

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2008-511557

(P2008-511557A)

(43) 公表日 平成20年4月17日(2008.4.17)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 14/575 (2006.01)	C07K 14/575 ZNA	4C084
C07K 19/00 (2006.01)	C07K 19/00	4C085
A61K 49/00 (2006.01)	A61K 49/00 C	4H045
A61K 51/00 (2006.01)	A61K 49/00 Z	
A61K 45/00 (2006.01)	A61K 49/02 A	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 32 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2007-528593 (P2007-528593)	(71) 出願人	506110690 フィリップス-ウニベルジテート・マルブルク
(86) (22) 出願日	平成17年8月26日 (2005.8.26)		
(85) 翻訳文提出日	平成19年4月23日 (2007.4.23)		
(86) 国際出願番号	PCT/DE2005/001503		ドイツ連邦共和国、35032 マールブルク、ビーゲンストラーセ、10
(87) 国際公開番号	W02006/024275	(74) 代理人	100069556 弁理士 江崎 光史
(87) 国際公開日	平成18年3月9日 (2006.3.9)		
(31) 優先権主張番号	102004043153.1	(74) 代理人	100093919 弁理士 奥村 義道
(32) 優先日	平成16年9月3日 (2004.9.3)		
(33) 優先権主張国	ドイツ (DE)	(74) 代理人	100111486 弁理士 鍛冶澤 實
		(72) 発明者	ゴットハルト・マルティン ドイツ連邦共和国、35274 キルヒハイン、タイヒマンスゲルテン、6
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 GLP-1 およびエキセンディンに関する発明

(57) 【要約】

本発明は、GLP-1 (グルカゴン様ペプチド-1) ならびにエキセンディン-3 及び (又は) エキセンディン-4 から誘導されるペプチドであって、GLP-1 受容体に結合し、GLP-1 受容体発現が関与する良性疾患および悪性疾患を診断および治療するための手段の製造に、標識して、または標識せずに、使用することができるペプチドに関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

アミンによる C 末端での修飾および G L P - 1 受容体への N 末端の結合を特徴とする、G L P - 1、エキセンディン - 3 およびエキセンディン - 4 のペプチド誘導体。

【請求項 2】

ペプチド G L P - 1 (1 - 3 7) :

H-His-Asp-Glu-Phe-Glu-Arg-His-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-Ser-
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18

Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-Arg-Gly-OH
19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37

10

およびエキセンディン - 3 :

H-His-Ser-Asp-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18

Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-
19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37

Pro-Ser-NH₂

38 39

またはエキセンディン - 4 :

H-His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18

20

Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-
19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37

Pro-Ser-NH₂

38 39

の amino 酸配列を完全にまたは部分的に有する、請求項 1 に記載の、G L P - 1、エキセンディン - 3 およびエキセンディン - 4 のペプチド誘導体。

【請求項 3】

G L P - 1 (x - y) A ^{1 - 3 7}、またはエキセンディン - 3 (z - k) A ^{1 - 4 0}、またはエキセンディン - 4 (z - k) A ^{1 - 4 0}

[式中、

30

x は、G L P - 1 amino 酸配列の amino 酸 1 ~ 3 6 を表し、

y は、G L P - 1 amino 酸配列の amino 酸 2 ~ 3 7 を表し、

z は、エキセンディン - 3 またはエキセンディン - 4 amino 酸配列の amino 酸 1 ~ 3 8 を表し、

k は、エキセンディン - 3 またはエキセンディン - 4 amino 酸配列の amino 酸 2 ~ 3 9 を表し、

そして A は、シグナル分子としての、またはシグナル分子を結合するための、またはそれらを安定化するための、一種以上の amino 酸またはその誘導体からなる付加基であって、指数部は、その付加基を見いだすことができる amino 酸配列内の位置を示す]

に由来する、請求項 1 に記載の、G L P - 1、エキセンディン - 3 およびエキセンディン - 4 のペプチド誘導体。

40

【請求項 4】

付加基 A が好ましくは C 末端に位置して、アミンを表す、請求項 3 に記載の、G L P - 1、エキセンディン - 3 およびエキセンディン - 4 のペプチド誘導体。

【請求項 5】

付加基 A が好ましくはリジンである、請求項 3 又は 4 に記載の、G L P - 1、エキセンディン - 3 およびエキセンディン - 4 のペプチド誘導体。

【請求項 6】

付加基 A が遊離アミンを持つ amino 酸、たとえばオルニチン、または遊離アミンを持つ有機基である、請求項 3 ~ 5 のいずれか 1 つに記載の、G L P - 1、エキセンディン - 3 お

50

よびエキセンディン - 4 のペプチド誘導体。

【請求項 7】

放射性核種もしくはMRI造影剤、蛍光色素または化学療法剤による標識化のために、キレーターが付加基Aに結合される、請求項3～6のいずれか1つに記載の、GLP-1、エキセンディン-3およびエキセンディン-4のペプチド誘導体。

【請求項 8】

キレーターが、N,N-ビス(2-[ビス(カルボキシメチル)アミノ]-エチルグリシン)、DOTA(1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸)、HYNIC(6-ヒドラジノピリジン-3-カルボン酸)、MAG3(メルカプトアセチル-グリシルグリシルグリシン)、N4(1,4,8,11-テトラアザウンデカン)、および全ての公知の誘導体、好ましくはDTPA(ジエチレントリアミン五酢酸)である、上記請求項のいずれか1つに記載の、GLP-1、エキセンディン-3およびエキセンディン-4のペプチド誘導体。

10

【請求項 9】

標識化が放射性核種、MRI造影剤、蛍光色素及び(又は)化学療法剤の結合である、上記請求項のいずれか1つに記載の、GLP-1、エキセンディン-3およびエキセンディン-4のペプチド誘導体。

【請求項 10】

蛍光色素が、特に、フルオレセイン、ローダミン、クマリン、BODIPY、ピレン(カスケードブルー)、ルシファーイエロー、フィコビリタンパク質、シアニン、アレクサフルオロ、オレゴングリーン、テキサスレッド、クマリンおよびそれらの誘導体より成る群から選ばれる、上記請求項のいずれか1つに記載の、GLP-1、エキセンディン-3およびエキセンディン-4のペプチド誘導体。

20

【請求項 11】

放射性核種が、特に、F-18、Cu-64、Cu-67、Ga-67、Ga-68、Y-86、Y-90、Tc-99m、In-111、I-123、I-124、I-131、Lu-177、Re-186、Re-188、Pt-193m、Pt-195m、Ac-225、At-211、Bi-213、Sm-153またはEr-169より成る群から選ばれる、上記請求項のいずれか1つに記載の、GLP-1、エキセンディン-3およびエキセンディン-4のペプチド誘導体。

30

【請求項 12】

MRI造影剤が、ガドリニウム、マンガン、鉄、ユーロピウム、銅、ニッケル、クロム、プラセオジウム、ジスプロシウムもしくはホルミウム、またはそれらの化合物であるか、あるいはペルフルオロカーボン、またはF-19、H-1、P-31、Na-19である、上記請求項のいずれか1つに記載の、GLP-1、エキセンディン-3およびエキセンディン-4のペプチド誘導体。

【請求項 13】

化学療法剤が、特に、アルキルスルホネート、エチルイミン、ニトロソ尿素類、ナイトロジェンマスタード誘導体、葉酸類似体、プリン類似体、ピリミジン類似体、ポドフィリン誘導体、タキサン、ピンカアルカロイド、アントラサイクリン、他の細胞増殖抑制性抗生物質、白金化合物、カンプトテシン誘導体、ホルモン、成長因子、インターフェロンもしくはインターロイキン、または細胞増殖抑制性物質もしくは細胞毒性物質より成る群から選ばれる、上記請求項のいずれか1つに記載の、GLP-1、エキセンディン-3およびエキセンディン-4のペプチド誘導体。

40

【請求項 14】

インビトロ用途のための放射性核種の結合による標識化が、 $^{nat}InCl_3$ による結合部位の飽和によって行なわれる、上記請求項のいずれか1つに記載の、GLP-1、エキセンディン-3およびエキセンディン-4のペプチド誘導体。

【請求項 15】

GLP-1およびエキセンディン(このエキセンディンはエキセンディン-3またはエキ

50

センディン - 4 から選択される) のキメラペプチドであって、
ペプチド G L P - 1 (1 - 3 7) :

H-His-Asp-Glu-Phe-Glu-Arg-His-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-Ser-
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-Arg-Gly-OH
19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37

およびエキセンディン - 3 :

H-His-Ser-Asp-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-
19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37
Pro-Ser-NH₂

38 39

またはエキセンディン - 4 :

H-His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-
19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37
Pro-Ser-NH₂

38 39

のアミノ酸配列を完全にまたは部分的に有することを特徴とする、キメラペプチド。

【請求項 1 6】

G L P - 1 (x - y) エキセンディン - 3 (z - k) 、 G L P - 1 (x - y) エキセンデ
イン - 4 (z - k) 、 エキセンディン - 3 (z - k) G L P - 1 (x - y) またはエキセ
ンディン - 4 (z - k) G L P - 1 (x - y)

[式中、

x は、 G L P - 1 アミノ酸配列のアミノ酸 1 ~ 3 6 を表し、

y は、 G L P - 1 アミノ酸配列のアミノ酸 2 ~ 3 7 を表し、

z は、エキセンディン - 3 またはエキセンディン - 4 アミノ酸配列のアミノ酸 1 ~ 3 8 を
表し、

k は、エキセンディン - 3 またはエキセンディン - 4 アミノ酸配列のアミノ酸 2 ~ 3 9 を
表す]

に由来する、請求項 1 5 に記載の、 G L P - 1 およびエキセンディンのキメラペプチド。

【請求項 1 7】

G L P - 1 (x - y) エキセンディン - 3 (z - k) A^{1 - 7 5}、 G L P - 1 (x - y)
エキセンディン - 4 (z - k) A^{1 - 7 5}、 エキセンディン - 3 (z - k) G L P - 1 (x - y)
A^{1 - 7 5} またはエキセンディン - 4 (z - k) G L P - 1 (x - y) A^{1 - 7 5}

[式中、

x は、 G L P - 1 アミノ酸配列のアミノ酸 1 ~ 3 6 を表し、

y は、 G L P - 1 アミノ酸配列のアミノ酸 2 ~ 3 7 を表し、

z は、エキセンディン - 3 またはエキセンディン - 4 アミノ酸配列のアミノ酸 1 ~ 3 8 を
表し、

k は、エキセンディン - 3 またはエキセンディン - 4 アミノ酸配列のアミノ酸 2 ~ 3 9 を
表し、

そして A は、シグナル分子としての、またはシグナル分子を結合するための、またはそれ
らを安定化するための、一種以上のアミノ酸またはその誘導体からなる付加基であって、
指数部は、その付加基を見いだすことができるアミノ酸配列内の位置を示す]

に由来する、請求項 1 5 に記載の、 G L P - 1 およびエキセンディンのキメラペプチド。

【請求項 1 8】

10

20

30

40

50

付加基 A が好ましくは C 末端に位置して、アミンを表す、請求項 17 に記載の、GLP - 1 およびエキセンディンのキメラペプチド。

【請求項 19】

付加基 A が好ましくはリジンである、請求項 17 に記載の、GLP - 1 およびエキセンディンのキメラペプチド。

【請求項 20】

付加基 A が、好ましくは、遊離アミンを持つアミノ酸、例えばオルニチン、または遊離アミンを持つ有機基である、請求項 17 に記載の、GLP - 1 およびエキセンディンのキメラペプチド。

【請求項 21】

放射性核種もしくは MRI 造影剤、蛍光色素または化学療法剤による標識化のために、キレーターが付加基 A に結合される、請求項 17 ~ 20 のいずれか 1 つに記載の、GLP - 1 およびエキセンディンのキメラペプチド。

10

【請求項 22】

キレーターが、N, N - ビス(2 - [ビス(カルボキシメチル)アミノ] - エチルグリシン)、DOTA(1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン - 1, 4, 7, 10 - 四酢酸)、HYNIC(6 - ヒドラジノピリジン - 3 - カルボン酸)、MAG3(メルカプトアセチル - グリシルグリシルグリシン)、N4(1, 4, 8, 11 - テトラアザウンデカン)、および全ての公知の誘導体、好ましくは DTPA(ジエチレントリアミン五酢酸)である、請求項 17 ~ 21 のいずれか 1 つに記載の、GLP - 1 およびエキセンディンのキメラペプチド。

20

【請求項 23】

標識化が放射性核種、MRI 造影剤、蛍光色素及び(又は)化学療法剤の結合である、請求項 17 ~ 22 のいずれか 1 つに記載の、GLP - 1 およびエキセンディンのキメラペプチド。

【請求項 24】

蛍光色素が、特に、フルオレセイン、ローダミン、クマリン、BODIPY、ピレン(カスケードブルー)、ルシファーイエロー、フィコビリタンパク質、シアニン、アレクサフルオロ、オレゴングリーン、テキサスレッド、クマリンおよびそれらの誘導体より成る群から選ばれる、請求項 17 ~ 23 のいずれか 1 つに記載の、GLP - 1 およびエキセンディンのキメラペプチド。

30

【請求項 25】

放射性核種が、特に、F - 18、Cu - 64、Cu - 67、Ga - 67、Ga - 68、Y - 86、Y - 90、Tc - 99m、In - 111、I - 123、I - 124、I - 131、Lu - 177、Re - 186、Re - 188、Pt - 193m、Pt - 195m、Ac - 225、At - 211、Bi - 213、Sm - 153 または Er - 169 より成る群から選ばれる、請求項 17 ~ 24 のいずれか 1 つに記載の、GLP - 1 およびエキセンディンのキメラペプチド。

【請求項 26】

MRI 造影剤が、ガドリニウム、マンガン、鉄、ユーロピウム、銅、ニッケル、クロム、プラセオジウム、ジスプロシウムもしくはホルミウム、またはそれらの化合物であるか、あるいはベルフルオロカーボン、または F - 19、H - 1、P - 31、Na - 19 である、請求項 17 ~ 25 のいずれか 1 つに記載の、GLP - 1 およびエキセンディンのキメラペプチド。

40

【請求項 27】

化学療法剤が、特に、アルキルスルホネート、エチルイミン、ニトロソ尿素類、ナイトロジェンマスタード誘導体、葉酸類似体、プリン類似体、ピリミジン類似体、ポドフィリン誘導体、タキサン、ピンカアルカロイド、アントラサイクリン、他の細胞増殖抑制性抗生物質、白金化合物、カンプトテシン誘導体、ホルモン、成長因子、インターフェロンもしくはインターロイキン、または細胞増殖抑制性物質もしくは細胞毒性物質より成る群から

50

選ばれる、請求項 17 ~ 26 のいずれか 1 つに記載の、GLP-1 およびエキセンディンのキメラペプチド。

【請求項 28】

インビトロ用途のための放射性核種の結合による標識化が、 ^{125}I による結合部位の飽和によって行なわれる、請求項 17 ~ 27 のいずれか 1 つに記載の、GLP-1 およびエキセンディンのキメラペプチド。

【請求項 29】

GLP-1 受容体発現が関与する良性疾患および悪性疾患の診断剤および治療剤を製造するための、請求項 17 ~ 28 のいずれか 1 つに記載の、GLP-1、エキセンディン-3 およびエキセンディン-4 のペプチド誘導体、ならびに GLP-1、エキセンディン-3 またはエキセンディン-4 のキメラペプチドの使用。

10

【請求項 30】

組織中のインスリン産生細胞の密度を決定するための、請求項 1 ~ 28 のいずれか 1 つに記載の、GLP-1、エキセンディン-3 およびエキセンディン-4 のペプチド誘導体、ならびに GLP-1、エキセンディン-3 またはエキセンディン-4 のキメラペプチドの使用。

【請求項 31】

GLP-1 受容体の発現またはそれらの密度を決定するための、請求項 1 ~ 28 のいずれか 1 つに記載の、GLP-1、エキセンディン-3 およびエキセンディン-4 のペプチド誘導体、ならびに GLP-1、エキセンディン-3 またはエキセンディン-4 のキメラペプチドの使用。

20

【請求項 32】

請求項 1 および 17 のいずれか 1 つに記載の、GLP-1、エキセンディン-3 およびエキセンディン-4 の標識ペプチド誘導体、または GLP-1、エキセンディン-3 もしくはエキセンディン-4 の標識キメラペプチドを有する、GLP-1 受容体発現が関与する良性疾患および悪性疾患を診断および治療するための薬剤。

【請求項 33】

請求項 1 および 16 に記載の、GLP-1、エキセンディン-3 およびエキセンディン-4 の非標識ペプチド誘導体、または GLP-1、エキセンディン-3 もしくはエキセンディン-4 の非標識キメラペプチドを有する、GLP-1 受容体発現が関与する良性疾患および悪性疾患を診断および治療するための薬剤。

30

【請求項 34】

標識化が放射性核種、MRI 造影剤、蛍光色素及び（又は）化学療法剤の結合を有する、請求項 32 に記載の薬剤。

【請求項 35】

GLP-1 受容体発現が関与する良性疾患および悪性疾患を診断および治療するための、請求項 32 又は 33 に記載の薬剤の使用。

【請求項 36】

神経内分泌腫瘍（NET）、特にインスリノーマおよび小細胞気管支癌を診断および治療するための、請求項 32 又は 33 に記載の薬剤の使用。

40

【請求項 37】

シンチグラフィ、PET、SPECT、MRI、光診断、受容体媒介型の化学療法、受容体媒介型の細胞増殖抑制療法または細胞毒療法、および放射性ペプチド療法における、請求項 32 に記載の薬剤の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

胃腸神経内分泌腫瘍の局在診断において、ソマトスタチン受容体シンチグラフィ（SRST）は、超音波に次いで、最も重要な診断方法である。その原理は、腫瘍細胞によって吸収される放射性標識ペプチドの助けを借りた、腫瘍の特異的描写である。次に、ガンマ

50

カメラの助けを借りて、腫瘍組織における放射能の蓄積を視覚的に検証することができる。ある腫瘍タイプがSRSSに必要な受容体の一つ（例えばソマトスタチン類似体オクトレオチド（登録商標）の受容体）を持っている場合、それらの腫瘍の検証は問題なく行なうことができる。しかし、対応する受容体が発現されない場合、それらはシンチグラフィによる検証をすり抜けてしまう。放射性標識ペプチドは、局在診断だけでなく、腫瘍を処置する方法にも対応する。この方法では、オクトレオチド（登録商標）などのソマトスタチン類似体を適当な放射性核種（放射体または放射体）で標識することにより、特異的受容体を指向する放射性ペプチド治療を実施することができる。対応する放射性核種が、ペプチドにより（例えばそのペプチドに予め結合しておいた金属キレート剤との錯化を介して）、それらが確かに腫瘍細胞に吸収されるが、もはや排泄されることはできないような形で、化学的に結合されるという事実は、結果として、腫瘍組織における高度な特異的蓄積をもたらす。

10

20

30

40

50

【0002】

しかし、インスリノーマおよび小細胞気管支癌などの神経内分泌腫瘍（NET）はいずれも、ソマトスタチン類似体オクトレオチド（登録商標）を使ったSRSSまたは放射性ペプチド療法にとって欠かすことのできない必要なサブタイプのソマトスタチン受容体を発現させない。特にインスリノーマは、かなりのパーセンテージが、シンチグラフィ診断では検出できない。小細胞気管支癌でもSRSSは適当な方法にはならない。なぜなら、原発腫瘍は見えることも多いが、転移では受容体発現が失われるため、転移を明らかにすることはできないからである。したがってこれらは、興味深い追加治療または代替治療法である放射性ペプチド療法には、利用し難い。それゆえに、上述の腫瘍によって吸収されるであろう適当なペプチドが、必要とされている。

【0003】

インクレチンホルモンであるグルカゴン様ペプチド-1（GLP-1）ならびにその類似体エキセンディン-3およびエキセンディン-4（アメリカドクトカゲ Heloderma horridum および Heloderma suspectum の唾液に由来する）は、他の多くの種類の腫瘍と共に、インスリノーマおよび小細胞気管支癌でも、その受容体が発現されるペプチドである。インスリノーマは、GLP-1ならびにエキセンディン-3およびエキセンディン-4が食後インスリン分泌を誘発している膵臓のランゲルハンス島内のインスリン産生細胞に起源を持つ。

【背景技術】

【0004】

グルカゴン様ペプチド-1（GLP-1）をシンチグラフィに利用するには、そのペプチドを標識する必要がある。その方法および放射性核種によるタンパク質の標識方法は当業者に知られており、数多くの特許出願（例えば独国特許第690 18 226 T2号）および科学刊行物に詳述されている。そこに記載されている、画像診断法に応用するためのペプチド、および病理組織における治療有効分子の交換のためのペプチドは、通常、ペプチド中のアミンを介して、N末端で挿入される。ペプチドは、それと同時に、安定化に関して、さらに修飾されなければならない。

【0005】

例えば、米国特許第2003/0232761 A1号で使用されるGLP-1およびその誘導体GLP-1（7-37）は、一つのアミンにより、そのN末端で修飾される。したがってGLP-1のN末端は、もはやGLP-1受容体を結合するためには使用することができず、それゆえに、受容体結合も、内部移行も、これらのペプチドでは不十分になる。したがって後者は、インスリノーマおよび小細胞気管支癌の放射性ペプチド療法での利用には不適當である。経験が示すように、突然変異、例えばGLP-1およびエキセンディン3またはエキセンディン4のペプチド配列内でのアミノ酸の置換、および治療分子またはシグナル生成分子によるそれらの考える修飾は、ほとんどの場合、受容体へのさらなる結合を妨害するようなペプチド構造の損傷を引き起こす。

【0006】

N末端に影響を及ぼさない、他のGLP-1修飾方法は、現在、知られていない。さらにまた、インスリノーマおよび小細胞気管支癌の放射線療法での使用に適した、標識または非標識GLP-1誘導体も知られていない。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

したがって、本発明の課題は、現在の技術水準が持つ欠陥を取り除くこと、そして標識することができるペプチドであって、その標識化を行なってもなおGLP-1受容体を結合することができ、GLP-1受容体の発現が関与する疾患を診断および治療するための薬剤の製造に利用することができるペプチドを、入手可能にすることである。

10

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明によれば、この課題は、本願請求項により、アミンによってC末端で修飾され、かつ、N末端を介してGLP-1受容体に結合する、GLP-1、エキセンディン-3およびエキセンディン-4のペプチド誘導体、ならびにGLP-1とエキセンディン-3またはエキセンディン-4とのキメラペプチドによって解決される。これらのペプチド誘導体およびキメラペプチドは、GLP-1受容体発現が関与する良性疾患もしくは悪性疾患の診断剤および治療剤の製造に利用するために、非標識であるか、または標識される。

【0009】

GLP-1、エキセンディン-3およびエキセンディン-4のこれらペプチド誘導体、ならびにGLP-1、エキセンディン-3またはエキセンディン-4のキメラペプチドにより、NET（特にインスリノーマによるもの）および小細胞気管支癌を含むGLP-1受容体発現腫瘍の診断および治療に利用されるシンチグラフィ用手段の製造が行なわれる。これが可能になったのは初めてのことであり、なぜなら、本発明に基づくペプチド誘導体はアミンによってC末端で修飾され、そのおかげでN末端をGLP-1受容体への結合に利用することができるからである。

20

【0010】

GLP-1、エキセンディン-3およびエキセンディン-4の、本発明に基づく（例えば放射性標識）ペプチド誘導体、ならびにキメラペプチドが、GLP-1受容体に結合することにより、GLP-1受容体発現腫瘍の表示が可能になり、それによって、患者の医療をかなり改善することが可能になる。NETは、とりわけ、現在のところ十分な感度を持つ非侵襲的方法を利用することができないインスリノーマなどの胃腸膵NET、または肺の領域に局在した小細胞気管支癌のもの（この場合は、炎症過程と腫瘍または転移との特異的弁別が、非侵襲的方法ではどちらも不可能である）である。

30

【0011】

さらにまた、本発明によるペプチド誘導体およびキメラペプチドを使用することにより、膵臓におけるインスリン産生細胞の密度およびGLP-1受容体の発現が、インビボおよびインビトロで可視化される。これは、例えばGLP-1受容体発現細胞の表示（糖尿病の場合はインビボ表示）においてなされる。なぜなら、これらはインスリンも分泌する細胞だからである。膵臓におけるGLP-1受容体密度の表示は、医薬品による治療中および医薬品による治療後の糖尿病患者の場合は、特に重要である。また、悪性組織および良性組織におけるGLP-1受容体の分布も表示される。ここで関連づけられる疑問は、臨床的性質を持つと共に、科学的性質も持つ。なぜなら、ヒトにおけるGLP-1受容体の配置に関して利用できる包括的データは、まだ無いからである。

40

【0012】

したがって本発明の利点は、GLP-1（グルカゴン様ペプチド-1）、エキセンディン-3およびエキセンディン-4のペプチド誘導体、ならびにGLP-1、エキセンディン-3またはエキセンディン-4のキメラペプチドが、薬剤の製造に、特に受容体指向の特異的表示および治療、特にNETの治療、この例では特にインスリノーマおよび小細胞気管支癌の治療のための薬剤の製造に、利用されることである。

50

【 0 0 1 3 】

GLP-1受容体シンチグラフィは、小細胞気管支癌の診断には特に適当であり、リンパ節内の転移の特異的検出（炎症によって変化したリンパ節と転移によって攻撃されたリンパ節との対比）を初めて可能にする。本発明によるGLP-1（グルカゴン様ペプチド-1）、エキセンディン-3およびエキセンディン-4のペプチド誘導体、ならびにGLP-1、エキセンディン-3またはエキセンディン-4のキメラペプチドは、GLP-1受容体発現が関与する全ての悪性疾患および良性疾患の診断剤および治療剤として、特に以下に挙げる用途にも応用される：磁気共鳴映像法（MRI）における造影剤；シンチグラフィ（SPECT, 単光子放射型コンピュータ断層撮影）および放射性ペプチド療法における放射性薬剤；PET（陽電子放射断層撮影）；受容体媒介型の化学療法；ならびに光診断。本明細書において光診断とは、特定波長による蛍光分子の刺激を意味し、これは続いて、異なる波長の光放射を誘発する。検出されるのはその放射波長である。当業者は、GLP-1（グルカゴン様ペプチド-1）、エキセンディン-3およびエキセンディン-4のペプチド誘導体、ならびにGLP-1、エキセンディン-3またはエキセンディン-4のキメラペプチドのC末端における標識の種類を、希望する用途に応じて、例えばシンチグラフィまたは放射線療法には放射性核種から、磁気共鳴映像法（MRI）における造影剤にはガドリニウムから、そして内視鏡検査または科学的検査には蛍光色素から、容易に選択することができる。

10

【 0 0 1 4 】

本発明によれば、悪性疾患とは、患部組織が健常組織と比較したその分化レベルの変化、侵襲的成長、または血流もしくはリンパ系へのその組織の伝播を示す疾患である。全ての神経内分泌腫瘍、特に、胃腸路のもの、とりわけインスリノーマ、気管支癌、膵癌、およびGLP-1受容体の過剰発現に結び付けられる他の全ての悪性疾患は、このカテゴリーに属する。

20

【 0 0 1 5 】

本発明によれば、良性疾患とは、患部組織がその分化レベルを有意に失わず、侵襲的成長を示さず、血流またはリンパ系への組織転移を持たないことを特徴とする疾患である。これには例えば糖尿病が含まれるが、摂食障害または精神障害も含まれる。

ペプチド誘導体およびキメラペプチドの特徴づけ

驚いたことに、アミンを介してC末端で修飾されているGLP-1、エキセンディン-3およびエキセンディン-4のペプチド誘導体、ならびにGLP-1、エキセンディン-3またはエキセンディン-4のキメラペプチドは、そのN末端でGLP-1受容体に結合することがわかった。さらにこれらは、天然ペプチドと同じように、GLP-1受容体に対して高い親和度を示す。腫瘍保有ヘアレスマウスを使って実験では、陽性腫瘍組織のGLP-1受容体における特異的取り込みが示される。

30

【 0 0 1 6 】

本発明のペプチド誘導体およびキメラペプチドは、GLP-1受容体発現が関与する良性疾患および悪性疾患の診断および治療に応用するための薬剤として、標識されていないか、またはキレーターによりC末端アミンで標識される。この場合、標識のタイプは、主に放射性金属、MRI造影剤、蛍光発色団または化学療法剤からなる。

40

【 0 0 1 7 】

標識の手順および方法は、当業者にはよく知られており（例：DE 690 18 2 26 T2）、例えば放射性核種、非磁性金属および他のMRI造影剤または蛍光色素の結合などによって行なわれる。これは、本発明のペプチド誘導体およびキメラペプチドの受容体結合または内部移行が損なわれず、GLP-1受容体結合性N末端は遊離（非連結）のままであることを意味する。

【 0 0 1 8 】

元のペプチドのアミノ酸配列：

GLP-1:

H-His-Asp-Glu-Phe-Glu-Arg-His-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-Ser-

50

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
 Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-Arg-Gly-OH
 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37
 エキセンディン - 3 :

H-His-Ser-Asp-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-
 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
 Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-
 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37
 Pro-Ser-NH₂
 38 39

10

エキセンディン - 4 :

H-His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-
 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
 Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-
 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37
 Pro-Ser-NH₂
 38 39

本発明によれば、GLP-1(1-37)、エキセンディン-3およびエキセンディン-4の以下のペプチド誘導体が製造される:

GLP-1(x-y)A¹⁻³⁷
 エキセンディン-3(z-k)A¹⁻⁴⁰
 エキセンディン-4(z-k)A¹⁻⁴⁰。

20

式中、

x = GLP-1アミノ酸配列のアミノ酸1~36

y = GLP-1アミノ酸配列のアミノ酸2~37

z = エキセンディン-3またはエキセンディン-4アミノ酸配列のアミノ酸1~38

k = エキセンディン-3またはエキセンディン-4アミノ酸配列のアミノ酸2~39

A = シグナル分子としての、またはシグナル分子を結合するための、またはそれらを安定化するための、一種以上のアミノ酸またはその誘導体からなる付加基。Aは、C末端に位置することが好ましく、そのアミンは、好ましくはリジンであるか、あるいは遊離アミンを持つ他のアミノ酸、例えばオルニチン、または遊離アミンを持つ有機基であって、そこに、放射性核種もしくはMRI造影剤、蛍光色素または化学療法剤による標識化のためにキレーターが結合される。

30

【0019】

使用することができるキレーターには、DTPA(ジエチレントリアミン五酢酸)、あるいはN,N-ビス(2-[ビス(カルボキシメチル)アミノ]-エチルグリシン)、あるいはDOTA(1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸)、HYNIC(6-ヒドラジノピリジン-3-カルボン酸)、MAG3(メルカプトアセチル-グリシルグリシルグリシン)、N4(1,4,8,11-テトラアザウンデカン)、および上記キレーターの全ての公知の誘導体が含まれる。指数部は、付加基を択一的に見いだすことができるアミノ酸配列内の位置を示す。

40

GLP-1(x-y)A¹⁻³⁷

ここには、長さの異なるGLP-1誘導体が含まれ、xには、2~37の数字が割り当てられるyよりも小さい1~36の数字を割り当てることができる。Aは付加基であり、どの位置にあってもよいが、好ましくはC末端にあつて、yよりも1大きい。付加基は、好ましくは、アミン・リジンである。

エキセンディン-3(z-k)A¹⁻⁴⁰

ここには、長さの異なるエキセンディン-3誘導体が含まれ、zには、2~39の数字が割り当てられるkよりも小さい1~38の数字を割り当てることができる。Aは付加基であり、どの位置にあってもよいが、好ましくはC末端にあつて、yよりも1大きい。付

50

加基は、好ましくは、アミン・リジンである。

エキセンディン - 4 (z - k) A ^{1 - 4 0}

ここには、長さの異なるエキセンディン - 4 誘導体が含まれ、z には、2 ~ 3 9 の数字が割り当てられる k よりも小さい 1 ~ 3 8 の数字を割り当てることができる。A は付加基であり、どの位置にあってもよいが、好ましくは C 末端にあつて、y よりも 1 大きい。付加基は、好ましくは、アミン・リジンである。

【 0 0 2 0 】

以下のペプチド誘導体は特に好ましい：

- 1 . M C 1 0 : (D T P A - L y s ^{3 7}) G L P 1 (7 - 3 6) アミド
- 2 . M C 1 3 : (D T P A - L y s ^{4 0}) エキセンディン - 3 アミド
- 3 . M C 1 1 : (D T P A - L y s ^{4 0}) エキセンディン - 4 アミド。

10

【 0 0 2 1 】

合成は、例えば Peptide Specialty Laboratories G m b H 社において、メリフィールド法に従って行なわれ、H P L C で精製される。

【 0 0 2 2 】

M C 1 0 (D T P A - L y s ^{3 7}) G L P 1 (7 - 3 6) アミドは、C 末端に遊離アミンを持つアミノ酸として、好ましくは 3 7 位のリジンと、キレーター D T P A とを保有する、G L P - 1 のアミノ酸 7 ~ 3 6 からなる。

【 0 0 2 3 】

M C 1 3 (D T P A - L y s ^{4 0}) エキセンディン - 3 アミドは、C 末端に遊離アミンを持つアミノ酸として、好ましくは 4 0 位のリジンと、キレーター D T P A とを保有する、エキセンディン - 3 の全アミノ酸配列からなる。

20

【 0 0 2 4 】

M C 1 1 (D T P A - L y s ^{4 0}) エキセンディン - 4 アミドは、C 末端に遊離アミンを持つアミノ酸として、好ましくは 3 9 位のリジンと、キレーター D T P A とを保有する、エキセンディン - 4 の全アミノ酸配列からなる。

【 0 0 2 5 】

本発明によれば、G L P - 1 (1 - 3 7) およびエキセンディン - 3 またはエキセンディン - 4 から、以下のキメラペプチドが製造される：

- G L P - 1 (x - y) エキセンディン - 3 (z - k) A ^{1 - 7 5}
 G L P - 1 (x - y) エキセンディン - 4 (z - k) A ^{1 - 7 5}
 エキセンディン - 3 (z - k) G L P - 1 (x - y) A ^{1 - 7 5}
 エキセンディン - 4 (z - k) G L P - 1 (x - y) A ^{1 - 7 5}。

30

【 0 0 2 6 】

ここでは以下の定義が適用される。

x = G L P - 1 アミノ酸配列のアミノ酸 1 ~ 3 6

y = G L P - 1 アミノ酸配列のアミノ酸 2 ~ 3 7

z = エキセンディン - 3 またはエキセンディン - 4 アミノ酸配列のアミノ酸 1 ~ 3 8

k = エキセンディン - 3 またはエキセンディン - 4 アミノ酸配列のアミノ酸 2 ~ 3 9

A = シグナル分子としての、またはシグナル分子を結合するための、またはそれらを安定化するための、一種以上のアミノ酸またはその誘導体からなる付加基。A は C 末端に位置することが好ましく、アミンは、好ましくはリジンであるか、あるいは遊離アミンを持つ他のアミノ酸、例えばオルニチン、または遊離アミンを持つ有機基であつて、そこに、放射性核種もしくは M R I 造影剤、蛍光色素または化学療法剤による標識化のためにキレーターが結合される。使用することができるキレーターには、D T P A (ジエチレントリアミン五酢酸)、あるいは N , N - ビス (2 - [ビス (カルボキシメチル) アミノ] - エチルグリシン)、あるいは D O T A (1 , 4 , 7 , 1 0 - テトラアザシクロドデカン - 1 , 4 , 7 , 1 0 - 四酢酸)、H Y N I C (6 - ヒドラジノピリジン - 3 - カルボン酸)、M A G 3 (メルカプトアセチル - グリシルグリシルグリシン)、N 4 (1 , 4 , 8 , 1 1 - テトラアザウンデカン)、および上記キレーターの全ての公知の誘導体が含まれる。

40

50

【0027】

指数部は、付加基を択一的に見いだすことができるアミノ酸配列内の位置を示す。

GLP-1(x-y)エキセンディン-3(z-k)A¹⁻⁷⁵

ここには、GLP-1およびエキセンディン-3のキメラペプチドが含まれ、このキメラペプチドでは、GLP-1のアミノ酸1~36の後に、エキセンディン-3のアミノ酸1~39が続く。Aは、付加基であり、どの位置にあってもよいが、好ましくはC末端にあつて、GLP-1およびエキセンディン-3のアミノ酸数よりも1大きく、好ましくはアミノ・リジンである。

GLP-1(x-y)エキセンディン-4(z-k)A¹⁻⁷⁵

ここには、GLP-1およびエキセンディン-4のキメラペプチドが含まれ、このキメラペプチドでは、GLP-1のアミノ酸1~36の後に、エキセンディン-4のアミノ酸1~39が続く。Aは付加基であり、どの位置にあってもよいが、好ましくはC末端にあつて、GLP-1およびエキセンディン-4のアミノ酸数よりも1大きく、好ましくはアミン・リジンである。

10

エキセンディン-3(z-k)GLP-1(x-y)A¹⁻⁷⁵

ここには、エキセンディン-3およびGLP-1のキメラペプチドが含まれ、この場合、zには、1~38の数字を割り当てることができるが、zは、2~39の数字を割り当てることができるkより小さい。Aは付加基であり、どの位置にあってもよいが、好ましくはC末端にあつて、yよりも1大きい。付加基は、好ましくは、アミン・リジンである。

20

エキセンディン-4(z-k)GLP-1(x-y)A¹⁻⁷⁵

ここには、エキセンディン-4およびGLP-1のキメラペプチドが含まれ、この場合、zには、1~38の数字を割り当てることができるが、zは、2~39の数字を割り当てることができるkより小さい。Aは付加基であり、どの位置にあってもよいが、好ましくはC末端にあつて、yよりも1大きい。付加基は、好ましくは、アミン・リジンである。

【0028】

キメラGLP-1(x-y)エキセンディン-3(z-k)A¹⁻⁷⁵またはGLP-1(x-y)エキセンディン-4(z-k)A¹⁻⁷⁵ペプチドの典型例は、GLP-1(7-36)エキセンディン(33-39)LysアミドからなるMC12である(合成は、Peptide Speciality Laboratories GmbH社において、メリフィールド法に従って行なわれ、HPLCで精製される)。

30

MC12: (Ser³⁷, Gly³⁸, Ala³⁹, Pro⁴⁰, Pro⁴¹, Pro⁴², Ser⁴³, DTPA-Lys⁴⁴アミド) GLP1(7-36)

MC12は、C末端にアミン、好ましくは44位のリジンと、キレーターDTPA、ならびにエキセンディン(33-39)Lysアミドの7アミノ酸の鎖を保有する、GLP-1(7-36)の全アミノ酸配列からなる。したがってキメラペプチドGLP-1(7-36)エキセンディン(33-39)Lysアミドになる。

【0029】

ここで、GLP-1、エキセンディン-3およびエキセンディン-4の、長さの異なるペプチド誘導体、ならびにGLP-1、エキセンディン-3またはエキセンディン-4の、長さの異なるキメラペプチドであつて、それらの基礎となるGLP-1、エキセンディン-3およびエキセンディン-4のアミノ酸配列のさまざまな組み合わせを含有するものが存在することは、当業者には明らかである。

40

【0030】

本発明に基づく、GLP-1、エキセンディン-3およびエキセンディン-4のペプチド誘導体、ならびにGLP-1、エキセンディン-3またはエキセンディン-4のキメラペプチドであつて、アミンによりC末端で修飾され、GLP-1受容体ではそのN末端を介して結合するものには、上述したペプチドGLP-1、エキセンディン-3およびエキセンディン-4とは一箇所以上の位置で識別することができ、かつそれらの配列に対して

50

高い相同性を持つ分子も、含まれる。この場合、相同性とは、少なくとも40%の配列一致度、特に60%の一致度、好ましくは80%を超える一致度、とりわけ好ましくは90%を超える一致度を意味する。上述したアミノ酸配列からの逸脱は、欠失、置換及び(又は)挿入によって生じうる。

【0031】

さらにまた、本発明によるGLP-1、エキセチン-3またはエキセチン-4のキメラペプチドであって、C末端が修飾されていないものも、製造される。それらは特に糖尿病治療剤の製造に使用される。

GLP-1(x-y)エキセチン-3(z-k)

GLP-1(x-y)エキセチン-4(z-k)

エキセチン-3(z-k)GLP-1(x-y)

エキセチン-4(z-k)GLP-1(x-y)

MC20:(Ser³³, Gly³⁴, Ala³⁵, Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸, Ser³⁹)エキセチンGLP1(7-36)

MC20は、C末端にエキセチン(33-39)の7アミノ酸の鎖を保有する、GLP-1(7-36)の全アミノ酸配列からなる。したがって無修飾キメラペプチドGLP-1(7-36)エキセチン(33-39)になる。

ペプチド誘導体およびキメラペプチドの標識化

本発明のペプチド誘導体およびキメラペプチドを、適切な安定化緩衝液に、例えば金属を安定化する目的で、好ましくは0.5M酢酸ナトリウム(pH5.4)に、約 10^{-3} Mの濃度で溶解する。あるいは、蛍光色素の安定化には酢酸アンモニウムの緩衝液が好ましく、化学療法剤および造影剤の安定化には生理緩衝液が好ましい。標識化は、付加基Aにおいて、放射性核種、MRI造影剤、蛍光色素または化学療法剤の結合によって行なわれる。用途がインビトロであるかインビボであるかに応じて、異なる方法が適用される。

【0032】

以下の元素が、放射性核種として、共有結合または錯体結合に使用される。

【0033】

10

20

【表 1】

核種	応用方法	$t_{1/2}$ [時間]	放出される放射線	エネルギー[keV]	結合のタイプ
F-18	PET	1,8	β^+	634	共有結合
Cu-64	PET	12.7	β^+	1673	錯体
Cu-67	治療	61.8	β^- γ	391 184	錯体
Ga-67	SPECT	79.2	γ	93/184/300	錯体
Ga-68	PET	1.1	β^+	2921	錯体
Y-86	PET	14.8	β^+ γ	1220 1076/1153	錯体
Y-90	治療	64.1	β^-	2280	錯体
Tc-99m	SPECT	6	γ	140	錯体
In-111	SPECT	67.2	γ	171/245	錯体
I-123	SPECT	13.2	γ	158	共有結合
I-124	PET	101	β^+ γ	2137/1534 602	共有結合
I-131	治療	192	γ β^-	364 606	共有結合
Lu-177	治療	158	γ β^-	208 112/208	錯体
Re-186	治療	88.8	γ β^-	137 1071	錯体
Re-188	治療	17	γ β^-	155/477/632 1965/2120	錯体
Pt-193m	治療	104	γ オーグメント e^-	135	錯体
Pt-195m	治療	96	γ オーグメント e^-	98	錯体
Ac-225	治療	240	γ α	99, 150	錯体
At-211	治療	7.2	γ オーグメント e^-	687	錯体 共有結合
Bi-213	治療	0.76	γ α	440	錯体
Sm-153	治療	46	γ β^-	103	錯体
Er-169	治療	226	β^-	100	錯体

PET(陽電子放射断層撮影)、SPECT(単光子放射型コンピュータ断層撮影)

例えば以下に挙げる蛍光色素 / 発色団を使用した：フルオレセイン、ローダミン、クマリン、BODIPY、ピレン(カスケードブルー)、ルシファーイエロー、フィコビリタンパク質、シアニン、アレキサフルオロ(AlexaFluoro)、オレゴングリーン、テキサスレッド、クマリンおよびそれらの誘導体。

10

20

30

40

50

【0034】

使用することができるキレーターには、DTPA（ジエチレントリアミン五酢酸）、あるいはN,N-ビス（2-[ビス（カルボキシメチル）アミノ]-エチルグリシン）、あるいはDOTA（1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸）、HYNIC（6-ヒドラジノピリジン-3-カルボン酸）、MAG3（メルカプトアセチル-グリシルグリシルグリシン）、N4（1,4,8,11-テトラアザウンデカン）、および上記キレーターの全ての公知の誘導体が含まれる。

【0035】

使用することができるMRI造影剤には、ガドリニウム、マンガン、鉄、ユーロピウム、銅、ニッケル、クロム、プラセオジウム、ジスプロシウムもしくはホルミウムまたはそれらの化合物が含まれ、さらに、ペルフルオロカーボンなどの陰性MRI造影剤、ならびにF-19、H-1、P-31、Na-19などのMRI分光法用同位体も含まれる。本発明にいう陰性MRI造影剤とは、MRIシグナルを消失させるか、著しく減弱する（すなわち増幅しない）ものである。

10

【0036】

使用することができる化学療法剤には、アルキル化剤、インターカレーター、代謝拮抗物質、酵素阻害剤および酵素遮断剤、ならびに紡錘体毒（例えばアルキルスルホネート、エチルイミン、ニトロソ尿素類、ナイトロジェンマスタード誘導体、葉酸類似体、プリン類似体、ピリミジン類似体、ポドフィリン誘導体、タキサン、ピンカアルカロイド、アントラサイクリン、他の細胞増殖抑制性抗生物質、白金化合物、カンプトテシン誘導体、種々のホルモン、成長因子、インターフェロンまたはインターロイキン）、その他、Preiss, Dornhoff, Hagmann, Schmieder著「Onkologie 2004/05」（Zuckschwerdtverlag発行）の230~287頁に記載されている化学療法剤、ならびに他の全ての細胞増殖抑制物質または細胞毒性物質が含まれる。

20

【0037】

本発明のタンパク質誘導体およびキメラタンパク質を使用する用途のタイプに応じて、そしてまた、上述のタンパク質を使って製造される、GLP-1受容体発現が関与する良性疾患および悪性疾患を診断および治療するための薬剤のタイプに応じて、標識化反応は、2種類の方法で行なわれることになる。

30

【0038】

放射線療法におけるインビトロ用途のための標識化

適切な安定化緩衝液、好ましくは0.5M酢酸ナトリウム（pH5.4）に、約 10^{-3} Mの濃度で溶解しておいた本発明のペプチド誘導体またはキメラペプチド3 μ Lを、標識化のために、0.5M酢酸ナトリウム（pH5.4）500 μ Lに加える。pH値は3~6である。次に、0.1M HCl 500 μ L中の $^{111}\text{InCl}_3$ （Tyco, オランダ・ペッテン）185MBqを加え、37°Cで30分間インキュベートする。最後に、全ての結合部位を飽和させるために、 $^{111}\text{InCl}_3$ の 10^{-3} M溶液3 μ Lを加えた後、さらに30分間インキュベートする。品質管理はHPLCカラムで行なう。

カラム：CC 250/4.6 Nucleosil 120-5 C18（Machery-Nagel, スイス・エンジンゲン）

勾配：0 5分 100% 0.05M $\text{NH}_4\text{OOCCH}_3$, pH5.4（緩衝液A）；5 25分 100%緩衝液A 50%緩衝液A / 50%アセトニトリル）。

インビトロ用途のための品質管理は、98%を超える標識化収率で満たされる。このようにして、GLP-1受容体発現が関与する良性疾患および悪性疾患を診断および治療するために、例えば膵臓細胞の細胞培養物および組織培養物中で使用することができる、放射性標識薬剤を入手することができる。

40

【0039】

放射線療法におけるインビボ用途のための標識化

適切な安定化緩衝液、好ましくは0.5M酢酸ナトリウム（pH5.4）に、約 10^{-3}

50

³Mの濃度で溶解しておいた本発明のペプチド誘導体またはキメラペプチド3 μLを、標識化のために、0.5 M酢酸ナトリウム (pH 5.4) 500 μLに加える。最後に、0.1 M HCl 500 μL中の¹¹¹InCl₃ (Tyco, オランダ・ペッテン) 185 MBqを加え、37 °Cで30分間インキュベートする。品質管理はHPLCカラムで行なう。

カラム: CC 250/4.6 Nucleosil 120-5 C18 (Machery-Nagel, スイス・エンジンゲン)

勾配: 0-5分 100% 0.05 M NH₄OOCCH₃, pH 5.4 (緩衝液A); 5-25分 100%緩衝液A 50%緩衝液A / 50%アセトニトリル)。

インビボ用途のための品質管理は、98%を超える標識化収率で満たされる。

【0040】

このようにして、GLP-1受容体発現が関与する良性疾患および悪性疾患を診断および治療するために、例えば患者内の腫瘍を検出するために使用することができる、放射性標識薬剤を入手することができる。

【0041】

「患者」という用語はヒトおよび脊椎動物を等しく意味する。したがって本薬剤はヒト医学にも獣医学にも応用することができる。本発明に基づく治療的および診断的に有効な薬剤は、許容できる薬学的組成物の一部として、以下のいずれかの形態で患者に与えられる: 経口、直腸、非経口、静脈内/動脈内、筋肉内、皮下、髄腔内、槽内、頭蓋内、腔内

、腹腔内、脈管内、局所 (散剤、軟膏または点滴剤) または噴霧 (エアロゾル)。必要な用量は、GLP-1受容体発現が関与する良性疾患および悪性疾患の個々の診断例および治療例ごとに、医師によって決定されることになる。

【0042】

内部移行研究

内部移行研究により、本発明のペプチド誘導体およびキメラタンパク質 (どちらもインビトロ放射性標識されたもの) の細胞内への輸送を、典型的に示す。

【0043】

6穴プレートに100,000個のGLP-1受容体トランスフェクトCHO細胞を播種する。細胞を、それらがコンフルエントになるまで成長させる。次に四つの群を形成させる。

【0044】

第1群: 全結合、PBSで洗浄

100,000 cpmの¹¹¹In (10⁻¹⁵ M o l) 標識ペプチドを培地2 mLに加え、37 °Cで1時間インキュベートする。次に、それをPBSで3回洗浄し、20 mM MOPS (3-モルホリノプロパンスルホン酸) + 0.1% Triton-X-100 (pH 7.4) で、細胞を分離する。細胞内への取り込みを線計数器で測定する。ブラッドフォード法に基づくBio-Rad (ドイツ・ミュンヘン) 製のタンパク質アッセイキットを使って、タンパク質含量により、細胞数を測定する。結果をcpm/μg-タンパク質の形で表す。

【0045】

第2群: 非特異的結合、PBSで洗浄

20 μLの10⁻³ M GLP-1溶液および100,000 cpmの¹¹¹In標識ペプチドを培地2 mLに加え、37 °Cで1時間インキュベートする。次に、それをPBSで3回洗浄し、20 mM MOPS (3-モルホリノプロパンスルホン酸) + 0.1% Triton-X-100 (pH 7.4) で、細胞を分離する。細胞内への取り込みを線計数器で測定する。ブラッドフォード法に基づくBio-Rad (ドイツ・ミュンヘン) 製のタンパク質アッセイキットを使って、タンパク質含量により、細胞数を測定する。結果をcpm/μg-タンパク質の形で表す。

【0046】

10

20

30

40

50

第3群：全結合、酸で洗浄

20 μLの 10^{-3} M GLP-1溶液および100,000 cpmの ^{111}In 標識ペプチドを培地2 mLに加え、37 °Cで1時間インキュベートする。次に、それを0.1 M酢酸ナトリウム緩衝液(pH 4)で1回、PBSで2回洗浄し、20 mM MOPS (3-モルホリノプロパンスルホン酸) + 0.1% Triton-X-100 (pH 7.4)で、細胞を分離する。細胞内への取り込みを線計数器で測定する。ブラッドフォード法に基づくBio-Rad (ドイツ・ミュンヘン)製のタンパク質アッセイキットを使って、タンパク質含量により、細胞数を測定する。結果をcpm/μg-タンパク質の形で表す。

【0047】

10

第4群：非特異的結合、酸で洗浄

20 μLの 10^{-4} M GLP-1溶液および100,000 cpmの ^{111}In 標識ペプチドを培地2 mLに加え、37 °Cで1時間インキュベートする。次に、それを0.1 M酢酸ナトリウム緩衝液(pH 4)で1回、PBSで2回洗浄し、20 mM MOPS (3-モルホリノプロパンスルホン酸) + 0.1% Triton-X-100 (pH 7.4)で、細胞を分離する。細胞内への取り込みを線計数器で測定する。ブラッドフォード法に基づくBio-Rad (ドイツ・ミュンヘン)製のタンパク質アッセイキットを使って、タンパク質含量により、細胞数を測定する。結果をcpm/μg-タンパク質の形で表す。

評価：

20

【0048】

【数1】

$$\%IDS_B = \frac{Res3. - Res4.}{Res1. - Res2.} * 100$$

%IDSB=特異的結合の内部移行の%

【0049】

【表2】

30

	%IDSB
MC10	75±5
MC11	70±7
MC12	73±9

これらの結果は細胞内への良好な輸送が起きていることを示す。

結合研究

結合研究により、本発明のインビボ標識性放射性標識ペプチド誘導体およびキメラタンパク質によって起こるGLP-1受容体への特異的結合を示す。6穴プレートに100,000個のGLP-1受容体トランスフェクトCHO細胞を播種する。細胞を、それらがコンフルエントになるまで成長させる。次に100,000 cpmの ^{111}In 標識ペプチド2 mLを加える。結合を調べるために、次にそれを 10^{-3} M GLP-1溶液20 μLで遮断する。

40

【0050】

【表 3】

	遮断率(%)
MC10	80±3
MC11	85±3
MC12	77±6

例えばヘアレスマウスなどの齧歯類でインビボ生体内分布を示すことができる。そのために、GLP-1トランスフェクトCHO細胞をヘアレスマウスに注射する。約3～5週間後に、腫瘍は約300mgの大きさに成長していた。次に、本発明の¹¹¹In標識ペプチド37MBqをマウスに注射し、4時間後にカメラで測定する。この手法の過程で、腎臓による迅速なクリアランスおよび腎臓における取り込みがあった。GLP-1受容体陽性腫瘍における高度な取り込みもあったが、GLP-1受容体陰性腫瘍は取り込みをほとんど示さなかった。膵臓でもわずかな取り込みがあったが、他の臓器は目に見える取り込みを示さなかった。

【0051】

エクスピボ生体内分布研究を、各群4匹のマウスからなる群で行なう。ここでは555kBqの¹¹¹In-MC10を尾静脈に注射する。注射の1、4および24時間後に、全てのマウスを屠殺し、その臓器を摘出する。

【0052】

放射能の取り込みを測定し、臓器を重さを測定する。臓器重量1gあたりの注射した用量の%を計算する。結果は以下のとおりである。

【0053】

【表 4】

臓器	1時間	Stdev	4時間	Stdev	24時間	Stdev
血液	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
肝臓	0.03	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00
胃	0.14	0.10	0.13	0.07	0.07	0.06
脾臓	0.02	0.02	0.01	0.00	0.01	0.00
膵臓	0.58	0.50	0.62	0.28	0.37	0.27
腎臓	7.90	3.62	7.41	3.56	4.85	3.05
腸	0.12	0.06	0.07	0.06	0.04	0.03
肺	0.80	0.56	0.36	0.17	0.22	0.07
心臓	0.02	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00
骨	0.02	0.04	0.01	0.00	0.01	0.01
筋肉	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
腫瘍 -	0.03	0.03	0.02	0.01	0.01	0.00
腫瘍 +	0.42	0.19	0.31	0.30	0.20	0.16

各群4匹による生体内分布の平均値(単位:%i. D/g)

Stdev:標準偏差

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/DE2005/001503

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K14/605 C07K14/575 A61K38/16		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, Sequence Search, BIOSIS, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevance to claim no.
X	XIAO Q ET AL: "Biological activities of glucagon-like peptide-1 analogues in vitro and in vivo" BIOCHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, EASTON, PA, US, vol. 40, no. 9, 6 March 2001 (2001-03-06), pages 2860-2869, XP00227645 ISSN: 0006-2960	1,2
A	the whole document ----- -/--	3-14, 29-37
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 29 March 2006		Date of mailing of the international search report
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Herrmann, K

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/DE2005/001503

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>KNUDSEN LOTTE B ET AL: "Potent derivatives of glucagon-like peptide-1 with pharmacokinetic properties suitable for once daily administration" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, US, vol. 43, no. 9, 4 May 2000 (2000-05-04), pages 1664-1669, XP002201014 ISSN: 0022-2623</p>	1,2
A	<p>the whole document</p>	3-14, 29-37
A	<p>----- US 2003/232761 A1 (HINKE SIMON A ET AL) 18 December 2003 (2003-12-18) cited in the application the whole document</p>	1-14, 29-37
A	<p>----- US 2003/073626 A1 (HATHAWAY DAVID R ET AL) 17 April 2003 (2003-04-17) paragraph [0038]</p>	1-14, 29-37
A	<p>----- DEACON C F ET AL: "Dipeptidyl peptidase IV resistant analogues of glucagon-like peptide-1 which have extended metabolic stability and improved biological activity." DIABETOLOGIA, MAR 1998, vol. 41, no. 3, March 1998 (1998-03), pages 271-278, XP002202152 ISSN: 0012-186X the whole document</p>	1-14, 29-37
A	<p>----- GÖKE R ET AL: "Solubilization of active GLP-1 (7-36)amide receptors from RINm5F plasma membranes." FEBS LETTERS, 6 APR 1992, vol. 300, no. 3, 6 April 1992 (1992-04-06), pages 232-236, XP002374756 ISSN: 0014-5793 the whole document</p>	1-14, 29-37
A	<p>----- ABELLO J ET AL: "Stimulation of glucagon-like peptide-1 secretion by muscarinic agonist in a murine intestinal endocrine cell line." ENDOCRINOLOGY, MAY 1994, vol. 134, no. 5, May 1994 (1994-05), pages 2011-2017, XP009064445 ISSN: 0013-7227 the whole document</p>	1-14, 29-37
	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/DE2005/001503

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>CHHRZAD MONTROSE-RAFIZADEH ET AL: "High Potency Antagonists of the Pancreatic Glucagon-like Peptide-1 Receptor" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOCHEMICAL BIOLOGISTS, BIRMINGHAM,, US, vol. 272, no. 34, 22 August 1997 (1997-08-22), pages 21201-21206, XP002247450 ISSN: 0021-9258 the whole document</p> <p>-----</p>	1-14, 29-37
A	<p>BEHR T M ET AL: "IMAGING TUMORS WITH PEPTIDE-BASED RADIOLIGANDS" QUARTERLY JOURNAL OF NUCLEAR MEDICINE, MILAN, IT, vol. 45, no. 2, 2001, pages 189-200, XP008023979 ISSN: 1125-0135 the whole document</p> <p>-----</p>	1-14, 29-37
A	<p>WO 91/01144 A (SANDOZ-ERFINDUNGEN VERWALTUNGSGESELLSCHAFT M.B.H; SANDOZ-PATENT-GMBH;) 7 February 1991 (1991-02-07) the whole document</p> <p>-----</p>	1-14, 29-37
A	<p>STENNICKE H R ET AL: "C-terminal incorporation of fluorogenic and affinity labels using wild-type and mutagenized carboxypeptidase Y" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, CA, US, vol. 248, no. 1, 15 May 1997 (1997-05-15), pages 141-148, XP002298918 ISSN: 0003-2697 the whole document</p> <p>-----</p>	1-14, 29-37

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/DE2005/001503**Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 8.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

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

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-14 und 29-37 (alle teilweise)

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/DE2005 /001503

Box No. IV Text of the abstract (Continuation of item 5 of the first sheet)

Continuation of Box II.1

Although claims 30, 31 and 35 to 37 relate to a diagnostic method practised on the human or animal body and to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out and was based on the stated effects of the compound or composition.

Continuation of Box III

The International Searching Authority has found that the international application contains multiple (groups of) inventions, as follows:

1. Claims 1-14 and 29-37 (all in part)

Peptide derivatives from GLP-1 which are modified by an amine at the C-terminus and bind to the GLP-1 receptor via the N-terminus; also other related subject matter.

2. Claims 1-14 and 29-37 (all in part)

Peptide derivatives from exendin-3 which are modified by an amine at the C-terminus and bind to the GLP-1 receptor via the N-terminus; also other related subject matter.

3. Claims 1-14 and 29-37 (all in part)

Peptide derivatives from exendin-4 which are modified by an amine at the C-terminus and bind to the GLP-1 receptor via the N-terminus; also other related subject matter.

4. Claims 15-28 and 29-37 (all in part)

Chimeric peptides from GLP-1 and exendin-3, and other related subject matter.

5. Claims 15-28 and 29-37 (all in part)

Chimeric peptides from GLP-1 and exendin-4, and other related subject matter.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/DE2005/001503

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2003232761 A1	18-12-2003	US 2005137135 A1	23-06-2005
US 2003073626 A1	17-04-2003	NONE	
WO 9101144 A	07-02-1991	AT 120374 T	15-04-1995
		AU 638043 B2	17-06-1993
		AU 6070990 A	22-02-1991
		CA 2032499 A1	21-01-1991
		DE 69018226 D1	04-05-1995
		DE 69018226 T2	21-09-1995
		DK 436005 T3	03-07-1995
		EP 0436005 A1	10-07-1991
		ES 2070329 T3	01-06-1995
		FI 101938 B1	30-09-1998
		HU 56583 A2	30-09-1991
		IE 902619 A1	27-02-1991
		IL 95118 A	24-01-1995
		JP 4500823 T	13-02-1992

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE2005/001503

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES INV. C07K14/605 C07K14/575 A61K38/16		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) C07K A61K		
Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, Sequence Search, BIOSIS, WPI Data		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	XIAO Q ET AL: "Biological activities of glucagon-like peptide-1 analogues in vitro and in vivo" BIOCHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. EASTON, PA, US, Bd. 40, Nr. 9, 6. März 2001 (2001-03-06), Seiten 2860-2869, XP002277645 ISSN: 0006-2960	1,2
A	das ganze Dokument	3-14, 29-37
	----- -/-	
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem Internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem Internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem Internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegender ist *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche		Absenddatum des Internationalen Recherchenberichts
29. März 2006		19. 06. 06
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 6818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo.nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Herrmann, K

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE2005/001503

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der In Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>KNUDSEN LOTTE B ET AL: "Potent derivatives of glucagon-like peptide-1 with pharmacokinetic properties suitable for once daily administration" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, US, Bd. 43, Nr. 9, 4. Mai 2000 (2000-05-04), Seiten 1664-1669, XP002201014 ISSN: 0022-2623</p>	1,2
A	<p>das ganze Dokument</p>	3-14, 29-37
A	<p>US 2003/232761 A1 (HINKE SIMON A ET AL) 18. Dezember 2003 (2003-12-18) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument</p>	1-14, 29-37
A	<p>US 2003/073626 A1 (HATHAWAY DAVID R ET AL) 17. April 2003 (2003-04-17) Absatz [0038]</p>	1-14, 29-37
A	<p>DEACON C F ET AL: "Dipeptidyl peptidase IV resistant analogues of glucagon-like peptide-1 which have extended metabolic stability and improved biological activity." DIABETOLOGIA, MAR 1998, Bd. 41, Nr. 3, März 1998 (1998-03), Seiten 271-278, XP002202152 ISSN: 0012-186X</p>	1-14, 29-37
A	<p>das ganze Dokument</p>	
A	<p>GÖKE R ET AL: "Solubilization of active GLP-1 (7-36)amide receptors from RINm5F plasma membranes." FEBS LETTERS, 6 APR 1992, Bd. 300, Nr. 3, 6. April 1992 (1992-04-06), Seiten 232-236, XP002374756 ISSN: 0014-5793</p>	1-14, 29-37
A	<p>das ganze Dokument</p>	
A	<p>ABELLO J ET AL: "Stimulation of glucagon-like peptide-1 secretion by muscarinic agonist in a murine intestinal endocrine cell line." ENDOCRINOLOGY, MAY 1994, Bd. 134, Nr. 5, Mai 1994 (1994-05), Seiten 2011-2017, XP009064445 ISSN: 0013-7227</p>	1-14, 29-37
	<p>das ganze Dokument</p>	

-/-

INTERNATIONAL RESEARCH REPORT

Internationale Aktenzeichen

PCT/DE2005/001503

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>CHAHRZAD MONTROSE-RAFIZADEH ET AL: "High Potency Antagonists of the Pancreatic Glucagon-like Peptide-1 Receptor" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOCHEMICAL BIOLOGISTS, BIRMINGHAM,, US, Bd. 272, Nr. 34, 22. August 1997 (1997-08-22), Seiten 21201-21206, XP002247450 ISSN: 0021-9258 das ganze Dokument</p>	1-14, 29-37
A	<p>BEHR T M ET AL: "IMAGING TUMORS WITH PEPTIDE-BASED RADIOLIGANDS" QUARTERLY JOURNAL OF NUCLEAR MEDICINE, MILAN, IT, Bd. 45, Nr. 2, 2001, Seiten 189-200, XP008023979 ISSN: 1125-0135 das ganze Dokument</p>	1-14, 29-37
A	<p>WO 91/01144 A (SANDOZ-ERFINDUNGEN VERWALTUNGSGESELLSCHAFT M.B.H.; SANDOZ-PATENT-GMBH;) 7. Februar 1991 (1991-02-07) das ganze Dokument</p>	1-14, 29-37
A	<p>STENNICKE H R ET AL: "C-terminal incorporation of fluorogenic and affinity labels using wild-type and mutagenized carboxypeptidase Y" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, CA, US, Bd. 248, Nr. 1, 15. Mai 1997 (1997-05-15), Seiten 141-148, XP002298918 ISSN: 0003-2697 das ganze Dokument</p>	1-14, 29-37

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

 Internationales Aktenzeichen
 PCT/DE2005/001503

Feld II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr. weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
siehe BEIBLATT PCT/ISA/210
2. Ansprüche Nr. weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. Ansprüche Nr. weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen enthalten:
I-14 und 29-37 (alle teilweise)

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
 Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

Internationales Aktenzeichen PCT/DE2005 /001503

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld II.1

Obwohl die Ansprüche 30, 31 and 35-37 sich auf ein Diagnostizierverfahren, das am menschlichen/tierischen Körper vorgenommen wird oder auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.

Internationales Aktenzeichen PCT/DE2005/001503

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, dass diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-14 und 29-37 (alle teilweise)

Peptidderivate von GLP-1, die am C-Terminus über ein Amin modifiziert sind und über den N-Terminus an den GLP-1-Rezeptor binden sowie Gegenstände, die dazu im Bezug stehen.

2. Ansprüche: 1-14 und 29-37 (alle teilweise)

Peptidderivate von Exendin-3, die am C-Terminus über ein Amin modifiziert sind und über den N-Terminus an den GLP-1-Rezeptor binden sowie Gegenstände, die dazu im Bezug stehen.

3. Ansprüche: 1-14 und 29-37 (alle teilweise)

Peptidderivate von Exendin-4, die am C-Terminus über ein Amin modifiziert sind und über den N-Terminus an den GLP-1-Rezeptor binden sowie Gegenstände, die dazu im Bezug stehen.

4. Ansprüche: 15-28 und 29-37 (alle teilweise)

Chimäre Peptide aus GLP-1 und Exendin-3 sowie Gegenstände, die dazu im Bezug stehen.

5. Ansprüche: 15-28 und 29-37 (alle teilweise)

Chimäre Peptide aus GLP-1 und Exendin-4 sowie Gegenstände, die dazu im Bezug stehen.

INTERNATIONALE RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören:

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE2005/001503

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 2003232761 A1	18-12-2003	US 2005137135 A1	23-06-2005
US 2003073626 A1	17-04-2003	KEINE	
WO 9101144 A	07-02-1991	AT 120374 T	15-04-1995
		AU 638043 B2	17-06-1993
		AU 6070990 A	22-02-1991
		CA 2032499 A1	21-01-1991
		DE 69018226 D1	04-05-1995
		DE 69018226 T2	21-09-1995
		DK 436005 T3	03-07-1995
		EP 0436005 A1	10-07-1991
		ES 2070329 T3	01-06-1995
		FI 101938 B1	30-09-1998
		HU 56583 A2	30-09-1991
		IE 902619 A1	27-02-1991
		IL 95118 A	24-01-1995
		JP 4500823 T	13-02-1992

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 49/02	B
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 K 49/02	C
	A 6 1 K 45/00	
	A 6 1 P 35/00	
	A 6 1 P 43/00	1 2 5
	A 6 1 P 43/00	1 2 1

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

(72) 発明者 ベーエ・マルティン

ドイツ連邦共和国、3 5 0 4 3 マールブルク、フィヒテンヴェーク、8

(72) 発明者 ベーア・トーマス

ドイツ連邦共和国、3 5 0 4 3 マールブルク - カッペル、フォルストハウスストラッセ、2

(72) 発明者 ゲーケ、ブルクハルト・ヨット

ドイツ連邦共和国、8 2 1 3 1 ガウティング、タッシロストラッセ、1 4

F ターム (参考) 4C084 AA17 AA19 MA02 NA14 ZB261 ZB262 ZC711 ZC751

4C085 HH03 HH07 HH11 KA04 KA11 KA27 KA28 KA29 KB07 KB09

KB10 KB11 KB15 KB20 KB82 LL18

4H045 AA10 AA30 BA19 BA20 BA21 BA41 BA70 BA71 BA72 CA40

CA53 DA30 EA20 EA28 EA50 EA51 FA10