

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6599863号
(P6599863)

(45) 発行日 令和1年10月30日 (2019. 10. 30)

(24) 登録日 令和1年10月11日 (2019. 10. 11)

(51) Int. Cl.	F I
C O 7 K 14/605 (2006. 01)	C O 7 K 14/605 Z N A
A 6 1 K 38/26 (2006. 01)	A 6 1 K 38/26
A 6 1 P 3/10 (2006. 01)	A 6 1 P 3/10
A 6 1 P 43/00 (2006. 01)	A 6 1 P 43/00 1 O 5
A 6 1 P 25/28 (2006. 01)	A 6 1 P 25/28

請求項の数 11 (全 129 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-533923 (P2016-533923)	(73) 特許権者	509091848
(86) (22) 出願日	平成26年8月14日 (2014. 8. 14)		ノヴォ ノルディスク アー/エス
(65) 公表番号	特表2016-529253 (P2016-529253A)		デンマーク、ハウスヴェア ディーケー
(43) 公表日	平成28年9月23日 (2016. 9. 23)		2880、ノヴォ アレー
(86) 国際出願番号	PCT/EP2014/067413	(74) 代理人	100108453
(87) 国際公開番号	W02015/022400		弁理士 村山 靖彦
(87) 国際公開日	平成27年2月19日 (2015. 2. 19)	(74) 代理人	100110364
審査請求日	平成29年7月3日 (2017. 7. 3)		弁理士 実広 信哉
(31) 優先権主張番号	13180558. 2	(74) 代理人	100133400
(32) 優先日	平成25年8月15日 (2013. 8. 15)		弁理士 阿部 達彦
(33) 優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁 (EP)	(72) 発明者	ピア・サウアベア
(31) 優先権主張番号	61/866, 169		デンマーク・DK-2880・ハウスヴェ
(32) 優先日	平成25年8月15日 (2013. 8. 15)		ア・ノヴォ・アレ・ (番地なし)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 GLP-1 誘導体及びその使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

GLP-1ペプチドの誘導体であって、

GLP-1ペプチドは、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置(18、22、30)、(18、26、37)、(18、27、37)、(26、30、37)、又は(27、30、37)に対応する位置に第1、第2、及び第3のK残基を含み、GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、最大で7のアミノ酸変化を有するペプチドであり、以下の一般式Iを有し、

式I:

$$\text{Xaa}_7\text{-Xaa}_8\text{-Glu-Gly-Thr-Xaa}_{12}\text{-Thr-Ser-Asp-Xaa}_{16}\text{-Ser-Xaa}_{18}\text{-Xaa}_{19}\text{-Xaa}_{20}\text{-Glu-Xaa}_{22}\text{-Xaa}_{23}\text{-Ala-Xaa}_{25}\text{-Xaa}_{26}\text{-Xaa}_{27}\text{-Phe-Ile-Xaa}_{30}\text{-Xaa}_{31}\text{-Leu-Xaa}_{33}\text{-Xaa}_{34}\text{-Xaa}_{35}\text{-Xaa}_{36}\text{-Xaa}_{37}$$

10

[式中、Xaa₇はL-ヒスチジンであり；Xaa₈はAibであり；Xaa₁₂はPheであり；Xaa₁₆はValであり；Xaa₁₈は、Ser又はLysであり；Xaa₁₉はTyrであり；Xaa₂₀はLeuであり；Xaa₂₂は、Gly、Lys、又はGluであり；Xaa₂₃はGlnであり；Xaa₂₅はAlaであり；Xaa₂₆は、Arg又はLysであり；Xaa₂₇は、Glu又はLysであり；Xaa₃₀は、Ala又はLysであり；Xaa₃₁はTrpであり；Xaa₃₃はValであり；Xaa₃₄はArgであり；Xaa₃₅はGlyであり；Xaa₃₆はArgであり；Xaa₃₇は、Gly又はLysである]誘導体は、

式Chem.1、Chem.1a、及び式Chem.2:

Chem.1: HOOC-(CH₂)₁₆-CO-*Chem.1a: HOOC-(CH₂)₁₈-CO-*、及び

20

Chem.2: $\text{HO}_3\text{S}-(\text{CH}_2)_{15}-\text{CO}-^*$

から選択される第1、第2、及び第3の延長部分と、

それぞれが*-CO基及び*-NH基を含む、第1、第2、及び第3のリンカーとを含み、

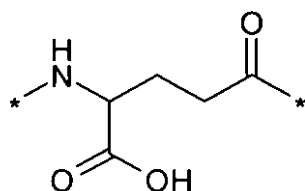
各延長部分が、その*-CO末端において、それぞれのリンカーの*-NH末端に結合しており、各リンカーが、その*-CO末端において、GLP-1ペプチドのそれぞれのK残基の アミノ基に結合しており、

前記リンカーが、以下の式Chem.3、Chem.4、Chem.5、Chem.6、Chem.7、Chem.8、及びChem.9:

Chem.3:

10

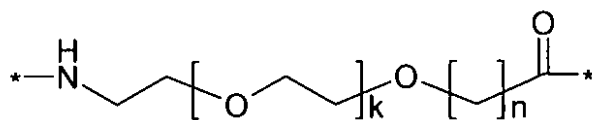
【化1】



Chem.4:

20

【化2】

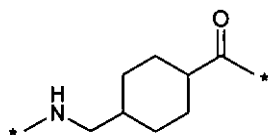


[式中、kは、1～5の範囲の整数であり、nは、1～5の範囲の整数である];

Chem.5:

30

【化3】



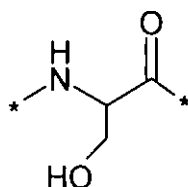
Chem.6: $^*-\text{NH}-(\text{CH}_2)_q-\text{CH}[(\text{CH}_2)_w-\text{NH}_2]-\text{CO}-^*$

[式中、qは、0～5の範囲の整数であり、wは、0～5の範囲の整数であり、ただし、wが0の場合、qは1～5の範囲の整数であり、qが0の場合、wは1～5の範囲の整数である];

40

Chem.7:

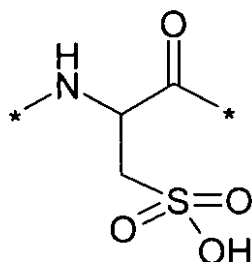
【化4】



50

Chem. 8:

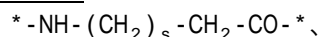
【化 5】



10

及び

Chem. 9:



[式中、sは、2～4の範囲の整数である]

から選択される少なくとも3つのリンカー要素を含み、かつ、Chem.4およびChem.7から選択される少なくとも1つのリンカー要素を含む、誘導体、又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 2】

20

第1、第2、及び第3の延長部分のそれぞれが、式Chem.1の延長部分である、請求項1に記載の誘導体。

【請求項 3】

第1、第2、及び第3の延長部分のそれぞれが、式Chem.1aの延長部分である、請求項1に記載の誘導体。

【請求項 4】

第1、第2、及び第3の延長部分のそれぞれが式Chem.2の延長部分である、請求項1に記載の誘導体。

【請求項 5】

GLP-1ペプチドが、i)(8Aib、18K、22K、26R、30K、34R);ii)(8Aib、18K、34R、37K);iii)(8Aib、18K、22E、26R、27K、34R、37K);iv)(8Aib、18K、26R、27K、34R、37K);v)(8Aib、22E、26R、27K、30K、34R、37K);vi)(8Aib、22E、30K、34R、37K);vii)(18K、22K、30K);viii)(18K、37K);ix)(18K、27K、37K);x)(27K、30K、37K);又はxi)(30K、37K)を含み、前記iii)(18K、37K)及びxi)(30K、37K)において、GLP-1(7～37)(配列番号1)の位置26に対応する位置のアミノ酸がKである、請求項1～4のいずれか一項に記載の誘導体。

30

【請求項 6】

GLP-1ペプチドが、以下のGLP-1(7～37)(配列番号1)の類似体:i)(8Aib、18K、22K、26R、30K、34R)(配列番号2);ii)(8Aib、18K、34R、37K)(配列番号3);iii)(8Aib、18K、22E、26R、27K、34R、37K)(配列番号4);iv)(8Aib、18K、26R、27K、34R、37K)(配列番号5);v)(8Aib、22E、26R、27K、30K、34R、37K)(配列番号6);及びvi)(8Aib、22E、30K、34R、37K)(配列番号7)から選択される、請求項1～5のいずれか一項に記載の誘導体。

40

【請求項 7】

Chem.21

【化 6】



30

[illegible]

Chem.23

[illegible]

N{イプシロン-18}-[(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[

10

【化 9】



30

40

50

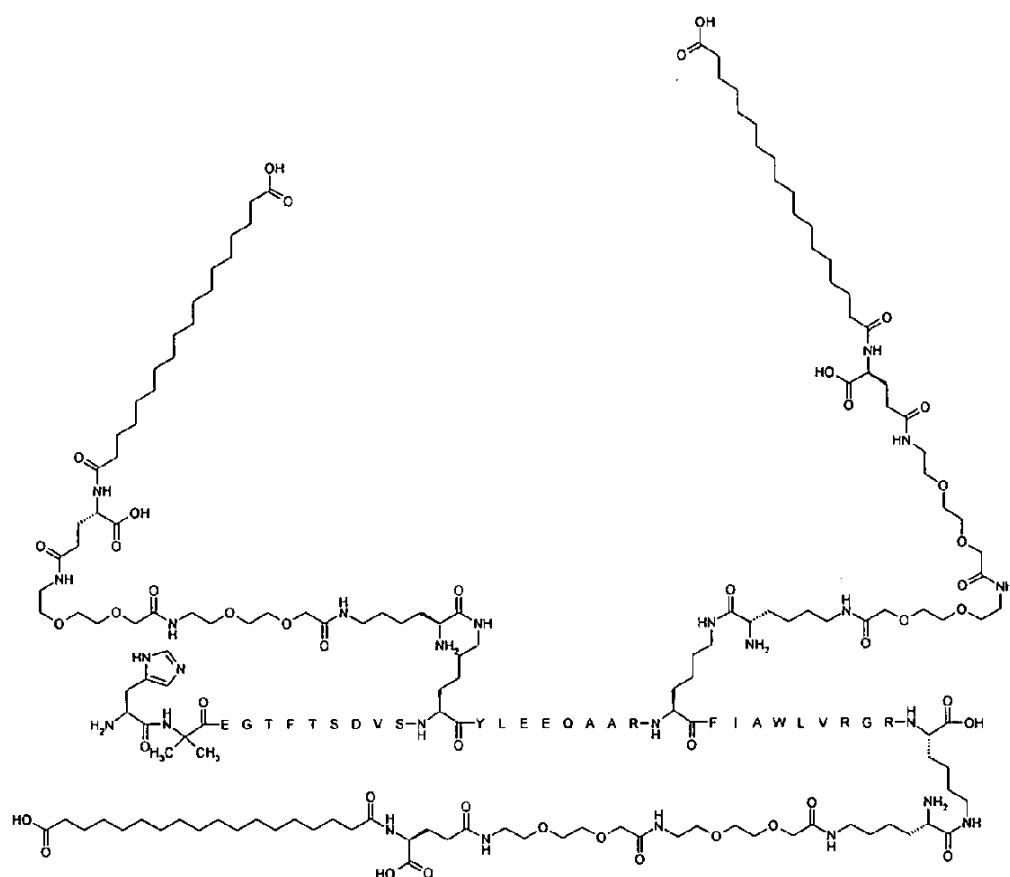
【化 1 0】



30

Chem. 26

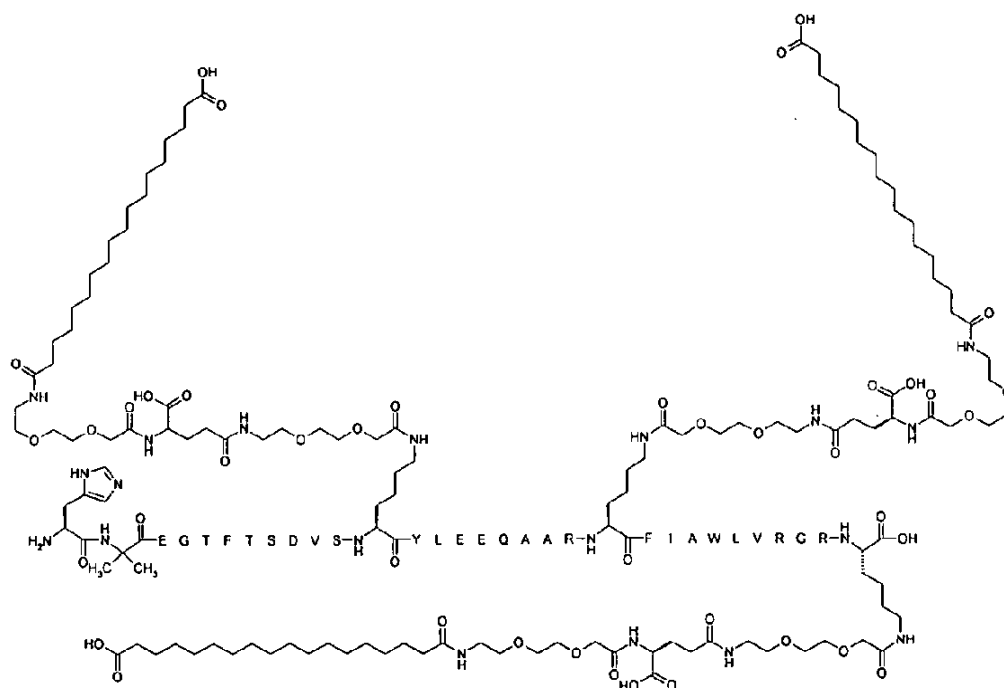
【化 1 1】



N{イブシロン-18}-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S]-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)プタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル],N{イブシロン-27}-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S]-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)プタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル],N{イブシロン-37}-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S]-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)プタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib8,Lys18,Glu22,Arg26,Lys27,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチド;

Chem. 27

【化 1 2】



10

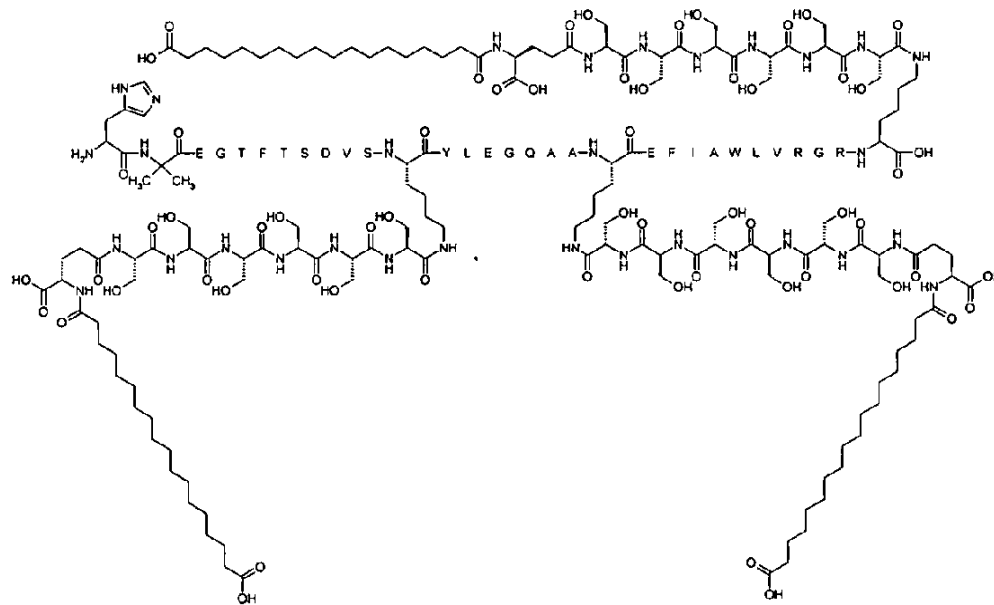
20

N{イブシロン-18}-[2-[2-[2-[4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル], N{イブシロン-27}-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル], N{イブシロン-37}-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib8, Lys18, Glu22, Arg26, Lys27, Arg34, Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチド;

30

Chem. 28

【化 1 3】



10

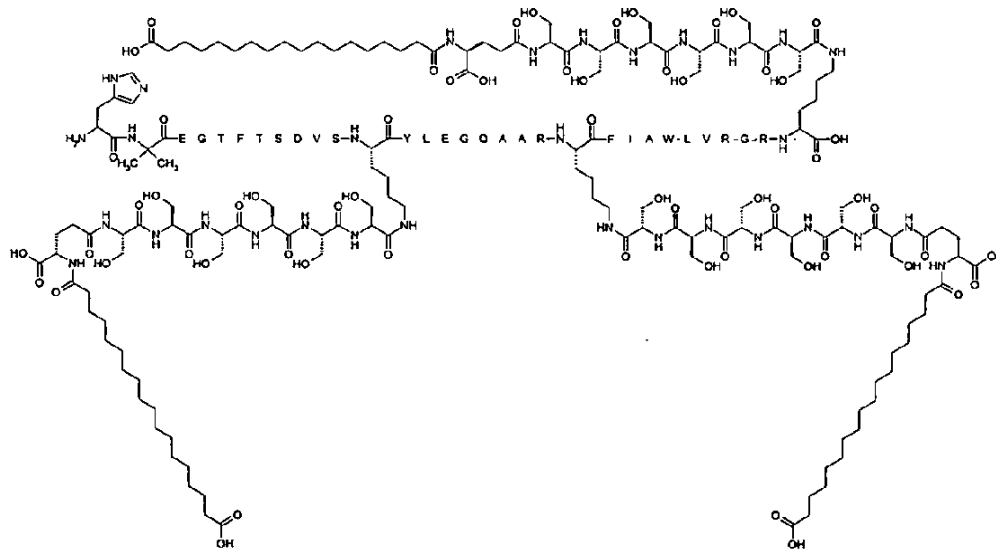
N{イブシロン-18}-[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-
 カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシ
 シプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル
]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-ヒ
 ドロキシシプロパノイル],N{イブシロン-26}-[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-
 2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイ
 ル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-
 ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロ
 パノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル],N{イブシロン-37}-[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(
 2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカ
 ノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシ
 プロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]ア
 ミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]-[Aib8,Lys18,Arg
 34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチド;

20

30

Chem. 29

【化 1 4】



10

N{イブシロン-18}-[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-
 カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシ
 シプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル
]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-ヒ
 ドロキシシプロパノイル],N{イブシロン-27}-[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-
 2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイ
 ル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-
 ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロ
 パノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル],N{イブシロン-37}-[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(
 2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカ
 ノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシ
 プロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]ア
 ミノ]-3-ヒドロキシシプロパノイル]-[Aib8,Lys18,Arg
 26,Lys27,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチド;

20

30

Chem. 30

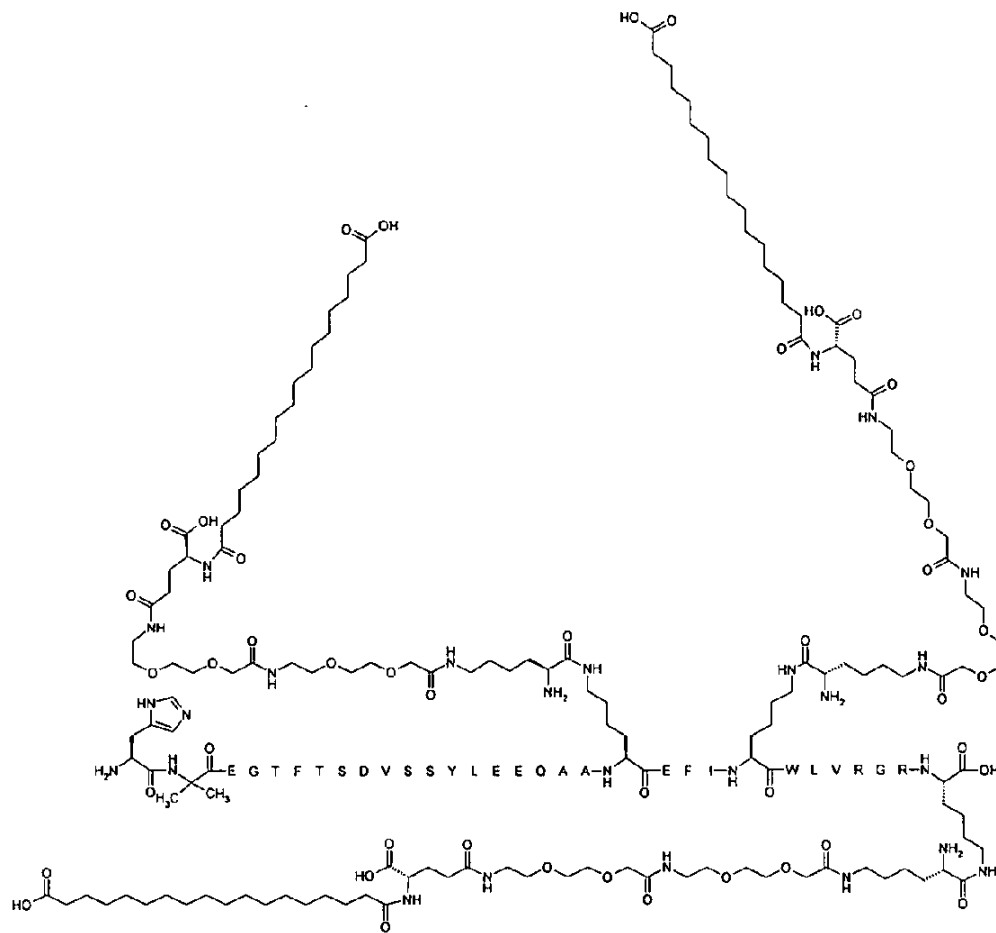
N{イブシロン-27}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル], N{イブシロン-30}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル], N{イブシロン-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib8, Glu22, Arg26, Lys27, Lys30, Arg34, Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチド;

Chem. 31

20

30

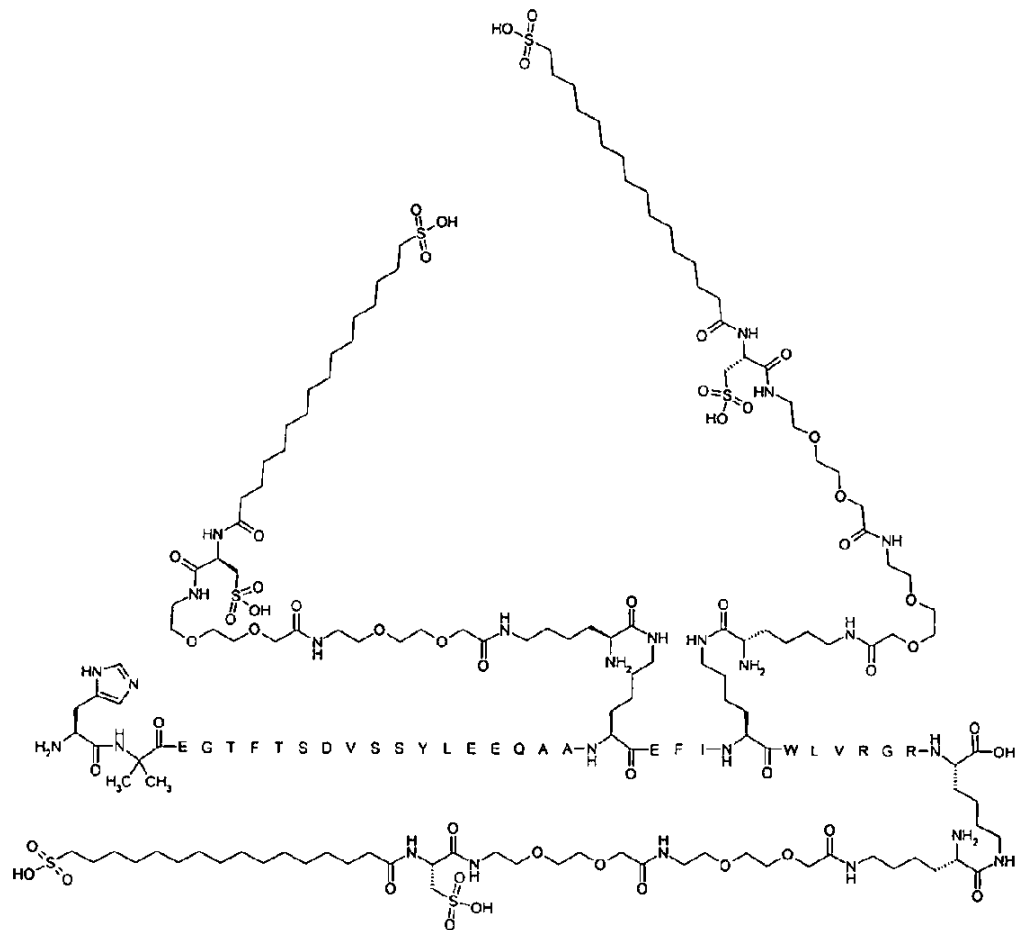
【化 16】



N{イブシロン-26}-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル],N{イブシロン-30}-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル],N{イブシロン-37}-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib8,Glu22,Lys30,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチド;

Chem. 32

【化 17】



N{イブシロン-26}-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2R)-3-スルホ-2-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)プロパノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル], N{イブシロン-30}-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2R)-3-スルホ-2-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)プロパノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル], N{イブシロン-37}-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2R)-3-スルホ-2-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)プロパノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib8, Glu22, Lys30, Arg34, Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチド;

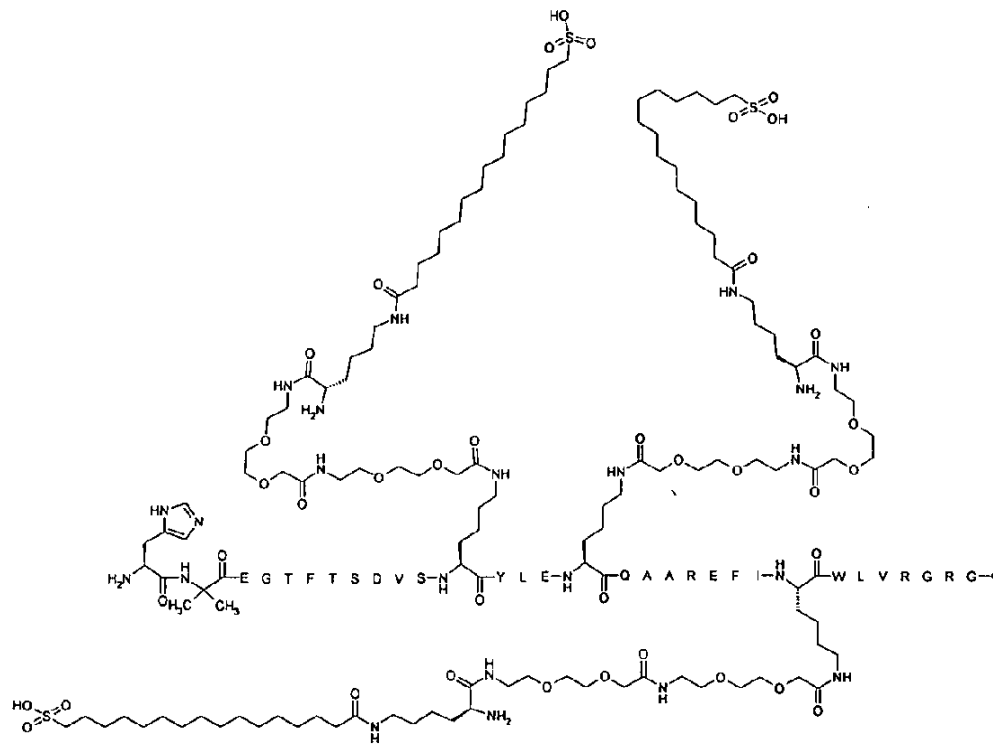
Chem. 33

10

20

30

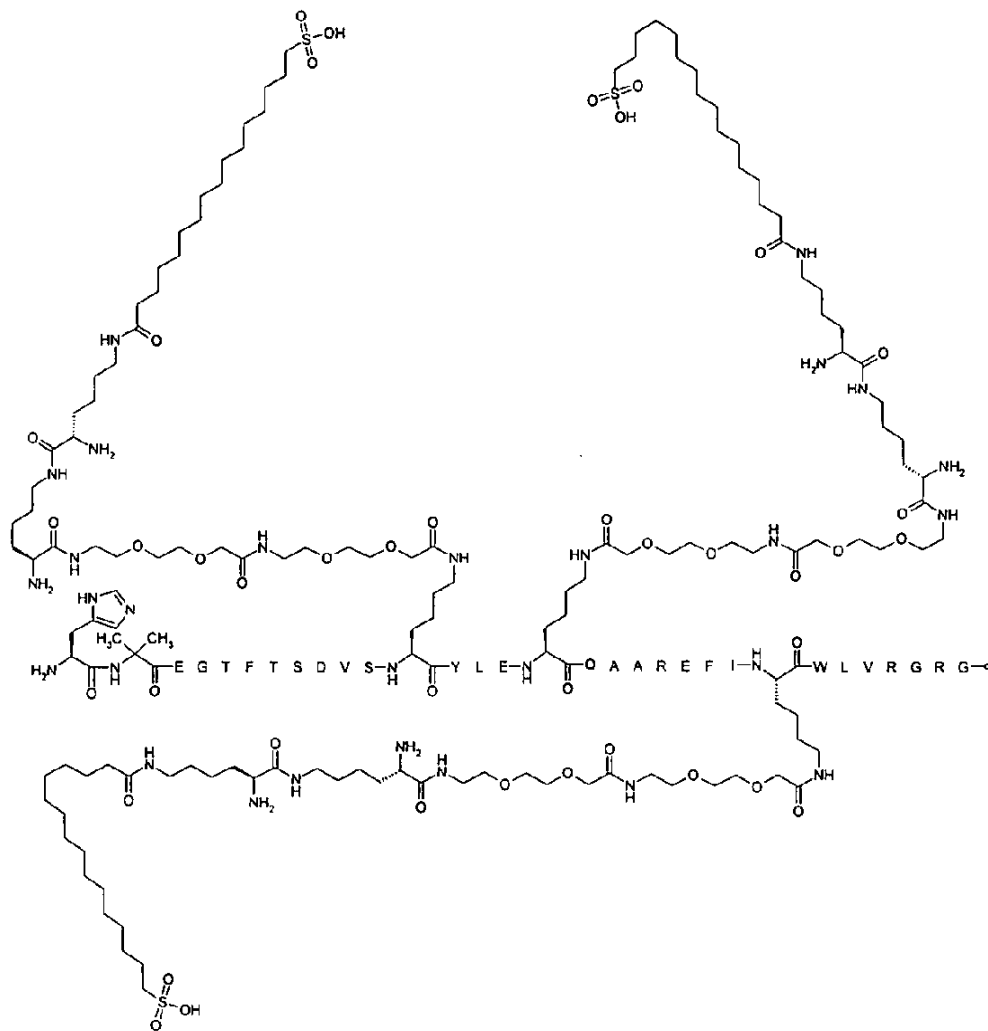
【化 18】



N{イブシロン-18}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2S]-2-アミノ-6-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル], N{イブシロン-22}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2S]-2-アミノ-6-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル], N{イブシロン-30}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2S]-2-アミノ-6-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib8, Lys18, Lys22, Arg26, Lys30, Arg34]-GLP-1-(7-37)-ペプチド;

Chem. 34

【化 19】



N{イブシロン-18}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-アミノ-6-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル],N{イブシロン-22}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-アミノ-6-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル],N{イブシロン-30}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-アミノ-6-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib8,Lys18,Lys22,Arg26,Lys30,Arg34]-GLP-1-(7-37)-ペプチド;

Chem. 35

10

20

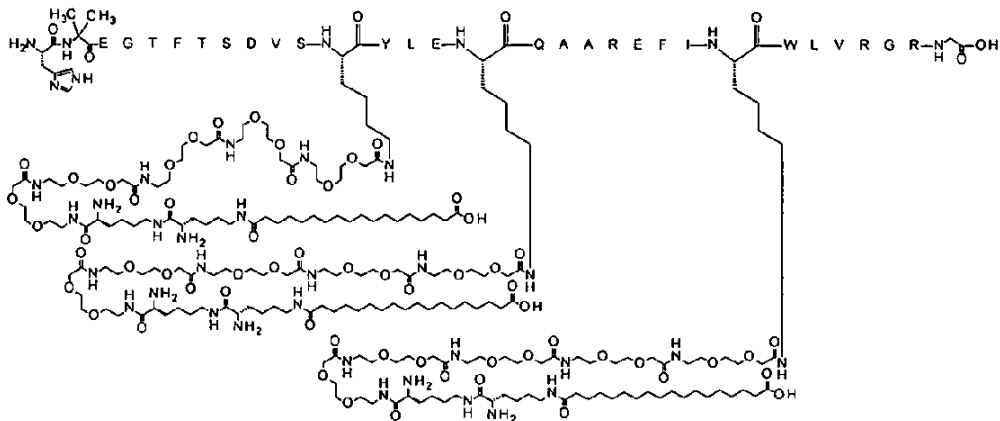
30

40

The chemical structure of the 120 kDa subunit of the 20S proteasome is shown. It features a long polypeptide chain with several modifications. At the N-terminus, there is a cyclic peptide structure. The main chain includes a large cyclic peptide attached to the side chain of a lysine residue. The structure is highly branched and complex, with various functional groups and modifications indicated.

30

【化 2 1】



50

10

【化 2 2】



50

【化 2 3】



40

Chem. 39

【化 2 4】



20

30

Chem. 40

【化 2 5】



20

30

Chem. 41

[illegible]

から選択されるGLP-1誘導体、又はその薬学的に許容される塩。

請求項1～7のいずれか一項に記載の誘導体と、薬学的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物。

医薬として使用するための、請求項1～7のいずれか一項に記載の誘導体。

- (i) 全ての形態の糖尿病の予防及び/若しくは処置、並びに/又はHbA1Cの軽減;
- (ii) 糖尿病疾患の進行の遅延若しくは予防;
- (iii) β -細胞機能の向上;
- (iv) 認知障害及び/又は神経変性障害の予防及び/又は処置;

(v) 食物摂取量を減らすこと、体重を減らすこと、食欲を抑制すること、及び/又は満腹感を誘起することによる摂食障害の予防及び/若しくは処置;並びに/又は肥満に対する併存症の予防及び/若しくは処置;

(vi) 糖尿病性合併症の予防及び/又は処置;
 (vii) 脂質パラメータの改善;
 (viii) 心臓血管疾患及び/又は血圧の低下の予防及び/若しくは処置;
 (ix) 胃腸疾患及び/又は炎症の予防及び/若しくは処置;
 (x) 重症疾患ポリ腎症(CIPNP)患者、及び/若しくは潜在的CIPNP患者の処置; CIPNPの発症の予防; 患者における全身性炎症応答症候群(SIRS)の予防、処置、及び/若しくは治療; 入院中の菌血症、敗血症、及び/若しくは敗血症性ショックの可能性の予防若しくは軽減; 並びに/又は血糖、インスリンバランス、及び任意選択で集中治療室の急性疾患患者における代謝の安定化から選択される、重症疾患の予防及び/若しくは処置;

(xi) 多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の予防及び/又は処置;
 (xii) 脳疾患の予防及び/又は処置;
 (xiii) 睡眠時無呼吸の予防及び/又は処置;並びに/或いは
 (xiv) アルコール乱用及び/又は薬物乱用の予防及び/又は処置
 に使用される、請求項1~7のいずれか一項に記載の誘導体。

【請求項11】

(i) 前記全ての形態の糖尿病が、高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、インスリン非依存性糖尿病、MODY(若年発症成人型糖尿病)、及び妊娠糖尿病から選択され;
 (ii) 前記糖尿病疾患の進行の遅延若しくは予防が、2型糖尿病の進行の遅延若しくは予防、耐糖能障害(IGT)からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延、インスリン耐性の遅延若しくは予防、及びインスリン非要求性2型糖尿病からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延から選択され;

(iii) 前記 -細胞機能の向上が、 -細胞アポトーシスの減少、 -細胞量の増加、及び -細胞に対するグルコース感受性の回復から選択され;

(iv) 前記認知障害及び/又は神経変性障害が、アルツハイマー病、パーキンソン病、及び多発性硬化症から選択され;

(v) 前記摂食障害が、肥満、むちゃ食い障害、神経性大食症、及び/若しくは抗精神病薬若しくはステロイドの投与によって誘発された肥満;胃運動性の減少;胃排出の遅延から選択され、並びに/又は前記肥満に対する併存症が骨関節炎及び尿失禁から選択され;

(vi) 前記糖尿病性合併症が、血管障害;末梢神経障害を含む神経障害;腎障害;及び網膜障害から選択され;

(vii) 前記脂質パラメータの改善が、異脂肪血症の予防及び/又は処置、総血清脂質の低下;HDLの増加;小粒子高密度LDLの低下;VLDLの低下;トリグリセリドの低下;コレステロールの低下;ヒトにおけるリポタンパク質a(Lp(a))の血漿レベルの低下;及びインビトロ及び/又はインビボでのアポリポタンパク質a(apo(a))の発生の阻害から選択され;

(viii) 前記心臓血管疾患が、X症候群、アテローム性動脈硬化症、心筋梗塞、冠状動脈心疾患、再灌流損傷、卒中、脳虚血、早期心臓疾患若しくは早期心臓血管疾患、左室肥大、冠状動脈疾患、高血圧、本態性高血圧症、急性高血圧性緊急症、心筋障害、心不全、運動不耐性、急性及び/若しくは慢性心不全、不整脈、心律動異常、失神、狭心症、心臓バイパス及び/若しくはステント再閉塞、間欠性跛行(閉塞性動脈硬化症)、拡張機能障害、及び収縮機能障害から選択され、並びに/又は前記血圧の低下が収縮期血圧の低下であり;

(ix) 前記胃腸疾患が、炎症性腸疾患、短小腸症候群、若しくはクローン病若しくは大腸炎;消化不良、及び胃潰瘍から選択され、前記炎症が、乾癬、乾癬性関節炎、リウマチ性関節炎、及び全身性エリテマトーデスから選択され;並びに/又は

(xii) 前記脳疾患が、脳虚血、脳出血、及び脳外傷から選択される、
 請求項10に記載の誘導体。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、トリアシル化GLP-1誘導体に関する。誘導体は、ある特定のカルボン酸及び

10

20

30

40

50

スルホン酸から選択される第1、第2、及び第3の延長部分を含む。アシル化は、天然のヒトグルカゴン様ペプチド1(GLP-1(7~37)(配列番号1))の位置(18、22、30)、(18、26、37)、(18、27、37)、(26、30、37)、又は(27、30、37)に対応する位置においてであり得る。各延長部分は、リンカーを介してペプチドに結合し得る。本発明は、これらの誘導体の薬学的使用にも関する。

【0002】

配列表の参照による組込み

「配列表」と題される配列表は、3109バイトであり、2014年7月7日に作成されたものであり、参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

10

【0003】

WO2005/027978A2では、カルボン酸又はスルホン酸でアシル化されたものを含む、いくつかのモノアシル化GLP-1誘導体について開示されている。

【0004】

WO2011/080103A1、WO2012/140117A1、WO2012/062803A1、及びWO2012/062804A1では、カルボン酸でアシル化されたものを含む、いくつかの二重アシル化GLP-1誘導体について開示されている。

【0005】

WO2008/028974A1では、標的ペプチドと、関連する不純物とを含有する混合物のクロマトグラフィー分離をシミュレートする方法について開示されている。実施例1において、モノアシル化GLP-1化合物リラグルチドを標的ペプチドとし、当該化合物の2種のジアシル化変異体及び1種のトリアシル化変異体であると考えられるいくつかの不純物と混合された形で実験は実施されている。これらの不純物は、単離も特徴付けもされていないため、これらについて、WO刊行物ではそれ以上説明されていない。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】WO2005/027978A2

【特許文献2】WO2011/080103 A1

【特許文献3】WO2012/140117A1

30

【特許文献4】WO2012/062803A1

【特許文献5】WO2012/062804A1

【特許文献6】WO2008/028974A1

【特許文献7】WO2006/097537 A2

【特許文献8】WO2009/030738

【特許文献9】WO2009/083549A1

【特許文献10】WO2008/145728

【特許文献11】WO2010102886A1

【非特許文献】

【0007】

40

【非特許文献1】「Principles of Biochemistry」、AL Lehninger、DL Nelson、MM Cox、第2版、Worth Publishers、1993、763頁

【非特許文献2】Needleman, S.B.及びWunsch, C.D.、(1970)、Journal of Molecular Biology、48:443~453頁

【非特許文献3】「Optimal Alignments in Linear Space」CABIOS (computer applications in the biosciences) (1988) 4:11~17頁、Myers及びW. Miller

【非特許文献4】Chemoinformatics: A textbook、Johann Gasteiger及びThomas Engel(編)、Wiley-VCH Verlag、2003

【非特許文献5】J. Chem. Inf. Model. 2008、48、542~549頁

【非特許文献6】J. Chem. Inf. Comput. Sci. 2004、44、170~178頁

50

- 【非特許文献 7】J. Med. Chem. 2004、47、2743～2749頁
- 【非特許文献 8】J. Chem. Inf. Model. 2010、50、742～754頁
- 【非特許文献 9】SciTegic Pipeline Pilot Chemistry Collection: Basic Chemistry User Guide、March 2008
- 【非特許文献 10】SciTegic Pipeline Pilot Data Modeling Collection、2008
- 【非特許文献 11】http://www.tripos.com/tripos_resources/fileroot/pdfs/Unity_111408.pdf
- 【非特許文献 12】http://www.tripos.com/data/SYBYL/SYBYL_072505.pdf
- 【非特許文献 13】Poulsen及びJensen、Journal of Biomolecular Screening 2007、12巻、240～247頁 10
- 【非特許文献 14】Johan Gabrielsson及びDaniel Weiner: Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Data Analysis. Concepts & Applications、第3版、Swedish Pharmaceutical Press、Stockholm (2000)
- 【非特許文献 15】Rowland、M及びTozer TN: Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications、第3版、1995 Williams Wilkins
- 【非特許文献 16】Greene及びWuts、「Protective Groups in Organic Synthesis」、John Wiley & Sons、1999
- 【非特許文献 17】Florencio Zaragoza Dorwald、「Organic Synthesis on solid Phase」、Wiley-VCH Verlag GmbH、2000
- 【非特許文献 18】「Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis」、W.C. Chan及びP.D. White編、Oxford University Press、2000 20
- 【非特許文献 19】Hodgsonら:「The synthesis of peptides and proteins containing non-natural amino acids」、Chemical Society Reviews、33巻、7号(2004)、422～430頁
- 【非特許文献 20】Remington: The Science and Practice of Pharmacy
- 【非特許文献 21】W.R. Sampson (1999)、J. Pep. Sci. 5、403
- 【発明の概要】
- 【発明が解決しようとする課題】
- 【0008】
- リラグルチドは、1日1回投与のためのGLP-1誘導体である。これは、Novo Nordisk A/S社によってVICTOZA(登録商標)の商標名において市販されている。 30
- 【0009】
- セマグルチドは、週1回投与のためのGLP-1誘導体である。これは、Novo Nordisk A/S社によって開発中である。この化合物は、WO2006/097537 A2の実施例4において開示されている。
- 【0010】
- 本発明は、月1回投与の可能性を有するGLP-1ペプチドの誘導体に関する。
- 【課題を解決するための手段】
- 【0011】
- 一態様において、本発明は、トリアシル化GLP-1誘導体に関する。誘導体は、ある特定の長鎖カルボン酸及びスルホン酸(C18又はC20二酸(それぞれ、Chem.1又はChem.1a)及びC16スルホン酸(Chem.2)等)から選択される、第1、第2、及び第3の延長部分を含む。アシル化は、天然のヒトグルカゴン様ペプチド1(GLP-1(7～37)(配列番号1))の位置(18、22、30)、(18、26、37)、(18、27、37)、(26、30、37)、又は(27、30、37)に対応する位置においてであり得る。各延長部分は、リンカーを介してペプチドに結合し得る。 40
- 【0012】
- 第2の態様において、本発明は、そのような誘導体と、薬学的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物、並びに誘導体の医学的使用に関する。
- 【0013】
- 第3の態様において、本発明は、本発明の誘導体に組み込むことができる、新規のGLP-1類似体の形態の中間生成物に関する。そのような類似体は、GLP-1(7～37)(配列番号1)と 50

比較した場合、以下のアミノ酸変化:i)(8Aib、18K、22K、26R、30K、34R);ii)(8Aib、18K、34R、37K);iii)(8Aib、18K、22E、26R、27K、34R、37K);iv)(8Aib、18K、26R、27K、34R、37K);v)(8Aib、22E、26R、27K、30K、34R、37K);vi)(8Aib、22E、30K、34R、37K);vii)(18K、22K、30K);ix)(18K、37K);ix)(18K、27K、37K);x)(27K、30K、37K);又はxi)(30K、37K)を含み得;実施形態iix)及びxi)において、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置26に対応する位置のアミノ酸はKである。

【0014】

天然のヒトGLP-1(7~37)のアミノ酸配列は、配列番号1として配列表に含まれている。本明細書において例示される誘導体のGLP-1類似体のアミノ酸配列は、配列番号2から配列番号7として配列表に含まれている。

10

【0015】

本発明の誘導体は、依然として非常に良好な効力を有しつつ非常に長い半減期を有するGLP-1誘導体の探索における顕著な飛躍を表している。

【発明を実施するための形態】

【0016】

以下において、ギリシャ文字は、それらの記号又は対応する表記名、例えば、 α =アルファ; β =ベータ; ϵ =イプシロン; γ =ガンマ; δ =デルタ; ω =オメガ等によって表され得る。更に、 μ のギリシャ文字は、例えば、 $\mu l=u l$ 又は $\mu M=u M$ のように、「u」によって表され得る。

【0017】

化学式におけるアスタリスク(*)は、i)結合点、ii)ラジカル、及び/又はiii)非共有電子を示している。

20

【0018】

その第1の態様において、本発明は、GLP-1ペプチドの誘導体であって、GLP-1ペプチドは、それぞれ、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置(18、22、30)、(18、26、37)、(18、27、37)、(26、30、37)、又は(27、30、37)に対応する位置に第1、第2、及び第3のK残基を含み、GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、最大で7のアミノ酸変化を有するペプチドであり、誘導体は、式Chem.1:H₂NOC-(CH₂)₁₆-CO-(C18二酸)、Chem.1a:H₂NOC-(CH₂)₁₈-CO-(C20二酸)又は式Chem.2:HO₃S-(CH₂)₁₅-CO-(C16スルホン酸)の第1、第2、及び第3の延長部分と;第1、第2、及び第3のリンカーとを含み、各リンカーは、*-CO基及び*-NH基を含み;各延長部分は、その*-CO末端において、それぞれのリンカーの*-NH末端に結合しており、各リンカーは、その*-CO末端において、GLP-1ペプチドのそれぞれのK残基のアミノ基に結合している、誘導体、又はその薬学的に許容される塩、アミド、若しくはエステルに関する。

30

【0019】

その第2の態様において、本発明は、本発明の誘導体と、薬学的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物、並びに特に、(i)糖尿病の全ての形態、例えば、高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、インスリン非依存性糖尿病、MODY(若年発症成人型糖尿病)、妊娠糖尿病の予防及び/若しくは処置、並びに/又はHbA1Cの軽減;(ii)糖尿病疾患の進行、例えば、2型糖尿病の進行の遅延若しくは予防、耐糖能障害(IGT)からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延、インスリン耐性の遅延若しくは予防、及び/又はインスリン非要求性2型糖尿病からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延;(iii)-細胞機能の向上、例えば、-細胞アポトーシスの減少、-細胞機能及び/又は-細胞量の増加、並びに/或いは-細胞に対するグルコース感受性の回復;(iv)認知障害及び/又は神経変性障害、例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、及び/又は多発性硬化症の予防及び/又は処置;(v)例えば、食物摂取量を減らすこと、体重を減らすこと、食欲を抑制すること、満腹感を誘起することによる肥満等の摂食障害の予防及び/若しくは処置;むちゃ食い障害、神経性大食症、及び/若しくは抗精神病薬若しくはステロイドの投与によって誘発された肥満の処置若しくは予防;胃運動性の減少;胃排出の遅延;身体的運動性の増加;並びに/又は肥満に対する併存症、例えば、骨関節炎及び/若しくは尿失禁の予防及び/若しくは処置

40

50

; (vi) 糖尿病性合併症、例えば、血管障害;末梢神経障害を含む神経障害;腎障害;及び/又は網膜障害の予防及び/又は処置; (vii) 脂質パラメータの改善、例えば、異脂血症の予防及び/又は処置、総血清脂質の低下;HDLの増加;小粒子高密度LDL(small, dense LDL)の低下;VLDLの低下;トリグリセリドの低下;コレステロールの低下;ヒトにおけるリポタンパク質a(Lp(a))の血漿レベルの低下;インビトロ及び/又はインビボでのアポリポタンパク質a(apo(a))の発生の阻害; (viii) 心臓血管疾患、例えば、X症候群、アテローム性動脈硬化症、心筋梗塞、冠状動脈心疾患、再灌流損傷、卒中、脳虚血、早期心臓疾患若しくは早期心臓血管疾患、左室肥大、冠状動脈疾患、高血圧、本態性高血圧症、急性高血圧性緊急症、心筋障害、心不全(heart insufficiency)、運動不耐性、急性及び/若しくは慢性心不全(heart failure)、不整脈、心律動異常、失神、狭心症、心臓バイパス及び/若しくはステント再閉塞、間欠性跛行(閉塞性動脈硬化症)、拡張機能障害、及び/若しくは収縮機能障害の予防及び/若しくは処置;並びに/又は血圧の低下、例えば、収縮期血圧の低下; (ix) 胃腸疾患、例えば、炎症性腸疾患、短小腸症候群、又はクローン病若しくは大腸炎;消化不良、及び/若しくは胃潰瘍;並びに/又は炎症、例えば、乾癬、乾癬性関節炎、リウマチ性関節炎、及び/若しくは全身性エリテマトーデスの予防及び/若しくは処置; (x) 重症疾患の予防及び/若しくは処置、例えば、重症患者、重症疾患ポリ腎症(CIPNP)患者、及び/若しくは潜在的CIPNP患者の処置;重症疾患若しくはCIPNPの発症の予防;患者における全身性炎症応答症候群(SIRS)の予防、処置、及び/若しくは治療;入院中の菌血症、敗血症、及び/若しくは敗血症性ショックを罹っている患者の可能性の予防又は軽減;並びに/又は血糖、インスリンバランス、及び任意選択で集中治療室の急性疾患患者における代謝の安定化; (xi) 多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の予防及び/又は処置; (xii) 脳疾患、例えば、脳虚血、脳出血、及び/又は脳外傷の予防及び/又は処置; (xiii) 睡眠時無呼吸の予防及び/又は処置;並びに/或いは(xiv) 乱用、例えば、アルコール乱用及び/又は薬物乱用の予防及び/又は処置において使用される、医薬としての本発明の誘導体又は類似体の使用に関する。

【 0 0 2 0 】

その第3の態様において、本発明は、GLP-1(7~37)と比較した場合、以下のアミノ酸変化:i)(8Aib、18K、22K、26R、30K、34R);ii)(8Aib、18K、34R、37K);iii)(8Aib、18K、22E、26R、27K、34R、37K);iv)(8Aib、18K、26R、27K、34R、37K);v)(8Aib、22E、26R、27K、30K、34R、37K);vi)(8Aib、22E、30K、34R、37K);vii)(18K、22K、30K);viii)(18K、37K);ix)(18K、27K、37K);x)(27K、30K、37K);又はxi)(30K、37K)を含む、GLP-1類似体の形態の中間生成物に関し;実施形態ix)及びxi)において、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置26に対応する位置のアミノ酸はKであり;中間生成物は、i)~xi)の類似体から選択され得る。

【 0 0 2 1 】

GLP1受容体アゴニスト

受容体アゴニストは、受容体に結合して天然のリガンドに特有の応答を誘発する類似体として定義することができる。完全アゴニストは、天然のリガンドと同じ大きさの応答を誘発するものとして定義することができる(例えば、「Principles of Biochemistry」、A L Lehninger、DL Nelson、MM Cox、第2版、Worth Publishers、1993、763頁を参照されたい)。

【 0 0 2 2 】

したがって、例えば、「GLP-1受容体アゴニスト」は、GLP-1受容体に結合することができ、それらを活性化することができる化合物として定義することができる。また、「完全」GLP-1受容体アゴニストは、天然のGLP-1と同様の大きさのGLP-1受容体応答を誘発することができるGLP-1受容体アゴニストとして定義することができる。

【 0 0 2 3 】

構造的特徴

GLP-1ペプチド及び類似体

用語「GLP-1ペプチド」は、本明細書において使用される場合、ヒトグルカゴン様ペプチド-1[GLP-1(7~37)]の類似体(又は変異体)を意味することができ、その配列は、配列番

10

20

30

40

50

号1として配列表に含まれている。配列番号1の配列を有するペプチドは、「天然の」GLP-1も指定され得る。

【0024】

本発明のGLP-1ペプチドは、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置(18、22、30)、(18、26、37)、(18、27、37)、(26、30、37)、又は(27、30、37)に対応する位置に第1、第2、及び第3のK残基を含み、GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、最大で7のアミノ酸変化を有する。

【0025】

特定の実施形態において、第1、第2、及び第3のK残基は、それぞれ、K1、K2、及びK3と称される。別の特定の実施形態において、K1、K2、及びK3は、それぞれ、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置p1、p2、及びp3に対応する位置にある。位置(p1、p2、p3)は、以下のGLP-1(7~37)(配列番号1)の位置のセット:(18、22、30)、(18、26、37)、(18、27、37)、(26、30、37)、及び(27、30、37)から選択され得る。

【0026】

更に他の特定の実施形態において、GLP-1ペプチドは、一般式I:

Xaa₇-Xaa₈-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇

[式中、Xaa₇は、L-ヒスチジン、(S)-2-ヒドロキシ-3-(1H-イミダゾール-4-イル)-プロピオン酸、D-ヒスチジン、デスアミノ-ヒスチジン、ホモヒスチジン、N-アセチル-ヒスチジン、N-ホルミル-ヒスチジン、N-メチル-ヒスチジン、3-ピリジルアラニン、2-ピリジルアラニン、又は4-ピリジルアラニンであり;Xaa₈は、Ala、Gly、Ser、Aib、(1-アミノシクロプロピル)カルボン酸、又は(1-アミノシクロブチル)カルボン酸であり;Xaa₁₂は、Phe又はLeuであり;Xaa₁₆は、Val又はLeuであり;Xaa₁₈は、Ser、Arg、Lys、Val、又はLeuであり;Xaa₁₉は、Tyr又はGlnであり;Xaa₂₀は、Leu又はMetであり;Xaa₂₂は、Gly、Lys、又はGluであり;Xaa₂₃は、Gln、Glu、Lys、又はArgであり;Xaa₂₅は、Ala又はValであり;Xaa₂₆は、Arg又はLysであり;Xaa₂₇は、Glu、Lys、又はLeuであり;Xaa₃₀は、Ala、Glu、又はLysであり;Xaa₃₁は、Trp又はHisであり;Xaa₃₃は、Val、Lys、又はArgであり;Xaa₃₄は、Lys、Arg、His、Asn、又はGlnであり;Xaa₃₅は、Gly又はAlaであり;Xaa₃₆は、Arg又はGlyであり;Xaa₃₇は、Gly、Pro、又はLysである]

を有する。

【0027】

この式において、アミノ酸残基の付番は、天然のGLP-1に対して当技術分野における確立された慣習に従っており、すなわち、最初の(N末端)アミノ酸残基は、7番の位置に付番されるか又は一致し、続くアミノ酸残基は、C末端に向かって川下に、8、9、10等のように最後の(C末端)アミノ酸残基(天然のGLP-1では37番のGlyである)まで付番される。

【0028】

付番は、配列表において異なって為され、この場合、配列番号1の最初のアミノ酸残基(His)は、1番が割り当てられ、最後(Gly)は31番が割り当てられ、これは、配列表の他のGLP-1配列でも同様である。ただし、本明細書では、本発明者らは、上記において説明されるように、当技術分野における確立された付番の慣習に従う。

【0029】

本発明の誘導体のGLP-1類似体のそれぞれは、i)変更されたアミノ酸残基に対応する天然のGLP-1(7~37)でのアミノ酸残基の番号(すなわち、天然のGLP-1での対応する位置)、及びii)実際の変更、を参照することにより、説明され得る。

【0030】

換言すれば、本発明のGLP-1類似体は、天然のGLP-1(7~37)ペプチドを参照することによって、すなわち、天然のGLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、アミノ酸残基の数が変更されているその変異体として、説明することができる。これらの変更は、独立して、1つ又は複数のアミノ酸の置換、付加、及び/又は欠失を表し得る。

【 0 0 3 1 】

以下は、好適な類似体命名法の非限定的な例である。

【 0 0 3 2 】

実施例1の誘導体に組み込まれたGLP-1ペプチドは、本明細書において、以下のGLP-1類似体:(8Aib、18K、22K、26R、30K、34R)GLP-1(7~37)と呼ばれ得る。このことは、この類似体が天然のGLP-1とアラインメントされた場合、i)アラインメントに従って、天然のGLP-1の位置8に対応する類似体での位置にAibを、ii)天然のGLP-1の位置18に対応する類似体での位置にKを、iii)天然のGLP-1の位置22に対応する類似体での位置にKを、iv)天然のGLP-1の位置26に対応する類似体での位置にRを、v)天然のGLP-1の位置30に対応する類似体での位置にKを(C末端において延長されている場合)、及びvi)天然のGLP-1の位置34に対応する類似体での位置にRを有することを意味する。この類似体における他の全てのアミノ酸は、天然のGLP-1における対応するアミノ酸と同一である。

10

【 0 0 3 3 】

上記において説明したように、本発明のGLP-1ペプチドは、天然のGLP-1と比較した場合のアミノ酸変化によって定義され得る。上記において説明されるアミノ酸変化は、天然のGLP-1に対するアミノ酸の置換と考えられ得る。

【 0 0 3 4 】

ある特定の変更を「含む」類似体は、配列番号1と比較した場合、更なる変更を含んでもよい。特定の実施形態において、類似体は、特定の変更を「有する」。

【 0 0 3 5 】

20

上記の例から明らかなように、アミノ酸残基は、それらの完全名、それらの1文字コード、及び/又はそれらの3文字コードによって識別することができる。これら3つの方法は、完全に同等である。

【 0 0 3 6 】

表現「と同等な位置」又は「対応する位置」は、天然のGLP-1(7~37)(配列番号1)等の参照配列を参照することによって変異体GLP-1(7~37)配列における変更の部位を特徴付けるために使用され得る。同等な位置又は対応する位置、並びに変更の数は、例えば単純な手書き及び視認によって容易に推測され;並びに/或いは、標準タンパク質若しくはペプチドのアラインメントプログラム、例えば、ニードルマン-ブンシュアルゴリズムをベースとする「align」を使用してもよい。このアルゴリズムは、Needleman, S.B.及びWunsch, C.D.、(1970)、Journal of Molecular Biology、48:443~453頁において、並びに「Optimal Alignments in Linear Space」CABIOS (computer applications in the biosciences) (1988) 4:11~17頁においてMyers及びW. Millerによるアラインプログラムに記載されている。アラインメントのために、デフォルトのスコアリングマトリックスBLOSUM62及びデフォルトの同一性マトリックスを使用することができ、ギャップにおける最初の残基に対するペナルティは、-12、好ましくは-10に設定され得、ギャップにおける追加の残基に対するペナルティは、-2、好ましくは-0.5に設定され得る。

30

【 0 0 3 7 】

そのようなアラインメントの例が、以下に記載されており、ここで、配列の1番は配列番号1であり、配列の2番はその類似体(8Aib、18K、22K、26R、30K、34R)(配列番号2)である。

40

```
# Aligned_sequences: 2
# 配列番号1: 1
# 配列番号2: 2
# マトリックス: EBLOSUM62
# Gap_penalty: 10.0
# Extend_penalty: 0.5
#
# 長さ: 31
# 同一性:      25/31 (80.6%)
```

50

類似性: 27/31 (87.1%)

ギャップ: 0/31 (0.0%)

スコア: 134.0

```

1          1 HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFI A WLVKGRG      31
          |.|||||||.|||.|||.|||.|||.|||
2          1 HXEGTFTSDVSKYLEKQAAREFI K WLVGRG      31

```

【 0 0 3 8 】

このアラインメントに示された位置番号に(すなわち、配列1の「1」及び「31」並びに配列2の「1」及び「31」に)6を加えると、本明細書において使用される位置付番が得られる。例えば、配列1(配列番号1と同一)において、N末端アミノ酸(H)は位置番号7を有し、C末端アミノ酸(G)は番号37を有する。

10

【 0 0 3 9 】

1文字コドンを持たない特定のアミノ酸残基等(Aib等)が配列に含まれる場合、これらは、アラインメント目的のために、上記のアラインメントに示されているように、例えばXで置き換えることができる。所望であれば、Xは、後で手動により修正することができる。

【 0 0 4 0 】

以下は、上記のアラインメントから推定することができるものの非限定的な例である。

【 0 0 4 1 】

一例として、配列2は、配列1と比較して(すなわち、ピリオド(「.」)、コロン(「:」)、又は水平ハイフン(「-」)がアラインメントに示されている全ての位置において)、6のアミノ酸変化を有すると推定することができる。

20

【 0 0 4 2 】

別の例として、例えば、配列の2番は、アラインメントにより、参照配列(配列番号1、配列番号1)の位置18に対応する位置にKを有するので、配列の2番は18Kを含むと推定することができる。

【 0 0 4 3 】

同様に、配列1と比較したときの配列2における全ての他の変更は、アラインメントから推測することができる。

【 0 0 4 4 】

30

用語「ペプチド」は、例えば本発明の誘導体のGLP-1ペプチドとの関連において使用される場合、アミド(又はペプチド)結合によって相互接続された一連のアミノ酸を含む化合物を意味する。

【 0 0 4 5 】

本発明のペプチドは、少なくとも31のアミノ酸を含む。特定の実施形態において、ペプチドは、31のアミノ酸で構成される。追加の特定の実施形態において、ペプチドは、31のアミノ酸からなる。

【 0 0 4 6 】

更に他の特定の実施形態において、ペプチドは、ペプチド結合によって相互接続されたアミノ酸からなる。

40

【 0 0 4 7 】

アミノ酸は、アミン基及びカルボン酸基、並びに任意選択で、多くの場合に側鎖とも呼ばれる1つ又は複数の追加の基、を含有する分子である。

【 0 0 4 8 】

用語「アミノ酸」は、タンパク質原性(又は天然)アミノ酸(中でも特に、20の標準アミノ酸)、並びに非タンパク質原性(又は非天然)アミノ酸を含む。タンパク質原性アミノ酸は、天然にタンパク質中に組み込まれているものである。標準アミノ酸は、遺伝子コードによってコードされるものである。非タンパク質原性アミノ酸は、タンパク質中に見出されないか、又は標準的な細胞機構によって産生されない(例えば、それらは、翻訳後修飾を受けている場合もある)。非タンパク質原性アミノ酸の非限定的な例は、Aib(-アミノ

50

イソ酪酸、(又は2-アミノイソ酪酸))、デス-アミノ-ヒスチジン(代替名はイミダゾプロピオン酸又は3-(イミダゾール-5-イル)プロパン酸、簡略された名前はImp)、並びにタンパク質原性アミノ酸のD-異性体である。

【0049】

以下において、光学異性体について述べられていないGLP-1ペプチドの各アミノ酸は、(特に明記されない限り)L-異性体を意味すると理解されるべきである。

【0050】

本発明のGLP-1誘導体及び類似体は、GLP-1活性を有する。この用語は、GLP-1受容体に結合してシグナル伝達経路を開始し、結果としてインスリン分泌性作用又は当技術分野において公知の他の生理的効果を生じる能力を意味する。例えば、本発明の類似体及び誘導体は、本明細書の実施例22、23、25、又は26において説明されるアッセイを用いて、GLP-1活性について試験することができる。

10

【0051】

GLP-1誘導体

用語「GLP-1誘導体」は、概して、化学修飾によって、特に1つ又は複数の置換基を共有結合させることによって、天然のGLP-1ペプチド又はその類似体から調製することができる化合物を意味する。本発明によるGLP-1誘導体は、3つのそのような置換基を含む。更に又は或いは、これらのそれぞれは、側鎖と呼ばれ得る。

【0052】

特定の実施形態において、側鎖は、アルブミンと共に非共有結合性の複合体を形成することができる、それにより、血流による誘導体の循環を促進し、更に、GLP-1誘導体とアルブミンとの複合体が単にゆっくりと崩壊して医薬品有効成分を放出するという事実により、誘導体の作用期間を延長する効果も有する。したがって、置換基、又は側鎖は、全体として、好ましくは、アルブミン結合部分と呼ばれる。

20

【0053】

別の特定の実施形態において、アルブミン結合部分は、特に、アルブミン結合とそれによる延長に関連している部分を含み、そのため、その部分は延長部分と呼ばれ得る。延長部分は、ペプチドへの結合点に対して、アルブミン結合部分の末端(又は遠位、又は自由)端部の近く、好ましくは端部にあり得る。アルブミン結合部分は、ペプチドのリシン残基のアシル化によって、特に、リシン残基の -アミノ基に対するアシル化によって、ペプ

30

チドに結合する。

【0054】

更に他の特定の実施形態において、アルブミン結合部分は、延長部分とペプチドへの結合点との間に、リンカー、リンカー部分、又はスペーサー等と呼ばれ得る部分を含む。

【0055】

本発明の誘導体は、式Chem.1若しくはChem.1a、又は式Chem.2:

Chem.1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{16}-\text{CO}-^*$ 、

Chem.1a: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{18}-\text{CO}-^*$ 、又は、

Chem.2: $\text{HO}_3\text{S}-(\text{CH}_2)_{15}-\text{CO}-^*$

の第1、第2、及び第3の延長部分を含む。

40

【0056】

Chem.1は、C18二酸とも呼ばれ得、Chem.1aは、C20二酸とも呼ばれ得、Chem.2は、C16スルホン酸とも呼ばれ得る。特定の実施形態において、第1、第2、及び第3の延長部分は、それぞれ、Pr1、Pr2、及びPr3と称される。

【0057】

本発明の誘導体は、第1、第2、及び第3のリンカーも含む。

【0058】

別の特定の実施形態において、第1、第2、及び第3のリンカーは、それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3と称される。

【0059】

50

各リンカーは、*-CO基及び*-NH基を含む。

【0060】

更に他の特定の実施形態において、Pr1は、その*-CO基において、Ln1の*-NH基に結合しており、Ln1は、その*-CO基において、K1のアミノ基に結合しており；Pr2は、その*-CO基において、Ln2の*-NH基に結合しており、Ln2は、その*-CO基において、K2のアミノ基に結合しており；Pr3は、その*-CO基において、Ln3の*-NH基に結合しており、Ln3は、その*-CO基において、K3のアミノ基に結合している。

【0061】

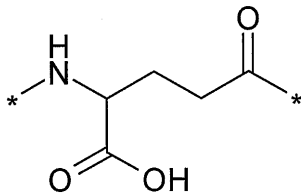
リンカー(Ln1、Ln2、及びLn3)は、式Chem.3:

Chem.3:

10

【0062】

【化1】



【0063】

20

の要素_1を含み得る。

【0064】

この要素は、ここでは別のリンカー要素への接続のため、又は、場合によってはリシンの -アミノ基への接続のために使用されるアミノ酸グルタミン酸のカルボキシ基であるという事実から、-Glu、又は簡潔にgGluと呼ばれ得る。

【0065】

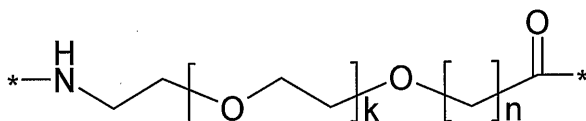
更に又は或いは、リンカー(Ln1、Ln2、及びLn3)は、式Chem.4:

Chem.4:

【0066】

【化2】

30



【0067】

[式中、kは、1～5の範囲の整数であり、nは、1～5の範囲の整数である]の要素_2を含むことができる。

【0068】

特定の実施形態において、k=1かつn=1の場合、Chem.4の要素_2は、OEG又は8-アミノ-3, 6-ジオキサオクタン酸のジラジカルに指定され得る。

40

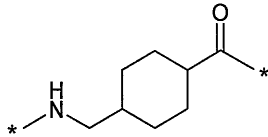
【0069】

更に又は或いは、リンカー(Ln1、Ln2、及びLn3)は、式Chem.5:

Chem.5:

【0070】

【化 3】



【 0 0 7 1 】

の要素_3((トラネキサム酸の場合)Trxと呼ばれ得る)を含み得る。

【 0 0 7 2 】

更に又は或いは、リンカー(Ln1、Ln2、及びLn3)は、式Chem.6:

10

Chem.6: $^*\text{-NH}-(\text{CH}_2)_q\text{-CH}[(\text{CH}_2)_w\text{-NH}_2]\text{-CO-}^*$

の要素_4を含み得、ここで、qは、0~5の範囲の整数であり、wは、0~5の範囲の整数であり、ただし、wが0の場合、qは1~5の範囲の整数であり、qが0の場合、wは1~5の範囲の整数である。特定の実施形態(qが4でありかつwが0であるか、又はwが4でありかつqが0である)において、Chem.6は、eps-Lys残基を表し、この場合、epsはイプシロンを意味し、それが延長部分のカルボキシ基又は場合によっては別のリンカー要素のカルボキシ基への接続のために使用されるリシンのアミノ基であるという事実を意味する。

【 0 0 7 3 】

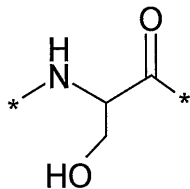
更に、又は二者択一的に、リンカー(Ln1、Ln2、及びLn3)は、Ser残基である式Chem.7:

Chem.7:

20

【 0 0 7 4 】

【化 4】



【 0 0 7 5 】

の要素_5を含み得る。

30

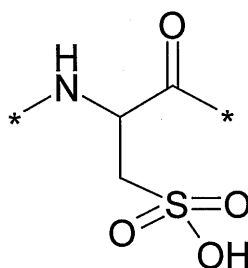
【 0 0 7 6 】

更に、又は二者択一的に、リンカー(Ln1、Ln2、及びLn3)は、システイン酸(3-スルホ-Ala)残基である式Chem.8:

Chem.8:

【 0 0 7 7 】

【化 5】



40

【 0 0 7 8 】

の要素_6を含み得る。

【 0 0 7 9 】

更に、又は二者択一的に、リンカー(Ln1、Ln2、及びLn3)は、アミノカルボン酸残基である式Chem.9:

50

Chem.9:

-NH-(CH₂)_s-CH₂-CO-,

の要素₇を含み得、

ここで、sは、2~4の範囲の整数である。Chem.9において、*-(CH₂)_s-*基は、直鎖状又は分岐鎖状の、好ましくは直鎖状の、アルキレンを表し得る。特定の実施形態(s=2)において、Chem.9は、4-アミノブタン酸(Abu)を表す。別の特定の実施形態(s=4)において、Chem.9は、6-アミノヘキサン酸(Ahx)を表す。

【0080】

第1、第2、及び第3の延長部分は、それぞれ、第1、第2、及び第3のリンカーに接続しており、それらは、アミノ結合を介して、それぞれ、GLP-1ペプチドの第1、第2、及び第3のK残基に接続している。

10

【0081】

第1、第2、及び第3のリンカーは、上記において定義されるような様々な要素(要素₁から要素₇)の1つ又は複数を含み得、各要素は、1回又は複数回出現し得、要素の配列も変わり得る。

【0082】

リンカーが、ある特定の要素を「含む」と述べられている場合にはいつでも、かかるリンカーは、更に、他の要素を含有していてもよいが、その一方で、用語「組み込む」は、「有する」又は「のみを含む」と同じであることを意味することが意図される。したがって、2つの式Chem.4の要素₂を「組み込んだ」リンカーは、その構造中にこれら2つの要素のみを有する。

20

【0083】

リンカー要素の様々な特定の組合せについては、下記の「特定の実施形態」の見出しのセクションにおいてより詳細に説明する。要素がここに示されている配列は、概して、N末端からC末端までである。

【0084】

特定の実施形態において、3つのアルブミン結合部分(すなわち、3つの側鎖)は、同様であり、好ましくは実質的に同一であり、最も好ましくは同一である。

【0085】

別の特定の実施形態において、第1、第2、及び第3の延長部分は、同様であり、好ましくは実質的に同一であり、最も好ましくは同一である。

30

【0086】

更に他の特定の実施形態において、第1、第2、及び第3のリンカーは、同様であり、好ましくは実質的に同一であり、最も好ましくは同一である。

【0087】

用語「実質的に同一」は、1つ若しくは複数のエステル及び/又はアミドの形成に;好ましくは、1つ若しくは複数のメチルエステル、及び単一のアミドの形成に;より好ましくは、2つ以下のメチルエステル及び/又は単一のアミドの形成に;最も好ましくは1つ以下のメチルエステル及び/又は単一のアミドの形成に起因する同一性からの差を含む。

【0088】

アルブミン結合部分、延長部分、及びリンカー等の化学化合物との関連において、類似性及び/又は同一性は、当技術分野において公知の任意の好適なコンピュータプログラム及び/又はアルゴリズムを使用して特定することができる。

40

【0089】

例えば、延長部分、リンカー、及び/又は側鎖全体の類似性は、分子フィンガープリントを使用して好適に特定することができる。フィンガープリントは、化学構造を表す数学的方法である(例えば、Chemoinformatics: A textbook、Johann Gasteiger及びThomas Engel(編)、Wiley-VCH Verlag、2003を参照されたい)。

【0090】

好適なフィンガープリントの例としては、これらに限定されるわけではないが、UNITY

50

フィンガープリント、MDLフィンガープリント、及び/又はECFPフィンガープリント、例えば、ECFP₆フィンガープリント(ECFPは、拡張連結性フィンガープリント(extended-connectivity fingerprints)を表す)が挙げられる。

【0091】

特定の実施形態において、延長部分、リンカー、及び/又は側鎖全体は、a)ECFP₆フィンガープリント;b)UNITYフィンガープリント;及び/又はc)MDLフィンガープリントとして表される。

【0092】

a)、b)、又はc)が使用されているか否かにかかわらず、フィンガープリントの類似性を計算するために、好ましくはタニモト係数が使用される。

10

【0093】

特定の実施形態において、a)、b)、又はc)が使用されているか否かにかかわらず、延長部分、リンカー、及び/又は側鎖全体は、それぞれ、少なくとも0.5(50%);好ましくは少なくとも0.6(60%);より好ましくは少なくとも0.7(70%)、又は少なくとも0.8(80%);更により好ましくは少なくとも0.9(90%);最も好ましくは少なくとも0.99(99%)の類似性、例えば、1.0(100%)の類似性、を有する。

【0094】

UNITYフィンガープリントは、プログラムSYBYL(Tripos社、1699 South Hanley Road, St. Louis, MO 63144-2319 USAから入手可能)を使用して計算することができる。ECFP₆及びMDLフィンガープリントは、プログラムPipeline Pilot(Accelrys Inc.社、10188 Teleis Court, Suite 100, San Diego, CA 92121, USAから入手可能)を使用して計算することができる。

20

【0095】

より詳細については、例えば、J. Chem. Inf. Model. 2008、48、542~549頁; J. Chem. Inf. Comput. Sci. 2004、44、170~178頁; J. Med. Chem. 2004、47、2743~2749頁; J. Chem. Inf. Model. 2010、50、742~754頁;及びSciTegic Pipeline Pilot Chemistry Collection: Basic Chemistry User Guide、March 2008、SciTegic Pipeline Pilot Data Modeling Collection、2008(両方とも、Accelrys Software Inc.社、San Diego、USから)、並びにガイドhttp://www.tripos.com/tripos_resources/fileroot/pdfs/Unity_111408.pdf及びhttp://www.tripos.com/data/SYBYL/SYBYL_072505.pdfを参照されたい。

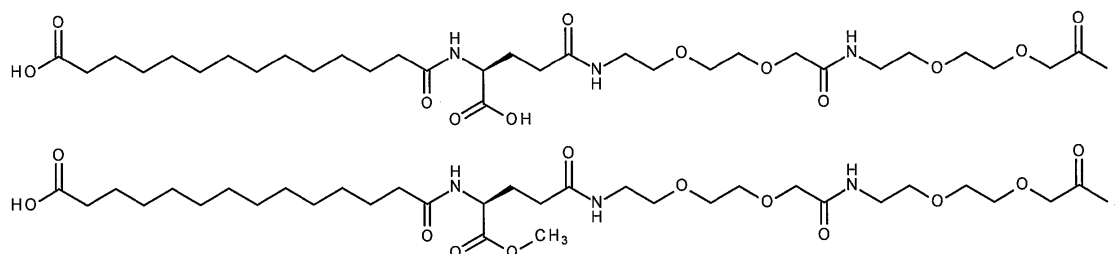
30

【0096】

類似性の計算の例が以下に示されており、公知のGLP-1誘導体の公知の側鎖全体が、そのメチルエステルと比較された。

【0097】

【化6】



40

【0098】

a)ECFP₆フィンガープリントを使用した場合、類似性は0.798であり、b)UNITYフィンガープリントを使用した場合、類似性は0.957であり、MDLフィンガープリントを使用した場合、類似性は0.905である。

【0099】

3つの同一な側鎖(アルブミン結合部分)の場合、誘導体は、対称と指定され得る。

【0100】

50

特定の実施形態において、類似性係数は、少なくとも0.80、好ましくは少なくとも0.85、より好ましくは少なくとも0.90、更により好ましくは少なくとも0.95、最も好ましくは少なくとも0.99である。

【0101】

本発明の誘導体は、同じ分子式及び結合原子の配列を有するが空間におけるそれらの原子の三次元配向においてのみ異なる、異なる立体異性形態において存在し得る。例示される本発明の誘導体の立体異性は、名前並びに構造において、標準的な命名法を用いて、実験のセクションに示される。特に明記されない限り、本発明は、特許請求される誘導体の全ての立体異性形態に関する。

【0102】

本発明のGLP-1誘導体の血漿中濃度は、任意の好適な方法を用いて特定することができる。例えば、LC-MS(液体クロマトグラフィー質量分析)、又はイムノアッセイ(例えば、RIA(放射性免疫測定法)、ELISA(酵素結合免疫測定法)、及びLOCI(発光酸素チャネリングイムノアッセイ)等)を用いることができる。好適なRIA及びELISAアッセイのための一般的なプロトコルは、例えば、WO2009/030738の116~118頁に見出される。好ましいアッセイは、LOCIアッセイであり、ここで、LOCIは、発光酸素チャネリングイムノアッセイを意味し、これは、一般的に、インスリンの定量について、Poulsen及びJensenによってJournal of Biomolecular Screening 2007、12巻、240~247頁に記載されている。ドナーピーズをストレプトアビジンでコーティングし、その一方で、アクセプターピーズを、ペプチドの中間/C末端エピトープを認識するモノクローナル抗体とコンジュゲートさせた。N末端に対して特異的な別のモノクローナル抗体をビオチン化した。3つの反応剤を検体と組み合わせ、2つ部位のある免疫複合体を形成させた。複合体への照射により、ドナーピーズから一重項酸素原子が放出され、これがアクセプターピーズ中へと向けられ、化学発光を引き起こし、この発光をEnvisionプレートリーダーにおいて測定した。光の量は、化合物の濃度に比例した。

【0103】

薬学的に許容される塩、アミド、又はエステル

本発明の誘導体、類似体、及び中間生成物は、薬学的に許容される塩、アミド、又はエステルの形態であってもよい。

【0104】

塩は、例えば、塩基と酸との間の化学反応、例えば：



によって形成される。

【0105】

塩は、塩基性塩、酸性塩であってもよく、又はそれは、どちらでもなくともよい(すなわち、中性塩)。塩基性塩は、水中において水酸化物イオンを生じ、酸性塩はヒドロニウムイオンを生じる。

【0106】

本発明の誘導体の塩は、カチオン又はアニオンと、それぞれ、アニオン性基又はカチオン性基との間において形成され得る。これらの基は、ペプチド部分及び/又は本発明の誘導体の側鎖に位置され得る。

【0107】

本発明の誘導体のアニオン性基の非限定的な例としては、側鎖における遊離カルボン酸基、並びに存在するのであればペプチド部分における遊離カルボン酸基が挙げられる。ペプチド部分は、多くの場合、C末端に遊離カルボン酸基を含み、また、内部酸アミノ酸残基、例えば、Asp及びGlu、において遊離カルボン酸基も含む。

【0108】

ペプチド部分のカチオン性基の非限定的な例としては、N末端の遊離アミノ基、並びに存在するのであれば内部塩基性アミノ酸残基、例えば、His、Arg、及びLysの任意の遊離アミノ基が挙げられる。

【0109】

特定の実施形態において、本発明の誘導体及び類似体は、塩基性塩である。これらの塩は、例えば、ペプチド部分におけるアニオン性基と、ナトリウムカチオン若しくはカリウムカチオンとの間において形成され得る。

【0110】

別の特定の実施形態において、本発明の誘導体及び類似体は、酸性塩である。これらの塩は、例えば、ペプチド部分におけるカチオン性基と、塩素アニオン又は酢酸アニオンとの間において形成され得る。

【0111】

本発明の誘導体のエステルは、例えば、アルコキシ基又はアリアルオキシ基による少なくとも1つのヒドロキシル基の置き換えをもたらす、遊離カルボン酸基とアルコール又はフェノールとの反応によって形成され得る。

【0112】

エステルの形成には、ペプチドのC末端における遊離カルボン酸基、及び/又は側鎖中の任意の遊離カルボン酸基が関与し得る。

【0113】

本発明の誘導体のアミドは、例えば、遊離カルボン酸基とアミン若しくは置換されたアミンとによる反応によって、又は遊離アミノ基若しくは置換されたアミノ基とカルボン酸とによる反応によって形成され得る。

【0114】

アミドの形成には、ペプチドのC末端における遊離カルボン酸基、側鎖中の任意の遊離カルボン酸基、ペプチドのN末端における遊離アミノ基、並びに/或いはペプチド及び/又は側鎖中のペプチドの任意の遊離アミノ基若しくは置換されたアミノ基が関与し得る。

【0115】

特定の実施形態において、ペプチド又は誘導体は、薬学的に許容される塩の形態である。別の特定の実施形態において、誘導体は、薬学的に許容されるアミドの形態、好ましくはペプチドのC末端にアミド基を有する、薬学的に許容されるアミドの形態である。更に他の特定の実施形態において、ペプチド又は誘導体は、薬学的に許容されるエステルの形態である。

【0116】

機能特性

特定の実施形態において、本発明の誘導体は、非常に長い半減期と、同時にインビトロ及びインビボでの非常に良好な効力とを有し、これらが、誘導体を月1回投与にとつて潜在的に好適にしている。

【0117】

したがって、第1の機能的態様において、本発明の誘導体は、良好な効力を有する。更に又は或いは、第2の態様において、それらは、例えばアルブミンの高濃度において、非常に良好にGLP-1受容体に結合する。好ましくは、それらは、GLP-1受容体を活性化する能力と組み合わされた、GLP-1受容体に強く結合するそれらの能力によって反映されるように、強力なGLP-1受容体アゴニストである。更に又は或いは、第3の機能的態様において、それらは、向上した薬物動態学的特性を有する。

【0118】

生物学的活性-インビトロでの効力

第1の機能的態様により、本発明の誘導体並びにそのようなものとしての構成要素GLP-1ペプチドは、生物学的に活性であるか、又は強力である。

【0119】

特定の実施形態において、効力及び/又は活性は、インビトロでの効力、すなわち、機能性GLP-1受容体アッセイにおける性能、より詳細には、ヒトGLP-1受容体を活性化する能力、を意味する。

【0120】

インビトロでの効力は、例えば、ヒトGLP-1受容体を発現する膜を含有する媒質において、及び/又はヒトGLP-1受容体を発現する全細胞によるアッセイにおいて、特定することができる。

【0121】

例えば、ヒトGLP-1受容体の応答は、例えば、ヒトGLP-1受容体を発現し、プロモーターにカップリングしたcAMP応答エレメント(CRE)のためのDNAとホタルルシフェラーゼ(CREルシフェラーゼ)のための遺伝子とを含有する、安定して形質移入されたBHK細胞株における、レポーター遺伝子アッセイにおいて測定することができる。cAMPがGLP-1受容体の活性化の結果として産生される場合、このcAMPにより、結果としてルシフェラーゼの発現が生じる。ルシフェラーゼは、ルシフェリンを加えることによって特定することができ、ルシフェリンは、酵素によって、オキシルシフェリンに転化されてバイオルミネセンスを生じ、このバイオルミネセンスが測定され、このバイオルミネセンスはインビトロ効力の尺度である。そのようなアッセイの非限定的な一例を、実施例22において説明する。

10

【0122】

半数効果濃度(EC_{50})なる用語は、一般的に、用量応答曲線を参考にした、ベースラインと最大値との間の中間の応答を誘起する濃度を意味する。 EC_{50} は、化合物の効力の尺度として使用され、化合物の最大効果の50%が観察される濃度を表している。

【0123】

本発明の誘導体のインビトロでの効力は、上記において説明したように特定することができ、関心対象の誘導体の EC_{50} も特定することができる。 EC_{50} 値が低いほど、効力は良好である。

20

【0124】

特定の実施形態において、本発明の誘導体は、非常に長い半減期を有するという事実にもかかわらず、非常に強力である。特定の実施形態において、本発明の誘導体は、300pM以下の EC_{50} に相当する、実施例22の方法を使用して特定されたインビトロでの効力を有する。

【0125】

生物学的活性-インビボでの薬理学

別の特定の実施形態において、本発明の誘導体並びにそのようなものとしての構成要素GLP-1ペプチドは、インビボにおいて強力であり、これは、任意の好適な動物モデルにおいて、並びに臨床試験において、当技術分野において公知のように特定することができる。

30

【0126】

糖尿病のdb/dbマウスは、好適な動物モデルの一例であり、血糖及び/又は体重の低下効果は、例えば、実施例25に説明されるように、そのようなマウスにおいてインビボで特定することができる。特定の実施形態において、本発明の誘導体は、少なくとも48時間までにおいて、db/dbマウスにおいて血糖及び体重を低下させることが可能である。

【0127】

LYDブタは、好適な動物モデルの別の例であり、例えば、実施例26に説明されるように、インビボでのそのようなブタにおけるPD研究において食物摂取量の減少を特定することができる。

40

【0128】

特定の実施形態において、本発明の誘導体は、長期間において、インビボで非常に強力であり、これは、実験パートに見出される結果によって証明され、「特定の実施形態」の見出しのセクションにおいても言及される。

【0129】

生物学的活性-インビトロでの受容体結合

第2の機能的態様により、本発明の誘導体並びにそのようなものとしての構成要素GLP-1ペプチドは、例えば、アルブミンの高濃度において、GLP-1受容体に非常によく結合する。これは、実施例23において説明されるようにして特定することができる。

50

【0130】

概して、低アルブミン濃度でのGLP-1受容体への結合は、可能な限り良好であるべきであり、それは、低い IC_{50} 値に対応する。

【0131】

高アルブミン濃度での IC_{50} 値は、GLP-1受容体への誘導体の結合に対する血清アルブミンの影響を反映する。公知のように、GLP-1誘導体は、血清アルブミンに結合することができ、そのような場合、高血清アルブミンでの IC_{50} 値は、低アルブミンでの IC_{50} 値より高い。高血清アルブミンでの IC_{50} 値の増加は、GLP-1受容体への結合と競合する血清アルブミン結合に起因したGLP-1受容体への結合の減少を表している。

【0132】

特定の実施形態において、本発明の誘導体は、低アルブミン濃度においてGLP-1受容体に非常に良好に結合するが、それらは、高アルブミン濃度においても非常に良好に結合する。

【0133】

一例として、特定の実施形態において、低濃度のHSA(最大0.001%の最終アッセイ濃度)の存在下での本発明の誘導体のGLP-1受容体結合親和性(IC_{50})は、15nM以下である。

【0134】

薬物動態学的プロファイル

第3の機能的態様により、本発明の誘導体は、増加した終末相半減期及び/又は減少したクリアランス等の向上した薬物動態学的特性を有する。

【0135】

終末相半減期の増加及び/又はクリアランスの減少は、関心対象の化合物が身体からゆっくりと排除されることを意味する。本発明の誘導体の場合、これは、薬理効果の持続期間の延長を伴う。

【0136】

本発明の誘導体の薬物動態学的特性は、好適には、薬物動態学的(PK)研究により、インビボにおいて特定される。そのような研究は、時間経過において、医薬化合物が身体においてどのように吸収され、分配され、及び排除されるか、並びにこれらのプロセスが身体において化合物の濃度にどのように影響するか、を評価するために行われる。

【0137】

医薬品開発の発見及び臨床前段階において、マウス、ラット、サル、イヌ、又はブタ等の動物モデルを使用して、この特徴付けが実施され得る。これらのモデルのいずれも、本発明の誘導体の薬物動態学的特性を試験するために使用することができる。

【0138】

そのような研究において、動物は、典型的には、関連製剤において、静脈内(i.v.)、皮下(s.c.)、又は経口(p.o.)のいずれかにより、薬物の1回用量が投与される。血液試料を、投薬後の事前に定義された時点において採取し、試料を、関連する定量アッセイにより薬物の濃度について分析する。これらの測定に基づいて、研究対象の化合物の時間-血漿濃度プロファイルをプロットし、いわゆる、データの非コンパートメント薬物動態学的分析を実施する。

【0139】

ほとんどの化合物では、片対数プロットにおいて描かれる場合、血漿-濃度プロファイルの終端部分は、直線になるが、これは、初期吸収及び分配後に薬物が身体から一定の分率において除去されることを反映している。その率(ラムダZ又は λ_z)は、プロットの終端部分の傾きのマイナスに等しい。この率から、終末相半減期も、 $t^{1/2} = \ln(2) / \lambda_z$ として計算することができる(例えば、Johan Gabrielsson及びDaniel Weiner: Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Data Analysis. Concepts & Applications、第3版、Swedish Pharmaceutical Press、Stockholm (2000)を参照されたい)。

【0140】

クリアランスは、i.v.投与の後に特定することができ、それは、血漿濃度対時間プロフ

10

20

30

40

50

ファイルの曲線下面積(AUC)で除された用量(D)として定義される(Rowland, M及びTozer TN: Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications、第3版、1995 Williams Wilkins)。

【0141】

終末相半減期及び/又はクリアランスの推定は、新規の薬物化合物の評価において、投薬計画及び薬物開発における重要なパラメータの評価に関連する。

【0142】

薬物動態学的プロファイル-ミニブタにおけるインビボでの半減期

第3の機能的態様により、本発明の誘導体は、向上した薬物動態学的特性を有する。

【0143】

特定の実施形態において、薬物動態学的特性は、例えば、本明細書の実施例24において説明されるように、i.v.投与後のミニブタにおいてのインビボでの終末相半減期($T_{1/2}$)として特定することができる。

【0144】

特定の実施形態において、本発明の誘導体は、ミニブタにおいて優れた終末相半減期を有し、これは、誘導体を月1回投与にとって好適にする。特定の実施形態において、i.v.投与後のミニブタにおける本発明の誘導体の終末相半減期は、少なくとも90時間である。

【0145】

本発明の誘導体の追加の特定の実施形態は、実験のセクションの前の「特定の実施形態」の見出しのセクションにおいて説明される。

【0146】

製造プロセス

GLP-1(7~37)及びGLP-1類似体のようなペプチドの製造は、当技術分野において周知である。

【0147】

本発明の誘導体のGLP-1ペプチド部分(又はそれらの断片)は、例えば、古典的ペプチド合成、例えば、t-Boc若しくはFmoc化学、又は他の十分に確立された技術を使用した固相ペプチド合成、によって製造することができ、例えば、Greene及びWuts、「Protective Groups in Organic Synthesis」、John Wiley & Sons、1999、Florencio Zaragoza Dorwald、「Organic Synthesis on solid Phase」、Wiley-VCH Verlag GmbH、2000、並びに「Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis」、W.C. Chan及びP.D. White編、Oxford University Press、2000を参照されたい。

【0148】

更に又は或いは、それらは、遺伝子組換え法によって、すなわち、類似体をコードするDNA配列を含有し、ペプチドを発現することができる宿主細胞をペプチドの発現を可能にする条件下において好適な栄養培地において培養することによって、製造することができる。これらのペプチドの発現にとって好適な宿主細胞の非限定的な例は、大腸菌(*Escherichia coli*)、サッカロマイセス・セレビシエ(*Saccharomyces cerevisiae*)、並びに哺乳動物のBHK又はCHO細胞株である。

【0149】

非天然アミノ酸及び/又は共有結合したN末端モノペプチド若しくはジペプチド模倣体を含む、本発明の誘導体は、例えば、実験パートにおいて説明されるように製造することができる。或いは、例えば、Hodgsonら:「The synthesis of peptides and proteins containing non-natural amino acids」、Chemical Society Reviews、33巻、7号(2004)、422~430頁;及び「Semi-recombinant preparation of GLP-1 analogues」と題されたWO2009/083549A1を参照されたい。

【0150】

本発明のいくつかの誘導体を調製する方法の具体例が、実験パートに含まれる。

【0151】

医薬組成物

10

20

30

40

50

本発明は更に、本発明の誘導体又はその薬学的に許容される塩、アミド、若しくはエステルと、薬学的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物にも関する。そのような組成物は、当技術分野において公知のように調製することができる。

【0152】

用語「賦形剤」は、治療有効成分以外の任意の成分を広く意味する。賦形剤は、不活性物質、非活性物質、及び/又は医薬活性でない物質であり得る。

【0153】

賦形剤は、例えば、担体、ビヒクル、希釈剤、タブレット補助剤として、並びに/又は、活性物質の投与及び/若しくは吸収を向上させるため、様々な目的に役立ち得る。

【0154】

様々な賦形剤による薬学的有効成分の製剤化は、当技術分野において公知であり、例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy(例えば、第19版(1995)、及びその後の任意の版)を参照されたい。

【0155】

賦形剤の非限定的な例は、溶剤、希釈剤、緩衝剤、保存料、張度調整剤、キレート化剤、及び安定化剤である。

【0156】

製剤の例としては、液体製剤、すなわち、水を含む水性製剤が挙げられる。液体製剤は、溶液剤又は懸濁剤であり得る。水性製剤は、典型的には、少なくとも50w/w%水、又は少なくとも60w/w%、70w/w%、80w/w%、更に少なくとも90w/w%の水を含む。

【0157】

或いは、医薬組成物は、固体製剤、例えば、フリーズドライ又はスプレードライされた組成物であり得、これらは、そのまま使用することができ、或いは使用の前に医師若しくは患者がこれに溶剤及び/又は希釈剤を加える。

【0158】

水性製剤のpHは、pH3~pH10の間のいずれか、例えば、約7.0~約9.5、又は約3.0~約7.0であり得る。

【0159】

医薬組成物は、緩衝剤を含み得る。緩衝剤は、例えば、酢酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、クエン酸塩、グリシルグリシン、ヒスチジン、グリシン、リシン、アルギニン、リン酸二水素ナトリウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸ナトリウム、及びトリス(ヒドロキシメチル)-アミノメタン、ピシン、トリシン、リンゴ酸、コハク酸塩、マレイン酸、フマル酸、酒石酸、アスパラギン酸、及びそれらの混合物から選択され得る。

【0160】

医薬組成物は、保存料を含み得る。保存料は、例えば、フェノール、o-クレゾール、m-クレゾール、p-クレゾール、p-ヒドロキシ安息香酸メチル、p-ヒドロキシ安息香酸プロピル、2-フェノキシエタノール、p-ヒドロキシ安息香酸ブチル、2-フェニルエタノール、ベンジルアルコール、クロロブタノール、及びチオメロサール、プロノポール、安息香酸、イミド尿素、クロルヘキシジン、デヒドロ酢酸ナトリウム、クロロクレゾール、p-ヒドロキシ安息香酸エチル、塩化ベンゼトニウム、クロルフェネシン(3p-クロルフェノキシプロパン-1,2-ジオール)、並びにそれらの混合物から選択され得る。保存料は、0.1mg/ml~20mg/mlの濃度において存在し得る。医薬組成物は、等張剤を含み得る。等張剤は、例えば、塩(例えば、塩化ナトリウム)、糖若しくは糖アルコール、アミノ酸(例えば、グリシン、ヒスチジン、アルギニン、リシン、イソロイシン、アスパラギン酸、トリプトファン、トレオニン)、アルジトール[例えば、グリセロール(グリセリン)、1,2-プロパンジオール(プロピレングリコール)、1,3-プロパンジオール、1,3-ブタンジオール]、ポリエチレングリコール(例えば、PEG400)、及びそれらの混合物から選択され得る。任意の糖(単糖、二糖、若しくは多糖等)又は水溶性グルカン(例えば、フルクトース、グルコース、マンノース、ソルボース、キシロース、マルトース、ラクトース、スクロース、トレハロース、デキストラン、プルラン、デキストリン、シクロデキストリン、及び-HPCD、可溶性

10

20

30

40

50

デンプン、ヒドロキシエチルデンプン、並びにカルボキシメチルセルロース-Naを含む)が使用され得る。糖アルコールは、少なくとも1つの-OH基を有するC4~C8炭化水素として定義され、例えば、マンニトール、ソルビトール、イノシトール、ガラクトース、ズルシトール、キシリトール、及びアラビトールが挙げられる。一実施形態として、糖アルコール添加剤はマンニトールである。

【0161】

医薬組成物はキレート化剤を含み得る。キレート化剤は、例えば、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、クエン酸、及びアスパラギン酸の塩、並びにそれらの混合物から選択され得る。

【0162】

医薬組成物は、安定化剤を含み得る。安定化剤は、例えば、1つ若しくは複数の酸化阻害剤、凝集阻害剤、界面活性剤、及び/又は1つ若しくは複数のプロテアーゼ阻害剤であり得る。これら様々な種類の安定化剤の非限定的な例を、以下に開示する。

【0163】

用語「凝集体形成」は、オリゴマー(これは、可溶性のままであり得る)又は溶液から沈殿する大きな可視的な凝集体の形成を結果として引き起こす、ポリペプチド分子の間の物理的相互作用を意味する。液体医薬組成物の保管の間のポリペプチドによる凝集体形成は、そのポリペプチドの生物活性に悪影響を及ぼし得、結果として、医薬組成物の治療効率の損失を生じる。更に、凝集体形成は、ポリペプチド含有医薬組成物が注入システムを使用して投与される場合、他の問題、例えば、細管、膜、若しくはポンプの阻害、の原因となり得る。

【0164】

医薬組成物は、組成物の保管の際のポリペプチドの凝集体形成を減少させるのに十分な量のアミノ酸塩基を含み得る。用語「アミノ酸塩基」は、1つ又は複数のアミノ酸(メチオニン、ヒスチジン、イミダゾール、アルギニン、リシン、イソロイシン、アスパラギン酸、トリプトファン、トレオニン等)、又はそれらの類似体を意味する。いずれのアミノ酸も、その遊離塩基形態又はその塩形態のいずれかにおいて存在していてもよい。アミノ酸塩基のいずれの立体異性体(すなわち、L、D、又はそれらの混合物)も存在していてもよい。

【0165】

治療剤としての機能を果たすポリペプチドが、メチオニンスルホキシドへのメチオニン残基の酸化に影響を受けやすい少なくとも1つのメチオニン残基を含むポリペプチドの場合、メチオニン(又は他の含硫アミノ酸又はアミノ酸類似体)を加えることによって、そのような酸化を阻害することができる。メチオニンの任意の立体異性体(L若しくはD)又はそれらの組合せを使用することができる。

【0166】

医薬組成物は、高分子量ポリマー又は低分子化合物から選択される安定化剤を含んでもよい。安定化剤は、例えば、ポリエチレングリコール(例えば、PEG3350)、ポリビニルアルコール(PVA)、ポリビニルピロリドン、カルボキシ-/ヒドロキシセルロース又はその誘導体(例えば、HPC、HPC-SL、HPC-L、及びHPMC)、シクロデキストリン、硫黄含有物質(モノチオグリセロール、チオグリコール酸、及び2-メチルチオエタノールとして)、並びに様々な塩(例えば、塩化ナトリウム)から選択することができる。医薬組成物は、追加の安定化剤、例えば、これらに限定されるわけではないが、メチオニン及びEDTA(これらは、メチオニンの酸化からポリペプチドを保護する)、並びに非イオン性界面活性剤(凍結融解又は機械的剪断に関連する凝集からポリペプチドを保護する)等、を含んでもよい。

【0167】

医薬組成物は、1種又は複数の界面活性剤を含んでもよい。用語「界面活性剤」は、水溶性(親水性)部分と脂溶性(親油性)部分とで構成される任意の分子又はイオンを意味する。界面活性剤は、例えば、アニオン性界面活性剤、カチオン性界面活性剤、非イオン

10

20

30

40

50

性界面活性剤、及び/又は両性イオン性界面活性剤から選択することができる。

【0168】

医薬組成物は、1種又は複数のプロテアーゼ阻害剤、例えば、EDTA(エチレンジアミン四酢酸)及び/又はベンズアミジンHCl等を含んでもよい。

【0169】

医薬組成物における追加の任意選択の成分としては、例えば、湿潤剤、乳化剤、酸化防止剤、充填剤、金属イオン、油性ビヒクル、タンパク質(例えば、ヒト血清アルブミン、ゼラチン)、及び/又は両性イオン(例えば、ベタイン、タウリン、アルギニン、グリシン、リシン、及びヒスチジン等のアミノ酸)が挙げられる。

【0170】

なお更に、医薬組成物は、例えば、WO2008/145728に記載の製剤の任意の1つ又は複数を使用して、インスリン分泌性化合物の経口製剤の技術分野において公知のように製剤化することができる。

【0171】

投与用量は、誘導体の0.1mg~100mg、誘導体の1~100mg、又は誘導体の1~50mgを含有し得る。

【0172】

誘導体は、医薬組成物の形態において投与され得る。誘導体は、それを必要とする患者に、いくつかの部位において、例えば、皮膚又は粘膜部位等の局所部位において;動脈、静脈、又は心臓等における吸収を迂回する部位において;並びに皮膚、皮下、筋肉、又は腹部等における吸収に関与する部位において、投与され得る。

【0173】

投与経路は、例えば、舌;舌下;頬側口腔;口腔内;経口;胃内;腸内;経鼻;肺(細気管支、肺胞、又はそれらの組合せ等により);非経口的に、表皮;真皮;経皮;結膜;尿管;膣;直腸;及び/又は眼、であり得る。組成物は、経口組成物であり得、投与経路は経口である。

【0174】

組成物は、例えば、溶液剤;懸濁剤;乳剤;マイクロエマルジョン剤;多相乳剤;フォーム剤;塗擦剤;ペースト剤;硬膏剤;軟膏剤;錠剤;被覆錠剤;チューインガム剤;リンス剤;硬質若しくは軟質ゼラチンカプセル等のカプセル剤;坐剤;直腸用カプセル剤;ドロップ剤;ゲル剤;噴霧剤;散剤;エアロゾル剤;吸入剤;点眼剤;眼軟膏剤;眼用リンス剤;膣用ペッサリー剤;膣用リング;膣用軟膏剤;注射液剤;インサイチュー変換溶液剤(in situ transforming solution)(インサイチューゲル化、凝結、沈殿するもの、及びインサイチュー結晶化するもの等);輸液剤;又はインプラント剤として、いくつかの剤形において投与され得る。

【0175】

組成物は、錠剤、任意選択で被覆されているカプセル剤、又はチューインガム剤であってもよい。

【0176】

組成物は、更に、例えば、安定性、バイオアベイラビリティ、及び/又は溶解性を向上させるために、薬物担体又は薬物送達システム中に調合してもよい。特定の実施形態において、組成物は、共有結合相互作用、疎水的相互作用、及び/又は静電的相互作用により、そのようなシステムに付随させてもよい。そのような調合の目的は、例えば、有害効果を減少させるため、時間療法を達成するため、及び/又は患者コンプライアンスを高めるためであり得る。

【0177】

組成物は、制御放出、持続性放出、遅延性放出、遅延放出及び/又は緩徐放出の薬物送達システムの製剤において使用することもできる。

【0178】

非経口投与は、注射器、任意選択でペン様の注射器を用いて、又は注入ポンプを用いて、皮下注射、筋肉内注射、腹腔内注射、又は静脈内注射により実施することができる。

【0179】

組成物は、溶液剤、懸濁剤、若しくは散剤の形態において経鼻投与してもよく、又は液体若しくは粉末の噴霧剤の形態において経肺投与してもよい。

【0180】

経皮投与は、例えばイオン注入性パッチ剤等のパッチ剤からの、又は、例えば口腔による経粘膜経路を介した、針を用いない注入による、更に他の選択肢である。

【0181】

組成物は、安定化された製剤であり得る。用語「安定化された製剤」は、物理的及び/又は化学的安定性、好ましくはその両方を高めた製剤を意味する。一般的に、製剤は、有効期限に達するまで、(推奨される使用条件及び保管条件に従った)使用及び保管の間は、安定でなくてはならない。

10

【0182】

用語「物理的安定性」は、熱機械的応力、及び/又は、不安定化している界面及び表面(疎水性表面等)との相互作用への曝露の結果として、ポリペプチドが生物学的に非活性な及び/又は不溶性の凝集体を形成する傾向を意味する。水性のポリペプチド製剤の物理的安定性は、様々な温度で様々な期間において機械的/物理的応力(例えば、攪拌)に曝露させた後での目視検査及び/又は濁度測定を用いて評価することができる。或いは、物理的安定性は、ポリペプチドの立体配座状態を分光学的薬剤又はプローブ(例えば、Thioflavin T又は「疎水性パッチ」プローブ等)を用いて評価することができる。

【0183】

用語「化学的安定性」は、完全なポリペプチドと比較して、潜在的に、生物学的な効力が低下し及び/又は免疫原性効果が向上した化学分解産物の形成を引き起こす、ポリペプチド構造における化学的(とりわけ共有結合性の)変化を意味する。化学的安定性は、例えば、SEC-HPLC及び/又はRP-HPLCにより、様々な環境条件への曝露後の多様な時点で化学分解産物の量を測定することにより評価することができる。

20

【0184】

本発明による誘導体を用いた処置は、例えば、抗糖尿病剤、抗肥満剤、食欲調節剤、血圧降下剤、糖尿病が原因の若しくは糖尿病に関連する合併症の処置及び/又は予防のための薬剤、並びに肥満が原因の若しくは肥満に関連する合併症及び障害の処置及び/又は予防のための薬剤から選択される、1種又は複数の追加の薬理活性物質と組み合わせることもできる。これらの薬理活性物質の例は:インスリン、スルホニル尿素、ビッグアニド、メグリチニド、グルコシダーゼ阻害剤、グルカゴンアゴニスト、グルカゴンアンタゴニスト、DPP-IV(ジペプチジルペプチダーゼ-IV)阻害剤、糖新生及び/又はグリコーゲン分解の刺激に関与する肝酵素の阻害剤、グルコース取り込み調節薬、脂質代謝を変更する化合物(例えば、HMG CoA阻害剤(スタチン)のような抗高脂血症剤)、胃抑制ポリペプチド(GIP類似体)、食物摂取量を減少させる化合物、RXRアゴニスト、及び細胞のATP依存性カリウムチャンネルに作用する薬剤;コレステラミン、コレステロール、クロフィブレート、ゲムフィブロジル、ロバスタチン、プラバスタチン、シンバスタチン、プロブコール、デキストロチロキシニン、ナテグリニド、レパグリニド; -遮断薬(アルプレノロール、アテノロール、チモロール、ピンドロール、プロプラノロール、及びメトプロロール等)、ACE(アンギオテンシン変換酵素)阻害剤(ベナゼプリル、カプトプリル、エナラプリル、フォシノプリル、リシノプリル、アラトリオプリル、キナプリル、及びラミプリル等)、カルシウムチャンネル遮断薬(ニフェジピン、フェロジピン、ニカルジピン、イスラジピン、ニモジピン、ジルチアゼム、及びベラパミル等)、並びに -遮断薬(ドキサゾシン、ウラピジル、プラゾシン、及びテラゾシン等);CART(コカインアンフェタミン調節転写産物)アゴニスト、NPY(ニューロペプチドY)アンタゴニスト、PYYアゴニスト、Y2受容体アゴニスト、Y4受容体アゴニスト、混合型Y2/Y4受容体アゴニスト、MC4(メラノコルチン4)アゴニスト、オレキシンアンタゴニスト、TNF(腫瘍壊死因子)アゴニスト、CRF(コルチコトロピン放出因子)アゴニスト、CRF BP(コルチコトロピン放出因子結合タンパク質)アンタゴニスト、ウロコルチンアゴニスト、 β 3アゴニスト、オキシントモジュリン及び類似体、M SH(メラニン細胞刺激ホルモン)アゴニスト、MCH(メラニン細胞濃縮ホルモン)アンタゴニ

30

40

50

スト、CCK(コレシストキニン)アゴニスト、セロトニン再取り込み阻害剤、セロトニン及びノルアドレナリン再取り込み阻害剤、混合型のセロトニン及びノルアドレナリン作動性化合物、5HT(セロトニン)アゴニスト、ボンベシンアゴニスト、線維芽細胞成長因子21(FGF-21)、ガラニンアンタゴニスト、成長ホルモン、成長ホルモン放出化合物、TRH(チロトロピン放出ホルモン)アゴニスト、UCP2若しくは3(脱共役タンパク質2又は3)調節薬、レプチンアゴニスト、DAアゴニスト(プロモクリプチン、ドプレキシン(doprexin))、リパーゼ/アミラーゼ阻害剤、RXR(レチノイドX受容体)調節薬、TR_αアゴニスト;ヒスタミンH3アンタゴニスト、胃抑制ポリペプチドアゴニスト若しくはアンタゴニスト(GIP類似体)、ガストリン及びガストリン類似体である。

【0185】

10

本発明による誘導体を用いた処置は、血糖値及び/又は脂質ホメオスタシスに影響する外科手術(胃バンディング術又は胃バイパス術等)と組み合わせることもできる。

【0186】

医薬的適応症

本発明は、医薬として使用するための本発明の誘導体にも関する。

【0187】

特定の実施形態において、本発明の誘導体は、以下の医学的処置:

(i) 糖尿病の全ての形態、例えば、高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、インスリン非依存性糖尿病、MODY(若年発症成人型糖尿病)、妊娠糖尿病の予防及び/若しくは処置、並びに/又はHbA1Cの軽減;

20

(ii) 糖尿病疾患の進行、例えば、2型糖尿病の進行の遅延若しくは予防、耐糖能障害(IGT)からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延、インスリン耐性の遅延若しくは予防、及び/又はインスリン非要求性2型糖尿病からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延;

(iii) -細胞機能の向上、例えば、 -細胞アポトーシスの減少、 -細胞機能及び/若しくは -細胞量の増加、並びに/又は -細胞に対するグルコース感受性の回復;

(iv) 認知障害及び/又は神経変性障害、例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、及び/又は多発性硬化症の予防及び/又は処置;

(v) 例えば、食物摂取量を減らすこと、体重を減らすこと、食欲を抑制すること、満腹感を誘起することによる肥満等の摂食障害の予防及び/若しくは処置;むちゃ食い障害、神経性大食症、及び/若しくは抗精神病薬若しくはステロイドの投与によって誘発された肥満の処置若しくは予防;胃運動性の減少;胃排出の遅延;身体的運動性の増加;並びに/又は肥満に対する併存症、例えば、骨関節炎及び/若しくは尿失禁の予防及び/若しくは処置;

30

(vi) 糖尿病性合併症、例えば、血管障害;末梢神経障害を含む神経障害;腎障害;及び/又は網膜障害の予防及び/又は処置;

(vii) 脂質パラメータの改善、例えば、異脂肪血症の予防及び/又は処置、総血清脂質の低下;HDLの増加;小粒子高密度LDLの低下;VLDLの低下;トリグリセリドの低下;コレステロールの低下;ヒトにおけるリポタンパク質a(Lp(a))の血漿レベルの低下;インビトロ及び/又はインビボでのアポリポタンパク質a(apo(a))の発生の阻害;

(viii) 心臓血管疾患、例えば、X症候群、アテローム性動脈硬化症、心筋梗塞、冠状動脈心疾患、再灌流損傷、卒中、脳虚血、早期心臓疾患若しくは早期心臓血管疾患、左室肥大、冠状動脈疾患、高血圧、本態性高血圧症、急性高血圧性緊急症、心筋障害、心不全、運動不耐性、急性及び/若しくは慢性心不全、不整脈、心律動異常、失神、狭心症、心臓バイパス及び/若しくはステント再閉塞、間欠性跛行(閉塞性動脈硬化症)、拡張機能障害、及び/若しくは収縮機能障害の予防及び/若しくは処置;並びに/又は血圧の低下、例えば、収縮期血圧の低下;

40

(ix) 胃腸疾患、例えば、炎症性腸疾患、短小腸症候群、若しくはクローン病若しくは大腸炎;消化不良、及び/若しくは胃潰瘍;並びに/又は炎症、例えば、乾癬、乾癬性関節炎、リウマチ性関節炎、及び/若しくは全身性エリテマトーデスの予防及び/若しくは処置;

(x) 重症疾患の予防及び/若しくは処置、例えば、重症患者、重症疾患ポリ腎症(CIPNP)

50

患者、及び/若しくは潜在的CIPNP患者の処置;重症疾患若しくはCIPNPの発症の予防;患者における全身性炎症応答症候群(SIRS)の予防、処置、及び/若しくは治療;入院中の菌血症、敗血症、及び/若しくは敗血症性ショックを罹っている患者の可能性の予防若しくは軽減;並びに/又は血糖、インスリンバランス、及び任意選択で集中治療室の急性疾患患者における代謝の安定化;

(xi)多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の予防及び/又は処置;

(xii)脳疾患、例えば、脳虚血、脳出血、及び/又は脳外傷の予防及び/又は処置;

(xiii)睡眠時無呼吸の予防及び/又は処置;並びに/或いは

(xiv)乱用、例えば、アルコール乱用及び/又は薬物乱用の予防及び/又は処置

のために使用することができる。

10

【0188】

特定の実施形態において、適応症は、(i)~(xiv)からなる群より選択され、例えば、適応症(i)~(viii)、(x)~(xiii)、及び/又は(xiv)であり、いずれも糖尿病に関連する。

【0189】

別の特定の実施形態において、適応症は、(i)~(iii)及び(v)~(viii)からなる群より選択され、例えば、適応症(i)、(ii)、及び/又は(iii)であり;或いは適応症(v)、適応症(vi)、適応症(vii)、及び/又は適応症(viii)である。

【0190】

更に他の特定の実施形態において、適応症は(i)である。更なる特定の実施形態において、適応症は(v)である。更に他の特定の実施形態において、適応症は(viii)である。

20

【0191】

以下の適応症:2型糖尿病及び/又は肥満が特に好ましい。

【0192】

特定の実施形態

以下は、本発明の特定の実施形態である。

【0193】

1.GLP-1ペプチドの誘導体であって、

GLP-1ペプチドは、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置(18、22、30)、(18、26、37)、(18、27、37)、(26、30、37)、又は(27、30、37)に対応する位置に第1、第2、及び第3のK残基を含み、GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、最大で7のアミノ酸変化を有するペプチドであり、

30

誘導体は、

式Chem.1、Chem.1a、及びChem.2:

Chem.1:H₂N-(CH₂)₁₆-CO-*

Chem.1a:H₂N-(CH₂)₁₈-CO-*, 及び

Chem.2:HO₂S-(CH₂)₁₅-CO-*

から選択される第1、第2、及び第3の延長部分と、

それぞれが*-CO基及び*-NH基を含む、第1、第2、及び第3のリンカーとを含む、

各延長部分は、その*-CO末端において、それぞれのリンカーの*-NH末端に結合しており、各リンカーが、その*-CO末端において、GLP-1ペプチドのそれぞれのK残基のアミノ基に結合している、

40

誘導体、又はその薬学的に許容される塩、アミド、若しくはエステル。

【0194】

2.第1、第2、及び第3のK残基が、それぞれ、K1、K2、及びK3と称される、実施形態1に記載の誘導体。

【0195】

3.第1のK残基(K1)が、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置p1に対応する位置にあり、第2のK残基(K2)が、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置p2に対応する位置にあり、第3のK残基(K3)が、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置p3に対応する位置にある、実施形態1又は2に記載の

50

誘導体。

【0196】

4. p1、p2、及びp3が、以下のGLP-1(7~37)(配列番号1)の位置のセット:(18、22、30)、(18、26、37)、(18、27、37)、(26、30、37)、及び(27、30、37)から選択される、実施形態3に記載の誘導体。

【0197】

5. 第1、第2、及び第3の延長部分が、それぞれ、Pr1、Pr2、及びPr3と称される、実施形態1~4のいずれか1つに記載の誘導体。

【0198】

6. 第1、第2、及び第3のリンカーが、それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3と称される、実施形態1~5のいずれか1つに記載の誘導体。

10

【0199】

7. 第1の延長部分(Pr1)が、その*-CO基において、第1のリンカー(Ln1)の*-NH基に結合しており、リンカーは、その*-CO基において、第1のK残基(K1)のアミノ基に結合しており;第2の延長部分(Pr2)が、その*-CO基において、第2のリンカー(Ln2)の*-NH基に結合しており、リンカーは、その*-CO基において、第2のK残基(K2)のアミノ基に結合しており;第3の延長部分(Pr3)が、その*-CO基において、第3のリンカー(Ln3)の*-NH基に結合しており、リンカーは、その*-CO基において、第3のK残基(K3)のアミノ基に結合している、実施形態1~6のいずれか1つに記載の誘導体。

20

【0200】

8. GLP-1ペプチドの誘導体であって、
GLP-1ペプチドは、それぞれ、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置(p1、p2、p3)に対応する位置(p)に、第1のK残基(K1)、第2のK残基(K2)、及び第3のK残基(K3)を含み(ここで、(p1、p2、p3)は、(18、22、30)、(18、26、37)、(18、27、37)、(26、30、37)、及び(27、30、37)から選択される)、

GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、最大で7のアミノ酸変化を有するペプチドであり、

誘導体は、それぞれが式Chem.1、Chem.1a、及びChem.2:

Chem.1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{16}-\text{CO}-^*$ 、

Chem.1a: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{18}-\text{CO}-^*$ 、及び

Chem.2: $\text{HO}_3\text{S}-(\text{CH}_2)_{15}-\text{CO}-^*$

30

から選択される、第1の延長部分(Pr1)、第2の延長部分(Pr2)、及び第3の延長部分(Pr3)と、

それぞれが*-CO基及び*-NH基を含む、第1のリンカー(Ln1)、第2のリンカー(Ln2)、及び第3のリンカー(Ln3)と

を含み、

ここで、

Pr1は、その*-CO基において、Ln1の*-NH基に結合しており、Ln1は、その*-CO基において、K1のアミノ基に結合しており、

Pr2は、その*-CO基において、Ln2の*-NH基に結合しており、Ln2は、その*-CO基において、K2のアミノ基に結合しており、

40

Pr3は、その*-CO基において、Ln3の*-NH基に結合しており、Ln3は、その*-CO基において、K3のアミノ基に結合している、

誘導体、又はその薬学的に許容される塩、アミド、若しくはエステル。

【0201】

9. 第1、第2、及び第3のK残基(K1、K2、K3)が、それぞれ、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置(18、22、30)に対応する位置(p1、p2、p3)にある、実施形態1~8のいずれか1つに記載の誘導体。

【0202】

10. 第1、第2、及び第3のK残基(K1、K2、K3)が、それぞれ、GLP-1(7~37)(配列番号1)の

50

位置(18、26、37)に対応する位置(p1、p2、p3)にある、実施形態1～8のいずれか1つに記載の誘導体。

【0203】

11. 第1、第2、及び第3のK残基(K1、K2、K3)が、それぞれ、GLP-1(7～37)(配列番号1)の位置(18、27、37)に対応する位置(p1、p2、p3)にある、実施形態1～8のいずれか1つに記載の誘導体。

【0204】

12. 第1、第2、及び第3のK残基(K1、K2、K3)が、それぞれ、GLP-1(7～37)(配列番号1)の位置(26、30、37)に対応する位置(p1、p2、p3)にある、実施形態1～8のいずれか1つに記載の誘導体。

【0205】

13. 第1、第2、及び第3のK残基(K1、K2、K3)が、それぞれ、GLP-1(7～37)(配列番号1)の位置(27、30、37)に対応する位置(p1、p2、p3)にある、実施形態1～8のいずれか1つに記載の誘導体。

【0206】

14. 第1、第2、及び第3の延長部分(それぞれ、Pr1、Pr2、及びPr3)のそれぞれが、式Chem.1の延長部分である、実施形態1～13のいずれか1つに記載の誘導体。

【0207】

15. 第1、第2、及び第3の延長部分(それぞれ、Pr1、Pr2、及びPr3)のそれぞれが、式Chem.1aの延長部分である、実施形態1～13のいずれか1つに記載の誘導体。

【0208】

16. 第1、第2、及び第3の延長部分(それぞれ、Pr1、Pr2、及びPr3)のそれぞれが、式Chem.2の延長部分である、実施形態1～13のいずれか1つに記載の誘導体。

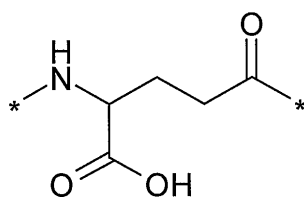
【0209】

17. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.3:

Chem.3:

【0210】

【化7】



【0211】

の要素_1を含む、実施形態1～16のいずれか1つに記載の誘導体。

【0212】

18. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.3の1つの要素_1を組み込む、実施形態1～17のいずれか1つに記載の誘導体。

【0213】

19. Chem.3がgGlu残基を表す、実施形態1～18に記載の誘導体。

【0214】

20. 要素_1がL-gGlu残基である、実施形態1～19のいずれか1つに記載の誘導体。

【0215】

21. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.4:

Chem.4:

【0216】

10

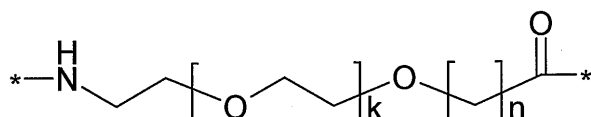
20

30

40

50

【化 8】



【 0 2 1 7 】

の要素_2を含み、ここで、kは、1～5の範囲の整数であり、nは、1～5の範囲の整数である、実施形態1～20のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 1 8 】

10

22. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.4の少なくとも1つの要素_2を含む、実施形態1～21のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 1 9 】

23. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.4の少なくとも2つの要素_2を含む、実施形態1～22のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 2 0 】

24. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.4の少なくとも4つの要素_2を含む、実施形態1～23のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 2 1 】

25. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.4の少なくとも5つの要素_2を含む、実施形態1～24のいずれか1つに記載の誘導体。

20

【 0 2 2 2 】

26. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.4の2つの要素_2を含む、実施形態1～25のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 2 3 】

27. 第1、第2、及び第3のリンカーのそれぞれが、式Chem.4の2つの要素_2を組み込む、実施形態1～26のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 2 4 】

28. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.4の4つの要素_2を含む、実施形態1～27のいずれか1つに記載の誘導体。

30

【 0 2 2 5 】

29. 第1、第2、及び第3のリンカーのそれぞれが、式Chem.4の4つの要素_2を組み込む、実施形態15～18のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 2 6 】

30. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.4の5つの要素_2を含む、実施形態15～17のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 2 7 】

31. 第1、第2、及び第3のリンカーのそれぞれが、式Chem.4の5つの要素_2を組み込む、実施形態15～18のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 2 8 】

40

32. k=1かつn=1である、実施形態1～31のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 2 9 】

33. Chem.4がOEGを表す、実施形態1～32のいずれか1つに記載の誘導体。

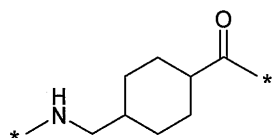
【 0 2 3 0 】

34. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.5:

Chem.5:

【 0 2 3 1 】

【化 9】



【 0 2 3 2 】

の要素_3を含む、実施形態1～21のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 3 3 】

35. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.5の1つの要素_3を組み込む、実施形態1～34のいずれか1つに記載の誘導体。 10

【 0 2 3 4 】

36. Chem.5がTrxを表す、実施形態1～35に記載の誘導体。

【 0 2 3 5 】

37. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.6:

Chem.6: $^*\text{-NH-(CH}_2\text{)}_q\text{-CH[(CH}_2\text{)}_w\text{-NH}_2\text{]-CO-}^*$

の要素_4を含み、ここで、qは、0～5の範囲の整数であり、wは、0～5の範囲の整数であり、ただし、wが0の場合、qは1～5の範囲の整数であり、qが0の場合、wは1～5の範囲の整数である、実施形態1～36のいずれか1つに記載の誘導体。 20

【 0 2 3 6 】

38. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.6の少なくとも1つの要素_4を含む、実施形態1～37のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 3 7 】

39. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.6の少なくとも2つの要素_4を含む、実施形態1～38のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 3 8 】

40. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.6の2つの要素_4を含む、実施形態1～39のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 3 9 】

41. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.6の2つの要素_4を組み込む、実施形態1～40のいずれか1つに記載の誘導体。 30

【 0 2 4 0 】

42. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.6の3つの要素_4を含む、実施形態1～41のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 4 1 】

43. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.6の3つの要素_4を組み込む、実施形態1～42のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 4 2 】

44. qが4でありかつwが0である、実施形態1～43のいずれか1つに記載の誘導体。 40

【 0 2 4 3 】

45. wが4でありかつqが0である、実施形態1～43のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 4 4 】

46. Chem.6がeps-Lys残基を表す、実施形態1～45のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 4 5 】

47. 要素_4がL-eps-Lys残基である、実施形態1～46のいずれか1つに記載の誘導体。

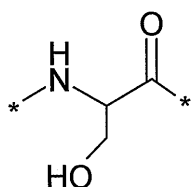
【 0 2 4 6 】

48. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.7:

Chem.7:

【 0 2 4 7 】

【 化 1 0 】



【 0 2 4 8 】

の要素_5を含む、実施形態1～47のいずれか1つに記載の誘導体。

10

【 0 2 4 9 】

49. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.7の少なくとも1つの要素_5を含む、実施形態1～48のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 5 0 】

50. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.7の少なくとも5つの要素_5を含む、実施形態1～49のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 5 1 】

51. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.7の5つの要素_5を含む、実施形態1～50のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 5 2 】

20

52. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.7の6つの要素_5を含む、実施形態1～51のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 5 3 】

53. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.7の5つの要素_5を組み込む、実施形態1～52のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 5 4 】

54. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.7の6つの要素_5を組み込む、実施形態1～53のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 5 5 】

55. 要素_5がSer残基である、実施形態1～54のいずれか1つに記載の誘導体。

30

【 0 2 5 6 】

56. 要素_5がL-Ser残基である、実施形態1～55のいずれか1つに記載の誘導体。

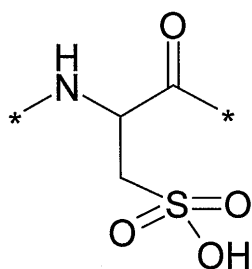
【 0 2 5 7 】

57. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.8:

Chem.8:

【 0 2 5 8 】

【 化 1 1 】



40

【 0 2 5 9 】

の要素_6を含む、実施形態1～56のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 6 0 】

50

58. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.8の1つの要素_6を組み込む、実施形態1～57のいずれか1つに記載の誘導体。

【0261】

59. Chem.8がシステイン酸残基を表す、実施形態1～58のいずれか1つに記載の誘導体。

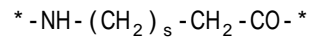
【0262】

60. 要素_6がL-システイン酸である、実施形態1～59のいずれか1つに記載の誘導体。

【0263】

61. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.9:

Chem.9:



の要素_7を含み、ここで、sは、2～4の範囲の整数である、実施形態1～59のいずれか1つに記載の誘導体。

【0264】

62. Chem.9において、 $^*-(\text{CH}_2)_s-^*$ が直鎖状又は分岐鎖状のアルキレンを表す、実施形態1～61のいずれか1つに記載の誘導体。

【0265】

63. Chem.9において、 $^*-(\text{CH}_2)_s-^*$ が直鎖状のアルキレンを表す、実施形態1～62のいずれか1つに記載の誘導体。

【0266】

64. sが2である、実施形態1～63のいずれか1つに記載の誘導体。

【0267】

65. Chem.9が4-アミノブタン酸(Abu)を表す、実施形態1～64のいずれか1つに記載の誘導体。

【0268】

66. sが4である、実施形態1～64のいずれか1つに記載の誘導体。

【0269】

67. Chem.9が6-アミノヘキサン酸(Ahx)を表す、実施形態1～66のいずれか1つに記載の誘導体。

【0270】

68. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.5の1つの要素_3、式Chem.3の1つの要素_1、及び式Chem.4の2つの要素_2からなる(ここで、k=1かつn=1である)、実施形態1～67のいずれか1つに記載の誘導体。

【0271】

69. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.8の1つの要素_6及び式Chem.4の2つの要素_2(ここで、k=1かつn=1である)からなる、実施形態1～68のいずれか1つに記載の誘導体。

【0272】

70. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.3の1つの要素_1、式Chem.7の5つの要素_5、及び式Chem.6の1つの要素_4からなる{ここで、q=4かつw=0(又はw=4かつq=0)である}、実施形態1～69のいずれか1つに記載の誘導体。

【0273】

71. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.5の1つの要素_3、式Chem.8の1つの要素_6、及び式Chem.4の2つの要素_2(ここで、k=1かつn=1である)からなる、実施形態1～70のいずれか1つに記載の誘導体。

【0274】

10

20

30

40

50

72. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.3の1つの要素_1及び式Chem.4の2つの要素_2(ここで、 $k=1$ かつ $n=1$ である)からなる、実施形態1~71のいずれか1つに記載の誘導体。

【0275】

73. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.3の1つの要素_1、式Chem.4の2つの要素_2(ここで、 $k=1$ かつ $n=1$ である)、及び式Chem.6の1つの要素_4{ここで、 $q=4$ かつ $w=0$ (又は $w=4$ かつ $q=0$)である}からなる、実施形態1~72のいずれか1つに記載の誘導体。

【0276】

74. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.4の1つの要素_2(ここで、 $k=1$ かつ $n=1$ である)、式Chem.3の1つの要素_1、及び式Chem.4の1つの要素_2(ここで、 $k=1$ かつ $n=1$ である)からなる、実施形態1~73のいずれか1つに記載の誘導体。

【0277】

75. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.3の1つの要素_1及び式Chem.7の6つの要素_5からなる、実施形態1~74のいずれか1つに記載の誘導体。

【0278】

76. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.8の1つの要素_6、式Chem.4の2つの要素_2(ここで、 $k=1$ かつ $n=1$ である)、及び式Chem.6の1つの要素_4{ここで、 $q=4$ かつ $w=0$ (又は $w=4$ かつ $q=0$)である}からなる、実施形態1~75のいずれか1つに記載の誘導体。

【0279】

77. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.6の1つの要素_4{ここで、 $q=4$ かつ $w=0$ (又は $w=4$ かつ $q=0$)である}及び式Chem.4の2つの要素_2(ここで、 $k=1$ かつ $n=1$ である)からなる、実施形態1~76のいずれか1つに記載の誘導体。

【0280】

78. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.6の2つの要素_4{ここで、 $q=4$ かつ $w=0$ (又は $w=4$ かつ $q=0$)である}及び式Chem.4の2つの要素_2(ここで、 $k=1$ かつ $n=1$ である)からなる、実施形態1~77のいずれか1つに記載の誘導体。

【0281】

79. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.6の2つの要素_4{ここで、 $q=4$ かつ $w=0$ (又は $w=4$ かつ $q=0$)である}及び式Chem.4の5つの要素_2(ここで、 $k=1$ かつ $n=1$ である)からなる、実施形態1~78のいずれか1つに記載の誘導体。

【0282】

80. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.6の3つの要素_4{ここで、 $q=4$ かつ $w=0$ (又は $w=4$ かつ $q=0$)である}及び式Chem.4の5つの要素_2(ここで、 $k=1$ かつ $n=1$ である)からなる、実施形態1~79のいずれか1つに記載の誘導体。

【0283】

81. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.9の1つの要素_7(ここで、 $s=2$ である)、式Chem.6の2つの要素_4{ここで、 $q=4$ かつ $w=0$ (又は $w=4$ かつ $q=0$)である}、及び式Chem.4の4つの要素_2(ここで、 $k=1$ かつ $n=1$ である)からなる、実施形態1~80のいずれか1つに記載の誘導体。

【0284】

10

20

30

40

50

82. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.9の1つの要素₇(ここで、s=4である)、式Chem.6の2つの要素₄{ここで、q=4かつw=0(又はw=4かつq=0)である}、及び式Chem.4の4つの要素₂(ここで、k=1かつn=1である)からなる、実施形態1~81のいずれか1つに記載の誘導体。

【0285】

83. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.9の1つの要素₇(ここで、s=4である)、式Chem.6の2つの要素₄{ここで、q=4かつw=0(又はw=4かつq=0)である}、及び式Chem.4の5つの要素₂(ここで、k=1かつn=1である)からなる、実施形態1~82のいずれか1つに記載の誘導体。

10

【0286】

84. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して組み込まれた、式Chem.9の1つの要素₇(ここで、s=2である)、式Chem.6の2つの要素₄{ここで、q=4かつw=0(又はw=4かつq=0)である}、及び式Chem.4の5つの要素₂(ここで、k=1かつn=1である)からなる、実施形態1~83のいずれか1つに記載の誘導体。

【0287】

85. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、最大で7のアミノ酸変化を有する、実施形態1~84のいずれか1つに記載の誘導体。

20

【0288】

86. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、最大で6のアミノ酸変化を有する、実施形態1~85のいずれか1つに記載の誘導体。

【0289】

87. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、最大で5のアミノ酸変化を有する、実施形態1~86のいずれか1つに記載の誘導体。

【0290】

88. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、最大で4のアミノ酸変化を有する、実施形態1~87のいずれか1つに記載の誘導体。

【0291】

30

89. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、最少で2のアミノ酸変化を有する、実施形態1~88のいずれか1つに記載の誘導体。

【0292】

90. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、最少で3のアミノ酸変化を有する、実施形態1~89のいずれか1つに記載の誘導体。

【0293】

91. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、最少で4のアミノ酸変化を有する、実施形態1~90のいずれか1つに記載の誘導体。

【0294】

92. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、最少で5のアミノ酸変化を有する、実施形態1~91のいずれか1つに記載の誘導体。

40

【0295】

93. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、最少で6のアミノ酸変化を有する、実施形態1~92のいずれか1つに記載の誘導体。

【0296】

94. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、最少で7のアミノ酸変化を有する、実施形態1~93のいずれか1つに記載の誘導体。

【0297】

95. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、4のアミノ酸変化を有する、実施形態1~94のいずれか1つに記載の誘導体。

50

【 0 2 9 8 】

96.GLP-1ペプチドが、GLP-1(7～37)(配列番号1)と比較した場合、5のアミノ酸変化を有する、実施形態1～95のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 2 9 9 】

97.GLP-1ペプチドが、GLP-1(7～37)(配列番号1)と比較した場合、6のアミノ酸変化を有する、実施形態1～96のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 0 0 】

98.GLP-1ペプチドが、GLP-1(7～37)(配列番号1)と比較した場合、7のアミノ酸変化を有する、実施形態1～97のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 0 1 】

99.GLP-1ペプチドが少なくとも3つのLys残基を含む、実施形態1～98のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 0 2 】

100.GLP-1ペプチドが3つのLys残基を含む、実施形態1～99のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 0 3 】

101.GLP-1ペプチドが3つのLys残基を有する、実施形態1～100のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 0 4 】

102.GLP-1ペプチドがLys残基を3つだけ有する、実施形態1～101のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 0 5 】

103.GLP-1ペプチドが、一般式I:

式I:

Xaa₇-Xaa₈-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇

、

[式中、
Xaa₇は、L-ヒスチジン、(S)-2-ヒドロキシ-3-(1H-イミダゾール-4-イル)-プロピオン酸、D-ヒスチジン、デスアミノ-ヒスチジン、ホモヒスチジン、N -アセチル-ヒスチジン、N -ホルミル-ヒスチジン、N -メチル-ヒスチジン、3-ピリジルアラニン、2-ピリジルアラニン、又は4-ピリジルアラニンであり；

Xaa₈は、Ala、Gly、Ser、Aib、(1-アミノシクロプロピル)カルボン酸、又は(1-アミノシクロブチル)カルボン酸であり；

Xaa₁₂は、Phe又はLeuであり；

Xaa₁₆は、Val又はLeuであり；

Xaa₁₈は、Ser、Arg、Lys、Val、又はLeuであり；

Xaa₁₉は、Tyr又はGlnであり；

Xaa₂₀は、Leu又はMetであり；

Xaa₂₂は、Gly、Lys、又はGluであり；

Xaa₂₃は、Gln、Glu、Lys、又はArgであり；

Xaa₂₅は、Ala又はValであり；

Xaa₂₆は、Arg又はLysであり；

Xaa₂₇は、Glu、Lys、又はLeuであり；

Xaa₃₀は、Ala、Glu、又はLysであり；

Xaa₃₁は、Trp又はHisであり；

Xaa₃₃は、Val、Lys、又はArgであり；

Xaa₃₄は、Lys、Arg、His、Asn、又はGlnであり；

Xaa₃₅は、Gly又はAlaであり；

Xaa₃₆は、Arg又はGlyであり；

10

20

30

40

50

Xaa₃₇は、Gly、Pro、又はLysである]を有する、実施形態1～102のいずれか1つに記載の誘導体。

【0306】

104. 式Iにおいて、Xaa₇が、L-ヒスチジン、(S)-2-ヒドロキシ-3-(1H-イミダゾール-4-イル)-プロピオン酸、D-ヒスチジン、デスアミノ-ヒスチジン、N -アセチル-ヒスチジン、N -ホルミル-ヒスチジン、N -メチル-ヒスチジンであり;Xaa₈が、Ala、Gly、Ser、Aib、(1-アミノシクロプロピル)カルボン酸、又は(1-アミノシクロブチル)カルボン酸であり;Xaa₁₂がPheであり;Xaa₁₆が、Val又はLeuであり;Xaa₁₈が、Ser、Arg、Lysであり;Xaa₁₉が、Tyr又はGlnであり;Xaa₂₀が、Leu又はMetであり;Xaa₂₂が、Gly、Lys、又はGluであり;Xaa₂₃が、Gln、Glu、Lys、又はArgであり;Xaa₂₅が、Ala又はValであり;Xaa₂₆が、Arg又はLysであり;Xaa₂₇が、Glu、Lys、又はLeuであり;Xaa₃₀が、Ala、Glu、又はLysであり;Xaa₃₁が、Trp又はHisであり;Xaa₃₃が、Val、Lys、又はArgであり;Xaa₃₄が、Lys、Arg、His、Asn、又はGlnであり;Xaa₃₅がGlyであり;Xaa₃₆が、Arg又はGlyであり;Xaa₃₇が、Gly、Pro、又はLysである、実施形態1～103のいずれか1つに記載の誘導体。

【0307】

105. GLP-1ペプチドが、一般式I:

式I:

Xaa₇-Xaa₈-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇

、
[式中、Xaa₇はL-ヒスチジンであり;Xaa₈はAibであり;Xaa₁₂はPheであり;Xaa₁₆はValであり;Xaa₁₈は、Ser又はLysであり;Xaa₁₉はTyrであり;Xaa₂₀はLeuであり;Xaa₂₂は、Gly、Lys、又はGluであり;Xaa₂₃はGlnであり;Xaa₂₅はAlaであり;Xaa₂₆は、Arg又はLysであり;Xaa₂₇は、Glu又はLysであり;Xaa₃₀は、Ala又はLysであり;Xaa₃₁はTrpであり;Xaa₃₃はValであり;Xaa₃₄はArgであり;Xaa₃₅はGlyであり;Xaa₃₆はArgであり;Xaa₃₇は、Gly又はLysである]を有する、実施形態1～104のいずれか1つに記載の誘導体。

【0308】

106. Xaa₇がHisである、実施形態1～105のいずれか1つに記載の誘導体。

【0309】

107. Xaa₈がAibである、実施形態1～106のいずれか1つに記載の誘導体。

【0310】

108. Xaa₁₂がPheである、実施形態1～107のいずれか1つに記載の誘導体。

【0311】

109. Xaa₁₆がValである、実施形態1～108のいずれか1つに記載の誘導体。

【0312】

110. Xaa₁₈がSerである、実施形態1～109のいずれか1つに記載の誘導体。

【0313】

111. Xaa₁₈がLysである、実施形態1～110のいずれか1つに記載の誘導体。

【0314】

112. Xaa₁₉がTyrである、実施形態1～111のいずれか1つに記載の誘導体。

【0315】

113. Xaa₂₀がLeuである、実施形態1～112のいずれか1つに記載の誘導体。

【0316】

114. Xaa₂₂がGlyである、実施形態1～113のいずれか1つに記載の誘導体。

【0317】

115. Xaa₂₂がGluである、実施形態1～114のいずれか1つに記載の誘導体。

【0318】

116. Xaa₂₂がLysである、実施形態1～115のいずれか1つに記載の誘導体。

【0319】

117. Xaa₂₃がGlnである、実施形態1～116のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 2 0 】

118. Xaa₂₅がAlaである、実施形態1～117のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 2 1 】

119. Xaa₂₆がArgである、実施形態1～118のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 2 2 】

120. Xaa₂₆がLysである、実施形態1～119のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 2 3 】

121. Xaa₂₇がGluである、実施形態1～120のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 2 4 】

122. Xaa₂₇がLysである、実施形態1～121のいずれか1つに記載の誘導体。

10

【 0 3 2 5 】

123. Xaa₃₀がAlaである、実施形態1～122のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 2 6 】

124. Xaa₃₀がLysである、実施形態1～123のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 2 7 】

125. Xaa₃₁がTrpである、実施形態1～124のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 2 8 】

126. Xaa₃₃がValである、実施形態1～125のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 2 9 】

127. Xaa₃₄がArgである、実施形態1～126のいずれか1つに記載の誘導体。

20

【 0 3 3 0 】

128. Xaa₃₅がGlyである、実施形態1～127のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 3 1 】

129. Xaa₃₆がArgである、実施形態1～128のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 3 2 】

130. Xaa₃₇がGlyである、実施形態1～129のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 3 3 】

131. Xaa₃₇がLysである、実施形態1～130のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 3 4 】

132. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7～37)(配列番号1)と比較した場合、以下のアミノ酸変化:vii)(18K、22K、30K);iix)(18K、37K);ix)(18K、27K、37K);x)(27K、30K、37K);又はxi)(30K、37K)を含み;実施形態iix)及びxi)において、GLP-1(7～37)(配列番号1)の位置26に対応する位置のアミノ酸はKである、実施形態1～131のいずれか1つに記載の誘導体。

30

【 0 3 3 5 】

133. GLP-1ペプチドが、GLP-1(7～37)(配列番号1)と比較した場合、以下のアミノ酸変化:i)(8Aib、18K、22K、26R、30K、34R);ii)(8Aib、18K、34R、37K);iii)(8Aib、18K、22E、26R、27K、34R、37K);iv)(8Aib、18K、26R、27K、34R、37K);v)(8Aib、22E、26R、27K、30K、34R、37K);又はvi)(8Aib、22E、30K、34R、37K)を含む、実施形態1～132のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 3 6 】

40

134. GLP-1ペプチドが、以下のGLP-1(7～37)(配列番号1)の類似体:i)(8Aib、18K、22K、26R、30K、34R)(配列番号2);ii)(8Aib、18K、34R、37K)(配列番号3);iii)(8Aib、18K、22E、26R、27K、34R、37K)(配列番号4);iv)(8Aib、18K、26R、27K、34R、37K(配列番号5));v)(8Aib、22E、26R、27K、30K、34R、37K)(配列番号6);及びvi)(8Aib、22E、30K、34R、37K)(配列番号7)から選択される、実施形態1～133のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 3 7 】

135. 酸性塩又は塩基性塩の形態の、実施形態1～134のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 3 8 】

136. 酸性塩の形態の、実施形態1～135のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 3 9 】

50

137. 塩化物塩の形態の、実施形態1～136のいずれか1つに記載の誘導体。
【0340】
138. 酢酸塩の形態の、実施形態1～137のいずれか1つに記載の誘導体。
【0341】
139. 塩基性塩の形態の、実施形態1～138のいずれか1つに記載の誘導体。
【0342】
140. ナトリウム塩又はカリウム塩の形態の、実施形態1～139のいずれか1つに記載の誘導体。
【0343】
141. ナトリウム塩の形態の、実施形態1～140のいずれか1つに記載の誘導体。 10
【0344】
142. カリウム塩の形態の、実施形態1～141のいずれか1つに記載の誘導体。
【0345】
143. GLP-1受容体アゴニストである、実施形態1～142のいずれか1つに記載の誘導体。
【0346】
144. 完全GLP-1受容体アゴニストである、実施形態1～143のいずれか1つに記載の誘導体。
【0347】
145. インビトロにおいて生物学的に活性な、実施形態1～144のいずれか1つに記載の誘導体。 20
【0348】
146. インビトロにおいて強力である、実施形態1～145のいずれか1つに記載の誘導体。
【0349】
147. ヒトGLP-1受容体を活性化することができる、実施形態1～146のいずれか1つに記載の誘導体。
【0350】
148. ヒトGLP-1受容体を発現する全細胞によるアッセイにおいてヒトGLP-1受容体を活性化することができ、アッセイが、HSAの不在下において(0%のHSA)及び/又はHSAの存在下において(1%のHSA)、好ましくはHSAの不在下において、実施される、実施形態1～147のいずれか1つに記載の誘導体。 30
【0351】
149. ヒトGLP-1受容体の応答が、レポーター遺伝子アッセイ(実施例22のアッセイ等)において測定される、実施形態1～148のいずれか1つに記載の誘導体。
【0352】
150. インビトロでの生物活性又は効力が、本質的に実施例22において説明されるように特定される、実施形態1～149のいずれか1つに記載の誘導体。
【0353】
151. 300pM以下の EC_{50} に相当するインビトロでの効力を有する、実施形態1～150のいずれか1つに記載の誘導体。 40
【0354】
152. 200pM以下の EC_{50} に相当するインビトロでの効力を有する、実施形態1～151のいずれか1つに記載の誘導体。
【0355】
153. 120pM以下の EC_{50} に相当するインビトロでの効力を有する、実施形態1～152のいずれか1つに記載の誘導体。
【0356】
154. 75pM以下の EC_{50} に相当するインビトロでの効力を有する、実施形態1～153のいずれか1つに記載の誘導体。
【0357】
155. 40pM以下の EC_{50} に相当するインビトロでの効力を有する、実施形態1～154のいずれ 50

か1つに記載の誘導体。

【0358】

156. 25pM以下のEC₅₀に相当するインビトロでの効力を有する、実施形態1～155のいずれか1つに記載の誘導体。

【0359】

157. 15pM以下のEC₅₀に相当するインビトロでの効力を有する、実施形態1～156のいずれか1つに記載の誘導体。

【0360】

158. EC₅₀が、本質的に実施例22において説明されるように特定される、実施形態1～157のいずれか1つに記載の誘導体。

10

【0361】

159. セマグルチドのEC₅₀の30倍未満のEC₅₀に相当するインビトロでの効力を有し、セマグルチドのEC₅₀が、誘導体のEC₅₀と同じ方法で特定される、実施形態1～158のいずれか1つに記載の誘導体。

【0362】

160. セマグルチドのEC₅₀の20倍未満のEC₅₀に相当するインビトロでの効力を有し、セマグルチドのEC₅₀が、誘導体のEC₅₀と同じ方法で特定される、実施形態1～159のいずれか1つに記載の誘導体。

【0363】

161. セマグルチドのEC₅₀の10倍未満のEC₅₀に相当するインビトロでの効力を有し、セマグルチドのEC₅₀が、誘導体のEC₅₀と同じ方法で特定される、実施形態1～160のいずれか1つに記載の誘導体。

20

【0364】

162. セマグルチドのEC₅₀の7倍未満のEC₅₀に相当するインビトロでの効力を有し、セマグルチドのEC₅₀が、誘導体のEC₅₀と同じ方法で特定される、実施形態1～161のいずれか1つに記載の誘導体。

【0365】

163. セマグルチドのEC₅₀の4倍未満のEC₅₀に相当するインビトロでの効力を有し、セマグルチドのEC₅₀が、誘導体のEC₅₀と同じ方法で特定される、実施形態1～162のいずれか1つに記載の誘導体。

30

【0366】

164. セマグルチドのEC₅₀の2倍未満のEC₅₀に相当するインビトロでの効力を有し、セマグルチドのEC₅₀が、誘導体のEC₅₀と同じ方法で特定される、実施形態1～163のいずれか1つに記載の誘導体。

【0367】

165. EC₅₀が、本質的に実施例22において説明されるように特定される、実施形態1～164のいずれか1つに記載の誘導体。

【0368】

166. GLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～165のいずれか1つに記載の誘導体。

40

【0369】

167. HSAの低濃度において(最大0.001%の最終アッセイ濃度)、GLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～166のいずれか1つに記載の誘導体。

【0370】

168. HSAの高濃度において(2.0%の最終アッセイ濃度)、GLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～167のいずれか1つに記載の誘導体。

【0371】

169. ヒトGLP-1受容体への結合が、競合結合アッセイ(実施例23のアッセイ等)において測定される、実施形態1～168のいずれか1つに記載の誘導体。

【0372】

50

170. インビトロでのヒトGLP-1受容体への結合が、本質的に実施例23に説明されるように特定される、実施形態1～169のいずれか1つに記載の誘導体。

【0373】

171. HSAの低濃度において、15nM以下の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～170のいずれか1つに記載の誘導体。

【0374】

172. HSAの低濃度において、10nM以下の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～171のいずれか1つに記載の誘導体。

【0375】

173. HSAの低濃度において、3.0nM以下の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～172のいずれか1つに記載の誘導体。

10

【0376】

174. HSAの低濃度において、1.4nM以下の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～173のいずれか1つに記載の誘導体。

【0377】

175. HSAの低濃度において、0.50nM以下の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～174のいずれか1つに記載の誘導体。

【0378】

176. HSAの低濃度において、0.30nM以下の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～175のいずれか1つに記載の誘導体。

20

【0379】

177. IC_{50} が、HSAの低濃度、すなわち、最大0.001%のHSA(最終アッセイ濃度)での反応において、本質的に実施例23において説明されるようにして特定される、実施形態1～176のいずれか1つに記載の誘導体。

【0380】

178. HSAの低濃度において、セマグルチドの IC_{50} の20倍未満の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができ、セマグルチドの IC_{50} が、誘導体の IC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～177のいずれか1つに記載の誘導体。

【0381】

179. HSAの低濃度において、セマグルチドの IC_{50} の10倍未満の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができ、セマグルチドの IC_{50} が、誘導体の IC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～178のいずれか1つに記載の誘導体。

30

【0382】

180. HSAの低濃度において、セマグルチドの IC_{50} の1.5倍未満の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができ、セマグルチドの IC_{50} が、誘導体の IC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～179のいずれか1つに記載の誘導体。

【0383】

181. HSAの低濃度において、セマグルチドの IC_{50} の0.7倍未満の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができ、セマグルチドの IC_{50} が、誘導体の IC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～180のいずれか1つに記載の誘導体。

40

【0384】

182. IC_{50} が、HSAの低濃度、すなわち、最大0.001%のHSA(最終アッセイ濃度)での反応において、本質的に実施例23において説明されるようにして特定される、実施形態1～181のいずれか1つに記載の誘導体。

【0385】

183. 2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)において、800nM以下の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～182のいずれか1つに記載の誘導体。

【0386】

184. 2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)において、500nM以下の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～183のいずれか1つに記載の誘導体。

50

【 0 3 8 7 】

185. 2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)において、250nM以下の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～184のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 8 8 】

186. 2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)において、100nM以下の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～185のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 8 9 】

187. IC_{50} が、2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)での反応において、本質的に実施例23において説明されるようにして特定される、実施形態1～186のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 9 0 】

188. 2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)において、セマグルチドの IC_{50} の8倍未満の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができ、セマグルチドの IC_{50} が、誘導体の IC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～187のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 9 1 】

189. 2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)において、セマグルチドの IC_{50} の2.5倍未満の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができ、セマグルチドの IC_{50} が、誘導体の IC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～188のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 9 2 】

190. 2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)において、セマグルチドの IC_{50} の1倍未満の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができ、セマグルチドの IC_{50} が、誘導体の IC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～187のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 9 3 】

191. 2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)において、セマグルチドの IC_{50} の0.4倍未満の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができ、セマグルチドの IC_{50} が、誘導体の IC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～186のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 9 4 】

192. IC_{50} が、2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)での反応において、本質的に実施例23において説明されるようにして特定される、実施形態1～187のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 9 5 】

193. 向上した薬物動態学的特性を有する、実施形態1～192のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 9 6 】

194. 増加した半減期及び/又は減少したクリアランスを有する、実施形態1～193のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 9 7 】

195. 月1回投与にとって好適である、実施形態1～194のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 9 8 】

196. s.c.投与のための、実施形態1～195のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 3 9 9 】

197. 薬物動態学的(PK)研究において、インビボで試験される、実施形態1～196のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 4 0 0 】

198. 任意の好適な動物モデル(マウス、ラット、サル、イヌ、又はブタ等)において試験される、実施形態1～197のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 4 0 1 】

199. セマグルチドと比較される、実施形態1～198のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 4 0 2 】

200. セマグルチドと比較したときに、ミニブタにおいて、i.v.投与後の向上したインビボでの終末相半減期($T^{1/2}$)を有する、実施形態1～199のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 4 0 3 】

10

20

30

40

50

201. 終末相半減期が、任意の好適な研究プロトコル(実施例24において説明されるもの等)を使用して、ミニブタにおいてi.v.投与後にインピボで特定される、実施形態1~200のいずれか1つに記載の誘導体。

【0404】

202. 終末相半減期が、本質的に実施例24に説明されるように、ミニブタにおいてi.v.投与後にインピボで特定される、実施形態1~201のいずれか1つに記載の誘導体。

【0405】

203. 少なくとも90時間の、ミニブタにおいてのi.v.投与後のインピボでの終末相半減期($T^{1/2}$)を有する、実施形態1~202のいずれか1つに記載の誘導体。

【0406】

204. 少なくとも100時間の、ミニブタにおいてのi.v.投与後のインピボでの終末相半減期($T^{1/2}$)を有する、実施形態1~203のいずれか1つに記載の誘導体。

【0407】

205. 少なくとも120時間の、ミニブタにおいてのi.v.投与後のインピボでの終末相半減期($T^{1/2}$)を有する、実施形態1~204のいずれか1つに記載の誘導体。

【0408】

206. 少なくとも140時間の、ミニブタにおいてのi.v.投与後のインピボでの終末相半減期($T^{1/2}$)を有する、実施形態1~205のいずれか1つに記載の誘導体。

【0409】

207. 同じ方法において特定された、セマグルチドの終末相半減期の少なくとも1.5倍の、ミニブタにおいてのi.v.投与後のインピボでの終末相半減期($T^{1/2}$)を有する、実施形態1~206のいずれか1つに記載の誘導体。

【0410】

208. 同じ方法において特定された、セマグルチドの終末相半減期の少なくとも2倍の、ミニブタにおいてのi.v.投与後のインピボでの終末相半減期($T^{1/2}$)を有する、実施形態1~207のいずれか1つに記載の誘導体。

【0411】

209. 同じ方法において特定された、セマグルチドの終末相半減期の少なくとも2.2倍の、ミニブタにおいてのi.v.投与後のインピボでの終末相半減期($T^{1/2}$)を有する、実施形態1~208のいずれか1つに記載の誘導体。

【0412】

210. 同じ方法において特定された、セマグルチドの終末相半減期の少なくとも2.6倍の、ミニブタにおいてのi.v.投与後のインピボでの終末相半減期($T^{1/2}$)を有する、実施形態1~209のいずれか1つに記載の誘導体。

【0413】

211. インピボにおいて強力である、実施形態1~210のいずれか1つに記載の誘導体。

【0414】

212. 任意の好適な動物モデル(マウス又はブタ等)において特定されたときに、インピボにおいて強力である、実施形態1~211のいずれか1つに記載の誘導体。

【0415】

213. 動物モデルがdb/dbマウスである、実施形態1~212のいずれか1つに記載の誘導体。

【0416】

214. 血糖低下効果が特定される、実施形態1~213のいずれか1つに記載の誘導体。

【0417】

215. 体重減少効果が特定される、実施形態1~214のいずれか1つに記載の誘導体。

【0418】

216. 血糖低下効果及び/又は体重減少効果が、任意の好適な研究プロトコル及び方法論(例えば、実施例25に説明されるような)を用いて、db/dbマウスにおいて、インピボで特定される、実施形態1~215のいずれか1つに記載の誘導体。

【0419】

10

20

30

40

50

217. 血糖低下効果及び/又は体重減少効果が、本質的に実施例25に説明されるように、db/dbマウスにおいて、インビボで特定される、実施形態1～216のいずれか1つに記載の誘導体。

【0420】

218. 好適な用量(例えば、10又は100nmol/kg)においての、db/dbマウスモデルでの単回投与試験において特定された、24時間後又は48時間後の血糖を低下させるインビボでの効果を有する、実施形態1～217のいずれか1つに記載の誘導体。

【0421】

219. その投与の前の血糖レベルと比較して、血糖が少なくとも10%減少する、実施形態1～218のいずれか1つに記載の誘導体。

10

【0422】

220. その投与の前の血糖レベルと比較して、血糖が少なくとも20%減少する、実施形態1～219のいずれか1つに記載の誘導体。

【0423】

221. その投与の前の血糖レベルと比較して、血糖が少なくとも40%減少する、実施形態1～220のいずれか1つに記載の誘導体。

【0424】

222. その投与の前の血糖レベルと比較して、血糖が少なくとも60%減少する、実施形態1～221のいずれか1つに記載の誘導体。

【0425】

20

223. 好適な用量(例えば、10又は100nmol/kg)においての、db/dbマウスモデルでの単回投与試験において特定された、72時間後の血糖を低下させるインビボでの効果を有する、実施形態1～222のいずれか1つに記載の誘導体。

【0426】

224. 好適な用量(例えば、10又は100nmol/kg)においての、db/dbマウスモデルでの単回投与試験において特定された、96時間後の血糖を低下させるインビボでの効果を有する、実施形態1～223のいずれか1つに記載の誘導体。

【0427】

225. その投与の前の血糖レベルと比較して、血糖が少なくとも0.5%減少する、実施形態1～224のいずれか1つに記載の誘導体。

30

【0428】

226. その投与の前の血糖レベルと比較して、血糖が少なくとも1%減少する、実施形態1～225のいずれか1つに記載の誘導体。

【0429】

227. その投与の前の血糖レベルと比較して、血糖が少なくとも5%減少する、実施形態1～226のいずれか1つに記載の誘導体。

【0430】

228. その投与の前の血糖レベルと比較して、血糖が少なくとも10%減少する、実施形態1～227のいずれか1つに記載の誘導体。

【0431】

40

229. その投与の前の血糖レベルと比較して、血糖が少なくとも15%減少する、実施形態1～228のいずれか1つに記載の誘導体。

【0432】

230. 好適な用量(例えば、10又は100nmol/kg)においての、db/dbマウスモデルでの単回投与試験において特定された、48時間後の体重を減少させるインビボでの効果を有する、実施形態1～229のいずれか1つに記載の誘導体。

【0433】

231. その投与の前の体重と比較して、体重が少なくとも1%減少する、実施形態1～230のいずれか1つに記載の誘導体。

【0434】

50

232. その投与の前の体重と比較して、体重が少なくとも2%減少する、実施形態1～231のいずれか1つに記載の誘導体。

【0435】

233. その投与の前の体重と比較して、体重が少なくとも5%減少する、実施形態1～232のいずれか1つに記載の誘導体。

【0436】

234. その投与の前の体重と比較して、体重が少なくとも7%減少する、実施形態1～233のいずれか1つに記載の誘導体。

【0437】

235. 好適な用量(例えば、10又は100nmol/kg)においての、db/dbマウスモデルでの単回投与試験において特定された、72時間後の体重を減少させるインビボでの効果を有する、実施形態1～234のいずれか1つに記載の誘導体。

10

【0438】

236. 好適な用量(例えば、10又は100nmol/kg)においての、db/dbマウスモデルでの単回投与試験において特定された、96時間後の体重を減少させるインビボでの効果を有する、実施形態1～235のいずれか1つに記載の誘導体。

【0439】

237. その投与の前の体重と比較して、体重が少なくとも2%減少する、実施形態1～236のいずれか1つに記載の誘導体。

【0440】

20

238. その投与の前の体重と比較して、体重が少なくとも3%減少する、実施形態1～237のいずれか1つに記載の誘導体。

【0441】

239. その投与の前の体重と比較して、体重が少なくとも4%減少する、実施形態1～238のいずれか1つに記載の誘導体。

【0442】

240. 動物モデルがブタである、実施形態170に記載の誘導体。

【0443】

241. 動物モデルがLYDブタである、実施形態198に記載の誘導体。

【0444】

30

242. 食物摂取量の減少が、インビボでの薬力学的(PD)研究において特定される、実施形態198～199のいずれか1つに記載の誘導体。

【0445】

243. 食物摂取量の減少が、例えば、実施例26において説明したような、任意の好適な研究プロトコル及び方法論を使用して、ブタにおいて、インビボで特定される、実施形態198～200のいずれか1つに記載の誘導体。

【0446】

244. 食物摂取量の減少が、本質的に実施例26において説明したような、任意の好適な研究プロトコル及び方法論を使用して、ブタにおいて、インビボで特定される、実施形態198～201のいずれか1つに記載の誘導体。

40

【0447】

245. その単回用量の投与後の最初の24時間(0～24時間)において食物摂取量を減少させるインビボでの効果を有し、その場合、食物摂取量が、LYDブタモデルにおける単回投与研究において特定される、実施形態1～244のいずれか1つに記載の誘導体。

【0448】

246. その単回用量の投与後の第2の24時間(24～48時間)において食物摂取量を減少させるインビボでの効果を有し、その場合、食物摂取量が、LYDブタモデルにおける単回投与研究において特定される、実施形態1～245のいずれか1つに記載の誘導体。

【0449】

247. その単回用量の投与後の第3の24時間(48～72時間)において食物摂取量を減少させ

50

るインビボでの効果を有し、その場合、食物摂取量が、LYDブタモデルにおける単回投与研究において特定される、実施形態1～246のいずれか1つに記載の誘導体。

【0450】

248. その単回用量の投与後の第4の24時間(72～96時間)において食物摂取量を減少させるインビボでの効果を有し、その場合、食物摂取量が、LYDブタモデルにおける単回投与研究において特定される、実施形態1～247のいずれか1つに記載の誘導体。

【0451】

249. Chem.21、Chem.22、Chem.23、Chem.24、Chem.25、Chem.26、Chem.27、Chem.28、Chem.29、Chem.30、Chem.31、Chem.32、Chem.33、Chem.34、Chem.35、Chem.36、Chem.37、Chem.38、Chem.39、Chem.40、又はChem.41から選択されるGLP-1誘導体、又はその薬学的に許容される塩、アミド、若しくはエステル。

10

【0452】

250. 実施例1～21のいずれか1つに示された化学構造から選択されるGLP-1誘導体;又はその薬学的に許容される塩、アミド、若しくはエステル。

【0453】

251. 実施例1～21のいずれか1つに示されたGLP-1誘導体名から選択されるGLP-1誘導体;又はその薬学的に許容される塩、アミド、若しくはエステル。

【0454】

252. 実施形態1～248のいずれか1つに記載の誘導体である、実施形態249又は250に記載の誘導体。

20

【0455】

253. GLP-1(7～37)(配列番号1)と比較した場合、以下のアミノ酸変化:

vii)(18K、22K、30K);

ix)(18K、37K);

ix)(18K、27K、37K);

x)(27K、30K、37K);又は

xi)(30K、37K)を含み、

実施形態ix)及びxi)において、GLP-1(7～37)(配列番号1)の位置26に対応する位置のアミノ酸はKである、GLP-1類似体の形態の中間生成物。

【0456】

30

254. GLP-1(7～37)(配列番号1)と比較した場合、以下のアミノ酸変化:

i)(8Aib、18K、22K、26R、30K、34R);ii)(8Aib、18K、34R、37K);iii)(8Aib、18K、22E、

26R、27K、34R、37K);iv)(8Aib、18K、26R、27K、34R、37K);v)(8Aib、22E、26R、27K、30K、34R、37K);又はvi)(8Aib、22E、30K、34R、37K)を含む、GLP-1類似体の形態の中間生成物。

【0457】

255. 以下のGLP-1(7～37)(配列番号1)の類似体:

i)(8Aib、18K、22K、26R、30K、34R)(配列番号2);ii)(8Aib、18K、34R、37K)(配列番号3)

;iii)(8Aib、18K、22E、26R、27K、34R、37K)(配列番号4);iv)(8Aib、18K、26R、27K、34R、37K(配列番号5));v)(8Aib、22E、26R、27K、30K、34R、37K)(配列番号6);及びvi)(8Aib、22E、30K、34R、37K)(配列番号7)から選択される、GLP-1類似体の形態の中間生成物。

40

【0458】

256. 実施形態1～252のいずれか1つに記載の誘導体又は実施形態253～255のいずれか1つに記載の類似体と、薬学的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物。

【0459】

257. 医薬として使用するための、実施形態1～252のいずれか1つに記載の誘導体又は実施形態253～255のいずれか1つに記載の類似体。

【0460】

258. (i)糖尿病の全ての形態、例えば、高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、インスリン非依存性糖尿病、MODY(若年発症成人型糖尿病)、妊娠糖尿病の予防及び/若

50

しくは処置、並びに/又はHbA1Cの軽減;

(ii)糖尿病疾患の進行、例えば、2型糖尿病の進行の遅延若しくは予防、耐糖能障害(IGT)からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延、インスリン耐性の遅延若しくは予防、及び/又はインスリン非要求性2型糖尿病からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延;

(iii) -細胞機能の向上、例えば、 -細胞アポトーシスの減少、 -細胞機能及び/若しくは -細胞量の増加、並びに/又は -細胞に対するグルコース感受性の回復;

(iv)認知障害及び/又は神経変性障害、例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、及び/又は多発性硬化症の予防及び/又は処置;

(v)例えば、食物摂取量を減らすこと、体重を減らすこと、食欲を抑制すること、満腹感を誘起することによる肥満等の摂食障害の予防及び/若しくは処置;むちゃ食い障害、神経性大食症、及び/若しくは抗精神病薬若しくはステロイドの投与によって誘発された肥満の処置若しくは予防;胃運動性の減少;胃排出の遅延;身体的運動性の増加;並びに/又は肥満に対する併存症、例えば、骨関節炎及び/若しくは尿失禁の予防及び/若しくは処置;

(vi)糖尿病性合併症、例えば、血管障害;末梢神経障害を含む神経障害;腎障害;及び/又は網膜障害の予防及び/又は処置;

(vii)脂質パラメータの改善、例えば、異脂肪血症の予防及び/又は処置、総血清脂質の低下;HDLの増加;小粒子高密度LDLの低下;VLDLの低下;トリグリセリドの低下;コレステロールの低下;ヒトにおけるリポタンパク質a(Lp(a))の血漿レベルの低下;インビトロ及び/又はインビボでのアポリポタンパク質a(apo(a))の発生の阻害;

(viii)心臓血管疾患、例えば、X症候群、アテローム性動脈硬化症、心筋梗塞、冠状動脈心疾患、再灌流損傷、卒中、脳虚血、早期心臓疾患若しくは早期心臓血管疾患、左室肥大、冠状動脈疾患、高血圧、本態性高血圧症、急性高血圧性緊急症、心筋障害、心不全、運動不耐性、急性及び/若しくは慢性心不全、不整脈、心律動異常、失神、狭心症、心臓バイパス及び/若しくはステント再閉塞、間欠性跛行(閉塞性動脈硬化症)、拡張機能障害、及び/若しくは収縮機能障害の予防及び/若しくは処置;並びに/又は血圧の低下、例えば、収縮期血圧の低下;

(ix)胃腸疾患、例えば、炎症性腸疾患、短小腸症候群、若しくはクローン病若しくは大腸炎;消化不良、及び/若しくは胃潰瘍;並びに/又は炎症、例えば、乾癬、乾癬性関節炎、リウマチ性関節炎、及び/若しくは全身性エリテマトーデスの予防及び/若しくは処置;

(x)重症疾患の予防及び/若しくは処置、例えば、重症患者、重症疾患ポリ腎症(CIPNP)患者、及び/若しくは潜在的CIPNP患者の処置;重症疾患若しくはCIPNPの発症の予防;患者における全身性炎症応答症候群(SIRS)の予防、処置、及び/若しくは治療;入院中の菌血症、敗血症、及び/若しくは敗血症性ショックを罹っている患者の可能性の予防若しくは軽減;並びに/又は血糖、インスリンバランス、及び任意選択で集中治療室の急性疾患患者における代謝の安定化;

(xi)多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の予防及び/又は処置;

(xii)脳疾患、例えば、脳虚血、脳出血、及び/又は脳外傷の予防及び/又は処置;

(xiii)睡眠時無呼吸の予防及び/又は処置;並びに/或いは

(xiv)乱用、例えば、アルコール乱用及び/又は薬物乱用の予防及び/又は処置に使用される、実施形態1~252のいずれか1つに記載の誘導体又は実施形態253~255のいずれか1つに記載の類似体。

【0461】

259.

(i)糖尿病の全ての形態、例えば、高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、インスリン非依存性糖尿病、MODY(若年発症成人型糖尿病)、妊娠糖尿病の予防及び/若しくは処置、並びに/又はHbA1Cの軽減;

(ii)糖尿病疾患の進行、例えば、2型糖尿病の進行の遅延若しくは予防、耐糖能障害(IGT)からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延、インスリン耐性の遅延若しくは予防、及び/又はインスリン非要求性2型糖尿病からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅

10

20

30

40

50

延;

(iii) -細胞機能の向上、例えば、 -細胞アポトーシスの減少、 -細胞機能及び/若しくは -細胞量の増加、並びに/又は -細胞に対するグルコース感受性の回復;

(iv) 認知障害及び/又は神経変性障害、例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、及び/又は多発性硬化症の予防及び/又は処置;

(v) 例えば、食物摂取量を減らすこと、体重を減らすこと、食欲を抑制すること、満腹感を誘起することによる肥満等の摂食障害の予防及び/若しくは処置;むちゃ食い障害、神経性大食症、及び/若しくは抗精神病薬若しくはステロイドの投与によって誘発された肥満の処置若しくは予防;胃運動性の減少;胃排出の遅延;身体的運動性の増加;並びに/又は肥満に対する併存症、例えば、骨関節炎及び/若しくは尿失禁の予防及び/若しくは処置;

(vi) 糖尿病性合併症、例えば、血管障害;末梢神経障害を含む神経障害;腎障害;及び/又は網膜障害の予防及び/又は処置;

(vii) 脂質パラメータの改善、例えば、異脂肪血症の予防及び/又は処置、総血清脂質の低下;HDLの増加;小粒子高密度LDLの低下;VLDLの低下;トリグリセリドの低下;コレステロールの低下;ヒトにおけるリポタンパク質a(Lp(a))の血漿レベルの低下;インビトロ及び/又はインビボでのアポリポタンパク質a(apo(a))の発生の阻害;

(viii) 心臓血管疾患、例えば、X症候群、アテローム性動脈硬化症、心筋梗塞、冠状動脈心疾患、再灌流損傷、卒中、脳虚血、早期心臓疾患若しくは早期心臓血管疾患、左室肥大、冠状動脈疾患、高血圧、本態性高血圧症、急性高血圧性緊急症、心筋障害、心不全、運動不耐性、急性及び/若しくは慢性心不全、不整脈、心臓動異常、失神、狭心症、心臓バイパス及び/若しくはステント再閉塞、間欠性跛行(閉塞性動脈硬化症)、拡張機能障害、及び/若しくは収縮機能障害の予防及び/若しくは処置;並びに/又は血圧の低下、例えば、収縮期血圧の低下;

(ix) 胃腸疾患、例えば、炎症性腸疾患、短小腸症候群、若しくはクローン病若しくは大腸炎;消化不良、及び/若しくは胃潰瘍;並びに/又は炎症、例えば、乾癬、乾癬性関節炎、リウマチ性関節炎、及び/若しくは全身性エリテマトーデスの予防及び/若しくは処置;

(x) 重症疾患の予防及び/若しくは処置、例えば、重症患者、重症疾患ポリ腎症(CIPNP)患者、及び/若しくは潜在的CIPNP患者の処置;重症疾患若しくはCIPNPの発症の予防;患者における全身性炎症応答症候群(SIRS)の予防、処置、及び/若しくは治療;入院中の菌血症、敗血症、及び/若しくは敗血症性ショックを罹っている患者の可能性の予防若しくは軽減;並びに/又は血糖、インスリンバランス、及び任意選択で集中治療室の急性疾患患者における代謝の安定化;

(xi) 多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の予防及び/又は処置;

(xii) 脳疾患、例えば、脳虚血、脳出血、及び/又は脳外傷の予防及び/又は処置;

(xiii) 睡眠時無呼吸の予防及び/又は処置;並びに/或いは

(xiv) 乱用、例えば、アルコール乱用及び/又は薬物乱用の予防及び/又は処置のための医薬の製造における、実施形態1~252のいずれか1つに記載の誘導体又は実施形態253~255のいずれか1つに記載の類似体の使用。

【 0 4 6 2 】

260.

(i) 糖尿病の全ての形態、例えば、高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、インスリン非依存性糖尿病、MODY(若年発症成人型糖尿病)、妊娠糖尿病の予防及び/若しくは処置、並びに/又はHbA1Cの軽減;

(ii) 糖尿病疾患の進行、例えば、2型糖尿病の進行の遅延若しくは予防、耐糖能障害(IGT)からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延、インスリン耐性の遅延若しくは予防、及び/又はインスリン非要求性2型糖尿病からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延;

(iii) -細胞機能の向上、例えば、 -細胞アポトーシスの減少、 -細胞機能及び/若しくは -細胞量の増加、並びに/又は -細胞に対するグルコース感受性の回復;

(iv) 認知障害及び/又は神経変性障害、例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、

及び/又は多発性硬化症の予防及び/又は処置；

(v)例えば、食物摂取量を減らすこと、体重を減らすこと、食欲を抑制すること、満腹感を誘起することによる肥満等の摂食障害の予防及び/若しくは処置；むちゃ食い障害、神経性大食症、及び/若しくは抗精神病薬若しくはステロイドの投与によって誘発された肥満の処置若しくは予防；胃運動性の減少；胃排出の遅延；身体的運動性の増加；並びに/又は肥満に対する併存症、例えば、骨関節炎及び/若しくは尿失禁の予防及び/若しくは処置；

(vi)糖尿病性合併症、例えば、血管障害；末梢神経障害を含む神経障害；腎障害；及び/又は網膜障害の予防及び/又は処置；

(vii)脂質パラメータの改善、例えば、異脂肪血症の予防及び/又は処置、総血清脂質の低下；HDLの増加；小粒子高密度LDLの低下；VLDLの低下；トリグリセリドの低下；コレステロールの低下；ヒトにおけるリポタンパク質a(Lp(a))の血漿レベルの低下；インビトロ及び/又はインビボでのアポリポタンパク質a(apo(a))の発生の阻害；

10

(viii)心臓血管疾患、例えば、X症候群、アテローム性動脈硬化症、心筋梗塞、冠状動脈心疾患、再灌流損傷、卒中、脳虚血、早期心臓疾患若しくは早期心臓血管疾患、左室肥大、冠状動脈疾患、高血圧、本態性高血圧症、急性高血圧性緊急症、心筋障害、心不全、運動不耐性、急性及び/若しくは慢性心不全、不整脈、心律動異常、失神、狭心症、心臓バイパス及び/若しくはステント再閉塞、間欠性跛行(閉塞性動脈硬化症)、拡張機能障害、及び/若しくは収縮機能障害の予防及び/若しくは処置；並びに/又は血圧の低下、例えば、収縮期血圧の低下；

(ix)胃腸疾患、例えば、炎症性腸疾患、短小腸症候群、若しくはクローン病若しくは大腸炎；消化不良、及び/若しくは胃潰瘍；並びに/又は炎症、例えば、乾癬、乾癬性関節炎、リウマチ性関節炎、及び/若しくは全身性エリテマトーデスの予防及び/若しくは処置；

20

(x)重症疾患の予防及び/若しくは処置、例えば、重症患者、重症疾患ポリ腎症(CIPNP)患者、及び/若しくは潜在的CIPNP患者の処置；重症疾患若しくはCIPNPの発症の予防；患者における全身性炎症応答症候群(SIRS)の予防、処置、及び/若しくは治療；入院中の菌血症、敗血症、及び/若しくは敗血症性ショックを罹っている患者の可能性の予防若しくは軽減；並びに/又は血糖、インスリンバランス、及び任意選択で集中治療室の急性疾患患者における代謝の安定化；

(xi)多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の予防及び/又は処置；

(xii)脳疾患、例えば、脳虚血、脳出血、及び/又は脳外傷の予防及び/又は処置；

30

(xiii)睡眠時無呼吸の予防及び/又は処置；並びに/或いは

(xiv)乱用、例えば、アルコール乱用及び/又は薬物乱用の予防及び/又は処置のための方法であって、実施形態1~252のいずれか1つに記載の誘導体又は実施形態253~255のいずれか1つに記載の類似体の薬学的に活性な量が投与される、方法。

【0463】

追加の特定の実施形態

以下は、本発明の実施形態の追加の特定のセットである。

【0464】

1. GLP-1ペプチドの誘導体であって、

GLP-1ペプチドは、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置(18、22、30)、(18、26、37)、(18、27、37)、(26、30、37)、又は(27、30、37)に対応する位置に第1、第2、及び第3のK残基を含み、GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較したときに最大で7のアミノ酸変化を有するペプチドであり、

40

誘導体は、

式Chem.1又は式Chem.2:

Chem.1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{16}-\text{CO}-^*$ 、

Chem.2: $\text{HO}_3\text{S}-(\text{CH}_2)_{15}-\text{CO}-^*$

の第1、第2、及び第3の延長部分と、

それぞれが*-CO基及び*-NH基を含む、第1、第2、及び第3のリンカーとを含み、

50

各延長部分が、その*-CO末端において、それぞれのリンカーの*-NH末端に結合しており、各リンカーが、その*-CO末端において、GLP-1ペプチドのそれぞれのK残基のアミノ基に結合している、

誘導体、又はその薬学的に許容される塩、アミド、若しくはエステル。

【0465】

2. 第1、第2、及び第3のK残基が、それぞれ、K1、K2、及びK3と称される、実施形態1に記載の誘導体。

【0466】

3. 第1のK残基(K1)が、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置p1に対応する位置にあり、第2のK残基(K2)が、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置p2に対応する位置にあり、第3のK残基(K3)が、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置p3に対応する位置にある、実施形態1又は2に記載の誘導体。

10

【0467】

4. p1、p2、及びp3が、以下のGLP-1(7~37)(配列番号1)の位置のセット:(18、22、30)、(18、26、37)、(18、27、37)、(26、30、37)、及び(27、30、37)から選択される、実施形態3に記載の誘導体。

【0468】

5. 第1、第2、及び第3の延長部分が、それぞれ、Pr1、Pr2、及びPr3と称される、実施形態1~4のいずれか1つに記載の誘導体。

【0469】

20

6. 第1、第2、及び第3のリンカーが、それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3と称される、実施形態1~5のいずれか1つに記載の誘導体。

【0470】

7. 第1の延長部分(Pr1)が、その*-CO基において、第1のリンカー(Ln1)の*-NH基に結合しており、リンカーは、その*-CO基において、第1のK残基(K1)のアミノ基に結合しており;第2の延長部分(Pr2)が、その*-CO基において、第2のリンカー(Ln2)の*-NH基に結合しており、リンカーは、その*-CO基において、第2のK残基(K2)のアミノ基に結合しており;第3の延長部分(Pr3)が、その*-CO基において、第3のリンカー(Ln3)の*-NH基に結合しており、リンカーは、その*-CO基において、第3のK残基(K3)のアミノ基に結合している、実施形態1~6のいずれか1つに記載の誘導体。

30

【0471】

8. GLP-1ペプチドの誘導体であって、
GLP-1ペプチドは、それぞれ、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置(p1、p2、p3)に対応する位置(p)に、第1のK残基(K1)、第2のK残基(K2)、及び第3のK残基(K3)を含み(ここで、(p1、p2、p3)は、(18、22、30)、(18、26、37)、(18、27、37)、(26、30、37)、及び(27、30、37)から選択される)、

GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、最大で7のアミノ酸変化を有するペプチドであり、

誘導体は、それぞれが式Chem.1又は式Chem.2:

Chem.1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{16}-\text{CO}-^*$ 、

Chem.2: $\text{HO}_3\text{S}-(\text{CH}_2)_{15}-\text{CO}-^*$

40

の延長部分である第1の延長部分(Pr1)、第2の延長部分(Pr2)、及び第3の延長部分(Pr3)と、

それぞれが*-CO基及び*-NH基を含む、第1のリンカー(Ln1)、第2のリンカー(Ln2)、及び第3のリンカー(Ln3)と

を含み、

ここで、

Pr1は、その*-CO基において、Ln1の*-NH基に結合しており、Ln1は、その*-CO基において、K1のアミノ基に結合しており、

Pr2は、その*-CO基において、Ln2の*-NH基に結合しており、Ln2は、その*-CO基におい

50

て、K2の アミノ基に結合しており、

Pr3は、その*-CO基において、Ln3の*-NH基に結合しており、Ln3は、その*-CO基において、K3の アミノ基に結合している、

誘導体、又はその薬学的に許容される塩、アミド、若しくはエステル。

【 0 4 7 2 】

8a. 第1、第2、及び第3のK残基(K1、K2、K3)が、それぞれ、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置(18、22、30)に対応する位置(p1、p2、p3)にある、実施形態1~8のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 4 7 3 】

8b. 第1、第2、及び第3のK残基(K1、K2、K3)が、それぞれ、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置(18、26、37)に対応する位置(p1、p2、p3)にある、実施形態1~8のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 4 7 4 】

8c. 第1、第2、及び第3のK残基(K1、K2、K3)が、それぞれ、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置(18、27、37)に対応する位置(p1、p2、p3)にある、実施形態1~8のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 4 7 5 】

8d. 第1、第2、及び第3のK残基(K1、K2、K3)が、それぞれ、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置(26、30、37)に対応する位置(p1、p2、p3)にある、実施形態1~8のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 4 7 6 】

8e. 第1、第2、及び第3のK残基(K1、K2、K3)が、それぞれ、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置(27、30、37)に対応する位置(p1、p2、p3)にある、実施形態1~8のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 4 7 7 】

9. 第1、第2、及び第3の延長部分(それぞれ、Pr1、Pr2、及びPr3)のそれぞれが、式Chem.1の延長部分である、実施形態1~8eのいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 4 7 8 】

10. 第1、第2、及び第3の延長部分(それぞれ、Pr1、Pr2、及びPr3)のそれぞれが、式Chem.2の延長部分である、実施形態1~8eのいずれか1つに記載の誘導体。

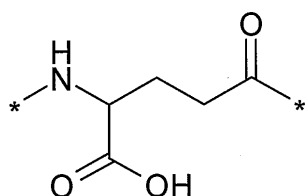
【 0 4 7 9 】

11. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.3:

Chem.3:

【 0 4 8 0 】

【 化 1 2 】



【 0 4 8 1 】

の要素_1を含む、実施形態1~10のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 4 8 2 】

12. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.3の1つの要素_1を組み込む、実施形態11に記載の誘導体。

【 0 4 8 3 】

13. Chem.3がgGlu残基を表す、実施形態11又は12に記載の誘導体。

【 0 4 8 4 】

14. 要素₁がL-glu残基である、実施形態11～13のいずれか1つに記載の誘導体。

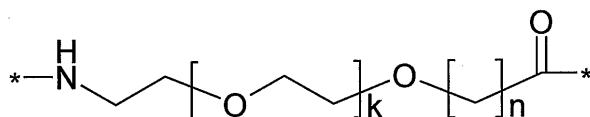
【 0 4 8 5 】

15. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.4:

Chem.4:

【 0 4 8 6 】

【 化 1 3 】



10

【 0 4 8 7 】

の要素₂を含み、ここで、kは、1～5の範囲の整数であり、nは、1～5の範囲の整数である、実施形態1～14のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 4 8 8 】

16. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.4の少なくとも1つの要素₂を含む、実施形態15に記載の誘導体。

【 0 4 8 9 】

17. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.4の少なくとも2つの要素₂を含む、実施形態15又は16に記載の誘導体。

【 0 4 9 0 】

18. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.4の2つの要素₂を含む、実施形態15～17のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 4 9 1 】

19. 第1、第2、及び第3のリンカーのそれぞれが、式Chem.4の2つの要素₂を組み込む、実施形態15～18のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 4 9 2 】

20. k=1かつn=1である、実施形態15～19のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 4 9 3 】

21. Chem.4がOEGを表す、実施形態15～20のいずれか1つに記載の誘導体。

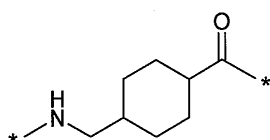
【 0 4 9 4 】

22. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.5:

Chem.5:

【 0 4 9 5 】

【 化 1 4 】



40

【 0 4 9 6 】

の要素₃を含む、実施形態1～21のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 4 9 7 】

23. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.5の1つの要素₃を組み込む、実施形態1～22のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 4 9 8 】

50

24. Chem. 5がTrxを表す、実施形態22～23に記載の誘導体。

【0499】

25. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem. 6:

Chem. 6: $^*-\text{NH}-(\text{CH}_2)_q-\text{CH}[(\text{CH}_2)_w-\text{NH}_2]-\text{CO}-^*$

の要素_4を含み、ここで、qは、0～5の範囲の整数であり、wは、0～5の範囲の整数であり、ただし、wが0の場合、qは1～5の範囲の整数であり、qが0の場合、wは1～5の範囲の整数である、実施形態1～24のいずれか1つに記載の誘導体。

【0500】

26. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem. 6の少なくとも1つの要素_4を含む、実施形態25に記載の誘導体。 10

【0501】

27. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem. 6の少なくとも2つの要素_4を含む、実施形態25又は26に記載の誘導体。

【0502】

28. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem. 6の2つの要素_4を含む、実施形態25～27のいずれか1つに記載の誘導体。

【0503】

29. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem. 6の2つの要素_4を組み込む、実施形態25～28のいずれか1つに記載の誘導体。 20

【0504】

30. qが4でありかつwが0である、実施形態25～29のいずれか1つに記載の誘導体。

【0505】

31. wが4でありかつqが0である、実施形態25～29のいずれか1つに記載の誘導体。

【0506】

32. Chem. 6がeps-Lys残基を表す、実施形態25～31のいずれか1つに記載の誘導体。

【0507】

33. 要素_4がL-eps-Lys残基である、実施形態25～32のいずれか1つに記載の誘導体。

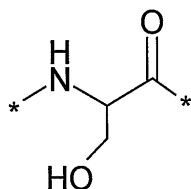
【0508】

34. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem. 7: 30

Chem. 7:

【0509】

【化15】



【0510】

の要素_5を含む、実施形態1～33のいずれか1つに記載の誘導体。

【0511】

35. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem. 7の少なくとも1つの要素_5を含む、実施形態34に記載の誘導体。

【0512】

36. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem. 7の少なくとも5つの要素_5を含む、実施形態34又は35に記載の誘導体。

【0513】

37. 第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem. 7: 50

m.7の5つの要素_5を含む、実施形態34～36のいずれか1つに記載の誘導体。

【0514】

38.第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.7の6つの要素_5を含む、実施形態34～37のいずれか1つに記載の誘導体。

【0515】

39.第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.7の5つの要素_5を組み込む、実施形態34～38のいずれか1つに記載の誘導体。

【0516】

40.第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.7の6つの要素_5を組み込む、実施形態34～39のいずれか1つに記載の誘導体。

10

【0517】

41.要素_5がSer残基である、実施形態34～40のいずれか1つに記載の誘導体。

【0518】

42.要素_5がL-Ser残基である、実施形態34～41のいずれか1つに記載の誘導体。

【0519】

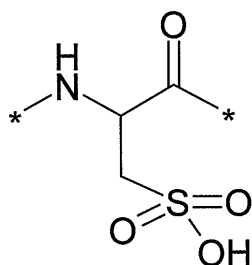
43.第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.8:

Chem.8:

【0520】

【化16】

20



【0521】

の要素_6を含む、実施形態1～42のいずれか1つに記載の誘導体。

30

【0522】

44.第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、式Chem.8の1つの要素_6を組み込む、実施形態43に記載の誘導体。

【0523】

45.Chem.8がシステイン酸残基を表す、実施形態43又は44に記載の誘導体。

【0524】

46.要素_6がL-システイン酸である、実施形態43～45のいずれか1つに記載の誘導体。

【0525】

47.第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.5の1つの要素_3、式Chem.3の1つの要素_1、及び式Chem.4の2つの要素_2(ここで、k=1かつn=1である)からなる、実施形態1～46のいずれか1つに記載の誘導体。

40

【0526】

48.第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.8の1つの要素_6及び式Chem.4の2つの要素_2(ここで、k=1かつn=1である)からなる、実施形態1～46のいずれか1つに記載の誘導体。

【0527】

49.第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.3の1つの要素_1、式Chem.7

50

の5つの要素_5、及び式Chem.6の1つの要素_4{ここで、 $q=4$ かつ $w=0$ (又は $w=4$ かつ $q=0$)である}からなる、実施形態1~46のいずれか1つに記載の誘導体。

【0528】

50.第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.5の1つの要素_3、式Chem.8の1つの要素_6、及び式Chem.4の2つの要素_2(ここで、 $k=1$ かつ $n=1$ である)からなる、実施形態1~46のいずれか1つに記載の誘導体。

【0529】

51.第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.3の1つの要素_1及び式Chem.4の2つの要素_2(ここで、 $k=1$ かつ $n=1$ である)からなる、実施形態1~46のいずれか1つに記載の誘導体。

10

【0530】

52.第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.3の1つの要素_1、式Chem.4の2つの要素_2(ここで、 $k=1$ かつ $n=1$ である)、及び式Chem.6の1つの要素_4{ここで、 $q=4$ かつ $w=0$ (又は $w=4$ かつ $q=0$)である}からなる、実施形態1~46のいずれか1つに記載の誘導体。

【0531】

53.第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.4の1つの要素_2(ここで、 $k=1$ かつ $n=1$ である)、式Chem.3の1つの要素_1、及び式Chem.4の1つの要素_2(ここで、 $k=1$ かつ $n=1$ である)からなる、実施形態1~46のいずれか1つに記載の誘導体。

20

【0532】

54.第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.3の1つの要素_1及び式Chem.7の6つの要素_5からなる、実施形態1~46のいずれか1つに記載の誘導体。

【0533】

55.第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.8の1つの要素_6、式Chem.4の2つの要素_2(ここで、 $k=1$ かつ $n=1$ である)、及び式Chem.6の1つの要素_4{ここで、 $q=4$ かつ $w=0$ (又は $w=4$ かつ $q=0$)である}からなる、実施形態1~46のいずれか1つに記載の誘導体。

30

【0534】

56.第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.6の1つの要素_4{ここで、 $q=4$ かつ $w=0$ (又は $w=4$ かつ $q=0$)である}及び式Chem.4の2つの要素_2(ここで、 $k=1$ かつ $n=1$ である)からなる、実施形態1~46のいずれか1つに記載の誘導体。

【0535】

57.第1、第2、及び第3のリンカー(それぞれ、Ln1、Ln2、及びLn3)のそれぞれが、示された配列においてアミド結合を介して相互接続した、式Chem.6の2つの要素_4{ここで、 $q=4$ かつ $w=0$ (又は $w=4$ かつ $q=0$)である}及び式Chem.4の2つの要素_2(ここで、 $k=1$ かつ $n=1$ である)からなる、実施形態1~46のいずれか1つに記載の誘導体。

40

【0536】

58.GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、GLP-1ペプチドが最大で7のアミノ酸変化を有する、実施形態1~57のいずれか1つに記載の誘導体。

【0537】

59.GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、GLP-1ペプチドが最大で6つのアミノ酸変化を有する、実施形態1~58のいずれか1つに記載の誘導体。

【0538】

60.GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、GLP-1ペプチドが最大で5つのアミノ酸変化を有する、実施形態1~59のいずれか1つに記載の誘導体。

50

【 0 5 3 9 】

61.GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、GLP-1ペプチドが最大で4つのアミノ酸変化を有する、実施形態1~60のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 4 0 】

62.GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、GLP-1ペプチドが最大で2つのアミノ酸変化を有する、実施形態1~61のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 4 1 】

63.GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、GLP-1ペプチドが最大で3つのアミノ酸変化を有する、実施形態1~62のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 4 2 】

64.GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、GLP-1ペプチドが最大で4つのアミノ酸変化を有する、実施形態1~63のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 4 3 】

65.GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、GLP-1ペプチドが最大で5つのアミノ酸変化を有する、実施形態1~64のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 4 4 】

66.GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、GLP-1ペプチドが最少で6つのアミノ酸変化を有する、実施形態1~65のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 4 5 】

67.GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、GLP-1ペプチドが最少で7つのアミノ酸変化を有する、実施形態1~66のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 4 6 】

68.GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、GLP-1ペプチドが4つのアミノ酸変化を有する、実施形態1~67のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 4 7 】

69.GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、GLP-1ペプチドが5つのアミノ酸変化を有する、実施形態1~67のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 4 8 】

70.GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、GLP-1ペプチドが6つのアミノ酸変化を有する、実施形態1~67のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 4 9 】

71.GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較した場合、GLP-1ペプチドが7つのアミノ酸変化を有する、実施形態1~67のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 5 0 】

72.GLP-1ペプチドが、少なくとも3つのLys残基を含む、実施形態1~71のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 5 1 】

73.GLP-1ペプチドが、3つのLys残基を含む、実施形態1~72のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 5 2 】

74.GLP-1ペプチドが、3つのLys残基を有する、実施形態1~73のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 5 3 】

75.GLP-1ペプチドが3つのLys残基だけを有する、実施形態1~74のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 5 4 】

76.GLP-1ペプチドが、一般式I:
式I:

Xaa₇-Xaa₈-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇

10

20

30

40

50

、

[式中、

Xaa₇は、L-ヒスチジン、(S)-2-ヒドロキシ-3-(1H-イミダゾール-4-イル)-プロピオン酸、D-ヒスチジン、デスアミノ-ヒスチジン、ホモヒスチジン、N-アセチル-ヒスチジン、N-ホルミル-ヒスチジン、N-メチル-ヒスチジン、3-ピリジルアラニン、2-ピリジルアラニン、又は4-ピリジルアラニンであり；

Xaa₈は、Ala、Gly、Ser、Aib、(1-アミノシクロプロピル)カルボン酸、又は(1-アミノシクロブチル)カルボン酸であり；

Xaa₁₂は、Phe又はLeuであり；

Xaa₁₆は、Val又はLeuであり；

10

Xaa₁₈は、Ser、Arg、Lys、Val、又はLeuであり；

Xaa₁₉は、Tyr又はGlnであり；

Xaa₂₀は、Leu又はMetであり；

Xaa₂₂は、Gly、Lys、又はGluであり；

Xaa₂₃は、Gln、Glu、Lys、又はArgであり；

Xaa₂₅は、Ala又はValであり；

Xaa₂₆は、Arg又はLysであり；

Xaa₂₇は、Glu、Lys、又はLeuであり；

Xaa₃₀は、Ala、Glu、又はLysであり；

Xaa₃₁は、Trp又はHisであり；

20

Xaa₃₃は、Val、Lys、又はArgであり；

Xaa₃₄は、Lys、Arg、His、Asn、又はGlnであり；

Xaa₃₅は、Gly又はAlaであり；

Xaa₃₆は、Arg又はGlyであり；

Xaa₃₇は、Gly、Pro、又はLysである]を有する、実施形態1～75のいずれか1つに記載の誘導体。

【0555】

77.Xaa₇がHisである、実施形態76に記載の誘導体。

【0556】

78.Xaa₈がAibである、実施形態76又は77に記載の誘導体。

30

【0557】

79.Xaa₁₂がPheである、実施形態76～78のいずれか1つに記載の誘導体。

【0558】

80.Xaa₁₆がValである、実施形態76～79のいずれか1つに記載の誘導体。

【0559】

81.Xaa₁₈がSerである、実施形態76～80のいずれか1つに記載の誘導体。

【0560】

82.Xaa₁₈がLysである、実施形態76～80のいずれか1つに記載の誘導体。

【0561】

83.Xaa₁₉がTyrである、実施形態76～82のいずれか1つに記載の誘導体。

40

【0562】

84.Xaa₂₀がLeuである、実施形態76～83のいずれか1つに記載の誘導体。

【0563】

85.Xaa₂₂がGlyである、実施形態76～84のいずれか1つに記載の誘導体。

【0564】

86.Xaa₂₂がLysである、実施形態76～84のいずれか1つに記載の誘導体。

【0565】

87.Xaa₂₃がGlnである、実施形態76～86のいずれか1つに記載の誘導体。

【0566】

88.Xaa₂₅がAlaである、実施形態76～87のいずれか1つに記載の誘導体。

50

【 0 5 6 7 】

89. Xaa₂₆がArgである、実施形態76～88のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 6 8 】

90. Xaa₂₆がLysである、実施形態76～88のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 6 9 】

91. Xaa₂₇がGluである、実施形態76～90のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 7 0 】

92. Xaa₂₇がLysである、実施形態76～90のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 7 1 】

93. Xaa₃₀がAlaである、実施形態76～92のいずれか1つに記載の誘導体。

10

【 0 5 7 2 】

94. Xaa₃₀がLysである、実施形態76～92のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 7 3 】

95. Xaa₃₁がTrpである、実施形態76～94のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 7 4 】

96. Xaa₃₃がValである、実施形態76～95のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 7 5 】

97. Xaa₃₄がArgである、実施形態76～96のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 7 6 】

98. Xaa₃₅がGlyである、実施形態76～97のいずれか1つに記載の誘導体。

20

【 0 5 7 7 】

99. Xaa₃₆がArgである、実施形態76～98のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 7 8 】

100. Xaa₃₇がGlyである、実施形態76～99のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 7 9 】

101. Xaa₃₇がLysである、実施形態76～99のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 8 0 】

102. GLP-1ペプチドが、以下のGLP-1(7～37)(配列番号1)の類似体:i)(8Aib、18K、22K、26R、30K、34R)(配列番号2);ii)(8Aib、18K、34R、37K)(配列番号3);iii)(8Aib、18K、22E、26R、27K、34R、37K)(配列番号4);iv)(8Aib、18K、26R、27K、34R、37K(配列番号5));v)(8Aib、22E、26R、27K、30K、34R、37K)(配列番号6);及びvi)(8Aib、22E、30K、34R、37K)(配列番号7)から選択される、実施形態1～101のいずれか1つに記載の誘導体。

30

【 0 5 8 1 】

103. ナトリウム塩、カリウム塩、塩化物塩、又は酢酸塩の形態の、実施形態1～102のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 8 2 】

104. GLP-1受容体アゴニストである、実施形態1～103のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 8 3 】

105. 完全GLP-1受容体アゴニストである、実施形態104に記載の誘導体。

【 0 5 8 4 】

106. インビトロにおいて生物学的に活性である、実施形態1～105のいずれか1つに記載の誘導体。

40

【 0 5 8 5 】

107. インビトロにおいて強力である、実施形態1～106のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 8 6 】

108. ヒトGLP-1受容体を活性化することができる、実施形態1～107のいずれか1つに記載の誘導体。

【 0 5 8 7 】

109. ヒトGLP-1受容体を発現する全細胞によるアッセイにおいてヒトGLP-1受容体を活性化することができ、アッセイが、HSAの不在下において(0%のHSA)及び/又はHSAの存在下に

50

において(1%のHSA)、好ましくはHSAの不在下において、実施される、実施形態1～108のいずれか1つに記載の誘導体。

【0588】

110. ヒトGLP-1受容体の応答が、レポーター遺伝子アッセイ(実施例22のアッセイ等)において測定される、実施形態109に記載の誘導体。

【0589】

111. インビトロでの生物活性又は効力が、本質的に実施例22において説明されるように特定される、実施形態106～110のいずれか1つに記載の誘導体。

【0590】

112. 300pM以下の EC_{50} に相当するインビトロでの効力を有する、実施形態1～109のいずれか1つに記載の誘導体。

10

【0591】

113. 200pM以下の EC_{50} に相当するインビトロでの効力を有する、実施形態1～110のいずれか1つに記載の誘導体。

【0592】

114. 105pM以下の EC_{50} に相当するインビトロでの効力を有する、実施形態1～111のいずれか1つに記載の誘導体。

【0593】

115. 75pM以下の EC_{50} に相当するインビトロでの効力を有する、実施形態1～112のいずれか1つに記載の誘導体。

20

【0594】

116. 40pM以下の EC_{50} に相当するインビトロでの効力を有する、実施形態1～113のいずれか1つに記載の誘導体。

【0595】

117. 25pM以下の EC_{50} に相当するインビトロでの効力を有する、実施形態1～114のいずれか1つに記載の誘導体。

【0596】

118. EC_{50} が、本質的に実施例22において説明されるように特定される、実施形態112～117のいずれか1つに記載の誘導体。

【0597】

30

119. セマグルチドの EC_{50} の30倍未満の EC_{50} に相当するインビトロでの効力を有し、セマグルチドの EC_{50} が、誘導体の EC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～118のいずれか1つに記載の誘導体。

【0598】

120. セマグルチドの EC_{50} の20倍未満の EC_{50} に相当するインビトロでの効力を有し、セマグルチドの EC_{50} が、誘導体の EC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～119のいずれか1つに記載の誘導体。

【0599】

121. セマグルチドの EC_{50} の10倍未満の EC_{50} に相当するインビトロでの効力を有し、セマグルチドの EC_{50} が、誘導体の EC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～120のいずれか1つに記載の誘導体。

40

【0600】

122. セマグルチドの EC_{50} の7倍未満の EC_{50} に相当するインビトロでの効力を有し、セマグルチドの EC_{50} が、誘導体の EC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～121のいずれか1つに記載の誘導体。

【0601】

123. セマグルチドの EC_{50} の4倍未満の EC_{50} に相当するインビトロでの効力を有し、セマグルチドの EC_{50} が、誘導体の EC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～122のいずれか1つに記載の誘導体。

【0602】

50

124. セマグルチドの EC_{50} の2倍未満の EC_{50} に相当するインビトロでの効力を有し、セマグルチドの EC_{50} が、誘導体の EC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～123のいずれか1つに記載の誘導体。

【0603】

125. EC_{50} が、本質的に実施例22において説明されるように特定される、実施形態119～124のいずれか1つに記載の誘導体。

【0604】

126. GLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～125のいずれか1つに記載の誘導体。

【0605】

127. HSAの低濃度において(最大0.001%の最終アッセイ濃度)、GLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～126のいずれか1つに記載の誘導体。

【0606】

128. HSAの高濃度において(2.0%の最終アッセイ濃度)、GLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～127のいずれか1つに記載の誘導体。

【0607】

129. ヒトGLP-1受容体への結合が、競合結合アッセイ(実施例23のアッセイ等)において測定される、実施形態126～128のいずれか1つに記載の誘導体。

【0608】

130. インビトロでのヒトGLP-1受容体への結合が、本質的に実施例23に説明されるように特定される、実施形態126～129のいずれか1つに記載の誘導体。

【0609】

131. HSAの非常に低濃度において、10.0nM以下の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～130のいずれか1つに記載の誘導体。

【0610】

132. HSAの非常に低濃度において、3.0nM以下の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～131のいずれか1つに記載の誘導体。

【0611】

133. HSAの非常に低濃度において、1.0nM以下の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～132のいずれか1つに記載の誘導体。

【0612】

134. HSAの非常に低濃度において、0.5nM以下の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～133のいずれか1つに記載の誘導体。

【0613】

135. IC_{50} が、最大0.001%のHSA(最終アッセイ濃度)での反応において、本質的に実施例23において説明されるようにして特定される、実施形態131～134のいずれか1つに記載の誘導体。

【0614】

136. HSAの非常に低濃度において、セマグルチドの IC_{50} の11倍未満の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができ、セマグルチドの IC_{50} が、誘導体の IC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～135のいずれか1つに記載の誘導体。

【0615】

137. HSAの非常に低濃度において、セマグルチドの IC_{50} の4倍未満の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができ、セマグルチドの IC_{50} が、誘導体の IC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～136のいずれか1つに記載の誘導体。

【0616】

138. HSAの非常に低濃度において、セマグルチドの IC_{50} の1.5倍未満の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができ、セマグルチドの IC_{50} が、誘導体の IC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～137のいずれか1つに記載の誘導体。

【0617】

10

20

30

40

50

139. HSAの非常に低濃度において、セマグルチドの IC_{50} の0.7倍未満の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができ、セマグルチドの IC_{50} が、誘導体の IC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～138のいずれか1つに記載の誘導体。

【0618】

140. IC_{50} が、最大0.001%のHSA(最終アッセイ濃度)での反応において、本質的に実施例23において説明されるようにして特定される、実施形態136～139のいずれか1つに記載の誘導体。

【0619】

141. 2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)において、800nM以下の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～140のいずれか1つに記載の誘導体。

10

【0620】

142. 2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)において、500nM以下の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～141のいずれか1つに記載の誘導体。

【0621】

143. 2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)において、300nM以下の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～142のいずれか1つに記載の誘導体。

【0622】

144. 2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)において、200nM以下の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができる、実施形態1～143のいずれか1つに記載の誘導体。

【0623】

20

145. IC_{50} が、2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)での反応において、本質的に実施例23において説明されるようにして特定される、実施形態141～144のいずれか1つに記載の誘導体。

【0624】

146. 2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)において、セマグルチドの IC_{50} の10倍未満の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができ、セマグルチドの IC_{50} が、誘導体の IC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～145のいずれか1つに記載の誘導体。

【0625】

147. 2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)において、セマグルチドの IC_{50} の7倍未満の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができ、セマグルチドの IC_{50} が、誘導体の IC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～146のいずれか1つに記載の誘導体。

30

【0626】

148. 2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)において、セマグルチドの IC_{50} の1倍未満の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができ、セマグルチドの IC_{50} が、誘導体の IC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～147のいずれか1つに記載の誘導体。

【0627】

149. 2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)において、セマグルチドの IC_{50} の0.6倍未満の IC_{50} でヒトGLP-1受容体に結合することができ、セマグルチドの IC_{50} が、誘導体の IC_{50} と同じ方法で特定される、実施形態1～148のいずれか1つに記載の誘導体。

【0628】

40

150. IC_{50} が、2.0%のHSA(最終アッセイ濃度)での反応において、本質的に実施例23において説明されるようにして特定される、実施形態146～149のいずれか1つに記載の誘導体。

【0629】

151. 向上した薬物動態学的特性を有する、実施形態1～150のいずれか1つに記載の誘導体。

【0630】

152. 増加した半減期及び/又は減少したクリアランスを有する、実施形態1～151のいずれか1つに記載の誘導体。

【0631】

50

153. 月1回投与にとって好適である、実施形態1～152のいずれか1つに記載の誘導体。

【0632】

154. s.c. 投与のための、実施形態153に記載の誘導体。

【0633】

155. 薬物動態学的(PK)研究において、インビボで試験される、実施形態151～154のいずれか1つに記載の誘導体。

【0634】

156. 任意の好適な動物モデル(マウス、ラット、サル、イヌ、又はブタ等)において試験される、実施形態155に記載の誘導体。

【0635】

157. セマグルチドと比較される、実施形態151～156のいずれか1つに記載の誘導体。

【0636】

158. セマグルチドと比較したときに、ミニブタにおいて、i.v. 投与後の向上したインビボでの終末相半減期($T^{1/2}$)を有する、実施形態1～157のいずれか1つに記載の誘導体。

【0637】

159. 終末相半減期が、任意の好適な研究プロトコル(実施例24において説明されるもの等)を使用して、ミニブタにおいてi.v. 投与後にインビボで特定される、実施形態151～158のいずれか1つに記載の誘導体。

【0638】

160. 終末相半減期が、本質的に実施例24に説明されるように、ミニブタにおいてi.v. 投与後にインビボで特定される、実施形態151～159のいずれか1つに記載の誘導体。

【0639】

161. 少なくとも90時間の、ミニブタにおいてのi.v. 投与後のインビボでの終末相半減期($T^{1/2}$)を有する、実施形態1～160のいずれか1つに記載の誘導体。

【0640】

162. 少なくとも100時間の、ミニブタにおいてのi.v. 投与後のインビボでの終末相半減期($T^{1/2}$)を有する、実施形態1～161のいずれか1つに記載の誘導体。

【0641】

163. 少なくとも120時間の、ミニブタにおいてのi.v. 投与後のインビボでの終末相半減期($T^{1/2}$)を有する、実施形態1～162のいずれか1つに記載の誘導体。

【0642】

164. 少なくとも140時間の、ミニブタにおいてのi.v. 投与後のインビボでの終末相半減期($T^{1/2}$)を有する、実施形態1～163のいずれか1つに記載の誘導体。

【0643】

165. 同じ方法において特定された、セマグルチドの終末相半減期の少なくとも1.5倍の、ミニブタにおいてのi.v. 投与後のインビボでの終末相半減期($T^{1/2}$)を有する、実施形態1～164のいずれか1つに記載の誘導体。

【0644】

166. 同じ方法において特定された、セマグルチドの終末相半減期の少なくとも2倍の、ミニブタにおいてのi.v. 投与後のインビボでの終末相半減期($T^{1/2}$)を有する、実施形態1～165のいずれか1つに記載の誘導体。

【0645】

167. 同じ方法において特定された、セマグルチドの終末相半減期の少なくとも2.2倍の、ミニブタにおいてのi.v. 投与後のインビボでの終末相半減期($T^{1/2}$)を有する、実施形態1～166のいずれか1つに記載の誘導体。

【0646】

168. 同じ方法において特定された、セマグルチドの終末相半減期の少なくとも2.6倍の、ミニブタにおいてのi.v. 投与後のインビボでの終末相半減期($T^{1/2}$)を有する、実施形態1～165のいずれか1つに記載の誘導体。

【0647】

10

20

30

40

50

169. インビボにおいて強力である、実施形態1～168のいずれか1つに記載の誘導体。

【0648】

170. 任意の好適な動物モデル(マウス又はブタ等)において特定されたときに、インビボにおいて強力である、実施形態1～169のいずれか1つに記載の誘導体。

【0649】

171. 動物モデルがdb/dbマウスである、実施形態170に記載の誘導体。

【0650】

172. 血糖低下効果が特定される、実施形態169～171のいずれか1つに記載の誘導体。

【0651】

173. 体重減少効果が特定される、実施形態167～172のいずれか1つに記載の誘導体。

10

【0652】

174. 血糖低下効果及び/又は体重減少効果が、任意の好適な研究プロトコル及び方法論(例えば、実施例25に説明されるような)を用いて、db/dbマウスにおいて、インビボで特定される、実施形態1～171のいずれか1つに記載の誘導体。

【0653】

175. 血糖低下効果及び/又は体重減少効果が、本質的に実施例25に説明されるように、db/dbマウスにおいて、インビボで特定される、実施形態1～172のいずれか1つに記載の誘導体。

【0654】

176. 好適な用量(例えば、100nmol/kg)においての、db/dbマウスモデルでの単回投与試験において特定された、48時間後の血糖を低下させるインビボでの効果を有する、実施形態1～173のいずれか1つに記載の誘導体。

20

【0655】

177. その投与の前の血糖レベルと比較して、血糖が少なくとも10%減少する、実施形態176に記載の誘導体。

【0656】

178. その投与の前の血糖レベルと比較して、血糖が少なくとも20%減少する、実施形態176又は177に記載の誘導体。

【0657】

179. その投与の前の血糖レベルと比較して、血糖が少なくとも40%減少する、実施形態176～178のいずれか1つに記載の誘導体。

30

【0658】

180. その投与の前の血糖レベルと比較して、血糖が少なくとも60%減少する、実施形態176～179のいずれか1つに記載の誘導体。

【0659】

181. 好適な用量(例えば、100nmol/kg)においての、db/dbマウスモデルでの単回投与試験において特定された、72時間後の血糖を低下させるインビボでの効果を有する、実施形態1～180のいずれか1つに記載の誘導体。

【0660】

182. 好適な用量(例えば、100nmol/kg)においての、db/dbマウスモデルでの単回投与試験において特定された、96時間後の血糖を低下させるインビボでの効果を有する、実施形態1～181のいずれか1つに記載の誘導体。

40

【0661】

183. その投与の前の血糖レベルと比較して、血糖が少なくとも0.5%減少する、実施形態182に記載の誘導体。

【0662】

184. その投与の前の血糖レベルと比較して、血糖が少なくとも1%減少する、実施形態182又は183に記載の誘導体。

【0663】

185. その投与の前の血糖レベルと比較して、血糖が少なくとも5%減少する、実施形態18

50

2～184のいずれか1つに記載の誘導体。

【0664】

186. その投与の前の血糖レベルと比較して、血糖が少なくとも10%減少する、実施形態182～185のいずれか1つに記載の誘導体。

【0665】

187. その投与の前の血糖レベルと比較して、血糖が少なくとも15%減少する、実施形態182～186のいずれか1つに記載の誘導体。

【0666】

188. 好適な用量(例えば、100nmol/kg)においての、db/dbマウスモデルでの単回投与試験において特定された、48時間後の体重を減少させるインビボでの効果を有する、実施形態1～187のいずれか1つに記載の誘導体。

10

【0667】

189. その投与の前の体重と比較して、体重が少なくとも1%減少する、実施形態188に記載の誘導体。

【0668】

190. その投与の前の体重と比較して、体重が少なくとも2%減少する、実施形態188又は189に記載の誘導体。

【0669】

191. その投与の前の体重と比較して、体重が少なくとも5%減少する、実施形態188～190のいずれか1つに記載の誘導体。

20

【0670】

192. その投与の前の体重と比較して、体重が少なくとも7%減少する、実施形態188～191のいずれか1つに記載の誘導体。

【0671】

193. 好適な用量(例えば、100nmol/kg)においての、db/dbマウスモデルでの単回投与試験において特定された、72時間後の体重を減少させるインビボでの効果を有する、実施形態1～192のいずれか1つに記載の誘導体。

【0672】

194. 好適な用量(例えば、100nmol/kg)においての、db/dbマウスモデルでの単回投与試験において特定された、96時間後の体重を減少させるインビボでの効果を有する、実施形態1～193のいずれか1つに記載の誘導体。

30

【0673】

195. その投与の前の体重と比較して、体重が少なくとも2%減少する、実施形態194に記載の誘導体。

【0674】

196. その投与の前の体重と比較して、体重が少なくとも3%減少する、実施形態194又は195に記載の誘導体。

【0675】

197. その投与の前の体重と比較して、体重が少なくとも4%減少する、実施形態194～196のいずれか1つに記載の誘導体。

40

【0676】

198. 動物モデルがブタである、実施形態170に記載の誘導体。

【0677】

199. 動物モデルがLYDブタである、実施形態198に記載の誘導体。

【0678】

200. 食物摂取量の減少が、インビボでの薬力学的(PD)研究において特定される、実施形態198又は199に記載の誘導体。

【0679】

201. 食物摂取量の減少が、例えば、実施例26において説明したような、任意の好適な研究プロトコル及び方法論を使用して、ブタにおいて、インビボで特定される、実施形態19

50

8～200のいずれか1つに記載の誘導体。

【0680】

202.食物摂取量の減少が、本質的に実施例26において説明したような、任意の好適な研究プロトコル及び方法論を使用して、ブタにおいて、インピボで特定される、実施形態198～201のいずれか1つに記載の誘導体。

【0681】

203.その単回用量の投与後の最初の24時間(0～24時間)において食物摂取量を減少させるインピボでの効果を有し、その場合、食物摂取量が、LYDブタモデルにおける単回投与研究において特定される、実施形態1～202のいずれか1つに記載の誘導体。

【0682】

204.その単回用量の投与後の第2の24時間(24～48時間)において食物摂取量を減少させるインピボでの効果を有し、その場合、食物摂取量が、LYDブタモデルにおける単回投与研究において特定される、実施形態1～203のいずれか1つに記載の誘導体。

【0683】

205.その単回用量の投与後の第3の24時間(48～72時間)において食物摂取量を減少させるインピボでの効果を有し、その場合、食物摂取量が、LYDブタモデルにおける単回投与研究において特定される、実施形態1～204のいずれか1つに記載の誘導体。

【0684】

206.その単回用量の投与後の第4の24時間(72～96時間)において食物摂取量を減少させるインピボでの効果を有し、その場合、食物摂取量が、LYDブタモデルにおける単回投与研究において特定される、実施形態1～205のいずれか1つに記載の誘導体。

【0685】

207.Chem.21、Chem.22、Chem.23、Chem.24、Chem.25、Chem.26、Chem.27、Chem.28、Chem.29、Chem.30、Chem.31、Chem.32、Chem.33、又はChem.34から選択されるGLP-1誘導体、又はその薬学的に許容される塩、アミド、若しくはエステル。

【0686】

208.実施例1～14のいずれか1つに示された化学構造から選択されるGLP-1誘導体;又はその薬学的に許容される塩、アミド、若しくはエステル。

【0687】

209.実施例1～4のいずれか1つに示されたGLP-1誘導体名から選択されるGLP-1誘導体;又はその薬学的に許容される塩、アミド、若しくはエステル。

【0688】

210.実施形態1～206のいずれか1つに記載の誘導体である、実施形態207～209のいずれか1つに記載の誘導体。

【0689】

211.GLP-1(7～37)(配列番号1)と比較した場合、以下のアミノ酸変化:

vii)(18K、22K、30K);

ix)(18K、37K);

ix)(18K、27K、37K);

x)(27K、30K、37K);又は

xi)(30K、37K)を含み、

実施形態ix)及びxi)において、GLP-1(7～37)(配列番号1)の位置26に対応する位置のアミノ酸はKである、GLP-1類似体の形態の中間生成物。

【0690】

212.GLP-1(7～37)(配列番号1)と比較した場合、以下のアミノ酸変化:

i)(8Aib、18K、22K、26R、30K、34R);ii)(8Aib、18K、34R、37K);iii)(8Aib、18K、22E、

26R、27K、34R、37K);iv)(8Aib、18K、26R、27K、34R、37K);v)(8Aib、22E、26R、27K、30K、34R、37K);又はvi)(8Aib、22E、30K、34R、37K)を含む、GLP-1類似体の形態の中間生成物。

【0691】

10

20

30

40

50

213. 以下のGLP-1(7~37)(配列番号1)の類似体:

i)(8Aib、18K、22K、26R、30K、34R)(配列番号2);ii)(8Aib、18K、34R、37K)(配列番号3);iii)(8Aib、18K、22E、26R、27K、34R、37K)(配列番号4);iv)(8Aib、18K、26R、27K、34R、37K(配列番号5));v)(8Aib、22E、26R、27K、30K、34R、37K)(配列番号6);及びvi)(8Aib、22E、30K、34R、37K)(配列番号7)から選択される、GLP-1類似体の形態の中間生成物。

【0692】

214. 実施形態1~210のいずれか1つに記載の誘導体又は実施形態211~213のいずれか1つに記載の類似体と、薬学的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物。

【0693】

215. 医薬として使用するための、実施形態1~210のいずれか1つに記載の誘導体又は実施形態211~213のいずれか1つに記載の類似体。

【0694】

216. (i)糖尿病の全ての形態、例えば、高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、インスリン非依存性糖尿病、MODY(若年発症成人型糖尿病)、妊娠糖尿病の予防及び/若しくは処置、並びに/又はHbA1Cの軽減;

(ii)糖尿病疾患の進行、例えば、2型糖尿病の進行の遅延若しくは予防、耐糖能障害(IGT)からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延、インスリン耐性の遅延若しくは予防、及び/又はインスリン非要求性2型糖尿病からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延;

(iii) -細胞機能の向上、例えば、 -細胞アポトーシスの減少、 -細胞機能及び/若しくは -細胞量の増加、並びに/又は -細胞に対するグルコース感受性の回復;

(iv)認知障害及び/又は神経変性障害、例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、及び/又は多発性硬化症の予防及び/又は処置;

(v)例えば、食物摂取量を減らすこと、体重を減らすこと、食欲を抑制すること、満腹感を誘起することによる肥満等の摂食障害の予防及び/若しくは処置;むちゃ食い障害、神経性大食症、及び/若しくは抗精神病薬若しくはステロイドの投与によって誘発された肥満の処置若しくは予防;胃運動性の減少;胃排出の遅延;身体的運動性の増加;並びに/又は肥満に対する併存症、例えば、骨関節炎及び/若しくは尿失禁の予防及び/若しくは処置;

(vi)糖尿病性合併症、例えば、血管障害;末梢神経障害を含む神経障害;腎障害;及び/又は網膜障害の予防及び/又は処置;

(vii)脂質パラメータの改善、例えば、異脂肪血症の予防及び/又は処置、総血清脂質の低下;HDLの増加;小粒子高密度LDLの低下;VLDLの低下;トリグリセリドの低下;コレステロールの低下;ヒトにおけるリポタンパク質a(Lp(a))の血漿レベルの低下;インビトロ及び/又はインビボでのアポリポタンパク質a(apo(a))の発生の阻害;

(viii)心臓血管疾患、例えば、X症候群、アテローム性動脈硬化症、心筋梗塞、冠状動脈心疾患、再灌流損傷、卒中、脳虚血、早期心臓疾患若しくは早期心臓血管疾患、左室肥大、冠状動脈疾患、高血圧、本態性高血圧症、急性高血圧性緊急症、心筋障害、心不全、運動不耐性、急性及び/若しくは慢性心不全、不整脈、心臓異常、失神、狭心症、心臓バイパス及び/若しくはステント再閉塞、間欠性跛行(閉塞性動脈硬化症)、拡張機能障害、及び/若しくは収縮機能障害の予防及び/若しくは処置;並びに/又は血圧の低下、例えば、収縮期血圧の低下;

(ix)胃腸疾患、例えば、炎症性腸疾患、短小腸症候群、若しくはクローン病若しくは大腸炎;消化不良、及び/若しくは胃潰瘍;並びに/又は炎症、例えば、乾癬、乾癬性関節炎、リウマチ性関節炎、及び/若しくは全身性エリテマトーデスの予防及び/若しくは処置;

(x)重症疾患の予防及び/若しくは処置、例えば、重症患者、重症疾患ポリ腎症(CIPNP)患者、及び/若しくは潜在的CIPNP患者の処置;重症疾患若しくはCIPNPの発症の予防;患者における全身性炎症応答症候群(SIRS)の予防、処置、及び/若しくは治療;入院中の菌血症、敗血症、及び/若しくは敗血症性ショックを罹っている患者の可能性の予防若しくは軽減;並びに/又は血糖、インスリンバランス、及び任意選択で集中治療室の急性疾患患者における代謝の安定化;

10

20

30

40

50

(xi)多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の予防及び/又は処置;
 (xii)脳疾患、例えば、脳虚血、脳出血、及び/又は脳外傷の予防及び/又は処置;
 (xiii)睡眠時無呼吸の予防及び/又は処置;並びに/或いは
 (xiv)乱用、例えば、アルコール乱用及び/又は薬物乱用の予防及び/又は処置
 に使用される、実施形態1~210のいずれか1つに記載の誘導体又は実施形態211~213のい
 ずれか1つに記載の類似体。

【 0 6 9 5 】

217.

(i)糖尿病の全ての形態、例えば、高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、イン
 スリン非依存性糖尿病、MODY(若年発症成人型糖尿病)、妊娠糖尿病の予防及び/若しく
 は処置、並びに/又はHbA1Cの軽減;

10

(ii)糖尿病疾患の進行、例えば、2型糖尿病の進行の遅延若しくは予防、耐糖能障害(IG
 T)からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延、インスリン耐性の遅延若しくは予防
 、及び/又はインスリン非要求性2型糖尿病からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅
 延;

(iii) -細胞機能の向上、例えば、 -細胞アポトーシスの減少、 -細胞機能及び/若
 しくは -細胞量の増加、並びに/又は -細胞に対するグルコース感受性の回復;

(iv)認知障害及び/又は神経変性障害、例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、
 及び/又は多発性硬化症の予防及び/又は処置;

(v)例えば、食物摂取量を減らすこと、体重を減らすこと、食欲を抑制すること、満腹
 感を誘起することによる肥満等の摂食障害の予防及び/若しくは処置;むちゃ食い障害、神
 経性大食症、及び/若しくは抗精神病薬若しくはステロイドの投与によって誘発された肥
 満の処置若しくは予防;胃運動性の減少;胃排出の遅延;身体的運動性の増加;並びに/又は
 肥満に対する併存症、例えば、骨関節炎及び/若しくは尿失禁の予防及び/若しくは処置;

20

(vi)糖尿病性合併症、例えば、血管障害;末梢神経障害を含む神経障害;腎障害;及び/又
 は網膜障害の予防及び/又は処置;

(vii)脂質パラメータの改善、例えば、異脂肪血症の予防及び/又は処置、総血清脂質の
 低下;HDLの増加;小粒子高密度LDLの低下;VLDLの低下;トリグリセリドの低下;コレステロ
 ールの低下;ヒトにおけるリポタンパク質a(Lp(a))の血漿レベルの低下;インビトロ及び/
 又はインビボでのアポリポタンパク質a(apo(a))の発生の阻害;

30

(viii)心臓血管疾患、例えば、X症候群、アテローム性動脈硬化症、心筋梗塞、冠状動
 脈心疾患、再灌流損傷、卒中、脳虚血、早期心臓疾患若しくは早期心臓血管疾患、左室肥
 大、冠状動脈疾患、高血圧、本態性高血圧症、急性高血圧性緊急症、心筋障害、心不全、
 運動不耐性、急性及び/若しくは慢性心不全、不整脈、心臓異常、失神、狭心症、心臓
 バイパス及び/若しくはステント再閉塞、間欠性跛行(閉塞性動脈硬化症)、拡張機能障害
 、及び/若しくは収縮機能障害の予防及び/若しくは処置;並びに/又は血圧の低下、例えば
 、収縮期血圧の低下;

(ix)胃腸疾患、例えば、炎症性腸疾患、短小腸症候群、若しくはクローン病若しくは大
 腸炎;消化不良、及び/若しくは胃潰瘍;並びに/又は炎症、例えば、乾癬、乾癬性関節炎、
 リウマチ性関節炎、及び/若しくは全身性エリテマトーデスの予防及び/若しくは処置;

40

(x)重症疾患の予防及び/若しくは処置、例えば、重症患者、重症疾患ポリ腎症(CIPNP)
 患者、及び/若しくは潜在的CIPNP患者の処置;重症疾患若しくはCIPNPの発症の予防;患者
 における全身性炎症応答症候群(SIRS)の予防、処置、及び/若しくは治療;入院中の菌血症
 、敗血症、及び/若しくは敗血症性ショックを罹っている患者の可能性の予防若しくは軽
 減;並びに/又は血糖、インスリンバランス、及び任意選択で集中治療室の急性疾患患者に
 おける代謝の安定化;

(xi)多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の予防及び/又は処置;

(xii)脳疾患、例えば、脳虚血、脳出血、及び/又は脳外傷の予防及び/又は処置;

(xiii)睡眠時無呼吸の予防及び/又は処置;並びに/或いは

(xiv)乱用、例えば、アルコール乱用及び/又は薬物乱用の予防及び/又は処置

50

のための医薬の製造における、実施形態1～210のいずれか1つに記載の誘導体又は実施形態211～213のいずれか1つに記載の類似体の使用。

【0696】

218.

(i) 糖尿病の全ての形態、例えば、高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、インスリン非依存性糖尿病、MODY(若年発症成人型糖尿病)、妊娠糖尿病の予防及び/若しくは処置、並びに/又はHbA1Cの軽減;

(ii) 糖尿病疾患の進行、例えば、2型糖尿病の進行の遅延若しくは予防、耐糖能障害(IGT)からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延、インスリン耐性の遅延若しくは予防、及び/又はインスリン非要求性2型糖尿病からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延;

10

(iii) -細胞機能の向上、例えば、-細胞アポトーシスの減少、-細胞機能及び/若しくは-細胞量の増加、並びに/又は-細胞に対するグルコース感受性の回復;

(iv) 認知障害及び/又は神経変性障害、例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、及び/又は多発性硬化症の予防及び/又は処置;

(v) 例えば、食物摂取量を減らすこと、体重を減らすこと、食欲を抑制すること、満腹感を誘起することによる肥満等の摂食障害の予防及び/若しくは処置;むちゃ食い障害、神経性大食症、及び/若しくは抗精神病薬若しくはステロイドの投与によって誘発された肥満の処置若しくは予防;胃運動性の減少;胃排出の遅延;身体的運動性の増加;並びに/又は肥満に対する併存症、例えば、骨関節炎及び/若しくは尿失禁の予防及び/若しくは処置;

20

(vi) 糖尿病性合併症、例えば、血管障害;末梢神経障害を含む神経障害;腎障害;及び/又は網膜障害の予防及び/又は処置;

(vii) 脂質パラメータの改善、例えば、異脂肪血症の予防及び/又は処置、総血清脂質の低下;HDLの増加;小粒子高密度LDLの低下;VLDLの低下;トリグリセリドの低下;コレステロールの低下;ヒトにおけるリポタンパク質a(Lp(a))の血漿レベルの低下;インビトロ及び/又はインビボでのアポリポタンパク質a(apo(a))の発生の阻害;

(viii) 心臓血管疾患、例えば、X症候群、アテローム性動脈硬化症、心筋梗塞、冠状動脈心疾患、再灌流損傷、卒中、脳虚血、早期心臓疾患若しくは早期心臓血管疾患、左室肥大、冠状動脈疾患、高血圧、本態性高血圧症、急性高血圧性緊急症、心筋障害、心不全、運動不耐性、急性及び/若しくは慢性心不全、不整脈、心律動異常、失神、狭心症、心臓バイパス及び/若しくはステント再閉塞、間欠性跛行(閉塞性動脈硬化症)、拡張機能障害、及び/若しくは収縮機能障害の予防及び/若しくは処置;並びに/又は血圧の低下、例えば、収縮期血圧の低下;

30

(ix) 胃腸疾患、例えば、炎症性腸疾患、短小腸症候群、若しくはクローン病若しくは大腸炎;消化不良、及び/若しくは胃潰瘍;並びに/又は炎症、例えば、乾癬、乾癬性関節炎、リウマチ性関節炎、及び/若しくは全身性エリテマトーデスの予防及び/若しくは処置;

(x) 重症疾患の予防及び/若しくは処置、例えば、重症患者、重症疾患ポリ腎症(CIPNP)患者、及び/若しくは潜在的CIPNP患者の処置;重症疾患若しくはCIPNPの発症の予防;患者における全身性炎症応答症候群(SIRS)の予防、処置、及び/若しくは治療;入院中の菌血症、敗血症、及び/若しくは敗血症性ショックを罹っている患者の可能性の予防若しくは軽減;並びに/又は血糖、インスリンバランス、及び任意選択で集中治療室の急性疾患患者における代謝の安定化;

40

(xi) 多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の予防及び/又は処置;

(xii) 脳疾患、例えば、脳虚血、脳出血、及び/又は脳外傷の予防及び/又は処置;

(xiii) 睡眠時無呼吸の予防及び/又は処置;並びに/或いは

(xiv) 乱用、例えば、アルコール乱用及び/又は薬物乱用の予防及び/又は処置

のための方法であって、実施形態1～210のいずれか1つに記載の誘導体又は実施形態211～213のいずれか1つに記載の類似体の薬学的に活性な量が投与される、方法。

【0697】

特定の実施形態の更に他のセットは:

50

a). GLP-1ペプチドの誘導体であって、

GLP-1ペプチドは、GLP-1(7~37)(配列番号1)の位置(18、22、30)、(18、26、37)、(18、27、37)、(26、30、37)、又は(27、30、37)に対応する位置に第1、第2、及び第3のK残基を含み、GLP-1(7~37)(配列番号1)と比較したときに最大で7のアミノ酸変化を有するペプチドであり、

誘導体は、

式Chem.1又は式Chem.2:

Chem.1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{16}-\text{CO}-^*$ 、

Chem.2: $\text{HO}_3\text{S}-(\text{CH}_2)_{15}-\text{CO}-^*$

の第1、第2、及び第3の延長部分と、

それぞれが*-CO基及び*-NH基を含む、第1、第2、及び第3のリンカーとを含み、

各延長部分が、その*-CO末端において、それぞれのリンカーの*-NH末端に結合しており、各リンカーが、その*-CO末端において、GLP-1ペプチドのそれぞれのK残基のアミノ基に結合している、

誘導体、又はその薬学的に許容される塩、アミド、若しくはエステル。

b). 第1、第2、及び第3の延長部分のそれぞれが、式Chem.1の延長部分である、実施形態a)の誘導体。

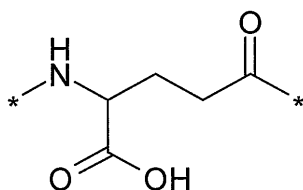
c). 第1、第2、及び第3の延長部分のそれぞれが、式Chem.2の延長部分である、実施形態a)の誘導体。

d). リンカーが、式Chem.3、Chem.4、Chem.5、Chem.6、Chem.7、及び/又はChem.8:

Chem.3:

【0698】

【化17】

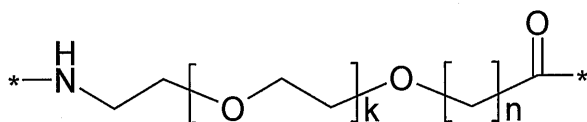


【0699】

Chem.4:

【0700】

【化18】



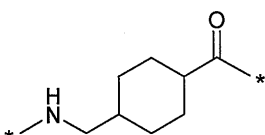
【0701】

[式中、kは、1~5の範囲の整数であり、nは、1~5の範囲の整数である];

Chem.5:

【0702】

【化19】



【0703】

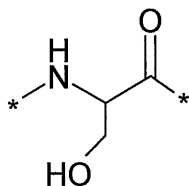
Chem.6: $^*-\text{NH}-(\text{CH}_2)_q-\text{CH}[(\text{CH}_2)_w-\text{NH}_2]-\text{CO}-^*$ 、

[式中、qは、0～5の範囲の整数であり、wは、0～5の範囲の整数であり、ただし、wが0の場合、qは1～5の範囲の整数であり、qが0の場合、wは1～5の範囲の整数である]；

Chem.7:

【0704】

【化20】



10

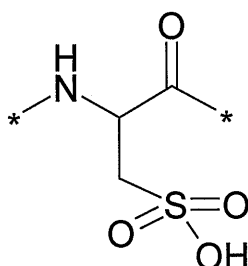
【0705】

及び/又は、

Chem.8:

【0706】

【化21】



20

【0707】

から選択される1つ又は複数のリンカー要素を含む、実施形態a)～c)のいずれか1つに記載の誘導体。

【0708】

30

e).GLP-1ペプチドが、一般式I:

式I:

$\text{Xaa}_7\text{-Xaa}_8\text{-Glu-Gly-Thr-Xaa}_{12}\text{-Thr-Ser-Asp-Xaa}_{16}\text{-Ser-Xaa}_{18}\text{-Xaa}_{19}\text{-Xaa}_{20}\text{-Glu-Xaa}_{22}\text{-Xaa}_{23}\text{-Ala-Xaa}_{25}\text{-Xaa}_{26}\text{-Xaa}_{27}\text{-Phe-Ile-Xaa}_{30}\text{-Xaa}_{31}\text{-Leu-Xaa}_{33}\text{-Xaa}_{34}\text{-Xaa}_{35}\text{-Xaa}_{36}\text{-Xaa}_{37}$

、

[式中、

Xaa₇は、L-ヒスチジン、(S)-2-ヒドロキシ-3-(1H-イミダゾール-4-イル)-プロピオン酸、D-ヒスチジン、デスアミノ-ヒスチジン、ホモヒスチジン、N-アセチル-ヒスチジン、N-ホルミル-ヒスチジン、N-メチル-ヒスチジン、3-ピリジルアラニン、2-ピリジルアラニン、又は4-ピリジルアラニンであり；

40

Xaa₈は、Ala、Gly、Ser、Aib、(1-アミノシクロプロピル)カルボン酸、又は(1-アミノシクロブチル)カルボン酸であり；

Xaa₁₂は、Phe又はLeuであり；

Xaa₁₆は、Val又はLeuであり；

Xaa₁₈は、Ser、Arg、Lys、Val、又はLeuであり；

Xaa₁₉は、Tyr又はGlnであり；

Xaa₂₀は、Leu又はMetであり；

Xaa₂₂は、Gly、Lys、又はGluであり；

Xaa₂₃は、Gln、Glu、Lys、又はArgであり；

Xaa₂₅は、Ala又はValであり；

50

Xaa₂₆は、Arg又はLysであり；
Xaa₂₇は、Glu、Lys、又はLeuであり；
Xaa₃₀は、Ala、Glu、又はLysであり；
Xaa₃₁は、Trp又はHisであり；
Xaa₃₃は、Val、Lys、又はArgであり；
Xaa₃₄は、Lys、Arg、His、Asn、又はGlnであり；
Xaa₃₅は、Gly又はAlaであり；
Xaa₃₆は、Arg又はGlyであり；
Xaa₃₇は、Gly、Pro、又はLysである]を有する、実施形態a)～d)のいずれか1つに記載の誘導体。

10

【0709】

f). Xaa₈がAibである、実施形態e)に記載の誘導体。

【0710】

g). GLP-1ペプチドが、i)(8Aib、18K、22K、26R、30K、34R)；ii)(8Aib、18K、34R、37K)；iii)(8Aib、18K、22E、26R、27K、34R、37K)；iv)(8Aib、18K、26R、27K、34R、37K)；v)(8Aib、22E、26R、27K、30K、34R、37K)；vi)(8Aib、22E、30K、34R、37K)；vii)(18K、22K、30K)；viii)(18K、37K)；ix)(18K、27K、37K)；x)(27K、30K、37K)；又はxi)(30K、37K)を含み、実施形態iix)及びxi)において、GLP-1(7～37)(配列番号1)の位置26に対応する位置のアミノ酸がKである、実施形態a)～f)のいずれか1つに記載の誘導体。

20

【0711】

h). GLP-1ペプチドが、以下のGLP-1(7～37)(配列番号1)の類似体：i)(8Aib、18K、22K、26R、30K、34R)(配列番号2)；ii)(8Aib、18K、34R、37K)(配列番号3)；iii)(8Aib、18K、22E、26R、27K、34R、37K)(配列番号4)；iv)(8Aib、18K、26R、27K、34R、37K)(配列番号5)；v)(8Aib、22E、26R、27K、30K、34R、37K)(配列番号6)；及びvi)(8Aib、22E、30K、34R、37K)(配列番号7)から選択される、実施形態a)～g)のいずれか1つに記載の誘導体。

【0712】

j). 以下：Chem.21、Chem.22、Chem.23、Chem.24、Chem.25、Chem.26、Chem.27、Chem.28、Chem.29、Chem.30、Chem.31、Chem.32、Chem.33、若しくはChem.34から選択されるGLP-1誘導体、又はその薬学的に許容される塩、アミド、若しくはエステル。

【0713】

k). GLP-1(7～37)(配列番号1)を比較した場合、以下のアミノ酸変化：vii)(18K、22K、30K)；viii)(18K、37K)；ix)(18K、27K、37K)；x)(27K、30K、37K)；又はxi)(30K、37K)を含み、実施形態iix)及びxi)において、GLP-1(7～37)(配列番号1)の位置26に対応する位置のアミノ酸がKである、GLP-1類似体の形態の中間生成物。

30

【0714】

l). GLP-1(7～37)(配列番号1)を比較した場合、以下のアミノ酸変化：i)(8Aib、18K、22K、26R、30K、34R)；ii)(8Aib、18K、34R、37K)；iii)(8Aib、18K、22E、26R、27K、34R、37K)；iv)(8Aib、18K、26R、27K、34R、37K)；v)(8Aib、22E、26R、27K、30K、34R、37K)；又はvi)(8Aib、22E、30K、34R、37K)を含む、GLP-1類似体の形態の中間生成物。

【0715】

m). 以下のGLP-1(7～37)(配列番号1)の類似体：i)(8Aib、18K、22K、26R、30K、34R)(配列番号2)；ii)(8Aib、18K、34R、37K)(配列番号3)；iii)(8Aib、18K、22E、26R、27K、34R、37K)(配列番号4)；iv)(8Aib、18K、26R、27K、34R、37K)(配列番号5)；v)(8Aib、22E、26R、27K、30K、34R、37K)(配列番号6)；及びvi)(8Aib、22E、30K、34R、37K)(配列番号7)から選択される、GLP-1類似体の形態の中間生成物。

40

【0716】

n). 実施形態a)～h)、又はj)のいずれか1つに記載の誘導体又は実施形態k)～m)のいずれか1つに記載の類似体と、薬学的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物。

【0717】

o). 医薬として使用するための、実施形態a)～h)、又はj)のいずれか1つに記載の誘導体

50

又は実施形態k) ~ m)のいずれか1つに記載の類似体。

【0718】

p). (i) 糖尿病の全ての形態、例えば、高血糖症、2型糖尿病、耐糖能障害、1型糖尿病、インスリン非依存性糖尿病、MODY(若年発症成人型糖尿病)、妊娠糖尿病の予防及び/若しくは処置、並びに/又はHbA1Cの軽減;

(ii) 糖尿病疾患の進行、例えば、2型糖尿病の進行の遅延若しくは予防、耐糖能障害(IGT)からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延、インスリン耐性の遅延若しくは予防、及び/又はインスリン非要求性2型糖尿病からインスリン要求性2型糖尿病への進行の遅延;

(iii) -細胞機能の向上、例えば、 -細胞アポトーシスの減少、 -細胞機能及び/若しくは -細胞量の増加、並びに/又は -細胞に対するグルコース感受性の回復;

(iv) 認知障害及び/又は神経変性障害、例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、及び/又は多発性硬化症の予防及び/又は処置;

(v) 例えば、食物摂取量を減らすこと、体重を減らすこと、食欲を抑制すること、満腹感を誘起することによる肥満等の摂食障害の予防及び/若しくは処置; むちゃ食い障害、神経性大食症、及び/若しくは抗精神病薬若しくはステロイドの投与によって誘発された肥満の処置又は予防; 胃運動性の減少; 胃排出の遅延; 身体的運動性の増加; 並びに/又は肥満に対する併存症、例えば、骨関節炎及び/若しくは尿失禁の予防及び/若しくは処置;

(vi) 糖尿病性合併症、例えば、血管障害; 末梢神経障害を含む神経障害; 腎障害; 及び/又は網膜障害の予防及び/又は処置;

(vii) 脂質パラメータの改善、例えば、異脂肪血症の予防及び/又は処置、総血清脂質の低下; HDLの増加; 小粒子高密度LDL(small, dense LDL)の低下; VLDLの低下; トリグリセリドの低下; コレステロールの低下; ヒトにおけるリポタンパク質a(Lp(a))の血漿レベルの低下; インビトロ及び/又はインビボでのアポリポタンパク質a(apo(a))の発生の阻害;

(viii) 心臓血管疾患、例えば、X症候群、アテローム性動脈硬化症、心筋梗塞、冠状動脈心疾患、再灌流損傷、卒中、脳虚血、早期心臓疾患若しくは早期心臓血管疾患、左室肥大、冠状動脈疾患、高血圧、本態性高血圧症、急性高血圧性緊急症、心筋障害、心不全、運動不耐性、急性及び/若しくは慢性心不全、不整脈、心臓異常、失神、狭心症、心臓バイパス及び/又はステント再閉塞、間欠性跛行(閉塞性動脈硬化症)、拡張機能障害、及び/又は収縮機能障害の予防及び/若しくは処置; 並びに/又は血圧の低下、例えば、収縮期血圧の低下;

(ix) 胃腸疾患、例えば、炎症性腸疾患、短小腸症候群、若しくはクローン病若しくは大腸炎; 消化不良、及び/若しくは胃潰瘍; 並びに/又は炎症、例えば、乾癬、乾癬性関節炎、リウマチ性関節炎、及び/若しくは全身性エリテマトーデスの予防及び/若しくは処置;

(x) 重症疾患の予防及び/若しくは処置、例えば、重症患者、重症疾患ポリ腎症(CIPNP)患者、及び/若しくは潜在的CIPNP患者の処置; 重症疾患又はCIPNPの発症の予防; 患者における全身性炎症応答症候群(SIRS)の予防、処置、及び/若しくは治療; 入院中の菌血症、敗血症、及び/若しくは敗血症性ショックを罹っている患者の可能性の予防若しくは軽減; 並びに/又は血糖、インスリンバランス、及び任意選択で集中治療室の急性疾患患者における代謝の安定化;

(xi) 多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の予防及び/又は処置;

(xii) 脳疾患、例えば、脳虚血、脳出血、及び/又は脳外傷の予防及び/又は処置;

(xiii) 睡眠時無呼吸の予防及び/又は処置; 並びに/或いは

(xiv) 乱用、例えば、アルコール乱用及び/又は薬物乱用の予防及び/又は処置、において使用するための、実施形態a) ~ h)、又はj)のいずれか1つに記載の誘導体又は実施形態k) ~ m)のいずれか1つに記載の類似体。

【実施例】

【0719】

この実験パートは、略語の一覧から始まり、本発明の類似体及び誘導体を合成し特徴付けるための一般的方法を含むセクションが後続する。次いで、特定のGLP-1誘導体の調製

10

20

30

40

50

に関連するいくつかの実施例が後続し、その終わりに、これらの類似体及び誘導体の活性及び特性に関連するいくつかの実施例が含まれる(薬理学的方法の見出しのセクション)。実施例は、本発明の例説に役立つ。

【 0 7 2 0 】

材料及び方法

略語の一覧

Aib: -アミノイソ酪酸(2-アミノイソ酪酸)

AcOH: 酢酸

API: 医薬品有効成分

AUC: 曲線下面積

10

BG: 血糖

BHK: ベビーハムスター腎臓

BW: 体重

Boc: t-ブチルオキシカルボニル

Bom: ベンジルオキシメチル

BSA: ウシ血清アルブミン

Bzl: ベンジル

CAS: 化学情報検索サービス機関

Cl t: 2-クロロトリチル

コリジン: 2,4,6-トリメチルピリジン

20

DCM: ジクロロメタン

Dde: 1-(4,4-ジメチル-2,6-ジオキソシクロヘキシリデン)エチル

DesH: デス-アミノヒスチジン(イミダゾプロピオン酸又は3-(イミダゾール-5-イル)プロパン酸とも呼ばれ得る、Imp)

DIC: ジイソプロピルカルボジイミド

DIPEA: ジイソプロピルエチルアミン

DMEM: ダルベッコ変法イーグル培地(DMEM)

EDTA: エチレンジアミン四酢酸

EGTA: エチレングリコール四酢酸

FCS: ウシ胎仔血清

30

Fmoc: 9-フルオレニルメチルオキシカルボニル

HATU: (0-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート)

HBTU: (2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート)

HEPES: 4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニエタンスルホン酸

HFIP: 1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール又はヘキサフルオロイソプロパノール

HOAt: 1-ヒドロキシ-7-アザベンゾトリアゾール

HOBt: 1-ヒドロキシベンゾトリアゾール

HPLC: 高速液体クロマトグラフィー

40

HSA: ヒト血清アルブミン

IBMX: 3-イソブチル-1-メチルキサンチン

Imp: イミダゾプロピオン酸(3-(イミダゾール-5-イル)プロパン酸とも呼ばれる)(DesH、デス-アミノヒスチジンも参照されたい)

Inp: イソニペコチン酸

i.v.: 静脈内

ivDde: 1-(4,4-ジメチル-2,6-ジオキソシクロヘキシリデン)-3-メチルブチル

IVGTT: 静脈内耐糖能試験

LCMS: 液体クロマトグラフィー質量分光法

LYD: ランドレース-ヨークシャー-デュロック

50

MALDI-MS: MALDI-TOF MSを参照のこと

MALDI-TOF MS: マトリックス支援レーザー脱離/イオン化飛行時間型質量分析法

MeOH: メタノール

Mmt: 4-メトキシトリチル

Mtt: 4-メチルトリチル

NMP: N-メチルピロリドン

OBz: ベンゾイルエステル

OEG: 8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸

OPfp: ペンタフルオロフェノキシ

OPnp: パラ-ニトロフェノキシ

10

OSu: O-スクシンイミジルエステル(ヒドロキシスクシンイミドエステル)

OtBu: tert-ブチルエステル

Oxya Pure(登録商標): シアノ-ヒドロキシイミノ-酢酸エチルエステル

Pbf: 2,2,4,6,7-ペンタメチルジヒドロベンゾフラン-5-スルホニル

PBS: リン酸緩衝生理食塩水

PD: 薬力学的

Pen/Strep: ペニシリン/ストレプトマイシン

PK: 薬物動態学的

PyBoP: (ベンゾトリアゾール-1-イルオキシ)トリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロ
ホスフェート

20

RP: 逆相

RP-HPLC: 逆相高速液体クロマトグラフィー

RT: 室温

Rt: 保持時間

s.c.: 皮下

SD: 標準偏差

SEC-HPLC: サイズ排除高速液体クロマトグラフィー

SEM: 標準誤差

SPA: シンチレーション近接分析

SPPS: 固相ペプチド合成

30

tBu: tert.ブチル

TFA: トリフルオロ酢酸

TIS: トリイソプロピルシラン

TLC: 薄層クロマトグラフィー

Tos: トシレート(又はパラ-トルエンスルホニル)

トリス: トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン又は2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-プロ
パン-1,3-ジオール

Trt: トリフェニルメチル(トリチル)

Trx: トラネキサム酸

UPLC: 超高速液体クロマトグラフィー

40

【0721】

特殊材料

Fmoc-L-システイン酸

Fmoc-8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸

Fmoc-トラネキサム酸

Fmoc-Glu-OtBu

Boc-Lys(Fmoc)-OH

オクタデカン二酸モノ-tert-ブチルエステル

エイコサン二酸モノ-tert-ブチルエステル

16-スルホ-ヘキサデカン酸

50

【0722】

エイコサン二酸モノ-tert-ブチルエステル及び16-スルホ-ヘキサデカン酸の調製については、以下のセクション2において説明し、最初に言及した6つの材料は市販のものである。

【0723】

化学的な方法

このセクションは、次の2つ:(調製(A1);並びに検出及び特徴付け(A2)の)一般的方法に関するセクションAと、いくつかの特定の実施例化合物の調製及び特徴付けについて説明するセクションBとに分けられる。

【0724】

A. 一般的方法

A1. 調製方法

このセクションは、固相ペプチド合成の方法(SPPS法、これは、アミノ酸の脱保護の方法、樹脂からペプチドを切断する方法、及びそれを精製する方法を含む)、並びに、その結果として得られるペプチドを検出し特徴付ける方法(LCMS法、MALDI法、及びUPLC法)に関する。ペプチドの固相合成は、いくつかの場合において、酸性条件下で切断することができる基(これらに限定されるわけではないが、2-Fmoc-オキシ-4-メトキシベンジル又は2,4,6-トリメトキシベンジル等)によるジペプチドアミド結合において保護されているジペプチドを使用することによって改良され得る。セリン又はトレオニンがペプチド中に存在する場合、疑似プロリンジペプチドを使用してもよい(例えば、Novabiochem社から入手可能、W.R. Sampson (1999)、J. Pep. Sci. 5、403も参照されたい)。使用したFmoc-保護アミノ酸誘導体は、推薦される標準物質:例えば、Anaspec社、Bachem社、Iris Biotech社、又はNovabiochem社から供給される、Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Asn(Trt)-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Cys(Trt)-OH、Fmoc-Gln(Trt)-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-His(Trt)-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-Met-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Trp(Boc)-OH、Fmoc-Tyr(tBu)-OH、又はFmoc-Val-OH等であった。特に指定されない場合、アミノ酸の天然のL体を使用される。N末端アミノ酸を、アミノ基においてBoc保護した(例えば、N末端にHisを有するペプチドの場合、Boc-His(Boc)-OH又はBoc-His(Trt)-OH)。SPPSを使用したモジュール式アルブミン結合部分の結合の場合、以下の好適に保護された構築ブロック(これらに限定されるわけではないが、Fmoc-8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸、Fmoc-トラネキサム酸、Fmoc-イソニペコチン酸、Fmoc-Glu-OtBu、Fmoc-Lys(Fmoc)-OH、及びBoc-Lys(Fmoc)-OH等)は、例えば、Anaspec社、Bachem社、Iris Biotech社、又はNovabiochem社から供給されるものを使用した。エイコサン二酸モノ-tert-ブチルエステル、及び16-スルホ-ヘキサデカン酸は、下記に説明するように調製することができる。以下に述べる全ての操作は、250 μ molの合成スケールにおいて実施した。

【0725】

1. 樹脂固定保護されたペプチド骨格の合成

方法:SPPS_P

樹脂充填に対して6倍過剰なFmoc-アミノ酸(300mMのHOAt又はOxyma Pure(登録商標)を伴ったNMP中における300mM)、例えば、低充填Fmoc-Gly-Wang(0.35mmol/g)、を使用して、Protein Technologies社(Tucson, AZ 85714, U.S.A.)のPrelude Solid Phase Peptide Synthesiserにおいて、250 μ molスケールにてSPPS_Pを実施した。Fmoc-脱保護は、NMP中における20%のピペリジンを使用して実施した。カップリングは、NMP中における3:3:3:4のアミノ酸/(HOAt又はOxyma Pure(登録商標))/DIC/コリジンを使用して実施した。脱保護工程とカップリング工程との間に、NMP及びDCMのトップ洗浄(7ml、0.5分、それぞれ2×2)を行った。カップリング時間は、概して60分であった。これらに限定されるわけではないが、Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Aib-OH、又はBoc-His(Trt)-OHを含むいくつかのアミノ酸を、「二重カップリング」させたが、これは、最初のカップリング後(例えば、60分)、樹脂から排出させ、更なる試薬(アミノ酸、(HOAt又はOxyma Pure(登録商標))を添加し、DIC、及び

10

20

30

40

50

コリジン)、混合物を再び反応させる(例えば、60分)ことを意味する。

【0726】

方法:SPPS_L

CEM Corp.社(Matthews、NC28106、U.S.A.)のマイクロ波ベースのLibertyペプチド合成機において、樹脂充填に対して6倍過剰なFmoc-アミノ酸(300mMのHOAt又はOxyma Pure(登録商標)を伴ったNMP中における300mM)、例えば、低充填Fmoc-Gly-Wang(0.35mmol/g)を使用して、例えば250 μ molスケールにてSPPS_Lを実施した。NMP中における5%のピペリジンを使用して、75℃までで30秒間、Fmoc脱保護を行ったが、この場合、樹脂から排出してNMPで洗浄した後、Fmoc脱保護を今度は75℃で2分間繰り返した。NMP中における1:1:1のアミノ酸/(HOAt又はOxyma Pure(登録商標))/DICを使用して、カップリングを実施した。カップリング時間及び温度は、概して、75℃までで5分であった。より大きいスケールの反応については、より長いカップリング時間、例えば10分を用いた。前のアミノ酸が立体障害されている場合(例えばAib)、ヒスチジニアミノ酸を、50℃で、二重カップリング又は四重カップリングさせた。アルギニンアミノ酸を室温で25分間カップリングさせ、次いで、75℃に5分間加熱した。これらに限定されるわけではないがAib等のいくつかのアミノ酸を「二重カップリング」させたが、これは、最初のカップリング(例えば、75℃で5分)の後に樹脂から排出させ、更なる試薬(アミノ酸、(HOAt又はOxyma Pure(登録商標))及びDIC)を添加し、混合物を再び加熱する(例えば、75℃で5分)ことを意味する。脱保護工程とカップリング工程との間に、NMP洗浄(5×10ml)を実施した。

10

【0727】

20

2. エイコサン二酸モノ-tert-ブチルエステル及び16-スルホ-ヘキサデカン酸の合成

エイコサン二酸モノ-tert-ブチルエステルは、当技術分野において公知であるように、例えば、WO2010102886A1に記載されているように、調製することができる。

【0728】

16-スルホ-ヘキサデカン酸は、以下のように調製することができる：

16-ヘキサデカノリド(150g、589mmol)をMeOH(2500mL)に溶解させ、トルエン-4-スルホン酸(13.5g、71.0mmol)を添加した。反応混合物を16時間加熱還流させた。冷却後、炭酸水素ナトリウムを添加し(8.40g、112mmol)、反応混合物を15分間撹拌した。溶媒を蒸発させ、酢酸エチルを添加し(2000mL)、混合物を、水(400mL)、10%の炭酸水素ナトリウム溶液(2×400mL)、及びブライン(200mL)で抽出した。無水MgSO₄で乾燥させ、ろ過し、溶媒を蒸発させた後、粗生成物を得た。それをヘキサン(1500mL)から再結晶化させた。ろ過後、白色固体として16-ヒドロキシヘキサデカン酸メチルエステルを得た。

30

収量:161.0g(96%)。

【0729】

上記において調製したエステルをDCM(1200mL)に溶解させた。トリエチルアミンを添加し(118mL、847.8mmol)、反応混合物を0℃まで冷却し、メシルクロリド(55mL)を、10分間かけてゆっくりと添加した。1時間後、反応混合物を室温まで温め、一晚撹拌した。16時間後、水を添加し(20mL)、混合物を30分間撹拌した。溶媒を蒸発させ、酢酸エチル(1600mL)を添加し、混合物を、1MのHCl(2×600mL)、5%の炭酸ナトリウム溶液(2×400mL)、及び水(400mL)で抽出した。無水MgSO₄で乾燥させ、ろ過し、溶媒を蒸発させた後、白色固体として16-メシルヘキサデカン酸メチルエステルを得た。

40

収量:205.1g(100%)。

【0730】

上記において調製したメシレートエタノール(2000mL)に溶解させ、チオ尿素(81.0g、1.068mol)及びNaI(92.2g、0.616mmol)を添加し、反応混合物を2日間還流させた。冷却後、溶媒を蒸発させ、水(1600mL)中におけるNaOH(184g)の溶液を添加した。結果として得られる懸濁液を2時間加熱還流させ、10%のHCl(2000mL)に注ぎ入れた。15分後、濃HClの別のポーションを添加した(120mL)。白色沈殿物をろ過し、水で洗浄して、乾燥させ、数回、トルエンを用いて蒸発させた。白色固体として16-メルカプトヘキサデカン酸を得た。

収量:165.1g(100%)。

50

【 0 7 3 1 】

16-メルカプトヘキサデカン酸(165.1g、0.572mmol)をDCM(1600mL)に溶解させ、2NのHClを添加した(800mL)。臭素(200mL)をゆっくりと添加すると、最初に白色沈殿物が形成したが、これは、臭素の全量を添加した後には溶解した。混合物を室温で3時間攪拌した。DCM及び臭素の両方を蒸発させ、臭素の残りを除去するために、3回、DCMの更なるポーション(3×500mL)を添加して蒸発させた。茶色が消えるまで2MのNaOHを添加し、反応混合物を1時間加熱還流させた。酸性pHになるまで濃HClを添加し、沈殿物をろ別し、遠心分離して、水で6回デカンテーションした。白色固体として表題生成物を得た。

収量:151.6g(74%)。

【 0 7 3 2 】

【 数 1 】

¹H NMR スペクトル(300 MHz, DMSO, δ_H): 11.97 (bs, 1 H); 2.39 (m, 2 H); 2.18 (t, J=7.3 Hz, 2 H); 1.49 (m, 4H); 1.23 (m, 22 H)

【 0 7 3 3 】

3. 樹脂固定保護されたペプチド骨格への側鎖の結合

アシル化がリシン側鎖上に存在する場合、アシル化されるべきリシンの アミノ基を、延長部分及びリンカーの結合のための経路に応じて、Mtt、Mmt、Dde、ivDde、又はBocのいずれかで保護した。Dde-脱保護又はivDde-脱保護を、NMP中における2%ヒドラジンにより実施し(2×20ml、各10分)、次いでNMP洗浄を行った(4×20ml)。DCM中における2%のTFA及び2~3%のTIS(5×20ml、各10分)、続いてDCM(2×20ml)、DCM中における10%のMeOH及び5%のDIPEA(2×20ml)、並びにNMP洗浄(4×20ml)によって、又はヘキサフルオロイソプロパノール/DCM(75:25、5×20ml、各10分)による処理と、それに続く上記のような洗浄とによって、Mtt-脱保護又はMmt-脱保護を実施した。場合によっては、Mtt基を、Libertyペプチド合成機の自動化工程によって除去した。ヘキサフルオロイソプロパノール又はヘキサフルオロイソプロパノール/DCM(75:25)によって室温で30分間、続いてDCMによる洗浄(7ml×5)、続いて5%のピペリジンによる洗浄(7ml×5)及びNMP洗浄によって、Mtt脱保護を実施した。延長部分及び/又はリンカーは、樹脂固定ペプチドのアシル化によって、又は保護されていないペプチドの溶液中でのアシル化によって、ペプチドに結合させることができる。保護されたペプチジル樹脂に延長部分及び/又はリンカーを結合する場合、結合は、SPPSを使用したモジュール及び好適に保護された構築ブロックであり得る。

【 0 7 3 4 】

方法:SC_P

N- リシン保護基を、上記において説明したように除去し、上記において説明したような好適に保護された構築ブロックを使用してPreludeペプチド合成機における1つ又は複数の自動化工程によってリシンの化学修飾を実施した。二重カップリングを、SPPS_Pにおいて説明したように、カップリング毎に3時間実施した。

【 0 7 3 5 】

方法:SC_L

N- リシン保護基を、上記において説明したように除去し、上記において説明したような好適に保護された構築ブロックを使用したLibertyペプチド合成機における1つ又は複数の自動化工程によって、リシンの化学修飾を実施した。二重カップリングを、SPPS_Lにおいて説明したように実施した。

【 0 7 3 6 】

方法:SC_M_1

N- リシン保護基を、上記において説明したように除去し、上記において説明したような好適に保護された構築ブロックを使用して、1つ又は複数の手動の工程によってリシンの化学修飾を実施した。SC_M_1は、樹脂充填に対して4倍又は6倍過剰なFmoc-アミノ酸(

10

20

30

40

50

300mMのHOAt、Oxyma Pure(登録商標)を伴った、NMP中における300mM)を使用して、500- μ molスケールにて実施した。NMP中における20%のピペリジンを使用して、室温で5分間、Fmoc脱保護を実施し、樹脂から排出してNMPで洗浄した後、今度は室温で15分間、Fmoc脱保護を繰り返した。NMP中における1:1:1のアミノ酸/Oxyma Pure(登録商標)/DICを使用して、カップリングを実施した。カップリング時間は、概して、室温で60分であった。いくつかの構築ブロックを二重カップリングさせたが、この二重カップリングとは、最初のカップリング(例えば60分)の後、樹脂から排出し、更なる試薬を添加し(アミノ酸、(HOAt又はOxyma Pure(登録商標))、DIC、及びコリジン)、混合物を再度反応させる(例えば60分)ことを意味する。

【0737】

10

方法:SC_M_2

Fmoc-L-システイン酸のカップリングは、酸をDMFに溶解させ、溶液を、NMPに溶解させたPyBOPと5分間混合した、2倍～4倍過剰の上記の酸(NMP中における300mMのPyBOPを伴う、DMF中における300mM)を用いて、250 μ mol又は500- μ molスケールにおいて実施した。溶液を樹脂に添加した後、DIPEA(酸/PyBOP/DIPEA(1:1:4))を添加した。樹脂を2時間振盪した。二重カップリングさせた。

【0738】

方法:SC_M_3

16-スルホ-ヘキサデカン酸のカップリングは、酸を沸騰DMFに溶解させた後に50℃までゆっくりと冷却させ、DMFに溶解させたPyBOPを添加した、3～4倍過剰の酸(300mMのPyBOPを伴う、DMF中における40mM)を用い、その後、溶液を樹脂に添加することにより、250- μ mol又は500- μ molスケールにおいて実施した。DIPEA(酸/PyBOP/DIPEA(1:1:4))をゆっくりと添加した。樹脂を2時間振盪した。二重又は三重カップリングさせた。

20

【0739】

4. 結合した側鎖を有する又は有さない樹脂結合ペプチドの切断及び精製

方法:CP_M1

合成後、樹脂をDCMで洗浄し、ペプチドを、TFA/TIS/水(95/2.5/2.5又は92.5/5/2.5)による2～3時間の処理と、続くジエチルエーテルによる沈殿とによって、樹脂から切断した。ペプチドを、好適な溶媒(例えば、30%液体酢酸又は2%液体NH₄OH等)に溶解させ、アセトニトリル/水/TFAを使用して、C18、5 μ mのカラムでの標準的なRP-HPLCにより精製した。画分を、UPLC、MALDI、及びLCMS法の組合せによって分析し、適切な画分をプールし、凍結乾燥した。

30

【0740】

必要な場合、ペプチドの対イオンは、当技術分野において公知の方法を使用して、ナトリウムと交換することができる。一例として、およそ2gのペプチドを250mlのアセトニトリル/水(50/50)に溶解させ、分取RP-HPLCシステムにおいてWaters X-Bridge C8, 5 μ m、50 \times 250mmのカラムにロードした。ロードした後、カラムを水で60ml/分の流量において8分間洗浄し、pH11の0.01NのNaOHで60ml/分の流量において8分間 \times 2回洗浄した。ペプチドのナトリウム塩を、60ml/分で10分間の水のアイソクラチック流と、その後の30分間の5%～85%の直線勾配を使用して溶離させた。

40

【0741】

必要な場合、ペプチドの対イオンは、当技術分野において公知の方法を使用して、アセテートと交換することができる。一例として、およそ0.5gのペプチドを250mlのアセトニトリル/水(50/50)に溶解させ、分取RP-HPLCシステムにおいてWaters X-Bridge C8, 5 μ m、50 \times 250mmのカラムにロードした。ロードした後、カラムを、水で60ml/分の流量において8分間洗浄し、pH11の0.01NのNaOHで60ml/分の流量において8分間 \times 2回洗浄し、その後、1%のAcOH水溶液で60ml/分の流量において8分間洗浄した。当該ペプチドの酢酸塩を、0.1酢酸を伴う5%～85%のアセトニトリル水溶液の直線勾配を使用して、30分間溶離させた。

【0742】

A2. 検出及び特徴付けのための一般的方法

50

1. LC-MS法

方法:LCMS01v01

Waters Acquity UPLCシステム、及びMicromass社のLCT Premier XE質量分析計からなる設定において、LCMS01v01を実施した。溶離液:A:水中における0.1%ギ酸、B:アセトニトリル中における0.1%ギ酸。分析は、室温において、適切な体積の試料(好ましくは2~10 µl)をカラム上に注入することによって実施し、これをA及びBの勾配で溶離させた。UPLC条件、検出器の設定、及び質量分析計の設定は、以下のとおりであった。カラム:Waters Acquity UPLC BEH、C-18、1.7 µm、2.1mm×50mm。勾配:0.4ml/分で4.0分(或いは8.0分)間での直線的な5%~95%のアセトニトリル。検出:214nm(TUV(チューナブルUV検出器)からの類似体出力)、MSイオン化モード:API-ES。スキャン:100~2000amu(或いは、500~2000amu)、工程:0.1amu。

【0743】

2. UPLC法

方法:UPLC02v01

デュアルバンド検出器を取り付けたWaters UPLCシステムを使用してRP-分析を実施した。ACQUITY UPLC BEH130、C18、130、1.7µm、2.1mm×150mmカラムを用いて、40 で、214nm及び254nmでのUV検出値を収集した。UPLCシステムを、A:99.95%のH₂O、0.05%のTFA;B:99.95%のCH₃CN、0.05%のTFAを含有する2つの溶離液リザーバーに接続した。以下の直線勾配を使用した:95%のA、5%のBから95%のA、5%のBによる流速0.40ml/分で16分間。

【0744】

3. MALDI-MS法

方法:MALDI01v01

マトリックス支援レーザー脱離及びイオン化飛行時間型質量分析を使用して分子量を特定し、Microflex又はAutoflex(Bruker社)において記録した。 -シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸のマトリックスを使用した。

【0745】

B. 実施例化合物の調製

(実施例1)

N{イブシロン-18}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル],N{イブシロン-22}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル],N{イブシロン-30}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib8,Lys18,Lys22,Arg26,Lys30,Arg34]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem. 21:

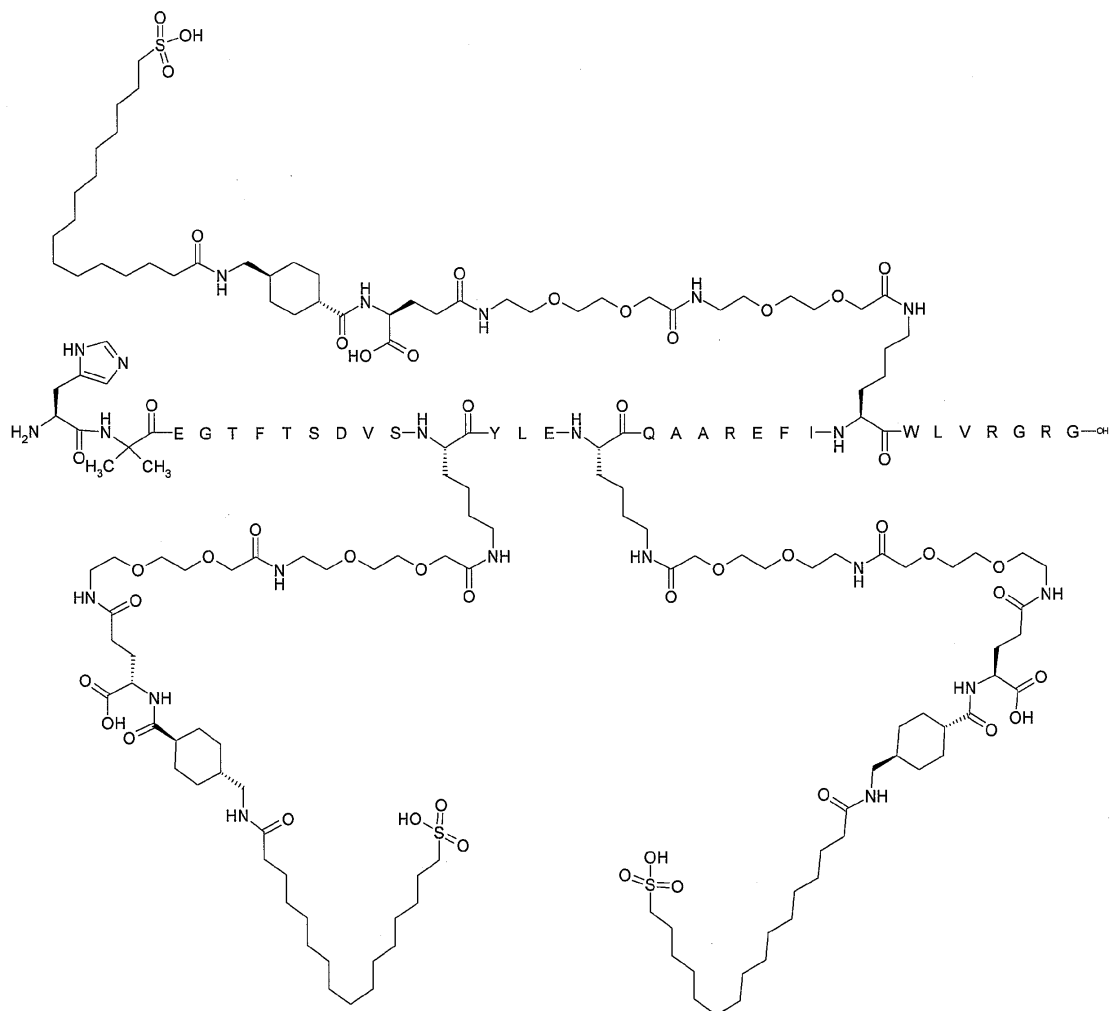
【0746】

10

20

30

【化 2 2】



10

20

【 0 7 4 7 】

30

当該ペプチドは配列番号2である。

合成方法: SPPS_P; SC_M_1; SC_M_3; CP_M1

LCMS01v01: Rt=2.5分、m/4=1557; m/5=1246; m/6=1039; m/7=890

UPLC02v01: Rt=9.3分

【 0 7 4 8 】

(実施例2)

N{イブシロン-18}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(2R)-3-スルホ-2-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)プロパノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル], N{イブシロン-22}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(2R)-3-スルホ-2-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)プロパノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル], N{イブシロン-30}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(2R)-3-スルホ-2-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)プロパノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib8, Lys18, Lys22, Arg26, Lys30, Arg34]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

40

Chem. 22:

【 0 7 4 9 】

Chemical structure of the 120 kDa subunit of the 20S proteasome core particle. The structure is a long, complex polypeptide chain with various modifications. It features a long N-terminal tail with a sulfonamide group (HO-SO₂-), a tryptophan residue, and a long aliphatic chain. The main body of the protein contains several alpha-helices and beta-sheets, with a large loop region. The C-terminal region includes a long aliphatic chain and a sulfonamide group. The structure is shown in a ribbon representation with various side chains and modifications labeled.

当該ペプチドは配列番号2である。

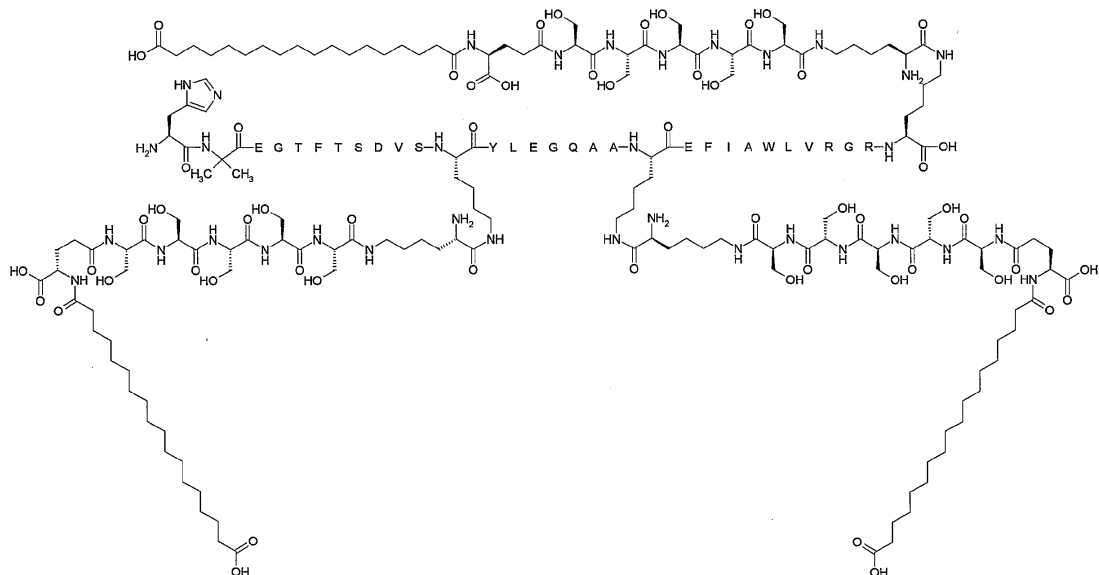
LCMS01v01:Rt=2.8分;m/3=1959;m/4=1469;m/5=1175;m/6=980

【 0 7 5 1 】

N{イブシロン-18}-[(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ヘキサノイル],N{イブシロン-26}-[(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ヘキサノイル],N{イブシロン-37}-[(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib8,Lys18,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

【 0 7 5 2 】

【化 2 4】



10

【 0 7 5 3】

当該ペプチドは配列番号3である。

合成方法: SPPS_P; SC_P; CP_M1

MALDI01v01: 計算値m/z: 6477; 実測値m/z: 6475

UPLC02v01: Rt=9.30分

【 0 7 5 4】

(実施例4)

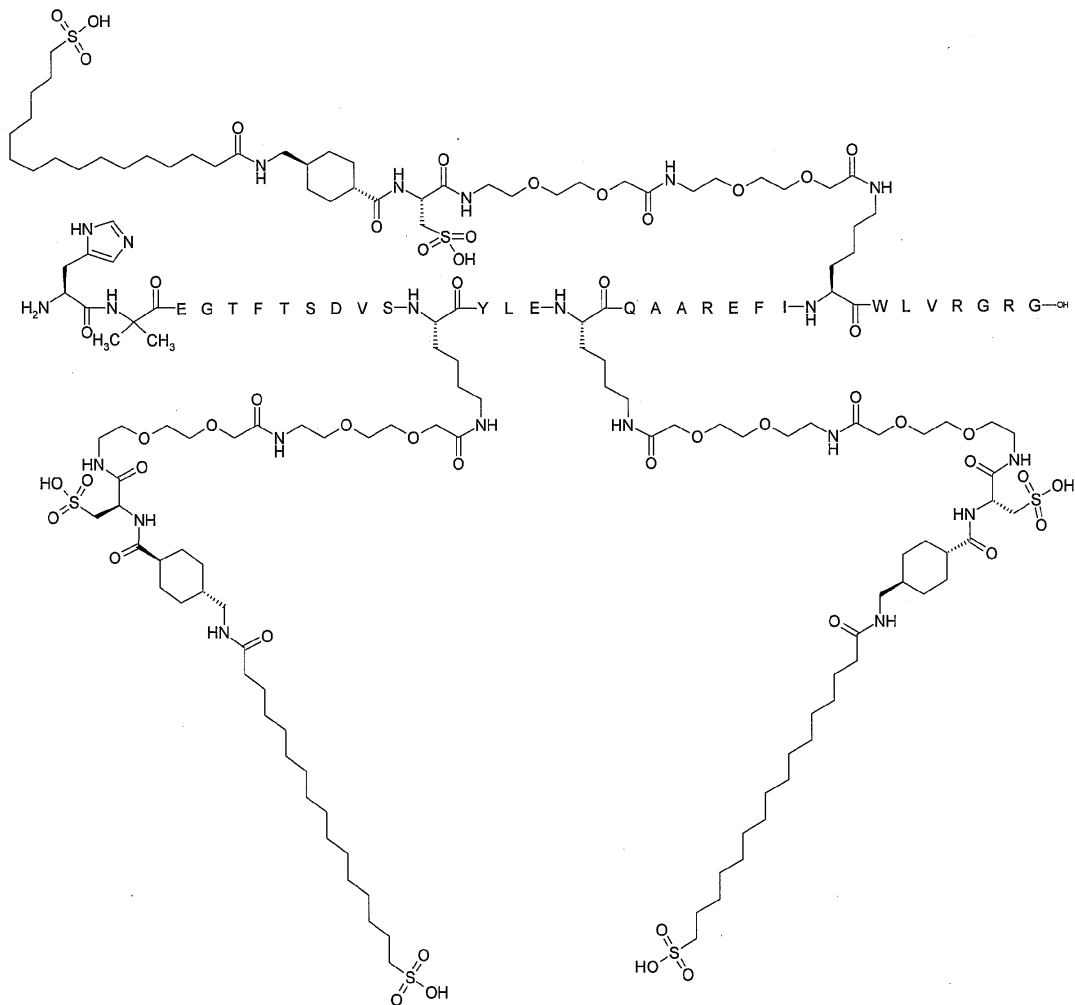
N{イブシロン-18}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2-(2R)-3-スルホ-2-[[4-[(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]プロパノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル], N{イブシロン-22}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2-(2R)-3-スルホ-2-[[4-[(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]プロパノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル], N{イブシロン-30}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2-(2R)-3-スルホ-2-[[4-[(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]プロパノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib8, Lys18, Lys22, Arg26, Lys30, Arg34]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

30

Chem. 24:

【 0 7 5 5】

【化 2 5】



【 0 7 5 6 】

当該ペプチドは配列番号2である。

合成方法: SPPS_L; SC_L; SC_M_1; SC_M_2; SC_M_3; CP_M1

LCMS01v01: Rt=3.3分、m/4=1574; m/5=1259

UPLC02v01: Rt=9.3分

【 0 7 5 7 】

(実施例5)

N{イブシロン-18}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル], N{イブシロン-27}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル], N{イブシロン-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib8, Lys18, Glu22, Arg26, Lys27, Arg34, Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

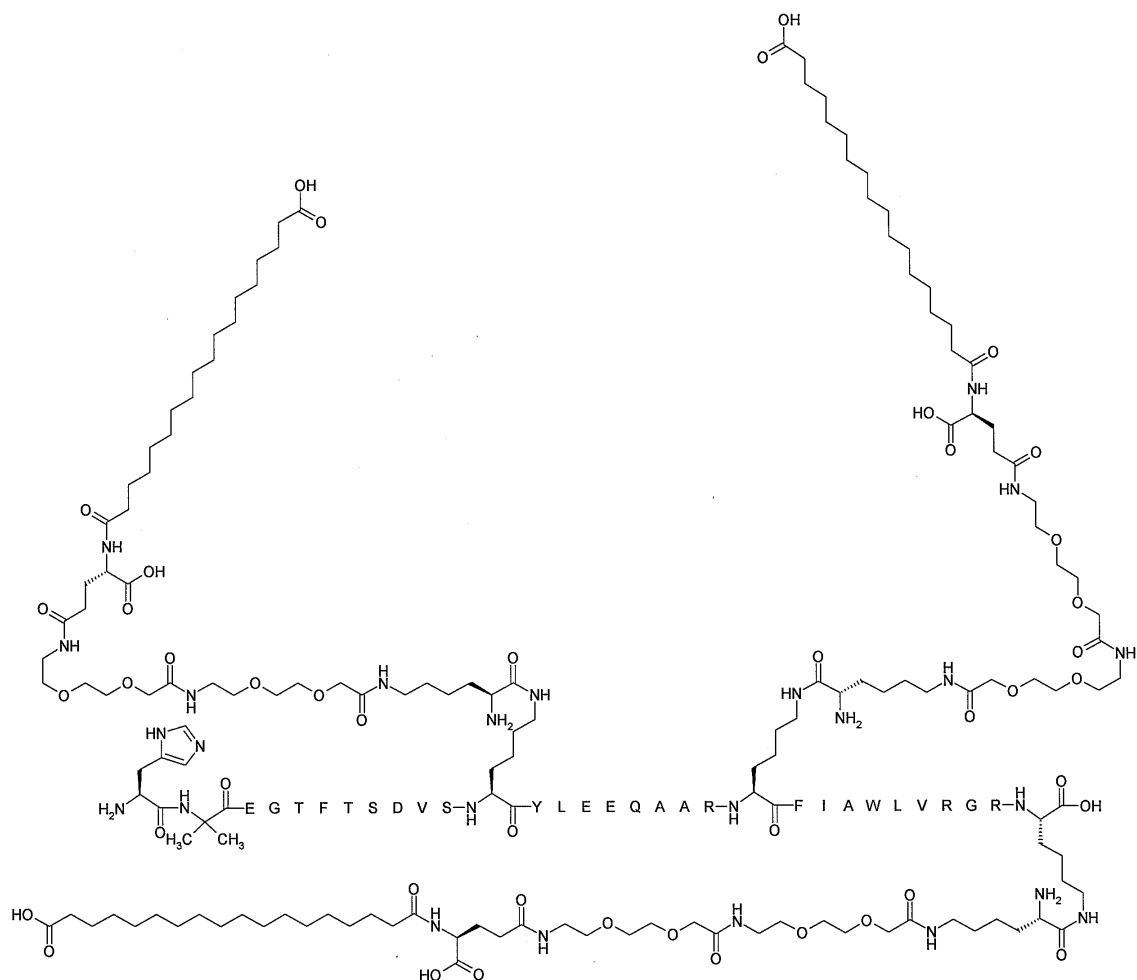
Chem. 25:

【 0 7 5 8 】

[illegible]

【 0 7 6 1 】

【化 27】



【 0 7 6 2 】

当該ペプチドは配列番号4である。

合成方法: SPPS_P; SC_L; CP_M1

LCMS01v01: Rt=2.7分、m/4=1536; m/5=1229; m/6=1024; m/7=878

UPLC02v01: Rt=9.3分

【 0 7 6 3 】

(実施例7)

N{イブシロン-18}-[2-[2-[2-[4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]アセチル], N{イブシロン-27}-[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル], N{イブシロン-37}-[2-[2-[2-[[(4S)-4-カルボキシ-4-[[2-[2-[2-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib8, Lys18, Glu22, Arg26, Lys27, Arg34, Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem. 27:

【 0 7 6 4 】

[illegible]

【 0 7 6 7 】

20

30

40

The chemical structure of the 12S subunit of the 12S ribosomal protein is shown. The protein backbone is represented by a series of amino acid residues, including Glycine (G), Threonine (T), Phealanine (F), Threonine (T), Serine (S), Aspartic acid (D), Valine (V), Serine (S), Alanine (A), Glutamic acid (E), Glutamine (Q), Alanine (A), Alanine (A), Glutamic acid (E), Phealanine (F), Isoleucine (I), Alanine (A), Valine (V), Leucine (L), Arginine (R), and Glycine (G). The structure also shows the long aliphatic chain of the lipid modification, which is attached to the C-terminus of the protein.

20

当該ペプチドは配列番号3である。

MALDI01v01: 計算値m/z:6354; 実測値m/z:6350

UPLC02v01:Rt=10.5分

(实施例9)

N{イブシロン-18}-[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル],N{イブシロン-27}-[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル],N{イブシロン-37}-[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]アミノ]-3-ヒドロキシプロパノイル]-[Aib8,Lys18,Arg26,Lys27,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem. 29:

【 0 7 7 0 】

[illegible]

10

当該ペプチドは配列番号5である。

20

MALDI01v01: 計算値m/z:6381; 実測値m/z:6381

UPLC02v01:Rt=10.1分

(实施例10)

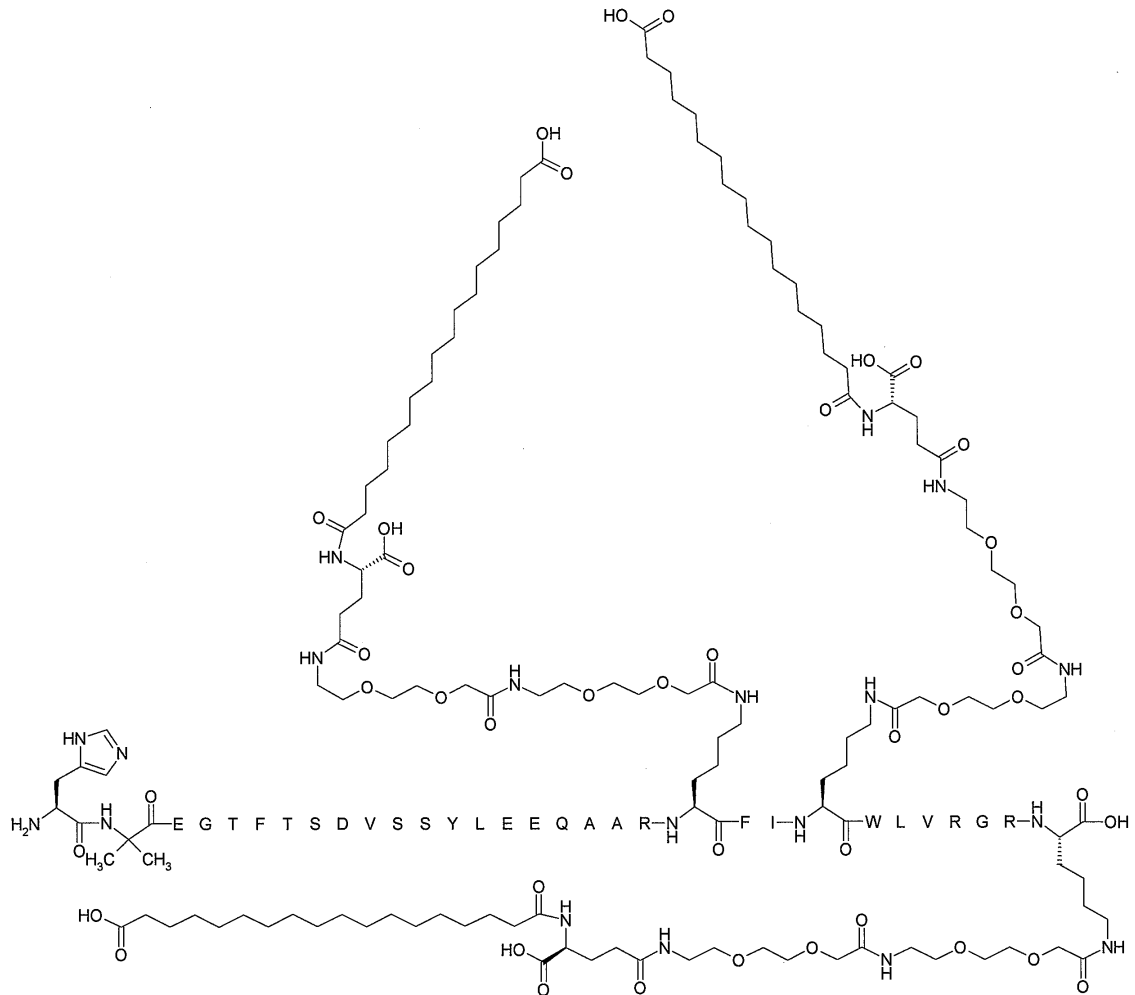
N{イブシロン-27}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル], N{イブシロン-30}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル], N{イブシロン-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib8, Glu22, Arg26, Lys27, Lys30, Arg34, Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

30

Chem. 30 :

【 0 7 7 3 】

【化 3 1】



【 0 7 7 4 】

当該ペプチドは配列番号6である。

合成方法:SPPS_P;SC_L;CP_M1

LCMS01v01:Rt=2.6分、m/3=1925;m/4=1444;m/5=1155;m/6=963

UPLC02v01:Rt=10.6分

【 0 7 7 5 】

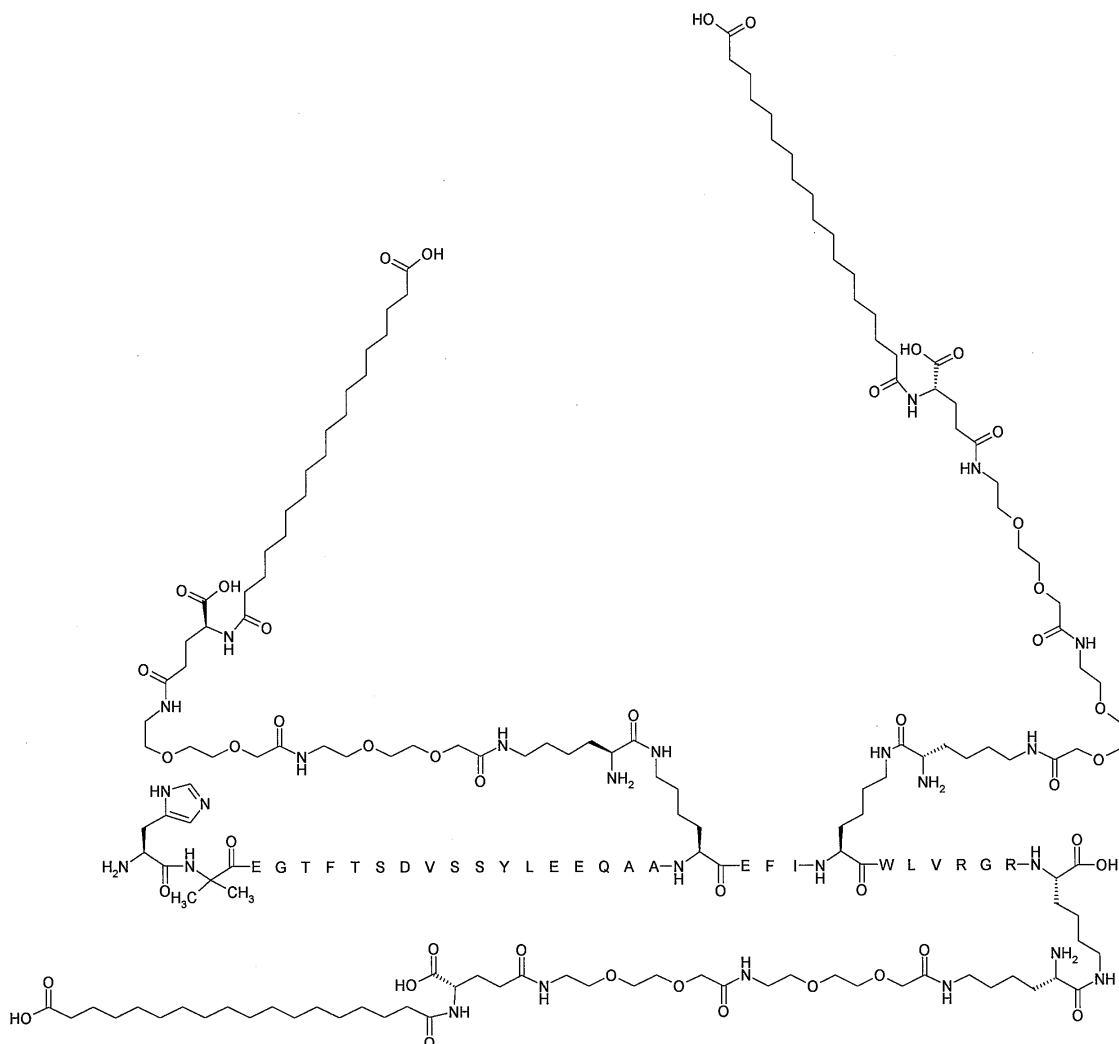
(実施例11)

N{イブシロン-26}-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル],N{イブシロン-30}-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル],N{イブシロン-37}-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib8,Glu22,Lys30,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.31:

【 0 7 7 6 】

10



20

30

当該ペプチドは配列番号7である。

LCMS01v01:Rt=2.5分、m/4=1533;m/5=1227;m/6=1022 m/7=877

UPLC02v01:Rt=9.8分

(实施例12)

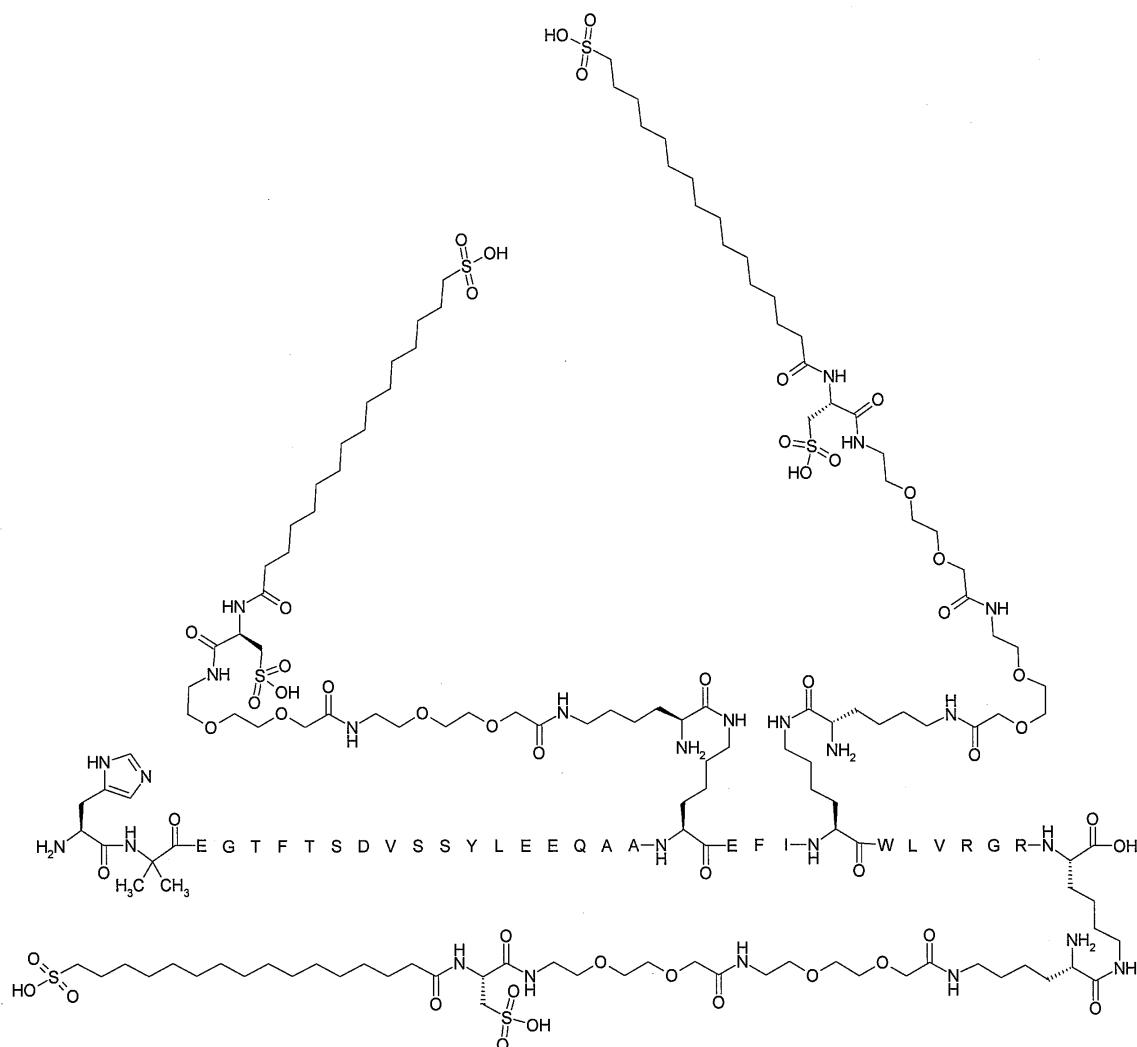
N{イブシロン-26}-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[2-[2-[(2R)-3-スルホ-2-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)プロパノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル], N{イブシロン-30}-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[2-[2-[(2R)-3-スルホ-2-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)プロパノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル], N{イブシロン-37}-[(2S)-2-アミノ-6-[[2-[2-[2-[2-[2-[(2R)-3-スルホ-2-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)プロパノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]ヘキサノイル]-[Aib8, Glu22, Lys30, Arg34, Lys37]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem. 32:

【 0 7 7 9 】

40

【化 3 3】



【 0 7 8 0 】

当該ペプチドは配列番号7である。

合成方法:SPPS_P;SC_L;SC_M_2;SC_M_3;CP_M1

LCMS01v01:Rt=3.0分、m/4=1566;m/5=1253;m/6=1045;m/7=896

UPLC02v01:Rt=8.4分

【 0 7 8 1 】

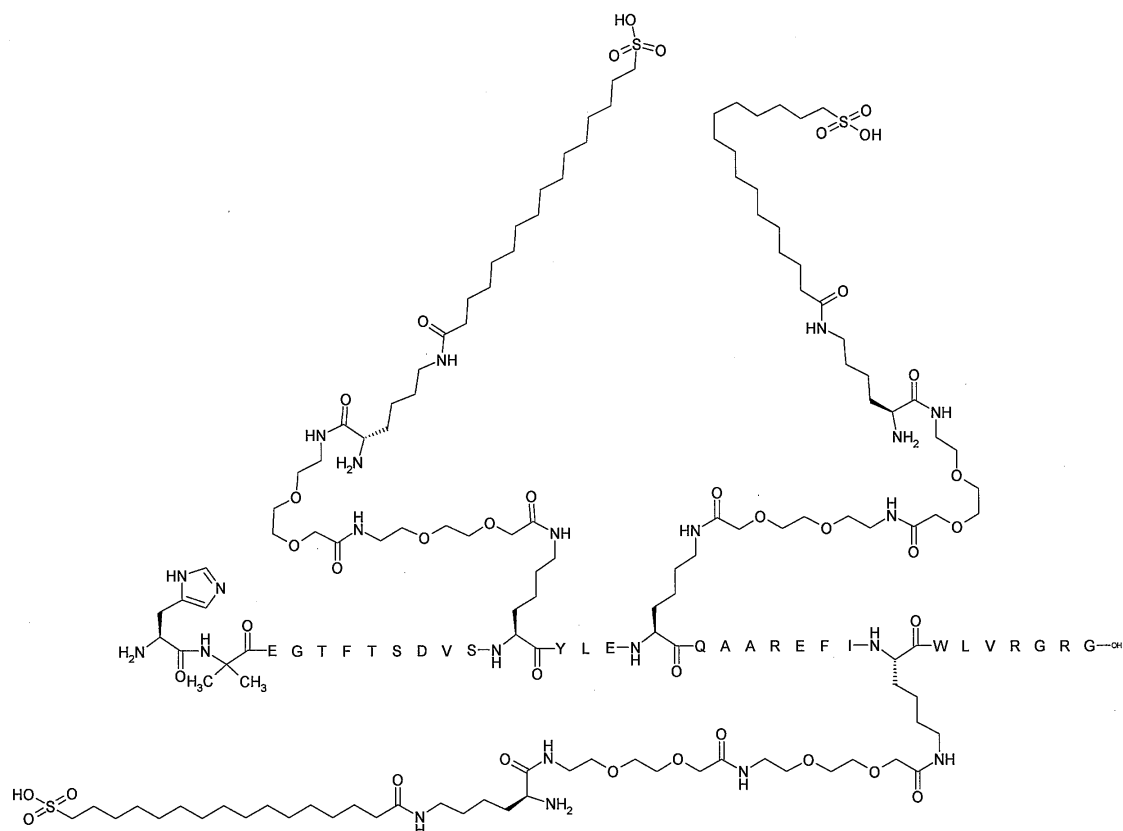
(実施例13)

N{イブシロン-18}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(2S)-2-アミノ-6-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル],N{イブシロン-22}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(2S)-2-アミノ-6-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル],N{イブシロン-30}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(2S)-2-アミノ-6-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib8,Lys18,Lys22,Arg26,Lys30,Arg34]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem.33:

【 0 7 8 2 】

【化 3 4】



【 0 7 8 3】

当該ペプチドは配列番号2である。

合成方法: SPPS_L; SC_L; SC_M_3; CP_M1

LCMS01v01: Rt=2.3分、m/3=1936; m/4=1452; m/5=1162; m/6=969; m/7=830; m/8=727

UPLC02v01: Rt=8.5分

【 0 7 8 4】

(実施例14)

N{イブシロン-18}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-アミノ-6-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル], N{イブシロン-22}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-アミノ-6-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル], N{イブシロン-30}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-アミノ-6-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib8, Lys18, Lys22, Arg26, Lys30, Arg34]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem. 34:

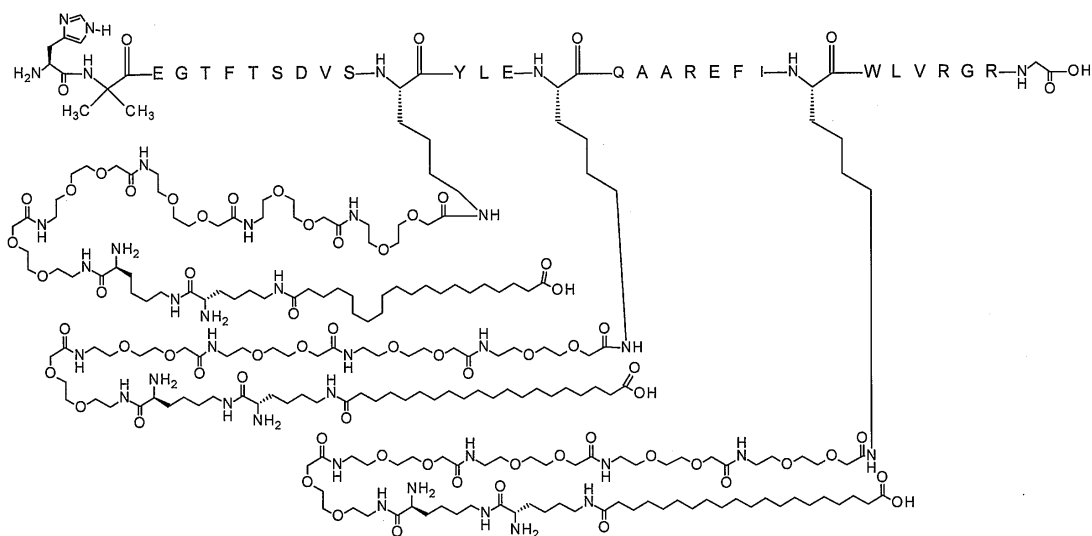
【 0 7 8 5】

[illegible]

N{イブシロン-18}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-アミノ-6-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]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], N{イブシロン-22}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-アミノ-6-(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]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], N{イブシロン-30}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-

Chem. 35 :

【化 3 6】



当該ペプチドは配列番号2である。

LCMS01: Rt=2.27分; m/4=1879; m/5=1503

UPLC02v01:Rt=9.41分

(实施例16)

N{イブシロン-18}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2S)-2-アミノ-6-[[2(2S)-2-アミノ-6-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]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],N{イブシロン-22}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2S)-2-アミノ-6-[[2(2S)-2-アミノ-6-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]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],N{イブシロン-30}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2S)-2-アミノ-6-[[2(2S)-2-アミノ-6-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib8,Lys18,Lys22,Arg26,Lys30,Arg34]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

Chem. 36:

【 0 7 9 1 】

[illegible]

10

当該ペプチドは配列番号2である。

LCMS01: Rt=2.08分 ; m/4=1859 ; m/5=1487

20

(实施例17)

N{イブシロン-18}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2-(S)-2-アミノ-6-[[2-(S)-2-アミノ-6-[[2-(S)-2-アミノ-6-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル],N{イブシロン-22}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2-(S)-2-アミノ-6-[[2-(S)-2-アミノ-6-[[2-(S)-2-アミノ-6-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル],N{イブシロン-30}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2-(S)-2-アミノ-6-[[2-(S)-2-アミノ-6-[[2-(S)-2-アミノ-6-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル],N{Aib8,Lys18,Lys22,Arg26,Lys30,Arg34}-GLP-1-(7-37)-ペプチド

30

【 0 7 9 4 】

40

[illegible]

【 0 7 9 7 】

20

40

[illegible]

当該ペプチドは配列番号2である。

LCMS01: Rt=1.88分; m/4=1830; m/5=1464

【 0 7 9 9 】

N{イブシロン-18}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-
-2-アミノ-6-[6-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)ヘキサノイルアミノ]ヘキサノイル]
アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]
アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル], N{
イブシロン-22}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-
-アミノ-6-[6-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)ヘキサノイルアミノ]ヘキサノイル]ア
ミノ|ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]ア

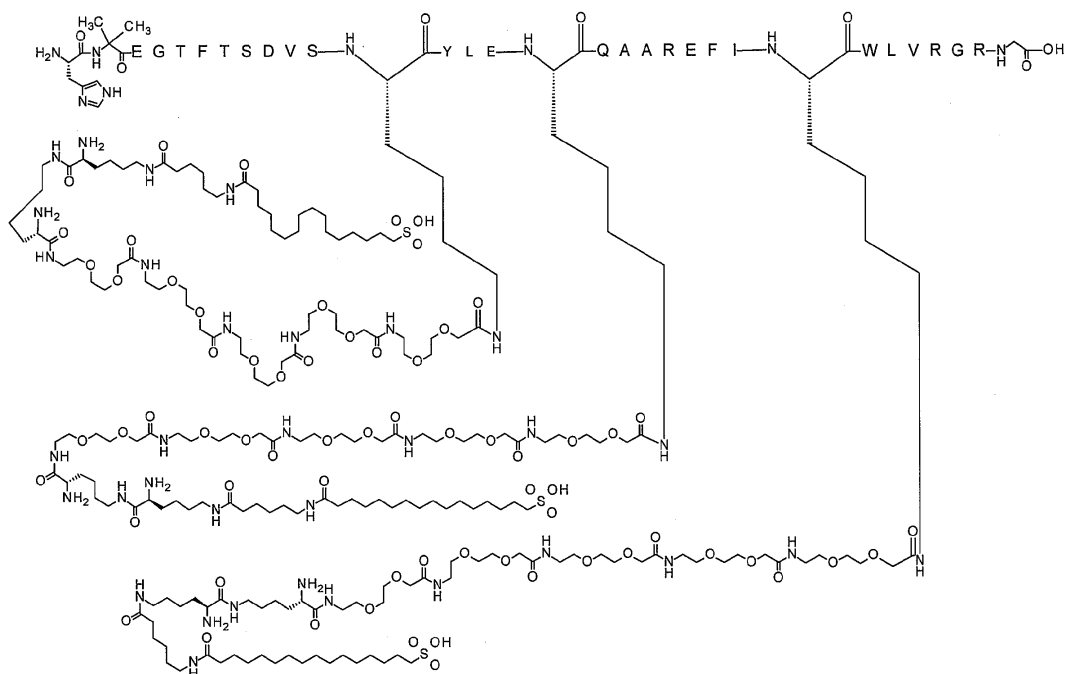
30

40

50

Chem. 39:

【化 4 0】



当該ペプチドは配列番号2である。

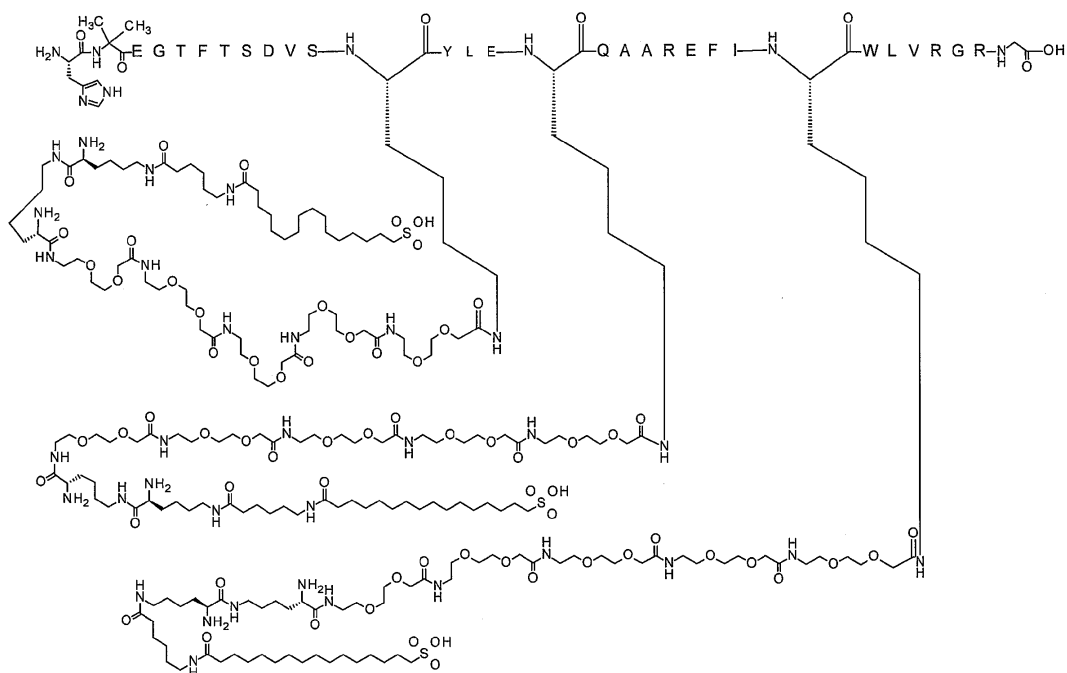
UPLC02v01:Rt=8.6分

(实施例20)

N{イブシロン-18}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-アミノ-6-[6-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)ヘキサノイルアミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル],N{イブシロン-22}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-アミノ-6-[6-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)ヘキサノイルアミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]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],N{イブシロン-30}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-アミノ-6-[6-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)ヘキサノイルアミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]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],N{イブシロン-30}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2S)-2-アミノ-6-[[[(2S)-2-アミノ-6-[6-(16-スルホヘキサデカノイルアミノ)ヘキサノイルアミノ]ヘキサノイル]アミノ]ヘキサノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]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],Aib8,Lys18,Lys22,Arg26,Lys30,Arg34]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

50

【化 4 1】

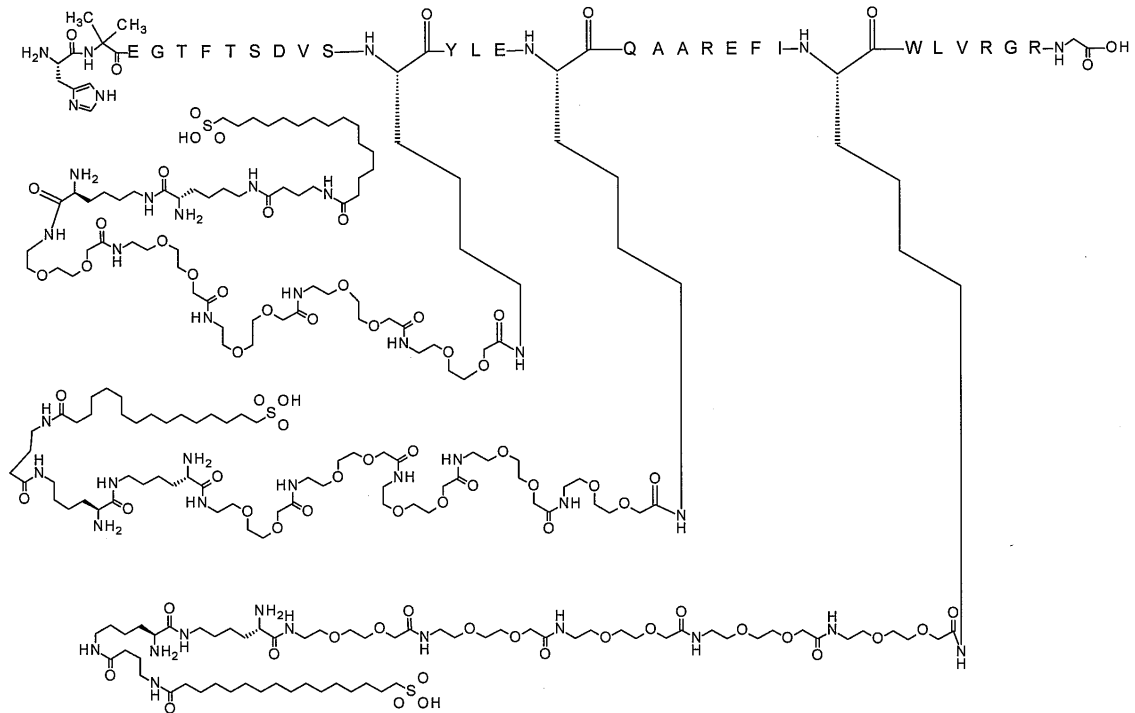


(实施例21)

40

【 0 8 0 6 】

【化 4 2】



10

20

【 0 8 0 7 】

当該ペプチドは配列番号2である。

合成方法: SPPS_L; SC_L; SC_M_3; CP_M1

LCMS01: Rt=1.89分; m/4=1939; m/5=1552

UPLC02v01: Rt=8.3分

【 0 8 0 8 】

薬理学的方法

(実施例22)

インビトロでの効力

30

この実施例の目的は、GLP-1誘導体のインビトロでの活性又は効力を試験することである。インビトロでの効力は、全細胞アッセイにおけるヒトGLP-1受容体活性化の尺度である。

【 0 8 0 9 】

実施例1~21のGLP-1誘導体の効力を、下記において説明するように特定した。比較のためにセマグルチドを含めた。

【 0 8 1 0 】

原理

インビトロでの効力は、レポーター遺伝子アッセイでのヒトGLP-1受容体の応答を測定することによって特定した。アッセイは、ヒトGLP-1受容体を発現し、プロモーターにカップリングしたcAMP応答エレメント(CRE)のためのDNAと、ホタルルシフェラーゼ(CREルシフェラーゼ)のための遺伝子とを含有する、安定的にトランスフェクトされたBHK細胞株において実施した。ヒトGLP-1受容体が活性化されると、それにより、結果としてcAMPの産生が生じ、これにより、結果としてルシフェラーゼタンパク質の発現が引き起こされる。アッセイインキュベーションが完了すると、ルシフェラーゼ基質(ルシフェリン)を添加し、酵素がルシフェリンをオキシルシフェリンに転化させ、それによりバイオルミネセンスが生じる。アッセイの読み出しとして、発光を測定する。

40

【 0 8 1 1 】

細胞培養及び調製

このアッセイにおいて使用する細胞(クローンFCW467-12A/KZ10-1)は、BHKTS13が親細胞

50

株であるBHK細胞であった。細胞は、ヒトGLP-1受容体を発現するクローン(FCW467-12A)に由来しており、現在のクローンを得るために、CREルシフェラーゼによる更なるトランスフェクションによって確立された。

【0812】

細胞を、細胞培養培地において5%のCO₂で培養した。これらを取り出し、液体室素中で貯蔵した。各アッセイの前にアリコートを取り出し、PBSにおいて2回洗浄し、その後、所望の濃度においてアッセイ特有の緩衝液に懸濁させた。96ウェルプレートに対して、懸濁液を作製して5×10³細胞/ウェルの最終濃度を得た。

【0813】

材料

下記の化学物質:Pluronic F-68(10%)(Gibco 2404)、ヒト血清アルブミン(HSA)(Sigma A9511)、オボアルブミン(Sigma A5503)、DMEM w/oフェノールレッド(Gibco 11880-028)、1MのHepes(Gibco 15630)、Glutamax 100×(Gibco 35050)、及びsteadylite plus(PerkinElmer 6016757)を、アッセイにおいて使用した。

【0814】

緩衝液

細胞培養培地は、10%のFBS(ウシ胎仔血清;Invitrogen 16140-071)、1mg/mlのG418(Invitrogen 15140-122)、240nMのMTX(メトトレキサート;Sigma M9929)、及び1%のpen/strep(ペニシリン/ストレプトマイシン;Invitrogen 15140-122)を含むDMEM培地からなった。

【0815】

アッセイ培地は、DMEM w/oフェノールレッド、10mMのHepes、及び1×Glutamaxからなった。アッセイ緩衝液は、アッセイ培地中における2%のオボアルブミン及び0.2%のPluronic F-68からなった。

【0816】

手順

- 1)細胞ストックを、37℃の水浴において解凍した。
- 2)細胞をPBSにおいて3回洗浄した。
- 3)細胞をカウントし、アッセイ培地中において5×10³細胞/50µl(1×10⁵細胞/ml)に調節した。50µlのアリコートの細胞を、アッセイプレートの各ウェルに移した。
- 4)試験化合物のストックと参照化合物とを、アッセイ緩衝液中において0.2µMの濃度に希釈した。化合物を、以下の濃度を得るために10倍に希釈した:2×10⁻⁷M、2×10⁻⁸M;2×10⁻⁹M、2×10⁻¹⁰M、2×10⁻¹¹M、2×10⁻¹²M、2×10⁻¹³M、及び2×10⁻¹⁴M。
- 5)50µlのアリコートの化合物又はブランクを、希釈プレートからアッセイプレートに移した。化合物は、以下の最終濃度において試験した:1×10⁻⁷M、1×10⁻⁸M;1×10⁻⁹M、1×10⁻¹⁰M、1×10⁻¹¹M、1×10⁻¹²M、1×10⁻¹³M、及び1×10⁻¹⁴M。
- 6)アッセイプレートを5%のCO₂のインキュベーター中において37℃で3時間インキュベートした。
- 7)アッセイプレートをインキュベーターから取り出し、室温で15分間静置した。
- 8)100µlのアリコートのsteadylite plus試薬を、アッセイプレートの各ウェルに添加した(試薬は、光感受性であった)。
- 9)各アッセイプレートを光から保護するためにアルミ箔で覆い、室温で30分間振盪した。
- 10)各アッセイプレートをPackard TopCount NXT機器で読み取った。

【0817】

計算及び結果

TopCount機器からのデータを、GraphPad Prismソフトウェアに移した。ソフトウェアは、非線形回帰(log(アゴニスト)対反応)を実施する。ソフトウェアによって計算されたEC₅₀値を、pM単位において下記の表1に報告した。

【0818】

各試料について、最低2回の繰り返しを測定した。報告値は、繰り返しの平均である。

【0819】

【表 1】

表 1: インビトロでの効力

実施例番号	EC ₅₀ (pM)
1	67
2	20
3	33
4	14
5	40
6	12
7	76
8	102
9	67
10	26
11	85
12	99
13	26
14	18
15	82
16	14
17	18
18	116
19	19
20	27
21	15
セマグルチド	8.3

10

20

30

【0820】

全ての化合物は、それらがGLP-1受容体アゴニストであることを確認する効力データを有している。

【0821】

(実施例23)

GLP-1受容体結合性

この実施例の目的は、インビトロでのGLP-1誘導体の受容体結合性を試験することである。受容体結合性は、ヒトGLP-1受容体に対する誘導体の親和性の尺度である。

【0822】

原理

ヒトGLP-1受容体に対する実施例1~21のGLP-1誘導体の受容体結合性を、競合結合アッセイにおいて測定した。このタイプのアッセイでは、標識されたりガンド(この場合は¹²⁵I-GLP-1)を受容体に結合させる。ヒトGLP-1受容体を含む単離された膜に、一連の濃度において各誘導体を添加し、標識されたりガンドの置き換えをモニターする。受容体結合性は、標識されたりガンドの半分が受容体から置き換えられる濃度として報告される(1

40

50

C₅₀値)。比較化合物としてセマグルチドを含めた。アルブミンへの誘導体の結合性を試験するために、血清アルブミンの低濃度(最大0.001%の最終アッセイ濃度)において、並びにかなりより高い濃度の血清アルブミンの存在下(2.0%最終アッセイ濃度)において、アッセイを実施した。血清アルブミンの存在下でのIC₅₀値の増加は、血清アルブミンに対する親和性を示しており、動物モデルにおいて試験物質の延長された薬物動態学的プロファイルを予測する方法を表す。

【0823】

材料

以下の化学物質をアッセイにおいて使用した:ヒト血清アルブミン(HSA)(Sigma A1653)、DMEM w/oフェノールレッド(Gibco 11880-028)、Pen/strep(Invitrogen 15140-122)、G418(Invitrogen 10131-027)、1MのHepes(Gibco 15630)、EDTA(Invitrogen 15575-038)、PBS(Invitrogen 14190-094)、ウシ胎仔血清(Invitrogen 16140-071)、EGTA、MgCl₂(Merck 1.05832.1000)、Tween 20(Amresco 0850C335)、SPA粒子(麦芽凝集素(WGA)SPAビーズ、Perkin Elmer RPNQ0001)、[¹²⁵I]-GLP-1-(7~36)NH₂(社内製造)、OptiPlate(商標)-96(Packard 6005290)。

【0824】

緩衝液1は、20mMのNa-HEPES+10mMのEDTAからなり、pHは7.4に調節した。緩衝液2は、20mMのNa-HEPES+0.1mMのEDTAからなり、pHは7.4に調節した。アッセイ緩衝液は、5mMのEGTAを補った50mMのHEPES、5mMのMgCl₂、0.005%のTween 20からなり、pHは7.4に調節した。8%のアルブミンストックは、アッセイ緩衝液に8%(w/v)で溶解させたHSAからなった。0.02%のアルブミンストックは、アッセイ緩衝液に0.02%(w/v)で溶解させたHSAからなった。

【0825】

細胞培養及び膜調製

このアッセイにおいて使用した細胞(クローンFCW467-12A)は、BHKTS13が親細胞株であるBHK細胞であった。細胞は、ヒトGLP-1受容体を発現する。

【0826】

細胞を、DMEM、10%のウシ胎仔血清、1%のPen/Strep(ペニシリン/ストレプトマイシン)、及び1.0mg/mlの選択マーカーG418において、5%のCO₂で増殖させた。

【0827】

膜調製を行うために、細胞をおよそ80%コンフルエンスまで増殖させた。細胞をリン酸緩衝食塩水で2回洗浄し、収穫した。短時間の遠心分離を用いて細胞をペレット化し、細胞ペレットを氷上に維持した。細胞ペレットを、好適な量の緩衝液1(例えば、10ml)中において、ULTRA-THURRAX(商標)分散機器によって20~30秒間ホモジナイズした。ホモジネートを、15分間遠心分離した。ペレットを、10mlの緩衝液2に再懸濁させ(ホモジナイズし)、遠心分離した。この工程を、もう1回繰り返した。結果として得られたペレットを緩衝液2に再懸濁させ、タンパク質濃度を特定した。膜を、アリコート化してマイナス80℃で貯蔵した。

【0828】

手順

1. 受容体結合性アッセイのために、低HSA(0.005%)の存在下において、50µlのアッセイ緩衝液をアッセイプレートの各ウェルに添加した。アッセイを工程3により続けた。
2. 受容体結合性アッセイのために、高HSA(2%)の存在下において、50µlの8%アルブミンストックを、アッセイプレートの各ウェルに添加した。アッセイを工程3により続けた。
3. 試験化合物を以下の濃度を得るために順次希釈した: 8×10^{-7} M、 8×10^{-8} M、 8×10^{-9} M、 8×10^{-10} M、 8×10^{-11} M、 8×10^{-12} M、及び 8×10^{-13} M。25µlを、アッセイプレートの適切なウェルに添加した。
4. 細胞膜アリコートを解凍し、それらの使用濃度に希釈した。50µlをアッセイプレートの各ウェルに添加した。
5. WGA SPAビーズを、20mg/mlにおいてアッセイ緩衝液に懸濁させた。アッセイプレートに添加する直前に、懸濁液をアッセイ緩衝液において10mg/mlに希釈した。50µlをアッセイ

プレートの各ウェルに添加した。

6. 25 μ l の [125 I]-GLP-1]-(7~36)NH₂ の 480pM 溶液をアッセイプレートの各ウェルに添加することによってインキュベーションを開始した。総数/ウェルを測定するために、25 μ l のアリコートを確認した。

7. アッセイプレートを 30 で 2 時間インキュベートした。

8. アッセイプレートを 10 分間遠心分離した。

9. アッセイプレートを、Packard TopCount NXT 機器において読み取った。

【 0 8 2 9 】

計算

TopCount 機器からのデータを、GraphPad Prism ソフトウェアに移した。ソフトウェアは、繰り返しについての値を平均化して、非線形回帰を実施した。IC₅₀ 値が、ソフトウェアによって計算され、nM の単位において報告された。

【 0 8 3 0 】

結果

以下の結果を得た。

【 0 8 3 1 】

【表 2】

表 2:GLP-1 受容体結合性

実施例番号	低 HSA IC ₅₀ (nM)	高 HSA IC ₅₀ (nM)
1	2.3	289
2	1.4	290
3	3.8	647
4	1.6	351
5	0.60	> 1000
6	0.40	> 1000
7	0.70	> 1000
8	4.5	745
9	1.7	> 1000
10	0.82	188
11	8.7	> 1000
12	5.0	214
13	0.23	84
14	0.19	100
15	11	426
16	0.40	381
17	0.08	143
18	0.10	19
19	0.15	49
20	0.36	100
21	0.24	96
セマグルチド	0.55	321

【0832】

全ての化合物は、アルブミンの不在下においてGLP-1受容体に対して非常に良好な結合性を示す。

【0833】

(実施例24)

ミニブタでの薬物動態学的研究

この研究の目的は、ミニブタへのi.v.投与の後のGLP-1誘導体のインビボでの延長、すなわち、それらが身体中にある時間の延長、それによるこれらの作用時間の延長を特定することである。これは、薬物動態学的(PK)研究において為され、関心対象の誘導体の終末相半減期が特定される。終末相半減期とは、終末消失相においてある特定の血漿濃度を有するために要する時間を意味する。

10

【0834】

実施例1、2、3、4、8、10、12、及び14の誘導体それぞれは、2nmol/kgで投薬し、実施例6及び17の誘導体は、5nmol/kgで投薬した。比較のためにセマグルチドを含めた(1.5nmol/kg)。

【0835】

雄のGottingenミニブタを、Ellegaard Gottingen Minipigs社(ダルモーセ、デンマーク)から入手し、およそ7~14カ月齢及びおよそ16~35kgの体重のものを研究に使用した。ミニブタを個別に(永久型カテーテルを備えたブタ)又は群において収容し、それぞれ、SDSミニブタ餌(Special Diets Services社、エセックス、UK)を1日1回若しくは2回に制限して給餌した。

20

【0836】

少なくとも2週間の順化の後、2つの永久型中心静脈カテーテルを、各動物の下大静脈又は上大静脈にインプラントした。動物を、手術の後に1週間回復させ、次いで、連続的なGLP-1誘導体の投薬の間に適切な洗い流し期間を伴う反復薬物動態学的研究に使用した。

【0837】

実施例1、2、3、4、6、8、10、及び12のGLP-1誘導体は、50mMのリン酸ナトリウム、145mMの塩化ナトリウム、0.05%のtween 80、pH7.4に、通常20~60nmol/mlの濃度になるように溶解させた。実施例14の誘導体を、2mMの酢酸ナトリウム、250mMのグリセロール、0.025% Tween 20において、pH4で製剤化した。実施例17の誘導体を、2mMの酢酸ナトリウム、250mMのグリセロール、0.025%のポリソルベート20において、pH4で製剤化した。化合物の静脈内注入(例えば、0.050~0.125ml/kgに相当する体積)を、一方のカテーテル又はvenflonを通して投与し、投薬後25日まで、事前に定めた時点において血液を採取した(好ましくは、もう一方のカテーテルによって又は静脈穿刺によって)。血液試料(例えば、0.8ml)をEDTA緩衝液(8mM)中に収集し、次いで、4℃において1942Gで10分間遠心分離した。

30

【0838】

血漿をピペットによりドライアイス上のMicronicチューブに取り、LOCIを使用してそれぞれのGLP-1化合物の血漿濃度を分析するまで-20℃で維持した。個々の血漿濃度-時間プロファイルを、Phoenix v.6.2(Pharsight Inc.社、マウンテンビュー、CA、USA)又はPK分析用の他の関連するソフトウェアにおいて非コンパートメント薬物動態学的法によって分析し、結果として得られる終末相半減期(調和平均)を特定した。実施例2の誘導体の終末相半減期は、上記において説明したように、異なる投与量での2つの測定の算術平均である。

40

【0839】

結果

以下の結果を得た。

【0840】

【表 3】

表 3:ミニブタでの薬物動態学的研究(i.v.)

実施例番号	終末相半減期(時)
1	162
2	140
3	120
4	120
6	103
8	138
10	158
12	111
14	140
17	143
セマグルチド	55

10

20

【0841】

本発明の試験した誘導体は、非常に長い終末相半減期(セマグルチドの約2倍以上)を有する。

【0842】

(実施例25)

db/dbマウスでの薬力学的研究

研究の目的は、糖尿病設定において血糖(BG)及び体重(BW)に対するGLP-1誘導体の急性効果を検証することである。

【0843】

実施例1、2、10、14、15、及び17~20のGLP-1誘導体を、以下において説明されるように、肥満体の糖尿病マウスモデル(db/dbマウス)での単回投与研究において試験した。誘導体を、100nmol/kg(実施例1、2、10、及び14)又は10nmol/kg(実施例15、及び17~20)の用量において試験した。

30

【0844】

出産から餌NIH31(Taconic Farms, Inc.社、USから市販のNIH31M齧歯動物用餌、www.taconic.comを参照されたい)を給餌した、試験すべき化合物あたり6匹のdb/dbマウス(Taconic社、デンマーク)を、研究のためにおよそ10週齢において登録した。マウスには、標準的餌(例えば、Altromin 1324、Brogaarden社、ゲントフテ、デンマーク)及び水道水を自由に摂食させ、24 時間に維持した。1~2週間の順化後、基礎血糖を2日間連続(すなわち、午前9時)で2回評価した。マウスを、血糖レベル及び体重のマッチングに基づいた処置群に割り当てた。マウスを、120時間の期間の実験に使用し、2回まで再使用した。最後の実験の後、マウスは安楽死させた。

40

【0845】

動物を、以下のような処置を受ける群に分けた:ピヒクル(s.c.)又はGLP-1誘導体10又は100nmol/kg(s.c.)、ここで、ピヒクルは、50mMのリン酸ナトリウム、70mMの塩化ナトリウム、0.05%のポリソルベート80、pH7.4(実施例1、2、及び10);又は2mMの酢酸、ナトリウム、250mMのグリセロール、0.025%のポリソルベート20、pH4(実施例14、15、及び17~20)であった。

【0846】

GLP-1誘導体を、1.7又は17nmol/ml投薬濃度に、ピヒクルに溶解させた。実験の開始時

50

に、6ml/kg(すなわち、マウスの体重50gあたり300 μ l)の投薬量をs.c.において動物に1回投薬した。

【0847】

投薬の日に、1/2時間前(午前8:30)に血糖を評価し、その後にマウスの体重を測定した。GLP-1誘導体を、およそ午前9時(0時間)に投薬した。投薬の日、投薬後に1、2、4、及び8時間(午前10時、午前11時、午後1時、及び午後5時)の時点で血糖を評価した。

【0848】

次の数日に、24時間、48時間、72時間、及び96時間の時点で血糖を評価した。毎日、血糖サンプリングの後にマウスの体重を測定した。

【0849】

マウスは、デジタル計量器において、個別に体重を測定した。

【0850】

血糖の測定のための試料は、意識のあるマウスの尾端毛細管から得た。血液10 μ lを、ヘパリン化毛細管中に収集し、500 μ lのグルコース緩衝液(EKF system solution社、エッペンドルフ、ドイツ)に移した。グルコース濃度は、グルコースオキシダーゼ法(グルコース分析装置Biosen 5040、EKF Diagnostic社、GmbH、バルレーベン、ドイツ)を用いて測定した。分析まで、試料を1時間まで室温に維持した。分析を延期しなければならない場合、試料を、最大24時間まで4℃に維持した。

【0851】

データは、48時間の時点で測定された血糖又は体重における変化率として提示される。例えば、各個体における48時間での血糖レベルの変化率は以下のように計算される： $\{[(48時間での血糖レベル)-(基礎血糖レベル)]/(基礎血糖レベル)] \times 100(\%)$ 、ここで、基礎血糖レベルは、いかなる処置も投与する前のレベルを意味し、体重変化についても同様である。負の値は、減少の%を意味する。

【0852】

下記の結果が得られた(それぞれの処置に対応する、全ての個体の測定値の平均)。

【0853】

【表4】

表 4:db/db マウスでの血糖及び体重に対する効果

実施例番号	血糖の%変化 48 時間	体重の%変化 48 時間
1	-16.3	-2.8
2	-37.0	-4.9
10	-13.0	-1.8
14	-63.6	-7.2
15	3.6	-3.8
17	-3.8	-1.4
18	-0.2	-2.2
19	-12.5	-2.4
20	-22	-0.5

【0854】

所与の用量において試験した全ての誘導体は、48時間後の血糖及び体重の減少により、インビボでの効果を示した。唯一の明白な例外は、実施例15の化合物であり、これは、24時間後の有効性(血糖における-9.8%の変化)を示したが、48時間後の血糖においてわずかな増加を引き起こした。

【 0 8 5 5 】

(実施例26)

LYDブタでの薬力学的研究

この実験の目的は、ブタでの食物摂取量に対するGLP-1誘導体の効果を調査することである。これは、下記において説明されるような薬力学的(PD)研究において行い、食物摂取量を、ビヒクル処置対照群と比較して、単回用量のGLP-1誘導体の投与後1日目から4日目に測定する。

【 0 8 5 6 】

およそ3カ月齢、およそ30～35kgの体重の雌のランドレース-ヨークシャー-デュロック(LYD)ブタを使用する(群あたりn=3～4匹)。動物を、動物施設への順化の間のおよそ1週間、群で収容する。実験期間の間、個体の食物摂取量の測定のために、動物を、投与前少なくとも2日間及び全実験の間、個別の檻に入れる。順化期間及び実験期間の両方において常に、動物にブタ用飼料(Svinefoder、Danish Top、或いはHRC Sow及びWeaner Diet)を自由に摂食させる。食物摂取量は、15分毎に飼料の質量を記録することによりオンラインで、又は手動によって、モニターする。飼料の質量は、投与も含めて、投薬後-2日から6日(120時間)において、各動物について毎日(24時間)記録する。

【 0 8 5 7 】

最初に、GLP-1誘導体を、リン酸緩衝液(50mMのリン酸塩、0.05%のtween 80、pH8;又は50mMのリン酸塩、145mMの塩化ナトリウム、0.05%のtween 80、pH7.4)に、所望の濃度(例えば、10、15、又は30nmol/kgの用量に相当する、12、40、120、400、又は1200nmol/ml)において、溶解させる。リン酸緩衝液は、ビヒクルの役割を果たす。単回皮下用量のGLP-1誘導体又はビヒクル(通常の投薬量である0.025ml/kg)を、1日目の朝に動物に投薬し、投薬後1～4日において食物摂取量を測定する。投薬後1～4日目である各研究の最終日に、GLP-1誘導体の血漿曝露の測定のための血液試料を頸部/前大静脈から採取する。動物は、3つの実験に再使用する。GLP-1誘導体の血漿含有量をLOCIを用いて分析する。

【 0 8 5 8 】

食物摂取量は、24時間間隔における24時間の平均食物摂取量(0～24時間、24～48時間、48～72時間、及び72～96時間)として計算し、例えば、同じ時間間隔でのビヒクル群の食物摂取量に対する割合として示され得る。

【 0 8 5 9 】

ビヒクル群対GLP-1誘導体群での24時間間隔における食物摂取量の統計的比較を、二元配置ANOVA反復測定と、その後のボンフェローニ事後検定を使用して行う。

【 0 8 6 0 】

本発明のある特定の特徴について、本明細書において例示及び説明してきたが、当業者は、多くの修正、置換、変更、及び同等物を思いつくであろう。したがって、添付の特許請求の範囲は、本発明の真の趣旨内に含まれるそのような修正及び変更の全てを網羅することが意図されることは理解されるべきである。

【 配列表 】

0006599863000001.app

10

20

30

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I		
A 6 1 P	25/16	(2006.01)	A 6 1 P	25/16	
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	3/04	(2006.01)	A 6 1 P	3/04	
A 6 1 P	1/00	(2006.01)	A 6 1 P	1/00	
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	13/00	(2006.01)	A 6 1 P	13/00	
A 6 1 P	9/00	(2006.01)	A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	17/06	(2006.01)	A 6 1 P	17/06	
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	25/32	(2006.01)	A 6 1 P	9/10	1 0 1
A 6 1 P	25/36	(2006.01)	A 6 1 P	25/32	
A 6 1 P	3/06	(2006.01)	A 6 1 P	25/36	
			A 6 1 P	3/06	

(72)発明者 ヤコブ・コフォーズ
デンマーク・DK - 2 8 8 0 ・バウスヴェア・ノヴォ・アレ・(番地なし)

審査官 田ノ上 拓自

(56)参考文献 国際公開第2 0 1 2 / 0 6 2 8 0 3 (WO, A 1)
国際公開第2 0 0 8 / 0 2 8 9 7 4 (WO, A 1)
j. Med. Chem., 2000年, Vol.43, p.1664-1669

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 0 7 K 1 / 0 0 - 1 9 / 0 0
A 6 1 K 3 8 / 2 6
A 6 1 P 1 / 0 0
A 6 1 P 1 / 0 4
A 6 1 P 3 / 0 4
A 6 1 P 3 / 0 6
A 6 1 P 3 / 1 0
A 6 1 P 9 / 0 0
A 6 1 P 9 / 1 0
A 6 1 P 1 3 / 0 0
A 6 1 P 1 3 / 1 2
A 6 1 P 1 7 / 0 6
A 6 1 P 1 9 / 0 2
A 6 1 P 2 5 / 0 0
A 6 1 P 2 5 / 1 6
A 6 1 P 2 5 / 2 8
A 6 1 P 2 5 / 3 2
A 6 1 P 2 5 / 3 6
A 6 1 P 2 9 / 0 0
A 6 1 P 4 3 / 0 0

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)
CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)
WPIDS/WPIX(STN)
PubMed