



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0031737

(51)⁷ C07K 14/575; C07K 14/655

(13) B

(21) 1-2016-00755

(22) 17/09/2014

(86) PCT/EP2014/069842 17/09/2014

(87) WO 2015/040089 26/03/2015

(30) 13382361.7 18/09/2013 EP

(45) 25/04/2022 409

(43) 27/06/2016 339A

(73) BCN PEPTIDES S.A. (ES)

Pol. Ind. Els Vinyets. Els Fogars, Ctra. Comarcal 244, km. 22 -, E-08777 Sant Quinti De Mediona, Spain

(72) PONSATI OBIOLS, Berta (ES); FERNÁNDEZ CARNEADO, Jimena (ES);
FARRERA-SINFREU, Josep (ES); PARENTE DUEÑA, Antonio (ES).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT TƯƠNG TỰ CORTISTATIN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT
NÀY DÙNG ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH UNG THƯ

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất tương tự cortistatin. Hợp chất này là phối tử peptit dùng để ngăn ngừa và điều trị các bệnh, trong đó các thụ thể có khả năng gắn kết với cortistatin. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến quy trình điều chế hợp chất và dược phẩm chứa hợp chất này dùng để điều trị bệnh ung thư.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các chất tương tự cortistatin và việc sử dụng chúng. Các hợp chất theo sáng chế là phối tử của peptit có ứng dụng tiềm năng trong chẩn đoán, ngăn ngừa hoặc liệu pháp cho các bệnh lý, trong đó có biểu hiện các thụ thể có khả năng liên kết với cortistatin.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Cortistatin (CST) là peptit nội sinh tự nhiên chứa 14 axit amin, được tìm thấy ở chuột rattus năm 1996 (CST-14) [*de Lecea et al., Nature, 1996, 381, 242-245*] và cuối năm 1997, tìm thấy ở người ở dạng mở rộng chứa 17 axit amin (CST-17) [*Fukusimi et al., Biochem. Biophys. Res. Commun, 1997, 232, 157-163*]. Trong thực tế, cortistatin tồn tại ở hai dạng có hoạt tính sinh học là tiền chất của nó (prepro-CST) tạo ra CST-14 và CST-29 ở động vật gặm nhấm và tạo ra CST-17 và CST-29 ở người.

Cortistatin có độ tương đồng cao với một peptit nội sinh khác, somatostatin (SST), mà được bảo toàn cao và được tìm thấy ở động vật có vú dưới dạng somatostatin-14 (SST-14) và somatostatin-28 (SST-28):

Trình tự của cortistatin và somatostatin như sau:

H₂N-Pc[CKNFFWKTFSSC]K-OH Cortistatin-14 (chuột rattus/chuột)

H₂N-DRMPc[CRNFFWKTFSSC]K-OH Cortistatin-17 (người)

H₂N-AGc[CKNFFWKTFSTSC]-OH Somatostatin-14 (người/chuột rattus/chuột)

Trong thực tế, cortistatin tương tác với 5 thụ thể màng bắt cặp với protein G của somatostatin, sstr1-sstr5 [a) *Spier et al., Brain Research Reviews* 2000, 33, 228-241; b) *Patel et al., Endocrinology* 1994, 135, 2814-2817]. Nhưng cortistatin không phải là somatostatin [Gonzalez-Rey et al., *Mol. Cell. Endocrinol.* 2008, 286 (1-2), 135-140], và do đó, ngoài ái lực ở cấp độ nanomol của nó với thụ thể của somatostatin, cortistatin còn tương tác với thụ thể Ghrelin (GHSR). Ngoài ra, trong khi nghiên cứu thụ thể đặc hiệu cho cortistatin, thụ thể mô côi MrgX2 được mô tả là thụ thể đặc hiệu ở người đầu tiên cho cortistatin [Robas et al., *J. Biol. Chem.* 2003, 278, 44400-44404]. Sau đó, việc thụ thể này không có trong tế bào của hệ miễn dịch và việc nó có ái lực cao với các peptit thần kinh khác, như proadrenomedullin, khiến nó không còn được coi là thụ thể cortistatin đặc hiệu nữa [van Hagen et al., *Mol. Cell. Endocrinol.* 2008, 286(1-2), 141-147] và việc xác định đặc tính của thụ thể cortistatin đặc hiệu vẫn còn là vấn đề chưa được giải quyết.

Hoạt tính điều hòa miễn dịch của cortistatin đã được chứng minh rộng rãi trong mô hình thử nghiệm đối với bệnh có tiến triển đáp ứng viêm và miễn dịch tự miễn như Sốc nội độc tố gây chết, bệnh Crohn và bệnh viêm khớp dạng thấp [a) *Gonzalez-Rey et al., J. Exp. Med.* 2006, 203(3), 563-571; b) *Gonzalez-Rey et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006, 103, 4228-4233; c) *Gonzalez-Rey et al., Ann. Rheum. Dis.* 2007, 66 (5), 582-588; d) *WO 2007/082980 A1*]. Tác dụng điều hòa miễn dịch nêu trên có thể liên quan tới sự biểu hiện của nó ở tế bào limphô, bạch cầu đơn nhân, đại thực bào và các tế bào đuôi gai và tế bào của hệ miễn dịch [a) *Dalm V.A. et al., Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2003, 285, E344-353; b) *Dalm V.A. et al., J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003, 88, 270-276]. Sự biểu hiện của cortistatin và thụ thể của nó ở hệ miễn dịch của người và trong các bệnh lý của hệ miễn dịch gần đây đã được nhắc đến [van Hagen et al., *Mol. Cell. Endocrinol.* 2008, 286(1-2), 141-147].

Trong các nghiên cứu nêu trong các tài liệu viện dẫn ở trên mà cho thấy hiệu quả của cortistatin trên các bệnh có yếu tố viêm và miễn dịch, có sử dụng CST-29. CST-29 là peptit nội sinh dài, rất khó tổng hợp và do đó, khả năng sản xuất trong công nghiệp thấp đã ứng dụng trong lĩnh vực dược phẩm. Việc sử dụng nó trong

được phẩm của nó còn gặp phải một vấn đề nữa: tính ổn định trong huyết thanh của nó thấp.

Các đề xuất khác đang được nghiên cứu cũng chứng minh hiệu quả của peptit nội sinh CST-17 kết hợp với peptit thần kinh EI trong điều trị tình trạng viêm và bệnh miễn dịch tự miễn [WO 2009/043523 A2], thể hiện ưu điểm là làm giảm tính khó khăn trong quá trình tổng hợp nó để sử dụng trong công nghiệp. Tuy nhiên, các đề xuất nêu trên vẫn có nhược điểm là độ ổn định của CST-17 trong huyết thanh thấp do cấu trúc tự nhiên của nó có các L-axit amin.

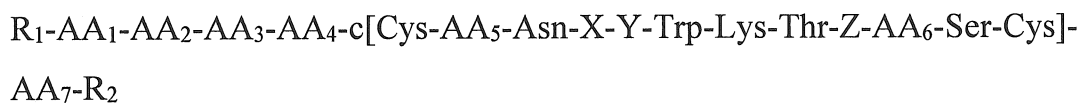
Thông thường, các dược chất dựa trên peptit thường có nhiều ưu điểm do peptit về mặt bản chất là không độc, chúng có hiệu quả khi dùng liều thấp, điều này đảm bảo rằng chúng không gây ra tác dụng phụ đáng kể so với các dược chất khác dựa trên phân tử nhỏ hoặc trên kháng thể, nhưng cần phải cải biến chúng để cải thiện độ khả dụng sinh học và thời gian bán hủy của chúng. Việc kết hợp các axit amin không có trong tự nhiên vào trình tự tự nhiên là một trong số các phương pháp đã biết trong lĩnh vực trước đó để làm tăng tính ổn định của peptit nội sinh. Ví dụ, việc cải biến đối với somatostatin có các axit amin được halogen hóa, bằng p-cloro-Phe và pentafluoro-Phe ở các vị trí 6, 7 và 11, đã được mô tả [WO 2007/081792 A2; Meyers C.A. et al., *Digestion* 1981, 21(1), 21-4]. Việc cải biến tại các vị trí 6, 7 và 11 của somatostatin ban đầu cũng bằng mesitylalanin và mesitylglyxin, cũng tạo ra các chất tương tự của somatostatin có tính ổn định hơn [WO 2010/128098 A1]. Tuy nhiên các cải biến có tác dụng làm ổn định này có thể làm giảm chức năng của phân tử ban đầu. Điều này xảy ra với octreotit, một chất tương tự của somatostatin trong sử dụng lâm sàng nó ổn định hơn nhiều so với phân tử ban đầu, tiếp tục liên kết với thụ thể sstr2 nhưng lại mất hoàn toàn ái lực của nó với thụ thể ssstr1 và sstr4. [Patel et al., *Endocrinology* 1994, 135, 2814-2817].

Thời gian bán hủy trong máu của peptit nội sinh như somatostatin và cortistatin là vô cùng ngắn, hiếm khi đạt tới vài phút [Skamene et al., *Clin. Endocrinol.* 1984, 20, 555-564]. Do đó, có nhu cầu tìm ra các chất tương tự cortistatin được tổng hợp

mới để điều trị các bệnh lý trong đó có biểu hiện các thụ thể cortistatin đặc hiệu và các thụ thể chia sẻ với phân tử khác như somatostatin (sstr1, sstr2, sstr3, sstr4 và/hoặc sstr5) và/hoặc ghrelin (GHSR), ngoài ra, chúng có tính ổn định hơn trong máu so với cortistatin.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Khía cạnh đầu tiên theo sáng chế này chỉ hợp chất được xác định có công thức (I),



(I)

các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng và/hoặc muối được dụng của nó, trong đó

AA₁ là Asp hoặc một liên kết

AA₂ là Arg hoặc một liên kết

AA₃ là Met hoặc Ala hoặc một liên kết

AA₄ là Pro hoặc Gly

AA₅ là Lys hoặc Arg

AA₆ là Ser hoặc Thr

AA₇ là Lys hoặc một liên kết

X, Y, Z là các axit amin Phe, Phg, Msa, 3,4,5-trimethylphenylalanin, Msg, 3,4,5-trimethylphenylglyxin và/hoặc dihalogenophenylalanin, diW-Phe;

W được chọn từ nhóm bao gồm F, Cl, Br và I;

R₁ được chọn từ nhóm bao gồm H, nhóm béo được thế hoặc không được thế không vòng, alixyclyl được thế hoặc không được thế, heteroxyclyl được thế hoặc không được thế, heteroarylalkyl được thế hoặc không được thế, aryl được thế hoặc không được thế, aralkyl được thế hoặc không được thế, polyme có nguồn gốc từ polyetylen glycol, chất tạo chelat và R₅-CO-;

R₂ được chọn từ nhóm bao gồm -NR₃R₄, -OR₃ và -SR₃;

R₃ và R₄ độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H, nhóm béo được thế hoặc không được thế không vòng, alixyclyl được thế hoặc không được thế, heteroxyclyl được thế hoặc không được thế, heteroarylalkyl được thế hoặc không được thế, aryl được thế hoặc không được thế, và aralkyl và polyme được thế hoặc không được thế;

R₅ được chọn từ nhóm bao gồm H, nhóm béo được thế hoặc không được thế không vòng, alixyclyl được thế hoặc không được thế, aryl được thế hoặc không được thế, aralkyl được thế hoặc không được thế, heteroxyclyl được thế hoặc không được thế và heteroarylalkyl được thế hoặc không được thế;

và với điều kiện là:

- Ít nhất một trong các axit amin X, Y hoặc Z là Msa, 3,4,5-trimetylphenylalanin, Msg, 3,4,5-trimetylphenylglyxin và/hoặc dihalogenophenylalanin, diW-Phe;
- Nếu AA₁ và AA₂ là các liên kết, AA₃ là Ala, AA₄ là Gly, AA₅ là Lys, AA₆ là Thr và AA₇ là liên kết, thì ít nhất một trong các axit amin X, Y hoặc Z là dihalogenophenylalanin, diW-Phe.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến quy trình điều chế hợp chất có công thức chung (I), các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng, hoặc muối dùng được trong mỹ phẩm hoặc dược phẩm của nó, được tiến hành sử dụng kỹ thuật tổng hợp pha rắn hoặc kỹ thuật tổng hợp trong dung dịch.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề cập đến được phẩm chứa lượng hiệu quả trị liệu của ít nhất một hợp chất có công thức chung (I), các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng, hoặc muối được dụng của nó.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế này mô tả các peptit mới, các chất tương tự cortistatin, có tác dụng kháng viêm và/hoặc điều hòa miễn dịch, tương tự với peptit tự nhiên. Việc đưa một số cải biến nhất định đối với các axit amin không có trong tự nhiên, như mesitylalanin và/hoặc dihalogenophenylalanin, cộng với sự kết hợp axit béo hoặc PEG hóa, sẽ bảo toàn và thậm chí cải thiện tác dụng kháng viêm và kháng miễn dịch tự miễn của phân tử tự nhiên *in vitro* và *in vivo*. Ngoài ra, lợi ích chính của các chất tương tự cortistatin mới này là peptit thu được, có một hoặc một vài cải biến, có thời gian bán hủy trong huyết thanh lâu hơn đáng kể so với phân tử nội sinh. Quá trình tổng hợp các chất tương tự cortistatin mới cũng khả thi về mặt kinh tế (với các trình tự tốt hơn là có từ 13 đến 17 axit amin), một khía cạnh đảm bảo tính hữu dụng của chúng trong công nghiệp dược phẩm. Các hợp chất theo sáng chế này là các hợp chất mới và tương đương về mặt chức năng với cortistatin vì tất cả chúng đều thể hiện tác dụng kháng viêm và/hoặc điều hòa miễn dịch tương tự như cortistatin *in vitro* và/hoặc *in vivo*.

Định nghĩa

Sáng chế đưa ra nghĩa của một số thuật ngữ và tả ngữ khi chúng được sử dụng trong nội dung của sáng chế, nhằm mục tiêu là hỗ trợ việc hiểu các thuật ngữ và tả ngữ này.

Thuật ngữ “chất tương tự cortistatin” chỉ hợp chất tương tác với ít nhất một trong các thụ thể của cortistatin đã biết và được chung với phân tử khác, như 5 thụ thể của somatostatin (sstr1, sstr2, sstr3, sstr4 và/hoặc sstr5) hoặc thụ thể ghrelin và/hoặc thụ thể cortistatin đặc hiệu vẫn được phát hiện. Do đó nó là phối tử của cortistatin thụ thể nêu trên và có thể có chức năng tương đương (hoặc chất kích thích) với cortistatin, với hoạt tính tương tự với cortistatin.

Thuật ngữ “tương đương về mặt chức năng (hoặc chất kích thích)” chỉ hợp chất thể hiện ái lực với một số thụ thể của phân tử ban đầu và, về mặt định tính, tạo ra tác dụng tương tự như phối tử nội sinh của thụ thể.

Thuật ngữ “chất tương tự của somatostatin” chỉ hợp chất tương tác với một hoặc nhiều thụ thể của somatostatin (sstr) và còn được biết như là phối tử của thụ thể nêu trên. Định nghĩa này được giới thiệu bởi Bevan et al. [in *J. Clin. Endocrinol. Metabolism*. 2005, 90, 1856-1863]. Trong EP 1040837 A2 thuật ngữ chất tương tự của somatostatin còn được xác định với viện dẫn đến tất cả các dẫn xuất được cải biến của somatostatin tự nhiên thể hiện hoạt tính liên quan đến somatostatin, như tương tác với ít nhất một trong các thụ thể của somatostatin (sstr1, sstr2, sstr3, sstr4 or sstr5)”.

Trong bản mô tả này, các chữ viết tắt được sử dụng cho các axit amin tuân theo quy định của Ủy ban Danh mục Hóa sinh IUPAC IUM được nêu ở *Eur. J. Biochem*, 1984, 138, 9-37 (Fig. 1).

Fig. 1: Các axit amin (hóa học lập thể không được xác định, trong tất cả các trường hợp nó có thể là L-, D- hoặc DL-)

Ala (A): Alanin

Asn (N): Asparagin

Asp (D): Axit aspartic

Arg (R): Arginin

Cys (C): Xystein

Gly (G): Glyxin

Lys (K): Lysin

Met (M): Metionin

Phe (F): Phenylalanin

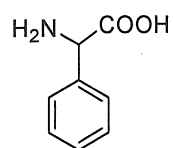
Pro (P): Prolin

Ser (S): Serin

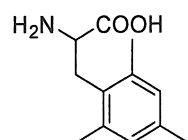
Thr (T): Treonin

Trp (W): Tryptophan

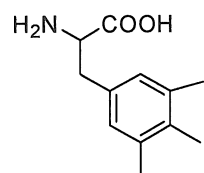
Phg: Phenylglyxin



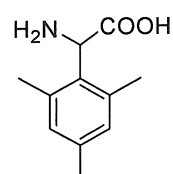
Msa: 2,4,6-trimethylphenylalanin hoặc 3-mesitylalanin



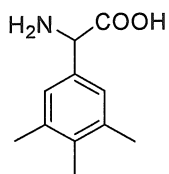
Tmp: 3,4,5-trimethylphenylalanin



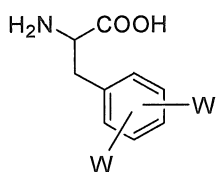
Msg: 2,4,6-Trimethylphenylglyxin or 2-mesitylglyxin



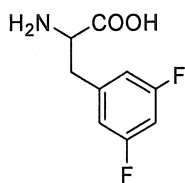
3,4,5-Trimethylphenylglyxin



DiW-Phe (trong đó W là F, Cl, Br hoặc I): Dihalogenophenylalanin, là phenylalanin trong đó nhóm phenyl được thế bởi hai nguyên tử halogen.



Dfp: 3,5-Diflophenylalanin



Chữ viết tắt “Ac-” được sử dụng trong bản mô tả này để nhận diện nhóm axetyl ($\text{CH}_3\text{-CO-}$), chữ viết tắt “Palm-” được sử dụng để nhận diện nhóm palmitoyl ($\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{14}\text{-CO-}$) và chữ viết tắt “Myr-” được sử dụng để nhận diện nhóm myristoyl ($\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{12}\text{-CO-}$).

Thuật ngữ “nhóm béo không vòng” được sử dụng trong sáng chế này để nhắc đến các nhóm alkyl mạch thẳng hoặc phân nhánh, alkenyl và alkynyl.

Thuật ngữ “nhóm alkyl” chỉ nhóm bão hòa, mạch thẳng hoặc phân nhánh mà có nằm trong khoảng từ 1 đến 24, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1 đến 16, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 1 đến 14, thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 1 đến 12, còn tốt hơn nữa là 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 hoặc 8 nguyên tử cacbon và được liên

kết với phần còn lại của phân tử bởi liên kết đơn, bao gồm, ví dụ và không bị giới hạn ở, metyl, etyl, isopropyl, isobutyl, *tert*-butyl, heptyl, octyl, dexyl, dodecyl, lauryl, hexadecyl, octadecyl, amyl, 2-ethylhexyl, 2-methylbutyl, 5-methylhexyl và tương tự.

Thuật ngữ “nhóm alkenyl” chỉ nhóm mạch thẳng hoặc phân nhánh, mà có nằm trong khoảng từ 2 đến 24, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2 đến 16, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 2 đến 14, thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 2 đến 12, còn tốt hơn nữa là 2, 3, 4, 5 hoặc 6 nguyên tử cacbon, với một hoặc nhiều liên kết đôi cacbon-cacbon, tốt hơn là với 1, 2 hoặc 3 liên kết đôi cacbon-cacbon, được tiếp hợp hoặc không được tiếp hợp, được liên kết với phần còn lại của phân tử bởi liên kết đơn, bao gồm, ví dụ và không bị giới hạn ở, nhóm vinyl ($-\text{CH}_2=\text{CH}_2$), allyl ($-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$), oleyl, linoleyl và tương tự.

Thuật ngữ “nhóm alkynyl” chỉ nhóm mạch thẳng hoặc phân nhánh, mà có nằm trong khoảng từ 2 đến 24, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2 đến 16, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 2 đến 14, thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 2 đến 12, còn tốt hơn nữa là 2, 3, 4, 5 hoặc 6 nguyên tử cacbon, với một hoặc nhiều liên kết ba cacbon-cacbon, tốt hơn là 1, 2 hoặc 3 liên kết ba cacbon-cacbon, được tiếp hợp hoặc không được tiếp hợp, được liên kết với phần còn lại của phân tử bởi liên kết đơn, bao gồm, ví dụ và không bị giới hạn ở, nhóm etynyl, 1-propinyl, 2-propinyl, 1-butinyl, 2-butinyl, 3-butinyl, pentinyl, như 1-pentinyl và tương tự. Nhóm alkynyl có thể còn chứa một hoặc nhiều liên kết đôi cacbon-cacbon, bao gồm, ví dụ và không bị giới hạn ở, nhóm but-1-en-3-inyl, pent-4-en-1-inyl và tương tự.

Thuật ngữ “nhóm alycyclic” được sử dụng trong sáng chế này để chỉ, ví dụ và không bị giới hạn ở, nhóm xycloalkyl hoặc xycloalkenyl hoặc xycloalkynyl.

Thuật ngữ “xycloalkyl” chỉ nhóm béo đa vòng hoặc đơn vòng bão hòa mà có nằm trong khoảng 3 đến 24, tốt hơn là nằm trong khoảng 3 đến 16, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng 3 đến 14, thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong khoảng 3 đến 12, còn tốt hơn nữa là 3, 4, 5 hoặc 6 nguyên tử cacbon và được liên kết với phần còn lại của

phân tử bởi liên kết đơn, bao gồm, ví dụ và không bị giới hạn ở, xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl, xycloheptyl, metyl xyclohexyl, dimetyl xyclohexyl, octahydroinden, decahydronaphtalen, dodecahydrophenalen và tương tự.

Thuật ngữ “xycloalkenyl” chỉ nhóm béo đa vòng hoặc đơn vòng không thơm mà có nằm trong khoảng từ 5 đến 24, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 5 đến 16, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 5 đến 14, thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 5 đến 12, còn tốt hơn nữa là 5 hoặc 6 nguyên tử cacbon, với một hoặc nhiều liên kết đôi cacbon-cacbon, tốt hơn là 1, 2 hoặc 3 liên kết đôi cacbon-cacbon, được tiếp hợp hoặc không được tiếp hợp, được liên kết với phần còn lại của phân tử bởi liên kết đơn, bao gồm, ví dụ và không bị giới hạn ở, nhóm xyclopent-1-en-1-yl và tương tự.

Thuật ngữ “xycloalkynyl” chỉ nhóm béo đa vòng hoặc đơn vòng không thơm mà có nằm trong khoảng từ 8 đến 24, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 8 đến 16, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 8 đến 14, thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 8 đến 12, còn tốt hơn nữa là 8 hoặc 9 nguyên tử cacbon, với một hoặc nhiều liên kết ba cacbon-cacbon, tốt hơn là 1, 2 hoặc 3 liên kết ba cacbon-cacbon, được tiếp hợp hoặc không được tiếp hợp, được liên kết với phần còn lại của phân tử bởi liên kết đơn, bao gồm, ví dụ và không bị giới hạn ở, nhóm xyclooct-2-in-1-yl và tương tự. Nhóm xycloalkynyl có thể còn chứa một hoặc nhiều liên kết đôi cacbon-cacbon, bao gồm, ví dụ và không bị giới hạn ở, nhóm xyclooct-4-en-2-inyl và tương tự.

Thuật ngữ “nhóm aryl” chỉ nhóm thơm mà có nằm trong khoảng từ 6 đến 30, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 6 đến 18, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 6 đến 10, còn tốt hơn nữa là 6 hoặc 10 nguyên tử cacbon, chứa 1, 2, 3 hoặc 4 vòng thơm, được liên kết bởi liên kết cacbon-cacbon hoặc được ngưng tụ, bao gồm, ví dụ và không bị giới hạn ở, phenyl, naphthyl, diphenyl, indenyl, phenanthryl hoặc antranyl, và tương tự; hoặc với nhóm aralkyl.

Thuật ngữ “nhóm aralkyl” chỉ nhóm alkyl được thế bởi nhóm thơm, với nằm trong khoảng từ 7 đến 24 nguyên tử cacbon và bao gồm, ví dụ và không bị giới hạn ở, $-(CH_2)_{1-6}$ -phenyl, $-(CH_2)_{1-6}$ -(1-naphthyl), $-(CH_2)_{1-6}$ -(2-naphthyl), $-(CH_2)_{1-6}$ -CH(phenyl)₂ và tương tự.

Thuật ngữ “nhóm heterocyclyl” chỉ vòng hydrocarbon hóa có 3-10 cạnh, trong đó một hoặc nhiều nguyên tử trong các nguyên tử trong vòng, tốt hơn là 1, 2 hoặc 3 nguyên tử trong các nguyên tử trong vòng, là thành phần khác với cacbon, như nitơ, oxy hoặc lưu huỳnh và có thể là bão hòa hoặc không bão hòa. Đối với các mục đích theo sáng chế này, dị vòng có thể là hệ vòng, vòng đơn, vòng đôi hoặc vòng ba, mà có thể bao gồm hệ vòng ngưng tụ; và nguyên tử nitơ, cacbon hoặc lưu huỳnh trong gốc heterocyclyl có thể được tùy ý oxy hóa; nguyên tử nitơ có thể được tùy ý tạo bậc bốn; và gốc heterocyclyl có thể là một phần hoặc hoàn toàn bão hòa hoặc là thơm. Thuật ngữ heterocyclyl được ưu tiên nhất là để chỉ vòng có 5 hoặc 6 cạnh. Ví dụ về nhóm heterocyclyl bão hòa là dioxan, piperidin, piperazin, pyrrolidin, morpholin và tiomorpholin. Ví dụ về nhóm heterocyclyl thơm, cũng được biết đến như là nhóm dị thơm là pyridin, pyrol, furan, tiophen, benzofuran, imidazolin, quinolein, quinolin, pyridazin và naphthyridin.

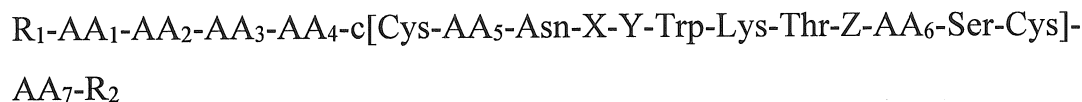
Thuật ngữ “nhóm heteroarylalkyl” chỉ nhóm alkyl được thế bởi nhóm heterocyclyl thơm được thế hoặc không được thế, nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon và the nhóm heterocyclyl thơm nằm trong khoảng từ 2 đến 24 nguyên tử cacbon và từ 1 đến 3 nguyên tử khác với cacbon bao gồm, ví dụ và không bị giới hạn ở, $-(CH_2)_{1-6}$ -imidazolyl, $-(CH_2)_{1-6}$ -triazolyl, $-(CH_2)_{1-6}$ -tienyl, $-(CH_2)_{1-6}$ -furyl, $-(CH_2)_{1-6}$ -pyrrolidinyl và tương tự.

Như được hiểu trong lĩnh vực kỹ thuật này, có thể có mức độ thay thế nhất định trong các nhóm được xác định ở trên. Do đó, có thể có thay thế trong các nhóm theo sáng chế này trong đó nó được thể hiện 1 cách rõ ràng. Sự viện dẫn trong bản mô tả này tới các nhóm được thế trong các nhóm theo sáng chế này chỉ ra rằng gốc được xác định có thể được thế một hoặc nhiều vị trí có bởi một hoặc nhiều thành phần thế,

tốt hơn là ở 1, 2 hoặc 3 vị trí, tốt hơn nữa là ở 1 hoặc 2 vị trí, còn tốt hơn nữa là ở 1 vị trí. Các thành phần thể này bao gồm, ví dụ và không bị giới hạn ở, alkyl C₁-C₄; hydroxyl; alcoxyl C₁-C₄; amino; aminoalkyl C₁-C₄; carbonyloxyl C₁-C₄; oxycarbonyl C₁-C₄; halogen như flo, clo, brom và iot; xyano; nitro; azit; alkylsulfonyl C₁-C₄; tiol; alkylthio C₁-C₄; aryloxyl như phenoxyl; -NR_b(C=NR_b)NR_bR_c; trong đó R_b và R_c độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H, alkyl C₁-C₄, alkenyl C₂-C₄, alkynyl C₂-C₄, xycloalkyl C₃-C₁₀, aryl C₆-C₁₈, aralkyl C₇-C₁₇, heteroxyclyl có 3-10 cạnh hoặc nhóm bảo vệ của nhóm amino.

Các hợp chất theo sáng chế

Khía cạnh đầu tiên theo sáng chế này chỉ hợp chất được xác định có công thức (I),



(I)

các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng và/hoặc muối được dụng của nó, trong đó

AA₁ là Asp hoặc một liên kết

AA₂ là Arg hoặc một liên kết

AA₃ là Met hoặc Ala hoặc một liên kết

AA₄ là Pro hoặc Gly

AA₅ là Lys hoặc Arg

AA₆ là Ser hoặc Thr

AA₇ là Lys hoặc một liên kết

X, Y, Z là các axit amin Phe, Phg, Msa, 3,4,5-trimetylphenylalanin, Msg, 3,4,5-trimetylphenylglyxin và/hoặc dihalogenophenylalanin, diW-Phe;

W được chọn từ nhóm bao gồm F, Cl, Br và I;

R₁ được chọn từ nhóm bao gồm H, nhóm béo được thế hoặc không được thế không vòng, alixyclyl được thế hoặc không được thế, heteroxyclyl được thế hoặc không được thế, heteroarylalkyl được thế hoặc không được thế, aryl được thế hoặc không được thế, aralkyl được thế hoặc không được thế, polyme có nguồn gốc từ polyetylen glycol, chất tạo chelat và R₅-CO-;

R₂ được chọn từ nhóm bao gồm -NR₃R₄, -OR₃ và -SR₃;

R₃ và R₄ độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H, nhóm béo được thế hoặc không được thế không vòng, alixyclyl được thế hoặc không được thế, heteroxyclyl được thế hoặc không được thế, heteroarylalkyl được thế hoặc không được thế, aryl được thế hoặc không được thế, và aralkyl và polyme được thế hoặc không được thế;

R₅ được chọn từ nhóm bao gồm H, nhóm béo được thế hoặc không được thế không vòng, alixyclyl được thế hoặc không được thế, aryl được thế hoặc không được thế, aralkyl được thế hoặc không được thế, heteroxyclyl được thế hoặc không được thế và heteroarylalkyl được thế hoặc không được thế;

và với điều kiện là:

- Ít nhất một trong các axit amin X, Y hoặc Z là Msa, 3,4,5-trimetylphenylalanin, Msg, 3,4,5-trimetylphenylglyxin và/hoặc dihalogenophenylalanin, diW-Phe;
- Nếu AA₁ và AA₂ là các liên kết, AA₃ là Ala, AA₄ là Gly, AA₅ là Lys, AA₆ là Thr và AA₇ là liên kết, thì ít nhất một trong các axit amin X, Y hoặc Z là dihalogenophenylalanin, diW-Phe.

Theo phương án được ưu tiên, ít nhất một trong các axit amin X, Y hoặc Z là dihalogenophenylalanin, diW-Phe. Tốt hơn là, W là flo. Tốt hơn nữa dihalogenophenylalanin là 3,5-diflophenylalanin (Dfp).

Theo phương án được ưu tiên, AA₄ là Pro. Theo phương án được ưu tiên hơn, AA₃ là Met hoặc một liên kết và AA₄ là Pro. Tốt hơn là, ít nhất một trong các axit amin X, Y hoặc Z là Msa và/hoặc 3,5-diflophenylalanin (Dfp).

Nhóm R₁ và R₂ được liên kết lần lượt với các đầu của đầu tận amino (đầu tận N) và đầu tận carboxy (đầu tận C) của các trình tự peptit, và chúng có thể là các axit amin.

Theo phương án được ưu tiên theo sáng chế này, R₁ được chọn từ nhóm bao gồm H, polyme có nguồn gốc từ polyetylen glycol và R₅-CO-, trong đó R₅ được chọn từ nhóm bao gồm alkyl gốc C₁-C₂₄ được thế hoặc không được thế, alkenyl C₂-C₂₄ được thế hoặc không được thế, alkynyl C₂-C₂₄ được thế hoặc không được thế, xycloalkyl C₃-C₂₄ được thế hoặc không được thế, xycloalkenyl C₅-C₂₄ được thế hoặc không được thế, xycloalkynyl C₈-C₂₄ được thế hoặc không được thế, aryl C₆-C₃₀ được thế hoặc không được thế, aralkyl C₇-C₂₄ được thế hoặc không được thế, heteroxyclyl vòng có 3-10 cạnh được thế hoặc không được thế, và heteroarylalkyl được thế hoặc không được thế có 2 đến 24 nguyên tử cacbon và 1 đến 3 nguyên tử khác cacbon trong đó chuỗi alkyl có 1 đến 6 nguyên tử cacbon. Tốt hơn nữa là, R₁ được chọn từ nhóm bao gồm H, axetyl, *tert*-butanoyl, prenyl, hexanoyl, 2-metylhexanoyl, xyclohexancarboxyl, octanoyl, decanoyl, lauroyl, myristoyl, palmitoyl, stearoyl, behenyl, oleoyl và linoleoyl. Thậm chí tốt hơn nữa là, R₁ là H, axetyl, hexanoyl, octanoyl, lauroyl, myristoyl hoặc palmitoyl.

Theo phương án được ưu tiên khác, R₁ được chọn từ polyme có nguồn gốc từ polyetylen glycol có khối lượng phân tử được bao gồm nằm trong khoảng từ 200 đến 35000 Dalton.

Theo phương án được ưu tiên khác, R_2 là $-NR_3R_4$, $-OR_3$ hoặc $-SR_3$, trong đó R_3 và R_4 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H, alkyl C_1-C_{24} được thể hoặc không được thể, alkenyl C_2-C_{24} được thể hoặc không được thể, alkynyl C_2-C_{24} được thể hoặc không được thể, xycloalkyl C_3-C_{24} được thể hoặc không được thể, xycloalkenyl C_5-C_{24} được thể hoặc không được thể, xycloalkynyl C_8-C_{24} được thể hoặc không được thể, aryl C_6-C_{30} được thể hoặc không được thể, aralkyl C_7-C_{24} được thể hoặc không được thể, heteroxyclyl vòng có 3-10 cạnh được thể hoặc không được thể, và heteroarylalkyl được thể hoặc không được thể có 2 đến 24 nguyên tử cacbon và 1 đến 3 nguyên tử khác cacbon, trong đó chuỗi alkyl có 1 đến 6 nguyên tử cacbon và polyme có nguồn gốc từ polyetylen glycol. Tùy ý, R_3 và R_4 có thể được liên kết bởi liên kết cacbon-cacbon bão hòa hoặc không bão hòa, tạo thành vòng với nguyên tử nitơ. Tốt hơn nữa là R_2 là $-NR_3R_4$ hoặc $-OR_3$, trong đó R_3 và R_4 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H, alkyl C_1-C_{24} được thể hoặc không được thể, alkenyl C_2-C_{24} được thể hoặc không được thể, alkynyl C_2-C_{24} được thể hoặc không được thể, xycloalkyl C_3-C_{10} được thể hoặc không được thể, aryl C_6-C_{15} được thể hoặc không được thể, heteroarylalkyl vòng được thể hoặc không được thể có 3 đến 10 cạnh và chuỗi alkyl có 1 đến 6 nguyên tử cacbon và polyme có nguồn gốc từ polyetylen glycol. Tốt hơn nữa là R_3 và R_4 được chọn từ nhóm bao gồm H, metyl, etyl, hexyl, dodexyl hoặc hexadexyl. Thậm chí tốt hơn nữa là R_3 là H và R_4 được chọn từ nhóm bao gồm H, metyl, etyl, hexyl, dodexyl hoặc hexadexyl. Theo phương án thậm chí được ưu tiên hơn, R_2 được chọn từ $-OH$ và $-NH_2$.

Theo phương án được ưu tiên theo sáng chế này, R_1 hoặc R_2 là chất tạo chelat được tùy ý tạo phức, với thành phần phát hiện được hoặc trị liệu phóng xạ. Chất tạo chelat chỉ nhóm có khả năng tạo thành phức hợp với thành phần phát hiện được hoặc trị liệu phóng xạ. Tốt hơn là, chất tạo chelat là nhóm có khả năng tạo phức hợp với ion kim loại, tốt hơn nữa là được chọn từ nhóm bao gồm DOTA, DTPA, TETA hoặc dẫn xuất của chúng. Chất tạo chelat có thể được liên kết trực tiếp hoặc qua chất liên kết.

Thành phần phát hiện được chỉ thành phần hoạt hóa phóng xạ, huỳnh quang hoặc thành phần tích cực ngược với chụp cộng hưởng từ bất kỳ, tốt hơn là ion kim loại, thể hiện đặc tính phát hiện được trong kỹ thuật chẩn đoán *in vivo*. Thành phần trị liệu phóng xạ được hiểu là thành phần bất kỳ phát ra phóng xạ α , phóng xạ β , hoặc phóng xạ γ .

Theo phương án cụ thể, các hợp chất theo sáng chế được chọn từ nhóm trong các trình tự được mô tả ở dưới:

Ala-Gly-c[-Cys-Lys-Asn-Phe-Dfp-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys]

Ala-Gly-c[Cys-Lys-Asn-Dfp-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys]

Ala-Gly-c[Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Dfp-Thr-Ser-Cys]

Ala-Gly-c[Cys-Arg-Asn-Dfp-Phe-Trp-Lys-Thr-Dfp-Ser-Ser-Cys]

Pro-c[Cys-Lys-Asn-Msa-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys]-Lys

Pro-c[Cys-Lys-Asn-Phe-Msa-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys]-Lys

Pro-c[Cys-Lys-Asn-Phe-Dfp-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys]-Lys

Pro-c[Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Msa-Thr-Ser-Cys]-Lys

Pro-c[Cys-Arg-Asn-Msa-Phe-Trp-Lys-Thr-Msa-Thr-Ser-Cys]-Lys

Pro-c[Cys-Lys-Asn-Dfp-Phe-Trp-Lys-Thr-Msa-Ser-Ser-Cys]-Lys

Pro-c[Cys-Lys-Asn-Msa-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys]

Pro-c[Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Dfp-Thr-Ser-Cys]

Met-Pro-c[Cys-Arg-Asn-Msa-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Ser-Ser-Cys]-Lys

Asp-Arg-Met-Pro-c[Cys-Arg-Asn-Msa-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys]-
Lys

Asp-Arg-Met-Pro-c[Cys-Arg-Asn-Dfp-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys]-
Lys

Người có hiểu biết trong lĩnh vực sẽ hiểu rằng các trình tự axit amin được nhắc tới trong sáng chế này có thể được cải biến về mặt hóa học, ví dụ, bằng cách cải biến hóa chất mà liên quan về mặt sinh lý, như phosphoryl hóa, axetyl hóa, amin hóa, PEG hóa, *n*-octanoyl hóa hoặc palmitoyl hóa, và tương tự.

Các hợp chất theo sáng chế này có thể tồn tại như các chất đồng phân lập thể hoặc hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể; ví dụ, các axit amin tạo thành chúng có thể có cấu hình L-, D-, hoặc là triệt quan độc lập của nhau. Do đó, có thể thu được hỗn hợp đồng phân, cũng như hỗn hợp triệt quang hoặc hỗn hợp đồng phân nhị lập thể, hoặc đồng phân nhị lập thể hoặc chất đối hình tinh khiết, phụ thuộc vào số lượng cacbon đối xứng và vào chất đồng phân hoặc hỗn hợp đồng phân đang có. Cấu trúc được ưu tiên của peptit theo sáng chế là chất đồng phân tinh khiết, tức là chất đối hình hoặc đồng phân nhị lập thể đơn lẻ.

Ví dụ, trừ khi có chỉ dẫn khác, nó được hiểu rằng axit amin là L hoặc D, hoặc hỗn hợp của chúng, hoặc triệt quang hoặc không triệt quang. Quy trình điều chế được mô tả trong bản mô tả này cho phép người có hiểu biết trong lĩnh vực thu được mỗi chất đồng phân lập thể của hợp chất theo sáng chế bằng cách chọn axit amin với cấu hình thích hợp. Ví dụ, axit amin Trp có thể là L-Trp hoặc D-Trp.

Tốt hơn nữa là, các hợp chất được bao gồm trong công thức (I) được chọn từ nhóm bao gồm:

H-L-Ala-Gly-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Dfp-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-
Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH

H-L-Ala-Gly-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Dfp-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH

H-L-Ala-Gly-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Dfp-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH

H-L-Ala-Gly-c[L-Cys-L-Arg-L-Asn-L-Dfp-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Dfp-L-Ser-L-Ser-L-Cys]-OH

H-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Msa-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH

Octanoyl-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Msa-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH

H-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Msa-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH

Octanoyl-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Msa-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH

Ac-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Dfp-L-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-NH₂

H-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Msa-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH

H-L-Pro-c[L-Cys-L-Arg-L-Asn-L-Msa-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Msa-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH

H-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Dfp-L-Phe-L-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Msa-L-Ser-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-NH₂

H-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Msa-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH

Octanoyl-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Msa-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH

H-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Dfp-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH

H-L-Met-L-Pro-c[L-Cys-L-Arg-L-Asn-L-Msa-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Ser-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH

H-L-Asp-L-Arg-L-Met-L-Pro-c[L-Cys-L-Arg-L-Asn-L-Msa-L-Phe-L-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH

Myristoyl-L-Asp-L-Arg-L-Met-L-Pro-c[L-Cys-L-Arg-L-Asn-L-Msa-L-Phe-L-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH

H-Asp-L-Arg-L-Met-L-Pro-c[L-Cys-L-Arg-L-Asn-L-Dfp-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH

Muối được dụng của các hợp chất được đề cập theo sáng chế này còn được tìm thấy trong lĩnh vực của sáng chế này. Thuật ngữ “muối được dụng” nghĩa là muối được công nhận việc sử dụng của nó ở động vật và đặc biệt hơn là ở người, và bao gồm các muối được sử dụng để tạo thành các muối có bổ sung bazơ, liệu chúng là vô cơ hay không, ví dụ và không bị giới hạn ở, liti, natri, kali, canxi, magie, mangan, đồng, kẽm hoặc nhôm, và tương tự, liệu rằng chúng là hữu cơ hay không, ví dụ và không bị giới hạn ở, etylamin, dietylamin, etylendiamin, etanolamin, dietanolamin, arginin, lysin, histidin hoặc piperazin và tương tự, hoặc muối có bổ sung axit, liệu rằng chúng là hữu cơ hay không, ví dụ và không bị giới hạn ở, axetat, xitrat, lactat, malonat, maleat, tartrat, fumarat, benzoat, aspartat, diaspartat, triaspartat, glutamat, suxinat, oleat, trifluoroaxetat, oxalat, pamoat hoặc gluconat và tương tự, hoặc vô cơ, ví dụ và không bị giới hạn ở, clorua, sulfat, borat hoặc carbonat và tương tự. Bản

chất của muối là không khó sử dụng, giúp nó trở nên được dụng. Muối được dụng của các hợp chất theo sáng chế có thể thu được bằng các phương pháp thông thường đã biết rộng rãi trong lĩnh vực trước đó [Berge S.M. et al., *J. Pharm. Sci.* 1977, 66, 1-19].

Quy trình điều chế

Sự tổng hợp của các hợp chất theo sáng chế này, các chất đồng phân lập thể, hoặc muối được dụng của chúng có thể được tiến hành theo các phương pháp thông thường, đã biết trong lĩnh vực.

Theo phương án theo sáng chế này, các hợp chất được tổng hợp sử dụng các phương pháp tổng hợp peptit pha rắn hoặc tổng hợp trong dung dịch.

Các phương pháp tổng hợp peptit pha rắn được mô tả ví dụ ở [Stewart J.M. and Young J.D., 1984, "Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd edition" Pierce Chemical Company, Rockford, Illinois; Bodanzsky M., and Bodanzsky A., 1984 "The practice of Peptide Synthesis" Springer Verlag, Berlin; Lloyd-Williams P., Albericio F. và Giralt E. (1997) "Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins" CRC, Boca Raton, FL, USA]. Các phương pháp tổng hợp trong dung dịch và sự kết hợp của các phương pháp tổng hợp pha rắn và trong dung dịch hoặc tổng hợp bằng enzym được mô tả ở [(Kullmann W. et al., *J. Biol. Chem.* 1980, 255, 8234-8238].

Theo phương án theo sáng chế này, các hợp chất có công thức (I), các chất đồng phân lập thể của chúng, hỗn hợp của chúng, hoặc muối chấp nhận được trong mỹ phẩm hoặc trong dược phẩm của chúng được điều chế bằng phương pháp bao gồm quy trình sau:

1. Tổng hợp pha rắn
2. Phân cắt peptit từ chất mang polyme
3. Đóng vòng peptit trong dung dịch
4. Loại bỏ nhóm bảo vệ

hoặc theo cách khác,

1. Tổng hợp pha rắn
2. Đóng vòng pha rắn
3. Phân cắt peptit từ chất mang polyme và đồng thời loại bỏ nhóm bảo vệ, tốt hơn là qua xử lý với axit trifloaxetic.

Tốt hơn là, đầu của đầu tận C- được liên kết với giá đỡ dạng rắn và quy trình được tiến hành trong pha rắn và do đó, bao gồm bước bắt cặp axit amin với đầu của đầu tận N- được bảo vệ và đầu của đầu tận C- tự do trên axit amin với đầu của đầu tận N- tự do và đầu của đầu tận C- được liên kết với chất mang polyme; bước loại bỏ nhóm bảo vệ của đầu của đầu tận N-; và do đó lặp lại trình tự này nhiều lần theo nhu cầu để thu được peptit, tốt hơn là có 13 đến 17 axit amin, cuối cùng tiếp theo là bước cắt peptit đã được tổng hợp từ chất mang polymer ban đầu.

Các nhóm chức năng của các chuỗi bên của các axit amin vẫn được bảo vệ thông thường bởi các nhóm bảo vệ thường xuyên hoặc tạm thời trong quá trình tổng hợp, và có thể được loại bỏ bảo vệ đồng thời hoặc trực giao trong quá trình phân cắt peptit từ chất mang polyme.

Nói cách khác, tổng hợp pha rắn có thể được tiến hành bằng cách sử dụng phương pháp hội tụ bằng cách bắt cặp mảnh peptit trên chất mang polyme hoặc trên mảnh peptit được liên kết trước đó với chất mang polyme. Phương pháp tổng hợp hội tụ đã được biết đến rộng rãi bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực và được mô tả ở *Lloyd-Williams P. et al., Tetrahedron 1993, 49, 11065-11133*.

Quy trình có thể bao gồm các giai đoạn bổ sung là loại bỏ bảo vệ các đầu của đầu tận N- và C- và/hoặc phân cắt peptit từ chất mang polyme theo thứ tự không rõ ràng, sử dụng các quy trình tiêu chuẩn và các điều kiện đã biết trong lĩnh vực, sau khi các nhóm chức năng của các đầu nêu trên có thể được cải biến. Sự cải biến tùy ý

các đầu của đầu tận *N*- và *C*- có thể được tiến hành với peptit có công thức (I) được gắn với chất mang polyme hoặc sau khi peptit được cắt từ chất mang polyme.

Tùy ý, R_1 có thể được đưa vào bằng cách cho phản ứng đầu của đầu tận *N*- của peptit theo sáng chế với hợp chất R_1-Z , trong đó R_1 có ý nghĩa đã được nhắc tới ở trên và Z là nhóm cắt, ví dụ và không bị giới hạn ở, nhóm tosyl, nhóm mesyl và nhóm halogen và tương tự; qua phản ứng thay thế ưa nhân, với sự có mặt của bazơ và dung môi hòa tan thích hợp, trong đó các mảnh chứa các nhóm chức năng không liên quan tới sự tạo thành liên kết *N*-*C* và được bảo vệ thông thường với các nhóm bảo vệ thường xuyên hoặc tạm thời. R_1 có thể còn được đưa vào bằng phản ứng của đầu của đầu tận *N*- của hợp chất theo sáng chế với nhóm R_5COOH hoặc este của nó, axit halogen hoặc anhydrit của nó.

Tùy ý và/hoặc bổ sung, các gốc R_2 có thể được đưa vào bằng phản ứng của hợp chất HR_2 trong đó R_2 là $-OR_3$, $-NR_3R_4$ hoặc $-SR_3$, với mảnh hỗ trợ tương ứng với peptit có công thức (I) trong đó R_2 là $-OH$ khi có dung môi hòa tan thích hợp và bazơ như, *N,N*-diisopropyletylamin (DIEA) hoặc trietylamin hoặc chất phụ gia như 1-hydroxybenzotriazol (HOBt) hoặc 1-hydroxyazabenzotriazol (HOAt) và chất khử hydrat hóa, như carbodiimit, muối uroni, muối phosphoni hoặc muối amidini, và tương tự, để từ đó thu được peptit theo sáng chế có công thức chung (I), trong đó các mảnh đã nêu chứa các nhóm chức năng không liên quan tới sự tạo thành liên kết *N*-*C*, *O*-*C* hoặc *S*-*C* và được bảo vệ thích hợp với các nhóm bảo vệ thường xuyên hoặc tạm thời. Nói cách khác các gốc R_2 khác có thể được đồng thời đưa vào quá trình phân cắt peptit từ chất mang polyme.

Người có hiểu biết trong lĩnh vực sẽ dễ dàng hiểu rằng giai đoạn loại bỏ bảo vệ/cắt các đầu của đầu tận *C*- và *N*- và sự phát sinh tiếp theo của chúng có thể được tiến hành theo thứ tự không rõ ràng, theo các quá trình đã biết trong lĩnh vực trước đó. [Smith M. B. and March J., 1999 "*March's Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure*", 5th Edition, John Wiley & Sons, 2001].

Thuật ngữ “nhóm bảo vệ” chỉ nhóm ngăn cản nhóm chức năng hữu cơ và có thể được loại bỏ trong các điều kiện có kiểm soát. Nhóm bảo vệ, tính phản ứng liên quan của chúng và các điều kiện trong đó chúng vẫn trơ là đã biết bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực.

Ví dụ về nhóm bảo vệ đại diện cho nhóm amino là amit, như amit axetat, amit benzoat, amit pivalat; carbamat như benzyloxycarbonyl (Cbz hoặc Z), 2-clobenzyl (CIZ), *para*-nitrobenzyloxycarbonyl (pNZ), *tert*-butyloxycarbonyl (Boc), 2,2,2-tricloetyloxycarbonyl (Troc), 2-(trimetylsilyl)etyloxycarbonyl (Teoc), 9-fluorenylmetyloxycarbonyl (Fmoc) hoặc allyloxycarbonyl (Alloc), trityl (Trt), metoxytrityl (Mtt), 2,4-dinitrophenyl (Dnp), *N*-[1-(4,4-dimetyl-2,6-dioxocyclohex-1-yliden)etyl] (Dde), 1-(4,4-dimetyl-2,6-dioxo-xyclohexyliden)-3-metylbutyl (ivDde), 1-(1-adamantyl)-1-metyloxyloxycarbonyl (Adpoc), và tương tự; tốt hơn là Boc hoặc Fmoc.

Ví dụ về nhóm bảo vệ đại diện nhóm carboxyl là este, như *tert*-butyl (tBu) este, allyl (All) este, triphenylmetyl este (trityl este, Trt), xyclohexyl este (cHx), benzyl este (Bzl), *ortho*-nitrobenzyl este, *para*-nitrobenzyl este, *para*-metoxybenzyl este, trimetylsilyletyl este, 2-phenylisopropyl este, fluorenylmetyl (Fm) este, 4-(*N*-[1-(4,4-dimetyl-2,6-dioxocyclohexyliden)-3-metylbutyl]amino) benzyl (Dmab) este, và tương tự; nhóm bảo vệ được ưu tiên theo sáng chế là All, tBu, cHex, Bzl và Trt este.

Các axit amin ba chức năng có thể được bảo vệ trong quá trình tổng hợp với các nhóm bảo vệ thường xuyên hoặc tạm thời trực giao với nhóm bảo vệ của các đầu của đầu tận *N*- và *C*-. Để bảo vệ nhóm amino của chuỗi bên của lysin, nhóm bảo vệ của nhóm amino được nhắc tới ở trên được sử dụng. Chuỗi bên của tryptophan có thể được bảo vệ bởi nhóm bất kỳ trong các nhóm bảo vệ of the nhóm amino được nhắc tới ở trên hoặc có thể được sử dụng không được bảo vệ. Chuỗi bên của treonin và serin có thể được bảo vệ với este *tert*-butyl (tBu). Chuỗi bên của xystein có thể được bảo vệ bởi nhóm bảo vệ được chọn từ nhóm bao gồm trityl và axetamidometyl.

Chuỗi bên của asparagin có thể được bảo vệ bởi nhóm bảo vệ được chọn từ nhóm bao gồm metoxytrityl, trityl hoặc xanthyl hoặc có thể được sử dụng không được bảo vệ. Chuỗi bên của arginin được bảo vệ với nhóm bảo vệ được chọn từ nhóm bao gồm tosyl (Tos), 4-metoxy-2,3,6-trimethylbenzensulfonyl (Mtr), Alloc, nitro, 2,2,4,6,7-pentametyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl (Pbf) và 2,2,5,7,8-pentamethylchroman-6-sulfonyl (Pmc). Chuỗi bên của metionin được sử dụng được bảo vệ với nhóm sulphoxit hoặc được sử dụng không được bảo vệ. Chuỗi bên của axit aspartic được bảo vệ với nhóm bảo vệ được chọn từ nhóm bao gồm Trt, Bzl, cHx, tBu và All. The được ưu tiên nhóm bảo vệ được ưu tiên của các axit amin ba chức năng theo sáng chế là tBu este trong các chuỗi bên của serin và treonin; Boc trong các chuỗi bên của lysin, Trt trong các chuỗi bên của xystein; Pbf trong các chuỗi bên của arginin và Fmoc hoặc Boc như nhóm bảo vệ tạm thời của đầu của đầu tận N-.

Ví dụ về các nhóm bảo vệ này và các nhóm bảo vệ hỗ trợ, sự đưa vào và loại bỏ, có thể được tìm thấy trong tài liệu tham khảo [*Greene T.W. and Wuts P.G.M., (1999) "Protective groups in organic Synthesis" John Wiley & Sons, New York; Atherton B. and Sheppard R.C. (1989) "Solid Phase Peptide Synthesis: A practical approach" IRL Oxford University Press*]. Thuật ngữ "các nhóm bảo vệ" còn bao gồm chất mang polyme được sử dụng trong tổng hợp pha rắn.

Khi sự tổng hợp được tiến hành hoàn toàn hoặc một phần trong pha rắn, giá đỡ dạng rắn có thể được sử dụng trong quy trình theo sáng chế có thể là giá đỡ polystyren, polyetylen glycol được ghép với polystyren và tương tự, ví dụ và không bị giới hạn ở, nhựa p-metylbenzhydrolamin (MBHA) [*Matsueda G.R. et al, Peptit 1981, 2, 45-50*], nhựa 2-clorotrityl [*Barlos K. et al. 1989 Tetrahedron Lett. 30:3943-3946; Barlos K. et al, 1989 Tetrahedron Lett. 30, 3947-3951*], nhựa TentaGel® (Rapp Polymee GmbH), nhựa ChemMatrix® (Matrix Innovation, Inc) và tương tự, có thể có hoặc có thể không bao gồm chất liên kết không bền, như axit 5-(4-aminometyl-3,5-dimetoxypenoxy) valeric (PAL) [*Albericio F. et al, 1990, J. Org. Chem. 55, 3730-3743*], axit 2-[4-aminometyl-(2,4-dimetoxypenyl)] phenoxyl

axetic (AM) [Rink H., 1987, *Tetrahedron Lett.* 28, 3787-3790], Wang [Wang S.S., *J. Am. Chem. Soc.*, 1973, 95, 1328-1333] và tương tự, làm cho cắt được peptit được bán bảo vệ và tạo thành vòng trong dung dịch với bước loại bỏ bảo vệ trong dung dịch hoặc đóng vòng pha rắn và loại bỏ bảo vệ đồng thời sau đó và cắt peptit.

Dược phẩm

Các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng bởi cách bất kỳ gây ra tiếp xúc giữa các hợp chất và vị trí tác động của chúng ở cơ thể động vật có vú, tốt hơn là cơ thể người, và dưới dạng chế phẩm chứa chúng.

Với vấn đề này, khía cạnh khác theo sáng chế là dược phẩm chứa lượng hiệu quả trị liệu của ít nhất một hợp chất có công thức chung (I), các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng, và/hoặc muối dược dụng của nó. Dược phẩm theo sáng chế có thể chứa hợp chất có công thức chung (I), các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng, và/hoặc muối dược dụng dạng rắn của nó thu được bằng đông khô hoặc phun khô, và có thể được hoàn nguyên trong dung môi hòa tan thích hợp để sử dụng.

Dược phẩm theo sáng chế có thể chứa ít nhất một tá dược dược dụng. Số lượng và bản chất của tá dược dược dụng phụ thuộc vào phương pháp sử dụng mong muốn. Tá dược dược dụng đã được biết đến rộng rãi bởi người hiểu biết trung bình trong lĩnh vực [Rowe R.C., Sheskey P.J., Quinn, M.E. (2009) "*Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th Edition*", Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association]. Các chế phẩm nêu trên có thể được điều chế sử dụng các phương pháp thông thường đã biết trong lĩnh vực.

Các hợp chất theo sáng chế này có độ hòa tan khác nhau trong nước, theo bản chất trình tự các axit amin của chúng hoặc sự cải biến có thể bất kỳ trên các đầu của đầu tận N- và/hoặc C- của chúng. Do đó, các hợp chất theo sáng chế này có thể được đưa vào các chế phẩm bằng cách qua dung dịch chứa nước, và các hợp chất không tan trong nước có thể được hòa tan trong dung môi hòa tan thông thường chấp nhận

được trong dược phẩm như và không bị giới hạn ở, etanol, propanol, isopropanol, propylen glycol, glyxerin, dimetyl sulfoxit, butylen glycol hoặc polyetylen glycol hoặc hỗn hợp bất kỳ của chúng.

Lượng hiệu quả trị liệu của các hợp chất theo sáng chế phải được sử dụng, và liều của chúng, sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm độ tuổi, tình trạng của bệnh nhân, bản chất hoặc độ nghiêm trọng của rối loạn hoặc bệnh được điều trị hoặc được ngăn ngừa, cách thức và tần suất sử dụng cũng như vào bản chất đặc hiệu của các hợp chất được sử dụng.

“Lượng hiệu quả trị liệu” được hiểu là không độc nhưng là lượng đủ của hợp chất theo sáng chế để tạo ra tác dụng mong muốn. Các hợp chất theo sáng chế được sử dụng trong dược phẩm theo sáng chế này ở hàm lượng hiệu quả trị liệu để đạt được tác dụng mong muốn; ở dạng được ưu tiên của chúng, liều hàng ngày hiệu quả ở người là nằm trong khoảng từ 0,1 mg đến 1000 mg/ngày, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,5 đến 100 mg/ngày và thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 1 đến 10 mg/ngày.

Tần suất sử dụng dược phẩm có thể được, ví dụ và không giới hạn ở, hàng tháng, hai lần mỗi tháng, hàng tuần, hai lần mỗi tuần, ba lần mỗi tuần hoặc hàng ngày.

Các hợp chất theo sáng chế, các chất đồng phân lập thể của chúng, hỗn hợp của chúng và/hoặc muối chấp nhận được trong mỹ phẩm hoặc dược phẩm của chúng, có thể còn được đưa vào hệ thống phân phối và/hoặc hệ thống giải phóng kéo dài trị liệu.

Thuật ngữ “hệ thống phân phối” chỉ chất pha loãng, tá dược bổ trợ hoặc chất mang mà peptit theo sáng chế sử dụng. Các chất mang dược phẩm này có thể là chất lỏng, như nước, dầu hoặc chất hoạt động bề mặt, bao gồm dầu hỏa, nguồn động vật, thực vật hoặc tổng hợp, ví dụ và không bị giới hạn ở, dầu lạc, dầu đậu nành, dầu khoáng, dầu vừng, dầu thầu dầu, polysorbat, sorbitan este, ete sulfat, sulfat, betain,

glycosit, maltosit, rượu béo, nonoxynol, poloxame, polyoxyetylen, polyetylen glycol, dextroza, glyxerol, digitonin và tương tự. Người có hiểu biết trong lĩnh vực biết chất pha loãng, phụ gia hoặc tá dược mà có thể được sử dụng trong hệ thống phân phối khác nhau trong đó các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng.

Thuật ngữ “giải phóng kéo dài” được sử dụng với nghĩa thông thường chỉ hệ thống phân phối của hợp chất tạo ra sự giải phóng dần dần của hợp chất này trong một giai đoạn thời gian và tốt hơn là, mặc dù không cần thiết, với mức độ giải phóng hợp chất tương đối cố định trong một giai đoạn thời gian.

Ví dụ về hệ thống phân phối hoặc giải phóng kéo dài bao gồm, không có hạn chế, liposom, liposom hỗn hợp, oleosom, niosom, ethosom, hạt nhỏ, vi hạt, hạt nano và hạt nano lipid dạng rắn, chất mang lipid cấu trúc nano, bột biển, xyclodextrin, bao nhỏ, mixen, mixen hỗn hợp của chất hoạt động bề mặt, chất hoạt động bề mặt-phospholipid mixen hỗn hợp, quả cầu nhỏ, quả cầu siêu nhỏ và quả cầu nano, quả cầu lipid, viên nang nhỏ, vi nang và viên nang nano, cũng như trong vi nhũ tương và nhũ tương nano, có thể được bổ sung để đạt được độ khả dụng sinh học lớn hơn nguyên lý hoạt động và/hoặc cải thiện đặc tính dược động học và dược lực học của nó.

Dược phẩm của các hợp chất theo sáng chế, các chất đồng phân lập thể của chúng, hỗn hợp của chúng, và/hoặc muối dược dụng của chúng có thể được sử dụng theo cách thức thích hợp bất kỳ, tá dược dược dụng cần thiết cho chế phẩm của dạng sử dụng được mong muốn sẽ được đưa vào, bằng áp dụng khu trú hoặc toàn thân, ví dụ và không giới hạn ở, đường khu trú, đường ruột hoặc đường tiêm. Trong bối cảnh theo sáng chế này, thuật ngữ đường “khu trú” bao gồm đường da và mắt, thuật ngữ đường “ruột” bao gồm sử dụng cho hệ tiêu hóa như đường miệng, miệng, dạ dày, dưới lưỡi và trực tràng và thuật ngữ “tiêm” chỉ đường mũi, tai, mắt, âm đạo, tiêm dưới da, trong da, trong mạch ví dụ tiêm tĩnh mạch, trong cơ, trong mắt, trong xương sống, trong hộp sọ, trong khớp, trong não tủy và trong phúc mạc, cũng như kỹ thuật tiêm hoặc truyền tương tự bất kỳ khác. Điều trị *in vitro* cũng được xem xét, ví dụ, trong nuôi cấy tế bào đã bị phá hủy và/hoặc tế bào gốc và điều trị *ex vivo*.

Cụ thể hơn là, điều trị, ngăn ngừa và/hoặc chẩn đoán với các hợp chất và các chế phẩm theo sáng chế này, được tiến hành *in vivo* như cách sử dụng được ưu tiên là dưới da.

Theo khía cạnh cụ thể hơn, dược phẩm theo sáng chế này chứa các chất trị liệu khác, ví dụ và không bị giới hạn ở, chất kháng viêm khác, chất ức chế miễn dịch hoặc chất ức chế trao đổi chất hoặc enzym, chất kháng viêm không phải steroid (NSAID) như ibuprofen, tenidap, naproxen, meloxicam, mesalazin, piroxicam, diclofenac, indometaxin và sulfasalazin, corticosteroid như prednisolon, hydrocortison, beclometason, budesonit; các dược chất kháng viêm chất ức chế xytokin (CSAID), chất ức chế tổng hợp nucleotit, như metotrexat và leflunomit, chất ức chế miễn dịch như xyclosporin, tacrolimut (FK-506), chất ức chế mTOR như sirolimut (rapamycin) hoặc dẫn xuất của rapamycin, chất ức chế yếu tố gây hoại tử khối u (TNF α) như infliximab, adalimumab, etanercept, certolizumab, golimumab, chất ức chế COX-2 như celecoxib, rofecoxib, valdecoxib và biến thể của chúng, chất ức chế phosphodiesteraza, chất ức chế phospholipaza như chất tương tự của triflometyl keton, chất ức chế yếu tố sinh trưởng nội mô mạch máu hoặc chất ức chế thụ thể yếu tố sinh trưởng, chất ức chế sự tạo thành mạch, natalizumab (kháng alpha 4 integrin), rituximab (kháng-CD20), abatacept (kháng-CD80 và CD86), fostamatinib (chất ức chế kinaza tyrosin trong lá lách Syk), tocilizumab (kháng IL-6), anakinra (kháng IL-1), tofacitinib (chất ức chế kinaza Janus), 6-mercaptopurin (6-MP), azatioprin, balsalazit, sulfasalazin, mesalazin, olsalazin, cloroquin, hydroxycloquin, penixilamin, auranofin, aurotiomalat, azatioprin, colchicin, chất kích thích thụ thể beta-2 adrenergic như salbutamol, terbutalin và salmeterol, xantin như teophyllin và arninophyllin, cromoglycat, nedocromil, ketotifen, ipratropi, oxitropi, mycophenolat mofetil, chất kích thích adenosin, chất kháng nghẽn mạch, penixilin, chất ức chế bổ trợ và chất adrenergic.

Sử dụng

Theo khía cạnh khác, sáng chế này chỉ hợp chất có công thức chung (I), các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng và/hoặc muối được dụng của nó để sử dụng trong y tế.

Khía cạnh khác theo sáng chế này chỉ hợp chất có công thức chung (I), các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng và/hoặc muối được dụng của nó, để điều trị, ngăn ngừa và/hoặc chẩn đoán các tình trạng bệnh, các rối loạn và/hoặc các bệnh lý trong đó thụ thể của somatostatin sstr1, sstr2, sstr3, sstr4 và/hoặc sstr5, và/hoặc thụ thể ghrelin và/hoặc thụ thể cortistatin đặc hiệu hoặc hỗn hợp của chúng được biểu hiện.

Theo khía cạnh cụ thể hơn, sáng chế này chỉ hợp chất có công thức chung (I), các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng và/hoặc muối được dụng của nó, để điều trị, ngăn ngừa và/hoặc chẩn đoán các tình trạng bệnh, các rối loạn và/hoặc các bệnh lý được chọn từ nhóm bao gồm bệnh của hệ miễn dịch, các bệnh viêm, khối u, bệnh ung thư, bệnh thái hóa thần kinh, bệnh về mắt, các rối loạn hô hấp, nhiễm trùng, đau, chữa lành vết thương, tái tạo mô, các rối loạn nhiễm trùng và các rối loạn liên quan tới cấy ghép mô hoặc bộ phận cấy ghép/cơ quan.

Theo khía cạnh cụ thể khác, sáng chế này chỉ hợp chất có công thức chung (I), các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng và/hoặc muối được dụng của nó, để điều trị, ngăn ngừa và/hoặc chẩn đoán các tình trạng bệnh, các rối loạn và/hoặc các bệnh lý được chọn từ nhóm bao gồm endotoxemia, sốc nhiễm trùng, hội chứng sốc độc tố, nhiễm trùng huyết, bệnh viêm ruột, bệnh Crohn, bệnh viêm mạn tính, bệnh viêm ruột kết dạng loét, bệnh viêm dạ dày miễn dịch tự miễn, bệnh viêm khớp, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh viêm xương khớp, bệnh viêm khớp vảy nến, bệnh xơ cứng rải rác, bệnh to cục, điều trị triệu chứng của khối u thần kinh-nội tiết dạ dày-ruột non-tụy, bệnh tiêu chảy, bệnh tiêu chảy mức độ 3-4, bệnh tiêu chảy liên quan tới liệu pháp trị liệu phóng xạ và/hoặc liệu pháp trị liệu hóa học, điều trị triệu chứng của hội chứng caxinoit hoặc u VIP, bệnh ung thư nội tiết, bệnh ung thư tuyến tụy, bệnh viêm tuyến tụy mạn tính, bệnh to cục, điều trị triệu chứng của khối u thần kinh-

nội tiết dạ dày-ruột non-tụy, bệnh giãn tĩnh mạch thực quản, bệnh viêm xương khớp phổi đại và u tuyến giáp, bệnh ung thư đại trực tràng, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư biểu mô tế bào gan, Alzheimer, bệnh viêm khớp, dị ứng, Luput, Luput ban đỏ, rối loạn tăng sinh limphô, bệnh vồng mạc do đái tháo đường, bệnh phù điểm vàng, bệnh mắt Graves, hội chứng Cushing, đau do thần kinh, chứng tái phát hẹp, sự tạo thành mạch, bệnh cường tuyến giáp, bệnh suy tuyến giáp, bệnh tăng insulin, bệnh vảy nến, bệnh giảm canxi máu, bệnh Paget, hội chứng suy mòn và Zollinger-Ellison, bệnh mụn da hoại tử, bệnh tuyến giáp, bệnh đái tháo đường phụ thuộc insulin loại 1, bệnh viêm tuyến giáp Hashimoto, bệnh Graves, bệnh viêm gan miễn dịch tự miễn, bệnh viêm não dị ứng, bệnh viêm màng mạch vồng mạc, bệnh viêm màng mạch nhỏ, sự đào thải bộ phận cấy ghép, sự đào thải mảnh ghép, bệnh mảnh ghép-với-thể chủ, viêm màng trong tim Libman-Sacks, bệnh mô liên kết hỗn hợp, bệnh xơ cứng bì, viêm đa cơ da, bệnh u hạt Wegener, hội chứng Sjögren, khối u hạt, bệnh xơ hóa đài tiền, bệnh xơ gan mật nguyên phát, bệnh viêm giác mạc, bệnh viêm cầu thận, bệnh viêm khớp hoạt hóa, viêm ống xoang, hội chứng Reiter, bệnh Lyme, bệnh viêm khớp vảy nến, bệnh viêm khớp kích ứng, viêm cột sống dính khớp, bệnh nhược cơ, bệnh viêm mạch, bệnh viêm tuyến giáp miễn dịch tự miễn, dị ứng, bệnh viêm da hoặc eczema, bệnh vảy nến, bệnh vảy nến, bệnh viêm da xơ, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD), bệnh viêm não, bệnh viêm tuyến giáp miễn dịch tự miễn, bệnh loét do tuổi, bệnh viêm móng mắt, bệnh viêm kết mạc, bệnh viêm giác kết mạc, bệnh khớp cột sống, viêm âm đạo, viêm trực tràng, sự phát ban do dược chất, phản ứng ngược bệnh phong, bệnh phong có nốt ban đỏ, bệnh não xuất huyết hoạt tử cấp tính, bệnh mất thính giác hai bên tiến triển vô căn, bệnh thiếu máu không tái tạo, bệnh thiếu máu tế bào hồng cầu tinh khiết, bệnh giảm tiểu cầu vô căn, bệnh viêm đa sụn, bệnh viêm gan hoạt động mạn tính, hội chứng Stevens-Johnson, bệnh viêm ruột loét miệng vô căn, bệnh viêm bề mặt đài tiền và bệnh sarcoit.

Phương án khác theo sáng chế này chỉ việc sử dụng hợp chất có công thức chung (I), các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng và/hoặc muối được

dụng của nó, trong điều chế dược phẩm để điều trị, ngăn ngừa và/hoặc chẩn đoán các tình trạng bệnh, các rối loạn và/hoặc các bệnh lý trong đó thụ thể của somatostatin sstr1, sstr2, sstr3, sstr4 và/hoặc sstr5, và/hoặc thụ thể ghrelin và/hoặc thụ thể cortistatin đặc hiệu hoặc hỗn hợp của chúng được biểu hiện.

Theo khía cạnh cụ thể hơn, sáng chế này chỉ việc sử dụng hợp chất có công thức chung (I), các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng và/hoặc muối được dụng của nó, trong điều chế dược phẩm để điều trị, ngăn ngừa và/hoặc chẩn đoán các tình trạng bệnh, các rối loạn và/hoặc các bệnh lý được chọn từ nhóm bao gồm các bệnh của hệ miễn dịch, các rối loạn viêm, khối u, bệnh ung thư, bệnh thoái hóa thần kinh, bệnh về mắt, bệnh về hô hấp, nhiễm trùng, đau, chữa lành vết thương, tái tạo mô, các rối loạn nhiễm trùng và các rối loạn liên quan tới cấy ghép mô hoặc bộ phận cấy ghép/cơ quan.

Theo khía cạnh cụ thể hơn, sáng chế này chỉ việc sử dụng hợp chất có công thức chung (I), các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng và/hoặc muối được dụng của nó, trong điều chế dược phẩm để điều trị, ngăn ngừa và/hoặc chẩn đoán các tình trạng bệnh, các rối loạn và/hoặc các bệnh lý được chọn từ nhóm bao gồm endotoxemia, sốc nhiễm trùng, hội chứng sốc độc tố, nhiễm trùng, bệnh viêm ruột, bệnh Crohn, bệnh viêm mạn tính, bệnh viêm ruột kết dạng loét, bệnh viêm dạ dày miễn dịch tự miễn, bệnh viêm khớp, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh viêm xương khớp, bệnh viêm khớp vảy nến, bệnh xơ cứng rải rác, bệnh to cục, điều trị triệu chứng của khối u thần kinh-nội tiết dạ dày-ruột non-tụy, bệnh tiêu chảy, bệnh tiêu chảy mức độ 3-4, bệnh tiêu chảy liên quan tới liệu pháp trị liệu phóng xạ và/hoặc liệu pháp trị liệu hóa học, điều trị triệu chứng của hội chứng carcinoid hoặc u VIP, bệnh ung thư nội tiết, bệnh ung thư tuyến tụy, bệnh viêm tuyến tụy mạn tính, bệnh to cục, điều trị triệu chứng của khối u thần kinh-nội tiết dạ dày-ruột non-tụy, bệnh giãn tĩnh mạch thực quản, bệnh viêm xương khớp phổi phì đại và u tuyến giáp, bệnh ung thư đại trực tràng, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư biểu mô tế bào gan, Alzheimer, bệnh viêm khớp, dị ứng, Luput, Luput ban

đỏ, rối loạn tăng sinh limphô, bệnh vồng mạc do đái tháo đường, bệnh phù điểm vàng, bệnh mắt Graves, hội chứng Cushing, đau do thần kinh, chứng tái phát hẹp, sự tạo thành mạch, bệnh cường tuyến giáp, bệnh suy tuyến giáp, bệnh tăng insulin, bệnh vảy nến, bệnh tăng canxi huyết, bệnh Paget, hội chứng suy mòn và Zollinger-Ellison, bệnh mụn da hoại tử, bệnh tuyến giáp, bệnh đái tháo đường phụ thuộc insulin loại 1, bệnh viêm tuyến giáp Hashimoto, bệnh Graves, bệnh viêm gan miễn dịch tự miễn, bệnh viêm não dị ứng, bệnh viêm màng mạch vồng mạc, bệnh viêm màng mạch nhỏ, sự đào thải bộ phận cấy ghép, sự đào thải mảnh ghép, bệnh mảnh ghép-với-thể chủ, viêm màng trong tim Libman-Sacks, bệnh mô liên kết hỗn hợp, bệnh xơ cứng bì, viêm đa cơ da, bệnh u hạt Wegener, hội chứng Sjögren, khối u hạt, bệnh xơ hóa đài tiền, bệnh xơ gan mật nguyên phát, bệnh viêm giác mạc, bệnh viêm cầu thận, bệnh viêm khớp hoạt hóa, viêm ống xoang, hội chứng Reiter, bệnh Lyme, bệnh viêm khớp vảy nến, bệnh viêm khớp kích ứng, viêm cột sống dính khớp, bệnh nhược cơ, bệnh viêm mạch, bệnh viêm tuyến giáp miễn dịch tự miễn, dị ứng, bệnh viêm da hoặc eczema, bệnh vảy nến, bệnh vảy nến, bệnh viêm da xơ, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD), bệnh viêm não, bệnh viêm tuyến giáp miễn dịch tự miễn, bệnh loét do tuổi, bệnh viêm móng mắt, bệnh viêm kết mạc, bệnh viêm giác kết mạc, bệnh khớp cột sống, viêm âm đạo, viêm trực tràng, sự phát ban do dược chất, phản ứng ngược bệnh phong, bệnh phong có nốt ban đỏ, bệnh não xuất huyết hoạt tử cấp tính, bệnh mất thính giác hai bên tiến triển vô căn, bệnh thiếu máu không tái tạo, bệnh thiếu máu tế bào hồng cầu tinh khiết, bệnh giảm tiểu cầu vô căn, bệnh viêm đa sụn, bệnh viêm gan hoạt động mạn tính, hội chứng Stevens-Johnson, bệnh viêm ruột loét miệng vô căn, bệnh viêm bề mặt đài tiền và bệnh sarcoit.

Khía cạnh khác theo sáng chế này chỉ phương pháp để điều trị, ngăn ngừa và/hoặc chẩn đoán các tình trạng bệnh, các rối loạn và/hoặc các bệnh lý trong đó thụ thể của somatostatin sstr1, sstr2, sstr3, sstr4 và/hoặc sstr5, và/hoặc thụ thể ghrelin và/hoặc thụ thể cortistatin đặc hiệu hoặc hỗn hợp của chúng được biểu hiện, bao gồm việc sử dụng lượng hiệu quả trị liệu của ít nhất một hợp chất có công thức chung (I),

các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng và/hoặc muối được dụng của nó.

Theo khía cạnh cụ thể khác, sáng chế này chỉ phương pháp để điều trị, ngăn ngừa và/hoặc chẩn đoán các tình trạng bệnh, các rối loạn và/hoặc các bệnh lý được chọn từ nhóm bao gồm bệnh của hệ miễn dịch, viêm các rối loạn, khối u, bệnh ung thư, bệnh thoái hóa thần kinh, bệnh về mắt, bệnh về hô hấp, nhiễm trùng, đau, chữa lành vết thương, tái tạo mô, các rối loạn nhiễm trùng và các rối loạn liên quan tới cấy ghép mô hoặc bộ phận cấy ghép/cơ quan, bao gồm việc sử dụng lượng hiệu quả trị liệu của ít nhất một hợp chất có công thức chung (I), các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng và/hoặc muối được dụng của nó.

Theo khía cạnh cụ thể khác, sáng chế này chỉ phương pháp để điều trị, ngăn ngừa và/hoặc chẩn đoán các tình trạng bệnh, các rối loạn và/hoặc các bệnh lý được chọn từ nhóm bao gồm endotoxemia, sốc nhiễm trùng, hội chứng sốc độc tố, nhiễm trùng, bệnh viêm ruột, bệnh Crohn, bệnh viêm mạn tính, bệnh viêm ruột kết dạng loét, bệnh viêm dạ dày miễn dịch tự miễn, bệnh viêm khớp, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh viêm xương khớp, bệnh viêm khớp vảy nến, bệnh xơ cứng rải rác, bệnh to cục, điều trị triệu chứng của khối u thần kinh-nội tiết dạ dày-ruột non-tụy, bệnh tiêu chảy, bệnh tiêu chảy mức độ 3-4, bệnh tiêu chảy liên quan tới liệu pháp trị liệu phóng xạ và/hoặc liệu pháp trị liệu hóa học, điều trị triệu chứng của hội chứng caxinoit hoặc u VIP, bệnh ung thư nội tiết, bệnh ung thư tuyến tụy, bệnh viêm tuyến tụy mạn tính, bệnh to cục, điều trị triệu chứng của khối u thần kinh-nội tiết dạ dày-ruột non-tụy, bệnh giãn tĩnh mạch thực quản, bệnh viêm xương khớp phổi phì đại và u tuyến giáp, bệnh ung thư đại trực tràng, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư tuyến giáp, bnh ung thư phổi, bnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư biểu mô tế bào gan, Alzheimer, bệnh viêm khớp, dị ứng, Luput, Luput ban đỏ, rối loạn tăng sinh limphô, bệnh vồng mạc do đái tháo đường, bệnh phù điểm vàng, bệnh mắt Graves, hội chứng Cushing, đau do thần kinh, chứng tái phát hẹp, sự tạo thành mạch, bệnh cường tuyến giáp, bệnh suy tuyến giáp, bệnh tăng insulin, bệnh vảy nến, bệnh tăng canxi huyết, bệnh Paget, hội chứng suy

mòn và Zollinger-Ellison, bệnh mủ da hoại tử, bệnh tuyến giáp, bệnh đái tháo đường phụ thuộc insulin loại 1, bệnh viêm tuyến giáp Hashimoto, bệnh Graves, bệnh viêm gan miễn dịch tự miễn, bệnh viêm não dị ứng, bệnh viêm màng mạch võng mạc, bệnh viêm màng mạch nhỏ, sự đào thải bộ phận cấy ghép, sự đào thải mảnh ghép, bệnh mảnh ghép-với-thể chủ, viêm màng trong tim Libman-Sacks, bệnh mô liên kết hỗn hợp, bệnh xơ cứng bì, viêm đa cơ da, bệnh u hạt Wegener, hội chứng Sjögren, khối u hạt, bệnh xơ hóa đài tiền, bệnh xơ gan mật nguyên phát, bệnh viêm giác mạc, bệnh viêm cầu thận, bệnh viêm khớp hoạt hóa, viêm ống xoang, hội chứng Reiter, bệnh Lyme, bệnh viêm khớp vảy nến, bệnh viêm khớp kích ứng, viêm cột sống dính khớp, bệnh nhược cơ, bệnh viêm mạch, bệnh viêm tuyến giáp miễn dịch tự miễn, dị ứng, bệnh viêm da hoặc eczema, bệnh vảy nến, bệnh vảy nến, bệnh viêm da xơ, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD), bệnh viêm não, bệnh viêm tuyến giáp miễn dịch tự miễn, bệnh loét do tuổi, bệnh viêm móng mắt, bệnh viêm kết mạc, bệnh viêm giác kết mạc, bệnh khớp cột sống, viêm âm đạo, viêm trực tràng, sự phát ban do dược chất, phản ứng ngược bệnh phong, bệnh phong có nốt ban đỏ, bệnh não xuất huyết hoạt tử cấp tính, bệnh mất thính giác hai bên tiến triển vô căn, bệnh thiếu máu không tái tạo, bệnh thiếu máu tế bào hồng cầu tinh khiết, bệnh giảm tiểu cầu vô căn, bệnh viêm đa sụn, bệnh viêm gan hoạt động mạn tính, hội chứng Stevens-Johnson, bệnh viêm ruột loét miệng vô căn, bệnh viêm bề mặt đài tiền và bệnh sarcoit, bao gồm việc sử dụng lượng hiệu quả trị liệu của ít nhất một hợp chất có công thức chung (I), các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng và/hoặc muối dược dụng của nó.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ cụ thể sau được đề cập trong bản mô tả sáng chế này đóng vai trò thể hiện bản chất của sáng chế này. Các ví dụ này được bao gồm chỉ cho mục đích minh họa và không phải để giới hạn sáng chế được yêu cầu bảo hộ ở đây.

Chữ viết tắt

Các chữ viết tắt được sử dụng trong sáng chế này có các nghĩa sau:

Ac₂O, Axetic anhydrit; AcOH, axit Axetic; Adpoc, 1-(1-adamantyl)-1-metyloxy-carbonyl; All, allyl; Alloc, allyloxycarbonyl; Boc, *tert*-butyloxycarbonyl; Bzl, benzyl; Cbz, benzyloxycarbonyl; cHx, xyclohexyl; ClZ, 2-clobenzyl; CST, cortistatin; DCM, Diclometan; Dde, *N*-[1-(4,4-dimetyl-2,6-dioxoxyclohex-1-yliden)etyl]; DMEM, môi trường Eagle được cải biến Dulbecco; Dfp, 3,5-diflophenylalanin; DIEA, *N,N'*-diisopropyletylamin; DIPCDI, Diisopropylcarbodiimit; Dmab, 4-(*N*-[1-(4,4-dimetyl-2,6-dioxoxyclohexyliden)-3-metylbutyl]amino)benzyl; DMF, *N,N*-dimetylformamit; Dnp, 2,4-dinitrophenyl; DOTA, axit 1,4,7,10-tetraazaxyclododecan-1,4,7,10-tetraaxetic; DTPA, axit Dietylentriaminpentaaxetic; ESI-MS, khối phổ ion hóa tia điện; Fm, fluorenylmetyl; Fmoc, 9-fluorenylmetyloxycarbonyl; HF, axit Hydrofluoric; HOBT, *N*-hydroxybenzotriazol; HPLC, sắc ký lỏng hiệu năng cao; IC₅₀, một nửa hàm lượng ức chế tối đa; ivDde, 1-(4,4-dimetyl-2,6-dioxoxyclohexyliden)-3-metyl-butyl; Ki, hệ số ức chế của dược chất; LPS, lipopolysaccarit; M, khối lượng phân tử; Mtt, metoxytrityl; μ L, microlit; μ mol, micromol; pNZ, *p*-nitrobenzyloxycarbonyl; RP-HPLC, HPLC pha ngược; SST, somatostatin; sstr, thụ thể của somatostatin; tBu, *tert*-butyl; Teoc, 2-(trimetylsilyl)etyloxycarbonyl; TFA, axit trifloaxetic; TFE, 2,2,2-trifloetanol; TIS, triisopropylsilan; tr, thời gian lưu; Trt, trityl; Troc, 2,2,2-tricloetyloxycarbonyl; Z, benzyloxycarbonyl.

Ví dụ 1: Sự tổng hợp hợp chất 1

H-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Msa-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys-]-L-Lys-OH

Nhựa được thể trong bình phản ứng tổng hợp được trang bị với đĩa lọc và chìa khóa. Sự đưa vào của gốc đầu tận C- được tiến hành trên 0,25 g nhựa 2-clorotrityl (1,6 mmol/g). Axit amin đầu tiên, Fmoc-Lys(Boc)-OH (1 eq.) được hòa tan trong 1,25 ml DCM và 75 μ L DMF. DIEA (3 eq.) được bổ sung. Dung dịch với axit amin và bazơ được chuyển tới bình phản ứng và được khuấy trong 45 phút. Sau đó, 0,2 mL MeOH được bổ sung và được cho phản ứng trong 10 phút. Nó được lọc ra và

phần lọc được loại bỏ. Nhựa được rửa với DCM và DMF. Trong mỗi lần rửa, phần lọc được lọc ra và được loại bỏ. Để đưa vào các axit amin sau, 2,5 eq. axit amin Fmoc, 2,5 eq. HOBT và 2,5 eq. DIPCDI được sử dụng. Đối với phản ứng bắt cặp, nó được để cho phản ứng trong 40-60 phút và sự đưa vào của axit amin được kiểm soát với thử nghiệm ninhydrin. Nếu thử nghiệm ninhydrin là dương tính, giai đoạn kích hoạt lại được tiến hành trong 15-30 phút với 0,83 eq. HOBT và 0,83 eq. DIPCDI. Nếu thử nghiệm ninhydrin vẫn là dương tính, bước bắt cặp lại được tiến hành với 1,25 eq. axit amin Fmoc, HOBT và DIPCDI. Nếu thử nghiệm ninhydrin là âm tính, sự tổng hợp chuyển qua bước loại bỏ bảo vệ nhóm Fmoc bằng cách xử lý với dung dịch 20% piperidin trong DMF hai lần. Nhựa peptidyl được rửa 5 lần với DMF, được lọc ra và loại bỏ phần lọc mỗi lần, và axit amin tiếp theo sau đó được đưa vào. Axit amin đầu tận N- được đưa vào dưới dạng Boc-Pro-OH. Thu được 1,03 g nhựa peptit.

1,03 g (0,3 mmol) nhựa peptidyl được đặt trong bình phản ứng. 9,6 mL AcOH: TFE: dung dịch DCM được bổ sung trong khi khuấy từ và để cho phản ứng trong 2 giờ. Nó được lọc trong bình phản ứng với đĩa lọc và phần lọc được thu hồi. Nhựa được rửa 3 lần với 2,55 mL AcOH: TFE: dung dịch DCM và phần lọc được thu hồi.

Dung dịch của 0,73 g (10 eq.) iot trong 3,57 mL AcOH: TFE: dung dịch DCM được chuẩn bị. Phần lọc được thu hồi trong phân giải axit được chuyển tới bình phản ứng chứa dung dịch iot và được để cho phản ứng khi khuấy. Dung dịch của 1,52 g (22 eq.) natri tiosulfat trong 6,12 mL nước được chuẩn bị và được bổ sung vào bình phản ứng sau khi quá trình oxy hóa kết thúc, và sự mất màu hoàn toàn được quan sát thấy trong 5 phút. Việc khuấy được dừng lại và hỗn hợp được để cho lắng tới khi tách riêng pha. Sự tách chiết được tiến hành bằng cách xử lý pha nước với DCM 3 lần và pha hữu cơ với 5% axit citric: NaCl (thể tích:khối lượng). Phân đoạn hữu cơ được cho bay hơi và phần dư được làm khô chân không. Phần dư dạng rắn được rửa với nước trong đĩa lọc. Thu được 0,73 g sản phẩm oxy hóa được bảo vệ.

6,8 mL hỗn hợp phản ứng TFA:H₂O:DCM:anisol (55:5:30:10) được bổ sung vào bình phản ứng. 0,73 g peptit oxy hóa và được bảo vệ được bổ sung vào dung dịch trước đó và nó được để cho phản ứng trong 4 giờ. Heptan (13 mL) được bổ sung và nó được khuấy trong 5 phút. Việc khuấy được dừng lại và nó được để cho lắng. Pha nước được rót trên ete lạnh và được để yên trong 15-30 phút. Huyền phù thu được được lọc qua đĩa lọc và phần lọc được loại bỏ. Phần dư được rửa với ete loại bỏ phần lọc từ mỗi lần rửa. Chất rắn được làm đông khô và thu được 0,56 g sản phẩm thô.

Sản phẩm thô được tinh lọc trong hệ thống bán chuẩn bị trước được trang bị với cột NW50 chứa đầy 10 micromet kromasil silic. Peptit được tạo huyền phù trong 0,1N AcOH và nhựa DOWEX được tạo ra trong 0,1N AcOH được bổ sung. Hợp chất axetat cuối cùng được thu hồi qua việc lọc và được xác định bởi khối phổ trong thiết bị ESI-MS.

Đặc tính: ESI-MS: Lý thuyết M= 1777,1 g/mol, thử nghiệm M: (m/z):
 $[M+2H]^+/2=889,3$, $[M+3H]^+/3=593,1$

Ví dụ 2: Sự tổng hợp hợp chất 2

Octanoyl-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Msa-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys-]-L-Lys-OH

Hợp chất được tạo ra sử dụng phương pháp được mô tả trong ví dụ 1. 0,25 g nhựa được sử dụng để bắt đầu và tỷ lệ đương lượng tương tự được sử dụng. Axit amin đầu tận N- được bổ sung dưới dạng Fmoc-Pro-OH. Axit octanoyl được đưa vào trình tự sử dụng 5 eq. axit, 5 eq. HOBT và 5 eq. DIPCDI. Thu được 0,5 g sản phẩm thô.

Đặc tính: ESI-MS: Lý thuyết M = 1903,35 g/mol, Thử nghiệm M: (m/z):
 $[M+2H]^+/2=952,4$, $[M+3H]^+/2= 635,2$

Ví dụ 3: Sự tổng hợp hợp chất 3

H-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Msa-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH

Hợp chất được tạo ra sử dụng phương pháp được mô tả trong ví dụ 1. 0,25 g nhựa và tỷ lệ đương lượng tương tự được sử dụng. Axit amin đầu tận N- được bổ sung dưới dạng Boc-Pro-OH. Thu được 0,53 g sản phẩm thô.

Đặc tính: ESI-MS: Lý thuyết $M = 1777,15$ g/mol, Thử nghiệm M : (m/z): $[M+2H]^+/2=889,3$ $[M+3H]^+/2= 593,1$

Ví dụ 4: Sự tổng hợp hợp chất 4

Octanoyl-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Msa-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH

Hợp chất được tạo ra sử dụng phương pháp được mô tả trong ví dụ 1. 0,25 g nhựa và tỷ lệ đương lượng tương tự được sử dụng. Axit amin đầu tận N- được bổ sung dưới dạng Fmoc-Pro-OH. Axit octanoyl được đưa vào trình tự sử dụng 5 eq. axit, 5 eq HOBT và 5 eq. DIPCDI. Thu được 0,55 g sản phẩm thô.

Đặc tính: ESI-MS: Lý thuyết $M = 1903,35$ g/mol, Thử nghiệm M : (m/z): $[M+2H]^+/2=952,4$, $[M+3H]^+/2= 635,2$

Ví dụ 5: Sự tổng hợp hợp chất 5

Octanoyl-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Msa-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH

Hợp chất được tạo ra sử dụng phương pháp được mô tả trong ví dụ 1. 0,4 g nhựa và tỷ lệ đương lượng tương tự được sử dụng. Axit amin đầu tận N- được bổ sung dưới dạng Fmoc-Pro-OH. Axit octanoyl được đưa vào trình tự sử dụng 5 eq. axit, 5 eq. HOBT và 5 eq DIPCDI. Thu được 0,53 g sản phẩm thô.

Đặc tính: ESI-MS: Lý thuyết $M = 1775,18$ g/mol, Thử nghiệm M : (m/z):
 $[M+2H]^+/2=888,6$, $[M+3H]^+/2= 592,7$

Ví dụ 6: Sự tổng hợp hợp chất 6

H-L-Ala-Gly-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Dfp-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH

Hợp chất được tạo ra sử dụng phương pháp được mô tả trong ví dụ 1 và tỷ lệ đương lượng tương tự. Axit amin đầu tận N- được bổ sung dưới dạng Boc-Ala-OH. Thu được 0,53 g sản phẩm thô.

Đặc tính: ESI-MS: Lý thuyết $M = 1673,9$ g/mol, Thử nghiệm M : (m/z):
 $[M+H]^+=1674,8$; $[M+2H]^+/2=837,9$

Ví dụ 7: Sự tổng hợp Ac-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Dfp-L-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-NH₂ (hợp chất 7)

Hợp chất được tạo ra sử dụng phương pháp được mô tả trong ví dụ 1, bằng cách sử dụng nhựa MBHA và tỷ lệ đương lượng tương tự. Axit amin đầu tận N- được bổ sung dưới dạng Fmoc-Pro-OH. Axetyl hóa được tiến hành trong pha rắn sử dụng 5 eq. axetic anhydrit và 10 eq. DIEA. Thu được 0,48 g sản phẩm thô.

Đặc tính: ESI-MS: Lý thuyết $M = 1812,15$ g/mol, Thử nghiệm M : (m/z):
 $[M+2H]^+/2=907,07$, $[M+3H]^+/3=605,05$

Ví dụ 8: Sự tổng hợp H-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Dfp-L-Phe-L-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Msa-L-Ser-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-NH₂ (hợp chất 8)

Hợp chất được tạo ra sử dụng phương pháp được mô tả trong ví dụ 1, bằng cách sử dụng nhựa MBHA và tỷ lệ đương lượng tương tự. Axit amin đầu tận N- được bổ sung dưới dạng Boc-Pro-OH. Thu được 0,5 g sản phẩm thô.

Đặc tính: ESI-MS: Lý thuyết $M = 1798,15$ g/mol, Thử nghiệm M : (m/z):
 $[M+2H]^+/2=900,1$, $[M+3H]^+/3=600,3$.

Ví dụ 9: Sự tổng hợp H-L-Asp-L-Arg-L-Met-L-Pro-c[L-Cys-L-Arg-L-Asn-L-Msa-L-Phe-L-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH (hợp chất 9)

Hợp chất được tạo ra sử dụng phương pháp được mô tả trong ví dụ 1 và tỷ lệ đương lượng tương tự. Axit amin đầu tận N- được bổ sung dưới dạng Fmoc-Asp(OtBu)-OH. Sau khi loại bỏ bảo vệ của Fmoc và phân giải axit cuối cùng, thu được 0,54 g sản phẩm thô.

Đặc tính: ESI-MS: Lý thuyết $M = 2207,54$ g/mol, Thử nghiệm M : (m/z):
 $[M+2H]^+/2=1104,7$; $[M+3H]^+/3=736,8$

Ví dụ 10: Sự tổng hợp Myristoyl-L-Asp-L-Arg-L-Met-L-Pro-c[L-Cys-L-Arg-L-Asn-L-Msa-L-Phe-L-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH (hợp chất 10)

Hợp chất được tạo ra sử dụng phương pháp được mô tả trong ví dụ 1 và tỷ lệ đương lượng tương tự. Axit amin đầu tận N- được bổ sung dưới dạng Fmoc-Asp(OtBu)-OH. Axit myristic được đưa vào sử dụng 5 eq. axit, 5 eq. HOBT và 5 eq. DIPCDI. Thu được 0,52 g sản phẩm thô.

Đặc tính: ESI-MS: Lý thuyết $M = 2411,5$ g/mol, Thử nghiệm M : (m/z):
 $[M+2H]^+/2=1206,8$; $[M+3H]^+/3=804,8$.

Ví dụ 11: Giá trị liên kết của các chất tương tự cortistatin mới với thụ thể của somatostatin (sstr1-sstr5)

Các tế bào CHO-K1 trong đó mỗi thụ thể trong 5 thụ thể của somatostatin (sstr1-sstr5) được biểu hiện độc lập được sử dụng. Các tế bào được nuôi cấy trong dung dịch đệm HEPES pH 7,4 với các chất tương tự cortistatin mới (các hợp chất 1-10) ở khoảng nồng độ từ 0,1 nM đến 10 μ M trong 2-4 giờ và 125 I-Tyr¹¹-somatostatin

14 được sử dụng làm phối tử hoạt hóa phóng xạ và somatostatin-14 làm phối tử lạnh. Hoạt tính phóng xạ thu được khi không có somatostatin-14 được xem là liên kết tổng số và hoạt tính phóng xạ thu được khi có 1 μM somatostatin-14 được xem là liên kết không đặc hiệu. Liên kết đặc hiệu được xem là khác biệt giữa liên kết hoàn toàn và liên kết không đặc hiệu. Trong khoảng nồng độ thử nghiệm từ 0,1 nM đến 10 μM , các chất tương tự cortistatin mới được đánh giá giá trị phần trăm ức chế của liên kết đặc hiệu mà là cao hơn 50%. Giá trị đã nêu tương quan với giá trị IC_{50} cho các chất tương tự cortistatin mới trong các khoảng sau, tất cả chúng nằm trong khoảng nanomol, (IC_{50} (sstr1) = 1 nM - 50 nM; IC_{50} (sstr2) = 1 nM - 50 nM; IC_{50} (sstr3, sstr4 và sstr5) = 0,5 nM - 5 nM), khoảng giá trị được công bố cho cortistatin [*Spier et al., Brain Research Reviews 2000, 33, 228-241*] IC_{50} (sstr1) = 1-5 nM; IC_{50} (sstr2, sstr3, sstr5) = 0,1 nM - 5 nM; IC_{50} (sstr4) = 0,1 nM - 20 nM). Các kết quả thể hiện rằng các chất tương tự cortistatin mới được đánh giá là tương tác với thụ thể của somatostatin sstr1-sstr 5 với ái lực nanomol.

Ví dụ 12. Ảnh hưởng của các chất tương tự cortistatin mới lên đáp ứng viêm in vitro

Các tế bào 264 thô được nuôi cấy trong môi trường DMEM hoàn thiện tới khi đạt tới 80% hợp lưu. Các tế bào được nuôi cấy không có hoặc có lipopolysaccarit (LPS, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, từ kiểu huyết thanh *E. coli* 055:B5). Các tế bào được nuôi cấy khi không có lipopolysaccarit được sử dụng làm đối chứng (cơ bản). Các chất tương tự cortistatin mới được bổ sung với nồng độ 100 nM khi bắt đầu nuôi cấy. Sau 24 giờ, phần dịch nổi được thu lại và mức xytokin và nitric oxit được xác định. Mức xytokin (TNFalpha và IL-6) được thiết lập sử dụng thử nghiệm ELISA. Số lượng nitric oxit (NO) được thiết lập sử dụng thử nghiệm Griess. Thể tích tương đương của phần dịch nổi từ nuôi cấy (90 μl) và chất phản ứng Griess được trộn và độ hấp thụ được đo ở 550 nm. Lượng nitrit được tính theo đường NaNO_2 tiêu chuẩn.

Để so sánh, giá trị của cortistatin-14 (CST-14), somatostatin-14 (SOM-14) và ba chất tương tự của somatostatins được mô tả trong WO 2010/128098 A1 được đánh giá:

H-L-Ala-Gly-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Msa-L-Phe-L-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH (hợp chất 11)

H-L-Ala-Gly-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Msa-L-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH (hợp chất 12)

H-L-Ala-Gly-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Phe-L-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Msa-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH (hợp chất 13)

Như sự xác định viêm tối đa, giá trị kích hoạt của TNFalpha, IL-6 và NO thu được lần lượt là 5,78 ng/mL; 4,48 ng/mL và 5,23 ng/mL. Giá trị cơ bản tương ứng khi không viêm là 0,48 ng/mL; 0 ng/mL và 0,44 ng/mL. Giá trị TNFalpha, IL-6 và NO thu được sau điều trị với peptit tự nhiên, CST-14, lần lượt là 3,17 ng/mL; 3,78 ng/mL và 3,08 ng/mL, tất cả chúng thấp hơn giá trị tối đa của viêm, do đó CST-14 thể hiện kháng viêm hiệu quả. Giá trị thu được cho SST-14 là 5,21 ng/mL; 4,2 ng/mL và 4,32 ng/mL, và giá trị cho chất tương tự của somatostatins được nghiên cứu (các hợp chất 11-13) được tìm thấy lần lượt trong các khoảng 5,18-5,24 ng/mL; 4,19-4,45 ng/mL và 3,4-5,05 ng/mL.

Giá trị thu được sau điều trị với các chất tương tự cortistatin mới được tìm thấy lần lượt nằm trong khoảng 2,51-4,9 ng/mL; 2,77-4,23 ng/mL và 3,04-4,49 ng/mL đối với TNFalpha, IL-6 và NO, thể hiện hiệu quả của điều trị đã nêu trong việc làm giảm viêm *in vitro*, cao hơn chất tương tự của somatostatins được thử nghiệm (các hợp chất 11-13).

Dữ liệu thu được cho CST-14 và SST-14 thể hiện cả phân tử và chất tương tự của chúng là hiệu quả trong việc làm giảm viêm *in vitro*.

Ví dụ 13. Ảnh hưởng của các chất tương tự cortistatin mới lên đáp ứng miễn dịch *in vitro*

Tế bào lá lách từ chuột đực 8 tuần tuổi C57Bl/6 thu được sau khi phân ly cơ học các tế bào, lọc qua lưới nylon và phân giải các tế bào máu màu đỏ. Tế bào lá lách

được nuôi cấy trong môi trường DMEM hoàn thiện tới khi mật độ là 10^6 các tế bào/ml. Các tế bào không kết dính (được tạo thành trong 80% bởi các tế bào T) được sử dụng để xác định xytokin và cho thử nghiệm tăng sinh. Các tế bào T được nuôi cấy trong môi trường DMEM hoàn thiện và được kích thích với kháng thể kháng-CD3 (2 μ g/ml) khi có các chất tương tự cortistatin khác nhau ở nồng độ 100nM. Sau 48 giờ, phần dịch nổi của môi trường nuôi cấy được tách riêng và mức xytokin (INF γ và IL-2) được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm ELISA. Để xác định tác dụng của các chất tương tự cortistatin khác nhau trong tăng sinh, các tế bào được nuôi cấy trong 72 giờ và 0,5 μ Ci (0,0185 MBq)/giếng của [3 H]- tymidin được bổ sung trong 8 giờ nuôi cấy cuối, màng được thu lại và được bổ sung [3 H]- Tymidin được xác định sử dụng máy đếm nhấp nháy.

Để so sánh, giá trị của cortistatin-14 (CST-14), somatostatin-14 (SOM-14) và ba chất tương tự của somatostatins được mô tả trong WO 2010/128098 A1 được xác định:

H-L-Ala-Gly-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Msa-L-Phe-L-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH (hợp chất 11)

H-L-Ala-Gly-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Msa-L-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH (hợp chất 12)

H-L-Ala-Gly-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Phe-L-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Msa-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH (hợp chất 13)

Như sự xác định tối đa cho đáp ứng miễn dịch, giá trị tăng sinh được kích hoạt thu được, INF γ và IL-2 lần lượt là 9843; 2,52 ng/mL và 3,22 ng/mL. Giá trị cơ bản tương ứng khi không có sự kích hoạt của đáp ứng miễn dịch là 640; 0 ng/mL và 0,23 ng/mL. Giá trị tăng sinh, INF γ và IL-2 thu được sau điều trị với peptit tự nhiên, CST-14, lần lượt là 5500; 1,13 ng/mL và 1,52 ng/mL, tất cả chúng thấp hơn giá trị tối đa của đáp ứng miễn dịch, thể hiện điều biến đáp ứng miễn dịch hiệu quả của CST-14. Giá trị thu được cho SST-14 là 9936; 2,31 ng/mL và 3,14 ng/mL, và giá trị của chất

tương tự của somatostatins được nghiên cứu (các hợp chất 11-13) được tìm thấy lần lượt nằm trong khoảng 10216-10466; 2,51-2,3 ng/mL và 3,23-3,37 ng/mL.

Giá trị thu được sau điều trị với các chất tương tự cortistatin mới được tìm thấy lần lượt trong khoảng 5863-9316; 1,33-2,56 ng/mL và 1,8-3,23 ng/mL đối với tăng sinh, $\text{INF}\gamma$ và IL-2, thể hiện hiệu quả của điều trị đã nêu trong việc làm giảm đáp ứng miễn dịch *in vitro*.

Điều trị của tế bào lá lách hoạt hóa với các chất tương tự cortistatin mới làm giảm mức độ tăng sinh, $\text{INF}\gamma$ và/hoặc IL-2, thể hiện hiệu quả trong điều biến sự kích hoạt quá mức của đáp ứng miễn dịch.

Dữ liệu so sánh thu được cho CST-14 và chất tương tự mới của nó và SST-14 và chất tương tự của nó thể hiện rằng CST-14 và chất tương tự có tác dụng lớn hơn trong việc làm giảm đáp ứng miễn dịch *in vitro*.

Ví dụ 14: Độ ổn định huyết thanh của các chất tương tự cortistatin mới.

Các hợp chất mới được nuôi cấy với 90% huyết thanh người ở 37°C. Các lượng nhỏ được tách chiết ở các lần nuôi cấy khác nhau. Metanol được bổ sung để kết tủa protein từ huyết thanh, nó được ly tâm và phần dịch nổi được đưa tới phân tích sắc ký sử dụng RP-HPLC (Gradient: 20-80% B trong 30 phút, B= 0,07%TFA trong axetonitril). Sự biến mất của sản phẩm ban đầu được phân tích sử dụng vùng tương ứng với sản phẩm ban đầu và thời gian của thời gian bán hủy được xác định.

Các hợp chất mới có thời gian bán hủy dài hơn cortistatin. Trong các điều kiện thử nghiệm này, thời gian bán hủy của cortistatin trong huyết thanh là 2 phút. Thời gian bán hủy của các hợp chất 4, 6 và 5 lần lượt là 21 phút, 3,8 giờ và 35 giờ. Đối với CST-14, chất chuyển hóa chính là hợp chất 14. Chất chuyển hóa chính của hợp chất 4 là hợp chất 5. Trong cả hai trường hợp, peptit ban đầu mất Lys ở đầu tận C- thu được chất chuyển hóa ổn định trong nhiều giờ.

H-Pro-c[Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Ser-Ser-Cys]-OH (hợp chất 14)

Ví dụ 15: Hiệu quả của các hợp chất 4, 5 và 6 trong mô hình của Viêm khớp cảm ứng collagen (Collagen Bệnh viêm khớp kích ứng-CIA) trong chuột.

Chuột DBA/1 được tiêm collagen gà kiểu II trong phụ gia Freud hoàn thiện và *M. tuberculosis* vào ngày 0 và 21. Giữa ngày 25 và 29 được điều trị tiêm dưới da với nước muối (đối chứng) hoặc với 0,4 mg/kg của các hợp chất 4, 5 hoặc 6 một lần mỗi ngày. Là điều trị đối chứng, kháng thể kháng-TNFalpha được sử dụng và được tiêm tĩnh mạch vào ngày 25 và 32. Mức độ lâm sàng của viêm khớp được phân tích hàng ngày sử dụng các số từ 0 đến 10 theo độ nghiêm trọng của hư hại. Độ sưng chân được đánh giá bằng cách xác định độ dày với com-pan-đo mỗi 5 ngày trong quá trình nghiên cứu (ngày 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50).

Điều trị chuột CIA với các hợp chất 4, 5 và 6 thể hiện sự cải thiện đáng kể trong việc làm giảm mức độ lâm sàng của viêm khớp và làm giảm độ sưng chân, thể hiện hiệu quả của nó trong mô hình thử nghiệm này của bệnh với viêm và đáp ứng miễn dịch. Mức độ lâm sàng của viêm khớp (0-10) của chuột bệnh được điều trị với nước muối (đối chứng) đạt giá trị tối đa là 8,5 vào ngày 21 sau khi tiêm collagen lần hai. Trong cùng giai đoạn, điều trị các chuột CIA này với các hợp chất theo sáng chế này (các hợp chất 4-6) làm giảm mức độ viêm khớp tới giá trị nằm trong khoảng từ 3 đến 5,6. Có ích khi chỉ ra rằng các giá trị này nằm trong khoảng bao gồm giá trị của mức độ viêm khớp thu được đối với chuột CIA được điều trị với đối chứng dương kháng-TNF alpha (4,9) tương đương với điều trị được sử dụng lâm sàng cho viêm khớp dạng thấp.

Vào ngày 50 của nghiên cứu, độ dày của chân của chuột bệnh CIA đạt tới giá trị 2,83mm. Đối chứng kháng-TNFalpha làm giảm viêm ở chân tới giá trị là 2,5mm. Các hợp chất 4-6 cũng làm giảm giá trị viêm tới nằm trong khoảng từ 2,3-2,5 mm.

Ví dụ 16: Hiệu quả của các hợp chất 4, 5 và 6 ở mô hình thử nghiệm bệnh Crohn.

Chuột đực 6-8 tuần tuổi BALB/c được sử dụng. Chúng được sử dụng trong trực tràng với axit trinitrobenzensuphonic (TBNS) trong 50% etanol để kích thích sung ruột già. Chuột đối chứng nhận được 50% etanol. Chuột được điều trị tiêm dưới da với dung dịch đệm (PBS) hoặc với các chất tương tự cortistatin khác (0,4 mg/Kg) vào ngày 3, 4 và 5, khi bệnh đã được thành lập.

Động vật được quan sát hàng ngày và sự có mặt của bệnh tiêu chảy (mức độ sung ruột già) bằng cách sử dụng mức độ từ 0 đến 4, sự giảm cân và sự sống sót được nhắc tới. Ngoài ra, ở giai đoạn xét nghiệm tử thi, trong ngày 10, ruột được đánh giá và phân loại sự hư hại nhìn thấy được sử dụng mức độ từ 0 đến 10 dựa trên tiêu chí phản ánh viêm, tăng thiếu máu, độ sung của ruột, và sự mở rộng của vết loét bởi hai nhà nghiên cứu độc lập theo cách không nhìn thấy được. Việc phân loại mức độ sung của ruột già, theo độ sệt của phân và sự chảy máu trực tràng, được tiến hành bởi hai nhà quan sát độc lập: 0 = bề ngoài phân bình thường, 1 = giảm nhẹ độ sệt của phân; 2 = giảm trung bình độ sệt của phân; 3 = giảm trung bình độ sệt của phân và có máu trong phân; 4 = bệnh tiêu chảy có nước nghiêm trọng và có máu trong phân trung bình/nghiêm trọng. Khối lượng của chuột mắc từ sung ruột già kích thích bởi TNBS điều trị trong 50% etanol giảm từ ngày 1 (22 g) đến ngày 10 (17 g). Khối lượng của chuột đối chứng khỏe mạnh chỉ được điều trị với 50% etanol tăng từ ngày 1 (22 g) đến ngày 10 (25 g). Điều trị chuột bệnh với đối chứng dương kháng-TNFalpha kiểm soát sự giảm cân của chúng từ ngày 1 (21 g) đến ngày 10 (19 g); điều tương tự xảy ra với điều trị với chất tương tự cortistatin các hợp chất 4-6, trong đó khối lượng của chúng vào ngày 10 nằm trong khoảng từ 19 đến 20 g, giá trị cao hơn đáng kể giá trị khối lượng thu được của chuột bệnh (17 g).

Mức độ sung của ruột già (0-4) được đánh giá *in vivo* vào ngày 6 của nghiên cứu thể hiện giá trị cơ bản là 0,25 cho chuột đối chứng khỏe mạnh điều trị với 50% etanol và giá trị tối đa là 3,6 với chuột bệnh điều trị với TBNS trong 50% etanol. Các điều trị khác với các chất tương tự cortistatin tạo ra giá trị mức độ sung của ruột già nằm trong khoảng từ 1,4 và 2,1, tương tự với giá trị của nhóm đối chứng dương với kháng-TNFalpha (2,1), thể hiện hiệu quả của điều trị đã nêu.

Sự mở rộng phần hư hại nhìn thấy được trong ruột (0-10) được phân tích khi xét nghiệm xác. Giá trị cơ bản là 0,2 thu được với chuột đối chứng khỏe mạnh điều trị với 50% etanol và giá trị tối đa là 7,5 với chuột bệnh điều trị với TBNS trong 50% etanol. Các điều trị khác với các chất tương tự cortistatin thể hiện giá trị của sự mở rộng phần hư hại này nằm trong khoảng từ 1,9 đến 2,8. Điều trị với hợp chất kháng-TNFalpha cho giá trị là 2,5 với cùng khoảng với các hợp chất theo sáng chế này.

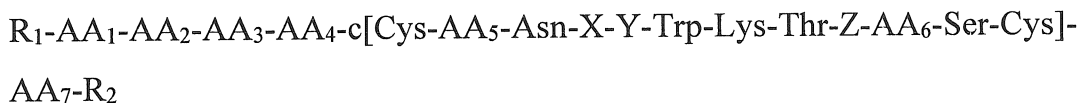
Ví dụ 17: Hiệu quả của các hợp chất 4, 5 và 6 ở mô hình thử nghiệm bệnh viêm ruột kết dạng loét.

Chuột đực 7-8 tuần tuổi C57BI/6 được sử dụng. Chúng được cung cấp nước uống tự nguyện với 5% Dextran sulfat natri (DSS) từ ngày 0 đến ngày 7 của nghiên cứu để kích thích sự sưng ruột già cấp tính. Động vật trong nhóm đối chứng được cho dùng nước bình thường. Chuột được điều trị tiêm dưới da với dung dịch đệm (PBS) hoặc với các chất tương tự cortistatin khác (0,4 mg/Kg) vào ngày 1, 2 và 3 của nghiên cứu. CST được sử dụng làm sản phẩm đối chứng. Độ nghiêm trọng của sưng ruột già được đánh giá hàng ngày sử dụng giá trị mức độ từ 0 đến 4 thể hiện chỉ số hoạt tính bệnh lâm sàng liên quan tới độ sệt của phân, sự xuất hiện của phân có máu và sự giảm cân. Chuột bị giết vào ngày 8 của nghiên cứu và sau khi xét nghiệm xác sự mở rộng phần hư hại nhìn thấy được được tạo ra trong ruột già sử dụng mức độ từ 0 đến 8. Việc sử dụng qua đường miệng của 5% DSS khiến cho chỉ số hoạt tính bệnh tăng đáng kể (0-4), đi từ giá trị cơ bản là 0 đến giá trị là 3,7 trong nhóm bị bệnh. Chuột bệnh được điều trị bằng CST và các chất tương tự cortistatin thu được giá trị chỉ số hoạt tính bệnh lâm sàng thấp hơn đáng kể và tương tự ở đó, nằm trong khoảng 1-1,5. Ngoài ra, việc điều trị bằng các chất tương tự cortistatin mới nằm trong khoảng từ ngày 1 đến 3 của nghiên cứu, sự sống sót của động vật bệnh tăng lên đáng kể từ 50% đến 100%. Ở mức độ vĩ mô, mức độ sưng ruột già của chuột bệnh là 6,6; mức độ sưng ruột già của chuột bệnh điều trị bằng CST là 0,87 và mức độ sưng ruột già

của chuột bệnh điều trị bằng các chất tương tự cortistatin mới là 0,74-1,5. Khối lượng trung bình của ruột già ở chuột bệnh là 763 mg, khối lượng trung bình của ruột già ở chuột bệnh điều trị bằng CST là 621 mg và khối lượng trung bình của ruột già ở chuột bệnh điều trị bằng các chất tương tự cortistatin mới là nằm trong khoảng 614-621 mg, thể hiện sự giảm viêm của ruột già. Tất cả các kết quả này thể hiện hiệu quả của các chất tương tự cortistatin mới trong mô hình sung ruột già thử nghiệm này.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất tương tự cortistatin có công thức chung (I),



(I)

các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng và/hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

AA₁ là Asp hoặc liên kết

AA₂ là Arg hoặc liên kết

AA₃ là Met hoặc Ala hoặc liên kết

AA₄ là Pro hoặc Gly

AA₅ là Lys hoặc Arg

AA₆ là Ser hoặc Thr

AA₇ là Lys hoặc liên kết

X, Y, Z là các axit amin Phe, Phg, Msa, 3,4,5-trimethylphenylalanin, Msg, 3,4,5-trimethylphenylglyxin và/hoặc dihalogenophenylalanin, diW-Phe;

W được chọn từ nhóm bao gồm F, Cl, Br và I;

R₁ được chọn từ nhóm bao gồm H, nhóm béo được thế hoặc không được thế không vòng, alixyclyl được thế hoặc không được thế, heteroxyclyl được thế hoặc không được thế, heteroarylalkyl được thế hoặc không được thế, aryl được

thể hoặc không được thể, aralkyl được thể hoặc không được thể, polyme có nguồn gốc từ polyetylen glycol, chất tạo chelat và R_5 -CO-;

R_2 được chọn từ nhóm bao gồm $-NR_3R_4$, $-OR_3$ và $-SR_3$;

R_3 và R_4 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H, nhóm béo được thể hoặc không được thể không vòng, alixyclyl được thể hoặc không được thể, heteroxyclyl được thể hoặc không được thể, heteroarylalkyl được thể hoặc không được thể, aryl được thể hoặc không được thể, và aralkyl và polyme được thể hoặc không được thể;

R_5 được chọn từ nhóm bao gồm H, nhóm béo được thể hoặc không được thể không vòng, alixyclyl được thể hoặc không được thể, aryl được thể hoặc không được thể, aralkyl được thể hoặc không được thể, heteroxyclyl được thể hoặc không được thể và heteroarylalkyl được thể hoặc không được thể;

và với điều kiện là:

- Ít nhất một trong các axit amin X, Y hoặc Z là Msa, 3,4,5-trimetylphenylalanin, Msg, 3,4,5-trimetylphenylglyxin và/hoặc dihalogenophenylalanin, diW-Phe;
- Nếu AA_1 và AA_2 là các liên kết, AA_3 là Ala, AA_4 là Gly, AA_5 là Lys, AA_6 là Thr và AA_7 là liên kết, thì ít nhất một trong các axit amin X, Y hoặc Z là dihalogenophenylalanin, diW-Phe.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó AA_3 là Met hoặc một liên kết và AA_4 là Pro.
3. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 2, trong đó ít nhất một trong các axit amin X, Y hoặc Z là dihalogenophenylalanin, diW-Phe.
4. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 3, trong đó ít nhất một trong các axit amin X, Y hoặc Z là 3,5-diflophenylalanin (Dfp).
5. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 4, trong đó R_5 được chọn từ nhóm bao gồm alkyl gốc C_1 - C_{24} được thể hoặc không được thể, alkenyl C_2 - C_{24} được

thể hoặc không được thể, alkynyl C₂-C₂₄ được thể hoặc không được thể, xycloalkyl C₃-C₂₄ được thể hoặc không được thể, xycloalkenyl C₅-C₂₄ được thể hoặc không được thể, xycloalkynyl C₈-C₂₄ được thể hoặc không được thể, aryl C₆-C₃₀ được thể hoặc không được thể, aralkyl C₇-C₂₄ được thể hoặc không được thể, heteroxyclyl vòng có 3-10 cạnh được thể hoặc không được thể, và heteroarylalkyl được thể hoặc không được thể có 2 đến 24 nguyên tử cacbon và 1 đến 3 nguyên tử không phải cacbon trong đó chuỗi alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon.

6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 5, trong đó R₁ được chọn từ H, polyme có nguồn gốc từ polyetylen glycol có khối lượng phân tử nằm trong khoảng từ 200 đến 35000 Dalton, axetyl, *tert*-butanoyl, prenyl, hexanoyl, 2-metylhexanoyl, xyclohexancarboxyl, octanoyl, decanoyl, lauroyl, myristoyl, palmitoyl, stearoyl, behenyl, oleoyl và linoleoyl.

7. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 6, trong đó R₃ và R₄ độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H, alkyl C₁-C₂₄ được thể hoặc không được thể, alkenyl C₂-C₂₄ được thể hoặc không được thể, alkynyl C₂-C₂₄ được thể hoặc không được thể, xycloalkyl C₃-C₂₄ được thể hoặc không được thể, xycloalkenyl C₅-C₂₄ được thể hoặc không được thể, xycloalkynyl C₈-C₂₄ được thể hoặc không được thể, aryl C₆-C₃₀ được thể hoặc không được thể, aralkyl C₇-C₂₄ được thể hoặc không được thể, heteroxyclyl vòng có 3-10 cạnh được thể hoặc không được thể, và heteroarylalkyl được thể hoặc không được thể có 2 đến 24 nguyên tử cacbon và 1 đến 3 nguyên tử không phải cacbon trong đó chuỗi alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon và polyme thu được từ polyetylen glycol.

8. Hợp chất theo điểm 7, trong đó R₃ và R₄ được chọn từ nhóm bao gồm H, methyl, ethyl, hexyl, dodexyl hoặc hexadexyl.

9. Hợp chất theo điểm 1, được chọn từ nhóm bao gồm:

H-L-Ala-Gly-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Dfp-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH

H-L-Ala-Gly-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Dfp-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH

H-L-Ala-Gly-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Dfp-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH
 H-L-Ala-Gly-c[L-Cys-L-Arg-L-Asn-L-Dfp-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Dfp-L-Ser-L-Ser-L-Cys]-OH
 H-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Msa-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH
 Octanoyl-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Msa-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH
 H-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Msa-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH
 Octanoyl-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Msa-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH
 Ac-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Dfp-L-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-NH₂
 H-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Msa-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH
 H-L-Pro-c[L-Cys-L-Arg-L-Asn-L-Msa-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Msa-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH
 H-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Dfp-L-Phe-L-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Msa-L-Ser-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-NH₂
 H-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Msa-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH
 Octanoyl-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Msa-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH
 H-L-Pro-c[L-Cys-L-Lys-L-Asn-L-Phe-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Dfp-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-OH
 H-L-Met-L-Pro-c[L-Cys-L-Arg-L-Asn-L-Msa-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Ser-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH
 H-L-Asp-L-Arg-L-Met-L-Pro-c[L-Cys-L-Arg-L-Asn-L-Msa-L-Phe-L-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH

Myristoyl-L-Asp-L-Arg-L-Met-L-Pro-c[L-Cys-L-Arg-L-Asn-L-Msa-L-Phe-L-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH

H-Asp-L-Arg-L-Met-L-Pro-c[L-Cys-L-Arg-L-Asn-L-Dfp-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-L-Phe-L-Thr-L-Ser-L-Cys]-L-Lys-OH

10. Quy trình điều chế hợp chất có công thức chung (I), các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng, hoặc muối dùng được trong mỹ phẩm hoặc dược phẩm của nó như được xác định theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 9, được tiến hành sử dụng kỹ thuật tổng hợp pha rắn hoặc kỹ thuật tổng hợp trong dung dịch.

11. Dược phẩm chứa lượng hiệu quả trị liệu của ít nhất một hợp chất có công thức chung (I), các chất đồng phân lập thể của nó, hỗn hợp của chúng, hoặc muối được dùng của nó, theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 9.