



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118754965 A

(43) 申请公布日 2024.10.11

(21) 申请号 202410666887.1

(22) 申请日 2021.05.28

(66) 本国优先权数据

202010472577.8 2020.05.29 CN

202110335100.X 2021.03.29 CN

(62) 分案原申请数据

202180004912.4 2021.05.28

(71) 申请人 北京拓界生物医药科技有限公司

地址 102206 北京市昌平区生命科学园医
科路9号院4号楼7层

(72) 发明人 吴方舟 王雷 黄旭超 吴然

刘仁志 花海清

(74) 专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限
公司 11314

专利代理师 程伟

(51) Int. Cl.

C07K 14/605 (2006.01)

A61K 38/26 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

权利要求书6页 说明书32页

序列表(电子公布) 附图4页

(54) 发明名称

GLP-1和GIP受体双重激动剂化合物及其应
用

(57) 摘要

本公开提供了一种GLP-1和GIP受体双重激动剂化合物及其应用。具体而言,提供了一种源自胰高血糖素样肽-1(Glucagon-like Peptide-1, GLP-1)的多肽类似物及其可药用盐,其对人类GLP-1受体和人类血糖依赖性促胰岛素多肽(Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide, GIP)受体具有激动剂作用,并可以用于肥胖症、II型糖尿病、非酒精性脂肪肝等代谢类疾病的治疗。

1. 一种GLP-1类似物或其可药用盐,其中所述GLP-1类似物具有通式(I): $R_1-X_1-X_2-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X_{10}-Ser-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}-X_{19}-X_{20}-Glu-Phe-X_{23}-X_{24}-Trp-Leu-X_{27}-X_{28}-X_{29}-X_{30}-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-R_2$

(I)

其中:

R_1 是H、烷基、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基、三氟乙酰基、pGlu或不存在;

R_2 是 $-NH_2$ 、 $-OH$ 或不存在;

X_1 、 X_2 、 X_{10} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 、 X_{15} 、 X_{16} 、 X_{17} 、 X_{18} 、 X_{19} 、 X_{20} 、 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{27} 、 X_{28} 、 X_{29} 和 X_{30} 独立选自任意天然的氨基酸残基或非天然氨基酸残基。

2. 根据权利要求1所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,

X_1 选自Tyr或His的氨基酸残基; X_2 选自Aib或D-Ala的氨基酸残基; X_{10} 选自Val或Tyr的氨基酸残基或Y1; X_{12} 选自Ser或Ile的氨基酸残基或Y1; X_{13} 选自Tyr或Ala的氨基酸残基或Y1; X_{14} 选自Leu或Nle的氨基酸残基或Y1; X_{15} 选自Asp或Glu的氨基酸残基; X_{16} 选自Arg、Glu、Gly、Lys或Aib的氨基酸残基或Y1; X_{17} 选自Glu、Ile或Gln的氨基酸残基或Y1; X_{18} 选自Ala、Aib或His的氨基酸残基; X_{19} 选自Ala、Aib或Gln的氨基酸残基; X_{20} 选自Gln、Glu、Lys的氨基酸残基; X_{23} 选自Ile或Val的氨基酸残基; X_{24} 选自Ala、Asn或Gln的氨基酸残基; X_{27} 选自Val或Leu的氨基酸残基; X_{28} 选自Arg或Ala的氨基酸残基; X_{29} 选自Gly或Gln的氨基酸残基; X_{30} 选自Gly、Lys的氨基酸残基;

Y1是在侧链上包含取代基的Lys、Orn、Dap、Dab或Cys残基,所述取代基具有式 $\{[2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基\}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH_2)_c-COOH$;

a为1-3的整数;

b为1或2;

c为10-30的整数。

3. 根据权利要求1所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,

X_1 选自Tyr的氨基酸残基; X_2 选自Aib的氨基酸残基; X_{10} 选自Tyr的氨基酸残基; X_{12} 选自Ile的氨基酸残基; X_{13} 选自Tyr的氨基酸残基; X_{14} 选自Y1; X_{15} 选自Asp或Glu的氨基酸残基; X_{16} 选自Arg或Lys的氨基酸残基; X_{17} 选自Ile的氨基酸残基; X_{18} 选自Ala的氨基酸残基; X_{19} 选自Ala的氨基酸残基; X_{20} 选自Gln的氨基酸残基; X_{23} 选自Ile或Val的氨基酸残基; X_{24} 选自Asn的氨基酸残基; X_{27} 选自Ile或Leu的氨基酸残基; X_{28} 选自Ala的氨基酸残基; X_{29} 选自Gly的氨基酸残基; X_{30} 选自Gly的氨基酸残基;

Y1如权利要求2所限定。

4. 根据权利要求3所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,

X_{16} 选自Lys的氨基酸残基; X_{23} 选自Val的氨基酸残基; X_{27} 选自Leu的氨基酸残基。

5. 根据权利要求1所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,

X_1 选自Tyr的氨基酸残基; X_2 选自Aib或D-Ala的氨基酸残基; X_{10} 选自Y1; X_{12} 选自Ile的氨基酸残基; X_{13} 选自Tyr的氨基酸残基; X_{14} 选自Leu或Nle的氨基酸残基; X_{15} 选自Glu的氨基酸残基; X_{16} 选自Arg或Lys的氨基酸残基; X_{17} 选自Ile的氨基酸残基; X_{18} 选自Ala的氨基酸残基; X_{19} 选自Ala的氨基酸残基; X_{20} 选自Gln或Lys的氨基酸残基; X_{23} 选自Ile或Val的氨基酸残基; X_{24} 选自Asn或Gln的氨基酸残基; X_{27} 选自Ile或Leu的氨基酸残基; X_{28} 选自Ala的氨基酸残基;

X₂₉选自Gly的氨基酸残基;X₃₀选自Gly的氨基酸残基;

Y1如权利要求2所限定。

6. 根据权利要求1所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,

X₁选自Tyr的氨基酸残基;X₂选自Aib或D-Ala的氨基酸残基;X₁₀选自Tyr的氨基酸残基;X₁₂选自Y1;X₁₃选自Tyr的氨基酸残基;X₁₄选自Leu或Nle的氨基酸残基;X₁₅选自Glu的氨基酸残基;X₁₆选自Arg或Lys的氨基酸残基;X₁₇选自Ile的氨基酸残基;X₁₈选自Ala的氨基酸残基;X₁₉选自Ala的氨基酸残基;X₂₀选自Gln或Lys的氨基酸残基;X₂₃选自Ile或Val的氨基酸残基;X₂₄选自Asn或Gln的氨基酸残基;X₂₇选自Ile或Leu的氨基酸残基;X₂₈选自Ala的氨基酸残基;X₂₉选自Gly的氨基酸残基;X₃₀选自Gly的氨基酸残基;

Y1如权利要求2所限定。

7. 根据权利要求1所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,

X₁选自Tyr的氨基酸残基;X₂选自Aib或D-Ala的氨基酸残基;X₁₀选自Tyr的氨基酸残基;X₁₂选自Ile的氨基酸残基;X₁₃选自Y1;X₁₄选自Leu或Nle的氨基酸残基;X₁₅选自Glu的氨基酸残基;X₁₆选自Arg或Lys的氨基酸残基;X₁₇选自Ile的氨基酸残基;X₁₈选自Ala的氨基酸残基;X₁₉选自Ala的氨基酸残基;X₂₀选自Gln或Lys的氨基酸残基;X₂₃选自Ile或Val的氨基酸残基;X₂₄选自Asn或Gln的氨基酸残基;X₂₇选自Ile或Leu的氨基酸残基;X₂₈选自Ala的氨基酸残基;X₂₉选自Gly的氨基酸残基;X₃₀选自Gly的氨基酸残基;

Y1如权利要求2所限定。

8. 根据权利要求1所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,

X₁选自Tyr的氨基酸残基;X₂选自Aib或D-Ala的氨基酸残基;X₁₀选自Tyr的氨基酸残基;X₁₂选自Ile的氨基酸残基;X₁₃选自Tyr的氨基酸残基;X₁₄选自Y1;X₁₅选自Glu的氨基酸残基;X₁₆选自Arg或Lys的氨基酸残基;X₁₇选自Ile的氨基酸残基;X₁₈选自Ala的氨基酸残基;X₁₉选自Ala的氨基酸残基;X₂₀选自Gln或Lys的氨基酸残基;X₂₃选自Ile或Val的氨基酸残基;X₂₄选自Asn或Gln的氨基酸残基;X₂₇选自Ile或Leu的氨基酸残基;X₂₈选自Ala的氨基酸残基;X₂₉选自Gly的氨基酸残基;X₃₀选自Gly的氨基酸残基;

Y1如权利要求2所限定。

9. 根据权利要求8所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,

X₂选自Aib的氨基酸残基;X₂₀选自Gln的氨基酸残基;X₂₄选自Asn的氨基酸残基。

10. 根据权利要求1所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,

X₁选自Tyr的氨基酸残基;X₂选自Aib或D-Ala的氨基酸残基;X₁₀选自Tyr的氨基酸残基;X₁₂选自Ile的氨基酸残基;X₁₃选自Tyr的氨基酸残基;X₁₄选自Leu或Nle的氨基酸残基;X₁₅选自Glu的氨基酸残基;X₁₆选自Y1;X₁₇选自Ile的氨基酸残基;X₁₈选自Ala的氨基酸残基;X₁₉选自Ala的氨基酸残基;X₂₀选自Gln或Lys的氨基酸残基;X₂₃选自Ile或Val的氨基酸残基;X₂₄选自Asn或Gln的氨基酸残基;X₂₇选自Ile或Leu的氨基酸残基;X₂₈选自Ala的氨基酸残基;X₂₉选自Gly的氨基酸残基;X₃₀选自Gly的氨基酸残基;

Y1如权利要求2所限定。

11. 根据权利要求10所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,

X₂选自Aib的氨基酸残基;X₁₄选自Leu的氨基酸残基;X₂₀选自Gln的氨基酸残基;X₂₄选自Asn的氨基酸残基。

12. 根据权利要求1所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,

X_1 选自Tyr的氨基酸残基; X_2 选自Aib或D-Ala的氨基酸残基; X_{10} 选自Tyr的氨基酸残基; X_{12} 选自Ile的氨基酸残基; X_{13} 选自Tyr的氨基酸残基; X_{14} 选自Leu或Nle的氨基酸残基; X_{15} 选自Glu的氨基酸残基; X_{16} 选自Arg或Lys的氨基酸残基; X_{17} 选自Y1; X_{18} 选自Ala的氨基酸残基; X_{19} 选自Ala的氨基酸残基; X_{20} 选自Gln或Lys的氨基酸残基; X_{23} 选自Ile或Val的氨基酸残基; X_{24} 选自Asn或Gln的氨基酸残基; X_{27} 选自Ile或Leu的氨基酸残基; X_{28} 选自Ala的氨基酸残基; X_{29} 选自Gly的氨基酸残基; X_{30} 选自Gly的氨基酸残基;

Y1如权利要求2所限定。

13. 根据权利要求2-12中任一项所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,a为2,b为1或2,c为16-20的整数。

14. 根据权利要求13所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,c为16、18或20。

15. 根据权利要求2-14中任一项所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,Y1是在侧链上包含取代基的Lys残基,所述取代基具有式 $\{[2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基}]\text{-乙酰基}\}_a\text{-}(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2\text{)}_c\text{-COOH}$;

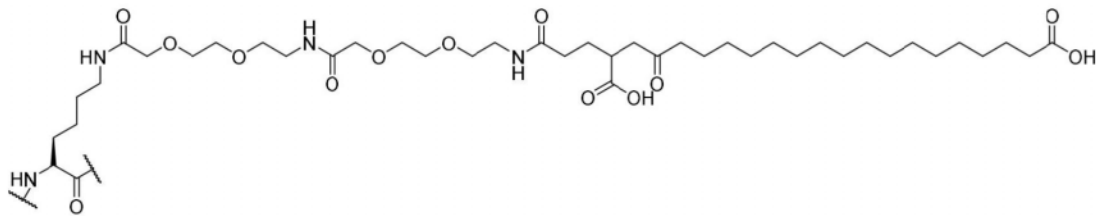
a为2;

b为1或2;

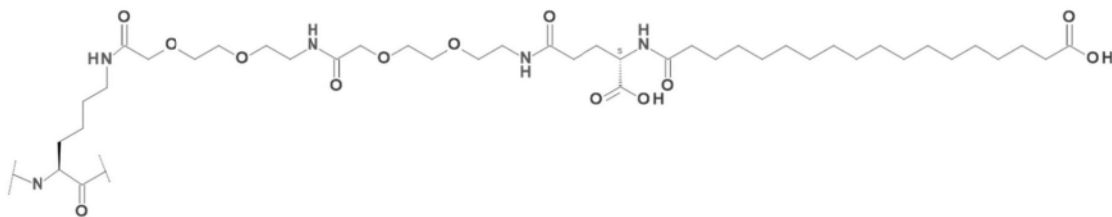
c为16或18。

16. 根据权利要求2-15中任一项所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,所述取代基通过酰胺键共价连接至所述侧链上的氨基。

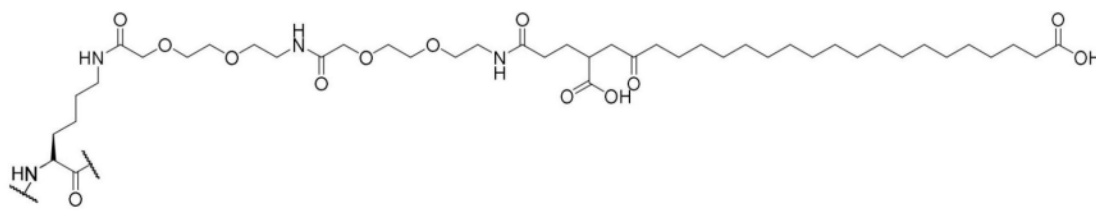
17. 根据权利要求2-16中任一项所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,Y1为K(-OEG-OEG- γ Glu-C18-OH)或K(-OEG-OEG- γ Glu-C20-OH),其中,K(-OEG-OEG- γ Glu-C18-OH)具有如下结构:



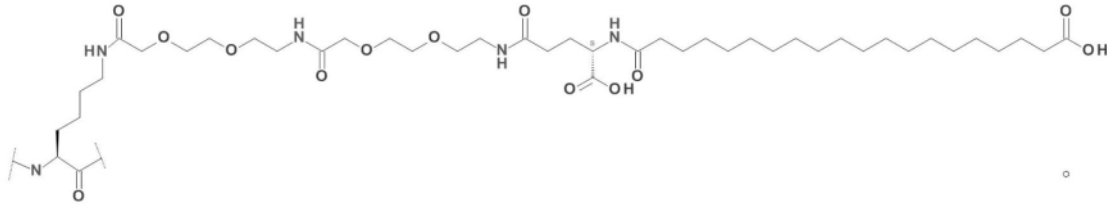
优选具有如下结构:



K(-OEG-OEG- γ Glu-C20-OH)具有如下结构:



优选具有如下结构：



18. 根据权利要求2-17中任一项所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,所述取代基通过酰胺键共价连接至所述侧链上的 ϵ 氨基。

19. 根据权利要求1所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,所述的GLP-1类似物是SEQ ID NO:20所示;

优选地,所述的GLP-1类似物选自如下编号1-18所示的化合物:

- 1 H-YAibEGTFTSDYSIYKDKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 2 H-YAibEGTFTSDYSIYKDRIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 3 H-YAibEGTFTSDYSIYKDKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 4 H-YAibEGTFTSDYSIYKDRIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 5 H-YAibEGTFTSDYSIYKDKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 6 H-YAibEGTFTSDYSIYKDRIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 7 H-YAibEGTFTSDYSIYKDKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 8 H-YAibEGTFTSDYSIYLEKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 9 H-YAibEGTFTSDYSIYLEKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 10 H-YAibEGTFTSDYSIYLEKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 11 H-YAibEGTFTSDYSIYLEKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 12 H-YAibEGTFTSDYSIYKEKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 13 H-YAibEGTFTSDYSIYKERIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 14 H-YAibEGTFTSDYSIYKEKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 15 H-YAibEGTFTSDYSIYKERIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 16 H-YAibEGTFTSDYSIYKEKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 17 H-YAibEGTFTSDYSIYKERIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂
- 18 H-YAibEGTFTSDYSIYKEKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂。

20. 根据权利要求1所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在于,所述的GLP-1类似物选自如下编号1#-18#所示的化合物:

- 1# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPP
PS-NH₂
 - 2# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DRIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPP
PS-NH₂
 - 3# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPP
S-NH₂
 - 4# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DRIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPP
S-NH₂
 - 5# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPP
S-NH₂
 - 6# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DRIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPP
PS-NH₂
 - 7# H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPP
PS-NH₂
 - 8# H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFVNWLLAGGPSSGAPP
PS-NH₂
 - 9# H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPP
S-NH₂
 - 10 H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFINWLIAGGPSSGAPPP
S-NH₂
 - 11 H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFINWLLAGGPSSGAPPP
S-NH₂
 - 12 H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPP
S-NH₂
 - 13 H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)ERIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPP
S-NH₂
 - 14 H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPP
S-NH₂
 - 15 H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)ERIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPP
S-NH₂
 - 16 H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPP
S-NH₂
 - 17 H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)ERIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPP
PS-NH₂
 - 18 H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPP
PS-NH₂。
21. 根据权利要求1所述的GLP-1类似物或其可药用盐,其特征在於,所述GLP-1类似物

选自图3中7#、12#、13#、14#、15#、16#、17#、或18#所示的化合物。

22. 根据权利要求1-21中任一项所述的GLP-1类似物或其可药用盐,所述GLP-1类似物或其可药用盐对GLP-1R的激动剂活性高于对GIP受体的激动剂活性;

优选地,所述GLP-1类似物对GLP-1R的激动剂活性与GIP受体的激动剂活性的比值为1.1:1至10:1,更优选为3:1至6.5:1,最优选为4.5:1至6:1。

23. 一种药物组合物,包含:

- 1) 如权利要求1-22中任一项所述的GLP-1类似物或其可药用盐,和
- 2) 药学可接受的赋形剂或药物载体。

24. 根据权利要求1-22中任一项所述的GLP-1类似物或其可药用盐,以及权利要求23所述的组合物在制备用于治疗非胰岛素依赖性糖尿病、胰岛素依赖性糖尿病、肥胖症、非酒精性脂肪肝、肝脂肪变性、糖尿病性视网膜病、糖尿病性神经病变、糖尿病性肾病、胰岛素抵抗、与胰岛素抵抗相关的血脂异常、和/或与糖尿病相关的血脂异常的药物中的用途。

GLP-1和GIP受体双重激动剂化合物及其应用

[0001] 本发明是中国专利申请号为202180004912.4,发明名称为“GLP-1和GIP受体双重激动剂化合物及其应用”,国际申请日为2021年5月28日的进入中国的PCT专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本公开属于生物医药领域,具体涉及一种对人类胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 受体和人类血糖依赖性促胰岛素多肽 (GIP) 受体具有双重激动剂作用的化合物及其可药用盐,并可用于糖尿病和/或肥胖症等代谢类疾病的治疗。

背景技术

[0003] 糖尿病是由于体内分泌的胰岛素不足进而引发的人体葡萄糖,蛋白质和脂质代谢失调的代谢性疾病。根据其病理机制的差异,糖尿病主要划分为胰岛素依赖性糖尿病 (I型糖尿病) 和非胰岛素依赖性糖尿病 (II型糖尿病)。其中,全球范围内90-95%的糖尿病患者为非胰岛素依赖性糖尿病。非胰岛素依赖性糖尿病是一种由胰岛 β 细胞功能受损和长期胰岛素抗性导致的长期慢性代谢性疾病,其最主要特征是体内胰岛素水平的缺乏和血浆中的高血糖浓度。研究表明非胰岛素依赖性糖尿病与患者的多种高危险性病发症相关,并且会其往往会导致患者罹患心血管疾病、肾脏衰竭、失明、截肢以及其它多种病发症。

[0004] 引发非胰岛素依赖性糖尿病的一类主要原因是肥胖。肥胖的定义为损害人体健康的体内过多或异常的脂肪堆积。根据人的身体质量指数 (Body mass index, BMI),肥胖也可以定义为当人的BMI指数大于或等于 $30\text{kg}/\text{m}^2$ 。肥胖的出现会显著增加人类罹患心血管疾病,糖尿病,肌肉骨骼疾患和某些癌症的风险。除此之外,人身体质量指数的升高也会提高某些非传染性疾病的患病风险。

[0005] 由于糖尿病及其病发症所带来的巨大患者数目和其造成的显著经济负担,开发安全,有效的治疗糖尿病药物向来是众多研究机构和制药企业关注的焦点领域之一。目前,已经批准上市的糖尿病药物主要包括化学合成小分子口服降糖药物,例如双胍类,磺酰类,胰岛素增敏剂, α -糖苷类以及由生物合成生产的重组胰岛素及其衍生物等注射类降糖药物。虽然上述药物临床上可以有效控制糖尿病患者血浆中的血糖水平,其长期使用往往伴随着患者体重增加等不良反应,继而导致潜在心血管疾病风险的升高以及患者使用依从性的降低。考虑到糖尿病和肥胖之间的潜在病理关系以及肥胖所导致的潜在病发症风险,开发一种既能够有效控制血糖同时也可以适当降低糖尿病患者体重的药物对于糖尿病的有效治疗和潜在病发症风险的降低具有多重意义,因此是临床上一个更加优良的研发方向。

[0006] 胰高血糖素样肽-1 (Glucagon like peptide-1, GLP-1) 是一个含有30或31个氨基酸残基的胃肠道调节多肽。GLP-1的分泌主要由小肠上的L-细胞根据营养的吸收和体内波动的血糖水平进行调节。在食物摄入后,小肠的L-细胞分泌大量的GLP-1以增强胰腺的内分泌功能。GLP-1多肽主要通过激活分布在细胞膜表面的GLP-1受体来完成其在体内控制血糖和降低食欲的生理功能。GLP-1控制体内血糖水平的机制主要为激活其分布在胰岛 β 细胞的

GLP-1受体从而促进胰岛素的生物合成及分泌。同时GLP-1多肽可在体内高血糖水平的情况下抑制胰高血糖素的分泌,胃排空和食物摄入,并通过特定的神经系统作用增强体内对葡萄糖的降解。值得注意的是,GLP-1多肽促进胰岛素分泌的生理功能是受到血浆葡萄糖浓度控制的,因此与其它糖尿病治疗药物相比,GLP-1多肽不会引发严重和持久的低血糖。除此之外,文献中报导了GLP-1多肽及其类似物对实验动物 β 细胞的生长,分化和增殖具有直接的促进作用,表明GLP-1多肽及其类似物可以保护胰岛和延缓糖尿病进展的生理功能并抑制 β 细胞的凋亡。GLP-1多肽还具有潜在的抑制胃泌素和进食刺激的胃酸分泌作用。这些特征意味着GLP-1多肽还具有防止消化道溃疡的生理作用。GLP-1多肽还可以激活在大脑中枢神经系统中分布的GLP-1受体从而增强饱腹感,降低食物摄入并达到保持或降低体重的生理效果。因此,GLP-1多肽及其类似物广泛的作用机制及其生理功能意味着GLP-1多肽是一种理想的治疗非胰岛素依赖性糖尿病以及肥胖型糖尿病的药物。

[0007] GLP-1多肽在控制血糖和降低体重等方面的生理功能为治疗非胰岛素依赖性糖尿病/肥胖型糖尿病带来了希望。天然GLP-1成药性较差,其在体内易被二肽基肽酶-IV(DPP-IV)降解以至于其在人体内的半衰期仅为1-2分钟。面对这种困难,医药工业界通过进行酶切位点氨基酸定点突变,多肽骨架的脂肪酸修饰以及GLP-1多肽和多种蛋白/高分子多聚物结合来构造长效GLP-1类似物及其衍生物。现阶段已经上市并在临床上广泛应用的长效GLP-1类似物包括一天一次皮下注射给药的利拉鲁肽以及一周一次皮下注射给药的杜拉鲁肽和索马鲁肽等。

[0008] 临床上,GLP-1多肽及其衍生物的副作用主要表现在由胃肠道所引发的恶心,呕吐以及腹泻。除此之外,已经发现GLP-1多肽及其衍生物还会引发受试者心跳加速,并在特定情况下增加患者胰腺炎的风险。因此,GLP-1多肽及其衍生物的给药剂量受到其引发的副作用的限制,故其临床使用无法实现患者的全效血糖控制和体重减轻。

[0009] 葡萄糖依赖性胰岛素释放肽(Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide,GIP)和GLP-1多肽都属于肠降血糖素,其对体内血糖的新陈代谢起到关键的生理相关作用。GIP在体内主要由42个氨基酸残基组成,并由十二指肠和临近空肠K细胞根据血浆中的葡萄糖水平进行分泌。GIP多肽通过与分布在胰岛 β 细胞,脂肪组织和中枢神经系统中的GIP受体相结合,从而发挥其生理作用。与GLP-1多肽相似,GIP多肽可以刺激胰岛 β 细胞分泌胰岛素,从而降低血浆中的血糖浓度,并可以保护胰岛 β 细胞,从而控制体内葡萄糖的新陈代谢。除此之外,GIP多肽的生理功能还包括激活脂肪组织中的GIP受体,从而促进脂肪的新陈代谢。对小鼠进行脑室注射的GIP多肽可以降低受试动物的食物摄入并降低体重,这似乎预示着GIP多肽在降低体重方面也具有生理功能。研究表面,在非胰岛素依赖性糖尿病患者体内,GIP多肽的肠促胰岛素功能大大降低,从而导致患者缺乏或丧失了肠促胰岛素效应。研究表明,在血糖水平恢复正常时,这些糖尿病患者所产生的GIP多肽的抑制性会大大减弱。

[0010] 因此,临床上需要一种利用GIP多肽治疗非胰岛素依赖性糖尿病的方法和一种临床上有效的降糖药联合,来恢复非胰岛素依赖性糖尿病患者对GIP多肽的耐受性,并结合GIP多肽的肠促胰岛素功效从而得到更强的临床上的降糖效果。

[0011] 本公开的目的在于提供一种对人类GIP受体具有激动剂活性的GLP-1类似物的衍生物,其对人类GLP-1受体和人类GIP受体具有双重激动剂作用。此外,本公开的一些化合物

与本领域内已知的GLP-1受体激动剂相比,具有更强的降低血糖和减轻体重的疗效。本公开的一些化合物具有极高的血浆稳定性,并具有在人受试者上一周一次皮下注射给药的药代动力学特征。

发明内容

[0012] 本公开提供了一种具有通式(I)的GLP-1类似物,或其可药用盐:

[0013] $R_1-X_1-X_2-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X_{10}-Ser-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}-X_{19}-X_{20}-Glu-Phe-X_{23}-X_{24}-Trp-Leu-X_{27}-X_{28}-X_{29}-X_{30}-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-R_2$

[0014] (I) (SEQ ID NO:19)

[0015] 其中:

[0016] R_1 是氢(H)、烷基、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基、三氟乙酰基、pGlu或不存在;

[0017] R_2 是 $-NH_2$ 、 $-OH$ 或不存在;

[0018] X_1 、 X_2 、 X_{10} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 、 X_{15} 、 X_{16} 、 X_{17} 、 X_{18} 、 X_{19} 、 X_{20} 、 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{27} 、 X_{28} 、 X_{29} 和 X_{30} 独立的选自任意天然的氨基酸残基、非天然氨基酸残基或由天然的氨基酸残基和/或非天然氨基酸残基组成的肽段。

[0019] 本公开的一些实施方案提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐, X_1 选自Tyr或His的氨基酸残基; X_2 选自Aib或D-Ala的氨基酸残基; X_{10} 选自Val或Tyr的氨基酸残基; X_{12} 选自Ser或Ile的氨基酸残基; X_{13} 选自Tyr或Ala的氨基酸残基; X_{14} 选自Leu或Nle的氨基酸残基; X_{15} 选自Asp或Glu的氨基酸残基; X_{16} 选自Arg、Glu、Gly、Lys或Aib的氨基酸残基; X_{17} 选自Glu、Ile或Gln的氨基酸残基; X_{18} 选自Ala、Aib或His的氨基酸残基; X_{19} 选自Ala、Aib或Gln的氨基酸残基; X_{20} 选自Gln、Glu、Lys的氨基酸残基; X_{23} 选自Ile或Val的氨基酸残基; X_{24} 选自Ala、Asn或Gln的氨基酸残基; X_{27} 选自Val或Leu的氨基酸残基; X_{28} 选自Arg或Ala的氨基酸残基; X_{29} 选自Gly或Gln的氨基酸残基; X_{30} 选自Gly、Lys的氨基酸残基。

[0020] 本公开的一些实施方案提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,其中 X_1 选自Tyr或His的氨基酸残基; X_2 选自Aib或D-Ala的氨基酸残基; X_{10} 选自Val或Tyr的氨基酸残基或Y1; X_{12} 选自Ser或Ile的氨基酸残基或Y1; X_{13} 选自Tyr或Ala的氨基酸残基或Y1; X_{14} 选自Leu或Nle的氨基酸残基或Y1; X_{15} 选自Asp或Glu的氨基酸残基; X_{16} 选自Arg、Glu、Gly、Lys或Aib的氨基酸残基或Y1; X_{17} 选自Glu、Ile或Gln的氨基酸残基或Y1; X_{18} 选自Ala、Aib或His的氨基酸残基; X_{19} 选自Ala、Aib或Gln的氨基酸残基; X_{20} 选自Gln、Glu、Lys的氨基酸残基; X_{23} 选自Ile或Val的氨基酸残基; X_{24} 选自Ala、Asn或Gln的氨基酸残基; X_{27} 选自Val或Leu的氨基酸残基; X_{28} 选自Arg或Ala的氨基酸残基; X_{29} 选自Gly或Gln的氨基酸残基; X_{30} 选自Gly、Lys的氨基酸残基;Y1是经取代的Lys、Orn、Dap、Dab或Cys残基,具体而言在Lys、Orn、Dap、Dab或Cys残基的侧链上带有修饰基团。在一些实施方案中,Y1是在侧链上带有取代基的Lys、Orn、Dap、Dab或Cys残基,所述取代基是式 $\{[2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基\}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH_2)_c-COOH$ 所示结构;其中:a为1-3的整数(可以提及1、2、3);b为1或2;c为10-30的整数(可以提及10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30)。

[0021] 本公开的一些实施方案提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,其中, X_1 选自Tyr的氨基酸残基; X_2 选自Aib的氨基酸残基; X_{10} 选自Tyr的氨基酸残基; X_{12} 选自Ile的

氨基酸残基;X₁₃选自Tyr的氨基酸残基;X₁₄选自Y1;X₁₅选自Asp或Glu的氨基酸残基;X₁₆选自Arg或Lys的氨基酸残基;X₁₇选自Ile的氨基酸残基;X₁₈选自Ala的氨基酸残基;X₁₉选自Ala的氨基酸残基;X₂₀选自Gln的氨基酸残基;X₂₃选自Ile或Val的氨基酸残基;X₂₄选自Asn的氨基酸残基;X₂₇选自Ile或Leu的氨基酸残基;X₂₈选自Ala的氨基酸残基;X₂₉选自Gly的氨基酸残基;X₃₀选自Gly的氨基酸残基;Y1是其中侧链与具有式{[2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH之取代基连接的Lys、Orn、Dap、Dab或Cys残基;a为1-3的整数;b为1或2;c为10-30的整数。

[0022] 本公开的一些实施方案提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,其中,X₁选自Tyr的氨基酸残基;X₂选自Aib的氨基酸残基;X₁₀选自Tyr的氨基酸残基;X₁₂选自Ile的氨基酸残基;X₁₃选自Tyr的氨基酸残基;X₁₄选自Y1;X₁₅选自Asp或Glu的氨基酸残基;X₁₆选自Lys的氨基酸残基;X₁₇选自Ile的氨基酸残基;X₁₈选自Ala的氨基酸残基;X₁₉选自Ala的氨基酸残基;X₂₀选自Gln的氨基酸残基;X₂₃选自Val的氨基酸残基;X₂₄选自Asn的氨基酸残基;X₂₇选自Leu的氨基酸残基;X₂₈选自Ala的氨基酸残基;X₂₉选自Gly的氨基酸残基;X₃₀选自Gly的氨基酸残基;Y1是在侧链上带有取代基的Lys、Orn、Dap、Dab或Cys残基,所述取代基是式{[2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH所示结构;a为1-3的整数;b为1或2;c为10-30的整数。

[0023] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,其中,X₁选自Tyr的氨基酸残基;X₂选自Aib或D-Ala的氨基酸残基;X₁₀选自Y1;X₁₂选自Ile的氨基酸残基;X₁₃选自Tyr的氨基酸残基;X₁₄选自Leu或Nle的氨基酸残基;X₁₅选自Glu的氨基酸残基;X₁₆选自Arg或Lys的氨基酸残基;X₁₇选自Ile的氨基酸残基;X₁₈选自Ala的氨基酸残基;X₁₉选自Ala的氨基酸残基;X₂₀选自Gln或Lys的氨基酸残基;X₂₃选自Ile或Val的氨基酸残基;X₂₄选自Asn或Gln的氨基酸残基;X₂₇选自Ile或Leu的氨基酸残基;X₂₈选自Ala的氨基酸残基;X₂₉选自Gly的氨基酸残基;X₃₀选自Gly的氨基酸残基;Y1是在侧链上带有取代基的Lys、Orn、Dap、Dab或Cys残基,所述取代基是式{[2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH所示结构;其中:a为1-3的整数;b为1或2;c为10-30的整数。

[0024] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,其中X₁选自Tyr的氨基酸残基;X₂选自Aib或D-Ala的氨基酸残基;X₁₀选自Tyr的氨基酸残基;X₁₂选自Y1;X₁₃选自Tyr的氨基酸残基;X₁₄选自Leu或Nle的氨基酸残基;X₁₅选自Glu的氨基酸残基;X₁₆选自Arg或Lys的氨基酸残基;X₁₇选自Ile的氨基酸残基;X₁₈选自Ala的氨基酸残基;X₁₉选自Ala的氨基酸残基;X₂₀选自Gln或Lys的氨基酸残基;X₂₃选自Ile或Val的氨基酸残基;X₂₄选自Asn或Gln的氨基酸残基;X₂₇选自Ile或Leu的氨基酸残基;X₂₈选自Ala的氨基酸残基;X₂₉选自Gly的氨基酸残基;X₃₀选自Gly的氨基酸残基;Y1是在侧链上带有取代基的Lys、Orn、Dap、Dab或Cys残基,所述取代基是式{[2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH所示结构;其中:a为1-3的整数;b为1或2;c为10-30的整数。

[0025] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,其中X₁选自Tyr的氨基酸残基;X₂选自Aib或D-Ala的氨基酸残基;X₁₀选自Tyr的氨基酸残基;X₁₂选自Ile的氨基酸残基;X₁₃选自Y1;X₁₄选自Leu或Nle的氨基酸残基;X₁₅选自Glu的氨基酸残基;X₁₆选自Arg或Lys的氨基酸残基;X₁₇选自Ile的氨基酸残基;X₁₈选自Ala的氨基酸残基;X₁₉选自Ala的氨基酸残基;X₂₀选自Gln或Lys的氨基酸残基;X₂₃选自Ile或Val的氨基酸残基;X₂₄选

自Asn或Gln的氨基酸残基;X₂₇选自Ile或Leu的氨基酸残基;X₂₈选自Ala的氨基酸残基;X₂₉选自Gly的氨基酸残基;X₃₀选自Gly的氨基酸残基;Y1是在侧链上带有取代基的Lys、Orn、Dap、Dab或Cys残基,所述取代基是式{[2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH所示结构;其中:a为1-3的整数;b为1或2;c为10-30的整数。

[0026] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,其中X₁选自Tyr的氨基酸残基;X₂选自Aib或D-Ala的氨基酸残基;X₁₀选自Tyr的氨基酸残基;X₁₂选自Ile的氨基酸残基;X₁₃选自Tyr的氨基酸残基;X₁₄选自Y1;X₁₅选自Glu的氨基酸残基;X₁₆选自Arg或Lys的氨基酸残基;X₁₇选自Ile的氨基酸残基;X₁₈选自Ala的氨基酸残基;X₁₉选自Ala的氨基酸残基;X₂₀选自Gln或Lys的氨基酸残基;X₂₃选自Ile或Val的氨基酸残基;X₂₄选自Asn或Gln的氨基酸残基;X₂₇选自Ile或Leu的氨基酸残基;X₂₈选自Ala的氨基酸残基;X₂₉选自Gly的氨基酸残基;X₃₀选自Gly的氨基酸残基;Y1是在侧链上带有取代基的Lys、Orn、Dap、Dab或Cys残基,所述取代基是式{[2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH所示结构;其中:a为1-3的整数;b为1或2;c为10-30的整数。

[0027] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,其中X₁选自Tyr的氨基酸残基;X₂选自Aib的氨基酸残基;X₁₀选自Tyr的氨基酸残基;X₁₂选自Ile的氨基酸残基;X₁₃选自Tyr的氨基酸残基;X₁₄选自Y1;X₁₅选自Glu的氨基酸残基;X₁₆选自Arg或Lys的氨基酸残基;X₁₇选自Ile的氨基酸残基;X₁₈选自Ala的氨基酸残基;X₁₉选自Ala的氨基酸残基;X₂₀选自Gln的氨基酸残基;X₂₃选自Ile或Val的氨基酸残基;X₂₄选自Asn的氨基酸残基;X₂₇选自Ile或Leu的氨基酸残基;X₂₈选自Ala的氨基酸残基;X₂₉选自Gly的氨基酸残基;X₃₀选自Gly的氨基酸残基;Y1是在侧链上带有取代基的Lys、Orn、Dap、Dab或Cys残基,所述取代基是式{[2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH所示结构;a为1-3的整数;b为1或2;c为10-30的整数。

[0028] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,其中X₁选自Tyr的氨基酸残基;X₂选自Aib或D-Ala的氨基酸残基;X₁₀选自Tyr的氨基酸残基;X₁₂选自Ile的氨基酸残基;X₁₃选自Tyr的氨基酸残基;X₁₄选自Leu或Nle的氨基酸残基;X₁₅选自Glu的氨基酸残基;X₁₆选自Y1;X₁₇选自Ile的氨基酸残基;X₁₈选自Ala的氨基酸残基;X₁₉选自Ala的氨基酸残基;X₂₀选自Gln或Lys的氨基酸残基;X₂₃选自Ile或Val的氨基酸残基;X₂₄选自Asn或Gln的氨基酸残基;X₂₇选自Ile或Leu的氨基酸残基;X₂₈选自Ala的氨基酸残基;X₂₉选自Gly的氨基酸残基;X₃₀选自Gly的氨基酸残基;Y1是在侧链上带有取代基的Lys、Orn、Dap、Dab或Cys残基,所述取代基是式{[2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基}_a-(y-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-COOH所示结构;其中:a为1-3的整数;b为1或2;c为10-30的整数。

[0029] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,其中X₁选自Tyr的氨基酸残基;X₂选自Aib或D-Ala的氨基酸残基;X₁₀选自Tyr的氨基酸残基;X₁₂选自Ile的氨基酸残基;X₁₃选自Tyr的氨基酸残基;X₁₄选自Leu或Nle的氨基酸残基;X₁₅选自Glu的氨基酸残基;X₁₆选自Arg或Lys的氨基酸残基;X₁₇选自Y1;X₁₈选自Ala的氨基酸残基;X₁₉选自Ala的氨基酸残基;X₂₀选自Gln或Lys的氨基酸残基;X₂₃选自Ile或Val的氨基酸残基;X₂₄选自Asn或Gln的氨基酸残基;X₂₇选自Ile或Leu的氨基酸残基;X₂₈选自Ala的氨基酸残基;X₂₉选自Gly的氨基酸残基;X₃₀选自Gly的氨基酸残基;Y1是在侧链上带有取代基的Lys、Orn、Dap、Dab或Cys残基,所述取代基是式{[2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基}_a-(y-Glu)_b-CO-

$(\text{CH}_2)_c$ -COOH所示结构;其中:a为1-3的整数;b为1或2;c为10-30的整数。

[0030] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐, X_{10} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 、 X_{16} 和 X_{17} 各自独立的选自Y1;其中,Y1是在侧链上带有取代基的Lys、Orn、Dap、Dab或Cys残基,所述取代基是式 $\{[2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基}]\text{-乙酰基}\}_a\text{-}(y\text{-Glu})_b\text{-CO-}(\text{CH}_2)_c\text{-COOH}$ 所示结构;a为1-3的整数;b为1或2;c为10-30的整数。

[0031] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,其中a为2,b为1或2,c为16-20的整数(可以提及16、17、18、19、20)。

[0032] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,其中a为2,b为1或2,c为16、18或20。

[0033] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐, X_{10} 为Y1;Y1是在侧链上带有取代基的Lys,所述取代基是式 $\{[2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基}]\text{-乙酰基}\}_a\text{-}(y\text{-Glu})_b\text{-CO-}(\text{CH}_2)_c\text{-COOH}$ 所示结构;a为2;b为1或2;c为16或18。

[0034] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐, X_{12} 为Y1;Y1在侧链上带有取代基的Lys,所述取代基是式 $\{[2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基}]\text{-乙酰基}\}_a\text{-}(y\text{-Glu})_b\text{-CO-}(\text{CH}_2)_c\text{-COOH}$ 所示结构;a为2;b为1或2;c为16或18。

[0035] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐, X_{13} 为Y1;Y1是在侧链上带有取代基的Lys,所述取代基是式 $\{[2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基}]\text{-乙酰基}\}_a\text{-}(y\text{-Glu})_b\text{-CO-}(\text{CH}_2)_c\text{-COOH}$ 所示结构;a为2;b为1或2;c为16或18。

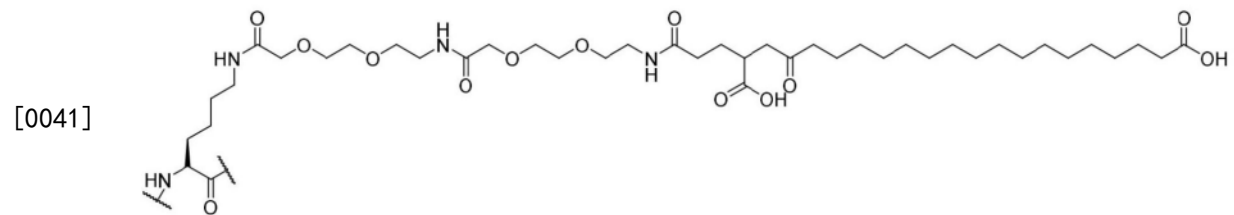
[0036] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐, X_{14} 为Y1;Y1在侧链上带有取代基的Lys,所述取代基是式 $\{[2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基}]\text{-乙酰基}\}_a\text{-}(y\text{-Glu})_b\text{-CO-}(\text{CH}_2)_c\text{-COOH}$ 所示结构;a为2;b为1或2;c为16或18。

[0037] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐, X_{16} 为Y1;Y1是在侧链上带有取代基的Lys,所述取代基是式 $\{[2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基}]\text{-乙酰基}\}_a\text{-}(y\text{-Glu})_b\text{-CO-}(\text{CH}_2)_c\text{-COOH}$ 所示结构;a为2;b为1或2;c为16或18。

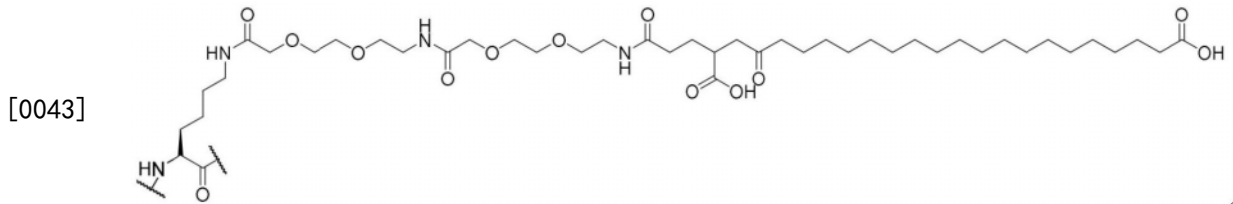
[0038] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐, X_{17} 为Y1;Y1是在侧链上带有取代基的Lys,所述取代基是式 $\{[2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基}]\text{-乙酰基}\}_a\text{-}(y\text{-Glu})_b\text{-CO-}(\text{CH}_2)_c\text{-COOH}$ 所示结构;a为2;b为1或2;c为16或18。

[0039] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,Y1中Lys残基的侧链氨基与取代基通过形成酰胺键共价连接。

[0040] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,Y1为K(-OEG-OEG-yGlu-C18-OH)或K(-OEG-OEG-yGlu-C20-OH),其中,K(-OEG-OEG-yGlu-C18-OH)具有如下结构:

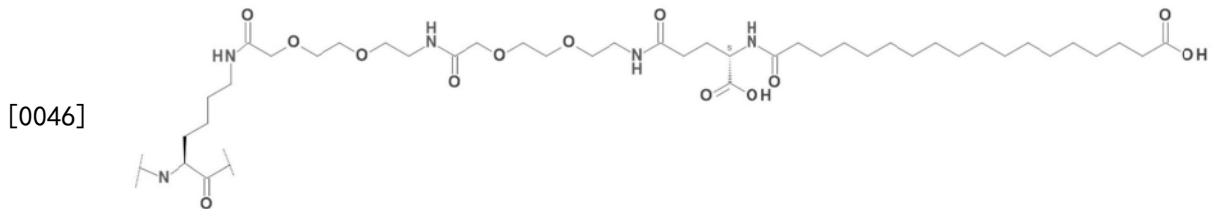


[0042] K(-OEG-OEG-yGlu-C20-OH)具有如下结构:

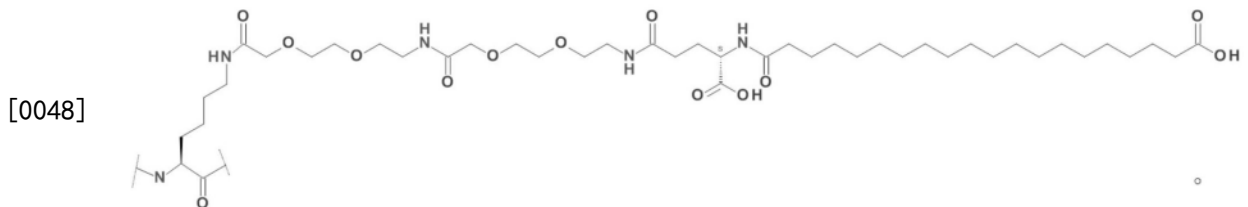


[0044] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式 (I) 的 GLP-1 类似物或其可药用盐, Y1 为 K (-OEG-OEG-yGlu-C18-OH) 或 K (-OEG-OEG-yGlu-C20-OH), 其中:

[0045] K (-OEG-OEG-yGlu-C18-OH) 具有如下结构:

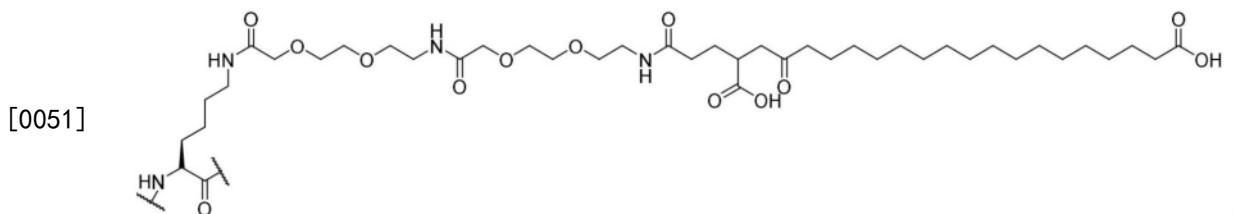


[0047] K (-OEG-OEG-yGlu-C20-OH) 具有如下结构:

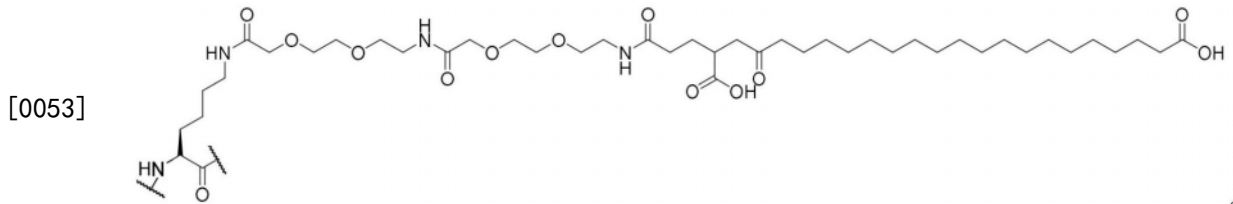


[0049] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式 (I) 的 GLP-1 类似物或其可药用盐, Y1 中由 Lys 残基的 ϵ 氨基与取代基通过酰胺键共价连接, Lys 残基的 α 氨基与肽链连接。

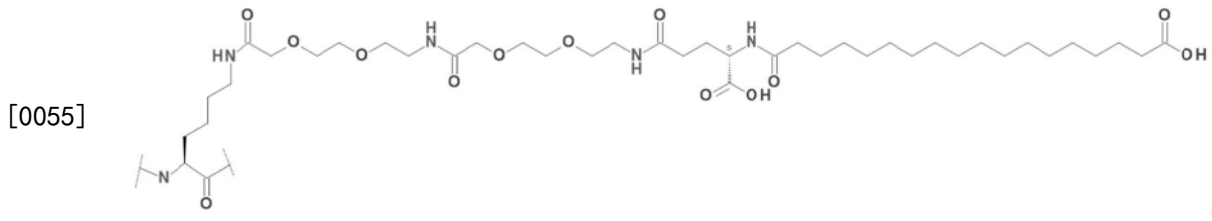
[0050] 本公开的一些实施方案提供了具有通式 (I) 的 GLP-1 类似物或其可药用盐, 其中, X_1 选自 Tyr 的氨基酸残基; X_2 选自 Aib 的氨基酸残基; X_{10} 选自 Tyr 的氨基酸残基; X_{12} 选自 Ile 的氨基酸残基; X_{13} 选自 Tyr 的氨基酸残基; X_{14} 选自 Y1; X_{15} 选自 Asp 或 Glu 的氨基酸残基; X_{16} 选自 Arg 或 Lys 的氨基酸残基; X_{17} 选自 Ile 的氨基酸残基; X_{18} 选自 Ala 的氨基酸残基; X_{19} 选自 Ala 的氨基酸残基; X_{20} 选自 Gln 的氨基酸残基; X_{23} 选自 Ile 或 Val 的氨基酸残基; X_{24} 选自 Asn 的氨基酸残基; X_{27} 选自 Ile 或 Leu 的氨基酸残基; X_{28} 选自 Ala 的氨基酸残基; X_{29} 选自 Gly 的氨基酸残基; X_{30} 选自 Gly 的氨基酸残基; Y1 为 K (-OEG-OEG-yGlu-C18-OH) 或 K (-OEG-OEG-yGlu-C20-OH), 其中, K (-OEG-OEG-yGlu-C18-OH) 具有如下结构:



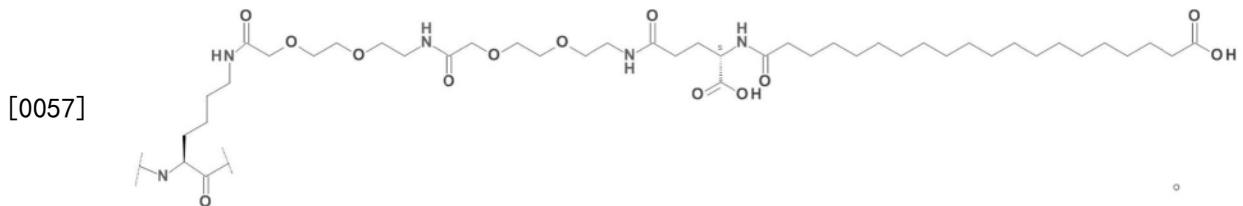
[0052] K (-OEG-OEG-yGlu-C20-OH) 具有如下结构:



[0054] 本公开的一些实施方案提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,其中, X_1 选自Tyr的氨基酸残基; X_2 选自Aib的氨基酸残基; X_{10} 选自Tyr的氨基酸残基; X_{12} 选自Ile的氨基酸残基; X_{13} 选自Tyr的氨基酸残基; X_{14} 选自Y1; X_{15} 选自Asp或Glu的氨基酸残基; X_{16} 选自Arg或Lys的氨基酸残基; X_{17} 选自Ile的氨基酸残基; X_{18} 选自Ala的氨基酸残基; X_{19} 选自Ala的氨基酸残基; X_{20} 选自Gln的氨基酸残基; X_{23} 选自Ile或Val的氨基酸残基; X_{24} 选自Asn的氨基酸残基; X_{27} 选自Ile或Leu的氨基酸残基; X_{28} 选自Ala的氨基酸残基; X_{29} 选自Gly的氨基酸残基; X_{30} 选自Gly的氨基酸残基;Y1为K(-OEG-OEG-yGlu-C18-OH)或K(-OEG-OEG-yGlu-C20-OH),其中,K(-OEG-OEG-yGlu-C18-OH)具有如下结构:



[0056] K(-OEG-OEG-yGlu-C20-OH)具有如下结构:



[0058] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,GLP-1类似物是通式(II)所示(SEQ ID NO:20):

[0059] $H\text{-YAibEGTFTSDYSIYX}_{14}\text{X}_{15}\text{X}_{16}\text{IAAQEFX}_{23}\text{NWLX}_{27}\text{AGGPSSGAPPPS-NH}_2$ (II),其中 X_{14} 是K或L, X_{15} 是D或E, X_{16} 是K或R, X_{23} 是V或I, X_{27} 是I或L。

[0060] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,GLP-1类似物是选自如下编号1-18所示的化合物:

SEQ ID NO	序列
1	H-YAibEGTFTSDYSIYKDKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
2	H-YAibEGTFTSDYSIYKDRIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
3	H-YAibEGTFTSDYSIYKDKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
4	H-YAibEGTFTSDYSIYKDRIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
5	H-YAibEGTFTSDYSIYKDKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
6	H-YAibEGTFTSDYSIYKDRIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
[0061] 7	H-YAibEGTFTSDYSIYKDKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
8	H-YAibEGTFTSDYSIYLEKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
9	H-YAibEGTFTSDYSIYLEKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
10	H-YAibEGTFTSDYSIYLEKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
11	H-YAibEGTFTSDYSIYLEKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
12	H-YAibEGTFTSDYSIYKEKIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
13	H-YAibEGTFTSDYSIYKERIAAQEFVNWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
14	H-YAibEGTFTSDYSIYKEKIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
15	H-YAibEGTFTSDYSIYKERIAAQEFINWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂
16	H-YAibEGTFTSDYSIYKEKIAAQEFINWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
[0062] 17	H-YAibEGTFTSDYSIYKERIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂
18	H-YAibEGTFTSDYSIYKEKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH ₂ 。

[0063] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式 (I) 的GLP-1类似物或其可药用盐,所述的GLP-1类似物是选自如下编号1#-18#所示的化合物:

编号	序列
1#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFVNWLIAGGPSS GAPPPS-NH ₂
2#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DRIAAQEFVNWLIAGGPSS GAPPPS-NH ₂
3#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFINWLIAGGPSSG APPPS-NH ₂
4#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DRIAAQEFINWLIAGGPSSG APPPS-NH ₂
5#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFINWLLAGGPSS GAPPPS-NH ₂
6#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DRIAAQEFVNWLLAGGPSS GAPPPS-NH ₂
7#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFVNWLLAGGPSS GAPPPS-NH ₂
8#	H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFVNWLLAGGPSS GAPPPS-NH ₂
[0064] 9#	H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFVNWLIAGGPSSG APPPS-NH ₂
10#	H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFINWLIAGGPSSG APPPS-NH ₂
11#	H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFINWLLAGGPSSG APPPS-NH ₂
12#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFVNWLIAGGPSS GAPPPS-NH ₂
13#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)ERIAAQEFVNWLIAGGPSS GAPPPS-NH ₂
14#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFINWLIAGGPSSG APPPS-NH ₂
15#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)ERIAAQEFINWLIAGGPSSG APPPS-NH ₂
16#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFINWLLAGGPSSG APPPS-NH ₂
17#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)ERIAAQEFVNWLLAGGPSS GAPPPS-NH ₂
18#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFVNWLLAGGPSS GAPPPS-NH ₂ 。

[0065] 在一些实施方案中,本公开的GLP-1类似物选自图3中7#、12#、13#、14#、15#、16#、17#、或18#所示的化合物。

[0066] 本公开的一些实施方案还提供了一种药物组合物,包含:

[0067] 1) 具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,和

[0068] 2) 药学可接受的赋形剂或药物载体。

[0069] 在一些具体实施方式中,所述药物组合物单位剂量中可含有0.01至99重量%的

GLP-1类似物,或药物组合物单位剂量中含GLP-1类似物的量为0.1-2000mg,在一些具体实施方式中为1-1000mg。

[0070] 本公开的一些实施方案还提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,以及包含其的药物组合物在制备用于治疗非胰岛素依赖性糖尿病/II型糖尿病、胰岛素依赖性糖尿病、肥胖症、非酒精性脂肪肝、肝脂肪变性、与胰岛素抗性相关的血脂异常、和/或与糖尿病相关的血脂异常的药物中的用途。

[0071] 本公开的一些实施方案提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,其用作药物。

[0072] 本公开的一些实施方案提供了具有通式(I)的GLP-1类似物或其可药用盐,其用于用于治疗非胰岛素依赖性糖尿病/II型糖尿病、胰岛素依赖性糖尿病、肥胖症、非酒精性脂肪肝、肝脂肪变性、与胰岛素抗性相关的血脂异常、和/或与糖尿病相关的血脂异常的药物。

[0073] 本公开的一些实施方案提供了用于治疗非胰岛素依赖性糖尿病/II型糖尿病、胰岛素依赖性糖尿病、肥胖症、非酒精性脂肪肝、肝脂肪变性、与胰岛素抗性相关的血脂异常、和/或与糖尿病相关的血脂异常的方法,其包括向有其需要的对象施用具有通式(I)的GLP-1类似物、其可药用盐、或包含其的药物组合物。

[0074] 本公开提供了可以同时激活GLP-1受体和GIP受体的化合物,一些实施方案中,所述GLP-1类似物对GLP-1R的激动剂活性高于对GIP受体的激动剂活性。

[0075] 一些具体实施方案中,本公开的GLP-1类似物对GLP-1R的激动剂活性与对GIP受体的激动剂活性的比值为(1-10):1、(1.1-10):1、(1.1-9.5):1、(1.1-9):1、(1.1-8.5):1、(1.1-8):1、(1.1-7.5):1、(1.1-7):1、(1.1-6.5):1、(1.1-6):1、(1.2-10):1、(1.2-9.5):1、(1.2-9):1、(1.2-8.5):1、(1.2-8):1、(1.2-7.5):1、(1.2-7):1、(1.2-6.5):1、(1.2-6):1、(1.3-10):1、(1.3-9.5):1、(1.3-9):1、(1.3-8.5):1、(1.3-8):1、(1.3-7.5):1、(1.3-7):1、(1.3-6.5):1、(1.3-6):1、(1.4-10):1、(1.4-9.5):1、(1.4-9):1、(1.4-8.5):1、(1.4-8):1、(1.4-7.5):1、(1.4-7):1、(1.4-6.5):1、(1.4-6):1、(1.5-10):1、(1.5-9.5):1、(1.5-9):1、(1.5-8.5):1、(1.5-8):1、(1.5-7.5):1、(1.5-7):1、(1.5-6.5):1、(1.5-6):1、(2-10):1、(2-9.5):1、(2-9):1、(2-8.5):1、(2-8):1、(2-7.5):1、(2-7):1、(2-6.5):1、(2-6):1、(2.5-10):1、(2.5-9.5):1、(2.5-9):1、(2.5-8.5):1、(2.5-8):1、(2.5-7.5):1、(2.5-7):1、(2.5-6.5):1、(2.5-6):1、(3-10):1、(3-9.5):1、(3-9):1、(3-8.5):1、(3-8):1、(3-7.5):1、(3-7):1、(3-6.5):1、(3-6):1、(3.5-10):1、(3.5-9.5):1、(3.5-9):1、(3.5-8.5):1、(3.5-8):1、(3.5-7.5):1、(3.5-7):1、(3.5-6.5):1、(3.5-6):1、(4-10):1、(4-9.5):1、(4-9):1、(4-8.5):1、(4-8):1、(4-7.5):1、(4-7):1、(4-6.5):1、(4-6):1、(4.5-10):1、(4.5-9.5):1、(4.5-9):1、(4.5-8.5):1、(4.5-8):1、(4.5-7.5):1、(4.5-7):1、(4.5-6.5):1、(4.5-6):1、(5-10):1、(5-9.5):1、(5-9):1、(5-8.5):1、(5-8):1、(5-7.5):1、(5-7):1、(5-6.5):1、(5-6):1、(5-5.5):1、(5.1-5.5):1、(5.2-5.4):1、(5.2-5.3):1或者其间的任意数值范围或数值点,例如约1:1、约1.1:1、约1.2:1、约1.3:1、约1.4:1、约1.5:1、约2:1、约2.5:1、约3:1、约3.5:1、约4:1、约4.5:1、约5:1、约5.2:1、约5.3:1、约5.4:1、约5.5:1、约6:1、约6.5:1、约7:1、约7.5:1、约8:1、约8.5:1、约9:1、约9.5:1、约10:1。上述比值是来自相应的激动剂活性体外测定法的数据归一化后的比值。例如,相应的激动剂活性可以通过cAMP-Gs动力学试剂盒测定。在上下文中,表述(1-10):1和表述1:1至10:1的含义相同。

[0076] 在另一个实施方案中,本公开提供以上GLP-1类似物及其可药用盐。本公开提供的GLP-1类似物属于两性化合物,既能表现出酸性,又能表现出碱性。所属领域技术人员通过公知技术,可使用酸性或碱性化合物与本公开提供的GLP-1类似物反应,形成盐。

[0077] 根据本公开的含有GLP-1类似物的药物组合物可以通过胃肠外给药的方式用于治疗需要这种治疗的患者。胃肠外给药途径可选择皮下注射、肌肉注射或静脉注射。本公开的多肽双重激动剂化合物还可以选择透皮途径给药,可选择离子透入贴剂;或经透粘膜途径给药。

[0078] 采用固相合成的方法合成本公开提供的GLP-1类似物。作为一个示例,合成载体为Rink-amide MBHA (西安蓝晓科技)树脂。合成过程中,使用的氨基酸衍生物的 α -氨基由Fmoc基团(芴甲酰羰基)进行保护。作为示例,对于氨基酸的侧链,根据官能团的不同选取以下保护基团:半胱氨酸侧链的巯基、天冬酰胺及谷氨酰胺侧链的氨基、组氨酸侧链的咪唑基由Trt(三苯甲基)保护;精氨酸侧链的胍基由Pbf(2,2,4,6,7-五甲基二氢化苯并咪喃-5-磺酰基)保护;色氨酸侧链的吲哚基、赖氨酸侧链的氨基由Boc(叔丁氧羰基)保护;天冬氨酸及谷氨酸侧链的羧基、苏氨酸侧链的羟基、酪氨酸侧链的苯酚基、丝氨酸侧链的羟基由t-Bu(叔丁基)保护。作为示例,合成过程中,首先将多肽C-末端氨基酸残基的羧基以酰胺键的形式缩合至高分子不溶性Rink-amide MBHA树脂上;然后用含20%4-甲基哌啶的氮,氮-二甲基甲酰胺(DMF)溶液脱去 α -氨基上的Fmoc保护基团;接着在过量情况下,该固相载体与多肽序列中的下一个氨基酸衍生物进行缩合形成酰胺键,以延伸肽链。重复“缩合→洗涤→去保护→洗涤→下一轮氨基酸缩合”的操作,以达到所要合成的多肽链长度;最后用三氟乙酸:水:三异丙基硅烷(作为示例,90:5:5,v:v:v)的混合溶液与树脂反应,将多肽从固相载体上裂解下来;再由5倍体积的冷冻甲基叔丁基醚沉降,得到GLP-1类似物的固体粗品。多肽固体粗品由含0.1%三氟乙酸的乙腈/水的混合溶液溶解后,由C-18反相制备色谱柱纯化分离后得到GLP-1类似物的纯品。

[0079] 根据一些实施方案,本公开还提供了一种药盒(kit-of-parts),其包含:

[0080] -根据本公开的GLP-1类似物或其可药用盐;

[0081] -其他治疗剂,所述治疗剂选自以下的任一项或组合:抗肥胖症剂、抗糖尿病剂、抗高血压剂、降脂剂。其中,所述GLP-1类似物或其可药用盐与所述其他治疗剂分别位于不同的容器中。在一些实施方案中,所述GLP-1类似物或其可药用盐与所述其他治疗剂单独地或联合施用至受试者(例如,同时或顺序施用)。

[0082] 在某些实施方案中,本公开的药物组合物和施用装置(例如,和注射器、注射笔、或自动注射器)组合提供。作为一个示例,本公开的药物组合物预填充于施用装置中,以便于受试者在家自行施用。作为另一个示例,本公开的药物组合物和施用装置分开提供。

附图说明

[0083] 图1显示了本公开的化合物在饮食诱导的肥胖小鼠中对体重变化率的影响。

[0084] 图2显示了本公开的化合物在饮食诱导的肥胖小鼠中对每日摄食量的影响。

[0085] 图3显示本公开示例性化合物的结构。

具体实施方式

[0086] 为了更容易理解本公开,以下具体定义了一些技术和科学术语。除非在本文中另有明确定义,本文使用的所有其它技术和科学术语都具有本公开所属领域的一般技术人员通常理解的含义。

[0087] 本公开的氨基酸序列含有二十种氨基酸的标准单字母或三字母代码,除非明确说明,否则本公开中所有氨基酸残基优选构型为L-型。另外,Aib是 α -氨基异丁酸,D-Ala是D-型丙氨酸,Orn是鸟氨酸,Dap是2,3-二氨基丙酸,Dab是2,4-二氨基丁酸。

[0088] 术语“激动剂”定义为对GLP-1受体或对GIP受体具有激活作用的物质。

[0089] 本公开上下文中使用的术语“GLP-1/GIP双重激动剂”指可以激活GLP-1受体和GIP受体的物质或配体。

[0090] 本公开中,术语“治疗”包括抑制、减缓、停止或逆转现有症状或病患的进展或严重程度。

[0091] “天然的氨基酸”是指20种常规氨基酸,即丙氨酸(A),半胱氨酸(C),天冬氨酸(D),谷氨酸(E),苯丙氨酸(F),甘氨酸(G),组氨酸(H),异亮氨酸(I),赖氨酸(K),亮氨酸(L),甲硫氨酸(M),天冬酰胺(N),脯氨酸(P),谷氨酰胺(Q),精氨酸(R),丝氨酸(S),苏氨酸(T),缬氨酸(V),色氨酸(W)和酪氨酸(Y)。

[0092] “非天然氨基酸”是指不是天然编码的氨基酸、或不在任何生物体的遗传密码中发现的氨基酸。例如,非天然氨基酸可以是纯合成的化合物。非天然氨基酸的实例包括但不限于,羟基脯氨酸, γ -羧基谷氨酸,0-磷酸丝氨酸,氮杂环丁烷羧酸,2-氨基己二酸,3-氨基己二酸, β -丙氨酸,氨基丙酸,2-氨基丁酸,4-氨基丁酸,6-氨基己酸,2-氨基庚酸,2-氨基异丁酸,3-氨基异丁酸,2-氨基庚二酸,叔丁基甘氨酸,2,4-二氨基异丁酸(Dap),锁链素(desmosine),2,2'-二氨基庚二酸,2,3-二氨基丙酸(Dab),N-乙基甘氨酸,N-甲基甘氨酸,N-乙基天冬酰胺,高脯氨酸,羟基赖氨酸,别羟基赖氨酸(allo-hydroxylysine),3-羟基脯氨酸,4-羟基脯氨酸,异锁链素(isodesmosine),别异亮氨酸,N-甲基丙氨酸,N-甲基甘氨酸,N-甲基异亮氨酸,N-甲基戊基甘氨酸,N-甲基缬氨酸,萘基丙氨酸(naphthalanine),正缬氨酸,正亮氨酸,鸟氨酸(Orn),D-鸟氨酸,D-精氨酸,对氨基苯丙氨酸,戊基甘氨酸,哌啶酸(pipecolic acid)和硫代脯氨酸。此外,该术语还包括在天然氨基酸(或非天然氨基酸)的C-末端羧基(或N-末端氨基和/或其侧链官能团)进行化学修饰所得到的衍生物。

[0093] 术语“烷基”指饱和脂肪族烃基团,其为包含1至20个碳原子的直链或支链基团,例如含有1至8个碳原子的烷基,例如1至6个碳原子的烷基,例如1至3个碳原子的烷基。非限制性实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2-乙基戊基、3-乙基戊基、正辛基、2,3-二甲基己基、2,4-二甲基己基、2,5-二甲基己基、2,2-二甲基己基、3,3-二甲基己基、4,4-二甲基己基、2-乙基己基、3-乙基己基、4-乙基己基、2-甲基-2-乙基戊基、2-甲基-3-乙基戊基、正壬基、2-甲基-2-乙基己基、2-甲基-3-乙基己基、2,2-二乙基戊基、正癸基、3,3-二乙基己基、

2,2-二乙基己基,及其各种支链异构体等。烷基例如可以是含有1至6个碳原子的低级烷基,非限制性实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基等。烷基可以是取代的或非取代的,当被取代时,取代基可以在任何可用的(accessible)连接点上被取代,所述取代基可以为一个或多个独立地选自以下的基团:烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、氧代基、羧基或羧酸酯基。本公开经取代的烷基可以是甲基、乙基、异丙基、叔丁基、卤代烷基、氘代烷基、烷氧基取代的烷基或羟基取代的烷基。

[0094] 本公开中“X选自A、B、或C”、“X选自A、B和C”、“X为A、B或C”、“X为A、B和C”等不同用语均表达了相同的意义,即表示X可以是A、B、C中的任意一种或几种。

[0095] 本公开所述的氨基酸的“修饰”是指氨基酸的取代、添加或缺失,包括取代或添加20种天然氨基酸中的任意一种或多种。

[0096] 术语“天然GLP-1”是指肽的胰高血糖素家族或毒蜥外泌肽家族天然存在的分子,其中:肽的胰高血糖素家族由前胰高血糖素原基因编码并且包括三种具有高度同源性的小肽,即胰高血糖素(1-29)、GLP-1(1-37)和GLP-2(1-33);毒蜥外泌肽是在蜥蜴中表达的肽,并且类似于GLP-1,是促胰岛素的。在一些实施方案中,术语“天然GLP-1”也指人GLP-1(7-37)和人GLP-1(7-36)。

[0097] 术语“GLP-1类似物”是指与天然GLP-1相比(特别是与人GLP-1(7-37)和人GLP-1(7-36)相比),具有最多25个、最多24个、最多23个、最多22个、最多21个、最多20个、最多19个、最多18个、最多17个、最多16个、最多15个、最多14个、最多13个、最多12个、最多11个、最多10个、最多9个、最多8个、最多7个、最多6个、最多5个、最多4个、最多3个、最多2个、或1个氨基酸修饰或化学修饰,所述氨基酸修饰可以是氨基酸置换、添加和/或缺失;所述化学修饰可以是选自以下基团的化学修饰:酰胺、碳水化合物、烷基、酰基、酯、聚乙二醇(PEG)基团、唾液酸化基团、糖基化基团等。

[0098] 本公开所述的氨基酸“取代”是指一个氨基酸残基被不同的氨基酸残基所取代。

[0099] 术语“聚乙二醇”或“PEG”是指环氧乙烷和水的缩聚物的混合物,以直链或支链形式存在,以通式 $H(OCH_2CH_2)_nOH$ 表示,其中n最小等于9。若没有进一步说明,这一术语包括平均总分子量选自5,000至40,000道尔顿的聚乙二醇的聚合物。

[0100] 术语“脂肪酸”是指具有长脂肪酸族尾(链)的羧酸,其可以是饱和或非饱和的;本公开中脂肪酸是具有C4-C30的直链或支链的脂肪族基团的羧酸。

[0101] 本公开所用术语“肽”涵盖具有修饰的氮末端和羧末端的肽的范畴。例如,包含以酰胺基团取代末端羧酸的氨基酸链也包括在命名为天然氨基酸的氨基酸序列内。

[0102] 本公开所述的氢原子均可被其同位素(氘、氚、氙)所取代,本公开涉及的本公开化合物中的任一氢原子也均可被同位素原子取代。

[0103] “任选”或“任选地”意味着随后所描述的事件或环境可以但不必发生,该说明包括该事件或环境发生或不发生的场合。例如,“任选被烷基取代的杂环基团”意味着烷基可以

但不必须存在,该说明包括杂环基团被烷基取代的情形和杂环基团不被烷基取代的情形。

[0104] “取代的”指基团中的一个或多个氢原子,优选为最多5个,更优选为1至3个氢原子彼此独立地被取代基取代。取代基仅处在它们的可能的化学位置,本领域技术人员能够在不付出过多努力的情况下确定(通过实验或理论)可能或不可能的取代。例如,具有游离氢的氨基或羟基与具有不饱和(如烯)键的碳原子结合时可能是不稳定的。

[0105] “药物组合物”表示含有一种或多种本文所述化合物或其生理学上/可药用盐或前体药物与其他化学组分的混合物;其中所述其他组分例如生理学/可药用的载体和赋形剂。药物组合物的目的是促进对生物体的给药,利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

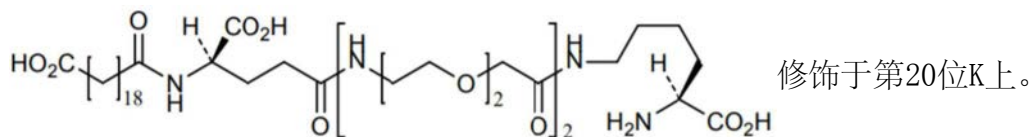
[0106] “激动剂活性”表示根据本公开的化合物激活人GIP受体和人GLP-1受体的能力。在一些示例中,“激动剂活性”以相对活性的形式体现,具体而言是指本公开的化合物对GLP-1R的激活能力与对GIP受体的激活能力的比值。

[0107] “可药用盐”是指本公开化合物的盐,这类盐用于哺乳动物体时具有安全性和有效性,且具有应有的生物活性。

[0108] 索马鲁肽是指由丹麦诺和诺德公司研发的一周一次GLP-1受体单激动剂多肽药物,目前已在美国,日本和欧盟获得批准并上市销售。

[0109] LY3298176是指由礼来公司研发的一周一次GIP受体/GLP-1受体双激动剂多肽药物,目前在多个国家处于三期临床实验中。结构如下:

[0110] YAibEGTFTSDYSIAibLDKIAQKAFVQWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂,其中如下所示的脂肪酸



[0111] 实施例

[0112] 为了更详细的说明本公开,本说明书提供了下列具体实施方案,但本公开的方案并非仅限于此。本公开实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件;或按照原料或商品制造厂商所建议的条件。未注明具体来源的试剂,为市场购买的常规试剂。

[0113] 1、实验试剂

[0114] 表1. 所用试剂及来源

序号	试剂	来源
1	Rink-amideMBHA 树脂	西安蓝晓科技 (Xi'an sunresin Tech Ltd.)
2	HCTU (O-(6-氯-1-苯并三氮唑-1-	苏州昊帆科技 (Highfine

	基)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸)	Tech Ltd., Sunzhou)
3	Fmoc-Aib-OH	吉尔生化 (GL Biochem)
4	Fmoc-L-Lys(Mtt)-OH	吉尔生化
5	N,N-二甲基甲酰胺	国药试剂 (SinoPharm)
6	二氯甲烷	国药试剂
7	三氟乙酸	国药试剂
8	三异丙基硅烷	Sigma-Aldrich
9	六氟异丙醇	Sigma-Aldrich
10	乙腈	Merck-Millipore
[0116]	11 二异丙基乙胺	Sigma-Aldrich
	12 4-甲基哌啶	TCI Chemicals
	13 甲基叔丁基醚	TCI Chemicals
	14 Boc-L-Tyr(tBu)-OH	吉尔生化
	15 Fmoc-NH-PEG ₂ -COOH	吉尔生化
	16 Fmoc-L-Glu-OtBu	吉尔生化
	17 HOOC-(CH ₂) ₁₈ -COOtBu	苏州强耀生物 (ChinaPeptides Co.,Ltd, Suzhou)
	18 4-甲基吗啉	TCI Chemicals

[0117] 2、实验仪器

[0118] 表2. 所用仪器及来源

序号	仪器	来源
1	H-CLASS分析型超高效液相色谱	WATERS
2	Agilent 1290-6530超高效液相色谱/质谱联用	安捷伦科技 (Agilent)
3	Labconco多功能冻干机	Thermo-Fisher Scientific
4	Prep150制备型高效液相色谱	WATERS
5	Prelude-X多肽全自动合成仪	Protein Technology Inc
6	多通道高速离心机	希格玛 (Sigma)

[0120] 实施例1化合物18#的化学合成

[0121] 1、多肽骨架的合成

[0122] 称取Rink-amide MBHA树脂(取代度:0.48mmole/g,0.1mmol)置于聚丙烯多肽合成固相反应管中;加入N,N-二甲基甲酰胺(DMF,10mL)在氮气鼓泡(nitrogen-blowing)下溶胀树脂10分钟;真空抽掉DMF,加入DMF(10mL)洗涤树脂;重复洗涤树脂2次后,在Prelude-X多肽全自动合成仪上使用Fmoc/tBu策略进行多肽固相合成,其中使用10当量的由HCTU和4-甲基吗啉活化的氨基酸残基(HCTU、4-甲基吗啉、氨基酸残基的摩尔比为1:2:1),在DMF中在室温下,反应25分钟进行酰胺键缩合,以实现偶联。使用含20%4-甲基哌啶的DMF溶液,在室温下反应2次(每次10分钟)进行N-端Fmoc保护基的脱保护。多肽骨架合成中,N-端氨基酸残基选用Boc-L-Tyr(tBu)-OH构建,并进行二次缩合,这对于改善粗品肽的质量是必要的。

[0123] 2、树脂肽保护基Mtt的选择性脱保护及侧链脂肪酸修饰

[0124] 在完成上述多肽骨架(或称树脂肽)的延伸后,加入含30%六氟异丙醇的二氯甲烷混合溶液(10mL),室温下振荡反应45分钟后,抽除混合溶液;再加入含30%六氟异丙醇的二

氯甲烷的混合溶液(10mL),室温下振荡反应45分钟后,抽除混合溶液。反应结束后,用DMF洗涤树脂6次。使用Prelude-X全自动多肽合成仪延伸第14位赖氨酸侧链,额外偶联/脱保护循环涉及氨基酸构件Fmoc-NH-PEG₂-COOH和Fmoc-L-Glu-OtBu。在所有偶联中使用10当量的由HCTU和4-甲基吗啉活化的氨基酸残基(HCTU、4-甲基吗啉、氨基酸残基的摩尔比为1:2:1),在DMF中在室温下,反应25分钟进行偶联。使用含20%4-甲基哌啶的DMF溶液在室温下反应2次,每次10分钟进行N-端Fmoc保护基的脱保护。最终所得的树脂用DCM和DMF分别洗涤三次后,加入含10当量H₃C-(CH₂)₁₈-COOtBu,10当量HCTU和20当量二异丙基乙胺(DIEA)的DMF混合液(8mL),室温下反应4小时,完成侧链的脂肪酸修饰。

[0125] 3、产物裂解

[0126] 将上一步骤中得到的树脂肽依次用DMF和DCM洗涤3次后进行真空干燥,后加入新鲜配置的裂解液(三氟乙酸:三异丙基硅烷:水=90:5:5,体积比)室温下振荡反应3-4小时。反应结束后过滤,用三氟乙酸洗涤树脂2次,合并滤液后加入大量冷冻甲基叔丁基醚析出固体,离心后除去上清液并得到化合物18#的多肽粗品。

[0127] 4、反相液相色谱纯化

[0128] 将化合物18#的多肽粗品溶于含0.1%三氟乙酸、20%乙腈、20%乙酸/水的混合溶剂中,经过0.22μm膜过滤;用WATERS Prep150 LC反相高效液相色谱系统进行分离,缓冲液为A(0.1%三氟乙酸、10%乙腈、水溶液)和B(0.1%三氟乙酸、90%乙腈、水溶液)。其中,色谱柱为X-SELECT OBD C-18反相色谱柱,纯化过程中色谱仪检测波长设定为220nm,流速为15mL/min。收集产物相关馏分冻干后得到化合物1#的多肽纯品,收率18%。多肽纯品通过分析型高效液相色谱和超高效液相色谱/质谱联用确定化合物纯度,其中纯度为92.81%。化合物18#的分子结构为H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-γGlu-C20-OH)EKIAAQEFVNWLLAGGPSSGAPPPS-NH₂,结构式如图3中18#结构所示。

[0129] 实施例2其他化合物的化学合成

[0130] 采用实施例1的实验方案合成表3中的化合物:

[0131] 表3.本公开化合物

[0132]

化合物编号	分子结构
1#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFVNWLIAGGPSSGA PPPS-NH ₂
2#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DRIAAQEFVNWLIAGGPSSGA PPPS-NH ₂
3#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFINWLIAGGPSSGAP PPS-NH ₂
4#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DRIAAQEFINWLIAGGPSSGAP PPS-NH ₂
5#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFINWLLAGGPSSGA PPPS-NH ₂
6#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DRIAAQEFVNWLLAGGPSSGA PPPS-NH ₂
7#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)DKIAAQEFVNWLLAGGPSSGA PPPS-NH ₂
8#	H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFVNWLLAGGPSSGA PPPS-NH ₂
9#	H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFVNWLIAGGPSSGAP PPS-NH ₂
10#	H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFINWLIAGGPSSGAP PPS-NH ₂
11#	H-YAibEGTFTSDYSIYLEK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)IAAQEFINWLLAGGPSSGAP PPS-NH ₂
12#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFVNWLIAGGPSSGA PPPS-NH ₂
13#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)ERIAAQEFVNWLIAGGPSSGA PPPS-NH ₂
14#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFINWLIAGGPSSGAP PPS-NH ₂
15#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)ERIAAQEFINWLIAGGPSSGAP PPS-NH ₂
16#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)EKIAAQEFINWLLAGGPSSGAP PPS-NH ₂
17#	H-YAibEGTFTSDYSIYK(OEG-OEG-yGlu-C20-OH)ERIAAQEFVNWLLAGGPSSGA PPPS-NH ₂

[0133] 用分析型高效液相色谱和超高效液相色谱/质谱联用确定化合物纯度,部分化合物纯度见下表4:

[0134] 表4.联合使用分析型高效液相色谱和液相色谱/质谱用于确定的化合物8#-11#的纯度及分子量

[0135]

化合物编号	纯度
8#	96.30%
9#	93.28%
10#	94.56%

11#	92.18%
-----	--------

[0136] 生物学测试评价

[0137] 以下结合测试例进一步描述解释本公开,但这些实施例并非意味着限制本公开的范围。

[0138] 1、实验试剂

[0139] 表5. 本实验所用试剂及来源

序号	试剂	来源
1	DMEM/F12	Gibco 11330032
2	酪蛋白 (Casein)	Sigma C3400-500G
3	3-Isobutyl-1-methylxanthine	Sigma I7018-250MG
4	cAMP - Gs Dynamic kit - 20,000 tests	Cisbio 62AM4PEC
5	Corning® 384 well microplate, low volume	Sigma CLS4514-50EA
6	96V 型底板(PS)	Axygen WIPP02280
[0140]	Countess® Cell Counting Chamber Slides	Invitrogen C10228
8	puromycin	ThermoFisher A1113803
9	Hygromycin B	Sigma A1720
10	PBS	Gibco 10010023
11	0.25%Trypsin-EDTA(1X), Phenol Red	ThermoFisher 25200-114
12	Gibco™ Fetal Bovine Serum, Qualified, Australia Origin	ThermoFisher 10099-141
13	葡萄糖	Sigma G8270-100G

[0141] 2、实验仪器

[0142] 表6. 本实验所用仪器及来源

序号	仪器	来源
1	CO ₂ 培养箱	Thermo 311
2	生物安全柜	上海博讯 (BOXUN) BSC-1300IIA2
[0143]	冷冻离心机	Eppendorf 5702R
4	海尔双开门家用冰箱	HaierBCD-268TN
5	细胞计数器	Life Technologies Countess II
6	药品保存箱	Haier hyc-940
[0144]	零下 20 度冰箱	HaierDW-25L262
8	冷冻离心机 5810R	Eppendorf 5810R
9	自动分液器(Multidrop)	Thermo 5840300
10	酶标仪	BioTek H1MFD
11	CO ₂ 细菌培养箱	上海博讯 (BOXUN) BC-J80S
12	活力型血糖仪	Roche

[0145] 实施例3评估本公开化合物对胰高血糖素样肽-1受体 (GLP-1R) 的激动剂活性

[0146] 1、实验目的:

[0147] 该测试例的目的是测量本公开化合物对胰高血糖素样肽-1受体 (GLP-1R) 的激动

剂活性。

[0148] 2、实验方法:

[0149] 从液氮罐中取出冻存的CHO-K1/GLP-1R/CRE-luc稳转细胞株(可通过本领域常规方法制备得到),放于37℃水浴锅中快速融化,用DMEM/F12培养基(Gibco Cat#11330032)重悬,离心后清洗一遍细胞,使用实验缓冲液即含0.1%酪蛋白(Sigma Cat#C3400)的DMEM/F12培养基重悬,使用实验缓冲液调整细胞密度,以2500个细胞/5 μ L/孔的密度铺于384孔板(Sigma Cat#CLS4514),然后每孔加入2.5 μ L缓冲液配制的IBMX工作液(Sigma Cat#I7018),IBMX终浓度为0.5mM,以及2.5 μ L梯度稀释的多肽样品,1000rpm离心1分钟,震荡30秒混匀,室温静置孵育30分钟。使用Cisbio cAMP-Gs Dynamic kit(Cisbio Cat#62AM4PEC)进行检测,将cAMP-d2和Anti-cAMP-Eu³⁺-Cryptate分别用cAMP Lysis&Detection Buffer稀释20倍混匀。每孔加入5 μ L稀释后的cAMP-d2溶液,再加入5 μ L稀释后的Anti-cAMP-Eu³⁺-Cryptate溶液,震荡30秒混匀,室温避光孵育1小时。

[0150] 3、实验数据处理方法:

[0151] 使用Biotek Synergy H1酶标仪进行HTRF的信号读取,激发波长为320nm,发射波长为620nm和665nm。计算信号比值(665nm/620nm*10,000),并在GraphPad Prism 6中将信号比值与样品浓度使用四参数方程进行非线性拟合,得出EC₅₀值,具体数据见下表7。

[0152] 实施例4评估本公开化合物在葡萄糖依赖性胰岛素释放肽受体(GIP受体)的激动剂活性

[0153] 1、实验目的:

[0154] 测试化合物在葡萄糖依赖性胰岛素释放肽受体(GIP受体)的激动剂活性。

[0155] 2、实验方法:

[0156] 收集野生型CHO-K1细胞,将细胞悬液调整为合适的密度,铺于6孔板中,每孔2mL,放入37℃,5%的CO₂培养箱中贴壁过夜,将转染混合物(hGIP受体质粒,Fugene HD(Promega Cat#E2311),OptiMEM(Gibco Cat#31985070)混匀并于室温静置15分钟,以100 μ L的体积加入到相应的细胞孔中,转染24小时使CHO-K1细胞表面过表达hGIP受体。瞬转结束后收集6孔板内的细胞,用实验缓冲液即含0.1%酪蛋白(Sigma Cat#C3400)的DMEM/F12培养基(Gibco Cat#11330032)清洗一遍,使用实验缓冲液调整细胞密度,以5000个细胞/5 μ L/孔的密度铺于384孔板(Sigma Cat#CLS4514),然后每孔加入2.5 μ L缓冲液配制的IBMX工作液(Sigma Cat#I7018),IBMX终浓度为0.5mM,以及2.5 μ L梯度稀释的多肽样品,1000rpm离心1分钟,震荡30秒混匀,室温静置孵育30分钟。使用Cisbio cAMP-Gs Dynamic kit(Cisbio Cat#62AM4PEC)进行检测,将cAMP-d2和Anti-cAMP-Eu³⁺-Cryptate分别用cAMP Lysis&Detection Buffer稀释20倍混匀。每孔加入5 μ L稀释后的cAMP-d2溶液,再加入5 μ L稀释后的Anti-cAMP-Eu³⁺-Cryptate溶液,震荡30秒混匀,室温避光孵育1小时。

[0157] 3、实验数据处理方法:

[0158] 使用Biotek Synergy H1酶标仪进行HTRF的信号读取,激发波长为320nm,发射波长为620nm和665nm。计算信号比值(665nm/620nm*10,000),并在GraphPad Prism 6中将信号比值与样品浓度使用四参数方程进行非线性拟合,得出EC₅₀值,具体数值见下表7和表8。

[0159] 表7. 人GLP-1R和人GIP受体的激动剂活性测试结果

化合物	人 GLP-1R 活性 (EC ₅₀ nM)	人 GIP 受体活性 (EC ₅₀ nM)
[0160] 天然 GLP-1	0.010	N/A
天然 GIP	N/A	0.011
索马鲁肽	0.024	>10
LY3298176	0.13	0.056
7#	0.021	0.11

[0161] 表8. 人GLP-1R和人GIP受体的激动剂活性测试结果

化合物	人 GLP-1R 活性 (EC ₅₀ nM)	人 GIP 受体活性 (EC ₅₀ nM)
[0162] 天然 GLP-1	0.006	N/A
天然 GIP	N/A	0.006
索马鲁肽	0.014	>10.0
LY3298176	0.078	0.031
9#	0.049	0.040
10#	0.065	0.056
12#	0.030	0.170
13#	0.017	0.130
14#	0.013	0.130
15#	0.015	0.230
16#	0.029	0.095
[0163] 17#	0.022	0.110
18#	0.013	0.060

[0164] 4、实验结论：

[0165] 通过对多肽骨架的设计及后续脂肪酸定点修饰，与本领域的许多GLP-1/GIP受体双激动剂多肽相比，本公开的化合物具有更强的GLP-1/GIP受体激动剂活性，因此具有更好的治疗代谢类疾病的潜力。另外，LY3298176显示出对GIP受体的优先活性，与之不同，本公开的化合物12#-18#显示出对GLP-1R的优先活性。

[0166] 实施例5部分本公开化合物的稳定性测试

[0167] 血浆中的稳定性对于治疗性多肽类药物是很重要的，因为多肽类药物很可能对与血浆中的多肽水解酶和蛋白水解酶敏感。在血浆中不稳定的多肽，其半衰期和疗效将受到影响。

[0168] 1、实验目的：

[0169] 本实验的目的是测试部分本公开化合物在人类血浆中的稳定性。

[0170] 2、实验方法：

[0171] 将5 μ L浓度为20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000, 10000ng/mL的样品加入到45 μ L的人类血浆中，通过LC-MS的方法检测其中化合物的含量并形成标准曲线。将5 μ L浓度为1mg/mL的多肽溶液加入到45 μ L的人类血浆中。为每个待测化合物准备5个样品，并分别于0分钟、30分钟、60分钟、120分钟和240分钟取出1个样品通过LC-MS的方法检测其中保留的化合物含量，并以0分钟为标准(100%)，计算其他时间点样品的保留的化合物的相对含量。LC-MS检测化合物的方法为，配制5%的乙腈溶液作为溶液A，配置95%的乙腈溶液作为溶液B，以0.6mL/min的流速，以下表9所示的时间和溶液配比形成溶液梯度，注入15 μ L的样品，用

Raptor Biphenyl 2.7微米检测柱检测化合物的含量,参见表9。

[0172] 表9.检测时间点和溶液配比

[0173]	时间(分钟)	A(%)	B(%)
	0.20	95.0	5.00
	1.70	5.00	95.0
	2.00	5.00	95.0
	2.01	95.0	5.00
	2.50	95.0	5.00

[0174] 3、实验结果:

[0175] 部分本公开化合物在血浆中的稳定性数据如下表10所示。

[0176] 表10.化合物在血浆中的稳定性实验结果

[0177]	化合物	血浆保留的化合物的相对含量(%)				
		0分钟	30分钟	60分钟	120分钟	240分钟
	LY3298176	100.00	102.89	114.76	117.59	113.35
	7#	100.00	101.45	101.66	103.28	102.15

[0178] 实验结论:

[0179] 通过研究发现,本公开的化合物7#相比于化合物LY3298176在4小时的时间点在入血浆中具有相似的稳定性(相对含量>90%)。

[0180] 实施例6部分本公开化合物在小鼠体内的药代动力学特性

[0181] 血浆稳定性是影响多肽药物的药代动力学的因素之一。多肽药物在体内的药代动力学还受到其在体内的吸收和清除等因素的影响。

[0182] 1、实验目的:

[0183] 本实验的目的是以Balb/c小鼠为受试动物,研究本公开化合物单次静脉注射给药在小鼠体内(血浆)的药代动力学行为。

[0184] 2、实验方法:

[0185] 体重18至30克周龄7-9周的雄性Balb/c小鼠采购自上海杰思捷实验动物有限公司(Shanghai Jiesijie Laboratory Animal Co.,Ltd.)。使用含有20mM柠檬酸缓冲液(pH=7.0)配制化合物7#后,按照30nmol/kg体重的剂量通过尾静脉注射化合物7#进入小鼠体内,在0小时、0.083小时、0.25小时、0.5小时、1小时、2小时、4小时、6小时、8小时、24小时和32小时时间点采血0.2mL。在4℃的温度下将采集到的小鼠血通过6000rpm的速度离心6分钟分离血浆。采用实施例3.3的实验方法检测小鼠血浆中化合物7#的含量。

[0186] 3、实验结果:

[0187] 通过以上实验方法,具体数据如下表11:

[0188] 表11.单次静脉注射给药在小鼠体内(血浆)的药代动力学行为

[0189]	PK参数	单位	化合物7#
	$T_{1/2}$	h	13.0
	AUC_{Inf}	h*ng/mL	16133

[0190] 4、实验结论：

[0191] 通过研究发现，本公开的化合物7#在小鼠体内静脉注射给药后具有良好的药代动力学特征，表示其在治疗疾病方面具有优势，例如可以支持人体一周一次皮下注射给药。

[0192] 实施例7部分本公开化合物在小鼠体内的药代动力学特性

[0193] 1、实验目的：

[0194] 本实验的目的是以Ba1b/c小鼠为受试动物，研究本公开化合物单次皮下注射给药在小鼠体内(血浆)的药代动力学行为。

[0195] 2、实验方法：

[0196] 体重18至30克周龄7-9周的雄性Ba1b/c小鼠采购自上海杰思捷实验动物有限公司。使用含有20mM柠檬酸缓冲液(pH=7.0)配制化合物7#后，按照30nmol/kg体重的剂量通过左侧腹部皮下注射化合物7#进入小鼠体内，在0小时、0.083小时、0.25小时、0.5小时、1小时、2小时、4小时、6小时、8小时、24小时和32小时时间点采血0.2mL。在4℃的温度下将采集到的小鼠血通过6000rpm的速度离心6分钟分离血浆。采用实施例5.2的实验方法检测小鼠血浆中化合物7#的含量。

[0197] 3、实验结果：

[0198] 通过以上实验方法，具体数据如下表12所示：

[0199] 表12. 化合物7#在小鼠体内的药代动力学结果

PK参数	单位	化合物7#
$T_{1/2}$	h	10.1
AUC_{inf}	h*ng/mL	14488

[0201] 4、实验结论：

[0202] 通过研究发现，本公开化合物在小鼠体内皮下注射给药后具有良好的药代动力学特征，表示其在治疗疾病方面具有优势，例如可以支持人体一周一次皮下注射给药。

[0203] 实施例8部分本公开化合物的体内药效

[0204] 1、实验目的：

[0205] 测试部分本公开化合物及化合物LY3298176单次皮下给药对正常小鼠血糖的调节作用。

[0206] 2、实验方法：

[0207] 周龄10-12周的雄性C57BL/6小鼠采购自上海杰思捷实验动物有限公司。对C57BL/6小鼠皮下注射给予化合物7#或者化合物LY3298176(剂量:10nmol/kg体重)以及对照缓冲液后禁食、不禁水,18小时后通过腹腔注射浓度为0.2g/mL的葡萄糖溶液。根据实验设计,在0分钟、15分钟、30分钟、60分钟、120分钟的时间点通过小鼠尾部采血,测量血糖值。具体方法是用物理方法固定住小鼠,暴露出尾巴并将尾部剪去少许,挤压尾巴使其出血,弃去第1滴血后用罗氏活力型血糖仪检测血糖。根据各点结果计算血糖曲线下面积(AUC)。

[0208] 3、实验结果：

[0209] 通过以上实验方法，具体数据如下表13所示：

[0210] 表13. 单次皮下给药后小鼠血糖值的变化

受试化合物	剂量	血糖 (mmol/L, 均值±SD)					AUC (mmol/L.hr)
		0 分钟	15 分钟	30 分钟	60 分钟	120 分钟	
[0211] 安慰剂	-	5.3±0.6	20.5±2.0	24.0±1.4	19±1.3	10.9±1.2	34.5±2.4
7#	10nmol/kg	4.4±0.8	6.7±0.8	6.2±1.3	5.7±1.2	3.8±1.1	10.7±1.8
LY3298176	10nmol/kg	3.2±0.2	9.1±1.3	8±1.4	6.4±1.0	4.5±0.7	12.7±1.6

[0212] 4、实验结论:

[0213] 在本实验中,在10nmol/kg体重的剂量下,本公开的化合物7#在正常小鼠上显示出显著的降糖作用,化合物7#组的血糖曲线下面积与安慰剂(即空白溶媒)相比下降超过60%。

[0214] 实施例9部分本公开化合物的降体重药效

[0215] 1、实验目的:

[0216] 测试编号化合物皮下给药对饮食诱导肥胖小鼠体重的调节作用。

[0217] 2、实验方法:

[0218] 经过高脂食物诱导的肥胖雄性C57BL/6小鼠(体重35-55克周龄10-12周,购自上海杰思捷实验动物有限公司)。对饮食诱导肥胖的C57BL/6小鼠皮下注射给予化合物LY3298176(10nmol/kg体重),7#(10nmol/kg体重),18#(三个剂量,分别为3,10,100nmol/kg体重,每3天给药一次)。根据实验设计,在第0天,第3天,第6天以此类推至第27天称量并记录每只小鼠的体重,计算每组小鼠体重平均值,并以第一天体重为标准绘制体重变化曲线。结束后取出小鼠各个部位的脂肪及其它脏器称重,计算每只小鼠的各部位脂肪脏/脑比,通过比较每组小鼠不同部位脂肪脏/脑比的变化确定药物对脂肪的作用。

[0219] 3、实验结果:

[0220] 通过以上实验方法,具体数据如下表14至表16和图1所示:

[0221] 表14. 化合物对诱导肥胖小鼠的降体重作用

受试化合物	剂量	体重变化 (% , 平均值±SD)									
		第1天	第4天	第7天	第10天	第13天	第16天	第19天	第22天	第25天	第28天
[0222] 安慰剂	-	0	-0.9±1.6	-2.6±1.5	-3.0±2.4	-3.5±3.7	-2.7±4.8	-2.8±6.7	-2.5±8.4	-1.4±8.9	-2.1±9.6
7#	10 nmol/kg	0	-11.0±1.0	-17.6±2.6	-22.6±5.9	-22.3±6.3	-22.7±6.9	-25.9±6.2	-23.9±5.6	-23.9±5.6	-25.5±5.3

[0223]

表 15 化合物对饮食诱导肥胖小鼠体重变化率的影响 (%，X±s, n=7/8)

组别	给药前	给药后天数														
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
正常对照	0	0.7±3.1	2.9±1.9	0.7±2.5	2.9±1.9	0.7±2.5	-0.3±1.8	1.2±2.3	1.1±1.5	1.2±2.5	-0.1±2.4	-0.3±2.7	0±2	-0.2±1.8	0.5±1.9	2.2±1.6
	模型对照	0	0.7±0.4	0.3±0.9	1±0.4	0.9±0.9	1.4±1	1.6±0.9	2.5±1.8	1.8±1.3	1.7±0.7	1.7±0.7	2.3±1	3.2±1.8	2.7±1.8	3.1±1.2
LY3298176 (10 nmol/kg)	0	-4.2±1	-5.4±0.8	-4.4±1.2	-7.8±1.6	-8.7±2.1	-7.6±2.8	-10.4±2.6	-10.4±2.6	-10.7±3.2	-9.6±3.4	-12.3±3.6	-12.4±3.9	-11.1±4.4	-13.5±4.7	-13.1±5.3
	18#	0	-5±0.6	-6.3±1.1	-5.8±1.9	-9.1±2.1	-10.3±3.2	-10±4.4	-13±5.3	-13.9±6.1	-13.9±7.4	-16.6±7.8	-16.4±8.2	-15.7±8.6	-18.2±8.2	-17.1±7.2
18# (10 nmol/kg)	0	-6.2±1.1	-8.6±0.9	-9.4±1.6	-12.7±2.4	-14.5±3.3	-15±5.3	-18.3±6.3	-18.3±6.3	-20.1±8.3	-20.3±9.3	-23.4±9.8	-23.9±10.7	-23.5±11.4	-26.4±11.8	-25.1±12.1
	18#	0	-6.3±0.5	-10.9±0.8	-13.2±1.1	-15.7±0.9	-19.2±1.3	-21.8±2.3	-24.7±3.3	-27.6±3.7	-29.6±4.7	-31.6±5.3	-33.7±6.3	-34.4±7.1	-35.6±6.2	-36.7±5.7

， P<0.01; *, P<0.001, 与模型对照组相比

[0224]

表 15 (续)

组别	给药后天数													
	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
正常对照	2.6±2	1.7±1.6	1.2±1.7	1.8±1.1	1.1±0.9	2±2.1	2.9±1.2	2.3±1.7	2.9±1.9	2.8±1.3	3.2±2.1	3.7±1.6	4.3±2.1	5.1±1.9
模型对照	3.6±1	3.5±1.4	4.1±1.4	2.8±1.6	3.2±2	3.2±2.6	3.7±2.6	4±2.5	4.3±2.7	5±2.9	5.2±2.7	5.2±2.9	5.9±3.7	6.6±3.3
LY329														
8176 (10 mmol/kg)	-11.3±5.5***	-14.3±6***	-14.2±6***	-12.8±6***	-16.3±6***	-15.7±6***	-13.8±6***	-16.1±6***	-15.6±7***	-14.1±7***	-16.9±7***	-16±7.7***	-13.4±7.8***	-15.8±7.6***
18# (3 mmol/kg)	-15.7±7.4***	-18.6±7***	-18.3±7***	-17.9±7.1***	-20.5±7.5***	-19.8±7.4***	-17.8±7.3***	-19.3±8.2***	-19.1±7.6***	-17.3±7.4***	-19.9±7.6***	-18.8±8***	-16.1±7.6***	-19.2±8***
18# (10 mmol/kg)	-23.4±9***	-26.6±9.7***	-25.7±8.7***	-24.6±8.2***	-27.5±7.6***	-27.3±7.2***	-24.8±6.7***	-28.1±7.4***	-27.1±7***	-26±7.1***	-28.5±8.8***	-27.8±8.3***	-24.8±8.4***	-28.2±8.3***
18# (100 mmol/kg)	-35.7±5.6***	-38.2±6.2***	-37.8±6.5***	-37.8±6.5***	-38.5±6.5***	-39±6.5***	-37.4±6.6***	-38.3±6.2***	-38±5.9***	-36.8±5.8***	-38.6±5.7***	-38.9±6***	-36.8±5.3***	-37.9±5.7***

， P<0.01； *， P<0.001， 与模型对照组相比

[0225]

表 16. 化合物对饮食诱导肥胖小鼠不同部位脂肪量脏脑比的变化 (% , X±s, n=7-8)

组别	肩胛骨脂肪	皮下脂肪	腹股沟脂肪	肠系膜脂肪	肾周脂肪	附睾脂肪
模型对照	51.6±31.8	320.2±54.2	510.2±104.3	220.3±68.6	306.2±67.7	384.1±61.1
LY3298176 (10nmol/kg)	52±26	144.6±75.8***	289.1±169.2**	105.3±93**	163.2±57.9***	316.9±75.6
18# (3 nmol/kg)	48±15.3	129±62***	281.5±140.1**	84.8±41.3***	159.2±87.6***	254.6±113.4*
18# (10 nmol/kg)	42.5±17	122±73.2***	194.4±86.2***	53.3±14.6***	109.4±57.1***	211.7±80.7**
18# (100 nmol/kg)	32.3±7	57.1±21.2***	92±34.5***	27.4±11.1***	46.6±18.2***	102.9±32.2***

*, P<0.05; **, P<0.01; ***, P<0.001, 与模型对照组相比

[0226]

4、实验结论:

[0227]

在本实验中,在3nmol/kg、10nmol/kg和100nmol/kg的剂量下,本公开化合物7#和

18#显示出对高脂食物诱导肥胖小鼠显著的降体重作用,并呈现出显著的剂量相关性。化合物18#10nmol/kg剂量受试组的体重在第27天下降超过20.0%,相比之下对照化合物LY3298176同等剂量条件下受试组体重下降约为13.4%。此外,化合物18#不同剂量受试组各部位脂肪含量(除肩胛骨脂肪外)均相对于安慰剂(即空白溶媒)组显著减少。

[0228] 实施例10本公开化合物对小鼠摄食量的影响

[0229] 试验期间每日测定各组小鼠的摄食量,结果如表17和图2所示。

[0230] 模型对照组DIO(diet-induced obesity)小鼠整个试验期间平均每日摄食量为2.5g,皮下注射不同剂量的化合物18#或LY3298176后,各组小鼠的摄食量均有不同程度的下降。

[0231] 给药后第一天,各给药组小鼠摄食量即明显下降,3、10、100nmol/kg化合物18#组小鼠的摄食量分别为0.6g、0.3g和0.2g,与模型对照组(2.5g)相比差异显著,且呈现较好的量效关系。

[0232] 模型对照组小鼠给药后5天内的累积摄食量为12.8g,而3、10、100nmol/kg剂量的化合物18#组小鼠给药后5天内的累积摄食量为7.2、3.9、1.8g,明显低于模型对照组,且呈现较好的量效关系。

[0233] 各给药组的每日摄食量在每次给药后第1天开始下降,第2、3天开始恢复。每日采食量在给药期间总体呈上升恢复趋势。给药28天后,化合物18#三个剂量组累积摄食量分别为58.2g、46.8g和36.7g,明显低于模型对照组(70.8g),并呈现良好的剂量依赖性。因此,化合物18#可明显降低DIO小鼠摄食量。

[0234]

表 17 化合物 18#长期用药对 DIO 小鼠每日摄食量的影响 (g, X±s, n=7-8)

组别	给药后天数													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
正常对照	1±1.4 4	4±0.5 4	4.1±0.5 5	3.6±0.8 8	3.2±1 5	3.3±0.5 5	3.4±0.4 4	3.3±0.4 4	3.3±0.7 7	2.8±0.4 4	2.9±1.1 1	2.2±1.1 3	2.8±0.3 3	3.4±0.5 5
模型对照	2.5±0.4 4	2.4±0.4 4	2.6±0.3 3	2.3±0.3 3	2.8±0.3 3	2.4±0.5 5	2.4±0.3 3	2.3±0.3 3	2.5±0.4 4	2.5±0.4 4	2.8±0.4 4	2.4±0.3 5	2.6±0.5 5	2.5±0.3 3
LY3298176(10 nmol/kg)	0.8±0.2*** 2	1.2±0.2*** 2	2.3±0.3 3	0.9±0.3*** 3	1.8±0.3*** 3	2.3±0.3 3	1.2±0.3*** 3	1.7±0.4 4	2.7±0.3 3	1.2±0.4*** 4	2±0.3* 2	2.8±0.4 4	1.4±0.6*** 6	2±0.5 5
化合物 18# (3nmol/kg)	0.6±0.1*** 1	1.3±0.5*** 5	2±0.5 2	1.1±0.4*** 4	2.2±1.3 3	2.1±1.1 1	1.1±0.6*** 6	1.6±0.6* 6	2.5±0.9 9	1.3±0.6*** 6	2±0.3* 2	3±1 3	1.8±1* 1	2.3±1 1
化合物 18# (10nmol/kg)	0.3±0.2*** 2	0.6±0.6*** 6	1.1±0.7*** 7	0.7±0.5*** 5	1.1±0.5*** 5	1.5±0.8** 8	0.8±0.4*** 4	1.1±0.7*** 7	2±0.6 2	0.9±0.4*** 4	1.8±0.8** 8	2.4±0.6 0.6	0.9±0.4*** 4	1.7±0.7* 0.7*
化合物 18# (100nmol/kg)	0.2±0.1*** 1	0.1±0.1*** 1	0.4±0.1*** 1	0.4±0.2*** 2	0.6±0.2*** 2	0.7±0.3*** 3	0.5±0.2*** 2	0.7±0.5*** 5	0.9±0.6*** 6	0.9±0.6*** 6	1.1±0.5*** 5	2±1 2	1.3±0.7*** 7	1.7±0.5* 0.5*

*, P<0.05; **, P<0.01; ***, P<0.001, 与模型对照组相比

[0235]

表 17 (续)

组别	给药后天数													
	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
正常对照	3.7± 0.7	3±0.4	2.6±0. 2	3.3± 0.3	3.1±0.3	3.3± 0.5	3.3± 0.2	2.7±0. 4	3.3±0. 3	3.1± 0.3	3.3±0.8	2.8±0. 8	4.1±0. 3	2.5±0. 3
模型对照	2.7± 0.3	2.1±0. 2	2.7±0. 2	2.3± 0.4	2.5±0.5	2.4± 0.3	2.9± 0.3	2.3±0. 2	2.9±0. 4	2.6± 0.5	2.6±0.3	2.4±0. 4	3±0.5	2.1±0. 3
LY3298176(10n mol/kg)	3±0. 6	1.2±0. 4**	2.1±0. 4	2.9± 1.1	1.2±0.8 ***	2±0. 4	3.3± 0.3	1.4±0. 4**	2.5±0. 5	2.8± 0.4	1.8±0.6	2.4±0. 4	3.9±0. 5	1.4±0. 3
化合物 18# (3nmol/kg)	2.9± 0.7	1.5±0. 7	2.2±0. 5	2.7± 0.3	1.7±0.5 *	2.2± 0.5	3.4± 0.4	1.8±0. 5	2.6±0. 4	2.9± 0.5	1.8±0.8 *	2.5±0. 9	3.9±0. 5**	1.3±0. 6*
化合物 18# (10nmol/kg)	3±0. 9	1.2±1* *	2.1±0. 9	2.9± 0.8	1.3±0.5 ***	2±0. 5	3.2± 0.6	1±0.4* **	2.3±0. 5	2.5± 0.6	1.6±1.2 **	2.2±0. 8	3.6±1	1±0.5 ***
化合物 18# (100nmol/kg)	2±0. 4	1±0.3* *	1.6±0. 3**	2±0. 4	1.4±0.2 **	1.8± 0.3	2.4± 0.3	1.4±0. 5**	2.1±0. 5*	2.3± 0.4	1.5±0.3 ***	1.6±0. 4*	2.8±0. 3	1.2±0. 4*

*, P<0.05; **, P<0.01; ***, P<0.001, 与模型对照组相比

[0236] 实施例11部分本公开化合物对db/db小鼠糖代谢水平的改善效果

[0237] 1、实验目的:

[0238] 测试编号化合物皮下给药对db/db小鼠糖代谢水平的改善效果。

[0239] 2、实验方法：

[0240] 对C57BL/KsJ-db/db小鼠皮下注射给予空白溶媒(20mM柠檬酸钠+0.05%Tween-80,pH7.5),化合物LY3298176(100nmol/kg体重),和18#(三个剂量,分别为10,30,100nmol/kg体重),给药时间分别为第0,3,7,10,14,17,21,24及第27天。各给药组含10只db/db小鼠。根据实验设计,在第0天,第7天,第14天,第21天和第28天针刺取尾静脉血用血糖仪和血糖试纸检测空腹血糖水平,各采血点采血前6小时禁食。在第3天,第10天,第17天,第24天和第27天针刺取尾静脉血用血糖仪检测随机血糖水平。最后,在第28天实验结束后,所有给药组动物经过2-5%异氟烷吸入麻醉,通过眼眶采集100 μ l EDTA-K2抗凝全血,用于糖化血红蛋白的测定。

[0241] 3、实验结果：

[0242] 通过以上实验方法,具体数据如下表18至表20所示

[0243] 表18. 化合物18#的长期用药对db/db小鼠空腹血糖的影响

给药组	空腹血糖浓度 (mmol/L, 平均值 \pm SD)				
	第 0 天	第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天
空白对照	14.25 \pm 1.27	17.92 \pm 1.33	22.89 \pm 1.88	24.95 \pm 1.52	25.94 \pm 1.32
[0244] LY3298176 (100 nmol/kg)	14.35 \pm 1.41	7.44 \pm 0.76	7.56 \pm 0.88	9.42 \pm 1.67	9.89 \pm 1.28***
#18 (10 nmol/kg)	14.77 \pm 1.30	6.05 \pm 0.42	6.30 \pm 0.46	7.89 \pm 0.81	9.41 \pm 0.97***
#18 (30 nmol/kg)	14.13 \pm 1.32	6.21 \pm 0.26	6.40 \pm 0.57	7.03 \pm 0.52	9.68 \pm 1.03***
#18 (100 nmol/kg)	14.67 \pm 1.46	5.85 \pm 0.33	6.25 \pm 0.32	6.13 \pm 0.19	7.89 \pm 0.41***

[0245] ***:p<0.001vs空白对照组。

[0246] 表19. 化合物18#的长期用药对db/db小鼠随机血糖的影响

给药组	随机血糖浓度 (mmol/L, 平均值 \pm SD)			
	第 0 天	第 10 天	第 17 天	第 24 天
空白对照	23.06 \pm 0.97	26.40 \pm 0.90	27.64 \pm 1.15	30.22 \pm 0.74
[0247] LY3298176 (100 nmol/kg)	18.60 \pm 1.52	17.10 \pm 1.96	17.98 \pm 1.37	20.70 \pm 1.27***
#18 (10 nmol/kg)	20.42 \pm 1.56	20.66 \pm 1.48	18.91 \pm 1.33	21.17 \pm 2.07**
[0248] #18 (30 nmol/kg)	16.73 \pm 1.59	15.88 \pm 1.86	17.30 \pm 1.17	17.43 \pm 1.92***
#18 (100 nmol/kg)	9.11 \pm 1.25	12.34 \pm 1.12	11.89 \pm 1.15	11.51 \pm 0.95***

[0249] **:p<0.01vs空白对照组;***:p<0.001vs空白对照组。

[0250] 表20.18#长期用药对db/db小鼠糖化血红蛋白水平的影响

[0251]	给药组	糖化血红蛋白(% ,平均值±SD)
	空白对照	6.54±0.17
	LY3298176 (100nmol/kg)	4.58±0.23**
	#18 (10nmol/kg)	4.71±0.23***
	#18 (30nmol/kg)	4.53±0.17***
	#18 (100nmol/kg)	3.78±0.13***

[0252] **:p<0.01vs空白对照组;***:p<0.001vs空白对照组。

[0253] 4、实验结论:

[0254] 在本实验中,在10nmol/kg、30nmol/kg和100nmol/kg的剂量下,本公开的化合物18#显示出对db/db小鼠糖代谢水平优异的改善效果,并呈现出显著的剂量相关性。化合物18#100nmol/kg剂量受试组的糖化血红蛋白水平在实验结束时为3.78%,相比之下对照化合物LY3298176同等剂量条件下受试组糖化血红蛋白为4.58%,化合物18#改善db/db小鼠糖代谢水平的药效在同等剂量条件下显著优于对照化合物LY3298176。

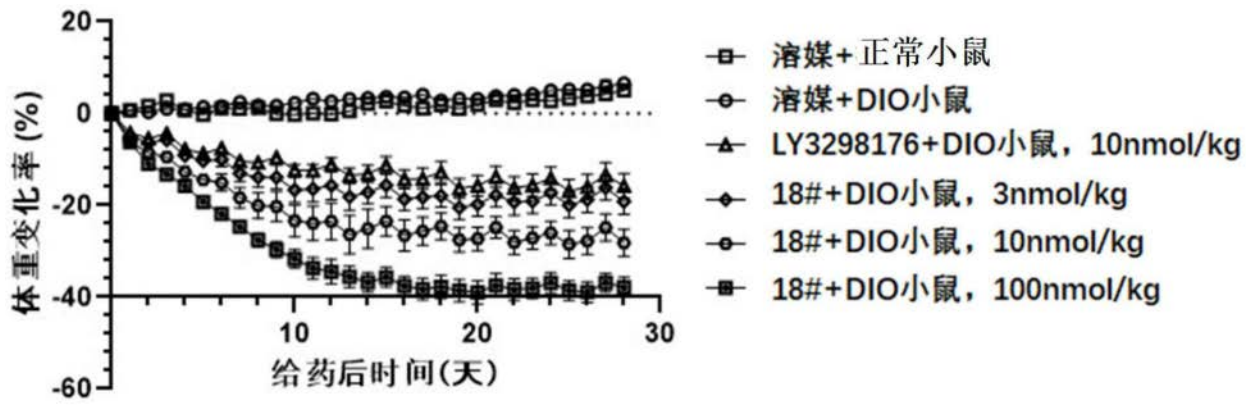


图1

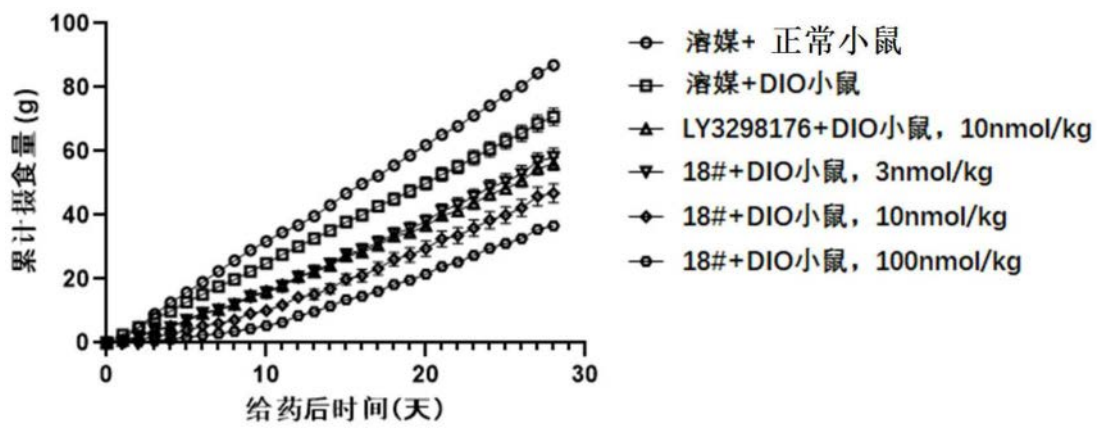
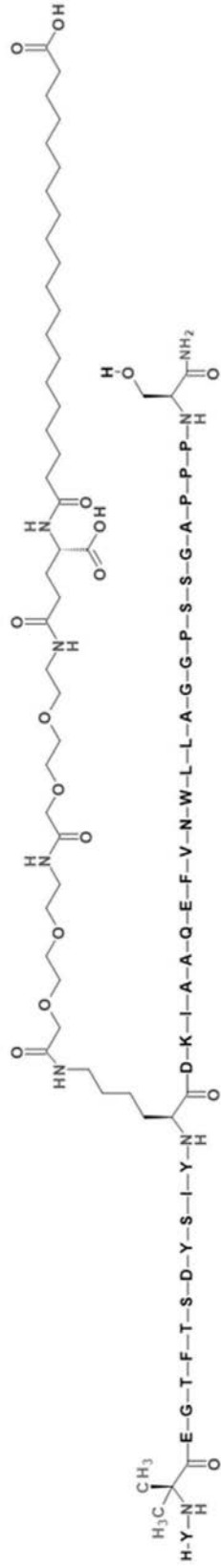
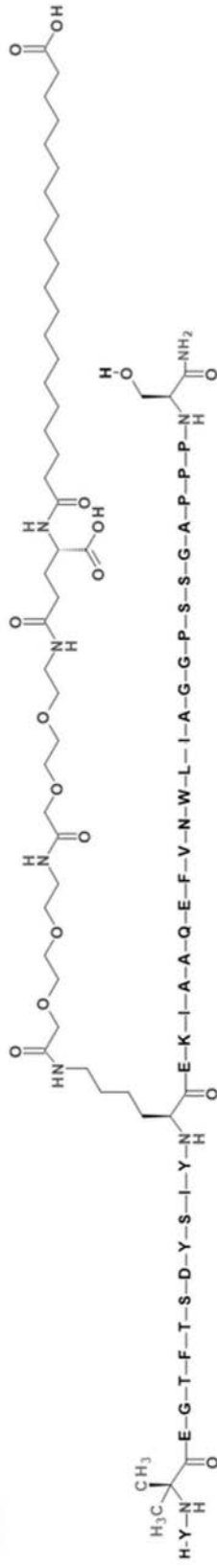


图2

7#:



12#:



13#:

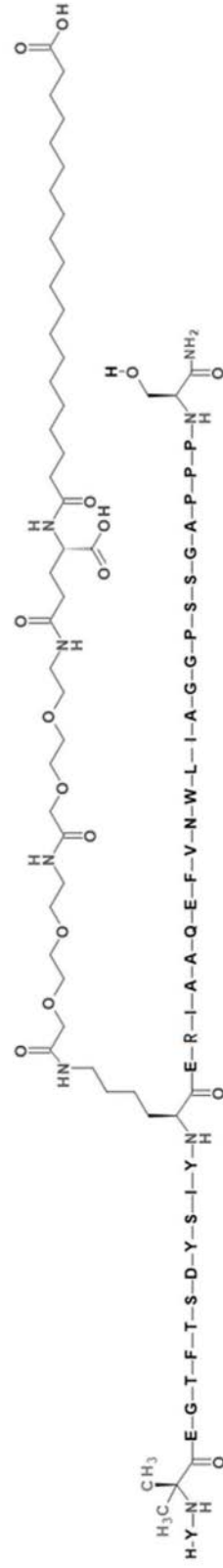
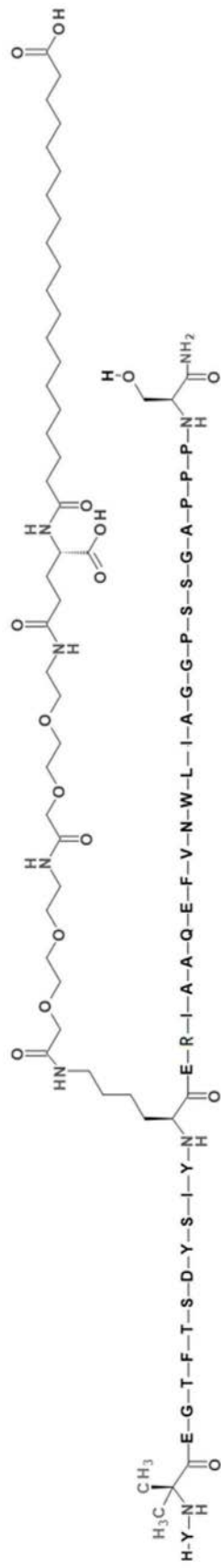
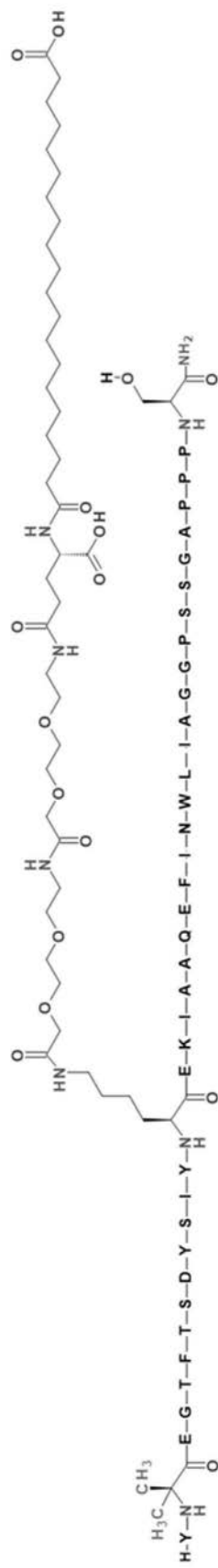


图3

13#:



14#:



15#:

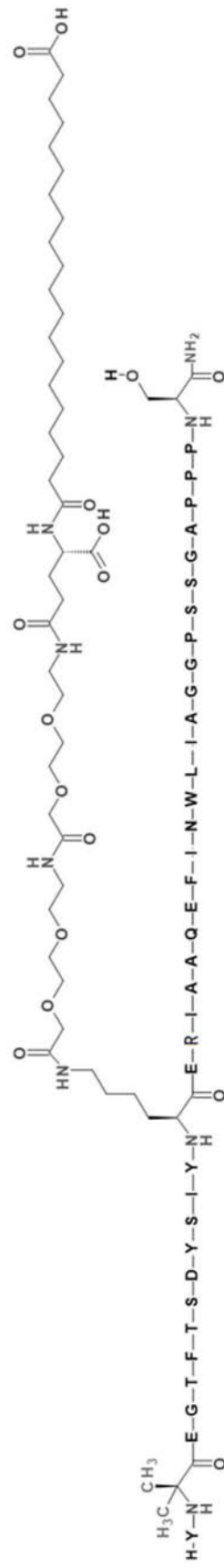
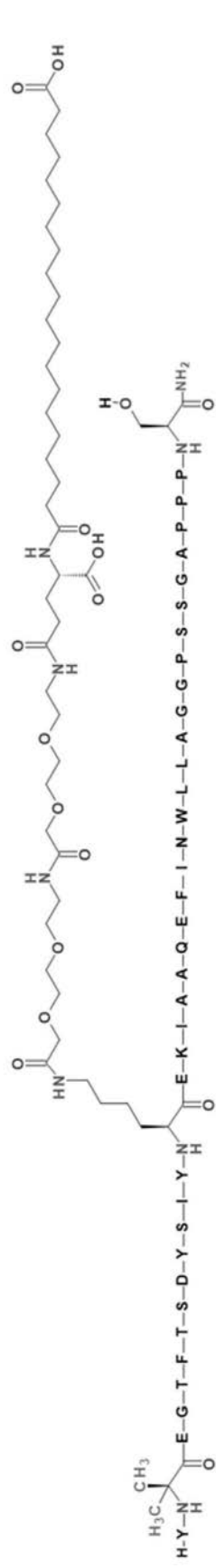
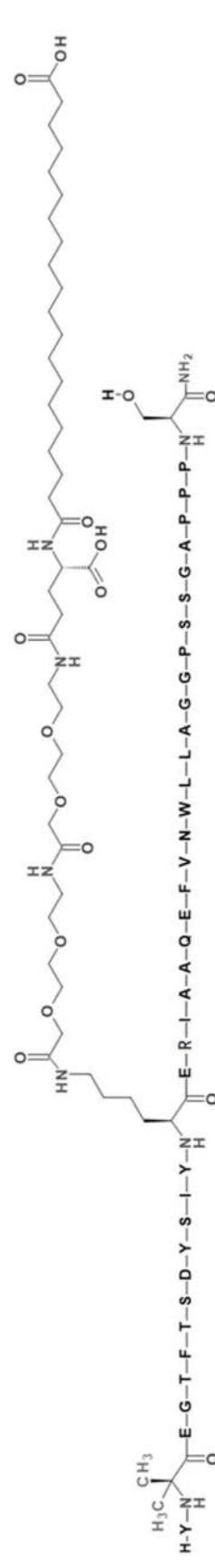


图3(续)

16#:



17#:



18#:

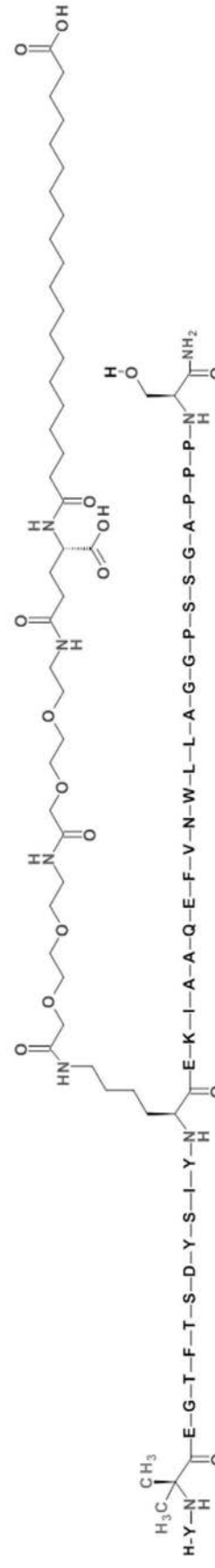


图3(续)