

多肽及其衍生物、组合物及其应用

技术领域

本申请涉及多肽技术领域，具体涉及一种多肽及其衍生物、组合物及其应用。

背景技术

胰淀素 (amylin) 又称胰岛淀粉样多肽 (IAPP、胰淀素或 hAMY1-37)，是一种 37 个氨基酸的多肽激素，属于降钙素蛋白家族 (该家族还包括降钙素 (CT)、降钙素基因相关肽 (CGRP)、和肾上腺髓质素 (hAM) 及其前体)。Amylin 在胰岛 β 细胞中与胰岛素共分泌，在糖尿病患者中缺乏。它在几个不同的器官系统中产生作用，主要通过胰淀素受体 1-3 (AMYR1-3) 起作用。amylin 可抑制胰高血糖素分泌，延缓胃排空，发出饱足感信号，抑制食欲。临床研究表明，胰淀素受体激动剂可用于治疗超重、肥胖、1 型糖尿病和/或 2 型糖尿病。然而，胰淀素具有一些缺点，如高度的纤维化倾向、短的体内半衰期和 pH 值为 7 时的化学不稳定性。因此，天然胰淀素不适合用作药物活性成分。

现有技术中已知大量的胰淀素类似物或衍生物，这些胰淀素类似物或衍生物试图解决人类胰淀素所具有的一些已知缺点。一个成功的例子是胰淀素类似物普兰林肽 Pramlintide (商品名 Symlin)，它已被 FDA 批准用于 I 型和 II 型糖尿病。但是 Pramlintide 的半衰期不到一个小时，且在用餐时间使用，因此患者需要在一天内多次服用这种药物进行治疗。并且普兰林肽在 pH 4 下配制，因为它在 pH 7 下原纤化，并且由于沉淀而变得无效。因此，仍需要具有增加的化学稳定性、增加的代谢稳定性和/或减少的原纤化倾向的新的胰淀素类似物或衍生物。特别地，需要在更宽的 pH 范围内稳定的胰淀素类似物或衍生物。此外，还需要通过提高效力、提高疗效和/或延长半衰期来提高效力的新的胰淀素类似物或衍生物，以减少频繁给药和提高患者依从性。目前市场上在售的 Pramlintide 的半衰期不到一个小时，需要在一天内多次服用这种药物进行治疗。无法在中性条件下与其他药物做在一个液体制剂中。

发明内容

本申请所要解决的技术问题在于解决背景技术中的不足，提供一种多肽及其衍生物、组合物及其应用。

本申请提供了一种多肽的衍生物或其药学上可接受的盐，所述多肽包含如下氨基酸序列：ASX₃LS TAX₈X₉X₁₀ RLADF LRHX₁₉X₂₀ X₂₁X₂₂X₂₃X₂₄X₂₅ ILPPT NVGSN TX₃₇-NH₂；

其中：X₃为E或Q；X₈为A或V；X₉为L或T；X₁₀为G或Q；X₁₉为S或F；X₂₀为S或T；X₂₁为N、Q、E、S、T、A、G、H、K、R或D；X₂₂为N、Q、E、S、NMeAsn、αMeAsn、NMeAsp或R；X₂₃为L或D；X₂₄为K或R；X₂₅为P或D；X₃₇为P或trans-Hyp；所述衍生物包含与所述多肽的N末端连接的含脂肪酸的侧链。

在本申请的一些实施方式中，X₃为E或Q；X₈为A或V；X₉为L或T；X₁₀为G或Q；X₁₉为S或F；X₂₀为S或T；X₂₁为N或D；X₂₂为N或R；X₂₃为L或D；X₂₄为K或R；X₂₅为P或D；X₃₇为P或trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中，X₃为E，X₈为A或V；X₉为L或T；X₁₀为G或Q；X₁₉为S或F；X₂₀为S或T；X₂₁为N或D；X₂₂为N或R；X₂₃为L或D；X₂₄为K或R；X₂₅为P或D；X₃₇为P或trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中，X₃为Q，X₈为A或V；X₉为L或T；X₁₀为G或Q；X₁₉为S或F；X₂₀为S或T；X₂₁为N或D；X₂₂为N或R；X₂₃为L或D；X₂₄为K或R；X₂₅为P或D；X₃₇为P或trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中，X₈为A，X₃为E或Q；X₉为L或T；X₁₀为G或Q；X₁₉为S或F；X₂₀为S或T；X₂₁为N或D；X₂₂为N或R；X₂₃为L或D；X₂₄为K或R；X₂₅为P或D；X₃₇为P或trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中，X₈为V，X₃为E或Q；X₉为L或T；X₁₀为G或Q；X₁₉为S或F；X₂₀为S或T；X₂₁为N或D；X₂₂为N或R；X₂₃为L或D；X₂₄为K或R；X₂₅为P或D；X₃₇为P或trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中，X₉为L，X₃为E或Q；X₈为A或V；X₁₀为G或Q；X₁₉为S或F；X₂₀为S或T；X₂₁为N或D；X₂₂为N或R；X₂₃为L或D；X₂₄为K或R；X₂₅为P或D；X₃₇为P或trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中，X₉为T，X₃为E或Q；X₈为A或V；

X₁₀ 为 G 或 Q; X₁₉ 为 S 或 F; X₂₀ 为 S 或 T; X₂₁ 为 N 或 D; X₂₂ 为 N 或 R; X₂₃ 为 L 或 D; X₂₄ 为 K 或 R; X₂₅ 为 P 或 D; X₃₇ 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X₁₀ 为 G, X₃ 为 E 或 Q; X₈ 为 A 或 V; X₉ 为 L 或 T; X₁₉ 为 S 或 F; X₂₀ 为 S 或 T; X₂₁ 为 N 或 D; X₂₂ 为 N 或 R; X₂₃ 为 L 或 D; X₂₄ 为 K 或 R; X₂₅ 为 P 或 D; X₃₇ 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X₁₀ 为 Q; X₃ 为 E 或 Q; X₈ 为 A 或 V; X₉ 为 L 或 T; X₁₉ 为 S 或 F; X₂₀ 为 S 或 T; X₂₁ 为 N 或 D; X₂₂ 为 N 或 R; X₂₃ 为 L 或 D; X₂₄ 为 K 或 R; X₂₅ 为 P 或 D; X₃₇ 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X₁₉ 为 S, X₃ 为 E 或 Q; X₈ 为 A 或 V; X₉ 为 L 或 T; X₁₀ 为 G 或 Q; X₂₀ 为 S 或 T; X₂₁ 为 N 或 D; X₂₂ 为 N 或 R; X₂₃ 为 L 或 D; X₂₄ 为 K 或 R; X₂₅ 为 P 或 D; X₃₇ 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X₁₉ 为 F; X₃ 为 E 或 Q; X₈ 为 A 或 V; X₉ 为 L 或 T; X₁₀ 为 G 或 Q; X₂₀ 为 S 或 T; X₂₁ 为 N 或 D; X₂₂ 为 N 或 R; X₂₃ 为 L 或 D; X₂₄ 为 K 或 R; X₂₅ 为 P 或 D; X₃₇ 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X₂₀ 为 S; X₃ 为 E 或 Q; X₈ 为 A 或 V; X₉ 为 L 或 T; X₁₀ 为 G 或 Q; X₁₉ 为 S 或 F; X₂₁ 为 N 或 D; X₂₂ 为 N 或 R; X₂₃ 为 L 或 D; X₂₄ 为 K 或 R; X₂₅ 为 P 或 D; X₃₇ 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X₂₀ 为 T; X₃ 为 E 或 Q; X₈ 为 A 或 V; X₉ 为 L 或 T; X₁₀ 为 G 或 Q; X₁₉ 为 S 或 F; X₂₁ 为 N 或 D; X₂₂ 为 N 或 R; X₂₃ 为 L 或 D; X₂₄ 为 K 或 R; X₂₅ 为 P 或 D; X₃₇ 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X₂₁ 为 N, X₃ 为 E 或 Q; X₈ 为 A 或 V; X₉ 为 L 或 T; X₁₀ 为 G 或 Q; X₁₉ 为 S 或 F; X₂₀ 为 S 或 T; X₂₂ 为 N 或 R; X₂₃ 为 L 或 D; X₂₄ 为 K 或 R; X₂₅ 为 P 或 D; X₃₇ 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X₂₁ 为 D; X₃ 为 E 或 Q; X₈ 为 A 或 V; X₉ 为 L 或 T; X₁₀ 为 G 或 Q; X₁₉ 为 S 或 F; X₂₀ 为 S 或 T; X₂₂ 为 N 或 R; X₂₃ 为 L 或 D; X₂₄ 为 K 或 R; X₂₅ 为 P 或 D; X₃₇ 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X₂₁ 为 Q; X₃ 为 E 或 Q; X₈ 为 A 或 V; X₉ 为 L 或 T; X₁₀ 为 G 或 Q; X₁₉ 为 S 或 F; X₂₀ 为 S 或 T; X₂₂ 为 N 或 R; X₂₃ 为 L 或 D; X₂₄ 为 K 或 R; X₂₅ 为 P 或 D; X₃₇ 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X₂₁ 为 E; X₃ 为 E 或 Q; X₈ 为 A 或 V; X₉ 为 L 或 T; X₁₀ 为 G 或 Q; X₁₉ 为 S 或 F; X₂₀ 为 S 或 T; X₂₂ 为 N 或 R;

X₂₃ 为 L 或 D; X₂₄ 为 K 或 R; X₂₅ 为 P 或 D; X₃₇ 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中，X₂₁为S；X₃为E或Q；X₈为A或V；X₉为L或T；X₁₀为G或Q；X₁₉为S或F；X₂₀为S或T；X₂₂为N或R；X₂₃为L或D；X₂₄为K或R；X₂₅为P或D；X₃₇为P或trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中，X₂₁为T；X₃为E或Q；X₈为A或V；X₉为L或T；X₁₀为G或Q；X₁₉为S或F；X₂₀为S或T；X₂₂为N或R；X₂₃为L或D；X₂₄为K或R；X₂₅为P或D；X₃₇为P或trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中，X₂₁为A；X₃为E或Q；X₈为A或V；X₉为L或T；X₁₀为G或Q；X₁₉为S或F；X₂₀为S或T；X₂₂为N或R；X₂₃为L或D；X₂₄为K或R；X₂₅为P或D；X₃₇为P或trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中，X₂₁为G；X₃为E或Q；X₈为A或V；X₉为L或T；X₁₀为G或Q；X₁₉为S或F；X₂₀为S或T；X₂₂为N或R；X₂₃为L或D；X₂₄为K或R；X₂₅为P或D；X₃₇为P或trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中，X₂₁为H；X₃为E或Q；X₈为A或V；X₉为L或T；X₁₀为G或Q；X₁₉为S或F；X₂₀为S或T；X₂₂为N或R；X₂₃为L或D；X₂₄为K或R；X₂₅为P或D；X₃₇为P或trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中，X₂₁为K；X₃为E或Q；X₈为A或V；X₉为L或T；X₁₀为G或Q；X₁₉为S或F；X₂₀为S或T；X₂₂为N或R；X₂₃为L或D；X₂₄为K或R；X₂₅为P或D；X₃₇为P或trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中，X₂₁为R；X₃为E或Q；X₈为A或V；X₉为L或T；X₁₀为G或Q；X₁₉为S或F；X₂₀为S或T；X₂₂为N或R；X₂₃为L或D；X₂₄为K或R；X₂₅为P或D；X₃₇为P或trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中，X₂₂为N，X₃为E或Q；X₈为A或V；X₉为L或T；X₁₀为G或Q；X₁₉为S或F；X₂₀为S或T；X₂₁为N或D；X₂₃为L或D；X₂₄为K或R；X₂₅为P或D；X₃₇为P或trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中，X₂₂为R，X₃为E或Q；X₈为A或V；X₉为L或T；X₁₀为G或Q；X₁₉为S或F；X₂₀为S或T；X₂₁为N或D；X₂₃为L或D；X₂₄为K或R；X₂₅为P或D；X₃₇为P或trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中，X₂₂为Q，X₃为E或Q；X₈为A或V；X₉为L或T；X₁₀为G或Q；X₁₉为S或F；X₂₀为S或T；X₂₁为N或D；X₂₃为L或D；X₂₄为K或R；X₂₅为P或D；X₃₇为P或trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X_{22} 为 E, X_3 为 E 或 Q; X_8 为 A 或 V; X_9 为 L 或 T; X_{10} 为 G 或 Q; X_{19} 为 S 或 F; X_{20} 为 S 或 T; X_{21} 为 N 或 D; X_{23} 为 L 或 D; X_{24} 为 K 或 R; X_{25} 为 P 或 D; X_{37} 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X_{22} 为 S, X_3 为 E 或 Q; X_8 为 A 或 V; X_9 为 L 或 T; X_{10} 为 G 或 Q; X_{19} 为 S 或 F; X_{20} 为 S 或 T; X_{21} 为 N 或 D; X_{23} 为 L 或 D; X_{24} 为 K 或 R; X_{25} 为 P 或 D; X_{37} 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X_{22} 为 NMeAsn, X_3 为 E 或 Q; X_8 为 A 或 V; X_9 为 L 或 T; X_{10} 为 G 或 Q; X_{19} 为 S 或 F; X_{20} 为 S 或 T; X_{21} 为 N 或 D; X_{23} 为 L 或 D; X_{24} 为 K 或 R; X_{25} 为 P 或 D; X_{37} 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X_{22} 为 α MeAsn, X_3 为 E 或 Q; X_8 为 A 或 V; X_9 为 L 或 T; X_{10} 为 G 或 Q; X_{19} 为 S 或 F; X_{20} 为 S 或 T; X_{21} 为 N 或 D; X_{23} 为 L 或 D; X_{24} 为 K 或 R; X_{25} 为 P 或 D; X_{37} 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X_{22} 为 NMeAsp, X_3 为 E 或 Q; X_8 为 A 或 V; X_9 为 L 或 T; X_{10} 为 G 或 Q; X_{19} 为 S 或 F; X_{20} 为 S 或 T; X_{21} 为 N 或 D; X_{23} 为 L 或 D; X_{24} 为 K 或 R; X_{25} 为 P 或 D; X_{37} 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X_{23} 为 L, X_3 为 E 或 Q; X_8 为 A 或 V; X_9 为 L 或 T; X_{10} 为 G 或 Q; X_{19} 为 S 或 F; X_{20} 为 S 或 T; X_{21} 为 N 或 D; X_{22} 为 N 或 R; X_{24} 为 K 或 R; X_{25} 为 P 或 D; X_{37} 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X_{23} 为 D; X_3 为 E 或 Q; X_8 为 A 或 V; X_9 为 L 或 T; X_{10} 为 G 或 Q; X_{19} 为 S 或 F; X_{20} 为 S 或 T; X_{21} 为 N 或 D; X_{22} 为 N 或 R; X_{24} 为 K 或 R; X_{25} 为 P 或 D; X_{37} 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X_{24} 为 K, X_3 为 E 或 Q; X_8 为 A 或 V; X_9 为 L 或 T; X_{10} 为 G 或 Q; X_{19} 为 S 或 F; X_{20} 为 S 或 T; X_{21} 为 N 或 D; X_{22} 为 N 或 R; X_{23} 为 L 或 D; X_{25} 为 P 或 D; X_{37} 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X_{24} 为 R; X_3 为 E 或 Q; X_8 为 A 或 V; X_9 为 L 或 T; X_{10} 为 G 或 Q; X_{19} 为 S 或 F; X_{20} 为 S 或 T; X_{21} 为 N 或 D; X_{22} 为 N 或 R; X_{23} 为 L 或 D; X_{25} 为 P 或 D; X_{37} 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X_{25} 为 P, X_3 为 E 或 Q; X_8 为 A 或 V; X_9 为 L 或 T; X_{10} 为 G 或 Q; X_{19} 为 S 或 F; X_{20} 为 S 或 T; X_{21} 为 N 或 D; X_{22} 为 N 或 R; X_{23} 为 L 或 D; X_{24} 为 K 或 R; X_{37} 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X_{25} 为 D, X_3 为 E 或 Q; X_8 为 A 或 V;

X₉ 为 L 或 T; X₁₀ 为 G 或 Q; X₁₉ 为 S 或 F; X₂₀ 为 S 或 T; X₂₁ 为 N 或 D; X₂₂ 为 N 或 R; X₂₃ 为 L 或 D; X₂₄ 为 K 或 R; X₃₇ 为 P 或 trans-Hyp。

在本申请的一些实施方式中, X₃₇ 为 P, X₃ 为 E 或 Q; X₈ 为 A 或 V; X₉ 为 L 或 T; X₁₀ 为 G 或 Q; X₁₉ 为 S 或 F; X₂₀ 为 S 或 T; X₂₁ 为 N 或 D; X₂₂ 为 N 或 R; X₂₃ 为 L 或 D; X₂₄ 为 K 或 R; X₂₅ 为 P 或 D。

在本申请的一些实施方式中, X₃₇ 为 trans-Hyp, X₃ 为 E 或 Q; X₈ 为 A 或 V; X₉ 为 L 或 T; X₁₀ 为 G 或 Q; X₁₉ 为 S 或 F; X₂₀ 为 S 或 T; X₂₁ 为 N 或 D; X₂₂ 为 N 或 R; X₂₃ 为 L 或 D; X₂₄ 为 K 或 R; X₂₅ 为 P 或 D。

在本申请的一些实施方式中, X₃ 为 Q; 优选地, X₈ X₉ X₁₀ 选自 ALG、VLG、VTQ、ATQ、VLQ 中任意情况; X₈ X₉ X₁₀ 进一步优选为 ATQ; 更优选地, X₁₉ 为 F, X₂₀ 为 T, X₂₃ 为 D, X₂₄ 为 R, X₂₅ 为 D, X₃₇ 为 P, 进一步优选地, X₂₁ 为 D 或/和 X₂₂ 为 R。

在本申请的一些实施方式中, X₃ 为 Q; 优选地, X₈ X₉ X₁₀ 选自 ALG、VLG、VTQ、ATQ、VLQ 中任意情况; X₈ X₉ X₁₀ 进一步优选为 ATQ; 更优选地, X₁₉ 为 S, X₂₀ 为 S, X₂₃ 为 L, X₂₄ 为 K, X₂₅ 为 P, X₃₇ 为 trans-Hyp, 进一步优选地, X₂₁ 为 N、Q、E、S、T、A、G、H、K、R 或/和 X₂₂ 为 N、Q、E、S、MeAsn、 α MeAsn、NMeAsp。

在本申请的一些实施方式中, 所述多肽序列包含 SEQ ID No.1- SEQ ID No.25 序列中的任一种。

在本申请的一些实施方式中, 所述多肽序列为 ASELS TAALG RLADF LRHSS>NNLKP ILPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH₂ (SEQ ID No.1)。

在本申请的一些实施方式中, 所述多肽序列为 ASQLS TAVLG RLADF LRHSS>NNLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH₂ (SEQ ID No.2)。

在本申请的一些实施方式中, 所述多肽序列为 ASELS TAALG RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH₂ (SEQ ID No.3)。

在本申请的一些实施方式中, 所述多肽序列为 ASQLS TAVLG RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH₂ (SEQ ID No.4)。

在本申请的一些实施方式中, 所述多肽序列为 ASQLS TAATQ RLADFLRHSS>NNLKP ILPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH₂ (SEQ ID No.5)。

在本申请的一些实施方式中, 所述多肽序列为 ASQLS TAATQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH₂ (SEQ ID No.6)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAVTQ RLADFLRHSS NNLKPILPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH₂ (SEQ ID No.7)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAVTQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH₂ (SEQ ID No.8)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAVLQ RLADFLRHSS NNLKPILPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH₂ (SEQ ID No.9)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAVLQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH₂ (SEQ ID No.10)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAATQ RLADF LRHSS QQLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH₂(SEQ ID No.11)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAATQ RLADF LRHSS EELKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH₂(SEQ ID No.12)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAATQ RLADF LRHSS SSLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH₂(SEQ ID No.13)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAATQ RLADF LRHSS N-NMeAsn-LKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH₂(SEQ ID No.14)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAATQ RLADF LRHSS N-NMeAsp-LKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH₂(SEQ ID No.15)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAATQ RLADF LRHSS QNLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH₂(SEQ ID No.16)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAATQ RLADF LRHSS ENLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH₂(SEQ ID No.17)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAATQ RLADF LRHSS SNLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH₂(SEQ ID No.18)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAATQ RLADF LRHSS TNLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH₂(SEQ ID No.19)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAATQ RLADF LRHSS ANLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH₂(SEQ ID No.20)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAATQ RLADF LRHSS GNLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH₂(SEQ ID No.21)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAATQ RLADF

LRHSS HNLKP ILPPT NVGSN T-*trans*-Hyp-NH₂(SEQ ID No.22)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAATQ RLADF LRHSS KNLKP ILPPT NVGSN T-*trans*-Hyp-NH₂(SEQ ID No.23)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAATQ RLADF LRHSS RNLKP ILPPT NVGSN T-*trans*-Hyp-NH₂(SEQ ID No.24)。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽序列为 ASQLS TAATQ RLADF LRHSS N- α MeAsn-LKP ILPPT NVGSN T-*trans*-Hyp-NH₂(SEQ ID No.25)。

在本申请的一些实施方式中，所述含有脂肪酸的侧链的形式为 Z1+Z2+Z3，其中，Z1 为 C16-C22 脂肪二酸；Z2 选自 γ Glu, α Glu, β Asp, α Asp, Inp, Trx 中的任一种或 Z2 不存在；Z3 为 0-6 个 AEEA，例如可以为 0、1、2、3、4、5、6 个；所述 Z1、Z2 和 Z3 之间依次通过酰胺键连接。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z1 为 C22 脂肪二酸。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z1 为 C20 脂肪二酸。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z1 为 C19 脂肪二酸。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z1 为 C18 脂肪二酸。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z1 为 C17 脂肪二酸。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z1 为 C16 脂肪二酸。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z2 为 γ Glu。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z2 为 α Glu。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z2 为 β Asp。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z2 为 α Asp。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z2 为 Inp。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z2 为 Trx。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z2 不存在。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z3 不存在。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z3 为 1 个 AEEA。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z3 为 2 个 AEEA。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z3 为 3 个 AEEA。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z3 为 4 个 AEEA。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z3 为 5 个 AEEA。

在本申请的一些实施方式中，所述 Z3 为 6 个 AEEA。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽衍生物是 M1，或 M2，或 M3，或 M4，或 M5，或 M6，或 M7，或 M8，或 M9，或 M10，或 M11，或 M12，或 M13，或 M14，或 M15，或 M16，或 M17，或 M18，或 M19，或 M20，或 M21，或 M22，或 M23，或 M24，或 M25，或 M26，或 M27，或 M28，或 M29，或 M30，或 M31，或 M32，或 M33，或 M34，或 M35，或 M36，或 M37，或 M38，或 M39，或 M40，或 M41，或 M42，或 M43，或 M44，或 M45，或 M46，或 M47，或 M48，或 M49，或 M50，或 M51，或 M52，或 M53，或 M54，或 M55。

本申请提供一种多肽，其中，所述多肽包含上述多肽序列。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽包含的多肽序列是 SEQ ID No.1-SEQ ID No.25 中的任一种。

本申请提供一种药物组合物，其包含上述多肽、或上述衍生物或其药学上可接受的盐，以及药学上可接受的辅料。

在本申请的一些实施方式中，所述药物组合物中还包含另一种或多种药物活性成分。所述药理学活性成分包括体重调节剂、抗肥胖剂、脂代谢调节剂、血糖调节剂、高血压治疗剂、心血管调节剂、脑系统疾病、精神系统疾病或神经系统调节剂，优选地，所述药理学活性物质选自：GLP-1 受体激动剂（包括但不限于 GLP-1、GLP-1 类似物、GLP-1 衍生物）、GIP 受体激动剂（包括但不限于 GIP、GIP 类似物、GIP 衍生物）、胰岛素受体激动剂（包括但不限于胰岛素、胰岛素类似物、胰岛素衍生物）。

上述多肽或上述衍生物或其药学上可接受的盐或组合物在制备预防和/或治疗胰淀素受体相关代谢疾病或脂肪代谢障碍的药物中的用途。

上述多肽或上述衍生物或其药学上可接受的盐或组合物在制备预防和/或治疗超重、肥胖症和/或 I 型或 II 型糖尿病和/或骨质疏松症和/或神经性疼痛的药物中的用途。

上述多肽或上述衍生物或其药学上可接受的盐或组合物在制备预防和/或治疗减少食物摄入的药物中的用途。上述多肽或上述衍生物或其药学上可接受的盐或组合物在减少食物摄入方面的用途。

本申请提供一种预防和/或治疗胰淀素受体相关代谢疾病或脂肪代谢障碍的方法，包括向受试者施用预防或治疗有效量的上述多肽或上述衍生物或其药学上可接受的盐或上述药物组合物。

本申请提供一种预防和/或治疗超重、肥胖症和/或 I 型或 II 型糖尿病和/或骨质疏松症和/或神经性疼痛的方法,包括向受试者施用预防或治疗有效量的上述多肽或上述衍生物或其药学上可接受的盐或上述药物组合物。

本申请提供一种减少食物摄入的方法,包括向受试者施用有效量的上述多肽或上述衍生物或其药学上可接受的盐或上述药物组合物。

与现有技术相比,相同的剂量下,本申请的多肽及其衍生物或组合物在药物活性、分子稳定性、体内生物暴露量等方面具有明显提高的优点或积极效果。同时,本申请所述多肽及其衍生物相比传统胰淀素类似物或衍生物不含二硫键,然而令人意外的是,与传统胰淀素类似物或衍生物相比,本申请所述多肽及其衍生物产生了预料不到的高稳定性,原纤维化呈下降趋势,且即使在中性或非酸性 pH 下配制时仍具有更高的稳定性。此外,本申请多肽或其衍生物具有良好的药代动力学效果,无需像已知的胰淀素衍生物一样频繁地注射。

附图说明

图 1 示出了实施例 3 中多肽衍生物 M6 的热加速实验结果;

图 2A 示出了实施例 4 中多肽衍生物在 SD 大鼠模型中减重效果随时间变化的结果;

图 2B 示出了实施例 4 中多肽衍生物在 SD 大鼠模型中对食物摄入影响随时间变化的结果;

图 3A、3C 示出了实施例 5 中多肽衍生物在 SD 大鼠模型中不同剂量减重效果随时间变化的结果;

图 3B、3D 示出了实施例 5 中多肽衍生物在 SD 大鼠模型中不同剂量对食物摄入影响随时间变化的结果;

图 4A 示出了实施例 6 中多肽衍生物在 DIO SD 大鼠模型中不同剂量减重效果随时间变化的结果;

图 4B 示出了实施例 6 中多肽衍生物在 DIO SD 大鼠模型中不同剂量对食物摄入影响随时间变化的结果;

图 5A-5B 示出了实施例 7 中多肽衍生物在 SD 大鼠模型中减重效果随时间变化的结果;

图 5C-5D 示出了实施例 7 中多肽衍生物在 SD 大鼠模型中对食物摄入

影响随时间变化的结果；

图 6 示出了实施例 8 中不同分子在血浆中的浓度随时间的变化图。

具体实施方式

下面结合实施例进一步说明本申请，应当理解，实施例仅用于进一步说明和阐释本申请，并非用于限制本申请。

除非另外定义，本说明书中有关技术的和科学的术语与本领域内的技术人员所通常理解的意思相同。虽然在实验或实际应用中可以应用与此间所述相似或相同的方法和材料，本文还是在下文中对材料和方法做了描述。在相冲突的情况下，以本说明书包括其中定义为准，另外，材料、方法和例子仅供说明，而不具限制性。以下结合具体实施例对本申请作进一步的说明，但不用来限制本申请的范围。

术语“多肽”和“肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用并且是指任何长度的氨基酸聚合物。聚合物可为直链或支链，其可包含天然氨基酸，并且其可间杂有非天然氨基酸。

本文所述“衍生物”是指生物大分子（如多肽、蛋白）的功能基团（如氨基酸残基）被某些化合物或分子修饰后所得到的产物。所述修饰包括但不限于酰基化、酰胺化、酯化、硫酸化。

在本文中，药物组合物可指用于疾病的治疗，也可用于细胞的体外培养实验。用于疾病的治疗时，术语药物组合物通常是指单位剂量形式，并且可以通过制药领域中熟知的方法的任何一种进行制备。所有的方法包括使活性成分与构成一种或多种附属成分的辅料相结合的步骤。通常，通过均匀并充分地使活性化合物与液体辅料、细碎固体辅料或这两者相结合，制备组合物。

在本文中，“药学上可接受的”是指物质或组合物必须与包含制剂的其它成分和/或用其治疗的哺乳动物化学上和/或毒理学上相容。

在本文中，术语“药学上可接受的辅料”均可包括任何溶剂、固体赋形剂、稀释剂或其他液体赋形剂等等，适合于特有的目标剂型。除了任何常规的辅料与本申请的化合物不相容的范围，例如所产生的任何不良的生物效应或与药学上可接受的组合物的任何其他组分以有害的方式产生的相互作用，它们的用途也是本申请所考虑的范围。

在本文中，治疗是指用于指获得期望的药理学和/或生理学效果。所述效

果就完全或部分预防疾病或其症状而言可以是预防性的,和/或就部分或完全治愈疾病和/或疾病导致的不良作用而言可以是治疗性的。本文使用的“治疗”涵盖哺乳动物、特别是人的疾病,包括:(a)在容易患病但是尚未确诊得病的个体中预防疾病或病症发生;(b)抑制疾病,例如阻滞疾病发展;或(c)缓解疾病,例如减轻与疾病相关的症状。本文使用的“治疗”涵盖将药物或化合物给予个体以治疗、治愈、缓解、改善、减轻或抑制个体的疾病的任何用药,包括但不限于将含本文所述化合物的药物给予有需要的个体。

在本文中,“预防”是指降低疾病、病症、疾患或相关症状(例如癌症)发作(或复发)的可能性。

在本文中,“胰淀素受体相关代谢疾病”是可以通过调节胰淀素受体的激活从而改善其下游细胞通路情况使受试者症状得到改善的疾病,包括高脂血症、动脉粥样硬化、高血压、冠心病、心肌梗塞、脑血栓、脑出血、脑栓塞、肥胖症、脂肪肝、肝硬化,糖尿病和脂肪代谢障碍常伴随的疾病,例如骨质疏松的方法、治疗认知障碍、神经退行性疾病(例如帕金森综合征、阿尔茨海默病)的方法、治疗胃肠道疾病,例如炎性肠病、营养不良、消化道溃疡。

在本申请的一些实施方式中,所述多肽衍生物通过脂肪酸以酰胺键的形式对多肽进行偶联。

在本申请的一些实施方式中,脂肪酸为 C1~C25 脂肪酸。例如甲酸、乙酸、C3 脂肪酸、C4 脂肪酸、C5 脂肪酸、C6 脂肪酸、C7 脂肪酸、C8 脂肪酸、C9 脂肪酸、C10 脂肪酸、C11 脂肪酸、C12 脂肪酸、C13 脂肪酸、C14 脂肪酸、C15 脂肪酸、C16 脂肪酸、C17 脂肪酸、C18 脂肪酸、C19 脂肪酸、C20 脂肪酸、C21 脂肪酸、C22 脂肪酸、C23 脂肪酸、C24 脂肪酸或 C25 脂肪酸。

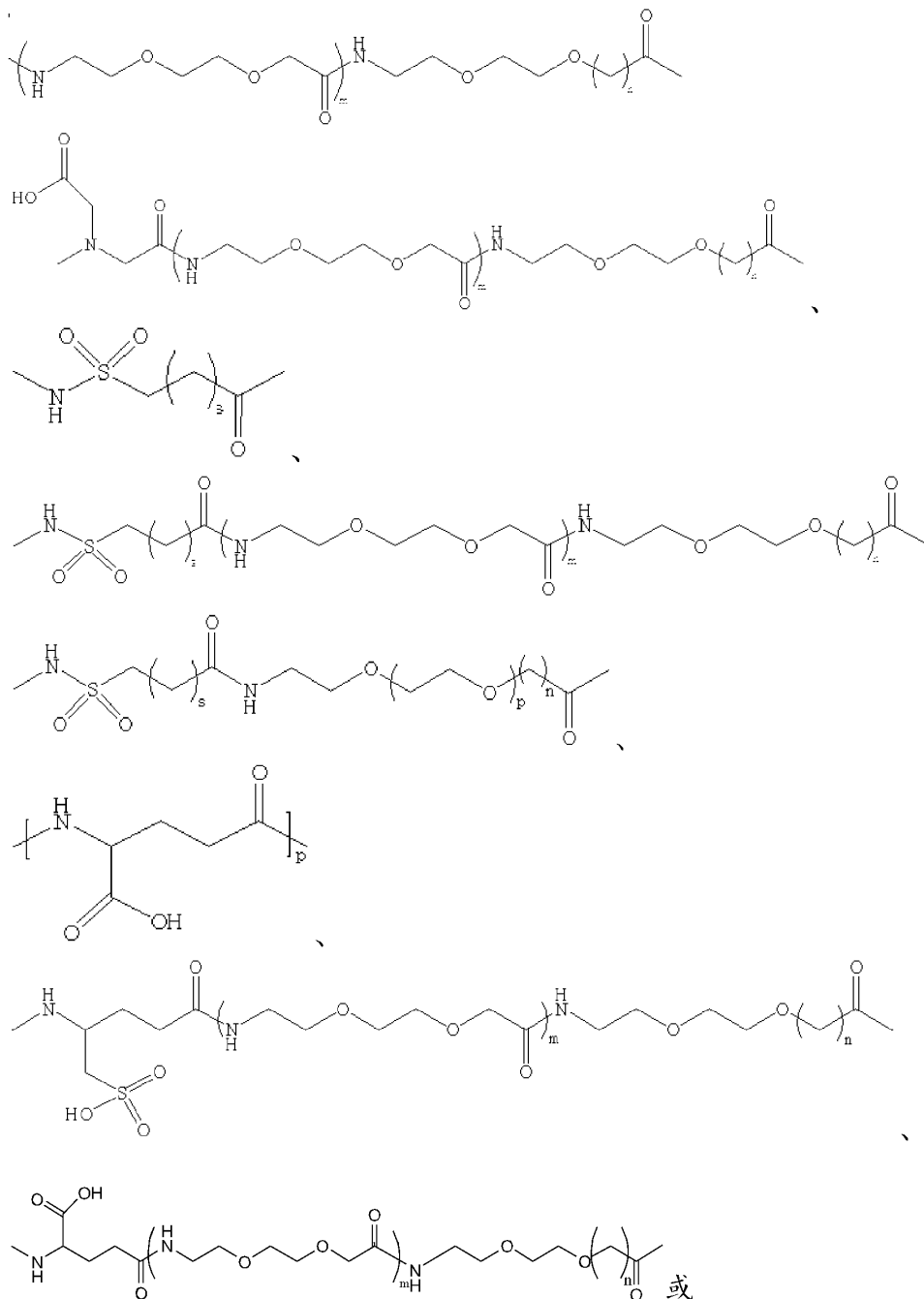
本申请中,所述的 C1~C25 脂肪酸包括直链脂肪酸和支链脂肪酸。

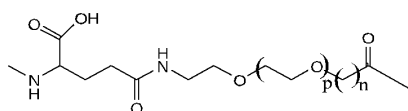
本申请中,所述的 C1~C25 脂肪酸包括饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸。

在本申请的一些实施方式中,所述脂肪酸为辛酸、壬酸、癸酸、十一酸、月桂酸、十三酸、肉豆蔻酸、十五酸、棕榈酸、十七酸、硬脂酸、十九酸、花生酸、二十一酸、二十二酸、二十三酸、二十四酸、棕榈油酸、油酸、亚麻油酸、蓖麻油酸、异柠檬酸、二十碳五烯酸或二十二碳六烯酸、1,8-辛二酸、1,7-庚二甲酸、1,10-癸二酸、十一烷二酸、十二烷二酸、十三烷二酸、

十四烷二酸、十五烷二酸、十六烷二酸、十七烷二酸、十八烷二酸或十九烷二酸、二十烷二酸、二十一烷二酸、二十二烷二酸或二十三烷二酸中的一种或两种以上。

本申请的脂肪酸部分可以通过接头与上述多肽连接。其中，接头有选自： $-\gamma\text{Glu}-$ 、 $-\alpha\text{Glu}-$ 、 $-\beta\text{Asp}-$ 、 $-\alpha\text{Asp}-$ 、 $-\text{Inp}-$ 、 $-\text{Trx}-$ 、





的一种或两种以上，其中 m 是 0、1、2 或 3； n 是 1、2 或 3； s 是 0-6 的任意整数； p 是 1-8 的任意整数。

在本申请中，术语“药学上可接受的盐”是指保持了本申请的多肽的衍生物的生物有效性和性质的盐，并且其通常在生物上或在其它方面不是不期望的。在许多情形下，本申请的多肽衍生物通过氨基和/或羧基或与其类似的基团的存在，可形成酸和/或碱盐。

可使用无机酸及有机酸来形成药学上可接受的酸加成盐，例如，乙酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、溴化物/氢溴酸盐、碳酸氢盐/碳酸盐、硫酸氢盐/硫酸盐、樟脑磺酸盐、氯化物/盐酸盐、chlorthephyllonate、柠檬酸盐、乙二磺酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、葡萄糖酸盐、葡糖醛酸盐、马尿酸盐、氢碘酸盐/碘化物、羟乙磺酸盐、乳酸盐、乳糖酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、甲基硫酸盐、萘酸盐、萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、十八烷酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、巴莫酸盐、磷酸盐/磷酸氢盐/磷酸二氢盐、聚半乳糖醛酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、磺基水杨酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐及三氟乙酸盐。

可由其衍生盐的无机酸包括，例如，盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等。

可由其衍生盐的有机酸包括，例如，乙酸、丙酸、羟乙酸、草酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、扁桃酸、甲烷磺酸、乙烷磺酸、甲苯磺酸、磺基水杨酸等。

可与无机碱及有机碱来形成药学上可接受的碱加成盐。

可由其衍生盐的无机碱包括，例如，铵盐及周期表第 I 族至第 XII 族的金属。在某些实施方案中，所述盐衍生自钠、钾、铵、钙、镁、铁、银、锌及铜；尤其适宜的盐包括铵盐、钾盐、钠盐、钙盐及镁盐。

可由其衍生盐的有机碱可包括，例如，伯、仲和叔胺、取代胺包括天然存在的取代胺、环状胺、碱性离子交换树脂等。某些有机胺包括异丙基胺、胆碱盐、二乙醇胺、二乙胺、赖氨酸、葡甲胺、哌嗪及氨丁三醇。

本申请的药学上可接受的盐可通过惯用化学方法从母体化合物、碱性或酸性部分来合成。通常，这些盐可通过使这些化合物的游离酸形式与化学计

量的适当碱(例如 Na 或 K 的氢氧化物、碳酸盐、碳酸氢盐等)进行反应来制备,或通过使这些化合物的游离碱形式与化学计量的适当酸进行反应来制备。这些反应通常是在水或有机溶剂、或二者的混合物中进行。通常,在可行的情况下,使用非水性介质,如醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈是合乎需要的。

本申请提供了一种药物组合物,其包括上述多肽或上述衍生物或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的辅料。在优选实施方案中,所述药物组合物可进一步包含缓冲系统、防腐剂、表面张力剂、螯合剂、稳定剂和表面活性剂。在一些实施方案中,缓冲剂选自:乙酸钠、碳酸钠、柠檬酸盐、甘氨酸、组氨酸、赖氨酸、精氨酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、磷酸钠和三(羟甲基)氨基甲烷、N-二(羟乙基)甘氨酸、曲辛、苹果酸、乳酸、琥珀酸盐、马来酸、延胡索酸、酒石酸、天冬氨酸或其混合物。这些特定缓冲剂中的每一种或其组合构成本申请的备选。在一些实施方案中,本申请所述的药物或制剂是含水药物或制剂,例如,他们通常可以是溶液或悬浮液。在本申请的另一些具体实施方案中,所述药物或制剂是一种冻干制剂,在使用前将溶剂和/或稀释液加入其中。

本申请提供了一种上述多肽或上述衍生物或其药学上可接受的盐在制备预防和/或治疗胰淀素受体相关代谢疾病或脂肪代谢障碍药物中的用途。

本申请提供了一种上述多肽或上述衍生物或其药学上可接受的盐在制备预防和/或治疗超重、肥胖症和/或 I 型或 II 型糖尿病和/或骨质疏松症和/或神经性疼痛的药物中的用途。

本申请提供了一种上述多肽或上述衍生物或其药学上可接受的盐在制备预防和/或治疗减少食物摄入的药物中的用途。

本申请提供了一种上述多肽或上述衍生物或其药学上可接受的盐在减少食物摄入方面的用途。

本申请还涉及预防和/或治胰淀素受体相关疾病或脂肪代谢障碍相关疾病的方法,包括向受试者施用预防或治疗有效量的上述多肽或上述衍生物或其药学上可接受的盐或上述药物组合物。

本申请提供了一种预防和/或治疗超重、肥胖症和/或 I 型或 II 型糖尿病和/或骨质疏松症和/或神经性疼痛的方法,包括向受试者施用预防或治疗有效量的上述多肽或上述衍生物或其药学上可接受的盐或上述药物组合物。

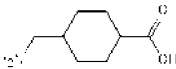
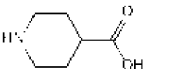
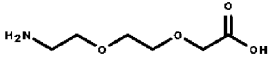
本申请提供了一种减少食物摄入的方法，包括向受试者施用有效量的上述多肽或上述衍生物或其药学上可接受的盐或上述所述的药物组合物。

在本申请的一些实施方式中，包括给药有需要的受试者上述多肽或上述衍生物或其药学上可接受的盐、药物组合物。

在本申请的一些实施方式中，所述多肽或上述衍生物或其药学上可接受的盐、药物组合物与其它药物、药物化合物或组合物联合使用。

缩写

本申请实施例中所用的一些缩写词对应名称或结构形式如下：

缩写	结构式
Trx	
Inp	
AEEA	

AA: Amino Acid, 氨基酸

Boc: t-Butyloxy carbonyl, 叔丁氧羰基

DCM: dichloromethane, 二氯甲烷

DMF: N,N-Dimethyl formamide, 二甲基甲酰胺

DIEA: N,N-Diisopropylethylamine, N,N-二异丙基乙胺

EDT: 1,2-Ethanedithiol, 乙二硫醇

Fmoc: 9-fluorenylmethyloxycarbonyl, 9-芴基甲氧基羰基

OtBu: 叔丁基酯基

Pbf: 2,2,4,6,7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl chloride, 2,2,4,6,7-五甲基二氢苯并呋喃-5-磺酰基

Pip: Piperidine, 哌啶

TBT: O-(Benzotriazol-1-yl)-N,N,N,N,-tetramethyluronium Tetrafluoroborate, O-苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脲四氟硼酸酯

tBu: tertiary butyl, 叔丁基

TFA: Trifluoroacetic acid, 三氟乙酸

TIS: Triisopropylsilane, 三异丙基硅烷

Trt: Triphenylmethyl, 三苯基甲基

α Glu: α 谷氨酸
 γ Glu: γ 谷氨酸
 α Asp: α 天冬氨酸
 β Asp: β 天冬氨酸
 α MeAsn: α 甲基化天冬酰胺
NMeAsn: N 甲基化天冬酰胺
NMeAsp: N 甲基化天冬氨酸

实施例 1 多肽衍生物的制备

本申请制备的及其多肽衍生物如表 2 所示。

采用固相有机合成法，利用 Fmoc-保护氨基酸策略，SPPS 固相合成技术，完成多肽合成，裂解，氧化，纯化即得表 2 中的目标产物，并依次标记为 Cagrilintide、M1-M55。

以化合物 Cagrilintide 为例，合成过程如下：

1.1 固相合成

用 Fmoc-Linker MBHA Resin S=0.32mmol/g，采用 Fmoc/tBu 工艺，按上述肽序列，以表 1 方法从 C 端向 N 端(从右到左)依次缩合氨基酸连接：

表 1 多肽合成程序列表

序号	溶剂	次数	时间 (min/次)
1	20%Pip/DMF	1	10
2	20%Pip/DMF	1	5
3	DMF	5	1
4	取样显色检测		
5	AA/DIEA/TBTU	1	60
6	DMF	4	1
7	取样显色检测		
程序说明	重复 1-7 至直线肽合成结束		

依次偶联下列氨基酸：

A-01Fmoc-Pro-OH,A-02Fmoc-Thr(tBu)-OH,A-03Fmoc-Asn(Trt)-OH,A-04Fmoc-Ser(tBu)-OH,A-05Fmoc-Gly-OH,A-06Fmoc-Val-OH,A-07Fmoc-Asn(Trt)-OH,A-08Fmoc-Thr(tBu)-OH,A-09Fmoc-Pro-OH,A-10Fmoc-Pro-OH,A-1

1Fmoc-Leu-OH,A-12Fmoc-Ile-OH,A-13Fmoc-Pro-OH,A-14Fmoc-Gly-OH,A-15Fmoc-Phe-OH,A-16Fmoc-Asn(Trt)-OH,A-17Fmoc-Asn(Trt)-OH,A-18Fmoc-Ser(tBu)-OH,A-19Fmoc-Ser(tBu)-OH,A-20Fmoc-His(Trt)-OH,A-21Fmoc-Arg(Pbf)-OH,A-22Fmoc-Leu-OH,A-23Fmoc-Phe-OH,A-24Fmoc-Glu(OtBu)-OH,A-25Fmoc-Ala-OH,A-26Fmoc-Leu-OH,A-27Fmoc-Arg(Pbf)-OH,A-28Fmoc-Gln(Trt)-OH,A-29Fmoc-Thr(tBu)-OH,A-30Fmoc-Ala-OH,A-31Fmoc-Cys(Trt)-OH,A-32Fmoc-Thr(tBu)-OH,A-33Fmoc-Ala-OH,A-34Fmoc-Thr(tBu)-OH,A-35Fmoc-Asn(Trt)-OH,A-36Fmoc-Cys(Trt)-OH,A-37Fmoc-Lys(Boc)-OH,A-38Fmoc-Glu-OtBu,A-39C20 diacid;

最后形成此多肽衍生物树脂,

将多肽衍生物树脂洗涤转移出干燥至恒重, 待裂解。

1.2 裂解

裂解试剂的配制: 按体积为 1g 多肽衍生物树脂比 10mL $\pm$ 2mL 计算裂解试剂用量: TFA:H₂O:EDT:TIS =95:1:2:2 依次将所需裂解试剂 H₂O, TFA, EDT, TIS 于裂解反应瓶, 裂解试剂温度控制在 0~10℃; 裂解试剂在搅拌下加入树脂中, 待体系温度稳定后; 再温控在 25~30℃搅拌反应 2.5 小时。将裂解液滤出, 采用 5 倍液体积量的冰乙醚将其沉淀, 滤出沉淀物并采用 3 倍液体积量的冰乙醚洗涤 3 次后, 室温减压干燥, 得固体粗品。

1.3 氧化

将粗品研细, 准备纯化水, 在搅拌下缓慢加入研细粗品, 同时滴加乙腈水溶液, 待粗品加完并溶解完全后, 加入碘甲醇溶液搅拌半小时。

1.4 纯化冻干

将上述氧化后液体, 用 0.45 μ m 的微孔滤膜过滤; 粗品纯化采用 C-18 柱填料制备柱, 在常温下用合适梯度进行分离纯化, 收集目标产物, 分析检测, 归类。纯度要求 $\geq$ 90%, 将不合格目标物收集, 用合适梯度再次对其进行分离纯化, 收集合格液体峰。将上述合格的液体样品减压冷冻干燥, 得到粉末状精制多肽衍生物冻干粉。

本申请制备的多肽衍生物如表 2 中 M1-M55 所示, 区别在于氨基酸序列不同或脂肪酸侧链不同。

表 2 多肽及其衍生物(修饰均在 N 末端)设计汇总

序号	氨基酸序列	含脂肪酸侧链
Cagrilintide	KCNTATCATQ RLAEFLRHSS NNFGPILPPT NVGSNTP-NH ₂	C20 diacid + γ Glu
M1	ASELS TAALG RLADF LRHSS NNLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.1)	C20 diacid+ γ Glu
M2	ASQLS TAVLG RLADF LRHSS NNLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.2)	C20 diacid+ γ Glu
M3	ASELS TAALG RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂ (SEQ ID No.3)	C20 diacid+ γ Glu
M4	ASQLS TAVLG RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂ (SEQ ID No.4)	C20 diacid+ γ Glu
M5	ASQLS TAATQ RLADFLRHSS NNLKPILPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.5)	C20 diacid+ γ Glu
M6	ASQLS TAATQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂ (SEQ ID No.6)	C20 diacid+ γ Glu
M7	ASQLS TAVTQ RLADFLRHSS NNLKPILPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.7)	C20 diacid+ γ Glu
M8	ASQLS TAVTQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂ (SEQ ID No.8)	C20 diacid+ γ Glu
M9	ASQLS TAVLQ RLADFLRHSS NNLKPILPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.9)	C20 diacid+ γ Glu
M10	ASQLS TAVLQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂ (SEQ ID No.10)	C20 diacid+ γ Glu
M11	ASQLS TAATQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂	C20 diacid + α Glu
M12	ASQLS TAATQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂	C20 diacid + β Asp
M13	ASQLS TAATQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂	C20 diacid + α Asp
M14	ASQLS TAATQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂	C20 diacid + Trx
M15	ASQLS TAATQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂	C20 diacid + Inp
M16	ASQLS TAATQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂	C20 diacid + γ Glu+2*AEEA
M17	ASQLS TAATQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂	C20 diacid + α Glu+2*AEEA
M18	ASQLS TAATQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂	C20 diacid + β Asp+2*AEEA

M19	ASQLS TAATQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂	C20 diacid + α Asp+2*AEEA
M20	ASQLS TAATQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂	C20 diacid + Trx+2*AEEA
M21	ASQLS TAATQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂	C20 diacid + Inp+2*AEEA
M22	ASQLS TAATQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂	C18 diacid + γ Glu
M23	ASQLS TAATQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂	C16 diacid + γ Glu
M24	ASQLS TAATQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂	C20 diacid + γ Glu+4*AEEA
M25	ASQLS TAATQ RLADF LRHFT DRDRD ILPPT NVGSN TP-NH ₂	C20 diacid + γ Glu+6*AEEA
M26	ASQLS TAATQ RLADFLRHSS>NNLKPI LPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH ₂	C20 diacid + α Glu
M27	ASQLS TAATQ RLADFLRHSS>NNLKPI LPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH ₂	C20 diacid + β Asp
M28	ASQLS TAATQ RLADFLRHSS>NNLKPI LPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH ₂	C20 diacid + α Asp
M29	ASQLS TAATQ RLADFLRHSS>NNLKPI LPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH ₂	C20 diacid + Trx
M30	ASQLS TAATQ RLADFLRHSS>NNLKPI LPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH ₂	C20 diacid + Inp
M31	ASQLS TAATQ RLADFLRHSS>NNLKPI LPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH ₂	C20 diacid + γ Glu+2*AEEA
M32	ASQLS TAATQ RLADFLRHSS>NNLKPI LPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH ₂	C20 diacid + α Glu+2*AEEA
M33	ASQLS TAATQ RLADFLRHSS>NNLKPI LPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH ₂	C20 diacid + β Asp+2*AEEA
M34	ASQLS TAATQ RLADFLRHSS>NNLKPI LPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH ₂	C20 diacid + α Asp+2*AEEA
M35	ASQLS TAATQ RLADFLRHSS>NNLKPI LPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH ₂	C20 diacid + Trx+2*AEEA
M36	ASQLS TAATQ RLADFLRHSS>NNLKPI LPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH ₂	C20 diacid + Inp+2*AEEA
M37	ASQLS TAATQ RLADFLRHSS>NNLKPI LPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH ₂	C18 diacid + γ Glu
M38	ASQLS TAATQ RLADFLRHSS>NNLKPI LPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH ₂	C16 diacid + γ Glu
M39	ASQLS TAATQ RLADFLRHSS>NNLKPI LPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH ₂	C20 diacid + γ Glu+4*AEEA
M40	ASQLS TAATQ RLADFLRHSS>NNLKPI LPPT NVGSNT-trans-Hyp-NH ₂	C20 diacid + γ Glu+6*AEEA

M41	ASQLS TAATQ RLADF LRHSS QQLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.11)	C20 diacid+γGlu
M42	ASQLS TAATQ RLADF LRHSS EELKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.12)	C20 diacid+γGlu
M43	ASQLS TAATQ RLADF LRHSS SSLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.13)	C20 diacid+γGlu
M44	ASQLS TAATQ RLADF LRHSS N-NMeAsn-LKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.14)	C20 diacid+γGlu
M45	ASQLS TAATQ RLADF LRHSS N-NMeAsp-LKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.15)	C20 diacid+γGlu
M46	ASQLS TAATQ RLADF LRHSS QNLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.16)	C20 diacid+γGlu
M47	ASQLS TAATQ RLADF LRHSS ENLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.17)	C20 diacid+γGlu
M48	ASQLS TAATQ RLADF LRHSS SNLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.18)	C20 diacid+γGlu
M49	ASQLS TAATQ RLADF LRHSS TNLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.19)	C20 diacid+γGlu
M50	ASQLS TAATQ RLADF LRHSS ANLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.20)	C20 diacid+γGlu
M51	ASQLS TAATQ RLADF LRHSS GNLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.21)	C20 diacid+γGlu
M52	ASQLS TAATQ RLADF LRHSS HNLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.22)	C20 diacid+γGlu
M53	ASQLS TAATQ RLADF LRHSS KNLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.23)	C20 diacid+γGlu
M54	ASQLS TAATQ RLADF LRHSS RNLKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.24)	C20 diacid+γGlu
M55	ASQLS TAATQ RLADF LRHSS N-αMeAsn-LKP ILPPT NVGSN T-trans-Hyp-NH ₂ (SEQ ID No.25)	C20 diacid+γGlu

M1-M55 表示本申请用含脂肪酸的侧链修饰氨基酸序列后得到的衍生物，如用表 2 中的对应含脂肪酸的侧链修饰 SEQ ID No.1-SEQ ID No.10 后得到的衍生物，例如，M1 表示（C20 diacid+γGlu）修饰 SEQ ID No.1 后得到的衍

生物 M1。所述含脂肪酸的侧链形式为 Z1+Z2+Z3，其中，Z1 为 C16-C22 脂肪二酸；Z2 选自 γ Glu, α Glu, β Asp, α Asp, Inp, Trx 中的任一种或 Z2 不存在；Z3 为 0-6 个 AEEA，例如可以为 0、1、2、3、4、5、6 个；所述 Z1、Z2、Z3 之间依次通过酰胺键连接。C16-C22 脂肪二酸部分相对于氨基酸序列位于用于修饰的含脂肪酸侧链的外侧，处于侧链与氨基酸序列连接的远端。

实施例 2 衍生物的细胞活性检测

本实验目的在于采用荧光素酶测定法在体外检测本申请多肽的衍生物对人胰淀素受体的效力。

2.1 构建胰淀素受体/CRE-luc 细胞系

使用标准方法，用含有多拷贝 cAMP 应答元件（CRE）驱动的荧光素酶表达框的质粒转染 CHO-K1/Gal5/AMY3 细胞（降钙素受体与受体激活修饰性肽 RAMP 已构建完成，购自金斯瑞），在含有吉欧霉素（Zeocin）200 μ g/mL，嘌呤霉素（2 μ g/mL）、潮霉素（100 μ g/mL）和 G418(400 μ g/mL) 的 F12 培养基中培养，以获得具有稳定转染的胰淀素受体/CRE-luc 细胞系。

2.2 胰淀素荧光素酶测定

将实施例 1 所得冻干粉用 pH7.0 的 20mM 磷酸缓冲液溶解，并用生长培养基（含 10%FBS 的 F12 培养基）稀释获得初始浓度 10nM 的衍生物样品，然后用生长培养基梯度稀释衍生物样品，以获得 10nM 到 2nM-0.4nM 之间浓度依次相差 5 倍的 7 个浓度的样品，在白色 96 孔板中每孔中加入相应浓度的样品测定液 50 μ L。

将稳定转染胰淀素/CRE-luc 的 CHO 细胞以一定密度重悬于生长培养基中，在已加入样品测定液的白色 96 孔板中以约 20000 个细胞/孔的密度加入 50 μ L 细胞重悬液，在 37℃和 5% CO₂ 条件下孵育 24 小时后每孔加入 Luciferase 底物 100 μ L, 孵育 3 分钟, 最后在 SpectraMax L(Molecular Devices) 上以 SoftMax Pro 7.0.3 GxP 软件测定发光情况, 并通过荧光值绘制标准曲线, 计算 EC50, 不同多肽衍生物组间差异通过计算相对活性（Cagrilintide 与化合物 EC50 比值）统计，其中 Cagrilintide 相对活性为 100%。结果如下表所示。

表 3 胰淀素受体细胞活性结果

编号	EC50/nM	相 对 活	编号	EC50/nM	相对活性
----	---------	-------	----	---------	------

		性			
M1	0.053	49%	M28	0.039	128%
M2	0.038	68%	M29	0.122	412%
M3	0.081	32%	M30	0.039	130%
M4	0.081	32%	M31	0.168	30%
M5	0.031	84%	M32	0.115	44%
M6	0.042	62%	M33	0.145	37%
M7	0.066	39%	M34	0.132	40%
M8	0.049	53%	M35	0.043	124%
M9	0.026	100%	M36	0.059	91%
M11	0.004	110%	M37	0.030	184%
M12	0.034	78%	M38	0.030	181%
M13	0.034	78%	M41	0.08	113%
M14	0.018	136%	M42	0.28	32%
M15	0.030	81%	M43	0.05	180%
M16	0.042	58%	M44	0.1	130%
M17	0.026	94%	M45	0.07	129%
M18	0.026	110%	M46	0.06	150%
M19	0.036	80%	M47	0.08	113%
M20	0.017	171%	M48	0.05	180%
M21	0.023	126%	M49	0.08	163%
M22	0.016	198%	M50	0.07	186%
M23	0.017	182%	M51	0.08	163%
M24	0.066	47%	M52	0.09	178%
M25	0.124	25%	M53	0.08	200%
M26	0.049	103%	M54	0.06	267%
M27	0.064	78%	M55	0.03	233%

实施例 3 热加速稳定性实验

3.1 材料和设备

稳定性试验箱 (BINDER GmbH)、十万分之一天平 (梅特勒-托利多)、pH 计 (梅特勒-托利多)、生物安全柜 (ESCO)、T2G-II 小型电动压盖机 (长沙中亚制药设备有限公司)、高速冷冻离心机 (Eppendorf)、灭菌柜 (新华医疗)、Agilent 1260 高效液相色谱仪、Sepax Bio-C18 4.6*250mm 3μm 200Å 反相色谱柱、TSKgel G2000SWXL 7.8*300mm 3μm。

3.2 实验方法和结果

将衍生物按 1mg/mL 与磷酸二氢钠 (1.42mg/mL) 混合, 溶解于超纯水中, 用盐酸/氢氧化钠调节 pH 至 7.4 左右, 之后在超净工作台中用 0.22μm 无菌滤器过滤溶液至已灭菌西林瓶中。西林瓶压盖后置于 40℃稳定性试验箱中。分别于第 7 天 (7d) 和 28 天 (28d) 进行检测, 在实验过程中, 观察并记录多肽的性状变化, 然后将样品于 10000rpm、4℃、3min 条件下离心, 取上清液至液相进样瓶, 并用如下液相色谱方法检测多肽的浓度及纯度。

反相色谱条件 流速: 1.0mL/min; 自动进样器温度: 15℃; 柱温: 25℃; 检测波长: 214nm, 流动相 A: 100% H₂O+0.05%TFA, 流动相 B: 100%CAN, 洗脱梯度见下表:

表 4 液相色谱洗脱梯度列表

时间 (min)	0	3	8	13	14	20
B%	25	25	70	70	25	25

结果见下面表 5。

表 5 热加速稳定性的纯度变化

	反相纯度-214nm				
编号	0d	7d	28d	变化(7d-0d)	变化(28d-0d)
Cagrilintide	90.04	82.03	73.89	-8.01	-16.15
M2	85.15	85.16	85.44	0.01	0.29
M4	95	94.22	92.25	-0.78	-2.75
M5	92.36	91.35	91.34	-1.01	-1.02
M6	91.52	90.98	92.33	-0.54	0.81
M7	93	91.39	91.53	-1.61	-1.47
M8	86.93	86.57	87.31	-0.36	0.38
M9	88.15	89.62	90.99	1.47	2.84

M10	94.73	94.89	93.8	0.16	-0.93
-----	-------	-------	------	------	-------

注：变化（7d-0d）=7d 的纯度-0d 的纯度，变化（28d-0d）=28d 的纯度-0d 的纯度。

其中 M6 的稳定性数据，具体见图 1。从图 1 中的结果可以看出，M6 热加速七天甚至一个月之后，反相的谱图基本上没有变化，加热前后的谱图基本重叠。

将衍生物按 1mg/mL 与磷酸二氢钠（1.42mg/mL）混合，溶解于超纯水中，用盐酸/氢氧化钠调节 pH 至 7.4 左右，之后在超净工作台中用 0.22μm 无菌滤器过滤溶液至已灭菌西林瓶中。西林瓶压盖后置于 40℃稳定性试验箱中。分别于 10d 和 20d 进行检测，在实验过程中，观察并记录多肽的性状变化，然后将样品于 10000rpm、4℃、3min 条件下离心，取上清液至液相进样瓶，并用如下液相色谱方法检测多肽的浓度及纯度。

反相色谱条件

流速：1.0mL/min；自动进样器温度：25℃；柱温：25℃；检测波长：214nm，流动相 A：110mM 磷酸盐（pH5.8）：ACN=90：10，流动相 B：ACN：IPA：H₂O=85：5：10，洗脱梯度见表 6：

表 6 液相色谱洗脱梯度列表

时间（min）	0	3	33	43	50	55
B%	28	28	89	89	28	28

实验结果如表 7 所示。

表 7

编号	纯度下降（%）	
	10d	20d
Cagrilintide	44.83	NA
M41	2.93	4.26
M42	4.8	NA
M43	3.6	6.6
M44	21.09	37.35
M45	6.54	NA
M46	8.69	NA

M47	9.25	NA
M48	8.61	NA
M49	8.5	NA
M50	7.76	14.46
M51	23.4	35.42
M52	7.91	15.42
M53	11.82	19.98
M54	11.67	20.56

热稳定性实验结果显示，相比于对照 Cagrilintide 分子组，本申请所述多肽分子均体现出了明显更优的稳定性。

实施例 4 动物实验

采用 SPF 级雄性 SD 大鼠（7-8 周，200-250g），经检疫期后用于本实验研究。实验动物饲养条件室温 20℃~23℃，相对湿度 40%~50%；动物检疫期间和实验过程中，饲料采用 Co60 鼠繁殖饲料 1035，饮水为纯化水，用饮水瓶供应，自由摄水。实验动物按体重平均原则，各衍生物测试组 5 只大鼠，经皮下给予各组大鼠 30 nmol/kg 剂量的衍生物或溶媒（PBS pH7.4）。记录每组的给药时间。给药后，将大鼠放回它们的居住笼，然后在其中它们可以获取食物和水。通过在线记录或手动记录，每 24 小时记录食物消耗和大鼠体重变化。动物实验结果如图 2A 和 2B 所示。

具体的实验结果见图 2A 和 2B，与 Cagrilintide 相比，本申请的候选分子活性要显著高于 Cagrilintide，其中 M6 是活性最高的分子，明显高于 Cagrilintide。

实施例 5 SD 大鼠的药效实验-剂量依赖性研究

采用 SPF 级雄性 SD 大鼠（7-8 周，220-230g），经检疫期后用于本实验研究。实验动物饲养条件室温 20℃~23℃，相对湿度 40%~50%；动物检疫期间和实验过程中，饲料采用 Co60 鼠繁殖饲料 1035，饮水为纯化水，用饮水瓶供应，自由摄水。实验动物按体重平均原则分 10 组（记为 A1-A10），n=5，分别为溶媒（Vehicle）组、Cagrilintide（高、中、低）剂量组、M41（高、中、低）剂量组和 M43（高、中、低）剂量组。实验各给药组化合物及剂量如表 8 所示。采用皮下注射方式，单次给药，实验共 6 天，给药当天

记为 Day1/Time0 (T0)。其中 Day0 记录动物初始体重及添加初始饲料，Day1-Day5 每天记录实验动物体重及剩余食物，并计算体重变化率及食物摄入量，同时记录并汇报任何异常情况。大鼠在实验过程中状态均良好，未观察到大鼠异常现象。体重变化= (BWT_n -BWT₀) / BWT₀*100%，BW 代表体重值，T₀ 和 T_n 分别代表给药时和给药后 n 小时。图中各点采用平均值±标准误差 (standard error of the mean, SEM)方法表示。累积摄食量是给药后在某个时间点之前每个动物摄入的总食物量。分子的量效关系如图 3A-3D 所示。

表 8 剂量依赖性研究实验供试品活性成分和给药剂量

组别	活性成分和剂量
A1	Vehicle
A2	Cagrilintide (10nmol/kg)
A3	Cagrilintide (30nmol/kg)
A4	Cagrilintide (100nmol/kg)
A5	M41 (10nmol/kg)
A6	M41 (30nmol/kg)
A7	M41 (100nmol/kg)
A8	M43 (10nmol/kg)
A9	M43 (30nmol/kg)
A10	M43 (100nmol/kg)

从图 3A-3D 的结果可以看出，M41 和 M43 都剂量依赖性地降低动物体重和摄食量；与 Cagrilintide 相比，同等剂量下 M41 和 M43 降低动物体重和摄食量效果更好。

实施例 6 DIO SD 大鼠的药效实验-剂量依赖性研究

采用 SPF 级雄性 DIO SD 大鼠（36-37 周，680-110g，从 3 周龄开始用高脂饲料饲养 34 周），用于本实验研究。实验动物饲养条件室温 20℃~23℃，相对湿度 40%~50%；动物 DIO 模型构建期间和实验过程中，饲料采用高脂饲料（D12492），饮水为纯化水，用饮水瓶供应，自由饮水。实验动物按体重平均分 6 组（n=5），分别命名为 B1-B6，实验各组给药化合物活性成分

及剂量如表 9 所示。采用皮下注射方式，每天给药 1 次，连续给药 10 天。给药第一天记为 Day1（D1），其中 Day0 记录动物初始体重及添加初始饲料，Day1-Day11 每天记录实验动物体重及剩余食物，并计算体重变化率及食物摄入量，同时记录并汇报任何异常情况。大鼠在实验过程中状态均良好，未观察到大鼠异常现象。体重变化=（BWD_n -BWD₁）/ BWD₁*100%，BW 代表体重值，D₁ 和 D_n 分别代表给药第一天和给药第 N 天。图中各点采用平均值±标准误差（standard error of the mean, SEM）方法表示。累积摄食量是给药后在某个时间点之前每组动物摄入的总食物量。DIO 模型大鼠体重降低及食物抑制效果如图 4A、4B 所示。

表 9 DIO SD 大鼠的药效实验-剂量依赖性研究实验供试品活性成分和给药剂量

组别	活性成分和剂量
B1	Vehicle
B2	Cagrilintide（10nmol/kg）
B3	M41（3nmol/kg）
B4	M41（10nmol/kg）
B5	M43（3nmol/kg）
B6	M43（10nmol/kg）

从图 4A、4B 中的结果可以看出，在 DIO 模型大鼠上 M41 和 M43 都剂量依赖性地降低动物体重和摄食量；与 Cagrilintide 相比，同等剂量下 M41 和 M43 降低动物体重和摄食量效果更好。

实施例 7 SD 大鼠的药效实验-单一剂量筛选

采用 SPF 级雄性 SD 大鼠（7-8 周，220-230g），经检疫期后用于本实验研究。实验动物饲养条件室温 20℃~23℃，相对湿度 40%~50%；动物检疫期间和实验过程中，饲料采用 Co60 鼠繁殖饲料 1035，饮水为纯化水，用饮用水瓶供应，自由饮水。单一剂量筛选实验分先后两次开展，两次实验动物分别按体重平均分组原则分组（n=5），分别命名为 C1-C6，D1-D9。实验各给药组化合物及剂量如表 10 所示。采用皮下注射方式，单次给药，实验共 6 天，给药当天记为 Day1/Time0（T0），Day1-Day5 每天记录实验动物体重及剩

余食物，并计算相对体重变化率及食物摄入量，同时记录并汇报任何异常情况。大鼠在实验过程中状态均良好，未观察到大鼠异常现象。体重变化= $(BWT_n - BWT_0) / BWT_0 * 100\%$ ，BW 代表体重值，T₀ 和 T_n 分别代表给药和给药后 n 小时。图中各点采用平均值±标准误差 (standard error of the mean, SEM)方法表示。不同分子的药效比较如图 5A-5D 所示。

表 10 单一剂量筛选实验供试品活性成分和给药剂量

实验 C		实验 D	
组别	活性成分和剂量	组别	活性成分和剂量
C1	Vehicle	D1	Vehicle
C2	Cagrilintide (30nmol/kg)	D2	Cagrilintide (30nmol/kg)
C3	M45 (30nmol/kg)	D3	M44 (30nmol/kg)
C4	M46 (30nmol/kg)	D4	M49 (30nmol/kg)
C5	M47 (30nmol/kg)	D5	M50 (30nmol/kg)
C6	M48 (30nmol/kg)	D6	M51 (30nmol/kg)
		D7	M52 (30nmol/kg)
		D8	M53 (30nmol/kg)
		D9	M54 (30nmol/kg)

从图 5A-5D 的结果可以看出，与 Cagrilintide 相比，本申请的多肽及其衍生物的药效均与 Cagrilintide 相当或有所提升。

实施例 8 在 SD 大鼠中的药代动力学研究

SPF 级实验动物（雄性，6-8 周，200-240g）检验检疫合格后，按体重平均分为 3 组（n=3），分别为 M41 组，M43 组和 Cagrilintide 组。实验动物经皮下注射相对应供试品（1mg/kg，5ml/kg），给药当天记为 D1。给药 D1 收集动物给药前（-10min）及给药后 D1-2h，D1-4h，D1-6h，D2-24h，D3-48h，D4-72h，D5-96h，D6-120h 全血并制备血浆（EDTA 抗凝）。利用液质联用（LC-MS/MS）方法对血浆中药物分子的浓度进行检测，利用 GraphPad Prism 10 绘制药物浓度-时间曲线，并用 PKSolver 对药物的药代动力学参数（C_{max}、T_{max}、T_{1/2}、AUC、MRT）进行计算。不同分子在血浆中的浓度随时间的变化如图 6 所示。实验结果分析列于表 11 中。

表 11 不同分子的比对结果汇总

参数	单位	Cagrilintide	M41	M43
----	----	--------------	-----	-----

$T_{1/2}$	h	24.7	23.7	21.3
$T_{\max}$	h	24.0	24.0	24.0
$C_{\max}$	ng/mL	3272.7	4784.0	4930.8
AUC_{0-t}	h*ng/mL	172880.2	250219.8	213555.4
AUC_{0-inf_obs}	h*ng/mL	176517.8	256644.0	216800.6
MRT_{0-inf_obs}	h	43.4	45.9	39.0

从图 6 以及表 11 中的数据可以看出,相比于 Cagrilintide, 多肽分子 M41 与 M43 显示出了明显更高的生物暴露量。

虽然本案已以实施例揭露如上然其并非用以限定本案,任何所属技术领域中具有通常知识者,在不脱离本案的精神和范围内,当可作些许的更动与润饰,故本案的保护范围当视后附的专利申请范围所界定者为准。

权利要求书

1. 一种多肽衍生物或其药学上可接受的盐，所述多肽包含如下氨基酸序列：ASX₃LS TAX₈X₉X₁₀ RLADF LRHX₁₉X₂₀ X₂₁X₂₂X₂₃X₂₄X₂₅ ILPPT NVGSN TX₃₇-NH₂

其中：

X₃ 为 E 或 Q；

X₈ 为 A 或 V；

X₉ 为 L 或 T；

X₁₀ 为 G 或 Q；

X₁₉ 为 S 或 F；

X₂₀ 为 S 或 T；

X₂₁ 为 N、Q、E、S、T、A、G、H、K、R 或 D；

X₂₂ 为 N、Q、E、S、NMeAsn、αMeAsn、NMeAsp 或 R；

X₂₃ 为 L 或 D；

X₂₄ 为 K 或 R；

X₂₅ 为 P 或 D；

X₃₇ 为 P 或 trans-Hyp；

所述衍生物包含与所述多肽的 N 末端连接的含脂肪酸的侧链。

2. 根据权利要求 1 所述的衍生物或其药学上可接受的盐，其中，

X₃ 为 Q；

优选地，X₈ X₉ X₁₀ 选自 ALG、VLG、VTQ、ATQ、VLQ 中任意情况；
X₈ X₉ X₁₀ 进一步优选为 ATQ；

更优选地，

X₁₉ 为 F，X₂₀ 为 T，X₂₃ 为 D，X₂₄ 为 R，X₂₅ 为 D，X₃₇ 为 P；进一步优选地，X₂₁ 为 D 或/和 X₂₂ 为 R；

或 X₁₉ 为 S，X₂₀ 为 S，X₂₃ 为 L，X₂₄ 为 K，X₂₅ 为 P，X₃₇ 为 trans-Hyp，进一步优选地，X₂₁ 为 N、Q、E、S、T、A、G、H、K、R 或/和 X₂₂ 为 N、Q、E、S、NMeAsn、αMeAsn、NMeAsp。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的衍生物或其药学上可接受的盐，其中，所述多肽序列包含 SEQ ID No.1 至 SEQ ID No.25 序列中的任一种。

4、根据权利要求 1-3 任一项所述的衍生物或其药学上可接受的盐，所述含有脂肪酸的侧链的形式为 $Z1+Z2+Z3$ ，

其中，Z1 为 C16-C22 脂肪二酸；

Z2 选自 γ Glu, α Glu, β Asp, α Asp, Inp, Trx 中的任一种或 Z2 不存在；

Z3 为 0-6 个 AEEA，例如可以为 0、1、2、3、4、5、6 个；

所述 Z1、Z2 和 Z3 之间依次通过酰胺键连接。

5、根据权利要求 4 所述的衍生物或其药学上可接受的盐，所述多肽衍生物选自 M1 至 M55。

6. 一种多肽，其中，所述多肽包含权利要求 1-5 任一项所涉及的多肽序列。

7、一种药物组合物，其包括权利要求 1-5 任一项所述的衍生物及其药学上可接受的盐或权利要求 6 所述的多肽，以及药学上可接受的辅料。

8、权利要求 1-5 任一项所述的衍生物及其药学上可接受的盐或权利要求 6 所述的多肽在制备预防和/或治疗超重、肥胖症和/或 I 型或 II 型糖尿病和/或骨质疏松症和/或神经性疼痛的药物中的用途。

9、权利要求 1-5 任一项所述的衍生物及其药学上可接受的盐或权利要求 6 所述的多肽在减少食物摄入方面的用途。

10、一种预防和/或治疗超重、肥胖症和/或 I 型或 II 型糖尿病和/或骨质疏松症和/或神经性疼痛的方法，包括向受试者施用预防或治疗有效量的权利要求 1-5 任一项所述的衍生物及其药学上可接受的盐或权利要求 6 所述的多肽或权利要求 7 所述的药物组合物。

11、一种减少食物摄入的方法，包括向受试者施用预防或治疗有效量的权利要求 1-5 任一项所述的衍生物及其药学上可接受的盐或权利要求 6 所述的多肽或权利要求 7 所述的药物组合物。

12. 一种预防和/或治疗胰淀素受体相关疾病或脂肪代谢障碍的方法，包括向受试者施用预防或治疗有效量的权利要求 1-5 任一项所述的衍生物及其药学上可接受的盐或权利要求 6 所述的多肽或权利要求 7 所述的药物组合物。