



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 119119235 A

(43) 申请公布日 2024. 12. 13

(21) 申请号 202411174565.1

(22) 申请日 2014.10.17

(30) 优先权数据

61/892,256 2013.10.17 US

(62) 分案原申请数据

201480056639.X 2014.10.17

(71) 申请人 西兰制药公司

地址 丹麦

申请人 勃林格殷格翰国际有限责任公司

(72) 发明人 迪特·里贝尔

雅各布·林德·托尔博尔格

迪特尔·沃尔夫冈·汉普雷希特

沃尔夫冈·里斯特

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司

公司 11227

专利代理师 张福誉 韩晓帆

(51) Int.Cl.

C07K 14/605 (2006.01)

A61K 38/26 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

A61P 3/06 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 9/12 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

C07K 1/107 (2006.01)

权利要求书4页 说明书36页

序列表(电子公布)

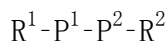
(54) 发明名称

酰化胰高血糖素类似物

(57) 摘要

本申请涉及酰化胰高血糖素类似物。本发明提供了用于治疗肥胖和体重过重、糖尿病以及其他相关代谢性疾病的材料和方法。特别地,本发明提供了多种在这样的方法中有效的新的酰化胰高血糖素类似物肽。所述肽可通过具有与人胰高血糖素相比提高的对GLP-1受体的选择性来介导其作用。

1. 具有下式的化合物:



其中,

R^1 为H、 C_{1-4} 烷基、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基;

R^2 为OH或 NH_2 ;

P^1 为具有以下序列的肽:

H-X2-X3-GTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA

其中:

X2选自:Aib、Ala、D-Ala、Ser、N-Me-Ser、Ac3c、Ac4c和Ac5c;

X3选自Gln和His;

P^2 不存在或者为1至20个氨基酸单元的序列,所述氨基酸单元独立地选自:Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr和Orn;

或其可药用盐或溶剂合物;

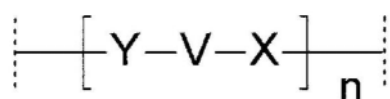
Ψ为Lys、Arg、Orn或Cys的残基,其中侧链与具有式 $-Z^2-Z^1$ 的取代基缀合;

$-Z^1$ 为在链的一端具有极性基团并且在远离所述极性基团的链端具有与 Z^2 的连接体-X-的脂肪链,

其中所述极性基团包含羧酸或羧酸生物电子等排体、磷酸或磺酸基团;

且-X-为键、 $-CO-$ 、 $-SO-$ 或 $-SO_2-$;

$-Z^2-$ 为下式的间隔物:



其中:

每个Y独立地为-NH、-NR、-S或-O,其中R为烷基、保护基或与所述间隔物 Z^2 的其他部分形成键;

每个X独立地为键、 $-CO-$ 、 $-SO-$ 或 $-SO_2-$;

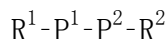
前提是当Y为-S时,X为键;

每个V独立地为连接Y和X的二价有机部分;

并且n为1至10;

或其可药用盐或溶剂合物。

2. 具有下式的化合物:



其中,

R^1 为H、 C_{1-4} 烷基、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基;

R^2 为OH或 NH_2 ;

P^1 为具有以下序列的肽:

His-X2-X3-GTFTSDYSKYL-X15-X16-X17-X18-A-X20-DFI-X24-WLE-X28-A

其中:

X2选自Aib、Ac3c、Ac4c和Ac5c;

X3选自Gln和His;
 X15选自Asp和Glu;
 X16选自Glu和Ψ;
 X17选自Arg和Ψ;
 X18选自Ala和Arg;
 X20选自Lys和His;
 X24选自Glu和Ψ;
 X28选自Ser和Ψ;

并且P²不存在或者为1至20个氨基酸单元的序列,所述氨基酸单元独立地选自:Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr和Orn;

其中所述化合物含有一个且仅一个Ψ

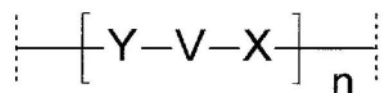
并且其中所述Ψ为Lys、Arg、Orn或Cys的残基,其中侧链与具有式-Z²Z¹的取代基缀合;

-Z¹为在链的一端具有极性基团并且在远离所述极性基团的链端具有与Z²的连接体-X-的脂肪链,

其中所述极性基团包含羧酸或羧酸生物电子等排体、磷酸或磺酸基团;

并且-X-为键、-CO-、-SO-或-SO₂-;

-Z²-是下式的间隔物:



其中:

每个Y独立地为-NH-、-NR-、-S或-O,其中R为烷基、保护基或与间隔物Z₂的其他部分形成键;

每个X独立地为键、CO-、SO-或SO₂-;

前提是当Y为-S时,X为键;

每个V独立地为连接Y和X的二价有机部分;

并且n为1至10;

或其可药用盐。

3. 根据权利要求2所述的化合物或可药用盐,其中:

X2选自Aib和Ac4c;

X3为Gln;

X15选自Asp和Glu;

X16为Ψ;

X17为Arg;

X18为Ala;

X20选自Lys和His;

X24为Glu;

X28为Ser。

4. 根据权利要求2所述的化合物或可药用盐,其中:

X2选自Aib和Ac4c;

X3选自Gln和His;

X15为Asp;

X16为Glu;

X17选自Arg和Ψ;

X18选自Ala和Arg;

X20为Lys;

X24选自Glu和Ψ;

X28选自Se_r和Ψ。

5. 根据权利要求1至4中任一项所述的化合物或可药用盐,其中-Z¹为下式的酰基:

A-B-Alk-(CO)-

或下式的磺酰基:

A-B-Alk-(SO₂)-;

A为-COOH或羧酸生物电子等排体;

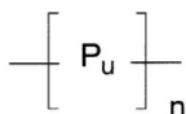
B为键、C₆亚芳基或C₆亚芳基-O-;

Alk为长度为6至18个碳原子的饱和或不饱和脂肪链,其任选地被选自氟、C₁₋₄烷基、三氟甲基、羟甲基、氨基、羟基、C₁₋₄烷氧基、氧代和羧基的一个或多个取代基取代;

-Z²-为-S_A-、-S_A-S_B-或-S_B-S_A-;

-S_A-为选自以下的单个氨基酸残基: γ-Glu、α-Glu、α-Asp、β-Asp、Ala、β-Ala (3-氨基丙酸) 和Gaba (4-氨基丁酸);

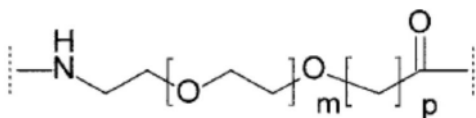
-S_B-为以下通式的接头:



其中n为1至10且每个P_u独立地选自P_uⁱ和P_uⁱⁱⁱ;

每个P_uⁱ独立地为天然或非天然的氨基酸残基;并且

每个P_uⁱⁱⁱ独立地为以下通式的残基:



其中m为0至5且p为1、3、4或5。

6. 组合物, 包含与载体混合的根据前述权利要求中任一项所述的化合物或可药用盐, 其中所述组合物是药物组合物, 并且所述载体是可药用载体。

7. 根据权利要求1至5中任一项所述的化合物或可药用盐在制备用于以下的药物中的用途:

(i) 在有此需要的个体中预防体重增长或促进体重减轻;

(ii) 在有此需要的个体中降低循环LDL水平和/或提高HDL/LDL比值;

(iii) 在有此需要的个体中降低循环LDL水平和/或提高HDL/LDL比值;

(iv) 治疗由体重过重引起的或以其为特征的病症;

(v) 预防或治疗选自以下的病症: 肥胖、肥胖相关炎症、肥胖相关胆囊疾病、肥胖诱发的

睡眠呼吸暂停、糖尿病、代谢综合征、高血压、动脉粥样硬化性血脂异常、冠心病、外周动脉疾病和微血管疾病。

8. 根据权利要求所述的用途, 其中所述化合物或可药用盐作为组合治疗的一部分与用于治疗糖尿病、肥胖、血脂异常或高血压的药剂一起施用。

9. 治疗性药盒, 其包含根据权利要求1至5中任一项所述的化合物或可药用盐或者根据权利要求6所述的组合物。

10. 通过固相或液相肽合成来合成根据权利要求1至5中任一项所述化合物的方法。

酰化胰高血糖素类似物

[0001] 本申请是申请号为201480056639.X的发明名称为“酰化胰高血糖素类似物”的中国专利申请的分案申请,原申请是2014年10月17日提交的PCT国际申请PCT/EP2014/072293于2016年04月14日进入中国国家阶段的申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及酰化胰高血糖素类似物及其例如在治疗肥胖和体重过重、糖尿病及其他代谢性疾病中的医疗用途。

背景技术

[0003] 前胰高血糖素原(pre-proglucagon)是158个氨基酸的前体多肽,其在组织中被差异性加工而形成多种结构上相关的胰高血糖素原衍生肽,包括胰高血糖素(Glu)、胰高血糖素样肽-1(GLP-1)、胰高血糖素样肽-2(GLP-2)和胃泌酸调节素(oxyntomodulin, OXM)。这些分子参与很多种生理功能,包括葡萄糖内稳态、胰岛素分泌、胃排空和肠生长以及食物摄取调节。

[0004] 胰高血糖素是29个氨基酸的肽,其对应于前胰高血糖素原的53位至81位氨基酸。胃泌酸调节素(OXM)是37个氨基酸的肽,其包含胰高血糖素的全部29个氨基酸序列和八肽羧基端延伸(前高血糖素原的82位至89位氨基酸,被称为“间插肽1(intervening peptide 1)”或IP-1)。GLP-1的主要生物学活性片段作为30个氨基酸的对应于前胰高血糖素原之98至127位氨基酸的C端酰胺化肽而产生。

[0005] 胰高血糖素帮助维持血液中的葡萄糖水平,这通过与肝细胞上的胰高血糖素受体结合并经由糖原分解而使肝释放以糖原形式储存的葡萄糖来实现。随着这些储存的耗尽,胰高血糖素刺激肝通过糖异生作用合成额外的葡萄糖。这些葡萄糖释放到血流中,从而防止发生低血糖。

[0006] GLP-1通过提高葡萄糖刺激的胰岛素分泌来降低升高的血糖水平,并且主要通过降低食物摄取来促进体重减轻。

[0007] OXM响应于食物摄入而释放到血液中,并与膳食的卡路里含量成比例。已显示OXM在人中抑制食欲并抑制食物摄取(Cohen等, Journal of Endocrinology and Metabolism, 88, 4696-4701, 2003; WO 2003/022304)。除了与GLP-1类似的那些食欲抑制作用以外, OXM一定还通过其他机制影响体重,因为用胃泌酸调节素处理的大鼠与对饲(pair-fed)大鼠相比显示更少的体重增长(Bloom, Endocrinology 2004, 145, 2687)。用OXM处理肥胖啮齿类动物还改善了它们的葡萄糖耐量(Parlevliet等, Am J Physiol Endocrinol Metab, 294, E142-7, 2008)并抑制了体重增长(WO 2003/022304)。

[0008] OXM活化胰高血糖素受体和GLP-1受体二者,其对于胰高血糖素受体具有比GLP-1受体两倍更高的效力,但是比天然胰高血糖素和GLP-1对于其各自受体的效力低。人胰高血糖素也能够活化这两种受体,但对胰高血糖素受体比GLP-1受体有更强的偏爱。另一方面, GLP-1不能活化胰高血糖素受体。胃泌酸调节素的作用机制还不是很清楚。特别是不知道该

激素的一些肝外作用是通过GLP-1受体和胰高血糖素受体介导,还是通过一种或更多种尚未鉴定出的受体介导。

[0009] 已显示另一些肽结合并活化胰高血糖素受体和GLP-1受体二者(Hjort等,Journal of Biological Chemistry,269,30121-30124,1994),而且抑制体重增长并降低食物摄取(参见,例如WO 2006/134340、WO 2007/100535、WO 2008/10101、WO 2008/152403、WO 2009/155257、WO 2009/155258、WO2010/070252、WO2010/070253、WO2010/070255、WO2010/070251、WO2011/006497、WO2011/160630、WO2011/160633、WO2013/092703、WO2014/041195。

[0010] 肥胖是日益增多的全球性健康问题,其与多种疾病有关,特别是心血管疾病(cardiovascular disease,CVD)、2型糖尿病、阻塞性睡眠呼吸暂停、某些类型的癌症和骨关节炎。结果,已发现肥胖降低预期寿命。根据世界卫生组织所作的2005预测,全世界有4亿成人(年龄>15)被划归为肥胖。在美国,目前认为肥胖是仅次于吸烟的可预防性死亡(preventable death)之第二大原因。

[0011] 肥胖的增多促使糖尿病的增多,约90%患2型糖尿病的人可划归为肥胖。全世界有2.46亿人患有糖尿病,且到2025年预计将会有3.8亿人患糖尿病。许多人还有另外的心血管风险因素,包括高/异常LDL和甘油三酯以及低HDL。

发明内容

[0012] 在第一方面,本发明提供了具有下式的化合物:

[0013] $R^1-P^1-P^2-R^2$

[0014] 其中,

[0015] R^1 为H、 C_{1-4} 烷基、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基;

[0016] R^2 为OH或 NH_2 ;

[0017] P^1 为具有以下序列的肽:

[0018] H-X2-X3-GTFTSDYSKYLDSP Ψ AAHDFVEWLLSA

[0019] 其中:

[0020] X2选自:Aib、Ala、D-Ala、Ser、N-Me-Ser、Ac3c、Ac4c和Ac5c;

[0021] X3选自Gln和His;

[0022] P^2 不存在或者为1至20个氨基酸单元的序列,所述氨基酸单元独立地选自:Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr和Orn;

[0023] 或其可药用盐或溶剂合物;

[0024] Ψ 为Lys、Arg、Orn或Cys的残基,其中侧链与具有式 $-Z^2-Z^1$ 的取代基缀合;

[0025] $-Z^1$ 为在链的一端具有极性基团并且在远离所述极性基团的链端具有与 Z^2 的连接体(connection)-X-的脂肪链,

[0026] 其中所述极性基团包含羧酸或羧酸生物电子等排体(bioisostere)、磷酸或磺酸基团;

[0027] 且-X-为键、 $-CO-$ 、 $-SO-$ 或 $-SO_2-$;

[0028] $-Z^2-$ 为下式的间隔物(spacer):

[0029]
$$\text{---} \left[\text{Y-V-X} \right]_n \text{---}$$

[0030] 其中:

[0031] 每个Y独立地为-NH、-NR、-S或-O,其中R是烷基、保护基或与所述间隔物Z²的其他部分形成键;

[0032] 每个X独立地为键、Co、SO-或SO₂-;

[0033] 前提是当Y为-S时,X为键;

[0034] 每个V独立地为连接Y和X的二价有机部分;

[0035] 并且n为1至10;

[0036] 或其可药用盐或溶剂合物。

[0037] P¹可具有以下序列:

[0038] H-Aib-QGTFTSDYSKYLDSP¹AAHDFVEWLLSA

[0039] 例如,H-Aib-QGTFTSDYSKYLDSP¹-K([15-羧基-十五烷酰基]-异Glu)-AAHDFVEWLLSA。

[0040] 本发明的化合物可以是:

[0041] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDSP¹AAHDFVEWLLSA-NH₂

[0042] 例如,H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDSP¹-K([15-羧基-十五烷酰基]-异Glu)-AAHDFVEWLLSA-NH₂。

[0043] 在第二方面,本发明提供了具有下式的化合物:

[0044] R¹-P¹-P²-R²

[0045] 其中,

[0046] R¹为H、C₁₋₄烷基、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基;

[0047] R²为OH或NH₂;

[0048] P¹为具有以下序列的肽:

[0049] His-X2-X3-GTFTSDYSKYL-X15-X16-X17-X18-A-X20-DFI-X24-WLE-X28-A

[0050] 其中:

[0051] X2选自Aib、Ac3c、Ac4c和Ac5c;

[0052] X3选自Gln和His;

[0053] X15选自Asp和Glu;

[0054] X16选自Glu和 Ψ ;

[0055] X17选自Arg和 Ψ ;

[0056] X18选自Ala和Arg;

[0057] X20选自Lys和His;

[0058] X24选自Glu和 Ψ ;

[0059] X28选自Ser和 Ψ ;

[0060] 并且P²不存在或者为1至20个氨基酸单元的序列,所述氨基酸单元独立地选自: Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr和Orn;

[0061] 其中所述化合物含有一个且仅一个 Ψ

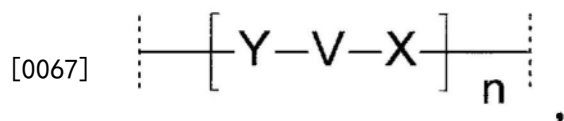
[0062] 并且其中所述 Ψ 为Lys、Arg、Orn或Cys的残基,其中侧链与具有式-Z²Z¹的取代基缀合;

[0063] -Z¹为在链的一端具有极性基团并且在远离所述极性基团的链端具有与Z²的连接体-X-的脂肪链,

[0064] 其中所述极性基团包含羧酸或羧酸生物电子等排体、磷酸或磺酸基团；

[0065] 并且-X-为键、-CO-、-SO-或-SO₂-；

[0066] -Z²-为下式的间隔物：



[0068] 其中：

[0069] 每个Y独立地为-NH-、-NR-、-S或-O，其中R是烷基、保护基或与间隔物Z²的其他部分形成键；

[0070] 每个X独立地为键、CO、SO-或SO₂-；

[0071] 前提是当Y为-S时，X为键；

[0072] 每个V独立地为连接Y和X的二价有机部分；

[0073] 并且n为1至10；

[0074] 或其可药用盐或溶剂合物。

[0075] 在第二方面的一些实施方案中：

[0076] X₂选自Aib和Ac4c；

[0077] X₃为Gln；

[0078] X₁₅选自Asp和Glu；

[0079] X₁₆为Ψ；

[0080] X₁₇为Arg；

[0081] X₁₈为Ala；

[0082] X₂₀选自Lys和His；

[0083] X₂₄为Glu；

[0084] X₂₈为Ser。

[0085] 残基的可用组合包括以下：

[0086] X₂为Ac4c且X₂₀为Lys；

[0087] X₂为Aib且X₂₀为His。

[0088] 作为替代或补充，期望的是如果X₁₅为E，则X₂为Aib；或者如果X₂是Ac4c，则X₁₅为D。

[0089] 特别令人感兴趣的取代基Z²Z¹包括[17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3和[17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG。

[0090] P¹可具有选自以下的序列：

[0091] H-Aib-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA

[0092] H-Aib-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA

[0093] H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAKDFIEWLESA

[0094] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA和

[0095] H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAHDFIEWLESA

[0096] 例如，选自：

[0097] H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3)-

RAAKDFIEWLESA

[0098] H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA

[0099] H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA

[0100] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA和

[0101] H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-羧基-十七烷酰基]-Glu-Peg3-Peg3)-

[0102] RAAHDFIEWLESA。

[0103] 本发明的化合物可以选自：

[0104] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD Ψ RAAKDFIEWLESA-NH₂

[0105] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD Ψ RAAKDFIEWLESA-NH₂

[0106] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE Ψ RAAKDFIEWLESA-NH₂

[0107] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD Ψ RAAKDFIEWLESA-NH₂和

[0108] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE Ψ RAAHDFIEWLESA-NH₂。

[0109] 例如,选自

[0110] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3)-RAAKDFIEWLESA-NH₂

[0111] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH₂

[0112] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH₂

[0113] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH₂和

[0114] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3)-RAAHDFIEWLESA-NH₂。

[0115] 在第二方面的一些替代实施方案中：

[0116] X2选自Aib和Ac4c；

[0117] X3选自Gln和His；

[0118] X15为Asp；

[0119] X16为Glu；

[0120] X17选自Arg和 Ψ ；

[0121] X18选自Ala和Arg；

[0122] X20为Lys；

[0123] X24选自Glu和 Ψ ；

[0124] X28选自Ser和 Ψ 。

[0125] 在一些实施方案中,当X28为 Ψ 时,X2为Ac4c。

[0126] 在一些实施方案中,当X3为His时,X2为Ac4c且X17为 Ψ 。

[0127] 在一些实施方案中,当X17为 Ψ 时,Z²Z¹为[17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-

Peg3或[17-羧基-十七烷酰基]-异Glu。

[0128] 在一些实施方案中,当X24或X28为 Ψ 时, Z^2Z^1 为[17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG。

[0129] P^1 可具有选自以下的序列:

[0130] H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE Ψ AAKDFIEWLESA

[0131] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE Ψ RAKDFIEWLESA

[0132] H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE Ψ RAKDFIEWLESA

[0133] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE Ψ AAKDFIEWLESA

[0134] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE Ψ RAKDFIEWLESA

[0135] H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI Ψ WLESA

[0136] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI Ψ WLESA

[0137] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI Ψ WLESA

[0138] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLE Ψ A和

[0139] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLE $\Psi\Psi$ A。

[0140] 例如,选自:

[0141] H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu)-AAKDFIEWLESA

[0142] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA

[0143] H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA

[0144] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu)-AAKDFIEWLESA

[0145] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu)-RAKDFIEWLESA

[0146] H-Aib-QGTFTSDYSKYLLDERAAKDFI-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-WLESA

[0147] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-WLESA

[0148] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-WLESA

[0149] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLE-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-A和

[0150] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLE-K1([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-A-NH₂。

[0151] 本发明的化合物可以选自:

[0152] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE Ψ AAKDFIEWLESA-NH₂

[0153] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE Ψ RAKDFIEWLESA-NH₂

[0154] H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE Ψ RAKDFIEWLESA-NH₂

[0155] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE Ψ AAKDFIEWLESA-NH₂

[0156] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE Ψ RAKDFIEWLESA-NH₂

[0157] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI Ψ WLESA-NH₂

- [0158] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI Ψ WLESA-NH₂
- [0159] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI Ψ WLESA-NH₂
- [0160] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLE Ψ A-NH₂和
- [0161] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLE Ψ A-NH₂。
- [0162] 例如,选自:
- [0163] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu)-AAKDFIEWLESA-NH₂
- [0164] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH₂
- [0165] H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH₂
- [0166] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu)-AAKDFIEWLESA-NH₂
- [0167] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu)-RAKDFIEWLESA-NH₂
- [0168] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-WLESA-NH₂
- [0169] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-WLESA-NH₂
- [0170] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-WLESA-NH₂
- [0171] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLE-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-A-NH₂和
- [0172] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLE-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-A-NH₂。
- [0173] 为避免疑义,在本发明的所有方面中,未明确指明允许可变性的那些位置为固定的,因此可仅包含指明的残基。
- [0174] 在所有方面中,本发明的化合物包含残基 Ψ ,即,选自Lys、Arg、Orn和Cys的残基,其中侧链与取代基-Z²-Z¹-缀合,如在下面更详细描述。
- [0175] 取代基与在远离 α -碳的侧链端的官能团缀合。Lys、Arg、Orn或Cys侧链参与由该官能团介导的相互作用(例如,分子内和分子间相互作用)的一般能力,因此可通过取代基的存在而降低或完全消除。因此,化合物的总体性能可对作为残基 Ψ 存在的实际氨基酸中的变化相对不敏感。因此,可以相信,残基Lys、Arg、Orn和Cys中任一个可在允许 Ψ 的任何位置处存在。然而,在某些实施方案中,可能有利的是, Ψ 的氨基酸组分为Lys。
- [0176] 在一些实施方案中,-Z¹为下式的酰基:
- [0177] A-B-Alk-(CO)-
- [0178] 或者为下式的磺酰基:
- [0179] A-B-Alk-(SO₂)-;
- [0180] A为-COOH或羧酸生物电子等排体;
- [0181] B为键、C₆亚芳基或C₆亚芳基-O-;

[0182] Alk为长度为6至18个碳原子的饱和或不饱和脂肪链,任选地被选自氟、C₁₋₄烷基、三氟甲基、羟甲基、氨基、羟基、C₁₋₄烷氧基、氧代(oxo)和羧基中的一个或多个取代基取代;

[0183] -Z²-为-S_A⁻、-S_A-S_B⁻或-S_B-S_A⁻;

[0184] -S_A⁻为单氨基酸残基,其选自γ-Glu、α-Glu、α-Asp、β-Asp、Ala、β-Ala(3-氨基丙酸)和Gaba(4-氨基丁酸);

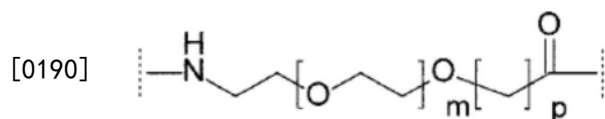
[0185] -S_B⁻为以下通式的接头(linker):



[0187] 其中n为1至10且每个P_u独立地选自P_uⁱ和P_uⁱⁱⁱ;

[0188] 每个P_uⁱ独立地为天然或非天然氨基酸残基;并且

[0189] 每个P_uⁱⁱⁱ独立地为以下通式的残基:



[0191] 其中m为0至5且p为1、3、4或5。

[0192] 在本发明的任何方面中,R¹可选自H和C₁₋₄烷基(例如,甲基)。

[0193] 本发明的化合物是胰高血糖素类似物肽。本文中提及胰高血糖素类似物肽时应根据上下文需要解释为提及本发明化合物或者肽P¹或P¹-P²。除非上下文另有说明或被排除,否则提及本发明化合物时应认为包括其任何可药用盐(例如,乙酸盐或氯化物盐)或溶剂合物。

[0194] 本发明提供了包含与载体混合的本文中限定的化合物(包括其可药用盐或溶剂合物,如已经描述的)的组合物。在一些优选的实施方案中,所述组合物是药物组合物,且所述载体是可药用载体。胰高血糖素类似物肽可以是胰高血糖素类似物的可药用盐的形式。

[0195] 本文中描述的化合物尤其可用于预防体重增长或促进体重减轻。“预防”意指在与不进行治疗比较时抑制或降低体重增长,但未必意味着体重增长完全停止。所述肽可引起食物摄取降低和/或能量消耗提高,导致观察到的对体重的影响。独立于其对体重的影响,本发明化合物可对血糖控制和/或对循环胆固醇水平具有有益影响,能够降低循环LDL水平和提高HDL/LDL比值。因此,本发明化合物可用于直接或间接治疗由体重过重导致或以其为特征的任何病症,例如治疗和/或预防肥胖、病态肥胖、肥胖相关炎症、肥胖相关胆囊疾病、肥胖诱发的睡眠呼吸暂停。其还可用于预防由不适当的葡萄糖控制或血脂异常(例如,提高的LDL水平或降低的HDL/LDL比值)引起或以其为特征的病症、糖尿病(尤其是2型糖尿病)、代谢综合征、高血压、致动脉粥样硬化性血脂异常(atherogenic dyslipidemia)、动脉粥样硬化、动脉硬化、冠心病、外周动脉疾病、卒中或微血管疾病。它们对于这些病症的作用可由其对于体重的作用所致或与其相关,或者与其无关。

[0196] 本发明还提供了本发明化合物,其用于医学治疗方法,特别是用于治疗上述病症的方法。

[0197] 本发明还提供了本发明化合物在制备用于治疗上述病症的药物中的用途。

[0198] 本发明化合物可作为组合治疗的一部分与用于治疗糖尿病、肥胖、血脂异常或高血压的药剂一起施用。

[0199] 在这样的情况下,两种活性剂可一起或分开给予,以及作为同一药物制剂的一部分或作为不同制剂来施用。

[0200] 因此,本发明化合物可与抗糖尿病剂组合使用,所述抗糖尿病剂包括但不限于双胍类(例如,二甲双胍)、磺酰脲类、美格列奈类(meglitinide)或格列奈类(例如,那格列奈)、DPP-IV抑制剂、SGLT2抑制剂、格列酮类、胰岛素或胰岛素类似物。胰岛素类似物的实例包括但不限于Lantus™、Novorapid™、Humalog™、Novomix™、Actraphane HM™、Levemir™和Apidra™。

[0201] 所述化合物可进一步与抗肥胖剂组合使用,所述抗肥胖剂包括但不限于:胰高血糖素样肽受体1激动剂、肽YY或其类似物、大麻素受体1拮抗剂、酯酶抑制剂、黑素皮质素(melanocortin)受体4激动剂或黑素浓集激素(melanin concentrating hormone)受体1拮抗剂、芬特明(单独或与托吡酯组合)、去甲肾上腺素/多巴胺重摄取抑制剂和阿片样受体拮抗剂的组合(例如,安非他酮和纳曲酮的组合)或血清素能剂(serotonergic agent)(例如,氯卡色林)。

[0202] 所述化合物还可与抗高血压剂组合使用,所述抗高血压剂包括但不限于:血管紧张素转化酶抑制剂、血管紧张素II受体阻断剂、利尿剂、 β -阻断剂或钙通道阻断剂。

[0203] 所述化合物可与抗血脂异常剂组合使用,所述抗血脂异常剂包括但不限于:他汀类、贝特类、烟酸类或胆固醇吸收抑制剂。

[0204] 因此,本发明还提供了包含本发明化合物和例如上所述的抗糖尿病剂、抗肥胖剂、抗高血压剂或抗血脂异常剂的组合物或治疗性药盒(therapeutic kit)。还提供了这样的组合物或治疗性药盒,其用于医学治疗方法,尤其是用于治疗上述病症。

[0205] 本发明化合物还可通过合成化学制备。因此,本发明提供了合成本发明化合物的方法。

[0206] 本发明也可通过重组和合成方法的组合进行。该方法可包括表达前体肽序列,任选地纯化如此产生的化合物,以及添加或修饰一个或更多个氨基酸以产生本发明的化合物或包含氨基酸序列 P^1 或 P^1 - P^2 的化合物。修饰步骤可包括引入0rn残基(例如,通过前体残基的修饰)和/或在残基 Ψ 的位置引入取代基Z2Z1。

[0207] 前体肽可在包含这种核酸的细胞或无细胞体系中由编码前体肽的核酸表达。

具体实施方式

[0208] 在整个本说明书中,使用天然氨基酸的常规单字母和三字母代码以及另一些氨基酸的普遍接受的缩写,例如Aib(α -氨基异丁酸)、0rn(鸟氨酸)、Dbu(2,4-二氨基丁酸)、Dpr(2,3-二氨基丙酸)、Ac3c(1-氨基-环丙烷羧酸)、Ac4c(1-氨基-环丁烷羧酸)和Ac5c(1-氨基-环戊烷羧酸)。

[0209] Ac3c、Ac4c和Ac5c具有相似的结构,并且在一定程度上可以互换,尽管Ac4c可以是优选的。

[0210] 胰高血糖素是29个氨基酸的肽,其对应于前胰高血糖素原的53至81位氨基酸,并具有如下序列:His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-

Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr。胃泌酸调节素 (OXM) 是37个氨基酸的肽,其包含胰高血糖素的全部29个氨基酸序列和八肽羧基端延伸(前胰高血糖素原的82至89位氨基酸,具有序列Lys-Arg-Asn-Arg-Asn-Asn-Ile-Ala,并且被称为“间插肽1”或IP-1;因此人胃泌酸调节素的全长序列是His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr-Lys-Arg-Asn-Arg-Asn-Asn-Ile-A;a)。GLP-1的主要生物学活性片段作为30个氨基酸的对应于前胰高血糖素原的98至127位氨基酸的C端酰胺化肽而产生。

[0211] 因此,术语“天然胰高血糖素(native glucagon)”是指具有以下序列的天然人胰高血糖素:H-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr-OH。

[0212] 可认为本发明化合物的序列P¹内的氨基酸在常规N端到C端的方向上从1到29连续编号。因此,提及P¹内的“位置”时应解释为提及天然人胰高血糖素和其他分子内的位置。

[0213] 本发明化合物可包含1至20个氨基酸的C端肽序列P²,例如以稳定胰高血糖素类似物肽的构象和/或二级结构,和/或使胰高血糖素类似物肽对酶促水解更具抗性,例如如W099/46283中所述。

[0214] 如果存在的话,P²表示具有1至20个氨基酸残基的肽序列,例如1至15个、更优选地1至10个、特别是1至7个氨基酸残基,例如1、2、3、4、5、6或7个氨基酸残基,例如6个氨基酸残基。在肽序列P²中的每个氨基酸残基可独立地选自:Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu(2,4-二氨基丁酸)、Dpr(2,3-二氨基丙酸)和Orn(鸟氨酸)。优选地,所述氨基酸残基选自:Ser、Thr、Tyr、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr和Orn,更优选地仅选自Glu、Lys和Cys。上述氨基酸可具有D-或L-构型,在某些实施方案中,其具有L-构型。特别优选的序列P²为4、5、6或7个连续赖氨酸残基序列(即,Lys₃、Lys₄、Lys₅、Lys₆或Lys₇),并且特别是5或6个连续赖氨酸残基。P²的另一些示例性序列示出在W0 01/04156中。或者,序列P²的C端残基可以是Cys残基。这可有助于对化合物进行修饰(例如,PEG化,或与白蛋白缀合)。在这样的一些实施方案中,序列P²可以例如是仅1个氨基酸长(即,P²=Cys),或者可以是2、3、4、5、6或甚至更多个氨基酸长。因此,另一些氨基酸在肽P¹和末端Cys残基之间作为间隔物。

[0215] 肽序列P²与人OXM的IP-1部分的相应序列(其具有序列Lys-Arg-Asn-Arg-Asn-Asn-Ile-Ala)具有不超过25%的序列同一性。

[0216] 给定肽或多肽序列相对于另一多肽序列(例如IP-1)的“氨基酸序列同一性百分比(%)”计算为:当将两者彼此比对时(适当时可引入空位以进行最佳比对),给定肽序列中与另一种多肽对应序列中相应氨基酸残基一致的氨基酸残基的百分比。同一性百分比的值可使用WU-BLAST-2确定(Altschul等,Methods in Enzymology,266:460-480(1996))。WU-BLAST-2采用若干检索参数,其中大部分设置为缺省值。可调整参数设置为如下值:重叠跨度(overlap span)=1,重叠分数(overlap fraction)=0.125,字阈值(word threshold)(T)=11。氨基酸序列同一性%的值通过WU-BLAST-2确定的匹配的一致残基数除以参照序列的残基总数(忽略通过WU-BLAST-2引入参照序列以使比对得分最大化的空位)再乘以100来确定。

[0217] 因此,当将P²与IP-1的8个氨基酸进行最佳比对时,其具有不超过2个与IP-1的对应氨基酸一致的氨基酸。

[0218] 在某些实施方案中, P^2 不存在。

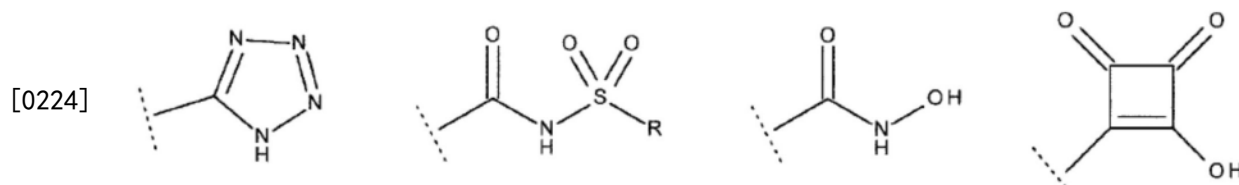
[0219] Ψ 为 Lys、Arg、Orn 或 Cys 的残基, 其侧链与取代基 Z^2 - Z^1 缀合。不希望受任何特定理论的约束, 认为所述取代基在血流中结合血浆蛋白 (例如, 白蛋白), 因而保护本发明的化合物免受酶降解, 从而提高所述化合物的半衰期。对于例如胰高血糖素受体和/或 GLP-1 受体, 它还可调节化合物的效力。

[0220] 基团 Z^1

[0221] Z^1 为脂肪链, 其具有与 Z^2 连接体 (本文称为 -X-) 和在远离与 Z^2 连接体的链端的极性基团。-X- 可以是例如键、酰基 (-CO-)、亚磺酰基 (-SO-) 或磺酰基 (-SO₂-), 连接体相对于所述极性基团位于 ω 位, 即, 在远离所述极性基团的链端。

[0222] 优选地, 所述极性基团为酸性或弱酸性基团, 例如羧酸或羧酸生物电子等排体、膦酸盐 (phosphonate) 或磺酸盐 (sulfonate)。所述极性基团在水中的 pK_a 可在 -2 至 12 之间, 更优选 1 至 7 之间, 更优选 3 至 6 之间。某些优选的极性基团的 pK_a 在 4 至 5 之间。

[0223] 极性基团优选地包含羧酸或羧酸生物电子等排体。合适的羧酸生物电子等排体是本领域中已知的。优选地, 生物电子等排体具有 pK_a 类似于相应的羧酸的质子。合适生物电子等排体的实例可包括但不限于: 四唑、酰基磺酰基、酰基羟胺和方酸 (squaric acid) 衍生物, 如下所示 (---表示连接点):



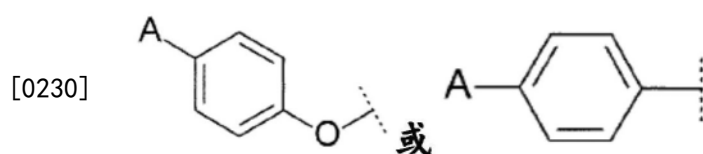
[0225] R 为例如 Me、CF₃

[0226] 所述极性基团可以是式 A-B- 的基团, 其中 A 为羧酸 (-COOH) 或羧酸生物电子等排体、膦酸 (-P(O)(OH)₂) 或磺酸 (-SO₂OH) 基团, B 为 A 与脂肪链之间的键或接头。在一些实施方案中, 极性基团为 -COOH, 即, A 为 -COOH 且 B 为键。

[0227] 当 B 为接头时, 其可以是亚环烷基、杂亚环烷基、C₆ 亚芳基或 C₅₋₆ 杂亚芳基或 C₆ 亚芳基-0- 或 C₅₋₆ 杂亚芳基-0-。

[0228] 当 B 为亚苯基时, 其可例如选自: 1,2-亚苯基、1,3-亚苯基、1,4-亚苯基, 优选 1,4-亚苯基 (以使 A-B- 为 4-苯甲酸取代基或 4-苯甲酸生物电子等排体)。当 B 为亚苯基-0- 时, 其可选自例如: 1,2-亚苯基-0-、1,3-亚苯基-0-、1,4-亚苯基-0-, 优选 1,4-亚苯基-0-。B 的各个亚苯基可任选地被选自氟、甲基、三氟甲基、氨基、羟基和 C₁₋₄ 烷氧基 (优选甲氧基) 的一个或多个取代基取代。应理解, 可选择取代基的特性 (identity) 和位置来巧妙地改变极性基团的 pK_a 。合适的诱导性 (inductively) 或中介性 (mesomerically) 吸电子或供电子基团及其位置效应是本领域中已知的。在一些实施方案中, B 可以是 C₅₋₆ 杂亚芳基, 例如, 亚吡啶基或亚硫代呋喃基 (thiofuranylene), 并如所述可任选地被取代。

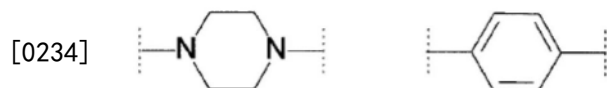
[0229] 例如, 在一些实施方案中, A-B- 可选自:



[0231] 优选地,A为-COOH。在一些优选的极性基团中,A为羧酸和B为C₆亚芳基-O-。

[0232] 本文中使用的脂肪链是指包含碳原子链的部分,所述碳原子主要被氢或氢样原子(hydrogen-like atom)取代,例如烃链。这样的脂肪链通常被称为亲脂性的,但是应理解取代可改变整个分子的亲脂特性。

[0233] 脂肪链可以是脂肪族的。其可以是完全饱和的或可以包含一个或更多个双键或三键。如果存在的话,每个双键可以是E或Z构型。脂肪链在其长度上也可具有一个或更多个亚环烷基或杂亚环基部分,并且作为替代或补充地在其长度上可具有一个或更多个亚芳基或杂亚芳基部分。例如,所述脂肪链在其长度上可并入亚苯基或亚哌嗪基部分,例如,如下所示(其中,---表示链内的连接点)。



[0235] 脂肪链可衍生自脂肪酸,例如,其可衍生自具有6至12个碳原子脂族尾的中链脂肪酸(medium-chain fatty acid,MCFA)、具有13至21个碳原子脂族尾的长链脂肪酸(long-chain fatty acid,LCFA),或具有22个或更多碳原子的脂族尾的极长链脂肪酸(LCFA)。从其中可衍生出合适脂肪链的直链饱和脂肪酸的实例包括十三酸(十三烷酸)、肉豆蔻酸(十四烷酸)、十五酸(十五烷酸)、棕榈酸(十六烷酸)和十七酸(十七烷酸)。从其中可衍生出合适的脂肪链的直链不饱和脂肪酸的实例包括肉豆蔻油酸、棕榈油酸、十六碳烯酸(sapienic acid)和油酸。

[0236] 脂肪链可通过酰胺键、亚磺酰胺键、磺酰胺键或者通过酯键或通过醚键、硫醚键或胺键与Z²连接。因此,脂肪链可在ω位(即远离极性基团的位置)具有与Z²或酰基(-CO-)、亚磺酰基(-SO-)或磺酰基(-SO₂-)基团的键。优选地,所述脂肪链在远离极性基团的位置具有酰基(-CO-)基团,并通过酰胺或酯键与Z²连接。

[0237] 在一些实施方案中,Z¹为下式的基团:

[0238] A-B-Alk-X-

[0239] 其中,A-B-为上述定义的极性基团,X为键、酰基(-CO-)、亚磺酰基(-SO-)或磺酰基(-SO₂-),且Alk为可任选地被一个或更多个取代基取代的脂肪链。脂肪链的长度优选为6至18个碳原子(例如,C₆₋₈亚烷基),更优选地,长度为8至18个碳原子(例如,C₈₋₁₈亚烷基),更优选地,长度为12至16个碳原子(例如,C₁₂₋₁₆亚烷基),并且可以是饱和的或不饱和的。优选地,Alk是饱和的,即,优选Alk为亚烷基。

[0240] 在一些实施方案中,Z¹为下式的酰基:

[0241] A-B-Alk-(CO)-

[0242] 或下式的磺酰基:

[0243] A-B-Alk-(SO₂)-。

[0244] 脂肪链上任选的取代基可独立地选自氟、C₁₋₄烷基(优选甲基)、三氟甲基、羟甲基、氨基、羟基、C₁₋₄烷氧基(优选甲氧基)、氧代和羧基,并且可独立地位于沿链的任意点处。在一些实施方案中,任选的取代基各自选自氟、甲基和羟基。当存在超过一个取代基时,取代基可以相同或不同。优选地,取代基的数目为0至3个;更优选地,所述脂肪链是未取代的。

[0245] 优选地,Z¹为下式的酰基:

[0246] A-B-亚烷基-(CO)-

[0247] 其中A和B如以上所定义的。

[0248] 在一些实施方案中, Z^1 为:

[0249] 4-羧基苯氧基壬酰基 $\text{HOOC}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}-(\text{CH}_2)_8(\text{CO})-$ 。

[0250] 某些优选的 Z^1 衍生自式 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{12-18}-\text{COOH}$ 的长链饱和 α, ω -二羧酸, 优选地, 在脂族链中具有偶数个碳原子D的长链饱和的 α, ω -二羧酸。例如, Z^1 可以是且不限于:

[0251] 13-羧基十三烷酰基 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{12}-(\text{CO})-$

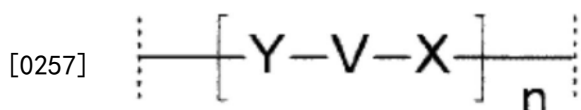
[0252] 15-羧基十五烷酰基 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{14}-(\text{CO})-$; 或者

[0253] 17-羧基十七烷酰基 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{16}-(\text{CO})-$ 。

[0254] 所述羧酸基团可被如本文详述的生物电子等排体取代。

[0255] 基团 Z^2

[0256] Z^2 是将 Z^1 与 Ψ 的氨基酸组分的侧链连接的间隔物。在其最一般情况下, Z^2 为在一端通过Y结合且在另一端通过X结合的间隔物, 所述Y可以是氮、氧或硫原子, 并且所述X可以是键或酰基 ($-\text{CO}-$)、亚磺酰 ($-\text{SO}-$) 或磺酰基 ($-\text{SO}_2-$)。因此, Z^2 可以是下式的间隔物 (---表示连接点):



[0258] 其中:

[0259] Y可以是 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{NR}-$ 、 $-\text{S}-$ 或 $-\text{O}-$, 其中R可以是烷基、保护基或可形成与间隔物的另一部分的键, 剩余化合价形成与 Z^1 的键;

[0260] X可以是键、 $\text{CO}-$ 、 $\text{SO}-$ 或 SO_2- , 剩余化合价形成与 Ψ 的氨基酸组分的侧链的键;

[0261] V为连接Y和X的二价有机部分;

[0262] 且n可以是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。其中, 当n是2或更大时, Y、V和X独立于每个其他Y、V和X。

[0263] 因此, 根据 Z^1 和侧链上Y和X以及对应的连接基团的性质, Z^2 可以通过酰胺、亚磺酰胺、磺酰胺或酯键或通过氨基、醚、硫醚键在各侧结合。优选地, 当Y为 $-\text{S}-$ 时, X为键。当n为2或更大时, 每个V也可通过所述的键与相邻的V结合。优选地, 键为酰胺、酯或磺酰胺, 最优选酰胺。因此, 在一些实施方案中, 每个Y为 $-\text{NH}-$ 或 $-\text{NR}-$ 并且每个X为 $\text{CO}-$ 或 SO_2- 。

[0264] 在一些实施方案中, Z^2 为式 $-\text{S}_\text{A}-$ 、 $-\text{S}_\text{B}-$ 、 $-\text{S}_\text{A}-\text{S}_\text{B}-$ 或 $-\text{S}_\text{B}-\text{S}_\text{A}-$ 的间隔物, 其中 S_A 和 S_B 如下文所定义。

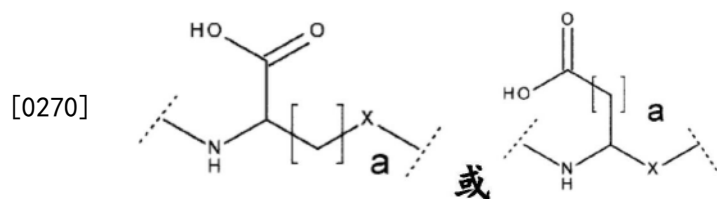
[0265] 在一些实施方案中, Z^2 选自: $-\text{S}_\text{A}-$ 或 $-\text{S}_\text{B}-\text{S}_\text{A}-$, 即, [侧链]- $Z^2 Z^1$ 为 [侧链]- $\text{S}_\text{A}-Z^1$ 或 [侧链]- $\text{S}_\text{B}-\text{S}_\text{A}-Z^1$ 。

[0266] 基团 S_A

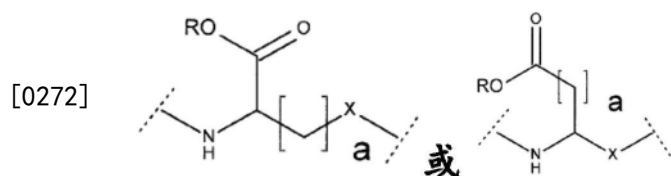
[0267] S_A 可以是单个氨基酸残基或氨基酸衍生物的残基, 尤其是具有替代C末端的羧基部分之亚磺酰基或磺酰基的氨基酸衍生物残基。作为替代或补充, 单个氨基酸残基可具有替代N末端的氮原子的氧原子或硫原子。优选地, S_A 为单个氨基酸残基。

[0268] 在一些实施方案中, 氨基酸可选自 γ -Glu、 α -Glu、 α -Asp、 β -Asp、Ala、 β -Ala (3-氨基丙酸) 和 Gaba (4-氨基丁酸)。应理解, 氨基酸可以是D型或L型或外消旋或对映异构体富集的混合物。在一些实施方案中, 氨基酸是L-氨基酸。在一些实施方案中, 氨基酸是D-氨基酸。

[0269] 在一些优选的实施方案中, S_A 具有羧酸取代基, 其中 γ -Glu、 α -Glu、 α -Asp 和 β -Asp 及其亚磺酰基和磺酰基衍生物是优选的。因此, 在一些实施方案中, 氨基酸残基是:



[0271] 其中, $-X-$ 为 $-CO-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$, 优选 $-CO-$, 并且 a 为 1 或 2, 优选 2。在一些实施方案中, 羧酸为酯, 并且氨基酸残基为:



[0273] 其中, $-X-$ 为 $-CO-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$, 优选 $-CO-$, 并且 a 为 1 或 2, 优选 2, 并且 R 为 C_{1-4} 烷基或 C_6 芳基。优选地, R 为 C_{1-4} 烷基, 优选甲基或乙基, 更优选乙基。

[0274] 优选地, S_A 为 γ -Glu。

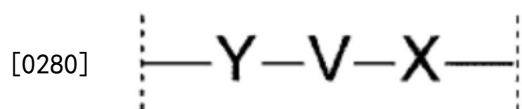
[0275] 基团 S_B

[0276] S_B 可以是以下通式的接头:



[0278] 其中 P_u 为聚合物单元, 且 n 为 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。接头 S_B 的一端为 $-NH$ 、 $-NR$ 、 $-S$ 或 $-O$, 其中 R 可以是烷基、保护基或可与聚合物单元的其他部分形成键; 而另一个为键或 $CO-$ 、 $SO-$ 或 SO_2- 。因此, 根据 Z^1 、 S_A 和 Lys 上 Y 和 X 及相应连接基团的性质, 每个聚合物单元 P_u 可以通过酰胺、亚磺酰胺、磺酰胺或酯键或通过氨基、醚或硫醚键在各侧结合。

[0279] 在一些实施方案中, 每个 P_u 可独立地为下式的单元:



[0281] 其中:

[0282] Y 可以是 $-NH$ 、 $-NR$ 、 $-S$ 或 $-O$, 其中 R 可以是烷基、保护基或可与间隔物的其他部分形成键, 剩余的化合价形成与 Z^1 的键;

[0283] X 可以是键、 $CO-$ 、 $SO-$ 或 SO_2- , 而剩余的化合价形成与 Lys 的键; 并

[0284] 且 V 为连接 Y 和 X 的二价有机部分。

[0285] 在一些实施方案中, V 为天然或非天然氨基酸的 α -碳, 即 V 是 $-CHR^{AA}-$, 其中 R^{AA} 是氨基酸侧链; 或 V 是任选经取代的 C_{1-6} 亚烷基, 或 V 是包含串联排列的一个或更多个乙二醇单元的链, 也称为 PEG 链, 例如 $-CH_2CH_2-(OCH_2CH_2)_m-O-(CH_2)_p-$, 其中 m 为 0、1、2、3、4 或 5, 且 p 为 1、2、3、4 或 5; 当 X 为 $CO-$ 时, p 优选为 1、3、4 或 5。任选的亚烷基取代基包括氟、甲基、羟基、羟甲基和氨基。

[0286] 优选的 P_u 单位包括:

[0287] (i) 单个氨基酸残基: P_u^i ;

[0288] (ii) 二肽残基: P_u^{ii} ; 以及

[0289] (iii) 氨基- (PEG)_m-羧酸残基: P_u^{iii} ,

[0290] 且可以任何组合或顺序存在。例如, S_B 可包含一个或更多个任何顺序的各个 P_u^i 、 P_u^{ii} 和 P_u^{iii} , 或可仅包含一个或更多个 P_u^i 、 P_u^{ii} 和 P_u^{iii} 单元, 或一个或更多个选自 P_u^i 和 P_u^{ii} 、 P_u^i 或 P_u^{iii} 或者 P_u^{ii} 和 P_u^{iii} 的单元。

[0291] (i) P_u^i 单个氨基酸残基

[0292] 每个 P_u^i 可独立地选自任何天然或非天然氨基酸残基, 并且例如可选自: Gly、Pro、Ala、Val、Leu、Ile、Met、Cys、Phe、Tyr、Trp、His、Lys、Arg、Gln、Asn、 α -Glu、 γ -Glu、Asp、Ser、Thr、Gaba、Aib、 β -Ala、5-氨基戊酰基、6-氨基己酰基、7-氨基庚酰基、8-氨基辛酰基、9-氨基壬酰基和10-氨基癸酰基。优选地, P_u^i 氨基酸残基选自: Gly、Ser、Ala、Thr 和 Cys, 更优选地选自 Gly 和 Ser。

[0293] 在一些实施方案中, S_B 为 $(P_u^i)_n$, 其中 n 为1至8, 更优选为5至7, 最优选为6。在一些优选的实施方案中, S_B 为 $(Pu^i)_n$, n 为6, 每个 Pu^i 独立地选自 Gly 或 Ser, 优选的序列为 -Gly-Ser-Gly-Ser-Gly-Gly-。

[0294] (ii) P_u^{ii} 二肽残基

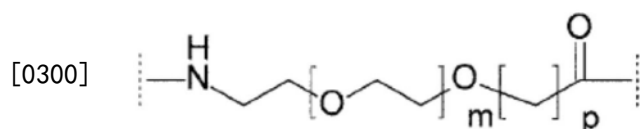
[0295] P_u^{ii} 可独立地选自包含通过酰胺键结合的两个天然或非天然氨基酸残基的任何二肽残基。优选的 P_u^{ii} 二肽残基包括: Gly-Gly、Gly-Ser、Ser-Gly、Gly-Ala、Ala-Gly 和 Ala-Ala, 更优选 Gly-Ser 和 Gly-Gly。

[0296] 在一些实施方案中, S_B 为 $(P_u^{ii})_n$, 其中 n 为2至4, 更优选为3, 并且每个 P_u^{ii} 独立地选自 Gly-Ser 和 Gly-Gly。在一些优选的实施方案中, S_B 为 $(Pu^{ii})_n$, n 为3, 每个 Pu^{ii} 独立地选自 Gly-Ser 和 Gly-Gly, 优选的序列为 - (Gly-Ser) - (Gly-Ser) - (Gly-Gly)。

[0297] P_u^i 和 P_u^{ii} 内具有立体中心的氨基酸可以是外消旋的、对映异构体富集的或对映体纯的。在一些实施方案中, 所述氨基酸或每个氨基酸独立地为 L-氨基酸。在一些实施方案中, 所述氨基酸或每个氨基酸独立地为 D-氨基酸。

[0298] (iii) P_u^{iii} 氨基- (PEG)_m-羧酸残基

[0299] 每个 P_u^{iii} 可以独立地为以下通式的残基:



[0301] 其中 m 为0、1、2、3、4或5, 优选1或2, 并且 p 为1、3、4或5, 优选1。

[0302] 在一些实施方案中, m 为1, 且 p 为1, 即, P_u^{iii} 为8-氨基-3,6-二氧杂辛酸 (也称为 {2-[2-氨基乙氧基]乙氧基} 乙酸和 H_2N -PEG₃-COOH) 的残基。该残基在本文中称为 -PEG₃-。

[0303] 在一些实施方案中, m 为2且 p 为1, 即, P_u^{iii} 为11-氨基-3,6,9-三氧杂十一烷酸 (也称为 H_2N -PEG₄-COOH) 的残基。该残基在本文中称为 -PEG₄-。

[0304] 在一些实施方案中, S_B 为 $(P_u^{iii})_n$, 其中 n 为1至3, 更优选为2。

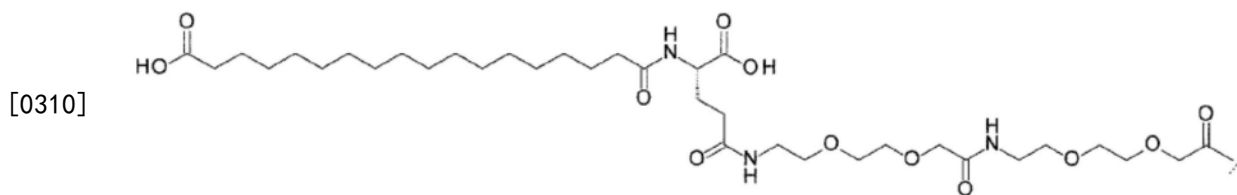
[0305] 在一些优选的实施方案中, S_B 选自 -PEG₃-PEG₃- 和 -PEG₄-PEG₄-。

[0306] 优选的 -Z²-Z¹

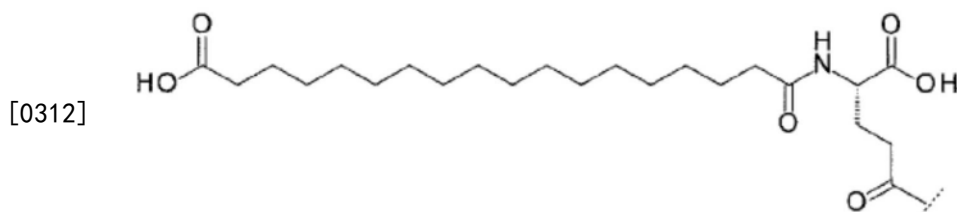
[0307] 应理解, 上述偏好可独立地组合以产生优选的 -Z²-Z¹ 组合。

[0308] 一些优选的 $-Z^2-Z^1$ 组合如下所示(在每种情况下,---表示 Ψ 的氨基酸组分的侧链连接点:

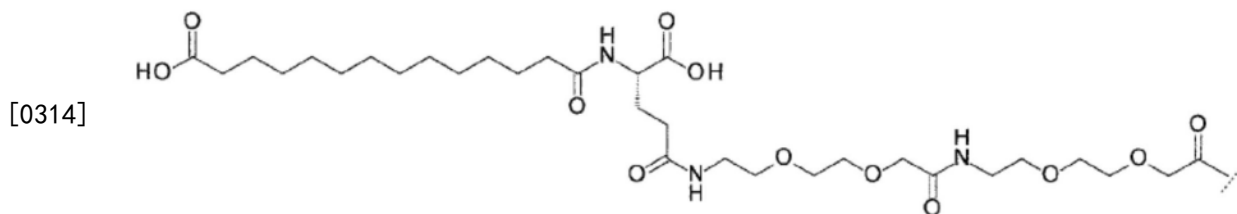
[0309] (i) [17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3



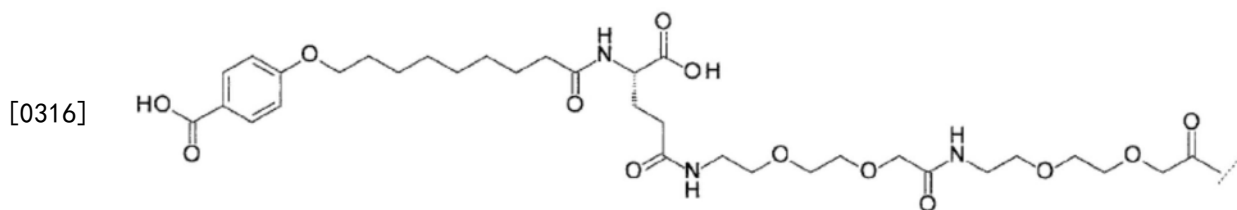
[0311] (ii) [17-羧基-十七烷酰基]-异Glu



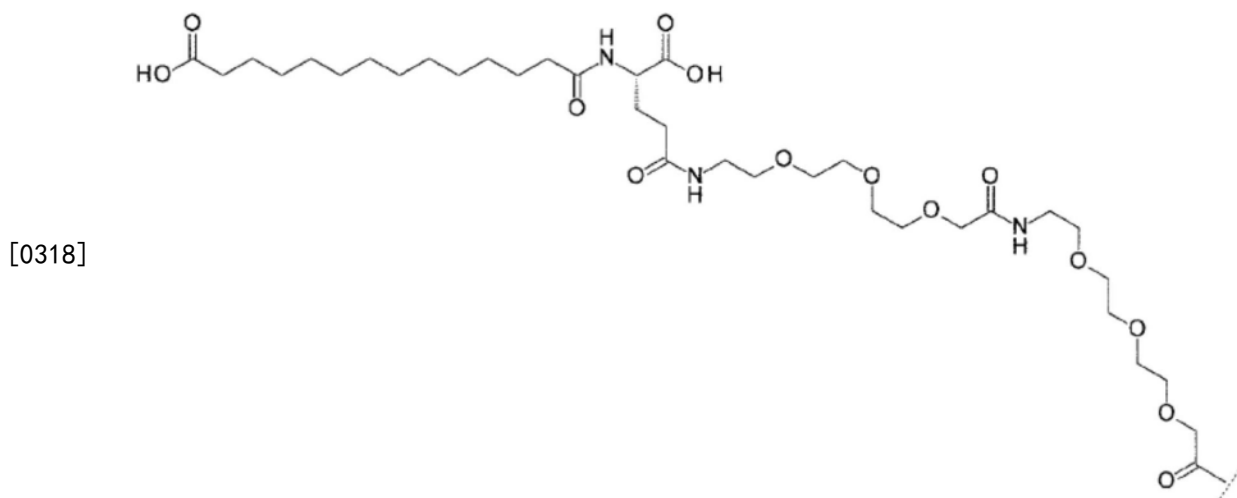
[0313] (iii) [13-羧基-十三烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3



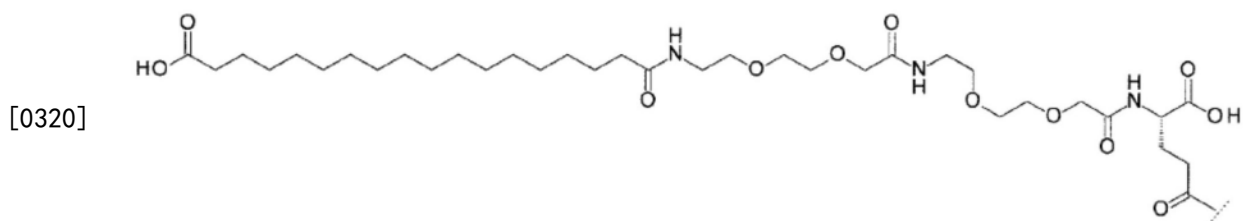
[0315] (iv) [羧基苯氧基壬酰基]-异Glu-Peg3-Peg3



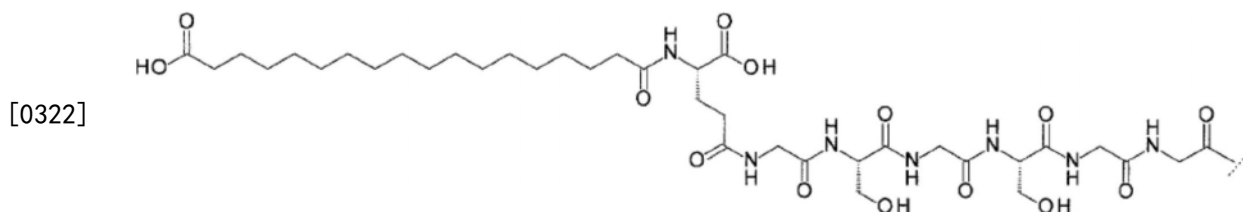
[0317] (v) [13-羧基-十三烷酰基]-异Glu-Peg4-Peg4



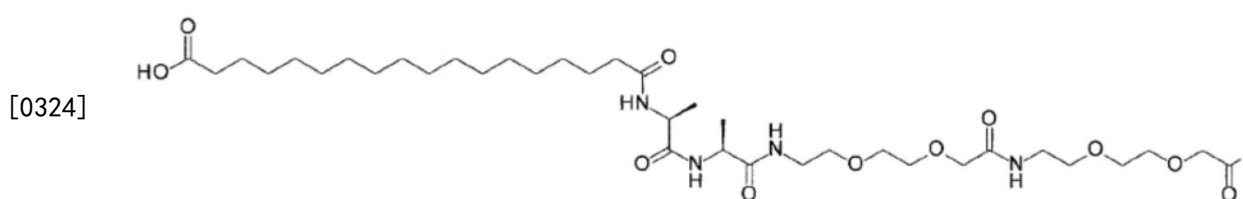
[0319] (vi) [17-羧基-十七烷酰基]-Peg3-Peg3-异Glu



[0321] (vii) [17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG



[0323] (viii) [17-羧基-十七烷酰基]-AA-Peg3-Peg3



[0325] 认为在Z¹的末端存在极性基团可例如通过提高半衰期和/或平均滞留时间以及降低清除率来提高化合物的药代动力学性质。接头也可能贡献于这些药代动力学性质。与仅由一个氨基酸单元等组成的那些相比,包含多于一个氨基酸单元(或相似尺寸的部分)的接头可提高药代动力学性质。这些性质可使化合物与具有相同的肽主链而没有进行修饰的或具有不同的修饰(例如,缺乏极性基团和/或具有较短接头部分的脂族脂肪链的取代基)的等效化合物相比给药频率更低。

[0326] 不希望受任何特定理论的约束,本发明人已经发现,尤其是当包含更长的接头时,在Z¹末端的极性基团或带电基团可以能够参与分子的游离N-末端之不期望的分子内相互作用,这可能会损害极性基团对药代动力学的有益作用。认为本文中所述的化合物的肽主链采用相对定义明确的螺旋二级结构,因此,极性基团参与这种相互作用的能力可取决于其在分子内的位置。当位于朝向C端时,与N端相互作用可相对不太可能。然而,本发明人意外地发现,取代基可位于分子的第16和17位残基,而无需损害所获得的药代动力学益处。

[0327] 本文中使用术语“缀合物”来描述一个可鉴定的化学部分与另一个的物理连接,以及这样的部分之间的结构关系。其不应该被认为暗示任何特定的合成方法。

[0328] 技术人员读者知晓使用例如“Comprehensive Organic Transformations, A Guide to Functional Group Preparations”, 第2版, Larock, R.C; Wiley-VCH: New York, 1999中列举的一般合成方法可用于进行偶联反应的合适技术。这样的转化可在合成过程中的任何合适阶段进行。

[0329] 肽合成

[0330] 本发明的化合物可通过标准合成方法、重组表达系统或任何其他现有技术方法来制备。因此,胰高血糖素类似物可以通过多种方法合成,包括例如包括以下步骤的方法:

[0331] (a) 采用固相法或液相法逐步地或通过片段组装来合成肽,并分离和纯化最终肽产物;或

[0332] (b) 由编码该前体肽的核酸构建体表达前体肽序列,回收表达产物,以及修饰所述前体肽以产生本发明的化合物。

[0333] 通常由编码该前体肽的核酸进行表达,其可在包含这种核酸的细胞或无细胞表达体系中进行。

[0334] 优选地,通过固相或液相肽合成来合成本发明的类似物。关于此点,参见W0 98/11125,以及Fields,GB等,2002,“Principles and practice of solid-phase peptide synthesis”.In:Synthetic Peptides(第二版)等和本文的实施例。

[0335] 对于重组表达而言,编码前体肽的核酸片段将通常插入到合适的载体中以形成克隆或表达载体。根据应用目的和类型,所述载体可以是质粒、噬菌体、粘粒、小染色体或病毒的形式,同时仅在某些细胞中瞬时表达的裸DNA也是重要的载体。优选的克隆和表达载体(质粒载体)能够自主复制,从而使用于随后的克隆的高水平表达或高水平复制的高拷贝数成为可能。

[0336] 一般而言,表达载体包含5'→3'方向并可操作地连接的以下特征:驱动本发明核酸片段表达的启动子,任选地编码能进行分泌(分泌到细胞外相或适当时分泌到周质(periplasma))的前导肽的核酸序列,编码前体肽的核酸片段和任选地编码终止子的核酸序列。其可包含另外的特征,例如选择标记和复制起点。当对生产菌株或细胞系中的表达载体进行操作时,可优选地是所述载体能够整合到宿主细胞基因组中。本领域技术人员非常熟悉适合的载体,并且能够根据其特定需求来设计载体。

[0337] 本发明的载体用于转化宿主细胞以产生前体肽。这些经转化细胞可以是用于扩增核酸片段和载体和/或用于重组产生前体肽的培养的细胞或细胞系。

[0338] 优选的经转化细胞是微生物,例如细菌(例如以下的物种:埃希菌属(*Escherichia*)(例如,大肠杆菌)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)(例如,枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*))、沙门菌属(*Salmonella*)或分枝杆菌属(*Mycobacterium*)(优选非致病性的,例如牛分枝杆菌(*M.bovis*)BCG))、酵母(例如,酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和巴斯德毕赤酵母(*Pichia pastoris*))和原生动物(protozoan)。或者,所述经转化细胞可来自于多细胞生物,即,其可以是真菌细胞、昆虫细胞、藻类细胞、植物细胞或动物细胞(例如,哺乳动物细胞)。为了克隆和/或优化表达的目的,优选地所述经转化细胞能够复制本发明的核酸片段。表达所述核酸片段的细胞可用于小规模或大规模制备本发明的肽。

[0339] 当利用转化细胞来生产前体肽时,方便但并非必需的是,将表达产物分泌到培养基中。

[0340] 效力

[0341] 相关化合物与GLP-1受体或胰高血糖素(Glu)受体的结合可用作激动剂活性的指示,但是通常优选使用生物测定,其测量由化合物与相关受体的结合所产生的细胞内信号传导。例如,胰高血糖素激动剂对胰高血糖素受体的活化会刺激细胞环AMP(cAMP)形成。类似地,GLP-1激动剂对GLP-1受体的活化会刺激细胞cAMP形成。因此,cAMP在表达这两种受体之一的合适细胞中的产生可用于监测相关受体的活性。因此,可以使用一对合适的细胞类型(每种细胞类型表达一种受体而不表达另一种受体)以测定对这两种类型受体的激动剂活性。

[0342] 本领域技术人员将知晓合适的测定方式,并且下文中提供了实例。GLP-1受体和/

或胰高血糖素受体可具有实例中所述的受体序列。例如,测定可使用具有原始登录号GI:4503947的人胰高血糖素受体(胰高血糖素-R)和/或具有原始登录号GI:166795283的人胰高血糖素样肽1受体(GLP-1R)(在涉及前体蛋白质的序列时,显然应当理解的是可使用不含信号序列的成熟蛋白质进行测定)。

[0343] 可使用 EC_{50} 值作为激动剂对给定受体效力的数值量度。 EC_{50} 值是在特定测定中实现化合物最大活性一半时所需的化合物浓度的量度。因此,例如,在特定测定中, EC_{50} [GLP-1]比胰高血糖素之 EC_{50} [GLP-1]更低的化合物可以被认为与胰高血糖素相比具有更高的针对GLP-1受体激动剂效力。

[0344] 本说明书中所述的化合物通常是GluGLP-1双效激动剂(dual agonist),如其针对胰高血糖素受体和GLP-1受体二者均能刺激cAMP形成的观察结果确定的。可在独立测定中测量每种受体的激活,然后彼此进行比较。

[0345] 通过将给定化合物针对GLP-1受体的 EC_{50} 值(EC_{50} [GLP-1-R])与针对胰高血糖素受体的 EC_{50} 值(EC_{50} [胰高血糖素R])相比较,可如下计算相对GLP-1R选择性:

[0346] 相对GLP-1R选择性[化合物] = (EC_{50} [GLP-1R]) / (EC_{50} [胰高血糖素-R])。

[0347] 术语“ EC_{50} ”代表通常针对特定受体或用于受体功能的特定标记的水平的半数最大有效浓度,根据具体的生物化学背景,也可以指抑制或拮抗活性。

[0348] 不希望受到任何特定理论的约束,化合物的相对选择性可允许直接比较其对于GLP-1受体或胰高血糖素受体的效应与其对于其他受体的效应。例如,化合物的相对GLP-1选择性越高,与胰高血糖素受体相比化合物对GLP-1受体可能越有效。通常结果是比较来自同一物种的胰高血糖素和GLP-1受体,例如人胰高血糖素和GLP-1受体或鼠胰高血糖素和GLP-1受体。

[0349] 本发明的化合物可具有比人胰高血糖素更高的相对GLP-1R选择性,因为对于特定的胰高血糖素-R激动剂活性水平,所述化合物可表现出比胰高血糖素更高水平的GLP-1R激动剂活性(即,对GLP-1受体更具效力)。应理解,特定化合物对于胰高血糖素受体和GLP-1受体的绝对效力可能高于、低于或约等于天然人胰高血糖素,只要实现适当的相对GLP-1R选择性即可。

[0350] 然而,本发明的化合物可具有比人胰高血糖素低的 EC_{50} [GLP-1R]。所述化合物可具有比胰高血糖素低的 EC_{50} [GLP-1R],同时保持其 EC_{50} [胰高血糖素-R]与人胰高血糖素的 EC_{50} [胰高血糖素-R]相比高出小于10倍、高出小于人5倍,或高出小于2倍。

[0351] 本发明的化合物的 EC_{50} [胰高血糖素-R]可小于人胰高血糖素的 EC_{50} [胰高血糖素-R]的2倍。所述化合物的 EC_{50} [胰高血糖素-R]可小于人胰高血糖素的 EC_{50} [胰高血糖素-R]的2倍,并且其 EC_{50} [GLP-1R]小于人胰高血糖素的一半、小于人胰高血糖素的五分之一或小于人胰高血糖素的十分之一。

[0352] 化合物的相对GLP-1R选择性可以是0.05至20。例如,所述化合物的相对选择性可以是0.05-0.20、0.1-0.30、0.2-0.5、0.3-0.7或0.5-1.0;1.0-2.0、1.5-3.0、2.0-4.0或2.5-5.0;或者0.05-20、0.075-15、0.1-10、0.15-5、0.75-2.5或0.9-1.1。

[0353] 在某些实施方案中,可期望任何给定化合物对胰高血糖素-R和GLP-1R二者(例如,对于人胰高血糖素受体和GLP-1受体)的 EC_{50} 都小于1nM。

[0354] 治疗用途

[0355] 如下文将讨论的,本发明的化合物可以是肥胖和代谢性疾病(包括糖尿病)等提供有吸引力的治疗和/或预防选择。

[0356] 糖尿病包括一类代谢性疾病,其特征为由胰岛素分泌、胰岛素作用的缺陷或这两者引起的高血糖。糖尿病的急性体征包括尿产生过多、所导致的补偿性口渴和流体摄入增多、视力模糊、原因不明的体重减轻、嗜睡和能量代谢改变。糖尿病的长期高血糖与多种器官(特别是眼、肾、神经、心脏和血管)的长期损伤、功能紊乱和衰竭相关。糖尿病根据致病特征分为1型糖尿病、2型糖尿病和妊娠期糖尿病。

[0357] 1型糖尿病占有所有糖尿病病例的5-10%,其由分泌胰岛素的胰腺 β 细胞的自身免疫性破坏造成。

[0358] 2型糖尿病占有糖尿病病例的90-95%,其由一系列复杂代谢紊乱引起。2型糖尿病是内源性胰岛素产生不足以保持血糖水平低于诊断阈值的结果。

[0359] 妊娠期糖尿病是指在妊娠期间鉴定出的任何程度的葡萄糖不耐受。

[0360] 前期糖尿病包括空腹葡萄糖受损和葡萄糖耐量受损,它是指在血糖水平升高但仍低于确立的糖尿病临床诊断水平时出现的那些状态。

[0361] 由于另一些代谢风险因素的高度流行,一大部分2型糖尿病和前期糖尿病患者的发病和死亡风险升高,所述代谢风险因素包括腹部肥胖(腹部内脏周围过多的脂肪组织)、致动脉粥样硬化性血脂异常(血脂紊乱,包括高甘油三酯、低HDL胆固醇和/或高LDL胆固醇,其促使斑块在动脉壁中积聚)、血压升高(高血压)、血栓前状态(例如,血液中高纤维蛋白原或纤溶酶原激活物抑制剂-1)和促炎症状态(例如,血液中C反应蛋白水平升高)。

[0362] 反过来,肥胖导致前期糖尿病、2型糖尿病以及例如某些类型的癌症、阻塞性睡眠呼吸暂停和胆囊疾病的发病风险升高。

[0363] 血脂异常与心血管疾病的风险升高相关。高密度脂蛋白(HDL)具有临床重要性,这是因为血浆HDL浓度与动脉粥样硬化疾病的风险之间存在负相关性。贮藏在动脉粥样硬化斑块中的大多数胆固醇来源于LDL,因而高浓度的低密度脂蛋白(LDL)与动脉粥样硬化密切相关。HDL/LDL比值是动脉粥样硬化(特别是冠状动脉粥样硬化)的临床风险指标。

[0364] 代谢综合征以个体中的一组代谢风险因素为特征。其包括腹部肥胖(腹部内脏周围过多的脂肪组织)、致动脉粥样硬化性血脂异常(血脂紊乱,包括高甘油三酯、低HDL胆固醇和/或高LDL胆固醇,其促使斑块在动脉壁中积聚)、血压升高(高血压)、胰岛素抗性和葡萄糖不耐受、血栓前状态(例如,血液中存在高纤维蛋白原或纤溶酶原激活物抑制剂-1)和促炎症状态(例如,血液中C反应蛋白升高)。

[0365] 患有代谢综合征的个体患冠心病以及与动脉硬化的其他临床表现相关的其他疾病(例如,卒中和周围血管病变)的风险提高。就此综合征而言,主要的潜在风险似乎是腹部肥胖。

[0366] 不希望受任何特定理论的约束,认为本发明的化合物作为人胰高血糖素受体和人GLP1受体二者的双效激动剂,在此简写为双效GluGLP-1激动剂。所述双效激动剂可将胰高血糖素对例如脂质代谢的作用与GLP-1对例如血糖水平和摄食量的作用相组合。因此,其可加速清除过多的脂肪组织、诱导可持续的体重减轻以及改善血糖控制。双效GluGLP-1激动剂还可降低心血管风险因素,例如高胆固醇、高LDL胆固醇或低HDL/LDL胆固醇比值。

[0367] 因此,本发明的化合物可在有此需要的对象中用作药剂,用于防止体重增长、促进

体重减轻、降低过重体重或治疗肥胖(例如,通过控制食欲、进食、食物摄取、卡路里摄入和/或能量消耗),包括病态肥胖以及相关的疾病和健康状况,包括但不限于肥胖相关炎症、肥胖相关胆囊疾病和肥胖诱导的睡眠呼吸暂停。本发明的化合物还可用于在有此需要的对象中治疗由血糖控制受损引起或与其相关的病症,包括代谢综合征、胰岛素抗性、葡萄糖不耐受、前期糖尿病、空腹血糖升高、2型糖尿病、高血压、动脉粥样硬化、动脉硬化、冠心病、外周动脉疾病和卒中。这些病症中的一些与肥胖有关。但是,本发明化合物对这些病症的作用可全部或部分地通过对体重的作用来介导,或可不依赖于对体重的作用。

[0368] 双效GluGLP-1激动剂的协同作用还可导致心血管风险因素(例如高胆固醇和LDL)降低,其可能完全不依赖于对体重的作用。

[0369] 因此,本发明提供了本发明化合物在有此需要的个体中治疗上述病症的用途。

[0370] 本发明还提供本发明化合物,其用于医学治疗方法,特别是用于治疗上述病症方法。

[0371] 在一个优选方面,所述化合物可用于治疗糖尿病,尤其是2型糖尿病。

[0372] 在一个具体实施方案中,本发明包括化合物在有此需要的个体中治疗糖尿病(尤其是2型糖尿病)的用途。

[0373] 在一个次优选方面,所述化合物可用于防止体重增长或促进体重减轻。

[0374] 在一个特定实施方案中,本发明包括化合物用于在有此需要的个体中防止体重增长或促进体重减轻的用途。

[0375] 在一个特定实施方案中,本发明包括化合物在有此需要的个体中治疗由体重过重引起或以其为特征的病症(例如治疗和/或预防肥胖、病态肥胖、术前病态肥胖、肥胖相关炎症、肥胖相关胆囊疾病、肥胖诱发的睡眠呼吸暂停、前期糖尿病、糖尿病(尤其是2型糖尿病)、高血压、致动脉粥样硬化性血脂异常、动脉粥样硬化、动脉硬化、冠心病、外周动脉疾病、卒中或微血管疾病)的方法中的用途。

[0376] 在另一方面,所述化合物可用于降低循环LDL水平和/或提高HDL/LDL比值的方法中。

[0377] 在一个特定实施方案中,本发明包括化合物在有此需要的个体中降低循环LDL水平和/或提高HDL/LDL比值的方法中的用途。

[0378] 在另一方面,所述化合物可用于降低循环甘油三酯水平的方法。

[0379] 药物组合物

[0380] 本发明化合物可配制成药物组合物用于保存或施用。这样的组合物通常在可药用载体中以合适的形式包含治疗有效量的本发明化合物。

[0381] 本发明化合物的治疗有效量将取决于施用途径、被治疗哺乳动物的类型和所考虑的具体哺乳动物的身体特征。决定该量的这些因素及其关系是医药领域技术人员公知的。可调整该量和施用方法以实现最佳效力,并且可取决于医药领域技术人员公知的因素,例如体重、饮食、同时用药情况(concurrent medication)等因素。人用最适剂量大小和给药方案可由本发明得到的结果指导,并且可在适当设计的临床试验中加以验证。本发明化合物特别地可用于人的治疗。

[0382] 可通过常规方法确定有效剂量和治疗方案,在实验动物中从低剂量开始,然后提高剂量的同时监测效果,并且还系统地改变给药方案。在决定针对给定对象的最佳剂量时,

临床医生可考虑多种因素。这样的考虑是本领域技术人员已知的。

[0383] 术语“可药用载体”包括任何标准药用载体。用于治疗用途的可药用载体是药物领域中公知的,并描述于例如Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A.R.Gennaro编著, 1985) 中。例如, 可使用弱酸性或生理pH的无菌盐水和磷酸缓冲盐水。pH缓冲剂可以是磷酸盐、柠檬酸盐、醋酸盐、三(羟甲基)氨基甲烷(TRIS)、N-三(羟甲基)甲基-3-氨基丙磺酸(TAPS)、碳酸氢铵、二乙醇胺、组氨酸(其经常是优选的缓冲剂)、精氨酸、赖氨酸或醋酸盐或其混合物。该术语还涵盖在美国药典中所列的任何用于动物(包括人)的试剂。

[0384] 术语“可药用盐”是指本发明任一种化合物的盐。盐包括可药用盐, 例如酸加成盐(acid addition salt)和碱式盐(basic salt)。酸加成盐的实例包括盐酸盐、柠檬酸盐和醋酸盐。碱式盐的实例包括其中阳离子选自碱金属离子(例如钠离子和钾离子)、碱土金属离子(例如钙离子)和铵离子 $N(R^3)_3(R^4)$ 的盐, 其中 R^3 和 R^4 独立地表示任选取代的 C_{1-6} 烷基、任选取代的 C_{2-6} 烯基、任选取代的芳基或任选取代的杂芳基。其他可药用盐的实例描述于“Remington's Pharmaceutical Sciences”, 第17版, Alfonso R.Gennaro(编著), Mark Publishing Company, Easton, PA, U.S.A., 1985及更新的版本中, 以及Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology中。

[0385] “治疗”是指用于获得有益的或期望的临床结果的方法。为了本发明的目的, 有益的或期望的临床结果包括但不限于缓解症状、减轻疾病程度、稳定(即, 不恶化)疾病状态、延迟或减缓疾病进展、改善或减轻疾病状态以及(部分地或全部地)消除, 无论是可检出还是不可检出的。“治疗”还可指与未接受治疗时的预期存活相比延长的存活期。“治疗”是以防止疾病发生或改变疾病的病理状况为目的而进行的介入。因此, 在某些实施方案中, “治疗”指治疗性治疗以预防或防护性手段二者。需要治疗的对象包括已患病的对象和待预防疾病发生的对象。“治疗”是指与未治疗相比抑制或减轻病理状况或症状(例如, 体重增长、高血糖)的提高, 并不一定提示相关病症的完全终止。

[0386] 所述药物组合物可以是单位剂型。在这样的形式中, 组合物被分成包含合适量活性组分的单位剂量。单位剂型可以是包装制剂, 所述包装包含独立量的制剂, 例如盒装片剂、胶囊剂以及小瓶或安瓿中的粉末。单位剂型本身还可以是胶囊剂、扁囊剂(cachet)或片剂, 或可以是合适数量的任意这些包装的形式。其可以单剂量注射形式提供, 例如采用注射笔(pen)的形式。在某些实施方案中, 包装形式包含具有使用说明书的标签或插件。可将组合物配制成适于任何合适的施用途和方式。可药用载体或稀释剂包括适用于经口、经直肠、经鼻、局部(包括口含(buccal)和舌下)、经阴道或肠胃外(包括皮下、肌内、静脉内、皮内和经皮)施用的制剂中使用的那些。可方便地将所述制剂以单位剂型提供, 并且可通过药学领域中公知的任何方法来制备。

[0387] 皮下或经皮施用方式可特别适合用于本文中描述的化合物。

[0388] 本发明组合物还可通过例如共价、疏水和静电相互作用混合或附接于药物载体、药物递送系统和高级药物递送系统, 以便进一步提高化合物的稳定性、提高生物利用度、提高溶解度、降低不良作用、实现本领域技术人员公知的时间治疗(chronotherapy), 以及提高患者顺从性, 或者其任意组合。载体、药物递送系统和高级药物递送系统的实例包括但不限于聚合物, 例如纤维素和衍生物; 多糖, 例如葡聚糖及衍生物、淀粉及衍生物; 聚乙烯醇、

丙烯酸类和甲基丙烯酸类聚合物、聚乳酸和聚乙醇酸及其嵌段共聚物、聚乙二醇；载体蛋白质，例如白蛋白；凝胶，例如热凝胶系统 (thermogelling system)，例如本领域技术人员公知的嵌段共聚物体系；胶束 (micelle)、脂质体、微球、纳米颗粒、液晶及其分散体、脂质-水系统中的相行为 (phase behavior) 领域技术人员公知的L2相及其分散体、聚合物胶束、复合型乳剂 (multiple emulsion)、自乳化乳剂、自微乳化乳剂、环糊精及其衍生物，以及树状聚合物。

[0389] 组合治疗

[0390] 本发明的化合物或组合物可作为组合治疗的一部分与治疗肥胖、高血糖、血脂异常和糖尿病的药剂一起施用。

[0391] 在这样的情况下，两种活性剂可作为同一药物制剂的一部分或作为单独的制剂同时或分开给予。

[0392] 因此，本发明的化合物或组合物还可与抗肥胖剂组合使用，所述抗肥胖剂包括但不限于胰高血糖素样肽受体1激动剂、肽YY或其类似物、大麻素受体1拮抗剂、脂肪酶抑制剂、黑皮质素受体4激动剂或黑素浓集激素受体1拮抗剂、芬特明 (单独或与托吡酯组合)、去甲肾上腺素/多巴胺重摄取抑制剂和阿片样受体拮抗剂的组合 (例如，安非他酮和纳曲酮的组合) 或血清素能剂 (例如，氯卡色林)。

[0393] 本发明的化合物或组合物还可与抗高血压剂组合使用，所述抗高血压剂包括但不限于血管紧张素转化酶抑制剂、血管紧张素II受体阻断剂、利尿剂、 β 阻断剂或钙通道阻断剂。

[0394] 本发明的化合物或组合物还可与抗血脂异常剂组合使用，所述抗血脂异常剂包括但不限于他汀类、贝特类、烟酸类或胆固醇吸收抑制剂。

[0395] 另外，本发明的化合物或组合物还可与抗糖尿病药组合使用，所述抗糖尿病药包括但不限于双胍类 (例如，二甲双胍)、磺酰脲类、美格列奈类或列奈类 (例如，那格列奈)、DPP-IV抑制剂、SGLT2抑制剂、格列酮类、不同的GLP-1激动剂、胰岛素或胰岛素类似物。在一个优选实施方案中，所述化合物或其盐与胰岛素或胰岛素类似物、DPP-IV抑制剂、磺酰脲类或二甲双胍 (特别是磺酰脲类或二甲双胍) 组合使用，以实现充分的血糖控制。胰岛素类似物的实例包括但不限于Lantus、Novorapid、Humalog、Novomix和Actraphane HM、Levemir和Apidra。

[0396] 实施例

[0397] 实施例1: 胰高血糖素类似物的一般合成

[0398] 在微波辅助合成仪上，采用标准的Fmoc策略、在聚苯乙烯树脂 (TentaGel S Ram) 上NMP中进行固相肽合成 (solid phase peptide synthesis, SPPS)。用HATU作为偶联剂，DIPEA作为基质 (base)。使用哌啶 (20%，在NMP中) 进行去保护。适当时，使用假脯氨酸：Fmoc-Phe-Thr (psiMe, Mepro) -OH和Fmoc-Asp-Ser (psiMe, Mepro) -OH (购自NovaBiochem)。

[0399] 所用缩写如下：

[0400] Boc: 叔丁氧羰基

[0401] ivDde: 1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代环己亚基) 3-甲基-丁基

[0402] Dde: 1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代环己亚基) -乙基

[0403] DCM: 二氯甲烷

- [0404] DMF:N,N-二甲基甲酰胺
- [0405] DIPEA:二异丙基乙胺
- [0406] EDT:1,2-乙二硫醇
- [0407] EtOH:乙醇
- [0408] Et₂O:乙醚
- [0409] HATU:N-[(二甲氨基)-1H-1,2,3-三唑[4,5-b]吡啶-1-基亚甲基]-N-甲基甲铵六氟磷酸盐N-氧化物
- [0410] MeCN:乙腈
- [0411] NMP:N-甲基吡咯烷酮
- [0412] TFA:三氟乙酸
- [0413] TIS:三异丙基硅烷
- [0414] 切割:
- [0415] 通过在室温(r.t.)下用95/2.5/2.5% (v/v) TFA/TIS/水处理2小时,将粗制肽从树脂上切下来。在减压下除去大部分TFA,使粗制肽沉淀并用乙醚洗涤,并使其在环境温度下干燥至恒重。
- [0416] 合成以下化合物:
- [0417] 1.H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([15-羧基-十五烷酰基]-异Glu)-AAHDFIEWLLSA-NH₂
- [0418] 2.H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3)-RAAKDFIEWLESA-NH₂
- [0419] 3.H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-RAAKDFI-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-WLESA-NH₂
- [0420] 4.H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH₂
- [0421] 5.H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH₂
- [0422] 6.H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH₂
- [0423] 7.H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-
- [0424] GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH₂
- [0425] 8.H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-
- [0426] Peg3-Peg3)-RAAHDFIEWLESA-NH₂
- [0427] 9.H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLD-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH₂
- [0428] 10.H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu)-AAKDFIEWLESA-NH₂
- [0429] 11.H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu)-AAKDFIEWLESA-NH₂
- [0430] 12.H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu)-

RAKDFIEWLESA-NH₂

[0431] 13.H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-WLESA-NH₂

[0432] 14.H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-WLESA-NH₂

[0433] 15.H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLE-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-A-NH₂

[0434] 16.H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLE-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-A-NH₂

[0435] 还合成酰化GLP-1类似物索马鲁肽 (semaglutide), 并且具有以下结构: H-H-[2-甲基-Ala]-EGTFTSDVSSYLEGQAA-K (17-羧基-十七烷酰基)-异Glu-Peg3-Peg3)EFIWLVRGRG-OH。

[0436] 实施例2: 胰高血糖素受体和GLP-1受体效力测定

[0437] 合成编码人胰高血糖素受体 (胰高血糖素-R) (原始登录号P47871) 或人胰高血糖素样肽1受体 (GLP-1R) (原始登录号P43220) 的cDNA并将其克隆到含有Zeocin抗性标记的哺乳动物表达载体中。

[0438] 采用Attractene法将编码胰高血糖素-R或GLP-1-R的哺乳动物表达载体转染到中国仓鼠卵巢 (Chinese hamster ovary, CHO) 细胞中。在通过Zeocin选择 (250μg/mL) 对选择压力抗性的细胞有限稀释之后, 获得稳定表达克隆。挑取表达胰高血糖素-R和GLP-1-R的细胞克隆、使其增殖并且在下述胰高血糖素-R和GLP-1-R效力测定中进行测试。选择一个表达胰高血糖素-R的克隆和一个表达GLP-1-R的克隆用于化合物分析 (profiling)。

[0439] 在测定前24小时, 将表达人高血糖素-R或人GLP-1-R的CHO细胞以30,000个细胞/孔接种到96孔微量滴定板中, 并培养在100μl生长培养基中。在分析当天, 除去培养基并将细胞用200μl测定缓冲液 (Krebs-Ringer缓冲液, KRBH) 洗涤一次。除去缓冲液, 将细胞在去离子水中的含有浓度递增的受试肽的10μl KRBH (KRBH+10mM HEPES, 5mM NaHCO₃, 0.1% (V/V) BSA) 和0.1mM IBMX中于室温孵育15分钟。通过添加裂解缓冲液 (0.1% w/v BSA, 5mM HEPES, 0.3% v/v Tween-20) 使反应终止。在细胞于室温下裂解10分钟后, 将裂解物转移到384孔板中, 加入包含在AlphaScreen™ cAMP Functional Assay Kit中的10μl受体/供体珠混合物。在暗处于室温孵育1小时后, 使用来自Perkin-Elmer的AlphaScreen™ cAMP Functional Assay Kit根据制造商说明书测定cAMP含量。使用计算机辅助曲线拟合计算EC₅₀以及与参考化合物 (胰高血糖素和GLP-1) 相比的相对效力。如前面所定义的计算GLP-1/胰高血糖素比值。参见表1。

[0440] 表1

[0441]

化合物	EC50 hGCGR CHO-K1 [nM]	EC50 hGLP-1R CHO-K1 [nM]	Ratio GLP-1/ 胰高血糖素
1	0.21 nM	0.38 nM	1.81
2	0.13 nM	1.76 nM	13.54
3	1.48 nM	0.70 nM	0.47
4	0.45 nM	0.70 nM	1.56
5	0.18 nM	0.83 nM	4.61
6	0.44 nM	1.43 nM	3.25
7	0.11 nM	0.97 nM	8.82
8	0.31 nM	0.80 nM	2.58
9	0.07 nM	0.97 nM	13.86
10	1.08 nM	0.41 nM	0.38
11	0.28 nM	0.56 nM	2.00
12	0.07 nM	0.48 nM	6.86
13	0.52 nM	0.33 nM	0.63
14	0.18 nM	0.60 nM	3.33
15	0.92 nM	0.61 nM	0.65
16	0.16 nM	0.53 nM	3.31

[0442] 实施例3:对内源GLP-1受体的激动剂活性

[0443] 使用鼠胰岛瘤细胞系测定受试化合物对内源GLP-1受体的激动剂活性。使用细胞内cAMP作为受体活化的指标。

[0444] 将细胞以10,000个细胞/孔的密度在384孔板中培养24小时。除去培养基,在26℃经过15分钟向每个孔中添加含有受试化合物或GLP-1 (从0.1pM至100nM的浓度递增) 或者溶剂对照 (0.1% (v/v) DMSO) 的10μL KRBH缓冲液 (NaCl 130mM、KCl 3.6mM、NaH₂PO₄ 0.5mM、MgSO₄ 0.5mM、CaCl₂ 1.5mM)。

[0445] 使用AlphaScreen cAMP Functional Assay Kit (Perkin Elmer) 测量细胞内cAMP含量。使用Envision (PerkinElmer) 根据制造商的推荐进行测量。

[0446] 使用在含有0.1% (v/v) DMSO的KRBH缓冲溶液中制作的cAMP标准曲线将结果转化成cAMP浓度。所得cAMP曲线绘制成相对于log (受试化合物浓度) 的绝对cAMP浓度 (nM), 并使用曲线拟合程序XLfit进行分析。

[0447] 描述每一种受试化合物对内源GLP-1受体的效力和激动剂活性二者的所计算参数为:

[0448] pEC50 (EC50的负对数值, 导致cAMP水平半数最大升高的浓度, 反映了受试化合物的效力);

[0449] 百分比对照 (CTL%) (每一种受试化合物浓度的cAMP提高%, 基于GLP-1诱导的最大cAMP应答 (100%CTL) 归一化)。参见表2。

[0450] 表2.

[0451]

化合物	EC50 [nM]
-----	-----------

1	0.60nM
2	0.69nM
3	0.15nM
4	0.40nM
5	0.65nM
6	0.54nM
7	0.47nM
8	0.36nM
9	0.84nM
10	0.60nM
11	0.72nM
12	0.81nM
13	0.37nM
14	0.38nM
15	0.25nM
16	0.34nM

[0452] 实施例4:对内源性胰高血糖素受体的激动剂活性

[0453] 通过测量受试化合物对原代大鼠肝细胞中的糖原合成速率的影响来确定其对内源性胰高血糖素受体的激动剂活性。在胰高血糖素受体活化之后,预期糖原合成速率将被抑制。通过对限定时间段内并入细胞糖原储备物中的放射性标记的葡萄糖的量进行计数来确定糖原合成速率。

[0454] 在37°C和5%CO₂下,将原代大鼠肝细胞以40,000个细胞/孔的密度在24孔板中培养24小时。

[0455] 弃去培养基并用PBS洗涤细胞。然后向孔中添加含0.1% BSA和浓度为22.5mM葡萄糖的180μL基于KRBH的缓冲液,接着添加受试化合物和40μCi/ml D-[U14C]葡萄糖(分别为20μL)。持续孵育3小时。

[0456] 在孵育期结束时,抽出孵育缓冲液并将细胞用冰冷PBS洗涤一次,之后通过在室温下用100μL 1mol/l NaOH孵育30分钟来裂解。

[0457] 将细胞裂解物转移到96孔滤板上并通过将滤板在4°C孵育120分钟然后用冰冷乙醇(70%)洗涤滤板4次来使糖原沉淀。将所得沉淀物过滤至干,并使用Topcount闪烁计数器根据制造商推荐确定并入的¹⁴C-葡萄糖的量。

[0458] 包括具有载剂对照(KRBH缓冲液中0.1%(v/v) DMSO)的孔作为未抑制糖原合成(100%CTL)以供参考。包括未添加D-[U¹⁴C]葡萄糖的孔作为非特异性背景信号(从所有值中减去)的对照。使用内源性胰高血糖素肽作为阳性对照。

[0459] 所有处理至少一式两份地进行。

[0460] 描述每一种受试化合物对内源性胰高血糖素受体的效力和激动剂活性二者的所计算参数是pEC50和CTL%。

[0461] 通过计算减去背景CPM/孔后在受试化合物存在下的CPM/孔与载剂对照的CPM/孔相比的百分比来确定CTL%:

[0462] $[\text{CPM}/\text{孔}(\text{基线}) - \text{CPM}/\text{孔}(\text{样品})] * 100 / [\text{CPM}/\text{孔}(\text{基线}) - \text{CPM}/\text{孔}(\text{基线})]$

[0463] 胰高血糖素受体的活化剂将导致糖原合成速率被抑制,并且给出了0%CTL(完全抑制)与100%CTL(没有可观察到的抑制)之间的CTL%值。

[0464] 所得活性曲线绘制为相对于 \log (受试化合物浓度)的绝对计数(单位:cpm/样品),并使用曲线拟合程序XLfit进行分析。

[0465] pEC_{50} (EC_{50} 的负对数值)反映了受试化合物的效力。

[0466] 表3.

化合物	EC_{50} [nM]
1	0.85nM
2	0.11nM
3	0.94nM
4	179nM
5	0.21nM
6	0.80nM
7	0.34nM
8	0.29nM
9	0.11nM
10	1.53nM
11	0.95nM
12	0.45nM
13	0.43nM
14	0.19nM
15	3.63nM
16	0.19nM

[0468] 关于GLP-1R活化引用的术语 EC_{50} 和 pEC_{50} 可同等地视为关于糖原合成的 IC_{50} 和 pIC_{50} 。

[0469] 实施例5: 药物代谢动力学参数的评估

[0470] 在向Han/Wister大鼠静脉内施用后,确定受试化合物的药物代谢动力学参数。出于比较的目的,也测试酰化的GLP-1类似物索马鲁肽。

[0471] 从Charles River(德国)获得雄性Wistar大鼠,在抵达测试设备时称重约180至210g。将大鼠关在IV型欧洲标准大鼠笼中,光照周期为12小时黑暗和12小时光照。在研究期间,将大鼠圈养在III型标准大鼠笼中。在整个实验期间任意地施用饮食Altromin 1324(Altromin,德国)和水两者。将动物圈养在测试设备中至少4天以确保适当的环境适应。

[0472] 首先将化合物溶解在0.1%氨水中以达到2mg/mL的标称浓度,然后在含有25mM磷酸盐缓冲液的无菌PBS(pH 7.4)中稀释至期望的给药强度(10 μ M)。通过侧尾静脉给予对应于20nmol/kg的静脉内注射。

[0473] 在向K3EDTA管给药后0.08、0.25、0.5、1、2、4、8、24、32和48小时的时间点从眶周丛(periorbital plexus)收集血液样品(200 μ l)并在取样20分钟内在4 $^{\circ}$ C下离心5分钟。血浆样品(>100 μ l)转移至96孔PCR板中,立即冷冻并保持在-20 $^{\circ}$ C,直到用LC-MS/MS分析各GLP-

1-胰高血糖素化合物的血浆浓度。通过使用ToxKin™版本3.2(UNILOG IT Services)的非房室法(non-compartmental approach)分析个体血浆浓度-时间分布图,并确定所得到的药物动力学参数。见表4。

[0474] 表4.

化合物	清除率 (ml/min/kg)	终末半衰期 (h)	平均滞留 时间 (h)
2	0.11	9.1	13.6
3	0.056	23.4	28.7
4	0.11	13.7	17.6
索马鲁肽	0.10	9.0	11.4

[0476] 本申请母案的原始公开的权利要求的内容作为本申请的一部分并入本文:

[0477] 1.具有下式的化合物:

[0478] $R^1-P^1-P^2-R^2$

[0479] 其中,

[0480] R^1 为H、 C_{1-4} 烷基、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基;

[0481] R^2 为OH或 NH_2 ;

[0482] P^1 为具有以下序列的肽:

[0483] H-X2-X3-GTFTSDYSKYLDS Ψ AAHDFVEWLLSA

[0484] 其中:

[0485] X2选自:Aib、Ala、D-Ala、Ser、N-Me-Ser、Ac3c、Ac4c和Ac5c;

[0486] X3选自Gln和His;

[0487] P^2 不存在或者为1至20个氨基酸单元的序列,所述氨基酸单元独立地选自:Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr和Orn;

[0488] 或其可药用盐或溶剂合物;

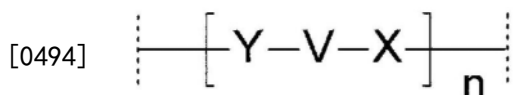
[0489] Ψ 为Lys、Arg、Orn或Cys的残基,其中侧链与具有式- Z^2-Z^1 的取代基缀合;

[0490] - Z^1 为在链的一端具有极性基团并且在远离所述极性基团的链端具有与 Z^2 的连接体-X-的脂肪链,

[0491] 其中所述极性基团包含羧酸或羧酸生物电子等排体、磷酸或磺酸基团;

[0492] 且-X-为键、-CO-、-SO-或-SO₂-;

[0493] - Z^2 -为下式的间隔物:



[0495] 其中:

[0496] 每个Y独立地为-NH-、-NR-、-S或-O,其中R为烷基、保护基或与所述间隔物 Z^2 的其他部分形成键;

[0497] 每个X独立地为键、CO-、SO-或SO₂-;

[0498] 前提是当Y为-S时,X为键;

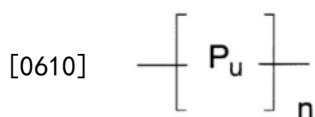
[0499] 每个V独立地为连接Y和X的二价有机部分;

[0500] 并且n为1至10;

- [0501] 或其可药用盐或溶剂合物。
- [0502] 2. 根据项1所述的化合物, 其中 P^1 具有以下序列:
- [0503] H-Aib-QGTFTSDYSKYLD Ψ AAHDFVEWLLSA。
- [0504] 3. 根据项2所述的化合物, 其为:
- [0505] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD Ψ AAHDFVEWLLSA-NH₂。
- [0506] 4. 具有下式的化合物:
- [0507] $R^1-P^1-P^2-R^2$
- [0508] 其中,
- [0509] R^1 为H、C₁₋₄烷基、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基;
- [0510] R^2 为OH或NH₂;
- [0511] P^1 为具有以下序列的肽:
- [0512] His-X2-X3-GTFTSDYSKYL-X15-X16-X17-X18-A-X20-DFI-X24-WLE-X28-A
- [0513] 其中:
- [0514] X2选自Aib、Ac3c、Ac4c和Ac5c;
- [0515] X3选自Gln和His;
- [0516] X15选自Asp和Glu;
- [0517] X16选自Glu和 Ψ ;
- [0518] X17选自Arg和 Ψ ;
- [0519] X18选自Ala和Arg;
- [0520] X20选自Lys和His;
- [0521] X24选自Glu和 Ψ ;
- [0522] X28选自Ser和 Ψ ;
- [0523] 并且 P^2 不存在或者为1至20个氨基酸单元的序列, 所述氨基酸单元独立地选自: Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr和Orn;
- [0524] 其中所述化合物含有一个且仅一个 Ψ
- [0525] 并且其中所述 Ψ 为Lys、Arg、Orn或Cys的残基, 其中侧链与具有式- Z^2Z^1 的取代基缀合;
- [0526] - Z^1 为在链的一端具有极性基团并且在远离所述极性基团的链端具有与 Z^2 的连接体-X-的脂肪链,
- [0527] 其中所述极性基团包含羧酸或羧酸生物电子等排体、膦酸或磺酸基团;
- [0528] 并且-X-为键、-CO-、-SO-或-SO₂-;
- [0529] - Z^2 -是下式的间隔物:
- [0530]
$$\text{---} \left[\text{Y-V-X} \right]_n \text{---}$$
- [0531] 其中:
- [0532] 每个Y独立地为-NH-、-NR-、-S或-O, 其中R为烷基、保护基或与间隔物 Z^2 的其他部分形成键;
- [0533] 每个X独立地为键、CO-、SO-或SO₂-;
- [0534] 前提是当Y为-S时, X为键;

- [0535] 每个V独立地为连接Y和X的二价有机部分；
- [0536] 并且n为1至10；
- [0537] 或其可药用盐或溶剂合物。
- [0538] 5. 根据项4所述的化合物，其中：
- [0539] X2选自Aib和Ac4c；
- [0540] X3为Gln；
- [0541] X15选自Asp和Glu；
- [0542] XI6为 Ψ ；
- [0543] X17为Arg；
- [0544] X18为Ala；
- [0545] X20选自Lys和His；
- [0546] X24为Glu；
- [0547] X28为Ser。
- [0548] 6. 根据项4或项5所述的化合物，其中：
- [0549] X2为Ac4c且X20为Lys；
- [0550] X2为Aib且X20为His。
- [0551] 7. 根据项4至6中任一项所述的化合物，其中：
- [0552] 如果X15为E，则X2为Aib；或者
- [0553] 如果X2是Ac4c，则X15为D。
- [0554] 8. 根据项4至7中任一项所述的化合物，其中P¹具有选自以下的序列：
- [0555] H-Aib-QGTFTSDYSKYLD Ψ RAAKDFIEWLESA
- [0556] H-Aib-QGTFTSDYSKYLD Ψ RAAKDFIEWLESA
- [0557] H-Aib-QGTFTSDYSKYLE Ψ RAAKDFIEWLESA
- [0558] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD Ψ RAAKDFIEWLESA和
- [0559] H-Aib-QGTFTSDYSKYLE Ψ RAAHDFIEWLESA。
- [0560] 9. 根据项8所述的化合物，其选自：
- [0561] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD Ψ RAAKDFIEWLESA-NH₂
- [0562] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD Ψ RAAKDFIEWLESA-NH₂
- [0563] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE Ψ RAAKDFIEWLESA-NH₂
- [0564] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD Ψ RAAKDFIEWLESA-NH₂和
- [0565] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE Ψ RAAHDFIEWLESA-NH₂。
- [0566] 10. 根据项4所述的化合物，其中：
- [0567] X2选自Aib和Ac4c；
- [0568] X3选自Gln和His；
- [0569] X15为Asp；
- [0570] X16为Glu；
- [0571] X17选自Arg和 Ψ ；
- [0572] X18选自Ala和Arg；
- [0573] X20为Lys；

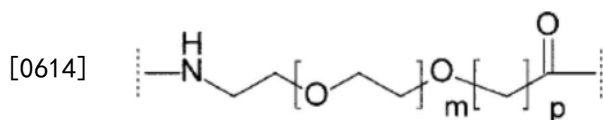
- [0574] X24选自Glu和 Ψ ;
- [0575] X28选自Ser和 Ψ 。
- [0576] 11. 根据项10所述的化合物,其中,当X28为 Ψ 时,X2为Ac4c。
- [0577] 12. 根据项10所述的化合物,其中,当X3为His时,X2为Ac4c且X17为 Ψ 。
- [0578] 13. 根据项10所述的化合物,其中P¹具有选自以下的序列:
- [0579] H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE Ψ AAKDFIEWLESA
- [0580] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE Ψ RAKDFIEWLESA
- [0581] H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE Ψ RAKDFIEWLESA
- [0582] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE Ψ AAKDFIEWLESA
- [0583] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE Ψ RAKDFIEWLESA
- [0584] H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI Ψ WLESA
- [0585] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI Ψ WLESA
- [0586] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFI Ψ WLESA
- [0587] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLE Ψ A和
- [0588] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLE Ψ A。
- [0589] 14. 根据项13所述的化合物,其选自:
- [0590] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE Ψ AAKDFIEWLESA-NH₂
- [0591] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE Ψ RAKDFIEWLESA-NH₂
- [0592] H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE Ψ RAKDFIEWLESA-NH₂
- [0593] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE Ψ AAKDFIEWLESA-NH₂
- [0594] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE Ψ RAKDFIEWLESA-NH₂
- [0595] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI Ψ WLESA-NH₂
- [0596] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI Ψ WLESA-NH₂
- [0597] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFI Ψ WLESA-NH₂
- [0598] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLE Ψ A-NH₂和
- [0599] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLE Ψ A-NH₂。
- [0600] 15. 根据项1至14中任一项所述的化合物,其中-Z¹为下式的酰基:
- [0601] A-B-Alk- (CO) -
- [0602] 或下式的磺酰基:
- [0603] A-B-Alk- (SO₂) -;
- [0604] A为-COOH或羧酸生物电子等排体;
- [0605] B为键、C₆亚芳基或C₆亚芳基-O-;
- [0606] Alk为长度为6至18个碳原子的饱和或不饱和脂肪链,其任选地被选自氟、C₁₋₄烷基、三氟甲基、羟甲基、氨基、羟基、C₁₋₄烷氧基、氧代和羧基的一个或多个取代基取代;
- [0607] -Z²-为-S_A-、-S_A-S_B-或-S_B-S_A-;
- [0608] -S_A-为选自以下的单个氨基酸残基: γ -Glu、 α -Glu、 α -Asp、 β -Asp、Ala、 β -Ala (3-氨基丙酸) 和Gaba (4-氨基丁酸);
- [0609] -S_B-为以下通式的接头:



[0611] 其中n为1至10且每个 P_u 独立地选自 P_u^{i} 和 P_u^{iii} ;

[0612] 每个 P_u^{i} 独立地为天然或非天然的氨基酸残基;并且

[0613] 每个 P_u^{iii} 独立地为以下通式的残基:



[0615] 其中m为0至5且p为1、3、4或5。

[0616] 16. 根据项1至14中任一项所述的化合物,其中 Z^1 - Z^2 选自:

[0617] (i) [17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3;

[0618] (ii) [17-羧基-十七烷酰基]-异Glu;

[0619] (iii) [13-羧基-十三烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3;

[0620] (iv) [羧基苯氧基壬酰基]-异Glu-Peg3-Peg3;

[0621] (v) [13-羧基-十三烷酰基]-异Glu-Peg4-Peg4;

[0622] (vi) [17-羧基-十七烷酰基]-Peg3-Peg3-异Glu;

[0623] (vii) [17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG;和

[0624] (viii) [17-羧基-十七烷酰基]-AA-Peg3-Peg3。

[0625] 17. 根据项1所述的化合物,其中P1具有以下序列:

[0626] H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-S-K([15-羧基-十五烷酰基]-异Glu)-AAHDFVEWLLSA。

[0627] 18. 根据项17所述的化合物,其为:

[0628] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-S-K([15-羧基-十五烷酰基]-异Glu)-AAHDFVEWLLSA-NH₂。

[0629] 19. 根据项4至7中任一项所述的化合物,其中 Z^2 - Z^1 为[17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3或[17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG。

[0630] 20. 根据项10或项12所述的化合物,其中当X17为 Ψ 时, Z^2Z^1 为[17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3或[17-羧基-十七烷酰基]-异Glu。

[0631] 21. 根据项10或项11所述的化合物,其中当X24或X28为 Ψ 时, Z^2Z^1 为[17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG。

[0632] 22. 根据项8所述的化合物,其中P¹具有选自以下的序列:

[0633] H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-S-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3)-RAAKDFIEWLESA

[0634] H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-S-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA

[0635] H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-S-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA

[0636] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD-S-K([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA和

[0637] H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3)-RAAHDFIEWLESA。

[0638] 23. 根据项22所述的化合物,其选自:

[0639] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3)-RAAKDFIEWLESA-NH₂

[0640] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH₂

[0641] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH₂

[0642] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH₂和

[0643] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3)-RAAHDFIEWLESA-NH₂。

[0644] 24. 根据项13所述的化合物,其中P¹具有选自以下的序列:

[0645] H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu)-AAKDFIEWLESA

[0646] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA

[0647] H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA

[0648] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu)-AAKDFIEWLESA

[0649] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu)-RAKDFIEWLESA

[0650] H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-WLESA

[0651] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-WLESA

[0652] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFI-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-WLESA

[0653] H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLE-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-A和

[0654] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLE-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-A-NH₂。

[0655] 25. 根据项24所述的化合物,其选自:

[0656] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu)-AAKDFIEWLESA-NH₂

[0657] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH₂

[0658] H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH₂

[0659] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu)-AAKDFIEWLESA-NH₂

- [0660] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu)-RAKDFIEWLESA-NH₂
- [0661] H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-WLESA-NH₂
- [0662] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-WLESA-NH₂
- [0663] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-WLESA-NH₂
- [0664] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLE-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-A-NH₂和
- [0665] H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLE-K ([17-羧基-十七烷酰基]-异Glu-GSGSGG)-A-NH₂。
- [0666] 26. 组合物, 包含与载体混合的根据前述项中任一项所述的化合物。
- [0667] 27. 根据项26所述的组合物, 其中所述组合物是药物组合物, 并且所述载体是可药用载体。
- [0668] 28. 根据项1至25中任一项所述的化合物, 其用于医学治疗方法。
- [0669] 29. 根据项1至25中任一项所述的化合物, 其用于在有此需要的个体中预防体重增长或促进体重减轻的方法。
- [0670] 30. 根据项1至25中任一项所述的化合物, 其用于在有此需要的个体中降低循环LDL水平和/或提高HDL/LDL比值的方法。
- [0671] 31. 根据项1至25中任一项所述的化合物, 其用于治疗由体重过重引起的或以其为特征的病症的方法。
- [0672] 32. 根据项1至25中任一项所述的化合物, 其用于预防或治疗以下的方法: 肥胖、病态肥胖、术前病态肥胖、肥胖相关炎症、肥胖相关胆囊疾病、肥胖诱发的睡眠呼吸暂停、糖尿病、代谢综合征、高血压、动脉粥样硬化性血脂异常、动脉粥样硬化、动脉硬化、冠心病、外周动脉疾病、卒中或微血管疾病。
- [0673] 33. 根据项29至32中任一项所述应用的化合物, 其中所述化合物作为组合治疗的一部分与用于治疗糖尿病、肥胖、血脂异常或高血压的药剂一起施用。
- [0674] 34. 根据项33所述应用的化合物, 其中所述用于治疗糖尿病的药剂为双胍类(例如, 二甲双胍)、磺酰脲类、美格列奈类或格列奈类(例如, 那格列奈)、DPP-IV抑制剂、SGLT2抑制剂、格列酮类、不同的GLP-1激动剂、胰岛素或胰岛素类似物。
- [0675] 35. 根据项33所述应用的化合物, 其中所述用于治疗肥胖的药剂是胰高血糖素样肽受体1激动剂、肽YY受体激动剂或其类似物、大麻素受体1拮抗剂、脂肪酶抑制剂、黑皮质素受体4激动剂、黑素浓集激素受体1拮抗剂、芬特明、去甲肾上腺素/多巴胺重摄取抑制剂和阿片样受体拮抗剂的组合(例如, 芬特明和托吡酯的组合)、安非他酮和纳曲酮的组合或血清素能剂。
- [0676] 36. 根据项33所述应用的化合物, 其中所述用于治疗高血压的药剂是血管紧张素转换酶抑制剂、血管紧张素II受体阻断剂、利尿剂、 β -阻断剂或钙通道阻断剂。
- [0677] 37. 根据项33所述应用的化合物, 其中所述用于治疗血脂异常的药剂是他汀类、贝

特类、烟酸类和/或胆固醇吸收抑制剂。

[0678] 38. 治疗性药盒, 其包含根据项1至25中任一项所述的化合物或者根据项26或27所述的组合物。

[0679] 39. 合成根据项1至25中任一项所述化合物的方法。

[0680] 40. 产生根据项1至25中任一项所述化合物的方法, 所述方法包括从编码前体肽的核酸构建体表达前体肽序列, 回收表达产物, 以及修饰所述前体肽以产生根据项1至25中任一项所述的化合物。

[0681] 41. 根据项40所述的方法, 其包括对所述前体肽进行修饰以在残基 Ψ 处引入取代基。