

GLP-1/GIP 双激动剂及其制备方法和用途

技术领域

本发明属于医药领域，具体涉及 GLP-1/GIP 双激动剂，及其用于制备治疗糖尿病的药物的用途。

背景技术

II 型糖尿病是一类因胰岛素抵抗而引起的以高血糖为临床特征的慢性代谢性疾病，血糖升高可增加其他各类疾病的发生率和病死率。目前常见的治疗方式如加强锻炼、控制饮食、口服降糖用药以及注射治疗药物等，都只能暂时维持血糖平衡，无法从根本上治疗糖尿病及由高血糖引发的诸多复杂的并发症。因此，积极探索和研发具有新型降糖机制、安全性高的糖尿病治疗药物具有重要的临床意义。

胰高血糖素样肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) 是一种主要由肠道 L 细胞所产生的激素，属于肠促胰岛素 (incretin)。GLP-1 是由肠道 L 细胞分泌的一种重要的肠促胰岛素激素，其在体内的主要生理作用有刺激胰岛素的分泌和释放、抑制胰高血糖素的分泌、促进胰腺 β 细胞的增殖并抑制其凋亡、抑制胃的排空、促进饱食感的产生等。葡萄糖依赖性促胰岛素多肽 (glucose-dependent insulintropic polypeptide, GIP)，其通过促胰岛素和促胰高血糖素调节血糖的作用也已经被广泛证实和应用。

在 WO2013164483A1、WO2014192284A1、WO2016111971A1 中已经描述了 GLP-1/GIP 双激动剂活性的化合物。

多肽的脂肪酸修饰，通过其脂肪酸链与白蛋白亚结构域物理结合基序，可以例如以此延长半衰期，从而改善肽的药代动力学。虽然使用脂肪酸可以改善肽的半衰期，但延长的具体效果以及一些副作用仍然是需要解决的技术问题。

关于 GLP-1 的一系列副作用包括：例如由于动物研究和药物数据库的分析表明，GLP-1 受体激动剂与胰腺炎、胰腺癌和甲状腺癌有关，人们担忧这些药物会造成对胰腺和甲状腺组织的影响。另外一些病例报告将 GLP-1 (主要是艾塞那肽) 的使用与急性肾损伤的发生联系起来，主要是由于恶心、呕吐和腹泻导致的血液动力学紊乱。与使用 GLP-1 受体激动剂相关的最常见症状是胃肠道症状，主要是恶心。其他常见的不良反应包括注射部位反应、头痛和鼻咽炎等。(Filippatos TD, Panagiotopoulou TV, Elisaf MS. Adverse Effects of GLP-1 Receptor Agonists. *Rev Diabet Stud*. 2014 Fall-Winter;11(3-4):202-30. doi: 10.1900/RDS.2014.11.202. Epub 2015 Feb 10. PMID: 26177483; PMCID: PMC5397288.)

关于替尔博肽 (tirzepatide) 的副作用(Mathiesen DS, Bagger JJ, Bergmann NC, Lund A, Christensen MB, Vilsbøll T, Knop FK. The Effects of Dual GLP-1/GIP Receptor Agonism on Glucagon Secretion-A Review. *Int J Mol Sci*. 2019 Aug 22;20(17):4092. doi: 10.3390/ijms20174092. PMID: 31443356; PMCID: PMC6747202.); 在最高剂量下，替尔博肽的不良事件数量超过了杜拉鲁肽 (dulaglutide)，尤其是胃肠道不良事件 (服用 15mg tirzepatide 的患者占 66.0%，服用 1.5mg dulaglutide 的患者占 42.6%)，而且在低血糖发作总数上也超过了杜拉鲁肽 (服用 15mg tirzepatide 的参与者占 7.5%，服用 dulaglutide 的参与者占 3.7%) (Frias J.P., Nauck M.A., Van J., Kutner M.E., Cui X., Benson C., Urva S., Gimeno R.E., Milicevic Z., Robins D., et al. Efficacy and safety of LY3298176, a novel dual GIP and GLP-1 receptor agonist, in patients with type 2 diabetes: a randomised, placebo-controlled and active comparator-controlled phase 2 trial. *Lancet*. 2018;392:2180 - 2193. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32260-8.)。为了避免这一问题，已报道了一种降低替尔博肽不良事件的滴定策略 (Frias J.P., Nauck M.A., Van J., Benson C., Bray R., Milicevic Z., Haupt A., Robins D.A. 993-P: A 12-week, randomized, placebo-controlled study assessing the efficacy and safety of three dose-escalation algorithms of tirzepatide, a novel dual GIP and GLP-1 receptor agonist, in patients with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2019;68:993. doi: 10.2337/db19-993-P.)，并且，与先前报道的研究相比，15 mg 替尔博肽的三步剂量递增方案似乎并未有效降低胃肠道副作用的总体发生率 (Frias J.P., Nauck M.A., Van J., Kutner M.E., Cui X., Benson C., Urva S., Gimeno R.E., Milicevic Z., Robins D., et al. Efficacy and safety of LY3298176, a novel dual GIP and GLP-1 receptor agonist, in patients with type 2

diabetes: a randomised, placebo-controlled and active comparator-controlled phase 2 trial. Lancet.

2018;392:2180 – 2193. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32260-8.)。在服用 15 mg 替尔博肽的参与者中，低血糖发作的发生率也增加到~16%。尽管替尔博肽治疗仍与有希望的体重减轻相关（12 周后约 5.6kg），但胃肠道副作用的高发生率确实给替尔博肽的临床潜力带来了一些不确定性。另外，替尔博肽上市说明书中的滴定策略的用时很长，起始剂量为 2.5mg，4 周后增加到 5mg，如果需要增加剂量来控制血糖，要保持现有剂量 4 周之后，再增加 2.5mg 剂量，十分不便。

目前医学上仍然需要提供新的化合物，其是 GIP 和 GLP-1 受体的双激动剂，且支持在人中每周一次给药的可能性，提供安全性更好，药效更好，用药更方便的选择。

发明内容

发明的一个目的是提供一些长效的 GLP-1/GIP 双激动剂化合物。与本领域中的 GIP/GLP-1 双激动剂化合物相比，本发明的化合物具有较长的半衰期，和/或更持久的作用时间。本发明的化合物具有更强的降糖效果。本发明的化合物具有更低的副作用，包括但不限于胃肠道反应和心脏安全性风险等。本发明的化合物可以采取更短的滴定策略。本发明的化合物具有更大的安全窗。此外，本发明的化合物具有对肝脏的保护作用。

作为本发明的一部分，申请人发现，脂肪酸链的长度、组成和连接位置、以及肽和脂肪酸链之间的接头等选择对多肽半衰期的延长具有意料不到的效果。

本发明的一个实施方案是提供式 (AI) 化合物及其药学上可接受的盐：

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-A11-A12-A13-L-D-K-A17-A-Q-A20-E-F-V-K-W-L-L-K-A29-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K 式 (AI)；

其中 X₁ 是 Aib；X₂ 是 α MePhe；

A11 是 Aib 或 Ala；

A12 是 Ala、Ile、Lys、Phe 或 Pya(4)；

A13 是 Aib、Cha、Leu、α MePhe 或 α MeTyr；

A17 是 Gln 或 Ile；

A20 是 Ala 或 Ser；

A29 是 Gln 或 Gly；

在 16 位、24 位、28 位、40 位 K 中选 1 个 K、2 个 K、3 个 K 或者 4 个 K 的位置，通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-Z 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰，其中每个 a 独立的为 0 至 5 的整数，每个 b 独立的为 0 至 5 的整数，每个 c 独立的为 10 至 24 的整数，其中 Z 独立的选自-CH₃、羧酸或羧酸生物电子等排体、膦酸盐/酯或磺酸盐/酯。

在另一个实施方案中，本发明提供式 (AI) 的化合物或其药学上可接受的盐，其中，

X₁ 是 Aib；X₂ 是 α MePhe；

A11 是 Aib 或 Ala；

A12 是 Ala、Ile、Lys、Phe 或 Pya(4)；

A13 是 Aib、Cha、Leu、α MePhe 或 α MeTyr；

A17 是 Gln 或 Ile；

A20 是 Ala 或 Ser；

A29 是 Gln 或 Gly，

在 16 位、24 位、28 位、40 位 K 中选 1 个 K、2 个 K、3 个 K 或者 4 个 K 的位置，通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-Z 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰，其中 a 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数，b 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数，c 独立的选自 12 至 22 的整数；其中 Z 独立的选自-CH₃、羧酸或羧酸生物电子等排体、膦酸盐/酯或磺酸盐/酯；另外提供了其中 c 独立的选自 14、16、18 或 20 的化合物。

上述式 (AI) 的肽或其药学上可接受的盐，其中 A11 是 Aib；或/和

上述式 (AI) 的肽或其药学上可接受的盐，其中 A12 是 Ile；或/和

上述式 (AI) 的肽或其药学上可接受的盐，其中 A13 是 Aib；或/和

上述式 (AI) 的肽或其药学上可接受的盐，其中 A17 是 Gln；或/和

上述式 (AI) 的肽或其药学上可接受的盐，其中 A20 是 Ala；或/和

上述式 (AI) 的肽或其药学上可接受的盐，其中 A29 是 Gly。

本发明的一个实施方案是提供式 (I) 化合物及其药学上可接受的盐;

$Y-X_1-E-G-T-X_2-T-S-D-Y-X_3-I-X_4-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K$
式 (I);

其中 X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在 16 位、24 位、28 位、40 位 K 中选 1 个 K、2 个 K、3 个 K 或者 4 个 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰, 其中每个 a 独立的为 0 至 5 的整数, 每个 b 独立的为 0 至 5 的整数, 每个 c 独立的为 10 至 24 的整数, 其中 Z 独立的选自 $-\text{CH}_3$ 、羧酸或羧酸生物电子等排体、膦酸盐/酯或磺酸盐/酯; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺。

在一些实施方案中, 本发明提供式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐, 其中在 16 位、24 位、28 位、40 位 K 中选择 1 个 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰。例如在 16 位 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 例如在 24 位 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 例如在 28 位 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 例如在 40 位 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰。

在一些实施方案中, 本发明提供式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐, 其中在 16 位、24 位、28 位、40 位 K 中选择 2 个 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰。例如在 16 位 K 和 24 位 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰; 例如在 16 位 K 和 28 位 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰; 例如在 16 位 K 和 40 位 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰; 例如在 24 位 K 和 28 位 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰; 例如在 24 位 K 和 40 位 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰; 例如在 28 位 K 和 40 位 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰。

在一些实施方案中, 本发明提供式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐, 其中在 16 位、24 位、28 位、40 位 K 中选择 3 个 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而进行 3 条修饰链的化学修饰。例如在 16 位 K、24 位 K 和 28 位 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而进行 3 条修饰链的化学修饰; 例如在 16 位 K、24 位 K 和 40 位 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而进行 3 条修饰链的化学修饰; 例如在 16 位 K、28 位 K 和 40 位 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而进行 3 条修饰链的化学修饰; 例如在 24 位 K、28 位 K 和 40 位 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而进行 3 条修饰链的化学修饰。

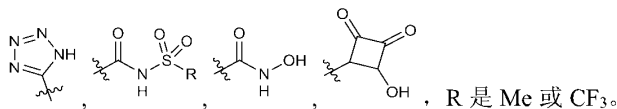
在一些实施方案中, 本发明提供式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐, 其中在 16 位、24 位、28 位、40 位 K 中选择 4 个 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而进行 4 条修饰链的化学修饰。例如在 16 位 K、24 位 K、28 位 K 和 40 位 K 的位置, 通过用 $[(2-(2\text{-氨基-乙氧基})\text{-乙氧基})\text{-乙酰基}]_a\text{-(}\gamma\text{-Glu)}_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$ 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而进行 4 条修饰链的化学修饰。

在一些实施方案中, 本发明提供式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐, 其中 Z 独立的选自 $-\text{CH}_3$ 、羧酸或羧酸生物电子等排体、膦酸盐/酯或磺酸盐/酯, 例如, 但并不限于, 所述 Z 可包括羧酸 $(-\text{CO}_2\text{H})$



或羧酸生物电子等排体 (例如 $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$)、膦酸 $(-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2)$ 或磺酸 $(-\text{SO}_2\text{OH})$ 基团, 优选是 $-\text{CO}_2\text{H}$ 。

羧酸生物电子等排体,合适的羧酸生物电子等排体是本领域中已知的。优选地,所述生物电子等排体具有 pK_a 与相应羧酸相似的质子。合适的生物电子等排体的实例可以包括但不限于四唑、酰基磺酰胺、酰基羟胺和方酸衍生物,如下所示:



在一些实施方案中,本发明提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中 a 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数,优选 1、2 或 3, b 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数,优选 1、2 或 3, c 独立的选自 12 至 22 的整数;另外本发明提供其中 c 为 14、16、18 或 20 的化合物。

本发明的一个实施方案是提供式(I)化合物及其药学上可接受的盐:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K 式(I);

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在 16 位、24 位、28 位、40 位 K 中选 1 个或者 2 个 K 的位置,通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ -Glu)_b-CO-(CH₂)_c-Z 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰,其中 Z 独立的选自-CH₃、羧酸或羧酸生物电子等排体、膦酸盐/酯或磺酸盐/酯,优选是-CO₂H,每个 a 独立的为 0 至 5 的整数,每个 b 独立的为 0 至 5 的整数,每个 c 独立的为 10 至 24 的整数;并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺。

在另一个实施方案中,本发明提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中, X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在 16 位、24 位、28 位、40 位 K 中选 1 个或者 2 个 K 的位置,通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ -Glu)_b-CO-(CH₂)_c-Z 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰,其中 Z 独立的选自-CH₃、羧酸或羧酸生物电子等排体、膦酸盐/酯或磺酸盐/酯,优选是-CO₂H, a 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, b 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, c 独立的选自 12 至 22 的整数;另外本发明提供了其中 c 为 14、16、18 或 20 的化合物。

本发明的一个实施方案是提供式(I)化合物及其药学上可接受的盐:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K 式(I);

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ -Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰,其中 a 独立的选自 0 至 5 的整数, b 独立的选自 0 至 5 的整数, c 独立的选自 10 至 24 的整数;并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺。

在另一个实施方案中,本发明提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中, X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ -Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰,其中 a 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, b 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, c 独立的选自 12 至 22 的整数;另外本发明提供了其中 c 为 14、16、18 或 20 的化合物。

本发明的另一个实施方案是提供式(I)化合物及其药学上可接受的盐:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K 式(I);

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ -Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰,其中 a 独立的选自 0 至 5 的整数, b 独立的选自 0 至 5 的整数, c 独立的选自 10 至 24 的整数;并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺。

在另一个实施方案中,本发明提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中, X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ -Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰,其中 a 独立的选自 1、2、3、4

或 5 的整数, b 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, c 独立的选自 12 至 22 的整数; 另外本发明提供了其中 c 为 14, 16, 18 或 20 的化合物。

本发明的另一个实施方案是提供式 (I) 化合物及其药学上可接受的盐:

$\text{Y-X}_1\text{-E-G-T-X}_2\text{-T-S-D-Y-X}_3\text{-I-X}_4\text{-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K}$
式 (I);

其中 X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 16 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_a$ -(γ -Glu) $_b$ -CO-(CH $_2$) $_c$ -CO $_2$ H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰, 其中 a 独立的选自 0 至 5 的整数, b 独立的选自 0 至 5 的整数, c 独立的选自 10 至 24 的整数; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺。

在另一个实施方案中, 本发明提供式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐, 其中, X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 16 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_a$ -(γ -Glu) $_b$ -CO-(CH $_2$) $_c$ -CO $_2$ H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰, 其中 a 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, b 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, c 独立的选自 12 至 22 的整数; 另外本发明提供了其中 c 为 14, 16, 18 或 20 的化合物。

本发明的另一个实施方案是提供式 (I) 化合物及其药学上可接受的盐:

$\text{Y-X}_1\text{-E-G-T-X}_2\text{-T-S-D-Y-X}_3\text{-I-X}_4\text{-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K}$
式 (I);

其中 X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 40 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_a$ -(γ -Glu) $_b$ -CO-(CH $_2$) $_c$ -CO $_2$ H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰, 其中 a 独立的选自 0 至 5 的整数, b 独立的选自 0 至 5 的整数, c 独立的选自 10 至 24 的整数; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺。

在另一个实施方案中, 本发明提供式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐, 其中, X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 40 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_a$ -(γ -Glu) $_b$ -CO-(CH $_2$) $_c$ -CO $_2$ H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰, 其中 a 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, b 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, c 独立的选自 12 至 22 的整数; 另外本发明提供了其中 c 为 14, 16, 18 或 20 的化合物。

本发明的另一个实施方案是提供式 (I) 化合物及其药学上可接受的盐:

$\text{Y-X}_1\text{-E-G-T-X}_2\text{-T-S-D-Y-X}_3\text{-I-X}_4\text{-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K}$
式 (I);

其中 X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 24 和 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_a$ -(γ -Glu) $_b$ -CO-(CH $_2$) $_c$ -CO $_2$ H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰, 其中每个 a 独立的为 0 至 5 的整数, 每个 b 独立的为 0 至 5 的整数, 每个 c 独立的为 10 至 22 的整数; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺。

在另一个实施方案中, 本发明提供式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐, 其中, X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 24 和 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_a$ -(γ -Glu) $_b$ -CO-(CH $_2$) $_c$ -CO $_2$ H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰, 其中 a 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, b 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, c 独立的选自 12 至 22 的整数; 另外本发明提供了其中 c 为 14, 16, 18 或 20 的化合物。

本发明的另一个实施方案是提供式 (I) 化合物及其药学上可接受的盐:

$\text{Y-X}_1\text{-E-G-T-X}_2\text{-T-S-D-Y-X}_3\text{-I-X}_4\text{-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K}$
式 (I);

其中 X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 16 和 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_a$ -(γ -Glu) $_b$ -CO-(CH $_2$) $_c$ -CO $_2$ H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰, 其中每个 a 独立的为 0 至 5 的整数, 每个 b 独立的为 0 至 5 的整数, 每个 c 独立的为 10 至 22 的整数; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺。

在另一个实施方案中, 本发明提供式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐, 其中, X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 16 和 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙

酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰,其中 a 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, b 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, c 独立的选自 12 至 22 的整数;另外本发明提供了其中 c 为 14, 16, 18 或 20 的化合物。

本发明的另一个实施方案是提供式 (I) 化合物及其药学上可接受的盐:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K
式 (I);

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 16 和 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰,其中每个 a 独立的为 0 至 5 的整数,每个 b 独立的为 0 至 5 的整数,每个 c 独立的为 10 至 22 的整数;并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺。

在另一个实施方案中,本发明提供式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐,其中, X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 16 和 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰,其中 a 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, b 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, c 独立的选自 12 至 22 的整数;另外本发明提供了其中 c 为 14, 16, 18 或 20 的化合物。

本发明的另一个实施方案是提供式 (I) 化合物及其药学上可接受的盐:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K
式 (I);

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 16 和 40 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰,其中每个 a 独立的为 0 至 5 的整数,每个 b 独立的为 0 至 5 的整数,每个 c 独立的为 10 至 22 的整数;并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺。

在另一个实施方案中,本发明提供式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐,其中, X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 16 和 40 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰,其中 a 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, b 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, c 独立的选自 12 至 22 的整数;另外本发明提供了其中 c 为 14, 16, 18 或 20 的化合物。

本发明的另一个实施方案是提供式 (I) 化合物及其药学上可接受的盐:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K
式 (I);

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 24 和 40 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰,其中每个 a 独立的为 0 至 5 的整数,每个 b 独立的为 0 至 5 的整数,每个 c 独立的为 10 至 22 的整数;并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺。

在另一个实施方案中,本发明提供式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐,其中, X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 24 和 40 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰,其中 a 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, b 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, c 独立的选自 12 至 22 的整数;另外本发明提供了其中 c 为 14, 16, 18 或 20 的化合物。

本发明的另一个实施方案是提供式 (I) 化合物及其药学上可接受的盐:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K
式 (I);

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 28 和 40 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰,其中每个 a 独立的为 0 至 5 的整数,每个 b 独立的为 0 至 5 的整数,每个 c 独立的为 10 至 22 的整数;并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺。

在另一个实施方案中, 本发明提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐, 其中, X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 28 和 40 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_a$ -(γ -Glu) $_b$ -CO-(CH $_2$) $_c$ -CO $_2$ H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰, 其中 a 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, b 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, c 独立的选自 12 至 22 的整数; 另外本发明提供了其中 c 为 14, 16, 18 或 20 的化合物。

如上所述的所有实施方案中, 每个 a 独立的是 1 至 3 的整数, 每个 b 独立的为 1 至 3 的整数, 每个 c 独立的为 12 至 22 的整数; 另外本发明提供了其中 c 为 14, 16, 18 或 20 的化合物。如上所述的所有实施方案中优选是在位置 24 位或 28 位的 K 上进行一个修饰链的修饰的实施方案。

在一个实施方案中, 本发明提供提下式的化合物或其药学上可接受的盐;

Y-X $_1$ -E-G-T-X $_2$ -T-S-D-Y-X $_3$ -I-X $_4$ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K ;

其中 X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_2$ -(γ -Glu) $_1$ -CO-(CH $_2$) $_{16}$ -CO $_2$ H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:7)。

在一个实施方案中, 本发明提供提下式的化合物或其药学上可接受的盐;

Y-X $_1$ -E-G-T-X $_2$ -T-S-D-Y-X $_3$ -I-X $_4$ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K ;

其中 X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_2$ -(γ -Glu) $_1$ -CO-(CH $_2$) $_{18}$ -CO $_2$ H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:13)。

在一个实施方案中, 本发明提供提下式的化合物或其药学上可接受的盐;

Y-X $_1$ -E-G-T-X $_2$ -T-S-D-Y-X $_3$ -I-X $_4$ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K ;

其中 X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_2$ -(γ -Glu) $_1$ -CO-(CH $_2$) $_{20}$ -CO $_2$ H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:14)。

在一个实施方案中, 本发明提供提下式的化合物或其药学上可接受的盐;

Y-X $_1$ -E-G-T-X $_2$ -T-S-D-Y-X $_3$ -I-X $_4$ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K ;

其中 X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_2$ -(γ -Glu) $_3$ -CO-(CH $_2$) $_{16}$ -CO $_2$ H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:15)。

在一个实施方案中, 本发明提供提下式的化合物或其药学上可接受的盐;

Y-X $_1$ -E-G-T-X $_2$ -T-S-D-Y-X $_3$ -I-X $_4$ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K ;

其中 X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_3$ -(γ -Glu) $_1$ -CO-(CH $_2$) $_{20}$ -CO $_2$ H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:16)。

在一个实施方案中, 本发明提供提下式的化合物或其药学上可接受的盐;

Y-X $_1$ -E-G-T-X $_2$ -T-S-D-Y-X $_3$ -I-X $_4$ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K ;

其中 X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_2$ -(γ -Glu) $_1$ -CO-(CH $_2$) $_{16}$ -CO $_2$ H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:8)。

在一个实施方案中, 本发明提供提下式的化合物或其药学上可接受的盐;

Y-X $_1$ -E-G-T-X $_2$ -T-S-D-Y-X $_3$ -I-X $_4$ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K ;

其中 X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_2$ -(γ -Glu) $_1$ -CO-(CH $_2$) $_{20}$ -CO $_2$ H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:17)。

在一个实施方案中, 本发明提供提下式的化合物或其药学上可接受的盐;

Y-X $_1$ -E-G-T-X $_2$ -T-S-D-Y-X $_3$ -I-X $_4$ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K ;

其中 X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)₂-(γ -Glu)₃-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:18)。

在一个实施方案中, 本发明提供提下式的化合物或其药学上可接受的盐:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K ;

其中 X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)₃-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:19)。

在一个实施方案中, 本发明提供提下式的化合物或其药学上可接受的盐:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K ;

其中 X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)₃-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₂₀-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:20)。

本发明还提供用于增加 GLP-1/GIP 双激动剂在患者中的作用时间的方法, 其特征在于在使用如上所述本发明提供的酰化 GLP-1/GIP 双激动剂。

在一个实施方案中, 本发明提供包含本发明化合物和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的组合物。

一个实施方案提供了根据上述实施方案任意之一的化合物在制备治疗或预防如下疾病的药物中的应用, 所述的疾病是高血糖症、葡萄糖耐量降低、I 型糖尿病、II 型糖尿病、肥胖症、高血压、X 综合征、血脂障碍、认知障碍、动脉粥样硬化、心肌梗塞、冠心病和其它心血管疾病、中风、炎症肠综合征、消化不良和胃溃疡。

一个实施方案提供了根据上述实施方案任意之一的化合物的用途, 用于制备用于延缓或预防 II 型糖尿病的疾病发展的药物。

一个实施方案提供了根据上述实施方案任意之一的化合物的用途, 用于制备用于降低食物摄取、降低 β -细胞凋亡、增加 β -细胞功能和 β -细胞量和/或恢复 β -细胞的葡萄糖敏感性的药物。

在一个实施方案中, 本发明提供治疗 II 型糖尿病的方法, 其包括向有需要的患者施用有效量的本发明化合物。

在一个实施方案中, 本发明提供一种改善 II 型糖尿病患者中血糖控制的方法, 包括向有需要的患者施用有效量的本发明化合物作为饮食和运动的辅助剂。

在一个实施方案中, 本发明提供了一种在具有初始体重指数(body mass index) ≥ 27 和 II 型糖尿病的患者中长期体重管理的方法, 包括向有需要的患者施用有效量的本发明化合物作为低热量饮食和增加的身体活动的辅助剂。

在一个实施方案中, 本发明提供了治疗代谢综合征的方法, 包括向有需要的患者施用有效量的本发明化合物。在另一个实施方案中, 本发明提供了治疗与胰岛素抗性和糖尿病相关的血脂异常、肥胖和/或肝脂肪变性的方法, 包括向有需要的患者施用有效量的本发明化合物。另外, 本发明提供了治疗虚弱或增加骨强度的方法, 包括向有需要的患者施用有效量的本发明化合物。

在一个实施方案中, 本发明提供本发明的化合物作为饮食和运动的辅助剂用于 II 型糖尿病患者中的血糖控制。在一个实施方案中, 本发明提供本发明的化合物在具有初始体重指数 ≥ 27 和 II 型糖尿病的患者中作为低热量饮食和增加的身体活动的辅助剂用于长期体重管理。

本发明的化合物对 GLP-1 受体和 GIP 受体的上述活化作用, 本发明的化合物可以用作治疗或预防各种疾病的药物, 包括肥胖症。本发明的化合物可以用作预防或治疗下列疾病的药物: 例如, 症状性肥胖症、基于单纯性肥胖的肥胖症、与肥胖症有关的疾病状态或疾病、进食障碍、糖尿病(例如, I 型糖尿病、II 型糖尿病、妊娠期的糖尿病、肥胖性糖尿病)、高脂血症(例如, 高甘油三酯血症、高胆固醇血症、高 LDL-胆固醇血、低 HDL-胆固醇血、饭后高血脂症)、高血压症、心力衰竭、糖尿病的并发症[例如, 神经病、肾病、视网膜病、糖尿病性心肌病、白内障、巨血管病、骨质减少、高渗性糖尿病性昏迷、传染病(例如, 呼吸道感染、尿路感染、肠胃感染、表皮软组织感染、下肢感染)、

糖尿病性坏疽、口干症、听觉减退、脑血管病症、周围血液循环病症、代谢性综合症(具有三个或多个选自高甘油三酯血症(TG)、低 HDL 胆固醇血症(HDL-C)、高血压症、腹部肥胖症和葡萄糖耐量削弱的疾病状态)、肌肉减少, 等等。

症状性肥胖症的例子包括: 内分泌肥胖症(例如, 柯兴氏综合征、甲状腺机能减退、胰岛瘤、肥胖性 II 型糖尿病、假甲状旁腺机能减退、性腺机能减退)、中心性肥胖症(例如, 丘脑下部性肥胖、额叶综合症、克-列二氏综合征)、遗传性肥胖症(例如, Prader-Willi 综合症、劳-穆-比三氏综合征)、药物诱导的肥胖症(例如, 甾体、吩噻嗪、胰岛素、磺酰脲(SU)药物、 β -阻断剂诱导的肥胖症), 等等。

与肥胖症有关的疾病状态或疾病的例子包括: 葡萄糖耐量病症、糖尿病(尤其是 II 型糖尿病、肥胖性糖尿病)、脂类代谢异常(与上述高脂血症同义)、高血压症、心力衰竭、高尿酸血症、脂肪肝(包括非酒精性肝炎)、冠心病(心肌梗塞、心绞痛)、脑梗塞(脑血栓、短暂性大脑缺血性发作)、骨/关节疾病(膝盖骨关节炎、髋骨关节炎、变形性脊椎炎、腰痛)、睡眠无呼吸综合症/Pickwick 综合症、月经紊乱(月经周期异常、闭经、异常的月经症状)、代谢性综合症, 等等。

本发明提供的化合物, 具有 GLP-1/GIP 双重激动剂活性, 具有长半衰期, 显示出更长的药效持续时间。

本发明的化合物可以与多种无机酸和有机酸中的任一种反应形成药学上可接受的酸加成盐。药学上可接受的盐和制备它们的常用方法是本领域公知的。

本发明的氨基酸序列含有二十种天然氨基酸的标准单字母或三字母代码。另外, “Aib” 是 α 氨基异丁酸, “ α MePhe” 是 α 甲基苯丙氨酸, “Pya(4)” 是 4-吡啶基丙氨酸; “Cha” 是环己基丙氨酸、 “ α MeTyr” 是 α 甲基酪氨酸。

本发明所述的“AEEA” 是 2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基的缩写。本发明所述的“Ste” 表示衍生自十八烷二酸的十八烷二酰基-C(O)-C₁₆H₃₂-C(O)-。

本发明所述的“有效量” 或“治疗有效量” 是本发明化合物或其药学上可接受的盐的量或剂量, 其以单个或多个剂量施用给患者时, 在诊断或治疗的患者中提供期望的效果。

本发明所述的“起效剂量” 是指具有药效作用的最小给药剂量。具体到本发明中的 db/db 小鼠多次给药药效实验, 是指与 Vehicle 组相比, 受试物给药组的血糖 AUC 具有显著性差异 ($P < 0.05$) 的最小剂量。

本发明所述的“Efficacy Dose” 是指具有药效作用的给药剂量。具体到本发明中的 db/db 小鼠多次给药药效实验, 是指与 Vehicle 组相比, 受试物给药组的血糖 AUC 具有显著性差异 ($P < 0.05$) 的剂量。

本发明所述的“Vehicle 组” 是指溶媒对照组。

本发明所述的“AUC” 是指药时曲线下面积, 即药浓度曲线对时间轴所包围的面积。该参数是评价药物吸收程度的重要指标, 反映药物在体内的暴露特性。

本发明所述的“MRT” 是指平均驻留时间, 药物分子在体内停留时间的平均值, 表示从体内消除 63.2% 药物所需要的时间。

本发明所述的“MTD” 是指最大耐受量, 不引起受试动物死亡的最高剂量。

本发明所述的“内标” 是指在样品中加入已知量的某一化合物纯品, 用于校正由于仪器信号波动、人员操作导致的误差等。

本发明所述的“血糖 AUC 抑制率” 是与 Vehicle 组相比, 受试物给药组血糖 AUC 降低的百分比。血糖 AUC 抑制率 = (血糖 AUC_{Vehicle} - 血糖 AUC_{受试物}) / 血糖 AUC_{Vehicle}

本发明所述的“滴定策略” 是剂量递增的方法, 即在起始剂量后, 通过调整剂量递增的频率和给药量以获得最佳用药剂量。

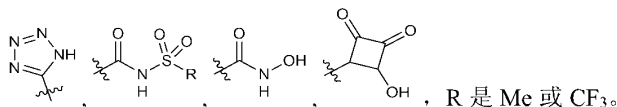
本发明所述的“患者” 包括人或者动物, 优选是人。

本发明所述的“修饰链” 是 $[(2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基)-乙酰基]_a-(\gamma-Glu)_b-CO-(CH_2)_c-Z$, 其中每个 a 独立的为 0 至 5 的整数, 每个 b 独立的为 0 至 5 的整数, 每个 c 独立的为 10 至 22 的整数; 进一步的其中 a 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, b 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, c 独立的选自 12 至 22 的整数; 另外本发明提供了其中 c 为 14, 16, 18 或 20 的化合物, 其中 Z 独立的选自 $-CH_3$ 、

羧酸或羧酸生物电子等排体、磷酸盐/酯或磺酸盐/酯, 例如, 但并不限于, 所述 Z 可包括羧酸(-CO₂H)

或羧酸生物电子等排体 (例如 )、磷酸(-P(O)(OH)₂)或磺酸(-SO₂OH)基团, 优选是-CO₂H。

羧酸生物电子等排体, 合适的羧酸生物电子等排体是本领域中已知的。优选地, 所述生物电子等排体具有 pK_a 与相应羧酸相似的质子。合适的生物电子等排体的实例可以包括但不限于四唑、酰基磺酰胺、酰基羟胺和方酸衍生物, 如下所示:



对于本文提及的肽, 根据常规肽标记, 左端是 N 末端(氨基末端)并且右端是 C 末端(羧基末端)。肽的 C 末端可以是酰胺(-CONH₂)、羧基(-COOH)、羧酸根(-COO⁻)、烷基酰胺(-CONHR')和酯(-COOR')中的任一种, R' 是 C₁₋₈ 烷基。特别地, 酰胺(-CONH₂)是优选的。

本发明制备方法中所述“偶联”或“接入”是指将新的氨基酸添加至结合的氨基酸或肽的过程。

附图说明:

图 1A-1B 显示了 db/db 小鼠给药后的血糖变化。图 1A 显示了 P007、P008、P014、P019、Tirzepatide 和 P001 10 nmol/kg 皮下单次给药后, db/db 小鼠的血糖变化; 图 1B 显示了 P013、P015、P016、P017、P018、P020 和 Tirzepatide 10 nmol/kg 皮下单次给药后, db/db 小鼠的血糖变化。

图 2A-2C 显示了 db/db 小鼠给药后的血糖 AUC。图 2A 显示了 P007、P008、P014、P019、Tirzepatide 和 P001 10 nmol/kg 皮下单次给药后 0-48 h 的 AUC; 图 2B 显示了 P007、P008、P014、P019 和 Tirzepatide 10 nmol/kg 皮下单次给药后 0-72 h 的 AUC; 图 2C 显示了 P013、P015、P016、P017、P018、P020 和 Tirzepatide 10 nmol/kg 皮下单次给药后的 0-56 h AUC。图 2A 中 T-Test, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 与 Vehicle 对比; §p<0.05, §§p<0.01, §§§p<0.001 与 P001 对比。图 2B 中 T-Test, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 与 Vehicle 对比; #p<0.05, ##p<0.01 与 Tirzepatide 对比。图 2C 中 T-Test, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 与 Vehicle 对比; #p<0.05 与 Tirzepatide 对比。

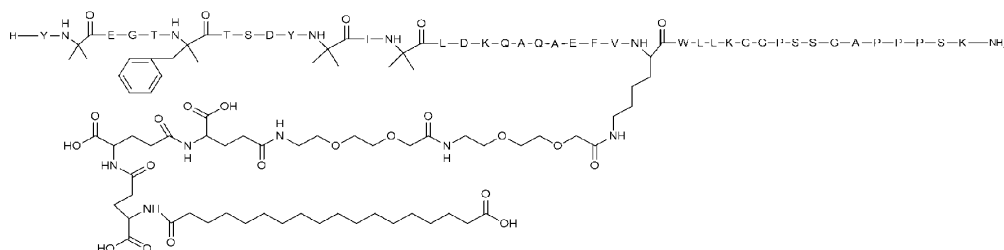
图 3A-3D 显示了 db/db 小鼠多次给药后的血糖变化。图 3A 比较了 P014 和 Tirzepatide 皮下多次给药后, db/db 小鼠的血糖变化; 图 3B 比较了 P016 和 Tirzepatide 皮下多次给药后, db/db 小鼠的血糖变化; 图 3C 比较了 P017 和 Tirzepatide 皮下多次给药后, db/db 小鼠的血糖变化; 图 3D 比较了 P020 和 Tirzepatide 皮下多次给药后, db/db 小鼠的血糖变化。

本发明还包括可用于合成本发明化合物或其药学上可接受盐的新的中间体和化合物。本发明的中间体和化合物可以通过本领域已知的多种方法制备。特别地, 在下面的实施例中举例说明了使用化学合成的方法。所描述的每一途径的具体合成步骤可以以不同的方式组合, 以制备本发明的化合物或其盐。试剂和原料是本领域普通技术人员容易获得的。应当理解, 这些实施例不旨在以任何方式限制本发明的范围。质谱采用的是 Agilent 1260/6110 液相色谱质谱联用仪, 扫描范围: 100-1500。

实施例 1:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用[(2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基)-乙酰基]₂-(γ-Glu)₃-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:15)。



除了残基 Aib2、 α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K24 之外, 上述结构含有标准单字母氨基酸代码, 其中 Aib2、 α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K24 氨基酸残基的结构已经展开。

其制备方法采用 Fmoc 固相多肽合成策略, 方法包括:

(1) 肽树脂中间体 1 的合成

取 Fmoc-Rink Linker-Nle-MBHA 树脂 ($S=0.49 \text{ mmol/g}$)，适量 DCM 溶胀，并用 DCM 洗涤 2-3 次，20% PIP/DMF 溶液去保护 30 min，过滤洗涤，得到去 Fmoc 的 NH_2 -Rink linker-Nle-MBHA 树脂，抽干溶剂备用。

分别取 4 当量 Fmoc-Lys(Boc)-OH 和 HOBt, 适量 DMF/DCM 溶解; 另取 4 当量的 DIC, 用 DCM 稀释一倍, 于搅拌下缓慢加至 DMF/DCM 溶液中, 于 $-5\sim 0^{\circ}\text{C}$ 下搅拌反应不少于 60 分钟, 活化后的备用。

将活化的 Fmoc-Lys(Boc)-OH 溶液加至 NH_2 -Rink linker-Nle-MBHA 树脂, 反应温度控制在 $10\sim 30^\circ\text{C}$, 偶联反应 $240\sim 480\text{ min}$, 过滤洗涤, 得 Fmoc-Lys(Boc)-Rink linker-Nle-MBHA 树脂, 用 20% PIP/DMF 溶液去保护 30 min, 过滤洗涤, 得到去 Fmoc 的 Lys(Boc)-Rink linker-Nle-MBHA 树脂。

同样如反应条件，依次从 C 端第二个氨基酸开始逐个偶联到 N 端，遇到偶联不完全的（显色反应），采用 HBTU/DIEA 进行第二次缩合，确保每个氨基酸缩合完全。依次偶联顺序为 Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Ala-OH.H₂O、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Gly-Gly-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Trp(Boc)-OH、Fmoc-Lys(Mtt)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH.H₂O、Fmoc-Ala-OH.H₂O、Fmoc-Gln(Trt)-OH、Fmoc-Ala-OH.H₂O、Fmoc-Gln(Trt)-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Aib-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Aib-OH、Fmoc-Tyr(tBu)-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc- α -Me-Phe-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-Gly-OH、Fmoc-Aib-OH、Boc-Tyr(tBu)-OH。

得到:

Boc-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile
-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Mtt)-Trp(Boc)-Leu-Leu
-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)-Rink
Linker-Nle-MBHA Resin

在上述缩合完全，用 50% HFIP/DCM 溶液去除 Mtt 保护 30 分钟，再洗涤过滤，得到肽树脂中间体 1：

Boc-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)-Rink Linker-Nle-MBHA Resin.

(2) 修饰链修饰步骤

取 4 当量 Fmoc-AEEA-OH 和 HOBt 用适量 DMF/DCM 溶解；另取 4 当量 DIC，用 DCM 稀释一倍，搅拌下慢慢加入至 DMF/DCM 溶液中，于 -5~0℃ 环境中搅拌反应不少于 60 分钟，活化后的备用。

将活化后的 Fmoc-AEEA-OH 溶液, 加入至事先溶胀洗涤好的肽树脂中间体 1, 反应温度控制在 10~30℃, 偶联反应 240~480 分钟, 过滤洗涤, 用 20% PIP/DMF 溶液去 Fmoc 保护 30 min, 过滤洗涤。按照如上反应条件, 依次将活化后的 Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu(α

-OtBu)-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH 和十八烷二酸单叔丁酯在树脂上进行偶联、Fmoc 脱保护, 用 DCM 洗涤干燥, 得到 P015 肽树脂:

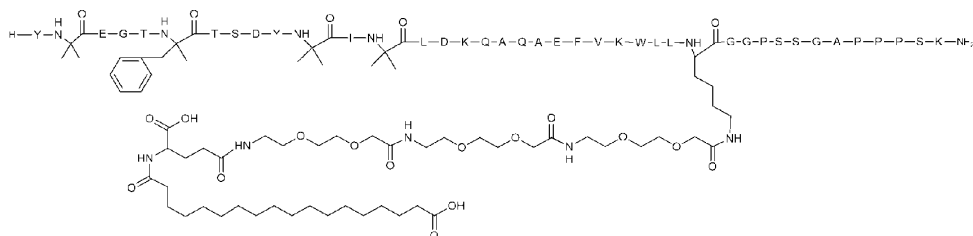
Boc-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(tBuO-Ste- γ -Glu(α -OtBu)- γ -Glu(α -OtBu)- γ -Glu(α -OtBu)-AEEA-AEEA)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)-Rink-Linker-Nle-MBHA Resin。

取 P015 肽树脂, 加入 12-15 mL/克肽树脂的裂解剂(TFA:EDT:TIS:H₂O, 体积比 94:2:2:2), 25 $\pm$ 5 $^{\circ}$ C 搅拌反应 4 小时, 反应混合物使用砂芯漏斗过滤, 收集滤液, 树脂再用少量 TFA 洗涤 3 次, 合并滤液后减压浓缩, 加入甲基叔丁基醚 (MBTE) 沉淀, 再用 MBTE 洗涤 3-4 次, 挥干 MTBE, 室温减压干燥粗品至恒重, 得 P015 粗品, 经后续纯化, 干燥获得 P015 样品 (质谱 MS: 5255.2)。

实施例 2:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K;

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙氧基)₃-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:19)。



除了残基 Aib2、 α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K28 之外, 上述结构含有标准单字母氨基酸代码, 其中 Aib2、 α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K28 氨基酸残基的结构已经展开。

其制备方法采用 Fmoc 固相多肽合成策略, 方法包括:

(1) 肽树脂中间体 2 的合成

取 Fmoc-Rink Linker-Nle-MBHA 树脂 (S=0.49 mmol/g), 适量 DCM 溶胀, 并用 DCM 洗涤 2-3 次, 20% PIP/DMF 溶液去保护 30 min, 洗涤过滤, 得到去 Fmoc 的 NH₂-Rink linker-Nle-MBHA 树脂, 抽干溶剂备用。

分别取 4 当量 Fmoc-Lys(Boc)-OH 和 HOBt, 适量 DMF/DCM 溶解; 另取 4 当量 DIC, 用 DCM 稀释一倍, 于搅拌下缓慢加至 DMF/DMC 溶液中, 于 -5 $\sim$ 0 $^{\circ}$ C 下搅拌反应不少于 60 分钟, 活化后的备用。

将活化的 Fmoc-Lys(Boc)-OH 溶液加至 NH₂-Rink linker-Nle-MBHA 树脂, 反应温度控制在 10-30 $^{\circ}$ C, 偶联反应 240 $\sim$ 480 min, 过滤洗涤, 得 Fmoc-Lys(Boc)-Rink linker-Nle-MBHA 树脂, 用 20% PIP/DMF 溶液去保护 30 min, 过滤洗涤, 得到去 Fmoc 的 Lys(Boc)-Rink linker-Nle-MBHA 树脂。

同样如反应条件, 依次从 C 端第二个氨基酸开始逐个偶联到 N 端, 遇到偶联不完全的 (显色反应), 采用 HBTU/DIEA 进行第二次缩合, 确保每个氨基酸缩合完全。依次偶联顺序为 Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Ala-OH.H₂O、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Gly-Gly-OH、Fmoc-Lys(Mtt)-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Trp(Boc)-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH.H₂O、Fmoc-Ala-OH.H₂O、Fmoc-Gln(Trt)-OH、Fmoc-Ala-OH.H₂O、Fmoc-Gln(Trt)-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Aib-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Aib-OH、Fmoc-Tyr(tBu)-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc- α -Me-Phe-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-Gly-OH、Fmoc-Aib-OH、Boc-Tyr(tBu)-OH。

得到:

Boc-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-

u-Lys(Mtt)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)-Rink
Linker-Nle-MBHA Resin

在上述缩合完全, 用 50% HFIP/DCM 溶液去除 Mtt 保护 30 分钟, 再洗涤过滤, 得到肽树脂中
间体 2:

Boc-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile
-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Le
u-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)-Rink Linker-Nle-MBHA
Resin。

(2) 修饰链修饰步骤

取 4 当量 Fmoc-AEEA-OH 和 HOBt 用适量 DMF/DCM 溶解; 另取 4 当量 DIC, 用 DCM 稀
释一倍, 搅拌下慢慢加入至 DMF/DCM 溶液中, 于 -5~0℃ 环境中搅拌反应不少于 60 分钟, 活化后
的备用。

将活化后的 Fmoc-AEEA-OH 溶液, 加入至事先溶胀洗涤好的肽树脂中间体 2, 反应温度控制
在 10~30℃, 偶联反应 240~480 分钟, 过滤洗涤, 用 20% PIP/DMF 溶液去 Fmoc 保护 30 min, 过
滤洗涤。按照如上反应条件, 依次将活化后的 Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH,
Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH 和十八烷二酸单叔丁酯在树脂上进行偶联、Fmoc 脱保护, 用 DCM 洗涤干
燥, 得到 P019 肽树脂:

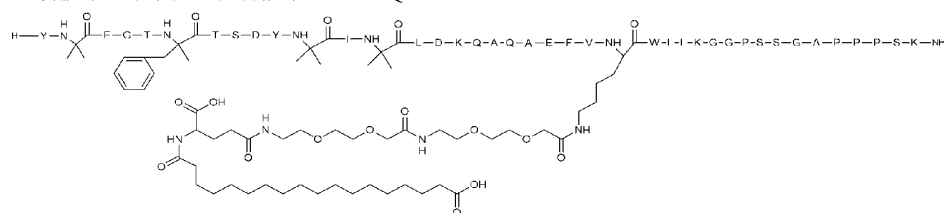
Boc-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-I
le-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(tBuO-Stc- γ -Glu(α -
-OtBu)-AEEA-AEEA-AEEA)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-
Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)-Rink-Linker-Nle-MBHA Resin。

取 P019 肽树脂, 加入 12-15 mL/克肽树脂的裂解剂(TFA:EDT:TIS:H₂O, 体积比 94:2:2:2), 25
±5℃ 搅拌反应 4 小时, 反应混合物使用砂芯漏斗过滤, 收集滤液, 树脂再用少量 TFA 洗涤 3 次,
合并滤液后减压浓缩, 加入甲基叔丁基醚(MBTE)沉淀, 再用 MBTE 洗涤 3-4 次, 挥干 MTBE,
室温减压干燥粗品至恒重, 得 P019 粗品, 经后续纯化, 干燥获得 P019 样品(质谱 MS: 5142.0)。

实施例 3

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧
基)-乙氧基]-乙酰基)₂-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨
基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:7)。



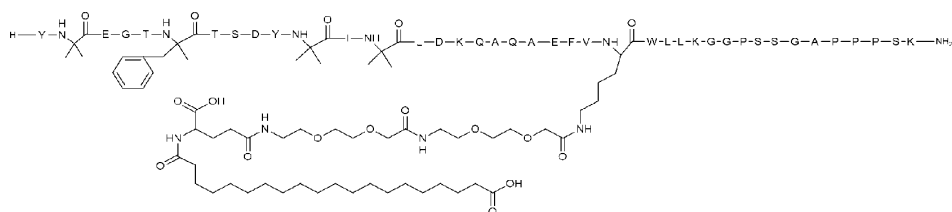
除了残基 Aib2、 α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K24 之外, 上述结构含有标准单字母氨基酸代码,
其中 Aib2、 α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K24 氨基酸残基的结构已经展开。

与以上实施例 1 中所述类似地, 采用肽树脂中间体 1, 进行制备步骤, 合成本发明的 SEQ ID NO:
7 的肽(质谱 MS: 4997.2)。区别在于修饰链的修饰过程是依次将 Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH,
Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH 和十八烷二酸单叔丁酯在树脂上进行偶联、Fmoc 脱保护, 用 DCM 洗涤干燥,
得到 P007 肽树脂, 其他步骤类似。

实施例 4:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧
基)-乙氧基]-乙酰基)₂-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨
基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:13)。



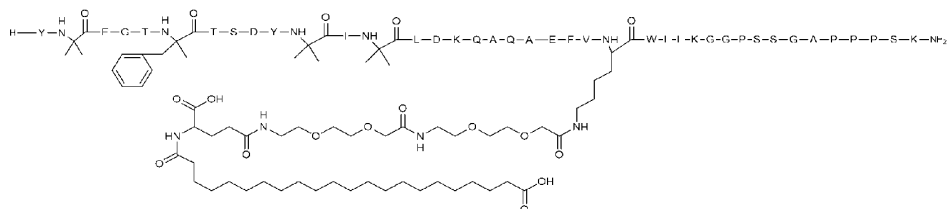
除了残基 Aib2、 α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K24 之外，上述结构含有标准单字母氨基酸代码，其中 Aib2、 α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K24 氨基酸残基的结构已经展开。

与以上实施例 1 中所述类似地，采用肽树脂中间体 1，进行制备步骤，合成本发明的 SEQ ID NO: 13 的肽(质谱 MS: 5025.2)。区别在于修饰链的修饰过程是依次将 Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH 和二十烷二酸单叔丁酯在树脂上进行偶联、Fmoc 脱保护，用 DCM 洗涤干燥，得到 P013 肽树脂，其他步骤类似。

实施例 5:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K;

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)₂-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₂₀-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:14)。



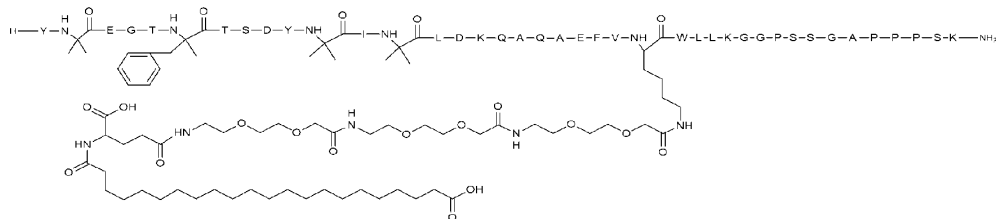
除了残基 Aib2、 α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K24 之外，上述结构含有标准单字母氨基酸代码，其中 Aib2、 α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K24 氨基酸残基的结构已经展开。

与以上实施例 1 中所述类似地，采用肽树脂中间体 1，进行制备步骤，合成本发明的 SEQ ID NO: 14 的肽(质谱 MS: 5052.4)。区别在于修饰链的修饰过程是依次将 Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH 和二十二烷二酸单叔丁酯在树脂上进行偶联、Fmoc 脱保护，用 DCM 洗涤干燥，得到 P014 肽树脂，其他步骤类似。

实施例 6:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K;

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)₃-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₂₀-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:16)。



除了残基 Aib2、 α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K24 之外，上述结构含有标准单字母氨基酸代码，其中 Aib2、 α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K24 氨基酸残基的结构已经展开。

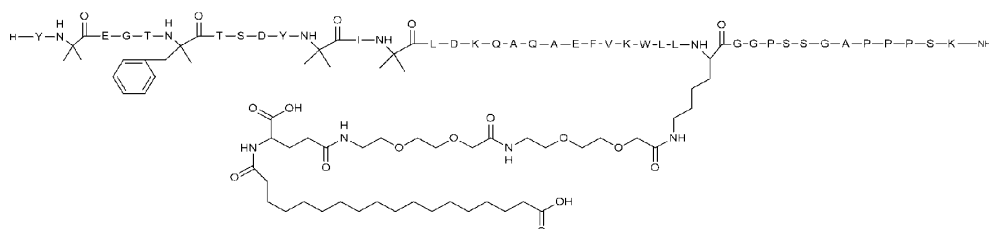
与以上实施例 1 中所述类似地，采用肽树脂中间体 1，进行制备步骤，合成本发明的 SEQ ID NO: 16 的肽(质谱 MS: 5198.0)。区别在于修饰链的修饰过程是依次将 Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH 和二十二烷二酸单叔丁酯在树脂上进行偶联、Fmoc 脱保

护，用 DCM 洗涤干燥，得到 P016 肽树脂，其他步骤类似。

实施例 7:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K;

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)₂-(γ-Glu)₁-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:8)。



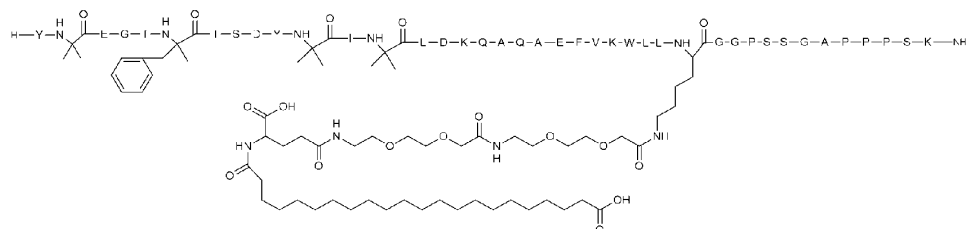
除了残基 Aib2、α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K28 之外，上述结构含有标准单字母氨基酸代码，其中 Aib2、α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K28 氨基酸残基的结构已经展开。

与以上实施例 2 中所述类似地，采用肽树脂中间体 2，进行制备步骤，合成本发明的 SEQ ID NO: 8 的肽 (质谱 MS: 4996.8)。区别在于修饰链的修饰过程是依次将 Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu(α-OtBu)-OH 和十八烷二酸单叔丁酯在树脂上进行偶联、Fmoc 脱保护，用 DCM 洗涤干燥，得到 P008 肽树脂，其他步骤类似。

实施例 8:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K;

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)₂-(γ-Glu)₁-CO-(CH₂)₂₀-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:17)。



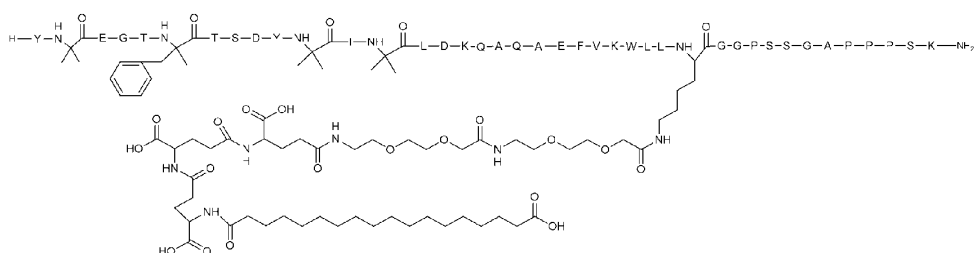
除了残基 Aib2、α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K28 之外，上述结构含有标准单字母氨基酸代码，其中 Aib2、α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K28 氨基酸残基的结构已经展开。

与以上实施例 2 中所述类似地，采用肽树脂中间体 2，进行制备步骤，合成本发明的 SEQ ID NO: 17 的肽 (质谱 MS: 5052.8)。区别在于修饰链的修饰过程是依次将 Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu(α-OtBu)-OH 和二十二烷二酸单叔丁酯在树脂上进行偶联、Fmoc 脱保护，用 DCM 洗涤干燥，得到 P017 肽树脂，其他步骤类似。

实施例 9:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K;

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)₂-(γ-Glu)₃-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:18)。



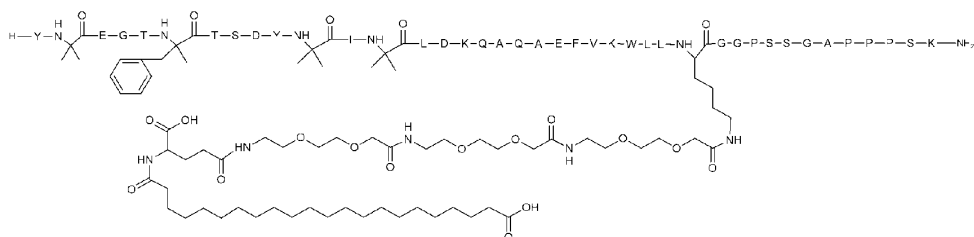
除了残基 Aib2、 α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K28 之外，上述结构含有标准单字母氨基酸代码，其中 Aib2、 α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K28 氨基酸残基的结构已经展开。

与以上实施例 2 中所述类似地，采用肽树脂中间体 2，进行制备步骤，合成本发明的 SEQ ID NO: 18 的肽（质谱 MS: 5255.2）。区别在于修饰链的修饰过程是依次将 Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH 和十八烷二酸单叔丁酯在树脂上进行偶联、Fmoc 脱保护，用 DCM 洗涤干燥，得到 P018 肽树脂，其他步骤类似。

实施例 10:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K;

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)₃-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₂₀-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:20)。



除了残基 Aib2、 α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K28 之外，上述结构含有标准单字母氨基酸代码，其中 Aib2、 α MePhe6、Aib11、Aib13 和 K28 氨基酸残基的结构已经展开。

与以上实施例 2 中所述类似地，采用肽树脂中间体 2，进行制备步骤，合成本发明的 SEQ ID NO: 20 的肽（质谱 MS: 5198.4）。区别在于修饰链的修饰过程是依次将 Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH 和二十二烷二酸单叔丁酯在树脂上进行偶联、Fmoc 脱保护，用 DCM 洗涤干燥，得到 P020 肽树脂，其他步骤类似。

本发明的一些实施方案中，肽树脂中间体 3，参考实施例 1 中的肽树脂中间体 1 的制备方法得肽树脂中间体 3（第 16 位 Lys 接修饰链的肽树脂中间体）：

Boc-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)-Rink Linker-Nle-MBHA Resin

肽树脂中间体 4，参考实施例 1 中的肽树脂中间体 1 的制备方法得肽树脂中间体 4（第 40 位 Lys 接修饰链的肽树脂中间体）：

Boc-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys-Rink Linker-Nle-MBHA Resin

本发明中其他的双激动剂化合物，都可参照如上方法制备获得。

相关的测定法

以下提供了几种测定法中用于实施例的条件和数据。

一、体外功能

(一) 对人 GLP-1 和 GIP 受体的体外结合活性

使用从过表达人 GLP-1R cDNA 或人 GIP-R cDNA 的克隆细胞系获得的粗细胞膜，通过测量结合亲和力 K_i ，评估本发明化合物对人 GIP 和 GLP-1 受体的体外结合效力。

1) 对人 GLP-1 受体的体外结合活性

将 hGLP-1 和本发明化合物溶于 DMSO 中并保存在 -80°C 。将 $89\text{ }\mu\text{L}$ 溶于结合缓冲液 (50 mM Hepes, pH 7.4, 5 mM MgCl_2 , 5 mM EDTA, 0.005% TWEEN, 0.005% HSA) 的膜 ($5\text{ }\mu\text{g/孔}$) 转移到 96 孔测试板中。将化合物系列稀释在 DMSO 中，然后，将 $1\text{ }\mu\text{L}$ 稀释的化合物或 100% DMSO 加入到含膜溶液的测试板中。再加入 $10\text{ }\mu\text{L}$ [^{125}I]GLP-1 (反应终浓度为 0.15 nM)。测试板在室温下放置 90 分钟。用 Cell Harvester 将膜复合物收集至 0.5% PEI 预包被的 GF/B 板中，使用 4°C 预冷的洗脱缓冲液 (50 mM Hepes, pH 7.4, 500mM NaCl) $500\text{ }\mu\text{L}$ 冲洗 3 次。 37°C 烘干 2 小时后，每孔加入 $50\text{ }\mu\text{L}$ 闪烁液，密封后放置至少 1 小时。然后用 Microbet2 读数，以确定膜结合放射配体水平。

通过 [^{125}I]GLP-1 的结合百分数和加入的化合物浓度的非线性回归，得出绝对 IC_{50} 浓度。使用 Cheng-Prusoff 公式将 IC_{50} 浓度转化为 K_i (K_i 是抑制常数)。

2) 对人 GIP 受体的体外结合活性

将 hGIP 和本发明化合物溶于 DMSO 中并保存在 -80°C 。将 $98\text{ }\mu\text{L}$ 溶于结合缓冲液 (50 mM HEPES pH 7.4, 5 mM MgCl_2 , 1 mM CaCl_2 , 0.1% BSA, 0.005% Tween-20) 的膜 ($15\text{ }\mu\text{g/孔}$) 转移到 96 孔测试板中。将化合物系列稀释在 DMSO 中，然后，将 $2\text{ }\mu\text{L}$ 稀释的化合物或 100% DMSO 加入到含膜溶液的测试板中。再加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ [^{125}I]GIP (反应终浓度为 0.0315 nM)。测试板在室温下放置 90 分钟。用 Cell Harvester 将膜复合物收集至 0.5% PEI 预包被的 GF/B 板中，使用 4°C 预冷的洗脱缓冲液 (50 mM Tris-HCl pH 7.4, 125 mM NaCl) $500\text{ }\mu\text{L}$ 冲洗 3 次。 37°C 烘干 2 小时后，每孔加入 $50\text{ }\mu\text{L}$ 闪烁液，密封后放置至少 1 小时。然后用 Microbeta2 读数，以确定膜结合放射配体水平。

通过 [^{125}I]GIP 的结合百分数和加入的化合物浓度的非线性回归，得出绝对 IC_{50} 浓度。使用 Cheng-Prusoff 公式将 IC_{50} 浓度转化为 K_i (K_i 是抑制常数)。

表 1. 受体结合亲和力, K_i 比

化合物	GLP-1R	GIPR
	K_i 比	K_i 比
GLP-1	1.00	NA
GIP	NA	1.00
P001	19.52	8.82
Tirzepatide	0.28	0.06
P007	0.47	NA
P008	1.09	0.16
P013	0.28	0.14
P014	0.37	0.08
P015	0.17	NA
P016	0.63	0.11
P017	0.56	0.04
P018	1.45	0.05
P019	0.93	0.09
P020	1.36	0.05

NA: 未检测

K_i 比: 内源性配体 K_i 值与待测化合物 K_i 值之比

所有化合物与受体的结合亲和力以 K_i 比表示， K_i 比值越大表明化合物的结合亲和力越强。本发明化合物与 P001 相比，与人 GLP-1R 和 GIPR 的结合亲和力都有一定程度的下降 (见表 1)。

与 Tirzepatide 相比, 本发明化合物除 P015 外, 其余 9 个化合物与人 GLP-1R 的结合亲和力都略强于 Tirzepatide, 而且其中 P008、P013、P014、P016 和 P019 这 5 个化合物与 GIPR 的结合亲和力也略强于 Tirzepatide (见表 1)。

综上, 不同形式修饰链的本发明化合物, 与人 GLP-1R 和 GIPR 的结合亲和力较 P001 有一定程度的降低, 但略强于 Tirzepatide 或相当。

(二) 对 hGLP-1R 和 hGIPR 的激动活性

对于人 GLP-1 和 GIP 受体, 在表达这些受体的 HEK-293 克隆细胞系中测定本发明化合物对这些受体的体外功能活性。

1) 对人 GLP-1 受体的激动活性 (cAMP 报告基因法)

采用 cAMP 报告基因法测定本发明化合物对人 GLP-1R 的激动活性, 并以 P001、Tirzepatide 和内源性配体 GLP-1 作为参照。

将 HEK293/CRE/GLP-1R 细胞以 50000 个细胞/孔 (80 μ L/孔) 接种于 96 孔板中, 在 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 培养箱中培养过夜。96 孔板中加入 20 μ L/孔含有化合物 (本发明的化合物、P001、Tirzepatide 或 GLP-1) 的检测培养基 (含 0.1% casein 的 DMEM), 于 37 $^{\circ}$ C 的 CO₂ 培养箱中继续孵育 6 小时, 平衡至室温, 去除上清液, 加入 50 μ L/孔 Bright-Glo 试剂, 室温下震荡裂解 10 分钟。使用 Envision 酶标仪读取 luminescence, 测定荧光素酶活性。

以 100 nM GLP-1 的响应值设置为 100% 响应值, 用 GraphPad 根据响应百分数和加入的化合物浓度进行非线性回归, 得出各化合物的 EC₅₀ 值。

2) 对人 GIP 受体的激动活性 (LANCE Ultra cAMP assay)

采用 LANCE Ultra cAMP Kit 测定本发明化合物对人的 GIPR 激动活性, 并以 P001、Tirzepatide 和内源性配体 GIP 作为参照。

在稳定表达人 GIPR 的 HEK293 细胞 (HEK293/GIPR 细胞) 中测定本发明化合物对 GIPR 的体外激动活性。HEK293/GIPR 细胞用 HBSS 缓冲液 (0.1% Casein, 500 μ M IBMX, 5 mM HEPES) 配制后, 以 1000 个细胞/孔 (5 μ L/孔) 接种于 384 孔细胞培养板中。上述 384 孔细胞培养板中加入 5 μ L 含有 2 $\times$ 化合物的 HBSS 缓冲液。将板子封膜后, 置于 37 $^{\circ}$ C 的 5%CO₂ 培养箱中孵育约 30 分钟。孵育完成后, 依次加入 5 μ L 的 cAMP-Eu 工作液和 5 μ L 的 cAMP-Ulight 工作液, 震板混匀。25 $^{\circ}$ C 下孵育 1 小时, 在 Envision 酶标仪上读取 665 nm 和 615 nm 的信号值, 计算 665 nm/615 nm 比值, 并使用 cAMP 标准曲线转化为 cAMP 浓度。将 1 μ M GIP 的响应值设置为 100% 响应值, 用 GraphPad 根据响应百分数和加入的化合物浓度进行非线性回归, 得出各化合物的 EC₅₀ 值。

表 2. 对人 GLP-1 和 GIP 受体的激动活性, EC₅₀ 值

化合物	GLP-1R	GIPR
	EC ₅₀ 值	EC ₅₀ 值
GLP-1	1.00	NA
GIP	NA	1.00
P001	52.09	7.13
Tirzepatide	0.74	0.51
P007	5.84	1.15
P008	4.79	1.67
P013	2.41	0.86
P014	1.73	0.25
P015	2.44	0.17
P016	1.56	0.56
P017	1.35	0.16
P018	3.63	2.55
P019	4.95	1.68

P020	1.41	0.22
------	------	------

NA: 未检测

EC₅₀ 值: 内源性配体 EC₅₀ 值与待测化合物 EC₅₀ 值之比

所有化合物对人 GLP-1 和 GIP 受体的激动活性以 EC₅₀ 值表示, EC₅₀ 值越大表明化合物的活性越强。本发明化合物与 P001 相比, 对人 GLP-1R 和 GIPR 的激动活性都有一定程度的下降(见表 2)。

与 Tirzepatide 相比, 本发明化合物所有化合物对人 GLP-1R 的激动活性都强于 Tirzepatide, 而且其中 P007、P008、P013、P016、P018 和 P019 这 6 个化合物对人 GIPR 的激动活性也略强于 Tirzepatide (见表 2)。

综上, 不同形式修饰链的本发明化合物, 对人 GLP-1R 和 GIPR 的激动活性较 P001 有不同程度的降低, 但有 6 个化合物都强于 Tirzepatide。

体外功能检测显示, 本发明的 10 个化合物活性相差不大, 所以采用 db/db 小鼠单次给药降糖实验对化合物进行进一步的筛选。

二、药代动力学

(一) SD 大鼠单次给药药代动力学

SD 大鼠皮下或静脉给药后采集血浆并检测其血浆药物浓度, 以阐明本发明化合物体内药代动力学性质。用磷酸盐缓冲液溶解化合物, 经滤膜(PTFE, 0.45μm)过滤, 得到 25 nmol/mL 化合物溶液。以 50.0 nmol/kg 皮下(s.c.)或 25.0 nmol/kg 静脉(i.v.)剂量给予雄性 SD 大鼠(230-268 g, n=3), 分别于 predose、0.0833 (只 i.v.)、0.25、0.5、1、2、4、6、8、24、48、72、96 和 120 h 时间点, 经颈内静脉采集约 150 μL 全血于 EDTA-K₂ 抗凝管中。以 1500 g 离心血液样品 10 min 得血浆, 将血浆置于 -90℃ 至 -60℃ 下冷冻保存, 以备分析检测。

样品处理

(1) Tirzepatide、P007、P008、P013、P014 的样品处理方法

分别取解冻血浆样品 30.0 μL, 加入 150 μL 的乙腈溶液(含 5 ng·mL⁻¹ 维拉帕米、50ng·mL⁻¹ 格列本脲、200 ng·mL⁻¹ 甲苯磺丁脲和 200 ng·mL⁻¹ 双氯芬酸)沉淀蛋白, 混合物涡旋 5 min, 3700 rpm 离心 8 min。取 70.0 μL 上清液, 加入 70.0 μL 0.5%甲酸水溶液, 涡旋 5 min, 取 15 μL 混合液, 进样 LC-MS/MS 检测血浆药物浓度。

(2) P015、P016、P017、P018 的样品处理方法:

分别取解冻血浆样品 20.0 μL, 加入 60.0 μL 乙腈溶液(含 5 ng·mL⁻¹ 维拉帕米、50ng·mL⁻¹ 格列本脲、200 ng·mL⁻¹ 甲苯磺丁脲和 200 ng·mL⁻¹ 双氯芬酸)沉淀蛋白, 混合物涡旋 1 min, 13000 rpm 离心 8 min。取 60.0 μL 上清液, 加入 60.0 μL 0.5%甲酸水溶液, 涡旋 10 min, 取 10.0 μL 混合液, 进样 LC-MS/MS 检测血浆药物浓度。

(3) P019、P020 的样品处理方法:

分别取解冻血浆样品 30.0 μL, 加入 150 μL 乙腈溶液(含 5 ng·mL⁻¹ 维拉帕米、50ng·mL⁻¹ 格列本脲、200 ng·mL⁻¹ 甲苯磺丁脲和 200 ng·mL⁻¹ 双氯芬酸)沉淀蛋白, 混合物涡旋 5 min, 3700 rpm 离心 8 min。取 70.0 μL 上清液, 加入 70.0 μL 0.5%甲酸水溶液, 涡旋 5 min, 取 10.0 μL 混合液, 进样 LC-MS/MS 检测血浆药物浓度。

依据化合物在 SD 大鼠的血药浓度, 采用软件 Winnolin 8.2 以非房室模型计算药代动力学参数, 结果如下表 3 和表 4。

表 3 大鼠皮下注射不同多肽化合物后的药代动力学参数

PK 参数	单位	Tirzepatide	P007	P008	P013	P014
剂量	nmol/kg	50	50	50	50	50
T _{1/2}	h	11.4±1.79	15.0±2.89	18.7±4.82	15.0±0.737	14.8±0.503
T _{max}	h	7.33±1.15	7.33±1.15	13.3±9.24	24.0±0	24.0±0
C _{max}	nM	128±42.8	169±14.7	149±20.5	142±28.2	170±16.4
AUC _{0-t}	nM·h	3610±1200	6150±776	5400±1030	5740±1070	6230±651

AUC0-inf	nM·h	3670±1190	6630±439	6680	6080±1180	6620±712
MRT0-t	h	19.0±0.265	21.4±1.87	21.0±1.85	26.2±0.700	26.2±0.781
MRT0-inf	h	20.3±0.755	25.7±1.69	25.4	29.9±1.33	30.0±1.01

表 4 大鼠皮下注射不同多肽化合物后的药代动力学参数

PK 参数	单位	P015	P016	P017	P018	P019	P020
剂量	nmol/kg	50	50	50	50	50	50
T1/2	h	16.1±1.21	14.1±0.153	18.7±2.69	18.3±6.77	10.9±1.92	17.9±0.57
Tmax	h	24.0±0	24.0±0	24.0±0	24.0±0	13.3±9.24	24.0±0
Cmax	nM	213±21.3	119±7.00	112±15.5	175±45.1	302±89.9	139±28.1
AUC0-t	nM·h	8830±862	4840±270	4190±242	7490±1360	7910±545	5620±1690
AUC0-inf	nM·h	9490±1090	5070±262	4530±28.28	7940±1230	8630±601	7070±28.3
MRT0-t	h	26.8±0.557	28.1±1.12	27.9±2.99	28.5±4.45	17.1±2.55	29.5±4.68
MRT0-inf	h	31.4±1.35	31.1±1.00	36.9±3.46	33.4±7.00	18.3±2.76	37.1±0.636

大鼠皮下注射本发明化合物的 PK 试验表明：P007、P008、P013、P014、P015、P016、P017、P018、P020 半衰期大于 Tirzepatide 半衰期（增加约 23.7%~64.0%）。经修饰链修饰的本发明化合物可以实现比上市同双靶点产品 Tirzepatide 更长的血浆半衰期。另外相较于 P001，本发明化合物的半衰期显著延长，增加 15 倍以上，20 倍以上，甚至 30 倍以上。

（二）C57 小鼠中的药代动力学

C57 小鼠皮下或静脉给药后采集血浆并检测其血药药物浓度，以阐明本发明化合物体内药代动力学性质。用含 0.1%吐温 20 的磷酸盐缓冲液溶解化合物，经滤膜(PTFE, 0.45μm)过滤，得到 15 nmol/mL 化合物溶液。以 30 nmol/kg 皮下(s.c.)或 15.0 nmol/kg 静脉(i.v.)剂量给予 C57 小鼠(18-22 g)，分别于 predose、0.5、1、2、4、8、24、48 和 72 h 时间点，经眼眶采集约 100 μL 全血于 EDTA-K₂ 抗凝管中。以 1500 g 离心血液样品 10 min 得血浆，将血浆置于 -90℃ 至 -60℃ 下冷冻保存，以备分析检测。

样品处理

（1）Tirzepatide、P014、P016、P020 的样品处理方法

分别取解冻血浆样品 20.0 μL，依次加入 20 μL 的 50%甲醇水溶液(含 100 ng·mL⁻¹ 内标)和 60 μL 乙腈沉淀蛋白，混合物涡旋 5 min，3700 rpm 离心 8 min。取 50.0 μL 上清液，加入 50.0 μL 0.5%甲酸水溶液，涡旋 5 min，取 50 μL 混合液，进样 LC-MS/MS 检测血浆药物浓度。

依据化合物在 C57 小鼠的血药浓度，采用软件 Winnolin 8.2 以非房室模型计算药代动力学参数，结果如下表 5 和表 6。

表 5 小鼠皮下单次给药后平均药代动力学参数

PK 参数	单位	Tirzepatide	P014	P016	P020
Cmax	ng/mL	871	851.84	433.67	835.67
T _{max}	hr	6	6	8	4.25
t _{1/2}	hr	9.21	20.33	23.05	19.89
AUC _(0-t)	ng·hr/mL	19413.9	27316.4	15914.8	18950.56
AUC _(0-∞)	ng·hr/mL	19704.7	30150.5	18160.6	21093.26
MRT _(0-t)	hr	14.48	22.94	25.98	21.84
MRT _(0-∞)	hr	15.29	30.28	35.91	29.36

表 6 小鼠静脉单次给药后平均药代动力学参数

PK 参数	单位	Tirzepatide	P014	P016	P020
C0	ng/mL	1901.94	1943.93	1147.89	1819.74
t _{1/2}	hr	10.47	17.20	20.15	16.66
AUC _(0-t)	ng·hr/mL	12723.1	17458.9	11082.1	16281.7
AUC _(0-∞)	ng·hr/mL	12822.1	18245.6	12083.3	17369.9
MRT _(0-t)	hr	11.39	15.72	19.92	16.80
MRT _(0-∞)	hr	12.00	19.215	26.64	21.77

小鼠皮下注射本发明化合物的 PK 试验表明；P014、P016 和 P020 半衰期大于 Tirzepatide 半衰期（增加约 59.2%~92.5%），均显著大于 Tirzepatide 半衰期。经修饰链修饰的本发明化合物可以实现比上市同双靶点产品 Tirzepatide 更长的血浆半衰期。

（三）食蟹猴中的药代动力学

食蟹猴皮下或静脉给药后采集血浆并检测其血药药物浓度，以阐明本发明化合物体内药代动力学性质。用 1.4%PG in 8 mM Na2HPO4 Buffer (pH 7.39)溶解化合物，经滤膜(PTFE，0.45μm)过滤，分别得到 25 和 12.5 nmol/mL 化合物溶液。以 25 nmol/kg 皮下(s.c.)或 12.5 nmol/kg 静脉(i.v.)剂量给予食蟹猴(4-8 kg)，分别于 predose、2h，12h，24h，32h，48h，3d（72 h），4d（96 h），6d（144 h），9d（216 h），12d（288 h），15d（360 h）和 18d（432 h）时间点，经头静脉或其他合适静脉取血后，采集约 500 μL 全血于 EDTA-K₂抗凝管中。以 2200 g 离心血液样品 10 min 得血浆，将血浆置于 -90℃ 至 -60℃ 下冷冻保存，以备分析检测。

样品处理

（1）Tirzepatide、P014、P016、P017、P020 的样品处理方法

分别取解冻血浆样品 70.0 μL，加入 70 μL 乙腈(含 1ng/ml 的内标)沉淀蛋白，混合物涡旋 1 min，14000 rpm 离心 10 min。取 60.0 μL 上清液，加入 60.0 μL 0.5%甲酸水溶液，涡旋 5 min，取 10 μL 混合液，进样 LC-MS/MS 检测血浆药物浓度。

依据化合物在食蟹猴的血药浓度，采用软件 Winnolin 8.2 以非房室模型计算药代动力学参数，结果如下表 7 和表 8。

表 7 食蟹猴皮下单次给药后平均药代动力学参数

PK 参数	单位	Tirzepatide	P014	P016	P017	P020
T _{max}	hr	22.67±10.10	16.00±6.93	40.00±13.90	48.00±24.00	22.70±10.10
C _{max}	ng/mL	1297.45±300.00	951.00±283	2997.00±481.00	1655.00±295.00	1349.00±77.00
T _{1/2}	hr	62.54±6.07	52.70±6.45	60.40±12.80	44.30±4.80	67.40±9.47
AUC _(0-t)	hr*ng/mL	148063.24±38207.00	87690.00±24556.00	319272.00±41475.00	153476.00±28919.00	161575.00±10637.00
AUC _(0-∞)	hr*ng/mL	150081.26±39104.00	88432.00±24213.00	322800.00±44567.00	154121.00±28747.00	163878.00±12089.00
MRT _(0-t)	hr	99.62±6.26	74.20±13.83	96.50±15.90	76.40±12.70	97.50±9.67
MRT _(0-∞)	hr	104.89±7.58	77.40±13.46	101.00±19.2	77.8012.20	103.00±13.10

表 8 食蟹猴静脉单次给药后平均药代动力学参数

PK 参数	单位	Tirzepatide	P016
C0	ng/mL	1167.70±159.90	1699.50±334.94
T1/2	hr	59.53±5.22	59.81±8.95
AUC _(0-t)	hr*ng/mL	57554.64±11825.48	78169.25±20321.82
AUC _(0-∞)	hr*ng/mL	58529.59±11927.99	80032.34±21063.24
MRT _(0-t)	hr	68.34±8.61	65.29±8.85
MRT _(0-∞)	hr	74.27±8.76	72.94±10.91

食蟹猴皮下注射本发明化合物的 PK 试验表明：P014、P016 和 P020 半衰期与 Tirzepatide 半衰期相当，P016 和 P017 Tmax 较 Tirzepatide 后延。经修饰链修饰的本发明化合物可以实现比上市同双靶点产品 Tirzepatide 相当的血浆半衰期，且 P016 和 P017 Tmax 约为 Tirzepatide 的 2 倍，较 Tirzepatide 药物浓度达峰时间明显延后，可能具有较轻/较少的胃肠道反应，或更短的滴定时间。

三、药效学

（一）db/db 小鼠中的药效学：旨在研究本发明化合物对糖尿病模型小鼠（db/db 小鼠）血糖的影响

本研究通过 db/db 小鼠单次皮下给药，检测小鼠血糖、摄食量、体重变化，以阐明本发明化合物降糖作用及药效持续时间，并与阳性对照 Tirzepatide、P001 进行比较。在本研究中，使用 8-9 周龄的雄性 db/db 小鼠。db/db 小鼠安置于温度（20-26℃）、湿度（40-70%）控制的独立通气笼盒 IVC 设施中，12 h:12h 光/暗循环控制，可自由获取食物和水。经尾尖取血，罗氏血糖仪检测基础血糖，根据初始血糖和初始体重随机分组（n=6/组），各组具有相似的体重和血糖。

本发明的化合物（10 nmol/kg）或阳性对照 Tirzepatide（10 nmol/kg）、P001（10 nmol/kg）用溶媒（含 0.1% Tween20 的 PBS，pH 7.2-7.4）溶解。皮下单次给药后，记录设置时间点（0-120 h，化合物的随机血糖与 Vehicle 组没有区别时停止记录该化合物的随机血糖）的随机血糖，以及每日的体重和摄食量。数据结果使用 GraphPad Prism8 进行统计学分析，采用 T-TEST 对各组之间的统计学差异进行分析，P<0.05 被认为差异具有显著性。

降糖持续时间：化合物的随机血糖与 Vehicle 组具有显著性差异（P<0.05）的最长时间。

表 9. 化合物的降糖持续时间

组别	化合物	降糖持续时间（h）
组 1	P001	32
	Tirzepatide	56
	P007	56
	P008	72
	P014	104
	P019	56
组 2	Tirzepatide	48
	P013	72
	P015	32
	P016	104
	P017	72
	P018	48
	P020	104

与 P001 相比，本发明化合物降糖持续时间比 P001 长 24 h 及以上（P007、P008、P014、P019），甚至 40 小时以上（P008、P014），72 小时以上（P014）（见表 9，图 1A，图 1B）。

与 Tirzepatide 相比, 本发明化合物降糖持续时间相当或更长 (P007、P008、P013、P014、P016、P017、P018、P019、P020), 甚至长 16 小时及以上 (P008、P013、P014、P016、P017、P020), 长 24 小时及以上 (P013、P014、P016、P017、P020), 长 48 小时及以上 (P014、P016、P020), 长 56 小时及以上 (P016、P020) (见表 9)。

和 P001 相比较: 基于上述方法所述试验, 在试验周期内, 在降糖药效上, P008 ($p<0.01$)、P014 ($p<0.001$) 和 P019 ($p<0.05$) 的降糖效果显著优于 P001 (血糖 AUC, $P<0.05$, 如图 2A 所示), 血糖 AUC 抑制率分别是 P001 的 2.3、2.6 和 2.2 倍; 降糖持续时间分别比 P001 长 40 h、72 h 和 24 h (表 9)。P007 的降糖效果和 P001 相当, 但是降糖持续时间比 P001 长 24 h (如图 2A、表 9 所示)。

和 Tirzepatide 相比较: 相比 Tirzepatide, P014 ($p<0.05$, 图 2B)、P016 ($p<0.05$, 图 2C) 和 P020 ($p<0.05$, 图 2C) 的降糖效果更强 (血糖 AUC, $p<0.05$), 血糖 AUC 抑制率分别是 Tirzepatide 的 1.7、2.2 和 2.0 倍; 而且, 还显示出明显更持久的药效作用时间 (分别比 Tirzepatide 长 48 h、56 h 和 56 h, 表 9)。P013 和 P017 降糖作用和 Tirzepatide 相当 (图 2C), 但是药效持续时间比 Tirzepatide 长 24 h (表 9)。

出乎意料的是: 相对于 P001, 在获得长效效果的同时, 本发明酰化 GLP-1/GIP 激动剂大幅提高了降糖效果。不同形式修饰链的本发明化合物, 可以实现较 P001 更强且更持久的降糖效果, 且部分本发明化合物展现出较 Tirzepatide 更强且更持久的降糖效果。

并且结合本发明化合物对人 GLP-1 和 GIP 受体的靶点结合及激动活性的表现来看, 出乎意料的发现, 本发明化合物较 P001 的人 GLP-1 受体的靶点结合及激动活性显著降低, 且人 GIP 受体的靶点结合及激动活性也显著降低, 但本发明化合物的降糖效果却显著优于 P001。

(二) db/db 小鼠多次给药实验

本研究对本发明的化合物进行 db/db 小鼠多次皮下给药, 检测小鼠血糖的变化, 以进一步阐明本发明化合物降糖作用, 并与阳性对照 Tirzepatide 进行比较。在本研究中, 使用 7-8 周龄的雄性 db/db 小鼠。db/db 小鼠安置于温度 (20-26°C)、湿度 (40-70%) 控制的 IVC 设施中, 12 h:12h 光/暗循环控制, 可自由获取食物和水。经尾尖取血, 罗氏血糖仪检测基础血糖, 根据初始血糖和初始体重随机分组 ($n=6$ /组), 各组具有相似的体重和血糖。

本发明的化合物 (3、10、30 nmol/kg) 或阳性对照 Tirzepatide (3、10、30 nmol/kg) 用溶媒 (含 0.1% Tween20 的 PBS, pH 7.2-7.4) 溶解。皮下注射给药, 每 3 天给药一次, 持续四周。在第 1、4、7、10、13、16、19、22 和 25 天进行皮下注射给药。在整个研究中每 3 天记录一次随机血糖。第 28 天检测禁食血糖, 随后眼眶采血收集血液, 眼眶采血后处死动物, 取出肝脏后称重。收集的血液 1~2 h 后 3000 rpm 离心 10 min 分离血清。用生化仪检测甘油三酯 (TG)、谷丙转氨酶 (ALT)、总胆红素 (TBIL) 等生化指标。数据结果使用 GraphPad Prism8 进行统计学分析, 采用 T-TEST 对各组之间的统计学差异进行分析, $P<0.05$ 被认为差异具有显著性。

在如上方法所述进行的实验中, 本发明的化合物, 比如 P014、P016、P017 和 P020 在 3 nmol/kg 剂量下都表现出比 Tirzepatide 更好的血糖抑制作用; 在 30 nmol/kg 剂量下, P016 的药效优于 Tirzepatide (见图 3A-3D, 表 10)。P016、P017 和 P020 在多个剂量下都能显著降低 db/db 小鼠的肝脏重量, 而 Tirzepatide 在三个实验剂量下都没有降低肝脏重量。本发明的化合物, 比如 P014、P016、P017、P020 和 Tirzepatide 都能有效降低 db/db 小鼠的血清 TG (P017 和 Tirzepatide 3 nmol/kg 组除外), 且 P016 和 P020 部分剂量组的药效优于 Tirzepatide (见表 11)。此外, P014 和 P016 还可降低血清 TBIL 和/或 ALT。

表 10. db/db 小鼠的禁食血糖和血糖 AUC

组别	D28 禁食血糖 (mmol/L)	AUC _{4-25 day} Glu (mmol/L·day)
----	----------------------	---

Vehicle	18.34±3.45	493.71±40.3
P014 3 nmol/kg	10.22±1.58 ^{###}	294±40.43 ^{**#}
P014 10 nmol/kg	10.72±1.75	214.4±33.73 ^{***#}
P014 30 nmol/kg	13.38±3.38	190.62±26.47 ^{***}
P016 3 nmol/kg	10.42±1.46 ^{###}	256.38±22 ^{***###}
P016 10 nmol/kg	12.5±2.19	249.25±41.42 ^{**}
P016 30 nmol/kg	6.05±0.41 ^{***#}	163.98±11.57 ^{*****#}
P017 3 nmol/kg	11.68±1.7 [#]	303.78±33.24 ^{***}
P017 10 nmol/kg	11.95±2.51	249.65±47.65 ^{**}
P017 30 nmol/kg	10.08±0.79 [*]	294.96±11.96 ^{**}
P020 3 nmol/kg	9.6±1.32 ^{*##}	268.28±24.64 ^{***#}
P020 10 nmol/kg	10.7±1.62	290.78±27.25 ^{**}
P020 30 nmol/kg	8.22±1.07 [*]	184.18±22.44 ^{****}
TZP 3 nmol/kg	17.35±1.21	419.85±26.42
TZP 10 nmol/kg	13.82±1.99	355.68±30.8 [*]
TZP 30 nmol/kg	10.88±1.2	252.7±32.81 ^{**}

T-Test, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, ****p<0.0001 与 vehicle 组对比; #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001 与 Tirzepatide (TZP) 同剂量组对比。结果表示为 6 只小鼠的 Mean±SEM。

表 11. db/db 小鼠的肝脏重量和血清 TG

组别	肝脏重量 (g)	血清 TG (mmol/L)
Vehicle	2.61±0.19	1.87±0.13
P014 3 nmol/kg	2.26±0.18	1.39±0.07 [*]
P014 10 nmol/kg	2.1±0.14	1.29±0.03 ^{**}
P014 30 nmol/kg	1.89±0.31	1.14±0.18 [*]
P016 3 nmol/kg	2.24±0.1 [#]	1.21±0.04 ^{***#}
P016 10 nmol/kg	1.98±0.12 [*]	1.22±0.24 [*]
P016 30 nmol/kg	1.78±0.08 ^{**}	1.2±0.05 ^{***}
P017 3 nmol/kg	2.14±0.08 ^{*##}	1.58±0.17
P017 10 nmol/kg	2.11±0.09 [*]	1.19±0.05 ^{***}
P017 30 nmol/kg	2.35±0.09	1.09±0.06 ^{***}
P020 3 nmol/kg	2.03±0.09 ^{*##}	1.37±0.12 [*]
P020 10 nmol/kg	2.09±0.1 [*]	1.07±0.03 ^{***#}
P020 30 nmol/kg	1.83±0.16 [*]	1.2±0.07 ^{**}
TZP 3 nmol/kg	2.49±0.05	1.52±0.11
TZP 10 nmol/kg	2.31±0.17	1.21±0.04 ^{**}
TZP 30 nmol/kg	2.07±0.15	1.18±0.12 ^{**}

T-Test, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 与 vehicle 组对比; #p<0.05, ##p<0.01 与 Tirzepatide (TPZ) 同剂量组对比。结果表示为 6 只小鼠的 Mean±SEM。

表 12. db/db 小鼠的血清 ALT 和 TBIL

组别	血清 ALT (U/L)	血清 TBIL (μmol/L)
----	-----------------	---------------------

Vehicle	189.55±40.92	1.43±0.3
P014 3 nmol/kg	111.24±13.23	0.58±0.11*##
P014 10 nmol/kg	89.9±8.66*	0.58±0.15*
P014 30 nmol/kg	106.47±14.3	0.36±0.15*##
P016 3 nmol/kg	137.93±34.59	0.82±0.13
P016 10 nmol/kg	128.94±16.93	1.22±0.28
P016 30 nmol/kg	97.7±12.36*	0.73±0.16
P017 3 nmol/kg	105.16±7.1	0.88±0.26
P017 10 nmol/kg	141.65±12.72	1.59±0.07
P017 30 nmol/kg	176.48±51.6	1.11±0.1
P020 3 nmol/kg	214.56±43.83	1.54±0.25
P020 10 nmol/kg	113.48±24.18	0.91±0.05
P020 30 nmol/kg	112.47±16.69	0.95±0.28
TZP 3 nmol/kg	146.03±19.67	1.54±0.17
TZP 10 nmol/kg	138.66±31.26	1.2±0.3
TZP 30 nmol/kg	112.48±14.55	0.91±0.04

T-Test, *p<0.05 与 vehicle 组对比; #p<0.05, ##p<0.01 与 Tirzepatide (TPZ) 同剂量组对比。
结果表示为 6 只小鼠的 Mean±SEM。

综上所述,在该实验体系下,本发明的化合物皮下注射给药 4 周可有效降低 db/db 小鼠的血糖,起效剂量 (≤3 nmol/kg) 是 Tirzepatide (10 nmol/kg) 的 1/3, 并且本发明的部分化合物比如 P016 的最大药效 (30 nmol/kg) 强于 Tirzepatide。此外,本发明的部分化合物表现出降低 db/db 小鼠的肝脏重量和对肝脏的保护作用,而 Tirzepatide 没有类似的作用。

(三) 雄性大鼠 2 周重复给药

1.实验设计

挑选 77 只 SD 雄性大鼠 (SPF 级), 按照体重随机分 10 组。第 1 组为溶媒对照组, 动物 5 只; 第 2~4 组为市售给药对照组 (Tirzepatide), 每组 8 只动物, 其中主试验 5 只, 毒代 3 只, 给药剂量分别为 1、3、10 mg/kg; 第 5~7 组为受试物 1 组, 第 8~10 组为受试物 2 组, 每组 8 只动物, 其中主试验 5 只, 毒代 3 只, 给药剂量分别为 1、3、10 mg/kg。以上各组别均每周给药 2 次, 连续给药 2 周 (给药日为: D1、5、8、12、15)。

试验期间对所有组别动物进行笼盘观察、详细临床观察、耗食量测定、体重测定、血生化、血液学指标测定、大体解剖观察、脏器称重、毒代动力学研究。

2.数据统计

以下表格详细说明了用于统计比较的组合情况。见下表:

统计方法表

对照组	比较组
1	2, 3, 4, 5, 6、7、8、9、10

每个时间段内的原始数据都制成表格, 平均值和标准偏差/或者类别变更将按组别和性别根据每一个检测终点进行计算。每个终点, 给药组将和对照组根据下面的内容进行比较。终点数据, 按要求在特定分析开始前进行对数转换。

统计分析表

指标	分析方法
----	------

耗食量	组间比较
体重	
血液学（不包括白细胞计数）	
凝血	
血清生化学	
脏器重量	
绝对重量	
与体重和脑的脏器系数	
白细胞计数	对数转换/组间比较
白细胞总数	
白细胞分类计数	

3.实验结果

体重/体重增量：首次给药后各给药组中以下剂量组均可见体重降低：Tirzepatide≥3 mg/kg；P014 和 P016≥1 mg/kg。随着给药继续，体重有所恢复，至给药结束，所有组体重均正增长，但体重增量较对照组减少，呈明显剂量相关性。

摄食量：整个试验过程各给药组（Tirzepatide、P014 和 P016）均可见剂量相关性摄食量减少。

血生化：淀粉酶和甘油三酯水平降低。血液学：网织红细胞水平轻微降低，大体剖检：各给药组（Tirzepatide、P014 和 P016）均未见异常。脏器重量：各给药组（Tirzepatide、P014 和 P016）心肝脾等重量减轻，与溶媒对照组比较差异不大，可能与体重减少相关，考虑药理学作用相关。毒代：Tirzepatide、P014、P016 组的 C_{max} 和 AUC 均随剂量以接近剂量比例的形式增加；每周给药 2 次，连续 2 周，TZP、P014、P016 各剂量组均未见明显蓄积。

各给药组（Tirzepatide、P014 和 P016）每周给药两次，连续给药 2 周的 MTD 均≥10 mg/kg，对应最后一次药后 C_{max} 和 AUC_{last} 以及试验安全窗口结果如下：

表 13. 各给药组的安全窗

实验项目	Tirzepatide	P014	P016
MTD	2077 nmol/kg (2 周试验 MTD)	1980 nmol/kg (2 周试验 MTD)	1924 nmol/kg (2 周试验 MTD)
Efficacy Dose	10 nmol/kg	3 nmol/kg	3 nmol/kg
安全窗 (依据剂量)	416	1319	1282
安全窗 (依据暴露量 AUC _{last})	130	596	920

综上所述，P016、P014 与 Tirzepatide 毒性反应性质类似，但具有更高的安全窗（以暴露量计算，P014 安全窗是 Tirzepatide 的 4 倍多，而 P016 的安全窗是 Tirzepatide 的 7 倍多。

另外，相对于 P001 的安全窗，本发明的化合物的安全窗较 P001 的大 10 倍，或大 20 倍，或大 30 倍，或大 40 倍，或大 50 倍，或大 60 倍，或大 70 倍，或大 80 倍，或大 90 倍，特别是 P014，P016。

同时，相同暴露量下，本发明化合物对 HR 的影响低于 Tirepatide，P016 心率增幅低于 Tirepatide，且未见持续性心率加快超过 30%，相同暴露量下，P016 心率恢复快于 TZP（P016 恢复时间介于 72~120h，TZP 恢复时间>120h）。

以上对本发明所提供的肽化合物及其应用进行了详细的介绍。

本文中应用了具体实施例对本发明的原理及实施方式进行了阐述，以上实施例的说明只是用于帮助理解本发明的方法及其中心思想。应当指出，对于本领域的普通技术人员来说，在不脱离本发

明原理的前提下，还可以对本发明进行若干改进和修饰，这些改进和修饰也落入本发明权利要求的保护。

氨基酸序列：

名称	序号	序列
P001	SEQ ID NO:1	Y-X ₁ -E-G-T-X ₂ -T-S-D-Y-X ₃ -I-X ₄ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; 其中 X ₁ 是 Aib; X ₂ 是 α MePhe; X ₃ 是 Aib; X ₄ 是 Aib;并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:1)
P007	SEQ ID NO:7	Y-X ₁ -E-G-T-X ₂ -T-S-D-Y-X ₃ -I-X ₄ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; 其中 X ₁ 是 Aib; X ₂ 是 α MePhe; X ₃ 是 Aib; X ₄ 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) ₂ -(γ-Glu) ₁ -CO-(CH ₂) ₁₆ -CO ₂ H 缀合至 K 侧链的 ε -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:7)。
P008	SEQ ID NO:8	Y-X ₁ -E-G-T-X ₂ -T-S-D-Y-X ₃ -I-X ₄ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; 其中 X ₁ 是 Aib; X ₂ 是 α MePhe; X ₃ 是 Aib; X ₄ 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) ₂ -(γ-Glu) ₁ -CO-(CH ₂) ₁₆ -CO ₂ H 缀合至 K 侧链的 ε -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:8)。
P013	SEQ ID NO:13	Y-X ₁ -E-G-T-X ₂ -T-S-D-Y-X ₃ -I-X ₄ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; 其中 X ₁ 是 Aib; X ₂ 是 α MePhe; X ₃ 是 Aib; X ₄ 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) ₂ -(γ-Glu) ₁ -CO-(CH ₂) ₁₈ -CO ₂ H 缀合至 K 侧链的 ε -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:13)。
P014	SEQ ID NO:14	Y-X ₁ -E-G-T-X ₂ -T-S-D-Y-X ₃ -I-X ₄ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; 其中 X ₁ 是 Aib; X ₂ 是 α MePhe; X ₃ 是 Aib; X ₄ 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) ₂ -(γ-Glu) ₁ -CO-(CH ₂) ₂₀ -CO ₂ H 缀合至 K 侧链的 ε -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:14)。
P015	SEQ ID NO:15	Y-X ₁ -E-G-T-X ₂ -T-S-D-Y-X ₃ -I-X ₄ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; 其中 X ₁ 是 Aib; X ₂ 是 α MePhe; X ₃ 是 Aib; X ₄ 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) ₂ -(γ-Glu) ₃ -CO-(CH ₂) ₁₆ -CO ₂ H 缀合至 K 侧链的 ε -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:15)
P016	SEQ ID NO:16	Y-X ₁ -E-G-T-X ₂ -T-S-D-Y-X ₃ -I-X ₄ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; 其中 X ₁ 是 Aib; X ₂ 是 α MePhe; X ₃ 是 Aib; X ₄ 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) ₃ -(γ-Glu) ₁ -CO-(CH ₂) ₂₀ -CO ₂ H 缀合至 K 侧链的 ε -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:16)
P017	SEQ ID NO:17	Y-X ₁ -E-G-T-X ₂ -T-S-D-Y-X ₃ -I-X ₄ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

		其中 X ₁ 是 Aib; X ₂ 是 α MePhe; X ₃ 是 Aib; X ₄ 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) ₂ -(γ-Glu) ₁ -CO-(CH ₂) ₂₀ -CO ₂ H 缀合至 K 侧链的 ε -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:17)
P018	SEQ ID NO:18	Y-X ₁ -E-G-T-X ₂ -T-S-D-Y-X ₃ -I-X ₄ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; 其中 X ₁ 是 Aib; X ₂ 是 α MePhe; X ₃ 是 Aib; X ₄ 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) ₂ -(γ-Glu) ₃ -CO-(CH ₂) ₁₆ -CO ₂ H 缀合至 K 侧链的 ε -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:18)
P019	SEQ ID NO:19	Y-X ₁ -E-G-T-X ₂ -T-S-D-Y-X ₃ -I-X ₄ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; 其中 X ₁ 是 Aib; X ₂ 是 α MePhe; X ₃ 是 Aib; X ₄ 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) ₃ -(γ-Glu) ₁ -CO-(CH ₂) ₁₆ -CO ₂ H 缀合至 K 侧链的 ε -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:19)
P020	SEQ ID NO:20	Y-X ₁ -E-G-T-X ₂ -T-S-D-Y-X ₃ -I-X ₄ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; 其中 X ₁ 是 Aib; X ₂ 是 α MePhe; X ₃ 是 Aib; X ₄ 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) ₃ -(γ-Glu) ₁ -CO-(CH ₂) ₂₀ -CO ₂ H 缀合至 K 侧链的 ε -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:20)

权 利 要 求 书

1. 下式 (AI) 的化合物, 或其药学上可接受的盐:

$Y-X_1-E-G-T-X_2-T-S-D-Y-A_{11}-A_{12}-A_{13}-L-D-K-A_{17}-A-Q-A_{20}-E-F-V-K-W-L-L-K-A_{29}-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K$ 式 (AI);

其中 X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe;

A_{11} 是 Aib 或 Ala;

A_{12} 是 Ala、Ile、Lys、Phe 或 Pya(4);

A_{13} 是 Aib、Cha、Leu、 α MePhe 或 α MeTyr;

A_{17} 是 Gln 或 Ile;

A_{20} 是 Ala 或 Ser;

A_{29} 是 Gln 或 Gly,

在 16 位、24 位、28 位、40 位 K 中选 1 个 K、2 个 K、3 个 K 或者 4 个 K 的位置, 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_a$ -(γ -Glu) $_b$ -CO-(CH $_2$) $_c$ -Z 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰, 其中每个 a 独立的为 0 至 5 的整数, 每个 b 独立的为 0 至 5 的整数, 每个 c 独立的为 10 至 24 的整数, 其中 Z 独立的选自-CH $_3$ 、羧酸或羧酸生物电子等排体、膦酸盐/酯或磺酸盐/酯。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中所述的

A_{11} 是 Aib; 或/和

A_{12} 是 Ile; 或/和

A_{13} 是 Aib; 或/和

A_{17} 是 Gln; 或/和

A_{20} 是 Ala; 或/和

A_{29} 是 Gly; 或/和

a 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, b 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, c 独立的选自 12 至 22 的整数; 进一步的 c 独立的选自 14、16、18 或 20。

3. 下式 (I) 的化合物, 或其药学上可接受的盐:

$Y-X_1-E-G-T-X_2-T-S-D-Y-X_3-I-X_4-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K$ 式 (I);

其中 X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在 16 位、24 位、28 位、40 位 K 中选 1 个 K、2 个 K、3 个 K 或者 4 个 K 的位置, 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_a$ -(γ -Glu) $_b$ -CO-(CH $_2$) $_c$ -Z 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰, 其中每个 a 独立的为 0 至 5 的整数, 每个 b 独立的为 0 至 5 的整数, 每个 c 独立的为 10 至 24 的整数, 其中 Z 独立的选自-CH $_3$ 、羧酸或羧酸生物电子等排体、膦酸盐/酯或磺酸盐/酯; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺。

4. 根据权利要求 3 所述的化合物, 所述的化合物是:

$Y-X_1-E-G-T-X_2-T-S-D-Y-X_3-I-X_4-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K$ 式 (I), 或其药学上可接受的盐,

其中 X_1 是 Aib; X_2 是 α MePhe; X_3 是 Aib; X_4 是 Aib; 在 16 位、24 位、28 位、40 位 K 中选 1 个或者 2 个 K 的位置, 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_a$ -(γ -Glu) $_b$ -CO-(CH $_2$) $_c$ -Z 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰, 其中 Z 独立的选自-CH $_3$ 、羧酸或羧酸生物电子等排体、膦酸盐/酯或磺酸盐/酯, 优选是-CO $_2$ H, 每个 a 独立的为 0 至 5 的整数, 每个 b 独立的为 0 至 5 的整数, 每个 c 独立的为 10 至 22 的整数; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺。

5. 根据权利要求 4 所述的化合物, 其中

在 16 位 K 的位置上, 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基) $_a$ -(γ -Glu) $_b$ -CO-(CH $_2$) $_c$ -CO $_2$ H 缀合至 K 侧链的 ϵ -氨基而化学修饰; 或

在 24 位 K 的位置上, 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰; 或

在 28 位 K 的位置上, 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰; 或

在 40 位 K 的位置上, 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰。

6. 根据权利要求 4 所述的化合物, 其中

在位置 24 和 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰; 或

在位置 16 和 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰; 或

在位置 16 和 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰; 或

在位置 16 和 40 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰; 或

在位置 24 和 40 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰; 或

在位置 28 和 40 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而进行 2 条修饰链的化学修饰。

7. 根据权利要求 3-6 中任一项所述的化合物, 其中所述的

a 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, b 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, c 独立的选自 12 至 22 的整数; 进一步的 c 独立的选自 14、16、18 或 20; 和/或

Z 是-CO₂H。

8. 根据权利要求 4 所述的化合物, 所述的化合物是

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K 式 (I);

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰, 其中 a 独立的选自 0 至 5 的整数, b 独立的选自 0 至 5 的整数, c 独立的选自 10 至 24 的整数; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺。

9. 根据权利要求 4 所述的化合物, 所述的化合物是

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K 式 (I);

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰, 其中 a 独立的选自 0 至 5 的整数, b 独立的选自 0 至 5 的整数, c 独立的选自 10 至 24 的整数; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺。

10. 根据权利要求 8-9 中任一项所述的化合物, 其中所述的

a 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, b 独立的选自 1、2、3、4 或 5 的整数, c 独立的选自 12 至 22 的整数; 进一步的 c 独立的选自 14、16、18 或 20。

11. 根据权利要求 4 所述的化合物, 所述的化合物是

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K ;

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)-γ-(Glu)₁-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:7); 或

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-O-A-O-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K ;

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)₂-(γ-Glu)₁-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEO ID NO:13); 或

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K ;

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用[(2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基)-乙酰基]-γ-(Glu)₁-CO-(CH₂)₂₀-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEO ID NO:14); 或

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-O-A-O-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K ;

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhc; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)-γ-(Glu)₃-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰肼化为 C 末端伯酰胺 (SEO ID NO:15); 或

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-O-A-O-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K :

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhc; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 24 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)₃-(γ-Glu)₁-CO-(CH₂)₂₀-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε -氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEO ID NO:16); 或

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-O-A-O-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K ;

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhc; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)₂-(γ-Glu)₁-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰肼化为 C 末端伯酰胺 (SEO ID NO:8); 或

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-O-A-O-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K ;

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)₂-(γ-Glu)₁-CO-(CH₂)₂₀-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:17); 或

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K ;

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)₂-(γ-Glu)₃-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:18); 或

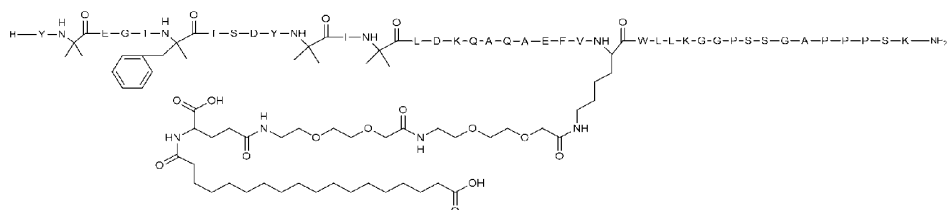
Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-O-A-O-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K ;

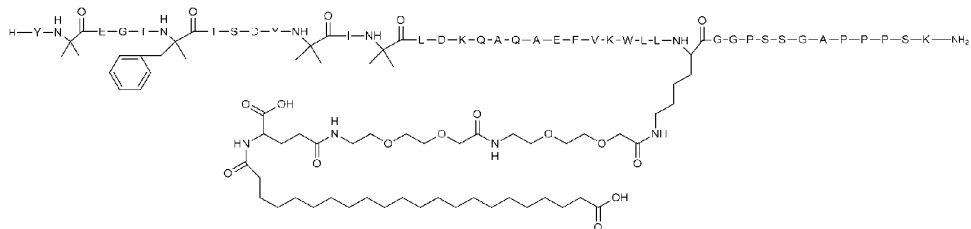
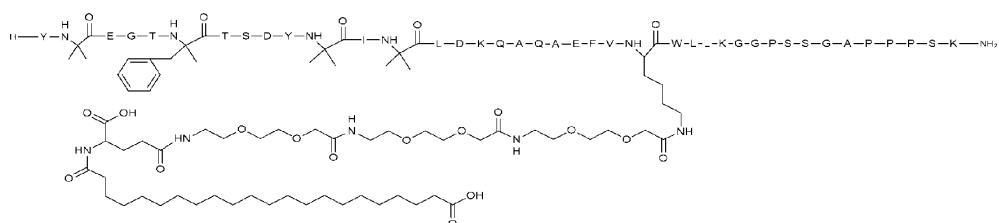
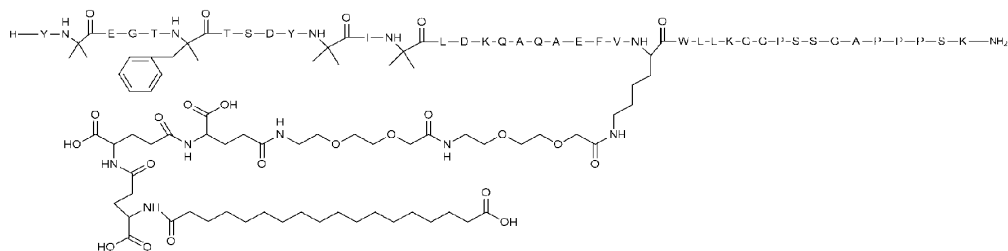
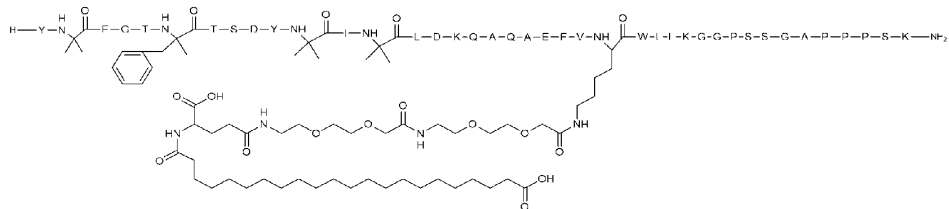
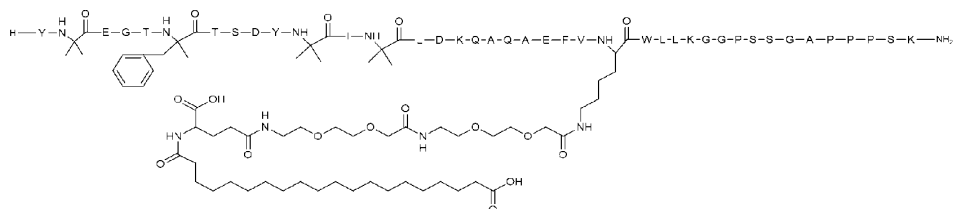
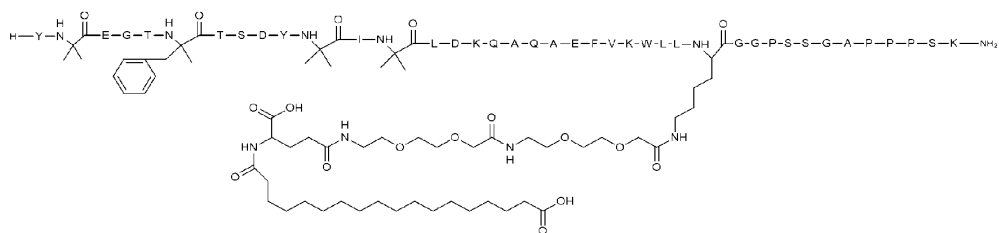
其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)₃-(γ-Glu)₁-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEQ ID NO:19); 或

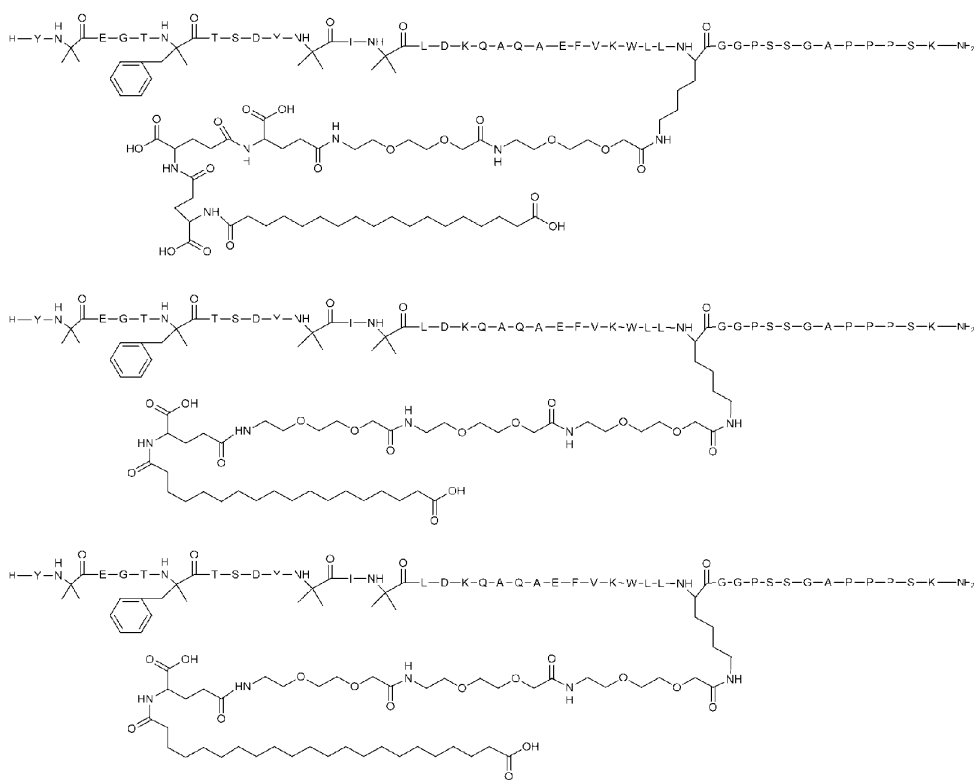
Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-O-A-O-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K ;

其中 X₁ 是 Aib; X₂ 是 α MePhe; X₃ 是 Aib; X₄ 是 Aib; 在位置 28 的 K 通过用([2-(2-氨基-乙氧基)-乙氧基]-乙酰基)₃-(γ-Glu)₁-CO-(CH₂)₂₀-CO₂H 缀合至 K 侧链的 ε-氨基而化学修饰; 并且 C 末端氨基酸被酰胺化为 C 末端伯酰胺 (SEO ID NO:20)。

12. 根据权利要求 4 所述的化合物, 所述的化合物是







或其药学上可接受的盐。

13. 一种药物组合物, 其包含权利要求 1-12 中任一项所述的化合物与药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

14. 根据权利要求 1-12 中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐, 或者权利要求 13 所述的组合物, 在制备治疗或预防如下疾病的药物中的应用, 所述的疾病是高血糖症、葡萄糖耐量降低、I 型糖尿病、II 型糖尿病、肥胖症、高血压、X 综合征、血脂障碍、认知障碍、动脉粥样硬化、心肌梗塞、冠心病和其它心血管疾病、中风、炎症肠综合征、消化不良和胃溃疡。

15. 根据权利要求 1-12 中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐, 或者权利要求 13 所述的组合物, 在制备用于延缓或预防 II 型糖尿病的疾病发展的药物中的应用。

16. 根据权利要求 1-12 中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐, 或者权利要求 13 所述的组合物, 在制备用于降低食物摄取、降低 β -细胞凋亡、增加 β -细胞功能和 β -细胞量和/或恢复 β -细胞的葡萄糖敏感性的药物中的应用。

17. 一种治疗 II 型糖尿病的方法, 所述方法包括向有需要的患者施用有效量的权利要求 1-12 中任一项所述的化合物, 或权利要求 13 所述的组合物。