

带有修饰结构的多肽及其应用

技术领域

本发明涉及一系列带有修饰结构的多肽及其应用，具体的，本发明涉及一系列带有订书钉结构的多肽，含有该系列多肽的药物组合物及其在治疗代谢性疾病方面的应用。

背景技术

胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 和促胰岛素肽 (GIP) 属于肠促胰岛素，胰高血糖素 (GCG) 由胰岛 α 细胞分泌，前述物质均能直接或间接影响人体糖代谢和/或脂代谢，因此作用于GLP-1、GIP、GCG的化合物具有开发成治疗代谢性疾病药物的前景，如已上市作用于GLP-1的化合物（多肽）艾塞那肽、利拉鲁肽、索马鲁肽即为治疗II型糖尿病（diabetes mellitus type 2, T2DM）和/或肥胖症（obesity）的药物。

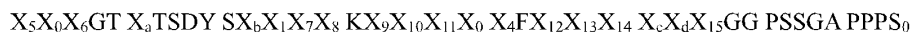
但是，作用于单一GLP-1、GIP或GCG的化合物通常在治疗领域、治疗效果、代谢行为等方面具有不足，进而影响化合物的成药性或上市后临床应用，因此，尝试开发作用于多作用靶点的化合物，以期从多个作用机制同时介入，达到更好的临床效果。礼来开发的GLP-1/GIP双重激动剂替尔泊肽（Tirzepatide），在头对头的临床实验中体现出优于索马鲁肽的效果，目前已经获批上市；再如礼来开发的GLP-1/GIP/GCG三重激动剂LY3437943，亦在临床研究中体现为较好的临床效果，具有较好的开发前景。

GLP-1R/GIPR/GCGR多重激动剂可激活血糖调控受体分子机制，通过不同的机制影响食物摄入和饱腹感，它们在维持体重稳态方面发挥作用。同时研究过程中亦发现，由于GLP-1受体激动剂能通过激动GLP-1受体促进发挥肠促胰岛素而产生良好降糖和减肥效果，同时可以通过多途径协同作用治疗NASH（非酒精性脂肪性肝炎），提示作用于该靶点或多靶点的化合物具有开发成预防和/或治疗糖代谢和/或脂代谢异常相关的一系列具体疾病药物的前景。

发明内容

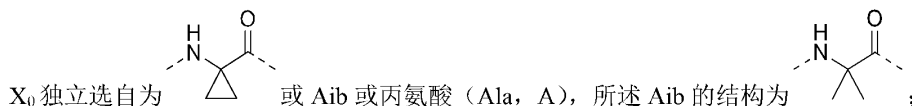
本发明从解决现有技术的不足出发，提供了一系列带有修饰结构的多肽及其药学上可接受的盐，该系列多肽在体外实验中体现为较好的 GLP-1 受体 (GLP-1R)、GIP 受体 (GIPR) 和 GCG 受体 (GCGR) 的作用效果，具有较好的成药前景。

本发明提供式 Z 所示多肽序列的带修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐：

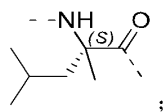


式 Z

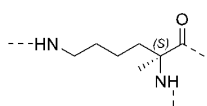
其中：



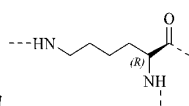
X_1 独立选自为 α -甲基取代亮氨酸(α -McLeu, α -McL)、络氨酸 (Tyr, Y) 或 Aib，所述 α -McL 其结构为



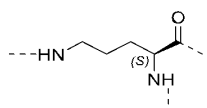
X₄选自 α -甲基取代赖氨酸(α -MeLys, α -MeK)、D-赖氨酸(d-K)、L-鸟氨酸(L-Ornithine, L-Orn)、丙氨酸(Ala, A)、赖氨酸(Lys, K)、谷氨酸(Glu, E)或亮氨酸(Leu, L); 所述 α -甲基取代赖氨酸的结构为



; D-赖氨酸(d-K)结构为



; L-鸟氨酸(L-Ornithine, L-Orn)结构为



X₅选自为络氨酸(Tyr, Y)或组氨酸(His, H);

X₆选自为谷氨酰胺(Gln, Q)或组氨酸(His, H);

X₇选自为亮氨酸(Leu, L)或赖氨酸(Lys, K);

X₈选自为天冬氨酸(Asp, D)或谷氨酸(Glu, E);

X₉选自为赖氨酸(Lys, K)、谷氨酰胺(Gln, Q)或谷氨酸(Glu, E);

X₁₀选自为丙氨酸(Ala, A)或络氨酸(Tyr, Y);

X₁₁选自为赖氨酸(Lys, K)、谷氨酰胺(Gln, Q)或丙氨酸(Ala, A);

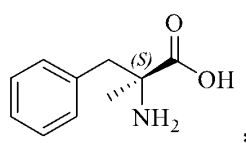
X₁₂选自为缬氨酸(Val, V)或异亮氨酸(Ile, I);

X₁₃选自为赖氨酸(Lys, K)、谷氨酰胺(Gln, Q)或谷氨酸(Glu, E);

X₁₄选自为赖氨酸(Lys, K)、色氨酸(Trp, W)、络氨酸(Tyr, Y)、谷氨酸(Glu, E)或苯丙氨酸(Phe, F);

X₁₅选自为赖氨酸(Lys, K)或谷氨酸(Glu, E);

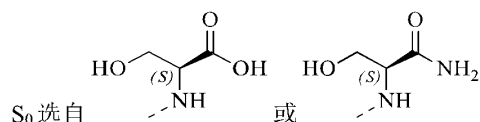
X_a选自为苯丙氨酸(Phe, F)或 α -甲基取代苯丙氨酸(α -MePhe, α -MeF), α -甲基取代苯丙氨酸结构为



X_b选自为赖氨酸(Lys, K)或异亮氨酸(Ile, I);

X_c选自为亮氨酸(Leu, L)或苯丙氨酸(Phe, F);

X_d选自为亮氨酸(Leu, L)或异亮氨酸(Ile, I);



S₀选自

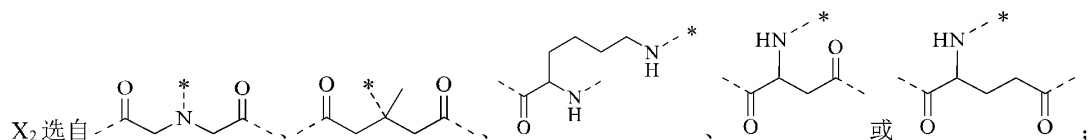
或

(即: C 末端氨基酸任选被酰胺化为 C 末端伯酰胺);

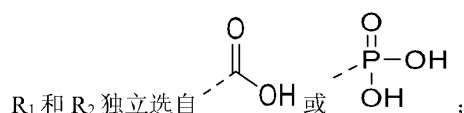
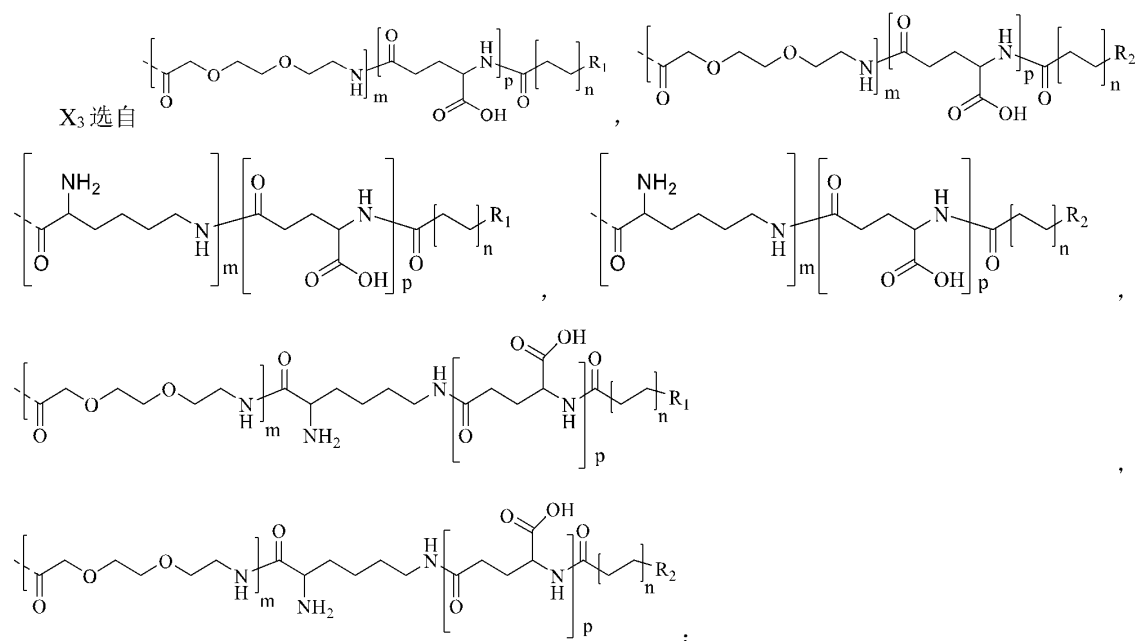
且所述化合物(多肽)具有以下修饰:

1) 序列中 i 位置和 i+j 位置的氨基酸侧链可通过修饰连接形成类似“订书钉”结构(肽钉合)的修饰结构(钉合体), 其中 i 独立选自为 12, 14, 16, 17, 19, 21, 24 或 25, j 独立选自 2, 3, 4, 5 或 7,

2) 所述修饰为两个氨基酸单元结构侧链上的氨基或羧基与 $X_2 \cdot X_3$ 缩合相连;



其中, “*”表示与 X_3 相连的位置, 两端为与修饰氨基酸中对应氨基或羧基相连的位置;

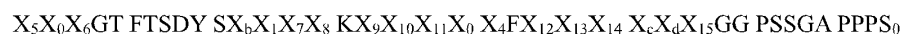


m 选自 1、2 或 3;

p 选自 1 或 2;

n 选自 8、9 或 10。

在本发明的一些方案中, 带修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐, 其多肽序列如式 Z-1 所示:



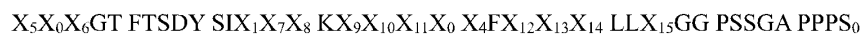
式 Z-1

所述化合物(多肽)具有以下修饰:

1) 序列中 i 位置和 i+j 位置的氨基酸侧链可通过修饰连接形成类似“订书钉”(肽钉合)结构的修饰结构(钉合体), 其中 i 独立选自为 12, 14, 16, 17, 19, 21, 24 或 25, j 独立选自 2, 3, 4, 5 或 7,

2) 所述修饰为两个氨基酸单元结构侧链上的氨基或羧基与 $\text{X}_2 \cdot \text{X}_3$ 缩合相连；其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，带修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐，其多肽序列如式 Z-2 所示：



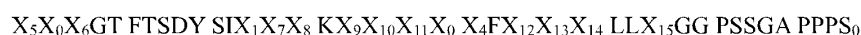
式 Z-2

所述化合物（多肽）具有以下修饰：

1) 序列中 i 位置和 i+j 位置的氨基酸侧链可通过修饰连接形成类似“订书钉”结构的修饰结构（钉合体），其中 i 独立选自为 12, 14, 16, 17, 19, 21, 24, 25, j 独立选自 2, 3, 4, 5, 7,

2) 所述修饰为两个氨基酸单元结构侧链上的氨基或羧基与 $\text{X}_2 \cdot \text{X}_3$ 缩合相连；其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，带修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐，其多肽序列分别如式 Z-3 所示：

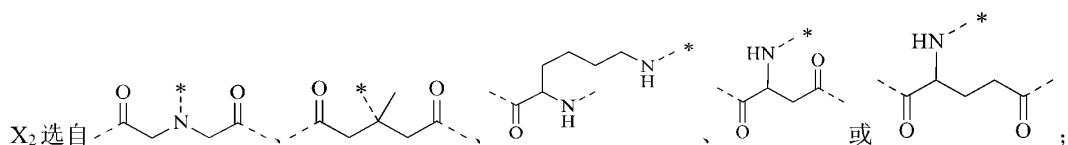


式 Z-3

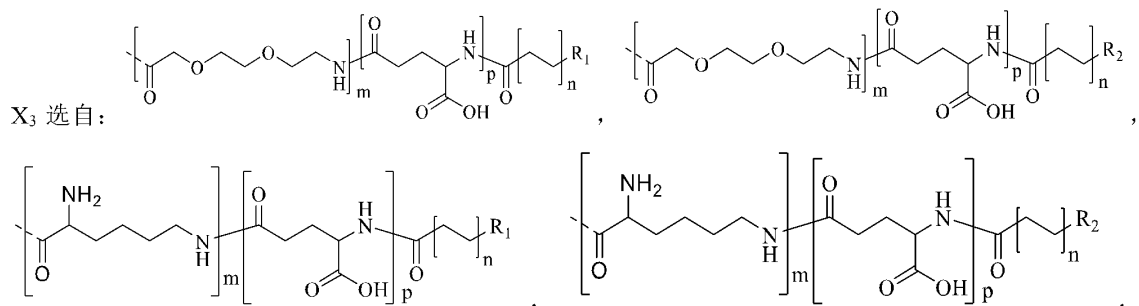
且所述多肽化合物具有以下修饰：

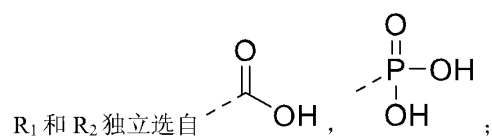
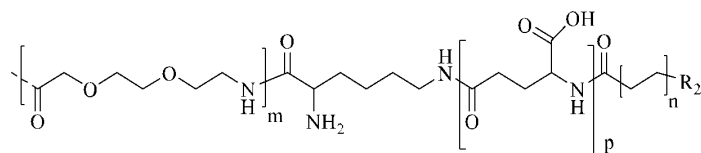
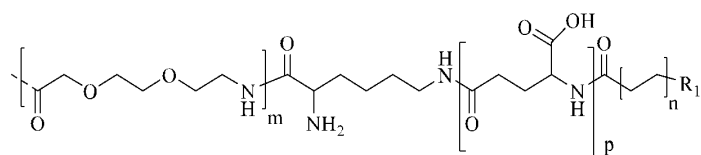
1) 序列中 i 位置和 i+j 位置的氨基酸侧链可通过修饰连接形成类似“订书钉”结构的修饰结构（钉合体），其中 i 独立选自为 14, 17, 19, 21, 24 或 25, j 独立选自 3, 4, 5 或 7,

2) 所述修饰为两个氨基酸单元结构侧链上的氨基或羧基与 $\text{X}_2 \cdot \text{X}_3$ 缩合相连；



其中，“*”表示与 X_3 相连的位置，两端为与修饰氨基酸中对应氨基或羧基相连的位置；



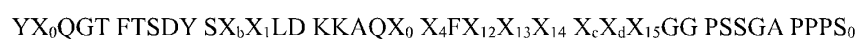


m 选自 1、2 或 3;

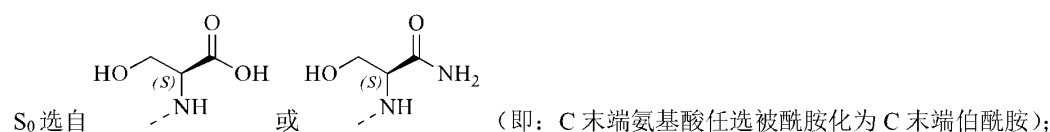
p 选自 1 或 2;

n 选自 8、9 或 10; 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 带修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐, 其多肽序列分别如式 Z-4 所示:



式 Z-4

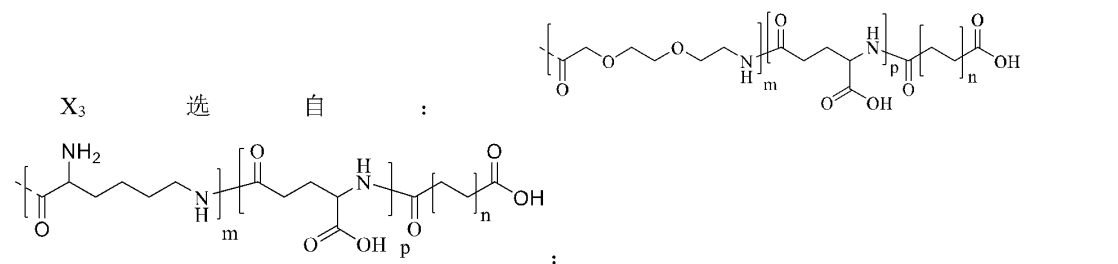


且所述多肽化合物具有以下修饰:

1) 序列中 i 位置和 i+j 位置的氨基酸侧链可通过修饰连接形成类似“订书钉”结构的修饰结构(钉合体), 其中 i 独立选自为 12, 17, 21 或 25; j 独立选自 3, 4 或 7,

2) 所述修饰为两个氨基酸单元结构侧链上的氨基或羧基与 $\text{X}_2 \cdot \text{X}_3$ 缩合相连;

X₂ 选自 $\text{O}=\text{C}-\text{CH}_2-\text{N}^*(\text{CH}_2)_2-\text{C}(=\text{O})$ 或 $\text{O}=\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}^*(\text{CH}_3)_2-\text{C}(=\text{O})$ 和; 其中, “*”表示与 X₃ 相连的位置, 两端为与修饰氨基酸中对应氨基或羧基相连的位置;

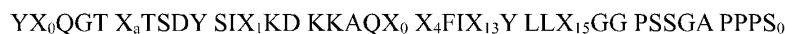


m 选自 1、2 或 3;

p 选自 1 或 2;

n 选自 8、9 或 10; 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 带修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐, 其多肽序列分别如式 Z-5 所示:

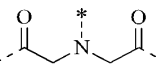
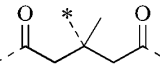


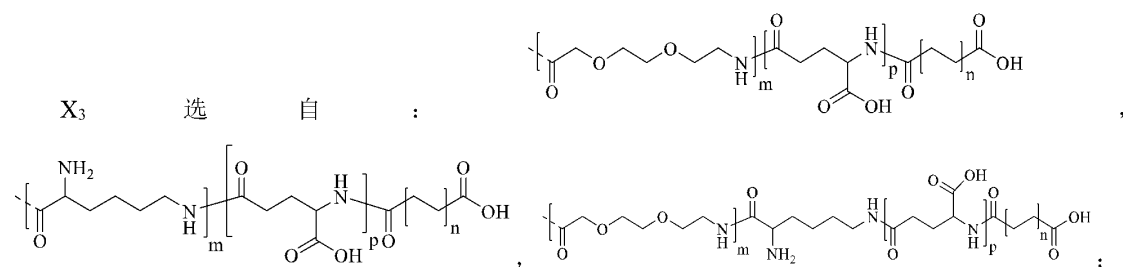
式 Z-5

且所述多肽化合物具有以下修饰:

1) 序列中 i 位置和 i+j 位置的氨基酸侧链可通过修饰连接形成类似“订书钉”结构的修饰结构, 其中 i 独立选自为 14; j 独立选自 3,

2) 所述修饰为两个氨基酸单元结构侧链上的氨基或羧基与 $\text{X}_2\text{-X}_3$ 缩合相连;

X_2 选自  或 ; 其中, “*”表示与 X_3 相连的位置, 两端为与修饰氨基酸中对应氨基或羧基相连的位置;

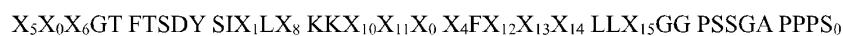


m 选自 1、2 或 3;

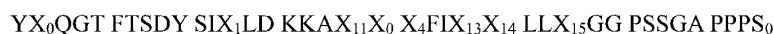
p 选自 1 或 2;

n 选自 8、9 或 10; 其他变量如本发明所定义。

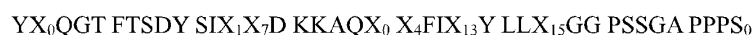
在本发明的一些方案中, 带修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐, 其多肽序列分别如式 Z-6、Z-7、Z-8、Z-9、Z-10、Z-11、Z-12、Z-13 所示:



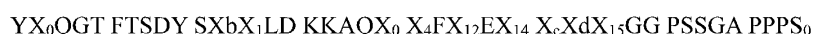
式 Z-6



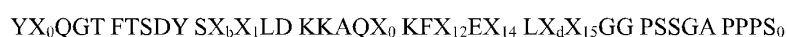
式 Z-7



式 Z-8

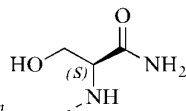


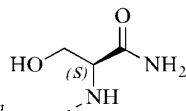
式 Z-9



p 选自 1 或 2;

n 选自 8、9 或 10; 其他变量如本发明所定义。



在本发明的一些方案中, 上述多肽序列中 S_0 为 , 即: C 末端氨基酸被酰胺化为伯酰胺, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 多肽序列中第 2 位氨基酸 X_0 为 Aib, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 多肽序列中第 20 位氨基酸 X_0 为 Aib, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 多肽序列中第 2 和 20 位氨基酸 X_0 同时为 Aib, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述 i 为 12, j 为 4, i+j 为 16, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述 i 为 14, j 为 3, i+j 为 17, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述 i 为 16, j 为 3, i+j 为 19, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述 i 为 17, j 为 4, i+j 为 21, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述 i 为 17, j 为 7, i+j 为 24, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述 i 为 19, j 为 5, i+j 为 24, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述 i 为 21, j 为 7, i+j 为 28, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述 i 为 24, j 为 4, i+j 为 28, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述 i 为 25, j 为 3, i+j 为 28, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 多肽序列中第 1 位氨基酸 X_5 为 Y, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 多肽序列中第 1 位氨基酸 X_5 为 H, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 多肽序列中第 3 位氨基酸 X_6 为 Q, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 多肽序列中第 3 位氨基酸 X_6 为 H, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 多肽序列中第 6 位氨基酸 X_a 为 F, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 多肽序列中第 6 位氨基酸 X_a 为 α -MeF, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 多肽序列中第 12 位氨基酸 X_b 为 I, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 多肽序列中第 12 位氨基酸 X_b 为 K, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 多肽序列中第 13 位氨基酸 X_l 为 α -MeL, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 多肽序列中第 13 位氨基酸 X_l 为 Y, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 多肽序列中第 13 位氨基酸 X_l 为 Aib, 其他变量如本发明所定义。

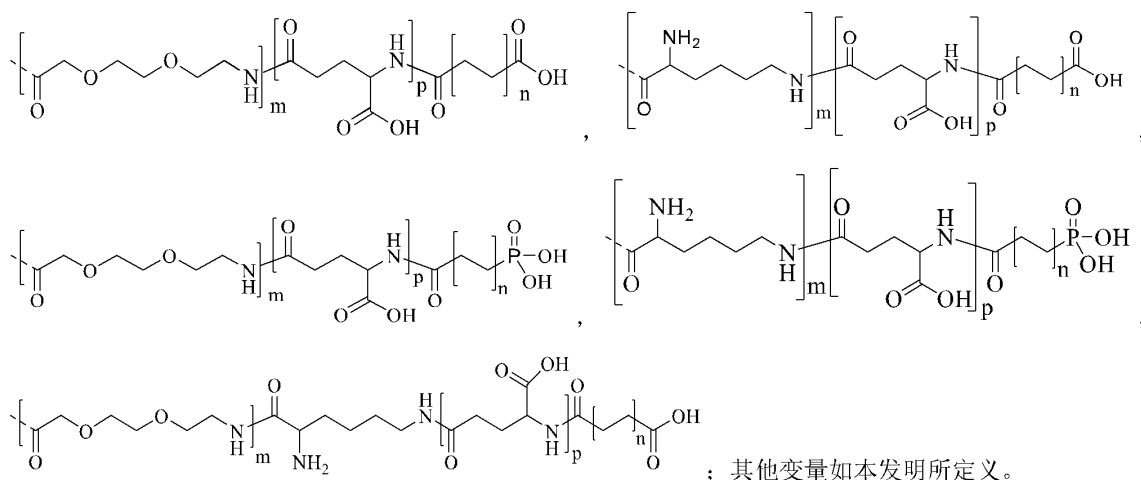
在本发明的一些方案中, 多肽序列中第 14 位氨基酸 X_7 为 L, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 多肽序列中第 14 位氨基酸 X_7 为 K, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 多肽序列中第 15 位氨基酸 X_8 为 D, 其他变量如本发明所定义。

[illegible]

在本发明一些方案中，上述 X_3 选自：

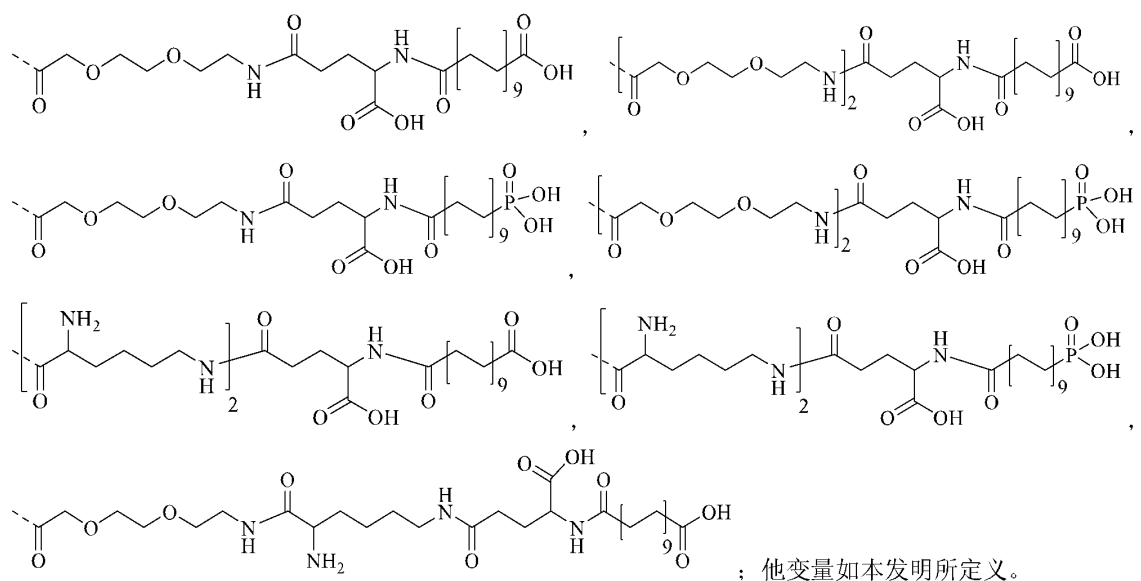


在本发明的一些方案中，上述 X_3 结构中 m 选自 1 或 2，其他变量如本发明所定义。

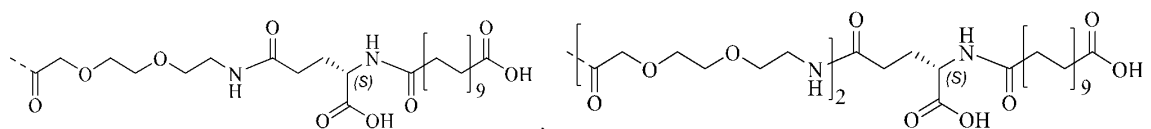
在本发明的一些方案中，上述 X_3 结构中 p 选自 1，其他变量如本发明所定义。

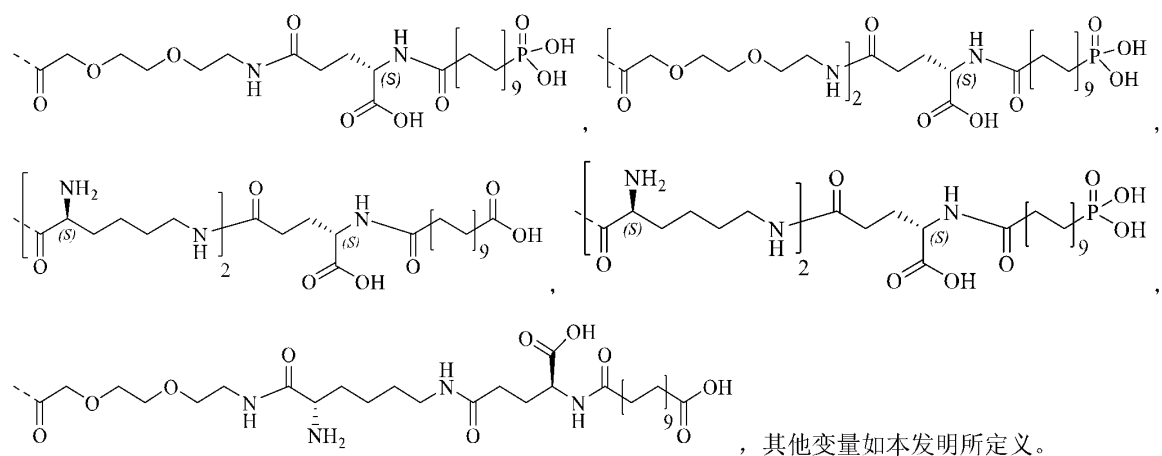
在本发明的一些方案中，上述 X_3 结构中 n 选自 9，其他变量如本发明所定义。

在本发明一些方案中，上述 X_3 选自：

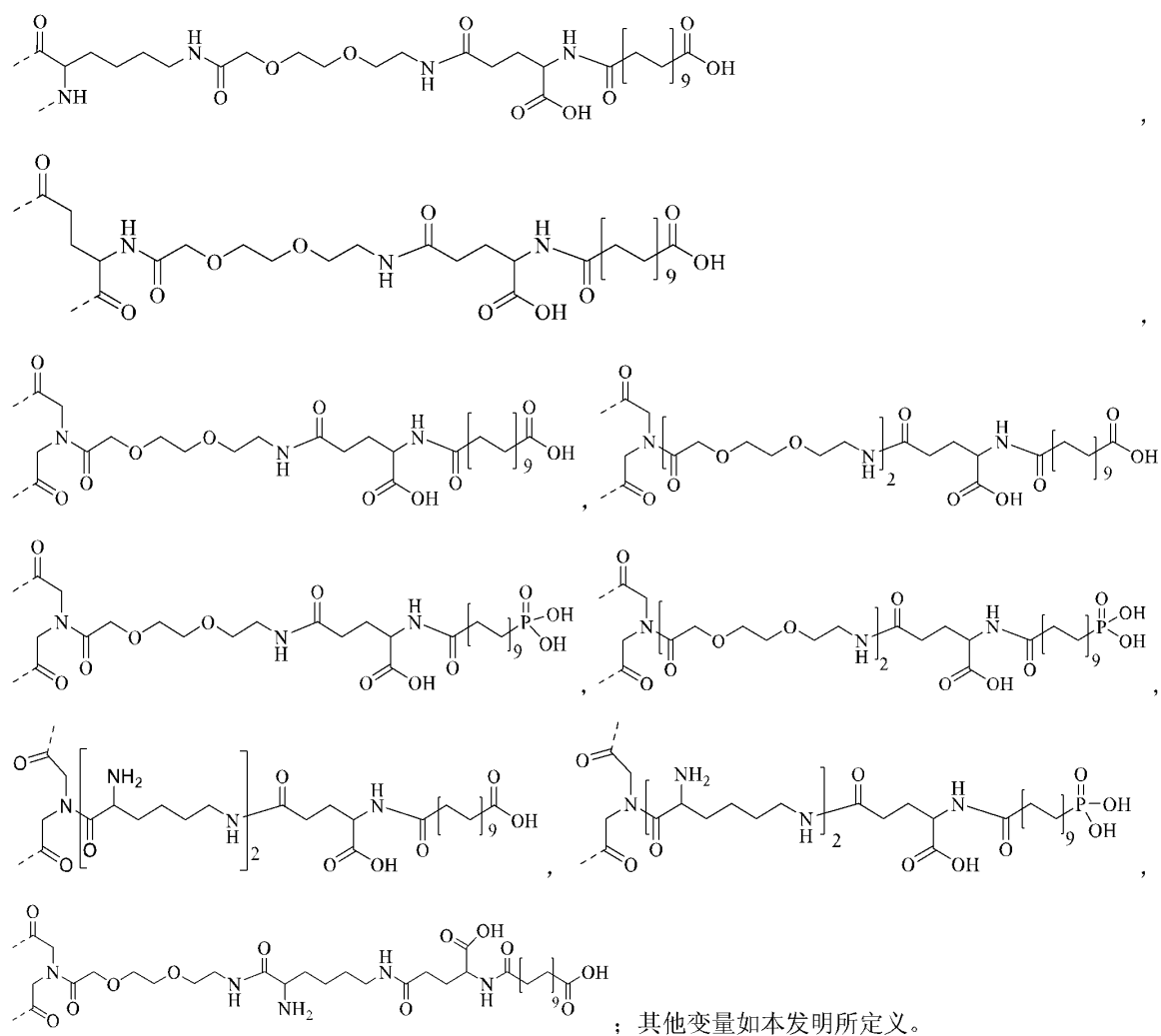


在本发明一些方案中，上述 X_3 选自：

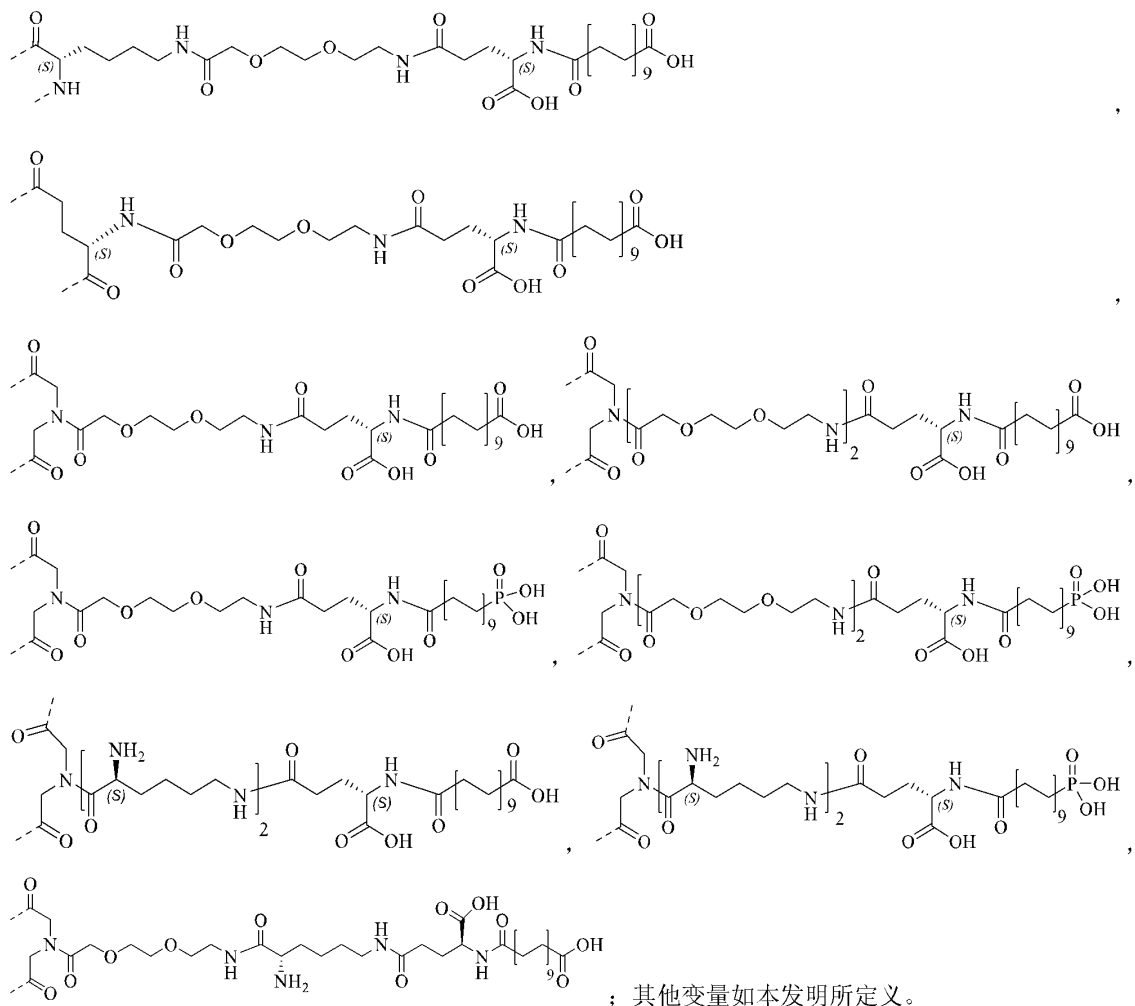




在本发明的一些方案中，上述结构单元 $X_2 \cdot X_3$ 为：



在本发明的一些方案中，上述结构单元 $X_2 \cdot X_3$ 为：



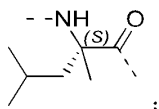
本发明提供式 I 所示的带修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐：

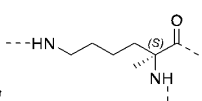
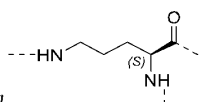
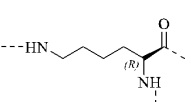
式 I: $X_5X_6X_7GTFTSDY SIX_1X_7X_8 KX_9X_{10}X_{11}X_0 X_4FX_{12}X_{13}X_{14} LLX_{15}GG PSSGA PPPS_0$

其中：

X_0 独立选自为 或 Aib 或丙氨酸 (Ala, A)，所述 Aib 的结构为 ；

X_1 独立选自为 α 甲基取代亮氨酸(α -MeLeu, α -MeL)或络氨酸 (Tyr, Y)，所述 α -MeL 其结构为



X₄ 选自 α 甲基取代赖氨酸(α -MeLys, α -MeK), 其结构为  ; 或 D-赖氨酸(d-K), 其结构为  ; 或 L-鸟氨酸(L-Ornithine, L-Orn), 其结构为  ; 或丙氨酸 (Ala, A)、赖氨酸 (Lys, K) 或谷氨酸 (Glu, E);

X₅ 选自为络氨酸 (Tyr, Y) 或组氨酸 (His, H);

X₆ 选自为谷氨酰胺 (Gln, Q) 或组氨酸 (His, H);

X₇ 选自为亮氨酸 (Leu, L) 或赖氨酸 (Lys, K);

X₈ 选自为天冬氨酸 (Asp, D) 或谷氨酸 (Glu, E);

X₉ 选自为赖氨酸 (Lys, K)、谷氨酰胺 (Gln, Q) 或谷氨酸 (Glu, E);

X₁₀ 选自为丙氨酸 (Ala, A) 或络氨酸 (Tyr, Y);

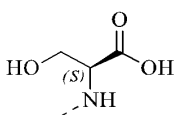
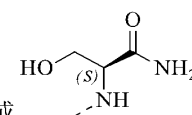
X₁₁ 选自为赖氨酸 (Lys, K)、谷氨酰胺 (Gln, Q) 或丙氨酸 (Ala, A);

X₁₂ 选自为缬氨酸 (Val, V) 或异亮氨酸 (Ile, I);

X₁₃ 选自为赖氨酸 (Lys, K)、谷氨酰胺 (Gln, Q) 或谷氨酸 (Glu, E);

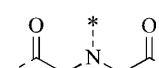
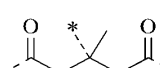
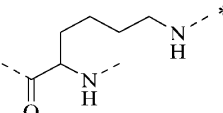
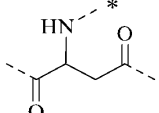
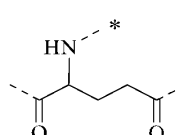
X₁₄ 选自为赖氨酸 (Lys, K)、色氨酸 (Trp, W)、络氨酸 (Tyr, Y)、谷氨酸 (Glu, E) 或苯丙氨酸 (Phe, F);

X₁₅ 选自为赖氨酸 (Lys, K) 或谷氨酸 (Glu, E);

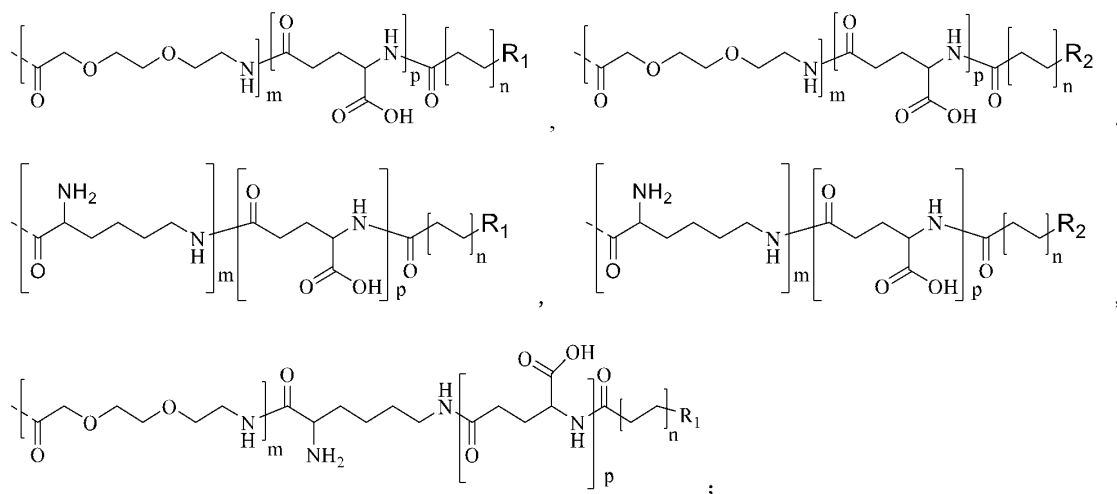
S₀ 选自  或  (即: C 末端氨基酸任选被酰胺化为 C 末端伯酰胺);
且所述化合物具有以下修饰:

1) 序列中 i 位置和 i+j 位置的氨基酸侧链可通过修饰连接形成类似“订书钉”结构的修饰结构 (钉合体), 其中 i 独立选自为 12, 14, 16, 17, 19, 21, 24 或 25, j 独立选自 2, 3, 4, 5 或 7,

2) 所述修饰为两个氨基酸单元结构侧链上的氨基或羧基与  缩合相连;

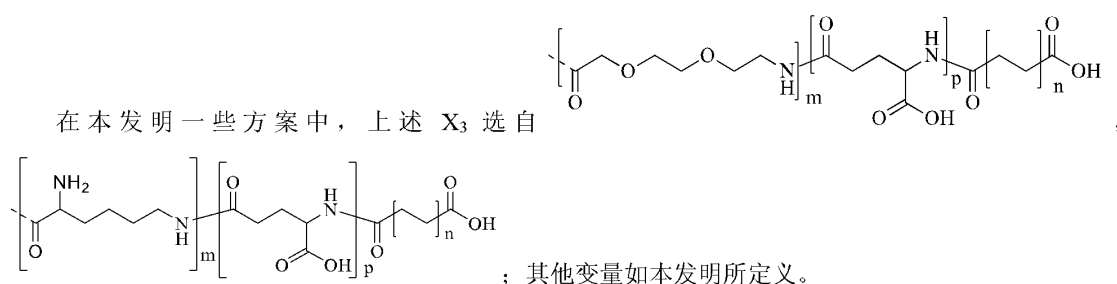
X₂ 选自  、  、  、  或  ; 其中, “*”表示与 X₃ 相连的位置, 两端为与修饰氨基酸中对应氨基或羧基相连的位置;

X₃ 选自:

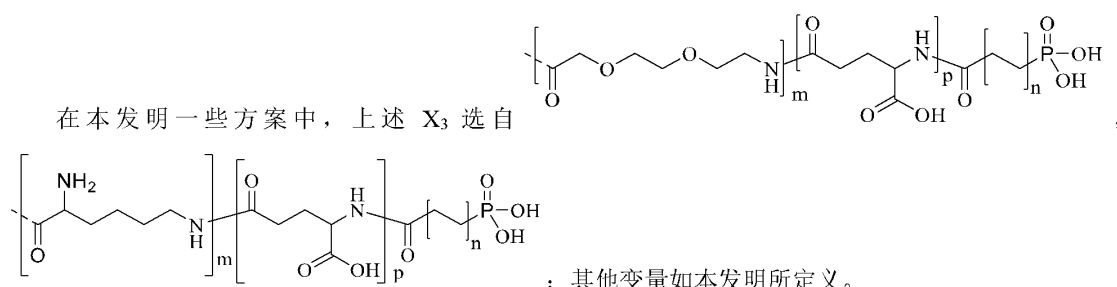


R_1 和 R_2 独立选自  ;

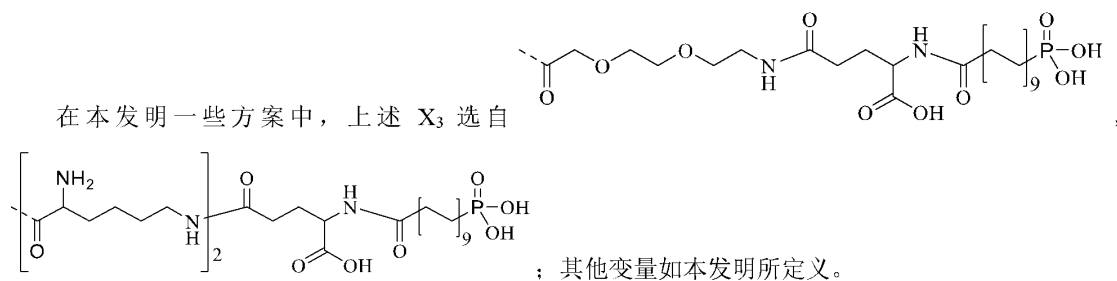
m 选自 1、2 或 3; p 选自 1 或 2; n 选自 8、9 或 10。



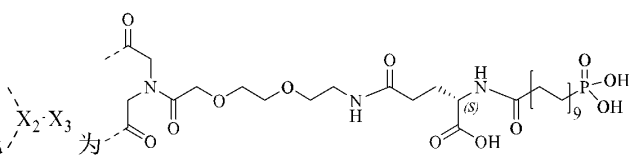
; 其他变量如本发明所定义。

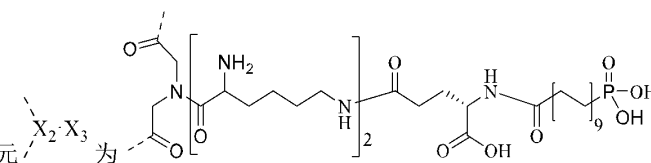


; 其他变量如本发明所定义。



；其他变量如本发明所定义。

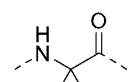
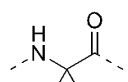
在本发明的一些方案中,上述结构单元 $X_2 \cdot X_3$ 为 , 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中,上述结构单元 $X_2 \cdot X_3$ 为 , 其他变量如本发明所定义。

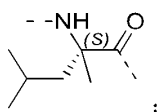
本发明提供式 I 所示的带修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐:

式 I: $X_5X_0X_6GTFTSDY SIX_1X_7X_8 KX_9X_{10}X_{11}X_0 X_4FX_{12}X_{13}X_{14} LLX_{15}GG PSSGA PPPS_0$

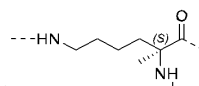
其中:

X_0 可独立选自为  或 Aib 或丙氨酸 (Ala, A), 所述 Aib 的结构为  ;

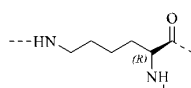
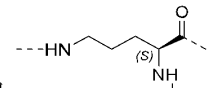
X_1 可独立选自为 α 甲基取代亮氨酸 (α -MeLeu, α -MeL) 或酪氨酸 (Tyr, Y), 所述 α -MeL 其结构为



X_4 选自 α 甲基取代赖氨酸 (α -MeLys, α -MeK), 其结构为



; 或 D-赖氨酸 (d-K), 其结

构为  ; 或 L-鸟氨酸 (L-Ornithine, L-Orn), 其结构为  ; 或丙氨酸 (Ala, A)、赖氨酸 (Lys, K) 或谷氨酸 (Glu, E);

X_5 选自为酪氨酸 (Tyr, Y) 或组氨酸 (His, H);

X_6 选自为谷氨酰胺 (Gln, Q) 或组氨酸 (His, H);

X_7 选自为亮氨酸 (Leu, L) 或赖氨酸 (Lys, K);

X_8 选自为天冬氨酸 (Asp, D) 或谷氨酸 (Glu, E);

X_9 选自为赖氨酸 (Lys, K)、谷氨酰胺 (Gln, Q) 或谷氨酸 (Glu, E);

X_{10} 选自为丙氨酸 (Ala, A) 或酪氨酸 (Tyr, Y);

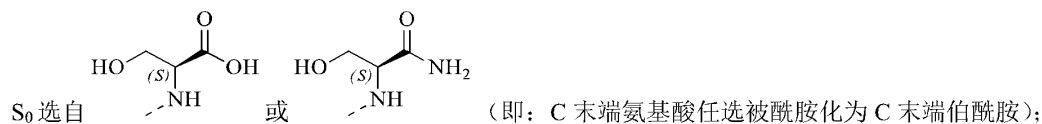
X_{11} 选自为赖氨酸 (Lys, K)、谷氨酰胺 (Gln, Q) 或丙氨酸 (Ala, A);

X_{12} 选自为缬氨酸 (Val, V) 或异亮氨酸 (Ile, I);

X_{13} 选自为赖氨酸 (Lys, K)、谷氨酰胺 (Gln, Q) 或谷氨酸 (Glu, E);

X14 选自为赖氨酸 (Lys, K)、色氨酸 (Trp, W)、络氨酸 (Tyr, Y)、谷氨酸 (Glu, E) 或苯丙氨酸 (Phe, F);

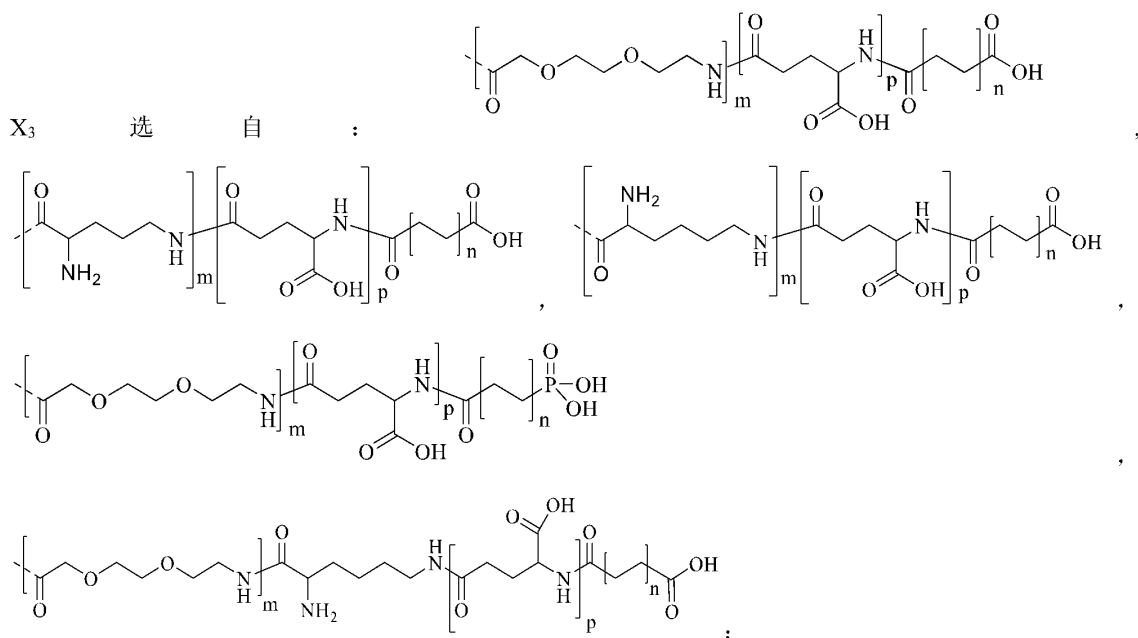
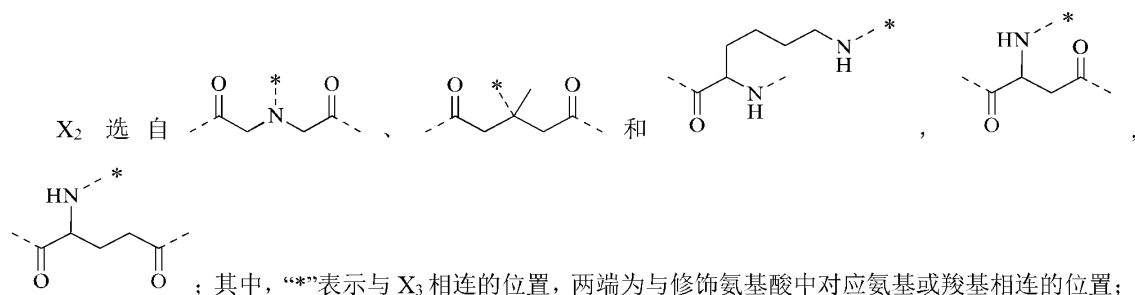
X15 选自为赖氨酸 (Lys, K) 或谷氨酸 (Glu, E);



且所述化合物具有以下修饰:

1) 序列中 i 位置和 i+j 位置的氨基酸侧链可通过修饰连接形成类似“订书钉”结构的修饰结构(钉合体), 其中 i 独立选自为 12, 14, 16, 17, 19, 21, 24 或 25, j 独立选自 2, 3, 4, 5 或 7,

2) 所述修饰为两个氨基酸单元结构侧链上的氨基或羧基与 $X_2 \cdot X_3$ 缩合相连;



m 选自 1、2 或 3; p 选自 1 或 2; n 选自 8、9 或 10。

在本发明的一些方案中, 所述带有修饰结构的多肽, 其肽链序列中的上标编号相同的氨基酸可以通过

修饰连接形成类似“订书钉”结构的修饰基团（钉合体），即序列中 i 位置和 i+j 位置的氨基酸侧链可通过修饰连接形成类似“订书钉”结构的修饰结构（钉合体），其中 i 独立选自 10-28 中任意的整数，例如 10, 12, 14, 16, 17, 19, 21, 24 或 25, j 独立选自 1-8 中任意的整数，例如 1, 2, 3, 4, 5, 7 或 8。所述“订书钉”结构的个数为 1-2 个。在一些实施方案中，第一氨基酸在肽的 25 位，第二氨基酸在肽的 28 位。在一些实施方案中，第一氨基酸在肽的 24 位，第二氨基酸在肽的 28 位。在一些实施方案中，第一氨基酸在肽的 17 位，第二氨基酸在肽的 21 位。在一些实施方案中，第一氨基酸在肽的 16 位，第二氨基酸在肽的 19 位。在一些实施方案中，第一氨基酸在肽的 17 位，第二氨基酸在肽的 24 位。在一些实施方案中，第一氨基酸在肽的 19 位，第二氨基酸在肽的 24 位。在一些实施方案中，第一氨基酸在肽的 21 位，第二氨基酸在肽的 28 位。在一些实施方案中，第一氨基酸在肽的 19 位，第二氨基酸在肽的 24 位。

在本发明的一些方案中，所述带有修饰结构的多肽，其肽链序列可具有至多 0、1、2、3 或 4 个氨基酸插入、缺失、修饰或替换。例如，12 位上的异亮氨酸（I）可以替换为赖氨酸（K）；26 或 27 位上的亮氨酸（L）可以替换成异亮氨酸（I）或苯丙氨酸（F）；13 位上的 X₁ 可以替换为 X₀；20 位上的 X₀ 可以替换为天然氨基酸丙氨酸（A）等。

本发明提供了一系列多肽的序列如下所示：

YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀AFIE¹K LL¹EGG PSSGA PPPS₀
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀AFI¹KW LL¹KGG PSSGA PPPS₀
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAX₀¹KFIEY LLEGG PSSGA PPPS₀
HX₀HGT FTSDY SIYLE KKYAX₀EFV¹KW LL¹KGG PSSGA PPPS₀
HX₀HGT FTSDY SIYLE K¹KYAX₀¹KFVQW LLEGG PSSGA PPPS₀
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀AFIQ¹K LL¹KGG PSSGA PPPS₀
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD ¹KQA¹QX₀AFIE²K LL²KGG PSSGA PPPS₀
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KEAQX₀AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS₀
HX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS₀
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKYQX₀AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS₀
YX₀QGT FTSDY SIX₁LE KKAQX₀AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS₀
HX₀HGT FTSDY SIYLE KKYAX₀EFVQ¹E LL¹KGG PSSGA PPPS₀
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀AFIE¹E LL¹KGG PSSGA PPPS₀
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀AFI¹EW LL¹KGG PSSGA PPPS₀
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAX₀¹KFIEF LLEGG PSSGA PPPS₀
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAX₀¹EFIEY LLEGG PSSGA PPPS₀
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAX₀AFI¹KY LLEGG PSSGA P PPS₀
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAX₀¹KFIEY LLEGG PSSGA P PPS₀
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKA¹KX₀AFI¹KY LLEGG PSSGA PPPS₀
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀¹KFIEY LL¹KGG PSSGA PPPS₀

YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQA¹X₄FIEY LLEGG PSSGA PPPS₀
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQX₀¹X₄FIEY LLEGG PSSGA PPPS₀
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQX₀¹X₄FIEY LLEGG PSSGA PPPS₀
 YX₀QGT FTSDY SIX₁¹KD K¹KAQX₀ AFIEY LLEGG PSSGA PPPS₀

序列中的上标（左上标）指代修饰的氨基酸单元结构，上标编号相同的氨基酸指代通过修饰基团连接形成类似“订书钉”结构的修饰基团（钉合体），如上述序列中¹K和¹E表示修饰的赖氨酸及谷氨酸，且二者通过修饰基团相连（K-E修饰）；又如上述序列中¹K和¹K表示修饰的赖氨酸，且二者通过修饰基团相连（K-K修饰）；又如上述序列中¹K和¹X₄表示修饰的赖氨酸和X₄，且二者通过修饰基团相连（K-X₄修饰）；其中X₀，X₁，X₄和S₀以及修饰方式如本发明所定义。

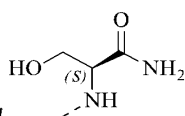
本发明提供了一系列多肽的序列如下所示：

YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQX₀¹KFIEF LLEGG PSSGA PPPS₀
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQX₀¹KFIEF LIEGG PSSGA PPPS₀
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQX₀¹KFVEF LIEGG PSSGA PPPS₀
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ AFIE¹K FI¹KGG PSSGA PPPS₀
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀¹KFIEF LL¹KGG PSSGA PPPS₀
 YX₀QGT FTSDY SIX₀LD K¹KAQX₀¹KFIEF LLEGG PSSGA PPPS₀
 YX₀QGT FTSDY S¹KX₁LD¹KKAQX₀ AFIEF LLEGG PSSGA PPPS₀

其中X₀，X₁和S₀以及修饰方式如前述定义。

本发明提供了一系列多肽的序列如下所示：

YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQX₀¹KFIEF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQX₀¹KFIEF LIEGG PSSGA PPP-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQX₀¹KFVEF LIEGG PSSGA PPP-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ AFIE¹K FI¹KGG PSSGA PPP-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀¹KFIEF LL¹KGG PSSGA PPP-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₀LD K¹KAQX₀¹KFIEF LLEGG PSSGA PPP-NH₂
 YX₀QGT FTSDY S¹KX₁LD¹KKAQX₀ AFIEF LLEGG PSSGA PPP-NH₂



其中，S₀为（即：C末端氨基酸被酰胺化为C末端伯酰胺），X₀，X₁和S₀以及修饰方式如前述定义。

本发明提供了一系列多肽的序列如下所示，其中部分X₀为Aib：

YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQAib¹KFIEF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQAib¹KFIEF LIEGG PSSGA PPP-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQAib¹KFVEF LIEGG PSSGA PPP-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib AFIE¹K FI¹KGG PSSGA PPP-NH₂

YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib¹KFIEF LL¹KGG PSSGA PPP-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIAibLD K¹KAQAib¹KFIEF LLEGG PSSGA PPP-NH₂
 YX₀QGT FTSDY S¹KX₁LD¹KKAQAib AFIEF LLEGG PSSGA PPP-NH₂

其它变量如前述定义。

本发明提供了一系列多肽的序列如下所示，其中 X₀ 全部为 Aib，X₁ 为 α-MeL：

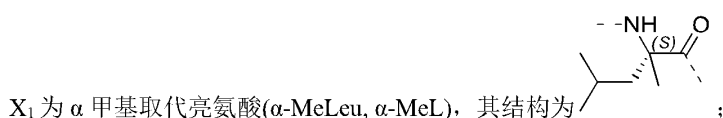
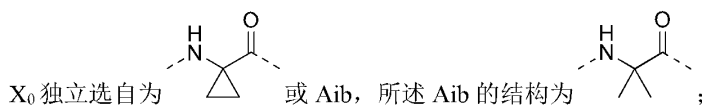
YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQAib¹KFIEF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQAib¹KFIEF LIEGG PSSGA PPP-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQAib¹KFVEF LIEGG PSSGA PPP-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib AFIE¹K F¹KGG PSSGA PPP-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib¹KFIEF LL¹KGG PSSGA PPP-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIAibLD K¹KAQAib¹KFIEF LLEGG PSSGA PPP-NH₂
 YAibQGT FTSDY S¹KX₁LD¹KKAQAib AFIEF LLEGG PSSGA PPP-NH₂

其它变量如前述定义。

本发明提供了一系列多肽的序列如下所示：

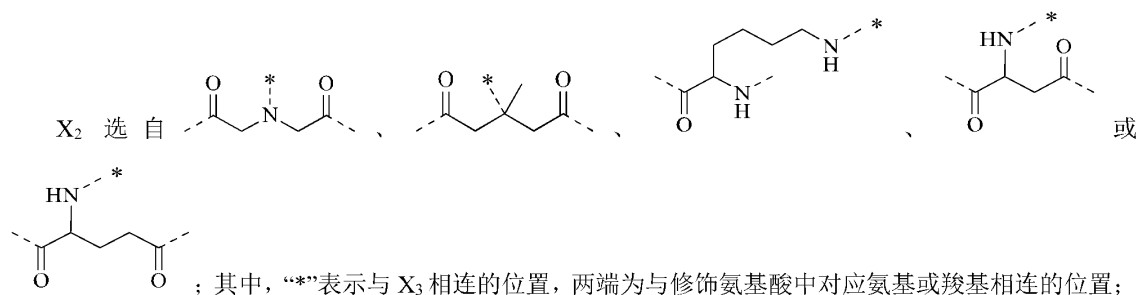
YX₀QGT FTSDY SIX₁¹KD K¹KAQX₀ AFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂

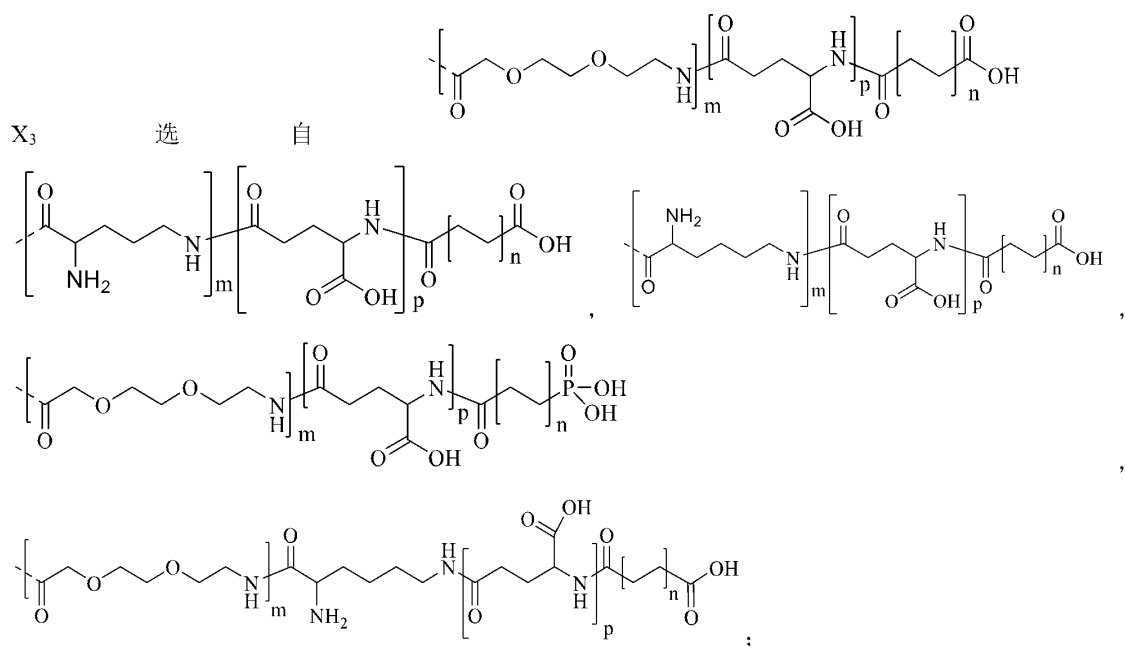
其中，



序列中的上标指代修饰的氨基酸单元结构，上标编号相同的氨基酸指代通过修饰连接形成类似“订书钉”结构的修饰基团，如上述序列中¹K 和¹K 表示修饰的赖氨酸，且二者通过修饰基团相连(K-K 修饰)；

所述修饰为两个氨基酸单元结构侧链上的氨基或羧基与  缩合相连；





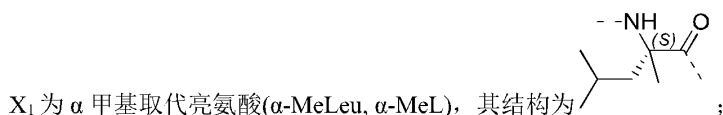
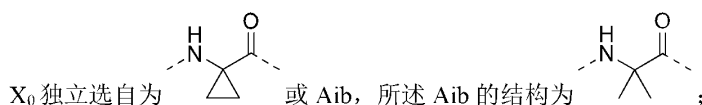
m 选自 1、2 或 3; p 选自 1 或 2; n 选自 8、9 或 10。

本发明提供了一系列多肽的序列如下所示：

YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ AFIE¹K LL¹EGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ AFI¹KW LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KQAQX₀ ¹KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 HX₀HGT FTSDY SIYLE KKYAX₀ EFV¹KW LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 HX₀HGT FTSDY SIYLE K¹KYAX₀ ¹KFVQW LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ AFIQ¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD ¹KQA¹QX₀ AFIE²K LL²KGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KEAQX₀AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 HX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKYQX₀ AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LE KKAQX₀ AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 HX₀HGT FTSDY SIYLE KKYAX₀ EFVQ¹E LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ AFIE¹E LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ AFI¹EW LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KQAQX₀ ¹KFIEF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KQAQX₀ ¹EFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KQAQX₀ AFI¹KY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KQAQX₀ ¹KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂

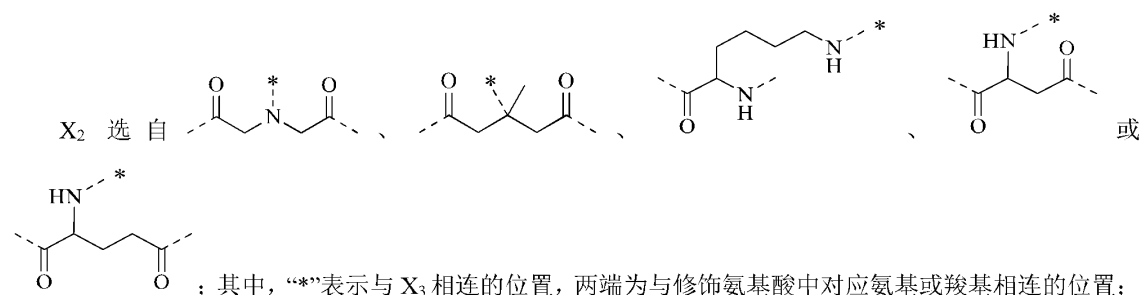
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKA¹KX₀ AFI¹KY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ ¹KFIEY LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQA ¹X₄FIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQX₀ ¹X₄FIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQX₀ ¹X₄FIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂

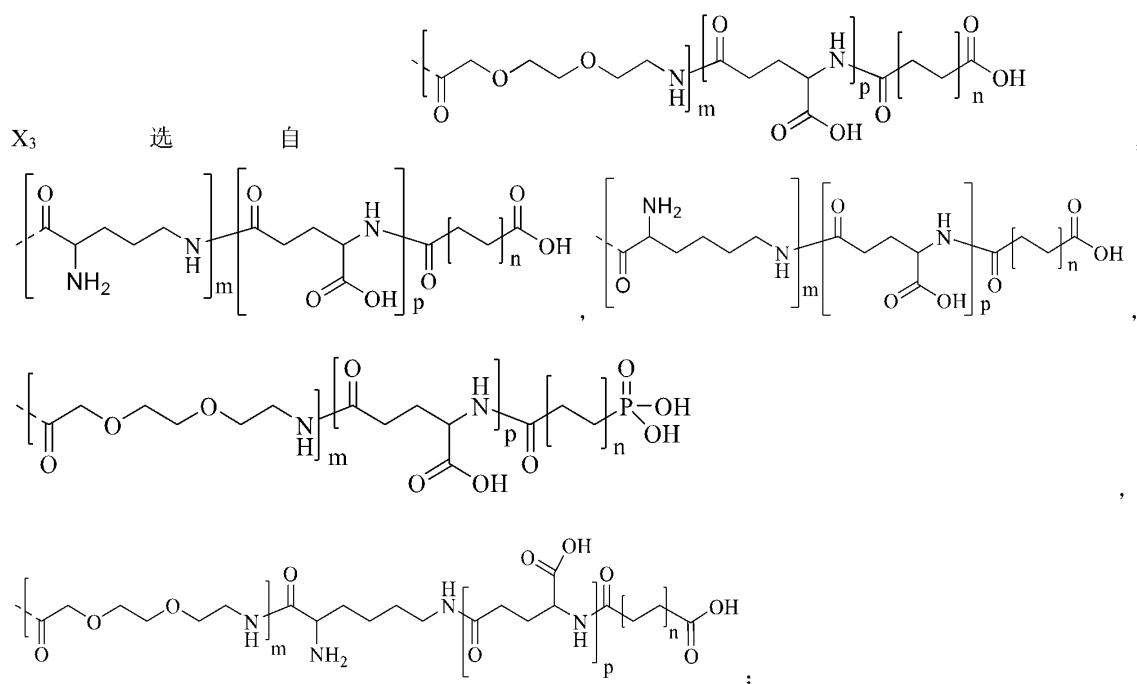
其中,



序列中的上标指代修饰的氨基酸单元结构, 上标编号相同的氨基酸指代通过修饰基团连接形成类似“订书钉”结构的修饰基团, 如上述序列中 ¹K 和 ¹E 表示修饰的赖氨酸及谷氨酸, 且二者通过修饰基团相连 (K-E 修饰); 又如上述序列中 ¹K 和 ¹K 表示修饰的赖氨酸, 且二者通过修饰基团相连 (K-K 修饰); 又如上述序列中 ¹K 和 ¹X₄ 表示修饰的赖氨酸和 X₄, 且二者通过修饰基团相连 (K-X₄ 修饰);

所述修饰为两个氨基酸单元结构侧链上的氨基或羧基与  缩合相连;



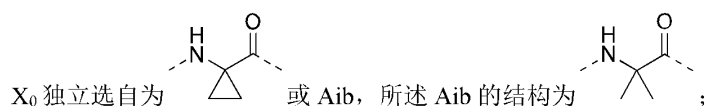


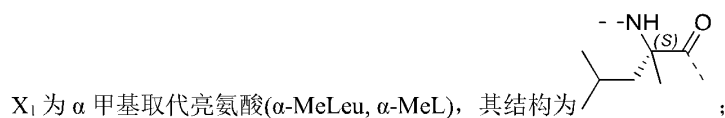
m 选自 1、2 或 3；p 选自 1 或 2；n 选自 8、9 或 10。

本发明还提供系列多肽的序列如下所示：

YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ AFIE¹K LL¹EGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ AFI¹KW LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQX₀ ¹KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 HX₀HGT FTSDY SIYLE KKYAX₀ EFV¹KW LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 HX₀HGT FTSDY SIYLE K¹KYAX₀ ¹KFVQW LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ AFIQ¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD ¹KQA¹QX₀ AFIE²K LL²KGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KEAQX₀AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 HX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKYQX₀ AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LE KKAQX₀ AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 HX₀HGT FTSDY SIYLE KKYAX₀ EFVQ¹E LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ AFIE¹E LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ AFI¹EW LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂

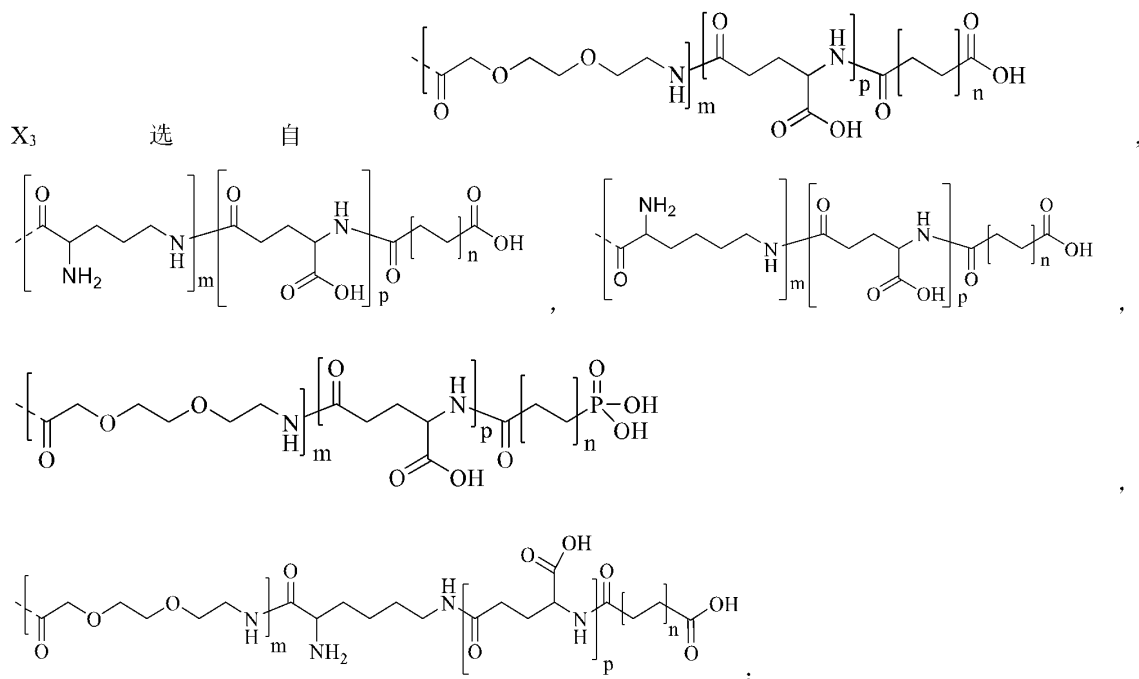
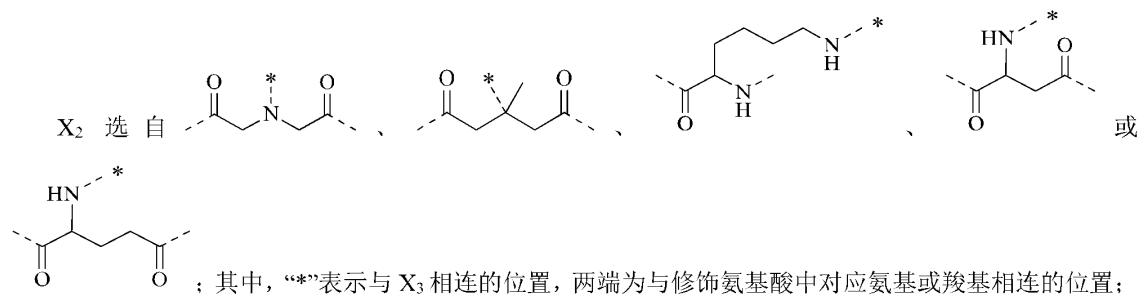
其中，





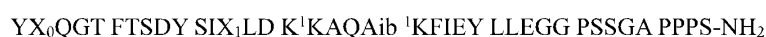
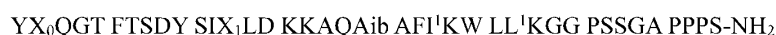
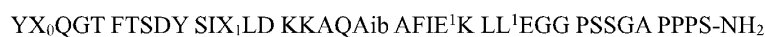
序列中的上标指代修饰的氨基酸单元结构, 上标编号相同的氨基酸指代通过修饰基团连接形成类似“订书钉”结构的修饰基团, 如上述序列中 1K 和 1E 表示修饰的赖氨酸及谷氨酸, 且二者通过修饰基团相连 ($K-E$ 修饰); 又如上述序列中 1K 和 1K 表示修饰的赖氨酸, 且二者通过修饰基团相连 ($K-K$ 修饰)。

所述修饰为两个氨基酸单元结构侧链上的氨基或羧基与 $X_2 \cdot X_3$ 缩合相连;



m 选自 1、2 或 3; p 选自 1 或 2; n 选自 8、9 或 10。

在本发明的一些方案中, 所述带有修饰结构的多肽, 其肽链序列如下所示:



HX₀HGT FTSDY SIYLE KKYAAib EFV¹KW LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
HX₀HGT FTSDY SIYLE K¹KYAAib ¹KFVQW LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib AFIQ¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD ¹KQA¹QAib AFIE²K LL²KGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KEAQAib AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
HX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKYQAib AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁LE KKAQAib AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
HX₀HGT FTSDY SIYLE KKYAAib EFVQ¹E LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib AFIE¹E LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib AFI¹EW LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述带有修饰结构的多肽，其肽链序列如下所示：

YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQAib ¹KFIEF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQAib ¹EFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQAib AFI¹KY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQAib ¹KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKA¹KAib AFI¹KY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib ¹KFIEY LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQA ¹X₄FIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQAib ¹X₄FIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQAib ¹X₄FIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂

其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述带有修饰结构的多肽，其肽链序列如下所示：

YX₀QGT FTSDY SIX₁¹KD K¹KAQAib AFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂

其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述带有修饰结构的多肽，其肽链序列如下任一所示：

YX₀QGT FTSDY SIX₁¹KD K¹KAQAib EFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁¹KD K¹KAQAib AFIEY LLKGG PSSGA PPPS-NH₂

其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述带有修饰结构的多肽，其 X₀ 全部为 Aib，X₁ 为 α-MeL，即其肽链序列如下任一所示：

YAibQGT FTSDY SIX₁¹KD K¹KAQAib EFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
YAibQGT FTSDY SIX₁¹KD K¹KAQAib AFIEY LLKGG PSSGA PPPS-NH₂

其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述带有修饰结构的多肽，其 X₀ 全部为 Aib，X₁ 为 α-MeL，即：其肽链序列

如下所示:

YAibQGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib AFIE¹K LL¹EGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 3)
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib AFI¹KW LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 2)
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KQAib ¹KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 1)
 HAibHGT FTSDY SIYLE KKYAAib EFV¹KW LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 4)
 HAibHGT FTSDY SIYLE K¹KYAAib ¹KFVQW LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 5)
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib AFIQ¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 6)
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD ¹KQA¹QAib AFIE²K LL²KGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 7)
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD KEAQAib AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 8)
 HAibQGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 9)
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD KKYQAib AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 10)
 YAibQGT FTSDY SIX₁LE KKAQAib AFIE¹K LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 11)
 HAibHGT FTSDY SIYLE KKYAAib EFVQ¹E LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 12)
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib AFIE¹E LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 13)
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib AFI¹EW LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 14)

其他变量如本发明所定义。

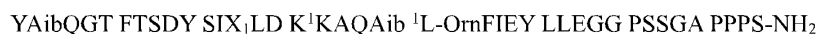
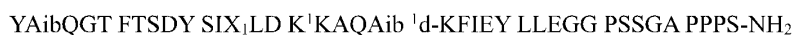
在本发明的一些方案中, 所述带有修饰结构的多肽, 其 X₀ 全部为 Aib, 其肽链序列如下所示:

YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KQAib ¹KFIEF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KQAib ¹EFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KQAib AFI¹KY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KQAib ¹KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD KKA¹Kaib AFI¹KY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib ¹KFIEY LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KQA ¹X₁KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KQAib ¹X₄FIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KQAib ¹X₄FIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂

其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述带有修饰结构的多肽, X₁ 为 α-MeL, 其肽链序列如下所示:

YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KQAib ¹KFIEF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KQAib ¹EFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KQAib AFI¹KY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KQAib ¹KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD KKA¹Kaib AFI¹KY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib ¹KFIEY LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
 YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KQA ¹α-MeKFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂



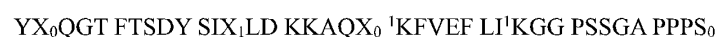
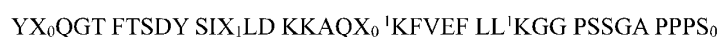
其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述带有修饰结构的多肽, 其 X_0 全部为 Aib, 其肽链序列如下所示:



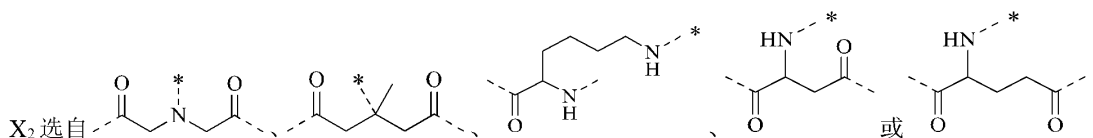
其他变量如本发明所定义。

本发明还提供系列带有修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐:

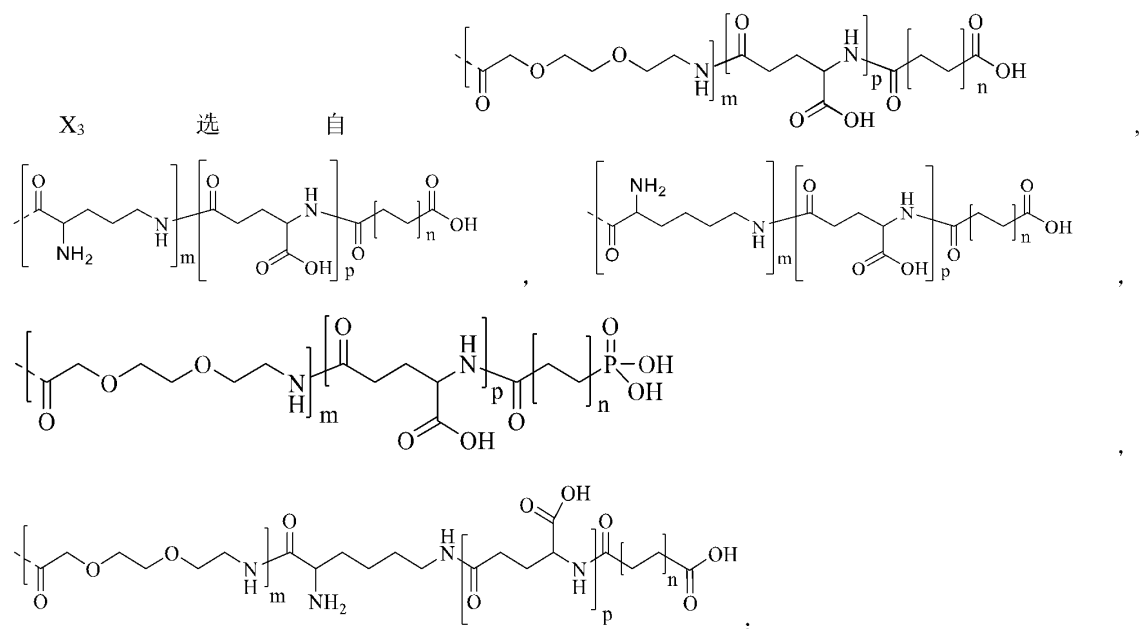


且所述化合物具有以下修饰：

所述修饰为两个氨基酸单元结构侧链上的氨基或羧基与 $X_2 \cdot X_3$ 缩合相连;



其中，“*”表示与 X_3 相连的位置，两端为与修饰氨基酸中对应氨基或羧基相连的位置；



m 选自 1、2 或 3; p 选自 1、2; n 选自 8、9 或 10, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述带有修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐，其肽链序列如下所示：

YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ ¹KFVEF LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ ¹KFVEF LI¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQX₀ ¹KFIEF LLKGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQX₀ ¹KFIKF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
YX₀QGT FTSDY S¹KX₁LD ¹KKAQX₀ KFIEF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂

，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述带有修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐，其中部分 X₀ 为 Aib，即其肽链序列如下所示：

YAibQGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ ¹KFVEF LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
YAibQGT FTSDY SIX₁LD KKAQX₀ ¹KFVEF LI¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQX₀ ¹KFIEF LLKGG PSSGA PPPS-NH₂
YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQX₀ ¹KFIKF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
YAibQGT FTSDY S¹KX₁LD ¹KKAQX₀ KFIEF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂

其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述带有修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐，其中 X₀ 全为 Aib，X₁ 为 α-MeL，即其肽链序列如下所示：

YAibQGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib ¹KFVEF LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
YAibQGT FTSDY SIX₁LD KKAQAib ¹KFVEF LI¹KGG PSSGA PPPS-NH₂
YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQAib ¹KFIEF LLKGG PSSGA PPPS-NH₂
YAibQGT FTSDY SIX₁LD K¹KAQAib ¹KFIKF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂
YAibQGT FTSDY S¹KX₁LD ¹KKAQAib KFIEF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂

其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述带有修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐，其肽链序列如下所示：

YX₀QGT FTSDY SIX₁¹KD K¹KAQX₀ AFIQY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂

，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述带有修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐，X₀ 部分为 Aib，其肽链序列如下所示：

YAibQGT FTSDY SIX₁¹KD K¹KAQX₀ AFIQY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂

，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述带有修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐，X₀ 全部为 Aib，X₁ 为 α-MeL，其肽链序列如下所示：

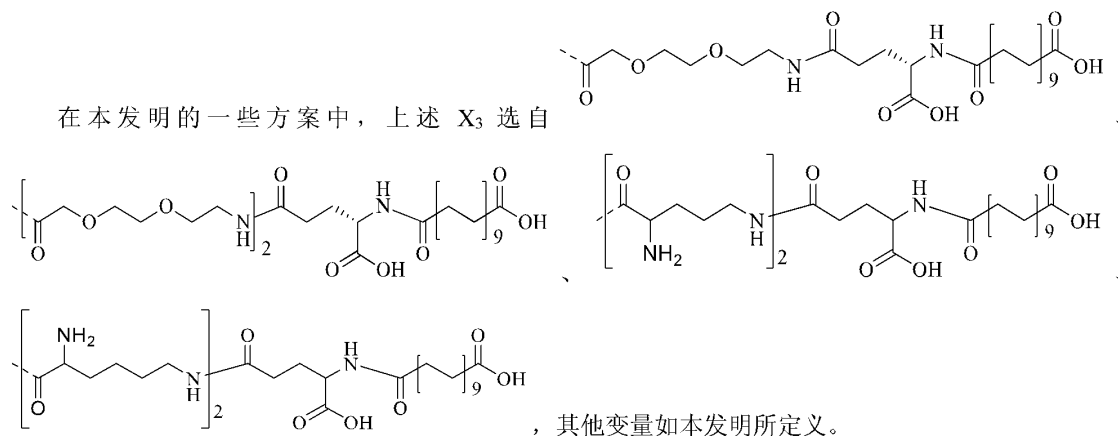
YAibQGT FTSDY SIX₁¹KD K¹KAQAib AFIQY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂

，其他变量如本发明所定义。

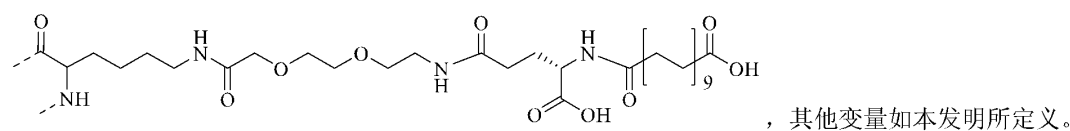
在本发明的一些方案中，上述 m 选自 1 或 2，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述 p 选自 1，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述 n 选自 9，其他变量如本发明所定义。



在本发明的一些方案中，上述结构单元 $X_2 \cdot X_3$ 为



在本发明的一些方案中，上述结构单元 $X_2 \cdot X_3$ 为

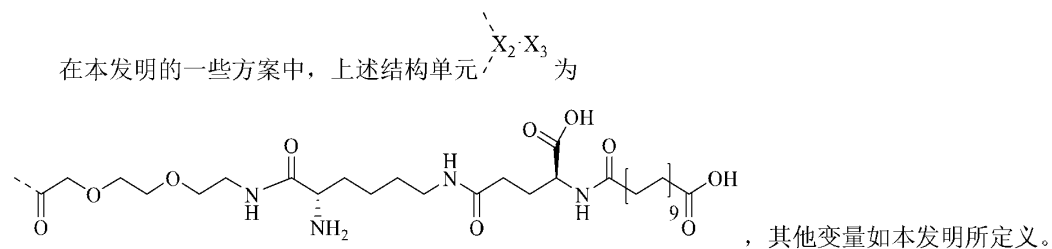
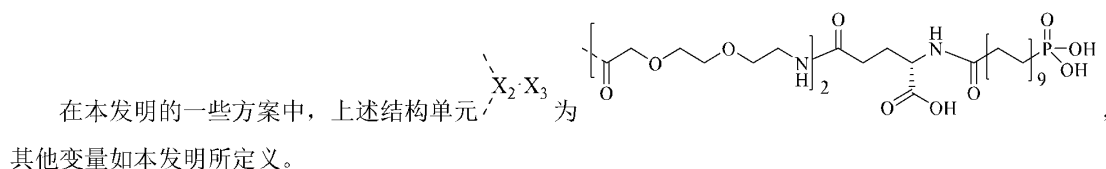
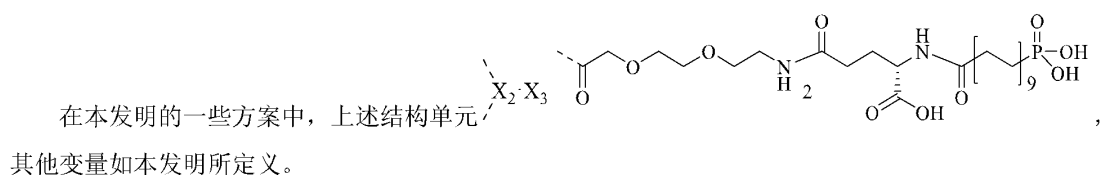
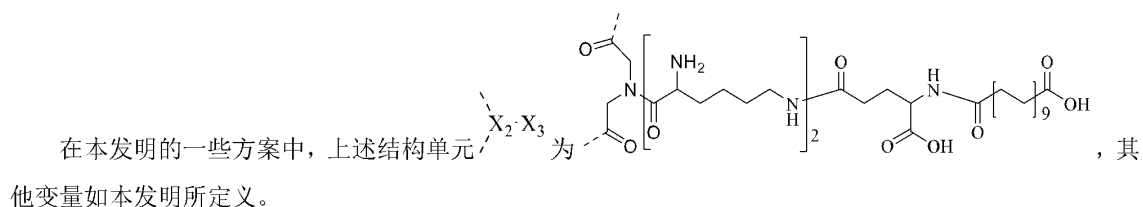
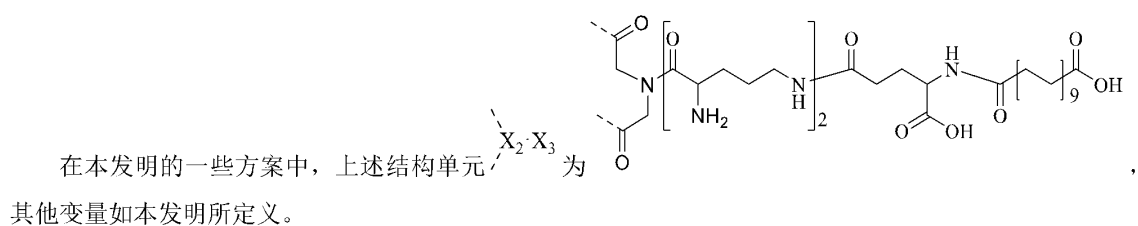
，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述结构单元 $X_2 \cdot X_3$ 为

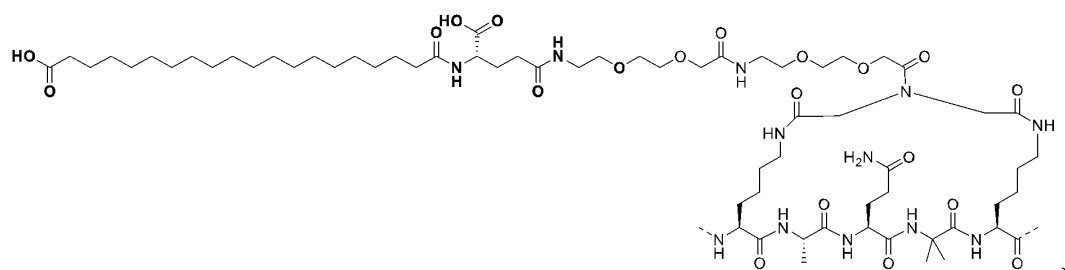
，其他变量如本发明所定义。

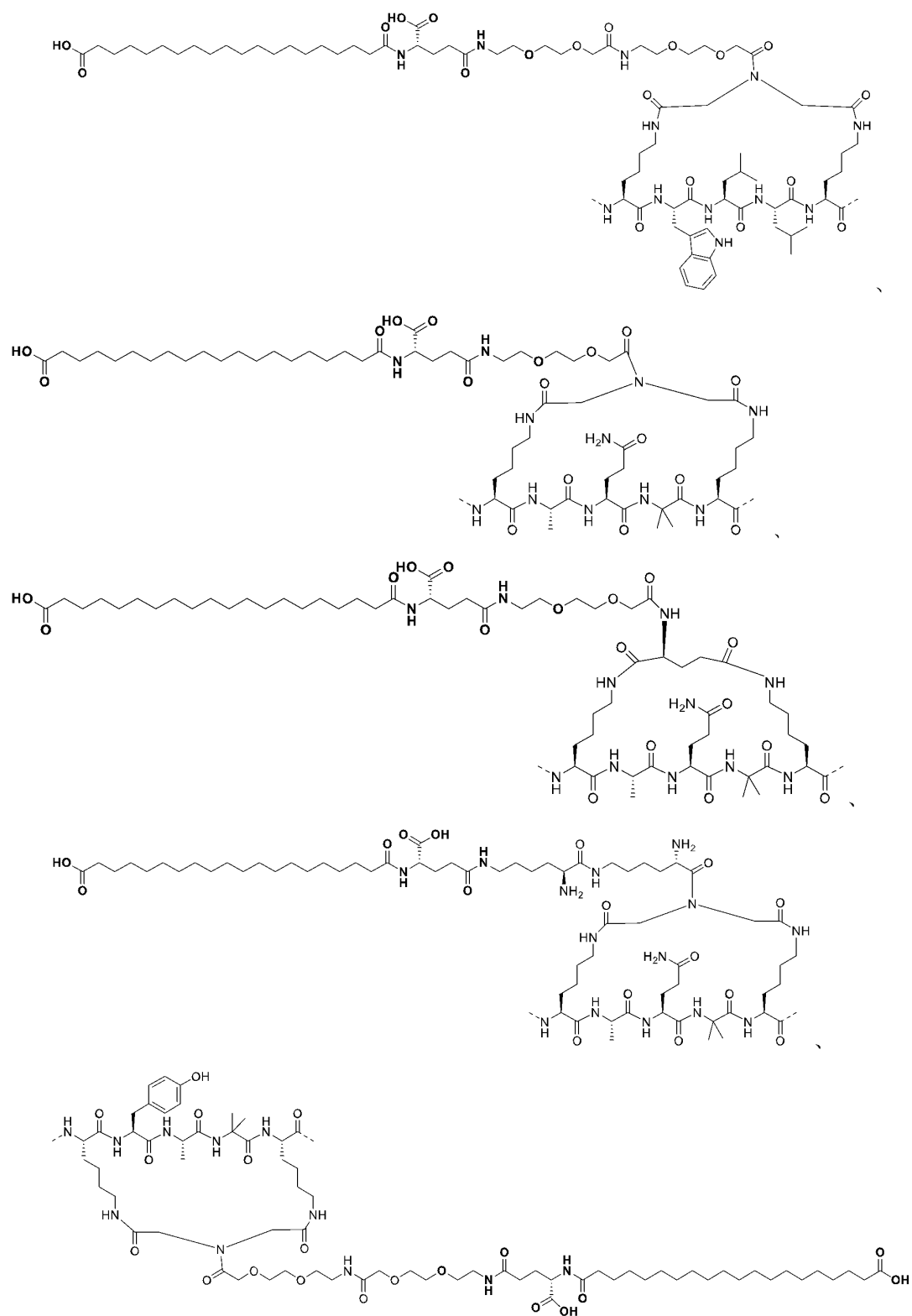
在本发明的一些方案中，上述结构单元 $X_2 \cdot X_3$ 为

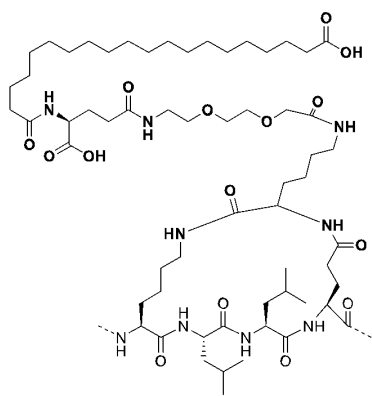
，其他变量如本发明所定义。



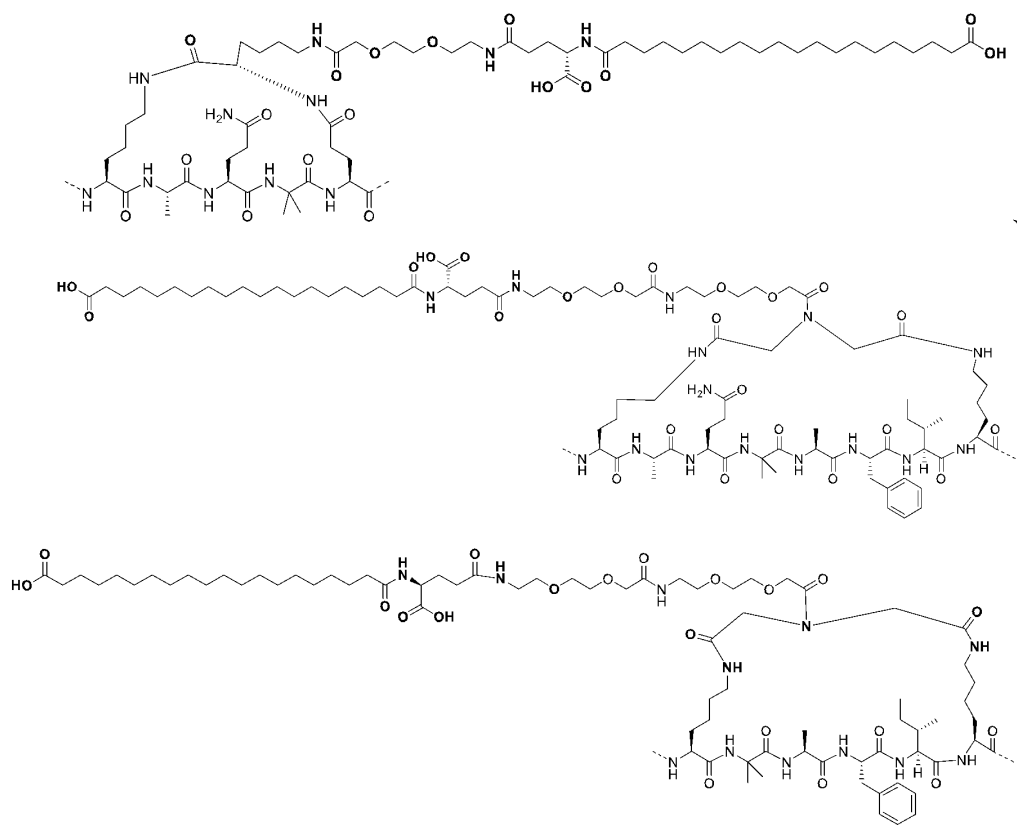
在本发明的一些方案中，上述带有修饰结构的多肽中“订书钉”结构（钉合体）为以下任一，其他变量如本发明所定义：

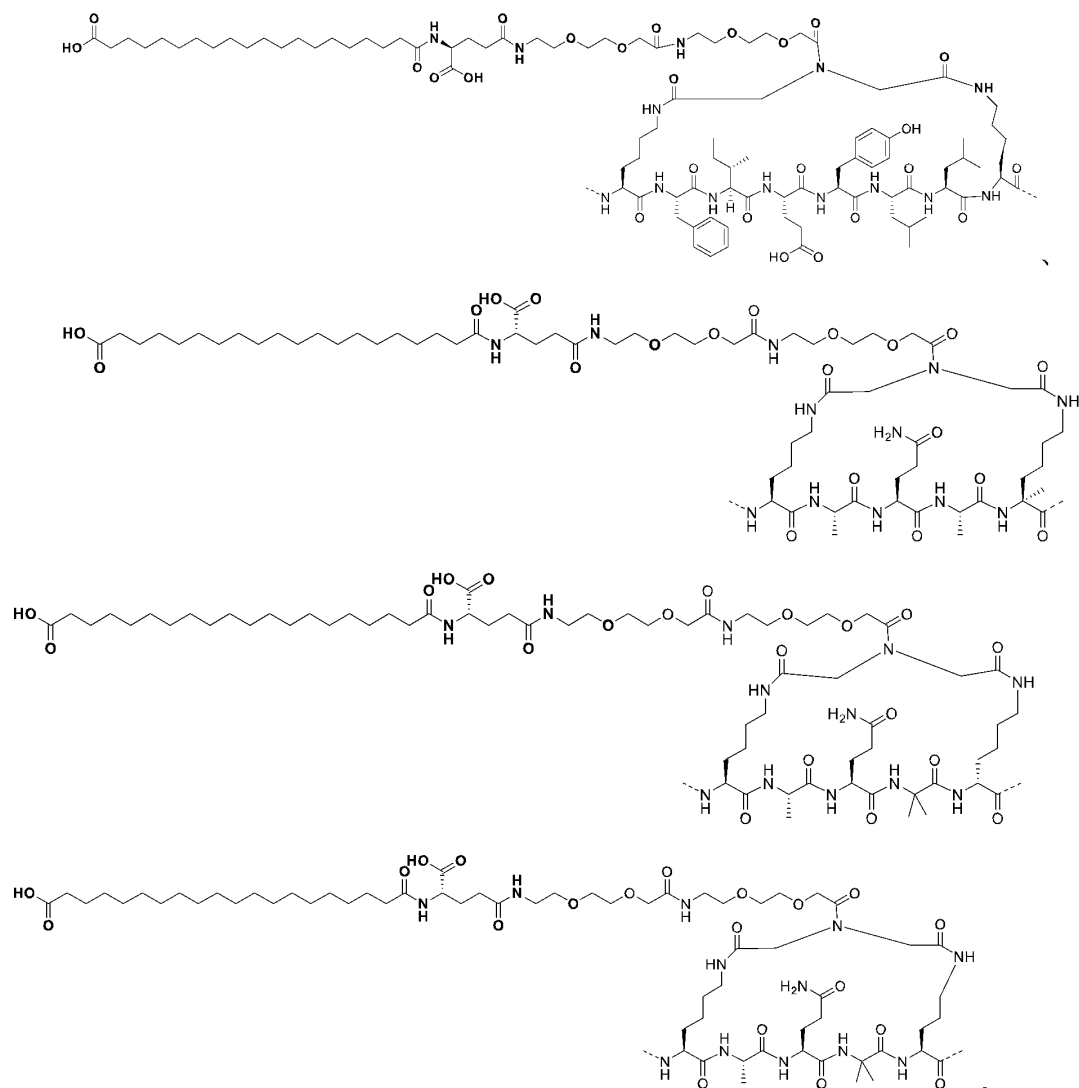




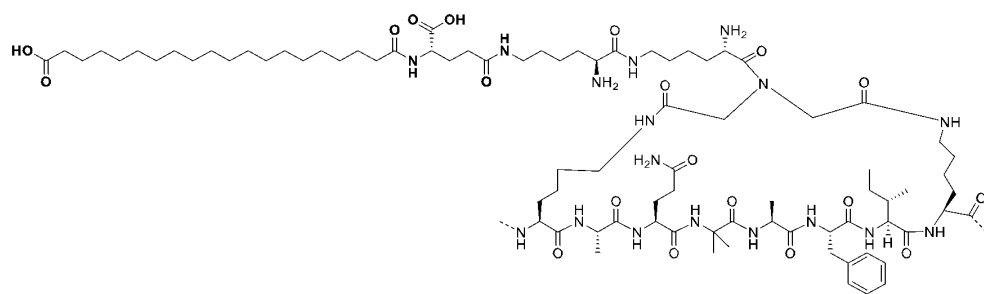


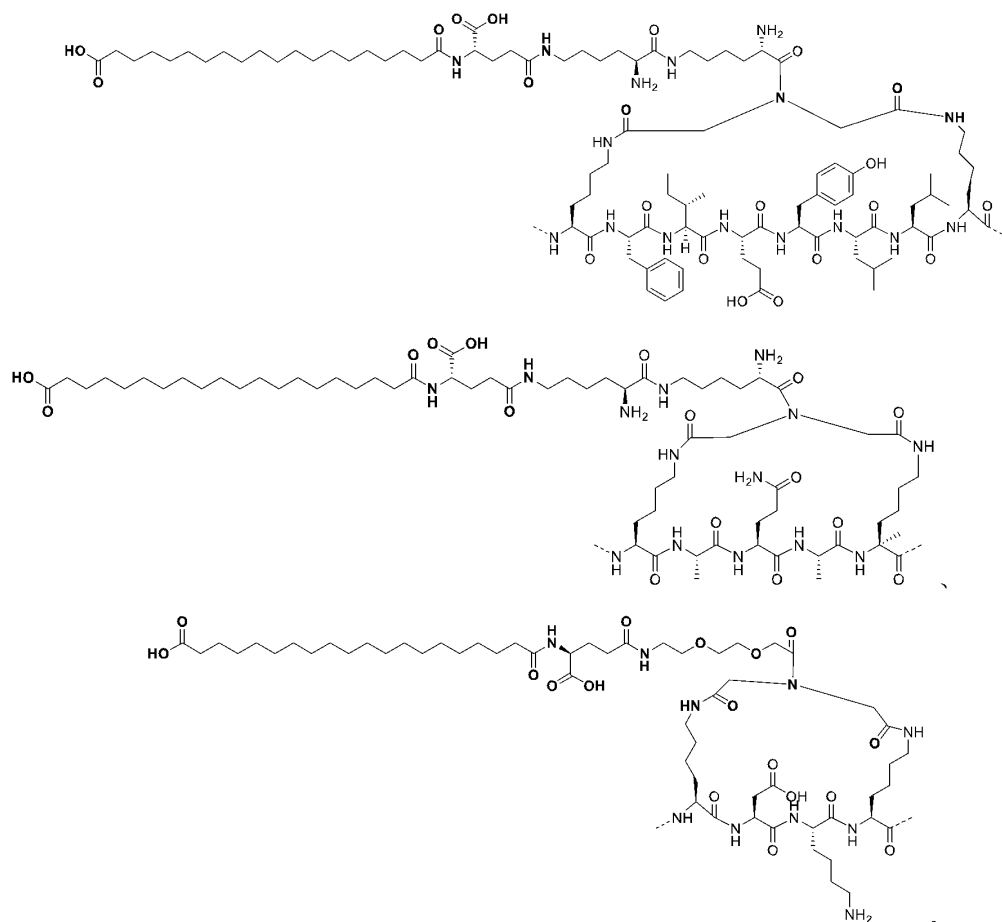
在本发明的一些方案中，上述带有修饰结构的多肽中“订书钉”结构（钉合体）为以下任一，其他变量如本发明所定义：



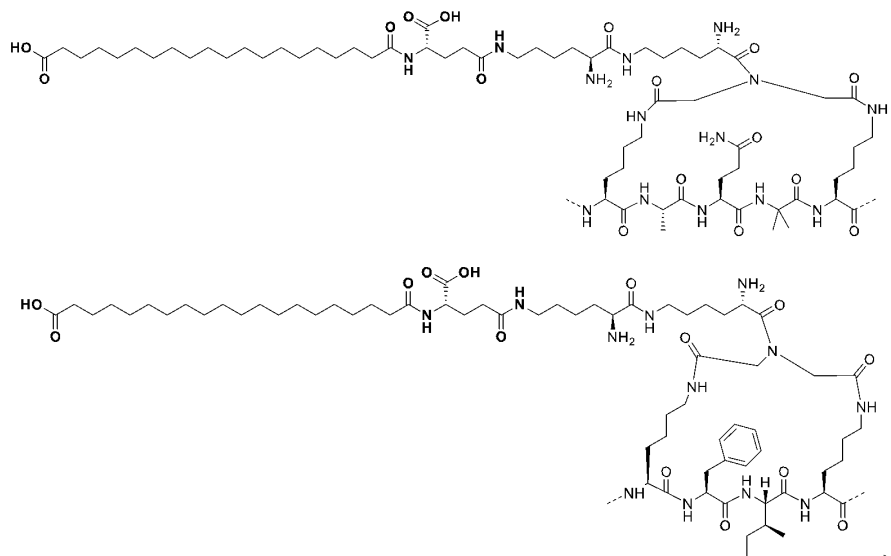


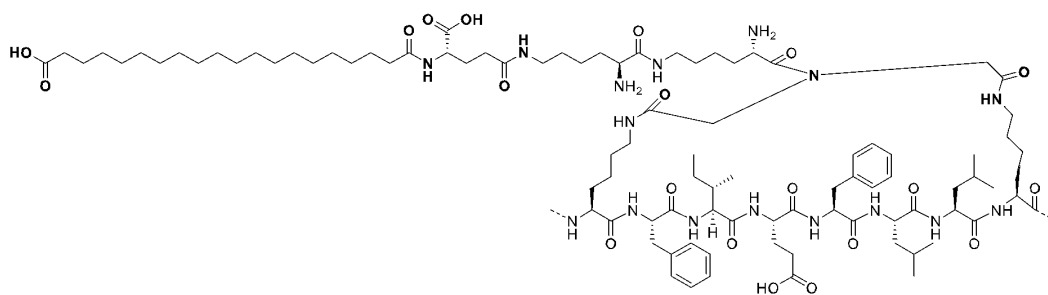
在本发明的一些方案中，上述带有修饰结构的多肽中“订书钉”结构（钉合体）为以下任一，其他变量如本发明所定义：



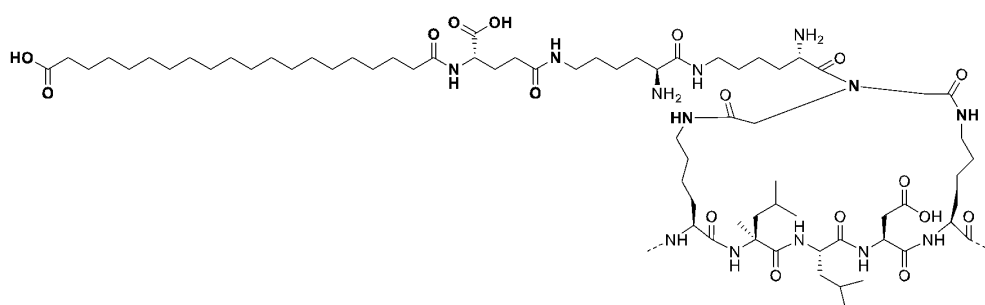


在本发明的一些方案中，上述带有修饰结构的多肽中“订书钉”结构（钉合体）为以下任一，其他变量如本发明所定义：

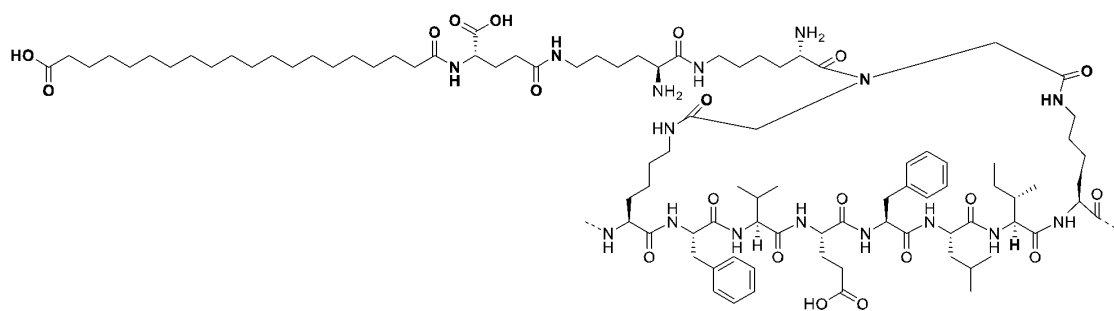
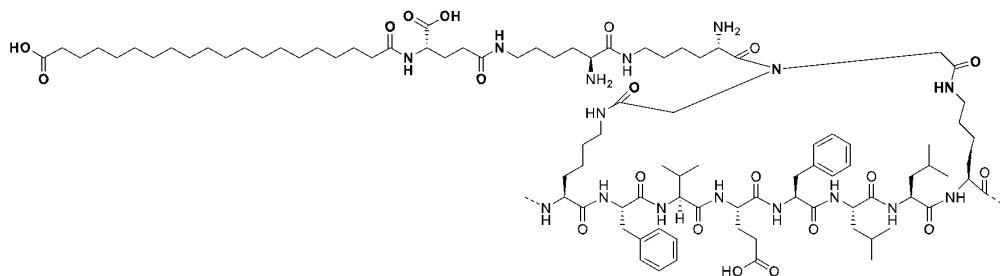


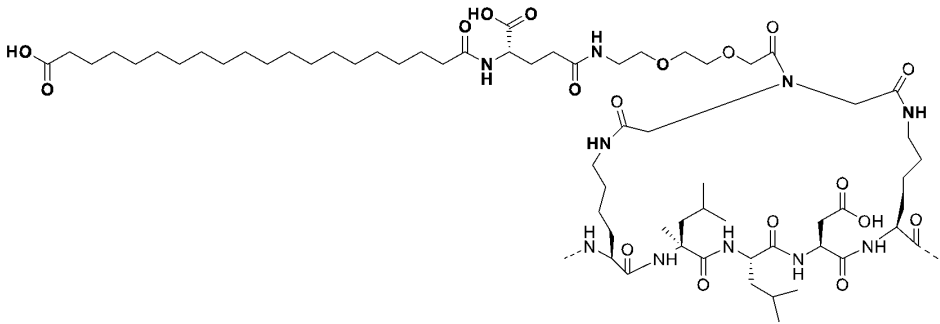


在本发明的一些方案中，上述带有修饰结构的多肽中“订书钉”结构（钉合体）为以下任一，其他变量如本发明所定义：

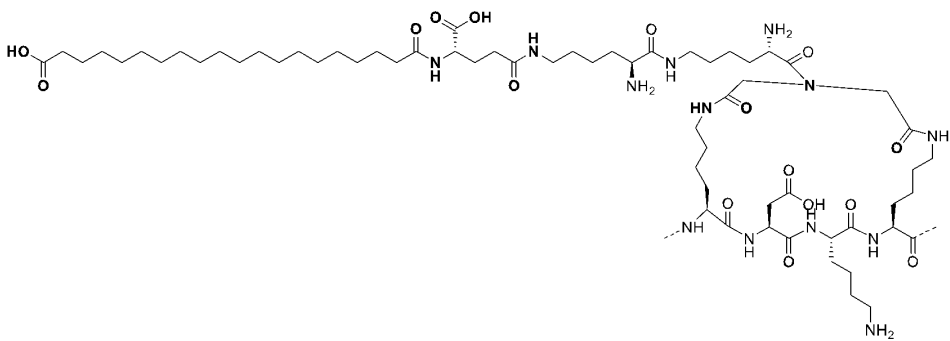


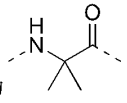
在本发明的一些方案中，上述带有修饰结构的多肽中“订书钉”结构（钉合体）为以下任一，其他变量如本发明所定义：





在本发明的一些方案中，上述带有修饰结构的多肽中“订书钉”结构（钉合体）如下所示，其他变量如本发明所定义：



本发明的一些具体方案，带有修饰结构的多肽结构如下表 1 所示，所述 Aib 的结构为 ；所

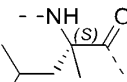
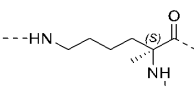
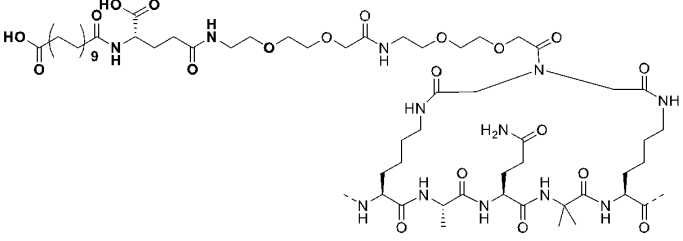
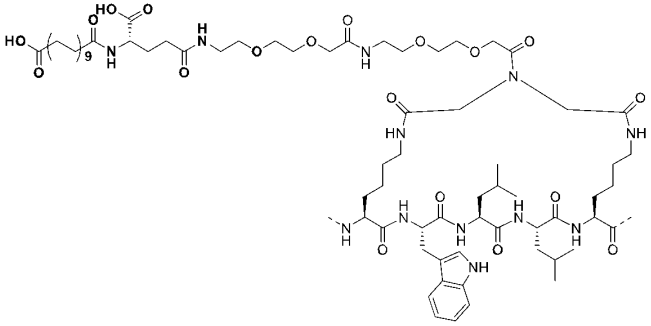
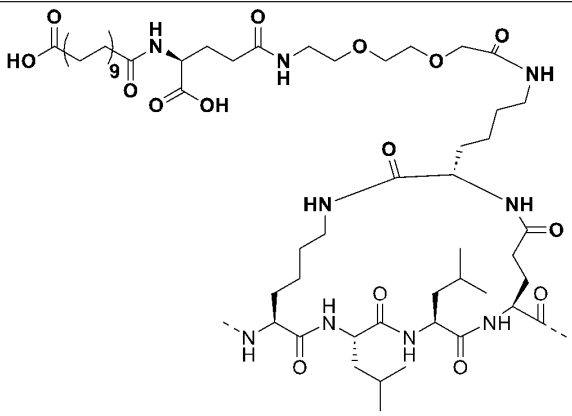
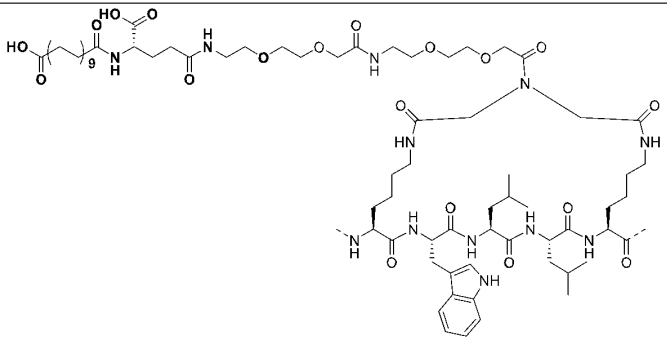
述 α -MeL 为 α 甲基取代亮氨酸，其结构为 ；所述 α -MeK 为 α 甲基取代赖氨酸，其结构为 ；其他变量如本发明所定义，例如序列中的上标指代修饰的氨基酸单元结构，上标编号相同的氨基酸指代通过修饰基团连接形成类似“订书钉”结构的修饰基团等。

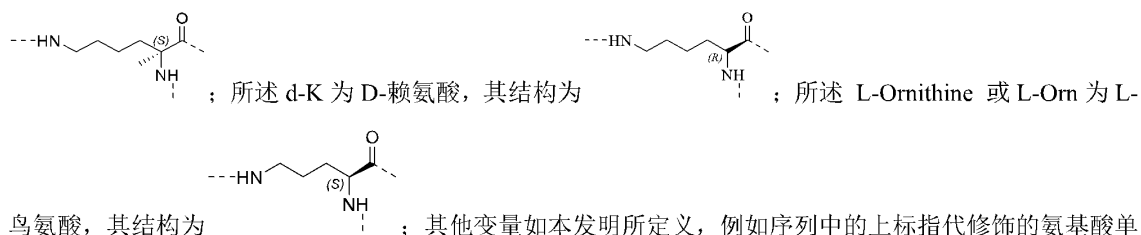
表 1 带有修饰结构的多肽

实施例/ 化合物	多肽序列	钉合体结构
-------------	------	-------

1	YAibQGT FTSDY SIα- MeLLD K¹KAQAib ¹KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 1) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	
2	YAibQGT FTSDY SIα- MeLLD KKAQAib AFI¹KW LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 2) 即: i 和 i+j 为 24 和 28	
3	YAibQGT FTSDY SIα- MeLLD KKAQAib AFIE¹K LL¹EGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 3) 即: i 和 i+j 为 25 和 28	
4	HAibHGT FTSDY SIYLE KKYAAib EFV¹KW LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 4) 即: i 和 i+j 为 24 和 28	

5	HAibHGT FTSDY SIYLE K ¹ KYAAib ¹ KFVQW LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 5) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	
6	YAibQGT FTSDY SIα- MeLLD K ¹ KAQAib ¹ KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 1) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	
7	YAibQGT FTSDY SIα- MeLLD K ¹ KAQAib ¹ KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 1) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	
8	YAibQGT FTSDY SIα- MeLLD K ¹ KAQAib ¹ KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 1) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	

本发明的一些具体方案, 带有修饰结构的多肽结构如下表 2 所示, 所述 Aib 的结构为 ; 所述 α-MeL 为 α 甲基取代亮氨酸, 其结构为 ; 所述 α-MeK 为 α 甲基取代赖氨酸, 其结构为



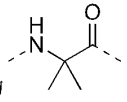
鸟氨酸，其结构为 ；其他变量如本发明所定义，例如序列中的上标指代修饰的氨基酸单元结构，上标编号相同的氨基酸指代通过修饰基团连接形成类似“订书钉”（钉合体）结构的修饰基团等。

表 2 带有修饰结构的多肽

实施例 /化合物	多肽序列	形成钉合体
9	YAibQGT FTSDY Sla- MeLLD K ¹ KAQAib ¹ KFIEF LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 15) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	
10	YAibQGT FTSDY Sla- MeLLD K ¹ KAQAib ¹ EFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 16) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	
11	YAibQGT FTSDY Sla- MeLLD K ¹ KAQAib AF ¹ KY LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 17) 即: i 和 i+j 为 17 和 24	

12	YAibQGT FTSDY SIα-MeLLD K¹KAQAib ¹KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 18) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	
13	YAibQGT FTSDY SIα-MeLLD KKA¹KAib AFI¹KY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 19) 即: i 和 i+j 为 19 和 24	
14	YAibQGT FTSDY SIα-MeLLD KKAQAib ¹KFIEY LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 20) 即: i 和 i+j 为 21 和 28	
15	YAibQGT FTSDY SIα-MeLLD K¹KAQA ¹α-MeKFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 21) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	
16	YAibQGT FTSDY SIα-MeLLD K¹KAQAib ¹d-KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 22) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	

17	YAibQGT FTSDY SIα-MeLLD K ¹ KAQAib ¹ L-OrnFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 23) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	
----	---	--

本发明的一些具体方案，带有修饰结构的多肽结构如下表 3 所示，所述 Aib 的结构为 ；所

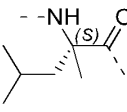
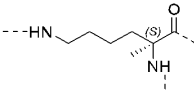
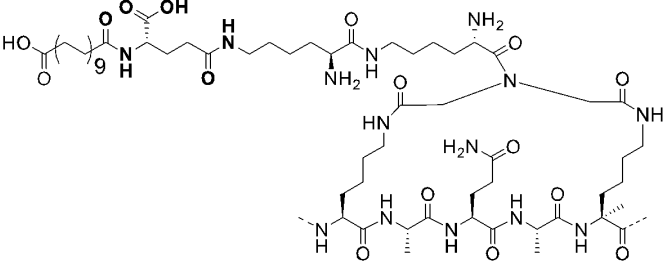
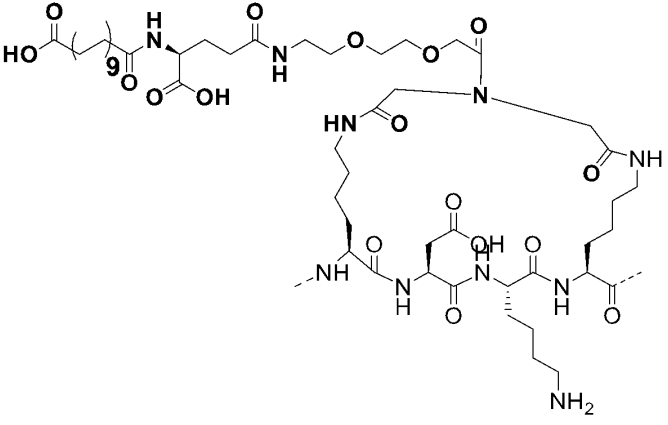
述 α-MeL 为 α 甲基取代亮氨酸，其结构为 ；所述 α-MeK 为 α 甲基取代赖氨酸，其结构为 ；其他变量如本发明所定义，例如序列中的上标指代修饰的氨基酸单元结构，上标编号相同的氨基酸指代通过修饰基团连接形成类似“订书钉”结构的修饰基团等。

表 3 带有修饰结构的多肽

实施例/ 化合物	多肽序列	钉合体结构
18	YAibQGT FTSDY SIα-MeLLD K ¹ KAQAib AFI ¹ KY LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 17) 即: i 和 i+j 为 17 和 24	
19	YAibQGT FTSDY SIα-MeLLD KKAQAib ¹ KFIEY LL ¹ KGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 20) 即: i 和 i+j 为 21 和 28	

20	YAibQGT FTSDY SI α - MeLLD K ¹ KAQA ¹ α - MeKFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 21) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	
21	YAibQGT FTSDY SI α - MeL ¹ KD K ¹ KAQAib AFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 24) 即: i 和 i+j 为 14 和 17	

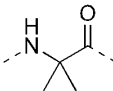
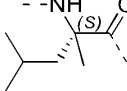
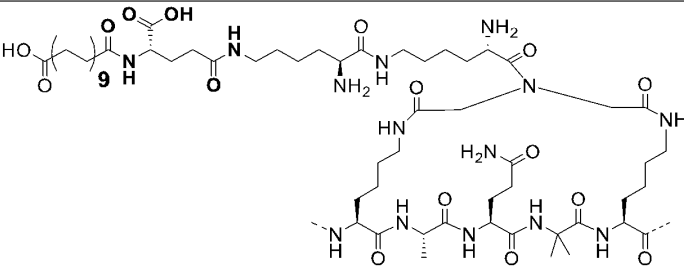
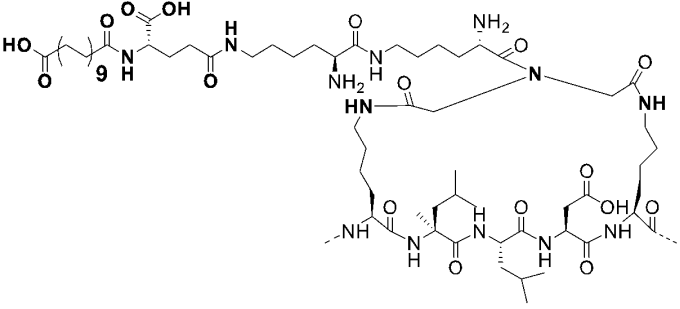
本发明的一些具体方案, X₁ 为 α -MeL, 带有修饰结构的多肽结构如下表 4 所示, 所述 Aib 的结构为 ; 所述 α -MeL 为 α 甲基取代亮氨酸, 其结构为 ; 其他变量如本发明所定义, 例如序列中的上标指代修饰的氨基酸单元结构, 上标编号相同的氨基酸指代通过修饰基团连接形成类似“订书钉”结构的修饰基团等。

表 4 带有修饰结构的多肽

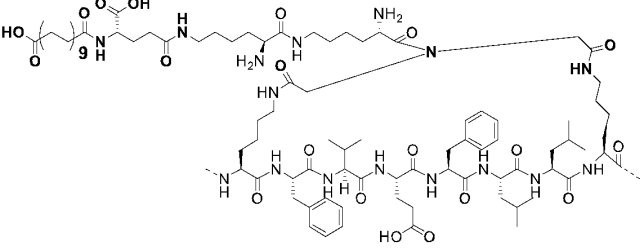
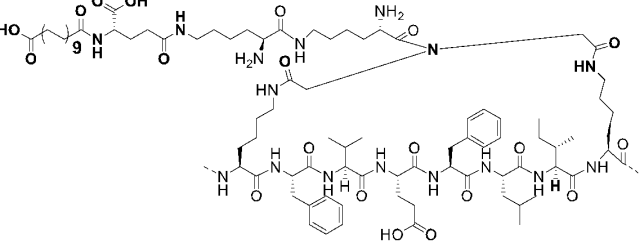
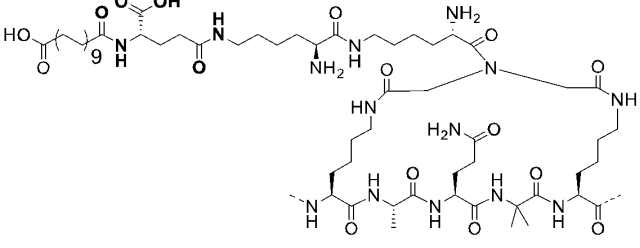
实施例/ 化合物	多肽序列	钉合体结构
22	YAibQGT FTSDY SI α - MeLLD K ¹ KAQAib ¹ KFIEF LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 25) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	

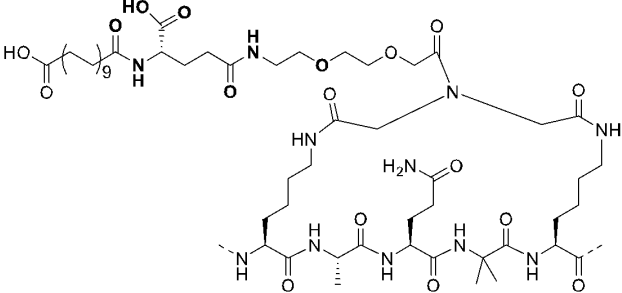
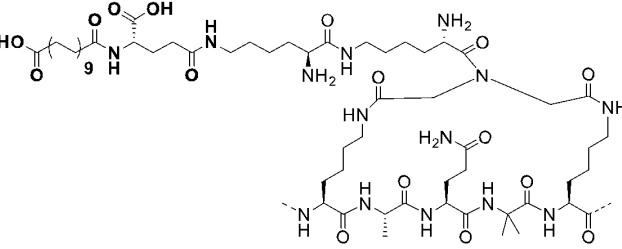
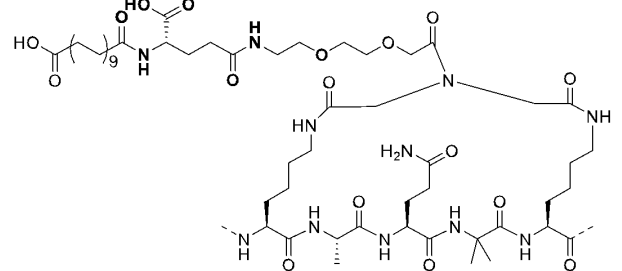
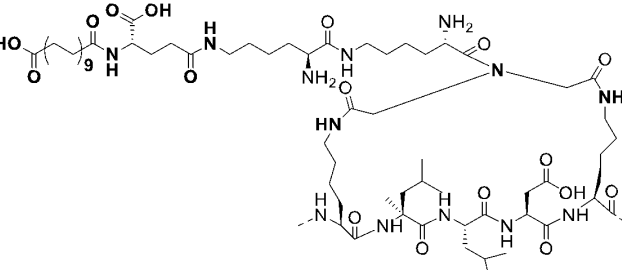
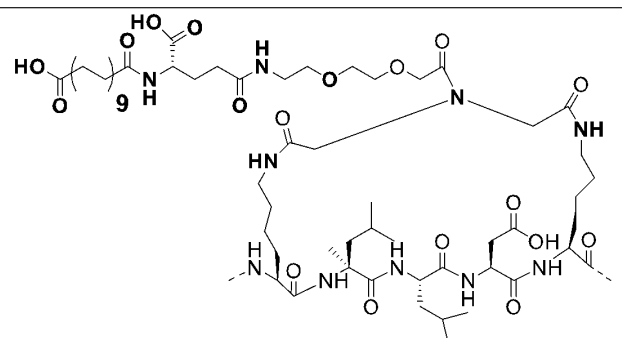
23	YAibQGT FTSDY SIα-MeLLD K¹KAQAib¹KFIEF LIEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 26) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	
24	YAibQGT FTSDY SIα-MeLLD K¹KAQAib¹KFVEF LIEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 27) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	
25	YAibQGT FTSDY SIα-MeLLD KKAQAib¹AFIE¹K FI¹KGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 28) 即: i 和 i+j 为 25 和 28	
26	YAibQGT FTSDY SIα-MeLLD KKAQAib¹KFIEF LL¹KGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 29) 即: i 和 i+j 为 21 和 28	
27	YAibQGT FTSDY SIAibLD K¹KAQAib¹KFIEF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 30) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	

28	YAibQGT FTSDY S ¹ Kα-MeLLD ¹ KKAQAib AFIEF LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 31) 即: i 和 i+j 为 12 和 16	
----	--	--

本发明的一些具体方案，X₁ 为 α-MeL，带有修饰结构的多肽结构如下表 5 所示：

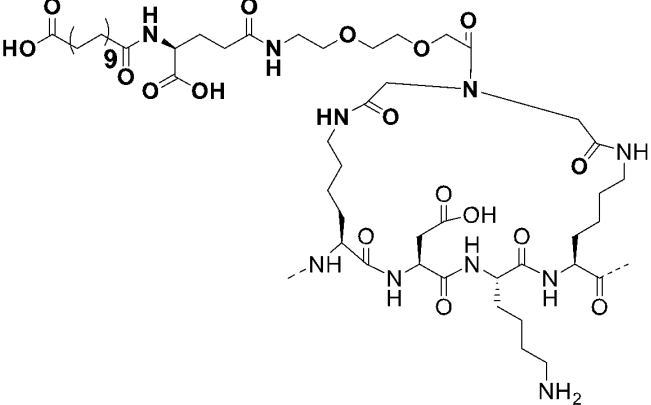
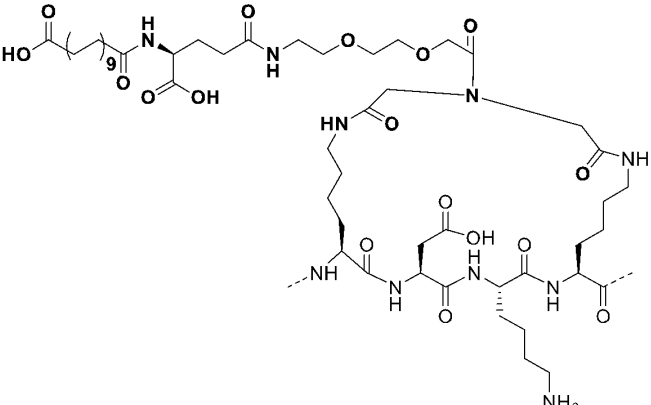
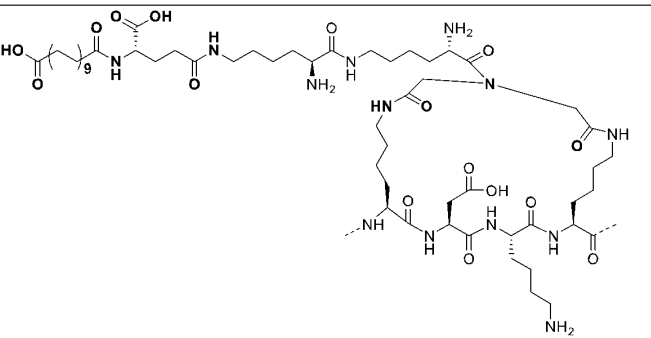
表 5 带有修饰结构的多肽

实施例/ 化合物	多肽序列	钌合体结构
29	YAibQGT FTSDY SIα-MeLLD KKAQAib ¹ KFVEF LL ¹ KGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 32) 即: i 和 i+j 为 21 和 28	
30	YAibQGT FTSDY SIα-MeLLD KKAQAib ¹ KFVEF LI ¹ KGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 33) 即: i 和 i+j 为 21 和 28	
31	YAibQGT FTSDY SIα-MeLLD K ¹ KKAQAib ¹ KFIEF LLKGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 34) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	

32	YAibQGT FTSDY SIα- MeLLD K¹KAQAib ¹KFIEF LLKGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 34) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	
33	YAibQGT FTSDY SIα- MeLLD K¹KAQAib ¹KFIKF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 35) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	
34	YAibQGT FTSDY SIα- MeLLD K¹KAQAib ¹KFIKF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 35) 即: i 和 i+j 为 17 和 21	
35	YAibQGT FTSDY S¹Kα- MeLLD ¹KKAQAib KFIEF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 36) 即: i 和 i+j 为 12 和 16	
36	YAibQGT FTSDY S¹Kα- MeLLD ¹KKAQAib KFIEF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 36) 即: i 和 i+j 为 12 和 16	

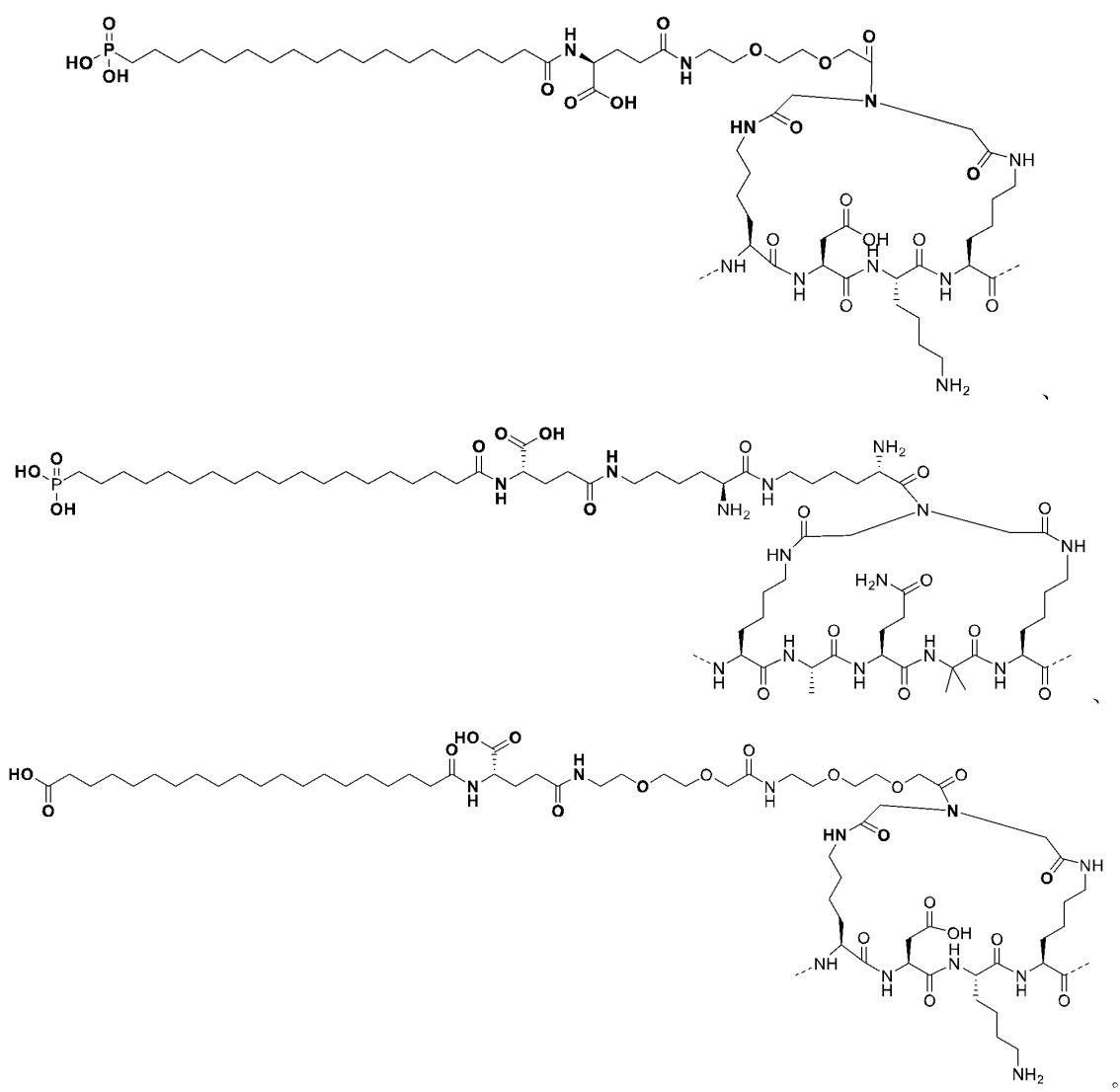
本发明的一些具体方案，X₁为α-MeL，带有修饰结构的多肽结构如下表6所示：

表6 带有修饰结构的多肽

实施例/ 化合物	多肽序列	钉合体结构
37	YAibQGT FTSDY SIα- MeL ¹ KD K ¹ KAQAib EFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 37) 即：i 和 i+j 为 14 和 17	
38	YAibQGT FTSDY SIα- MeL ¹ KD K ¹ KAQAib AFIEY LLKGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 38) 即：i 和 i+j 为 14 和 17	
39	YAibQGT FTSDY SIα- MeL ¹ KD K ¹ KAQAib AFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 24) 即：i 和 i+j 为 14 和 17	

40	YAibQGT FTSDY SI α - MeL ¹ KD K ¹ KAQAib EFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 37) 即: i 和 i+j 为 14 和 17	
41	YAibQGT FTSDY SI α - MeL ¹ KD K ¹ KAQAib AFIEY LLKGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 38) 即: i 和 i+j 为 14 和 17	
42	YAibQGT FTSDY SI α - MeL ¹ KD K ¹ KAQAib AFIQY LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 39) 即: i 和 i+j 为 14 和 17	

在本发明的一些方案中，上述带有修饰结构的多肽中“订书钉”结构（钉合体）如下所示，其他变量如本发明所定义：



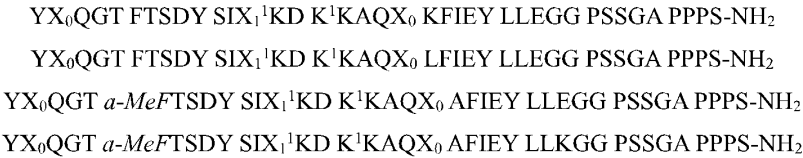
本发明的一些具体方案，X₁ 为 α -MeL，带有修饰结构的多肽结构如下表 7 所示：

表 7 带有修饰结构的多肽

实施例/ 化合物	多肽序列	钉合体结构
-------------	------	-------

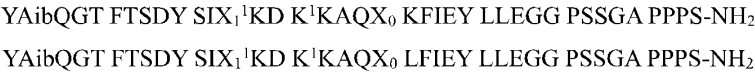
43	YAibQGT FTSDY SIα- MeL¹KD K¹KAQAib AFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 24) 即 i 和 i+j 为 14 和 17	
44	YAibQGT FTSDY SIα- MeLD K¹KAQAib ¹KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 1) 即 i 和 i+j 为 17 和 21	
45	YAibQGT FTSDY SIα- MeL¹KD K¹KAQAib AFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 24) 即 i 和 i+j 为 14 和 17	

在本发明的一些方案中，所述带有修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐，其肽链序列如下所示：



，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述带有修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐，X₀ 部分为 Aib，其肽链序列如下所示：





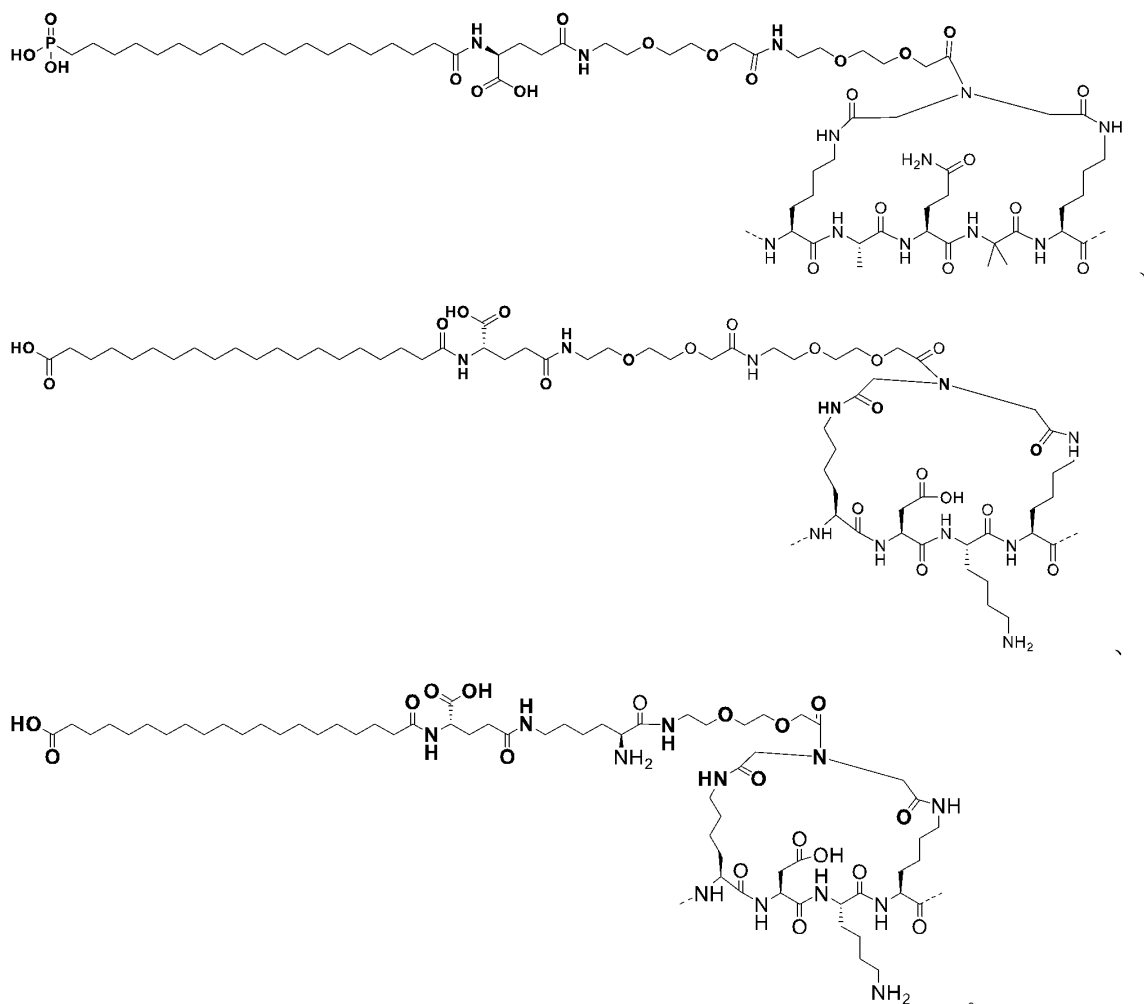
，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述带有修饰结构的多肽或其药学上可接受的盐，X₀ 全部为 Aib，X₁ 为 α -MeL，其肽链序列如下所示：



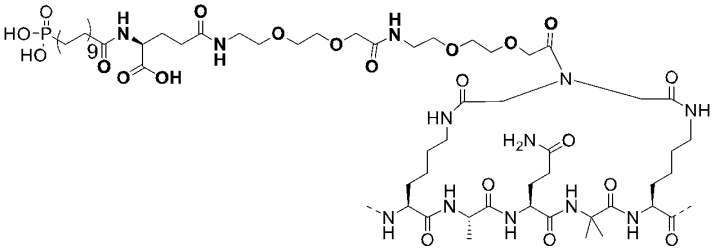
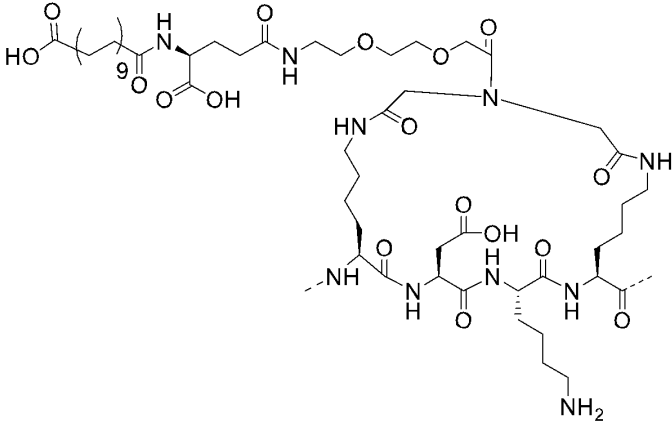
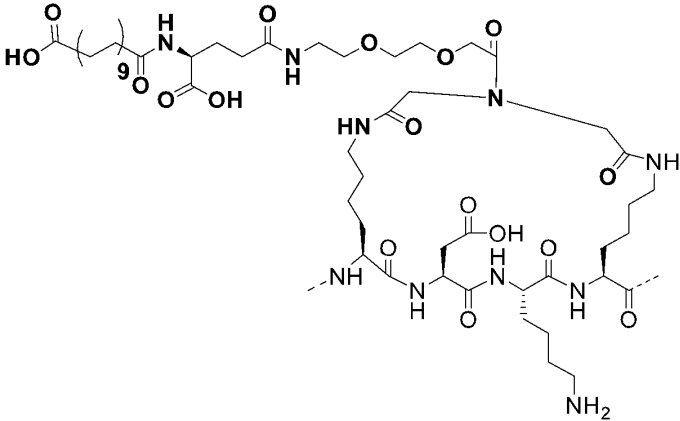
，其他变量如本发明所定义。

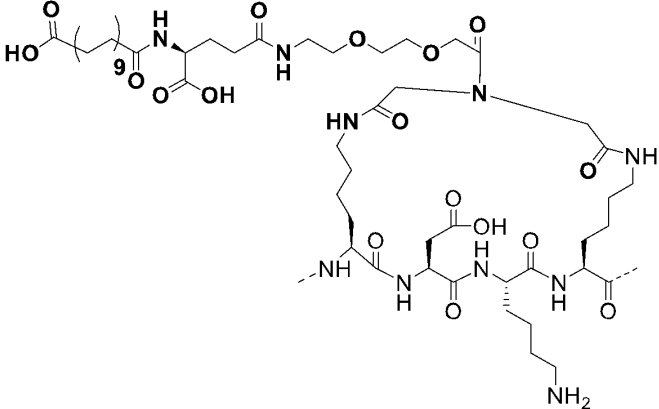
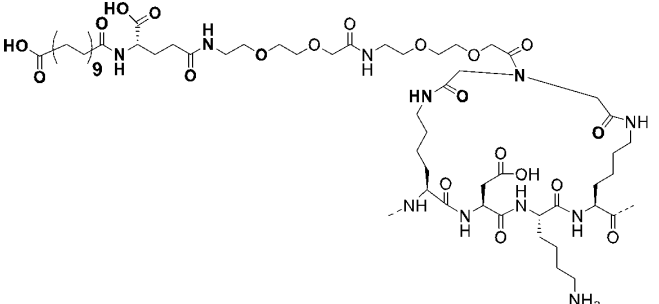
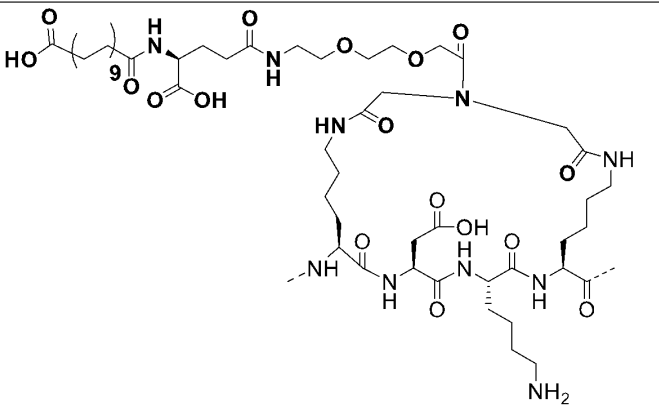
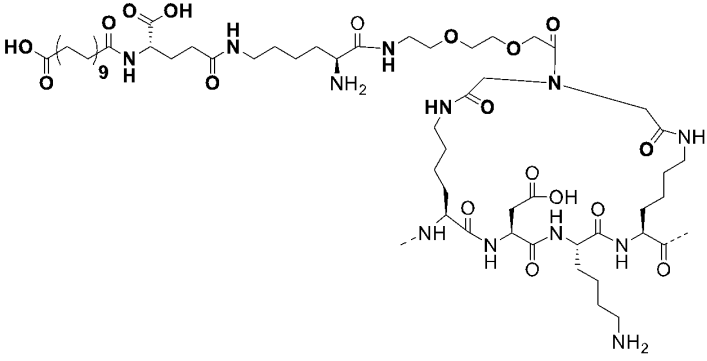
在本发明的一些方案中，上述带有修饰结构的多肽中“订书钉”结构（钉合体）如下所示，其他变量如本发明所定义：



本发明的一些具体方案，带有修饰结构的多肽化合物结构如下表 8 所示：

表 8 带有修饰结构的多肽

实施 例/化 合物	多肽序列	钉合体结构
46	YAibQGT FTSDY SI α - MeLLD K ¹ KAQAib ¹ KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 1) 即 i 和 i+j 为 17 和 21	
47	YAibQGT FTSDY SI α - MeL ¹ KD K ¹ KAQAib KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 40) 即 i 和 i+j 为 14 和 17	
48	YAibQGT FTSDY SI α - MeL ¹ KD K ¹ KAQAib LFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH ₂ (SEQ ID NO: 41) 即 i 和 i+j 为 14 和 17	

49	YAibQGT <i>a-Me</i>FTSDY SIα-MeL¹KD K¹KAQAib AFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 42) 即 i 和 i+j 为 14 和 17	
50	YAibQGT <i>a-Me</i>FTSDY SIα-MeL¹KD K¹KAQAib AFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 42) 即 i 和 i+j 为 14 和 17	
51	YAibQGT <i>a-Me</i>FTSDY SIα-MeL¹KD K¹KAQAib AFIEY LLKGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 43) 即 i 和 i+j 为 14 和 17	
52	YAibQGT FTSDY SIα- MeL¹KD K¹KAQAib AFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 24) 即 i 和 i+j 为 14 和 17	

53	YAibQGT <i>α</i>-MeFTSDY Siα-MeL¹KD K¹KAQAib AFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 42) 即 i 和 i+j 为 14 和 17	
54	YAibQGT FTSDY Siα- MeL¹KD K¹KAQAib AFIEY LLKGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 38) 即 i 和 i+j 为 14 和 17	

本发明还提供了上述药物组合物，包括作为活性成分的治疗有效量根据上述的多肽化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体。

在本发明的一些方案中，上述多肽化合物或其药学上可接受的盐或者上述的组合物在制备预防或治疗代谢性疾病及其相关疾病的药物上的应用。

在本发明的一些方案中，上述多肽化合物或其药学上可接受的盐或者上述的组合物在制备预防或治疗糖尿病及其相关疾病的药物上的应用。

在本发明的一些方案中，上述多肽化合物或其药学上可接受的盐或者上述的组合物在制备预防或治疗肥胖症及其相关疾病的药物上的应用。

在本发明的一些方案中，上述多肽化合物或其药学上可接受的盐或者上述的组合物在制备预防或治疗 NASH（非酒精性脂肪肝炎）及其相关疾病的药物上的应用。

技术效果

本发明的多肽对 GLP-1R/GIPR/GCGR 具有很强的体外激动活性，本发明化合物具有优异的体外和体内药代动力学性质；本发明化合物具有明显减重、降糖和降血脂等效果。

定义和说明

除非另有说明，本文所用的下列术语和短语旨在具有下列含义。一个特定的术语或短语在没有特别定义的情况下不应该被认为是不确定的或不清楚的，而应该按照普通的含义去理解。当本文中出現商品名时，

意在指代其对应的商品或其活性成分。

本发明所述“多肽”、“肽”、“多肽化合物”，除非另有说明，本领域技术人员可以结合上下文理解为相同含义。

本发明所述“多肽序列”、“肽链”，除非另有说明，本领域技术人员可以结合上下文理解为相同含义。

本发明所述“订书钉”、“钉书钉”、“钉合体”、“订书钉”，除非另有说明，本领域技术人员可以结合上下文理解为相同含义。

除非另有说明，本发明中对化合物的实施例编号和所述化合物编号顺序保持一致，即所述“实施例 1”与“化合物 1”所指示化合物为同一结构化合物。

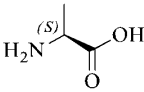
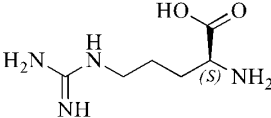
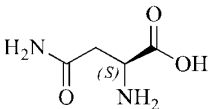
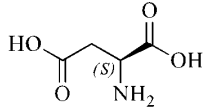
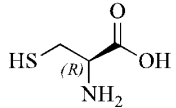
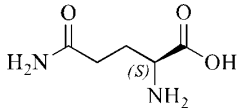
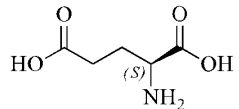
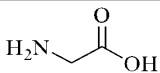
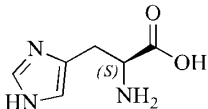
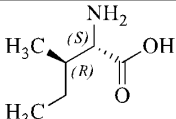
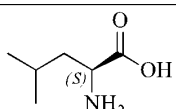
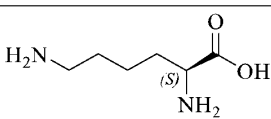
这里所采用的术语“药学上可接受的”，是针对那些化合物、材料、组合物和/或剂型而言，它们在可靠的医学判断的范围之内，适用于与人类和动物的组织接触使用，而没有过多的毒性、刺激性、过敏反应或其它问题或并发症，与合理的利益/风险比相称。

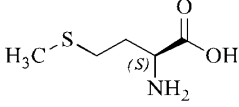
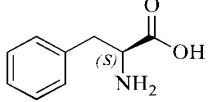
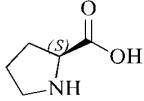
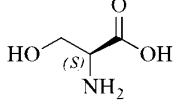
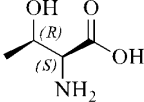
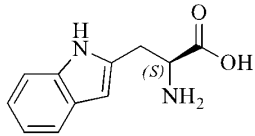
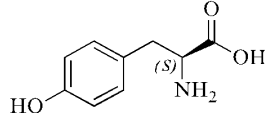
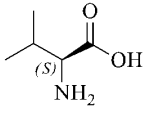
术语“药学上可接受的盐”是指本发明化合物的盐，由本发明发现的具有特定取代基的化合物与相对无毒的酸或碱制备。当本发明的化合物中含有相对酸性的功能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的碱与这类化合物接触的方式获得碱加成盐。药学上可接受的碱加成盐包括钠、钾、钙、铵、有机胺或镁盐或类似的盐。当本发明的化合物中含有相对碱性的官能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的酸与这类化合物接触的方式获得酸加成盐。药学上可接受的酸加成盐的实例包括无机酸盐，所述无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸，碳酸氢根，磷酸、磷酸一氢根、磷酸二氢根、硫酸、硫酸氢根、氢碘酸、亚磷酸等；以及有机酸盐，所述有机酸包括如乙酸、三氟乙酸、丙酸、异丁酸、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、反丁烯二酸、乳酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸、甲磺酸和双羟萘酸等类似的酸；还包括氨基酸（如精氨酸等）的盐，以及如葡萄糖醛酸等有机酸的盐。本发明的某些特定的化合物含有碱性和酸性的官能团，从而可以被转换成任一碱或酸加成盐。

本发明的药学上可接受的盐可由含有酸根或碱基的母体化合物通过常规化学方法合成。一般情况下，这样的盐的制备方法是：在水或有机溶剂或两者的混合物中，经由游离酸或碱形式的这些化合物与化学计量的适当的碱或酸反应来制备。

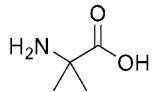
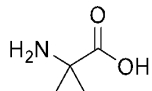
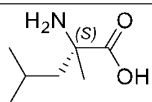
“氨基酸”是指天然存在的和合成的氨基酸，以及起到与天然存在的氨基酸类似的作用的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然存在的氨基酸是由遗传密码编码的那些氨基酸，以及后来修饰的那些氨基酸，例如，羟脯氨酸、 γ -羧基谷氨酸和 O-磷酸丝氨酸。氨基酸类似物是指具有与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构（例如与氢、羧基基团、氨基基团和 R 基团结合的 α 碳）的化合物，例如高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砷、甲硫氨酸甲基砷。这样的类似物可以具有修饰的 R 基团（例如，正亮氨酸）或修饰的肽骨架，但保留与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构。氨基酸模拟物是指其结构不同于一般的氨基酸化学结构，但起到与天然存在的氨基酸相似的作用的化学化合物。

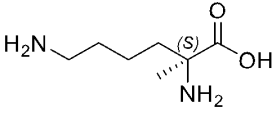
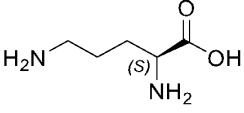
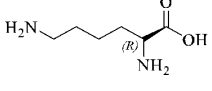
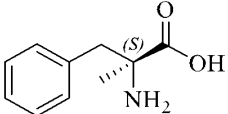
本文所述的天然氨基酸及其各种表达形式为本领域技术人员公知，其具体对应情况如下表：

编号	名称	单字母	三字母	结构
1	丙氨酸	A	Ala	
2	精氨酸	R	Arg	
3	天冬酰胺	N	Asn	
4	天冬氨酸	D	Asp	
5	半胱氨酸	C	Cys	
6	谷氨酰胺	Q	Gln	
7	谷氨酸	E	Glu	
8	甘氨酸	G	Gly	
9	组氨酸	H	His	
10	异亮氨酸	I	Ile	
11	亮氨酸	L	Leu	
12	赖氨酸	K	Lys	

13	甲硫氨酸	M	Met	
14	苯丙氨酸	F	Phe	
15	脯氨酸	P	Pro	
16	丝氨酸	S	Ser	
17	苏氨酸	T	Thr	
18	色氨酸	W	Trp	
19	酪氨酸	Y	Tyr	
20	缬氨酸	V	Val	

某些其他非天然氨基酸，如 2-氨基异丁酸(Aib)等，对应方式如下表：

名称	氨基酸简称	结构
2-甲基丙氨酸：2-氨基异丁酸	Aib	
1-氨基环丙烷羧酸		
α -甲基亮氨酸	α -MeLeu, α -MeL, α -Me-L	

α -甲基赖氨酸	α -MeLys, α -MeK, α -Me-K	
L-鸟氨酸	L-Ornithine, L-Orn	
D-赖氨酸	d-K	
α -甲基苯丙氨酸	α -MePhe, α -MeF, α -Me-F	

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。

除非另有说明，术语“异构体”意在包括几何异构体、顺反异构体、立体异构体、对映异构体、旋光异构体、非对映异构体和互变异构体。

本发明的化合物可以存在特定的几何或立体异构体形式。本发明设想所有的这类化合物，包括顺式和反式异构体、(-)-和(+)-对映体、(R)-和(S)-对映体、非对映异构体、(D)-异构体、(L)-异构体，及其外消旋混合物和其他混合物，例如对映异构体或非对映体富集的混合物，所有这些混合物都属于本发明的范围之内。。烷基等取代基中可存在另外的不对称碳原子。所有这些异构体以及它们的混合物，均包括在本发明的范围之内。

除非另有说明，术语“对映异构体”或者“旋光异构体”是指互为镜像关系的立体异构体。

除非另有说明，术语“顺反异构体”或者“几何异构体”系由因双键或者成环碳原子单键不能自由旋转而引起。

除非另有说明，术语“非对映异构体”是指分子具有两个或多个手性中心，并且分子间为非镜像的关系的立体异构体。

除非另有说明，“(+)”表示右旋，“(-)”表示左旋，“(±)”表示外消旋。

除非另有说明，用楔形实线键 () 和楔形虚线键 () 表示一个立体中心的绝对构型，用直形实线键 () 和直形虚线键 () 表示立体中心的相对构型，用波浪线 () 表示楔形实线键 () 或楔形虚线键 ()，或用波浪线 () 表示直形实线键 () 或直形虚线键 ()。

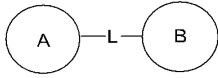
除非另有说明，术语“富含一种异构体”、“异构体富集”、“富含一种对映体”或者“对映体富集”指其中一种异构体或对映体的含量小于 100%，并且，该异构体或对映体的含量大于等于 60%，或者大于等于 70%，或者大于等于 80%，或者大于等于 90%，或者大于等于 95%，或者大于等于 96%，或者大于等于 97%，或者大于等于 98%，或者大于等于 99%，或者大于等于 99.5%，或者大于等于 99.6%，或者大于等于 99.7%，

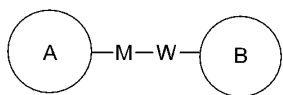
或者大于等于 99.8%，或者大于等于 99.9%。

除非另有说明，术语“异构体过量”或“对映体过量”指两种异构体或两种对映体相对百分数之间的差值。例如，其中一种异构体或对映体的含量为 90%，另一种异构体或对映体的含量为 10%，则异构体或对映体过量 (ee 值) 为 80%。

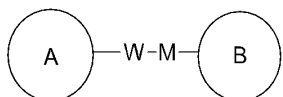
可以通过的手性合成或手性试剂或者其他常规技术制备光学活性的 (*R*)-和 (*S*)-异构体以及 *D* 和 *L* 异构体。如果想得到本发明某化合物的一种对映体，可以通过不对称合成或者具有手性助剂的衍生作用来制备，其中将所得非对映体混合物分离，并且辅助基团裂开以提供纯的所需对映异构体。或者，当分子中含有碱性官能团（如氨基）或酸性官能团（如羧基）时，与适当的光学活性的酸或碱形成非对映异构体的盐，然后通过本领域所公知的常规方法进行非对映异构体拆分，然后回收得到纯的对映体。此外，对映异构体和非对映异构体的分离通常是通过使用色谱法完成的，所述色谱法采用手性固定相，并任选地与化学衍生法相结合（例如由胺生成氨基甲酸盐）。

本发明的化合物可以在一个或多个构成该化合物的原子上包含非天然比例的原子同位素。例如，可用放射性同位素标记化合物，比如氚 (^3H)，碘-125 (^{125}I) 或 C-14 (^{14}C)。又例如，可用重氢取代氢形成氘代药物，氘与碳构成的键比普通氢与碳构成的键更坚固，相比于未氘化药物，氘代药物有降低毒副作用、增加药物稳定性、增强疗效、延长药物生物半衰期等优势。本发明的化合物的所有同位素组成的变换，无论放射性与否，都包括在本发明的范围之内。

当所列举的连接基团没有指明其连接方向，其连接方向是任意的，例如， 中连接基团 L 为 -M-W-，此时 -M-W- 既可以按与从左往右的读取顺序相同的方向连接环 A 和环 B 构成



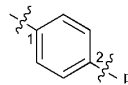
，也可以按照与从左往右的读取顺序相反的方向连接环 A 和环 B 构成



。所述连接基团、取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生稳定的化合物的情况下才是被允许的。

除非另有规定，当某一基团具有一个或多个可连接位点时，该基团的任意一个或多个位点可以通过化学键与其他基团相连。当该化学键的连接方式是不定位的，且可连接位点存在 H 原子时，则连接化学键时，该位点的 H 原子的个数会随所连接化学键的个数而对应减少变成相应价数的基团。所述位点与其他基团连接的化学键可以用直形实线键 (—)、直形虚线键 (---)、或波浪线 (~~~~) 表示。例如 -OCH₃ 中的直形

实线键表示通过该基团中的氧原子与其他基团相连； 中的直形虚线键表示通过该基团中的氮原子的

两端与其他基团相连； 中的波浪线表示通过该苯基基团中的 1 和 2 位碳原子与其他基团相连。

除非另有规定，术语“C₁₋₃ 烷基”用于表示直链或支链的由 1 至 3 个碳原子组成的饱和碳氢基团。所述 C₁₋₃ 烷基包括 C₁₋₂ 和 C₂₋₃ 烷基等；其可以是一价（如甲基）、二价（如亚甲基）或者多价（如次甲基）。C₁₋₃ 烷基的实例包括但不限于甲基（Me）、乙基（Et）、丙基（包括 *n*-丙基和异丙基）等。

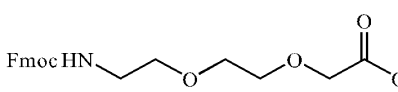
本发明的化合物可以通过本领域技术人员所熟知的常规方法来确认结构，如果本发明涉及化合物的绝对构型，则该绝对构型可以通过本领域常规技术手段予以确证。例如单晶X射线衍射法（SXRD），把培养出的单晶用Bruker D8 venture衍射仪收集衍射强度数据，光源为CuK α 辐射，扫描方式： φ/ω 扫描，收集相关数据后，进一步采用直接法(Shelxs97)解析晶体结构，便可以确证绝对构型。

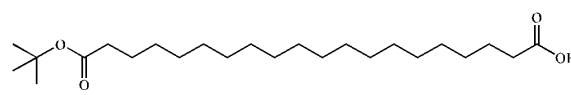
本发明的化合物可以通过本领域技术人员所熟知的多种合成方法来制备，包括下面列举的具体实施方式、其与其他化学合成方法的结合所形成的实施方式以及本领域技术上人员所熟知的等同替换方式，优选的实施方式包括但不限于本发明的实施例。

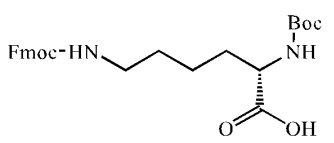
本发明所使用的物料和溶剂可经市售获得。

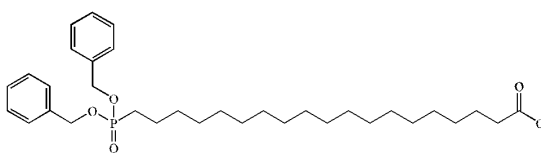
化合物依据本领域常规命名原则或者使用 ChemDraw®软件命名，市售化合物采用供应商目录名称。

在本发明中，本领域技术人员所熟知化合物基团或试剂可以使用缩略词表示，包括但不限于化合物基团：叔丁氧羰基（BOC）、苄基（Bn）、对甲苯磺酰基（Tos）、苄氧羰基（Cbz）、苄甲氧羰基（Fmoc）、对甲苯磺酰基（Ts）、烯丙氧羰基（Alloc）等；包括但不限于常规试剂：二甲亚砜（DMSO）、二氯甲烷（DCM）、N,N-二甲基甲酰胺（DMF）、四氢呋喃（THF）、三氟乙酸（TFA）、N,N'-二异丙基碳二亚胺（DIC）、1-羟基苯并三唑（HOBt）、苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯（HBTU）、1-羟基-7-氮杂苯并三唑（HOAT）、

四三苯基磷钯（Pd(PPh₃)₄）；Fmoc-AEEA-OH：；二十烷二酸单叔丁

酯：；N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH：

；19-(bis(benzyloxy)phosphoryl)nonadecanoic acid：

 等等。

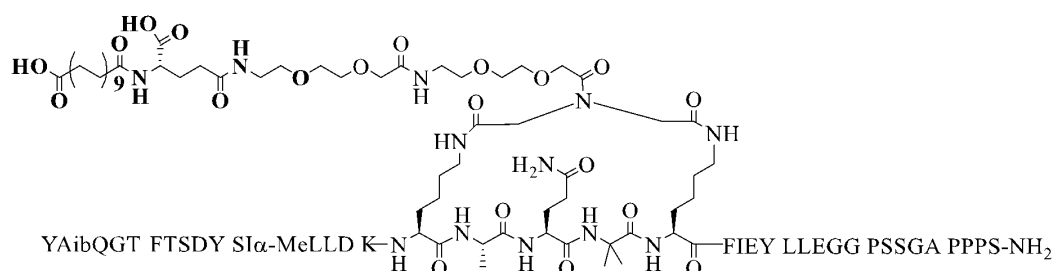
具体实施方式

下面通过实施例对本发明进行详细描述，但并不意味着对本发明任何不利限制。本文已经详细地描述了本发明，其中也公开了其具体实施方式，对本领域的技术人员而言，在不脱离本发明精神和范围的情况下针对本发明具体实施方式进行各种变化和改进将是显而易见的。本发明所描述的具体合成步骤还包括

可用于合成本发明多肽化合物或其药学上可接受盐的新的中间体和方案。在下面的实施例具体合成步骤中，本领域普通技术人员可以不同的方式组合，以制备本发明的多肽化合物或其盐。

总体上，本发明所述系列带有修饰结构的多肽采用多肽固相合成法制备，从 MBHA 树脂开始，采用 Fmoc-策略，按肽序列从 C 端到 N 端，采用保护氨基酸逐一缩合（包括缩合，脱保护，洗脱循环，脱侧链保护成内酰胺环），裂解、过滤浓缩、沉淀过滤干燥得带支链环肽裂解粗品，再经纯化，浓缩冻干，得到成品。

实施例 1



肽树脂合成采用常规固相合成工艺，在底部具有烧结筛板的固相反应柱内氮气鼓泡反应，使用 MBHA Resin 为起始树脂，常规 Fmoc 保护氨基酸投料，缩合剂采用 DIC/HOBt 体系，DMF 为主要反应溶剂，20% PIP-DMF 溶液为脱 Fmoc 溶剂，从肽主链 C 端向 N 端逐一缩合，主链合成完成后，接着脱除 A-23 位 Fmoc-Lys(Mtt)-OH 的 ϵ 位氨基上的-Mtt 后，依次缩合侧 1 至侧 5 位 ((2-2-oxoethyl)-glycine, AEEA, AEEA, γ Glu, 二十烷二酸单叔丁基)，然后再脱除 A-19 位 Lys 的 ϵ 位氨基保护基与侧 1 位 (2-2-oxoethyl)-glycine 的羧基保护基后，加入缩合剂形成内酰胺环，得到目标肽树脂。

具体步骤如下：

步骤 1：树脂偶联 Fmoc-Rink Linker

1.取 MBHA Resin($S=0.49\text{mmol/g}$) 10.2g(5mmol)加入固相反应柱，加入 DCM 70 mL 静置 20min 使树脂充分溶胀，抽干 DCM，加入 60 mL DMF 通氮气鼓泡洗涤树脂，重复以上步骤一次，抽干溶剂。称取 Fmoc-Rink Linker 10.8g (20 mmol, 4.0 eq)溶于 40mL DMF 中加入到上述树脂中，加入 DIC 2.78g (22 mmol, 4.4eq) 并补加 10mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待完全溶解后加入 HOBt 2.70g (20 mmol, 4.0 eq)，继续通氮气鼓泡反应；

2.在 25°C 的环境中反应 2h 以上，取样茚三酮检测阴性（树脂无色或浅黄色）结束反应；

3.抽掉反应液，用 DMF(300 mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

步骤 2：Fmoc-Ser(tBu)-OH 偶联

1.加入 20%的哌啶/DMF(100mL)至反应柱中，氮气鼓泡反应 10min，排废，直至没有液体流出，再次加入 20%的哌啶/DMF(100mL)至反应柱中继续氮气鼓泡反应 5min，取样茚三酮检测，树脂呈蓝色；

2.称取 Fmoc-Ser(tBu)-OH 7.66g(4.0 eq)、DIC 2.78g (4.4eq) 和 HOBt 2.70g(4.0 eq)，用 60mL DMF 溶解后加入反应柱，鼓氮气，调节好氮气使树脂均匀鼓起；

- 3.在 25℃的环境中反应 2.0h，取样茚三酮检测，树脂无色透明；
- 4.抽掉反应液，用 DMF(300 mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

主链其余氨基酸偶联步骤

参考步骤 2 中 Fmoc-Ser(tBu)-OH 偶联的方法及投料当量依次接入氨基酸序列，顺序及所用含保护基团的氨基酸依次如下：

所用含保护基团的氨基酸	备注
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Ala-OH·H ₂ O	
Fmoc-Gly-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Gly-Gly-OH	
Fmoc-Glu(OtBu)-OH·H ₂ O	
Fmoc-Leu-OH	
Fmoc-Leu-OH	
FmocTyr(tBu)-OH	
Fmoc-Glu(OtBu)-OH·H ₂ O	
Fmoc-Ile-OH	
Fmoc-Phe-OH	
Fmoc-Lys(Alloc)-OH	
Fmoc-Aib-OH	脱保护采用 HPLC 监控
Fmoc-Gln(Trt)-OH	
Fmoc-Ala-OH·H ₂ O	
Fmoc-Lys(Mtt)-OH	
Fmoc-Lys(Boc)-OH	
Fmoc-Asp(OtBu)-OH	
Fmoc-Leu-OH	
Fmoc-α-MeLeu-OH	脱保护采用 HPLC 监控
Fmoc-Ile-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Tyr(tBu)-OH	
Fmoc-Asp(OtBu)-OH	

Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Thr(tBu)-OH	
Fmoc-Phe-OH	
Fmoc-Thr(tBu)-OH	
Fmoc-Gly-OH	
Fmoc-Gln(Trt)-OH	
Fmoc-Aib-OH	脱保护采用 HPLC 监控
Boc-Tyr(tBu)-OH	

步骤 3. 支链偶连

- 1.向反应柱中依次加入 DMF 300 mL 和 DCM 300 mL 交叉洗涤树脂 4 次，抽干溶剂后加入 20%六氟异丙醇（HFIP）-DCM 溶液 300 mL，通氮气鼓泡反应两次，每次 30min；
- 2.排废，直至没有液体流出，取样茚三酮检测，树脂呈蓝色；
- 3.依次加入 DCM 300 mL 和 DMF 300 mL 交叉洗涤树脂 4 次，排废，直至没有液体流出。
- 4.称取 Fmoc-(2-(allyloxy)-2-oxoethyl)glycine（Fmoc-Ida (OAl)-OH）7.9g(4.0 eq)、DIC 2.78g（4.4eq）和 HOBt 2.70g(4.0 eq)，用 100 mL DMF 溶解后加入反应柱，鼓氮气，调节好氮气使树脂均匀鼓起；
- 5.在 25℃的环境中反应 2.0h，取样茚三酮检测，树脂无色透明；
- 6.抽掉反应液，用 DMF(300 mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

其余支链偶联步骤

参考步骤 2 中 Fmoc-Ser(tBu)-OH 偶联的方法及投料当量依次接入下表化合物：

所用含保护基团的氨基酸	备注
Fmoc-AEEA-OH	
Fmoc-AEEA-OH	
Fmoc-Glu-OtBu	
二十烷二酸单叔丁酯	

步骤 4.：环合

- 1.向反应柱中依次加入 DMF 300 mL 和 DCM 300 mL 交叉洗涤树脂 4 次，排废，直至没有液体流出；
- 2.以体积比 DCM：CH₃CN：NMP：DEA=3：3：2：2 加入此混合溶剂 400ml，再加入 Pd(PPh₃)₄ 0.58g (0.1eq)，氮气鼓泡反应 10min，排废，直至没有液体流出；
- 3.重复前述步骤 1~2 次；
- 4.取样茚三酮检测，树脂呈蓝色；
- 5.依次加入 DMF 300 mL 和 DCM 300 mL 交叉洗涤树脂 8 次；
- 6.将 DIC 2.78g（4.4eq）和 HOBt 2.70g(4.0 eq)溶解与 150 mL DMF 中，加入反应柱，通氮气反应 48h，取样茚三酮检测，树脂无色；
- 7.依次加入 DMF 300 mL 和 DCM 300 mL 交叉洗涤树脂 8 次；

- 8.依次加入 MeOH 200 mL 和 DCM 300 mL 交叉洗涤树脂 4 次；
- 9.取出树脂真空干燥至重量不再下降，称量，得到肽树脂 17.8g；
- 得到中间体（肽树脂）结构式如下：

Boc-Tyr(tBu)-Aib-Gln(Trt)-Gly-Thr(tBu)-Phe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Ser(tBu)-Ile-a-MeLeu-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Lys¹⁷-Ala-Gln(Trt)-Aib-Lys²¹-Phe-Ile-Glu(OtBu)-Tyr(tBu)-Leu-Leu-Glu(OtBu)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Rink Linker -MBHA Resin (17,21(Nε(Na-OC-(CH₂)₁₈-COOtBu)-Glu(ε-OtBu)-AEEA-AEEA)-(2-2-oxoethyl)glycine))

步骤 5. 肽树脂裂解

配制 250ml 裂解试剂，试剂配方为三氟乙酸（TFA）、纯化水（H₂O）、三异丙基硅烷（TIS）、1，2-乙二硫醇（EDT）、苯酚(ArOH)，按体积比 TFA:H₂O:EDT:TIS:ArOH=86.5:5:2.5:1:5，配好后预冷至 10±3℃。搅拌下，将树脂缓慢加入至裂解试剂中，继续搅拌至反应体系温度稳定；然后控温在 18±3℃下，继续搅拌反应 4h。将裂解液滤出、浓缩至稠状，采用 12-15 倍浓缩液体积量的甲基叔丁醚将其沉淀，滤出沉淀物洗涤后于室温减压干燥，得环肽粗品 7.9g。

步骤 6. 色谱纯化

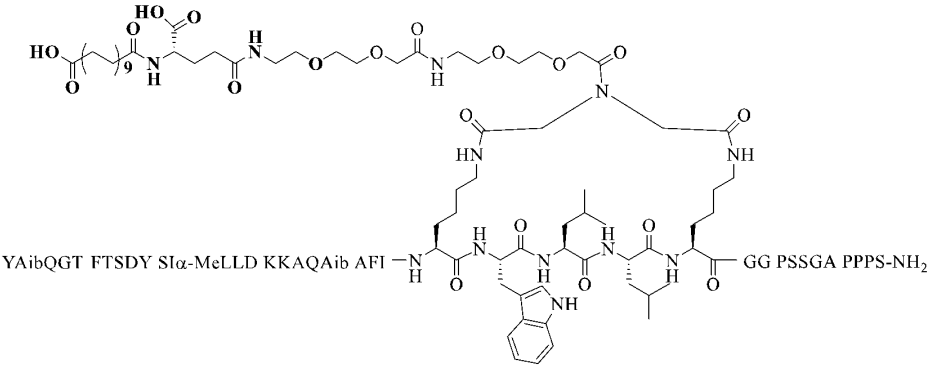
将上述 7.9g 环肽粗品用 10%乙腈和 10%醋酸水溶液溶解，再经高效液相色谱，采用 C18 硅胶基质填料进行纯化，收集纯度>90%流份合并，纯化色谱体系列表如下：

工序	水相	有机相	梯度
一次纯化	0.2%TFA	乙腈	B%(0-70min):41%-51%
二次纯化	35mmol/L K ₂ HPO ₄ (pH 7.4)	乙腈	B%(0-50min):33%-44%
转盐	0.6mmol/L NaOH	乙腈	B%: 45%

步骤 7. 浓缩冻干

上步所得流份浓缩除去乙腈，0.22μm 微孔滤膜过滤，装入挂瓶式冻干机，冻干得到目标多肽成品 0.93g（纯度为 94.97%）；多肽分子量经 ESI-MS 进行确认，计算值[M+4H]/4 为 1258.7，检测值为 1258.7。

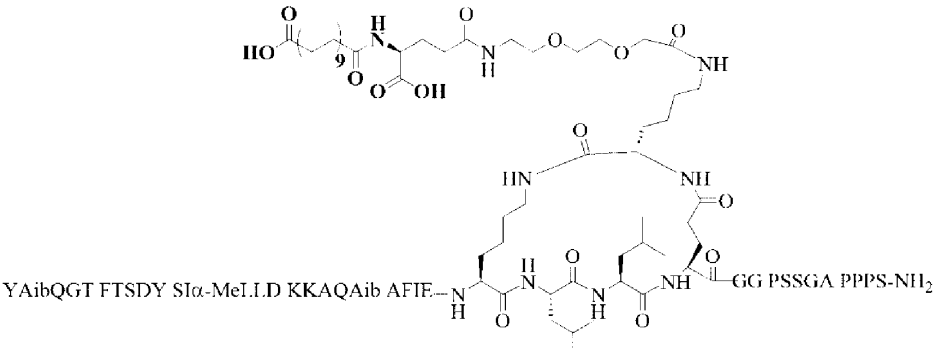
实施例 2



参考实施例 1 多肽的合成，得到实施例 2 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认，计算值[M+4H]/4

为 1249.7，检测值为 1249.4。

实施例 3



步骤 1：树脂偶联 Fmoc-Rink Linker

- 1.取 MBHA Resin(S=0.49mmol/g) 10.2g(5mmol)加入固相反应柱，加入 DCM 70 mL 静置 20min 使树脂充分溶胀,抽干 DCM，加入 60 mL DMF 通氮气鼓泡洗涤树脂，重复以上步骤一次，抽干溶剂。称取 Fmoc-Rink Linker 10.8g (20 mmol, 4.0 eq)溶于 40 mL DMF 中加入到上述树脂中，加入 DIC 2.78g (22 mmol, 4.4eq)并补加 10mL DMF 至反应柱中，鼓氮气，待完全溶解后加入 HOBt 2.70g (20 mmol, 4.0 eq)，继续通氮气鼓泡反应；
- 2.在 25℃的环境中反应 2h 以上，取样茚三酮检测阴性（树脂无色或浅黄色）结束反应；
- 3.抽掉反应液，用 DMF(300 mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

步骤 2：Fmoc-Ser(tBu)-OH 偶联

- 1.加入 20%的哌啶/DMF(100mL)至反应柱中，氮气鼓泡反应 10min，排废，直至没有液体流出，再次加入 20%的哌啶/DMF(100mL)至反应柱中继续氮气鼓泡反应 5min，取样茚三酮检测，树脂呈蓝色；
- 2.称取 Fmoc-Ser(tBu)-OH 7.66g(4.0 eq)、DIC 2.78g (4.4eq) 和 HOBt 2.70g(4.0 eq)，用 60 mL DMF 溶解后加入反应柱，鼓氮气，调节好氮气使树脂均匀鼓起；
- 3.在 25℃的环境中反应 2.0h，取样茚三酮检测，树脂无色透明；
- 4.抽掉反应液，用 DMF(300 mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

主链其余氨基酸偶联步骤

参考步骤 2 中 Fmoc-Ser(tBu)-OH 偶联的方法及投料当量依次接入氨基酸序列，顺序及所用含保护基团的氨基酸依次如下：

所用含保护基团的氨基酸	备注
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Pro-OH	

Fmoc-Ala-OH.H ₂ O	
Fmoc-Gly-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Gly-Gly-OH	
Fmoc-Glu(OAll)-OH	
Fmoc-Leu-OH	
Fmoc-Leu-OH	
Fmoc-Lys(Mtt)-OH	
Fmoc-Glu(OtBu)-OH.H ₂ O	
Fmoc-Ile-OH	
Fmoc-Phe-OH	
Fmoc-Ala-OH.H ₂ O	
Fmoc-Aib-OH	脱保护采用 HPLC 监控
Fmoc-Gln(Trt)-OH	
Fmoc-Ala-OH.H ₂ O	
Fmoc-Lys(Boc)-OH	
Fmoc-Lys(Boc)-OH	
Fmoc-Asp(OtBu)-OH	
Fmoc-Leu-OH	
Fmoc- α -MeLeu-OH	脱保护采用 HPLC 监控
Fmoc-Ile-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Tyr(tBu)-OH	
Fmoc-Asp(OtBu)-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Thr(tBu)-OH	
Fmoc-Phe-OH	
Fmoc-Thr(tBu)-OH	
Fmoc-Gly-OH	
Fmoc-Gln(Trt)-OH	
Fmoc-Aib-OH	脱保护采用 HPLC 监控
Boc-Tyr(tBu)-OH	

步骤 3. 支链偶连

1.向反应柱中依次加入 DMF 300 mL 和 DCM 300 mL 交叉洗涤树脂 4 次，抽干溶剂后加入 20%六氟

- 异丙醇（HFIP）-DCM 溶液 300 mL，通氮气鼓泡反应两次，每次 30min；
- 2.排废，直至没有液体流出，取样茚三酮检测，树脂呈蓝色；
- 3.依次加入 DCM 300 mL 和 DMF 300 mL 交叉洗涤树脂 4 次，排废，直至没有液体流出。
- 4.称取 Alloc-Lys(Fmoc)-OH 9.05g(4.0 eq)、DIC 2.78g（4.4eq）和 HOBt 2.70g(4.0 eq)，用 100 mL DMF 溶解后加入反应柱，鼓氮气，调节好氮气使树脂均匀鼓起；
- 5.在 25℃的环境中反应 2.0h，取样茚三酮检测，树脂无色透明；
- 6.抽掉反应液，用 DMF(300 mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

其余支链偶联步骤

参考步骤 2 中 Fmoc-Ser(tBu)-OH 偶联的方法及投料当量依次接入下表化合物：

所用含保护基团的氨基酸	备注
Fmoc-AEEA-OH	
Fmoc-Glu-OtBu	
二十烷二酸单叔丁酯	

步骤 4.：环合

- 1.向反应柱中依次加入 DMF 300 mL 和 DCM 300 mL 交叉洗涤树脂 4 次，排废，直至没有液体流出；
- 2.以体积比 DCM：CH₃CN：NMP：DEA=3：3：2：2 制备混合溶剂 400 mL，并加入反应柱中，再加入 Pd(PPh₃)₄ 0.58g (0.1eq)，氮气鼓泡反应 10min，排废，直至没有液体流出；
- 3.重复前述步骤 1~2 次；
- 4.取样茚三酮检测，树脂呈蓝色；
- 5.依次加入 DMF 300 mL 和 DCM 300 mL 交叉洗涤树脂 8 次；
- 6.将 DIC 2.78g（4.4eq）和 HOBt 2.70g(4.0 eq)溶解与 150 mL DMF 中，加入反应柱，通氮气反应 48h，取样茚三酮检测，树脂无色；
- 7.依次加入 DMF 300 mL 和 DCM 300 mL 交叉洗涤树脂 8 次；
- 8.依次加入 MeOH 200 mL 和 DCM 300 mL 交叉洗涤树脂 4 次；
- 9.取出树脂真空干燥至重量不再下降，称量，得到肽树脂 19.2g；

得中间体（肽树脂）结构式如下：

Boc-Tyr(tBu)-Aib-Gln(Trt)-Gly-Thr(tBu)-Phe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Ser(tBu)-Ile-a-MeLeu-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Ala-Gln(Trt)-Aib-Ala-Phe-Ile-Glu(OtBu)-Lys²⁵-Leu-Leu-Glu²⁸-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Rink Linker-MBHA Resin (25,28(Nε(COOH-(CH₂)₁₈-COOtBu) -Glu(ε-OtBu)-AEEA) -(2-2-oxoethyl)glycine))

步骤 5. 肽树脂裂解

配制 250 mL 裂解试剂，试剂配方为三氟乙酸（TFA）、纯化水（H₂O）、三异丙基硅烷（TIS）、1，2-乙二硫醇（EDT）、苯酚(ArOH)，按体积比 TFA:H₂O:EDT:TIS:ArOH=86.5:5:2.5:1:5，配好后预冷至

10±3℃。搅拌下，将树脂缓慢加入至裂解试剂中，继续搅拌至反应体系温度稳定；然后控温在 18±3℃下，继续搅拌反应 4h。将裂解液滤出，浓缩至稠状，采用 12-15 倍浓缩液体积量的甲基叔丁醚将其沉淀，滤出沉淀物洗涤后于室温减压干燥，得环肽粗品 8.2g。

步骤 6. 色谱纯化

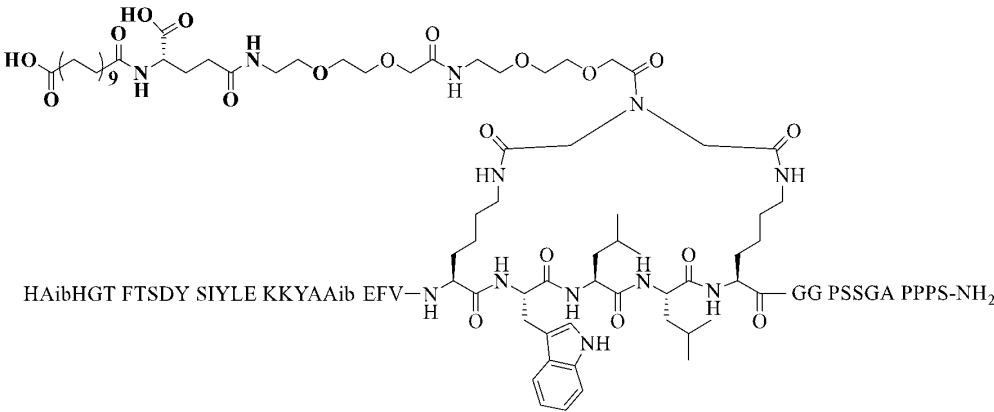
将上述 8.2g 环肽粗品用 10%乙腈和 10%醋酸水溶液溶解，再经高效液相色谱，采用 C18 硅胶基质填料进行纯化，收集纯度>90%流份合并，纯化色谱体系列表如下：

工序	水相	有机相	梯度
一次纯化	0.2%TFA	乙腈	B%(0-70min):41%-51%
二次纯化	35mmol/L K ₂ HPO ₄ (pH 7.4)	乙腈	B%(0-50min):33%-44%
转盐	0.6mmol/L NaOH	乙腈	B%: 45%

步骤 7. 浓缩冻干

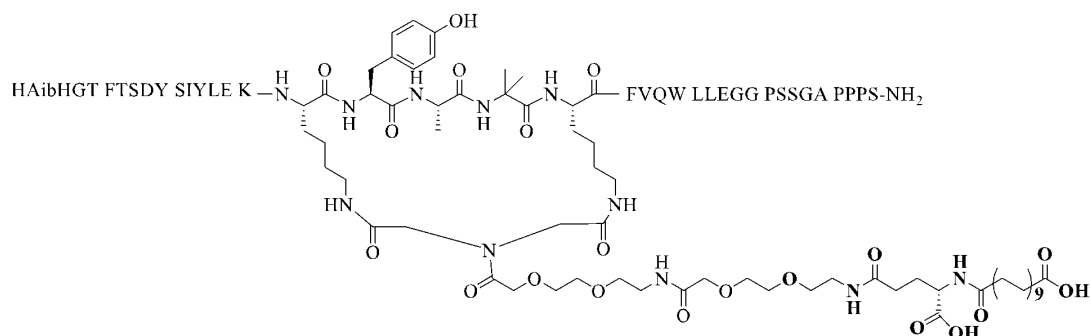
上步所得流份浓缩除去乙腈，0.22μm 微孔滤膜过滤，装入挂瓶式冻干机，冻干得到实施例 3 所示成品 1.01g（纯度为 94.97%）；多肽分子量经 ESI-MS 进行确认，计算值[M+4H]/4 为 1202.6，检测值为 1202.6。

实施例 4



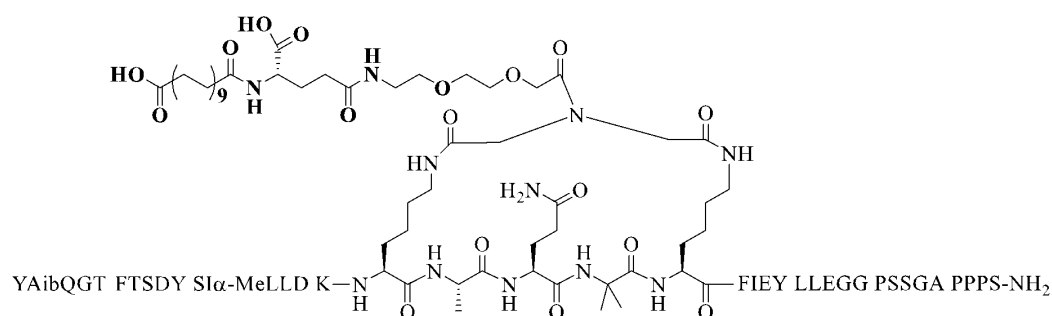
参考实施例 1 多肽的合成，得到实施例 4 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认，计算值 [M+4H]/4 为 1277.7，检测值为 1277.6。

实施例 5



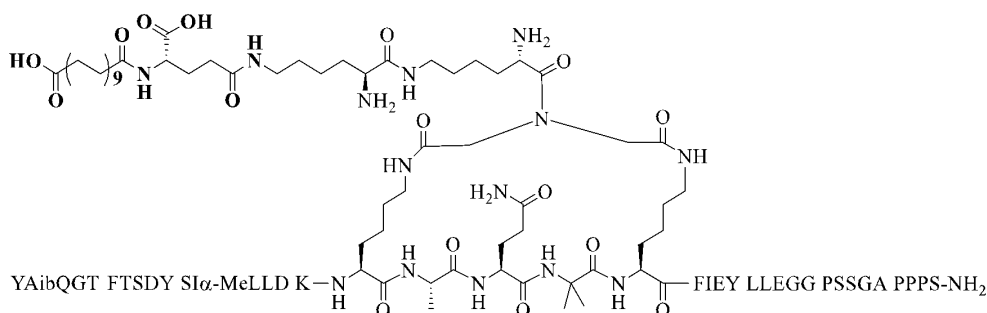
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 5 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1277.7, 检测值为 1277.5。

实施例 6



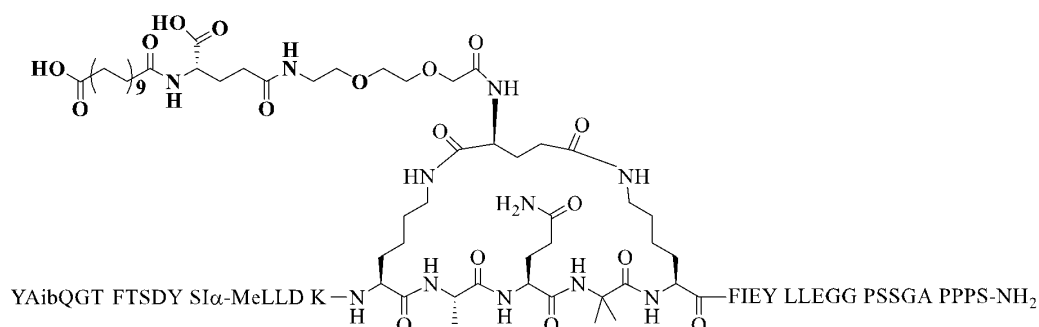
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 6 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1122.4, 检测值为 1122.5。

实施例 7



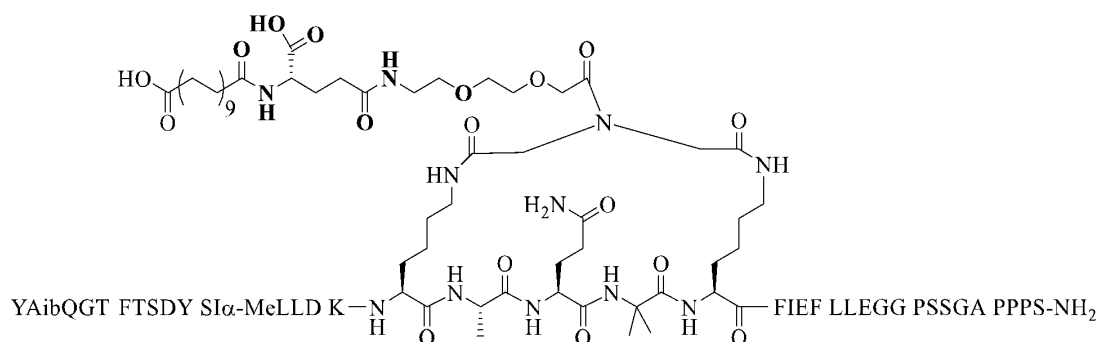
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 7 所示多肽, 其中支链偶联中使用的保护氨基酸依次为 Fmoc-Ida (OAll)-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1250.2, 检测值为 1250.2。

实施例 8



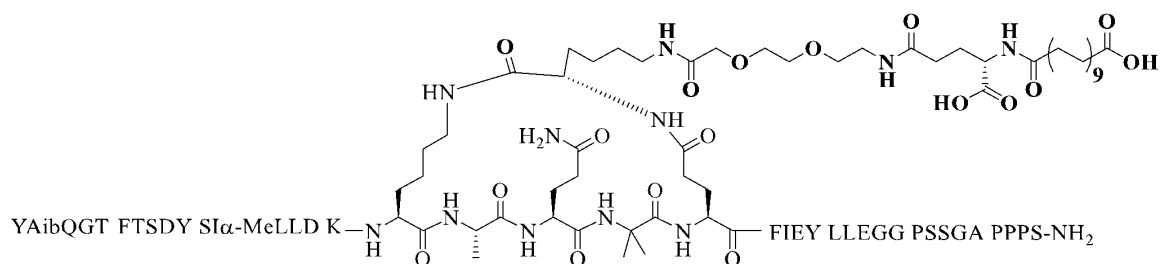
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 8 所示多肽, 其中支链偶联中使用的保护氨基酸依次为 Fmoc-Glu(OAll)-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1225.9, 检测值为 1226.0。

实施例 9



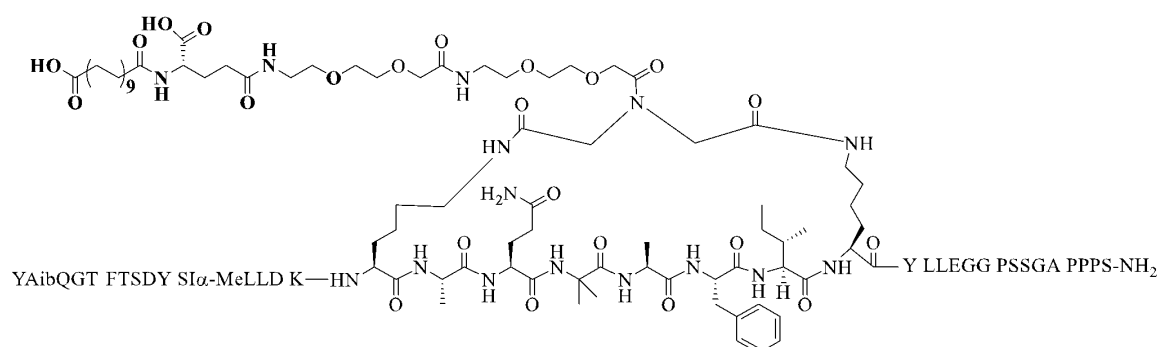
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 9 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1218.4, 检测值为 1218.3。

实施例 10



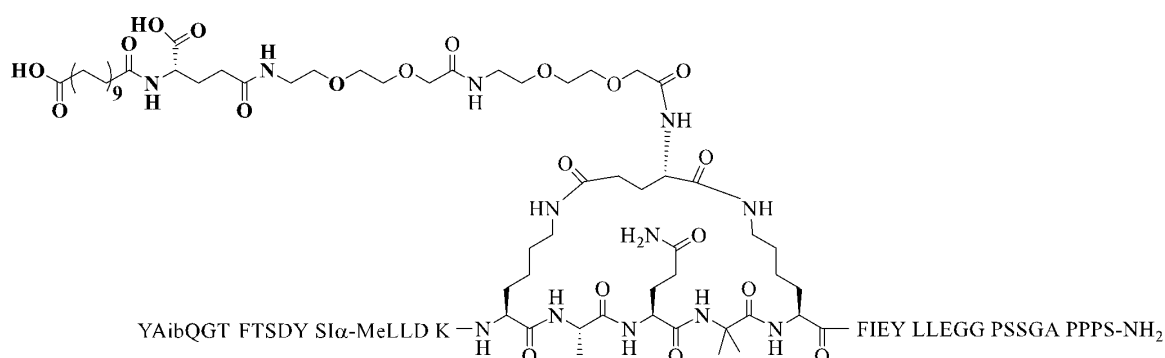
参考实施例 3 多肽的合成, 得到实施例 10 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1225.9, 检测值为 1224.2。

实施例 11



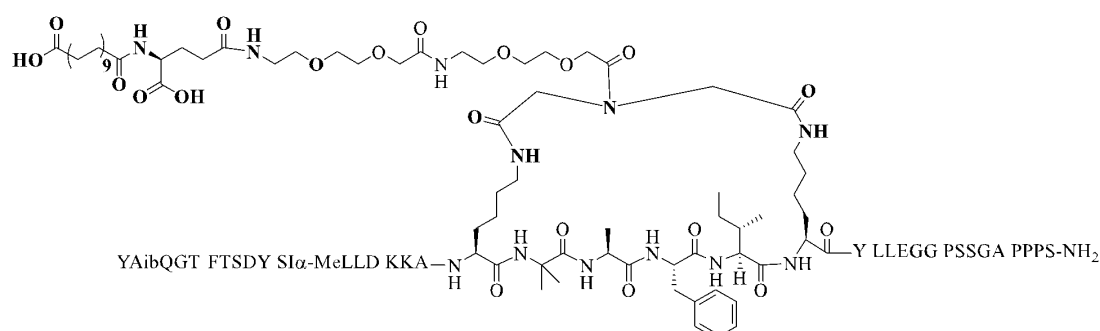
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 11 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1244.2, 检测值为 1242.7。

实施例 12



参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 12 所示多肽, 其中支链偶联中使用的保护氨基酸依次为 Fmoc-Glu-Oall, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1262.2, 检测值为 1262.2。

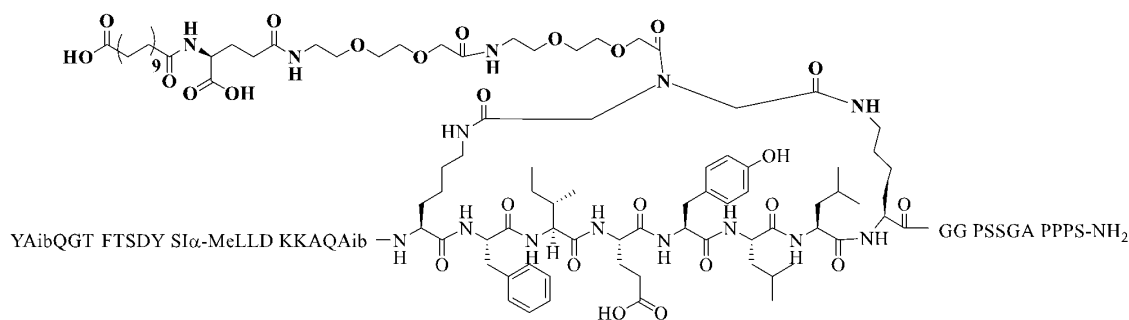
实施例 13



参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 13 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值

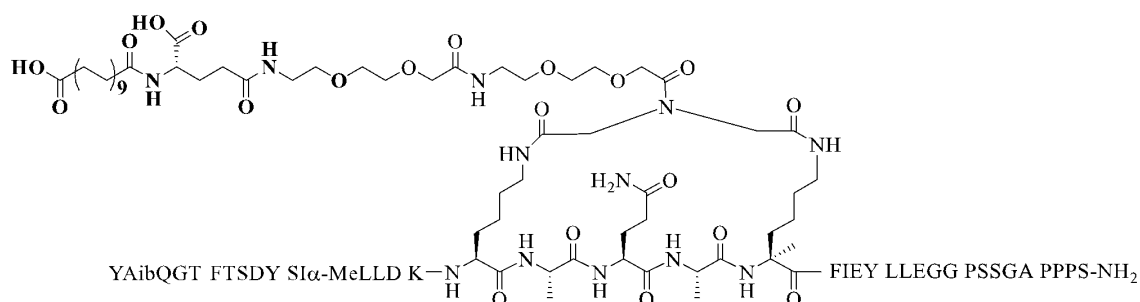
[M+4H]/4 为 1244.2, 检测值为 1244.2。

实施例 14



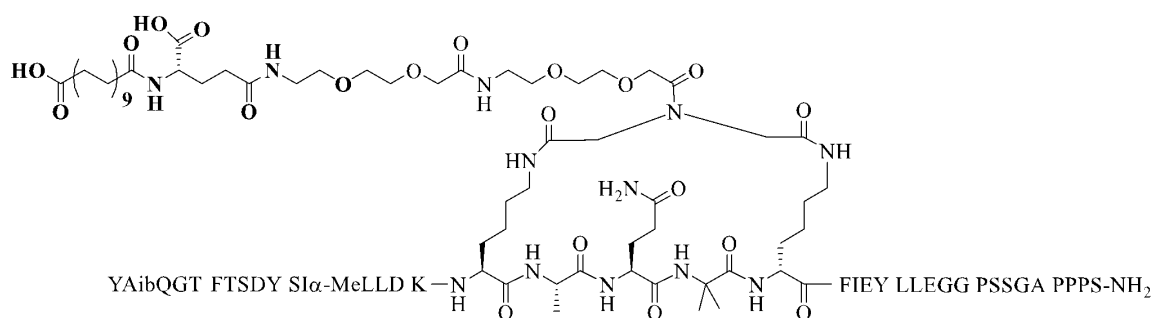
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 14 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 [M+4H]/4 为 1258.5, 检测值为 1258.4。

实施例 15



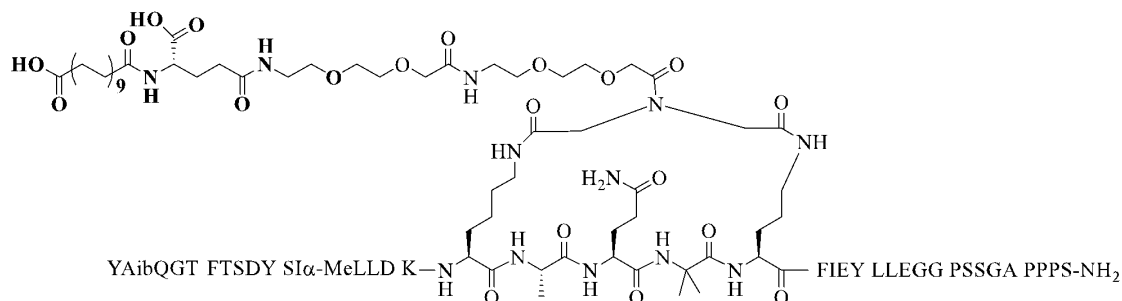
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 15 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 [M+4H]/4 为 1258.7, 检测值为 1258.6。

实施例 16



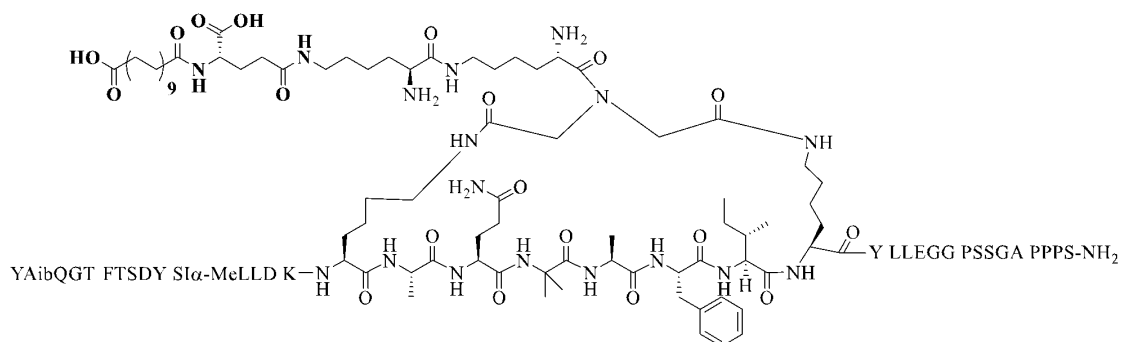
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 16 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 [M+4H]/4 为 1258.7, 检测值为 1258.6。

实施例 17



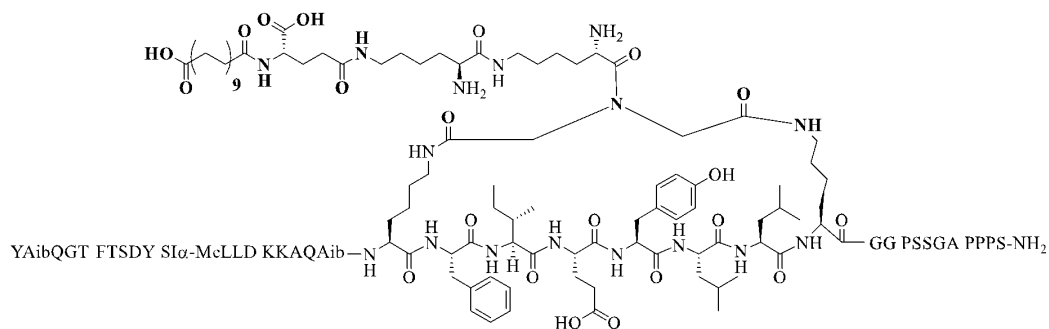
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 17 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1255.2, 检测值为 1255.1。

实施例 18



参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 18 所示多肽, 其中支链偶联中使用的保护氨基酸依次为 Fmoc-Ida(OAll)-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1235.7, 检测值为 1234.7。

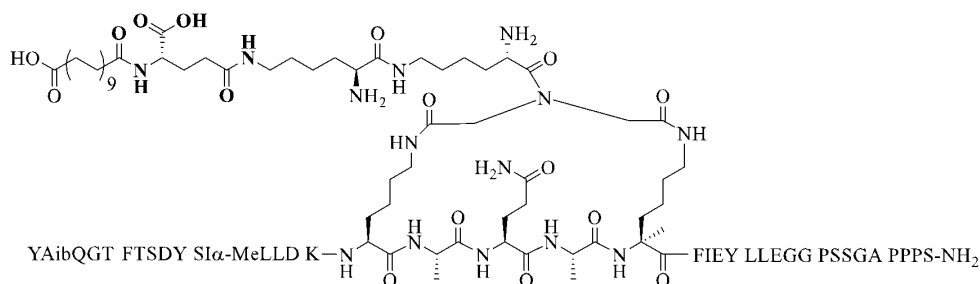
实施例 19



参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 19 所示多肽, 其中支链偶联中使用的保护氨基酸依次为

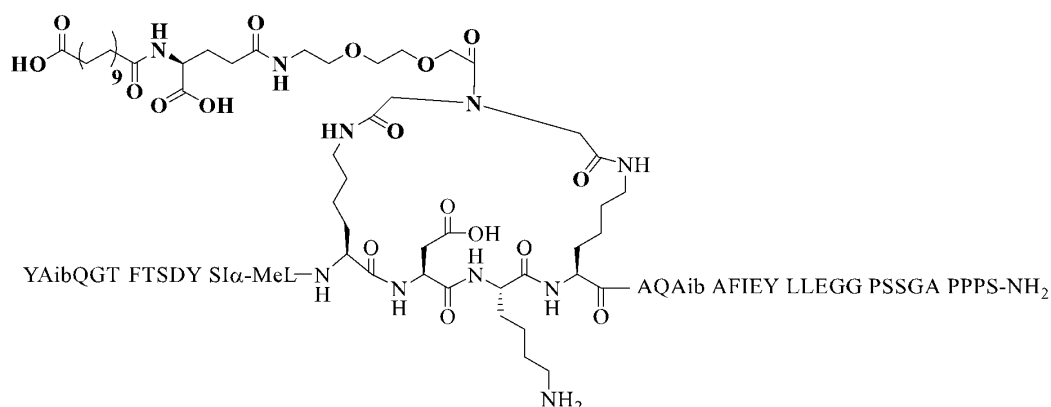
Fmoc-Ida(OAll)-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1250.0, 检测值为 1249.0。

实施例 20



参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 20 所示多肽, 其中支链偶联中使用的保护基氨基酸依次为 Fmoc-Ida(OAll)-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1250.2, 检测值为 1249.2。

实施例 21



肽树脂合成采用常规固相合成工艺, 在底部具有烧结筛板的固相反应柱内氮气鼓泡反应, 使用 MBHA Resin 为起始树脂, 常规 Fmoc 保护氨基酸投料, 缩合剂采用 DIC/HOBt 体系, DMF 为主要反应溶剂, 20%PIP-DMF 溶液为脱 Fmoc 溶剂, 从肽主链 C 端向 N 端逐一缩合, 主链合成完成后, 接着脱除 A-26 位 Fmoc-Lys(Mtt)-OH 的 ϵ 位氨基上的-Mtt 后, 依次缩合侧 1 至侧 4 位 ((2-2-oxoethyl)-glycine, AEEA, γ Glu, 二十烷二酸单叔丁基), 然后再脱除 A-23 位 Lys 的 ϵ 位氨基保护基与侧 1 位 (2-2-oxoethyl)-glycine 的羧基保护基后, 加入缩合剂形成内酰胺环, 得到目标肽树脂。

具体步骤如下:

步骤 1: 树脂活化脱保护

1. 取 MBHA Resin ($S=0.34$ mmol/g) 15 g(5.1 mmol)加入固相反应柱, 加入 DCM 225ml 静置 20min 使树

脂充分溶胀，抽干 DCM，加入 150 ml DMF 通氮气鼓泡洗涤树脂，重复以上步骤一次，抽干溶剂。加入 20% 的哌啶/DMF(150mL)至反应柱中，氮气鼓泡反应 5min，排废，直至没有液体流出，再次加入 20%的哌啶/DMF(150mL)至反应柱中继续氮气鼓泡反应 15min，取样茚三酮检测，树脂呈灰红色，抽掉反应液，用 DMF(150 mL)洗涤 7 次，调节 pH=7，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

步骤 2: Fmoc-Ser(tBu)-OH 偶联

- 1. 称取 Fmoc-Ser(tBu)-OH 5.75g(3.0 eq)、DIC 2.52g (4.0eq) 和 HOBt 2.03g(3.0 eq)，用 80mL DMF 溶解后加入反应柱，鼓氮气，调节好氮气使树脂均匀鼓起；
- 2. 在 25℃的环境中反应 2.0h，取样茚三酮检测，树脂无色透明；
- 3. 抽掉反应液，用 DMF(150 mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

主链其余氨基酸偶联步骤

参考步骤 2 中 Fmoc-Ser(tBu)-OH 偶联的方法及投料当量依次接入氨基酸序列，顺序及所用含保护基团的氨基酸依次如下：

所用含保护基团的氨基酸	备注
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Ala-OH	HPLC 检测合成
Fmoc-Gly-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Gly-OH	
Fmoc-Gly-OH	HPLC 检测合成

得到 AA-11 肽。

步骤 3: AA-11 肽脱保护

- 1. 向合成的 AA-11 肽中，加入 DMF(80mL)活化 10min，抽干至无液体流出，加入 20%的哌啶/DMF(80mL)至反应柱中，氮气鼓泡反应 10min，排废，直至没有液体流出，再次加入 20%的哌啶/DMF(80mL)至反应柱中继续氮气鼓泡反应 10min，取样茚三酮检测，树脂呈黄色偏墨色；抽掉反应液，用 DMF(100 mL)洗涤 8 次，调节 pH=7 左右，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

步骤 4: Fmoc-Glu(OtBu)-OH 偶联

- 1. 称取 Fmoc-Glu(OtBu)-OH 3.04 g(3.0 eq)、DIC 1.20g (4.0 eq) 和 HOBt 0.965 g(3.0 eq)，用 50mLDMF 溶解后加入反应柱，鼓氮气，调节好氮气使树脂均匀鼓起；
- 2. 在 25℃的环境中反应 3.0h，取样茚三酮检测，树脂无色透明；
- 3. 抽掉反应液，用 DMF(80 mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

主链其余氨基酸偶联步骤

参考步骤 4 中 **Fmoc-Glu(OtBu)-OH** 偶联的方法及投料顺序依次接入氨基酸序列，顺序及所用含保护基团的氨基酸依次如下：

所用含保护基团的氨基酸	备注
Fmoc-Glu(OtBu)-OH.	AA-12 肽
Fmoc-Leu-OH	
Fmoc-Leu-OH	
FmocTyr(tBu)-OH	
Fmoc-Glu(OtBu)-OH	
Fmoc-Ile-OH	
Fmoc-Phe-OH	
Fmoc-Ala-OH	
Fmoc-Aib-OH	
Fmoc-Gln(Trt)-OH	采用 HPLC 监控
Fmoc-Ala-OH	
Fmoc-Lys(Alloc)-OH	
Fmoc-Lys(Boc)-OH	
Fmoc-Asp(OtBu)-OH	
Fmoc-Lys(Mtt)-OH	
Fmoc- α -Me-Leu-OH	采用 HPLC 监控
Fmoc-Ile-OH	采用 HPLC 监控
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Tyr(tBu)-OH	
Fmoc-Asp(OtBu)-OH	采用 HPLC 监控
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Thr(tBu)-OH	
Fmoc-Phe-OH	
Fmoc-Thr(tBu)-OH	
Fmoc-Gly-OH	
Fmoc-Gln(Trt)-OH	
Boc-Tyr(tBu) -Aib-OH	采用 HPLC 监控

步骤 5. 支链偶连

1. 向反应柱中加入 DCM 300mL 洗涤树脂 4 次，抽干溶剂后加入 20%六氟异丙醇（HFIP）-DCM 溶液 80 ml,通氮气鼓泡反应 5 次，每次 30min；
2. 排废，直至没有液体流出，取样茚三酮检测，树脂呈灰绿色；

3. 依次加入 DCM 80mL 和 DMF 80mL 交叉洗涤树脂 4 次，排废，直至没有液体流出。
4. 称取 Fmoc-(2-(allyloxy)-2-oxoethyl)glycine（Fmoc-Ida(OAll)-OH） 4.7g(5.0 eq)、DIC 1.67g（6.0eq）和 HOBt 1.49g(5.0 eq)，用 100mL DMF 溶解后加入反应柱，鼓氮气，调节好氮气使树脂均匀鼓起；
5. 在 25°C 的环境中反应 5.0h，取样茚三酮检测，树脂无色透明；
6. 抽掉反应液，用 DMF(80 mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

其余支链偶联步骤

参考步骤 4 中 Fmoc-Glu(OtBu)-OH 偶联的方法及投料当量依次接入下表化合物：

所用含保护基团的氨基酸	备注
Fmoc-AEEA-OH	采用 HPLC 监控
Fmoc-Glu-OtBu	
二十烷二酸单叔丁酯	

步骤 6. 环合

1. 向反应柱中依次加入 DMF 80mL 和 DCM 80mL 交叉洗涤树脂 4 次，排废，直至没有液体流出；
2. 以体积比 DCM: CH₃CN: NMP: DEA=3: 3: 2: 2 制备混合溶剂 300mL 并加入反应柱中，再加入 Pd(PPh₃)₄ 0.74g (0.27eq)，氮气鼓泡反应 10min，排废，直至没有液体流出；
3. 取样茚三酮检测，树脂呈黄色偏紫色；
4. 依次加入 DMF 80mL 和 DCM 80mL 交叉洗涤树脂 8 次；
5. 将 DIC 1.67g（6.0eq）和 HOBt 1.49g(5.0 eq)溶解与 80mL DMF 中，加入反应柱，通氮气反应 22h，取样茚三酮检测，树脂无色；
6. 依次加入 DMF 80mL 和 DCM 80mL 交叉洗涤树脂 8 次；
7. 依次加入 MeOH 80mL 和 DCM 80mL 交叉洗涤树脂 4 次；
8. 取出树脂真空干燥至重量不再下降，称量，得到肽树脂 19.3g；

得中间体（肽树脂）结构式如下：

Boc-Tyr(tBu)-Aib-Gln(Trt)-Gly-Thr(tBu)-Phe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Ser(tBu)-Ile-a-MeLeu-Lys¹⁴-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Lys¹⁷-Ala-Gln(Trt)-Aib-Ala-Phe-Ile-Glu(OtBu)-Tyr(tBu)-Leu-Leu-Glu(OtBu)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Rink Linker -MBHA Resin (14,17(Nε(HOOC-(CH₂)₁₈-COOtBu) -Glu(ε-OtBu)-AEEA)-(2-2-oxoethyl)glycine))

步骤 7. 肽树脂裂解

配制 289mL 裂解试剂，试剂配方为三氟乙酸（TFA）、纯化水（H₂O）、三异丙基硅烷（TIS）、3-(三苯甲硫基)丙酸(Mpa(Trt)-OH, MRP)、苯酚(ArOH)，按体积比 TFA:H₂O: Mpa(Trt)-OH:TIS:ArOH=82.5:2.5:5:5:5，配好后预冷至 10±3℃。搅拌下，将树脂缓慢加入至裂解试剂中，继续搅拌至反应体系温度稳定；然后控温在 18±3℃下，继续搅拌反应 4h。将裂解液滤出，浓缩至稠状，采用 12-15 倍浓缩液体积量的甲基叔丁醚将其沉淀，滤出沉淀物洗涤后于室温减压干燥，得环肽粗品 7.5g。

步骤 8. 色谱纯化

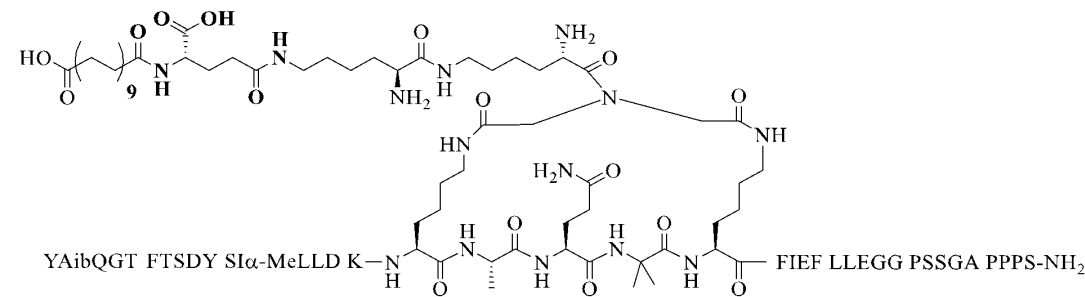
将上述 2.1 g 环肽粗品用 5%乙腈和 2%氨水水溶液溶解，再经高效液相色谱，采用 C8 硅胶基质填料进行纯化，收集纯度>90%流份合并，纯化色谱体系列表如下：

工序	水相	有机相	梯度
一次纯化	0.2%TFA	乙腈	B%(0-50min):41%-55%
二次纯化	0.2%TFA	乙腈	B%(0-50min):41%-55%
三次纯化	0.2%TFA	乙腈	B%(0-50min):41%-55%

步骤 9. 浓缩冻干

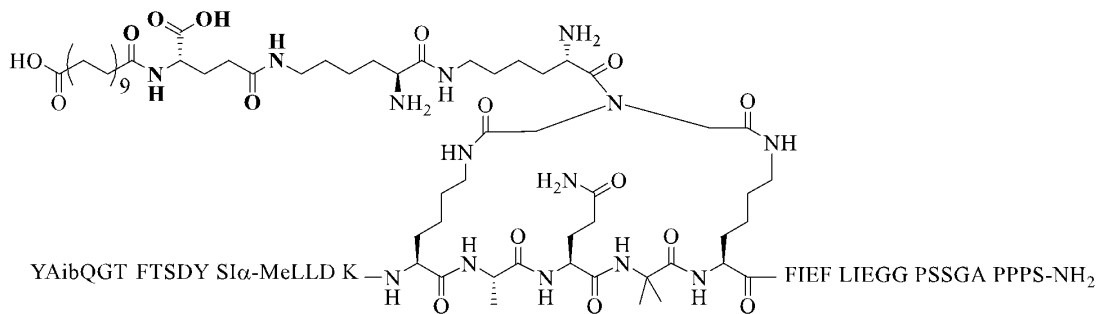
上步所得流份浓缩除去乙腈，0.22 μ m 微孔滤膜过滤，装入挂瓶式冻干机，冻干得到目标多肽成品 0.133g (纯度为 94.2%)；多肽分子量经 ESI-MS 进行确认，计算值[M+4H]/4 为 1211.9，检测值为 1210.9。

实施例 22



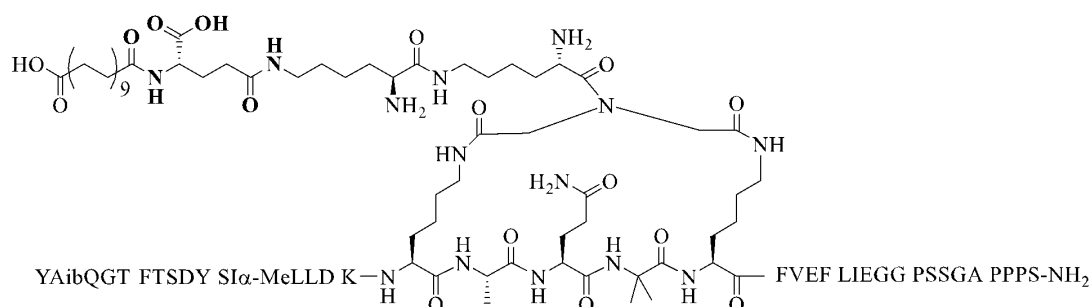
参考实施例 1 多肽的合成，得到实施例 22 所示多肽，其中支链偶联中使用的保护基氨基酸依次为 Fmoc-Ida(OAll)-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认，计算值[M+4H]/4 为 1246.2，检测值为 1245.1。

实施例 23



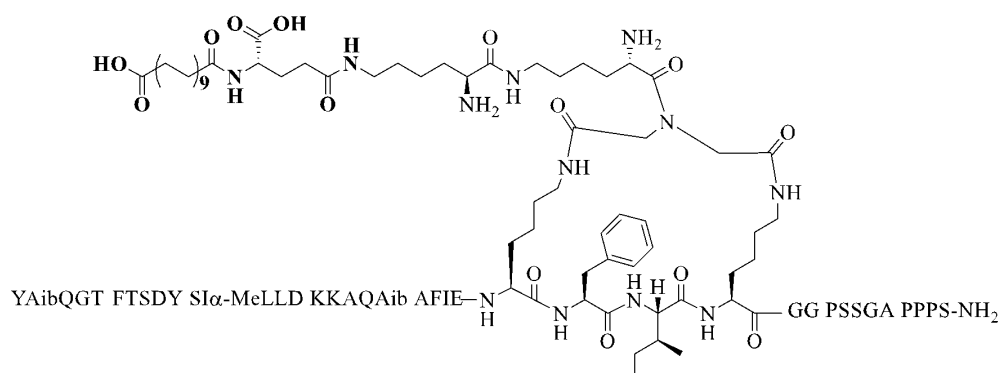
参考实施例 1 多肽的合成，得到实施例 23 所示多肽，其中支链偶联中使用的保护基氨基酸依次为 Fmoc-Ida(OAll)-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认，计算值[M+4H]/4 为 1246.2，检测值为 1245.2。

实施例 24



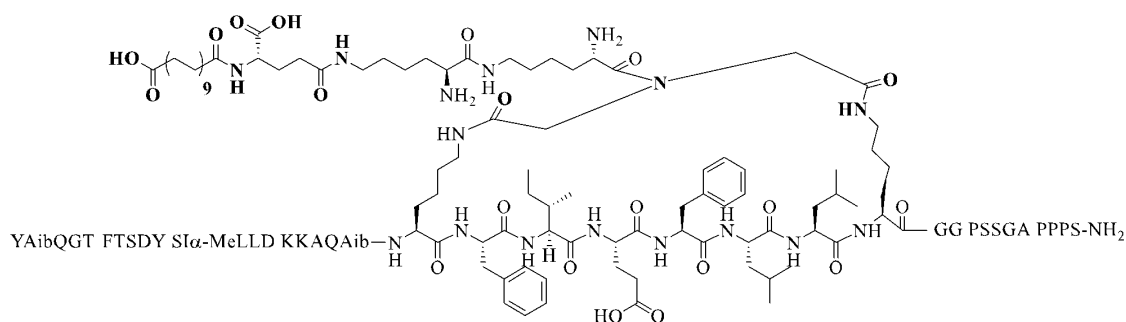
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 24 所示多肽, 其中支链偶联中使用的保护氨基酸依次为 Fmoc-Ida (OAll)-OH, N-Boc-N' -Fmoc-Lys-OH, N-Boc-N' -Fmoc-Lys-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值[M+4H]/4 为 1242.7, 检测值为 1241.6。

实施例 25



参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 25 所示多肽, 其中支链偶联中使用的保护氨基酸依次为 Fmoc-Ida (OAll)-OH, N-Boc-N' -Fmoc-Lys-OH, N-Boc-N' -Fmoc-Lys-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值[M+4H]/4 为 1235.4, 检测值为 1234.3。

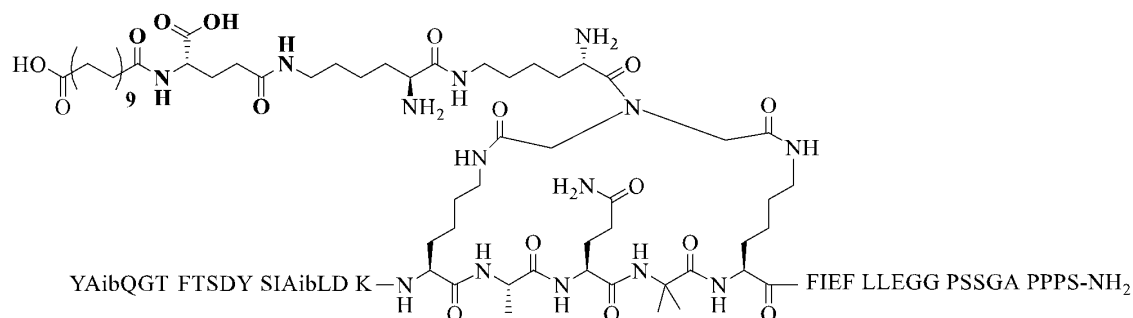
实施例 26



参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 26 所示多肽, 其中支链偶联中使用的保护氨基酸依次为

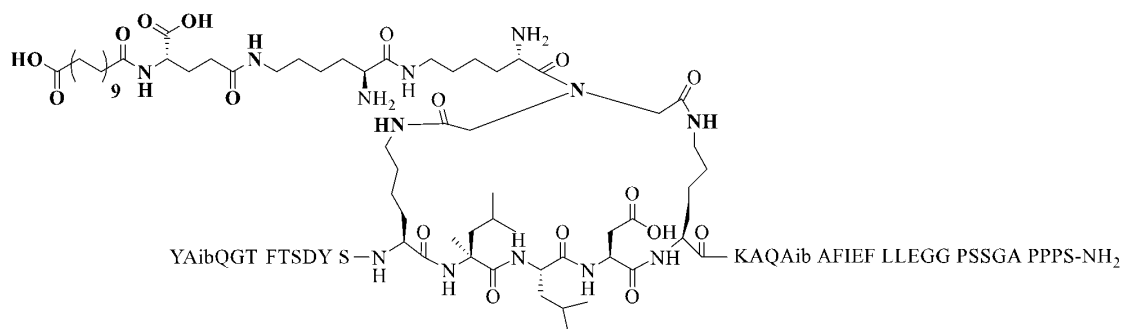
Fmoc-Ida(OAll)-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1246.0, 检测值为 1250.0。

实施例 27



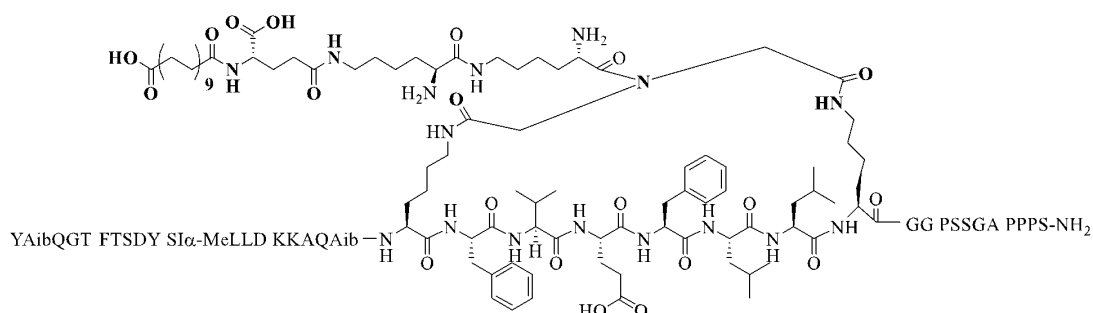
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 27 所示多肽, 其中支链偶联中使用的保护基氨基酸依次为 Fmoc-Ida(OAll)-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1235.7, 检测值为 1234.6。

实施例 28



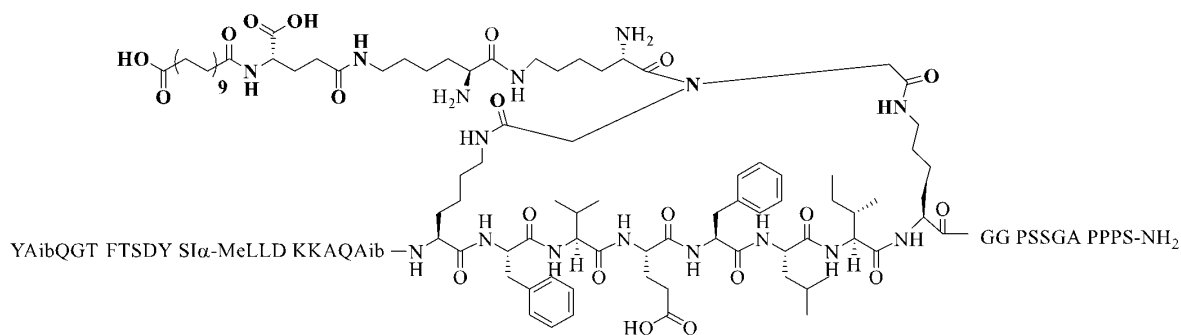
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 28 所示多肽, 其中支链偶联中使用的保护基氨基酸依次为 Fmoc-Ida(OAll)-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1235.7, 检测值为 1238.6。

实施例 29



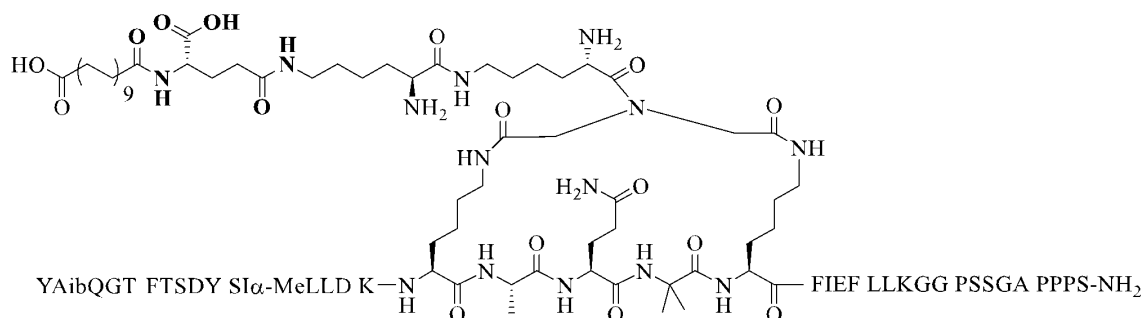
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 29 所示多肽, 其中支链偶联中使用的保护基氨基酸依次为 Fmoc-Ida (OAll)-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1242.5, 检测值为 1241.5。

实施例 30



参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 30 所示多肽, 其中支链偶联中使用的保护基氨基酸依次为 Fmoc-Ida (OAll)-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1242.5, 检测值为 1241.6。

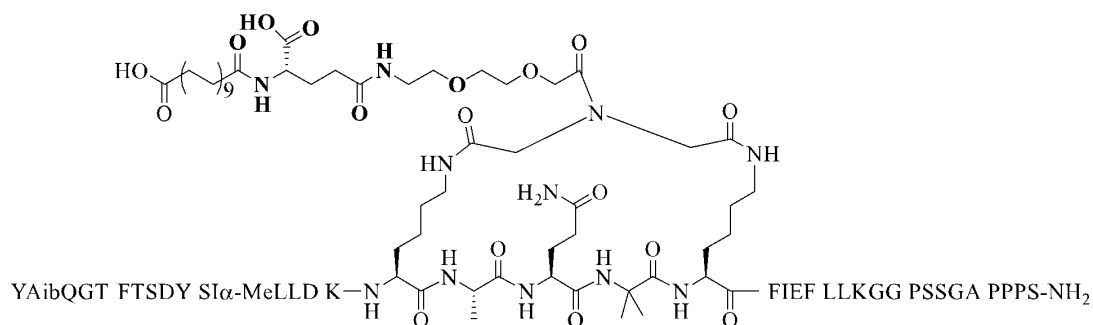
实施例 31



参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 31 所示多肽, 其中支链偶联中使用的保护基氨基酸依次为

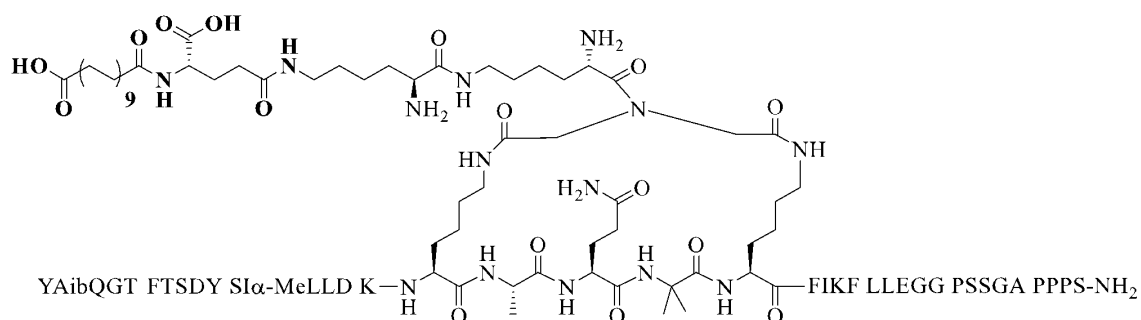
Fmoc-Ida (OAll)-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1246.0, 检测值为 1244.9。

实施例 32



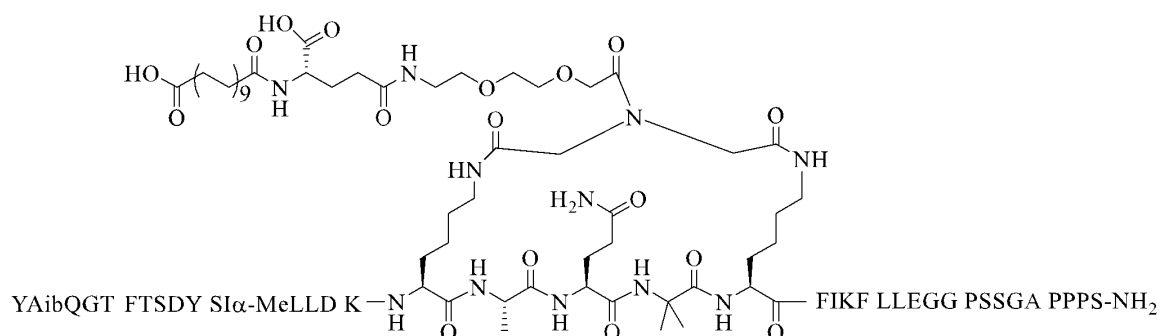
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 32 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1218.2, 检测值为 1217.4。

实施例 33



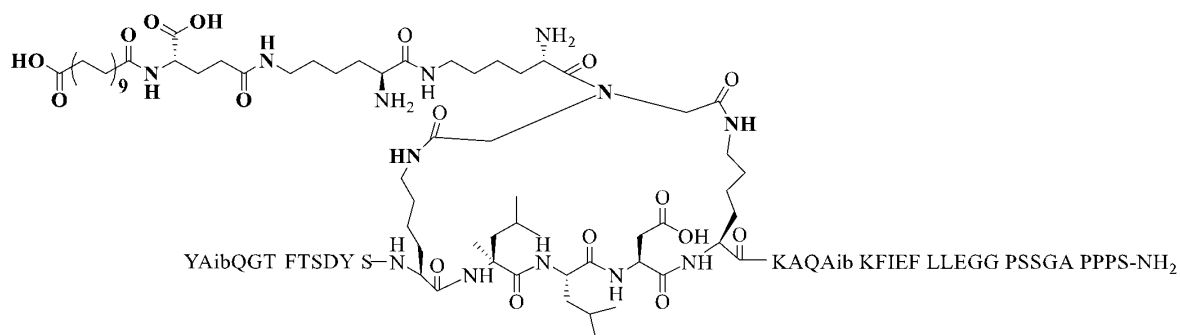
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 33 所示多肽, 其中支链偶联中使用的保护氨基酸依次为 Fmoc-Ida (OAll)-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1246.0, 检测值为 1245.9。

实施例 34



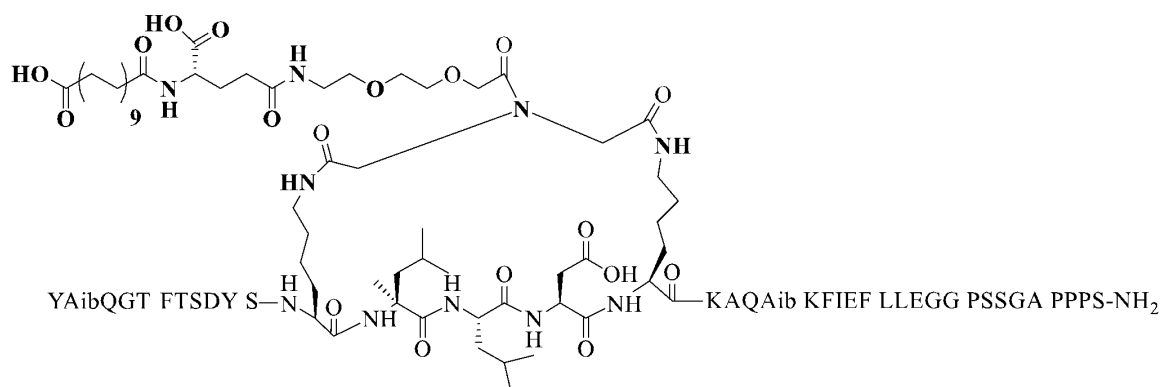
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 34 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1218.2, 检测值为 1218.1。

实施例 35



参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 35 所示多肽, 其中支链偶联中使用的保护氨基酸依次为 Fmoc-Ida (OAll)-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1250.0, 检测值为 1250.0。

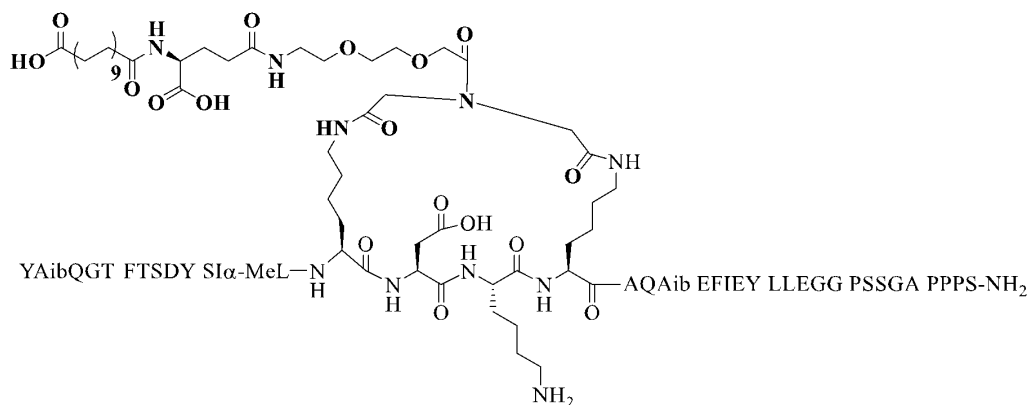
实施例 36



参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 36 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值

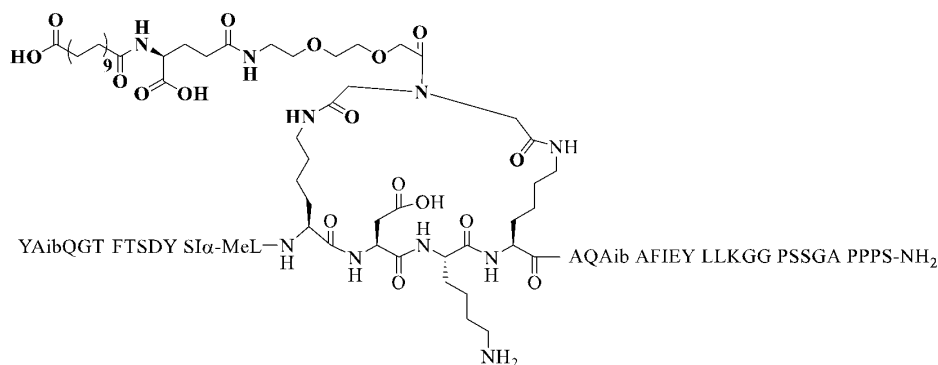
[M+4H]⁴ 为 1222.2, 检测值为 1222.1。

实施例 37



参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 37 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 [M+4H]⁴ 为 1226.4, 检测值为 1226.3。

实施例 38



与前述实施例 21 多肽采用类似合成过程, 使用 MBHA Resin 为起始树脂, 常规 Fmoc 保护氨基酸投料, 缩合剂采用 DIC/HOBt 体系, DMF 为主要反应溶剂, 20% PIP-DMF 溶液为脱 Fmoc 溶剂, 从肽主链 C 端向 N 端逐一缩合, 主链合成完成后, 接着脱除 A-26 位 Fmoc-Lys(Mtt)-OH 的 ε 位氨基上的-Mtt 后, 依次缩合侧 1 至侧 4 位 ((2-2-oxoethyl)-glycine, AEEA, γ Glu, 二十烷二酸单叔丁酯), 然后再脱除 A-23 位 Lys 的 ε 位氨基保护基与侧 1 位 (2-2-oxoethyl)-glycine 的羧基保护基后, 加入缩合剂成内酰胺环, 得到目标肽树脂。

具体步骤如下:

步骤 1: 树脂活化脱保护

1. 取 MBHA Resin (S=0.34 mmol/g) 15 g (5.1 mmol) 加入固相反应柱, 加入 DCM 225 mL 静置 20min 使树脂充分溶胀, 抽干 DCM, 加入 150 mL DMF 通氮气鼓泡洗涤树脂, 重复以上步骤一次, 抽干溶剂。加入

20%的哌啶/DMF(150 mL)至反应柱中，氮气鼓泡反应 10min，排废，直至没有液体流出，再次加入 20%的哌啶/DMF(150 mL)至反应柱中继续氮气鼓泡反应 10min，取样茚三酮检测，树脂呈灰红色，抽掉反应液，用 DMF(150 mL)洗涤 8 次，调节 pH=7，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

步骤 2: Fmoc-Ser(tBu)-OH 偶联

- 1. 称取 Fmoc-Ser(tBu)-OH 5.86g(3.0 eq)、DIC 2.57g (4.0eq) 和 HOBt 2.07g(3.0 eq)，用 80mL DMF 溶解后加入反应柱，鼓氮气，调节好氮气使树脂均匀鼓起；
- 2. 在 25℃的环境中反应 2.0h，取样茚三酮检测，树脂无色透明；
- 3. 抽掉反应液，用 DMF(150 mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

主链其余氨基酸偶联步骤

参考步骤 2 中 Fmoc-Ser(tBu)-OH 偶联的方法及投料当量依次接入氨基酸序列，顺序及所用含保护基团的氨基酸依次如下：

所用含保护基团的氨基酸	备注
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Ala-OH	
Fmoc-Gly-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Gly-OH	
Fmoc-Gly-OH	HPLC 检测合成

得到 AA-11 肽。

步骤 3: AA-11 肽脱保护

- 1. 向合成的 AA-11 肽中，加入 DMF(150 mL)活化 10min，抽干至无液体流出，加入 20%的哌啶/DMF(150 mL)至反应柱中，氮气鼓泡反应 10 min，排废，直至没有液体流出，再次加入 20%的哌啶/DMF(150 mL)至反应柱中继续氮气鼓泡反应 10min，取样茚三酮检测，树脂呈深黄色；抽掉反应液，用 DMF(150 mL)洗涤 8 次，调节 pH=7 左右，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

步骤 4: Fmoc-Lys(Boc)-OH 偶联

- 1. 称取 Fmoc-Lys(Boc)-OH 7.17 g(3.0 eq)、DIC 2.57g (4.0 eq) 和 HOBt2.07 g(3.0 eq)，用 150mL，DMF 溶解后加入反应柱，鼓氮气，调节好氮气使树脂均匀鼓起；
- 2. 在 25℃的环境中反应 3.0h，取样茚三酮检测，树脂无色透明；
- 3. 抽掉反应液，用 DMF(150 mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

主链其余氨基酸偶联步骤

参考步骤 4 中 Fmoc-Lys(Boc)-OH 偶联的方法及投料顺序依次接入氨基酸序列，顺序及所用含保护基团的氨基酸依次如下：

所用含保护基团的氨基酸	备注
Fmoc-Leu-OH	AA-13 肽
Fmoc-Leu-OH	
Fmoc-Tyr(tBu)-OH	
Fmoc-Glu(OtBu)-OH	
Fmoc-Ile-OH	
Fmoc-Phe-OH	
Fmoc-Ala-OH	
Fmoc-Aib-OH	
Fmoc-Gln(Trt)-OH	采用 HPLC 监控
Fmoc-Ala-OH	
Fmoc-Lys(Alloc)-OH	
Fmoc-Lys(Boc)-OH	
Fmoc-Asp(OtBu)-OH	
Fmoc-Lys(Mtt)-OH	
Fmoc- α -Me-Leu-OH	采用 HPLC 监控
Fmoc-Ile-OH	采用 HPLC 监控
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Tyr(tBu)-OH	
Fmoc-Asp(OtBu)-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Thr(tBu)-OH	
Fmoc-Phe-OH	
Fmoc-Thr(tBu)-OH	
Fmoc-Gly-OH	
Fmoc-Gln(Trt)-OH	
Boc-Tyr(tBu)-Aib-OH	采用 HPLC 监控

步骤 5. 支链偶连

1. 向反应柱中加入 DCM 300 mL 洗涤树脂 4 次，抽干溶剂后加入 20%六氟异丙醇（HFIP）-DCM 溶液 150 mL，通氮气鼓泡反应 5 次，每次 30min；
2. 排废，直至没有液体流出，取样茚三酮检测，树脂呈灰绿色；
3. 依次加入 DCM 150 mL 和 DMF 150 mL 交叉洗涤树脂 4 次，排废，直至没有液体流出。
4. 称取 Fmoc-Ida(Oall)-OH 10.08g(5.0 eq)、DIC 3.86g（6.0eq）和 HOBt 3.45g(5.0 eq)，用 150 mLDMF

溶解后加入反应柱，鼓氮气，调节好氮气使树脂均匀鼓起；

- 5. 在 25℃的环境中反应 3.0h，取样茚三酮检测，树脂无色透明；
- 6. 抽掉反应液，用 DMF(180 mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

其余支链偶联步骤

参考步骤 5 中 Fmoc-Ida(Oall)-OH 偶联的方法及投料当量依次接入下表化合物：

所用含保护基团的氨基酸	备注
Fmoc-AEEA-OH	
Fmoc-Glu-OtBu	
二十烷二酸单叔丁酯	采用 HPLC 监控

步骤 6. 环合

- 1. 向反应柱中依次加入 DMF 250 mL 和 DCM 250 mL 交叉洗涤树脂 4 次，排废，直至没有液体流出；
- 2. 以体积比 DCM：CH₃CN：NMP：DEA=3：3：2：2 制备混合溶剂 300mL 并加入反应柱中，再加入 Pd(PPh₃)₄ 1.59g (0.27eq)，氮气鼓泡反应 30min，排废，直至没有液体流出；
- 3. 取样茚三酮检测，树脂呈紫红色；
- 4. 依次加入 DMF 250 mL 和 DCM 250 mL 交叉洗涤树脂 8 次；
- 5. 将 DIC 3.86g (6.0eq) 和 HOBt 3.45g(5.0 eq)溶解与 250 mL DMF 中，加入反应柱，通氮气反应 22 小时，取样茚三酮检测，树脂极淡紫色；
- 6. 依次加入 DMF 250 mL 和 DCM 250 mL 交叉洗涤树脂 8 次；
- 7. 依次加入 MeOH 200 mL 和 DCM 200 mL 交叉洗涤树脂 4 次；
- 8. 取出树脂真空干燥至重量不再下降，称量，得到肽树脂 32.5g；

得中间体（肽树脂）结构式如下：

Nε(Boc-Tyr(tBu)-Aib-Gln(Trt)-Gly-Thr(tBu)-Phe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Ser(tBu)-Ile-a-MeLeu-Lys¹⁴-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Lys¹⁷-Ala-Gln(Trt)-Aib-Ala-Phe-Ile-Glu(OtBu)-Tyr(tBu)-Leu-Leu- Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Rink Linker -MBHA Resin (14,17(Nε(HOOC-(CH₂)₁₈-COOtBu) -Glu(ε-OtBu)- (AEEA)-(2-2-oxoethyl)glycine))

步骤 7. 肽树脂裂解

配制 500 mL 裂解试剂，试剂配方为三氟乙酸（TFA）、纯化水（H₂O）、三异丙基硅烷（TIS）、3-(三苯甲硫基)丙酸（Mpa(Trt)-OH）、苯酚(ArOH)，按体积比 TFA:H₂O:Mpa(Trt)-OH:TIS:ArOH=82.5:2.5:5:5:5，配好后预冷至 10±3℃。搅拌下，将树脂缓慢加入至裂解试剂中，继续搅拌至反应体系温度稳定；然后控温在 18±3℃下，继续搅拌反应 4h。

将裂解液滤出浓缩至稠状，采用 12-15 倍浓缩液体积量的甲基叔丁醚将其沉淀，滤出沉淀物洗涤后于室温减压干燥，得环肽粗品 9.8g。

步骤 8. 色谱纯化

将上述 9.8g 环肽粗品中的 1/6 用 5%乙腈和 2%氨水水溶液溶解，再经高效液相色谱，采用 C18 硅胶

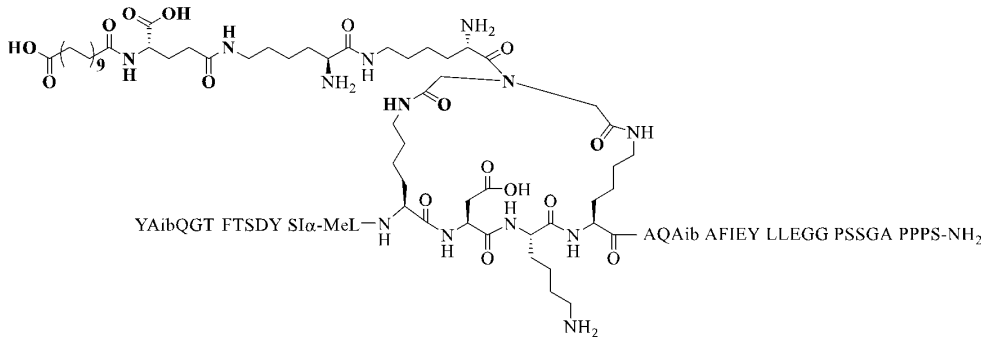
基质填料进行纯化，收集纯度>90%流份合并，纯化色谱体系列表如下：

工序	水相	有机相	梯度
一次纯化	0.2%TFA	乙腈	B%(0-50min):30%-55%
二次纯化	50mmol/L 磷酸氢二铵	乙腈	B%(0-50min):31%-65%
三次纯化	0.2mmol/L 氢氧化钠	乙腈	B%(0-50min):41%-55%

步骤 9. 浓缩冻干

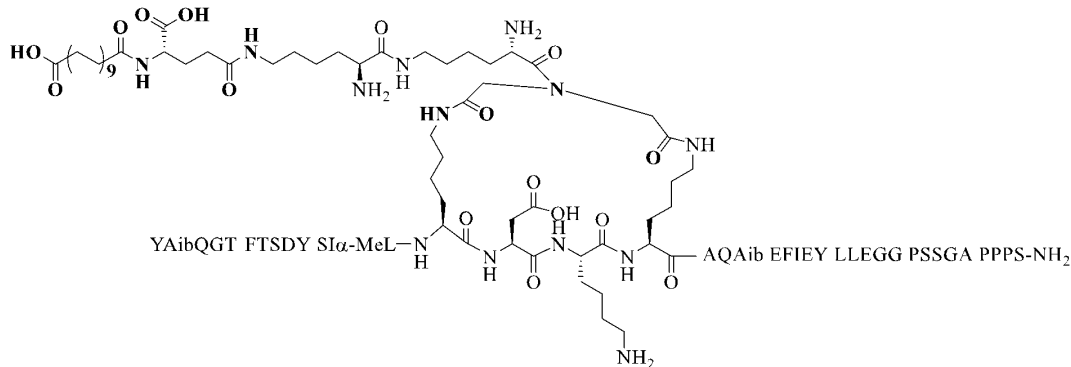
上步所得流份浓缩除去乙腈，0.22μm 微孔滤膜过滤，装入挂瓶式冻干机，冻干得到目标多肽成品 144mg（纯度为 96.69%）；多肽分子量经 ESI-MS 进行确认，计算值[M+4]/4 为 1211.6，检测值 1211.5。

实施例 39



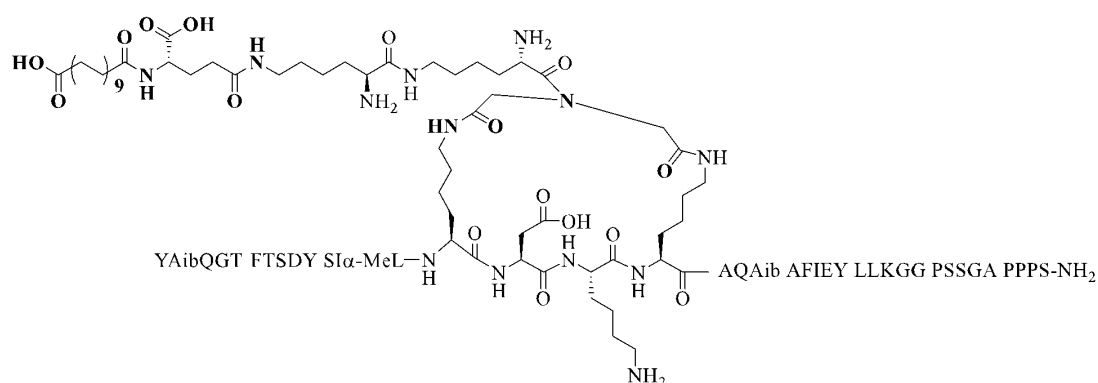
参考实施例 21 多肽的合成，得到实施例 39 所示多肽，其中支链偶联中使用的保护基氨基酸依次为 Fmoc-Ida (OAll)-OH，N-Boc-N’ -Fmoc-Lys-OH，N-Boc-N’ -Fmoc-Lys-OH，Fmoc-Glu-OtBu，二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认，计算值[M+4H]/4 为 1239.7，检测值为 1239.7。

实施例 40



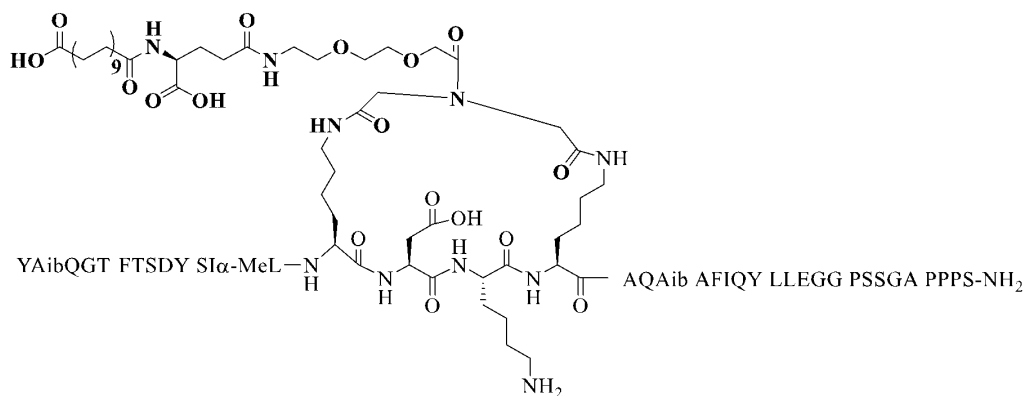
参考实施例 21 多肽的合成，得到实施例 40 所示多肽，其中支链偶联中使用的保护基氨基酸依次为 Fmoc-Ida (OAll)-OH，N-Boc-N’ -Fmoc-Lys-OH，N-Boc-N’ -Fmoc-Lys-OH，Fmoc-Glu-OtBu，二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认，计算值[M+4H]/4 为 1254.2，检测值为 1254.1。

实施例 41



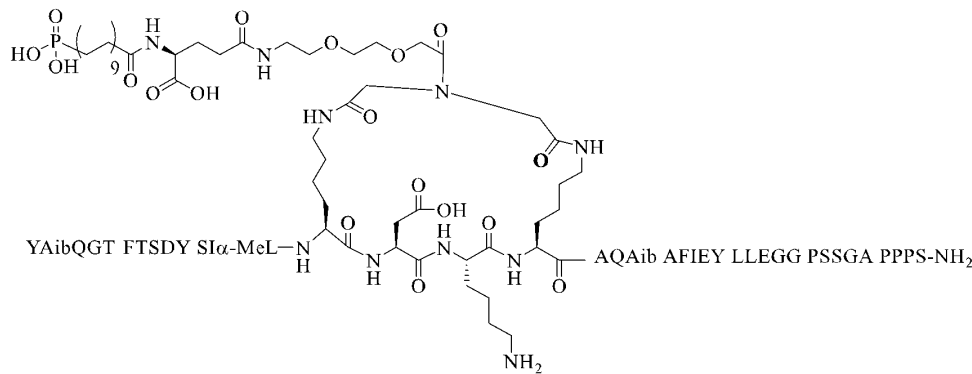
参考实施例 38 多肽的合成, 得到实施例 41 所示多肽, 其中支链偶联中使用的保护氨基酸依次为 Fmoc-Ida (OAll)-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH, Fmoc-Glu-OtBu, 二十烷二酸单叔丁酯。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值[M+4H]/4 为 1239.4, 检测值为 1239.3。

实施例 42



参考实施例 21 多肽的合成, 得到实施例 42 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值[M+4H]/4 为 1211.6, 检测值为 1211.5。

实施例 43



使用 MBHA Resin 为起始树脂，常规 Fmoc 保护氨基酸投料，缩合剂采用 DIC/HOBt 体系，DMF 为主要反应溶剂，20%PIP-DMF 溶液为脱 Fmoc 溶剂，从肽主链 C 端向 N 端逐一缩合，主链合成完成后，接着脱除 A-26 位 Fmoc-Lys(Mtt)-OH 的 ε 位氨基上的-Mtt 后，依次缩合侧 1 至侧 4 位 ((2-2-oxoethyl)-glycine, AEEA, γ Glu, 19-(bis(benzyloxy)phosphoryl)nonadecanoic acid)，然后再脱除 A-23 位 Lys 的 ε 位氨基保护基与侧 1 位 (2-2-oxoethyl)-glycine 的羧基保护基后，加入缩合剂成内酰胺环，得到目标肽树脂。

具体步骤如下：

步骤 1：树脂活化脱保护

1.取 MBHA Resin (S=0.34 mmol/g) 15 g(5.1 mmol)加入固相反应柱，加入 DCM 225 mL 静置 20min 使树脂充分溶胀，抽干 DCM，加入 150 ml DMF 通氮气鼓泡洗涤树脂，重复以上步骤一次，抽干溶剂。加入 20%的哌啶/DMF(150 mL)至反应柱中，氮气鼓泡反应 10min，排废，直至没有液体流出，再次加入 20%的哌啶/DMF(150 mL)至反应柱中继续氮气鼓泡反应 10min，取样茚三酮检测，树脂呈灰红色，抽掉反应液，用 DMF(150 mL)洗涤 8 次，调节 pH=7，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

步骤 2：Fmoc-Ser(tBu)-OH 偶联

1. 称取 Fmoc-Ser(tBu)-OH 5.86g(3.0 eq)、DIC 2.57g (4.0eq) 和 HOBt 2.07g(3.0 eq)，用 80mL DMF 溶解后加入反应柱，鼓氮气，调节好氮气使树脂均匀鼓起；
2. 在 25℃的环境中反应 2.0h，取样茚三酮检测，树脂无色透明；
3. 抽掉反应液，用 DMF(150 mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

主链其余氨基酸偶联步骤

参考步骤 2 中 Fmoc-Ser(tBu)-OH 偶联的方法及投料当量依次接入氨基酸序列，顺序及所用含保护基团的氨基酸依次如下：

所用含保护基团的氨基酸	备注
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Ala-OH	

Fmoc-Gly-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Gly-OH	
Fmoc-Gly-OH	HPLC 检测合成

得到 AA-11 肽。

步骤 3：AA-11 肽脱保护

1. 将合成的 AA-11 肽，加入 DMF(150 mL)活化 10 min，抽干至无液体流出，加入 20%的哌啶/DMF(150 mL)至反应柱中，氮气鼓泡反应 10min，排废，直至没有液体流出，再次加入 20%的哌啶/DMF(150 mL)至反应柱中继续氮气鼓泡反应 10min，取样茚三酮检测，树脂呈深黄色；抽掉反应液，用 DMF(150 mL)洗涤 8 次，调节 pH=7 左右，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

步骤 4：Fmoc-Glu(tBu)-OH 偶联

- 1. 称取 Fmoc-Glu(tBu)-OH 6.51 g(3.0 eq)、DIC 2.57g（4.0 eq）和 HOBt2.07 g(3.0 eq)，用 150mL DMF 溶解后加入反应柱，鼓氮气，调节好氮气使树脂均匀鼓起；
- 2. 在 25℃的环境中反应 3.0h，取样茚三酮检测，树脂无色透明；
- 3. 抽掉反应液，用 DMF(150 mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

主链其余氨基酸偶联步骤

参考步骤 4 中 Fmoc-Glu(tBu)-OH 偶联的方法及投料顺序依次接入氨基酸序列，顺序及所用含保护基团的氨基酸依次如下：

所用含保护基团的氨基酸	备注
Fmoc-Leu-OH	AA-13 肽
Fmoc-Leu-OH	
Fmoc-Tyr(tBu)-OH	
Fmoc-Glu(OtBu)-OH	
Fmoc-Ile-OH	
Fmoc-Phe-OH	
Fmoc-Ala-OH	
Fmoc-Aib-OH	
Fmoc-Gln(Trt)-OH	采用 HPLC 监控
Fmoc-Ala-OH	
Fmoc-Lys(Alloc)-OH	
Fmoc-Lys(Boc)-OH	
Fmoc-Asp(OtBu)-OH	

Fmoc-Lys(Mtt)-OH	
Fmoc- α -Me-Leu-OH	采用 HPLC 监控
Fmoc-Ile-OH	采用 HPLC 监控
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Tyr(tBu)-OH	
Fmoc-Asp(OtBu)-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Thr(tBu)-OH	
Fmoc-Phe-OH	
Fmoc-Thr(tBu)-OH	
Fmoc-Gly-OH	
Fmoc-Gln(Trt)-OH	
Boc-Tyr(tBu)-Aib-OH	采用 HPLC 监控

步骤 5. 支链偶连

1. 向反应柱中加入 DCM 300 mL 洗涤树脂 4 次，抽干溶剂后加入 20%六氟异丙醇（HFIP）-DCM 溶液 150mL，通氮气鼓泡反应 5 次，每次 30min；
2. 排废，直至没有液体流出，取样茚三酮检测，树脂呈灰绿色；
3. 依次加入 DCM 150 mL 和 DMF 150 mL 交叉洗涤树脂 4 次，排废，直至没有液体流出。
4. 称取 Fmoc-Ida(Oall)-OH 10.08g(5.0 eq)、DIC 3.86g（6.0eq）和 HOBt 3.45g(5.0 eq)，用 150mL DMF 溶解后加入反应柱，鼓氮气，调节好氮气使树脂均匀鼓起；
5. 在 25°C 的环境中反应 3.0h，取样茚三酮检测，树脂无色透明；
6. 抽掉反应液，用 DMF(180 mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

其余支链偶联步骤

参考步骤 5 中 Fmoc-Ida(Oall)-OH 偶联的方法及投料当量依次接入下表化合物：

所用含保护基团的氨基酸	备注
Fmoc-AEEA-OH	
Fmoc-Glu-OtBu	
19-(bis(benzyloxy)phosphoryl)nonadecanoic acid	采用 HPLC 监控

步骤 6. 环合

1. 向反应柱依次加入 DMF 250 mL 和 DCM 250 mL 交叉洗涤树脂 4 次，排废，直至没有液体流出；
2. 以体积比 DCM：CH₃CN：NMP：DEA=3：3：2：2 制备混合溶剂 300 mL 并加入反应柱中，再加入 Pd(PPh₃)₄ 1.59g (0.27eq)，氮气鼓泡反应 30min，排废，直至没有液体流出；
3. 取样茚三酮检测，树脂呈黄色偏紫色；
4. 依次加入 DMF 250 mL 和 DCM 250 mL 交叉洗涤树脂 8 次；

5. 将 DIC 3.86g (6.0eq) 和 HOBt 3.45g(5.0 eq)溶解与 250mL DMF 中，加入反应柱，通氮气反应 23h，取样茚三酮检测，树脂无色；
6. 依次加入 DMF 250 mL 和 DCM 250 mL 交叉洗涤树脂 8 次；
7. 依次加入 MeOH 200mL 和 DCM 200mL 交叉洗涤树脂 4 次；
8. 取出树脂真空干燥至重量不再下降，称量，得到肽树脂 33g；
- 得中间体（肽树脂）结构式如下：

Ne(Tyr(tBu)-Aib-Gln(Trt)-Gly-Thr(tBu)-Phe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Ser(tBu)-Ile-a-MeLeu-Lys¹⁴-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Lys¹⁷-Ala-Gln(Trt)-Aib-Ala-Phe-Ile-Glu(OtBu)-Tyr(tBu)-Leu-Leu-Glu(OtBu)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Rink Linker -MBHA Resin (14,17(Nε(HOOC-(CH₂)₁₈-PO(OBn)₂)-Glu(ε-OtBu)-(AEEA)-(2-2-oxoethyl)glycine))

步骤 7. 肽树脂裂解

配制 500 mL 裂解试剂，试剂配方为三氟乙酸（TFA）、纯化水（H₂O）、三异丙基硅烷（TIS）、3-(三苯甲硫基)丙酸（Mpa(Trt)-OH）、苯酚(ArOH)，按体积比 TFA:H₂O: Mpa(Trt)-OH:TIS:ArOH=82.5:2.5:5:5:5，配好后预冷至 10±3℃。搅拌下，将树脂缓慢加入至裂解试剂中，继续搅拌至反应体系温度稳定；然后控温在 18±3℃下，继续搅拌反应 8h。将裂解液滤出，浓缩至稠状，采用 12-15 倍浓缩液体积量的甲基叔丁醚将其沉淀，滤出沉淀物洗涤后于室温减压干燥，得环肽粗品 8.8g。

步骤 8. 色谱纯化

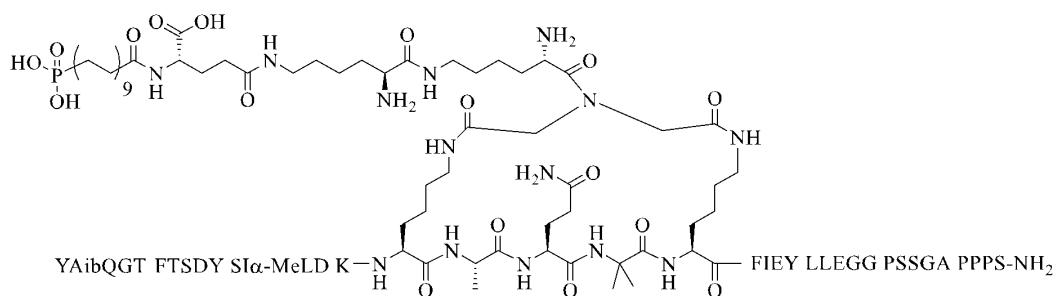
将上述环肽粗品取 2.0g 出来用 5%乙腈和 2%氨水水溶液溶解，再经高效液相色谱，采用 C18 硅胶基质填料进行纯化，收集纯度>90%流份合并，纯化色谱体系列表如下：

工序	水相	有机相	梯度
一次纯化	0.2%TFA	乙腈	B%(0-50min):30%-55%
二次纯化	50mmol/L 磷酸氢二铵	乙腈	B%(0-50min):31%-65%
三次纯化	0.2mmol/L 氢氧化钠	乙腈	B%(0-50min):41%-55%

步骤 9. 浓缩冻干

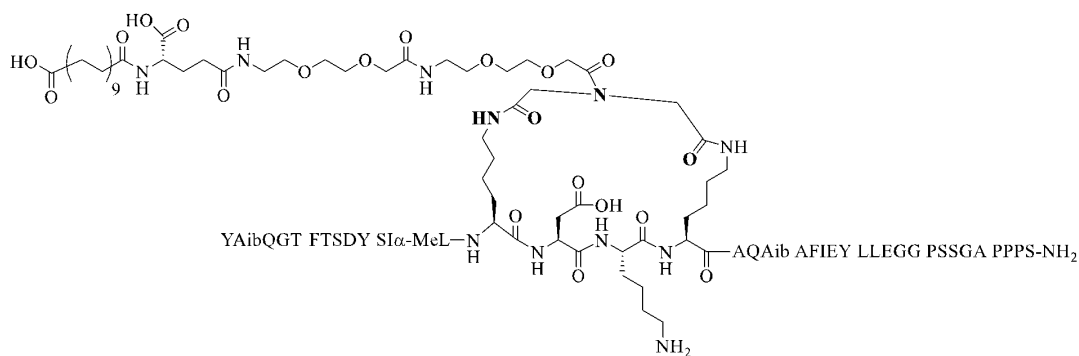
上步所得流份浓缩除去乙腈，0.22μm 微孔滤膜过滤，装入挂瓶式冻干机，冻干得到目标多肽成品 28mg（纯度为 97.67%）；多肽分子量经 ESI-MS 进行确认，计算值[M]为 1220.9，检测值[M+H]为 1219.8。

实施例 44



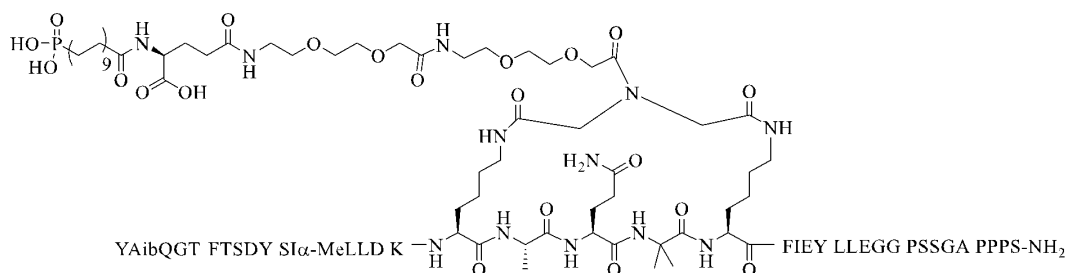
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 44 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1259.2, 检测值为 1258.0。

实施例 45



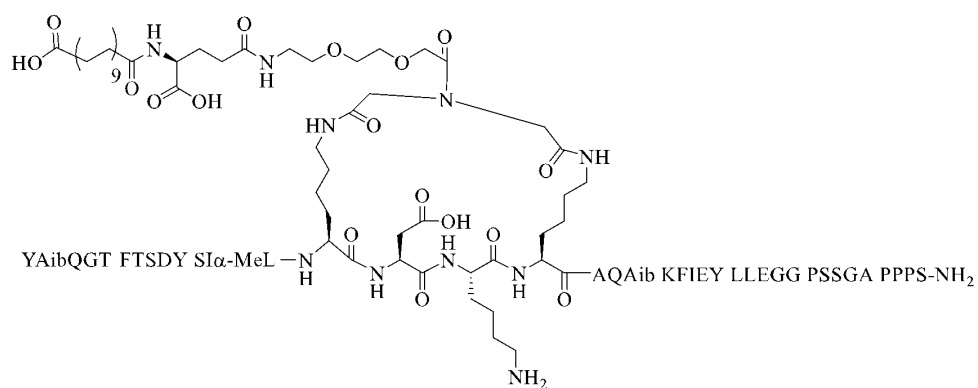
参考实施例 21 多肽的合成, 得到实施例 45 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M+4H]/4$ 为 1248.2, 检测值为 1248.1。

实施例 46



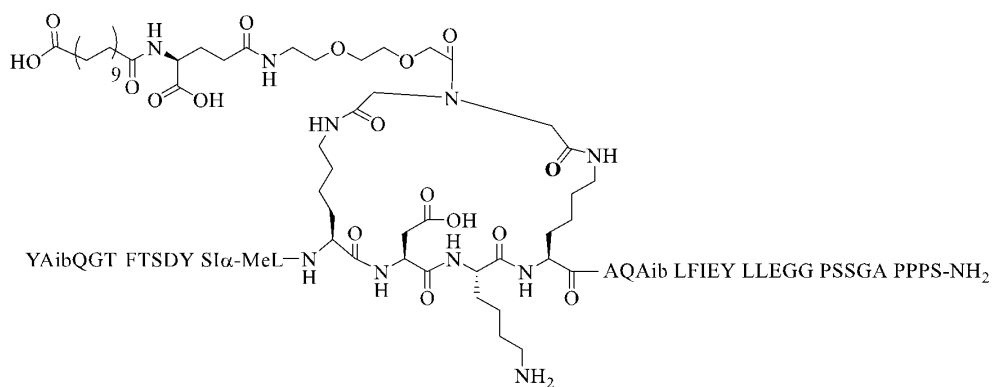
参考实施例 1 多肽的合成, 得到实施例 46 所示多肽, 其中支链偶联中使用的保护氨基酸依次为 Fmoc-Ida(Oall)-OH、Fmoc-AEEA-OH、Fmoc-AEEA-OH、Fmoc-Glu-OtBu、19-(bis(benzyloxy)phosphoryl)nonadecanoic acid。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值 $[M]$ 为 5067.61, 检测值为 5066.61。

实施例 47



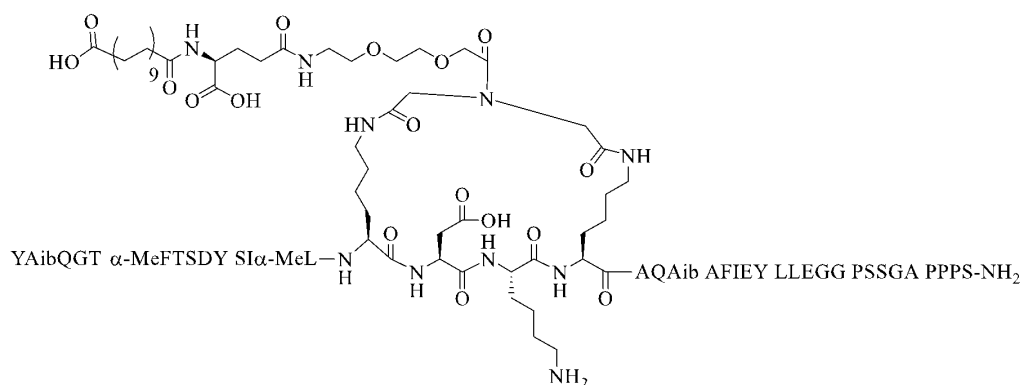
参考实施例 21 多肽的合成, 得到实施例 47 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值[M] 为 4900.56, 检测值为 4900.62。

实施例 48



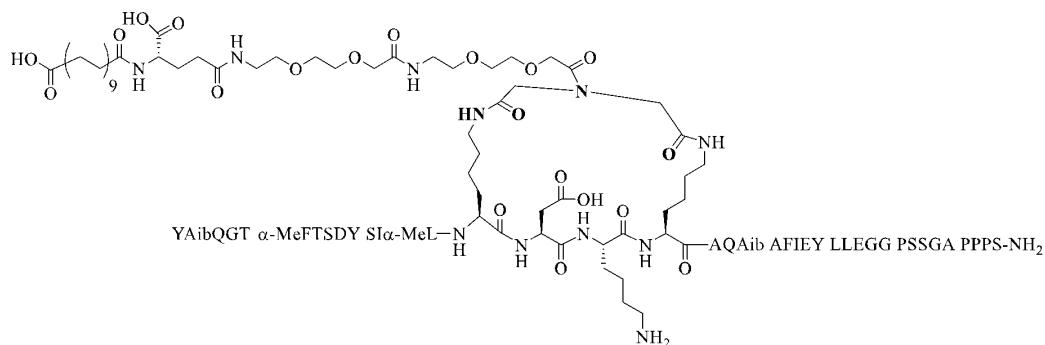
参考实施例 21 多肽的合成, 得到实施例 48 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值[M] 为 4885.56, 检测值为 4885.50。

实施例 49



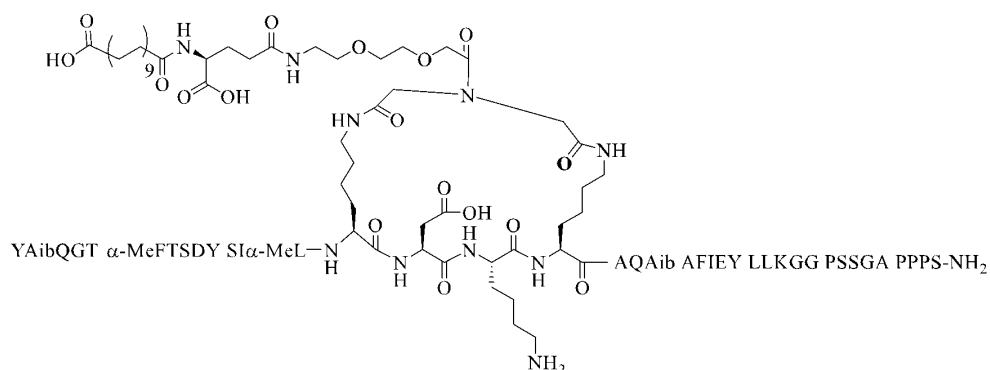
参考实施例 21 多肽的合成, 得到实施例 49 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值[M] 为 4857.51, 检测值为 4857.55。

实施例 50



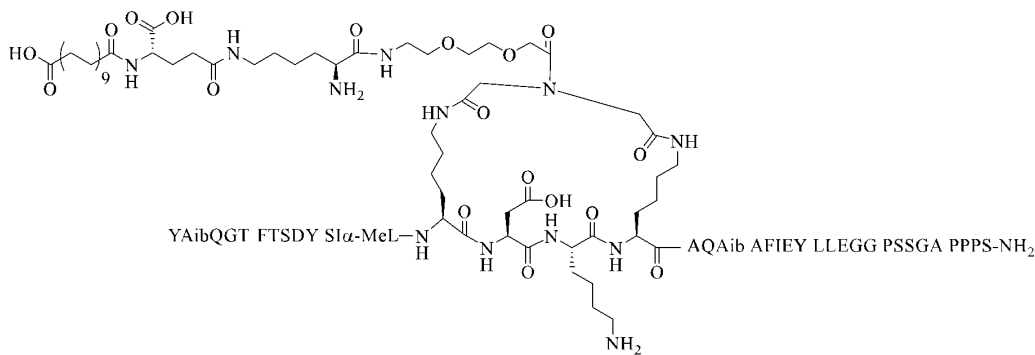
参考实施例 21 多肽的合成, 得到实施例 50 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值[M] 为 5002.59, 检测值为 5002.62。

实施例 51



参考实施例 21 多肽的合成, 得到实施例 51 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值[M] 为 4856.57, 检测值为 4856.48。

实施例 52



使用 MBHA Resin 为起始树脂，常规 Fmoc 保护氨基酸投料，缩合剂采用 DIC/HOBt 体系，DMF 为主要反应溶剂，20%PIP-DMF 溶液为脱 Fmoc 溶剂，从肽主链 C 端向 N 端逐一缩合，主链合成完成后，接着脱除 A-26 位 Fmoc-Lys(Mtt)-OH 的 ε 位氨基上的-Mtt 后，依次缩合侧 1 至侧 4 位((2-2-oxoethyl)-glycine,AEEA, N-Boc-N'-Fmoc- Lys-OH, γ Glu, 二十烷二酸单叔丁基)，然后再脱除 A-23 位 Lys 的 ε 位氨基保护基与侧 1 位 (2-2-oxoethyl)-glycine 的羧基保护基后，加入缩合剂成内酰胺环，得到目标肽树脂。

具体步骤如下：

步骤 1：树脂活化脱保护

1. 取 MBHA Resin (S=0.34 mmol/g) 15 g(5.1 mmol)加入固相反应柱，加入 DCM 225 mL 静置 20min 使树脂充分溶胀，抽干 DCM，加入 150 mL DMF 通氮气鼓泡洗涤树脂，重复以上步骤一次，抽干溶剂。加入 20%的哌啶/DMF(150 mL)至反应柱中，氮气鼓泡反应 10 min，排废，直至没有液体流出，再次加入 20%的哌啶/DMF(150 mL)至反应柱中继续氮气鼓泡反应 10min，取样茚三酮检测，树脂呈灰红色，抽掉反应液，用 DMF(150 mL)洗涤 8 次，调节 pH=7，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

步骤 2：Fmoc-Ser(tBu)-OH 偶联

1. 称取 Fmoc-Ser(tBu)-OH 5.86g(3.0 eq)、DIC 2.57g（4.0eq）和 HOBt 2.07g(3.0 eq)，用 80mL DMF 溶解后加入反应柱，鼓氮气，调节好氮气使树脂均匀鼓起；
2. 在 25℃的环境中反应 2.0h，取样茚三酮检测，树脂无色透明；
3. 抽掉反应液，用 DMF(150 mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

主链其余氨基酸偶联步骤

参考步骤 2 中 Fmoc-Ser(tBu)-OH 偶联的方法及投料当量依次接入氨基酸序列，顺序及所用含保护基团的氨基酸依次如下：

所用含保护基团的氨基酸	备注
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Pro-OH	

Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Ala-OH	
Fmoc-Gly-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Gly-OH	
Fmoc-Gly-OH	HPLC 检测合成

得到 AA-11 肽。

步骤 3: AA-11 肽脱保护

1. 向合成的 AA-11 肽,加入 DMF(150 mL)活化 10 min,抽干至无液体流出,加入 20%的哌啶/DMF(150 mL)至反应柱中,氮气鼓泡反应 10min,排废,直至没有液体流出,再次加入 20%的哌啶/DMF(150 mL)至反应柱中继续氮气鼓泡反应 10min,取样茚三酮检测,树脂呈深黄色;抽掉反应液,用 DMF(150 mL)洗涤 8 次,调节 pH=7 左右,每次 1min,排废,直至没有液体流出。

步骤 4: Fmoc-Glu(tBu)-OH 偶联

- 1. 称取 **Fmoc-Glu(tBu)-OH** 6.51 g(3.0 eq)、DIC 2.57g (4.0 eq) 和 HOBt2.07 g(3.0 eq),用 150mL DMF 溶解后加入反应柱,鼓氮气,调节好氮气使树脂均匀鼓起;
- 2. 在 25℃的环境中反应 3.0h,取样茚三酮检测,树脂无色透明;
- 3. 抽掉反应液,用 DMF(150 mL)洗涤 5 次,每次 1min,排废,直至没有液体流出。

主链其余氨基酸偶联步骤

参考步骤 4 中 **Fmoc-Glu(tBu)-OH** 偶联的方法及投料顺序依次接入氨基酸序列,顺序及所用含保护基团的氨基酸依次如下:

所用含保护基团的氨基酸	备注
Fmoc-Leu-OH	AA-13 肽
Fmoc-Leu-OH	
Fmoc-Tyr(tBu)-OH	
Fmoc-Glu(OtBu)-OH.	
Fmoc-Ile-OH	
Fmoc-Phe-OH	
Fmoc-Ala-OH	
Fmoc-Aib-OH	
Fmoc-Gln(Trt)-OH	采用 HPLC 监控
Fmoc-Ala-OH	
Fmoc-Lys(Alloc)-OH	

Fmoc-Lys(Boc)-OH	
Fmoc-Asp(OtBu)-OH	
Fmoc-Lys(Mtt)-OH	
Fmoc- α -Me-Leu-OH	采用 HPLC 监控
Fmoc-Ile-OH	采用 HPLC 监控
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Tyr(tBu)-OH	
Fmoc-Asp(OtBu)-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Thr(tBu)-OH	
Fmoc-Phe-OH	
Fmoc-Thr(tBu)-OH	
Fmoc-Gly-OH	
Fmoc-Gln(Trt)-OH	
Boc-Tyr(tBu)-Aib-OH	采用 HPLC 监控

步骤 5. 支链偶连

1. 向反应柱中加入 DCM 300 mL 洗涤树脂 4 次，抽干溶剂后加入 20%六氟异丙醇（HFIP）-DCM 溶液 150mL，通氮气鼓泡反应 5 次，每次 30min；
2. 排废，直至没有液体流出，取样茚三酮检测，树脂呈灰绿色；
3. 依次加入 DCM 150mL 和 DMF 150 mL 交叉洗涤树脂 4 次，排废，直至没有液体流出。
4. 称取 Fmoc-Ida(Oall)-OH 10.08g(5.0 eq)、DIC 3.86g（6.0eq）和 HOBt 3.45g(5.0 eq)，用 150 mL DMF 溶解后加入反应柱，鼓氮气，调节好氮气使树脂均匀鼓起；
5. 在 25℃的环境中反应 3.0h，取样茚三酮检测，树脂无色透明；
6. 抽掉反应液，用 DMF(180 mL)洗涤 5 次，每次 1min，排废，直至没有液体流出。

其余支链偶联步骤

参考步骤 5 中 Fmoc-Ida(Oall)-OH 偶联的方法及投料当量依次接入下表化合物：

所用含保护基团的氨基酸	备注
Fmoc-AEEA-OH	
N-Boc-N'-Fmoc-Lys-OH	
Fmoc-Glu-OtBu	
二十烷二酸单叔丁酯	采用 HPLC 监控

步骤 6. 环合

1. 向反应柱中依次加入 DMF 250mL 和 DCM 250mL 交叉洗涤树脂 4 次，排废，直至没有液体流出；
2. 以体积比 DCM：CH₃CN：NMP：DEA=3：3：2：2 制备混合溶剂 300mL 并加入反应柱中，再加入

Pd(PPh₃)₄ 1.59g (0.27eq), 氮气鼓泡反应 30min, 排废, 直至没有液体流出:

3. 取样茚三酮检测, 树脂呈黄色偏紫色;
4. 依次加入 DMF 250mL 和 DCM 250mL 交叉洗涤树脂 8 次;
5. 将 DIC 3.86g (6.0eq) 和 HOBt 3.45g(5.0 eq)溶解与 250 mL DMF 中, 加入反应柱, 通氮气反应 22h, 取样茚三酮检测, 树脂无色;

6. 依次加入 DMF 250 mL 和 DCM 250 mL 交叉洗涤树脂 8 次;
7. 依次加入 MeOH 200 mL 和 DCM 200 mL 交叉洗涤树脂 4 次;
8. 取出树脂真空干燥至重量不再下降, 称量, 得到肽树脂 25.5g;

得中间体(肽树脂)结构式如下:

Nε(Boc-Tyr(tBu)-Aib-Gln(Trt)-Gly-Thr(tBu)-Phe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Ser(tBu)-Ile-a-MeLeu-Lys¹⁴-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Lys¹⁷-Ala-Gln(Trt)-Aib-Ala-Phe-Ile-Glu(OtBu)-Tyr(tBu)-Leu-Leu-Glu(OtBu)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Rink Linker -MBHA Resin (14,17(Nε(HOOC-(CH₂)₁₈-COOtBu)-Boc(Lys)-Glu(ε-OtBu)-(AEEA)-(2-2-oxoethyl)glycine))

步骤 7. 肽树脂裂解

配制 500mL 裂解试剂, 试剂配方为三氟乙酸(TFA)、纯化水(H₂O)、三异丙基硅烷(TIS)、3-(三苯甲硫基)丙酸(Mpa(Trt)-OH)、苯酚(ArOH), 按体积比 TFA:H₂O: Mpa(Trt)-OH:TIS:ArOH=82.5:2.5:5:5:5, 配好后预冷至 10±3℃。搅拌下, 将树脂缓慢加入至裂解试剂中, 继续搅拌至反应体系温度稳定; 然后控温在 18±3℃下, 继续搅拌反应 4h。将裂解液滤出, 浓缩至稠状, 采用 12-15 倍浓缩液体积量的甲基叔丁醚将其沉淀, 滤出沉淀物洗涤后于室温减压干燥, 得环肽粗品 8.6g。

步骤 8. 色谱纯化

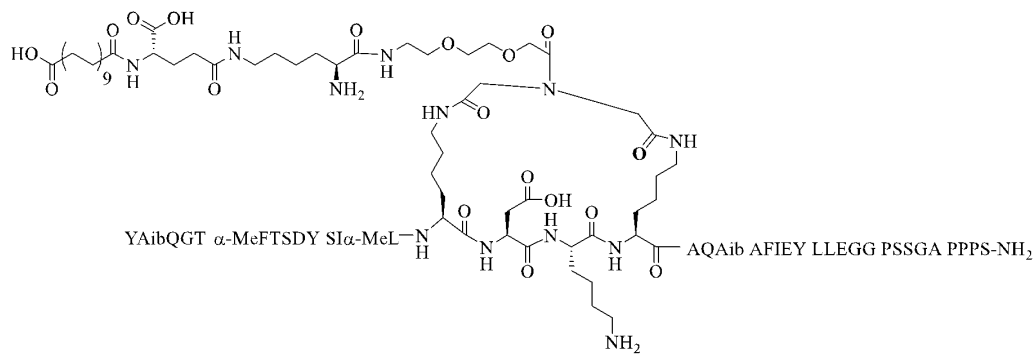
将上述 8.6 环肽粗品用 5%乙腈和 2%氨水水溶液溶解, 再经高效液相色谱, 采用 C18 硅胶基质填料进行纯化, 收集纯度>90%流份合并, 纯化色谱体系列表如下:

工序	水相	有机相	梯度
一次纯化	0.2%TFA	乙腈	B%(0-50min):30%-55%
二次纯化	50mmol/L 磷酸氢二铵	乙腈	B%(0-50min):31%-65%
三次纯化	0.2mmol/L 氢氧化钠	乙腈	B%(0-50min):41%-55%

步骤 9. 浓缩冻干

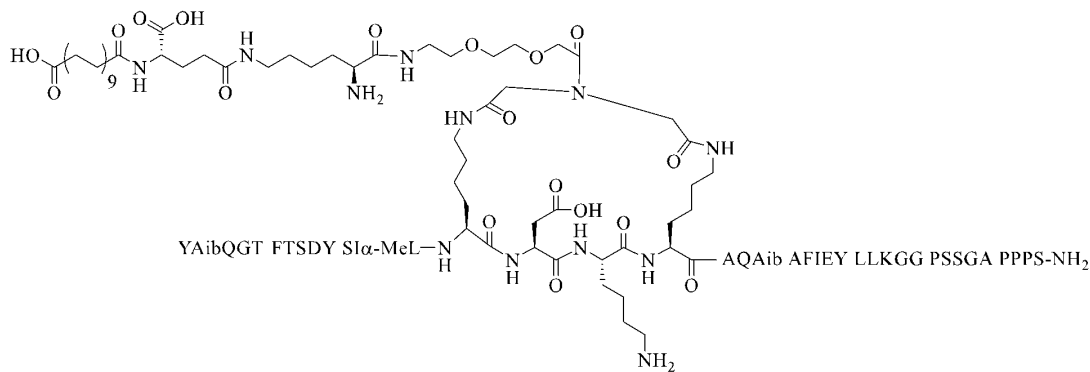
上步所得流份浓缩除去乙腈, 0.22μm 微孔滤膜过滤, 装入挂瓶式冻干机, 冻干得到目标多肽成品 1.1g (纯度为 99.12%); 多肽分子量经 ESI-MS 进行确认, 计算值[M]为 4972.62, 检测值为 4971.42。

实施例 53



参考实施例 52 多肽的合成，得到实施例 53 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认，计算值[M] 为 4985.61，检测值为 4985.42。

实施例 54



参考实施例 52 多肽的合成，得到实施例 54 所示多肽。多肽分子量经 ESI-MS 进行确认，计算值[M] 为 4970.65，检测值为 4969.65。

生物测试数据

试验 1：体外 GLP-1R/GIPR/GCGR 激动活性测试

方法 1：

A：主要材料：

1)细胞株

该细胞株由康龙化成构建。详情见下表。

靶点	宿主细胞	克隆
GLP-1R	HEK293	N/A
GCGR	HEK293	N/A
GIPR	CHO	N/A

2) 试剂与耗材

名称	批次	货号	厂家
cAMP 检测盒	3053757	TRF0263	Perkin Elmer
1M HEPES	2458415	15630-080	Gibco
Hanks 平衡盐溶液(HBSS)	2193007	14025-076	Gibco
胎牛血清白蛋白(BSA)	2888494	CR84-100	Perkin Elmer
3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(IBMX)	102433079	I5879	Sigma
TrypLE	2492769	12604-021	Invitrogen
96 孔板	1363672	249944	Thermo
CulturPlate-384	8213-22291	6007680	Perkin Elmer

3) 仪器

名称	型号	厂家
EnVision	2015	Perkin Elmer
自动荧光细胞计数仪	Countess III	Invitrogen
Centrifuge	CLT55	Cence 湘仪

B. 方法

I) 实验材料

实验缓冲液

试剂	储存浓度	体积	终浓度
Hanks 平衡盐溶液	1x	38.7mL	≈1x
HEPES 缓冲液	1mol/L	800 μL	20mmol/L
7.5%酪蛋白溶液(HEPES)/	7.5%/	533 μL	0.10%/
3-异丁基-1-甲基黄嘌呤 (IBMX)	1mol/L	20 μL	0.5mmol/L

检测试剂制备

试剂	储存浓度	体积	终浓度
细胞裂解液	1x	9.73 mL	≈1x
Eu-cAMP 溶液	50x	200 μL	1x
Ulight-anti-cAMP 溶液	150x	66.7 μL	1x

II) 实验方法

a) 制备化合物板：

待测化合物做10个点5倍稀释，起始浓度为200 nM。

b) 细胞悬液的制备

- 1) 细胞株分别培养于37℃，5% CO₂环境下的完全培养基中。
- 2) TrypLE消化处理后将细胞分别重悬于实验缓冲液中，接种到CulturPlate-384细胞培养板中，接种密度为每孔2000个细胞，接种体积为每孔15 μL。

c) 激动活性测定

- 1) 冻融Eu-cAMP tracer，用detection buffer稀释50倍；冻融Ulight-anti-cAMP，用detection buffer稀释150倍。
- 2) 加入5 μL 待测化合物至CulturPlate-384细胞培养板各实验孔中，200g离心30 s，37℃静置30 min。
- 3) 加入10 μL Eu-cAMP tracer至各实验孔，然后加入10 μL Uligh-anti-cAMP至各实验孔中。
- 4) 将反应板于室温200 g离心30 s，25℃静置1 h后。
- 5) 利用Envision 2105收集数据，激发光：340 nm，发射光：665 nm和615 nm。

C 实验结果

化合物	活性测试结果		
	GLP-1 EC ₅₀ (nM)	GIP-1 EC ₅₀ (nM)	GCG EC ₅₀ (nM)
人 GLP-1(7-37)	0.001	NA	NA
人 GIP(1-42)	NA	0.013	NA
人 Glucagon	NA	NA	0.001
LY3437943	0.014	0.001	0.031
实施例 1	0.009	0.001	0.024
实施例 2	0.009	0.001	0.279
实施例 3	0.025	0.003	1.679
实施例 4	0.023	0.016	0.143
实施例 5	0.029	0.007	0.012
实施例 6	0.005	0.0005	0.017
实施例 7	0.005	0.0003	0.061
实施例 8	0.004	0.0004	0.012
实施例 9	0.005	0.0004	0.022
实施例 10	0.009	0.0003	0.057
实施例 11	0.006	0.0003	0.129
实施例 12	0.002	0.0001	0.007

实施例 14	0.001	0.0001	0.028
实施例 16	0.002	0.0001	0.042
实施例 17	0.001	0.0001	0.016
实施例 18	0.008	0.0004	0.052
实施例 21	0.020	0.0008	0.039
实施例 22	0.009	0.0004	0.034
实施例 23	0.007	0.0004	0.096
实施例 26	0.014	0.0005	0.110
实施例 28	0.011	0.0008	0.110
实施例 38	0.002	0.0002	0.018
实施例 41	0.003	0.0003	0.015
实施例 42	0.007	0.0005	0.025
实施例 43	0.015	0.0009	0.042
实施例 45	0.005	0.0001	0.029
实施例 51	0.001	0.0002	0.025
实施例 52	0.003	0.0001	0.025
实施例 54	0.002	0.0004	0.02

结论：本发明多肽化合物对 GLP-1R/GIPR/GCGR 具有很强的激动活性，整体上优于或不差于 LY3437943 的活性，特别是“订书钉”结构及位置的引入，对多肽的活性存在影响。进一步，在重复实验中及测试其他化合物所得实验结果趋势一致。在较优的情况，与**对照品** LY3437943 的活性相比，本发明化合物对 GLP-1R 的激动活性是 LY3437943 的 0.05~5 倍，对 GIPR 的激动活性是 LY3437943 的 0.1~5 倍；对 GCGR 的激动活性是 LY3437943 的 0.2~5 倍。

综上，本发明化合物具有较优的体外 GLP-1R/GIPR/GCGR 激动活性，且整体优于或不差于对照品 LY3437943。

试验2：化合物在食蟹猴中的药代动力学性质

A. 实验目的

测试化合物在食蟹猴体内药代动力学

B. 实验操作

使用非幼年的食蟹猴，雄性，3只/化合物；给药后1h、2h、4h、8h、16h、24h、48h、72h、120h、168h和240h时间点收集全血，制备得到血浆，以LC-MS/MS方法分析药物浓度，并用Phoenix WinNonlin软

件计算药代参数。

C. 实验结果

实验结果如下表所示。

表 食蟹猴药代动力学测试结果

化合物编号	C _{max} (nM)	T _{1/2} (h)	T _{max} (h)	AUC _{0-240h} (nM.hr)	AUC _{INF} (nM.hr)
LY-3437943	22.1	58.8	29.3	2699	2925
实施例 7	24.3	84.1	29.3	3318	3956
实施例 9	30.1	77.4	29.3	3232	3635
实施例 21	31.2	105	40.0	4603	5937
实施例 38	33.9	74.9	21.3	3878	4406
实施例 52	36.2	97.8	29.3	5233	6607

结论：在食蟹猴的药代动力学性质中，本发明化合物半衰期T_{1/2}为大于70h，相对LY-3437943具有明显优异的半衰期T_{1/2}和暴露量，且整体优势不差于LY-3437943。

进一步，在重复实验中，测试其他化合物所得实验结果趋势一致。在较优的情况，与对照品LY3437943相比，本发明化合物半衰期T_{1/2}和暴露量值AUC_{INF}是LY3437943的1.1~2.5倍，整体性质优于LY3437943。

此外，进一步研究中，将本申请的化合物在C57BL/6小鼠体内和SD大鼠体内进行药代动力学测试，得到的实验结果与在食蟹猴药代动力学性质趋势一致，均体现出具有较优的小鼠和大鼠药代动力学性质，相对于LY-3437943化合物，具有更优或相当的半衰期T_{1/2}和暴露量。

试验3：人肾S9代谢稳定性测试

A. 实验目的

评估化合物在人体肾脏中的代谢稳定性，确定药物是否会被肾脏代谢酶降解，从而影响其药效和药代动力学。

B. 实验操作

1.配置好相关溶液。

2. a) 有辅助因子（NADPH&UDPGA）：孵育过程中加入NADPH 和UDPGA。KS9 Fractions、NADPH 和 UDPGA 的最终浓度分别为1 mg/mL、1 mM和2 mM。 b) 无辅助因子（NADPH&UDPGA）：向培养液中加入H₂O。KS9 Fractions 的最终浓度为1 mg/mL。混合物在37℃预热10 min。

3. 加入20 μM对照化合物或100 μM试验化合物溶液开始反应。本研究使用7-羟基香豆素（7-Hydroxycoumarin）和雷洛昔芬（Raloxifene）作为阳性对照。阳性对照化合物的最终浓度为0.2 μM，测试化合物的最终浓度为1 μM。培养液在37℃水浴中培养。

4.在0.5、5、15、30和60 min时，从反应溶液中取体积等分样品，加入乙腈停止反应。样品离心30 min。

取上清液与超纯水混合，然后用于LC-MS/MS分析。

5. 数据分析：所有计算均使用Microsoft Excel 进行。根据提取的离子色谱图确定峰面积并计算斜率值。

C. 实验结果

表 肾S9代谢稳定性测试结果

化合物	Species	Assay Format	<i>in vitro</i> t _{1/2} (min)	<i>in vitro</i> CL _{int} (μL/min/mg)
7-Hydroxycoumarin	Human	+Cofactors	101.42	6.84
Raloxifene	Human	+Cofactors	93.37	7.77
LY3437943	Human	+Cofactors	> 184.78	< 3.75
实施例 1	Human	+Cofactors	> 184.78	< 3.75
实施例 7	Human	+Cofactors	> 184.78	< 3.75
实施例 8	Human	+Cofactors	> 184.78	< 3.75
实施例 10	Human	+Cofactors	> 184.78	< 3.75
实施例 11	Human	+Cofactors	> 184.78	< 3.75
实施例 21	Human	+Cofactors	> 184.78	< 3.75

结论：本发明化合物具有优异的体外药代动力学性质。

试验 4：化合物在 DIO 肥胖小鼠模型中的药效学研究

实验目的：评价受试物（化合物）多次给药对体重、糖脂代谢的影响。

本试验采用高脂饲料（Research Diets: D12492）从 4-5 周龄开始诱导 8 周的小鼠作为受试动物，根据动物体重和空腹血糖水平进行分组，模型动物平均体重为 47.2±0.3g，对照动物平均体重为 27.9±0.3g，模型动物平均空腹血糖为 8.8±0.2mmol/L，对照动物平均空腹血糖为 6.0±0.2mmol/L。每组 6 只动物，分组后立即给药，均采用皮下注射的给药方式，每 3 天给药 1 次，连续给药 22 天，正常对照组和模型组均给予溶媒（20mM 柠檬酸缓冲液），每周检测 2 次体重和摄食量，在给药 D10、D20 检测空腹血糖，在 D20 进行 OGTT 试验，在 D23 天采集血液检测肝功能指标（ALT、AST、ALP）、血清脂质代谢指标（TC、TG、HDL、LDL）、取肝脏组织计算脏器指数，检测肝脏脂质代谢指标（肝脏 TC、TG），并对肝脏组织进行病理学检查（HE、油红），评价受试物在高脂饲料诱导的肥胖小鼠模型中对体重、糖脂代谢的影响。

各组动物实验数据采用均数±标准误（X±SEM）描述。P<0.05 为差异具有统计学意义。所有的统计分析，均使用 Graphpad 8.0 软件完成。

表 化合物对 DIO 小鼠体重变化的影响

化合物	剂量	D22 体重变化率（%）
-----	----	--------------

Control	-	3.40±1.08
Model	-	3.26±1.96
实施例 7	10nmol/kg	-35.68±2.00
实施例 9	10nmol/kg	-25.85±2.05
实施例 21	10nmol/kg	-32.78±2.97
LY3437943	10nmol/kg	-29.19±2.94

结论：从表结果来看，本发明化合物有明显的减重效果，且体现出与 LY3437943 相当或更优的减重效果。此外，测试本发明其他化合物所得实验结果表明，在减重效果上，体现出与 LY3437943 相当或更优的效果。

表 化合物对 DIO 小鼠空腹血糖变化的影响

血糖 (mmol/L)	Control (n=6)	Model (n=6)	实施例 7 (n=6)	实施例 9 (n=6)	实施例 21 (n=6)	LY3437943 (n=6)
Day 0	6.4±0.3	8.5±0.2	8.4±0.4	8.6±0.6	8.2±0.4	8.2±0.3
Day 10	7.0±0.2	8.4±0.2	5.0±0.7	6.4±0.3	6.5±0.9	5.2±0.9
Day 20	7.7±0.3	10.2±0.8	6.0±0.6	5.5±0.2	5.7±0.4	6.2±0.4

结论：从表可以看出，本发明的化合物具有明显的降糖作用，且体现出与 LY3437943 相当或更优的降糖效果。此外，测试本发明其他化合物所得实验结果表明，在降糖效果上，体现出与 LY3437943 相当或更优的效果。

表 化合物对 DIO 小鼠肝体比变化的影响

/	Control (n=6)	Model (n=6)	实施例 7 (n=6)	实施例 9 (n=6)	实施例 21 (n=6)	LY3437943 (n=6)
肝体比 (g/g)	0.040±0.001	0.037±0.004	0.032±0.002	0.029±0.001	0.032±0.002	0.032±0.003

结论：从表结果来看，本发明化合物有明显的改善肝体比的效果，且体现出与 LY3437943 相当甚至更优的降糖效果。此外，测试本发明其他化合物所得实验结果表明，在改善肝体比效果上，体现出与 LY3437943 相当或更优的效果。

表 化合物对 DIO 小鼠肝脏指标变化的影响

	Control (n=6)	Model (n=6)	实施例 7 (n=6)	实施例 9 (n=6)	实施例 21 (n=6)	LY3437943 (n=6)
--	------------------	----------------	----------------	----------------	-----------------	--------------------

肝脏甘油三酯/TG (mmol/mg)	11.30±0.67	24.68±1.98	13.89±1.50	14.01.±0.99	12.58±1.27	14.57±0.98
肝脏胆固醇/TC (mmol/mg)	6.74±0.18	6.09±0.77	8.90±0.46	8.85±0.25*	9.71±0.49	8.11±0.67

结论：从表结果来看，本发明化合物有明显降低肝脏甘油三脂的效果，此外，测试本发明其他化合物所得实验结果表明，在降低肝脏甘油三脂效果上，体现出与 LY3437943 相当或更优的效果。

进一步，参考类似实验方案，测试实施例38和实施例52的化合物，其中对DIO小鼠体重变化的影响情况如下：

表 化合物对DIO小鼠体重变化的影响

化合物	剂量	D22 体重变化率 (%)
Control	-	-1.90±2.67
Model	-	-0.85±1.75
实施例 38	10nmol/kg	-29.87±1.30
实施例 52	10nmol/kg	-30.26±2.80
LY3437943	10nmol/kg	-26.32±1.91

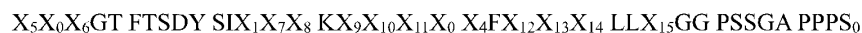
结论：从表结果来看，本发明实施例 38 和实施例 52 的化合物也有明显的减重效果，且体现出与 LY3437943 相当或更优的减重效果。

此外，进一步对本申请化合物在IPGTT试验中进行药效学研究，结果表明与溶媒组相比，本发明化合物均表现出优异的降糖能力，其体现出与LY3437943相当或更优的降糖效果。

综上所述，本申请新设计和合成了系列带有修饰结构的多肽化合物。该多肽对GLP-1R/GIPR/GCGR具有很强的体外激动活性，优异的体外和体内药代动力学性质，较佳的稳定性性质，且具有明显减重、降糖和降血脂等效果。本发明的多肽化合物具有作为长效GLP-1/GIP/GCG多重激动剂的成药前景。

权 利 要 求 书

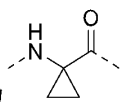
1、一种带修饰结构的多肽及其药学上可接受的盐，其多肽序列如式 Z-3 所示：



式 Z-3

其中：

X_5 选自为络氨酸 (Tyr, Y) 或组氨酸 (His, H)；

X_0 独立选自为  或 Aib 或丙氨酸 (Ala, A)；

X_6 选自谷氨酰胺 (Gln, Q) 或组氨酸 (His, H)；

X_1 可独立选自为 α 甲基取代亮氨酸 (α -MeLeu, α -MeL) 或络氨酸 (Tyr, Y)；

X_7 选自亮氨酸 (Leu, L) 或赖氨酸 (Lys, K)；

X_8 选自天冬氨酸 (Asp, D) 或谷氨酸 (Glu, E)；

X_9 选自赖氨酸 (Lys, K)、谷氨酰胺 (Gln, Q) 或谷氨酸 (Glu, E)；

X_{10} 选自丙氨酸 (Ala, A) 或络氨酸 (Tyr, Y)；

X_{11} 选自赖氨酸 (Lys, K)、谷氨酰胺 (Gln, Q) 或丙氨酸 (Ala, A)；

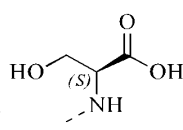
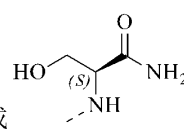
X_4 选自 α 甲基取代赖氨酸 (α -MeLys, α -MeK)、D-赖氨酸 (d-K)、L-鸟氨酸 (L-Ornithine, L-Orn)、丙氨酸 (Ala, A)、赖氨酸 (Lys, K) 或谷氨酸 (Glu, E)；

X_{12} 选自为缬氨酸 (Val, V) 或异亮氨酸 (Ile, I)；

X_{13} 选自为赖氨酸 (Lys, K)、谷氨酰胺 (Gln, Q) 或谷氨酸 (Glu, E)；

X_{14} 选自为赖氨酸 (Lys, K)、色氨酸 (Trp, W)、络氨酸 (Tyr, Y)、谷氨酸 (Glu, E) 或苯丙氨酸 (Phe, F)；

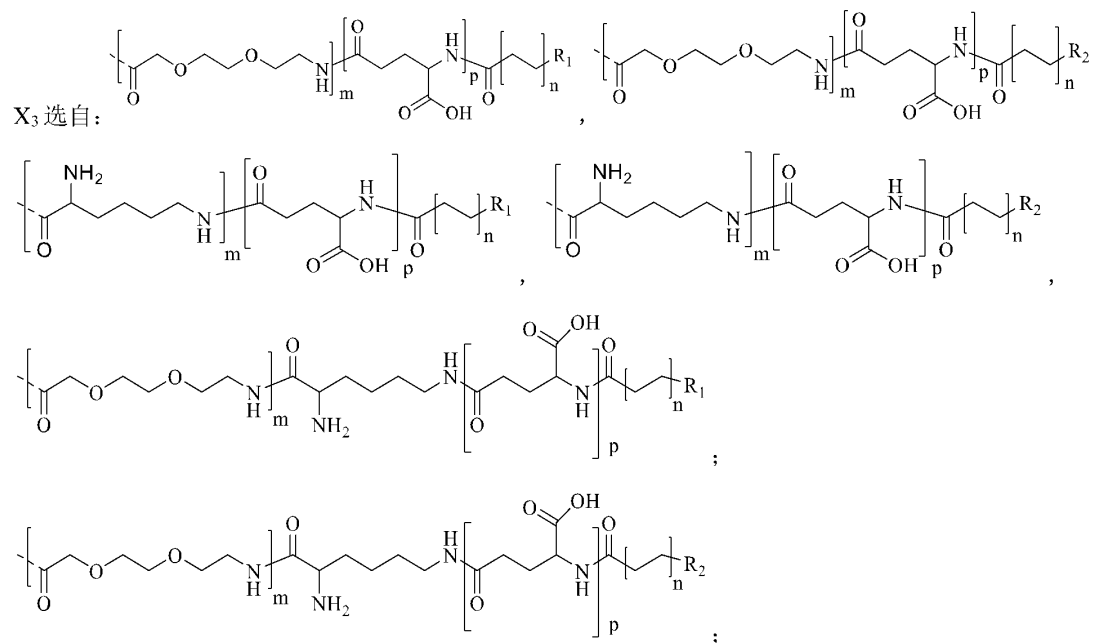
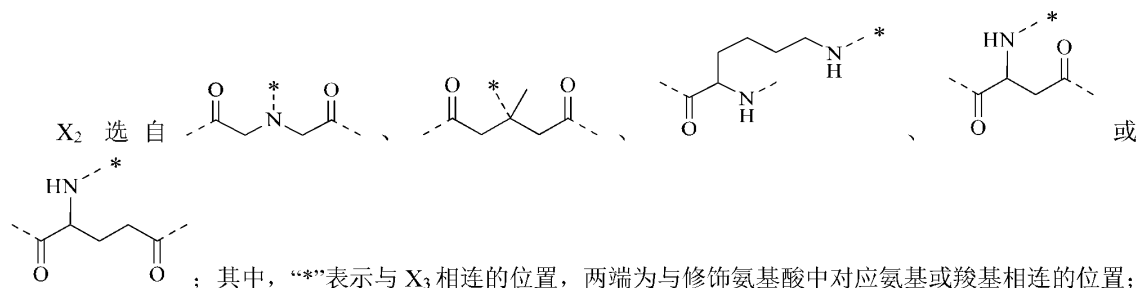
X_{15} 选自为赖氨酸 (Lys, K) 或谷氨酸 (Glu, E)；

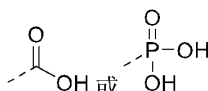
S_0 选自  或  (即：C 末端氨基酸任选被酰胺化为 C 末端伯酰胺)；

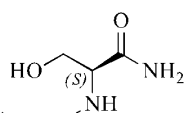
且所述多肽化合物具有以下修饰：

1) 序列中 i 位置和 i+j 位置的氨基酸侧链可通过修饰连接形成类似“订书钉”结构的修饰结构 (钉合体)，其中 i 独立选自为 14, 17, 19, 21, 24 或 25, j 独立选自 3, 4, 5 或 7,

2) 所述修饰为两个氨基酸单元结构侧链上的氨基或羧基与  缩合相连；



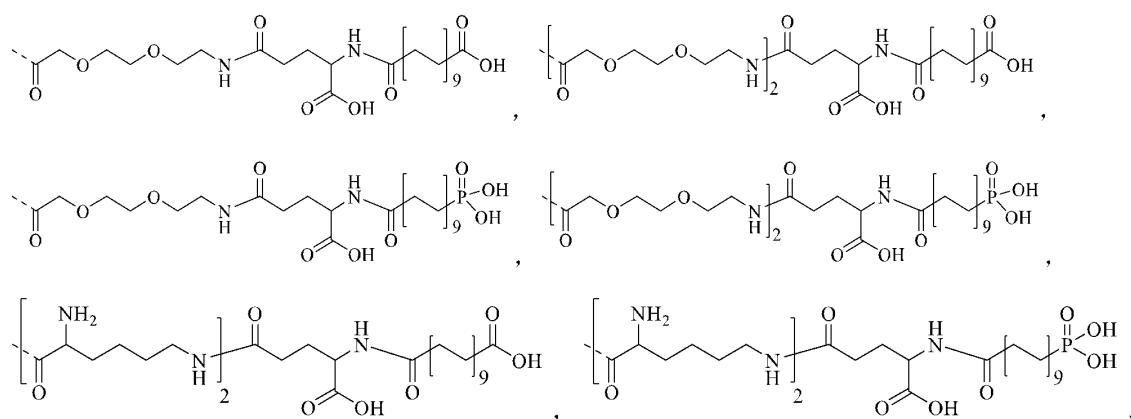
R_1 和 R_2 独立选自  ; m 选自 1、2 或 3; p 选自 1 或 2; n 选自 8、9 或 10。

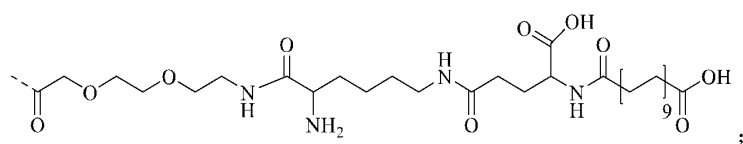
- 2、根据权利要求 1 所述的多肽及其药学上可接受的盐, 其特征在于, 多肽序列中 S_0 为  。
- 3、根据权利要求 1 所述的多肽及其药学上可接受的盐, 其特征在于, 多肽序列中第 2 位氨基酸 X_0 选自 Aib。
- 4、根据权利要求 1 所述的多肽及其药学上可接受的盐, 其特征在于, 多肽序列中第 20 位氨基酸 X_0 选自 Aib 或 A。
- 5、根据权利要求 1-2 任意一项所述的多肽及其药学上可接受的盐, 其特征在于, 所述多肽序列选自以下序列:

YAibQGTFTSDY SI α -MeLLD KKAQAib KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 1)

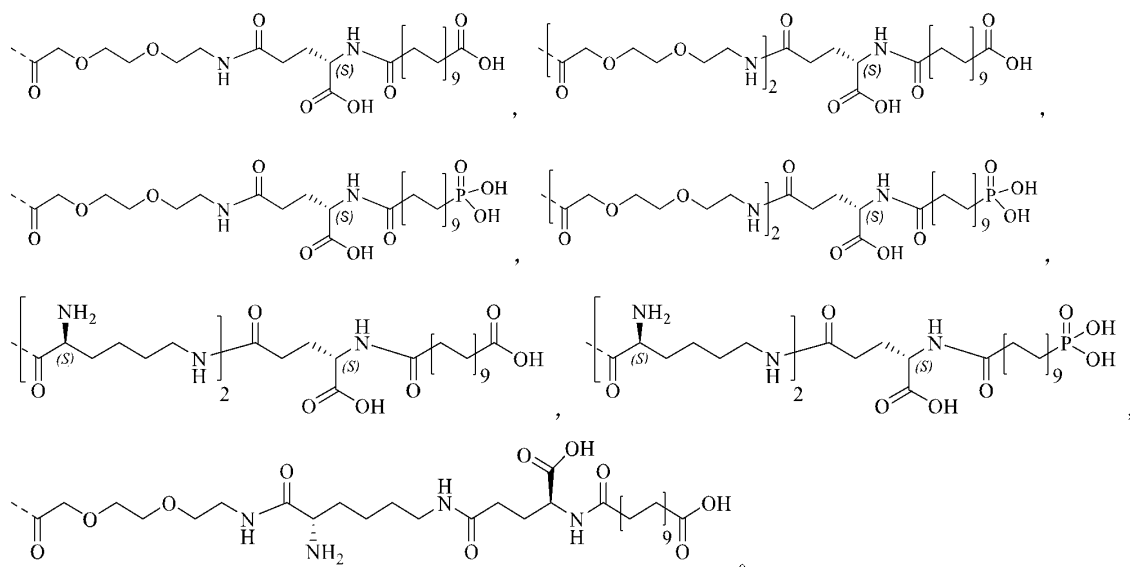
YAibQGT FTSDY SI α -MeLLD KKAQAib AFIKW LLKGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 2)
 YAibQGT FTSDY SI α -MeLLD KKAQAib AFIEK LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 3)
 HAibHGT FTSDY SIYLE KKYAAib EFVKW LLKGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 4)
 HAibHGT FTSDY SIYLE KKYAAib KfVQW LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 5)
 YAibQGT FTSDY SI α -MeLLD KKAQAib KFIEF LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 15)
 YAibQGT FTSDY SI α -MeLLD KKAQAib EFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 16)
 YAibQGT FTSDY SI α -MeLLD KKAQAib AFIKY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 17)
 YAibQGT FTSDY SI α -MeLLD KKAQAib KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 18)
 YAibQGT FTSDY SI α -MeLLD KKAKAib AFIKY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 19)
 YAibQGT FTSDY SI α -MeLLD KKAQAib KFIEY LLKGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 20)
 YAibQGT FTSDY SI α -MeLLD KKAQA α -MeKFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 21)
 YAibQGT FTSDY SI α -MeLLD KKAQAib d-KFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 22)
 YAibQGT FTSDY SI α -MeLLD KKAQAib L-OrnFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 23)
 YAibQGT FTSDY SI α -MeLKD KKAQAib AFIEY LLEGG PSSGA PPPS-NH₂ (SEQ ID NO: 24)

- 6、根据权利要求5所述的多肽及其药学上可接受的盐，其特征在于，i为14，j为3。
- 7、根据权利要求5所述的多肽及其药学上可接受的盐，其特征在于，i为17，j为4。
- 8、根据权利要求5所述的多肽及其药学上可接受的盐，其特征在于，i为17，j为7。
- 9、根据权利要求5所述的多肽及其药学上可接受的盐，其特征在于，i为19，j为5。
- 10、根据权利要求5所述的多肽及其药学上可接受的盐，其特征在于，i为21，j为7。
- 11、根据权利要求5所述的多肽及其药学上可接受的盐，其特征在于，i为24，j为4。
- 12、根据权利要求5所述的多肽及其药学上可接受的盐，其特征在于，i为25，j为4。
- 13、根据权利要求1所述的多肽及其药学上可接受的盐，其特征在于，m选自1，2。
- 14、根据权利要求1所述的多肽及其药学上可接受的盐，其特征在于，p选自1。
- 15、根据权利要求1所述多肽及其药学上可接受的盐，其特征在于，n选自9。
- 16、根据权利要求1所述的多肽及其药学上可接受的盐，其特征在于，X₃选自：

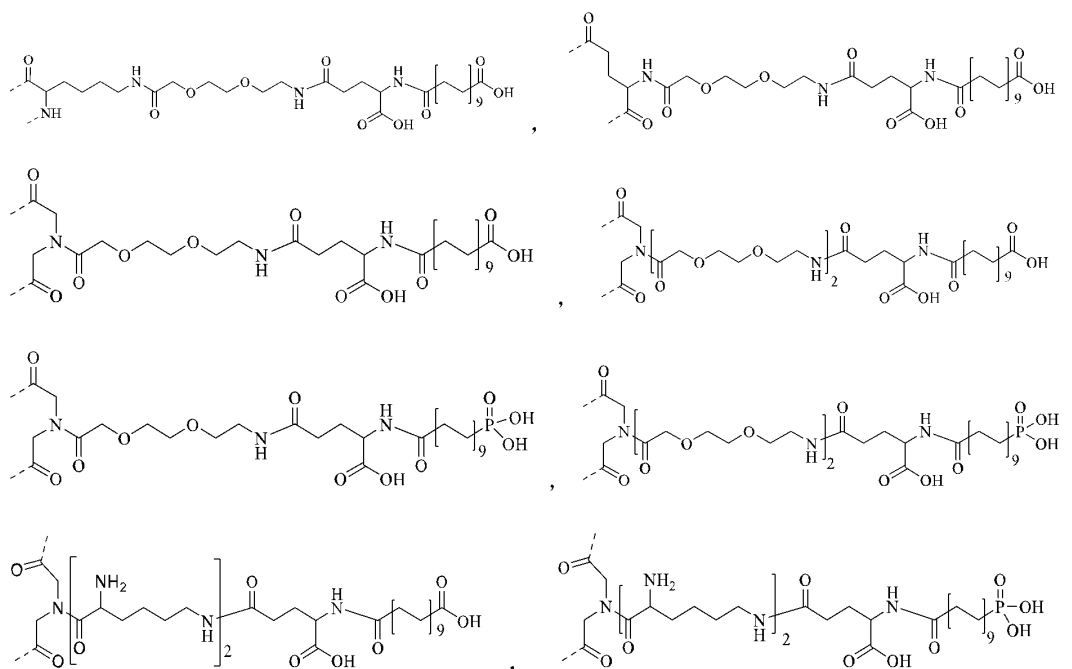


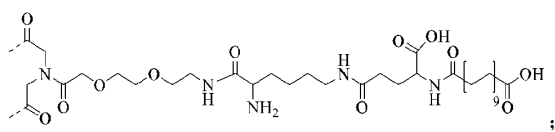


进一步优选为:

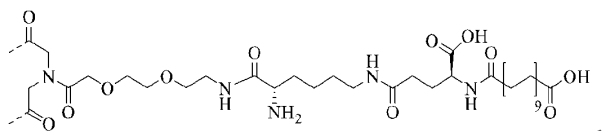
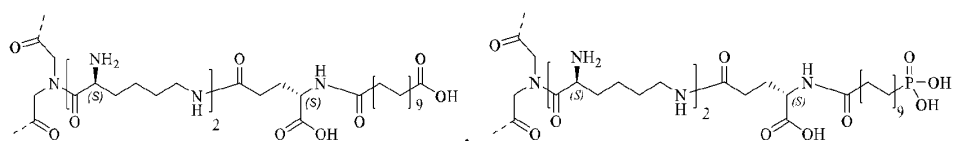
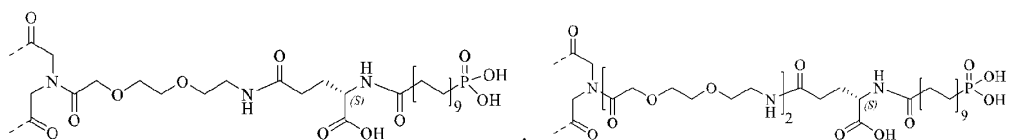
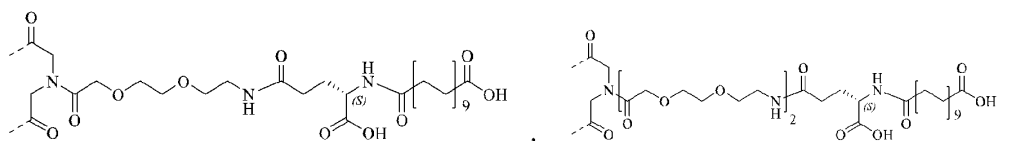
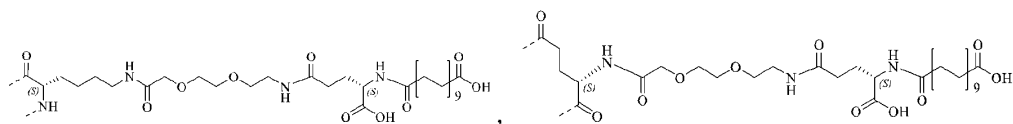


17、根据权利要求 1 所述的多肽及其药学上可接受的盐，其特征在于，结构单元 $X_2 \cdot X_3$ 选自：

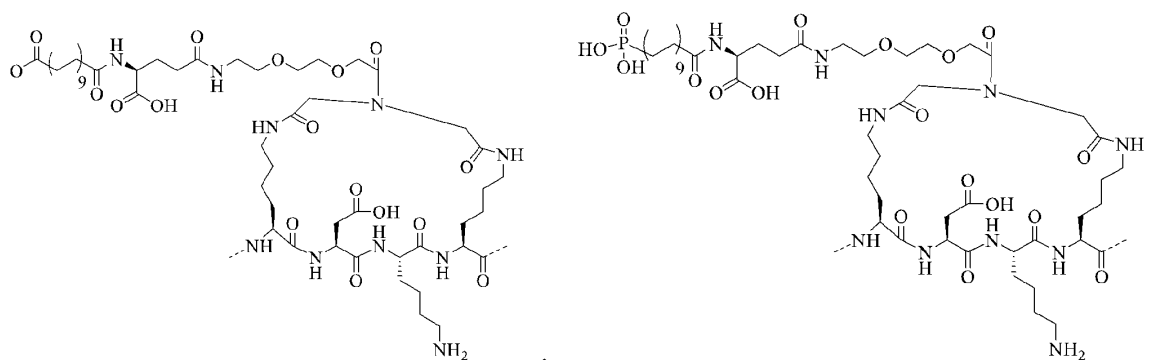


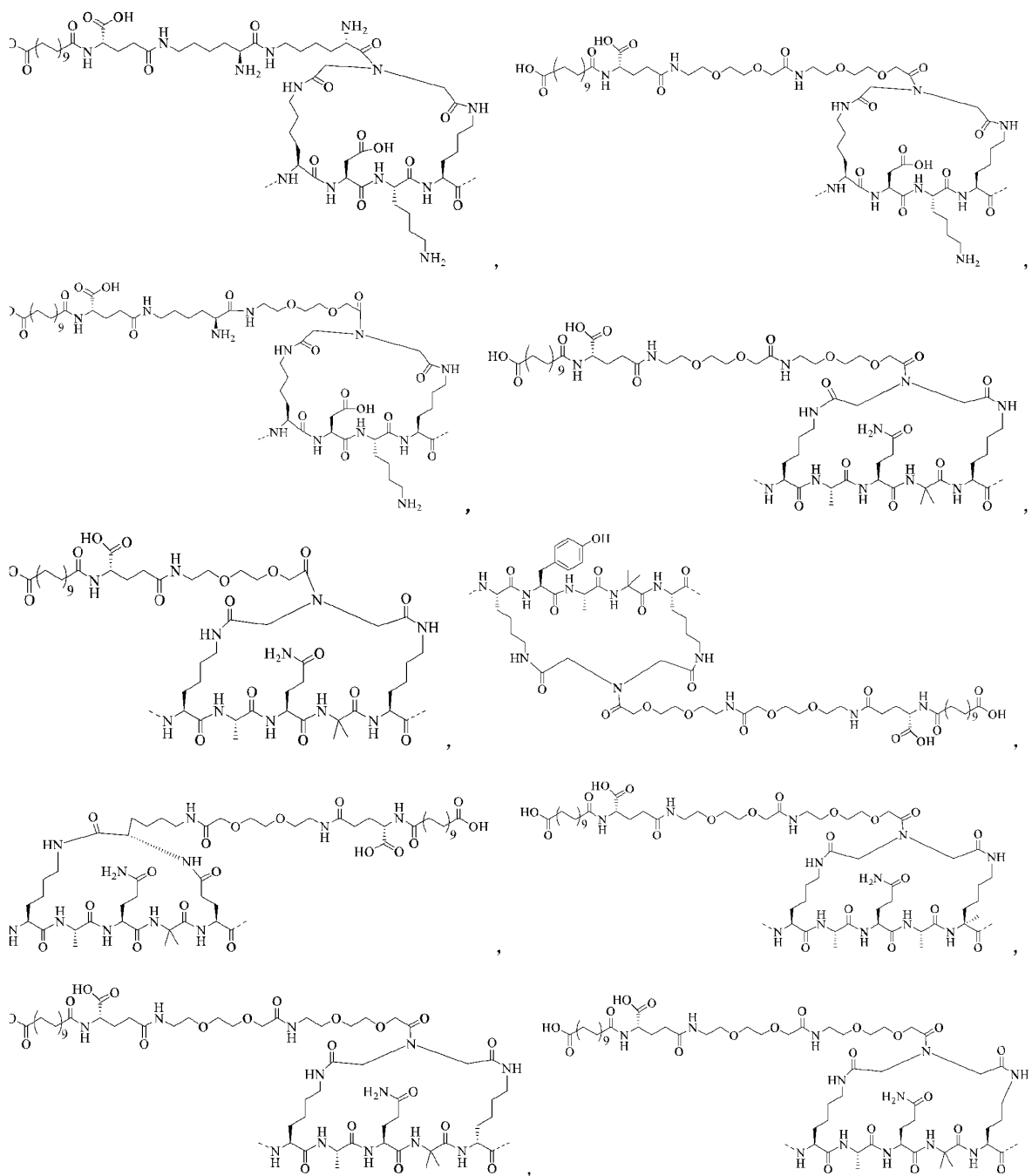


进一步优选为:

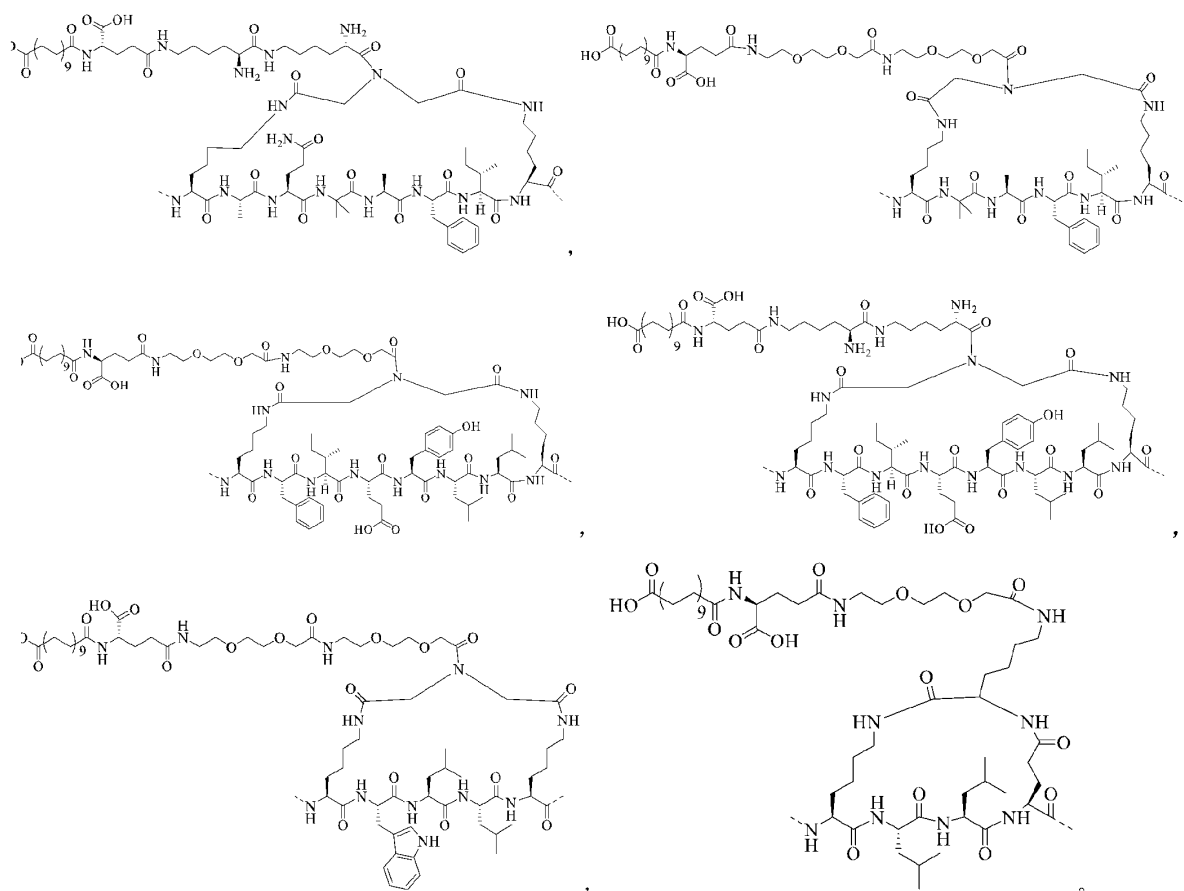


18、根据权利要求1所述的多肽及其药学上可接受的盐，其特征在于，所述钉合体结构选自：

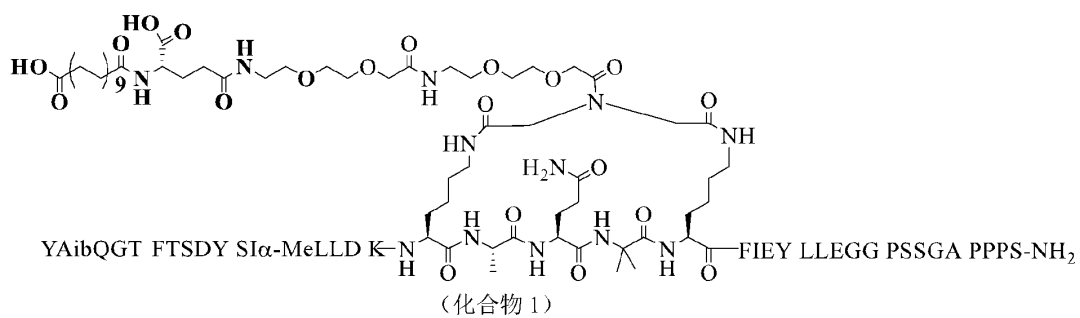


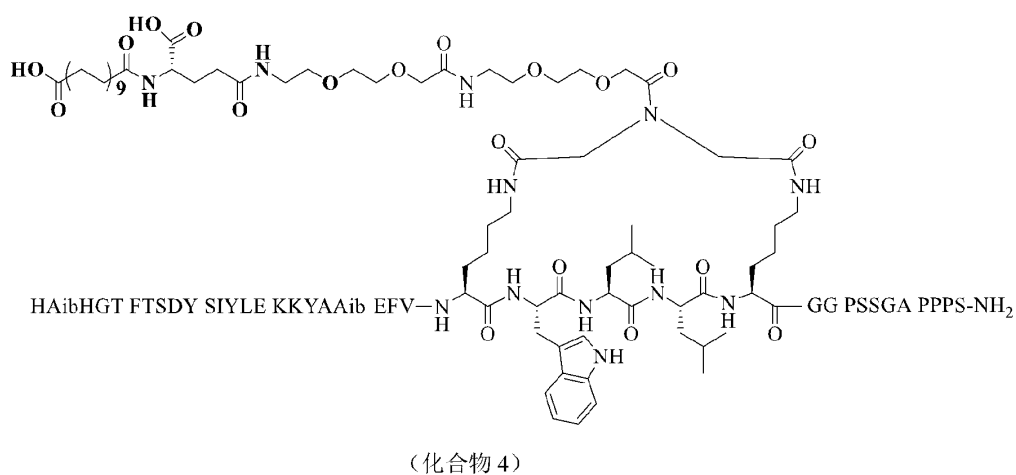
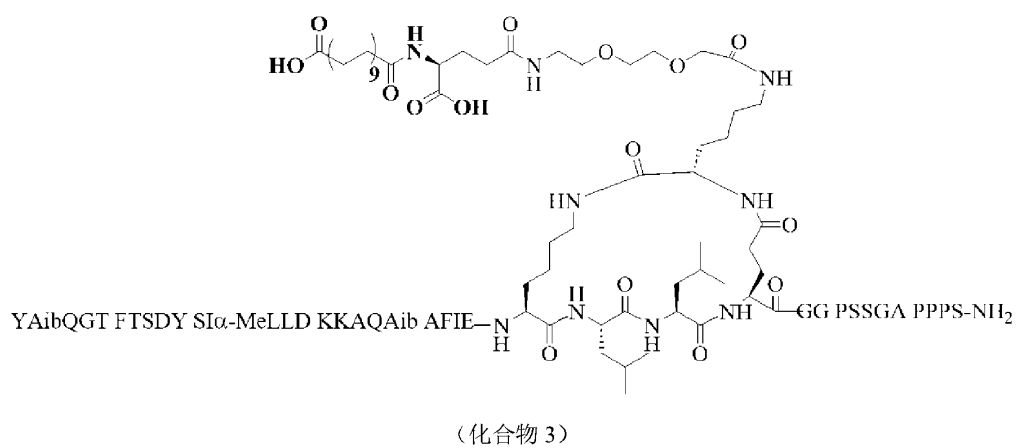
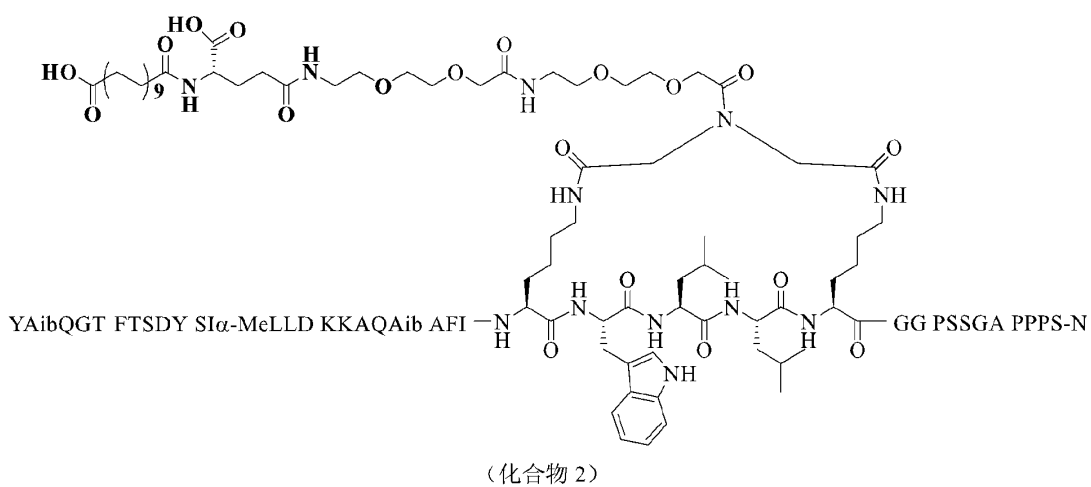


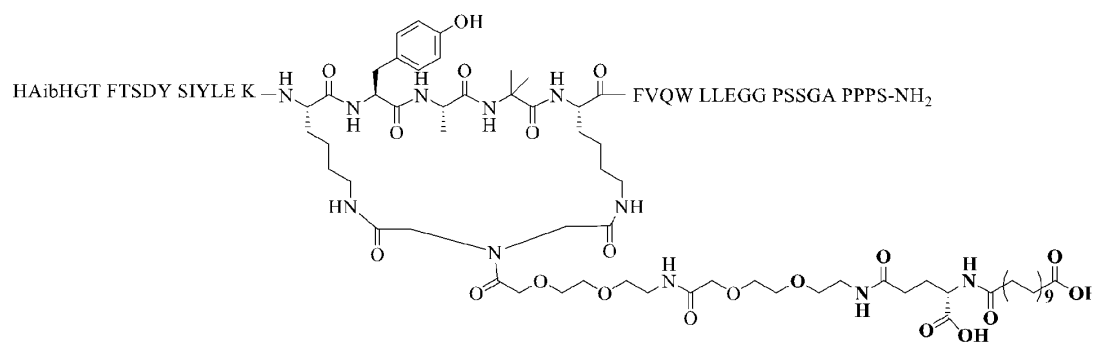




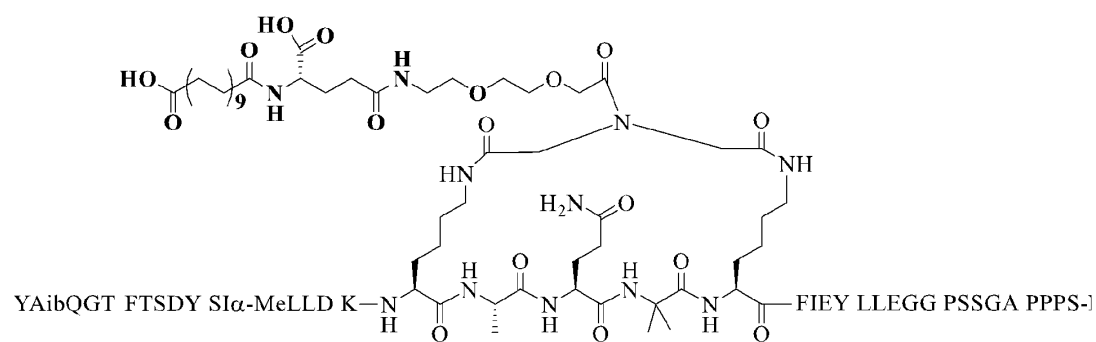
19、下式所示多肽化合物及其药学上可接受的盐：



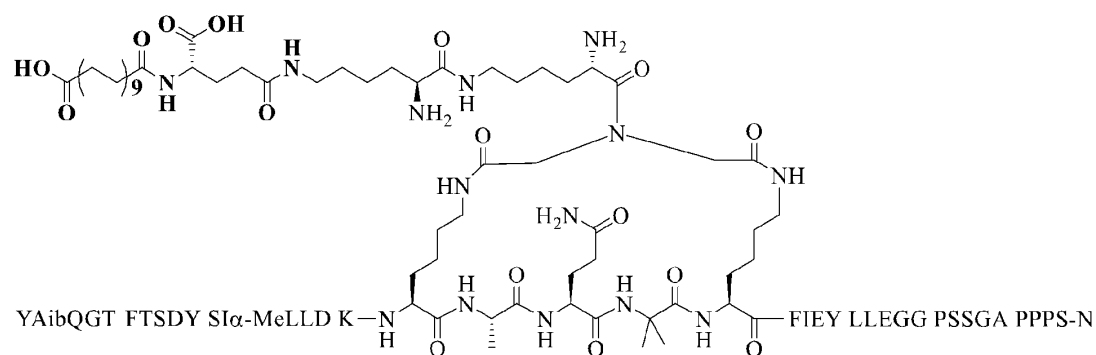




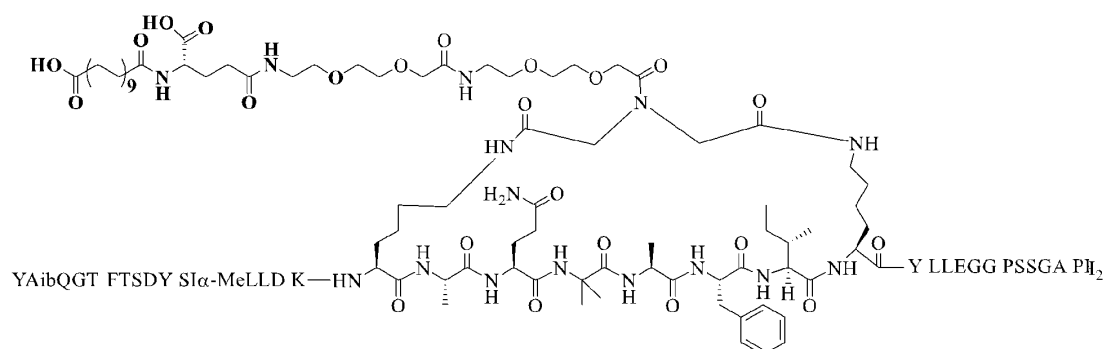
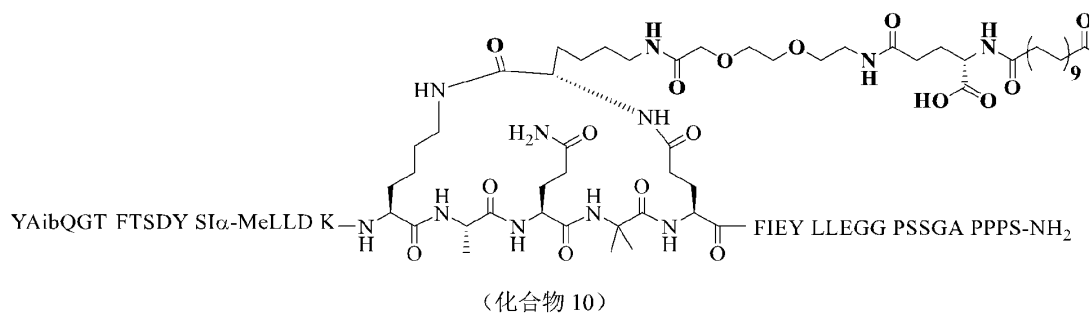
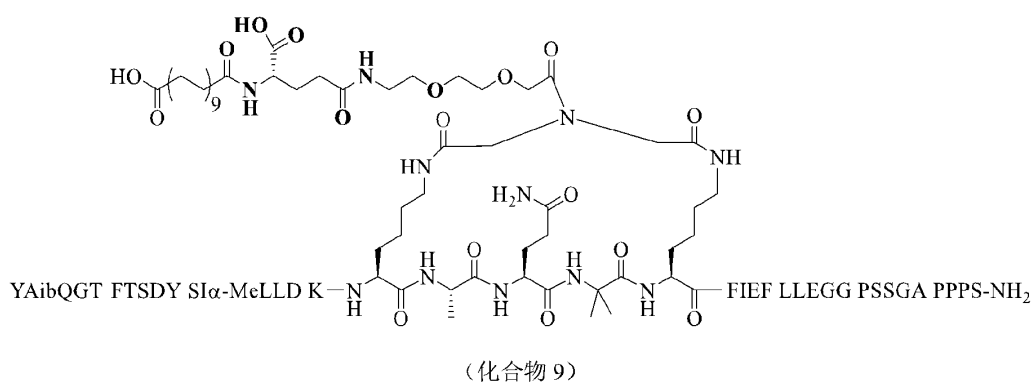
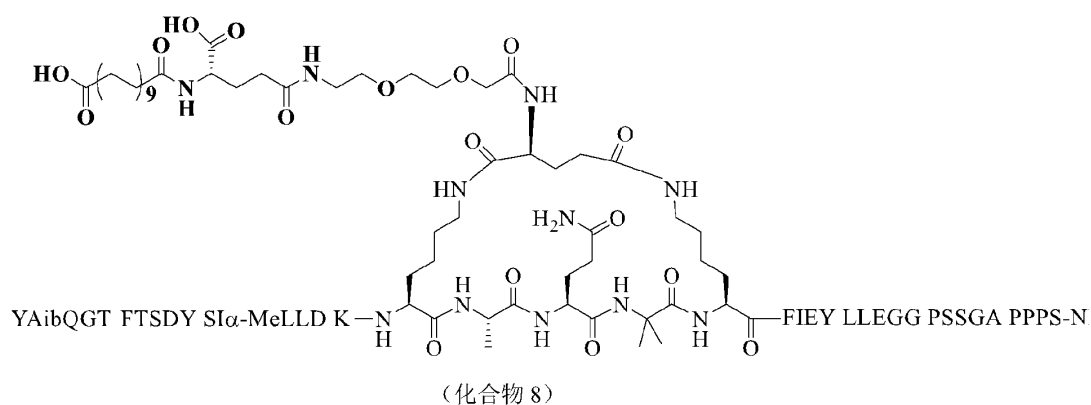
(化合物 5)

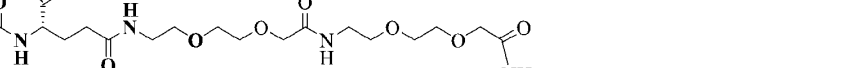


(化合物 6)



(化合物 7)

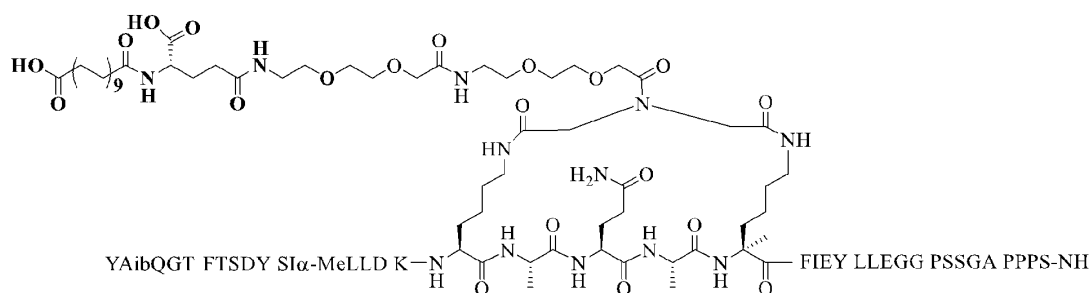




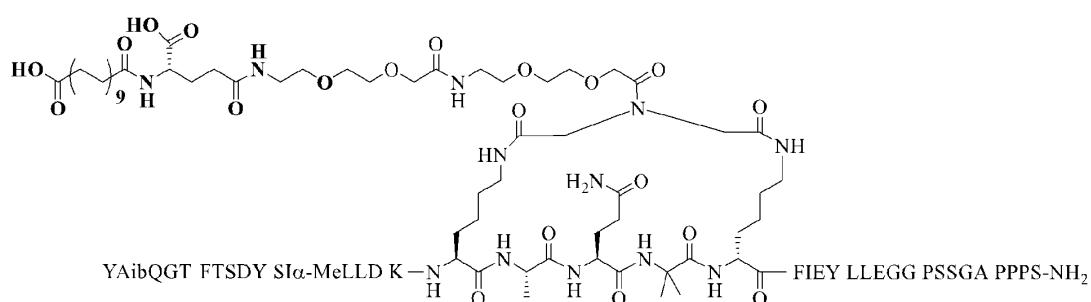
 YAIbQGTFTSDYSl α -McLLDK-NH₂

[illegible][illegible]

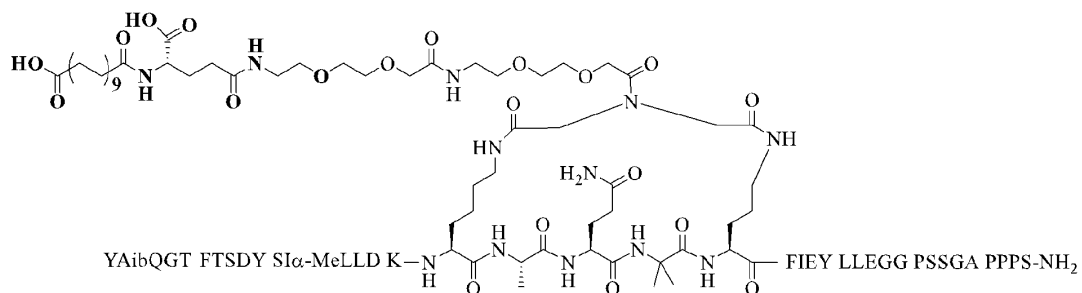
118



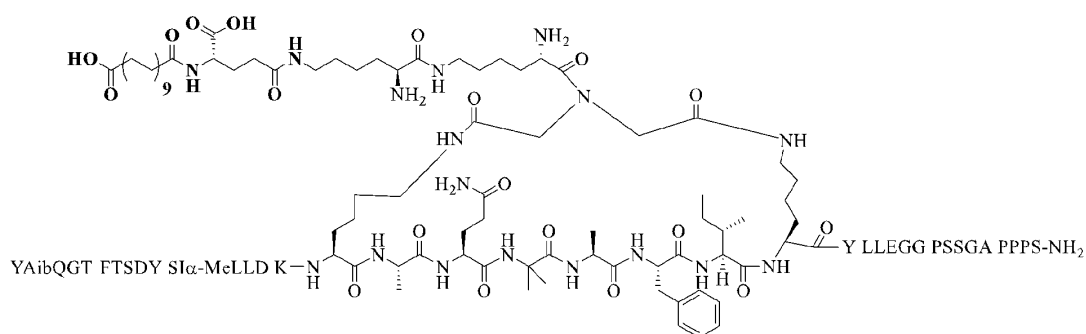
(化合物 15)



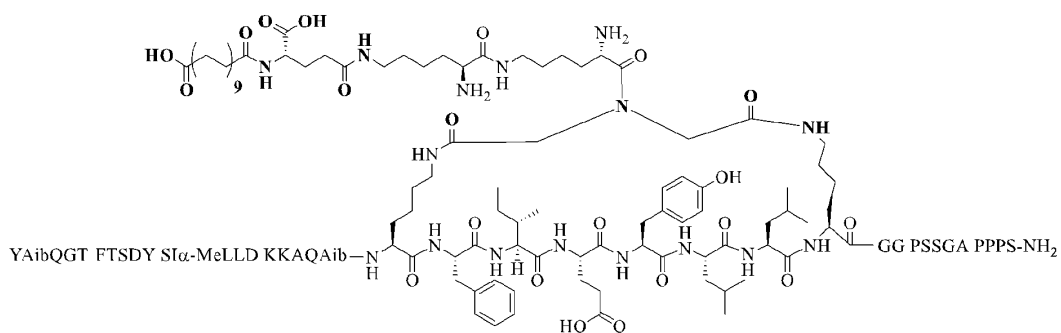
(化合物 16)



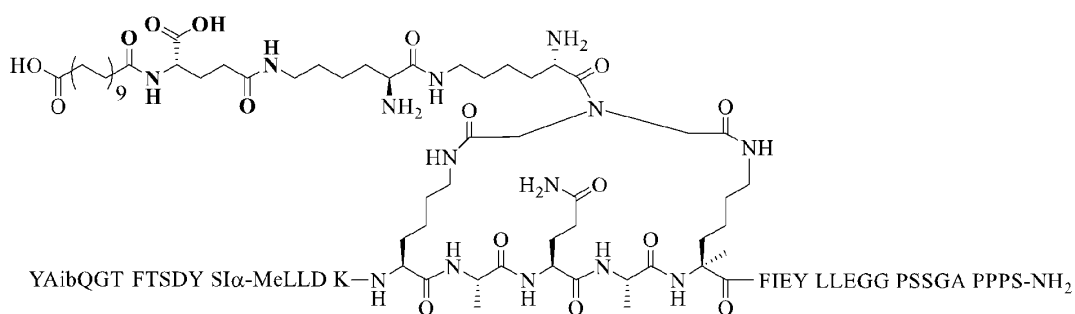
(化合物 17)



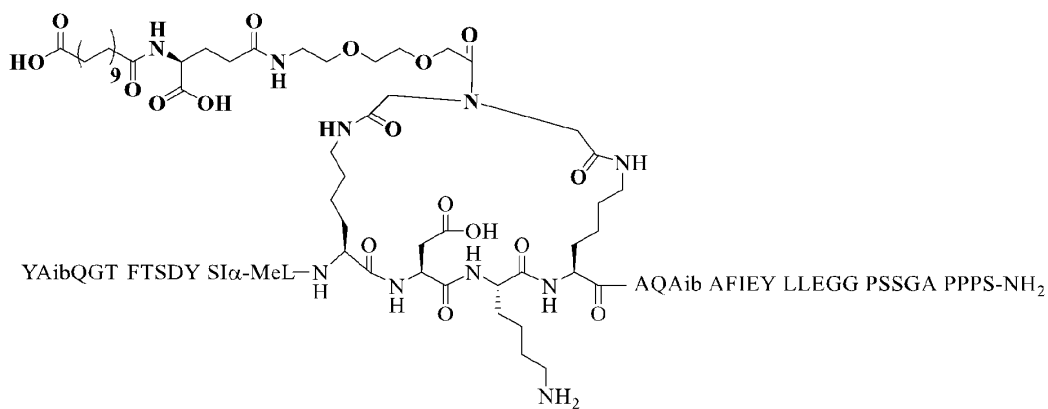
(化合物 18)



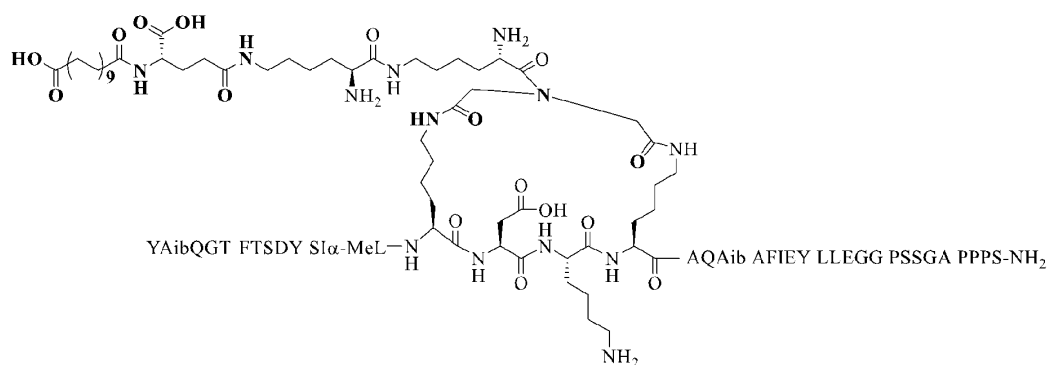
(化合物 19)



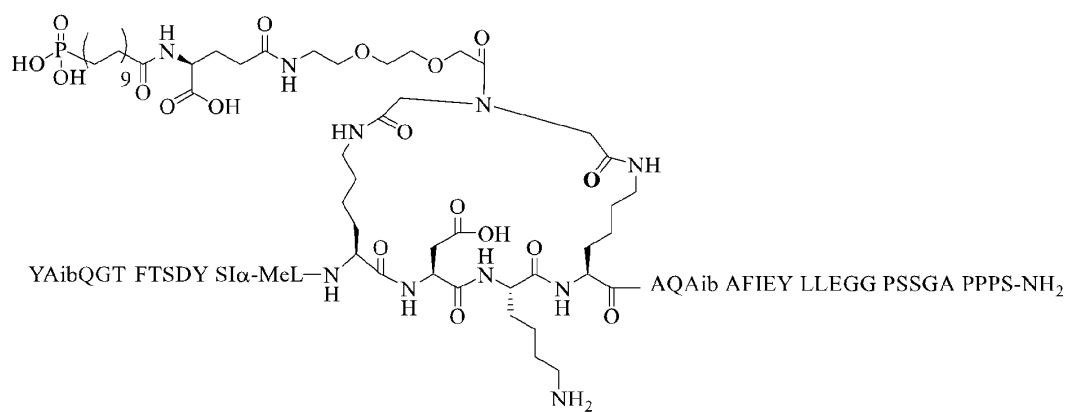
(化合物 20)



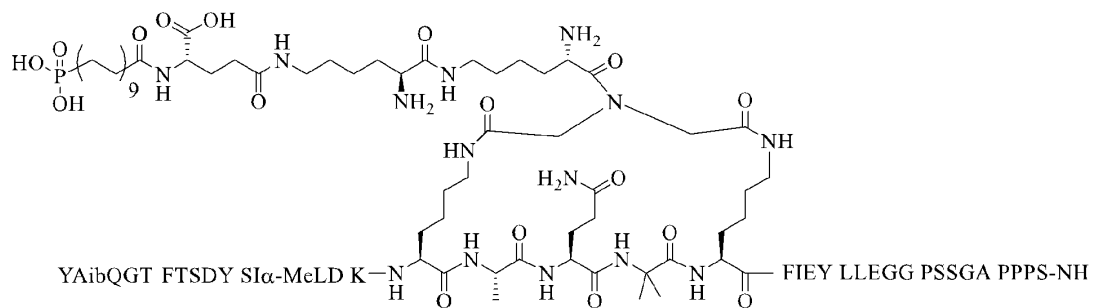
(化合物 21)



(化合物 39)



(化合物 43)



(化合物 44)



122

- 21、一种药物组合物，其特征在于所述药物组合物含有权利要求 1-20 任意一项所述多肽或其药学上可接受的盐。
- 22、权利要求 1-20 任意一项所述的多肽或其药学上可接受的盐、及权利要求 21 所述药物组合物在制备治疗代谢性疾病及其相关疾病的药物上的应用。
- 23、根据权利要求 22 所述应用，所述代谢性疾病包括糖尿病、肥胖症和非酒精性脂肪肝炎及其相关疾病。