



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 119173275 A

(43) 申请公布日 2024. 12. 20

(21) 申请号 202380039160.4

(22) 申请日 2023.05.09

(30) 优先权数据

22172545.0 2022.05.10 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.11.07

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2023/062208 2023.05.09

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/217744 EN 2023.11.16

(71) 申请人 诺和诺德股份有限公司

地址 丹麦鲍斯韦

(72) 发明人 B·普雷姆德吉 J·F·劳

C·M·乔根森 L·利克

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

专利代理师 邵红 王北南

(51) Int.Cl.

A61K 47/54 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61K 38/26 (2006.01)

权利要求书3页 说明书37页

序列表(电子公布) 附图1页

(54) 发明名称

GLP-1多肽的前药及其用途

(57) 摘要

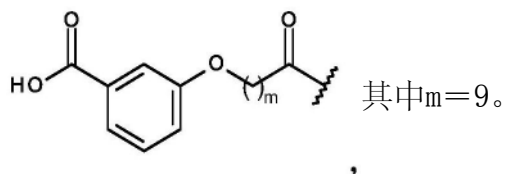
本发明涉及基于DKP的前药,该前药在体内条件下转化后从中释放出母体药物,如司美格鲁肽。本发明还涉及基于DKP的前药的用途。

1. 包含式I的化合物：
X-Y-Z (式I)
其中X为氨基酸；
其中Y选自Thz和D-Thz；
其中Z包含GLP-1多肽；
或其药学上可接受的盐、酯或酰胺。
2. 根据权利要求1所述的化合物，其中X选自Ala、Arg、Asn、Asp、His、Leu、Lys、D-Lys、Phe、Ser、Orn和Dab。
3. 根据权利要求1-2所述的化合物，其中所述GLP-1多肽的N末端氨基通过酰胺键连接至Y。
4. 根据权利要求1-3所述的化合物，其中所述GLP-1多肽的N末端残基为His。
5. 根据权利要求1-4所述的化合物，其中所述GLP-1多肽是与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 1) 相比具有最多2个氨基酸改变的GLP-1类似物。
6. 根据权利要求1-5所述的化合物，其中Z为司美格鲁肽。
7. 根据权利要求1-6所述的化合物，其中X带有取代基，条件是如果X带有取代基，则X选自Lys、D-Lys、Dab和Orn。
8. 根据权利要求7所述的化合物，其中所述取代基包含具有远端羧酸的亲脂性部分。
9. 根据权利要求8所述的化合物，其中所述具有远端羧酸的亲脂性部分是化学式1或化学式2：

化学式1：

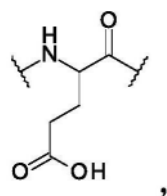


化学式2：

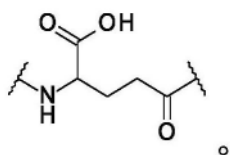


10. 根据权利要求7-9所述的化合物，其中所述取代基包含选自化学式3和化学式4的部分：

化学式3：



化学式4：



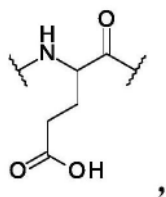
11. 根据权利要求7-10所述的化合物,其中所述取代基为式II:

$\text{A}_5\text{-A}_4\text{-A}_3\text{-A}_2\text{-A}_1\text{-*}$ (式II)

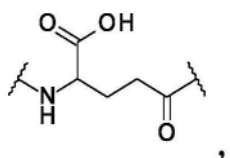
其中*表示与X的连接点;

其中 A_1 选自化学式3、化学式4、化学式5、化学式6和化学式7,或者不存在:

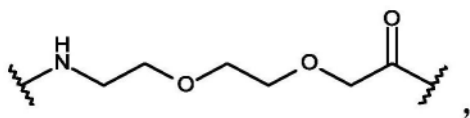
化学式3:



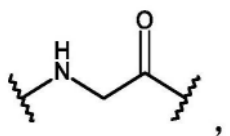
化学式4:



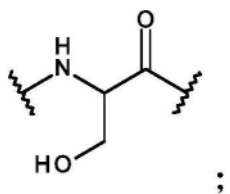
化学式5:



化学式6:



化学式7:

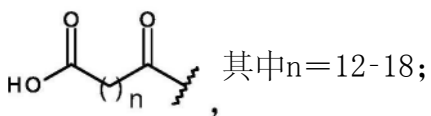


其中 A_2 和 A_3 各自单独地选自化学式3、化学式4和化学式5,或者不存在;

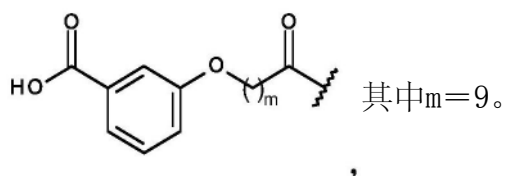
其中 A_4 为化学式3或化学式4;

其中 A_5 选自化学式1和化学式2:

化学式1:



化学式2:



12. 根据权利要求11所述的化合物, 其中残基 A_5 、 A_4 、 A_3 、 A_2 、 A_1 通过酰胺键互相连接。

13. 根据权利要求1所述的化合物, 其中所述化合物选自化学式8、化学式9、化学式10、化学式11、化学式12、化学式13、化学式14、化学式15、化学式16、化学式17、化学式18、化学式19、化学式20、化学式21、化学式22、化学式23、化学式24、化学式25、化学式26、化学式27、化学式28、化学式29、化学式30、化学式31、化学式32、化学式33、化学式34和化学式35; 或其药学上可接受的盐、酯或酰胺。

14. 根据权利要求1-13所述的化合物, 其用作药物。

15. 根据权利要求1-14所述的化合物, 其用于治疗 (i) 糖尿病, (ii) 肥胖症, (iii) 非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 和非酒精性脂肪性肝炎 (NASH), (iv) 心血管疾病, (v) 神经变性疾病, (vi) 慢性肾病 (CKD), (vii) 糖尿病肾病 (DKD), (viii) 外周动脉疾病 (PAD), 和/或 (ix) 心力衰竭 (HF)。

GLP-1多肽的前药及其用途

技术领域

[0001] 本发明涉及基于DKP的前药及其治疗用途。

[0002] 序列表

[0003] 本申请与电子形式的序列表一起提交。该序列表的全部内容通过引用并入本文。

背景技术

[0004] 可以使用前药技术生成具有适合特定给药频率的性质的化合物。基于二酮基哌嗪 (DKP) 的前药先前已有描述 (例如 Arnab De, Richard D. DiMarchi, Investigation of the Feasibility of an Amide-based Prodrug Under Physiological Conditions, International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 2008, Vol 14, 3, pp 255-262)。该技术基于化学转化, 其中由两个氨基酸组成的部分环化形成六元环, 随之释放出活性药物。

[0005] 据称, W02010/071807 公开了胰高血糖素超家族肽的前药制剂, 其中该肽已通过经酰胺键与二肽的连接进行了修饰。

[0006] 据称, W02010/080605 公开了通过酰胺键与已知药剂连接的非酶促自裂解二肽元件。

[0007] 据称, W02011/089216 公开了用于含脂肪族胺的药物的基于二肽的前药。

[0008] 据称, W02011/163012 公开了胰高血糖素超家族肽的前药制剂, 其中该肽已通过经酰胺键与二肽的连接进行了修饰。

[0009] 据称, W02013/127779 公开了促胰岛素肽的酯前药。

[0010] 据称, W02014/152460 公开了具有显著延长的半衰期的基于肽的前药。

[0011] 据称, W02016/049174 公开了胰岛素和胰岛素类似物的前药制剂, 其中胰岛素肽已通过二肽前药元件的酰胺键连接进行了修饰。

发明内容

[0012] GLP-1受体激动剂广泛用于治疗慢性疾病。目前可用的口服GLP-1受体激动剂药物必须每天给药一次。给药频率低于每天一次的治疗方案可能会导致改善的患者便利性和改善的患者依从性, 因此开发适合以低于每天一次的频率给药的口服GLP-1受体激动剂将是对可用治疗选项的显著改进。可以采用前药技术以使其适合于特定给药方案 (例如每周一次给药) 的方式优化药物的性质。本发明涉及具有期望的性质, 例如用于每周一次口服给药的前药。

[0013] 在第一方面, 本发明涉及式I的前药: X-Y-Z, 其中Z为母体药物, 并且其中X-Y为DKP形成部分, 该前药在体内条件下经历化学转化, 导致母体药物从DKP形成部分上释放下来。在第二方面, 本发明涉及用作药物的前药。在一个功能方面, 本发明提供了具有适合每周一次给药的转化半衰期的前药。另外或备选地, 在另一个功能方面, 本发明提供了具有适合每周一次给药的观察到的终末半衰期的前药。另外或备选地, 在另一个功能方面, 本发明提供

了具有高得惊人的口服生物利用度的前药。本发明还可以解决从示例性实施方案的公开内容中将会明显看出的其他问题。

附图说明

[0014] 图1:在比格犬中经口给药后,本发明化合物的剂量校正的血浆浓度(相对于时间)曲线。

具体实施方式

[0015] 在下文中,希腊字母可用其符号或相应的书面名称表示,例如: α =alpha; β =beta; γ =gamma; δ =delta; ϵ =epsilon; ω =omega;诸如此类。另外,希腊字母 μ 也可用“u”表示,例如在 $\mu\text{l}=\text{ul}$ 中或在 $\mu\text{M}=\text{uM}$ 中。化学式或化学图中的符号*表示与相邻部分的连接点。在下文中,除非在说明书中另有说明,否则以单数形式呈现的术语也包括复数情况,例如,当提及“化合物”时,应当理解这包括落入所述化合物的宽泛定义内的所有单个变体。

[0016] 本发明涉及具有所期望的性质,例如用于每周一次口服给药的前药。在第一方面,本发明涉及包含式I的前药:X-Y-Z,其中X为氨基酸,其中Y选自Thz和D-Thz,并且其中Z包含GLP-1多肽;或所述前药的药学上可接受的盐、酯或酰胺。在第二方面,本发明涉及用作药物的本发明的前药。

[0017] 一般定义

[0018] 如本文所用的术语“化合物”是指分子实体,因此,“化合物”除了具有针对每种化合物或每组化合物定义的最小元件外,还可具有不同的结构元件。术语化合物可以与术语“构建体”互换使用。术语“化合物”可用来描述本发明的前药。本发明的化合物可被称为“化合物”,而术语“化合物”还旨在涵盖其药学上相关的形式,即,本发明涉及本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0019] 如本文所用的术语“多肽”或“多肽序列”是指包含一系列通过酰胺(或肽)键互相连接的两个或更多个氨基酸的化合物。术语多肽可与术语“肽”和术语“蛋白质”互换使用。

[0020] 如本文所用的术语“类似物”通常是指与参考氨基酸序列相比,其序列具有一个或多个氨基酸改变的多肽。所述氨基酸改变可包括氨基酸添加、氨基酸缺失和/或氨基酸置换。氨基酸置换、缺失和/或添加也可被称为“突变”。在特定实施方案中,类似物“包含”指定的改变。在其他特定实施方案中,类似物由指定的改变“组成”或“具有”指定的改变。当与类似物中的氨基酸改变相关地使用术语“包含”或“含有”时,应当理解,该类似物可具有进一步的与其参考序列相比的氨基酸改变。当与类似物中的氨基酸改变相关地使用术语“由……组成”或“具有”时,应当理解,指定的氨基酸突变是该类似物中仅有的与参考序列相比的氨基酸改变。

[0021] 术语“衍生物”通常是指化学修饰的多肽,其中一个或多个取代基共价连接至该多肽的氨基酸序列,例如通过连接到Lys的 ϵ -氨基的键来连接。在一个实施方案中,本发明的化合物包含衍生物,该衍生物已被修饰,使得一个或多个具有延长性质的取代基共价连接至多肽的氨基酸序列。

[0022] 如本文所用的术语“序列同一性”是指两个氨基酸序列(例如多肽)在比对中在相同位置处具有相同残基的程度。这也可以简称为“同一性”。序列同一性方便地被表示为百

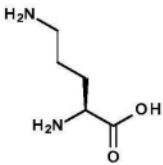
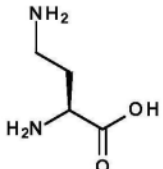
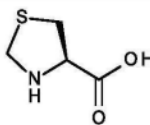
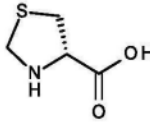
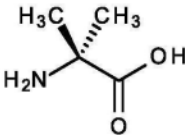
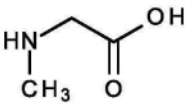
分比,即如果两个序列之间100个比对位置中的85个氨基酸相同,则同一性程度为85%。对于本发明而言,两个氨基酸序列之间的序列同一性通过使用简单的手写和目视,和/或标准蛋白质或肽比对程序,如基于Needleman-Wunsch算法的“align”来确定。该算法在Needleman,S.B.和Wunsch,C.D.,(1970),Journal ofMolecular Biology,48:443-453中描述,而align程序由Myers和W.Miller在“Optimal Alignments in Linear Space”CABIOS (computer applications in the biosciences) (1988)4:11-17中描述。为了比对,可以使用默认的打分矩阵BLOSUM62和默认的单位矩阵(identity matrix),并可将空位中的第一残基的罚分设置为-12,或优选-10,而将空位中的额外残基的罚分设置为-2,或优选-0。

[0023] 氨基酸

[0024] 如本文所用的术语“氨基酸”是指任何氨基酸,即蛋白型(proteinogenic)氨基酸和非蛋白型(non-proteinogenic)氨基酸两者。如本文所用的术语“蛋白型氨基酸”是指由人类遗传密码编码的20种标准氨基酸。如本文所用的术语“非蛋白型氨基酸”是指不符合蛋白型氨基酸资格的任何氨基酸。通常,如本文所用的氨基酸残基(例如,在多肽序列的语境中)可用其全名、其单字母代码和/或其三字母代码来表示。这三种方式完全等效并且可互换使用。在下文中,未说明其光学异构体的本发明肽的各个氨基酸都应被理解为意指L-异构体(除非另有说明)。并入本发明化合物中的非蛋白型氨基酸的实例在表1中列出。应当理解,当某个部分被称为连接至氨基酸的“侧链氨基”时,它连接至位于所述氨基酸的侧链的氨基上,例如,如果某个部分连接至Lys或D-Lys的侧链氨基,则其连接至 ϵ -氨基,如果某个部分连接至Orn的侧链氨基,则其连接至 δ -氨基,而如果某个部分连接至Dab的侧链氨基,则其连接至 γ -氨基。

[0025] 表1:并入本发明化合物中的非蛋白型氨基酸的非限制性实例

[0026]

氨基酸名称	氨基酸短名	结构
L-鸟氨酸	Orn	
(2S)-2,4-二氨基丁酸	Dab	
(4R)-噻唑烷-4-羧酸	Thz	
(4S)-噻唑烷-4-羧酸	D-Thz	
2-氨基异丁酸	Aib	
肌氨酸	Sar	

[0027] GLP-1多肽

[0028] 如本文所用的术语“GLP-1多肽”是指能够结合GLP-1受体和/或激活GLP-1受体的多肽。换言之, GLP-1多肽是被称为具有“GLP-1活性”的多肽。GLP-1多肽可以结合和/或激活其他类型的受体, 即, 只要该多肽结合和/或激活GLP-1受体, 它就有资格作为GLP-1多肽, 而不管可能与之有关的任何其他受体相互作用如何。除了负责GLP-1受体相互作用的氨基酸残基之外, GLP-1多肽还可以含有不参与GLP-1受体相互作用的其他氨基酸残基。

[0029] 如本文所用的术语“GLP-1受体激动剂”是指能够结合GLP-1受体和/或激活GLP-1受体的化合物。换言之, GLP-1受体激动剂被称为具有“GLP-1活性”。GLP-1受体激动剂可以基于任何类型的分子支架, 例如小分子、多肽和抗体, 或其任何组合。GLP-1受体激动剂可包含一个或多个能够激活GLP-1受体的部分。

[0030] 如本文所用的术语“GLP-1类似物”是指人胰高血糖素样肽-1 (GLP-1 (7-37)) 的类似物(或变体)。人GLP-1 (7-37) 的氨基酸序列作为SEQ ID NO:1包括在序列表中。与GLP-1 (7-37) 相比, GLP-1类似物的氨基酸序列具有一个或多个氨基酸改变。所述氨基酸改变可包括氨基酸添加、氨基酸缺失和/或氨基酸置换。司美格鲁肽的氨基酸序列是GLP-1类似物的非限制性实例。

[0031] 如本文所用的术语“GLP-1衍生物”是指化学修饰的GLP-1多肽, 其中一个或多个取代基已共价连接至该GLP-1多肽。例如, GLP-1衍生物是共价连接有一个或多个取代基的

GLP-1类似物。GLP-1衍生物的一个非限制性实例是司美格鲁肽。

[0032] 在一个实施方案中,本发明的化合物包含GLP-1多肽。在一个实施方案中,该GLP-1多肽是司美格鲁肽的氨基酸序列。在一个实施方案中,本发明的化合物包含GLP-1多肽,其中该GLP-1多肽是GLP-1类似物;并且其中该GLP-1类似物与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 相比具有最多3个氨基酸改变。在一个实施方案中,本发明的化合物包含GLP-1多肽,其中该GLP-1多肽是GLP-1类似物,并且其中该GLP-1类似物与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 相比具有最多2个氨基酸改变。在一个实施方案中,本发明的化合物包含GLP-1衍生物,在优选的实施方案中,所述GLP-1衍生物是司美格鲁肽。

[0033] 取代基

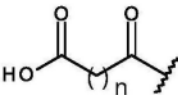
[0034] 如本文所用的术语“取代基”是指与多肽共价连接的部分,例如该部分连接至GLP-1多肽或连接至GLP-1多肽的二肽延伸部,例如存在于本发明化合物中的二肽延伸部,从而构成DKP形成部分的一部分。如果取代基与多肽或二肽连接,则该多肽或二肽被称为“取代的”。当取代基与多肽或氨基酸残基共价连接时,所述多肽或氨基酸被称为“带有”取代基。取代基可包含一系列单独定义的部分;这些部分可被称为“取代基元件”。

[0035] 取代基可能能够与白蛋白形成非共价结合,从而促进化合物在血流中的循环,从而具有延长化合物在血流中的存在时间的作用,因为融合化合物和白蛋白的聚集体仅缓慢崩解以释放该化合物的游离形式;因此,该取代基作为一个整体也可被称为“白蛋白结合部分”,并且该取代基可被称为具有“延长作用”。取代基可包含尤其与白蛋白结合相关,从而与作用延长相关的部分,该部分可被称为“延长体”或“延长部分”。取代基可以是具有远端羧酸的亲脂性部分。

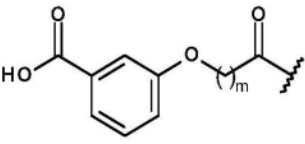
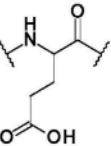
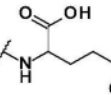
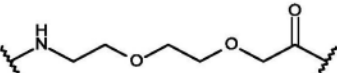
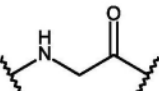
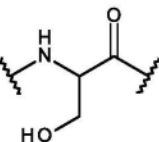
[0036] 取代基可包含位于延长部分与多肽连接点之间的部分,该部分可被称为“连接体”。连接体可包含数个“连接体元件”。可以选择连接体元件以使得它们改善分子的整体性质,例如,使得它们改善口服生物利用度、转化半衰期或延长作用,从而改善化合物口服给药后的总体暴露概况。

[0037] 用来描述延长部分、连接体和其他结构元件的命名法如本领域中常用的那样,例如,*-CO-*是指羰基,-CH₂-是指亚甲基,-COOH是指羧酸,而“-”是指共价键。取代基元件的非限制性实例在表2中列出。

[0038] 表2:取代基元件的非限制性实例

参考	结构
[0039] 化学式1	 , 其中 n=12-18

[0040]

化学式2	 ，其中 m=9
化学式3	
化学式4	
化学式5	
化学式6	
化学式7	

[0041] 如本文所用的术语“亲脂性部分”是指包含脂肪族和/或环状烃部分的部分,其具有6-30个碳原子,优选多于6个且少于20个碳原子。如本文在亲脂性部分的语境中使用的术语“远端羧酸”是指相对于亲脂性部分与相邻部分的连接点,连接至亲脂性部分的最远(末端)点的羧酸,例如在本发明的化合物中,具有远端羧酸的亲脂性部分(例如化学式1和化学式2)是延长部分,并且相对于亲脂性部分与相邻连接体元件(例如化学式3和化学式4)的连接点,羧酸连接至亲脂性部分的最远(末端)点。具有远端羧酸的亲脂性部分的非限制性实例是化学式1和化学式2。

[0042] 在一个实施方案中,本发明的前药包含与二肽前药部分连接的取代基。在本发明的一个实施方案中,取代基具有延长作用。在本发明的一个实施方案中,取代基包含具有远端羧酸的亲脂性部分。在本发明的一个实施方案中,具有远端羧酸的亲脂性部分选自化学式1和化学式2。在一个实施方案中,化学式1的n为12、14、16或18。在一个实施方案中,化学式1的n为14或16。在本发明的一个实施方案中,取代基包含选自化学式3和化学式4的部分。在本发明的一个实施方案中,取代基包含为式II的部分: $A_5-A_4-A_3-A_2-A_1-*$ (式II)。在本发明的一个实施方案中,*表示与X的连接点。在本发明的一个实施方案中, A_1 选自化学式3、化学式4、化学式5、化学式6和化学式7,或者不存在。在本发明的一个实施方案中, A_2 和 A_3 各自单独地选自化学式3、化学式4和化学式5,或者不存在。在本发明的一个实施方案中, A_4 为化学式3或化学式4。在本发明的一个实施方案中, A_5 选自化学式1和化学式2。在本发明的一个实施方案中,残基 A_5 、 A_4 、 A_3 、 A_2 、 A_1 通过酰胺键互相连接。

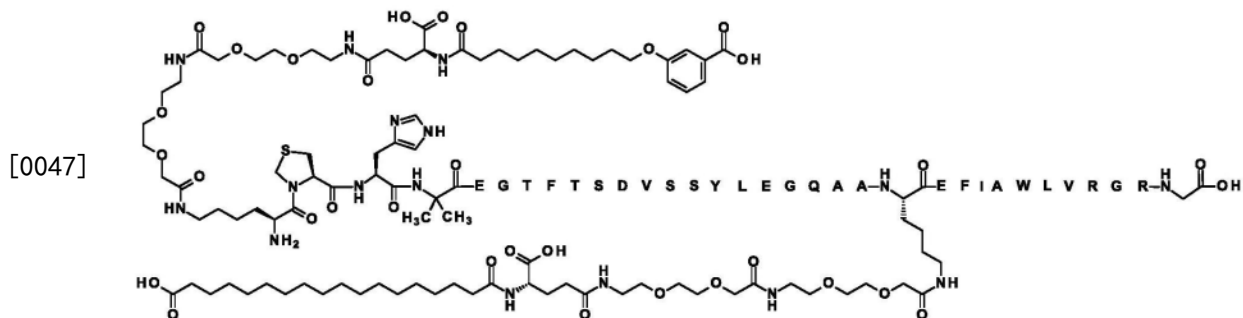
[0043] 前药

[0044] 如本文所用的术语“前药”是指在体内通过酶促或非酶促化学过程经历化学转化从而导致母体药物释放的化合物。如本文所用的术语“母体药物”是指在前药转化时从前药释放出来的药理活性化合物。如本文在前药的语境中使用的术语“转化”是指其中前药以酶

促或非酶促方式转化从而导致母体药物释放的过程。转化发生的速率可以通过“转化半衰期”来量化。“转化半衰期”是前药浓度因转化而减半所需的时间长度。“转化半衰期”还可被称为“前药到药物的转化半衰期”或“前药到母体药物的转化半衰期”。

[0045] 完整的前药不会在显著程度上发挥预期的药理活性,例如,它不会在使其与预期治疗方案不相容的程度上发挥预期的药理活性。一旦释放出母体药物,与前药的预期治疗相关的药理活性就从母体药物获得。当母体药物从前药中释放出来时,它被称为“游离形式”。前药可以在末端基于二肽的酰胺延伸部的分子内环化后实现所需的转化,该延伸部随之从母体药物上切下,导致释放出游离形式的母体药物。这样的分子内环化可以在生理条件下作为非依赖于酶的过程发生,例如通过二酮基哌嗪(DKP)的形成。在通过DKP形成而转化的前药中,在转化时释放出母体药物的部分被称为“DKP形成部分”。本发明的前药可以在DKP形成部分的二肽部分与母体药物的脂肪族胺基团之间具有暂时的酰胺键。转化半衰期可能受DKP形成部分的结构性质的影响。例如,可通过使用本申请中举例说明的DKP形成部分的二肽获得所期望的转化半衰期。转化半衰期可能受DKP形成部分所连接的母体药物的脂肪族氨基酸的结构性质的影响。例如,可通过使用本申请中举例说明的母体药物的N末端氨基酸残基获得所期望的转化半衰期。DKP形成部分可以是与母体药物连接的基于二肽的延伸部。DKP形成部分除二肽之外还可包含其他结构元件,例如与二肽共价连接的取代基。DKP形成部分可以是无活性的或者可以与药理活性相关。本发明前药的转化主要以非酶促方式发生。在本发明的一个方面,本发明的前药包含DKP形成部分。

[0046] 以下提供了对包含DKP形成部分和作为母体药物的司美格鲁肽的本发明化合物使用的命名法的实例: $N\{\epsilon 26\}$ -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-N{ ϵ }-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-[10-(3-羧基苯氧基)癸酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]Lys-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽。在该化合物中,DKP形成部分包含Lys残基和Thz残基。部分‘[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-[10-(3-羧基苯氧基)癸酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]’连接至DKP形成部分的Lys残基的 ϵ -氨基。母体药物是GLP-1-(7-37)的类似物,其位置8被Aib取代,位置34被Arg取代,并且在位置26的Lys残基的 ϵ -氨基上连接有部分‘[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]’。该化合物的完整结构如下所示:



[0048] 在一个实施方案中,本发明的化合物是前药或其药学上可接受的盐、酯或酰胺。在一个实施方案中,本发明的化合物包含式I:X-Y-Z(式I)。在本发明的一个实施方案中,Z为

母体药物。在本发明的一个实施方案中,X-Y为DKP形成部分。在本发明的一个实施方案中,X为氨基酸。在本发明的一个实施方案中,X选自Ala、Arg、Asn、Asp、His、Leu、Lys、D-Lys、Phe、Ser、Orn和Dab。在本发明的一个实施方案中,X为氨基酸。在本发明的一个实施方案中,X选自Lys、D-Lys、Orn和Dab。在本发明的一个实施方案中,X为氨基酸。在本发明的一个实施方案中,X选自Asp、Lys和D-Lys。在本发明的一个实施方案中,Y选自Thz和D-Thz。在本发明的一个实施方案中,Z包含GLP-1多肽。在本发明的一个实施方案中,该GLP-1多肽的N末端氨基通过酰胺键连接至Y。在本发明的一个实施方案中,该GLP-1多肽的N末端残基是His。在本发明的一个实施方案中,该GLP-1多肽是GLP-1类似物。在本发明的一个实施方案中,与GLP-1(7-37)(SEQ ID NO:1)相比,该GLP-1类似物具有最多3个氨基酸改变。在本发明的一个实施方案中,与GLP-1(7-37)(SEQ ID NO:1)相比,该GLP-1类似物具有最多2个氨基酸改变。在本发明的一个实施方案中,Z为GLP-1衍生物。在本发明的一个实施方案中,Z为司美格鲁肽。在一个实施方案中,X任选地带有取代基,条件是如果X带有取代基,则X选自Lys、D-Lys、Dab和Orn。在一个实施方案中,X选自Lys、D-Lys、Dab和Orn,并且X带有取代基。

[0049] 在一个实施方案中,本发明的化合物选自化学式8、化学式9、化学式10、化学式11、化学式12、化学式13、化学式14、化学式15、化学式16、化学式17、化学式18、化学式19、化学式20、化学式21、化学式22、化学式23、化学式24、化学式25、化学式26、化学式27、化学式28、化学式29、化学式30、化学式31、化学式32、化学式33、化学式34和化学式35;或其药学上可接受的盐、酯或酰胺。在一个实施方案中,本发明的化合物选自化学式8、化学式9、化学式10、化学式11、化学式12、化学式13、化学式14、化学式15、化学式16、化学式17、化学式18、化学式19、化学式20、化学式21、化学式22和化学式23;或其药学上可接受的盐、酯或酰胺。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式8。

[0050] 在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式9。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式10。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式11。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式12。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式13。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式14。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式15。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式16。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式17。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式18。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式19。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式20。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式21。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式22。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式23。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式24。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式25。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式26。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式27。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式28。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式29。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式30。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式31。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式32。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式33。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式34。在一个实施方案中,本发明的化合物是化学式35。

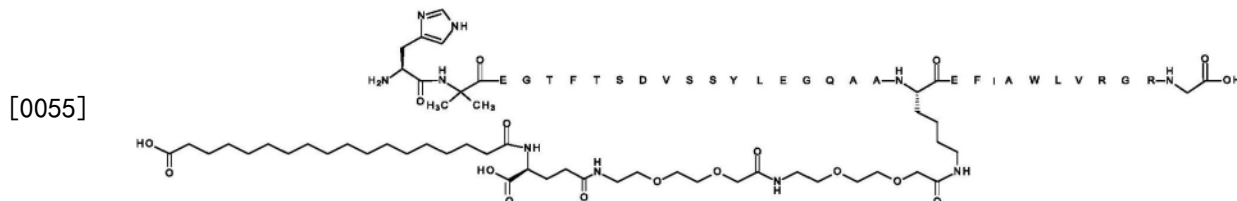
[0051] 司美格鲁肽

[0052] 司美格鲁肽是一种GLP-1衍生物。与人GLP-1(7-37)相比,司美格鲁肽在第8位具有

Aib,在第34位具有Arg,并且具有与第26位Lys的侧链共价连接的取代基。司美格鲁肽的氨基酸序列被包括在序列表中,并且在本文中可被描述为“[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽”。司美格鲁肽的氨基酸序列是GLP-1多肽。司美格鲁肽的氨基酸序列是GLP-1受体激动剂。司美格鲁肽的氨基酸序列是与人GLP-1(7-37)相比具有两个氨基酸改变的GLP-1类似物。司美格鲁肽的氨基酸序列作为SEQ ID NO:2包括在序列表中。

[0053] 司美格鲁肽的化学名称是N-ε²⁶-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基氨基]乙氧基}乙氧基)乙酰基氨基]乙氧基}乙氧基)乙酰基][Aib8, Arg34]GLP-1-(7-37)。

[0054] 司美格鲁肽具有以下结构:



[0056] Lau等人:“Discovery of the Once-Weekly Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) Analogue Semaglutide”, Journal of Medicinal Chemistry, vol.58, no.18 (2015), p.7370-7380描述了司美格鲁肽的开发。司美格鲁肽以用于治疗2型糖尿病的**Ozempic®**和**Rybelsus®**以及用于治疗慢性体重管理的**Wegovy®**上市销售。司美格鲁肽可以使用本领域技术人员已知的方法,例如W02006/097537中描述的那些方法来制备。

[0057] 司美格鲁肽在人体中的终末半衰期约为一周。司美格鲁肽是 **Ozempic®** 的活性药物, **Ozempic®** 是针对患有2型糖尿病的成人的可注射处方药, 结合饮食和运动可以改善血糖。 **Ozempic®** 的给药频率为每周一次。司美格鲁肽也是 **Rybelsus®** 的活性药物, **Rybelsus®** 是针对患有2型糖尿病的成人的口服处方药, 结合饮食和运动可以改善血糖。

Rybelsus®以每天一次口服片剂给药。采用每周一次口服给药而不是每天一次口服给药的治疗方案可以导致改善的患者便利性和患者依从性。司美格鲁肽的性质对于每周一次口服给药而言不是最佳的。如果将司美格鲁肽作为一旦在体内吸收就以合适的速率转化为司美格鲁肽的合适的前药施用,那么司美格鲁肽可以与每周一次口服给药相容。设计这样的司美格鲁肽前药将是对可用治疗选项的重大改进。在一个实施方案中,本发明前药的母体药物是司美格鲁肽。

[0058] 功能性质

[0059] 药理活性化合物的治疗用途可能会受到不合适的药代动力学性质的阻碍,例如,因为药代动力学性质不适合在施用化合物后达到所需的暴露。可使用前药技术来改善药代动力学性质,例如使其适合每周一次口服给药。施用前药后母体药物的暴露水平依赖于前药到药物的转化半衰期,因此获得合适的转化半衰期可以使化合物适合于特定的给药方案(例如每周一次给药)。施用前药后母体药物的暴露水平依赖于母体药物的观察到的终末半衰期,因此获得合适的终末半衰期可以使化合物适合于特定的给药方案(例如每周一次给药)。前药对口服施用的适合性依赖于它们在胃肠道中吸收后到达体循环的能力,因此获得

合适的口服生物利用度可以使化合物适合于口服给药 (例如每周一次口服给药)。

[0060] 根据第一功能方面,本发明的化合物具有所期望的转化半衰期,例如适合于人类每周一次给药。根据第二功能方面,本发明的化合物与母体药物所期望的观察到的终末半衰期相关,例如适合于人类每周一次给药。根据第三功能方面,本发明的化合物具有所期望的口服生物利用度,例如适合于人类口服给药。

[0061] 转化半衰期

[0062] 前药转化为药物的发生速率可以通过转化半衰期来量化。如本文所用的术语“转化半衰期”是指前药浓度因转化而减半所需的时间长度。当在体外在pH 7.4和37℃下测量时,旨在用于人类每周一次口服给药的司美格鲁肽前药的适合转化半衰期是3.0-21天。当在体外在pH 7.4和37℃下测量时,旨在用于人类每周一次口服给药的司美格鲁肽前药的优选转化半衰期是3.0-14天。

[0063] 前药可以在末端基于二肽的酰胺延伸部的分子内环化后实现所需的转化,该延伸部随之从母体药物上切下,导致释放出游离形式的母体药物。这样的分子内环化可以在生理条件下作为非依赖于酶的过程发生,例如通过二酮基哌嗪 (DKP) 的形成。在通过DKP形成而转化的前药中,在转化时释放出母体药物的部分被称为DKP形成部分。转化半衰期尤其依赖于DKP形成部分的性质,因此,例如通过DKP形成部分的分子设计,使前药的性质适合于特定的给药方案 (例如每周一次口服给药),可以改善转化半衰期 (例如使其适合于每周一次口服给药)。

[0064] 转化半衰期可以在体外测量,例如在pH 7.4和37℃下测量。前药到药物的转化半衰期可以如测量转化半衰期的一般方法中所述进行测量。在一个实施方案中,本发明的化合物是前药。在本发明的一个实施方案中,当在体外在pH 7.4和37℃下测量时,前药的前药到母体药物的转化半衰期为至少3.0天。在本发明的一个实施方案中,当在体外在pH 7.4和37℃下测量时,前药的前药到母体药物的转化半衰期为3.0-21天,优选3.0-14天。

[0065] 观察到的终末半衰期

[0066] 许多药物显示出双阶段血浆分布曲线,该曲线最初遵循陡斜率,随后遵循缓斜率。遵循缓斜率的阶段可被称为“终末阶段”。如本文所用的术语“终末半衰期”是指化合物的血浆浓度在终末阶段中减半所需要的时间。药物在以其游离形式施用时的终末半衰期不同于该药物作为前药施用时的终末半衰期,因为当作为前药施用时,在前药在体内转化时发生游离形式的药物的持续释放。因此,前药充当缓慢释放出药物的储库 (depot)。当作为前药施用时,母体药物的终末半衰期也可被称为“观察到的终末半衰期”。应当理解,如果术语“观察到的终末半衰期”在前药的语境中使用,它是指在前药转化时释放的母体药物的观察到的终末半衰期。

[0067] 当在小型猪中测定时,适合人类每周一次口服给药的观察到的终末半衰期可以>80小时,或优选>90小时,或最优选>100小时。当在小型猪中测定时,适合人类每周一次口服给药的观察到的终末半衰期可以<250小时,或者可以优选<180小时。当在小型猪中测定时,适合人类每周一次口服给药的观察到的终末半衰期可以在90-250小时的范围内,或者可以优选地在100-180小时的范围内。

[0068] 观察到的终末半衰期可以在小型猪中测定。观察到的终末半衰期可以如测量终末半衰期的一般方法中所述进行测量。在本发明的一个实施方案中,当在小型猪中测定时,本

发明前药的观察到的终末半衰期>80小时。在本发明的一个实施方案中,当在小型猪中测定时,本发明前药的观察到的终末半衰期>90小时。在本发明的一个实施方案中,当在小型猪中测定时,本发明前药的观察到的终末半衰期>100小时。在本发明的一个实施方案中,当在小型猪中测定时,本发明前药的观察到的终末半衰期>110小时。在本发明的一个实施方案中,当在小型猪中测定时,本发明前药的观察到的终末半衰期>120小时。在本发明的一个实施方案中,当在小型猪中测定时,本发明前药的观察到的终末半衰期<200小时。在本发明的一个实施方案中,当在小型猪中测定时,本发明前药的观察到的终末半衰期<190小时。在本发明的一个实施方案中,当在小型猪中测定时,本发明前药的观察到的终末半衰期<180小时。在本发明的一个实施方案中,当在小型猪中测定时,本发明前药的观察到的终末半衰期<170小时。在本发明的一个实施方案中,当在小型猪中测定时,本发明前药的观察到的终末半衰期<160小时。在本发明的一个实施方案中,当在小型猪中测定时,本发明前药的观察到的终末半衰期为80-200小时。在本发明的一个实施方案中,当在小型猪中测定时,本发明前药的观察到的终末半衰期为90-180小时。在本发明的一个实施方案中,当在小型猪中测定时,本发明前药的观察到的终末半衰期为120-160小时。

[0069] 口服生物利用度

[0070] 采用药理活性化合物的口服治疗可能会受到较差生物利用度的阻碍。术语“生物利用度”是指化合物在给药后到达体循环的能力,并且它可以被量化为化合物剂量在给药后到达体循环的分数程度。期望用于口服给药的药物具有高口服吸收(即口服给药后从胃肠道的高吸收),因为这可以减少达到药物的预期全身浓度所需的剂量,因此例如减小片剂尺寸并降低制造成本。

[0071] 如本文所用的术语“口服生物利用度”是指化合物在口服给药后到达体循环的能力。口服生物利用度反映了化合物在口服给药后在胃肠道中吸收的程度。换言之,高口服生物利用度与高口服吸收相关。药物的高口服生物利用度与口服给药后的高药物暴露相关。前药的高口服生物利用度与前药的高吸收相关,从而导致前药在体内转化为母体药物后母体药物的高暴露。例如,如W02019/149880中所述,可以在比格犬中以与吸收促进剂N-(8-[2-羟基苯甲酰基]氨基)辛酸钠(SNAC)的共制剂形式测量口服生物利用度。

[0072] 口服生物利用度可以如测量口服生物利用度的一般方法中所述进行测量。在一个实施方案中,本发明的化合物具有高口服生物利用度。在一个实施方案中,本发明的化合物具有与司美格鲁肽相似的口服生物利用度。在一个实施方案中,本发明的化合物具有不次于司美格鲁肽的口服生物利用度。在一个实施方案中,本发明的化合物具有至少与司美格鲁肽一样高的口服生物利用度。在一个实施方案中,本发明的化合物具有适合于人类每周一次口服给药的口服生物利用度。在一个实施方案中,本发明的化合物具有在比格犬中测定并测量为 $C_{max}/\text{剂量}[\text{kg/L}]$ 的口服生物利用度。在一个实施方案中,本发明的化合物具有在比格犬中测量为 $C_{max}/\text{剂量}[\text{kg/L}]$ 的口服生物利用度;其中 $C_{max}/\text{剂量}[\text{kg/L}]>0.10$,优选 >0.15 ,优选 >0.20 ,优选 >0.25 ,最优选 >0.30 。在一个实施方案中,本发明的化合物具有在比格犬中测定并测量为 $AUC/\text{剂量}[\text{kg}\cdot\text{hr/L}]$ 的口服生物利用度。在一个实施方案中,本发明的化合物具有在比格犬中测定并测量为 $AUC/\text{剂量}[\text{kg}\cdot\text{hr/L}]$ 的口服生物利用度;其中 $AUC/\text{剂量}[\text{kg}\cdot\text{hr/L}]>2.0$,优选 >5.0 ,优选 >10.0 ,优选 >15.0 ,最优选 >20.0 。

[0073] GLP-1活性

[0074] 如本文所用的术语“GLP-1活性”是指化合物激活GLP-1受体的能力。因此, GLP-1活性也可被称为“GLP-1效力”。GLP-1活性可以被测量为体外效力, 即在功能性GLP-1受体测定中的表现, 更特别地是在表达克隆的人GLP-1受体的细胞系中刺激cAMP形成的能力。GLP-1活性可以被表示为EC₅₀值。化合物结合GLP-1受体的能力也可用作GLP-1活性的量度。在这种情况下, GLP-1活性可被称为“GLP-1受体亲和力”, 并且该活性可以被表示为IC₅₀值。研究GLP-1活性的方法是本领域公知的, 并且例如在W02011/073328、W02011/080102和W02012/062803中描述。

[0075] 药物适应症/医药用途

[0076] 本发明还涉及用作药物的本发明的化合物。如本文所用的, 术语“治疗”是指对任何有需要的人类受试者的医药治疗。该治疗可以是防止性的、预防性的、姑息性的、对症的和/或治愈性的。根据受试者的健康状态, 所述治疗的时机和目的可因个体而异。

[0077] 在一个实施方案中, 本发明的化合物可用于治疗和/或预防(i)所有形式的糖尿病, (ii)肥胖症, (iii)非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 和非酒精性脂肪性肝炎 (NASH), (iv)心血管疾病, (v)神经变性病症, (vi)慢性肾病 (CKD), (vii)糖尿病肾病 (DKD), (viii)外周动脉疾病 (PAD), 和/或 (ix)心力衰竭 (HF)。

[0078] 在一个实施方案中, 本发明涉及治疗(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)、(vii)、(viii)和(ix)中的一种或多种的方法, 其包括向有需要的患者施用有效量的本发明化合物, 任选地与一种或多种另外的治疗活性化合物联合。

[0079] 在一个实施方案中, 本发明的化合物用于治疗 and/或预防所有形式的糖尿病, 例如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY (青年成熟发作型糖尿病) 和妊娠糖尿病, 或用于以减少HbA1c为治疗目标的疾病。在一个实施方案中, 该化合物可用于治疗心血管疾病, 例如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、卒中、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行 (闭塞性动脉硬化)、舒张功能障碍和/或收缩功能障碍; 和/或血压降低, 如收缩压降低。在一个实施方案中, 该化合物用于治疗血脂异常和/或以一个或多个以下临床结果为治疗目标的疾病: 降低血清总脂; 增加HDL; 降低小而密的LDL; 降低VLDL; 降低甘油三酯; 降低胆固醇; 降低人体中的脂蛋白a (Lp(a)) 的血浆水平; 抑制载脂蛋白A (apo (A)) 的生成。在一个实施方案中, 该化合物可用于治疗非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 和非酒精性脂肪性肝炎 (NASH)。在一个实施方案中, 本发明的化合物用于治疗 and/或预防所有形式的HF, 例如射血分数降低的心力衰竭 (HFrEF)、具有中范围射血分数的心力衰竭 (HFmrEF) 和/或射血分数保持的心力衰竭 (HFpEF)。

[0080] 在一个实施方案中, 本发明的化合物用于治疗肥胖症和/或以一个或多个以下临床结果为治疗目标的饮食失调: 减少食物摄入量、增加能量消耗、减轻体重、抑制食欲、诱发饱腹感。在一个实施方案中, 该化合物用于治疗神经变性病症。

[0081] 用本发明化合物进行的治疗也可以与一种或多种另外的药理活性物质联合, 例如, 后者选自心血管药剂、抗糖尿病药剂和/或抗肥胖症药剂。这些药理活性物质的实例是: 强心剂、 β 肾上腺素能受体阻滞剂、HMG-辅酶A还原酶抑制剂、血管紧张素II受体拮抗剂、血

管紧张素转化酶抑制剂、钙通道阻滞剂、内皮素拮抗剂、肾素抑制剂、利尿剂、醛固酮受体阻滞剂、内皮素受体阻滞剂、醛固酮合酶抑制剂、CETP抑制剂、松弛素、PCSK9抑制剂、BNP和NEP抑制剂、GLP-1类似物、胰岛素、磺脲类、双胍类、氯茴苯酸类、葡萄糖苷酶抑制剂、胰高血糖素拮抗剂、DPP-IV抑制剂、SGLT2抑制剂。用本发明化合物进行的治疗也可以与心脏手术联合。

[0082] 药物组合物

[0083] 本发明还涉及包含本发明化合物的药物组合物(也称为药物制剂)。在一个实施方案中,包含该化合物的药物组合物包含至少一种药学上可接受的辅料。

[0084] 包含本发明化合物或其药学上可接受的盐、酰胺或酯和药学上可接受的辅料的药物组合物可以如本领域已知的那样制备。

[0085] 术语“辅料”宽泛地指除活性治疗成分以外的任何组分。辅料可以是惰性物质、无活性物质和/或非药学活性物质。辅料可用于各种目的,例如作为载体、媒介物、稀释剂、片剂助剂,和/或用来改善给药和/或活性物质的吸收。药物活性成分与各种辅料的配制是本领域已知的,参见,例如,Remington:The Science and Practice of Pharmacy(例如第19版(1995)和任何后续版本)。药物组合物的其他可选的成分包括例如润湿剂、乳化剂、抗氧化剂、填充剂、金属离子、油性媒介物、蛋白质。辅料的非限制性实例是:溶剂、稀释剂、缓冲剂、防腐剂、张度调节剂、螯合剂、表面活性剂和稳定剂。

[0086] 包含本发明化合物的药物组合物可以是数种剂型,例如溶液、混悬剂、片剂和胶囊。优选地,包含本发明化合物的药物组合物适用于口服给药,例如在优选的实施方案中,包含本发明化合物的药物制剂以片剂的形式制备,其中该化合物与吸收促进剂N-(8-[2-羟基苯甲酰基]氨基)辛酸钠(SNAC)共同配制,例如,如W02019/149880或W02019/215063中所述。

[0087] 在优选的实施方案中,包含本发明化合物的药物组合物用于与该化合物所适用的相同的药物适应症。

[0088] 制备过程

[0089] 可以通过经典的肽合成,例如使用t-Boc或Fmoc化学法的固相肽合成或其他确立的技术,来制备本发明的化合物(或其片段),参见,例如,Greene和Wuts,“Protective Groups in Organic Synthesis”,John Wiley&Sons,1999,Florencio Zaragoza **Dörwald**,“Organic Synthesis on solid Phase”,Wiley-VCH Verlag GmbH,2000,以及由W.C.Chan和P.D.White编著的“Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis”,Oxford University Press,2000。此外或备选地,所述化合物(或其片段)可以整体或部分地通过重组方法来产生,即通过培养含有编码类似物的DNA序列并能够在允许该肽表达的条件下在合适的营养培养基中表达该肽的宿主细胞。适合表达这些肽的宿主细胞的非限制性实例是:大肠杆菌(*Escherichia coli*)、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)以及哺乳动物BHK或CHO细胞系。例如,包含非编码氨基酸的本发明的那些衍生物可以如实验部分所述产生。或者参见,例如,Hodgson等人:“The synthesis of peptides and proteins containing non-natural amino acids”,Chemical Society Reviews,vol.33,no.7(2004),p.422-430。

[0090] 实验部分中包括制备本发明衍生物的方法的具体实例。

[0091] 实施方案列表

- [0092] 1. 包含式I的化合物：
- [0093] X-Y-Z (式I)
- [0094] 其中X为氨基酸；
- [0095] 其中Y选自Thz和D-Thz；
- [0096] 其中Z包含GLP-1多肽；
- [0097] 或其药学上可接受的盐、酯或酰胺。
- [0098] 2. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中X选自Ala、Arg、Asn、Asp、His、Leu、Lys、D-Lys、Phe、Ser、Orn和Dab。
- [0099] 3. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中X选自Lys、D-Lys、Orn和Dab。
- [0100] 4. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中X选自Lys、Orn和Dab。
- [0101] 5. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中所述GLP-1多肽的N末端氨基通过酰胺键连接至Y。
- [0102] 6. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中所述GLP-1多肽的N末端残基为His。
- [0103] 7. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中所述GLP-1多肽是GLP-1类似物。
- [0104] 8. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中所述GLP-1多肽是GLP-1类似物；并且其中所述GLP-1类似物与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 相比具有最多3个氨基酸改变。
- [0105] 9. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中所述GLP-1多肽是GLP-1类似物；并且其中所述GLP-1类似物与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 相比具有最多2个氨基酸改变。
- [0106] 10. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中Z为GLP-1衍生物。
- [0107] 11. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中Z为司美格鲁肽。
- [0108] 12. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中X通过酰胺键连接至Y。
- [0109] 13. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中X任选地带有取代基，条件是如果X带有取代基，则X选自Lys、D-Lys、Dab和Orn。
- [0110] 14. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中X带有取代基，条件是如果X带有取代基，则X选自Lys、D-Lys、Dab和Orn。
- [0111] 15. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中X选自Lys、D-Lys、Dab和Orn，并且其中X带有取代基。
- [0112] 16. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中所述取代基经由 ϵ -氨基连接至Lys、经由 ϵ -氨基连接至D-Lys、经由 γ -氨基连接至Dab、或经由 δ -氨基连接至Orn。
- [0113] 17. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中所述取代基具有延长作用。
- [0114] 18. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中所述取代基包含延长部分。
- [0115] 19. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中所述取代基通过酰胺键连接至X的侧链氨基。
- [0116] 20. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中所述取代基包含具有远端羧酸的亲脂性部分。
- [0117] 21. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中所述取代基包含选自化学式1和化学式2的部分。
- [0118] 22. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中化学式1的n为12、14、16或18。
- [0119] 23. 根据任一前述实施方案所述的化合物，其中化学式1的n为14或16。

[0120] 24. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述取代基包含选自化学式3和化学式4的部分。

[0121] 25. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述取代基为式II:

[0122] $A_5-A_4-A_3-A_2-A_1-*$ (式II)

[0123] 其中*表示与X的连接点;

[0124] 其中 A_1 选自化学式3、化学式4、化学式5、化学式6和化学式7, 或者不存在;

[0125] 其中 A_2 和 A_3 各自单独地选自化学式3、化学式4和化学式5, 或者不存在;

[0126] 其中 A_4 为化学式3或化学式4;

[0127] 其中 A_5 选自化学式1和化学式2。

[0128] 26. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中残基 A_5 、 A_4 、 A_3 、 A_2 、 A_1 通过酰胺键互相连接。

[0129] 27. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述化合物选自化学式8、化学式9、化学式10、化学式11、化学式12、化学式13、化学式14、化学式15、化学式16、化学式17、化学式18、化学式19、化学式20、化学式21、化学式22、化学式23、化学式24、化学式25、化学式26、化学式27、化学式28、化学式29、化学式30、化学式31、化学式32、化学式33、化学式34和化学式35; 或其药学上可接受的盐、酯或酰胺。

[0130] 28. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述化合物选自化学式8、化学式9、化学式10、化学式11、化学式12、化学式13、化学式14、化学式15、化学式16、化学式17、化学式18、化学式19、化学式20、化学式21、化学式22、化学式23; 或其药学上可接受的盐、酯或酰胺。

[0131] 29. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述化合物是前药并且Z为母体药物。

[0132] 30. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述化合物是前药并且X-Y为DKP形成部分。

[0133] 31. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述化合物是前药, Z为母体药物, 并且X-Y为DKP形成部分。

[0134] 32. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述化合物具有转化半衰期。

[0135] 33. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述化合物具有适合每周一次给药的转化半衰期。

[0136] 34. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述化合物具有长转化半衰期。

[0137] 35. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述转化半衰期在37°C和pH 7.4下在体外测量。

[0138] 36. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述转化半衰期如测量转化半衰期的一般方法中所述测量。

[0139] 37. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述转化半衰期为至少3.0天。

[0140] 38. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述转化半衰期为至少4.0天。

[0141] 39. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述转化半衰期为至少5.0天。

[0142] 40. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述转化半衰期为至少6.0天。

[0143] 41. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述转化半衰期为3.0-21天。

- [0144] 42. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中所述转化半衰期为3.0-14天。
- [0145] 43. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中所述转化半衰期在37℃和pH 7.4下测量,其中所述转化半衰期为3.0-21天。
- [0146] 44. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中所述转化半衰期在37℃和pH 7.4下测量,其中所述转化半衰期为3.0-14天。
- [0147] 45. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中转化半衰期是前药到药物的转化半衰期。
- [0148] 46. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中所述母体药物在施用所述前药后具有观察到的终末半衰期。
- [0149] 47. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中所述母体药物在施用所述前药后具有适合每周一次给药的观察到的终末半衰期。
- [0150] 48. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中所述母体药物在施用所述前药后具有观察到的长终末半衰期。
- [0151] 49. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中在施用所述前药后观察到的终末半衰期适合于人类每周一次口服给药。
- [0152] 50. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中在小型猪中施用所述前药后测得的母体药物的观察到的终末半衰期>80小时。
- [0153] 51. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中在小型猪中施用所述前药后测得的母体药物的观察到的终末半衰期>90小时。
- [0154] 52. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中在小型猪中施用所述前药后测得的母体药物的观察到的终末半衰期>100小时。
- [0155] 53. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中在小型猪中施用所述前药后测得的母体药物的观察到的终末半衰期>110小时。
- [0156] 54. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中在小型猪中施用所述前药后测得的母体药物的观察到的终末半衰期>120小时。
- [0157] 55. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中在小型猪中施用所述前药后测得的母体药物的观察到的终末半衰期<200小时。
- [0158] 56. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中在小型猪中施用所述前药后测得的母体药物的观察到的终末半衰期<190小时。
- [0159] 57. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中在小型猪中施用所述前药后测得的母体药物的观察到的终末半衰期<180小时。
- [0160] 58. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中在小型猪中施用所述前药后测得的母体药物的观察到的终末半衰期<170小时。
- [0161] 59. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中在小型猪中施用所述前药后测得的母体药物的观察到的终末半衰期<160小时。
- [0162] 60. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中在小型猪中施用所述前药后测得的母体药物的观察到的终末半衰期为80-200小时。
- [0163] 61. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中在小型猪中施用所述前药后测得的母体药物的观察到的终末半衰期为90-180小时。

[0164] 62. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中在小型猪中施用所述前药后测得的母体药物的观察到的终末半衰期为120-160小时。

[0165] 63. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述化合物具有口服生物利用度。

[0166] 64. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述化合物具有高口服生物利用度。

[0167] 65. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述化合物具有与司美格鲁肽相似的口服生物利用度。

[0168] 66. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述化合物具有不次于司美格鲁肽的口服生物利用度。

[0169] 67. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述化合物具有至少与司美格鲁肽一样高的口服生物利用度。

[0170] 68. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述口服生物利用度适合于人类每周一次口服给药。

[0171] 69. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述口服生物利用度是在比格犬中测定的。

[0172] 70. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述口服生物利用度是在比格犬中施用含有3mg所述化合物、300mg N-(8-(2-羟基苯甲酰基)氨基)辛酸钠(SNAC)和7.7mg硬脂酸镁的片剂后测定的。

[0173] 71. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述口服生物利用度被测量为 $C_{max}/\text{剂量}[\text{kg/L}]$ 。

[0174] 72. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述口服生物利用度被测量为 $AUC/\text{剂量}[\text{kg}\cdot\text{hr/L}]$ 。

[0175] 73. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述口服生物利用度如测量口服生物利用度的一般方法中所述测定。

[0176] 74. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述口服生物利用度在比格犬中被测量为 $C_{max}/\text{剂量}[\text{kg/L}]$; 并且其中所述 $C_{max}/\text{剂量}[\text{kg/L}] > 0.10$ 。

[0177] 75. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述口服生物利用度在比格犬中被测量为 $C_{max}/\text{剂量}[\text{kg/L}]$; 并且其中所述 $C_{max}/\text{剂量}[\text{kg/L}] > 0.15$ 。

[0178] 76. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述口服生物利用度在比格犬中被测量为 $C_{max}/\text{剂量}[\text{kg/L}]$; 并且其中所述 $C_{max}/\text{剂量}[\text{kg/L}] > 0.20$ 。

[0179] 77. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述口服生物利用度在比格犬中被测量为 $C_{max}/\text{剂量}[\text{kg/L}]$; 并且其中所述 $C_{max}/\text{剂量}[\text{kg/L}] > 0.25$ 。

[0180] 78. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述口服生物利用度在比格犬中被测量为 $C_{max}/\text{剂量}[\text{kg/L}]$; 并且其中所述 $C_{max}/\text{剂量}[\text{kg/L}] > 0.30$ 。

[0181] 79. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述口服生物利用度在比格犬中被测量为 $AUC/\text{剂量}[\text{kg}\cdot\text{hr/L}]$; 并且其中所述 $AUC/\text{剂量}[\text{kg}\cdot\text{hr/L}] > 2.0$ 。

[0182] 80. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述口服生物利用度在比格犬中被测量为 $AUC/\text{剂量}[\text{kg}\cdot\text{hr/L}]$; 并且其中所述 $AUC/\text{剂量}[\text{kg}\cdot\text{hr/L}] > 5.0$ 。

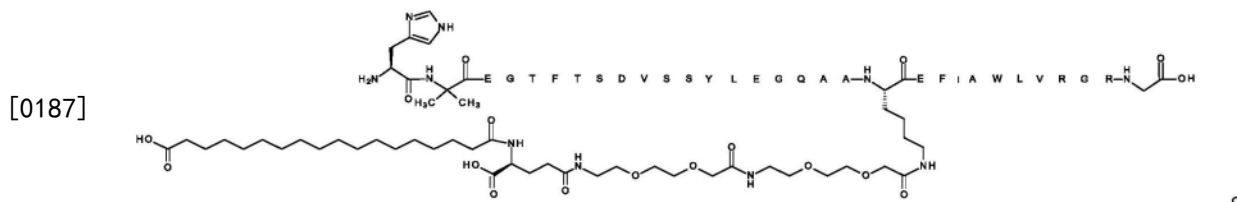
[0183] 81. 根据任一前述实施方案所述的化合物, 其中所述口服生物利用度在比格犬中

被测量为AUC/剂量[$\text{kg}\cdot\text{hr}/\text{L}$];并且其中所述AUC/剂量[$\text{kg}\cdot\text{hr}/\text{L}$] >10.0 。

[0184] 82. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中所述口服生物利用度在比格犬中被测量为AUC/剂量[$\text{kg}\cdot\text{hr}/\text{L}$];并且其中所述AUC/剂量[$\text{kg}\cdot\text{hr}/\text{L}$] >15.0 。

[0185] 83. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中所述口服生物利用度在比格犬中被测量为AUC/剂量[$\text{kg}\cdot\text{hr}/\text{L}$];并且其中所述AUC/剂量[$\text{kg}\cdot\text{hr}/\text{L}$] >20.0 。

[0186] 84. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其中司美格鲁肽为 $\text{N}-\epsilon^{26}-[2-(2-\{2-[2-(2-\{2-[(\text{S})-4\text{-羧基}-4-(17\text{-羧基十七碳酰基氨基})丁酰基氨基}\text{乙氧基}\}\text{乙氧基}\}\text{乙酰基氨基}\}\text{乙氧基}\}\text{乙氧基}\}\text{乙酰基})[\text{Aib8},\text{Arg34}]\text{GLP-1-(7-37)}$



[0188] 85. 药物组合物,其包含根据任一前述实施方案所述的化合物和至少一种药学上可接受的辅料。

[0189] 86. 药物组合物,其包含选自化学式8、化学式9、化学式10、化学式11、化学式12、化学式13、化学式14、化学式15、化学式16、化学式17、化学式18、化学式19、化学式20、化学式21、化学式22、化学式23、化学式24、化学式25、化学式26、化学式27、化学式28、化学式29、化学式30、化学式31、化学式32、化学式33、化学式34和化学式35的化合物,或其药学上可接受的盐、酯或酰胺;和至少一种药学上可接受的辅料。

[0190] 87. 药物组合物,其包含选自化学式8、化学式9、化学式10、化学式11、化学式12、化学式13、化学式14、化学式15、化学式16、化学式17、化学式18、化学式19、化学式20、化学式21、化学式22和化学式23的化合物;或其药学上可接受的盐、酯或酰胺;和至少一种药学上可接受的辅料。

[0191] 88. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其用作药物。

[0192] 89. 根据任一前述实施方案所述的化合物,其用于治疗(i)糖尿病,(ii)肥胖症,(iii)非酒精性脂肪性肝病(NAFD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH),(iv)心血管疾病,(v)神经变性病症,(vi)慢性肾病(CKD),(vii)糖尿病肾病(DKD),(viii)外周动脉疾病(PAD),和/或(ix)心力衰竭(HF)。

[0193] 90. 根据任一前述实施方案所述的药物组合物,其用作药物。

[0194] 91. 根据任一前述实施方案所述的药物组合物,其用于治疗(i)糖尿病,(ii)肥胖症,(iii)非酒精性脂肪性肝病(NAFD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH),(iv)心血管疾病,(v)神经变性病症,(vi)慢性肾病(CKD),(vii)糖尿病肾病(DKD),(viii)外周动脉疾病(PAD),和/或(ix)心力衰竭(HF)。

[0195] 92. 通过向有需要的受试者施用药学相关量的根据任一前述实施方案所述的化合物来治疗(i)糖尿病、(ii)肥胖症、(iii)非酒精性脂肪性肝病(NAFD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、(iv)心血管疾病、(v)神经变性病症、(vi)慢性肾病(CKD)、(vii)糖尿病肾病(DKD)、(viii)外周动脉疾病(PAD)和/或(ix)心力衰竭(HF)的方法。

[0196] 93. 药物组合物,其包含根据任一前述实施方案所述的化合物和至少一种药学上

可接受的辅料。

[0197] 94. 包含根据任一前述实施方案所述的化合物和至少一种药学上可接受的辅料的药物组合物,其用于治疗选自(i)糖尿病、(ii)肥胖症、(iii)非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、(iv)心血管疾病、(v)神经变性病症、(vi)慢性肾病(CKD)、(vii)糖尿病肾病(DKD)、(viii)外周动脉疾病(PAD)和/或(ix)心力衰竭(HF)的疾病。

[0198] 95. 根据任一前述实施方案所述的化合物在制备药物中的用途,该药物用于治疗选自(i)糖尿病、(ii)肥胖症、(iii)非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、(iv)心血管疾病、(v)神经变性病症、(vi)慢性肾病(CKD)、(vii)糖尿病肾病(DKD)、(viii)外周动脉疾病(PAD)和/或(ix)心力衰竭(HF)的疾病。

[0199] 实施例

[0200] 该实验部分从缩略语列表开始,随后是关于化合物制备的一般方法的部分和关于暴露概况相关性质的测量方法的部分。每个部分中都包括许多具体示例来说明本发明。所有示例化合物均根据本文所述的一般方法来制备。

[0201] 缩略语

[0202] Aib: α -氨基异丁酸

[0203] Boc: 叔丁氧羰基

[0204] CAD: 荷电气溶胶检测器

[0205] Dab: 2,4-二氨基丁酸

[0206] DIPEA: 二异丙基乙胺

[0207] DCM: 二氯甲烷

[0208] DIC: 二异丙基碳二亚胺

[0209] DKP: 二酮基哌嗪

[0210] DMF: 二甲基甲酰胺

[0211] D-PBS: Dulbecco磷酸盐缓冲盐水

[0212] DTT: 二硫苏糖醇

[0213] EDTA: 乙二胺四乙酸

[0214] Fmoc: 9-芴基甲氧羰基

[0215] Ado: 8-氨基-3,6-二氧杂辛酸

[0216] HFIP: 1,1,1,3,3,3-六氟-2-丙醇或六氟异丙醇

[0217] HPLC: 高效液相色谱法

[0218] LC: 液相色谱法

[0219] LCMS: 液相色谱质谱法

[0220] MeCN: 乙腈

[0221] MQ: Milli-Q

[0222] MS: 质谱法

[0223] Mtt: 4-甲基三苯甲基

[0224] Orn: 鸟氨酸

[0225] OtBu: 叔丁氧基

[0226] Oxya **Pure®**: 氰基-羟基亚氨基-乙酸乙酯

- [0227] Pbf: 2,2,4,6,7-五甲基二氢苯并呋喃-5-磺酰基
[0228] PBS: 磷酸盐缓冲盐水
[0229] RP: 反相
[0230] RP-HPLC: 反相高效液相色谱法
[0231] RT: 室温
[0232] Sar: 肌氨酸
[0233] SEC: 尺寸排阻色谱法
[0234] SNAC: N-(8-(2-羟基苯甲酰基)氨基)辛酸钠
[0235] SPPS: 固相肽合成
[0236] tBu: 叔丁基
[0237] TCEP: 三(2-羧基乙基)膦
[0238] TFA: 三氟乙酸
[0239] Thz: 噻唑烷-4-羧酸
[0240] TIPS: 三异丙基硅烷
[0241] Trt: 三苯基甲基(三苯甲基)
[0242] UPLC: 超高效液相色谱法
[0243] UV: 紫外线

[0244] 制备本发明化合物的一般方法

[0245] 在一方面,本发明的衍生物可以如本文实施例中所述制备。在一方面,本发明的衍生物可以如本领域已知的那样制备,即可以通过经典的肽合成,例如使用Boc或Fmoc化学法的固相肽合成或其他确立的技术,来进行肽的制备,参见,例如, Greene和Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, 1999, Florencio Zaragoza **Dörwald**, "Organic Synthesis on solid Phase", Wiley-VCH Verlag GmbH, 2000, 以及由W.C.Chan和P.D.White编著的"Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis", Oxford University Press, 2000。

[0246] 脂肪酸和特殊氨基酸结构单元

[0247] 十八烷二酸单叔丁酯的合成如W02010102886(第27-28页)所述进行。相应地制备了C14、C16和C20二酸的相应单叔丁酯。10-(3-叔丁氧羰基苯氧基)癸酸的合成如W02011080103(第131页)中针对9-(4-叔丁氧羰基苯氧基)十一烷酸所述进行。

[0248] Fmoc-Aib-OH、Boc-Dab(Fmoc)-OH、Fmoc-Glu(OH)-OtBu、Boc-Lys(Fmoc)-OH、Boc-Orn(Fmoc)-OH、Fmoc-Thz-OH、Fmoc-D-Thz-OH可从Iris Biotech或Sigma-Aldrich获得。

[0249] 肽合成

[0250] 在来自Protein Technologies的Prelude或Symphony X固相肽合成仪上使用基于Fmoc的化学法通过SPPS进行肽的制备。所述方法中使用的经Fmoc保护的氨基酸是推荐的标准:例如由Anaspec、Bachem、Iris Biotech或NovabioChem供应的Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Gln(Trt)-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-His(Trt)-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Trp(Boc)-OH、Fmoc-Tyr(tBu)-OH、Fmoc-Val-OH和Fmoc-Lys(Mtt)-OH。

[0251] 对于最后的骨架氨基酸,使用经 α -Boc保护的氨基酸:例如由Bachem、Novabiochem、Iris Biotech或Sigma-Aldrich供应的Boc-Arg(Pbf)-OH、Boc-Asn(Trt)-OH、Boc-Asp(OtBu)-OH、Boc-His(Trt)-OH、Boc-Leu-OH、Boc-Lys(Ac)-OH、Boc-Lys(Boc)-OH、Boc-D-Lys(Boc)-OH、Boc-Phe-OH、Boc-Ser(tBu)-OH。

[0252] 使用预加载有经Fmoc保护的甘氨酸的Wang树脂(Fmoc-Gly-Wang)。随后的氨基酸按照SPPS原理通过Prelude或Symphony X肽合成仪以逐步程序引入。

[0253] 用DMF中的20%哌啶经2x 10min实现Fmoc脱保护。使用标准的经Fmoc保护的氨基酸完成在N末端氨基酸的 α -位置引入取代基。用DIC/Oxyma Pure进行肽偶联。首先将氨基酸/Oxyma Pure溶液(在DMF中0.3M/0.3M,3-4倍摩尔过量)添加到树脂中。然后,加入相同摩尔当量的DIC(在DMF中0.6M)。偶联时间为1.5小时。在一些情况下,增加偶联时间或重复偶联步骤以达到令人满意的偶联水平。随后的封端步骤使用DMF和DIPEA中的1M乙酸酐进行。

[0254] 使用Boc-Lys(Fmoc)-OH实现在序列的N末端处赖氨酸的 ϵ -氮上引入取代基。使用Boc-Orn(Fmoc)-OH实现在序列的N末端处鸟氨酸的 δ -氮上引入取代基。使用Boc-Dab(Fmoc)-OH实现在序列的N末端处2,4-二氨基丁酸的 γ -氮上引入取代基。

[0255] 为了在第26位赖氨酸的 ϵ -氮上引入取代基,使用Fmoc-Lys(Mtt)-OH。通过用HFIP/DCM/TIPS(75:22.5:2.5)处理(2x 20min)去除Mtt基团,随后用DCM和DMF洗涤,之后在Lys的 ϵ -氮上引入取代基。

[0256] 一般切割方法

[0257] 用TFA/TIPS/H₂O/DTT(95:2:2:1)切割肽2小时,之后将溶液排入冷乙醚中并离心。倾去乙醚,并用乙醚洗涤肽两次。

[0258] 衍生物纯化和定量的一般方法

[0259] 将粗肽溶解在含50%乙酸的MQ水中,并在包含C18-硅胶的柱上通过反相制备型HPLC(Waters Delta Prep 4000)进行纯化。用MeCN在含0.1% TFA的MQ水中逐渐增加的梯度进行洗脱。用UPLC分析相关级分。合并含有纯目标肽的级分。对所得溶液进行分析(UPLC、LCMS),并使用CAD特定的HPLC检测器(Vanquish Thermo-Fischer HPLC-CAD)对肽衍生物进行定量。将产物分装到玻璃小瓶中。小瓶用Millipore玻璃纤维预过滤器封盖。冷冻干燥得到呈白色固体的该衍生物的三氟乙酸盐。

[0260] 一般LCMS方法

[0261]	系统	LC-系统: Waters Acquity UPLC H 级
--------	----	--------------------------------

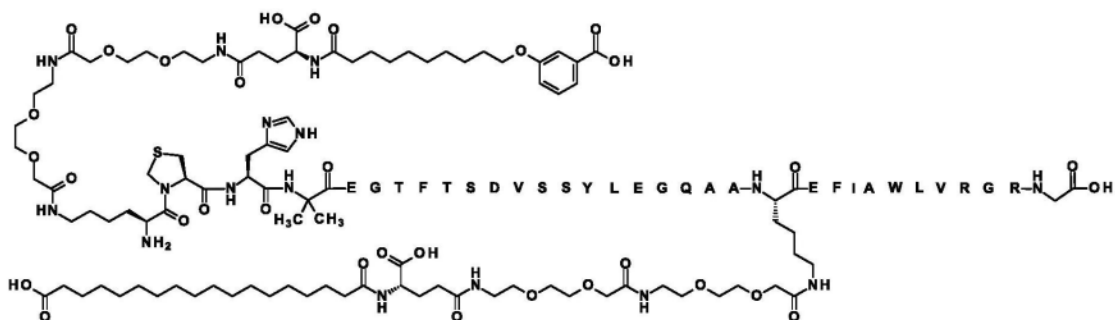
[0262]

	柱：Waters Acquity BEH, C-18, 1.7 μ m, 2.1mm x 50mm 检测器：Waters Xevo G2-XS QTof
检测器设置	电离方法：ES 扫描范围：50 – 4000 amu 运行模式：MS 解析模式 正/负：正模式 电压：毛细管 3.00 kV 样品锥：40 V 源：80 V 温度：源 150°C 去溶剂化：500°C 扫描时间：0.500 s 扫描间延迟：0.014 s
条件	线性梯度：5 %至 95 % B 梯度运行时间：4.0 分钟 总运行时间：7.0 分钟 流速：0.4 mL/min 柱温：40°C
洗脱液	溶剂 A：99,90 % MQ-水，0.1%甲酸 溶剂 B：99.90%乙腈，0.1%甲酸 溶剂 C：99.90% MQ 水，0.1% TFA 梯度：A 90-0%，B 5-95%，C 5%
结果	实测质量是化合物的实测单同位素质量 $(M+z)/z$ 。 计算质量是针对化合物计算的单同位素质量 $(M+z)/z$ 。

[0263] 实施例1

[0264] N $\{\epsilon 26\}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-N $\{\epsilon\}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-[10-(3-羧基苯氧基)癸酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]Lys-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽

[0265]



[0266] 化学式8;SEQ ID NO:3

[0267] LCMS

[0268] 计算质量:M/3=1688.85;M/4=1266.89;M/5=1013.71

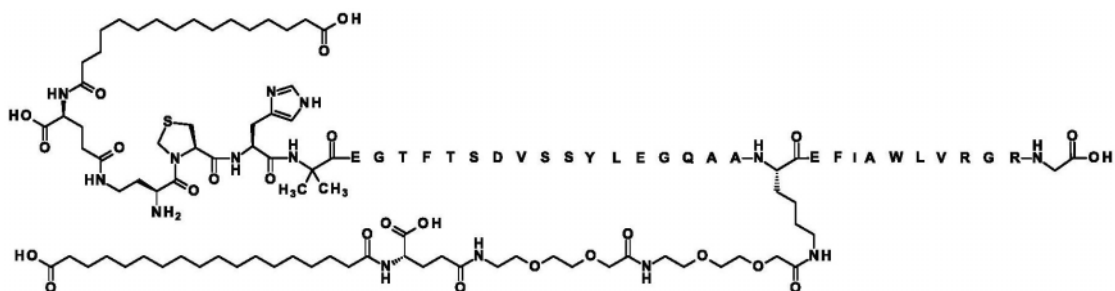
[0269] 实测质量:M/3=1688.86;M/4=1266.90;M/5=1013.72

[0270] 实施例2

[0271] N{ε26}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-N{γ}-[(4S)-4-羧基-4-(15-羧基十五碳酰基氨基)丁酰基]

[0272] 基]Dab-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽

[0273]



[0274] 化学式9;SEQ ID NO:4

[0275] LCMS

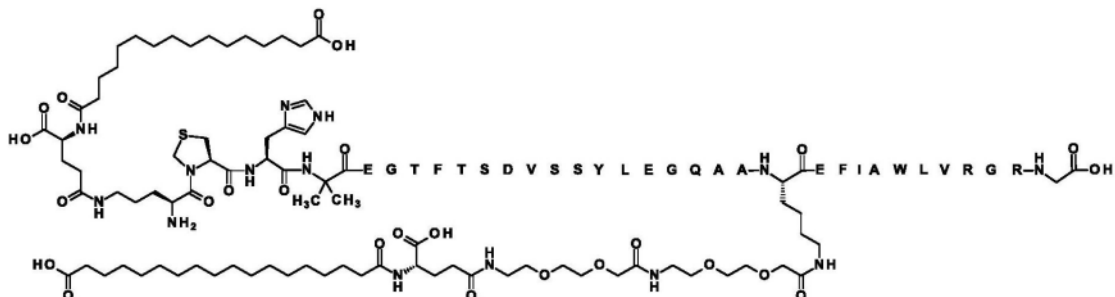
[0276] 计算质量:M/2=2362.72;M/3=1575.48;M/4=1181.86

[0277] 实测质量:M/2=2362.71;M/3=1575.48;M/4=1181.87

[0278] 实施例3

[0279] N{ε26}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-N{δ}-[(4S)-4-羧基-4-(15-羧基十五碳酰基氨基)丁酰基]Orn-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽

[0280]



[0281] 化学式10;SEQ ID NO:5

[0282] LCMS

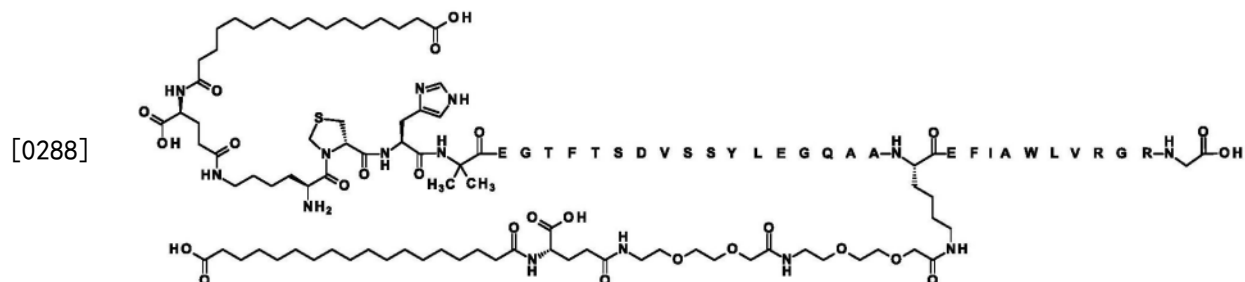
[0283] 计算质量: $M/2=2369.73$; $M/3=1580.15$; $M/4=1185.36$

[0284] 实测质量: $M/2=2369.70$; $M/3=1580.15$; $M/4=1185.37$

[0285] 实施例4

[0286] $N_{\{26\}}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-N_{\{\epsilon\}}-[(4S)-4-羧基-4-(15-羧基十五碳酰基氨基)丁酰基]$

[0287] 基]Lys-D-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽



[0289] 化学式11;SEQ ID NO:6

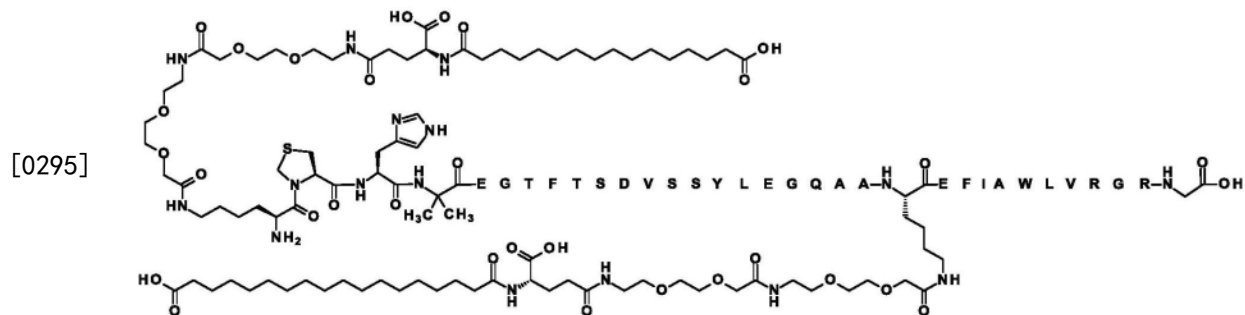
[0290] LCMS

[0291] 计算质量: $M/3=1584.82$; $M/4=1188.87$; $M/5=951.29$

[0292] 实测质量: $M/3=1584.82$; $M/4=1188.87$; $M/5=951.29$

[0293] 实施例5

[0294] $N_{\{26\}}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-N_{\{\epsilon\}}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-(15-羧基十五碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]Lys-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽$



[0296] 化学式12;SEQ ID NO:7

[0297] LCMS

[0298] 计算质量: $M/3=1681.54$; $M/4=1261.40$; $M/5=1009.32$

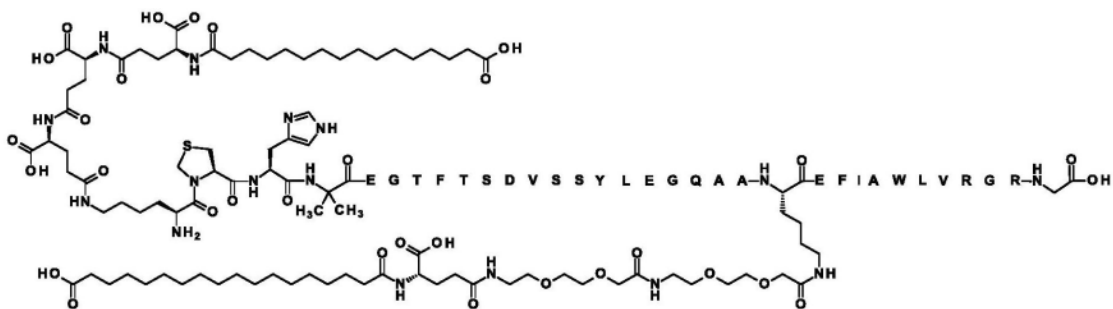
[0299] 实测质量: $M/3=1681.62$; $M/4=1261.46$; $M/5=1009.55$

[0300] 实施例6

[0301] $N_{\{26\}}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-N_{\{\epsilon\}}-[(4S)-4-羧基-4-[(4S)-4-羧基-4-[(4S)-4-羧基-4-(15-羧基十五碳酰基氨基)丁酰基]氨基]丁酰基]氨基]丁酰基]$

[0302] 基]Lys-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽

[0303]



[0304] 化学式13;SEQ ID NO:8

[0305] LCMS

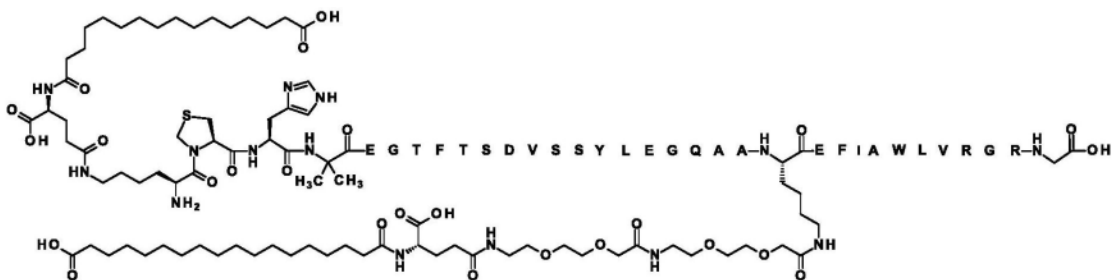
[0306] 计算质量: $M/3=1670.85$; $M/4=1253.39$; $M/5=1002.91$ [0307] 实测质量: $M/3=1670.85$; $M/4=1253.40$; $M/5=1002.92$

[0308] 实施例7

[0309] $N\{\epsilon 26\}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]- $N\{\epsilon\}$ -[(4S)-4-羧基-4-(15-羧基十五碳酰基氨基)丁酰基]氨基]丁酰基

[0310] 基]Lys-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽

[0311]



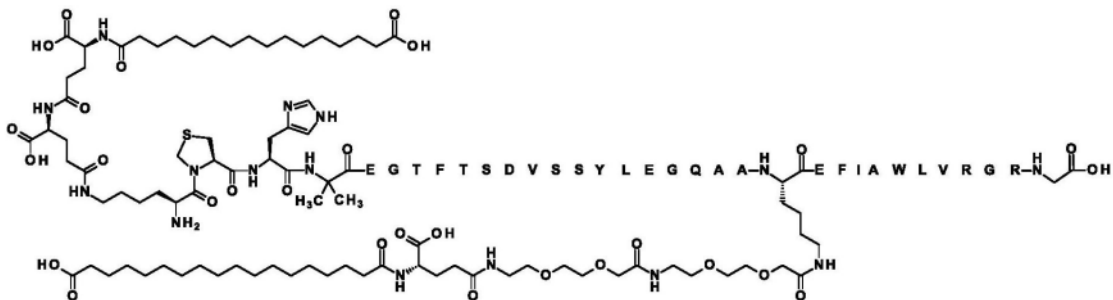
[0312] 化学式14;SEQ ID NO:9

[0313] LCMS

[0314] 计算质量: $M/3=1584.82$; $M/4=1188.87$; $M/5=951.29$ [0315] 实测质量: $M/3=1584.82$; $M/4=1188.87$; $M/5=951.30$

[0316] 实施例8

[0317] $N\{\epsilon 26\}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]- $N\{\epsilon\}$ -[(4S)-4-羧基-4-[[(4S)-4-羧基-4-(15-羧基十五碳酰基氨基)丁酰基]氨基]丁酰基]Lys-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽



[0318] 化学式15;SEQ ID NO:10

[0319] LCMS

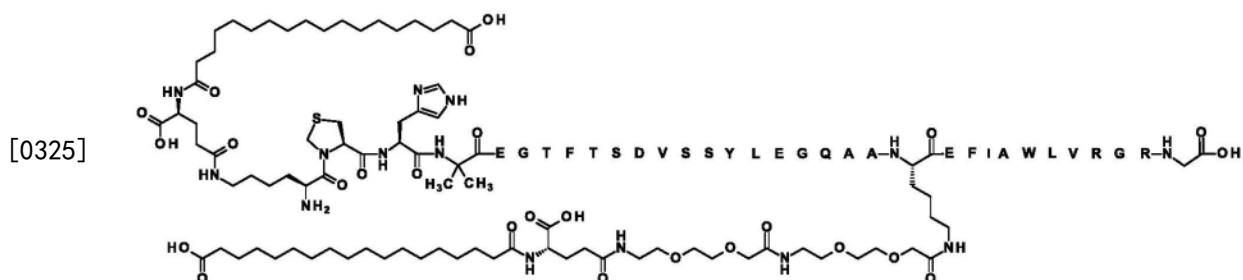
[0320] 计算质量: $M/3=1627.84$; $M/4=1221.13$; $M/5=977.10$

[0321] 实测质量: $M/3=1628.09$; $M/4=1221.07$; $M/5=977.28$

[0322] 实施例9

[0323] $N\{\epsilon 26\}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]- $N\{\epsilon\}$ -[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]

[0324] 基]Lys-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽



[0326] 化学式16;SEQ ID NO:11

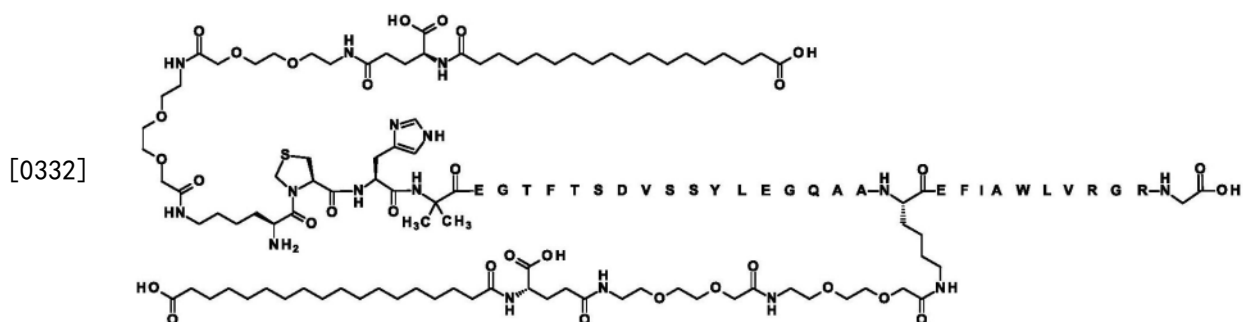
[0327] LCMS

[0328] 计算质量: $M/3=1594.17$; $M/4=1195.87$; $M/5=956.90$

[0329] 实测质量: $M/3=1594.17$; $M/4=1195.88$; $M/5=956.91$

[0330] 实施例10

[0331] $N\{\epsilon 26\}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]- $N\{\epsilon\}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]Lys-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽



[0333] 化学式17;SEQ ID NO:12

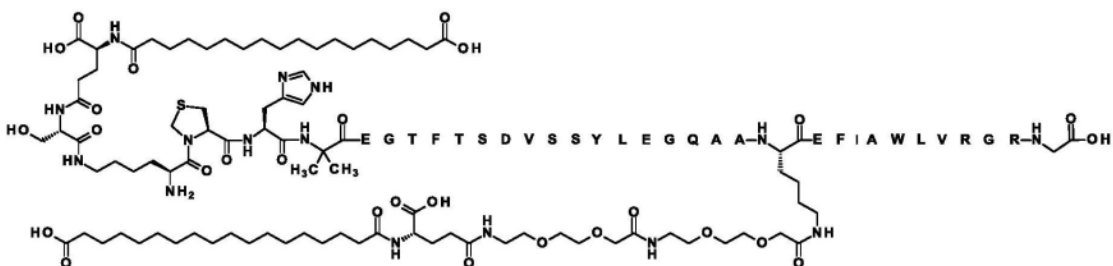
[0334] LCMS

[0335] 计算质量: $M/3=1690.88$; $M/4=1268.41$; $M/5=1014.93$

[0336] 实测质量: $M/3=1690.92$; $M/4=1268.43$; $M/5=1014.94$

[0337] 实施例11

[0338] $N\{\epsilon 26\}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]- $N\{\epsilon\}$ -[(2S)-2-[[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]-3-羟基丙酰基]Lys-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽



[0339] 化学式18;SEQ ID NO:13

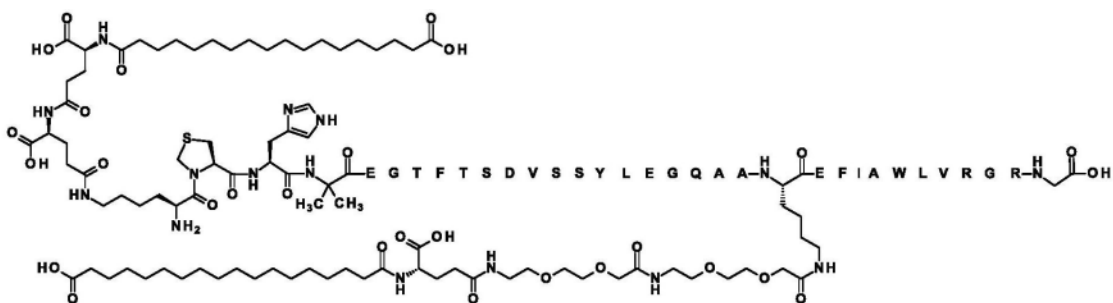
[0340] LCMS

[0341] 计算质量:M/3=1623.18;M/4=1217.63;M/5=974.31

[0342] 实测质量:M/3=1623.18;M/4=1217.63;M/5=974.32

[0343] 实施例12

[0344] N{ε26} - [2- [2- [2- [[2- [2- [2- [[(4S) -4-羧基-4- (17-羧基十七碳酰基氨基) 丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基] -N{ε} - [(4S) -4-羧基-4- [[(4S) -4-羧基-4- (17-羧基十七碳酰基氨基) 丁酰基]氨基]丁酰基]Lys-Thz- [Aib8, Arg34] -GLP-1- (7-37) -肽



[0345] 化学式19;SEQ ID NO:14

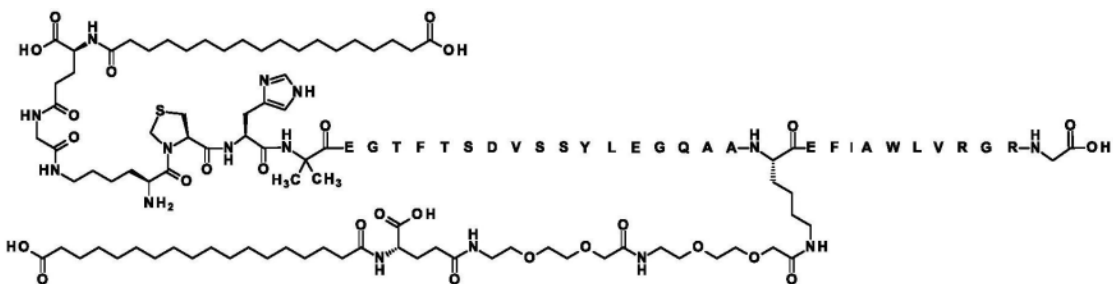
[0346] LCMS

[0347] 计算质量:M/3=1637.18;M/4=1228.13;M/5=982.71

[0348] 实测质量:M/3=1637.19;M/4=1228.14;M/5=982.72

[0349] 实施例13

[0350] N{ε26} - [2- [2- [2- [[2- [2- [2- [[(4S) -4-羧基-4- (17-羧基十七碳酰基氨基) 丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基] -N{ε} - [2- [[(4S) -4-羧基-4- (17-羧基十七碳酰基氨基) 丁酰基]氨基]乙酰基]Lys-Thz- [Aib8, Arg34] -GLP-1- (7-37) -肽



[0352] 化学式20;SEQ ID NO:15

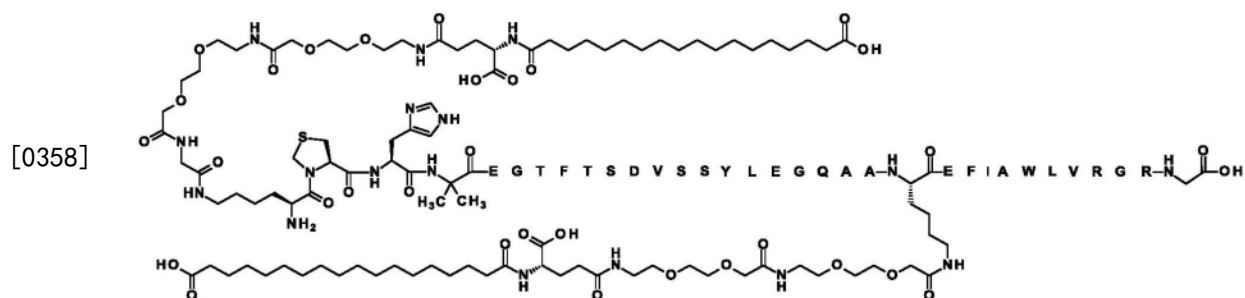
[0353] LCMS

[0354] 计算质量: $M/3=1613.17$; $M/4=1210.13$; $M/5=968.30$

[0355] 实测质量: $M/3=1613.18$; $M/4=1210.13$; $M/5=968.31$

[0356] 实施例14

[0357] $N\{\epsilon 26\}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S]-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]- $N\{\epsilon\}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S]-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙酰基]Lys-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽



[0359] 化学式21;SEQ ID NO:16

[0360] LCMS

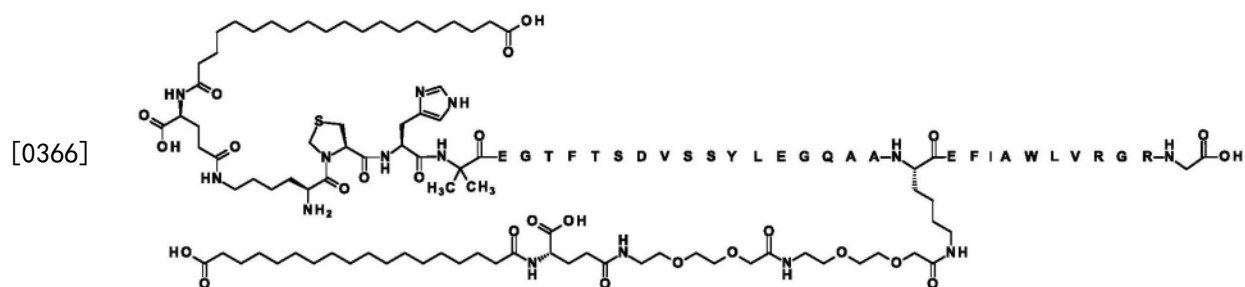
[0361] 计算质量: $M/3=1709.89$; $M/4=1282.67$; $M/5=1026.33$

[0362] 实测质量: $M/3=1709.89$; $M/4=1282.66$; $M/5=1026.34$

[0363] 实施例15

[0364] $N\{\epsilon 26\}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S]-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]- $N\{\epsilon\}$ -[(4S)-4-羧基-4-(19-羧基十九碳酰基氨基)丁酰基]

[0365] 基]Lys-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽



[0367] 化学式22;SEQ ID NO:17

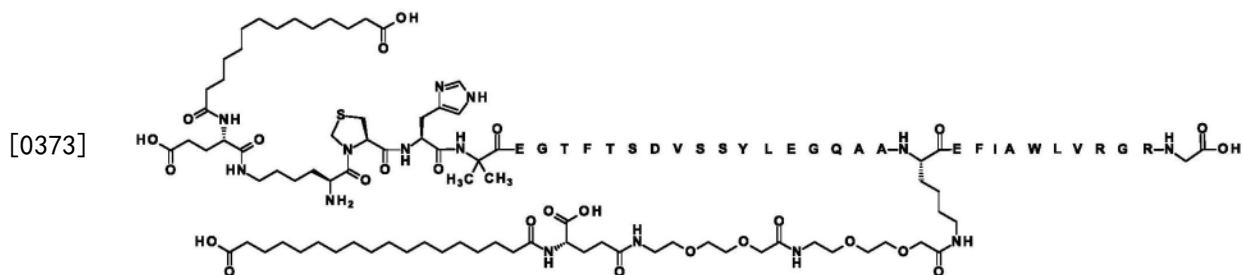
[0368] LCMS

[0369] 计算质量: $M/3=1603.51$; $M/4=1202.88$; $M/5=962.51$

[0370] 实测质量: $M/3=1603.43$; $M/4=1202.84$; $M/5=962.48$

[0371] 实施例16

[0372] $N\{\epsilon 26\}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S]-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]- $N\{\epsilon\}$ -[(2S)-4-羧基-2-(13-羧基十三碳酰基氨基)丁酰基]Lys-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽



[0374] 化学式23;SEQ ID NO:18

[0375] LCMS

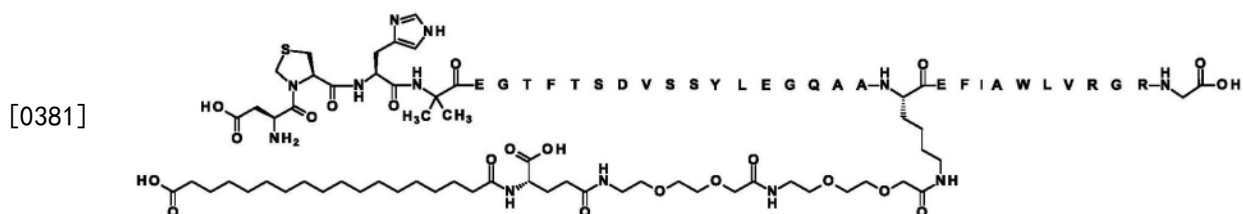
[0376] 计算质量: $M/3=1575.48$; $M/4=1181.86$; $M/5=945.69$

[0377] 实测质量:M/3=1575.40;M/4=1181.82;M/5=945.67

[0378] 实施例17

[0379] N{ε26}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰

[0380] 基]-Asp-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽



[0382] 化学式24;SEQ ID NO:19

[0383] LCMS

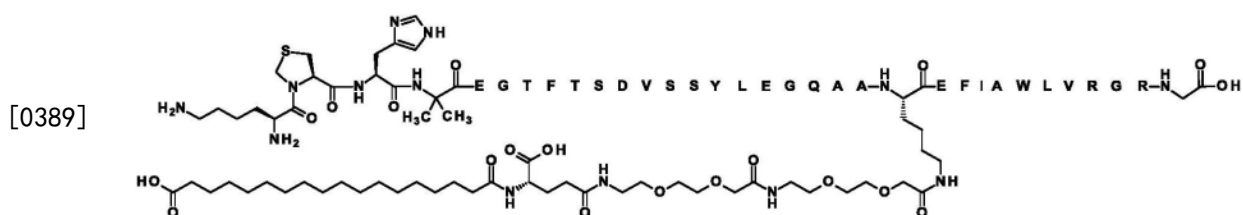
[0384] 计算质量: $M/2=2171.58$; $M/3=1448.05$; $M/4=1086.29$

[0385] 实测质量: $M/2=2171.56$; $M/3=1448.06$; $M/4=1086.30$

[0386] 实施例18

[0387] N{ε26}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰

[0388] 基]-Lys-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽



[0390] 化学式25;SEQ ID NO:20

[0391] LCMS

[0392] 计算质量:M/3=1452.41;M/4=1089.55;M/5=871.84

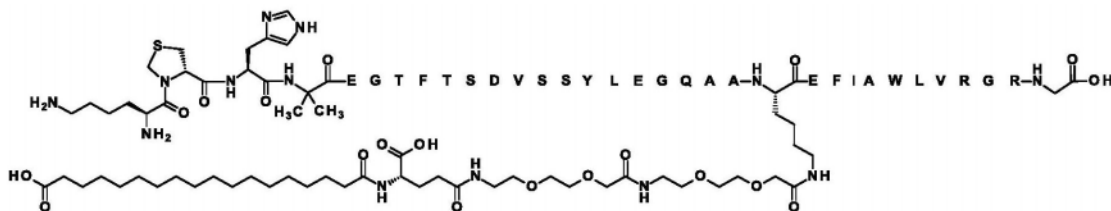
[0393] 实测质量:M/3=1452.34;M/4=1089.53;M/5=871.83

[0394] 实施例19

[0395] N{ε26} - [2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S) -4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基) 丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰

[0396] 基]-Lys-D-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽

[0397]



[0398] 化学式26;SEQ ID NO:21

[0399] LCMS

[0400] 计算质量:M/3=1452.41;M/4=1089.55;M/5=871.84

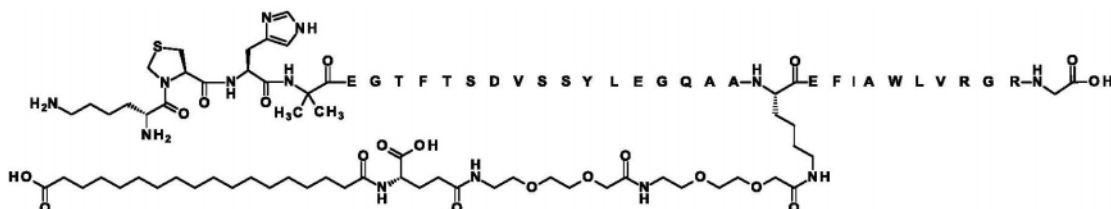
[0401] 实测质量:M/3=1452.34;M/4=1089.53;M/5=871.84

[0402] 实施例20

[0403] N{ε26}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基

[0404] 基]-D-Lys-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽

[0405]



[0406] 化学式27;SEQ ID NO:22

[0407] LCMS

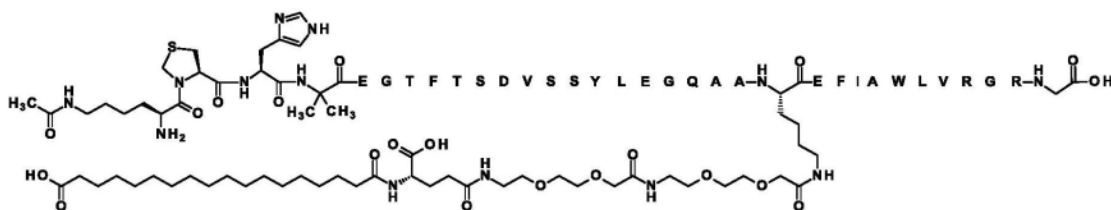
[0408] 计算质量:M/3=1452.41;M/4=1089.55;M/5=871.84

[0409] 实测质量:M/3=1452.34;M/4=1089.53;M/5=871.83

[0410] 实施例21

[0411] N{ε26}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-N{ε}- (乙酰基)Lys-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽

[0412]



[0413] 化学式28;SEQ ID NO:23

[0414] LCMS

[0415] 计算质量:M/3=1466.41;M/4=1100.06;M/5=880.25

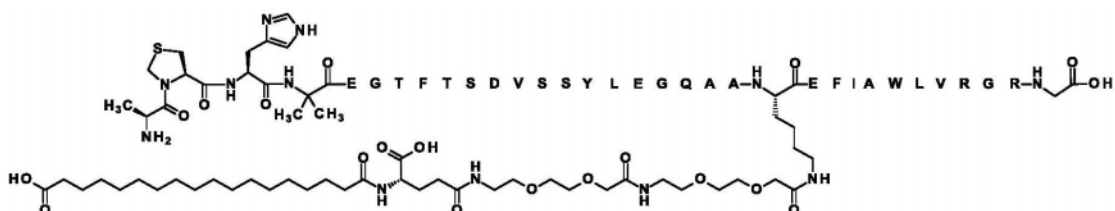
[0416] 实测质量:M/3=1466.34;M/4=1100.02;M/5=880.24

[0417] 实施例22

[0418] N{ε26}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基

[0419] 基]-Ala-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽

[0420]



[0421] 化学式29;SEQ ID NO:24

[0422] LCMS

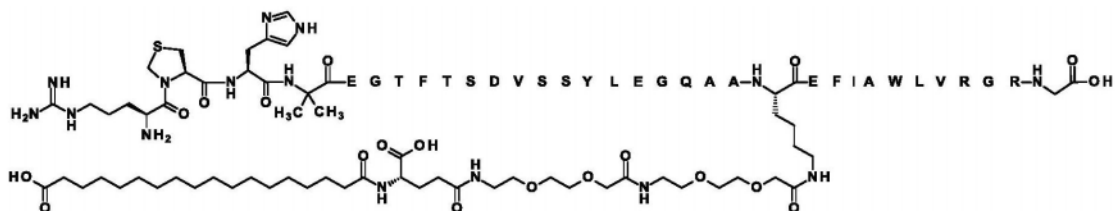
[0423] 计算质量: $M/3=1433.39$; $M/4=1075.29$; $M/5=860.43$ [0424] 实测质量: $M/3=1433.33$; $M/4=1075.27$; $M/5=860.42$

[0425] 实施例23

[0426] $N\{\epsilon 26\}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]

[0427] 基]-Arg-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽

[0428]



[0429] 化学式30;SEQ ID NO:25

[0430] LCMS

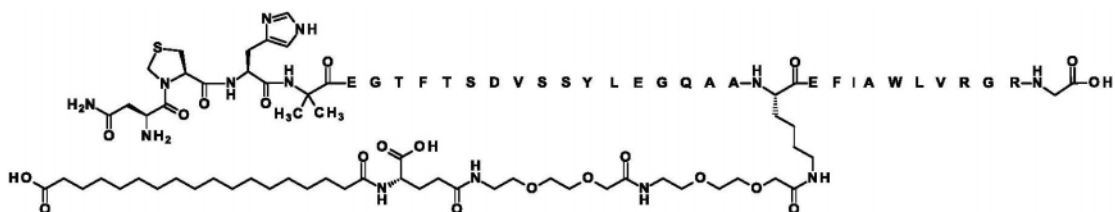
[0431] 计算质量: $M/3=1461.74$; $M/4=1096.56$; $M/5=877.45$ [0432] 实测质量: $M/3=1461.67$; $M/4=1096.52$; $M/5=877.43$

[0433] 实施例24

[0434] $N\{\epsilon 26\}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]

[0435] 基]-Asn-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽

[0436]



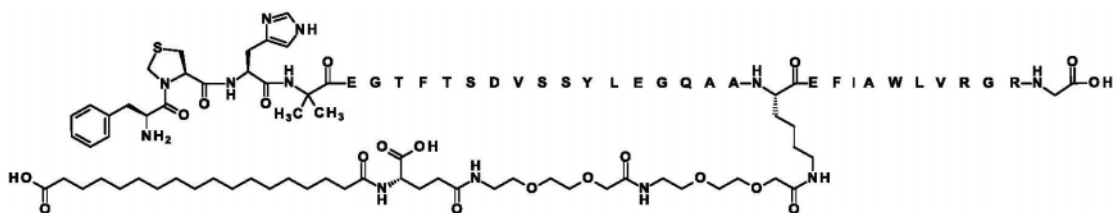
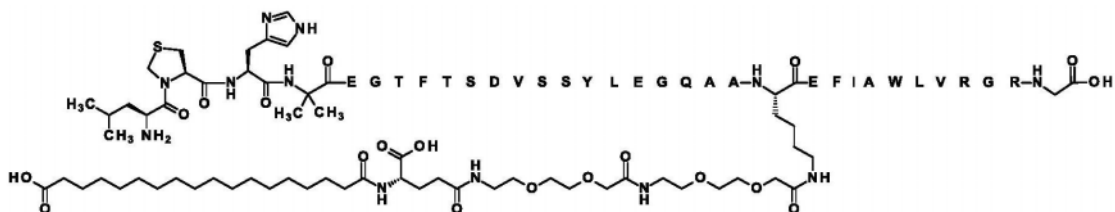
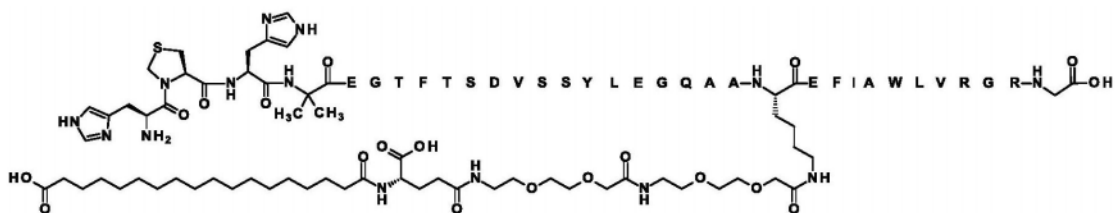
[0437] 化学式31;SEQ ID NO:26

[0438] LCMS

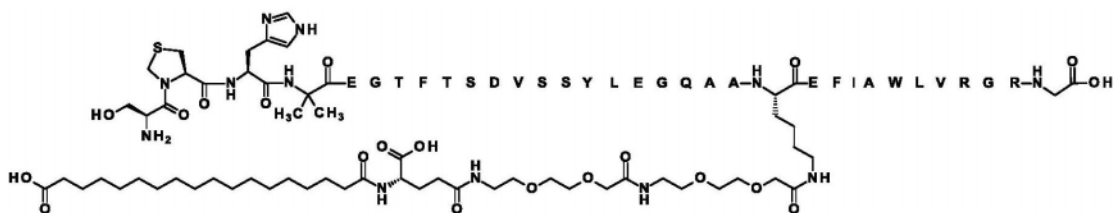
[0439] 计算质量: $M/3=1447.72$; $M/4=1086.04$; $M/5=869.03$ [0440] 实测质量: $M/3=1447.67$; $M/4=1086.02$; $M/5=869.03$

[0441] 实施例25

[0442] $N\{\epsilon 26\}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-His-Thz-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽



[0467]



[0468] 化学式35;SEQ ID NO:30

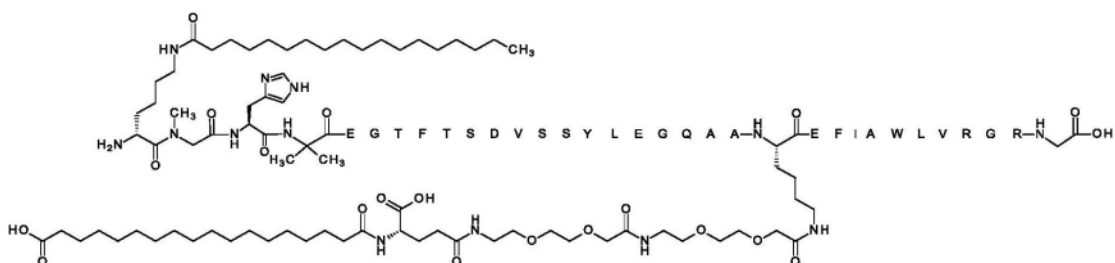
[0469] LCMS

[0470] 计算质量: $M/3=1438.72$; $M/4=1079.29$; $M/5=863.63$ [0471] 实测质量: $M/3=1438.66$; $M/4=1079.27$; $M/5=863.62$

[0472] 实施例29-参考化合物

[0473] $N\{\epsilon^{26}\}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七碳酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]- $N\{\epsilon\}$ -(十八碳酰基)D-Lys-Sar-[Aib8,Arg34]-GLP-1-(7-37)-肽

[0474]



[0475] 化学式36;SEQ ID NO:31

[0476] LCMS

[0477] 计算质量: $M/3=1526.50$; $M/4=1145.13$; $M/5=916.30$ [0478] 实测质量: $M/3=1526.76$; $M/4=1145.32$; $M/5=916.46$

[0479] 测量转化半衰期的一般方法

[0480] 进行该测定以研究本发明前药的前药到药物的转化半衰期。在37℃孵育后,在pH 7.4下体外研究转化半衰期。

[0481] 通过将冻干粉未溶解在PBS缓冲液中至200 μ M的目标来制备肽储备溶液。PBS缓冲液是不含CaCl₂和MgCl₂的Dulbecco磷酸盐缓冲盐水,gibco 14190-094,调节至pH=7.4。用0.02M HCl或0.02M NaOH将肽储备溶液的pH调节至7.4。将样品装入带有固定插入件的Agilent HPLC小瓶中。将小瓶封盖以防止蒸发。HPLC小瓶在37℃下孵育,并在2周期限内的不同时间点取出样品,于-80℃急骤冷冻,并储存在-20℃下直至分析。

[0482] 使用UPLC联合215nm的UV检测和MS (UPLC-UV-MS) 进行样品分析。将1 μ l样品注入到具有流通式针头注射系统的Waters Acquity UPLC上和Waters Acquity CSH C18柱(1*150mm)上,粒径为1.7 μ m并保持于55℃。使用二元溶剂管理泵输送100 μ l/min的流速,其中0.1%甲酸水溶液作为溶剂A,0.1%甲酸的乙腈溶液作为溶剂B。通过从0至4min使用15-32% B,然后从4至54min使用32-48% B,进行梯度洗脱。

[0483] 通过MS确认前药的身份,并将来自215nm处UV信号的峰纯度——面积%——作为自然对数对时间绘图,并使用斜率(k)计算一级半衰期($T_{1/2} = \ln(2)/k$)。

[0484] 实施例30

[0485] 本发明化合物的前药到药物的转化半衰期如测量转化半衰期的一般方法中所述测量。结果呈现在表3中。本发明的所有化合物都具有3.3天或更长的转化半衰期。本发明的化合物与高得惊人的转化半衰期相关。

[0486] 表3:转化半衰期

[0487]

化合物	转化半衰期[天]
化学式 8	7.3
化学式 9	3.5
化学式 10	5.6
化学式 11	3.6
化学式 12	6.8
化学式 13	7.1
化学式 14	6.2
化学式 15	6.4
化学式 16	6.1
化学式 17	7.9
化学式 18	7.0
化学式 19	5.5
化学式 20	6.7
化学式 21	7.1
化学式 22	5.0
化学式 23	6.4
化学式 24	9.8
化学式 25	9.7
化学式 26	3.7
化学式 27	8.3
化学式 28	11.1

[0488]	化学式 29	11.9
	化学式 30	7.8
	化学式 31	3.3
	化学式 32	6.3
	化学式 33	9.5
	化学式 34	11.2
	化学式 35	9.1
	化学式 36 (参考化合物)	2.5

[0489] 测量终末半衰期的一般方法

[0490] 进行该测定以研究以游离形式施用的药物的终末半衰期或研究作为前药施用的药物(即母体药物)的观察到的终末半衰期。在小型猪中研究了终末半衰期。

[0491] 三(3)头 **Göttingen** 小型猪(约25kg)配有两根中央导管。一根导管用于静脉内给药,例如在诸如磷酸盐、丙二醇和聚山梨醇酯等合适的制剂(pH 7.4)中配制的10nmol/kg (0.05ml/kg)的测试化合物,并用盐水冲洗。给药后,在预定时间点(0-3周)经由第二根导管采集血样(0.8ml)。将样品离心,并将0.2ml血浆用于生物分析。

[0492] 生物分析如下进行:血浆样品通过蛋白质沉淀进行破碎(crash)并通过turboflow LCMS进行分析。通过向来自相关物种的空白血浆中掺加测试化合物(通常在0.5至500nM的范围内)来制备校准品。校准品、血浆空白和研究样品用3倍体积的乙醇进行沉淀,然后在4℃下以6300rpm离心30分钟。在观察到较高背景干扰的基质中,以1:1的比例使用乙腈进行第二次沉淀。上清液用含有1%甲酸的水按1:2(或1:1)的比例稀释。在室温下使用Cyclone turboflow柱(TurboFlow Cyclone 0.5x 50mm,Thermo Fischer Scientific)通过turboflow LCMS分析样品,以及在60℃下使用Aeris Peptide 3.6μm XB-C18分析柱(2.1x 50mm,Phenomenex)分析样品。使用流动相A(由含有1%甲酸和5%甲醇/乙腈(50/50)的milli-Q水组成)和流动相B(由含有1%甲酸和5%milli-Q水的甲醇/乙腈(50/50)组成)进行梯度洗脱。QExactive Plus质谱仪以单离子监测模式用作检测器。线性校准曲线(加权1/x²)用于计算血浆样品中的浓度。

[0493] 使用WinNonlin Phoenix 64(8.10版,CERTARA)通过非房室分析(NCA)评估测试化合物的血浆浓度(相对于时间)曲线并估计标准药代动力学参数。使用优化R²的最佳拟合模型估计终末半衰期和/或观察到的终末半衰期。使用添加到Phoenix 64(8.10版,CERTARA)的NMLE来构建模型以拟合数据。

[0494] 实施例31

[0495] 终末半衰期和/或观察到的终末半衰期如测量终末半衰期的一般方法中所述测量。在小型猪中以游离形式施用的司美格鲁肽的终末半衰期为69小时。本发明的两种化合物以及参考化合物的观察到的终末半衰期在表4中呈现。本发明化合物的(释放的司美格鲁肽的)观察到的终末半衰期至少为100小时。本发明的化合物与高得惊人的观察到的终末半

衰期相关,这构成了本文要求保护的前药技术的概念验证。

[0496] 表4:在小型猪中观察到的终末半衰期

[0497]	化合物	观察到的终末半衰期[小时]
	测试1	154
	测试2	121
	化学式36 (参考化合物)	78

[0498] 测量口服生物利用度的一般方法

[0499] 进行该测定以测量化合物的口服生物利用度。如相关药代动力学参数和血浆浓度曲线所述,该测定确定了测试化合物在比格犬中经口给药后的暴露。

[0500] 用于口服给药的片剂的制备:用于本文所述测定的含有测试化合物的片剂是基于SNAC的立即释放片剂。将测试化合物喷雾干燥为中性钠盐(pH 7-8)。在Gerteis MINI-PACTOR上通过辊压进行干法制粒。在Kilian Style One上使用7.2x12 mm冲头生产含有3mg测试化合物、300mg N-(8-(2-羟基苯甲酰基)氨基)辛酸钠(SNAC)和7.7mg硬脂酸镁的片剂。

[0501] 口服给药后的吸收的测定:使用八(8)只雄性比格犬,在研究开始时年龄为1至5岁,体重约为10-12kg。犬在围栏中分组圈养(12小时光照:12小时黑暗),并单独且限制性地每日一次饲以Royal Canin Medium Adult狗粮(Royal Canin Products,China Branch,或Brogaarden A/S,丹麦)。只要可能,允许每天进行运动和群体社交。使用这些犬进行重复的药代动力学研究,其中在连续给药之间具有适当的洗脱期。在开始第一次药代动力学研究之前给予适当的适应期。动物的所有处理、给药和血液采样都由受过训练且熟练的人员进行。在研究之前,令犬禁食整夜以及在给药后0至4h禁食。此外,在给药前1小时直到给药后4小时限制犬饮水,而在整个期间的其余时间随意饮水。

[0502] 包含测试化合物的片剂以下述方式施用:在片剂给药前10min,向犬皮下给予约3nmol/kg的SEQ ID NO:32。将片剂置于犬的口腔后部以防止咀嚼。然后使嘴闭合,并通过注射器给予10mL或50mL自来水,以促进片剂的吞咽。在预定的时间点采集血样,持续直到给药后336小时,以充分覆盖前药的完整血浆浓度-时间吸收曲线。对于每个血液采样时间点,在1.5mL EDTA包被的管中收集约1.2mL的全血,并将该管轻轻转动以使样品与EDTA混合。然后,将血样保持在冰上,直到离心(4min,4°C,4000rpm)。将血浆吸移至干冰上的Micronic管中,并保持于-20°C直到分析。酌情取得血液样品,例如在前2小时从前腿的头静脉中的venflon取得,然后对于其余的时间点,采用注射器从颈静脉取得(使前几滴从venflon中排出,以避免样品中有来自venflon的肝素盐水)。

[0503] 生物分析如下进行:通过血浆蛋白质沉淀测定测试化合物的血浆浓度,并通过液相色谱-质谱法(LC-MS)对其进行分析。通过向空白犬血浆中掺加分析物以达到通常在2至200nM范围内的终浓度来制备校准品。通过添加3倍体积的乙醇进行蛋白质沉淀,随后在4°C下以4000rpm离心1h,为LC-MS准备校准品、血浆空白或研究样品。在注入到LC-MS系统之前,将上清液用2倍体积的含有1%甲酸的Milli-Q水进行稀释。使用的系统是与来自Thermo Scientific的Orbitrap Exploris 240质谱仪耦接的来自Thermo Scientific(Waltham, MA,USA)的Transcend II Interface Module SRD3200系统。LC配备有作为第一维捕集柱的Cyclone柱(CH-953288,Thermo Scientific)以及作为分析柱的Poroshell 120SB-C18 2.7 μm(2.1x 50mm,来自Agilent,Santa Clara,CA,USA)。加载泵的流动相组成如下:流动相A由

95%milli-Q水、2.5%乙腈、2.5%甲醇和0.1%甲酸组成;流动相B由47.5%乙腈、47.5%甲醇、5%milli-Q水和0.1%甲酸组成。感兴趣的分析物在30% B时从Turbo flow柱加载到第二维分析柱。使用流动相A(95%milli-Q水、2.5%乙腈、2.5%甲醇和0.1%甲酸)和流动相B(47.5%乙腈、47.5%甲醇、5%milli-Q水和0.1%甲酸),以逐渐攀升的梯度用洗脱泵进行梯度洗脱,该梯度为在0.25分钟内从0%流动相B到70%流动相B,在1.17分钟内从70%流动相B到80%流动相B,然后在1.17分钟内从80%流动相B到95%流动相B。Orbitrap Exploris 240在正电离模式下以平行反应监测 (PRM) 扫描模式运行。线性校准曲线(加权1/x²)用于计算血浆样品中的测试化合物浓度,以确定最大血浆浓度(C_{max})。包括针对分析物的质量控制样品。校准品和质量控制样品中的标称浓度和计算浓度之间的偏差低于15%,而LLOQ样品低于20%。使用WinNonlin Phoenix 64(8.10版,CERTARA)通过非房室分析(NCA)评估测试化合物的血浆浓度(相对于时间)曲线并估计标准药代动力学参数。结果被报告为剂量校正的血浆浓度(相对于时间)曲线以及剂量校正的最大血浆浓度(C_{max}/剂量)和剂量校正的曲线下面积(AUC/剂量)。

[0504] 实施例32

[0505] 口服生物利用度如测量口服生物利用度的一般方法中所述确定。本发明的两种化合物以及参考化合物的相关药代动力学参数在表5中呈现。本发明的化合物与高得惊人的C_{max}/剂量相关。本发明的两种化合物以及参考化合物的剂量校正的血浆浓度(相对于时间)曲线在图1中呈现。本发明的化合物与通过剂量归一化血浆浓度曲线确定的高得惊人的暴露相关。本发明的化合物与高得惊人的口服生物利用度相关。

[0506] 表5:在比格犬中经口给药后的药代动力学参数

[0507]

化合物	C _{max} /剂量[kg/L]	AUC/剂量[kg*hr/L]
测试1	0.35	24.0
测试2	0.32	24.2
化学式36(参考化合物)	0.10	1.6

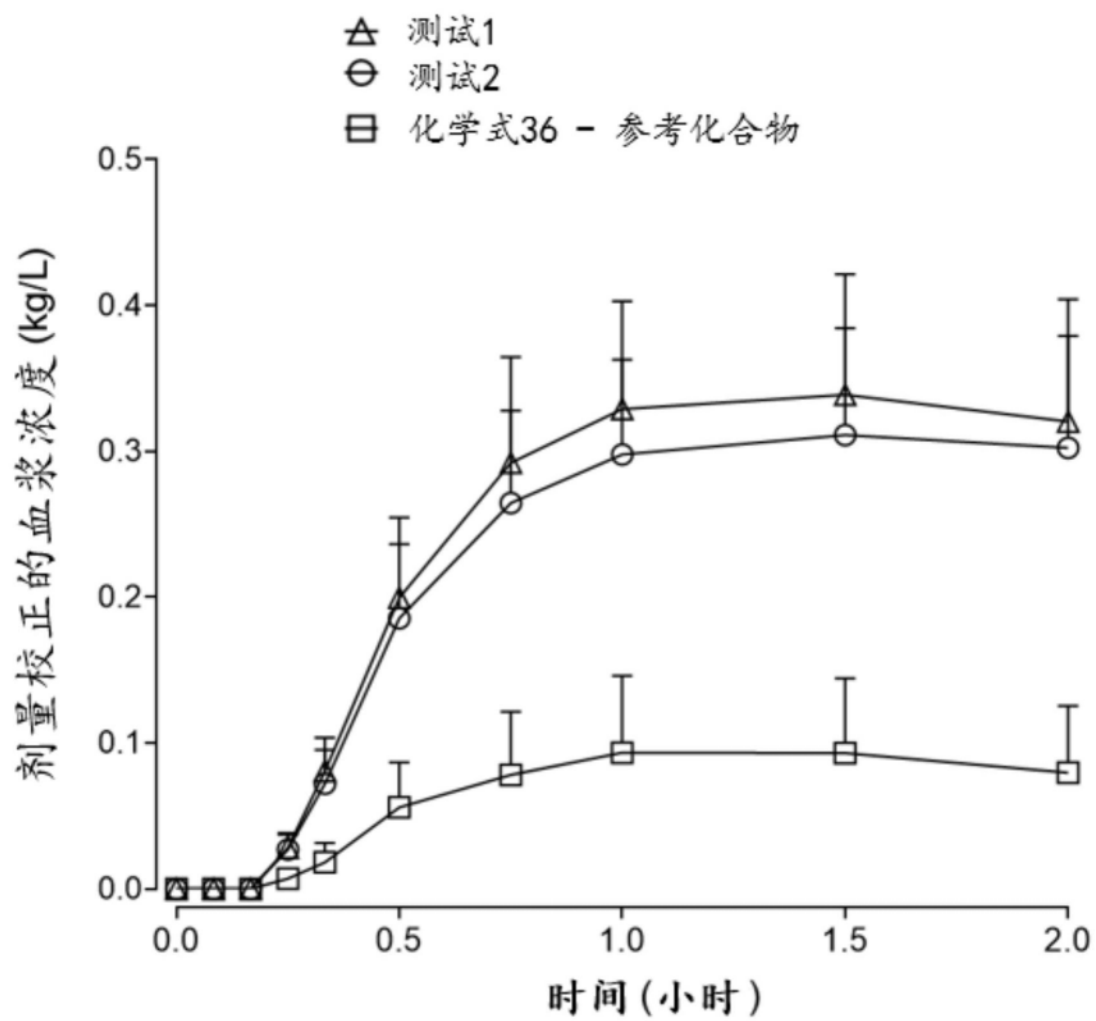


图1