



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107921098 A

(43)申请公布日 2018.04.17

(21)申请号 201680047591.5

(22)申请日 2016.06.16

(30)优先权数据

62/180,856 2015.06.17 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.02.12

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/037834 2016.06.16

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/205488 EN 2016.12.22

(71)申请人 加州生物医学研究所

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 沈卫军 彭宇·杨

彼得·G·舒尔茨

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

代理人 郑霞

(51)Int.Cl.

A61K 38/26(2006.01)

A61K 38/28(2006.01)

A61K 38/22(2006.01)

A61K 31/23(2006.01)

A61K 31/20(2006.01)

A61K 47/60(2017.01)

A61K 47/30(2006.01)

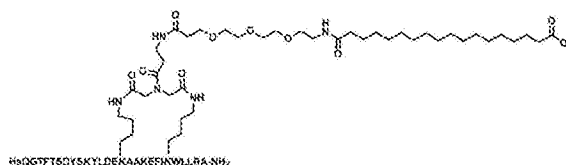
权利要求书3页 说明书65页 附图16页

(54)发明名称

修饰的治疗剂及其组合物

(57)摘要

本发明提供了用于延长治疗剂的半衰期的方法和组合物。修饰的治疗剂(mTA)包含治疗剂、订合钉和半衰期延长分子。本文公开的mTA可用于治疗有需要的受试者的疾病或状况。



1. 一种修饰的治疗剂 (mTA), 其包含治疗剂、第一半衰期延长分子和第一订合钉, 其中所述治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽, 该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉; 所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺而附接至第一订合钉; 第一半衰期延长分子共价附接至第一订合钉; 并且所述mTA的半衰期长于单独未修饰的治疗肽的半衰期。

2. 根据权利要求1所述的mTA, 其中所述第一半衰期延长分子包含脂质、聚二醇区或其组合。

3. 根据权利要求2所述的mTA, 其中所述第一半衰期延长分子包含脂质。

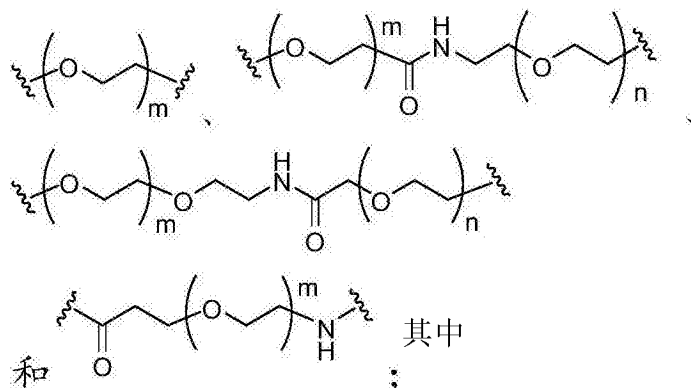
4. 根据权利要求2所述的mTA, 其中所述第一半衰期延长分子包含脂质和聚二醇区。

5. 根据权利要求2所述的mTA, 其中所述第一半衰期延长分子包含聚二醇区。

6. 根据权利要求2-4中任一项所述的mTA, 其中所述脂质选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺和脂肪醇, 及其衍生物。

7. 根据权利要求2、4和5中任一项所述的mTA, 其中所述聚二醇区包含一个或多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元, 或其组合。

8. 根据权利要求7所述的mTA, 其中所述聚二醇区选自



m和n独立地为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。

9. 根据权利要求1-8中任一项所述的mTA, 其中所述修饰的治疗肽包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换, 或其组合。

10. 根据权利要求1-8中任一项所述的mTA, 其中所述未修饰的治疗肽选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2、GIP、GLP-1R/GCGR双重激动剂、GLP-1R/GIPR双重激动剂以及GLP-1R/GCGR/GIPR三重激动剂。

11. 根据权利要求1-8中任一项所述的mTA, 其中所述修饰的治疗肽是选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2、GIP、GLP-1R/GCGR双重激动剂、GLP-1R/GIPR双重激动剂以及GLP-1R/GCGR/GIPR三重激动剂的肽的衍生物; 该衍生物是包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽。

12. 根据权利要求1-8中任一项所述的mTA, 其中所述修饰的治疗肽是选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP的肽的衍生物; 该衍生物是包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽。

13. 根据权利要求1-8中任一项所述的mTA, 其中所述修饰或未修饰的治疗肽包含含有选自SEQ ID NO:1-30的多肽序列的至少一部分的氨基酸序列。

14. 根据权利要求1-8中任一项所述的mTA, 其中所述修饰或未修饰的治疗肽包含含有基于或衍生自选自SEQ ID NO:1-30的多肽序列的10个或更多个氨基酸的氨基酸序列。

15. 根据权利要求1-8中任一项所述的mTA, 其中所述修饰或未修饰的治疗肽包含与选自SEQ ID NO:1-30的氨基酸序列至少约50%同源的氨基酸序列。

16. 根据权利要求1-8中任一项所述的mTA, 其中所述修饰或未修饰的治疗肽包含与选自SEQ ID NO:1-30的氨基酸序列至少80%同源的氨基酸序列。

17. 根据权利要求1-8中任一项所述的mTA, 其中所述修饰或未修饰的治疗肽包含含有选自SEQ ID NO:1-6的多肽序列的至少一部分的氨基酸序列。

18. 根据权利要求1-8中任一项所述的mTA, 其中所述修饰或未修饰的治疗肽包含含有基于或衍生自选自SEQ ID NO:1-6的多肽序列的10个或更多个氨基酸的氨基酸序列。

19. 根据权利要求1-8中任一项所述的mTA, 其中所述修饰或未修饰的治疗肽包含与选自SEQ ID NO:1-6的氨基酸序列至少约50%同源的氨基酸序列。

20. 根据权利要求1-8中任一项所述的mTA, 其中所述修饰或未修饰的治疗肽包含与选自SEQ ID NO:1-6的氨基酸序列至少80%同源的氨基酸序列。

21. 根据权利要求1-8中任一项所述的mTA, 其中所述修饰或未修饰的治疗肽包含含有选自SEQ ID NO:7-30的多肽序列的至少一部分的氨基酸序列。

22. 根据权利要求1-8中任一项所述的mTA, 其中所述修饰或未修饰的治疗肽包含含有基于或衍生自选自SEQ ID NO:7-30的多肽序列的10个或更多个氨基酸的氨基酸序列。

23. 根据权利要求1-8中任一项所述的mTA, 其中所述修饰或未修饰的治疗肽包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少约50%同源的氨基酸序列。

24. 根据权利要求1-8中任一项所述的mTA, 其中所述修饰或未修饰的治疗肽包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少80%同源的氨基酸序列。

25. 根据权利要求1-8中任一项所述的mTA, 其中所述两个氨基酸残基中的至少一个是所述修饰的治疗肽上的氨基酸添加或置换。

26. 根据权利要求1-25中任一项所述的mTA, 其中所述两个氨基酸残基中的每一个独立地选自赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸和高赖氨酸。

27. 根据权利要求1-25中任一项所述的mTA, 其中所述两个氨基酸残基中的每一个均为赖氨酸。

28. 根据权利要求1-27中任一项所述的mTA, 其进一步包含第二订合钉。

29. 根据权利要求1-28中任一项所述的mTA, 其进一步包含第二半衰期延长分子。

30. 根据权利要求1-27中任一项所述的mTA, 其进一步包含第二订合钉和第二半衰期延长分子, 其中所述第二半衰期分子共价附接至所述第二订合钉。

31. 根据权利要求1-30中任一项所述的mTA, 其中所述mTA的半衰期5倍于单独所述未修饰的治疗肽的半衰期。

32. 一种包含根据权利要求1-31中任一项所述的mTA和药学上可接受的赋形剂的药物组合物。

33. 一种用于治疗有需要的受试者的疾病或状况的方法, 该方法包括向该受试者施用包含治疗有效量的根据权利要求1-31中任一项所述的mTA的组合物。

34. 根据权利要求33所述的方法, 其中所述疾病或状况是糖尿病或肥胖症, 或与糖尿病

或肥胖症相关的医学状况。

35. 根据权利要求33所述的方法, 其中所述疾病或状况是非酒精性脂肪肝病 (NAFLD)、非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 或心血管疾病。

36. 根据权利要求33所述的方法, 其中所述疾病或状况是短肠综合征 (SBS)。

37. 根据权利要求33所述的方法, 其中所述疾病或状况是炎性肠病 (IBD)、炎性肠综合征 (IBS) 或银屑病。

38. 根据权利要求33所述的方法, 其中所述疾病或状况是克罗恩病或溃疡性结肠炎。

39. 根据权利要求33所述的方法, 其中所述疾病或状况是阿尔茨海默病、帕金森病或亨廷顿病。

40. 根据权利要求33所述的方法, 其进一步包括向所述受试者施用一种或多种附加治疗剂。

41. 根据权利要求40所述的方法, 其中所述一种或多种附加治疗剂选自其他糖尿病药物、DPP4抑制剂、SGLT2抑制剂、降血糖药物和双胍药物、胰岛素促泌素和磺酰脲药物、TZD药物、胰岛素和胰岛素类似物、FGF21和类似物、瘦素或瘦素类似物、胰淀素和胰淀素类似物、抗炎药、环孢菌素A或FK506、5-ASA以及他汀类药物, 或其任意组合。

修饰的治疗剂及其组合物

相关申请

[0001] 本申请要求2015年6月17日提交的美国临时专利申请号62/180,856的权益,该美国临时申请通过引用全部并入本文。

背景技术

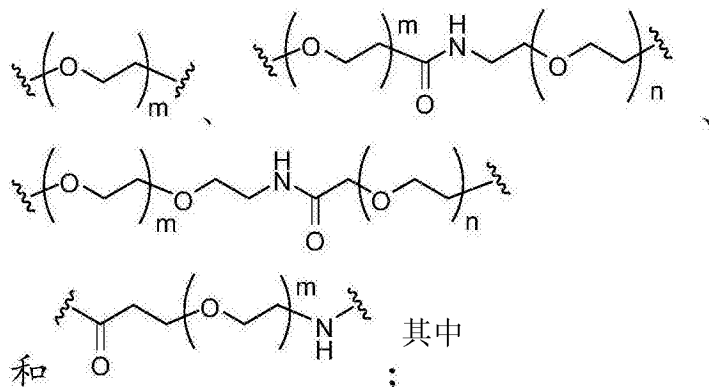
[0002] 治疗剂(例如,生物药物)的开发经常受到短半衰期的阻碍。物质的生物半衰期或消除半衰期是物质(例如,代谢物、药物、信号分子、放射性核素或其他物质)损失其药理学、生理学或放射学活性的一半所耗费的时间。由于半衰期短,患者常常要更频繁地施用更高的剂量,这可能导致降低的依从性、更高的成本以及更大的副作用风险。

[0003] 延长释放产品被设计成延长具有短半衰期的药物的吸收,从而允许较长的给药间隔,同时最小化血清药物水平的波动。目前用于延长半衰期的策略是增加流体动力学体积(聚乙二醇化(PEGylation))或采用FcRn介导的再循环(白蛋白融合)的那些策略。多肽或亲脂性成分与药物的附接也已用于延长生物剂的半衰期(US6,268,343;US5,750,497;US8,129,343)。

[0004] 本公开内容提供了用于改善治疗剂的生物学、化学、生理学、药理学、药代动力学和/或药效学性质的修饰的治疗剂(mTA)。

发明内容

[0005] 本文公开了修饰的治疗剂(mTA),其包含治疗剂、第一订合钉(staple)和第一半衰期延长分子,第一订合钉,其中所述治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基共价附接至第一订合钉,所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺而附接至第一订合钉;第一半衰期延长分子共价附接至第一订合钉;并且所述mTA的半衰期长于单独未修饰的治疗肽的半衰期。第一半衰期延长分子可包含脂质、聚二醇区或其组合。第一半衰期延长分子可包含脂质。第一半衰期延长分子可包含脂质和聚二醇区。第一半衰期延长分子可包含聚二醇区。所述脂质可选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺和脂肪醇,及其衍生物。所述聚二醇区可包含一个或多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元或其组合。所述聚二醇区可选自



m和n独立地为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。所述修饰的治疗肽可包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合。所述未修饰的治疗肽可选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2、GIP、GLP-1R/GCGR双重激动剂、GLP-1R/GIPR双重激动剂以及GLP-1R/GCGR/GIPR三重激动剂。所述修饰的治疗肽可以是选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2、GIP、GLP-1R/GCGR双重激动剂、GLP-1R/GIPR双重激动剂以及GLP-1R/GCGR/GIPR三重激动剂的肽的衍生物；该衍生物为包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽。所述修饰的治疗肽可以是选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP的肽的衍生物；该衍生物为包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽。所述修饰或未修饰的治疗肽可以包含含有选自SEQ ID NO:1-30的多肽序列的至少一部分的氨基酸序列。所述修饰或未修饰的治疗肽可以包含含有基于或衍生自选自SEQ ID NO:1-30的多肽序列的10个或更多个氨基酸的氨基酸序列。所述修饰或未修饰的治疗肽可以包含与选自SEQ ID NO:1-30的氨基酸序列至少约50%同源的氨基酸序列。所述修饰或未修饰的治疗肽可以包含与选自SEQ ID NO:1-30的氨基酸序列至少80%同源的氨基酸序列。所述修饰或未修饰的治疗肽可以包含含有选自SEQ ID NO:1-6的多肽序列的至少一部分的氨基酸序列。所述修饰或未修饰的治疗肽可以包含含有基于或衍生自选自SEQ ID NO:1-6的多肽序列的10个或更多个氨基酸的氨基酸序列。所述修饰或未修饰的治疗肽可以包含与选自SEQ ID NO:1-6的氨基酸序列至少约50%同源的氨基酸序列。所述修饰或未修饰的治疗肽可以包含与选自SEQ ID NO:1-6的氨基酸序列至少80%同源的氨基酸序列。所述修饰或未修饰的治疗肽可以包含含有选自SEQ ID NO:7-30的多肽序列的至少一部分的氨基酸序列。所述修饰或未修饰的治疗肽可以包含含有基于或衍生自选自SEQ ID NO:7-30的多肽序列的10个或更多个氨基酸的氨基酸序列。所述修饰或未修饰的治疗肽可以包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少约50%同源的氨基酸序列。所述修饰或未修饰的治疗肽可以包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少80%同源的氨基酸序列。所述两个氨基酸残基中的至少一个可以是所述修饰的治疗肽上的氨基酸添加或置换。所述两个氨基酸残基中的每一个可以独立地选自赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸和高赖氨酸。所述两个氨基酸残基中的每一个可以是赖氨酸。所述mTA可进一步包含第二订合钉。所述mTA可进一步包含第二半衰期延长分子。所述mTA可进一步包含第二订合钉和第二半衰期延长分子，其中第二半衰期分子共价衔接至第二订合钉。所述mTA的半衰期可以5倍于单独未修饰的治疗肽的半衰期。

[0006] 本文进一步公开了包含本文公开的mTA和药学上可接受的赋形剂的药物组合物。

[0007] 本文进一步公开了用于治疗有需要的受试者的疾病或状况的方法，该方法包括向该受试者施用包含治疗有效量的本文公开的mTA的组合物。该疾病或状况可以是糖尿病或肥胖症，或与糖尿病或肥胖症相关的医学状况。该疾病或状况可以是非酒精性脂肪肝病（NAFLD）、非酒精性脂肪性肝炎（NASH）或心血管疾病。所述疾病或状况可以是短肠综合征（SBS）。该疾病或状况可以是炎性肠病（IBD）、炎性肠综合征（IBS）或银屑病。该疾病或状况可以是克罗恩病或溃疡性结肠炎。该疾病或状况可以是阿尔茨海默病、帕金森病或亨廷顿病。所述治疗疾病或状况的方法可以进一步包括向所述受试者施用一种或多种附加治疗剂。

[0008] 所述一种或多种附加治疗剂可选自其他糖尿病药物、DPP4抑制剂、SGLT2抑制剂、

降血糖药物和双胍药物、胰岛素促泌素和磺酰脲药物、TZD药物、胰岛素和胰岛素类似物、FGF21和类似物、瘦素或瘦素类似物、胰淀素 (amylin) 和胰淀素类似物、抗炎药、环孢菌素A或FK506、5-ASA以及他汀类药物 (statin), 或其任意组合。

附图说明

[0009] 本发明的新特征在所附权利要求书中具体阐述。在结合附图阅读时, 将从以下的详述中获得对本发明的最好的理解。要强调的是, 根据通常的做法, 附图的各个特征不是按比例绘制的。相反, 为了清楚起见, 各个特征的尺寸被任意放大或缩小。附图中包括以下的图。

[0010] 图1 A-C示出了示例性的肽脂质缀合物。

[0011] 图2 A-H示出了示例性的订合钉-脂质构建体。

[0012] 图3 A-H示出了示例性的肽脂质缀合物。

[0013] 图4示出了基于酰胺的大环化。

[0014] 图5示出了mTA4的结构。

[0015] 图6示出了mTA6的结构。

[0016] 图7示出了mTA7的结构。

[0017] 图8A示出了Ex-4、mTA4和mTA6在GLP-1R受体介导的CRE Luc报告试验中的体外活性。

[0018] 图8B示出了mTA4和mTA6在GCGR受体介导的CRE Luc报告试验中的体外活性。

[0019] 图8C示出了mTA4和GLP-2 (G) 在GLP-2R受体介导的CRE Luc报告试验中的体外活性。

[0020] 图9A示出了mTA4在通过静脉内或皮下注射而治疗的CD1小鼠中的血浆浓度。通过体外GLP-1R或GLP-2R活性试验测定血浆中的肽浓度。

[0021] 图9B示出了mTA7在通过静脉内或皮下注射而治疗的CD1小鼠中的血浆浓度。通过体外GLP-1R或GLP-2R活性试验测定血浆中的肽浓度。

[0022] 图10A示出了在DIO小鼠中用mTA4 (皮下) 治疗2周后, 对OGTT (口服葡萄糖耐量试验) 的影响。

[0023] 图10B示出了之后第14天的mTA4的AUC。

[0024] 图11A示出了在DIO小鼠中用mTA4 (皮下) 治疗2周后, 对体重的影响。

[0025] 图11B示出了在DIO小鼠中用mTA4 (皮下) 治疗10天后, 对食物摄取的影响。

[0026] 图12示出了在慢性DSS模型中每日两次皮下给药后, mTA7引起的体重增加。

[0027] 图13A示出了用mTA7治疗后的结肠长度。

[0028] 图13B示出了用mTA7治疗后的结肠重量。

[0029] 图13C示出了用mTA7治疗后的结肠重量/长度比。

[0030] 图14A示出了用mTA7治疗后的小肠长度。

[0031] 图14B示出了用mTA7治疗后的小肠重量。

[0032] 图14C示出了用mTA7治疗后的小肠重量/长度比。

具体实施方式

[0033] 在一些实施方案中,本文公开了包含治疗肽和订合钉的化合物,其中该订合钉与该治疗肽的两个氨基酸中的每一个通过与所述两个氨基酸中每一个的含胺侧链形成酰胺而缀合。订合钉的第一区域可以与该治疗肽的第一氨基酸缀合,而订合钉的第二区域可以与治疗肽的第二氨基酸缀合。该订合钉可以稳定该治疗肽。组合物中治疗肽的性质可以不同于单独的该治疗肽的相应性质。该性质可以选自吸收速率常数、吸收效率、消除速率常数、半衰期、结合亲和力、结合效率、解离常数、靶标选择性以及效力和体内功效。所述化合物的治疗效果可以大于单独的所述治疗肽的治疗效果。所述化合物的治疗效果可以比单独的所述治疗肽的治疗效果更持久。

[0034] 在一些实施方案中,本文公开了包含治疗肽、订合钉和非肽分子的化合物,其中该订合钉与该治疗肽的两个氨基酸中的每一个通过与所述两个氨基酸中每一个的含胺侧链形成酰胺而缀合;并且该非肽分子与所述订合钉缀合。订合钉的第一区域可以与该治疗肽的第一氨基酸缀合,而订合钉的第二区域可以与治疗肽的第二氨基酸缀合。该非肽分子可以与该订合钉缀合,使得该非肽分子在该治疗肽的活性位点或结合位点的远端。该订合钉可以稳定该治疗肽,同时为该非肽分子提供缀合位点,使得该非肽分子不阻碍并且/或者不干扰该治疗肽与靶标结合。组合物中治疗肽的性质可以不同于单独的该治疗肽的相应性质。组合物中治疗肽的性质可以不同于与非肽分子缀合的治疗肽的相应性质。该性质可以选自吸收速率常数、吸收效率、消除速率常数、半衰期、结合亲和力、结合效率、解离常数、靶标选择性以及效力和体内功效。所述化合物的治疗效果可以大于单独的所述治疗肽的治疗效果。所述化合物的治疗效果可以大于与所述非肽分子缀合的相应治疗肽的治疗效果。所述化合物的治疗效果可以比单独的所述治疗肽的治疗效果更持久。组合物的治疗效果可以比与所述非肽分子缀合的相应治疗肽的治疗效果更持久。所述订合钉可以稳定所述治疗肽。所述非肽分子可以延长所述治疗肽的半衰期。所述非肽分子可包含脂质部分。所述非肽分子可包含聚乙二醇单元。

[0035] 本文公开了修饰的治疗剂(mTA)。通常,该mTA可包含治疗剂(TA)、订合钉和半衰期延长分子(HEM)。该TA可以是修饰或未修饰的治疗肽。该TA可以是修饰的治疗肽。该修饰的治疗肽可以是选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP的肽的衍生物;该衍生物为包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽。所述TA可以是未修饰的治疗肽。该未修饰的治疗肽可以选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP。所述订合钉可以共价附接至所述TA。所述HEM可以附接至所述订合钉。该订合钉可以经由所述修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基附接至所述TA。所述两个氨基酸残基中的一个或两个可以是所述修饰的治疗肽上的氨基酸添加或置换。所述两个氨基酸残基中的一个或两个可以选自赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸和高赖氨酸。所述两个氨基酸残基中的一个或两个可以是赖氨酸。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约4个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约7个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约11个氨基酸残基。所述HEM可包含脂质、聚二醇区,或二者的组合。所述HEM可包含脂质。所述HEM可包含脂质和聚二醇区。所述HEM可包含聚二醇区。所述HEM可包含肽或蛋白质。所述脂质可选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺和脂肪醇,及其衍生物。所述聚二醇区可包含一个或多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元或其组合。所述mTA可具有多于一个订合钉。所述mTA可具有多

于一个HEM。所述mTA可具有比单独未修饰的治疗肽的半衰期更长的半衰期。所述mTA可具有比单独未修饰的治疗肽的效力更强的效力。所述mTA可具有比单独未修饰的治疗肽的靶标选择性更高的靶标选择性。所述mTA可具有比单独未修饰的治疗肽的结合亲和力更高的结合亲和力。

[0036] 本文公开了肽脂质缀合物(PLC),其包含一个或多个治疗剂(TA)、与所述一个或多个TA直接附接的一个或多个订合钉,以及与所述一个或多个订合钉直接附接的一个或多个半衰期延长分子(HEM)。所述一个或多个HEM可包含一个或多个脂质。所述一个或多个HEM可进一步包含一个或多个聚乙二醇亚单位,其中所述一个或多个脂质附接至所述一个或多个聚乙二醇亚单位。或者,所述一个或多个HEM可包含一个或多个聚乙二醇亚单位。所述一个或多个HEM可包含一个或多个肽或蛋白质。所述一个或多个HEM可包含选自脂质、聚乙二醇亚单位、肽或蛋白质或其任意组合的一个或多个分子。所述一个或多个HEM可以是脂质。所述PLC可包含两个或更多个治疗剂。所述PLC可包含两个或更多个订合钉。所述PLC可包含两个或更多个HEM。所述PLC可包含与所述一个或多个订合钉附接的多个HEM。

[0037] 通常,所述PLC包含与一个或多个肽缀合物(PC)附接的一个或多个脂质。该PLC可包含(a)一个或多个脂质;和(b)一个或多个肽缀合物(PC),所述一个或多个肽缀合物(PC)中的每一个包含含有一个或多个肽治疗剂(TA)的肽区以及含有一个或多个订合钉的订合钉区,所述一个或多个订合钉通过与来自所述肽区中两个或更多个残基中每一个的含胺侧链形成酰胺而连接所述两个或更多个残基,其中所述一个或多个脂质附接至所述一个或多个订合钉。所述肽区中的两个或更多个残基可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述肽区中的两个或更多个残基可包括赖氨酸。

[0038] 本文公开了包含一个或多个本文公开的mTA的组合物。

[0039] 本文公开了包含一个或多个本文公开的PLC的组合物。

[0040] 本文进一步公开了包含一个或多个式(I)的肽脂质缀合物(PLC)的组合物。

[0041] 本文公开了治疗有需要的受试者的疾病或状况的方法,该方法包括向该受试者施用一种或多种本文公开的mTA。

[0042] 本文公开了治疗有需要的受试者的疾病或状况的方法,该方法包括向该受试者施用一种或多种本文公开的PLC。

[0043] 在更详细地描述本发明方法、药剂盒和组合物之前,应当理解,本发明并不局限于所描述的特定方法、药剂盒或组合物,因此当然可能会有所不同。还应当理解,本文所使用的术语仅用于描述特定实施方案的目的,并非旨在限制,因为本发明的范围将仅由所附的权利要求书所限制。描述了实施例以便为本领域普通技术人员提供关于如何制备和使用本发明的完整公开内容和描述,而并非旨在限制发明人视为其发明的发明范围,也并非旨在表示下面的实验是所进行的全部或仅有的实验。已努力确保关于所用数字(例如量、温度等)的准确性,但一些实验误差和偏差应该予以考虑。除非另外指出,否则份数是重量份数,分子量是重均分子量,温度是摄氏度,而压力为大气压或接近大气压。

[0044] 当提供数值范围时,应当理解,该范围的上限和下限之间的每个中间值(到下限的单位的十分之一,除非上下文另有明确说明)也得到具体公开。在所述范围中的任何所述值或中间值与在所述范围中的任何其他所述值或中间值之间的各个较小范围也包含在本发明之内。这些较小范围的上限和下限可独立地包含在该范围内或排除在该范围之外,并且

其中任一、无一或两个界限均包含在较小范围内的每个范围也包含在本发明内,服从于所述范围中任何具体排除在外的界限。当所述范围包含一个或两个界限时,除去任一或两个那些包含在内的界限的范围也包含在本发明中。

[0045] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。虽然与本文所述的那些类似或等同的任何方法和材料可以在本发明的实行或测试中使用,但现在描述一些潜在的和优选的方法和材料。本文提及的所有出版物在此通过引用并入,以公开和描述与所引用的出版物有关的方法和/或材料。可以理解,在存在矛盾的情况下,本公开内容取代所并入的出版物的任何公开内容。

[0046] 本领域技术人员在阅读本公开内容后将会明了,本文描述并说明的每个单独的实施方案具有分立的组件和特征,其可与任何其他若干实施方案的特征容易地分离或组合,而不脱离本发明的范围或实质。可以按所列举事件的顺序或按任何其他在逻辑上可能的顺序实施任何列举的方法。

[0047] 必须指出,如本文和所附权利要求书中所用的,单数形式“一个”、“一种”和“该”包括复数指代物,除非上下文另有明确说明。因此,例如,提及“一个细胞”包括多个这样的细胞,并且提及“该肽”包括提及一种或多种本领域技术人员已知的肽及其等价物,例如多肽,等等。

[0048] 本文所讨论的出版物仅提供在本申请的申请日之前的公开内容。此处没有什么可以被解释为承认本发明没有资格由于在先发明而早于这样的出版物。此外,提供的出版日期可能不同于实际的公开日期,这可能需要单独证实。

[0049] 提供了用于生产延长治疗剂的半衰期的mTC和PLC的方法和组合物。这些方法和组合物在许多疾病中具有治疗用途,例如,采用与治疗肽缀合的半衰期延长分子可以比单独的治疗肽更加有效地治疗糖尿病或肥胖症。在阅读下文更全面描述的组合物和方法的细节后,本发明的这些和其他目的、优势和特征对本领域技术人员而言将变得明显。

[0050] 尽管本文已经显示和描述了本发明的优选实施方案,但是本领域技术人员将会明白,这些实施方案仅通过举例提供。在不偏离本发明的情况下,本领域技术人员现在将会想到许多变换、改变和替代。应理解,本文描述的本发明实施方案的多种替代方案可以用于实施本发明。旨在以下面的权利要求限定本发明的范围,由此涵盖在这些权利要求范围内的方法和结构及其等同物。

修饰的治疗剂(mTA)

[0051] 本文公开了修饰的治疗剂(mTA),其包含治疗剂(TA)和订合钉。该TA可以是修饰或未修饰的治疗肽。该TA可以共价附接至该订合钉。该TA可以经由所述修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至该订合钉,其中所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺而附接至订合钉。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约4个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约7个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约11个氨基酸残基。所述两个氨基酸中的每一个可以独立地为赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸可以是赖氨酸。所述mTA的半衰期可以长于单独的修饰或未修饰的治疗肽的半衰期。所述未修饰的治疗肽可选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP。所述修饰的治疗肽可以是选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP的肽的衍生物;该衍生物是包含一个或多个

氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽。

[0052] 本文公开了修饰的治疗剂(mTA),其包含治疗剂(TA)、订合钉和半衰期延长分子(HEM)。该TA可以是修饰或未修饰的治疗肽。该TA可以共价附接至该订合钉。该TA可以经由所述修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基共价附接至该订合钉,其中所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺而附接至订合钉。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约4个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约7个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约11个氨基酸残基。所述两个氨基酸中的每一个可以独立地为赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸可以是赖氨酸。所述mTA的半衰期可以长于单独的修饰或未修饰的治疗肽的半衰期。所述HEM可以包含疏水区、亲水区或其组合。所述HEM可包含脂质、聚二醇区或其组合。该脂质可选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺和脂肪醇,及其衍生物。该聚二醇区包含一个或多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元或其组合。所述HEM可包含蛋白质或肽。所述HEM可以共价附接至所述订合钉。所述未修饰的治疗肽可以选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP。所述修饰的治疗肽可以是选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP的肽的衍生物;该衍生物为包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽。mTA的非限制性实例包括肽脂质缀合物(PLC)。

[0053] 本文公开了修饰的治疗剂(mTA),其包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一HEM。该TA可以是修饰或未修饰的治疗肽。该TA可共价附接至第一订合钉。该TA可以经由所述修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉,其中所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺而附接至第一订合钉。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约4个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约7个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约11个氨基酸残基。所述两个氨基酸中的每一个可以独立地为赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸可以是赖氨酸。所述mTA的半衰期可以长于单独的修饰或未修饰的治疗肽的半衰期。第一HEM可以包含疏水区、亲水区或其组合。第一HEM可包含脂质、聚二醇区或其组合。该脂质可选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺和脂肪醇,及其衍生物。该聚二醇区包含一个或多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元或其组合。第一HEM可包含蛋白质或肽。第一HEM可以共价附接至第一订合钉。所述mTA可进一步包含第二订合钉。所述mTA可进一步包含第二HEM。所述mTA可进一步包含第二订合钉和第二HEM。第一订合钉和第二订合钉可以相同或不同。第一HEM和第二HEM可以相同或不同。所述未修饰的治疗肽可以选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP。所述修饰的治疗肽可以是选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP的肽的衍生物;该衍生物为包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽。所述mTA可以是PLC。

[0054] 本文进一步公开了修饰的治疗剂(mTA),其包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一HEM,其中该治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉,并且所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺而附接至第一订合钉。所述两个氨基酸残基可以相

隔至少约4个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约7个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约11个氨基酸残基。所述两个氨基酸中的每一个可以独立地为赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸可以是赖氨酸。所述mTA的半衰期可以长于单独的修饰或未修饰的治疗肽的半衰期。第一HEM可包含脂质、聚二醇区或其组合。该脂质可选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺和脂肪醇,及其衍生物。该聚二醇区包含一个或多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元或其组合。第一HEM可包含蛋白质或肽。第一HEM可共价衔接至第一订合钉。所述mTA可进一步包含第二订合钉。所述mTA可进一步包含第二HEM。所述mTA可进一步包含第二订合钉和第二HEM。第一订合钉和第二订合钉可以相同或不同。第一HEM和第二HEM可以相同或不同。所述未修饰的治疗肽可以选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP。所述修饰的治疗肽可以是选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP的肽的衍生物;该衍生物为包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽。所述mTA可以是PLC。

[0055] 本文进一步公开了修饰的治疗剂(mTA),其包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一HEM,其中该治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价衔接至第一订合钉,所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺而衔接至第一订合钉,并且所述mTA的半衰期长于单独未修饰的治疗肽的半衰期。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约4个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约7个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约11个氨基酸残基。所述两个氨基酸中的每一个可以独立地为赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸可以是赖氨酸。第一HEM可以包含疏水区、亲水区或其组合。第一HEM可包含脂质、聚二醇区或其组合。所述脂质可选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺和脂肪醇,及其衍生物。所述聚二醇区包含一个或多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元或其组合。第一HEM可包含蛋白质或肽。第一HEM可以共价衔接至第一订合钉。所述mTA可进一步包含第二订合钉。所述mTA可进一步包含第二HEM。所述mTA可进一步包含第二订合钉和第二HEM。第一订合钉和第二订合钉可以相同或不同。第一HEM和第二HEM可以相同或不同。所述未修饰的治疗肽可以选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP。所述修饰的治疗肽可以是选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP的肽的衍生物;该衍生物为包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽。所述mTA可以是PLC。

[0056] 本文进一步公开了修饰的治疗剂(mTA),其包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一HEM,其中该治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价衔接至第一订合钉,所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺而衔接至第一订合钉,并且第一HEM共价衔接至第一订合钉。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约4个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约7个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约11个氨基酸残基。所述两个氨基酸中的每一个可以独立地为赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸可以是赖氨酸。所述mTA的半衰期可以长于单独的修饰或未修饰的治疗肽的半衰期。第一HEM可以包含疏水区、亲水区或其组合。第一HEM可包含脂质、聚二醇区或其组合。

该脂质可选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺和脂肪醇,及其衍生物。该聚二醇区包含一个或多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元或其组合。第一HEM可包含蛋白质或肽。所述mTA可进一步包含第二订合钉。所述mTA可进一步包含第二HEM。所述mTA可进一步包含第二订合钉和第二HEM。第一订合钉和第二订合钉可以相同或不同。第一HEM和第二HEM可以相同或不同。所述未修饰的治疗肽可以选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP。所述修饰的治疗肽可以是选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP的肽的衍生物;该衍生物为包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽。所述mTA可以是PLC。

[0057] 本文进一步公开了修饰的治疗剂(mTA),其包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一HEM,其中该治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉,所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺而附接至第一订合钉;并且第一HEM共价附接至第一订合钉,并且mTA的半衰期长于单独未修饰的治疗肽的半衰期。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约4个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约7个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约11个氨基酸残基。所述两个氨基酸中的每一个可以独立地为赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸可以是赖氨酸。第一HEM可以包含疏水区、亲水区或其组合。所述mTA的半衰期可以长于单独的修饰或未修饰的治疗肽的半衰期。第一HEM可包含脂质、聚二醇区或其组合。该脂质可选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺和脂肪醇,及其衍生物。该聚二醇区包含一个或多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元或其组合。第一HEM可包含蛋白质或肽。所述mTA可进一步包含第二订合钉。所述mTA可进一步包含第二HEM。所述mTA可进一步包含第二订合钉和第二HEM。第一订合钉和第二订合钉可以相同或不同。第一HEM和第二HEM可以相同或不同。所述未修饰的治疗肽可以选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP。所述修饰的治疗肽可以是选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP的肽的衍生物;该衍生物为包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽。所述mTA可以是PLC。

[0058] 本文进一步公开了修饰的治疗剂(mTA),其包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一HEM,其中该治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个赖氨酸残基而共价附接至第一订合钉,并且第一HEM共价附接至第一订合钉。所述两个赖氨酸可以相隔至少约4个氨基酸残基。所述两个赖氨酸可以相隔至少约7个氨基酸残基。所述两个赖氨酸可以相隔至少约11个氨基酸残基。所述mTA的半衰期可以长于单独的修饰或未修饰的治疗肽的半衰期。第一HEM可以包含疏水区、亲水区或其组合。第一HEM可包含脂质、聚二醇区或其组合。该脂质可选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺和脂肪醇,及其衍生物。该聚二醇区包含一个或多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元或其组合。第一HEM可包含蛋白质或肽。所述mTA可进一步包含第二订合钉。所述mTA可进一步包含第二HEM。所述mTA可进一步包含第二订合钉和第二HEM。第一订合钉和第二订合钉可以相同或不同。第一HEM和第二HEM可以相同或不同。所述未修饰的治疗肽可以选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP。所述修饰的治疗肽可以是选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外

泌肽-4、GLP-2和GIP的肽的衍生物；该衍生物为包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽。所述mTA可以是PLC。

[0059] 本文进一步公开了修饰的治疗剂(mTA)，其包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一HEM，其中该治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽，该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉，并且所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺而附接至第一订合钉；所述未修饰的治疗肽选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP；所述修饰的治疗肽是选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP的肽的衍生物；该衍生物为包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽；并且第一HEM共价附接至第一订合钉。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约4个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约7个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约11个氨基酸残基。所述两个氨基酸中的每一个可以独立地为赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸可以是赖氨酸。所述mTA的半衰期可以长于单独的修饰或未修饰的治疗肽的半衰期。第一HEM可以包含疏水区、亲水区或其组合。第一HEM可包含脂质、聚二醇区或其组合。该脂质可选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺和脂肪醇，及其衍生物。该聚二醇区包含一个或多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元或其组合。第一HEM可包含蛋白质或肽。所述mTA可进一步包含第二订合钉。所述mTA可进一步包含第二HEM。所述mTA可进一步包含第二订合钉和第二HEM。第一订合钉和第二订合钉可以相同或不同。第一HEM和第二HEM可以相同或不同。所述mTA可以是PLC。

[0060] 本文进一步公开了修饰的治疗剂(mTA)，其包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一HEM，其中该治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽，该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉，并且所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺而附接至第一订合钉；第一HEM共价附接至第一订合钉；并且第一HEM包含脂质、聚二醇区域或其组合。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约4个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约7个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约11个氨基酸残基。所述两个氨基酸中的每一个可以独立地为赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸可以是赖氨酸。所述mTA的半衰期可以长于单独的修饰或未修饰的治疗肽的半衰期。该脂质可选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺和脂肪醇，及其衍生物。该聚二醇区包含一个或多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元或其组合。第一HEM可进一步包含蛋白质或肽。所述mTA可进一步包含第二订合钉。所述mTA可进一步包含第二HEM。所述mTA可进一步包含第二订合钉和第二HEM。第一订合钉和第二订合钉可以相同或不同。第一HEM和第二HEM可以相同或不同。所述未修饰的治疗肽可以选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP。所述修饰的治疗肽可以是选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP的肽的衍生物；该衍生物为包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽。所述mTA可以是PLC。

[0061] 本文进一步公开了修饰的治疗剂(mTA)，其包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一HEM，其中该治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽，该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉，并且所述两个氨基酸残基中的

每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺而附接至第一订合钉;所述未修饰的治疗肽选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP;所述修饰的治疗肽为选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP的肽的衍生物,该衍生物为包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽;第一HEM共价附接至第一订合钉;并且第一HEM包含脂质、聚二醇区或其组合。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约4个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约7个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约11个氨基酸残基。所述两个氨基酸中的每一个可以独立地为赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸可以是赖氨酸。所述mTA的半衰期可以长于单独的修饰或未修饰的治疗肽的半衰期。所述脂质可选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺和脂肪醇,及其衍生物。所述聚二醇区包含一个或多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元或其组合。第一HEM可进一步包含蛋白质或肽。所述mTA可进一步包含第二订合钉。所述mTA可进一步包含第二HEM。所述mTA可进一步包含第二订合钉和第二HEM。第一订合钉和第二订合钉可以相同或不同。第一HEM和第二HEM可以相同或不同。所述mTA可以是PLC。

[0062] 本文进一步公开了修饰的治疗剂(mTA),其包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一HEM,其中该治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉,并且所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺而附接至第一订合钉;所述未修饰的治疗肽选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP;所述修饰的治疗肽为选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP的肽的衍生物,该衍生物为包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽;第一HEM共价附接至第一订合钉;并且第一HEM包含脂质、聚二醇区、肽或蛋白质,或其组合。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约4个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约7个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约11个氨基酸残基。所述两个氨基酸中的每一个可以独立地为赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸可以是赖氨酸。所述mTA的半衰期可以长于单独的修饰或未修饰的治疗肽的半衰期。所述脂质可选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺和脂肪醇,及其衍生物。所述聚二醇区包含一个或多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元或其组合。所述mTA可进一步包含第二订合钉。所述mTA可进一步包含第二HEM。所述mTA可进一步包含第二订合钉和第二HEM。第一订合钉和第二订合钉可以相同或不同。第一HEM和第二HEM可以相同或不同。所述mTA可以是PLC。

[0063] 本文进一步公开了修饰的治疗剂(mTA),其基本由治疗剂(TA)、订合钉和半衰期延长分子(HEM)组成。该TA可以是修饰或未修饰的治疗肽。该TA可以共价附接至该订合钉。该TA可以经由所述修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基共价附接至该订合钉,其中所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺而附接至订合钉。所述两个氨基酸残基中的一个或两个可以是赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸可以是赖氨酸。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约4个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约7个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约11个氨基酸残基。所述mTA的半衰期可以长于单独的修饰或未修饰的治疗肽的半衰期。所述

HEM可包含脂质、聚二醇区或其组合。该脂质可选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺和脂肪醇,及其衍生物。该聚二醇区包含一个或多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元或其组合。所述HEM可包含蛋白质或肽。所述HEM可与共价附接至所述订合钉。所述HEM可共价附接至所述TA。所述未修饰的治疗肽可以选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP。所述修饰的治疗肽可以是选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP的肽的衍生物;该衍生物为包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽。mTA的非限制性实例包括肽脂质缀合物(PLC)。

[0064] 在本文公开的mTA的一些实施方案中,HEM直接附接至与修饰或未修饰的治疗肽共价附接的订合钉。在一些实施方案中,HEM与订合钉的附接比HEM与修饰或未修饰的治疗肽的附接更优选。在一些实施方案中,第一mTA(其中HEM直接附接至与修饰或未修饰的治疗肽共价附接的订合钉)比第二mTA(其中HEM直接附接至修饰或未修饰的治疗肽)具有更好的活性。

半衰期延长分子(HEM)

[0065] 本文公开了修饰的治疗剂(mTA),其包含治疗剂(TA)、订合钉和半衰期延长分子(HEM),其中该HEM附接至该订合钉,该治疗剂是修饰或未修饰的治疗肽,并且该mTA的半衰期长于单独的修饰或未修饰的治疗肽的半衰期。该HEM可以是非蛋白质的或蛋白质的。该HEM可以包含疏水区、亲水区或其组合。该HEM可包含脂质、聚二醇区、肽或蛋白质,或其组合。

[0066] 所述HEM可以是非蛋白质的。该HEM可包含脂质、聚二醇区或其组合。该HEM可以包含疏水区、亲水区或其组合。该HEM可以是非蛋白质的聚合物。非蛋白质的聚合物的非限制性实例包括羟烷基淀粉如羟乙基淀粉(HES)、聚二醇、支链聚乙二醇、聚唾液酸、聚乙烯醇、聚羧酸酯、聚(乙烯基吡咯烷酮)、葡聚糖或另一种生物相容性聚合物。

[0067] 所述脂质可选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺和脂肪醇,及其衍生物。该脂质可以是甾醇或甾醇衍生物。该脂质可以是胆汁酸或其衍生物。该脂质可以是维生素E衍生物。该脂质可以是脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺或脂肪醇。该脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺或脂肪醇可以具有5-40个碳原子。该脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺或脂肪醇可以具有5-30个碳原子。该脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺或脂肪醇可以具有5-20个碳原子。该脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺或脂肪醇可以具有6-40个碳原子。该脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺或脂肪醇可以具有6-30个碳原子。该脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺或脂肪醇可以具有7-40个碳原子。该脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺或脂肪醇可以具有8-40个碳原子。该脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺或脂肪醇可以具有9-40个碳原子。该脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺、脂肪胺或脂肪醇可以具有10-40个碳原子。

[0068] 所述脂质可选自丙酸、丁酸、戊酸、己酸、庚酸、辛酸、壬酸、癸酸、十一烷酸、十二烷酸、十三烷酸、十四烷酸、肉豆蔻酸、十五烷酸、十六烷酸、十七烷酸、十八烷酸、十九烷酸、二十烷酸、二十一烷酸、二十二烷酸、二十三烷酸、二十四烷酸、二十五烷酸、二十六烷酸、二十七烷酸、二十八烷酸、二十九烷酸、三十烷酸、三十一烷酸、三十二烷酸、三十三烷酸、三十四烷酸、三十五烷酸和三十六烷酸。该脂质可选自丙二酸、丁二酸、戊二酸、己二酸、庚二酸、辛

二酸、壬二酸、癸二酸、十一烷二酸、十二烷二酸、十三烷二酸、十四烷二酸、十五烷二酸、十六烷二酸、十七烷二酸、十八烷二酸和十九烷二酸。该脂质可选自肉豆蔻脑酸、棕榈油酸、十六碳烯酸(sapienic acid)、油酸、反油酸、异油酸、亚油酸、亚麻酸、 α -亚麻酸、花生四烯酸、二十碳五烯酸、芥酸和二十二碳六烯酸。该脂质可选自胆固醇、7 α -OH胆固醇、7 α , 25-二羟基胆固醇、胆酸、鹅脱氧胆酸、石胆酸、脱氧胆酸、甘氨酸胆酸、甘氨酸脱氧胆酸、甘氨酸石胆酸和甘氨酸鹅脱氧胆酸。

[0069] 所述聚二醇区可包含一个或多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元或其组合。该聚二醇区可包含一个或多个聚乙二醇单元。该聚二醇区可包含一个或多个聚丙二醇单元。该聚二醇区可包含一个或多个聚丁二醇单元。

[0070] 所述聚二醇区可包含10、20、30、40、50、60、70、80、90、100个或更多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元或其组合。该聚二醇区可包含10、20、30、40、50、60、70、80、90、100个或更多个聚乙二醇单元。该聚二醇区可包含10、20、30、40、50、60、70、80、90、100个或更多个聚丙二醇单元。该聚二醇区可包含10、20、30、40、50、60、70、80、90、100个或更多个聚丁二醇单元。

[0071] 所述聚二醇区可包含100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000个或更多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元或其组合。该聚二醇区可包含100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000个或更多个聚乙二醇单元。该聚二醇区可包含100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000个或更多个聚丙二醇单元。该聚二醇区可包含100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000个或更多个聚丁二醇单元。

[0072] 所述聚二醇区可包含1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000、10000、11000、12000、13000、14000、15000、16000、17000、18000、19000、20000、25000、30000、35000、40000、45000、50000个或更多个聚乙二醇单元、聚丙二醇单元或聚丁二醇单元或其组合。该聚二醇区可包含1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000、10000、11000、12000、13000、14000、15000、16000、17000、18000、19000、20000、25000、30000、35000、40000、45000、50000个或更多个聚乙二醇单元。该聚二醇区可包含1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000、10000、11000、12000、13000、14000、15000、16000、17000、18000、19000、20000、25000、30000、35000、40000、45000、50000个或更多个聚丙二醇单元。该聚二醇区可包含1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000、10000、11000、12000、13000、14000、15000、16000、17000、18000、19000、20000、25000、30000、35000、40000、45000、50000个或更多个聚丁二醇单元。

[0073] 所述聚二醇区可具有500-50,000道尔顿的分子量。该聚二醇区可具有500-40,000道尔顿的分子量。该聚二醇区可具有500-30,000道尔顿的分子量。该聚二醇区可具有500-20,000道尔顿的分子量。该聚二醇区可具有500、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000、10000、15000、20000、25000、30000、35000、40000或45000道尔顿或更大的分子量,包括其中的增量(increment)。

[0074] 所述HEM可包含肽或蛋白质。非限制性实例包括血清白蛋白,转铁蛋白,或免疫球蛋白的Fc结构域,或其变体。变体可以是天然存在或非天然存在的。非天然存在的变体可以采用本领域已知的诱变技术产生。变体可包含一个或多个保守或非保守的氨基酸置换、缺失或添加或其组合。所述HEM可包含延伸重组多肽(XTEN)。

肽脂质缀合物 (PLC)

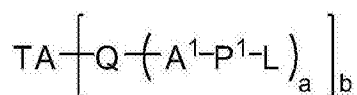
[0075] 本文公开了肽脂质缀合物 (PLC), 其包含一个或多个脂质和一个或多个肽缀合物, 所述一个或多个肽缀合物 (PC) 中的每一个包含 (a) 一个或多个包含治疗剂 (TA) 的肽区; 以及 (b) 一个或多个订合钉, 所述一个或多个订合钉通过与来自所述肽区中两个或更多个残基中每一个的含胺侧链形成酰胺而连接所述两个或更多个残基; 其中所述一个或多个脂质附接至所述一个或多个订合钉。所述脂质缀合物可进一步包含一个或多个聚乙二醇亚单位。所述一个或多个脂质可以被聚乙二醇化。所述肽区中的两个或更多个残基中的至少一个可以是赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述肽区中的两个或更多个残基可包括赖氨酸。所述两个或更多个残基可以相隔至少约4个氨基酸。所述两个或更多个残基可以相隔至少约7个氨基酸。所述两个或更多个残基可以相隔至少约11个氨基酸。

[0076] 图1A-C示出了示例性肽脂质缀合物的示意图。图1A示出了包含与脂质 (L) 附接的肽缀合物 (PC) 的肽脂质缀合物。图1B示出了一种肽脂质缀合物, 其包含 (a) 含有与肽治疗剂 (TA) 上的两个具有含胺侧链的氨基酸残基 (*) 附接的订合钉 (C) 的肽缀合物; 以及 (b) 脂质 (L), 其中该脂质附接至该订合钉。图1C示出了一种肽脂质缀合物, 其包含 (a) 含有与两个肽治疗剂 (TA¹和TA²) 上的两个具有含胺侧链的氨基酸残基 (*) 附接的订合钉 (C) 的肽缀合物; 以及 (b) 脂质 (L), 其中该脂质附接至该订合钉。所述氨基酸残基中的每一个可以独立地是赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。

[0077] 其他示例性的肽脂质缀合物在图3A-H中示出。

[0078] 图3A-C示出了一种肽脂质缀合物, 其包含 (a) 含有与治疗剂 (TA) 附接的订合钉 (C) 的肽缀合物; 以及 (b) 脂质 (L)。该脂质可以附接至订合钉 (C) 的任意部分。例如, 如图3A和3C所示, 该脂质可以附接至订合钉 (C) 的一个末端。如图3B所示, 该脂质可以附接至订合钉的内部区域。图3D-F示出了一种肽脂质缀合物, 其包含 (a) 含有与治疗剂 (TA) 附接的订合钉 (C) 的肽缀合物; 以及 (b) 两个脂质 (L¹和L²)。这两个脂质可以附接至订合钉的任意部分。这两个脂质可以附接至订合钉的一个或多个末端。这两个脂质可以附接至订合钉的内部区域。这两个脂质可以附接至订合钉的末端以及订合钉的内部区域。如图3D所示, 第一脂质 (L¹) 附接至订合钉的一个末端, 而第二脂质 (L²) 附接至订合钉的内部区域。如图3E所示, 第一脂质 (L¹) 和第二脂质 (L²) 附接至订合钉的相对末端。如图3F所示, 第一脂质 (L¹) 附接至订合钉的内部区域, 而第二脂质 (L²) 附接至订合钉的一个末端。本文公开的PLC可包含 (a) 含有订合钉 (C) 和治疗剂 (TA) 的肽缀合物; 以及 (b) 多个脂质 (L¹...Lⁿ)。图3G示出了一种PLC, 其包含 (a) 含有与治疗剂 (TA) 附接的订合钉 (C) 的肽缀合物; 以及 (b) 三个脂质 (L¹、L²和L³)。如图3G所示, 全部三个脂质均附接至订合钉内的不同区域。图3H示出了一种PLC, 其包含 (a) 含有与治疗剂 (TA) 附接的订合钉 (C) 的肽缀合物; 以及 (b) 四个脂质 (L¹、L²、L³和L⁴)。如图3H所示, 全部四个脂质均附接至订合钉内的不同区域。

[0079] 本文公开的PLC可具有以下结构:



式(I)

其中:

TA为所述治疗剂；

每个Q是相同或不同的，并且是通过与TA上两个氨基酸残基中的每一个形成酰胺基团而连接至所述两个氨基酸残基的订合钉；

每个A¹是相同或不同的，并且是连接Q和P¹的化学基团；

每个P¹均为键或-PEG-A²-；

每个PEG是相同或不同的，并且是包含一个或多个聚乙二醇亚单位的化学基团；

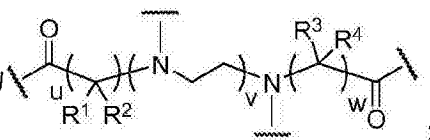
每个A²是相同或不同的，并且是连接PEG和L的化学基团；

每个L是相同或不同的，并且是脂质衍生物；

a为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；并且

b为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。

[0080] 在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，b为1。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，b为2。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，b为3。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，b为4。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，b为5。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，b为6。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，b为7。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，b为8。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，b为9。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，b为10。

[0081] 在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，Q为  ;

其中

每个R¹、R²、R³和R⁴独立地选自H、卤代、CN、-SR⁵、烷基、环烷基、卤代烷基、-NR⁵R⁵和-OR⁵；

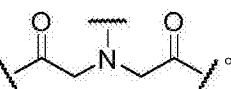
每个R⁵独立地选自H、烷基、卤代烷基、芳基烷基和杂烷基；

u为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；

v为0、1、2、3、4、5、6、7、8或9；并且

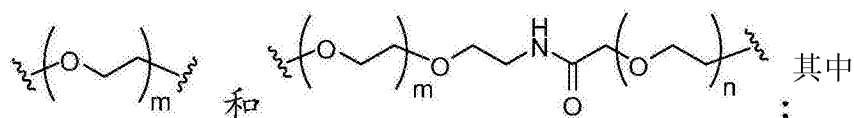
w为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。

[0082] 在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，a为1。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，a为2。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，a为3。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，a为4。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，a为5。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，a为6。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，a为7。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，a为8。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，a为9。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，a为1或2。在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，a为1且b为1。

[0083] 在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，Q为 。

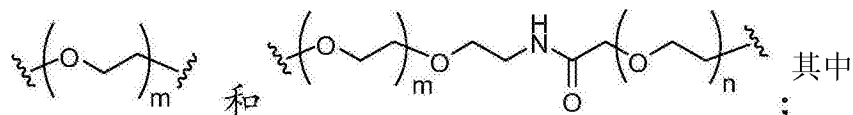
[0084] 在本文公开的式(I)的PLC的一些所述实施方案中，P¹为-PEG-A²。

[0085] 在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中，PEG选自：



m和n独立地为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。

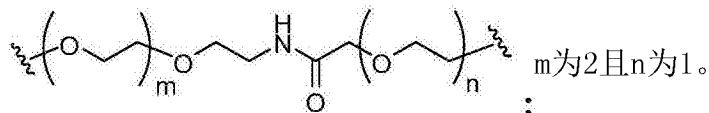
[0086] 在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中,PEG选自:



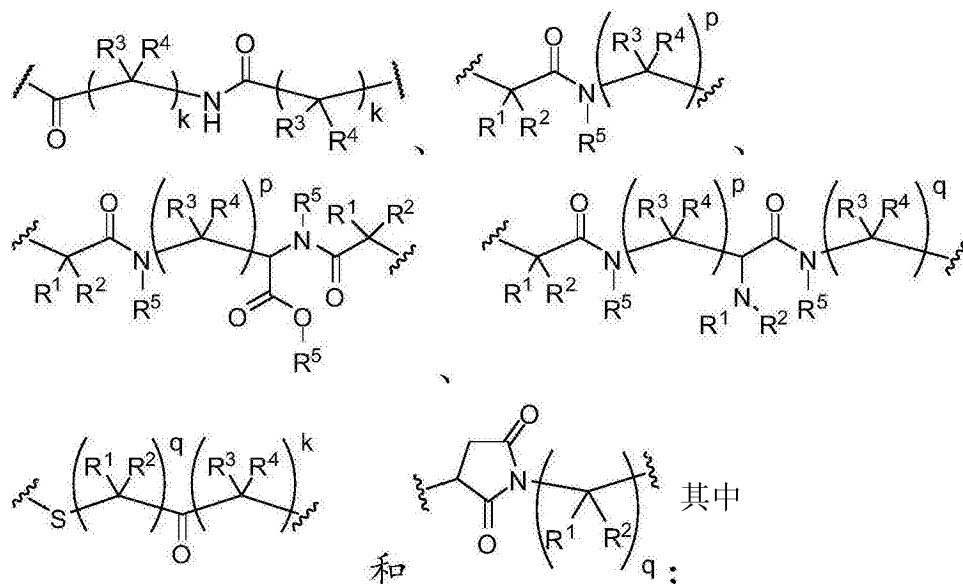
m和n独立地为1、2、3或4。

[0087] 在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中,PEG为 $\left(\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2 \right)_m$ 且m为2。

[0088] 在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中,PEG为



[0089] 在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中, A^1 选自



每个 R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 独立地选自H、卤代、CN、 $-\text{SR}^5$ 、烷基、环烷基、卤代烷基、 $-\text{NR}^5\text{R}^5$ 和 $-\text{OR}^5$;

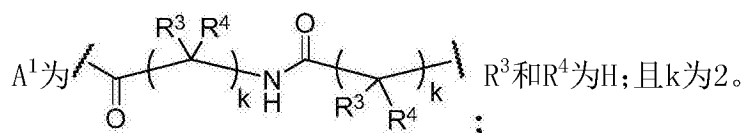
每个 R^5 独立地选自H、烷基、卤代烷基、芳基烷基和杂烷基;

k为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10;

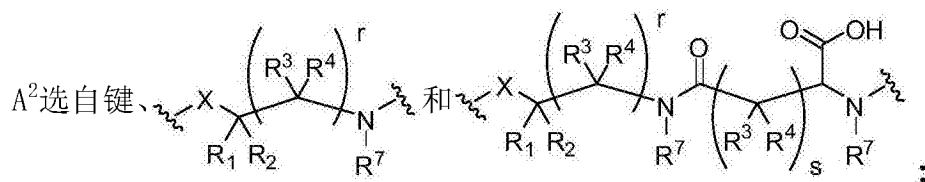
p为2、3、4、5、6、7、8、9或10;并且

q为2、3、4、5、6、7、8、9或10。

[0090] 在本文公开的式(I)的PLC的一些实施方案中,



[0091] 在本文公开的式(I)的PLC的一些所述实施方案中,



X为键、NR⁵、S或O；

R¹、R²、R³和R⁴独立地选自H、卤代、CN、-SR⁵、烷基、环烷基、卤代烷基、-NR⁵R⁵和-OR⁵；

R⁵为H、烷基、卤代烷基、芳基烷基或杂烷基；

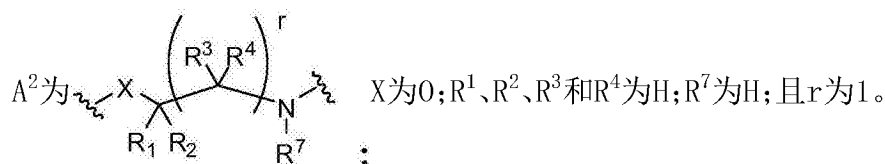
每个R⁷独立地选自H、烷基、卤代烷基、芳基烷基和杂烷基；

r为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；

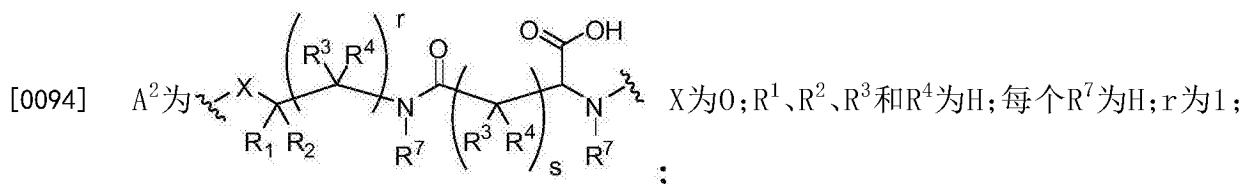
s为1、2、3、4或5；并且

t为0、1、2、3、4或5。

[0092] 在本文公开的式(I)的PLC的一些所述实施方案中



[0093] 在本文公开的式(I)的PLC的一些所述实施方案中，



且s为2。式(I)的PLC的所述两个氨基酸中的每一个可以独立地选自赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸和高赖氨酸。所述两个氨基酸残基可包括赖氨酸。所述两个氨基酸残基可以相距至少约4个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相距至少约7个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相距至少约11个氨基酸残基。式(I)的PLC可以包含一个或多个脂质。式(I)的PLC可以包含一个或多个订合钉。

[0095] 本文公开了生产式(I)的PLC的方法，该方法包括使一个或多个订合钉与A³-P¹-L反应，其中A³为用于形成A¹的反应性前体。A³可以是卤代乙酰胺、马来酰亚胺、苄基卤、烷基二硫化物或吡啶基二硫化物。A³可以是卤代乙酰胺。A³可以是溴乙酰胺。A³可以是烷基二硫化物。

[0096] 所述肽脂质缀合物(PLC)可包含(a)一个或多个脂质，该脂质选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺和脂肪醇；和(b)一个或多个肽缀合物(PC)，所述一个或多个肽缀合物中的每一个包含含有一个或多个肽治疗剂(TA)的肽区以及含有一个或多个订合钉的订合钉区，所述一个或多个订合钉通过与来自所述肽区中两个或更多个残基中每一个的含胺侧链形成酰胺而连接所述两个或更多个残基，其中所述一个或多个脂质衔接至所述一个或多个订合钉。所述肽区中所述两个或更多个残基中的每一个可独立地包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸残基可以相距至少约4个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相距至少约7个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相距至少约11个氨基酸残基。

[0097] 所述肽脂质缀合物 (PLC) 可包含 (a) 一个或多个脂质; 和 (b) 一个或多个肽缀合物 (PC), 其中该肽缀合物包含含有一个或多个肽治疗剂 (TA) 的肽区以及含有一个或多个订合钉的订合钉区, 所述一个或多个订合钉通过与来自所述肽区中两个或更多个残基中每一个的含胺侧链形成酰胺而连接所述两个或更多个残基, 所述一个或多个肽治疗剂包括一个或多个泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、胰高血糖素样蛋白-1 (GLP-1)、GLP-2、胰高血糖素、GLP-1R/GIPR双重激动剂、GLP-1R/GCGR双重激动剂, 或其衍生物, 其中所述一个或多个脂质附接至所述一个或多个订合钉。所述肽区中所述两个或更多个残基中的每一个可独立地包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸残基可以相距至少约4个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相距至少约7个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相距至少约11个氨基酸残基。

[0098] 所述肽脂质缀合物 (PLC) 可以包含 (a) 一个或多个脂质; 和 (b) 一个或多个肽缀合物 (PC), 其中该肽缀合物包含含有一个或多个肽治疗剂 (TA) 的肽区以及含有一个或多个订合钉的订合钉区, 所述一个或多个订合钉通过与来自所述肽区中两个或更多个残基中每一个的含胺侧链形成酰胺而连接所述两个或更多个残基, 所述一个或多个肽治疗剂包括GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2、GIP、GLP-1R/GCGR双重激动剂、GLP-1R/GIPR双重激动剂或GLP-1R/GCGR/GIPR三重激动剂, 或其衍生物, 其中所述一个或多个脂质附接至所述一个或多个订合钉。所述肽区中所述两个或更多个残基中的每一个可独立地包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸残基可以相距至少约4个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相距至少约7个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相距至少约11个氨基酸残基。

脂质

[0099] 本文公开的mTA或PLC可包含一个或多个脂质。该脂质可以在订合钉处附接至一个或多个肽缀合物。所述一个或多个脂质与所述一个或多个肽缀合物的附接可包括共价附接。该脂质可以经由一个或多个官能团附接至该肽缀合物或脂质。所述一个或多个官能团可包括酮。所述一个或多个官能团可包括羰基。所述一个或多个官能团可包括酰胺。该脂质与订合钉的附接可以增强TA的一种或多种药代动力学性质。

[0100] 所述一个或多个脂质可以是脂肪酸。脂肪酸可以是脂肪二酸、脂肪胺、脂肪酰胺或脂肪醇。脂肪酸可以是饱和的或不饱和的。饱和脂肪酸包括但不限于月桂酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、花生酸。不饱和脂肪酸包括但不限于棕榈油酸、油酸、亚油酸、亚麻酸 (linolenic acid)、芥酸和花生四烯酸。脂肪酸可以是短链脂肪酸、中链脂肪酸、长链脂肪酸或超长链脂肪酸。脂肪酸可以是单不饱和的或多不饱和的。脂肪酸可以是 ω 脂肪酸、必需脂肪酸、部分氢化的脂肪酸、顺式异构体脂肪酸或反式异构体脂肪酸。脂肪酸可以是 ω -3脂肪酸、 ω -6脂肪酸或 ω -9脂肪酸。

[0101] 脂肪酸可包含约6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26个或更多个碳原子的链。脂肪酸可以包含6-40个碳原子的链。脂肪酸可以包含7-40个碳原子的链。脂肪酸可以包含8-40个碳原子的链。脂肪酸可以包含9-40个碳原子的链。脂肪酸可以包含10-40个碳原子的链。脂肪酸可包含进一步含有1、2、3、4、5、6个或更多个双键的碳链。脂肪酸可以是天然存在的。脂肪酸可以不是天然存在的。脂肪酸可以是合成的。

[0102] 本文公开的PLC或mTA可进一步包含一个或多个脂肪酸。本文公开的PLC或mTA可进

一步包含两个或更多个脂肪酸。本文公开的PLC或mTA可进一步包含三个或更多个脂肪酸。本文公开的PLC或mTA可进一步包含四个或更多个脂肪酸。本文公开的PLC或mTA可进一步包含五个或更多个脂肪酸。所述脂肪酸可以是不同的。所述脂肪酸可以是相同的。

[0103] 所述PLC或mTA的一个或多个脂质可选自肉豆蔻酸、二十二碳六烯酸、石胆酸酯、胆酸、棕榈酸和十八烷二酸。所述PLC或mTA的一个或多个脂质可以是肉豆蔻酸。所述PLC或mTA的一个或多个脂质可以是二十二碳六烯酸。所述PLC或mTA的一个或多个脂质可以是石胆酸酯。所述PLC或mTA的一个或多个脂质可以是胆酸。所述PLC或mTA的一个或多个脂质可以是棕榈酸。所述PLC或mTA的一个或多个脂质可以是肉豆蔻酸。所述PLC或mTA的一个或多个脂质可以是十八烷二酸。

[0104] 所述PLC或mTA可包含一个或多个甾醇或甾醇衍生物。该甾醇或甾醇衍生物可选自胆固醇、7 α -OH胆固醇、7 α , 25-二羟基胆固醇、胆酸、鹅脱氧胆酸、石胆酸、脱氧胆酸、甘氨酸胆酸、甘氨酸脱氧胆酸、甘氨酸石胆酸和甘氨酸鹅脱氧胆酸。

[0105] 所述PLC或mTA可包含一个或多个胆汁酸。该胆汁酸可选自胆酸、鹅脱氧胆酸、石胆酸、脱氧胆酸、甘氨酸胆酸、甘氨酸脱氧胆酸、甘氨酸石胆酸和甘氨酸鹅脱氧胆酸。

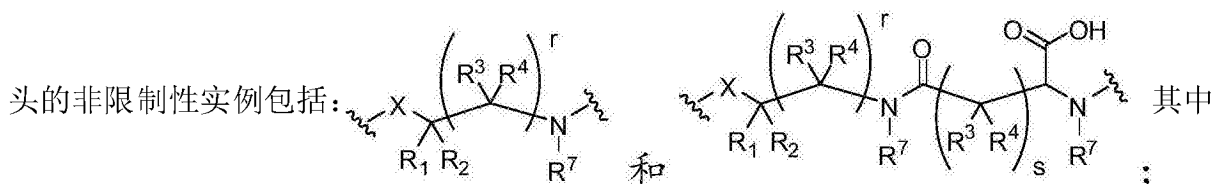
[0106] 所述PLC或mTA可包含一个或多个维生素E衍生物。该维生素E衍生物可选自 α -生育酚、 β -生育酚、 γ -生育酚、 δ -生育酚、 α -生育三烯酚、 β -生育三烯酚、 γ -生育三烯酚和 δ -生育三烯酚。

聚乙二醇化的脂质

[0107] 本文公开的PLC可包含一个或多个聚乙二醇化的脂质。本文公开的mTA可包含一个或多个聚乙二醇化的脂质。

[0108] 所述聚乙二醇化的脂质可以在一个或多个订合钉处附接至一个或多个肽缀合物。所述聚乙二醇化的脂质可以经由一个或多个官能团附接至订合钉。所述一个或多个官能团可包括酮。所述一个或多个官能团可包括羰基。所述一个或多个官能团可包括酰胺。所述聚乙二醇化的脂质与订合钉的附接可以增强TA的一种或多种药代动力学性质。

[0109] 聚乙二醇化的脂质可包含至少一个聚乙二醇亚单位。脂质与一个或多个聚乙二醇亚单位之间的连接可以是直接键或接头(A²)。脂质与一个或多个聚乙二醇亚单位之间的接



X为键、NR⁵、S或O；

R¹、R²、R³和R⁴独立地选自H、卤代、CN、-SR⁵、烷基、环烷基、卤代烷基、-NR⁵R⁵和-OR⁵；

R⁵为H、烷基、卤代烷基、芳基烷基或杂烷基；

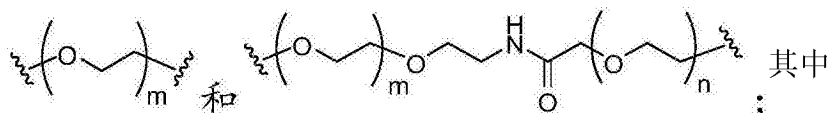
每个R⁷独立地选自H、烷基、卤代烷基、芳基烷基和杂烷基；

r为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；

s为1、2、3、4或5；并且

t为0、1、2、3、4或5。

[0110] 聚乙二醇化的脂质可具有结构P¹-L，其中P¹为-PEG-A²-；PEG为包含一个或多个聚乙二醇亚单位的化学基团；A²为连接PEG和L的化学基团；并且L为脂质。PEG可选自：



m和n独立地为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。

[0111] 聚乙二醇化的脂质可以通过接头连接至订合钉。

脂质衍生物

[0112] 脂质衍生物可以直接附接至订合钉。脂质衍生物与TA的订合钉的这样的附接可增强TA的药代动力学性质。本文公开的mTA和PLC可包含一个或多个脂质衍生物。

[0113] 脂质衍生物可以在订合钉处附接至肽缀合物。脂质衍生物可以附接至订合钉的一个或多个末端和/或内部区域。脂质衍生物可以经由一个或多个官能团附接至肽缀合物的订合钉。所述一个或多个官能团可包括酮。所述一个或多个官能团可包括羰基。所述一个或多个官能团可包括酰胺。脂质衍生物与订合钉的附接可以增强TA的药代动力学性质。

[0114] 可对脂质衍生物进行聚乙二醇化。聚乙二醇化的脂质可包含至少一个聚乙二醇亚单位。可不对脂质衍生物进行聚乙二醇化。脂质可被广义地定义为疏水性或两亲性小分子。脂质可以是天然存在的或合成的。脂质可以是类二十烷酸、前列腺素、白三烯、血栓烷、蜡酯、辅酶A衍生物、脂肪酸肉碱、脂肪酸酰胺、乙醇胺、胆汁酸、维生素E、维生素A、维生素D、维生素K、脂溶性维生素衍生物、甘油单酯、甘油二酯、甘油三酯、磷脂、磷脂酰胆碱、甘油脂、甘油、甘油磷脂、鞘脂、糖脂、聚酮化合物、甾醇、甾醇衍生物、甾醇脂、类固醇激素、异戊烯醇脂(prenol lipids)、类胡萝卜素、脂肪酸和脂肪醇。

[0115] 在一个方面，本文公开了具有 A^3-P^1-L 结构的脂质衍生物，其中：

A^3 为卤代乙酰胺、马来酰亚胺、苄基卤、烷基二硫化物或吡啶基二硫化物；

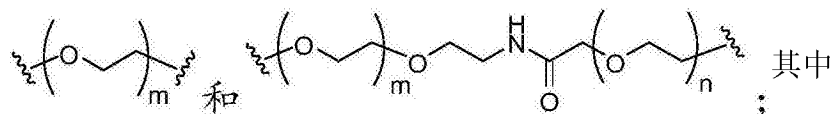
P^1 为键或-PEG- A^2 -；

PEG为包含一个或多个聚乙二醇亚单位的化学基团；

A^2 为连接PEG和L的化学基团；并且

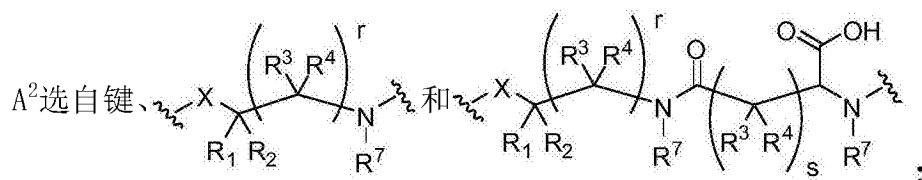
L为选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺和脂肪醇的脂质。

[0116] 在本文描述的一些实施方案中，PEG选自：



m和n独立地为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。

[0117] 在本文描述的一些实施方案中，



X为键、 NR^5 、S或O；

R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 独立地选自H、卤代、CN、 $-\text{SR}^5$ 、烷基、环烷基、卤代烷基、 $-\text{NR}^5\text{R}^6$ 和 $-\text{OR}^5$ ；

R^5 为H、烷基、卤代烷基、芳基烷基或杂烷基；

每个R⁷独立地选自H、烷基、卤代烷基、芳基烷基和杂烷基；
r为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；
s为1、2、3、4或5；并且
t为0、1、2、3、4或5。

[0118] 脂质衍生物与订合钉前体化合物的反应可以产生脂质订合钉中间体。该脂质订合钉中间体随后可以与一个或多个治疗剂反应以形成PLC或mTA。或者，脂质衍生物与已经与一个或多个治疗剂附接的订合钉的可衍生化官能团的反应产生PLC或mTA。

肽缀合物

[0119] 本文公开的PLC或mTA可包含一个或多个肽缀合物。该肽缀合物可包含通过与来自一个或多个治疗剂上两个或更多个氨基酸残基中每一个的含胺侧链形成酰胺而连接至所述两个或更多个氨基酸残基的一个或多个订合钉。该肽缀合物可进一步包含一个或多个附加订合钉。所述一个或多个附加订合钉可以附接至所述一个或多个治疗剂上的一个或多个氨基酸残基。所述一个或多个氨基酸残基可包括在所述一个或多个治疗剂上的具有含胺侧链的残基。所述一个或多个附加订合钉可以附接至所述一个或多个订合钉。

[0120] 所述肽缀合物可以包含与一个或多个治疗剂连接的一个或多个订合钉，其中所述一个或多个治疗剂上的至少两个残基与所述一个或多个订合钉连接。所述两个残基可以在同一治疗剂上。所述两个残基可以在不同治疗剂上。所述两个残基可以与同一订合钉连接。所述两个残基可以与不同订合钉连接。附加治疗剂可以附接至一个或多个治疗剂或一个或多个订合钉。所述附加治疗剂与一个或多个订合钉的附接可以经由一个或多个氨基酸残基而发生。所述一个或多个氨基酸残基中的每一个可以独立地为赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。附加订合钉可以附接至一个或多个治疗剂或一个或多个订合钉。所述附加订合钉与一个或多个治疗剂的附接可以经由一个或多个氨基酸残基而发生。所述一个或多个氨基酸残基中的每一个可以独立地为赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。

订合钉

[0121] 本文公开的PLC或mTA可包含一个或多个订合钉。本文公开的PLC或mTA可包含两个或更多个订合钉。本文公开的PLC或mTA可包含三个或更多个订合钉。本文公开的PLC或mTA可包含四个或更多个订合钉。本文公开的PLC或mTA可包含五个或更多个订合钉。本文公开的PLC或mTA可包含6、7、8、9、10个或更多个订合钉。

[0122] 所述一个或多个订合钉可以连接肽缀合物的肽区中的两个或更多个氨基酸残基。所述两个或更多个氨基酸残基中的至少一个可以是赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个或更多个氨基酸残基均可以是赖氨酸残基。所述一个或多个订合钉可以连接相同TA上的两个或更多个赖氨酸残基。所述一个或多个订合钉可以连接两个或更多个TA上的两个或更多个赖氨酸残基。两个或更多个订合钉可以连接相同TA上的两个或更多个赖氨酸残基。两个或更多个订合钉可以连接两个或更多个TA上的两个或更多个赖氨酸残基。所述两个或更多个氨基酸残基中的至少一个可以是赖氨酸残基。所述一个或多个订合钉可以连接相同TA上的两个或更多个氨基酸残基。所述一个或多个订合钉可以连接两个或更多个TA上的两个或更多个氨基酸残基。两个或更多个订合钉可以连接相同TA上的两个或更多个氨基酸残基。两个或更多个订合钉可以连接两个或更多个TA上的两个或更多个

氨基酸残基。所述两个或更多个TA可以相同。所述两个或更多个TA可以不同。

[0123] 至少一个订合钉可以连接治疗剂上的至少两个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以是相邻的。所述两个氨基酸残基可以是不相邻的。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约4个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约7个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约11个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约15个氨基酸残基。所述两个氨基酸残基可以相隔至少约19个氨基酸残基。

[0124] 所述订合钉可以与一个或多个脂质缀合,以产生订合钉-脂质构建体。示例性的订合钉脂质构建体在图2A-H中示出。图2A-C示出了一种订合钉脂质构建体,其包含(a)订合钉(C);和(b)脂质(L)。该脂质可以附接至该订合钉的任意部分。如图2A所示,脂质(L)附接至订合钉(C)的内部区域。如图2B和2C所示,脂质(L)附接至订合钉(C)的一个末端。图2D-F示出了一种订合钉脂质构建体,其包含(a)订合钉(C);和(b)两个脂质(L¹和L²)。如图2D所示,第一脂质(L¹)附接至订合钉(C)的一个末端而第二脂质(L²)附接至订合钉(C)的内部区域。如图2E所示,第一脂质(L¹)和第二脂质(L²)附接至订合钉(C)的相对末端。如图2F所示,第一脂质(L¹)附接至订合钉(C)的内部区域,而第二脂质(L²)附接至订合钉(C)的一个末端。所述订合钉脂质构建体可包含(a)订合钉(C);和(b)多个脂质(L¹...Lⁿ)。图2G示出了一种订合钉脂质构建体,其包含(a)订合钉(C);和(b)三个脂质(L¹、L²和L³)。如图2G所示,所述三个脂质(L¹、L²和L³)附接至订合钉(C)内的不同区域。图2H示出了一种订合钉脂质构建体,其包含(a)订合钉(C);和(b)四个脂质(L¹、L²、L²和L³)。如图2G所示,所述四个脂质(L¹、L²、L²和L³)附接至订合钉(C)内的不同区域。所述订合钉脂质构建体可进一步包含一个或多个附加订合钉。所述一个或多个附加订合钉可以附接至订合钉、脂质或其组合。例如,所述一个或多个附加订合钉可以附接至订合钉和脂质。或者,所述一个或多个附加订合钉附接至订合钉。所述一个或多个附加订合钉可以附接至两个或更多个订合钉。所述一个或多个附加订合钉可以附接至脂质。所述一个或多个附加订合钉可以附接至两个或更多个脂质。

[0125] 所述订合钉可以由包含两个或更多个化学基团的前体化合物制备。所述两个或更多个化学基团可以各自包含反应性羧酸衍生物。所述两个或更多个化学基团可以各自包含反应性酯。所述两个或更多个化学基团可以各自包含N-羟基琥珀酰亚胺酯。所述两个或更多个化学基团可以与同一TA上的亲核氨基酸残基反应。所述两个或更多个化学基团可以与两个或更多个TA上的亲核氨基酸残基反应。该亲核氨基酸残基可以是具有含胺侧链的氨基酸。该亲核氨基酸残基可以是赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。

[0126] 所述订合钉可以由具有两个化学基团的前体化合物制备,其中所述两个化学基团中的每一个均与同一个TA上的亲核氨基酸残基反应。

[0127] 所述前体可以选自表2。

[0128] 式(I)的PLC的至少一个或多个脂质可以附接至所述一个或多个订合钉,以在形成PLC之前形成脂质订合钉前体。式(I)的PLC的每个脂质均可以附接至所述一个或多个订合钉,以在形成PLC之前形成脂质订合钉前体。

治疗剂(TA)

[0129] 本文公开的mTA可包含一个或多个治疗剂。该mTA可包含一个治疗剂。该mTA可包含两个治疗剂。该mTA可包含3、4、5、6、7个或更多个治疗剂。该治疗剂可以是不同的。该治疗剂

可以是相同的。

[0130] 本文公开的PC可包含一个或多个治疗剂。该PC可包含两个或更多个治疗剂。该PC可包含3、4、5、6、7个或更多个治疗剂。所述两个或更多个治疗剂可以不同。所述两个或更多个治疗剂可以相同。

[0131] 示例性的TA在表3和表4中示出。示例性的TA可包含表3和表4中公开的肽序列。

[0132] 所述TA可选自表4列出的肽，其中X为具有含胺侧链的氨基酸(例如，赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸)。

[0133] 所述TA可以是激素。激素的实例包括但不限于肽激素、脂质和磷脂衍生的激素和一元胺。肽激素通常由氨基酸链组成。小肽激素的实例包括但不限于促甲状腺素释放激素(TRH)和血管加压素。由大量的或数百个氨基酸构成的肽被称为蛋白质。蛋白质激素的实例包括胰岛素和生长激素。更复杂的蛋白质激素可携带碳水化合物侧链，并可被称为糖蛋白激素。黄体生成素、促卵泡激素和促甲状腺激素是糖蛋白激素的实例。脂质和磷脂衍生的激素通常衍生自脂质如亚油酸和花生四烯酸以及磷脂。蛋白质激素的实例可包括可能衍生自胆固醇和类二十烷酸的类固醇激素。类固醇激素的实例是睾酮和皮质醇。类二十烷酸可包括前列腺素。一元胺可以通过芳香族氨基酸脱羧酶的作用衍生自芳香族氨基酸，如苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸。该TA可以是瘦素。该TA可以是betatrophin。该TA可以是肽激动剂或肽激素。该肽激动剂或激素可以是毒蜥外泌肽-4、胰高血糖素、胰高血糖素样蛋白-1 (GLP-1) 或泌酸调节肽。该TA可以是毒蜥外泌肽-4 (艾塞那肽)。该TA可以是胰高血糖素。该TA可以是胰高血糖素样蛋白-1 (GLP-1)。该TA可以是泌酸调节肽。该TA可以是GLP-2。该TA可以是GLP-1R/GIPR双重激动剂。该TA可以是GLP-1R/GCGR双重激动剂。该TA可以是GLP-1R/GCGR/GIPR三重激动剂。该TA可以与受体结合。该受体可以是GLP-1受体或胰高血糖素受体。该TA可选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2、GIP、GLP-1R/GCGR双重激动剂、GLP-1R/GIPR双重激动剂和GLP-1R/GCGR/GIPR三重激动剂。该TA可选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP。

[0134] 所述TA可以是生长因子。生长因子可包括但不限于细胞因子和激素。生长因子的实例包括但不限于肾上腺髓质素(AM)、血管生成素(Ang)、自分泌运动因子、骨形态生成蛋白(BMP)、脑源性神经营养因子(BDNF)、表皮生长因子(EGF)、红细胞生成素(EPO)、成纤维细胞生长因子(FGF)、胶质细胞系源性神经营养因子(GDNF)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、生长分化因子-9 (GDF9)、肝细胞生长因子(HGF)、肝细胞瘤衍生生长因子(HDGF)、胰岛素样生长因子(IGF)、促移行因子、肌肉生长抑制素(myostatin) (GDF-8)、神经生长因子(NGF)和其他神经营养因子、血小板衍生生长因子(PDGF)、促血小板生成素(TPO)、转化生长因子 α (TGF- α)、转化生长因子 β (TGF- β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和血管内皮生长因子(VEGF)。所述TA可以是成纤维细胞生长因子21 (FGF21)。

[0135] 所述TA可以是细胞调节蛋白质。所述TA可以是转化生长因子 β 超家族的细胞调节蛋白质。所述TA可以是decapentaplegic-Vg相关(DVR)的亚家族的成员。所述TA可以是激活素/抑制素亚家族的成员。所述TA可以是TGF- β 亚家族的成员。所述TA可以是生长分化因子(GDF)。该GDF可以是GDF1、GDF2、GDF3、GDF5、GDF6、GDF8、GDF9、GDF10、GDF11和GDF15。所述TA可以是生长分化因子11 (GDF11)。

[0136] 所述TA可以是蛋白质。该蛋白质可以是分泌因子的血管生成素样家族的成员。该蛋白质可以是血管生成素样蛋白质(ANGPTL)。ANGPTL的实例包括但不限于ANGPTL1、ANGPTL2、ANGPTL3、ANGPTL4、ANGPTL5、ANGPTL6和ANGPTL7。所述TA可以是ANGPTL3。

[0137] 所述TA可包含选自SEQ ID NO:1-6的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:1-6的氨基酸序列至少约50%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:1-6的氨基酸序列至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、92%、95%、97%、99%或100%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:1-6的氨基酸序列至少约70%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:1-6的氨基酸序列至少约75%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:1-6的氨基酸序列至少约80%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:1-6的氨基酸序列至少约85%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:1-6的氨基酸序列至少约90%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:1-6的氨基酸序列至少约95%同源的氨基酸序列。

[0138] 所述TA可包含来自选自SEQ ID NO:1-6的氨基酸序列的20个或更多个连续氨基酸。所述TA可包含来自选自SEQ ID NO:1-6的氨基酸序列的30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130个或更多个连续氨基酸。

[0139] 所述TA可包含选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少约50%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、92%、95%、97%、99%或100%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少约70%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少约75%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少约80%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少约85%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少约90%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少约95%同源的氨基酸序列。

[0140] 所述TA可包含来自选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列的10个或更多个连续氨基酸。所述TA可包含来自选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列的5、6、7、8、9、10个或更多个连续氨基酸。

[0141] 所述TA可包含选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少约50%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、92%、95%、97%、99%或100%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少约70%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少约75%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少约80%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少约85%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少约90%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列至少约95%同源的氨基酸序列。

[0142] 所述TA可包含来自选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列的10个或更多个连续氨基酸。所述TA可包含来自选自SEQ ID NO:7-30的氨基酸序列的5、6、7、8、9、10个或更多个连续氨基酸。

[0143] 所述TA可包含选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列至少约50%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、92%、95%、97%、99%或100%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列至少约70%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列至少约75%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列至少约80%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列至少约85%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列至少约90%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列至少约95%同源的氨基酸序列。

[0144] 所述TA可包含来自选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列的10个或更多个连续氨基酸。所述TA可包含来自选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列的5、6、7、8、9、10个或更多个连续氨基酸。

[0145] 所述TA可包含选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列至少约50%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、92%、95%、97%、99%或100%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列至少约70%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列至少约75%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列至少约80%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列至少约85%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列至少约90%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列至少约95%同源的氨基酸序列。

[0146] 所述TA可包含来自选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列的10个或更多个连续氨基酸。所述TA可包含来自选自SEQ ID NO:13、15和25的氨基酸序列的5、6、7、8、9、10个或更多个连续氨基酸。

[0147] 所述TA可包含氨基酸序列SEQ ID NO:13。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:13至少约50%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:13至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、92%、95%、97%、99%或100%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:13至少约70%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:13至少约75%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:13至少约80%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:13至少约85%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:13至少约90%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:13至少约95%同源的氨基酸序列。

[0148] 所述TA可包含来自氨基酸序列SEQ ID NO:13的10个或更多个连续氨基酸。所述TA可包含来自氨基酸序列SEQ ID NO:13的5、6、7、8、9、10个或更多个连续氨基酸。

[0149] 所述TA可包含氨基酸序列SEQ ID NO:15。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:15至少约50%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:15至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、92%、95%、97%、99%或100%同源的氨基酸序

列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:15至少约70%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:15至少约75%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:15至少约80%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:15至少约85%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:15至少约90%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:15至少约95%同源的氨基酸序列。

[0150] 所述TA可包含来自氨基酸序列SEQ ID NO:15的10个或更多个连续氨基酸。所述TA可包含来自氨基酸序列SEQ ID NO:15的5、6、7、8、9、10个或更多个连续氨基酸。

[0151] 所述TA可包含氨基酸序列SEQ ID NO:25。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:25至少约50%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:25至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、92%、95%、97%、99%或100%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:25至少约70%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:25至少约75%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:25至少约80%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:25至少约85%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:25至少约90%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:25至少约95%同源的氨基酸序列。

[0152] 所述TA可包含来自氨基酸序列SEQ ID NO:25的10个或更多个连续氨基酸。所述TA可包含来自氨基酸序列SEQ ID NO:25的5、6、7、8、9、10个或更多个连续氨基酸。

[0153] 所述TA可包含选自SEQ ID NO:11、16、19、25和29的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:11、16、19、25和29的氨基酸序列至少约50%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:11、16、19、25和29的氨基酸序列至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、92%、95%、97%、99%或100%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:11、16、19、25和29的氨基酸序列至少约70%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:11、16、19、25和29的氨基酸序列至少约75%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:11、16、19、25和29的氨基酸序列至少约80%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:11、16、19、25和29的氨基酸序列至少约85%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:11、16、19、25和29的氨基酸序列至少约90%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与选自SEQ ID NO:11、16、19、25和29的氨基酸序列至少约95%同源的氨基酸序列。

[0154] 所述TA可包含来自选自SEQ ID NO:11、16、19、25和29的氨基酸序列的10个或更多个连续氨基酸。所述TA可包含来自选自SEQ ID NO:11、16、19、25和29的氨基酸序列的5、6、7、8、9、10个或更多个连续氨基酸。

[0155] 所述TA可包含氨基酸序列SEQ ID NO:7。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:7至少约50%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:7至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、92%、95%、97%、99%或100%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:7至少约70%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:7至少约75%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:7至少约80%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:7至少约85%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:7至少约90%同源的氨基酸序列。所述TA可包含与氨基酸序列SEQ ID NO:7至少约95%同源的氨基酸序列。

[0156] 所述TA可包含来自氨基酸序列SEQ ID NO:7的10个或更多个连续氨基酸。所述TA可包含来自氨基酸序列SEQ ID NO:7的5、6、7、8、9、10个或更多个连续氨基酸。

[0157] 所述TA可以包含一个或多个具有含胺侧链的氨基酸残基。所述一个或多个具有含胺侧链的氨基酸残基可以用于将订合钉连接至TA。所述一个或多个具有含胺侧链的氨基酸残基可以用于将第一TA连接至第二TA。所述一个或多个具有含胺侧链的氨基酸残基可以天然存在于TA中。或者,所述一个或多个具有含胺侧链的氨基酸残基被引入TA中。所述一个或多个具有含胺侧链的氨基酸残基可以插入TA中。所述一个或多个具有含胺侧链的氨基酸残基可以替换TA中的一个或多个氨基酸残基。氨基酸置换和/或插入的方法是本领域中已知的。

[0158] 所述一个或多个TA可包含多肽衍生物。该多肽衍生物可包含含有一个或多个氨基酸突变的野生型多肽的至少一部分。所述一个或多个氨基酸突变可包括缺失、置换、添加或其组合。所述一个或多个氨基酸突变可包括向野生型多肽添加一个或多个氨基酸残基。所述一个或多个氨基酸突变可包括野生型多肽的一个或多个氨基酸残基的缺失。所述一个或多个氨基酸突变可包括野生型多肽的一个或多个氨基酸残基的置换。所述一个或多个氨基酸突变可包括用一个或多个赖氨酸残基置换野生型多肽的一个或多个氨基酸残基。所述一个或多个氨基酸突变可包括用一个或多个D-氨基酸残基置换野生型多肽的一个或多个氨基酸残基。所述野生型多肽的一个或多个氨基酸残基可包括一个或多个丙氨酸、甲硫氨酸、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸。

[0159] 所述一个或多个TA可包含修饰的治疗肽。肽修饰方法是本领域已知的(参见例如, Gentilucci L等人, 2010, Curr Pharm Des)。肽修饰的实例包括但不限于乙酰化、磷酸化和甲基化。肽修饰可包括化学修饰。肽修饰可以发生在肽的N-末端上。可替代地, 或另外地, 肽修饰可以发生在肽的C-末端上。肽修饰可以发生在肽的一个或多个内部氨基酸处。肽修饰可包括对肽的C-末端处的羧基进行替换。肽修饰可包括对肽的C-末端处的羧基进行修饰。可以对肽的C-末端处的羧基进行修饰以产生酰胺基团。可以对肽的C-末端处的羧基进行修饰以产生胺基团。

[0160] 所述PLC或mTA的一个或多个订合钉可以附接至所述一个或多个TA中的两个或更多个残基。所述TA可包括融合肽。所述两个或更多个残基可以是相邻的。所述两个或更多个残基可以是不相邻的。所述两个或更多个残基可以相隔至少约1个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔至少约2、3、4、5个或更多个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔至少约4个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔至少约5个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔至少约6个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔至少约7个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔至少约8个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔至少约9个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔至少约10个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔至少约11个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔至少约12个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔至少约13个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔至少约14个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔至少约15个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔至少约4、7、11或14个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔少于约100个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔少于约90、85、80、75、70、65、60、55个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔

少于约50个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔少于约30个氨基酸残基。所述两个或更多个残基可以相隔少于约20个氨基酸残基。

[0161] 所述TA可以来自哺乳动物或非哺乳动物。所述TA可以来自人。或者,所述TA可以来自山羊、绵羊、牛、兔、猴、狗、猫或其组合。所述TA可以来自爬行动物。所述TA可以来自蛇或蜥蜴。所述TA可以来自两栖动物。所述TA可以来自蛙或蟾蜍。所述TA可以来自禽类。所述TA可以是重组肽。

接头

[0162] 本文公开的PLC或mTA可进一步包含一个或多个接头。本文公开的PLC或mTA可进一步包含两个或更多个接头。本文公开的PLC或mTA可进一步包含三个或更多个接头。本文公开的PLC或mTA可进一步包含四个或更多个接头。本文公开的PLC或mTA可进一步包含五个或更多个接头。

[0163] 所述一个或多个接头可使得脂质能够附接至肽缀合物。所述一个或多个接头可以使得脂质能够附接至订合钉。该接头可使得脂质能够附接至另一个脂质。该接头可使得脂质能够附接至包含一个或多个聚乙二醇亚单位的化学基团。该接头可使得PEG能够附接至另一个PEG。该接头可使得PEG能够附接至治疗剂。该接头可使得治疗剂能够附接至另一个治疗剂。该接头可以是氨基酸。该接头可以是治疗剂的氨基酸。该接头可以是治疗剂的置换的氨基酸。该接头可以是赖氨酸。该接头可以是L-赖氨酸。该接头可以是醚或酰胺。该接头可以是酰胺。该接头可以是硫醚。该接头可以是氨基甲酸酯。该接头可以是迈克尔(Michael)反应加合物。该接头可以将PEG分子与脂质连接。

[0164] 所述接头可以通过肽区上的氨基酸与亲电子接头前体的反应而形成。该接头可以通过肽区上的赖氨酸与亲电子接头前体的反应而形成。该亲电子接头前体可以是订合钉前体化合物、脂质订合钉前体或脂质衍生物。该接头可以通过订合钉前体化合物上的可衍生化官能团与脂质衍生物反应以产生脂质订合钉前体而形成。该接头可以通过已经与治疗剂附接的订合钉上的可衍生化官能团与脂质衍生物的反应而形成。

[0165] 所述接头可以是生物正交反应的产物。该接头可以是肟、四唑、Diels Alder加合物、杂Diels Alder加合物、芳香取代反应产物、亲核取代反应产物、酯、酰胺、氨基甲酸酯或迈克尔反应产物。该接头可以是置换反应产物、金属介导的交叉耦合反应产物、自由基聚合产物、氧化耦合产物、酰基转移反应产物或光点击反应产物。

药代动力学

[0166] 所述PLC或mTA正面影响药代动力学或药效学表现的机制包括但不限于, (i) 阻止或缓和体内蛋白质水解降解或该治疗剂的其他降低活性的化学修饰; (ii) 通过减少肾过滤、减少受体介导的清除或增加生物利用度来改善半衰期或其他药代动力学性质; (iii) 降低毒性; (iv) 改善溶解度; 和/或 (v) 提高该治疗剂或未修饰的治疗肽的生物活性和/或靶标选择性。

[0167] 当附接至TA时,所述PLC或mTA可增强治疗剂(TA)的一种或多种药代动力学性质。与单独的TA或未修饰的治疗肽相比,如通过药效学测量的,本文公开的PLC或mTA可使TA的一种或多种药代动力学性质增强至少约200%。与单独的TA或未修饰的治疗肽相比,如通过药效学测量的,本文公开的PLC或mTA可使TA的一种或多种药代动力学性质增强至少约300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%。

[0168] 所述药代动力学性质可包括半衰期。所述PLC或mTA的半衰期与单独的TA或未修饰的治疗肽的半衰期相比可以是其至少约两倍长。本文公开的PLC或mTA的半衰期与单独的TA或未修饰的治疗肽的半衰期相比可以是其至少约3倍、4倍或5倍长。本文公开的PLC或mTA的半衰期与单独的TA或未修饰的治疗肽的半衰期相比可以是其至少约6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45或50倍长。

[0169] 此外,与非缀合形式的治疗剂或未修饰的治疗肽相比,所述PLC或mTA在增加可制造性和/或减少治疗剂的免疫原性方面可具有正面影响。

治疗用途

[0170] 本文进一步公开了用于治疗、缓解、抑制和/或预防一种或多种疾病和/或状况的PLC或mTA。该疾病和/或状况可以是慢性疾病或状况。或者,该疾病和/或状况是急性疾病或状况。该疾病或状况可以是复发性的、难治性的、加速的或处于缓解期的。该疾病或状况可影响一种或多种细胞类型。所述一种或多种疾病和/或状况可以是自身免疫性疾病、炎症性疾病或代谢性疾病。

[0171] 本文公开了用于治疗有需要的受试者的疾病或状况的方法,该方法包括向该受试者施用一种或多种PLC,其中所述一种或多种肽脂质缀合物(PLC)包含(a)一个或多个脂质;和(b)一个或多个肽缀合物(PC),该肽缀合物(PC)包含含有一个或多个肽治疗剂(TA)的肽区以及含有一个或多个订合钉的订合钉区,所述一个或多个订合钉通过与来自所述肽区中两个或更多个残基中每一个的含胺侧链形成酰胺而连接所述两个或更多个残基,其中所述一个或多个脂质附接至所述一个或多个订合钉。所述肽区中的两个或更多个残基中的每一个独立地可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述一个或多个TA可包括GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蛇外泌肽-4、GLP-2、GIP、GLP-1R/GCGR双重激动剂、GLP-1R/GIPR双重激动剂或GLP-1R/GCGR/GIPR三重激动剂,或其衍生物。所述疾病或状况可以是糖尿病或肥胖症,或与糖尿病或肥胖症相关的医学状况。该疾病或状况可以是非酒精性脂肪肝病(NAFD)、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)或心血管疾病。该疾病或状况可以是自身免疫性疾病。该疾病或状况可以是克罗恩病或溃疡性结肠炎。该疾病或状况可以是短肠综合征(SBS)。该疾病或状况可以是炎性肠病(IBD)、炎性肠综合征(IBS)或银屑病。该疾病或状况可以是阿尔茨海默病、帕金森病或亨廷顿病。所述PLC可与一种或多种附加治疗剂一起施用。该附加治疗剂可包括一种或多种其他糖尿病药物、DPP4抑制剂、SGLT2抑制剂、降血糖药物和双胍药物、胰岛素促泌素和磺酰脲药物、TZD药物、胰岛素和胰岛素类似物、FGF21和类似物、瘦素或瘦素类似物、胰淀素和胰淀素类似物、抗炎药、环孢菌素A或FK506、5-ASA或他汀类药物,或其任意组合。该附加治疗剂可以是阿司匹林。

[0172] 本文进一步公开了用于治疗有需要的受试者的疾病或状况的方法,该方法包括向该受试者施用一种或多种PLC,其中所述一种或多种肽脂质缀合物(PLC)包含(a)一个或多个脂质,该脂质选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺和脂肪醇;和(b)一个或多个肽缀合物(PC),该肽缀合物包含含有一个或多个肽治疗剂(TA)的肽区以及含有一个或多个订合钉的订合钉区,所述一个或多个订合钉通过与来自所述肽区中两个或更多个残基中每一个的含胺侧链形成酰胺而连接所述两个或更多个残基,其中所述一个或多个脂质附接至所述一个或多个订合钉。所述肽区中的两个或更多个残基中的每一个独立地可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述一个

或多个TA可包括GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2、GIP、GLP-1R/GCGR双重激动剂、GLP-1R/GIPR双重激动剂或GLP-1R/GCGR/GIPR三重激动剂,或其衍生物。所述疾病或状况可以是糖尿病或肥胖症,或与糖尿病或肥胖症相关的医学状况。该疾病或状况可以是非酒精性脂肪肝病 (NAFLD)、非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 或心血管疾病。该疾病或状况可以是自身免疫性疾病。该疾病或状况可以是克罗恩病或溃疡性结肠炎。该疾病或状况可以是短肠综合征 (SBS)。该疾病或状况可以是炎性肠病 (IBD)、炎性肠综合征 (IBS) 或银屑病。该疾病或状况可以是阿尔茨海默病、帕金森病或亨廷顿病。所述PLC可与一种或多种附加治疗剂一起施用。该附加治疗剂可包括一种或多种其他糖尿病药物、DPP4抑制剂、SGLT2抑制剂、降血糖药物和双胍药物、胰岛素促泌素和磺酰脲药物、TZD药物、胰岛素和胰岛素类似物、FGF21和类似物、瘦素或瘦素类似物、胰淀素和胰淀素类似物、抗炎药、环孢菌素A或FK506、5-ASA或他汀类药物,或其任意组合。该附加治疗剂可以是阿司匹林。该附加治疗剂可以是阿司匹林。

[0173] 本文进一步公开了治疗有需要的受试者的疾病或状况的方法,该方法包括向该受试者施用一种或多种式(I)的肽脂质缀合物(PLC)。所述两个氨基酸残基中的至少一个可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。肽区中的两个氨基酸残基中的每一个独立地可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。在一些情况下,所述两个氨基酸残基中的至少一个是赖氨酸。在一些情况下,所述两个氨基酸残基中的至少两个是赖氨酸。所述一个或多个TA可包括GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2、GIP、GLP-1R/GCGR双重激动剂、GLP-1R/GIPR双重激动剂或GLP-1R/GCGR/GIPR三重激动剂,或其衍生物。所述疾病或状况可以是糖尿病或肥胖症,或与糖尿病或肥胖症相关的医学状况。该疾病或状况可以是非酒精性脂肪肝病 (NAFLD)、非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 或心血管疾病。该疾病或状况可以是自身免疫性疾病。该疾病或状况可以是克罗恩病或溃疡性结肠炎。该疾病或状况可以是短肠综合征 (SBS)。该疾病或状况可以是炎性肠病 (IBD)、炎性肠综合征 (IBS) 或银屑病。该疾病或状况可以是阿尔茨海默病、帕金森病或亨廷顿病。所述PLC可与一种或多种附加治疗剂一起施用。该附加治疗剂可包括一种或多种其他糖尿病药物、DPP4抑制剂、SGLT2抑制剂、降血糖药物和双胍药物、胰岛素促泌素和磺酰脲药物、TZD药物、胰岛素和胰岛素类似物、FGF21和类似物、瘦素或瘦素类似物、胰淀素和胰淀素类似物、抗炎药、环孢菌素A或FK506、5-ASA或他汀类药物,或其任意组合。该附加治疗剂可以是阿司匹林。

[0174] 本文提供了预防或治疗有需要的受试者的代谢性疾病或状况的方法,该方法包括向该受试者施用一种或多种PLC,其中所述一种或多种肽脂质缀合物(PLC)包含(a)一个或多个脂质;和(b)一个或多个肽缀合物(PC),该肽缀合物(PC)包含含有一个或多个肽治疗剂(TA)的肽区以及含有一个或多个订合钉的订合钉区,所述一个或多个订合钉通过与来自所述肽区中两个或更多个残基中每一个的含胺侧链形成酰胺而连接所述两个或更多个残基,其中所述一个或多个脂质附接至所述一个或多个订合钉。所述两个或更多个残基中的至少一个可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述肽区中的两个或更多个残基可包括赖氨酸。在一些情况下,所述两个或更多个残基中的至少一个是赖氨酸。在一些情况下,所述两个或更多个残基中的至少两个是赖氨酸。所述一个或多个TA可包括GLP-1、GLP-2、毒蜥外泌肽-4、泌酸调节肽、胰高血糖素、FGF21、GLP-1R/GIPR双重激动剂、

GLP-1R/GCGR双重激动剂,或其衍生物。所述一个或多个TA可包括GLP-1、GLP-2、毒蜥外泌肽-4、泌酸调节肽、胰高血糖素、FGF21、GIP、GLP-1R/GIPR双重激动剂、GLP-1R/GCGR双重激动剂,或其衍生物。该GLP-1可以是人GLP-1。该FGF21可以是人FGF21。所述一个或多个脂质可包括一个或多个甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺和脂肪醇。所述代谢性疾病或状况可以是糖尿病。该代谢性疾病或状况可以是肥胖症。该代谢性疾病或状况可以是糖原贮积病、苯丙酮尿症、枫糖尿病、1型戊二酸血症、氨甲酰磷酸合成酶I缺乏症、尿黑酸尿症、中链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症(MCADD)、急性间歇性卟啉病、Lesch-Nyhan综合征、类脂先天性肾上腺增生症、先天性肾上腺增生症、Kearns-Sayre综合征、泽尔韦格综合征(Zellweger syndrome)、高歇病(Gaucher's disease)或尼曼匹克病(Niemann Pick disease)。

[0175] 本文提供了预防或治疗有需要的受试者的代谢性疾病或状况的方法,其包括向该受试者施用一种或多种式(I)的肽脂质缀合物(PLC)。所述两个氨基酸残基中的至少一个可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。在一些情况下,所述两个氨基酸残基中的至少一个是赖氨酸。在一些情况下,所述两个氨基酸残基中的至少两个是赖氨酸。所述一个或多个TA可包括GLP-1、GLP-2、毒蜥外泌肽-4、泌酸调节肽、胰高血糖素、FGF21、GLP-1R/GIPR双重激动剂、GLP-1R/GCGR双重激动剂,或其衍生物。所述一个或多个TA可包括GLP-1、GLP-2、毒蜥外泌肽-4、泌酸调节肽、胰高血糖素、FGF21、GIP、GLP-1R/GIPR双重激动剂、GLP-1R/GCGR双重激动剂,或其衍生物。该GLP-1可以是人GLP-1。该FGF21可以是人FGF21。所述一个或多个脂质可包括一个或多个甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺和脂肪醇。所述代谢性疾病或状况可以是糖尿病。该代谢性疾病或状况可以是肥胖症。该代谢性疾病或状况可以是糖原贮积病、苯丙酮尿症、枫糖尿病、1型戊二酸血症、氨甲酰磷酸合成酶I缺乏症、尿黑酸尿症、中链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症(MCADD)、急性间歇性卟啉病、Lesch-Nyhan综合征、类脂先天性肾上腺增生症、先天性肾上腺增生症、Kearns-Sayre综合征、泽尔韦格综合征(Zellweger syndrome)、高歇氏病(Gaucher's disease)或尼曼匹克病(Niemann Pick disease)。

[0176] 本文提供了预防或治疗有需要的受试者的NAFLD、NASH或心血管疾病的方法,其包括向该受试者施用一种或多种PLC,其中所述一种或多种肽脂质缀合物(PLC)包含(a)一个或多个脂质;和(b)一个或多个肽缀合物(PC),该肽缀合物(PC)包含含有一个或多个肽治疗剂(TA)的肽区以及含有一个或多个订合钉的订合钉区,所述一个或多个订合钉通过与来自所述肽区中两个或更多个残基中每一个的含胺侧链形成酰胺而连接所述两个或更多个残基,其中所述一个或多个脂质附接至所述一个或多个订合钉。所述两个或更多个残基中的至少一个可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述肽区中的两个或更多个残基可包括赖氨酸。在一些情况下,所述两个或更多个残基中的至少一个是赖氨酸。在一些情况下,所述两个或更多个残基中的至少两个是赖氨酸。所述一个或多个脂质可包括一个或多个甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺和脂肪醇。所述一个或多个TA可包括GLP-1、GLP-2、毒蜥外泌肽-4、泌酸调节肽、胰高血糖素、GLP-1R/GIPR双重激动剂、GLP-1R/GCGR双重激动剂,或其衍生物。所述一个或多个TA可包括GLP-1、GLP-2、毒蜥外泌肽-4、泌酸调节肽、胰高血糖素、GIP、GLP-1R/GIPR双重激动剂、GLP-1R/GCGR双重激动剂,或其衍生物。该GLP-1可以是人GLP-1。

[0177] 本文提供了预防或治疗有需要的受试者的NAFLD、NASH或心血管疾病的方法,其包括向该受试者施用一种或多种式(I)的肽脂质缀合物(PLC)。所述两个氨基酸残基中的至少一个可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述肽区中的两个氨基酸残基可包括赖氨酸。在一些情况下,所述两个氨基酸残基中的至少一个是赖氨酸。在一些情况下,所述两个或更多个残基中的至少两个是赖氨酸。所述一个或多个脂质可包括一个或多个甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺和脂肪醇。所述一个或多个脂质可包括一个或多个甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺和脂肪醇。所述一个或多个TA可包括GLP-1、GLP-2、毒蜥外泌肽-4、泌酸调节肽、胰高血糖素、GLP-1R/GIPR双重激动剂、GLP-1R/GCGR双重激动剂,或其衍生物。所述一个或多个TA可包括GLP-1、GLP-2、毒蜥外泌肽-4、泌酸调节肽、胰高血糖素、GIP、GLP-1R/GIPR双重激动剂、GLP-1R/GCGR双重激动剂,或其衍生物。该GLP-1可以是人GLP-1。

[0178] 本文提供了预防或治疗有需要的受试者中受益于GLP-1R和/或胰高血糖素受体(GCGR)激动剂的疾病或状况的方法,其包括向该受试者施用一种或多种PLC,其中所述一种或多种肽脂质缀合物(PLC)包含(a)一个或多个脂质;和(b)一个或多个肽缀合物(PC),该肽缀合物(PC)包含含有一个或多个肽治疗剂(TA)的肽区以及含有一个或多个订合钉的订合钉区,所述一个或多个订合钉通过与来自所述肽区中两个或更多个残基中每一个的含胺侧链形成酰胺而连接所述两个或更多个残基,其中所述一个或多个脂质附接至所述一个或多个订合钉。所述两个或更多个残基中的至少一个可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。在一些情况下,所述两个或更多个残基中的至少一个是赖氨酸。在一些情况下,所述两个或更多个残基中的至少两个是赖氨酸。所述一个或多个脂质可包括一个或多个甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺和脂肪醇。所述一个或多个TA可包括GLP-1、GLP-2、毒蜥外泌肽-4、泌酸调节肽、胰高血糖素、GLP-1R/GIPR双重激动剂、GLP-1R/GCGR双重激动剂,或其衍生物。所述一个或多个TA可包括GLP-1、GLP-2、毒蜥外泌肽-4、泌酸调节肽、胰高血糖素、GIP、GLP-1R/GIPR双重激动剂、GLP-1R/GCGR双重激动剂,或其衍生物。该GLP-1可以是人GLP-1。所述疾病或状况可以是代谢性疾病或病症。该疾病或状况可以是糖尿病。该疾病或状况可以是肥胖症。其他受益于GLP-1R和/或GCGR激动剂的疾病和/或状况包括但不限于血脂异常、心血管疾病和脂肪肝疾病。

[0179] 本文提供了预防或治疗有需要的受试者中受益于GLP-1R和/或胰高血糖素受体(GCGR)激动剂的疾病或状况的方法,其包括向该受试者施用一种或多种式(I)的肽脂质缀合物(PLC)。所述两个氨基酸残基中的至少一个可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。在一些情况下,所述两个氨基酸残基中的至少一个是赖氨酸。在一些情况下,所述两个氨基酸残基中的至少两个是赖氨酸。所述一个或多个脂质可包括一个或多个甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺和脂肪醇。所述一个或多个脂质可包括一个或多个甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺和脂肪醇。所述一个或多个TA可包括GLP-1、GLP-2、毒蜥外泌肽-4、泌酸调节肽、胰高血糖素、GLP-1R/GIPR双重激动剂、GLP-1R/GCGR双重激动剂,或其衍生物。所述一个或多个TA可包括GLP-1、GLP-2、毒蜥外泌肽-4、泌酸调节肽、胰高血糖素、GIP、GLP-1R/GIPR双重激动剂、GLP-1R/GCGR双重激动剂,或其衍生物。该GLP-1可以是人GLP-1。所述疾病或状况可以是代谢性疾病或病症。该疾病或状况可以是糖尿病。该疾病或状况可以是肥胖症。其

他受益于GLP-1R和/或GCGR激动剂的疾病和/或状况包括但不限于血脂异常、心血管疾病和脂肪肝疾病。

[0180] 本文进一步公开了治疗有需要的受试者的疾病或状况的方法,该方法包括向该受试者施用一种或多种mTA,其中所述一种或多种mTA中的每一种包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一半衰期延长分子(HEM);其中该治疗剂是修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉,所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺附接至第一订合钉,并且第一HEM共价附接至第一订合钉。所述疾病或状况可以是糖尿病或肥胖症,或与糖尿病或肥胖症相关的医学状况。该疾病或状况可以是非酒精性脂肪肝疾病(NAFLD)、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)或心血管疾病。该疾病或状况可以是短肠综合征(SBS)。该疾病或状况可以是炎症肠病(IBD)、炎症肠综合征(IBS)或银屑病。该疾病或状况可以是克罗恩病或溃疡性结肠炎。该疾病或状况可以是阿尔茨海默病、帕金森病或亨廷顿病。所述PLC可与一种或多种附加治疗剂一起施用。该附加治疗剂可包括一种或多种其他糖尿病药物、DPP4抑制剂、SGLT2抑制剂、降血糖药物和双胍药物、胰岛素促泌素和磺酰脲药物、TZD药物、胰岛素和胰岛素类似物、FGF21和类似物、瘦素或瘦素类似物、胰淀素和胰淀素类似物、抗炎药、环孢菌素A或FK506、5-ASA或他汀类药物,或其组合。该附加治疗剂可以是阿司匹林。

[0181] 本文提供了预防或治疗有需要的受试者的代谢性疾病或状况的方法,其包括向该受试者施用一种或多种mTA,其中所述一种或多种mTA中的每一种包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一半衰期延长分子(HEM);其中该治疗剂是修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉,所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺附接至第一订合钉,并且第一HEM共价附接至第一订合钉。所述代谢性疾病或状况可以是糖尿病。该代谢性疾病或状况可以是肥胖症。该代谢性疾病或状况可以是糖原贮积病、苯丙酮尿症、枫糖尿症、1型戊二酸血症、氨甲酰磷酸合成酶I缺乏症、尿黑酸尿症、中链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症(MCADD)、急性间歇性卟啉病、Lesch-Nyhan综合征、类脂先天性肾上腺增生症、先天性肾上腺增生症、Kearns-Sayre综合征、泽尔韦格综合征(Zellweger syndrome)、高歇氏病(Gaucher's disease)或尼曼匹克病(Niemann Pick disease)。

[0182] 本文提供了预防或治疗有需要的受试者的NAFLD、NASH或心血管疾病的方法,其包括向该受试者施用一种或多种mTA,其中所述一种或多种mTA中的每一种包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一半衰期延长分子(HEM);其中该治疗剂是修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉,所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺附接至第一订合钉,并且第一HEM共价附接至第一订合钉。

[0183] 本文提供了预防或治疗有需要的受试者的短肠综合征(SBS)的方法,其包括向该受试者施用一种或多种mTA,其中所述一种或多种mTA中的每一种包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一半衰期延长分子(HEM);其中该治疗剂是修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉,所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺附接至第一订合钉,并且第一HEM共价附接至第一订合钉。

[0184] 本文提供了预防或治疗有需要的受试者的炎性肠病 (IBD)、炎性肠综合征 (IBS) 或银屑病的方法,其包括向该受试者施用一种或多种mTA,其中所述一种或多种mTA中的每一种包含治疗剂 (TA)、第一订合钉和第一半衰期延长分子 (HEM);其中该治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉,所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺附接至第一订合钉,并且第一HEM共价附接至第一订合钉。

[0185] 本文提供了预防或治疗有需要的受试者的克罗恩病或溃疡性结肠炎的方法,其包括向该受试者施用一种或多种mTA,其中所述一种或多种mTA中的每一种包含治疗剂 (TA)、第一订合钉和第一半衰期延长分子 (HEM);其中该治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉,所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺附接至第一订合钉,并且第一HEM共价附接至第一订合钉。

[0186] 本文提供了预防或治疗有需要的受试者的阿尔茨海默病、帕金森病或亨廷顿病的方法,其包括向该受试者施用一种或多种mTA,其中所述一种或多种mTA中的每一种包含治疗剂 (TA)、第一订合钉和第一半衰期延长分子 (HEM);其中该治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉,所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺附接至第一订合钉,并且第一HEM共价附接至第一订合钉。

[0187] 本文提供了预防或治疗有需要的受试者中受益于GLP-1R和/或胰高血糖素受体 (GCGR) 激动剂的疾病或状况的方法,其包括向该受试者施用一种或多种mTA,其中所述一种或多种mTA中的每一种包含治疗剂 (TA)、第一订合钉和第一半衰期延长分子 (HEM);其中该治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉,所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺附接至第一订合钉,并且第一HEM共价附接至第一订合钉。所述疾病或状况可以是代谢性疾病或病症。该疾病或状况可以是糖尿病。该疾病或状况可以是肥胖症。其他受益于GLP-1R和/或GCGR激动剂的疾病和/或状况包括但不限于血脂异常、心血管疾病和脂肪肝疾病。

组合物

[0188] 本文公开了包含本文公开的PLC的药物组合物。该组合物可包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个PLC。该PLC可以是不同的。或者,该PLC可以是相同或相似的。该组合物可包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个PLC。该PLC可以是不同的。该PLC可以包含不同的治疗剂、不同的脂质或其组合。该PLC可以是相同或相似的。

[0189] 本文公开了包含本文公开的mTA的药物组合物。该组合物可包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个mTA。该mTA可以是不同的。或者,该mTA可以是相同或相似的。该组合物可包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个mTA。该mTA可以是不同的。该mTA可以包含不同的治疗剂、不同的HEM或其组合。该mTA可以是相同或相似的。

[0190] 本文进一步公开了包含一种或多种mTA的组合物,其中所述一种或多种mTA中的每一种均包含治疗剂 (TA)、订合钉和半衰期延长分子 (HEM)。该TA可以是修饰或未修饰的治疗肽。该TA可以经由所述修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至所述订合

钉,所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺附接至第一订合钉。所述两个氨基酸残基中的至少一个可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸残基中的至少一个可包括赖氨酸。所述组合物可进一步包含一种或多种药学上可接受的盐、赋形剂或媒介物。

[0191] 本文进一步公开了包含一种或多种mTA的组合物,其中所述一种或多种mTA中的每一种均包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一半衰期延长分子(HEM);其中该治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉,并且所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺附接至第一订合钉。所述两个氨基酸残基中的至少一个可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸残基中的至少一个可包括赖氨酸。第一HEM可共价附接至第一订合钉。所述组合物可进一步包含一种或多种药学上可接受的盐、赋形剂或媒介物。

[0192] 本文进一步公开了包含一种或多种mTA的组合物,其中所述一种或多种mTA中的每一种均包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一半衰期延长分子(HEM);其中该治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉,并且所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺附接至第一订合钉,并且第一HEM共价附接至第一订合钉。所述两个氨基酸残基中的至少一个可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸残基中的至少一个可包括赖氨酸。所述组合物可进一步包含一种或多种药学上可接受的盐、赋形剂或媒介物。

[0193] 本文进一步公开了包含一种或多种mTA的组合物,其中所述一种或多种mTA中的每一种均包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一半衰期延长分子(HEM);其中该治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉;所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺附接至第一订合钉;所述未修饰的治疗肽选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP;所述修饰的治疗肽是选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP的肽的衍生物,该衍生物为包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽;并且第一HEM共价附接至第一订合钉。所述两个氨基酸残基中的至少一个可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸残基中的至少一个可包括赖氨酸。所述组合物可进一步包含一种或多种药学上可接受的盐、赋形剂或媒介物。

[0194] 本文进一步公开了包含一种或多种mTA的组合物,其中所述一种或多种mTA中的每一种均包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一半衰期延长分子(HEM);其中该治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉;所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺附接至第一订合钉;第一HEM共价附接至第一订合钉;并且第一HEM包含脂质、聚二醇区或其组合。所述两个氨基酸残基中的至少一个可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸残基中的至少一个可包括赖氨酸。所述组合物可进一步包含一种或多种药学上可接受的盐、赋形剂或媒介物。

[0195] 本文进一步公开了包含一种或多种mTA的组合物,其中所述一种或多种mTA中的每一种均包含治疗剂(TA)、第一订合钉和第一半衰期延长分子(HEM);其中该治疗剂为修饰或未修饰的治疗肽,该修饰或未修饰的治疗肽经由该修饰或未修饰的治疗肽上的两个氨基酸残基而共价附接至第一订合钉;所述两个氨基酸残基中的每一个具有含胺侧链以供通过形成酰胺附接至第一订合钉;所述未修饰的治疗肽选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP;所述修饰的治疗肽是选自GLP-1、胰高血糖素、泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、GLP-2和GIP的肽的衍生物,该衍生物为包含一个或多个氨基酸添加、缺失或置换或其组合的肽;第一HEM共价附接至第一订合钉;并且第一HEM包含脂质、聚二醇区或其组合。所述两个氨基酸残基中的至少一个可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸残基中的至少一个可包括赖氨酸。所述组合物可进一步包含一种或多种药学上可接受的盐、赋形剂或媒介物。

[0196] 本文公开了包含一种或多种PLC的组合物,其中所述一种或多种肽脂质缀合物(PLC)包含(a)一个或多个脂质;和(b)一个或多个肽缀合物(PC),该肽缀合物(PC)包含含有一个或多个肽治疗剂(TA)的肽区以及含有一个或多个订合钉的订合钉区,所述一个或多个订合钉通过与来自所述肽区中两个或更多个残基中每一个的含胺侧链形成酰胺而连接所述两个或更多个残基,其中所述一个或多个脂质附接至所述一个或多个订合钉。所述两个或更多个残基中的至少一个可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述肽区中的两个或更多个残基可包括赖氨酸。在一些情况下,所述两个或更多个残基中的至少一个是赖氨酸。在一些情况下,所述两个或更多个残基中的至少两个是赖氨酸。所述组合物可进一步包含一种或多种药学上可接受的盐、赋形剂或媒介物。

[0197] 本文进一步公开了包含一种或多种PLC的组合物,其中所述一种或多种肽脂质缀合物(PLC)包含(a)一个或多个脂质,该脂质选自甾醇、甾醇衍生物、胆汁酸、维生素E衍生物、脂肪二酸、脂肪酸、脂肪酰胺和脂肪醇;和(b)一个或多个肽缀合物(PC),该肽缀合物包含含有一个或多个肽治疗剂(TA)的肽区以及含有一个或多个订合钉的订合钉区,所述一个或多个订合钉通过与来自所述肽区中两个或更多个残基中每一个的含胺侧链形成酰胺而连接所述两个或更多个残基,其中所述一个或多个脂质附接至所述一个或多个订合钉。所述两个或更多个残基中的至少一个可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述肽区中的两个或更多个残基可包括赖氨酸。在一些情况下,所述两个或更多个残基中的至少一个是赖氨酸。在一些情况下,所述两个或更多个残基中的至少两个是赖氨酸。所述组合物可进一步包含一种或多种药学上可接受的盐、赋形剂或媒介物。

[0198] 本文进一步公开了包含一种或多种PLC的组合物,其中所述一种或多种肽脂质缀合物(PLC)包含(a)一个或多个脂质;和(b)一个或多个肽缀合物(PC),其中该肽缀合物包含含有一个或多个肽治疗剂(TA)的肽区以及含有一个或多个订合钉的订合钉区,所述一个或多个订合钉通过与来自所述肽区中两个或更多个残基中每一个的含胺侧链形成酰胺而连接所述两个或更多个残基,所述一个或多个肽治疗剂包括一个或多个泌酸调节肽、毒蜥外泌肽-4、胰高血糖素样蛋白-1(GLP-1)、GLP-2、GIP、GLP-1R/GIPR双重激动剂、GLP-1R/GCGR双重激动剂或胰高血糖素,其中所述一个或多个脂质附接至所述一个或多个订合钉。所述两个或更多个残基中的至少一个可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述肽区中的两个或更多个残基可包括赖氨酸。在一些情况下,所述两个或更多个残基

中的至少一个是赖氨酸。在一些情况下,所述两个或更多个残基中的至少两个是赖氨酸。所述组合物可进一步包含一种或多种药学上可接受的盐、赋形剂或媒介物。

[0199] 本文进一步公开了包含一种或多种式(I)肽脂质缀合物(PLC)的组合物。所述两个氨基酸残基中的至少一个可包括赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸。所述两个氨基酸残基中的至少一个可包括赖氨酸。所述肽区中的两个氨基酸残基可包括赖氨酸。本文公开的组合物可进一步包含一种或多种药学上可接受的盐、赋形剂或媒介物。药学上可接受的盐、赋形剂或媒介物可包括载体、赋形剂、稀释剂、抗氧化剂、防腐剂、着色剂、调味剂和稀释剂、乳化剂、悬浮剂、溶剂、填充剂、膨胀剂、缓冲液、递送媒介物、张度剂、共溶剂、润湿剂、络合剂、缓冲剂、抗微生物剂和表面活性剂。

[0200] 中性缓冲盐水或混有血清白蛋白的盐水是示例性的合适的载体。所述药物组合物可以包含抗氧化剂,如抗坏血酸;低分子量多肽;蛋白质,如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,如EDTA;糖醇,如甘露糖醇或山梨糖醇;成盐平衡离子,如钠;和/或非离子型表面活性剂,如吐温(Tween)、普朗尼克(pluronic)或聚乙二醇(PEG)。还举例来说,合适的张度增强剂包括碱金属卤化物(优选氯化钠或氯化钾)、甘露糖醇、山梨糖醇等。合适的防腐剂包括苯扎氯铵、硫柳汞、苯乙醇、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、氯己定、山梨酸等。过氧化氢也可以用作防腐剂。合适的共溶剂包括甘油、丙二醇和PEG。合适的络合剂包括咖啡因、聚乙烯吡咯烷酮、 β -环糊精或羟基-丙基- β -环糊精。合适的表面活性剂或润湿剂包括失水山梨醇酯、聚山梨醇酯如聚山梨醇酯80、氨基丁三醇、卵磷脂、胆固醇、四丁酚醛(tyloxapal)等。缓冲液可以是常规缓冲液,如乙酸盐、硼酸盐、柠檬酸盐、磷酸盐、碳酸氢盐或Tris-HCl。乙酸盐缓冲液可以是大约pH 4-5.5,而Tris缓冲液可以是大约pH 7-8.5。另外的药剂在Remington's Pharmaceutical Sciences,第18版,A.R.Gennaro,ed.,Mack Publishing Company,1990中阐述。

[0201] 所述组合物可以是液体形式或是冻干或冷冻干燥形式,并可以包含一种或多种冻干保护剂、赋形剂、表面活性剂、高分子量结构添加剂和/或膨胀剂(参见,例如,美国专利6,685,940、6,566,329和6,372,716)。在一个实施方案中,包含冻干保护剂,其为非还原糖如蔗糖、乳糖或海藻糖。通常包含的冻干保护剂的量使得经重建后,所得制剂将是等渗的,尽管高渗或略微低渗的制剂也可能是合适的。此外,冻干保护剂的量应足以防止蛋白质在冻干时不可接受的程度的降解和/或聚集。预冻干制剂中的糖(例如,蔗糖、乳糖、海藻糖)的示例性冻干保护剂浓度为约10mM至约400mM。在另一个实施方案中,包含表面活性剂,例如,非离子型表面活性剂和离子型表面活性剂如聚山梨醇酯(例如,聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80);泊洛沙姆(例如,泊洛沙姆188);聚(乙二醇)苯基醚(例如,Triton);十二烷基硫酸钠(SDS);月桂基硫酸钠;辛基糖苷钠(sodium octyl glycoside);月桂基-、肉豆蔻基-、亚油基-或硬脂基-磺基甜菜碱;月桂基-、肉豆蔻基-、亚油基-或硬脂基-肌氨酸;亚油基-、肉豆蔻基-或鲸蜡基-甜菜碱;月桂酰胺丙基-、椰油酰胺丙基(cocamidopropyl)-、亚油酰胺丙基-、肉豆蔻酰胺丙基-、棕榈酰胺丙基-或异硬脂酰胺丙基-甜菜碱(例如,月桂酰胺丙基);肉豆蔻酰胺丙基-、棕榈酰胺丙基-或异硬脂酰胺丙基-二甲基胺;甲基椰油基牛磺酸钠或甲基油酰基(ofeyl)牛磺酸二钠;和MONAQUAT™系列(Mona Industries, Inc., Paterson,

N.J.)、聚乙二醇、聚丙二醇,和乙二醇和丙二醇的共聚物(例如,普朗尼克(Pluronic)、PF68等)。可以存在于预冻干制剂中的表面活性剂的示例量为约0.001-0.5%。高分子量结构添加剂(例如,填充剂、粘合剂)可包括,例如,阿拉伯胶、白蛋白、藻酸、磷酸钙(二碱式)、纤维素、羧甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、微晶纤维素、葡聚糖、糊精、葡萄糖结合剂、蔗糖、侵填体(tylose)、预胶化淀粉、硫酸钙、直链淀粉、甘氨酸、膨润土、麦芽糖、山梨糖醇、乙基纤维素、磷酸氢二钠、磷酸二钠、焦亚硫酸二钠、聚乙烯醇、明胶、葡萄糖、瓜尔胶、液体葡萄糖、可压缩糖、硅酸镁铝、麦芽糖糊精、聚环氧乙烷、聚甲基丙烯酸酯、聚维酮、藻酸钠、黄蓍胶、微晶纤维素、淀粉和玉米醇溶蛋白。高分子量结构添加剂的示例浓度为0.1重量%至10重量%。在其他实施方案中,可以包含膨胀剂(例如,甘露糖醇、甘氨酸)。

[0202] 组合物可以适合于肠胃外给药。示例性组合物适合于通过技术人员可用的任何途径注射或输注到动物中,该途径例如是关节内、皮下、静脉内、肌肉内、腹膜内、脑内(脑实质内)、脑室内、肌肉内、眼内、动脉内或病灶内途径。肠胃外制剂通常可以是无菌的、无热原的、等渗的水溶液,任选地含有药学上可接受的防腐剂。

[0203] 非水性溶剂的实例是丙二醇、聚乙二醇、植物油如橄榄油和可注射有机酯如油酸乙酯。水性载体包括水、醇溶液/水溶液、乳液或悬浮液,包括盐水和缓冲的介质。肠胃外媒介物包括氯化钠溶液、林格氏(Ringers')右旋糖、右旋糖和氯化钠、乳酸林格氏液或不挥发油。静脉内媒介物包括流体和营养补充剂、电解质补充剂,例如基于林格氏右旋糖的那些,等等。还可以存在防腐剂和其他添加剂,例如抗微生物剂、抗氧化剂、螯合剂、惰性气体等。总体上参见Remington's Pharmaceutical Science, 16th Ed., Mack Eds., 1980。

[0204] 本文描述的药物组合物可以以提供产品的局部浓度(例如,团注、贮库型(depot)效果)和/或提高在特定局部环境中的稳定性或半衰期的方式配制用于控制的或持续的递送。该组合物可包括以下成分的制剂:本文公开的mTA、PLC、多肽、核酸或载体,与诸如聚乳酸、聚乙醇酸等聚合化合物的颗粒制品,以及诸如可生物降解的基质、可注射微球、微囊颗粒、微囊、可生物降解的颗粒珠、脂质体等试剂,和提供活性剂的控制或持续释放的可植入递送装置,其随后可以作为贮库型注射剂递送。用于配制此类持续或控制递送装置的技术是已知的,并且已经开发和使用多种聚合物用于药物的控制释放和递送。这类聚合物一般是可生物降解的和生物相容的。聚合物水凝胶,包括通过对映体聚合物或多肽片段的复合而形成的聚合物水凝胶,以及具有温度或pH敏感性质的水凝胶,由于参与捕获生物活性蛋白剂(例如,包含超长CDR3的抗体)的温和和水性条件,可以是提供药物贮库型效果所期望的。参见,例如,WO 93/15722中用于递送药物组合物的控制释放多孔聚合物微粒的描述。

[0205] 用于此目的的合适的材料包括聚交酯(参见,例如美国专利3,773,919),聚-(α -羧基羧酸)的聚合物,如聚-D-(-)-3-羟基丁酸(EP133,988A)、L-谷氨酸和 γ -乙基-L-谷氨酸酯的共聚物(Sidman等人,Biopolymers, 22:547-556 (1983))、聚(2-羟乙基-甲基丙烯酸酯)(Langer等人,J.Biomed.Mater.Res., 15:167-277 (1981),和Langer,Chem.Tech., 12:98-105 (1982))、乙烯乙酸乙烯酯或聚-D-(-)-3-羟基丁酸。其他可生物降解的聚合物包括聚(内酯)、聚(缩醛)、聚(原酸酯)和聚(原碳酸酯)。持续释放组合物还可以包含脂质体,其可以通过本领域已知的若干种方法中的任一种(参见,例如,Eppstein等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 82:3688-92 (1985))制备。载体本身或其降解产物在靶组织内应

是无毒的并且不应进一步加剧病情。这可以在目标病症的动物模型中,或者如果此类模型无法获得,则在正常动物中,通过常规筛查来确定。

[0206] 用于持续释放的重组蛋白的微囊化已经使用人生长激素(rhGH)、干扰素-(rhIFN-)、白细胞介素-2和MN rgp120成功地进行。Johnson等人,Nat.Med.,2:795-799 (1996);Yasuda,Biomed.Ther.,27:1221-1223 (1993);Hora等人,Bio/Technology.8:755-758 (1990);Cleland,"Design and Production of Single Immunization Vaccines Using Polylactide Polyglycolide Microsphere Systems,"in Vaccine Design:The Subunit and Adjuvant Approach,Powell and Newman,eds,(Plenum Press:New York, 1995),pp.439-462;WO 97/03692,WO 96/40072,WO 96/07399;和美国专利5,654,010。由于其生物相容性和宽范围的可生物降解性质,使用聚-乳酸-共-乙醇酸(PLGA)聚合物开发这些蛋白质的持续释放制剂。PLGA的降解产物乳酸和乙醇酸可以在人体内快速清除。而且,此聚合物的可降解性可以取决于其分子量和组成。Lewis,"Controlled release of bioactive agents from lactide/glycolide polymer,"in:M.Chasin and R.Langer (Eds.),Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems(Marcel Dekker:New York,1990,pp.1-41)。持续释放组合物的其他实例包括,例如,EP 58,481A,美国专利3,887,699,EP 158,277A,加拿大专利1176565,U.Sidman等人,Biopolymers 22,547 (1983),R.Langer等人,Chem.Tech.12,98 (1982),Sinha等人,J.Control.Release 90,261 (2003),Zhu等人,Nat.Biotechnol.18,24 (2000),和Dai等人,Colloids Surf B Biointerfaces 41,117 (2005)。

[0207] 也考虑生物粘附性聚合物用于本公开内容的组合物中或与本公开内容的组合物一起使用。生物粘附性材料是能够附着到生物基底上保持延长的时间段合成的和天然存在的材料。例如,卡波姆(Carbopol)和聚卡波非都是聚(丙烯酸)的合成交联衍生物。基于天然存在的物质的生物粘附性递送系统包括例如透明质酸,也称为乙酰透明质酸(hyaluronan)。透明质酸是由D-葡萄糖醛酸和N-乙酰基-葡萄糖胺的残基组成的天然存在的粘多糖。透明质酸见于脊椎动物的细胞外组织基质中,包括结缔组织中,以及滑液中和眼的玻璃体液和房水中。透明质酸的酯化衍生物已经用于生产用于递送的生物相容和可生物降解的微球(参见,例如,Cortivo等人,Biomaterials (1991) 12:727-730;EP 517,565;WO 96/29998;Illum等人,J.Controlled Rel. (1994) 29:133-141)。

[0208] 可生物降解和不可生物降解的聚合物基质均可用于递送本公开内容的组合物,并且这些聚合物基质可以包含天然或合成聚合物。可生物降解的基质是优选的。释放发生所经过的时间段取决于聚合物的选择。通常,经过数小时至3到12个月的时间段的释放是最理想的。可以用于形成可生物降解的递送系统的示例性合成聚合物包括:乳酸和乙醇酸的聚合物、聚酰胺、聚碳酸酯、聚亚烷基、聚亚烷基二醇、聚环氧烷、聚对苯二甲酸亚烷基酯、聚乙烯醇、聚乙烯基醚、聚乙烯基酯、聚乙烯基卤化物、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙交酯、聚硅氧烷、聚酞、聚氨酯及其共聚物、聚(丁酸)、聚(戊酸)、烷基纤维素、羟烷基纤维素、纤维素醚、纤维素酯、硝基纤维素、丙烯酸酯和甲基丙烯酸酯的聚合物、甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟丁基甲基纤维素、乙酸纤维素、丙酸纤维素、乙酸丁酸纤维素、乙酸邻苯二甲酸纤维素、羧乙基纤维素、三乙酸纤维素、硫酸纤维素钠盐、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚(甲基丙烯酸乙酯)、聚(甲基丙烯酸丁酯)、聚(甲基丙烯酸异丁酯)、聚(甲基丙烯酸

己酯)、聚(甲基丙烯酸异癸酯)、聚(甲基丙烯酸月桂酯)、聚(甲基丙烯酸苯酯)、聚(丙烯酸甲酯)、聚(丙烯酸异丙酯)、聚(丙烯酸异丁酯)、聚(丙烯酸十八烷基酯)、聚乙烯、聚丙烯、聚(乙二醇)、聚(环氧乙烷)、聚(对苯二甲酸乙二醇酯)、聚(乙烯醇)、聚乙酸乙烯酯、聚氯乙烯、聚苯乙烯和聚乙烯吡咯烷酮(polymers of lactic acid and glycolic acid, polyamides, polycarbonates, polyalkylenes, polyalkylene glycols, polyalkylene oxides, polyalkylene terephthalates, polyvinyl alcohols, polyvinyl ethers, polyvinyl esters, poly-vinyl halides, polyvinylpyrrolidone, polyglycolides, polysiloxanes, polyanhydrides, polyurethanes and co-polymers thereof, poly(butic acid), poly(valeric acid), alkyl cellulose, hydroxyalkyl celluloses, cellulose ethers, cellulose esters, nitro celluloses, polymers of acrylic and methacrylic esters, methyl cellulose, ethyl cellulose, hydroxypropyl cellulose, hydroxypropyl methyl cellulose, hydroxybutyl methyl cellulose, cellulose acetate, cellulose propionate, cellulose acetate butyrate, cellulose acetate phthalate, carboxyethyl cellulose, cellulose triacetate, cellulose sulphate sodium salt, poly(methyl methacrylate), poly(ethyl methacrylate), poly(butylmethacrylate), poly(isobutyl methacrylate), poly(hexylmethacrylate), poly(isodecyl methacrylate), poly(lauryl methacrylate), poly(phenyl methacrylate), poly(methyl acrylate), poly(isopropyl acrylate), poly(isobutyl acrylate), poly(octadecyl acrylate), polyethylene, polypropylene, poly(ethylene glycol), poly(ethylene oxide), poly(ethylene terephthalate), poly(vinyl alcohols), polyvinyl acetate, poly vinyl chloride, polystyrene and polyvinylpyrrolidone.)。示例性天然聚合物包括藻酸盐和其他多糖,包括葡聚糖和纤维素、胶原、其化学衍生物(化学基团如烷基、亚烷基的取代、添加,羟基化,氧化,和本领域技术人员常规进行的其他修饰)、白蛋白和其他亲水性蛋白质、玉米醇溶蛋白和其他谷醇溶蛋白和疏水性蛋白质、其共聚物和混合物。通常,这些材料通过酶水解或在体内暴露于水,通过表面或本体溶蚀而降解。聚合物任选地是水凝胶的形式(参见,例如WO 04/009664,WO 05/087201,Sawhney等人,Macromolecules,1993,26,581-587),该水凝胶可以吸收高达其在水中的重量的大约90%,并进一步任选地与多价离子或其他聚合物交联。

[0209] 递送系统还包括是脂质的非聚合物体系,该脂质包括甾醇如胆固醇、胆固醇酯和脂肪酸或中性脂肪如甘油单酯、甘油二酯和甘油三酯;水凝胶释放体系;硅橡胶体系;肽基体系;蜡涂层;使用常规粘合剂和赋形剂的压缩片剂;部分融合的植入物;等等。具体的实例包括但不限于:(a)溶蚀体系,其中产物以一种形式包含在基质中,例如在美国专利4,452,775、4,675,189和5,736,152中描述的那些,和(b)扩散体系,其中产物以受控的速率从聚合物中透过,例如在美国专利3,854,480、5,133,974和5,407,686中所描述的。包含产物的脂质体可以通过已知的方法制备,例如(DE 3,218,121;Epstein等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,82:3688-3692(1985);Hwang等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,77:4030-4034(1980);EP 52,322;EP 36,676;EP 88,046;EP 143,949;EP 142,641;JP 83-118008;美国专利4,485,045和4,544,545;和EP 102,324)。

[0210] 可替代地,或另外地,所述组合物可以通过向患区中植入本文公开的PLC、mTA、核

酸或载体已经吸附或包封于其上的膜、海绵或其他合适的物质而局部施用。当使用植入装置时,该装置可以植入到任何合适的组织或器官中,并且本文公开的包含超长CDR3抗体片段的抗体、核酸或载体的递送可以经由团注或经由连续施用或经由使用连续输注的导管通过该装置直接进行。

[0211] 包含本文公开的PLC、mTA、核酸或载体的药物组合物可以配制用于吸入,例如作为干粉。也可以在液化推进剂中配制吸入溶液以供气雾剂递送。在又一种制剂中,溶液可以雾化。用于肺给药的其他药物组合物包括例如在WO 94/20069中描述的那些,该申请公开了化学修饰的蛋白质的肺递送。对于肺递送,颗粒大小应适于递送至肺远侧。例如,颗粒大小可以是1 μ m至5 μ m;但是,可以使用更大的颗粒,例如,如果每个颗粒是相当多孔的话。

[0212] 一些含有包含本文公开的PLC、mTA、核酸或载体的抗体的制剂可以口服施用。以这种方式施用的制剂可以采用在固体剂型如片剂和胶囊的复合中惯常使用的载体或不采用这类载体来配制。例如,可以将胶囊设计成在胃肠道中的某点释放制剂的活性部分,这时生物利用度得到最大化且系统前降解得到最小化。可以包含另外的试剂以促进选择性结合剂的吸收。还可以使用稀释剂、调味剂、低熔点蜡、植物油、润滑剂、悬浮剂、片剂崩解剂和粘合剂。

[0213] 另一种制剂可以包含与适于制造片剂的无毒赋形剂混合的有效量的抗体,该抗体包含本文公开的PLC、mTA、核酸或载体。通过将片剂溶解在无菌水中,或另外的合适媒介物中,可以以单位剂量的形式制备溶液。合适的赋形剂包括但不限于:惰性稀释剂,如碳酸钙、碳酸钠或碳酸氢钠、乳糖或磷酸钙;或粘合剂,如淀粉、明胶或阿拉伯胶;或润滑剂,如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石。

[0214] 基于本公开内容和配制技术的常识,根据拟定的给药途径、递送形式和所需剂量,可以确定合适的和/或优选的药物制剂。无论给药方式如何,可以根据患者体重、体表面积或器官大小来计算有效剂量。对于涉及本文描述的各制剂的治疗,用于确定其适当剂量的计算的进一步细化在本领域中常规进行,并且处于本领域中常规实施的任务的范围内。适当的剂量可以通过使用合适的剂量-响应数据来确定。

载体(vector)、宿主细胞和重组方法

[0215] 如本文公开的TA可通过重组方法进行表达。通常,可分离编码TA的核酸并将其插入到可复制的载体中,以供进一步克隆(DNA的扩增)或表达。编码TA的DNA可通过PCR扩增来制备,并使用常规程序(例如,通过使用能够与编码TA的核苷酸特异性结合的寡核苷酸探针)进行测序。在示例性的实施方案中,对编码TA的核酸进行PCR扩增、限制性内切酶消化和凝胶纯化。可将消化的DNA插入到可复制的载体中。含有消化的DNA插入的可复制的载体可以转化或转导至宿主细胞中,以供进一步克隆(DNA的扩增)或表达。宿主细胞可以是原核或真核细胞。

[0216] 可通过采用重叠寡核苷酸引物的PCR扩增获得编码本文公开的mTA或PLC的多肽组分的多核苷酸序列。可从产生TA的细胞中分离多核苷酸序列并测序。或者,可使用核苷酸合成仪或PCR技术合成多核苷酸。一旦获得,就将编码多肽的序列插入到能够在原核和/或真核宿主中复制并表达异源多核苷酸的重组载体中。

[0217] 此外,与宿主微生物相容的含有复制子和控制序列的噬菌体载体可用作与这些宿主关联的转化载体。例如,噬菌体如 λ GEMTM-11可用于制备重组载体,该重组载体可用于转化

易感的宿主细胞如大肠杆菌LE392。

[0218] TA可在细胞内(例如,细胞质)或细胞外(例如,分泌)表达。对于细胞外表达,载体可包含能够使TA易位到细胞外部的分泌信号。

[0219] 用于克隆或表达编码TA的载体的合适的宿主细胞包括原核或真核细胞。该宿主细胞可以是真核细胞。真核细胞的实例包括但不限于,人胚肾(HEK)细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、真菌、酵母、无脊椎动物细胞(例如,植物细胞和昆虫细胞)、淋巴样细胞(例如,YO、NSO、Sp20细胞)。合适的哺乳动物宿主细胞系的其他实例为用SV40转化的猴肾CV1系(COS-7);幼仓鼠肾细胞(BHK);小鼠塞尔托利(Sertoli)细胞;猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK);布法罗大鼠(buffalo rat)肝细胞(BRL 3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(HepG2);小鼠乳房肿瘤(MMT 060562);TR1细胞;MRC 5细胞;和FS4细胞。该宿主细胞可以是原核细胞(例如,大肠杆菌)。

[0220] 宿主细胞可以用含有编码TA的核苷酸的载体转化。转化的宿主细胞可以在培养基中培养。该培养基可补充有一种或多种试剂,以用于诱导启动子、选择转化体或扩增或表达编码所需序列的基因。用于转化宿主细胞的方法是本领域已知的,并且可包括电穿孔、氯化钙或聚乙二醇/DMSO。

[0221] 或者,宿主细胞可以用含有编码TA的核苷酸的载体转染或转导。转染或转导的宿主细胞可以在培养基中培养。该培养基可补充有一种或多种试剂,以用于诱导启动子、选择转染或转导的细胞或表达编码所需序列的基因。

[0222] 表达的TA可分泌至宿主细胞的周质,并从中回收,或转运至培养基中。从周质中回收蛋白质可包括使宿主细胞破裂。使宿主细胞破裂可包括渗透压振荡、超声处理或裂解。可利用离心或过滤去除细胞碎片或整个细胞。例如,可通过亲和树脂色谱法进一步纯化TA。

[0223] 或者,分泌至培养基中的TA可在其中进行分离。可从培养物中去除细胞,并将培养物上清液过滤和浓缩,以用于产生的蛋白质的进一步纯化。可使用通常已知的方法如聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)和Western印迹分析进一步分离并鉴定所表达的多肽。

[0224] 可通过发酵方法大量地进行TA的生产。不同的大规模分批补料发酵程序可用于重组蛋白的生产。大规模发酵具有至少1000升的容量,优选约1,000至100,000升的容量。这些发酵罐使用搅拌器叶轮来分配氧气和营养物,尤其是葡萄糖(一种优选的碳源/能量来源)。小规模发酵通常是指在容积容量不大于约100升,并且范围可为约1升至约100升的发酵罐中的发酵。

[0225] 在发酵工艺中,通常在细胞已经在合适的条件下生长至所需的密度例如约180-220的OD550(在该阶段细胞处于早期的稳定期)后启动对蛋白质表达的诱导。根据采用的载体构建体,可以使用多种诱导物,如本领域已知的以及上文描述的。诱导之前细胞可生长较短的时间段。细胞通常诱导约12-50个小时,尽管可以使用更长或更短的诱导时间。

[0226] 为了改善本文公开的TA的产率和质量,可改变各种发酵条件。例如,为了改善分泌的TA多肽的适当装配和折叠,超表达伴侣蛋白如Dsb蛋白(DsbA、DsbB、DsbC、DsbD和或DsbG)或FkpA(一种具有伴侣活性的肽基脯氨酰顺式,反式-异构酶)的附加载体可用于共转化宿主原核细胞。已经证明,伴侣蛋白有利于在细菌宿主细胞中产生的异源蛋白质的适当折叠和溶解性。

[0227] 为了最小化表达的异源蛋白质(尤其是对蛋白水解敏感的那些蛋白质)的蛋白水

解,某些缺乏蛋白水解酶的宿主菌株可用于本发明。例如,可对宿主细胞菌株进行修饰以在编码已知细菌蛋白酶如蛋白酶III、OmpT、DegP、Tsp、蛋白酶I、蛋白酶Mi、蛋白酶V、蛋白酶VI及其组合的基因中产生基因突变。一些缺乏大肠杆菌蛋白酶的菌株是可用的。

[0228] 可以采用本领域已知的标准蛋白质纯化方法。以下程序是合适的纯化程序的示例:在免疫亲和或离子交换柱上分级分离、乙醇沉淀、反相HPLC、二氧化硅或阳离子交换树脂如DEAE上的层析、层析聚焦、SDS-PAGE、硫酸铵沉淀、羟基磷灰石层析、凝胶电泳、透析和亲和层析以及使用例如Sephadex G-75的凝胶过滤。

[0229] 可以使用可商购的蛋白质浓缩过滤器,例如,Amicon或Millipore Pellicon[®]超滤单元对TA进行浓缩。

[0230] 蛋白酶抑制剂或蛋白酶抑制剂混合物可包含在任一前述步骤中以抑制TA的蛋白水解。

[0231] 在一些情况下,TA或其片段一经分离便可能不具有生物活性。用于将多肽“重折叠”或转化为其三级结构和生成二硫键的不同方法可用于恢复生物活性。这样的方法包括将溶解的多肽暴露于通常在7以上的pH并且在特定浓度的离液剂的存在下。离液剂的选择非常类似于用于包涵体溶解的选择,但通常离液剂在较低浓度下使用,而不必与用于溶解的离液剂相同。在大多数情况下,重折叠/氧化溶液还将含有还原剂或特定比例的该还原剂加上其氧化形式以生成特定的氧化还原电位,以允许在蛋白质的半胱氨酸桥的形成中发生二硫键改组(disulfide shuffling)。一些常用的氧化还原电对包括半胱氨酸/胱胺、谷胱甘肽(GSH)/二硫代双GSH、氯化铜、二硫苏糖醇(DTT)/二噻烷DTT和2-巯基乙醇(bME)/二硫代-b(ME)。在许多情况下,可使用共溶剂来提高重折叠的效率,并且用于该目的的常见试剂包括甘油、各种分子量的聚乙二醇、精氨酸等。

药剂盒/制品

[0232] 作为另一方面,本发明包括药剂盒,该药剂盒包含以促进其用于实施本发明的方法的用途的方式包装的一种或多种化合物或组合物。在一个实施方案中,这样的药剂盒包括包装在容器中的本文中描述的化合物或组合物(例如,单独的或与第二药剂组合的PLC或mTA),具有贴附至容器上的标签或包装插页,其描述该化合物或组合物在实施该方法中的应用。合适的容器包括,例如,瓶、小瓶、注射器等。容器可以由多种材料如玻璃或塑料形成。容器可以具有无菌进入孔(例如,容器可以是静脉内溶液袋或具有可被皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。制品可以包含(a)其中容纳有组合物的第一容器,其中该组合物包含如本文公开的PLC或mTA;和(b)其中容纳有组合物的第二容器,其中该组合物包含其他治疗剂。本文公开的该实施方案中的制品可以进一步包含指示第一和第二组合物可以用于治疗特定状况的包装插页。可替代地,或另外地,该制品可以进一步包含第二(或第三)容器,该容器包含药学上可接受的缓冲剂,例如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液和右旋糖溶液。还可包括从商业和用户角度出发所希望的其他材料,包括其他缓冲液、稀释剂、过滤器、针和注射器。优选地,所述化合物或组合物以单位剂型包装。所述药剂盒还可包括适于根据具体的给药途径施用组合物或实施筛查试验的装置。优选地,所述药剂盒包括描述PLC或mTA的组合物的应用的标签。

[0233] 在某些实施方案中,包含抗体的组合物按照常规程序配制为适于静脉内施用至哺乳动物如人、牛、猫、犬和鼠的药物组合物。一般而言,用于静脉内给药的组合物是在无菌等

渗水性缓冲液中的溶液。当需要时,该组合物还可以包含增溶剂和局部麻醉剂如利多卡因以减轻注射部位的疼痛。通常,成分分开供应或混合在一起以单位剂型供应,例如,作为在指示活性剂的量的密封容器如安瓿或小药囊(sachette)中的干冻干粉或无水浓缩物。当通过输注施用组合物时,其可以用含有无菌药物级水或盐水的输注瓶分配。当通过注射施用组合物时,可以提供无菌注射用水或盐水的安瓿以使成分可以在给药前混合。

[0234] 在治疗、抑制和预防与治疗性蛋白质的异常表达和/或活性相关的疾病或病症中会有效的本文描述的组合物可以通过标准临床技术确定。此外,可以任选地利用体外试验来帮助确定最佳剂量范围。待在制剂中使用的确切剂量还将取决于给药途径以及疾病或病症的严重程度,并应根据医师的判断和每个患者的情况来确定。从得自体外或动物模型测试系统的剂量-响应曲线外推得出有效剂量。

定义

[0235] 除非另有说明,否则如本文所使用的下列术语具有以下含义:

[0236] “氨基”是指-NH₂基团。

[0237] “羟基(Hydroxy或hydroxyl)”是指-OH基团。

[0238] “硝基”是指-NO₂基团。

[0239] “氧代”是指=O取代基。

[0240] “肟”是指=N-OH取代基。

[0241] “烷基”是指直链或支链的烃链基团,具有1至30个碳原子,并且通过单键与分子的其余部分连接。涵盖包含1至30个中的任何数目的碳原子的烷基。包含最多30个碳原子的烷基被称为C₁-C₃₀烷基,类似地,例如,包含最多12个碳原子的烷基为C₁-C₁₂烷基。包含其他数目的碳原子的烷基(和本文所定义的其他部分)以相似的方式表示。烷基包括但不限于C₁-C₃₀烷基、C₁-C₂₀烷基、C₁-C₁₅烷基、C₁-C₁₀烷基、C₁-C₈烷基、C₁-C₆烷基、C₁-C₄烷基、C₁-C₃烷基、C₁-C₂烷基、C₂-C₈烷基、C₃-C₈烷基和C₄-C₈烷基。代表性的烷基包括但不限于甲基、乙基、正丙基、1-甲基乙基(异丙基)、正丁基、异丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基乙基(叔丁基)、3-甲基己基、2-甲基己基、乙烯基、烯丙基、丙炔基等等。包含不饱和键的烷基包括烯基和炔基。除非在说明书中另外具体说明,烷基可任选地如下所述被取代。

[0242] “亚烷基”或“亚烷基链”是指如以上针对烷基所述的直链或支链的二价烃链。除非在说明书中另外具体说明,亚烷基可任选地如下所述被取代。

[0243] “烷氧基”是指式-OR_a的基团,其中R_a为如上定义的烷基。除非在说明书中另外具体说明,烷氧基可任选地如下所述被取代。

[0244] “芳基”是指由包含氢、6至30个碳原子和至少一个芳环的烃环体系衍生的基团。该芳基可以是单环、双环、三环或四环环系,其可包括稠合或桥接的环系。芳基包括但不限于由醋蒽烯、茕、醋菲烯、蒽、蒽、苯、~~蒽~~、荧蒽、茛、不对称引达省、对称引达省、茛满、茛、蔡、非那烯、菲、七曜烯、茛和苯并菲(aceanthrylene, acenaphthylene, acephenanthrylene, anthracene, azulene, benzene, chrysene, fluoranthene, fluorene, as-indacene, s-indacene, indane, indene, naphthalene, phenalene, phenanthrene, pleiadene, pyrene, and triphenylene)的烃环体系衍生的芳基。除非在说明书中另外具体说明,术语“芳基”或前缀“芳”(如在“芳烷基”中)意在包括任选取代的芳基。

[0245] “环烷基”或“碳环”是指稳定的、非芳族的单环或多环碳环状环,其可包括稠合或

桥接的环系,其为饱和或不饱和的。代表性的环烷基或碳环包括但不限于,具有3至15个碳原子、3至10个碳原子、3至8个碳原子、3至6个碳原子、3至5个碳原子或3至4个碳原子的环烷基。单环环烷基或碳环包括,例如,环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。多环的环烷基或碳环包括,例如,金刚烷基、降冰片基、十氢化萘基、双环[3.3.0]辛烷、双环[4.3.0]壬烷、顺式十氢化萘、反式十氢化萘、双环[2.1.1]己烷、双环[2.2.1]庚烷、双环[2.2.2]辛烷、双环[3.2.2]壬烷和双环[3.3.2]癸烷和7,7-二甲基-双环[2.2.1]庚烷基。除非在说明书中另外具体说明,环烷基或碳环基团可任选地被取代。

[0246] “稠合的”是指与存在的环结构稠合的本文所述的任何环结构。当稠环为杂环基环或杂芳基环时,在成为稠合的杂环基环或稠合的杂芳基环的一部分的所述存在的环结构上的任何碳原子可被氮原子所替代。

[0247] “卤代”或“卤素”是指溴、氯、氟或碘。

[0248] “卤代烷基”是指被如上所定义的一个或多个卤素基团取代的如上所定义的烷基,例如,三氟甲基、二氟甲基、氟甲基、三氯甲基、2,2,2-三氟乙基、1,2-二氟乙基、3-溴-2-氟丙基、1,2-二溴乙基等。除非在说明书中另外具体说明,卤代烷基可任选地被取代。

[0249] 类似地,“卤代烷氧基”是指式-OR_a的基团,其中R_a为如上所定义的卤代烷基。除非在说明书中另外具体说明,卤代烷氧基可任选地如下所述被取代。

“杂环烷基”或“杂环基”或“杂环状环”或“杂环”是指包含2至23个碳原子和1至8个选自氮、氧、磷和硫的杂原子的稳定的3至24元非芳香族环基团。除非在说明书中另外具体说明,杂环基可以是单环、双环、三环或四环环系,其可包括稠合或桥接的环系;并且杂环基中的氮、碳或硫原子可任选地被氧化;氮原子可任选地被季铵化;且杂环基可以是部分或完全饱和的。这样的杂环基的实例包括但不限于氮杂环丁基、二氧戊环基、噻吩基[1,3]二噻烷基、十氢异喹啉基、咪唑啉基、咪唑烷基、异噻唑烷基、异噁唑烷基、吗啉基、八氢吲哚基、八氢异吲哚基、2-氧代哌嗪基、2-氧代哌啶基、2-氧代吡咯烷基、噁唑烷基、哌啶基、哌嗪基、4-哌啶酮基(4-piperidonyl)、吡咯烷基、吡唑烷基、奎宁环基、噻唑烷基、四氢呋喃基、三噻烷基(trithianyl)、四氢吡喃基、硫代吗啉基(thiomorpholinyl)、硫杂吗啉基(thiamorpholinyl)、1-氧代-硫代吗啉基、1,1-二氧代-硫代吗啉基、12-冠醚-4、15-冠醚-5、18-冠醚-6、21-冠醚-7、氮杂-18-冠醚-6、二氮杂-18-冠醚-6、氮杂-21-冠醚-7和二氮杂-21-冠醚-7(azetidiny, dioxolany, thienyl[1,3]dithianyl, decahydroisoquinolyl, imidazoliny, imidazolidiny, isothiazolidiny, isoxazolidiny, morpholiny, octahydroindolyl, octahydroisoindolyl, 2-oxopiperazinyl, 2-oxopiperidinyl, 2-oxopyrrolidinyl, oxazolidiny, piperidinyl, piperazinyl, 4-piperidonyl, pyrrolidinyl, pyrazolidiny, quinuclidiny, thiazolidiny, tetrahydrofuryl, trithianyl, tetrahydropyrany, thiomorpholinyl, thiamorpholinyl, 1-oxo-thiomorpholinyl, 1,1-dioxo-thiomorpholinyl, 12-crown-4, 15-crown-5, 18-crown-6, 21-crown-7, aza-18-crown-6, diaza-18-crown-6, aza-21-crown-7, and diaza-21-crown-7)。除非在说明书中另外具体说明,杂环基可任选地被取代。术语杂环烷基还包括所有环形式的碳水化合物,包括但不限于单糖、二糖和寡糖。除非另有说明,杂环烷基在环中具有2至10个碳。应理解,当提到杂环烷基中的碳原子的数目时,在该杂环烷基中的碳原子的数目不同于构成杂环烷基(即杂环烷基环的骨架原子)的原子(包括杂原子)的总数。除非在说明书

中另外具体说明,杂环烷基可任选地被取代。

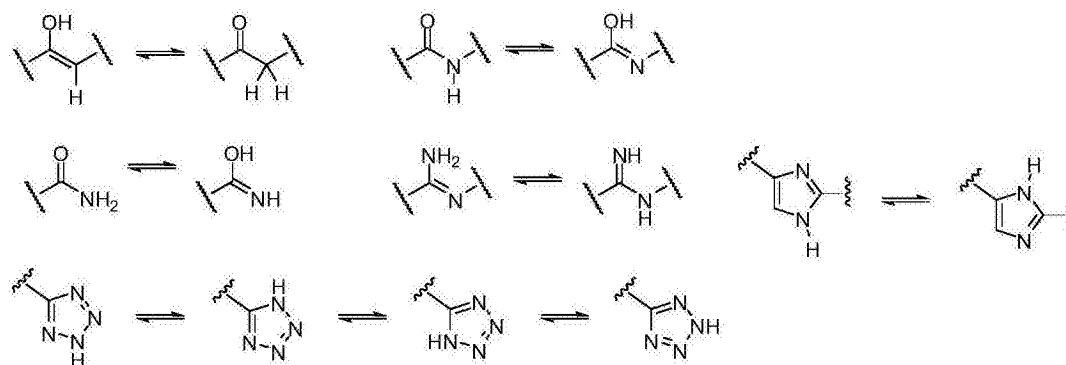
[0250] 如本文使用的术语“杂芳基”单独地或组合地是指含有约五个至约十二个骨架环原子的任选取代的芳香族单价基团,其中一个或多个环原子是独立地选自氧、氮、硫、磷、硅、硒和锡的杂原子,但不限于这些原子,并且条件是所述基团的环不含两个相邻的O或S原子。在环中存在两个或更多个杂原子的实施方案中,这两个或更多个杂原子可以彼此相同,或者这两个或更多个杂原子中的一些或全部可以各自与其他杂原子不同。术语杂芳基包括具有至少一个杂原子的任选取代的稠合和非稠合的杂芳基基团。术语杂芳基还包括具有五个至约十二个骨架环原子的稠合和非稠合的杂芳基,以及具有五个至约十个骨架环原子的稠合和非稠合的杂芳基。可以通过碳原子或杂原子与杂芳基键合。因此,作为非限制性的实例,咪唑(imidazole)基团可以通过任何其碳原子(咪唑-2-基、咪唑-4-基或咪唑-5-基)或其氮原子(咪唑-1-基或咪唑-3-基)衔接至母体分子。同样,杂芳基可以进一步通过任何或全部其碳原子和/或任何或全部其杂原子被取代。稠合的杂芳基基团可以含有两个至四个稠环,其中衔接的环是杂芳环并且其他各个环可以是脂环的、杂环的、芳族的、杂芳族的或其任意组合。单环杂芳基的非限制性实例包括吡啶基;稠环杂芳基包括苯并咪唑基、喹啉基、吲哚基;非稠合的联杂芳基包括联吡啶基。杂芳基的其他实例包括但不限于呋喃基、噻吩基、噁唑基、吡啶基、氮杂萘基、吩嗪基、苯并咪唑基、苯并吡啶基、苯并呋喃基、苯并呋喃酮基、苯并噁唑基、苯并噻唑基、苯并噻二唑基、苯并噻吩基、苯并噁二唑基、苯并二氧戊环基(benzodioxolyl)、苯并[b][1,4]二氧杂萘基、苯并二噁烷基、苯并萘并呋喃基(benzonaphthofuranyl)、苯并三唑基、苯并二氧戊环基、苯并二噁英基(benzodioxinyl)、苯并吡喃基、苯并吡喃酮基、苯并噻吩基、苯并[4,6]咪唑并[1,2-a]吡啶基、呋唑基、噌啉基、二苯并呋喃基、二苯并噻吩基、呋喃酮基、咪唑基、吡啶基、异噁唑基、异喹啉基、吡嗪基、吡唑基、异吡啶基、吡啶基、异吡啶基、吡啶基、异噻唑基、异吡啶基噁二唑基、吡啶基、萘基、噁二唑基、2-氧代氮杂萘基、环氧乙烷基、1-氧代吡啶基、1-氧代噻唑基、1-氧代吡嗪基、1-氧代哒嗪基、1-苯基-1H-吡咯基、吩噻嗪基、吩噻基、吡啶基、哒嗪基、噻唑基、吡嗪基、吡咯基、吡嗪基、吡唑基、嘌呤基、酞嗪基、蝶啶基、喹啉基、喹唑啉基、喹喔啉基、奎宁环基、三唑基、四唑基、噻唑基、三嗪基、噻二唑基、四氢喹啉基、噻唑基和噻吩基(furanyl, thienyl, oxazolyl, acridinyl, azepinyl, phenazinyl, benzimidazolyl, benzindolyl, benzofuranyl, benzofuranonyl, benzoxazolyl, benzothiazolyl, benzothiadiazolyl, benzothiophenyl, benzoxadiazolyl, benzodioxolyl, benzo[b][1,4]dioxepinyl, 1,4-benzodioxanyl, benzonaphthofuranyl, benzotriazolyl, benzodioxolyl, benzodioxinyl, benzopyranyl, benzopyranonyl, benzothieryl (benzothiophenyl), benzo[4,6]imidazo[1,2-a]pyridinyl, carbazolyl, cinnolinyl, dibenzofuranyl, dibenzothiophenyl, furanonyl, imidazolyl, indolyl, isoxazolyl, isoquinolinyl, indolizinyl, indazolyl, isoindolyl, indolinyl, isoindolinyl, indolizinyl, isothiazolyl, isoindolyloxadiazolyl, indazolyl, naphthyridinyl, oxadiazolyl, 2-oxoazepinyl, oxiranyl, 1-oxidopyridinyl, 1-oxidopyrimidinyl, 1-oxidopyrazinyl, 1-oxidopyridazinyl, 1-phenyl-1H-pyrrolyl, phenothiazinyl, phenoxazinyl, pyridinyl, pyridazinyl, pyrimidinyl, pyrazinyl, pyrrolyl, pyrazinyl,

pyrazolyl, purinyl, phthalazinyl, pteridinyl, quinolinyl, quinazolinyl, quinoxalinyl, quinuclidinyl, triazolyl, tetrazolyl, thiazolyl, triazinyl, thiadiazolyl, tetrahydroquinolinyl, thiazolyl, and thiophenyl) 等, 及其氧化物, 例如吡啶基-N-氧化物。

[0251] 上述所有基团可以是取代的或未取代的。如本文所使用的术语“取代的”意指任何上述基团(例如, 烷基、亚烷基、烷氧基、芳基、环烷基、卤代烷基、杂环基和/或杂芳基)可进一步被官能化, 其中至少一个氢原子被连接非氢原子取代基的键所替代。除非在说明书中具体说明, 被取代的基团可包括选自以下的一个或多个取代基: 氧代、氨基、 $-CO_2H$ 、腈、硝基、羟基、硫代氧基(thiooxy)、烷基、亚烷基、烷氧基、芳基、环烷基、杂环基、杂芳基、二烷基胺、芳基胺、烷基芳基胺、二芳基胺、三烷基铵($-N^+R_3$)、N-氧化物、酰亚胺和烯胺; 在诸如三烷基甲硅烷基、二烷基芳基甲硅烷基、烷基二芳基甲硅烷基、三芳基甲硅烷基的基团中的硅原子, 全氟烷基或全氟烷氧基, 例如三氟甲基或三氟甲氧基。“取代的”还意指其中一个或多个氢原子被连接杂原子的更高级的键(例如, 双键或三键)所替代的任何上述基团, 所述杂原子例如为在氧代、羰基、羧基和酯基团中的氧, 和在诸如亚胺、肟、腙和腈的基团中的氮。例如, “取代的”包括其中一个或多个氢原子被 $-NH_2$ 、 $-NR_gC(=O)NR_gR_h$ 、 $-NR_gC(=O)OR_h$ 、 $-NR_gSO_2R_h$ 、 $-OC(=O)NR_gR_h$ 、 $-OR_g$ 、 $-SR_g$ 、 $-SOR_g$ 、 $-SO_2R_g$ 、 $-OSO_2R_g$ 、 $-SO_2OR_g$ 、 $=NSO_2R_g$ 和 $-SO_2NR_gR_h$ 所替代的上述任何基团。在上文中, R_g 和 R_h 相同或不同, 并且独立地为氢、烷基、烷氧基、烷基氨基、硫代烷基、芳基、芳烷基、环烷基、环烷基烷基、卤代烷基、杂环基、N-杂环基、杂环基烷基、杂芳基、N-杂芳基和/或杂芳基烷基。此外, 上述取代基中的每一个还可任选地被一个或多个上述取代基所取代。此外, 任何上述基团均可被取代, 以包括一个或多个内部氧、硫或氮原子。例如, 烷基可被一个或多个内部氧原子所取代, 以形成醚或聚醚基团。相似地, 烷基可被一个或多个内部硫原子所取代, 以形成硫醚、二硫化物等。

[0252] 术语“任选的”或“任选地”意指随后描述的事件或情况可能发生或可能不发生, 并且该描述包括其中所述事件或情况发生的情形和所述事件或情况不发生的情形。例如, “任选取代的烷基”意指如上所定义的“烷基”或“被取代的烷基”。此外, 任选取代的基团可以是未取代的(例如, $-CH_2CH_3$)、完全取代的(例如, $-CF_2CF_3$)、单取代的(例如, $-CH_2CH_2F$), 或在完全取代和单取代之间的任一水平被取代的(例如, $-CH_2CHF_2$ 、 $-CH_2CF_3$ 、 $-CF_2CH_3$ 、 $-CFHCHF_2$ 等)。本领域技术人员将会理解, 对于含有一个或多个取代基的任何基团, 这些基团并不旨在引入在空间上不能实现的和/或在合成上不可行的任何取代或取代模式(例如, 被取代的烷基包括任选取代的环烷基, 而该环烷基反过来又被定义为包括任选取代的烷基, 如此可能无限循环)。因此, 所述的任何取代基一般应理解为具有约1,000道尔顿, 并且更典型地, 至多约500道尔顿的最大分子量。

[0253] “互变异构体”是指从分子的一个原子到同一分子的另一个原子的质子转移。本文提出的化合物可作为互变异构体存在。互变异构体为通过氢原子的迁移(伴随单键和相邻双键的转换)可相互转化的化合物。在可能发生互变异构化的键合排列中, 将存在互变异构体的化学平衡。考虑了本文所公开的化合物的所有互变异构形式。互变异构体的确切比例取决于若干因素, 包括温度、溶剂和pH。互变异构体相互转化的一些实例包括:



[0254] 本文所公开的化合物的“代谢物”是当该化合物被代谢时所形成的该化合物的衍生物。术语“活性代谢物”是指化合物被代谢时所形成的该化合物的生物活性衍生物。如本文所使用的,术语“代谢的”是指通过其使特定物质被生物体所改变的过程(包括但不限于水解反应和由酶催化的反应,如氧化反应)的总和。因此,酶可产生化合物的特定结构改变。例如,细胞色素P450催化多种氧化和还原反应,而尿苷二磷酸葡萄糖醛酸基转移酶催化活化的葡萄糖醛酸分子转移至芳香醇、脂肪族醇、羧酸、胺和游离巯基。关于代谢的其他信息可从The Pharmacological Basis of Therapeutics,第九版,McGraw-Hill(1996)中获得。本文所公开的化合物的代谢物可通过以下方法来鉴定:将化合物施用于宿主并对来自该宿主的组织样品进行分析,或将化合物与肝细胞在体外温育并对所得化合物进行分析。这两种方法都是本领域公知的。化合物的代谢物可以通过氧化过程形成,并对应于相应的含羟基化合物。化合物可被代谢成一种或多种药理活性代谢物。

[0255] 如本文所用的,肽的衍生物是指,但不限于,允许订合钉和/或HEM附接的修饰的肽(诸如一个或多个氨基酸残基替代或L-与D-氨基酸替代)、片段、具有一个或多个附加氨基酸的类似物、肽的复合物和/或集合体。肽的衍生物可以是相对于该肽具有至少50%同源性的同源物。肽的衍生物可以是相对于该肽具有至少60%同源性的同源物。肽的衍生物可以是相对于该肽具有至少70%同源性的同源物。肽的衍生物可以是相对于该肽具有至少80%同源性的同源物。肽的衍生物可以是相对于该肽具有至少90%同源性的同源物。

[0256] “药学上可接受的”是指由联邦管理机构或州政府批准或可由其批准的,或在美国药典或其他公认的药典中列出用于包括人在内的动物的。

[0257] “药学上可接受的盐”是指药学上可接受的且具有母体化合物的所需药理学活性的化合物的盐。

[0258] “药学上可接受的赋形剂、载体或佐剂”是指这样的赋形剂、载体或佐剂,其可以与本发明的至少一种抗体一起施用于受试者,并且在足以递送治疗量的化合物的剂量下施用不会破坏其药理学活性并且无毒。

“药学上可接受的媒介物”是指与本发明的至少一种抗体一起施用的稀释剂、佐剂、赋形剂或载体。

[0259] 诸如“治疗”或“处理”或“缓解”或“减轻”的术语可以指:1)治愈、减缓、减轻经诊断的病理状况或病症的症状,和/或中止该病理状况或病症的进展的治疗措施;和/或2)预防和/或减缓目标病理状况或病症的发展的预防性或防范性措施。“治疗”是指试图改变被治疗的个体或细胞的自然病程,并可以用于预防或在临床病理学的过程中执行的临床干预。期望的治疗效果包括预防疾病的发生或复发,缓解症状,减少疾病的任何直接或间接的病

理后果,预防转移,减小疾病进展的速率,改善或缓和疾病状态,以及缓解或改善预后。因此,需要治疗者可包括已经患有该病症者;易患该病症者;以及待预防该病症者。

[0260] “氨基酸”是指天然存在的和合成的氨基酸,以及起到与天然存在的氨基酸类似的作用的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然存在的氨基酸是由遗传密码编码的那些氨基酸,以及后来修饰的那些氨基酸,例如,羟脯氨酸、 γ -羧基谷氨酸和O-磷酸丝氨酸。氨基酸类似物是指具有与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构(例如与氢、羧基基团、氨基基团和R基团结合的 α 碳)的化合物,例如高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砷、甲硫氨酸甲基砷。这样的类似物可以具有修饰的R基团(例如,正亮氨酸)或修饰的肽骨架,但保留与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构。氨基酸模拟物是指其结构不同于一般的氨基酸化学结构,但起到与天然存在的氨基酸相似的作用的化学化合物。

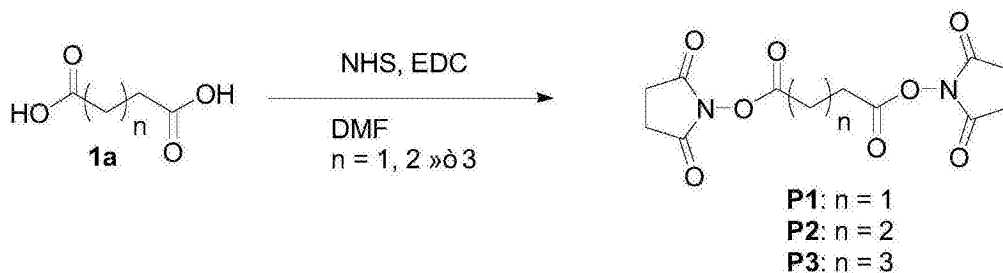
[0261] 如本文所用的,术语“治疗剂”或“肽治疗剂”或“治疗肽”是指调节另一种蛋白质、肽、细胞或组织的活性的蛋白质或肽。调节活性可包括增加、减少、刺激或阻止蛋白质、肽、细胞或组织的活性或表达。治疗剂可以调节参与疾病或病症的病因学的蛋白质或肽的活性。示例性的TA可包括但不限于激素、激酶、受体、配体、生长因子、调节蛋白质、代谢蛋白质、细胞因子、趋化因子、干扰素、磷酸酶、抗体或其任意组合的至少一部分。

[0262] “病症”或“疾病”是指会受益于采用本文公开的物质/分子(例如,如本文公开的mTA或PLC)或方法的治疗的状况。这包括慢性和急性病症或疾病,包括使哺乳动物易于患有讨论的病症的那些病理状况。

[0263] 用于治疗目的的“哺乳动物”是指归类为哺乳动物的任何动物,包括人、啮齿动物(例如,小鼠和大鼠)和猴;家畜和农场动物;以及动物园、运动、实验室或玩赏动物,诸如狗、猫、牛、马、绵羊、猪、山羊、兔等。在一些实施方案中,所述哺乳动物选自人、啮齿动物或猴。

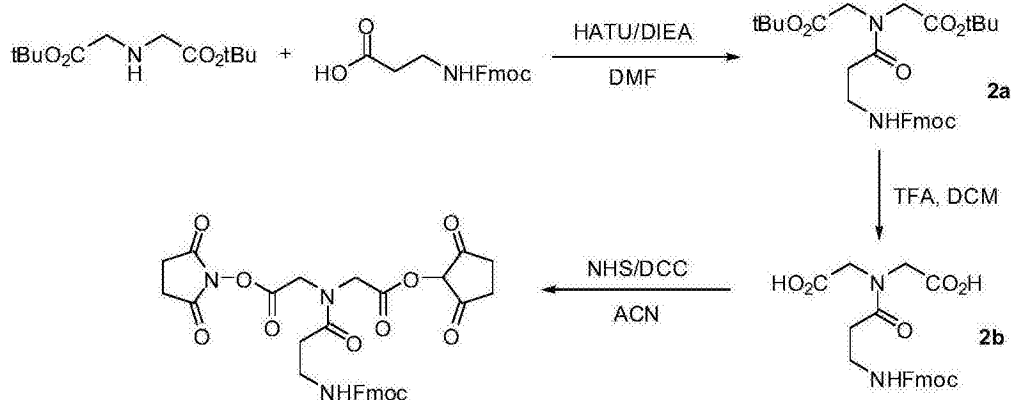
实施例

实施例1. P1、P2和P3的合成



[0264] 经4min向二酸1a (2mmol) 和羟基琥珀酰亚胺 (0.55g, 4.8mmol) 在30mL DMF中的溶液中加入EDC (0.75g, 4.8mmol)。将反应混合物搅拌22h,并减压除去溶剂。将残余物吸收在EtOAc (150mL) 中并转移到分液漏斗。将有机相洗涤 (1N HCl, 盐水, 饱和NaHCO₃, 盐水), 干燥 (Na₂SO₄), 过滤, 并浓缩, 得到呈白色固体的产物, 其不经额外纯化或表征而使用。

实施例2. P4的合成



步骤1。

[0265] 经5min向Fmoc- β -Ala-OH (3.12g, 10mmol)、亚氨基二乙酸二叔丁酯 (2.45g, 10mmol) 和DIEA (1.8mL, 10mmol) 在100mL DMF中的0℃溶液中加入HATU (3.8g, 10mmol)。使反应混合物升温至室温, 并搅拌4h。减压除去溶剂。将残余物吸收在EtOAc (250mL) 中并转移到分液漏斗。将有机相洗涤 (饱和NaHCO₃, 盐水, 1N HCl, 盐水), 干燥 (Na₂SO₄), 过滤, 浓缩, 并通过硅胶上的急骤柱色谱法纯化, 得到4.7g呈白色固体的中间体2a (87%产率)。

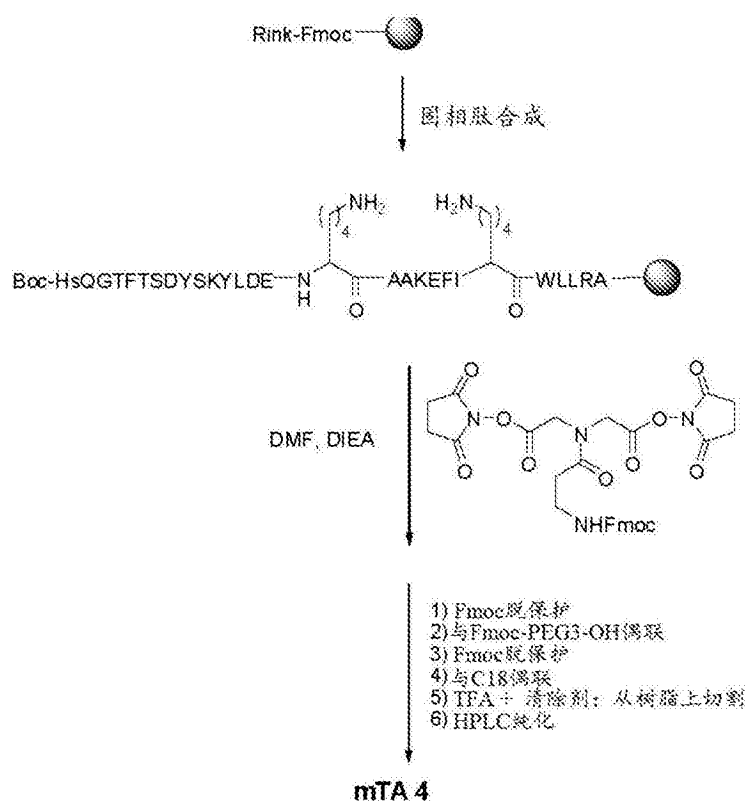
步骤2。

[0266] 将二酯2a (2.7g, 5mmol) 吸收在0℃的15mL DCM中, 并加入30mL的TFA。使反应混合物升温至室温, 并搅拌2h。减压除去溶剂。将残余物用冷乙醚洗涤两次, 干燥, 得到3.9g呈浅黄色泡沫的中间体2b (91%产率)。

步骤3。

[0267] 经5min向二酸2b (0.85g, 2mmol) 和羟基琥珀酰亚胺 (0.55g, 4.8mmol) 在50mL CH₃CN中的溶液中加入DCC (1.0g, 4.8mmol)。立即形成白色沉淀物。将反应混合物搅拌22h, 并过滤除去DCC脬。减压除去溶剂, 将残余物吸收在EtOAc (150mL) 中并转移到分液漏斗。将有机相洗涤 (饱和NaHCO₃, 盐水, 1N HCl, 盐水), 干燥 (Na₂SO₄), 过滤, 并浓缩, 得到白色固体。该固体吸收在50mL CH₃CN中, 过滤, 并浓缩, 得到0.88g呈白色固体的P4 (71%产率)。

实施例3. mTA 4的合成



[0268] 使用自动化肽合成仪,通过基于苄基甲氧羰基(Fmoc)的标准固相肽合成(SPPS)技术合成树脂上的肽。

经由内酰胺形成的肽环化:

[0269] 将预溶胀的含有29-聚体肽的树脂(0.1mmol,1当量)加到25mL圆底烧瓶中。向该树脂添加溶解于DMF(5mL)中的接头L4(124mg,0.2mmol,2当量),并用N₂吹扫烧瓶5min。加入DIEA(87μL,0.5mmol,5当量),并用搅拌棒将溶液在室温下搅拌12-16h。将树脂过滤并用DMF(5×5mL)洗涤。使用基于Fmoc的标准固相肽合成(SPPS)技术附接短PEG(Fmoc-PEG₃-OH)和十八烷二酸,然后用TFA切割以产生粗产物。将粗肽溶解在CH₃CN(5mL)中,用水将该溶液稀释至20mL的终体积,并过滤。将经过滤的溶液(10mL)加载至用35%CH₃CN(0.05%TFA)水溶液(0.05%TFA)平衡的制备型HPLC柱(Phenomenex,Prep C18,300A,50x 250mm)上。然后经1min使洗脱液的组成变化至35%CH₃CN-水(0.05%TFA),以1%/min的速率开始CH₃CN(0.05%TFA)至水(0.05%TFA)的线性梯度并运行40min。在分析型反相C18柱(Phenomenex,C18,120A,4.6x 50mm)上检查洗脱的级分的纯度,并将含有>95%纯度的产物的级分合并,冷冻干燥,得到呈白色固体的mTA4(11%产率)。

[0270] 使用订合钉前体P1、P2和P3,如实施例3所述合成表5中的mTA1-mTA3和mTA5。树脂切割步骤在订合钉前体与毒蜥外泌肽-4(A)反应后立即进行。

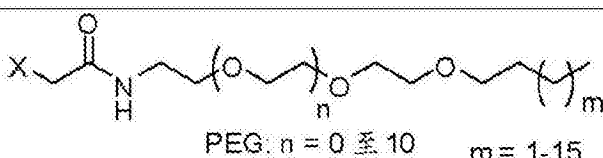
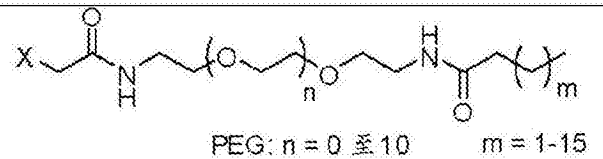
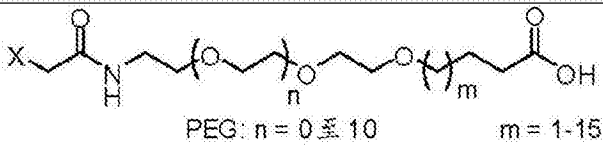
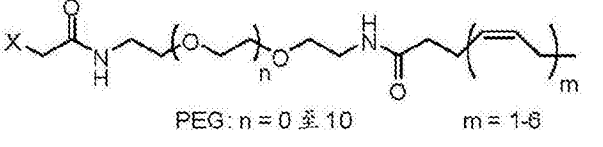
[0271] 表5和表6中的mTA6和mTA7如实施例3所述合成,即通过使肽与P4订合钉前体反应,并进一步用合适的酸(肉豆蔻酸或十八烷二酸)对所获得的化合物进行衍生化,以得到最终肽/订合钉/HEM。

[0272] 表7中的mTA9、mTA12-mTA16如实施例3所述合成,即通过使肽与P4订合钉前体反应,并进一步用合适的酸(肉豆蔻酸或十八烷二酸)对所获得的化合物进行衍生化,以得到最终肽/订合钉/HEM。

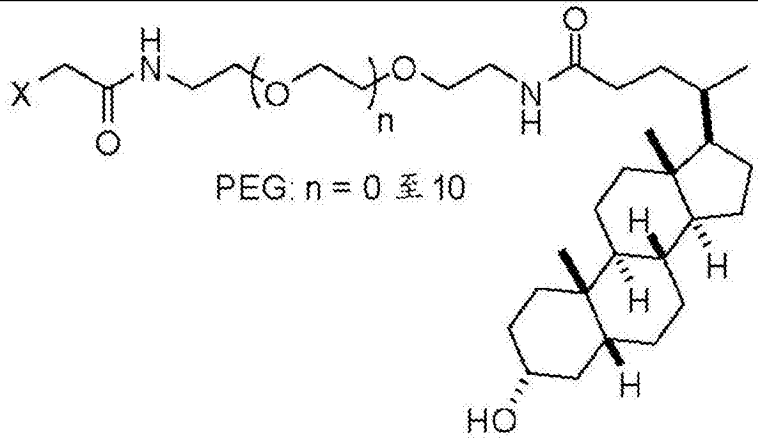
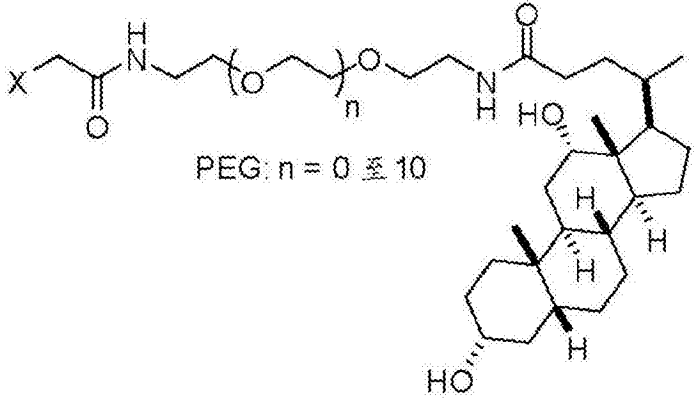
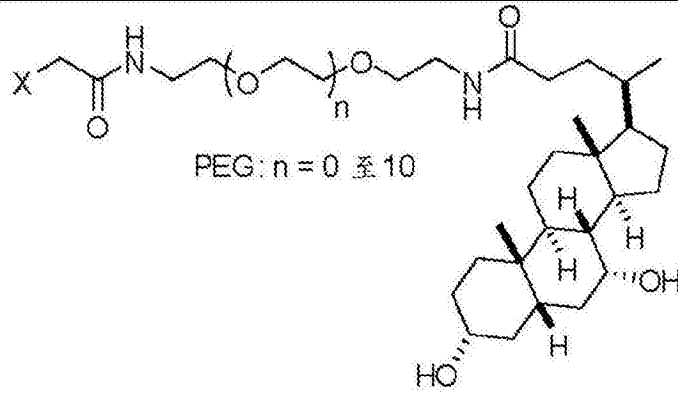
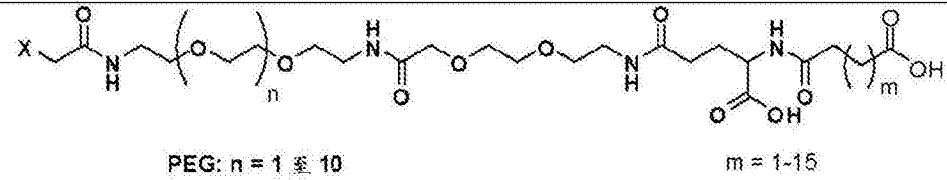
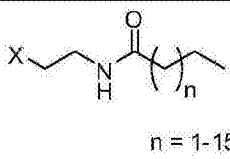
[0273] 图4示出了用来获得所需mTA的通用大环化路线。附接有一个或多个HEMS的订合钉被描绘为-C(O)LC(O)-。

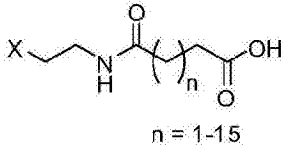
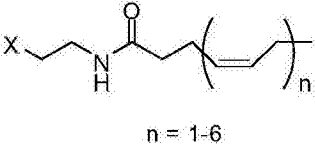
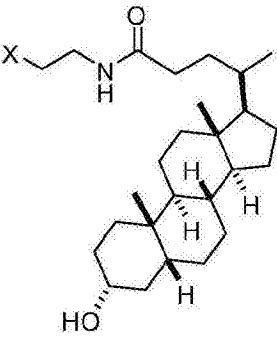
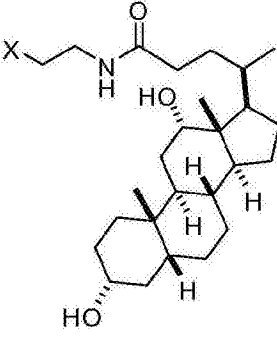
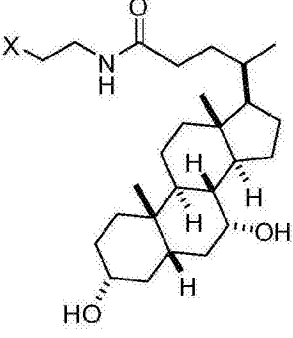
[0274] 表1中的其他化合物可以使用类似的程序来制备。

表1

条目	结构*
1	 PEG: n = 0 至 10 m = 1-15
2	 PEG: n = 0 至 10 m = 1-15
3	 PEG: n = 0 至 10 m = 1-15
4	 PEG: n = 0 至 10 m = 1-8

条目	结构*
5	PEG: $n = 0$ 至 10
6	PEG: $n = 0$ 至 10
7	PEG: $n = 0$ 至 10
8	PEG: $n = 0$ 至 10
9	PEG: $n = 0$ 至 10
10	PEG: $n = 0$ 至 10

条目	结构*
11	 PEG: $n = 0$ 至 10
12	 PEG: $n = 0$ 至 10
13	 PEG: $n = 0$ 至 10
14	 PEG: $n = 1$ 至 10 $m = 1-15$
15	 $n = 1-15$

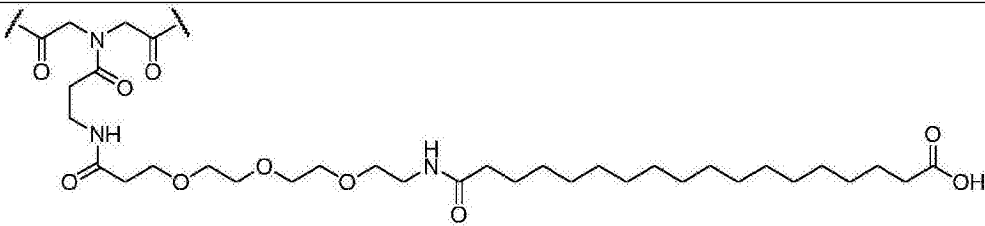
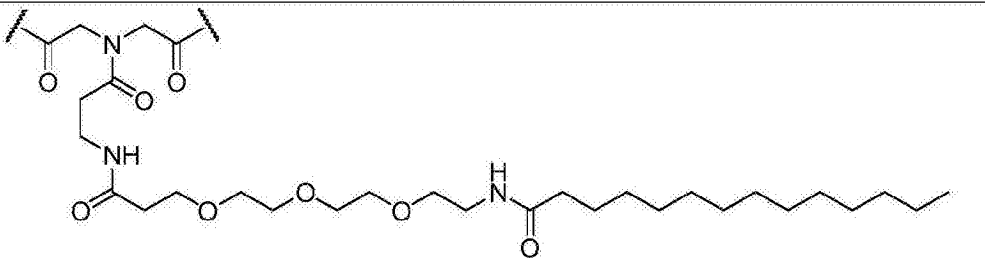
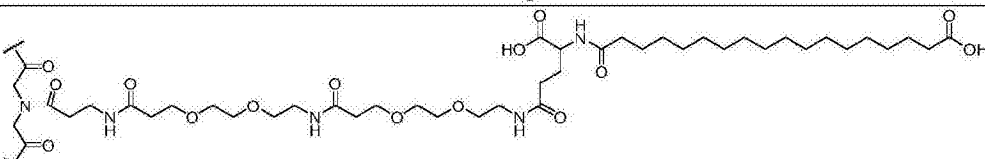
条目	结构*
16	 $n = 1-15$
17	 $n = 1-6$
18	
19	
20	

条目	结构*
30	$\text{Y}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}(\text{NHFmoc})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{COOH})-\text{NH}-\left(\text{CH}_2\right)_n-\text{COOH}$ $n = 8 \text{ 至 } 20$
31	$\text{Z}-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\left(\text{CH}_2\right)_n-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{OH}$ $n = 8 \text{ 至 } 20$
32	$\text{Z}-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\left(\text{CH}_2\right)_n-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{COOH}$ $n = 8 \text{ 至 } 20$
33	$\text{Z}-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\left(\text{CH}_2\right)_n-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{OH}$ $n = 8 \text{ 至 } 20$
34	$\text{Z}-\text{S}-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\left(\text{CH}_2\right)_n-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{OH}$ $n = 8 \text{ 至 } 20$

*X和Y可以是订合钉或与治疗剂附接的订合钉;Z可以是作为订合钉的一部分或作为与治疗剂附接的订合钉的一部分的S。

表2:订合钉和订合钉/HEM

订合钉	结构
L1	
L2	
L3	
L4	

订合钉	结构
L5	
L6	
L7	

实施例4. 过表达胰高血糖素、GLP-1、GIP或GLP-2受体的CREB响应性萤光素酶稳定细胞系的产生

[0275] 如下所述产生过表达人胰高血糖素受体 (GCGR)、胰高血糖素样肽1受体 (GLP-1R)、葡萄糖依赖性促胰岛素多肽受体 (GIPR)、胰高血糖素样肽2受体 (GLP-2R) 的CREB响应性萤光素酶稳定HEK 293细胞系。

[0276] 如手册 (Qiagen, Netherlands) 中所述, 用在CRE启动子控制下编码萤火虫萤光素酶基因的慢病毒感染HEK293细胞, 随后采用1 μ g/mL嘌呤霉素 (Life technologies, Carlsbad) 选择1周。将存活的细胞命名为CRE-HEK293, 扩增, 随后用编码人GCGR、GLP-1R、GIPR或GLP-2R的G418选择性哺乳动物表达质粒转染。简言之, 采用Lipofectamine 2000将GCGR、GLP-1R、GIPR或GLP-2R质粒转染至CRE-HEK293细胞中, 并用400 μ g/mL遗传霉素 (Life technologies, Carlsbad, CA) 进行选择。随后建立过表达CRE-萤光素酶以及GCGR、GLP-1R、GIPR或GLP-2R的单集落稳定细胞系, 以用于体外活性测定。将这四种稳定细胞系命名为HEK293-GCGR-CRE、HEK293-GLP-1R-CRE、HEK293-GIPR-CRE和HEK293-GLP-2R-CRE。

实施例5. 体外活性测定 (受体介导的cAMP合成)

[0277] 将HEK293-GCGR-CRE、HEK293-GLP-1R-CRE、HEK293-GIPR-CRE和HEK293-GLP-2R-CRE细胞以每孔5,000个细胞的密度接种在白色384孔板中并培养24小时。以剂量依赖性方式用不同的肽处理细胞。第二天, 向每个孔中添加10 μ l Bright-Glo试剂 (Promega, Madison, WI), 并采用Envision多标记酶标仪 (PerkinElmer, Waltham, MA) 确定萤火虫发光。使用GraphPad Prism 6软件 (GraphPad, San Diego, CA) 计算每种肽的EC₅₀。结果在图8A、图8B和图8C中示出。

实施例6. 体内药代动力学 (PK) 研究

[0278] 从Charles River Limited获得的雌性CD-1小鼠在整夜禁食后用于体内PK研究。将肽溶解在已调节pH的磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 中。通过静脉内或皮下途径向每只小鼠施用

100 μ L的每种肽(0.3mg/kg)。在第30分钟出血后立即为小鼠提供食物。将血液提取到肝素化的管中并在3,000x g下离心15min。然后将所得上清液血浆在-80℃下储存以供活性测定。通过上述活性测定确定每个时间点血浆中的肽浓度,并通过使用Winnonlin Phoenix软件(Pharsight Corp, St. Louis, MO)计算每种肽的体内半衰期。mTA4和mTA7的结果分别在图9A和图9B中示出。

实施例7. 口服葡萄糖耐量试验(OGTT)和腹膜内葡萄糖耐量试验(IPGTT)

[0279] 将饮食诱发的肥胖(DIO)小鼠整夜禁食,随后通过静脉内或皮下途径施用一定量的肽。6小时后,向小鼠经口或腹膜内施用2g/kg体重的浓度为100mg/mL的团注剂量的葡萄糖溶液,在葡萄糖负荷2-3小时之前(0min)和之后测量小鼠尾部血糖水平。用mTA4(皮下)处理14天后的结果在图10A和图10B中示出。

实施例8. 体重、食物摄取和内脏脂肪重量测量

[0280] 饮食诱导的肥胖(DIO)小鼠购自Charles River,并通过皮下注射施用GLP-1R激动剂或GLP1R/GCGR双重激动剂。每日监测小鼠体重和食物摄取持续2周,并在治疗前(总计5天)和治疗期间(总计5周)监测。5周后,处死小鼠,取出内脏脂肪块并称重。2周治疗后的体重和食物摄取结果分别在图11A和图11B中示出。

实施例9. 胆固醇水平测定

[0281] 根据制造商的指导(胆固醇测定试剂盒, Abcam, Cambridge, England)将收集的血浆用于胆固醇水平测定。简言之,将血浆用胆固醇测定缓冲液稀释,然后与相同体积的含有胆固醇测定缓冲液、胆固醇探针、酶混合物和胆固醇酯酶的反应混合物反应。在37℃下温育1小时后,采用Envision多标记酶标仪(PerkinElmer, Waltham, MA)测量560nm处的吸光度。随后,使用标准曲线计算血浆中胆固醇的浓度。

实施例10. 甘油三酯水平测定

[0282] 收集的血浆再用于采用甘油三酯比色测定试剂盒(Cayman chemical, Ann Arbor, Michigan)的甘油三酯水平测定。将5 μ L血浆样品或标准物添加至384孔板中,随后向每个孔中添加75 μ L稀释的酶缓冲液。将板在室温下温育15min,并采用Envision多标记酶标仪(PerkinElmer, Waltham, MA)读取560nm处的吸光度。再次,使用标准曲线计算血浆中甘油三酯的浓度。

实施例11. 油红O染色(脂质小液滴染色)

[0283] 将肝脏冷冻组织切片成10 μ m,并在载玻片上风干。在10%福尔马林中固定5min后,将载玻片用流动的自来水短暂地洗涤10min,随后用60%异丙醇漂洗。随后,使用油红O工作溶液(0.3%油红O)进行脂质染色15min。再用60%异丙醇漂洗载玻片,然后用明矾苏木精将细胞核轻微染色,随后用蒸馏水漂洗并在甘油胶中固定。半小时后,在显微镜下拍摄图片。

实施例12. 基于微针的贴片在豚鼠上的应用

[0284] 采用豚鼠进行基于微针贴片的经皮药物递送。在贴片应用前一天给豚鼠剃毛。第二天,将基于微针的贴片施加至动物皮肤上5min,并在不同的时间点(5min、30min、1h、2h、3h、5h、8h、24h、32h、48h、72h)提取血液。采用如上所述相同的方法(功能活性测定)确定每个时间点的肽浓度。将经皮生物利用率(F)计算为微针贴片施用组与静脉内注射组之间的曲线下面积(AUC)之比。

实施例13. 急性溃疡性结肠炎的鼠模型(急性DSS模型)

[0285] 通过连续5天在饮用水中添加3%DSS (葡聚糖硫酸钠) 在小鼠中诱发结肠炎。除了DSS放置之外,还用GLP-2类似物每日两次治疗小鼠。环孢菌素A (20mg/kg/天) 用于阳性对照组,PBS用于阴性对照组。在实验期间,每天测量体重。

实施例14.慢性溃疡性结肠炎的鼠模型 (慢性DSS模型)

[0286] 通过连续5天在饮用水中添加2%DSS (葡聚糖硫酸钠) 在9周龄B6雄性小鼠 (n=12/组) 中诱发结肠炎,然后变成正常饮用水7天,随后随机进行另两个周期的饮用水中的DSS (5天使用,7天停用),每隔一天监测体重。在第三周期DSS治疗开始时,每日两次用GLP-2和mTA7治疗小鼠,环孢菌素A (20mg/kg/天) 用于阳性对照组,PBS用于阴性对照组。结果在图12中示出。

实施例15.肠/结肠重量/长度测量

[0287] 治疗后,通过吸入CO₂对动物施以安乐死,进行中线切开以提供通往胃肠道的入口。按从幽门到盲肠的距离确定小肠长度。类似地,将结肠长度记录为从回盲连接到直肠的距离。从小肠和结肠节段中均去除粪便物质,并记录其各自的湿重。测量结肠重量和长度后,将大结肠分成3段 (近段、中段和远段),单独固定每个节段的一半并送往进行组织学分析,另一半使用干冰新鲜冷冻,并保持在-80摄氏度以用于qPCR和其他测定。结果在图13A-13C和图14A-14C中示出。

实施例16.mTA用于糖尿病和肥胖症治疗的有效性和安全性

[0288] 目的:将不同剂量的mTA与安慰剂进行比较,以确定其用于治疗糖尿病和肥胖症患者的有效性和安全性。

状况	干预	阶段
糖尿病和肥胖症	药物:单一激动剂或双重激动剂 mTA	1 期
	药物: 安慰剂	1 期

[0289] 研究类型:干预性

[0290] 研究设计:分配:随机化的

[0291] 终点分类:安全性/有效性研究

[0292] 干预模型:平行分配

[0293] 遮掩:双盲 (受试者、照护者、研究者、结果评价者)

[0294] 主要目的:治疗

[0295] 主要结果评价指标:血糖降低,体重和HbA1C降低 [时间范围:直到52周] [指定为安全性问题:否]

[0296] 次要结果评价指标:代谢谱改善

[0297] [时间范围:直到52周] [指定为安全性问题:否]

分组	分配的干预
安慰剂比较组：安慰剂 皮下或微针贴片递送	药物：安慰剂 皮下或微针贴片递送
实验组：通过皮下或微针贴片递送单一和双重激动剂 mTA	药物：通过皮下或微针贴片递送单一和双重激动剂 mTA

[0298] 这是单一和双重激动剂mTA用于治疗糖尿病和肥胖症的干预性、随机化、双盲、带安慰剂对照的II/III期试验。

表 3. 治疗剂(TA)-氨基酸序列		
名称	SEQ ID NO	序列
泌酸调节肽	1	HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNTKRNRNNIA
毒蜥外泌肽-4	2	HGEGTFTSDLSKQMEEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS
hGLP-1	3	HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGR
胰高血糖素	4	HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNT
hGLP-2	5	HADGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTKITD
hGIP	6	YAEGETFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKGKKNDWKH NITQ

表4. 治疗剂：修饰的治疗肽		
名称	SEQ ID NO	序列 ^{a,b,c}
毒蛇外泌肽-4 (A)	7	HGEGTFTSDLSKQMEE <u>X</u> AVRLFI <u>X</u> WLKNGGPSSGAPPPS
毒蛇外泌肽-4 (B)	8	HGEGTFTSDLSK <u>X</u> MEEEEAVRLFI <u>X</u> WLKNGGPSSGAPPPS
毒蛇外泌肽-4 (C)	9	HGEGTFTSD <u>X</u> SKQMEEEEAVRLFI <u>X</u> WLKNGGPSSGAPPPS
OXM (A)	10	HsQGTFTSDYSKYLD <u>S</u> <u>X</u> RAQDFV <u>X</u> WLMNTKRNRNNIA
OXM (B)	11	HsQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> <u>X</u> AAKEFI <u>X</u> WLMNTKRNRNNIA
GLP-1/胰高血糖素(A)	12	HsQGTFTSDYSKYLD <u>S</u> <u>X</u> AAHDFV <u>X</u> WLLRA
GLP-1/胰高血糖素(B)	13	HsQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> <u>X</u> AAKEFI <u>X</u> WLLRA
GLP-1/胰高血糖素(C)	14	HsQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> <u>X</u> AAKEFI <u>X</u> WLLRAGPSSGAPPPS
GLP-1/胰高血糖素(D)	15	HsQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> <u>X</u> AAKEFI <u>X</u> WLLNGGPSSGAPPPS
GLP-1/GIP (A)	16	YaEGTFTSDYSIYLDK <u>X</u> AAKEFV <u>X</u> WLLAGGPSSGAPPPS
GLP-1/GIP/胰高血糖素(A)	17	YaEGTFISDYSKYLD <u>E</u> <u>X</u> AAKEFI <u>X</u> WLMNTKRNRNNIA
GLP-1/GIP/胰高血糖素(B)	18	H-Aib-QGTFTSDKSKYL <u>D</u> <u>E</u> <u>X</u> AAQDFV <u>X</u> WLLDGGPSSGAPPPS
GLP-2 (A)	19	HGDGSFSDEMNTILDN <u>X</u> AARDFI <u>X</u> WLIQTKITD
GLP-2 (B)	20	HGDGSFSDELLTILD <u>L</u> <u>X</u> AARDFI <u>X</u> WLIQTKITD
GLP-2 (C)	21	HGDGSFSDEMNTILD <u>X</u> LAARDFI <u>X</u> WLIQTKITD
GLP-2 (D)	22	HGDGSFS <u>X</u> EMNTIL <u>X</u> ALAARDFINWLIQTKITD
GLP-2 (E)	23	HGDGSFSDEMNTILDALAAR <u>X</u> FINWLI <u>X</u> TKITD

表4. 治疗剂：修饰的治疗肽		
名称	SEQ ID NO	序列 ^{a,b,c}
GLP-2 (F)	24	HGDGSFSDX ~~M~~ NTILD ~~X~~ LAARDFINWLIQTKITD
GLP-2 (G)	25	HGDGSFSDEM ~~X~~ TILDNL ~~X~~ ARDFINWLIQTKITD
GLP-2 (H)	26	HGDGSFSDEMNTILDN ~~X~~ AARDFIXWLIQTKITDPSSGAPPPS
GLP-2 (I)	27	HGDGSFSDX ~~M~~ NTILD ~~X~~ LAARDFINWLIQTKITDPSSGAPPPS
GLP-2 (J)	28	HGDGSFSDEM ~~X~~ TILDNL ~~X~~ ARDFINWLIQTKITDPSSGAPPPS
GLP-1 (A)	29	HGEGTFTSDVSSYLEG ~~X~~ AAKEFIXWLVKGR
GLP-1 (B)	30	H-Aib-EGTFTSDVSSYLEG ~~X~~ AAKEFIXWLVKGR

^a~~X~~是具有含胺侧链的氨基酸(例如,赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基丙酸或高赖氨酸)。

^b小写字母表示D-氨基酸。

^cAib=2-氨基异丁酸。

表5. 修饰的治疗剂						
mTA	结构 ^a	预期质量	实测质量	GLP-1R (EC ₅₀ , nM)	GCGR (EC ₅₀ , nM)	t _{1/2} (h)
1	毒蜥外泌肽-4 (A)和 L1	4266.8	1423.6 ([M+3H] ³⁺), 1068.0 ([M+4H] ⁴⁺)	0.03	ND	ND
2	毒蜥外泌肽-4 (A)和 L2	4280.8	1427.6 ([M+3H] ³⁺), 1071.0 ([M+4H] ⁴⁺)	0.02	ND	ND
3	毒蜥外泌肽-4 (A)和 L3	4294.8	1432.5 ([M+3H] ³⁺), 1074.3	0.03	ND	ND

表5. 修饰的治疗剂						
mTA	结构 ^a	预期质量	实测质量	GLP-1R (EC ₅₀ , nM)	GCGR (EC ₅₀ , nM)	t _{1/2} (h)
			([M+4H] ⁴⁺)			
4	GLP-1/胰高血糖素 (B)和L5	4100.7	1444.7 ([M+3H] ³⁺), 1083.8 ([M+4H] ⁴⁺)	0.03	0.15	T _{1/2} = 5.7 h (静脉内); T _{max} = 8 h (皮下)
5	GLP-1/胰高血糖素 (D)和L2	4307.7	1436.6 ([M+3H] ³⁺), 1077.7 ([M+4H] ⁴⁺)	0.02	0.07	ND
6	GLP-1/胰高血糖素 (D)和L5	4923.5	1641.9 ([M+3H] ³⁺), 1231.7 ([M+4H] ⁴⁺)	0.03	0.62	ND

^a描述了X=赖氨酸的结构。

表6. 修饰的治疗剂					
mTA	结构 ^a	预期质量	实测质量	GLP-2R (EC ₅₀ , nM)	t _{1/2} (h)
7	GLP-2 (G)和L6	4404.1	1641.9 ([M+3H] ³⁺), 1231.7 ([M+4H] ⁴⁺)	0.068	T _{1/2} = 3 h (静脉内); T _{max} = 4 h (皮下)

^a描述了X=赖氨酸的结构。

表7. 修饰的治疗剂			
mTA	结构 ^a	预期质量	实测质量
9	GLP-2 (G)和L5	4490.1	ND
12	GLP-2 (A)和L6	4361.9	ND
13	GLP-2 (A)和L5	4448.1	ND
14	OXM (B)和L6	4987.9	ND
15	GLP-1/GIP (A)和 L6	4731.6	ND
16	GLP-1 (A)和L5	4008.8	ND

^a描述了X=赖氨酸的结构。

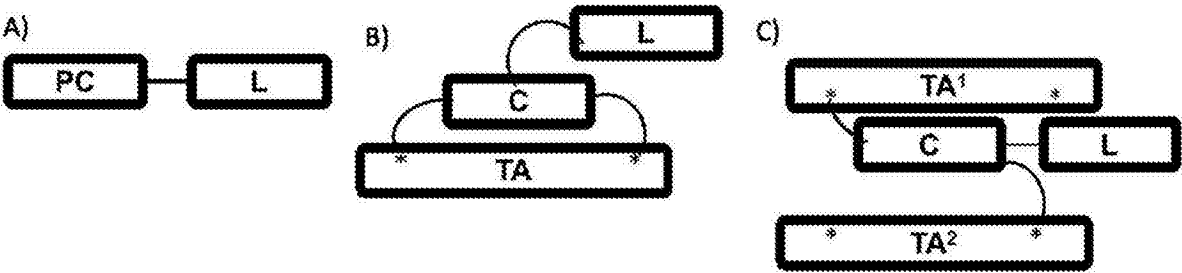


图1

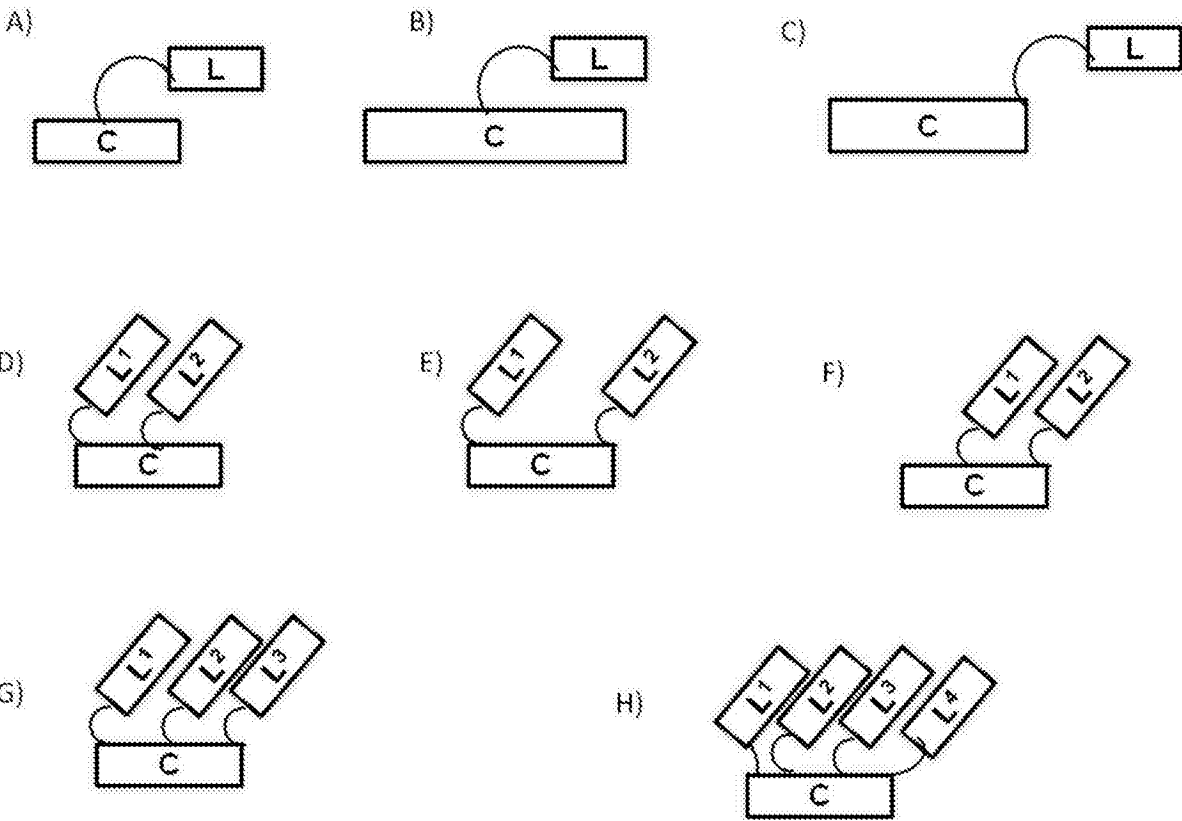


图2

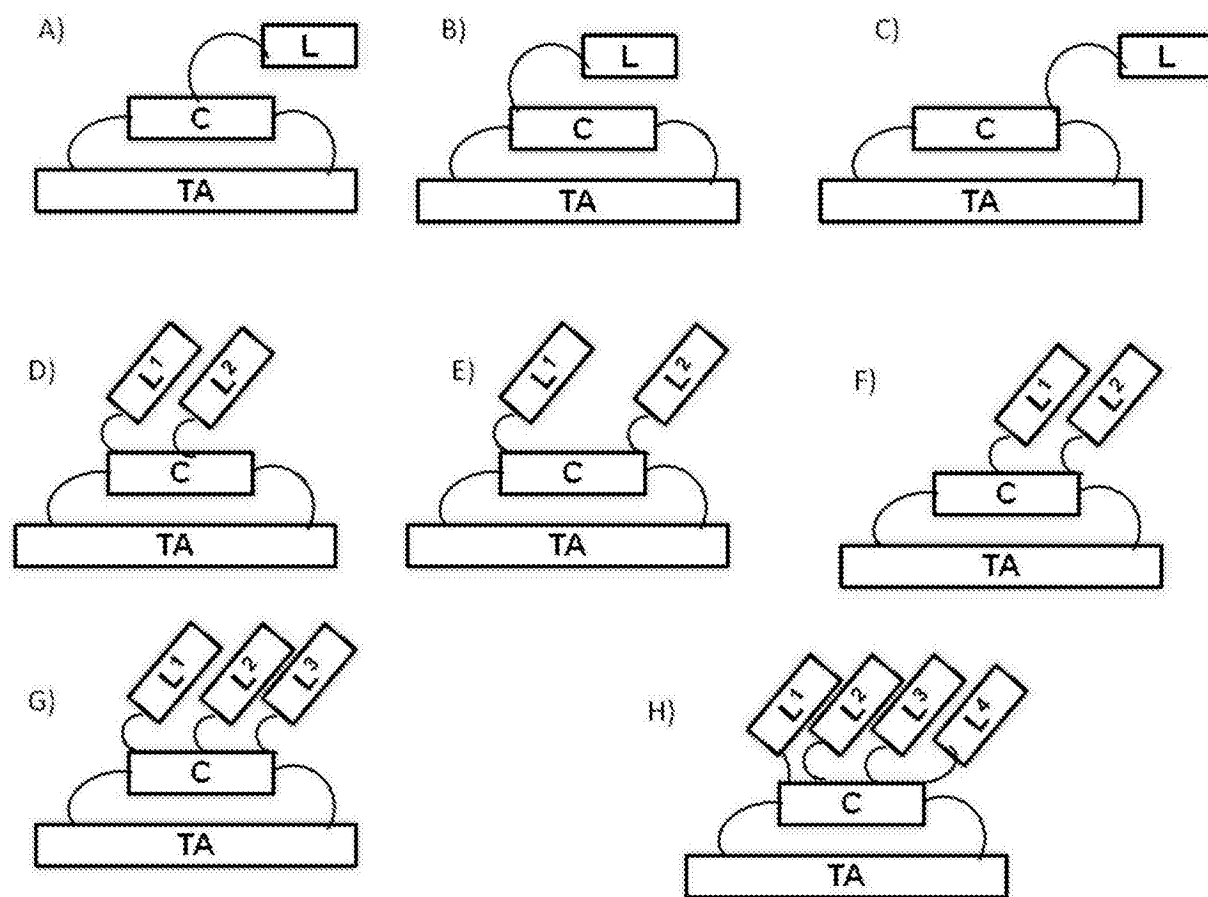


图3

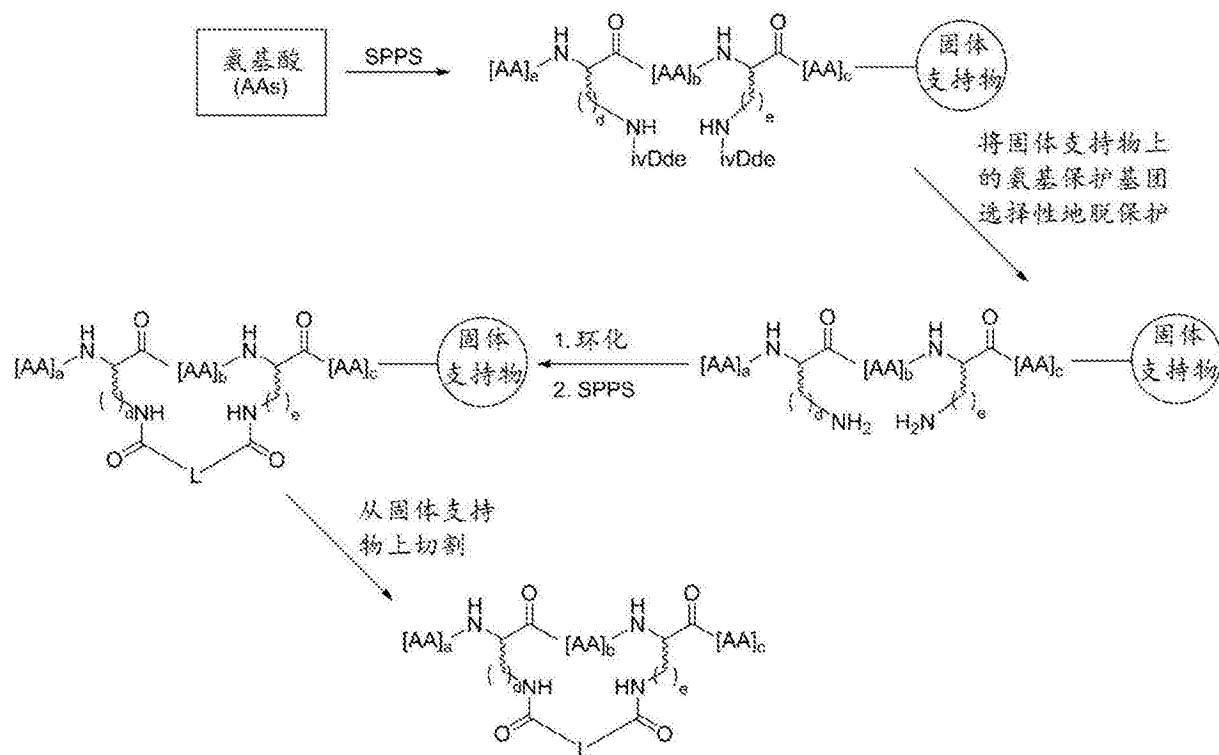


图4

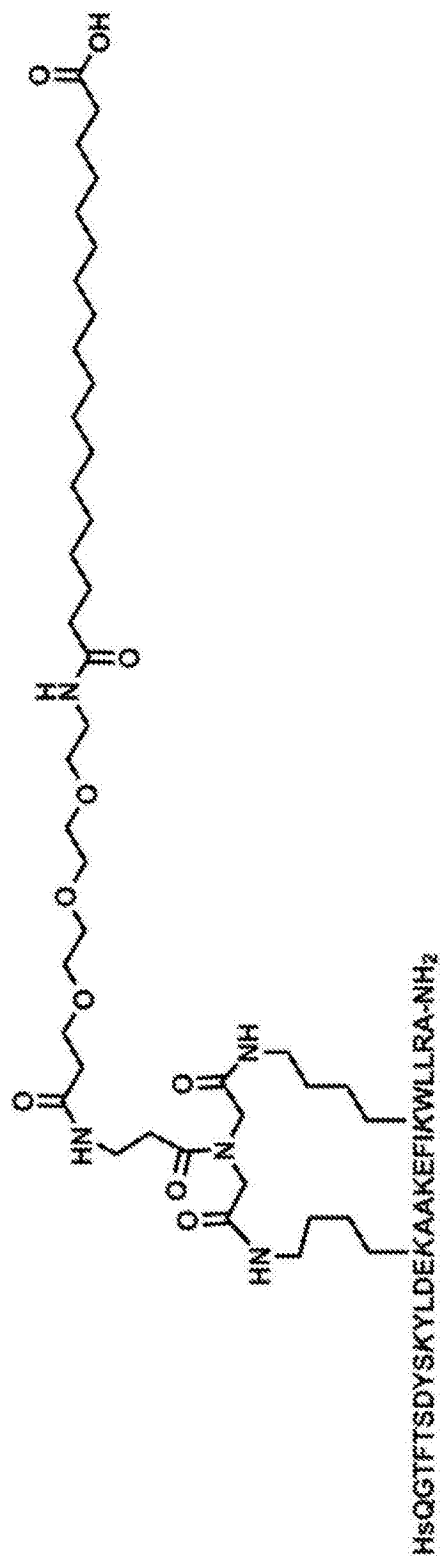


图5

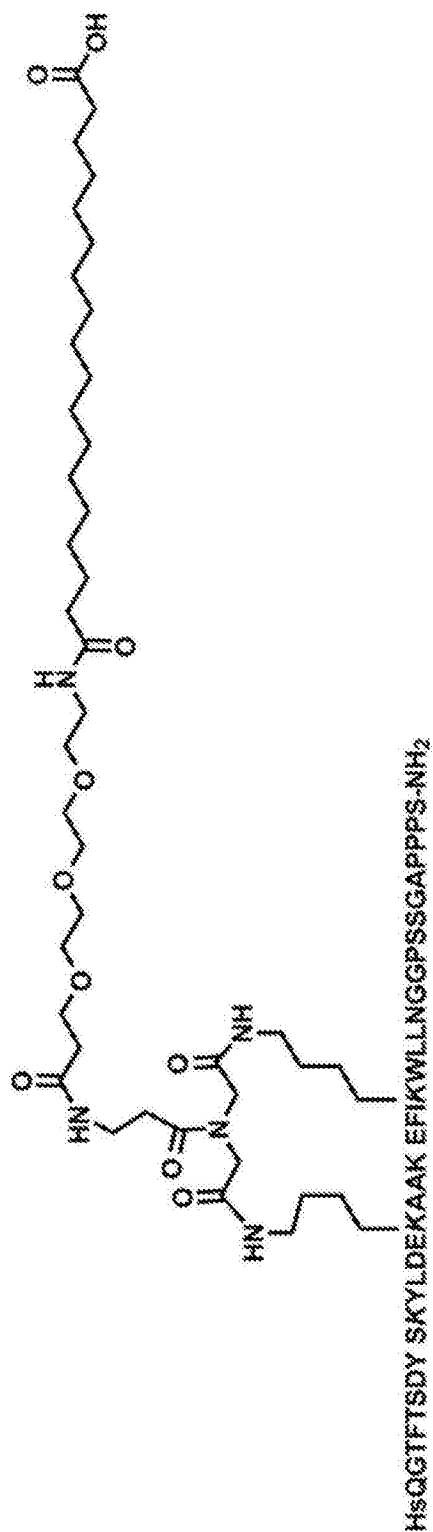


图6

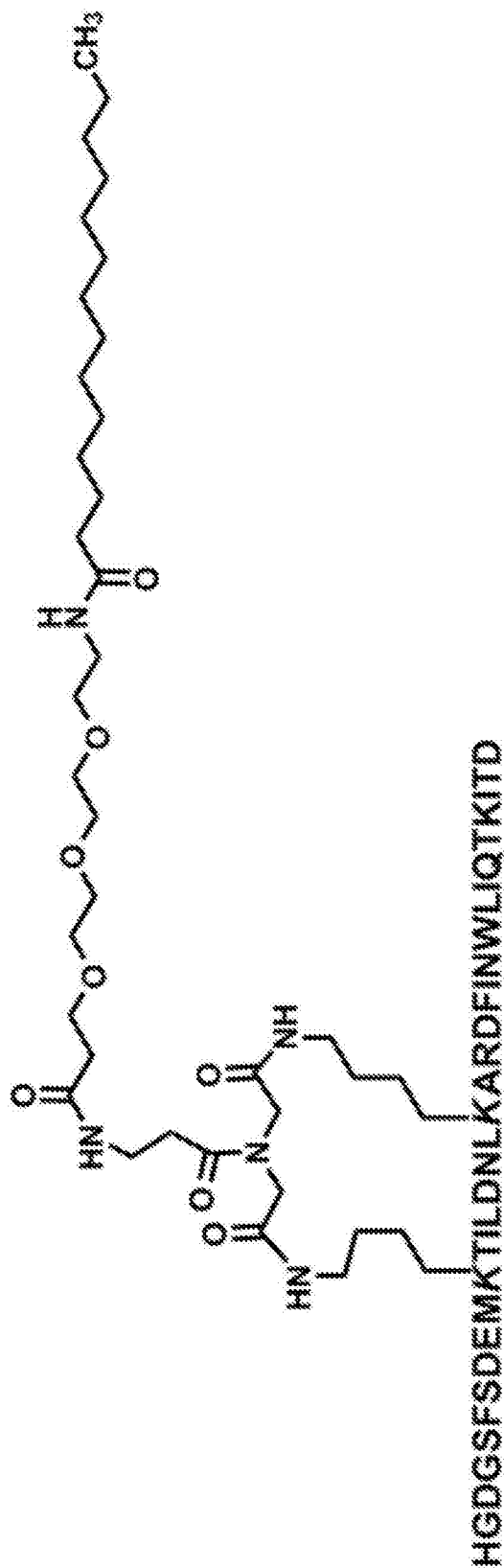


图7

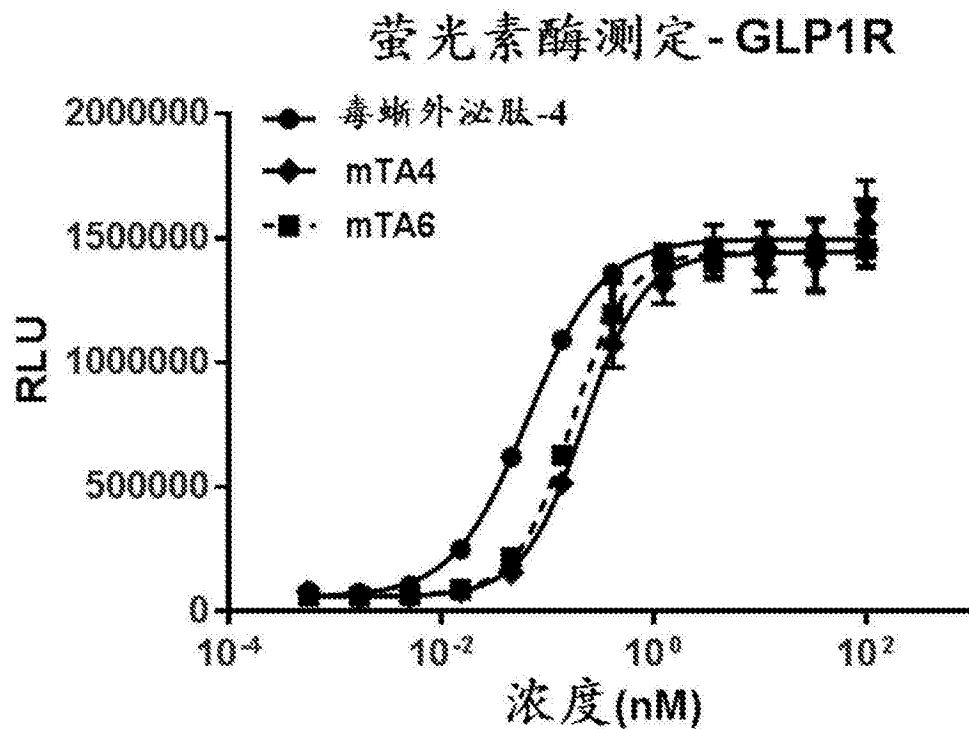


图8A

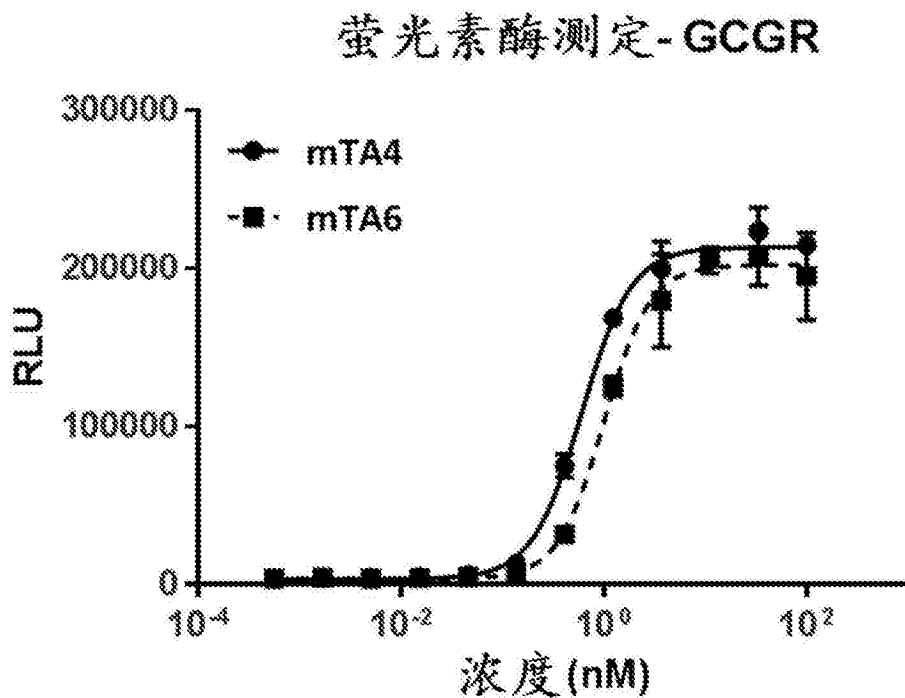


图8B

荧光素酶测定-GLP2R

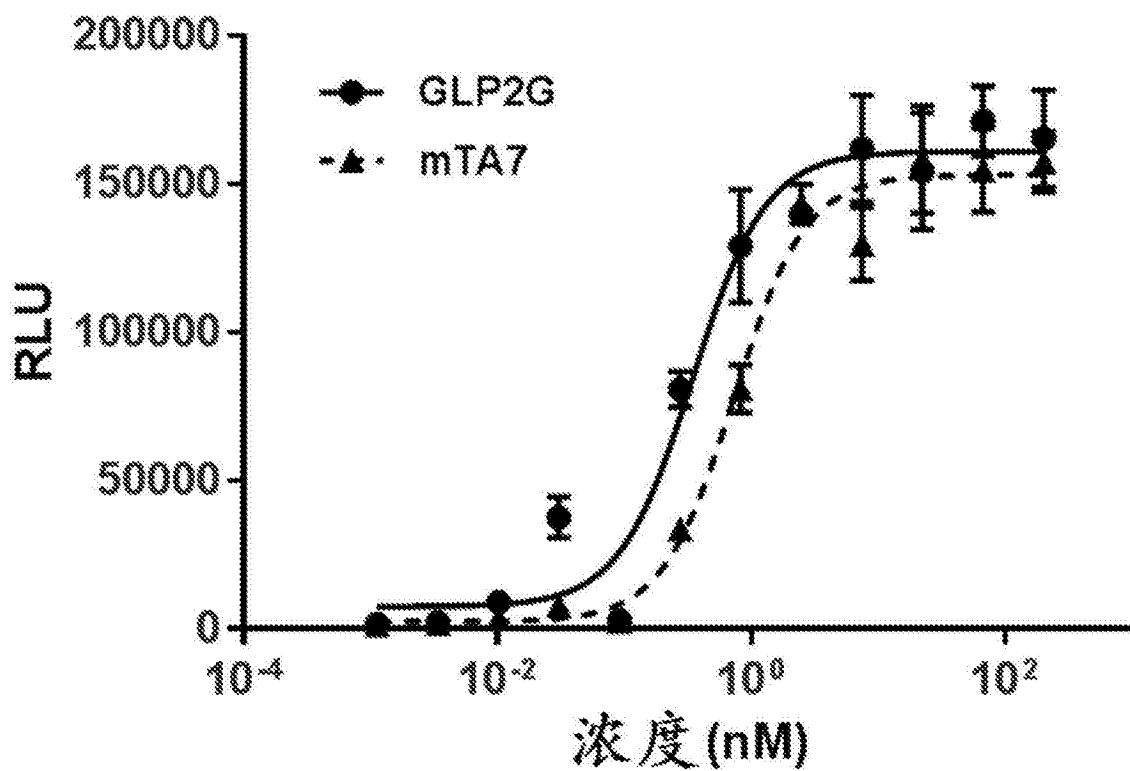


图8C

mTA4-平均值

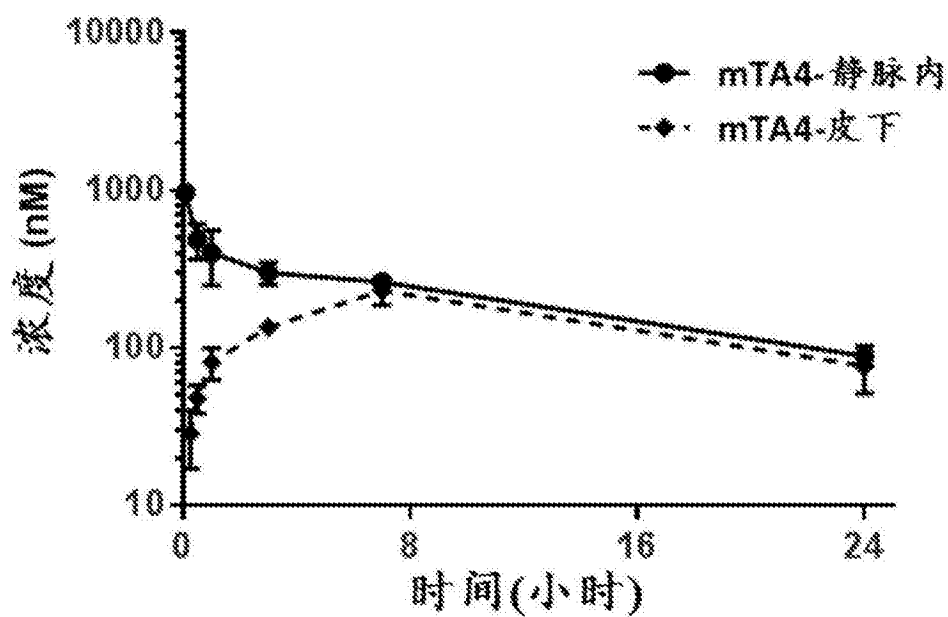


图9A

mTA7-平均值

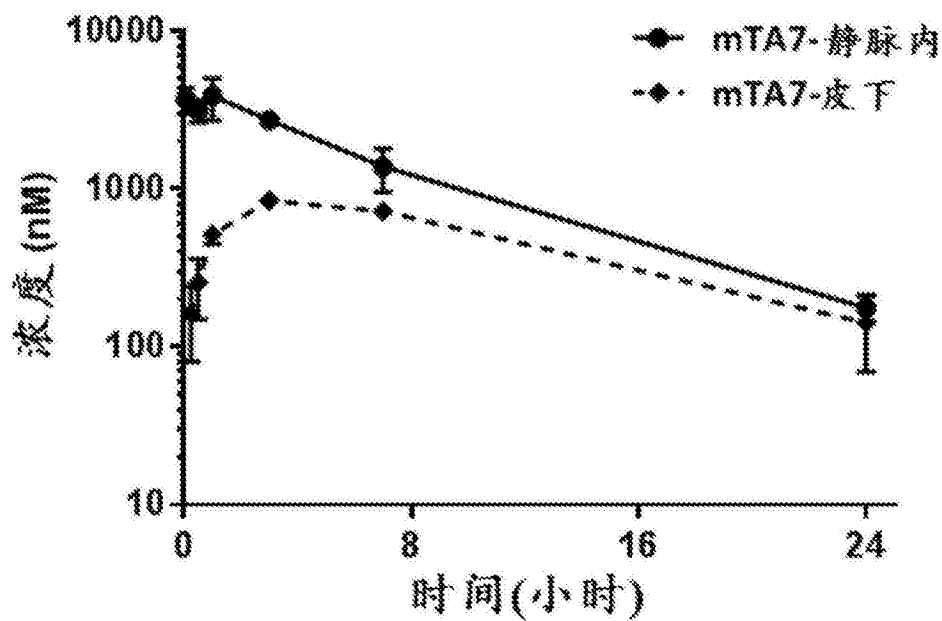


图9B

第14天的mTA4 - OGTT

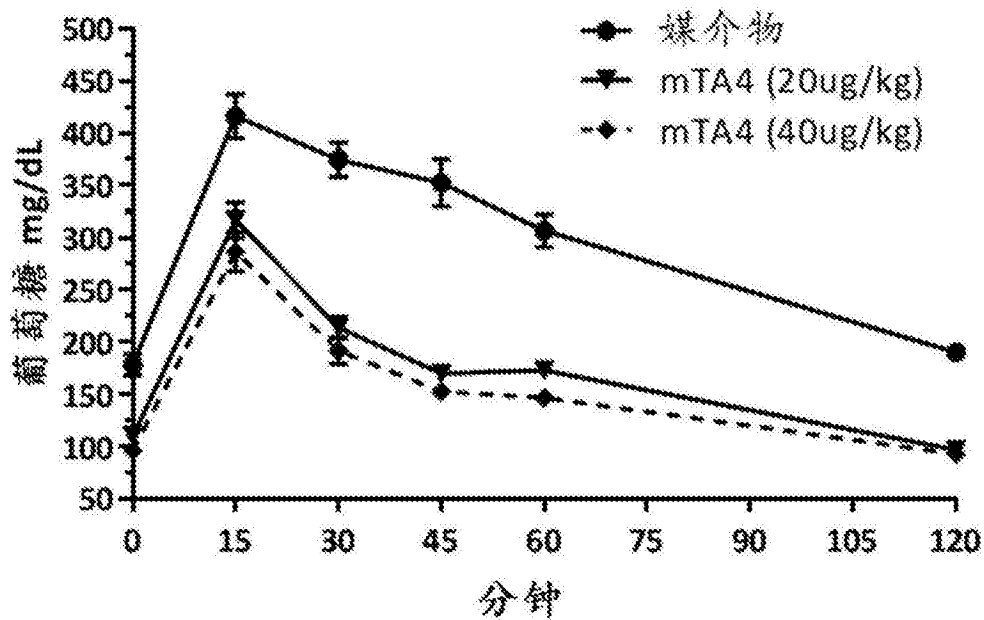


图10A

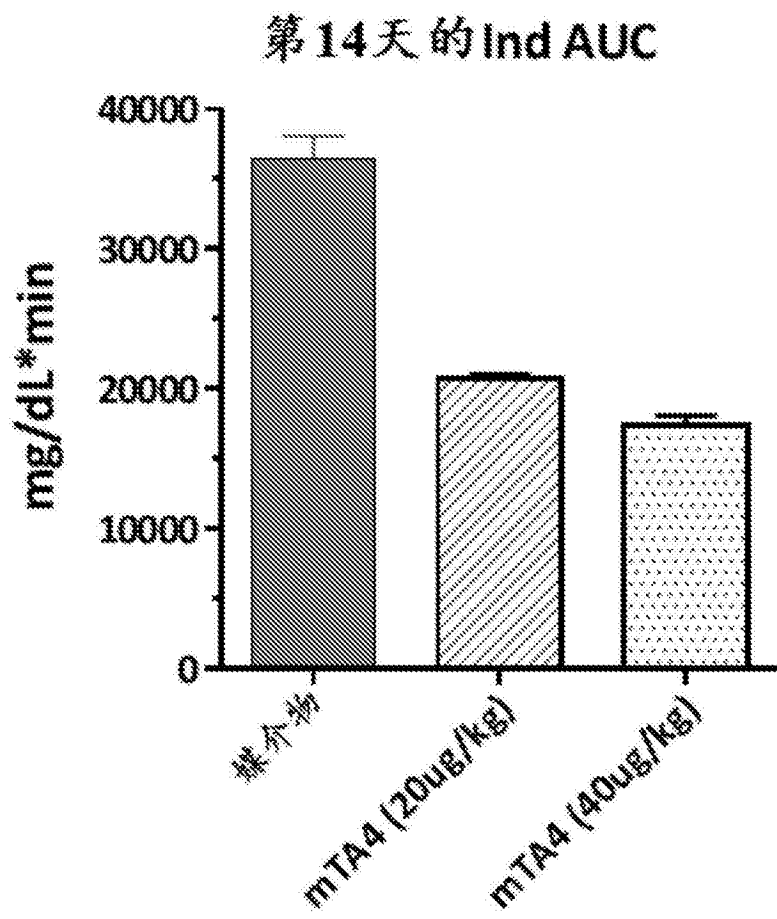


图10B

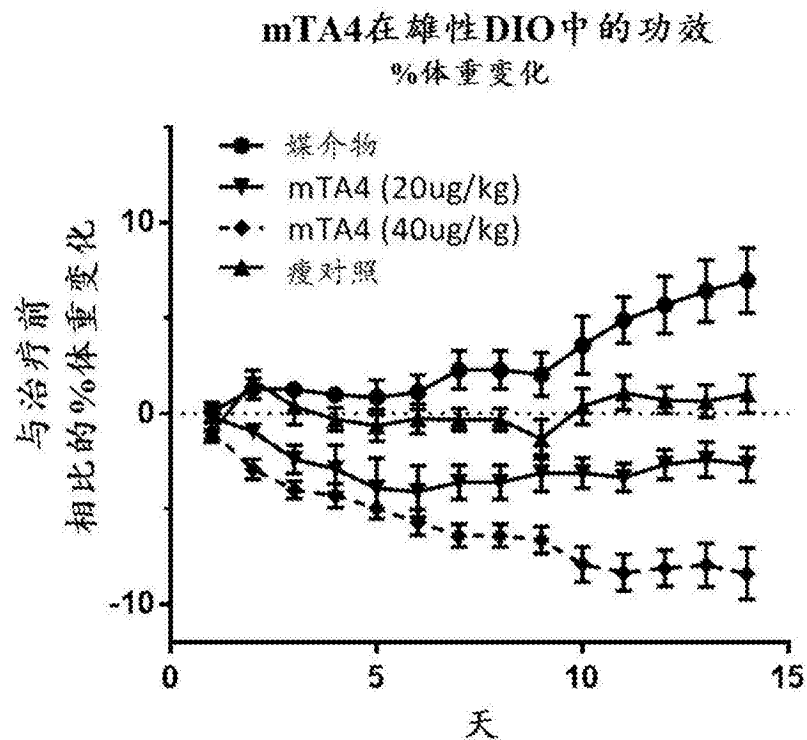


图11A

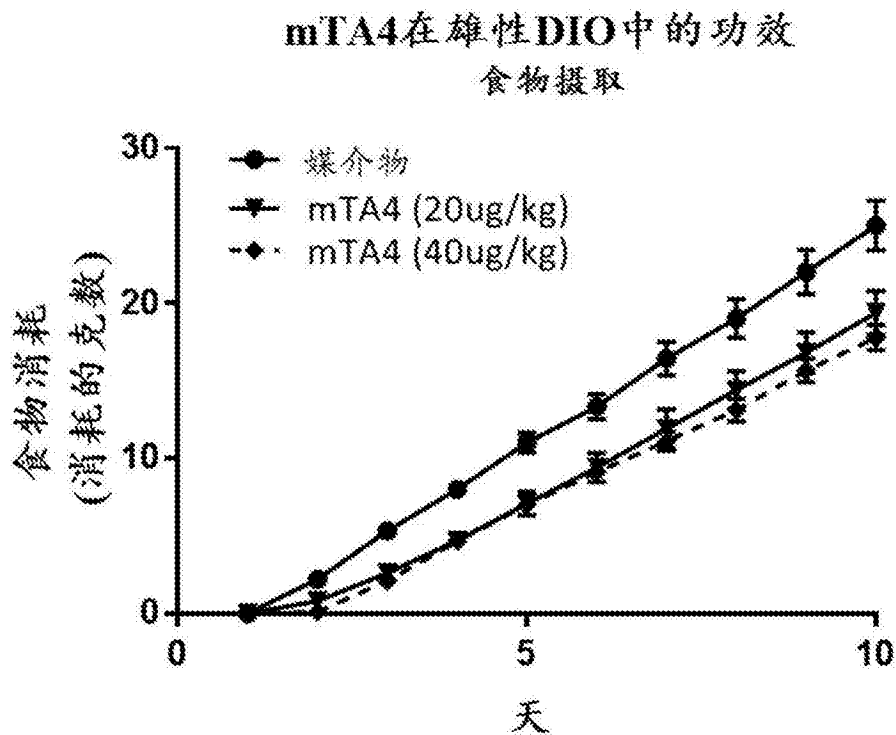


图11B

与第0天相比的%体重变化

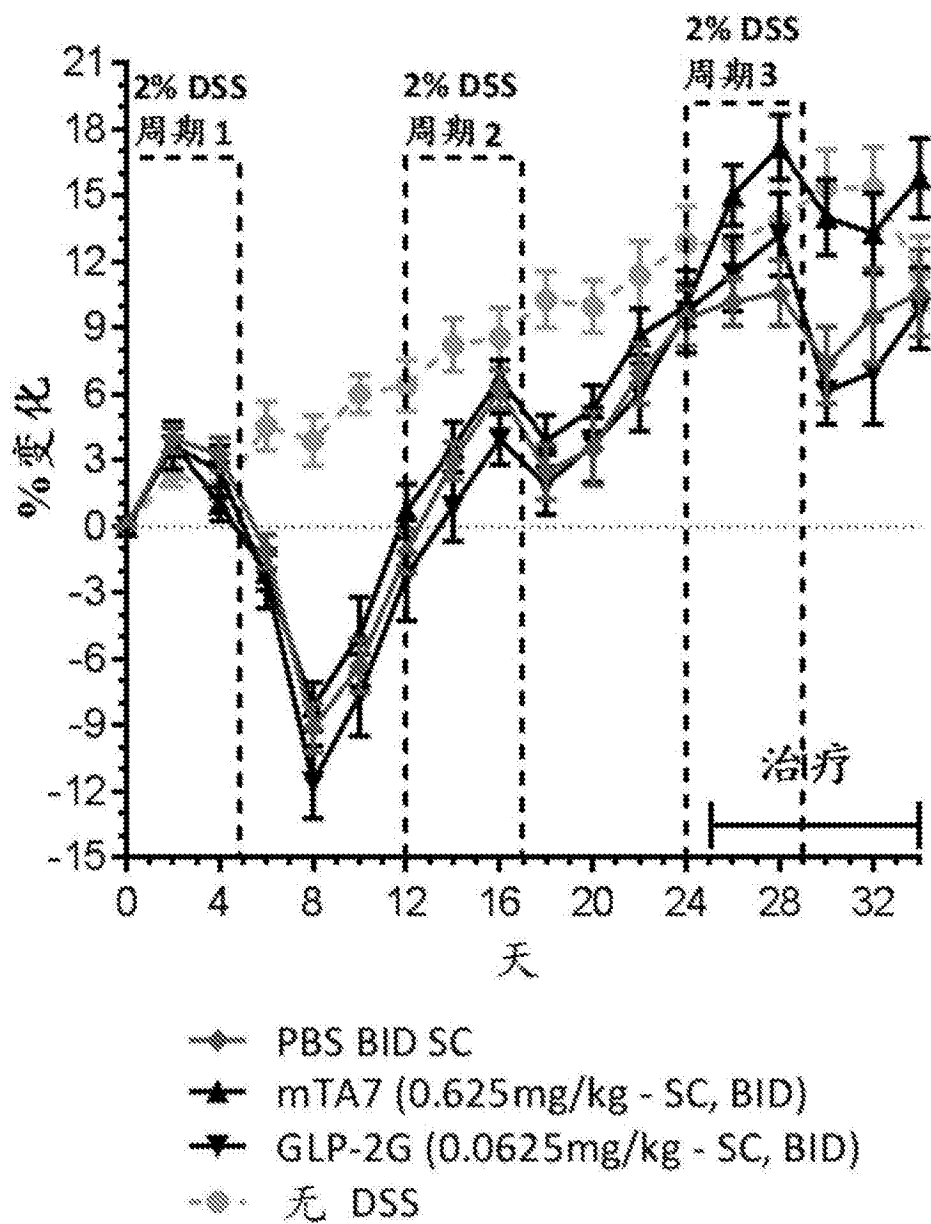


图12

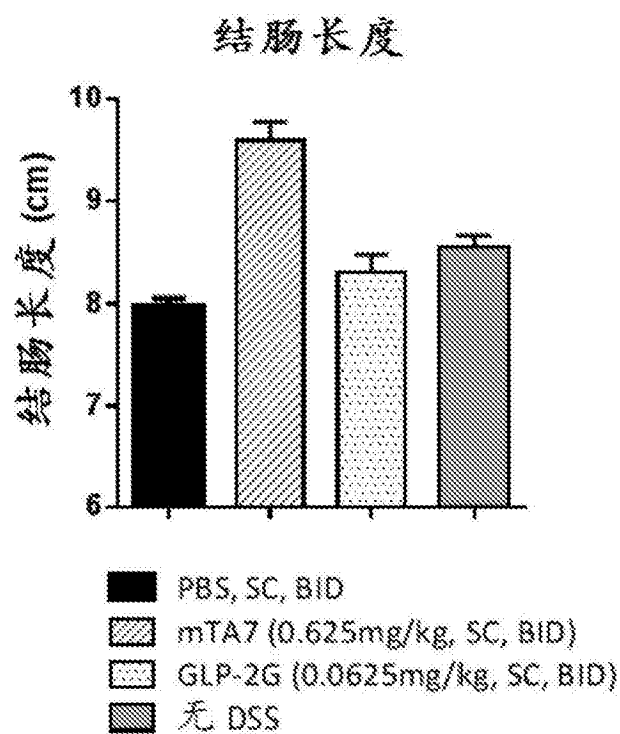


图13A

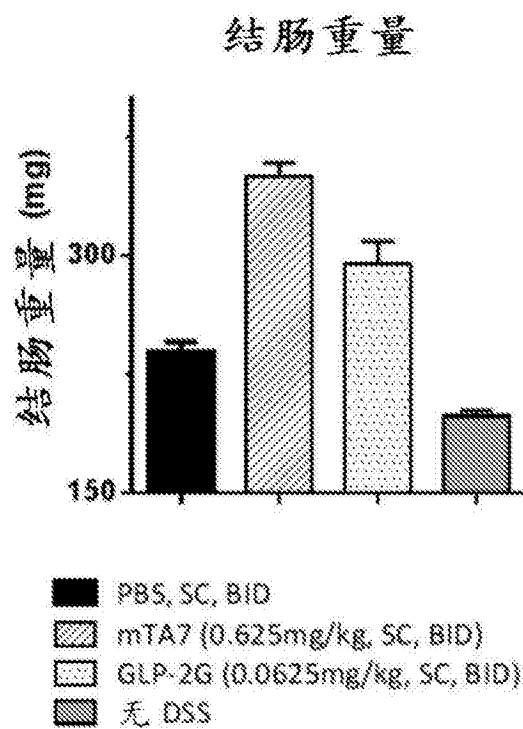


图13B

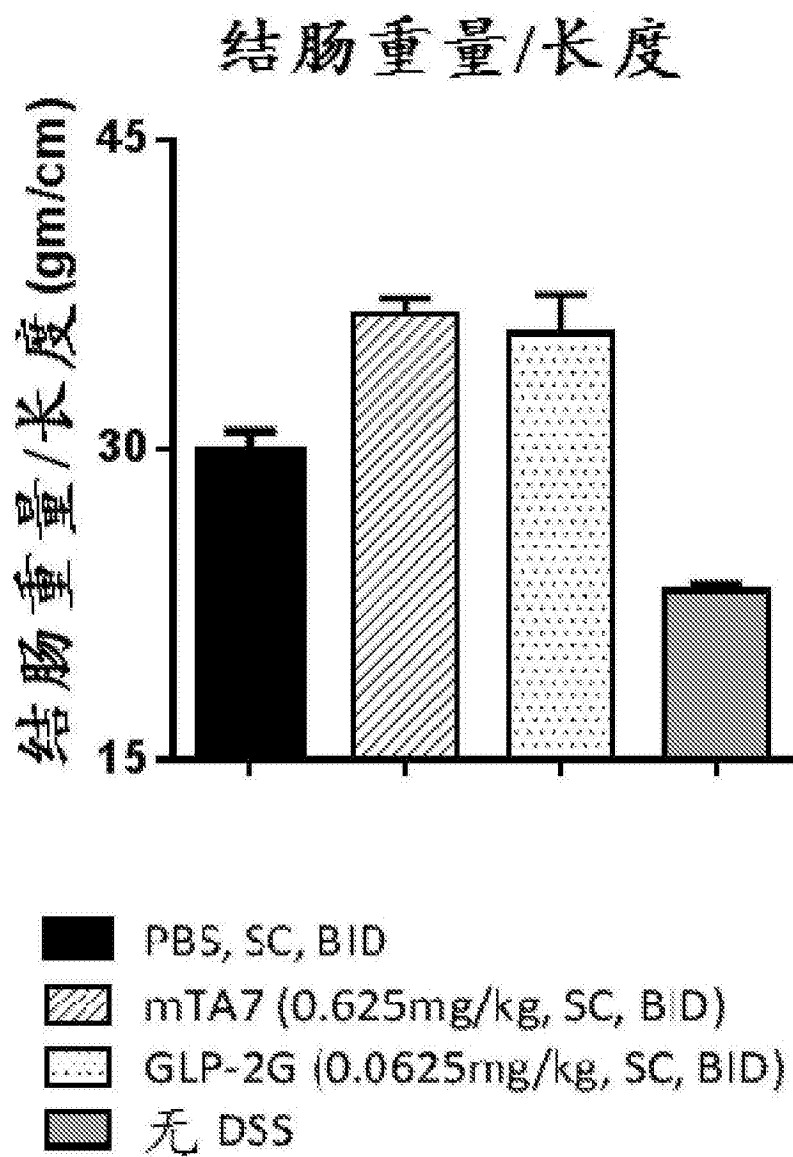


图13C

小肠长度

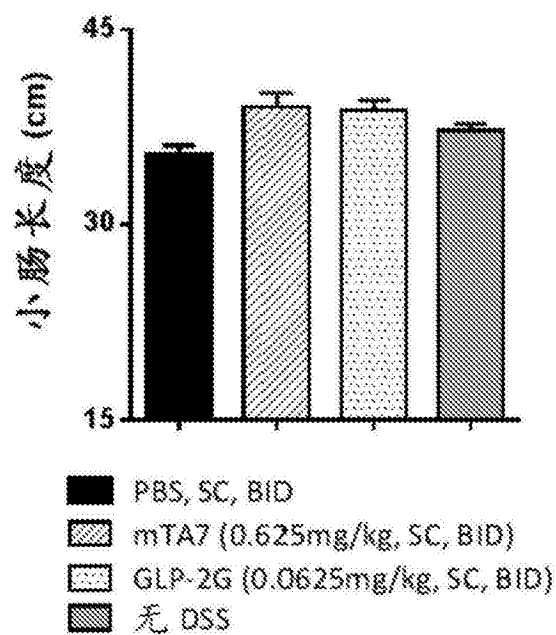


图14A

小肠重量

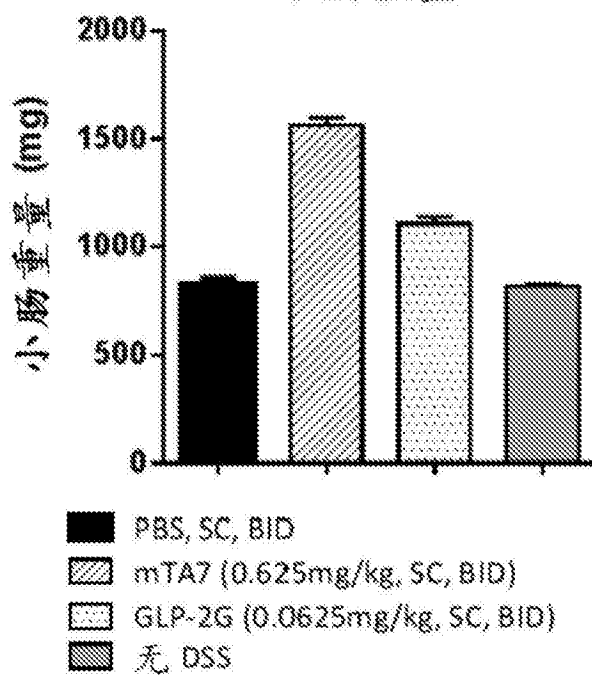


图14B

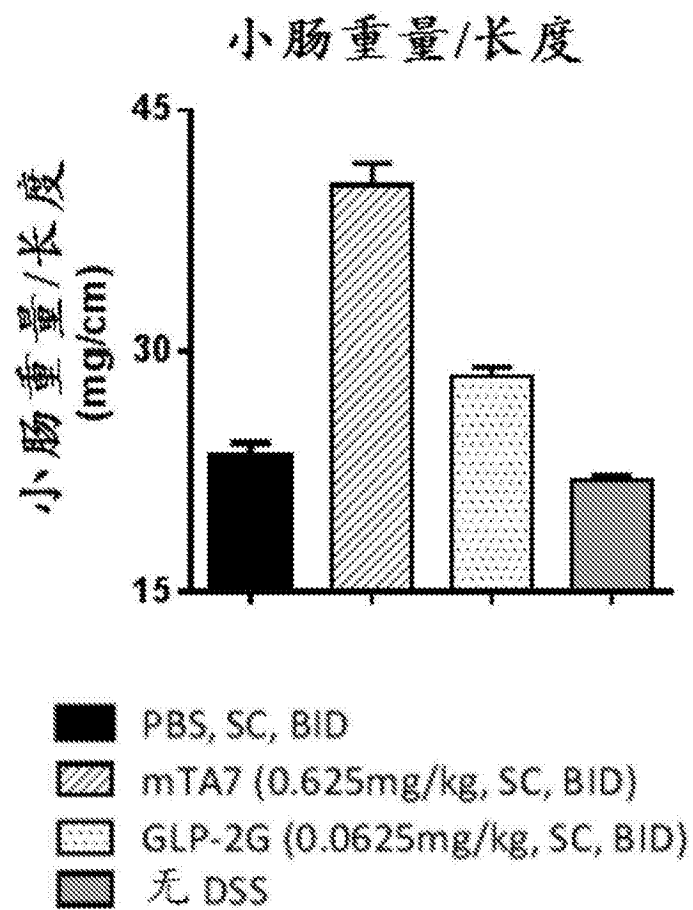


图14C