

PATENTOVÝ SPIS

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 2004-591
(22) Přihlášeno: 07.12.1999
(30) Právo přednosti: 07.12.1998 US 1998/206601
07.12.1998 US 1998/111255
(40) Zveřejněno: 13.02.2002
(Věstník č. 2/2002)
(47) Uděleno: 19.09.2005
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: 16.11.2005
(Věstník č. 11/2005)
(86) PCT číslo: PCT/EP1999/009660
(87) PCT číslo zveřejnění: WO 2000/034331

(11) Číslo dokumentu:

295 890

(13) Druh dokumentu:

B6

(51) Int. Cl.⁷:

C 07 K 14/605

A 61 K 38/26

A 61 P 3/10

A 61 P 19/10

A 61 P 3/04

A 61 P 25/00

(73) Majitel patentu:

SOCIETE DE CONSEILS DE RECHERCHES ET
D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES S.A.S., Paris, FR

(72) Původce:

Dong Zheng Xin, Framingham, MA, US

(74) Zástupce:

PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1273/1, Praha
4, 14021

(54) Název vynálezu:

**Analogy GLP-1, mající kyselinu
aminoizomáselnou pozici 8 a D-arginin na pozici
36, jejich použití a farmaceutické prostředky je
obsahující**

(57) Anotace:

Peptidové analogy peptidu-1, který je podobný glukagonu,
mající kyselinu aminoizomáselnou pozici 8 a D-arginin na
pozici 36, jejich farmakologicky přijatelné soli, metody
použití takových analogů pro léčení savců a vhodné
farmaceutické prostředky, které tyto analogy obsahují.

CZ 295890 B6

Analogy GLP-1, mající kyselinu aminoizomáselnou pozici 8 a D-arginin na pozici 36, jejich použití a farmaceutické prostředky je obsahující

5 Oblast techniky

Předložený vynález je zaměřen na peptidové analogy peptidu-1, který je podobný glukagonu, mající kyselinu aminoizomáselnou pozici 8 a D-arginin na pozici 36, jejich farmakologicky přijatelné soli, způsoby použití takových analogů pro léčení savců a na vhodné farmaceutické prostředky, které tyto analogy obsahují.

Dosavadní stav techniky

15 Amid peptidu-1 (7-36), který je podobný glukagonu (GLP-1), je syntetizován ve střevních L-buňkách pomocí tkáňové specifického posttranslačního zpracování glukagonového prekurzoru preproglukagonu (Varndell, J. M., a kol., J. Histochem Cytochem, 1985:33:1080-6) a je uvolňován do oběhu v rámci odpovědi na potravu. Koncentrace GLP-1 vzrůstá z úrovně v období hladovění, která je přibližně 15 pmol/l, na vrcholnou hladinu po jídle, která je 40 pmol/l. Bylo uká-
20 záno, že pro daný vzrůst plazmatické koncentrace glukózy je zvýšení plazmatického inzulínu přibližně třikrát vyšší, když je glukóza podána orálně, ve srovnání s jejím podáním intravenózním (Kreymann, B. a kol., Lancet 1987:2, 1300-4). Toto zvýšení hladiny uvolňování inzulínu vlivem potravy, známé jako efekt na vnitřní sekreci, je primárně hormonální a GLP-1 je nyní považován za nejsilnější substanci, fyziologicky ovlivňující vnitřní sekreci u člověka. Vedle účinku na inzulín GLP-1 potlačuje vylučování glukagonu, zpožďuje vyprazdňování žaludku (Wettergren A., Dig Dis Sci 1993:38:665-73) a může zvýšit množství periferní glukózy, která je k dispozici (D'Alessio, D. A. a kol., J. Clin Invest 1994:93:2293-6).

V roce 1994 bylo navrženo schéma léčebného účinku GLP-1 po pozorování, že jedna podkožní
30 (s/c) dávka GLP-1 je schopna kompletně normalizovat hladiny glukózy po jídle u pacientů s diabetes mellitus, který není závislý na inzulínu (NIDDM) (Gutniak, M. K., a kol., Diabetes Care 1994:17:1039-44). Mělo se za to, že tento účinek je zprostředkován jak zvýšeným uvolňováním inzulínu, tak snížením vylučování glukagonu. Dále bylo ukázáno, že intravenózní infuze GLP-1 zpožďuje vyprazdňování žaludku u pacientů s NIDDM (Williams, B., a kol., J. Clin Endo
35 Metab 1996:81:327-32). Na rozdíl od sulfonylureáz, inzulínotropní působení GLP-1 je závislé na koncentraci glukózy v plazmě (Holz, G. G. 4. a kol., Nature 1993:36:362-5). Tedy nepřítomnost uvolňování inzulínu, zprostředkované GLP-1 při nízké koncentraci glukózy v plazmě, chrání proti prudkému nástupu hypoglykémie. Tato kombinace účinků dává GLP-1 jedinečný potenciál léčebných výhod oproti jiným činidlům, nyní běžně používaných pro léčení NIDDM.

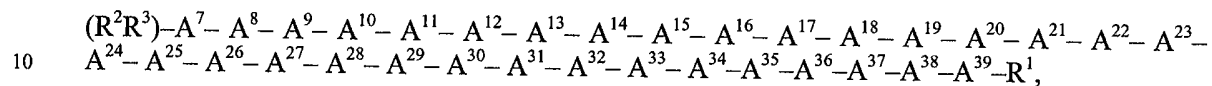
Početné studie ukázaly, že při podání zdravým pacientům GLP-1 silně ovlivňuje úroveň glykémie a rovněž koncentrace inzulínu a glukagonu (Orskov, C, Diabetologia 35:701-711, 1992; Holst, J. J. a kol., Možnosti uplatnění GLP-1 v zvládnutí diabetu v Glukagon III, Příručka experimentální farmakologie, Lefebvre PJ, vyd. Berlín, Springer Verlag, 1996, str. 311 až 326),
45 jejichž účinky jsou závislé na glukóze (Keymann, B., a kol., Lancet ii: 1300-1304, Weir, G. C., a kol. Diabetes 38:338-342, 1989). Dále je také účinný u pacientů s diabetem (Gutniak, M., N. Engl. J Med 226:1316-1322, 1992; Nathan, D. M., a kol., Diabetes Care 15:270-276, 1992) tím, že normalizuje hladiny glukózy v krvi u pacientů s diabetem typu 2 (Nauck, M. A. a kol., Diabetologia 36:741-744, 1993) a zlepšuje kontrolu glykémie u pacientů s diabetem typu 1
50 (Creutzfeld, W. O., a kol., Diabetes care 19:580-586, 1996), což zvyšuje možnost jeho použití jako terapeutického činidla.

Avšak GLP-1 je metabolicky nestabilní, jeho poločas v plazmě ($t_{1/2}$) je *in vivo* pouze 1 až 2 minuty. Aplikovaný GLP-1 je také rychle degradován (Deacon, C. D., a kol., Diabetes
55 44:1126-1131, 1995). Tato metabolická nestabilita omezuje terapeutický potenciál přirozeného

GLP-1. Existuje tedy potřeba analogů GLP-1, které jsou aktivnější a jsou metabolicky stabilnější než přirozený GLP-1.

5 Podstata vynálezu

V jednom provedení se předložený vynález týká sloučenin obecného vzorce I,



(I)

kde

15

A^7 je L-His, Ura, Paa, Pta, Amp, Tma-His, des-amino-His, nebo chybí;

A^8 je Aib;

20

A^9 je Glu, N-Me-Glu, N-Me-Asp nebo Asp;

A^{10} je Gly, Acc, β -Ala nebo Aib;

A^{11} je Thr nebo Ser;

25

A^{12} je Phe, Acc, Aic, Aib, 3-Pal, 4-Pal, β -Nal, Cha, Trp nebo X^1 -Phe;

A^{13} je Thr nebo Ser;

30

A^{14} je Ser nebo Aib;

A^{15} je Asp nebo Glu;

35

A^{16} je Val, Acc, Aib, Leu, Ile, Tle, Nle, Abu, Ala nebo Cha;

A^{17} je Ser nebo Thr;

A^{18} je Ser nebo Thr;

40

A^{19} je Tyr, Cha, Phe, 3-Pal, 4-Pal, Acc, β -Nal nebo X^1 -Phe;

A^{20} je Leu, Acc, Aib, Nle, Ile, Cha, Tle, Val, Phe nebo X^1 -Phe;

A^{21} je Glu nebo Asp;

45

A^{22} je Gly, Acc, β -Ala, Glu nebo Aib;

A^{23} je Gln, Asp, Asn nebo Glu;

50

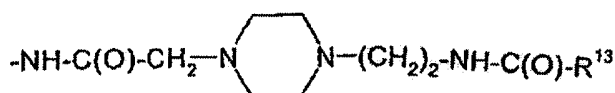
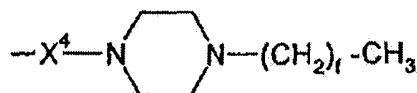
A^{24} je Ala, Aib, Val, Abu, Tle nebo Acc;

A^{25} je Ala, Aib, Val, Abu, Tle, Acc, Lys, Arg, hArg, Orn, $HN-CH((CH_2)_n-N(R^{10}R^{11}))-C(O)$ nebo $HN-CH((CH_2)_e-X^3)-C(O)$;

55

A^{26} je Lys, Arg, hArg, Orn, $HN-CH((CH_2)_n-N(R^{10}R^{11}))-C(O)$ nebo $HN-CH((CH_2)_e-X^3)-C(O)$;

- A^{27} je Glu, Asp, Leu, Aib nebo Lys;
- A^{28} je Phe, Pal, β -Nal, X^1 -Phe, Aic, Acc, Aib, Cha nebo Trp;
- 5 A^{29} je Ile, Acc, Aib, Leu, Nle, Cha, Tle, Val, Abu, Ala nebo Phe;
- A^{30} je Ala, Aib nebo Acc;
- 10 A^{31} je Trp, β -Nal, 3-Pal, 4-Pal, Phe, Acc, Aib nebo Cha;
- A^{32} je Leu, Acc, Aib, Nle, Ile, Cha, Tle, Phe, X^1 -Phe nebo Ala;
- A^{33} je Val, Acc, Aib, Leu, Ile, Tle, Nle, Cha, Ala, Phe, Abu, Lys nebo X^1 -Phe;
- 15 A^{34} je Lys, Arg, hArg, Orn, $\text{HN-CH}((\text{CH}_2)_n\text{-N(R}^{10}\text{R}^{11}))\text{-C(O)}$ nebo $\text{HN-CH}((\text{CH}_2)_e\text{-X}^3)\text{-C(O)}$;
- A^{35} je Gly, β -Ala, D-Ala, Gaba, Ava, $\text{HN-CH}(\text{CH}_2)_m\text{-C(O)}$, Aib, Acc nebo D-aminokyselina;
- 20 A^{36} je D-Arg;
- A^{37} je Gly, β -Ala, Gaba, Ava, Aib, Acc, Ado, Arg, Asp, Aun, Aec, $\text{HN-CH}(\text{CH}_2)_m\text{-C(O)}$, $\text{HN-CH}((\text{CH}_2)_n\text{-N(R}^{10}\text{R}^{11}))\text{-C(O)}$, D-aminokyselina, nebo chybí;
- 25 A^{38} je D- nebo L-Lys, D- nebo L-Arg, D- nebo L-hArg, D- nebo L-Orn, $\text{HN-CH}((\text{CH}_2)_n\text{-N(R}^{10}\text{R}^{11}))\text{-C(O)}$, $\text{HN-CH}((\text{CH}_2)_e\text{-X}^3)\text{-C(O)}$, Ava, Ado, Aec nebo chybí;
- A^{39} je D- nebo L-Lys, D- nebo L-Arg, $\text{HN-CH}((\text{CH}_2)_n\text{-N(R}^{10}\text{R}^{11}))\text{-C(O)}$, Ava, Ado, nebo Aec;
- 30 za předpokladu, že pokud A^{35} je Aib nebo β -Ala, A^8 není Aib;
- X^1 je pro každý případ nezávisle vybrán ze skupiny zahrnující $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ alkyl, OH a halogen;
- 35 R^1 je OH, NH_2 , $(\text{C}_1\text{-C}_{30})$ alkoxy, nebo $\text{NH-X}^2\text{-CH}_2\text{-Z}^0$, kde X^2 je $(\text{C}_1\text{-C}_{12})$ uhlovodíková složka a Z^0 je H, OH, CO_2H nebo CONH_2 ;
- X^3 je



- 40 nebo --C(O)-NHR^{12} , kde X^4 je pro každý případ nezávisle --C(O)-- , --NH-C(O)-- nebo $\text{--CH}_2\text{--}$, a kde f je pro každý případ nezávisle celé číslo v rozmezí 1 až 29 včetně;

- každý z R^2 and R^3 je nezávisle vybrán ze skupiny zahrnující H, $(\text{C}_1\text{-C}_{30})$ alkyl, $(\text{C}_2\text{-C}_{30})$ alkenyl, fenylyl $(\text{C}_1\text{-C}_{30})$ alkyl, naftyl $(\text{C}_1\text{-C}_{30})$ alkyl, hydroxy $(\text{C}_1\text{-C}_{30})$ alkyl, hydroxy $(\text{C}_2\text{-C}_{30})$ alkenyl, hydroxyfenyl $(\text{C}_1\text{-C}_{30})$ alkyl, a hydroxynaftyl $(\text{C}_1\text{-C}_{30})$ alkyl; nebo jeden z R^2 a
- 45

$\uparrow +$
 R^3 je $(CH_3)_2-N-C=N(CH_3)_2$, (C_1-C_{30}) acyl, (C_1-C_{30}) alkylsulfonyl, $C(O)X^5$,



5

kde Y je H, OH nebo NH_2 ; r je 0 až 4; q je 0 až 4; a X^5 je (C_1-C_{30}) alkyl, (C_2-C_{30}) alkenyl, fenyl- (C_1-C_{30}) alkyl, naftyl (C_1-C_{30}) alkyl, hydroxy (C_1-C_{30}) alkyl, hydroxy (C_2-C_{30}) alkenyl, hydroxy-fenyl (C_1-C_{30}) alkyl, nebo hydroxynaftyl (C_1-C_{30}) alkyl;

10

e je pro každý případ nezávisle celé číslo v rozmezí 1 až 4 včetně;

m je pro každý případ nezávisle celé číslo v rozmezí 5 až 24 včetně;

n je pro každý případ nezávisle celé číslo v rozmezí 1 až 5 včetně;

15

každý z R^{10} a R^{11} je pro každý případ nezávisle H, (C_1-C_{30}) alkyl, (C_1-C_{30}) acyl, (C_1-C_{30}) alkylsulfonyl, $-C((NH)(NH_2))$ nebo



20

a R^{12} a R^{13} je každý, pro každý případ nezávisle, (C_1-C_{30}) alkyl;

za předpokladu že:

(i) když A^7 je Ura, Paa nebo Pta, potom R^2 a R^3 chybí;

25

(ii) když R^{10} je (C_1-C_{30}) acyl, (C_1-C_{30}) alkylsulfonyl, $-C((NH)(NH_2))$ nebo



potom R^{11} je H nebo (C_1-C_{30}) alkyl;

30

(iii) alespoň jedna aminokyselina peptidového derivátu obecného vzorce I se neshoduje s přirozenou sekvencí hGLP-1(7-36, -37 nebo -38) NH_2 nebo hGLP-1(7-36, -37 nebo -38)OH;

(iv) peptidový derivát obecného vzorce I není analogem hGLP-1(7-36, -37 nebo -38) NH_2 nebo hGLP-1(7-36, -37 nebo -38)OH kde jedna pozice byla substituována Ala;

35

(v) peptidový derivát obecného vzorce I není $(Aib^{8,35})hGLP-1(17-36)NH_2$, $(Arg^{26,34}, Lys^{38})hGLP-1(7-38)-E$, $(Lys^{26}(N_\epsilon\text{-alkanoyl})hGLP-1(7-36, -37 \text{ nebo } -38)-E$, $(Lys^{34}(N_\epsilon\text{-alkanoyl}))hGLP-1(7,36, -37 \text{ nebo } -38)-E$, $(Lys^{26,34}\text{-bis}(N_\epsilon\text{-alkanoyl}))hGLP-1(7-36, -37 \text{ nebo } -38)-E$, $(Arg^{26}, Lys^{34}(N_\epsilon\text{-alkanoyl}))hGLP-1(8-36, -37 \text{ nebo } -38)-E$, $(Arg^{26,34}, Lys^{36}(N_\epsilon\text{-alkanoyl}))hGLP-1(7-36, -37 \text{ nebo } -38)-E$ nebo $(Arg^{26,34}, Lys^{38}(N_\epsilon\text{-alkanoyl}))hGLP-1(7-38)-E$, kde E je $-OH$ nebo $-NH_2$;

40

(vi) peptidový derivát obecného vzorce I není Z^1 -hGLP-1(7-36, -37 nebo -38)-OH, Z^1 -hGLP-1(7-36, -37 nebo -38)-NH₂, kde Z^1 je vybrán ze skupiny následující:

5 (a) (Arg²⁶), (Arg³⁴), (Arg^{26,34}), (Lys³⁶), (Arg²⁶, Lys³⁶), (Arg³⁴, Lys³⁶), (D-Lys³⁶), (Arg³⁶), (D-Arg³⁶), (Arg^{26,34}, Lys³⁶) nebo (Arg^{26,36}, Lys³⁴);

(b) (Asp²¹);

10 (c) alespoň jeden z (Aib⁸), (D-Ala⁸) a (Asp⁹); a

(d) (Tyr⁷), (N-acyl-His⁷), (N-alkyl-His⁷), (N-acyl-D-His⁷) nebo (N-alkyl-D-His⁷);

(vii) peptidový derivát obecného vzorce I není kombinací jakýchkoli dvou substitucí uvedených ve skupinách (a) až (d) a

15 (viii) peptidový derivát obecného vzorce I není (N-Me-Ala⁸)hGLP-1(8-36 nebo -37), (Glu¹⁵)hGLP-1(7-36 nebo -37), (Asp²¹)hGLP-1(7-36 nebo -37) nebo (Phe³¹)hGLP-1(7-36 nebo -37) nebo jejich farmaceuticky přijatelná sůl.

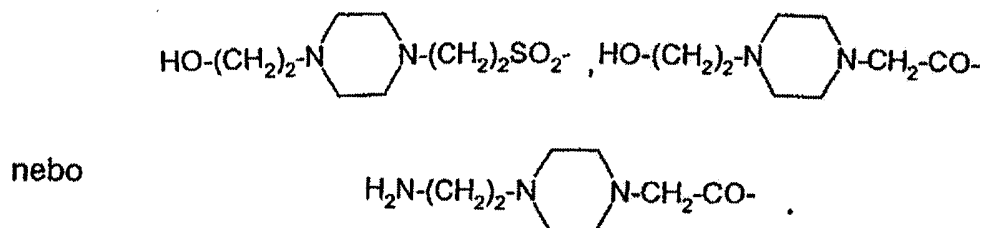
20 Výhodná skupina sloučenin, která splňuje podmínky právě uvedené předchozí sloučeniny jsou takové, kde A¹¹ je Thr; A¹³ je Thr; A¹⁵ je Asp; A¹⁷ je Ser; A¹⁸ je Ser nebo Lys; A²¹ je Glu; A²³ je Gln nebo Glu; A²⁷ je Glu, Leu, Aib nebo Lys; a A³¹ je Trp, Phe nebo β-Nal; nebo jejich farmaceuticky přijatelná sůl.

25 Výhodná skupina sloučenin, která splňuje podmínky právě uvedené předchozí skupiny sloučenin jsou takové, kde A⁹ je Glu, N-Me-Glu nebo N-Me-Asp; A¹² je Phe, Acc, β-Nal nebo Aic; A¹⁶ je Val, Acc nebo Aib; A¹⁹ je Tyr nebo β-Nal; A²⁰ je Leu, Acc nebo Cha; A²⁴ je Ala, Aib nebo Acc; A²⁵ je Ala, Aib, Acc, Lys, Arg, hArg, Orn, HN-CH((CH₂)_n-N(R¹⁰R¹¹))-C(O) nebo HN-CH-((CH₂)_e-X³)-C(O); A²⁸ je Phe nebo β-Nal; A²⁹ je Ile nebo Acc; A³⁰ je Ala nebo Aib; A³² je Leu, Acc nebo Cha; a A³³ je Val, Lys nebo Acc; nebo jejich farmaceuticky přijatelná sůl.

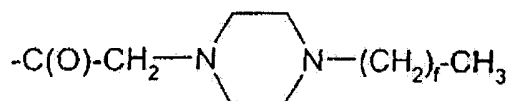
30 Výhodná skupina sloučenin, která splňuje podmínky právě uvedené předchozí skupiny sloučenin jsou takové, kde A⁸ je Ala, D-Ala, Aib, A6c, A5c, N-Me-Ala, N-Me-D-Ala nebo N-Me-Gly; A¹⁰ je Gly; A¹² je Phe, β-Nal, A6c nebo A5c; A¹⁶ je Val, A6c nebo A5c; A²⁰ je Leu, A6c, A5c nebo Cha; A²² je Gly, β-Ala, Glu nebo Aib; A²⁴ je Ala nebo Aib; A²⁹ je Ile, A6c nebo A5c; A³² je Leu, A6c, A5c nebo Cha; A³³ je Val, Lys, A6c nebo A5c; A³⁵ je Aib, β-Ala, A6c, A5c nebo D-Arg; a A³⁷ je Gly, Aib, β-Ala, Ado, D-Ala, Ava, Asp, Aun, D-Asp, D-Arg, Aec, HN-CH-((CH₂)_n-N(R¹⁰R¹¹))-C(O) nebo chybí; nebo jejich farmaceuticky přijatelná sůl.

40 Výhodná skupina sloučenin, která splňuje podmínky právě uvedené předchozí skupiny sloučenin jsou takové, kde X⁴ v každém případě je -C(O)-; a R¹ je OH nebo NH₂; nebo jejich farmaceuticky přijatelná sůl.

45 Výhodná skupina sloučenin, která splňuje podmínky právě uvedené předchozí skupiny sloučenin nebo farmaceuticky přijatelných solí jsou takové, kde R² je H a R³ je (C₁-C₃₀)alkyl, (C₂-C₃₀)-alkenyl, (C₁-C₃₀)acyl, (C₁-C₃₀)alkylsulfonyl,

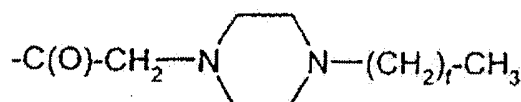


- Výhodná sloučenina obecného vzorce I je taková, kde A^8 je Ala, D-Ala, Aib, A6c, A5c, N-Me-Ala, N-Me-D-Ala nebo N-Me-Gly; A^{10} je Gly; A^{12} je Phe, β -Nal, A6c nebo A5c; A^{16} je Val, A6c nebo A5c; A^{20} je Leu, A6c, A5c nebo Cha; A^{22} je Gly, β -Ala, Glu nebo Aib; A^{24} je Ala nebo Aib; A^{29} je Ile, A6c nebo A5c; A^{32} je Leu, A6c, A5c nebo Cha; A^{33} je Val, Lys, A6c nebo A5c; A^{35} je Aib, β -Ala, Ado, A6c, A5c, D-Arg nebo Gly; a A^{37} je Gly, Aib, β -Ala, Ado, D-Ala, Ava, Asp, Aun, D-Asp, D-Arg, Aec, $\text{HN-CH}((\text{CH}_2)_n\text{-N}(\text{R}^{10}\text{R}^{11}))\text{-C(O)}$ nebo chybí; X^4 v každém případě je $-\text{C(O)}-$; e v každém případě je nezávisle 1 nebo 2; R^1 je OH nebo NH_2 ; R^{10} je $(\text{C}_1\text{-C}_{30})\text{acyl}$, $(\text{C}_1\text{-C}_{30})\text{alkylsulfonyl}$ nebo



- 10 a R^{11} je H; nebo jejich farmaceuticky přijatelná sůl."

Výhodnějšími výše uvedenými sloučeninami jsou ty, kde R^{10} je $(\text{C}_4\text{-C}_{20})\text{acyl}$, $(\text{C}_4\text{-C}_{20})\text{alkylsulfonyl}$ nebo



- 15 nebo jejich farmaceuticky přijatelná sůl.

Jiná výhodnější sloučenina obecného vzorce I je taková sloučenina, která má vzorec:



- 20 nebo její farmaceuticky přijatelná sůl.

Jinou výhodnější sloučeninou obecného vzorce I je každá ze sloučenin, které jsou zde dále specificky vypočítány v oddílu Příklady vynálezu, nebo její farmaceuticky přijatelná sůl.

- 25 V jiném provedení poskytuje předložený vynález farmaceutický prostředek, který obsahuje účinné množství sloučeniny obecného vzorce I, která je zde výše definována nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl a farmaceuticky přijatelný nosič nebo ředidlo.

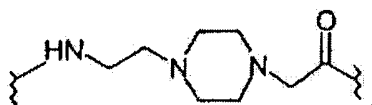
- 30 V ještě jiném provedení poskytuje předložený vynález způsob vyvolání agonistického účinku u receptoru GLP-1 u pacienta, který to vyžaduje, který spočívá v tom, že se uvedenému pacientu podá účinné množství sloučeniny obecného vzorce I, která je zde výše definována nebo její farmaceuticky přijatelná sůl.

- 35 V dalším provedení poskytuje předložený vynález způsob léčení nemoci vybrané ze skupiny obsahující diabetes typu I, diabetes typu II, obezitu, glukagonom, vylučovací potíže u dýchacích cest, metabolické poruchy, artritidu, osteoporózu, nemoci centrálního nervového systému, restenózu, neurodegenerativní nemoci, selhání ledvin, městnavé srdeční selhání, nefrotický syndrom, cirhóza, plicní otok, vysoký tlak a poruchy s očekávaným snížením příjmu potravy, u jedinců kteří to vyžadují, který spočívá v tom, že jedinci je podáno účinné množství sloučeniny obecného vzorce I, který zde byl výše definován nebo její farmaceuticky přijatelné soli. Výhodný způsob právě uvedené metody je takový, kdy je léčen diabetes typu I nebo diabetes typu II.

- 45 S výjimkou N-koncové aminokyseliny, všechny zkratky (např. Ala) aminokyselin v tomto popisu platí pro strukturu $-\text{NH-CH(R)-CO}-$, kde R je postranní řetězec aminokyseliny (např.

- CH₃ pro Ala). Pro N-koncovou aminokyselinu zkratka zastupuje strukturu (R²R³)-N-CH(R)-CO-, kde R je postranní řetězec aminokyseliny a R² a R³ jsou takové, jak jsou definovány výše, s tou výjimkou, že když A⁷ je Ura, Paa nebo Pta, tak v tomto případě R² a R³ chybí, protože Ura, Paa a Pta jsou zde zamýšleny jako des-aminokyseliny. Amp, β-Nal, Nle, Cha, 3-Pal, 4-Pal a Aib jsou zkratky následujících aminokyselin: 4-amino-fenylalanin, β-(2-naftyl)alanin, norleucin, cyklohexylalanin, β-(3-pyridinyl)alanin, β-(4-pyridinyl)alanin a kyselina α-aminoizomásečná. Definice jiných aminokyselin jsou: Ura je kyselina urokanová; Pta je kyselina (4-pyridylthio)octová; Paa je kyselina *trans*-3-(3-pyridyl)akrylová; Tma je N,N-tetramethylamidino-histidin; N-Me-Ala je N-methylalanin; N-Me-Gly je N-methylglycin; N-Me-Glu je kyselina N-methylglutamová; Tle je *terc*-butylglycin; Abu je kyselina α-aminomásečná; Tba je *terc*-butylalanin; Orn je ornitin; Aib je kyselina α-aminoizomásečná; β-Ala je β-alanin; Gaba je kyselina γ-aminomásečná; Ava je kyselina 5-aminovalerová; Ado je kyselina 12-aminodekanová; Aic je kyselina 2-aminoindan-2-karboxylová; Aun je kyselina 11-aminoundekanová; a Aec je 4-(2-aminoethyl)-1-karboxymethyl-piperazin, který je představován strukturou:

15

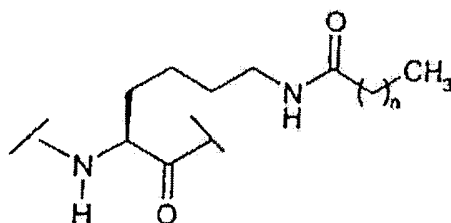


20

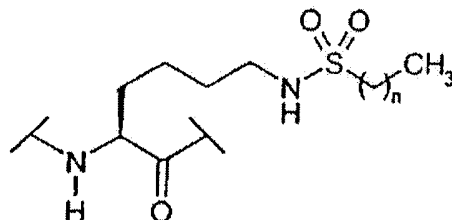
Zkratka Acc představuje aminokyselinu vybranou ze skupiny zahrnující: 1-amino-1-cyklopropankarboxylovou (A3c); 1-amino-1-cyklobutankarboxylovou (A4c); kyselinu 1-amino-1-cyklopentankarboxylovou (A5c); kyselinu 1-amino-1-cyklohexankarboxylovou (A6c); kyselinu 1-amino-1-cykloheptankarboxylovou (A7c); kyselinu 1-amino-1-cyklooktankarboxylovou (A8c); a kyselinu 1-amino-1-cyklononankarboxylovou (A9c). Ve výše uvedeném vzorci, hydroxyalkyl, hydroxyfenylalkyl a hydroxynaftylalkyl mohou obsahovat 1 až 4 hydroxysubstituenty. COX⁵ zastupuje -C=O·X⁵. Příklady -C=O·X⁵ zahrnují mimo jiné acetyl a fenylpropionyl.

Zkratkou Lys(N_e-alkanoyl) je míněna následující obecná struktura:

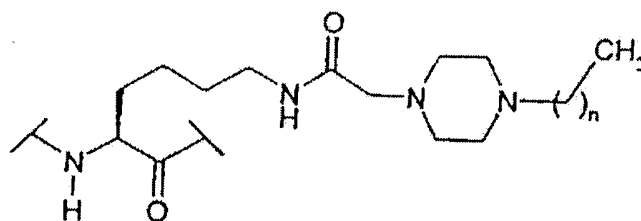
25



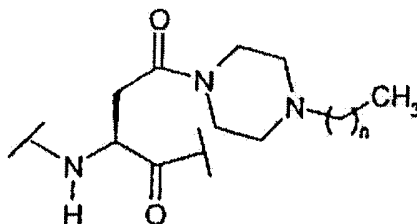
Zkratkou Lys(N_e-alkylsulfonyl) je míněna následující obecná struktura:



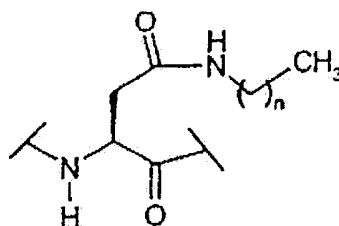
Zkratkou Lys(Nε-(2-(4-alkyl-1-piperazin)-acetyl) je míněna následující obecná struktura:



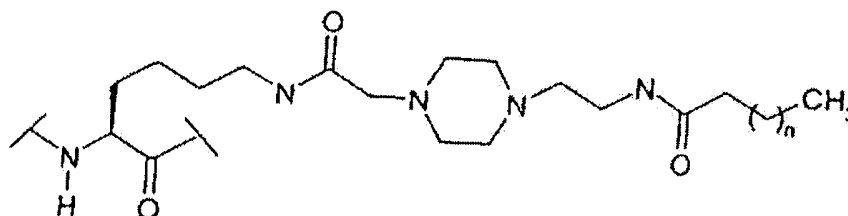
Zkratkou Asp(1-(4-alkylpiperazin)) je míněna následující obecná struktura:



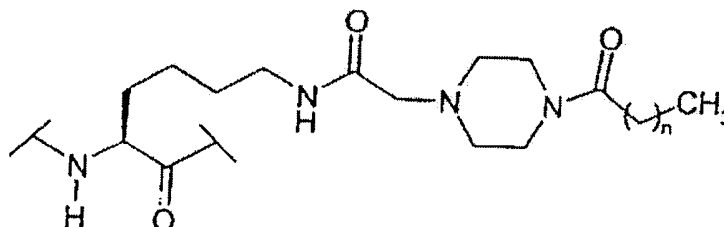
5 Zkratkou Asp(1-alkylamino) je míněna následující obecná struktura:



Zkratkou Lys(Nε-Acc-alkanoyl) je míněna následující obecná struktura:



10 Proměnná n v předchozích uvedených strukturách je v rozmezí 1 až 30. Zkratkou Lys(Nε-ace-alkanoyl) je míněna následující obecná struktura:



15 Plné názvy jiných zkratk, které jsou zde použity, jsou následující: Boc pro t-butyloxykarbonyl, HF pro fluorovodík, Fm pro formyl, Xan pro xanthyl, Bzl pro benzyl, Tos pro tosyl, DPN pro 2,4-dinitrofenyl, DMF pro dimethylformamid, DCM pro dichlormethan, HBTU pro hexafluorofosfát 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronia, DIEA pro diizopropylethylamin, HOAc pro kyselinu octovou, TFA pro kyselinu trifluoroctovou, 2ClZ pro 2-chlorbenzyloxy-

karbonyl, 2BrZ pro 2-brombenzyloxykarbonyl, OcHex pro O-cyklohexyl, Fmoc pro 9-fluor-enylmethoxykarbonyl, HOBt pro N-hydroxybenzotriazol a PAM pryskyřice pro 4-hydroxy-methylfenylacetamidomethyl pryskyřici.

- 5 Termín „halo“ zahrnuje fluor-, chlor-, brom- a jod- deriváty.

Termín „(C₁-C₃₀)uhlovodíková složka“ zahrnuje alkyl, alkenyl a alkynyl, a v případě alkenylu a alkynylu se jedná o C₂-C₃₀.

- 10 Peptid tohoto vynálezu je zde také označován jiným formátem zápisu, např. (A5c⁸)hGLP-1(7-36)NH₂ se substituovanými aminokyselinami z přirozené sekvence, umístěnými v první soustavě závorek (např. A5c⁸ pro Ala⁸ v hGLP-1). Zkratka GLP-1 znamená glukagonu podobný peptid-1, hGLP-1 znamená lidský glukagonu podobný peptid-1. Čísla umístěná v závorce označují počet aminokyselin přítomných v peptidu (např. hGLP-1(7-36) znamená aminokyseliny 7 až 36 ze sekvence peptidu lidského GLP-1). Sekvence hGLP-1(7-37) je uvedena v Mojsov, S., Int. J. Peptide Protein Res., 40, 1992, str. 333 až 342. Označení „NH₂“ v hGLP-1(7-36)NH₂ znamená, že C-konec peptidu je ukončen amidovou skupinou. hGLP-1(7-36) znamená, že C-konec je volná aminokyselina. Zbytky na pozicích 37 a 38 v hGLP-1(7-38) jsou Gly respektive Arg.

20

Detailní popis

- 25 Peptidy tohoto vynálezu mohou být připraveny pomocí standardní syntézy peptidů na pevné fázi. Viz Steward, J. M., a kol., Solid Phase Synthesis (Pierce Chemical Co., 2. vyd., 1984). Substituenty R² a R³ ve výše uvedeném obecném vzorci mohou být připojeny k volné aminoskupině N-koncové aminokyseliny, pomocí standardních metod, známých v oboru. Například alkylové skupiny, např. (C₁-C₃₀)alkyl, mohou být připojeny pomocí redukční alkylace. Hydroxyalkylové skupiny, např. (C₁-C₃₀)hydroxyalkyl, mohou být také připojeny pomocí redukční alkylace, kde volná hydroxylová skupina je chráněna t-butylesterem. Acylové skupiny, např. COE¹, mohou být 30 připojeny spojením volné kyseliny, např. E¹COOH, k volné aminoskupině N-koncové aminokyseliny tak, že je smíchána kompletní pryskyřice se 3 molárními ekvivalenty jak volné kyseliny, tak diizopropylkarboxydiimidu v methylenchloridu po dobu 1 hodiny. Pokud volná kyselina obsahuje volnou hydroxylovou skupinu, např. kyselina p-hydroxyfenylpropionová, 35 potom by připojení mělo být provedeno s dalšími třemi molárními ekvivalenty HOBt.

- Pokud R¹ je NH-X²-CH₂-CONH₂ (tj. Z⁰=CONH₂), potom syntéza peptidu začíná pomocí BocHN-X²-CH₂-COOH, která je připojena k MBHA pryskyřici. Pokud R¹ je NH-X₂-CH₂-COOH (tj. Z⁰=COOH), potom syntéza peptidu začíná pomocí Boc-HN-X₂-CH₂-COOH, která je 40 připojena k PAM pryskyřici. Pro tento určitý krok jsou používány 4 molární ekvivalenty Boc-HN-X₂-COOH, HBTU a HOBt a 10 molárních ekvivalentů DIEA. Doba potřebná k připojení je asi 8 hodin.

- 45 Chráněná aminokyselina, kyselina 1-(terc-butoxykarbonyl-amino)-1-cyklohexan karboxylová, byla syntetizována následujícím způsobem. 19,1 gramu (0,133 mol) kyseliny 1-amino-1-cyklohexan karboxylové (Acros Organics, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) bylo rozpuštěno ve 200 ml dioxanu a 100 ml vody. K tomu bylo přidáno 67 ml 2 N NaOH. Roztok byl ochlazen v lázni vody s ledem. K tomuto roztoku bylo přidáno 32,0 g (0,147 mol) di-terc-butyldikarbonátu. Reakční směs byla míchána přes noc při teplotě místnosti. Poté byl za sníženého tlaku odstraněn dioxan. 50 Ke zbývajcímu vodnému roztoku bylo přidáno 200 ml octanu ethylnatého. Směs byla ochlazená v lázni vody s ledem. pH vodné vrstvy bylo upraveno na asi 3 pomocí přidání 4 N HCl. Organická vrstva byla oddělena. Vodní vrstva byla extrahována octanem ethylnatým (1x100 ml). Dvě organické vrstvy byly spojeny a promyty vodou (2x150 ml), sušeny nad bezvodým MgSO₄, filtrovány a za sníženého tlaku koncentrovány do suchého stavu. Výtěžek byl rekrystalován ze směsi octan ethylnatý/hexany. Bylo získáno 9,2 g čistého produktu. Výtěžek byl 29 %.

55

Boc-A5c-OH byla syntetizována analogickým způsobem jako Boc-A6c-OH. Ostatní chráněné Acc aminokyseliny mohou být připraveny analogickým způsobem osobou s běžnou zkušeností v oboru podle popisů, uvedených v předloženém patentu.

5

Při syntéze analogů GLP-1, které jsou předmětem tohoto vynálezu, které obsahují A5c, A6c a/nebo Aib, jsou doby potřebné pro připojení těchto zbytků a zbytků, které je bezprostředně následují, 2 hodiny.

- 10 Substituenty R^2 a R^3 ve výše uvedeném obecném vzorci mohou být připojeny k volné aminoskupině N-koncové aminokyseliny pomocí standardních metod, známých v oboru. Například alkylové skupiny, např. (C_1-C_{30}) alkyl, mohou být připojeny pomocí redukční alkylace. Hydroxyalkylové skupiny, např. (C_1-C_{30}) hydroxyalkyl, mohou být také připojeny pomocí redukční alkylace, kde volná hydroxylová skupina je chráněna t-butylesterem. Acylové skupiny, např.
- 15 COX¹, mohou být připojeny spojením volné kyseliny, např. X^1COOH , k volné aminoskupině N-koncové aminokyseliny tak, že je smíchána kompletní pryskyřice se 3 molárními ekvivalenty jak volné kyseliny, tak diizopropylkarboxydiimidu v methylenchloridu po dobu 1 hodiny. Pokud volná kyselina obsahuje volnou hydroxylovou skupinu, např. kyselina p-hydroxyfenylpropionová, potom by připojení mělo být provedeno s dalšími třemi molárními ekvivalenty
- 20 HOBt.

U sloučeniny, která je předmětem tohoto vynálezu, může být následujícím postupem testována její schopnost vázat se na GLP-1.

25 Buněčná kultura:

- Buňky RIN 5F pocházející z krysího inzulinomu (ATCC-# CRL-2058, Americká sbírka typových kultur, Manassas, VA), exprimující GLP-1 receptor, byly kultivovány v Eaglově médiu modifikovaném podle Dulbecca (DMEM), obsahujícím 10 % fetálního telecího séra a udržovány
- 30 při 37 °C ve vlhké atmosféře o složení 5% CO₂/95% vzduch.

Vazba radioaktivně značeného ligandu

- Membrány pro studia vazby radioaktivně značeného ligandu byly připraveny homogenizací
- 35 buněk RIN ve 20 ml ledového 50 mM Tris-HCl pomocí zařízení Brinkman Polytron (Westbury, NY) (nastavení 6, 15 s). Homogenáty byly 2x promyty centrifugací (39 000 g/10 min.) a konečné sedimenty byly resuspendovány v 50 mM Tris-HCl, obsahujícím 2,5 mM MgCl₂, 0,1 mg/ml bacitracinu (Sigma Chemical, St. Louis, MO) a 0,1% BSA. Pro testování byly alikvoty (0,4 ml) inkubovány s 0,05 nM (¹²⁵I)GLP-1(7-36) (~2200 Ci/mmol, New England Nuclear, Boston, MA) buď s, anebo bez 0,05 ml neznačených kompetujících testovaných peptidů. Po inkubaci 100 min (25 °C) byl vázaný (¹²⁵I)GLP-1(7-36) oddělen od volného rychlou filtrací přes filtry GF/S (Brandel, Gaithersburg, MD), které byly předem nasáknuty v 0,5% polyethyleniminu. Filtry byly potom 3x promyty 5 ml alikvoty ledového 50 mM Tris-HCl a vázaná radioaktivita, zachycená na filtrech, byla změřena spektrometrií gama (Wallac LKB, Gaithersburg, MD). Specifická vazba byla definována jako celkový vázaný (¹²⁵I)GLP-1(7-36)
- 45 minus ten, který je vázaný v přítomnosti 1000 nM GLP-1(7-36) (Bachem, Torrence, CA).

- Peptidy které jsou předmětem tohoto vynálezu mohou být poskytnuty ve formě farmaceuticky přijatelných solí. Příklady takových solí zahrnují mimo jiné takové, které jsou vytvořeny
- 50 s organickými kyselinami (např. kyselina octová, kyselina mléčná, kyselina maleinová, kyselina citrónová, kyselina jablečná, kyselina askorbová, kyselina jantarová, kyselina benzoová, kyselina methansulfonová, kyselina toluensulfonová nebo kyselina pamoová („pamoic acid“), s anorganickými kyselinami (např. kyselina chlorovodíková, kyselina sírová nebo kyselina fosforečná) a s polymerními kyselinami (např. tanin, karboxymethylcelulóza, kyselina polymléčná, kyselina
- 55 polyglykolová nebo kopolymery kyselin polymléčná-glykolová). Typický způsob pro přípravu

5 soli peptidu, který je předmětem tohoto vynálezu, je v oboru dobře známý a může být proveden standardními metodami výměny solí. Tedy TFA sůl peptidu, který je předmětem tohoto vynálezu (TFA sůl je výsledkem purifikace peptidu pomocí preparativní HPLC, eluování pomocí pufrů obsahujících TFA) může být převedena na sůl jinou, jako je třeba octan tím, že je peptid
 10 rozpuštěn v malém množství vodného roztoku 0,25 N kyseliny octové. Výsledný roztok je nanesen na semipreparativní HPLC sloupec (Zorbax, 300 SB, C-8). Sloupec je vymýván (1) roztokem 0,1 N octanu amonného ve vodě po dobu 0,5 hodiny, (2) roztokem 0,25 N octanu amonného ve vodě po dobu 0,5 hodiny a (3) lineárním gradientem (20 až 100% roztok B po dobu více než 30 minut) při rychlosti průtoku 4 ml/minutu (roztok A je 0,25 N kyselina octová ve vodě; roztok B je 0,25 N kyselina octová ve směsi acetonitril/voda, 80:20). Frakce obsahující peptid jsou ode-
 15 bírány a vysušeny do suchého stavu pomocí lyofilizace.

Jak je dobře známo osobám se zkušeností v oboru, známá a potenciální použití GLP-1 jsou různá a rozmanitá (viz Todd J. F. a kol., Clinical Science, 1998, 95, str. 325 až 329; a Todd J. F. a kol.,
 15 European Journal of Clinical Investigation, 1997, 27, str. 533 až 536). Tedy podání sloučenin, které jsou předmětem tohoto vynálezu za účelem vyvolání, může mít tytéž účinky a použití jako samotný GLP-1. Tato různá použití GLP-1 mohou být shrnuta následovně jako léčení: diabetu typu I, diabetu typu II, obezity, glukagonomů, vylučovacích potíží u dýchacích cest, metabolických poruch, artritidy, osteoporózy, nemocí centrálního nervového systému, restenózy, neuro-
 20 degenerativních nemocí, selhání ledvin, městnavého srdečního selhání, nefrotického syndromu, cirhózy, plicního otoku, vysokého tlaku a poruch s očekávaným snížením příjmu potravy. Analogy, které jsou předmětem tohoto vynálezu, které vyvolávají agonistický efekt u jedince, mohou být použity pro léčení následujících poruch: hypoglykémie a syndromu špatného vstřebávání, spojeného s chirurgickým odnětím části žaludku a operacemi tenkého střeva.

25 Předložený vynález tedy ve svém rámci zahrnuje farmaceutické prostředky, které obsahují jako svoji aktivní složku, alespoň jednu ze sloučenin obecného vzorce I ve spojení s farmaceuticky přijatelným nosičem.

30 Dávka aktivní složky v prostředcích, které jsou předmětem tohoto vynálezu, může být různá: je však nezbytné, aby množství aktivní složky bylo takové, aby bylo dosaženo vhodné dávky. Vybraná dávka závisí na požadovaném léčebném účinku, na způsobu podávání a na době trvání léčby. Obecně účinná dávka pro aktivity, které jsou předmětem tohoto vynálezu, je v rozsahu 1×10^{-7} až 200 mg/kg/den, výhodně 1×10^{-4} až 100 mg/kg/den, která může být podána jako jedna
 35 dávka nebo může být rozdělena do mnoha dávek.

Sloučeniny, které jsou předmětem tohoto vynálezu, mohou být podávány orálně, parenterálně (např. intramuskulární, intraperitoneální, intravenózní nebo podkožní injekcí, nebo pomocí implantátu), nazálně, vaginálně, rektálně, pod jazyk nebo místními způsoby podávání a mohou
 40 být připraveny s farmaceuticky přijatelnými nosiči tak, aby poskytly dávkové formy vhodné pro každý způsob podávání.

Pevné dávkové formy pro orální podávání zahrnuje kapsle, tablety, pilulky, prášky a granule. V takových pevných dávkových formách je aktivní složka smíšena alespoň s jedním inertním
 45 farmaceuticky přijatelným nosičem jako je sacharóza, laktóza nebo škrob. Takové dávkové formy mohou také obsahovat, jako v běžné praxi, další sloučeniny, jiné než taková inertní ředidla, např. lubrikační činidla jako je stearan hořečnatý. V případě kapslí, tablet a pilulek mohou dávkové formy také obsahovat pufrací činidla. Tablety a pilulky mohou být dále připra-
 50 veny s enterickým povlakem.

Tekuté dávkové formy pro orální podávání zahrnují farmaceuticky přijatelné emulze, roztoky, suspenze, sirupy, tinktury obsahující inertní ředidla, obecně v oboru používaná, jako je např. voda. Vedle takových inertních ředidel mohou také prostředky zahrnovat adjuvans, jako jsou
 55 zvlhčovací činidla, emulgační a suspenzní činidla a sladidla, činidla dodávající chuť a vůni.

Prostředky pro parenterální podávání, které jsou předmětem tohoto vynálezu, zahrnují sterilní vodné a nevodné roztoky, suspenze nebo emulze. Příklady nevodných rozpouštědel nebo nosičů jsou propylenglykol, polyethylenglykol, rostlinné oleje, jako je olivový olej a kukuřičný olej, želatina a organické estery, které je možno podávat injekčně, jako je ethylester kyseliny olejové.

5 Takové dávkové formy mohou také obsahovat adjuvans, jako jsou konzervační, zvlhčovací, emulgační a disperzní činidla. Mohou být sterilizovány například filtrací přes filtr zachycující bakterie, přidáním sterilizačního činidla do prostředků, ozářením prostředků nebo zahřátím prostředků. Mohou být také vyrobeny ve formě sterilního pevného prostředku, který může být bezprostředně před použitím rozpuštěn ve sterilní vodě nebo v nějakém jiném sterilním injekčním

10 médiu.

Prostředky pro rektální nebo vaginální podávání jsou s výhodou čípky, které mohou vedle aktivní složky obsahovat excipienty, jako jsou máslo z koky nebo vosk na čípky.

15 Prostředky pro nazální podávání nebo pro podávání pod jazyk jsou také připravovány se standardními excipienty, které jsou v oboru dobře známé.

Dále může být sloučenina, která je předmětem tohoto vynálezu, podávána pomocí prostředků pro trvalé uvolňování, jako jsou ty, které jsou popsány v následujících patentech a patentových přihláškách. Patent US 5 672 659 popisuje prostředky pro trvalé uvolňování, které obsahují biologicky aktivní činidlo a polyester. Patent US 5 595 760 popisuje prostředky pro trvalé uvolňování, které obsahují biologicky aktivní činidlo v gelové formě. Patentová přihláška US 08/929 363, podaná 9. září 1997 (US patent 5 821 221), popisuje polymerní prostředky pro trvalé uvolňování, které obsahují biologicky aktivní činidlo a chitosan. Patentová přihláška US 08/740 778, podaná

20 1. listopadu 1996 (US patent 5 916 83), popisuje prostředky pro trvalé uvolňování, které obsahují biologicky aktivní činidlo a cyklodextrin. Patentová přihláška US 09/015 394, podaná 29. ledna 1998 (WO 99/38536), popisuje absorbovatelné prostředky pro trvalé uvolňování, které obsahují biologicky aktivní činidlo. Patentová přihláška US 09/121 653, podaná 23. července 1998 (WO 00/04916), popisuje způsob přípravy mikročástic, obsahujících terapeutické činidlo jako je

25 peptid, procesem typu olej ve vodě. Patentová přihláška US 09/131 472, podaná 10. srpna 1998 (WO 00/09166), popisuje komplexy obsahující terapeutické činidlo jako je peptid a fosforylovaný polymer. Patentová přihláška US 09/184 412, podaná 2. listopadu 1998, (US patent 6 203 386), popisuje komplexy obsahující terapeutické činidlo jako je peptid a polymer obsahující nepolymerizovatelný lakton. Obsahy předchozích patentů a patentových přihlášek jsou zde

30 zahrnuty jako odkazy.

Pokud není definováno jinak, všechny zde používané technické a vědecké termíny mají tentýž význam, jak je obvykle chápán osobami s běžnou zkušeností v oboru, do něhož tento vynález spadá. Také všechny publikace, patentové přihlášky, patenty a ostatní odkazy zde zmíněné, jsou

40 zde zahrnuty jako odkaz.

Následující příklady popisují syntetické metody pro přípravu peptidů, které jsou předmětem tohoto vynálezu, tyto metody jsou dobře známy osobám se zkušeností v oboru. Osobám se zkušeností v oboru jsou také známy jiné metody. Příklady jsou poskytnuty pro účely ilustrace a nejsou míněny tak, aby v jakémkoli směru omezovaly rozsah předloženého vynálezu.

45

Boc-βAla-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH a Boc-D-Asp(OcHex) byly zakoupeny od Nova Biochem, San Diego, Kalifornie. Boc-Aun-OH byl zakoupen od Bachem, King of Prussia, PA. Boc-Ava-OH a Boc-Ado-OH byly zakoupeny od Chem-Impex, International, Wood Dale, IL.

50 Boc-Nal-OH byl zakoupen od Synthetech, Inc. Albany, OR.

Příklady provedení vynálezuPříklad 1: (Aib^{8,35})hGLP-1(7-36)NH₂

5

Příklad je uveden pro ilustraci základního postupu. Jmenovaný peptid byl syntetizován na syntetizátoru peptidů Applied Biosystems (Foster City, CA), model 450A, který byl modifikován tak, aby prováděl zrychlenou syntézu peptidů metodou Boc na pevné fázi. Viz Schnolzer a kol., Int. J. Peptide Protein Res., 90:180 (1992). Byla použita 4-methylbenzhydrolaminová (MBHA) pryskyřice (Peninsula, Belmont, CA) se substitucí 0,91 mmol/g. Byly použity Boc aminokyseliny (Bachem, CA, Torrance, CA; Nova Biochem., LaJolla, CA) s následujícím chráněním postranních skupin: Boc-Ala-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asp(OcHex)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-His(DNP)-OH, Boc-Val-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gly-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Lys(2CIZ)-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Phe-OH, Boc-Aib-OH, Boc-Glu(OcHex)-OH a Boc-Trp(Fm)OH. Syntéza byla provedena v množství 0,20 mmol. Skupiny Boc byly odstraněny působením 100% TFA po dobu 2x1 minuta. Boc aminokyseliny (2,5 mmol) byly předem aktivovány pomocí HBTU (2,0 mmol) a DIEA (1,0 ml) v 4 ml DMF a byly spojeny bez předchozí neutralizace TFA soli komplexu peptid-pryskyřice. Doby připojení byly 5 minut s výjimkou zbytků Boc-Aib-OH a následujících zbytků, Boc-Lys(2CIZ)-OH a Boc-His(DNP)-OH, kde doby připojení byly 2 hodiny.

20

Po sestavení peptidového řetězce bylo na pryskyřici působeno roztokem 20% merkptoethanolu/10% DIEA v DMF po dobu 2x30 minut, aby došlo k odstranění skupiny DNP na postranním řetězci His. N-koncová skupina Boc byla potom odstraněna působením 100% TFA po dobu 2x1 minuta. Po neutralizaci komplexu peptid-pryskyřice pomocí 10% DIEA v DMF (1x1 min.) byla formylová skupina na postranním řetězci Trp odstraněna působením roztoku 15% ethanolamin/15% voda/70% DMF po dobu 2x30 minut. Komplex peptid-pryskyřice byl promyt s DMF a DCM a sušen za sníženého tlaku. Závěrečné odštěpení bylo provedeno mícháním komplexu peptid-pryskyřice v 10 ml HF obsahující 1 ml anisolu a dithiothreitol (24 mg) při 0 °C po dobu 75 minut. HF byla odstraněna probubláváním dusíkem. Zbytek byl promyt éterem (6x10 ml) a extrahován 4N HOAc (6x10 ml).

25

30

Peptidová směs ve vodném extraktu byla purifikována pomocí preparativní vysokotlaké kapalně chromatografie reverzní fáze (HPLC) za použití sloupce VYDAC[®] C₁₈ pro reverzní fázi (Nest Group, Southborough, MA). Sloupec byl promýván lineárním gradientem (20 až 50 % roztoku B po dobu 105 minut) průtokovou rychlostí 10 ml/min (roztok A = voda obsahující 0,1% TFA; roztok B = acetonitril obsahující 0,1% TFA). Byly odebírány frakce a kontrolovány na analytické HPLC. Ty frakce, které obsahovaly čistý produkt byly spojeny a vysušeny pomocí lyofilizace. Bylo získáno 135 mg bílé pevné látky. Na základě analytické HPLC byla stanovena 98,6% čistota. Analýzou pomocí hmotového spektrometru (MS(ES))S byla stanovena molekulová hmotnost 3339,7 (v soulase s vypočtenou molekulovou hmotností 3339,7).

35

40

Syntéza jiných sloučenin předloženého vynálezu může být provedena v podstatě stejným způsobem, jako je postup popsán pro syntézu (Aib⁸)hGLP-1(7-36)NH₂ v příkladu 1 výše, s tím že se použijí vhodné chráněné aminokyseliny, v závislosti na požadovaném peptidu.

45

Příklad 5: (Aib^{8,35}, Arg^{26,34}, Lys²⁶(N_ε-tetradekanoyl))hGLP-1(7-36)NH₂

50

Použité Boc aminokyseliny byly tytéž jako aminokyseliny, které byly použity při syntéze (Aib^{8,35})hGLP-1(7-36)NH₂, popsané v příkladu 1, s tou výjimkou, že v tomto příkladu byl použit Fmoc-Lys(Boc)-OH. První aminokyselinový zbytek byl k pryskyřici připojen manuálně na třepačce. 2,5 mmol Fmoc-Lys(Boc)-OH bylo rozpuštěno ve 4 ml 0,5 N HBTU v DMF. K roztoku byl přidán 1 ml DIEA. Směs byla třepána asi 2 minuty. Potom bylo k roztoku přidáno 0,2 mmol MBHA pryskyřice (substituční = 0,91 mmol/g). Směs byla třepána po dobu 1 hodiny. Pryskyřice

55

byla promyta DMF a působeno na ni 100% TFA po dobu 2x2 minuty, aby došlo k odstranění chránících skupin Boc. Pryskyřice byla potom promyta DMF. Kyselina myristylová (2,5 mmol) byla předem aktivována s HBTU (2,0 mmol) a DIEA (1,0 ml) ve 4 ml DMF po dobu 2 minut a byla připojena ke komplexu Fmoc-Lys-pryskyřice. Čas použitý pro připojení byl asi 1 hodina.

5 Pryskyřice byla promyta DMF a bylo na ni působeno 25% piperidinem v DMF po dobu 2x20 minut, aby došlo k odstranění chránicí skupiny Fmoc. Pryskyřice byla potom promyta DMF a přenesena do reakční nádoby syntetizátoru peptidů. Následující kroky syntetizačního a purifikačního postupu u peptidu byly tytéž jako při syntéze (Aib^{8,35})hGLP-1(7-36)NH₂ v příkladu 1. Bylo získáno 43,1 mg sloučeniny uvedené v nadpise, ve formě bílé pevné látky. Na

10 základě HPLC analýzy byla stanovena čistota 98%. Analýza pomocí ES hmotového spektrometru udávala molekulovou hmotnost 3577,7 v soulase s vypočtenou molekulovou hmotností 3578,7.

Syntéza jiných sloučenin předloženého vynálezu, obsahujících zbytek Lys(N_ε-alkanoyl) může být provedena způsobem, který je analogický postupu popsánemu pro příklad 5 (Aib^{8,35}, Arg^{26,34}, Lys²⁶(N_ε-tetradekanoyl))hGLP-1(7-36)NH₂. Aminokyselina Fmoc-Lys(Boc)-OH je použita pro

15 zbytek Lys(N_ε-alkanoyl) v peptidu, zatímco pro zbytek Lys je použita aminokyselina Boc-Lys(2CIZ)-OH. Pokud zbytek Lys(N_ε-alkanoyl) není na C-konci peptidu, fragment peptidu bezprostředně před zbytkem Lys(N_ε-alkanoyl) je předem sestaven na pryskyřici v syntetizátoru peptidů. Vhodnou kyselinu, odpovídající požadovanému alkanoylu, je možno zakoupit od

20 Aldrich Chemical Co., Inc. Milwaukee, WI, USA, např. kyselina oktanová, kyselina dekanová, kyselina laurová a kyselina palmitová.

Příklad 9: (Aib^{8,35}, Arg^{26,36}, Lys³⁶(N_ε-dodekansulfonyl))hGLP-1(7-36)NH₂

25

Boc aminokyseliny použité v této syntéze jsou tytéž jako aminokyseliny, které byly použity při syntéze v příkladu 5. První aminokyselinový zbytek je připojen na pryskyřici manuálně na třepačce. 2,5 mmol Fmoc-Lys(Boc)-OH je rozpuštěno ve 4 ml 0,5 N HBTU v DMF. K roztoku je přidán 1 ml DIEA. Směs je třepána asi 2 minuty. Potom je k roztoku přidáno 0,2 mmol MBHA

30 pryskyřice (substituce = 0,91 mmol/g). Směs je třepána po dobu asi 1 hodiny. Pryskyřice je promyta DMF a je na ni působeno 100% TFA po dobu 2x2 minuty, aby došlo k odstranění chránicí skupiny Boc. Pryskyřice je promyta DMF a je k ní přidáno 0,25 mmol 1-dodekansulfonylchloridu ve 4 ml DMF a 1 ml DIEA. Směs je třepána po dobu asi 2 hodin. Pryskyřice je promyta DMF a je na ni působeno 25% piperidinem v DMF po dobu 2x20 minut, aby došlo k odstranění

35 chránicí skupiny Fmoc. Pryskyřice je promyta DMF a přenesena do reakční nádoby syntetizátoru peptidů. Syntéza zbytku peptidu a purifikační postupy jsou tytéž jako ty, které byly popsány v příkladu 1.

Syntéza jiných sloučenin předloženého vynálezu, obsahujících zbytek Lys(N_ε-alkylsulfonyl) může být provedena způsobem, který je analogický postupu popsánemu pro příkladu 9. Amino-

40 kyselina Fmoc-Lys(Boc)-OH je použita pro zbytek Lys(N_ε-alkylsulfonyl) v peptidu, zatímco pro zbytek Lys je použita aminokyselina Boc-Lys(2CIZ)-OH. Pokud zbytek Lys(N_ε-alkylsulfonyl) není na C-konci peptidu, fragment peptidu bezprostředně před zbytkem Lys(N_ε-alkylsulfonyl) je předem sestaven na pryskyřici v syntetizátoru peptidů. Vhodný alkyl-

45 sulfonylchlorid je možno získat od Lancaster Synthesis Inc. Windham, NH, USA, např. 1-oktansulfonylchlorid, 1-dekansulfonylchlorid, 1-dodekansulfonylchlorid, 1-hexadekansulfonylchlorid a 1-oktadekansulfonylchlorid.

Příklad 10: (Aib^{8,35}, Arg^{26,34}, Lys²⁶(2-(4-tetradecyl-1-piperazin)acetyl))hGLP-1(7-36)NH₂

50

Boc aminokyseliny použité v tomto příkladu jsou tytéž jako aminokyseliny, které byly použity při syntéze v příkladu 5. První aminokyselinový zbytek je připojen na pryskyřici manuálně na třepačce. 2,5 mmol Fmoc-Lys(Boc)-OH je rozpuštěno ve 4 ml 0,5 N HBTU v DMF. K roztoku

- je přidán 1 ml DIEA. Směs je třepána asi 2 minuty. Potom je k roztoku přidáno 0,2 mmol MBHA pryskyřice (substituce = 0,91 mmol/g). Směs je třepána po dobu asi 1 hodiny. Pryskyřice je promyta DMF a je na ni působeno 100% TFA po dobu 2x2 minuty, aby došlo k odstranění chránicí skupiny Boc. Pryskyřice je promyta DMF. Kyselina 2-bromoctová (2,5 mmol) je předem aktivována pomocí HBTU (2,0 mmol) a DIEA (1 ml) ve 4 ml DMF po dobu asi 2 minut a je přidána k pryskyřici. Směs je třepána po dobu asi 10 minut a promyta DMF. Na pryskyřici je potom působeno 1,2 mmol piperazinu ve 4 ml DMF po dobu asi 2 hodin. Pryskyřice je promyta DMF a je na ni působeno 2 mmol 1-jodtetradekanu po dobu asi 4 hodin. Po promytí s DMF je na pryskyřici působeno 3 mmol anhydridu kyseliny octové a 1 ml DIEA ve 4 ml DMF po dobu asi 2 hodin. Pryskyřice je promyta DMF a je na ni působeno 25 % piperidinem v DMF po dobu 2x20 minut. Pryskyřice je promyta DMF a přenesena do reakční nádoby syntetizátoru peptidů, kde je v syntéze pokračováno. Zbývající syntetické a purifikační postupy u peptidu jsou tytéž jako postupy, které byly popsány v příkladu 1.
- 15 Syntéza jiných sloučenin předloženého vynálezu, obsahujících zbytek $\text{Lys}(\text{N}_\epsilon\text{-(2-(4-alkyl-1-piperazin)acetyl))}$ může být provedena způsobem, který je analogický postupu popsanému v příkladu 10. Aminokyselina Fmoc-Lys(Boc)-OH je použita pro zbytek $\text{Lys}(\text{N}_\epsilon\text{-(2-(4-alkyl-1-piperazin)acetyl))}$ v peptidu, zatímco pro zbytek Lys je použita aminokyselina Boc-Lys(2CIZ)-OH . Pro zbytek $\text{Lys}(\text{N}_\epsilon\text{-(2-(4-alkyl-1-piperazin)acetyl))}$ je v průběhu alkylačního kroku použit odpovídající jodalkan. Pokud zbytek $\text{Lys}(\text{N}_\epsilon\text{-(2-(4-alkyl-1-piperazin)acetyl))}$ není na C-konci peptidu, fragment peptidu bezprostředně před zbytkem $\text{Lys}(\text{N}_\epsilon\text{-(2-(4-alkyl-1-piperazin)acetyl))}$ je předem sestaven na pryskyřici v syntetizátoru peptidů.

- 25 Příklad 11: $\text{Aib}^{8,35}$, $\text{Arg}^{26,34}$, $\text{Lys}^{36}(\text{1-(4-tetradecylpiperazin)})\text{hGLP-1(7-36)NH}_2$

Boc aminokyseliny použité v tomto příkladu jsou tytéž jako ty aminokyseliny, které byly použity při syntéze v příkladu 5 s tou výjimkou, že na pozici 36 je použit $\text{Fmoc-Asp(O-tBu)-OH}$. První aminokyselinový zbytek je připojen na pryskyřici manuálně na třepače. 2,5 mmol $\text{Fmoc-Asp(O-tBu)-OH}$ je rozpuštěno ve 4 ml 0,5 N HBTU v DMF. K roztoku je přidán 1 ml DIEA. Směs je třepána asi 2 minuty. Potom je k roztoku přidáno 0,2 mmol MBHA pryskyřice (substituce = 0,91 mmol/g). Směs je třepána po dobu asi 1 hodiny. Pryskyřice je promyta DMF a je na ni působeno 100% TFA po dobu 2x2 minuty, aby došlo k odstranění chránicí skupiny tBu. Pryskyřice je promyta DMF a je na ni působeno HBTU (0,6 mmol) a DIEA (1 ml) ve 4 ml DMF po dobu asi 15 minut. K reakční směsi je přidáno 0,6 mmol piperazinu a směs je třepána po dobu asi 1 hodiny. Pryskyřice je promyta DMF a je na ni působeno 3 mmol 1-jodtetradekanu po dobu asi 4 hodin. Po promytí s DMF je na pryskyřici působeno 3 mmol anhydridu kyseliny octové a 1 ml DIEA ve 4 ml DMF po dobu asi 0,5 hodiny. Pryskyřice je promyta DMF a je na ni působeno 25% piperidinem v DMF po dobu 2x20 minut, aby došlo k odstranění chránicí skupiny Fmoc. Pryskyřice je promyta DMF a přenesena do reakční nádoby syntetizátoru peptidů, kde je v syntéze pokračováno. Zbývající syntetické a purifikační postupy u peptidu jsou tytéž jako postupy, které byly popsány v příkladu 1.

- 45 Syntéza jiných sloučenin předloženého vynálezu, obsahujících zbytek $\text{Asp(1-(4-alkylpiperazin))}$ nebo $\text{Glu(1-(4-alkylpiperazin))}$ jsou provedeny způsobem, který je analogický postupu popsanému v příkladu 11. Aminokyselina $\text{Fmoc-Asp(O-tBu)-OH}$ nebo $\text{Fmoc-Glu(O-tBu)-OH}$ je použita pro zbytek $\text{Asp(1-(4-alkylpiperazin))}$ nebo $\text{Glu(1-(4-alkylpiperazin))}$ v peptidu, zatímco pro zbytek Asp je použita aminokyselina Boc-Asp(OcHex)-OH a pro zbytek Glu je použita aminokyselina Boc-Glu(OcHex)-OH . Pro zbytek $\text{Lys}(\text{N}_\epsilon\text{-(2-(4-alkyl-1-piperazin)acetyl))}$ je v průběhu alkylačního kroku použit odpovídající jodalkan. Pokud zbytek $\text{Asp(1-(4-alkylpiperazin))}$ nebo $\text{Glu(1-(4-alkylpiperazin))}$ není na C-konci peptidu, fragment peptidu bezprostředně před zbytkem $\text{Asp(1-(4-alkylpiperazin))}$ nebo $\text{Glu(1-(4-alkylpiperazin))}$ je předem sestaven na pryskyřici v syntetizátoru peptidů.

Příklad 12: (Aib^{8,35}, Arg^{26,34}, Asp³⁶(1-tetradecylamino))hGLP-1(7-36)NH₂

- 5 Boc aminokyseliny použité v tomto příkladu jsou tytéž jako aminokyseliny, které byly použity při syntéze v příkladu 5. První aminokyselinový zbytek je připojen na pryskyřici manuálně na třepačce. 2,5 mmol Fmoc-Asp(O-tBu)-OH je rozpuštěno ve 4 ml 0,5 N HBTU v DMF. K roztoku je přidán 1 ml DIEA. Směs je třepána asi 2 minuty. Potom je k roztoku přidáno 0,2 mmol MBHA pryskyřice (substituce = 0,91 mmol/g). Směs je třepána po dobu asi 1 hodiny. Pryskyřice je promyta DMF a je na ni působeno 100% TFA po dobu 2x15 minut, aby došlo k odstranění chránicí skupiny t-Bu. Pryskyřice je promyta DMF a je na ni působeno HBTU (0,6 mmol) a DIEA (1 ml) ve 4 ml DMF po dobu asi 15 minut. K reakční směsi je přidáno 0,6 mmol 1-tetradekanaminu a směs je třepána po dobu asi 1 hodiny. Pryskyřice je promyta DMF a je na ni působeno 25% piperidinem v DMF po dobu 2x20 minut, aby došlo k odstranění chránicí skupiny Fmoc. Pryskyřice je promyta DMF a přenesena do reakční nádoby syntetizátoru peptidů, kde je v syntéze pokračováno. Zbývající syntetické a purifikační postupy u peptidu jsou tytéž jako postupy, které byly popsány v příkladu 1.

- 20 Syntéza jiných sloučenin předloženého vynálezu, obsahujících zbytek Asp(1-alkylamino) nebo Glu(1-alkylamino) jsou provedeny způsobem, který je analogický postupu popsanému v příkladu 12. Aminokyselina Fmoc-Asp(O-tBu)-OH nebo Fmoc-Glu(O-tBu)-OH je použita pro zbytek Asp(1-alkylamino) respektive Glu(1-alkylamino) v peptidu, zatímco pro zbytek Asp je použita aminokyselina Boc-Asp(OcHex)-OH a pro zbytek Glu je použita aminokyselina Boc-Glu(OcHex)-OH. Pokud zbytek Asp(1-alkylamino) nebo Glu(1-alkylamino) není na C-konci peptidu, fragment peptidu bezprostředně před zbytkem Asp(1-alkylamino) nebo Glu(1-alkylamino) je předem sestaven na pryskyřici v syntetizátoru peptidů.

Příklad 14: (Aib^{8,35}, Arg^{26,34}, Lys³⁶(N_ε-tetradekanoyl), β-Ala³⁷)hGLP-1(7-36)-OH

- 30 Boc aminokyseliny použité v tomto příkladu jsou tytéž jako aminokyseliny, které byly použity při syntéze (Aib^{8,35}, Arg^{26,34}, Lys³⁶(N_ε-tetradekanoyl))hGLP-1(7-36)-NH₂ (příklad 5). Fmoc-Lys(Boc)-OH (2,5 mmol) bylo předem aktivováno pomocí HBTU (2,0 mmol), HOBT (2,0 mmol) a DIEA (2,5 ml) v DMF (4 ml) po dobu asi 2 minut. Tato aminokyselina je připojena k 235 mg PAM pryskyřice (Chem-Impex, Wood Dale, IL; substituce = 0,85 mmol/g) manuálně na třepačce. Doba připojení je asi 8 hodin. Zbývající syntetické a purifikační postupy byly tytéž jako v příkladu 5. Bylo získáno 83,0 mg jmenovaného peptidu ve formě bílé pevné látky. Analýza pomocí elektro-spray hmotového spektrometru udávala molekulovou hmotnost 3579,15 v soulase s vypočtenou molekulovou hmotností 3579,5.

- 40 Syntézy jiných analogů hGLP-1(7-36)-OH, hGLP-1(7-36)-OH a hGLP-1(7-38)-OH předloženého vynálezu, obsahujících zbytek Lys(N_ε-alkanoyl) mohou být provedeny způsobem, který je analogický postupu popsanému v příkladu 14. Aminokyselina Fmoc-Lys(Boc)-OH je použita pro zbytek Lys(N_ε-alkanoyl) v peptidu, zatímco pro zbytek Lys je použita aminokyselina Boc-Lys(2CIZ)-OH.

- 45 Následující příklady mohou být připraveny podle vhodných postupů, které jsou zde výše popsány.

- 50 Příklad 383: (Aib⁸, D-Arg³⁶)hGLP-1(7-36)NH₂

Fyzikální údaje pro typické představitele zde uvedených sloučenin jsou uvedeny v tabulce 1.

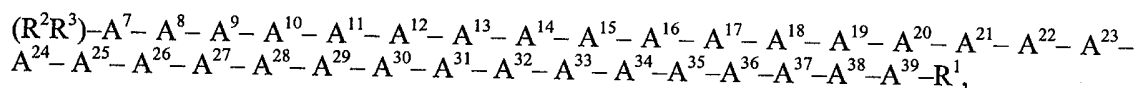
Tabulka 1

Příklad číslo	Očekávaná molekulová hmotnost	Mol. hmotnost naměřená pomocí MS(ES)	Čistota (HPLC)
383	3311,73	3310,7	92%

5

PATENTOVÉ NÁROKY

10 1. Peptidový derivát obecného vzorce I,



15

(I)

kde

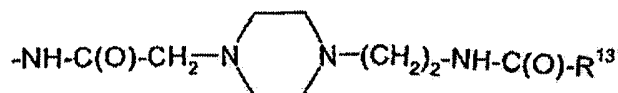
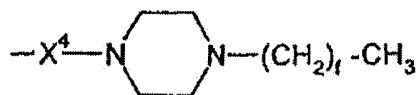
20 A^7 je L-His, Ura, Paa, Pta, Amp, Tma-His, des-amino-His, nebo chybí; A^8 je Aib; A^9 je Glu, N-Me-Glu, N-Me-Asp nebo Asp;25 A^{10} je Gly, Acc, β -Ala nebo Aib; A^{11} je Thr nebo Ser;30 A^{12} je Phe, Acc, Aic, Aib, 3-Pal, 4-Pal, β -Nal, Cha, Trp nebo X^1 -Phe; A^{13} je Thr nebo Ser; A^{14} je Ser nebo Aib;35 A^{15} je Asp nebo Glu; A^{16} je Val, Acc, Aib, Leu, Ile, Tle, Nle, Abu, Ala nebo Cha; A^{17} je Ser nebo Thr;

40

 A^{18} je Ser nebo Thr; A^{19} je Tyr, Cha, Phe, 3-Pal, 4-Pal, Acc, β -Nal nebo X^1 -Phe;45 A^{20} je Leu, Acc, Aib, Nle, Ile, Cha, Tle, Val, Phe nebo X^1 -Phe;

- A^{21} je Glu nebo Asp;
- A^{22} je Gly, Acc, β -Ala, Glu nebo Aib;
- 5 A^{23} je Gln, Asp, Asn nebo Glu;
- A^{24} je Ala, Aib, Val, Abu, Tle nebo Acc;
- 10 A^{25} je Ala, Aib, Val, Abu, Tle, Acc, Lys, Arg, hArg, Orn, $\text{HN-CH}((\text{CH}_2)_n\text{-N(R}^{10}\text{R}^{11}))\text{-C(O)}$ nebo $\text{HN-CH}((\text{CH}_2)_e\text{-X}^3)\text{-C(O)}$;
- A^{26} je Lys, Arg, hArg, Orn, $\text{HN-CH}((\text{CH}_2)_n\text{-N(R}^{10}\text{R}^{11}))\text{-C(O)}$ nebo $\text{HN-CH}((\text{CH}_2)_e\text{-X}^3)\text{-C(O)}$;
- A^{27} je Glu, Asp, Leu, Aib nebo Lys;
- 15 A^{28} je Phe, Pal, β -Nal, X^1 -Phe, Aic, Acc, Aib, Cha nebo Trp;
- A^{29} je Ile, Acc, Aib, Leu, Nle, Cha, Tle, Val, Abu, Ala nebo Phe;
- 20 A^{30} je Ala, Aib nebo Acc;
- A^{31} je Trp, β -Nal, 3-Pal, 4-Pal, Phe, Acc, Aib nebo Cha;
- A^{32} je Leu, Acc, Aib, Nle, Ile, Cha, Tle, Phe, X^1 -Phe nebo Ala;
- 25 A^{33} je Val, Acc, Aib, Leu, Ile, Tle, Nle, Cha, Ala, Phe, Abu, Lys nebo X^1 -Phe;
- A^{34} je Lys, Arg, hArg, Orn, $\text{HN-CH}((\text{CH}_2)_n\text{-N(R}^{10}\text{R}^{11}))\text{-C(O)}$ nebo $\text{HN-CH}((\text{CH}_2)_e\text{-X}^3)\text{-C(O)}$;
- 30 A^{35} je Gly, β -Ala, D-Ala, Gaba, Ava, $\text{HN-CH}(\text{CH}_2)_m\text{-C(O)}$, Aib, Acc nebo D-aminokyselina;
- A^{36} je D-Arg;
- 35 A^{37} je Gly, β -Ala, Gaba, Ava, Aib, Acc, Ado, Arg, Asp, Aun, Aec, $\text{HN-CH}(\text{CH}_2)_m\text{-C(O)}$, $\text{HN-CH}((\text{CH}_2)_n\text{-N(R}^{10}\text{R}^{11}))\text{-C(O)}$, D-aminokyselina, nebo chybí;
- A^{38} je D- nebo L-Lys, D- nebo L-Arg, D- nebo L-hArg, D- nebo L-Orn, $\text{HN-CH}((\text{CH}_2)_n\text{-N(R}^{10}\text{R}^{11}))\text{-C(O)}$, $\text{HN-CH}((\text{CH}_2)_e\text{-X}^3)\text{-C(O)}$, Ava, Ado, Aec nebo chybí;
- 40 A^{39} je D- nebo L-Lys, D- nebo L-Arg, $\text{HN-CH}((\text{CH}_2)_n\text{-N(R}^{10}\text{R}^{11}))\text{-C(O)}$, Ava, Ado, nebo Aec;
- za předpokladu, že pokud A^{35} je Aib nebo β -Ala, A^8 není Aib;
- 45 X^1 je pro každý případ nezávisle vybrán ze skupiny zahrnující $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ alkyl, OH a halogen;
- R^1 je OH, NH_2 , $(\text{C}_1\text{-C}_{30})$ alkoxy, nebo $\text{NH-X}^2\text{-CH}_2\text{-Z}^0$, kde X^2 je $(\text{C}_1\text{-C}_{12})$ uhlíková složka a Z^0 je H, OH, CO_2H nebo CONH_2 ;

X^3 je



nebo $-C(O)-NHR^{12}$, kde X^4 je pro každý případ nezávisle $-C(O)-$, $-NH-$, $-C(O)-$ nebo $-CH_2-$, a kde f je pro každý případ nezávisle celé číslo v rozmezí 1 až 29 včetně;

každý z R^2 and R^3 je nezávisle vybrán ze skupiny zahrnující H, (C_1-C_{30}) alkyl, (C_2-C_{30}) alkenyl, fenyl (C_1-C_{30}) alkyl, naftyl (C_1-C_{30}) alkyl, hydroxy (C_1-C_{30}) alkyl, hydroxy (C_2-C_{30}) alkenyl, hydroxyfenyl (C_1-C_{30}) alkyl, a hydroxynaftyl (C_1-C_{30}) alkyl; nebo jeden z R^2 a

R^3 je $(CH_3)_2-N-C\equiv N(CH_3)_2$, (C_1-C_{30}) acyl, (C_1-C_{30}) alkylsulfonyl, $C(O)X^5$,



kde Y je H, OH nebo NH_2 ; r je 0 až 4; q je 0 až 4; a X^5 je (C_1-C_{30}) alkyl, (C_2-C_{30}) alkenyl, fenyl (C_1-C_{30}) alkyl, naftyl (C_1-C_{30}) alkyl, hydroxy (C_1-C_{30}) alkyl, hydroxy (C_2-C_{30}) alkenyl, hydroxyfenyl (C_1-C_{30}) alkyl, nebo hydroxynaftyl (C_1-C_{30}) alkyl;

e je pro každý případ nezávisle celé číslo v rozmezí 1 až 4 včetně;

m je pro každý případ nezávisle celé číslo v rozmezí 5 až 24 včetně;

n je pro každý případ nezávisle celé číslo v rozmezí 1 až 5 včetně;

každý z R^{10} a R^{11} je pro každý případ nezávisle H, (C_1-C_{30}) alkyl, (C_1-C_{30}) acyl, (C_1-C_{30}) alkylsulfonyl, $-C((NH)(NH_2))$ nebo



a R^{12} a R^{13} je každý, pro každý případ nezávisle, (C_1-C_{30}) alkyl;

za předpokladu že:

(i) když A^7 je Ura, Paa nebo Pta, potom R^2 a R^3 chybí;

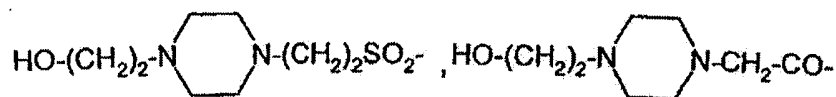
(ii) když R^{10} je (C_1-C_{30}) acyl, (C_1-C_{30}) alkylsulfonyl, $-C((NH)(NH_2))$ nebo



potom R^{11} je H nebo (C_1-C_{30}) alkyl;

- (iii) alespoň jedna aminokyselina peptidového derivátu obecného vzorce I se neshoduje s přirozenou sekvencí hGLP-1(7-36, -37 nebo -38)NH₂ nebo hGLP-1(7-36, -37 nebo -38)OH;
- 5 (iv) peptidový derivát obecného vzorce I není analogem hGLP-1(7-36, -37 nebo -38)NH₂ nebo hGLP-1(7-36, -37 nebo -38)OH kde jedna pozice byla substituována Ala;
- (v) peptidový derivát obecného vzorce I není (Aib^{8,35})hGLP-1(17-36)NH₂, (Arg^{26,34}, Lys³⁸)-hGLP-1(7-38)-E, (Lys²⁶(N_e-alkanoyl)hGLP-1(7-36, -37 nebo -38)-E, (Lys³⁴(N_e-alkanoyl))-hGLP-1(7,36, -37 nebo -38)-E, (Lys^{26,34}-bis(N_e-alkanoyl))hGLP-1(7-36, -37 nebo -38)-E, (Arg²⁶, Lys³⁴(N_e-alkanoyl))hGLP-1(8-36, -37 nebo -38)-E, (Arg^{26,34}, Lys³⁶(N_e-alkanoyl))-hGLP-1(7-36, -37 nebo -38)-E nebo (Arg^{26,34}, Lys³⁸(N_e-alkanoyl))hGLP-1(7-38)-E, kde E je -OH nebo -NH₂;
- 10 (vi) peptidový derivát obecného vzorce I není Z¹-hGLP-1(7-36, -37 nebo -38)-OH, Z¹-hGLP-1(7-36, -37 nebo -38)-NH₂, kde Z¹ je vybrán ze skupiny následující:
- 15 (a) (Arg²⁶), (Arg³⁴), (Arg^{26,34}), (Lys³⁶), (Arg²⁶, Lys³⁶), (Arg³⁴, Lys³⁶), (D-Lys³⁶), (Arg³⁶), (D-Arg³⁶), (Arg^{26,34}, Lys³⁶) nebo (Arg^{26,36}, Lys³⁴);
- 20 (b) (Asp²¹);
- (c) alespoň jeden z (Aib⁸), (D-Ala⁸) a (Asp⁹); a
- 25 (d) (Tyr⁷), (N-acyl-His⁷), (N-alkyl-His⁷), (N-acyl-D-His⁷) nebo (N-alkyl-D-His⁷);
- (vii) peptidový derivát obecného vzorce I není kombinací jakýchkoli dvou substitucí uvedených ve skupinách (a) až (d) a
- 30 (viii) peptidový derivát obecného vzorce I není (N-Me-Ala⁸)hGLP-1(8-36 nebo -37), (Glu¹⁵)hGLP-1(7-36 nebo -37), (Asp²¹)hGLP-1(7-36 nebo -37) nebo (Phe³¹)hGLP-1(7-36 nebo -37) nebo jejich farmaceuticky přijatelná sůl.
- 35 2. Peptidový derivát podle nároku 1, kde A¹¹ je Thr; A¹³ je Thr; A¹⁵ je Asp; A¹⁷ je Ser; A¹⁸ je Ser; A²³ je Gln nebo Glu; A²⁷ je Glu; a A³¹ je Trp; nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl.
3. Peptidový derivát podle nároku 2, kde A⁹ je Glu, N-Me-Glu nebo N-Me-Asp; A¹² je Phe, Acc nebo Aic; A¹⁶ je Val, Acc nebo Aib; A¹⁹ je Tyr; A²⁰ je Leu, Acc nebo Cha; A²⁴ je Ala, Aib nebo Acc; A²⁵ je Ala, Aib, Acc, Lys, Arg, hArg, Orn, HN-CH((CH₂)_n-N(R¹⁰R¹¹))-C(O) nebo HN-CH((CH₂)_e-X³)-C(O); A²⁸ je Phe; A²⁹ je Ile nebo Acc; A³⁰ je Ala nebo Aib; A³² je Leu, Acc nebo Cha; a A³³ je Val nebo Acc; nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl.
- 40 4. Peptidový derivát podle nároku 3, kde A¹⁰ je Gly; A¹² je Phe, A6c nebo A5c; A¹⁶ je Val, A6c nebo A5c; A²⁰ je Leu, A6c, A5c nebo Cha; A²² je Gly, β-Ala nebo Aib; A²⁴ je Ala nebo Aib; A²⁹ je Ile, A6c nebo A5c; A³² je Leu, A6c, A5c nebo Cha; A³³ je Val, A6c nebo A5c; A³⁵ je Aib, β-Ala, Ado, A6c, A5c nebo Gly; a A³⁷ je Gly, Aib, β-Ala, Ado, D-Ala nebo chybí; nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl.
- 45 5. Peptidový derivát podle nároku 4, nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl, kde X⁴ v každém případě je -C(O)-; e v každém případě je nezávisle na sobě 1 nebo 2; a R¹ je OH nebo NH₂.
- 50

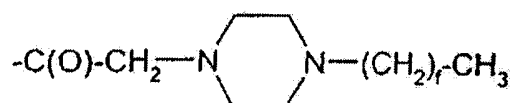
6. Peptidový derivát podle nároku 5, nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl, kde R^2 je H a R^3 je (C_1-C_{30}) alkyl, (C_2-C_{30}) alkenyl, (C_1-C_{30}) acyl, (C_1-C_{30}) alkylsulfonyl,



nebo



7. Peptidový derivát podle nároku 5 obecného vzorce I, nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl, kde R^{10} je (C_1-C_{30}) acyl, (C_1-C_{30}) alkylsulfonyl, nebo



a R^{11} je H.

8. Peptidový derivát podle nároku 7 obecného vzorce I, nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl, kde R^{10} je (C_4-C_{20}) acyl, (C_4-C_{20}) alkylsulfonyl, nebo



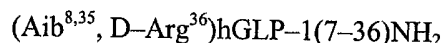
9. Farmaceutický prostředek, vyznačující se tím, že obsahuje účinné množství peptidového derivátu podle nároku 1 nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli a farmaceuticky přijatelný nosič nebo ředící látku.

10. Peptidový derivát podle nároku 1 pro léčení a vyvolání agonistického účinku receptoru GLP-1 u jedince, který to vyžaduje.

11. Peptidový derivát podle nároku 1 pro léčení nemoci vybrané ze skupiny zahrnující diabetes typu I, diabetes typu II, obezitu, glukagonom, vylučovací potíže u dýchacích cest, metabolické potíže, artritidu, osteoporózu, nemoci centrálního nervového systému, restenózu a neurodegenerativní nemoci u jedince, který to vyžaduje.

12. Peptidový derivát pro léčení podle nároku 11, kdy nemocí je diabetes typu I nebo diabetes typu II.

13. Peptidový derivát podle nároku 1, kterým je



nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl.

14. Peptidový derivát podle nároku 13, kterým je

(Aib⁸, D-Arg³⁶)hGLP-1(7-36)NH₂;

5 nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl.

15. Použití peptidového derivátu podle kteréhokoli z nároků 1 až 8 nebo 13 nebo 14 pro přípravu léku pro léčení nemoci.

10 16. Použití peptidového derivátu pro přípravu léku podle nároku 17, přičemž nemoc je vybrána ze skupiny zahrnující diabetes typu I, diabetes typu II, obezitu, glukagonom, vylučovací potíže u dýchacích cest, metabolické potíže, artritidu, osteoporózu, nemoci centrálního nervového systému, restenózu a neurodegenerativní nemoci.

15

Konec dokumentu

20