I810937

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I810937 B**

(45)公告日： 中華民國 112 (2023) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：111118551 (22)申請日： 中華民國 107 (2018) 年 12 月 05 日

(51)Int. Cl.： *A61K38/26 (2006.01)* *C07K14/605 (2006.01)*
A61P3/00 (2006.01)

(30)優先權：2017/12/21 美國 62/608,644

(71)申請人：美商美國禮來大藥廠 (美國) ELI LILLY AND COMPANY (US)
美國

(72)發明人：亞利西納 佛南德茲 喬治 ALSINA-FERNANDEZ, JORGE (US)；寇斯康 塔莫 COSKUN, TAMER (US)；郭莉莉 GUO, LILI (CN)；屈红昌 QU, HONGCHANG (CN)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

CN 105829339A

審查人員：簡正芳

申請專利範圍項數：25 項 圖式數：0 共 41 頁

(54)名稱

腸促胰島素(INCRETIN)類似物及其用途

(57)摘要

本發明提供對 GIP、GLP-1 及升糖素受體各者具有活性的腸促胰島素(incretin)類似物。該等腸促胰島素類似物具有對此等受體各產生平衡活性及延長作用持續時間之結構特徵。亦提供用於治療疾病(諸如糖尿病、血脂異常、脂肪肝病、代謝症候群、非酒精性脂肪變性肝炎及肥胖症)之方法。

Incretin analogs are provided that have activity at each of the GIP, GLP-1 and glucagon receptors. The incretin analogs have structural features resulting in balanced activity and extended duration of action at each of these receptors. Methods also are provided for treating diseases such as diabetes mellitus, dyslipidemia, fatty liver disease, metabolic syndrome, non-alcoholic steatohepatitis and obesity.

專利案號：111118551
原申請案號：107143623
公告本
I810937

【發明摘要】

【中文發明名稱】

腸促胰島素(INCRETIN)類似物及其用途

【英文發明名稱】

INCRETIN ANALOGS AND USES THEREOF

【中文】

本發明提供對GIP、GLP-1及升糖素受體各者具有活性的腸促胰島素(incretin)類似物。該等腸促胰島素類似物具有對此等受體各產生平衡活性及延長作用持續時間之結構特徵。亦提供用於治療疾病(諸如糖尿病、血脂異常、脂肪肝病、代謝症候群、非酒精性脂肪變性肝炎及肥胖症)之方法。

【英文】

Incretin analogs are provided that have activity at each of the GIP, GLP-1 and glucagon receptors. The incretin analogs have structural features resulting in balanced activity and extended duration of action at each of these receptors. Methods also are provided for treating diseases such as diabetes mellitus, dyslipidemia, fatty liver disease, metabolic syndrome, non-alcoholic steatohepatitis and obesity.

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

腸促胰島素(INCRETIN)類似物及其用途

【英文發明名稱】

INCRETIN ANALOGS AND USES THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明係關於對葡萄糖依賴性促胰島素多肽(GIP)、升糖素樣肽-1(GLP-1)及升糖素受體各具有活性的腸促胰島素類似物。本文中所描述之腸促胰島素類似物可具有對此等受體各提供平衡活性且具有延長作用持續時間之結構特徵。此類腸促胰島素類似物可適用於治療病症，諸如2型糖尿病(T2DM)、血脂異常、代謝症候群、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)、非酒精性脂肪變性肝炎(NASH)及/或肥胖症。

【先前技術】

【0002】 在過去幾十年中，糖尿病之發病率持續上升。T2DM為佔所有糖尿病之約90%的最常見形式之糖尿病。T2DM之特徵在於由胰島素抗性造成之高血糖含量。針對T2DM之當前標準護理包括飲食及運動，以及用經口藥物及可注射降低葡萄糖藥物(包括基於腸促胰島素之治療劑(諸如GLP-1受體促效劑))治療。

【0003】 GLP-1為36-胺基酸肽，其主要生物學活性片段產生為30-胺基酸，刺激葡萄糖依賴性胰島素分泌且預防糖尿病患者之高血糖症的C端醯胺化肽(GLP-1_{7-36}；SEQ ID NO:2)。多種GLP-1類似物目前可用於治療T2DM，包括度拉糖肽(dulaglutide)、艾塞那肽(exenatide)及利拉魯肽(liraglutide)。然而，許多目前市售之GLP-1受體促效劑受胃腸道副作用

(諸如噁心及嘔吐)之劑量限制。當用經口藥物及基於腸促胰島素之治療劑治療不充分時，考慮用胰島素治療。儘管有可用的治療選項，但接受審批通過之治療劑的大量個體未達到血糖控制目標(參見例如Casagrande等人，(2013)*Diabetes Care* 36:2271-2279)。

【0004】 不受控制的糖尿病會引起影響此類個體之致病率及死亡率的一或多種病況。T2DM之主要風險因素中之一者為肥胖，且患有T2DM之大部分個體(~90%)均超重或肥胖。據記載，身體肥胖減少將導致與肥胖症相關之並存病(包括高血糖症及心血管事件)之改善。因此，需要對葡萄糖控制及體重減小有效的治療劑以用於更好的疾病管理。

【0005】 鑒於此，待研究之新治療劑包括不僅對GLP-1受體具有活性而且對一或多種其他受體(諸如GIP及/或升糖素受體)具有活性之化合物。實際上，某些化合物已描述為具有三重促效活性(亦即，對升糖素、GLP-1及GIP受體中之每一者具有活性)。舉例而言，國際專利申請公開案第WO 2015/067716號描述了具有三重促效活性之升糖素類似物。類似地，國際專利申請案第WO 2016/198624號描述了腸促胰島素-4之類似物，本身具有三重促效活性之GLP-1類似物。同樣地，國際專利申請案第WO 2014/049610號及第WO 2017/116204號各自描述了具有三重促效活性之多種類似物。此外，國際專利申請案第WO 2017/153375號描述了升糖素及另外經陳述具有GIP活性之GLP-1共促效劑。

【0006】 儘管如此，仍需要能夠提供有效的葡萄糖控制，具有體重減輕的益處及有利的副作用特徵的治療，特別係對於T2DM。另外需要可用於充分延長作用持續時間的治療劑以允許不頻繁地給藥，如一天一次、一週三次、一週兩次或一週一次。

【發明內容】

【0007】 本文中所描述之腸促胰島素類似物試圖滿足以上需求。因此，本發明描述對GIP、GLP-1及升糖素受體各具有活性之腸促胰島素類似物。有利地，本文中所描述之腸促胰島素類似物具有平衡的活性，從而允許投與對各受體提供充分活性之劑量以提供對彼受體之促效益處同時避免與過多活性相關之非所需副作用。此外，本文中所描述之腸促胰島素類似物對GIP、GLP-1及升糖素受體各具有延長作用持續時間，從而允許不頻繁地給藥，如一天一次、一週三次、一週兩次或一週一次。以此方式，腸促胰島素類似物導致增強的葡萄糖控制、代謝益處(諸如體重降低及/或身體組成改善)、脂質益處(諸如第9型前蛋白轉換酶枯草桿菌蛋白酶/kexin(PCSK9)降低)，及/或其他益處，諸如骨質或骨形成增加或骨骼再吸收減少。本發明亦描述對於其他病症或病況(包括肥胖症、NAFLD、NASH、血脂異常及/或代謝病症)有效的治療。

【0008】 在一個實施例中，提供一種腸促胰島素類似物，其包括化學式：

$YX_2X_3GTX_6TSDYSIX_{13}LDKX_{17}AQX_{20}AFIEYLLEGGPSSGAPPPS$

，其中X_2為Aib，X_3為Q或H，X_6為αMeF或αMeF(2F)，X_{13}為L或αMeL，X_{17}為具有可用於結合之官能基的任何胺基酸，其中該官能基結合於C_{16}-C_{22}脂肪酸，X_{20}為Aib、Q或H (SEQ ID NO:5)，且C端胺基酸視情況經醯胺化，或其醫藥學上可接受之鹽。

【0009】 在另一實施例中，提供一種用於治療諸如血脂異常、脂肪肝病、代謝症候群、NASH、肥胖症及T2DM之疾病的方法。此類方法可包括向有需要之個體投與有效量的本文中所描述之腸促胰島素類似物的至

少一個步驟。在一些情況下，疾病為脂肪肝病、肥胖症、NASH或T2DM。

【0010】 在另一實施例中，如本文所描述之腸促胰島素類似物經提供用於療法。舉例而言，如本文所描述之腸促胰島素類似物經提供用於治療疾病，諸如血脂異常、脂肪肝病、代謝症候群、NASH、肥胖症及T2DM。在一些情況下，疾病為脂肪肝病、肥胖症、NASH或T2DM。

【0011】 在另一實施例中，如本文所描述之腸促胰島素類似物經提供用於製造供治療血脂異常、脂肪肝病、代謝症候群、NASH、肥胖症及T2DM用的藥物。在一些情況下，疾病為脂肪肝病、肥胖症、NASH或T2DM。

【0012】 在另一實施例中，提供包括如本文所描述之腸促胰島素類似物及醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑的醫藥組合物。

【實施方式】

【0013】

相關專利申請案之交叉參考

本專利申請案主張美國臨時專利申請案第62/608,644號 (2017年12月21日申請)之優先權及權利，該專利申請案以引用之方式併入本文中，如同其全部內容中所闡述。

【0014】 除非另外定義，否則本文所使用之所有技術及科學術語均具有與本發明所屬領域的一般技術者通常所理解相同的含義。儘管類似於或相當於本文中所描述之方法及材料的任何方法及材料可用於實踐或測試腸促胰島素類似物、醫藥組合物及方法，但較佳對方法及材料仍描述於本文中。

【0015】 此外，藉由不定冠詞「一(a或an)」提及「一元件」並不排除存在多於一個元件的可能性，除非上下文明確要求存在一個且僅存在一個元件。因此，不定冠詞「一(a或an)」通常意謂「至少一個」。

【0016】 GIP為42-胺基酸肽(SEQ ID NO:4)且為腸促胰島素，其藉由在葡萄糖存在下刺激胰臟β細胞分泌胰島素而在葡萄糖體內平衡中發揮生理作用。

【0017】 GLP-1為36-胺基酸肽(SEQ ID NO: 2)且亦為腸促胰島素，其刺激葡萄糖依賴性胰島素分泌且其經展示預防糖尿病患者之高血糖症。

【0018】 升糖素為29-胺基酸肽(SEQ ID NO:1)，其藉由結合且活化肝細胞上之升糖素受體，經由稱作肝糖分解之方法致使肝臟釋放以肝糖形式儲存之葡萄糖而幫助保持血糖。

【0019】 調酸素(OXM)為37-胺基酸肽，其不僅包括升糖素之29-胺基酸序列而且包括活化升糖素及GLP-1受體兩者之八肽羧基端延伸部分(SEQ ID NO:3)，對於升糖素受體具有略微高於GLP-1受體之效能。

【0020】 除了T2DM之外，對GIP、GLP-1及/或升糖素受體中之一或多者具有活性之腸促胰島素及其類似物已描述為在多種其他病況、疾病或病症(包括(例如)肥胖症、NAFLD及NASH、血脂異常、代謝症候群、骨骼相關病症、阿茲海默氏症(Alzheimer's disease)及帕金森氏病(Parkinson's disease))中具有治療值的潛能。*參見，例如*Jall等人. (2017) *Mol. Metab.* 6:440-446；Carbone等人. (2016) *J. Gastroenterol. Hepatol.* 31:23-31；Finan等人. (2016) *Trends Mol. Med.* 22:359-376；Choi等人. (2017) *Potent body weight loss and efficacy in a NASH animal model by a novel long-acting GLP-1/Glucagon/GIP triple-agonist (HM15211),*

ADA Poster 1139-P；Ding (2008) *J. Bone Miner. Res.* 23:536-543；Tai等人. (2018) *Brain Res.* 1678:64-74；Müller等人. (2017) *Physiol. Rev.* 97:721-766；Finan等人. (2013) *Sci. Transl. Med.* 5:209；Hölscher (2014) *Biochem. Soc. Trans.* 42:593-600。

【0021】

定義

如本文中所使用，「約」意謂一或多個值在統計學內之有意義的範圍，諸如規定的濃度、長度、分子量、pH、序列一致性、時間範圍、溫度或體積。此類值或範圍可在既定值或範圍之一數量級內，通常在20%內，更通常在10%內，且甚至更通常在5%內。藉由「約」涵蓋之允許變化形式將取決於研究下之特定系統，且可由熟習此項技術者容易地理解。

【0022】 如本文中所使用且在提及GIP、GLP-1或升糖素受體中之一或多者中，「活性」、「活化(activate/activating」及類似者意謂化合物(諸如本文中所描述之腸促胰島素類似物)結合一或多種受體且誘發反應的能力，如使用此項技術中已知之分析(諸如下文所描述之活體外分析)所量測。

【0023】 如本文中所使用，「具有可供結合之官能基的胺基酸」意謂具有可藉助於例如連接基團與脂肪酸結合之官能基的任何天然或非天然胺基酸。此類官能基之實例包括(但不限於)炔基、烯基、胺基、疊氮基、溴基、羧基、氯基、碘基及硫醇基。包括此類官能基之天然胺基酸之實例包括K (胺基)、C (硫醇基)、E (羧基)及D (羧基)。

【0024】 如本文中所使用，「C_{16}-C_{22}脂肪酸」意謂具有16與22個碳原子之間的羧酸。適用於本文中之C_{16}-C_{22}脂肪酸可為飽和一元酸或飽和

二元酸。如本文中所使用，「飽和」意謂不含有碳-碳雙鍵或參鍵之脂肪酸。

【0025】 如本文中所使用，「有效量」意謂在診斷或治療下，本文中所描述之一或多種腸促胰島素類似物或其醫藥學上可接受之鹽在向有需要之個體投與單一或多個劑量時在此個體中會提供所需效應的量、濃度或劑量。有效量可輕易地由熟習此項技術者藉由使用已知技術且藉由在類似情況下獲得的觀測結果來判定。在判定用於個體之有效量中，可考慮多個因素，其包括(但不限於)：哺乳動物物種；其尺寸、年齡及一般健康狀況；所涉及之特定疾病或病症；涉及程度或疾病或病症之嚴重程度；個別患者之反應；所投與之特定腸促胰島素類似物；投與模式；所投與製劑之生物可用性特性；所選擇之劑量方案；伴隨藥療之使用；及其他相關情況。

【0026】 如本文中所使用，「延長作用持續時間」意謂腸促胰島素類似物之結合親和力及活性繼續大於天然人類GIP、GLP-1及升糖素肽之一段時間，進而允許至少不頻繁地給藥，如一天一次或甚至一週三次、一週兩次或一週一次。腸促胰島素類似物之時間作用特徵可使用已知的藥物代謝動力學測試方法(諸如以下實例中使用之彼等)來量測。

【0027】 如本文中所使用，「腸促胰島素類似物」意謂與GIP、GLP-1及升糖素，尤其人類GIP (SEQ ID NO:4)、GLP-1 (SEQ ID NO:2)及升糖素(SEQ ID NO:1)各具有結構相似性但多個差異的化合物。本文中所描述之腸促胰島素類似物包括使得化合物對GIP、GLP-1及升糖素受體各具有親和力及活性(亦即，三重促效活性)的胺基酸序列。

【0028】 如本文中所使用，「有需要之個體」意謂具有需要治療或

療法(包括例如本文中所列出之彼等)之病況、疾病、病症或症狀的哺乳動物(諸如人類)。

【0029】 如本文中所使用，「治療(treat/treating)」、「用以治療」及類似者意謂抑制、減緩、停止或逆轉現有病況、疾病、病症或症狀之進展或嚴重度。

【0030】 如本文中所使用，且關於腸促胰島素類似物，「三重促效活性」意謂對GIP、GLP-1及升糖素受體各具有活性的腸促胰島素類似物，尤其對各受體具有平衡且足夠活性以提供對彼受體之促效益處同時避免與過多活性相關之非所需副作用的類似物。此外，具有三重促效活性之腸促胰島素類似物對GIP、GLP-1及升糖素受體各具有延長作用持續時間，其有利地允許不頻繁地給藥，如一天一次、一週三次、一週兩次或一週一次。

【0031】 如本文中所使用，術語「治療」或「用以治療」意謂抑制、減緩、停止或逆轉現有病況、疾病、病症或症狀之進程或嚴重度。

【0032】 如本文中所使用，且關於腸促胰島素類似物，「三重促效活性」意謂對升糖素、GLP-1及GIP受體各具有活性的腸促胰島素類似物，尤其對各受體具有平衡且足夠活性以提供對彼受體之促效益處同時避免與過多活性相關之非所需副作用的類似物。此外，具有三重促效活性之腸促胰島素類似物對升糖素、GIP及GLP-1受體各具有延長作用持續時間，其有利地允許不頻繁地給藥，如一天一次、一週三次、一週兩次或一週一次。

【0033】

腸促胰島素類似物

本文中所描述之腸促胰島素類似物之結構特徵使得類似物對GIP、GLP-1及升糖素受體各具有足夠的活性以得到對各受體有利的活性效應(亦即，三重促效活性)，但對任一種受體無如此多活性以超過對兩種受體中任一者之活性或在以足以對所有三種受體產生活性之劑量投與時產生非所需副作用。在某些實施例中，且關於SEQ ID NO:5，此類結構特徵之非限制性實例包括位置6之αMeF或αMeF(2F)，發現其有助於最佳的升糖素活性；位置13之L或αMeL，發現其有助於最佳的升糖素及GIP活性；位置20之Aib，發現其有助於最佳的GIP活性；位置17之醯化，發現其有助於最佳的升糖素活性；及位置25之Y，發現其有助於最佳的升糖素及/或GIP活性。此類結構特徵之其他實例包括位置22、24及28-39之本文中所描述之胺基酸，發現其有助於對所有三種受體之最佳結合及效能。

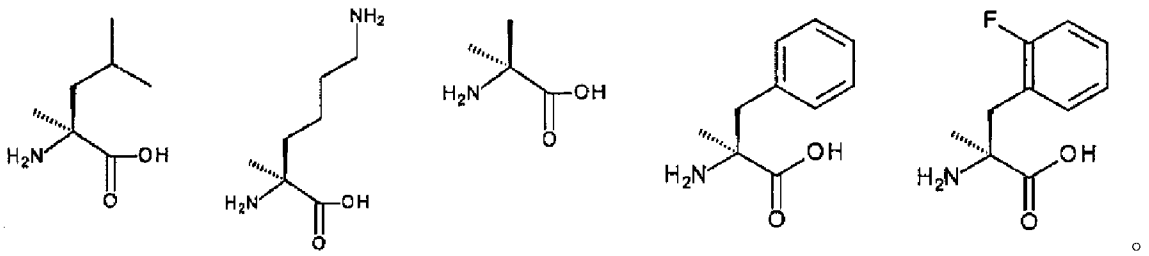
【0034】 本文中所描述之腸促胰島素類似物之結構特徵亦使得類似物在治療劑治療時具有許多其他與其可發展性相關之有益屬性，包括改善類似物在水溶液中之可溶性、改善化學及物理調配穩定性、延伸藥物動力學概況及最小化免疫原性之潛能。產生此類屬性之特定結構特徵之非限制性實例包括在位置17處用C_{20}脂肪酸之醯化，其有助於最佳的藥物代謝動力學(PK)特徵及可發展性；位置20之Aib或H，其有助於最佳的PK特徵及可發展性；及位置22、24及28-39之本文中所描述之胺基酸，其有助於最佳的PK、免疫原性、可發展性及穩定性。

【0035】 應注意前述結構特徵列表為例示性的且不全面的，且本文中所描述之例示性類似物之有益特徵之組合不係分離之任何修飾結果，而係經由本文中所描述之結構特徵之新穎組合來實現的。另外，上文所描述之前述修飾列表之效應不係排他性的，由於此等修飾中之許多亦具有對於

本文所描述之化合物之特徵而言重要的其他效應，如下文所描述。

【0036】 本文中所描述之腸促胰島素類似物之胺基酸序列併入有天然存在之胺基酸，通常使用標準的一個字母代碼(例如，L=白胺酸)描繪於本文中，以及天然胺基酸之經α-甲基取代的殘基(例如，α-甲基白胺酸(αMeL)、α-甲基離胺酸(αMeK)、α-甲基苯丙胺酸(αMeF)及α-甲基2-氟苯丙胺酸(αMeF(2F))，及某些其他非天然胺基酸，諸如α胺基異丁酸(Aib)。此等胺基酸之結構描繪於下文中：

αMeL αMeK Aib αMeF αMeF(2F)



。

【0037】 如上文所提及，本文中所描述之腸促胰島素類似物與天然人類肽中之任一者具有結構相似性，但具有許多結構差異。舉例而言，當與天然人類GIP (SEQ ID NO:4)相比時，本文中所描述之腸促胰島素類似物包括在位置2、3、6、7、13、14、17、18-21、23-25、28-29及30-42中之一或多者的修飾。在一些情況下，本文中所描述之腸促胰島素類似物包括在位置2、3、6、7、13、14、17、18、21、23-25、29及30-42中之每一者對天然人類GIP (SEQ ID NO:4)之胺基酸的修飾。在某些情況下，本文中所描述之腸促胰島素類似物包括以下胺基酸修飾：位置2之Aib；位置3之Q或H；位置6之αMeF或αMeF(2F)；位置7之T；位置13之L或αMeL；位置14之L；位置17係經由用C_{16}至C_{22}脂肪酸，視情況經由使用連接基團，結合於K側鏈之ε-胺基進行修飾之經修飾K殘基；位置18之A；位置19之Q；位置20之Aib, Q或H；位置21之A；位置23之I；位置24之

E；位置25之Y；位置28之E；位置29之G；及用以下胺基酸序列GPSSGAPPPS (SEQ ID NO:12) (及尾端之截斷類似物)替代位置30-42之胺基酸。在又其他情況下，本文中所描述之腸促胰島素類似物經醯胺化。除本文中所描述之修飾以外，本文中所描述之腸促胰島素類似物可包括一或多種另外胺基酸修飾，然而限制條件為類似物仍保持能夠結合且活化各GIP、GLP-1及升糖素受體。

【0038】 如上文所提及，本文中所描述之腸促胰島素類似物包括脂肪酸部分例如藉由連接基團結合於具有可用於結合之官能基的天然或非天然胺基酸。此結合有時稱作醯化。在某些情況下，具有可供結合之官能基的胺基酸可為K、C、E及D。在特定情況下，具有可供結合之官能基的胺基酸為K，其中結合於K側鏈之ε-胺基。

【0039】 本文中所描述之腸促胰島素類似物之醯化位於SEQ ID NO:5中之位置17，其經確定為包括此結構之最佳位置。脂肪酸及在某些實施例中之連接基團用作白蛋白結合劑，且提供產生長效化合物的潛能。

【0040】 本文中所描述之腸促胰島素類似物利用C_{16}-C_{22}脂肪酸藉由直接鍵或藉由連接基團化學地結合於胺基酸之官能基。脂肪酸之長度及組成影響腸促胰島素類似物之半衰期、其在活體內動物模型中之效能及其可溶性及穩定性。結合於C_{16}-C_{22}飽和脂肪一元酸或二元酸使得腸促胰島素類似物呈現需要的半衰期、在活體內動物模型中之需要效能及需要的可溶性及穩定性特徵。

【0041】 用於本文中之飽和C_{16}-C_{22}脂肪酸之實例包括(但不限於)十六酸(十六烷酸) (C_{16}一元酸)、十六烷二酸(C_{16}二元酸)、十七酸(十七烷酸) (C_{17}一元酸)、十七烷二酸(C_{17}二元酸)、十八酸(C_{18}一元酸)、十八烷

二酸(C_{18}二元酸)、十九酸(十九烷酸) (C_{19}一元酸)、十九烷二酸(C_{19}二元酸)、二十酸(花生酸) (C_{20}一元酸)、二十烷二酸(C_{20}二元酸)、二十一酸(二十一烷酸) (C_{21}一元酸)、二十一烷二酸(C_{21}二元酸)、二十二酸(二十二烷酸) (C_{22}一元酸)、二十二烷二酸(C_{22}二元酸)，包括其分支鏈及經取代衍生物。

【0042】 在某些情況下，C_{16}-C_{22}脂肪酸可為飽和C_{18}一元酸、飽和C_{18}二元酸飽和C_{19}一元酸、飽和C_{19}二元酸、飽和C_{20}一元酸、飽和C_{20}二元酸，及其分支鏈及經取代衍生物。在更特定情況下，C_{16}-C_{22}脂肪酸可為十八酸、二十酸或二十烷二酸，特別言之為二十酸。

【0043】 在一些情況下，連接基團可具有一至四個胺基酸、胺基聚乙二醇甲酸酯或其混合物。在某些情況下，胺基聚乙二醇甲酸酯具有以下結構：

H-{NH-CH_2-CH_2-[O-CH_2-CH_2]m-O-(CH_2)p-CO}n-OH，

其中m為1至12之任何整數，n為1至12之任何整數，且p為1或2。

【0044】 在某些情況下，連接基團可具有一或多個(2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)部分，視情況結合一至四個胺基酸。

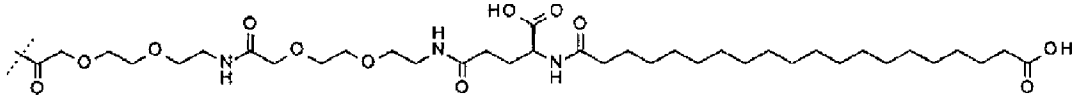
【0045】 在連接基團包括至少一個胺基酸的情況下，胺基酸可為一至四個Glu或γGlu胺基酸殘基。在一些情況下，連接基團可包括一個或兩個Glu或γGlu胺基酸殘基，包括其D-形式。舉例而言，連接基團可包括一個或兩個γGlu胺基酸殘基。可替代地，連接基團可包括與多達三十六個(2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)部分組合使用之一至四個胺基酸殘基(諸如，例如Glu或γGlu胺基酸）。特定言之，連接基團可為一至四個E或γE胺基酸及一至四個(2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)部分之組

合。在其他情況下，連接基團可為一個或兩個γGlu胺基酸及一個或兩個(2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)部分之組合。

【0046】 在一特定情況下，本文中所描述之腸促胰島素類似物具有連接基團及具有下式之結構的脂肪酸組分：

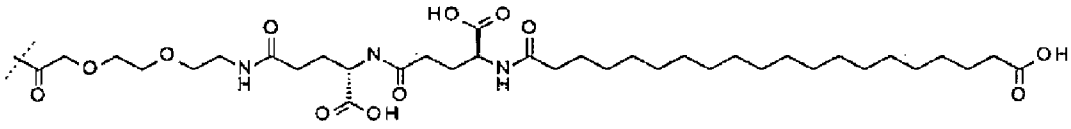
$(2\text{-}[2\text{-}(2\text{-胺基-乙氧基})\text{-乙氧基}]\text{-乙醯基})_a\text{-}(\gamma Glu)_b\text{-}CO\text{-}(CH_2)_c\text{-}CO_2H$，

其中a為0、1或2，b為1或2，且c為16或18。在一特定情況下，a為2，b為1，且c為18，其結構描繪於下文：



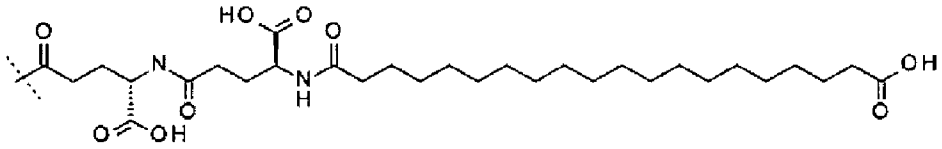
。

【0047】 在另一特定情況下，a為1，b為2，且c為18，其結構描繪於下文：



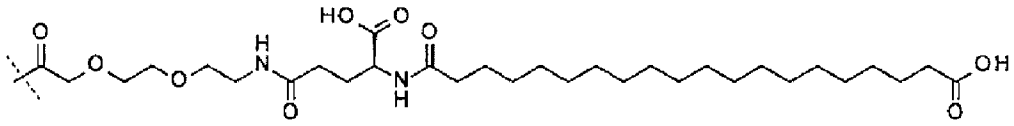
。

【0048】 在另一特定情況下，a為0，b為2，且c為18，其結構描繪於下文：



。

【0049】 在另一特定情況下，a為1，b為1，且c為18，其結構描繪於下文：



。

【0050】 如以下實例1至6之化學結構中所示，上文所描述之連接基團-脂肪酸部分可連接至離胺酸(K)側鏈之ε-胺基。

【0051】本文中所描述之腸促胰島素類似物針對GIP、GLP-1及升糖素受體中各者的親和力可使用此項技術中已知之用於量測受體結合水準的技術(包括(例如)以下實例中描述之彼等)來量測，且通常表示為抑制常數(Ki)值。本文中所描述之腸促胰島素類似物對受體中各者的活性亦可使用此項技術中已知之技術來量測，包括(例如)下文所描述之活體外活性分析，且通常表示為有效濃度50 (EC_{50})值，其為在劑量反應曲線中引起半最大模擬之化合物濃度。

【0052】本文中所描述之腸促胰島素類似物可調配為醫藥組合物，其可藉由非經腸途徑(例如，皮下、靜脈內、腹膜內、肌內或經皮)投與。此類醫藥組合物及製備醫藥組合物之技術在此項技術中為人所熟知。參見，例如Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Troy編，第21版，Lippincott, Williams & Wilkins, 2006)。在特定情況下，腸促胰島素類似物經皮下投與。

【0053】本文中所描述之腸促胰島素類似物可與多種無機及有機酸/鹼中之任一者反應以形成醫藥學上可接受之酸/鹼加成鹽。醫藥學上可接受之鹽及製備其之通用技術在此項技術中為眾所周知的(參見例如Stahl等人，Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use，第2修訂版本(Wiley-VCH, 2011))。用於本文中之醫藥學上可接受之鹽包括鈉、三氟乙酸鹽、氫氯酸鹽及乙酸鹽。

【0054】本發明亦提供合成本文中所描述之腸促胰島素類似物或其醫藥學上可接受之鹽的新穎中間產物及方法且因此涵蓋該等中間產物及方法。本文中所描述之中間產物及腸促胰島素類似物可藉由此項技術中已知之各種技術來製備。舉例而言，使用化學合成之方法說明於以下實例中。

所描述之途徑中之每一者的特定合成步驟可以不同方式組合以製備本文中所描述之腸促胰島素類似物。試劑及起始材料為熟習此項技術者容易獲得的。

【0055】 本文中所描述之特定腸促胰島素類似物通常在廣泛劑量範圍內有效。舉例而言，一週一次投藥之劑量可在約0.01至約30毫克/人/週範圍內，在約0.1至約10毫克/人/週範圍內或甚至在約0.1至約3毫克/人/週範圍內。因此，本文中所描述之腸促胰島素類似物可每天、一週三次、一週兩次或一週一次給藥，特定言之一週一次投藥。

【0056】

方法

本文中所描述之腸促胰島素類似物可用於治療各種病況、病症、疾病或症狀。特定言之，提供用於治療個體之T2DM的方法，其中此類方法包括向需要此類治療之個體投與有效量的本文中所描述之腸促胰島素類似物或其醫藥學上可接受之鹽的至少一個步驟。

【0057】 另外，提供用於治療個體之肥胖症的方法，其中此類方法包括向需要此類治療之個體投與有效量的本文中所描述之腸促胰島素類似物或其醫藥學上可接受之鹽的至少一個步驟。

【0058】 另外，提供用於誘使個體之非治療性體重減輕的方法，其中此類方法包括向需要此類治療之個體投與有效量的本文中所描述之腸促胰島素類似物或其醫藥學上可接受之鹽的至少一個步驟。

【0059】 另外，提供用於治療個體之代謝症候群的方法，其中此類方法包括向需要此類治療之個體投與有效量的本文中所描述之腸促胰島素類似物或其醫藥學上可接受之鹽的至少一個步驟。

【0060】 另外，提供用於治療個體之NASH的方法，其中此類方法包括向需要此類治療之個體投與有效量的本文中所描述之腸促胰島素類似物或其醫藥學上可接受之鹽的至少一個步驟。

【0061】 另外，提供用於治療個體之FLD的方法，其中此類方法包括向需要此類治療之個體投與有效量的本文中所描述之腸促胰島素類似物或其醫藥學上可接受之鹽的至少一個步驟。

【0062】 在此等方法中，腸促胰島素類似物之有效性可藉由例如觀測血糖顯著降低、觀測胰島素顯著增加、觀測HbA1c顯著降低及/或觀測體重顯著減少來評估。

【0063】 可替代地，本文中所描述之腸促胰島素類似物或其醫藥學上可接受之鹽可用於改善有需要之個體的骨骼強度。在一些情況下，有需要之個體患有低骨生成或骨質疏鬆症，或自骨折、矯正手術、假體植入、牙種植及/或脊椎融合治癒。本文中所描述之腸促胰島素類似物亦可用於治療其他病症，諸如帕金森氏病或阿茲海默氏症。

【0064】

實例

以下非限制性實例出於說明目的提供，不受限制。

【0065】

肽合成

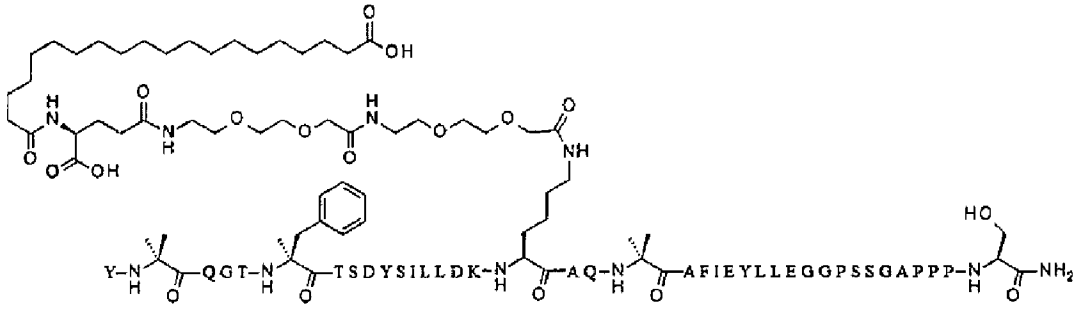
實例1：

【0066】 實例1為由以下描述表示之化合物：

Y-Aib-QGT-αMeF-TSDYSILLDKK((2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)$_2$-(γGlu)-CO-(CH$_2$)$_{18}$-CO$_2$H)AQ-Aib-AFIEYLLEGGPSSGAPPPS-

NH_2 (SEQ ID NO:6)。

【0067】 以下為使用除殘基Aib2、αMeF6、K17及Aib20之外的標準單字母胺基酸代碼對實例1之結構的描述，其中此等胺基酸殘基之結構已經展開：



。

【0068】 實例1之肽主鏈係在Symphony X肽合成器(Protein Technologies，Inc. Tucson, AZ)上使用芴基甲基氧基羰基(Fmoc)/第三丁基(t-Bu)化學方法來合成。

【0069】 樹脂由1% DVB交聯聚苯乙烯(Fmoc-Rink-MBHA低負載樹脂，100-200目，EMD Millipore)以0.3-0.4毫當量/公克之取代度來組成。使用標準側鏈保護基。Fmoc-Lys (Mtt)-OH)用於位置17之離胺酸，且Boc-Tyr(tBu)-OH)用於位置1之酪胺酸。在各偶合步驟(2 × 7分鐘)之前使用含20%哌啶之DMF去除Fmoc基團。使用Fmoc胺基酸(0.3 mM)、二異丙基碳化二亞胺(0.9 mM)及Oxyma (0.9 mM)之等量莫耳比，以超過理論肽負載之9倍莫耳進行所有標準胺基酸耦合，持續1小時至一級胺且持續3小時至二級胺。例外狀況為與Cα-甲基化胺基酸偶合，其偶合3小時。在完成肽主鏈之合成後，用DCM充分洗滌樹脂6次以去除殘餘DMF。使用含30%六氟異丙醇(Oakwood Chemicals)之DCM的兩次處理(2×40-分鐘處理)自肽樹脂中選擇性地去除位置17之離胺酸上的Mtt保護基。

【0070】 脂肪酸-連接部分之後續附接藉由2-[2-(2-Fmoc-胺基-乙氧

基)-乙氧基]-乙酸(Fmoc-AEEA-OH，ChemPep, Inc.)、Fmoc-麩胺酸α-第三丁基酯(Fmoc-Glu-OtBu，Ark Pharm, Inc.)、單-OtBu-二十烷二酸(WuXi AppTec，Shanghai，China)之偶合來完成。3倍過量之試劑(AA:PyAOP:DIPEA = 1:1:1 mol/mol)用於1小時長的每一次偶合。

【0071】 在完成合成之後，肽樹脂用DCM洗，且隨後充分風乾。乾燥樹脂在室溫用10 mL之裂解混合物(三氟乙酸:水:三異丙基矽烷，95:2.5:2.5 v/v)處理2小時。樹脂濾出，用2 mL純TFA各洗兩次，且合併之濾液用5倍冷乙醚(-20℃)處理以沈澱粗製肽。肽/醚懸浮液隨後以3500 rpm離心2分鐘以形成固體團塊，傾析出上清液，且固體團塊用醚再研磨兩次且在真空中乾燥。將粗製肽溶解於20%乙腈/20%乙酸/60%水中，且藉由RP-HPLC在盧納(Luna) 5 μm苯基-己基製備型管柱(21 × 250 mm, Phenomenex)上以100%乙腈之線性梯度及0.1% TFA/水緩衝液系統(30-50%乙腈於60分鐘內)純化。肽之純度使用分析型RP-HPLC評估且集池標準為>95%。發現實例1之主池純度為99.2%。最終主產物池之後續冷凍乾燥產生凍乾之肽TFA鹽。分子量藉由LC-MS測定(觀測值：M+4H+/4 = 1219.9；計算值M+4H+/4 = 1220.1)。

【0072】

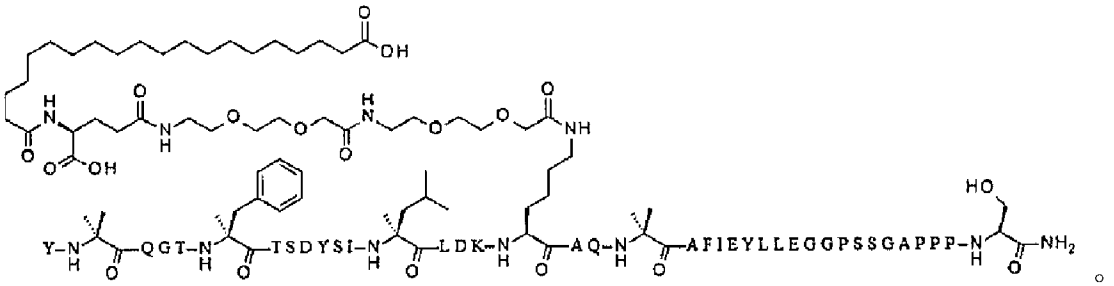
實例2：

實例2為由以下描述表示之化合物：

Y-Aib-QGT-αMeF-TSDYSI-αMeL-LDKK((2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)$_2$-(γGlu)-CO-(CH$_2$)$_{18}$-CO$_2$H)AQ-Aib-AFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH$_2$ (SEQ ID NO:7)。

【0073】 以下為使用除殘基Aib2、αMeF6、αMeL13、K17及Aib20

之外的標準單字母胺基酸代碼對實例2結構的描述，其中此等胺基酸殘基之結構已經展開：



。

【0074】 使用上文實例1所描述之類似方法合成肽主鏈，結合脂肪酸-連接部分，檢驗純度，且確定實例2之分子量。

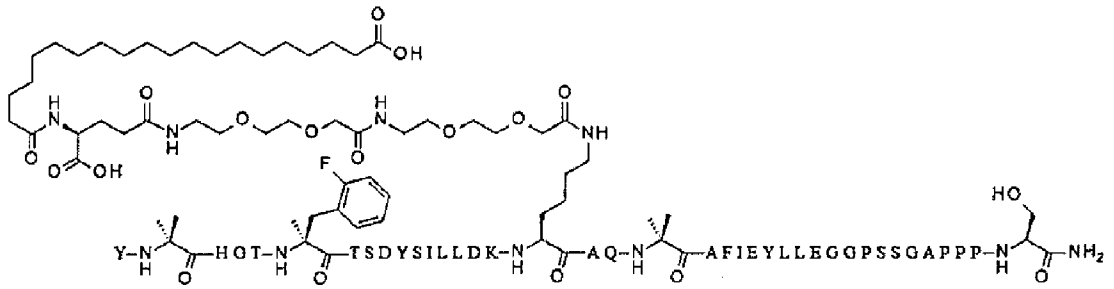
【0075】

實例3：

實例3為由以下描述表示之化合物：

Y-Aib-HGT-αMeF(2F)-TSDYSILLDKK((2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)$_2$-(γGlu)-CO-(CH$_2$)$_{18}$-CO$_2$H)AQ-Aib-AFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH$_2$ (SEQ ID NO:8)。

【0076】 以下為使用除殘基Aib2、αMeF(2F)6、K17及Aib20之外的標準單字母胺基酸代碼對實例3之結構的描述，其中此等胺基酸殘基之結構已經展開：



。

【0077】 使用上文實例1所描述之類似方法合成肽主鏈，結合脂肪酸-連接部分，檢驗純度，且確定實例3之分子量。

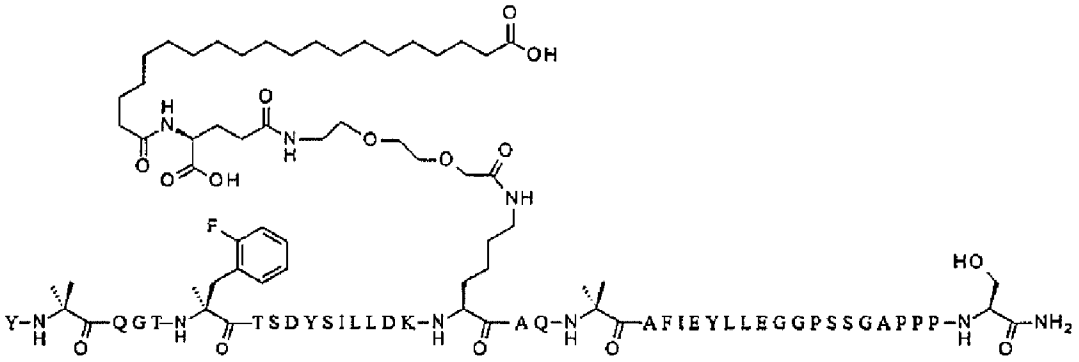
【0078】

實例4：

實例4為由以下描述表示之化合物：

Y-Aib-QGT-αMeF(2F)-TSDYSILLDKK((2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)-(γGlu)-CO-$(CH_2)_{18}$-CO_2H)AQ-Aib- AFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH_2 (SEQ ID NO:9)。

【0079】 以下為使用除殘基Aib2、αMeF(2F)6、K17及Aib20之外的標準單字母胺基酸代碼對實例4之結構的描述，其中此等胺基酸殘基之結構已經展開：



。

【0080】 使用上文實例1所描述之類似方法合成肽主鏈，結合脂肪酸-連接部分，檢驗純度，且確定實例4之分子量。

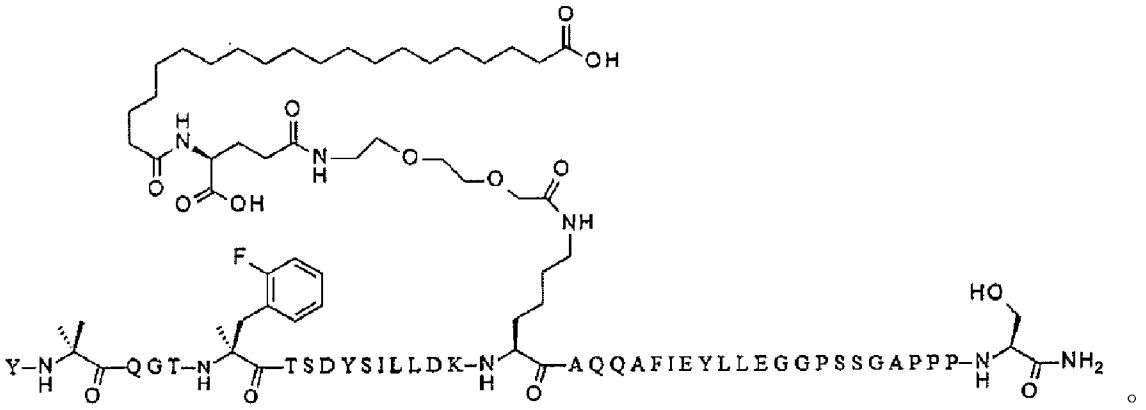
【0081】

實例5：

實例5為由以下描述表示之化合物：

Y-Aib-QGT-αMeF(2F)-TSDYSILLDKK((2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)-(γGlu)-CO-$(CH_2)_{18}$- CO_2H)AQQAFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH_2 (SEQ ID NO:10)。

【0082】 以下為使用除殘基Aib2、αMeF(2F)6及K17之外的標準單字母胺基酸代碼對實例5之結構的描述，其中此等胺基酸殘基之結構已經展開：



。

【0083】 使用上文實例1所描述之類似方法合成肽主鏈，結合脂肪酸-連接部分，檢驗純度，且確定實例5之分子量。

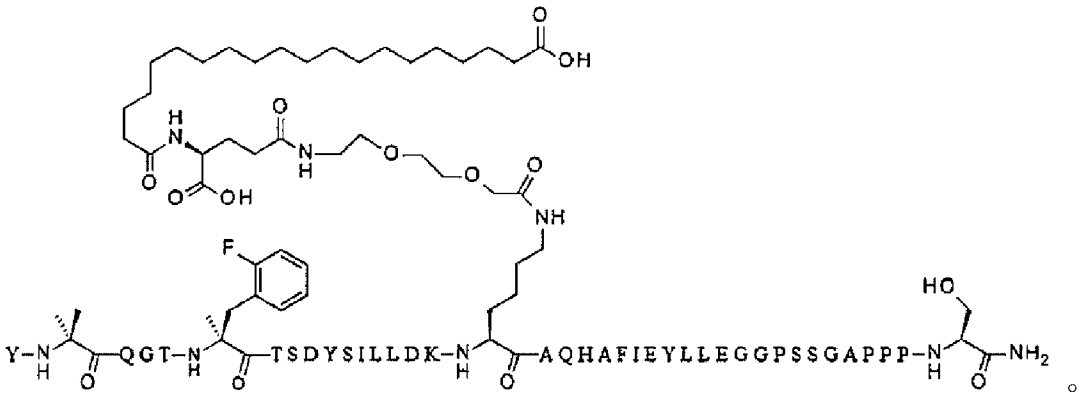
【0084】

實例6：

實例6為由以下描述表示之化合物：

Y-Aib-QGT-αMeF(2F)-TSDYSILLDKK((2-[2-(2-胺 基-乙 氧 基)-乙 氧 基]-乙醯基)-(γGlu)-CO-$(CH_2)_{18}$-CO_2H) AQHAFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH_2 (SEQ ID NO:11)。

【0085】 以下為使用除殘基Aib2、αMeF(2F)6及K17之外的標準單字母胺基酸代碼對實例6之結構的描述，其中此等胺基酸殘基之結構已經展開：



。

【0086】 使用上文實例1所描述之類似方法合成肽主鏈，結合脂肪酸-連接部分，檢驗純度，且確定實例6之分子量。

【0087】

活體外功能性

結合親和力：

【0088】 執行放射性配位體競爭結合分析以測定實例化合物及比較劑分子之平衡解離常數。此類分析使用閃爍近接分析(SPA)方法及由過度表現人類GIP受體(GIPR)、GLP-1受體(GLP-1R)或人類升糖素受體(GcgR)之經轉染HEK293細胞製備的膜。

【0089】 在存在桿菌肽作為非特異性阻斷劑以預防測試類似物之醯基化部分結合至標準分析緩衝液中所使用之蛋白質組分(例如，白蛋白)的情況下進行分析。

【0090】 競爭曲線繪製為特異性抑制百分比(y軸)對比化合物之對數濃度(x軸)且使用具有可變斜率之四種參數非線性回歸擬合(ABase或Genedata)來分析。K_i值根據等式$K_i = IC_{50}/(1+(D/K_d))$來計算，其中$IC_{50}$為導致50%抑制結合之化合物濃度，D為分析中所使用之放射性配位體濃度，且K_d為根據飽和結合分析測定的受體及放射性配位體之平衡解離常數(下表1中所示)。

表1.根據飽和結合分析測定之平衡解離常數(K_d)。

K_d，nM		
GLP-1R	GcgR	GIPR
1.2	3.9	0.14

【0091】 例示性類似物及比較劑分子之K_i值展示於表2中。

表2.實例及比較劑針對人類GIPR、GLP-1R及GcgR之活體外結合親和力(K_i)。

	K_i，nM (SEM，n)		
分子	GcgR	GIPR	GLP-1R
hGcg	3.1 (0.5, 4)		
hGIP		0.12 (0.02, 4)	

hGLP-1			1.2 (0.2, 4)
實例1	0.955 (0.182, 3)	0.0278 (0.00297, 3)	2.51 (0.930, 3)
實例2	1.49 (0.201, 3)	0.0413 (0.0129, 3)	2.41 (se=0.720, 3)
實例3	0.469 (0.121, 5)	0.0684 (0.0193, 5)	1.66 (se=0.950, 5)
實例4	0.637 (0.0319, 3)	0.0832 (0.0273, 3)	1.21 (se=0.0737, 3)
實例5	0.419 (0.0430, 4)	0.0347 (0.0112, 4)	1.17 (se=0.674, 4)
實例6	0.382 (0.0587, 4)	0.0388 (0.00813, 4)	0.822 (se=0.379, 4)

注意：限定符(>)指示資料並未達至相對於最大結合之50%抑制，由此使用分析中所測試之最高濃度來計算K_i。n=1/x意謂重複實驗總數(x)中僅一個值用於表示平均值。僅在n=2或更大的非限定結果存在時計算SEM。

【0092】 如表2中所見，例示性類似物對GIP、GLP-1及Gcg受體各具有結合親和力。

【0093】

功能活性：

在表現GIP-R-GLP-1R及GcgR之HEK-293純系細胞株中測定功能活性。在20 µl分析體積的補充有1× GlutaMAXTM (Gibco目錄號35050)、0.25% FBS (胎牛血清，Gibco目錄號26400)、0.05%級分V BSA (牛血清白蛋白，Gibco目錄號15260)、250 µM IBMX及20 mM HEPES (Gibco目錄 號15630)之DMEM (Gibco目 錄 號31053)中 用 肽(20點CRC，2.75倍Labcyte Echo直接稀釋液)處理過度表現各受體之細胞株。

【0094】 在室溫下培育60分鐘之後，引起胞內cAMP之增加使用CisBio cAMP Dynamic 2 HTRF分析套組(62AM4PEJ)來定量地測定。簡言之，細胞內之cAMP含量藉由將cAMP-d2結合物添加至細胞裂解緩衝液中，接著將抗體抗cAMP-Eu3+-穴狀合物亦添加至細胞裂解緩衝液中來檢測。所得到的競爭性分析在室溫下培育至少60分鐘且隨後使用具有320 nm之激發光及665 nm及620 nm之發射光道PerkinElmer Envision®儀器

來檢測。Envision單位(665 nm/620 nm × 10,000)與cAMP呈現量成反比且使用cAMP標準曲線轉換成nM cAMP/孔。

【0095】各孔中產生之cAMP量(nM)經轉換成用人類GLP-1(7-36)NH_2、人類Gcg或人類GIP(1-42)NH_2觀測到的最大反應百分比。相關的EC_{50}值藉由使用最大反應百分比對比所添加之肽濃度的非線性回歸分析，擬合四種參數對數等式來推導出。

【0096】例示性類似物及hGIP(1-42)NH_2、hGLP-1(7-36)NH_2及hGcg之資料展示於下表3中。

表3.例示性類似物及比較劑在存在FBS及BSA之情況下的功能性cAMP效能(EC_{50})。

	cAMP EC50,nM (SEM, n)		
	GcgR	GIPR	GLP-1R
hGcg	0.0114 (0.0014, 12)		
gGIP醯胺		0.0979 (0.0088, 12)	
hGLP-1醯胺			0.0424 (0.0043, 12)
實例1	6.33 (0.905, 3)	1.82 (0.332, 3)	12.6 (1.42, 3)
實例2	4.75 (0.827, 3)	1.34 (0.216, 3)	11.6 (2.26, 3)
實例3	3.46 (0.835, 7)	1.37 (0.518, 7)	13.1 (3.06, 7)
實例4	1.78 (0.400, 5)	1.37 (0.422, 5)	10.6 (3.29, 5)
實例5	1.87 (0.254, 5)	1.91 (0.618, 5)	13.0 (2.59, 5)
實例6	1.76 (0.218, 4)	1.41 (0.363, 4)	8.94 (2.76, 4)

注意：人類GLP-1(7-36)NH_2對人類GLP-1R、人類Gcg對人類GcgR，及人類GIP(1-42)NH_2對人類GIP-R之EC_{50}測定：肽濃度範圍為448 pM至99.5 nM。實例對人類GLP-1R、人類GcgR及人類GIP-R之EC_{50}測定：肽濃度範圍為51.5 fM至11.4 μM。

【0097】如表3中所見，在存在FBS及BSA之情況下，例示性類似物具有如藉由人類GIP-R、GLP-1R及GcgR cAMP分析所測定之促效活性，其低於天然配位體。

【0098】 在表現人類GLP-1、GIP及升糖素受體之HEK293細胞中實施另一組cAMP分析。使用均相時差式螢光方法，實施分析以測定例示性類似物及比較劑分子在存在酪蛋白(並非血清白蛋白)作為非特異性阻斷劑之情況下所進行之內部效能，該阻斷劑不與所分析分子之脂肪酸部分相互作用。

【0099】 胞內cAMP含量藉由使用標準曲線外推來測定。化合物之劑量反應曲線繪製為標準化為最小(僅緩衝液)及最大(各對照配位體之最大濃度)值之刺激百分比且使用具有可變斜率之四種參數非線性回歸擬合(Genedata Screener 13)來分析。EC_{50}為在劑量反應曲線中引起半最大模擬之化合物濃度。

【0100】 資料提供於下表4中。

表4.hGLP-1R、hGIPR、hGcgR在存在0.1%酪蛋白之情況下的功能性活化。

	cAMP EC_{50}，nM (SEM，n)		
	GcGR	GIPR	GLP-1R
hGcg	0.0119 (0.00356, 163)		
hGIP醯胺		0.154 (0.037, 118)	
gGLP-1醯胺			0.063 (0.022, 197)
實例1	0.158 (0.0464, 6)	0.0226 (0.00787, 5)	0.112 (0.0250, 5)
實例2	0.0960 (0.0295, 7)	0.0329 (0.0136, 7)	0.106 (0.0155, 7)
實例3	0.0301 (0.00811, 5)	0.0215 (0.00338, 4)	0.104 (0.0300, 4)
實例4	0.0296 (0.00628, 5)	0.0321 (0.0110, 4)	0.145 (0.0309, 4)
實例5	0.0343 (0.00555, 4)	0.0306 (0.00998, 5)	0.103 (0.0263, 4)
實例6	0.0293 (0.00562, 4)	0.0349 (0.00643, 4)	0.115 (0.0305, 4)

【0101】 如表4中所見，例示性類似物在存在0.1%酪蛋白之情況下刺激人類GIP、GLP-1及升糖素受體之cAMP。

序列

SEQ ID NO:1-人類升糖素

HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNT

SEQ ID NO:2-人類GLP-1 (7-36)醯胺

HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGR-NH_2

SEQ ID NO:3-人類OXM

HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNTKRNRNNIA

SEQ ID NO:4-人類GIP

YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKGKKNDWKHNITQ

SEQ ID NO:5-腸促胰島素類似物

$YX_2X_3GTX_6TSDYSIX_{13}LDKX_{17}AQX_{20}AFIEYLLEGGPSSGAPPPS$

其中

X_2為Aib；

X_3為Q或H；

X_6為αMeF或αMeF(2F)；

X_{13}為L或αMeL；

X_{17}為具有可用於結合之官能基的任何胺基酸，其中該官能基與C_{16}-C_{22}脂肪酸結合，

X_{20}為Aib、Q或H

SEQ ID NO:6-腸促胰島素類似物

Y-Aib-QGT-αMeF-TSDYSILLDKK((2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)$_2$-(γGlu)-CO-$(CH_2)_{18}$-CO_2H)AQ-Aib-AFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH_2

SEQ ID NO:7-腸促胰島素類似物

Y-Aib-QGT-αMeF-TSDYSI-αMeL-LDKK((2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-

乙醯基)$_2$-(γGlu)-CO-(CH$_2$)$_{18}$-CO$_2$H)AQ-Aib-AFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH$_2$

SEQ ID NO:8-腸促胰島素類似物

Y-Aib-HGT-αMeF(2F)-TSDYSILLDKK((2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)$_2$-(γGlu)-CO-(CH$_2$)$_{18}$-CO$_2$H)AQ-Aib-AFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH$_2$

SEQ ID NO:9-腸促胰島素類似物

Y-Aib-QGT-αMeF(2F)-TSDYSILLDKK((2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)-(γGlu)-CO-(CH$_2$)$_{18}$-CO$_2$H)AQ-Aib-AFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH$_2$

SEQ ID NO:10-腸促胰島素類似物

Y-Aib-QGT-αMeF(2F)-TSDYSILLDKK((2-[2-(2-胺 基-乙 氧 基)-乙 氧基]-乙醯基)-(γGlu)-CO-(CH$_2$)$_{18}$-CO$_2$H)AQQAFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH$_2$

SEQ ID NO:11-腸促胰島素類似物

Y-Aib-QGT-αMeF(2F)-TSDYSILLDKK((2-[2-(2-胺 基-乙 氧 基)-乙 氧基]-乙醯基)-(γGlu)-CO-(CH$_2$)$_{18}$-CO$_2$H)AQHAFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH$_2$

SEQ ID NO:12-人工序列

GPSSGAPPPS

【序列表】

<110> 美商美國禮來大藥廠(Eli Lilly and Company)

<120> 腸促胰島素(INCRETIN)類似物及其用途

<130> TW 107143623

<150> US 62/608,644
<151> 2017-12-21

<160> 12

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 29
<212> PRT
<213> 智人

<400> 1

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 2
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2

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
20 25 30

<210> 3
<211> 37
<212> PRT
<213> 智人

<400> 3

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn
20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
35

<210> 4
<211> 42
<212> PRT
<213> 智人

<400> 4

Tyr Ala Glu Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys
1 5 10 15

Ile His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys
20 25 30

Lys Asn Asp Trp Lys His Asn Ile Thr Gln
35 40

<210> 5
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> 位置2之Xaa爲Aib

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)
<223> 位置3之Xaa爲Gln或His

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> 位置6之Xaa爲α-甲基-苯丙胺酸或α-甲基-2-氟苯丙胺酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (13)..(13)
<223> 位置13之Xaa爲α-甲基-Leu或Leu

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> 位置17之Xaa爲具有可供結合之官能基之任何胺基酸，
其中該官能基與C16-C22脂肪酸結合

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (20)..(20)
<223> 位置2之Xaa爲Aib、Gln或His

<400> 5

Tyr Xaa Xaa Gly Thr Xaa Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Xaa Leu Asp Lys
1 5 10 15

Xaa Ala Gln Xaa Ala Phe Ile Glu Tyr Leu Leu Glu Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 6
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)

<223> 位置2之Xaa爲α-胺基-異丁酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> 位置6之Xaa爲α-甲基-苯丙胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> 位置17之Lys藉由Lys側鏈之ε-胺基與(2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)2-(γ-Glu)-CO-(CH2)18-CO2H之結合經化學修飾

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (20)..(20)
<223> 位置20之Xaa爲α-胺基-異丁酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (39)..(39)
<223> 位置39之Ser視情況經醯胺化

<400> 6

Tyr Xaa Gln Gly Thr Xaa Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Leu Leu Asp Lys
1 5 10 15

Lys Ala Gln Xaa Ala Phe Ile Glu Tyr Leu Leu Glu Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 7
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> 位置2之Xaa爲α-胺基-異丁酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> 位置6之Xaa爲α-甲基-苯丙胺酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (13)..(13)
<223> 位置13之Xaa爲α-甲基-Leu

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> 位置17之Lys藉由Lys側鏈之ε-胺基與(2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)2-(γ-Glu)-CO-(CH2)18-HCO2H之結合經化學修飾

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (20)..(20)
<223> 位置2之Xaa爲α-胺基-異丁酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (39)..(39)
<223> 位置39之Ser視情況經醯胺化

<400> 7

Tyr Xaa Gln Gly Thr Xaa Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Xaa Leu Asp Lys
1 5 10 15

Lys Ala Gln Xaa Ala Phe Ile Glu Tyr Leu Leu Glu Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 8
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> 位置2之Xaa爲α-胺基-異丁酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> 位置6之Xaa爲α-甲基-2-氟苯丙胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> 位置17之Lys藉由Lys側鏈之ε-胺基與(2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)2-(γ-Glu)-CO-(CH2)18-CO2H之結合經化學修飾

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (20)..(20)
<223> 位置20之Xaa爲α-胺基-異丁酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (39)..(39)
<223> 位置39之Ser視情況經醯胺化

<400> 8

Tyr Xaa His Gly Thr Xaa Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Leu Leu Asp Lys
1 5 10 15

Lys Ala Gln Xaa Ala Phe Ile Glu Tyr Leu Leu Glu Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 9
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> 位置2之Xaa爲α-胺基-異丁酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> 位置6之Xaa爲α-甲基-2-氟苯丙胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> 位置17之Lys藉由Lys側鏈之ε-胺基與(2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)-(γ-Glu)-CO-(CH2)18-CO2H之結合經化學修飾

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (20)..(20)
<223> 位置20之Xaa爲α-胺基-異丁酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (39)..(39)
<223> 位置39之Ser視情況經醯胺化

<400> 9

Tyr Xaa Gln Gly Thr Xaa Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Leu Leu Asp Lys
1 5 10 15

Lys Ala Gln Xaa Ala Phe Ile Glu Tyr Leu Leu Glu Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 10
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)
<223> 位置2之Xaa爲α-胺基-異丁酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> 位置6之Xaa爲α-甲基-2-氟苯丙胺酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> 位置17之Lys藉由Lys側鏈之ε-胺基與(2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)-(γ-Glu)-CO-(CH2)18-CO2H之結合經化學修飾

<220>
<221> MOD_RES
<222> (39)..(39)
<223> 位置39之Ser視情況經醯胺化

<400> 10

Tyr Xaa Gln Gly Thr Xaa Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Leu Leu Asp Lys
1 5 10 15

Lys Ala Gln Gln Ala Phe Ile Glu Tyr Leu Leu Glu Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 11
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> 位置2之Xaa爲α-胺基-異丁酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)

<223> 位置6之Xaa爲α-甲基-2-氟苯丙胺酸
<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> 位置17之Lys藉由Lys側鏈之ε-胺基與(2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)-(γ-Glu)-CO-(CH2)18-CO2H之結合經化學修飾

<220>
<221> MOD_RES
<222> (39)..(39)
<223> 位置39之Ser視情況經醯胺化

<400> 11

Tyr Xaa Gln Gly Thr Xaa Thr Ser Asp Tyr Ser Ile Leu Leu Asp Lys
1 5 10 15

Lys Ala Gln His Ala Phe Ile Glu Tyr Leu Leu Glu Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 12
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 12

Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
1 5 10

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種腸促胰島素(incretin)類似物，其包含：

$YX_2X_3GTX_6TSDYSIX_{13}LDKX_{17}AQX_{20}AFIEYLLEGGPSSGAPPPS$，

其中：

X_2為Aib，

X_3為Q或H，

X_6為αMeF或αMeF(2F)，

X_{13}為L或αMeL，

X_{17}為具有可用於結合之官能基的任何胺基酸，且該官能基與C_{16}-C_{22}脂肪酸結合，

X_{20}為Aib、Q或H，

(SEQ ID NO:5)，且C端胺基酸係經醯胺化或未經醯胺化；

或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項2】

如請求項1之腸促胰島素類似物，其中位置X_{17}具有可用於結合之官能基的胺基酸選自由K、C、E及D組成之群。

【請求項3】

如請求項1之腸促胰島素類似物，其中位置X_{17}具有可用於結合之官能基的胺基酸為K。

【請求項4】

如請求項1之腸促胰島素類似物，其中位置X_{17}具有可用於結合之官能基的胺基酸及該C_{16}-C_{22}脂肪酸係藉由該胺基酸與該脂肪酸之間的連接

基團結合。

【請求項5】

如請求項4之腸促胰島素類似物，其中該連接基團包含一至四個胺基酸。

【請求項6】

如請求項5之腸促胰島素類似物，其中該等胺基酸為Glu或γGlu。

【請求項7】

如請求項4之腸促胰島素類似物，其中該連接基團進一步包含以下結構：

H-{NH-CH_2-CH_2-[O-CH_2-CH_2]m-O-(CH_2)p-CO}n-OH，其中m為1至12之任何整數，n為1至12之任何整數，且p為1或2。

【請求項8】

如請求項4之腸促胰島素類似物，其中該連接基團進一步包含一至四個(2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)部分。

【請求項9】

如請求項1之腸促胰島素類似物，其中X_{17}為經由與以下結構K側鏈之ε-胺基結合之經化學修飾之K：

(2-[2-(2-胺基-乙氧基)-乙氧基]-乙醯基)$_a$-(γGlu)$_b$-CO-(CH_2)$_c$-CO_2H，其中a為0、1或2；b為1或2；且c為16至18之間的整數。

【請求項10】

如請求項9之腸促胰島素類似物，其中a為1。

【請求項11】

如請求項9之腸促胰島素類似物，其中a為2。

【請求項12】

如請求項9至11中任一項之腸促胰島素類似物，其中b為1。

【請求項13】

如請求項9至11中任一項之腸促胰島素類似物，其中b為2。

【請求項14】

如請求項9至11中任一項之腸促胰島素類似物，其中c為18。

【請求項15】

如請求項1至3及9至11中任一項之腸促胰島素類似物，其中X_{13}為αMeL。

【請求項16】

如請求項1至3及9至11中任一項之腸促胰島素類似物，其中X_{13}為L。

【請求項17】

如請求項1至3及9至11中任一項之腸促胰島素類似物，其中X_3為Q。

【請求項18】

如請求項1至3及9至11中任一項之腸促胰島素類似物，其中X_3為H。

【請求項19】

如請求項1至3及9至11中任一項之腸促胰島素類似物，其中X_6為αMeF。

【請求項20】

如請求項1至3及9至11中任一項之腸促胰島素類似物，其中X_6為αMeF(2F)。

【請求項21】

一種腸促胰島素類似物，其具有選自由SEQ ID NO:5至11組成之群的

式。

【請求項22】

一種醫藥組合物，其包含：

如請求項1至21中任一項之腸促胰島素類似物；及

醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。

【請求項23】

一種如請求項1至21中任一項之腸促胰島素類似物之用途，其用於製造用於治療選自由以下組成之群之疾病的醫藥品：糖尿病、血脂異常、脂肪肝病、代謝症候群、非酒精性脂肪變性肝炎及肥胖症。

【請求項24】

一種如請求項1至21中任一項之腸促胰島素類似物之用途，其用於製造用於治療II型糖尿病之醫藥品。

【請求項25】

一種如請求項1至21中任一項之腸促胰島素類似物之用途，其用於製造用於治療肥胖症之醫藥品。