



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

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0041417

(51)⁷ C07K 14/575; A61K 38/22; A61P 5/48 (13) B

(21) 1-2019-01520

(22) 11/09/2017

(86) PCT/EP2017/072718 11/09/2017

(87) WO 2018/046719 15/03/2018

(30) 16188024.0 09/09/2016 EP

(45) 25/10/2024 439

(43) 25/10/2019 379A

(73) ZEALAND PHARMA A/S (DK)

Sydmarken 11, 2860 Søborg, Denmark

(72) MATHIESEN, Jesper Mosolff (DK); GIEHM, Lise (DK); MUNCH, Henrik Kofoed (DK); VILLADSEN, Jesper Skodborg (DK); HAMPRECHT, Dieter Wolfgang (DE); HEIM-RIETHER, Alexander (DE); FOSSATI, Giacomo (IT).

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

(54) HỢP CHẤT TƯƠNG TỰ AMYLIN, DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY VÀ PHƯƠNG PHÁP TỔNG HỢP HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất tương tự amylin và đến việc sử dụng chúng trong việc điều trị hoặc phòng ngừa nhiều bệnh, tình trạng hoặc rối loạn khác nhau, bao gồm bệnh béo phì, hấp thu thức ăn quá mức và các bệnh chuyển hóa liên quan như bệnh đái tháo đường. Hợp chất tương tự này có độ ổn định vật lý và hóa học tốt, độ tan tốt, và thời gian tác dụng dài, và cũng là thích hợp để sử dụng ở dạng chế phẩm lỏng.

Lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến các hợp chất tương tự amylin là các chất chủ vận thụ thể amylin, và việc sử dụng chúng trong lĩnh vực y tế để điều trị và/hoặc phòng ngừa nhiều bệnh, tình trạng hoặc rối loạn khác nhau, bao gồm điều trị và/hoặc phòng ngừa tình trạng hấp thu thức ăn quá mức, bệnh béo phì và tình trạng thừa cân, các bệnh chuyển hóa, và các tình trạng và các rối loạn khác được mô tả ở đây. Cụ thể là, sáng chế đề cập đến các hợp chất tương tự amylin ổn định có thời gian tác dụng kéo dài và rất thích hợp để sử dụng ở dạng chế phẩm lỏng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Amylin là một hormon thuộc họ hormon peptit bao gồm amylin, calcitonin, peptit liên quan đến gen calcitonin, adrenomedullin và intermedin (intermedin còn được biết là AFP-6), và đã được chỉ ra là có liên quan đến nhiều bệnh và rối loạn chuyển hóa khác nhau. Amylin người được phân lập, tinh chế và được mô tả lần đầu tiên là thành phần chính của các lắng đọng dạng tinh bột trong các đảo tụy của bệnh nhân đái tháo đường typ 2.

Amylin người tự nhiên là peptit 37 axit amin có công thức



trong đó H- ở đầu cùng N ký hiệu nguyên tử hydro, tương ứng với sự có mặt của nhóm amino tự do trên gốc axit amin đầu cùng N [nghĩa là, gốc lysin (K) ở vị trí trình tự số 1 trong trình tự được chỉ ra trên đây]; trong đó -NH₂ ở đầu cùng C chỉ ra là nhóm carboxyl đầu cùng C là ở dạng amit; và trong đó dấu ngoặc đơn () đi kèm theo hai gốc xystein (C, Cys) ở vị trí trình tự 2 và 7 chỉ ra sự có mặt của cầu nối disulfua nội phân tử giữa hai gốc Cys cần quan tâm.

Amylin có thể có lợi trong việc điều trị rối loạn chuyển hóa như bệnh đái tháo đường và/hoặc bệnh béo phì. Amylin được cho là điều hòa sự rỗng dạ dày, và ức chế sự tiết glucagon và hấp thu thức ăn, nhờ đó điều hòa tốc độ giải phóng glucoza vào hệ tuần hoàn. Amylin bù trừ cho tác dụng của insulin. So với người trưởng thành khỏe mạnh, bệnh nhân đái tháo đường typ 1 không có amylin tuần hoàn, và bệnh nhân đái tháo đường typ 2 thể hiện các nồng độ amylin sau khi ăn bị giảm. Trong các thử nghiệm lâm sàng ở người, một hợp chất tương tự amylin được biết là pramlintide, được mô tả trong WO 93/10146 và có

trình tự Lys-Cys-Asn-Thr-Ala-Thr-Cys-Ala-Thr-Gln-Arg-Leu-Ala-Asn-Phe-Leu-Val-His-Ser-Ser-Asn-Asn-Phe-Gly-Pro-Ile-Leu-Pro-Pro-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Asn-Thr-Tyr, mà cũng có cầu nối disulphua giữa các gốc Cys ở vị trí 2 và 7, đã được chỉ ra là làm giảm thể trọng hoặc làm giảm sự tăng cân. Một hợp chất tương tự amylin khác kết hợp các gốc được N-metyl hóa và có xu hướng kết sợi giảm, được ký hiệu là IAPP-GI, đã được mô tả bởi Yan et al. (PNAS, 103(7), 2046-2051, 2006; Angew. Chem. Int. Ed. 2013, 52, 10378-10383; WO2006/042745). Tuy nhiên IAPP-GI có vẻ có hoạt tính thấp hơn so với amylin tự nhiên.

WO91/07978 mô tả các hợp chất tương tự các peptit gây giảm nồng độ canxi máu, bao gồm amylin, trong đó cầu nối disulphua nội được thay thế bằng sự tạo vòng luân phiên. Tác dụng của các cấu trúc thay thế này đối với tác dụng của các hợp chất tương tự amylin không được mô tả. WO99/34764 trình bày số liệu thể hiện là ^{2,7}xyclo-[2Asp,7Lys]-h-amylin có hiệu lực thấp hơn đáng kể so với một số hợp chất tương tự amylin khác, và chính amylin người.

Các hợp chất tương tự amylin hoặc pramlintide khác được mô tả trong WO2013/156594, WO2012/168430, WO2012/168431 và WO2012/168432, cũng như WO2015/040182.

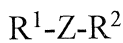
Bệnh béo phì được cho là yếu tố nguyên nhân chính dẫn đến sự phát triển của bệnh đái tháo đường typ 2, mà góp phần vào vấn đề sức khỏe chính trên toàn cầu và ngày càng phát triển. Các bệnh hoặc rối loạn mà có thể phát triển như là hậu quả của bệnh đái tháo đường không được điều trị bao gồm bệnh tim mạch và bệnh động mạch ngoại biên, các biến chứng vi mạch và mạch máu lớn, đột quỵ, và một số dạng của ung thư, cụ thể là bệnh ung thư tạo máu.

Trong lĩnh vực này có nhu cầu về các hợp chất tương tự amylin khác. Ví dụ, các hợp chất tương tự amylin mà thể hiện xu hướng kết sợi giảm và/hoặc độ ổn định hóa học cao tại hoặc quanh độ pH=7 có thể cho phép dạng bào chế có độ pH tại hoặc gần với độ pH sinh lý. Các hợp chất tương tự amylin có thời gian bán thải trong huyết tương dài một cách thích hợp, cũng có thể cho phép khoảng cách giữa các lần sử dụng liều dài hơn so với có thể hiện nay (ví dụ, một lần mỗi tuần, hoặc thậm chí ít thường xuyên hơn) và do đó cải thiện sự tuân thủ của bệnh nhân. Các mức hoạt tính chủ vận cao ở thụ thể amylin cũng có thể là mong muốn.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến các hợp chất mà là hợp chất tương tự với amylin người.

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất hợp chất tương tự amylin mà là hợp chất có công thức:



trong đó

R^1 là hydro, C_{1-4} axyl, benzoyl hoặc C_{1-4} alkyl, hoặc gốc kéo dài thời gian bán thải M, trong đó M được liên kết tùy ý với Z qua gốc cầu nối L;

R^2 là OH hoặc NHR^3 , trong đó R^3 là hydro hoặc C_{1-3} -alkyl; và

Z là trình tự axit amin có công thức I:

X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-Ala-Thr-X10-Arg-Leu-Ala-X14-Phe-Leu-X17-Arg-X19-X20-Phe-Gly(Me)-Ala-Ile(Me)-X27-Ser-Ser-Thr-Glu-X32-Gly-Ser-X35-Thr-X37

(I)

trong đó

X1 được chọn từ nhóm bao gồm Arg, Lys và Glu;

X3 được chọn từ nhóm bao gồm Gly, Gln và Pro;

X4 được chọn từ nhóm bao gồm Thr và Glu;

X5 được chọn từ nhóm bao gồm Ala và Leu;

X6 được chọn từ nhóm bao gồm Thr và Ser;

X10 được chọn từ nhóm bao gồm Glu và Gln;

X14 được chọn từ nhóm bao gồm Aad, His, Asp, Asn và Arg;

X17 được chọn từ nhóm bao gồm Gln, His và Thr;

X19-X20 được chọn từ Ser-Ser, Thr-Thr, Ala-Thr, Ala-Ala, Gly-Thr, Gly-Gly và Ala-Asn hoặc không có mặt;

X27 được chọn từ nhóm bao gồm Leu và Pro;

X32 được chọn từ nhóm bao gồm Val và Thr;

X35 được chọn từ nhóm bao gồm Asn và Ser;

X37 được chọn từ nhóm bao gồm Hyp và Pro; và

X2 và X7 là các gốc axit amin có các chuỗi bên cùng tạo ra cầu nối lactam; hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng.

Trong một số phương án, X1 được chọn từ Arg và Lys.

Trong một số phương án, X3 là Gly, X4 là Thr, X5 là Ala và/hoặc X6 là Thr, ví dụ X3 là Gly, X4 là Thr, X5 là Ala và X6 là Thr.

Trong một số phương án, X14 được chọn từ His, Asp và Aad.

Trong một số phương án, X17 là Gln.

Trong một số phương án, X19-X20 được chọn từ Ser-Ser và Thr-Thr, hoặc không có mặt, ví dụ Ser-Ser.

Trong một số phương án, X32 là Val, X35 là Asn và/hoặc X37 là Hyp.

Do đó, Z có thể là trình tự axit amin có công thức II:

X1-X2-Gly-Thr-Ala-Thr-X7-Ala-Thr-X10-Arg-Leu-Ala-X14-Phe-Leu-Gln-Arg-X19-X20-Phe-Gly(Me)-Ala-Ile(Me)-X27-Ser-Ser-Thr-Glu-Val-Gly-Ser-Asn-Thr-Hyp

(II)

trong đó

X1 được chọn từ nhóm bao gồm Arg và Lys;

X10 được chọn từ nhóm bao gồm Glu và Gln;

X14 được chọn từ nhóm bao gồm Aad, Asp và His;

X19-X20 được chọn từ Ser-Ser và Thr-Thr hoặc không có mặt;

X27 được chọn từ nhóm bao gồm Leu và Pro; và

X2 và X7 là các gốc axit amin có các chuỗi bên cùng tạo ra cầu nối lactam.

Trong một số phương án, X14 là Aad, X19-X20 là Ser-Ser và X27 là Leu.

Trong toàn bộ bản mô tả này, các vị trí axit amin của hợp chất tương tự amylin được đánh số theo vị trí tương ứng trong amylin người tự nhiên có trình tự được thể hiện trên đây. Trình tự có công thức I và II (và các công thức khác ở đây) chứa hai đột biến mất đoạn axit amin tương ứng với hai gốc Asn21 và Asn22 của amylin người. Do đó, để dễ dàng so sánh với trình tự amylin, gốc Phe ngay đầu cùng C (xuôi dòng) của vị trí X20 được ký hiệu là vị trí 23, vì nó thẳng hàng với Phe23 của amylin người. Do đó, việc đánh số gốc đã cho bất kỳ trong công thức I và II trên đây, và trong công thức khác ở vị trí khác trong phần mô tả này, phản ánh gốc tương ứng trong amylin người khi được sắp xếp thẳng hàng tối ưu với nó và không nhất thiết phản ánh vị trí tuyến tính của nó trong trình tự cụ thể này.

(Sẽ được hiểu rõ là bất kỳ trong số các công thức thích hợp được trình bày trong phần mô tả này có thể được viết để bao gồm các gốc X21-X22 ở các vị trí thích hợp, trong đó X21 và X22 không có mặt.)

Amylin tự nhiên được biết là tạo sợi trong dung dịch nước gần như ngay lập tức. Do đó, nhiều nỗ lực đã được thực hiện để tăng cường độ ổn định của các hợp chất tương tự amylin trong các chế phẩm lỏng. Xu hướng tạo sợi có thể được làm giảm bằng cách đưa

vào các gốc được N-metyl hóa (như được đề cập trên đây) và/hoặc bằng cách thay thế một số axit amin ở nhiều vị trí khác nhau. Tuy nhiên, mặc dù có các lựa chọn này, vẫn có mong muốn tối ưu hóa thêm độ ổn định của các hợp chất tương tự amylin trong dung dịch nước. Các hợp chất tương tự amylin có độ ổn định hóa học được tăng cường thêm trong dung dịch nước sẽ tạo thuận lợi cho sự phát triển được phẩm tương ứng, một cách hiệu quả ngay cả ở dạng chế phẩm sử dụng được ngay, ví dụ, tại hoặc quanh khoảng pH trung tính (độ pH=7,4).

Amylin tự nhiên, và phần lớn các hợp chất tương tự amylin (như pramlintide) chứa cầu nối disulphua giữa các gốc cystein ở các vị trí 2 và 7. Sự vòng hóa bên trong mà cầu nối này tạo ra có thể là cần thiết để có tác dụng và hiệu lực đầy đủ. Mặc dù các hợp chất chứa liên kết disulphua bên trong thường là kém ổn định về mặt hóa học hơn so với có thể được mong muốn, và sự có mặt của liên kết này có thể góp phần vào sự dimer hóa và oligome hóa, ví dụ, do phản ứng trao đổi disulphua, liên kết disulphua trong amylin hoặc hợp chất tương tự amylin chưa được báo cáo là yếu tố liên quan đến độ ổn định hóa học thấp trong các chế phẩm nước.

Một số nỗ lực để thay thế cầu nối disulphua trong amylin đã được báo cáo. Như được mô tả trên đây, trong nỗ lực để tăng cường độ ổn định và hiệu lực in vivo bằng cách làm giảm sự phân giải protein do enzym và hóa học, WO91/07978 đề xuất việc thay thế cầu nối disulphua bên trong của các peptit làm giảm nồng độ canxi máu (bao gồm, ví dụ, calcitonin và amylin) bằng sự tạo vòng thay thế. Tuy nhiên, tác dụng của các cấu trúc thay thế này trên hoạt tính của các hợp chất tương tự amylin không được mô tả. WO99/34764 trình bày các số liệu thể hiện là sự thay thế cầu nối disulphua bằng cầu lactam nội phân tử trong trình tự amylin người tự nhiên tạo ra hợp chất tương tự amylin (^{2,7}xyclo-[2Asp,7Lys]-h-amylin) có hiệu lực thấp hơn đáng kể so với dạng kiểu hoang và nhiều hợp chất tương tự amylin khác, điều này có thể giải thích thêm tại sao các lựa chọn tạo vòng thay thế không được theo đuổi tiếp.

Tuy nhiên, đã phát hiện ra là sự tạo vòng dựa vào lactam là rất phù hợp với các hợp chất tương tự amylin có các đột biến mất đoạn ở các vị trí 21 và 22, vì sự thay thế cầu nối disulphua bằng cầu nối lactam dẫn đến sự tăng đáng kể độ ổn định trong dung dịch nước (xem bảng 2) trong khi các tính chất có lợi khác của các hợp chất tương tự amylin này, như xu hướng tạo sợi thấp, hoạt tính cao và độ ổn định tốt vẫn được duy trì. Mặc dù đã biết là các cầu nối lactam này làm giảm mạnh hoạt tính của các peptit (xem WO 91/07978,

trang 45 dòng 36 đến 52; WO 99/34764 trang 84, Bảng A), đã phát hiện thêm rằng các hợp chất tương tự amylin theo sáng chế có thể duy trì hoạt tính cao/không thể hiện sự giảm hoạt tính ở các thụ thể hCT-R, hAMYR1, hAMYR2 và/hoặc hAMYR3. Ngoài ra hoặc thay vào đó, chúng có thể có độ ổn định hóa học tốt và khả năng chống tạo sợi, cụ thể là nhưng không phải duy nhất là trong khoảng pH trung tính.

Do đó các hợp chất tương tự amylin theo sáng chế chứa cầu nối lactam được tạo ra giữa các chuỗi bên của các gốc ở vị trí X2 và X7. Để đơn giản, các vị trí 2 và 7 sẽ được thảo luận bằng cách tham chiếu đến các gốc có mặt danh định trước khi tạo thành lactam.

Một trong các gốc ở vị trí X2 và X7 là gốc có chuỗi bên chứa nhóm axit carboxylic và gốc còn lại là gốc có chuỗi bên chứa nhóm amin, trong đó lactam (amit vòng) được tạo thành giữa các nhóm axit carboxylic và amin. Amin này có thể là amin bậc một hoặc amin bậc hai, nhưng thường là amin bậc một. Các axit amin thích hợp có các chuỗi bên có thể tham gia vào cầu nối lactam bao gồm Asp, Glu và Aad (có chuỗi bên chứa các nhóm axit carboxylic) và Dap, Dab, Orn, Lys và hLys (có chuỗi bên chứa các nhóm amin). Bất kỳ trong số các axit amin được chọn từ Asp, Glu và Aad về nguyên tắc có thể tạo ra cầu nối lactam với bất kỳ trong số các axit amin được chọn từ nhóm bao gồm Dap, Dab, Orn, Lys và hLys.

Do đó, một trong số các gốc ở vị trí X2 và X7 có thể được chọn từ Asp, Glu và Aad, và gốc còn lại có thể được chọn từ Dap, Dab, Orn, Lys và hLys.

Trong một số phương án thành phần axit carboxylic của cầu nối lactam thu được từ axit amin ở vị trí X2, trong khi đó thành phần amin của cầu nối lactam thu được từ axit amin ở vị trí X7. Do đó X2 có thể được chọn từ Asp, Glu và Aad, và X7 có thể được chọn từ Dap, Dab, Orn, Lys và hLys.

Có thể có lợi nếu chuỗi bên của gốc ở vị trí X2 có độ dài bằng, hoặc ngắn hơn, chuỗi bên của gốc ở vị trí X7. Các tổ hợp gốc này có thể tạo ra lợi ích bao gồm hiệu lực cao hơn so với các tổ hợp khác.

Trong ngữ cảnh này, độ dài chuỗi bên được tính bằng số lượng các nguyên tử trong mạch thẳng từ nguyên tử thứ nhất của chuỗi bên này (mà được liên kết vào nguyên tử của khung peptit, nghĩa là, vào cacbon alpha của gốc liên quan đối với hầu hết axit amin) đến và bao gồm nguyên tử tham gia vào liên kết amit của cầu nối lactam (nghĩa là, nguyên tử cacbon của nhóm chức axit carboxylic hoặc nguyên tử nitơ của nhóm amin).

Do đó, các chuỗi bên chứa axit và amin thông thường được xem là có độ dài chuỗi bên sau đây:

Asp: 2 nguyên tử

Glu: 3 nguyên tử

Aad: 4 nguyên tử

Dap: 2 nguyên tử

Dab: 3 nguyên tử

Orn: 4 nguyên tử

Lys: 5 nguyên tử

hLys: 6 nguyên tử

Trong một số phương án, chuỗi bên của gốc ở vị trí X2 là ngắn hơn so với chuỗi bên của gốc ở vị trí X7.

Mong muốn là, độ dài của cầu nối lactam được tạo ra bởi hai chuỗi bên này sau khi tạo thành liên kết amit (không bao gồm các nguyên tử bất kỳ trong khung peptit) là 4, 5, 6, 7 hoặc 8 nguyên tử, ví dụ 5, 6, 7 hoặc 8 nguyên tử, hoặc 5, 6 hoặc 7 nguyên tử.

Do đó, sự tạo cặp thích hợp của các gốc ở vị trí X2 và X7 trong đó chuỗi bên ở vị trí X2 ngắn hơn so với chuỗi bên ở vị trí X7 bao gồm:

X2 là Asp và X7 là Lys

X2 là Asp và X7 là Orn

X2 là Asp và X7 là Dab

X2 là Asp và X7 là hLys

X2 là Dap và X7 là Aad

Các ví dụ về sự tạo cặp thích hợp có cùng độ dài chuỗi bên bao gồm:

X2 là Glu và X7 là Dab

X2 là Dab và X7 là Glu

Tuy nhiên cách tạo cặp khác mà có thể được xem xét bao gồm:

X2 là Asp và X7 là Dap

X2 là Aad và X7 là Dap

X2 là Dap và X7 là Asp

X2 là Dab và X7 là Asp

X2 là Orn và X7 là Asp

Các cách tạo cặp được quan tâm đặc biệt là:

X2 là Asp và X7 là Lys

X2 là Asp và X7 là Orn.

Trong một số phương án của các công thức được mô tả trên đây:

X1 có thể là Arg;

X10 có thể là Glu.

X14 có thể được chọn từ Asp và Aad.

X19-X20 có thể là Ser-Ser

X27 có thể là Leu

Hợp chất tương tự amylin có thể có công thức:

R^1-Z-R^2

trong đó

R^1 là hydro, C_{1-4} axyl, benzoyl hoặc C_{1-4} alkyl, hoặc gốc kéo dài thời gian bán thải M, trong đó M được liên kết tùy ý với Z qua gốc cầu nối L;

R^2 là OH hoặc NHR^3 , trong đó R^3 là hydro hoặc C_{1-3} -alkyl; và

Z là trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm:

RD()GTAT-Dap()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTAT-Dab()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLHRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNTP
 RD()GTAT-Orn()-ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTAT-Orn()-ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTAT-Orn()-ATERLARFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 ED()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GEATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTLTK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTASK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTATK()ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTATK()ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp

RD()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTAT-hLys()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLTRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsST-Hyp
 RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRATF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRAAF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRGTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()QTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRGTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()PTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 ED()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRAAF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRGGF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRANF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTETGsNT-Hyp
 ED()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSFGly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 KD()GTATK()ATQRLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNTHyp
 RD()GTATK()ATQRLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTATK()ATQRLADFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 RD()GTATK()ATQRLADFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTETGsNT-Hyp
 KD()GTATK()ATQRLANFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 KD()GTATK()ATQRLANFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTETGsNT-Hyp
 R-Dap()-GTATD()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 R-Dab()-GTATD()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 R-Orn()-GTATD()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp
 R-Dap()-GTAT-Aad()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp

R-Dab()-GTATE()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSTNT-Hyp

R-Aad()-GTAT-Dap()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSTNT-Hyp

RE()GTAT-Dab()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSTNT-Hyp

hoặc muối được dùng hoặc solvat của chúng.

Cầu nối lactam ở các vị trí 2 và 7 được chỉ ra bằng dấu ngoặc đơn () sau các gốc ở các vị trí đó.

Trong một số phương án, R^1 là M hoặc M-L-, và/hoặc R^2 là NH_2 .

Các hợp chất cụ thể theo sáng chế bao gồm:

- | | |
|--|---------------|
| [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Dap()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSTNT-Hyp- NH_2 | (Hợp chất 1) |
| [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Dab()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSTNT-Hyp- NH_2 | (Hợp chất 2) |
| [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSTNT-Hyp- NH_2 | (Hợp chất 3) |
| [19CD]-isoGlu-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSTNT-Hyp- NH_2 | (Hợp chất 4) |
| [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGSTNT-Hyp- NH_2 | (Hợp chất 5) |
| [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSTNT-Hyp- NH_2 | (Hợp chất 6) |
| [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLHRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSTNT- NH_2 | (Hợp chất 7) |
| [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSTNT-Hyp- NH_2 | (Hợp chất 8) |
| [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGSTNT-Hyp- NH_2 | (Hợp chất 9) |
| [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLARFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSTNT-Hyp- NH_2 | (Hợp chất 10) |
| [19CD]-isoGlu-ED()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSTNT-Hyp- NH_2 | (Hợp chất 11) |
| [19CD]-isoGlu-RD()GEATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSTNT-Hyp- NH_2 | (Hợp chất 12) |

[19CD]-isoGlu-RD()GTLTK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 13)
[19CD]-isoGlu-RD()GTASK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 14)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 15)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 16)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 17)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 18)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-hLys()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 19)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 20)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 21)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLTRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 22)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 23)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 24)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRATF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 25)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRAAF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 26)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRGTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 27)
[19CD]-isoGlu-RD()QTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRGTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 28)
[19CD]-isoGlu-RD()PTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 29)

[19CD]-isoGlu-ED()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 30)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRAAF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 31)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRGGF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 32)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRANF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 33)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 34)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 35)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTETGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 36)
[19CD]-isoGlu-ED()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSFGly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 37)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 38)
[19CD]-isoGlu-KD()GTATK()ATQRLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-Alle(Me)-LSSTEVGsNTHyp-NH ₂	(Hợp chất 39)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 40)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLADFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 41)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLADFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTETGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 42)
[19CD]-isoGlu-KD()GTATK()ATQRLANFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 43)
[19CD]-isoGlu-KD()GTATK()ATQRLANFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTETGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 44)
[19CD]-isoGlu-R-Dap()-GTATD()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 45)
[19CD]-isoGlu-R-Dab()-GTATD()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 46)

[19CD]-isoGlu-R-Orn()-GTATD()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A- (Hợp chất 47)
Ile(Me)-LSSTEVGSTNT-Hyp-NH₂

[19CD]-isoGlu-R-Dap()-GTAT-Aad()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)- (Hợp chất 48)
A-Ile(Me)-LSSTEVGSTNT-Hyp-NH₂

[19CD]-isoGlu-R-Dab()-GTATE()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A- (Hợp chất 49)
Ile(Me)-LSSTEVGSTNT-Hyp-NH₂

[19CD]-isoGlu-R-Aad()-GTAT-Dap()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)- (Hợp chất 50)
A-Ile(Me)-LSSTEVGSTNT-Hyp-NH₂

[19CD]-isoGlu-RE()GTAT-Dab()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A- (Hợp chất 51)
Ile(Me)-LSSTEVGSTNT-Hyp-NH₂

và các muối và solvat được dụng của chúng.

Sáng chế đề xuất thêm chế phẩm chứa hợp chất tương tự amylin như được mô tả trên đây. Chế phẩm này có thể là dược phẩm, và có thể chứa chất mang, tá dược hoặc tá dược lỏng được dụng.

Sáng chế đề xuất thêm phương pháp tổng hợp hợp chất tương tự amylin như được mô tả trên đây. Phương pháp này có thể bao gồm các bước tổng hợp peptit bằng hệ phương pháp pha rắn hoặc pha lỏng, và tùy ý tách và/hoặc tinh chế sản phẩm cuối cùng. Phương pháp này có thể bao gồm thêm bước tạo liên kết amit giữa các chuỗi bên ở vị trí 2 và 7.

Sáng chế đề xuất thêm hợp chất tương tự amylin theo sáng chế để sử dụng trong phương pháp điều trị y tế.

Các hợp chất tương tự amylin là hữu ích, không kể các yếu tố khác, trong việc làm giảm hấp thu thức ăn, thúc đẩy sự giảm cân, và ức chế hoặc làm giảm sự tăng cân. Do đó, chúng có thể được sử dụng để điều trị nhiều tình trạng, bệnh hoặc rối loạn khác nhau ở đối tượng, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, bệnh béo phì và nhiều tình trạng, bệnh hoặc rối loạn liên quan đến bệnh béo phì khác nhau, như bệnh đái tháo đường (ví dụ, bệnh đái tháo đường typ 2), bệnh tăng huyết áp, bệnh rối loạn mỡ máu, chứng ngưng thở khi ngủ và bệnh tim mạch. Đối tượng có thể mắc bệnh béo phì kèm theo ít nhất một tình trạng bệnh kèm theo liên quan đến cân nặng, như bệnh đái tháo đường (ví dụ, bệnh đái tháo đường typ 2), bệnh tăng huyết áp, bệnh rối loạn mỡ máu, chứng ngưng thở khi ngủ và bệnh tim mạch. Sẽ được hiểu là các hợp chất tương tự amylin do đó có thể được sử dụng cho các đối tượng bị mắc các tình trạng được đặc trưng bởi không kiểm soát được sự thèm ăn hoặc theo cách khác tình trạng ăn quá mức, như rối loạn ăn quá độ và hội chứng Prader-Willi. Rõ ràng là

các hợp chất tương tự này có thể được sử dụng để điều trị các kết hợp của các tình trạng bệnh đã được mô tả.

Do đó, sáng chế đề xuất hợp chất tương tự amylin theo sáng chế để sử dụng trong phương pháp điều trị, ức chế hoặc làm giảm sự tăng cân, thúc đẩy sự giảm cân và/hoặc làm giảm cân nặng cơ thể dư thừa. Việc điều trị có thể đạt được, ví dụ, bằng cách kiểm soát sự thèm ăn, sự cho ăn, sự hấp thu thức ăn, sự hấp thu calo và/hoặc sự tiêu hao năng lượng.

Sáng chế cũng đề xuất hợp chất tương tự amylin theo sáng chế để sử dụng trong phương pháp điều trị bệnh béo phì cũng như các bệnh, rối loạn và tình trạng sức khỏe liên quan, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, béo phì bệnh lý, bệnh béo phì trước phẫu thuật, bệnh viêm liên quan đến béo phì, bệnh túi mật liên quan đến béo phì và chứng ngưng thở khi ngủ và các vấn đề về hô hấp do bệnh béo phì, chứng thoái hóa sụn, bệnh viêm xương khớp, và các biến chứng về sức khỏe sinh sản của bệnh béo phì hoặc tình trạng thừa cân như vô sinh. Đối tượng có thể mắc bệnh béo phì kèm theo ít nhất một tình trạng bệnh kèm theo liên quan đến cân nặng, như bệnh đái tháo đường (ví dụ, bệnh đái tháo đường typ 2), bệnh tăng huyết áp, bệnh rối loạn mỡ máu, chứng ngưng thở khi ngủ và bệnh tim mạch.

Sáng chế cũng đề xuất các hợp chất tương tự amylin theo sáng chế để sử dụng trong phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường, bệnh đái tháo đường typ 1, bệnh đái tháo đường typ 2, tiền đái tháo đường, hội chứng kháng insulin, hội chứng rối loạn dung nạp glucoza (IGT), các tình trạng bệnh do mức glucoza máu cao, bệnh chuyển hóa bao gồm hội chứng chuyển hóa, bệnh tăng đường huyết, bệnh tăng huyết áp, bệnh rối loạn mỡ máu sinh xơ vữa, bệnh gan nhiễm mỡ (“gan nhiễm mỡ”; bao gồm bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD), mà tự nó bao gồm bệnh viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH)), bệnh suy thận, chứng xơ cứng động mạch (ví dụ, chứng xơ vữa động mạch), bệnh mạch lớn, bệnh vi mạch, bệnh tim do đái tháo đường (bao gồm bệnh cơ tim do đái tháo đường và bệnh suy tim như là biến chứng đái tháo đường), bệnh tim mạch vành, bệnh động mạch ngoại biên hoặc đột quy, và kết hợp của chúng.

Sáng chế cũng đề xuất hợp chất tương tự amylin theo sáng chế để sử dụng trong phương pháp làm giảm mức LDL tuần hoàn và/hoặc làm tăng tỷ lệ HDL/LDL.

Các tác dụng của các hợp chất tương tự amylin đối với các tình trạng này có thể hoàn toàn hoặc một phần do tác dụng đối với cân nặng cơ thể, hoặc có thể là độc lập với nó.

Sáng chế đề cập thêm đến việc sử dụng hợp chất tương tự amylin theo sáng chế để sản xuất thuốc để điều trị, ức chế hoặc làm giảm sự tăng cân, thúc đẩy sự giảm cân và/hoặc làm giảm khối lượng cơ thể dư thừa.

Sáng chế cũng đề cập đến việc sử dụng hợp chất tương tự amylin theo sáng chế để sản xuất thuốc để điều trị bệnh béo phì cũng như các bệnh, rối loạn và tình trạng sức khỏe kèm theo, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, béo phì bệnh lý, bệnh béo phì trước phẫu thuật, bệnh viêm liên quan đến béo phì, bệnh túi mật liên quan đến béo phì và chứng ngưng thở khi ngủ và các vấn đề về hô hấp do bệnh béo phì, chứng thoái hóa sụn, bệnh viêm xương khớp, và các biến chứng về sức khỏe sinh sản của bệnh béo phì hoặc tình trạng thừa cân như vô sinh. Đối tượng có thể mắc bệnh béo phì kèm theo ít nhất một tình trạng bệnh kèm theo liên quan đến cân nặng, như bệnh đái tháo đường (ví dụ, bệnh đái tháo đường typ 2), bệnh tăng huyết áp, bệnh rối loạn mỡ máu, chứng ngưng thở khi ngủ và bệnh tim mạch.

Sáng chế cũng đề cập đến việc sử dụng hợp chất tương tự amylin theo sáng chế để sản xuất thuốc để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường, bệnh đái tháo đường typ 1, bệnh đái tháo đường typ 2, tiền đái tháo đường, hội chứng kháng insulin, hội chứng rối loạn dung nạp glucoza (IGT), các tình trạng bệnh do mức glucoza máu cao, bệnh chuyển hóa bao gồm hội chứng chuyển hóa, bệnh tăng đường huyết, bệnh tăng huyết áp, bệnh rối loạn mỡ máu sinh xơ vữa, bệnh gan nhiễm mỡ (“gan nhiễm mỡ”; bao gồm bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD), mà tự nó bao gồm bệnh viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH)), bệnh suy thận, chứng xơ cứng động mạch (ví dụ, chứng xơ vữa động mạch), bệnh mạch lớn, bệnh vi mạch, bệnh tim do đái tháo đường (bao gồm bệnh cơ tim do đái tháo đường và bệnh suy tim như biến chứng đái tháo đường), bệnh tim mạch vành, bệnh động mạch ngoại biên hoặc đột quỵ, và các kết hợp của chúng.

Sáng chế cũng đề cập đến việc sử dụng hợp chất tương tự amylin theo sáng chế để sản xuất thuốc để làm giảm mức LDL tuần hoàn và/hoặc làm tăng tỷ lệ HDL/LDL.

Sáng chế đề cập thêm đến phương pháp điều trị, ức chế hoặc làm giảm sự tăng cân, thúc đẩy sự giảm cân và/hoặc làm giảm khối lượng cơ thể dư thừa ở đối tượng, bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất tương tự amylin theo sáng chế cho đối tượng này.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp điều trị bệnh béo phì cũng như các bệnh, rối loạn và tình trạng sức khỏe kèm theo, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, béo phì bệnh

lý, bệnh béo phì trước phẫu thuật, bệnh viêm liên quan đến béo phì, bệnh túi mật liên quan đến béo phì và chứng ngưng thở khi ngủ và các vấn đề về hô hấp do bệnh béo phì, chứng thoái hóa sụn, bệnh viêm xương khớp, và các biến chứng về sức khỏe sinh sản của bệnh béo phì hoặc tình trạng thừa cân như vô sinh ở đối tượng, bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất tương tự amylin theo sáng chế cho đối tượng này. Đối tượng có thể mắc bệnh béo phì kèm theo ít nhất một tình trạng bệnh kèm theo liên quan đến cân nặng, như bệnh đái tháo đường (ví dụ, bệnh đái tháo đường typ 2), bệnh tăng huyết áp, bệnh rối loạn mỡ máu, chứng ngưng thở khi ngủ và bệnh tim mạch.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường, bệnh đái tháo đường typ 1, bệnh đái tháo đường typ 2, tiền đái tháo đường, hội chứng kháng insulin, hội chứng rối loạn dung nạp glucoza (IGT), các tình trạng bệnh do mức glucoza máu cao, bệnh chuyển hóa bao gồm hội chứng chuyển hóa, bệnh tăng đường huyết, bệnh tăng huyết áp, bệnh rối loạn mỡ máu sinh xơ vữa, bệnh gan nhiễm mỡ (“gan nhiễm mỡ”; bao gồm bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD), mà tự nó bao gồm bệnh viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH)), bệnh suy thận, chứng xơ cứng động mạch (ví dụ, chứng xơ vữa động mạch), bệnh mạch lớn, bệnh vi mạch, bệnh tim do đái tháo đường (bao gồm bệnh cơ tim do đái tháo đường và bệnh suy tim như biến chứng đái tháo đường), bệnh tim mạch vành, bệnh động mạch ngoại biên hoặc đột quy, và các kết hợp của chúng, ở đối tượng, bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất tương tự amylin theo sáng chế cho đối tượng này.

Sáng chế đề cập thêm đến phương pháp làm giảm mức LDL tuần hoàn và/hoặc làm tăng tỷ lệ HDL/LDL ở đối tượng, bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất tương tự amylin theo sáng chế cho đối tượng này.

Sáng chế đề cập thêm đến việc sử dụng hợp chất tương tự amylin như được mô tả trên đây trong phương pháp làm giảm cân thẩm mỹ (nghĩa là, không điều trị). Sẽ được hiểu là việc đề cập đến các ứng dụng điều trị của các hợp chất tương tự amylin và các phương pháp bao gồm bước sử dụng các hợp chất tương tự amylin có thể được hiểu tương đương là bao gồm các ứng dụng và sử dụng các chế phẩm này.

Các khía cạnh và các phương án khác của sáng chế sẽ trở nên rõ ràng từ phần mô tả dưới đây.

Mô tả chi tiết sáng chế

Trừ khi được quy định theo cách khác ở đây, các thuật ngữ khoa học và kỹ thuật được sử dụng ở đây sẽ có ý nghĩa được hiểu thông thường bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Nói chung, danh pháp được sử dụng ở đây liên quan đến các kỹ thuật hóa học, sinh học phân tử, sinh học tế bào và ung thư, miễn dịch học, vi sinh, dược, và hóa học protein và axit nucleic, được mô tả ở đây, là danh pháp được sử dụng một cách phổ biến và đã được biết rõ trong lĩnh vực này.

Tất cả các công bố, patent và đơn yêu cầu cấp patent đã công bố được đề cập đến trong đơn này được đưa vào đây một cách cụ thể bằng cách viện dẫn ở đây. Trong trường hợp có xung đột, phần mô tả này, bao gồm các định nghĩa cụ thể của nó, sẽ chi phối.

Trong toàn bộ phần mô tả này, từ “chứa” hoặc các biến thể như “chứa” hoặc “đang chứa” sẽ được hiểu là có hàm ý bao gồm số nguyên hoặc thành phần đã chỉ ra, hoặc thuộc nhóm số nguyên hoặc thành phần đã chỉ ra, nhưng không loại trừ số nguyên hoặc thành phần bất kỳ khác hoặc nhóm số nguyên hoặc thành phần bất kỳ khác.

Dạng số ít “một” (“a,” “an” và “the”) bao gồm dạng số nhiều trừ khi ngữ cảnh chỉ ra khác đi một cách rõ ràng.

Thuật ngữ “bao gồm” được sử dụng để chỉ “bao gồm nhưng không giới hạn ở”. “Bao gồm” và “bao gồm nhưng không giới hạn ở” được sử dụng thay thế cho nhau.

Thuật ngữ “bệnh nhân”, “đối tượng”, và “cá thể” có thể được sử dụng thay thế cho nhau và có thể đề cập đến người hoặc động vật không phải là người. Các đối tượng này thường là động vật có vú, bao gồm người, động vật linh trưởng không phải là người (bao gồm vượn lớn, khỉ Cựu thế giới và khỉ Tân thế giới), động vật gia súc (ví dụ, bò, lợn), động vật nuôi (ví dụ, chó, mèo) và động vật gặm nhấm (ví dụ, chuột nhắt và chuột cống).

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “muối được dụng” được dự định để chỉ muối mà không gây hại cho bệnh nhân hoặc đối tượng mà muối này được sử dụng cho. Có thể thích hợp là muối được chọn, ví dụ, trong số muối cộng axit và muối bazơ. Ví dụ về muối cộng axit bao gồm muối clorua, muối xitrat và muối axetat. Ví dụ về các muối bazơ bao gồm các muối trong đó cation được chọn trong số các cation kim loại kiềm, như ion natri hoặc kali, cation kim loại kiềm thổ, như ion canxi hoặc magie, cũng như các ion amoni được thế, như các ion thuộc loại $N(R^1)(R^2)(R^3)(R^4)^+$, trong đó R^1 , R^2 , R^3 và R^4 sẽ độc lập thường ký hiệu hydro, C_{1-6} -alkyl tùy ý được thế hoặc C_{2-6} -alkenyl tùy ý được thế. Ví dụ về các nhóm C_{1-6} -alkyl thích hợp bao gồm các nhóm metyl, etyl, 1-propyl và 2-propyl. Ví dụ về các nhóm C_{2-6} -alkenyl có thể thích hợp bao gồm etenyl, 1-propenyl và 2-propenyl. Các

ví dụ khác về các muối được dụng được mô tả trong “Remington’s Pharmaceutical Sciences”, xuất bản lần thứ 17, Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mark Publishing Company, Easton, PA, USA, 1985 (và các xuất bản gần đây của nó), trong “Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology”, xuất bản lần thứ ba, James Swarbrick (Ed.), Informa Healthcare USA (Inc.), NY, USA, 2007, và in *J. Pharm. Sci.* 66: 2 (1977).

Thuật ngữ “solvat” trong ngữ cảnh theo sáng chế đề cập đến phức hợp có hóa lượng pháp xác định được tạo ra giữa chất tan (*trong trường hợp này*, peptit hoặc muối được dụng của nó theo sáng chế) và dung môi. Dung môi trong mỗi quan hệ này có thể, ví dụ, là nước, etanol hoặc loại hữu cơ phân tử nhỏ điển hình được dụng khác, như, nhưng không giới hạn ở, axit axetic hoặc axit lactic. Khi dung môi cần quan tâm là nước, solvat này thường được gọi là hydrat.

Thuật ngữ “chất chủ vận” như được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế đề cập đến hợp chất hoạt hóa loại thụ thể cần quan tâm, thường là bằng cách liên kết với nó (nghĩa là, dưới dạng phối tử).

Mỗi phương án của sáng chế được mô tả ở đây có thể được thực hiện một mình hoặc được kết hợp với một hoặc nhiều phương án khác theo sáng chế.

Trong toàn bộ phần mô tả này, trừ khi các axit amin xuất hiện tự nhiên được gọi bằng tên đầy đủ của chúng (ví dụ, alanin, arginin, v.v.), chúng được ký hiệu bằng tên viết tắt một chữ cái hoặc ba chữ cái thông thường của chúng (ví dụ, Ala hoặc A cho alanin, Arg hoặc R cho arginin, v.v.). Trong trường hợp một số axit amin không xuất hiện tự nhiên hoặc ít phổ biến hơn (nghĩa là, các axit amin khác 20 axit amin được mã hóa bởi mã di truyền động vật có vú chuẩn), trừ khi chúng được gọi bằng tên đầy đủ (ví dụ, sarcosine, ornithine, v.v.), các mã ba hoặc bốn chữ cái thường được sử dụng được sử dụng cho các gốc của chúng, bao gồm Orn (ornithine, nghĩa là axit 2,5-diaminopentanoic), Aib (axit α -aminoisobutyric), Dab (axit 2,4-diaminobutanoic), Dap (axit 2,3-diaminopropanoic), Har (homoarginin), γ -Glu (axit γ -glutamic), Gaba (axit γ -aminobutanoic), β -Ala (nghĩa là, axit 3-aminopropanoic), 8Ado (axit 8-amino-3,6-dioxaoctanoic).

Trừ khi có quy định khác, các thuật ngữ đề cập đến các dạng đồng phân L của các axit amin cần quan tâm.

Các từ viết tắt khác bao gồm các từ viết tắt sau đây:

Gly(Me):	N-metylglyxin [còn được biết là sarcosine (Sar)]
Ile(Me):	N-metylisoleuxin

Aad:	axit 2-aminoadipic, ví dụ, axit (2S)-2-aminoadipic [cũng là axit (2S)-2-aminohexandioic], còn được biết là axit homoglutamic
Hyp:	4-hydroxyprolin, ví dụ (2S,4R)-4-hydroxyprolin [còn được thể hiện bằng (4R)-4-hydroxy-L-prolin]
Dap:	axit 2,3-diaminopropanoic, ví dụ axit (2S)-2,3-diaminopropanoic
Dab:	axit 2,4-diaminobutanoic, ví dụ axit (2S)-2,4-diaminobutanoic
hLys:	axit 2-amino-7-amino-heptanoic, còn được biết là homolysin, ví dụ, axit (2S)-2-amino-7-amino-heptanoic

Thuật ngữ “lượng hữu hiệu điều trị” như được sử dụng ở đây trong ngữ cảnh của các phương pháp điều trị được mô tả trên đây hoặc các can thiệp điều trị khác theo sáng chế đề cập đến lượng đủ để chữa khỏi, làm giảm, cải thiện hoặc ngăn chặn một phần các biểu hiện lâm sàng của một bệnh, rối loạn hoặc tình trạng cụ thể mà là mục đích của việc điều trị này hoặc can thiệp điều trị khác cần quan tâm, ví dụ, như được đo bởi các chỉ số lâm sàng đã thiết lập hoặc các chất đánh dấu sinh học khác (đã thiết lập hoặc bằng thử nghiệm). Lượng thích hợp để điều trị có thể được xác định theo kinh nghiệm bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này dựa vào chỉ định đang được điều trị hoặc phòng ngừa và đối tượng mà lượng thích hợp để điều trị này đang được sử dụng cho. Ví dụ, người có hiểu biết trung bình có thể đo một hoặc nhiều yếu tố chỉ thị thích hợp về mặt lâm sàng của hoạt tính sinh học được mô tả ở đây, ví dụ, mức lipid huyết tương, mức glucoza máu hoặc sự giải phóng insulin. Người có hiểu biết trung bình có thể quyết định lượng thích hợp về mặt lâm sàng nhờ các giá trị đo *in vitro* hoặc *in vivo*. Các giá trị đo điển hình khác bao gồm sự tăng khối lượng cơ thể, sự sụt cân, và sự thay đổi huyết áp.

Lượng đủ để đạt được bất kỳ hoặc toàn bộ các tác dụng này được xác định là lượng hữu hiệu điều trị. Lượng được sử dụng và phương pháp sử dụng có thể được điều chỉnh để đạt được tác dụng tối ưu. Lượng hữu hiệu cho mục đích đề ra sẽ phụ thuộc, ngoài các yếu tố khác, vào mức độ nghiêm trọng của bệnh, rối loạn hoặc tình trạng mà là mục đích của việc điều trị cụ thể này hoặc can thiệp điều trị khác, vào khối lượng cơ thể và tình trạng chung của đối tượng cần quan tâm, vào chế độ ăn, vào dược phẩm có thể được sử dụng

đồng thời, và vào các yếu tố khác đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực y tế. Việc quyết định kích thước liều thích hợp và phác đồ sử dụng liều thích hợp nhất cho việc sử dụng peptit hoặc muối hoặc solvat được dùng của chúng theo sáng chế cho người có thể được hướng dẫn bởi kết quả thu được theo sáng chế, và có thể được xác nhận trong các thử nghiệm lâm sàng được thiết kế thích hợp. Liều hữu hiệu và quy trình điều trị có thể được quyết định bằng phương pháp thông thường, bắt đầu với liều thấp ở các động vật thí nghiệm và sau đó tăng dần liều này trong khi theo dõi tác dụng, và cũng thay đổi có tính hệ thống phác đồ liều này. Nhiều yếu tố có thể được tính đến bởi bác sỹ khi quyết định liều tối ưu cho đối tượng cần quan tâm. Các cân nhắc này đã được biết rõ bởi người có hiểu biết trung bình.

Thuật ngữ “điều trị” và các biến thể ngữ pháp khác của nó (ví dụ, “được điều trị”, “đang được điều trị”, “điều trị”) như được sử dụng trong ngữ cảnh này đề cập đến phương pháp tiếp cận để thu được các kết quả lâm sàng có lợi hoặc mong muốn. Với mục đích của sáng chế, các kết quả lâm sàng có lợi hoặc mong muốn bao gồm, nhưng không giới hạn ở, làm giảm triệu chứng, giảm mức độ của bệnh, làm ổn định (nghĩa là, không làm xấu đi) tình trạng bệnh, trì hoãn hoặc làm chậm diễn tiến của bệnh, cải thiện hoặc làm dịu tình trạng bệnh, và làm thoái lui (một phần hoặc toàn bộ), kể cả phát hiện được hay không phát hiện được. “Điều trị” còn có nghĩa là kéo dài sự sống so với thời gian sống dự kiến nếu không nhận được điều trị. Đối tượng (ví dụ, người) cần được điều trị do đó có thể là đối tượng đã bị mắc bệnh hoặc rối loạn cần quan tâm. Thuật ngữ “điều trị” bao gồm tác dụng ức chế hoặc làm giảm sự tăng mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh hoặc triệu chứng (ví dụ, sự tăng cân hoặc bệnh tăng đường huyết) so với khi không điều trị, và không nhất thiết có nghĩa bao hàm tác dụng chấm dứt bệnh, rối loạn hoặc tình trạng tương ứng.

Thuật ngữ “phòng ngừa” và các biến thể ngữ pháp của nó (ví dụ, “được phòng ngừa”, “sự phòng ngừa”, “phòng ngừa”) như được sử dụng trong ngữ cảnh này đề cập đến phương pháp để cản trở hoặc ngăn ngừa sự phát triển, hoặc biến đổi bệnh lý của, tình trạng, bệnh hoặc rối loạn. Theo đó, “phòng ngừa” có thể đề cập đến phương pháp dự phòng hoặc phương pháp phòng ngừa. Với mục đích của sáng chế, các kết quả lâm sàng có lợi hoặc mong muốn bao gồm, nhưng không giới hạn ở, việc ngăn ngừa hoặc làm chậm các triệu chứng, diễn biến hoặc sự phát triển của bệnh, kể cả có thể phát hiện được hay không thể phát hiện được. Đối tượng (ví dụ, người) cần được “phòng ngừa” do đó có thể là đối tượng chưa bị mắc bệnh hoặc rối loạn cần quan tâm. Thuật ngữ “phòng ngừa” do đó bao gồm tác

dụng ức chế hoặc làm chậm sự khởi phát của bệnh so với khi không được điều trị, và không nhất thiết có nghĩa bao hàm tác dụng phòng ngừa lâu dài bệnh, rối loạn hoặc tình trạng liên quan.

Tổng hợp các hợp chất tương tự amylin

Sáng chế đề xuất thêm phương pháp tổng hợp hợp chất tương tự amylin theo sáng chế. Các hợp chất tương tự amylin (cũng có thể được gọi là các hợp chất hoặc peptit) có thể được sản xuất thích hợp bằng các phương pháp tổng hợp chuẩn. Do đó, các peptit có thể được tổng hợp bằng, ví dụ, các phương pháp bao gồm tổng hợp peptit này bằng hệ phương pháp pha rắn hoặc pha lỏng chuẩn, từng bước hoặc bằng cách tổ hợp phân đoạn, và tùy ý tách và tinh chế sản phẩm peptit cuối cùng. Trong ngữ cảnh này, có thể tham khảo WO 98/11125 hoặc, ngoài các tài liệu khác, Fields, G.B. et al., “Principles và Practice of Solid-Phase Peptide Synthesis”; trong: *Synthetic Peptides*, Gregory A. Grant (ed.), Oxford University Press (2nd edition, 2002) và các ví dụ tổng hợp ở đây. Phương pháp này thường bao gồm thêm bước tạo liên kết amit giữa các chuỗi bên ở vị trí 2 và 7, ví dụ, như được mô tả dưới đây. Trong trường hợp tổng hợp pha rắn, sự tạo vòng có thể được thực hiện tại chỗ trên pha rắn (ví dụ, nhựa), nghĩa là, trước khi lấy peptit khỏi pha rắn.

Nhóm C₁₋₄ axyl

Nhóm C₁₋₄ axyl mà có thể được biểu diễn bằng nhóm R¹ trong ngữ cảnh của các hợp chất theo sáng chế bao gồm các nhóm formyl (nghĩa là metanoyl), axetyl (nghĩa là etanoyl), propanoyl, 1-butanoyl và 2-metylpropanoyl.

Các nhóm C₁₋₄ alkyl

Các nhóm C₁₋₄ alkyl mà có thể được biểu diễn bằng nhóm R¹ trong ngữ cảnh các hợp chất theo sáng chế bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, các nhóm C₁₋₃ alkyl, như methyl, ethyl, 1-propyl hoặc 2-propyl.

Các nhóm C₁₋₃ alkyl

Các nhóm C₁₋₃ alkyl mà có thể được biểu diễn bằng nhóm R³ trong ngữ cảnh các hợp chất theo sáng chế bao gồm methyl, ethyl, 1-propyl và 2-propyl.

Các gốc M kéo dài thời gian bán thải

Như được mô tả ở đây, gốc R¹ đầu cùng N trong hợp chất theo sáng chế có thể là gốc kéo dài thời gian bán thải M (đôi khi được gọi trong các tài liệu, không kể các thuật ngữ khác, là gốc kéo dài thời gian hoặc gốc liên kết albumin), tùy ý được liên kết (gắn đồng hóa trị) vào gốc peptit Z qua gốc cầu nối L. Trong số các gốc kéo dài thời gian bán

thải thích hợp là một số loại nhóm thế ưa lipid. Không mong muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết cụ thể bất kỳ, được cho là các nhóm thế ưa lipid này (và các nhóm khác của gốc kéo dài thời gian bán thải) liên kết với albumin trong dòng máu, do đó bảo vệ hợp chất theo sáng chế khỏi quá trình lọc bởi thận cũng như sự phân hủy do enzym và do đó có thể làm tăng thời gian bán thải của hợp chất này trên *in vivo*. Nhóm thế ưa lipid này cũng có thể điều biến hiệu lực của hợp chất này như là chất chủ vận với thụ thể amylin (calcitonin).

Nhóm thế ưa lipid này có thể được gắn vào gốc axit amin đầu cùng N hoặc vào cầu nối L qua este, sulfonyl este, thioeste, amit, amin hoặc sulfonamit. Theo đó, sẽ được hiểu là tốt hơn, nếu nhóm thế ưa lipid bao gồm nhóm axyl, nhóm sulfonyl, nguyên tử N, nguyên tử O hoặc nguyên tử S mà tạo thành một phần của este, sulfonyl este, thioeste, amit, amin hoặc sulfonamit. Tốt hơn, nếu nhóm axyl trong nhóm thế ưa lipid này tạo thành một phần của amit hoặc este với gốc axit amin hoặc cầu nối.

Nhóm thế ưa lipid này có thể bao gồm chuỗi hydrocacbon có từ 10 đến 24 nguyên tử C, ví dụ, từ 14 đến 22 nguyên tử C, ví dụ, từ 16 đến 20 nguyên tử C. Tốt hơn, nếu nó có ít nhất là 14 nguyên tử C, và tốt hơn, nếu có 20 nguyên tử C hoặc ít hơn. Ví dụ, chuỗi hydrocacbon này có thể chứa 14, 15, 16, 17, 18, 19 hoặc 20 nguyên tử cacbon. Chuỗi hydrocacbon này có thể là thẳng hoặc có nhánh, và có thể là no hoặc không no. Ngoài ra, nó có thể bao gồm nhóm chức ở đầu cùng của chuỗi hydrocacbon, ví dụ nhóm axit carboxylic mà có thể được hoặc có thể không được bảo vệ trong quá trình tổng hợp. Từ phần thảo luận trên đây, sẽ được hiểu là chuỗi hydrocacbon này tốt hơn, là được thế bằng gốc mà tạo thành một phần của liên kết với gốc axit amin đầu cùng N của gốc peptit Z hoặc với cầu nối L, ví dụ, nhóm axyl, nhóm sulfonyl, nguyên tử N, nguyên tử O hoặc nguyên tử S.

Tốt nhất là, chuỗi hydrocacbon được thế bằng nhóm axyl, và do đó chuỗi hydrocacbon này có thể là một phần của nhóm alkanoyl, ví dụ nhóm dodecanoyl, 2-butyloctanoyl, tetradecanoyl, hexadecanoyl, heptadecanoyl, octadecanoyl, nonadecanoyl hoặc eicosanoyl. Ví dụ về các chuỗi hydrocacbon có nhóm chức là 15-carboxy-pentadecanoyl, 17-carboxy-heptadecanoyl và 19-carboxy-nonadecanoyl.

Như được đề cập trên đây, nhóm thế ưa lipid M có thể được liên kết với gốc axit amin đầu cùng N của Z qua cầu nối L. Trong các phương án, chính gốc cầu nối L có thể chứa một, hai, ba hoặc nhiều gốc phụ được liên kết L^1 , L^2 , L^3 , .v.v.. Khi cầu nối L chỉ chứa một gốc như vậy, nó được liên kết với nhóm thế ưa lipid và với gốc axit amin đầu cùng N

của Z. Cầu nối này sau đó có thể được liên kết với nhóm thế ưa lipid và với gốc axit amin đầu cùng N của Z độc lập nhờ liên kết este, sulfonyl este, thioeste, amit, amin hoặc sulfonamit. Theo đó, nó có thể bao gồm hai gốc được chọn độc lập từ axyl, sulfonyl, nguyên tử N, nguyên tử O và nguyên tử S. Cầu nối này có thể chứa chuỗi hydrocacbon C₁₋₁₀ thẳng hoặc có nhánh hoặc tốt hơn là chuỗi hydrocacbon C₁₋₅ thẳng. Ngoài ra, cầu nối này có thể được thế bằng một hoặc nhiều nhóm thế được chọn từ C₁₋₆ alkyl, amino C₁₋₆ alkyl, hydroxy C₁₋₆ alkyl và carboxy C₁₋₆ alkyl.

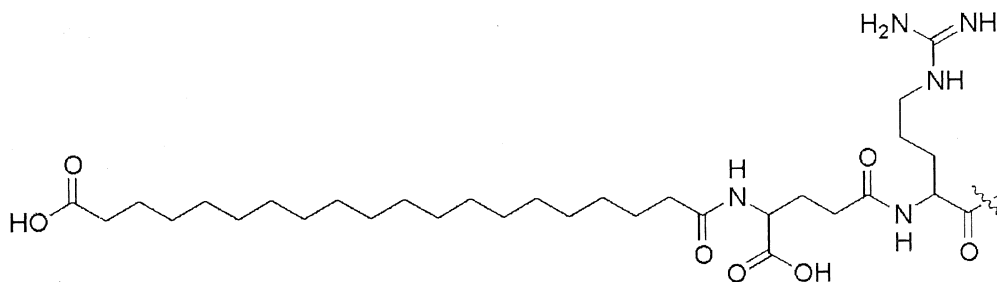
Trong một số phương án, cầu nối này có thể chứa một hoặc nhiều (ví dụ, một, hai hoặc ba) gốc axit amin được liên kết, mà mỗi gốc này có thể độc lập là gốc axit amin xuất hiện tự nhiên hoặc không tự nhiên bất kỳ. Ví dụ, cầu nối này có thể chứa một, hai hoặc ba gốc axit amin được liên kết, mỗi gốc này có thể độc lập là gốc trong số Gly, Pro, Ala, Val, Leu, Ile, Met, Cys, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Gln, Asn, α -Glu, γ -Glu, ϵ -Lys, Asp, β -Asp, Ser, Thr, Gaba, Aib, β -Ala (nghĩa là, 3-aminopropanoyl), 4-aminobutanoyl, 5-aminopentanoyl, 6-aminohexanoyl, 7-aminoheptanoyl, 8-aminooctanoyl, 9-aminononanoyl, 10-aminodecanoyl hoặc 8Ado (nghĩa là, 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl).

Việc đề cập đến γ -Glu, ϵ -Lys, và β -Asp chỉ ra các gốc axit amin tham gia vào các liên kết qua các nhóm chức carboxyl hoặc amin chuỗi bên của chúng. Do đó γ -Glu, và β -Asp tham gia vào liên kết qua các nhóm amino alpha và carboxyl chuỗi bên của chúng, trong khi ϵ -Lys tham gia vào qua các nhóm carboxyl và amino chuỗi bên của nó. Trong ngữ cảnh theo sáng chế, γ -Glu và isoGlu được sử dụng thay thế lẫn nhau.

Trong một số phương án, cầu nối này chứa hoặc bao gồm một, hai hoặc ba gốc được chọn độc lập trong số Glu, γ -Glu, ϵ -Lys, β -Ala, 4-aminobutanoyl, 8-aminooctanoyl hoặc 8Ado.

Các cầu nối chứa isoGlu và isoGlu-isoGlu có thể được ưu tiên đặc biệt.

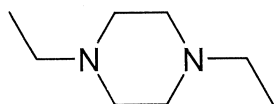
Ví dụ về nhóm thế ưa lipid bao gồm gốc M ưa lipid và cầu nối L được thể hiện trong công thức dưới đây:



Ở đây, nguyên tử nitơ khung của gốc Arg (có mặt ở vị trí X1 của trình tự peptit Z của hợp chất tương tự amylin) được liên kết đồng hóa trị với nhóm carboxyl chuỗi bên của gốc Glu qua cầu nối amit. Nhóm 19-carboxy-nonadecanoyl được liên kết đồng hóa trị với nhóm amino alpha của cầu nối Glu qua liên kết amit. Do đó, cầu nối Glu là ở cấu hình iso-Glu (hoặc γ -Glu). Sự kết hợp này của gốc ưa lipit và cầu nối, được liên kết với gốc Arg, có thể được đề cập bằng ký hiệu tốc ký [19CD]-isoGlu-R, ví dụ, khi được thể hiện trong công thức của các hợp chất cụ thể.

Người có hiểu biết trung bình sẽ hiểu rõ các kỹ thuật thích hợp để điều chế các hợp chất được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế. Ví dụ về hóa học thích hợp, xem, ví dụ, WO98/08871, WO00/55184, WO00/55119, Madsen et al (*J. Med. Chem.* 2007, 50, 6126-32), và Knudsen et al. 2000 (*J. Med Chem.* 43, 1664-1669).

Chuỗi hydrocacbon trong nhóm thể ưa lipit có thể được thể thêm. Ví dụ, nó có thể được thể thêm bằng đến ba nhóm thể được chọn từ NH_2 , OH và COOH. Nếu chuỗi hydrocacbon được thể thêm, tốt hơn, nếu nó được thể thêm bằng chỉ một nhóm thể. Ngoài ra hoặc theo cách khác, chuỗi hydrocacbon có thể bao gồm gốc xycloalkan hoặc heteroxycloalkan, ví dụ như được thể hiện dưới đây:



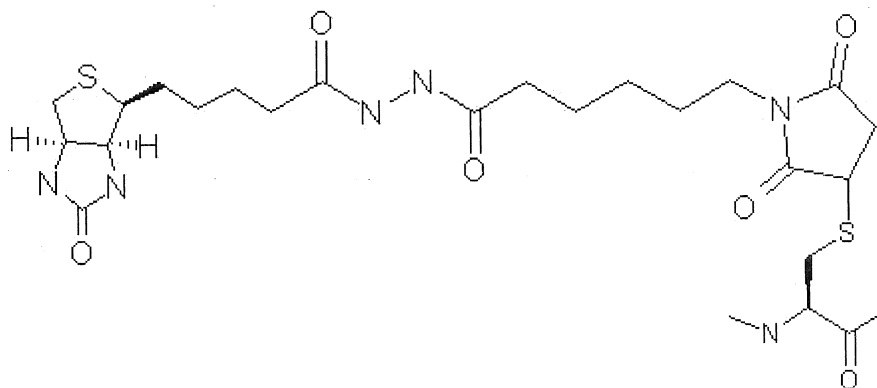
Trong một số phương án, gốc xycloalkan hoặc heteroxycloalkan là vòng sáu cạnh, ví dụ, vòng piperidin.

Trong các phương án thay thế của sáng chế, axit amin đầu cùng N của Z trong hợp chất theo sáng chế có thể được liên kết (gắn đồng hóa trị) với nhóm thể biotin hóa, tùy ý qua gốc cầu nối L. Không mong muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết cụ thể bất kỳ, tin rằng các nhóm thể được biotin hóa này liên kết với albumin trong dòng máu, do đó bảo vệ hợp chất theo sáng chế khỏi bị phân hủy bởi enzyme và do đó có thể làm tăng thời gian bán thải của hợp chất này trên *in vivo*. Cầu nối, khi có mặt, có thể tạo ra khoảng cách giữa gốc peptit Z và nhóm thể biotin hóa.

Nhóm thể biotin hóa có thể được gắn vào gốc axit amin đầu cùng N hoặc vào cầu nối qua liên kết maleimide este, liên kết sulfonyl este, liên kết thioeste, liên kết amit, liên kết amin hoặc liên kết sulfonamid. Theo đó, sẽ được hiểu là tốt hơn, nếu nhóm thể biotin

hóa chứa nhóm maleimido, nhóm axyl, nhóm sulfonyl, nguyên tử N, nguyên tử O hoặc nguyên tử S mà tạo ra một phần của liên kết este, sulfonyl este, thioeste, amit, amin hoặc sulfonamit cần quan tâm.

Ví dụ về nhóm thể bitotin hóa có thể bao gồm



Biotin được biết là Vitamin H hoặc Coenzym R, và là vitamin phức hợp B tan trong nước (vitamin B7). Nó đã được chỉ ra là làm tăng hấp thu một số thuốc qua đường miệng.

Tác dụng của các hợp chất

Các hợp chất theo sáng chế là các chất chủ vận thụ thể amylin, nghĩa là, chúng có khả năng liên kết với, và gây ra sự truyền tín hiệu bởi, một hoặc nhiều thụ thể hoặc phức hợp thụ thể được gọi là các thụ thể sinh lý cho amylin người. Các thụ thể này bao gồm thụ thể calcitonin người hCT-R, cũng như các phức hợp bao gồm thụ thể calcitonin người hCT-R và ít nhất một trong số các protein biến đổi hoạt tính thụ thể người được ký hiệu là hRAMP1, hRAMP2 và hRAMP3. Các phức hợp giữa hCT-R và hRAMP1, hRAMP2 và hRAMP3 được ký hiệu lần lượt là hAMYR1, hAMYR2 và hAMYR3 (nghĩa là, các thụ thể amylin người 1, 2 và 3).

Không mong muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết, một hợp chất có thể được xem là chất chủ vận thụ thể amylin nếu nó có hoạt tính chủ vận ở một hoặc nhiều trong số hAMYR1, hAMYR2 và hAMYR3, ví dụ, kháng hAMYR1 và/hoặc hAMYR3, ví dụ ở hAMYR3.

Thông thường, chất chủ vận thụ thể amylin cũng sẽ có hoạt tính chủ vận ở hCT-R khi được trình diện mà không có mặt hRAMP1, hRAMP2 và hRAMP3. Thông thường, chất chủ vận này sẽ có hoạt tính ở hCT-R (khi được trình diện mà không có mặt hRAMP1, hRAMP2 và hRAMP3) cao hơn dưới 10 lần so với hoạt tính của nó ở bất kỳ một trong số

hAMYR1, hAMYR2 và hAMYR3 (nghĩa là, hoạt tính của nó ở tất cả các thụ thể này) trong thử nghiệm tương đương. Hoạt tính chủ vận ở hCT-R có thể cao hơn dưới 5 lần so với hoạt tính chủ vận ở hAMYR1, hAMYR2 và hAMYR3, gần bằng (ví dụ, +/- 10%) hoạt tính chủ vận ở hAMYR1, hAMYR2 và hAMYR3, hoặc thấp hơn hoạt tính chủ vận ở hAMYR1, hAMYR2 và hAMYR3. Về vấn đề này, điều này có thể chỉ thích hợp để so sánh hoạt tính giữa hCT-R và hAMYR3.

Khả năng gây ra sự tạo thành cAMP (nghĩa là, gây ra hoạt tính adenylat cyclaza) do sự liên kết với thụ thể tương ứng hoặc phức hợp thụ thể tương ứng thường được xem là dấu hiệu của hoạt tính chủ vận. Các con đường truyền tín hiệu nội bào khác hoặc các sự kiện khác cũng có thể được sử dụng làm chỉ báo cho hoạt tính chủ vận thụ thể amylin. Các sự kiện này có thể bao gồm giải phóng canxi, huy động β -arrestin, nội bào hóa thụ thể, hoạt hóa hoặc bất hoạt kinaza, hoạt hóa lipaza, giải phóng inositol phosphat, giải phóng diacylglycerol hoặc chuyển vị yếu tố phiên mã nhân.

Dạng thử nghiệm tương đương thích hợp sẽ sử dụng các tế bào trình diện hCT-R và chỉ khác về sự trình diện hRAMP1, 2 và 3 của chúng. Ví dụ, dòng tế bào “nền” mà không trình diện bất kỳ trong số hCT-R, hRAMP1, hRAMP2 và hRAMP3 có thể được thao tác di truyền để tạo ra các tế bào trình diện (i) hCT-R, và (ii) một trong số hAMYR1, hAMYR2 và hAMYR3 (nghĩa là, hCT-R cộng một trong số hRAMP1, hRAMP2 và hRAMP3), ví dụ hAMYR3. Các tế bào nền thường sẽ là tế bào động vật có vú và có thể là tế bào động vật linh trưởng. Chúng có thể là tế bào linh trưởng không phải người. Tốt hơn, nếu tế bào nền không trình diện bất kỳ trong số CT-R, RAMP1, RAMP2 hoặc RAMP3 (dù là của người hay có nguồn gốc từ tế bào nền nếu tế bào nền này không phải của người). Các tế bào nền này có thể là các tế bào nguyên bào sợi. Các tế bào nền nguyên bào sợi không phải của người thích hợp bao gồm các tế bào COS7, từ khỉ xanh Châu Phi, mà không trình diện CT-R tự nhiên hoặc các RAMP.

Hoạt tính tương đương có thể được đo bằng phương pháp thích hợp bất kỳ, như bằng cách xác định các giá trị EC_{50} như được mô tả dưới đây. Rõ ràng là chỉ báo sinh học phải giống nhau cho cả hai loại thụ thể.

Các hợp chất theo sáng chế có thể thể hiện nhiều đặc điểm có lợi so với amylin người và các hợp chất tương tự đang có của chúng, như pramlintide, IAPP-GI, và các chất tương tự được mô tả trong WO2012/168430, WO2012/168431 và WO2012/168432. So với amylin người hoặc bất kỳ trong số các chất tương tự đó, các hợp chất theo sáng chế có

thể, ví dụ, thể hiện tác dụng được cải thiện (ví dụ, ở dạng hoạt tính hoặc hiệu lực *in vitro* được cải thiện ở một hoặc nhiều thụ thể hCT-R, hAMYR1, hAMYR2 hoặc hAMYR3). Ngoài ra hoặc thêm vào đó, các hợp chất theo sáng chế có thể thể hiện độ tan cải thiện trong môi trường nước, cụ thể là ở các giá trị pH trong khoảng từ 4 đến 7,5, hoặc ở khoảng các giá trị pH đi qua khoảng đó. Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế có thể thể hiện thêm hoặc theo cách khác xu hướng trải qua sự tạo sợi giảm trong môi trường nước thích hợp để làm thuốc, cụ thể là ở các giá trị pH trong khoảng từ 4 đến 7, hoặc ở khoảng giá trị pH đi qua khoảng đó. Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế có thể thể hiện thêm hoặc theo cách khác độ ổn định hóa học được cải thiện (nghĩa là, xu hướng trải qua sự phân hủy hóa học giảm) trong môi trường nước, cụ thể là ở giá trị pH nằm trong khoảng từ 4 đến 9, hoặc ở khoảng giá trị pH đi qua khoảng đó.

Các hợp chất theo sáng chế do đó có thể rất thích hợp để bào chế trong môi trường axit (ví dụ, độ pH=4) và trong môi trường trung tính hoặc gần trung tính (ví dụ, độ pH=7 hoặc 7,4). Ngược lại với pramlintide, ví dụ, mà thường thể hiện độ ổn định hóa học kém và tạo sợi nhanh trong môi trường nước thích hợp để làm thuốc ở độ pH trung tính, các hợp chất theo sáng chế do đó có thể rất thích hợp để bào chế cùng với, ví dụ, insulin, các chất tương tự insulin khác nhau và/hoặc các chất điều trị khác (ví dụ, chất chống bệnh đái tháo đường hoặc chất chống bệnh béo phì) mà đòi hỏi độ pH bào chế trung tính hoặc gần trung tính.

Nói chung, tốt hơn, nếu sử dụng thử nghiệm sinh học mà đo sự truyền tín hiệu nội bào bị gây ra bởi sự liên kết của hợp chất này với thụ thể tương ứng, như được thảo luận trên đây. Sự hoạt hóa thụ thể calcitonin/amylin bởi các hợp chất theo sáng chế (có tác dụng như các chất chủ vận của thụ thể này) gây ra sự tạo thành cAMP và sự hoạt hóa các con đường truyền tín hiệu nội bào và các sự kiện khác. Do đó, sự sản sinh cAMP hoặc tham số thích hợp khác bất kỳ trong các tế bào thích hợp trình diện thụ thể này có thể được sử dụng để theo dõi hoạt tính chủ vận đối với thụ thể này.

Người có hiểu biết trung bình sẽ biết các dạng thử nghiệm thích hợp, và các ví dụ được cung cấp dưới đây. Ví dụ, các thử nghiệm có thể sử dụng thụ thể calcitonin người (hCT-R, ví dụ, đồng dạng 2 của hCT-R) hoặc thụ thể hAMYR3 (xem các ví dụ dưới đây). Khi các trình tự của các protein tiền chất được đề cập đến, nên được hiểu là các thử nghiệm có thể sử dụng protein thành thực, thiếu trình tự tín hiệu.

Các giá trị EC_{50} có thể được sử dụng làm số đo hiệu lực chủ vận ở thụ thể đã cho. Giá trị EC_{50} là số đo nồng độ của hợp chất cần thiết để đạt được một nửa hoạt tính tối đa của hợp chất đó trong một thử nghiệm cụ thể. Vì vậy, ví dụ, hợp chất có EC_{50} [hCT-R] thấp hơn so với EC_{50} [hCT-R] của amylin người tự nhiên, hoặc thấp hơn so với của pramlintide, trong thử nghiệm cụ thể có thể được xem là có hiệu lực hoặc hoạt tính ở thụ thể này cao hơn so với amylin người tự nhiên, hoặc cao hơn so với của pramlintide, tương ứng.

Trong một số phương án của các hợp chất theo sáng chế, EC_{50} đối với hCT-R là thấp hơn 1,5 nM (ví dụ, 0,001 đến 1,5 nM).

Trong một số phương án của các hợp chất theo sáng chế, EC_{50} đối với hCT-R là thấp hơn 0,9 nM (ví dụ, 0,001 đến 0,9 nM).

Trong một số phương án của các hợp chất theo sáng chế, EC_{50} đối với hCT-R là thấp hơn 0,5 nM (ví dụ, 0,001 đến 0,5 nM).

Trong một số phương án của các hợp chất theo sáng chế, EC_{50} đối với hCT-R là thấp hơn 0,3 nM (ví dụ, 0,001 đến 0,3 nM).

Trong một số phương án của các hợp chất theo sáng chế, EC_{50} đối với hCT-R là thấp hơn 0,2 nM (ví dụ, 0,001 đến 0,2 nM).

EC_{50} ở hCT-R có thể biểu thị tác dụng của hợp chất đối với sự hấp thu thức ăn, sự tăng cân và/hoặc sự giảm cân. Các hợp chất có giá trị EC_{50} thấp hơn ở hCT-R có thể có tác dụng mạnh hơn đối với các tham số này.

Trong một số phương án của các hợp chất theo sáng chế, EC_{50} đối với hAMYR3 là thấp hơn 1,0 nM (ví dụ, 0,001 đến 1,0 nM).

Trong một số phương án của các hợp chất theo sáng chế, EC_{50} đối với hAMYR3 là thấp hơn 0,5 nM (ví dụ, 0,001 đến 0,5 nM).

Trong một số phương án của các hợp chất theo sáng chế, EC_{50} đối với hAMYR3 là thấp hơn 0,4 nM (ví dụ, 0,001 đến 0,4 nM).

Trong một số phương án của các hợp chất theo sáng chế, EC_{50} đối với hAMYR3 là thấp hơn 0,3 nM (ví dụ, 0,001 đến 0,3 nM).

Trong một số phương án của các hợp chất theo sáng chế, EC_{50} đối với hAMYR3 là thấp hơn 0,2 nM (ví dụ, 0,001 đến 0,2 nM).

EC₅₀ ở hCT-R (khi được trình diện mà không có mặt hRAMP1, hRAMP2 và hRAMP3) có thể là thấp hơn EC₅₀ ở bất kỳ hoặc toàn bộ trong số hAMYR1, hAMYR2 và hAMYR3, ví dụ ở hAMYR3.

Ví dụ, EC₅₀ ở hCT-R (khi được trình diện mà không có mặt hRAMP1, hRAMP2 và hRAMP3) có thể là thấp hơn dưới 10 lần so với EC₅₀ ở bất kỳ hoặc toàn bộ trong số hAMYR1, hAMYR2 và hAMYR3, ví dụ, ở hAMYR3.

EC₅₀ ở hCT-R (khi được trình diện mà không có mặt hRAMP1, hRAMP2 và hRAMP3) có thể là thấp hơn dưới 5 lần so với EC₅₀ ở bất kỳ hoặc toàn bộ trong số hAMYR1, hAMYR2 và hAMYR3, ví dụ ở hAMYR3.

EC₅₀ ở hCT-R (khi được trình diện mà không có mặt hRAMP1, hRAMP2 và hRAMP3) có thể gần như bằng (ví dụ, +/- 50%) EC₅₀ ở bất kỳ hoặc toàn bộ trong số hAMYR1, hAMYR2 và hAMYR3, ví dụ, ở hAMYR3.

EC₅₀ ở hCT-R (khi được trình diện mà không có mặt hRAMP1, hRAMP2 và hRAMP3) có thể là cao hơn EC₅₀ ở bất kỳ hoặc toàn bộ trong số hAMYR1, hAMYR2 và hAMYR3, ví dụ ở hAMYR3.

Các thử nghiệm này có thể được thực hiện trong các điều kiện được mô tả trong Ví dụ 2 dưới đây.

Ngoài ra hoặc theo cách khác, các hợp chất theo sáng chế có thể thể hiện khả năng chống tạo sợi tốt. Ví dụ, chúng có thể thể hiện sự tạo sợi không thể phát hiện được sau 96 giờ ở độ pH=4,0 và/hoặc độ pH=7,0, ví dụ, ở 40°C, ví dụ trong các điều kiện được mô tả trong Ví dụ 4.

Ngoài ra hoặc theo cách khác, các hợp chất theo sáng chế có thể thể hiện độ ổn định hóa học tốt, nghĩa là chống lại sự phân hủy trong dung dịch. Ví dụ, chúng có thể duy trì độ tinh khiết ít nhất 70%, độ tinh khiết ít nhất là 75%, độ tinh khiết ít nhất 80%, độ tinh khiết ít nhất là 85%, độ tinh khiết ít nhất là 90%, hoặc độ tinh khiết ít nhất là 95% sau khi ủ ở độ pH=4, độ pH=6, và/hoặc độ pH=7 ở 40°C trong 72 giờ, hoặc trong 14 ngày, ví dụ, trong các điều kiện được mô tả trong Ví dụ 5.

Sử dụng trong điều trị

Các hợp chất theo sáng chế là hữu ích, không kể các ứng dụng khác, trong việc làm giảm hấp thu thức ăn, thúc đẩy sự giảm cân, và ức chế hoặc làm giảm sự tăng cân. Do đó chúng có thể cung cấp lựa chọn điều trị hấp dẫn cho, không kể các bệnh khác, bệnh béo

phì và các bệnh chuyển hóa bị gây ra bởi, được đặc trưng bởi, hoặc có liên quan đến, khối lượng cơ thể dư thừa.

Do đó, các hợp chất này có thể được sử dụng trong phương pháp điều trị, ức chế hoặc làm giảm sự tăng cân, thúc đẩy sự giảm cân, làm giảm sự hấp thụ thức ăn, và/hoặc làm giảm khối lượng cơ thể dư thừa. Việc điều trị có thể đạt được, ví dụ, bằng cách kiểm soát sự thèm ăn, sự cho ăn, sự hấp thụ thức ăn, sự hấp thụ calo và/hoặc sự tiêu hao năng lượng.

Các hợp chất này có thể được sử dụng trong phương pháp điều trị bệnh béo phì cũng như các bệnh, rối loạn và tình trạng sức khỏe liên quan, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, béo phì bệnh lý, bệnh béo phì trước phẫu thuật, bệnh viêm liên quan đến béo phì, bệnh túi mật liên quan đến béo phì và chứng ngưng thở khi ngủ và các vấn đề về hô hấp do bệnh béo phì, chứng thoái hóa sụn, bệnh viêm xương khớp, và các biến chứng về sức khỏe sinh sản của bệnh béo phì hoặc tình trạng thừa cân như vô sinh.

Các hợp chất này cũng có thể được sử dụng trong phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường, bệnh đái tháo đường typ 1, bệnh đái tháo đường typ 2, tiền đái tháo đường, hội chứng kháng insulin, hội chứng rối loạn dung nạp glucoza (IGT), các tình trạng bệnh do mức glucoza máu cao, bệnh chuyển hóa bao gồm hội chứng chuyển hóa, bệnh tăng đường huyết, bệnh tăng huyết áp, bệnh rối loạn mỡ máu sinh xơ vữa, bệnh gan nhiễm mỡ (“gan nhiễm mỡ”; bao gồm bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD), mà tự nó bao gồm bệnh viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH)), bệnh suy thận, chứng xơ cứng động mạch (ví dụ, chứng xơ vữa động mạch), bệnh mạch lớn, bệnh vi mạch, bệnh tim do đái tháo đường (bao gồm bệnh cơ tim do đái tháo đường và bệnh suy tim là biến chứng đái tháo đường), bệnh tim mạch vành, bệnh động mạch ngoại biên hoặc đột quy.

Các hợp chất này cũng có thể là hữu ích trong việc làm giảm mức LDL tuần hoàn và/hoặc làm tăng tỷ lệ HDL/LDL.

Các tác dụng của các hợp chất được mô tả trên đây có thể được gây ra toàn bộ hoặc một phần nhờ tác dụng trên khối lượng cơ thể, hoặc có thể là độc lập với nó.

Hội chứng chuyển hóa được đặc trưng bởi nhóm các yếu tố nguy cơ chuyển hóa ở một cá nhân. Chúng bao gồm chứng béo phì vùng bụng (mô mỡ dư thừa quanh các cơ quan trong bụng), bệnh rối loạn mỡ máu sinh xơ vữa (rối loạn mỡ máu bao gồm triglyxerit cao, HDL cholesterol thấp và/hoặc LDL cholesterol cao, mà tạo thuận lợi cho sự tích tụ mảng ở thành động mạch), huyết áp tăng (bệnh tăng huyết áp), tình trạng kháng insulin và không

dung nạp glucoza, tình trạng huyết khối (ví dụ, fibrinogen cao hoặc chất ức chế hoạt hóa plasminogen-1 trong máu), và tình trạng tiền viêm (ví dụ, protein phản ứng C tăng trong máu).

Các cá thể có hội chứng chuyển hóa có nguy cơ cao mắc bệnh tim mạch vành và các bệnh khác liên quan đến các biểu hiện khác của chứng xơ cứng động mạch (ví dụ, chứng đột quỵ và bệnh mạch ngoại biên). Yếu tố nguy cơ cơ bản chiếm ưu thế cho hội chứng này có thể là bệnh béo phì vùng bụng.

Dược phẩm

Sáng chế cũng mở rộng đến các chế phẩm, như các dược phẩm, chứa các hợp chất tương tự amylin. Như với tất cả các khía cạnh của sáng chế, được hiểu là việc đề cập đến hợp chất tương tự amylin bao gồm đề cập đến các muối và solvat dược dụng.

Các hợp chất tương tự amylin theo sáng chế có thể được bào chế thành dược phẩm mà được làm cho thích hợp để sử dụng mà cần hoặc không cần bảo quản, và thường chứa lượng hữu hiệu điều trị của ít nhất một peptit theo sáng chế, cùng với chất mang dược dụng, tá dược hoặc tá dược lỏng dược dụng.

Thuật ngữ “chất mang dược dụng” bao gồm bất kỳ trong số các chất mang dược chuẩn. Các chất mang dược dụng để sử dụng trong điều trị đã được biết rõ trong lĩnh vực dược phẩm và được mô tả, ví dụ, trong “Remington's Pharmaceutical Sciences”, xuất bản lần thứ 17, Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mark Publishing Company, Easton, PA, USA, 1985. Ví dụ, nước muối tiệt trùng và nước muối đệm phosphat ở độ pH axit nhẹ hoặc độ pH sinh lý có thể được sử dụng. Chất đệm pH thích hợp có thể, ví dụ, là phosphat, xitrat, axetat, tris(hydroxymetyl)aminometan (TRIS), axit N-tris(hydroxymetyl)metyl-3-aminopropansulfonic (TAPS), amoni bicacbonat, dietanolamin, histidin, arginin, lysin hoặc axetat (ví dụ, dưới dạng natri axetat), hoặc hỗn hợp của chúng. Thuật ngữ này bao gồm chất mang bất kỳ được liệt kê trong Dược điển Mỹ để sử dụng ở động vật, bao gồm người.

Dược phẩm theo sáng chế có thể là ở dạng liều đơn vị. Ở dạng này, chế phẩm được chia thành các liều đơn vị chứa các lượng thích hợp của thành phần hoạt chất hoặc các thành phần hoạt chất. Dạng liều đơn vị có thể được trình bày dưới dạng chế phẩm được đóng gói, gói chứa các lượng riêng biệt của chế phẩm này, ví dụ, viên nén được đóng gói, viên nang hoặc bột trong lọ hoặc ống thuốc tiêm. Dạng liều đơn vị cũng có thể là, ví dụ, viên nang, túi hoặc viên nén nguyên vẹn, hoặc nó có thể là số lượng thích hợp của bất kỳ

trong số các dạng được đóng gói này. Dạng liều đơn vị cũng có thể được cung cấp ở dạng liều đơn tiêm được, ví dụ, ở dạng thiết bị bút chứa chế phẩm pha lỏng (thường là nước). Các chế phẩm có thể được bào chế cho đường sử dụng và cách sử dụng thích hợp bất kỳ. Các chất mang hoặc chất pha loãng được dụng bao gồm các chất được sử dụng trong các chế phẩm thích hợp để, ví dụ, sử dụng bằng đường miệng, trong thủy tinh thể, trực tràng, âm đạo, mũi, khu trú, trong ruột hoặc ngoài đường tiêu hóa (bao gồm dưới da (sc), trong cơ (im), trong tĩnh mạch (iv), trong da và qua da) hoặc sử dụng bằng cách hít. Các chế phẩm này có thể được trình bày thuận lợi ở dạng liều đơn vị và có thể được bào chế bằng phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp đã được biết rõ trong lĩnh vực dược phẩm.

Đường sử dụng dưới da hoặc qua da có thể trong một số trường hợp là thích hợp cho các peptit theo sáng chế.

Các phương án khác đề cập đến các thiết bị, dạng liều và gói được sử dụng để phân phối các dược phẩm theo sáng chế. Do đó, ít nhất một peptit trong dung dịch hoặc chế phẩm ổn định hoặc được bảo quản được mô tả ở đây có thể được sử dụng cho bệnh nhân theo sáng chế bằng nhiều phương pháp phân phối khác nhau, bao gồm bằng đường tiêm sc hoặc im, hoặc bằng cách sử dụng qua da, phổi hoặc qua niêm mạc, hoặc bằng cách cấy, hoặc bằng cách sử dụng bơm thẩm thấu, hộp đạn, vi bơm hoặc các dụng cụ khác được biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Các phương án khác đề cập đến các chế phẩm sử dụng bằng đường miệng và việc sử dụng bằng đường miệng. Các chế phẩm để sử dụng bằng đường miệng có thể dựa vào việc sử dụng đồng thời các tá dược (ví dụ, resorcinol và/hoặc các chất hoạt động bề mặt không ion hóa như polyoxyetylen oleyl ete và n-hexadexylpolyetylen ete) để làm tăng nhân tạo khả năng thấm của thành ruột, và/hoặc việc sử dụng đồng thời các chất ức chế enzym (ví dụ, chất ức chế trypsin tụy, diisopropylflorophosphat (DFF) hoặc trasylol) để ức chế sự phân hủy enzym. Thành phần hoạt chất của dạng liều loại rắn để sử dụng bằng đường miệng có thể được trộn với ít nhất một chất phụ gia, như sucroza, lactoza, xenluloza, mannitol, trehaloza, raffinosa, maltitol, dextran, tinh bột, agar, alginat, chitin, chitosan, pectin, gôm tragacanth, gôm arabic, gelatin, collagen, casein, albumin, polyme tổng hợp hoặc bán tổng hợp, hoặc glyxerit. Các dạng liều này cũng có thể chứa (các) loại chất phụ gia khác, ví dụ, chất pha loãng không hoạt động, chất làm trơn (như magie stearat), paraben, chất bảo quản (như axit sorbic, axit ascorbic hoặc alpha-tocopherol), chất chống

oxy hóa (như xystein), chất gây rã, chất kết dính, chất làm đặc, chất đệm, chất điều chỉnh độ pH, chất làm ngọt, chất điều vị hoặc chất làm thơm.

Liều lượng

Liều điển hình của hợp chất tương tự amylin như được sử dụng trong ngữ cảnh sáng chế có thể nằm trong khoảng từ khoảng 0,0001 đến khoảng 100 mg/kg khối lượng cơ thể mỗi ngày, như từ khoảng 0,0005 đến khoảng 50 mg/kg khối lượng cơ thể mỗi ngày, như từ khoảng 0,001 đến khoảng 10 mg/kg khối lượng cơ thể mỗi ngày, ví dụ từ khoảng 0,01 đến khoảng 1 mg/kg khối lượng cơ thể mỗi ngày, được sử dụng trong một hoặc nhiều liều, như từ một đến ba liều. Liều chính xác được sử dụng sẽ phụ thuộc, ngoài các yếu tố khác, vào: bản chất và mức độ nghiêm trọng của bệnh hoặc rối loạn cần được điều trị, vào giới tính, tuổi, khối lượng cơ thể và tình trạng chung của đối tượng cần được điều trị, vào bệnh hoặc rối loạn có thể đồng thời khác mà đang được hoặc sắp được điều trị, cũng như vào các yếu tố khác mà sẽ được biết đối với bác sỹ có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Hợp chất tương tự amylin theo sáng chế có thể được sử dụng liên tục (ví dụ, bằng cách sử dụng trong tĩnh mạch hoặc phương pháp sử dụng thuốc liên tục khác), hoặc có thể được sử dụng cho đối tượng ở các khoảng cách, thường là cách nhau các khoảng thời gian đều đặn, tùy theo liều mong muốn và dược phẩm được lựa chọn bởi người có hiểu biết trung bình cho đối tượng cụ thể này. Các khoảng cách sử dụng liều đều đặn bao gồm, ví dụ, một lần mỗi ngày, hai lần mỗi ngày, một lần mỗi hai, ba, bốn, năm hoặc sáu ngày, một lần hoặc hai lần mỗi tuần, một lần hoặc hai lần mỗi tháng, và tương tự. Các phác đồ sử dụng peptit thường xuyên này có thể, trong một số trường hợp, như, ví dụ trong quá trình sử dụng lâu dài mạn tính, được gián đoạn một cách có lợi trong một khoảng thời gian do đó đối tượng được sử dụng thuốc giảm mức nồng độ, hoặc dừng sử dụng thuốc, thường được gọi là có “ngày nghỉ thuốc”. Ngày nghỉ thuốc là hữu ích cho, ví dụ, việc duy trì hoặc lại thu được độ nhạy cảm với thuốc đặc biệt là trong quá trình điều trị mạn tính kéo dài, hoặc để làm giảm tác dụng phụ không mong muốn của việc điều trị mạn tính kéo dài cho đối tượng bằng thuốc này. Việc lập lịch ngày nghỉ thuốc phụ thuộc vào việc lập lịch phác đồ sử dụng liều thường xuyên và mục đích sử dụng ngày nghỉ thuốc (ví dụ, để có lại độ nhạy với thuốc và/hoặc để làm giảm tác dụng phụ không mong muốn của việc sử dụng liên tục, kéo dài). Trong một số phương án, ngày nghỉ thuốc có thể là sự giảm liều thuốc (ví dụ, xuống dưới lượng hữu hiệu điều trị trong khoảng cách thời gian nhất định). Trong các phương án khác, việc sử dụng thuốc được dừng lại trong một khoảng cách thời gian nhất

định trước khi việc sử dụng được bắt đầu lại bằng cách sử dụng phác đồ sử dụng liều tương đương hoặc khác (ví dụ, ở liều và/hoặc tần số sử dụng cao hơn hoặc thấp hơn). Ngày nghỉ thuốc theo sáng chế do đó có thể được chọn từ phạm vi rộng của các khoảng thời gian và phác đồ liều. Ngày nghỉ thuốc điển hình là hai hoặc nhiều ngày, một hoặc nhiều tuần, hoặc một hoặc nhiều tháng, đến ngày nghỉ thuốc khoảng 24 tháng. Do đó, ví dụ, phác đồ sử dụng liều hàng ngày thường xuyên với peptit theo sáng chế có thể, ví dụ, được gián đoạn bởi ngày nghỉ thuốc là một tuần, hoặc hai tuần, hoặc bốn tuần, sau khoảng thời gian này phác đồ liều thường xuyên, trước đó (ví dụ, phác đồ sử dụng liều hàng ngày hoặc hàng tuần) được tiếp tục. Nhiều chế độ ngày nghỉ thuốc khác nhau khác được cho là hữu ích để sử dụng peptit theo sáng chế.

Do đó, peptit này có thể được phân phối bằng phác đồ sử dụng bao gồm hai hoặc nhiều pha sử dụng được ngăn cách bằng các pha ngày nghỉ thuốc tương ứng.

Trong mỗi pha sử dụng, peptit này được sử dụng cho đối tượng nhận với lượng hữu hiệu điều trị theo mẫu sử dụng đã xác định trước. Mẫu sử dụng này có thể bao gồm việc sử dụng liên tục thuốc này cho đối tượng nhận trong toàn bộ thời gian của pha sử dụng. Theo cách khác, mẫu sử dụng này có thể bao gồm sử dụng nhiều liều peptit cho đối tượng nhận, trong đó các liều này được ngăn cách bằng các khoảng thời gian giữa các lần sử dụng liều.

Mẫu sử dụng liều có thể bao gồm ít nhất hai liều cho mỗi pha sử dụng, ít nhất năm liều cho mỗi pha sử dụng, ít nhất 10 liều cho mỗi pha sử dụng, ít nhất 20 liều cho mỗi pha sử dụng, ít nhất 30 liều cho mỗi pha sử dụng, hoặc nhiều hơn.

Các khoảng cách giữa các lần sử dụng liều này có thể là các khoảng cách đều đặn giữa các liều, mà có thể như được đặt ra trên đây, bao gồm một lần một ngày, hai lần một ngày, một lần mỗi hai, ba, bốn, năm hoặc sáu ngày, một lần hoặc hai lần mỗi tuần, một lần hoặc hai lần mỗi tháng, hoặc khoảng cách đều đặn giữa các lần sử dụng liều và thậm chí ít thường xuyên hơn, tùy theo chế phẩm liều cụ thể, sinh khả dụng, và đặc điểm dược động học của peptit này.

Pha sử dụng có thể có độ dài ít nhất là hai ngày, ít nhất là một tuần, ít nhất là 2 tuần, ít nhất là 4 tuần, ít nhất là một tháng, ít nhất là 2 tháng, ít nhất là 3 tháng, ít nhất là 6 tháng, hoặc dài hơn.

Khi mẫu sử dụng bao gồm nhiều liều, thời gian của pha nghỉ thuốc có thể sau đó dài hơn so với khoảng cách giữa các liều được sử dụng trong mẫu sử dụng đó. Khi khoảng

cách giữa các liều là không đều, thời gian của pha nghỉ thuốc có thể là dài hơn so với khoảng cách trung bình giữa các liều trên toàn bộ khoảng thời gian của pha sử dụng. Theo cách khác, thời gian của ngày nghỉ thuốc có thể dài hơn so với khoảng cách xa nhất giữa các liều liên tiếp trong pha sử dụng.

Thời gian của pha nghỉ thuốc khả thi có thể ít nhất bằng hai lần thời gian của khoảng cách giữa các liều tương ứng (hoặc trung bình của chúng), ít nhất 3 lần, ít nhất 4 lần, ít nhất 5 lần, ít nhất 10 lần, hoặc ít nhất 20 lần thời gian của khoảng cách giữa các liều tương ứng hoặc trung bình của chúng.

Trong các ràng buộc này, pha nghỉ thuốc có thể có độ dài ít nhất là hai ngày, ít nhất là một tuần, ít nhất là 2 tuần, ít nhất là 4 tuần, ít nhất là một tháng, ít nhất là 2 tháng, ít nhất là 3 tháng, ít nhất là 6 tháng, hoặc dài hơn, tùy theo mẫu sử dụng trong pha sử dụng trước đó.

Phác đồ sử dụng đòi hỏi việc sử dụng ngày nghỉ thuốc bao gồm ít nhất là 2 pha sử dụng. Các pha sử dụng liên tục được ngăn cách bằng các pha nghỉ thuốc tương ứng. Do đó phác đồ sử dụng này có thể bao gồm ít nhất là 3, ít nhất là 4, ít nhất là 5, ít nhất là 10, ít nhất là 15, ít nhất là 20, ít nhất là 25, hoặc ít nhất là 30 pha sử dụng, hoặc nhiều hơn, mỗi pha được ngăn cách bởi các pha nghỉ thuốc tương ứng.

Các pha sử dụng liên tục có thể sử dụng cùng một mẫu sử dụng, mặc dù điều này có thể không phải luôn được mong muốn hoặc cần thiết. Tuy nhiên, nếu các thuốc hoặc hoạt chất khác được sử dụng kết hợp với peptit theo sáng chế, thì thông thường sự kết hợp giống nhau của các thuốc hoặc hoạt chất được đưa ra trong các pha sử dụng liên tục. Trong một số phương án, đối tượng nhận là người.

Liệu pháp kết hợp

Hợp chất tương tự amylin theo sáng chế có thể được sử dụng như một phần của liệu pháp kết hợp cùng với một hoạt chất khác để điều trị bệnh hoặc rối loạn cần quan tâm, ví dụ, chất chống bệnh đái tháo đường, chất chống bệnh béo phì, chất để điều trị hội chứng chuyển hóa, chất chống bệnh rối loạn mỡ máu, chất chống tăng huyết áp, chất ức chế bơm proton, hoặc chất chống viêm. Trong các trường hợp này, hai hoạt chất này có thể được cho sử dụng cùng với nhau hoặc riêng biệt, ví dụ, dưới dạng các thành phần trong cùng một chế phẩm hoặc dược phẩm, hoặc dưới dạng các chế phẩm riêng biệt.

Do đó peptit theo sáng chế có thể có một số lợi ích nếu được sử dụng kết hợp với chất chống bệnh đái tháo đường thuộc typ đã biết, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, metformin, sulfonylurea, glinide, chất ức chế DPP-IV, glitazone, chất chủ vận thụ thể GLP-1 (bao gồm GLP-1 hoặc chất tương tự GLP-1, exendin-4 hoặc chất tương tự exendin-4, chất chủ vận thụ thể GLP-1 bất kỳ khác bao gồm liraglutide (Saxenda™, Victoza™), Dulaglutide hoặc Albiglutide hoặc chất chủ vận kép glucagon-GLP-1, ví dụ, như được mô tả trong WO2008/101017, WO2008/152403, WO2010/070252, WO2010/070253, WO2010/070255, WO2010/070251, WO2011/006497, WO2011/160630, WO2011/160633, WO2013/092703, WO2014/041195, WO2015/055801, WO2015/055802), chất ức chế SGLT2 (nghĩa là, chất ức chế vận chuyển natri-glucoza, ví dụ, gliflozin như empagliflozin, canagliflozin, dapagliflozin hoặc ipragliflozin), chất chủ vận GPR40 (chất chủ vận FFAR1/FFA1, ví dụ fasiglifam), hoặc insulin hoặc chất tương tự insulin. Ví dụ về các chất tương tự insulin thích hợp bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, Lantus™, Novorapid™, Humalog™, Novomix™, Actraphane™ HM, Levemir™, Degludec™ và Apidra™. Các chất chống bệnh đái tháo đường thích hợp khác trong mỗi liên hệ này bao gồm chất chủ vận thụ thể GLP-1, như exenatide (Byetta™ và Bydureon™ exendin-4) và Byetta LAR™, lixisenatide (Lyxumia™) và liraglutide (Victoza™).

Ngoài ra, peptit theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với chất chống bệnh béo phì thuộc typ đã biết, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, peptit YY hoặc chất tương tự của nó, neuropeptit Y (NPY) hoặc chất tương tự của nó, chất đối vận thụ thể cannabinoid 1, chất ức chế lipaza, peptit proIslet người (HIP), chất chủ vận thụ thể melanocortin 4, chất chủ vận thụ thể GLP-1 (bao gồm GLP-1 hoặc chất tương tự GLP-1, exendin-4 hoặc chất tương tự exendin-4, chất chủ vận thụ thể GLP-1 bất kỳ khác bao gồm liraglutide (Saxenda™, Victoza™), Dulaglutide hoặc Albiglutide hoặc chất chủ vận kép glucagon-GLP-1, ví dụ như được mô tả trong WO2008/101017, WO2008/152403, WO2010/070252, WO2010/070253, WO2010/070255, WO2010/070251, WO2011/006497, WO2011/160630, WO2011/160633, WO2013/092703, WO2014/041195, WO2015/055801, WO2015/055802), Orlistat™, Sibutramine™, phentermine, chất đối vận thụ thể hormon tập trung melanin 1, CCK, amylin, pramlintide và leptin, cũng như các hợp chất tương tự của chúng.

Peptit theo sáng chế còn có thể được sử dụng kết hợp với chất chống bệnh tăng huyết áp thuộc typ đã biết, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chất ức chế enzym chuyển

dạng angiotensin, chất phong bế thụ thể angiotensin II, chất lợi tiểu, chất phong bế beta hoặc chất phong bế kênh canxi.

Peptit theo sáng chế còn có thể được sử dụng kết hợp với chất chống bệnh rối loạn mỡ máu thuộc typ đã biết, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, statin, fibrate, niacin, chất ức chế PSCK9 (Proprotein convertase subtilisin/kexin typ 9), hoặc chất ức chế hấp thu cholesterol.

Peptit theo sáng chế cũng có thể được sử dụng kết hợp với chất ức chế bơm proton (nghĩa là, dược chất có được tính là chất ức chế H^+/K^+ -ATPaza) thuộc typ đã biết, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chất thuộc loại dẫn xuất benzimidazole hoặc thuộc loại dẫn xuất imidazopyridine, như OmeprazoleTM, LansoprazoleTM, DexlansoprazoleTM, EsomeprazoleTM, PantoprazoleTM, RabeprazoleTM, ZolpidemTM, AlpidemTM, SaripidemTM hoặc NecopidemTM.

Thêm vào đó, đối với việc điều trị chống viêm, peptit theo sáng chế có thể là có lợi nếu được sử dụng kết hợp với chất chống viêm thuộc typ đã biết, bao gồm, nhưng không giới hạn ở:

steroid và corticosteroid, như beclomethasone, methylprednisolone, betamethasone, prednisone, dexamethasone, và hydrocortisone;

chất chống viêm phi steroid (NSAID), như dẫn xuất của axit propionic (ví dụ, alminoprofen, benoxaprofen, axit bucloxic, carprofen, fenbufen, fenoprofen, fluprofen, flurbiprofen, ibuprofen, indoprofen, ketoprofen, miroprofen, naproxen, oxaprozin, pirprofen, pranoprofen, suprofen, axit tiaprofenic và tioxaprofen); các dẫn xuất của axit axetic (ví dụ, indomethacin, acemetacin, alclofenac, clidanac, diclofenac, fenclofenac, axit fenclozic, fentiazac, furofenac, ibufenac, isoxepac, oxpinac, sulindac, tiopinac, tolmetin, zidometacin và zomepirac); các dẫn xuất của axit fenamic (ví dụ, axit flufenamic, axit meclofenamic, axit mefenamic, axit niflumic và axit tolfenamic); các dẫn xuất axit biphenylcarboxylic (ví dụ, diflunisal và flufenisal); oxicam (ví dụ, isoxicam, piroxicam, sudoxicam và tenoxicam); salicylate (ví dụ, axit axetylsalicylic và sulfasalazine); và pyrazolone (ví dụ, apazone, bezpiperylon, feprazone, mofebutazone, oxyphenbutazone và phenylbutazone);

các chất ức chế COX II, như rofecoxib và celecoxib; các chế phẩm chứa interferon beta (ví dụ, interferon beta-1a hoặc interferon beta-1b);

và một số hợp chất khác, như axit 5-aminosalicylic và các tiền dược chất và muối dược dụng của chúng.

Metformin cũng đã được chứng minh là có các tính chất chống viêm (xem, ví dụ, Haffner et al., *Diabetes* 54: 1566-1572 (2005)) và như vậy cũng có thể là hữu ích khi kết hợp với các hợp chất (peptit) theo sáng chế.

Các thiết bị và kit

Trong một số phương án, sáng chế đề cập đến thiết bị chứa hợp chất tương tự amylin hoặc dược phẩm theo sáng chế, để phân phối hợp chất tương tự này cho đối tượng. Bằng các thiết bị này, các hợp chất tương tự amylin có thể được sử dụng cho bệnh nhân bằng nhiều phương pháp phân phối khác nhau, bao gồm: tiêm trong tĩnh mạch, dưới da, trong cơ hoặc trong màng bụng; sử dụng bằng đường miệng; sử dụng qua da; sử dụng trong phổi hoặc qua niêm mạc; sử dụng bằng cách cấy, bơm thẩm thấu, hộp đạn hoặc vi bơm; hoặc bằng các phương tiện khác được biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Trong một số phương án, sáng chế đề cập đến kit chứa hợp chất tương tự amylin theo sáng chế hoặc dược phẩm theo sáng chế. Trong một số phương án, kit này chứa thêm đồ bao gói và/hoặc hướng dẫn sử dụng.

Thiết bị hoặc kit này có thể là hữu ích cho liệu pháp kết hợp như được mô tả trên đây. Do đó thiết bị hoặc kit này có thể chứa thêm hoạt chất khác, ví dụ, chất chống bệnh đái tháo đường, chất chống bệnh béo phì, chất để điều trị hội chứng chuyển hóa, chất chống bệnh rối loạn mỡ máu, chất chống bệnh tăng huyết áp, chất ức chế bơm proton, hoặc chất chống viêm như được mô tả trên đây, hoặc dược phẩm chứa hoạt chất này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây chứng minh một số phương án cụ thể của sáng chế. Các ví dụ sau đây được thực hiện bằng cách sử dụng các kỹ thuật chuẩn đã được biết rõ và thông thường với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, ngoại trừ khi được mô tả chi tiết theo cách khác. Được hiểu là các ví dụ này chỉ nhằm mục đích minh họa và không dự định xác định toàn bộ các điều kiện hoặc phạm vi của sáng chế. Như vậy, chúng không nên được hiểu là làm giới hạn phạm vi của sáng chế theo cách bất kỳ.

Các từ viết tắt được sử dụng trong các ví dụ bao gồm:

Acm:	axetaminometyl
Alloc:	allyloxycarbonyl
Boc:	tert-butoxycarbonyl

BSA:	albumin huyết thanh bò
cAMP:	adenosin monophosphat vòng
COMU TM :	(1-xyano-2-ethoxy-2-oxoethylidenaminoxy)dimethylamino morpholino-carbenium hexaflorophosphat
DCM:	diclorometan
DIPEA:	diisopropyletylamin
DMEM:	Môi trường Eagle biến đổi của Dulbecco
DMF:	N,N-dimetylformamit
DODT:	3,6-dioxa-1,8-octandithiol
ESI-MS:	kỹ thuật đo khối phổ ion hóa tia điện
EtOH:	etanol
Et ₂ O:	dietyl ete
FCS:	huyết thanh thai bê
Fmoc:	9-fluorenylmethoxycacbonyl
HATU:	2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametyluronium hexaflorophosphat
HEPES:	axit N-2-hydroxyetyl piperazin-N'-2-etansulfonic
HPLC:	sắc ký lỏng hiệu năng cao
IBMX:	3-isobutyl-1-metyl xanthine
MeCN:	axetonitril
MS:	khối phổ
NEP:	N-etylpyrrolidone
NMP:	N-metylpyrrolidone
OAll:	allyleste
PBS:	nước muối đệm phosphat
p-ERK:	kinaza được điều hòa ngoại bào được phosphoryl hóa
RP-HPLC:	sắc ký lỏng hiệu năng cao pha đảo
TFA:	axit trifloroaxetic
TIS:	triisopropylsilane
Trt:	trityl (nghĩa là, triphenylmetyl)
v/v:	thể tích/thể tích
w/v:	khối lượng/thể tích

Các ví dụ sau đây được cung cấp để minh họa cho một số phương án của sáng chế và không được dự định làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Phép đo các tham số sinh lý

Trừ khi được xác định theo cách khác, các mức glucoza máu toàn phần được xác định trên các mẫu máu tĩnh mạch đuôi bởi phương pháp điện cực dựa vào enzym Biosen (EKF Diagnostic, Đức). Các mẫu máu được phân tích về glycated hemoglobin (HbA1c) (dạng hemoglobin liên kết cộng hóa trị với glucoza) sử dụng thiết bị phân tích Cobas c111 (Roche Diagnostics, Mannheim, Đức).

Ví dụ 1: Tổng hợp các hợp chất

Các hợp chất sau đây được tổng hợp:

[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Dap()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 1)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Dab()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 2)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 3)
[19CD]-isoGlu-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 4)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 5)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 6)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLHRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNTP-NH ₂	(Hợp chất 7)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 8)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 9)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLARFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 10)

- [19CD]-isoGlu-ED()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂ (Hợp chất 11)
- [19CD]-isoGlu-RD()GEATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂ (Hợp chất 12)
- [19CD]-isoGlu-RD()GTLTK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂ (Hợp chất 13)
- [19CD]-isoGlu-RD()GTASK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂ (Hợp chất 14)
- [19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH₂ (Hợp chất 15)
- [19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂ (Hợp chất 16)
- [19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH₂ (Hợp chất 17)
- [19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂ (Hợp chất 18)
- [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-hLys()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂ (Hợp chất 19)
- [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂ (Hợp chất 20)
- [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH₂ (Hợp chất 21)
- [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLTRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsST-Hyp-NH₂ (Hợp chất 22)
- [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂ (Hợp chất 23)
- [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH₂ (Hợp chất 24)
- [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRATF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂ (Hợp chất 25)

[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRAAF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 26)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRGTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 27)
[19CD]-isoGlu-RD()QTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRGTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 28)
[19CD]-isoGlu-RD()PTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 29)
[19CD]-isoGlu-ED()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 30)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRAAF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 31)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRGGF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 32)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRANF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 33)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 34)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 35)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTETGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 36)
[19CD]-isoGlu-ED()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSFGly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 37)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 38)
[19CD]-isoGlu-KD()GTATK()ATQRLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNTHyp-NH ₂	(Hợp chất 39)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 40)

[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLADFLQRSSF-Gly(Me)- A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 41)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLADFLQRSSF-Gly(Me)- A-Ile(Me)-LSSTETGSNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 42)
[19CD]-isoGlu-KD()GTATK()ATQRLANFLQRSSF-Gly(Me)- A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 43)
[19CD]-isoGlu-KD()GTATK()ATQRLANFLQRSSF-Gly(Me)- A-Ile(Me)-LSSTETGSNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 44)
[19CD]-isoGlu-R-Dap()-GTATD()ATERLAHFLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 45)
[19CD]-isoGlu-R-Dab()-GTATD()ATERLAHFLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 46)
[19CD]-isoGlu-R-Orn()-GTATD()ATERLAHFLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 47)
[19CD]-isoGlu-R-Dap()-GTAT-Aad()-ATERLAHFLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 48)
[19CD]-isoGlu-R-Dab()-GTATE()ATERLAHFLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 49)
[19CD]-isoGlu-R-Aad()-GTAT-Dap()-ATERLAHFLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 50)
[19CD]-isoGlu-RE()GTAT-Dab()-ATERLAHFLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 51)

Với các mục đích so sánh, ba hợp chất có các cầu nối disulphua (thay vì các cầu lactam) và hai hợp chất không được tạo vòng được tổng hợp:

[19CD]-isoGlu-RDGTAT-Orn-ATERLAHFLQRSSF-Sar-A- Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	Ref. 1
[19CD]-isoGlu-RC()GTATC()ATERLAHFLQRSSF-Sar-A- Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	Ref. 2
[19CD]-isoGlu-RDGTAT-Orn-ATERLA-Aad-FLQRSSF-Sar-A- Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	Ref. 3

[19CD]-isoGlu-RC()GTATC()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Sar-A- Ref. 4
Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp-NH₂

[19CD]-isoGlu-RC()NTATC()ATQRLADFLQRSSF-Sar-A- Ref. 5
Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp-NH₂

Hợp chất tham chiếu khác, ký hiệu là NN96, là {N- α -[(S)-4-carboxy-4-(19-carboxynonadecanoylamino)butyryl]-[Arg1,Glu14,His17,Pro37]-pramlintide; được mô tả là Ví dụ 96 trong WO 2012/168430 A2, và có trình tự axit amin RC()NTATC()ATQRLAEFLHHSSNNFGPILPPTNVGSNTP.

Dấu ngoặc đơn “()” chỉ ra các cầu lactam nội phân tử (hoặc cầu nối disulphua, khi thích hợp) được tạo ra giữa các chuỗi bên của các gốc ở vị trí 2 và 7 của các trình tự axit amin tương ứng.

Trừ khi được xác định theo cách khác, chất phản ứng và dung môi được sử dụng sau đây là sẵn có trên thị trường ở cấp độ phân tích hoặc chất phản ứng phòng thí nghiệm chuẩn, và được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

Các quy trình chung để tổng hợp pha rắn các peptit

Thiết bị tổng hợp peptit CEM Liberty hoặc thiết bị tổng hợp peptit CEM Liberty Blue được sử dụng, bằng cách sử dụng hóa học Fmoc chuẩn. Nhựa TentaGel™ S Ram (1 g; 0,25 mmol/g) được làm trương nở trong DMF (10 ml) trước khi sử dụng và được chuyển giữa ống và bình phản ứng bằng cách sử dụng DCM và DMF. Pseudoprolin [nghĩa là, các dipeptit được sử dụng để làm giảm tối đa sự kết tụ trong quá trình tổng hợp peptit, như Fmoc-Phe-Thr(ψ -Me,Me-Pro)-OH và Fmoc-Asp-Ser(ψ -Me,Me-Pro)-OH và Fmoc-Ser-Ser(ψ -Me,Me-Pro)-OH] được sử dụng khi thích hợp, và các axit amin xuất hiện không tự nhiên và các khối xây dựng thích hợp khác được sử dụng mà không có bất kỳ thay đổi nào đối với quy trình chung.

Các chất đồng phân quang học sau đây của các axit amin cụ thể (bao gồm các axit amin xuất hiện không tự nhiên) được sử dụng trong quá trình tổng hợp các hợp chất này:

Hyp: (2S,4R)-4-hydroxyprolin [còn được gọi là (4R)-4-hydroxy-L-prolin].

Aad: axit (2S)-2-aminoadipic

Dab: axit (2S)-2,4-diaminobutanoic

Dap: axit (2S)-2,3-diaminopropanoic

hLys: axit (2S)-2-amino-7-amino-heptanoic, còn được biết là homo-lysine

Gly(Me): N-metylglyxin, còn được biết là sarcosine

Ile(Me): N-metylisoleuxin

Tạo cặp:

Thiết bị tổng hợp peptit CEM Liberty: Fmoc-axit amin trong DMF/DCM (2:1; 0.2 M; 5 mL) được bổ sung vào nhựa trong bộ phận vi sóng CEM Discover cùng với COMU/DMF (0.5 M; 2 mL) và DIPEA/NMP (2.0 M; 1 mL). Hỗn hợp tạo cặp được gia nhiệt đến 75°C trong 5 phút trong khi nitơ được sục qua hỗn hợp. Sau đó, nhựa này được rửa bằng DMF (4 x 10 mL). Theo cách khác, sự tạo cặp được thực hiện mà không gia nhiệt và thời gian phản ứng được kéo dài đến 60 phút trong trường hợp này.

Thiết bị tổng hợp peptit CEM Liberty Blue: axit Fmoc-amino trong DMF (0,2 M; 5 mL) được bổ sung vào nhựa này trong bộ phận vi sóng CEM Discover cùng với DIC/DMF (0,5 M; 2 mL) và Oxyma/DMF (2,0 M; 1 mL). Hỗn hợp tạo cặp được gia nhiệt đến 90°C trong 2 phút trong khi nitơ được sục qua hỗn hợp. Sau đó, nhựa này được rửa bằng DMF (4 x 10 mL). Theo cách khác, sự tạo cặp được thực hiện mà không gia nhiệt và thời gian phản ứng được kéo dài đến 60 phút trong trường hợp này.

Độc lập với loại thiết bị tổng hợp CEM, trong trường hợp tạo cặp khó (ví dụ, tạo cặp gốc ngay sau gốc axit amin N-metyl hóa hoặc gốc axit amin bị cản trở không gian khác như được biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này) sự tạo cặp được lặp lại một hoặc nhiều lần.

Khử bảo vệ:

Piperidine/DMF (1:4, nghĩa là 1 phần piperidine với 4 phần DMF theo thể tích; 10 mL) được bổ sung vào nhựa để khử bảo vệ ban đầu, và hỗn hợp này được gia nhiệt bằng vi sóng (40°C; 30 giây). Bình phản ứng được tháo và phần thứ hai của piperidin/DMF (1:4; 10 mL) được bổ sung vào và được gia nhiệt (75°C; 3 phút). Sau đó, nhựa này được rửa bằng DMF (6 x 10 mL).

Tạo vòng oxy hóa

Sự tạo vòng trong phân tử (tạo cầu disulfua) giữa các gốc Cys ở vị trí 2 và 7 (bắt đầu tạo cặp ở dạng xystein được bảo vệ AcM) được thực hiện với peptit vẫn được gắn vào nhựa này, sử dụng 163 mg thali(III) trifloroaxetat [Tl(TFA)₃] trong 5 mL NMP trong bước tạo disulfua và khử bảo vệ AcM đồng thời. (phương pháp thay thế: bổ sung 10eq iot vào dung dịch 50 mM của peptit liên kết nhựa trong axit axetic và khuấy trong 18-24 h)

Tạo vòng lactam

Quy trình sau đây để tạo cặp Asp và Lys là đại diện cho tất cả các quy trình tạo lactam trong đó chuỗi bên axit amin chứa nhóm chức carboxyl được bảo vệ bằng OAll và chuỗi bên axit amin này chứa nhóm amino được bảo vệ Alloc. Sau khi lắp ráp trình tự peptit hoàn chỉnh, việc khử bảo vệ Asp(OAll) ở vị trí 2 và Lys(Alloc) ở vị trí 7 được thực hiện bằng cách sử dụng 29 mg tetrakis(triphenylphosphine)paladi(0) và phenylsilane 125 μ L trong 20 mL DCM. Sau đó, cầu nối lactam được tạo ra giữa gốc Asp (2) và gốc Lys (7) bằng cách sử dụng 414 mg HCTU và 346 μ L DIPEA trong 20 mL DMF. Cả hai bước đều được thực hiện với peptit vẫn gắn vào nhựa.

Cắt:

Nhựa này được rửa bằng EtOH (3 x 10 mL) và Et₂O (3 x 10 mL) và được làm khô đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ phòng (r.t.). Peptit thô được cắt khỏi nhựa bằng cách xử lý với TFA/TIS/H₂O (90:5:5; 40 mL; 2 h; r.t.) hoặc theo cách khác, với TFA/DODT (95:5; 40 mL; 2 h; r.t.). Hầu hết TFA được loại bỏ dưới áp suất giảm, và peptit thô được kết tủa và rửa ba lần bằng Et₂O và được làm khô đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ phòng.

Tinh chế và mô tả:

Peptit thô được tinh chế bằng HPLC pha đảo điều chế bằng cách sử dụng gradien dung môi A (0,1% dung dịch nước TFA) và dung môi B (0,1% TFA, 90% MeCN trong nước) trên PerSeptive Biosystems VISION Workstation hoặc hệ thống Gilson (Bơm: “Bơm 305”, “Bơm 331”, “Bơm 332”, “Bơm xylanh 402”; thiết bị trao đổi cột “Valvemate® II” bộ phát hiện UV “UV/Vis-155”; và thiết bị hứng phân đoạn “GX 281” được trang bị cột và thiết bị hứng phân đoạn thích hợp) hoặc hệ thống Waters Autopurification HPLC/MS (Hệ thống bơm 2525, Waters 2996 DAD, thiết bị quản lý mẫu Waters 2767, mạch bốn cực đơn MS ZQ. Cột: XSelect CSH 130 Prep C18 5 mm ODB 30x150 mm hoặc Kinetex 5 mm C8 100A 150x21,2 mm). Các phân đoạn được phân tích bằng HPLC phân tích và MS, và các phân đoạn thích hợp được gom lại và làm đông khô. Sản phẩm cuối cùng được phân tích bằng HPLC và MS.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rõ là các phương pháp chuẩn để tổng hợp peptit có thể được sử dụng để tạo ra các hợp chất theo sáng chế.

Ví dụ 2

Các thử nghiệm hCT-R và hAMYR3

Để đánh giá hoạt tính *in vitro* của các peptit thử nghiệm, các dòng tế bào trình diện thụ thể calcitonin người tái tổ hợp (hCT-R) hoặc thụ thể amylin 3 người tái tổ hợp (hAMYR3) trong nền của dòng tế bào u sao bào người 1321N1 được mua từ DiscoverX Corporation (Cat.No. 95-0161C6 và 95-0166C6). hAMYR3 là hetero-oligome của thụ thể calcitonin (đồng phân 2; Gene ID 799) và RAMP3 (Gene ID 10268) mà tạo ra khi cả hai gen được biểu hiện trong cùng một tế bào. Dòng tế bào hCT-R chỉ biểu hiện gen thụ thể calcitonin người tái tổ hợp (Đồng dạng 2; Gene ID 799). Khi hoạt hóa hCT-R hoặc hAMYR3 bằng các peptit thử nghiệm, sự tạo thành cAMP được cảm ứng và được đo bằng cách sử dụng kit thử nghiệm AlphaScreen® cAMP từ Perkin-Elmer (Cat.No. 6760635R).

Nói ngắn gọn, các tế bào 1321N1 trình diện hCT-R hoặc hAMYR3 được gieo vào đĩa vi phiếm 384 giếng (Falcon Optilux White, Cat.-No. 10448642) ở mật độ 5.000 tế bào trong 50 μ L môi trường sinh trưởng mỗi giếng (Kit môi trường nuôi cấy tế bào AssayComplete 1321N1, DiscoverX Corp.), và được ủ trong 24 h ở 37°C, 5% CO₂. Vào ngày phân tích, môi trường sinh trưởng được loại bỏ và các tế bào được kích thích bằng cách bổ sung 10 μ L đệm kích thích (10 nM Hepes độ pH=7,4, 140 nM NaCl, 3,6 nM KCl, 0,5 nM NaH₂PO₄, 0,5nM MgSO₄, 1,5 nM CaCl₂, 5 nM NaHCO₃, 0,5 nM IBMX, 0,1% BSA) chứa các nồng độ tăng dần của các peptit thử nghiệm, và ủ trong 45 phút ở nhiệt độ phòng. Phản ứng kích thích được dừng lại bằng cách bổ sung 5,6 μ L/giếng hỗn hợp phát hiện hạt cho (5 mM Hepes độ pH=7,4, 0,5% TWEEN 20, 0,1% BSA, 0,05 mg/mL hạt cho, 62,5 nM cAMP được bitotin hóa) và 4,5 μ L/giếng dung dịch hạt nhận (5 mM Hepes độ pH=7,4, 0,5% TWEEN 20, 0,1% BSA, 0,05 mg/mL hạt nhận). Sau khi trộn kỹ, các đĩa được ủ trong bóng tối trong 1 h ở nhiệt độ phòng và hàm lượng cAMP của dịch dung giải tế bào thu được được ước tính theo hướng dẫn của nhà sản xuất AlphaScreen® cAMP Assay. Các giá trị EC₅₀ được ước tính bằng các vẽ đường cong thực nghiệm được hỗ trợ bởi máy tính từ các kết quả của ít nhất là 7 nồng độ hợp chất khác nhau.

Các kết quả về hoạt tính *in vitro* (được thể hiện bằng các giá trị EC₅₀) được tổng kết trong Bảng 1, dưới đây.

Ví dụ 3

Xác định độ tan

Peptit thử nghiệm được cân vào lọ thủy tinh thích hợp và đệm tương ứng (đệm axetat độ pH=4,0, đệm phosphat độ pH=6, đệm histidin độ pH=6 và 7; tất cả đều ở nồng độ 40 mM) được bổ sung vào đến tổng thể tích là 0,5 mL.

Các lọ được lắc ở nhiệt độ phòng trong 2 h và được lọc qua thiết bị lọc 0,45 μ m. Các dung dịch thu được được phân tích bằng RP-HPLC trên cột C18 kèm theo rửa giải gradien bằng cách sử dụng hệ rửa giải axit formic/axetonitril/nước. Diện tích pic chính được xác định bằng quang phổ UV ở 230 nm ở mỗi thời điểm lấy mẫu. Nồng độ hòa tan được tính toán bằng phương pháp chuẩn ngoại.

Ví dụ 4

Đánh giá độ ổn định vật lý

Sự kết tụ ở dạng tạo sợi được phát hiện bằng cách sử dụng chất màu đặc hiệu amyloid Thioflavin T (ThT), mà thường được sử dụng để chứng minh sự có mặt của các sợi trong dung dịch (xem, ví dụ, Groenning, M., J. Chem. Biol. **3**(1) (2010), pp. 1-18; Groenning et al., J. Struct. Biol. **158** (2007) pp. 358-369; và Levine, H., III, Protein Sci. **2** (1993) pp. 404-410). Các peptit thử nghiệm (2 mg/mL) được hòa tan trong nước khử khoáng đã điều chỉnh đến độ pH=2,5 với HCl, ở nhiệt độ xung quanh (thường là 25°C). Các dung dịch chứa (i) 1 mg/mL peptit thử nghiệm, 40 μ M ThT và 50 mM đệm phosphat (Ph) (độ pH=7,0), (ii) 1 mg/mL peptit thử nghiệm, 40 μ M ThT và 50 mM đệm histidin (His) (độ pH=7,0), và (iii) 1 mg/mL peptit thử nghiệm, 40 μ M ThT và 50 mM đệm axetat (Ac) (độ pH=4,0), được nạp vào đĩa huỳnh quang đen 96 giếng (đáy trong) lặp lại ba lần. Số liệu được thu thập ở các khoảng cách cố định là 10 phút, mỗi lần đều là sau 300 giây trộn tự động (khuấy) trong thời gian 96 giờ ở 40°C. Độ ổn định vật lý được xác định bằng cách đo cường độ huỳnh quang theo thời gian. Sự tăng đáng kể cường độ được đánh giá là phát hiện thấy sự tạo sợi (FD). Số liệu được tổng kết trong bảng 1 dưới đây.

Ví dụ 5

Đánh giá độ ổn định hóa học

Các mẫu của mỗi peptit thử nghiệm được hòa tan trong đệm axetat độ pH=4 và đệm phosphat độ pH=6 và 7 (tất cả là đệm 40 mM). Nồng độ peptit cuối cùng là 1 mg/mL. Các mẫu được đặt trong lọ thủy tinh và được ủ ở 40°C. Các mẫu được phân tích bằng RP-HPLC trên cột C8 kèm theo rửa giải gradien bằng cách sử dụng hệ rửa giải axit

trifloroaxetic/axetonitril/nước. Tỷ lệ phần trăm diện tích (% diện tích) của pic chính được xác định bằng quang phổ UV ở 220 nm ở mỗi thời điểm lấy mẫu.

% phân hủy được tính toán bằng cách lấy tỷ lệ phần trăm diện tích pic chính ở mỗi thời điểm lấy mẫu trừ đi tỷ lệ phần trăm diện tích pic chính ở thời điểm bắt đầu ($t = 0$).

Các kết quả của phép đánh giá độ ổn định hóa học sau thời gian ủ 3 ngày được tổng kết là % phân hủy trong Bảng 1 (dưới đây).

Các kết quả của phép đánh giá độ ổn định hóa học sau thời gian ủ 14 ngày được tổng kết là % phân hủy trong Bảng 2 (dưới đây).

Trong phân tích khác, các peptit được hòa tan trong nước MilliQ và độ pH được điều chỉnh đến 4,0, 7,5 hoặc 9,0. Các mẫu được đặt trong lọ thủy tinh và được ủ ở 40°C. Các mẫu được phân tích bằng RP-HPLC trên cột C8 kèm theo rửa giải gradien bằng cách sử dụng hệ rửa giải axit trifloroaxetic/axetonitril/nước. Tỷ lệ phần trăm diện tích (% diện tích) của pic chính được xác định bằng quang phổ UV ở 220 nm ở mỗi thời điểm lấy mẫu.

% phân hủy được tính toán bằng cách lấy tỷ lệ phần trăm diện tích pic chính ở mỗi thời điểm lấy mẫu trừ đi tỷ lệ phần trăm diện tích pic chính ở thời điểm bắt đầu ($t = 0$).

Các kết quả của phép đánh giá độ ổn định hóa học sau thời gian ủ 8 ngày được tổng kết là % phân hủy trong Bảng 3 (dưới đây).

Bảng 1. Số liệu EC₅₀, độ ổn định hóa học và sự tạo sợi

Hợp chất số	hCT-R	hAM YR3	Sự tạo sợi* (trong dung dịch đậm)			% phân hủy sau 72h ở 40°C		
	EC50 [nM]	EC50 [nM]	độ pH=4 axetat	độ pH=7 histidin	Độ pH=7 phosphat	độ pH=4 axetat	độ pH=6 phosphat	độ pH=7 phosphat
1	13,6	9,3						
2	0,105	0,032						
3	0,081	0,035	FND	FND	FD	< 1	3,2	1,2
4	0,160	0,092	FND	FND	FND	< 1	< 1	< 1
5	0,114	0,032						
6	0,327	0,011						
7	0,289	0,032						
8	0,129	0,059	FND	FND	FND	< 1	< 1	< 1
9	0,027	0,013						
10	0,345	0,068	FD	FND	FND	< 1	< 1	< 1
11	0,068	0,024	FND	FND	FND	< 1	< 1	< 1
12	0,893	0,999						
13	1,411	0,456						
14	0,386	0,108						
15	0,056	0,017	FND	FD	FD	< 1	< 1	< 1
16	0,043	0,035						
17	0,058	0,025	FND	FND	FND	1,2	< 1	< 1
18	0,085	0,031	FND	FND	FND	< 1	< 1	< 1
19	0,028	0,006						
20	0,009	0,003	FD	FND	FND	1,0	1,3	2,0
21	0,037	0,010	FND	FND	FND	< 1	< 1	< 1
22	0,474	0,051						
23	1,931	0,706						
24	0,038	0,013						
25	0,844	0,336	FND	FND	FND	-	-	< 1
26	0,769	0,120						

27	0,521	0,325	FND	FND	FND	< 1	< 1	1,7
28	1,229	0,268						
29	1,070	0,312						
30	0,232	0,122	FD	FND	FND			
31	0,227	0,066						
32	0,006	0,005	FD	FND	FND	1,3	< 1	2,2
33	0,019	0,009	FND	FND	FND	< 1	1	< 1
34	0,206	0,063	FND	FND	FND	< 1	< 1	2,8
35	0,066	0,028	FND	FND	FND	< 1	< 1	1,4
36	0,026	0,007	FD	FND	FND	2,5	2,1	1,0
37	0,116	0,031	FD	FND	FND	-	< 1	3,0
38	0,114	0,060	FD	FND	FND	< 1	< 1	< 1
39	0,094	0,024	FD	FND	FND	< 1	< 1	< 1
40	0,028	0,008	FD	FND	FND	1,1	< 1	< 1
41	0,095	0,024	FND	FND	FND	< 1	< 1	< 1
42	0,006	0,003						
43	0,021	0,007	FD	FD	FD			
44	0,020	0,009	FD	FND	FND			
45	299	279						
46	7,5	5,5						
47	10,8	7,7						
48	0,107	0,020						
49	1,038	0,442						
50	3,3	1,5						
51	0,861	0,306						
Tham chiếu 1	20,3	17,1						
Tham chiếu 2	0,019	0,003						
Tham chiếu 3	18,2	13,2						
Tham chiếu 4	0,075	0,031	FND	FND	FND			
Tham chiếu 5	0,063	0,028	FD	FND	FND			

*FND = không phát hiện được sự tạo sợi; FD = phát hiện được sự tạo sợi

Bảng 2. Độ ổn định hóa học

Hợp chất số	% phân hủy sau 14 ngày ở 40°C		
	độ pH=4 axetat	độ pH=6 phosphat	độ pH=7 phosphat
32	<1	<1	<1
41	1,1	<1	<1
10	1,9	1,8	9,1
14	2,2	<1	2,6
18	<1	1,0	1,9
37	ND	<1	<1
36	ND	1,6	<1
4	1,6	<1	6,4
38	ND	ND	<1
20	ND	<1	3,7
16	ND	<1	ND
3	ND	1,0	ND
35	2	<1	<1
Tham chiếu 2	<1	4,6	ND
Tham chiếu 4	3,2	12,6	20,3
Tham chiếu 5	3,0	5,1	12,7
NN96	3,0	10,1	33,2

ND – không xác định

Bảng 3. Độ ổn định hóa học

Hợp chất số	% phân hủy sau 8 ngày ở 40°C		
	độ pH=4	độ pH=7,5	độ pH=9
51	3,1	4,6	4,6
49	1,7	2,1	3,0
48	1,8	2,3	2,5
19	3,9	6,2	4,2

Ví dụ 6Lập hồ sơ dược động học (PK) ở chuột

Chuột đực Sprague Dawley được tiêm dưới da (sc) liều lớn trong thời gian ngắn một lần duy nhất mỗi peptit được thử nghiệm, như được chỉ ra dưới đây.

Các liều 30 nmol/kg của hợp chất được sử dụng. Các mẫu máu được rút từ tĩnh mạch đuôi trước khi sử dụng liều và ở 24 và 96 giờ sau khi sử dụng liều. Các con chuột được gây chết ngay lập tức sau khi lấy mẫu máu lần cuối bằng cách gây chấn động và làm trật khớp cổ.

Tá dược lỏng cho liều được sử dụng cho mỗi peptit thử nghiệm là đệm histidin chứa mannitol (độ pH=7,0). Các mẫu huyết tương được phân tích sau khi kết tủa với etanol bằng phép đo phổ khối sắc ký lỏng (LC-MS/MS). Các nồng độ huyết tương trung bình được sử dụng để tính toán các tham số dược động học.

Thời gian bán thải cuối cùng trong huyết tương ($t_{1/2}$) được xác định là $\ln(2)/\lambda_z$, trong đó λ_z là biên độ của đường dốc của sự hồi quy tuyến tính log của nồng độ log theo profile thời gian trong pha kết thúc.

Kết quả

Thời gian bán thải cuối cùng trong huyết tương ($t_{1/2}$) cho tất cả các peptit được thử nghiệm đều được xác định là nằm trong khoảng 21,3 h đến 36,1 h.

Bảng 4: thời gian bán thải in vivo

Hợp chất số	$t_{1/2}$ [h]
3	21,3
4	31,9
18	30,1
20	31,1
35	36,1
38	31,8

Ví dụ 7

Tác dụng đối với sự hấp thu thức ăn cấp tính và khối lượng cơ thể ở chuột Sprague Dawley bình thường

Chuột Sprague Dawley (SD) thu được từ Janvier Labs, Pháp. Các động vật được đưa đến ít nhất là 14 ngày trước khi nghiên cứu bắt đầu để cho phép thích nghi với các điều kiện thử nghiệm. Từ khi đến và trong toàn bộ nghiên cứu, các con chuột được nhốt thành các nhóm từ 2 đến 4 con ($n = 2-4$) trong phòng được kiểm soát về ánh sáng, nhiệt độ, và độ ẩm. Các động vật được tiếp cận thức ăn (KLIBA 3430, Provimi Kliba AG, Thụy Sĩ) và nước (nước máy có chất lượng nội địa) theo nhu cầu trong toàn bộ nghiên cứu. Mỗi nhóm bao gồm 6-8 chuột. Nhóm tá được lỏng và nhóm đối chứng dương được bao gồm trong mỗi bộ thử nghiệm. Các con chuột được sử dụng liều dưới da (sc) một lần vào buổi sáng 1 giờ trước khi tắt đèn, sử dụng liều peptit thử nghiệm được điều chỉnh theo khối lượng cơ thể (30 nmol/kg). Thể tích liều là 2 ml/kg. Sự hấp thu thức ăn được ghi lại trực tuyến bằng cách sử dụng hệ thống hấp thu thức ăn tự động hóa (HM02, MBRose, Đan Mạch) trong 4 ngày hoặc bằng cách thủ công ở 0 h trước khi sử dụng liều và sau đó là 24, 48, 72 và 96 h sau khi sử dụng liều. Khối lượng cơ thể được đo hàng ngày.

Các phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng GraphPad™ Prism phiên bản 7. Các tham số đo được được so sánh bằng cách sử dụng ANOVA hai chiều sau đó là kiểm thử so sánh bội số của Dunnett. Các khác biệt được xem là có ý nghĩa thống kê ở $p < 0,05$.

Kết quả

48 h sau khi sử dụng liều, mỗi hợp chất thử nghiệm (ngoại trừ hợp chất 30 và 37) đều gây ra tác dụng ức chế hấp thu thức ăn rõ ràng, có ý nghĩa thống kê (hiệu chỉnh tá được lỏng, theo %). Sự giảm hấp thu thức ăn được phản ánh bởi sự giảm khối lượng cơ thể (hiệu chỉnh tá được lỏng, theo %). Sau đó tiếp tục cho ăn như bình thường.

Bảng 5. Tác dụng đối với sự hấp thu thức ăn và khối lượng cơ thể

Hợp chất số	Sự giảm hấp thu thức ăn theo % ở 48h Liều: 30 nmol/kg	Sự giảm khối lượng cơ thể theo % ở 48h Liều: 30 nmol/kg
41	75	11
35	72	12
18	58	10
39	76	9,2
40	83	7,3
37	24	4,3
30	< 20	0
36	44 (ở liều là 10 nmol/kg)	5,2 (ở liều là 10 nmol/kg)
4	34	4,6
38	43	8,2
20	49	7,8
15	71	7,7
16	66	7,4
3	34	5,6

Ví dụ 8

Sự thay đổi mức glucoza cơ sở đã cho ăn cấp tính ở chuột ZDF bị đái tháo đường

Chuột đực béo phì bị đái tháo đường Zucker (ZDF-Lepr^{fa}/Crl) thu được từ Charles River, US. Các động vật được làm cho thích nghi với các điều kiện thử nghiệm trong ít nhất là 14 ngày trước khi bắt đầu nghiên cứu. Từ khi đến và trong toàn bộ nghiên cứu, các con chuột được nhốt thành các nhóm 2 con (n = 2) trong phòng được kiểm soát về ánh sáng, nhiệt độ, và độ ẩm. Các động vật được tiếp cận thức ăn (KLIBA 2437, Provimi Kliba AG, Switzerland) và nước (nước máy có chất lượng nội địa) theo nhu cầu trong toàn bộ nghiên cứu.

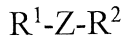
Chuột được chia ngẫu nhiên theo glucoza máu, HbA1c và khối lượng cơ thể thành nhóm thử nghiệm và nhóm tá dược lỏng đã được chỉ định. Tổng số động vật mỗi nhóm là 10 (n=10). Các con chuột được sử dụng liều dưới da (sc) một lần vào buổi sáng bằng cách sử dụng liều peptit thử nghiệm được điều chỉnh theo khối lượng cơ thể (10 nmol/kg). Thể tích liều là 2 ml/kg.

Mức nồng độ glucoza máu trong các mẫu máu đuôi được lấy ở 24, 72, 96 và 168 giờ sau khi sử dụng liều và các mức nồng độ glucoza máu được xác định bằng cách sử dụng máy đo glucoza (GlucoSmart SwingTM; MSP Bodmann GmbH, Đức).

Các phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng GraphPadTM Prism phiên bản 7. Các tham số đo được được so sánh bằng cách sử dụng ANOVA hai chiều sau đó là các kiểm thử so sánh bội số Sidak. Các khác biệt được xem là có ý nghĩa thống kê ở $p < 0,05$.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất tương tự amylin, trong đó hợp chất này là hợp chất có công thức:

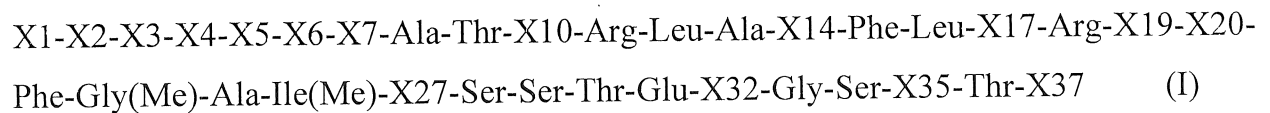


trong đó

R^1 là hydro, C_{1-4} axyl, benzoyl hoặc C_{1-4} alkyl, hoặc gốc kéo dài thời gian bán thải M, trong đó M tùy ý được liên kết với Z qua gốc liên kết L;

R^2 là OH hoặc NHR^3 , trong đó R^3 là hydro hoặc C_{1-3} -alkyl; và

Z là trình tự axit amin có công thức I:



trong đó

X1 được chọn từ nhóm bao gồm Arg, Lys và Glu;

X3 được chọn từ nhóm bao gồm Gly, Gln và Pro;

X4 được chọn từ nhóm bao gồm Thr và Glu;

X5 được chọn từ nhóm bao gồm Ala và Leu;

X6 được chọn từ nhóm bao gồm Thr và Ser;

X10 được chọn từ nhóm bao gồm Glu và Gln;

X14 được chọn từ nhóm bao gồm Aad, His, Asp, Asn và Arg;

X17 được chọn từ nhóm bao gồm Gln, His và Thr;

X19-X20 được chọn từ Ser-Ser, Thr-Thr, Ala-Thr, Ala-Ala, Gly-Thr, Gly-Gly và Ala-Asn hoặc không có mặt;

X27 được chọn từ nhóm bao gồm Leu và Pro;

X32 được chọn từ nhóm bao gồm Val và Thr;

X35 được chọn từ nhóm bao gồm Asn và Ser;

X37 được chọn từ nhóm bao gồm Hyp và Pro; và

X2 và X7 là các gốc axit amin có các chuỗi bên cùng với tạo thành cầu lactam,

trong đó

X2 là Asp và X7 là Lys;

X2 là Asp và X7 là Orn;

X2 là Asp và X7 là Dab;

X2 là Asp và X7 là hLys;

X2 là Dap và X7 là Aad;

X2 là Glu và X7 là Dab; hoặc

X2 là Dab và X7 là Glu;

hoặc muối hoặc solvat được dụng của chúng.

2. Hợp chất tương tự amylin hoặc muối được dụng của chúng theo điểm 1, trong đó:

(i) X1 được chọn từ Arg và Lys;

(ii) X3 là Gly, X4 là Thr, X5 là Ala và/hoặc X6 là Thr;

(iii) X3 là Gly, X4 là Thr, X5 là Ala và X6 là Thr;

(iv) X14 được chọn từ His, Asp và Aad;

(v) X17 là Gln;

(vi) X19-X20 được chọn từ Ser-Ser và Thr-Thr, hoặc không có mặt; và/hoặc

(vii) X32 là Val, X35 là Asn và/hoặc X37 là Hyp.

3. Hợp chất tương tự amylin hoặc muối được dụng của chúng theo điểm 1, trong đó Z là trình tự axit amin có công thức II:

X1-X2-Gly-Thr-Ala-Thr-X7-Ala-Thr-X10-Arg-Leu-Ala-X14-Phe-Leu-Gln-Arg-X19-X20-Phe-Gly(Me)-Ala-Ile(Me)-X27-Ser-Ser-Thr-Glu-Val-Gly-Ser-Asn-Thr-Hyp (II)

trong đó

X1 được chọn từ Arg và Lys;

X10 được chọn từ nhóm bao gồm Glu và Gln;

X14 được chọn từ nhóm bao gồm Aad, Asp và His;

X19-X20 được chọn từ Ser-Ser và Thr-Thr hoặc vắng mặt;

X27 được chọn từ nhóm bao gồm Leu và Pro; và

X2 và X7 là các gốc axit amin có các chuỗi bên cùng với nhau tạo thành cầu lactam, trong đó:

X2 là Asp và X7 là Lys;

X2 là Asp và X7 là Orn;

X2 là Asp và X7 là Dab;

X2 là Asp và X7 là hLys;

X2 là Dap và X7 là Aad;

X2 là Glu và X7 là Dab; or

X2 là Dab và X7 là Glu.

4. Hợp chất tương tự amylin hoặc muối được dụng của chúng theo điểm 3, trong đó X14 là Aad, X19-X20 là Ser-Ser và X27 là Leu.

5. Hợp chất tương tự amylin hoặc muối được dụng của chúng theo điểm 1, trong đó Z là trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm:

RD()GTAT-Dab()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLHRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNTP;
 RD()GTAT-Orn()-ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GTAT-Orn()-ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GTAT-Orn()-ATERLARFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp;
 ED()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GEATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GTLTK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GTASK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GTATK()ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GTATK()ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GTAT-hLys()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLTRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsST-Hyp;
 RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp;
 RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRATF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp;

RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRAAF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp;
 RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRGTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp;
 RD()QTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRGTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp;
 RD()PTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp;
 ED()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp;
 RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRAAF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp;
 RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRGGF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp;
 RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRANF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp;
 RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp;
 RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp;
 RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTETGST-Hyp;
 ED()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSFGly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp;
 RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp;
 KD()GTATK()ATQRLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp;
 RD()GTATK()ATQRLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp;
 RD()GTATK()ATQRLADFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp;
 RD()GTATK()ATQRLADFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTETGST-Hyp;
 KD()GTATK()ATQRLANFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp;
 KD()GTATK()ATQRLANFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTETGST-Hyp;
 R-Dap()-GTAT-Aad()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp;
 R-Dab()-GTATE()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp; và
 RE()GTAT-Dab()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp;
 trong đó dấu ngoặc đơn () chỉ ra cầu lactam nội phân tử được tạo ra giữa các chuỗi bên của
 các gốc ở các vị trí 2 và 7.

6. Hợp chất tương tự amylin hoặc muối được dùng của chúng theo điểm bất kỳ trong các điểm trên đây, trong đó R¹ là M hoặc M-L-.

7. Hợp chất tương tự amylin hoặc muối được dùng của chúng theo điểm 6, trong đó M là nhóm thế ưa dầu chứa chuỗi hydrocarbon có từ 10 đến 24 nguyên tử C, ví dụ từ 14 đến 22 nguyên tử C, ví dụ, từ 16 đến 20 nguyên tử C, trong đó nhóm thế ưa dầu này tùy ý chứa nhóm axit carboxylic ở tận cùng của chuỗi hydrocarbon, và còn tùy ý trong đó, nhóm thế

ura đầu là gốc 15-carboxy-pentadecanoyl, 17-carboxy-heptadecanoyl hoặc 19-carboxy-nonadecanoyl.

8. Hợp chất tương tự amylin hoặc muối được dụng của chúng theo điểm 6 hoặc điểm 7, trong đó cầu nối L chứa các gốc Gly, Pro, Ala, Val, Leu, Ile, Met, Cys, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Gln, Asn, α -Glu, γ -Glu, ϵ -Lys, Asp, β -Asp, Ser, Thr, Gaba, Aib, β -Ala (nghĩa là, 3-aminopropanoyl), 4-aminobutanoyl, 5-aminopentanoyl, 6-aminohexanoyl, 7-aminoheptanoyl, 8-aminooctanoyl, 9-aminononanoyl, 10-aminodecanoyl hoặc 8Ado (nghĩa là, 8-amino-3,6-dioxaoctanoyl), ví dụ, trong đó L là gốc Glu, γ -Glu, ϵ -Lys, β -Ala, 4-aminobutanoyl, 8-aminooctanoyl hoặc 8Ado.

9. Hợp chất tương tự amylin hoặc muối được dụng của chúng theo điểm 8, trong đó R1 là nhóm 19-carboxy-nonadecanoyl được liên kết đồng hóa trị với nhóm alpha amino của cầu nối axit iso-glutamic ([19CD]-isoGlu).

10. Hợp chất tương tự amylin hoặc muối được dụng của chúng theo điểm bất kỳ trong các điểm trên đây, trong đó R² là NH₂.

11. Hợp chất tương tự amylin theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:

[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Dab()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH₂ (Hợp chất 2)

[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH₂ (Hợp chất 3)

[19CD]-isoGlu-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH₂ (Hợp chất 4)

[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp-NH₂ (Hợp chất 5)

[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH₂ (Hợp chất 6)

[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLHRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSTP-NH₂ (Hợp chất 7)

[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH₂ (Hợp chất 8)

[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 9)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLARFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 10)
[19CD]-isoGlu-ED()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 11)
[19CD]-isoGlu-RD()GEATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 12)
[19CD]-isoGlu-RD()GTLTK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 13)
[19CD]-isoGlu-RD()GTASK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 14)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 15)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 16)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 17)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 18)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-hLys()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 19)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 20)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 21)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLTRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsST-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 22)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 23)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 24)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRATF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 25)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRAAF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 26)

[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRGTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 27)
[19CD]-isoGlu-RD()QTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRGTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 28)
[19CD]-isoGlu-RD()PTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 29)
[19CD]-isoGlu-ED()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 30)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRAAF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 31)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRGGF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 32)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRANF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 33)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 34)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 35)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTETGSNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 36)
[19CD]-isoGlu-ED()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSFGly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 37)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 38)
[19CD]-isoGlu-KD()GTATK()ATQRLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNTHyp-NH ₂	(Hợp chất 39)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 40)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLADFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 41)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLADFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTETGSNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 42)
[19CD]-isoGlu-KD()GTATK()ATQRLANFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 43)
[19CD]-isoGlu-KD()GTATK()ATQRLANFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTETGSNT-Hyp-NH ₂	(Hợp chất 44)

[19CD]-isoGlu-R-Dap()-GTAT-Aad()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂ (Hợp chất 48)

[19CD]-isoGlu-R-Dab()-GTATE()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂ (Hợp chất 49)

[19CD]-isoGlu-RE()GTAT-Dab()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂ (Hợp chất 51)

hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng;

trong đó dấu ngoặc đơn () chỉ ra cầu lactam nội phân tử được tạo ra giữa các chuỗi bên của các gốc ở vị trí 2 và 7.

12. Hợp chất tương tự amylin theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:

[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH₂;

trong đó dấu ngoặc đơn () chỉ ra cầu lactam nội phân tử được tạo ra giữa các chuỗi bên của các gốc ở vị trí 2 và 7.

13. Hợp chất tương tự amylin theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:

[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂;

trong đó dấu ngoặc đơn () chỉ ra cầu lactam nội phân tử được tạo ra giữa các chuỗi bên của các gốc ở vị trí 2 và 7.

14. Hợp chất tương tự amylin theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:

[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂;

trong đó dấu ngoặc đơn () chỉ ra cầu lactam nội phân tử được tạo ra giữa các chuỗi bên của các gốc ở vị trí 2 và 7.

15. Hợp chất tương tự amylin theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:

[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-hLys()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂;

trong đó dấu ngoặc đơn () chỉ ra cầu lactam nội phân tử được tạo ra giữa các chuỗi bên của các gốc ở vị trí 2 và 7.

16. Hợp chất tương tự amylin theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:

[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂;

trong đó dấu ngoặc đơn () chỉ ra cầu lactam nội phân tử được tạo ra giữa các chuỗi bên của các gốc ở vị trí 2 và 7.

17. Hợp chất tương tự amylin theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:

[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂;

trong đó dấu ngoặc đơn () chỉ ra cầu lactam nội phân tử được tạo ra giữa các chuỗi bên của các gốc ở vị trí 2 và 7.

18. Hợp chất tương tự amylin theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:

[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTETGsNT-Hyp-NH₂;

trong đó dấu ngoặc đơn () chỉ ra cầu lactam nội phân tử được tạo ra giữa các chuỗi bên của các gốc ở vị trí 2 và 7.

19. Hợp chất tương tự amylin theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:

[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂;

trong đó dấu ngoặc đơn () chỉ ra cầu lactam nội phân tử được tạo ra giữa các chuỗi bên của các gốc ở vị trí 2 và 7.

20. Hợp chất tương tự amylin theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:

[19CD]-isoGlu-KD()GTATK()ATQRLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂;

trong đó dấu ngoặc đơn () chỉ ra cầu lactam nội phân tử được tạo ra giữa các chuỗi bên của các gốc ở vị trí 2 và 7.

21. Hợp chất tương tự amylin theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:

[19CD]-isoGlu-RD()₂GTATK()₂ATQRLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp-NH₂;

trong đó dấu ngoặc đơn () chỉ ra cầu lactam nội phân tử được tạo ra giữa các chuỗi bên của các gốc ở vị trí 2 và 7.

22. Hợp chất tương tự amylin theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:

[19CD]-isoGlu-RD()₂GTATK()₂ATQRLADFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp-NH₂;

trong đó dấu ngoặc đơn () chỉ ra cầu lactam nội phân tử được tạo ra giữa các chuỗi bên của các gốc ở vị trí 2 và 7.

23. Muối được dụng của hợp chất tương tự amylin theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 12 đến 22.

24. Dược phẩm chứa hợp chất tương tự amylin hoặc muối được dụng của chúng theo điểm bất kỳ trong các điểm trên đây kết hợp với chất mang, tá dược hoặc tá dược lỏng được dụng.

25. Phương pháp tổng hợp hợp chất tương tự amylin hoặc muối được dụng của chúng theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 1 đến 22 bao gồm bước tổng hợp hợp chất tương tự này bằng hệ phương pháp tổng hợp peptit pha rắn hoặc pha lỏng, tùy ý tách và/hoặc tinh chế sản phẩm cuối cùng, và tùy ý bao gồm thêm bước tạo liên kết amit giữa các chuỗi bên ở vị trí 2 và 7.