



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

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

(11)



1-0048946

(51)⁷ A61K 38/26; C07K 14/605; A61K (13) B
45/06; A61K 47/50; A61K 38/17; A61K
38/28

(21) 1-2019-00045

(22) 29/06/2017

(86) PCT/KR2017/006922 29/06/2017

(87) WO2018/004283 04/01/2018

(30) 10-2016-0081995 29/06/2016 KR; 10-2016-0182982 29/12/2016 KR; 10-2017-0069217 02/06/2017 KR

(45) 25/07/2025 448

(43) 25/04/2019 373A

(73) HANMI PHARM. CO., LTD. (KR)

214, Muha-ro, Paltan-myeon, Hwaseong-si, Gyeonggi-do 18536, Republic of Korea

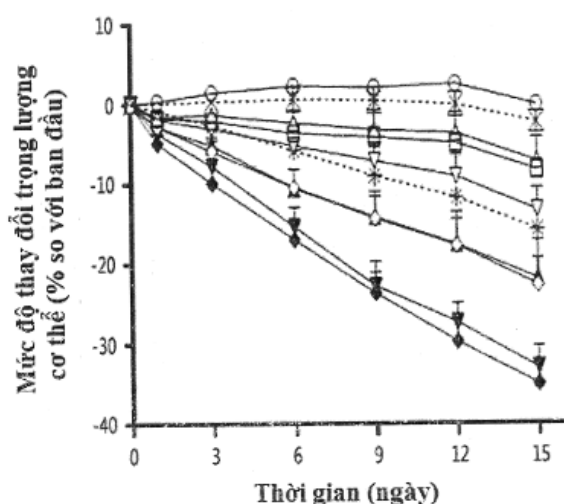
(72) KIM, Jung Kuk (KR); PARK, Young Jin (KR); CHOI, In Young (KR); JUNG, Sung Youb (KR).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) DƯỢC PHẨM PHÒNG NGỪA HOẶC ĐIỀU TRỊ HỘI CHỨNG TĂNG INSULIN MÁU BẨM SINH VÀ THỂ TIẾP HỢP PHÂN LẬP

(21) 1-2019-00045

(57) Sáng chế đề cập đến được phẩm phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh chứa peptit chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.13, và SEQ ID NO.36 đến SEQ ID NO.44; thể tiếp hợp phân lập; được phẩm phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng hạ đường máu; và được phẩm phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng chuyển hóa.



- Tá dược
- Dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (3,3nmol/kg)
- △ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 1,6nmol/kg)
- ◇ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 3,3nmol/kg)
- ▽ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 6,6nmol/kg)
- Dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (3,3nmol/kg)
- Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 1,6nmol/kg)
- ▲ Dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (3,3nmol/kg) + Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 3,3nmol/kg)
- ▼ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 3,3nmol/kg) + Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 6,6nmol/kg)
- × Được cho ăn theo cặp (với nhóm được tiêm dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO: 12, 3,3nmol/kg))
- * Được cho ăn theo cặp (với nhóm được tiêm dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (3,3nmol/kg) và dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO: 12, 3,3nmol/kg))

Fig.1

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến dẫn xuất peptit glucagon, thể tiếp hợp chứa dẫn xuất peptit glucagon này, và dược phẩm chứa chúng để điều trị hội chứng chuyển hóa, hội chứng hạ đường máu, và hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Do tăng trưởng kinh tế gần đây và những thay đổi trong chế độ dinh dưỡng, v.v., tỷ lệ mắc các bệnh liên quan đến hội chứng chuyển hóa bao gồm các bệnh khác nhau, như bệnh béo phì, hội chứng tăng lipit máu, bệnh tăng huyết áp, hội chứng xơ cứng động mạch, hội chứng tăng insulin máu, bệnh đái tháo đường, và bệnh gan đang tăng nhanh. Các bệnh này có thể xuất hiện một cách độc lập nhưng nhìn chung các bệnh này chủ yếu xuất hiện trong mối liên chặt chẽ với nhau, kèm theo các triệu chứng khác nhau.

Tình trạng thừa cân và bệnh béo phì là nguyên nhân làm tăng huyết áp và nồng độ cholesterol và gây ra hoặc làm trầm trọng hơn các bệnh khác nhau, như bệnh tim, bệnh đái tháo đường, bệnh viêm khớp, v.v. Ngoài ra, vấn đề nghiêm trọng của bệnh béo phì cũng là nguyên nhân chính làm tăng tỷ lệ mắc hội chứng xơ cứng động mạch, bệnh tăng huyết áp, hội chứng tăng lipit máu, hoặc bệnh tim ở trẻ em hoặc trẻ thanh thiếu niên cũng như ở người trưởng thành.

Tuy nhiên, không dễ điều trị bệnh béo phì, do bệnh béo phì là bệnh phức tạp liên quan đến cơ chế kiểm soát chứng thèm ăn và chuyển hóa năng lượng. Theo đó, việc điều trị bệnh béo phì không chỉ cần có nỗ lực của đối tượng bị bệnh mà còn cần có phương pháp có thể điều trị các cơ chế bất thường liên quan đến kiểm soát chứng thèm ăn và chuyển hóa năng lượng. Do đó, nhiều nỗ lực đã được thực hiện để phát triển các dược chất để điều trị các cơ chế bất thường này.

Kết quả của các nỗ lực này là các dược chất, như Rimonabant[®] (Sanofi-Aventis), Sibutramin[®] (Abbott), Contrave[®] (Takeda), Orlistat[®] (Roche), v.v. đã được phát triển, tuy nhiên các dược chất này có nhược điểm là gây ra các tác dụng không mong muốn nghiêm

trọng hoặc tác dụng chống béo phì rất thấp. Ví dụ, theo một báo cáo, Rimonabant[®] có tác dụng không mong muốn là gây ra rối loạn hệ thần kinh trung ương, Sibutramin[®] và Contrave[®] có tác dụng không mong muốn trên hệ tim mạch, và Orlistat[®] có tác dụng làm giảm trọng lượng cơ thể chỉ khoảng 4kg khi được sử dụng trong một năm.

Đồng thời, glucagon được sản sinh bởi tuyến tụy khi nồng độ glucoza trong máu giảm do các dược phẩm hoặc bệnh khác, hoặc do thiếu hụt hormon hoặc enzym. Glucagon truyền tín hiệu để chuyển hóa glycogen ở gan, sau đó giải phóng glucoza và đóng vai trò quan trọng để làm tăng nồng độ glucoza trong máu về mức bình thường. Ngoài ra, glucagon đã được ghi nhận là hữu hiệu để điều trị hội chứng hạ đường máu. Tác dụng điều trị hội chứng hạ đường máu glucagon là kết quả của quá trình kích thích chuyển hóa glycogen thành glucoza (phân giải glycogen) hoặc tăng sản sinh glucoza (sinh tổng hợp glucoza) từ các tiền chất axit amin dẫn đến làm tăng giải phóng glucoza khỏi gan.

Ngoài tác dụng làm tăng nồng độ glucoza máu, glucagon cũng có tác dụng hạn chế chứng thèm ăn và hoạt hóa lipaza nhạy cảm với hormon của các tế bào tạo mỡ để tăng cường chuyển hóa lipid, nhờ đó có tác dụng chống béo phì. Tuy nhiên, việc sử dụng glucagon làm hoạt chất điều trị bệnh bị hạn chế do glucagon có độ hòa tan thấp và kết tủa ở độ pH trung tính.

Theo đó, glucagon có các đặc tính được cải thiện có thể được sử dụng riêng hữu hiệu để điều trị hội chứng hạ đường máu, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu, rối loạn mỡ máu thể nặng, v.v. do glucagon có tác dụng hoạt hóa phân giải và β -oxy hóa chất béo ở gan.

Một trong số các dẫn xuất glucagon, tức là peptit tương tự glucagon-1 (GLP-1), đang được phát triển để điều trị hội chứng tăng glucoza máu ở các đối tượng bị bệnh đái tháo đường. GLP-1 có hoạt tính kích thích bài tiết và tổng hợp insulin, ức chế bài tiết glucagon, làm chậm tình trạng rỗng dạ dày, tăng cường sử dụng glucoza, và ức chế hấp thu dinh dưỡng.

Exendin-4, được điều chế từ nọc độc của rắn lằn và có độ tương đồng axit amin khoảng 50% so với GLP-1, cũng được ghi nhận là có hoạt tính hoạt hóa thụ thể GLP-1, nhờ đó cải thiện hội chứng tăng glucoza máu ở các đối tượng bị bệnh đái tháo đường (J

Biol Chem. 1992 Apr 15; 267 (11): 7402 - 5). Tuy nhiên, các dược phẩm điều trị bệnh béo phì chứa GLP-1 được ghi nhận là có các dụng không mong muốn, như nôn và buồn nôn.

Do đó, để thay thế GLP-1, nhiều nỗ lực đã tập trung vào oxyntomodulin, có thể gắn kết với cả hai thụ thể của hai peptit GLP-1 và glucagon. Oxyntomodulin là peptit được điều chế từ tiền chất glucagon (tiền glucagon), và có hoạt tính ức chế hấp thu dinh dưỡng và tăng cường tác dụng gây no của GLP-1, và có hoạt tính phân giải lipit tương tự glucagon, do đó làm tăng hiệu lực của hoạt chất này trong phương pháp điều trị bệnh béo phì.

Tuy nhiên, oxyntomodulin hoặc dẫn xuất của nó có nhược điểm lớn là lượng dư dược chất này cần được sử dụng hàng ngày do chúng có hiệu lực thấp và thời gian bán thải *in vivo* ngắn. Ngoài ra, khi cả hoạt tính của GLP-1 và glucagon có trong một peptit duy nhất, thì tỷ lệ hoạt tính sẽ cố định, do đó khó sử dụng chất chủ vận đặc hiệu kép ở các tỷ lệ khác nhau. Theo đó, phương pháp điều trị kết hợp có thể bằng cách sử dụng various activity ratios bằng cách điều chỉnh hàm lượng của GLP-1 và glucagon có thể hữu hiệu hơn. Tuy nhiên, để sử dụng trong phương pháp điều trị kết hợp, cần cải thiện đặc tính vật lý của glucagon, kết tụ ở độ pH trung tính và kết tủa theo thời gian, do đó có độ hòa tan thấp.

Đồng thời, hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh là một trong số các nguyên nhân phổ biến nhất gây ra hội chứng hạ đường máu mãn tính và nghiêm trọng ở trẻ sơ sinh và trẻ em. Insulin là hormon điều hòa nồng độ glucoza trong máu trong cơ thể người. Insulin đóng vai trò quan trọng để làm giảm nồng độ glucoza trong máu khi nồng độ glucoza trong máu tăng do hấp thu dinh dưỡng, v.v. Tuy nhiên, trong hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, insulin không thể hiện vai trò này và tuyến tụy bài tiết insulin không phụ thuộc vào nồng độ glucoza trong máu. Kết quả là, đối tượng sẽ bị hội chứng hạ đường máu.

Khi hội chứng hạ đường máu xuất hiện, nồng độ glucoza, keton, lactoza, v.v., được tế bào não sử dụng nhiều nhất, không thể được duy trì và quá trình cung cấp năng lượng từ protein và chất béo trong cơ thể bị phong bế, dẫn đến tổn thương tế bào não và do đó gây ra lên cơn, rối loạn trí tuệ, bại não, mù lòa, và thậm chí tử vong trong các trường hợp nghiêm trọng.

Hội chứng hạ đường máu có thể xuất hiện tạm thời do bài tiết quá mức insulin. Ngoài ra, hội chứng hạ đường máu cũng xuất hiện ở trẻ sơ sinh đã bị suy thai. Mặc dù nguyên nhân gây bài tiết quá mức insulin chưa rõ ràng, nhưng trong trường hợp này hội chứng hạ đường máu có thể được cải thiện trong vòng vài ngày đến vài tháng. Trẻ sơ sinh có người mẹ bị bệnh đái tháo đường có thể bị hội chứng hạ đường máu tạm thời khi nồng độ đường không được kiểm soát tốt, tuy nhiên hội chứng này không tái phát khi quá trình cung cấp dinh dưỡng được cải thiện tốt và hội chứng hạ đường máu không còn xuất hiện. Một nguyên nhân khác gây ra hội chứng tăng insulin máu mãn tính là do một số đột biến gen. Đã biết rằng, nguyên nhân gây ra hội chứng tăng insulin máu do đột biến gen bao gồm đột biến gen *SUR* hoặc gen *Kir6.2* ở nhiễm sắc thể 11p15.1 hoặc đột biến gen glucokinaza (GK) ở nhiễm sắc thể 7p15-p13, đột biến làm tăng hoạt tính GK, mà làm tăng hoạt tính GK, và đột biến gen glutamat dehydrogenaza (GDH), hoạt hóa GDH và do đó làm tăng ATP trong tế bào beta ở đảo tụy, v.v.

Theo đó, việc điều trị tức thời hội chứng hạ đường máu là quan trọng để phòng ngừa tổn thương não. Hội chứng hạ đường máu có thể được điều trị bằng cách uống đồ uống chứa carbohydrat, tuy nhiên trong trường hợp nghiêm trọng, cần tiêm glucoza hoặc glucagon vào tĩnh mạch. Mục tiêu của phương pháp điều trị này là cho phép trẻ em có thể tự quản lý chu kỳ cung cấp dinh dưỡng bình thường bằng thiết bị an toàn. Ví dụ, trong trường hợp của trẻ sơ sinh một năm tuổi, chúng có thể là được phép nhịn ăn trong ít nhất 14 giờ đến 15 giờ với được phẩm do chúng ngủ mà không ăn trong 10 giờ đến 12 giờ vào ban đêm.

Ví dụ về các dược chất được sử dụng có thể bao gồm diazoxide, octreotide, glucagon, v.v. Diazoxide được sử dụng qua đường miệng hai hoặc ba lần một ngày. Diazoxide ức chế bài tiết insulin bằng cách hoạt hóa kênh K^+ phụ thuộc ATP (KATP), do đó diazoxide có thể hữu hiệu để điều trị hội chứng tăng insulin máu GK hoặc hội chứng tăng insulin máu GDH hyperinsulinism, tuy nhiên diazoxide không có tác dụng điều trị hội chứng tăng insulin máu thể nhiễm sắc điển hình đột biến lặn gây ra bởi đột biến trong chu trình KATP. Octreotide được sử dụng qua đường tiêm dưới da. Khi octreotide được sử dụng, thì tác dụng của octreotide được thể hiện trong thời điểm ban đầu, tuy nhiên tác dụng của octreotide giảm sau một khoảng thời gian nhất định. Glucagon tăng cường giải phóng glucoza khỏi gan và được sử dụng qua đường tiêm dưới da hoặc tiêm tĩnh mạch,

và đã được biến là khi sử dụng qua đường miệng thường không có tác dụng trong trường hợp khẩn cấp.

Trong số các hoạt chất này, glucagon hiện được sử dụng ở dạng chế phẩm đông khô do glucagon có độ hòa tan thấp và kết tủa ở độ pH trung tính, do đó gây bất tiện do cần hòa tan hoạt chất này trong dung môi trước khi sử dụng. Hơn nữa, khi glucagon được sử dụng để điều trị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, thì cần thời gian điều trị kéo dài do glucagon có thời gian bán thải ngắn, việc glucagon bị hạn chế do tần suất sử dụng.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một mục đích, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này, và cụ thể sáng chế đề xuất được phẩm phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, hoặc hội chứng chuyển hóa chứa dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này.

Theo một mục đích khác, sáng chế đề xuất dẫn xuất glucagon.

Theo một mục đích khác, sáng chế đề xuất polynucleotit phân lập mã hóa dẫn xuất glucagon này, vector chứa polynucleotit này, và tế bào phân lập chứa polynucleotit hoặc vector này.

Theo một mục đích khác, sáng chế đề xuất thể tiếp hợp phân lập chứa gốc peptit và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết cộng hóa trị với gốc peptit này. Theo một mục đích khác, sáng chế đề xuất kit chứa dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này, và cụ thể sáng chế đề xuất kit phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, hoặc hội chứng chuyển hóa chứa dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh bao gồm bước sử dụng dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất glucagon này hoặc chế phẩm chứa chúng cho đối tượng cần điều trị.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất glucagon này hoặc chế phẩm chứa chúng trong sản xuất thuốc phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng hạ đường máu bao gồm bước sử dụng dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất glucagon này hoặc chế phẩm chứa chúng cho đối tượng cần điều trị.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất glucagon này hoặc chế phẩm chứa chúng trong sản xuất thuốc phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng hạ đường máu.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng chuyển hóa bao gồm bước sử dụng dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp phân lập hoặc chế phẩm chứa chúng cho đối tượng cần điều trị.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp phân lập chứa dẫn xuất này hoặc chế phẩm chứa chúng trong sản xuất thuốc (hoặc dược phẩm) phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng chuyển hóa.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này, và cụ thể sáng chế đề xuất dược phẩm phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, hoặc hội chứng chuyển hóa chứa dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này.

Theo phương án cụ thể, sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa peptit dẫn xuất glucagon chứa trình tự axit amin như nêu trong công thức chung 1, và cụ thể sáng chế đề xuất dược phẩm phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, hoặc hội chứng chuyển hóa chứa peptit dẫn xuất glucagon chứa trình tự axit amin như nêu trong công thức chung 1:

X1-X2-QGTF-X7-SD-X10-S-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-X20-X21-F-X23-X24-W-L-X27-X28-X29-X30 (công thức chung 1, SEQ ID NO.45)

trong đó, X1 là histidin (H), desamino-histidyl, N-dimetyl-histidyl, β -hydroxy imidazopropionyl, 4-imidazoaxetyl, β -carboxy imidazopropionyl, tryptophan (W), hoặc tyrosin (Y), hoặc vắng mặt; X2 là axit α -metyl-glutamic, axit aminoisobutyric (Aib), D-alanin, glycin (G), Sar (N-metylglycin), serin (S), hoặc D-serin; X7 là threonin (T), valin (V), hoặc cystein (C); X10 là tyrosin (Y) hoặc cystein (C); X12 là lysin (K) hoặc cystein (C); X13 là tyrosin (Y) hoặc cystein (C); X14 là leucin (L) hoặc cystein (C); X15

là axit aspartic (D), axit glutamic (E), hoặc cystein (C); X16 là axit glutamic (E), axit aspartic (D), serin (S), axit α -metyl-glutamic, hoặc cystein (C), hoặc vắng mặt; X17 là axit aspartic (D), glutamin (Q), axit glutamic (E), lysin (K), arginin (R), serin (S), cystein (C), hoặc valin (V), hoặc vắng mặt; X18 là alanin (A), axit aspartic (D), axit glutamic (E), arginin (R), valin (V), hoặc cystein (C), hoặc vắng mặt; X19 là alanin (A), arginin (R), serin (S), valin (V), hoặc cystein (C), hoặc vắng mặt; X20 là lysin (K), histidin (H), glutamin (Q), axit aspartic (D), arginin (R), axit α -metyl-glutamic, hoặc cystein (C), hoặc vắng mặt; X21 là axit aspartic (D), axit glutamic (E), leucin (L), valin (V), hoặc cystein (C), hoặc vắng mặt; X23 là isoleucin (I), valin (V), hoặc arginin (R), hoặc vắng mặt; X24 là valin (V), arginin (R), alanin (A), cystein (C), axit glutamic (E), lysin (K), glutamin (Q), axit α -metyl-glutamic, hoặc leucin (L), hoặc vắng mặt; X27 là isoleucin (I), valin (V), alanin (A), lysin (K), metionin (M), glutamin (Q), hoặc arginin (R), hoặc vắng mặt; X28 là glutamin (Q), lysin (K), asparagin (N), hoặc arginin (R), hoặc vắng mặt; X29 là lysin (K), alanin (A), glycin (G), hoặc threonin (T), hoặc vắng mặt; và X30 là cystein (C), hoặc vắng mặt; trong công thức chung 1; với điều kiện là trình tự axit amin có công thức chung 1 không bao gồm trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.1.

Các phương án cụ thể bổ sung theo sáng chế được thể hiện dưới đây.

Theo phương án cụ thể nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó X1 là histidin (H), tryptophan (W), hoặc tyrosin (Y), hoặc vắng mặt; X2 là serin (S) hoặc axit aminoisobutyric (Aib); X7 là threonin (T), valin (V), hoặc cystein (C); X10 là tyrosin (Y) hoặc cystein (C); X12 là lysin (K) hoặc cystein (C); X13 là tyrosin (Y) hoặc cystein (C); X14 là leucin (L) hoặc cystein (C); X15 là axit aspartic (D) hoặc cystein (C); X16 là axit glutamic (E), serin (S), hoặc cystein (C); X17 là axit aspartic (D), axit glutamic (E), lysin (K), arginin (R), serin (S), cystein (C), hoặc valin (V); X18 là axit aspartic (D), axit glutamic (E), arginin (R), hoặc cystein (C); X19 là alanin (A) hoặc cystein (C); X20 là glutamin (Q), axit aspartic (D), lysin (K), hoặc cystein (C); X21 là axit aspartic (D), axit glutamic (E), leucin (L), valin (V), hoặc cystein (C); X23 là isoleucin (I), valin (V), hoặc arginin (R); X24 là valin (V), arginin (R), alanin (A), axit glutamic (E), lysin (K), glutamin (Q), hoặc leucin (L); X27 là isoleucin (I), valin (V), alanin (A), metionin (M), glutamin (Q), hoặc arginin (R); X28 là glutamin (Q), lysin (K), asparagin (N), hoặc arginin (R); X29 là threonin (T); và X30 là cystein (C) hoặc vắng mặt; trong công thức

chung 1.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó X1 là histidin (H), tryptophan (W), hoặc tyrosin (Y); X2 là serin (S) hoặc axit aminoisobutyric (Aib); X7 là cystein (C), threonin (T), hoặc valin (V); X10 là tyrosin (Y) hoặc cystein (C); X12 là lysin (K) hoặc cystein (C); X13 là tyrosin (Y) hoặc cystein (C); X14 là leucin (L) hoặc cystein (C); X15 là axit aspartic (D) hoặc cystein (C); X16 là axit glutamic (E), serin (S), hoặc cystein (C); X17 là axit glutamic (E), lysin (K), arginin (R), cystein (C), hoặc valin (V); X18 là arginin (R) hoặc cystein (C); X19 là alanin (A) hoặc cystein (C); X20 là glutamin (Q) hoặc lysin (K); X21 là axit aspartic (D), axit glutamic (E), valin (V), hoặc cystein (C); X23 là valin (V); X24 là valin (V) hoặc glutamin (Q); X27 là metionin (M); X28 là asparagin (N) hoặc arginin (R); X29 là threonin (T); và X30 là cystein (C) hoặc vắng mặt; trong công thức chung 1.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó X1 là tyrosin (Y); X2 là axit aminoisobutyric (Aib); X7 là cystein (C), threonin (T), hoặc valin (V); X10 là tyrosin (Y) hoặc cystein (C); X12 là lysin (K); X13 là tyrosin (Y) hoặc cystein (C); X14 là leucin (L) hoặc cystein (C); X15 là axit aspartic (D) hoặc cystein (C); X16 là axit glutamic (E), serin (S), hoặc cystein (C); X17 là lysin (K), arginin (R), cystein (C), hoặc valin (V); X18 là arginin (R) hoặc cystein (C); X19 là alanin (A) hoặc cystein (C); X20 là glutamin (Q) hoặc lysin (K); X21 là axit aspartic (D), axit glutamic (E), hoặc cystein (C); X23 là valin (V); X24 là glutamin (Q); X27 là metionin (M); X28 là asparagin (N) hoặc arginin (R); X29 là threonin (T); và X30 là cystein (C) hoặc vắng mặt; trong công thức chung 1.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó X1 là histidin (H), tryptophan (W), hoặc tyrosin (Y), hoặc vắng mặt; X2 là serin (S) hoặc axit aminoisobutyric (Aib); X7 là threonin (T), valin (V), hoặc cystein (C); X10 là tyrosin (Y) hoặc cystein (C); X12 là lysin (K) hoặc cystein (C); X13 là tyrosin (Y) hoặc cystein (C); X14 là leucin (L) hoặc cystein (C); X15 là axit aspartic (D) hoặc cystein (C); X16 là axit glutamic (E), serin (S), hoặc cystein (C); X17 là axit aspartic (D), axit glutamic (E), lysin (K), arginin (R), serin (S), cystein (C), hoặc valin (V); X18 là axit aspartic (D), axit glutamic (E), arginin (R), hoặc cystein (C); X19 là alanin (A) hoặc cystein (C); X20 là glutamin (Q), axit aspartic (D), hoặc lysin (K); X21 là

axit aspartic (D) hoặc axit glutamic (E); X23 là valin (V); X24 là valin (V) hoặc glutamin (Q); X27 là isoleucin (I) hoặc metionin (M); X28 là asparagin (N) hoặc arginin (R); X29 là threonin (T); và X30 là cystein (C) hoặc vắng mặt; trong công thức chung 1.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó X1 là tyrosin (Y); X2 là axit aminoisobutyric (Aib); X7 là threonin (T); X10 là tyrosin (Y); X12 là lysin (K); X13 là tyrosin (Y); X14 là leucin (L); X15 là axit aspartic (D) hoặc cystein (C); X16 là axit glutamic (E), serin (S), hoặc cystein (C); X17 là lysin (K) hoặc arginin (R); X18 là arginin (R); X19 là alanin (A); X20 là glutamin (Q), cystein (C), hoặc lysin (K); X21 là axit aspartic (D), cystein (C), valin (V), hoặc axit glutamic (E); X23 là valin (V) hoặc arginin (R); X24 là glutamin (Q) hoặc leucin (L); X27 là metionin (M); X28 là asparagin (N) hoặc arginin (R); X29 là threonin (T); và X30 là vắng mặt; trong công thức chung 1.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm chứa peptit chứa trình tự axit amin như nêu trong công thức chung 2:

Y-Aib-QGTF-X7-SD-X10-S-X12-Y-L-X15-X16-X17-R-A-X20-X21-F-V-X24-W-L-M-N-T-X30 (công thức chung 2, SEQ ID NO.46)

trong đó, X7 là threonin (T), valin (V), hoặc cystein (C); X10 là tyrosin (Y) hoặc cystein (C); X12 là lysin (K) hoặc cystein (C); X15 là axit aspartic (D) hoặc cystein (C); X16 là axit glutamic (E) hoặc serin (S); X17 là lysin (K) hoặc arginin (R); X20 là glutamin (Q) hoặc lysin (K); X21 là axit aspartic (D) hoặc axit glutamic (E); X24 là valin (V) hoặc glutamin (Q); và X30 là cystein (C) hoặc vắng mặt; trong công thức chung 2.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó peptit này có điểm đẳng điện khác với điểm đẳng điện của glucagon tự nhiên (6,8), ví dụ điểm đẳng điện bằng 6,5 hoặc thấp hơn, hoặc điểm đẳng điện bằng 7,0 hoặc cao hơn.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó mỗi axit amin trong ít nhất một cặp axit amin trong số các cặp axit amin X10 và X14, X12 và X16, X16 và X20, X17 và X21, X20 và X24, và X24 và X28 trong công thức chung 1 hoặc 2 được thế tương ứng bằng axit glutamic hoặc lysin, có khả năng

tạo ra vòng.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó mỗi axit amin trong cặp axit amin X12 và X16 hoặc mỗi axit amin trong cặp axit amin X16 và X20 hoặc mỗi axit amin trong cặp axit amin X17 và X21 trong công thức chung 1 hoặc 2 được thế tương ứng bằng axit glutamic hoặc lysin, có khả năng tạo ra vòng.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó trong công thức chung 1 hoặc 2, vòng (ví dụ vòng lactam) được tạo ra giữa mỗi axit amin trong ít nhất một cặp axit amin trong số các cặp axit amin X10 và X14, X12 và X16, X16 và X20, X17 và X21, X20 và X24, và X24 và X28.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó trong công thức chung 1 hoặc 2, X16 là axit glutamic, X20 là lysin, và các chuỗi mạch bên của X16 và X20 tạo ra vòng lactam.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm đầu tận cùng C của peptit này được amit hóa hoặc không được cải biến.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó peptit này là dẫn xuất glucagon tự nhiên có khả năng hoạt hóa thụ thể glucagon.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó peptit này chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.2 đến SEQ ID NO.44.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó peptit này chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.12, SEQ ID NO.13, SEQ ID NO.15, và SEQ ID NO.36 đến SEQ ID NO.44.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó peptit này chứa trình tự axit amin SEQ ID NO.37.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được

phẩm, trong đó peptit này là ở dạng thể tiếp hợp tác dụng kéo dài, trong đó gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết với gốc peptit, và cụ thể được liên kết với gốc peptit chứa trình tự axit amin có công thức chung 1 hoặc 2.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó gốc hợp chất tương thích sinh học được chọn từ nhóm bao gồm polyme, axit béo, cholesterol, albumin và mảnh chức năng của nó, hợp chất gắn kết albumin, polyme chứa các đơn vị lặp lại bao gồm các trình tự axit amin đặc hiệu, kháng thể, mảnh kháng thể, hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh, mô liên kết *in vivo* hoặc dẫn xuất của nó, nucleotit, fibronectin, transferrin, sacarit, heparin, và elastin.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó polyme được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, rượu đa chức được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyllic, polysacarit, đextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic, oligonucleotit, và tổ hợp của chúng.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh là polypeptit chứa vùng Fc của globulin miễn dịch.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó gốc peptit và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết với nhau thông qua gốc liên kết.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó gốc liên kết được chọn từ nhóm bao gồm peptit, axit béo, sacarit, polyme, hợp chất khối lượng phân tử thấp, nucleotit, và tổ hợp của chúng.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó polyme được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, rượu đa chức được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyllic, polysacarit, đextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic, oligonucleotit, và tổ hợp của chúng.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được

phẩm, trong đó gốc liên kết là polyetylen glycol.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó vùng Fc của globulin miễn dịch không được glycosyl hóa.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó vùng Fc của globulin miễn dịch được chọn từ nhóm bao gồm: (a) miền CH1, miền CH2, miền CH3, và miền CH4; (b) miền CH1 và miền CH2; (c) miền CH1 và miền CH3; (d) miền CH2 và miền CH3; (e) tổ hợp giữa một hoặc ít nhất hai miền trong số các miền CH1, miền CH2, miền CH3, và miền CH4, và vùng bản lề của globulin miễn dịch hoặc đoạn chức năng của vùng bản lề; và (f) đime giữa mỗi miền của vùng hằng định chuỗi nặng và vùng hằng định chuỗi nhẹ.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó polypeptit chứa vùng Fc của globulin miễn dịch là ở dạng đime.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó vùng Fc của globulin miễn dịch là dẫn xuất Fc tự nhiên trong đó vùng có khả năng tạo ra liên kết disulfua được loại bỏ, dẫn xuất Fc tự nhiên trong đó một đoạn chứa các axit amin ở đầu tận cùng N được loại bỏ, dẫn xuất Fc tự nhiên trong đó gốc metionin được bổ sung vào đầu tận cùng N, dẫn xuất Fc tự nhiên trong đó vị trí gắn kết bổ thể được loại bỏ, hoặc dẫn xuất Fc tự nhiên trong đó vị trí có hoạt tính gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể được loại bỏ.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó vùng Fc của globulin miễn dịch có nguồn gốc từ globulin miễn dịch được chọn từ nhóm bao gồm IgG, IgA, IgD, IgE, và IgM.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó vùng Fc của globulin miễn dịch là vùng Fc IgG4.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó vùng Fc của globulin miễn dịch là vùng Fc không được glycosyl hóa có nguồn gốc từ IgG4 của người.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được

phẩm, trong đó gốc liên kết được liên kết với gốc cystein của peptit chứa trình tự axit amin có công thức chung 1 hoặc 2.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm, trong đó gốc liên kết của thể tiếp hợp được liên kết tương ứng với gốc peptit và gốc hợp chất tương thích sinh học thông qua các liên kết cộng hóa trị, được tạo ra tương ứng khi một đầu của gốc liên kết được phản ứng với nhóm amin hoặc nhóm thiol của gốc hợp chất tương thích sinh học trong khi đầu còn lại của gốc liên kết được phản ứng với nhóm amin hoặc nhóm thiol của gốc peptit chứa trình tự axit amin có công thức chung 1 hoặc 2.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dẫn xuất glucagon.

Theo phương án cụ thể, sáng chế đề cập đến peptit phân lập chứa trình tự axit amin có công thức chung 1 (SEQ ID NO.45).

Theo một phương án cụ thể khác, sáng chế đề cập đến peptit phân lập chứa trình tự axit amin như nêu trong công thức chung 2:

Y-Aib-QGTF-X7-SD-X10-S-X12-Y-L-X15-X16-X17-R-A-X20-X21-F-V-X24-W-L-M-N-T-X30 (công thức chung 2, SEQ ID NO.46)

trong đó, X7 là threonin (T), valin (V), hoặc cystein (C); X10 là tyrosin (Y) hoặc cystein (C); X12 là lysin (K) hoặc cystein (C); X15 là axit aspartic (D) hoặc cystein (C); X16 là axit glutamic (E) hoặc serin (S); X17 là lysin (K) hoặc arginin (R); X20 là glutamin (Q) hoặc lysin (K); X21 là axit aspartic (D) hoặc axit glutamic (E); X24 là valin (V) hoặc glutamin (Q); và X30 là cystein (C) hoặc vắng mặt; trong công thức chung 2.

Trong peptit phân lập theo phương án cụ thể nêu trên, các peptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.19, SEQ ID NO.33, SEQ ID NO.49, và SEQ ID NO.50 có thể được loại trừ khỏi peptit phân lập chứa trình tự axit amin có công thức chung 2.

Trong peptit phân lập theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, X16 là axit glutamic, X20 là lysin, và các chuỗi mạch bên của X16 và X20 tạo ra vòng lactam; trong công thức chung 2.

Trong peptit phân lập theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, đầu tận cùng C của peptit chứa trình tự axit amin có công thức chung 2 được amit hóa hoặc không được cải biến.

Trong peptit phân lập theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, peptit này là dẫn xuất glucagon có khả năng hoạt hóa thụ thể glucagon.

Trong peptit phân lập theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, peptit chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.12, SEQ ID NO.13, SEQ ID NO.15, và SEQ ID NO.36 đến SEQ ID NO.44.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit phân lập mã hóa peptit phân lập (cụ thể là, peptit phân lập chứa trình tự axit amin có công thức chung 1 hoặc 2), vector chứa polynucleotit phân lập, và tế bào phân lập chứa polynucleotit hoặc vector này.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất thể tiếp hợp phân lập chứa gốc peptit và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết cộng hóa trị với gốc peptit, trong đó gốc peptit có trình tự axit amin tương tự như trình tự axit amin có công thức chung 1 hoặc 2 hoặc chứa trình tự axit amin tương tự như trình tự axit amin có công thức chung 1 hoặc 2.

Theo phương án cụ thể, sáng chế đề cập đến thể tiếp hợp phân lập chứa gốc peptit và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết cộng hóa trị với gốc peptit, trong đó gốc peptit có trình tự axit amin tương tự như trình tự axit amin có công thức chung 1 hoặc chứa trình tự axit amin tương tự như trình tự axit amin có công thức chung 1.

Theo phương án cụ thể, sáng chế đề cập đến thể tiếp hợp phân lập chứa gốc peptit và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết cộng hóa trị với gốc peptit, trong đó gốc peptit có trình tự axit amin tương tự như trình tự axit amin có công thức chung 2 hoặc chứa trình tự axit amin tương tự như trình tự axit amin có công thức chung 2.

Trong thể tiếp hợp theo phương án cụ thể nêu trên, gốc hợp chất tương thích sinh học được chọn từ nhóm bao gồm polyme, axit béo, cholesterol, albumin và mảnh chức năng của nó, hợp chất gắn kết albumin, polyme chứa các đơn vị lặp lại bao gồm các trình tự axit amin đặc hiệu, kháng thể, mảnh kháng thể, hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh,

mô liên kết *in vivo* hoặc dẫn xuất của nó, nucleotit, fibronectin, transferrin, sacarit, heparin, và elastin.

Trong thể tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, polyme được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, rượu đa chức được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyl, polysacarit, dextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic, oligonucleotit, và tổ hợp của chúng.

Trong thể tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh là polypeptit chứa vùng Fc của globulin miễn dịch.

Trong thể tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc peptit và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết với nhau thông qua gốc liên kết.

Trong thể tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc liên kết được chọn từ nhóm bao gồm peptit, axit béo, sacarit, polyme, hợp chất khối lượng phân tử thấp, nucleotit, và tổ hợp của chúng.

Trong thể tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc liên kết là polyme được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, rượu đa chức được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyl, polysacarit, dextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic, oligonucleotit, và tổ hợp của chúng.

Trong thể tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc hợp chất tương thích sinh học là hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh, và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết với gốc peptit thông qua gốc liên kết được chọn từ nhóm bao gồm peptit, axit béo, sacarit, polyme, hợp chất khối lượng phân tử thấp, nucleotit, và tổ hợp của chúng.

Trong thể tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc liên kết là polyetylen glycol.

Trong thể tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, vùng Fc của globulin miễn dịch không được glycosyl hóa.

Trong thể tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, vùng Fc của globulin miễn dịch được chọn từ nhóm bao gồm: (a) miền CH1, miền CH2, miền CH3, và miền CH4; (b) miền CH1 và miền CH2; (c) miền CH1 và miền CH3; (d) miền CH2 và miền CH3; (e) tổ hợp giữa một hoặc ít nhất hai miền trong số các miền CH1, miền CH2, miền CH3, và miền CH4, và vùng bản lề của globulin miễn dịch hoặc đoạn chức năng của vùng bản lề; và (f) đime giữa mỗi miền của vùng hằng định chuỗi nặng và vùng hằng định chuỗi nhẹ.

Trong thể tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, polypeptit chứa vùng Fc của globulin miễn dịch là ở dạng đime.

Trong thể tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, vùng Fc của globulin miễn dịch là dẫn xuất Fc tự nhiên trong đó vùng có khả năng tạo ra liên kết disulfua được loại bỏ, dẫn xuất Fc tự nhiên trong đó một đoạn chứa các axit amin ở đầu tận cùng N được loại bỏ, dẫn xuất Fc tự nhiên trong đó gốc metionin được bổ sung vào đầu tận cùng N, dẫn xuất Fc tự nhiên trong đó vị trí gắn kết bổ thể được loại bỏ, hoặc dẫn xuất Fc tự nhiên trong đó vị trí có hoạt tính gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể được loại bỏ.

Trong thể tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, vùng Fc của globulin miễn dịch có nguồn gốc từ globulin miễn dịch được chọn từ nhóm bao gồm IgG, IgA, IgD, IgE, và IgM.

Trong thể tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, vùng Fc của globulin miễn dịch là vùng Fc IgG4.

Trong thể tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, vùng Fc của globulin miễn dịch là vùng Fc không được glycosyl hóa có nguồn gốc từ IgG4 của người.

Trong thể tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc liên kết được liên kết với gốc cystein của peptit.

Trong thể tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc liên kết của thể tiếp hợp được liên kết tương ứng với gốc peptit và gốc hợp chất tương thích sinh học thông qua các liên kết cộng hóa trị, được tạo ra tương ứng khi một đầu của

gốc liên kết được phản ứng với nhóm amin hoặc nhóm thiol của gốc hợp chất tương thích sinh học trong khi đầu còn lại của gốc liên kết được phản ứng với nhóm amin hoặc nhóm thiol của gốc peptit chứa trình tự axit amin có công thức chung 1 hoặc 2.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng hạ đường máu chứa dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này và tá được được dụng.

Theo phương án cụ thể, sáng chế đề cập đến được phẩm phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng hạ đường máu, chứa peptit phân lập hoặc thể tiếp hợp phân lập, chứa gốc peptit, có trình tự axit amin tương tự như trình tự axit amin của peptit phân lập hoặc chứa trình tự axit amin tương tự như trình tự axit amin của peptit phân lập, và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết cộng hóa trị với gốc peptit.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng chuyển hóa chứa dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này và tá được được dụng.

Theo phương án cụ thể, sáng chế đề cập đến được phẩm phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng chuyển hóa, chứa peptit phân lập; hoặc thể tiếp hợp phân lập, chứa gốc peptit, có trình tự axit amin tương tự như trình tự axit amin của peptit phân lập hoặc chứa trình tự axit amin tương tự như trình tự axit amin của peptit phân lập, và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết cộng hóa trị với gốc peptit.

Trong được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, được phẩm còn chứa ít nhất một hợp chất hoặc hoạt chất khác có hoạt tính điều trị hội chứng chuyển hóa.

Trong được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, hợp chất hoặc hoạt chất khác có hoạt tính điều trị hội chứng chuyển hóa được chọn từ nhóm bao gồm peptit kích thích sản sinh insulin, chất chủ vận thụ thể peptit tương tự glucagon-1, chất chủ vận thụ thể leptin, chất ức chế dipeptidyl peptidaza, chất đối kháng thụ thể Y5, chất đối kháng thụ thể hormon tích tụ melanin, chất chủ vận thụ thể Y2/4, chất chủ vận thụ thể melanocortin 3/4, chất ức chế lipaza dạ dày/tụy, chất chủ vận thụ thể 5-hydroxytryptamin 2C được liên hợp protein G, chất chủ vận thụ thể β 3A, chất chủ vận

thụ thể amylin, chất đối kháng ghrelin, chất đối kháng thụ thể ghrelin, chất chủ vận thụ thể alpha được hoạt hóa bởi chất tăng sinh peroxisom, chất chủ vận thụ thể delta được hoạt hóa bởi chất tăng sinh peroxisom, chất chủ vận thụ thể Farnesoid X, chất ức chế axetyl-CoA carboxylaza, peptit YY, cholecystokinin, xenin, glicentin, obestatin, secretin, nesfatin, insulin, và peptit kích thích sản sinh insulin phụ thuộc glucoza.

Trong dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, peptit kích thích sản sinh insulin được chọn từ nhóm bao gồm peptit tương tự glucagon-1, exendin-3, exendin-4, chất chủ vận, dẫn xuất, mảnh chức năng, biến thể, và tổ hợp của chúng.

Trong dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, peptit kích thích sản sinh insulin là dẫn xuất peptit kích thích sản sinh insulin trong đó the N-terminal histidin của peptit kích thích sản sinh insulin được thế bằng gốc chức được chọn từ nhóm bao gồm desamino-histidyl, N-dimetyl-histidyl, β -hydroxy imidazopropionyl, 4-imidazoaxetyl, và β -carboxy imidazopropionyl.

Trong dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, peptit kích thích sản sinh insulin được chọn từ nhóm bao gồm exendin-4 tự nhiên; dẫn xuất exendin-4 trong đó nhóm amin ở đầu tận cùng N của exendin-4 được loại bỏ; dẫn xuất exendin-4 trong đó nhóm amin ở đầu tận cùng N của exendin-4 được thế bằng nhóm hydroxyl; dẫn xuất exendin-4 trong đó nhóm amin ở đầu tận cùng N của exendin-4 được cải biến bằng nhóm dimetyl; dẫn xuất exendin-4 trong đó cacbon α của axit amin thứ nhất histidin của exendin-4 được loại bỏ; dẫn xuất exendin-4 trong đó axit amin lysin ở vị trí số 12 của exendin-4 được thế bằng serin, và dẫn xuất exendin-4 trong đó axit amin lysin ở vị trí số 12 của exendin-4 được thế bằng arginin.

Trong dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, peptit kích thích sản sinh insulin là ở dạng thể tiếp hợp tác dụng kéo dài, chứa gốc peptit, chứa trình tự axit amin tương tự như trình tự axit amin của peptit kích thích sản sinh insulin, và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết cộng hóa trị với gốc peptit.

Trong dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc hợp chất tương thích sinh học được chọn từ nhóm bao gồm polyme, axit béo, cholesterol, albumin và mảnh chức năng của nó, hợp chất gắn kết albumin, polyme chứa các đơn vị

lập lại bao gồm các trình tự axit amin đặc hiệu, kháng thể, mảnh kháng thể, hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh, mô liên kết *in vivo* hoặc dẫn xuất của nó, nucleotit, fibronectin, transferrin, sacarit, heparin, và elastin.

Trong được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, polyme được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, rượu đa chức được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyllic, polysacarit, dextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic, oligonucleotit, và tổ hợp của chúng.

Trong được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh là polypeptit chứa vùng Fc của globulin miễn dịch.

Trong được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc peptit chứa trình tự axit amin của peptit kích thích sản sinh insulin được liên kết với gốc hợp chất tương thích sinh học thông qua gốc liên kết.

Trong được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc liên kết được chọn từ nhóm bao gồm peptit, axit béo, sacarit, polyme, hợp chất khối lượng phân tử thấp, nucleotit, và tổ hợp của chúng.

Trong được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc liên kết là polyme được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, rượu đa chức được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyllic, polysacarit, dextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic, oligonucleotit, và tổ hợp của chúng.

Trong được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, hội chứng chuyển hóa được chọn từ nhóm bao gồm hội chứng giảm dung nạp glucoza, hội chứng tăng cholesterol huyết, rối loạn mỡ máu, bệnh béo phì, bệnh đái tháo đường, bệnh tăng huyết áp, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu, hội chứng xơ vữa động mạch do rối loạn mỡ máu, hội chứng xơ vữa động mạch, hội chứng xơ cứng động mạch, bệnh mạch vành, bệnh đột quỵ, v.v.

Trong được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, peptit kích thích sản sinh insulin được liên kết với gốc hợp chất tương thích sinh học thông qua

gốc liên kết được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, rượu đa chức được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyllic, polysacarit, dextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, như axit polylactic và axit polylactic-glycolic, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic, axit béo, polyme, hợp chất khối lượng phân tử thấp, nucleotit, và tổ hợp của chúng.

Trong được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc hợp chất tương thích sinh học là hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh, và gốc peptit chứa trình tự axit amin của peptit kích thích sản sinh insulin được liên kết với gốc hợp chất tương thích sinh học thông qua gốc liên kết peptit hoặc gốc liên kết không peptit được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, rượu đa chức được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyllic, polysacarit, dextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, như axit polylactic và axit polylactic-glycolic, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic, và tổ hợp của chúng.

Trong được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, được phẩm này có thể chứa cả (i) thể tiếp hợp chứa gốc peptit chứa trình tự axit amin SEQ ID NO.37, và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết cộng hóa trị với gốc peptit; và (ii) thể tiếp hợp chứa gốc imidazo-axetyl exendin-4 trong đó carbon α của axit amin thứ nhất histidin của exendin-4 được loại bỏ và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết cộng hóa trị với gốc imidazo-axetyl exendin-4 này.

Trong được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc peptit chứa trình tự axit amin SEQ ID NO.37 và gốc imidazo-axetyl exendin-4 được liên kết với gốc hợp chất tương thích sinh học tương ứng của chúng thông qua gốc liên kết.

Trong được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh là polypeptit chứa vùng Fc của globulin miễn dịch.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh bao gồm bước sử dụng dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này hoặc chế phẩm chứa chúng cho đối tượng cần điều trị.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này hoặc chế phẩm chứa chúng trong sản xuất thuốc phòng ngừa hoặc điều trị hội

chứng tăng insulin máu bẩm sinh.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng hạ đường máu bao gồm bước sử dụng dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này hoặc chế phẩm chứa chúng cho đối tượng cần điều trị.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này hoặc chế phẩm chứa chúng trong sản xuất thuốc phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng hạ đường máu.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng chuyển hóa bao gồm bước sử dụng dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này hoặc chế phẩm chứa chúng cho đối tượng cần điều trị.

Theo phương án cụ thể, phương pháp này còn bao gồm bước sử dụng ít nhất một hợp chất hoặc hoạt chất khác có hoạt tính điều trị hội chứng chuyển hóa.

Trong phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này và hợp chất hoặc hoạt chất khác có hoạt tính điều trị hội chứng chuyển hóa được sử dụng đồng thời, riêng rẽ, hoặc luân phiên.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này hoặc chế phẩm chứa chúng trong sản xuất thuốc (hoặc dược phẩm) phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng chuyển hóa.

Các dẫn xuất glucagon theo sáng chế có các đặc tính vật lý được cải thiện hơn so với glucagon tự nhiên, và có thể được sử dụng hữu hiệu để phòng ngừa và điều trị hội chứng chuyển hóa, như bệnh béo phì, bệnh đái tháo đường, và bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu, và hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Fig.1 là biểu đồ thể hiện kết quả đánh giá mức độ thay đổi trọng lượng cơ thể của các chuột cống thử nghiệm bị béo phì, được cho ăn chế độ dinh dưỡng nhiều chất béo, khi được tiêm liều đơn hoặc liều kết hợp của thể tiếp hợp peptit kích thích sản sinh

insulin tác dụng kéo dài (tức là dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài) và thể tiếp hợp dẫn xuất glucagon tác dụng kéo dài (tức là dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12) với liều được điều chỉnh cho các chuột cống thử nghiệm, trong khoảng thời gian cách nhau 3 ngày trong 15 ngày.

Fig.2 là biểu đồ thể hiện kết quả đo hàm lượng chất béo ở màng ruột treo của các chuột cống thử nghiệm bị béo phì, được cho ăn chế độ dinh dưỡng nhiều chất béo, được đo sau khi được tiêm liều đơn hoặc liều kết hợp của thể tiếp hợp peptit kích thích sản sinh insulin tác dụng kéo dài (tức là dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài) và thể tiếp hợp dẫn xuất glucagon tác dụng kéo dài (tức là dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12) với liều được điều chỉnh cho các chuột cống thử nghiệm trong 15 ngày (* $p < 0,05$ so với tá được dẫn thuốc, ** $p < 0,01$ so với tá được dẫn thuốc bằng phương pháp phân tích ANOVA 1 chiều).

Fig.3 là biểu đồ thể hiện mức độ khác biệt về trọng lượng gan của các chuột cống thử nghiệm bị béo phì, được cho ăn chế độ dinh dưỡng nhiều chất béo, được đo sau khi được tiêm liều đơn hoặc liều kết hợp của thể tiếp hợp peptit kích thích sản sinh insulin tác dụng kéo dài (tức là dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài) và thể tiếp hợp dẫn xuất glucagon tác dụng kéo dài (tức là dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12) với liều được điều chỉnh cho các chuột cống thử nghiệm trong 15 ngày (*** $p < 0,01$, **** $p < 0,001$ so với tá được dẫn thuốc so với tá được dẫn thuốc bằng phương pháp phân tích ANOVA 1 chiều).

Fig.4 là biểu đồ thể hiện kết quả đánh giá mức độ thay đổi trọng lượng cơ thể của các chuột nhắt thử nghiệm bị béo phì, được cho ăn chế độ dinh dưỡng nhiều chất béo, sau khi được tiêm liều đơn hoặc liều kết hợp của thể tiếp hợp peptit kích thích sản sinh insulin tác dụng kéo dài (tức là dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài) và thể tiếp hợp dẫn xuất glucagon tác dụng kéo dài (tức là dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.20) với liều được điều chỉnh cho các chuột nhắt thử nghiệm trong 22 ngày.

Fig.5 là biểu đồ thể hiện mức độ thay đổi nồng độ cholesterol trong máu của các chuột nhắt thử nghiệm bị béo phì, được cho ăn chế độ dinh dưỡng nhiều chất béo, sau khi được tiêm liều đơn hoặc liều kết hợp của thể tiếp hợp peptit kích thích sản sinh insulin tác

dụng kéo dài (tức là dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài) và thể tiếp hợp dẫn xuất glucagon tác dụng kéo dài (tức là dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.20) với liều được điều chỉnh cho các chuột nhất thử nghiệm trong 22 ngày.

Fig.6 là biểu đồ thể hiện mức độ thay đổi trọng lượng cơ thể, nồng độ cholesterol trong máu, khối lượng chất béo, và hội chứng giảm dung nạp glucoza của các chuột nhất thử nghiệm bị béo phì, được cho ăn chế độ dinh dưỡng nhiều chất béo, sau khi tiêm liều đơn của liraglutide (Novo Nordisk) và thể tiếp hợp peptit kích thích sản sinh insulin tác dụng kéo dài (tức là dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài), hoặc liều kết hợp của thể tiếp hợp peptit kích thích sản sinh insulin tác dụng kéo dài (tức là dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài) và thể tiếp hợp dẫn xuất glucagon tác dụng kéo dài (tức là dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37) với liều được điều chỉnh cho các chuột nhất thử nghiệm trong 28 ngày. Các tác dụng so với tá được dẫn thuốc (được sử dụng với tá được) được thể hiện.

Fig.7 là biểu đồ thể hiện tác dụng làm giảm hội chứng hạ đường máu khi sử dụng thể tiếp hợp tác dụng kéo dài chứa dẫn xuất glucagon có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 ở các chuột cống thử nghiệm bị hội chứng hạ đường máu cấp tính.

Fig.8 là biểu đồ thể hiện tác dụng làm giảm hội chứng hạ đường máu khi sử dụng thể tiếp hợp tác dụng kéo dài chứa dẫn xuất glucagon có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 ở các chuột cống thử nghiệm bị hội chứng hạ đường máu mãn tính.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết dưới đây, trong đó các khía cạnh và phương án cụ thể được bộc lộ trong bản mô tả này có thể được áp dụng cho các khía cạnh và phương án cụ thể khác. Tức là toàn bộ các tổ hợp của các yếu tố khác nhau được bộc lộ trong bản mô tả này cũng nằm trong phạm vi của sáng chế. Hơn nữa, phạm vi của sáng chế không bị giới hạn bởi các phương án dưới đây.

Ngoài ra, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể xác định được nhiều biến thể tương đương đối với các khía cạnh cụ thể của sáng chế được bộc lộ trong bản mô tả này chỉ bằng cách sử dụng thử nghiệm thông thường; và các biến thể tương

đương này cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Trong toàn bộ bản mô tả này, không chỉ các mã một chữ cái và ba chữ cái thông thường được sử dụng để ký hiệu các axit amin có trong tự nhiên, mà các mã ba chữ cái này cũng được sử dụng để ký hiệu các axit amin khác, như α -axit aminoisobutyric (Aib), Sar (N-metylglycin). Ngoài ra, các axit amin được bộc lộ trong bản mô tả này được viết tắt theo quy tắc danh pháp IUPAC-IUB như sau:

alanin (A)	arginin (R)
asparagin (N)	axit aspartic (D)
cystein (C)	axit glutamic (E)
glutamin (Q)	glycin (G)
histidin (H)	isoleucin (I)
leucin (L)	lysin (K)
metionin (M)	phenylalanin (F)
prolin (P)	serin (S)
threonin (T)	tryptophan (W)
tyrosin (Y)	valin (V)

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này, và cụ thể sáng chế đề xuất được phẩm phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, hoặc hội chứng chuyển hóa chứa dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này.

Dẫn xuất glucagon theo sáng chế bao gồm peptit có ít nhất một khác biệt về trình tự axit amin so với glucagon tự nhiên, peptit trong đó trình tự của glucagon tự nhiên được cải biến bằng cách cải biến glucagon tự nhiên, và peptit có cấu trúc tương tự glucagon tự nhiên có thể hoạt hóa thụ thể glucagon tương tự glucagon tự nhiên.

Dẫn xuất glucagon theo sáng chế có thể là peptit có các đặc tính vật lý được cải thiện do có điểm đẳng điện được biến đổi so với glucagon tự nhiên. Ngoài ra, dẫn xuất glucagon theo sáng chế có thể là peptit có độ hòa tan được cải thiện đồng thời có hoạt tính hoạt hóa thụ thể glucagon, nhưng không chỉ giới hạn ở các đặc tính này.

Ngoài ra, dẫn xuất glucagon theo sáng chế có thể là glucagon không có trong tự nhiên.

Cụ thể, glucagon tự nhiên có trình tự axit amin như sau:

His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-A

la-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr (SEQ ID NO.1)

Thuật ngữ “điểm đẳng điện” hoặc “pI” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ độ pH ở đó phân tử, như polypeptit hoặc peptit không mang điện (0). Trong trường hợp của polypeptit có các nhóm chức mang điện khác nhau, điện tích toàn phần của polypeptit toàn phần bằng “0” ở điểm có độ pH bằng pI. Điện tích toàn phần của polypeptit ở độ pH cao hơn pI sẽ là điện tích âm trong khi đó điện tích toàn phần của polypeptit ở độ pH thấp hơn pI sẽ là điện tích dương.

Các điểm đẳng điện có thể được xác định trên gel gradien độ pH được cố định chứa polyacrylamit, tinh bột, hoặc agarosa bằng phương pháp điện di đẳng điện, hoặc có thể được ước tính từ trình tự axit amin bằng cách sử dụng công cụ pI/MW (http://expasy.org/tools/pi_tool.html; Gasteiger *et al.*, 2003) trên máy chủ ExPASy.

Thuật ngữ “điểm đẳng điện được biến đổi” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ điểm đẳng điện khác với điểm đẳng điện của glucagon tự nhiên do thay thế một phần trình tự axit amin của glucagon tự nhiên bằng gốc axit amin có điện tích âm hoặc điện tích dương, tức là điểm đẳng điện tăng hoặc giảm. Peptit có điểm đẳng điện được biến đổi có thể có độ hòa tan và/hoặc độ ổn định ở độ pH trung tính cao hơn dẫn xuất glucagon, nhưng không chỉ giới hạn ở các đặc tính này.

Cụ thể hơn, dẫn xuất glucagon có thể có điểm đẳng điện được biến đổi, khác với điểm đẳng điện của glucagon tự nhiên (6,8), và thậm chí cụ thể hơn, điểm đẳng điện nhỏ hơn 6,8, cụ thể hơn, 6,7 hoặc nhỏ hơn, cụ thể hơn 6,5 hoặc nhỏ hơn, và ngoài ra, điểm đẳng điện cao hơn 6,8, 7 hoặc cao hơn, cụ thể hơn, 7,5 hoặc cao hơn, nhưng không chỉ giới hạn ở các trị số này, và điểm đẳng điện bất kỳ khác với điểm đẳng điện của glucagon tự nhiên cũng nằm trong phạm vi của sáng chế. Cụ thể, khi điểm đẳng điện bất khác với điểm đẳng điện của glucagon tự nhiên thì peptit này có độ hòa tan được cải thiện ở độ pH trung tính hơn so với glucagon tự nhiên, do đó có mức độ kết tụ thấp hơn, cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Cụ thể hơn, dẫn xuất glucagon theo sáng chế có thể có điểm đẳng điện nằm trong khoảng từ 4 đến 6,5 và/hoặc nằm trong khoảng từ 7 đến 9,5, đặc biệt nằm trong khoảng từ 7,5 đến 9,5, và cụ thể hơn nằm trong khoảng từ 8,0 đến 9,3, nhưng không chỉ giới hạn ở các khoảng trị số này. Trong trường hợp này, do điểm đẳng điện cao hơn hoặc thấp hơn

so với điểm đẳng điện của glucagon tự nhiên, độ hòa tan được cải thiện và độ ổn định cao ở độ pH trung tính hơn so với glucagon tự nhiên có thể được tạo ra, nhưng không chỉ giới hạn ở các đặc tính này.

Cụ thể là, dẫn xuất của glucagon tự nhiên có thể được cải biến bằng một phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp thế, phương pháp bổ sung, phương pháp loại bỏ, và phương pháp cải biến, hoặc tổ hợp của chúng trong một đoạn axit amin của glucagon tự nhiên.

Ví dụ về các dẫn xuất glucagon được điều chế bằng tổ hợp của các phương pháp nêu trên bao gồm peptit khác biệt về ít nhất một gốc axit amin của trình tự axit amin so với trình tự axit amin của glucagon tự nhiên và gốc axit amin ở đầu tận cùng N được khử amin hóa, có hoạt tính hoạt hóa thụ thể glucagon, nhưng không chỉ giới hạn ở peptit này, và các dẫn xuất glucagon tự nhiên có thể được điều chế bằng tổ hợp của các phương pháp khác nhau để điều chế các dẫn xuất này.

Ngoài ra, phương pháp cải biến để điều chế các dẫn xuất glucagon tự nhiên có thể bao gồm toàn bộ các phương pháp cải biến sử dụng axit amin D hoặc axit amin L, và/hoặc các axit amin không tự nhiên; và/hoặc phương pháp cải biến trình tự tự nhiên, ví dụ phương pháp cải biến nhóm chức, phương pháp liên kết cộng hóa trị nội phân tử (ví dụ phương pháp tạo vòng giữa các chuỗi mạch bên), phương pháp metyl hóa, phương pháp axyl hóa, phương pháp ubiquitin hóa, phương pháp phosphoryl hóa, phương pháp aminohexan hóa, phương pháp biotinyl hóa, v.v. Ngoài ra, phương pháp cải biến có thể cũng bao gồm phương pháp thế thành các hợp chất không tự nhiên.

Ngoài ra, phương pháp cải biến cũng có thể bao gồm toàn bộ các peptit trong đó một hoặc nhiều axit amin được bổ sung vào đầu tận cùng amin và/hoặc đầu tận cùng carboxy của glucagon tự nhiên.

Trong quá trình thay thế hoặc bổ sung axit amin, không chỉ 20 axit amin có trong protein của người, mà cả các axit amin không có trong tự nhiên hoặc không điển hình có thể được sử dụng. Các axit amin không điển hình có thể được mua từ các nhà cung cấp bao gồm Sigma-Aldrich, ChemPep Inc., và Genzyme Pharmaceuticals. Các peptit chứa các axit amin này và các trình tự pepit điển hình có thể được tổng hợp và mua từ các nhà cung cấp, ví dụ American Peptide Company, Bachem (USA), hoặc Anygen

(Korea).

Các dẫn xuất axit amin cũng có thể được điều chế bằng phương pháp tương tự, ví dụ axit 4-imidazoaxetic, v.v., có thể được sử dụng.

Do glucagon có độ pH khoảng 7, nên glucagon không hoàn tan trong dung dịch có độ pH sinh lý (độ pH nằm trong khoảng từ 4 đến 8) và có xu hướng kết tủa ở độ pH trung tính. Trong dung dịch nước có độ pH bằng 3 hoặc thấp hơn, glucagon được hòa tan trong thời điểm ban đầu nhưng kết tủa trong vòng một giờ bằng cách tạo gel. Do glucagon ở dạng gel chủ yếu cấu thành từ các sợi dạng phiên β , nên khi tiêm bằng kim tiêm hoặc tiêm tĩnh mạch glucagon kết tủa này sẽ làm tắc mạch máu, do đó không thích hợp để tiêm. Để làm chậm quá trình kết tủa, chế phẩm có tính axit (độ pH nằm trong khoảng từ 2 đến 4) thường được sử dụng, và glucagon có thể được duy trì ở trạng thái không kết tụ tương đối trong khoảng thời gian ngắn. Tuy nhiên, glucagon có thể tạo thành dạng sợi rất nhanh ở độ pH thấp, do đó các chế phẩm có tính axit này phải được tiêm khi bào chế.

Để khắc phục nhược điểm này của glucagon, các tác giả sáng chế đã phát triển các dẫn xuất glucagon có tác dụng kéo dài bằng cách cải biến điểm đẳng điện của glucagon tự nhiên bằng cách thay thế bằng các gốc axit amin có điện tích âm và điện tích dương. Do có điểm đẳng điện được biến đổi khác với điểm đẳng điện của glucagon tự nhiên, nên các dẫn xuất glucagon theo sáng chế có độ hòa tan và/hoặc độ ổn định ở độ pH trung tính cao hơn glucagon tự nhiên.

Theo phương án cụ thể theo sáng chế, dẫn xuất glucagon theo sáng chế có thể là peptit chứa trình tự axit amin như nêu trong công thức chung 1:

X1-X2-QGTF-X7-SD-X10-S-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-X20-X21-F-X23-X24-W-L-X27-X28-X29-X30 (công thức chung 1, SEQ ID NO.45)

trong đó, X1 là histidin, desamino-histidyl, N-dimetyl-histidyl, β -hydroxy imidazopropionyl, 4-imidazoaxetyl, β -carboxy imidazopropionyl, tryptophan, hoặc tyrosin, hoặc vắng mặt; X2 là axit α -metyl-glutamic, axit aminoisobutyric (Aib), D-alanin, glycin, Sar(N-metylglycin), serin, hoặc D-serin; X7 là threonin, valin, hoặc cystein; X10 là tyrosin hoặc cystein; X12 là lysin hoặc cystein; X13 là tyrosin hoặc cystein; X14 là leucin hoặc cystein; X15 là axit aspartic, axit glutamic, hoặc cystein; X16 là axit glutamic,

axit aspartic, serin, axit α -metyl-glutamic, hoặc cystein, hoặc vắng mặt; X17 là axit aspartic, glutamin, axit glutamic, lysin, arginin, serin, cystein, hoặc valin, hoặc vắng mặt; X18 là alanin, axit aspartic, axit glutamic, arginin, valin, hoặc cystein, hoặc vắng mặt; X19 là alanin, arginin, serin, valin, hoặc cystein, hoặc vắng mặt; X20 là lysin, histidin, glutamin, axit aspartic, arginin, axit α -metyl-glutamic, hoặc cystein, hoặc vắng mặt; X21 là axit aspartic, axit glutamic, leucin, valin, hoặc cystein, hoặc vắng mặt; X23 là isoleucin, valin, hoặc arginin, hoặc vắng mặt; X24 là valin, arginin, alanin, cystein, axit glutamic, lysin, glutamin, axit α -metyl-glutamic, hoặc leucin, hoặc vắng mặt; X27 là isoleucin, valin, alanin, lysin, metionin, glutamin, hoặc arginin, hoặc vắng mặt; X28 là glutamin, lysin, asparagin, hoặc arginin, hoặc vắng mặt; X29 là lysin, alanin, glycin, hoặc threonin, hoặc vắng mặt; và X30 là cystein hoặc vắng mặt; trong công thức chung 1; với điều kiện là trình tự axit amin có công thức chung 1 không bao gồm trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.1.

Cụ thể hơn, trong công thức chung 1, X1 là histidin, tryptophan, hoặc tyrosin, hoặc vắng mặt; X2 là serin hoặc axit aminoisobutyric (Aib); X7 là threonin, valin, hoặc cystein; X10 là tyrosin hoặc cystein; X12 là lysin hoặc cystein; X13 là tyrosin hoặc cystein; X14 là leucin hoặc cystein; X15 là axit aspartic hoặc cystein; X16 là axit glutamic, serin, hoặc cystein; X17 là axit aspartic, axit glutamic, lysin, arginin, serin, cystein, hoặc valin; X18 là axit aspartic, axit glutamic, arginin, hoặc cystein; X19 là alanin hoặc cystein; X20 là glutamin, axit aspartic, lysin, hoặc cystein; X21 là axit aspartic, axit glutamic, leucin, valin, hoặc cystein; X23 là isoleucin, valin, hoặc arginin; X24 là valin, arginin, alanin, axit glutamic, lysin, glutamin, hoặc leucin; X27 là isoleucin, valin, alanin, metionin, glutamin, hoặc arginin; X28 là glutamin, lysin, asparagin, hoặc arginin; X29 là threonin; và X30 là cystein hoặc vắng mặt; với điều kiện là trình tự axit amin có công thức chung 1 không bao gồm trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.1.

Ví dụ, peptit theo sáng chế có thể là peptit chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.2 đến SEQ ID NO.44, và cụ thể là, peptit cấu thành chủ yếu từ trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.2 đến SEQ ID NO.44, nhưng không chỉ giới hạn ở các trình tự này.

Ngoài ra, mặc dù được mô tả là “peptit cấu thành từ SEQ ID NO cụ thể” theo sáng

chế, nhưng thuật ngữ này cũng bao gồm đột biến trong peptit có thể xuất hiện bằng cách bổ sung trình tự không mã hóa nằm trước hoặc nằm sau trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO tương ứng, hoặc đột biến có trong tự nhiên trong SEQ ID NO tương ứng, hoặc đột biến lặn SEQ ID NO tương ứng, miễn là peptit có đột biến này có hoạt tính tương tự hoặc tương đương với hoạt tính của peptit cấu thành tự trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO tương ứng. Thậm chí khi đột biến hoặc đột biến bổ sung trình tự xuất hiện, thì các đột biến này cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Phần mô tả nêu trên có thể được áp dụng cho các phương án hoặc khía cạnh cụ thể khác của sáng chế, nhưng không chỉ giới hạn ở các phương án này.

Cụ thể là, trong công thức chung 1, X1 có thể là histidin, tryptophan, hoặc tyrosin; X2 có thể là serin hoặc axit aminoisobutyric (Aib); X7 có thể là cystein, threonin, hoặc valin; X10 có thể là tyrosin hoặc cystein; X12 có thể là lysin hoặc cystein; X13 có thể là tyrosin hoặc cystein; X14 có thể là leucin hoặc cystein; X15 có thể là axit aspartic hoặc cystein; X16 có thể là axit glutamic, serin, hoặc cystein; X17 có thể là axit glutamic, lysin, arginin, cystein, hoặc valin; X18 có thể là arginin hoặc cystein; X19 có thể là alanin hoặc cystein; X20 có thể là glutamin hoặc lysin; X21 có thể là axit aspartic, axit glutamic, valin, hoặc cystein; X23 có thể là valin; X24 có thể là valin hoặc glutamin; X27 có thể là metionin; X28 có thể là asparagin hoặc arginin; X29 có thể là threonin; và X30 có thể là cystein hoặc vắng mặt.

Ví dụ, peptit theo sáng chế có thể là peptit chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.3, SEQ ID NO. 11 đến SEQ ID NO.17, SEQ ID NO.19 đến SEQ ID NO.27, SEQ ID NO.29, SEQ ID NO.31, SEQ ID NO.33, và SEQ ID NO.35 đến SEQ ID NO.44, và cụ thể là, peptit cấu thành chủ yếu từ trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.3, SEQ ID NO. 11 đến SEQ ID NO.17, SEQ ID NO.19 đến SEQ ID NO.27, SEQ ID NO.29, SEQ ID NO.31, SEQ ID NO.33, và SEQ ID NO.35 đến SEQ ID NO.44, nhưng không chỉ giới hạn ở các trình tự này.

Cụ thể là, trong công thức chung 1, X1 có thể là tyrosin; X2 có thể là axit aminoisobutyric (Aib); X7 có thể là cystein, threonin, hoặc valin; X10 có thể là tyrosin hoặc cystein; X12 có thể là lysin; X13 có thể là tyrosin hoặc cystein; X14 có thể là leucin hoặc cystein; X15 có thể là axit aspartic hoặc cystein; X16 có thể là axit glutamic, serin,

hoặc cystein; X17 có thể là lysin, arginin, cystein, hoặc valin; X18 có thể là arginin hoặc cystein; X19 có thể là alanin hoặc cystein; X20 có thể là glutamin hoặc lysin; X21 có thể là axit aspartic, axit glutamic, hoặc cystein; X23 có thể là valin; X24 có thể là glutamin; X27 có thể là metionin; X28 có thể là asparagin hoặc arginin; X29 có thể là threonin; và X30 có thể là cystein hoặc vắng mặt, với điều kiện là trình tự axit amin có công thức chung 1 không bao gồm trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.1.

Ví dụ, peptit theo sáng chế có thể là peptit chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.12, SEQ ID NO.14, SEQ ID NO.17, SEQ ID NO.19 đến SEQ ID NO.25, SEQ ID NO.27, SEQ ID NO.29, SEQ ID NO.33, SEQ ID NO.35 đến SEQ ID NO.38, SEQ ID NO.40 đến SEQ ID NO.42, và 44, và cụ thể là, peptit cấu thành chủ yếu từ trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.12, SEQ ID NO.14, SEQ ID NO.17, SEQ ID NO.19 đến SEQ ID NO.25, SEQ ID NO.27, SEQ ID NO.29, SEQ ID NO.33, SEQ ID NO.35 đến SEQ ID NO.38, SEQ ID NO.40 đến SEQ ID NO.42, và 44, nhưng không chỉ giới hạn ở các trình tự này.

Cụ thể là, trong công thức chung 1, X1 có thể là histidin, tryptophan, hoặc tyrosin, hoặc vắng mặt; X2 có thể là serin hoặc axit aminoisobutyric (Aib); X7 có thể là threonin, valin, hoặc cystein; X10 có thể là tyrosin hoặc cystein; X12 có thể là lysin hoặc cystein; X13 có thể là tyrosin hoặc cystein; X14 có thể là leucin hoặc cystein; X15 có thể là axit aspartic hoặc cystein; X16 có thể là axit glutamic, serin, hoặc cystein; X17 có thể là axit aspartic, axit glutamic, lysin, arginin, serin, cystein, hoặc valin; X18 có thể là axit aspartic, axit glutamic, arginin, hoặc cystein; X19 có thể là alanin hoặc cystein; X20 có thể là glutamin, axit aspartic, hoặc lysin; X21 có thể là axit aspartic hoặc axit glutamic; X23 có thể là valin; X24 có thể là valin hoặc glutamin; X27 có thể là isoleucin hoặc metionin; X28 có thể là asparagin hoặc arginin; X29 có thể là threonin; và X30 có thể là cystein hoặc có thể vắng mặt, với điều kiện là trình tự axit amin có công thức chung 1 không bao gồm trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.1.

Ví dụ, peptit theo sáng chế có thể là peptit chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.2 đến SEQ ID NO.13, SEQ ID NO.15, SEQ ID NO.17, SEQ ID NO.20 đến SEQ ID NO.24, SEQ ID NO.26 đến SEQ ID NO.30, và SEQ ID NO.32 đến SEQ ID NO.44, và cụ thể là, peptit cấu thành chủ yếu từ trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.2 đến SEQ ID NO.13, SEQ ID NO.15, SEQ ID NO.17,

SEQ ID NO.20 đến SEQ ID NO.24, SEQ ID NO.26 đến SEQ ID NO.30, và SEQ ID NO.32 đến SEQ ID NO.44, nhưng không chỉ giới hạn ở các trình tự này.

Cụ thể là, trong công thức chung 1, X1 có thể là tyrosin; X2 có thể là axit aminoisobutyric (Aib); X7 có thể là threonin; X10 có thể là tyrosin; X12 có thể là lysin; X13 có thể là tyrosin; X14 có thể là leucin; X15 có thể là axit aspartic hoặc cystein; X16 có thể là axit glutamic, serin, hoặc cystein; X17 có thể là lysin hoặc arginin; X18 có thể là arginin; X19 có thể là alanin; X20 có thể là glutamin, cystein, hoặc lysin; X21 có thể là axit aspartic, cystein, valin, hoặc axit glutamic; X23 có thể là valin hoặc arginin; X24 có thể là glutamin hoặc leucin; X27 có thể là metionin; X28 có thể là asparagin hoặc arginin; X29 có thể là threonin; và X30 có thể vắng mặt.

Ví dụ, peptit theo sáng chế có thể là peptit chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.14, SEQ ID NO.16, SEQ ID NO.18, SEQ ID NO.19, SEQ ID NO.25, và SEQ ID NO.31, và cụ thể là, peptit cấu thành chủ yếu từ trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.14, SEQ ID NO.16, SEQ ID NO.18, SEQ ID NO.19, SEQ ID NO.25, và SEQ ID NO.31, nhưng không chỉ giới hạn ở các trình tự này.

Cụ thể hơn, peptit theo sáng chế có thể là peptit chứa trình tự axit amin như nêu trong công thức chung 2:

Y-Aib-QGTF-X7-SD-X10-S-X12-Y-L-X15-X16-X17-R-A-X20-X21-F-V-X24-W-L-M-N-T-X30 (công thức chung 2, SEQ ID NO.46)

trong công thức chung 2, X7 có thể là threonin, valin, hoặc cystein; X10 có thể là tyrosin hoặc cystein; X12 có thể là lysin hoặc cystein; X15 có thể là axit aspartic hoặc cystein; X16 có thể là axit glutamic hoặc serin; X17 có thể là lysin hoặc arginin; X20 có thể là glutamin hoặc lysin; X21 có thể là axit aspartic hoặc axit glutamic; X24 có thể là valin hoặc glutamin; và X30 có thể là cystein hoặc có thể vắng mặt.

Ví dụ, peptit theo sáng chế có thể là peptit chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.12, SEQ ID NO.13, SEQ ID NO.15, và SEQ ID NO.36 đến SEQ ID NO.44, và cụ thể là, peptit cấu thành chủ yếu từ trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.12, SEQ ID NO.13, SEQ ID NO.15, và SEQ ID NO.36 đến SEQ ID NO.44, nhưng không chỉ giới hạn ở. Cụ thể hơn, peptit theo sáng chế có thể là

peptit chứa trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12, SEQ ID NO.20, hoặc SEQ ID NO.37, hoặc cấu thành chủ yếu từ trình tự axit amin tương ứng, nhưng không chỉ giới hạn ở các trình tự này.

Cụ thể là, trong công thức chung 2, X7 có thể là threonin, valin, hoặc cystein; X10 có thể là tyrosin hoặc cystein; X12 có thể là lysin; X15 có thể là axit aspartic; X16 có thể là axit glutamic hoặc serin; X17 có thể là lysin hoặc arginin; X20 có thể là glutamin hoặc lysin; X21 có thể là axit aspartic hoặc axit glutamic; X24 có thể là glutamin; và X30 có thể là cystein hoặc có thể vắng mặt, nhưng không chỉ giới hạn ở các trình tự này.

Ví dụ, peptit theo sáng chế có thể là peptit chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.12, SEQ ID NO.36 đến SEQ ID NO.38, SEQ ID NO.40 đến SEQ ID NO.42, và SEQ ID NO.44, và cụ thể là, peptit cấu thành chủ yếu từ trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.12, SEQ ID NO.36 đến SEQ ID NO.38, SEQ ID NO.40 đến SEQ ID NO.42, và SEQ ID NO.44, nhưng không chỉ giới hạn ở các trình tự này.

Tuy nhiên, trong số các peptit phân lập, các peptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.2 đến SEQ ID NO.11, SEQ ID NO.14, SEQ ID NO.16 đến SEQ ID NO.35, SEQ ID NO.49, và SEQ ID NO.50, và cụ thể là, các peptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.19, SEQ ID NO.33, SEQ ID NO.49, và SEQ ID NO.50 có thể được loại trừ khỏi phạm vi yêu cầu bảo hộ của sáng chế, nhưng không chỉ giới hạn ở các trình tự này, và toàn bộ các peptit được mô tả trong bộ yêu cầu bảo hộ phải nằm trong phạm vi của sáng chế, trừ khi có quy định khác.

Dẫn xuất glucagon theo sáng chế có thể chứa cầu liên kết nội phân tử (ví dụ liên kết chéo cộng hóa trị hoặc liên kết chéo không cộng hóa trị), và cụ thể là, có thể là ở dạng chứa vòng. Ví dụ, dẫn xuất glucagon có thể ở dạng trong đó vòng được tạo ra giữa axit amin ở vị trí số 16 và axit amin ở vị trí số 20 của dẫn xuất glucagon, nhưng không chỉ giới hạn ở các axit amin này.

Ví dụ không giới hạn về vòng này có thể bao gồm liên kết chéo lactam (hoặc vòng lactam).

Ngoài ra, dẫn xuất glucagon bao gồm toàn bộ các dẫn xuất được cải biến để chứa

axit amin có khả năng tạo vòng ở vị trí mong muốn để tạo ra vòng.

Vòng có thể được tạo ra giữa các chuỗi mạch bên của các axit amin trong dẫn xuất glucagon (ví dụ ở dạng vòng được tạo ra giữa chuỗi mạch bên của lysin và chuỗi mạch bên của axit glutamic), nhưng không chỉ giới hạn ở các axit amin này.

Ví dụ, peptit chứa trình tự axit amin có công thức chung 1 hoặc 2 có thể là peptit trong đó mỗi axit amin trong mỗi cặp axit amin trong số các cặp axit amin X10 và X14, X12 và X16, X16 và X20, X17 và X21, X20 và X24, và X24 và X28 trong công thức chung 1 hoặc 2 có thể được thế tương ứng bằng axit glutamic hoặc lysin, nhưng không chỉ giới hạn ở các cặp axit amin này. Trong X_n (n là số nguyên), n thể hiện vị trí của axit amin từ đầu tận cùng N của trình tự axit amin được đề xuất.

Ngoài ra, peptit chứa trình tự axit amin có công thức chung 1 hoặc 2 có thể là peptit trong đó mỗi axit amin trong mỗi cặp axit amin X12 và X16 hoặc cặp axit amin X16 và X20 hoặc cặp axit amin X17 và X21 được thế tương ứng bằng axit glutamic hoặc lysin, có khả năng tạo ra vòng.

Ngoài ra, trong công thức chung 1 hoặc 2, peptit có thể là peptit trong đó vòng (ví dụ vòng lactam) được tạo ra giữa mỗi axit amin trong mỗi cặp axit amin trong số các cặp axit amin X10 và X14, X12 và X16, X16 và X20, X17 và X21, X20 và X24, và X24 và X28, nhưng không chỉ giới hạn ở các cặp axit amin này.

Ngoài ra, trong công thức chung 1 hoặc 2, X16 có thể là axit glutamic, X20 có thể là lysin, và các chuỗi mạch bên của X16 và X20 có thể tạo ra vòng lactam, nhưng không chỉ giới hạn ở các axit amin này.

Ngoài ra, peptit theo sáng chế có thể ở dạng trong đó đầu tận cùng N và/hoặc đầu tận cùng C không được cải biến, tuy nhiên các biến thể trong đó đầu tận cùng amino và/hoặc đầu tận cùng carboxy, v.v., của peptit này được cải biến hóa học hoặc bảo vệ bằng các nhóm hữu cơ, hoặc các axit amin được bổ sung vào đầu tận cùng của peptit để bảo vệ peptit này khỏi các proteaza *in vivo* đồng thời làm tăng độ hòa tan của nó, cũng có thể nằm trong phạm vi của các peptit theo sáng chế. Trong trường hợp ở đó đầu tận cùng C không được cải biến, đầu tận cùng của peptit theo sáng chế có thể có nhóm carboxyl, nhưng không chỉ giới hạn ở nhóm này.

Cụ thể, trong trường hợp của peptit được tổng hợp hóa học, thì đầu tận cùng N và đầu tận cùng C của nó được mang điện, do đó đầu tận cùng N và đầu tận cùng C của peptit có thể được axetyl hóa và/hoặc amit hóa, nhưng không chỉ giới hạn ở các nhóm này.

Trừ khi có quy định khác trong sáng chế, đoạn mô tả trong phần mô tả chi tiết sáng chế hoặc bộ yêu cầu bảo hộ liên quan đến “peptit” hoặc “thể tiếp hợp” theo sáng chế, trong đó peptit này được liên kết cộng hóa trị với hợp chất tương thích sinh học, có thể được áp dụng cho các dạng, không chỉ bao gồm peptit hoặc thể tiếp hợp tương ứng mà bao gồm cả các muối của peptit hoặc thể tiếp hợp tương ứng (ví dụ muối được dụng của chúng), hoặc solvat của chúng. Theo đó, thậm chí trong trường hợp ở đó “peptit” hoặc “thể tiếp hợp” được mô tả trong sáng chế, thì phần mô tả này có thể cũng được áp dụng tương đương cho muối cụ thể, solvat cụ thể, và solvat cụ thể của muối cụ thể của chúng. Các muối này có thể ở dạng trong đó muối được dụng bất kỳ được sử dụng. Muối theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể. Tuy nhiên, tốt hơn nếu muối này là an toàn và hữu hiệu cho đối tượng, ví dụ động vật có vú, nhưng không chỉ giới hạn ở đối tượng này.

Thuật ngữ “được dụng” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ hợp chất có thể được sử dụng hữu hiệu trong lĩnh vực được phẩm mà không gây độc tính quá mức, kích ứng, phản ứng dị ứng, v.v.

Thuật ngữ “muối được dụng” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ muối có nguồn gốc từ muối vô cơ, muối hữu cơ, hoặc bazơ được dụng. Ví dụ về muối thích hợp có thể bao gồm muối được dụng thu được từ axit hydrocloric, axit bromic, axit sulfuric, axit nitric, axit percloric, axit fumaric, axit maleic, axit phosphoric, axit glycolic, axit lactic, axit salixylic, axit succinic, axit toluen-*p*-sulfonic, axit tartaric, axit axetic, axit xitric, axit metansulfonic, axit formic, axit benzoic, axit malonic, axit naphtalen-2-sulfonic, axit benzensulfonic, v.v. Ví dụ về các muối có nguồn gốc từ bazơ thích hợp có thể bao gồm kim loại kiềm, như natri, kali, v.v.; kim loại kiềm thổ, như magie; amoni, v.v.

Ngoài ra, thuật ngữ “solvat” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ phức chất được tạo ra giữa peptit, thể tiếp hợp theo sáng chế, hoặc muối của chúng với phân tử dung môi.

Ngoài ra, peptit theo sáng chế có thể được tổng hợp bằng phương pháp đã biết trong lĩnh vực này, theo chiều dài của nó, ví dụ bằng hệ thống tổng hợp peptit tự động, và

có thể được sản xuất bằng phương pháp thiết kế di truyền.

Cụ thể là, peptit theo sáng chế có thể được điều chế bằng phương pháp tổng hợp chuẩn, hệ biểu hiện tái tổ hợp, hoặc phương pháp bất kỳ khác đã biết trong lĩnh vực này. Theo đó, dẫn xuất glucagon theo sáng chế có thể được tổng hợp bằng các phương pháp khác nhau bao gồm, ví dụ các phương pháp được mô tả dưới đây:

(a) phương pháp tổng hợp peptit bằng phương pháp pha rắn hoặc pha lỏng từng bước hoặc bằng cách lắp ráp mảnh, sau đó phân lập và tinh chế hợp chất peptit cuối cùng; hoặc

(b) phương pháp biểu hiện axit nucleic cấu trúc mã hóa peptit trong tế bào vật chủ và thu nhận hợp chất được biểu hiện từ dịch nuôi cấy tế bào vật chủ; hoặc

(c) phương pháp thực hiện biểu hiện tự do *in vitro* axit nucleic cấu trúc mã hóa peptit trong tế bào và thu nhận hợp chất được biểu hiện từ đó; hoặc phương pháp thu nhận các mảnh peptit bằng tổ hợp bất kỳ của các phương pháp (a), (b), và (c), như nhận peptit bằng cách liên kết các mảnh peptit, sau đó thu nhận peptit.

Theo phương án ưu tiên hơn, dẫn xuất glucagon mong muốn có thể được sản xuất bằng phương pháp thiết kế gen, bao gồm bước điều chế gen dung hợp mã hóa protein dung hợp, bao gồm gốc liên kết dung hợp và dẫn xuất glucagon, biến nạp cấu trúc thu được vào tế bào vật chủ, biểu hiện ở dạng protein dung hợp, và phân cắt dẫn xuất glucagon khỏi protein dung hợp bằng cách sử dụng proteaza hoặc hợp chất có khả năng phân cắt protein, sau đó phân tách. Đối với mục đích này, ví dụ trình tự ADN mã hóa axit amin có thể được phân cắt bằng proteaza, như yếu tố đông máu Xa hoặc enterokinaza, CNBr, hoặc hợp chất, như hydroxylamin, có thể được chèn ở giữa gốc liên kết dung hợp và polynucleotit mã hóa dẫn xuất glucagon.

Theo phương án ưu tiên hơn, dẫn xuất glucagon, ví dụ peptit chứa trình tự axit amin có công thức chung 1 hoặc 2, có thể là ở dạng thể tiếp hợp tác dụng kéo dài trong đó gốc hợp chất tương thích sinh học có thể làm tăng thời gian bán thải *in vivo* của peptit này được liên kết với peptit, nhưng không chỉ giới hạn ở đặc tính này. Thuật ngữ “gốc hợp chất tương thích sinh học” và “chất mang” có thể được sử dụng thay thế cho nhau.

Cụ thể là, thể tiếp hợp chứa gốc peptit và gốc hợp chất tương thích sinh học được

liên kết cộng hóa trị với gốc peptit, và gốc peptit có thể là trình tự có trình tự axit amin tương tự như trình tự axit amin có công thức chung 1 hoặc 2, hoặc peptit chứa trình tự axit amin tương tự.

Thuật ngữ “thể tiếp hợp tác dụng kéo dài” là ở dạng trong đó gốc hợp chất tương thích sinh học hoặc chất mang được liên kết với hoạt chất sinh lý (ví dụ dẫn xuất glucagon, peptit kích thích sản sinh insulin, v.v.), được sử dụng trong bản mô tả để chỉ thể tiếp hợp có thời gian hiệu lực được tăng cường (ví dụ thời gian bán thải *in vivo* tăng) so với thời gian hiệu lực hoạt chất sinh lý không được liên kết với gốc hợp chất tương thích sinh học hoặc chất mang. Trong thể tiếp hợp tác dụng kéo dài, gốc hợp chất tương thích sinh học hoặc chất mang có thể là gốc được liên kết cộng hóa trị với hoạt chất sinh lý, nhưng không chỉ giới hạn ở hoạt chất này.

Theo phương án cụ thể theo sáng chế, thời gian hiệu lực của thể tiếp hợp chứa dẫn xuất glucagon có thể cao hơn glucagon tự nhiên hoặc dẫn xuất glucagon không được liên kết với chất mang của nó.

Thuật ngữ “gốc hợp chất tương thích sinh học” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ hợp chất có thể được liên kết với hoạt chất sinh lý (ví dụ dẫn xuất glucagon, peptit kích thích sản sinh insulin, v.v.) và nhờ đó tăng cường thời gian hiệu lực so với hoạt chất sinh lý không được liên kết với gốc hợp chất tương thích sinh học hoặc chất mang. Gốc hợp chất tương thích sinh học có thể là gốc được liên kết cộng hóa trị với hoạt chất sinh lý, nhưng không chỉ giới hạn ở hoạt chất này.

Ví dụ về gốc hợp chất tương thích sinh học có thể bao gồm polyme, axit béo, cholesterol, albumin và mảnh chức năng của nó, hợp chất gắn kết albumin, polyme chứa các đơn vị lặp lại bao gồm các trình tự axit amin đặc hiệu, kháng thể, mảnh kháng thể, hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh, mô liên kết *in vivo* hoặc dẫn xuất của nó, nucleotit, fibronectin, transferrin, sacarit, heparin, và elastin, nhưng không chỉ giới hạn ở các gốc này.

Ví dụ về polyme có thể là polyme được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, rượu đa chức được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyl, polysacarit, dextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic, oligonucleotit, và tổ hợp của

chúng, nhưng không chỉ giới hạn ở các polyme này.

Polyetylen glycol bao gồm toàn bộ các dạng của homopolyme của ethylen glycol, copolyme PEG, và polyme PEG được thể monometyl (mPEG), nhưng không chỉ giới hạn ở các polyme này.

Ngoài ra, gốc hợp chất tương thích sinh học có thể bao gồm axit poly-amin, như poly-lysin, axit poly-aspartic, và axit poly-glutamic, nhưng không chỉ giới hạn ở các axit này.

Ngoài ra, axit béo có thể là axit béo có ái lực gắn kết với albumin *in vivo*, nhưng không chỉ giới hạn ở axit béo này.

Theo phương án ưu tiên hơn, hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh có thể là vùng Fc của globulin miễn dịch, và cụ thể hơn, vùng Fc IgG, nhưng không chỉ giới hạn ở các vùng này.

Ít nhất một chuỗi mạch bên axit amin trong peptit theo sáng chế có thể được gắn vào gốc hợp chất tương thích sinh học để làm tăng độ hòa tan và/hoặc thời gian bán thải *in vivo*, và/hoặc hoặc làm tăng độ sinh khả dụng của chúng. Các cải biến này có thể làm giảm độ thanh thải của dược chất protein và peptit.

Gốc hợp chất tương thích sinh học có thể là hợp chất hòa tan (vừa thân nước vừa kỵ nước hoặc thân nước) và/hoặc không độc và/hoặc được dụng.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hiểu rằng dẫn xuất glucagon được cải biến thu được có tác dụng điều trị bệnh cao hơn rất nhiều so với glucagon tự nhiên. Theo đó, các biến thể của dẫn xuất glucagon mô tả nêu trên cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Gốc hợp chất tương thích sinh học có thể được gắn trực tiếp vào dẫn xuất glucagon hoặc được liên kết với dẫn xuất glucagon thông qua gốc liên kết. Khi gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết với dẫn xuất glucagon trực tiếp hoặc thông qua gốc liên kết, gốc liên kết có thể là liên kết cộng hóa trị.

Cụ thể là, gốc liên kết có thể là gốc liên kết peptit hoặc gốc liên kết không peptit.

Khi gốc liên kết là gốc liên kết peptit, thì gốc liên kết này có thể chứa một hoặc nhiều axit amin, ví dụ 1 đến 1000 axit amin, nhưng không chỉ giới hạn ở số lượng này. Trong sáng chế, các gốc liên kết peptit khác nhau đã biết có thể được sử dụng (ví dụ bao gồm gốc liên kết [GS]_x, gốc liên kết [GGGS]_x, và gốc liên kết [GGGGS]_x, v.v., trong đó x là số tự nhiên ít nhất bằng 1), các gốc liên kết peptit không chỉ giới hạn ở các gốc này.

Thuật ngữ “gốc liên kết không peptit” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ polyme tương thích sinh học trong đó ít nhất hai đơn vị lặp lại được liên kết. Các đơn vị lặp lại được liên kết với nhau bằng liên kết cộng hóa trị bất kỳ thay vì liên kết peptit. Gốc liên kết không peptit có thể là gốc liên kết cấu trúc tạo ra gốc chức của thể tiếp hợp tác dụng kéo dài theo sáng chế.

Thuật ngữ “gốc liên kết không peptit” và thuật ngữ “polyme không peptit” có thể được sử dụng thay thế cho nhau.

Theo phương án cụ thể, gốc hợp chất tương thích sinh học và peptit có thể được liên kết cộng hóa trị thông qua gốc liên kết không peptit chứa nhóm phản ứng có thể được liên kết với gốc hợp chất tương thích sinh học (cụ thể là, vùng Fc của globulin miễn dịch) và peptit tương ứng ở cả hai đầu của nó.

Cụ thể là, gốc liên kết không peptit có thể là gốc liên kết được chọn từ nhóm bao gồm axit béo, sacarit, polyme, hợp chất khối lượng phân tử thấp, nucleotit, và tổ hợp của chúng.

Mặc dù không bị giới hạn cụ thể, nhưng khối lượng phân tử của polyme không peptit được sử dụng trong sáng chế có thể nằm trong khoảng từ 0 kDa đến 100 kDa, cụ thể là nằm trong khoảng từ 1 kDa đến 100 kDa, và cụ thể hơn nằm trong khoảng từ 1 kDa đến 20 kDa, nhưng không chỉ giới hạn ở các khoảng trị số này.

Mặc dù không bị giới hạn cụ thể, nhưng gốc liên kết không peptit có thể là gốc liên kết được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, rượu đa chức được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyl, polysacarit, dextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, như axit polylactic và axit polylactic-glycolic, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic, oligonucleotit, và tổ hợp của chúng.

Theo phương án ưu tiên hơn, polyme không peptit có thể là polyetylen glycol, nhưng không chỉ giới hạn ở polyme này polyme này. Ngoài ra, các dẫn xuất đã biết trong lĩnh vực này và các dẫn xuất có thể được điều chế dễ dàng đạt tiêu chuẩn kỹ thuật cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Gốc liên kết không peptit được sử dụng trong sáng chế có thể là polyme bất kỳ có khả năng kháng proteaza *in vivo*, nhưng không chỉ giới hạn ở đặc tính này. Khối lượng phân tử của polyme không peptit có thể nằm trong khoảng từ 0 kDa đến 100 kDa, cụ thể nằm trong khoảng từ 1 kDa đến 100 kDa, và cụ thể hơn nằm trong khoảng từ 1 kDa đến 20 kDa, nhưng không chỉ giới hạn ở các khoảng trị số này. Ngoài ra, gốc liên kết không peptit theo sáng chế, được liên kết với polypeptit chứa vùng Fc của globulin miễn dịch, có thể bao gồm không chỉ một loại polyme duy nhất mà cũng bao gồm tổ hợp của các loại polyme khác nhau.

Thuật ngữ “khoảng” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ khoảng bao gồm toàn bộ các trị số $\pm 0,5$, $\pm 0,4$, $\pm 0,3$, $\pm 0,2$, $\pm 0,1$, v.v., và bao gồm toàn bộ các trị số tương đương với các trị số xuất hiện ngay sau thuật ngữ “cao hơn” hoặc các trị số trong khoảng tương tự.

Cụ thể là, gốc liên kết có thể là gốc liên kết được liên kết tương ứng với gốc peptit và gốc hợp chất tương thích sinh học thông qua các liên kết cộng hóa trị, được tạo ra tương ứng khi một đầu của gốc liên kết được phản ứng với nhóm amin hoặc nhóm thiol của gốc hợp chất tương thích sinh học trong khi đầu còn lại của gốc liên kết được phản ứng với nhóm amin hoặc nhóm thiol của gốc peptit (tức là gốc peptit chứa trình tự axit amin có công thức chung 1 hoặc 2).

Theo phương án cụ thể, một đầu của gốc liên kết không peptit có thể được liên kết với nhóm amin hoặc nhóm thiol của vùng Fc của globulin miễn dịch trong khi đầu còn lại của gốc liên kết không peptit có thể được liên kết với nhóm amin hoặc nhóm thiol của dẫn xuất glucagon. Cụ thể là, polyme không peptit có thể bao gồm nhóm phản ứng tương ứng ở cả hai đầu của nó, có thể được liên kết với gốc hợp chất tương thích sinh học, đặc biệt là vùng Fc của globulin miễn dịch, và dẫn xuất glucagon; ví dụ, nhóm phản ứng có thể tương ứng tạo ra liên kết cộng hóa trị để liên kết với gốc hợp chất tương thích sinh học và dẫn xuất glucagon bằng cách phản ứng với nhóm amin ở đầu tận cùng N hoặc

lysine của dẫn xuất glucagon, hoặc nhóm thiol của cysteine của dẫn xuất glucagon, nhóm amin ở đầu tận cùng N hoặc lysine của gốc hợp chất tương thích sinh học hoặc nhóm thiol của cysteine của gốc hợp chất tương thích sinh học (ví dụ vùng Fc của globulin miễn dịch), nhưng không chỉ giới hạn ở.

Ngoài ra, nhóm phản ứng tận cùng của polyme không peptit có thể được liên kết với gốc hợp chất tương thích sinh học, đặc biệt là vùng Fc của globulin miễn dịch và dẫn xuất glucagon có thể là được chọn từ nhóm bao gồm nhóm aldehyde, nhóm maleimide, và dẫn xuất succinimide, nhưng không chỉ giới hạn ở các nhóm này.

Ví dụ về nhóm aldehyde có thể bao gồm nhóm propionaldehyde hoặc nhóm butyraldehyde, nhưng không chỉ giới hạn ở.

Ví dụ về dẫn xuất succinimide có thể bao gồm succinimide valerate, succinimide methylbutanoate, succinimide methylpropionate, succinimide butanoate, succinimide propionate, N-hydroxysuccinimide, hydroxy succinimide, succinimide carboxymethyl, hoặc succinimide carbonate có thể được sử dụng, nhưng không chỉ giới hạn ở các dẫn xuất này.

Ngoài ra, hợp chất cuối cùng được tạo ra bằng phản ứng amin hóa khử thông qua liên kết aldehyde ổn định hơn hợp chất cuối cùng được liên kết bằng liên kết amide. Nhóm aldehyde phản ứng chọn lọc với đầu tận cùng N ở độ pH thấp đồng thời có thể tạo ra liên kết cộng hóa trị với gốc lysine ở độ pH cao, ví dụ độ pH = 9,0.

Các nhóm phản ứng ở cả hai đầu của gốc liên kết không peptit có thể giống nhau hoặc khác nhau, ví dụ nhóm maleimide phản ứng có thể được bố trí ở một đầu và nhóm aldehyde, nhóm propionaldehyde, hoặc nhóm butyraldehyde có thể được bố trí ở đầu còn lại. Tuy nhiên, khi vùng Fc của globulin miễn dịch và dẫn xuất glucagon có thể được tiếp hợp ở một đầu của gốc liên kết không peptit, thì vùng Fc của globulin miễn dịch không bị giới hạn cụ thể ở phương án này.

Ví dụ, polyme không peptit có thể có nhóm maleimide ở một đầu và nhóm aldehyde, nhóm propionaldehyde, hoặc nhóm butyraldehyde ở đầu còn lại.

Khi polyetylen glycol có nhóm hydroxy phản ứng ở cả hai đầu của nó được sử dụng làm polyme không peptit, thì nhóm hydroxy có thể được hoạt hóa thành các nhóm

phản ứng khác nhau bằng các phản ứng hóa học đã biết, hoặc polyetylen glycol có nhóm phản ứng được cải biến có bán trên thị trường có thể được sử dụng để điều chế thể tiếp hợp protein tác dụng kéo dài theo sáng chế.

Theo phương án cụ thể, polyme không peptit có thể là polyme có thể được liên kết với gốc cystein của dẫn xuất glucagon, và cụ thể hơn, liên kết với nhóm -SH của cystein, nhưng không chỉ giới hạn ở các gốc này. Cụ thể, polyme không peptit có thể là polyetylen glycol, nhưng không chỉ giới hạn ở polyme này polyme này, và các loại khác của các polyme không peptit mô tả nêu trên cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Theo phương án cụ thể, thể tiếp hợp có thể là thể tiếp hợp trong đó peptit chứa trình tự axit amin SEQ ID NO.12, SEQ ID NO.20, hoặc SEQ ID NO.37 được liên kết với vùng Fc của globulin miễn dịch thông qua polyme không peptit, và cụ thể, polyme không peptit có thể là polyme được liên kết với gốc cystein ở vị trí số 30 của trình tự axit amin SEQ ID NO.12, gốc cystein ở vị trí số 17 của trình tự axit amin SEQ ID NO.20, hoặc gốc cystein ở vị trí số 30 của trình tự axit amin SEQ ID NO.37, nhưng không chỉ giới hạn ở các gốc này. Cụ thể, polyme không peptit có thể là polyetylen glycol, nhưng không chỉ giới hạn ở polyme này, và các loại khác của các polyme không peptit mô tả nêu trên cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Khi maleimit-PEG-aldehyt được sử dụng, thì nhóm maleimit có thể được liên kết với nhóm -SH của dẫn xuất glucagon thông qua liên kết thioete và nhóm aldehyt có thể được liên kết với -NH₂ của Fc của globulin miễn dịch thông qua phản ứng amin hóa khử, nhưng không chỉ giới hạn ở các phương án này.

Ngoài ra, trong thể tiếp hợp nêu trên, nhóm phản ứng của polyme không peptit có thể được liên kết với NH₂ nằm ở đầu tận cùng N của vùng Fc của globulin miễn dịch, nhưng không chỉ giới hạn ở các phương án này.

Trong sáng chế, “vùng Fc của globulin miễn dịch” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ vùng bao gồm vùng hằng định chuỗi nặng 2 (CH₂) và/hoặc vùng hằng định chuỗi nặng 3 (CH₃), không bao gồm vùng thay đổi chuỗi nặng và vùng thay đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch. Vùng Fc của globulin miễn dịch có thể là gốc liên kết cấu trúc tạo ra gốc chức của thể tiếp hợp protein theo sáng chế.

Vùng Fc của globulin miễn dịch có thể bao gồm vùng bản lề trong vùng hằng định chuỗi nặng, nhưng không chỉ giới hạn ở vùng này. Ngoài ra, vùng Fc của globulin miễn dịch theo sáng chế có thể là vùng Fc được kéo dài bao gồm một phần hoặc toàn bộ vùng hằng định chuỗi nặng 1 (CH1) và/hoặc vùng hằng định chuỗi nhẹ 1 (CL1), không bao gồm vùng thay đổi chuỗi nặng và vùng thay đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch, miễn là vùng Fc của globulin miễn dịch có hoạt tính gần như tương đương hoặc được cải thiện hơn so với vùng Fc tự nhiên. Ngoài ra, vùng Fc của globulin miễn dịch theo sáng chế có thể là vùng trong đó một đoạn khá dài của trình tự axit amin tương ứng với CH2 và/hoặc CH3 được loại bỏ.

Ví dụ, vùng Fc của globulin miễn dịch theo sáng chế có thể là 1) miền CH1, miền CH2, miền CH3, và miền CH4; 2) miền CH1 và miền CH2; 3) miền CH1 và miền CH3; 4) miền CH2 và miền CH3; 5) tổ hợp giữa một hoặc hai hoặc nhiều miền trong số các miền CH1, miền CH2, miền CH3, và miền CH4 và vùng bản lề của globulin miễn dịch (hoặc đoạn chức năng của vùng bản lề); và 6) đime giữa mỗi miền của vùng hằng định chuỗi nặng và vùng hằng định chuỗi nhẹ, nhưng không chỉ giới hạn ở các vùng này.

Ngoài ra, theo phương án cụ thể, vùng Fc của globulin miễn dịch có thể ở dạng đime, và một phân tử của dẫn xuất glucagon có thể là được liên kết cộng hóa trị với vùng Fc ở dạng đime, và cụ thể, vùng Fc của globulin miễn dịch và dẫn xuất glucagon có thể được liên kết nội phân tử thông qua polyme không peptit. Hơn nữa, two molecules của dẫn xuất glucagon có thể có thể được tiếp hợp theo cách đối xứng với một vùng Fc duy nhất ở dạng đime. Cụ thể, vùng Fc của globulin miễn dịch và dẫn xuất glucagon hoặc peptit kích thích sản sinh insulin có thể được liên kết nội phân tử thông qua gốc liên kết không peptit, nhưng không chỉ giới hạn ở phương án nêu trên.

Ngoài ra, vùng Fc của globulin miễn dịch theo sáng chế không chỉ bao gồm trình tự axit amin tự nhiên nhưng cũng bao gồm dẫn xuất trình tự của nó. Thuật ngữ “dẫn xuất trình tự axit amin” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ trình tự axit amin có khác biệt về ít nhất một gốc axit amin do đột biến loại bỏ, đột biến chèn thêm, đột biến thay thế không bảo thủ hoặc bảo thủ, hoặc tổ hợp của chúng.

Ví dụ, các gốc axit amin ở các vị trí 214 đến 238, 297 đến 299, 318 to 322, hoặc 327 to 331, đã biết là có thể gắn kết với vùng Fc của globulin miễn dịch, có thể được sử

dụng các vị trí thích hợp để cải biến.

Ví dụ về các dẫn xuất khác nhau khác bao gồm dẫn xuất có đột biến loại bỏ vùng có khả năng tạo ra liên kết disulfua, hoặc đột biến loại bỏ một số gốc axit amin ở đầu tận cùng N của vùng Fc tự nhiên hoặc đột biến bổ sung gốc metionin ở đầu tận cùng N của vùng Fc tự nhiên. Hơn nữa, để loại bỏ các hoạt tính tác động, đột biến loại bỏ có thể xuất hiện ở vị trí gắn kết bổ thể, như vị trí gắn kết yếu tố bổ thể C1q và vị trí có hoạt tính gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể. Các phương pháp điều chế các dẫn xuất trình tự này của của vùng Fc của globulin miễn dịch được bộc lộ trong WO97/34631, WO96/32478, v.v.

Các đột biến thay đổi axit amin trong các protein và peptit, không làm biến đổi hoạt tính của các protein hoặc peptit, đã biết trong lĩnh vực này (H. Neurath, R. L. Hill, *The Proteins*, Academic Press, New York, 1979). Các đột biến thay đổi phổ biến nhất bao gồm Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Thy/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu, và Asp/Gly, theo cả hai chiều. Ngoài ra, khi cần, vùng Fc có thể được cải biến bằng phương pháp phosphoryl hóa, phương pháp sulfat hóa, phương pháp acryl hóa, phương pháp glycosyl hóa, phương pháp metyl hóa, phương pháp farnesyl hóa, phương pháp axetyl hóa, phương pháp amit hóa, v.v.

Các dẫn xuất Fc nêu trên có hoạt tính sinh học tương đương với vùng Fc theo sáng chế và có độ ổn định cấu trúc được cải thiện trong điều kiện nhiệt, độ pH, v.v.

Hơn nữa vùng Fc của globulin miễn dịch có thể thu được từ các dạng tự nhiên được phân lập *in vivo* từ người hoặc động vật, như bò, dê, lợn, chuột nhắt, thỏ, chuột đồng, chuột cống, chuột lang, v.v., hoặc có thể là biến thể tái tổ hợp hoặc dẫn xuất của nó, thu được từ tế bào động vật hoặc vi sinh vật chuyển gen. Theo đó, vùng Fc có thể là thu được từ globulin miễn dịch tự nhiên bằng cách phân lập globulin miễn dịch toàn phần từ cơ thể sống người hoặc động vật và xử lý globulin miễn dịch phân lập với proteaza. Khi được xử lý bằng papain, thì globulin miễn dịch toàn phần được phân cắt thành vùng Fab và vùng Fc, trong khi đó khi globulin miễn dịch toàn phần được xử lý bằng pepsin, thì globulin miễn dịch toàn phần được phân cắt thành mảnh pF'c và mảnh F(ab)₂. Mảnh Fc hoặc pF'c có thể được phân lập bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký loại cỡ, v.v. Theo

phương án ưu tiên hơn, vùng Fc có nguồn gốc từ người là vùng Fc tái tổ hợp của globulin miễn dịch thu được từ vi sinh vật.

Ngoài ra, vùng Fc của globulin miễn dịch có thể có các glycan tự nhiên, các glycan tăng hoặc giảm so với loại tự nhiên, hoặc ở dạng được khử glycosyl hóa. Quá trình tăng, giảm, hoặc loại bỏ các glycan của Fc globulin miễn dịch có thể đạt được bằng các phương pháp thông thường, như phương pháp hóa học, phương pháp enzym, và phương pháp thiết kế di truyền bằng cách sử dụng vi sinh vật. Vùng Fc của globulin miễn dịch thu được bằng cách loại bỏ các glycan khỏi vùng Fc có hoạt tính gắn kết với yếu tố bổ thể C1q giảm đáng kể và làm giảm hoặc làm mất hoạt tính gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể hoặc hoạt tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể, do đó không gây đáp ứng miễn dịch không mong muốn *in vivo*. Về vấn đề này, vùng Fc của globulin miễn dịch trong vùng Fc của globulin miễn dịch được khử glycosyl hóa hoặc không được glycosyl hóa có thể là dạng ổn định hơn để sử dụng làm chất mang được dùng theo sáng chế.

Thuật ngữ “khử glycosyl hóa” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ quá trình loại bỏ bằng enzym các gốc đường khỏi vùng Fc, và thuật ngữ “không được glycosyl hóa” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ vùng Fc chưa được glycosyl hóa được sản sinh trong sinh vật nhân thật, cụ thể hơn, *E. coli*.

Đồng thời, vùng Fc của globulin miễn dịch có thể là có nguồn gốc từ người hoặc động vật bao gồm bò, dê, lợn, chuột nhắt, thỏ, chuột đồng, chuột cống, và chuột nang. Theo phương án ưu tiên hơn, vùng Fc của globulin miễn dịch có nguồn gốc từ người.

Ngoài ra, vùng Fc của globulin miễn dịch có thể là có nguồn gốc từ IgG, IgA, IgD, IgE, IgM, hoặc tổ hợp hoặc thể lai hóa của chúng. Theo phương án ưu tiên hơn, vùng Fc của globulin miễn dịch có nguồn gốc từ IgG hoặc IgM, là một trong số các protein có nhiều nhất trong máu người, và theo phương án ưu tiên hơn, vùng Fc của globulin miễn dịch có nguồn gốc từ IgG, để làm tăng thời gian bán thải của protein gắn kết phối tử. Theo phương án ưu tiên hơn, vùng Fc của globulin miễn dịch là vùng Fc IgG4, và theo phương án ưu tiên nhất, vùng Fc IgG4 là vùng Fc không được glycosyl hóa có nguồn gốc từ IgG4 của người, nhưng không chỉ giới hạn ở vùng này.

Thuật ngữ “tổ hợp” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ các polypeptit mã hóa các vùng Fc chuỗi đơn của globulin miễn dịch có cùng nguồn gốc được liên kết với

polypeptit chuỗi đơn có nguồn gốc khác để tạo thành đime hoặc multime. Tức là, đime hoặc multime có thể được tạo ra từ hai hoặc nhiều mảnh được chọn từ nhóm bao gồm mảnh Fc IgG, mảnh Fc IgA, mảnh Fc IgM, mảnh Fc IgD, và mảnh Fc IgE.

Chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, hoặc hội chứng chuyển hóa.

Thuật ngữ “phòng ngừa” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ toàn bộ các biện pháp để ức chế hoặc làm chậm khởi phát của bệnh cần điều trị (ví dụ hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, hoặc hội chứng chuyển hóa) bằng cách sử dụng dẫn xuất glucagon, thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này, hoặc chế phẩm chứa chúng, và thuật ngữ “điều trị” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ toàn bộ các biện pháp để cải thiện hoặc biến đổi có lợi các triệu chứng của bệnh cần điều trị (ví dụ hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, hoặc hội chứng chuyển hóa) bằng cách sử dụng dẫn xuất glucagon, thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này, hoặc chế phẩm chứa chúng.

Thuật ngữ “sử dụng” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ biện pháp đưa hợp chất cụ thể vào đối tượng bị bệnh bằng phương pháp thích hợp. Chế phẩm có thể được sử dụng bằng đường đưa thuốc thông thường cho phép phân phối chế phẩm vào mô đích *in vivo*, ví dụ đường tiêm màng bụng, đường tiêm tĩnh mạch, đường tiêm bắp, đường tiêm dưới da, đường trong da, đường miệng, đường khu trú, đường trong mũi, đường hô hấp, và đường trực tràng, nhưng không chỉ giới hạn ở các đường đưa thuốc này.

Thuật ngữ “hội chứng hạ đường máu” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ tình trạng sức khỏe, trong đó nồng độ glucoza trong máu thấp hơn nồng độ glucoza máu của người bình thường, và thuật ngữ này được sử dụng trong bản mô tả để chỉ tình trạng sức khỏe khi nồng độ glucoza trong máu bằng 50mg/dL hoặc nhỏ hơn, nhưng không chỉ giới hạn ở nồng độ này. Hội chứng hạ đường máu thường xuất hiện khi một người dùng thuốc hạ đường máu hoặc insulin đã ăn ít hơn bình thường hoặc đã thực hiện các hoạt động hoặc tập thể dục nhiều hơn bình thường. Ngoài ra, hội chứng hạ đường máu có thể xuất hiện do uống rượu, sử dụng dược chất làm giảm nồng độ glucoza, bệnh nặng, thiếu hụt hormon, như hormon vỏ thượng thận và glucagon, khối u ở tụy sản sinh insulin, bệnh tự miễn insulin, đối tượng bị cắt dạ dày, rối loạn chuyển hóa carbohydrat bẩm sinh, v.v.

Trong sáng chế, hội chứng hạ đường máu bao gồm cả hội chứng hạ đường máu

cấp tính và hội chứng hạ đường máu mãn tính.

Các triệu chứng của hội chứng hạ đường máu bao gồm yếu mệt, run rẩy, da nhợt nhạt, mồ hôi lạnh, chóng mặt, tăng động, lo âu, tim đập nhanh, rỗng dạ dày, đau đầu, mệt mỏi, v.v. Trong trường hợp mãn tính, hội chứng hạ đường máu có thể dẫn đến co giật hoặc lên cơn, và có thể gây sốc, do đó gây ngất xỉu.

Cụ thể hơn, hội chứng hạ đường máu có thể gây ra bởi hội chứng tăng insulin máu mãn tính do đột biến gen. Ví dụ về các nguyên nhân đã biết gây ra hội chứng tăng insulin máu mãn tính do đột biến gen có thể bao gồm đột biến gen *SUR* hoặc gen *Kir6.2* nằm ở nhiễm sắc thể *11p15.1*, hoặc tăng hoạt tính glucokinaza (GK) do đột biến gen GK nằm ở nhiễm sắc thể *7p15-p13*, tăng ATP trong các tế bào đảo tụy do đột biến gen glutamat dehydrogenaza (GDH), v.v.

Đồng thời, hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh là một trong số các nguyên nhân gây ra hội chứng hạ đường máu mãn tính và nghiêm trọng ở trẻ sơ sinh và trẻ em. Hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh có thể gây ra bởi chức năng bất thường của tế bào tụy do tăng bài tiết insulin tạm thời hoặc đột biến gen ở trẻ sơ sinh nhẹ cân hoặc trẻ sơ sinh có bà mẹ bị bệnh đái tháo đường, v.v. Đã biết rằng glucagon có thể được sử dụng để điều trị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh.

Ngoài ra, dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này có thể được sử dụng phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng hạ đường máu.

Ngoài ra, dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này theo sáng chế có thể được sử dụng làm thuốc không chỉ để ngăn ngừa tăng trọng lượng cơ thể, tăng cường giảm trọng lượng cơ thể, giảm tình trạng tăng trọng lượng cơ thể quá mức, và điều trị bệnh béo phì bao gồm bệnh béo phì quá mức (ví dụ bằng cách kiểm soát chứng thèm ăn, quá trình tiêu thụ dinh dưỡng, hấp thu dinh dưỡng, hấp thu năng lượng, và/hoặc tiêu thụ năng lượng), và cũng để điều trị tình trạng viêm liên quan đến béo phì, bệnh túi mật liên quan đến béo phì, và chứng ngưng thở khi ngủ do béo phì, nhưng không chỉ giới hạn ở các bệnh này, và có thể được sử dụng để điều trị các bệnh hoặc tình trạng sức khỏe liên quan. Dẫn xuất glucagon theo sáng chế hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này cũng có thể được sử dụng để điều trị hội chứng chuyển hóa không phải là bệnh béo phì, tức là bệnh liên quan đến béo phì, như hội chứng giảm dung nạp glucoza, hội chứng tăng cholesterol

huyết, rối loạn mỡ máu, bệnh béo phì, bệnh đái tháo đường, bệnh tăng huyết áp, bệnh viêm gan không do rượu, hội chứng xơ vữa động mạch do rối loạn mỡ máu, hội chứng xơ vữa động mạch, hội chứng xơ cứng động mạch, bệnh mạch vành, bệnh đột quy, v.v. Tuy nhiên, các tác dụng của peptit theo sáng chế có thể liên quan toàn bộ hoặc một phần đến các tác động từ trọng lượng cơ thể mô tả nêu trên hoặc có thể không phụ thuộc vào các tác động này.

Thuật ngữ “hội chứng chuyển hóa” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ triệu chứng ở đó các bệnh khác nhau xuất hiện do rối loạn chuyển hóa mãn tính xuất hiện riêng hoặc kết hợp. Cụ thể, ví dụ về các hội chứng chuyển hóa có thể bao gồm hội chứng giảm dung nạp glucoza, hội chứng tăng cholesterol huyết, rối loạn mỡ máu, bệnh béo phì, bệnh đái tháo đường, bệnh tăng huyết áp, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu, hội chứng xơ cứng động mạch do rối loạn mỡ máu, hội chứng xơ vữa động mạch, hội chứng xơ cứng động mạch, bệnh mạch vành, bệnh đột quy, v.v., nhưng không chỉ giới hạn ở các bệnh này.

Thuật ngữ “bệnh béo phì” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ tình trạng sức khỏe tích tụ quá nhiều chất béo và đối tượng được chuẩn đoán là bị bệnh béo phì khi chỉ số cơ thể ($BMI = \text{trọng lượng cơ thể (kg)} / \text{chiều cơ thể}^2 \text{ (m)}^2$) bằng 25 hoặc cao hơn. Bệnh béo phì thường gây ra bởi sự mất cân bằng năng lượng do hấp thu quá nhiều dinh dưỡng so với tiêu thụ năng lượng trong thời gian dài. Bệnh béo phì, là bệnh chuyển hóa ảnh hưởng đến toàn bộ cơ thể, làm tăng nguy cơ tiến triển bệnh đái tháo đường và hội chứng tăng lipit máu, tăng nguy cơ mắc rối loạn chức năng sinh dục, bệnh viêm khớp, và bệnh tim mạch, và liên quan đến tiến triển bệnh ung thư trong một số trường hợp.

Dẫn xuất glucagon theo sáng chế có điểm đẳng điện được biến đổi, do đó có thể có độ hòa tan và độ ổn định cao hơn ở độ pH trung tính so với glucagon tự nhiên. Ngoài ra, dẫn xuất glucagon theo sáng chế có thể có hoạt tính hoạt hóa thụ thể glucagon, do đó có thể được sử dụng hữu hiệu phòng ngừa hoặc điều trị các bệnh mong muốn bao gồm hội chứng hạ đường máu, hội chứng chuyển hóa, và hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh.

Dược phẩm theo sáng chế có thể chứa chất mang, tá dược, hoặc tá dược pha loãng được dụng. Thuật ngữ “dược dụng” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ các đặc tính của

của thành phần có lượng đủ để tạo ra tác dụng điều trị bệnh và không gây các tác dụng không mong muốn, và có thể được xác định dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này dựa trên các yếu tố đã biết trong lĩnh vực này, như loại bệnh cần điều trị, độ tuổi, trọng lượng cơ thể, tình trạng sức khỏe, giới tính, độ miễn cảm của đối tượng bị bệnh với dược chất, đường đưa thuốc, phương pháp sử dụng, tần suất sử dụng, thời gian điều trị, dược chất khác được phối hợp hoặc sử dụng đồng thời, v.v.

Dược phẩm chứa peptit theo sáng chế hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này có thể còn chứa chất mang dược dụng. Chất mang dược dụng để sử dụng qua đường miệng có thể bao gồm tá dược dính, tá dược gây trượt, tá dược rã, tá dược, tá dược hòa tan, tá dược phân tán, tá dược ổn định, chất gây thấm ổn định, chất màu, chất thơm, v.v.; để sử dụng qua đường tiêm, tá dược đệm, chất bảo quản, tá dược giảm đau, tá dược hòa tan, tá dược đẳng trương, tá dược ổn định, v.v., có thể được sử dụng kết hợp; và để sử dụng khu trú, tá dược nền, tá dược, tá dược trơn, chất bảo quản, v.v., mặc dù không chỉ giới hạn ở các tá dược này.

Dạng bào chế của chế phẩm theo sáng chế có thể được bào chế bằng cách kết hợp chất mang dược dụng mô tả nêu trên. Ví dụ, để sử dụng qua đường miệng, chế phẩm có thể được bào chế thành viên nén, viên ngậm, viên nang, cốm thuốc, hỗn dịch, si-rô, viên nhện, v.v. Để sử dụng qua đường tiêm, chế phẩm có thể được bào chế thành ống tiêm đơn liều hoặc đồ chứa đa liều. Chế phẩm có thể cũng được bào chế thành dung dịch, hỗn dịch, viên nén, viên nang, và chế phẩm giải phóng kéo dài.

Đồng thời, ví dụ về chất mang, tá dược, và tá dược dược dụng thích hợp có thể bao gồm lactoza, dextroza, sucroza, sorbitol, manitol, xylitol, erythritol, maltitol, tinh bột, gôm acacia, alginat, gelatin, canxi phosphat, canxi silicat, xenluloza, metyl xenluloza, xenluloza vi tinh thể, polyvinylpyrrolidon, nước, metyl hydroxybenzoat, propyl hydroxybenzoat, talc, magie stearat, dầu khoáng, v.v. Ngoài ra, chế phẩm có thể còn chứa tá dược độn, tá dược chống đông tụ, tá dược trơn, tá dược làm ẩm, chất thơm, chất bảo quản, v.v.

Ngoài ra, dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế thành dạng bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm viên nén, viên tròn, thuốc bột, cốm thuốc, viên nang, hỗn dịch, thuốc dạng lỏng để dùng bên trong cơ thể, nhũ tương, si-rô, dung dịch thuốc tiêm vô

trùng, dung dịch thuốc không chứa nước, chế phẩm đông khô, và thuốc đạn.

Ngoài ra, chế phẩm có thể được bào chế thành dạng bào chế đơn liều thích hợp để sử dụng cho cơ thể của đối tượng bị bệnh, và cụ thể là chế phẩm theo sáng chế được bào chế thành dạng thuốc thích hợp cho các dược chất peptit theo các phương thông thường đã biết trong lĩnh vực này để sử dụng qua đường miệng hoặc đường ngoài tiêu hóa, như đường qua da, tiêm tĩnh mạch, tiêm bắp, tiêm động mạch, tiêm vào tủy sống, tiêm vào nội tủy mạc, tiêm vào não thất, đường hô hấp, tiêm qua da, tiêm dưới da, tiêm màng bụng, qua mũi, trong dạ dày, khu trú, dưới lưỡi, âm đạo, hoặc trực tràng, nhưng không chỉ giới hạn ở các đường đưa thuốc này.

Ngoài ra, peptit hoặc thể tiếp hợp có thể được sử dụng bằng cách trộn với các chất mang dược dụng khác nhau, như dung dịch nước muối sinh lý hoặc dung môi hữu cơ. Để làm tăng độ ổn định hoặc khả năng hấp thu, carbohydrat, như glucoza, sucroza, hoặc dextran; chất chống oxy hóa, như axit ascorbic hoặc glutathion; chất tạo phức chelat; protein khối lượng phân tử thấp; hoặc các chất ổn định khác có thể được sử dụng.

Liều sử dụng và tần suất sử dụng của dược phẩm theo sáng chế được xác định theo loại hoạt chất, cùng với các yếu tố khác nhau, như bệnh cần điều trị, đường đưa thuốc, giới tính, độ tuổi của đối tượng bị bệnh, và trọng lượng cơ thể, và mức độ nghiêm trọng của bệnh.

Mặc dù không bị giới hạn cụ thể, dược phẩm theo sáng chế có thể chứa hoạt chất với hàm lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 99% (khối lượng/thể tích).

Liều hữu hiệu tổng số của chế phẩm theo sáng chế có thể được xác định cho đối tượng bị bệnh ở liều đơn, hoặc có thể được sử dụng trong thời gian dài với đa liều theo phác đồ điều trị gián đoạn. Trong dược phẩm theo sáng chế, hàm lượng của các hoạt chất có thể rất thay đổi phụ thuộc vào mức độ nghiêm trọng của bệnh. Cụ thể là, liều ưu tiên hàng ngày tổng số của peptit hoặc thể tiếp hợp theo sáng chế có thể nằm trong khoảng từ 0,0001 μ g đến 500mg/kg trọng lượng cơ thể của đối tượng bị bệnh. Tuy nhiên, liều hữu hiệu của peptit hoặc thể tiếp hợp được xác định phụ thuộc vào các yếu tố khác nhau bao gồm độ tuổi, trọng lượng cơ thể, tình trạng sức khỏe, giới tính của đối tượng bị bệnh, mức độ nghiêm trọng của bệnh, chế độ dinh dưỡng, và tốc độ thải trừ, ngoài đường đưa thuốc và tần suất điều trị của dược phẩm. Về vấn đề này, người có hiểu biết trung bình

trong lĩnh vực này có thể dễ dàng xác định được liều hữu hiệu thích hợp để sử dụng được phẩm theo sáng chế. Dược phẩm theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể ở dạng bào chế, đường đưa thuốc và phương pháp sử dụng, miễn là dược phẩm này có các tác dụng theo sáng chế.

Dược phẩm theo sáng chế có thể có thời gian hiệu lực *in vivo* và hàm lượng dược chất có hoạt tính rất cao, do đó số lần và tần suất sử dụng có thể được giảm đáng kể so với các dược phẩm khác, nhưng không chỉ giới hạn ở các đặc tính này.

Cụ thể, do dược phẩm theo sáng chế chứa hoạt chất là dẫn xuất glucagon có điểm đẳng điện được biến đổi khác với điểm đẳng điện của glucagon tự nhiên, nên dược phẩm theo sáng chế có độ hòa tan và/hoặc độ ổn định cao ở điều kiện pH của dung dịch thuốc thu được, do đó dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng hữu hiệu trong bào chế chế phẩm glucagon ổn định để điều trị các bệnh mong muốn bao gồm hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, hoặc hội chứng chuyển hóa.

Liên quan đến dược phẩm phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng chuyển hóa, hoặc phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng chuyển hóa, dược phẩm có thể còn chứa hợp chất hoặc hoạt chất khác có hoạt tính điều trị hội chứng chuyển hóa, và phương pháp điều trị có thể còn bao gồm bước sử dụng hợp chất hoặc hoạt chất nêu trên.

Ví dụ về hợp chất hoặc hoạt chất khác có hoạt tính điều trị hội chứng chuyển hóa để sử dụng kết hợp trong chế phẩm theo sáng chế có thể bao gồm peptit kích thích sản sinh insulin, chất chủ vận thụ thể peptit tương tự glucagon-1, chất chủ vận thụ thể leptin, chất ức chế dipeptidyl peptidaza, chất đối kháng thụ thể Y5, chất đối kháng thụ thể hormon tích tụ melanin, chất chủ vận thụ thể Y2/4, chất chủ vận thụ thể melanocortin 3/4, chất ức chế lipaza dạ dày/tụy, chất chủ vận thụ thể 5-hydroxytryptamin 2C (5HT2C), chất chủ vận thụ thể β 3A, chất chủ vận thụ thể amylin, chất đối kháng ghrelin, chất đối kháng thụ thể ghrelin, chất chủ vận thụ thể alpha được hoạt hóa bởi chất tăng sinh peroxisom, chất chủ vận thụ thể delta được hoạt hóa bởi chất tăng sinh peroxisom, chất chủ vận thụ thể Farnesoid X, chất ức chế acetyl-CoA carboxylaza, peptit YY, cholecystokinin, xenin, glicentin, obestatin, secretin, nesfatin, insulin, và peptit kích thích sản sinh insulin phụ thuộc glucoza, nhưng không chỉ giới hạn ở. Ngoài ra, toàn bộ các thuốc hữu hiệu để điều trị bệnh béo phì và các thuốc có hoạt tính ức chế tình trạng viêm gan và xơ gan có thể

được sử dụng.

Cụ thể là, peptit kích thích sản sinh insulin có thể là được chọn từ nhóm bao gồm peptit tương tự glucagon-1, exendin-3, exendin-4, chất chủ vận, dẫn xuất, mảnh chức năng, biến thể, và tổ hợp của chúng.

Cụ thể hơn, peptit kích thích sản sinh insulin có thể là dẫn xuất peptit kích thích sản sinh insulin trong đó gốc histidin ở đầu tận cùng N của peptit kích thích sản sinh insulin được thế bằng gốc chức được chọn từ nhóm bao gồm desamino-histidyl, N-dimetyl-histidyl, β -hydroxy imidazopropionyl, 4-imidazoaxetyl, và β -carboxy imidazopropionyl, nhưng không chỉ giới hạn ở các gốc này. Cụ thể, peptit kích thích sản sinh insulin có thể là GLP-1, exendin-3, hoặc exendin-4.

Thậm chí cụ thể hơn, peptit kích thích sản sinh insulin có thể là được chọn từ nhóm bao gồm exendin-4 tự nhiên; dẫn xuất exendin-4 trong đó nhóm amin ở đầu tận cùng N của exendin-4 được loại bỏ; dẫn xuất exendin-4 trong đó nhóm amin ở đầu tận cùng N của exendin-4 được thế bằng nhóm hydroxyl; dẫn xuất exendin-4 trong đó nhóm amin ở đầu tận cùng N của exendin-4 được cải biến bằng nhóm dimetyl; dẫn xuất exendin-4 trong đó cacbon α của axit amin thứ nhất histidin của exendin-4 được loại bỏ; dẫn xuất exendin-4 trong đó axit amin lysin ở vị trí số 12 của exendin-4 được thế bằng serin, và dẫn xuất exendin-4 trong đó axit amin lysin ở vị trí số 12 của exendin-4 được thế bằng arginin, nhưng không chỉ giới hạn ở các peptit này.

Đồng thời, peptit kích thích sản sinh insulin khác hoặc thể tiếp hợp tác dụng kéo dài chứa peptit này được mô tả trong Đơn Patent Hoa Kỳ số 2010-0105877 được kết hợp vào sáng chế bằng cách viện dẫn, nhưng không chỉ giới hạn ở các peptit và thể tiếp hợp này.

Ngoài ra, peptit kích thích sản sinh insulin có thể là ở dạng thể tiếp hợp chứa gốc peptit, chứa trình tự axit amin của peptit kích thích sản sinh insulin nêu trên, và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết với gốc peptit, nhưng không chỉ giới hạn ở các peptit này. Cụ thể là, khác biệt ở chỗ, gốc peptit chứa trình tự axit amin của peptit kích thích sản sinh insulin là gốc peptit ở dạng thể tiếp hợp được liên kết cộng hóa trị với gốc hợp chất tương thích sinh học thông qua gốc liên kết, nhưng không chỉ giới hạn ở các gốc peptit này. Thể tiếp hợp của peptit kích thích sản sinh insulin có thể là thể tiếp hợp tác

dụng kéo dài, và các thuật ngữ liên quan đến dạng bào chế tác dụng kéo dài được mô tả tương tự nêu trên.

Đối với toàn bộ các dấu hiệu liên quan đến thể tiếp hợp, cụ thể, gốc hợp chất tương thích sinh học (Fc của globulin miễn dịch) và gốc liên kết (ví dụ polyme không peptit), toàn bộ nội dung mô tả nêu trên sẽ được áp dụng. Ví dụ, gốc liên kết có thể là gốc liên kết được liên kết tương ứng với gốc peptit và gốc hợp chất tương thích sinh học thông qua các liên kết cộng hóa trị, được tạo ra tương ứng khi một đầu của gốc liên kết được phản ứng với nhóm amin hoặc nhóm thiol của gốc hợp chất tương thích sinh học trong khi đầu còn lại của gốc liên kết được phản ứng với nhóm amin hoặc nhóm thiol của gốc peptit.

Theo phương án cụ thể, một đầu của gốc liên kết không peptit có thể phản ứng với nhóm amin hoặc nhóm thiol của vùng Fc của globulin miễn dịch trong khi đầu còn lại của gốc liên kết phản ứng với nhóm amin hoặc nhóm thiol của peptit kích thích sản sinh insulin và nhờ đó tương ứng tạo ra liên kết cộng hóa trị.

Theo phương án ưu tiên hơn, chế phẩm hoặc phương phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng chuyển hóa nêu trên có thể là chế phẩm hoặc phương pháp chứa hoặc sử dụng peptit chứa trình tự axit amin có công thức chung 2 hoặc thể tiếp hợp gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết cộng hóa trị với peptit, nhưng không chỉ giới hạn ở các peptit và thể tiếp hợp này.

Y-Aib-QGTF-X7-SD-X10-S-X12-Y-L-X15-X16-X17-R-A-X20-X21-F-V-X24-W-L-M-N-T-X30 (công thức chung 2, SEQ ID NO.46)

trong đó, trong công thức chung 2, X7 là threonin, valin, hoặc cystein; X10 là tyrosin hoặc cystein; X12 là lysin hoặc cystein; X15 là axit aspartic hoặc cystein; X16 là axit glutamic hoặc serin; X17 là lysin hoặc arginin; X20 là glutamin hoặc lysin; X21 là axit aspartic hoặc axit glutamic; X24 là valin hoặc glutamin; và X30 là cystein, hoặc vắng mặt.

Peptit theo phương án cụ thể nêu trên, khi trình tự axit amin có công thức chung 2 là giống hệt như trình tự bất kỳ trong số các trình tự như nêu trong SEQ ID NO.19, SEQ ID NO.33, SEQ ID NO.49, và SEQ ID NO.50, thì toàn bộ hoặc một đoạn của các peptit

này có thể được loại trừ.

Cụ thể hơn, dược phẩm này có thể chứa cả (i) thể tiếp hợp chứa gốc peptit chứa trình tự axit amin SEQ ID NO.37, và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết cộng hóa trị với gốc peptit; và (ii) thể tiếp hợp chứa gốc imidazo-axetyl exendin-4 trong đó carbon α của axit amin thứ nhất histidin của exendin-4 được loại bỏ và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết cộng hóa trị với gốc imidazo-axetyl exendin-4. Thậm chí cụ thể hơn, gốc peptit chứa trình tự axit amin SEQ ID NO.37 và gốc imidazo-axetyl exendin-4 có thể được liên kết với các gốc hợp chất tương thích sinh học tương ứng của chúng thông qua gốc liên kết, nhưng không chỉ giới hạn ở các thể tiếp hợp này.

Liều sử dụng của hợp chất hoặc hoạt chất khác có hoạt tính điều trị hội chứng chuyển hóa, đặc biệt là thể tiếp hợp trong đó peptit kích thích sản sinh insulin được liên kết với gốc hợp chất tương thích sinh học, có thể nằm trong khoảng từ 0,0001 μg đến 500 mg/kg trọng lượng cơ thể của đối tượng bị bệnh, nhưng không chỉ giới hạn ở.

Ngoài ra, dược phẩm theo sáng chế có thể chứa các hoạt chất nêu trên để sử dụng kết hợp, tức là, hợp chất hoặc hoạt chất khác có hoạt tính điều trị hội chứng chuyển hóa và dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này (hoặc mỗi thành phần trong số các hoạt chất nêu trên để sử dụng kết hợp), ở hàm lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 99% (khối lượng/thể tích).

Đồng thời, theo một khía cạnh, hợp chất hoặc hoạt chất khác có hoạt tính điều trị hội chứng chuyển hóa và dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này, đặc biệt là thể tiếp hợp ở đó gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết với peptit kích thích sản sinh insulin (ví dụ thể tiếp hợp peptit kích thích sản sinh insulin-PEG-IgFc) và thể tiếp hợp ở đó gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết với dẫn xuất glucagon có thể được sử dụng ở tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:0,01 đến 1:50, nhưng không chỉ giới hạn ở.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kit chứa dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này, và cụ thể sáng chế đề xuất kit phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, hoặc hội chứng chuyển hóa bao gồm dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này.

Dẫn xuất glucagon, hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này, hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, hội chứng chuyển hóa, phương pháp phòng ngừa, hoặc phương pháp điều trị là tương tự như nêu trên. Các loại hoạt chất có thể còn được chứa trong kit theo sáng chế có thể bao gồm toàn bộ các hoạt chất có thể được chứa trong chế phẩm mô tả nêu trên.

Cụ thể, khi kit là kit phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng chuyển hóa, thì kit này có thể chứa cả (i) dẫn xuất glucagon, đặc biệt là peptit chứa trình tự axit amin có công thức chung 1 hoặc 2, hoặc thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này, và (ii) peptit kích thích sản sinh insulin, cụ thể GLP-1, exendin-3, exendin-4, hoặc dẫn xuất của nó, hoặc thể tiếp hợp chứa peptit này, nhưng không chỉ giới hạn ở các hoạt chất này.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dẫn xuất glucagon.

Dẫn xuất glucagon là tương tự như mô tả nêu trên.

Cụ thể hơn, khác biệt ở chỗ dẫn xuất này là peptit phân lập chứa trình tự axit amin có công thức chung 1 (SEQ ID NO.45) mô tả nêu trên. Đối với phần giải thích và tổ hợp liên quan đến peptit phân lập chứa trình tự axit amin có công thức chung 1, toàn bộ các nội dung mô tả nêu trên sẽ được áp dụng.

Khác biệt ở chỗ dẫn xuất này là peptit phân lập chứa trình tự axit amin như nêu trong công thức chung 2.

Y-Aib-QGTF-X7-SD-X10-S-X12-Y-L-X15-X16-X17-R-A-X20-X21-F-V-X24-W-L-M-N-T-X30 (công thức chung 2, SEQ ID NO.46)

trong đó, trong công thức chung 2, X7 là threonin, valin, hoặc cystein; X10 là tyrosin hoặc cystein; X12 là lysin hoặc cystein; X15 là axit aspartic hoặc cystein; X16 là axit glutamic hoặc serin; X17 là lysin hoặc arginin; X20 là glutamin hoặc lysin; X21 là axit aspartic hoặc axit glutamic; X24 là valin hoặc glutamin; và X30 là cystein, hoặc vắng mặt.

Khi trình tự axit amin có công thức chung 2 là giống hệt như trình tự bất kỳ trong số các trình tự như nêu trong SEQ ID NO.19, SEQ ID NO.33, SEQ ID NO.49, và SEQ ID NO.50, thì trình tự axit amin này có thể được loại trừ.

Cụ thể hơn, trong peptit chứa trình tự axit amin có công thức chung 2, X16 có thể là axit glutamic, X20 có thể là lysin, và các chuỗi mạch bên của X16 và X20 may tạo ra vòng lactam, nhưng không chỉ giới hạn ở các axit amin này.

Ngoài ra, đầu tận cùng C của peptit chứa trình tự axit amin có công thức chung 2 có thể là amit hóa hoặc không được cải biến, nhưng không chỉ giới hạn ở phương án này.

Ngoài ra, peptit có thể là dẫn xuất glucagon có khả năng hoạt hóa thụ thể glucagon, nhưng không chỉ giới hạn ở đặc tính này.

Cụ thể hơn, peptit có thể bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.12, SEQ ID NO.13, SEQ ID NO.15, và SEQ ID NO.36 đến SEQ ID NO.44, nhưng không chỉ giới hạn ở các trình tự này.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit phân lập mã hóa dẫn xuất glucagon này, vector chứa polynucleotit này, và tế bào phân lập chứa polynucleotit hoặc vector này.

Dẫn xuất glucagon là tương tự như mô tả nêu trên.

Cụ thể là, dẫn xuất này có thể là peptit phân lập chứa trình tự axit amin có công thức chung 1 (SEQ ID NO.45) mô tả nêu trên. Đối với phần giải thích và tổ hợp liên quan đến peptit phân lập chứa trình tự axit amin có công thức chung 1, toàn bộ các nội dung mô tả nêu trên sẽ được áp dụng. Ngoài ra, cụ thể là, dẫn xuất này có thể là peptit phân lập chứa trình tự axit amin có công thức chung 2 (SEQ ID NO.46) mô tả nêu trên. Đối với phần giải thích và tổ hợp liên quan đến peptit phân lập chứa trình tự axit amin có công thức chung 2, toàn bộ các nội dung mô tả nêu trên sẽ được áp dụng.

Thuật ngữ “độ tương đồng” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ độ tương đồng trình tự với trình tự axit amin thể đại hoặc trình tự nucleotit thể đại, và độ tương đồng có thể được so sánh bằng mắt thường hoặc bằng cách sử dụng chương trình máy tính có bán trên thị trường. Bằng cách sử dụng chương trình máy tính có bán trên thị trường, độ tương đồng giữa hai hoặc nhiều trình tự có thể được biểu diễn dưới dạng tỷ lệ phần trăm (%), và độ tương đồng (%) giữa các trình tự liên kế có thể được tính toán.

Thuật ngữ “vector tái tổ hợp” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ cấu trúc ADN

bao gồm trình tự của polynucleotit mã hóa peptit đích, ví dụ dẫn xuất glucagon, được liên kết điều khiển với trình tự điều hòa thích hợp để cho phép biểu hiện peptit đích, ví dụ dẫn xuất glucagon, trong tế bào vật chủ.

Trình tự điều hòa bao gồm vùng khởi đầu có khả năng hoạt hóa phiên mã, trình tự điều khiển bất kỳ để điều hòa phiên mã, trình tự mã hóa miền gắn kết ARN thông tin ribosom thích hợp, và trình tự điều hòa kết thúc phiên mã và dịch mã. Vector tái tổ hợp, sau khi được biến nạp vào tế bào vật chủ thích hợp, có thể được tái bản hoặc không phụ thuộc vào chức năng của bộ gen của vật chủ, hoặc có thể được tích hợp vào bộ gen của chính vật chủ.

Vector tái tổ hợp được sử dụng trong sáng chế không bị giới hạn cụ thể miễn là vector này có khả năng tái bản trong tế bào vật chủ, và vector này có thể được thiết kế bằng cách sử dụng vector bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ về vector thường được sử dụng có thể bao gồm plasmit tự nhiên hoặc plasmit tái tổ hợp, cosmit, virus, và thực khuẩn thể. Các vector được sử dụng trong sáng chế có thể là vector biểu hiện bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này.

Vector tái tổ hợp được sử dụng để chuyển gen tế bào vật chủ để sản xuất các dẫn xuất glucagon theo sáng chế. Ngoài ra, các tế bào chuyển gen này có thể được sử dụng để khuếch đại các mảnh axit nucleic và vector, hoặc có thể là tế bào hoặc dòng tế bào được nuôi cấy được sử dụng trong quá trình sản xuất tái tổ hợp các dẫn xuất glucagon theo sáng chế.

Thuật ngữ “chuyển gen” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ quá trình đưa vector tái tổ hợp chứa polynucleotit mã hóa protein đích vào tế bào vật chủ, nhờ đó cho phép biểu hiện protein mã hóa bởi polynucleotit trong tế bào vật chủ. Đối với polynucleotit được biến nạp, không quan trọng là polynucleotit này được chèn vào và nằm trong nhiễm sắc thể của tế bào vật chủ hay nằm ngoài nhiễm sắc thể, miễn là polynucleotit này có thể được biểu hiện trong tế bào vật chủ, và cả hai trường hợp cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Ngoài ra, polynucleotit bao gồm ADN và ARN mã hóa protein đích. Polynucleotit có thể được chèn ở dạng bất kỳ miễn là polynucleotit này có thể được đưa vào và biểu hiện trong tế bào vật chủ. Ví dụ, polynucleotit có thể được đưa vào tế bào vật chủ ở dạng

cat-xet biểu hiện, là gen cấu trúc bao gồm toàn bộ các đoạn thiết yếu cần để tự biểu hiện. Cat-xet biểu hiện có thể bao gồm vùng khởi đầu được liên kết điều khiển với polynucleotit, tín hiệu kết thúc phiên mã, miền gắn kết ribosom, và tín hiệu kết thúc dịch mã. Cat-xet biểu hiện có thể là ở dạng vector biểu hiện có thể tự tái bản. Ngoài ra, polynucleotit có thể được đưa nguyên vẹn vào tế bào vật chủ và được liên kết điều khiển với trình tự thiết yếu để biểu hiện trong tế bào vật chủ, nhưng không chỉ giới hạn ở phương án này.

Ngoài ra, thuật ngữ “được liên kết điều khiển” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ kết nối chức năng giữa trình tự vùng khởi đầu, hoạt hóa và điều hòa phiên mã polynucleotit mã hóa peptit đích theo sáng chế, và trình tự gen nêu trên.

Vật chủ thích hợp được sử dụng trong sáng chế không bị giới hạn cụ thể miễn là vật chủ này có thể biểu hiện polynucleotit theo sáng chế. Ví dụ về vật chủ thích hợp có thể bao gồm vi khuẩn thuộc chi *Escherichia*, như *E. coli*; vi khuẩn thuộc chi *Bacillus*, như *Bacillus subtilis*; vi khuẩn thuộc chi *Pseudomonas*, như *Pseudomonas putida*; nấm men, như *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*, và *Schizosaccharomyces pombe*; tế bào côn trùng, như *Spodoptera frugiperda* (Sf9), và tế bào động vật, như CHO, COS, và BSC.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất thể tiếp hợp phân lập trong đó dẫn xuất glucagon được liên kết với gốc hợp chất tương thích sinh học có thể làm tăng thời gian bán thải *in vivo* của dẫn xuất glucagon. Thể tiếp hợp có thể là thể tiếp hợp tác dụng kéo dài.

Cụ thể là, sáng chế đề xuất thể tiếp hợp phân lập chứa gốc peptit và gốc hợp chất tương thích sinh học, và gốc peptit có trình tự axit amin tương tự như trình tự axit amin có công thức chung 1 hoặc 2, hoặc peptit chứa trình tự axit amin tương tự.

Liên quan đến dẫn xuất glucagon, trình tự axit amin có công thức chung 1 hoặc 2, gốc hợp chất tương thích sinh học, và cấu trúc của thể tiếp hợp, toàn bộ các phần mô tả nêu trên được áp dụng

Cụ thể là, dẫn xuất này có thể là peptit phân lập chứa trình tự axit amin có công thức chung 1 (SEQ ID NO.45) mô tả nêu trên. Đối với dấu hiệu và tổ hợp liên quan đến

peptit phân lập chứa trình tự axit amin có công thức chung 1, toàn bộ các phần mô tả nêu trên được áp dụng

Ngoài ra, cụ thể là, dẫn xuất này có thể là peptit phân lập chứa trình tự axit amin có công thức chung 2 (SEQ ID NO.46) mô tả nêu trên. Đối với dấu hiệu và tổ hợp liên quan đến peptit phân lập chứa trình tự axit amin có công thức chung 2, toàn bộ các phần mô tả nêu trên được áp dụng

Cụ thể là, gốc hợp chất tương thích sinh học có thể là được chọn từ nhóm bao gồm polyme, axit béo, cholesterol, albumin và mảnh chức năng của nó, hợp chất gắn kết albumin, polyme chứa các đơn vị lặp lại bao gồm các trình tự axit amin đặc hiệu, kháng thể, mảnh kháng thể, hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh, mô liên kết *in vivo* hoặc dẫn xuất của nó, nucleotit, fibronectin, transferrin, sacarit, heparin, và elastin, nhưng không chỉ giới hạn ở. Cụ thể, polyme có thể là được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, rượu đa chức được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyllic, polysacarit, dextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic, oligonucleotit, và tổ hợp của chúng, nhưng không chỉ giới hạn ở các hợp chất này.

Cụ thể hơn, hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh có thể là polypeptit chứa vùng Fc của globulin miễn dịch, nhưng không chỉ giới hạn ở. Phần mô tả tương tự liên quan đến vùng Fc của globulin miễn dịch là cũng được áp dụng cho khía cạnh này.

Thể tiếp hợp phân lập có thể là thể tiếp hợp trong đó gốc dẫn xuất glucagon, đặc biệt là gốc peptit chứa trình tự axit amin của peptit dẫn xuất glucagon, và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết với nhau thông qua gốc liên kết. Phần mô tả tương tự liên quan đến gốc liên kết là cũng được áp dụng cho khía cạnh này.

Ngoài ra, gốc dẫn xuất glucagon, đặc biệt là gốc peptit chứa trình tự axit amin của peptit dẫn xuất glucagon, có thể được liên kết với gốc hợp chất tương thích sinh học by gốc liên kết được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, rượu đa chức được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyllic, polysacarit, dextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, như axit polylactic và axit polylactic-glycolic, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic, axit béo, polyme, hợp chất khối lượng phân tử thấp, nucleotit, và tổ hợp của chúng, nhưng

không chỉ giới hạn ở các gốc này.

Ngoài ra, gốc hợp chất tương thích sinh học có thể là hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh, và peptit phân lập có thể được liên kết với gốc hợp chất tương thích sinh học bằng gốc liên kết peptit hoặc gốc liên kết không peptit được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, rượu đa chức được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyllic, polysacarit, đextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, như axit polylactic và axit polylactic-glycolic, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic, và tổ hợp của chúng, nhưng không chỉ giới hạn ở các gốc này.

Cụ thể, hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh có thể là polypeptit chứa vùng Fc của globulin miễn dịch và gốc liên kết có thể là polyetylen glycol, nhưng không chỉ giới hạn ở các gốc này.

Ngoài ra, gốc liên kết có thể là gốc liên kết được liên kết với gốc cystein của dẫn xuất glucagon, nhưng không chỉ giới hạn ở các gốc này.

Ngoài ra, gốc liên kết có thể là gốc liên kết được liên kết tương ứng với dẫn xuất glucagon và gốc hợp chất tương thích sinh học thông qua các liên kết cộng hóa trị, được tạo ra tương ứng khi một đầu của gốc liên kết được phản ứng với nhóm amin hoặc nhóm thiol của gốc hợp chất tương thích sinh học trong khi đầu còn lại của gốc liên kết được phản ứng với nhóm amin hoặc nhóm thiol của gốc peptit, nhưng không chỉ giới hạn ở các gốc này.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu hoặc hội chứng chuyển hóa, bao gồm bước sử dụng dẫn xuất glucagon, thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này, hoặc chế phẩm chứa chúng cho đối tượng.

Dẫn xuất glucagon, thể tiếp hợp chứa dẫn xuất này, chế phẩm chứa chúng, hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, hội chứng chuyển hóa, phòng ngừa, và điều trị là tương tự như nêu trên.

Trong sáng chế, thuật ngữ “đối tượng” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ đối tượng được chuẩn đoán bị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu hoặc hội chứng chuyển hóa, tức là động vật có vú bao gồm người, chuột nhắt, và gia

súc có hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, hoặc hội chứng chuyển hóa hoặc có nguy cơ bị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, hoặc hội chứng chuyển hóa. Tuy nhiên, đối tượng bất kỳ cần điều trị bằng dẫn xuất glucagon theo sáng chế hoặc chế phẩm chứa dẫn xuất này cũng nằm trong phạm vi của sáng chế, nhưng không chỉ giới hạn ở các đối tượng này. Hơn nữa đối tượng được chuẩn đoán bị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, hoặc bệnh béo phì có thể được điều trị hữu hiệu bằng cách sử dụng được phẩm chứa dẫn xuất glucagon theo sáng chế. Hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, và bệnh béo phì là tương tự như nêu trên.

Phương pháp theo sáng chế có thể bao gồm bước sử dụng được phẩm chứa peptit ở lượng được dụng. Liều hàng ngày tổng số cần được xác định trong phác đồ điều trị thích hợp với chuyên gia y tế, và được sử dụng một hoặc nhiều lần trong các liều chia. Liên quan đến các mục đích theo sáng chế, tốt hơn nếu liều hữu hiệu cụ thể đối với đối tượng bị bệnh cụ thể bất kỳ có thể được áp dụng khác nhau, phụ thuộc vào các yếu tố khác nhau đã biết trong lĩnh vực này, bao gồm loại và mức độ của đáp ứng cần đạt được, chế phẩm cụ thể có chứa hoạt chất khác hay không tùy ý được sử dụng hay không, độ tuổi, trọng lượng cơ thể, tình trạng sức khỏe chung, giới tính và chế độ dinh dưỡng của đối tượng bị bệnh, thời gian sử dụng và đường đưa thuốc, tốc độ thải trừ của chế phẩm, thời gian điều trị, các dược chất khác được sử dụng kết hợp hoặc đồng thời với chế phẩm theo sáng chế, và các yếu tố tương tự đã biết trong lĩnh vực này.

Đồng thời, phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng chuyển hóa có thể là là phương pháp sử dụng kết hợp sử dụng còn chứa ít nhất một hợp chất hoặc hoạt chất có hoạt tính điều trị hội chứng chuyển hóa, mặc dù phương pháp này không bị giới hạn cụ thể ở phương án này.

Thuật ngữ “sử dụng kết hợp” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ phương pháp sử dụng đồng thời, riêng rẽ, hoặc luân phiên. Khi sử dụng là sử dụng luân phiên hoặc riêng rẽ, thì khoảng thời gian để sử dụng hoạt chất thứ hai phải là khoảng thời gian không làm mất tác dụng có lợi của việc sử dụng kết hợp.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng dẫn xuất glucagon hoặc thể tiếp hợp phân lập hoặc chế phẩm trong sản xuất thuốc (hoặc dược phẩm) phòng ngừa hoặc điều trị hội

chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, hoặc hội chứng chuyển hóa.

Dẫn xuất glucagon, thể tiếp hợp phân lập, chế phẩm, hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, và hội chứng chuyển hóa là tương tự như nêu trên.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn thông qua các ví dụ sau. Tuy nhiên các ví dụ này chỉ nhằm mục đích minh họa chứa không giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1: Sản xuất dòng tế bào biểu hiện đáp ứng AMP mạch vòng với glucagon

Phản ứng PCR được thực hiện bằng cách sử dụng vùng tương ứng với khung đọc mã mở (ORF) trong ADN bổ sung (OriGene Technologies, Inc., USA) của khuôn là gen thụ thể glucagon của người cùng với đoạn môi xuôi và đoạn môi ngược dưới đây (tương ứng là SEQ ID NO.47 và SEQ ID NO.48), chứa mỗi vị trí giới hạn *EcoRI* và *XhoI*.

Cụ thể, phản ứng PCR được thực hiện trong tổng cộng 30 chu trình trong các điều kiện sau: biến tính ở nhiệt độ 95°C trong 60 giây, gắn môi ở nhiệt độ 55°C trong 60 giây, và khuếch đại ở nhiệt độ 68°C trong 30 giây. Các sản phẩm PCR được khuếch đại được điện di trên gel agarosa 1,0% và thu được băng có kích cỡ 450bp bằng cách rửa giải.

Đoạn môi xuôi (SEQ ID NO.47):

5'-CAGCGACACCGACCGTCCCCCGTACTTAAGGCC-3'

Đoạn môi ngược (SEQ ID NO.48):

5'-CTAACCGACTCTCGGGGAAGACTGAGCTCGCC-3'

Sản phẩm PCR được tách dòng vào vector biểu hiện tế bào động vật đã biết, x0GC/dhfr, để thu được vector tái tổ hợp x0GC/GCGR.

Dòng tế bào CHO DG44 được nuôi cấy trong môi trường DMEM/F12 (chứa 10% FBS) được chuyển nhiễm với vector tái tổ hợp x0GC/GCGR bằng cách sử dụng Lipofectamin®, và nuôi cấy trong môi trường chọn lọc chứa G418 (1mg/mL) và methotraxat (10 nM). Các dòng tế bào đơn được chọn lọc từ đó bằng phương pháp pha loãng tối hạn, và dòng tế bào biểu hiện đáp ứng AMP mạch vòng rất mạnh với glucagon

theo cơ chế phụ thuộc nồng độ được chọn lọc cuối cùng từ đó.

Ví dụ 2: Tổng hợp dẫn xuất glucagon

Để tổng hợp các dẫn xuất glucagon with các đặc tính vật lý được cải thiện, trình tự axit amin của glucagon tự nhiên SEQ ID NO.1 được thể bằng các gốc axit amin có điện tích dương và điện tích âm, và nhờ đó thu được các dẫn xuất glucagon như được thể hiện trong Bảng 1. Các hoạt tính *in vitro* tương đối được mô tả dưới đây được đo bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 4.

Bảng 1: Các trình tự axit amin của glucagon tự nhiên và các dẫn xuất glucagon

SEQ ID NO	Trình tự pepit	Tạo vòng	Điểm đẳng điện	Hoạt tính <i>in vitro</i> tương đối so với SEQ ID NO.1 (%)
SEQ ID NO.1	HSQGTFTSDYSKYLD S RRRAQDFVQWLMNT	-	6,8	100
SEQ ID NO.2	HSQGTFTSDYSKYLD C DRRAQDFVQWLMNT	-	4,56	0,6
SEQ ID NO.3	HSQGTFTSDYSKYLD C ERAAQDFVQWLMNT	-	4,66	6,1
SEQ ID NO.4	HSQGTFTSDYSKYLD S CDAAQDFVQWLMNT	-	4,13	< 0,1
SEQ ID NO.5	HSQGTFTSDYSKYLD S CEAAQDFVQWLMNT	-	4,22	0,3
SEQ ID NO.6	HSQGTFTSDYSKYLD S CEADDFVQWLMNT	-	4,03	< 0,1
SEQ ID NO.7	YSQGTFTSDYSKYLD S CEADDFVQWLMNT	-	3,71	< 0,1
SEQ ID NO.8	YXQGTFTSDYSKYLD S CDAAQDFVQWLINT	-	3,77	< 0,1
SEQ ID NO.9	YXQGTFTSDYSKYLD S CDAAQDFVQWLINT	-	3,77	< 0,1
SEQ ID NO.10	YXQGTFTSDYSKYLD S CDADDFVQWLINT	-	3,66	< 0,1
SEQ ID NO.11	YXQGTFTSDYSKYLD E KRAKEFVQWLMNT	-	4,78	4,6
SEQ ID NO.12	YXQGTFTSDYSKYLD E KRAKEFVQWLMNTC	vòng được tạo ra	6,20	56,3
SEQ ID NO.13	YXQGTFTSDYSCYLD S RRRAQDFVQWLMNT	-	4,43	5,2
SEQ ID NO.14	YXQGTFTSDYSKYLD C KRAKEFVQWLMNT	-	8,12	18,1
SEQ ID NO.15	YXQGTFTSDYSKYLD C EKRAQDFVQWLMNT	-	6,11	1,1
SEQ ID NO.16	YXQGTFTSDYSKYLD C RRRAQDFVQWLMRT	-	9,11	4,2
SEQ ID NO.17	YXQGTFTSDYSKYLD C VRAQDFVQWLMRT	-	6,03	23,2
SEQ ID NO.18	YXQGTFTSDYSKYLD S RRACDFRLWLMNT	-	8,15	< 0,1
SEQ ID NO.19	YXQGTFTSDYSKYLD C EKRAKEFVQWLMNT	vòng được tạo ra	8,12	12,1
SEQ ID NO.20	YXQGTFTSDYSKYLD E CRAKEFVQWLMNT	vòng được tạo ra	4,78	299,7
SEQ ID NO.21	YXQGTFTSDYSKYLD E KCAKEFVQWLMNT	vòng được tạo ra	4,78	57,8
SEQ ID NO.22	YXQGTFTSDYSKYLD E KRCKEFVQWLMNT	vòng được tạo ra	6,20	147,8
SEQ ID NO.23	YXQGTFTSDYSKYCD E KRAKEFVQWLMNT	vòng được tạo ra	6,20	76,8
SEQ ID NO.24	YXQGTFTSDYSKCLD E KRAKEFVQWLMNT	vòng được tạo ra	6,21	58,0
SEQ ID NO.25	YXQGTFTSDYSKYLD E KRAKCFVQWLMNT	vòng được tạo ra	8,12	46,9
SEQ ID NO.26	WXQGTFTSDYSKYLD E CRAKDFVQWLMNT	vòng được tạo ra	4,68	1,0
SEQ ID NO.27	YXQGTFTSDYSKYLD E CRAKDFVQWLMNT	vòng được tạo ra	4,68	93,6
SEQ ID NO.28	WXQGTFTSDYSKYLD E CRAKDFVQWLMNT	vòng được tạo ra	4,68	< 0,1
SEQ ID NO.29	YXQGTFTSDYSKCLD E RRAKDFVQWLMNT	vòng được tạo ra	6,15	61,3
SEQ ID NO.30	WXQGTFTSDYSKCLD E RRAKDFVQWLMNT	vòng được tạo ra	4,44	0,3
SEQ ID NO.31	YXQGTFTSDYSKYLD C KRAKEFVQWLMNT	vòng được tạo ra	8,12	6,3
SEQ ID NO.32	-SQGTFTSDYSKYLD E CRAKEFVQWLMNT	vòng được tạo ra	4,78	0,7
SEQ ID NO.33	YXQGTFTSDYSKYLD S RRRAQDFVQWLMNT	-	6,04	108,2
SEQ ID NO.34	WXQGTFTSDYSKYCD E RRAKEFVQWLMNT	vòng được tạo ra	6,21	0,2

SEQ ID NO.35	YXQGTFTSDYSKYCDERRAKEFVQWLMNT	vòng được tạo ra	6,2	17,7
SEQ ID NO.36	YXQGTFTSDCSKYLDERRAKEFVQWLMNT	vòng được tạo ra	6,21	9,9
SEQ ID NO.37	YXQGTFTSDYSKYLDERRAKEFVQWLMNTC	vòng được tạo ra	6,21	225,5
SEQ ID NO.38	YXQGTFCSDYSKYLDERRAKEFVQWLMNT	vòng được tạo ra	6,15	167,3
SEQ ID NO.39	YXQGTFSVSDCSKYLDERRAKDFVQWLMNT	vòng được tạo ra	6,15	3,7
SEQ ID NO.40	YXQGTFSVSDYSKYLDERRAKDFVQWLMNTC	vòng được tạo ra	6,15	40,8
SEQ ID NO.41	YXQGTFCSDYSKYLDERRAKDFVQWLMNT	vòng được tạo ra	6,03	45,2
SEQ ID NO.42	YXQGTFCSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNT	-	6,03	37,9
SEQ ID NO.43	YXQGTFTSDCSKYLDSRRAQDFVQWLMNT	-	6,03	1,6
SEQ ID NO.44	YXQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNTC	-	6,21	75,4

Trong các trình tự được mô tả trong Bảng 1, axit amin được ký hiệu bằng X là axit aminoisobutyric (Aib), là axit amin không có trong tự nhiên; các axit amin được gạch chân thể hiện sự tạo vòng lactam giữa các chuỗi mạch bên của các axit amin tương ứng, và ký hiệu “-” trong trình tự axit amin có nghĩa là gốc axit amin không có mặt ở vị trí tương ứng. Ngoài ra, trong các hàng liên quan đến tạo vòng, ký hiệu “-” có nghĩa là vòng không được tạo ra trong các trình tự tương ứng.

Ví dụ 3: Đo điểm đẳng điện của các dẫn xuất glucagon

Để đo các đặc tính vật lý được cải thiện của các dẫn xuất glucagon được tổng hợp trong ví dụ 2, các điểm đẳng điện được tính toán dựa trên các trình tự axit amin bằng cách sử dụng công cụ pI/Mw (http://expasy.org/tools/pi_tool.html; Gasteiger *et al.*, 2003) trong máy chủ ExPASy.

Như được thể hiện trong Bảng 1, trong khi glucagon tự nhiên có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.1 có điểm đẳng điện bằng 6,8, thì một số dẫn xuất glucagon theo sáng chế có các điểm đẳng điện nằm trong khoảng từ 4 đến 6. Do có các điểm đẳng điện thấp hơn hoặc cao hơn điểm đẳng điện của glucagon tự nhiên, nên các dẫn xuất glucagon theo sáng chế có thể có độ hòa tan và độ ổn định cao hơn ở độ pH trung tính so với glucagon tự nhiên.

Theo đó, khi được sử dụng để điều trị bệnh mong muốn, như hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh, hội chứng hạ đường máu, v.v., thì các dẫn xuất glucagon theo sáng chế có thể cải thiện độ tuân thủ của đối tượng bị bệnh, và cũng thích hợp để sử dụng kết hợp với các hoạt chất chống béo phì hoặc hoạt chất chống đái tháo đường khác, do đó các dẫn xuất glucagon theo sáng chế có thể được sử dụng hữu hiệu để điều trị hội chứng hạ đường máu và các hội chứng chuyển hóa bao gồm bệnh béo phì, bệnh đái tháo đường, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu, rối loạn mỡ máu, và bệnh mạch vành.

Ví dụ 4: Đo hoạt tính AMP mạch vòng của các dẫn xuất glucagon

Hoạt tính của các dẫn xuất glucagon được tổng hợp trong ví dụ 2 được đo trong các dòng tế bào có các thụ thể glucagon của người được sản xuất trong ví dụ 1. Cụ thể là, dòng tế bào đã được chuyển nhiễm được nuôi cấy cấp hai 3 đến 4 lần một tuần, chuyển vào đĩa 384 giếng ở mật độ bằng 6×10^3 dòng tế bào/giếng, và nuôi cấy trong 24 giờ. Glucagon tự nhiên và các dẫn xuất glucagon được tạo hỗn dịch trong dung dịch muối đệm cân bằng Hank (HBSS) chứa 0,5mM 3-isobutyl-1-metyl-xanthin (IBMX), 0,1% albumin huyết thanh bò (BSA), và 5mM axit 4-(2-hydroxyetyl)-1-piperazin-etansulfonic (HEPES) với các tế bào nuôi cấy, ở nồng độ tương ứng bằng 200nM và 1600nM, pha loãng liên tiếp 10 lần ở hệ số pha loãng bằng 4, phân tích bằng kit định lượng AMP mạch vòng (kit LANCE cAMP 384, PerkinElmer), và bổ sung vào các tế bào nuôi cấy, và mật độ huỳnh quang của chúng được đo. Khi đo, mật độ huỳnh quang cao nhất được thiết lập bằng 100%, sau đó các trị số EC_{50} của dẫn xuất glucagon được tính toán dựa trên mật độ huỳnh quang và so sánh với trị số EC_{50} của glucagon tự nhiên. Các kết quả được thể hiện trong Bảng 1.

Ví dụ 5: Điều chế thể tiếp hợp chứa dẫn xuất glucagon và vùng Fc của globulin miễn dịch (thể tiếp hợp chứa SEQ ID NO.12 hoặc SEQ ID NO.20-vùng Fc của globulin miễn dịch)

Để gắn PEG có khối lượng phân tử bằng 10kDa và có nhóm maleimide và nhóm aldehyde, tương ứng ở cả hai đầu (tức là “maleimide-PEG-aldehyde”, 10 kDa, NOF, Japan) vào gốc cysteine của dẫn xuất glucagon (SEQ ID NO.12 hoặc SEQ ID NO.20), các dẫn xuất glucagon và maleimide-PEG-aldehyde được phản ứng ở tỷ lệ mol nằm trong khoảng từ 1:1 đến 5, ở nồng độ protein nằm trong khoảng từ 3mg/mL đến 10mg/mL ở nhiệt độ thấp trong 1 đến 3 giờ. Cụ thể, phản ứng được thực hiện trong môi trường có bổ sung isopropanol với hàm lượng nằm trong khoảng từ 20% đến 60%. Khi kết thúc phản ứng, các chất phản ứng được điện di trên gel sepharose SP HP (GE healthcare, USA) để tinh chế các dẫn xuất glucagon được gắn mono-PEG ở gốc cysteine.

Sau đó, các dẫn xuất glucagon được gắn mono-PEG được tinh chế và vùng Fc của globulin miễn dịch được phản ứng ở tỷ lệ mol nằm trong khoảng từ 1:2 đến 10, ở nồng độ protein nằm trong khoảng từ 10mg/mL đến 50mg/mL ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ

4°C đến 8°C trong 12 giờ đến 18 giờ. Phản ứng được thực hiện trong môi trường trong đó natri xyanoborohyđrua (NaCNBH_3) và isopropanol với hàm lượng nằm trong khoảng từ 20% đến 60% được bổ sung vào dung dịch đệm canxi phosphat 100mM (độ pH = 6,0). Khi kết thúc phản ứng, các chất phản ứng được nạp vào cột tinh chế butyl sepharosa FF (GE healthcare, USA) và cột tinh chế Source ISO (GE healthcare, USA) để tinh chế thể tiếp hợp chứa các dẫn xuất glucagon và vùng Fc của globulin miễn dịch.

Sau khi điều chế, độ tinh khiết được phân tích bằng phương pháp sắc ký pha đảo, phương pháp sắc ký loại cỡ, và phương pháp sắc ký trao đổi ion là bằng 95% hoặc cao hơn.

Cụ thể, thể tiếp hợp trong đó dẫn xuất glucagon có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12 và vùng Fc của globulin miễn dịch được liên kết bằng PEG được gọi là “thể tiếp hợp chứa dẫn xuất glucagon có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12 và vùng Fc của globulin miễn dịch”, “thể tiếp hợp tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12” hoặc “dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12”, và các thuật ngữ này có thể được sử dụng thay thế cho nhau trong sáng chế.

Cụ thể, thể tiếp hợp trong đó dẫn xuất glucagon có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.20 và vùng Fc của globulin miễn dịch được liên kết bằng PEG được gọi là “thể tiếp hợp chứa dẫn xuất glucagon có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.20 và vùng Fc của globulin miễn dịch”, “thể tiếp hợp tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.20” hoặc “dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.20”, và các thuật ngữ này có thể được sử dụng thay thế cho nhau trong sáng chế.

Ví dụ 6: Điều chế thể tiếp hợp chứa dẫn xuất exendin-4 và vùng Fc của globulin miễn dịch

PEG có khối lượng phân tử bằng 3,4kDa và có nhóm propionaldehyt ở cả hai đầu, tức là PEG 3,4k PropionALD (2), được phản ứng với Lys của CA exendin-4 bằng cách sử dụng imidazo-axetyl exendin-4 trong đó cacbon alpha của histidin ở đầu tận cùng N được loại bỏ (CA exendin-4, AP, USA), và píc đồng phân ở đầu tận cùng (Lys27) giữa hai píc Lys, phản ứng nhanh và cách biệt rõ ràng với đồng phân đầu tận cùng N, được

phân tách. Sau đó, phản ứng ghép cặp được thực hiện bằng cách sử dụng chất đồng phân peptit-PEG.

Phản ứng ghép cặp được thực hiện bằng cách cho peptit imidazo-axetyl exendin-4-PEG nêu trên phản ứng với vùng Fc của globulin miễn dịch ở tỷ lệ mol bằng 1:8, ở nồng độ protein tổng số bằng 60mg/mL ở nhiệt độ 4°C trong 20 giờ. Chất phản ứng là K-P 100mM (độ pH = 6,0) và chất khử (SCB 20mM), được bổ sung vào. Các chất phản ứng ghép cặp được tinh chế bằng hai cột tinh chế. Trước tiên, lượng lớn vùng Fc của globulin miễn dịch không tham gia vào phản ứng ghép cặp được loại bỏ bằng cách sử dụng cột SOURCE Q (XK-16mL, Amersham Biosciences). Khi áp dụng gradient nồng độ muối bằng cách sử dụng NaCl 1M trong Tris 20mM (độ pH = 7,5) sẽ rửa giải ngay lập tức vùng Fc của globulin miễn dịch, có ái lực gắn kết tương đối yếu, sau đó là rửa giải ngay exendin-4-Fc của globulin miễn dịch. Vùng Fc của globulin miễn dịch được loại bỏ đến mức độ nhất định bằng cột tinh chế sơ cấp này, tuy nhiên quá trình phân tách hoàn toàn không đạt được bằng cột trao đổi ion do có khác biệt một chút về ái lực gắn kết giữa vùng Fc của globulin miễn dịch và exendin-4-Fc của globulin miễn dịch. Theo đó, bước tinh chế thứ cấp được thực hiện bằng cách sử dụng đặc tính kỵ nước của hai vật liệu khác nhau. Mẫu được nạp vào cột tinh chế sơ cấp, được gắn kết với SOURCE ISO (HR16 mL, Amersham Biosciences) bằng cách sử dụng Tris 20mM (độ pH = 7,5) và amoni sulfat 1,5M, và sau đó được rửa giải đồng thời nồng độ của amoni sulfate được giảm từ từ. Kết quả là, vùng Fc của globulin miễn dịch, có ái lực gắn kết yếu đối với cột HIC, được rửa giải trước tiên, tiếp theo mẫu exendin-4-Fc của globulin miễn dịch, có ái lực gắn kết mạnh với đầu tận cùng được rửa giải. Quá trình phân tách này được thực hiện dễ dàng hơn cột trao đổi ion do khác biệt lớn về đặc tính kỵ nước.

Cột: SOURCE Q (XK 16 mL, Amersham Biosciences).

Tốc độ dòng: 2,0 mL/phút.

Gradient: A0 ->25% 70 phút B (A: Tris 20mM, độ pH = 7,5, B: A+ NaCl 1M).

Cột: SOURCE ISO (HR 16 mL, Amersham Biosciences).

Tốc độ dòng: 7,0 mL/phút.

Gradient: B 100 -> 0% 60 phút B [A: Tris 20mM (độ pH = 7,5), B: A + amoni

sulfat 1,5M $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$].

Thể tiếp hợp thu được, trong đó dẫn xuất exendin-4 và vùng Fc của globulin miễn dịch được liên kết bằng PEG, được gọi là “dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài”, hoặc “dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài” và các thuật ngữ này có thể được sử dụng thay thế cho nhau trong sáng chế.

Ví dụ 7: Điều chế thể tiếp hợp chứa dẫn xuất glucagon và vùng Fc của globulin miễn dịch (thể tiếp hợp chứa SEQ ID NO.37-vùng Fc của globulin miễn dịch).

Để gắn PEG có khối lượng phân tử bằng 10kDa và có nhóm maleimit và nhóm aldehyt, tương ứng ở cả hai đầu (tức là “maleimit-PEG-aldehyt”, 10 kDa, NOF, Japan) vào gốc cystein của dẫn xuất glucagon (SEQ ID NO.37), các dẫn xuất glucagon và maleimit-PEG-aldehyt được phản ứng ở tỷ lệ mol nằm trong khoảng từ 1:1 đến 5, ở nồng độ protein nằm trong khoảng từ 3mg/mL đến 10mg/mL ở nhiệt độ thấp trong 1 đến 3 giờ. Cụ thể, phản ứng được thực hiện trong môi trường có bổ sung isopropanol với hàm lượng nằm trong khoảng từ 20% đến 60%. Khi kết thúc phản ứng, các chất phản ứng được điện di trên gel sepharoza SP HP (GE healthcare, USA) để tinh chế các dẫn xuất glucagon được gắn mono-PEG ở gốc cystein.

Sau đó, các dẫn xuất glucagon được gắn mono-PEG được tinh chế và vùng Fc của globulin miễn dịch được phản ứng ở tỷ lệ mol nằm trong khoảng từ 1:2 đến 10, ở nồng độ protein nằm trong khoảng từ 10mg/mL đến 50mg/mL ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 4°C đến 8°C trong 12 giờ đến 18 giờ. Phản ứng được thực hiện trong môi trường trong đó natri xyanoborohyđrua ở nồng độ nằm trong khoảng từ 10mM đến 50mM (chất khử, NaCNBH_3) và isopropanol với hàm lượng nằm trong khoảng từ 20% đến 60% được bổ sung vào dung dịch đệm canxi phosphat 100mM (độ pH = 6,0). Khi kết thúc phản ứng, các chất phản ứng được nạp vào cột tinh chế butyl sepharoza FF (GE healthcare, USA) và cột tinh chế Source ISO (GE healthcare, USA) để tinh chế thể tiếp hợp chứa các dẫn xuất glucagon và vùng Fc của globulin miễn dịch.

Sau khi điều chế, độ tinh khiết được phân tích bằng phương pháp sắc ký pha đảo, phương pháp sắc ký loại cỡ, và phương pháp sắc ký trao đổi ion là bằng 95% hoặc cao hơn.

Cụ thể, thể tiếp hợp trong đó dẫn xuất glucagon có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 và vùng Fc của globulin miễn dịch được liên kết bằng PEG được gọi là “thể tiếp hợp chứa dẫn xuất glucagon có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 và vùng Fc của globulin miễn dịch”, “thể tiếp hợp tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37” hoặc “dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37”, và các thuật ngữ này có thể được sử dụng thay thế cho nhau trong sáng chế.

Ví dụ thử nghiệm 1: Tác dụng làm giảm trọng lượng cơ thể trong các chuột cống bị bệnh béo phì do chế độ dinh dưỡng nhiều chất béo

Trong thử nghiệm này, các chuột cống bị bệnh béo phì do chế độ dinh dưỡng nhiều chất béo, được sử dụng rộng rãi làm mô hình động vật bị bệnh béo phì, được sử dụng. Cụ thể là, các động vật gặm nhấm thử nghiệm được cho ăn chế độ dinh dưỡng nhiều chất béo là các mô hình động vật được sử dụng phổ biến nhất để đánh giá tác dụng làm giảm trọng lượng cơ thể tiền lâm sàng của các hoạt chất điều trị bệnh béo phì và các mô hình được thiết kế như sau. Khi các chuột cống hoặc chuột nhắt bình thường được cho ăn thức ăn chăn nuôi có hàm lượng chất béo bằng 60% trong 4 tuần (chuột cống) hoặc 6 tháng (chuột nhắt), thì trọng lượng cơ thể của các chuột cống thử nghiệm tăng khoảng 600g và trọng lượng cơ thể của các chuột nhắt thử nghiệm tăng khoảng 55g so với trọng lượng cơ thể của chúng trước khi được cho ăn chế độ dinh dưỡng nhiều chất béo, và nồng độ lipit trong máu cũng tăng, do đó thể hiện tình trạng béo phì như ở người. Trọng lượng cơ thể của các chuột cống thử nghiệm được sử dụng trong ví dụ thử nghiệm này trước khi tiêm các hoạt chất thử nghiệm bằng khoảng 600g. Các chuột cống thử nghiệm được nhốt riêng trong quá trình thử nghiệm và được cho uống nước đầy đủ. Ánh sáng không được cung cấp từ 6 giờ chiều đến 6 giờ sáng.

Các nhóm thử nghiệm được cho ăn chế độ dinh dưỡng giàu chất béo bao gồm: nhóm 1 được tiêm tá dược dẫn thuốc không chứa glucagon tác dụng kéo dài (liều lượng: 2mL/kg; tiêm 3 ngày một lần); nhóm 2 được tiêm dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài theo ví dụ 6 ở liều lượng bằng 3,3nmol/kg (tiêm 3 ngày một lần); nhóm 3 được tiêm dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12 ở liều lượng bằng 1,6nmol/kg (tiêm 3 ngày một lần); nhóm 4 được tiêm dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12 ở liều lượng bằng 3,3nmol/kg (tiêm 3 ngày

một lần); nhóm 5 được tiêm dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12 ở liều lượng bằng 6,6nmol/kg (tiêm 3 ngày một lần); nhóm 6 được tiêm dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài theo ví dụ 6 ở liều lượng bằng 3,3nmol/kg + dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12 ở liều lượng bằng 1,6nmol/kg (tương ứng tiêm 3 ngày một lần); nhóm 7 được tiêm dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài theo ví dụ 6 ở liều lượng bằng 3,3nmol/kg + dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12 ở liều lượng bằng 3,3nmol/kg (tương ứng tiêm 3 ngày một lần); nhóm 8 được tiêm dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài theo ví dụ 6 ở liều lượng bằng 3,3nmol/kg + dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12 ở liều lượng bằng 6,6nmol/kg (tương ứng tiêm 3 ngày một lần); nhóm 9 được cho ăn theo cặp với nhóm 4; và nhóm 10 được cho ăn theo cặp với nhóm 7.

Thử nghiệm này được kết thúc sau 15 ngày, và mức độ thay đổi trọng lượng cơ thể của các chuột cống thử nghiệm trong mỗi nhóm được đo 3 ngày một lần trong quá trình thử nghiệm. Khi kết thúc thử nghiệm, hàm lượng chất béo ở màng ruột treo và trọng lượng gan được đo bằng phương pháp giải phẫu. Phân tích thống kê được thực hiện để so sánh giữa nhóm được tiêm tá dược (tá dược dẫn thuốc) và các nhóm thử nghiệm bằng phương pháp ANOVA một chiều.

Kết quả đánh giá mức độ thay đổi trọng lượng cơ thể, như được thể hiện trên Fig.1 cho thấy các nhóm được tiêm riêng dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài hoặc dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12 có trọng lượng cơ thể giảm -8% và từ -7% đến -22%, so với trước khi tiêm các hoạt chất thử nghiệm, trong khi đó ở các nhóm được tiêm kết hợp dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài và dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12, tác dụng làm giảm trọng lượng cơ thể cũng được cải thiện từ -22% đến -35%.

Ngoài ra, khi tác dụng làm giảm trọng lượng cơ thể ở nhóm được tiêm riêng dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12 và nhóm được tiêm kết hợp dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài và dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12 được so sánh tương ứng với tác dụng làm giảm trọng lượng cơ thể ở nhóm được cho ăn theo cặp, thì mức độ khác biệt tương ứng là khoảng -11% và khoảng -17% cho thấy rằng tác dụng làm giảm trọng lượng cơ thể được thể hiện khi được tiêm dẫn xuất glucagon riêng hoặc kết hợp, bởi các tác dụng khác với

hấp thu dinh dưỡng.

Tức là, kết quả thử nghiệm cho thấy rằng dẫn xuất glucagon tác dụng kéo dài theo sáng chế có tác dụng làm giảm trọng lượng cơ thể ngoài tác dụng ngoài tác dụng giảm cảm giác thèm ăn.

Ngoài ra, kết quả đo hàm lượng chất béo ở màng ruột treo và trọng lượng gan, như được thể hiện trên Fig.2 và Fig.33, việc sử dụng kết hợp dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài và dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.12 đã làm giảm đáng kể hàm lượng chất béo trong cơ thể và trọng lượng gan so với nhóm được sử dụng với tá dược. Cụ thể, tác dụng tăng/giảm trọng lượng gan thường do tác dụng tăng/giảm hàm lượng chất béo có trong gan, và tác dụng làm giảm trọng lượng gan thể hiện tác dụng làm giảm hàm lượng chất béo trong gan. Theo đó, tác dụng làm giảm hàm lượng chất béo trong gan có thể được đo dưới dạng phương pháp đánh giá tác dụng điều trị hội chứng chuyển hóa, như bệnh béo phì, bệnh đái tháo đường, bệnh viêm gan không do rượu, v.v.

Ví dụ thử nghiệm 2: Tác dụng làm giảm trọng lượng cơ thể trong các chuột nhắt bị bệnh béo phì do chế độ dinh dưỡng nhiều chất béo

Trong thử nghiệm này, các chuột nhắt bị bệnh béo phì do chế độ dinh dưỡng nhiều chất béo, được sử dụng rộng rãi làm mô hình động vật bị bệnh béo phì, được sử dụng. Trọng lượng cơ thể của các chuột nhắt trước khi tiêm hoạt chất thử nghiệm bằng khoảng 55g. Các chuột nhắt (7 chuột nhắt/nhóm) được nhốt trong chuồng trong quá trình thử nghiệm và được cho uống nước đầy đủ. Ánh sáng không được cung cấp từ 6 giờ chiều đến 6 giờ sáng.

Các nhóm thử nghiệm được cho ăn chế độ dinh dưỡng giàu chất béo bao gồm: nhóm 1 được tiêm tá dược dẫn thuốc không chứa glucagon tác dụng kéo dài (liều lượng: 5mL/kg; tiêm hai ngày một lần); nhóm 2 được tiêm dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài theo ví dụ 6 ở liều lượng bằng 4,3nmol/kg (tiêm hai ngày một lần); nhóm 3 được tiêm dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.20 ở liều lượng bằng 4,4nmol/kg (tiêm hai ngày một lần); nhóm 4 được tiêm dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.20 ở liều lượng bằng 8,8nmol/kg (tiêm hai ngày một lần); nhóm 5 được tiêm dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài theo ví dụ

6 ở liều lượng bằng 4,3nmol/kg + dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.20 ở liều lượng bằng 4,4nmol/kg (tiêm hai ngày một lần); nhóm 6 được tiêm dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài theo ví dụ 6 ở liều lượng bằng 2,1nmol/kg + dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.20 ở liều lượng bằng 6,6nmol/kg (tiêm hai ngày một lần); và nhóm 7, dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài theo ví dụ 6 ở liều lượng bằng 0,8nmol/kg + dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.20 ở liều lượng bằng 8,0nmol/kg (tiêm hai ngày một lần).

Thử nghiệm này được kết thúc sau 22 ngày, và mức độ thay đổi trọng lượng cơ thể của các chuột nhất thử nghiệm ở mỗi nhóm được đo 2 ngày một lần trong quá trình thử nghiệm. Khi kết thúc thử nghiệm, trọng lượng gan của chuột nhất được đo sau khi giải phẫu.

Kết quả đánh giá mức độ thay đổi trọng lượng cơ thể, như được thể hiện trên Fig.4, cho thấy mỗi nhóm được tiêm riêng dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.20 (8,8nmol/kg, tiêm hai ngày một lần) có trọng lượng cơ thể giảm tương ứng -25% và -29%, so với trước khi tiêm các hoạt chất thử nghiệm. Ngoài ra, tác dụng làm giảm trọng lượng cơ thể được tiếp tục gia tăng khi được tiêm kết hợp với dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài. Kết quả thử nghiệm cũng cho thấy rằng việc sử dụng kết hợp dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài và dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.20 ở tỷ lệ bằng 1:1, 1:3, và 1:10 cũng làm tăng tác dụng làm giảm trọng lượng cơ thể bằng -50% hoặc cao hơn. Ngoài ra, tác dụng làm giảm trọng lượng cơ thể theo tỷ lệ giữa dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài và dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.20 không đáng kể, tuy nhiên tác dụng giảm cảm giác thèm ăn cao hơn cùng với tăng tỷ lệ phần trăm của dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài, do đó dẫn xuất glucagon tác dụng kéo dài theo sáng chế có tác dụng làm giảm trọng lượng cơ thể ngoài tác dụng giảm cảm giác thèm ăn.

Ngoài ra, kết quả đo nồng độ cholesterol tổng số trong máu, như được thể hiện trên Fig.5, cho thấy mỗi nhóm được tiêm dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài (4,4nmol/kg, tiêm hai ngày một lần) và dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.20 (8,8nmol/kg, tiêm hai ngày một lần) có nồng độ cholesterol tổng số trong máu giảm tương ứng -35% và -71%. Do đó, kết quả thử nghiệm cho thấy rằng dẫn xuất

glucagon tác dụng kéo dài theo sáng chế có tác dụng làm giảm nồng độ cholesterol tổng số trong máu ngoài tác dụng giảm cảm giác thèm ăn. Phân tích thống kê được thực hiện để so sánh giữa nhóm được tiêm tá dược (tá dược dẫn thuốc) và các nhóm thử nghiệm bằng phương pháp ANOVA một chiều.

Ví dụ thử nghiệm 3: Tác dụng của dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài được sử dụng kết hợp với thể tiếp hợp tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 trong các chuột nhất bị bệnh béo phì do chế độ dinh dưỡng nhiều chất béo

Trong thử nghiệm này, các chuột nhất bị bệnh béo phì do chế độ dinh dưỡng nhiều chất béo, được sử dụng rộng rãi làm mô hình động vật bị bệnh béo phì, được sử dụng. Trọng lượng cơ thể của các chuột nhất trước khi tiêm hoạt chất thử nghiệm bằng khoảng 55g. Các chuột nhất (7 chuột nhất/nhóm) được nhốt trong chuồng trong quá trình thử nghiệm và được cho uống nước đầy đủ. Ánh sáng không được cung cấp từ 6 giờ chiều đến 6 giờ sáng.

Các nhóm thử nghiệm được cho ăn chế độ dinh dưỡng giàu chất béo bao gồm: nhóm 1 được tiêm tá dược dẫn thuốc không chứa glucagon tác dụng kéo dài (liều lượng: 5mL/kg; tiêm hai ngày một lần); nhóm 2 được tiêm liraglutide (Novo Nordisk) ở liều lượng bằng 50nmol/kg (tiêm hai lần một ngày); nhóm 3 được tiêm dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài theo ví dụ 6 ở liều lượng bằng 4,3nmol/kg (tiêm hai ngày một lần); và nhóm 4, dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài theo ví dụ 6 ở liều lượng bằng 4,3nmol/kg (tiêm hai ngày một lần) + dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 ở liều lượng bằng 2,2nmol/kg (tiêm hai ngày một lần).

Thử nghiệm này được kết thúc sau 28 ngày, và thử nghiệm dung nạp glucoza đường tiêm màng bụng (IPGTT) được đo. Mức độ thay đổi trọng lượng cơ thể của các chuột nhất thử nghiệm ở mỗi nhóm được đo 2 ngày một lần trong quá trình thử nghiệm. Khi kết thúc thử nghiệm, nồng độ cholesterol trong máu và trọng lượng gan của chuột nhất được đo sau khi giải phẫu.

Kết quả đo mức độ thay đổi trọng lượng cơ thể, như được thể hiện trên Fig.6, cho thấy mỗi nhóm được tiêm riêng liraglutide (Novo Nordisk) ở liều lượng bằng 50nmol/kg (tiêm hai lần một ngày) hoặc dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài theo ví dụ 6 ở liều lượng bằng 4,3nmol/kg (tiêm hai ngày một lần) có trọng lượng cơ thể giảm tương ứng bằng

-22% và -32% so với nhóm được tiêm tá được dẫn thuốc, và nhóm được tiêm kết hợp dẫn xuất dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài ở liều lượng bằng 4,3nmol/kg (tiêm hai ngày một lần) + dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 ở liều lượng bằng 2,2nmol/kg (tiêm hai ngày một lần) cũng có tác dụng làm giảm trọng lượng cơ thể từ -32% đến -62% so với nhóm được tiêm tá được dẫn thuốc.

Tác dụng làm giảm khối lượng chất béo cũng được gia tăng ở nhóm được tiêm kết hợp dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài ở liều lượng bằng 4,3nmol/kg (tiêm hai ngày một lần) + dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 ở liều lượng bằng 2,2nmol/kg (tiêm hai ngày một lần) từ -62% đến -88% so với nhóm được tiêm riêng dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài ở liều lượng bằng 4,3nmol/kg (tiêm hai ngày một lần).

Ngoài ra, kết quả đo mức độ thay đổi nồng độ cholesterol tổng số trong máu, như được thể hiện trên Fig.6, cho thấy mỗi nhóm được tiêm riêng liraglutide (Novo Nordisk) ở liều lượng bằng 50nmol/kg (tiêm hai lần một ngày) hoặc dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài ở liều lượng bằng 4,3nmol/kg (tiêm hai ngày một lần) có nồng độ cholesterol giảm tương ứng bằng -40% và -49% so với nhóm được tiêm tá được dẫn thuốc, và nhóm được tiêm kết hợp dẫn xuất dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài ở liều lượng bằng 4,3nmol/kg (tiêm hai ngày một lần) + dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 ở liều lượng bằng 2,2nmol/kg (tiêm hai ngày một lần) cũng có tác dụng làm giảm nồng độ cholesterol từ -49% đến -70% so với nhóm được tiêm tá được dẫn thuốc.

Kết quả đo thử nghiệm dung nạp glucoza đường tiêm màng bụng (IPGTT), như được thể hiện trong Fig.6, cho thấy nhóm được tiêm riêng dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài ở liều lượng bằng 4,3nmol/kg (tiêm hai ngày một lần) và nhóm được tiêm kết hợp dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài ở liều lượng bằng 4,3nmol/kg (tiêm hai ngày một lần) + dẫn xuất tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 ở liều lượng bằng 2,2nmol/kg (tiêm hai ngày một lần) có tác dụng tương tự tương ứng bằng -61% và -67%.

Do đó, kết quả thử nghiệm cho thấy rằng việc sử dụng kết hợp dẫn xuất exendin tác dụng kéo dài ở liều lượng bằng 4,3nmol/kg (tiêm hai ngày một lần) + dẫn xuất tác

dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 ở liều lượng bằng 2,2nmol/kg (tiêm hai ngày một lần) có tác dụng điều hòa nồng độ glucoza trong máu tương đương đồng thời có tác dụng làm giảm trọng lượng cơ thể và nồng độ cholesterol trong máu cao hơn tác dụng làm giảm trọng lượng cơ thể và nồng độ cholesterol trong máu khi các dược chất này được sử dụng riêng.

Ví dụ thử nghiệm 4: Tác dụng làm giảm hội chứng hạ đường máu cấp tính của thể tiếp hợp tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37

Các chuột cống SD thử nghiệm được cho nhịn ăn trong 4 giờ và tiêm dưới da với insulin (0,65U/kg) để gây ra hội chứng hạ đường máu. Sau khi tiêm 45 phút, các chuột cống thử nghiệm được đánh giá về hội chứng hạ đường máu, được tiêm dưới da với tá dược (2mL/kg; liều đơn, tá dược dẫn thuốc), tiêm tĩnh mạch với thể tiếp hợp tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 (ở liều lượng tương ứng bằng 5,16nmol/kg, 10,31nmol/kg, và 20,63nmol/kg), và được tiêm dưới da với glucagon tự nhiên (60nmol/kg), và mức độ thay đổi nồng độ glucoza trong máu được đánh giá.

Kết quả là, kết quả thử nghiệm cho thấy rằng thể tiếp hợp tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 ở toàn bộ các liều lượng sử dụng đã làm giảm hội chứng hạ đường máu gây ra bởi insulin ở các chuột cống SD thử nghiệm như được thể hiện trong Fig.7. Do đó, kết quả thử nghiệm cho thấy rằng thể tiếp hợp tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 có tác dụng điều trị các bệnh liên quan đến hội chứng hạ đường máu.

Ví dụ thử nghiệm 5: Tác dụng làm giảm hội chứng hạ đường máu mãn tính của thể tiếp hợp tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37

Thử nghiệm đánh giá tác dụng điều trị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh của thể tiếp hợp tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 được thực hiện trên các động vật gặm nhấm được cấy bơm insulin. Mô hình động vật bị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh được tạo ra bằng cách cấy bơm insulin vào các động vật gặm nhấm (chuột cống hoặc chuột nhắt) thông qua phẫu thuật. Do insulin được bài tiết liên tục từ bơm insulin được cấy vào các động vật gặm nhấm thử nghiệm, nên hội chứng hạ đường máu mãn tính được tạo ra và các động vật gặm nhấm thử nghiệm bị hội chứng tăng insulin máu tương tự như hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh ở người.

Cụ thể là, các chuột cống SD được phẫu thuật để cấy dưới da bơm thẩm thấu được nạp đầy insulin. Nồng độ glucoza trong máu của các chuột cống SD thử nghiệm được đo trong một tuần và các chuột cống bị hội chứng hạ đường máu mãn tính được chọn và tiêm dưới da với tá được (tá được dẫn thuốc) và thể tiếp hợp tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 (ở liều lượng bằng 3nmol/kg hoặc 6nmol/kg) 3 ngày một lần (Q3D) và mức độ thay đổi nồng độ glucoza trong máu được đánh giá trong 2 tuần, và diện tích dưới đường cong nồng độ glucoza trong máu (AUC_{BG}) được tính toán.

Diện tích dưới đường cong (AUC) là thông số để đánh giá mức độ thay đổi nồng độ glucoza trong máu trong thời gian sử dụng được chất kéo dài. Kết quả thử nghiệm cho thấy rằng các chuột cống SD được tiêm thể tiếp hợp tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 ở toàn bộ các liều lượng sử dụng liên tục có tác dụng làm tăng đáng kể nồng độ glucoza trong máu so với các chuột cống SD được tiêm tá được không chứa glucagon tác dụng kéo dài (2mL/kg; 3 ngày một lần, tá được dẫn thuốc), là các chuột cống bị hội chứng hạ đường máu mãn tính, như được thể hiện trong Fig.8 (**p < 0,01, *** p < 0,001 so với các chuột cống bị hội chứng hạ đường máu mãn tính được tiêm tá được bằng phân tích ANOVA một chiều). Do đó, kết quả thử nghiệm cho thấy rằng thể tiếp hợp tác dụng kéo dài có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 có tác dụng điều trị hội chứng hạ đường máu mãn tính xuất hiện ở các đối tượng bị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng sáng chế có thể được thực hiện theo các phương án cụ thể khác mà không nằm ngoài phạm vi của sáng chế. Các phương án được mô tả nêu trên chỉ nhằm mục đích minh họa chứ không giới hạn phạm vi của sáng chế. Do đó, phạm vi của sáng chế được thể hiện bằng bộ yêu cầu bảo hộ kèm theo thay vì phần mô tả nêu trên. Toàn bộ các thay đổi nằm trong phạm vi của bộ yêu cầu bảo hộ cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng tăng insulin máu bẩm sinh chứa peptit chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.13, và SEQ ID NO.36 đến SEQ ID NO.44.
2. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó peptit này có điểm đẳng điện khác với điểm đẳng điện của glucagon tự nhiên (6,8).
3. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó đầu tận cùng C của peptit này được amit hóa.
4. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó đầu tận cùng C của peptit này không được cải biến.
5. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó peptit này chứa trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37.
6. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó peptit này ở dạng thể tiếp hợp tác dụng kéo dài, trong đó gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết với gốc peptit.
7. Dược phẩm theo điểm 6, trong đó gốc hợp chất tương thích sinh học được chọn từ nhóm bao gồm polyme, axit béo, cholesterol, albumin và mảnh chức năng của nó, hợp chất gắn kết albumin, polyme chứa các đơn vị lặp lại bao gồm các trình tự axit amin đặc hiệu, kháng thể, mảnh kháng thể, hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh, mô liên kết *in vivo* hoặc dẫn xuất của nó, nucleotit, fibronectin, transferrin, sacarit, heparin, và elastin.
8. Dược phẩm theo điểm 7, trong đó polyme được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, rượu đa chức được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyllic, polysacarit, dextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic, oligonucleotit, và tổ hợp của chúng.
9. Dược phẩm theo điểm 7, trong đó hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh là polypeptit chứa vùng Fc của globulin miễn dịch.
10. Dược phẩm theo điểm 6, trong đó gốc peptit và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết với nhau thông qua gốc liên kết.

11. Được phẩm theo điểm 10, trong đó gốc liên kết được chọn từ nhóm bao gồm peptit, axit béo, sacarit, polyme, hợp chất khối lượng phân tử thấp, nucleotit, và tổ hợp của chúng.

12. Được phẩm theo điểm 11, trong đó polyme được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, rượu đa chức được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyllic, polysacarit, dextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic, oligonucleotit, và tổ hợp của chúng.

13. Được phẩm theo điểm 10, trong đó gốc liên kết là polyetylen glycol.

14. Được phẩm theo điểm 9, trong đó vùng Fc của globulin miễn dịch không được glycosyl hóa.

15. Được phẩm theo điểm 9, trong đó vùng Fc của globulin miễn dịch được chọn từ nhóm bao gồm: (a) miền CH1, miền CH2, miền CH3, và miền CH4; (b) miền CH1 và miền CH2; (c) miền CH1 và miền CH3; (d) miền CH2 và miền CH3; (e) tổ hợp giữa một hoặc ít nhất hai miền trong số các miền CH1, miền CH2, miền CH3, và miền CH4, và vùng bản lề của globulin miễn dịch hoặc đoạn chức năng của vùng bản lề; và (f) dime giữa mỗi miền của vùng hằng định chuỗi nặng và vùng hằng định chuỗi nhẹ.

16. Được phẩm theo điểm 9, trong đó polypepit chứa vùng Fc của globulin miễn dịch là ở dạng dime.

17. Được phẩm theo điểm 9, trong đó vùng Fc của globulin miễn dịch là dẫn xuất Fc tự nhiên trong đó vùng có khả năng tạo ra liên kết disulfua được loại bỏ, dẫn xuất Fc tự nhiên trong đó một đoạn chứa các axit amin ở đầu tận cùng N được loại bỏ, dẫn xuất Fc tự nhiên trong đó gốc metionin được bổ sung vào đầu tận cùng N, dẫn xuất Fc tự nhiên trong đó vị trí gắn kết bổ thể được loại bỏ, hoặc dẫn xuất Fc tự nhiên trong đó vị trí có hoạt tính gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể được loại bỏ.

18. Được phẩm theo điểm 9, trong đó vùng Fc của globulin miễn dịch là vùng Fc có nguồn gốc từ globulin miễn dịch được chọn từ nhóm bao gồm IgG, IgA, IgD, IgE, và IgM.

19. Được phẩm theo điểm 18, trong đó vùng Fc của globulin miễn dịch là vùng Fc IgG4.
20. Được phẩm theo điểm 9, trong đó vùng Fc của globulin miễn dịch là vùng Fc không được glycosyl hóa có nguồn gốc từ IgG4 của người.
21. Được phẩm theo điểm 10, trong đó gốc liên kết được liên kết với gốc cystein của gốc peptit.
22. Được phẩm theo điểm 10, trong đó gốc liên kết được liên kết tương ứng với gốc peptit và gốc hợp chất tương thích sinh học thông qua các liên kết cộng hóa trị, tương ứng được tạo ra bằng phản ứng của một đầu của gốc liên kết với nhóm amin hoặc nhóm thiol của gốc hợp chất tương thích sinh học và phản ứng của đầu còn lại của gốc liên kết với nhóm amin hoặc nhóm thiol của gốc peptit.
23. Thẻ tiếp hợp phân lập chứa gốc peptit và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết với gốc peptit thông qua các liên kết cộng hóa trị, trong đó gốc peptit chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.13, và SEQ ID NO.36 đến SEQ ID NO.44.
24. Thẻ tiếp hợp phân lập theo điểm 23, trong đó gốc hợp chất tương thích sinh học được chọn từ nhóm bao gồm polyme, axit béo, cholesterol, albumin và mảnh chức năng của nó, hợp chất gắn kết albumin, polyme chứa các đơn vị lặp lại bao gồm các trình tự axit amin đặc hiệu, kháng thể, mảnh kháng thể, hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh, mô liên kết *in vivo* hoặc dẫn xuất của nó, nucleotit, fibronectin, transferrin, sacarit, heparin, và elastin.
25. Thẻ tiếp hợp phân lập theo điểm 24, trong đó polyme được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, rượu đa chức được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyl, polysacarit, dextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic, oligonucleotit, và tổ hợp của chúng.
26. Thẻ tiếp hợp phân lập theo điểm 24, trong đó hợp chất gắn kết thụ thể Fc mới sinh là polypeptit chứa vùng Fc của globulin miễn dịch.
27. Thẻ tiếp hợp phân lập theo điểm 23, trong đó gốc peptit và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết với nhau thông qua gốc liên kết.

28. Thử tiếp hợp phân lập theo điểm 27, trong đó gốc liên kết được chọn từ nhóm bao gồm peptit, axit béo, sacarit, polyme, hợp chất khối lượng phân tử thấp, nucleotit, và tổ hợp của chúng.

29. Thử tiếp hợp phân lập theo điểm 28, trong đó polyme được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, rượu đa chức được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyl, polysacarit, đextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic, oligonucleotit, và tổ hợp của chúng.

30. Dược phẩm phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng hạ đường máu, chứa: (i) peptit phân lập chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.13, và SEQ ID NO.36 đến SEQ ID NO.44; or thử tiếp hợp phân lập chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.40 đến SEQ ID NO.46; và (ii) tá dược được dụng.

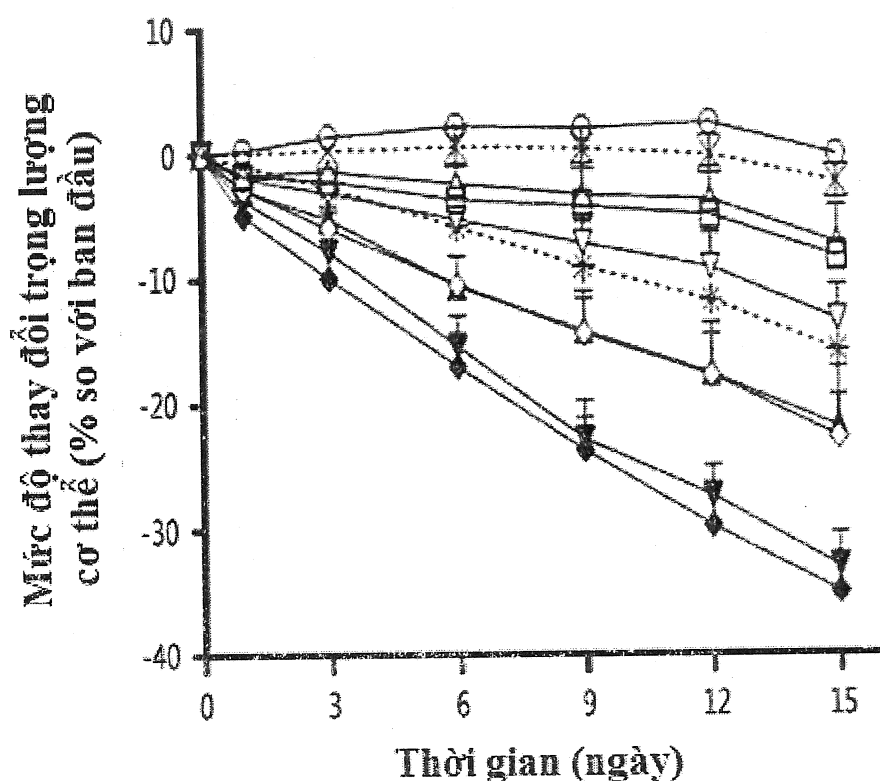
31. Dược phẩm phòng ngừa hoặc điều trị hội chứng chuyển hóa, chứa: (i) peptit phân lập chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.13, và SEQ ID NO.36 đến SEQ ID NO.44; or thử tiếp hợp phân lập chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO.40 đến SEQ ID NO.46; và (ii) tá dược được dụng.

32. Dược phẩm theo điểm 31, trong đó dược phẩm này còn chứa ít nhất một hợp chất hoặc hoạt chất khác có hoạt tính điều trị hội chứng chuyển hóa.

33. Dược phẩm theo điểm 32, trong đó hợp chất hoặc hoạt chất khác có hoạt tính điều trị hội chứng chuyển hóa được chọn từ nhóm bao gồm peptit kích thích sản sinh insulin, chất chủ vận thụ thể peptit tương tự glucagon-1, chất chủ vận thụ thể leptin, chất ức chế dipeptidyl peptidaza, chất đối kháng thụ thể Y5, chất đối kháng thụ thể hormon tích tụ melanin, chất chủ vận thụ thể Y2/4, chất chủ vận thụ thể melanocortin 3/4, chất ức chế lipaza dạ dày/tụy, chất chủ vận thụ thể 5-hydroxytryptamin 2C được liên hợp protein G, chất chủ vận thụ thể β 3A, chất chủ vận thụ thể amylin, chất đối kháng ghrelin, chất đối kháng thụ thể ghrelin, chất chủ vận thụ thể alpha được hoạt hóa bởi chất tăng sinh peroxisom, chất chủ vận thụ thể delta được hoạt hóa bởi chất tăng sinh peroxisom, chất chủ vận thụ thể Farnesoid X, chất ức chế acetyl-CoA carboxylaza, peptit YY, cholecystokinin, xenin, glicentin, obestatin, secretin, nesfatin, insulin, và peptit kích thích sản sinh insulin phụ thuộc glucoza.

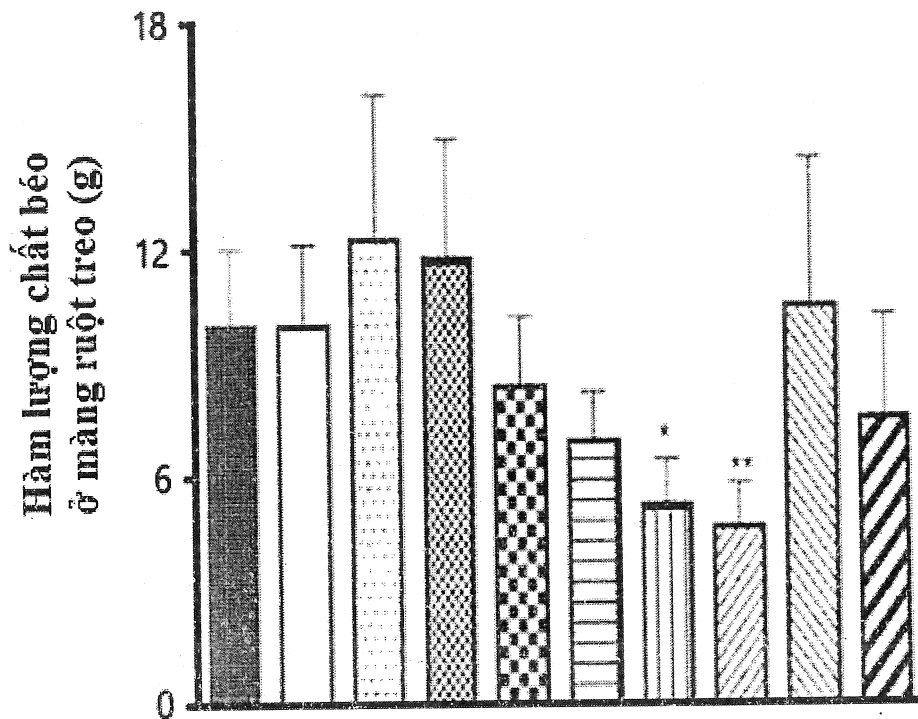
34. Được phẩm theo điểm 31, trong đó được phẩm này chứa cả: (i) gốc peptit chứa trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết cộng hóa trị với gốc peptit; và (ii) gốc imidazo-axetyl exendin-4 trong đó cacbon α của axit amin thứ nhất histidin của exendin-4 được loại bỏ và gốc hợp chất tương thích sinh học được liên kết cộng hóa trị với gốc imidazo-axetyl exendin-4.

35. Được phẩm theo điểm 34, trong đó gốc peptit chứa trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37 và gốc imidazo-axetyl exendin-4 được liên kết tương ứng với gốc hợp chất tương thích sinh học tương ứng của chúng thông qua gốc liên kết.



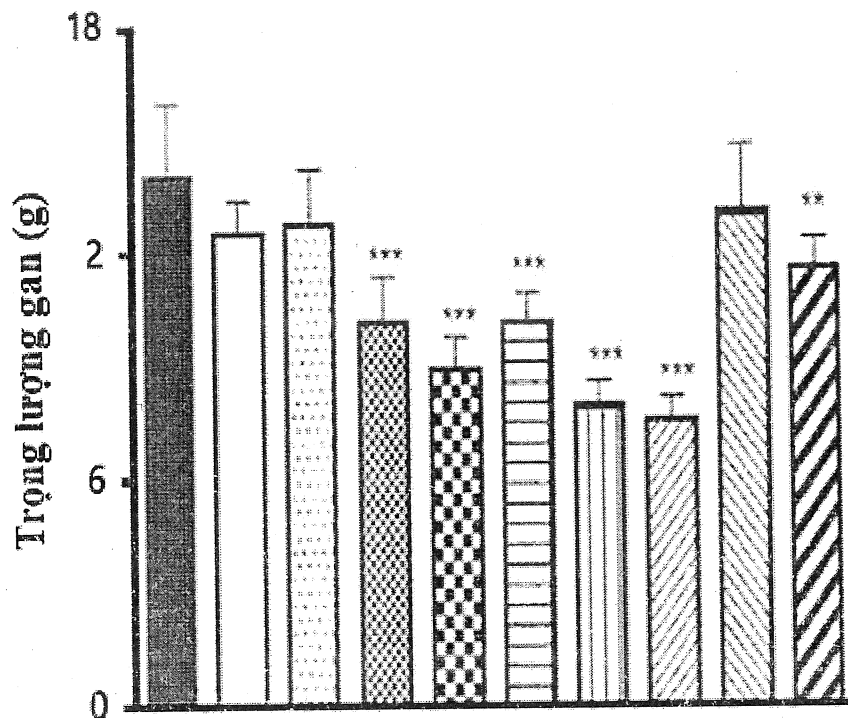
- ⊕ Tá dược
- ⊕ Dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (3,3nmol/kg)
- ⊕ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 1,6nmol/kg)
- ⊕ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 3,3nmol/kg)
- ⊕ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 6,6nmol/kg)
- ⊕ Dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (3,3nmol/kg)
+ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 1,6nmol/kg)
- ⊕ Dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (3,3nmol/kg) +
Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 3,3nmol/kg)
- ⊕ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 3,3nmol/kg) +
Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 6,6nmol/kg)
- ⊗ Được cho ăn theo cặp (với nhóm được tiêm dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO: 12, 3,3nmol/kg))
- ⊗ Được cho ăn theo cặp (với nhóm được tiêm dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (3,3nmol/kg) và dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO: 12, 3,3nmol/kg))

Fig.1



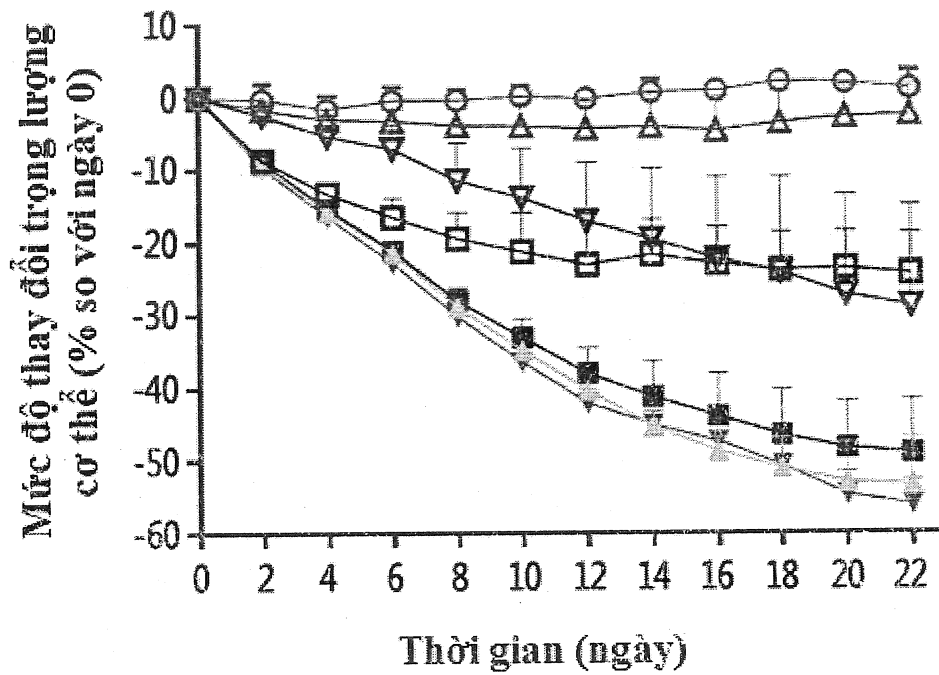
- Tá dược
- Dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (3,3nmol/kg)
- ▨ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 1,6nmol/kg)
- ▩ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 3,3nmol/kg)
- ▧ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 6,6nmol/kg)
- ▦ Dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (3,3nmol/kg) + Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 1,6nmol/kg)
- ▤ Dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (3,3nmol/kg) + Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 3,3nmol/kg)
- ▥ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 3,3nmol/kg) + Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 6,6nmol/kg)
- ▣ Được cho ăn theo cặp (với nhóm được tiêm dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO: 12, 3,3nmol/kg))
- ▢ Được cho ăn theo cặp (với nhóm được tiêm dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (3,3nmol/kg) và dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO: 12, 3,3nmol/kg))

Fig.2



- Tá dược
- Dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (3,3nmol/kg)
- ▤ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 1,6nmol/kg)
- ▥ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 3,3nmol/kg)
- ▦ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 6,6nmol/kg)
- ▧ Dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (3,3nmol/kg) + Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 1,6nmol/kg)
- ▨ Dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (3,3nmol/kg) + Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 3,3nmol/kg)
- ▩ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 3,3nmol/kg) + Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:12, 6,6nmol/kg)
- Được cho ăn theo cặp (với nhóm được tiêm dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO: 12, 3,3nmol/kg))
- ▬ Được cho ăn theo cặp (với nhóm được tiêm dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (3,3nmol/kg) và dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO: 12, 3,3nmol/kg))

Fig.3



- Tá dược
- Dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (4,3nmol/kg)
- △ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:20, 4,4nmol/kg)
- ▽ Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:20, 8,8nmol/kg)
- ▲ Dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (4,3nmol/kg) + Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:20, 4,4nmol/kg)
- ▼ Dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (2,1nmol/kg) + Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:20, 6,6nmol/kg)
- Dẫn xuất exendin-4 tác dụng kéo dài (0,8nmol/kg) + Dẫn xuất tác dụng kéo dài (SEQ ID NO:20, 8,0nmol/kg)

Fig.4

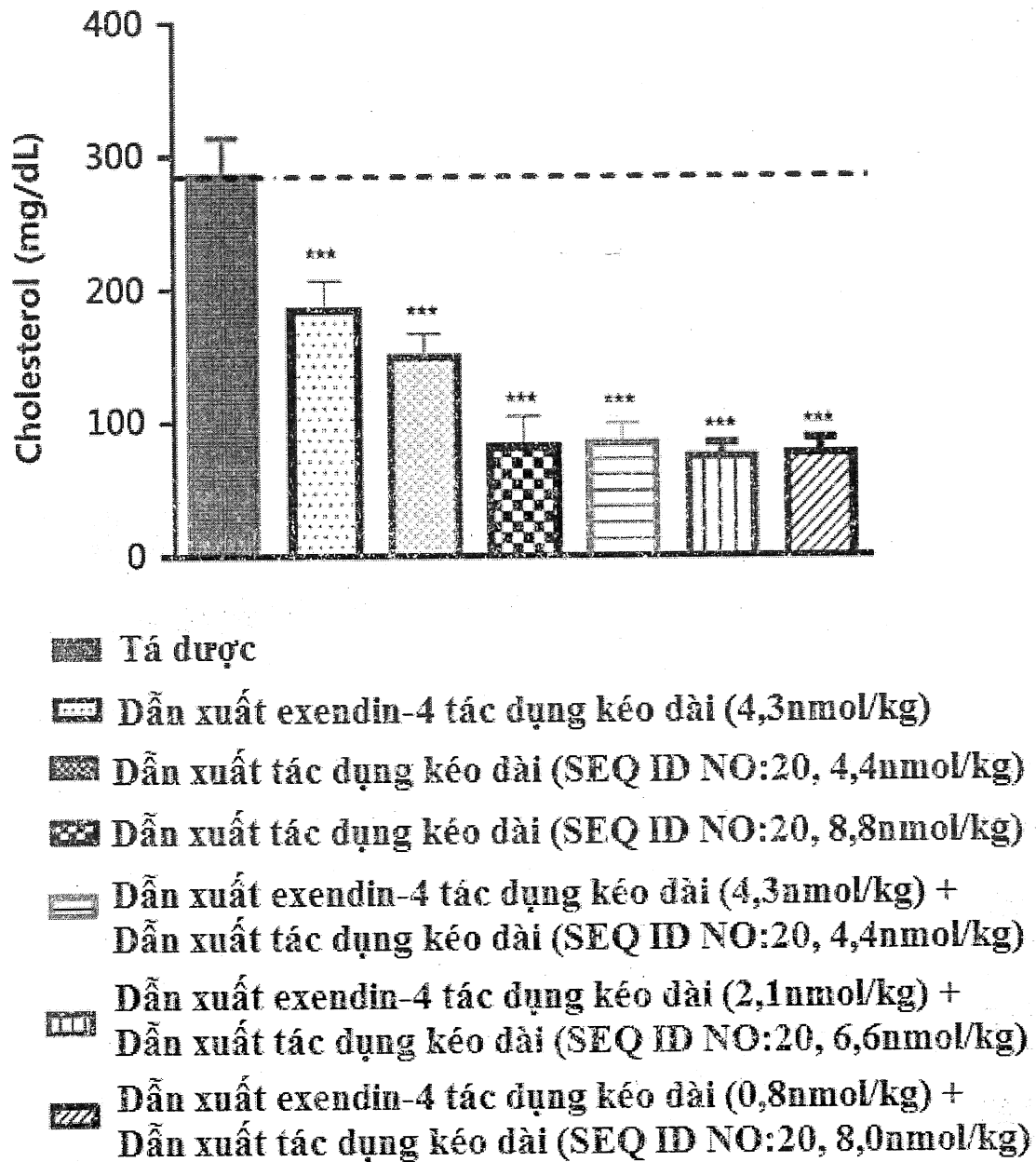


Fig.5

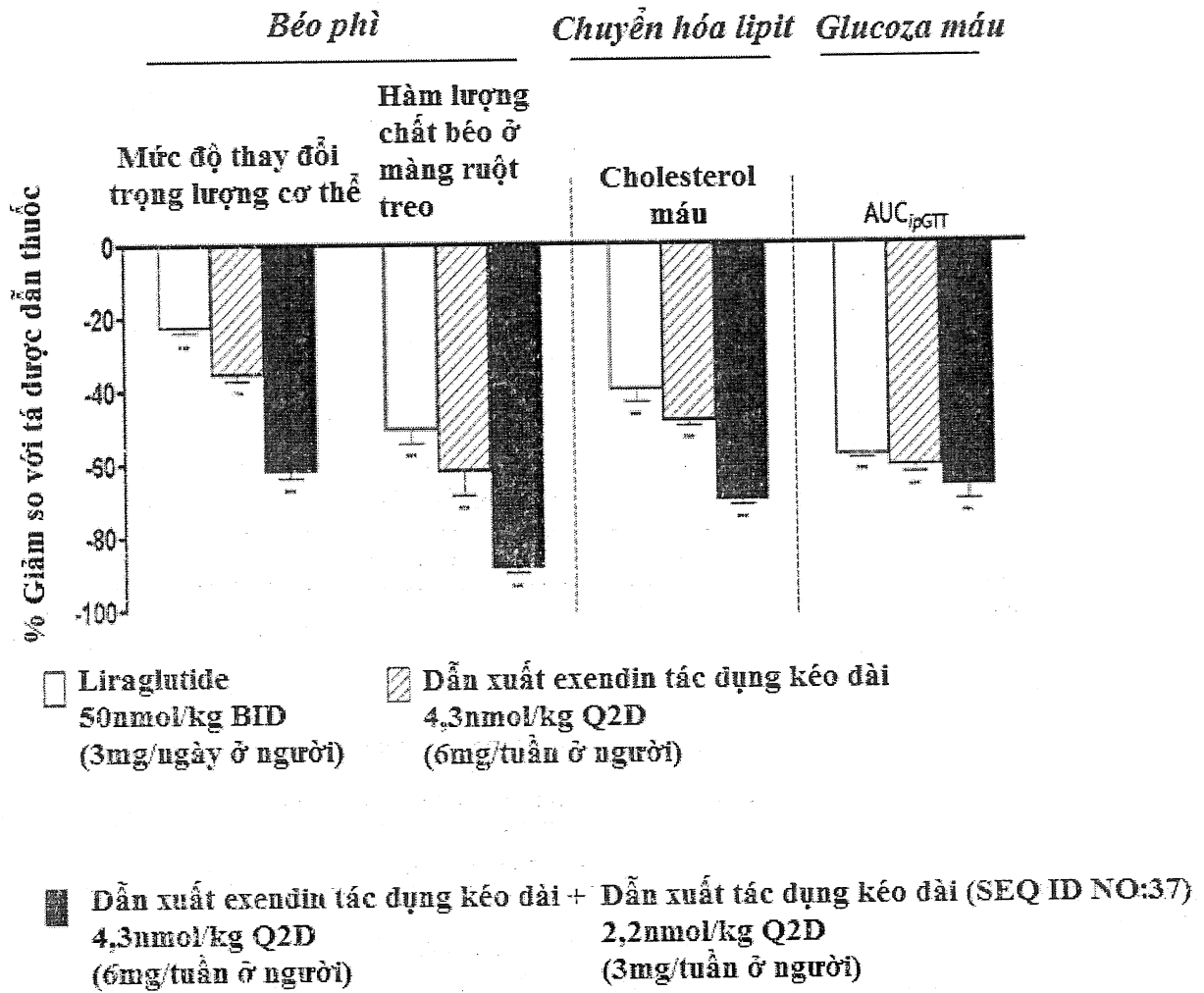
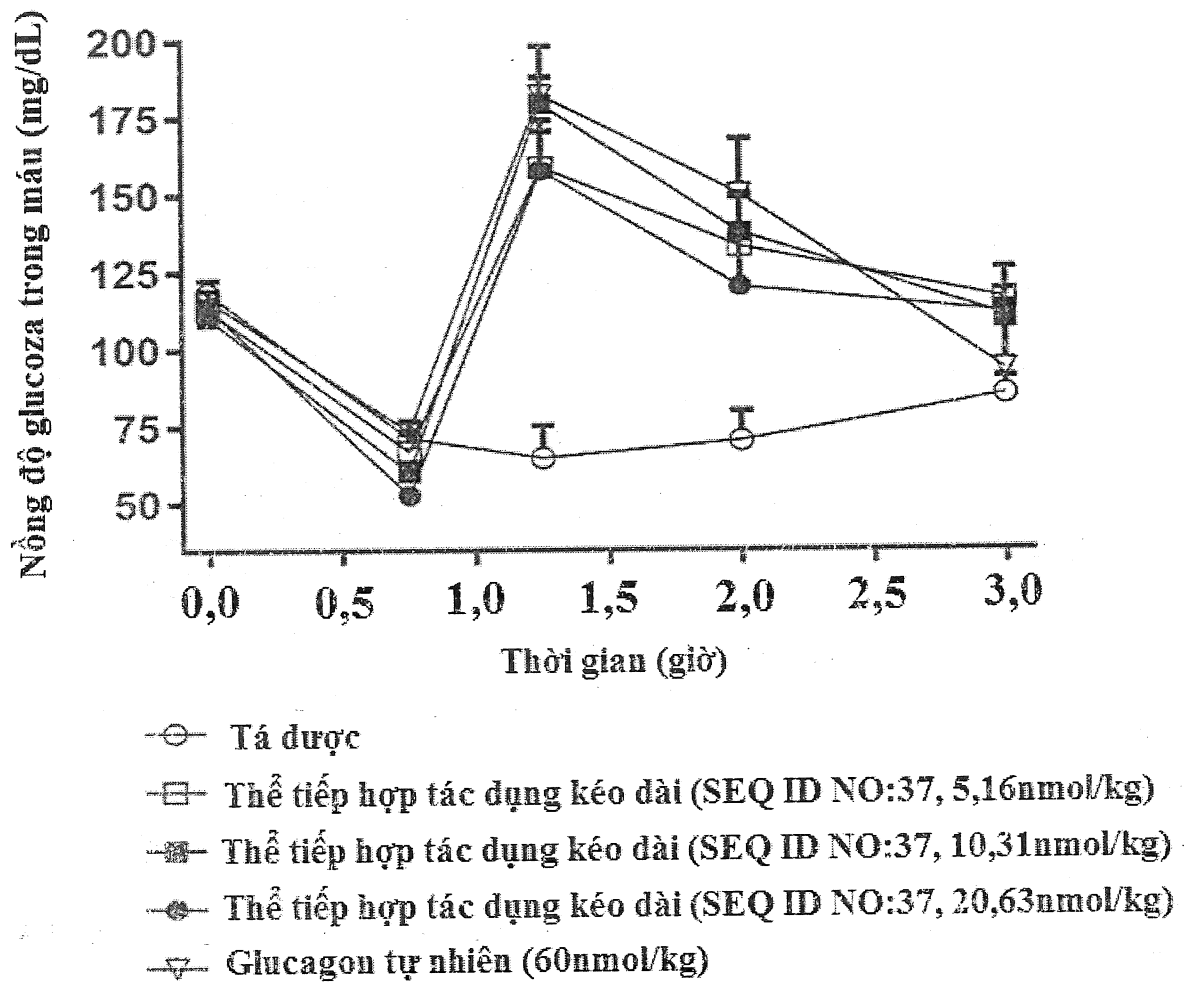
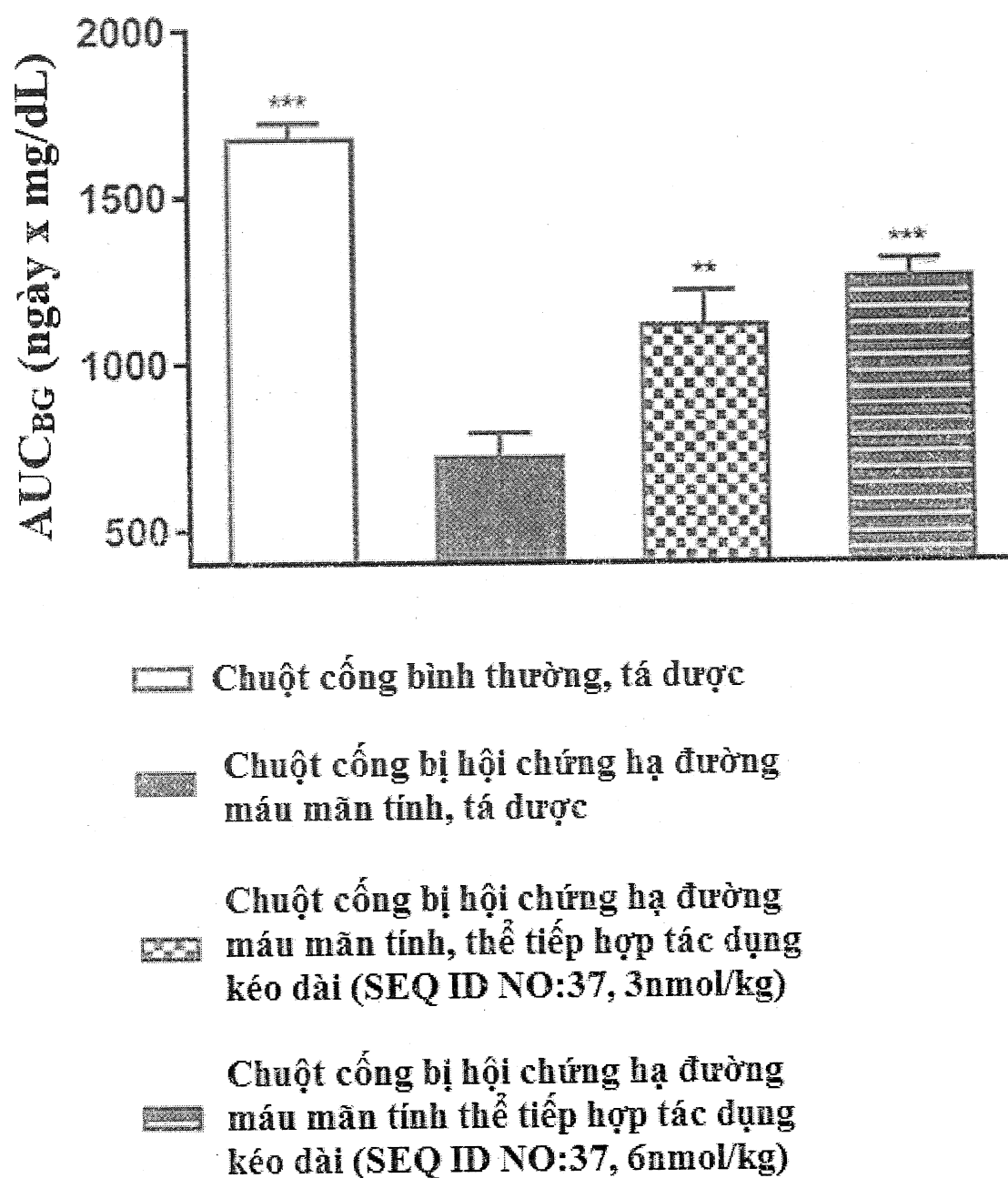


Fig.6

**Fig.7**

**Fig.8**

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> HANMI PHARM. CO., LTD.
 <120> DUỐC PHẨM PHÒNG NGỪA HOẶC ĐIỀU TRỊ HỘI CHỨNG TĂNG INSULIN MÁU BẨM SINH VÀ THỂ TIẾP HỢP PHÂN LẬP
 <130> OPA17115
 <150> KR 10-2016-0081995
 <151> 2016-06-29
 <150> KR 10-2016-0182982
 <151> 2016-12-29
 <150> KR 10-2017-0069217
 <151> 2017-06-02
 <160> 50
 <170> KoPatentIn 3,0
 <210> 1
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 1
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
 1 5 10 15
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 2
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <400> 2
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys
 1 5 10 15
 Asp Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 3
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <400> 3
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 4
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <400> 4
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
 1 5 10 15
 Cys Asp Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 5
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <400> 5
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
 1 5 10 15
 Cys Glu Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 6
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <400> 6
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
 1 5 10 15
 Cys Glu Ala Asp Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 7
 <211> 29

<212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <400> 7
 Tyr Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
 1 5 10 15
 Cys Glu Ala Asp Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 8
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <400> 8
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
 1 5 10 15
 Cys Asp Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Ile Asn Thr
 20 25
 <210> 9
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <400> 9
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
 1 5 10 15
 Cys Asp Ala Gln Asp Phe Val Val Trp Leu Ile Asn Thr
 20 25
 <210> 10
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <400> 10
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
 1 5 10 15
 Cys Asp Ala Asp Asp Phe Val Val Trp Leu Ile Asn Thr
 20 25
 <210> 11
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <400> 11
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Lys Cys Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 12
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <220>

<221> Trình tự lỗi
 <222> (16).(20)
 <223> Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
 <400> 12
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
 20 25 30
 <210> 13
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <400> 13
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Cys Tyr Leu Asp Ser
 1 5 10 15
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 14
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <400> 14
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys
 1 5 10 15
 Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 15
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <400> 15
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Cys Glu
 1 5 10 15
 Lys Arg Ala Gln Asp Phe Val Val Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 16
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <400> 16
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys
 1 5 10 15
 Arg Arg Ala Gln Val Phe Val Gln Trp Leu Met Arg Thr
 20 25
 <210> 17
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)

<400> 17
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys
 1 5 10 15
 Val Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Arg Thr
 20 25
 <210> 18
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <400> 18
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
 1 5 10 15
 Arg Arg Ala Cys Asp Phe Arg Leu Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 19
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (16).(20)
 <223> Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
 <400> 19
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Cys Glu
 1 5 10 15
 Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 20
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (16).(20)
 <223> Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
 <400> 20
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Cys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 21
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (16).(20)
 <223> Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
 <400> 21
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Lys Cys Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 22

```

<211> 29
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dẫn xuất glucagon
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (2)
<223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (16).(20)
<223> Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
<400> 22
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15
Lys Arg Cys Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25
<210> 23
<211> 29
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dẫn xuất glucagon
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (2)
<223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (16).(20)
<223> Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
<400> 23
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Cys Asp Glu
1 5 10 15
Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25
<210> 24
<211> 29
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dẫn xuất glucagon
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (2)
<223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (16).(20)
<223> Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
<400> 24
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Cys Leu Asp Glu
1 5 10 15
Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25
<210> 25
<211> 29
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dẫn xuất glucagon
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (2)
<223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (16).(20)
<223> Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
<400> 25
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15
Lys Arg Ala Lys Cys Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25
<210> 26
<211> 29
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>

```

<223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (16).(20)
 <223> Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
 <400> 26
 Trp Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Cys Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 27
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (16).(20)
 <223> Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
 <400> 27
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Val Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Cys Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 28
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (16).(20)
 <223> Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
 <400> 28
 Trp Xaa Gln Gly Thr Phe Val Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Cys Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 29
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (16).(20)
 <223> Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
 <400> 29
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Cys Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 30
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)

```

<223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (16).(20)
<223> Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
<400> 30
Trp Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Cys Leu Asp Glu
 1          5          10          15
Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
          20          25

<210> 31
<211> 29
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dẫn xuất glucagon
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (2)
<223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (17).(21)
<223> Các axit amin ở các vị trí số 17 và 21 tạo thành vòng
<400> 31
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys
 1          5          10          15
Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
          20          25

<210> 32
<211> 28
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dẫn xuất glucagon
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (15).(19)
<223> Các axit amin ở các vị trí số 15 and 19 tạo thành vòng
<400> 32
Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu Cys
 1          5          10          15
Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
          20          25

<210> 33
<211> 29
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dẫn xuất glucagon
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (2)
<223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
<400> 33
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
 1          5          10          15
Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
          20          25

<210> 34
<211> 29
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dẫn xuất glucagon
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (2)
<223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (16).(20)
<223> Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
<400> 34
Trp Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Cys Asp Glu
 1          5          10          15
Arg Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
          20          25

<210> 35
<211> 29

```

```

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dẫn xuất glucagon
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (2)
<223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (16).(20)
<223> Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
<400> 35
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Cys Asp Glu
1 5 10 15
Arg Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25
<210> 36
<211> 29
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dẫn xuất glucagon
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (2)
<223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (16).(20)
<223> Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
<400> 36
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Cys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15
Arg Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25
<210> 37
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dẫn xuất glucagon
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (2)
<223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (16).(20)
<223> Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
<400> 37
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15
Arg Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
20 25 30
<210> 38
<211> 29
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Dẫn xuất glucagon
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (2)
<223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (16).(20)
<223> Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
<400> 38
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Cys Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15
Arg Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25
<210> 39
<211> 29
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>

```

```

<223>  Dẫn xuất glucagon
<220>
<221>  Trình tự lỗi
<222>  (2)
<223>  Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
<220>
<221>  Trình tự lỗi
<222>  (16).(20)
<223>  Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
<400>  39
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Val Ser Asp Cys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
  1             5             10             15
Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
      20             25

<210>  40
<211>  30
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  Dẫn xuất glucagon
<220>
<221>  Trình tự lỗi
<222>  (2)
<223>  Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
<220>
<221>  Trình tự lỗi
<222>  (16).(20)
<223>  Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
<400>  40
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Val Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
  1             5             10             15
Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
      20             25             30

<210>  41
<211>  29
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  Dẫn xuất glucagon
<220>
<221>  Trình tự lỗi
<222>  (2)
<223>  Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
<220>
<221>  Trình tự lỗi
<222>  (16).(20)
<223>  Các axit amin ở các vị trí số 16 và 20 tạo thành vòng
<400>  41
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Cys Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
  1             5             10             15
Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
      20             25

<210>  42
<211>  29
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  Dẫn xuất glucagon
<220>
<221>  Trình tự lỗi
<222>  (2)
<223>  Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
<400>  42
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Cys Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
  1             5             10             15
Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
      20             25

<210>  43
<211>  29
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  Dẫn xuất glucagon
<220>
<221>  Trình tự lỗi
<222>  (2)
<223>  Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
<400>  43
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Cys Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
  1             5             10             15

```

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

20

25

<210> 44
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <400> 44

Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser

1

5

10

15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys

20

25

30

<210> 45
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (1)
 <223> Xaa là histidin, desamino-histidyl, N-dimethyl-histidyl, beta-hydroxy imidazopropionyl, 4-imidazoaxetyl, beta-carboxy imidazopropionyl, tryptophan, hoặc tyrosin, hoặc vắng mặt
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit alpha-methyl-glutamic, axit aminoisobutyric (Aib), D-alanin, glycin, Sar (N-methylglycin), serin, hoặc D-serin
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (7)
 <223> Xaa là threonin, valin, hoặc cystein
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (10)
 <223> Xaa là tyrosin hoặc cystein
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (12)
 <223> Xaa là lysin hoặc cystein
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (13)
 <223> Xaa là tyrosin hoặc cystein
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (14)
 <223> Xaa là leucin hoặc cystein
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (15)
 <223> Xaa là axit aspartic, axit glutamic, hoặc cystein
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (16)
 <223> Xaa là axit glutamic, axit aspartic, serin, axit alpha-methyl-glutamic, hoặc cystein, hoặc vắng mặt;
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (17)
 <223> Xaa là axit aspartic, glutamin, axit glutamic, lysin, arginin, serin, cystein, hoặc valin, hoặc vắng mặt
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (18)
 <223> Xaa là alanin, axit aspartic, axit glutamic, arginin, valin, hoặc cystein, hoặc vắng mặt
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (19)
 <223> Xaa là alanin, arginin, serin, valin, hoặc cystein, hoặc vắng mặt
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (20)
 <223> Xaa là lysin, histidin, glutamin, axit aspartic, lysin, arginin, axit alpha-methyl-glutamic, hoặc cystein, hoặc vắng mặt

<220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (21)
 <223> Xaa là axit aspartic, axit glutamic, leucin, valin, hoặc cystein, hoặc vắng mặt
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (23)
 <223> Xaa là isoleucin, valin, hoặc arginin, hoặc vắng mặt
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (24)
 <223> Xaa là valin, arginin, alanin, cystein, axit glutamic, lysin, glutamin, axit alpha-metyl-glutamic, hoặc leucin, hoặc vắng mặt;
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (27)
 <223> Xaa là isoleucin, valin, alanin, lysin, metionin, glutamin, hoặc arginin, hoặc vắng mặt
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (28)
 <223> Xaa là glutamin, lysin, asparagin, hoặc arginin, hoặc vắng mặt
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (29)
 <223> Xaa là lysin, alanin, glycin, hoặc threonin, hoặc vắng mặt
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (30)
 <223> Xaa là cystein, hoặc vắng mặt
 <400> 45
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Xaa Ser Asp Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15
 Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Trp Leu Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30
 <210> 46
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric (Aib)
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (7)
 <223> Xaa là threonin, valin, hoặc cystein
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (10)
 <223> Xaa là tyrosin hoặc cystein
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (12)
 <223> Xaa là lysin hoặc cystein
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (15)
 <223> Xaa là axit aspartic hoặc cystein
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (16)
 <223> Xaa là axit glutamic hoặc serin
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (17)
 <223> Xaa là lysin hoặc arginin
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (20)
 <223> Xaa là glutamin hoặc lysin
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (21)
 <223> Xaa là axit aspartic hoặc axit glutamic
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (24)

<223> Xaa là valin hoặc glutamin
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (30)
 <223> Xaa là cystein hoặc vắng mặt
 <400> 46
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Xaa Ser Asp Xaa Ser Xaa Tyr Leu Xaa Xaa
 1 5 10 15
 Xaa Arg Ala Xaa Xaa Phe Val Xaa Trp Leu Met Asn Thr Xaa
 20 25 30
 <210> 47
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Đoạn mỗi xuôi
 <400> 47
 cagcgcacacc gaccgtcccc ccgtacttaa ggcc 34
 <210> 48
 <211> 32
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Đoạn mỗi ngược
 <400> 48
 ctaaccgact ctccggggaag actgagctcg cc 32
 <210> 49
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric
 <400> 49
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Cys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15
 Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 <210> 50
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Dẫn xuất glucagon
 <220>
 <221> Trình tự lỗi
 <222> (2)
 <223> Xaa là axit aminoisobutyric
 <400> 50
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Cys Glu
 1 5 10 15
 Lys Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25