

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-522904

(P2024-522904A)

(43)公表日 令和6年6月21日(2024.6.21)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 38/28 (2006.01)	A 6 1 K 38/28	4 C 0 7 6
C 0 7 K 14/62 (2006.01)	C 0 7 K 14/62	4 C 0 8 4
A 6 1 K 47/10 (2017.01)	A 6 1 K 47/10	4 H 0 4 5
A 6 1 K 47/02 (2006.01)	A 6 1 K 47/02	
A 6 1 K 9/08 (2006.01)	A 6 1 K 9/08	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全82頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2023-580355(P2023-580355)	(71)出願人	523485755
(86)(22)出願日	令和4年6月24日(2022.6.24)		ガン アンド リー ファーマシューティ
(85)翻訳文提出日	令和6年2月16日(2024.2.16)		カルズ カンパニー リミテッド
(86)国際出願番号	PCT/CN2022/101204		GAN & LEE PHARMACEU
(87)国際公開番号	WO2022/268208		TICALS CO., LTD.
(87)国際公開日	令和4年12月29日(2022.12.29)		中華人民共和国 ペイジン トンジョウ
(31)優先権主張番号	202110709826.5		ディストリクト フォシアン ナンフェン
(32)優先日	令和3年6月25日(2021.6.25)		ウエスト ファースト ストリート ナン
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)		パー8 アイビー デパートメント ニュウ
			ジャンホン
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA, RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く		IP Department Niu J ianghong, No. 8 Nanf eng West 1st Street, Huoxian, Tongzhou D istrict, Beijing, C 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 アシル化インスリンを含む医薬組成物

(57)【要約】

本発明は、アシル化インスリン製剤、アシル化インスリンと長時間作用型GLP-1化合物との医薬組成物、並びに上記製剤及び医薬組成物の医学的用途に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

アシル化インスリンと、
 2.3モルの亜鉛イオン / 6モルのアシル化インスリンと、
 45 ~ 60 mM のフェノールと、
 0 ~ 10 mM の m - クレゾールと、
 10 mM ~ 20 mM の NaCl と、
 1.5% の (重量 / 重量) のグリセリンと、
 5 ~ 10 mM の Na₂HPO₄ と
 を含む医薬組成物であって、
 そのうち、

前記アシル化インスリンのインスリン母体は、A14E、B16H、B25H、des B30ヒトインスリン又はA14E、B16E、B25H、des B30ヒトインスリンであり、前記アシル化インスリンのアシル基部分は、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、前記アシル基部分は下記式(D)で表され、



式中、

mは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、nは、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20であり

W3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、

W2は酸性アミノ酸残基であり、

W1は20 ~ 24個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、但し、形式上、ヒドロキシ基は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、

W1、W2及びW3の間はアミド結合で連結され、及び

W2及びW3の式(D)における出現順番は独立的に互換可能である、

医薬組成物。

【請求項 2】

前記nは、5、6、7、8、9、11、12、13、14、15、16、17、18若しくは19、好ましくは、nは、5、6、7、8、11、12、13、14、15、16、17若しくは18、好ましくは、nは、5、6、7、8、11、12、13、14、15若しくは16、好ましくは、nは、5、6、7、8、11、12、13、14若しくは15であり、及び / 又は

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

W1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、W1は20、21又は22個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、但し、形式上、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いる、

請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

前記W3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-O-(CH₂)₂-O-(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-、-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-(C

$H_2) _2 - CO -$ 、 $-HN - (CH_2) _2 - O - (CH_2) _2 - O - CH_2 - CO - CH_2 - O - CH_2 - CO -$ 、 $-HN - (CH_2) _3 - O - (CH_2) _2 - O - (CH_2) _2 - O - (CH_2) _3 - NH - CO - (CH_2) _2 - CO -$ 、 $-HN - (CH_2) _3 - O - (CH_2) _2 - O - (CH_2) _2 - O - (CH_2) _3 - NH - CO - CH_2 - O - CH_2 - CO -$ 、 $-HN - (CH_2) _2 - O - (CH_2) _2 - O - (CH_2) _2 - NH - CO - (CH_2) _2 - CO -$ 、 $-HN - (CH_2) _2 - O - (CH_2) _2 - O - (CH_2) _2 - NH - CO - CH_2 - O - CH_2 - CO -$ 、 $-HN - (CH_2) _3 - O - (CH_2) _2 - O - (CH_2) _2 - O - (CH_2) _3 - NH - CO - CH_2 - O - CH_2 - CO -$ 、 $-HN - (CH_2) _3 - O - (CH_2) _3 - O - CH_2 - CO -$ 、又は $-HN - (CH_2) _4 - O - (CH_2) _4 - O - CH_2 - CO -$ であり、好ましくは、W3は $-HN - (CH_2) _2 - O - (CH_2) _2 - O - CH_2 - CO -$ であり、及び/又は

W2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、W2は Glu又は Aspから選ばれ、及び/又は

W1は $HOOC - (CH_2) _{18} - CO -$ 、 $HOOC - (CH_2) _{19} - CO -$ 、 $HOOC - (CH_2) _{20} - CO -$ 、 $HOOC - (CH_2) _{21} - CO -$ 又は $HOOC - (CH_2) _{22} - CO -$ であり、好ましくは、W1は $HOOC - (CH_2) _{18} - CO -$ 、 $HOOC - (CH_2) _{20} - CO -$ 又は $HOOC - (CH_2) _{22} - CO -$ である、請求項1又は2に記載の医薬組成物。

【請求項4】

前記式(D)は、W3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1～3の何れか一項に記載の医薬組成物。

【請求項5】

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1～4の何れか一項に記載の医薬組成物。

【請求項6】

前記アシル化インスリンは、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 5xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 6xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 5xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 6xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 7xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 8xOEG)、desB30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、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 8xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 9xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 9xOEG)、desB30ヒトインスリン、又はA14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 10xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25

es 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 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 E、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 E、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 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - ヘン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 E、B 2 5 H、B 2 9 K
 (N () - トリコサンジアシル - 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 E、B 2 5 H、B 2 9 K (N () - テトラコサンジアシル -
 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 E、B 2 5 H 10
 、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - G l u - 1 3 x O E G)、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 () - エイコサンジア
 シル - G l u - 1 4 x O E G)、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 () - エイコサンジアシル - G l u - 1 5 x O E G)、de
 s 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 l u - 1 3 x O E G)、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 l u - 1 4 x O E G)、
 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 () - エ
 イコサンジアシル - G l u - 1 5 x O E G)、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 () - エイコサンジアシル - G l u - 1 6 x O 20
 E G)、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 ()
) - エイコサンジアシル - G l u - 1 7 x O E G)、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 l u - 1
 6 x O E G)、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 l u - 1 7 x O E G)、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 () - エイコサンジアシル - G l
 u - 1 8 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 H、B
 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - G l u - 1 9 x O E G)、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 l u - 1 8 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、A 1 4 E、B 1 6 E、B 2 5 30
 H、B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 1 9 x O E G)、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 () - エイコサンジア
 シル - G l u - 2 0 x O E G)、des B 30 ヒトインスリン、又は 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 l u - 2 0 x O E G)、d
 es B 30 ヒトインスリンとラ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 - 5 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 -
 5 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 40
 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 () - 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、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 - 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 - 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 50

ル - G l u - 1 2 x O E G)、 d e s B 3 0 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)、 d e s B 3 0 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 - 1 2 x O E G)、 d e s B 3 0 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)、 d e s B 3 0 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 ~ 5 の何れか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

前記アシル化インスリンの含有量は約 0 . 3 m M より高く、好ましくは約 0 . 3 ~ 9 m M、好ましくは約 0 . 6 ~ 8 . 4 m M、好ましくは約 0 . 6 ~ 7 . 2 m M、好ましくは約 0 . 6 ~ 6 . 0 m M、好ましくは約 0 . 6 ~ 4 . 2 m M、好ましくは約 0 . 6 ~ 3 . 6 m M、好ましくは約 0 . 6 ~ 3 . 0 m M、好ましくは約 0 . 6 ~ 2 . 4 m M、好ましくは約 0 . 6 ~ 2 . 1 m M、好ましくは約 0 . 9 ~ 1 . 8 m M、好ましくは約 0 . 9 ~ 1 . 5 m M、好ましくは約 1 . 2 ~ 1 . 5 m M であり、及び / 又は

フェノールの含有量は、約 4 5 m M、約 4 6 m M、約 4 7 m M、約 4 8 m M、約 4 9 m M、5 0 m M、約 5 1 m M、約 5 2 m M、約 5 3 m M、約 5 4 m M、約 5 5 m M、約 5 6 m M、約 5 7 m M、約 5 8 m M、約 5 9 m M、若しくは約 6 0 m M であり、及び / 又は

m - クレゾールの含有量は、約 0 m M、約 1 m M、約 2 m M、約 3 m M、約 4 m M、約 5 m M、約 6 m M、約 7 m M、約 8 m M、約 9 m M、若しくは約 1 0 m M であり、及び / 又は

N a C l の含有量は、約 1 0 m M、約 1 1 m M、約 1 2 m M、約 1 3 m M、約 1 4 m M、約 1 5 m M、約 1 6 m M、約 1 7 m M、約 1 8 m M、約 1 9 m M、若しくは約 2 0 m M であり、及び / 又は

前記医薬組成物の p H は 6 . 5 ~ 8 . 5 であり、好ましくは p H は 6 . 5 ~ 8 . 0、好ましくは p H は 7 . 0 ~ 7 . 8、好ましくは p H は 7 . 2 ~ 7 . 6、更に好ましくは p H は 7 . 4 である、

請求項 1 ~ 6 の何れか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

約 0 . 9 ~ 1 . 5 m M のアシル化インスリンと、

約 2 . 3 モルの垂鉛イオン / 6 モルのアシル化インスリンと、

約 4 5 m M のフェノールと、

約 1 0 m M の m - クレゾールと、

約 2 0 m M の N a C l と、

約 1 5 m g / m L のグリセリンと、

約 5 ~ 1 0 m M の N a ₂ H P O ₄ とを含む医薬組成物であって、

p H 値が約 6 . 5 ~ 8 . 0 であり、

そのうち、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 - 5 x 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 () - ドコサンジアシル - G l u - 5 x 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 - 6 x 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 () - ドコサンジアシル - G l u - 6 x 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 - 8 x 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 () - ドコサンジアシル - G l u - 8 x 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 - 1 1 x 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 - 1 2 x 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 () - ドコサンジアシル - G l u - 1 1 x 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 () - 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、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)、 d e s B 3 0 ヒトインスリンである、医薬組成物。

【請求項 9】

約 1 . 2 m M のアシル化インスリンと、
 約 2 . 3 モルの亜鉛イオン / 6 モルのアシル化インスリンと、
 約 4 5 m M のフェノールと、
 約 1 0 m M の m - クレゾールと、
 約 2 0 m M の N a C l と、
 約 1 5 m g / m L のグリセリンと、
 約 5 m M の N a ₂ H P O ₄ とを含む医薬組成物であって、
 p H 値が約 7 . 4 であり、

10

そのうち、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 - 5 x 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 () - ドコサンジアシル - G l u - 5 x 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 - 6 x 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 () - ドコサンジアシル - G l u - 6 x 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 - 8 x 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 () - ドコサンジアシル - G l u - 8 x 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 - 1 1 x 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 - 1 2 x 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 () - ドコサンジアシル - G l u - 1 1 x 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 () - 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、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)、 d e s B 3 0 ヒトインスリンである、医薬組成物。

20

30

【請求項 1 0】

インスリン分泌性 G L P - 1 化合物及びアシル化インスリンを含む医薬組成物であって、

そのうち、前記インスリン分泌性 G L P - 1 化合物と前記アシル化インスリンとのモル比は、少なくとも約 1 : 1 0 0 であり、好ましくは少なくとも約 3 : 1 0 0、好ましくは少なくとも約 5 : 1 0 0、好ましくは少なくとも約 8 : 1 0 0、好ましくは約 (3 : 1 0 0) ~ (1 0 0 : 1 0 0)、好ましくは約 (5 : 1 0 0) ~ (8 0 : 1 0 0)、好ましくは約 (8 : 1 0 0) ~ (5 0 : 1 0 0)、好ましくは約 (1 0 : 1 0 0) ~ (5 0 : 1 0 0)、好ましくは約 (1 3 : 1 0 0) ~ (5 0 : 1 0 0)、好ましくは約 (1 3 : 1 0 0) ~ (4 0 : 1 0 0)、好ましくは約 (1 3 : 1 0 0) ~ (3 5 : 1 0 0)、好ましくは約 (1 3 : 1 0 0) ~ (2 7 : 1 0 0)、好ましくは約 (1 3 : 1 0 0) ~ (2 0 : 1 0 0) であり、

40

前記アシル化インスリンは請求項 1 ~ 9 の何れか 1 項に定義された通りであり、

前記インスリン分泌性 G L P - 1 化合物は、 N - ^{2 6} - (1 7 - 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 - [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、 N - ^{2 6} - (1 7 - 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 - [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、 N - ^{2 6} - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (1 7 - カルボキシヘプタデ

50

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)₂ - 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)₂ - O - (CH₂)₃ - NH - CO - CH₂ - O - CH₂ - CO - 、 - HN - (CH₂)₃ - O - (CH₂)₃ - O - CH₂ - CO - 、又は - HN - (CH₂)₄ - O - (CH₂)₄ - O - CH₂ - CO - であり、好ましくは、L 2 は - HN - (CH₂)₂ - O - (CH₂)₂ - O - CH₂ - CO - であり、及び/又は

L 1 は Glu 又は Asp から選ばれ、好ましくは L 1 は Glu であり、及び/又は

Acyl 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、Acyl は HOOC - (CH₂)₁₈ - CO - 、 HOOC - (CH₂)₂₀ - CO - 又は HOOC - (CH₂)₂₂ - CO - である、

請求項 10 ~ 11 の何れか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 13】

式 (B) において、Acyl、L 1 及び L 2 の間はアミド結合で順に連結され、L 2 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 10 ~ 12 の何れか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 14】

前記インスリン分泌性 GLP - 1 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 - [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、Arg 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 - [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、
 N - ^{2 6} - [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] [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペ
 プチド、
 N - ^{2 6} - [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] [A r g 3 4]
 G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、
 N - ^{2 6} - [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] [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7)
) ペプチド、
 N - ^{2 6} - [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] [A r g 3
 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、
 N - ^{2 6} - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (2 3 - 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] [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペ
 プチド、
 N - ^{2 6} - [2 - (2 - [2 - (4 - [2 3 - 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] [A r g 3 4]
 G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、
 N - ^{2 6} - (2 3 - 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 - [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、
 N - ^{2 6} - (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 - ^{2 6} - (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、
 N - ^{2 6} - [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 - ^{2 6} - [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、
 N - ^{2 6} - [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 - ^{2 6} - [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 - ^{2 6} - (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、
 N - ^{2 6} - (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 - ^{2 6} - [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、

10

20

30

40

50

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (4 - [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 - (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 - [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] [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) 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 - [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) 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 - [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、及び/又は

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 - 5 x O E G)、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 () - エイコサンジアシル - G l u - 6 x O E G)、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 () - ドコサンジアシル - G l u - 5 x O E G)、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 () - ドコサンジアシル - G l u - 6 x O E G)、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 () - エイコサンジアシル - G l u - 7 x O E G)、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 () - エイコサンジアシル - G l u - 8 x O E G)、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 () - ドコサンジアシル - G l u - 7 x O E G)、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 () - ドコサンジアシル - G l u - 8 x O E G)、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 () - エイコサンジアシル - G l u - 9 x O E G)、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 () - ドコサンジアシル - G l u - 9 x O E G)、des B 3 0 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 - 10 x O E G)、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 () - エイコサンジアシル - G l u - 12 x O E G)、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 () - ドコサンジアシル - G l u - 12 x O E G)、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 () - エイコサンジアシル - G l u - 11 x O E G)、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 () - ドコサンジアシル - G l u - 11 x O E G)、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 - G l u - 12 x O E G)、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 () - トリコサンジアシル - G l u - 12 x O E G)、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 () - テトラコサンジアシル - G l u - 12 x O E G)、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 () - エイコサンジアシル - G l u - 13 x O E G)、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 () - エイコサンジアシル - G l u - 14 x O E G)、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 () - エイコサンジアシル - G l u - 15 x O E G)、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 () - ドコサンジアシル - G l u - 13 x O E G)、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 () - ドコサンジアシル - G

10

20

30

40

50

lu - 14 x OEG)、 des B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16H、 B25H、
 B29K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 15 x OEG)、 des B30 ヒ
 トインスリン、 A14E、 B16H、 B25H、 B29K (N () - エイコサンジアシル
 ル - Glu - 16 x OEG)、 des B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16H、 B
 25H、 B29K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 17 x OEG)、 des
 B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16H、 B25H、 B29K (N () - ドコサン
 ジアシル - Glu - 16 x OEG)、 des B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16
 H、 B25H、 B29K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 17 x OEG)、 d
 es B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16H、 B25H、 B29K (N () - エイ
 コサンジアシル - Glu - 18 x OEG)、 des B30 ヒトインスリン、 A14E、 10
 B16H、 B25H、 B29K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 19 x OE
 G)、 des B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16H、 B25H、 B29K (N ()
) - ドコサンジアシル - Glu - 18 x OEG)、 des B30 ヒトインスリン、 A1
 4E、 B16H、 B25H、 B29K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 19 x
 OEG)、 des B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16H、 B25H、 B29K (N
 () - エイコサンジアシル - Glu - 20 x OEG)、 des B30 ヒトインスリン
 、 A14E、 B16H、 B25H、 B29K (N () - ドコサンジアシル - Glu -
 20 x OEG)、 des B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16H、 B25H、 B29
 K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 24 x OEG)、 des B30 ヒトインス
 リン、 A14E、 B16E、 B25H、 B29K (N () - エイコサンジアシル - G 20
 lu - 5 x OEG)、 des B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16E、 B25H、 B
 29K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 6 x OEG)、 des B30 ヒトイ
 ンスリン、 A14E、 B16E、 B25H、 B29K (N () - ドコサンジアシル -
 Glu - 5 x OEG)、 des B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16E、 B25H、
 B29K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 6 x OEG)、 des B30 ヒトイ
 ンスリン、 A14E、 B16E、 B25H、 B29K (N () - エイコサンジアシル -
 Glu - 7 x OEG)、 des B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16E、 B25H
 、 B29K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 8 x OEG)、 des B30 ヒ
 トインスリン、 A14E、 B16E、 B25H、 B29K (N () - ドコサンジアシル
 - Glu - 7 x OEG)、 des B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16E、 B25 30
 H、 B29K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 8 x OEG)、 des B30 ヒ
 トインスリン、 A14E、 B16E、 B25H、 B29K (N () - エイコサンジアシ
 ル - Glu - 9 x OEG)、 des B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16E、 B2
 5H、 B29K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 9 x OEG)、 des B30
 ヒトインスリン、 又は A14E、 B16E、 B25H、 B29K (N () - ドコサンジ
 アシル - Glu - 10 x OEG)、 des B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16E
 、 B25H、 B29K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 12 x OEG)、 d
 es B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16E、 B25H、 B29K (N () - ドコ
 サンジアシル - Glu - 12 x OEG)、 des B30 ヒトインスリン、 A14E、 B
 16E、 B25H、 B29K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 11 x OEG 40
)、 des B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16E、 B25H、 B29K (N ()
) - ドコサンジアシル - Glu - 11 x OEG)、 des B30 ヒトインスリン、 A14
 E、 B16E、 B25H、 B29K (N () - ヘンエイコサンジアシル - Glu - 1
 2 x OEG)、 des B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16E、 B25H、 B29K
 (N () - トリコサンジアシル - Glu - 12 x OEG)、 des B30 ヒトインス
 リン、 A14E、 B16E、 B25H、 B29K (N () - テトラコサンジアシル -
 Glu - 12 x OEG)、 des B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16E、 B25H
 、 B29K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 13 x OEG)、 des B30
 ヒトインスリン、 A14E、 B16E、 B25H、 B29K (N () - エイコサンジ
 アシル - Glu - 14 x OEG)、 des B30 ヒトインスリン、 A14E、 B16E、 50

B 2 5 H、B 2 9 K (N () - エイコサンジアシル - G l u - 1 5 x O E G)、d e s 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 - G l u - 1 3 x O E G)、d e s 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 - G l u - 1 4 x O E G)、d e s 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 () - エイコサンジアシル - G l u - 1 5 x O E G)、d e s 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 () - エイコサンジアシル - G l u - 1 6 x O E G)、d e s 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 () - エイコサンジアシル - G l u - 1 7 x O E G)、d e s 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 - G l u - 1 6 x O E G)、d e s 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 - G l u - 1 7 x O E G)、d e s 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 () - エイコサンジアシル - G l u - 1 8 x O E G)、d e s 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 () - エイコサンジアシル - G l u - 1 9 x O E G)、d e s 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 - G l u - 1 8 x O E G)、d e s 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 - G l u - 1 9 x O E G)、d e s 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 () - エイコサンジアシル - G l u - 2 0 x O E G)、d e s B 3 0 ヒトインスリン、又は 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 l u - 2 0 x O E G)、d e s B 3 0 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 0 ~ 1 3 の何れか一項に記載の医薬組成物。

10

20

30

40

50

【請求項 1 5】

前記インスリン分泌性 G L P - 1 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、

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、又は

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) ペプチドという化合物から選ばれ、及び/又は

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 - 5 x 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 () - ドコサンジアシル - G l u - 5 x 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 - 6 x 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 () - ドコサンジアシル - G l u - 6 x 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 - $Glu - 8 \times OEG$)、 $desB30$ ヒトインスリン、 $A14E$ 、 $B16H$ 、 $B25H$ 、 $B29K$ ($N()$ - ドコサンジアシル - $Glu - 8 \times OEG$)、 $desB30$ ヒトインスリン、 $A14E$ 、 $B16H$ 、 $B25H$ 、 $B29K$ ($N()$) - エイコサンジアシル - $Glu - 11 \times OEG$)、 $desB30$ ヒトインスリン、 $A14E$ 、 $B16H$ 、 $B25H$ 、 $B29K$ ($N()$ - エイコサンジアシル - $Glu - 12 \times OEG$)、 $desB30$ ヒトインスリン、 $A14E$ 、 $B16H$ 、 $B25H$ 、 $B29K$ ($N()$ - ドコサンジアシル - $Glu - 11 \times OEG$)、 $desB30$ ヒトインスリン、 $A14E$ 、 $B16H$ 、 $B25H$ 、 $B29K$ ($N()$ - ドコサンジアシル - $Glu - 12 \times OEG$)、 $desB30$ ヒトインスリン、又は $A14E$ 、 $B16H$ 、 $B25H$ 、 $B29K$ ($N()$ - ドコサンジアシル - $Glu - 18 \times OEG$)、 $desB30$ ヒトインスリンというインスリンから選ばれる、
請求項 10 ~ 14 の何れか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 16】

前記アシル化インスリンの含有量は約 0.3 mM より高く、好ましくは約 $0.3 \sim 9 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $0.6 \sim 8.4 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $0.6 \sim 7.2 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $0.6 \sim 6.0 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $0.6 \sim 4.2 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $0.6 \sim 3.6 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $0.6 \sim 3.0 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $0.6 \sim 2.4 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $0.6 \sim 2.1 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $0.9 \sim 1.8 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $0.9 \sim 1.5 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $1.2 \sim 1.5 \text{ mM}$ である、
請求項 10 ~ 15 の何れか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 17】

前記組成物は、亜鉛イオン、グリセリン、フェノール、 m -クレゾール、 $NaCl$ 、及び / 又は Na_2HPO_4 を更に含む、
請求項 10 ~ 16 の何れか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 18】

前記亜鉛イオンの含有量は、少なくとも約 1.5 モルの亜鉛イオン / 6 モルのアシル化インスリンであり、好ましくは約 $1.5 \sim 12$ モルの亜鉛イオン / 6 モルのアシル化インスリン、好ましくは約 $1.5 \sim 10$ モルの亜鉛イオン / 6 モルのアシル化インスリン、好ましくは約 $1.5 \sim 8$ モルの亜鉛イオン / 6 モルのアシル化インスリン、好ましくは約 $1.5 \sim 6$ モルの亜鉛イオン / 6 モルのアシル化インスリン、好ましくは約 $1.5 \sim 4.5$ モルの亜鉛イオン / 6 モルのアシル化インスリン、好ましくは約 $1.5 \sim 3.5$ モルの亜鉛イオン / 6 モルのアシル化インスリン、好ましくは約 $1.5 \sim 2.3$ モルの亜鉛イオン / 6 モルのアシル化インスリンであり、及び / 又は

前記グリセリンの含有量は、約 2.5% (重量 / 重量) 以下であり、好ましくは約 2% (重量 / 重量) 以下、好ましくは約 $0.3\% \sim 2\%$ (重量 / 重量)、好ましくは約 $0.5\% \sim 1.8\%$ (重量 / 重量)、好ましくは約 $0.7\% \sim 1.8\%$ (重量 / 重量)、好ましくは約 $1\% \sim 1.8\%$ (重量 / 重量)、好ましくは約 $1.5\% \sim 1.7\%$ (重量 / 重量) であり、及び / 又は

前記フェノールの含有量は、約 $30 \sim 70 \text{ mM}$ であり、好ましくは約 $40 \sim 65 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $45 \sim 60 \text{ mM}$ 、好ましくは約 45 mM 、約 46 mM 、約 47 mM 、約 48 mM 、約 49 mM 、 50 mM 、約 51 mM 、約 52 mM 、約 53 mM 、約 54 mM 、約 55 mM 、約 56 mM 、約 57 mM 、約 58 mM 、約 59 mM 、約 60 mM 、約 61 mM 、約 62 mM 、約 63 mM 、約 64 mM 、若しくは約 65 mM であり、及び / 又は

前記 m -クレゾールの含有量は、約 $0 \sim 35 \text{ mM}$ であり、好ましくは約 $0 \sim 20 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $0 \sim 10 \text{ mM}$ 、好ましくは約 0 mM 、約 1 mM 、約 2 mM 、約 3 mM 、約 4 mM 、約 5 mM 、約 6 mM 、約 7 mM 、約 8 mM 、約 9 mM 、約 10 mM 、約 11 mM 、約 12 mM 、約 13 mM 、約 14 mM 、若しくは約 15 mM であり、及び / 又は

前記 $NaCl$ の含有量は、約 $0 \sim 150 \text{ mM}$ であり、好ましくは約 $5 \sim 120 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $10 \sim 120 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $10 \sim 100 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $10 \sim 75 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $10 \sim 50 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $10 \sim 30 \text{ mM}$ 、好ましくは約 $10 \sim$

20 mM、好ましくは約10 mM、約11 mM、約12 mM、約13 mM、約14 mM、約15 mM、約16 mM、約17 mM、約18 mM、約19 mM、若しくは約20 mMであり、及び/又は

前記 Na_2HPO_4 の含有量は、約0 ~ 75 mMであり、好ましくは約5 ~ 60 mM、好ましくは約5 ~ 50 mM、好ましくは約5 ~ 25 mM、好ましくは約5 ~ 15 mM、好ましくは約5 ~ 10 mMであり、及び/又は

前記医薬組成物の pH は約6.5 ~ 8.5であり、好ましくは pH は約6.8 ~ 8.2、好ましくは pH は約7.0 ~ 8.2、好ましくは pH は7.2 ~ 7.6、更に好ましくは pH は7.4又は7.6である、

請求項17に記載の医薬組成物。

10

【請求項19】

約0.9 ~ 1.5 mMのアシル化インスリンと、

前記アシル化インスリンに対するモル比が少なくとも約8 : 100、好ましくは約(8 : 100) ~ (50 : 100)、好ましくは約(10 : 100) ~ (50 : 100)、好ましくは約(13 : 100) ~ (50 : 100)、好ましくは約(13 : 100) ~ (40 : 100)、好ましくは約(13 : 100) ~ (35 : 100)、好ましくは約(13 : 100) ~ (27 : 100)、好ましくは約(13 : 100) ~ (20 : 100)であるインスリン分泌性GLP-1化合物と、

約1.5 ~ 2.3モルの垂鉛イオン/6モルのアシル化インスリンと、

約45 ~ 60 mMのフェノールと、

20

約0 ~ 10 mMのm-クレゾールと、

約10 ~ 20 mMのNaClと、

約15 ~ 17 mg/mLのグリセリンと、

約5 ~ 10 mMの Na_2HPO_4 とを含む医薬組成物であって、

pH値が約6.5 ~ 8.0であり、

そのうち、前記アシル化インスリンは、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 5xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 5xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 6xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 6xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 8xOEG)、desB30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、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 12xOEG)、desB30ヒトインスリン、又はA14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 18xOEG)、desB30ヒトインスリンであり、及び

30

40

前記インスリン分泌性GLP-1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、

50

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 - [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) 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 - [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 - (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 - [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] [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチドである、
医薬組成物。 10

【請求項 20】

約 1 . 2 m M のアシル化インスリンと、

少なくとも約 0 . 0 9 6 m M、好ましくは約 0 . 0 9 6 ~ 0 . 6 m M、好ましくは約 0 . 1 2 ~ 0 . 6 m M、好ましくは約 0 . 1 6 ~ 0 . 6 m M、好ましくは約 0 . 1 6 ~ 0 . 4 8 m M、好ましくは約 0 . 1 6 ~ 0 . 4 2 m M、好ましくは約 0 . 1 6 ~ 0 . 3 2 m M、好ましくは約 0 . 1 6 ~ 0 . 2 4 m M のインスリン分泌性 G L P - 1 化合物と、

約 1 . 5 ~ 2 . 3 モルの垂鉛イオン / 6 モルのアシル化インスリンと、

約 4 5 ~ 6 0 m M のフェノールと、 20

約 0 ~ 1 0 m M の m - クレゾールと、

約 1 0 ~ 2 0 m M の N a C l と、

約 1 5 ~ 1 7 m g / m L のグリセリンと、

約 5 ~ 1 0 m M の N a ₂ H P O ₄ とを含む医薬組成物であって、

p H 値が約 6 . 5 ~ 8 . 0 であり、

そのうち、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 - 5 x O E G)、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 () - ドコサンジアシル - G l u - 5 x O E G)、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 () - エイコサンジアシル - G l u - 6 x O E G)、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 () - ドコサンジアシル - G l u - 6 x O E G)、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 () - エイコサンジアシル - G l u - 8 x O E G)、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 () - ドコサンジアシル - G l u - 8 x O E G)、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 () - エイコサンジアシル - G l u - 1 1 x O E G)、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 () - エイコサンジアシル - G l u - 1 2 x O E G)、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 () - ドコサンジアシル - G l u - 1 1 x O E G)、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 () - ドコサンジアシル - G l u - 1 2 x O E G)、des B 3 0 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 3 0 ヒトインスリンであり、及び 30

前記インスリン分泌性 G L P - 1 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] [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 - [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、 40

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 - [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) 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 - [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 - (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 - [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] [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチドである、
医薬組成物。 10

【請求項 2 1】

薬物として使用される、
請求項 1 ~ 2 0 の何れか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 2 2】

糖尿病、高血糖症、及び / 又は耐糖能異常を治療又は予防するために用いられる、
請求項 1 ~ 2 0 の何れか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 2 3】

糖尿病、高血糖症、及び / 又は耐糖能異常を治療又は予防するための薬物の製造における、請求項 1 ~ 2 0 の何れか一項に記載の医薬組成物の用途。 20

【請求項 2 4】

糖尿病、高血糖症、及び / 又は耐糖能異常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 ~ 2 0 の何れか一項に記載の医薬組成物を投与することを含む、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本願は、2021年6月25日に提出された、第CN202110709826.5号の中国発明特許出願の優先権を主張し、上記出願は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。 30

【0002】

本発明は、糖尿病に関連する医学的病状を治療するための医薬組成物の分野に関し、具体的にはアシル化インスリンの医薬組成物、アシル化インスリンと長時間作用型GLP-1化合物との医薬組成物、並びに上記医薬組成物の医学的用途に関する。

【背景技術】

【0003】

インスリンは、糖尿病及び糖尿病に関連する疾患、又は糖尿病に起因する疾患の治療に使用でき、正常な代謝調節を維持するために必要である。しかし、ヒトインスリンなどの天然インスリンは作用時間が短いため、患者は頻繁に注射する必要があり、注射に伴う多くの不快感を患者に与えてしまう。 40

【0004】

現在市販されているインスリン系薬物としては、例えば、インスリンリスプロ (Insulin Lispro)、インスリンアスパルト (Insulin Aspart)、インスリンアスパルト30、インスリンデテムル (Insulin Detemir)、インスリングルギン (Insulin Glargine)、インスリンデグルデク (Insulin Degludec) などがある。しかし、今まで、1日1回の皮下注射よりも低い頻度で投与されるインスリン製品の市販は、承認されていない。従って、当業者は、高頻度のインスリン注射によって引き起こされる不便さや不快感を改善するために、薬効が良く、作用時間がより長く、注射頻度がより低いインスリン誘導体又は類似体を 50

入手するために取り組んでいる。

【0005】

CN101573133B及びWO2009/010428は、未修飾インスリンと比較して作用時間がより長い、PEG化(PEGylated)延長インスリンを含む製剤を開示している。

【0006】

WO2013086927A1及びWO2018/024186は、長時間作用型ヒトインスリン類似体のアシル化誘導体を開示している。

【0007】

更に、グルカゴン様ペプチド1(GLP-1)及びその類似体並びに誘導体は、糖尿病及び糖尿病に関連する疾患を治療する別の非常に重要なペプチドである。GLP-1は、主に回腸末端、結腸及び直腸粘膜のL細胞によって分泌される腸管ペプチドホルモンで、グルコース依存性インスリンの分泌、細胞の分化と増殖を促進し、グルカゴンの分泌を抑制する。2型糖尿病患者の数が世界中で急速に増加しているため、より効果的で投与が容易な薬物の必要性が高まっている。例えば、2つの有効成分であるインスリンとGLP-1ペプチドを含む複合製剤は、非常に効果的な治療剤となる可能性がある。

10

【0008】

WO2009/063072には、GLP-1ペプチド(例えばリラグルチド)と基礎インスリン誘導体(例えばインスリンデグルデク)を含む医薬組成物が開示されているが、当該組成物は依然として1日1回より低い注射頻度を達成できなかった。

20

【0009】

従って、より優れた物理的と化学的安定性、より長い作用時間、及びより良い薬効を有する複合製剤は、現在でも依然として必要とされている。

【発明の概要】

【0010】

従来技術の少なくとも1つの欠点を克服若しくは改善するため、又は有用な代用品を提供するために、本発明の第1態様は、アシル化インスリンを含む新規医薬組成物を提供する。上記のアシル化インスリンを含む新規医薬組成物は、市販されているインスリンデグルデク(商品名「トレシーバ」若しくは「Tresiba」)又は他のインスリン誘導体の製剤と比較して、予想外に顕著に増加した効力、有効性又は薬効、より長い持続作用時間、より長いインビボ半減期、良好な生物学的利用能、より良好な安全性を有し、また、より満足な物理的安定性、化学的安定性及び溶解性を有する。

30

【0011】

本発明の第2態様は、アシル化インスリンと新規長時間作用型GLP-1化合物を含む新規医薬組成物を更に提供し、当該医薬組成物は弱められないだけでなく、予想外に上記アシル化インスリン及び上記GLP-1化合物の単一製剤よりも優れた薬効、物理的安定性、化学的安定性、持続作用時間、インビボ半減期を示し、特に本発明の医薬組成物におけるアシル化インスリンとGLP-1化合物は、予想外に相乗的血糖降下効果及びHb1Ac降下効果などの相乗的薬効を有する。また、本発明の組合せ製剤は、他のアシル化インスリンと長時間作用型GLP-1化合物との組合せ製剤(例えばリラグルチドとインスリンデグルデクとの組合せ製剤(商品名: Xultophy))と比較して、予想外により良好な薬効、持続作用時間、インビボ半減期、物理的安定性、化学的安定性などを有する。本発明により提供される上記アシル化インスリンとGLP-1化合物を含む組合せ製剤は、糖尿病患者の1週間に2回、1週間に1回、2週間に1回又はそれよりも低い頻度での皮下治療を可能にする長い薬物動態(以下、PKともいう)特性を良好に実現することができる。

40

【0012】

本発明の第1態様に記載の医薬組成物は、アシル化インスリンと、2.3モルの亜鉛イオン/6モルのアシル化インスリンと、45~60mMのフェノールと、0~10mMのm-クレゾールと、10~20mMのNaClと、1.5%(重量/重量)のグリセリン

50

と、5 ~ 10 mMのNa₂HPO₄と、を含み、

【0013】

そのうち、上記アシル化インスリンのインスリン母体は、A14E、B16H、B25H、desB30ヒトインスリン（配列番号1及び配列番号2はそれぞれA鎖及びB鎖を表す）又はA14E、B16E、B25H、desB30ヒトインスリン（配列番号3及び配列番号4はそれぞれA鎖及びB鎖を表す）であり、上記アシル化インスリンのアシル基部分は、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、上記アシル基部分は下記式（D）で表され、



式中、

mは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、nは、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20であり、

W3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、

W2は酸性アミノ酸残基であり、

W1は20 ~ 24個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、但し、形式上、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、

W1、W2及びW3の間はアミド結合で連結され、及び

W2及びW3の式（D）における出現順番は独立的に互換可能である。

【0014】

一実施形態において、nは、5、6、7、8、9、11、12、13、14、15、16、17、18若しくは19、好ましくは、nは、5、6、7、8、11、12、13、14、15、16、17若しくは18、好ましくは、nは、5、6、7、8、11、12、13、14、15若しくは16、好ましくは、nは、5、6、7、8、11、12、13、14若しくは15である。

【0015】

一実施形態において、mは1 ~ 6の整数であり、好ましくは、mは1、2、3若しくは4、好ましくは、mは1若しくは2、好ましくは、mは1である。

【0016】

別の実施形態において、W1は20 ~ 23個の炭素原子を含む脂肪族二酸、好ましくはW1は20、21若しくは22個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、但し、形式上、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。

【0017】

一実施形態において、W3は、
 $-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-CH_2-$
 $-CO-$ 、 $-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-$
 $(CH_2)_2-CO-$ 、 $-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-$
 $(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-$
 $(CH_2)_2-CO-$ 、 $-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-$
 $(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-$
 $(CH_2)_2-CO-$ 、 $-HN-(CH_2)_3-O-(CH_2)_4-O-(CH_2)_3-NH-C$
 $O-$ 、 $-HN-(CH_2)_3-O-(CH_2)_4-O-(CH_2)_3-NH-CO-CH_2-$
 $-O-CH_2-CO-$ 、 $-HN-(CH_2)_3-O-(CH_2)_4-O-(CH_2)_3-$
 $NH-CO-(CH_2)_2-CO-$ 、 $-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-C$
 $H_2-CO-CH_2-O-CH_2-CO-$ 、 $-HN-(CH_2)_3-O-(CH_2)_2-$
 $O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_3-NH-CO-(CH_2)_2-CO-$ 、 $-HN-($
 $CH_2)_3-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_3-NH-CO-CH$
 $2-O-CH_2-CO-$ 、 $-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-$
 $NH-CO-(CH_2)_2-CO-$ 、 $-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-$
 $(CH_2)_2-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-$ 、 $-HN-(CH_2)_3-O-$
 $(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_3-NH-CO-CH_2-O-CH_2-C$

10

20

30

40

50

O -、 - HN - (CH₂)₃ - O - (CH₂)₃ - O - CH₂ - CO -、又は - HN - (CH₂)₄ - O - (CH₂)₄ - O - CH₂ - CO - であり、好ましくは、W3は - HN - (CH₂)₂ - O - (CH₂)₂ - O - CH₂ - CO - である。

【0018】

別の実施形態において、W2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、W2は Glu又は Aspから選ばれる。

【0019】

別の実施形態において、W1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、W1はHOOC - (CH₂)₁₈ - CO -、HOOC - (CH₂)₂₀ - CO - 又はHOOC - (CH₂)₂₂ - CO - である。

10

【0020】

一実施形態において、式(D)は、W3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。

【0021】

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。

【0022】

一実施形態において、上記アシル化インスリンは、A14E、B16H、B25H、B29K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 5 x OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 6 x OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 5 x OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 6 x OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 7 x OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 8 x OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 7 x OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 8 x OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 9 x OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 10 x OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 12 x OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 12 x OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 11 x OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N () - ドコサンジアシル - Glu - 11 x OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N () - ヘンエイコサンジアシル - Glu - 12 x OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N () - トリコサンジアシル - Glu - 12 x OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N () - テトラコサンジアシル - Glu - 12 x OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K (N () - エイコサンジアシル - Glu - 13 x OEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B

20

30

40

50

25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 14xOEG)、des
 B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - エイコサ
 ンジアシル - Glu - 15xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B1
 6H、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 13xOEG)、
 des B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - ド
 コサンジアシル - Glu - 14xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、
 B16H、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 15xOE
 G)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N(
) - エイコサンジアシル - Glu - 16xOEG)、des B30ヒトインスリン、A
 14E、B16H、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 1
 7xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K
 (N() - ドコサンジアシル - Glu - 16xOEG)、des B30ヒトインスリ
 ン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu
 - 17xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B2
 9K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 18xOEG)、des B30ヒトイ
 ンスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル -
 Glu - 19xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25
 H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 18xOEG)、des B30
 ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシ
 ル - Glu - 19xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B
 25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 20xOEG)、des
 B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N() - ドコサン
 ジアシル - Glu - 20xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16
 H、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 24xOEG)、d
 es B30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N() - エイ
 コサンジアシル - Glu - 5xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B
 16E、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 6xOEG)
 、des B30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N() -
 ドコサンジアシル - Glu - 5xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、
 B16E、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 6xOEG)
 、des B30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N() -
 エイコサンジアシル - Glu - 7xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E
 、B16E、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu - 8xOE
 G)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N(
) - ドコサンジアシル - Glu - 7xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14
 E、B16E、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 8xOE
 G)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N(
) - エイコサンジアシル - Glu - 9xOEG)、des B30ヒトインスリン、A1
 4E、B16E、B25H、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 9xO
 EG)、des B30ヒトインスリン、又はA14E、B16E、B25H、B29K(
 N() - ドコサンジアシル - Glu - 10xOEG)、des B30ヒトインスリン
 、A14E、B16E、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル - Glu
 - 12xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H、B2
 9K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 12xOEG)、des B30ヒトイン
 スリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N() - エイコサンジアシル -
 Glu - 11xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16E、B25H
 、B29K(N() - ドコサンジアシル - Glu - 11xOEG)、des B30ヒ
 トインスリン、A14E、B16E、B25H、B29K(N() - ヘンエイコサンジ
 アシル - Glu - 12xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16E
 、B25H、B29K(N() - トリコサンジアシル - Glu - 12xOEG)、d

10

20

30

40

50

ル - Glu - 12 x OEG)、des B30ヒトインスリンというインスリンから選ばれる。

【0025】

一実施形態において、アシル化インスリンの含有量は、約0.3mMより高く、好ましくは約0.3~9mM、好ましくは約0.6~8.4mM、好ましくは約0.6~7.2mM、好ましくは約0.6~6.0mM、好ましくは約0.6~4.2mM、好ましくは約0.6~3.6mM、好ましくは約0.6~3.0mM、好ましくは約0.6~2.4mM、好ましくは約0.6~2.1mM、好ましくは約0.9~1.8mM、好ましくは約0.9~1.5mM、好ましくは約1.2~1.5mMである。

【0026】

別の実施形態において、フェノールの含有量は、約45mM、約46mM、約47mM、約48mM、約49mM、50mM、約51mM、約52mM、約53mM、約54mM、約55mM、約56mM、約57mM、約58mM、約59mM、若しくは約60mMである。

【0027】

別の実施形態において、m-クレゾールの含有量は、約0mM、約1mM、約2mM、約3mM、約4mM、約5mM、約6mM、約7mM、約8mM、約9mM、若しくは約10mMである。

【0028】

別の実施形態において、NaClの含有量は、約10mM、約11mM、約12mM、約13mM、約14mM、約15mM、約16mM、約17mM、約18mM、約19mM、若しくは約20mMである。

【0029】

別の実施形態において、医薬組成物のpHは6.5~8.5であり、好ましくはpHは6.5~8.0、好ましくはpHは7.0~7.8、好ましくはpHは7.2~7.6、更に好ましくはpHは7.4である。

【0030】

一実施形態において、本発明の第1態様の医薬組成物は、約0.9~1.5mMのアシル化インスリンと、約2.3モルの垂鉛イオン/6モルのアシル化インスリンと、約45mMのフェノールと、約10mMのm-クレゾールと、約20mMのNaClと、約15mg/mLのグリセリンと、約5~10mMのNa₂HPO₄と、を含み、pH値が約6.5~8.0であり、

そのうち、上記アシル化インスリンは、A14E、B16H、B25H、B29K(N()-エイコサンジアシル-Glu-5xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N()-ドコサンジアシル-Glu-5xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N()-エイコサンジアシル-Glu-6xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N()-ドコサンジアシル-Glu-6xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N()-エイコサンジアシル-Glu-8xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N()-ドコサンジアシル-Glu-8xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N()-エイコサンジアシル-Glu-11xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N()-ドコサンジアシル-Glu-11xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N()-エイコサンジアシル-Glu-12xOEG)、des B30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N()-ドコサンジアシル-Glu-12xOEG)、des B30ヒトインスリン、又はA14E、B16H、B25H、B29K(N()-ドコサンジアシル-Glu-18xOEG)、des B30ヒトインスリンである。

10

20

30

40

50

【0031】

一実施形態において、本発明の第1態様の医薬組成物は、

約1.2 mMのアシル化インスリンと、約2.3モルの亜鉛イオン/6モルのアシル化インスリンと、約45 mMのフェノールと、約10 mMのm-クレゾールと、約20 mMのNaClと、約15 mg/mLのグリセリンと、約5 mMのNa₂HPO₄と、を含み、pH値が約7.4であり、

そのうち、上記アシル化インスリンは、A14E、B16H、B25H、B29K(N()-エイコサンジアシル-Glu-5xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N()-ドコサンジアシル-Glu-5xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N()-エイコサンジアシル-Glu-6xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N()-ドコサンジアシル-Glu-6xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N()-エイコサンジアシル-Glu-8xOEG)、desB30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、B25H、B29K(N()-エイコサンジアシル-Glu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N()-エイコサンジアシル-Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N()-ドコサンジアシル-Glu-11xOEG)、desB30ヒトインスリン、A14E、B16H、B25H、B29K(N()-ドコサンジアシル-Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリン、又はA14E、B16H、B25H、B29K(N()-ドコサンジアシル-Glu-18xOEG)、desB30ヒトインスリンである。

【0032】

本発明の第2態様は、インスリン分泌性GLP-1化合物とアシル化インスリンを含む医薬組成物を提供し、

そのうち、上記インスリン分泌性GLP-1化合物と上記アシル化インスリンとのモル比は、少なくとも約1:100であり、好ましくは少なくとも約3:100、好ましくは少なくとも約5:100、好ましくは少なくとも約8:100、好ましくは約(3:100)~(100:100)、好ましくは約(5:100)~(80:100)、好ましくは約(8:100)~(50:100)、好ましくは約(10:100)~(50:100)、好ましくは約(13:100)~(50:100)、好ましくは約(13:100)~(40:100)、好ましくは約(13:100)~(35:100)、好ましくは約(13:100)~(27:100)、好ましくは約(13:100)~(20:100)であり、

上記アシル化インスリンは、本発明の第1態様に記載の医薬組成物におけるアシル化インスリンである。

【0033】

一実施形態において、上記インスリン分泌性GLP-1化合物は、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-[Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、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-[Gly8, Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、N-²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(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アミノ]エトキシ)エトキシ]アセトアミド)エトキシ]エトキシ)アセチル][Aib8, Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、若しくはN-²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(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アミノ]エトキシ)エトキシ]アセトアミド)エトキシ]エトキシ)アセチル][Gly8, Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド、N-³⁰-[2-(

2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (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アミノ] エトキシ) エトキシ] アセトアミド) エトキシ] エトキシ) アセチル] (Val⁸ Glu²² Lys³⁰ Arg^{26, 34} - GLP - 1 (7 - 37)) ペプチド、若しくは N - ²³ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (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アミノ] エトキシ) エトキシ] アセトアミド) エトキシ] エトキシ) アセチル] (Val⁸ Glu²² Lys²³ Arg^{26, 34} - GLP - 1 (7 - 37)) ペプチドであり、

別の実施形態において、上記インスリン分泌性 GLP - 1 化合物は下記式 (B) で表され、



10

式中、G1はGLP - 1 (7 - 37) (配列番号 5) に対応する位置 34 で Arg を有し、及び位置 8 で Ala 又は Gly を有する GLP - 1 類似体であり、[Acy - (L 1)_r - (L 2)_q] 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置換基であり、そのうち、r は 1 ~ 10 の整数であり、q は 0 又は 1 ~ 10 の整数であり、

Acy は 20 ~ 24 個の炭素原子を含む脂肪族二酸であり、但し、形式上、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、

L1 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、

L2 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、

20

Acy、L1 及び L2 の間はアミド結合で連結され、及び

L1 及び L2 の式 (B) における出現順番は独立的に互換可能である。

【 0034 】

発明者らは、驚くべきことに、本発明の第 2 態様の医薬組成物に記載のインスリン分泌性 GLP - 1 化合物と上記アシル化インスリンとのモル比が約 8 : 100 である場合、好ましくは約 10 : 100、好ましくは約 13 : 100 である場合、含有量が 2 倍であるアシル化インスリンを含む単一製剤よりも良好な薬効を有することを実現でき、本発明の第 2 態様の医薬組成物に記載のインスリン分泌性 GLP - 1 化合物と上記アシル化インスリンとのモル比が約 20 : 100 である場合、含有量が 2 倍であるアシル化インスリンを含む単一製剤、及び含有量が 2 倍である GLP - 1 化合物を含む単一製剤の何れかよりも更に良好な薬効を有することを同時に実現できることを見出した。

30

【 0035 】

一実施形態において、G1は [Gly⁸、Arg³⁴] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド (配列番号 6) 又は [Arg³⁴] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド (配列番号 7) であり、好ましくは [Gly⁸、Arg³⁴] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチドである。

【 0036 】

別の実施形態において、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、好ましくは、r は 1 又は 2、好ましくは、r は 1 である。

【 0037 】

40

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。

【 0038 】

別の実施形態において、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、但し、形式上、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。

【 0039 】

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)

50

- 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] [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) 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 - [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) 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 - [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) 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 - [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 - (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] [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) 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] [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 - (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] [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) 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] [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 - (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] [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) 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] [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) 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 - [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) 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 - [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) 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 - [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 - (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 - [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 - (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 - [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] [G l y 8、 A r

g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、
 N - ^{2 6} - (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、
 N - ^{2 6} - (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 - ^{2 6} - [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 - ^{2 6} - [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 - ^{2 6} - [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] [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプ
 チド、
 N - ^{2 6} - [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] [A r g 3 4] G
 L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、
 N - ^{2 6} - (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 - [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド、又は
 N - ^{2 6} - (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 - [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 4 4 】

別の実施形態において、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 - 5 x 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 - 6 x 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 () - ドコサンジアシル - G l u - 5 x 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 () - ドコサンジアシル -
 G l u - 6 x 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 - 7 x 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 - 8 x 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 () - ドコサンジアシル - G l u - 7 x 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 () - ドコサンジアシル
 - G l u - 8 x 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 - 9 x 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 () - ドコサンジアシ
 ル - G l u - 9 x O E G)、d e s B 3 0 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 0 x 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 - 1 2 x 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 () - 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、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)、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 () - ドコサンジアシル - G l u - 1 1 x 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 ()
) - ヘンエイコサンジアシル - G l u - 1 2 x O E G)、d e s B 3 0 ヒトインスリン
 、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 l u

B 2 9 K (N () - ドコサンジアシル - G l u - 1 1 x O E G)、 d e s 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 - G l u - 1 2 x O E G)、 d e s 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 () - トリコサンジアシル - G l u - 1 2 x O E G)、 d e
 s B 3 0 ヒトインスリン、 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 - G l u - 1 2 x O E G)、 d e s 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 () - エイコサンジアシル - G l u - 1 3 x O E
 G)、 d e s 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 ()
) - エイコサンジアシル - G l u - 1 4 x O E G)、 d e s 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 () - エイコサンジアシル - G l u - 1
 5 x O E G)、 d e s 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 - G l u - 1 3 x O E G)、 d e s 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 - G l u
 - 1 4 x O E G)、 d e s 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 () - エイコサンジアシル - G l u - 1 5 x O E G)、 d e s 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 () - エイコサンジアシル -
 G l u - 1 6 x O E G)、 d e s 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 () - エイコサンジアシル - G l u - 1 7 x O E G)、 d e s 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 - G l u - 1 6 x O E G)、 d e s 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 - G l u - 1 7 x O E G)、 d e s
 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 () - エイコサ
 ンジアシル - G l u - 1 8 x O E G)、 d e s 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 () - エイコサンジアシル - G l u - 1 9 x O E G)
 、 d e s 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 - G l u - 1 8 x O E G)、 d e s 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 - G l u - 1 9 x O E
 G)、 d e s 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 ()
) - エイコサンジアシル - G l u - 2 0 x O E G)、 d e s B 3 0 ヒトインスリン、 又
 は 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 l u -
 2 0 x O E G)、 d e s B 3 0 ヒトインスリンというインスリンから選ばれる。

【 0 0 4 5 】

一実施形態において、アシル化インスリンの含有量は、約 0 . 3 m M より高く、好まし
 くは約 0 . 3 ~ 9 m M、好ましくは約 0 . 6 ~ 8 . 4 m M、好ましくは約 0 . 6 ~ 7 . 2
 m M、好ましくは約 0 . 6 ~ 6 . 0 m M、好ましくは約 0 . 6 ~ 4 . 2 m M、好ましくは
 約 0 . 6 ~ 3 . 6 m M、好ましくは約 0 . 6 ~ 3 . 0 m M、好ましくは約 0 . 6 ~ 2 . 4
 m M、好ましくは約 0 . 6 ~ 2 . 1 m M、好ましくは約 0 . 9 ~ 1 . 8 m M、好ましくは
 約 0 . 9 ~ 1 . 5 m M、好ましくは約 1 . 2 ~ 1 . 5 m M である。

【 0 0 4 6 】

一実施形態において、本発明の第 2 態様の組成物は、亜鉛イオン、グリセリン、フェノ
 ール、 m - クレゾール、 N a C l、及び / 又は N a₂ H P O₄ を更に含む。

【 0 0 4 7 】

一実施形態において、亜鉛イオンの含有量は、少なくとも約 1 . 5 モルの亜鉛イオン /
 6 モルのアシル化インスリンであり、好ましくは約 1 . 5 ~ 1 2 モルの亜鉛イオン / 6
 モルのアシル化インスリン、好ましくは約 1 . 5 ~ 1 0 モルの亜鉛イオン / 6 モルのアシル
 化インスリン、好ましくは約 1 . 5 ~ 8 モルの亜鉛イオン / 6 モルのアシル化インスリン
 、好ましくは約 1 . 5 ~ 6 モルの亜鉛イオン / 6 モルのアシル化インスリン、好ましくは
 約 1 . 5 ~ 4 . 5 モルの亜鉛イオン / 6 モルのアシル化インスリン、好ましくは約 1 . 5
 ~ 3 . 5 モルの亜鉛イオン / 6 モルのアシル化インスリン、好ましくは約 1 . 5 ~ 2 . 3
 モルの亜鉛イオン / 6 モルのアシル化インスリンである。

10

20

30

40

50

【0048】

一実施形態において、グリセリンの含有量は約2.5%（重量/重量）以下であり、好ましくは約2%（重量/重量）以下、好ましくは約0.3%～約2%（重量/重量）、好ましくは約0.5%～約1.8%（重量/重量）、好ましくは約0.7%～約1.8%（重量/重量）、好ましくは約1%～約1.8%（重量/重量）、好ましくは約1.5%～約1.7%（重量/重量）である。

【0049】

別の実施形態において、フェノールの含有量は約30～70mMであり、好ましくは約40～65mM、好ましくは約45～60mM、好ましくは約45mM、約46mM、約47mM、約48mM、約49mM、50mM、約51mM、約52mM、約53mM、約54mM、約55mM、約56mM、約57mM、約58mM、約59mM、約60mM、約61mM、約62mM、約63mM、約64mM、若しくは約65mMである。

10

【0050】

別の実施形態において、m-クレゾールの含有量は約0～35mMであり、好ましくは約0～20mM、好ましくは約0～10mM、好ましくは約0mM、約1mM、約2mM、約3mM、約4mM、約5mM、約6mM、約7mM、約8mM、約9mM、約10mM、約11mM、約12mM、約13mM、約14mM、若しくは約15mMである。

【0051】

別の実施形態において、NaClの含有量は約0～150mMであり、好ましくは約5～120mM、好ましくは約10～120mM、好ましくは約10～100mM、好ましくは約10～75mM、好ましくは約10～50mM、好ましくは約10～30mM、好ましくは約10～20mM、好ましくは約10mM、約11mM、約12mM、約13mM、約14mM、約15mM、約16mM、約17mM、約18mM、約19mM、若しくは約20mMである。

20

【0052】

別の実施形態において、Na₂HPO₄の含有量は約0～75mMであり、好ましくは約5～60mM、好ましくは約5～50mM、好ましくは約5～25mM、好ましくは約5～15mM、好ましくは約5～10mMである。

【0053】

別の実施形態において、本発明の第2態様の医薬組成物のpHは約6.5～8.5であり、好ましくはpHは約6.8～8.2、好ましくはpHは約7.0～8.2、好ましくはpHは7.2～7.6、更に好ましくはpHは7.4又は7.6である。

30

【0054】

一実施形態において、本発明の第2態様の医薬組成物は、
 約0.9～1.5mMのアシル化インスリンと、
 上記アシル化インスリンに対するモル比が少なくとも約8：100、好ましくは約（8：100）～（50：100）、好ましくは約（10：100）～（50：100）、好ましくは約（13：100）～（50：100）、好ましくは約（13：100）～（40：100）、好ましくは約（13：100）～（35：100）、好ましくは約（13：100）～（27：100）、好ましくは約（13：100）～（20：100）であるインスリン分泌性GLP-1化合物と、
 約1.5～2.3モルの垂鉛イオン/6モルのアシル化インスリンと、
 約45～60mMのフェノールと、
 約0～10mMのm-クレゾールと、
 約10～20mMのNaClと、
 約15～17mg/mLのグリセリンと、
 約5～10mMのNa₂HPO₄と、を含み、
 pH値が約6.5～8.0であり、
 そのうち、上記アシル化インスリンは、A14E、B16H、B25H、B29K（N（ ）-エイコサンジアシル-Glu-5xOEG）、desB30ヒトインスリン、

40

50

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 - 5 x 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 - 6 x 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 () - ドコサンジアシル - G l u - 6 x 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 - 8 x 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 () - ドコサンジアシル - G l u - 8 x 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 - 1 1 x 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 - 1 2 x 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 () - ドコサンジアシル - G l u - 1 1 x 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 () - 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、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)、d e s B 3 0 ヒトインスリンであり、且つ

10

上記インスリン分泌性 G L P - 1 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、

20

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、又は

30

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) ペプチドである。

【 0 0 5 5 】

一実施形態において、本発明の第 2 態様の医薬組成物は、

約 1 . 2 m M のアシル化インスリンと、

少なくとも約 0 . 0 9 6 m M、好ましくは約 0 . 0 9 6 ~ 0 . 6 m M、好ましくは約 0 . 1 2 ~ 0 . 6 m M、好ましくは約 0 . 1 6 ~ 0 . 6 m M、好ましくは約 0 . 1 6 ~ 0 . 4 8 m M、好ましくは約 0 . 1 6 ~ 0 . 4 2 m M、好ましくは約 0 . 1 6 ~ 0 . 3 2 m M、好ましくは約 0 . 1 6 ~ 0 . 2 4 m M のインスリン分泌性 G L P - 1 化合物と、

40

約 1 . 5 ~ 2 . 3 モルの垂鉛イオン / 6 モルのアシル化インスリンと、

約 4 5 ~ 6 0 m M のフェノールと、

約 0 ~ 1 0 m M の m - クレゾールと、

約 1 0 ~ 2 0 m M の N a C l と、

約 1 5 ~ 1 7 m g / m L のグリセリンと、

約 5 ~ 1 0 m M の N a ₂ H P O ₄ と、を含み、

p H 値が約 6 . 5 ~ 8 . 0 であり、

そのうち、上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 - 5 x O E G)、d e s B 3 0 ヒトインスリン、

50

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 - 5 x 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 - 6 x 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 () - ドコサンジアシル - G l u - 6 x 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 - 8 x 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 () - ドコサンジアシル - G l u - 8 x 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 - 1 1 x 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 - 1 2 x 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 () - ドコサンジアシル - G l u - 1 1 x 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 () - 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、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)、d e s B 3 0 ヒトインスリンであり、且つ

10

上記インスリン分泌性 G L P - 1 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、

20

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、又は

30

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) ペプチドである。

【 0 0 5 6 】

本発明の第 3 態様は、薬物として使用される本発明の第 1 態様及び第 2 態様に記載の医薬組成物の用途を提供する。

【 0 0 5 7 】

本発明の第 4 態様は、糖尿病、高血糖症、及び / 又は耐糖能異常を治療又は予防するための、本発明の第 1 態様及び第 2 態様に記載の医薬組成物を提供する。

40

【 0 0 5 8 】

本発明の第 5 態様は、糖尿病、高血糖症、及び / 又は耐糖能異常を治療又は予防するための薬物の製造における、本発明の第 1 態様及び第 2 態様に記載の医薬組成物の用途を提供する。

【 0 0 5 9 】

本発明の第 6 態様は、有効量の本発明の第 1 態様及び第 2 態様に記載の医薬組成物を投与することを含む、糖尿病、高血糖症、及び / 又は耐糖能異常を治療又は予防する方法を提供する。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 6 0 】

50

【図 1 a】中等用量での化合物 2 の単一製剤及び化合物 1 1 の単一製剤、低用量での化合物 2 と化合物 1 1 を含む医薬組成物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果を示す。

【図 1 b】図 1 a に対応して、中等用量での化合物 2 の単一製剤及び化合物 1 1 の単一製剤、低用量での化合物 2 と化合物 1 1 を含む医薬組成物及び溶媒の、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 1 c】中等用量での化合物 2 の単一製剤、化合物 1 1 の単一製剤、化合物 2 と化合物 1 1 を含む医薬組成物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果を示す。

【図 1 d】図 1 c に対応して、中等用量での化合物 2 の単一製剤、化合物 1 1 の単一製剤、化合物 2 と化合物 1 1 を含む医薬組成物及び溶媒の、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 1 e】中等用量での化合物 2 の単一製剤及び化合物 1 1 の単一製剤、低用量での化合物 2 と化合物 1 1 を含む医薬組成物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する H b A 1 c 降下効果を示す。

【図 1 f】中等用量での化合物 2 の単一製剤、化合物 1 1 の単一製剤、化合物 2 と化合物 1 1 を含む医薬組成物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する H b A 1 c 降下効果を示す。

【図 2 a】高用量での化合物 2 の単一製剤、化合物 1 1 の単一製剤及びデグルデクリラグルチド組成物（対照組成物）、低用量での化合物 2 と化合物 1 1 を含む医薬組成物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果を示す。

【図 2 b】図 2 a に対応して、高用量での化合物 2 の単一製剤、化合物 1 1 の単一製剤及びデグルデクリラグルチド組成物、低用量での化合物 2 と化合物 1 1 を含む医薬組成物及び溶媒の、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 2 c】高用量での化合物 2 の単一製剤、化合物 1 1 の単一製剤、デグルデクリラグルチド組成物（対照組成物）並びに化合物 2 と化合物 1 1 を含む医薬組成物、中等用量での化合物 2 と化合物 1 1 を含む医薬組成物、低用量での化合物 2 と化合物 1 1 を含む医薬組成物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する H b A 1 c 降下効果を示す。

【図 2 d】高用量での化合物 2 の単一製剤、化合物 1 1 の単一製剤及びデグルデクリラグルチド組成物、低用量での化合物 2 と化合物 1 1 を含む医薬組成物及び溶媒の、d b / d b マウスに対する T G 降下効果を示す。

【図 3 a】化合物 2 の単一製剤、対照例 1 の単一製剤、デグルデク製剤及び溶媒の、d b / d b マウスに対する血糖降下効果を示す。

【図 3 b】化合物 2 の単一製剤、対照例 1 の単一製剤、デグルデク製剤及び溶媒の、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 c】化合物 2 の単一製剤、対照例 1 の単一製剤、デグルデク製剤及び溶媒の、d b / d b マウスへの初回投与後の 4 8 時間に O G T T を行う血糖降下効果を示す。

【図 3 d】化合物 2 の単一製剤、対照例 1 の単一製剤、デグルデク製剤及び溶媒の、d b / d b マウスに対する H b A 1 c 降下効果を示す。

【図 3 e】化合物 2 の単一製剤、対照例 1 の単一製剤、デグルデク製剤及び溶媒の、d b / d b マウスに対する T G 降下効果を示す。

【図 4 a】化合物 2 の単一製剤、デグルデク製剤及び溶媒の、G K ラットに対する血糖降下効果を示す。

【図 4 b】図 4 a に対応して、化合物 2 の単一製剤、デグルデク製剤及び溶媒の、G K ラットに対する血糖降下効果の A U C を示す。

【図 4 c】化合物 2 の単一製剤、デグルデク製剤及び溶媒の、G K ラットに対する H b A 1 c 降下効果を示す。

【図 4 d】化合物 2 の単一製剤、デグルデク製剤及び溶媒の、G K ラットに対する T G 降下効果を示す。

【図 4 e】化合物 2 の単一製剤、デグルデク製剤及び溶媒の、G K ラットに対する G S P 降下効果を示す。

10

20

30

40

50

【発明を実施するための形態】

【0061】

定義

ここで、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。

【0062】

インスリン類似体という用語は、形式上、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(置換え)、及び/又は1つ又は複数のアミノ酸残基の追加により、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。追加及び/又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、又は他の天然に存在するアミノ酸残基、又は純粋な合成アミノ酸残基であってよい。好ましくは、追加及び/又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。

10

【0063】

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。

【0064】

「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(本明細書では、母体インスリンとも呼ばれる)を指し、例えば、本発明において、インスリン誘導体又はアシル化インスリンの、側鎖に連結されていない、又はアシル基が追加さ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。

20

【0065】

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。

30

【0066】

特に断りのない限り、本明細書に言及されたアミノ酸は何れも、L-アミノ酸である。

【0067】

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と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く鎖、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く鎖、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く鎖、即ち繰り返し単位である $-CH_2CH_2O-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2O-$ 又は $-CH_2CH_2CH_2CH_2O-$ に基づく鎖を含む。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。

40

【0068】

「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。

50

【0069】

「基礎インスリン」という用語は、通常又は正常なヒトインスリンよりも作用持続期間が長いインスリンを意味する。

【0070】

本明細書において、「薬効」又は「効力」とは、ある作用又は効果（例えば、血糖降下）を生じる薬物又は活性化合物の能力を指す。例えば、同じ用量を投与する場合、本発明のインスリン誘導体はインスリンデグルデク又は他の既存のインスリン誘導体と比べて、より高い血糖降下の効果又は作用が生じられる。

【0071】

「糖尿病」という用語は、1型糖尿病、2型糖尿病、妊娠糖尿病（妊娠中）、及び高血糖症を引き起こす他の状態を含む。この用語は、膵臓が不十分なインスリンを産生し、又は体の細胞がインスリンに適切に応答できないため、細胞によるグルコースの吸収が阻害される代謝障害に使用される。その結果、グルコースは血中に蓄積する。

【0072】

1型糖尿病は、インスリン依存性糖尿病（IDDM）及び若年発症糖尿病とも呼ばれ、
- 細胞の破壊によって引き起こされ、一般的に、絶対的なインスリン欠乏になる。2型糖尿病は、非インスリン依存性糖尿病（NIDDM）及び成人発症糖尿病とも呼ばれ、主要なインスリン抵抗性、及びそれによる相対的なインスリン欠乏、及び/又はインスリン抵抗性を有する主要なインスリン分泌障害に関連している。

【0073】

本明細書に使用される「GLP-1類似体」又は「GLP-1の類似体」という用語は、ヒトグルカゴン様ペプチド-1（GLP-1（7-37））の変異体であるペプチド又は化合物を指し、そのうち、GLP-1（7-37）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、GLP-1（7-37）の配列は配列表中の配列番号5に示される。配列番号5に示される配列を有するペプチドは、「天然」GLP-1又は「天然」GLP-1（7-37）と呼ばれてもよい。

【0074】

配列表において、配列番号5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、且つ、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37のグリシンである。従って、一般的に、本明細書で言及されるGLP-1（7-37）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Hisで始まり、位置37のGlyで終わる配列である。

【0075】

[Gly 8、Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチドは、GLP-1（7-37）（配列番号5）の位置8及び位置34に対応する位置でそれぞれGly及びArgを有するGLP-1類似体である。[Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチドは、GLP-1（7-37）（配列番号5）の位置34に対応する位置でArgを有するGLP-1類似体である。具体的に、[Gly 8、Arg 34] GLP-1 - (7-37) ペプチド及び[Arg 34] GLP-1 - (7-37) 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6及び配列番号7に示される。

【0076】

GLP-1ペプチド又はその類似体の場合、本明細書に使用される「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GLP-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。

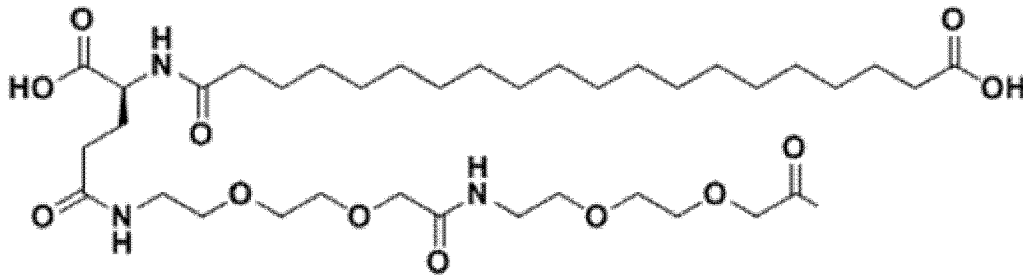
【0077】

本明細書において、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、即ち、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。

【0078】

【化1】



10

【0079】

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」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) という基の略語を示し、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 - (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]、又は [2 - [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] と呼ばれる。

20

【0080】

例えば、以下に示される配列 / 構造は、「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

【0081】

40

患者の便宜上、患者は、本発明のアシル化インスリン医薬組成物の投与から本発明のアシル化インスリン医薬組成物の次の投与までの時間間隔（時間遅延）を日数で同じ長さ又はほぼ同じ長さにするを好むと仮定する。更に、患者は、アシル化インスリン医薬組成物を週に1回、即ち、毎週の日曜日など、毎週の同じ曜日に投与することを好むと予想してもよい。1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、これは6日おきにアシル化インスリン医薬組成物を投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことになる。一部の患者にとっては、1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、5日おきに又はほぼ5日おきにアシル化インスリン医薬組成物を投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことが必要であり得る。他の患者にとっては、1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、4日おきに又はほぼ4日おきにアシル化インスリン医薬組成物を投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことが必要であり得る。他の患者にとっては、1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、3日おきに又はほぼ3日おきにアシル化インスリン医薬組成物を投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことが必要であり得る。更に、他の患者は、1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、週に2回、例えば、各回の投与の間に約3～4日おきにアシル化インスリン医薬組成物を投与することが有利であると感じ得る。一部の患者にとっては、1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、2日おきに又はほぼ2日おきにアシル化インスリン医薬組成物を投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことが必要であり得る。他の患者にとっては、1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、1日おきに又はほぼ1日おきにアシル化インスリン医薬組成物を投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことが必要であり得る。一部の患者にとっては、1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、7日おきに又はほぼ7日おきにアシル化インスリン医薬組成物を投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことが必要であり得る。更に、他の患者は、毎週、毎月又は毎年、正確な同じ長さの時間間隔（日数）でアシル化インスリン医薬組成物を投与しない可能性がある。1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、一部の患者は、場合によっては、5日～7日おきの時間間隔でアシル化インスリン医薬組成物を投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことができる。1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、他の患者は、場合によっては、4日～6日おきの時間間隔でアシル化インスリン医薬組成物を投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことができる。1か月、6か月又は1年の期間で平均すると、更に、他の患者は、場合によっては、3日～7日おきの時間間隔でアシル化インスリン医薬組成物を投与し、且つそれ以上の頻度で投与しないことができる。

【0088】

本発明の主な標的となる疾患及び病状は、糖尿病（1型又は2型）又は高血糖症を特徴とする他の病状であるというものの、大体、その中のインスリンの代謝作用が臨床的関連性又はメリットを有する代謝疾患及び病状であり、例えば、前糖尿病、耐糖能異常、メタボリックシンドローム、肥満、悪液質、インビボのβ細胞損傷/死亡、過食症や炎症などである。これらのタイプの病状はすべて、上記疾患又は病状を罹患した対象の安定した代謝状態から利益を得ることが知られている、又は考えられている。

【0089】

略語

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。

10

20

30

40

50

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

O H は、ヒドロキシラジカルである。

G l y は、グリシンである。

A r g は、アルギニンである。

T F A は、トリフルオロ酢酸である。

H b A 1 c は、糖化ヘモグロビンである。

G S P はグリコシル化血清タンパク質である。

T G はトリグリセライドである。

【実施例】

【0090】

10

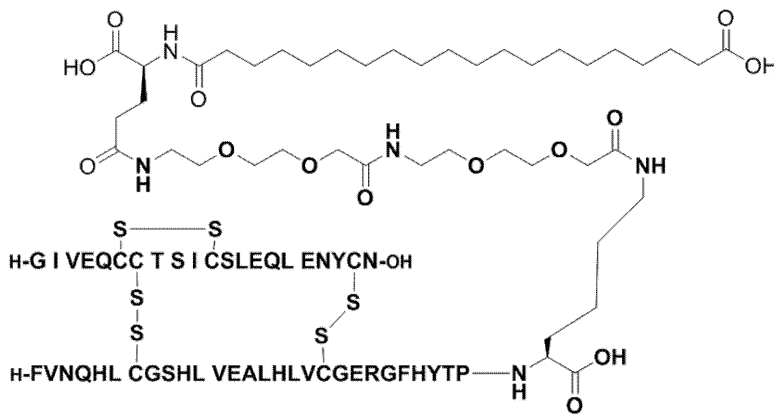
以下の実施例は、限定的ではなく、例示的に提供される。

【0091】

対照例 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 (対照化合物 1)

【化 3】



20

30

【0092】

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 ヒトインスリンの製造

インスリン類似体を製造する従来の方法によってA 1 4 E、B 1 6 H、B 2 5 H、d e s B 3 0 ヒトインスリンを製造した (具体的な方法は、G l e n d o r f T、S o r e n s e n A R、N i s h i m u r a E、P e t t e r s s o n I、& K j e l d s e n T: I m p o r t a n c e o f t h e S o l v e n t - E x p o s e d R e s i d u e s o f t h e I n s u l i n B C h a i n - H e l i x f o r R e c e p t o r B i n d i n g; B i o c h e m i s t r y 2 0 0 8 4 7 4 7 4 3 - 4 7 5 1 を参照)。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 (5 g、0 . 8 8 8 m m o l) を 1 0 0 m M の N a ₂ H P O ₄ 水溶液 (1 5 0 m L) に溶解し、アセトニトリル (1 0 0 m L) を加え、1 N の N a O H で p H を p H 1 0 ~ 1 2 . 5 に調整した。t e r t - ブチルエイコサンジアシル - G l u - (2 x O E G - O S u) - O t B u (0 . 9 4 8 g、0 . 9 7 6 m m o l) をアセトニトリル (5 0 m L) に溶解し、インスリン溶液に徐々に加えた。p H を 1 0 ~ 1 2 . 5 に維持した。1 2 0 分間後、反応混合物を水 (1 5 0 m L) に加え、1 N の H C l 水溶液で p H 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 (6 0 m L) とジクロロメタン (6 0 m L) の混合溶液に加え、室温で 3 0 分間攪拌した。混合物を約 3 0 m L に濃縮し、氷冷した n - ヘプタン (3 0 0 m L) 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

40

50

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、pH 7.5)、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5を得た。

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 1063.6852 [M + 6H]^+$
【0093】

2、中間体 tert - ブチルエイコサンジアシル - Glu - (2xOEG - OSu) - OtBuの製造

2.1 tert - ブチルエイコサンジアシル - OSu

10

窒素ガス保護の条件で、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で攪拌してから、DCC (11.39g、55.19mmol) を加え、更に一晩攪拌した。ろ過し、得られたる液をほぼ乾燥になるまで濃縮し、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でほぼ乾燥になるまで濃縮し、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 100 API) : $m/z = 496.36 (M + 1)^+$

20

【0094】

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でほぼ乾燥になるまで濃縮し、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。

30

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

【0095】

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、トリエチルアミン (11.99mL) を加えて10分間攪拌し、更に NHS (5.38g、50.17mmol) を加えてから、DCC (10.60g、51.38mmol) を加えた。室温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し、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でほぼ乾燥になるまで濃縮し、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、25.76g (収率81%) の tert - ブチルエイコサンジアシル - Glu - (OSu) - OtBu を得た。

40

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

【0096】

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 (25.76g、37.83mmol) をジクロロメタン (250mL) に溶解して攪拌し、順に 2x AEEA (11.66g、37.83mmol)、トリエチルアミン (9.71mL)、

50

水 (2 5 m L) を加え、それを加熱して清澄な溶液を得て、当該溶液を室温で 4 時間撹拌した。次に 1 0 % のクエン酸水溶液 (2 0 0 m L) 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でほぼ乾燥になるまで濃縮し、真空で一晩乾燥させた。3 0 . 7 5 g (収率 9 3 %) の tert - ブチルエイコサンジアシル - G l u - (2 x O E G - O H) - O t B u を得た。

LC - MS (S c i e x 1 0 0 A P I) : m / z = 8 7 4 . 5 9 (M + 1) ⁺

【 0 0 9 7 】

2 . 5 tert - ブチルエイコサンジアシル - G l u - (2 x O E G - O S u) - O t B u

10

窒素ガス保護の条件で、tert - ブチルエイコサンジアシル - G l u - (2 x O E G - O H) - O t B u (3 0 . 7 5 g 、 3 5 . 1 8 m m o l) をジクロロメタン (3 0 0 m L) に溶解し、トリエチルアミン (9 . 0 3 m L) を加えて 1 0 分間撹拌し、更に N H S (4 . 0 5 g 、 3 5 . 1 8 m m o l) を加えてから、D C C (7 . 9 8 g 、 3 8 . 7 0 m m o l) を加えた。室温で混合物を一晩撹拌した。ろ過し、得られたろ液をほぼ乾燥になるまで濃縮し、残留物を冷たい水及び酢酸エチルと混合し、2 0 分間撹拌し、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でほぼ乾燥になるまで濃縮し、真空で一晩乾燥させ、3 1 . 0 9 g (収率 9 1 %) の tert - ブチルエイコサンジアシル - G l u - (2 x O E G - O S u) - O t B u を得た。

20

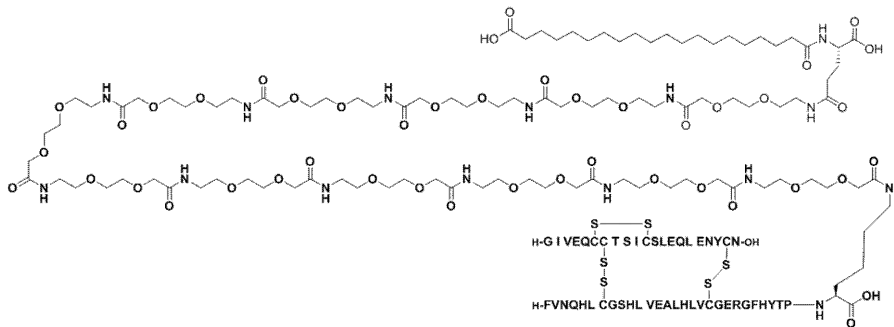
LC - MS (S c i e x 1 0 0 A P I) : m / z = 9 7 1 . 6 1 (M + 1) ⁺

【 0 0 9 8 】

実施例 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 - 1 2 x O E G) 、 des B 3 0 ヒトインスリン (化合物 1)

【 化 4 】



30

【 0 0 9 9 】

対照例 1 のパート 1 と類似するステップに従って、化合物 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 3 0 ヒトインスリンを製造した。

40

LC - MS (エレクトロスプレー) : m / z = 1 3 0 5 . 4 7 1 6 [M + 6 H] 6 ⁺

【 0 1 0 0 】

中間体 tert - ブチルエイコサンジアシル - G l u - (1 2 x O E G - O S u) - O t B u の製造は、対照例 1 のパート 2 と類似するステップに従って行った。

LC - MS (S c i e x 1 0 0 A P I) : m / z = 2 4 2 3 . 3 5 (M + 1) ⁺

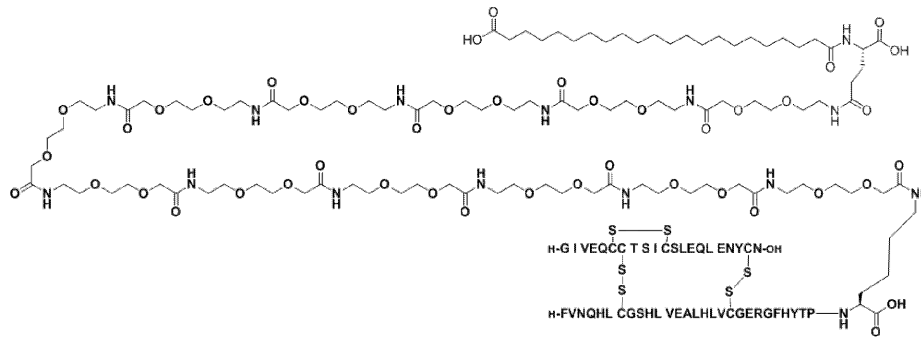
【 0 1 0 1 】

実施例 2

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 3 0 ヒトインスリン (化合物 2)

50

【化5】



10

【0102】

対照例1のパート1と類似するステップに従って、化合物A14E、B16H、B25H、B29K(N()-ドコサンジアシル-Glu-12xOEG)、desB30ヒトインスリンを製造した。

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

【0103】

中間体tert-ブチルドコサンジアシル-Glu-(12xOEG-OSu)-OtBuの製造は、対照例1のパート2と類似するステップに従って行った。

LC-MS(Sciex100API): $m/z = 2451.38 (M+1)^+$ 。

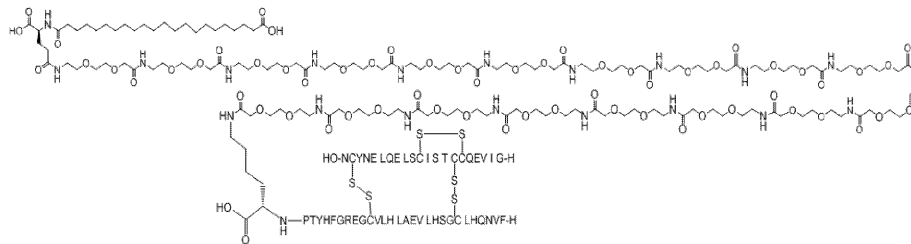
20

【0104】

実施例3

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3)

【化6】



30

【0105】

対照例1のパート1と類似するステップに従って、化合物A14E、B16H、B25H、B29K(N()-ドコサンジアシル-Glu-18xOEG)、desB30ヒトインスリンを製造した。

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

40

【0106】

中間体tert-ブチルドコサンジアシル-Glu-(18xOEG-OSu)-OtBuの製造は、対照例1のパート2と類似するステップに従って行った。

LC-MS(Sciex100API): $m/z = 3320.83 (M+1)^+$

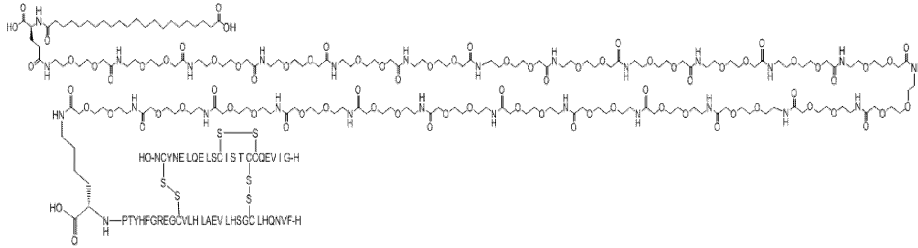
【0107】

実施例4

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4)

50

【化7】



【0108】

10

対照例1のパート1と類似するステップに従って、化合物A14E、B16H、B25H、B29K (N() -ドコサンジアシル - Glu - 24xOEG)、desB30ヒトインスリンを製造した。

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

【0109】

中間体tert-ブチルドコサンジアシル - Glu - (24xOEG - OSu) - OtBuの製造は、対照例1のパート2と類似するステップに従って行った。

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

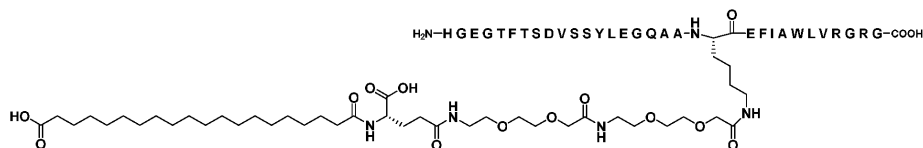
【0110】

実施例5

20

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 (化合物 5)

【化8】



30

【0111】

1、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) ペプチドの製造

一般的なタンパク質組み換え発現方法により、[Gly 8、Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチドを製造した (具体的な方法は、Molecular Cloning : A Laboratory Manual (Fourth Edition) , Michael R. Green, Cold Spring Harbor Press, 2012 を参照) 。 [Gly 8、Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド (5 g、1.48 mmol) を 100 mM の Na₂HPO₄ 水溶液 (150 mL) に溶解し、アセトニトリル (100 mL) を加え、1 N の NaOH で pH を pH 10 ~ 12.5 に調整した。tert-ブチルエイコサンジアシル - Glu (2xOEG - OSu) - OtBu (1.59 g、1.63 mmol) をアセトニトリル (50 mL) に溶解し、[Gly 8、Arg 34] GLP - 1 - (7 - 37) ペプチド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 (150 mL) に加え、1 N 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。

40

50

粗生成物をトリフルオロ酢酸 (60 mL) とジクロロメタン (60 mL) の混合溶液に加え、室温で30分間攪拌した。混合物を約30 mLに濃縮し、氷冷した *n*-ヘプタン (300 mL) 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。真空中で乾燥した後、生成物を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、pH 7.5)、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、1 NのHClでpHを5.2に調整し、沈殿物を分離し、凍結乾燥させて表題化合物を得た。

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 1028.79 [M + 4H]^+$

【0112】

10

2、中間体 *tert*-ブチルエイコサンジアシル - Glu - (2xOEG - OSu) - OtBuの製造

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 (400 mL) 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で攪拌してから、DCC (11.39 g、55.19 mmol) を加え、それを更に一晩攪拌した。ろ過し、得られたる液をほぼ乾燥になるまで濃縮し、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、ろ過後にる液を減圧でほぼ乾燥になるまで濃縮し、真空中で一晩乾燥させ、24.12 g (収率97%) の *tert*-ブチルエイコサンジアシル - OSuを得た。

20

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

【0113】

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 (24.12 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 (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、ろ過後にる液を減圧でほぼ乾燥になるまで濃縮し、真空中で一晩乾燥させた。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。

30

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

【0114】

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、更に 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し、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、ろ過後にる液を減圧でほぼ乾燥になるまで濃縮し、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、ろ過ケーキを真空中で一晩乾燥させ、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。

40

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

【0115】

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

50

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 2 x 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でほぼ乾燥になるまで濃縮し、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 - (2 x OEG - OH) - OtBu を得た。

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

10

【0116】

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

窒素ガス保護の条件で、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、更に 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し、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、ろ液を減圧でほぼ乾燥になるまで濃縮し、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。

20

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

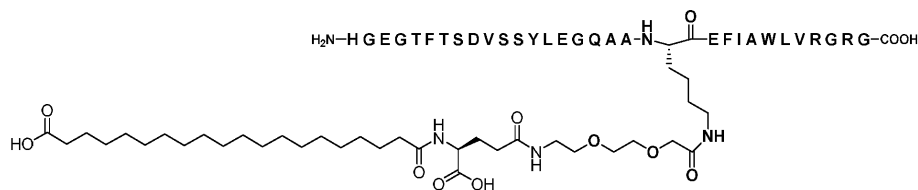
【0117】

実施例 6

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 (化合物 6)

【化 9】

30



【0118】

実施例 5 のパート 1 と類似するステップに従って、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) ペプチドを製造した

40

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

【0119】

中間体 tert - ブチルエイコサンジアシル - Glu - (OEG - OSu) - OtBu の製造は、実施例 5 のパート 2 と類似するステップに従って行った。

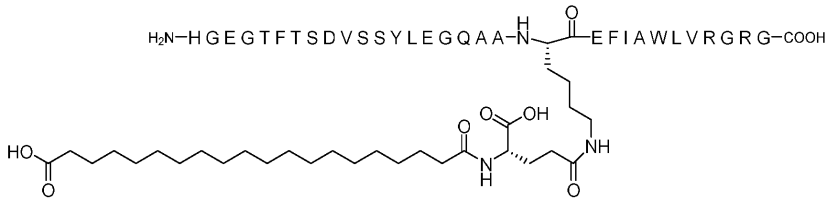
LC - MS (Sciex 100 API) : m/z = 826.54 (M + 1)⁺

【0120】

実施例 7

50

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 - [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド (化合物 7)
【化 1 0】



10

【 0 1 2 1】

実施例 5 のパート 1 と類似するステップに従って、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 - [G l y 8、 A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチドを製造した。

LC - MS (エレクトロスプレー) : m / z = 9 5 6 . 2 5 [M + 4 H] 4 +

【 0 1 2 2】

中間体 tert - ブチルエイコサンジアシル - G l u - (O S u) - O t B u の製造は、実施例 5 のパート 2 と類似するステップに従って行った。

LC - MS (S c i e x 1 0 0 A P I) : m / z = 6 8 1 . 4 6 (M + 1) +

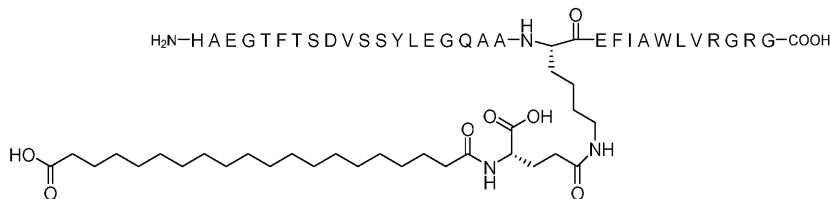
20

【 0 1 2 3】

実施例 8

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 - [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド (化合物 8)

【化 1 1】



30

【 0 1 2 4】

実施例 5 のパート 1 と類似するステップに従って、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 - [A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチドを製造した。

LC - MS (エレクトロスプレー) : m / z = 9 5 9 . 7 5 [M + 4 H] 4 +

【 0 1 2 5】

中間体 tert - ブチルエイコサンジアシル - G l u - (O S u) - O t B u の製造は、実施例 5 のパート 2 と類似するステップに従って行った。

LC - MS (S c i e x 1 0 0 A P I) : m / z = 6 8 1 . 4 6 (M + 1) +

40

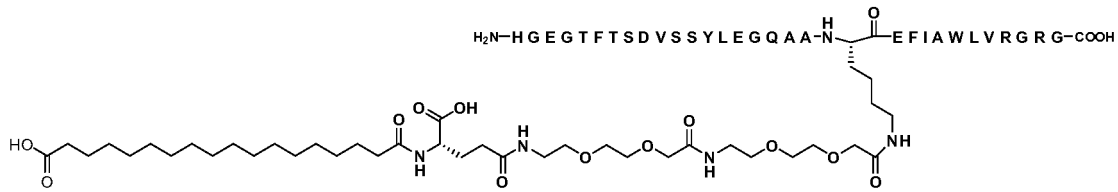
【 0 1 2 6】

実施例 9

N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (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 (化合物 9)

50

【化 1 2】



10

【0 1 2 7】

実施例 5 のパート 1 と類似するステップに従って、N - ²⁶ - [2 - (2 - [2 - (2 - [2 - (2 - [4 - (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) ペプチドを製造した。

LC - MS (エレクトロスプレー) : m / z = 1 0 2 1 . 7 8 [M + 4 H] 4 ⁺

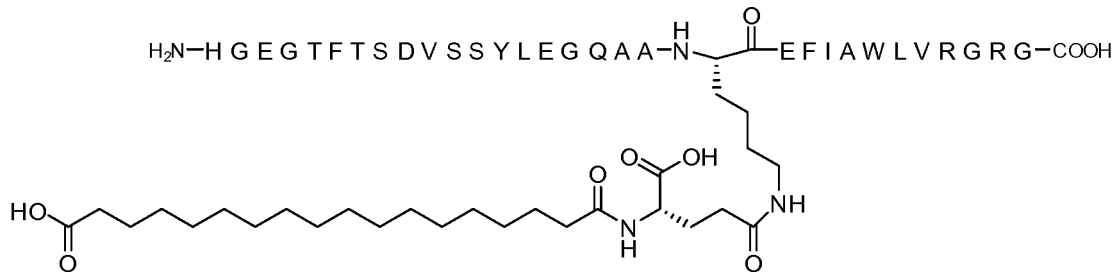
【0 1 2 8】

実施例 1 0

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 - [G l y 8、A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチド (化合物 1 0)

20

【化 1 3】



30

【0 1 2 9】

実施例 5 のパート 1 と類似するステップに従って、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 - [G l y 8、A r g 3 4] G L P - 1 - (7 - 3 7) ペプチドを製造した。

LC - MS (エレクトロスプレー) : m / z = 9 4 9 . 2 4 [M + 4 H] 4 ⁺

【0 1 3 0】

中間体 tert - ブチルオクタデカンジアシル - G l u - (O S u) - O t B u の製造は、実施例 5 のパート 2 と類似するステップに従って行った。

40

LC - MS (S c i e x 1 0 0 A P I) : m / z = 6 5 3 . 4 3 (M + 1) ⁺

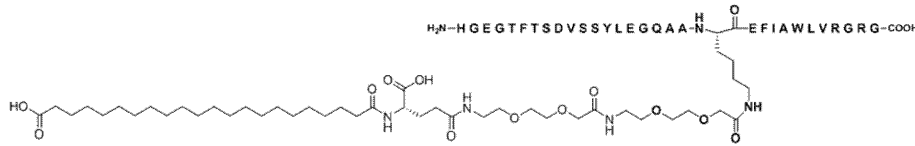
【0 1 3 1】

実施例 1 1

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 (化合物 1 1)

50

【化 1 4】



10

【0 1 3 2】

実施例 5 のパート 1 と類似するステップに従って、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] [Gly 8、Arg 3 4] GLP - 1 - (7 - 3 7) ペプチドを製造した。

LC - MS (エレクトロスプレー) : m / z = 1 0 3 5 . 8 0 [M + 4 H] 4 ⁺

【0 1 3 3】

中間体 tert - ブチルドコサンジアシル - Glu - (2 x OEG - OSu) - Ot Bu の製造は、実施例 5 のパート 2 と類似するステップに従って行った。

LC - MS (Sciex 1 0 0 API) : m / z = 9 9 9 . 6 4 (M + 1) ⁺

20

【0 1 3 4】

実施例 1 2

本実験は、本発明のアシル化インスリン製剤の化学的安定性を測定することを目的とする。

【0 1 3 5】

アシル化インスリン製剤

化合物 2 を 1 0 m M の無水リン酸水素二ナトリウム溶液に、下記表の各製剤におけるインスリン最終濃度の 2 倍になるように溶解し、下記表の各成分の量に応じてフェノール、m - クレゾール、グリセリン及び塩化ナトリウムを混合した後、化合物 2 の溶液に加え、p H を 7 . 4 に調整し、次に下記表の酢酸亜鉛の量に応じて化合物 2 の溶液に一度にゆっくりと加え、p H を 7 . 4 に調整し、最終的には表 1 に記載のアシル化インスリン製剤を生成し、Zn の含有量は、Zn / アシル化インスリン 6 モル (「 Zn / 6 i n s 」 と略す) として表す。

30

【0 1 3 6】

【表 1】

	製剤 1	製剤 2	製剤 3
化合物 2 (mmol / L)	0. 9	1. 2	1. 5
m - クレゾール (mmol / L)	1 0	1 0	1 0
リン酸水素二ナトリウム (mmol / L)	5	5	5
グリセリン (mg / mL)	1 5	1 5	1 5
フェノール (mmol / L)	4 5	4 5	4 5
亜鉛イオン (Zn / 6 i n s)	2. 3	2. 3	2. 3
NaCl (mmol / L)	2 0	2 0	2 0
p H 値	7. 4	7. 4	7. 4

40

【0 1 3 7】

本実施例において、製剤の化学的安定性は、2 5 及び 3 7 で 1 4 日間及び 2 1 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されてもよく、

50

また、25 及び 37 で 14 日間及び 21 日間保存した後の関連物質の量の変化で示されてもよい。

【0138】

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) によって高分子量タンパク質 (HMWP) の含有量を測定し、型式及び規格 Shodex PROTEIN kw-802.5 のカラムで、カラム温度 30、サンプルセル温度 5 で、0.1% のアルギニン溶液 3 L、氷酢酸 750 mL 及びアセトニトリル 1250 mL を含む移動相を用いて 0.5 mL / 分の流速で試験した。検出波長は 276 nm で、試料注入量は 10 µL であった。表 2 は、25 及び 37 で、0 日目に対する 14 日目及び 21 日目の HMWP の増加量を示した。

10

【0139】

【表 2】

	25℃ 14日目の 0日目に対する HMWPの増加量 (%)	25℃ 21日目の 0日目に対する HMWPの増加量 (%)	37℃ 14日目の 0日目に対する HMWPの増加量 (%)	37℃ 21日目の 0日目に対する HMWPの増加量 (%)
製剤1	0.18	0.26	0.72	0.99
製剤2	0.13	0.18	0.55	0.73
製剤3	0.09	0.16	0.51	0.67

20

【0140】

上記の表から、本発明の上記異なる濃度条件でのアシル化インスリン製剤における HMWP の量の経時変化は非常にゆっくりと増加していることが分かり、上記アシル化インスリン製剤は何れも、優れた化学的安定性を有することを示した。

【0141】

関連物質の量の測定

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によってインスリン関連物質の含有量を測定し、Kromasil 300A-5 µm-C4 (4.6 x 150 mm) カラムで、カラム温度 35、サンプルセル温度 5 で、溶出相を用いて 1.0 mL / 分の流速で試験した。溶出は、以下からなる移動相で行った。

30

A 相は、0.18 M の無水硫酸ナトリウム、10% のアセトニトリル (v/v) を含み、85% のリン酸で pH 値を 2.3 に調整し、

B 相は 75% のアセトニトリル (v/v) であった。

勾配：0 ~ 40 分間で 64% / 36% A / B の線形変化、40 ~ 65 分間で 10% / 90% A / B の線形変化、65 ~ 66 分間で 64% / 36% A / B の線形変化、66 ~ 70 分間で 64% / 36% A / B の等勾配。

検出波長は 214 nm であった。

40

【0142】

表 3 は、25 及び 37 で、0 日目に対する 14 日目及び 21 日目の関連物質の増加量を示した。

【0143】

【表 3】

	25℃ 14日目の 0日目に対する 関連物質の増加量 (%)	25℃ 21日目の 0日目に対する 関連物質の増加量 (%)	37℃ 14日目の 0日目に対する 関連物質の増加量 (%)	37℃ 21日目の 0日目に対する 関連物質の増加量 (%)
製剤1	0.34	0.45	1.25	1.93
製剤2	0.43	0.50	1.23	1.71

10

【0144】

上記の表から、本発明の上記異なる濃度条件でのアシル化インスリン製剤におけるインスリン関連物質の量の経時変化も非常にゆっくりと増加していることが分かり、上記アシル化インスリン製剤は非常に安定していることを示した。

【0145】

実施例 13

本実験は、本発明のアシル化インスリン製剤の化学的安定性を測定することを目的とする。

【0146】

下記の表4中の各成分の量に応じて、実施例12と類似するステップに従って、表4中のアシル化インスリン製剤を製造した。また、実施例12と類似するステップに従って、HMWP及び関連物質の0日目に対する14日目及び35日目の変化を測定した。下記の表5及び6は、異なる配合法によるアシル化インスリン製剤のHMWP及び関連物質の変化を示している。

20

【0147】

【表 4】

	製剤4	製剤5	製剤6	製剤2	製剤7	製剤8	製剤9
化合物2 (mmol/L)	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
m-クレゾール (mmol/L)	10	10	10	10	10	10	10
リン酸水素二ナトリウム (mmol/L)	5	5	5	5	5	5	5
グリセリン (mg/mL)	15	15	15	15	15	15	15
フェノール (mmol/L)	45	45	45	45	45	45	45
亜鉛イオン (Zn/6ins)	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3
NaCl (mmol/L)	20	20	20	20	20	20	20
pH値	6.5	7.0	7.2	7.4	7.6	7.8	8.0

30

【0148】

40

50

【表 5】

	25℃ 14日目の 0日目に対する HMWPの増加量 (%)	25℃ 35日目の 0日目に対する HMWPの増加量 (%)	37℃ 14日目の 0日目に対する HMWPの増加量 (%)	37℃ 35日目の 0日目に対する HMWPの増加量 (%)
製剤4	0.10	0.25	0.48	1.17
製剤5	0.12	0.26	0.45	1.16
製剤6	0.17	0.33	0.50	1.35
製剤2	0.17	0.36	0.47	1.28
製剤7	0.13	0.32	0.51	1.40
製剤8	0.16	0.41	0.63	1.50
製剤9	0.19	0.49	0.69	1.78

10

20

【0149】

【表 6】

	25℃ 14日目の 0日目に対する 関連物質の増加量 (%)	25℃ 35日目の 0日目に対する 関連物質の増加量 (%)	37℃ 14日目の 0日目に対する 関連物質の増加量 (%)	37℃ 35日目の 0日目に対する 関連物質の増加量 (%)
製剤4	0.49	0.70	1.41	3.27
製剤5	0.38	0.68	1.24	2.91
製剤6	0.43	0.75	1.22	2.99
製剤2	0.44	0.74	1.25	3.16
製剤7	0.40	0.75	1.34	3.42
製剤8	0.36	0.86	1.55	3.93
製剤9	0.43	0.83	2.02	4.85

30

【0150】

上記の表から、本発明の上記アシル化インスリン製剤におけるインスリンのHMWP及び関連物質の量の経時変化も非常にゆっくりと増加していることが分かり、上記アシル化インスリン製剤は非常に安定していることを示した。

40

【0151】

実施例14

本実験は、アシル化インスリン及びGLP-1化合物を含む本発明の組成物の化学的安定性を測定することを目的とする。

【0152】

アシル化インスリン及びGLP-1化合物を含む組成物

下記の表7中の各成分の量に応じて、実施例12と類似するステップに従って、アシル化インスリン(化合物2)及びGLP-1(化合物11)を含む組成物を製造した。また

50

、実施例 1 2 と類似するステップに従って、組成物におけるアシル化インスリンの HMWP の 0 日目に対する 1 4 日目及び 3 5 日目の変化を測定した。下記の表 8 は、異なる配合法による組成物におけるアシル化インスリンの HMWP の変化を示した。

【 0 1 5 3 】

【表 7】

	組成物 1	組成物 2	組成物 3	組成物 4	組成物 5	組成物 6	組成物 7	組成物 8
化合物 2 (mmol/L)	1. 2	1. 2	1. 2	1. 2	1. 2	1. 2	1. 2	1. 2
化合物 1 1 (mmol/L)	0. 096	0. 12	0. 16	0. 192	0. 24	0. 32	0. 48	0. 64
m-クレゾール (mmol/L)	10	10	10	10	10	10	10	10
リン酸水素二ナトリウム (mmol/L)	10	10	10	10	10	10	10	10
グリセリン (mg/mL)	15	15	15	15	15	15	15	15
フェノール (mmol/L)	45	45	45	45	45	45	45	45
亜鉛イオン (Zn/6ins)	2. 3	2. 3	2. 3	2. 3	2. 3	2. 3	2. 3	2. 3
NaCl (mmol/L)	20	20	20	20	20	20	20	20
pH値	7. 4	7. 4	7. 4	7. 4	7. 4	7. 4	7. 4	7. 4

10

20

【 0 1 5 4 】

【表 8】

	25℃ 14日目の 0日目に対する HMWPの増加量 (%)	25℃ 35日目の 0日目に対する HMWPの増加量 (%)	37℃ 14日目の 0日目に対する HMWPの増加量 (%)	37℃ 35日目の 0日目に対する HMWPの増加量 (%)
組成物 1	0. 23	0. 36	0. 45	1. 31
組成物 2	0. 16	0. 32	0. 40	1. 20
組成物 3	0. 17	0. 32	0. 40	1. 12
組成物 4	0. 13	0. 30	0. 50	1. 07
組成物 5	0. 11	0. 16	0. 33	0. 91
組成物 6	0. 13	0. 26	0. 29	0. 84
組成物 7	0. 07	0. 16	0. 13	0. 39
組成物 8	0. 06	0. 13	0. 19	0. 53

30

40

【 0 1 5 5 】

上記の表から、本発明の上記アシル化インスリン及び GLP - 1 組成物におけるアシル化インスリンの HMWP 量の経時変化は非常にゆっくりと増加していることが分かり、GLP - 1 化合物の存在がアシル化インスリンの安定性に影響を与えないことを示した。

【 0 1 5 6 】

実施例 1 5

2 型糖尿病 db / db マウスにおける薬力学的研究

50

本研究の目的は、糖尿病の場合に、2型糖尿病 db/db マウスに対するアシル化インスリン及びGLP-1化合物を含む本発明の組成物の長期血糖降下及びHbA1c効果を実証することである。

【0157】

2型糖尿病 db/db マウスにおいて、化合物2及び化合物11を含む組成物1~3及び5~7、並びに参照として化合物2を含む単一製剤10、化合物11を含む単一製剤11及び溶媒群を試験した。

使用した製剤又は組成物の組成を表9に示した。

【0158】

【表9-1】

	組成物1	組成物2	組成物3	組成物5	組成物6	組成物7
化合物2	1.2mmol/L (200U)	1.2mmol/L (200U)	1.2mmol/L (200U)	1.2mmol/L (200U)	1.2mmol/L (200U)	1.2mmol/L (200U)
化合物11	0.096mmol/L (0.4mg/ml)	0.12mmol/L (0.5mg/ml)	0.16mmol/L (0.7mg/ml)	0.24mmol/L (1.0mg/ml)	0.32mmol/L (1.35mg/ml)	0.48mmol/L (2.0mg/ml)
m-クレゾール (mmol/L)	10	10	10	10	10	10
リン酸水素二 ナトリウム (mmol/L)	10	10	10	10	10	10
グリセリン (mg/mL)	15	15	15	15	15	15
フェノール (mmol/L)	45	45	45	45	45	45
亜鉛イオン (Zn ²⁺ /6ins)	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3
NaCl (mmol/L)	20	20	20	20	20	20
プロピレン グリコール (mmol/L)	-	-	-	-	-	-
pH値	7.4	7.4	7.4	7.4	7.4	7.4

10

20

30

【0159】

40

50

【表 9 - 2】

	製剤 10	製剤 11	溶媒群
化合物 2	1.2 mmol/L (200U)	-	-
化合物 11	-	0.48 mmol/L (2.0 mg/ml)	-
m-クレゾール (mmol/L)	10	-	10
リン酸水素二ナトリウム (mmol/L)	5	10	5
グリセリン (mg/mL)	15	-	15
フェノール (mmol/L)	45	60	45
亜鉛イオン (Zn/6ins)	2.3	-	-
NaCl (mmol/L)	20	-	20
プロピレングリコール (mmol/L)	-	184	-
pH値	7.4	7.3	7.4

10

【0160】

20

8 ~ 9 週齢の雄 db/db (Cavens) マウスを障壁環境内の適した飼育箱で、標準食品及び精製水を自由に摂取できる状態で飼育し、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。

【0161】

当日の実験開始前にランダムな血糖を評価し、マウスの体重を測定した。ランダムな血糖及び体重に応じてマウスを合計 13 群、各群 5 匹で溶媒群又は治療群にランダムに配分し、マウスに以下の処理を施した。溶媒を皮下注射し、又は低用量 (化合物 2 が 5 U/kg) の医薬組成物 1、組成物 2、組成物 5、組成物 6、組成物 7 を皮下注射し、又は中等用量 (化合物 2 が 10 U/kg) の医薬組成物 1、組成物 3、組成物 5、組成物 6、組成物 7 を皮下注射し、又は製剤 10 (化合物 2 が 10 U/kg) を皮下注射し、又は製剤 11 (化合物 11 が 96.8 µg/kg で計算) 皮下注射する。

30

【0162】

皮下投与方式 (5 mL/kg) により、頸背部に皮下注射により投与し、0 日目、3 日目、6 日目、9 日目、12 日目、15 日目、18 日目、21 日目にそれぞれ投与し、初回投与後に 3 時間、6 時間、9 時間、24 時間、48 時間、72 時間のランダムな血糖を検出し、その後 1 日 1 回モニターした。研究終了後、EDTA 抗凝固剤を用いて全血中の糖化ヘモグロビン (Hb1Ac) の割合を測定した。

【0163】

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。各医薬組成物について時間に対する血糖の用量応答曲線をプロットした。本発明の医薬組成物による血糖への影響を説明するために、個々の用量応答曲線毎に、0 からモニタリング終点までの血糖 - 時間曲線下面積差 (AUC) を計算した。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した。

40

【0164】

図 1a ~ 図 1f は、アシル化インスリン及び GLP-1 化合物を含む本発明の医薬組成物が、アシル化インスリン単剤及び GLP-1 単剤と比較して、投与後に 2 型糖尿病 db/db マウスにおいて予想外に相乗的な糖減少薬効及び Hb1Ac 降下効果を有することを示した。

【0165】

50

具体的には、図 1 a 及び図 1 b は、アシル化インスリン及び G L P - 1 化合物を含む低用量での医薬組成物 7 の血糖降下効果が、単一製剤 1 0 及び製剤 1 1 の両方よりも明らかに優れ、そのうち、単一製剤 1 0 に含まれるアシル化インスリンの量が低用量での組成物 7 におけるアシル化インスリンの 2 倍に相当し、単一製剤 1 1 に含まれる G L P - 1 化合物の量が低用量での組成物 7 における G L P - 1 化合物の 2 倍に相当し、本発明の医薬組成物におけるアシル化インスリン及び G L P - 1 化合物が予想外に相乗的な血糖降下効果を有することを示した。低用量での組成物 1 及び組成物 2 は、製剤 1 0 と比較して、同等及びそれ以上の血糖降下効果を有し、低用量での組成物 5 及び組成物 6 は、製剤 1 1 と比較して、同等及びそれ以上の血糖降下効果を有し、アシル化インスリン及び G L P - 1 化合物の相乗効果の存在下で、より少ないアシル化インスリンと G L P - 1 化合物の総量を用いて、同等又はそれ以上の血糖降下効果を達成できることを示した。 10

【 0 1 6 6 】

図 1 c 及び図 1 d は、アシル化インスリン及び G L P - 1 化合物の相乗的な血糖降下効果の存在下で、各組成物に含まれるアシル化インスリンの用量が同じである場合、少量の G L P - 1 化合物を加えた組成物が、アシル化インスリン単剤のみを含む医薬組成物と比較して、血糖降下効果が明らかに向上し、且つ中等用量での組成物 1、組成物 3、組成物 5、組成物 6、組成物 7 が製剤 1 1 と比較して、何れも同等又はそれ以上の血糖降下効果を有することを示した。

【 0 1 6 7 】

図 1 e は、低用量での組成物 7 が製剤 1 0 及び製剤 1 1 よりも良好な H b 1 A c 降下効果を有し、アシル化インスリン及び G L P - 1 化合物が予想外に相乗的な H b 1 A c 降下効果を有することを示した。 20

【 0 1 6 8 】

図 1 f は、アシル化インスリン及び G L P - 1 化合物の相乗的な H b 1 A c 降下効果の存在下で、各組成物に含まれるアシル化インスリンの用量が同じである場合、少量の G L P - 1 化合物を加えた組成物が、アシル化インスリン単剤又は G L P - 1 化合物のみを含む医薬組成物と比較して、H b 1 A c 降下効果が明らかに向上することを示した。

【 0 1 6 9 】

実施例 1 6

2 型糖尿病 d b / d b マウスにおける長期薬力学的研究 30

実施例 1 5 と類似する実験ステップを参照して、2 型糖尿病 d b / d b マウスにおいて長期薬効研究を行った。

【 0 1 7 0 】

2 型糖尿病 d b / d b マウスにおいて、化合物 2 及び化合物 1 1 を含む組成物 5、組成物 9 及び組成物 1 0、並びに参照として化合物 2 を含む単一製剤 1 0、化合物 1 1 を含む単一製剤 1 1、デグルデクリラグルチド組成物及び溶媒群を試験した。

【 0 1 7 1 】

上記製剤又は組成物において、デグルデクリラグルチド組成物は対照組成物として、ノボルディスク社から購入したインスリンデグルデクリラグルチド注射液（商品名：X u l t o p h y）であり、残りの各製剤又は組成物の具体的な構成は表 1 0 に示した。 40

【 0 1 7 2 】

【表 10】

	組成物5	組成物9	組成物10	製剤10	製剤11	溶媒群
化合物2	1.2mmol/L (200U)	1.2mmol/L (200U)	1.2mmol/L (200U)	1.2mmol/L (200U)	-	-
化合物11	0.24mmol/L (1.0mg/ml)	0.42mmol/L (1.75mg/ml)	0.60mmol/L (2.5mg/ml)	-	0.48mmol/L (2.0mg/ml)	-
m-クレゾール (mmol/L)	10	10	10	10	-	10
リン酸水素二 ナトリウム (mmol/L)	10	10	10	5	10	5
グリセリン (mg/mL)	15	15	15	15	-	15
フェノール (mmol/L)	45	45	45	45	60	45
亜鉛イオン (Zn/6ins)	2.3	2.3	2.3	2.3	-	-
NaCl (mmol/L)	20	20	20	20	-	20
プロピレン グリコール (mmol/L)	-	-	-	-	184	-
pH値	7.4	7.4	7.4	7.4	7.3	7.4

10

20

【0173】

8～9週齢の雄db/db(Cavens)マウスを障壁環境内の適した飼育箱で、標準食品及び精製水を自由に摂取できる状態で飼育し、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。

30

【0174】

当日の実験開始前にランダムな血糖を評価し、マウスの体重を測定した。ランダムな血糖及び体重に応じてマウスを合計14群、各群7匹で溶媒群又は治療群にランダムに配分し、マウスに以下の処理を施した。溶媒皮下注射、又は低用量の医薬組成物5、組成物9、組成物10皮下注射し、又は中等用量の医薬組成物5、組成物9、組成物10を皮下注射し、又は高用量の医薬組成物5、組成物9、組成物10を皮下注射し、又は中等用量の製剤10を皮下注射し、又は高用量の製剤10を皮下注射し、又は高用量の製剤11を皮下注射し、又は高用量のデグルデクリラグルチド組成物を皮下注射した。そのうち、低用量の場合、組成物におけるアシル化インスリンの用量を5U/kgとして投与量を計算し、中等用量の場合、組成物又は製剤におけるアシル化インスリンの用量を10U/kgとして投与量を計算し、高用量の場合、1回目は組成物5、組成物9、組成物10、製剤10におけるアシル化インスリンの用量を20U/kgとして、デグルデクリラグルチド組成物におけるインスリンデグルデクの用量を7U/kgとして、製剤11におけるGLP-1化合物の用量を250µg/kgとして投与量を計算し、2～11回目は組成物5、組成物9、組成物10、製剤10におけるアシル化インスリンの用量を15U/kgとして、デグルデクリラグルチド組成物におけるインスリンデグルデクの用量を5.25U/kgとして、製剤11におけるGLP-1化合物の用量を189µg/kgとして投与量を計算した。

40

【0175】

50

皮下投与方式（5 mL / kg 体重）により、頸背部に皮下注射により投与し、溶媒とデグルデクリラグルチドとの組成物を1日1回で合計33回投与し、組成物5、組成物9、組成物10、製剤10及び製剤11を0日目、3日目、6日目、9日目、12日目、15日目、18日目、21日目、24日目、27日目、30日目にそれぞれ投与し、初回投与後の3時間、6時間、9時間、12時間、24時間及び48時間にマウス血糖を評価し、3日目～33日目に毎日投与前に血糖をモニターし、血糖-時間曲線下面積（AUC）を計算した。群分け前及び投与後の16日目にマウスの糖化ヘモグロビン（Hb1Ac）割合を測定し、糖化ヘモグロビンの変化（Hb1Ac）を計算した。実験終了時にマウスの非抗凝固全血を採取し、遠心分離後に血清を採取し、ELISA試薬キットを用いて血清中のトリグリセライド（TG）値を検出した。

10

【0176】

図2a～図2dは、アシル化インスリン及びGLP-1化合物を含む本発明の医薬組成物が、アシル化インスリン単剤、GLP-1単剤と比較して、投与後に2型糖尿病db/dbマウスにおいて予想外に相乗的な糖減少薬効、Hb1Ac低下効果及びトリグリセライド低下効果を有し、また1日1回の高用量のデグルデクリラグルチド組成物と比較して、本発明の3日1回投与する医薬組成物がより良好な薬効を有することを示した。

【0177】

具体的には、図2a及び図2bは、低用量でのアシル化インスリン及びGLP-1化合物を含む医薬組成物5、組成物9及び組成物10の血糖低下効果、低用量での組成物5の血糖低下効果が高用量での製剤10に相当し、そのうち、製剤10におけるアシル化インスリンの用量が低用量での組成物5におけるアシル化インスリンの3倍以上に相当し、少量のGLP-1化合物の存在下で、低用量のアシル化インスリンを投与することで、高用量のアシル化インスリンと同等又はそれ以上の血糖低下効果を達成できることを示す。3日1回投与する低用量での組成物9の血糖低下効果は、1日1回投与する高用量での対照組成物（デグルデクリラグルチド組成物）の血糖低下効果に相当し、アシル化インスリン及びGLP-1化合物を含む本発明の医薬組成物は市販されている組成物製品であるデグルデクリラグルチドと比較して予想外により良好な血糖低下効果を有することを示した。低用量での組成物10の血糖低下効果は、高用量での単一製剤10よりも明らかに優れ、且つ高用量での製剤11に相当し、そのうち、製剤10におけるアシル化インスリンの含有量は組成物10におけるアシル化インスリンの3倍以上であり、製剤11におけるGLP-1化合物の含有量は組成物10におけるGLP-1化合物の3倍以上であり、以上から、本発明の医薬組成物におけるアシル化インスリン及びGLP-1化合物が予想外に相乗的な血糖低下効果を有することが分かった。

20

30

【0178】

図2cは、3日1回投与する中等用量での組成物5のHbA1c低下効果が1日1回投与する高用量でのデグルデクリラグルチド組成物に相当し、少量の本発明の医薬組成物を使用することで、デグルデクリラグルチド組成物に相当するHbA1c低下効果を達成でき、本発明の医薬組成物がより良好な薬効を有することを示した。低用量での組成物10のHbA1c低下効果が高用量での製剤10及び製剤11よりも明らかに優れ、本発明の医薬組成物におけるアシル化インスリン及びGLP-1化合物は相乗的なHbA1c低下効果を有することを示した。

40

【0179】

図2dは、低用量での組成物10のTG低下効果が高用量でのデグルデクリラグルチド組成物よりも明らかに優れ、本発明の医薬組成物のTG低下効果がデグルデクリラグルチド組成物より優れることを示した。低用量での組成物10のTG低下効果が高用量での製剤10及び高用量での製剤11に相当し、本発明の医薬組成物におけるアシル化インスリン及びGLP-1化合物が相乗的なTG低下効果を有することを示した。

【0180】

実施例17

2型糖尿病db/dbマウスにおける長期薬力学的研究

50

本研究の目的は、糖尿病の場合に2型糖尿病 db/db マウスに対する本発明のアシル化インスリン製剤の長期血糖降下効果、HbA1c 降下効果及びTG 降下効果を実証することである。

【0181】

2型糖尿病 db/db マウスにおいて、化合物2を含む製剤、並びに参照として対照化合物1を含む製剤、デグルデク製剤、正常対照群及び溶媒対照群を試験した。

【0182】

上記製剤において、デグルデク製剤は対照製剤2として、ノボノルディスク社から購入したインスリンデグルデク注射液 (Tresiba) であり、残りの製剤の具体的な構成は表11に示した。

【0183】

【表11】

	製剤2	対照製剤1	溶媒
化合物2	1.2 mmol/L (200U)	-	-
対照化合物1	-	4.2 mmol/L (700U)	-
m-クレゾール (mmol/L)	10	10	10
リン酸水素二ナトリウム (mmol/L)	5	-	5
グリセリン (mg/mL)	15	15	15
フェノール (mmol/L)	45	58.5	45
亜鉛イオン (Zn/6ins)	2.3	2.2	-
NaCl (mmol/L)	20	20	20
pH値	7.4	7.4	7.4

【0184】

8~9週齢の db/db (Cavens) マウス及び正常なマウスを障壁環境内の適した飼育箱で、標準食品及び精製水を自由に摂取できる状態で飼育し、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。

【0185】

当日の実験開始前にランダムな血糖を評価し、マウスの体重を測定した。ランダムな血糖及び体重に応じてマウスを合計4群、各群10匹で対照群又は治療群にランダムに配分し、マウスに以下の処理を施した。溶媒を皮下注射し、又は化合物2を含む製剤2を皮下注射し、又は対照化合物1を含む対照製剤1を皮下注射し、又はインスリンデグルデクを含む対照製剤2を皮下注射した。そのうち、1回~4回投与の場合、投与量は何れも30U/kgであり、5回~10回投与の場合、投与量は何れも37.5U/kgであった。

【0186】

皮下投与方式 (5mL/kg 体重) により、頸背部に皮下注射により投与し、0日目、3日目、7日目、10日目、13日目、16日目、19日目、22日目、25日目、28日目にそれぞれ投与し、毎回投与前及び最終投与後の72時間にマウス血糖を評価し、血糖-時間曲線下面積の変化 (AUC) を計算した。食事のシミュレーションを行うために、試験中、1回投与後の48時間に経口糖耐量試験 (OGTT) を行い、グルコース溶液 (100mg/mL、10mL/kg) の強制経口投与後の30分、60分、及び120分に血糖を測定した。研究終了後、EDTA 抗凝固剤を用いて全血中の糖化ヘモグロビン (Hb1Ac) の割合を検出し、同時に非抗凝固全血を採取し、遠心分離後に血清を採取してELISA 試薬キットを用いて血清中のトリグリセライド (TG) 値を測定した。

【 0 1 8 7 】

図 3 a ~ 図 3 f は、アシル化インスリンを含む本発明の製剤は、デグルデク製剤、対照化合物 1 を含む製剤と比較して、同じ用量で 2 型糖尿病 d b / d b マウスにおいて予想外に血糖降下、H b 1 A c 降下及び T G 降下効果が向上することを示した。

【 0 1 8 8 】

実施例 1 8

非肥満 2 型糖尿病 (T 2 D M) 初期のモデルラット (G K ラット) における長期薬力学的研究

本研究の目的は、糖尿病の場合に非肥満 2 型糖尿病 (T 2 D M) 初期のモデルラット (G K ラット) に対する本発明のアシル化インスリン製剤の長期血糖降下効果、H b A 1 c 降下効果、T G 降下効果及び G S P 降下効果を実証することである。

【 0 1 8 9 】

G K ラットにおいて、化合物 2 を含む製剤、並びに参照としてデグルデク製剤、正常対照群及び溶媒対照群を試験した。上記製剤の構成は表 1 2 に示した。

【 0 1 9 0 】

スクリーニングに合格した G K ラット (ランダムな血糖及び糖化ヘモグロビンがそれぞれ正常 W i s t a r ラットの 2 0 % 及び 3 0 % より高い) 及び正常ラットを障壁環境内の適した飼育箱で、標準食品及び精製水を自由に摂取できる状態で飼育し、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 9 1 】

当日の実験開始前にランダムな血糖を評価し、G K ラットの体重を測定した。ランダムな血糖、体重及び糖化ヘモグロビンに応じて、ラットを合計 3 群、各群 6 匹で対照群又は治療群にランダムに配分し、ラットに以下の処理を施した。溶媒を皮下注射し、又は化合物 2 を含む製剤 2 を皮下注射し、又はデグルデクを含む対照製剤 2 を皮下注射し、投与量は何れも 1 0 U / k g であった。

【 0 1 9 2 】

皮下投与方式 (1 m L / k g 体重) により、頸背部に皮下注射により投与 (S . C .) し、溶媒及びデグルデク製剤を 1 日 1 回で、合計 3 2 回投与し、化合物 2 を含む製剤 2 を 0 日目、4 日目、8 日目、1 2 日目、1 6 日目、2 0 日目、2 4 日目、2 8 日目にそれぞれ投与し、毎回投与前及び最終投与後の 7 2 時間にマウス血糖を評価し、血糖 - 時間曲線下面積の変化 (A U C) を計算した。試験前日に 4 時間絶食させ、ラット糖化ヘモグロビン (H b A 1 c) を検出し、研究終了後に E D T A 抗凝固剤を用いて全血中の糖化ヘモグロビン (H b 1 A c) の割合を検出し、同時に非抗凝固全血を採取し、遠心分離後に血清を採取して E L I S A 試薬キットを用いて血清中の糖化血清アルブミン (G S P) 及びトリグリセライド (T G) 値を測定した。

【 0 1 9 3 】

図 4 a ~ 図 4 e は、アシル化インスリンを含む本発明の製剤は、デグルデク製剤と比較して、同じ用量で非肥満 2 型糖尿病 (T 2 D M) 初期のモデルラットにおいて予想外に血糖降下、H b 1 A c 降下、G S P 降下及び T G 降下効果が向上することを示した。

【 0 1 9 4 】

実施例 1 9

本実験は、アシル化インスリン及び G L P - 1 化合物を含む本発明の組成物の化学的安定性を測定することを目的とする。

下記の表 1 2 の各成分の量に応じて、実施例 1 2 と類似するステップに従って、表 1 2 の組成物を製造した。また、実施例 1 2 と類似するステップに従って、0 日目に対する 1 9 日目及び 3 3 日目の H M W P の変化、及び 0 日目に対する 1 9 日目の関連物質の変化を測定した。下記の表 1 3 及び 1 4 は、異なる組成物における化合物 2 の H M W P 及び関連物質の変化を示した。

【 0 1 9 5 】

10

20

30

40

50

【表 1 2】

組成物	組成物 1 1	組成物 1 2	組成物 1 3	組成物 1 4	組成物 1 5	組成物 1 6
化合物 2 (mmol/L)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
化合物 1 1 (mg/ml)	1.5	2.0	2.5	3.0	2.0	2.0
フェノール (mmol/L)	40	40	40	40	58.5	58.5
m-クレゾール (mmol/L)	10	10	10	10	10	-
亜鉛イオン (Zn/6 ions)	3	3	3	3	3	3
グリセリン (mg/mL)	15	15	15	15	15	-
NaCl (mmol/L)	20	20	20	20	20	20
プロピレン グリコール (mmol/L)	-	-	-	-	-	184
リン酸水素二 ナトリウム (mmol/L)	-	-	-	-	-	9
pH値	7.4	7.4	7.4	7.4	7.4	7.4

10

20

30

【0 1 9 6】

40

50

【表 1 3】

	25℃ 19日目の 0日目に対するH MWPの増加量 (%)	25℃ 33日目の 0日目に対するH MWPの増加量 (%)	37℃ 19日目の 0日目に対する HMWPの増加量 (%)	37℃ 33日目の 0日目に対する HMWPの増加量 (%)
組成物 1 1	0. 1 7	0. 3 0	0. 6 8	1. 3 2
組成物 1 2	0. 1 1	0. 2 1	0. 5 1	1. 1 9
組成物 1 3	0. 1 1	0. 2 0	0. 3 9	0. 9 6
組成物 1 4	0. 0 9	0. 1 9	0. 3 8	0. 8 3
組成物 1 5	0. 1 4	0. 2 8	0. 5 5	1. 0 6
組成物 1 6	0. 1 0	0. 2 3	0. 4 1	0. 7 2

10

【 0 1 9 7】

20

【表 1 4】

	25℃ 19日目の 0日目に対する関連物質の増加量 (%)	37℃ 19日目の 0日目に対する関連物質の増加量 (%)
組成物 1 1	2. 1 4	3. 9
組成物 1 2	2. 6 5	4. 1 4
組成物 1 3	2. 1 6	3. 6 3
組成物 1 4	2. 8 1	3. 2
組成物 1 5	2. 0 8	3. 5 3
組成物 1 6	1. 9 1	2. 9 8

30

【 0 1 9 8】

上記の表から、本発明の上記アシル化インスリン及びG L P - 1組成物におけるアシル化インスリンのH M W P及び関連物質の量の経時変化は非常にゆっくりと増加していることが分かり、G L P - 1化合物の存在がアシル化インスリンの安定性に影響を与えないことを示した。

【 0 1 9 9】

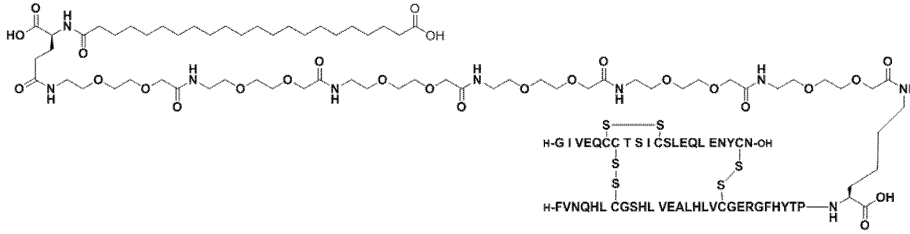
40

実施例 2 0

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)、d e s B 3 0 ヒトインスリン (化合物 1 2)

50

【化15】



10

【0200】

対照例1のパート1と類似するステップに従って、化合物A14E、B16H、B25H、B29K (N() - ドコサンジアシル - Glu - 6xOEG)、desB30ヒトインスリンを製造した。

LC-MS (エレクトロスプレー) : $m/z = 1165.0674 [M+11H]^{6+}$

【0201】

中間体 tert - ブチルドコサンジアシル - Glu - (6xOEG - OSu) - OtBuの製造は、対照例1のパート2と類似するステップに従って行った。

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

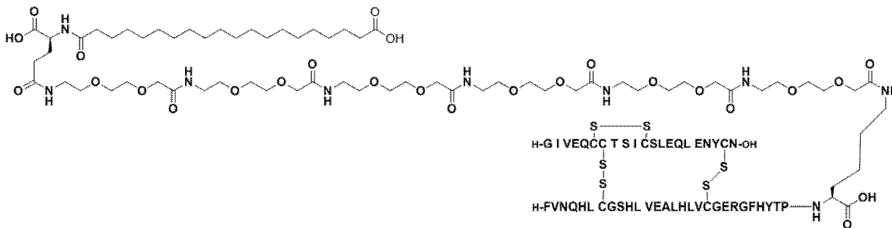
20

【0202】

実施例21

A14E、B16H、B25H、B29K (N() - エイコサンジアシル - Glu - 6xOEG)、desB30ヒトインスリン (化合物13)

【化16】



30

【0203】

対照例1のパート1と類似するステップに従って、化合物A14E、B16H、B25H、B29K (N() - エイコサンジアシル - Glu - 6xOEG)、desB30ヒトインスリンを製造した。

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

【0204】

中間体 tert - ブチルエイコサンジアシル - Glu - (6xOEG - OSu) - OtBuの製造は、対照例1のパート2と類似するステップに従って行った。

40

【0205】

実施例22 薬物動態

本実施例は、本発明の製剤のインビボ薬物動態特性を説明することを目的とする。

【0206】

SDラットの薬物動態

SDラット48匹、各群12匹 (雌と雄がそれぞれ半分) を、製剤2の低用量群、製剤2の中等用量群、及び製剤2の高用量群に分け、皮下注射により15、30、60 nmol / kgをそれぞれ投与し、更に、静脈注射群に対して、静脈注射により30 nmol /

50

kgを投与した。製剤2の低中高用量群に対して、投与前(0分)、投与後の3時間、6時間、9時間、12時間、24時間、36時間、48時間、72時間、96時間、120時間にそれぞれ採血して薬物血中濃度を測定し、製剤2の静脈注射群に対して、投与前(0分)、投与後の5分、15分、0.5時間、3時間、9時間、24時間、36時間、48時間、72時間、96時間、120時間に採血して薬物血中濃度を測定した。WinNonLin(8.0.0.3176)ソフトウェアのノンコンパートメントモデルを用いて薬物動態パラメータ $t_{1/2}$ 、 T_{max} 、 C_{max} 、 AUC_{last} 、 AUC_{inf} 、 Vd 、 Cl 、 MRT_{last} 、及び F を計算した。

【0207】

【表15】

10

表15：SDラットへの製剤2の皮下注射又は静脈注射後の薬物動態パラメータ

用量 nmol/kg	性別	パラメータ	$t_{1/2}$ (h)	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (h·ng/ml)	AUC_{inf} (h·ng/ml)	Vd (mL/kg)	Cl (mL/h/kg)	MRT_{last} (h)	F (%)
15	雄	Mean	13.99	9.6	381.52	11524.13	11632.94	210.17	10.44	24.54	—
		SD	0.56	2.51	91	2304.32	2306.4	37.04	1.95	1.55	
	雌	Mean	12.61	9	416.77	11595.76	11710.25	197.3	10.83	21.31	—
		SD	0.38	2.68	108.56	3244.92	3211.28	63.7	3.41	1.63	
30	雄	Mean	13.65	12	1044.81	30724.45	30853.01	151.57	7.7	23.43	67.44
		SD	0.74	0	67.67	2894.7	2853.24	16.8	0.77	1.69	
	雌	Mean	12.94	12	967.34	28350.7	28448.79	155.37	8.34	22.44	71.71
		SD	1.42	0	90.47	2466.55	2495.72	18.31	0.74	1.68	
60	雄	Mean	13.39	12	1840.7	58246.89	58403.57	157.51	8.16	24.78	—
		SD	0.48	0	317.68	7075.65	7110	16.8	0.91	0.85	
	雌	Mean	12.48	11	1425.39	41782.48	41904.63	204.91	11.38	23.19	—
		SD	0.88	1.55	173.41	5189.05	5195.64	27.48	1.26	1.89	
30 (i.v.)	雄	Mean	12.49	—	6037.02	45561.12	45654.23	94.59	5.23	10.98	—
		SD	1.17	—	699.23	5681.95	5658.78	17.71	0.69	0.38	
	雌	Mean	12.58	—	5977.44	39537.46	39634.66	110	6.08	9.14	—
		SD	0.7	—	715.15	6419.76	6417.2	16.93	0.97	1.03	

20

$t_{1/2}$ = 終末消失半減期、 T_{max} = ピークに達するまでの時間、 C_{max} = ピーク濃度、 AUC_{last} = 投与時間から最終時点までの薬物血中濃度-時間曲線下面積、 AUC_{inf} = 投与時間から無限領域までの薬物血中濃度-時間曲線下面積、 Vd = 見かけの分布容積、 Cl = クリアランス、 MRT_{last} = 平均滞留時間、 F = 絶対生物学的利用能

30

【0208】

上記の実験結果から、本発明の製剤2は、SDラットにおいて、より長い半減期、より長いMRT、及びより高い生物学的利用能を示すことが分かった。

40

【0209】

配列表

配列番号1:

A14E、B16H、B25H、desB30ヒトインスリンA鎖:

Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Glu Gln Leu Glu Asn Tyr Cys Asn

配列番号2:

A14E、B16H、B25H、desB30ヒトインスリンB鎖:

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His L

50

eu Val Glu Ala Leu His Leu Val Cys Gly Glu
Arg Gly Phe His Tyr Thr Pro Lys

配列番号3:

A14E、B16E、B25H、desB30ヒトインスリンA鎖:

Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile C
ys Ser Leu Glu Gln Leu Glu Asn Tyr Cys Asn

配列番号4:

A14E、B16E、B25H、desB30ヒトインスリンB鎖:

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Le
u Val Glu Ala Leu Glu Leu Val Cys Gly Glu 10
Arg Gly Phe His Tyr Thr Pro Lys

配列番号5:

GLP-1-(7-37)ペプチド

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val S
er Ser Tyr Leu Glu Gly Gln Ala Ala Lys Gl
u Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly

配列番号6:

[Gly8、Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val S
er Ser Tyr Leu Glu Gly Gln Ala Ala Lys Gl 20
u Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Gly

配列番号7:

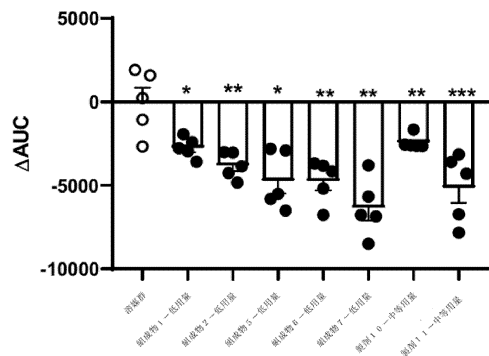
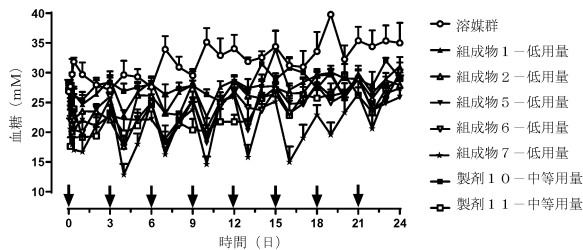
[Arg34]GLP-1-(7-37)ペプチド

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val S
er Ser Tyr Leu Glu Gly Gln Ala Ala Lys Gl
u Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Gly

【図面】

【図1a】

【図1b】

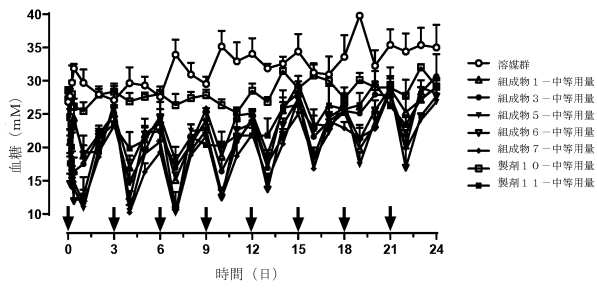


30

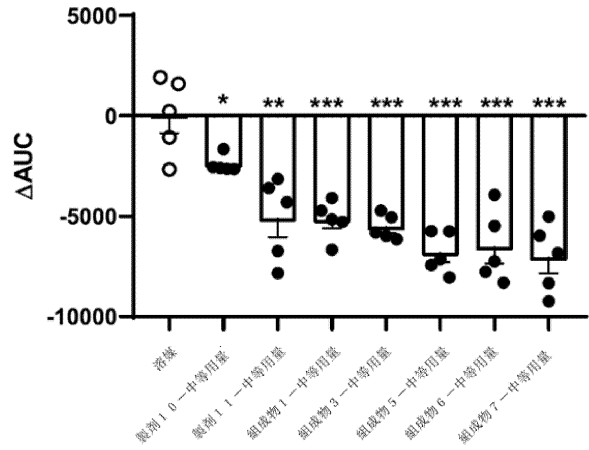
40

50

【 図 1 c 】

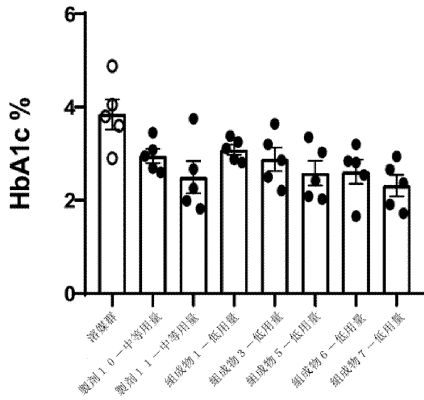


【 図 1 d 】

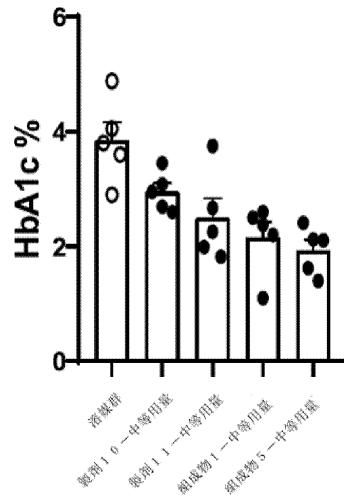


10

【 図 1 e 】



【 図 1 f 】



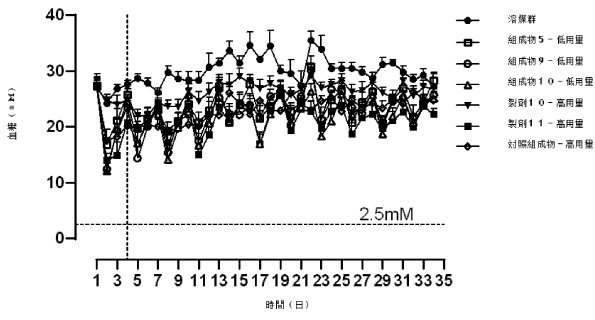
20

30

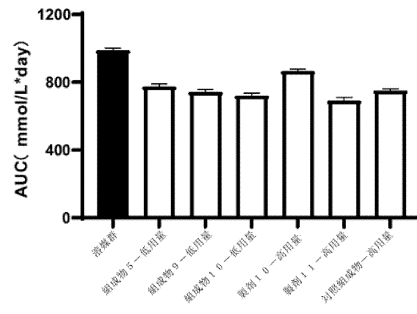
40

50

【 図 2 a 】

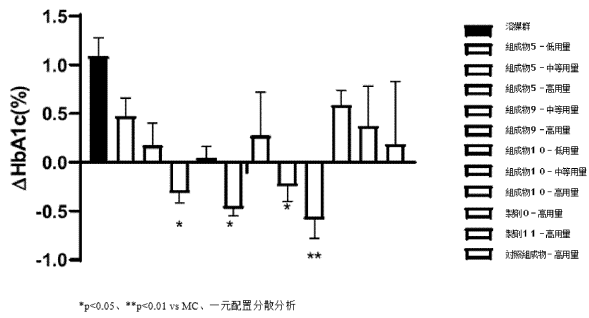


【 図 2 b 】

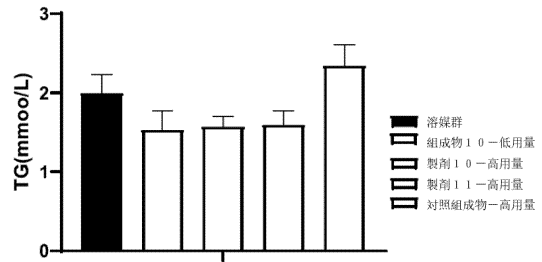


10

【 図 2 c 】



【 図 2 d 】



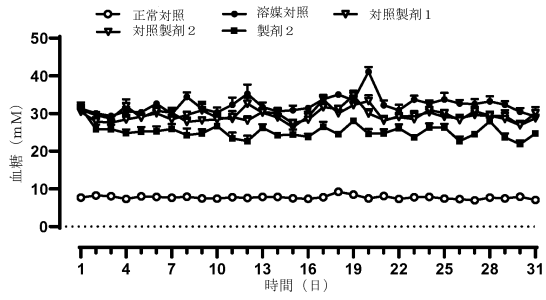
20

30

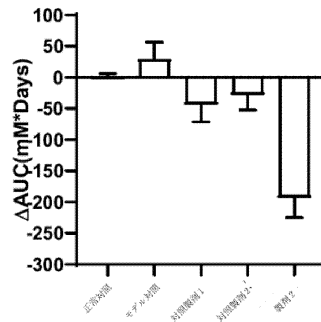
40

50

【 図 3 a 】

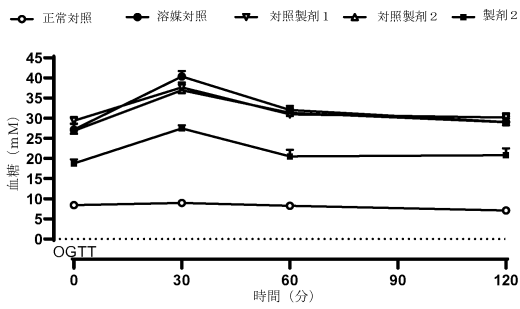


【 図 3 b 】

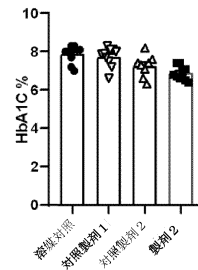


10

【 図 3 c 】



【 図 3 d 】



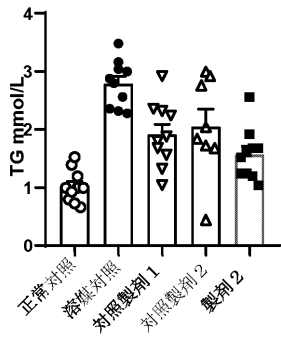
20

30

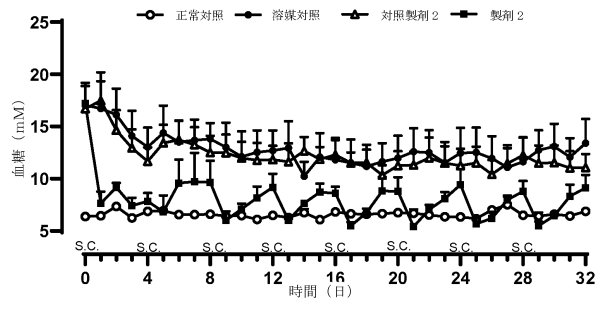
40

50

【 図 3 e 】

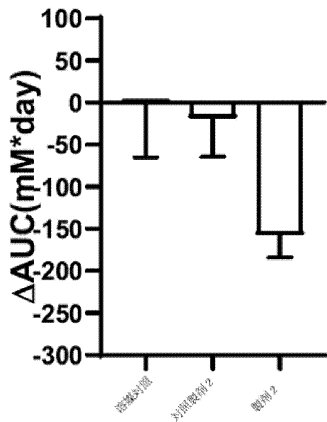


【 図 4 a 】

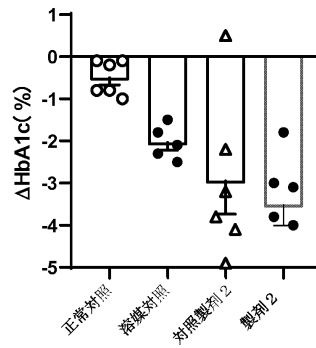


10

【 図 4 b 】



【 図 4 c 】



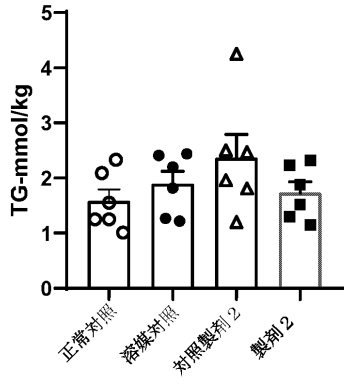
20

30

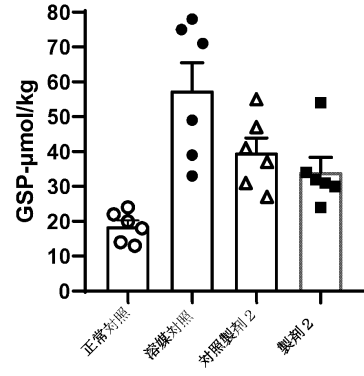
40

50

【 图 4 d 】



【 图 4 e 】



10

【 配列表 】

2024522904000001.app

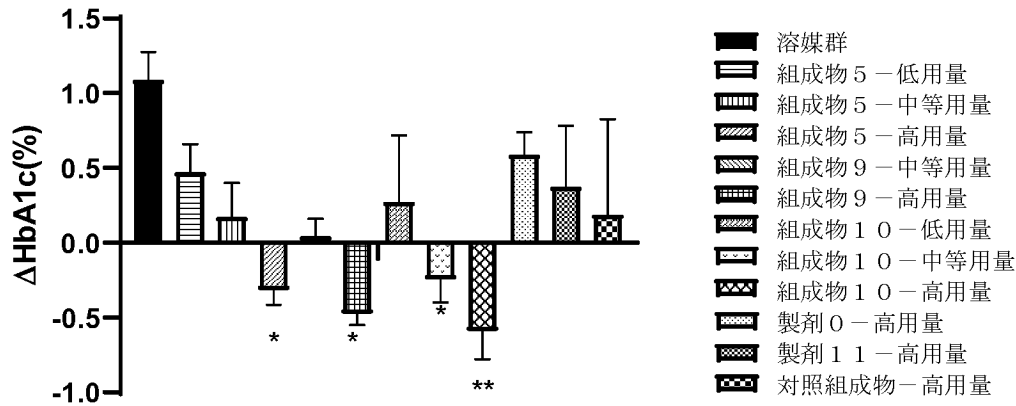
20

30

40

50

【手続補正書】
 【提出日】令和6年2月27日(2024.2.27)
 【手続補正1】
 【補正対象書類名】図面
 【補正対象項目名】図2c
 【補正方法】変更
 【補正の内容】
 【図2c】

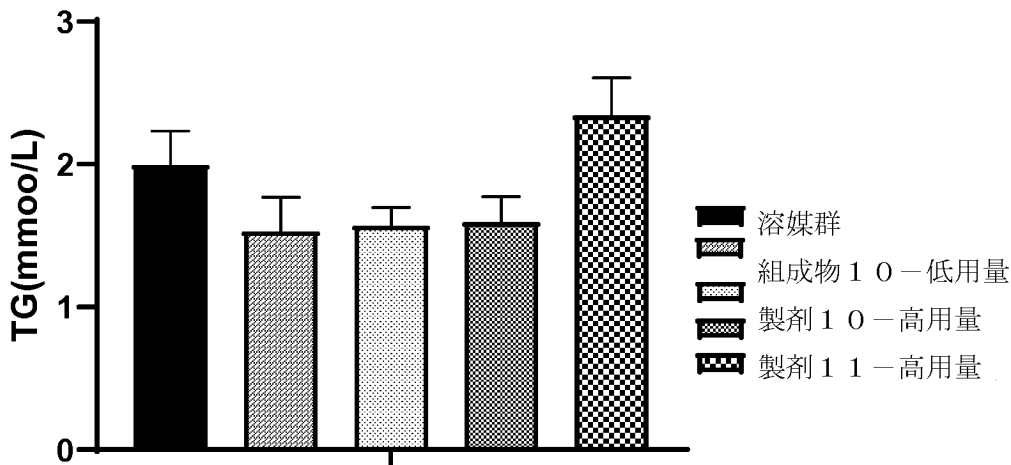


10

*p<0.05、**p<0.01 vs MC、一元配置分散分析

20

【手続補正2】
 【補正対象書類名】図面
 【補正対象項目名】図2d
 【補正方法】変更
 【補正の内容】
 【図2d】



30

40

50

【 國際調查報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN2022/101204
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07K 14/62(2006.01)i; A61K 38/28(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) TWMED; TWTXT; USTXT; DWPI; ENTXTC; KRTXT; CNTXT; WPABSC; JPTXT; CNABS; EPTXT; CNMED; WPABS; ENTXT; WOTXT; CJFD; CATXT; VEN; pubmed, genbank, elsevier science: 甘李, 甘忠如, 酰化胰岛素, 酰基胰岛素, acyl, acidyl, 胰岛素, insulin, 烷, alkyl, 乙氧基, OEG, A14E, B16H, B25H, B29K, desB30, 促胰岛素, GLP-1.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	WO 2021136293 A1 (GAN & LEE PHARMACEUTICALS) 08 July 2021 (2021-07-08) see claims 1-54, embodiment 14, compound 16, and embodiment 12, compound 12	1-23
X	CN 110087674 A (NOVO NORDISK AS) 02 August 2019 (2019-08-02) see abstract, claims 1-15, and description paragraphs 19 and 20, and embodiments 1, 3, and 6	1-23
A	CN 107412742 A (NOVO NORDISK AS) 01 December 2017 (2017-12-01) see abstract, claims 1-15, and embodiments 1-4	1-23
A	CN 103249427 A (NOVO NORDISK AS) 14 August 2013 (2013-08-14) see description, paragraphs 148 and 149	1-23
A	CN 101389650 A (NOVO NORDISK AS) 18 March 2009 (2009-03-18) see description, p. 32, paragraphs 2-5	1-23
<input 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 September 2022		Date of mailing of the international search report 28 September 2022
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 Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer Telephone No.

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

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/101204

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/CN2022/101204

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

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

- 1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely: 10

- 2. Claims Nos.: **24**
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:
 - [1] The subject matter of claim 24 is a method for treating or preventing diabetes, hyperglycemia, and/or impaired glucose tolerance, comprising administering a therapeutically effective amount of pharmaceutical composition, relating to a treatment method implemented on a living human or animal body, and belonging to the cases as defined in PCT Rule 39.1(iv) for which no search is required.

- 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). 20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/101204

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2021136293	A1	08 July 2021	WO	2021136296	A1	08 July 2021
				CA	3166494	A1	08 July 2021
				AU	2020418205	A1	04 August 2022
				AU	2020417892	A1	25 August 2022
				WO	2021136302	A1	08 July 2021
				CA	3166495	A1	08 July 2021
CN	110087674	A	02 August 2019	US	2019183979	A1	20 June 2019
				US	2022202909	A1	30 June 2022
				EP	3821905	A1	19 May 2021
				RU	2019118696	A	18 January 2021
				CL	2019001586	A1	16 August 2019
				PE	20191205	A1	10 September 2019
				BR	112019011761	A2	05 November 2019
				KR	20190097001	A	20 August 2019
				KR	20210091350	A	21 July 2021
				EP	3554534	A1	23 October 2019
				US	2020384088	A1	10 December 2020
				AU	2017378102	A1	30 May 2019
				ES	2886837	T3	21 December 2021
				MA	49116	A	25 March 2020
				JP	2020502145	A	23 January 2020
				TW	202003017	A	16 January 2020
				HU	E055231	T2	29 November 2021
				CO	2019006017	A2	31 October 2019
				MX	2019006463	A	14 August 2019
				IL	267224	A	29 August 2019
				RS	62295	B1	30 September 2021
				PH	12019501363	A1	24 February 2020
				PE	20210857	A1	18 May 2021
				PL	3554534	T3	13 December 2021
				SI	3554534	T1	30 September 2021
				HR	P20211281	T1	12 November 2021
				DK	3554534	T3	23 August 2021
				CA	3046583	A1	21 June 2018
PT	3554534	T	05 November 2021				
TW	201827071	A	01 August 2018				
JP	2020105227	A	09 July 2020				
US	2018169190	A1	21 June 2018				
WO	2018109162	A1	21 June 2018				
US	2018303908	A1	25 October 2018				
CN	107412742	A	01 December 2017	IN	3098DELNP2010	A	15 October 2010
				ZA	201003019	B	29 June 2011
				PT	2597103	T	08 February 2017
				PL	2209800	T3	31 December 2013
				NO	2017015	I1	21 April 2017
				US	2011152185	A1	23 June 2011
				ES	2612736	T3	18 May 2017
				HU	S1700016	I1	29 May 2017
				CN	101861333	A	13 October 2010
				CN	107115523	A	01 September 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/CN2022/101204

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
				CA	2705821	A1	22 May 2009
				MX	2010005245	A	01 June 2010
				JP	2011503152	A	27 January 2011
				DK	2597103	T3	13 February 2017
				PL	2597103	T3	28 April 2017
				EP	2597103	A1	29 May 2013
				JP	2012229214	A	22 November 2012
				WO	2009063072	A2	22 May 2009
				BR	PI0820535	A2	21 June 2016
				ES	2430042	T3	18 November 2013
				HU	E030383	T2	29 May 2017
				EP	2209800	A2	28 July 2010
CN	103249427	A	14 August 2013	US	2013331320	A1	12 December 2013
				EP	2651432	A1	23 October 2013
				WO	2012080320	A1	21 June 2012
				JP	2013545782	A	26 December 2013
CN	101389650	A	18 March 2009	PT	1969004	E	25 November 2011
				IN	4923DELNP2008	A	15 August 2008
				US	2009074882	A1	19 March 2009
				JP	2011121963	A	23 June 2011
				EP	2505593	A1	03 October 2012
				ES	2371361	T3	30 December 2011
				AT	519780	T	15 August 2011
				EP	1969004	A2	17 September 2008
				DK	1969004	T3	28 November 2011
				PL	1969004	T3	31 January 2012
				US	2014328943	A1	06 November 2014
				JP	2011006428	A	13 January 2011
				WO	2007074133	A2	05 July 2007
				JP	2009522231	A	11 June 2009

10

20

30

40

50

国际检索报告		国际申请号 PCT/CN2022/101204
A. 主题的分类 C07K 14/62(2006.01)i; A61K 38/28(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)) TWMED; TWXT; USTXT; DWPI; ENTXT; KRTXT; CNTXT; WPABSC; JPTXT; CNABS; EPTXT; CNMED; WPABS; ENTXT; WOTXT; CJFD; CATXT; VEN; pubmed; genbank; elsevier science:甘李, 甘忠如, 酰化胰岛素, 酰基胰岛素, acyl, acylyl, 胰岛素, insulin, 烷, alkyl, 乙氧基, OEG, A14E, B16H, B25H, B29K, desB30, 促胰岛素, GLP-1.		
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
PX	WO 2021136293 A1 (GAN & LEE PHARMACEUTICALS) 2021年7月8日 (2021 - 07 - 08) 参见权利要求1-54, 实施例14的化合物16以及实施例12的化合物12	1-23
X	CN 110087674 A (诺和诺德股份有限公司) 2019年8月2日 (2019 - 08 - 02) 参见摘要, 权利要求1-15, 说明书第19、20段, 实施例1, 3, 6	1-23
A	CN 107412742 A (诺沃-诺迪斯克有限公司) 2017年12月1日 (2017 - 12 - 01) 参见摘要, 权利要求1-15, 实施例1-4	1-23
A	CN 103249427 A (诺沃-诺迪斯克有限公司) 2013年8月14日 (2013 - 08 - 14) 参见说明书第148和149段	1-23
A	CN 101389650 A (诺沃-诺迪斯克有限公司) 2009年3月18日 (2009 - 03 - 18) 参见说明书第32页第2-5段	1-23
<input 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 2022年9月12日		国际检索报告邮寄日期 2022年9月28日
ISA/CN的名称和邮寄地址 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 传真号 (86-10)62019451		受权官员 杜娟 电话号码 01062411561

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/CN2022/101204

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

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/101204

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. 权利要求:
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题, 即: 10

- 2. 权利要求: 24
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:
[1] 权利要求24的主题为治疗或预防糖尿病、高血糖症、和/或葡萄糖耐量削弱的方法, 包括施用治疗有效量的药物组合物, 是对有生命的人体或动物体实施的治疗方法, 属于PCT实施细则第3.1(iv)规定的无须检索的情况。

- 3. 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

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2022/101204

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)
WO	2021136293	A1	2021年7月8日	WO	2021136296	A1	2021年7月8日
				CA	3166494	A1	2021年7月8日
				AU	2020418205	A1	2022年8月4日
				AU	2020417892	A1	2022年8月25日
				WO	2021136302	A1	2021年7月8日
				CA	3166495	A1	2021年7月8日
CN	110087674	A	2019年8月2日	US	2019183979	A1	2019年6月20日
				US	2022202909	A1	2022年6月30日
				EP	3821905	A1	2021年5月19日
				RU	2019118696	A	2021年1月18日
				CL	2019001586	A1	2019年8月16日
				PE	20191205	A1	2019年9月10日
				BR	112019011761	A2	2019年11月5日
				KR	20190097001	A	2019年8月20日
				KR	20210091350	A	2021年7月21日
				EP	3554534	A1	2019年10月23日
				US	2020384088	A1	2020年12月10日
				AU	2017378102	A1	2019年5月30日
				ES	2886837	T3	2021年12月21日
				MA	49116	A	2020年3月25日
				JP	2020502145	A	2020年1月23日
				TW	202003017	A	2020年1月16日
				HU	E055231	T2	2021年11月29日
				CO	2019006017	A2	2019年10月31日
				MX	2019006463	A	2019年8月14日
				IL	267224	A	2019年8月29日
				RS	62295	B1	2021年9月30日
				PH	12019501363	A1	2020年2月24日
				PE	20210857	A1	2021年5月18日
				PL	3554534	T3	2021年12月13日
				SI	3554534	T1	2021年9月30日
				HR	P20211281	T1	2021年11月12日
				DK	3554534	T3	2021年8月23日
CA	3046583	A1	2018年6月21日				
PT	3554534	T	2021年11月5日				
TW	201827071	A	2018年8月1日				
JP	2020105227	A	2020年7月9日				
US	2018169190	A1	2018年6月21日				
WO	2018109162	A1	2018年6月21日				
US	2018303908	A1	2018年10月25日				
CN	107412742	A	2017年12月1日	IN	3098DELNP2010	A	2010年10月15日
				ZA	201003019	B	2011年6月29日
				PT	2597103	T	2017年2月8日
				PL	2209800	T3	2013年12月31日
				NO	2017015	I1	2017年4月21日
				US	2011152185	A1	2011年6月23日
				ES	2612736	T3	2017年5月18日
				HU	S1700016	I1	2017年5月29日
				CN	101861333	A	2010年10月13日
				CN	107115523	A	2017年9月1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/CN2022/101204

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)	
				CA	2705821	A1	2009年5月22日		
				MX	2010005245	A	2010年6月1日		
				JP	2011503152	A	2011年1月27日		
				DK	2597103	T3	2017年2月13日		10
				PL	2597103	T3	2017年4月28日		
				EP	2597103	A1	2013年5月29日		
				JP	2012229214	A	2012年11月22日		
				WO	2009063072	A2	2009年5月22日		
				BR	PI0820535	A2	2016年6月21日		
				ES	2430042	T3	2013年11月18日		
				HU	E030383	T2	2017年5月29日		
				EP	2209800	A2	2010年7月28日		
CN	103249427	A	2013年8月14日	US	2013331320	A1	2013年12月12日		
				EP	2651432	A1	2013年10月23日		
				WO	2012080320	A1	2012年6月21日		
				JP	2013545782	A	2013年12月26日		20
CN	101389650	A	2009年3月18日	PT	1969004	E	2011年11月25日		
				IN	4923DELNP2008	A	2008年8月15日		
				US	2009074882	A1	2009年3月19日		
				JP	2011121963	A	2011年6月23日		
				EP	2505593	A1	2012年10月3日		
				ES	2371361	T3	2011年12月30日		
				AT	519780	T	2011年8月15日		
				EP	1969004	A2	2008年9月17日		
				DK	1969004	T3	2011年11月28日		
				PL	1969004	T3	2012年1月31日		
				US	2014328943	A1	2014年11月6日		
				JP	2011006428	A	2011年1月13日		
				WO	2007074133	A2	2007年7月5日		30
				JP	2009522231	A	2009年6月11日		

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2015年1月)

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P 3/10 (2006.01) A 6 1 P 3/10
 A 6 1 K 45/00 (2006.01) A 6 1 K 45/00
 A 6 1 P 43/00 (2006.01) A 6 1 P 43/00 1 2 1

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
 E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
 CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,J
 O,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,M
 Z,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,ZW

h i n a

(74)代理人

110002952

弁理士法人鷺田国際特許事務所

(72)発明者

ガン ジョンル

中華人民共和国 ベイジン トンジョウ ディストリクト フオシアン ナンフェン ウエスト ファー
 スト ストリート ナンバー 8 アイピー デパートメント ニュウ ジャンホン

(72)発明者

チェン ウェイ

中華人民共和国 ベイジン トンジョウ ディストリクト フオシアン ナンフェン ウエスト ファー
 スト ストリート ナンバー 8 アイピー デパートメント ニュウ ジャンホン

(72)発明者

ジャン インイン

中華人民共和国 ベイジン トンジョウ ディストリクト フオシアン ナンフェン ウエスト ファー
 スト ストリート ナンバー 8 アイピー デパートメント ニュウ ジャンホン

(72)発明者

ピ ジュアンジュアン

中華人民共和国 ベイジン トンジョウ ディストリクト フオシアン ナンフェン ウエスト ファー
 スト ストリート ナンバー 8 アイピー デパートメント ニュウ ジャンホン

(72)発明者

ジャン マン

中華人民共和国 ベイジン トンジョウ ディストリクト フオシアン ナンフェン ウエスト ファー
 スト ストリート ナンバー 8 アイピー デパートメント ニュウ ジャンホン

(72)発明者

シュエ ファンカイ

中華人民共和国 ベイジン トンジョウ ディストリクト フオシアン ナンフェン ウエスト ファー
 スト ストリート ナンバー 8 アイピー デパートメント ニュウ ジャンホン

(72)発明者

ワン ザイユ

中華人民共和国 ベイジン トンジョウ ディストリクト フオシアン ナンフェン ウエスト ファー
 スト ストリート ナンバー 8 アイピー デパートメント ニュウ ジャンホン

(72)発明者

ニュウ ジャンホン

中華人民共和国 ベイジン トンジョウ ディストリクト フオシアン ナンフェン ウエスト ファー
 スト ストリート ナンバー 8 アイピー デパートメント ニュウ ジャンホン

F ターム (参考)

4C076 AA12 BB11 CC30 DD23 DD26 DD37 DD38 FF11 FF31
 4C084 AA03 AA19 BA01 DB34 MA02 MA17 MA66 NA05 NA12 ZC35
 4H045 AA10 AA20 AA30 BA17 BA18 EA23 FA10 GA23