導体による 2 型糖尿病 K k a y マウスへの H b A 1 c 低減効果がデュラグルチドよりも明らかに優れていることを示している。

【実施例 1 8】

【0 1 5 5】

薬物動態

この実施例は、本発明の化合物のインビボ薬物動態的特性を説明することを目的とする。

【0 1 5 6】

S D ラットの薬物動態

S D ラット 3 2 匹を、1 群当たり 8 匹（雄と雌が半分ずつ）で、それぞれ皮下注射で 1 5、9 0、5 4 0 μ g / k g が投与される化合物 1 0 低用量群、化合物 1 0 中用量群及び化合物 1 0 高用量群と、静脈注射で 9 0 μ g / k g が投与される化合物 1 0 静脈注射群とに分けた。化合物 1 0 低中高用量群は、それぞれ投与前（0 m i n）、投与の 1、3、5、8、1 2、1 6、2 4、3 6、4 8、7 2、9 6、1 2 0 h 後に採血して血中薬物濃度 40 50

を測定し、化合物10静脈注射群は、投与前(0min)、投与の1min、10min、1、3、5、8、12、24、48、72、96、120h後に採血して血中薬物濃度を測定した。ソフトウェアWinNonLin v6.4の非コンパートメントモデルで薬物動態パラメータ C_{max} 、 T_{max} 、 $T_{1/2}$ 、 AUC_{0-t} 、MRTを算出し、試験結果は表3に示す。

【0157】

【表3】

表3:SDラットへの化合物10の皮下注射後の薬物動態パラメータ

用量($\mu\text{g}/\text{kg}$)	C_{max} (ng/ml)	T_{max} (hr)	$T_{1/2}$ (hr)	AUC_{0-t} ($\text{hr} * \text{ng}/\text{ml}$)	MRT(hr)
15	48.6	12	12.5	1489.9	21.2
90	296	14	13.0	9952.3	25.2
540	1490	16	13.3	61497.1	30.4
90(<i>i. v.</i>)	2540	—	13.0	23800	12.9

10

C_{max} = 最大実測血漿濃度、 T_{max} = 最大実測血中薬物濃度の対応する時間、 $T_{1/2}$ = 終末消失半減期、 AUC_{0-t} = 0 ~ t 時間 - 血中濃度時間曲線下面積、MRT = 平均滞留時間

20

カニクイザルにおける薬物動態

カニクイザル24匹を、1群当たり6匹(雄と雌が半分ずつ)で、それぞれ皮下注射で10、60、360 $\mu\text{g}/\text{kg}$ が投与される化合物10低用量群、化合物10中用量群、化合物10高用量群と、静脈注射で60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の化合物10が投与される化合物10静脈注射群とに分けた。化合物10低中高用量群は、それぞれ投与前(0min)、投与の1、3、6、8、10、12、16、24、48、72、120、168、240h後に採血して血中薬物濃度を測定し、化合物10静脈注射群は、投与前(0min)、投与の1min、10min、1、3、6、8、10、12、24、48、72、120、168、240h後に採血して血中薬物濃度を測定した。ソフトウェアWinNonLin v6.4の非コンパートメントモデルで薬物動態パラメータ C_{max} 、 T_{max} 、 $T_{1/2}$ 、 AUC_{0-t} 、MRTを算出し、試験の結果は表4に示す。

30

【0158】

【表4】

表4:カニクイザルへの化合物10の皮下注射後の薬物動態パラメータ

用量($\mu\text{g}/\text{kg}$)	C_{max} (ng/ml)	T_{max} (hr)	$T_{1/2}$ (hr)	AUC_{0-t} ($\text{hr} * \text{ng}/\text{ml}$)	MRT(hr)
10	80.7	9	58.4	7387	73.6
60	455	11	59.2	42256	76.0
360	2895	14	62.9	278528	74.5
60(<i>i. v.</i>)	1720	—	65.6	74200	63.5

40

上記実験の結果から、本発明に係るGLP-1誘導体化合物10は、ラット及びカニクイザルの体内で何れも比較的長い半減期、比較的大きい AUC_{0-t} 、比較的長いMRTを示すことが分かる。また、本発明に係るGLP-1誘導体は何れも用量依存性を有し、その薬効が用量の増加につれて向上する。

【実施例19】

【0159】

本実験は、本発明に係るGLP-1誘導体制剤の化学的安定性を測ることを目的とする。

【0160】

50

GLP - 1 誘導体製剤

8 mg/mL の最終濃度になるように、化合物 10 を 5.68 mg/mL のリン酸水素二ナトリウム溶液に溶解し、下記の表中の各成分の量に従って、順にプロピレングリコール及びフェノールを含む補助液を加え、pH を下記の表中の値に調整し、GLP - 1 化合物の最終濃度を 2 mg/mL にした。

この実施例において、製剤の化学的安定性は、37 で 27 日間保存した後の高分子量タンパク質 (HMWP) の 0 日目に対する変化で示してもよく、また、37 で 28 日間保存した後に測定された関連物質の量の変化で示してもよい。

【0161】

高分子量タンパク質 (HMWP) の測定

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により 高分子量タンパク質 (HMWP) の含有量 を測定し、Waters TSKgel G2000SWXL (7.8 * 300 mm)、5 μm のカラムで、カラムの温度が 30、サンプルセルの温度が 5 である時に、移動相を用いて 0.5 / min の流速で試験し、ただし、上記移動相はイソプロパノール 300 mL、氷酢酸 400 mL 及び精製水 300 mL を含む。検出波長は 276 nm で、試料注入量は 25 μl であった。表 5 は、0 日目に対する 37 で 27 日間保存した時の HMWP の増加量を示している。

【0162】

関連物質の量の測定

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により GLP - 1 誘導体関連不純物の含有量を測定し、Waters Kromasil 100 - 3.5 - C8 (4.6 * 250 mm) カラムで、カラムの温度が 35、サンプルセルの温度が 5 である時に、溶出相を用いて 1.0 mL / min の流速で試験した。溶出は、以下からなる移動相で行われた。

A 相は、リン酸二水素カリウム 90 mM 及び 10 % のアセトニトリル (v / v) を含み、pH 2.4 であった。

B 相は 75 % (v / v) のアセトニトリルであった。

勾配：0 ~ 5 min における 75 % / 25 % の A / B から 55 % / 45 % の A / B までの線形変化、5 ~ 12 min における 50 % / 50 % の A / B までの線形変化、12 ~ 42 min における 40 % / 60 % の A / B までの線形変化、42 ~ 60 min における 10 % / 90 % の A / B までの線形変化、60 ~ 61 min における 75 % / 25 % の A / B までの線形変化、61 ~ 70 min における 85 % / 15 % の A / B までのアイソクラティック勾配。

検出波長は 214 nm で、流速は 1.0 mL / min で、試料注入量は 15 μl であった。表 5 は、0 日目に対する 37 で 28 日間保存した時の関連物質の増加量を示している。

【0163】

【表 5】

表5

2mg/mL 化合物10 14mg/mL プロピレングリコール 5.65mg/mL フェノール 1.42mg/mL 無水リン酸二水素ナトリウム	37°C 27日目の0日目に対する HMWPの増加量(%)	37°C 28日目の0日目に対する関 連物質の増加量(%)
pH値 6.5	0.822	4.35
pH値 7.0	0.956	3.74
pH値 7.7	1.808	2.92
pH値 8.0	2.572	3.63
pH値 8.4	4.048	4.62

上記の表から、製剤は pH 値が 6.5 ~ 8.4 にある時に、何れも良好な化学的安定性を

有し、pH値が7.0～8.0にある時に、製剤の化学的安定性が最も良いことが分かる。

【実施例20】

【0164】

本実験は、本発明に係るGLP-1誘導体制剤の化学的安定性を測ることを目的とする。下記の表6及び表7における各々の成分の量に従って、実施例19と類似する工程に従って、表6と表7中のGLP-1誘導体制剤を配合した。また、実施例19と類似する工程に従って、HMWP及び関連物質の変化を測定した。下記の表6と表7は、異なる配合法によるGLP-1誘導体制剤のHMWP及び関連物質の変化を示している。

【0165】

【表6】

表6

2mg/mL 化合物10 14mg/mL プロピレングリ コール pH 7.3	25°C 14日目の 0日目に対す るHMWPの 増加量(%)	25°C 21日目の 0日目に対す るHMWPの増 加量(%)	37°C 14日目の 0日目に対す るHMWPの増加 量(%)	37°C 21日目の 0日目に対す るHMWPの増加 量(%)
5. 5mg/mLのフェノール+1. 42mg/mLの無水リン酸水素 二ナトリウム	0.16	0.21	0.41	0.62
5. 65mg/mLのフェノール+ 1. 42mg/mLの無水リン酸水 素二ナトリウム	0.13	0.17	0.36	0.58
6. 2mg/mLのフェノール+1. 42mg/mLの無水リン酸水素 二ナトリウム	0.12	0.18	0.41	0.60
5. 5mg/mLのフェノール+1. 133mg/mLの無水リン酸水素 二ナトリウム	0.16	0.2	0.67	1.00

【0166】

10

20

30

40

50

【表 7】

表7

2mg/mL 化合物10 14mg/mL プロピレングリ コール pH 7.3	25°C 14日目の 0日目に対す る関連物質の 増加(%)	25°C 21日目の 0日目に対す る関連物 質の増加 (%)	37°C 14日目の 0日目に対す る関連物質の増加 (%)	37°C 35日目の 0日目に対す る関連物質の増 加(%)
5. 5mg/mLのフェノール+ 1. 42mg/mLの無水リン酸水 素二ナトリウム	0.64	1.04	2.06	4.00
5. 65mg/mLのフェノール+ 1. 42mg/mLの無水リン酸水 素二ナトリウム	0.50	1.15	2.15	4.08
6. 2mg/mLのフェノール+ 1. 42mg/mLの無水リン酸水 素二ナトリウム	0.94	1.16	1.73	4.07
5. 5mg/mLのフェノール+ 1. 133mg/mLの無水リン酸 水素二ナトリウム	0.71	1.15	1.90	4.27

10

20

上記の表から分かるように、本発明の上記 G L P - 1 誘導体制剤における H M W P の量及び関連物質の量の経時的な増加は非常に遅いことで、上記 G L P - 1 誘導体制剤が何れも優れた化学的安定性を有することが明らかになる。

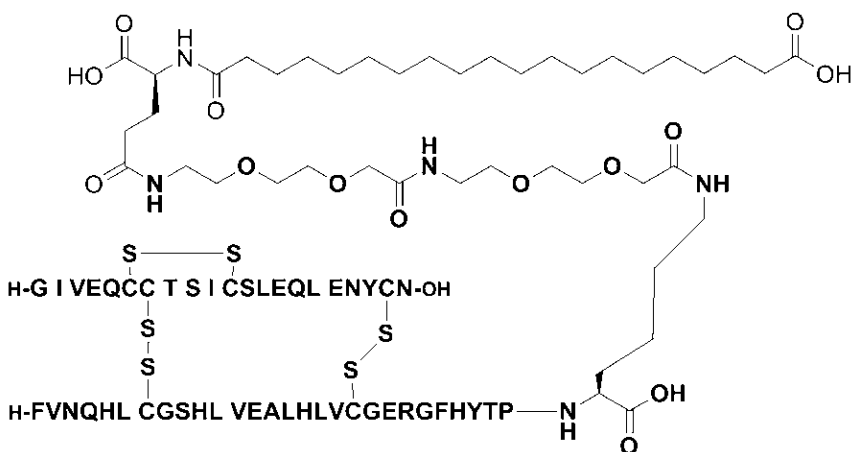
【0167】

対照例 5

A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - G l u - 2 x O E G)、d e s B 3 0 ヒトインスリン (対照化合物 5)

【0168】

【化 1 5】



30

40

1、A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - G l u - 2 x O E G)、d e s B 3 0 ヒトインスリンの調製
通常のインスリン類似体の調製方法により A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、d e s B 3 0
ヒトインスリンを調製した (具体的な方法は、G l e n d o r f T、
(外 2)

50

Sørensen AR、

Nishimura E、Pettersson I、& Kjeldsen T: Importance of the solvent-Exposed Residues of the Insulin B Chain - Helix for Receptor Binding、*Biochemistry* 2008 47 4743~4751
を参照する)。A14E、B16H、B25H、desB30ヒトインスリン(5g、0.888mmol)を100mMのNa₂HPO₄水溶液(150mL)に溶解し、アセトニトリル(100mL)を加え、1NのNaOHでpHをpH10~12.5に調整した。tert-ブチルエイコサンジアシル-Glu-(2xOEG-OSu)-OtBu(0.948g、0.976mmol)をアセトニトリル(50mL)に溶解し、インスリン溶液に徐々に加えた。pHを10~12.5に維持した。120分間後、反応混合物を水(150mL)に加え、1NのHCl水溶液でpHを5.0に調整した。遠心分離により沈殿を分離し、凍結乾燥させた。凍結乾燥した粗生成物をトリフルオロ酢酸(60mL)とジクロロメタン(60mL)の混合溶液に加え、室温下で30分間攪拌した。混合物を約30mLに濃縮し、氷冷したn-ヘプタン(300mL)に注ぎ、ろ過により沈殿した生成物を分離し、n-ヘプタンで2回洗浄した。真空で乾燥した後、イオン交換クロマトグラフィー(Resource Q、42.5%のエタノールにおける0.25%~1.25%の酢酸アンモニウム勾配、pH7.5)、逆相クロマトグラフィー(アセトニトリル、水、TFA)により精製し、精製された画分を合併し、1NのHClでpHを5.2に調整し、沈殿物を分離し、凍結乾燥させ、対照化合物5を得た。

LC-MS(エレクトロスプレー): m/z = 1063.6852[M+6H]⁶⁺

2、中間体 tert-ブチルエイコサンジアシル-Glu-(2xOEG-OSu)-OtBuの調製は、実施例1のパート3と類似する工程に従って行われた。

【0169】

2.1 tert-ブチルエイコサンジアシル-OSu

窒素ガス保護の条件下で、エイコサン二酸モノtert-ブチル(20g、50.17mmol)とNHS(5.77g、50.17mmol)をジクロロメタンに混合し、トリエチルアミン(13.95mL)を加え、得られた混濁混合物を室温下で攪拌してから、DCC(11.39g、55.19mmol)を加え、さらに一晩攪拌した。ろ過し、得られたろ液をほぼ乾燥になるまで濃縮させ、残留物を冷たい水及び酢酸エチルと混合し、20分間攪拌し、分液し、上層有機相に飽和食塩水を加えて洗浄し、分液後に上層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させ、24.12g(収率97%)のtert-ブチルエイコサンジアシル-OSuを得た。

LC-MS(Sciex 100API): m/z = 496.36(M+1)⁺

2.2 tert-ブチルエイコサンジアシル-Glu-OtBu

tert-ブチルエイコサンジアシル-OSu(24.12g、48.66mmol)をジクロロメタン(250mL)に溶解して攪拌し、順にH-Glu-OtBu(10.88g、53.53mmol)、トリエチルアミン(12.49mL)、水を加え、それを加熱して清澄な溶液を得て、当該溶液を室温下で4時間攪拌した。次に10%のクエン酸水溶液(200mL)を加え、分液し、下層有機相に飽和食塩水を加えて洗浄し、分液後に下層有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後にろ液を減圧下でほぼ乾燥になるまで濃縮させ、真空で一晩乾燥させた。27.27g(収率96%)のtert-ブチルエイコサンジアシル-Glu-OtBuを得た。

LC-MS(Sciex 100API): m/z = 584.44(M+1)⁺

2.3 tert-ブチルエイコサンジアシル-Glu-(OSu)-OtBu

窒素ガス保護の条件下で、tert-ブチルエイコサンジアシル-Glu-OtBu(27.27g、46.71mmol)をジクロロメタン(300mL)に溶解し、トリエ

29K (N() - エイコサジアシル - Glu - 6xOEG)、desB30ヒトインスリンを調製した

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 1160.3997 [M+6H]^{6+}$

中間体 tert - ブチルエイコサジアシル - Glu - (6xOEG - OSu) - OtBuの調製は、対照例5のパート2と類似する工程に従って行われた。

LC-MS (Sciex 100API) : $m/z = 1551.90 (M+1)^+$

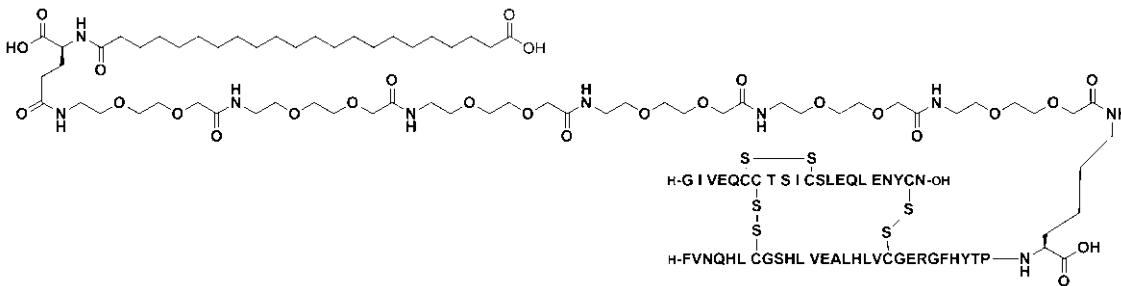
【実施例22】

【0172】

A14E、B16H、B25H、B29K (N() - ドコサジアシル - Glu - 6xOEG)、desB30ヒトインスリン (化合物12)

【0173】

【化17】



対照例5のパート1と類似する工程に従って、化合物A14E、B16H、B25H、B29K (N() - ドコサジアシル - Glu - 6xOEG)、desB30ヒトインスリンを調製した

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 1165.0674 [M+6H]^{6+}$

中間体 tert - ブチルドコサジアシル - Glu - (6xOEG - OSu) - OtBuの調製は、対照例5のパート2と類似する工程に従って行われた。

LC-MS (Sciex 100API) : $m/z = 1579.94 (M+1)^+$

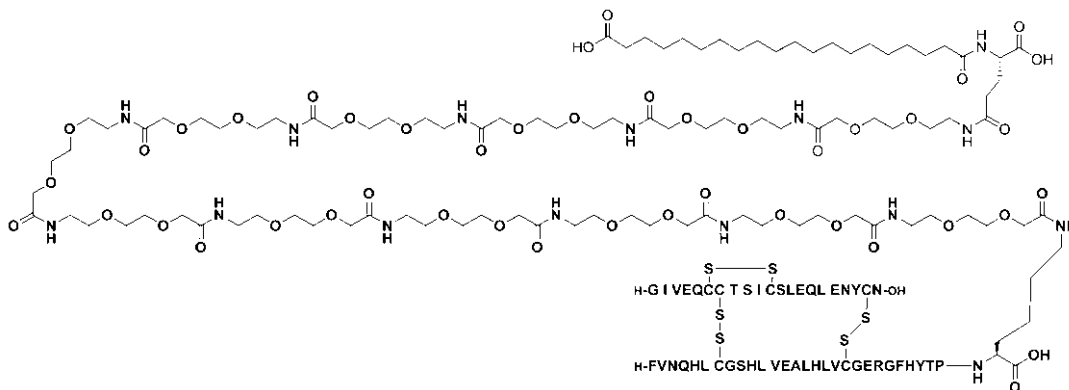
【実施例23】

【0174】

A14E、B16H、B25H、B29K (N() - エイコサジアシル - Glu - 12xOEG)、desB30ヒトインスリン (化合物13)

【0175】

【化18】



対照例5のパート1と類似する工程に従って、化合物A14E、B16H、B25H、B29K (N() - エイコサジアシル - Glu - 12xOEG)、desB30ヒトインスリンを調製した

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 1305.4716 [M+6H]^{6+}$

中間体 tert - ブチルエイコサジアシル - Glu - (12xOEG - OSu) - O

10

20

30

40

50

t B u の調製は、対照例 5 のパート 2 と類似する工程に従って行われた。

LC-MS(Sciex 100API) : $m/z = 2423.35(M+1)^+$

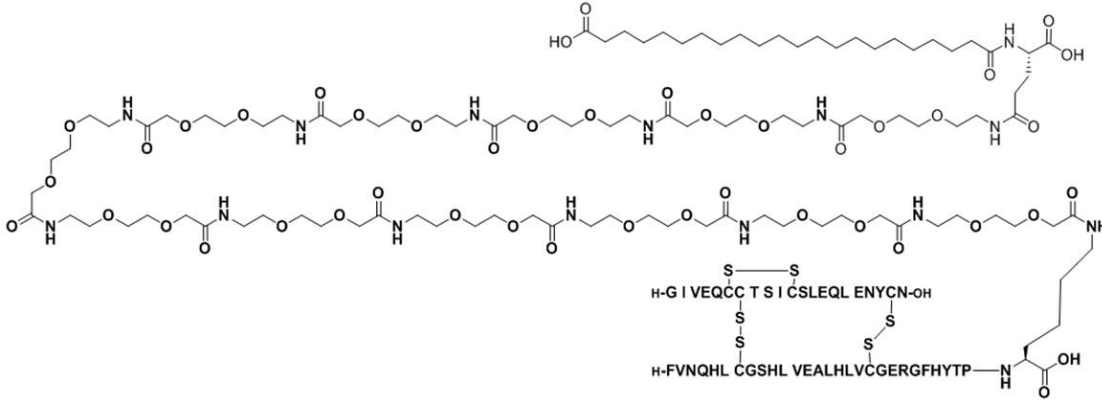
【実施例 24】

【0176】

A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 1 2 x O E G)、d e s B 3 0 ヒトインスリン (化合物 1 4)

【0177】

【化 1 9】



20

対照例 5 のパート 1 と類似する工程に従って、化合物 A 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 1 2 x O E G)、d e s B 3 0 ヒトインスリンを調製した

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 1310.1425[M+6H]^6+$

中間体 t e r t - ブチルドコサンジアシル - G l u - (1 2 x O E G - O S u) - O t B u の調製は、対照例 5 のパート 2 と類似する工程に従って行われた。

LC-MS(Sciex 100API) : $m/z = 2451.38(M+1)^+$

【実施例 25】

【0178】

G L P - 1 受容体結合

この実施例は、本発明に係る G L P - 1 誘導体の体外受容体結合親和力、及びアルブミンの存在がいかに結合へ潜在的な影響を与えるかを試験することを目的とする。受容体結合は、G L P - 1 誘導体のヒト G L P - 1 受容体に対する親和力の測定基準である。

本発明に係る G L P - 1 誘導体及び対照化合物とヒト G L P - 1 受容体との結合親和力の測定は、それらが受容体から ^{125}I -G L P - 1 を置換する能力を測定することにより行われた。G L P - 1 誘導体とアルブミン (H S A) との結合を測定するために、低濃度アルブミン (0 . 0 0 5 % (w / v))、及び高濃度アルブミン (2 % (w / v)) により測定した。結合親和力 $I C_{50}$ の変化が G L P - 1 誘導体とアルブミンとの結合を表し、それにより、動物モデルにおいて G L P - 1 誘導体の潜在的に長くなる薬物動態的特徴を予測した。

30

40

低 H S A (0 . 0 0 5 % (w / v)) がある受容体結合試験については、測定プレートの各ウェルに測定緩衝液 5 0 μ l を加えた。高 H S A (2 % (w / v)) がある受容体結合試験については、測定プレートの各ウェルに 8 % (w / v) アルブミン原液 5 0 μ l を加えた。p H 7 . 3 の 1 0 m M の $N a_2 H P O_4$ により試験化合物、参照対照品 G L P - 1 (7 - 3 7) を配合し、超純水により 1 m M の原液に配合した。0 . 0 0 5 % の H S A の条件下で、全ての試験化合物及び参照対照品を測定緩衝液で 2 μ M に希釈した後、合計 1 0 個の濃度勾配で 4 倍連続勾配で希釈した。2 % の H S A の条件下で、参照対照品 G L P - 1 (7 - 3 7) を 2 μ M に希釈し、リラグルチドを 2 0 μ M に希釈し、化合物 1 0 及びセマグルチドを 8 0 0 μ M に希釈した後、全てのサンプルを合計 1 0 個の濃度勾配で 4 倍連続勾配で希釈した。異なる濃度の試験化合物又は参照対照品 2 5 μ l をそれぞれ測定プ

50

レート of 適当なウェルに加えた。細胞膜タンパク質を均等に分けて解凍してその作動濃度 (40 μg/mL) に希釈し、測定プレートの各ウェルに細胞膜を含む溶液 50 μl を加えた。測定プレートの各ウェルに 25 μl の [1²⁵I]-GLP-1 の 600 pM の溶液を加えることでインキュベートし始めた。測定プレートを室温下で 1 h インキュベートした。インキュベートが完了した後、セルハーベスターにより反応液を GF/C 透過プレート上に収集し、プレート洗浄緩衝液により 6 回洗浄し、50 °C で乾燥箱で 1 h 乾燥した。シンチレーション液 50 μl を加えて密閉し、Microbeta2 により数値を読み取った。GraphPad Prism における非線形回帰により解析し、当該ソフトウェアで IC₅₀ 値を算出して nM を単位として報告した。それぞれの試験化合物に対して、少なくとも 3 回繰り返した。報告された値は、各試験化合物の全ての測定値の平均値である。

10

【0179】

【表8】

表8:GLP-1受容体結合親和力

実験対象	0.005% HSA IC ₅₀ (nM)(SD)	2% HSA IC ₅₀ (nM)(SD)	比率
化合物10	3.67(1.95)	5552.33(378.83)	1513
リラグルチド	0.52(0.34)	29.44(13.01)	57
セマグルチド	0.75(0.29)	609.57(51.33)	813
GLP-1(7-37)	2.82(1.07)	1.50(0.24)	0.53

20

「比率」は [(IC₅₀/nM) 高HSA] / [(IC₅₀/nM) 低HSA] を指す。通常、低いアルブミン濃度の場合に、GLP-1 受容体との結合はなるべく良いはずであり、これは低い IC₅₀ 値に対応する。高いアルブミン濃度の場合に、IC₅₀ 値は、アルブミンによる GLP-1 誘導体と GLP-1 受容体との結合への影響の測定基準である。知られているように、GLP-1 誘導体はアルブミンにも結合するが、これは通常、必要な効果であり、この効果でそれらの血漿の寿命が長くなる。従って、高いアルブミンの場合に、IC₅₀ 値は通常、低いアルブミン場合の IC₅₀ 値よりも高く、GLP-1 受容体との結合の低下に対応するが、これは GLP-1 受容体結合と競合するアルブミン結合によるものである。

30

【0180】

従って、高比率 (IC₅₀ 値 (高アルブミン) / IC₅₀ 値 (低アルブミン)) を、目標誘導体とアルブミンとの結合が良い (これにより、長い半減期を有することが確定できるとともに、それ自身と GLP-1 受容体との結合も良い (IC₅₀ 値 (高アルブミン) が高く、IC₅₀ 値 (低アルブミン) が低い) 指示として採用することができる。

【0181】

上記の表から、本発明に係る GLP-1 誘導体の比率が対照化合物であるセマグルチド、リラグルチド及び GLP-1 (7-37) よりも高いことが見られ、本発明に係る化合物がより長い半減期を有するとともに、それ自身と GLP-1 受容体との結合も良いことを示唆している。

40

【実施例26】

【0182】

2型糖尿病 db/db マウスにおける長期間薬効学的研究

実施例16と類似する実験手順を参照して、2型糖尿病 db/db マウスにおいて長時間薬効学的研究を行ったが、使用された対照化合物がデュラグルチドで、デュラグルチドの投与量が 300 μg/kg であることに異なっている。皮下投与 (50 μl / 10 g の体重) により、頸背部に皮下注射で投与し、約午前 10:00 (時間 0) に GLP-1 誘導体を投与し、それぞれ 0、3、6、9、12、15、18、21、24、27、30 日目に投与した。初回投与の 3、6、9、12、24、48 及び 72 時間後にマウスの

50

血糖を評価し、血糖 - 時間曲線下面積の変化 (AUC) を算出した。投与前に、3、5、11回目の投与の48h後に6h断食して空腹時血糖をモニタリングした。初回投与の48h後に腹腔内糖負荷試験 (ipGTT) 実験を行ったが、その手順は、所定時点で尾の先で採血して空腹時血糖 (0min) を測定し、そしてグルコース溶液 (200mg / mL、10mL / kg) を腹腔内投与し、そして糖負荷の30min、60min及び120min後に血糖を測定した。マウスの尾部をアルコール綿球で掃除し、使い捨ての採血針で尻尾から血滴を採取し、血糖値測定器 (ロシュ) 及び付属の試験紙により測定し、時間血糖曲線を描き、時間 - 血糖曲線下面積 (AUC) を算出した。

【0183】

図10a~10eは、本発明に係るGLP-1誘導体が長時間投与後にも、予想以上の向上した血糖降下薬効を有することを示している。図10a及び10bに示すように、デュラグルチドと比べて、実施例11の化合物10は投与後に、db/dbマウスに対してより優れた血糖降下効果を有する。図10cに示すように、デュラグルチドと比べて、化合物10は長時間投与後に、db/dbマウスに対してより優れた血糖降下効果を有する。図10d~10eに示すように、デュラグルチドと比べて、本発明に係るGLP-1誘導体は血糖に対してより明らかな抑制作用を有し、デュラグルチドの血糖降下効果よりも優れている。

10

【実施例27】

【0184】

高脂肪食誘導性肥満C57BLマウスにおける薬効学的実験

20

実施例13と類似する実験手順を参照して、高脂肪食誘導性肥満C57BLマウスにおいて薬効学的実験を行ったが、使用された対照化合物がデュラグルチドで、デュラグルチドの投与量が300µg / kgであることに異なっている。

【0185】

皮下投与により、頸背部の皮下に1回投与し (5µl / gの体重)、3日ごとに1回、合計11回投与した。約午前10:30 (時間0) にGLP-1誘導体を投与し、投与の3、6、9、12、24、48及び72時間後にマウスの血糖を評価した。同時に、3日ごとにマウスの体重及び摂食量をモニタリングした。試験終了時に、皮下脂肪、腎周囲脂肪、生殖器周囲脂肪を秤量した。

図11a~11dは、本発明に係るGLP-1誘導体が予想以上の向上した体重減少効果、食事制御効果及び脂肪低下効果を有することを示している。

30

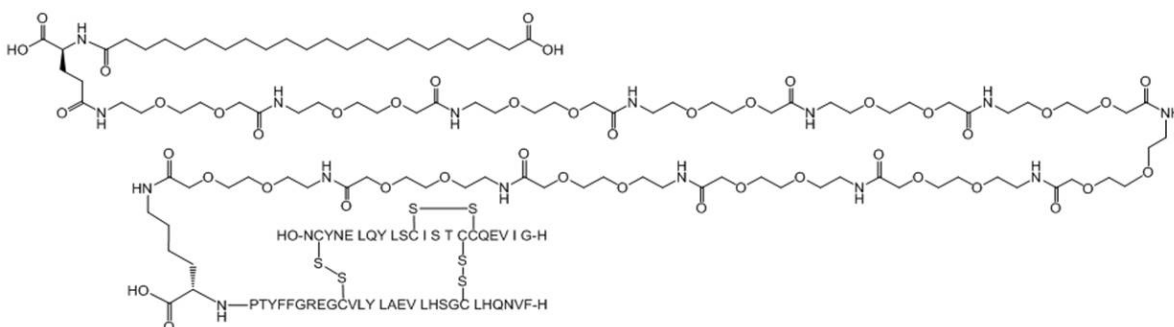
【実施例28】

【0186】

B29K (N () - ドコサンジアシル - Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン (化合物15)

【0187】

【化20】



40

実施例6のパート2と類似する工程に従って、化合物B29K (N () - ドコサンジアシル - Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリンを調製した。

LC-MS (エレクトロスプレー) : m/z = 1585.98 [M+5H]⁵⁺

50

中間体 *tert*-ブチルドコサンジアシル - Glu - (12xOEG - OSu) - Ot Bu の調製は、実施例 6 のパート 3 と類似する工程に従って行われた。

LC-MS(Sciex 100API) : $m/z = 2451.38(M+1)^+$

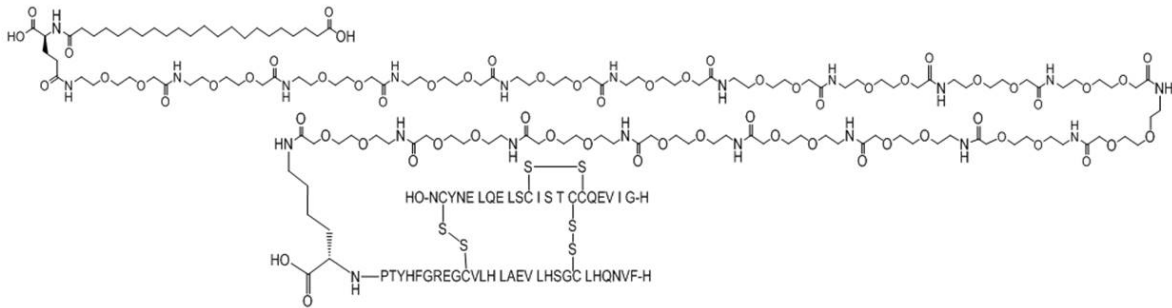
【実施例 29】

【0188】

A14E、B16H、B25H、B29K (N() - ドコサンジアシル - Glu - 18xOEG)、desB30ヒトインスリン (化合物 16)

【0189】

【化21】



10

対照例 5 のパート 1 と類似する工程に従って、化合物 A14E、B16H、B25H、B29K (N() - ドコサンジアシル - Glu - 18xOEG)、desB30ヒトインスリンを調製した

20

LC-MS(エレクトロスプレー) : $m/z = 1247.47[M+7H]^7+$

中間体 *tert*-ブチルドコサンジアシル - Glu - (18xOEG - OSu) - Ot Bu の調製は、対照例 5 のパート 2 と類似する工程に従って行われた。

LC-MS(Sciex 100API) : $m/z = 3320.83(M+1)^+$

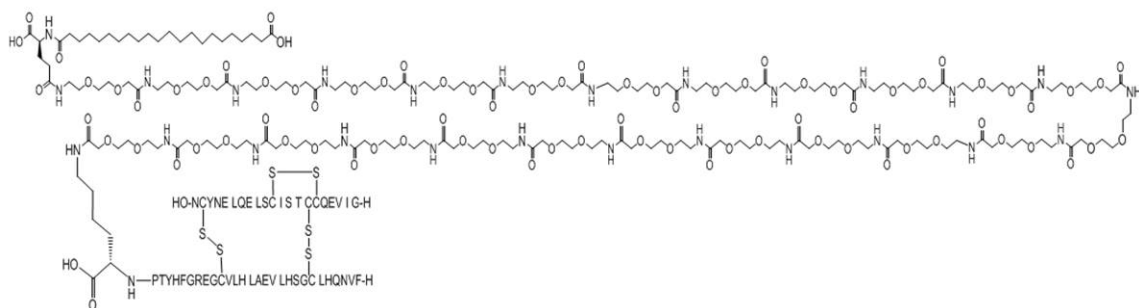
【実施例 30】

【0190】

A14E、B16H、B25H、B29K (N() - ドコサンジアシル - Glu - 24xOEG)、desB30ヒトインスリン (化合物 17)

【0191】

【化22】



40

対照例 5 のパート 1 と類似する工程に従って、化合物 A14E、B16H、B25H、B29K (N() - ドコサンジアシル - Glu - 24xOEG)、desB30ヒトインスリンを調製した

LC-MS(エレクトロスプレー) : $m/z = 873.35[M+11H]^{11+}$

中間体 *tert*-ブチルドコサンジアシル - Glu - (24xOEG - OSu) - Ot Bu の調製は、対照例 5 のパート 2 と類似する工程に従って行われた。

LC-MS(Sciex 100API) : $m/z = 4192.27(M+1)^+$

【実施例 31】

【0192】

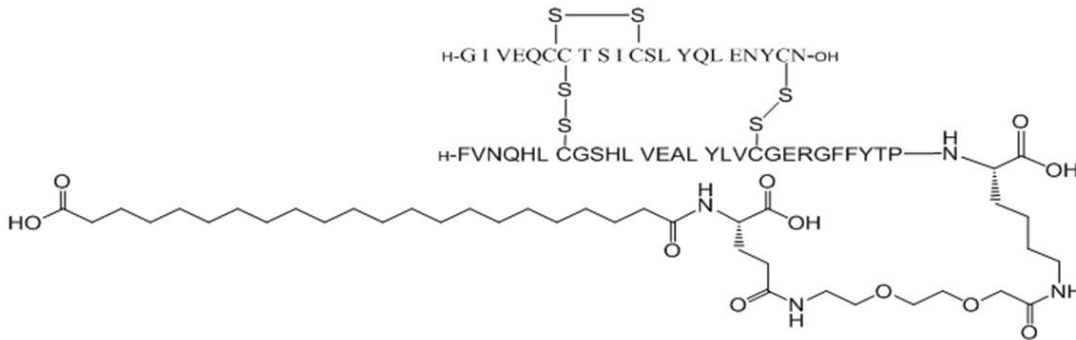
B29K (N() - ドコサンジアシル - Glu - OEG)、desB30ヒトインス

50

リン (化合物 18)

【0193】

【化23】



10

実施例 6 のパート 2 と類似する工程に従って、化合物 B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - Glu - OEG)、des B 3 0 ヒトインスリンを調製した
LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 1266.8122 [M+5H]^{5+}$

中間体 tert - ブチルドコサンジアシル - Glu - (OEG - OSu) - OtBu の調製は、実施例 6 のパート 3 と類似する工程に従って行われた。

LC-MS (Sciex 100API) : $m/z = 854.57 (M+1)^+$

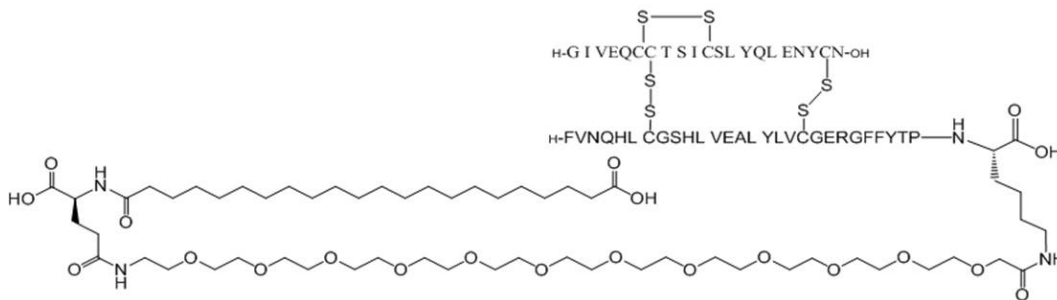
【実施例 32】

【0194】

B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 12 x PEG)、des B 3 0 ヒトインスリン (化合物 19)

【0195】

【化24】



30

実施例 6 のパート 2 と類似する工程に従って、化合物 B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 12 x PEG)、des B 3 0 ヒトインスリンを調製した。

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 1354.8667 [M+5H]^{5+}$

中間体 tert - ブチルドコサンジアシル - Glu - (12 x PEG - OSu) - OtBu の調製は、実施例 6 のパート 3 と類似する工程に従って行われた。

LC-MS (Sciex 100API) : $m/z = 1294.83 (M+1)^+$

40

本発明は、上記の実施例により説明されたが、上記の実施例は、例示及び説明のためのものに過ぎず、本発明を記載された実施例の範囲内に制限する意図はないと理解すべきである。また、当業者は、本発明が上記の実施例に限定されず、本発明の教示に基づいてさらに多くの変形や修正を行うこともでき、これらの変形や修正はいずれも、本発明の請求範囲内に含まれると理解することができる。本発明の請求範囲は、添付した特許請求の範囲及びその等価な範囲により限定されている。

50

【 図 面 】

【 図 1 a 】

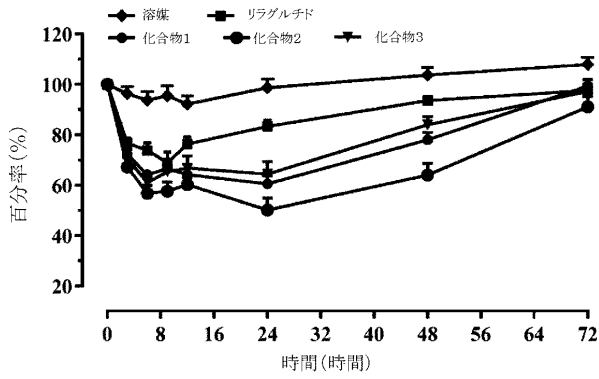


図1a

【 図 1 b 】

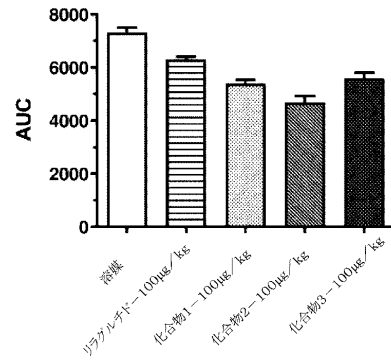
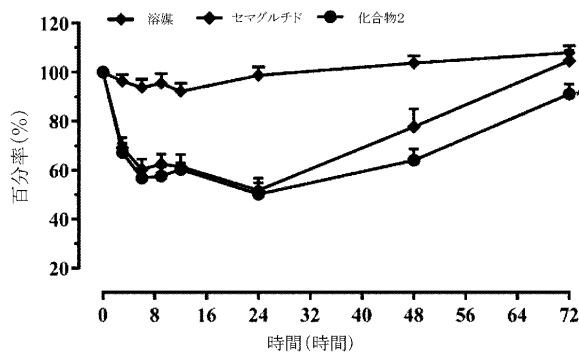


図1b

10

【 図 2 a 】



*p<0.05 化合物2とセマグルチドとの比較

図2a

【 図 2 b 】

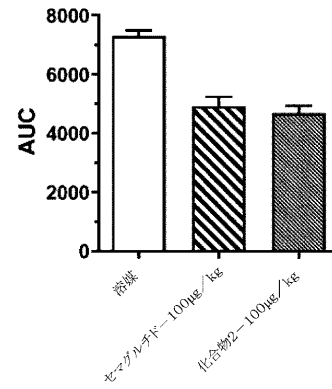


図2b

20

30

40

50

【 図 3 a 】

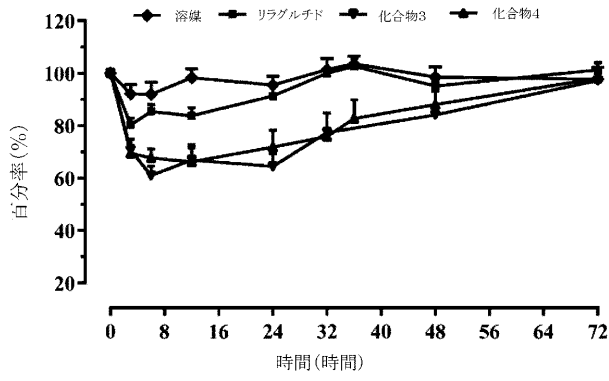


図3a

【 図 3 b 】

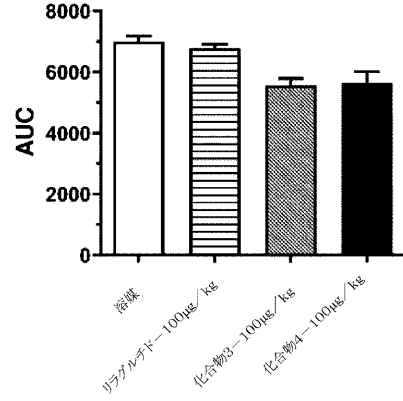


図3b

10

【 図 4 a 】

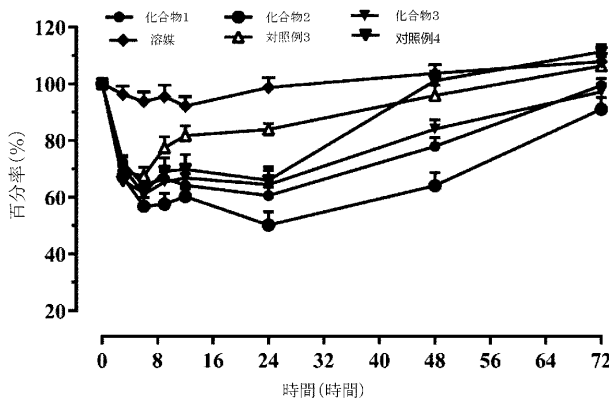


図4a

【 図 4 b 】

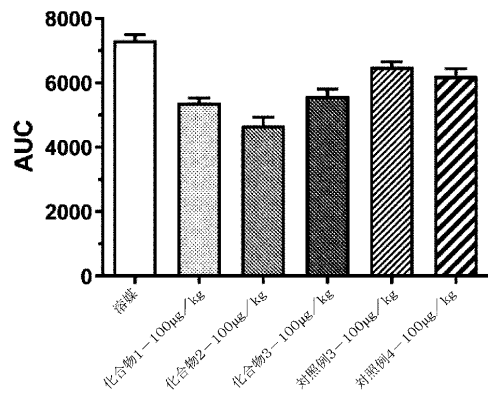


図4b

20

30

40

50

【 図 5 a 】

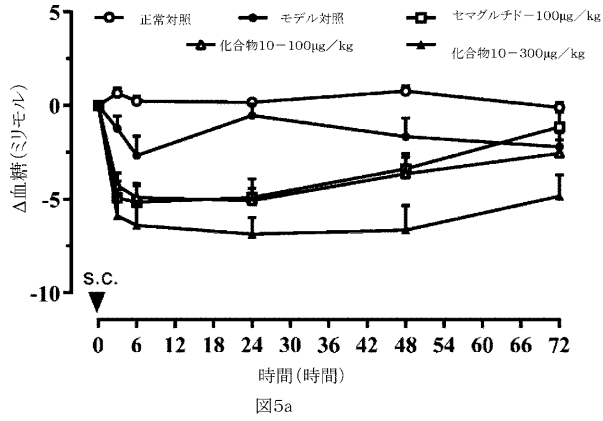


図5a

【 図 5 b 】

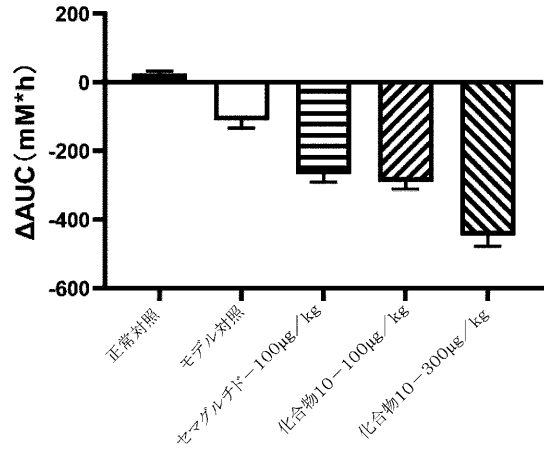


図5b

10

【 図 5 c 】

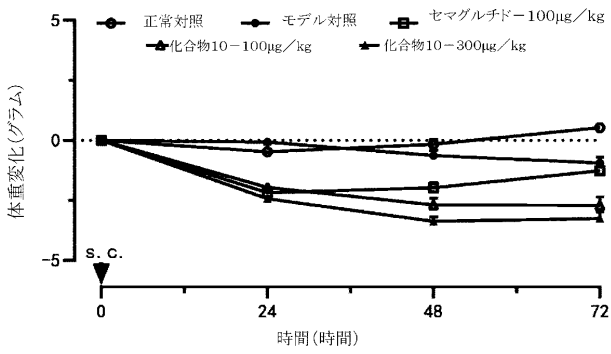


図5c

【 図 6 a 】

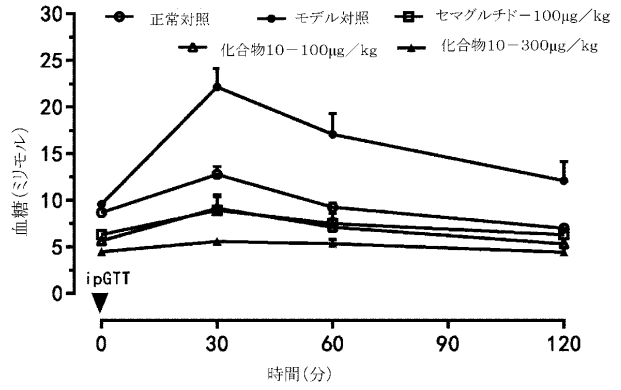


図6a

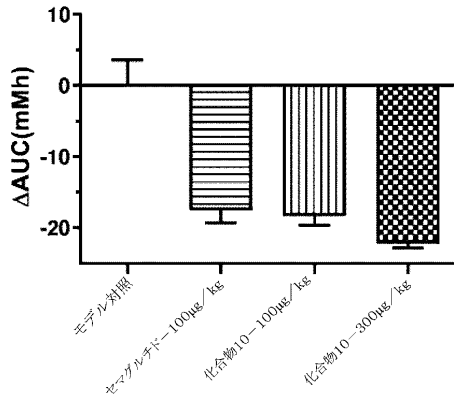
20

30

40

50

【 図 6 b 】



雄雌合併n=9~11

図6b

【 図 7 a 】

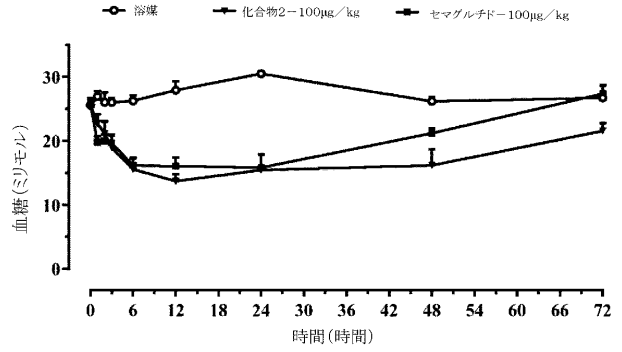


図7a

10

【 図 7 b 】

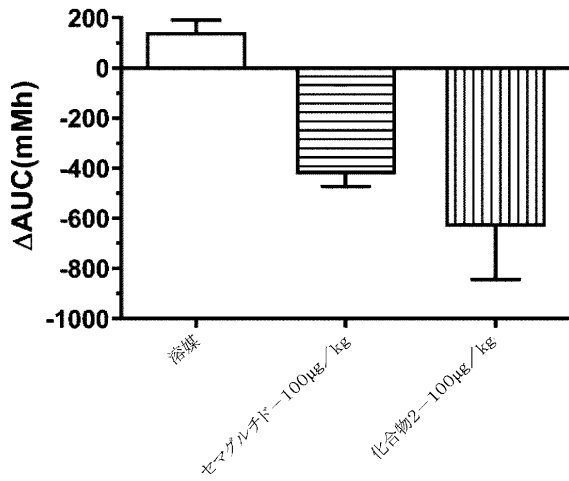


図7b

【 図 7 c 】

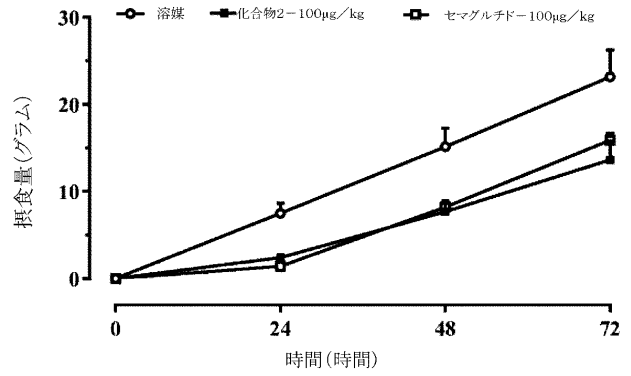


図7c

20

30

40

50

【 図 7 d 】

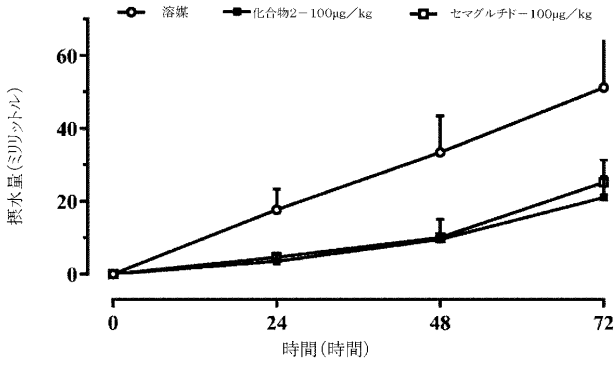


図7 d

【 図 8 a 】

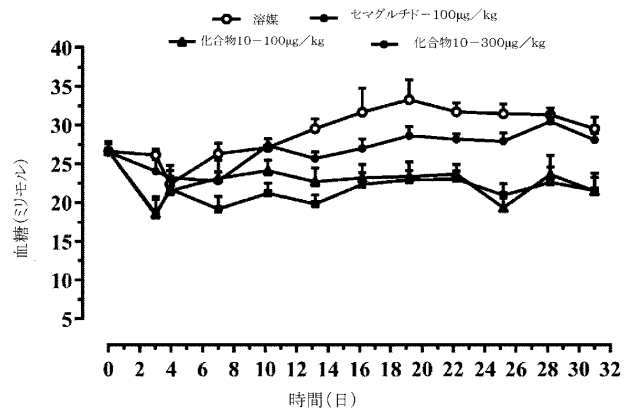


図8a

10

【 図 8 b 】

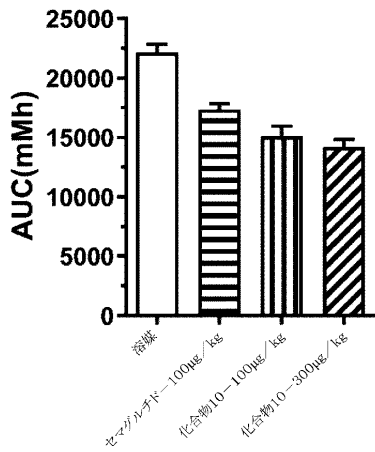


図8b

【 図 8 c 】

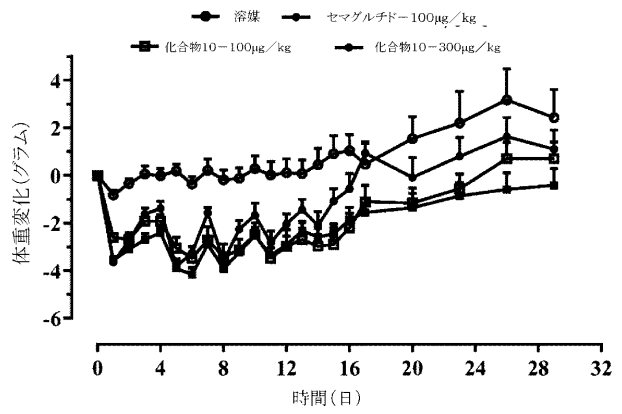


図8c

20

30

40

50

【 図 8 d 】

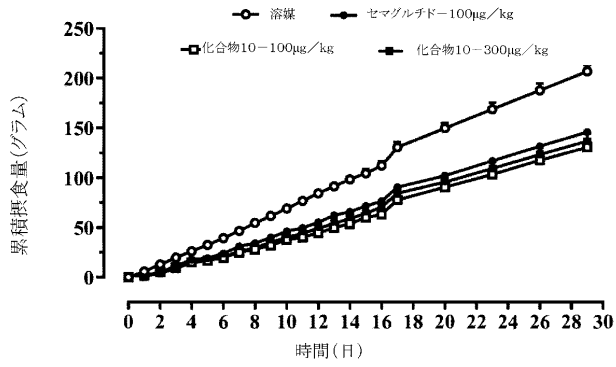


図8 d

【 図 8 e 】

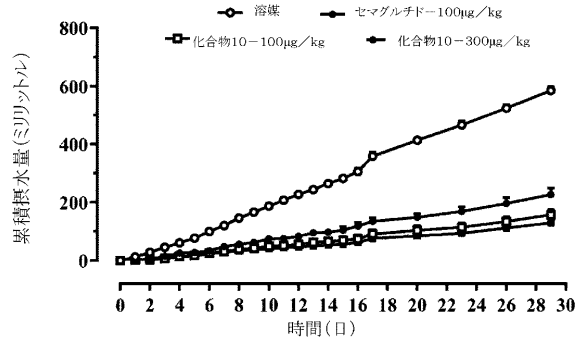


図8e

10

【 図 9 a 】

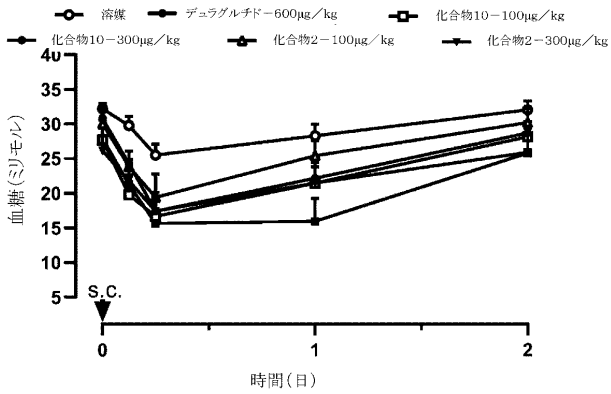


図9a

【 図 9 b 】

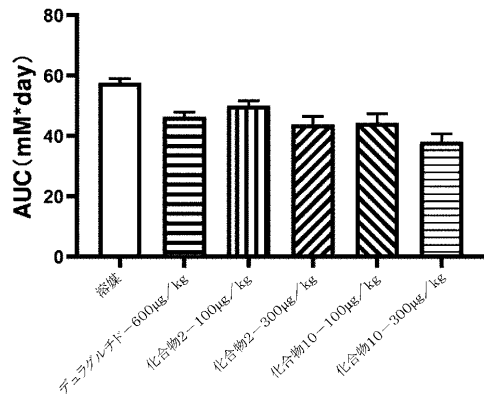


図9b

20

30

40

50

【 図 9 c 】

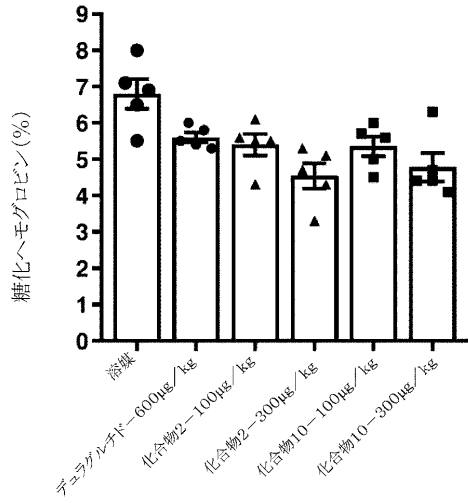


図9c

【 図 1 0 a 】

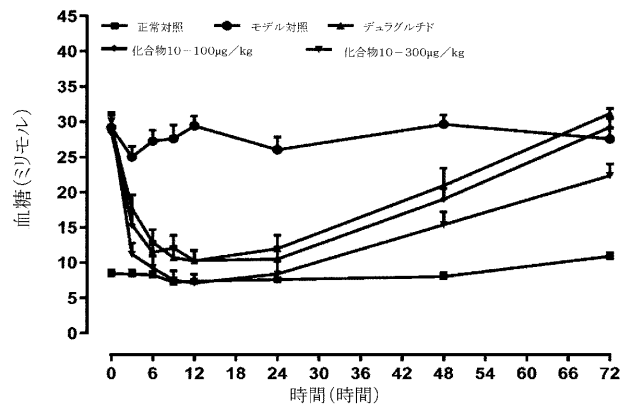


図10a

10

【 図 1 0 b 】

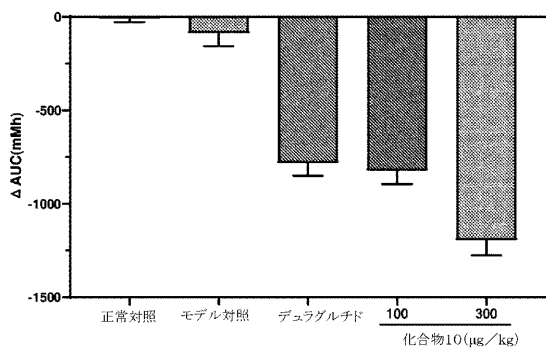


図10b

【 図 1 0 c 】

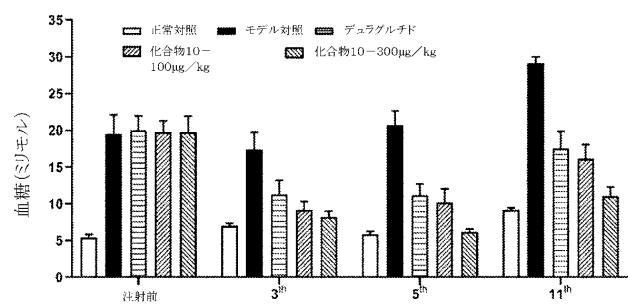


図10c

20

30

40

50

【 図 1 0 d 】

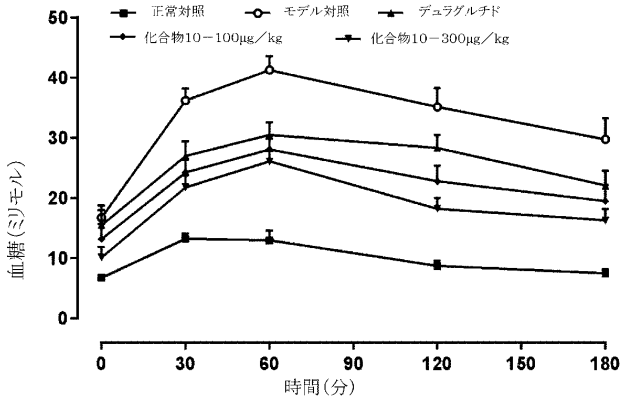


図10d

【 図 1 0 e 】

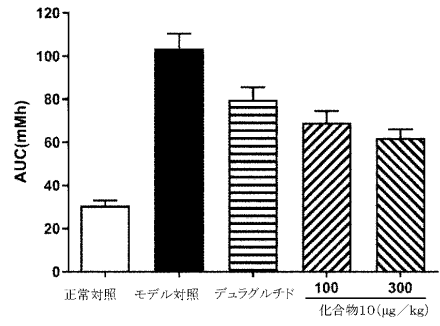


図10e

10

【 図 1 1 a 】

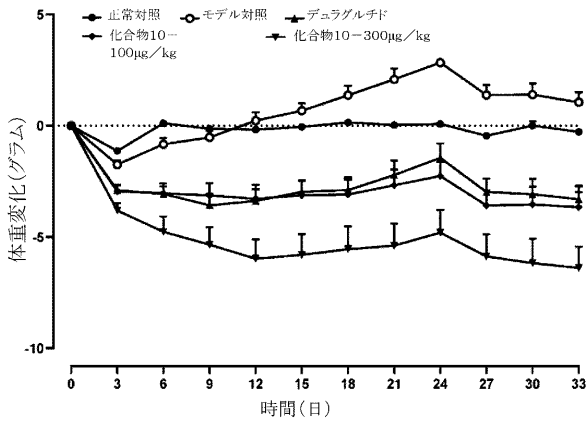


図11a

【 図 1 1 b 】

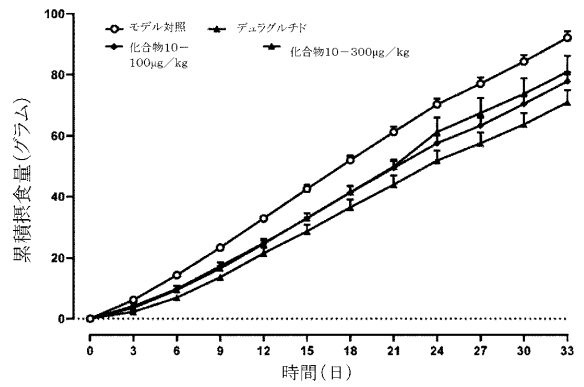


図11b

20

30

40

50

【 図 1 1 c 】

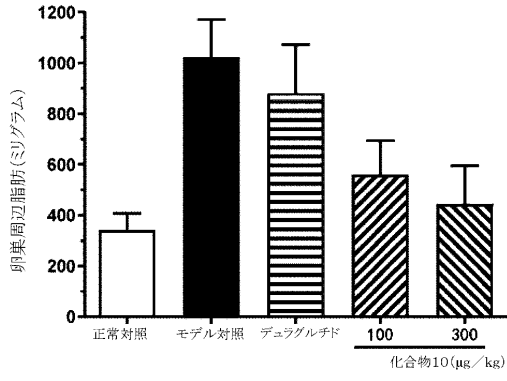


図11c

【 図 1 1 d 】

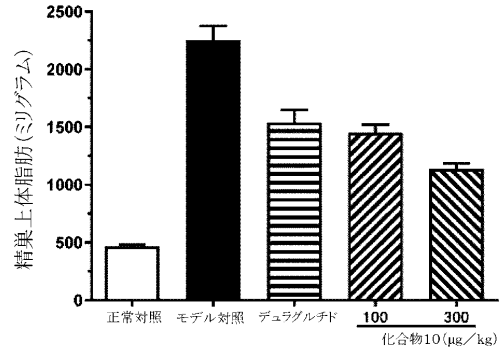


図11d

10

20

30

40

50

【 配 列 表 】

2023510218000001.app

【 國際調查報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN2020/141057
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07K 14/605(2006.01)i; A61K 38/26(2006.01)i; A61P 3/10(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K; A61K; A61P Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS, SIPOABS, DWPI, CNTXT, EPTXT, WOTXT, USTXT, CNKI, ISI, NCBI, pubmed, baidu, 甘李药业股份有限公司/ 甘忠如, GLP-1, 胰岛素, insulin, 亚烷基二醇, Alkylene glycol, 脂肪酸, fatty acid, 酰化胰岛素, acylated insulin		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 101842386 A (NOVO NORDISK A/S) 22 September 2010 (2010-09-22) claims 1 and 13-18, and description, page 35, paragraph [0337]	1-13, 22-25
Y	CN 101842386 A (NOVO NORDISK A/S) 22 September 2010 (2010-09-22) claims 1 and 13-18, and description, page 35, paragraph [0337]	14-25
X	WO 2019200594 A1 (HANGZHOU SCIWIND BIOSCIENCES CO., LTD.) 24 October 2019 (2019-10-24) claims 1-21	1-13, 22-25
X	CN 109248323 A (HANGZHOU SCIWIND BIOTECHNOLOGY CO., LTD.) 22 January 2019 (2019-01-22) claims 1-9	1-13, 22-25
X	WO 2009030771 A1 (NOVO NORDISK A/S) 12 March 2009 (2009-03-12) claims 1-21	1-13, 22-25
Y	CN 101784563 A (NOVO NORDISK A/S) 21 July 2010 (2010-07-21) claims 1-5	14-25
Y	CN 101784562 A (NOVO NORDISK A/S) 21 July 2010 (2010-07-21) claims 1-6	14-25
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 12 March 2021		Date of mailing of the international search report 25 March 2021
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/ CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088 China		Authorized officer Telephone No.
Facsimile No. (86-10)62019451		

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2020/141057

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 102037008 A (NOVO NORDISK A/S) 27 April 2011 (2011-04-27) claims 1-12	14-25
A	WO 2017205191 A1 (MERCK SHARP & DOHME CORP.) 30 November 2017 (2017-11-30) claims 1-29	1-25

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/141057

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. forming part of the international application as filed:

in the form of an Annex C/ST.25 text file.

on paper or in the form of an image file.

b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

10

20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/141057

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

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

1. Claims Nos.: 25
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
 - [1] Claim 25 relates to a method of treating or preventing hyperglycemia, diabetes mellitus, and/or obesity, which is a treatment for a disease as defined in PCT Rule 39.1(iv). However, a search is still made on the basis of its pharmaceutical use, i.e., a group of compounds as described in any one of claims 1-5 or pharmaceutical preparations as described in any one of claims 6-13 or the use of the pharmaceutical compositions in the preparation of drugs for the treatment or prevention of hyperglycemia, diabetes, and/or obesity as described in any one of claims 14-21.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/141057

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	101842386	A	22 September 2010	EP	2190873	B1	22 July 2015
				ES	2550363	T3	06 November 2015
				US	2014296131	A1	02 October 2014
				EP	2190873	A1	02 June 2010
				JP	2010538049	A	09 December 2010
				US	2010292133	A1	18 November 2010
				WO	2009030774	A1	12 March 2009
				US	9657079	B2	23 May 2017
				WO	2019200594	A1	24 October 2019
				WO	2019201328	A1	24 October 2019
CN	109248323	A	22 January 2019	None			
WO	2009030771	A1	12 March 2009	EP	2190460	B1	17 December 2014
				JP	2010538048	A	09 December 2010
				CN	101842109	B	29 January 2014
				US	9067977	B2	30 June 2015
				CN	101842109	A	22 September 2010
				US	2014011732	A1	09 January 2014
				EP	2190460	A1	02 June 2010
				JP	5606314	B2	15 October 2014
				ES	2532116	T3	24 March 2015
				US	2010261637	A1	14 October 2010
CN	101784563	A	21 July 2010	JP	5721432	B2	20 May 2015
				EP	2178910	B1	08 October 2014
				JP	2010535849	A	25 November 2010
				US	8962794	B2	24 February 2015
				WO	2009022006	A1	19 February 2009
				ES	2526924	T3	16 January 2015
				CN	101784563	B	04 February 2015
				US	2011098439	A1	28 April 2011
				EP	2178910	A1	28 April 2010
				US	9035020	B1	19 May 2015
				US	2015148521	A1	28 May 2015
CN	101784562	A	21 July 2010	RU	2514430	C2	27 April 2014
				EP	2178912	B1	08 July 2015
				AU	2008288413	A1	19 February 2009
				RU	2010107788	A	20 September 2011
				KR	20100053561	A	20 May 2010
				CA	2695970	A1	19 February 2009
				EP	2708554	A1	19 March 2014
				WO	2009022005	A1	19 February 2009
				JP	2010535851	A	25 November 2010
				ZA	201001416	B	29 June 2011
				US	2011098440	A1	28 April 2011
				ES	2548304	T3	15 October 2015
				EP	2178912	A1	28 April 2010
				BR	PI0823154	A2	07 July 2015
				MX	2010001645	A	10 March 2010
				US	9150633	B2	06 October 2015
				AU	2008288413	B2	26 September 2013

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (January 2015)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/141057

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
				CN	101784562	B	13 July 2016
				WO	2009022013	A1	19 February 2009
				JP	5730569	B2	10 June 2015
CN	102037008	A	27 April 2011	PT	2910570	T	24 January 2017
				DK	2910570	T3	30 January 2017
				DK	2254906	T3	23 January 2017
				EP	2910570	B1	12 October 2016
				EP	2254906	B1	05 October 2016
				HU	E032284	T2	28 September 2017
				BR	PI0910348	A2	11 August 2020
				JP	2015155421	A	27 August 2015
				EP	2910571	B1	05 October 2016
				KR	20110004366	A	13 January 2011
				US	2014073564	A1	13 March 2014
				CN	102037008	B	31 August 2016
				RU	2010141481	A	27 April 2012
				EP	2910569	B1	05 October 2016
				IL	250548	A	31 March 2019
				US	8691759	B2	08 April 2014
				AU	2009226910	A1	24 September 2009
				CA	2718738	C	07 May 2019
				US	2011105720	A1	05 May 2011
				JP	2015147781	A	20 August 2015
				KR	20160073431	A	24 June 2016
				ZA	201006126	B	30 November 2011
				HU	E032287	T2	28 September 2017
				JP	5749155	B2	15 July 2015
				PT	2254906	T	03 January 2017
				ES	2611007	T3	04 May 2017
				US	9688737	B2	27 June 2017
				JP	2011515358	A	19 May 2011
				US	9045560	B2	02 June 2015
				EP	2910570	A1	26 August 2015
				EP	2254906	A1	01 December 2010
				CA	2718738	A1	24 September 2009
				EP	2910571	A1	26 August 2015
				KR	20160124929	A	28 October 2016
				AU	2009226910	B2	06 February 2014
				IL	250548	D0	30 March 2017
				RU	2571857	C2	20 December 2015
				EP	2910569	A1	26 August 2015
				MX	2010009850	A	30 September 2010
				IL	250549	A	31 December 2018
				KR	101755434	B1	10 July 2017
				IL	250549	D0	30 March 2017
				US	10259856	B2	16 April 2019
				JP	2015147782	A	20 August 2015
				IL	207748	D0	30 December 2010
				KR	101755529	B1	07 July 2017
				PL	2910570	T3	30 June 2017

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (January 2015)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2020/141057

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
				PL	2254906	T3	28 April 2017
				US	2015210748	A1	30 July 2015
WO	2017205191	A1	30 November 2017	EP	3463429	A4	22 July 2020
				US	2019142906	A1	16 May 2019
				EP	3463429	A1	10 April 2019

10

20

30

40

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2020/141057

A. 主题的分类		
C07K 14/605(2006.01)i; A61K 38/26(2006.01)i; A61P 3/10(2006.01)i		
按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域		
检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)		
C07K; A61K; A61P		
包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献		
在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))		
CNABS, SIPOABS, DWPI, CNTXT, EPTXT, WOTXT, USTXT, CNKI, ISI, NCBI, pubmed, baidu, 甘李药业股份有限公司/甘忠如, GLP-1, 胰岛素, insulin, 亚烷基二醇, Alkylene glycol, 脂肪酸, fatty acid, 酰化胰岛素, acylated insulin		
C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 101842386 A (诺沃-诺迪斯克有限公司) 2010年 9月 22日 (2010 - 09 - 22) 权利要求1, 13-18, 说明书第35页第337段	1-13, 22-25
Y	CN 101842386 A (诺沃-诺迪斯克有限公司) 2010年 9月 22日 (2010 - 09 - 22) 权利要求1, 13-18, 说明书第35页第337段	14-25
X	WO 2019200594 A1 (杭州先为达生物科技有限公司) 2019年 10月 24日 (2019 - 10 - 24) 权利要求1-21	1-13, 22-25
X	CN 109248323 A (杭州先为达生物科技有限公司) 2019年 1月 22日 (2019 - 01 - 22) 权利要求1-9	1-13, 22-25
X	WO 2009030771 A1 (NOVO NORDISK A/S) 2009年 3月 12日 (2009 - 03 - 12) 权利要求1-21	1-13, 22-25
Y	CN 101784563 A (诺沃-诺迪斯克有限公司) 2010年 7月 21日 (2010 - 07 - 21) 权利要求1-5	14-25
Y	CN 101784562 A (诺沃-诺迪斯克有限公司) 2010年 7月 21日 (2010 - 07 - 21) 权利要求1-6	14-25
<input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期		国际检索报告邮寄日期
2021年 3月 12日		2021年 3月 25日
ISA/CN的名称和邮寄地址		受权官员
中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088		陈皓
传真号 (86-10)62019451		电话号码 86-(10)-53962068

PCT/ISA/210 表(第2页) (2015年1月)

10

20

30

40

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2020/141057

G. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN 102037008 A (诺沃-诺迪斯克有限公司) 2011年 4月 27日 (2011 - 04 - 27) 权利要求1-12	14-25
A	WO 2017205191 A1 (MERCK SHARP & DOHME CORP.) 2017年 11月 30日 (2017 - 11 - 30) 权利要求1-29	1-25

10

20

30

40

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2020/141057

第I栏	核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)
	<p>1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列表进行的:</p> <p>a. <input checked="" type="checkbox"/> 作为国际申请的一部分提交的:</p> <p style="padding-left: 20px;"><input checked="" type="checkbox"/> 附件C/ST. 25文本文件形式</p> <p style="padding-left: 20px;"><input type="checkbox"/> 纸件或图形文件形式</p> <p>b. <input type="checkbox"/> 根据细则13之三. 1(a) 仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:</p> <p>c. <input type="checkbox"/> 仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:</p> <p style="padding-left: 20px;"><input type="checkbox"/> 附件C/ST. 25文本文件形式 (细则13之三. 1(a))</p> <p style="padding-left: 20px;"><input type="checkbox"/> 纸件或图形文件形式 (细则13之三. 1(b) 和行政规程第713段)</p> <p>2. <input type="checkbox"/> 另外, 在提交/提供了多个版本或副本的序列表的情况下, 提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围 (如适用) 的所需声明。</p> <p>3. 补充意见:</p>

10

20

30

40

国际检索报告		国际申请号 PCT/CN2020/141057
第II栏	某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)	
根据条约第17条(2)(a), 对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下:		
1.	<input checked="" type="checkbox"/> 权利要求: 25 因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题, 即: [1] 权利要求25涉及一种治疗或预防高血糖症、糖尿病、和/或肥胖症的方法, 其属于PCT Rule 3 9.1 (iv) 规定的疾病的治疗方法, 但仍然基于其制药用途, 即, 一组如权利要求1-5任一项所述的化合物或权利要求6-13任一项所述的药物制剂或权利要求14-21任一项所述的药物组合物在制备治疗或预防高血糖症、糖尿病、和/或肥胖症的药物中的应用, 进行了检索。	10
2.	<input type="checkbox"/> 权利要求: 因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分, 以致不能进行任何有意义的国际检索, 具体地说:	
3.	<input type="checkbox"/> 权利要求: 因为它们是从属权利要求, 并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。	20
		30
		40
		50

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/141057

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	101842386	A	2010年 9月 22日	EP	2190873	B1	2015年 7月 22日
				ES	2550363	T3	2015年 11月 6日
				US	2014296131	A1	2014年 10月 2日
				EP	2190873	A1	2010年 6月 2日
				JP	2010538049	A	2010年 12月 9日
				US	2010292133	A1	2010年 11月 18日
				WO	2009030774	A1	2009年 3月 12日
				US	9657079	B2	2017年 5月 23日
				WO	2019200594	A1	2019年 10月 24日
				AU	2019256245	A1	2020年 11月 19日
WO	2019201328	A1	2019年 10月 24日				
CN	109248323	A	2019年 1月 22日	无			
WO	2009030771	A1	2009年 3月 12日	EP	2190460	B1	2014年 12月 17日
				JP	2010538048	A	2010年 12月 9日
				CN	101842109	B	2014年 1月 29日
				US	9067977	B2	2015年 6月 30日
				CN	101842109	A	2010年 9月 22日
				US	2014011732	A1	2014年 1月 9日
				EP	2190460	A1	2010年 6月 2日
				JP	5606314	B2	2014年 10月 15日
				ES	2532116	T3	2015年 3月 24日
				US	2010261637	A1	2010年 10月 14日
CN	101784563	A	2010年 7月 21日	JP	5721432	B2	2015年 5月 20日
				EP	2178910	B1	2014年 10月 8日
				JP	2010535849	A	2010年 11月 25日
				US	8962794	B2	2015年 2月 24日
				WO	2009022006	A1	2009年 2月 19日
				ES	2526924	T3	2015年 1月 16日
				CN	101784563	B	2015年 2月 4日
				US	2011098439	A1	2011年 4月 28日
				EP	2178910	A1	2010年 4月 28日
				US	9035020	B1	2015年 5月 19日
				US	2015148521	A1	2015年 5月 28日
				RU	2514430	C2	2014年 4月 27日
EP	2178912	B1	2015年 7月 8日				
AU	2008288413	A1	2009年 2月 19日				
RU	2010107788	A	2011年 9月 20日				
KR	20100053561	A	2010年 5月 20日				
CA	2695970	A1	2009年 2月 19日				
EP	2708554	A1	2014年 3月 19日				
WO	2009022005	A1	2009年 2月 19日				
JP	2010535851	A	2010年 11月 25日				
ZA	201001416	B	2011年 6月 29日				
US	2011098440	A1	2011年 4月 28日				
ES	2548304	T3	2015年 10月 15日				
EP	2178912	A1	2010年 4月 28日				
BR	PI0823154	A2	2015年 7月 7日				
MX	2010001645	A	2010年 3月 10日				
US	9150633	B2	2015年 10月 6日				
AU	2008288413	B2	2013年 9月 26日				

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2015年1月)

10

20

30

40

50

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/141057

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
				CN	101784562	B	2016年 7月 13日
				WO	2009022013	A1	2009年 2月 19日
				JP	5730569	B2	2015年 6月 10日
CN	102037008	A	2011年 4月 27日	PT	2910570	T	2017年 1月 24日
				DK	2910570	T3	2017年 1月 30日
				DK	2254906	T3	2017年 1月 23日
				EP	2910570	B1	2016年 10月 12日
				EP	2254906	B1	2016年 10月 5日
				HU	E032284	T2	2017年 9月 28日
				BR	PI0910348	A2	2020年 8月 11日
				JP	2015155421	A	2015年 8月 27日
				EP	2910571	B1	2016年 10月 5日
				KR	20110004366	A	2011年 1月 13日
				US	2014073564	A1	2014年 3月 13日
				CN	102037008	B	2016年 8月 31日
				RU	2010141481	A	2012年 4月 27日
				EP	2910569	B1	2016年 10月 5日
				IL	250548	A	2019年 3月 31日
				US	8691759	B2	2014年 4月 8日
				AU	2009226910	A1	2009年 9月 24日
				CA	2718738	C	2019年 5月 7日
				US	2011105720	A1	2011年 5月 5日
				JP	2015147781	A	2015年 8月 20日
				KR	20160073431	A	2016年 6月 24日
				ZA	201006126	B	2011年 11月 30日
				HU	E032287	T2	2017年 9月 28日
				JP	5749155	B2	2015年 7月 15日
				PT	2254906	T	2017年 1月 3日
				ES	2611007	T3	2017年 5月 4日
				US	9688737	B2	2017年 6月 27日
				JP	2011515358	A	2011年 5月 19日
				US	9045560	B2	2015年 6月 2日
				EP	2910570	A1	2015年 8月 26日
				EP	2254906	A1	2010年 12月 1日
				CA	2718738	A1	2009年 9月 24日
				EP	2910571	A1	2015年 8月 26日
				KR	20160124929	A	2016年 10月 28日
				AU	2009226910	B2	2014年 2月 6日
				IL	250548	DO	2017年 3月 30日
				RU	2571857	C2	2015年 12月 20日
				EP	2910569	A1	2015年 8月 26日
				MX	2010009850	A	2010年 9月 30日
				IL	250549	A	2018年 12月 31日
				KR	101755434	B1	2017年 7月 10日
				IL	250549	DO	2017年 3月 30日
				US	10259856	B2	2019年 4月 16日
				JP	2015147782	A	2015年 8月 20日
				IL	207748	DO	2010年 12月 30日
				KR	101755529	B1	2017年 7月 7日
				PL	2910570	T3	2017年 6月 30日

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2015年1月)

10

20

30

40

50

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/141057

检索报告引用的专利文件				同族专利			公布日 (年/月/日)
							公布日 (年/月/日)
				PL	2254906	T3	2017年 4月 28日
				US	2015210748	A1	2015年 7月 30日
WO	2017205191	A1	2017年 11月 30日	EP	3463429	A4	2020年 7月 22日
				US	2019142906	A1	2019年 5月 16日
				EP	3463429	A1	2019年 4月 10日

10

20

30

40

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2015年1月)

50

フロントページの続き

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

弁理士 伊東 忠重

(74)代理人 100107515

弁理士 廣田 浩一

(74)代理人 100070150

弁理士 伊東 忠彦

(72)発明者 ガン, ジョォンルー

中国 1 0 1 1 0 9 ベイジン トンジョウ ディストリクト, フォシャン, ナンフェン ウェスト
 1スト ストリート ナンバー・8

(72)発明者 チェン, ウエイ

中国 1 0 1 1 0 9 ベイジン トンジョウ ディストリクト, フォシャン, ナンフェン ウェスト
 1スト ストリート ナンバー・8

(72)発明者 ジャン, イニン

中国 1 0 1 1 0 9 ベイジン トンジョウ ディストリクト, フォシャン, ナンフェン ウェスト
 1スト ストリート ナンバー・8

(72)発明者 シュエ, ファンカイ

中国 1 0 1 1 0 9 ベイジン トンジョウ ディストリクト, フォシャン, ナンフェン ウェスト
 1スト ストリート ナンバー・8

(72)発明者 ツァイ, リンギュ

中国 1 0 1 1 0 9 ベイジン トンジョウ ディストリクト, フォシャン, ナンフェン ウェスト
 1スト ストリート ナンバー・8

(72)発明者 ニウ, ジェンホン

中国 1 0 1 1 0 9 ベイジン トンジョウ ディストリクト, フォシャン, ナンフェン ウェスト
 1スト ストリート ナンバー・8

(72)発明者 ム, ビン

中国 1 0 1 1 0 9 ベイジン トンジョウ ディストリクト, フォシャン, ナンフェン ウェスト
 1スト ストリート ナンバー・8

F ターム (参考) 4C084 AA02 AA03 AA07 BA01 BA08 BA18 BA19 BA23 DB34 DB35

MA16 MA66 NA12 ZA701 ZA702 ZC351 ZC352

4H045 AA10 AA30 BA18 BA50 CA40 DA30 EA27 FA74