



(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)



1-0034390

(51)<sup>7</sup> C07K 14/605; A61K 38/26

(13) B

(21) 1-2016-01708

(22) 17/10/2014

(86) PCT/EP2014/072293 17/10/2014

(87) WO2015/055801 23/04/2015

(30) 61/892,256 17/10/2013 US

(45) 26/12/2022 417

(43) 25/07/2016 340A

(73) 1. ZEALAND PHARMA A/S (DK)

Smedeland 36, DK-2600 Glostrup, Denmark

2. BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH (DE)

Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim am Rhein, Germany

(72) Ditte RIBER (DK); Jakob Lind TOLBORG (DK); Dieter Wolfgang HAMPRECHT (DE); Wolfgang RIST (DE).

(74) Công ty cổ phần tư vấn Trung Thực (TRUNG THUC.,JSC)

(54) HỢP CHẤT TƯƠNG TỰ GLUCAGON ĐÃ ĐƯỢC AXYL HÓA VÀ CHẾ PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất tương tự glucagon đã được axyl hóa và chế phẩm chứa hợp chất này để điều trị bệnh béo phì và tình trạng thừa cân, bệnh đái tháo đường, và rối loạn chuyển hóa khác có liên quan.

### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến các chất tương tự glucagon đã được axyl hóa và ứng dụng của chúng trong y khoa, ví dụ, trong việc điều trị bệnh béo phì và tình trạng thừa cân, bệnh đái tháo đường, và các rối loạn chuyển hóa khác.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Tiền proglucagon là polypeptit tiền chất gồm 158 axit amin mà được xử lý biệt hóa trong các mô để tạo ra nhiều peptit có liên quan về mặt cấu trúc có nguồn gốc từ proglucagon, bao gồm glucagon (Glu), peptit-1 kiểu glucagon (GLP-1), peptit-2 kiểu glucagon (GLP-2), và oxyntomodulin (OXM). Các phân tử này liên quan đến nhiều loại chức năng sinh lý, bao gồm tính nội cân bằng glucoza, tiết insulin, sự làm rỗng dạ dày và phát triển của ruột, cũng như điều chỉnh lượng thức ăn đưa vào cơ thể.

Glucagon là peptit gồm 29 axit amin mà tương ứng với các axit amin 53 đến 81 của tiền proglucagon. Oxyntomodulin (OXM) là peptit gồm 37 axit amin mà bao gồm trình tự đầy đủ gồm 29 axit amin của glucagon với đoạn octapeptit kéo dài đầu tận cùng carboxy (các axit amin 82 đến 89 của tiền proglucagon, và được gọi là “peptit xen vào 1” hoặc IP-1. Đoạn có hoạt tính sinh học chính của GLP-1 được tạo ra ở dạng peptit gồm 30 axit amin đã amid hóa ở đầu tận cùng C mà tương ứng với các axit amin 98 đến 127 của tiền proglucagon.

Glucagon giúp duy trì nồng độ của glucoza trong máu nhờ liên kết với các thụ thể glucagon trên các tế bào gan, khiến gan giải phóng glucoza – đã được tích trữ ở dạng glycogen – thông qua quá trình tiêu glycogen. Khi nguồn dự trữ này bị cạn kiệt, glucagon kích thích gan tổng hợp thêm glucoza theo quá trình hình thành glucoza. Glucoza này được giải phóng vào dòng máu, ngăn ngừa sự phát triển của chứng giảm glucoza huyết.

GLP-1 làm giảm nồng độ tăng glucoza huyết bằng cách cải thiện mức độ tiết insulin dưới tác dụng kích thích của glucoza và thúc đẩy sự giảm cân chủ yếu thông qua việc làm giảm thức ăn đưa vào cơ thể.

OXM được giải phóng vào máu dưới tác dụng của việc ăn thức ăn vào và tỷ lệ với lượng calo của thức ăn. Đã thấy rằng OXM ức chế cảm giác muốn ăn và ức chế hấp thu thức ăn vào cơ thể người (Cohen et al, *Journal of Endocrinology and Metabolism*, 88, 4696-4701, 2003; WO 2003/022304). Ngoài các tác dụng gây chán ăn này, mà là tương tự các tác dụng của GLP-1, OXM chắc chắn còn tác động đến thể trọng theo một cơ chế khác, vì chuột to được xử lý bằng oxyntomodulin tăng thể trọng ít hơn con chuột to được cho ăn cùng cạp (Bloom, *Endocrinology* 2004, 145, 2687). Việc điều trị các con động vật gặm nhấm béo phì bằng OXM cũng làm tăng khả năng dung nạp glucoza của chúng (Parlevliet et al, *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 294, E142-7, 2008) và ngăn chặn tăng thể trọng (WO 2003/022304).

OXM hoạt hóa cả glucagon và các thụ thể GLP-1 với mức độ hiệu nghiệm cao gấp hai lần thụ thể glucagon so với thụ thể GLP-1, nhưng kém hiệu nghiệm hơn so với glucagon tự nhiên và GLP-1 đối với các thụ thể tương ứng của chúng. Glucagon của người cũng có khả năng hoạt hóa cả hai thụ thể, mặc dù ưu tiên thụ thể glucagon hơn thụ thể GLP-1. Tuy nhiên, GLP-1 không có khả năng hoạt hóa các thụ thể glucagon. Cơ chế hoạt động của oxyntomodulin vẫn chưa được biết rõ. Cụ thể, không rõ liệu một số tác dụng bên ngoài gan của hormon này được gián tiếp qua thụ thể GLP-1 và thụ thể glucagon, hay thông qua một hoặc nhiều thụ thể chưa xác định được.

Đã thấy rằng các peptit khác liên kết và hoạt hóa cả thụ thể glucagon và thụ thể GLP-1 (Hjort et al, *Journal of Biological Chemistry*, 269, 30121-30124, 1994) và ngăn chặn tăng thể trọng và làm giảm lượng thức ăn đưa vào cơ thể (ví dụ, xem các công bố quốc tế số WO2006/134340, WO2007/100535, WO2008/10101, WO2008/152403, WO2009/155257, WO2009/155258, WO2010/070252, WO2010/070253, WO2010/070255, WO2010/070251, WO2011/006497, WO2011/160630, WO2011/160633, WO2013/092703, WO2014/041195).

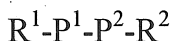
Bệnh béo phì là vấn đề sức khỏe ngày càng gia tăng trên toàn cầu liên quan đến nhiều bệnh khác nhau, đặc biệt là bệnh tim mạch (CVD), bệnh đái tháo đường typ 2, hội chứng ngừng thở trong khi ngủ do tắc nghẽn, một số loại bệnh ung thư, và bệnh viêm xương khớp mãn tính. Kết quả là, đã thấy rằng bệnh béo phì làm giảm tuổi thọ mong đợi. Theo các dự án 2005 của Tổ chức Y tế Thế giới, có 400 triệu

người lớn (lứa tuổi > 15) được phân loại là béo phì trên toàn thế giới. Ở Mỹ, bệnh béo phì được tin là nguyên nhân gây tử vong thứ hai sau hút thuốc.

Hiện tượng gia tăng bệnh béo phì dẫn đến hiện tượng tăng bệnh đái tháo đường, và khoảng 90% người mắc bệnh đái tháo đường typ 2 có thể được phân loại là béo phì. Có 246 triệu người trên toàn thế giới sẽ bệnh đái tháo đường, và ước tính rằng 380 triệu sẽ mắc bệnh đái tháo đường cho đến năm 2025. Nhiều người có các yếu tố nguy cơ tim mạch bổ sung, bao gồm nồng độ LDL và triglyxerit cao/bất thường và nồng độ HDL thấp.

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức sau:



trong đó

$R^1$  là H,  $C_{1-4}$  alkyl, axetyl, formyl, benzoyl hoặc trifloaxetyl;

$R^2$  là OH hoặc  $NH_2$ ;

$P^1$  là peptit có trình tự:

H-X2-X3-GTFTSDYSKYLDSPAAHDFVEWLLSA

trong đó:

X2 được chọn từ Aib, Ala, D-Ala, Ser, N-Me-Ser, Ac3c, Ac4c và Ac5c;

X3 được chọn từ Gln và His;

$P^2$  không có mặt hoặc là trình tự gồm 1 đến 20 đơn vị axit amin độc lập được chọn từ nhóm bao gồm Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr và Orn;

hoặc muối được dụng hoặc solvat được dụng của chúng;

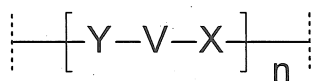
$\Psi$  là gốc của Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với phần tử thể có công thức  $-Z^2-Z^1$ ;

$-Z^1$  là mạch béo có nhóm phân cực ở một đầu tận cùng của mạch và kết nối với  $Z^2$ ,  $-X-$  ở đầu tận cùng của mạch cách xa nhóm phân cực,

trong đó nhóm phân cực chứa chất đẳng cấu sinh học của axit carboxylic hoặc axit carboxylic, axit phosphonic, hoặc nhóm axit sulfonic;

và  $-X-$  là liên kết,  $-CO-$ ,  $-SO-$ , hoặc  $-SO_2-$ ;

$-Z^2-$  là phần đệm có công thức sau:



trong đó:

mỗi nhóm Y độc lập là  $-\text{NH}$ ,  $-\text{NR}$ ,  $-\text{S}$  hoặc  $-\text{O}$ , trong đó R là alkyl, nhóm bảo vệ hoặc tạo liên kết với phần khác của phân đệm  $Z^2$ ;

mỗi X độc lập là liên kết,  $\text{CO}-$ ,  $\text{SO}-$ , hoặc  $\text{SO}_2-$ ;

với điều kiện khi Y là  $-\text{S}$ , X là liên kết;

mỗi V độc lập là gốc hữu cơ hóa trị hai liên kết Y và X;

và n bằng 1 đến 10;

hoặc muối được dụng hoặc solvat được dụng của chúng.

$P^1$  có thể có trình tự:

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA

ví dụ

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K([15-carboxy-pentadecanoyl]-isoGlu)-AAHDFVEWLLSA.

Hợp chất theo sáng chế có thể là:

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA-NH<sub>2</sub>

ví dụ

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K([15-carboxy-pentadecanoyl]-isoGlu)-AAHDFVEWLLSA-NH<sub>2</sub>.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức sau:

$R^1-P^1-R^2$

trong đó

$R^1$  là H, C<sub>1-4</sub> alkyl, axetyl, formyl, benzoyl hoặc trifloaxetyl;

$R^2$  là OH hoặc NH<sub>2</sub>;

$P^1$  là peptit có trình tự:

His-X2-X3-GTFTSDYSKYL-X15-X16-X17-X18-A-X20-DFI-X24-WLE-X28-A

trong đó:

X2 được chọn từ Aib, Ac3c, Ac4c và Ac5c;

X3 được chọn từ Gln và His;

X15 được chọn từ Asp và Glu;

X16 được chọn từ Glu và  $\Psi$ ;

X17 được chọn từ Arg và  $\Psi$ ;

X18 được chọn từ Ala và Arg;

X20 được chọn từ Lys và His;

X24 được chọn từ Glu và  $\Psi$ ;

X28 được chọn từ Ser và  $\Psi$ ;

và  $P^2$  không có mặt hoặc là trình tự gồm 1 đến 20 đơn vị axit amin độc lập được chọn từ nhóm bao gồm Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr và Orn;

trong đó hợp chất này chứa một và chỉ một  $\Psi$

và trong đó  $\Psi$  này là gốc Lys, Arg, Orn hoặc Cys, trong đó mạch bên được tiếp hợp với phần tử thể có công thức  $-Z^2-Z^1$ ;

$-Z^1$  là mạch béo có nhóm phân cực ở một đầu tận cùng của mạch và kết nối với  $Z^2$ ,  $-X-$  ở đầu tận cùng của mạch cách xa nhóm phân cực,

trong đó nhóm phân cực chứa axit carboxylic hoặc chất đẳng cấu sinh học của axit carboxylic, axit phosphonic, hoặc nhóm axit sulfonic;

và  $-X-$  là liên kết,  $-\text{CO}-$ ,  $-\text{SO}-$ , hoặc  $-\text{SO}_2-$ ;

$-Z^2-$  là phần đệm có công thức sau:



trong đó:

mỗi nhóm Y độc lập là  $-\text{NH}$ ,  $-\text{NR}$ ,  $-\text{S}$  hoặc  $-\text{O}$ , trong đó R là alkyl, nhóm bảo vệ hoặc tạo liên kết với phần khác của phần đệm  $Z^2$ ;

mỗi X độc lập là liên kết,  $\text{CO}-$ ,  $\text{SO}-$ , hoặc  $\text{SO}_2-$ ;

với điều kiện khi Y là  $-\text{S}$ , X là liên kết;

mỗi V độc lập là gốc hữu cơ hóa trị hai liên kết Y và X;

và n bằng 1 đến 10;

hoặc muối được dụng hoặc solvat được dụng của chúng.

Theo một số phương án theo khía cạnh thứ hai:

X2 được chọn từ Aib và Ac4c;

X3 là Gln;

X15 được chọn từ Asp và Glu;

X16 là  $\Psi$ ;

X17 là Arg;

X18 là Ala;

X20 được chọn từ Lys và His;

X24 là Glu;

X28 là Ser.

Các tổ hợp gốc hữu dụng bao gồm dưới đây:

X2 là Ac4c và X20 là Lys;

X2 là Aib và X20 là His.

Ngoài ra hoặc theo cách khác, có thể mong muốn rằng X2 là Aib nếu X15 là E hoặc X15 đó là D nếu X2 là Ac4c.

Các phần tử thể đặc biệt đáng quan tâm  $Z^2Z^1$  bao gồm [17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3 và [17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG.  $P^1$  có thể có trình tự được chọn từ:

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD $\Psi$ RAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD $\Psi$ RAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLE $\Psi$ RAAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD $\Psi$ RAAKDFIEWLESA và

H-Aib-QGTFTSDYSKYLE $\Psi$ RAAHDFIEWLESA

ví dụ từ

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-  
RAAKDFIEWLESA và  
H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-  
RAAHDFIEWLESA

Hợp chất theo sáng chế có thể được chọn từ:

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>  
H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>  
H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>  
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub> và  
H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAHDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

ví dụ từ

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-  
RAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>  
H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-  
RAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>  
H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-  
RAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>  
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-  
RAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub> và  
H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-  
RAAHDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

Theo các phương án thay thế theo khía cạnh thứ hai:

X2 được chọn từ Aib và Ac4c;

X3 được chọn từ Gln và His;

X15 là Asp;

X16 là Glu;

X17 được chọn từ Arg và Ψ;

X18 được chọn từ Ala và Arg;

X20 là Lys;

X24 được chọn từ Glu và Ψ;

X28 được chọn từ Ser và Ψ;



Theo một số phương án, khi X28 là  $\Psi$ , X2 là Ac4c.

Theo một số phương án, khi X3 là His, X2 là Ac4c và X17 là  $\Psi$ .

Theo một số phương án, khi X17 là  $\Psi$ ,  $Z^2Z^1$  là [17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3 hoặc [17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu.

Theo một số phương án, khi X24 hoặc X28 là  $\Psi$ ,  $Z^2Z^1$  là [17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG.

$P^1$  có thể có trình tự được chọn từ:

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE $\Psi$ AAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE $\Psi$ RAKDFIEWLESA

H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE $\Psi$ RAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE $\Psi$ AAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE $\Psi$ RAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI $\Psi$ WLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI $\Psi$ WLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFI $\Psi$ WLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLE $\Psi$ A và

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLE $\Psi$ A

ví dụ từ

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu)-AAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA

H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu)-AAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu)-RAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-A và

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH<sub>2</sub>

Hợp chất theo sáng chế có thể được chọn từ:

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIΨWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIΨWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIΨWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLEΨA-NH<sub>2</sub> và

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLEΨA-NH<sub>2</sub>

ví dụ từ

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu)-AAKDFI-EWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu)-AAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu)-RAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH<sub>2</sub> và

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH<sub>2</sub>

Để tránh nhầm lẫn, theo tất cả các khía cạnh của sáng chế, các vị trí mà không được nêu rõ là cho phép thay đổi thì được cố định và do đó chỉ có thể bao gồm gốc đã nêu.

Theo tất cả các khía cạnh, hợp chất theo sáng chế chứa gốc  $\Psi$ , tức là gốc được chọn từ Lys, Arg, Orn và Cys, trong đó mạch bên được tiếp hợp với phần tử thế  $-Z^2-Z^1-$  như được mô tả chi tiết hơn dưới đây.

Phần tử thế được tiếp hợp với nhóm chức ở đầu tận cùng xa của mạch bên tính từ nguyên tử carbon ở vị trí alpha. Do đó, khả năng bình thường của mạch bên Lys, Arg, Orn hoặc Cys tham gia vào các tương tác gián tiếp do nhóm chức đó (ví dụ, các tương tác nội phân tử và các tương tác liên phân tử) có thể bị giảm hoặc loại bỏ hoàn toàn bởi sự có mặt của phần tử thế. Do đó, các tính chất chung của hợp chất này có thể là tương đối kém nhạy đối với các thay đổi về axit amin thực tế có mặt làm gốc  $\Psi$ . Do đó, tin rằng gốc bất kỳ trong số các gốc Lys, Arg, Orn và Cys có thể có mặt ở vị trí bất kỳ khi  $\Psi$  được cho phép. Tuy nhiên, theo các phương án nhất định, có thể là có lợi khi thành phần axit amin của  $\Psi$  là Lys.

Theo một số phương án,  $-Z^1$  là nhóm axyl có công thức sau:



hoặc nhóm sulfonyl có công thức sau:



A là  $-COOH$  hoặc chất đẳng cấu sinh học của axit carboxylic;

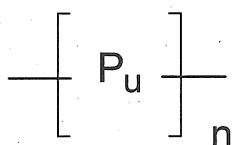
B là liên kết, C<sub>6</sub>arylen, hoặc C<sub>6</sub>arylen-O-;

Alk là mạch béo no hoặc không no dài từ 6 đến 18 nguyên tử cacbon, tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế được chọn từ flo, C<sub>1-4</sub>alkyl, triflometyl, hydroxymetyl, amino, hydroxyl, C<sub>1-4</sub>alkoxy, oxo, và carboxyl;

-Z<sup>2</sup>- là -S<sub>A</sub>-, -S<sub>A</sub>-S<sub>B</sub>-, hoặc -S<sub>B</sub>-S<sub>A</sub>-;

-S<sub>A</sub>- là một gốc axit amin được chọn từ γ-Glu, α-Glu, α-Asp, β-Asp, Ala, β-Ala (axit 3-aminopropanoic), và Gaba (axit 4-aminobutanoic);

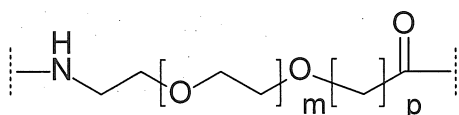
-S<sub>B</sub>- là nhóm liên kết có công thức chung:



trong đó n bằng 1 đến 10 và mỗi P<sub>U</sub> độc lập được chọn từ P<sub>U</sub><sup>i</sup> và P<sub>U</sub><sup>iii</sup>;

mỗi P<sub>U</sub><sup>i</sup> độc lập là gốc axit amin tự nhiên hoặc không tự nhiên; và

mỗi P<sub>U</sub><sup>iii</sup> độc lập là gốc có công thức chung:



trong đó m bằng 0 đến 5 và p bằng 1, 3, 4, hoặc 5.

Theo khía cạnh bất kỳ của sáng chế, R<sup>1</sup> có thể được chọn từ H và C<sub>1-4</sub> alkyl (ví dụ, metyl).

Các hợp chất theo sáng chế là các peptit tương tự glucagon. Thuật ngữ peptit tương tự glucagon được dùng trong bản mô tả này cần được hiểu là hợp chất theo sáng chế hoặc peptit P<sup>1</sup> hoặc P<sup>1</sup>-P<sup>2</sup> tùy theo ngữ cảnh. Hợp chất theo sáng chế cần được hiểu là bao gồm muối được dùng bất kỳ (ví dụ, axetat hoặc muối clorua) hoặc solvat của chúng, trừ khi có quy định khác hoặc được loại trừ theo ngữ cảnh.

Sáng chế đề xuất chế phẩm chứa hợp chất theo sáng chế như được xác định trong bản mô tả này (bao gồm các muối được dụng hoặc các solvat của chúng, như đã nêu trên) trong hỗn hợp với chất mang. Theo các phương án được ưu tiên, chế phẩm này là được phẩm và chất mang là chất mang được dụng. Peptit tương tự glucagon có thể ở dạng muối được dụng chất tương tự glucagon.

Các hợp chất theo sáng chế có ứng dụng, trong số nhiều thứ, ngăn chặn sự tăng cân hoặc thúc đẩy việc làm giảm cân. Thuật ngữ “ngăn chặn” được dùng để chỉ việc ức chế hoặc làm giảm so với khi không điều trị, và không nhất thiết ám chỉ sự chấm dứt hoàn toàn của hiện tượng tăng cân. Các peptit có thể khiến giảm lượng thức ăn đưa vào cơ thể và/hoặc tăng mức tiêu hao năng lượng, tạo ra tác động quan sát được đối với thể trọng. Độc lập với tác động của chúng đối với thể trọng, các hợp chất theo sáng chế có thể có tác dụng có lợi đối với việc kiểm soát glucoza và/hoặc đối với nồng độ cholesterol tuần hoàn, có khả năng làm giảm nồng độ LDL tuần hoàn và làm tăng tỷ lệ HDL/LDL. Do đó, các hợp chất theo sáng chế có thể được dùng để điều trị trực tiếp hoặc điều trị gián tiếp tình trạng bất kỳ do, hoặc đặc trưng bởi, hiện tượng thừa cân, như điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh béo phì, bệnh béo phì gây bệnh, bệnh béo phì liên quan đến bệnh viêm, bệnh túi mật liên quan đến bệnh béo phì, chứng ngưng thở trong khi ngủ do bệnh béo phì gây ra. Chúng còn có thể được dùng để ngăn ngừa các tình trạng do, hoặc đặc trưng bởi, kiểm soát glucoza không thích đáng hoặc bệnh rối loạn mỡ máu (ví dụ, nồng độ LDL tăng hoặc tỷ lệ HDL/LDL giảm), bệnh đái tháo đường (đặc biệt là bệnh đái tháo đường typ 2), hội chứng chuyển hóa, chứng cao huyết áp, bệnh rối loạn mỡ máu gây xơ vữa động mạch, chứng xơ vữa động mạch, chứng xơ cứng động mạch, bệnh tim mạch vành, bệnh động mạch ngoại biên, bệnh đột quỵ hoặc bệnh vi mạch. Các tác động của chúng trong các tình trạng này có thể là kết quả hoặc liên quan đến tác động của chúng đối với thể trọng, hoặc có thể là độc lập với chúng.

Sáng chế còn đề xuất hợp chất theo sáng chế để dùng trong phương pháp điều trị bệnh, đặc biệt là để dùng trong phương pháp điều trị tình trạng bệnh lý như trên.

Sáng chế còn mô tả việc sử dụng hợp chất theo sáng chế trong quy trình bào chế thuốc dùng để điều trị tình trạng bệnh lý như trên.

Hợp chất theo sáng chế có thể được dùng làm phần của phép điều trị kết hợp với tác nhân dùng để điều trị bệnh đái tháo đường, bệnh béo phì, bệnh rối loạn mỡ máu hoặc chứng tăng huyết áp.

Trong các trường hợp này, hai hoạt chất này có thể được cho dùng đồng thời hoặc riêng rẽ, và là một phần của cùng được phẩm hoặc như các chế phẩm riêng rẽ.

Do đó, hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với tác nhân trị bệnh đái tháo đường bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, diguanua (ví dụ, metformin), sulfonylure, meglitinid hoặc glinit (ví dụ, nateglinid), chất ức chế DPP-IV, chất ức chế SGLT2, glitazon, insulin, hoặc chất tương tự insulin. Các ví dụ về chất tương tự insulin bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, Lantus™, Novorapid™, Humalog™, Novomix™, Actraphane HM™, Levemir™ và Apidra™.

Hợp chất có thể còn được sử dụng kết hợp với tác nhân trị bệnh béo phì bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất chủ vận thụ thể peptid 1 kiểu glucagon, peptid YY hoặc chất tương tự chúng, chất đối kháng thụ thể canabonoit 1, chất ức chế lipaza, chất chủ vận thụ thể melanocortin 4, chất đối kháng thụ thể hormon cơ melamin 1, phentermin (riêng lẻ hoặc kết hợp với topiramát), kết hợp norepinephrin/dopamin chất ức chế hấp thu lại và chất đối kháng thụ thể opioit (ví dụ, kết hợp bupropion và naltrexon), hoặc tác nhân tác động đến serotonin (ví dụ, lorcaserin).

Hợp chất này có thể còn được sử dụng kết hợp với tác nhân chống huyết áp cao bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất ức chế enzym chuyển hóa chất co mạch, chất chặn thụ thể chất gây co mạch II, chất lợi tiểu, chất chặn beta, hoặc chất chặn kênh canxi.

Hợp chất này có thể được sử dụng kết hợp với tác nhân chống rối loạn mỡ máu bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, statin, fibrat, niacin hoặc chất ức chế hấp thu cholesterol.

Do vậy, sáng chế còn đề xuất chế phẩm hoặc kit điều trị bệnh chứa hợp chất theo sáng chế và ví dụ chất điều trị bệnh đái tháo đường, tác nhân điều trị bệnh béo phì, tác nhân chống huyết áp cao hoặc tác nhân điều trị chứng rối loạn mỡ máu nêu

trên. Sáng chế còn đề xuất chế phẩm hoặc kit điều trị bệnh để dùng trong phương pháp điều trị bệnh, đặc biệt là đối với việc điều trị tình trạng nêu trên.

Hợp chất theo sáng chế có thể được tạo ra theo quy trình tổng hợp hóa học. Theo đó, sáng chế đề xuất phương pháp tổng hợp hợp chất theo sáng chế.

Sáng chế còn có thể được tạo ra bằng cách kết hợp tái tổ hợp và các phương pháp tổng hợp. Phương pháp có thể bao gồm biểu hiện tiền chất trình tự peptit, tùy ý tinh chế hợp chất tạo ra bằng cách đó, và bổ sung hoặc cải biến một hoặc nhiều axit amin để tạo ra hợp chất theo sáng chế hoặc hợp chất chứa trình tự axit amin P<sup>1</sup> hoặc P<sup>1</sup>-P<sup>2</sup>. Bước cải biến có thể bao gồm việc đưa gốc Orn vào (ví dụ, bằng cách cải biến gốc của tiền chất) và/hoặc đưa phần tử thế Z2Z1 vào vị trí gốc Ψ.

Peptit tiền chất có thể được biểu hiện từ axit nucleic ghi mã peptit tiền chất trong tế bào hoặc hệ biểu hiện không bao gồm tế bào chứa axit nucleic này.

#### **Mô tả chi tiết sáng chế**

Trong toàn bộ bản mô tả này, các mã gồm một chữ cái và các mã gồm ba chữ cái thông thường cho các axit amin có trong tự nhiên được sử dụng, cũng như các chữ viết tắt thường được chấp nhận cho axit amin khác, như Aib (axit α-aminoisobutyric), Orn (ornithin), Dbu (axit 2,4-điaminobutyric), Dpr (axit 2,3-điaminopropanoic), Ac3c (axit 1-amino-xyclopropanecarboxylic), Ac4c (axit 1-amino-xyclobutanecarboxylic) và Ac5c (axit 1-amino-xyclopentanecarboxylic).

Ac3c, Ac4c và Ac5c có cấu trúc tương tự và trong mức độ nhất định có thể thay thế lẫn nhau, mặc dù Ac4c có thể được ưu tiên.

Glucagon là peptit gồm 29 axit amin mà tương ứng với các axit amin 53 đến 81 của tiền proglucagon và có trình tự His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr. Oxyntomodulin (OXM) là peptit gồm 37 axit amin mà bao gồm trình tự đầy đủ gồm 29 axit amin của glucagon với đoạn octapeptit kéo dài đầu tận cùng carboxy (các axit amin 82 đến 89 của tiền proglucagon, có trình tự Lys-Arg-Asn-Arg-Asn-Asn-Ile-Ala và được gọi là peptit xen vào 1" hoặc IP-1; trình tự đầy đủ của oxyntomodulin của người is thus His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr-Lys-Arg-Asn-Arg-Asn-Asn-Ile-Ala). Đoạn có hoạt tính sinh học chính của GLP-1

được tạo ra ở dạng peptit gồm 30 axit amin đã amit hóa ở đầu tận cùng C mà tương ứng với các axit amin 98 đến 127 của tiền proglucagon.

Do đó, thuật ngữ “glucagon tự nhiên” được dùng để chỉ glucagon tự nhiên của người có trình tự H-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr-OH.

Các axit amin trong trình tự P<sup>1</sup> của các hợp chất theo sáng chế có thể được xem xét đánh số liên tục từ 1 đến 29 theo hướng thông thường từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C. Do đó, thuật ngữ “vị trí” trong P<sup>1</sup> cần được hiểu là vị trí trong glucagon tự nhiên của người và các phân tử khác.

Hợp chất theo sáng chế có thể bao gồm trình tự peptit ở đầu tận cùng C P<sup>2</sup> gồm 1 đến 20 axit amin, ví dụ, để làm ổn định cấu hình và/hoặc cấu trúc bậc hai của chất tương tự glucagon peptit, và/hoặc để làm cho peptit tương tự glucagon ổn định hơn trong quá trình thủy phân bằng enzym, ví dụ như đã được bộc lộ trong WO99/46283.

Nếu có mặt, P<sup>2</sup> thể hiện trình tự peptit gồm 1 đến 20 gốc axit amin, ví dụ trong khoảng 1 đến 15, tốt hơn nữa trong khoảng 1 đến 10, cụ thể là trong khoảng 1 đến 7 gốc axit amin, ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, 6 hoặc 7 gốc axit amin, như 6 gốc axit amin. Mỗi gốc axit amin trong trình tự peptit P<sup>2</sup> có thể độc lập được chọn từ Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu (axit 2,4-điaminobutyric), Dpr (axit 2,3-điaminopropanoic) và Orn (ornithin). Tốt hơn, nếu các gốc axit amin được chọn từ Ser, Thr, Tyr, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr và Orn, tốt hơn nữa được chọn chỉ trong số Glu, Lys, và Cys. Các axit amin nêu trên có thể có cấu hình D hoặc cấu hình L, mà theo các phương án nhất định, có cấu hình L. Các trình tự P<sup>2</sup> được đặc biệt ưu tiên là các trình tự gồm bốn, năm, sáu hoặc bảy gốc lysin liên tiếp (tức là Lys<sub>3</sub>, Lys<sub>4</sub>, Lys<sub>5</sub>, Lys<sub>6</sub> hoặc Lys<sub>7</sub>), và đặc biệt là năm hoặc sáu gốc lysin liên tiếp. Các trình tự P<sup>2</sup> làm ví dụ khác được thể hiện trong công bố đơn quốc tế số WO 01/04156. Theo cách khác, gốc ở đầu tận cùng C của trình tự P<sup>2</sup> có thể là gốc Cys. Điều này có thể hỗ trợ việc cải biến (ví dụ, gắn gốc glycol bằng cách hóa học, hoặc tiếp hợp với albumin) của hợp chất này. Theo các phương án này, trình tự P<sup>2</sup> có thể, ví dụ, chỉ có chiều dài là một axit amin (tức là P<sup>2</sup> = Cys) hoặc có thể có chiều dài là hai, ba, bốn, năm, sáu axit amin



hoặc thậm chí nhiều hơn. Do đó, các axit amin khác có tác dụng làm phần đệm giữa peptit P<sup>1</sup> và gốc Cys đầu tận cùng.

Trình tự peptit P<sup>2</sup> tương tự về trình tự không nhiều hơn 25% với trình tự tương ứng là phần IP-1 của OXM của người (mà có trình tự Lys-Arg-Asn-Arg-Asn-Asn-Ile-Ala).

Mức độ “tương tự trình tự axit amin tính theo phần trăm (%)” của trình tự peptit hoặc polypeptit nhất định so với trình tự polypeptit khác (ví dụ, IP-1) được tính theo tỷ lệ phần trăm của các gốc axit amin trong trình tự peptit nhất định mà là giống hệt các gốc axit amin có vị trí tương ứng trong trình tự tương ứng của polypeptit khác khi hai trình tự này được duỗi thẳng và so sánh với nhau, đưa vào các khoảng cách để so sánh tối ưu nếu cần thiết. Trị số mức độ đồng nhất tính theo % có thể được xác định bằng cách áp dụng WU-BLAST-2 (Altschul et al., *Methods in Enzymology*, 266:460-480 (1996)). WU-BLAST-2 sử dụng vài thông số nghiên cứu, hầu hết được đặt ở trị số mặc định. Các thông số có thể điều chỉnh được được thiết lập với các trị số sau: khoảng cách trùng lặp = 1, phân đoạn trùng lặp = 0,125, ngưỡng từ (T) = 11. Trị số mức độ tương tự trình tự axit amin tính theo % được xác định theo số lượng gốc khớp đồng nhất như được xác định theo WU-BLAST-2, chia cho tổng số gốc của trình tự so sánh (khoảng trống được đưa theo WU-BLAST-2 vào trình tự so sánh để tối đa hóa điểm số so sánh phải bỏ qua), nhân với 100.

Do đó, khi P<sup>2</sup> được so sánh một cách tối ưu với 8 axit amin của IP-1, thì nó có không nhiều hơn hai axit amin mà là giống hệt các axit amin tương ứng của IP-1.

Theo các phương án nhất định, P<sup>2</sup> không có mặt.

Ψ là gốc Lys, Arg, Orn hoặc Cys mà có mạch bên được tiếp hợp với phần tử thể Z<sup>2</sup>-Z<sup>1</sup>. Không muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết cụ thể nào, nhận thấy rằng phần tử thể liên kết huyết tương các protein (ví dụ, albumin) trong dòng máu, nhờ đó các hợp chất đã được bảo vệ theo sáng chế khỏi phân hủy bởi enzyme và bằng cách đó làm kéo dài thời gian bán tồn của các hợp chất. Nó còn có thể điều biến hiệu lực của hợp chất này, ví dụ liên quan đến thụ thể glucagon và/hoặc thụ thể GLP-1.

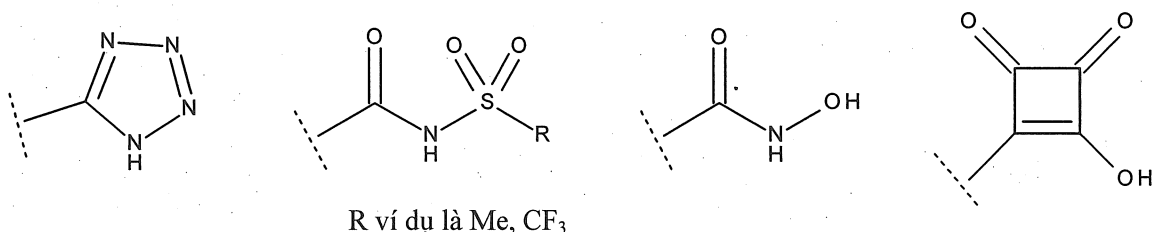
*Nhóm Z<sup>1</sup>*

Z<sup>1</sup> là mạch béo có kết nối với Z<sup>2</sup>, trong bản mô tả này được gọi là -X- và, ở đầu tận cùng của mạch cách xa liên kết với Z<sup>2</sup>, là nhóm phân cực. -X- có thể, ví dụ,

là liên kết, axyl ( $-\text{CO}-$ ), sulfinyl ( $-\text{SO}-$ ), hoặc sulfonyl ( $-\text{SO}_2-$ ), liên kết nằm ở vị trí  $\omega$  so với nhóm phân cực, tức là ở đầu tận cùng của mạch cách xa nhóm phân cực.

Tốt hơn, nếu nhóm phân cực là nhóm có tính axit hoặc axit yếu, ví dụ, chất đẳng cấu sinh học của axit carboxylic hoặc axit carboxylic, phosphonat, hoặc sulfonat. Nhóm phân cực có thể có  $\text{pK}_a$  nằm trong khoảng từ  $-2$  đến  $12$  trong nước, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ  $1$  đến  $7$ , tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ  $3$  đến  $6$ . Một số nhóm phân cực nhất định được ưu tiên có  $\text{pK}_a$  nằm trong khoảng từ  $4$  đến  $5$ .

Tốt hơn, nếu phân cực nhóm chứa chất đẳng cấu sinh học của axit carboxylic hoặc axit carboxylic. Các chất đẳng cấu sinh học của axit carboxylic thích hợp là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Tốt hơn, nếu chất đẳng cấu sinh học có proton có  $\text{pK}_a$  tương tự axit carboxylic tương ứng. Các ví dụ về các chất đẳng cấu sinh học thích hợp có thể bao gồm, không chỉ giới hạn bởi, tetrazol, axylsulfomit, axylhydroxylamin, và các chất dẫn xuất axit bậc hai, như được thể hiện dưới đây (--- biểu thị điểm gắn):



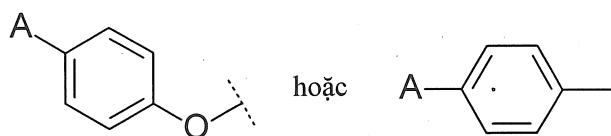
Nhóm phân cực có thể là nhóm có công thức  $\text{A}-\text{B}-$ , trong đó A là axit carboxylic ( $-\text{COOH}$ ) hoặc chất đẳng cấu sinh học của axit carboxylic, nhóm axit phosphonic ( $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ), hoặc nhóm axit sulfonic ( $-\text{SO}_2\text{OH}$ ), và B là một liên kết hoặc nhóm liên kết giữa A và mạch béo. Theo một số phương án, nhóm phân cực là  $-\text{COOH}$ , tức là A là  $-\text{COOH}$  và B là liên kết.

Nếu B là nhóm liên kết, thì nó có thể là xycloalkylen, heteroxycloalkylen,  $\text{C}_6$ arylen, hoặc  $\text{C}_{5,6}$ heteroarylen, hoặc  $\text{C}_6$ arylen- $\text{O}-$  hoặc  $\text{C}_{5,6}$ heteroarylen- $\text{O}-$ .

Nếu B là phenylen, thì nó có thể, ví dụ, được chọn trong số 1,2-phenylen, 1,3-phenylen, 1,4-phenylen, tốt hơn là 1,4-phenylen (sao cho  $\text{A}-\text{B}-$  là phần tử thể axit 4-benzoic hoặc chất đẳng cấu sinh học của axit 4-benzoic). Nếu B là phenylen-

O—, thì nó có thể, ví dụ, được chọn trong số 1,2-phenylen—O—, 1,3-phenylen—O—, 1,4-phenylen—O—, tốt hơn là 1,4-phenylen—O. Mỗi phenylen của B có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế được chọn từ flo, metyl, triflometyl, amino, hydroxyl, và C<sub>1-4</sub>alkoxy, tốt hơn là metoxy. Có thể thấy rằng nhận dạng và vị trí của phần tử thế có thể được chọn để làm thay đổi một chút pK<sub>a</sub> của nhóm phân cực. Các nhóm rút điện tử hoặc các nhóm cho điện tử thích hợp theo kiểu cảm ứng hoặc theo kiểu không quang hoạt và các tác động về mặt vị trí của chúng đã được biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Theo một số phương án, B có thể là C<sub>5-6</sub>heteroarylen, ví dụ, pyridinylen hoặc thiofuranylen, và có thể tùy ý được thế như đã được bộc lộ.

Ví dụ, theo một số phương án, A—B— có thể được chọn từ:



Tốt hơn, nếu A là —COOH. Ở một số nhóm phân cực được ưu tiên, A là axit carboxylic và B là C<sub>6</sub>arylen—O—.

Thuật ngữ mạch béo được dùng trong bản mô tả này để chỉ gốc chứa mạch gồm các nguyên tử cacbon, nguyên tử cacbon chủ yếu được thế bằng hydro hoặc các nguyên tử kiểu hydro, ví dụ, mạch hydrocacbon. Các mạch béo này thường được gọi là chất ưa béo, mặc dù có thể thấy rằng việc thế có thể làm thay đổi các tính chất chất ưa béo của toàn bộ phân tử.

Mạch béo có thể được xác định theo nhóm béo. Nó có thể no hoàn toàn hoặc có thể bao gồm một hoặc nhiều liên kết đôi hoặc liên kết ba. Mỗi liên kết đôi, nếu có, có thể có cấu hình *E* hoặc *Z*. Mạch béo còn có thể có một hoặc nhiều gốc xy-cloalkylen hoặc heteroxycloalkylen trong chiều dài của nó, và ngoài ra hoặc theo cách khác có thể có một hoặc nhiều gốc arylen hoặc heteroarylen trong chiều dài của nó. Ví dụ, mạch béo có thể kết hợp gốc phenylen hoặc gốc piperazinylen trong chiều dài của nó, ví dụ, như được thể hiện dưới đây (trong đó --- thể hiện các điểm gắn trong mạch).



Mạch béo có thể thu được từ axit béo, ví dụ, nó có thể thu được từ axit béo mạch trung bình (MCFA) với đuôi béo gồm 6 đến 12 nguyên tử cacbon, axit béo mạch dài (LCFA) với đuôi béo gồm 13 đến 21 nguyên tử cacbon, hoặc axit béo mạch rất dài (LCFA) với đuôi béo gồm 22 nguyên tử cacbon hoặc nhiều. Các ví dụ về các axit béo no mạch thẳng mà các mạch béo thích hợp có thể có nguồn gốc từ đó bao gồm axit tridecyllic (tridecanoic), axit myristic (tetradecanoic), axit pentadecyllic (pentadecanoic), axit palmitic (hexadecanoic), và axit margaric (heptadecanoic). Các ví dụ về các axit béo không no mạch thẳng mà các mạch béo thích hợp có thể có nguồn gốc từ đó bao gồm axit myristoleic, axit palmitoleic, axit sapienic và axit oleic.

Mạch béo có thể là liên kết với  $Z^2$  bằng liên kết amit, liên kết sulfinamit, liên kết sulfonamit, hoặc bằng liên kết este, hoặc bằng liên kết ete, thioete hoặc amin. Do đó, mạch béo có thể có ở vị trí  $\omega$ , tức là vị trí xa nhóm phân cực, liên kết với  $Z^2$  hoặc nhóm axyl ( $-\text{CO}-$ ), sulfinyl ( $-\text{SO}-$ ), hoặc sulfonyl ( $-\text{SO}_2-$ ). Tốt hơn, nếu mạch béo có nhóm axyl ( $-\text{CO}-$ ) ở vị trí xa nhóm phân cực và liên kết với  $Z^2$  bằng liên kết amit hoặc liên kết este.

Theo một số phương án,  $Z^1$  là nhóm có công thức sau:

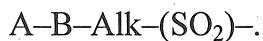


trong đó A-B- là nhóm phân cực nêu trên, X là liên kết, axyl ( $-\text{CO}-$ ), sulfinyl ( $-\text{S-O}-$ ), hoặc sulfonyl ( $-\text{SO}_2-$ ), và Alk là mạch béo mà có thể tùy ý được thể bằng một hoặc nhiều phần tử thế. Tốt hơn, nếu mạch béo có chiều dài 6 đến 18 nguyên tử cacbon (ví dụ,  $\text{C}_{6-18}$ alkylen), tốt hơn nữa có chiều dài 8 đến 18 nguyên tử carbon (ví dụ,  $\text{C}_{8-18}$ alkylen), tốt hơn nữa có chiều dài 12 đến 16 nguyên tử cacbon (ví dụ,  $\text{C}_{12-16}$ alkylen), và có thể là no hoặc không no. Tốt hơn, nếu Alk là no, tức là tốt hơn nếu Alk là alkylen.

Theo một số phương án,  $Z^1$  là nhóm axyl có công thức sau:

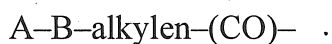


hoặc nhóm sulfonyl có công thức sau:



Các phần tử thể tùy ý trên mạch béo có thể được chọn một cách độc lập từ flo,  $C_{1-4}$ alkyl, tốt hơn là metyl; triflometyl, hydroxymetyl, amino, hydroxyl,  $C_{1-4}$ alkoxy, tốt hơn là metoxy; oxo, và carboxyl, và có thể là độc lập nằm ở vị trí bất kỳ dọc theo mạch này. Theo một số phương án, mỗi phần tử thể tùy ý được chọn từ flo, metyl, và hydroxyl. Nếu nhiều hơn một phần tử thể có mặt, thì các phần tử thể có thể giống nhau hoặc khác nhau. Tốt hơn, nếu số lượng phần tử thể bằng 0 đến 3; tốt hơn nữa mạch béo không được thể.

Tốt hơn, nếu  $Z^1$  là nhóm axyl có công thức sau:

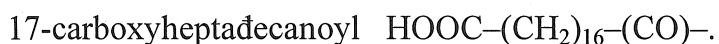


trong đó A và B là như đã nêu trên.

Theo một số phương án,  $Z^1$  là:



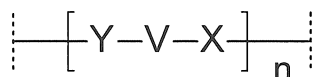
Các  $Z^1$  nhất định được ưu tiên thu được từ các axit  $\alpha,\omega$ -dicarboxylic no mạch dài có công thức  $HOOC-(CH_2)_{12-18}-COOH$ , tốt hơn là, các axit  $\alpha,\omega$ -dicarboxylic no mạch dài có số nguyên tử cacbon chẵn trong mạch béo này. Ví dụ, và không chỉ giới hạn bởi,  $Z^1$  có thể là:



Nhóm axit carboxylic có thể được thể bằng chất đẳng cấu sinh học như đã được nêu rõ trong bản mô tả này.

*Nhóm  $Z^2$*

$Z^2$  là phần đệm mà nối  $Z^1$  vào mạch bên của thành phần axit amin của  $\Psi$ . Nói chung,  $Z^2$  là phần đệm được liên kết ở một đầu tận cùng bởi Y, mà có thể là nguyên tử nitơ, oxy hoặc lưu huỳnh, và ở đầu tận cùng còn lại bởi X, mà có thể là liên kết hoặc axyl ( $-\text{CO}-$ ), sulfinyl ( $-\text{SO}-$ ), hoặc sulfonyl ( $-\text{SO}_2-$ ). Do đó,  $Z^2$  có thể là phần đệm có công thức (--- biểu thị điểm gắn):



trong đó:

Y có thể là  $-\text{NH}$ ,  $-\text{NR}$ ,  $-\text{S}$  hoặc  $-\text{O}$ , trong đó R có thể là alkyl, nhóm bảo vệ hoặc có thể tạo liên kết với phần khác của phần đệm, với phần hóa trị còn lại tạo ra liên kết với  $Z^1$ ;

X có thể là liên kết,  $\text{CO}-$ ,  $\text{SO}-$ , hoặc  $\text{SO}_2-$ , với phần hóa trị còn lại tạo ra liên kết với mạch bên của thành phần axit amin của  $\Psi$ ;

V là gốc hữu cơ hóa trị hai liên kết Y và X;

và n có thể là 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 hoặc 10. Nếu n bằng 2 hoặc lớn hơn, thì mỗi Y, V, và X là độc lập với từng Y, V, và X khác.

Do đó,  $Z^2$  có thể được liên kết từng bên bởi liên kết amit, sulfinamit, sulfonamit, hoặc este hoặc bằng liên kết amino, ete, hoặc thioete tùy theo bản chất của Y và X và các nhóm liên kết tương ứng trên  $Z^1$  và mạch bên. Tốt hơn, nếu Y là  $-\text{S}$ , thì X là liên kết. Nếu n bằng 2 hoặc lớn hơn, thì mỗi V còn có thể được liên kết với từng V bởi các liên kết như đã được bộc lộ. Tốt hơn, nếu các liên kết là các amit, các este hoặc các sulfonamit, tốt nhất là các amit. Do đó, theo một số phương án, mỗi Y là  $-\text{NH}$  hoặc  $-\text{NR}$  và mỗi X là  $\text{CO}-$  hoặc  $\text{SO}_2-$ .

Theo một số phương án,  $Z^2$  là phần đệm có công thức  $-\text{S}_\text{A}-$ ,  $-\text{S}_\text{B}-$ ,  $-\text{S}_\text{A}-\text{S}_\text{B}-$  hoặc  $-\text{S}_\text{B}-\text{S}_\text{A}-$ , trong đó  $\text{S}_\text{A}$  và  $\text{S}_\text{B}$  là như được xác định dưới đây.

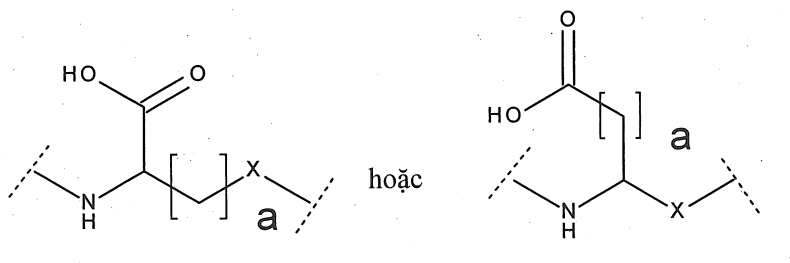
Theo một số phương án,  $Z^2$  được chọn từ  $-\text{S}_\text{A}-$  hoặc  $-\text{S}_\text{B}-\text{S}_\text{A}-$ , tức là [mạch bên]- $Z^2Z^1$  là [mạch bên]- $\text{S}_\text{A}-Z^1$  hoặc [mạch bên]- $\text{S}_\text{B}-\text{S}_\text{A}-Z^1$ .

Nhóm  $S_A$ 

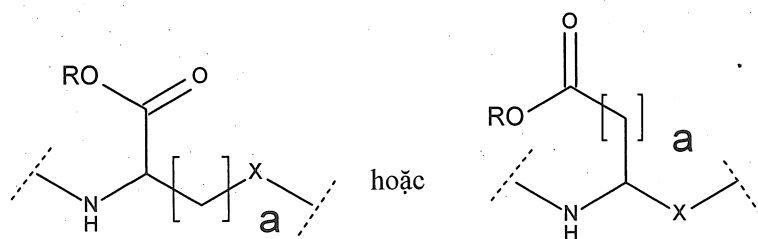
$S_A$  có thể là một gốc axit amin hoặc gốc của chất dẫn xuất axit amin, đặc biệt là gốc của chất dẫn xuất axit amin có sulfinyl hoặc sulfonyl thay cho gốc carboxy ở đầu tận cùng C. Ngoài ra hoặc theo cách khác, một gốc axit amin có thể có nguyên tử oxy hoặc nguyên tử lưu huỳnh thay cho nguyên tử nitơ ở đầu tận cùng N. Tốt hơn, nếu  $S_A$  là gốc axit amin.

Theo một số phương án, axit amin có thể được chọn từ  $\gamma$ -Glu,  $\alpha$ -Glu,  $\alpha$ -Asp,  $\beta$ -Asp, Ala,  $\beta$ -Ala (axit 3-aminopropanoic), và Gaba (axit 4-aminobutanoic). Cần phải hiểu rằng các axit amin có thể là D hoặc L, hoặc triệt quang hoặc hỗn hợp đã được làm giàu đồng phân đối ảnh. Theo một số phương án, axit amin là L-axit amin. Theo một số phương án, axit amin là D-axit amin.

Theo một số phương án được ưu tiên,  $S_A$  có phân tử thể axit carboxylic, trong đó  $\gamma$ -Glu,  $\alpha$ -Glu,  $\alpha$ -Asp, và  $\beta$ -Asp, và các chất dẫn xuất sulfinyl và sulfonyl của chúng, được ưu tiên. Do đó, theo một số phương án, gốc axit amin là:



trong đó  $-X-$  là  $-\text{CO}-$ ,  $-\text{SO}-$ ,  $-\text{SO}_2-$ , tốt hơn là  $-\text{CO}-$ , và  $a$  bằng 1 hoặc 2, tốt hơn là 2. Theo một số phương án, axit carboxylic là este, và gốc axit amin là:

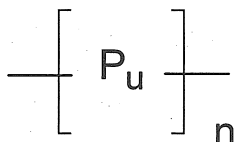


trong đó  $-X-$  là  $-\text{CO}-$ ,  $-\text{SO}-$ ,  $-\text{SO}_2-$ , tốt hơn là  $-\text{CO}-$ , và  $a$  bằng 1 hoặc 2, tốt hơn là 2, và  $R$  là  $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$  hoặc  $\text{C}_6\text{aryl}$ . Tốt hơn, nếu  $R$  là  $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$ , tốt hơn là methyl hoặc ethyl, tốt hơn nữa ethyl.

Tốt hơn, nếu  $S_A$  là  $\gamma$ -Glu.

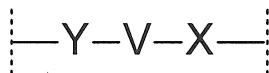
Nhóm  $S_B$

$S_B$  có thể là nhóm liên kết có công thức chung:



trong đó  $P_U$  là đơn vị polyme và  $n$  bằng 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 hoặc 10. Một đầu tận cùng của nhóm liên kết  $S_B$  là  $-NH$ ,  $-NR$ ,  $-S$  hoặc  $-O$ , trong đó  $R$  có thể là alkyl, nhóm bảo vệ hoặc có thể tạo liên kết với phần khác của đơn vị polyme; trong khi đầu còn lại là một liên kết hoặc  $CO-$ ,  $SO-$  hoặc  $SO_2-$ . Do đó, mỗi đơn vị polyme  $P_U$  có thể được liên kết từng bên bởi liên kết amit, sulfinamit, sulfonamit, hoặc este hoặc bằng liên kết amino, ete, hoặc thioete tùy theo bản chất của  $Y$  và  $X$  và các nhóm liên kết tương ứng trên  $Z^1$ ,  $S_A$ , và Lys.

Theo một số phương án, mỗi  $P_U$  có thể độc lập là đơn vị có công thức sau:



trong đó:

$Y$  có thể là  $-NH$ ,  $-NR$ ,  $-S$  hoặc  $-O$ , trong đó  $R$  có thể là alkyl, nhóm bảo vệ hoặc có thể tạo liên kết với phần khác của phần đệm, với phần hóa trị còn lại tạo ra liên kết với  $Z^1$ ;

$X$  có thể là liên kết,  $CO-$ ,  $SO-$ , hoặc  $SO_2-$ , với phần hóa trị còn lại tạo ra liên kết với Lys;

và  $V$  là gốc hữu cơ hóa trị hai liên kết  $Y$  và  $X$ .

Theo một số phương án,  $V$  là nguyên tử cacbon ở vị trí  $\alpha$  của axit amin tự nhiên hoặc axit amin không tự nhiên, mà  $V$  là  $-CHR^{AA}-$ , trong đó  $R^{AA}$  là mạch bên của axit amin; hoặc  $V$  là  $C_{1-6}$ alkylen tùy ý được thế, hoặc  $V$  là mạch chứa một hoặc



nhều đơn vị etylen glycol liên tiếp nhau, còn được gọi là mạch PEG, ví dụ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_p-$ , khi  $m$  bằng 0, 1, 2, 3, 4, hoặc 5, và  $p$  bằng 1, 2, 3, 4, hoặc 5; nếu  $X$  là  $\text{CO}-$ , thì tốt hơn nếu  $p$  bằng 1, 3, 4, hoặc 5. Các phần tử thể alkylen tùy ý bao gồm flo, metyl, hydroxy, hydroxymethy, và amino.

Các đơn vị  $P_U$  được ưu tiên bao gồm:

- (i). Một gốc axit amin:  $P_U^i$ ;
- (ii). Các gốc dipeptit:  $P_U^{ii}$ ; và
- (iii). Các gốc axit amino-(PEG) $_m$ -carboxylic:  $P_U^{iii}$ ,

và có thể có mặt trong tổ hợp bất kỳ hoặc theo trật tự bất kỳ. Ví dụ,  $S_B$  có thể bao gồm một hoặc nhiều  $P_U^i$ ,  $P_U^{ii}$ , và  $P_U^{iii}$  theo trình tự bất kỳ, hoặc có thể bao gồm một hoặc nhiều đơn vị chỉ  $P_U^i$ ,  $P_U^{ii}$ , và  $P_U^{iii}$ , hoặc một trong số đơn vị được chọn từ  $P_U^i$  và  $P_U^{ii}$ ,  $P_U^i$  và  $P_U^{iii}$ , hoặc  $P_U^{ii}$  và  $P_U^{iii}$ .

- (i). *các gốc axit amin  $P_U^i$  đơn*

Mỗi  $P_U^i$  có thể là độc lập được chọn từ gốc axit amin tự nhiên hoặc không tự nhiên bất kỳ và, ví dụ, có thể được chọn từ Gly, Pro, Ala, Val, Leu, Ile, Met, Cys, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Gln, Asn,  $\alpha$ -Glu,  $\gamma$ -Glu, Asp, Ser Thr, Gaba, Aib,  $\beta$ -Ala, 5-aminopentanoyl, 6-aminohexanoyl, 7-aminoheptanoyl, 8-aminooctanoyl, 9-aminononanoyl, và 10-aminodecanoyl. Tốt hơn nếu các gốc axit amin  $P_U^i$  được chọn từ Gly, Ser, Ala, Thr, và Cys, tốt hơn là từ Gly và Ser.

Theo một số phương án,  $S_B$  là  $-(P_U^i)_n-$ , trong đó  $n$  bằng 1 đến 8, tốt hơn nữa 5 đến 7, tốt nhất là 6. Theo một số phương án được ưu tiên,  $S_B$  là  $-(P_U^i)_n-$ ,  $n$  bằng 6 và mỗi  $P_U^i$  độc lập được chọn từ Gly hoặc Ser, với trình tự được ưu tiên là -Gly-Ser-Gly-Ser-Gly-Gly-.

- (ii). *Các gốc dipeptit  $P_U^{ii}$*

Mỗi  $P_U^{ii}$  có thể là độc lập được chọn từ gốc dipeptit bất kỳ chứa hai gốc axit amin tự nhiên hoặc không tự nhiên được liên kết bởi liên kết amit. Các gốc dipeptit

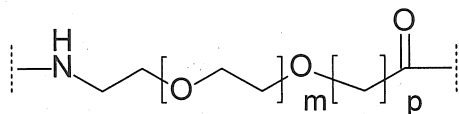
$P_U^{ii}$  được ưu tiên bao gồm Gly-Gly, Gly-Ser, Ser-Gly, Gly-Ala, Ala-Gly, và Ala-Ala, tốt hơn nữa Gly-Ser và Gly-Gly.

Theo một số phương án,  $S_B$  là  $-(P_U^{ii})_n-$ , trong đó  $n$  bằng 2 đến 4, tốt hơn nữa 3, và mỗi  $P_U^{ii}$  độc lập được chọn từ Gly-Ser và Gly-Gly. Theo một số phương án được ưu tiên  $S_B$  là  $-(P_U^{ii})_n-$ ,  $n$  bằng 3 và mỗi  $P_U^{ii}$  độc lập được chọn từ Gly-Ser và Gly-Gly, với trình tự được ưu tiên là  $-(\text{Gly-Ser})-(\text{Gly-Ser})-(\text{Gly-Gly})$ .

Các axit amin với các tâm không đối xứng trong  $P_U^i$  và  $P_U^{ii}$  có thể là triệt quang, được làm giàu về mặt đồng phân đối ảnh, hoặc tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh. Theo một số phương án, mỗi axit amin độc lập là L-axit amin. Theo một số phương án, mỗi axit amin độc lập là D-axit amin.

(iii). Các gốc axit amino-(PEG)<sub>m</sub>-carboxylic  $P_U^{iii}$

Mỗi  $P_U^{iii}$  có thể độc lập là gốc có công thức chung:



trong đó  $m$  bằng 0, 1, 2, 3, 4, hoặc 5, tốt hơn bằng 1 hoặc 2, và  $p$  bằng 1, 3, 4, hoặc 5, tốt hơn là 1.

Theo một số phương án,  $m$  bằng 1 và  $p$  bằng 1, tức là  $P_U^{iii}$  là gốc axit 8-amino-3,6-đioxaoctanoic (còn được gọi là axit {2-[2-aminoetoxy]etoxy}axetic và  $\text{H}_2\text{N-PEG}_3\text{-COOH}$ ). Trong bản mô tả này, gốc này được gọi là  $-\text{PEG}_3-$ .

Theo một số phương án,  $m$  bằng 2 và  $p$  bằng 1, tức là  $P_U^{iii}$  là gốc axit 11-amino-3,6,9-trioxaundecanoic (còn được gọi là  $\text{H}_2\text{N-PEG}_4\text{-COOH}$ ). Trong bản mô tả này, gốc này được gọi là  $-\text{PEG}_4-$ .

Theo một số phương án,  $S_B$  là  $-(P_U^{iii})_n-$ , trong đó  $n$  bằng 1 đến 3, tốt hơn nữa là 2.

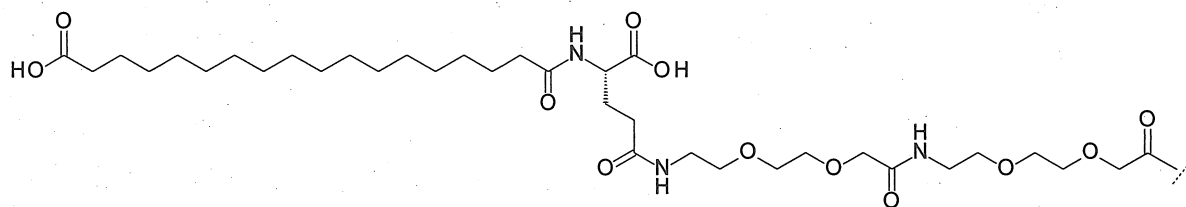
Theo một số phương án được ưu tiên,  $S_B$  được chọn từ  $-\text{PEG}_3\text{-PEG}_3-$  và  $-\text{PEG}_4\text{-PEG}_4-$ .

$-Z^2-Z^1$  được ưu tiên

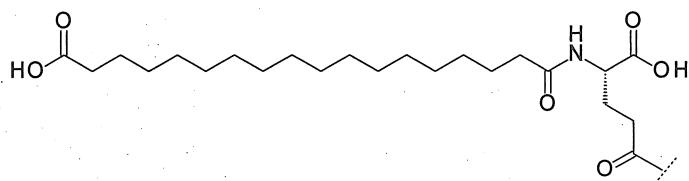
Cần phải hiểu rằng các phương án ưu tiên nêu trên có thể được kết hợp một cách độc lập để tạo ra tổ hợp  $-Z^2-Z^1$  được ưu tiên.

Một số tổ hợp  $-Z^2-Z^1$  được ưu tiên được thể hiện dưới đây (trong mỗi trường hợp, --- biểu thị điểm gắn vào mạch bên của thành phần axit amin của  $\Psi$ ):

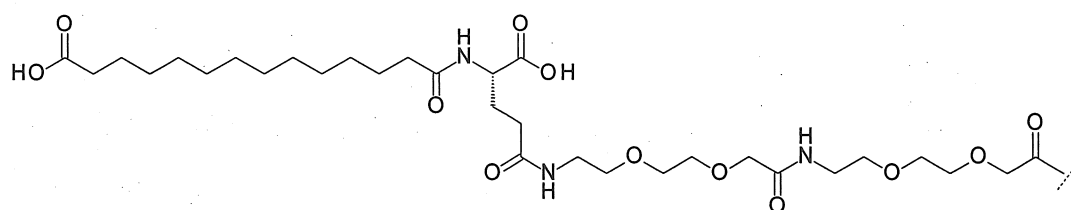
(i) [17-Carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3



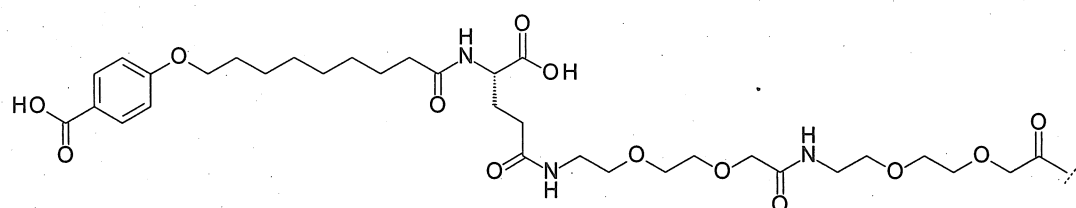
(ii) [17-Carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu



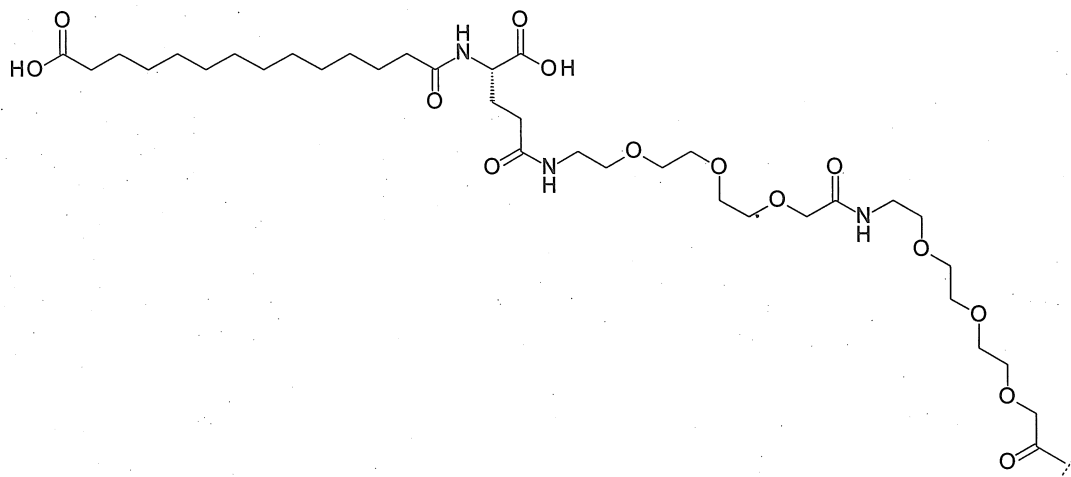
(iii) [13-Carboxy-tridecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3



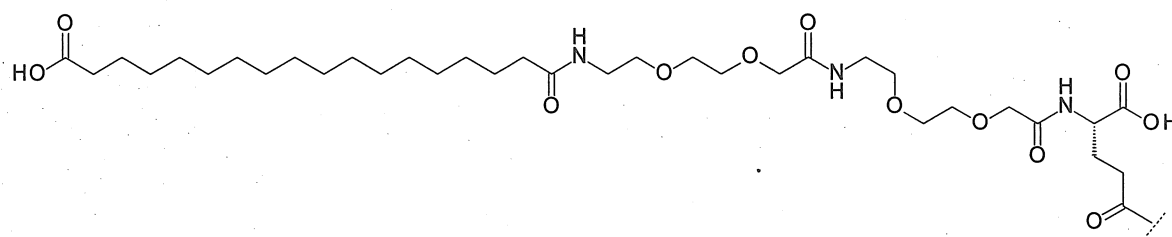
(iv) [Carboxyphenoxynonanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3



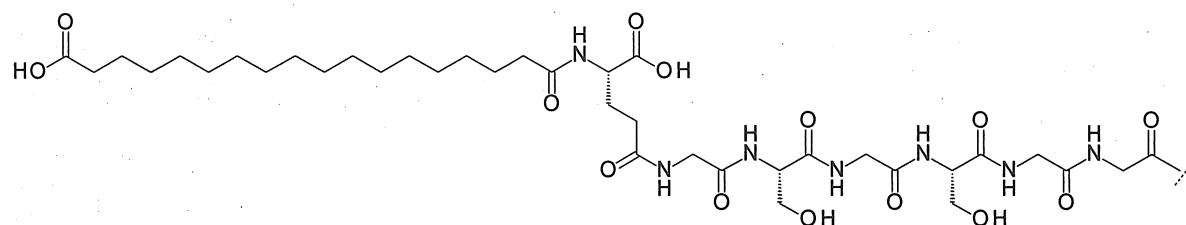
(v) [13-Carboxy-tridecanoyl]-isoGlu-Peg4-Peg4



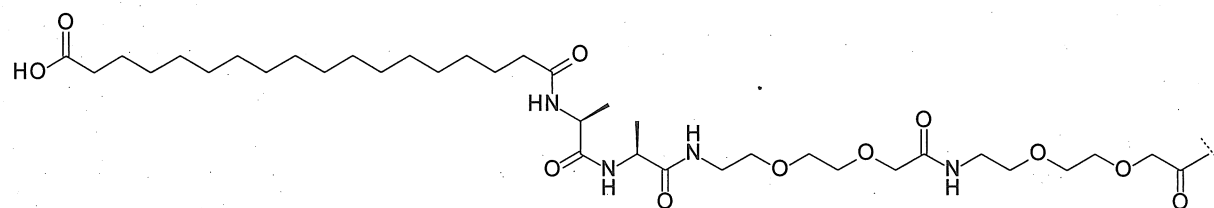
(vi) [17-Carboxy-heptadecanoyl]-Peg3-Peg3-isoGlu



(vii) [17-Carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG



(viii) [17-Carboxy-heptadecanoyl]-AA-Peg3-Peg3



Sự có mặt của nhóm phân cực tại đầu tận cùng của  $Z^1$  được tin là làm gia tăng các tính chất dược động học của hợp chất này, ví dụ, bằng cách kéo dài thời gian bán tồn và/hoặc thời gian lưu trú trung bình, và làm giảm mức độ thanh thải. Nhóm liên kết còn có thể góp phần vào các tính chất dược động học này. Các nhóm liên kết chứa nhiều hơn một đơn vị axit amin (hoặc các gốc có cỡ tương tự) có thể

cải thiện các tính chất dược động học so với các nhóm liên kết chỉ chứa một đơn vị axit amin hoặc tương tự. Các tính chất này có thể cho phép hợp chất này được dùng ít thường xuyên hơn so với hợp chất tương đương có cùng khung peptit nhưng không cải biến hoặc cải biến khác (ví dụ, phân tử thế với mạch béo thiếu nhóm phân cực và/hoặc có gốc liên kết ngắn hơn).

Không muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết cụ thể nào, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng, đặc biệt là nếu các nhóm liên kết dài hơn được bao gồm, nhóm phân cực hoặc nhóm có điện tích ở đầu tận cùng  $Z^1$  có thể có khả năng tham gia vào tương tác nội phân tử không mong muốn với đầu tận cùng N tự do của phân tử mà có thể thỏa hiệp tác dụng có lợi của nhóm phân cực đối với dược động học. Tin rằng khung peptit của các hợp chất theo sáng chế có cấu trúc bậc hai xoắn tương đối xác định, nên khả năng của nhóm phân cực tham gia vào các tương tác này có thể phụ thuộc vào vị trí của nó trong phân tử. Khi nằm về phía đầu tận cùng C, thì tương tác với đầu tận cùng N có thể là tương đối khó xảy ra. Tuy nhiên, các tác giả sáng chế đã bất ngờ phát hiện ra rằng phân tử thế có thể nằm tại các góc 16 và 17 của phân tử không nhất thiết thỏa hiệp các lợi ích dược động học thu được.

Thuật ngữ “đã tiếp hợp” được dùng trong bản mô tả này để chỉ sự gắn về mặt vật lý một gốc hóa học xác định được với gốc khác, và mối liên hệ về mặt cấu trúc giữa các gốc này. Không nên hiểu rằng thuật ngữ này ám chỉ phương pháp tổng hợp cụ thể bất kỳ.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ biết các kỹ thuật thích hợp mà có thể được áp dụng để thực hiện các phản ứng liên hợp bằng cách áp dụng phương pháp tổng hợp chung đã được liệt kê, ví dụ trong tài liệu: “*Comprehensive Organic Transformations, A Guide to Functional Group Preparations*”, 2nd edition, Larock, R. C.; Wiley-VCH: New York, 1999. Bước chuyển hóa này có thể xảy ra ở công đoạn thích hợp bất kỳ trong quy trình tổng hợp.

#### Quy trình tổng hợp peptit

Các hợp chất theo sáng chế có thể được sản xuất theo các phương pháp tổng hợp chuẩn, các hệ biểu hiện tái tổ hợp, hoặc phương pháp bất kỳ khác đã biết. Do đó, các chất tương tự glucagon có thể được tổng hợp theo nhiều cách, bao gồm, ví dụ, phương pháp bao gồm các bước sau:

- (a) tổng hợp peptit theo phương pháp pha rắn hoặc phương pháp pha lỏng, theo từng bước hoặc theo từng cụm đoạn, và phân tách và tinh chế peptit thành phẩm; hoặc
- (b) biểu hiện tiền chất peptit trình tự từ cấu trúc axit nucleic mà ghi mã peptit tiền chất, thu hồi sản phẩm biểu hiện, và cải biến peptit tiền chất để tạo ra hợp chất theo sáng chế.

Quá trình biểu hiện thường được thực hiện từ axit nucleic ghi mã peptit tiền chất, mà có thể được thực hiện trong tế bào hoặc hệ biểu hiện không bao gồm tế bào chứa axit nucleic này.

Tốt hơn, nếu tổng hợp các chất tương tự theo sáng chế theo quy trình tổng hợp pha rắn hoặc quy trình tổng hợp pha lỏng. Trong bản mô tả này, có viện dẫn đến WO 98/11125 và cả tài liệu: Fields, GB *et al.*, 2002, “*Principles and practice of solid-phase peptide synthesis*” trong tài liệu: *Synthetic Peptides* (2nd Edition), trong số nhiều tài liệu khác, và các ví dụ trong đó.

Để biểu hiện tái tổ hợp, các đoạn axit nucleic ghi mã peptit tiền chất thường cần được cài xen vào các vật truyền thích hợp để tạo ra các vật truyền tách dòng hoặc các vật truyền biểu hiện. Tùy theo mục đích và loại ứng dụng, các vật truyền có thể ở dạng plasmit, thể thực khuẩn, cosmit, nhiễm sắc thể mini, hoặc virus, mà cả ADN trần mà chỉ biểu hiện tạm thời ở một số tế bào nhất định là vật truyền quan trọng. Các vật truyền tách dòng và các vật truyền biểu hiện được ưu tiên (các vật truyền plasmit) có khả năng sao chép tự động, nhờ đó cho phép số lượng bản sao cao nhằm mục đích biểu hiện ở mức độ cao hoặc sao chép ở mức độ cao để tách dòng tiếp.

Theo sơ đồ chung, vật truyền biểu hiện chứa các dấu hiệu sau hướng từ đầu tận cùng 5' → đầu tận cùng 3' và trong liên kết về mặt hoạt động: gen khởi đầu để dẫn sự biểu hiện của đoạn axit nucleic, tùy ý trình tự axit nucleic ghi mã peptit dẫn cho phép tiết (vào pha ngoại bào hoặc, nếu thích hợp, vào trong chất bào), đoạn axit nucleic ghi mã peptit tiền chất, và tùy ý trình tự axit nucleic ghi mã gen kết thúc. Chúng có thể bao gồm các dấu hiệu bổ sung như các gen đánh dấu có thể chọn lọc được và nguồn gốc sao chép. Khi hoạt động với các vật truyền biểu hiện trong các chủng hoặc các dòng tế bào của nhà sản xuất, việc vật truyền này có khả năng hợp

nhất vào hệ gen của tế bào chủ có thể là điều được ưu tiên. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này biết rõ các vật truyền thích hợp và có khả năng thiết kế vật truyền thích hợp theo các yêu cầu cụ thể của họ.

Các vật truyền theo sáng chế được dùng để biến nạp tế bào chủ để tạo ra peptit tiền chất. Các tế bào đã biến nạp này được nuôi cấy các tế bào hoặc các dòng tế bào được dùng để nhân giống thêm các đoạn axit nucleic và vật truyền, và/hoặc được sử dụng cho tái tổ hợp sự tạo ra peptit tiền chất.

Các tế bào đã biến nạp được ưu tiên là các vi sinh vật như vi khuẩn [như giống *Escherichia* (ví dụ, *E. coli*), *Bacillus* (ví dụ, *Bacillus subtilis*), *Salmonella*, hoặc *Mycobacterium* (tốt hơn là giống không gây bệnh, ví dụ *M. bovis BCG*), nấm men (ví dụ, *Saccharomyces cerevisiae* và *Pichia pastoris*), và động vật nguyên sinh. Theo cách khác, các tế bào đã được biến nạp có thể thu được từ sinh vật đa bào, tức là nó có thể là tế bào nấm, tế bào của côn trùng, tế bào của tảo, tế bào thực vật, hoặc tế bào động vật như tế bào của động vật có vú. nhằm mục đích tách dòng và/hoặc biểu hiện tối ưu tốt hơn là tế bào đã biến nạp có khả năng sao chép đoạn axit nucleic theo sáng chế. Các tế bào biểu hiện đoạn nucleic có thể được sử dụng cho việc điều chế các peptit theo sáng chế ở quy mô nhỏ hoặc ở quy mô lớn.

Nếu tạo ra peptit tiền chất nhờ tế bào đã được biến nạp, thì điều thuận tiện, mặc dù không phải là thiết yếu, là sản phẩm biểu hiện được tiết vào môi trường nuôi cấy.

#### Hiệu quả

Liên kết của các hợp chất có liên quan với các thụ thể GLP-1 hoặc các thụ thể glucagon (Glu) có thể được dùng làm dấu hiệu chỉ báo về hoạt tính của chất chủ vận, nhưng nói chung tốt hơn nếu áp dụng thử nghiệm sinh học mà đo mức tín hiệu nội bào gây ra bởi việc liên kết hợp chất này với thụ thể tương ứng. Ví dụ, sự hoạt hóa thụ thể glucagon bằng chất chủ vận glucagon sẽ kích thích sự hình thành AMP vòng (cAMP) trong tế bào. Tương tự, sự hoạt hóa thụ thể GLP-1 bởi chất chủ vận GLP-1 sẽ kích thích quy trình tạo ra adenosin monophosphat mạch vòng (cAMP) trong tế bào. Do đó, sự tạo ra adenosin monophosphat mạch vòng (cAMP) trong các tế bào thích hợp biểu hiện một trong hai thụ thể này có thể được dùng để theo dõi hoạt tính của thụ thể tương ứng. Do đó, việc sử dụng cặp loại tế bào thích hợp, mỗi

tế bào biểu hiện một thụ thể nhưng không biểu hiện thụ thể còn lại, có thể được áp dụng để xác định hoạt tính chủ vận đối với cả hai loại thụ thể.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ biết các dạng thử nghiệm thích hợp, và các ví dụ được nêu dưới đây. Thụ thể GLP-1 và/hoặc thụ thể glucagon có thể có trình tự của các thụ thể như đã được bộc lộ trong các ví dụ. Ví dụ, các thử nghiệm này có thể sử dụng thụ thể glucagon của người (thụ thể glucagon) có số hiệu lưu giữ ban đầu GI:4503947 và/hoặc thụ thể peptit 1 giống glucagon của người (thụ thể GLP-1) có số hiệu lưu giữ ban đầu GI:166795283. (ở chỗ khi nhắc đến các trình tự của các tiền protein, thì tất nhiên cần phải hiểu rằng các thử nghiệm có thể sử dụng protein thành thực, thiếu trình tự tín hiệu).

Các trị số  $EC_{50}$  có thể được dùng làm số đo về hiệu quả của chất chủ vận ở thụ thể nhất định. Trị số  $EC_{50}$  là số đo về nồng độ của hợp chất cần thiết để đạt được một nửa hoạt tính tối đa của hợp chất trong thử nghiệm cụ thể. Do đó, ví dụ, hợp chất có  $EC_{50}$ [GLP-1] thấp hơn  $EC_{50}$ [GLP-1] của glucagon trong một thử nghiệm cụ thể có thể được xem là có hiệu lực chủ vận của thụ thể GLP-1 cao hơn glucagon.

Các hợp chất đã được bộc lộ trong bản mô tả này thường là các chất chủ vận kép GluGLP-1, như được xác định theo quan sát thấy rằng chúng có khả năng kích thích sự hình thành adenosin monophosphat mạch vòng (cAMP) ở cả thụ thể glucagon và thụ thể GLP-1. Mức độ kích thích của từng thụ thể có thể được đo trong các thử nghiệm độc lập và sau đó được so sánh với nhau.

Bằng cách so sánh trị số  $EC_{50}$  đối với thụ thể GLP-1 ( $EC_{50}$  [GLP-1-R]) với trị số  $EC_{50}$  đối với thụ thể glucagon, ( $EC_{50}$  [GlucagonR]) cho hợp chất nhất định, mức độ chọn lọc tương đối đối với thụ thể GLP-1 có thể được tính như sau:

$$\text{Mức độ chọn lọc tương đối đối với GLP-1R [hợp chất]} = (EC_{50} \text{ [GLP-1R]}) / (EC_{50} \text{ [Glucagon-R]})$$

Thuật ngữ “ $EC_{50}$ ” là chữ viết tắt của một nửa nồng độ có hiệu quả tối đa, thường là đối với thụ thể cụ thể, hoặc trên nồng độ của chất đánh dấu cụ thể đối với chức năng của thụ thể, và có thể chỉ hoạt tính ức chế hoặc hoạt tính đối kháng, tùy theo ngữ cảnh sinh hóa cụ thể.



Không muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết cụ thể nào, mức độ chọn lọc tương đối của hợp chất của hợp chất có thể cho phép tác động của nó đến thụ thể GLP-1 hoặc thụ thể glucagon được so sánh một cách trực tiếp với tác động của nó đến thụ thể còn lại. Ví dụ, mức độ chọn lọc tương đối với GLP-1 càng cao, thì hợp chất đó có thể càng có tác dụng đối với thụ thể GLP-1 so với thụ thể glucagon. Thông thường, các kết quả được so sánh đối với thụ thể glucagon và thụ thể GLP-1 từ cùng loài, ví dụ glucagon và thụ thể GLP-1 của người, hoặc glucagon và thụ thể GLP-1 của chuột.

Các hợp chất theo sáng chế có thể có mức độ chọn lọc tương đối đối với thụ thể GLP-1 cao hơn glucagon của người ở chỗ đối với mức độ hoạt tính chủ vận cụ thể của thụ thể glucagon, hợp chất này có thể thể hiện mức độ hoạt tính chủ vận cao hơn đối với thụ thể GLP-1 (tức là hiệu quả cao hơn đối với thụ thể GLP-1) so với glucagon. Cần phải hiểu rằng hiệu lực tối đa của hợp chất cụ thể ở thụ thể glucagon và thụ thể GLP-1 có thể là cao hơn, thấp hơn hoặc bằng hiệu lực đó của glucagon tự nhiên của người, chừng nào đạt được mức độ chọn lọc tương đối thích hợp đối với GLP-1R.

Tuy nhiên, các hợp chất theo sáng chế có thể có  $EC_{50}$  [GLP-1R] thấp hơn so với glucagon của người. Các hợp chất có thể có  $EC_{50}$ [GLP-1-R] thấp hơn so với glucagon trong khi duy trì  $EC_{50}$  [Glucagon-R] mà cao hơn không đến 10 lần so với glucagon của người, cao hơn không đến 5 lần so với glucagon của người, hoặc cao hơn không đến 2 lần so với glucagon của người.

Các hợp chất theo sáng chế có thể có  $EC_{50}$  [Glucagon-R] không lớn hơn hai lần so với glucagon của người. Các hợp chất có thể có  $EC_{50}$  [Glucagon-R] không lớn hơn hai lần so với glucagon của người và có  $EC_{50}$  [GLP-1R] nhỏ hơn một nửa so với glucagon của người, nhỏ hơn một phần năm so với glucagon của người, hoặc nhỏ hơn một phần mười so với glucagon của người.

Mức độ chọn lọc tương đối đối với thụ thể GLP-1 của các hợp chất có thể nằm trong khoảng từ 0,05 đến 20. Ví dụ, các hợp chất có thể có mức độ chọn lọc tương đối nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,20, 0,1 đến 0,30, 0,2 đến 0,5, 0,3 đến 0,7, hoặc 0,5 đến 1,0; 1,0 đến 2,0, 1,5 đến 3,0, 2,0 đến 4,0 hoặc 2,5 đến 5,0; hoặc 0,05 đến 20, 0,075 đến 15, 0,1 đến 10, 0,15 đến 5, 0,75 đến 2,5 hoặc 0,9 đến 1,1.

Theo các phương án nhất định, có thể mong muốn rằng EC<sub>50</sub> của hợp chất nhất định bất kỳ đối với cả glucagon-R và GLP-1R, ví dụ đối với thụ thể glucagon của người và thụ thể GLP-1, sẽ không thấp hơn 1nM.

#### Các ứng dụng điều trị bệnh

Các hợp chất theo sáng chế có thể là các tùy chọn điều trị bệnh và/hoặc phòng ngừa bệnh đáng hấp dẫn đối với bệnh béo phì và các bệnh chuyển hóa, kể cả bệnh đái tháo đường, trong số nhiều bệnh khác, như nêu dưới đây.

Bệnh đái tháo đường là nhóm bao gồm các bệnh chuyển hóa đặc trưng bởi hiện tượng tăng đường huyết quá mức do lỗi trong quá trình tiết insulin, hoạt động của insulin, hoặc cả hai. Các dấu hiệu cấp tính của bệnh đái tháo đường bao gồm thải quá nhiều nước tiểu, dẫn đến hiện tượng khát bù nước và tăng lượng chất lỏng nạp vào, thị lực bị nhòe, giảm cân không rõ nguyên nhân, tình trạng lơ đãng, và thay đổi về chuyển hóa năng lượng. Hiện tượng tăng đường huyết quá mức mạn tính của bệnh đái tháo đường kèm theo sự phá hủy, suy giảm chức năng lâu dài, và suy nhược nhiều cơ quan khác nhau, đặc biệt là mắt, thận, thần kinh, tim và mạch máu. Bệnh đái tháo đường được phân loại thành bệnh đái tháo đường typ 1, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh đái tháo đường trong thai kỳ trên cơ sở các đặc tính sinh bệnh học.

Bệnh đái tháo đường typ 1 chiếm 5% đến 10% tổng số ca bệnh đái tháo đường và gây ra bởi hiện tượng tiêu diệt các tế bào  $\beta$  tiết insulin ở tụy theo cơ chế tự miễn dịch.

Bệnh đái tháo đường typ 2 chiếm 90% đến 95% các ca mắc bệnh đái tháo đường và là kết quả của một nhóm rối loạn chuyển hóa phức tạp. Bệnh đái tháo đường typ 2 là hệ quả của sự sản xuất insulin nội sinh không đủ để duy trì nồng độ glucoza trong huyết tương thấp hơn ngưỡng chẩn đoán.

Thuật ngữ bệnh đái tháo đường trong thai kỳ được dùng để chỉ mức độ bất dung nạp glucoza bất kỳ xác định được trong quá trình mang thai.

Tình trạng tiền đái tháo đường bao gồm nồng độ glucoza lúc đói giảm và khả năng dung nạp glucoza bị ảnh hưởng và để chỉ các trạng thái mà xảy ra khi nồng độ glucoza huyết tăng nhưng thấp hơn mức đã được thiết lập để chẩn đoán bệnh đái tháo đường về mặt lâm sàng.

Đa số người mắc bệnh đái tháo đường typ 2 và tiền đái tháo đường có nguy cơ cao về bệnh tật và tử vong do mức độ phổ biến cao của các yếu tố nguy cơ bổ sung về chuyển hóa bao gồm hiện tượng béo bụng (thừa mô mỡ xung quanh các cơ quan nội tạng trong bụng), bệnh rối loạn mỡ máu gây xơ vữa động mạch (rối loạn mỡ máu bao gồm triglyxerit cao, cholesterol HDL thấp và/hoặc cholesterol LDL cao, mà thúc đẩy sự hình thành mảng trong thành động mạch), huyết áp tăng (chứng huyết áp cao), trạng thái huyết khối (ví dụ, nồng độ fibrinogen cao hoặc chất ức chế hoạt hóa plasminogen-1 trong máu cao), và trạng thái tiền viêm (ví dụ, nồng độ protein có hoạt tính phản ứng C trong máu cao).

Ngược lại, bệnh béo phì làm tăng nguy cơ phát triển tình trạng tiền đái tháo đường, bệnh đái tháo đường typ 2 cũng như ví dụ một số loại bệnh ung thư, chứng ngừng thở do tắc nghẽn trong khi ngủ và bệnh túi mật.

Bệnh rối loạn mỡ máu liên quan đến nguy cơ cao về bệnh tim mạch. Lipoprotein tỷ trọng cao (HDL) là quan trọng về mặt lâm sàng vì mối tương quan nghịch đảo tồn tại giữa nồng độ HDL trong huyết tương và nguy cơ mắc bệnh xơ vữa động mạch. Đại đa số cholesterol tích trữ trong các mảng xơ vữa động mạch có nguồn gốc từ LDL và do đó nồng độ lipoprotein tỷ trọng thấp (LDL) tăng liên quan chặt chẽ đến chứng xơ vữa động mạch. Tỷ lệ HDL/LDL là chỉ báo nguy cơ lâm sàng về chứng xơ vữa động mạch và đặc biệt là chứng xơ vữa động mạch vành.

Hội chứng chuyển hóa được đặc trưng bởi nhóm gồm các yếu tố nguy cơ chuyển hóa ở một người. Chúng bao gồm hiện tượng béo bụng (thừa mô mỡ xung quanh các cơ quan nội tạng trong bụng), bệnh rối loạn mỡ máu gây xơ vữa động mạch (rối loạn mỡ máu bao gồm triglyxerit cao, cholesterol HDL thấp và/hoặc cholesterol LDL cao, mà thúc đẩy sự hình thành mảng trong thành động mạch), huyết áp tăng (chứng huyết áp cao), kháng insulin và bất dung nạp glucoza, trạng thái tiền huyết khối (ví dụ, nồng độ fibrinogen cao hoặc chất ức chế hoạt hóa plasminogen-1 trong máu), và trạng thái tiền viêm (ví dụ, nồng độ protein có hoạt tính phản ứng C trong máu cao).

Các cá thể mắc hội chứng chuyển hóa có nguy cơ cao về bệnh tim mạch vành và các bệnh khác liên quan đến các biểu hiện khác của chứng xơ cứng động

mạch (ví dụ, đột quỵ và bệnh mạch ngoại vi). Các yếu tố nguy cơ cơ bản nổi bật đối với hội chứng này dường như là hiện tượng béo bụng.

Không muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết cụ thể nào, tin rằng các hợp chất theo sáng chế hoạt động như các chất chủ vận kép đối với cả thụ thể glucagon của người và thụ thể GLP-1 của người, trong bản mô tả này được viết tắt là các chất chủ vận kép GluGLP-1. Chất chủ vận kép có thể kết hợp tác động của glucagon, ví dụ đối với sự chuyển hóa chất béo, với tác động của GLP-1, ví dụ đối với nồng độ glucoza huyết và thức ăn đưa vào cơ thể. Do đó, chúng có thể hoạt động để thúc đẩy việc loại bỏ lượng dư mô mỡ, gây giảm cân một cách bền vững, và cải thiện mức độ kiểm soát đường huyết. Các chất chủ vận kép GluGLP-1 còn có thể hoạt động để làm giảm các yếu tố nguy cơ đối với tim mạch như cholesterol cao, LDL-cholesterol cao hoặc nồng độ tỷ lệ cholesterol HDL/LDL thấp.

Các hợp chất theo sáng chế do đó có thể được dùng ở đối tượng có nhu cầu điều trị ở dạng dược chất để ngăn chặn sự tăng cân, thúc đẩy việc làm giảm cân, làm giảm hiện tượng thừa cân hoặc điều trị bệnh béo phì (ví dụ, bằng cách kiểm soát mức độ thèm ăn, cho ăn, thức ăn đưa vào cơ thể, lượng ăn vào tính theo calo, và/hoặc mức tiêu hao năng lượng), kể cả tình trạng béo phì gây bệnh, cũng như các bệnh liên quan và các tình trạng sức khỏe liên quan liên quan bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh béo phì liên quan đến bệnh viêm, bệnh túi mật liên quan đến bệnh béo phì và chứng ngừng thở trong khi ngủ do bệnh béo phì gây ra. Các hợp chất theo sáng chế còn có thể được dùng để điều trị các tình trạng bệnh lý gây ra bởi hoặc liên quan đến suy giảm kiểm soát glucoza, bao gồm hội chứng chuyển hóa, chứng kháng insulin, chứng bất dung nạp glucoza, chứng tiền đái tháo đường, tình trạng tăng glucoza lúc đói, bệnh đái tháo đường typ 2, chứng cao huyết áp, chứng xơ vữa động mạch, chứng xơ cứng động mạch, bệnh tim mạch vành, bệnh động mạch ngoại vi và đột quỵ, ở đối tượng có nhu cầu điều trị bệnh. Một vài trong số các tình trạng này có thể liên quan đến bệnh béo phì. Tuy nhiên, các tác động của các hợp chất theo sáng chế đối với các tình trạng này có thể hoàn toàn hoặc một phần do tác dụng đối với thể trọng, hoặc có thể là độc lập với chúng.

Tác động hiệp đồng của các chất chủ vận kép GluGLP-1 còn có thể làm giảm các yếu tố nguy cơ đối với tim mạch như nồng độ cholesterol và LDL cao, mà có thể hoàn toàn độc lập với tác động của chúng đối với thể trọng.

Do đó, sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất theo sáng chế để điều trị tình trạng bệnh lý như trên, ở cá thể có nhu cầu điều trị bệnh.

Sáng chế còn đề xuất hợp chất theo sáng chế để dùng trong phương pháp điều trị bệnh, đặc biệt là để dùng trong phương pháp điều trị tình trạng bệnh lý nêu trên.

Theo khía cạnh được ưu tiên, các hợp chất đã được bộc lộ có thể được dùng trong điều trị bệnh đái tháo đường, đặc biệt là bệnh đái tháo đường typ 2.

Theo khía cạnh cụ thể, sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất để điều trị bệnh đái tháo đường, đặc biệt là bệnh đái tháo đường typ 2 ở cá thể có nhu cầu điều trị bệnh.

Theo phương án không kém được ưu tiên hơn, các hợp chất đã được bộc lộ có thể được dùng để ngăn chặn sự tăng cân hoặc thúc đẩy việc làm giảm cân.

Theo khía cạnh cụ thể, sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất để ngăn chặn sự tăng cân hoặc thúc đẩy việc làm giảm cân ở cá thể có nhu cầu điều trị bệnh.

Theo khía cạnh cụ thể, sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất trong phương pháp điều trị tình trạng bệnh lý do, hoặc đặc trưng bởi, hiện tượng thừa cân, ví dụ điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh béo phì, bệnh béo phì gây bệnh, bệnh béo phì gây bệnh trước khi phẫu thuật, bệnh béo phì liên quan đến bệnh viêm, bệnh túi mật liên quan đến bệnh béo phì, chứng ngưng thở trong khi ngủ do bệnh béo phì gây ra, chứng tiền đái tháo đường, bệnh đái tháo đường, đặc biệt là bệnh đái tháo đường typ 2, chứng cao huyết áp, rối loạn mỡ trong máu gây xơ vữa động mạch, chứng xơ vữa động mạch, chứng xơ cứng động mạch, bệnh tim mạch vành, bệnh động mạch ngoại biên, bệnh đột quỵ hoặc bệnh vi mạch ở cá thể có nhu cầu điều trị bệnh.

Theo khía cạnh khác, các hợp chất đã được bộc lộ có thể được dùng trong phương pháp làm giảm nồng độ LDL tuần hoàn, và/hoặc làm tăng tỷ lệ HDL/LDL.

Theo khía cạnh cụ thể, sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất trong phương pháp làm giảm nồng độ LDL tuần hoàn, và/hoặc làm tăng tỷ lệ HDL/LDL ở cá thể có nhu cầu điều trị bệnh.

Theo khía cạnh khác, các hợp chất đã được bộc lộ có thể được dùng trong phương pháp làm giảm nồng độ triglycerit tuần hoàn.

#### Dược phẩm

Các hợp chất theo sáng chế có thể được bào chế ở dạng dược phẩm mà được chuẩn bị để bảo quản hoặc để dùng. Dược phẩm này thường chứa lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của hợp chất theo sáng chế, ở dạng thích hợp, trong chất mang dược dụng.

Lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của hợp chất theo sáng chế sẽ phụ thuộc vào đường dùng, loại động vật có vú được điều trị, và các đặc tính về thể trạng của động vật có vú cụ thể đang được xem xét. Các yếu tố này và mối liên hệ của chúng với việc xác định lượng này là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực y học. Lượng này và phương pháp dùng có thể được thiết kế để đạt được hiệu quả tối ưu, và có thể phụ thuộc vào các yếu tố như cân nặng, chế độ dinh dưỡng, thuốc đang dùng đồng thời và các yếu tố khác, đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực y học. Cỡ liều lượng và phác đồ liều dùng thích hợp nhất để sử dụng cho người có thể được hướng dẫn bởi kết quả đạt được theo sáng chế, và có thể được xác nhận trong các thử nghiệm lâm sàng đã được thiết lập một cách thích hợp. Các hợp chất theo sáng chế có thể là đặc biệt hữu dụng để điều trị bệnh cho người.

Liều lượng hữu hiệu và quy trình điều trị bệnh có thể được xác định theo cách thông thường, bắt đầu với liều thấp ở động vật trong phòng thí nghiệm và sau đó tăng liều lượng trong khi theo dõi các tác dụng, và cả cách thay đổi một cách có hệ thống phác đồ liều lượng. Nhiều yếu tố có thể được xem xét bởi thầy thuốc khi xác định liều tối ưu cho đối tượng nhất định. Các yếu tố để xem xét đó là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Thuật ngữ “chất mang dược dụng” bao gồm chất mang bất kỳ trong số các chất mang chuẩn trong dược khoa. Các chất mang dược dụng để dùng trong dược phẩm là đã biết trong lĩnh vực dược, và bộc lộ, ví dụ, trong tài liệu: *Remington's*

*Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985). Ví dụ, nước muối vô trùng và nước muối đệm phosphat có độ pH axit nhẹ hoặc độ pH sinh lý có thể được sử dụng. Các chất đệm pH có thể là phosphat, xitrat, axetat, tris/hydroxymetyl)aminometan (TRIS), axit N-Tris(hydroxymetyl)metyl-3-aminopropansulphonic (TAPS), amoni bicacbonat, dietanolamin, histidin, mà là dung dịch đệm được ưu tiên, arginin, lysin, hoặc axetat hoặc hỗn hợp của chúng. Thuật ngữ này còn bao gồm tác nhân bất kỳ đã được liệt kê trong Dược điển Mỹ để dùng cho động vật, kể cả người.

Thuật ngữ “muối được dụng” để chỉ muối của hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất theo sáng chế. Các muối bao gồm các muối được dụng như các muối cộng axit và các muối cộng bazơ. Các ví dụ về muối cộng axit bao gồm các muối hydroclorua, các muối xitrat và các muối axetat. Các ví dụ về muối bazơ bao gồm các muối trong đó cation được chọn từ kim loại kiềm, như natri và kali, các kim loại kiềm thổ, như canxi, và các ion amoni  $^+N(R^3)_3(R^4)$ , trong đó  $R^3$  và  $R^4$  độc lập biểu thị  $C_{1-6}$ -alkyl tùy ý được thế,  $C_{2-6}$ -alkenyl tùy ý được thế, aryl tùy ý được thế, hoặc heteroaryl tùy ý được thế. Các ví dụ khác về các muối được dụng được bộc lộ trong “Remington’s Pharmaceutical Sciences”, tái bản lần thứ 17. Ed. Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mark Publishing Company, Easton, PA, U.S.A., 1985 và các phiên bản gần đây, và trong tài liệu *Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology*.

Thuật ngữ "điều trị bệnh" có nghĩa là cách thức để đạt được kết quả có lợi hoặc mong muốn về mặt lâm sàng. Nhằm mục đích của sáng chế, kết quả có lợi hoặc mong muốn về mặt lâm sàng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc làm thuyên giảm các triệu chứng, làm giảm mức độ của bệnh, làm ổn định (tức là không làm xấu hơn) tình trạng bệnh, trì hoãn hoặc làm chậm diễn tiến của bệnh, làm thuyên giảm hoặc làm dịu tình trạng bệnh lý, và làm dịu bớt (dù là một phần hoặc toàn bộ), dù ở mức phát hiện được hoặc không phát hiện được. Thuật ngữ "điều trị bệnh" còn có nghĩa là kéo dài thời gian sống sót so với khoảng thời gian sống sót dự tính nếu không được điều trị bệnh. Việc "điều trị bệnh" là sự can thiệp được thực hiện với dự định phòng ngừa phát triển hoặc làm thay đổi bệnh lý học của rối loạn bệnh lý. Do đó, "điều trị bệnh" được dùng để chỉ cả việc điều trị chữa bệnh và các biện pháp phòng bệnh hoặc các biện pháp ngăn chặn bệnh theo các phương án nhất định.

Những người có nhu cầu điều trị bệnh bao gồm những người đã mắc rối loạn bệnh lý cũng như những người cần được phòng ngừa rối loạn bệnh lý này. Thuật ngữ điều trị bệnh được dùng để chỉ việc ức chế hoặc làm giảm sự gia tăng bệnh lý học hoặc các triệu chứng (ví dụ, tăng cân, tăng đường huyết quá mức) so với không điều trị, và không nhất thiết ám chỉ sự chấm dứt hoàn toàn của tình trạng bệnh lý liên quan.

Các dược phẩm có thể ở dạng liều đơn vị. Ở dạng này, dược phẩm này được chia thành các liều đơn vị chứa hoạt chất với lượng thích hợp. Dạng liều đơn vị có thể là chế phẩm đã được đóng gói, bao gói chứa lượng chế phẩm riêng rẽ, ví dụ, viên nén hoặc viên nang đóng gói, và bột trong lọ hoặc ống thuốc tiêm. Dạng liều đơn vị cũng có thể chính là viên nang, viên con nhộng, hoặc viên nén, hoặc nó có thể là số lượng thích hợp dạng bao gói bất kỳ trong số các dạng bao gói này. Nó có thể được cung cấp ở dạng một liều duy nhất dùng để tiêm, ví dụ, ở dạng bút tiêm. Theo các phương án nhất định, các dạng đóng gói bao gồm nhãn hoặc hướng dẫn sử dụng kèm theo. Các dược phẩm có thể được bào chế cho đường dùng bất kỳ thích hợp hoặc cách dùng bất kỳ thích hợp. Các chất mang dược dụng hoặc các chất pha loãng bao gồm các chất được dùng trong các chế phẩm thích hợp để dùng qua đường miệng, đường trực tràng, đường mũi, khu trú (kể cả đặt trong má và dưới lưỡi), âm đạo hoặc ngoài đường tiêu hóa (kể cả dùng dưới da, tiêm bắp, qua đường tĩnh mạch, trong da, và qua da). Các chế phẩm có thể được trình bày một cách thuận tiện ở dạng liều đơn vị và có thể được bào chế theo phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp đã biết trong lĩnh vực dược.

Đường dùng dưới da hoặc đường dùng qua da có thể là đặc biệt thích hợp đối với các hợp chất theo sáng chế.

Các dược phẩm theo sáng chế còn có thể được bào chế trong, hoặc được gắn vào, ví dụ, thông qua các tương tác cộng hóa trị, tương tác kỵ nước, và tương tác tĩnh điện, chất mang thuốc, hệ phân phối thuốc và hệ phân phối thuốc tiến bộ hơn để nâng cao hơn nữa độ ổn định của hợp chất này, làm tăng độ sinh khả dụng, làm tăng độ hòa tan, làm giảm tác dụng phụ, đạt được liệu pháp điều trị theo thời gian đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, và tăng mức độ tuân thủ của bệnh nhân hoặc kết hợp các tác dụng này theo cách bất kỳ. Các ví dụ về chất mang, hệ phân phối thuốc và hệ phân phối thuốc tiến bộ hơn bao gồm, nhưng



không chỉ giới hạn ở, các polyme, ví dụ, xenluloza và các chất dẫn xuất, các polysacarit, ví dụ, dextran và các chất dẫn xuất, tinh bột và các chất dẫn xuất, rượu polyvinyllic, acrylat và polyme metacrylat, axit polylactic và axit polyglycolic và các copolyme khối của chúng, các polyetylen glycol, các chất mang protein, ví dụ, albumin, gel, ví dụ, các hệ gel nhiệt, ví dụ, các hệ copolyme khối đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, các mixen, các liposom, các vi cầu, các hạt có kích thước nano, các tinh thể lỏng và các thể phân tán của chúng, pha L2 và các thể phân tán của nó, đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này về đặc tính pha trong các hệ lỏng-nước, các mixen polyme, đa nhũ tương, tự nhũ hóa, tự vi nhũ hóa, cyclodextrin và các chất dẫn xuất của chúng, và các polyme tổng hợp dạng cây.

#### Phép điều trị kết hợp

Hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế có thể được dùng như một phần của phép điều trị kết hợp với tác nhân dùng để điều trị bệnh béo phì, chứng cao huyết áp, bệnh rối loạn mỡ máu hoặc bệnh đái tháo đường.

Trong các trường hợp này, hai hoạt chất này có thể được cho dùng đồng thời hoặc riêng rẽ, và là một phần của cùng một dược phẩm hoặc ở dạng các dược phẩm riêng rẽ.

Do đó, hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế có thể còn được sử dụng kết hợp với tác nhân chống béo phì, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất chủ vận thụ thể peptit 1 kiểu glucagon, peptit YY hoặc chất tương tự chúng, chất đối kháng thụ thể canabonoit 1, chất ức chế lipaza, chất chủ vận thụ thể melanocortin 4, chất đối kháng thụ thể hormon cô melamin 1, phentermin (riêng lẻ hoặc kết hợp với topiramát), kết hợp norepinephrin/dopamin chất ức chế hấp thu lại và chất đối kháng thụ thể opioit (ví dụ, tổ hợp gồm bupropion và naltrexon), hoặc tác nhân tác động đến serotonin (ví dụ, lorcaserin).

Hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với tác nhân chống huyết áp cao, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất ức chế enzym chuyển hóa chất co mạch, chất chặn thụ thể chất gây co mạch II, thuốc lợi tiểu, chất chặn beta, hoặc chất chặn kênh canxi.

Hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với tác nhân dùng cho bệnh rối loạn mỡ máu, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, statin, fibrat, niacin và/hoặc chất ức chế hấp thu cholesterol.

Ngoài ra, hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với chất điều trị bệnh đái tháo đường, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, điguanua (ví dụ, metformin), sulfonyleure, meglitinid hoặc glinit (ví dụ, nateglinid), chất ức chế DPP-IV, chất ức chế SGLT2, glitazon, chất chủ vận GLP-1 khác, insulin hoặc chất tương tự insulin. Theo phương án được ưu tiên, hợp chất này hoặc muối của nó được sử dụng kết hợp với insulin hoặc chất tương tự insulin, chất ức chế DPP-IV, sulfonyleure hoặc metformin, đặc biệt là sulfonyleure hoặc metformin, để kiểm soát được nồng độ glucoza trong máu ở mức độ thích hợp. Các ví dụ về chất tương tự insulin bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, Lantus, Novorapid, Humalog, Novomix, và Actraphane HM, Levemir và Apidra.

#### **Ví dụ thực hiện sáng chế**

##### **Ví dụ 1: Quy trình chung tổng hợp các chất tương tự glucagon**

Quy trình tổng hợp peptit pha rắn (SPPS) được thực hiện trong thiết bị tổng hợp có sự trợ giúp của vi sóng bằng cách áp dụng chiến lược Fmoc chuẩn trong NMP trên nhựa polystyren (TentaGel S Ram). HATU được dùng làm tác nhân liên hợp cùng với DIPEA làm bazơ. Piperidin (20% trong NMP) được sử dụng để khử bảo vệ. Các pseudoprolin: Fmoc-Phe-Thr(psiMe,Mepro)-OH và Fmoc-Asp-Ser(psiMe,Mepro)-OH (do NovaBiochem cung cấp) được sử dụng nếu thích hợp.

Các chữ viết tắt được sử dụng là như sau:

|                    |                                                      |
|--------------------|------------------------------------------------------|
| Boc:               | tert-butyloxycarbonyl                                |
| ivDde:             | 1-(4,4-dimetyl-2,6-dioxocyclohexyliden)3-metyl-butyl |
| Dde:               | 1-(4,4-dimetyl-2,6-dioxocyclohexyliden)-etyl         |
| DCM:               | điclometan                                           |
| DMF:               | N,N-dimetylformamit                                  |
| DIPEA:             | điisopropyletylamin                                  |
| EDT:               | 1,2-etandithiol                                      |
| EtOH:              | etanol                                               |
| Et <sub>2</sub> O: | đietyl ete                                           |

HATU: *N*-[(dimethylamino)-1*H*-1,2,3-triazol[4,5-*b*]pyridin-1-ylmetylen]-*N*-metylmetanaminium hexaflophosphat *N*-oxit

MeCN: axetonitril

NMP: *N*-metylpyrolidon

TFA: axit trifloaxetic

TIS: triisopropylsilan

*Phân cắt:*

Peptit thô được phân cắt ra khỏi nhựa theo cách xử lý bằng 95/2,5/2,5% (thể tích) TFA/TIS/nước ở nhiệt độ trong phòng (nhiệt độ phòng) trong thời gian 2 giờ. Hầu hết TFA được loại bỏ ở áp suất giảm và peptit thô được làm kết tủa và rửa bằng dietylete và để khô đến trọng lượng không đổi ở nhiệt độ môi trường.

Các hợp chất sau được tổng hợp:

- 1 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDK([15-carboxy-pentadecanoyl]-isoGlu)-AAHDFVEWLLS-A-NH<sub>2</sub>.
- 2 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAK-DFIEWLESA-NH<sub>2</sub>
- 3 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH<sub>2</sub>
- 4 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAK-DFIEWLESA-NH<sub>2</sub>
- 5 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>
- 6 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>
- 7 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>
- 8 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAHD-DFIEWLESA-NH<sub>2</sub>
- 9 H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>
- 10 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu)-AAKDFIEWLES-

A-NH<sub>2</sub>

- 11 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu)-AAKDFIEWLE-SA-NH<sub>2</sub>
- 12 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu)-RAKDFIEWLE-SA-NH<sub>2</sub>
- 13 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGS-GG)-WLESA-NH<sub>2</sub>
- 14 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGS-GG)-WLESA-NH<sub>2</sub>
- 15 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH<sub>2</sub>
- 16 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH<sub>2</sub>

Chất tương tự GLP-1 đã được axyl hóa semaglutit cũng được tổng hợp, và có cấu trúc:

H-H-[2-metyl-Ala]-EGTFTSDVSSYLEGQAA-K([17-Carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-EFIAWLVRGRG-OH.

### **Ví dụ 2: Thụ thể glucagon và thử nghiệm về hiệu quả của thụ thể GLP-1**

ADN hỗ trợ ghi mã thụ thể glucagon của người (thụ thể Glucagon) (số hiệu lưu giữ ban đầu P47871) hoặc thụ thể peptit 1 giống glucagon của người (thụ thể GLP-1) (số hiệu lưu giữ ban đầu P43220) được tổng hợp và đã được tách dòng vào vật truyền biểu hiện của động vật có vú chứa gen đánh dấu tính kháng Zeocin.

Các vật truyền biểu hiện của động vật có vú ghi mã thụ thể glucagon hoặc thụ thể GLP-1 được chuyển nhiễm vào tế bào buồng trứng (CHO) của chuột đồng theo phương pháp Attractene. Các dòng biểu hiện một cách ổn định thu được theo cách sàng lọc bằng Zeocin (250µg/ml) sau khi pha loãng có giới hạn các tế bào chịu được áp suất sàng lọc. Dòng tế bào glucagon-R và dòng tế bào GLP-1-R biểu hiện được chọn, được nhân giống và thử trong các thử nghiệm về hiệu quả của thụ thể glucagon và thụ thể GLP-1 nêu dưới đây. Một dòng biểu hiện glucagon-R và một dòng biểu hiện GLP-1-R được chọn để xác định biên dạng của hợp chất này.

Các tế bào CHO biểu hiện glucagon-R của người, hoặc GLP-1-R của người được cấy 24 giờ trước khi thử nghiệm ở mật độ 30.000 tế bào cho mỗi lỗ trong các đĩa vi chuẩn độ loại 96 lỗ trong môi trường nuôi cấy trong 100µl môi trường sinh trưởng. Vào ngày phân tích, môi trường nuôi cấy được loại bỏ và các tế bào được rửa một lần bằng 200µl dung dịch đệm thử nghiệm (dung dịch đệm Krebs-Ringer – KRBH). Dung dịch đệm này được loại bỏ và các tế bào được ủ trong thời gian 15 phút ở nhiệt độ trong phòng trong 10µl KRBH (KRBH + 10mM HEPES, 5mM NaHCO<sub>3</sub>, 0,1% (thể tích) BSA) với 0,1mM IBMX trong nước đã khử ion chứa peptit thử nghiệm ở nồng độ tăng dần. Phản ứng được dừng bằng cách bổ sung dung dịch đệm phân giải (0,1% trọng lượng/thể tích BSA, 5mM HEPES, 0,3% thể tích Tween-20) vào. Sau khi phân giải tế bào trong thời gian 10 phút ở nhiệt độ trong phòng, các dịch phân giải được chuyển sang các đĩa loại 384 lỗ và 10µl hỗn hợp hạt thể cho/thể nhận chứa trong kit thử nghiệm chức năng adenosin monophosphat mạch vòng (cAMP) AlphaScreen<sup>TM</sup> được bổ sung vào. Sau một giờ ủ ở nhiệt độ trong phòng trong bóng tối, hàm lượng adenosin monophosphat mạch vòng (cAMP) được xác định bằng cách sử dụng kit thử nghiệm chức năng adenosin monophosphat mạch vòng (cAMP) AlphaScreen<sup>TM</sup> do Perkin-Elmer cung cấp theo hướng dẫn của nhà sản xuất. EC<sub>50</sub> và hiệu quả tương đối so với các hợp chất quy chiếu (glucagon và GLP-1) được tính áp dụng chương trình khớp đường cong có trợ giúp bằng máy tính. Tỷ lệ GLP-1/glucagon được tính như được xác định trên đây. Xem Bảng 1.

Bảng 1

| Hợp chất | EC50<br>hGCGR<br>CHO-K1 [nM] | EC50<br>hGLP-1R<br>CHO-K1 [nM] | Tỷ lệ<br>GLP-1/Glucagon |
|----------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------|
| 1        | 0,21 nM                      | 0,38 nM                        | 1,81                    |
| 2        | 0,13 nM                      | 1,76 nM                        | 13,54                   |
| 3        | 1,48 nM                      | 0,70 nM                        | 0,47                    |
| 4        | 0,45 nM                      | 0,70 nM                        | 1,56                    |
| 5        | 0,18 nM                      | 0,83 nM                        | 4,61                    |
| 6        | 0,44 nM                      | 1,43 nM                        | 3,25                    |
| 7        | 0,11 nM                      | 0,97 nM                        | 8,82                    |

|    |         |         |       |
|----|---------|---------|-------|
| 8  | 0,31 nM | 0,80 nM | 2,58  |
| 9  | 0,07 nM | 0,97 nM | 13,86 |
| 10 | 1,08 nM | 0,41 nM | 0,38  |
| 11 | 0,28 nM | 0,56 nM | 2,00  |
| 12 | 0,07 nM | 0,48 nM | 6,86  |
| 13 | 0,52 nM | 0,33 nM | 0,63  |
| 14 | 0,18 nM | 0,60 nM | 3,33  |
| 15 | 0,92 nM | 0,61 nM | 0,65  |
| 16 | 0,16 nM | 0,53 nM | 3,31  |

### **Ví dụ 3: Hoạt tính chủ vận đối với thụ thể GLP-1 nội sinh**

Hoạt tính chủ vận của các hợp chất thử nghiệm đối với các thụ thể GLP-1 nội sinh được xác định bằng cách sử dụng dòng tế bào u đảo tụy của chuột. Adenosin monophosphat mạch vòng (cAMP) nội bào được sử dụng làm dấu hiệu chỉ báo về thụ thể hoạt hóa.

Các tế bào được nuôi cấy trong thời gian 24 giờ ở mật độ 10.000 tế bào/lỗ trong đĩa loại 384 lỗ. Môi trường được loại bỏ và 10µl dung dịch đệm KRBH (NaCl 130mM, KCl 3,6mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,5mM, MgSO<sub>4</sub> 0,5mM, CaCl<sub>2</sub> 1,5mM) chứa hợp chất thử nghiệm hoặc GLP-1 (ở nồng độ tăng dần từ 0,1pM đến 100nM) hoặc đối chứng dung môi (0,1% (thể tích) DMSO) được bổ sung vào các lỗ trong thời gian 15 phút ở nhiệt độ 26°C.

Hàm lượng adenosin monophosphat mạch vòng (cAMP) nội bào được đo bằng cách sử dụng kit thử nghiệm chức năng adenosin monophosphat mạch vòng (cAMP) AlphaScreen (do Perkin Elmer cung cấp). Phép đo được thực hiện bằng cách sử dụng Envision (PerkinElmer) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Kết quả được chuyển đổi thành nồng độ adenosin monophosphat mạch vòng (cAMP) bằng cách sử dụng đường cong chuẩn adenosin monophosphat mạch vòng (cAMP) điều chế được trong dung dịch đệm KRBH chứa 0,1% (thể tích) DMSO. Các đường cong adenosin monophosphat mạch vòng (cAMP) tạo ra được dựng đồ thị theo nồng độ tuyệt đối của adenosin monophosphat mạch vòng (cAMP) (nM) so

với log (nồng độ hợp chất thử nghiệm) và phân tích bằng cách áp dụng chương trình khớp đường cong XLfit.

Các thông số đã được tính để mô tả cả hiệu lực cũng như hoạt tính chủ vận của mỗi hợp chất thử nghiệm đối với thụ thể GLP-1 nội sinh là:

pEC50 (trị số logarit âm tính của EC50, là nồng độ tạo ra một nửa mức tăng tối đa của nồng độ adenosin monophosphat mạch vòng (cAMP), phản ánh hiệu lực của hợp chất thử nghiệm);

Phần trăm đối chứng (%CTL)(% mức tăng adenosin monophosphat mạch vòng (cAMP) đối với mỗi nồng độ của hợp chất thử nghiệm được chuẩn tắc hóa trên cơ sở đáp ứng adenosin monophosphat mạch vòng (cAMP) tối đa do GLP-1 gây ra (100%CTL)). Xem Bảng 2.

**Bảng 2.**

| Hợp chất | EC50 [nM] |
|----------|-----------|
| 1        | 0,60 nM   |
| 2        | 0,69 nM   |
| 3        | 0,15 nM   |
| 4        | 0,40 nM   |
| 5        | 0,65 nM   |
| 6        | 0,54 nM   |
| 7        | 0,47 nM   |
| 8        | 0,36 nM   |
| 9        | 0,84 nM   |
| 10       | 0,60 nM   |
| 11       | 0,72 nM   |
| 12       | 0,81 nM   |
| 13       | 0,37 nM   |
| 14       | 0,38 nM   |
| 15       | 0,25 nM   |
| 16       | 0,34 nM   |

**Ví dụ 4: Hoạt tính chủ vận đối với thụ thể glucagon nội sinh**

Hoạt tính chủ vận của các hợp chất thử nghiệm đối với thụ thể glucagon nội sinh được xác định bằng cách đo tác động của chúng đối với tốc độ tổng hợp glycogen ở các tế bào gan sơ cấp của chuột to. Sau khi hoạt hóa thụ thể glucagon, sự ức chế tốc độ tổng hợp glycogen được mong đợi. Tốc độ tổng hợp glycogen được xác định bằng cách tính lượng glucoza đã được đánh dấu phóng xạ được kết hợp vào kho glycogen của các tế bào trong một khoảng thời gian nhất định.

Tế bào gan sơ cấp của chuột được nuôi cấy ở mật độ 40.000 tế bào/lỗ trong đĩa loại 24 lỗ trong thời gian 24 giờ ở 37°C và 5% CO<sub>2</sub>.

Môi trường được gạn đi và các tế bào được rửa bằng PBS. Sau đó, 180µl dung dịch đệm trên cơ sở KRBH chứa 0,1% BSA và glucoza ở nồng độ 22,5mM được bổ sung vào các lỗ, tiếp theo hợp chất thử nghiệm và 40µCi/ml D-[U14C] glucoza (20µl mỗi chất). Tiếp tục ủ trong thời gian 3 giờ.

Vào cuối giai đoạn ủ, dung dịch đệm ủ được hút ra và các tế bào được rửa một lần với PBS lạnh bằng trước khi phân giải bằng cách ủ trong thời gian 30 phút ở nhiệt độ trong phòng với 100µl dung dịch NaOH ở nồng độ 1mol/l.

Dịch phân giải tế bào được chuyển sang các đĩa lọc loại 96 lỗ và glycogen kết tủa bằng cách ủ các đĩa lọc này trong 120 phút ở 4°C, tiếp theo là rửa các đĩa lọc này 4 lần bằng etanol (70%) nước đá. Chất kết tủa thu được được lọc đến khô và lượng kết hợp <sup>14</sup>C-glucoza được xác định bằng cách sử dụng bộ đếm nhấp nháy Topcount theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Các lỗ có các đối chứng chất dẫn (0,1% (thể tích) DMSO trong dung dịch đệm KRBH) được đưa vào làm quy chiếu cho quy trình tổng hợp glycogen không bị ức chế (100%CTL). Các lỗ không được bổ sung D-[U<sup>14</sup>C] glucoza được đưa vào làm đối chứng cho tín hiệu nên không đặc hiệu (được trừ đi từ tất cả các trị số). Peptit glucagon nội sinh được dùng làm đối chứng tích cực.

Tất cả các xử lý được thực hiện ít nhất lặp lại 2 lần.

Các thông số đã được tính để mô tả cả hiệu lực cũng như hoạt tính chủ vận của mỗi hợp chất thử nghiệm đối với thụ thể glucagon nội sinh là pEC50 và %CTL.



%CTL được xác định bằng cách tính tỷ lệ phần trăm của CPM/lỗ với sự có mặt của hợp chất thử nghiệm so với CPM/lỗ của đối chứng chất dẫn sau khi trừ đi CPM/lỗ gốc:

$$[\text{CPM/lỗ(gốc)} - \text{CPM/lỗ(mẫu)}] * 100 / [\text{CPM/lỗ(gốc)} - \text{CPM/lỗ(đối chứng)}]$$

Chất hoạt hóa của thụ thể glucagon sẽ gây ức chế tốc độ tổng hợp glycogen và sẽ tạo ra trị số %CTL nằm trong khoảng từ 0%CTL (ức chế hoàn toàn) đến 100%CTL (ức chế ở mức hầu như không quan sát được).

Đường cong hoạt tính tạo ra được dựng đồ thị theo số đếm tuyệt đối (đơn vị: cpm/mẫu) so với log (nồng độ hợp chất thử nghiệm) và phân tích bằng cách áp dụng chương trình khớp đường cong XLfit.

pEC50 (trị số logarit âm tính EC50) phản ánh hiệu lực của hợp chất thử nghiệm.

**Bảng 3.**

| Hợp chất | EC50 [nM] |
|----------|-----------|
| 1        | 0,85 nM   |
| 2        | 0,11 nM   |
| 3        | 0,94 nM   |
| 4        | 1,79 nM   |
| 5        | 0,21 nM   |
| 6        | 0,80 nM   |
| 7        | 0,34 nM   |
| 8        | 0,29 nM   |
| 9        | 0,11 nM   |
| 10       | 1,53 nM   |
| 11       | 0,95 nM   |
| 12       | 0,45 nM   |
| 13       | 0,43 nM   |
| 14       | 0,19 nM   |
| 15       | 3,63 nM   |
| 16       | 0,19 nM   |

Các thuật ngữ  $EC_{50}$  và  $pEC_{50}$  đã nêu trong mỗi liên hệ với mức độ hoạt hóa GLP-1R có thể được coi ngang bằng  $IC_{50}$  và  $pIC_{50}$  trong mỗi liên hệ với mức độ tổng hợp glycogen.

#### **Ví dụ 5: Ước tính các thông số dược động học**

Các thông số dược động học của các hợp chất thử nghiệm được xác định sau khi dùng qua đường tĩnh mạch cho chuột to Han/Wistar. Chất tương tự GLP-1 đã được axyl hóa semaglutit còn được thử nhằm mục đích so sánh.

Chuột đực to Wistar nhận được từ Charles River (Germany) nặng khoảng 180g đến 210g tại thời điểm đến cơ sở thử nghiệm. Con chuột to này được nhốt trong lồng chuột chuẩn theo tiêu chuẩn châu Âu loại IV với chu kỳ ánh sáng 12 giờ tối và 12 giờ chiếu sáng. Trong quá trình thử nghiệm, chuột to được nhốt trong các lồng chuột chuẩn loại III. Cả chế độ dinh dưỡng Altromin 1324 (do Altromin, Germany cung cấp) và nước được dùng thoải mái trong toàn bộ giai đoạn thử nghiệm. Các con chuột này được nhốt tại cơ sở thử nghiệm facility trong thời gian ít nhất 4 ngày để đảm bảo mức độ thích nghi phù hợp.

Các hợp chất trước hết được hòa tan trong dung dịch nước amoniac 0,1% đến nồng độ thấp 2mg/ml, và sau đó được pha loãng đến nồng độ liều dùng mong muốn ( $10\mu M$ ) trong PBS vô trùng chứa 25mM dung dịch đệm phosphat, độ pH=7,4. Việc tiêm qua đường tĩnh mạch tương ứng với 20nmol/kg được thực hiện qua tĩnh mạch bên đuôi.

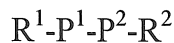
Các mẫu máu ( $200\mu l$ ) được gom từ đám rối quanh hốc mắt tại thời điểm 0,08 giờ, 0,25 giờ, 0,5 giờ, 1 giờ, 2 giờ, 4 giờ, 8 giờ, 24 giờ, 32 giờ và 48 giờ sau khi dùng liều vào các ống nghiệm  $K_3EDTA$  và được ly tâm trong thời gian 5 phút ở  $4^{\circ}C$  trong vòng 20 phút sau khi lấy mẫu. Các mẫu huyết tương ( $>100\mu l$ ) được chuyển sang các đĩa PCR loại 96 lỗ, ngay lập tức được làm đông lạnh và giữ ở  $-20^{\circ}C$  cho đến khi được phân tích về nồng độ huyết tương đối với hợp chất GLP-1-glucagon tương ứng bằng cách sử dụng LC-MS/MS. Từng biên dạng nồng độ trong huyết tương theo thời gian được phân tích theo phương pháp không ngăn bằng cách áp dụng ToxKin<sup>TM</sup> phiên bản 3.2 (Unilog IT Services), và các thông số dược động học tạo ra được xác định. Xem Bảng 4.

#### **Bảng 4.**

| Hợp chất   | Tốc độ thanh thải<br>(ml/phút/kg) | Thời gian bán tồn cuối<br>cùng (giờ) | Thời gian lưu trú<br>trung bình (giờ) |
|------------|-----------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 2          | 0,11                              | 9,1                                  | 13,6                                  |
| 3          | 0,056                             | 23,4                                 | 28,7                                  |
| 4          | 0,11                              | 13,7                                 | 17,6                                  |
| Semaglutit | 0,10                              | 9,0                                  | 11,4                                  |

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức:



trong đó

$R^1$  là H,  $C_{1-4}$  alkyl, axetyl, formyl, benzoyl hoặc trifloroaxetyl;

$R^2$  là OH hoặc  $NH_2$ ;

$P^1$  là peptit có trình tự:

His-X2-X3-GTFTSDYSKYL-X15-X16-X17-X18-A-X20-DFI-X24-WLE-X28-A

trong đó:

X2 được chọn trong số Aib, Ac3c, Ac4c và Ac5c;

X3 được chọn trong số Gln và His;

X15 được chọn trong số Asp và Glu;

X16 được chọn trong số Glu và  $\Psi$ ;

X17 được chọn trong số Arg và  $\Psi$ ;

X18 được chọn trong số Ala và Arg;

X20 được chọn trong số Lys và His;

X24 được chọn trong số Glu và  $\Psi$ ;

X28 được chọn trong số Ser và  $\Psi$ ;

và  $P^2$  không có mặt hoặc là trình tự gồm 1 đến 20 đơn vị axit amin được chọn độc lập từ nhóm bao gồm Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr và Orn; trong đó hợp chất chứa một và chỉ một  $\Psi$

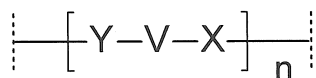
và trong đó  $\Psi$  nêu trên là gốc Lys, Arg, Orn hoặc Cys, trong đó mạch bên được tiếp hợp với phần tử thế có công thức  $-Z^2Z^1$ ;

$-Z^1$  là mạch béo có nhóm phân cực ở một đầu cuối của mạch và kết nối với  $Z^2$ ,  $-X-$  ở một đầu tận cùng của mạch cách xa nhóm phân cực,

trong đó nhóm phân cực chứa axit carboxylic hoặc chất đẳng cấu sinh học của axit carboxylic, axit phosphonic, hoặc nhóm axit sulfonic;

và  $-X-$  là liên kết,  $-CO-$ ,  $-SO-$ , hoặc  $-SO_2-$ ;

$-Z^2-$  là nhóm đệm có công thức:



trong đó:

mỗi Y độc lập là  $-\text{NH}$ ,  $-\text{NR}$ ,  $-\text{S}$  hoặc  $-\text{O}$ , trong đó R là alkyl, nhóm bảo vệ hoặc tạo nên liên kết với phần khác của nhóm đệm  $\text{Z}^2$ ;

mỗi X độc lập là liên kết,  $\text{CO}-$ ,  $\text{SO}-$ , hoặc  $\text{SO}_2-$ ;

với điều kiện rằng khi Y là  $-\text{S}$ , thì X là liên kết;

mỗi V độc lập là gốc hữu cơ hóa trị hai liên kết Y và X;

và n nằm trong khoảng từ 1 đến 10;

hoặc muối hoặc solvat được dụng của nó.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó:

X2 là Ac4c và X20 là Lys;

X2 là Aib và X20 là His.

3. Hợp chất theo điểm 1 hoặc điểm 2, trong đó:

X2 là Aib nếu X15 là E; hoặc

X15 là D nếu X2 là Ac4c.

4. Hợp chất theo điểm 1, trong đó:

X2 được chọn trong số Aib và Ac4c;

X3 được chọn trong số Gln và His;

X15 là Asp;

X16 là Glu;

X17 được chọn trong số Arg và  $\Psi$ ;

X18 được chọn trong số Ala và Arg;

X20 là Lys;

X24 được chọn trong số Glu và  $\Psi$ ;

X28 được chọn trong số Ser và  $\Psi$ ;

5. Hợp chất theo điểm 1, trong đó  $\text{P}^1$  có trình tự được chọn trong số:

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD $\Psi$ RAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD $\Psi$ RAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLE $\Psi$ RAAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD $\Psi$ RAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAHDFIEWLESA  
 H-Aib-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA  
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA  
 H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA  
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA  
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA  
 H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIΨWLESA  
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIΨWLESA  
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIΨWLESA  
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLEΨA và  
 H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLEΨA

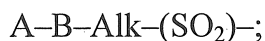
6. Hợp chất theo điểm 5, trong đó hợp chất này được chọn trong số:

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>  
 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>  
 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>  
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>  
 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAHDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>  
 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>  
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>  
 H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>  
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>  
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>  
 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIΨWLESA-NH<sub>2</sub>  
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIΨWLESA-NH<sub>2</sub>  
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIΨWLESA-NH<sub>2</sub>  
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLEΨA-NH<sub>2</sub> và  
 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLEΨA-NH<sub>2</sub>

7. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó  $-Z^1$  là nhóm axyl có công thức:



hoặc nhóm sulfonyl có công thức:



A là  $-COOH$  hoặc chất đẳng cấu sinh học của axit carboxylic;

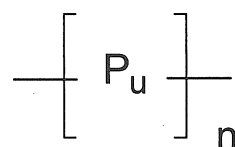
B là liên kết,  $C_6$ arylen, hoặc  $C_6$ arylen-O-;

Alk là mạch béo no hoặc không no có chiều dài từ 6 đến 18 nguyên tử cacbon, tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế được chọn trong số flo,  $C_{1-4}$ alkyl, triflorometyl, hydroxymetyl, amino, hydroxyl,  $C_{1-4}$ alkoxy, oxo, và carboxyl;

$-Z^2-$  là  $-S_A-$ ,  $-S_A-S_B-$ , hoặc  $-S_B-S_A-$ ;

$-S_A-$  là một gốc axit amin được chọn trong số  $\gamma$ -Glu,  $\alpha$ -Glu,  $\alpha$ -Asp,  $\beta$ -Asp, Ala,  $\beta$ -Ala (axit 3-aminopropanoic), và Gaba (axit 4-aminobutanoic);

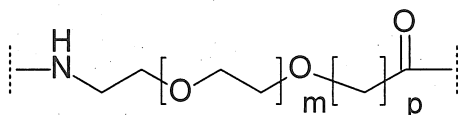
$-S_B-$  là nhóm liên kết có công thức tổng quát:



trong đó n bằng 1 đến 10 và mỗi  $P_U$  được chọn độc lập trong số  $P_U^i$  và  $P_U^{iii}$ ;

mỗi  $P_U^i$  độc lập là gốc axit amin tự nhiên hoặc không tự nhiên; và

mỗi  $P_U^{iii}$  độc lập là gốc có công thức tổng quát:



trong đó m bằng 0 đến 5 và p bằng 1, 3, 4, hoặc 5.

8. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó  $Z^1-Z^2$  được chọn trong số:

(i) [17-carboxy-heptađecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3;

(ii) [17-carboxy-heptađecanoyl]-isoGlu

(iii) [13-carboxy-triđecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3;

(iv) [carboxyphenoxynonanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3;

(v) [13-carboxy-triđecanoyl]-isoGlu-Peg4-Peg4;

(vi) [17-carboxy-heptadecanoyl]-Peg3-Peg3-isoGlu;

(vii) [17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG; và

(viii) [17-carboxy-heptadecanoyl]-AA-Peg3-Peg3.

9. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó  $Z^2-Z^1$  là [17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3 hoặc [17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG.

10. Hợp chất theo điểm 4, trong đó X24 hoặc X28 là  $\Psi$ ,  $Z^2Z^1$  là [17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG.

11. Hợp chất theo điểm 1, trong đó  $P^1$  có trình tự được chọn trong số:

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAHDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu)-AAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA

H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu)-AAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu)-RAKDFIEWLESA



H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-A và

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-A

12. Hợp chất theo điểm 11, trong đó hợp chất này được chọn trong số:

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAHDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu)-AAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu)-AAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu)-RAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH<sub>2</sub>

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH<sub>2</sub> và

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH<sub>2</sub>

13. Hợp chất theo điểm 12, trong đó hợp chất này là:

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>.

14. Hợp chất theo điểm 12, trong đó hợp chất này là:

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>.

15. Hợp chất theo điểm 12, trong đó hợp chất này là:

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>.

16. Hợp chất theo điểm 12, trong đó hợp chất này là:

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH<sub>2</sub>.

17. Hợp chất theo điểm 12, trong đó hợp chất này là:

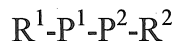
H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH<sub>2</sub>.

18. Hợp chất theo điểm 12, trong đó hợp chất này là:

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAAKDFIEWLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH<sub>2</sub>.

19. Chế phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 18, trong hỗn hợp với chất mang, trong đó chế phẩm là dược phẩm, và chất mang là chất mang dược dụng.

20. Hợp chất để dùng trong phương pháp điều trị bệnh, trong đó hợp chất này có công thức:



trong đó

$R^1$  là H,  $C_{1-4}$  alkyl, axetyl, formyl, benzoyl hoặc trifloroaxetyl;

$R^2$  là OH hoặc  $NH_2$ ;

$P^1$  là peptit có trình tự:

His-X2-X3-GTFTSDYSKYL-X15-X16-X17-X18-A-X20-DFI-X24-WLE-X28-A

trong đó:

X2 được chọn trong số Aib, Ac3c, Ac4c và Ac5c;

X3 được chọn trong số Gln và His;

X15 được chọn trong số Asp và Glu;

X16 được chọn trong số Glu và  $\Psi$ ;

X17 được chọn trong số Arg và  $\Psi$ ;

X18 được chọn trong số Ala và Arg;

X20 được chọn trong số Lys và His;

X24 được chọn trong số Glu và  $\Psi$ ;

X28 được chọn trong số Ser và  $\Psi$ ;

và  $P^2$  không có mặt hoặc là trình tự gồm 1 đến 20 đơn vị axit amin được chọn độc lập từ nhóm bao gồm Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr và Orn; trong đó hợp chất chứa một và chỉ một  $\Psi$

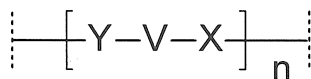
và trong đó  $\Psi$  là gốc Lys, Arg, Orn hoặc Cys, trong đó mạch bên được tiếp hợp với phần tử thế có công thức  $-Z^2Z^1$ ;

$-Z^1$  là mạch béo có nhóm phân cực ở một đầu cuối của mạch và kết nối với  $Z^2$ ,  $-X-$  ở một đầu tận cùng của mạch cách xa nhóm phân cực,

trong đó nhóm phân cực chứa axit carboxylic hoặc chất đẳng cấu sinh học của axit carboxylic, axit phosphonic, hoặc nhóm axit sulfonic;

và  $-X-$  là liên kết,  $-CO-$ ,  $-SO-$ , hoặc  $-SO_2-$ ;

$-Z^2-$  là nhóm đệm có công thức:



trong đó:

mỗi Y độc lập là  $\text{---NH}$ ,  $\text{---NR}$ ,  $\text{---S}$  hoặc  $\text{---O}$ , trong đó R là alkyl, nhóm bảo vệ hoặc tạo nên liên kết với phần khác của nhóm đệm  $\text{Z}^2$ ;

mỗi X độc lập là liên kết,  $\text{CO---}$ ,  $\text{SO---}$ , hoặc  $\text{SO}_2\text{---}$ ;

với điều kiện rằng khi Y là  $\text{---S}$ , thì X là liên kết;

mỗi V độc lập là gốc hữu cơ hóa trị hai liên kết Y và X;

và n nằm trong khoảng từ 1 đến 10;

hoặc muối hoặc solvat được dụng của nó.

21. Hợp chất để dùng trong:

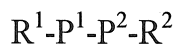
(i) phương pháp ngăn ngừa tăng cân hoặc thúc đẩy giảm cân;

(ii) phương pháp làm giảm nồng độ LDL trong tuần hoàn, và/hoặc làm tăng tỷ lệ HDL/LDL;

(iii) phương pháp điều trị tình trạng được gây ra hoặc được đặc trưng bởi hiện tượng quá cân; hoặc

(iv) phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì, bệnh béo phì gây bệnh, bệnh béo phì gây bệnh trước khi phẫu thuật, bệnh béo phì liên quan đến bệnh viêm, bệnh túi mật liên quan đến bệnh béo phì, chứng ngừng thở trong khi ngủ do bệnh béo phì gây ra, bệnh đái tháo đường, hội chứng chuyển hóa, chứng huyết áp cao, chứng rối loạn mỡ trong máu gây xơ vữa động mạch, chứng xơ vữa động mạch, chứng xơ cứng động mạch, bệnh tim mạch vành, bệnh động mạch ngoại biên, bệnh đột quỵ hoặc bệnh vi mạch;

trong đó hợp chất này có công thức:



trong đó

$\text{R}^1$  là H,  $\text{C}_{1-4}$  alkyl, axetyl, formyl, benzoyl hoặc trifloroaxetyl;

$\text{R}^2$  là OH hoặc  $\text{NH}_2$ ;

$\text{P}^1$  là peptit có trình tự:

His-X2-X3-GTFTSDYSKYL-X15-X16-X17-X18-A-X20-DFI-X24-WLE-X28-A

trong đó:

X2 được chọn trong số Aib, Ac3c, Ac4c và Ac5c;

X3 được chọn trong số Gln và His;

X15 được chọn trong số Asp và Glu;

X16 được chọn trong số Glu và  $\Psi$ ;

X17 được chọn trong số Arg và  $\Psi$ ;

X18 được chọn trong số Ala và Arg;

X20 được chọn trong số Lys và His;

X24 được chọn trong số Glu và  $\Psi$ ;

X28 được chọn trong số Ser và  $\Psi$ ;

và  $P^2$  không có mặt hoặc là trình tự gồm 1 đến 20 đơn vị axit amin được chọn độc lập từ nhóm bao gồm Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr và Orn; trong đó hợp chất chứa một và chỉ một  $\Psi$

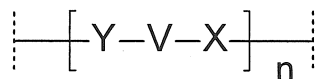
và trong đó  $\Psi$  này là gốc Lys, Arg, Orn hoặc Cys, trong đó mạch bên được tiếp hợp với phần tử thế có công thức  $-Z^2Z^1$ ;

$-Z^1$  là mạch béo có nhóm phân cực ở một đầu cuối của mạch và kết nối với  $Z^2$ ,  $-X-$  ở một đầu tận cùng của mạch cách xa nhóm phân cực,

trong đó nhóm phân cực chứa axit carboxylic hoặc chất đẳng cấu sinh học của axit carboxylic, axit phosphonic, hoặc nhóm axit sulfonic;

và  $-X-$  là liên kết,  $-CO-$ ,  $-SO-$ , hoặc  $-SO_2-$ ;

$-Z^2-$  là nhóm đệm có công thức:



trong đó:

mỗi Y độc lập là  $-NH$ ,  $-NR$ ,  $-S$  hoặc  $-O$ , trong đó R là alkyl, nhóm bảo vệ hoặc tạo nên liên kết với phần khác của nhóm đệm  $Z^2$ ;

mỗi X độc lập là liên kết,  $CO-$ ,  $SO-$ , hoặc  $SO_2-$ ;

với điều kiện rằng khi Y là  $-S$ , thì X là liên kết;

mỗi V độc lập là gốc hữu cơ hóa trị hai liên kết Y và X;

và n nằm trong khoảng từ 1 đến 10;  
hoặc muối hoặc solvat được dụng của nó.

22. Hợp chất để dùng trong:

- (i) phương pháp ngăn ngừa tăng cân hoặc thúc đẩy giảm cân;
- (ii) phương pháp làm giảm nồng độ LDL trong tuần hoàn, và/hoặc làm tăng tỷ lệ HDL/LDL;
- (iii) phương pháp điều trị tình trạng được gây ra hoặc được đặc trưng bởi hiện tượng quá cân; hoặc
- (iv) phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì, bệnh béo phì gây bệnh, bệnh béo phì gây bệnh trước khi phẫu thuật, bệnh béo phì liên quan đến bệnh viêm, bệnh túi mật liên quan đến bệnh béo phì, chứng ngừng thở trong khi ngủ do bệnh béo phì gây ra, bệnh đái tháo đường, hội chứng chuyển hóa, chứng huyết áp cao, chứng rối loạn mỡ trong máu gây xơ vữa động mạch, chứng xơ vữa động mạch, chứng xơ cứng động mạch, bệnh tim mạch vành, bệnh động mạch ngoại biên, bệnh đột quỵ hoặc bệnh vi mạch;

trong đó hợp chất này là H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>.

23. Hợp chất để dùng trong:

- (i) phương pháp ngăn ngừa tăng cân hoặc thúc đẩy giảm cân;
- (ii) phương pháp làm giảm nồng độ LDL trong tuần hoàn, và/hoặc làm tăng tỷ lệ HDL/LDL;
- (iii) phương pháp điều trị tình trạng được gây ra hoặc được đặc trưng bởi hiện tượng quá cân; hoặc
- (iv) phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì, bệnh béo phì gây bệnh, bệnh béo phì gây bệnh trước khi phẫu thuật, bệnh béo phì liên quan đến bệnh viêm, bệnh túi mật liên quan đến bệnh béo phì, chứng ngừng thở trong khi ngủ do bệnh béo phì gây ra, bệnh đái tháo đường, hội chứng chuyển hóa, chứng huyết áp cao, chứng rối loạn mỡ trong máu gây xơ vữa động mạch, chứng xơ vữa động mạch, chứng xơ cứng động mạch, bệnh tim mạch vành, bệnh động mạch ngoại biên, bệnh đột quỵ hoặc bệnh vi mạch;

trong đó hợp chất này là H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>.

24. Hợp chất để dùng trong:

- (i) phương pháp ngăn ngừa tăng cân hoặc thúc đẩy giảm cân;
- (ii) phương pháp làm giảm nồng độ LDL trong tuần hoàn, và/hoặc làm tăng tỷ lệ HDL/LDL;
- (iii) phương pháp điều trị tình trạng được gây ra hoặc được đặc trưng bởi hiện tượng quá cân; hoặc
- (iv) phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì, bệnh béo phì gây bệnh, bệnh béo phì gây bệnh trước khi phẫu thuật, bệnh béo phì liên quan đến bệnh viêm, bệnh túi mật liên quan đến bệnh béo phì, chứng ngừng thở trong khi ngủ do bệnh béo phì gây ra, bệnh đái tháo đường, hội chứng chuyển hóa, chứng huyết áp cao, chứng rối loạn mỡ trong máu gây xơ vữa động mạch, chứng xơ vữa động mạch, chứng xơ cứng động mạch, bệnh tim mạch vành, bệnh động mạch ngoại biên, bệnh đột quỵ hoặc bệnh vi mạch;

trong đó hợp chất này là H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub>.

25. Hợp chất để dùng trong:

- (i) phương pháp ngăn ngừa tăng cân hoặc thúc đẩy giảm cân;
- (ii) phương pháp làm giảm nồng độ LDL trong tuần hoàn, và/hoặc làm tăng tỷ lệ HDL/LDL;
- (iii) phương pháp điều trị tình trạng được gây ra hoặc được đặc trưng bởi hiện tượng quá cân; hoặc
- (iv) phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì, bệnh béo phì gây bệnh, bệnh béo phì gây bệnh trước khi phẫu thuật, bệnh béo phì liên quan đến bệnh viêm, bệnh túi mật liên quan đến bệnh béo phì, chứng ngừng thở trong khi ngủ do bệnh béo phì gây ra, bệnh đái tháo đường, hội chứng chuyển hóa, chứng huyết áp cao, chứng rối loạn mỡ trong máu gây xơ vữa động mạch, chứng xơ vữa động mạch, chứng xơ cứng động mạch, bệnh tim mạch vành, bệnh động mạch ngoại biên, bệnh đột quỵ hoặc bệnh vi mạch;

trong đó hợp chất này là H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH<sub>2</sub>.

26. Hợp chất để dùng trong:

- (i) phương pháp ngăn ngừa tăng cân hoặc thúc đẩy giảm cân;
- (ii) phương pháp làm giảm nồng độ LDL trong tuần hoàn, và/hoặc làm tăng tỷ lệ HDL/LDL;
- (iii) phương pháp điều trị tình trạng được gây ra hoặc được đặc trưng bởi hiện tượng quá cân; hoặc
- (iv) phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì, bệnh béo phì gây bệnh, bệnh béo phì gây bệnh trước khi phẫu thuật, bệnh béo phì liên quan đến bệnh viêm, bệnh túi mật liên quan đến bệnh béo phì, chứng ngừng thở trong khi ngủ do bệnh béo phì gây ra, bệnh đái tháo đường, hội chứng chuyển hóa, chứng huyết áp cao, chứng rối loạn mỡ trong máu gây xơ vữa động mạch, chứng xơ vữa động mạch, chứng xơ cứng động mạch, bệnh tim mạch vành, bệnh động mạch ngoại biên, bệnh đột quỵ hoặc bệnh vi mạch;

trong đó hợp chất này là H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH<sub>2</sub>.

27. Hợp chất để dùng trong:

- (i) phương pháp ngăn ngừa tăng cân hoặc thúc đẩy giảm cân;
- (ii) phương pháp làm giảm nồng độ LDL trong tuần hoàn, và/hoặc làm tăng tỷ lệ HDL/LDL;
- (iii) phương pháp điều trị tình trạng được gây ra hoặc được đặc trưng bởi hiện tượng quá cân; hoặc
- (iv) phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì, bệnh béo phì gây bệnh, bệnh béo phì gây bệnh trước khi phẫu thuật, bệnh béo phì liên quan đến bệnh viêm, bệnh túi mật liên quan đến bệnh béo phì, chứng ngừng thở trong khi ngủ do bệnh béo phì gây ra, bệnh đái tháo đường, hội chứng chuyển hóa, chứng huyết áp cao, chứng rối loạn mỡ trong máu gây xơ vữa động mạch, chứng xơ vữa động mạch, chứng xơ cứng động mạch, bệnh tim mạch vành, bệnh động mạch ngoại biên, bệnh đột quỵ hoặc bệnh vi mạch;



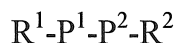
trong đó hợp chất này là H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLE-K([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH<sub>2</sub>.

28. Hợp chất để dùng trong:

- (i) phương pháp ngăn ngừa tăng cân hoặc thúc đẩy giảm cân;
- (ii) phương pháp làm giảm nồng độ LDL trong tuần hoàn, và/hoặc làm tăng tỷ lệ HDL/LDL;
- (iii) phương pháp điều trị tình trạng được gây ra hoặc được đặc trưng bởi hiện tượng quá cân; hoặc
- (iv) phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì, bệnh béo phì gây bệnh, bệnh béo phì gây bệnh trước khi phẫu thuật, bệnh béo phì liên quan đến bệnh viêm, bệnh túi mật liên quan đến bệnh béo phì, chứng ngừng thở trong khi ngủ do bệnh béo phì gây ra, bệnh đái tháo đường, hội chứng chuyển hóa, chứng huyết áp cao, chứng rối loạn mỡ trong máu gây xơ vữa động mạch, chứng xơ vữa động mạch, chứng xơ cứng động mạch, bệnh tim mạch vành, bệnh động mạch ngoại biên, bệnh đột quỵ hoặc bệnh vi mạch;

trong phương pháp đó hợp chất này được dùng làm một phần của liệu pháp tổ hợp cùng với tác nhân dùng để điều trị bệnh đái tháo đường, bệnh béo phì, bệnh rối loạn mỡ máu hoặc chứng huyết áp cao;

trong đó hợp chất này có công thức:



trong đó

R<sup>1</sup> là H, C<sub>1-4</sub> alkyl, axetyl, formyl, benzoyl hoặc trifloroaxetyl;

R<sup>2</sup> là OH hoặc NH<sub>2</sub>;

P<sup>1</sup> là peptit có trình tự:

His-X2-X3-GTFTSDYSKYL-X15-X16-X17-X18-A-X20-DFI-X24-WLE-X28-A

trong đó:

X2 được chọn trong số Aib, Ac3c, Ac4c và Ac5c;

X3 được chọn trong số Gln và His;

X15 được chọn trong số Asp và Glu;

X16 được chọn trong số Glu và Ψ;

X17 được chọn trong số Arg và Ψ;

X18 được chọn trong số Ala và Arg;

X20 được chọn trong số Lys và His;

X24 được chọn trong số Glu và  $\Psi$ ;

X28 được chọn trong số Ser và  $\Psi$ ;

và  $P^2$  không có mặt hoặc là trình tự gồm 1 đến 20 đơn vị axit amin được chọn độc lập từ nhóm bao gồm Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr và Orn; trong đó hợp chất chứa một và chỉ một  $\Psi$

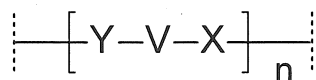
và trong đó  $\Psi$  này là gốc Lys, Arg, Orn hoặc Cys, trong đó mạch bên được tiếp hợp với phần tử thể có công thức  $-Z^2Z^1$ ;

$-Z^1$  là mạch béo có nhóm phân cực ở một đầu cuối của mạch và kết nối với  $Z^2$ ,  $-X-$  ở một đầu tận cùng của mạch cách xa nhóm phân cực,

trong đó nhóm phân cực chứa axit carboxylic hoặc chất đẳng cấu sinh học của axit carboxylic, axit phosphonic, hoặc nhóm axit sulfonic;

và  $-X-$  là liên kết,  $-CO-$ ,  $-SO-$ , hoặc  $-SO_2-$ ;

$-Z^2-$  là nhóm đệm có công thức:



trong đó:

mỗi Y độc lập là  $-NH$ ,  $-NR$ ,  $-S$  hoặc  $-O$ , trong đó R là alkyl, nhóm bảo vệ hoặc tạo nên liên kết với phần khác của nhóm đệm  $Z^2$ ;

mỗi X độc lập là liên kết,  $CO-$ ,  $SO-$ , hoặc  $SO_2-$ ;

với điều kiện rằng khi Y là  $-S$ , thì X là liên kết;

mỗi V độc lập là gốc hữu cơ hóa trị hai liên kết Y và X;

và n nằm trong khoảng từ 1 đến 10;

hoặc muối hoặc solvat được dụng của nó.

29. Hợp chất để dùng trong:

(i) phương pháp ngăn ngừa tăng cân hoặc thúc đẩy giảm cân;

(ii) phương pháp làm giảm nồng độ LDL trong tuần hoàn, và/hoặc làm tăng tỷ lệ HDL/LDL;

(iii) phương pháp điều trị tình trạng được gây ra hoặc được đặc trưng bởi hiện tượng quá cân; hoặc

(iv) phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì, bệnh béo phì gây bệnh, bệnh béo phì gây bệnh trước khi phẫu thuật, bệnh béo phì liên quan đến bệnh viêm, bệnh túi mật liên quan đến bệnh béo phì, chứng ngừng thở trong khi ngủ do bệnh béo phì gây ra, bệnh đái tháo đường, hội chứng chuyển hóa, chứng huyết áp cao, chứng rối loạn mỡ trong máu gây xơ vữa động mạch, chứng xơ vữa động mạch, chứng xơ cứng động mạch, bệnh tim mạch vành, bệnh động mạch ngoại biên, bệnh đột quỵ hoặc bệnh vi mạch;

trong phương pháp đó hợp chất này được dùng làm một phần của liệu pháp tổ hợp cùng với tác nhân để điều trị bệnh đái tháo đường, bệnh béo phì, bệnh rối loạn mỡ máu hoặc chứng huyết áp cao;

trong đó

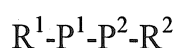
(i) tác nhân để điều trị bệnh đái tháo đường là biguanit (ví dụ metformin), sulfonylure, meglitinid hoặc glinit (ví dụ nateglinid), chất ức chế DPP-IV, chất ức chế SGLT2, glitazon, chất chủ vận GLP-1 khác, insulin hoặc chất tương tự insulin;

(ii) tác nhân để điều trị bệnh béo phì là chất chủ vận thụ thể peptit kiểu glucagon 1, chất chủ vận thụ thể peptit YY hoặc chất tương tự nó, chất đối kháng thụ thể cannabinoid 1, chất ức chế lipaza, chất chủ vận thụ thể melanocortin 4, chất chủ vận thụ thể hormon cô đặc melamin 1, phentermin, tổ hợp gồm chất ức chế hấp thu lạp norepinephrin/đopamin và chất đối kháng thụ thể opioid (ví dụ tổ hợp gồm phentermin và topiramát), tổ hợp gồm bupropion và naltrexon, hoặc tác nhân sản sinh serotonin;

(iii) trong đó tác nhân để điều trị chứng huyết áp cao là chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin, chất phong bế thụ thể angiotensin II, chất lợi tiểu, chất phong bế beta, hoặc tác nhân phong bế kênh canxi; hoặc

(iv) tác nhân để điều trị bệnh rối loạn mỡ máu là statin, fibrat, niacin và/hoặc chất ức chế hấp thu cholesterol;

trong đó hợp chất này có công thức:



trong đó

$R^1$  là H,  $C_{1-4}$  alkyl, axetyl, formyl, benzoyl hoặc trifloroaxetyl;

$R^2$  là OH hoặc  $NH_2$ ;

$P^1$  là peptit có trình tự:

His-X2-X3-GTFTSDYSKYL-X15-X16-X17-X18-A-X20-DFI-X24-WLE-X28-A

trong đó:

X2 được chọn trong số Aib, Ac3c, Ac4c và Ac5c;

X3 được chọn trong số Gln và His;

X15 được chọn trong số Asp và Glu;

X16 được chọn trong số Glu và  $\Psi$ ;

X17 được chọn trong số Arg và  $\Psi$ ;

X18 được chọn trong số Ala và Arg;

X20 được chọn trong số Lys và His;

X24 được chọn trong số Glu và  $\Psi$ ;

X28 được chọn trong số Ser và  $\Psi$ ;

và  $P^2$  không có mặt hoặc là trình tự gồm 1 đến 20 đơn vị axit amin được chọn độc lập từ nhóm bao gồm Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr và Orn; trong đó hợp chất chứa một và chỉ một  $\Psi$

và trong đó  $\Psi$  này là gốc Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với phần tử thể có công thức  $-Z^2Z^1$ ;

$-Z^1$  là mạch béo có nhóm phân cực ở một đầu cuối của mạch và kết nối với  $Z^2$ ,  $-X-$  ở một đầu tận cùng của mạch cách xa nhóm phân cực,

trong đó nhóm phân cực chứa axit carboxylic hoặc chất đẳng cấu sinh học của axit carboxylic, axit phosphonic, hoặc nhóm axit sulfonic;

và  $-X-$  là liên kết,  $-CO-$ ,  $-SO-$ , hoặc  $-SO_2-$ ;

$-Z^2-$  là nhóm đệm có công thức:



trong đó:

mỗi Y độc lập là  $-\text{NH}$ ,  $-\text{NR}$ ,  $-\text{S}$  hoặc  $-\text{O}$ , trong đó R là alkyl, nhóm bảo vệ hoặc tạo nên liên kết với phần khác của nhóm đệm  $\text{Z}^2$ ;

mỗi X độc lập là liên kết,  $\text{CO}-$ ,  $\text{SO}-$ , hoặc  $\text{SO}_2-$ ;

với điều kiện rằng khi Y là  $-\text{S}$ , thì X là liên kết;

mỗi V độc lập là gốc hữu cơ hóa trị hai liên kết Y và X;

và n nằm trong khoảng từ 1 đến 10;

hoặc muối hoặc solvat được dụng của nó.

## DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Zealand Pharma A/S  
 Boehringer Ingelheim International GmbH

<120> HỢP CHẤT TƯƠNG TỰ GLUCAGON ĐÃ ĐƯỢC AXYL HÓA VÀ CHẾ PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

<130> GRF/FP7068307

<140> PCT/EP2014/072293  
 <141> 2014-10-17

<150> US 61/892,256  
 <151> 2013-10-17

<160> 37

<170> PatentIn phiên bản 3.3

<210> 1  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

<220>  
 <221> VỊ TRÍ  
 <222> (17)..(17)  
 <223> Lys([15-carboxy-pentadecanoyl]-isoGlu)

<400> 1

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser Ala  
 20 25

<210> 2  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Hợp chất tổng hợp

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Aib

<220>

<221> VỊ TRÍ

<222> (16)..(16)

<223> Lys([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)

<400> 2

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
1 5 10 15

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
20 25

<210> 3

<211> 29

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Hợp chất tổng hợp

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Aib

<220>

<221> VỊ TRÍ

<222> (24)..(24)

<223> Lys([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)

<400> 3

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Ile Lys Trp Leu Glu Ser Ala  
20 25

<210> 4

<211> 29

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Hợp chất tổng hợp

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; VỊ TRÍ

&lt;222&gt; (2)..(2)

&lt;223&gt; Xaa là Ac4c, axit 1-amino-xyclobutancarboxylic

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; VỊ TRÍ

&lt;222&gt; (16)..(16)

&lt;223&gt; Lys([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)

&lt;400&gt; 4

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| His | Xaa | Gln | Gly | Thr | Phe | Thr | Ser | Asp | Tyr | Ser | Lys | Tyr | Leu | Asp | Glu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Lys | Arg | Ala | Lys | Asp | Phe | Ile | Glu | Trp | Leu | Glu | Ser | Ala |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 29

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Hợp chất tổng hợp

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MOD\_RES

&lt;222&gt; (2)..(2)

&lt;223&gt; Aib

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; VỊ TRÍ

&lt;222&gt; (16)..(16)

&lt;223&gt; Lys([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)

&lt;400&gt; 5

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| His | Ala | Gln | Gly | Thr | Phe | Thr | Ser | Asp | Tyr | Ser | Lys | Tyr | Leu | Asp | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Arg | Ala | Ala | Lys | Asp | Phe | Ile | Glu | Trp | Leu | Glu | Ser | Ala |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 29



<212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

<220>  
 <221> VỊ TRÍ  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)

<400> 6

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| His | Ala | Gln | Gly | Thr | Phe | Thr | Ser | Asp | Tyr | Ser | Lys | Tyr | Leu | Glu | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Arg | Ala | Ala | Lys | Asp | Phe | Ile | Glu | Trp | Leu | Glu | Ser | Ala |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |

<210> 7  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
 <221> VỊ TRÍ  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa là Ac4c, axit 1-amino-xyclobutancarboxylic

<220>  
 <221> VỊ TRÍ  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)

<400> 7

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| His | Xaa | Gln | Gly | Thr | Phe | Thr | Ser | Asp | Tyr | Ser | Lys | Tyr | Leu | Asp | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Arg | Ala | Ala | Lys | Asp | Phe | Ile | Glu | Trp | Leu | Glu | Ser | Ala |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |

<210> 8  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

<220>  
 <221> VỊ TRÍ  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)

<400> 8

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Lys  
 1 5 10 15

Arg Ala Ala His Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
 20 25

<210> 9  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
 <221> VỊ TRÍ  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa là Ac4c, axit 1-amino-xyclobutancarboxylic

<220>  
 <221> VỊ TRÍ  
 <222> (17)..(17)  
 <223> Lys([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)

<400> 9

His Xaa His Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
 20 25

<210> 10  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

<220>  
 <221> VỊ TRÍ  
 <222> (17)..(17)  
 <223> Lys([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu)

<400> 10

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
 20 25

<210> 11  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
 <221> VỊ TRÍ  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa là Ac4c, axit 1-amino-xyclobutancarboxylic

<220>  
 <221> VỊ TRÍ  
 <222> (17)..(17)  
 <223> Lys([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu)

<400> 11

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
20 25

<210> 12  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
<221> VỊ TRÍ  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa là Ac4c, axit 1-amino-xyclobutancarboxylic

<220>  
<221> VỊ TRÍ  
<222> (17)..(17)  
<223> Lys([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu)

<400> 12

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
20 25

<210> 13  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
<221> VỊ TRÍ  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa là Ac4c, axit 1-amino-xyclobutancarboxylic

<220>  
<221> VỊ TRÍ  
<222> (24)..(24)  
<223> Lys([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)

<400> 13

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Ile Lys Trp Leu Glu Ser Ala  
20 25

<210> 14  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
<221> VỊ TRÍ  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa là Ac4c, axit 1-amino-xyclobutancarboxylic

<220>  
<221> VỊ TRÍ  
<222> (24)..(24)  
<223> Lys([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)

<400> 14

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Ile Lys Trp Leu Glu Ser Ala  
20 25

<210> 15  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
<221> VỊ TRÍ  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa là Ac4c, axit 1-amino-xyclobutancarboxylic

<220>  
<221> VỊ TRÍ  
<222> (28)..(28)  
<223> Lys([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)

<400> 15

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Lys Ala  
 20 25

<210> 16

<211> 29

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Hợp chất tổng hợp

<220>

<221> VỊ TRÍ

<222> (2)..(2)

<223> Xaa là Ac4c, axit 1-amino-xyclobutancarboxylic

<220>

<221> VỊ TRÍ

<222> (28)..(28)

<223> Lys([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-GSGSGG)

<400> 16

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Lys Ala  
 20 25

<210> 17

<211> 29

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Hợp chất tổng hợp: Peptit P1 theo PCT/EP2014/072293

<220>

<221> BIẾN DỊ

<222> (2)..(2)

<223> Xaa được chọn từ Aib, Ala, D-Ala, Ser, N-Me-Ser, Ac3c, Ac4c và Ac5c

<220>

<221> BIẾN DỊ

<222> (3)..(3)

<223> Xaa được chọn từ Gln và His

<220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (17)..(17)  
 <223> Xaa là Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thể có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như được xác định trong PCT/EP2014/072293

<400> 17

His Xaa Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15

Xaa Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser Ala  
 20 25

<210> 18  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp: Peptit P1 theo PCT/EP2014/072293

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

<220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (17)..(17)  
 <223> Xaa là Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thể có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như được xác định trong PCT/EP2014/072293

<400> 18

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15

Xaa Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser Ala  
 20 25

<210> 19  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

- <220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp: Peptit P1 theo PCT/EP2014/072293
- <220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (1)..(29)  
 <223> Hợp chất chứa một và chỉ một Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thế có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như đã được xác định trong PCT/EP2014/072293
- <220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa được chọn từ Aib, Ac3c, Ac4c và Ac5c
- <220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa được chọn từ Gln và His
- <220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (15)..(15)  
 <223> Xaa được chọn từ Asp và Glu
- <220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Xaa được chọn từ Glu & Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thế có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như đã được xác định trong PCT/EP2014/072293
- <220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (17)..(17)  
 <223> Xaa được chọn từ Arg & Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thế có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như được xác định trong PCT/EP2014/072293
- <220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (18)..(18)  
 <223> Xaa được chọn từ Ala và Arg
- <220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa được chọn từ Lys và His
- <220>



<221> BIẾN DỊ  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Xaa được chọn từ Glu & Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thể có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như được xác định trong PCT/EP2014/072293

<220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Xaa được chọn từ Ser & Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thể có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như được xác định trong PCT/EP2014/072293

<400> 19

His Xaa Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Xaa Xaa  
 1 5 10 15

Xaa Xaa Ala Xaa Asp Phe Ile Xaa Trp Leu Glu Xaa Ala  
 20 25

<210> 20  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

<220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Xaa là Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thể có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như được xác định trong PCT/EP2014/072293

<400> 20

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
 20 25

<210> 21  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

<220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Xaa là Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thế có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như được xác định trong PCT/EP2014/072293

<400> 21

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| His | Ala | Gln | Gly | Thr | Phe | Thr | Ser | Asp | Tyr | Ser | Lys | Tyr | Leu | Glu | Xaa |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Arg | Ala | Ala | Lys | Asp | Phe | Ile | Glu | Trp | Leu | Glu | Ser | Ala |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |

<210> 22  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
 <221> VỊ TRÍ  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa là Ac4c, axit 1-amino-xyclobutancarboxylic

<220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Xaa là Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thế có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như được xác định trong PCT/EP2014/072293

<400> 22

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
 20 25

<210> 23  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

<220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Xaa là Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys  
 trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thế có công thức  
 -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như được xác định trong  
 PCT/EP2014/072293

<400> 23

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Xaa  
 1 5 10 15

Arg Ala Ala His Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
 20 25

<210> 24  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

<220>

<221> BIẾN DỊ  
 <222> (17)..(17)  
 <223> Xaa là Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thế có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như được xác định trong PCT/EP2014/072293

<400> 24

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| His | Ala | Gln | Gly | Thr | Phe | Thr | Ser | Asp | Tyr | Ser | Lys | Tyr | Leu | Asp | Glu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     | 15  |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Xaa | Ala | Ala | Lys | Asp | Phe | Ile | Glu | Trp | Leu | Glu | Ser | Ala |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |

<210> 25  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
 <221> VỊ TRÍ  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa là Ac4c, axit 1-amino-xyclobutancarboxylic

<220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (17)..(17)  
 <223> Xaa là Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thế có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như được xác định trong PCT/EP2014/072293

<400> 25

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| His | Xaa | Gln | Gly | Thr | Phe | Thr | Ser | Asp | Tyr | Ser | Lys | Tyr | Leu | Asp | Glu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     | 15  |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Xaa | Arg | Ala | Lys | Asp | Phe | Ile | Glu | Trp | Leu | Glu | Ser | Ala |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |

<210> 26  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Hợp chất tổng hợp

<220>

<221> VỊ TRÍ

<222> (2)..(2)

<223> Xaa là Ac4c, axit 1-amino-xyclobutancarboxylic

<220>

<221> BIẾN DỊ

<222> (17)..(17)

<223> Xaa là Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thế có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như được xác định trong PCT/EP2014/072293

<400> 26

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| His | Xaa | His | Gly | Thr | Phe | Thr | Ser | Asp | Tyr | Ser | Lys | Tyr | Leu | Asp | Glu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Xaa | Arg | Ala | Lys | Asp | Phe | Ile | Glu | Trp | Leu | Glu | Ser | Ala |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |

<210> 27

<211> 29

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Hợp chất tổng hợp

<220>

<221> VỊ TRÍ

<222> (2)..(2)

<223> Xaa là Ac4c, axit 1-amino-xyclobutancarboxylic

<220>

<221> BIẾN DỊ

<222> (17)..(17)

<223> Xaa là Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thế có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như được xác định trong PCT/EP2014/072293

<400> 27

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| His | Xaa | Gln | Gly | Thr | Phe | Thr | Ser | Asp | Tyr | Ser | Lys | Tyr | Leu | Asp | Glu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Xaa | Ala | Ala | Lys | Asp | Phe | Ile | Glu | Trp | Leu | Glu | Ser | Ala |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |

<210> 28  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

<220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Xaa là Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thể có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như được xác định trong PCT/EP2014/072293

<400> 28

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Ile Xaa Trp Leu Glu Ser Ala  
 20 25

<210> 29  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
 <221> VỊ TRÍ  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa là Ac4c, axit 1-amino-xyclobutancarboxylic

<220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Xaa là Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thể có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như được xác định trong PCT/EP2014/072293

<400> 29

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Ile Xaa Trp Leu Glu Ser Ala  
20 25

<210> 30

<211> 29

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Hợp chất tổng hợp

<220>

<221> VỊ TRÍ

<222> (2)..(2)

<223> Xaa là Ac4c, axit 1-amino-xyclobutancarboxylic

<220>

<221> BIẾN DỊ

<222> (24)..(24)

<223> Xaa là Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thể có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như được xác định trong PCT/EP2014/072293

<400> 30

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Ile Xaa Trp Leu Glu Ser Ala  
20 25

<210> 31

<211> 29

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Hợp chất tổng hợp

<220>

<221> VỊ TRÍ

<222> (2)..(2)

<223> Xaa là Ac4c, axit 1-amino-xyclobutancarboxylic

<220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Xaa là Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thế có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như được xác định trong PCT/EP2014/072293

<400> 31

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Xaa Ala  
 20 25

<210> 32  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp

<220>  
 <221> VỊ TRÍ  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa là Ac4c, axit 1-amino-xyclobutancarboxylic

<220>  
 <221> BIẾN DỊ  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Xaa là Psi, trong đó Psi là gốc trong số Lys, Arg, Orn hoặc Cys trong đó mạch bên được tiếp hợp với nhóm thế có công thức -Z2-Z1, trong đó Z1 và Z2 là như được xác định trong PCT/EP2014/072293

<400> 32

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Xaa Ala  
 20 25

<210> 33  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens



&lt;400&gt; 33

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

&lt;210&gt; 34

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 34

Lys Arg Asn Arg Asn Asn Ile Ala  
 1 5

&lt;210&gt; 35

&lt;211&gt; 37

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 35

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn  
 20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala  
 35

&lt;210&gt; 36

&lt;211&gt; 6

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Hợp chất tổng hợp: chất liên kết

&lt;400&gt; 36

Gly Ser Gly Ser Gly Gly  
 1 5

<210> 37  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Hợp chất tổng hợp: chất tương tự GLP-1 đã được axyl hóa semaglutit

<220>  
 <221> VỊ TRÍ  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa là 2-metyl-Ala

<220>  
 <221> VỊ TRÍ  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Lys([17-carboxy-heptadecanoyl]-isoGlu-Peg3-Peg3)

<400> 37

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| His | Xaa | Glu | Gly | Thr | Phe | Thr | Ser | Asp | Val | Ser | Ser | Tyr | Leu | Glu | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Ala | Ala | Lys | Glu | Phe | Ile | Ala | Trp | Leu | Val | Arg | Gly | Arg | Gly |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |