



(10) 授权公告号 CN 108699126 B

(45) 授权公告日 2022.12.06

(21) 申请号 201780014939.5

(22) 申请日 2017.03.02

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108699126 A

(43) 申请公布日 2018.10.23

(30) 优先权数据
16158388.5 2016.03.03 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2018.09.03

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2017/054895 2017.03.02

(87) PCT国际申请的公布数据
W02017/149070 EN 2017.09.08

(73) 专利权人 诺和诺德股份有限公司
地址 丹麦鲍斯韦

(72) 发明人 J.科弗 J.T.科得拉 L.林德罗斯
P.W.加瑞贝

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
专利代理师 初明明 黄希贵

(51) Int.Cl.
C07K 14/605 (2006.01)
A61K 38/26 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 101255191 A, 2008.09.03
WO 2012140117 A1, 2012.10.18
WO 2014202727 A1, 2014.12.24

审查员 王瑶

权利要求书17页 说明书95页
序列表13页 附图1页

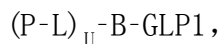
(54) 发明名称

GLP-1衍生物及其用途

(57) 摘要

本发明涉及在对应于GLP-1 (7-37) 位置8的位置处具有Trp的GLP-1类似物和衍生物及其药学用途,例如在治疗2型糖尿病中的用途。这类Trp8化合物对DPP-IV降解极其稳定,同时保持了结合并激活GLP-1受体的能力。这类衍生物具有经由可选的分支基团(B) 附接至GLP-1类似物的Lys残基上的一个或两个取代基(P-L),其中P为延长部分,如脂肪二酸,且L为由一个或多个连接体元件例如8-氨基-3,6-二氧杂辛酸组成的连接体。本发明化合物的实例包括利拉鲁肽和度拉鲁肽的8W变体。本发明还涉及完全重组制备8W GLP-1类似物和衍生物的方法,该方法与通过包含一个或多个非编码氨基酸而DPP-IV稳定化的已知GLP-1类似物的制备相比更加简单并因此更加经济。

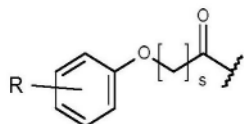
1. 式I的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯:



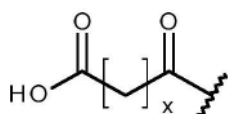
其中GLP1为在对应于GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处具有Trp的GLP-1类似物,P-L是经由可选的分支基团B附接至所述GLP-1类似物的Lys残基上的取代基,并且其包含延长部分P和连接体L,U表示该衍生物中取代基P-L的数目,并且其为1或2;

其中每个所述取代基P-L包含选自化学式10、化学式11和化学式12的延长部分P:

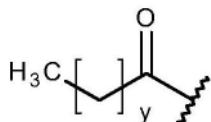
化学式10:



化学式11:

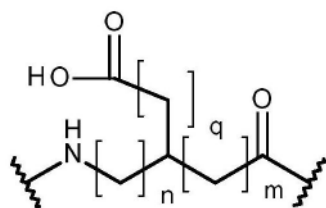


化学式12:

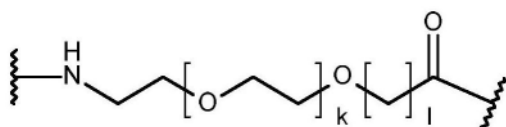


和包含至少一个选自化学式15、化学式16和化学式17的连接体元件的连接体L:

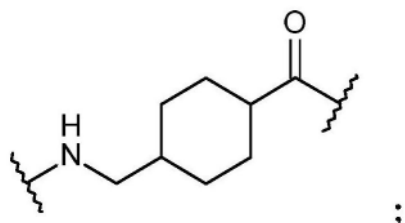
化学式15:



化学式16:



化学式17:



其中

R为-COOH;

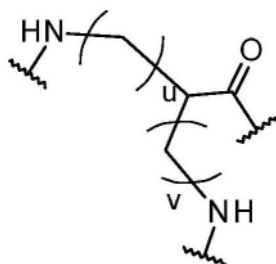
s、x、和y中的每一个独立地表示8-20范围内的整数;

n、m和q中的每一个独立地表示0-4范围内的整数;且

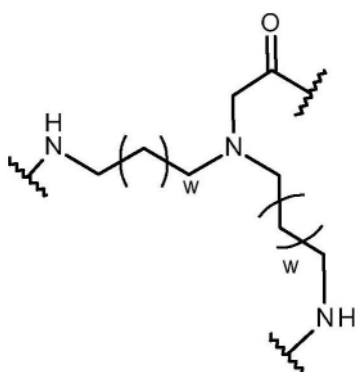
k和l中的每一个独立地表示1-5范围内的整数；

其中所述分支基团B,如果存在,包含选自化学式19和化学式20的分支连接体BL:

化学式19:



化学式20:



其中u和v独立地表示0-5范围内的整数,条件是当u为0时,则v为1-5范围内的整数,且当v为0时,则u为1-5范围内的整数;且

其中每个w表示0-2范围内的整数;

其中所述GLP1包含下式的肽:

Xaa₇-Trp-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈-Xaa₃₉-Xaa₄₀-Xaa₄₁-Xaa₄₂,

其中Xaa₇为L-组氨酸;Xaa₁₂为Phe;Xaa₁₆为Val;Xaa₁₈为Ser;Xaa₁₉为Tyr;Xaa₂₀为Leu;Xaa₂₂为Gly或Glu;Xaa₂₃为Gln;Xaa₂₅为Ala;Xaa₂₆为Arg或Lys;Xaa₂₇为Glu或Lys;Xaa₃₀为Ala或Glu;Xaa₃₁为Trp;Xaa₃₃为Val;Xaa₃₄为Arg;Xaa₃₅为Gly;Xaa₃₆为Arg或Lys;Xaa₃₇为Gly、Lys或Pro;Xaa₃₈为Glu、Lys或不存在;Xaa₃₉为Gly或不存在;Xaa₄₀为Gly或不存在;Xaa₄₁为Ser或不存在;并且Xaa₄₂为Lys或不存在;且条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆、Xaa₃₇、Xaa₃₈或Xaa₄₂中的至少一个为Lys。

2. 权利要求1的衍生物,其包含一个或两个附接至所述GLP-1类似物的一个或两个Lys残基上的取代基P-L。

3. 权利要求1或2的衍生物,其中至少一个连接体元件意为在每个所述取代基P-L中的连接体元件的数目在1-10的范围内。

4. 权利要求3的衍生物,其在每个所述取代基P-L中包含1至8个连接体元件。

5. 权利要求1、2或4中任一项的衍生物,其中每个所述取代基P-L由延长部分P和连接体L组成。

6. 权利要求1、2或4中任一项的衍生物,其中P为化学式10。

7. 权利要求6的衍生物,其中R在苯环的位置3处或间位处。
8. 权利要求6的衍生物,其中R在苯环的位置4处或对位处。
9. 权利要求1、2、4和7-8中任一项的衍生物,其中s为8-20。
10. 权利要求9的衍生物,其中s为8-10。
11. 权利要求10的衍生物,其中s为9或10。
12. 权利要求11的衍生物,其中s为9。
13. 权利要求11的衍生物,其中s为10。
14. 权利要求1、2或4中任一项的衍生物,其中P为化学式11。
15. 权利要求14的衍生物,其中x为8-20。
16. 权利要求15的衍生物,其中x为12-20。
17. 权利要求16的衍生物,其中x为12。
18. 权利要求16的衍生物,其中x为16。
19. 权利要求16的衍生物,其中x为18。
20. 权利要求1、2或4中任一项的衍生物,其中P为化学式12。
21. 权利要求20的衍生物,其中y为8-20。
22. 权利要求21的衍生物,其中y为12-20。
23. 权利要求22的衍生物,其中y为14。
24. 权利要求1、2、4、7-8、10-13、15-19和21-23中任一项的衍生物,其中L包含化学式15连接体元件。
25. 权利要求24的衍生物,其中n、m和q中的每一个独立地为0-4。
26. 权利要求25中任一项的衍生物,其中n为0,m为2,且q为1。
27. 权利要求25-26中任一项的衍生物,其中所述化学式15连接体元件为L-型。
28. 权利要求1、2、4、7-8、10-13、15-19、21-23和25-26中任一项的衍生物,其中L包含0至6次化学式16连接体元件。
29. 权利要求28的衍生物,其中k和l中的每一个独立地为1-5。
30. 权利要求29的衍生物,其中k和l中的每一个为1。
31. 权利要求28的衍生物,其中L包含0次化学式16,即不包含化学式16。
32. 权利要求28的衍生物,其中L包含2次化学式16。
33. 权利要求28的衍生物,其中L包含4次化学式16。
34. 权利要求28的衍生物,其中L包含6次化学式16。
35. 权利要求1、2、4、7-8、10-13、15-19、21-23、25-26和29-34中任一项的衍生物,其中L包含化学式17连接体元件。
36. 权利要求1、2、4、7-8、10-13、15-19、21-23、25-26和29-34中任一项的衍生物,其中如果存在超过一个连接体元件,则所述连接体元件通过酰胺键相互连接。
37. 权利要求36的衍生物,其中所述超过一个相互连接的连接体元件构成连接体L。
38. 权利要求36的衍生物,其中单独的连接体元件构成连接体L。
39. 权利要求37-38中任一项的衍生物,其中每个所述连接体L和每个所述延长部分P通过酰胺键相互连接。
40. 权利要求37-38中任一项的衍生物,其中每个所述连接体L通过酰胺键与每个所述

Lys残基的ε氨基连接,任选地经由分支基团B。

41. 权利要求1、2、4、7-8、10-13、15-19、21-23、25-26、29-34和37-38中任一项的衍生物,其中BL为化学式19。

42. 权利要求41的衍生物,其中u和v独立地表示0-5范围内的整数,条件是当u为0时,则v为1-5,且当v为0时,则u为1-5。

43. 权利要求42的衍生物,其中u为0且v为4。

44. 权利要求42的衍生物,其中u为4且v为0。

45. 权利要求1、2、4、7-8、10-13、15-19、21-23、25-26、29-34和37-38中任一项的衍生物,其中BL为化学式20。

46. 权利要求45的衍生物,其中w为0-2。

47. 权利要求46的衍生物,其中w为1。

48. 权利要求1、2、4、7-8、10-13、15-19、21-23、25-26、29-34、37-38、42-44和46-47中任一项的衍生物,其中B不存在,且U为1。

49. 权利要求1、2、4、7-8、10-13、15-19、21-23、25-26、29-34、37-38、42-44和46-47中任一项的衍生物,其具有式Ia: (P-L)-GLP1,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

50. 权利要求49的衍生物,其中P选自化学式11和化学式12。

51. 权利要求50的衍生物,其中P为化学式11。

52. 权利要求51的衍生物,其中x为16。

53. 权利要求50的衍生物,其中P为化学式12。

54. 权利要求53的衍生物,其中y为14。

55. 权利要求49的衍生物,其中L包含化学式15连接体元件。

56. 权利要求55的衍生物,其中L包含化学式15连接体元件,其中q为1,m为2,且n为0。

57. 权利要求56的衍生物,其中L由化学式15连接体元件组成,其中q为1,m为2,且n为0。

58. 权利要求49的衍生物,其中L包含化学式16连接体元件。

59. 权利要求58的衍生物,其中L包含两个化学式16连接体元件。

60. 权利要求58的衍生物,其中k=1且l=1。

61. 权利要求49的衍生物,其中L由经由酰胺键并按所示顺序相互连接的一个化学式15连接体元件和两个化学式16连接体元件组成,其中所示顺序为:化学式15-2x化学式16;在化学式15中q为1,m为2,且n为0;在化学式16中k为1且l为1。

62. 权利要求49的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,其中GLP1包含式IIa的肽:

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

其中

Xaa₇为L-组氨酸;

Xaa₁₂为Phe;

Xaa₁₆为Val;

Xaa₁₈为Ser;

Xaa₁₉为Tyr;

Xaa₂₀为Leu;

Xaa₂₂为Gly或Glu;

Xaa₂₃为Gln;

Xaa₂₅为Ala;

Xaa₂₆为Arg或Lys;

Xaa₂₇为Glu或Lys;

Xaa₃₀为Ala或Glu;

Xaa₃₁为Trp;

Xaa₃₃为Val;

Xaa₃₄为Arg;

Xaa₃₅为Gly;

Xaa₃₆为Arg或Lys;且

Xaa₃₇为Gly、Lys、Pro;

条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆或Xaa₃₇中的至少一个为Lys。

63. 权利要求62的衍生物,其中Xaa₇为L-组氨酸;Xaa₁₂为Phe;Xaa₁₆为Val;Xaa₁₈为Ser;Xaa₁₉为Tyr;Xaa₂₀为Leu;Xaa₂₂为Gly;Xaa₂₃为Gln;Xaa₂₅为Ala;Xaa₂₆为Lys;Xaa₂₇为Glu;Xaa₃₀为Ala;Xaa₃₁为Trp;Xaa₃₃为Val;Xaa₃₄为Arg;Xaa₃₅为Gly;Xaa₃₆为Arg;且Xaa₃₇为Gly。

64. 权利要求62的衍生物,其中GLP-1为式IIa的肽。

65. 权利要求49的衍生物,其中P-L附接至Lys₂₆。

66. 权利要求1、2、4、7-8、10-13、15-19、21-23、25-26、29-34、37-38、42-44和46-47中任一项的衍生物,其中B不存在,且U为2。

67. 权利要求1、2、4、7-8、10-13、15-19、21-23、25-26、29-34、37-38、42-44和46-47中任一项的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,该衍生物具有式Ib: (P-L)₂-GLP1。

68. 权利要求67的衍生物,其中每个P独立地选自化学式10和化学式11。

69. 权利要求68中任一项的衍生物,其中两个P是相同的。

70. 权利要求68的衍生物,其中P为化学式10。

71. 权利要求70的衍生物,其中R为-COOH。

72. 权利要求70-71中任一项的衍生物,其中R在苯环的位置3处或间位处。

73. 权利要求70-71中任一项的衍生物,其中R在苯环的位置4处或对位处。

74. 权利要求70-71中任一项的衍生物,其中s为9或10。

75. 权利要求74的衍生物,其中s为9。

76. 权利要求74的衍生物,其中s为10。

77. 权利要求68的衍生物,其中P为化学式11。

78. 权利要求77的衍生物,其中x为18。

79. 权利要求77的衍生物,其中x为12。

80. 权利要求67的衍生物,其中每个L包含化学式15连接体元件。

81. 权利要求80的衍生物,其中每个L包含化学式15连接体元件,其中q为1,m为2,且n为0。

82. 权利要求67的衍生物,其中每个L包含化学式16连接体元件。

83. 权利要求82的衍生物, 其中每个L包含两个化学式16连接体元件。

84. 权利要求83的衍生物, 其中 $k=1=1$ 。

85. 权利要求67的衍生物, 其中每个L包含化学式17连接体元件。

86. 权利要求67的衍生物, 其中每个L由经由酰胺键并按所示顺序相互连接的一个化学式15连接体元件和两个化学式16连接体元件组成, 其中所示顺序为: 化学式15-2x化学式16; 在化学式15连接体元件中q为1, m为2, 且n为0; 在化学式16连接体元件中k为1且l为1。

87. 权利要求67的衍生物, 其中每个L由经由酰胺键并按所示顺序相互连接的一个化学式15连接体元件和四个化学式16连接体元件组成, 其中所示顺序为: 化学式15-4x化学式16; 在化学式15连接体元件中q为1, m为2, 且n为0; 在化学式16连接体元件中k为1且l为1。

88. 权利要求67的衍生物, 其中每个L由经由酰胺键并按所示顺序相互连接的一个化学式17连接体元件、一个化学式15连接体元件和两个化学式16连接体元件组成, 其中所示顺序为: 化学式17-化学式15-2x化学式16; 在所述化学式15连接体元件中q为1, m为2, 且n为0; 在所述化学式16连接体元件中k为1且l为1。

89. 权利要求67的衍生物, 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯, 其中GLP-1包含式IIb的肽:

Xaa₇-Trp-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈-Xaa₃₉-Xaa₄₀-Xaa₄₁-Xaa₄₂,

其中

Xaa₇为L-组氨酸;

Xaa₁₂为Phe;

Xaa₁₆为Val;

Xaa₁₈为Ser;

Xaa₁₉为Tyr;

Xaa₂₀为Leu;

Xaa₂₂为Gly或Glu;

Xaa₂₃为Gln;

Xaa₂₅为Ala;

Xaa₂₆为Arg或Lys;

Xaa₂₇为Glu或Lys;

Xaa₃₀为Ala或Glu;

Xaa₃₁为Trp;

Xaa₃₃为Val;

Xaa₃₄为Arg;

Xaa₃₅为Gly;

Xaa₃₆为Arg或Lys;

Xaa₃₇为Gly、Lys或Pro;

Xaa₃₈为Glu、Lys或不存在; 且

Xaa₃₉为Gly或不存在;

条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆、Xaa₃₇或Xaa₃₈中的至少两个为Lys。

90. 权利要求89的衍生物, 其中Xaa₇为L-组氨酸; Xaa₁₂为Phe; Xaa₁₆为Val; Xaa₁₈为Ser; Xaa₁₉为Tyr; Xaa₂₀为Leu; Xaa₂₂为Glu; Xaa₂₃为Gln; Xaa₂₅为Ala; Xaa₂₆为Lys或Arg; Xaa₂₇为Glu或Lys; Xaa₃₀为Ala或Glu; Xaa₃₁为Trp; Xaa₃₃为Val; Xaa₃₄为Arg; Xaa₃₅为Gly; Xaa₃₆为Lys; Xaa₃₇为Gly或Lys; Xaa₃₈为Glu或不存在; 且Xaa₃₉为Gly或不存在; 条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆和Xaa₃₇中的至少两个为Lys。

91. 权利要求89-90中任一项的衍生物, 其中GLP-1为式IIb的肽。

92. 权利要求67的衍生物, 其中所述两个P-L附接至i) Lys₂₆和Lys₃₇; ii) Lys₂₇和Lys₃₆; 或iii) Lys₃₆和Lys₃₇。

93. 权利要求67的衍生物, 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯, 其中GLP-1包含式IIc的肽:

Xaa₇-Trp-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈-Xaa₃₉-Xaa₄₀-Xaa₄₁-Xaa₄₂,

其中

Xaa₇为L-组氨酸;

Xaa₁₂为Phe;

Xaa₁₆为Val;

Xaa₁₈为Ser;

Xaa₁₉为Tyr;

Xaa₂₀为Leu;

Xaa₂₂为Gly或Glu;

Xaa₂₃为Gln;

Xaa₂₅为Ala;

Xaa₂₆为Arg或Lys;

Xaa₂₇为Glu或Lys;

Xaa₃₀为Ala或Glu;

Xaa₃₁为Trp;

Xaa₃₃为Val;

Xaa₃₄为Arg;

Xaa₃₅为Gly;

Xaa₃₆为Arg或Lys;

Xaa₃₇为Gly、Lys或Pro;

Xaa₃₈为Glu或Lys;

Xaa₃₉为Gly;

Xaa₄₀为Gly;

Xaa₄₁为Ser; 且

Xaa₄₂为Lys;

条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆、Xaa₃₇、Xaa₃₈或Xaa₄₂中的至少两个为Lys。

94. 权利要求93的衍生物, 其中Xaa₇为L-组氨酸; Xaa₁₂为Phe; Xaa₁₆为Val; Xaa₁₈为Ser; Xaa₁₉为Tyr; Xaa₂₀为Leu; Xaa₂₂为Glu; Xaa₂₃为Gln; Xaa₂₅为Ala; Xaa₂₆为Arg; Xaa₂₇为Glu; Xaa₃₀为Ala; Xaa₃₁为Trp; Xaa₃₃为Val; Xaa₃₄为Arg; Xaa₃₅为Gly; Xaa₃₆为Arg; Xaa₃₇为Gly; Xaa₃₈为Lys; Xaa₃₉为Gly; Xaa₄₀为Gly; Xaa₄₁为Ser; 且Xaa₄₂为Lys。

95. 权利要求93-94中任一项的衍生物, 其中GLP-1为式IIc的肽。

96. 权利要求93-94中任一项的衍生物, 其中所述两个P-L附接至Lys₃₈和Lys₄₂。

97. 权利要求1、2、4、7-8、10-13、15-19、21-23、25-26、29-34、37-38、42-44和46-47中任一项的衍生物, 其中B存在, 且U为2。

98. 权利要求97的衍生物, 其中B由>BL-PL表示, 其中>BL为分支连接体, 且PL为可选的前连接体。

99. 权利要求98的衍生物, 其中>BL为三价基团。

100. 权利要求98-99中任一项的衍生物, 其中>BL由如权利要求1或41-47中任一项所限定的分支连接体BL表示。

101. 权利要求98-99中任一项的衍生物, 其中PL为二价基团。

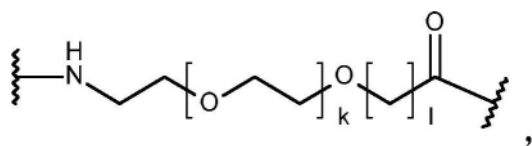
102. 权利要求98-99中任一项的衍生物, 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯, 该衍生物具有式Ic:

(P-L)₂>BL-PL-GLP1,

其中

(i) >BL为权利要求1所限定的分支连接体, 且

(ii) PL为包含化学式16的前连接体:



其中k和l中的每一个独立地表示1-5范围内的整数。

103. 权利要求97的衍生物, 其中每个P为化学式11。

104. 权利要求103的衍生物, 其中x为18。

105. 权利要求97的衍生物, 其中每个L包含化学式15连接体元件。

106. 权利要求105的衍生物, 其中每个L包含化学式15连接体元件, 其中q为1, m为2, 且n为0。

107. 权利要求97的衍生物, 其中每个L包含化学式16连接体元件。

108. 权利要求107的衍生物, 其中k=1且l=1。

109. 权利要求97的衍生物, 其中每个L包含化学式17连接体元件。

110. 权利要求97的衍生物, 其中每个L由经由酰胺键并按所示顺序相互连接的一个化学式17连接体元件、一个化学式15连接体元件和四个化学式16连接体元件组成, 其中所示顺序为: 化学式17-化学式15-4x化学式16; 在所述化学式15连接体元件中q为1, m为2, 且n为0; 在所述化学式16连接体元件中k为1且l为1。

111. 权利要求97的衍生物, 其中每个L由经由酰胺键并按所示顺序相互连接的一个化学式17连接体元件、一个化学式15连接体元件和6个化学式16连接体元件组成, 其中所示顺序为: 化学式17-化学式15-6x化学式16; 在所述化学式15连接体元件中q为1, m为2, 且n为0;

在所述化学式16连接体元件中k为1且l为1。

112. 权利要求97的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,其中GLP1包含式IIId的肽:

Xaa₇-Trp-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈-Xaa₃₉-Xaa₄₀-Xaa₄₁-Xaa₄₂,

其中

Xaa₇为L-组氨酸;

Xaa₁₂为Phe;

Xaa₁₆为Val;

Xaa₁₈为Ser;

Xaa₁₉为Tyr;

Xaa₂₀为Leu;

Xaa₂₂为Gly或Glu;

Xaa₂₃为Gln;

Xaa₂₅为Ala;

Xaa₂₆为Arg或Lys;

Xaa₂₇为Glu或Lys;

Xaa₃₀为Ala或Glu;

Xaa₃₁为Trp;

Xaa₃₃为Val;

Xaa₃₄为Arg;

Xaa₃₅为Gly;

Xaa₃₆为Arg或Lys;

Xaa₃₇为Gly、Lys或Pro;且

Xaa₃₈为Glu、Lys或不存在;

条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆、Xaa₃₇或Xaa₃₈中的至少一个为Lys。

113. 权利要求112的衍生物,其中Xaa₇为L-组氨酸;Xaa₁₂为Phe;Xaa₁₆为Val;Xaa₁₈为Ser;Xaa₁₉为Tyr;Xaa₂₀为Leu;Xaa₂₂为Glu;Xaa₂₃为Gln;Xaa₂₅为Ala;Xaa₂₆为Arg;Xaa₂₇为Glu;Xaa₃₀为Ala;Xaa₃₁为Trp;Xaa₃₃为Val;Xaa₃₄为Arg;Xaa₃₅为Gly;Xaa₃₆为Arg;Xaa₃₇为Lys或Pro;且Xaa₃₈为Lys或不存在;条件是Xaa₃₇和Xaa₃₈中的至少一个为Lys。

114. 权利要求112的衍生物,其中GLP-1为式IIId的肽。

115. 权利要求97的衍生物,其中P-L附接至Lys₃₇或Lys₃₈。

116. 权利要求97的衍生物,其中BL为化学式19,其中u和v独立地表示0-5范围内的整数,条件是当u为0时,则v为1-5范围内的整数,且当v为0时,则u为1-5范围内的整数。

117. 权利要求116的衍生物,其中u为0,且v为4。

118. 权利要求116的衍生物,其中u为4,且v为0。

119. 权利要求97的衍生物,其中当存在时,PL包含化学式16。

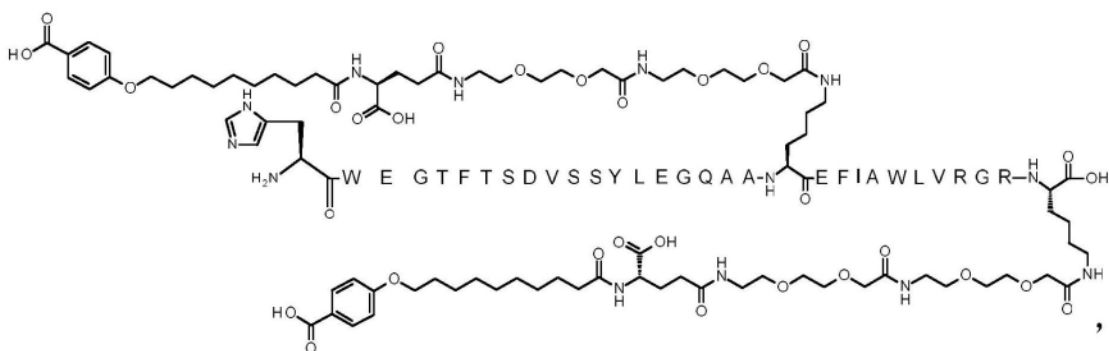
120. 权利要求119的衍生物,其中PL包含0至2次化学式16连接体元件。

121. 权利要求119-120中任一项的衍生物,其中k和l中的每一个独立地为1-5。
122. 权利要求120的衍生物,其中k和l中的每一个为1。
123. 权利要求119、120和122中任一项的衍生物,其中PL包含0次化学式16,即不包含化学式16。
124. 权利要求119、120和122中任一项的衍生物,其中PL不存在。
125. 权利要求97的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,该衍生物具有式Id:
(P-L)₂>BL-GLP1,
其中>BL为如权利要求1所限定的分支连接体。
126. 权利要求119、120和122中任一项的衍生物,其中PL存在,且为必需的。
127. 权利要求126的衍生物,其中PL包含两次化学式16。
128. 权利要求127的衍生物,其中PL由两次化学式16组成。
129. 权利要求97的衍生物,其中BL为化学式20,其中每个w表示0-2范围内的整数。
130. 权利要求129的衍生物,其中w为1。
131. 权利要求129-130中任一项的衍生物,其中PL存在。
132. 权利要求131的衍生物,其中PL包含化学式16。
133. 权利要求132的衍生物,其中PL包含两次化学式16连接体元件。
134. 权利要求132的衍生物,其中PL由两次化学式16连接体元件组成。
135. 权利要求132-134中任一项的衍生物,其中k和l中的每一个独立地为1-5。
136. 权利要求135的衍生物,其中k和l中的每一个为1。
137. 权利要求1、2、4、7-8、10-13、15-19、21-23、25-26、29-34、37-38、42-44、46-47、50-55、57-65、68-71、75-90、92-94、98-99、103-120、122、125、127-130、132-134和136中任一项的衍生物,其中所述GLP-1类似物选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:20;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。
138. 选自以下的衍生物:
N{ε-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-[10-(3-羧基苯氧基)癸酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基],N{ε-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-[10-(3-羧基苯氧基)癸酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-[Trp8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-肽,
化学式21:

化学式22:

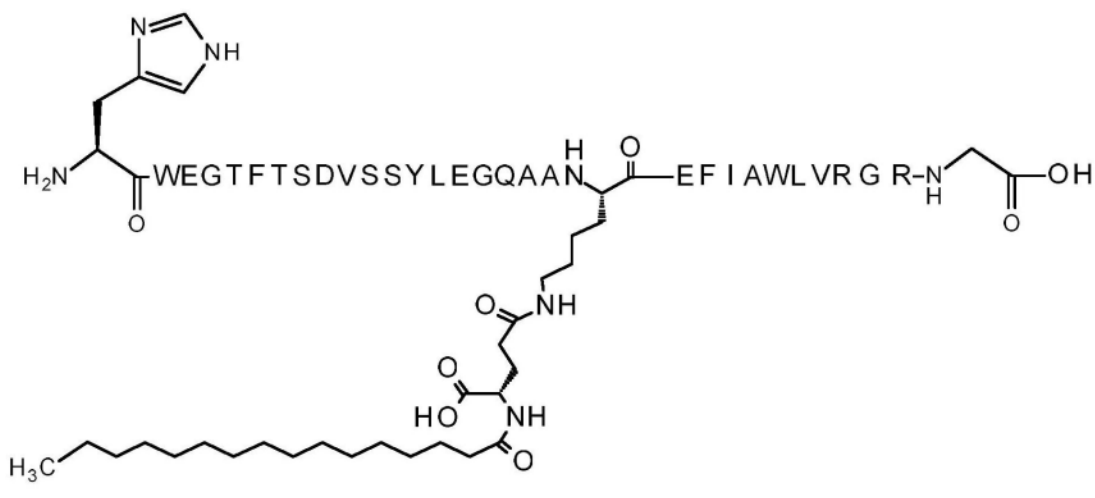
化学式23:

化学式24:



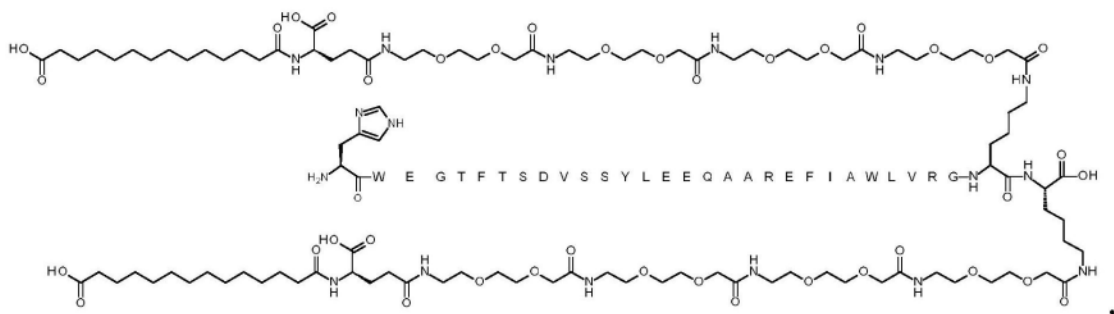
N{ε-26} - [(4S)-4-羧基-4-(十六碳酰基氨基)丁酰基] - [Trp8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽,

化学式25:



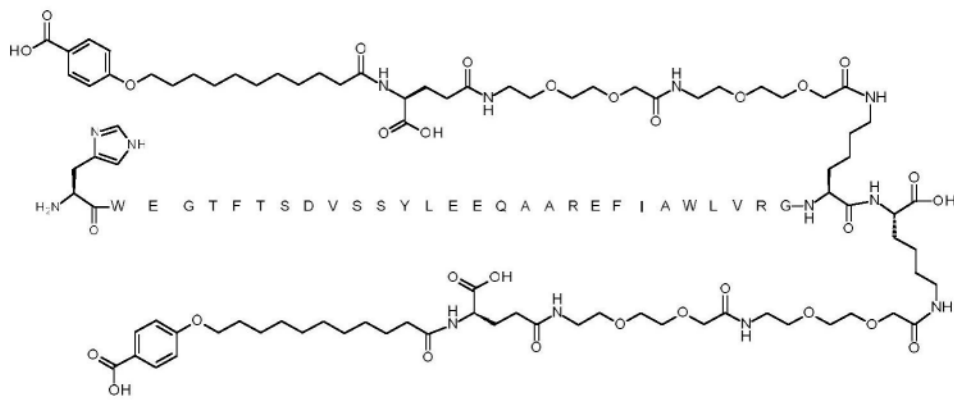
N{ε-36} - [2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-(13-羧基十三碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基], N{ε-37} - [2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-(13-羧基十三碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基] - [Trp8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37] - GLP-1-(7-37)-肽,

化学式26:

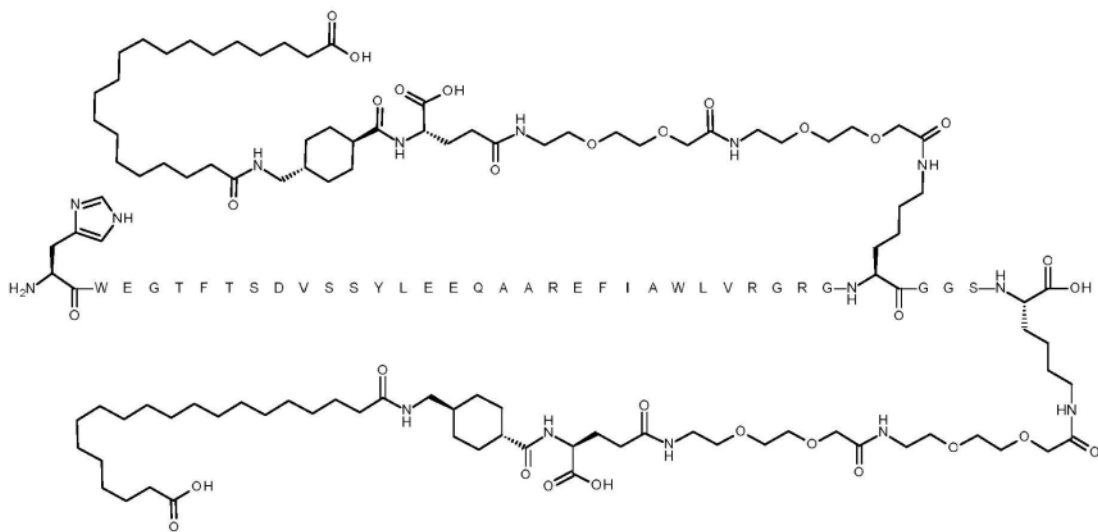


N{ε-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-[11-(4-羧基苯氧基)十一碳酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基], N{ε-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-[11-(4-羧基苯氧基)十一碳酰基氨基]丁酰基]氨基]乙

化学式27:



化学式28:



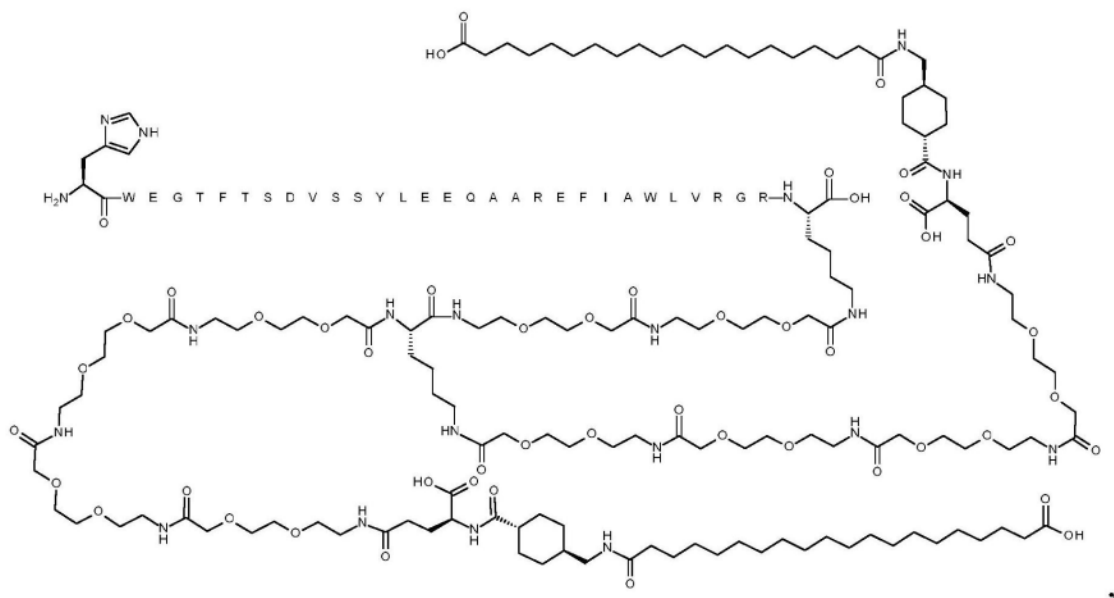
化学式29:



化学式30:

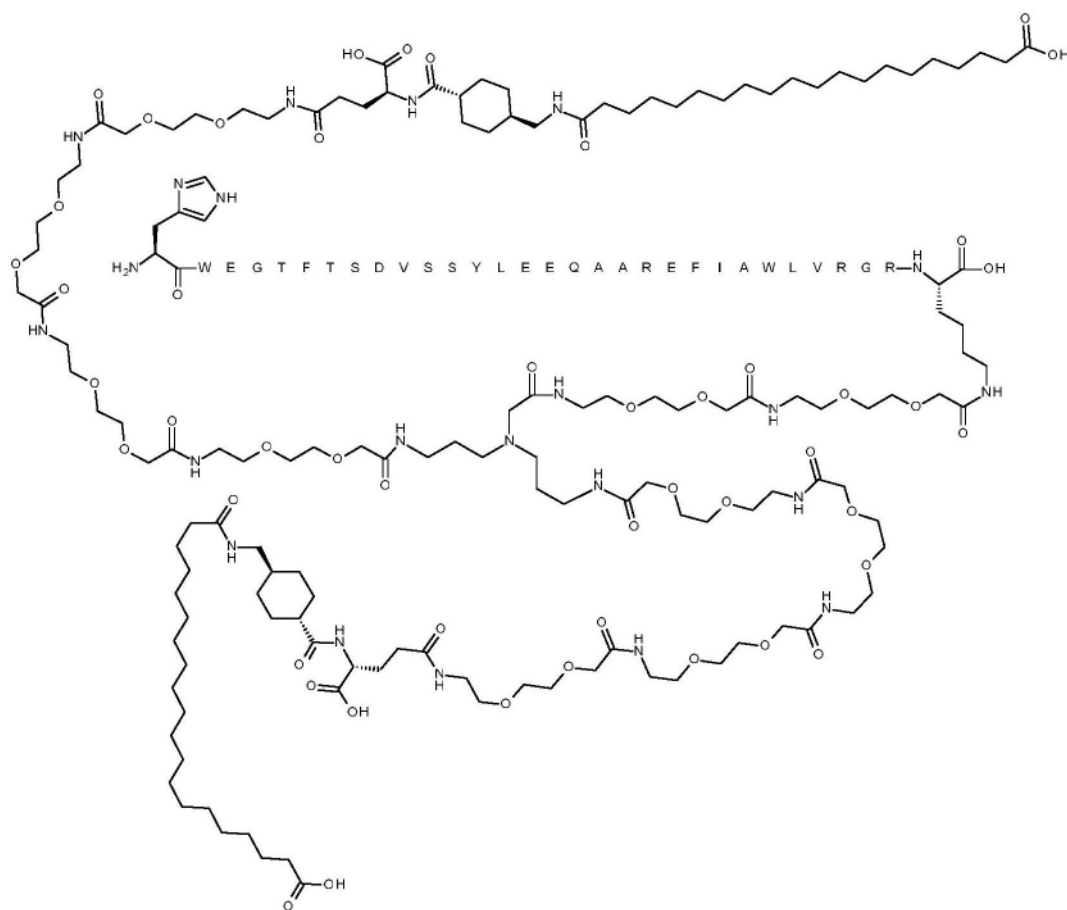


[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-[[4-[(19-羧基十九碳酰基氨基)甲基]环己烷羧基]氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]己酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-[Trp8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-肽,化学式31:



[3-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-[[4-[(19-羧基十九碳酰基氨基)甲基]环己烷羰基]氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]丙基]氨基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-[Trp8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys37]-GLP-1-(7-37)-肽,

化学式32:



或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

139. 权利要求1、2、4、7-8、10-13、15-19、21-23、25-26、29-34、37-38、42-44、46-47、50-55、57-65、68-71、75-90、92-94、98-99、103-120、122、125、127-130、132-134、136和138中任一项的衍生物,其为GLP-1衍生物。

140. 选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:20的GLP-1类似物;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

141. 制备权利要求1-140中任一项的衍生物或类似物的方法,其包括重组产生GLP-1类似物的步骤,该GLP-1类似物在对应于GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处具有Trp。

142. 权利要求141的方法,其进一步包括纯化重组产生的GLP-1类似物的步骤。

143. 权利要求141-142中任一项的方法,其进一步包括将取代基附接至所述GLP-1类似物的Lys残基上的步骤,由此产生该GLP-1类似物的衍生物。

144. 权利要求143的方法,其中附接一个或两个取代基。

145. 权利要求144的方法,其中一个取代基附接至一个Lys残基。

146. 权利要求144的方法,其中两个取代基附接至两个Lys残基,每个Lys残基上附接一个取代基。

147. 权利要求144的方法,其中两个取代基经由分支基团B附接至一个Lys残基。

148. 权利要求143的方法,其进一步包括纯化所述GLP-1衍生物的步骤。

149. 权利要求141-142和144-148中任一项的方法,其用于制备权利要求1-140中任一项所限定的GLP-1类似物或衍生物。

150. 药物组合物,其包含根据权利要求1-140中任一项的衍生物或类似物和药学上可接受的赋形剂。

151. 根据权利要求1-140中任一项的衍生物或类似物在制备药物中的用途,该药物用于

(i) 预防和/或治疗所有形式的糖尿病,如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、青年成熟发作型糖尿病、妊娠糖尿病,和/或用于减少HbA1C;

(ii) 延缓或预防糖尿病进展,如2型糖尿病的进展,延缓糖耐量减低(IGT)进展成需要胰岛素的2型糖尿病,延缓或预防胰岛素抵抗,和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;

(iii) 改善 β -细胞功能,如减少 β -细胞凋亡、提高 β -细胞功能和/或 β -细胞质量,和/或恢复 β -细胞的葡萄糖敏感性;

(iv) 预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症,如阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化;

(v) 例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调,如肥胖症;治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症;减少胃运动;延缓胃排空;增加身体活动;和/或预防和/或治疗肥胖症的共病,如骨关节炎和/或尿失禁;

(vi) 预防和/或治疗糖尿病并发症,如血管病;神经病,包括周围神经病变;肾病;和/或视网膜病;

(vii) 改善脂质参数,如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质;增加HDL;降低小而密的LDL;降低VLDL;降低甘油三酯;降低胆固醇;降低人的脂蛋白a血浆水平;在体外和/或体内抑制载脂蛋白a的生成;

(viii) 预防和/或治疗心血管疾病,如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行或闭塞性动脉硬化、舒张功能障碍和/或收缩功能障碍;和/或降低血压,如降低收缩压;

(ix) 预防和/或治疗胃肠疾病,如炎性肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎;消化不良;和/或胃溃疡;和/或炎症,如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮;

(x) 预防和/或治疗危重病,如治疗危重患者、危重病多发性肾病患者和/或潜在的危重病多发性肾病患者;预防危重病或危重病多发性肾病的进展;预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征;预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可能性;和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢;

(xi) 预防和/或治疗多囊卵巢综合征;

(xii) 预防和/或治疗脑部疾病,如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤;

(xiii) 预防和/或治疗睡眠呼吸暂停;和/或

(xiv) 预防和/或治疗滥用,如酒精滥用和/或药物滥用。

GLP-1衍生物及其用途

技术领域

[0001] 本发明涉及胰高血糖素样肽1 (GLP-1) 的衍生物和类似物、其制备及其药学用途。本发明的GLP-1类似物和衍生物在对应于GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处具有Trp。本发明衍生物具有一个或两个经由可选的分支基团 (B) 附接至该GLP-1类似物的Lys残基上的取代基 (P-L), 其中P为延长部分, 且L为连接体。

[0002] 序列表的援引并入

[0003] 序列表为21084个字节, 创建于2017年2月28日, 并且通过引用并入本文。

[0004] 发明背景

[0005] CN 101255191 A公开了许多GLP-1类似物及其微波促进的固相合成方法, 其在实施例3中包括Trp8-GLP-1 (7-36) 酰胺, 即该中国申请的序列表中的SEQ ID NO:4。

[0006] 在例如W0 2012/140117 A1和W0 2014/202727 A1 (分别不具有和具有分支基团) 中公开了GLP-1衍生物, 其具有两个附接至多个GLP-1类似物的一个或两个Lys残基上的取代基。

[0007] Rolf Mentlein的Regulatory Peptides第85卷 (1999), 第9-24页是关于二肽基肽酶IV (CD26) - 在调节肽灭活中的作用的综述。

[0008] Deacon等人的Diabetologia第41卷 (1998), 第271-278页讨论了GLP-1的二肽基肽酶IV抗性类似物, 其具有延长的代谢稳定性和改善的生物活性。

发明内容

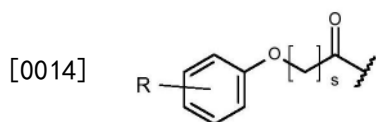
[0009] 本发明涉及GLP-1类似物和衍生物, 其在对应于GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处具有Trp。本发明衍生物具有一个或两个经由可选的分支基团 (B) 附接至该GLP-1类似物的Lys残基上的取代基 (P-L), 其中P为延长部分, 且L为连接体。

[0010] 更具体地, 本发明涉及式I的衍生物, 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯:

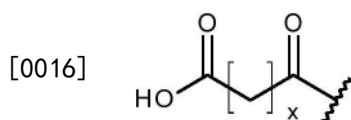
[0011] $(P-L)_U-B-GLP1$,

[0012] 其中GLP1是在对应于GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处具有Trp的GLP-1类似物, (P-L) 为经由可选的分支基团 (B) 附接至该GLP-1类似物的Lys残基上的取代基, 并且其包含延长部分 (P) 和连接体 (L), U表示该衍生物中取代基 (P-L) 的数目, 并且其为1或2, 其中每个取代基 (P-L) 包含: (i) 选自以下的延长部分 (P):

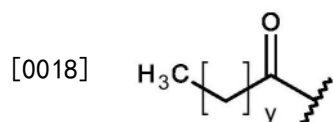
[0013] 化学式10:



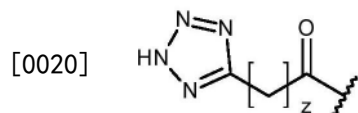
[0015] 化学式11:



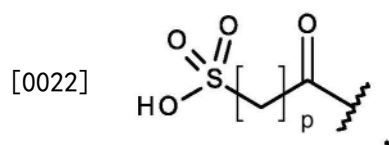
[0017] 化学式12:



[0019] 化学式13:

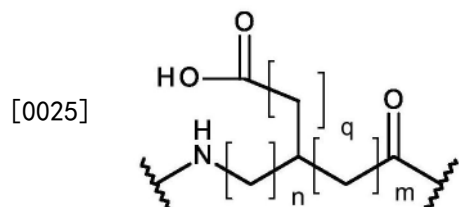


[0021] 化学式14:

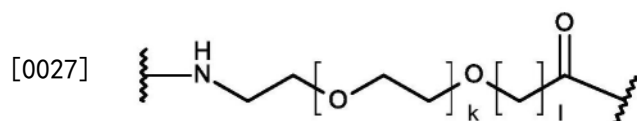


[0023] 和(ii) 包含至少一个选自以下的连接体元件的连接体(L):

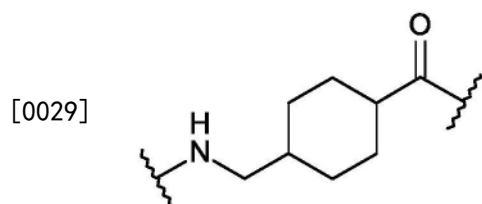
[0024] 化学式15:



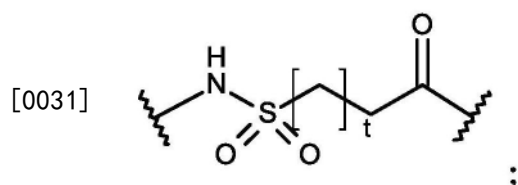
[0026] 化学式16:



[0028] 化学式17:

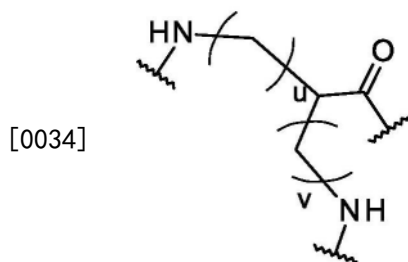


[0030] 化学式18:

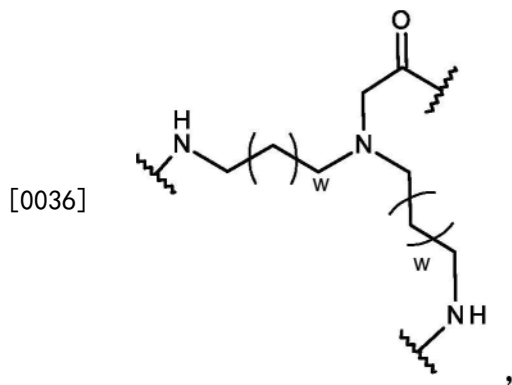


[0032] 其中R为-COOH; s、x、y、z和p中的每一个独立地表示8-20范围内的整数; n、m和q中的每一个独立地表示0-4范围内的整数; 且k、l和t中的每一个独立地表示1-5范围内的整数; 并且(iii) 其中分支基团(B) (如果存在) 包含选自以下的分支连接体(BL):

[0033] 化学式19:



[0035] 化学式20:



[0037] 其中u和v独立地表示0-5范围内的整数,且每个w表示0-2范围内的整数,条件是当u为0时,v为1-5范围内的整数,且当v为0时,u为1-5范围内的整数。

[0038] 本发明还涉及许多具体的GLP-1衍生物及其药学上可接受的盐、酰胺和酯,这些衍生物的结构式作为编号21-32的化学式包括于本文中。

[0039] 此外,本发明涉及许多具体的GLP-1类似物,其包含SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:15的氨基酸1-275、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:20;以及其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0040] 本发明还涉及这些类似物和衍生物的药物组合物和用途,及其制备方法,该方法包括重组产生GLP-1类似物的步骤,该GLP-1类似物在对应于GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处具有Trp。

[0041] 天然人GLP-1 (7-37) 的氨基酸序列作为SEQ ID NO:1包含在序列表中。SEQ ID NO 4、5、7、9、11、15、16、18和20为本发明的具体GLP-1类似物。SEQ ID NO 2-3、6、8、10、12、13、14、17、19和21为比较GLP-1化合物的具体GLP-1类似物。

[0042] 令人惊讶的是,本发明的类似物和衍生物对DPP-IV降解极其稳定。

[0043] 另外或备选地,本发明的类似物和衍生物能够与GLP-1受体结合。

[0044] 另外或备选地,本发明的类似物和衍生物能够激活GLP-1受体。

[0045] 另外或备选地,本发明衍生物的肽部分可以完全重组地产生。

[0046] 另外或备选地,本发明的类似物和衍生物在体内是有活性的。

附图说明

[0047] 图1示出了适用于重组产生本发明GLP-1衍生物的肽部分的酵母表达质粒。

[0048] 描述

[0049] 在下文中,希腊字母可由其符号或相应的书写名称表示,例如: α =alpha; β =beta; ϵ =epsilon; γ =gamma; δ =delta; ω =omega,等等。另外,希腊字母 μ 可用“u”表示,

例如在 $\mu\text{l}=\text{ul}$ 中或在 $\mu\text{M}=\text{uM}$ 中。

[0050] 化学式中的星号(*)或波浪线表示i) 附接点, ii) 基团, 和/或iii) 未共享的电子。

[0051] 任何立体活性连接体元件可以是D-型、L-型、D/L-型或是外消旋混合物。

[0052] 当在本文中使用时, 单词“一”通常表示“一个或多个”。例如, 本发明衍生物(被定义为包含在对应于位置8的位置处具有Trp的GLP-1类似物, 且其中“一”指定的取代基附接至“一”Lys残基)可以具有一个或多个附接至一个或多个Lys残基上的取代基。

[0053] 本文公开的任何间隔通常是封闭式的, 即包括端点。例如, 附接至本发明Lys残基上的取代基中的连续 $-\text{CH}_2-$ 基团的数目在8-20的范围内, 这意为8至20, 包括两个端值。

[0054] 除非在说明书中另有说明, 否则以单数形式呈现的术语通常还包括复数情况。

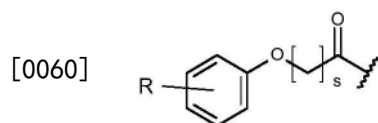
[0055] 本发明还涉及如本文所公开的衍生物、GLP-1类似物、制备方法和药物组合物及用途, 其中开放式术语如“包含”和“包括”可用封闭式术语如“由...组成”等代替。

[0056] 在第一方面, 本发明涉及式I衍生物, 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯:

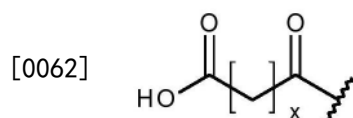
[0057] $(\text{P-L})_U\text{-B-GLP1}$,

[0058] 其中GLP1是在对应于GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处具有Trp的GLP-1类似物, (P-L) 为经由可选的分支基团 (B) 附接至该GLP-1类似物的Lys残基上的取代基, 并且其包含延长部分 (P) 和连接体 (L), U表示该衍生物中取代基 (P-L) 的数目, 并且其为1或2, 其中每个取代基 (P-L) 包含: (i) 选自以下的延长部分 (P):

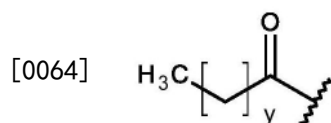
[0059] 化学式10:



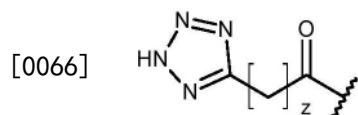
[0061] 化学式11:



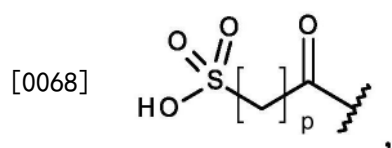
[0063] 化学式12:



[0065] 化学式13:



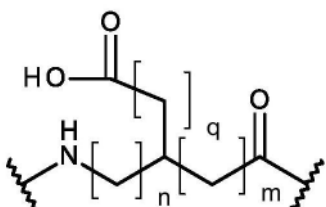
[0067] 化学式14:



[0069] 和(ii) 包含至少一个选自以下的连接体元件的连接体 (L):

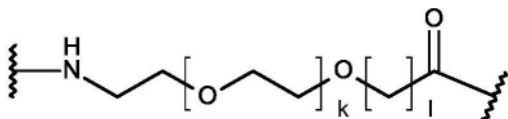
[0070] 化学式15:

[0071]



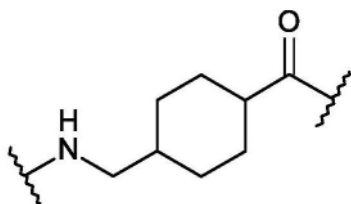
[0072] 化学式16:

[0073]



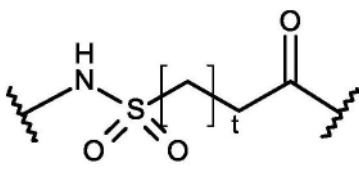
[0074] 化学式17:

[0075]



[0076] 化学式18:

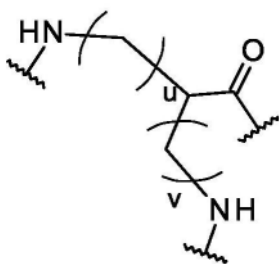
[0077]



[0078] 其中R为-COOH; s、x、y、z和p中的每一个独立地表示8-20范围内的整数; n、m和q中的每一个独立地表示0-4范围内的整数; 且k、l和t中的每一个独立地表示1-5范围内的整数; 并且(iii) 其中所述分支基团(B) (如果存在) 包含选自以下的分支连接体(BL):

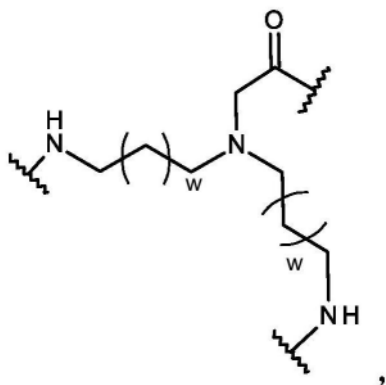
[0079] 化学式19:

[0080]



[0081] 化学式20:

[0082]



[0083] 其中u和v独立地表示0-5范围内的整数,且每个w表示0-2范围内的整数,条件是当u为0时,v为1-5范围内的整数,且当v为0时,u为1-5范围内的整数。

[0084] 本发明还涉及许多具体的GLP-1衍生物及其药学上可接受的盐、酰胺和酯,这些衍生物的结构式作为编号21-32的化学式包括于本文中。

[0085] 在其第二个方面,本发明涉及许多具体的GLP-1类似物,其选自SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:15的氨基酸1-275、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:20;以及其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0086] 在其第三个方面,本发明涉及包含这类衍生物或类似物以及药学上可接受的赋形剂的药物组合物。

[0087] 在其第四个方面,本发明涉及用作药物的这类衍生物或类似物。在一些实施方案中,所述衍生物或类似物用于(i)预防和/或治疗所有形式的糖尿病,如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY(青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病,和/或用于减少HbA1C;(ii)延缓或预防糖尿病进展,如2型糖尿病的进展,延缓糖耐量减低(IGT)进展成需要胰岛素的2型糖尿病,延缓或预防胰岛素抵抗,和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;(iii)改善 β -细胞功能,如减少 β -细胞凋亡、提高 β -细胞功能和/或 β -细胞质量,和/或恢复 β -细胞的葡萄糖敏感性;(iv)预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症,如阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化;(v)例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调,如肥胖症;治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症;减少胃运动;延缓胃排空;增加身体活动;和/或预防和/或治疗肥胖症的共病,如骨关节炎和/或尿失禁;(vi)预防和/或治疗糖尿病并发症,如血管病;神经病,包括周围神经病变;肾病;和/或视网膜病;(vii)改善脂质参数,如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质;增加HDL;降低小而密的LDL;降低VLDL;降低甘油三酯;降低胆固醇;降低人的脂蛋白a(Lp(a))血浆水平;在体外和/或体内抑制载脂蛋白a(apo(a))的生成;(viii)预防和/或治疗心血管疾病,如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症、心脏病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行(闭塞性动脉硬化)、舒张功能障碍和/或收缩功能障碍;和/或降低血压,如降低收缩压;(ix)预防和/或治疗胃肠疾病,如炎性肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎;消化不良;和/或胃溃疡;和/或炎症,如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮;(x)预防和/或治疗危重病,如治疗危重患者、危重病多发性肾病(Critical illness poly-nephropathy,CIPNP)患者和/或潜在的CIPNP患者;预防危重病或CIPNP的进展;预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征(SIRS);预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可能性;和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢;(xi)预防和/或治疗多囊卵巢综合征(PCOS);(xii)预防和/或治疗脑部疾病,如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤;(xiii)预防和/或治疗睡眠呼吸暂停;和/或(xiv)预防和/或治疗滥用,如酒精滥用和/或药物滥用。

[0088] 在其第五个方面,本发明涉及制备这类类似物和衍生物的方法,其包括重组产生GLP-1类似物的步骤,该GLP-1类似物在对应于GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处具有Trp。

[0089] GLP-1受体激动剂

[0090] 受体激动剂可被定义为与受体结合并引发天然配体典型的响应的类似物。完全激动剂可被定义为引发与天然配体相同量级的响应的激动剂(参见例如,“Principles of Biochemistry”, AL Lehninger, DL Nelson, MM Cox, 第二版, Worth Publishers, 1993, 第763页)。

[0091] 因此,例如,“GLP-1受体激动剂”可被定义为能够与GLP-1受体结合并能够激活该GLP-1受体的化合物。而“完全”GLP-1受体激动剂可被定义为能够引发与天然GLP-1相似量级的GLP-1受体响应的GLP-1受体激动剂。

[0092] 在一些实施方案中,本发明GLP-1类似物为GLP-1受体激动剂。在一些实施方案中,本发明GLP-1类似物为完全GLP-1受体激动剂。在一些实施方案中,本发明GLP-1衍生物为GLP-1受体激动剂。在一些实施方案中,本发明GLP-1衍生物为完全GLP-1受体激动剂。

[0093] 结构特征

[0094] GLP-1类似物

[0095] 如本文所用的术语“GLP-1类似物”是指人胰高血糖素样肽-1 (GLP-1 (7-37)) 的类似物(或变体),人胰高血糖素样肽-1的序列作为SEQ ID NO:1包含在序列表中。具有SEQ ID NO:1序列的肽还可被称为“天然”GLP-1。

[0096] 本发明GLP-1类似物在对应于GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处具有Trp。

[0097] 在一些实施方案中,本发明GLP-1类似物为具有30至36个氨基酸残基的GLP-1 (7-37) 的类似物。在一些实施方案中,本发明GLP-1类似物与另一种蛋白质任选地经由氨基酸连接体而融合。在一些实施方案中,所述另一种蛋白质为IgG-Fc蛋白质。

[0098] 本发明GLP-1类似物中氨基酸残基的编号(如“位置8”)遵循本领域中对天然GLP-1的已确立的实践,即,第一个(N-末端)氨基酸残基被编号为或对应于位置编号7,而朝向C-末端的下游的后续氨基酸残基被编号为8、9、10等,直到最后一个(C-末端)氨基酸残基。在天然GLP-1中,C-末端氨基酸残基为Gly,编号为37。

[0099] 编号在序列表中不同,其中SEQ ID NO:1的第一个氨基酸残基(His)被指定为第1号,而最后一个(Gly)被指定为第31号。然而,如上所述,在此我们遵循本领域中已确立的编号实践。

[0100] 在本发明第二个方面(本发明GLP-1类似物)的一些实施方案中,所述GLP-1类似物包含(或是)式II的肽,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯:

[0101] Xaa₇-Trp-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈-Xaa₃₉-Xaa₄₀-Xaa₄₁-Xaa₄₂,其中Xaa₇为L-组氨酸、(S)-2-羟基-3-(1H-咪唑-4-基)-丙酸、D-组氨酸、脱氨基组氨酸、高组氨酸、N^α-乙酰基-组氨酸、N^α-甲酰基-组氨酸、N^α-甲基-组氨酸、3-吡啶基丙氨酸、2-吡啶基丙氨酸或4-吡啶基丙氨酸;Xaa₁₂为Phe或Leu;Xaa₁₆为Val或Leu;Xaa₁₈为Ser、Arg、Val或Leu;Xaa₁₉为Tyr或Gln;Xaa₂₀为Leu或Met;Xaa₂₂为

Gly或Glu;Xaa₂₃为Gln、Glu或Arg;Xaa₂₅为Ala或Val;Xaa₂₆为Arg或Lys;Xaa₂₇为Glu、Lys或Leu;Xaa₃₀为Ala、Glu或Arg;Xaa₃₁为Trp或His;Xaa₃₃为Val;Xaa₃₄为Arg、His、Asn或Gln;Xaa₃₅为Gly或Ala;Xaa₃₆为Arg、Lys或Gly;Xaa₃₇为Gly、Lys、Pro或不存在;Xaa₃₈为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys或不存在;Xaa₃₉为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro或不存在;Xaa₄₀为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro或不存在;Xaa₄₁为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro或不存在;且Xaa₄₂为Lys或不存在;条件是如果Xaa₃₇、Xaa₃₈、Xaa₃₉、Xaa₄₀、Xaa₄₁或Xaa₄₂中的一个不存在,则每个后续的氨基酸残基也不存在,且条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆、Xaa₃₇、Xaa₃₈或Xaa₄₂中的至少一个为Lys。

[0102] 在一些实施方案中,本发明GLP-1类似物包含(或是)式IIa、IIb、IIc或IIId中任一个的序列,如标题为“特定实施方案”的部分中所定义的;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。在一些实施方案中,本发明GLP-1类似物包含或选自SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:15的氨基酸1-275、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:20;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0103] 从以上式II可以明显看出,C-末端氨基酸可以是Xaa₃₆、Xaa₃₇、Xaa₃₈、Xaa₃₉、Xaa₄₀、Xaa₄₁或Xaa₄₂,即编号分别为36、37、38、39、40、41或42。存在C-末端氨基酸Xaa₃₈的本发明GLP-1类似物可以被称为与天然GLP-1相比包含一个氨基酸的添加(或延伸)。同样,C-末端氨基酸为Xaa₃₉的本发明GLP-1类似物可以被称为与天然GLP-1相比包含两个氨基酸(即Xaa₃₈和Xaa₃₉)的添加;等等。

[0104] 本发明衍生物的GLP-1类似物中的每一种可参照以下两方面来描述:i)天然GLP-1(7-37)中与改变的氨基酸残基相对应的氨基酸残基的编号(即天然GLP-1中的相应位置),和ii)实际改变。

[0105] 换言之,本发明的GLP-1类似物可以参照天然GLP-1(7-37)肽来描述,即描述为与天然GLP-1(7-37)(SEQ ID NO:1)相比许多氨基酸残基已被改变的其变体。这些改变可独立地表示一个或多个氨基酸置换、添加和/或缺失。

[0106] 以下是适当的类似物命名的非限制性实例。

[0107] 并入实施例1衍生物中的GLP-1类似物在此可以被称为(8W,22E,26R,34R,36K,37K)GLP-1(7-37)。当该实施例1类似物与天然GLP-1比对时,该类似物中根据该比对对应于天然GLP-1位置8的位置处的氨基酸为W,该类似物中对应于天然GLP-1位置22的位置处的氨基酸为E,该类似物中对应于天然GLP-1位置26的位置处的氨基酸为R,该类似物中对应于天然GLP-1位置34的位置处的氨基酸为R,该类似物中对应于天然GLP-1位置36的位置处的氨基酸为K,且该类似物中对应于天然GLP-1位置37的位置处的氨基酸为K。该类似物中的所有其他氨基酸与天然GLP-1中的相应氨基酸相同。

[0108] 作为另一个实例,并入实施例3衍生物中的GLP-1类似物在此可以被称为(8W,22E,26R,27K,30E,34R,36K,38E,39G)GLP-1(7-37)。当该实施例3类似物与天然GLP-1比对时,该类似物中根据该比对对应于天然GLP-1位置8的位置处的氨基酸为W,该类似物中对应于天然GLP-1位置22的位置处的氨基酸为E,该类似物中对应于天然GLP-1位置26的位置处的氨基酸为R,该类似物中对应于天然GLP-1位置27的位置处的氨基酸为K,该类似物中对应于天然GLP-1位置30的位置处的氨基酸为E,该类似物中对应于天然GLP-1位置34的位置处的氨基酸为R,该类似物中对应于天然GLP-1位置36的位置处的氨基酸为K,然后实施例3类似物包含二肽E-G的C-末端添加(或延伸),对此而言,其被称为分别对应于天然GLP-1中的位置

38-39.该类似物中的每一个其他氨基酸都与天然GLP-1中的相应氨基酸相同。

[0109] 通式II以类似的方式来理解。

[0110] 与SEQ ID NO:1相比,“包含”某些指定改变的类似物可包含进一步的改变。在特定的实施方案中,该类似物“具有”指定的改变,或者“是”指定的类似物,在这种情况下与SEQ ID NO:1相比没有进一步的改变。

[0111] 由以上可以明显看出,氨基酸残基可由其全名、其单字母编码和/或其三字母编码来表示。这三种方式完全等效。

[0112] 本文使用表述“等同于...的位置”或“相应位置”来参照参考序列如天然GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 表征变异GLP-1 (7-37) 序列中的变化位点。等同或相应位置,以及变化编号,例如通过简单的书写和目视检查来容易地推断;以及/或者可使用标准蛋白质或肽比对程序,如基于Needleman-Wunsch算法的“align”。该算法在Needleman,S.B.和Wunsch,C..D., (1970), Journal of Molecular Biology,,48::443-453中描述,而align程序由Myers和W.Miller在“Optimal Alignments in Linear Space”CABIOS (computer applications in the biosciences) (1988) 4::1111-17中描述。为了比对,可以使用默认的打分矩阵BLOSUM62和默认的单位矩阵(identity matrix),并可将空位中的第一残基的罚分设置为-12,或优选-10,而将空位中的其他残基的罚分设置为-2,或优选-0.5。

[0113] 以下插入了SEQ ID NO:1的天然GLP-1与SEQ ID NO::9的其类似物(8W,22E,26R,27K,30E,34R,,36K,,38E,,39G)的这类比对的一个例子:

[0114] #=====

[0115] #

[0116] #比对的序列:2

[0117] #1:SEQ_ID_NO_1

[0118] #2:SEQ_ID_NO_9

[0119] #矩阵:EBLOSUM62

[0120] #空位罚分:10.0

[0121] #延伸罚分:0.5

[0122] #

[0123] #长度:33

[0124] #同一性:24/33 (72.7%)

[0125] #相似性:28/33 (84.8%)

[0126] #空位:2/33 (6.1%)

[0127] #得分:128.0

[0128] #

[0129] #

[0130] #=====

| | | | |
|--------|-------------|-------------------------------------|----|
| [0131] | SEQ_ID_NO_1 | 1 HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRG-- | 31 |
| | | . : : : : : | |
| | SEQ_ID_NO_9 | 1 HWEGTFTSDVSSYLEEQAAKFIEWLVRGKGEG | 33 |

[0132] 当在该比对所示的位置编号(例如,序列1中的“1”和“31”,以及序列2中的“1”和“33”)上加6时,得到本文所用的位置编号。例如,在序列1(与SEQ ID NO:1相同)中,N-末端氨基酸(H)的位置编号为7,而C-末端氨基酸(G)的编号为37。关于序列2,N-末端氨基酸(H)的编号为7,而C-末端氨基酸(G)的编号为39。

[0133] 如果在序列中包含没有单字母代码的特定氨基酸残基等(如脱氨基组氨酸(Imp),出于比对的目的,可将它们替换为例如X。如需要,以后可以手动改正X。

[0134] 以下是由上述比对可以推出的非限制性实例:

[0135] 作为一个实例,可以推断出与序列1相比,序列2具有9个氨基酸改变(即,在比对比中示出句号(“.”)、冒号(“:”)或水平连字符(“-”)的所有那些位置处)。

[0136] 作为另一个实例,可以推断出,例如,第2号序列包含39G,因为它在根据该比对对应于参考序列(序列1,SEQ ID NO:1)位置39的位置处具有G。

[0137] 类似地,序列2与序列1相比的其他所有改变都可从该比对推出。

[0138] 在下文中,没有说明光学异构体的本发明GLP-1类似物的所有氨基酸都应被理解是指L-异构体(除非另外说明)。

[0139] 用于并入本发明衍生物中的本发明GLP-1类似物的另外一些实施方案,在标题为“特定实施方案”、“其他特定实施方案”和“另外的特定实施方案”的部分中公开。

[0140] GLP-1衍生物

[0141] 如本文在GLP-1类似物的情境中所用的,术语“衍生物”意指化学修饰的GLP-1类似物,其中一个或多个取代基已经共价附接至该类似物。

[0142] 在一些实施方案中,所述取代基可以被称为侧链。

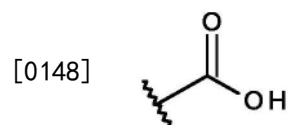
[0143] 本发明衍生物包含在对应于GLP-1(7-37)(SEQ ID NO:1)位置8的位置处具有Trp的GLP-1类似物,并且包含至少8个连续-CH₂-基团和至少一个pKa<7的官能团(FG)的取代基附接至该GLP-1类似物的Lys残基。

[0144] 在一些实施方案中,所述衍生物包含一个或两个这样的取代基。

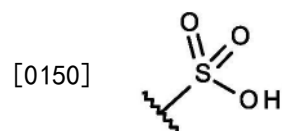
[0145] 在一些实施方案中,所述取代基中的连续-CH₂-基团的数目在8-20的范围内。

[0146] 在一些实施方案中,所述官能团(FG)选自化学式1、化学式2和化学式4:

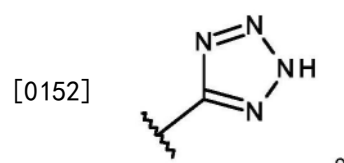
[0147] 化学式1:



[0149] 化学式2:



[0151] 化学式4:



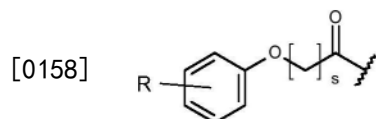
[0153] 在一些实施方案中, pK_a 为 CH_3 -FG 水溶液的 pH。

[0154] 在一些实施方案中, 本发明的第一方面涉及式 I 的衍生物, 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯: $(P-L)_U-B-GLP1$,

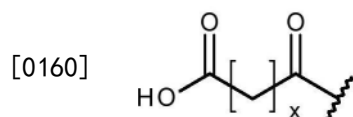
[0155] 其中 GLP1 为在对应于 GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置 8 的位置处具有 Trp 的 GLP-1 类似物, (P-L) 为经由可选的分支基团 (B) 附接至该 GLP-1 类似物的 Lys 残基上的取代基, 并且其包含延长部分 (P) 和连接体 (L), U 表示该衍生物中取代基 (P-L) 的数目, 并且其为 1 或 2。

[0156] 在一些实施方案中, 所述一个或两个取代基 (P-L) 各自包含选自化学式 10、化学式 11、化学式 12、化学式 13 和化学式 14 的延长部分 (P):

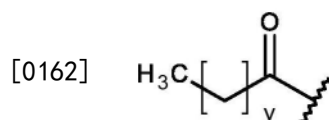
[0157] 化学式 10:



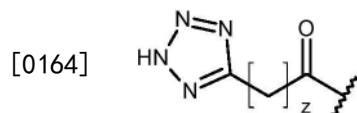
[0159] 化学式 11:



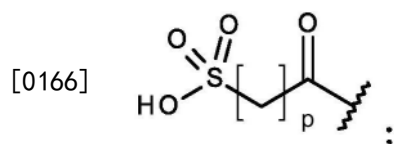
[0161] 化学式 12:



[0163] 化学式 13:

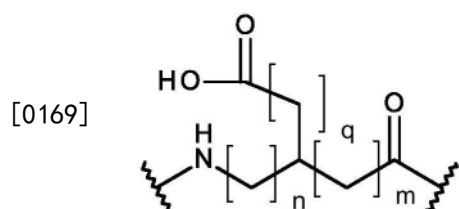


[0165] 化学式 14:

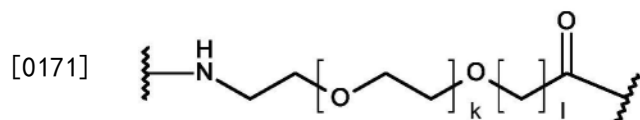


[0167] 和包含至少一个选自化学式 15、化学式 16、化学式 17 和化学式 18 的连接体元件的连接体 (L):

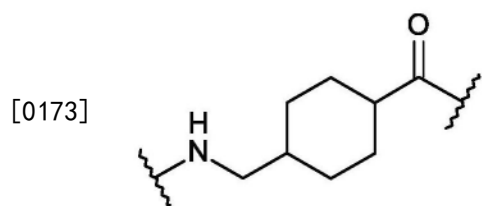
[0168] 化学式 15:



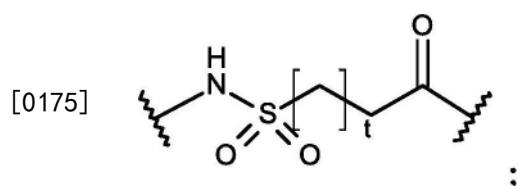
[0170] 化学式 16:



[0172] 化学式17:



[0174] 化学式18:



[0176] 其中

[0177] R为-COOH;

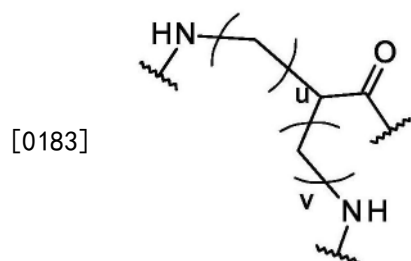
[0178] s、x、y、z和p中的每一个独立地表示8-20范围内的整数;

[0179] n、m和q中的每一个独立地表示0-4范围内的整数;且

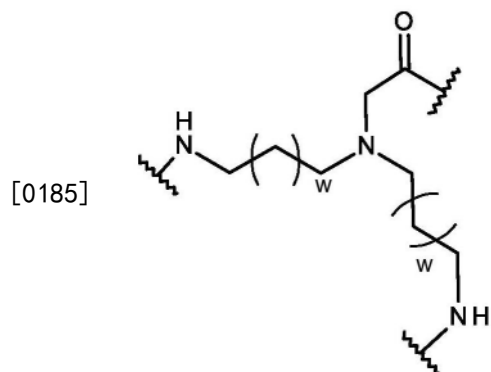
[0180] k、l和t中的每一个独立地表示1-5范围内的整数。

[0181] 在一些实施方案中,所述分支基团(B)包含选自化学式19和化学式20的分支连接体(BL):

[0182] 化学式19:



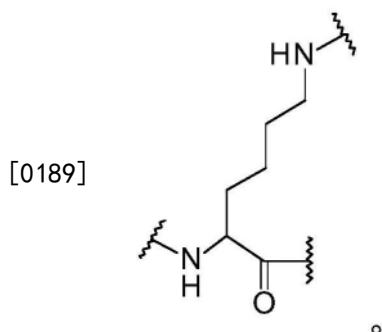
[0184] 化学式20:



[0186] 其中u和v独立地表示0-5范围内的整数,条件是当u为0时,则v为1-5范围内的整数,且当v为0时,则u为1-5范围内的整数;且其中每个w表示0-2范围内的整数。

[0187] 在u为4且v为0(或u为0且v为4)的一些实施方案中,化学式20的分支连接体可以被称为化学式19a的eps-Lys (Bis) 的三价基团:

[0188] 化学式19a:



[0190] 在w为1的一些实施方案中,化学式20的分支连接体可以被称为氨基-C₃-Gly (Bis) 的三价基团。

[0191] 在一些实施方案中 (B不存在, U=1), 所述衍生物具有式Ia:

[0192] 式Ia: (P-L) -GLP1 (如实施例5的化合物)。

[0193] 在一些实施方案中 (B不存在, U=2), 所述衍生物具有式Ib:

[0194] 式Ib: (P-L)₂-GLP1 (如实施例3的化合物)。

[0195] 在一些实施方案中 (B存在, U=2), 所述衍生物具有式Ic或Id的“叉形”结构:

[0196] 式Ic: (P-L)₂>BL-PL-GLP1 (如实施例13的化合物)

[0197] 式Id: (P-L)₂>BL-GLP1 (如实施例10的化合物);

[0198] 其中P、L如以上定义, 且B由 (BL-PL) 表示, 其中PL为可选的前连接体 (PL在式Ic中存在, PL在式Id中不存在), 且BL为分支连接体 (其实施方案如以上定义), 这提供了“叉形”结构。

[0199] 在一些实施方案中, 所述在对应于GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处具有Trp的GLP-1类似物是如以上标题为“GLP-1类似物”的部分中所定义的包含式II的GLP-1类似物。

[0200] 在一些实施方案中, 式II类似物的一个或两个以下氨基酸残基为Lys: Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆、Xaa₃₇、Xaa₃₈和/或Xaa₄₂。

[0201] 在一些实施方案中, 所述衍生物为实施例1-5中任一个的化合物。

[0202] 本发明衍生物的一些其他实施方案在标题为“特定实施方案”、“其他特定实施方案”和“另外的特定实施方案”的部分中公开。

[0203] 本发明的衍生物可以以具有相同的分子式和键合原子顺序但仅其原子在空间中的三维朝向不同的不同立体异构形式存在。在实验部分中使用标准的命名法, 以名称以及结构的方式说明了本发明的示例衍生物的立体异构现象。除非另外说明, 否则本发明涉及所请求保护的衍生物的所有立体异构形式。

[0204] 本发明GLP-1衍生物的血浆浓度可采用任何合适的方法来确定。例如, 可使用LC-MS (液相色谱质谱法), 或免疫测定如RIA (放射免疫测定)、ELISA (酶联免疫吸附测定) 以及LOCI (发光氧通道免疫测定 (Luminescence Oxygen Channeling Immunoassay))。用于合适的RIA和ELISA测定的一般方案可见于例如WO 2009/030738的第116-118页。一种优选的测定为LOCI测定, 其中LOCI是指发光氧通道免疫测定, 其在Journal of Biomolecular

Screening 2007, vol.12, p.240-247中由Poulsen和Jensen针对胰岛素测定进行了大致描述。将供体珠子用链霉亲和素涂覆,同时使受体珠子与识别该肽的中间/C-末端表位的单克隆抗体缀合。将对N-末端具有特异性的另一单克隆抗体生物素化。将三种反应物与分析物混合并形成双位点的免疫复合物。照射该复合物使单态氧原子从供体珠子释放,该单态氧原子被引导至受体珠子中从而触发化学发光,在Envision酶标仪中测量该化学发光。光的量与化合物的浓度成比例。

[0205] 本发明的GLP-1衍生物和类似物具有GLP-1活性。该术语是指与GLP-1受体结合并启动信号转导途径从而导致促胰岛素作用或本领域已知的其他生理效应的能力。例如,可以使用本文实施例15和/或16中描述的试验来测定本发明类似物和衍生物的GLP-1活性。

[0206] 药学上可接受的盐、酰胺或酯

[0207] 本发明的衍生物和类似物可以是药学上可接受的盐、酰胺或酯的形式。

[0208] 例如,通过碱与酸之间的化学反应来形成盐,例如: $2\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 。

[0209] 所述盐可以是碱式盐、酸式盐,或其可以两者都不是(即,中性盐)。在水中,碱式盐产生氢氧根离子而酸式盐产生水合氢离子。

[0210] 可通过添加的分别在阴离子或阳离子基团之间的阳离子或阴离子形成本发明衍生物或类似物的盐。这些基团可以位于肽部分中,和/或本发明衍生物的侧链中。

[0211] 本发明衍生物或类似物的阴离子基团的非限制性实例包括在侧链(如果有的话)中以及在肽部分中的游离羧基。该肽部分通常包含在C-末端处的游离羧酸基团,并且其还可包含在内部酸性氨基酸残基如Asp和Glu处的游离羧基。

[0212] 肽部分中的阳离子基团的非限制性实例包括在N-末端处的游离氨基(若存在),以及内部碱性氨基酸残基如His、Arg和Lys的任何游离氨基。

[0213] 本发明衍生物或类似物的酯例如可通过游离的羧酸基团与醇或酚的反应形成,该反应导致至少一个羟基被烷氧基或芳氧基替代。

[0214] 酯形成可涉及在肽的C-末端处的游离羧基,和/或侧链中的任何游离的羧基。

[0215] 本发明衍生物或类似物的酰胺例如可通过游离羧酸基团与胺或取代胺的反应,或通过游离或取代的氨基与羧酸的反应形成。

[0216] 酰胺形成可涉及在肽的C-末端处的游离羧基、侧链中的任何游离羧基、肽的N-末端处的游离氨基,以及/或者肽和/或侧链中的肽的任何游离或取代的氨基。

[0217] 在一些实施方案中,本发明的类似物或衍生物为药学上可接受的盐的形式。在一些实施方案中,本发明的类似物或衍生物为药学上可接受的酰胺的形式。在一些实施方案中,本发明的类似物或衍生物在肽的C-末端具有酰胺基团。在一些实施方案中,本发明的类似物或衍生物为药学上可接受的酯的形式。

[0218] 功能性质

[0219] 在一些实施方案中,本发明的GLP-1类似物和GLP-1衍生物对DPP-IV降解是稳定的。

[0220] 另外或备选地,在一些实施方案中,本发明的GLP-1类似物和GLP-1衍生物在体外具有良好的效力。

[0221] 另外或备选地,在一些实施方案中,本发明的GLP-1类似物和GLP-1衍生物在体内具有良好的效力。

[0222] 另外或备选地,在一些实施方案中,本发明的GLP-1类似物和GLP-1衍生物与GLP-1受体良好地结合。

[0223] 另外或备选地,在一些实施方案中,它们为GLP-1受体激动剂。

[0224] DPP-IV稳定性

[0225] 如实施例14的体外DPP-IV稳定性测试中所报告的,实施例D的GLP-1类似物(8W GLP-1 (7-37))显示出对DPP-IV酶降解的令人印象深刻的高稳定性,这非常令人惊讶并且完全出乎意料。

[0226] 该观察结果当然也与本发明衍生物相关,该衍生物包含在对应于GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处具有Trp的GLP-1类似物。

[0227] 生物活性-效力

[0228] 在一些实施方案中,本发明GLP-1类似物是生物活性的或有效的。在一些实施方案中,本发明GLP-1衍生物是生物活性的或有效的。

[0229] 在一些实施方案中,效力和/或活性是指体外效力,即在功能性GLP-1受体试验中的表现,更具体地是指激活人GLP-1受体的能力。

[0230] 可以例如在含有表达人GLP-1受体的膜的培养基中,和/或在使用表达人GLP-1受体的全细胞的试验中确定体外效力。

[0231] 例如,可以在报告基因试验中,例如在稳定转染的BHK细胞系中测量人GLP-1受体的响应,该细胞系表达人GLP-1受体并且含有与启动子偶联的cAMP响应元件(CRE) DNA以及萤火虫萤光素酶(CRE萤光素酶)基因。当cAMP由于GLP-1受体的激活而产生时,这进而导致萤光素酶得到表达。可通过添加萤光素来测定萤光素酶,该萤光素被该酶转化成氧化萤光素并产生生物发光,对该生物发光进行测量并将其作为体外效力的量度。这样的试验的一个非限制性实例在实施例15中描述。

[0232] 术语半数最大有效浓度(EC_{50})通常是指参照剂量响应曲线,诱导基线与最大值之间的一半的响应的浓度。 EC_{50} 用作化合物效力的量度,并且是观察到其最大效应的50%时的浓度。

[0233] 本发明类似物和衍生物的体外效力可以如上所述确定,并且确定 EC_{50} 。 EC_{50} 值越低,效力越好。

[0234] 在一些实施方案中,本发明的衍生物或类似物具有对应于300pM或以下的 EC_{50} 的体外效力,这是采用实施例15的方法来确定的。

[0235] 在一些实施方案中,本发明的衍生物以及组成GLP-1类似物本身在体内是有效的,这可以如本领域所知在任何合适的动物模型以及临床试验中确定。在一些实施方案中,可以使用本文实施例17的PD研究来确定体内效力。

[0236] 其他一些实施方案在标题为“特定实施方案”、“其他特定实施方案”和“另外的特定实施方案”的部分中公开。

[0237] 生物活性-体外受体结合

[0238] 在一些实施方案中,本发明GLP-1类似物与GLP-1受体极好地结合。在一些实施方案中,本发明GLP-1衍生物与GLP-1受体极好地结合。在一些实施方案中,所述GLP-1受体结合是在低白蛋白浓度下确定的,在一些实施方案中,其是在高白蛋白浓度下确定的。这可以如实施例16中所述来确定。

[0239] 在一些实施方案中,在低白蛋白浓度下与GLP-1受体的结合极好,其对应于低 IC_{50} 值。

[0240] 在高白蛋白浓度下的 IC_{50} 值反映了血清白蛋白对结合GLP-1受体的影响。由于侧链,本发明GLP-1衍生物可以结合血清白蛋白,并且如果这样,则在高血清白蛋白浓度下的 IC_{50} 值将高于在低白蛋白浓度下的 IC_{50} 值。在高血清白蛋白浓度下升高的 IC_{50} 值表示血清白蛋白结合竞争与GLP-1受体的结合导致与GLP-1受体的结合降低。

[0241] 在一些实施方案中,本发明的类似物或衍生物在低白蛋白浓度下与GLP-1受体极好地结合。另外或备选地,在一些实施方案中,它们在高白蛋白浓度下极好地结合。

[0242] 在一些实施方案中,在2.0% HSA(高白蛋白)的存在下,本发明的类似物或衍生物的GLP-1受体结合亲和力(IC_{50})为800nM或更低。

[0243] 其他一些特定实施方案在标题为“特定实施方案”、“其他特定实施方案”和“另外的特定实施方案”的部分中公开。

[0244] 药代动力学谱

[0245] 在一些实施方案中,本发明GLP-1类似物具有改善的药代动力学性质,如延长的终末半衰期和/或降低的清除率。在一些实施方案中,本发明GLP-1衍生物具有改善的药代动力学性质,如延长的终末半衰期和/或降低的清除率。

[0246] 终末半衰期的延长和/或清除率的降低意味着所讨论的化合物更慢地从身体中排除。对于本发明的衍生物或类似物,这需要药理作用持续时间的延长。

[0247] 药代动力学性质可以在药代动力学(PK)研究中在体内适当地确定。进行这样的研究来评价随着时间的推移,药物化合物在体内如何被吸收、分布并消除,以及这些过程如何影响化合物在体内的浓度。

[0248] 在药物开发的发现和临床前阶段,可使用诸如小鼠、大鼠、猴、犬或猪等动物模型来进行这种表征。这些模型中的任一种均可用于测试本发明化合物的药代动力学性质。

[0249] 在这类研究中,通常以相关制剂的形式向动物静脉内(i.v.)、皮下(s.c.)或经口(p.o.)施用单剂量的药物。在给药后的预定时间点抽取血液样品,并用相关的定量试验分析样品的药物浓度。基于这些测量,绘制研究的化合物的时间-血浆浓度曲线,并对数据进行所谓的非房室药代动力学分析。

[0250] 对于大多数化合物,当在半对数图中绘制时,血浆-浓度曲线的末端部分将是线性的,这表明在初始吸收和分布后,药物以恒定分数速率(fractional rate)从体内去除。该速率(λ_z 或 λ_z)等于该图末端部分的斜率的负数。由此速率,也可以按 $t_{1/2} = \ln(2) / \lambda_z$ 计算出终末半衰期(参见,例如,Johan Gabrielsson和Daniel Weiner: Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Data Analysis. Concepts & Applications, 第3版, Swedish Pharmaceutical Press, Stockholm(2000))。

[0251] 清除率可以在静脉内给药后确定,并且其被定义为剂量(D)除以血浆浓度-时间曲线上的曲线下面积(AUC) (Rowland, M和Tozer TN: Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications, 第3版, 1995 Williams Wilkins)。

[0252] 在新药物化合物的评价中,终末半衰期和/或清除率的估计与对给药方案的评价有关,并且是药物开发中的重要参数。

[0253] 生产过程

[0254] 诸如GLP-1 (7-37)的肽和GLP-1类似物的生产是本领域公知的。

[0255] 例如,可以通过经典的肽合成,例如使用t-Boc或Fmoc化学法的固相肽合成或其他完善的技术,来生产本发明衍生物的GLP-1肽部分(或其片段)以及本发明的GLP-1类似物,参见,例如, Greene和Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, 1999, Florencio Zaragoza Dörwald, "Organic Synthesis on solid Phase", Wiley-VCH Verlag GmbH, 2000, 以及由W.C.Chan和P.D.White编著的 "Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis", Oxford University Press, 2000。

[0256] 在一些实施方案中,本发明的完整GLP-1类似物或本发明衍生物的完整GLP-1类似物部分通过重组方法产生,即通过培养宿主细胞,该宿主细胞含有编码该类似物的DNA序列并能够在允许该肽表达的条件下在合适的营养培养基中表达该肽。适合表达这些肽的宿主细胞的非限制性实例是:大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 以及哺乳动物BHK或CHO细胞系。在一些实施方案中,生产工艺方法的这种完全重组发酵步骤是满足需要的,例如出于生产经济性方面的考虑。

[0257] 在本发明GLP-1类似物或本发明衍生物的GLP-1类似物部分包含非编码氨基酸的一些实施方案中,所述类似物可以如本领域已知的那样来产生,参见例如Hodgson等人 "The synthesis of peptides and proteins containing non-natural amino acids", Chemical Society Reviews, vol.33, no.7 (2004), p.422-430; 和名称为 "Semi-recombinant preparation of GLP-1 analogues" 的WO 2009/083549 A1。

[0258] 实验部分中包括制备多种本发明衍生物的方法的具体实例。

[0259] 实施例18证实了许多本发明类似物的有益的完全重组表达,并将表达产率与已知半重组方法中的表达产率进行了比较,该实验是针对已知的DPP-IV稳定化GLP-1类似物,在其序列中包含一个或多个非编码氨基酸。

[0260] 药物组合物

[0261] 本发明还涉及包含本发明衍生物或类似物以及药学上可接受的赋形剂的药物组合物。这类组合物可以如本领域已知的进行制备。

[0262] 术语“赋形剂”广义地指活性治疗成分以外的任何组分。该赋形剂可以是惰性物质、非活性物质和/或无药用活性的物质。

[0263] 赋形剂可用于多种目的,例如,作为载体、媒介物、稀释剂、片剂助剂,和/或用于改善活性物质的给药和/或吸收。

[0264] 药物活性成分与各种赋形剂的制剂是本领域已知的,参见例如, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (例如,第19版 (1995) 以及任何后续的版本)。

[0265] 赋形剂的非限制性实例是:溶剂、稀释剂、缓冲液、防腐剂、张度调节剂、螯合剂和稳定剂。

[0266] 制剂的实例包括液体制剂,即包含水的水性制剂。液体制剂可以是溶液或悬浮液。水性制剂通常包含至少50%w/w的水,或至少60%、70%、80%或甚至至少90%w/w的水。

[0267] 或者,药物组合物可以是固体制剂,例如,冻干或喷雾干燥的组合物,其可以原样使用,或由医师或患者在使用前向其添加溶剂和/或稀释剂。

[0268] 水性制剂的pH可以为pH 3至pH 10之间的任何值,例如约7.0至约9.5;或约3.0至约7.0,如7.0至9.5,或3.0至7.0。

[0269] 药物组合物可包含缓冲液。该缓冲液例如可选自乙酸钠、碳酸钠、柠檬酸盐、甘氨酸、组氨酸、赖氨酸、精氨酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、磷酸钠和三(羟甲基)-氨基甲烷、N,N-二羟乙基甘氨酸(bicine)、N-三(羟甲基)甲基甘氨酸(tricine)、苹果酸、琥珀酸盐、马来酸、富马酸、酒石酸、天冬氨酸,及其混合物。

[0270] 药物组合物可包含防腐剂。该防腐剂例如可选自苯酚、邻甲酚、间甲酚、对甲酚、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、2-苯氧乙醇、对羟基苯甲酸丁酯、2-苯基乙醇、苄醇、氯丁醇、和硫柳汞(thiomerosal)、溴硝醇、苯甲酸、咪唑啉基脒、氯己定(chlorohexidine)、脱氢乙酸钠、氯甲酚、对羟基苯甲酸乙酯、苄索氯铵、氯苯甘醚(chlorphenesine) (3对-氯苯氧基丙烷-1,2-二醇),及其混合物。防腐剂可以以0.1mg/ml至20mg/ml的浓度存在。药物组合物可包含等张剂。该等张剂例如可选自盐(例如氯化钠)、糖或糖醇、氨基酸(例如甘氨酸、组氨酸、精氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、天冬氨酸、色氨酸、苏氨酸)、醛醇(例如甘油(丙三醇)、1,2-丙二醇(丙二醇)、1,3-丙二醇、1,3-丁二醇)、聚乙二醇(例如PEG400)及其混合物。可以使用任何糖,如单糖、二糖或多糖或水溶性葡聚糖,包括例如果糖、葡萄糖、甘露糖、山梨糖、木糖、麦芽糖、乳糖、蔗糖、海藻糖、右旋糖酐、支链淀粉、糊精、环糊精、 α 和 β HPCD、可溶性淀粉、羟乙基淀粉和羧甲基纤维素-Na。糖醇被定义为具有至少一个-OH基团的C4-C8烃,并且包括例如甘露醇、山梨醇、肌醇、半乳糖醇、卫矛醇、木糖醇和阿糖醇。在一个实施方案中,该糖醇添加剂为甘露醇。

[0271] 药物组合物可包含螯合剂。该螯合剂例如可选自乙二胺四乙酸(EDTA)、柠檬酸和天冬氨酸的盐,及其混合物。

[0272] 药物组合物可包含稳定剂。该稳定剂可以为例如一种或多种氧化抑制剂、聚集抑制剂、表面活性剂和/或一种或多种蛋白酶抑制剂。这些不同种类的稳定剂的非限制性实例在下面公开。

[0273] 术语“聚集体形成”是指多肽分子之间的物理相互作用,其导致可保持可溶的寡聚物或从溶液中沉淀的较大可见聚集体的形成。在液体药物组合物的储存期间多肽的聚集体形成可不利地影响该多肽的生物活性,导致该药物组合物的治疗效力的损失。此外,聚集体形成可导致其他问题,如当使用输注系统施用含有多肽的药物组合物时,管、膜或泵的阻塞。

[0274] 药物组合物可包含足以减少在组合物储存期间多肽的聚集体形成的量的氨基酸碱。术语“氨基酸碱”是指一种或多种氨基酸(如甲硫氨酸、组氨酸、咪唑、精氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、天冬氨酸、色氨酸、苏氨酸),或其类似物。任何氨基酸均可以以其游离碱形式或其盐形式存在。可以存在该氨基酸碱的任何立体异构体(即,L、D或其混合物)。

[0275] 当充当治疗剂的多肽为包含易受到甲硫氨酸残基向甲硫氨酸亚砷的氧化影响的至少一个甲硫氨酸残基的多肽时,可添加甲硫氨酸(或其他含硫氨基酸或氨基酸类似物)以抑制这样的氧化。可使用甲硫氨酸的任何立体异构体(L或D)或其组合。

[0276] 药物组合物可包含选自高分子量聚合物或低分子量化合物的稳定剂。该稳定剂例如可选自聚乙二醇(例如,PEG 3350),聚乙烯醇(PVA),聚乙烯吡咯烷酮,羧基-/羟基纤维素或其衍生物(例如,HPC、HPC-SL、HPC-L和HPMC),环糊精,含硫物质如单硫代甘油,硫代乙醇酸和2-甲基硫代乙醇,以及不同的盐(例如氯化钠)。药物组合物可包含其他的稳定剂,诸如但不限于,保护多肽免受甲硫氨酸氧化的甲硫氨酸和EDTA,以及保护多肽免受与冷冻-解冻

或机械剪切有关的聚集的非离子型表面活性剂。

[0277] 药物组合物可包含一种或多种表面活性剂。术语“表面活性剂”是指由水溶性(亲水性)部分与脂溶性(亲脂性)部分组成的任何分子或离子。该表面活性剂例如可选自阴离子型表面活性剂、阳离子型表面活性剂、非离子型表面活性剂和/或两性离子表面活性剂。

[0278] 药物组合物可包含一种或多种蛋白酶抑制剂,例如,EDTA(乙二胺四乙酸)和/或苯脒盐酸盐。

[0279] 药物组合物的其他可选的成分包括例如润湿剂、乳化剂、抗氧化剂、填充剂、金属离子、油性载体、蛋白质(例如,人血清白蛋白、明胶)和/或两性离子(例如,氨基酸如甜菜碱、牛磺酸、精氨酸、甘氨酸、赖氨酸和组氨酸)。

[0280] 更进一步地,可以如在促胰岛素化合物的口服制剂的领域中已知的,例如,使用WO 2008/145728、WO 2012/080471、WO 2013/139694和WO 2000/050012中描述的任一种或多种制剂配制药物组合物。在一些实施方案中,使用修饰的脂肪族氨基酸的盐如N-(8-(2-羟基苯甲酰基)氨基)辛酸钠(SNAC)作为载体,以增强本发明GLP-1化合物的吸收。

[0281] 施用的剂量可含有0.1mg-100mg所述衍生物,1-100mg所述衍生物,或1-50mg所述衍生物。

[0282] 所述衍生物或类似物可以以药物组合物的形式来施用。所述衍生物可以施用于有需要的患者的若干部位,例如,局部部位,如皮肤或粘膜部位;旁路吸收的部位,如动脉、静脉或心脏中;以及涉及吸收的部位,如皮肤中、皮肤下、肌肉中或腹部中。

[0283] 给药途径可以为,例如,舌;舌下;颊;口中;口服;胃中;小肠中;鼻;肺,如通过细支气管、肺泡或其组合;肠胃外、表皮;真皮;经皮;结膜;输尿管;阴道;直肠;和/或眼部。组合物可以是口服组合物,并且给药途径为经口服。

[0284] 组合物可以以若干种剂型施用,例如作为溶液;悬浮液;乳液;微乳液;多重乳液;泡沫;药膏;糊剂;石膏;软膏;片剂;包衣片剂;口香糖;冲洗剂(rinse);胶囊如硬或软的明胶胶囊;栓剂;直肠胶囊;滴剂;凝胶;喷雾剂;粉末;气雾剂;吸入剂;滴眼剂;眼用软膏;眼用冲洗剂;阴道子宫托;阴道环;阴道软膏;注射溶液;原位转化溶液如原位胶凝、凝固(setting)、沉淀以及原位结晶;输注溶液;或作为植入物。

[0285] 组合物可以是片剂(可选地包衣的)、胶囊或口香糖。

[0286] 例如,为了改善稳定性、生物利用度和/或溶解性,可将组合物进一步复合在药物载体或药物递送系统中。在特定实施方案中,可通过共价、疏水和/或静电相互作用将组合物附接至这样的系统。这样的复合的目的可以是为了例如减少不良效果、实现时间治疗和/或增加患者依从性。

[0287] 组合物还可用于控制释放、持续释放、延长释放、阻滞释放和/或缓慢释放的药物递送系统的制剂。

[0288] 可通过注射器(可选笔状注射器)或通过输注泵,经由皮下、肌肉、腹膜内或静脉内注射进行肠胃外给药。

[0289] 组合物可以以溶液、悬浮液或粉末的形式经鼻给药;或者组合物可以以液体或粉末喷雾的形式经肺给药。

[0290] 经皮给药是更进一步的选择,例如通过无针注射、从贴片如离子电渗贴片,或经由经粘膜途径,例如经颊。

[0291] 组合物可以是稳定化的制剂。术语“稳定化的制剂”是指具有提高的物理和/或化学稳定性(优选兼具)的制剂。通常,直到到达失效时间之前,制剂在使用和储存期间(符合推荐的使用和储存条件)必须是稳定的。

[0292] 术语“物理稳定性”是指由于暴露于热机械应力和/或与去稳定化界面以及表面(如疏水表面)相互作用,导致多肽形成无生物活性和/或不可溶聚集体的倾向。可以在不同温度下暴露于机械/物理应力(例如搅拌)不同时间段后,通过目测和/或通过浊度测量来评价水性多肽制剂的物理稳定性。或者,可使用光谱剂(spectroscopic agent)或该多肽的构象状态的探针例如硫代黄素T或“疏水贴片”探针来评价物理稳定性。

[0293] 术语“化学稳定性”是指导致化学降解产物形成的多肽结构的化学(特别是共价)变化,该化学降解产物与完整的多肽相比可能具有降低的生物效力和/或增加的免疫原性作用。可以通过在暴露于不同环境条件后,经由例如SEC-HPLC和/或RP-HPLC测量各个时间点化学降解产物的量来评价化学稳定性。

[0294] 使用根据本发明的衍生物或类似物的治疗还可以与一种或多种额外的药理活性物质联合,该药理活性物质例如选自抗糖尿病剂、抗肥胖剂、食欲调节剂、抗高血压剂、用于治疗/或预防由糖尿病导致或与糖尿病相关的并发症的药剂,以及用于治疗/或预防由肥胖症导致或与肥胖症相关的并发症和病症的药剂。这些药理活性物质的实例是:胰岛素、磺酰脲、双胍、美各里替尼、葡糖苷酶抑制剂、胰高血糖素激动剂、胰高血糖素拮抗剂、DPP-IV(二肽基肽酶IV)抑制剂、涉及糖原异生和/或糖原分解的刺激肝酶的抑制剂、葡萄糖摄取调节剂、改变脂质代谢的化合物如抗高血脂剂如HMG辅酶A抑制剂(他汀类)、抑胃多肽(GIP类似物)、降低食物摄取的化合物、RXR激动剂和作用于 β -细胞的ATP-依赖性钾通道的药剂;消胆胺、考来替泊、氯贝丁酯、吉非贝齐、洛伐他汀、普伐他汀、辛伐他汀、普罗布考、右旋甲状腺素、那格列奈、瑞格列奈; β -阻滞剂如阿普洛尔、阿替洛尔、噻吗洛尔、吡洛洛尔、普萘洛尔和美托洛尔,ACE(血管紧张素转化酶)抑制剂如贝那普利、卡托普利、依那普利、福辛普利、赖诺普利、法西多曲、喹那普利和雷米普利,钙通道阻滞剂如硝苯吡啶、非洛地平、尼卡地平、伊拉地平、尼莫地平、地尔硫卓和维拉帕米,以及 α -阻滞剂如多沙唑啉、乌拉地尔、哌唑啉和特拉唑啉;CART(可卡因苯丙胺调节转录物)激动剂、NPY(神经肽Y)拮抗剂、PYY激动剂、Y2受体激动剂、Y4受体激动剂、混合Y2/Y4受体激动剂、MC4(黑皮质素4)激动剂、食欲素拮抗剂、TNF(肿瘤坏死因子)激动剂、CRF(促肾上腺皮质激素释放因子)激动剂、CRF BP(促肾上腺皮质激素释放因子结合蛋白)拮抗剂、尿促皮素激动剂、 β 3激动剂、胃酸调节素及类似物、MSH(促黑素细胞激素)激动剂、MCH(黑素细胞浓缩激素)拮抗剂、CCK(胆囊收缩素)激动剂、血清素再摄取抑制剂、血清素和去甲肾上腺素再摄取抑制剂、混合的血清素和去甲肾上腺素能化合物、5HT(5-羟色胺)激动剂、铃蟾肽激动剂、成纤维细胞生长因子21(FGF-21)、甘丙肽拮抗剂、生长激素、生长激素释放化合物、TRH(促甲状腺激素释放激素)激动剂、UCP 2或3(解偶联蛋白2或3)调节剂、瘦素激动剂、DA激动剂(溴隐亭、doprexin)、脂肪酶/淀粉酶抑制剂、RXR(类视黄醇X受体)调节剂、TR β 激动剂;组胺H3拮抗剂、胃抑制多肽激动剂或拮抗剂(GIP类似物)、胃泌素以及胃泌素类似物。

[0295] 使用根据本发明的衍生物或类似物的治疗还可以与影响葡萄糖水平和/或脂质稳态的手术如胃束带或胃绕道手术联合。

[0296] 药物适应症

[0297] 本发明还涉及用作药物的本发明衍生物或类似物。

[0298] 在一些实施方案中,本发明的衍生物或类似物可用于以下药物治疗:

[0299] (i) 预防和/或治疗所有形式的糖尿病,如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY (青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病,和/或用于减少HbA1C;

[0300] (ii) 延缓或预防糖尿病进展,如2型糖尿病的进展,延缓糖耐量减低 (IGT) 进展成需要胰岛素的2型糖尿病,延缓或预防胰岛素抵抗,和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;

[0301] (iii) 改善 β -细胞功能,如减少 β -细胞凋亡、提高 β -细胞功能和/或 β -细胞质量,和/或恢复 β -细胞的葡萄糖敏感性;

[0302] (iv) 预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症,如阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化;

[0303] (v) 例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调,如肥胖症;治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症;减少胃运动;延缓胃排空;增加身体活动;和/或预防和/或治疗肥胖症的共病,如骨关节炎和/或尿失禁;

[0304] (vi) 预防和/或治疗糖尿病并发症,如血管病;神经病,包括周围神经病变;肾病;和/或视网膜病;

[0305] (vii) 改善脂质参数,如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质;增加HDL;降低小而密的LDL;降低VLDL;降低甘油三酯;降低胆固醇;降低人的脂蛋白a (Lp (a)) 血浆水平;在体外和/或体内抑制载脂蛋白a (apo (a)) 的生成;

[0306] (viii) 预防和/或治疗心血管疾病,如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行 (闭塞性动脉硬化)、舒张功能障碍和/或收缩功能障碍;和/或降低血压,如降低收缩压;

[0307] (ix) 预防和/或治疗胃肠疾病,如炎性肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎;消化不良;和/或胃溃疡;和/或炎症,如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮;

[0308] (x) 预防和/或治疗危重病,如治疗危重患者、危重病多发性肾病 (CIPNP) 患者和/或潜在的CIPNP患者;预防危重病或CIPNP的进展;预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征 (SIRS);预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可能性;和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢;

[0309] (xi) 预防和/或治疗多囊卵巢综合征 (PCOS);

[0310] (xii) 预防和/或治疗脑部疾病,如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤;

[0311] (xiii) 预防和/或治疗睡眠呼吸暂停;和/或

[0312] (xiv) 预防和/或治疗滥用,如酒精滥用和/或药物滥用。

[0313] 在一些实施方案中,所述适应症选自 (i) - (xiv),如适应症 (i) - (viii)、(x) - (xiii) 和/或 (xiv),并且以一种方式或其他方式与糖尿病有关。

[0314] 在一些实施方案中,所述适应症选自(i)-(iii)和(v)-(viii),如适应症(i)、(ii)和/或(iii);或适应症(v)、适应症(vi)、适应症(vii)和/或适应症(viii)。

[0315] 在一些实施方案中,所述适应症为(i)。在进一步的特定实施方案中,该适应症为(v)。在又一个特定实施方案中,该适应症为(viii)。

[0316] 在一些实施方案中,本发明的衍生物或类似物可以用于治疗和/或预防所有形式的糖尿病(包括饮食失调)、心血管疾病、胃肠疾病、糖尿病并发症和/或多囊卵巢综合征,和/或用于改善脂质参数、改善 β -细胞功能和/或用于延缓或预防糖尿病疾病进展。

[0317] 特别优选以下适应症:2型糖尿病和/或肥胖症。

[0318] 在一些实施方案中,本发明涉及体重管理方法。

[0319] 在一些实施方案中,本发明涉及降低食欲的方法。

[0320] 在一些实施方案中,本发明涉及减少食物摄取的方法。

[0321] 一般而言,罹患肥胖症的所有受试者也被认为是罹患超重的。在一些实施方案中,本发明涉及一种治疗或预防肥胖症的方法。在一些实施方案中,本发明涉及本发明的衍生物或类似物用于治疗或预防肥胖症的用途。在一些实施方案中,罹患肥胖症的受试者是人,如成人或孩童(包括婴儿、儿童和青少年)。身体质量指数(BMI)是基于身高和体重的体脂肪的量度。计算公式为 $BMI = \text{以千克为单位的体重} / (\text{以米为单位的身高})^2$ 。罹患肥胖症的人类受试者的BMI可为 ≥ 30 ;该受试者也可被称为肥胖的。在一些实施方案中,罹患肥胖症的人类受试者的BMI可为 ≥ 35 或BMI在 ≥ 30 至 < 40 的范围内。在一些实施方案中,该肥胖症为重度肥胖症或病态肥胖症,其中人类受试者的BMI可为 ≥ 40 。

[0322] 在一些实施方案中,本发明涉及一种可选地在至少一种体重相关的共病的存在下治疗或预防超重的方法。在一些实施方案中,本发明涉及本发明的衍生物或类似物可选地在至少一种体重相关的共病的存在下治疗或预防超重的用途。在一些实施方案中,罹患超重的受试者是人,如成人或孩童(包括婴儿、儿童和青少年)。在一些实施方案中,罹患超重的人类受试者的BMI可为 ≥ 25 ,诸如BMI ≥ 27 。在一些实施方案中,罹患超重的人类受试者的BMI在25至 < 30 的范围内或在27至 < 30 的范围内。在一些实施方案中,所述体重相关的共病选自高血压、糖尿病(诸如2型糖尿病)、血脂异常、高胆固醇和阻塞性睡眠呼吸暂停(obstructive sleep apnoea)。

[0323] 在一些实施方案中,本发明涉及一种减轻体重的方法。在一些实施方案中,本发明涉及本发明的衍生物或类似物用于减轻体重的用途。将要根据本发明经历体重减轻的人的BMI可为 ≥ 25 ,例如BMI为 ≥ 27 或BMI为 ≥ 30 。在一些实施方案中,将要根据本发明经历体重减轻的人的BMI可为 ≥ 35 或BMI为 ≥ 40 。术语“体重减轻”可包括肥胖症和/或超重的治疗或预防。

[0324] 特定实施方案

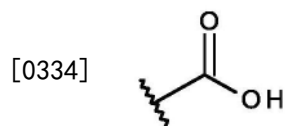
[0325] 以下是本发明的特定实施方案:

[0326] 1. 衍生物,其包含在对应于GLP-1(7-37)(SEQ ID NO:1)位置8的位置处具有Trp的GLP-1类似物,并且其中包含至少8个连续-CH₂-基团和至少一个pKa < 7 的官能团(FG)的取代基附接至所述GLP-1类似物的Lys残基。

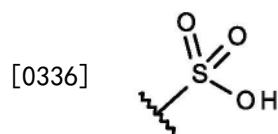
[0327] 2. 实施方案1-2中任一项的衍生物,其包含一个或两个附接至所述GLP-1类似物的一个或两个Lys残基上的取代基。

- [0328] 3. 实施方案1的衍生物, 其中所述取代基附接至所述Lys残基的 ϵ 氨基。
- [0329] 4. 实施方案1-3中任一项的衍生物, 其中所述取代基中的连续-CH₂-基团的数目在8-20的范围内。
- [0330] 5. 实施方案4的衍生物, 其中所述数目在9-18的范围内。
- [0331] 6. 实施方案4-5中任一项的衍生物, 其中所述数目为9、10、12、14、15、16或18。
- [0332] 7. 实施方案1-6中任一项的衍生物, 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯, 其中所述至少一个FG独立地选自化学式1、化学式2和化学式4:

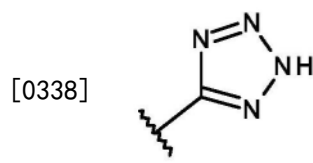
[0333] 化学式1:



[0335] 化学式2:



[0337] 化学式4:



- [0339] 8. 实施方案1-7中任一项的衍生物, 其中在所述一个或两个取代基的每一个中, pKa<7的FG的数目在1-10的范围内。
- [0340] 9. 实施方案8的衍生物, 其中所述数目在1-8的范围内。
- [0341] 10. 实施方案8-9中任一项的衍生物, 其中所述数目在1-6的范围内。
- [0342] 11. 实施方案8-10中任一项的衍生物, 其中所述数目在1-4的范围内。
- [0343] 12. 实施方案8-11中任一项的衍生物, 其中所述数目为1或2。
- [0344] 13. 实施方案1-12中任一项的衍生物, 其中pKa为CH₃-FG水溶液的pH。
- [0345] 14. 实施方案1-13中任一项的衍生物, 其中pKa为针对等式1的平衡的Ka的负对数:
- [0346] 等式1: $\text{CH}_3\text{-FG} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{FG}^- + \text{H}_3\text{O}^+$ 。

[0347] 15. 实施方案1-14中任一项的衍生物, 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯, 其中所述GLP-1类似物包含式II的肽:

[0348] Xaa₇-Trp-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈-Xaa₃₉-Xaa₄₀-Xaa₄₁-Xaa₄₂,

[0349] 其中

[0350] Xaa₇为L-组氨酸、(S)-2-羟基-3-(1H-咪唑-4-基)-丙酸、D-组氨酸、脱氨基组氨酸、高组氨酸、N^α-乙酰基-组氨酸、N^α-甲酰基-组氨酸、N^α-甲基-组氨酸、3-吡啶基丙氨酸、2-吡啶基丙氨酸或4-吡啶基丙氨酸;

- [0351] Xaa₁₂为Phe或Leu;
- [0352] Xaa₁₆为Val或Leu;
- [0353] Xaa₁₈为Ser、Arg、Val或Leu;
- [0354] Xaa₁₉为Tyr或Gln;
- [0355] Xaa₂₀为Leu或Met;
- [0356] Xaa₂₂为Gly或Glu;
- [0357] Xaa₂₃为Gln、Glu或Arg;
- [0358] Xaa₂₅为Ala或Val;
- [0359] Xaa₂₆为Arg或Lys;
- [0360] Xaa₂₇为Glu、Lys或Leu;
- [0361] Xaa₃₀为Ala、Glu或Arg;
- [0362] Xaa₃₁为Trp或His;
- [0363] Xaa₃₃为Val;
- [0364] Xaa₃₄为Arg、His、Asn或Gln;
- [0365] Xaa₃₅为Gly或Ala;
- [0366] Xaa₃₆为Arg、Lys或Gly;
- [0367] Xaa₃₇为Gly、Lys、Pro或不存在;
- [0368] Xaa₃₈为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys或不存在;
- [0369] Xaa₃₉为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro或不存在;
- [0370] Xaa₄₀为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro或不存在;
- [0371] Xaa₄₁为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro或不存在;且
- [0372] Xaa₄₂为Lys或不存在;
- [0373] 条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆、Xaa₃₇、Xaa₃₈或Xaa₄₂中的至少一个为Lys。
- [0374] 15a.实施方案15的衍生物,其中Xaa₇为L-组氨酸。
- [0375] 16.实施方案15-15a中任一项的衍生物,其中Xaa₇为L-组氨酸;Xaa₁₂为Phe;Xaa₁₆为Val;Xaa₁₈为Ser;Xaa₁₉为Tyr;Xaa₂₀为Leu;Xaa₂₂为Gly或Glu;Xaa₂₃为Gln;Xaa₂₅为Ala;Xaa₂₆为Arg或Lys;Xaa₂₇为Glu或Lys;Xaa₃₀为Ala或Glu;Xaa₃₁为Trp;Xaa₃₃为Val;Xaa₃₄为Arg;Xaa₃₅为Gly;Xaa₃₆为Arg或Lys;Xaa₃₇为Gly、Lys或Pro;Xaa₃₈为Glu、Lys或不存在;Xaa₃₉为Gly或不存在;Xaa₄₀为Gly或不存在;Xaa₄₁为Ser或不存在;且Xaa₄₂为Lys或不存在。
- [0376] 17.实施方案15-16中任一项的衍生物,其中所述GLP-1类似物为式II的肽。
- [0377] 18.实施方案15-17中任一项的衍生物,其中如果Xaa₃₇不存在,则Xaa₃₈、Xaa₃₉、Xaa₄₀、Xaa₄₁和Xaa₄₂中的每一个也不存在。
- [0378] 18a.实施方案15-18中任一项的衍生物,其中如果Xaa₃₈不存在,则Xaa₃₉、Xaa₄₀、Xaa₄₁和Xaa₄₂中的每一个也不存在。
- [0379] 19.实施方案15-18a中任一项的衍生物,其中如果Xaa₃₉不存在,则Xaa₄₀、Xaa₄₁和Xaa₄₂中的每一个也不存在。
- [0380] 20.实施方案15-19中任一项的衍生物,其中如果Xaa₄₀不存在,则Xaa₄₁和Xaa₄₂中的每一个也不存在。
- [0381] 21.实施方案15-20中任一项的衍生物,其中如果Xaa₄₁不存在,则Xaa₄₂也不存在。

[0382] 22. 实施方案15-21中任一项的衍生物, 其中如果Xaa₃₈、Xaa₃₉、Xaa₄₀、Xaa₄₁或Xaa₄₂中的一个不存在, 则每个后续氨基酸残基也不存在。

[0383] 23. 实施方案15-22中任一项的衍生物, 其中Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆、Xaa₃₇、Xaa₃₈或Xaa₄₂中的一个或两个为Lys。

[0384] 23a. 实施方案23的衍生物, 其中所述一个或两个取代基附接至所述类似物的一个或两个Lys残基的ε氨基。

[0385] 23b. 实施方案1-23a中任一项的衍生物, 其中所述GLP-1类似物选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:15的氨基酸1-275、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:20; 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0386] 23c. 实施方案1-23b中任一项的衍生物, 其中所述GLP-1类似物选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:20; 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0387] 24. 式I的衍生物, 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯:

[0388] $(P-L)_U-B-GLP1$,

[0389] 其中GLP1为在对应于GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处具有Trp的GLP-1类似物, (P-L) 是经由可选的分支基团 (B) 附接至所述GLP-1类似物的Lys残基上的取代基, 并且其包含延长部分 (P) 和连接体 (L), U表示该衍生物中取代基 (P-L) 的数目, 并且其为1或2。

[0390] 24a. 实施方案24的衍生物, 其包含至少一个pKa<7的官能团 (FG)。

[0391] 24b. 实施方案24a的衍生物, 其中所述至少一个官能团独立地选自化学式1、化学式2和化学式4。

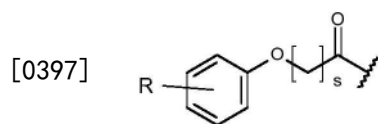
[0392] 25. 实施方案24-24b中任一项的衍生物, 其为根据实施方案1-23c中任一项的衍生物。

[0393] 26. 实施方案24-25中任一项的衍生物, 其包含一个或两个附接至所述GLP-1类似物的一个或两个Lys残基上的取代基 (P-L)。

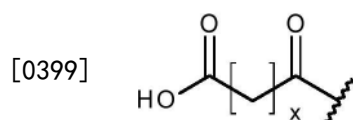
[0394] 26. 实施方案24-25中任一项的衍生物, 其中所述GLP-1类似物如实施方案15-23c中任一项所定义。

[0395] 27. 实施方案24-26中任一项的衍生物, 其中所述 (每个) 取代基 (P-L) 包含选自化学式10、化学式11、化学式12、化学式13和化学式14的延长部分 (P):

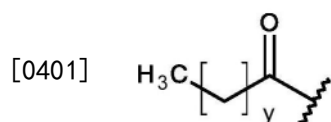
[0396] 化学式10:



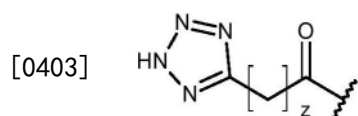
[0398] 化学式11:



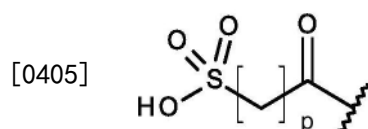
[0400] 化学式12:



[0402] 化学式13:

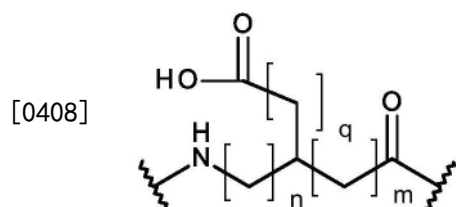


[0404] 化学式14:

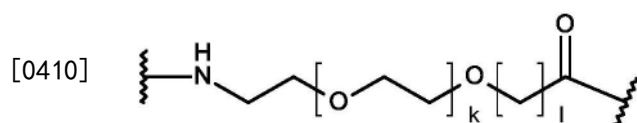


[0406] 和包含至少一个选自化学式15、化学式16、化学式17和化学式18的连接体元件的连接体 (L) :

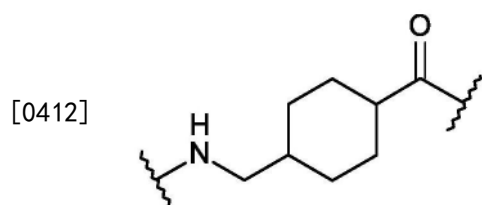
[0407] 化学式15:



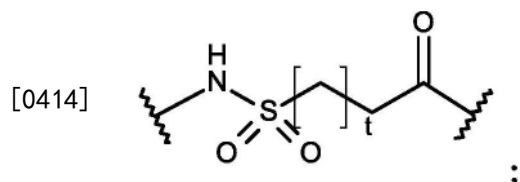
[0409] 化学式16:



[0411] 化学式17:



[0413] 化学式18:



[0415] 其中

[0416] R为-COOH;

[0417] s、x、y、z和p中的每一个独立地表示8-20范围内的整数;

[0418] n、m和q中的每一个独立地表示0-4范围内的整数;且

[0419] k、l和t中的每一个独立地表示1-5范围内的整数。

[0420] 28. 实施方案27的衍生物, 其中至少一个连接体元件意为在所述(每个)取代基(P-

L) 中的连接体元件的数目在1-10的范围内。

[0421] 29. 实施方案27-28中任一项的衍生物, 其在所述(每个)取代基(P-L)中包含1至8个连接体元件。

[0422] 30. 实施方案24-29中任一项的衍生物, 其中所述(每个)取代基(P-L)由延长部分(P)和连接体(L)组成。

[0423] 31. 实施方案24-30中任一项的衍生物, 其中P为化学式10。

[0424] 32. 实施方案24-31中任一项的衍生物, 其中R在苯环的位置3处(间位)。

[0425] 33. 实施方案24-31中任一项的衍生物, 其中R在苯环的位置4处(对位)。

[0426] 34. 实施方案24-33中任一项的衍生物, 其中s为8-20。

[0427] 35. 实施方案24-34中任一项的衍生物, 其中s为8-10。

[0428] 36. 实施方案24-35中任一项的衍生物, 其中s为9或10。

[0429] 36a. 实施方案24-36中任一项的衍生物, 其中s为9。

[0430] 36b. 实施方案24-36中任一项的衍生物, 其中s为10。

[0431] 37. 实施方案24-30中任一项的衍生物, 其中P为化学式11。

[0432] 38. 实施方案24-30和37中任一项的衍生物, 其中x为8-20。

[0433] 39. 实施方案24-30和37-38中任一项的衍生物, 其中x为12-20。

[0434] 40. 实施方案24-30和37-39中任一项的衍生物, 其中x为12。

[0435] 41. 实施方案24-30和37-39中任一项的衍生物, 其中x为16。

[0436] 42. 实施方案24-30和37-39中任一项的衍生物, 其中x为18。

[0437] 43. 实施方案24-30中任一项的衍生物, 其中P为化学式12。

[0438] 44. 实施方案24-30和43中任一项的衍生物, 其中y为8-20。

[0439] 45. 实施方案24-30和43-44中任一项的衍生物, 其中y为12-20。

[0440] 46. 实施方案24-30和43-45中任一项的衍生物, 其中y为14。

[0441] 47. 实施方案24-30中任一项的衍生物, 其中P为化学式13。

[0442] 48. 实施方案24-30和47中任一项的衍生物, 其中z为8-20。

[0443] 49. 实施方案24-30和47-48中任一项的衍生物, 其中z为13-17。

[0444] 50. 实施方案24-30和47-49中任一项的衍生物, 其中z为15。

[0445] 51. 实施方案24-30中任一项的衍生物, 其中P为化学式14。

[0446] 52. 实施方案24-30和51中任一项的衍生物, 其中P为8-20。

[0447] 53. 实施方案24-30和51-53中任一项的衍生物, 其中P为13-17。

[0448] 54. 实施方案24-30和51-53中任一项的衍生物, 其中P为15。

[0449] 55. 实施方案24-54中任一项的衍生物, 其中L包含化学式15连接体元件。

[0450] 56. 实施方案24-55中任一项的衍生物, 其中n、m和q中的每一个独立地为0-4。

[0451] 57. 实施方案24-56中任一项的衍生物, 其中n为0, m为2, 且q为1。

[0452] 57a. 实施方案55-56中任一项的衍生物, 其中所述化学式15连接体元件为L-型。

[0453] 58. 实施方案24-57a中任一项的衍生物, 其中L包含0至6次化学式16连接体元件。

[0454] 59. 实施方案24-58中任一项的衍生物, 其中k和l中的每一个独立地为1-5。

[0455] 60. 实施方案24-59中任一项的衍生物, 其中k和l中的每一个为1。

[0456] 61. 实施方案58-60中任一项的衍生物, 其中L包含0次化学式16, 即不包含化学式

16。

[0457] 62. 实施方案58-60中任一项的衍生物, 其中L包含2次化学式16。

[0458] 63. 实施方案58-60中任一项的衍生物, 其中L包含4次化学式16。

[0459] 64. 实施方案58-60中任一项的衍生物, 其中L包含6次化学式16。

[0460] 65. 实施方案24-64中任一项的衍生物, 其中L包含化学式17连接体元件。

[0461] 66. 实施方案24-65中任一项的衍生物, 其中L包含化学式18连接体元件。

[0462] 67. 实施方案24-66中任一项的衍生物, 其中t为1-5。

[0463] 68. 实施方案24-67中任一项的衍生物, 其中t为2。

[0464] 69. 实施方案24-68中任一项的衍生物, 其中如果存在超过一个连接体元件, 则所述连接体元件通过酰胺键相互连接。

[0465] 70. 实施方案69的衍生物, 其中所述超过一个相互连接的连接体元件构成连接体L。

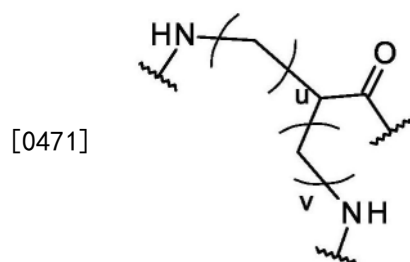
[0466] 71. 实施方案69的衍生物, 其中单独的连接体元件构成连接体L。

[0467] 72. 实施方案70-71中任一项的衍生物, 其中所述(每个)连接体(L)和所述(每个)延长部分(P)通过酰胺键相互连接。

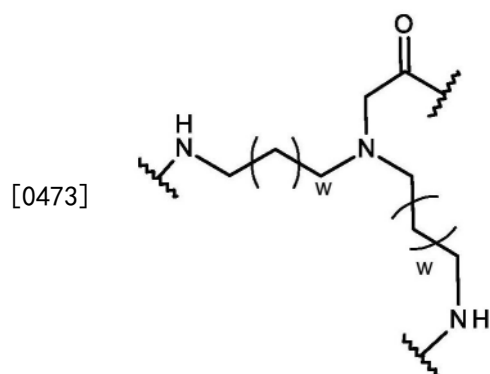
[0468] 73. 实施方案70-72中任一项的衍生物, 其中所述(每个)连接体(L)通过酰胺键与所述(每个)Lys残基的 ϵ 氨基连接, 任选地经由分支基团(B)。

[0469] 74. 实施方案24-73中任一项的衍生物, 其中所述分支基团(B)包含选自化学式19和化学式20的分支连接体(BL):

[0470] 化学式19:



[0472] 化学式20:



[0474] 其中u和v独立地表示0-5范围内的整数, 条件是当u为0时, 则v为1-5范围内的整数, 且当v为0时, 则u为1-5范围内的整数; 且

[0475] 其中每个w表示0-2范围内的整数。

[0476] 75. 实施方案74的衍生物, 其中BL为化学式19。

[0477] 76. 实施方案74-75中任一项的衍生物, 其中u和v独立地表示0-5范围内的整数, 条件是当u为0时, 则v为1-5, 且当v为0时, 则u为1-5。

[0478] 77. 实施方案74-76中任一项的衍生物, 其中u为0且v为4。

[0479] 78. 实施方案74-76中任一项的衍生物, 其中u为4且v为0。

[0480] 79. 实施方案74的衍生物, 其中BL为化学式20。

[0481] 80. 实施方案74和79中任一项的衍生物, 其中w为0-2。

[0482] 81. 实施方案74和79-80中任一项的衍生物, 其中w为1。

[0483] 82. 实施方案24-81中任一项的衍生物, 其中B不存在, 且U为1。

[0484] 83. 实施方案24-82中任一项的衍生物, 其具有式Ia: (P-L) -GLP1, 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0485] 84. 实施方案82-84中任一项的衍生物, 其中P选自化学式11和化学式12。

[0486] 85. 实施方案84的衍生物, 其中P为化学式11。

[0487] 86. 实施方案85的衍生物, 其中x为16。

[0488] 87. 实施方案84的衍生物, 其中P为化学式12。

[0489] 88. 实施方案87的衍生物, 其中y为14。

[0490] 89. 实施方案82-88中任一项的衍生物, 其中L包含化学式15连接体元件。

[0491] 90. 实施方案82-89中任一项的衍生物, 其中L包含化学式15连接体元件, 其中q为1, m为2, 且n为0。

[0492] 91. 实施方案90的衍生物, 其中L由化学式15连接体元件组成, 其中q为1, m为2, 且n为0。

[0493] 92. 实施方案82-90中任一项的衍生物, 其中L包含化学式16连接体元件。

[0494] 93. 实施方案82-90和92中任一项的衍生物, 其中L包含两个化学式16连接体元件。

[0495] 94. 实施方案92-93中任一项的衍生物, 其中k=1=1。

[0496] 95. 实施方案82-90和92-94中任一项的衍生物, 其中L由经由酰胺键并按所示顺序相互连接的一个化学式15连接体元件 (其中q为1, m为2, 且n为0) 和两个化学式16连接体元件 (其中k为1, 且l为1) 组成 (化学式15-2x化学式16)。

[0497] 96. 实施方案82-95中任一项的衍生物, 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯, 其中GLP1包含式IIa的肽:

[0498] Xaa₇-Trp-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇,

[0499] 其中

[0500] Xaa₇为L-组氨酸、(S)-2-羟基-3-(1H-咪唑-4-基)-丙酸、D-组氨酸、脱氨基组氨酸、高组氨酸、N^α-乙酰基-组氨酸、N^α-甲酰基-组氨酸、N^α-甲基-组氨酸、3-吡啶基丙氨酸、2-吡啶基丙氨酸或4-吡啶基丙氨酸;

[0501] Xaa₁₂为Phe或Leu;

[0502] Xaa₁₆为Val或Leu;

[0503] Xaa₁₈为Ser、Arg、Val或Leu;

[0504] Xaa₁₉为Tyr或Gln;

- [0505] Xaa₂₀为Leu或Met;
- [0506] Xaa₂₂为Gly或Glu;
- [0507] Xaa₂₃为Gln、Glu或Arg;
- [0508] Xaa₂₅为Ala或Val;
- [0509] Xaa₂₆为Arg或Lys;
- [0510] Xaa₂₇为Glu、Lys或Leu;
- [0511] Xaa₃₀为Ala、Glu或Arg;
- [0512] Xaa₃₁为Trp或His;
- [0513] Xaa₃₃为Val;
- [0514] Xaa₃₄为Arg、His、Asn或Gln;
- [0515] Xaa₃₅为Gly或Ala;
- [0516] Xaa₃₆为Arg、Lys或Gly;且
- [0517] Xaa₃₇为Gly、Lys、Pro或不存在;
- [0518] 条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆或Xaa₃₇中的至少一个为Lys。
- [0519] 96a.实施方案96的衍生物,其中Xaa₇为L-组氨酸。
- [0520] 97.实施方案96-96a中任一项的衍生物,其中Xaa₇为L-组氨酸;Xaa₁₂为Phe;Xaa₁₆为Val;Xaa₁₈为Ser;Xaa₁₉为Tyr;Xaa₂₀为Leu;Xaa₂₂为Gly;Xaa₂₃为Gln;Xaa₂₅为Ala;Xaa₂₆Lys;Xaa₂₇为Glu;Xaa₃₀为Ala;Xaa₃₁为Trp;Xaa₃₃为Val;Xaa₃₄为Arg;Xaa₃₅为Gly;Xaa₃₆为Arg;且Xaa₃₇为Gly。
- [0521] 98.实施方案96-97中任一项的衍生物,其中GLP-1为式IIa的肽。
- [0522] 99.实施方案82-98中任一项的衍生物,其中(P-L)附接至Lys₂₆。
- [0523] 100.实施方案24-81中任一项的衍生物,其中B不存在,且U为2。
- [0524] 101.实施方案24-81和100中任一项的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,该衍生物具有式Ib: (P-L)₂-GLP1。
- [0525] 102.实施方案100-101中任一项的衍生物,其中每个P独立地选自化学式10和化学式11。
- [0526] 103.实施方案102中任一项的衍生物,其中两个P是相同的。
- [0527] 104.实施方案103的衍生物,其中P为化学式10。
- [0528] 105.实施方案104的衍生物,其中R为-COOH。
- [0529] 106.实施方案104-105中任一项的衍生物,其中R在苯环的位置3处(间位)。
- [0530] 107.实施方案104-105中任一项的衍生物,其中R在苯环的位置4处(对位)。
- [0531] 108.实施方案104-107中任一项的衍生物,其中s为9或10。
- [0532] 108a.实施方案104-107中任一项的衍生物,其中s为9。
- [0533] 108b.实施方案104-107中任一项的衍生物,其中s为10。
- [0534] 109.实施方案103的衍生物,其中P为化学式11。
- [0535] 110.实施方案109的衍生物,其中x为18。
- [0536] 110a.实施方案109的衍生物,其中x为12。
- [0537] 111.实施方案100-110a中任一项的衍生物,其中每个L包含化学式15连接体元件。
- [0538] 112.实施方案111的衍生物,其中每个L包含化学式15连接体元件,其中q为1,m为

2,且n为0。

[0539] 113.实施方案100-112中任一项的衍生物,其中每个L包含化学式16连接体元件。

[0540] 114.实施方案113的衍生物,其中每个L包含两个化学式16连接体元件。

[0541] 115.实施方案113-114中任一项的衍生物,其中 $k=1=1$ 。

[0542] 116.实施方案100-115中任一项的衍生物,其中每个L包含化学式17连接体元件。

[0543] 116.实施方案100-115中任一项的衍生物,其中每个L由经由酰胺键并按所示顺序相互连接的一个化学式15连接体元件(其中q为1,m为2,且n为0)和两个化学式16连接体元件(其中k为1,且l为1)组成(化学式15-2x化学式16)。

[0544] 117.实施方案100-115中任一项的衍生物,其中每个L由经由酰胺键并按所示顺序相互连接的一个化学式15连接体元件(其中q为1,m为2,且n为0)和四个化学式16连接体元件(其中k为1,且l为1)组成(化学式15-4x化学式16)。

[0545] 116.实施方案100-115中任一项的衍生物,其中每个L由经由酰胺键并按所示顺序相互连接的一个化学式17连接体元件、一个化学式15连接体元件(其中q为1,m为2,且n为0)和两个化学式16连接体元件(其中k为1,且l为1)组成(化学式17-化学式15-2x化学式16)。

[0546] 117.实施方案100-116中任一项的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,其中GLP-1包含式IIb的肽:

[0547] Xaa₇-Trp-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈-Xaa₃₉-Xaa₄₀-Xaa₄₁-Xaa₄₂,

[0548] 其中

[0549] Xaa₇为L-组氨酸、(S)-2-羟基-3-(1H-咪唑-4-基)-丙酸、D-组氨酸、脱氨基组氨酸、高组氨酸、N^a-乙酰基-组氨酸、N^a-甲酰基-组氨酸、N^a-甲基-组氨酸、3-吡啶基丙氨酸、2-吡啶基丙氨酸或4-吡啶基丙氨酸;

[0550] Xaa₁₂为Phe或Leu;

[0551] Xaa₁₆为Val或Leu;

[0552] Xaa₁₈为Ser、Arg、Val或Leu;

[0553] Xaa₁₉为Tyr或Gln;

[0554] Xaa₂₀为Leu或Met;

[0555] Xaa₂₂为Gly或Glu;

[0556] Xaa₂₃为Gln、Glu或Arg;

[0557] Xaa₂₅为Ala或Val;

[0558] Xaa₂₆为Arg或Lys;

[0559] Xaa₂₇为Glu、Lys或Leu;

[0560] Xaa₃₀为Ala、Glu或Arg;

[0561] Xaa₃₁为Trp或His;

[0562] Xaa₃₃为Val;

[0563] Xaa₃₄为Arg、His、Asn或Gln;

[0564] Xaa₃₅为Gly或Ala;

[0565] Xaa₃₆为Arg、Lys或Gly;

- [0566] Xaa₃₇为Gly、Lys、Pro或不存在；
- [0567] Xaa₃₈为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys或不存在；且
- [0568] Xaa₃₉为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro或不存在；
- [0569] 条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆、Xaa₃₇或Xaa₃₈中的至少两个为Lys。
- [0570] 117a. 实施方案117的衍生物，其中Xaa₇为L-组氨酸。
- [0571] 118. 实施方案117-117a中任一项的衍生物，其中Xaa₇为L-组氨酸；Xaa₁₂为Phe；Xaa₁₆为Val；Xaa₁₈为Ser；Xaa₁₉为Tyr；Xaa₂₀为Leu；Xaa₂₂为Glu；Xaa₂₃为Gln；Xaa₂₅为Ala；Xaa₂₆为Lys或Arg；Xaa₂₇为Glu或Lys；Xaa₃₀为Ala或Glu；Xaa₃₁为Trp；Xaa₃₃为Val；Xaa₃₄为Arg；Xaa₃₅为Gly；Xaa₃₆为Lys；Xaa₃₇为Gly或Lys；Xaa₃₈为Glu或不存在；且Xaa₃₉为Gly或不存在；条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆和Xaa₃₇中的至少两个为Lys。
- [0572] 119. 实施方案117-118中任一项的衍生物，其中GLP-1为式IIb的肽。
- [0573] 120. 实施方案100-119中任一项的衍生物，其中所述两个(P-L) 附接至i) Lys₂₆和Lys₃₇；ii) Lys₂₇和Lys₃₆；或iii) Lys₃₆和Lys₃₇。
- [0574] 121. 实施方案100-116中任一项的衍生物，或其药学上可接受的盐、酰胺或酯，其中GLP-1包含式IIc的肽：
- [0575] Xaa₇-Trp-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈-Xaa₃₉-Xaa₄₀-Xaa₄₁-Xaa₄₂，
- [0576] 其中
- [0577] Xaa₇为L-组氨酸、(S)-2-羟基-3-(1H-咪唑-4-基)-丙酸、D-组氨酸、脱氨基组氨酸、高组氨酸、N^a-乙酰基-组氨酸、N^a-甲酰基-组氨酸、N^a-甲基-组氨酸、3-吡啶基丙氨酸、2-吡啶基丙氨酸或4-吡啶基丙氨酸；
- [0578] Xaa₁₂为Phe或Leu；
- [0579] Xaa₁₆为Val或Leu；
- [0580] Xaa₁₈为Ser、Arg、Val或Leu；
- [0581] Xaa₁₉为Tyr或Gln；
- [0582] Xaa₂₀为Leu或Met；
- [0583] Xaa₂₂为Gly或Glu；
- [0584] Xaa₂₃为Gln、Glu或Arg；
- [0585] Xaa₂₅为Ala或Val；
- [0586] Xaa₂₆为Arg或Lys；
- [0587] Xaa₂₇为Glu、Lys或Leu；
- [0588] Xaa₃₀为Ala、Glu或Arg；
- [0589] Xaa₃₁为Trp或His；
- [0590] Xaa₃₃为Val；
- [0591] Xaa₃₄为Arg、His、Asn或Gln；
- [0592] Xaa₃₅为Gly或Ala；
- [0593] Xaa₃₆为Arg、Lys或Gly；
- [0594] Xaa₃₇为Gly、Lys、Pro或不存在；

- [0595] Xaa₃₈为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro或Lys；
- [0596] Xaa₃₉为Ser、Gly、Ala、Glu或Pro；
- [0597] Xaa₄₀为Ser、Gly、Ala、Glu或Pro；
- [0598] Xaa₄₁为Ser、Gly、Ala、Glu或Pro；且
- [0599] Xaa₄₂为Lys；
- [0600] 条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆、Xaa₃₇、Xaa₃₈或Xaa₄₂中的至少两个为Lys。
- [0601] 121a. 实施方案121的衍生物，其中Xaa₇为L-组氨酸。
- [0602] 122. 实施方案121-121a中任一项的衍生物，其中Xaa₇为L-组氨酸；Xaa₁₂为Phe；Xaa₁₆为Val；Xaa₁₈为Ser；Xaa₁₉为Tyr；Xaa₂₀为Leu；Xaa₂₂为Glu；Xaa₂₃为Gln；Xaa₂₅为Ala；Xaa₂₆为Arg；Xaa₂₇为Glu；Xaa₃₀为Ala；Xaa₃₁为Trp；Xaa₃₃为Val；Xaa₃₄为Arg；Xaa₃₅为Gly；Xaa₃₆为Arg；Xaa₃₇为Gly；Xaa₃₈Lys；Xaa₃₉为Gly；Xaa₄₀为Gly；Xaa₄₁为Ser；且Xaa₄₂为Lys。
- [0603] 123. 实施方案121-122中任一项的衍生物，其中GLP-1为式IIc的肽。
- [0604] 124. 实施方案121-123中任一项的衍生物，其中所述两个(P-L) 附接至Lys₃₈和Lys₄₂。
- [0605] 125. 实施方案24-81中任一项的衍生物，其中B存在，且U为2。
- [0606] 126. 实施方案125的衍生物，其中B由>BL-PL表示，其中>BL为分支连接体，且PL为可选的前连接体。
- [0607] 127. 实施方案126的衍生物，其中>BL为三价基团。
- [0608] 128. 实施方案126-127中任一项的衍生物，其中>BL由如实施方案74-81中任一项所限定的分支连接体(BL) 表示。
- [0609] 129. 实施方案126-128中任一项的衍生物，其中PL为二价基团。
- [0610] 130. 实施方案125-129中任一项的衍生物，或其药学上可接受的盐、酰胺或酯，该衍生物具有式Ic：
- [0611] (P-L)₂>BL-PL-GLP1。
- [0612] 131. 实施方案125-130中任一项的衍生物，其中每个P为化学式11。
- [0613] 132. 实施方案131的衍生物，其中x为18。
- [0614] 133. 实施方案125-132中任一项的衍生物，其中每个L包含化学式15连接体元件。
- [0615] 134. 实施方案125-133中任一项的衍生物，其中每个L包含化学式15连接体元件，其中q为1，m为2，且n为0。
- [0616] 135. 实施方案125-134中任一项的衍生物，其中每个L包含化学式16连接体元件。
- [0617] 136. 实施方案135的衍生物，其中k=1=1。
- [0618] 137. 实施方案125-136中任一项的衍生物，其中每个L包含化学式17连接体元件。
- [0619] 138. 实施方案125-137中任一项的衍生物，其中每个L由经由酰胺键并按所示顺序相互连接的一个化学式17连接体元件、一个化学式15连接体元件(其中q为1，m为2，且n为0) 和四个化学式16连接体元件(其中k为1，且l为1) 组成(化学式17-化学式15-4x化学式16)。
- [0620] 139. 实施方案125-137中任一项的衍生物，其中每个L由经由酰胺键并按所示顺序相互连接的一个化学式17连接体元件、一个化学式15连接体元件(其中q为1，m为2，且n为0) 和6个化学式16连接体元件(其中k为1，且l为1) 组成(化学式17-化学式15-6x化学式16)。
- [0621] 140. 实施方案125-139中任一项的衍生物，或其药学上可接受的盐、酰胺或酯，其

中GLP1包含式IIId的肽：

[0622] Xaa₇-Trp-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈-Xaa₃₉-Xaa₄₀-Xaa₄₁-Xaa₄₂，

[0623] 其中

[0624] Xaa₇为L-组氨酸、(S)-2-羟基-3-(1H-咪唑-4-基)-丙酸、D-组氨酸、脱氨基组氨酸、高组氨酸、N^α-乙酰基-组氨酸、N^α-甲酰基-组氨酸、N^α-甲基-组氨酸、3-吡啶基丙氨酸、2-吡啶基丙氨酸或4-吡啶基丙氨酸；

[0625] Xaa₁₂为Phe或Leu；

[0626] Xaa₁₆为Val或Leu；

[0627] Xaa₁₈为Ser、Arg、Val或Leu；

[0628] Xaa₁₉为Tyr或Gln；

[0629] Xaa₂₀为Leu或Met；

[0630] Xaa₂₂为Gly或Glu；

[0631] Xaa₂₃为Gln、Glu或Arg；

[0632] Xaa₂₅为Ala或Val；

[0633] Xaa₂₆为Arg或Lys；

[0634] Xaa₂₇为Glu、Lys或Leu；

[0635] Xaa₃₀为Ala、Glu或Arg；

[0636] Xaa₃₁为Trp或His；

[0637] Xaa₃₃为Val；

[0638] Xaa₃₄为Arg、His、Asn或Gln；

[0639] Xaa₃₅为Gly或Ala；

[0640] Xaa₃₆为Arg、Lys或Gly；

[0641] Xaa₃₇为Gly、Lys、Pro或不存在；且

[0642] Xaa₃₈为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys或不存在；

[0643] 条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆、Xaa₃₇或Xaa₃₈中的至少一个为Lys。

[0644] 140a. 实施方案140的衍生物，其中Xaa₇为L-组氨酸。

[0645] 141. 实施方案140-140a中任一项的衍生物，其中Xaa₇为L-组氨酸；Xaa₁₂为Phe；Xaa₁₆为Val；Xaa₁₈为Ser；Xaa₁₉为Tyr；Xaa₂₀为Leu；Xaa₂₂为Glu；Xaa₂₃为Gln；Xaa₂₅为Ala；Xaa₂₆为Arg；Xaa₂₇为Glu；Xaa₃₀为Ala；Xaa₃₁为Trp；Xaa₃₃为Val；Xaa₃₄为Arg；Xaa₃₅为Gly；Xaa₃₆为Arg；Xaa₃₇为Lys或Pro；且Xaa₃₈为Lys或不存在；条件是Xaa₃₇和Xaa₃₈中的至少一个为Lys。

[0646] 142. 实施方案140-141中任一项的衍生物，其中GLP-1为式IIId的肽。

[0647] 143. 实施方案125-142中任一项的衍生物，其中(P-L)附接至Lys₃₇或Lys₃₈。

[0648] 144. 实施方案125-143中任一项的衍生物，其中BL为化学式19，其中u和v独立地表示0-5范围内的整数，条件是当u为0时，则v为1-5范围内的整数，且当v为0时，则u为1-5范围内的整数。

[0649] 145. 实施方案144的衍生物，其中u为0，且v为4。

[0650] 146. 实施方案144的衍生物，其中u为4，且v为0。

- [0651] 147. 实施方案125-146中任一项的衍生物, 其中PL(当存在时) 包含化学式16。
- [0652] 148. 实施方案147的衍生物, 其中PL包含0至2次化学式16连接体元件。
- [0653] 149. 实施方案147-148中任一项的衍生物, 其中k和l中的每一个独立地为1-5。
- [0654] 150. 实施方案147-149中任一项的衍生物, 其中k和l中的每一个为1。
- [0655] 151. 实施方案147-150中任一项的衍生物, 其中PL包含0次化学式16, 即不包含化学式16。
- [0656] 152. 实施方案147-151中任一项的衍生物, 其中PL不存在。
- [0657] 153. 实施方案125-152中任一项的衍生物, 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯, 该衍生物具有式Id:
- [0658] $(P-L)_2 > BL-GLP1$ 。
- [0659] 154. 实施方案147-150中任一项的衍生物, 其中PL存在, 且为非可选的(即必需的)。
- [0660] 155. 实施方案147-150和154中任一项的衍生物, 其中PL包含两次化学式16。
- [0661] 156. 实施方案147-150和154-155中任一项的衍生物, 其中PL由两次化学式16组成。
- [0662] 157. 实施方案125-143中任一项的衍生物, 其中BL为化学式20, 其中每个w表示0-2范围内的整数。
- [0663] 158. 实施方案157的衍生物, 其中w为1。
- [0664] 159. 实施方案157-158中任一项的衍生物, 其中PL存在。
- [0665] 160. 实施方案157-160中任一项的衍生物, 其中PL包含化学式16。
- [0666] 161. 实施方案159-160中任一项的衍生物, 其中PL包含两次化学式16连接体元件。
- [0667] 162. 实施方案159-160中任一项的衍生物, 其中PL由两次化学式16连接体元件组成。
- [0668] 163. 实施方案160-162中任一项的衍生物, 其中k和l中的每一个独立地为1-5。
- [0669] 163. 实施方案160-163中任一项的衍生物, 其中k和l中的每一个为1。
- [0670] 164. 实施方案24-163中任一项的衍生物, 其中GLP1选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:15的氨基酸1-275、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:20; 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。
- [0671] 164a. 实施方案24-164中任一项的衍生物, 其中所述GLP-1类似物选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:20; 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。
- [0672] 165. 选自化学式21、化学式22、化学式23、化学式24、化学式25、化学式26、化学式27、化学式28、化学式29、化学式30、化学式31和化学式32的衍生物; 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。
- [0673] 166. 实施方案164和164a中任一项的衍生物, 其为实施方案1-165中任一项的衍生物。
- [0674] 167. 实施方案165-166中任一项的衍生物, 其为实施例1、2、3、4、5、7、8、9、10、11、12或13的化合物。
- [0675] 168. 实施方案1-167中任一项的衍生物, 其为GLP-1衍生物。

[0676] 169.选自SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:15的氨基酸1-275、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:20的GLP-1类似物;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0677] 169a.选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:15的氨基酸1-275、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:20的GLP-1类似物;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0678] 169b.选自SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:20的GLP-1类似物;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0679] 169c.选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:20的GLP-1类似物;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0680] 170.包含或具有SEQ ID NO:15的氨基酸1-275的化合物;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0681] 170a.包含或具有SEQ ID NO:15的氨基酸276-550的化合物;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0682] 170b.包含或具有SEQ ID NO:15的化合物。

[0683] 170c.作为以下两个化合物的二聚体的化合物:i)两个实施方案170的化合物,ii)两个实施方案170a的化合物,iii)一个实施方案170的化合物和一个实施方案170a的化合物。

[0684] 170d.实施方案170b-170c中任一项的化合物,其在位置55处的两个Cys残基和在位置58处的两个Cys残基之间,即,在SEQ ID NO:15的Cys55与Cys330之间以及Cys58与Cys333之间具有Cys-Cys键。

[0685] 171.实施方案1-170d中任一项的衍生物或类似物,其为GLP-1受体激动剂。

[0686] 172.实施方案1-171中任一项的衍生物或类似物,其为完全GLP-1受体激动剂。

[0687] 173.实施方案1-172中任一项的衍生物或类似物,其在体外具有生物活性。

[0688] 174.实施方案1-173中任一项的衍生物或类似物,其在体外是有效的。

[0689] 175.实施方案1-174中任一项的衍生物或类似物,其能够激活人GLP-1受体。

[0690] 176.实施方案1-175中任一项的衍生物或类似物,其在采用表达人GLP-1受体的全细胞的试验中能够激活人GLP-1受体,其中该试验在不存在HSA (0%HSA) 的情况下进行。

[0691] 177.实施方案1-176中任一项的衍生物或类似物,其中在报道基因试验中,如在实施例15的试验中测量人GLP-1受体的响应。

[0692] 178.实施方案171-177中任一项的衍生物或类似物,其中GLP-1受体激动、体外生物活性、体外效力或激活人GLP-1受体的能力分别基本如实施例15所述测定。

[0693] 179.实施方案1-178中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于300pM或更低的 EC_{50} 。

[0694] 180.实施方案1-179中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于200pM或更低的 EC_{50} 。

[0695] 181.实施方案1-180中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于150pM或更低的 EC_{50} 。

- [0696] 182. 实施方案1-181中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于125pM或更低的 EC_{50} 。
- [0697] 183. 实施方案1-182中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于100pM或更低的 EC_{50} 。
- [0698] 184. 实施方案1-183中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于75pM或更低的 EC_{50} 。
- [0699] 185. 实施方案1-184中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于50pM或更低的 EC_{50} 。
- [0700] 186. 实施方案1-185中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于30pM或更低的 EC_{50} 。
- [0701] 187. 实施方案179-186中任一项的衍生物或类似物,其中所述 EC_{50} 基本如实施例15所述测定。
- [0702] 188. 实施方案1-187中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于比司美鲁肽 EC_{50} 的60倍更低的 EC_{50} ,其中司美鲁肽的 EC_{50} 以与该衍生物的 EC_{50} 相同的方式测定。
- [0703] 189. 实施方案1-188中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于比司美鲁肽 EC_{50} 的30倍更低的 EC_{50} ,其中司美鲁肽的 EC_{50} 以与该衍生物的 EC_{50} 相同的方式测定。
- [0704] 190. 实施方案1-189中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于比司美鲁肽 EC_{50} 的8倍更低的 EC_{50} ,其中司美鲁肽的 EC_{50} 以与该衍生物的 EC_{50} 相同的方式测定。
- [0705] 191. 实施方案1-190中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于比司美鲁肽 EC_{50} 的6倍更低的 EC_{50} ,其中司美鲁肽的 EC_{50} 以与该衍生物的 EC_{50} 相同的方式测定。
- [0706] 192. 实施方案1-191中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于比司美鲁肽 EC_{50} 的3倍更低的 EC_{50} ,其中司美鲁肽的 EC_{50} 以与该衍生物的 EC_{50} 相同的方式测定。
- [0707] 193. 实施方案1-192中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于比司美鲁肽 EC_{50} 的2倍更低的 EC_{50} ,其中司美鲁肽的 EC_{50} 以与该衍生物的 EC_{50} 相同的方式测定。
- [0708] 194. 实施方案1-193中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于比司美鲁肽的 EC_{50} 更低或相等的 EC_{50} ,其中司美鲁肽的 EC_{50} 以与该衍生物的 EC_{50} 相同的方式测定。
- [0709] 195. 实施方案188-194中任一项的衍生物或类似物,其中所述 EC_{50} 基本如实施例15所述测定。
- [0710] 196. 实施方案1-195中任一项的衍生物或类似物,其能够与GLP-1受体结合。
- [0711] 197. 实施方案1-196中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA (最高0.001% (w/v) 最终测定浓度) 下能够与GLP-1受体结合。
- [0712] 198. 实施方案1-195中任一项的衍生物或类似物,其在高浓度HSA (2.0% (w/v) 最终测定浓度) 下能够与GLP-1受体结合。
- [0713] 199. 实施方案196-198中任一项的衍生物或类似物,其中所述与人GLP-1受体的结合在竞争结合试验中,如在实施例16的试验中测量。
- [0714] 200. 实施方案196-199中任一项的衍生物或类似物,其中所述在体外与人GLP-1受体的结合基本如实施例16所述测定。
- [0715] 201. 实施方案1-200中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以20nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[0716] 202. 实施方案1-201中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以10nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[0717] 203. 实施方案1-202中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以4.0nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[0718] 204. 实施方案1-203中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以2.0nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[0719] 205. 实施方案1-204中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以1.0nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[0720] 206. 实施方案1-205中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以0.50nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[0721] 207. 实施方案201-206中任一项的衍生物或类似物,其中所述 IC_{50} 基本如实施例16所述在具有最高0.001% (w/v) HSA (最终测定浓度) 的反应中测定。

[0722] 208. 实施方案1-207中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的35倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[0723] 209. 实施方案1-208中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的20倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[0724] 210. 实施方案1-209中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的8倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[0725] 211. 实施方案1-210中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的4倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[0726] 212. 实施方案1-211中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的3倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[0727] 213. 实施方案1-212中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的2倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[0728] 214. 实施方案1-213中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[0729] 215. 实施方案1-214中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的0.50倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[0730] 216. 实施方案208-215中任一项的衍生物或类似物,其中所述 IC_{50} 基本如实施例16所述在具有最高0.001% (w/v) HSA (最终测定浓度) 的反应中测定。

[0731] 217. 实施方案1-216中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定

浓度)下能够以800nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[0732] 218.实施方案1-217中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)下能够以450nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[0733] 219.实施方案1-218中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)下能够以800nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[0734] 220.实施方案1-219中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)下能够以600nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[0735] 221.实施方案1-220中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)下能够以400nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[0736] 222.实施方案1-221中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)下能够以200nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[0737] 223.实施方案217-222中任一项的衍生物或类似物,其中所述 IC_{50} 基本如实施例16所述在具有2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)的反应中测定。

[0738] 224.实施方案1-223中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的8倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[0739] 225.实施方案1-223中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的6倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[0740] 226.实施方案1-223中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的4倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[0741] 227.实施方案1-223中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的2倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[0742] 228.实施方案1-223中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)下能够以比司美鲁肽的 IC_{50} 更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[0743] 229.实施方案224-228中任一项的衍生物或类似物,其中所述 IC_{50} 基本如实施例16所述在具有2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)的反应中测定。

[0744] 230.实施方案1-229中任一项的衍生物或类似物,其在体内是有效的。

[0745] 231.实施方案1-230中任一项的衍生物或类似物,其在任何合适的动物模型如小鼠中测定时在体内是有效的。

[0746] 232.实施方案1-231中任一项的衍生物或类似物,其中所述动物模型为db/db小鼠。

[0747] 233.实施方案1-232中任一项的衍生物或类似物,其中测定所述血糖降低效果。

[0748] 234.实施方案1-233中任一项的衍生物或类似物,其中测定所述体重减轻效果。

[0749] 235.实施方案1-234中任一项的衍生物或类似物,其中使用任何合适的研究方案和方法,例如如实施例17所述,在db/db小鼠中体内测定血糖降低效果和/或体重减轻效果。

- [0750] 236. 实施方案1-235中任一项的衍生物或类似物,其中基本如实施例17所述,在db/db小鼠中体内测定所述血糖降低效果和/或体重减轻效果。
- [0751] 237. 实施方案1-236中任一项的衍生物或类似物,其在24小时或48小时后具有降低血糖的体内效果,这是在肥胖的糖尿病小鼠模型中以合适的剂量如0.3、1.0、3.0、10、30或100nmol/kg在单剂量研究中所测定的。
- [0752] 238. 实施方案1-237中任一项的衍生物或类似物,其中对于每个单剂量绘制 Δ 血糖和 Δ 体重对时间的剂量响应曲线,其中 Δ 是指给定时间的实际血糖/体重减去基线,其中基线为在时间0时的血糖和体重水平。
- [0753] 239. 实施方案1-238中任一项的衍生物或类似物,其中对于每个单独的剂量响应曲线,计算从0至24小时的 Δ 血糖的曲线下面积($AUC \Delta BG_{24h}$)和给药后24小时的 Δ 体重增加(ΔBW_{24h}),并针对 $AUC \Delta BG_{24h}$ 和 ΔBW_{24h} 计算有效剂量50% (ED_{50} ,产生基线与最大效应之间的一半(halfway)响应的GLP-1衍生物剂量)。
- [0754] 240. 实施方案1-239中任一项的衍生物或类似物,其剂量依赖性地降低血糖。
- [0755] 241. 实施方案1-240中任一项的衍生物或类似物,其剂量依赖性地减轻体重。
- [0756] 242. 实施方案1-241中任一项的衍生物或类似物,其中 $ED_{50} AUC \Delta BG_{24h}$ 为至少2.0nmol/kg。
- [0757] 243. 实施方案1-242中任一项的衍生物或类似物,其中 $ED_{50} \Delta BW_{24h}$ 为至少4.0nmol/kg。
- [0758] 244. 制备实施方案1-243中任一项的衍生物或类似物的方法,其包括重组产生GLP-1类似物的步骤,该GLP-1类似物在对应于GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处具有Trp。
- [0759] 245. 实施方案244的方法,其中所述GLP-1类似物具有GLP-1活性。
- [0760] 246. 实施方案244-245中任一项的方法,其中所述GLP-1类似物为DPP-IV稳定化的。
- [0761] 247. 实施方案244-246中任一项的方法,其中所述GLP-1类似物具有如实施方案179-195中任一项所限定的体外效力。
- [0762] 248. 实施方案244-247中任一项的方法,其中当使用实施例14的方法进行测试时,所述DPP-IV稳定化的GLP-1类似物具有至少10分钟的半衰期。
- [0763] 249. 实施方案244-248中任一项的方法,其中当使用实施例14的方法进行测试时,所述DPP-IV稳定化的GLP-1类似物具有至少15分钟的半衰期。
- [0764] 250. 实施方案244-249中任一项的方法,其中当在合适的DPP-IV稳定性试验如实施例14的试验中进行测试时,所述DPP-IV稳定化的GLP-1类似物的稳定性至少为天然GLP-1的10倍,优选至少15倍,更优选至少20倍。
- [0765] 251. 实施方案244-250中任一项的方法,其进一步包括纯化重组产生的GLP-1类似物的步骤。
- [0766] 252. 实施方案244-251中任一项的方法,其进一步包括将取代基附接至所述GLP-1类似物的Lys残基上的步骤,由此产生该GLP-1类似物的衍生物。
- [0767] 253. 实施方案252的方法,其中附接一个或两个取代基。
- [0768] 254. 实施方案253的方法,其中一个取代基附接至一个Lys残基。

[0769] 255. 实施方案253的方法, 其中两个取代基附接至两个Lys残基, 每个Lys残基上附接一个取代基。

[0770] 256. 实施方案253的方法, 其中两个取代基经由分支基团 (B) 附接至一个Lys残基。

[0771] 257. 实施方案252-257中任一项的方法, 其进一步包括纯化所述GLP-1衍生物的步骤。

[0772] 258. 实施方案244-257中任一项的方法, 其用于制备实施方案1-243中任一项所限定的GLP-1类似物或衍生物。

[0773] 259. 药物组合物, 其包含根据实施方案1-243中任一项的衍生物或类似物和药学上可接受的赋形剂。

[0774] 260. 根据实施方案1-243中任一项的衍生物或类似物, 其用作药物。

[0775] 261. 根据实施方案1-243中任一项的衍生物或类似物, 其用于

[0776] (i) 预防和/或治疗所有形式的糖尿病, 如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY (青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病, 和/或用于减少HbA1C;

[0777] (ii) 延缓或预防糖尿病进展, 如2型糖尿病的进展, 延缓糖耐量减低 (IGT) 进展成需要胰岛素的2型糖尿病, 延缓或预防胰岛素抵抗, 和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;

[0778] (iii) 改善 β -细胞功能, 如减少 β -细胞凋亡、提高 β -细胞功能和/或 β -细胞质量, 和/或恢复 β -细胞的葡萄糖敏感性;

[0779] (iv) 预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症, 如阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化;

[0780] (v) 例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调, 如肥胖症; 治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症; 减少胃运动; 延缓胃排空; 增加身体活动; 和/或预防和/或治疗肥胖症的共病, 如骨关节炎和/或尿失禁;

[0781] (vi) 预防和/或治疗糖尿病并发症, 如血管病; 神经病, 包括周围神经病变; 肾病; 和/或视网膜病;

[0782] (vii) 改善脂质参数, 如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质; 增加HDL; 降低小而密的LDL; 降低VLDL; 降低甘油三酯; 降低胆固醇; 降低人的脂蛋白a (Lp (a)) 血浆水平; 在体外和/或体内抑制载脂蛋白a (apo (a)) 的生成;

[0783] (viii) 预防和/或治疗心血管疾病, 如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行 (闭塞性动脉硬化)、舒张功能障碍和/或收缩功能障碍; 和/或降低血压, 如降低收缩压;

[0784] (ix) 预防和/或治疗胃肠疾病, 如炎性肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎; 消化不良; 和/或胃溃疡; 和/或炎症, 如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮;

[0785] (x) 预防和/或治疗危重病, 如治疗危重患者、危重病多发性肾病 (CIPNP) 患者和/

或潜在的CIPNP患者；预防危重病或CIPNP的进展；预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征(SIRS)；预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可能性；和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢；

[0786] (xi) 预防和/或治疗多囊卵巢综合征(PCOS)；

[0787] (xii) 预防和/或治疗脑部疾病，如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤；

[0788] (xiii) 预防和/或治疗睡眠呼吸暂停；和/或

[0789] (xiv) 预防和/或治疗滥用，如酒精滥用和/或药物滥用。

[0790] 262. 根据实施方案1-243中任一项的衍生物或类似物在制备药物中的用途，该药物用于

[0791] (i) 预防和/或治疗所有形式的糖尿病，如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY (青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病，和/或用于减少HbA1C；

[0792] (ii) 延缓或预防糖尿病进展，如2型糖尿病的进展，延缓糖耐量减低(IGT)进展成需要胰岛素的2型糖尿病，延缓或预防胰岛素抵抗，和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病；

[0793] (iii) 改善 β -细胞功能，如减少 β -细胞凋亡、提高 β -细胞功能和/或 β -细胞质量，和/或恢复 β -细胞的葡萄糖敏感性；

[0794] (iv) 预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症，如阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化；

[0795] (v) 例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调，如肥胖症；治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症；减少胃运动；延缓胃排空；增加身体活动；和/或预防和/或治疗肥胖症的共病，如骨关节炎和/或尿失禁；

[0796] (vi) 预防和/或治疗糖尿病并发症，如血管病；神经病，包括周围神经病变；肾病；和/或视网膜病；

[0797] (vii) 改善脂质参数，如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质；增加HDL；降低小而密的LDL；降低VLDL；降低甘油三酯；降低胆固醇；降低人的脂蛋白a(Lp(a))血浆水平；在体外和/或体内抑制载脂蛋白a(apo(a))的生成；

[0798] (viii) 预防和/或治疗心血管疾病，如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行(闭塞性动脉硬化)、舒张功能障碍和/或收缩功能障碍；和/或降低血压，如降低收缩压；

[0799] (ix) 预防和/或治疗胃肠疾病，如炎症肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎；消化不良；和/或胃溃疡；和/或炎症，如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮；

[0800] (x) 预防和/或治疗危重病，如治疗危重患者、危重病多发性肾病(CIPNP)患者和/或潜在的CIPNP患者；预防危重病或CIPNP的进展；预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征(SIRS)；预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可

能性;和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢;

[0801] (xi) 预防和/或治疗多囊卵巢综合征 (PCOS);

[0802] (xii) 预防和/或治疗脑部疾病,如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤;

[0803] (xiii) 预防和/或治疗睡眠呼吸暂停;和/或

[0804] (xiv) 预防和/或治疗滥用,如酒精滥用和/或药物滥用。

[0805] 263. 方法,其用于

[0806] (i) 预防和/或治疗所有形式的糖尿病,如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY (青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病,和/或用于减少HbA1C;

[0807] (ii) 延缓或预防糖尿病进展,如2型糖尿病的进展,延缓糖耐量减低 (IGT) 进展成需要胰岛素的2型糖尿病,延缓或预防胰岛素抵抗,和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;

[0808] (iii) 改善 β -细胞功能,如减少 β -细胞凋亡、提高 β -细胞功能和/或 β -细胞质量,和/或恢复 β -细胞的葡萄糖敏感性;

[0809] (iv) 预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症,如阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化;

[0810] (v) 例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调,如肥胖症;治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症;减少胃运动;延缓胃排空;增加身体活动;和/或预防和/或治疗肥胖症的共病,如骨关节炎和/或尿失禁;

[0811] (vi) 预防和/或治疗糖尿病并发症,如血管病;神经病,包括周围神经病变;肾病;和/或视网膜病;

[0812] (vii) 改善脂质参数,如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质;增加HDL;降低小而密的LDL;降低VLDL;降低甘油三酯;降低胆固醇;降低人的脂蛋白a (Lp (a)) 血浆水平;在体外和/或体内抑制载脂蛋白a (apo (a)) 的生成;

[0813] (viii) 预防和/或治疗心血管疾病,如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行 (闭塞性动脉硬化)、舒张功能障碍和/或收缩功能障碍;和/或降低血压,如降低收缩压;

[0814] (ix) 预防和/或治疗胃肠疾病,如炎症肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎;消化不良;和/或胃溃疡;和/或炎症,如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮;

[0815] (x) 预防和/或治疗危重病,如治疗危重患者、危重病多发性肾病 (CIPNP) 患者和/或潜在的CIPNP患者;预防危重病或CIPNP的进展;预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征 (SIRS);预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可能性;和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢;

[0816] (xi) 预防和/或治疗多囊卵巢综合征 (PCOS);

[0817] (xii) 预防和/或治疗脑部疾病,如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤;

[0818] (xiii) 预防和/或治疗睡眠呼吸暂停;和/或

[0819] (xiv) 预防和/或治疗滥用,如酒精滥用和/或药物滥用;

[0820] 其中施用药学活性量的根据实施方案1-243中任一项的衍生物或类似物。

[0821] 在一些实施方案中,本发明衍生物不选自化学式21、化学式22、化学式23、化学式24、化学式25、化学式26、化学式27、化学式28、化学式29、化学式30、化学式31和化学式32;并且也不是其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0822] 在一些实施方案中,本发明GLP-1类似物不选自SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:15的氨基酸1-275、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:20;并且也不是其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0823] 其他特定实施方案

[0824] 以下是本发明的其他特定实施方案:

[0825] 1. 衍生物,其包含在对应于GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处具有Trp的GLP-1类似物,并且其中包含至少8个连续-CH₂-基团和至少一个pKa<7的官能团 (FG) 的取代基附接至所述GLP-1类似物的Lys残基。

[0826] 2. 实施方案1-2中任一项的衍生物,其包含一个或两个附接至所述GLP-1类似物的一个或两个Lys残基上的取代基。

[0827] 3. 实施方案1的衍生物,其中所述取代基附接至所述Lys残基的ε氨基。

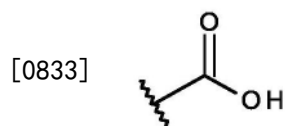
[0828] 4. 实施方案1-3中任一项的衍生物,其中所述取代基中的连续-CH₂-基团的数目在8-20的范围内。

[0829] 5. 实施方案4的衍生物,其中所述数目在9-18的范围内。

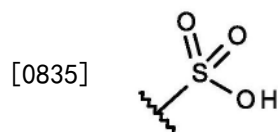
[0830] 6. 实施方案4-5中任一项的衍生物,其中所述数目为9、10、12、14、15、16或18。

[0831] 7. 实施方案1-6中任一项的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,其中所述至少一个FG独立地选自化学式1、化学式2和化学式4:

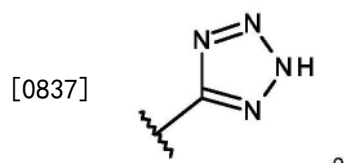
[0832] 化学式1:



[0834] 化学式2:



[0836] 化学式4:



[0838] 8. 实施方案1-7中任一项的衍生物,其中在所述一个或两个取代基的每一个中, pKa<7的FG的数目在1-10的范围内。

[0839] 9. 实施方案8的衍生物,其中所述数目在1-8的范围内。

- [0840] 10. 实施方案8-9中任一项的衍生物,其中所述数目在1-6的范围内。
- [0841] 11. 实施方案8-10中任一项的衍生物,其中所述数目在1-4的范围内。
- [0842] 12. 实施方案8-11中任一项的衍生物,其中所述数目为1或2。
- [0843] 13. 实施方案1-12中任一项的衍生物,其中pKa为CH₃-FG水溶液的pH。
- [0844] 14. 实施方案1-13中任一项的衍生物,其中pKa为针对等式1的平衡的Ka的负对数:
- [0845] 等式1: $\text{CH}_3\text{-FG} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{FG}^- + \text{H}_3\text{O}^+$ 。
- [0846] 15. 实施方案1-14中任一项的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,其中所述GLP-1类似物包含式II的肽:
- [0847] Xaa₇-Trp-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈-Xaa₃₉-Xaa₄₀-Xaa₄₁-Xaa₄₂,
- [0848] 其中
- [0849] Xaa₇为L-组氨酸、(S)-2-羟基-3-(1H-咪唑-4-基)-丙酸、D-组氨酸、脱氨基组氨酸、高组氨酸、N^a-乙酰基-组氨酸、N^a-甲酰基-组氨酸、N^a-甲基-组氨酸、3-吡啶基丙氨酸、2-吡啶基丙氨酸或4-吡啶基丙氨酸;
- [0850] Xaa₁₂为Phe或Leu;
- [0851] Xaa₁₆为Val或Leu;
- [0852] Xaa₁₈为Ser、Arg、Val或Leu;
- [0853] Xaa₁₉为Tyr或Gln;
- [0854] Xaa₂₀为Leu或Met;
- [0855] Xaa₂₂为Gly或Glu;
- [0856] Xaa₂₃为Gln、Glu或Arg;
- [0857] Xaa₂₅为Ala或Val;
- [0858] Xaa₂₆为Arg或Lys;
- [0859] Xaa₂₇为Glu、Lys或Leu;
- [0860] Xaa₃₀为Ala、Glu或Arg;
- [0861] Xaa₃₁为Trp或His;
- [0862] Xaa₃₃为Val;
- [0863] Xaa₃₄为Arg、His、Asn或Gln;
- [0864] Xaa₃₅为Gly或Ala;
- [0865] Xaa₃₆为Arg、Lys或Gly;
- [0866] Xaa₃₇为Gly、Lys、Pro或不存在;
- [0867] Xaa₃₈为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys或不存在;
- [0868] Xaa₃₉为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro或不存在;
- [0869] Xaa₄₀为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro或不存在;
- [0870] Xaa₄₁为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro或不存在;且
- [0871] Xaa₄₂为Lys或不存在;
- [0872] 条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆、Xaa₃₇、Xaa₃₈或Xaa₄₂中的至少一个为Lys。
- [0873] 16. 实施方案15的衍生物,其中Xaa₇为L-组氨酸;Xaa₁₂为Phe;Xaa₁₆为Val;Xaa₁₈为

Ser;Xaa₁₉为Tyr;Xaa₂₀为Leu;Xaa₂₂为Gly或Glu;Xaa₂₃为Gln;Xaa₂₅为Ala;Xaa₂₆为Arg或Lys;Xaa₂₇为Glu或Lys;Xaa₃₀为Ala或Glu;Xaa₃₁为Trp;Xaa₃₃为Val;Xaa₃₄为Arg;Xaa₃₅为Gly;Xaa₃₆为Arg或Lys;Xaa₃₇为Gly、Lys或Pro;Xaa₃₈为Glu、Lys或不存在;Xaa₃₉为Gly或不存在;Xaa₄₀为Gly或不存在;Xaa₄₁为Ser或不存在;且Xaa₄₂为Lys或不存在。

[0874] 17. 实施方案15-16中任一项的衍生物,其中所述GLP-1类似物为式II的肽。

[0875] 18. 实施方案15-17中任一项的衍生物,其中如果Xaa₃₇不存在,则Xaa₃₈、Xaa₃₉、Xaa₄₀、Xaa₄₁和Xaa₄₂中的每一个也不存在。

[0876] 18a. 实施方案15-18中任一项的衍生物,其中如果Xaa₃₈不存在,则Xaa₃₉、Xaa₄₀、Xaa₄₁和Xaa₄₂中的每一个也不存在。

[0877] 19. 实施方案15-18a中任一项的衍生物,其中如果Xaa₃₉不存在,则Xaa₄₀、Xaa₄₁和Xaa₄₂中的每一个也不存在。

[0878] 20. 实施方案15-19中任一项的衍生物,其中如果Xaa₄₀不存在,则Xaa₄₁和Xaa₄₂中的每一个也不存在。

[0879] 21. 实施方案15-20中任一项的衍生物,其中如果Xaa₄₁不存在,则Xaa₄₂也不存在。

[0880] 22. 实施方案15-21中任一项的衍生物,其中如果Xaa₃₈、Xaa₃₉、Xaa₄₀、Xaa₄₁或Xaa₄₂中的一个不存在,则每个后续氨基酸残基也不存在。

[0881] 23. 实施方案15-22中任一项的衍生物,其中Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆、Xaa₃₇、Xaa₃₈或Xaa₄₂中的一个或两个为Lys。

[0882] 23a. 实施方案23的衍生物,其中所述一个或两个取代基附接至所述类似物的一个或两个Lys残基的ε氨基。

[0883] 23b. 实施方案1-23a中任一项的衍生物,其中所述GLP-1类似物选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:11;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0884] 24. 式I的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯:

[0885] (P-L)_U-B-GLP1,

[0886] 其中GLP1为在对应于GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处具有Trp的GLP-1类似物,(P-L)是经由可选的分支基团(B)附接至所述GLP-1类似物的Lys残基上的取代基,并且其包含延长部分(P)和连接体(L),U表示该衍生物中取代基(P-L)的数目,并且其为1或2。

[0887] 24a. 实施方案24的衍生物,其包含至少一个pKa<7的官能团(FG)。

[0888] 24b. 实施方案24a的衍生物,其中所述至少一个官能团独立地选自化学式1、化学式2和化学式4。

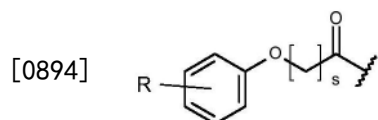
[0889] 25. 实施方案24-24b中任一项的衍生物,其为根据实施方案1-23b中任一项的衍生物。

[0890] 26. 实施方案24-25中任一项的衍生物,其包含一个或两个附接至所述GLP-1类似物的一个或两个Lys残基上的取代基(P-L)。

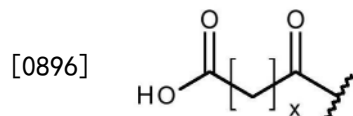
[0891] 26. 实施方案24-25中任一项的衍生物,其中所述GLP-1类似物如实施方案15-23b中任一项所定义。

[0892] 27. 实施方案24-26中任一项的衍生物,其中所述(每个)取代基(P-L)包含选自化学式10、化学式11、化学式12、化学式13和化学式14的延长部分(P):

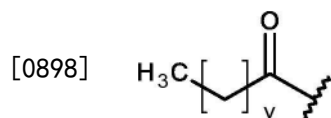
[0893] 化学式10:



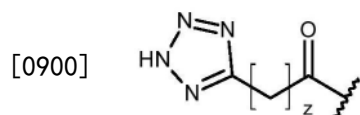
[0895] 化学式11:



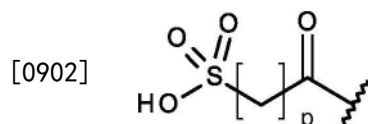
[0897] 化学式12:



[0899] 化学式13:

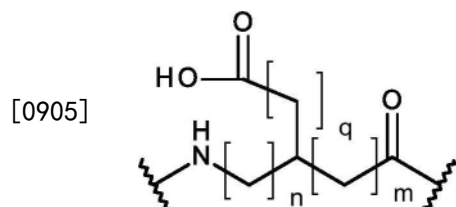


[0901] 化学式14:

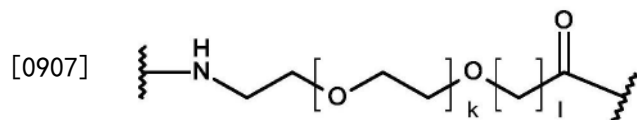


[0903] 和包含至少一个选自化学式15、化学式16、化学式17和化学式18的连接体元件的连接体(L):

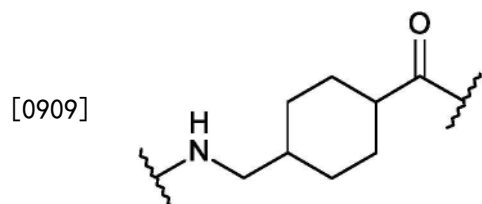
[0904] 化学式15:



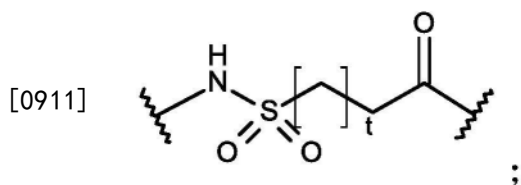
[0906] 化学式16:



[0908] 化学式17:



[0910] 化学式18:



[0912] 其中

[0913] R为-COOH;

[0914] s、x、y、z和p中的每一个独立地表示8-20范围内的整数;

[0915] n、m和q中的每一个独立地表示0-4范围内的整数;且

[0916] k、l和t中的每一个独立地表示1-5范围内的整数。

[0917] 28. 实施方案27的衍生物,其中至少一个连接体元件意为在所述(每个)取代基(P-L)中的连接体元件的数目在1-10的范围内。

[0918] 29. 实施方案27-28中任一项的衍生物,其在所述(每个)取代基(P-L)中包含1至8个连接体元件。

[0919] 30. 实施方案24-29中任一项的衍生物,其中所述(每个)取代基(P-L)由延长部分(P)和连接体(L)组成。

[0920] 31. 实施方案24-30中任一项的衍生物,其中P为化学式10。

[0921] 32. 实施方案24-31中任一项的衍生物,其中R在苯环的位置3处(间位)。

[0922] 33. 实施方案24-31中任一项的衍生物,其中R在苯环的位置4处(对位)。

[0923] 34. 实施方案24-33中任一项的衍生物,其中s为8-20。

[0924] 35. 实施方案24-34中任一项的衍生物,其中s为8-10。

[0925] 36. 实施方案24-35中任一项的衍生物,其中s为9。

[0926] 37. 实施方案24-30中任一项的衍生物,其中P为化学式11。

[0927] 38. 实施方案24-30和37中任一项的衍生物,其中x为8-20。

[0928] 39. 实施方案24-30和37-38中任一项的衍生物,其中x为12-20。

[0929] 40. 实施方案24-30和37-39中任一项的衍生物,其中x为12。

[0930] 41. 实施方案24-30和37-39中任一项的衍生物,其中x为16。

[0931] 42. 实施方案24-30和37-39中任一项的衍生物,其中x为18。

[0932] 43. 实施方案24-30中任一项的衍生物,其中P为化学式12。

[0933] 44. 实施方案24-30和43中任一项的衍生物,其中y为8-20。

[0934] 45. 实施方案24-30和43-44中任一项的衍生物,其中y为12-20。

[0935] 46. 实施方案24-30和43-45中任一项的衍生物,其中y为14。

[0936] 47. 实施方案24-30中任一项的衍生物,其中P为化学式13。

[0937] 48. 实施方案24-30和47中任一项的衍生物,其中z为8-20。

[0938] 49. 实施方案24-30和47-48中任一项的衍生物,其中z为13-17。

[0939] 50. 实施方案24-30和47-49中任一项的衍生物,其中z为15。

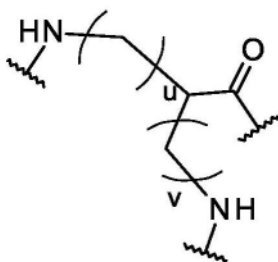
[0940] 51. 实施方案24-30中任一项的衍生物,其中P为化学式14。

[0941] 52. 实施方案24-30和51中任一项的衍生物,其中P为8-20。

[0942] 53. 实施方案24-30和51-53中任一项的衍生物,其中P为13-17。

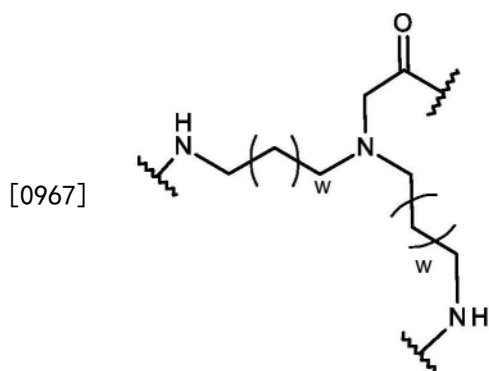
[0943] 54. 实施方案24-30和51-53中任一项的衍生物,其中P为15。

- [0944] 55. 实施方案24-54中任一项的衍生物,其中L包含化学式15连接体元件。
- [0945] 56. 实施方案24-55中任一项的衍生物,其中n、m和q中的每一个独立地为0-4。
- [0946] 57. 实施方案24-56中任一项的衍生物,其中n为0,m为2,且q为1。
- [0947] 58. 实施方案24-57中任一项的衍生物,其中L包含0至6次化学式16连接体元件。
- [0948] 59. 实施方案24-58中任一项的衍生物,其中k和l中的每一个独立地为1-5。
- [0949] 60. 实施方案24-59中任一项的衍生物,其中k和l中的每一个为1。
- [0950] 61. 实施方案58-60中任一项的衍生物,其中L包含0次化学式16,即不包含化学式16。
- [0951] 62. 实施方案58-60中任一项的衍生物,其中L包含2次化学式16。
- [0952] 63. 实施方案58-60中任一项的衍生物,其中L包含4次化学式16。
- [0953] 64. 实施方案58-60中任一项的衍生物,其中L包含6次化学式16。
- [0954] 65. 实施方案24-64中任一项的衍生物,其中L包含化学式17连接体元件。
- [0955] 66. 实施方案24-65中任一项的衍生物,其中L包含化学式18连接体元件。
- [0956] 67. 实施方案24-66中任一项的衍生物,其中t为1-5。
- [0957] 68. 实施方案24-67中任一项的衍生物,其中t为2。
- [0958] 69. 实施方案24-68中任一项的衍生物,其中如果存在超过一个连接体元件,则所述连接体元件通过酰胺键相互连接。
- [0959] 70. 实施方案69的衍生物,其中所述超过一个相互连接的连接体元件构成连接体L。
- [0960] 71. 实施方案69的衍生物,其中单独的连接体元件构成连接体L。
- [0961] 72. 实施方案70-71中任一项的衍生物,其中所述(每个)连接体(L)和所述(每个)延长部分(P)通过酰胺键相互连接。
- [0962] 73. 实施方案70-72中任一项的衍生物,其中所述(每个)连接体(L)通过酰胺键与所述(每个)Lys残基的ε氨基连接,任选地经由分支基团(B)。
- [0963] 74. 实施方案24-73中任一项的衍生物,其中所述分支基团(B)包含选自化学式19和化学式20的分支连接体(BL):
- [0964] 化学式19:



[0965]

[0966] 化学式20:



[0968] 其中u和v独立地表示0-5范围内的整数,条件是当u为0时,则v为1-5范围内的整数,且当v为0时,则u为1-5范围内的整数;且其中每个w表示0-2范围内的整数。

[0969] 75.实施方案74的衍生物,其中BL为化学式19。

[0970] 76.实施方案74-75中任一项的衍生物,其中u和v独立地表示0-5范围内的整数,条件是当u为0时,则v为1-5,且当v为0时,则u为1-5。

[0971] 77.实施方案74-76中任一项的衍生物,其中u为0且v为4。

[0972] 78.实施方案74-76中任一项的衍生物,其中u为4且v为0。

[0973] 79.实施方案74的衍生物,其中BL为化学式20。

[0974] 80.实施方案74和79中任一项的衍生物,其中w为0-2。

[0975] 81.实施方案74和79-80中任一项的衍生物,其中w为1。

[0976] 82.实施方案24-81中任一项的衍生物,其中B不存在,且U为1。

[0977] 83.实施方案24-82中任一项的衍生物,其具有式Ia: (P-L)-GLP1,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0978] 84.实施方案82-84中任一项的衍生物,其中P选自化学式11和化学式12。

[0979] 85.实施方案84的衍生物,其中P为化学式11。

[0980] 86.实施方案85的衍生物,其中x为16。

[0981] 87.实施方案84的衍生物,其中P为化学式12。

[0982] 88.实施方案87的衍生物,其中y为14。

[0983] 89.实施方案82-88中任一项的衍生物,其中L包含化学式15连接体元件。

[0984] 90.实施方案82-89中任一项的衍生物,其中L包含化学式15连接体元件,其中q为1,m为2,且n为0。

[0985] 91.实施方案90的衍生物,其中L由化学式15连接体元件组成,其中q为1,m为2,且n为0。

[0986] 92.实施方案82-90中任一项的衍生物,其中L包含化学式16连接体元件。

[0987] 93.实施方案82-90和92中任一项的衍生物,其中L包含两个化学式16连接体元件。

[0988] 94.实施方案92-93中任一项的衍生物,其中k=1=1。

[0989] 95.实施方案82-90和92-94中任一项的衍生物,其中L由经由酰胺键并按所示顺序相互连接的一个化学式15连接体元件(其中q为1,m为2,且n为0)和两个化学式16连接体元件(其中k为1,且l为1)组成(化学式15-2x化学式16)。

[0990] 96.实施方案82-95中任一项的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,其中GLP1包含式IIa的肽:

[0991] Xaa₇-Trp-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇,

[0992] 其中

[0993] Xaa₇为L-组氨酸、(S)-2-羟基-3-(1H-咪唑-4-基)-丙酸、D-组氨酸、脱氨基组氨酸、高组氨酸、N^α-乙酰基-组氨酸、N^α-甲酰基-组氨酸、N^α-甲基-组氨酸、3-吡啶基丙氨酸、2-吡啶基丙氨酸或4-吡啶基丙氨酸；

[0994] Xaa₁₂为Phe或Leu；

[0995] Xaa₁₆为Val或Leu；

[0996] Xaa₁₈为Ser、Arg、Val或Leu；

[0997] Xaa₁₉为Tyr或Gln；

[0998] Xaa₂₀为Leu或Met；

[0999] Xaa₂₂为Gly或Glu；

[1000] Xaa₂₃为Gln、Glu或Arg；

[1001] Xaa₂₅为Ala或Val；

[1002] Xaa₂₆为Arg或Lys；

[1003] Xaa₂₇为Glu、Lys或Leu；

[1004] Xaa₃₀为Ala、Glu或Arg；

[1005] Xaa₃₁为Trp或His；

[1006] Xaa₃₃为Val；

[1007] Xaa₃₄为Arg、His、Asn或Gln；

[1008] Xaa₃₅为Gly或Ala；

[1009] Xaa₃₆为Arg、Lys或Gly；且

[1010] Xaa₃₇为Gly、Lys、Pro或不存在；

[1011] 条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆或Xaa₃₇中的至少一个为Lys。

[1012] 97. 实施方案96的衍生物，其中Xaa₇为L-组氨酸；Xaa₁₂为Phe；Xaa₁₆为Val；Xaa₁₈为Ser；Xaa₁₉为Tyr；Xaa₂₀为Leu；Xaa₂₂为Gly；Xaa₂₃为Gln；Xaa₂₅为Ala；Xaa₂₆为Lys；Xaa₂₇为Glu；Xaa₃₀为Ala；Xaa₃₁为Trp；Xaa₃₃为Val；Xaa₃₄为Arg；Xaa₃₅为Gly；Xaa₃₆为Arg；且Xaa₃₇为Gly。

[1013] 98. 实施方案96-97中任一项的衍生物，其中GLP-1为式IIa的肽。

[1014] 99. 实施方案82-98中任一项的衍生物，其中(P-L) 100. 实施方案24-81中任一项的衍生物，其中B不存在，且U为2。

[1015] 100. 实施方案24-81中任一项的衍生物，其中B不存在，且U为2。

[1016] 101. 实施方案24-81和100中任一项的衍生物，或其药学上可接受的盐、酰胺或酯，该衍生物具有式Ib：(P-L)₂-GLP1。

[1017] 102. 实施方案100-101中任一项的衍生物，其中每个P独立地选自化学式10和化学式11。

[1018] 103. 实施方案102中任一项的衍生物，其中两个P是相同的。

[1019] 104. 实施方案103的衍生物，其中P为化学式10。

[1020] 105. 实施方案104的衍生物，其中R为-COOH。

[1021] 106. 实施方案104-105中任一项的衍生物，其中R在苯环的位置3处(间位)。

- [1022] 107. 实施方案104-105中任一项的衍生物, 其中R在苯环的位置4处(对位)。
- [1023] 108. 实施方案104-107中任一项的衍生物, 其中s为9。
- [1024] 109. 实施方案103的衍生物, 其中P为化学式11。
- [1025] 110. 实施方案109的衍生物, 其中x为18。
- [1026] 110a. 实施方案109的衍生物, 其中x为12。
- [1027] 111. 实施方案100-110a中任一项的衍生物, 其中每个L包含化学式15连接体元件。
- [1028] 112. 实施方案111的衍生物, 其中每个L包含化学式15连接体元件, 其中q为1, m为2, 且n为0。
- [1029] 113. 实施方案100-112中任一项的衍生物, 其中每个L包含化学式16连接体元件。
- [1030] 114. 实施方案113的衍生物, 其中每个L包含两个化学式16连接体元件。
- [1031] 115. 实施方案113-114中任一项的衍生物, 其中k=1=1。
- [1032] 116. 实施方案100-115中任一项的衍生物, 其中每个L包含化学式17连接体元件。
- [1033] 116. 实施方案100-115中任一项的衍生物, 其中每个L由经由酰胺键并按所示顺序相互连接的一个化学式15连接体元件(其中q为1, m为2, 且n为0)和两个化学式16连接体元件(其中k为1, 且l为1)组成(化学式15-2x化学式16)。
- [1034] 117. 实施方案100-115中任一项的衍生物, 其中每个L由经由酰胺键并按所示顺序相互连接的一个化学式15连接体元件(其中q为1, m为2, 且n为0)和四个化学式16连接体元件(其中k为1, 且l为1)组成(化学式15-4x化学式16)。
- [1035] 116. 实施方案100-115中任一项的衍生物, 其中每个L由经由酰胺键并按所示顺序相互连接的一个化学式17连接体元件、一个化学式15连接体元件(其中q为1, m为2, 且n为0)和两个化学式16连接体元件(其中k为1, 且l为1)组成(化学式17-化学式15-2x化学式16)。
- [1036] 117. 实施方案100-116中任一项的衍生物, 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯, 其中GLP-1包含式IIb的肽:
- [1037] Xaa₇-Trp-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈-Xaa₃₉-Xaa₄₀-Xaa₄₁-Xaa₄₂,
- [1038] 其中
- [1039] Xaa₇为L-组氨酸、(S)-2-羟基-3-(1H-咪唑-4-基)-丙酸、D-组氨酸、脱氨基组氨酸、高组氨酸、N^α-乙酰基-组氨酸、N^α-甲酰基-组氨酸、N^α-甲基-组氨酸、3-吡啶基丙氨酸、2-吡啶基丙氨酸或4-吡啶基丙氨酸;
- [1040] Xaa₁₂为Phe或Leu;
- [1041] Xaa₁₆为Val或Leu;
- [1042] Xaa₁₈为Ser、Arg、Val或Leu;
- [1043] Xaa₁₉为Tyr或Gln;
- [1044] Xaa₂₀为Leu或Met;
- [1045] Xaa₂₂为Gly或Glu;
- [1046] Xaa₂₃为Gln、Glu或Arg;
- [1047] Xaa₂₅为Ala或Val;
- [1048] Xaa₂₆为Arg或Lys;

- [1049] Xaa₂₇为Glu、Lys或Leu;
- [1050] Xaa₃₀为Ala、Glu或Arg;
- [1051] Xaa₃₁为Trp或His;
- [1052] Xaa₃₃为Val;
- [1053] Xaa₃₄为Arg、His、Asn或Gln;
- [1054] Xaa₃₅为Gly或Ala;
- [1055] Xaa₃₆为Arg、Lys或Gly;
- [1056] Xaa₃₇为Gly、Lys、Pro或不存在;
- [1057] Xaa₃₈为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys或不存在;且
- [1058] Xaa₃₉为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro或不存在;
- [1059] 条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆、Xaa₃₇或Xaa₃₈中的至少两个为Lys。
- [1060] 118.实施方案117的衍生物,其中Xaa₇为L-组氨酸;Xaa₁₂为Phe;Xaa₁₆为Val;Xaa₁₈为Ser;Xaa₁₉为Tyr;Xaa₂₀为Leu;Xaa₂₂为Glu;Xaa₂₃为Gln;Xaa₂₅为Ala;Xaa₂₆为Lys或Arg;Xaa₂₇为Glu或Lys;Xaa₃₀为Ala或Glu;Xaa₃₁为Trp;Xaa₃₃为Val;Xaa₃₄为Arg;Xaa₃₅为Gly;Xaa₃₆为Lys;Xaa₃₇为Gly或Lys;Xaa₃₈为Glu或不存在;且Xaa₃₉为Gly或不存在;条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆和Xaa₃₇中的至少两个为Lys。
- [1061] 119.实施方案117-118中任一项的衍生物,其中GLP-1为式IIb的肽。
- [1062] 120.实施方案100-119中任一项的衍生物,其中所述两个(P-L) 附接至i) Lys₂₆和Lys₃₇;ii) Lys₂₇和Lys₃₆;或iii) Lys₃₆和Lys₃₇。
- [1063] 121.实施方案100-116中任一项的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,其中GLP-1包含式IIc的肽:
- [1064] Xaa₇-Trp-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈-Xaa₃₉-Xaa₄₀-Xaa₄₁-Xaa₄₂,
- [1065] 其中
- [1066] Xaa₇为L-组氨酸、(S)-2-羟基-3-(1H-咪唑-4-基)-丙酸、D-组氨酸、脱氨基组氨酸、高组氨酸、N^a-乙酰基-组氨酸、N^a-甲酰基-组氨酸、N^a-甲基-组氨酸、3-吡啶基丙氨酸、2-吡啶基丙氨酸或4-吡啶基丙氨酸;
- [1067] Xaa₁₂为Phe或Leu;
- [1068] Xaa₁₆为Val或Leu;
- [1069] Xaa₁₈为Ser、Arg、Val或Leu;
- [1070] Xaa₁₉为Tyr或Gln;
- [1071] Xaa₂₀为Leu或Met;
- [1072] Xaa₂₂为Gly或Glu;
- [1073] Xaa₂₃为Gln、Glu或Arg;
- [1074] Xaa₂₅为Ala或Val;
- [1075] Xaa₂₆为Arg或Lys;
- [1076] Xaa₂₇为Glu、Lys或Leu;
- [1077] Xaa₃₀为Ala、Glu或Arg;

- [1078] Xaa₃₁为Trp或His;
- [1079] Xaa₃₃为Val;
- [1080] Xaa₃₄为Arg、His、Asn或Gln;
- [1081] Xaa₃₅为Gly或Ala;
- [1082] Xaa₃₆为Arg、Lys或Gly;
- [1083] Xaa₃₇为Gly、Lys、Pro或不存在;
- [1084] Xaa₃₈为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro或Lys;
- [1085] Xaa₃₉为Ser、Gly、Ala、Glu或Pro;
- [1086] Xaa₄₀为Ser、Gly、Ala、Glu或Pro;
- [1087] Xaa₄₁为Ser、Gly、Ala、Glu或Pro;且
- [1088] Xaa₄₂为Lys;
- [1089] 条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆、Xaa₃₇、Xaa₃₈或Xaa₄₂中的至少两个为Lys。
- [1090] 122.实施方案121的衍生物,其中Xaa₇为L-组氨酸;Xaa₁₂为Phe;Xaa₁₆为Val;Xaa₁₈为Ser;Xaa₁₉为Tyr;Xaa₂₀为Leu;Xaa₂₂为Glu;Xaa₂₃为Gln;Xaa₂₅为Ala;Xaa₂₆为Arg;Xaa₂₇为Glu;Xaa₃₀为Ala;Xaa₃₁为Trp;Xaa₃₃为Val;Xaa₃₄为Arg;Xaa₃₅为Gly;Xaa₃₆为Arg;Xaa₃₇为Gly;Xaa₃₈Lys;Xaa₃₉为Gly;Xaa₄₀为Gly;Xaa₄₁为Ser;且Xaa₄₂为Lys。
- [1091] 123.实施方案121-122中任一项的衍生物,其中GLP-1为式IIc的肽。
- [1092] 124.实施方案121-123中任一项的衍生物,其中所述两个(P-L) 附接至Lys₃₈和Lys₄₂。
- [1093] 125.实施方案24-81中任一项的衍生物,其中B存在,且U为2。
- [1094] 126.实施方案125的衍生物,其中B由>BL-PL表示,其中>BL为分支连接体,且PL为可选的前连接体。
- [1095] 127.实施方案126的衍生物,其中>BL为三价基团。
- [1096] 128.实施方案126-127中任一项的衍生物,其中>BL由如实施方案74-81中任一项所限定的分支连接体(BL)表示。
- [1097] 129.实施方案126-128中任一项的衍生物,其中PL为二价基团。
- [1098] 130.实施方案125-129中任一项的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,该衍生物具有式Ic:
- [1099] (P-L)₂>BL-PL-GLP1。
- [1100] 131.实施方案125-130中任一项的衍生物,其中每个P为化学式11。
- [1101] 132.实施方案131的衍生物,其中x为18。
- [1102] 133.实施方案125-132中任一项的衍生物,其中每个L包含化学式15连接体元件。
- [1103] 134.实施方案125-133中任一项的衍生物,其中每个L包含化学式15连接体元件,其中q为1,m为2,且n为0。
- [1104] 135.实施方案125-134中任一项的衍生物,其中每个L包含化学式16连接体元件。
- [1105] 136.实施方案135的衍生物,其中k=1=1。
- [1106] 137.实施方案125-136中任一项的衍生物,其中每个L包含化学式17连接体元件。
- [1107] 138.实施方案125-137中任一项的衍生物,其中每个L由经由酰胺键并按所示顺序相互连接的一个化学式17连接体元件、一个化学式15连接体元件(其中q为1,m为2,且n为0)

和四个化学式16连接体元件(其中k为1,且l为1)组成(化学式17-化学式15-4x化学式16)。

[1108] 139.实施方案125-137中任一项的衍生物,其中每个L由经由酰胺键并按所示顺序相互连接的一个化学式17连接体元件、一个化学式15连接体元件(其中q为1,m为2,且n为0)和6个化学式16连接体元件(其中k为1,且l为1)组成(化学式17-化学式15-6x化学式16)。

[1109] 140.实施方案125-139中任一项的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,其中GLP1包含式IIId的肽:

[1110] Xaa₇-Trp-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈-Xaa₃₉-Xaa₄₀-Xaa₄₁-Xaa₄₂,

[1111] 其中

[1112] Xaa₇为L-组氨酸、(S)-2-羟基-3-(1H-咪唑-4-基)-丙酸、D-组氨酸、脱氨基组氨酸、高组氨酸、N^α-乙酰基-组氨酸、N^α-甲酰基-组氨酸、N^α-甲基-组氨酸、3-吡啶基丙氨酸、2-吡啶基丙氨酸或4-吡啶基丙氨酸;

[1113] Xaa₁₂为Phe或Leu;

[1114] Xaa₁₆为Val或Leu;

[1115] Xaa₁₈为Ser、Arg、Val或Leu;

[1116] Xaa₁₉为Tyr或Gln;

[1117] Xaa₂₀为Leu或Met;

[1118] Xaa₂₂为Gly或Glu;

[1119] Xaa₂₃为Gln、Glu或Arg;

[1120] Xaa₂₅为Ala或Val;

[1121] Xaa₂₆为Arg或Lys;

[1122] Xaa₂₇为Glu、Lys或Leu;

[1123] Xaa₃₀为Ala、Glu或Arg;

[1124] Xaa₃₁为Trp或His;

[1125] Xaa₃₃为Val;

[1126] Xaa₃₄为Arg、His、Asn或Gln;

[1127] Xaa₃₅为Gly或Ala;

[1128] Xaa₃₆为Arg、Lys或Gly;

[1129] Xaa₃₇为Gly、Lys、Pro或不存在;且

[1130] Xaa₃₈为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys或不存在;

[1131] 条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆、Xaa₃₇或Xaa₃₈中的至少一个为Lys。

[1132] 141.实施方案140的衍生物,其中Xaa₇为L-组氨酸;Xaa₁₂为Phe;Xaa₁₆为Val;Xaa₁₈为Ser;Xaa₁₉为Tyr;Xaa₂₀为Leu;Xaa₂₂为Glu;Xaa₂₃为Gln;Xaa₂₅为Ala;Xaa₂₆为Arg;Xaa₂₇为Glu;Xaa₃₀为Ala;Xaa₃₁为Trp;Xaa₃₃为Val;Xaa₃₄为Arg;Xaa₃₅为Gly;Xaa₃₆为Arg;Xaa₃₇为Lys或Pro;且Xaa₃₈为Lys或不存在;条件是Xaa₃₇和Xaa₃₈中的至少一个为Lys。

[1133] 142.实施方案140-141中任一项的衍生物,其中GLP-1为式IIId的肽。

[1134] 143.实施方案125-142中任一项的衍生物,其中(P-L)附接至Lys₃₇或Lys₃₈。

[1135] 144.实施方案125-143中任一项的衍生物,其中BL为化学式19,其中u和v独立地表

示0-5范围内的整数,条件是当u为0时,则v为1-5范围内的整数,且当v为0时,则u为1-5范围内的整数。

[1136] 145.实施方案144的衍生物,其中u为0,且v为4。

[1137] 146.实施方案144的衍生物,其中u为4,且v为0。

[1138] 147.实施方案125-146中任一项的衍生物,其中PL(当存在时)包含化学式16。

[1139] 148.实施方案147的衍生物,其中PL包含0至2次化学式16连接体元件。

[1140] 149.实施方案147-148中任一项的衍生物,其中k和l中的每一个独立地为1-5。

[1141] 150.实施方案147-149中任一项的衍生物,其中k和l中的每一个为1。

[1142] 151.实施方案147-150中任一项的衍生物,其中PL包含0次化学式16,即不包含化学式16。

[1143] 152.实施方案147-151中任一项的衍生物,其中PL不存在。

[1144] 153.实施方案125-152中任一项的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,该衍生物具有式Id:

[1145] $(P-L)_2 > BL-GLP1$ 。

[1146] 154.实施方案147-150中任一项的衍生物,其中PL存在,且为非可选的(即必需的)。

[1147] 155.实施方案147-150和154中任一项的衍生物,其中PL包含两次化学式16。

[1148] 156.实施方案147-150和154-155中任一项的衍生物,其中PL由两次化学式16组成。

[1149] 157.实施方案125-143中任一项的衍生物,其中BL为化学式20,其中每个w表示0-2范围内的整数。

[1150] 158.实施方案157的衍生物,其中w为1。

[1151] 159.实施方案157-158中任一项的衍生物,其中PL存在。

[1152] 160.实施方案157-160中任一项的衍生物,其中PL包含化学式16。

[1153] 161.实施方案159-160中任一项的衍生物,其中PL包含两次化学式16连接体元件。

[1154] 162.实施方案159-160中任一项的衍生物,其中PL由两次化学式16连接体元件组成。

[1155] 163.实施方案160-162中任一项的衍生物,其中k和l中的每一个独立地为1-5。

[1156] 163.实施方案160-163中任一项的衍生物,其中k和l中的每一个为1。

[1157] 164.实施方案24-163中任一项的衍生物,其中GLP1选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:11;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[1158] 165.选自化学式21、化学式22、化学式23、化学式24和化学式25的衍生物;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[1159] 166.实施方案164的衍生物,其为实施方案1-165中任一项的衍生物。

[1160] 167.实施方案165-166中任一项的衍生物,其为实施例1、2、3、4或5的化合物。

[1161] 168.实施方案1-167中任一项的衍生物,其为GLP-1衍生物。

[1162] 169.选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:11的GLP-1类似物;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[1163] 170.包含或具有SEQ ID NO:15的氨基酸1-275的化合物;或其药学上可接受的盐、

酰胺或酯。

[1164] 170a. 包含或具有SEQ ID NO:15的氨基酸276-550的化合物;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[1165] 170b. 包含或具有SEQ ID NO:15的化合物。

[1166] 170c. 作为以下两个化合物的二聚体的化合物:i) 两个实施方案170的化合物,ii) 两个实施方案170a的化合物,iii) 一个实施方案170的化合物和一个实施方案170a的化合物。

[1167] 170d. 实施方案170b-170c中任一项的化合物,其在位置55处的两个Cys残基和在位置58处的两个Cys残基之间具有Cys-Cys键。

[1168] 171. 实施方案1-169中任一项的衍生物或类似物,其为GLP-1受体激动剂。

[1169] 172. 实施方案1-169和171中任一项的衍生物或类似物,其为完全GLP-1受体激动剂。

[1170] 173. 实施方案1-169和171-172中任一项的衍生物或类似物,其在体外具有生物活性。

[1171] 174. 实施方案1-169和171-173中任一项的衍生物或类似物,其在体外是有效的。

[1172] 175. 实施方案1-169和171-174中任一项的衍生物或类似物,其能够激活人GLP-1受体。

[1173] 176. 实施方案1-169和171-175中任一项的衍生物或类似物,其在采用表达人GLP-1受体的全细胞的试验中能够激活人GLP-1受体,其中该试验在不存在HSA (0% HSA) 的情况下进行。

[1174] 177. 实施方案1-169和171-176中任一项的衍生物或类似物,其中在报道基因试验中,如在实施例15的试验中测量人GLP-1受体的响应。

[1175] 178. 实施方案171-177中任一项的衍生物或类似物,其中GLP-1受体激动、体外生物活性、体外效力或激活人GLP-1受体的能力分别基本如实施例15所述测定。

[1176] 179. 实施方案1-169和171-178中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于300pM或更低的 EC_{50} 。

[1177] 180. 实施方案1-169和171-179中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于200pM或更低的 EC_{50} 。

[1178] 181. 实施方案1-169和171-180中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于150pM或更低的 EC_{50} 。

[1179] 182. 实施方案1-169和171-181中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于125pM或更低的 EC_{50} 。

[1180] 183. 实施方案1-169和171-182中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于100pM或更低的 EC_{50} 。

[1181] 184. 实施方案1-169和171-183中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于75pM或更低的 EC_{50} 。

[1182] 185. 实施方案1-169和171-184中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于50pM或更低的 EC_{50} 。

[1183] 186. 实施方案1-169和171-185中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于

30pM或更低的 EC_{50} 。

[1184] 187. 实施方案179-186中任一项的衍生物或类似物, 其中所述 EC_{50} 基本如实施例15所述测定。

[1185] 188. 实施方案1-169和171-187中任一项的衍生物或类似物, 其体外效力相当于比司美鲁肽 EC_{50} 的60倍更低的 EC_{50} , 其中司美鲁肽的 EC_{50} 以与该衍生物的 EC_{50} 相同的方式测定。

[1186] 189. 实施方案1-169和171-188中任一项的衍生物或类似物, 其体外效力相当于比司美鲁肽 EC_{50} 的30倍更低的 EC_{50} , 其中司美鲁肽的 EC_{50} 以与该衍生物的 EC_{50} 相同的方式测定。

[1187] 190. 实施方案1-169和171-189中任一项的衍生物或类似物, 其体外效力相当于比司美鲁肽 EC_{50} 的8倍更低的 EC_{50} , 其中司美鲁肽的 EC_{50} 以与该衍生物的 EC_{50} 相同的方式测定。

[1188] 191. 实施方案1-169和171-190中任一项的衍生物或类似物, 其体外效力相当于比司美鲁肽 EC_{50} 的6倍更低的 EC_{50} , 其中司美鲁肽的 EC_{50} 以与该衍生物的 EC_{50} 相同的方式测定。

[1189] 192. 实施方案1-169和171-191中任一项的衍生物或类似物, 其体外效力相当于比司美鲁肽 EC_{50} 的3倍更低的 EC_{50} , 其中司美鲁肽的 EC_{50} 以与该衍生物的 EC_{50} 相同的方式测定。

[1190] 193. 实施方案1-169和171-192中任一项的衍生物或类似物, 其体外效力相当于比司美鲁肽 EC_{50} 的2倍更低的 EC_{50} , 其中司美鲁肽的 EC_{50} 以与该衍生物的 EC_{50} 相同的方式测定。

[1191] 194. 实施方案1-169和171-193中任一项的衍生物或类似物, 其体外效力相当于比司美鲁肽的 EC_{50} 更低或相等的 EC_{50} , 其中司美鲁肽的 EC_{50} 以与该衍生物的 EC_{50} 相同的方式测定。

[1192] 195. 实施方案188-194中任一项的衍生物或类似物, 其中所述 EC_{50} 基本如实施例15所述测定。

[1193] 196. 实施方案1-169和171-195中任一项的衍生物或类似物, 其能够与GLP-1受体结合。

[1194] 197. 实施方案1-169和171-196中任一项的衍生物或类似物, 其在低浓度HSA (最高0.001% (w/v) 最终测定浓度) 下能够与GLP-1受体结合。

[1195] 198. 实施方案1-169和171-195中任一项的衍生物或类似物, 其在高浓度HSA (2.0% (w/v) 最终测定浓度) 下能够与GLP-1受体结合。

[1196] 199. 实施方案196-198中任一项的衍生物或类似物, 其中所述与人GLP-1受体的结合在竞争结合试验中, 如在实施例16的试验中测量。

[1197] 200. 实施方案196-199中任一项的衍生物或类似物, 其中所述在体外与人GLP-1受体的结合基本如实施例16所述测定。

[1198] 201. 实施方案1-169和171-200中任一项的衍生物或类似物, 其在低浓度HSA下能够以20nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[1199] 202. 实施方案1-169和171-201中任一项的衍生物或类似物, 其在低浓度HSA下能够以10nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[1200] 203. 实施方案1-169和171-202中任一项的衍生物或类似物, 其在低浓度HSA下能够以4.0nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[1201] 204. 实施方案1-169和171-203中任一项的衍生物或类似物, 其在低浓度HSA下能够以2.0nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[1202] 205. 实施方案1-169和171-204中任一项的衍生物或类似物, 其在低浓度HSA下能

够以1.0nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[1203] 206.实施方案1-169和171-205中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以0.50nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[1204] 207.实施方案201-206中任一项的衍生物或类似物,其中所述 IC_{50} 基本如实施例16所述在具有最高0.001% (w/v) HSA (最终测定浓度) 的反应中测定。

[1205] 208.实施方案1-169和171-207中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的35倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[1206] 209.实施方案1-169和171-208中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的20倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[1207] 210.实施方案1-169和171-209中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的8倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[1208] 211.实施方案1-169和171-210中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的4倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[1209] 212.实施方案1-169和171-211中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的3倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[1210] 213.实施方案1-169和171-212中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的2倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[1211] 214.实施方案1-169和171-213中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[1212] 215.实施方案1-169和171-214中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的0.50倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。

[1213] 216.实施方案208-215中任一项的衍生物或类似物,其中所述 IC_{50} 基本如实施例16所述在具有最高0.001% (w/v) HSA (最终测定浓度) 的反应中测定。

[1214] 217.实施方案1-169和171-216中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度) 下能够以800nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[1215] 218.实施方案1-169和171-217中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度) 下能够以450nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[1216] 219.实施方案1-169和171-218中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度) 下能够以200nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

[1217] 220.实施方案1-169和171-219中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度) 下能够以100nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。

- [1218] 221. 实施方案1-169和171-220中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)下能够以20nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。
- [1219] 222. 实施方案1-169和171-221中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)下能够以10nM或更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合。
- [1220] 223. 实施方案217-222中任一项的衍生物或类似物,其中所述 IC_{50} 基本如实施例16所述在具有2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)的反应中测定。
- [1221] 224. 实施方案1-169和171-223中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的2倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。
- [1222] 225. 实施方案1-169和171-223中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)下能够以比司美鲁肽的 IC_{50} 更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。
- [1223] 226. 实施方案1-169和171-223中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的0.30倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。
- [1224] 227. 实施方案1-169和171-223中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的0.15倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。
- [1225] 228. 实施方案1-169和171-223中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)下能够以比司美鲁肽 IC_{50} 的0.10倍更低的 IC_{50} 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 IC_{50} 以与该衍生物的 IC_{50} 相同的方式测定。
- [1226] 229. 实施方案224-228中任一项的衍生物或类似物,其中所述 IC_{50} 基本如实施例16所述在具有2.0% (w/v) HSA (最终测定浓度)的反应中测定。
- [1227] 230. 制备实施方案1-169和171-229中任一项的衍生物或类似物的方法,其包括重组产生GLP-1类似物的步骤,该GLP-1类似物在对应于GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处具有Trp。
- [1228] 231. 实施方案230的方法,其进一步包括纯化重组产生的GLP-1类似物的步骤。
- [1229] 232. 实施方案230-231中任一项的方法,其进一步包括将所述取代基附接至所述GLP-1类似物的Lys残基上的步骤,由此产生该GLP-1类似物的衍生物。
- [1230] 233. 实施方案232的方法,其中附接一个或两个取代基。
- [1231] 234. 实施方案233的方法,其中一个取代基附接至一个Lys残基。
- [1232] 235. 实施方案233的方法,其中两个取代基附接至两个Lys残基,每个Lys残基上附接一个取代基。
- [1233] 236. 实施方案233的方法,其中两个取代基经由分支基团(B)附接至一个Lys残基。
- [1234] 237. 实施方案232-237中任一项的方法,其进一步包括纯化所述GLP-1衍生物的步骤。
- [1235] 238. 药物组合物,其包含根据实施方案1-169和171-229中任一项的衍生物或类似物和药学上可接受的赋形剂。
- [1236] 239. 根据实施方案1-169和171-229中任一项的衍生物或类似物,其用作药物。

- [1237] 240. 根据实施方案1-169和171-229中任一项的衍生物或类似物,其用于
- [1238] (i) 预防和/或治疗所有形式的糖尿病,如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY (青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病,和/或用于减少HbA1C;
- [1239] (ii) 延缓或预防糖尿病进展,如2型糖尿病的进展,延缓糖耐量减低 (IGT) 进展成需要胰岛素的2型糖尿病,延缓或预防胰岛素抵抗,和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;
- [1240] (iii) 改善 β -细胞功能,如减少 β -细胞凋亡、提高 β -细胞功能和/或 β -细胞质量,和/或恢复 β -细胞的葡萄糖敏感性;
- [1241] (iv) 预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症,如阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化;
- [1242] (v) 例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调,如肥胖症;治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症;减少胃运动;延缓胃排空;增加身体活动;和/或预防和/或治疗肥胖症的共病,如骨关节炎和/或尿失禁;
- [1243] (vi) 预防和/或治疗糖尿病并发症,如血管病;神经病,包括周围神经病变;肾病;和/或视网膜病;
- [1244] (vii) 改善脂质参数,如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质;增加HDL;降低小而密的LDL;降低VLDL;降低甘油三酯;降低胆固醇;降低人的脂蛋白a (Lp (a)) 血浆水平;在体外和/或体内抑制载脂蛋白a (apo (a)) 的生成;
- [1245] (viii) 预防和/或治疗心血管疾病,如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行 (闭塞性动脉硬化)、舒张功能障碍和/或收缩功能障碍;和/或降低血压,如降低收缩压;
- [1246] (ix) 预防和/或治疗胃肠疾病,如炎性肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎;消化不良;和/或胃溃疡;和/或炎症,如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮;
- [1247] (x) 预防和/或治疗危重病,如治疗危重患者、危重病多发性肾病 (CIPNP) 患者和/或潜在的CIPNP患者;预防危重病或CIPNP的进展;预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征 (SIRS);预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可能性;和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢;
- [1248] (xi) 预防和/或治疗多囊卵巢综合征 (PCOS);
- [1249] (xii) 预防和/或治疗脑部疾病,如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤;
- [1250] (xiii) 预防和/或治疗睡眠呼吸暂停;和/或
- [1251] (xiv) 预防和/或治疗滥用,如酒精滥用和/或药物滥用。
- [1252] 241. 根据实施方案1-169和171-229中任一项的衍生物或类似物在制备药物中的用途,该药物用于
- [1253] (i) 预防和/或治疗所有形式的糖尿病,如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型

糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY (青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病,和/或用于减少HbA1C;

[1254] (ii) 延缓或预防糖尿病进展,如2型糖尿病的进展,延缓糖耐量减低(IGT)进展成需要胰岛素的2型糖尿病,延缓或预防胰岛素抵抗,和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;

[1255] (iii) 改善 β -细胞功能,如减少 β -细胞凋亡、提高 β -细胞功能和/或 β -细胞质量,和/或恢复 β -细胞的葡萄糖敏感性;

[1256] (iv) 预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症,如阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化;

[1257] (v) 例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调,如肥胖症;治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症;减少胃运动;延缓胃排空;增加身体活动;和/或预防和/或治疗肥胖症的共病,如骨关节炎和/或尿失禁;

[1258] (vi) 预防和/或治疗糖尿病并发症,如血管病;神经病,包括周围神经病变;肾病;和/或视网膜病;

[1259] (vii) 改善脂质参数,如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质;增加HDL;降低小而密的LDL;降低VLDL;降低甘油三酯;降低胆固醇;降低人的脂蛋白a(Lp(a))血浆水平;在体外和/或体内抑制载脂蛋白a(apo(a))的生成;

[1260] (viii) 预防和/或治疗心血管疾病,如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行(闭塞性动脉硬化)、舒张功能障碍和/或收缩功能障碍;和/或降低血压,如降低收缩压;

[1261] (ix) 预防和/或治疗胃肠疾病,如炎性肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎;消化不良;和/或胃溃疡;和/或炎症,如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮;

[1262] (x) 预防和/或治疗危重病,如治疗危重患者、危重病多发性肾病(CIPNP)患者和/或潜在的CIPNP患者;预防危重病或CIPNP的进展;预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征(SIRS);预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可能性;和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢;

[1263] (xi) 预防和/或治疗多囊卵巢综合征(PCOS);

[1264] (xii) 预防和/或治疗脑部疾病,如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤;

[1265] (xiii) 预防和/或治疗睡眠呼吸暂停;和/或

[1266] (xiv) 预防和/或治疗滥用,如酒精滥用和/或药物滥用。

[1267] 242. 方法,其用于

[1268] (i) 预防和/或治疗所有形式的糖尿病,如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY (青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病,和/或用于减少HbA1C;

[1269] (ii) 延缓或预防糖尿病进展,如2型糖尿病的进展,延缓糖耐量减低(IGT)进展成

需要胰岛素的2型糖尿病,延缓或预防胰岛素抵抗,和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;

[1270] (iii) 改善 β -细胞功能,如减少 β -细胞凋亡、提高 β -细胞功能和/或 β -细胞质量,和/或恢复 β -细胞的葡萄糖敏感性;

[1271] (iv) 预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症,如阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化;

[1272] (v) 例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调,如肥胖症;治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症;减少胃运动;延缓胃排空;增加身体活动;和/或预防和/或治疗肥胖症的共病,如骨关节炎和/或尿失禁;

[1273] (vi) 预防和/或治疗糖尿病并发症,如血管病;神经病,包括周围神经病变;肾病;和/或视网膜病;

[1274] (vii) 改善脂质参数,如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质;增加HDL;降低小而密的LDL;降低VLDL;降低甘油三酯;降低胆固醇;降低人的脂蛋白a (Lp(a)) 血浆水平;在体外和/或体内抑制载脂蛋白a (apo(a)) 的生成;

[1275] (viii) 预防和/或治疗心血管疾病,如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行(闭塞性动脉硬化)、舒张功能障碍和/或收缩功能障碍;和/或降低血压,如降低收缩压;

[1276] (ix) 预防和/或治疗胃肠疾病,如炎症肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎;消化不良;和/或胃溃疡;和/或炎症,如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮;

[1277] (x) 预防和/或治疗危重病,如治疗危重患者、危重病多发性肾病(CIPNP) 患者和/或潜在的CIPNP患者;预防危重病或CIPNP的进展;预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征(SIRS);预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可能性;和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢;

[1278] (xi) 预防和/或治疗多囊卵巢综合征(PCOS);

[1279] (xii) 预防和/或治疗脑部疾病,如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤;

[1280] (xiii) 预防和/或治疗睡眠呼吸暂停;和/或

[1281] (xiv) 预防和/或治疗滥用,如酒精滥用和/或药物滥用;

[1282] 其中施用药学活性量的根据实施方案1-169和171-229中任一项的衍生物或类似物。

[1283] 在一些实施方案中,本发明衍生物不选自化学式21、化学式22、化学式23、化学式24和化学式25;并且也不是其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[1284] 在一些实施方案中,本发明GLP-1类似物不选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:11;并且也不是其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

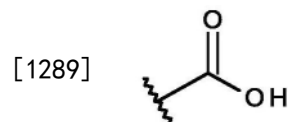
[1285] 另外的特定实施方案

[1286] i). 衍生物,其包含在对应于GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处具有Trp

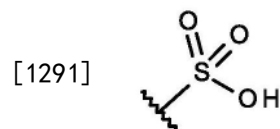
的GLP-1类似物,并且其中包含至少8个连续-CH₂-基团和至少一个pKa<7的官能团(FG)的取代基附接至所述GLP-1类似物的Lys残基。

[1287] ii). 实施方案i)的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,其中所述至少一个FG独立地选自化学式1、化学式2和化学式4:

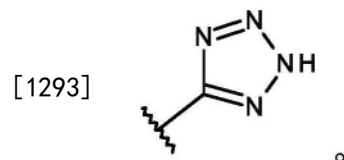
[1288] 化学式1:



[1290] 化学式2:



[1292] 化学式4:



[1294] iii). 实施方案i) - ii) 中任一项的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,该衍生物具有式I:

[1295] (P-L)_U-B-GLP1,

[1296] 其中GLP1为在对应于GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处具有Trp的GLP-1类似物,(P-L) 是经由可选的分支基团(B) 附接至该GLP-1类似物的Lys残基上的取代基,并且其包含延长部分(P) 和连接体(L),U表示该衍生物中取代基(P-L) 的数目,并且其为1或2。

[1297] iv). 实施方案i) - iii) 中任一项的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,其中所述GLP-1类似物包含式II的肽:

[1298] Xaa₇-Trp-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈-Xaa₃₉-Xaa₄₀-Xaa₄₁-Xaa₄₂,

[1299] 其中

[1300] Xaa₇为L-组氨酸、(S)-2-羟基-3-(1H-咪唑-4-基)-丙酸、D-组氨酸、脱氨基组氨酸、高组氨酸、N^α-乙酰基-组氨酸、N^α-甲酰基-组氨酸、N^α-甲基-组氨酸、3-吡啶基丙氨酸、2-吡啶基丙氨酸或4-吡啶基丙氨酸;

[1301] Xaa₁₂为Phe或Leu;

[1302] Xaa₁₆为Val或Leu;

[1303] Xaa₁₈为Ser、Arg、Val或Leu;

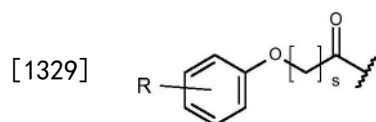
[1304] Xaa₁₉为Tyr或Gln;

[1305] Xaa₂₀为Leu或Met;

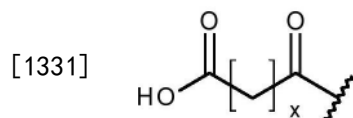
[1306] Xaa₂₂为Gly或Glu;

[1307] Xaa₂₃为Gln、Glu或Arg;

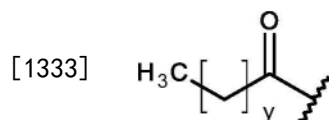
- [1308] Xaa₂₅为Ala或Val;
- [1309] Xaa₂₆为Arg或Lys;
- [1310] Xaa₂₇为Glu、Lys或Leu;
- [1311] Xaa₃₀为Ala、Glu或Arg;
- [1312] Xaa₃₁为Trp或His;
- [1313] Xaa₃₃为Val;
- [1314] Xaa₃₄为Arg、His、Asn或Gln;
- [1315] Xaa₃₅为Gly或Ala;
- [1316] Xaa₃₆为Arg、Lys或Gly;
- [1317] Xaa₃₇为Gly、Lys、Pro或不存在;
- [1318] Xaa₃₈为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro、Lys或不存在;
- [1319] Xaa₃₉为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro或不存在;
- [1320] Xaa₄₀为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro或不存在;
- [1321] Xaa₄₁为Ser、Gly、Ala、Glu、Pro或不存在;且
- [1322] Xaa₄₂为Lys或不存在;
- [1323] 条件是如果Xaa₃₇、Xaa₃₈、Xaa₃₉、Xaa₄₀、Xaa₄₁或Xaa₄₂中的一个不存在,则每个后续氨基酸残基也不存在;且
- [1324] 条件是Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆、Xaa₃₇、Xaa₃₈或Xaa₄₂中的至少一个为Lys。
- [1325] v). 实施方案i) -iv) 中任一项的衍生物,其中Xaa₂₆、Xaa₂₇、Xaa₃₆、Xaa₃₇、Xaa₃₈或Xaa₄₂中的一个或两个为Lys;并且其中一个或两个取代基附接至所述一个或两个Lys残基的ε氨基。
- [1326] vi). 实施方案i) -v) 中任一项的衍生物,其中每个取代基包含
- [1327] (I) 选自化学式10、化学式11、化学式12、化学式13和化学式14的延长部分(P):
- [1328] 化学式10:



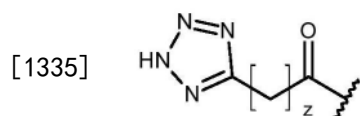
[1330] 化学式11:



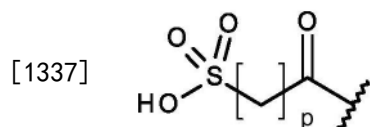
[1332] 化学式12:



[1334] 化学式13:



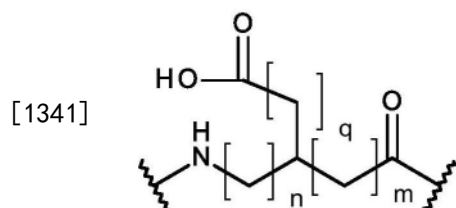
[1336] 化学式14:



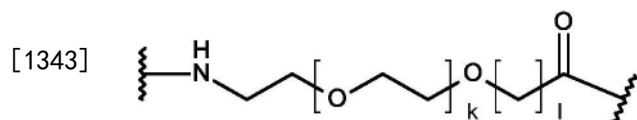
[1338] 和

[1339] (II) 包含至少一个选自化学式15、化学式16、化学式17和化学式18的连接体元件的连接体(L):

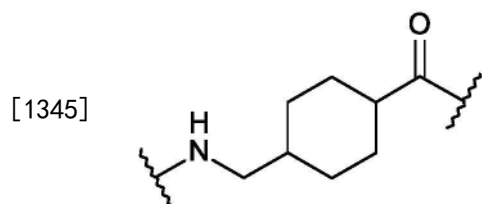
[1340] 化学式15:



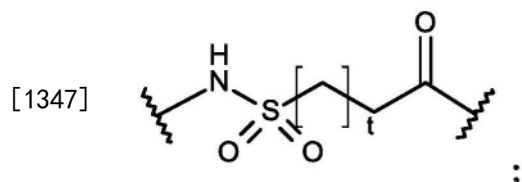
[1342] 化学式16:



[1344] 化学式17:



[1346] 化学式18:



[1348] 其中

[1349] R为-COOH;

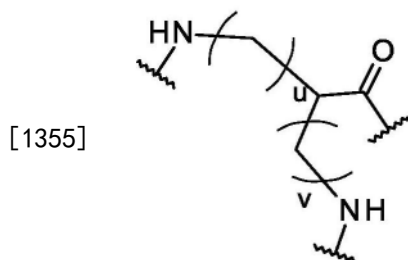
[1350] s、x、y、z和p中的每一个独立地表示8-20范围内的整数;

[1351] n、m和q中的每一个独立地表示0-4范围内的整数;且

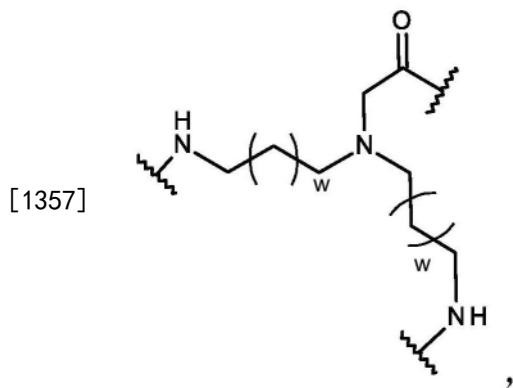
[1352] k、l和t中的每一个独立地表示1-5范围内的整数;并且

[1353] (III) 其中所述分支基团(B) (如果存在) 包含选自化学式19和化学式20的分支连接体(BL):

[1354] 化学式19:



[1356] 化学式20:



[1358] 其中 u 和 v 独立地表示0-5范围内的整数,且每个 w 表示0-2范围内的整数,条件是当 u 为0时,则 v 为1-5范围内的整数,且当 v 为0时,则 u 为1-5范围内的整数。

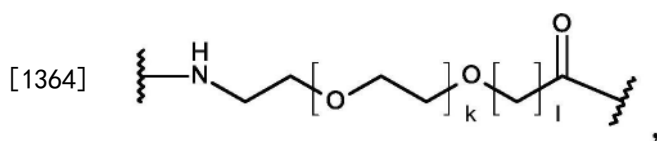
[1359] vii). 实施方案iii) -v) 中任一项的衍生物, 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯, 该衍生物具有式Ia: (P-L)-GLP1。

[1360] iix). 实施方案iii) -v) 中任一项的衍生物, 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯, 该衍生物具有式Ib: (P-L)_n-GLP1。

[1361] ix). 实施方案iii)-v)中任一项的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,该衍生物具有式Ic: (P-L)_n>BL-PL-GLP1,其中

[1362] (I) >BL为如权利要求5中所限定的分支连接体,且

[1363] (II) PL为包含化学式16的前连接体:



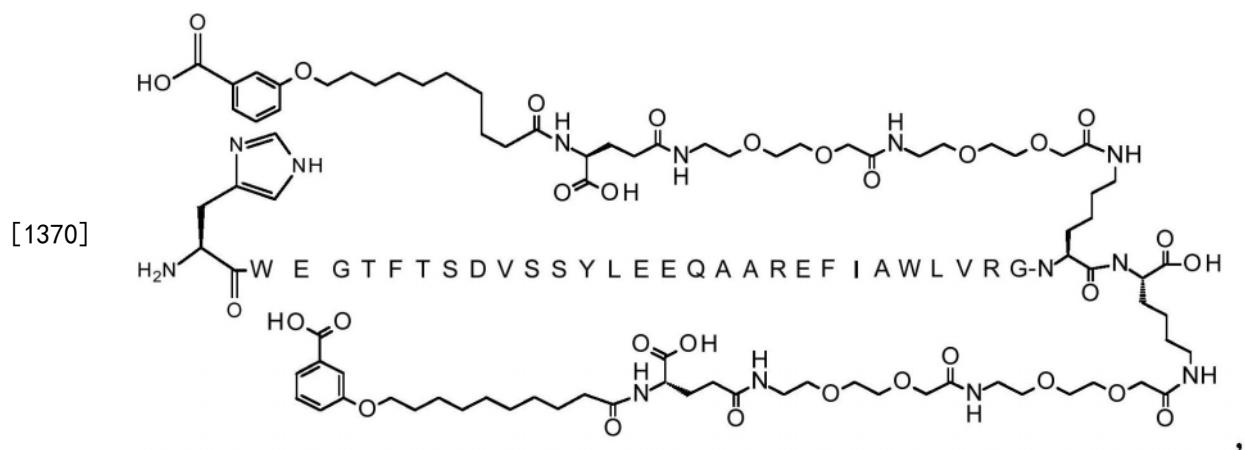
[1365] 其中k和l中的每一个独立地表示1-5范围内的整数。

[1366] x). 实施方案iii) -v) 中任一项的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,该衍生物具有式Id: (P-L)_n>BL-GLP1,其中>BL为如权利要求5中所限定的分支连接体。

[1367] xi). 选自以下的衍生物:

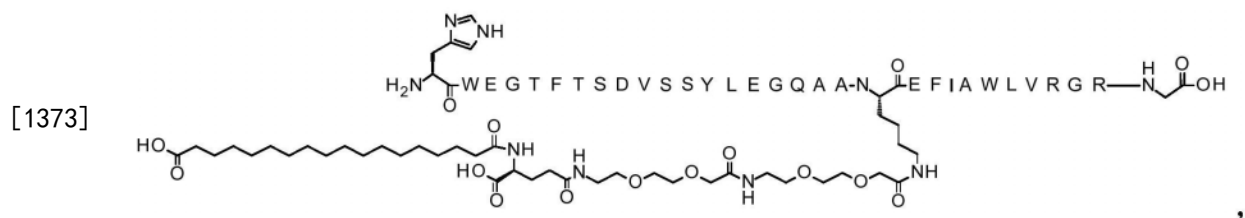
[1368] N{ε-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-[10-(3-羧基苯氧基)癸酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基], N{ε-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-[10-(3-羧基苯氧基)癸酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-[Trp8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-肽,

[1369] 化学式21:



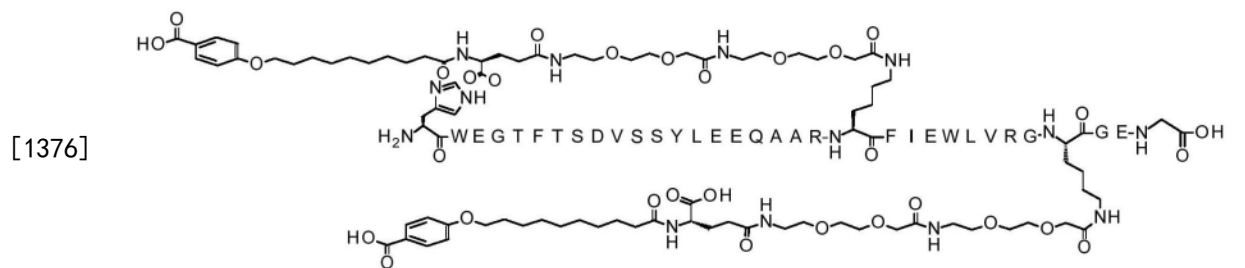
[1371] N{ε-26} - [2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基] - [Trp8,Arg34] - GLP-1-(7-37) - 肽,

[1372] 化学式22:



[1374] N{ε-27} - [2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-[10-(4-羧基苯氧基)癸酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基], N{ε-36} - [2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-[10-(4-羧基苯氧基)癸酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基] - [Trp8,Glu22,Arg26,Lys27,Glu30,Arg34,Lys36] - GLP-1-(7-37) - 肽基-Glu-Gly,

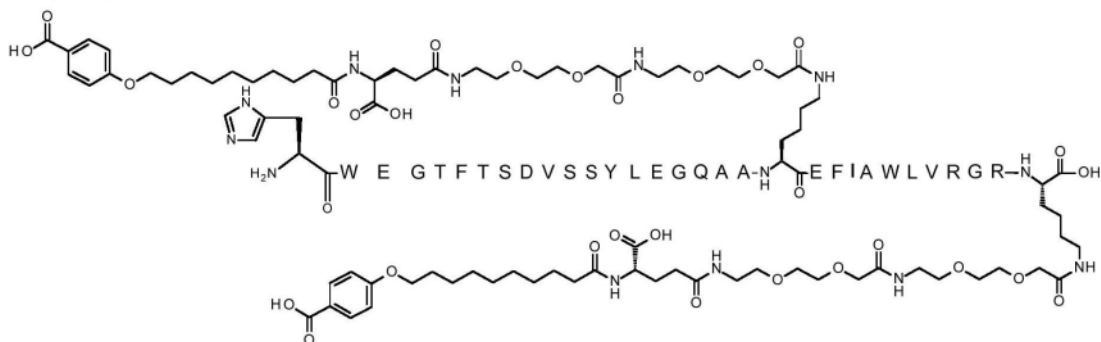
[1375] 化学式23:



[1377] N{ε-26} - [2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-[10-(4-羧基苯氧基)癸酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基], N{ε-37} - [2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-[10-(4-羧基苯氧基)癸酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基] - [Trp8,Arg34,Lys37] - GLP-1-(7-37) - 肽,

[1378] 化学式24:

[1379]

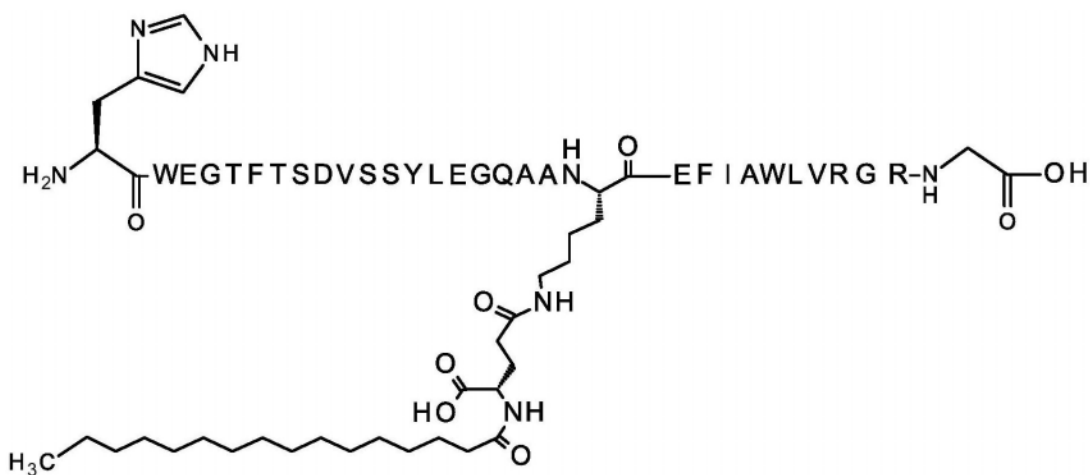


[1380] 和

[1381] N{ε-26} - [(4S) -4-羧基-4-(十六碳酰基氨基)丁酰基] - [Trp8,Arg34] -GLP-1 - (7-37) - 肽,

[1382] 化学式25:

[1383]



[1384] 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[1385] xii). 选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:11的GLP-1类似物;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[1386] xiii). 药物组合物,其包含根据实施方案i) -xii) 中任一项所述的衍生物或类似物以及药学上可接受的赋形剂。

[1387] xiv). 根据实施方案i) -xii) 中任一项所述的衍生物或类似物,其用作药物。

[1388] xv). 根据实施方案i) -xii) 中任一项所述的衍生物或类似物,其用于(I) 预防和/或治疗所有形式的糖尿病,如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY(青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病,和/或用于减少HbA1C;

[1389] (II) 延缓或预防糖尿病进展,如2型糖尿病的进展,延缓糖耐量减低(IGT) 进展成需要胰岛素的2型糖尿病,延缓或预防胰岛素抵抗,和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;

[1390] (III) 改善β-细胞功能,如减少β-细胞凋亡、提高β-细胞功能和/或β-细胞质量,和/或恢复β-细胞的葡萄糖敏感性;

[1391] (IV) 预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症,如阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化;

[1392] (V) 例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调,如肥胖症;治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症;减少胃运动;延缓胃排空;增加身体活动;和/或预防和/或治疗肥胖症的共病,如骨关节炎和/或尿失禁;

[1393] (VI) 预防和/或治疗糖尿病并发症,如血管病;神经病,包括周围神经病变;肾病;和/或视网膜病;

[1394] (VII) 改善脂质参数,如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质;增加HDL;降低小而密的LDL;降低VLDL;降低甘油三酯;降低胆固醇;降低人的脂蛋白a (Lp(a)) 血浆水平;在体外和/或体内抑制载脂蛋白a (apo(a)) 的生成;

[1395] (VIII) 预防和/或治疗心血管疾病,如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行(闭塞性动脉硬化)、舒张功能障碍和/或收缩功能障碍;和/或降低血压,如降低收缩压;

[1396] (IX) 预防和/或治疗胃肠疾病,如炎症肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎;消化不良;和/或胃溃疡;和/或炎症,如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮;

[1397] (X) 预防和/或治疗危重病,如治疗危重患者、危重病多发性肾病(CIPNP) 患者和/或潜在的CIPNP患者;预防危重病或CIPNP的进展;预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征(SIRS);预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可能性;和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢;

[1398] (XI) 预防和/或治疗多囊卵巢综合征(PCOS);

[1399] (XII) 预防和/或治疗脑部疾病,如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤;

[1400] (XIII) 预防和/或治疗睡眠呼吸暂停;和/或

[1401] (XIV) 预防和/或治疗滥用,如酒精滥用和/或药物滥用。

实施例

[1402] 该实验部分从缩写列表开始,随后是包含用于合成和表征本发明类似物和衍生物的一般方法的部分。然后是涉及具体GLP-1衍生物制备的多个实施例,最后包括涉及这些类似物和衍生物的活性和性质的多个实施例(标题为药理学方法的部分)。

[1403] 这些实施例用来说明本发明。

[1404] 缩写列表

[1405] Aib: α -氨基异丁酸(2-氨基异丁酸)

[1406] Ado: 8-氨基-3,6-二氧杂辛酸

[1407] API: 活性药物成分

[1408] AUC: 曲线下面积

[1409] BG: 血糖

[1410] BHK: 幼仓鼠肾

[1411] BW: 体重

- [1412] Boc:叔丁氧羰基
[1413] Bom:苄氧基甲基
[1414] BSA:牛血清白蛋白
[1415] Bzl:苄基
[1416] C20二酸:二十烷二酸
[1417] CAS:化学文摘服务
[1418] Clt:2-氯三苯甲基
[1419] 可力丁(collidine):2,4,6-三甲基吡啶
[1420] DCM:二甲甲烷
[1421] Dde:1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代环己基亚基)乙基
[1422] DIC:二异丙基碳二亚胺
[1423] DIPEA:二异丙基乙胺
[1424] DMAP:4-二甲基氨基吡啶
[1425] DMEM:Dulbecco改良Eagle培养基(DMEM)
[1426] EDTA:乙二胺四乙酸
[1427] EGTA:乙二醇四乙酸
[1428] FCS:胎牛血清
[1429] Fmoc:9-芴基甲氧羰基
[1430] HATU:(0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脒鎓六氟磷酸盐)
[1431] HBTU:(2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脒鎓六氟磷酸盐)
[1432] HEPES:4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸
[1433] HFIP:1,1,1,3,3,3-六氟-2-丙醇或六氟异丙醇
[1434] HOAt:1-羟基-7-氮杂苯并三唑
[1435] HOBt:1-羟基苯并三唑
[1436] HPLC:高效液相色谱法
[1437] HSA:人血清白蛋白
[1438] IBMX:3-异丁基-1-甲基黄嘌呤
[1439] Imp:咪唑丙酸(3-(咪唑-5-基)丙酸)(也称为脱氨基组氨酸或脱氨基-His)
[1440] i.v.:静脉内
[1441] ivDde:1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代环己基亚基)-3-甲基丁基
[1442] IVGTT:静脉内葡萄糖耐量试验
[1443] LCMS:液相色谱质谱法
[1444] LYD:Landrace Yorkshire Duroc
[1445] MALDI-MS:参见MALDI-TOF MS
[1446] MALDI-TOF MS:基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱法
[1447] MeOH:甲醇
[1448] Mmt:4-甲氧基三苯甲基
[1449] Mtt:4-甲基三苯甲基
[1450] NMP:N-甲基吡咯烷酮

- [1451] OtBu:叔丁酯
- [1452] Oxyrna **Pure®**:氰基-羟基亚氨基-乙酸乙酯
- [1453] Pbf:2,2,4,6,7-五甲基二氢苯并呋喃-5-磺酰基
- [1454] PBS:磷酸盐缓冲盐水
- [1455] PD:药效学
- [1456] Pen/Strep:青霉素/链霉素
- [1457] PK:药代动力学
- [1458] RP:反相
- [1459] RP-HPLC:反相高效液相色谱法
- [1460] RT:室温
- [1461] Rt:停留时间
- [1462] s.c.:皮下
- [1463] SD:标准偏差
- [1464] SEC-HPLC:尺寸排阻高效液相色谱法
- [1465] SEM:平均值的标准误差
- [1466] SPA:闪烁亲近测定法
- [1467] SPPS:固相肽合成
- [1468] tBu:叔丁基
- [1469] TFA:三氟乙酸
- [1470] TIS:三异丙基硅烷
- [1471] TLC:薄层色谱法
- [1472] Tos:对甲苯磺酸酯(或对甲苯磺酰基)
- [1473] Tris:三(羟甲基)氨基甲烷或2-氨基-2-羟甲基-丙烷-1,3-二醇
- [1474] Trt:三苯基甲基(三苯甲基)
- [1475] Trx:氨甲环酸(反式-4-(氨甲基)环己烷羧酸)
- [1476] UPLC:超高效液相色谱法
- [1477] v/v:体积/体积
- [1478] w/v:重量/体积
- [1479] 材料与方法
- [1480] 二十烷二酸单叔丁酯
- [1481] Fmoc-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸
- [1482] 17-(9-苄基甲氧羰基-氨基)-9-氮杂-3,6,12,15-四氧杂-10-酮-十七烷酸
- [1483] 1-(9-苄基甲氧羰基)氨基-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-酸
- [1484] 1-(9-苄基甲氧羰基)氨基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氧杂三十九烷-39-酸
- [1485] α-Fmoc-氨基-20(乙二醇)-ω-羧酸
- [1486] Fmoc-氨甲环酸
- [1487] Boc-Lys (Fmoc) -OH
- [1488] Fmoc-Lys (Fmoc) -OH

[1489] Fmoc-Glu-OtBu

[1490] Fmoc-Lys (Mtt) -Wang树脂

[1491] 化学方法

[1492] 该部分分为两个：部分A涉及一般方法(制备方法(A1)；以及检测和表征方法(A2))，以及部分B，其中描述了大量具体实施例化合物和比较化合物的制备和表征。

[1493] A.一般方法

[1494] A1.制备方法

[1495] 该部分涉及固相肽合成方法(SPPS法，包括氨基酸脱保护方法，从树脂上切割肽的方法，以及其纯化方法)，以及检测和表征所得肽的方法(LCMS、MALDI和UPLC方法)。在一些情况下，可通过将在二肽酰胺键上受保护的二肽与可在酸性条件下被切割的基团(诸如但不限于2-Fmoc-氧基-4-甲氧基苄基，或2,4,6-三甲氧基苄基)一起使用来改善肽的固相合成。在肽中存在丝氨酸或苏氨酸的情况下，可以使用假脯氨酸二肽(可从例如Novabiochem获得，也参见W.R.Sampson(1999)，J.Pep.Sci.5,403)。所使用的Fmoc保护的氨基酸衍生物是推荐的标准品：例如由Anaspec、Bachem、Iris Biotech或Novabiochem提供的Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Arg (Pbf) -OH、Fmoc-Asn (Trt) -OH、Fmoc-Asp (OtBu) -OH、Fmoc-Cys (Trt) -OH、Fmoc-Gln (Trt) -OH、Fmoc-Glu (OtBu) -OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-His (Trt) -OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Lys (Boc) -OH、Fmoc-Met-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Ser (tBu) -OH、Fmoc-Thr (tBu) -OH、Fmoc-Trp (Boc) -OH、Fmoc-Tyr (tBu) -OH或Fmoc-Val-OH等。在没有任何其他说明时，使用天然L型的氨基酸。N-末端氨基酸在 α 氨基处经Boc保护(例如，对于在N-末端处具有His的肽，为Boc-His (Boc) -OH或Boc-His (Trt) -OH)。在使用SPPS进行模块化侧链衔接的情况下，使用以下适当保护的结构单元，诸如但不限于Fmoc-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸、Fmoc-氨甲环酸、Fmoc-Glu-OtBu、十八烷二酸单叔丁酯、十九烷二酸单叔丁酯、十四烷二酸单叔丁酯或4-(9-羧酸壬氧基)苯甲酸叔丁酯。下述所有操作均以250- μ mol的合成规模进行。

[1496] 1.树脂结合的经保护的肽骨架的合成

[1497] 方法：SPPS_P

[1498] 使用相对于树脂负载(例如低负载Fmoc-Gly-Wang (0.35mmol/g))六倍过量的Fmoc-氨基酸(在含有300mM HOAt或Oxyma **Pure®**的NMP中300mM)，以250- μ mol的规模在来自Protein Technologies (Tucson, AZ85714U.S.A.)的Prelude固相肽合成仪上进行SPPS_P。使用在NMP中的20% (v/v) 哌啶进行Fmoc脱保护。使用在NMP中的3:3:3:4的氨基酸/(HOAt或Oxyma **Pure®**)/DIC/可力丁进行偶联。在脱保护与偶联步骤之间进行NMP和DCM顶部清洗(均为7ml, 0.5min, 2 \times 2)。偶联时间通常为60分钟。对包括但不限于Fmoc-Arg (Pbf) -OH、Fmoc-Aib-OH或Boc-His (Trt) -OH的一些氨基酸进行“双偶联”，其意思是在第一次偶联(例如，60min)后，将树脂排干并添加更多试剂(氨基酸、(HOAt或Oxyma **Pure®**)、DIC和可力丁)，并使混合物再次反应(例如，60min)。

[1499] 方法：SPPS_L

[1500] 使用相对于树脂负载(例如低负载Fmoc-Lys (Mtt) -Wang (0.35mmol/g))六倍过量的Fmoc-氨基酸(在含有300mM HOAt或Oxyma **Pure®**的NMP中300mM)，以250- μ mol或100- μ

mol的规模在来自CEM Corp. (Matthews, NC 28106, U.S.A.) 的基于微波的Liberty肽合成仪上进行SPPS_L。在最高75℃下使用在NMP中的5% (v/v) 哌啶进行Fmoc脱保护30秒, 之后将树脂排干并用NMP洗涤, 并且这次在75℃下重复Fmoc脱保护2分钟。使用在NMP中的1:1:1的氨基酸/(HOAt或Oxyma **Pure**®)/DIC进行偶联。偶联时间和温度通常为在最高75℃下5分钟。对于更大规模的反应, 使用更长的偶联时间, 例如10min。如果之前的氨基酸空间受阻(例如, Aib), 则将组氨酸氨基酸在50℃下双偶联, 或四重偶联。将精氨酸氨基酸在RT下偶联25分钟, 随后加热至75℃持续5min。对诸如但不限于Aib的一些氨基酸进行“双偶联”, 意思是在第一次偶联(例如, 在75℃下5min)后, 将树脂排干并添加更多试剂(氨基酸、(HOAt或Oxyma **Pure**®)和DIC), 并且将混合物再次加热(例如, 在75℃下5min)。在脱保护与偶联步骤之间进行NMP洗涤(5×10ml)。

[1501] 方法: SPPS_S

[1502] 使用相对于树脂负载9倍过量的Fmoc-氨基酸, 以250-μmol的规模在来自Protein Technologies (Tucson, AZ 85714 U.S.A.) 的Symphony固相肽合成仪上进行SPPS_S。树脂负载量通常在0.25mmol/g-0.4mmol/g的范围内。使用在NMP中的20% (v/v) 哌啶进行Fmoc脱保护。使用在NMP中的3:3:3:4的氨基酸/(HOAt或Oxyma **Pure**®)/DIC/可力丁进行偶联。在脱保护与偶联步骤之间进行NMP和DCM顶部清洗(均为7ml, 0.5min, 2×2)。偶联时间通常为60分钟。对包括但不限于Fmoc-Arg (Pbf) -OH、Fmoc-Aib-OH或Boc-His (Trt) -OH的一些氨基酸进行“双偶联”, 其意思是在第一次偶联(例如, 60min)后, 将树脂排干并添加更多试剂(氨基酸、(HOAt或Oxyma **Pure**®)、DIC和可力丁), 并使混合物再次反应(例如, 60min)。

[1503] 2. 侧链的合成

[1504] 二酸的单酯

[1505] C8、C10、C12、C14、C16和C18二酸与Boc-酸酐、DMAP、叔丁醇在甲苯中的过夜回流主要得到单叔丁酯。在后处理后获得单酸、二酸和二酯的混合物。通过洗涤、短柱塞(plug)二氧化硅过滤和结晶进行纯化。二十烷二酸单叔丁酯可以如本领域所知制备。关于方法, 请参见W02010102886A1。

[1506] 3. 侧链与树脂结合的经保护的肽骨架的附接

[1507] 当赖氨酸侧链上存在酰化时, 根据延长部分和连接体附接的途径, 将待酰化的赖氨酸的ε氨基用Mtt、Mmt、Dde、ivDde或Boc保护。用在NMP中的2% (v/v) 肼(2×20ml, 每次10min)进行Dde-或ivDde-脱保护, 随后是NMP洗涤(4×20ml)。用在DCM中的2% TFA (v/v) 和2-3% TIS (v/v) (5×20ml, 每次10min)进行Mtt-或Mmt-脱保护, 随后是DCM(2×20ml)、在DCM中的10% (v/v) MeOH和5% (v/v) DIPEA (2×20ml) 以及NMP(4×20ml)洗涤, 或通过用六氟异丙醇/DCM(75:25, 5×20ml, 每次10min)处理, 随后如上洗涤。在一些情况下, 通过Liberty肽合成仪上的自动化步骤去除Mtt基团。通过用六氟异丙醇或六氟异丙醇/DCM(75:25)在室温下30分钟进行Mtt脱保护, 随后用DCM(7ml×5)洗涤, 接着用NMP洗涤(7ml×5)。可通过树脂结合的肽的酰化或通过在未保护的肽的溶液中的酰化, 使侧链元件附接至该肽。在侧链元件与经保护的肽基树脂附接的情况下, 通过使用SPPS和适当保护的结构单元, 该附接可以是模块化的。

[1508] 方法: SC_P

[1509] 如果N-ε-赖氨酸保护基团为Mtt, 则用纯HFIP(3x 15min)去除Mtt基团, 然后用DCM

洗涤,并在Prelude肽合成仪上进行酰化(10当量Fmoc-AA、10当量DIC和10当量Oxyma **Pure**[®],10当量可力丁30min,以及NMP中的25% (v/v) 哌啶,以去除Fmoc基团)。将Fmoc-Glu-OtBu双偶联4小时。使用类似条件附接末端残基。

[1510] 方法:SC_L

[1511] 如上所述去除N-ε-赖氨酸保护基团,并使用如上所述的适当保护的结构单元,通过Liberty肽合成仪上的一个或多个自动化步骤进行赖氨酸的化学修饰。如SPPS_P中所述进行双偶联。

[1512] 方法:SC_S

[1513] 如上所述去除N-ε-赖氨酸保护基团,并使用如上所述的适当保护的结构单元,通过Symphony肽合成仪上的一个或多个自动化步骤进行赖氨酸的化学修饰。如SPPS_P中所述进行双偶联。

[1514] 方法:SC_M1

[1515] 如上所述去除N-ε-赖氨酸保护基团。将侧链元件溶解于NMP/DCM(1:1,10ml)中。加入活化试剂如HOBt或Oxyma **Pure**[®](相对于树脂为4摩尔当量)和DIC(相对于树脂为4摩尔当量),并将该溶液搅拌15分钟。将该溶液添加至树脂,并添加DIPEA(相对于树脂为4摩尔当量)。将树脂在室温下振摇2至24小时。将树脂用NMP(2x 20ml)、NMP/DCM(1:1,2x 20ml) 20和DCM(2x 20ml)洗涤。

[1516] 方法:SC_M2

[1517] 如上所述去除N-ε-赖氨酸保护基团。在Prelude肽合成仪上进行侧链酰化(10当量Fmoc-AA、10当量DIC和10当量Oxyma **Pure**[®],10当量可力丁30min,以及NMP中的25% (v/v) 哌啶,以去除Fmoc基团)。将Fmoc-Glu-OtBu双偶联4小时。将肽骨架转移至振荡器。将侧链元件溶解于NMP/DCM(1:1,10ml)中。加入活化试剂如HOBt或Oxyma **Pure**[®](相对于树脂为4摩尔当量)和DIC(相对于树脂为4摩尔当量),并将该溶液搅拌15分钟。将该溶液添加至树脂,并添加DIPEA(相对于树脂为4摩尔当量)。将树脂在室温下振摇2至24小时。将树脂用NMP(2x 20ml)、NMP/DCM(1:1,2x 20ml) 20和DCM(2x 20ml)洗涤。

[1518] 4. 附接有或没有侧链的树脂结合肽的切割和纯化

[1519] 方法:CP_M1

[1520] 合成后,用DCM洗涤树脂,并通过用TFA/TIS/水(95/2.5/2.5或92.5/5/2.5)处理2-3小时从树脂上切下肽,随后用二乙醚沉淀。将肽溶解于合适的溶剂(例如,30% (v/v) 乙酸)中,并使用乙腈/水/TFA,在C18,5μM柱上通过标准RP-HPLC进行纯化。通过UPLC、MALDI和LCMS方法的组合分析级分,并将合适的级分合并,并冻干。

[1521] A2. 用于检测和表征的一般方法

[1522] 1. LC-MS方法

[1523] 方法:LCMS_4

[1524] 在由Waters Acquity UPLC系统和来自Micromass的LCT Premier XE质谱仪组成的装置上进行LCMS_4。洗脱液:A:在水中的0.1% (v/v) 甲酸。

[1525] B:在乙腈中的0.1% (v/v) 甲酸。通过将适当体积的样品(优选2-10μl)注射到柱上并用A和B的梯度洗脱,在RT下进行该分析。UPLC条件、检测器设置和质谱仪设置为:柱:

Waters Acquity UPLC BEH,C-18,1.7 μ m,2.1mm \times 50mm。梯度:在4.0min(备选8.0min)期间的线性5%-95%乙腈,0.4ml/min。检测:214nm(来自TUV(可调谐的UV检测器)的模拟输出)MS电离模式:API-ES。

[1526] 扫描:100-2000amu(备选500-2000amu),步进0.1amu。

[1527] 2.UPLC方法

[1528] 方法:B4_1

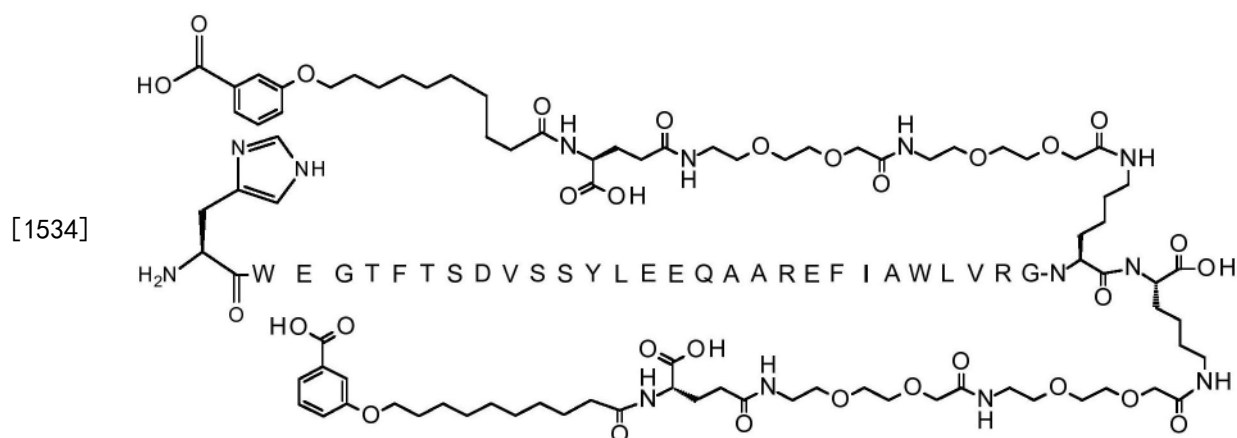
[1529] 使用安装有双波段检测器的Waters UPLC系统进行RP分析。使用ACQUITY UPLC BEH130,C18,**130 Å**,1.7 μ m,2.1mm \times 150mm柱(40℃)收集214nm和254nm处的UV检测。该UPLC系统与两个洗脱液储器连接,该储器含有:A:99.95%(v/v)H₂O,0.05%(v/v)TFA;B:99.95%CH₃CN,0.05%TFA。使用以下线性梯度:在0.40ml/min的流速下经16分钟从95%A,5%B至5%A,95%B。

[1530] B.本发明化合物的合成

[1531] 实施例1

[1532] N{ ϵ -36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-[10-(3-羧基苯氧基)癸酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基],N{ ϵ -37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-[10-(3-羧基苯氧基)癸酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-[Trp8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-肽

[1533] 化学式21:



[1535] 该化合物为SEQ ID NO:5的GLP-1类似物的衍生物。

[1536] 制备方法:SPPS_P;SC_M2;CP_M1

[1537] LCMS_4:Rt=2.1min m/z:m/5=1013,m/4=1266,m/3=1688

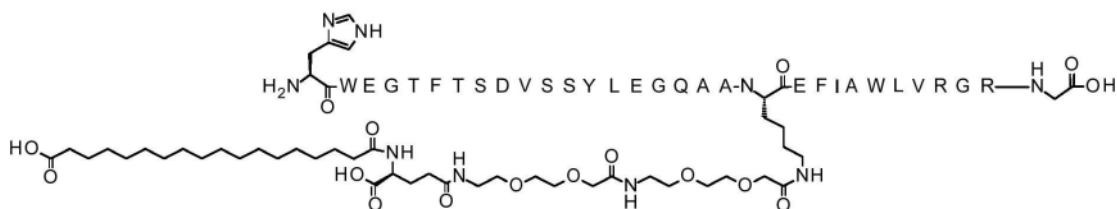
[1538] UPLC_B4_1:Rt=8.5min

[1539] 实施例2

[1540] N{ ϵ -26}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-[Trp8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽

[1541] 化学式22:

[1542]



[1543] 该化合物为SEQ ID NO:7的GLP-1类似物的衍生物。

[1544] 制备方法:SPPS_P;SC_P;CP_M1

[1545] LCMS_4:Rt=2.2min m/z:m/5=843,m/4=1054,m/3=1405

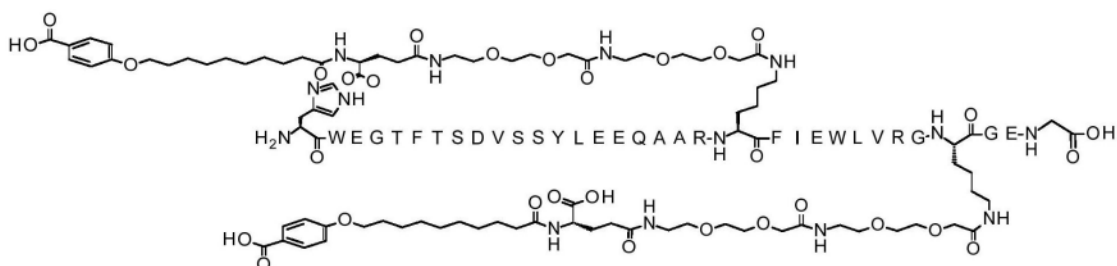
[1546] UPLC_B4_1:Rt=9.4min

[1547] 实施例3

[1548] N{ε-27}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-[10-(4-羧基苯氧基)癸酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基],N{ε-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-[10-(4-羧基苯氧基)癸酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-[Trp8,Glu22,Arg26,Lys27,Glu30,Arg34,Lys36]-GLP-1-(7-37)-肽基-Glu-Gly

[1549] 化学式23:

[1550]



[1551] 该化合物为SEQ ID NO:9的GLP-1类似物的衍生物。

[1552] 制备方法:SPPS_L;SC_L;CP_M1

[1553] LCMS_4:Rt=2.1min m/z:m/4=1310,m/3=1746

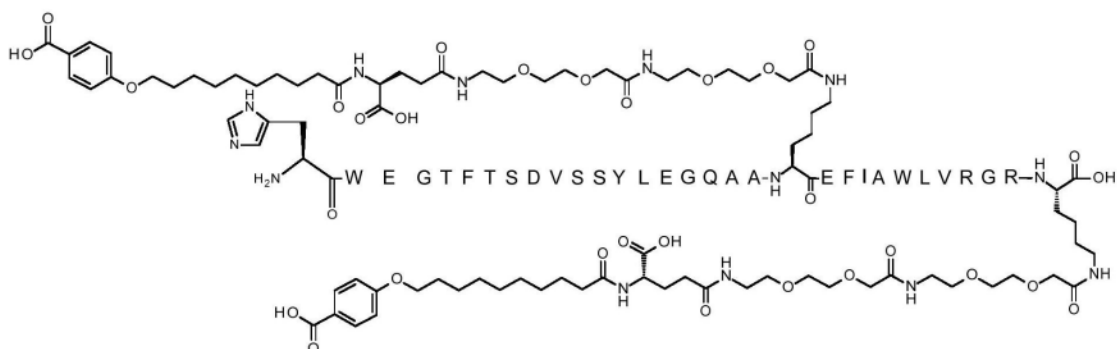
[1554] UPLC_B4_1:Rt=8.2min

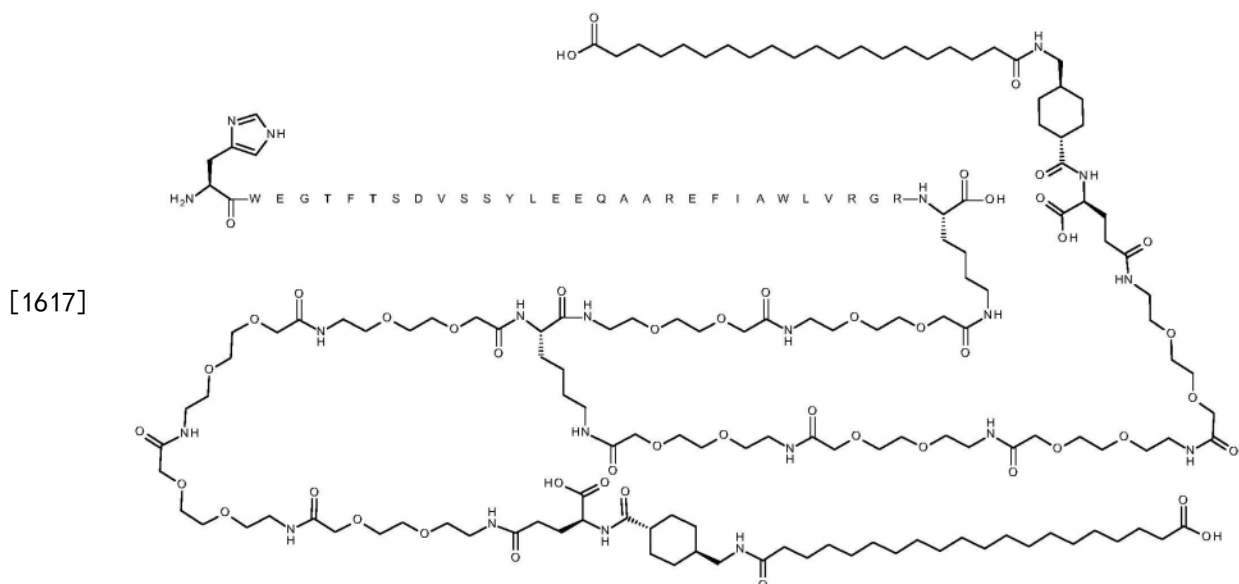
[1555] 实施例4

[1556] N{ε-26}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-[10-(4-羧基苯氧基)癸酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基],N{ε-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-[10-(4-羧基苯氧基)癸酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-[Trp8,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-肽

[1557] 化学式24:

[1558]





[1618] 该化合物为SEQ ID NO:18的GLP-1类似物的衍生物。

[1619] 制备方法: SPPS P; SC P; CP M1

[1620] LCMS 4:Rt=3.3min m/z:m/5=1287,m/4=1609,m/3=2145

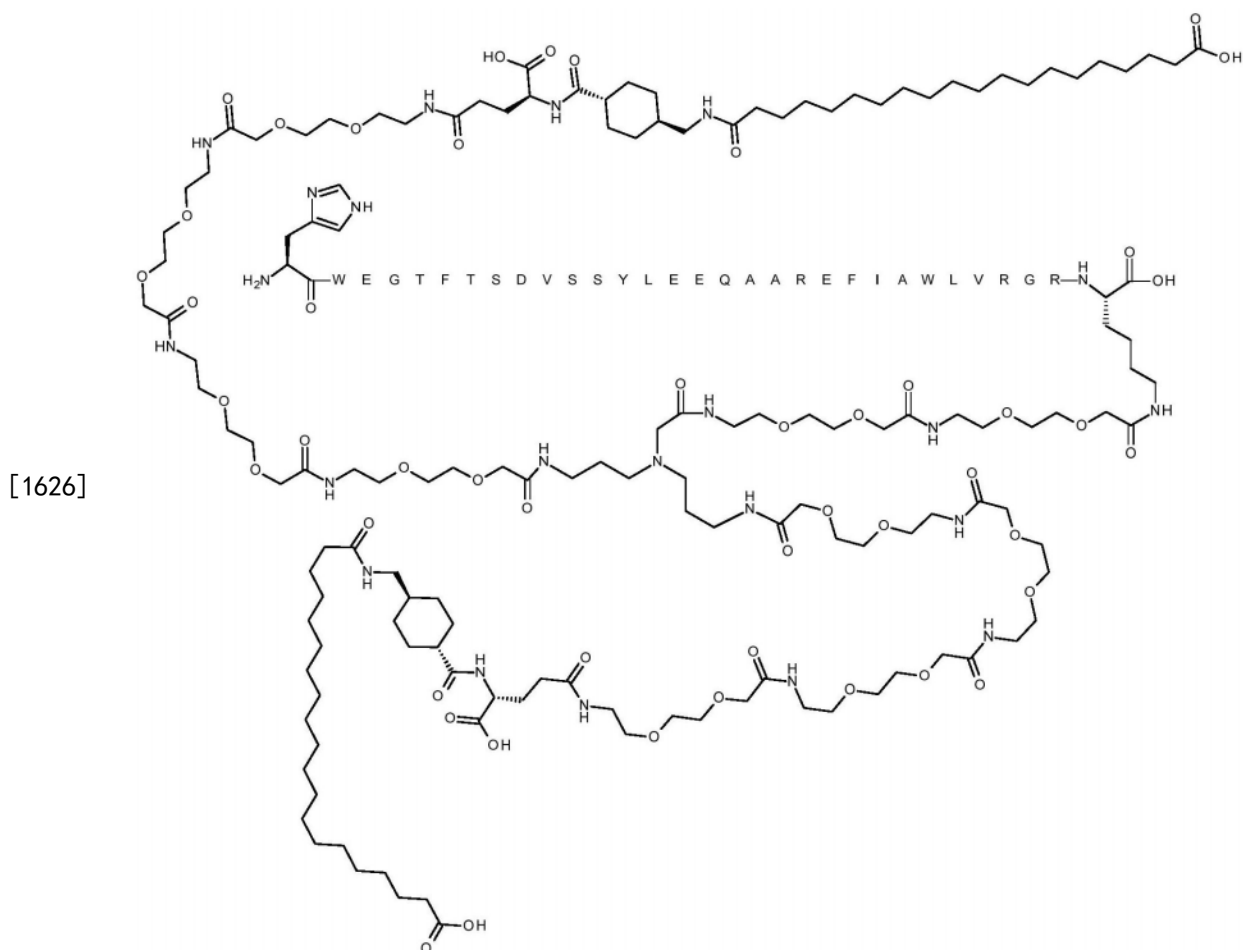
[1621] UPLC B4 1:Rt=11.0min

[1622] 实施例13

[1623] $N\{\varepsilon-37\} - [2 - [2 - [2 - [[2 - [2 - [2 - [[2 - [双$

[1624] [3-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-[[4-[(19-羧基十九碳酰基氨基)甲基]环己烷羰基]氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]丙基]氨基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-[Trp8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-肽

[1625] 化学式32:



[1627] 该化合物为SEQ ID NO:18的GLP-1类似物的衍生物。

[1628] 制备方法:SPPS_P;SC_P;CP_M1

[1629] LCMS_4:Rt=2.9min m/z:m/5=1296,m/4=1619,m/3=2159

[1630] UPLC_B4_1:Rt=11.0min

[1631] 比较例A

[1632] 该化合物为SEQ ID NO:1的天然GLP-1 (GLP-1 (7-37) -肽)。该化合物可以如本领域已知的那样制备。

[1633] 比较例B

[1634] [Pro8,Glu22,Arg26]-GLP-1- (7-37) -肽



[1636] 该化合物为SEQ ID NO:2的GLP-1类似物。

[1637] 制备方法:SPPS_P;CP_M1

[1638] LCMS_4:Rt=1.8min m/z:m/4=871,m/3=1161,m/2=1742

[1639] 比较例C

[1640] [Gly8]-GLP-1- (7-37) -肽



[1642] 该化合物为SEQ ID NO:3的GLP-1类似物。

[1643] 制备方法:SPPS_S;CP_M1

[1644] LCMS_4:Rt=1.7min m/z:m/4=836,m/3=1115

[1645] 比较例D

[1646] [Trp8]-GLP-1-(7-37)-肽



[1648] 该化合物为SEQ ID NO:4的GLP-1类似物。

[1649] 制备方法:SPPS_P;CP_M1

[1650] LCMS_4:m/z:m/4=869,m/3=1158,m/2=1737

[1651] 比较例1A

[1652] 该化合物为W0 2015/155151的实施例15。

[1653] 它与实施例1化合物的区别仅在于其具有Aib8而非Trp8。

[1654] 比较例2A

[1655] 该化合物为W0 2006/097537的实施例4,即N{ε-26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(17-羧基十七碳酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Aib8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽。它与实施例2化合物的区别仅在于其具有Aib8而非Trp8。

[1656] 比较例3A

[1657] 该化合物为W0 2012/140117的实施例31。

[1658] 它与实施例3化合物的区别仅在于其具有Aib8而非Trp8。

[1659] 比较例4A

[1660] 该化合物为W0 2011/080103的实施例2。

[1661] 它与实施例4化合物的区别仅在于其具有Aib8而非Trp8。

[1662] 比较例5A

[1663] 该化合物为W0 98/08871的实施例37。

[1664] 它与实施例5化合物的区别仅在于其具有Aib8而非Trp8。

[1665] 比较例6A-度拉鲁肽和8W度拉鲁肽

[1666] 度拉鲁肽是GLP-1类似物的Fc融合蛋白。Glaesner等人的Diabetes/Metabolism Research and Reviews,2010,第26卷,第287-296页(通过引用而并入)中描述了其制备和表征。将获得INN命名度拉鲁肽(dulaglutide)的Glaesner的GLP-1-Fc融合蛋白称为LY2189265。包括连接体(4xG-S-4xG-S-4xG-S-A)的GLP-1类似物肽部分的氨基酸序列为HGEFTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLKGGGGGGSGGGGSGGGGSA,参见Glaesner等人的第291页图1的图例。这对应于本序列列表中SEQ ID NO:14的氨基酸17-63和308-354的序列。在Glaesner等

人的第290页右栏上标题为“The GLP-1-Fc fusion protein LY2189265HSA preserved in vitro activity and an extended in vivo half-life”的部分的第一段中描述了IgG-Fc融合配偶体。这对应于本序列中SEQ ID NO:14的剩余非信号肽部分(即,氨基酸64-291和355-582)。根据Glaesner等人所述,在IgG-Fc部分中进行了以下置换:S228P,F234A,L234A(使用作为抗体标准的Kabat编号,其分别对应于SEQ ID NO:14中的氨基酸73、79和80)。

[1667] 表述“8W度拉鲁肽”是指度拉鲁肽的类似物,其中在对应于天然GLP-1 (SEQ ID NO:1) 位置8的位置处的Gly残基被置换为Trp(参见以下序列,SEQ ID NO:15的部分,粗体字示出)。

[1668] 度拉鲁肽单体和8W度拉鲁肽单体的氨基酸序列的成熟肽部分如下:

[1669] 分别为

[1670] HGEFTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLKGGGGGGSGGGSGGGGSAESKYGPPCPPCAPEAAGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NKEYKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPVLDSGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG (SEQ ID NO:14的成熟单体
部分,即,SEQ ID NO:14的氨基酸17-291或308-582),和

[1671] HWEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLKGGGGGGSGGGSGGGGSAESKYGPPCPPCAPEAAGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NKEYKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPVLDSGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG (SEQ ID NO:15的单体部
分,即,其氨基酸1-275或276-550)。

[1672] 在溶液中,两个这样的分子形成二聚体,其中在位置55和58处的Cys残基之间具有链内Cys-Cys键(即,在SEQ ID NO:14的Cys71与Cys362以及Cys74与Cys365之间,其包括两次16氨基酸信号肽部分)。

[1673] 在基于pTT5的载体中度拉鲁肽和8W度拉鲁肽构建体的克隆

[1674] 制备载体构建体,其含有化学合成的编码CD33-度拉鲁肽(其中CD33为来自人CD33抗原Gp67的信号肽)的DNA片段。由该DNA片段编码的(度拉鲁肽的)氨基酸序列的成熟部分在SEQ ID NO:14中给出(氨基酸17-291和308-582)。对该构建体进行诱变以在CD33-度拉鲁肽基因中引入8W突变。由所得DNA片段编码的氨基酸序列的成熟部分在SEQ ID NO:15中给出(SEQ ID NO:15的氨基酸1-275和276-55,即,同样为二聚体)。在SEQ ID NO:15中,每个片段氨基酸1-47和276-322构成具有连接体的GLP-1肽,而SEQ ID NO:15的氨基酸48-275和323-550为IgG-Fc部分,其中Cys55与Cys330之间以及Cys58与Cys333之间存在Cys-Cys键。

[1675] 将编码CD33-度拉鲁肽和CD33-8W度拉鲁肽的DNA片段通过PCR进行扩增,并在表达载体中克隆以供瞬时表达。在所得瞬时表达载体中,CD33-度拉鲁肽和CD33-8W度拉鲁肽基因的表达处于CMV启动子的控制之下。兔 β -珠蛋白多腺苷酸化信号在该瞬时表达载体中充当转录终止子。使用标准分子生物学技术进行上述所有分子生物学步骤。

[1676] 度拉鲁肽和8W度拉鲁肽在EXPI293F细胞中的表达

[1677] 将在所述瞬时表达载体中克隆度拉鲁肽和8W度拉鲁肽构建体所得到的两种质粒在Expi293TM表达系统(Thermo Fisher Scientific,目录号A14635)中以200mL的规模表达。使用1mg DNA构建体/L转染细胞进行转染。遵循表达系统供应商所提供的方案进行转染。将

转染后的细胞在定轨摇床中在36.5℃下培养5天。离心收获上清液。随后使用0.22μm孔PES过滤器对上清液进行过滤除菌,并提交进行纯化。

[1678] 纯化

[1679] 将含有度拉鲁肽或8W度拉鲁肽的无细胞上清液加到蛋白A柱上。用PBS(磷酸盐缓冲盐水溶液)洗涤该柱,并用0.1M乙酸洗脱结合的蛋白质。立即将洗脱的级分与0.3倍体积的1M Tris-Cl(pH 9.0)混合。将蛋白质或者进一步在PBS中运行的大小排阻柱上进行纯化,或者通过穿过PBS中的脱盐柱进行脱盐。通过SDS-PAGE和质谱法表征含有度拉鲁肽或8W度拉鲁肽的级分,过滤除菌(0.22μm),评估浓度(在280nm处的吸收),并在-20℃下储存。使用质谱分析法所获得的经实验确定的质量分别证实了度拉鲁肽和8W度拉鲁肽的身份。

[1680] 比较例7A

[1681] 该化合物为W0 2015/155151的实施例20。

[1682] 它与实施例7化合物的区别仅在于其具有Aib8而非Trp8。

[1683] 比较例8A

[1684] 该化合物为W0 2015/155151的实施例1。

[1685] 它与实施例8化合物的区别仅在于其具有Aib8而非Trp8。

[1686] 比较例9A

[1687] 该化合物为W0 2015/000942的实施例3。

[1688] 它与实施例9化合物的区别仅在于其具有Aib8而非Trp8。

[1689] 比较例10A

[1690] 该化合物为W0 2014/202727的实施例32。

[1691] 它与实施例10化合物的区别仅在于其具有Aib8而非Trp8。

[1692] 比较例11A

[1693] 该化合物为W0 2016/083499的实施例10。

[1694] 它与实施例11化合物的区别仅在于其具有Aib8而非Trp8。

[1695] 比较例12A

[1696] 该化合物为W0 2016/097108的实施例14。

[1697] 它与实施例12化合物的区别仅在于其具有Aib8而非Trp8。

[1698] 比较例13A

[1699] 该化合物为W0 2016/083499的实施例11。

[1700] 它与实施例13化合物的区别仅在于其具有Aib8而非Trp8。

[1701] 药理学方法

[1702] 实施例14:体外DPP-IV稳定性

[1703] 本实施例的目的在于测试GLP-1类似物相比于天然GLP-1对二肽基肽酶-4(DPP-IV)降解的稳定性。如下所述测试实施例A、B、C和D的GLP-1类似物。

[1704] 原理

[1705] 将肽在含有DPP-IV的缓冲液中体外温育,以固定时间间隔取出样品,将DPP-IV酶灭活以终止进一步的降解,并使用LC-MS来测定样品中未降解的肽的量。

[1706] 材料与amp;方法

[1707] 缓冲液A

[1708] 缓冲液A为HEPES缓冲液(Gibco by Life Science, NY, USA), 已向其中添加0.005% (v/v) **Tween20®** (Sigma-Aldrich, USA) 和0.001% (w/v) BSA (Sigma-Aldrich, USA), 并将pH调节至7.4。

[1709] LC-MS方法

[1710] 在由Waters Acquity UPLC系统和来自Bruker Daltonics的Maxis 4G组成的装置上进行LC-MS。流动相组成:A:0.1% (v/v) 甲酸水溶液;B:在乙腈中的0.1% (v/v) 甲酸。通过将10 μ l样品注射到柱上,并将其用A和B的梯度洗脱,从而在60℃下进行HPLC分析。UPLC条件、检测器设置和质谱仪设置为:柱:Waters Acquity UPLC BEH, C-4 (1.7 μ m, 2.1mm x 50mm)。梯度:8min内,以0.3ml/min,线性5%-70%流动相B。通过m/z电离模式的电喷雾电离以及m/z 300-1800扫描,以正电离模式进行MS。

[1711] 内部标准品

[1712] 使用利拉鲁肽(实施例5A的化合物)作为内部标准品。

[1713] 程序

[1714] 将10 μ M的相应肽与DPP-IV(重组二肽基肽酶, R&D Systems, 2 μ g/ml)在缓冲液A中在37℃下温育。在3、8、15、30、60、120和180min时取出样品小份。通过添加6倍体积的含有1% (v/v) TFA (Biosolve BV, The Netherlands)的乙醇和内部标准品来终止该反应。通过LC-MS来分析样品中的相应非降解肽。根据一级动力学(GraphPad Prism)对数据作图,通过软件计算半衰期($T_{1/2}$),并在数分钟内报告。

[1715] 结果

[1716] 以下表1中示出了获得的半衰期,并与实施例A化合物(天然GLP-1)的半衰期进行比较。

[1717] 表1:DPP-IV体外稳定性-半衰期

| | 实施例编号 | 半衰期(min) |
|--------|-------|----------|
| | A | 1 |
| [1718] | B | 1 |
| | C | 5 |
| | D | > 20 |

[1719] 实施例B GLP-1类似物(即,具有置换8P, 22E, 26R)的体外DPP-IV稳定性类似于天然GLP-1 (A)的体外DPP-IV稳定性。正如预期,实施例C类似物(8G)的稳定性优于天然GLP-1的稳定性。然而,非常出乎意料的是,经证明实施例D类似物(8W)的稳定性好得多,事实上根本未观察到任何降解。

[1720] 实施例15:体外效力

[1721] 本实施例的目的在于测试本发明GLP-1化合物与所选比较化合物的活性或效力。体外效力是在功能性全细胞试验中人GLP-1受体激活的量度。

[1722] 如下所述测定实施例1-5和7-13的GLP-1衍生物和比较例1A-13A和A-D的化合物的

效力。

[1723] 原理

[1724] 通过在报告基因试验中测量人GLP-1受体的应答来确定体外效力。在表达人GLP-1受体并含有与启动子偶联的cAMP响应元件(CRE)DNA以及萤火虫萤光素酶(CRE萤光素酶)基因的稳定转染的BHK细胞系中进行该试验。当人GLP-1受体被激活时,其导致cAMP的产生,这进而导致萤光素酶蛋白质得到表达。当试验温育完成时,添加萤光素酶底物(萤光素),并且该酶将萤光素转化成氧化萤光素从而产生生物发光。测量该发光作为该试验的读出。

[1725] 细胞培养和制备

[1726] 该试验中使用的细胞(克隆FCW467-12A/KZ10-1)是以BHKTS13作为亲本细胞系的BHK细胞。该细胞来源于表达人GLP-1受体的克隆(FCW467-12A),并且是通过用CRE萤光素酶进一步转染而建立的,从而获得本克隆。

[1727] 将细胞在细胞培养基中在5%CO₂下培养。将细胞等分并储存在液氮中。在每次测定前取出等份,并在PBS中洗涤两次,之后以所需浓度悬浮在测定特异性缓冲液中。对于96孔板,制备悬浮液以得到 5×10^3 个细胞/孔的终浓度。

[1728] 材料

[1729] 在该试验中使用了以下化学物质:Pluronic F-68(10%)(Gibco 2404)、卵白蛋白(Sigma A5503)、不含酚红的DMEM(Gibco 11880-028)、1M Hepes(Gibco 15630)、Glutamax 100×(Gibco 35050)和steadylite plus(PerkinElmer 6016757)。

[1730] 缓冲液

[1731] 细胞培养基由含有10%w/v FBS(胎牛血清;Invitrogen 16140-071)的DMEM培养基、1mg/ml G418(Invitrogen 15140-122)、240nM MTX(氨甲蝶呤;Sigma M9929)以及1%w/v pen/strep(青霉素/链霉素;Invitrogen 15140-122)组成。

[1732] 测定培养基由不含酚红的DMEM、10mM Hepes和1×Glutamax组成。测定缓冲液由在测定培养基中的2w/v%卵白蛋白和0.2%v/v Pluronic F-68组成。

[1733] 程序

[1734] 1) 将细胞储备液在37℃水浴中解冻。

[1735] 2) 将细胞在PBS中洗涤三次。

[1736] 3) 对细胞进行计数并在测定培养基中调节至 5×10^3 个细胞/50μl (1×10^5 个细胞/ml)。将50μl等份的细胞转移至测定板的每个孔中。

[1737] 4) 将测试化合物和参考化合物的储备液在测定缓冲液中稀释至0.2μM的浓度。将化合物稀释10倍以得到以下的浓度: 2×10^{-7} M、 2×10^{-8} M、 2×10^{-9} M、 2×10^{-10} M、 2×10^{-11} M、 2×10^{-12} M、 2×10^{-13} M和 2×10^{-14} M。

[1738] 5) 将50μl等份的化合物或空白从稀释板转移至测定板。在下列终浓度下测试化合物: 1×10^{-7} M、 1×10^{-8} M、 1×10^{-9} M、 1×10^{-10} M、 1×10^{-11} M、 1×10^{-12} M、 1×10^{-13} M和 1×10^{-14} M。

[1739] 6) 将测定板在5%CO₂培养箱中于37℃温育3h。

[1740] 7) 将测定板从培养箱中取出并使其在室温下静置15min。

[1741] 8) 向测定板的每个孔中添加100μl等份的steadyliteplus试剂。

[1742] 9) 将每个测定板用铝箔覆盖以避光,并在室温下振荡30min。

[1743] 10) 在BioTek Synergy 2Multi-Mode Reader中读取每个测定板。

[1744] 计算和结果

[1745] 将来自BioTek Synergy 2Multi-Mode Reader的数据传输至GraphPad Prism软件。该软件进行非线性回归(log (激动剂) 相对于响应(三个参数))。用该软件计算并以pM为单位报告的EC₅₀值在以下表2中示出。

[1746] 对每个样品最少测量三个重复品。所报告的EC₅₀值为每种化合物的测量值的平均值。

[1747] 表2:体外效力

| 实施例编号 | EC ₅₀ (pM) |
|-----------------|-----------------------|
| 1 | 17 |
| 比较例 1A | 8.1 |
| 2 | 19 |
| 比较例 2A | 3.7 |
| 3 | 2.7 |
| 比较例 3A | 0.53 |
| 4 | 30 |
| 比较例 4A | 6.9 |
| 5 | 21 |
| 比较例 5A | 6.8 |
| [1748] | |
| 比较例 6A, 度拉鲁肽 | 26 |
| 比较例 6A, 8W 度拉鲁肽 | 11 |
| 7 | 5.6 |
| 比较例 7A | 2.6 |
| 8 | 4.4 |
| 比较例 8A | 1.2 |
| 9 | 70.5 |
| 比较例 9A | 41.3 |
| 10 | 31.2 |
| 比较例 10A | 16.8 |
| 11 | 34.1 |

| | | |
|--------|---------|------|
| [1749] | 比较例 11A | 12.5 |
| | 12 | 62.9 |
| | 比较例 12A | 13.7 |
| | 13 | 32.1 |
| | 比较例 13A | 14.7 |
| | A | 9.4 |
| | B | 0.57 |
| | C | 32 |
| | D | 12 |
| | | |

[1750] 所有化合物均具有证实它们是GLP-1受体激动剂的效力数据。因此,就体外效力而言,它们都可进行进一步的开发。

[1751] 实施例16:GLP-1受体结合

[1752] 本实施例的目的在于在体外测试本发明GLP-1化合物以及所选比较化合物的受体结合。受体结合是衍生物对人GLP-1受体的亲和力的量度。

[1753] 如下所述测定实施例1-5和7-13的GLP-1衍生物和比较例1A-5A、7A-13A和A-D的化合物的效力。

[1754] 原理

[1755] 在竞争结合试验中测量与人GLP-1受体的受体结合。在这种类型的试验中,使标记的配体(在这种情况下为¹²⁵I-GLP-1)与受体结合。将每种化合物以一系列浓度添加至含有人GLP-1受体的隔离的膜中,并监测标记的配体的置换。该受体结合被报告为一半的标记配体从受体上被置换时的浓度——IC₅₀值。为了测试该衍生物与白蛋白的结合,在低浓度的人血清白蛋白(HSA)(最高0.001%(w/v)最终测定浓度)下以及在相当高浓度的HSA(2.0%(w/v)最终测定浓度)的存在下进行该试验。在HSA的存在下IC₅₀值的升高表明对血清白蛋白的亲合性,并且代表了用于预测测试物质在动物模型中延长的药代动力学谱的方法。

[1756] 材料

[1757] 在该试验中使用以下化学物质:人血清白蛋白(HSA)(SigmaA1653)、不含酚红的DMEM(Gibco 11880-028)、Pen/strep(Invitrogen 15140-122)、G418(Invitrogen 10131-027)、1M Hepes(Gibco 15630)、EDTA(Invitrogen15575-038)、PBS(Invitrogen 14190-094)、胎牛血清(Invitrogen 16140-071)、EGTA、MgCl₂(Merck 1.05832.1000)、吐温20(Amresco 0850C335)、SPA颗粒(麦胚凝集素(WGA)SPA珠子,Perkin Elmer RPNQ0001)、[¹²⁵I]-GLP-1-(7-36)NH₂(内部生产的)、OptiPlate™-96(Packard 6005290)。

[1758] 缓冲液1由20mMNa-HEPES外加10mM EDTA组成,并且pH被调节至7.4。缓冲液2由20mMNa-HEPES外加0.1mM EDTA组成,并且pH被调节至7.4。测定缓冲液由补充有5mM EGTA、5mM MgCl₂、0.005%w/v吐温20的50mM HEPES组成,并且pH被调节至7.4。8%白蛋白储备液

由以8% (w/v) 溶解在测定缓冲液中的HSA组成。0.02%白蛋白储备液由以0.02% (w/v) 溶解在测定缓冲液中的HSA组成。

[1759] 细胞培养和膜制备

[1760] 该试验中使用的细胞(克隆FCW467-12A)是以BHKTS13作为亲本细胞系的BHK细胞。该细胞表达人GLP-1受体。

[1761] 使细胞在DMEM、10%w/v胎牛血清、1%w/vpen/strep(青霉素/链霉素)和1.0mg/ml选择标记G418中在5%CO₂下生长。为制备膜制品,使细胞生长至约80%汇合。将细胞在磷酸盐缓冲盐水中洗涤两次并收获。使用短暂的离心使细胞沉淀,并将细胞沉淀物保存在冰上。将细胞沉淀物用ULTRA-THURAX™分散仪器在适量的缓冲液1(例如,10ml)中均质化20-30秒。将匀浆离心15分钟。将沉淀物重悬(均质化)在10ml缓冲液2中并离心。再一次重复该步骤。将所得的沉淀物重悬于缓冲液2中,并测定蛋白质浓度。将膜等分并储存在-80℃下。

[1762] 程序

[1763] 1.对于存在低HSA(0.005% (w/v))的受体结合试验,向测定板的每个孔中添加50μl的测定缓冲液。试验继续步骤3。

[1764] 2.对于存在高HSA(2% (w/v))的受体结合试验,向测定板的每个孔中添加50μl的8% (w/v)白蛋白储备液。试验继续步骤3。

[1765] 3.对测试化合物进行系列稀释以得到以下浓度: 8×10^{-7} M、 8×10^{-8} M、 8×10^{-9} M、 8×10^{-10} M、 8×10^{-11} M、 8×10^{-12} M和 8×10^{-13} M。将25μl添加至测定板的适当孔中。

[1766] 4.将细胞膜等份解冻并稀释至其工作浓度。向测定板的每个孔中添加50μl。

[1767] 5.将WGA SPA珠子以20mg/ml悬浮于测定缓冲液中。在临添加至测定板之前,将该悬浮液在测定缓冲液中稀释至10mg/ml。向测定板的每个孔中添加50μl。

[1768] 6.通过向测定板的每个孔中添加25μl的 $[^{125}\text{I}]\text{-GLP-1}-(7-36)\text{NH}_2$ 的480pM溶液来开始温育。保留25μl等份以用于测量总计数/孔。

[1769] 7.将测定板在30℃下温育2h。

[1770] 8.将测定板离心10min。

[1771] 9.在Packard TopCountNXT仪器中读取测定板。

[1772] 计算

[1773] 利用GraphPad Prism中的非线性回归分析各个重复品。用该软件计算IC₅₀值并以nM为单位报告。对每个样品最少测量两个重复品。所报告的值为每种化合物的所有测量值的平均值。

[1774] 结果

[1775] 获得以下结果:

[1776] 表3:GLP-1受体结合

| [1777] 实施例编号 | 低 HSA IC ₅₀ (nM) | 高 HSA IC ₅₀ (nM) |
|--------------|-----------------------------|-----------------------------|
|--------------|-----------------------------|-----------------------------|

[1778]

| | | |
|---------|-------|-------|
| 1 | 0.405 | 410 |
| 比较例 1A | 0.318 | 116 |
| 2 | 1.60 | 120 |
| 比较例 2A | 0.588 | 415 |
| 3 | 1.03 | 84.9 |
| 比较例 3A | 0.260 | 134 |
| 4 | 6.23 | 771 |
| 比较例 4A | 2.10 | 479 |
| 5 | 1.42 | 4.95 |
| 比较例 5A | 0.347 | 9.06 |
| 7 | 0.550 | 71.0 |
| 比较例 7A | 0.744 | 31.5 |
| 8 | 0.535 | 170 |
| 比较例 8A | 0.245 | 110 |
| 9 | 1.60 | 305 |
| 比较例 9A | 1.04 | 235 |
| 10 | 0.865 | 123 |
| 比较例 10A | 0.591 | 108 |
| 11 | 0.618 | 34.0 |
| 比较例 11A | 0.401 | 34.4 |
| 12 | 3.16 | 51.8 |
| 比较例 12A | 0.536 | 42.3 |
| 13 | 0.818 | 71.6 |
| 比较例 13A | 0.383 | 35.4 |
| A | 0.435 | 0.164 |
| B | 0.075 | 0.035 |
| C | 2.64 | 0.620 |
| D | 0.670 | 0.208 |

[1779] 所有化合物都具有完全可接受的 IC_{50} 值,因此就体外受体结合而言,它们都可以进行进一步的开发。

[1780] 实施例17:在db/db小鼠中的药效学研究

[1781] 本研究的目的在于在糖尿病情况下证实本发明GLP-1衍生物对血糖(BG)和体重(BW)的急性影响。

[1782] 如下所述,在单剂量研究中在肥胖的糖尿病小鼠模型(db/db小鼠)中测试实施例2的GLP-1衍生物。以0.3、1.0、3.0、10、30或100nmol/kg的不同剂量测试所述衍生物。

[1783] 从出生开始饲以饮食NIH31(NIH 31M Rodent Diet,从Taconic Farms,Inc.,US商购获得,见www.taconic.com)的小鼠(来自Taconic,Denmark)在大约10周龄时加入本研究。在到达丹麦 Måløv 的动物单位后,使小鼠自由获取标准食物(例如Altromin 1324, Brogaarden, Gentofte, Denmark)和自来水,并保持在24℃。1-2周的适应后,在一天内评估基础血糖两次。基于匹配血糖水平和体重将小鼠分配到治疗组。在该实验中持续使用小鼠96小时,并将其再用于非相关实验一次。在最后一次实验后,对小鼠施以安乐死。

[1784] 将动物分组以接受如下处理:媒介物,皮下,或GLP-1衍生物,0.3、1.0、3.0、10、30或100nmol/kg,皮下,其中媒介物为50mM磷酸钠、70mM氯化钠、0.05%聚山梨醇酯80,pH 7.4。

[1785] 将所述GLP-1衍生物溶解在媒介物中至0.05、0.17、0.5、1.7、5.0或17nmol/ml的给药浓度。在实验开始时用6ml/kg(即300μl/50g小鼠)的剂量体积向动物皮下给药一次。

[1786] 给药当天,在时间-1/2h(上午9点)时评估血糖,此后对小鼠称重。在大约上午9:30(时间0)给予GLP-1衍生物。给药当天,在给药后1、2、4和8h(上午10:30、上午11:30、下午1:30和下午5:30)评估血糖。

[1787] 次日,在24h、48h、72h和96h时评估血糖。每天,在血糖采样后对小鼠称重。

[1788] 小鼠在数字计重秤上单独称重。

[1789] 用于测量血糖的样品从有意识的小鼠的尾尖毛细血管获得。将5μl血液收集到肝素化的毛细管中,并转移至250μl葡萄糖缓冲液(EKF系统溶液,Eppendorf,Germany)。使用葡萄糖氧化酶法(葡萄糖分析仪Biosen 5040,EKF Diagnostic,GmbH,Barleben,Germany)测定葡萄糖浓度。将样品在室温下保持最多1h直到分析。如果分析不得不推迟,则样品在4℃下保持最多24h。

[1790] 对于每个单剂量的GLP-1衍生物绘制Δ血糖和Δ体重对时间的剂量响应曲线。Δ是指给定时间的实际血糖/体重减去基线,其中基线为在时间0时的血糖和体重水平。因此,在这些曲线中,y=0表示基线。

[1791] 为了说明GLP-1衍生物对血糖和体重的影响,对于每个单独的剂量响应曲线,计算从0至24小时的Δ血糖的曲线下面积(AUC ΔBG_{24h})和在给药后24小时的Δ体重增加(ΔBW_{24h}),并针对AUC ΔBG_{24h}和ΔBW_{24h}计算有效剂量50%(ED₅₀,产生在基线与最大效应之间的一半响应的GLP-1衍生物剂量)。

[1792] 以下表4中示出了所获得的ED₅₀值(4-6次测定的平均值)。

[1793] 表4:在db/db小鼠中对血糖和体重的影响的ED₅₀值

| [1794] | 实施例衍生物编号 | ED50 AUC ΔBG _{24h} (nmol/kg) | ED50 ΔBW _{24h} (nmol/kg) |
|--------|----------|---------------------------------------|-----------------------------------|
| | 2 | 2.44 | 4.57 |

[1795] 实施例2的GLP-1衍生物显示出剂量依赖性地降低血糖以及体重的体内效果。

[1796] 实施例18:完全重组方法与半重组方法的比较,表达产率

[1797] 背景

[1798] 本实施例的目的在于描述用于表达本发明GLP-1衍生物的DPP-iv稳定(8W)肽部分的完全重组过程。

[1799] 用于制备已通过N-末端引入一个或多个非编码氨基酸(例如,用Aib置换位置8的天然Ala)而DPP-iv稳定化的GLP-1肽的已知过程是所谓的半重组过程。根据该过程,首先重组制备前体肽(例如,前体GLP-1(9-37)肽,其中两个N-末端氨基酸已缺失)。并且在下一步中,通过被称为连接的过程,将缺失的两个N-末端氨基酸(包括非编码氨基酸)(例如,二肽His-Aib)添加至前体肽的N-末端。总的来说,这个两步制备过程被称为半重组过程。在例如WO 2009/083549(前体肽的重组表达)和WO 2013/098191(连接)中描述了该半重组过程。本实施例还将完全重组表达的表达产率与该半重组过程的表达步骤的表达产率进行比较。

[1800] 更具体地,将并入本发明衍生物(SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:9)中的两种GLP-1肽的完全重组表达产率与缺失两个N-末端氨基酸的相应前体肽(分别为SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:23)的表达产率进行比较。

[1801] 在下文描述的实验程序中,已将DVKPGQPMYDDDDK(SEQ ID NO:24)的N-末端延伸添加至这四种GLP-1肽中的每一种。该N-末端延伸用于与本申请无关且不相关的优化目的。

[1802] 实验

[1803] 构建质粒,该质粒包含TDH3启动子、编码MF α 前原肽(pre-pro-peptide)的基因、用肽DVKPGQPMYDDDDK(SEQ ID NO:24)在N末端延伸的相应GLP-1肽、用于在酵母中保持的最小2微米区域和选择性标记,即来自粟酒酵母(*S. pombe*)的TPI基因(见图1)。在图1中,AMP-R代表氨苄青霉素抗性基因(β -内酰胺酶),且STB是指一系列小重复序列(有时也称为REP3),其用于在子细胞之间分配质粒。

[1804] 将这些质粒引入缺乏TPI1基因的酿酒酵母株中,其允许在含有葡萄糖作为唯一碳源的培养基上选择携带该质粒的转化体。然后在连续培养中培养转化体,并通过UPLC分析培养上清液中分泌的GLP-1肽的浓度。

[1805] 以下表5示出了完全重组表达过程的平均表达产率,其相对于半重组过程的第一步(其中制备相应的前体肽)中所获得的平均表达产率进行归一化。

[1806] 表5

| | GLP-1 肽* | 完全重组产率 | 半重组产率 |
|--------|---------------|--------|-------|
| | SEQ ID NO: 7 | 108 | |
| [1807] | SEQ ID NO: 22 | | 100 |
| | SEQ ID NO: 8 | 94 | |
| | SEQ ID NO: 23 | | 100 |

[1808] *全部具有DVKPGQPMYDDDDK(SEQ ID NO:24)的N-末端延伸

[1809] 结果表明,完全重组表达过程的产率与半重组表达过程的第一步的产率处于同等水平。考虑到当采用完全重组过程时半重组过程的第二步变得多余这一事实,这可以解释

成完全重组过程相比于半重组过程在生产经济性上得到改善。

[1810] 虽然本文中已经说明并描述了本发明的某些特征,但本领域普通技术人员现将想到许多修改、替换、变化和等同方案。因此,应当理解,所附权利要求旨在涵盖落在本发明的真正精神内的所有这类修改和变化。

序列表

<110> 诺和诺德股份有限公司

<120> GLP-1 衍生物及其用途

<130> 150084CN01

<160> 24

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 31

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> 成熟肽

<222> (1)..(31)

<400> 1

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly

1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly

20 25 30

<210> 2

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> GLP-1 类似物

<220>

<221> 成熟肽

<222> (1)..(31)

<400> 2

His Pro Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu

1 5 10 15

Gln Ala Ala Arg Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly

20 25 30

<210> 3

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> GLP-1 类似物

<400> 3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly

1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly

20 25 30

<210> 4

<211> 31

[0001]

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GLP-1 类似物
<220>
<221> 成熟肽
<222> (1)..(31)
<400> 4
His Trp Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15
Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly
20 25 30
<210> 5
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GLP-1 类似物
<220>
<221> 成熟肽
<222> (1)..(31)
<400> 5
[0002] His Trp Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15
Gln Ala Ala Arg Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Lys Lys
20 25 30
<210> 6
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GLP-1 类似物
<220>
<221> 成熟肽
<222> (1)..(31)
<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 位置 2 的 Xaa 为 Aib (2-氨基异丁酸)
<400> 6
His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15
Gln Ala Ala Arg Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Lys Lys
20 25 30
<210> 7
<211> 31

<212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> GLP-1 类似物
 <220>
 <221> 成熟肽
 <222> (1)..(31)
 <400> 7
 His Trp Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
 1 5 10 15
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Gly
 20 25 30
 <210> 8
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> GLP-1 类似物
 <220>
 <221> 成熟肽
 <222> (1)..(31)
 <220>
 [0003] <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> 位置 2 的 Xaa 为 Aib (2-氨基异丁酸)
 <400> 8
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
 1 5 10 15
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Gly
 20 25 30
 <210> 9
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> GLP-1 类似物
 <220>
 <221> 成熟肽
 <222> (1)..(33)
 <400> 9
 His Trp Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Gln Ala Ala Arg Lys Phe Ile Glu Trp Leu Val Arg Gly Lys Gly Glu
 20 25 30
 Gly

[0004]

<210> 10
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GLP-1 类似物
<220>
<221> 成熟肽
<222> (1)..(33)
<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 位置 2 的 Xaa 为 Aib (2-氨基异丁酸)
<400> 10
His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15
Gln Ala Ala Arg Lys Phe Ile Glu Trp Leu Val Arg Gly Lys Gly Glu
20 25 30
Gly

<210> 11
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GLP-1 类似物
<220>
<221> 成熟肽
<222> (1)..(31)
<400> 11
His Trp Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15
Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Lys
20 25 30

<210> 12
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GLP-1 类似物
<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 位置 2 的 Xaa 为 Aib (2-氨基异丁酸)
<400> 12
His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly

| | | | | |
|--------|-------|---|-----|-----|
| | 1 | 5 | 10 | 15 |
| | Gln | Ala | Ala | Lys |
| | Glu | Phe | Ile | Ala |
| | Trp | Leu | Val | Arg |
| | Gly | Arg | Lys | |
| | 20 | 25 | 30 | |
| | <210> | 13 | | |
| | <211> | 31 | | |
| | <212> | PRT | | |
| | <213> | 人工序列 | | |
| | <220> | | | |
| | <223> | GLP-1 类似物 | | |
| | <400> | 13 | | |
| | His | Ala | Glu | Gly |
| | Thr | Phe | Thr | Ser |
| | Asp | Val | Ser | Ser |
| | Tyr | Leu | Glu | Gly |
| | 1 | 5 | 10 | 15 |
| | Gln | Ala | Ala | Lys |
| | Glu | Phe | Ile | Ala |
| | Trp | Leu | Val | Arg |
| | Gly | Arg | Gly | |
| | 20 | 25 | 30 | |
| | <210> | 14 | | |
| | <211> | 582 | | |
| | <212> | PRT | | |
| | <213> | 人工序列 | | |
| | <220> | | | |
| | <223> | 度拉糖肽 | | |
| | <220> | | | |
| | <221> | 信号 | | |
| | <222> | (1)..(16) | | |
| [0005] | <220> | | | |
| | <221> | 链 | | |
| | <222> | (17)..(291) | | |
| | <220> | | | |
| | <221> | MISC_FEATURE | | |
| | <222> | (17)..(63) | | |
| | <223> | 包含 C-末端连接体 4xG-S-4xG-S-4xG-S-A 的 GLP-1 类似物肽 | | |
| | <220> | | | |
| | <221> | MISC_FEATURE | | |
| | <222> | (64)..(291) | | |
| | <223> | IgG-Fc 部分 | | |
| | <220> | | | |
| | <221> | 二硫化物 | | |
| | <222> | (71)..(362) | | |
| | <220> | | | |
| | <221> | 二硫化物 | | |
| | <222> | (74)..(365) | | |
| | <220> | | | |
| | <221> | 信号 | | |
| | <222> | (292)..(307) | | |
| | <220> | | | |
| | <221> | MISC_FEATURE | | |
| | <222> | (308)..(354) | | |

<223> 包含 C-末端连接体 4xG-S-4xG-S-4xG-S-A 的 GLP-1 类似物肽

<220>

<221> 链

<222> (308)..(582)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (355)..(582)

<223> IgG-Fc 部分

<400> 14

```

Met Pro Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu Ala
1           5           10           15
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
           20           25           30
Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly
           35           40           45
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Glu
           50           55           60
Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
65           70           75           80
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
           85           90           95
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
[0006]       100       105       110
Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
           115       120       125
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
           130       135       140
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
145       150       155       160
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
           165       170       175
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
           180       185       190
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
           195       200       205
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
           210       215       220
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
225       230       235       240
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
           245       250       255
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
           260       265       270
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
           275       280       285

```

[0007]

Ser Leu Gly Met Pro Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly
 290 295 300
 Ala Leu Ala His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr
 305 310 315 320
 Leu Glu Glu Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly
 325 330 335
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 340 345 350
 Ser Ala Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 355 360 365
 Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 370 375 380
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 385 390 395 400
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 405 410 415
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 420 425 430
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 435 440 445
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 450 455 460
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 465 470 475 480
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 485 490 495
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 500 505 510
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 515 520 525
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 530 535 540
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 545 550 555 560
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 565 570 575
 Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 580
 <210> 15
 <211> 550
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 8W 度拉糖肽
 <220>
 <221> 链

<222> (1)..(275)
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(47)
 <223> 包含 C-末端连接体 4xG-S-4xG-S-4xG-S-A 的 GLP-1 类似物
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (48)..(275)
 <223> IgG-Fc 部分
 <220>
 <221> 二硫化物
 <222> (55)..(330)
 <220>
 <221> 二硫化物
 <222> (58)..(333)
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (276)..(322)
 <223> 包含 C-末端连接体 4xG-S-4xG-S-4xG-S-A 的 GLP-1 类似物
 <220>
 <221> 链
 <222> (276)..(550)
 <220>
 [0008] <221> MISC_FEATURE
 <222> (323)..(550)
 <223> IgG-Fc 部分
 <400> 15
 His Trp Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly
 20 25 30
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Glu
 35 40 45
 Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
 50 55 60
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 65 70 75 80
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 85 90 95
 Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 100 105 110
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 115 120 125
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 130 135 140
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 145 | | | | 150 | | | | 155 | | | | | 160 | | |
| | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser | Lys | Ala | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln |
| | | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Gln | Glu | Glu | Met | Thr | Lys | Asn | Gln | Val |
| | | | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | |
| | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val |
| | | | | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | |
| | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro |
| | | | | | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | |
| | Pro | Val | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | Arg | Leu | Thr |
| | 225 | | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | 240 |
| | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp | Gln | Glu | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val |
| | | | | | 245 | | | | | | 250 | | | | | 255 |
| | Met | His | Glu | Ala | Leu | His | Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu |
| | | | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | |
| | Ser | Leu | Gly | His | Trp | Glu | Gly | Thr | Phe | Thr | Ser | Asp | Val | Ser | Ser | Tyr |
| | | | | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | |
| | Leu | Glu | Glu | Gln | Ala | Ala | Lys | Glu | Phe | Ile | Ala | Trp | Leu | Val | Lys | Gly |
| | | | | | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | |
| | Gly | Gly | Gly | Gly | Gly | Gly | Ser | Gly | Gly | Gly | Gly | Ser | Gly | Gly | Gly | Gly |
| | 305 | | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | 320 |
| | Ser | Ala | Glu | Ser | Lys | Tyr | Gly | Pro | Pro | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro |
| | | | | | 325 | | | | | | 330 | | | | | 335 |
| [0009] | Glu | Ala | Ala | Gly | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys |
| | | | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | |
| | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val |
| | | | | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | |
| | Asp | Val | Ser | Gln | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Gln | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp |
| | | | | | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | |
| | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Phe |
| | 385 | | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | 400 |
| | Asn | Ser | Thr | Tyr | Arg | Val | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Leu | His | Gln | Asp |
| | | | | | 405 | | | | | | 410 | | | | | 415 |
| | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Gly | Leu |
| | | | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | |
| | Pro | Ser | Ser | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser | Lys | Ala | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg |
| | | | | | 435 | | | | | 440 | | | | | 445 | |
| | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Gln | Glu | Glu | Met | Thr | Lys |
| | | | | | 450 | | | | | 455 | | | | | 460 | |
| | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp |
| | 465 | | | | | | 470 | | | | | 475 | | | | 480 |
| | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys |
| | | | | | 485 | | | | | | 490 | | | | | 495 |
| | Thr | Thr | Pro | Pro | Val | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser |
| | | | | | 500 | | | | | 505 | | | | | 510 | |
| | Arg | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp | Gln | Glu | Gly | Asn | Val | Phe | Ser |

[0010]

```

          515          520          525
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
    530          535          540
Leu Ser Leu Ser Leu Gly
545          550
<210> 16
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GLP-1 类似物
<220>
<221> 成熟肽
<222> (1)..(35)
<400> 16
His Trp Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1          5          10          15
Gln Ala Ala Arg Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Gly Lys
          20          25          30
Gly Gly Ser Lys
          35
<210> 17
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GLP-1 类似物
<220>
<221> 成熟肽
<222> (1)..(35)
<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 位置 2 的 Xaa 为 Aib (2-氨基异丁酸)
<400> 17
His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1          5          10          15
Gln Ala Ala Arg Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Gly Lys
          20          25          30
Gly Gly Ser Lys
          35
<210> 18
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

```

<223> GLP-1 类似物
 <220>
 <221> 成熟肽
 <222> (1)..(31)
 <400> 18
 His Trp Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Gln Ala Ala Arg Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Lys
 20 25 30
 <210> 19
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> GLP-1 类似物
 <220>
 <221> 成熟肽
 <222> (1)..(31)
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> 位置 2 的 Xaa 为 Aib (2-氨基异丁酸)
 <400> 19
 [0011] His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Gln Ala Ala Arg Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Lys
 20 25 30
 <210> 20
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> GLP-1 类似物
 <220>
 <221> 成熟肽
 <222> (1)..(32)
 <400> 20
 His Trp Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Gln Ala Ala Arg Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Pro Lys
 20 25 30
 <210> 21
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

<223> GLP-1 类似物
<220>
<221> 成熟肽
<222> (1)..(32)
<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 位置 2 的 Xaa 为 Aib (2-氨基异丁酸)
<400> 21
His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15
Gln Ala Ala Arg Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Pro Lys
20 25 30
<210> 22
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GLP-1 类似物
<220>
<221> 成熟肽
<222> (1)..(29)
<400> 22
[0012] Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gln Ala
1 5 10 15
Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Gly
20 25
<210> 23
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> GLP-1 类似物
<220>
<221> 成熟肽
<222> (1)..(31)
<400> 23
Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu Gln Ala
1 5 10 15
Ala Arg Lys Phe Ile Glu Trp Leu Val Arg Gly Lys Gly Glu Gly
20 25 30
<210> 24
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 肽(N-末端延伸)
<220>
<221> 前肽
[0013] <222> (1)..(14)
<400> 24
Asp Val Lys Pro Gly Gln Pro Met Tyr Asp Asp Asp Asp Lys
1 5 10

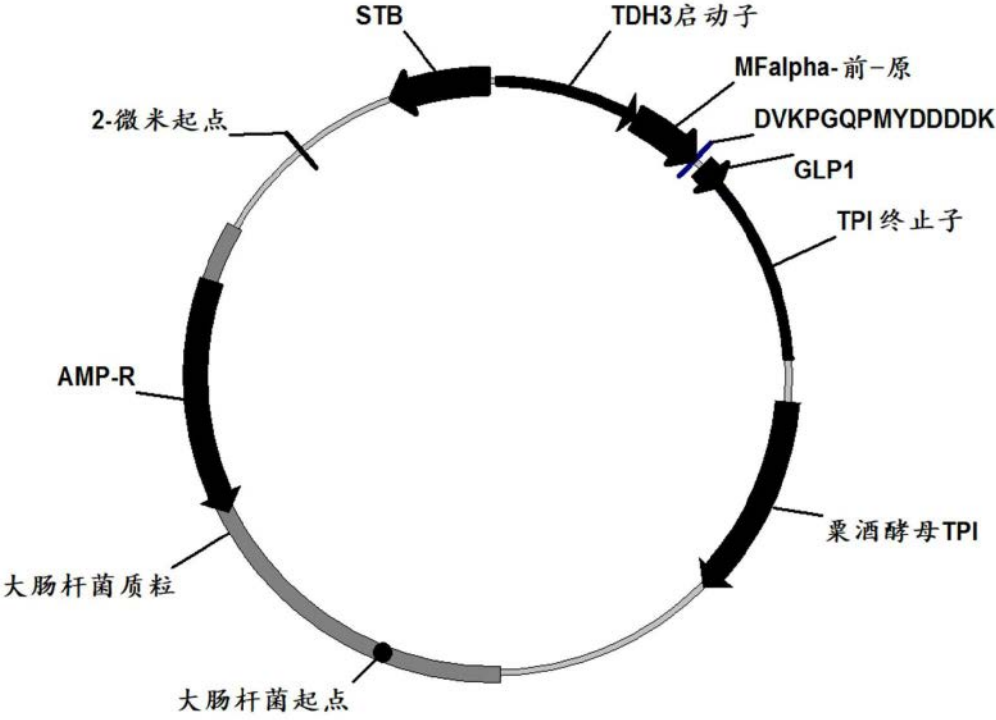


图1