



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107849092 A

(43)申请公布日 2018.03.27

(21)申请号 201680040557.5

(22)申请日 2016.07.21

(30)优先权数据

15178162.2 2015.07.24 EP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.01.09

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2016/067447 2016.07.21

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/016982 EN 2017.02.02

(71)申请人 豪夫迈·罗氏有限公司

地址 瑞士巴塞尔

申请人 罗氏宁博根公司

(72)发明人 杰里米·比彻姆

佩尔-奥拉·弗雷斯克加德

埃里克·A·基塔斯

维克托·利亚米切夫

吉加尔·帕特尔

(74)专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司 11021

代理人 吴小明 王旭

(51)Int.Cl.

C07K 7/08(2006.01)

C12N 9/64(2006.01)

A61K 38/55(2006.01)

权利要求书6页 说明书23页

序列表34页

(54)发明名称

BACE1抑制剂肽

(57)摘要

本发明涉及双位点BACE1抑制剂,它们的制备,含有它们的药物组合物以及它们作为治疗活性物质的用途。本发明的活性化合物可用于例如阿尔茨海默病的治疗性和/或预防性治疗。

1. 一种双位点BACE1抑制剂,所述抑制剂与BACE酶的酶促活性位点和催化结构域二者结合,其中通过接头(L')将外部位点抑制部分(A')与所述BACE1抑制剂的活性位点抑制部分(B')连接,

或其药用盐。

2. 根据权利要求1-2中任一项所述的双位点BACE1抑制剂,其中L'选自由以下组成的组:

i. $-(\text{Gly})_x-$, 其中x是3,

ii. PEG (4), 和

iii. $-\text{Gly}-\text{DLys}-\text{Gly}-$ 。

3. 根据权利要求1-3中任一项所述的双位点BACE1抑制剂,其中A'选自由以下组成的组:

i. $\text{Tyr}-\text{Pro}-\text{Tyr}-\text{Phe}-\text{Ile}-\text{Pro}-\text{Leu}-$,

ii. $\text{Tyr}-\text{Pro}-\text{Lys}-\text{Phe}-\text{Ile}-\text{Pro}-\text{Leu}-$,

iii. $\text{Tyr}-\text{Pro}-\text{Tyr}-\text{Phe}-\text{Ile}-\text{Pro}-\text{DLys}-$,

iv. $\text{Tyr}-\text{Pro}-\text{Tyr}-\text{Phe}-\text{Lys}-\text{Pro}-\text{Ala}-$,

v. $\text{Tyr}-\text{Pro}-\text{Tyr}-\text{Phe}-\text{Ile}-\text{DLys}-\text{Leu}-$

vi. $\text{Tyr}-\text{Pro}-\text{Tyr}-\text{Phe}-\text{DLys}-\text{Pro}-\text{Leu}-$,

vii. $\text{Tyr}-\text{Pro}-\text{Lys}-\text{Pro}-\text{Ala}-\text{Gln}-\text{Gly}-$

viii. $\text{Gly}-\text{Ala}-\text{Arg}-\text{Phe}-\text{Ile}-\text{Pro}-\text{Ala}-$,

ix. $\text{Tyr}-\text{Pro}-\text{Tyr}-\text{Phe}-\text{Ile}-\text{Ser}-\text{Ala}-$,

x. $\text{Tyr}-\text{Pro}-\text{Tyr}-\text{Phe}-\text{Ile}-\text{Pro}-\text{DLys}$,

xi. $\text{DLys}-\text{Pro}-\text{Tyr}-\text{Phe}-\text{Ile}-\text{Pro}-\text{Leu}-$,

xii. $\text{H}-\text{Tyr}-\text{Pro}-\text{Tyr}-\text{Phe}-\text{DLys}-\text{Leu}-$,

xiii. $\text{H}-\text{DTyr}-\text{Pro}-\text{Tyr}-\text{Phe}-\text{Ile}-\text{Pro}-\text{DLys}-$,

xiv. $\text{H}-\text{DTyr}-\text{Pro}-\text{Tyr}-\text{Phe}-\text{Ile}-\text{Pro}-\text{Leu}-$,

xv. $\text{Ac}-\text{DTyr}-\text{Pro}-\text{Tyr}-\text{Phe}-\text{Ile}-\text{Pro}-\text{Leu}-$.

xvi. $\text{H}-\text{Tyr}-\text{DLys}-\text{Tyr}-\text{Phe}-\text{Ile}-\text{Pro}-\text{Leu}-$,

xvii. $\text{H}-\text{Tyr}-\text{Pro}-\text{DLys}-\text{Phe}-\text{Ile}-\text{Pro}-\text{Leu}-$,

xviii. $\text{H}-\text{Tyr}-\text{Pro}-\text{Tyr}-\text{DLys}-\text{Ile}-\text{Pro}-\text{Leu}-$,

xix. 生物素-PEG2-Cys-PEG8-Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-,

xx. 生物素-PEG2-Cys-PEG3-Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-, 和

xxi. $\text{H}-\text{Gly}-\text{Gly}-\text{Gly}-\text{Tyr}-\text{Pro}-\text{Tyr}-\text{Phe}-\text{Ile}-\text{Pro}-\text{DLys}-$ 。

4. 根据权利要求1-4中任一项所述的双位点BACE1抑制剂,其中A'选自由以下组成的组:

i. $\text{Tyr}-\text{Pro}-\text{Tyr}-\text{Phe}-\text{Ile}-\text{Pro}-\text{Leu}-$,

ii. $\text{Tyr}-\text{Pro}-\text{Lys}-\text{Phe}-\text{Ile}-\text{Pro}-\text{Leu}-$,

iii. $\text{Tyr}-\text{Pro}-\text{Tyr}-\text{Phe}-\text{Ile}-\text{Pro}-\text{DLys}-$,

iv. $\text{Tyr}-\text{Pro}-\text{Tyr}-\text{Phe}-\text{Lys}-\text{Pro}-\text{Ala}-$,

v. $\text{Tyr}-\text{Pro}-\text{Tyr}-\text{Phe}-\text{Ile}-\text{DLys}-\text{Leu}-$

- vi. Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Pro-Leu-,
- vii. Tyr-Pro-Lys-Pro-Ala-Gln-Gly-
- viii. Gly-Ala-Arg-Phe-Ile-Pro-Ala-,
- ix. Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Ser-Ala-,
- x. Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys,
- xi. DLys-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-,
- xii. H-Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Leu-,
- xiii. H-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-,
- xiv. H-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-, 和
- xv. Ac-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-。

5. 根据权利要求1-5中任一项所述的双位点BACE1抑制剂, 其中B' 选自由以下组成的组:

- i. -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,
- ii. -Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-DPhe-NH₂,
- iii. -Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂,
- iv. -Glu-Val-Asn-Leu*Ala-Ala-Glu-DPro-NH₂, 和
- v. Glu-Val-Asn-Leu*Ala-Ala-Glu-DPro-NH₂。

6. 根据权利要求1至6中任一项所述的化合物, 其选自由以下组成的组:

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x
TFA

1H-Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-
NH₂,

DLys-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-
DPro-NH₂,

Gly-Ala-Arg-Phe-Ile-Pro-Ala-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-
DPro-NH₂x 3TFA,

H-Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

H-Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-
NH₂,

H-Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-
NH₂,

Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-
Pro-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-
DPro-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Lys-Pro-Ala-Gln-Gly-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-
DPro-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Leu*Ala-Ala-Glu-DPro-
NH₂,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-DLys-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-DPhe-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Leu*Ala-Ala-Glu-DPro-NH₂,
Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-PEG (4) -Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂x 2TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 2TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-Gly-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂x TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-Gly-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-DPhe-NH₂x TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂x TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Ser-Ala-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Lys-Pro-Ala-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Lys-Pro-Ala-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

H-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

H-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 2TFA,

Ac-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 2TFA,

H-Tyr-DLys-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

H-Tyr-Pro-DLys-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

H-Tyr-Pro-Tyr-DLys-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

生物素-PEG2-Cys-PEG8-Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

生物素-PEG2-Cys-PEG3-Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂, 和

H-Gly-Gly-Gly-Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA。

7. 根据权利要求1至7中任一项所述的化合物, 其选自由以下组成的组:

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x TFA,

1H-Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

DLys-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

Gly-Ala-Arg-Phe-Ile-Pro-Ala-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

H-Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

H-Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

H-Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Lys-Pro-Ala-Gln-Gly-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Leu*Ala-Ala-Glu-DPro-NH₂,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-DLys-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-

DPhe-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Leu*Ala-Ala-Glu-DPro-NH₂,
Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-PEG (4) -Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂x 2TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 2TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-Gly-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂x TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-Gly-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-DPhe-NH₂x TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂x TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Ser-Ala-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Lys-Pro-Ala-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

Tyr-Pro-Tyr-Phe-Lys-Pro-Ala-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

H-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

H-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 2TFA, 和

Ac-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 2TFA。

8. 根据权利要求1至5中任一项所述的化合物,其中所述药用盐是三氟乙酸盐。

9. 根据权利要求1-8中任一项所述的双位点BACE1抑制剂,其用作治疗活性物质。

10. 根据权利要求1-8中任一项所述的双位点BACE1抑制剂,其用作治疗活性物质,所述治疗活性物质用于治疗性和/或预防性治疗以升高的β-淀粉样蛋白水平和/或β-淀粉样蛋白低聚物和/或β-淀粉样蛋白斑以及进一步的沉积物为特征的疾病和病症,尤其是阿尔茨海默病。

11. 一种药物组合物,所述药物组合物包含根据权利要求1-8中任一项所述的双位点BACE1抑制剂和药用载体和/或药用辅助物质。

12. 根据权利要求1-8中任一项所述的双位点BACE1抑制剂用于制备药物的用途,所述

药物用于治疗性和/或预防性治疗以升高的 β -淀粉样蛋白水平和/或 β -淀粉样蛋白低聚物和/或 β -淀粉样蛋白斑以及进一步的沉积物为特征的疾病和病症,尤其是阿尔茨海默病。

13.一种用于抑制BACE1活性、特别是用于治疗性和/或预防性治疗以升高的 β -淀粉样蛋白水平和/或 β -淀粉样蛋白低聚物和/或 β -淀粉样蛋白斑以及进一步的沉积物为特征的疾病和病症、阿尔茨海默病、糖尿病或2型糖尿病的方法,所述方法包括向人类或动物施用根据权利要求1-8中任一项所述的双位点BACE1抑制剂。

14.如上描述的本发明。

BACE 1抑制剂肽

[0001] 本发明涉及具有双重BACE1抑制性质的肽,它们的制备,含有它们的药物组合物以及它们作为治疗活性物质的用途。

技术领域

[0002] 本发明化合物具有Asp2 (β -分泌酶, BACE1或膜天冬氨酸蛋白酶-2 (Memapsin-2)) 抑制活性并且因此可以用于特征在于升高的 β -淀粉样蛋白水平和/或 β -淀粉样蛋白低聚物和/或 β -淀粉样蛋白斑以及进一步的沉积物的疾病和病症、尤其是阿尔茨海默病的治疗性和/或预防性治疗。

背景技术

[0003] 阿尔茨海默病 (AD) 是中枢神经系统的神经变性疾病并且是老年人口中进行性痴呆的主要原因。其临床症状是记忆、认知、暂时和局部定向、判断和推理的损害,以及严重的情绪紊乱。目前还没有可以预防该疾病或其进展或稳定地逆转其临床症状的有效治疗。在所有具有高预期寿命的社会中AD已经成为主要的健康问题,并且也已经成为这些社会健康体系的显著经济负担。

[0004] BACE1酶负责APP蛋白的蛋白水解裂解中的一种,其促进了阿尔茨海默病相关的A β -肽的产生。通过抑制BACE1酶来减缓或停止A β -肽的产生是有前途的治疗概念。

[0005] 针对活性位点的BACE1抑制剂在例如W02006/002907中描述并且针对外部位点 (exosite) (催化结构域) 的BACE1抑制剂在例如Kornacker等人, *Biochemistry* 2005, 44, 11567-73中描述。Linning, *Organic&Biomolecular Chemistry* 10 (41), 2012, p8216, W02005097199, US2007149763和W02013056054描述了具有肽结构的Bace1抑制剂。

[0006] 发明详述

[0007] 本发明的目的是双位点BACE1抑制剂 (所述抑制剂与BACE酶的酶促活性位点和催化结构域二者结合), 上述化合物的制备, 含有它们的药物及它们的制备, 以及上述化合物在治疗性和/或预防性治疗与抑制BACE1活性相关的疾病和病症 (诸如阿尔茨海默病) 中的用途。此外, 本发明的化合物通过抑制由APP或APP片段产生A β 来抑制 β -淀粉样蛋白斑在神经组织 (例如, 大脑) 中、上或周围的形成、或形成和沉积。

[0008] 不管被讨论的术语单独或与其他基团组合地出现, 下列对本说明书中使用的一般术语的定义均适用。

[0009]

氨基酸	3-字母	1-字母
丙氨酸	Ala	A
精氨酸	Arg	R
天冬酰胺	Asn	N
天冬氨酸	Asp	D
半胱氨酸	Cys	C

谷氨酸	Glu	E
谷氨酰胺	Gln	Q
甘氨酸	Gly	G
组氨酸	His	H
异亮氨酸	Ile	I
亮氨酸	Leu	L
赖氨酸	Lys	K
甲硫氨酸	Met	M
苯丙氨酸	Phe	F
脯氨酸	Pro	P
丝氨酸	Ser	S
苏氨酸	Thr	T
色氨酸	Trp	W
酪氨酸	Tyr	Y
缬氨酸	Val	V

[0010] 表1:本文中使用的氨基酸缩写

[0011] 表2:本文中使用的氨基酸缩写

[0012] 术语“Sta”表示抑胃酶氨酸 (statine), 即 (3S, 4S)-4-氨基-3-羟基-6-甲基庚酸 (CAS 49642-07-1)。

[0013] 术语“MetSta”表示 (3S, 4S)-4-氨基-3-羟基-6-甲基硫己酸 (CAS不适用 (n/a)), (Fmoc保护的CAS:268542-18-3)。

[0014] 术语“PEG (4)”表示15-氨基-4, 7, 10, 13, 四氧杂十五烷酸 (CAS:不适用), (Fmoc保护的CAS:557756-85-1)。

[0015] 术语Leu*Ala表示“Tang”羟基亚乙基二肽等排体 (文献:A.K.Ghosh, D.Shin, D.Downs, G.Koelsch, X.Lin, J.Ermolieff和J.Tang, J.Am.Chem.Soc., 2000, 122, 3522)。

[0016] 术语“PEG2”表示8-氨基-3, 6-二氧杂辛酸 (CAS:不适用), (Fmoc保护的CAS:166108-71-0)。

[0017] 术语“PEG3”表示12-氨基-4, 7, 10-三氧杂十二烷酸 (CAS:不适用), Fmoc保护的CAS:867062-95-1)。

[0018] 术语“药用盐”是指适合与人类和动物的组织接触使用的盐。与无机和有机酸的合适的盐的实例为, 但是不限于:乙酸、柠檬酸、甲酸、富马酸、盐酸、乳酸、马来酸、苹果酸、甲磺酸、硝酸、磷酸、对甲苯磺酸、琥珀酸、硫磺酸、硫酸、酒石酸、三氟乙酸 (TFA) 等。具体的盐是三氟乙酸盐。

[0019] 术语“药用载体”和“药用辅助物质”是指与制剂的其他成分相容的载体和辅助物质如稀释剂或赋形剂。

[0020] 术语“药物组合物”包括包含预定量或比例的特定成分的产品, 以及通过组合特定量的特定成分直接地或间接地得到的任何产品。优选地, 它包括包含一种或多种活性成分, 和任选的包含惰性成分的载体的产品, 以及由任何两种以上的成分的组合、复合或聚集, 或者由一种或多种成分的分解, 或由一种或多种成分的其他类型的反应或相互作用直接地或

间接地得到的任何产物。

[0021] 术语“半最大抑制浓度”(IC₅₀)表示在体外获得生物过程的50%抑制所需的特定化合物的浓度。可以将IC₅₀值对数地转换为pIC₅₀值(-log IC₅₀),其中较大的值表示指数地增加的效力。IC₅₀值不是绝对值而依赖于试验条件例如所采用的浓度。可以将IC₅₀值使用Cheng-Prusoff公式(Biochem.Pharmacol.(1973)22:3099)转换为绝对抑制常数(Ki)。术语“抑制常数”(Ki)表示特定抑制剂对受体的绝对结合亲和性。其使用竞争结合测定测量,并且等于如果不存在竞争配体(例如放射性配体)特定抑制剂将占据受体的50%的情况下的浓度。可以将Ki值对数地转换为pKi值(-log Ki),其中较大的值表示指数地增加的效力。

[0022] “治疗有效量”意指当被施用于受试者用于治疗疾病状态时,足以实现对于疾病状态的这种治疗的化合物的量。“治疗有效量”将依赖于化合物、所治疗的疾病状态、所治疗的疾病的严重性、受试者的年龄和相对健康状况、给药的路线和形式、主治医师或兽医的判断以及其他因素而变化。

[0023] 术语“如本文所定义的”和“如本文所描述的”当涉及变量时通过引用结合变量的宽泛定义以及如果有的话,优选的、更优选的和最优选的定义。

[0024] 当涉及化学反应时术语“处理”、“接触”和“反应”意指在合适的条件下加入或混合两种以上的试剂以制备所示和/或所需的产物。应该明白产生所示和/或所需产物的反应可能不一定直接得自最初加入的两种试剂的组合,即,在混合物中可能产生最终导致所示和/或所需产物的形成的一种或多种中间体。

[0025] 本发明还提供药物组合物、使用上述化合物的方法和制备上述化合物的方法。

[0026] 所有单独的实施方案可以进行组合。

[0027] 本发明涉及双位点BACE1抑制剂,所述抑制剂与BACE1酶的酶促活性位点和催化结构域二者结合。

[0028] 单独含有抑胃酶氨酸型过渡态模拟物的外部位点基序以及活性位点抑制剂不显示BACE1抑制。

[0029] 本发明的一个特定实施方案涉及如本文所述的双位点BACE1抑制剂或其药用盐,所述抑制剂与BACE酶的酶促活性位点和催化结构域二者结合,其中通过接头(L')将外部位点抑制部分(A')与所述BACE1抑制剂的活性位点抑制部分(B')连接。

[0030] 本发明的一个特定实施方案涉及如本文所述的双位点BACE1抑制剂,其中L'选自以下组成的组:

[0031] i. -(Gly)_x, 其中x是3,

[0032] ii. PEG(4), 和

[0033] iii. -Gly-DLys-Gly-。

[0034] 本发明的一个特定实施方案涉及如本文所述的双位点BACE1抑制剂,其中A'选自以下组成的组:

[0035] i. Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-,

[0036] ii. Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-Pro-Leu-,

[0037] iii. Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-,

[0038] iv. Tyr-Pro-Tyr-Phe-Lys-Pro-Ala-,

[0039] v. Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-DLys-Leu-

- [0040] vi. Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Pro-Leu-,
[0041] vii. Tyr-Pro-Lys-Pro-Ala-Gln-Gly-
[0042] viii. Gly-Ala-Arg-Phe-Ile-Pro-Ala-,
[0043] ix. Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Ser-Ala-,
[0044] x. Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys,
[0045] xi. DLys-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-,
[0046] xii. H-Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Leu-,
[0047] xiii. H-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-,
[0048] xiv. H-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-,
[0049] xv. Ac-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-.
[0050] xvi. H-Tyr-DLys-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-,
[0051] xvii. H-Tyr-Pro-DLys-Phe-Ile-Pro-Leu-,
[0052] xviii. H-Tyr-Pro-Tyr-DLys-Ile-Pro-Leu-,
[0053] xix. 生物素-PEG2-Cys-PEG8-Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-,
[0054] xx. 生物素-PEG2-Cys-PEG3-Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-, 和
[0055] xxi. H-Gly-Gly-Gly-Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-。

[0056] 本发明的一个特定实施方案涉及如本文所述的双位点BACE1抑制剂, 其中A' 选自以下组成的组:

- [0057] i. Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-,
[0058] ii. Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-Pro-Leu-,
[0059] iii. Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-,
[0060] iv. Tyr-Pro-Tyr-Phe-Lys-Pro-Ala-,
[0061] v. Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-DLys-Leu-
[0062] vi. Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Pro-Leu-,
[0063] vii. Tyr-Pro-Lys-Pro-Ala-Gln-Gly-
[0064] viii. Gly-Ala-Arg-Phe-Ile-Pro-Ala-,
[0065] ix. Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Ser-Ala-,
[0066] x. Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys,
[0067] xi. DLys-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-, 和
[0068] xii. H-Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Leu-。
[0069] xiii. H-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-,
[0070] xiv. H-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-, 和
[0071] xv. Ac-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu。

[0072] 本发明的一个特定实施方案涉及如本文所述的双位点BACE1抑制剂, 其中B' 选自以下组成的组:

- [0073] i. -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,
[0074] ii. -Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-DPhe-NH₂,
[0075] iii. -Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂,
[0076] iv. -Glu-Val-Asn-Leu*Ala-Ala-Glu-DPro-NH₂, 和

[0077] v.Glu-Val-Asn-Leu*Ala-Ala-Glu-DPro-NH₂。

[0078] 本发明的一个特定实施方案涉及如本文所述的双位点BACE1抑制剂,其选自由以下组成的组:

[0079] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x TFA

[0080] 1H-Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

[0081] DLys-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

[0082] Gly-Ala-Arg-Phe-Ile-Pro-Ala-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

[0083] H-Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

[0084] H-Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

[0085] H-Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

[0086] Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂ x 3TFA,

[0087] Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂ x 3TFA,

[0088] Tyr-Pro-Lys-Pro-Ala-Gln-Gly-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂ x 3TFA,

[0089] Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Leu*Ala-Ala-Glu-DPro-NH₂,

[0090] Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂ x 3TFA,

[0091] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-DLys-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂ x 3TFA,

[0092] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂ x 3TFA,

[0093] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-DPhe-NH₂ x 3TFA,

[0094] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂ x 3TFA,

[0095] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Leu*Ala-Ala-Glu-DPro-NH₂,

[0096] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-PEG (4) -Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

- [0097] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂ x 2TFA,
- [0098] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂ x 2TFA,
- [0099] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-Gly-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂x TFA,
- [0100] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-Gly-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x TFA,
- [0101] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-DPhe-NH₂x TFA,
- [0102] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂x TFA,
- [0103] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Ser-Ala-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,
- [0104] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Lys-Pro-Ala-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,
- [0105] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Lys-Pro-Ala-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,
- [0106] H-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,
- [0107] H-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 2TFA,
- [0108] Ac-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 2TFA,
- [0109] H-Tyr-DLys-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,
- [0110] H-Tyr-Pro-DLys-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,
- [0111] H-Tyr-Pro-Tyr-DLys-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,
- [0112] 生物素-PEG2-Cys-PEG8-Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,
- [0113] 生物素-PEG2-Cys-PEG3-Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂, 和
- [0114] H-Gly-Gly-Gly-Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA。
- [0115] 本发明的一个特定实施方案涉及如本文所述的双位点BACE1抑制剂,其选自由以下组成的组:
- [0116] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-

NH₂x TFA,

[0117] 1H-Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

[0118] DLys-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

[0119] Gly-Ala-Arg-Phe-Ile-Pro-Ala-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

[0120] H-Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

[0121] H-Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

[0122] H-Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

[0123] Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂x 3TFA,

[0124] Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

[0125] Tyr-Pro-Lys-Pro-Ala-Gln-Gly-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

[0126] Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Leu*Ala-Ala-Glu-DPro-NH₂,

[0127] Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

[0128] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-DLys-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂x 3TFA,

[0129] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂ x 3TFA,

[0130] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-DPhe-NH₂ x 3TFA,

[0131] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂ x 3TFA,

[0132] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-PEG (4) -Glu-Val-Asn-Leu*Ala-Ala-Glu-DPro-NH₂,

[0133] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-PEG (4) -Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂,

[0134] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂ x 2TFA,

[0135] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂ x 2TFA,

[0136] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-Gly-Gly-Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂ x TFA,

[0137] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-Gly-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂ x TFA,

[0138] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-DPhe-NH₂ x TFA,

[0139] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-PEG (4) -Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH₂ x TFA,

[0140] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Ser-Ala-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂ x 3TFA,

[0141] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Lys-Pro-Ala-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂ x 3TFA,

[0142] Tyr-Pro-Tyr-Phe-Lys-Pro-Ala-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂ x 3TFA,

[0143] H-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂ x 3TFA,

[0144] H-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂ x 2TFA,和

[0145] Ac-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH₂ x 2TFA。

[0146] 本发明的一个特定实施方案涉及如本文所述的双位点BACE1抑制剂,其中药用盐是三氟乙酸盐。

[0147] 本发明的一个特定实施方案涉及如本文所述的双位点BACE1抑制剂,其用作治疗活性物质。

[0148] 本发明的一个特定实施方案涉及如本文所述的双位点BACE1抑制剂,其用作BACE1活性的抑制剂。

[0149] 本发明的一个特定实施方案涉及如本文所述的双位点BACE1抑制剂,其用作治疗活性物质,所述治疗活性物质用于治疗性和/或预防性治疗以升高的β-淀粉样蛋白水平和/或β-淀粉样蛋白低聚物和/或β-淀粉样蛋白斑以及进一步的沉积物为特征的疾病和病症,尤其是阿尔茨海默病。

[0150] 本发明的一个特定实施方案涉及如本文所述的双位点BACE1抑制剂,其用作治疗活性物质,所述治疗活性物质用于治疗性和/或预防性治疗阿尔茨海默病。

[0151] 本发明的一个特定实施方案涉及药物组合物,所述药物组合物包含如本文所述的双位点BACE1抑制剂和药用载体和/或药用辅助物质。

[0152] 本发明的一个特定实施方案涉及如本文所述的双位点BACE1抑制剂用于制备药物的用途,所述药物用于抑制BACE1活性。

[0153] 本发明的一个特定实施方案涉及如本文所述的双位点BACE1抑制剂用于制备药物的用途,所述药物用于治疗性和/或预防性治疗以升高的β-淀粉样蛋白水平和/或β-淀粉样蛋白低聚物和/或β-淀粉样蛋白斑以及进一步的沉积物为特征的疾病和病症,尤其是阿尔

茨海默病。

[0154] 本发明的一个特定实施方案涉及如本文所述的双位点BACE1抑制剂用于制备药物的用途,所述药物用于治疗性和/或预防性治疗阿尔茨海默病。

[0155] 本发明的一个特定实施方案涉及如本文所述的双位点BACE1抑制剂,所述抑制剂用于抑制BACE1活性。

[0156] 本发明的一个特定实施方案涉及如本文所述的双位点BACE1抑制剂,所述抑制剂用于治疗性和/或预防性治疗以升高的 β -淀粉样蛋白水平和/或 β -淀粉样蛋白低聚物和/或 β -淀粉样蛋白斑以及进一步的沉积物为特征的疾病和病症,尤其是阿尔茨海默病。

[0157] 本发明的一个特定实施方案涉及如本文所述的双位点BACE1抑制剂,所述抑制剂用于治疗性和/或预防性治疗阿尔茨海默病。

[0158] 本发明的一个特定实施方案涉及一种用于抑制BACE1活性,特别是用于治疗性和/或预防性治疗以升高的 β -淀粉样蛋白水平和/或 β -淀粉样蛋白低聚物和/或 β -淀粉样蛋白斑以及进一步的沉积物为特征的疾病和病症、阿尔茨海默病的方法,所述方法包括向人类或动物施用如本文所述的双位点BACE1抑制剂。

[0159] 此外,本发明包括所有旋光异构体,即非对映异构体、非对映异构体混合物、外消旋混合物、所有它们相应的对映体和/或互变异构体以及它们的溶剂化物。

[0160] 双位点BACE1抑制剂可以如本文中描述的制备。原材料是可商购的或者可以按照已知方法制备。

[0161] 可以通过本领域技术人员已知的标准方法获得相应的与酸的药用盐,例如通过将双位点BACE1抑制剂溶解在合适的溶剂如二噁烷或四氢呋喃(THF)中并加入合适量的相应的酸获得。通常可以通过过滤或通过色谱分离产物。用碱将双位点BACE1抑制剂转化为药用盐可以通过将这种化合物用这样的碱处理而进行。形成这种盐的一种可能方法是例如通过向该化合物在合适的溶剂(例如乙醇、乙醇-水混合物、四氢呋喃-水混合物)中的溶液中,加入1/n当量的碱盐如 $M(OH)_n$,其中M=金属或铵阳离子,并且n=氢氧根阴离子的数量,并且通过蒸发或冷冻干燥移除溶剂。

[0162] 在其制备未被描述在实施例中的情况下,可以根据类似方法或根据在此给出的方法制备双位点BACE1抑制剂以及所有中间体产物。原材料是可商购的,本领域已知的或者可以通过本领域已知方法或与其类似的方法制备。

[0163] 应理解,可以将本发明中双位点的BACE1抑制剂在官能团处进行衍生以提供能够在体内转化回母体化合物的衍生物。

[0164] 药理学测试

[0165] 双位点BACE1抑制剂和它们的药用盐拥有有价值的药理学特性。已经发现本发明的化合物与BACE1活性的抑制有关。按照在下文中给出的测试研究该化合物。

[0166] 细胞 $A\beta$ -降低测定:

[0167] 可以使用人HEK293细胞在细胞测定中对化合物的效力进行评价,所述人HEK293细胞用表达人APP野生型基因(APP695)的cDNA的载体稳定转染。将所述细胞接种在96孔微量滴定板中的细胞培养基(Iscove,加10%(v/v)胎牛血清、谷氨酰胺、青霉素/链霉素)中,至约80%会合并且将化合物以在1/10体积培养基中的10x浓度加入,所述培养基不具有FCS而含有8%DMSO(保持DMSO终浓度为0.8%v/v)。在加湿培养箱中在37°C和5%CO₂下孵育18-20

小时后,收获培养上清以确定A β 40浓度。96孔ELISA板(例如,Nunc MaxiSorb)用单克隆抗体包被,所述单克隆抗体特异性识别A β 40的C-末端(Brockhaus等人,NeuroReport 9,1481-1486;1998)。在用例如1%BSA封闭非特异性结合位点并洗涤之后,将培养上清加入合适的稀释液连同辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase)偶联的A β 检测抗体(例如,抗体4G8,Senetek,Maryland Heights,MO),并孵育5至7小时。然后将微量滴定板的孔用含有0.05%吐温20的Tris缓冲盐水充分洗涤,并且在柠檬酸缓冲液中用四甲基联苯胺/H₂O₂显色测定。在用1体积的1N H₂SO₄终止反应后,在ELISA读数器中在450nm波长处测量反应。在培养上清中A β 的浓度由通过已知量的纯A β 肽获得的标准曲线计算。

[0168]

实施例	名称	系统名称	MW	IC 50 (μM)
1	YPYFIPL-PEG(4)- EVN-Sta-VAEp-NH ₂ x TFA	Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu- PEG(4)-Glu-Val-Asn-Sta-Val- Ala-Glu-DPro-NH ₂ x TFA	2168.4	0.0027
2	YPYFIPL-GGG-E VN-Sta-VAEp-NH ₂ x TFA	Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu- Gly-Gly-Gly-Glu-Val-Asn-St a-Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x TFA	2092.27	0.42
3	YPYFIPL-GkG-E VN-Sta-VAEp-NH ₂ x 2TFA	Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu- Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn- Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x 2TFA	2277.41	0.094
4	YPKFIPL-GkG-E VN-Sta-VAEp-NH ₂ x 3TFA	Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-Pro-Leu- Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn- Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x 3TFA	2356.44	0.28
5	YPYFIPk-GkG-EV N-Sta-VAEp-NH ₂ x 3TFA	Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLy s-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn -Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x 3TFA	2406.45	0.019
6	YPYFKPA-GkG-E VN-Sta-VAEp-NH ₂ x 3TFA	Tyr-Pro-Tyr-Phe-Lys-Pro-Ala -Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn- Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x 3TFA	2364.37	0.046
7	YPYFIPL-PEG(4)- EVN-MetSta-VAEf -NH ₂ x TFA	Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu- PEG(4)-Glu-Val-Asn-MetSta- Val-Ala-Glu-DPhe-NH ₂ x TFA	2236.5	0.43

[0169]

8	YPYFIPL-PEG(4)- EVN-MetSta-VAE P-NH ₂ x TFA	Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu- PEG(4)-Glu-Val-Asn-MetSta- Val-Ala-Glu-Pro-NH ₂ x TFA	2186.44	0.017
9	YPYFIPL-GGG-E VN-MetSta-VAEP- NH ₂ x TFA	Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu- Gly-Gly-Gly-Glu-Val-Asn-M etSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH ₂ x TFA	2110.31	1.34
10	YPYFIPL-GkG-E VN-MetSta-VAEP- NH ₂ x 2TFA	Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Leu- Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn- MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH ₂ x 2TFA	2295.45	0.47
11	YPKFIPL-GkG-E VN-MetSta-VAEP- NH ₂ x 3TFA	Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-Pro-Leu- Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn- MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH ₂ x 3TFA	2374.47	0.76
12	YPYFIkL-GkG -EVN-Sta-VAEp-N H ₂ x 3TFA	Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-DLys-Le u-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-As n-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x 3TFA	2422.49	>40
13	YPYFkPL-GkG -EVN-Sta-VAEp-N H ₂ x 3TFA	Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Pro-L eu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-As n-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x 3TFA	2406.45	>40
14	YPYFKPA-GkG-E VN-Sta-VAEp-NH ₂ x 3TFA	Tyr-Pro-Tyr-Phe-Lys-Pro-Ala -Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn- Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x 3TFA	2364.37	0.071

[0170]

15	TPKPAQG-GkG-E VN-Sta-VAEp-NH ₂ x 3TFA	Tyr-Pro-Lys-Pro-Ala-Gln-Gly -Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn- Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x 3TFA	2177.14	>40
16	GARFIPA-GkG-E VN-Sta-VAEp-NH ₂ x 3TFA	Gly-Ala-Arg-Phe-Ile-Pro-Ala -Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn- Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x 3TFA	2210.21	0.42
17	YPKFISA-GkG-E VN-Sta-VAEp-NH ₂ x 3TFA	Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Ser-Ala- Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn- Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x 3TFA	2304.32	0.75
18	YPYFIPk-GkG-EV N-MetSta-VAEP-N H ₂ x 3TFA	Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLy s-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn -MetSta-Val-Ala-Glu-Pro-NH ₂ x 3TFA	2424.49	0.015
19	YPYFIPk-GkG-EV N-MetSta-VAEf-N H ₂ x 3TFA	Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLy s-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn -MetSta-Val-Ala-Glu-DPhe-N H ₂ x 3TFA	2474.55	0.19
20	kPYFIPLGkGEVN -Sta-VAEp-NH ₂ x 3TFA	DLys-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-Le u-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-As n-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x 3TFA	2356.44	2.93
21	YPKFIPL-PEG(4)- EVN-Sta-VAEp-N H ₂ x 3TFA	1H-Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-Pro- Leu-PEG(4)-Glu-Val-Asn-Sta -Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x 3TFA	2247.43	0.052

[0171]

22	YPYFIPk-PEG(4)- EVN-Sta-VAEp-N H ₂ x 2TFA	H-Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-D Lys-PEG(4)-Glu-Val-Asn-Sta -Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x 2TFA	2297.44	0.045
23	YPYFkL-PEG(4)- EVN-Sta-VAEp-N H ₂ x 2TFA	H-Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Leu -PEG(4)-Glu-Val-Asn-Sta-Val -Ala-Glu-DPro-NH ₂ x 3TFA	2200.33	>40
24	YPYFkPL-PEG(4)- EVN-Sta-VAEp-N H ₂ x 2TFA	H-Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Pro -Leu-PEG(4)-Glu-Val-Asn-St a-Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x 2TFA	2297.44	>40
25	YPYFIPk-PEG(4)- EVN-Leu*Ala-Aep -NH ₂ x 2TFA	Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLy s-PEG(4)-Glu-Val-Asn-Leu* Ala-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x 2TFA	2226.36	0.015
26	YPYFkLGkGEVN -Leu*Ala-Aep-NH ₂ x 3TFA	Tyr-Pro-Tyr-Phe-DLys-Leu-G ly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn-Le u*Ala-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x 3TFA	2238.26	0.034
27	YPYFIPk-PEG(4)- EVN-MetSta-VAE p-NH ₂ x 2TFA	Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLy s-PEG(4)-Glu-Val-Asn-MetSt a-Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x 2TFA	2315.48	1.01
28	yPYFIPkGkGEVN -Sta-VAEp-NH ₂ x 3TFA	H-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro- DLys-Gly-DLys-Gly-Glu-Val -Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro- NH ₂ x 3TFA	2406.45	0.063

[0172]

29	yPYFIPLGkGEVN -Sta-VAEp-NH ₂ x 2TFA	H-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro- Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val- Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-N H ₂ x 2TFA	2277.41	0.81
30	Ac-yPYFIPLGkGE VN-Sta-VAEp-NH ₂ x TFA	Ac-DTyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro -Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val- Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-N H ₂ x TFA	2205.43	0.11
31	YkYFIPLGkGEV N-Sta-VAEp-NH ₂ . TFA	H-Tyr-DLys-Tyr-Phe-Ile-Pro- Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val- Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-N H ₂	2422.49	> 40
32	YPkFIPLGkGEVN -Sta-VAEp-NH ₂ . T FA	H-Tyr-Pro-DLys-Phe-Ile-Pro- Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val- Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-N H ₂	2356.44	29.29
33	YPYkIPLGkGEV N-Sta-VAEp-NH ₂ . TFA	H-Tyr-Pro-Tyr-DLys-Ile-Pro- Leu-Gly-DLys-Gly-Glu-Val- Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-N H ₂	2372.44	34.83
34	Btn-PEG2-C-PEG8 -YPYFIPkGkGEV N-Sta-VAEp-NH ₂ . TFA	生物素-PEG2-Cys-PEG8- Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLy s-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn -Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂	3190.52	0.018
35	Btn-PEG2-C-PEG3 -YPYFIPkGkGEV N-Sta-VAEp-NH ₂ . TFA	生物素-PEG2-Cys-PEG3- Tyr-Pro-Tyr-Phe-Ile-Pro-DLy s-Gly-DLys-Gly-Glu-Val-Asn -Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂	2970.26	0.026

[0173]	36	GGGYPYFIPkGk GEVN-Sta-VAEp- NH ₂ .TFA	H-Gly-Gly-Gly-Tyr-Pro-Tyr- Phe-Ile-Pro-DLys-Gly-DLys- Gly-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala -Glu-DPro-NH ₂ x 3TFA	2577.61	0.0064
--------	----	--------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------	--------

[0174] 表3:选择的实例的IC₅₀值

[0175] 单独含有抑胃酶氨酸型过渡态模拟物的外部位点基序以及活性位点的抑制剂不显示BACE1抑制。

[0176]

实施例	名称	系统名称	MW	IC ₅₀ (μ M)
E1	Ac-QQYPYFKPA N-NH ₂	Ac-Gln-Gln-Tyr-Pro-Tyr-Phe-Lys-P ro-Ala-Asn-NH ₂	1295.6	> 40
E2	Ac-YPTFKPANGS -NH ₂	Ac-Tyr-Gln-Thr-Phe-Lys-Pro-Ala- Asn-Gly-Ser-NH ₂	1121.6	> 40
E3	Ac-STGARFIPAN- NH ₂	Ac-Ser-Thr-Gly-Ala-Arg-Phe-Ile-P ro-Ala-Asn-NH ₂	1073.6	> 40
E4	Ac-GDYPKFISAN -NH ₂	Ac-Gly-Asp-Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-S er-Ala-Asn-NH ₂	1151.6	> 40
E5	Ac-GDYPKFIPAS- NH ₂	Ac-Gly-Asp-Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-P ro-Ala-Ser-NH ₂	1134.6	> 40
E6	Ac-GSYPKFIDAN -NH ₂	Ac-Gly-Ser-Tyr-Pro-Lys-Phe-Ile-A sp-Ala-Asn-NH ₂	1151.6	> 40
E7	Ac-LTTYPYFKPA -NH ₂	Ac-Leu-Thr-Thr-Tyr-Pro-Tyr-Phe-L ys-Pro-Ala-NH ₂	1240.6	14.41

[0177] 表4:外部位点基序的选择的实例的IC₅₀值

[0178]

实施例	名称	系统名称	MW	IC ₅₀ (μ M)
A1	EVN-Sta-VAEF	Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-Phe-NH ₂ x TFA	961.2	> 40
A2	EVN-MetSta-VAEf	Glu-Val-Asn-MetSta-Val-Ala-Glu-D-Phe-NH ₂ x TFA	981.65	> 40
A3	EVN-Sta-VAEp	Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-DPro-NH ₂ x TFA	1041.59	> 40

[0179] 表5:活性位点基序的选择的实例的IC₅₀值

[0180] 药物组合物

[0181] 双位点BACE1抑制剂和药用盐可以用作治疗活性物质,例如以药物制剂的形式。该药物制剂可以口服给药,例如,以片剂、包衣片剂、糖锭剂、硬和软明胶胶囊、溶液、乳剂或混悬剂形式。然而,也可以通过直肠实现给药,例如,以栓剂的形式,或者经肠胃外给药,例如,以注射液的形式。

[0182] 可以将双位点BACE1抑制剂及其药用盐与制药学惰性的、无机或有机的载体进行加工用于制备药物制剂。例如,可以使用乳糖、玉米淀粉或其衍生物、滑石、硬脂酸或其盐等作为用于片剂、包衣片剂、糖锭剂和硬明胶胶囊的载体。适用于软明胶胶囊的载体是例如植物油、蜡、脂肪、半固体和液体多元醇等。然而,取决于活性成分的性质,在软明胶胶囊的情况下经常不需要载体。用于制备溶液和糖浆的适合的载体是例如水、多元醇、甘油、植物油等。适用于栓剂的载体是,例如,天然或硬化油、蜡、脂肪、半液体或液体多元醇等。

[0183] 此外,药物制剂可以含有药用辅助物质如防腐剂、增溶剂、稳定剂、湿润剂、乳化剂、甜味剂、着色剂、增香剂、用于改变渗透压的盐、缓冲剂、掩蔽剂或抗氧化剂。它们还可以含有其它治疗上有价值的物质。

[0184] 含有双位点BACE1抑制剂或其药用盐以及治疗惰性载体的药物也是本发明的目的,用于其制备的方法一样是本发明的目的,所述方法包括将一种或多种双位点BACE1抑制剂和/或其药用盐以及,如果需要,一种或多种其他治疗上有价值的物质与一种或多种治疗惰性载体一起制成盖仑给药形式。

[0185] 剂量可以在宽范围内变化,并且当然在每个具体病例中必须根据个体需求而调节。在口服给药的情形中,用于成人的剂量可以从约0.01mg/天变化至约1000mg/天的双位点BACE1抑制剂或相应量的其药用盐。该日剂量可以以单一剂量给药或以分剂量给药,并且此外,当需要时,也可以超过该上限。

[0186] 以下实施例说明本发明,但不对其进行限制,而是仅作为其示例。药物制剂便利地含有约1-500mg、优选1-100mg的双位点BACE1抑制剂。根据本发明的组合物的实例为:

[0187] 实施例A

[0188] 以通常方式制备以下组成的片剂:

[0189]

成分	mg/片			
	5	25	100	500
双位点 BACE1 抑制剂	5	25	100	500
无水乳糖 DTG	125	105	30	150
Sta-Rx 1500	6	6	6	60
微晶纤维素	30	30	30	450
硬脂酸镁	1	1	1	1
总计	167	167	167	831

[0190] 表6:可能的片剂组成

[0191] 制备过程:

[0192] 1.将成分1、2、3和4混合,并用纯水粒化。

[0193] 2.将颗粒在50℃下干燥。

[0194] 3.使颗粒通过合适的研磨设备。

[0195] 4.加入成分5并混合三分钟;在合适的压机上压制。

[0196] 实施例B-1

[0197] 制备以下组成的胶囊:

[0198]

成分	mg/胶囊			
	5	25	100	500
双位点 BACE1 抑制剂	5	25	100	500
含水乳糖	159	123	148	-
玉米淀粉	25	35	40	70
滑石(Talk)	10	15	10	25
硬脂酸镁	1	2	2	5
总计	200	200	300	600

[0199] 表7:可能的胶囊成分组成

[0200] 制备过程:

[0201] 1.将成分1、2和3在合适的混合机中混合30分钟。

[0202] 2.加入成分4和5,并混合3分钟。

[0203] 3.填充至合适的胶囊中。

[0204] 将双位点BACE1抑制剂、乳糖和玉米淀粉首先在混合机中混合,并且之后在粉碎机中混合。将混合物送回混合机;将滑石加入其中并充分混合。将混合物通过机器填充至合适

的胶囊中,例如硬明胶胶囊。

[0205] 实施例B-2

[0206] 制备以下组成的软明胶胶囊:

[0207]

成分	mg/胶囊
双位点BACE1抑制剂	5
黄蜡	8
氢化大豆油	8
部分氢化的植物油	34
大豆油	110
总计	165

[0208] 表8:可能的软明胶胶囊成分组成

成分	mg/胶囊
[0209] 明胶	75
甘油 85 %	32
[0210] 山梨糖醇(Karion) 83	8 (干物质)
二氧化钛	0.4
氧化铁黄	1.1
总计	116.5

[0211] 表9:可能的软明胶胶囊组成

[0212] 制备过程:

[0213] 将双位点BACE1抑制剂溶解在其他成分的温暖熔体中,并将混合物填充至适当大小的软明胶胶囊中。根据通常程序处理填充的软明胶胶囊。

[0214] 实施例C

[0215] 制备以下组成的栓剂:

[0216]

成分	mg/栓剂
双位点BACE1抑制剂	15
栓剂块	1285
总计	1300

[0217] 表10:可能的栓剂组成

[0218] 制备过程:

[0219] 将栓剂块在玻璃或钢容器中熔化,充分混合并冷却至45°C。之后,将细粉化的双位点BACE1抑制剂加入其中并搅拌直至其完全分散。将混合物倒入合适大小的栓剂模具中,放置冷却;之后将栓剂从模具移出并单独地包装在蜡纸或金属箔中。

[0220] 实施例D

[0221] 制备以下组成的针剂:

[0222]

成分	mg/针剂
双位点BACE1抑制剂	3
聚乙二醇400	150
乙酸	适量至pH5.0
针剂用水	至1.0ml

[0223] 表11:可能的针剂组成

[0224] 制备过程:

[0225] 将双位点BACE1抑制剂溶解在聚乙二醇400和注射用水(部分)的混合物中。将pH通过乙酸调节至5.0。通过加入余量的水将体积调节至1.0ml。将溶液过滤,使用适当过量装入小瓶中并灭菌。

[0226] 实施例E

[0227] 制备以下组成的小药囊:

[0228]

成分	mg/小药囊
双位点BACE1抑制剂	50
乳糖,细粉	1015
微晶纤维素 (AVICEL PH 102)	1400
羧甲基纤维素钠	14
聚乙烯吡咯烷酮K 30	10
硬脂酸镁	10
调味添加剂	1
总计	2500

[0229] 表12:可能的小药囊组成

[0230] 制造过程:

[0231] 将双位点BACE1抑制剂与乳糖、微晶纤维素和羧甲基纤维素钠混合,并且用聚乙烯吡咯烷酮在水中的混合物造粒。将颗粒与硬脂酸镁和调味添加剂混合,并装入小药囊中。

[0232] 实验部分

[0233] 为说明本发明提供以下实施例。它们不应被认为是限制本发明的范围,而只是作为其代表。

[0234] CEM自由微波肽合成仪 (CEM Liberty Microwave Peptide Synthesizer) 的一般程序:

[0235] 0.1mMol规模:

[0236] Fmoc的去保护:

[0237] 将洗涤并预先膨胀的树脂(435mg,0.1mMol,TentaGel S RAM(载荷:0.23mMol/g), (Rapp Polymere, Cat:S30023)用哌啶20%在二甲基甲酰胺(DMF)(7.0mL)中的溶液在微波条件下在50℃处理3分钟以进行初始脱保护。将树脂用DMF洗涤,并在微波条件下在75℃用哌啶20%在DMF中的溶液(7.0mL)处理5分钟以脱保护。

[0238] 氨基酸的偶联:

[0239] 向洗涤并预先膨胀的树脂中加入氨基酸0.2M在DMF (2.5mL, 5.0当量) 中的溶液, 接着加入(1-氰基-2-乙氧基-2-氧代亚乙基氨基氧) 二甲基氨基-吗啉代-碳~~六~~六氟磷酸盐 (COMU) 0.5M在DMF (1.0mL, 5.0当量) 中的溶液 (CAS:1075198-30-9, Iris Biotech, Cat:RL-1175.1000), 然后加入二异丙基乙胺 (DIPEA) 2M在N-甲基-2-吡咯烷酮 (NMP) (0.5mL, 10.0当量) 中的溶液。将该反应混合物在微波条件下在75°C处理5分钟以进行偶联。

[0240] 0.25mMol规模:

[0241] Fmoc的去保护:

[0242] 将洗涤并预先膨胀的树脂 (1.09g, 0.25mMol, TentaGel S RAM (载荷:0.23mMol/g), (Rapp Polymere, Cat:S30023) 用哌啶20%在DMF (10.0mL) 中的溶液在微波条件在50°C处理3分钟以进行初始脱保护。将树脂用DMF洗涤, 并在微波条件下在75°C用哌啶20%在DMF中的溶液 (10.0mL) 处理5分钟以脱保护。

[0243] 氨基酸的偶联:

[0244] 向洗涤并预先膨胀的树脂中加入氨基酸0.2M在DMF (5.0mL, 4.0当量) 中的溶液, 接着加入COMU 0.5M在DMF (2.0mL, 4.0当量) (CAS:1075198-30-9, Iris Biotech, Cat:RL-1175.1000) 中的溶液, 然后加入DIPEA2M在NMP (1.0mL, 8.0当量) 中的溶液。将该反应混合物在微波条件下在75°C处理5分钟以进行偶联。

[0245] 最终裂解的一般程序:

[0246] 0.1mMol规模:

[0247] 将树脂用CH₂Cl₂洗涤, 然后在摇床上在室温用三氟乙酸 (TFA):三异丙基甲硅烷 (TIS):水95:2.5:2.5 (5mL) 的溶液处理30分钟。过滤树脂。将粗制肽用Et₂O (35mL) 沉淀。将悬浮液离心并将溶剂滗析。将固体溶于乙腈和水中, 并冻干以得到粗制肽。

[0248] 纯化的一般程序:

[0249] 将粗产物溶于乙腈和水 (含有0.1% TFA) 中, 然后通过制备型HPLC纯化。柱YMC-Actus Pro C8, 5μm, 75x30mm, 水 (含有0.1% TFA):乙腈70:30至2:98的梯度, 以及30mL/min的流速。

[0250] 类似本文所述的一般程序, 可以制备实施例。

[0251] 使用综合的5-聚体肽 (5-mer peptide) 阵列的BACE1结合物发现

[0252] 阵列设计、合成和背景对照: 为了发现BACE1结合物, 设计了具有2.47M肽 (代表所有可能的5-聚体肽的完全清单, 不包括半胱氨酸) 的阵列。每个5-聚体肽通过在N-末端和C-末端3个循环的接头合成而合成。对于接头合成, 使用包含3:1比率的G和S的混合物。肽序列将为以下格式: ZZZ-5聚体-ZZZ, 其中Z是来自接头混合物的氨基酸。在肽合成后, 将阵列用Cy5-链霉抗生物素蛋白 (Cy5-streptavidin) 预染色, 用于QC以及在含有333ng/ml Cy5-链霉抗生物素蛋白 (Amersham, UK, cat#PA45001) 的30ml结合缓冲液 (1% 碱溶性酪蛋白, Novagen, Billerica, USA, cat#70955, 0.05% 吐温20) 中背景信号测量1小时。将阵列在洗涤缓冲液I (Roche/Nimblegen, Madison, USA) 中洗涤30秒, 并在0.1TE缓冲液中简单洗涤。通过在微型离心机中旋转将阵列干燥以除去痕迹量的水, 并使用MS200扫描仪 (Roche/Nimblegen) 在635nm波长和2μm分辨率下进行扫描。在这一步之后, 阵列准备好用于结合靶蛋白。

[0253] BACE1生物素化:使用Pierce EZ-link Micro NHS-PEG4-生物素化试剂盒,cat# 21955,将BACE1酶(WT1-13-2,0.7mg/ml)用生物素标记。为了标记,将70 μ l或50 μ g的BACE1酶与在水中新鲜制备的2 μ l NHS-生物素溶液混合,并在室温下温育1小时。使用Micro Bio-Spin 30色谱柱(BioRad,cat 732-6223),通过反应溶液的2X旋转-过滤(1,000g,4分钟)来除去过量的游离生物素。生物素化的BACE1在-20C等分地储存。

[0254] 结合测定:为确保数据重现性,将5 μ l生物素化的BACE1与40 μ l结合缓冲液混合,用附接的HX1混合器装载于阵列上,并在4C温育过夜。温育后,移除混合器,并将阵列在洗涤缓冲液I中洗涤30秒,并在0.1TE缓冲液中简短洗涤。将阵列在含有333ng/ml链霉抗生物素蛋白-Cy5(Amersham,UK,cat#PA45001)的30ml结合缓冲液中进行生物素化1小时,并如上所述进行洗涤。通过在微型离心机中旋转将阵列干燥以除去痕迹量的水,并使用MS200扫描仪(Roche/Nimblegen)在635nm波长和2 μ m分辨率下获得数据。

[0255] 数据分析和结果:使用NimbleGen DEVA软件进行图像分析和信号提取。对于所有5-聚体序列,针对早期收集的背景信号(参见“阵列设计、合成和背景对照”)将由BACE1结合产生的生物素特异性荧光信号绘出。已经从该分析中鉴定了具有最高BACE1特异性信号和低背景的5-聚体肽序列,并且由这些序列共享的六个最常见基序在下表的第一列中列出。

[0256]

核心基序	延伸文库	选自延伸文库的序列	双取代/缺失文库	选自取代/缺失文库的序列
YFK	XXYFKXX	YPYFKPA	GQYPYFKPAS	QQYPYFKPAN
PYFK	XXPYFKXX	QYPYFKPA	QYPYFKPASG	
YFKP	XXYFKPXX	YPYFKPAS		
TFK	XXTFKXX	YPTFKPA	GGGYPTFKPA GGYPTFKPAG GYPTFKPAGG YPTFKPAGGG	YPTFKPANGS
PKF	XXPKFXX	DYPKFIS DYPKFLP SYPKFID	GDYPKFISGG GDYPKFLPGG GSYPKFIDGG	GDYPKFISAN GDYPKFIPAS GSYPKFIDAN
ARFIP	XXARFIPXX	TGARFIPAN	GTGARFIPAN TGARFIPANG	STGARFIPAN

[0257] 表13

[0258] 使用扩展肽阵列的BACE1结合物优化。

[0259] 阵列设计:在5-聚体阵列实验中鉴定的基序可能仅代表最佳BACE1结合物的较短版本。通过这样设计新的阵列可以发现更长的基序:使用表2第2列X所示的全部20种天然氨

氨基酸将选自5-聚体阵列的核心序列从N-端和C-端二者延伸两个氨基酸。各延伸文库包括一式五份合成的160,000个独特的肽。如实施例1中所述进行BACE1结合测定和图像处理。

[0260] 数据分析和结果:对于每个核心基序,与BACE1结合最高的延伸序列在表13(第三列)中显示。‘YFK’、‘PYFK’和‘YFKP’基序的延伸序列(表13中的前三行)共享相同的YPYFKPA序列,表明它们代表相同的共同序列。DYPKFLP、DYPKFIS、SYPKFID三个序列被选作‘PKF’基序延伸,因为它们具有类似的与BACE1的结合以及在N-端和C-端具有不同的氨基酸组成。

[0261] 使用双取代/缺失肽阵列的BACE1结合物优化。

[0262] 阵列设计:第三轮结合物优化包括用甘氨酸(G)氨基酸延伸在延伸阵列实验中鉴定的序列以使它们成为如表13(第四列)所示的10-聚体肽,接着设计双取代/缺失文库,其包含参考序列的所有可能的单-和双-替代/缺失变体。对于10-聚体肽,双替代/缺失文库包括大约1.65万个独特的肽。每个肽以一式七份合成。

[0263] 如上所述(使用综合的5-聚体肽阵列的BACE1结合物发现)对于取代和缺失阵列进行BACE1结合测定和图像处理。

[0264] 数据分析和结果:在分析每个肽文库后选择具有最高结合信号的肽序列,其包括异常去除和每个肽的重复物间的平均信号。选择的序列在表13(最后一列)中显示。

序列表

- <110> F.Hoffmann-La Roche Ltd
 <120> 肽
 <130> P32452-WO
 <150> EP15178162.2
 <151> 2015-07-24
 <160> 71
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)
 <220>
 <221> MISC_特征(FEATURE)
 <222> (8)..(8)
 <223> X=PEG(4)
 [0001]
 <220>
 <221> MISC_特征(FEATURE)
 <222> (12)..(12)
 <223> Z=Sta
 <220>
 <221> 变体(VARIANT)
 <222> (16)..(16)
 <223> DPro
 <400> 1
 Tyr Pro Tyr Phe Ile Pro Leu Xaa Glu Val Asn Glx Val Ala Glu Pro
 1 5 10 15
 <210> 2
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)
 <220>
 <221> MISC_特征(FEATURE)

<222> (18)..(18)
 <223> DPro

<400> 5

Tyr Pro Tyr Phe Ile Pro Lys Gly Lys Gly Glu Val Asn Glx Val Ala
 I 5 10 15

Glu Pro

<210> 6
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<220>
 <221> 变体(VARIANT)
 <222> (9)..(9)
 <223> DLys

[0004]

<220>
 <221> MISC_特征(FEATURE)
 <222> (14)..(14)
 <223> Z=抑胃酶氨酸(Statine)

<220>
 <221> 变体(VARIANT)
 <222> (18)..(18)
 <223> DPro

<400> 6

Tyr Pro Tyr Phe Lys Pro Ala Gly Lys Gly Glu Val Asn Glx Val Ala
 I 5 10 15

Glu Pro

<210> 7
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<220>
 <221> 变体(VARIANT)
 <222> (18)..(18)
 <223> DPro

<400> 17

Tyr Pro Lys Phe Ile Ser Ala Gly Lys Gly Glu Val Asn Glx Val Ala
 1 5 10 15

Glu Pro

<210> 18
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

[0011]

<220>
 <221> 变体(VARIANT)
 <222> (7)..(7)
 <223> DLys

<220>
 <221> 变体(VARIANT)
 <222> (9)..(9)
 <223> DLys

<220>
 <221> MISC_特征(FEATURE)
 <222> (14)..(14)
 <223> Z=Met抑胃酶氨酸(Statine)

<400> 18

Tyr Pro Tyr Phe Ile Pro Lys Gly Lys Gly Glu Val Asn Glx Val Ala
 1 5 10 15

Glu Pro

<210> 19
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<220>
 <221> 变体(VARIANT)
 <222> (18).. (18)
 <223> DPro

<400> 20

Lys Pro Tyr Phe Ile Pro Leu Gly Lys Gly Glu Val Asn Glx Val Ala
 1 5 10 15

Glu Pro

<210> 21
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

[0013]

<220>
 <221> 变体(VARIANT)
 <222> (1).. (1)
 <223> 1 H-Tyr

<220>
 <221> MISC_特征(FEATURE)
 <222> (8).. (8)
 <223> X=PEG(4)

<220>
 <221> MISC_特征(FEATURE)
 <222> (12).. (12)
 <223> z=抑胃酶氨酸(Statine)

<220>
 <221> 变体(VARIANT)
 <222> (16).. (16)
 <223> DPro

<400> 21

Tyr Pro Lys Phe Ile Pro Leu Xaa Glu Val Asn Glx Val Ala Glu Pro
 1 5 10 15

<210> 22
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 修饰的肽(modified peptide)

<220>

<221> 变体(VARIANT)

<222> (7)..(7)

<223> DLys

<220>

<221> MISC_特征(FEATURE)

<222> (8)..(8)

<223> X=PEG(4)

<220>

<221> MISC_特征(FEATURE)

<222> (12)..(12)

<223> Y=LEU*ALA

<220>

<221> 变体(VARIANT)

<222> (15)..(15)

<223> DPro

<400> 25

[0016]

Tyr Pro Tyr Phe Ile Pro Lys Xaa Glu Val Asn Tyr Ala Glu Pro
1 5 10 15

<210> 26

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 修饰的肽(modified peptide)

<220>

<221> 变体(VARIANT)

<222> (5)..(5)

<223> DLys

<220>

<221> 变体(VARIANT)

<222> (8)..(8)

<223> DLys

<220>

<221> MISC_特征(FEATURE)

<222> (13)..(13)

<223> Z=LEU*ALA

<221> 变体 (VARIANT)
 <222> (1).. (1)
 <223> H-Tyr

<220>
 <221> 变体 (VARIANT)
 <222> (7).. (7)
 <223> DLys

<220>
 <221> 变体 (VARIANT)
 <222> (9).. (9)
 <223> DLys

<220>
 <221> MISC_特征 (FEATURE)
 <222> (14).. (14)
 <223> Z=抑胃酶氨酸 (Statine)

<220>
 <221> 变体 (VARIANT)
 <222> (18).. (18)
 <223> DPro

<400> 28

[0018] Tyr Pro Tyr Phe Ile Pro Lys Gly Lys Gly Glu Val Asn Glx Val Ala
 1 5 10 15

Glu Pro

<210> 29
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽 (modified peptide)

<220>
 <221> 变体 (VARIANT)
 <222> (1).. (1)
 <223> H-Tyr

<220>
 <221> 变体 (VARIANT)
 <222> (9).. (9)
 <223> DLys

<220>
 <221> MISC_特征 (FEATURE)
 <222> (14).. (14)

Ala Cys Ser Thr Gly Ala Arg Phe Ile Pro Ala Asn
1 5 10

<210> 34
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 修饰的肽(modified peptide)

<220>
<221> 变体(VARIANT)
<222> (1)..(1)
<223> Ac-Gly

<400> 34

Ala Cys Gly Asp Tyr Pro Lys Phe Ile Ser Ala Asn
1 5 10

<210> 35
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0021]

<220>
<223> 修饰的肽(modified peptide)

<220>
<221> 变体(VARIANT)
<222> (1)..(1)
<223> Ac-Gly

<400> 35

Ala Cys Gly Asp Tyr Pro Lys Phe Ile Pro Ala Ser
1 5 10

<210> 36
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 修饰的肽(modified peptide)

<220>
<221> 变体(VARIANT)
<222> (1)..(1)

<223> Ac-Gly

<400> 36

Ala Cys Gly Ser Tyr Pro Lys Phe Ile Asp Ala Asn
1 5 10

<210> 37

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 修饰的肽(modified peptide)

<220>

<221> 变体(VARIANT)

<222> (1)..(1)

<223> Ac-Leu

<400> 37

Ala Cys Leu Thr Thr Tyr Pro Tyr Phe Lys Pro Ala
1 5 10

[0022]

<210> 38

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 修饰的肽(modified peptide)

<220>

<221> MISC_特征(FEATURE)

<222> (4)..(4)

<223> Z=抑胃酶氨酸(Statine)

<400> 38

Glu Val Asn Glx Val Ala Glu Phe
1 5

<210> 39

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 修饰的肽(modified peptide)

<220>
 <221> MISC_特征(FEATURE)
 <222> (4)..(4)
 <223> Z=Met抑胃酶氨酸(Statine)

<220>
 <221> 变体(VARIANT)
 <222> (8)..(8)
 <223> DPhе

<400> 39

Glu Val Asn Glx Val Ala Glu Phe
 1 5

<210> 40
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

[0023] <220>
 <221> MISC_特征(FEATURE)
 <222> (4)..(4)
 <223> Z=抑胃酶氨酸(Statine)

<220>
 <221> 变体(VARIANT)
 <222> (8)..(8)
 <223> DPro

<400> 40

Glu Val Asn Glx Val Ala Glu Pro
 1 5

<210> 41
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 41

Tyr Pro Tyr Phe Lys Pro Ala
 1 5

<210> 42
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 42

Gln Tyr Pro Tyr Phe Lys Pro Ala
 1 5

<210> 43
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 43

Tyr Pro Tyr Phe Lys Pro Ala Ser
 1 5

[0024]

<210> 44
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 44

Tyr Pro Thr Phe Lys Pro Ala
 1 5

<210> 45
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 45

Asp Tyr Pro Lys Phe Ile Ser
 1 5

<210> 46
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 46

Asp Tyr Pro Lys Phe Leu Pro
1 5

<210> 47
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 47

Ser Tyr Pro Lys Phe Ile Asp
1 5

[0025]

<210> 48
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 48

Thr Gly Ala Arg Phe Ile Pro Ala Asn
1 5

<210> 49
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 49

Gly Gln Tyr Pro Tyr Phe Lys Pro Ala Ser
1 5 10

<210> 50
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 50

Gln Tyr Pro Tyr Phe Lys Pro Ala Ser Gly
 1 5 10

<210> 51
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 51

Gly Gly Gly Tyr Pro Thr Phe Lys Pro Ala
 1 5 10

[0026]

<210> 52
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 52

Gly Gly Tyr Pro Thr Phe Lys Pro Ala Gly
 1 5 10

<210> 53
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 53

Gly Tyr Pro Thr Phe Lys Pro Ala Gly Gly
 1 5 10

<210> 54
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 54

Tyr Pro Thr Phe Lys Pro Ala Gly Gly Gly
 1 5 10

<210> 55
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 55

Gly Asp Tyr Pro Lys Phe Ile Ser Gly Gly
 1 5 10

[0027]

<210> 56
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 56

Gly Asp Tyr Pro Lys Phe Leu Pro Gly Gly
 1 5 10

<210> 57
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 57

Gly Ser Tyr Pro Lys Phe Ile Asp Gly Gly
 1 5 10

<210> 58
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 58

Gly Thr Gly Ala Arg Phe Ile Pro Ala Asn
 1 5 10

<210> 59
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 59

Thr Gly Ala Arg Phe Ile Pro Ala Asn Gly
 1 5 10

[0028]

<210> 60
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 60

Gln Gln Tyr Pro Tyr Phe Lys Pro Ala Asn
 1 5 10

<210> 61
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 61

Tyr Pro Thr Phe Lys Pro Ala Asn Gly Ser
 1 5 10

<210> 62
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 62

Gly Asp Tyr Pro Lys Phe Ile Ser Ala Asn
 1 5 10

<210> 63
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 63

Gly Asp Tyr Pro Lys Phe Ile Pro Ala Ser
 1 5 10

[0029]

<210> 64
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 64

Gly Ser Tyr Pro Lys Phe Ile Asp Ala Asn
 1 5 10

<210> 65
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽(modified peptide)

<400> 65

Ser Thr Gly Ala Arg Phe Ile Pro Ala Asn
 1 5 10

<220>
 <221> 变体 (VARIANT)
 <222> (22).. (22)
 <223> DPro

 <400> 70

 Asx Xaa Cys Xaa Tyr Pro Tyr Phe Ile Pro Lys Gly Lys Gly Glu Val
 1 5 10 15

Asn Glx Val Ala Glu Pro
 20

<210> 71
 <211> 2I
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
 <223> 修饰的肽 (modified peptide)

[0034]

<220>
 <221> 变体 (VARIANT)
 <222> (1).. (1)
 <223> H-Gly

<220>
 <221> 变体 (VARIANT)
 <222> (10).. (10)
 <223> DLys

<220>
 <221> 变体 (VARIANT)
 <222> (12).. (12)
 <223> DLys

<220>
 <221> MISC_特征 (FEATURE)
 <222> (17).. (17)
 <223> Z=抑胃酶氨酸 (Statine)

<220>
 <221> 变体 (VARIANT)
 <222> (21).. (21)
 <223> DPro

<400> 71

 Gly Gly Gly Tyr Pro Tyr Phe Ile Pro Lys Gly Lys Gly Glu Val Asn
 1 5 10 15

[0035]

Glx Val Ala Glu Pro
 20