

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2020 年 10 月 8 日 (08.10.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/199461 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07K 14/605 (2006.01) *C07K 1/06* (2006.01)
C07K 1/20 (2006.01) *C07K 1/08* (2006.01)
C07K 1/04 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2019/101606
- (22) 国际申请日: 2019 年 8 月 20 日 (20.08.2019)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201910249711.5 2019 年 3 月 29 日 (29.03.2019) CN
- (71) 申请人: 深圳翰宇药业股份有限公司 (HYBIO PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园中区翰宇生物医药园办公大楼四层, Guangdong 518057 (CN)。
- (72) 发明人: 陈友金 (CHEN, Youjin); 中国广东省深圳南山区高新技术产业园中区翰宇生物医药园办公大楼四层, Guangdong 518057 (CN)。
尹传龙 (YIN, Chuanlong); 中国广东省深圳市高新技术产业园中区翰宇生物医药园办公大

楼四层, Guangdong 518057 (CN)。 宓鹏程 (MI, Pengcheng); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园中区翰宇生物医药园办公大楼四层, Guangdong 518057 (CN)。 陶安进 (TAO, Anjin); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园中区翰宇生物医药园办公大楼四层, Guangdong 518057 (CN)。 袁建成 (YUAN, Jiancheng); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园中区翰宇生物医药园办公大楼四层, Guangdong 518057 (CN)。

(74) 代理人: 北京市诚辉律师事务所 (BEIJING CHENGHUI LAW FIRM); 中国北京市朝阳区朝阳北路 99 号楼 2 单元 905, Beijing 100123 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,

(54) Title: METHOD FOR SYNTHESIZING POLYPEPTIDE-DERIVED COMPOUND

(54) 发明名称: 一种多肽衍生化合物的合成方法

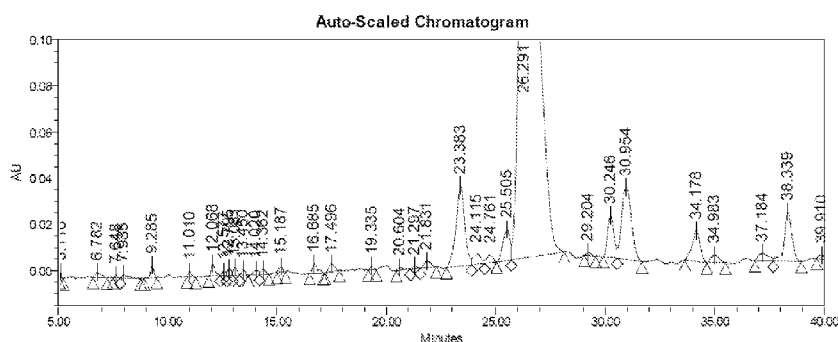


图 6

(57) Abstract: Disclosed is a method for synthesizing a polypeptide-derived compound, comprising the following steps: step 1: attaching Fmoc-Gly-OH to a resin to obtain a Fmoc-Gly resin; step 2: in accordance with a sequence of a peptide-derived compound, sequentially coupling amino acids by a Fmoc/tBu scheme to obtain a peptide resin with a main chain of the polypeptide-derived compound; step 3: removing a protecting group on Lys²⁶ and sequentially coupling Fmoc-AEEA-AEEA-OH and Octadecanoic acid (OtBu)-Glu-OtBu to obtain a peptide resin with the polypeptide-derived compound; step 4: cleaving the peptide resin with the polypeptide-derived compound and simultaneously removing a side chain protecting group to obtain a crude peptide-derived compound; and selectively, step 5: purifying by RP-HPLC to obtain a pure peptide-derived compound. The method is simple and has high synthesis yield as well as high purity.



WO 2020/199461 A1

SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区
保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,
NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG,
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU,
IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,
RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告 (条约第21条(3))。

(57) 摘要: 一种多肽衍生化合物的合成方法, 其包括如下步骤: 步骤1: 将Fmoc-Gly-OH连接到树脂上, 得到Fmoc-Gly树脂; 步骤2: 根据多肽衍生化合物序列, 以Fmoc/tBu策略依次偶联氨基酸, 得到多肽衍生化合物主链肽树脂; 步骤3: 脱除Lys²⁶上的保护基, 依次偶联Fmoc-AEEA-AEEA-OH和Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu, 得到多肽衍生化合物肽树脂; 步骤4: 裂解多肽衍生化合物肽树脂同时脱除侧链保护基, 得到多肽衍生化合物粗品; 任选地, 步骤5: 以RP-HPLC进行纯化, 得到多肽衍生化合物纯品。方法简单, 合成效率高, 纯度高。

一种多肽衍生化合物的合成方法

技术领域

本发明涉及药物合成领域，具体涉及一种多肽衍生化合物的合成方法。

背景技术

由该多肽衍生化合物制备的制剂为每周一次皮下注射，于 2017 年 12 月 5 日获美国 FDA 批准上市。由于该多肽衍生化合物的脂肪链更长，疏水性增加，且经过短链的 PEG 修饰，亲水性大大增强。PEG 修饰后不但可以与白蛋白紧密结合，掩盖 DPP-4 酶水解位点，还能降低肾排泄，可延长生物半衰期，达到长循环的效果。

上述多肽衍生化合物化学名为 $N^{6,26}$ -{18-[N-(17-carboxyheptadecanoyl)-L- γ -glutamyl]-10-oxo-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-diazaoctadecanoyl}-[8-(2-amino-2-propanoic acid),34-L-arginine]human glucagon-like peptide 1(7-37)，分子式为 $C_{187}H_{291}N_{45}O_{59}$ ，分子量为 4113.5775，序列为 H-His⁷-Aib⁸-Glu⁹-Gly¹⁰-Thr¹¹-Phe¹²-Thr¹³-Ser¹⁴-Asp¹⁵-Val¹⁶-Ser¹⁷-Ser¹⁸-Tyr¹⁹-Leu²⁰-Glu²¹-Gly²²-Gln²³-Ala²⁴-Ala²⁵-Lys²⁶(PEG-PEG- γ -Glu-Octadecanoic acid)-Glu²⁷-Phe²⁸-Ile²⁹-Ala³⁰-Trp³¹-Leu³²-Val³³-Arg³⁴-Gly³⁵-Arg³⁶-Gly³⁷-OH。

CN101133082A 提供了固相逐步合成和先固相合成主链再液相修饰得到多肽衍生化合物两种方法，第一种方法容易产生大量的缺省杂质，难以得到高质量的产品，第二种方法需要先 RP-HPLC 纯化主链，且修饰反应较杂，成本高，收率低。CN108059666B 使用了大量的短肽片段进行固相合成，这些片段并没有商业化，定制成本很高，不适合规模化生产。

发明内容

本发明采用 Fmoc/tBu 固相方法合成，并在一些特殊位置分别使用 Fmoc-AEEA-AEEA-OH、Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu、Fmoc-Gln(Trt)-Ala-OH 和 Fmoc-Aib-Glu(OtBu)-OH 等全保护二肽片段，既针对性的解决了产品中的主要缺省杂质，又可以降低生产成本，得到高收率和高质量的产品，适合规模化生产。

本发明一个方面提供了一种多肽衍生化合物的合成方法，其包括如下步骤：

步骤1：将Fmoc-Gly-OH连接到固相合成树脂上，得到Fmoc-Gly-树脂；

步骤2：根据多肽衍生化合物序列，以Fmoc/tBu策略依次偶联Fmoc-Arg³⁶(pbf)-OH、Fmoc-Gly³⁵-OH、Fmoc-Arg³⁴(pbf)-OH、Fmoc-Val³³-OH、Fmoc-Leu³²-OH、Fmoc-Trp³¹(Boc)-OH、

Fmoc-Ala³⁰-OH、Fmoc-Ile²⁹-OH、Fmoc-Phe²⁸-OH、Fmoc-Glu²⁷(OtBu)-OH、Fmoc-Lys²⁶(X)-OH、Fmoc-Ala²⁵-OH、Fmoc-Gln²³(Trt)-Ala²⁴-OH、Fmoc-Gly²²-OH、Fmoc-Glu²¹(OtBu)-OH、Fmoc-Leu²⁰-OH、Fmoc-Tyr¹⁹(tBu)-OH、Fmoc-Ser¹⁸(tBu)-OH、Fmoc-Ser¹⁷(tBu)-OH、Fmoc-Val¹⁶-OH、Fmoc-Asp¹⁵(OtBu)-OH、Fmoc-Ser¹⁴(tBu)-OH、Fmoc-Thr¹³(tBu)-OH、Fmoc-Phe¹²-OH、Fmoc-Thr¹¹(tBu)-OH、Fmoc-Gly¹⁰-OH、Fmoc-Aib⁸-Glu⁹(OtBu)-OH和Y-His⁷(Z)-OH，得到多肽衍生化合物主链肽树脂；

步骤3：脱除Lys²⁶上的保护基，依次偶联Fmoc-AEEA-AEEA-OH和Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu，得到多肽衍生化合物肽树脂；

步骤4：裂解多肽衍生化合物肽树脂同时脱除侧链保护基，得到多肽衍生化合物粗品；

任选地，步骤5：以RP-HPLC进行纯化，得到多肽衍生化合物纯品。

在本发明的技术方案中，所述的多肽衍生化合物为序列为H-His⁷-Aib⁸-Glu⁹-Gly¹⁰-Thr¹¹-Phe¹²-Thr¹³-Ser¹⁴-Asp¹⁵-Val¹⁶-Ser¹⁷-Ser¹⁸-Tyr¹⁹-Leu²⁰-Glu²¹-Gly²²-Gln²³-Ala²⁴-Ala²⁵-Lys²⁶(PEG-PEG-γ-Glu-Octadecanoic acid)-Glu²⁷-Phe²⁸-Ile²⁹-Ala³⁰-Trp³¹-Leu³²-Val³³-Arg³⁴-Gly³⁵-Arg³⁶-Gly³⁷-OH的化合物。

步骤1中使用的固相合成树脂为2-Chlorotrityl resin，Wang resin或者Rink Acid resin；

步骤1中使用的树脂替代度为0.3~0.6mmol/g，优选0.4~0.5mmol/g；

步骤1中Fmoc-Gly-树脂的替代度为0.3~0.5mmol/g，优选0.3~0.4mmol/g；

步骤1和步骤2中连接Fmoc-Gly-OH以及Fmoc-Arg(pbf)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Arg(pbf)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Trp(Boc)-OH、Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Lys(X)-OH、Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Gln(Trt)-Ala-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Tyr(tBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Aib-Glu(OtBu)-OH和Y-His(Z)-OH的偶联剂为DIC+A或B+A+C，其中A为HOBt或HOAt，B为HBTU、HATU、TBTU或PyBOP，C为DIPEA或TMP。

步骤1中Fmoc-Lys(X)-OH的X是ε氨基保护基，选自Mmt，ivDDe，DDe，Mtt或Alloc；

步骤1中Y-His(Z)-OH的Y和Z都是氨基保护基，Y-His(Z)-OH选自Boc-His(Boc)-OH，Boc-His(trt)-OH或Trt-His(Boc)-OH；

步骤3中Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu的合成方法为：

3-1) 十八烷二酸单叔丁酯在HONB和DIC作用下获得Octadecanoic acid(OtBu)-ONB;

3-2) H-Glu-OtBu和Octadecanoic acid(OtBu)-ONB在碱性水溶液中反应获得Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu, 并通过结晶纯化。

步骤3中Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu的结晶溶剂为甲醇、乙腈、乙腈和水的组合、四氢呋喃和水的组合, 优选为乙腈和水的组合, 结晶温度为2~8℃;

步骤4中肽树脂的裂解时间为2~4h, 优选3~4h;

步骤4中裂解温度为18~35℃, 优选25~30℃。

步骤4中的裂解试剂为TFA, 苯酚和EDT的水溶液, 优选为TFA:苯酚:H₂O:EDT=85-90:3-8:3-8:1-5, v/v。

步骤5中的色谱柱条件为两步纯化, 具体包括如下步骤:

第一步纯化条件: 色谱柱: 以十八烷基硅烷键合硅胶填料为固定相的色谱柱,

柱子直径和长度为: 10cm×25cm. 流动相: A 相: 0.1%磷酸, 用三乙胺调节pH8.5; B 相: 乙腈溶液。流速: 190-210ml/min。检测波长: 280nm。梯度: 流动相B 的质量百分浓度: 30-60%, 线性梯度洗脱, 收集目的峰, 目的峰浓缩后进行第二步纯化;

第二步纯化条件: 色谱柱: 以十八烷基硅烷键合硅胶为固定相的色谱柱, 柱子直径和长度为: 10cm×25cm, 流动相A: 0.01% 的磷酸水溶液; B 相: 色谱纯乙腈溶液; 流速: 190-210ml/min ; 检测波长: 280nm. 梯度: 流动相B 的质量百分浓度: 35-45%。

有益效果

1、针对关键问题选择性的使用二肽片段, 避免了多肽衍生化合物合成过程中缺省杂质Des-Glu³, Des-Aib², Des-AEEA, Des-Gln²³, Des-十八烷二酸, 既可以得到高收率高质量的产品, 又可以保证原料的商业化、生产成本的降低, 适合大规模生产;

2、Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu结晶工艺保证了原料的高质量和供给, 利于商业化生产。

缩写及英文含义

缩写及英文	含义
Boc	叔丁氧羰基
TFA	三氟乙酸
EDT	1, 2-乙二硫醇
tBu	叔丁基
Trt	三苯甲基

HOBt	1-羟基苯并三唑
HONb	N-羟基-5-降冰片烯-2,3-二甲酰亚胺
DIC	N,N'-二异丙基碳二亚胺
Na ₂ CO ₃	碳酸钠
Na ₂ SO ₄	硫酸钠
THF	四氢呋喃
DCM	二氯甲烷
EA	乙酸乙酯
DMF	N,N-二甲基甲酰胺
20%DBLK	20%哌啶/N,N-二甲基甲酰胺
MeOH	甲醇
Aib	2-氨基异丁酸
Octadecanoic acid	十八烷二酸
Octadecanoic acid(OtBu)	十八烷二酸单叔丁酯

。

附图说明

图 1 为 Octadecanoic acid(OtBu)-ONB 的质谱图。

图 2 为 Octadecanoic acid(OtBu)-ONB HPLC 的谱图。

图 3 为 Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu 质谱。

图 4 为 Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu HPLC 谱图。

图 5 为实施例 11 的多肽衍生化合物粗品质谱。

图 6 为实施例 11 多肽衍生化合物粗品 HPLC 谱图。

图 7 为实施例 14 的多肽衍生化合物纯品质谱。

图 8 为实施例 14 多肽衍生化合物纯品 HPLC 谱图。

具体实施方式

实施例1: Octadecanoic acid(OtBu)-ONB的合成



将十八烷二酸单叔丁酯 (37.1g, 100mmol) 和HONB (2.1.5g, 120mmol) 溶解在400ml 四氢呋喃中, 冰盐浴下加入DIC(23.2ml, 150mmol), 搅拌反应2h, 撤掉冰盐浴, 室温搅拌反应4h。过滤, 滤液真空浓缩, 残留物用乙腈结晶, 得到48.04白色固体, 收率: 87.38%, 纯度: 98.78%, MS: 476.23(M-tBu+H⁺), 531.17(M+H⁺), 554.29(M+Na⁺)。

实施例2: Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu的合成

将H-Glu-OtBu(18.17g, 89.4mmol)和Na₂CO₃(37.9g, 357.6mmol)溶解在300ml H₂O中, 室温搅拌下缓慢滴加Octadecanoic acid(OtBu)-ONB(47.486g, 89.4mmol)的THF(300ml)溶液, 滴加完毕后继续反应16h, 真空浓缩掉THF, 往水相中补加300ml水, EA萃取2次, 合并有机相, 1M HCl洗3次, 水洗3次, 饱和食盐水洗2次, 无水Na₂SO₄干燥, 真空浓缩, 残留物用乙腈和水结晶, 结晶温度为5摄氏度, 得到43.686 白色固体, 收率: 90.32%, 纯度: 98.55%, MS: 556.12(M+H⁺), 578.31(M+Na⁺)。

实施例3: Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu的合成

将H-Glu-OtBu(2.03g, 10mmol)和Na₂CO₃(4.24g, 40mmol)溶解在40ml H₂O中, 室温搅拌下缓慢滴加Octadecanoic acid(OtBu)-ONB(5.31g, 10mmol)的THF(40ml)溶液, 滴加完毕后继续反应16h, 真空浓缩掉THF, 往水相中补加40ml水, EA萃取2次, 合并有机相, 1M HCl洗3次, 水洗3次, 饱和食盐水洗2次, 无水Na₂SO₄干燥, 真空浓缩, 残留物用甲醇结晶, 结晶温度为5摄氏度, 得到2.54g 白色固体, 收率: 45.8%, 纯度: 95.32%, MS: 556.12(M+H⁺), 578.31(M+Na⁺)。

实施例4: Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu的合成

将H-Glu-OtBu(2.03g, 10mmol)和Na₂CO₃(4.24g, 40mmol)溶解在40ml H₂O中, 室温搅拌下缓慢滴加Octadecanoic acid(OtBu)-ONB(5.31g, 10mmol)的THF(40ml)溶液, 滴加完毕后继续反应16h, 真空浓缩掉THF, 往水相中补加40ml水, EA萃取2次, 合并有机相, 1M HCl洗3次, 水洗3次, 饱和食盐水洗2次, 无水Na₂SO₄干燥, 真空浓缩, 残留物用乙腈结晶, 结晶温度为5摄氏度, 得到2.86g 白色固体, 收率: 51.5%, 纯度: 96.14%, MS: 556.12(M+H⁺), 578.31(M+Na⁺)。

实施例5: Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu的合成

将H-Glu-OtBu(2.03g, 10mmol)和Na₂CO₃(4.24g, 40mmol)溶解在40ml H₂O中, 室温搅拌下缓慢滴加Octadecanoic acid(OtBu)-ONB(5.31g, 10mmol)的THF(40ml)溶液, 滴加完毕后继续反应16h, 真空浓缩掉THF, 往水相中补加40ml水, EA萃取2次, 合并有机相, 1M HCl洗3次, 水洗3次, 饱和食盐水洗2次, 无水Na₂SO₄干燥, 真空浓缩, 残留物用四氢呋喃和水结晶, 结晶温度为5摄氏度, 得到3.24g 白色固体, 收率: 58.4%, 纯度: 96.81%, MS: 556.12(M+H⁺), 578.31(M+Na⁺)。

实施例6:Fmoc-Gly-Wang树脂的合成

将0.4mmol/g的Wang树脂(25g, 10mmol)加入固相反应柱, DMF洗涤2次, DMF溶胀30min, DMF洗涤2次, 抽干。

将Fmoc-Gly-OH(8.92g, 30mmol)和HOBt(4.86g, 36mmol)溶解在50ml DMF中, 冰浴条件下加入DIC(4.54g, 36mmol), 搅拌活化5min, 将活化液投入上述装有Wang树脂的固相反应柱, 氮气搅拌下加入DMAP(0.37g, 0.3mmol), 室温反应2h, 抽干反应液, DMF洗涤6次, DCM洗涤3次, 等摩尔比的Ac₂O/吡啶混合溶液封闭6h, 抽干, DCM洗涤6次, 甲醇收缩3次(5min+5min+10min), 真空干燥, 取小样测替代度Sub=0.371mmol/g。

实施例7:Fmoc-Gly-CTC树脂的合成

将0.5mmol/g的2-CTC树脂(20g, 10mmol)加入固相反应柱, DMF洗涤2次, DMF溶胀30min, DMF洗涤2次, 抽干。

将Fmoc-Gly-OH(8.92g, 30mmol)溶解在50ml DMF中, 冰浴条件下加入DIPEA(7.75g, 60mmol), 搅拌活化5min, 将活化液投入上述装有2-CTC树脂的固相反应柱, 室温氮气搅拌反应2h, 向反应液中加入MeOH (6.41g, 0.2mol), 继续氮气搅拌反应20min, 抽干反应液, DMF洗涤6次, DCM洗涤3次, 甲醇收缩3次(5min+5min+10min), 真空干燥, 取小样测替代度Sub=0.412mmol/g。

实施例8:多肽衍生化合物肽树脂的合成

将0.371mmol/g的Fmoc-Gly-Wang树脂(13.48g, 5mmol)加入固相反应柱, DMF洗涤2次, DMF溶胀30min, DMF洗涤2次, 20%DBLK脱保护2次(10min+15min), DMF洗涤6次, 抽干待用。

将Fmoc-Arg(pbf)-OH(9.73g, 15mmol)和HOBt(2.43g, 18mmol)溶解在DMF(25ml)中, 冰浴条件下加入DIC(2.27g, 18mmol), 活化5min, 将活化液加入到上述固相反应柱中, 室温鼓氮气搅拌反应2h, 抽掉反应液, DMF洗涤3次, 20%DBLK脱保护2次(5min+7min), DMF洗涤6次。

根据多肽衍生化合物序列, 按上述方法依次偶联Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Arg(pbf)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Trp(Boc)-OH、Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Lys(Mmt)-OH、Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Gln(Trt)-Ala-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Tyr(tBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、

Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Aib-Glu(OtBu)-OH和Boc-His(trt)-OH，得到多肽衍生化合物主链肽树脂。

将上述多肽衍生化合物主链肽树脂用DCM洗涤6次，2%TFA/3%TIS/DCM脱Lys²⁶的Mmt保护(10min×12)，DCM洗涤6次，DMF洗涤3次，依次偶联Fmoc-AEEA-AEEA-OH和Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu，DMF洗涤6次，DCM洗涤6次，甲醇收缩3次(5min+5min+10min)，真空干燥得到38.61g多肽衍生化合物肽树脂。

实施例9:多肽衍生化合物肽树脂的合成

将0.371mmol/g的Fmoc-Gly-Wang树脂(13.48g，5mmol)加入固相反应柱，DMF洗涤2次，DMF溶胀30min，DMF洗涤2次，20%DBLK脱保护2次(10min+15min)，DMF洗涤6次，抽干待用。

将Fmoc-Arg(pbf)-OH(9.73g，15mmol)和HOBt(2.43g，18mmol)溶解在DMF(25ml)中，冰浴条件下加入DIC(2.27g，18mmol)，活化5min，将活化液加入到上述固相反应柱中，室温鼓氮气搅拌反应2h，抽掉反应液，DMF洗涤3次，20%DBLK脱保护2次(5min+7min)，DMF洗涤6次。

根据多肽衍生化合物序列，按上述方法依次偶联Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Arg(pbf)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Trp(Boc)-OH、Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Lys(Mmt)-OH、Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Gln(Trt)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Tyr(tBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Aib-OH和Boc-His(trt)-OH，得到多肽衍生化合物主链肽树脂。

将上述多肽衍生化合物主链肽树脂用DCM洗涤6次，2%TFA/3%TIS/DCM脱Lys²⁶的Mmt保护(10min×12)，DCM洗涤6次，DMF洗涤3次，依次偶联Fmoc-AEEA-OH、Fmoc-AEEA-OH、Fmoc-Glu-OtBu和Octadecanoic acid-OtBu，DMF洗涤6次，DCM洗涤6次，甲醇收缩3次(5min+5min+10min)，真空干燥得到38.51g多肽衍生化合物肽树脂。

实施例10:多肽衍生化合物肽树脂的合成

将0.412mmol/g的Fmoc-Gly-CTC树脂(12.14g，5mmol)加入固相反应柱，DMF洗涤2次，DMF溶胀30min，DMF洗涤2次，20%DBLK脱保护2次(10min+15min)，DMF洗涤6次，抽干待用。

将Fmoc-Arg(pbf)-OH(9.73g, 15mmol)、PyBOP (7.81g, 15mmol) 和HOBt(2.43g, 18mmol)溶解在DMF(25ml)中, 冰浴条件下加入DIPEA(2.58g, 20mmol), 活化5min, 将活化液加入到上述固相反应柱中, 室温鼓氮气搅拌反应2h, 抽掉反应液, DMF洗涤3次, 20%DBLK脱保护2次(5min+7min), DMF洗涤6次。

根据多肽衍生化合物序列, 按上述方法依次偶联Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Arg(pbf)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Trp(Boc)-OH、Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Lys(Alloc)-OH、Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Gln(Trt)-Ala-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Tyr(tBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Aib-Glu(OtBu)-OH和Boc-His(Boc)-OH, 得到多肽衍生化合物主链肽树脂。

将上述多肽衍生化合物主链肽树脂用DCM洗涤6次, 2%TFA/3%TIS/DCM脱Lys26的Mmt保护(10min×12), DCM洗涤6次, DMF洗涤3次, 依次偶联Fmoc-AEEA-AEEA-OH和Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu, DMF洗涤6次, DCM洗涤6次, 甲醇收缩3次(5min+5min+10min), 真空干燥得到34.59g多肽衍生化合物肽树脂。

实施例11:多肽衍生化合物肽树脂的裂解

将实施例8的38.61g多肽衍生化合物肽树脂加入到500ml的圆底烧瓶中, 加入400ml冰冻2~4h裂解液(TFA:Phenol:H₂O:EDT=87.5:5:5:2.5, v/v), 18℃下搅拌反应2~4h, 过滤, 滤液用4L冰冻无水乙醚沉降, 离心收集固体, 无水乙醚洗涤3次, 真空干燥后得到19.58g多肽衍生化合物粗品, 收率: 95.2%, 纯度: 72.66%, MS:4111.846(M+H⁺)。

实施例12:多肽衍生化合物肽树脂的裂解

将实施例9的38.51g多肽衍生化合物肽树脂加入到500ml的圆底烧瓶中, 加入400ml冰冻2~4h裂解液(TFA:Phenol:H₂O:EDT=87.5:5:5:2.5, v/v), 35℃下搅拌反应2~4h, 过滤, 滤液用4L冰冻无水乙醚沉降, 离心收集固体, 无水乙醚洗涤3次, 真空干燥后得到19.58g多肽衍生化合物粗品, 收率: 93.2%, 纯度: 43.37%, MS:4111.846(M+H⁺)。

实施例13:多肽衍生化合物肽树脂的裂解

将实施例10的34.59g多肽衍生化合物肽树脂加入到500ml的圆底烧瓶中, 加入350ml冰冻2~4h裂解液(TFA:DTT:H₂O=90:5:5, v/v), 30℃下搅拌反应2~4h, 过滤, 滤液用4L冰冻无水乙醚沉降, 离心收集固体, 无水乙醚洗涤3次, 真空干燥后得到17.69g多肽衍生化合物粗品, 收率: 86.0%, 纯度: 70.79%, MS:4111.846(M+H⁺)。

实施例14: RP-HPLC制备多肽衍生化合物纯品

取多肽衍生化合物19.58克,用400ml水溶解,用氨水助溶, pH8.0-9.0,样品过0.45 μ m滤膜后,进行反相纯化。

第一步纯化条件: 色谱柱: 以十八烷基硅烷键合硅胶填料为固定相的色谱柱,

柱子直径和长度为: 10cm $\times$ 25cm. 流动相: A 相: 0.1%磷酸, 用三乙胺调节pH8.5; B 相: 乙腈溶液。流速: 190-210ml/min。检测波长: 280nm。梯度: 流动相B 的质量百分浓度: 30-60%, 梯度处理时间60min。进样量为19.58g ;

纯化过程: 色谱柱以上的乙腈冲洗干净后上样, 上样量为溶解过滤之后的样品溶液。线性梯度洗脱, 收集目的峰, 纯度为90% 左右, 将收集好的肽溶液放置收集瓶中备用;

第二步纯化条件: 色谱柱: 以十八烷基硅烷键合硅胶为固定相的色谱柱, 柱子直径和长度为: 10cm $\times$ 25cm, 流动相A: 0.01% 的磷酸水溶液; B 相: 色谱纯乙腈溶液; 流速: 190-210ml/min ; 检测波长: 280nm. 梯度: 流动相B 的质量百分浓度: 35-45%, 梯度处理时间45-60min ; 进样量为第一步纯化浓缩之后含量99% 的样品溶液;

纯化过程: 将色谱柱以上的乙腈冲洗干净后上样, 上样量为第一步纯化浓缩之后含量90% 的样品溶液, 线性梯度洗脱, 收集目的峰, 纯度为99% 左右, 将收集好的肽溶液放置收集瓶中备用;

脱盐: 色谱柱: 以十八烷基硅烷键合硅胶为固定相的色谱柱, 柱子直径和长度为: 10cm $\times$ 25cm, 流动相A: 水溶液; B 相: 色谱纯乙腈溶液; 流速: 190-210ml/min ; 检测波长: 280nm. 梯度: 流动相B 的质量百分浓度: 35-45%, 梯度处理时间45min ;

纯化过程: 将色谱柱以上的乙腈冲洗干净后上样, 上样量为第二步纯化浓缩之后含量99% 的样品溶液, 线性梯度洗脱, 收集目的峰, 将收集好的肽溶液冻干; 得到精肽6.0克, 纯度: 99.84%, 总收率: 29.18%, MS: 2057.209(M+2H⁺), 4111.991(M+H⁺)。

权 利 要 求 书

1、一种多肽衍生化合物的合成方法，其包括如下步骤：

步骤1：将Fmoc-Gly-OH连接到固相合成树脂上，得到Fmoc-Gly-树脂；

步骤2：根据多肽衍生化合物序列，以Fmoc/tBu策略依次偶联Fmoc-Arg(pbf)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Arg(pbf)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Trp(Boc)-OH、Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Lys(X)-OH、Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Gln(Trt)-Ala-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Tyr(tBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Asp(OtBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Aib-Glu(OtBu)-OH和Y-His(Z)-OH，得到多肽衍生化合物主链肽树脂；

步骤3：脱除Lys²⁶上的保护基，依次偶联Fmoc-AEEA-AEEA-OH和Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu，得到多肽衍生化合物肽树脂；

步骤4：裂解多肽衍生化合物肽树脂同时脱除侧链保护基，得到多肽衍生化合物粗品；

任选地，步骤5：以RP-HPLC进行纯化，得到多肽衍生化合物纯品；

其中X，Y和Z为独立选择的氨基保护基；

所述的多肽衍生化合物为序列为H-His⁷-Aib⁸-Glu⁹-Gly¹⁰-Thr¹¹-Phe¹²-Thr¹³-Ser¹⁴-Asp¹⁵-Val¹⁶-Ser¹⁷-Ser¹⁸-Tyr¹⁹-Leu²⁰-Glu²¹-Gly²²-Gln²³-Ala²⁴-Ala²⁵-Lys²⁶(PEG-PEG-γ-Glu-Octadecanoic acid)-Glu²⁷-Phe²⁸-Ile²⁹-Ala³⁰-Trp³¹-Leu³²-Val³³-Arg³⁴-Gly³⁵-Arg³⁶-Gly³⁷-OH的化合物。

2、根据权利要求1所述的合成方法，步骤1中使用的固相合成树脂选自2-Chlorotrityl resin，Wang resin或者Rink Acid resin，优选地，固相合成树脂替代度为0.3~0.6mmol/g，更优选为0.4~0.5mmol/g。

3、根据权利要求1-2任一项所述的合成方法，X选自Mmt，ivDDe，DDe，Mtt或Alloc；Y-His(Z)-OH选自Boc-His(Boc)-OH，Boc-His(trt)-OH或Trt-His(Boc)-OH。

4、根据权利要求1-3任一项所述的合成方法，步骤1和步骤2中连接Fmoc-Gly-OH以及Fmoc-Arg(pbf)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Arg(pbf)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Trp(Boc)-OH、Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、

Fmoc-Lys (X)-OH、Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Gln (Trt)-Ala-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Glu (OtBu)-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Tyr (tBu)-OH、Fmoc-Ser (tBu)-OH、Fmoc-Ser (tBu)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Asp (OtBu)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Thr (tBu)-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Thr (tBu)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Aib-Glu (OtBu)-OH和Y-His (Z)-OH的偶联剂为DIC + A或B + A + C，其中A为HOBt或HOAt，B为HBTU、HATU、TBTU或PyBOP，C为DIPEA或TMP。

5、根据权利要求1-4任一项所述的合成方法，步骤3中Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu的合成方法为：

3-1) 十八烷二酸单叔丁酯在HONB和DIC作用下获得Octadecanoic acid(OtBu)-ONB；

3-2) H-Glu-OtBu和Octadecanoic acid(OtBu)-ONB在碱性水溶液中反应获得Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu，并通过结晶纯化。

6、根据权利要求1-5任一项所述的合成方法，步骤3中Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu的结晶溶剂为甲醇、乙腈、乙腈和水的组合、四氢呋喃和水的组合，优选为乙腈和水的组合，结晶温度为2~8℃。

7、根据权利要求1-6任一项所述的合成方法，步骤4中的裂解时间为2~4h，优选3~4h。

8、根据权利要求1-7任一项所述的合成方法，步骤4中的裂解温度为18~35℃，优选25~30℃。

9、根据权利要求1-8任一项所述的合成方法，步骤4中的裂解试剂为TFA，苯酚和EDT的水溶液，优选为TFA:苯酚:H₂O:EDT=85-90:3-8:3-8:1-5，v/v。

10、根据权利要求1-9任一项所述的合成方法，步骤5中的色谱柱条件为两步纯化，具体包括如下步骤：

第一步纯化条件：色谱柱：以十八烷基硅烷键合硅胶填料为固定相的色谱柱，

柱子直径和长度为：10cm×25cm. 流动相：A 相：0.1%磷酸，用三乙胺调节pH8.5；B 相：乙腈溶液，流速：190-210ml/min，检测波长：280nm，梯度：流动相B 的质量百分浓度：30-60%，线性梯度洗脱，收集目的峰，目的峰浓缩后进行第二步纯化；

第二步纯化条件：色谱柱：以十八烷基硅烷键合硅胶为固定相的色谱柱，柱子直径和长度为：10cm×25cm，流动相A：0.01%的磷酸水溶液；B相：色谱纯乙腈溶液；流速：190-210ml/min；检测波长：280nm. 梯度：流动相B的质量百分浓度：35-45%。

20181105-9 #8-15 RT: 0.22-0.43 AV: 8 NL: 2.07E5
T: FTMS + c ESI2 ms [50.00-2000.00]

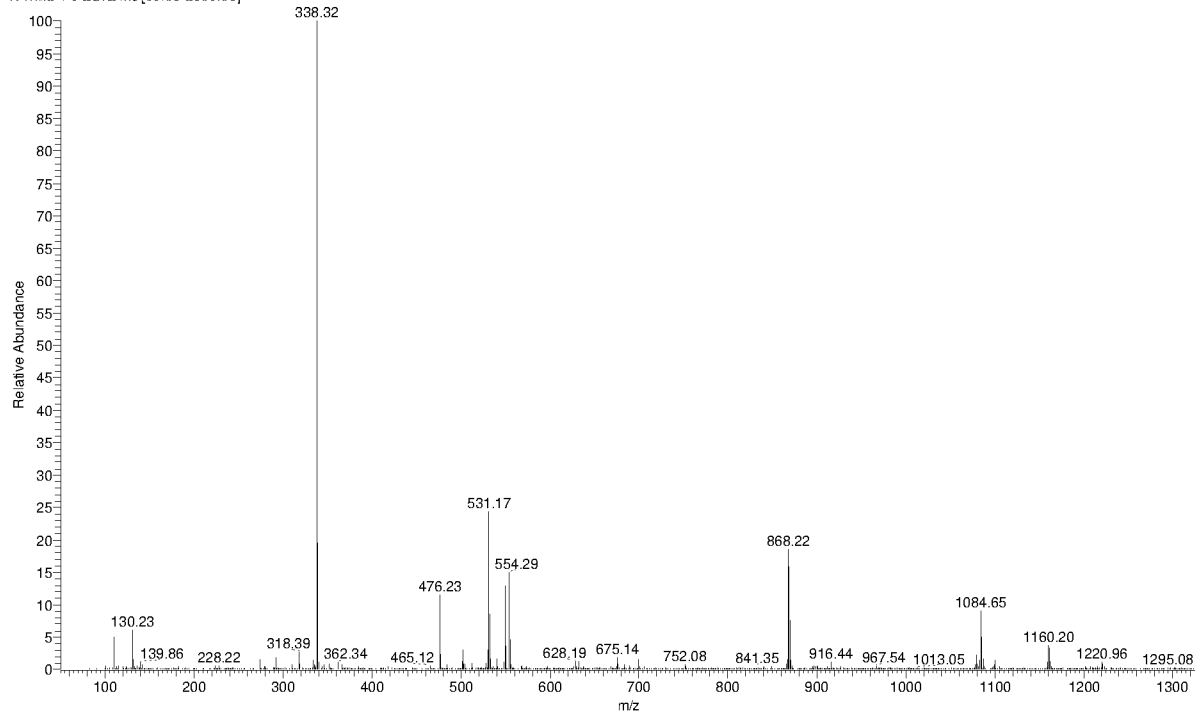


图 1

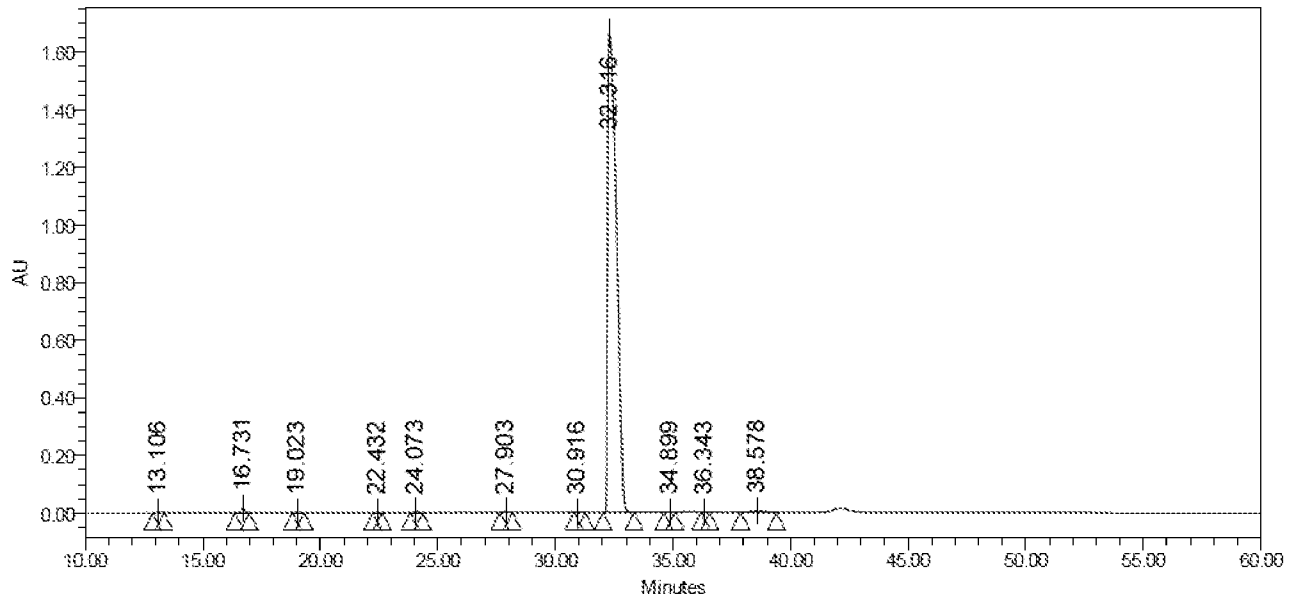


图 2

20181011-8 #10 RT: 0.28 AV: 1 NL: 2.08E6
T: ITMS + c ESI Z ms [50.00-2000.00]

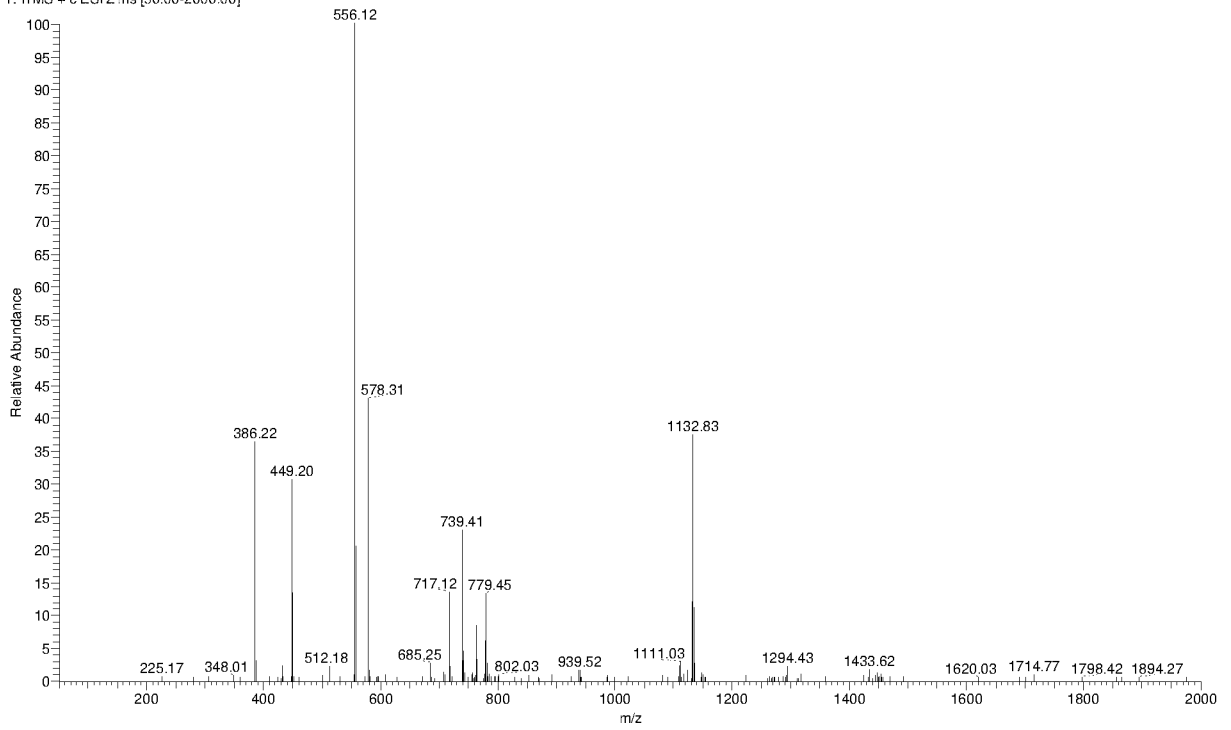


图 3

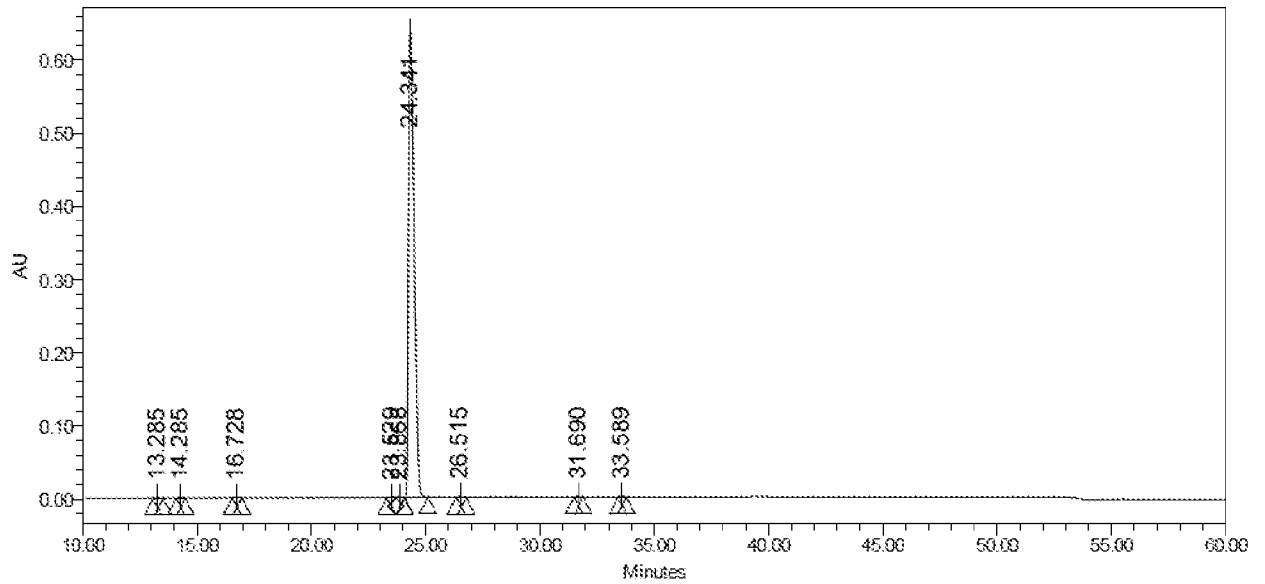


图 4

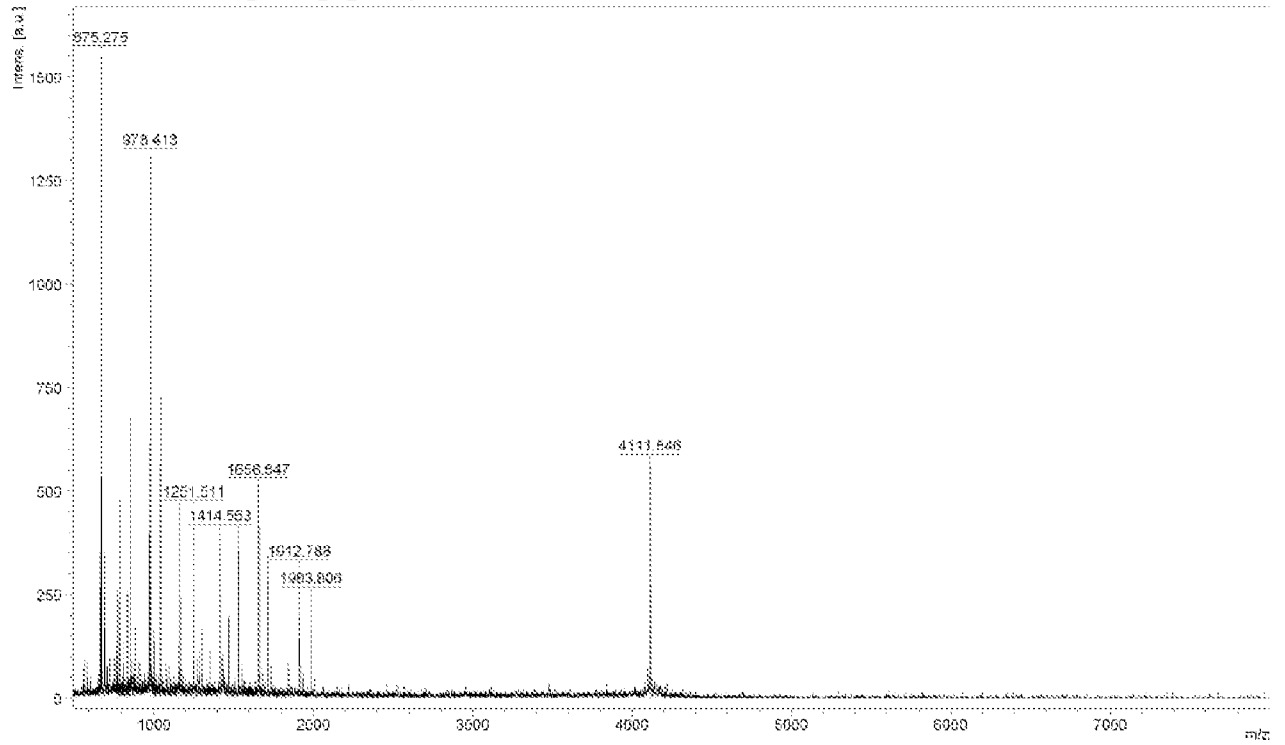


图 5

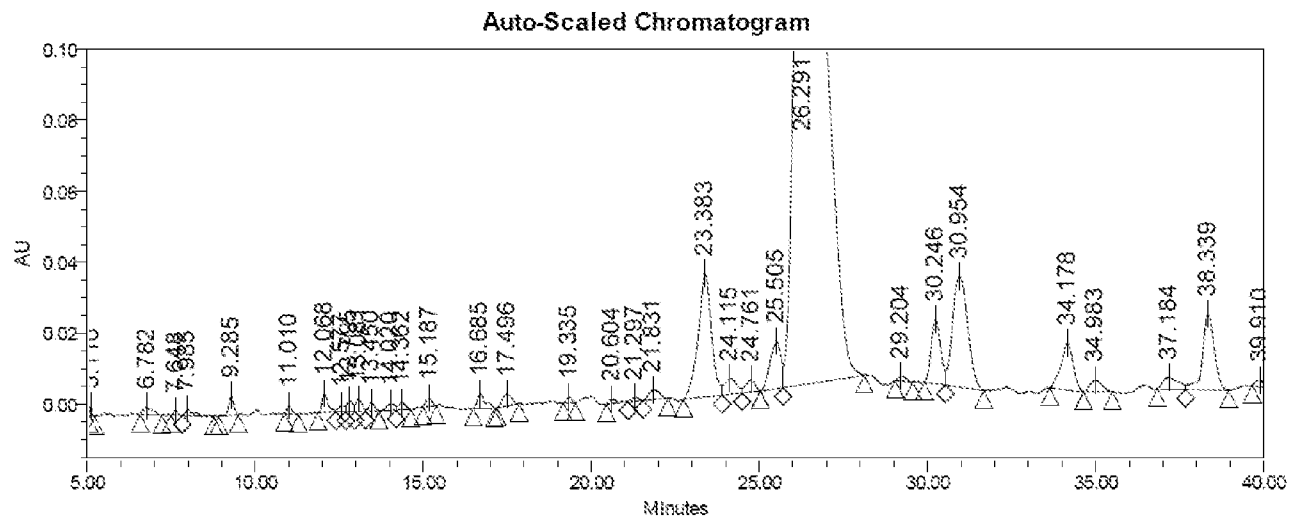


图 6

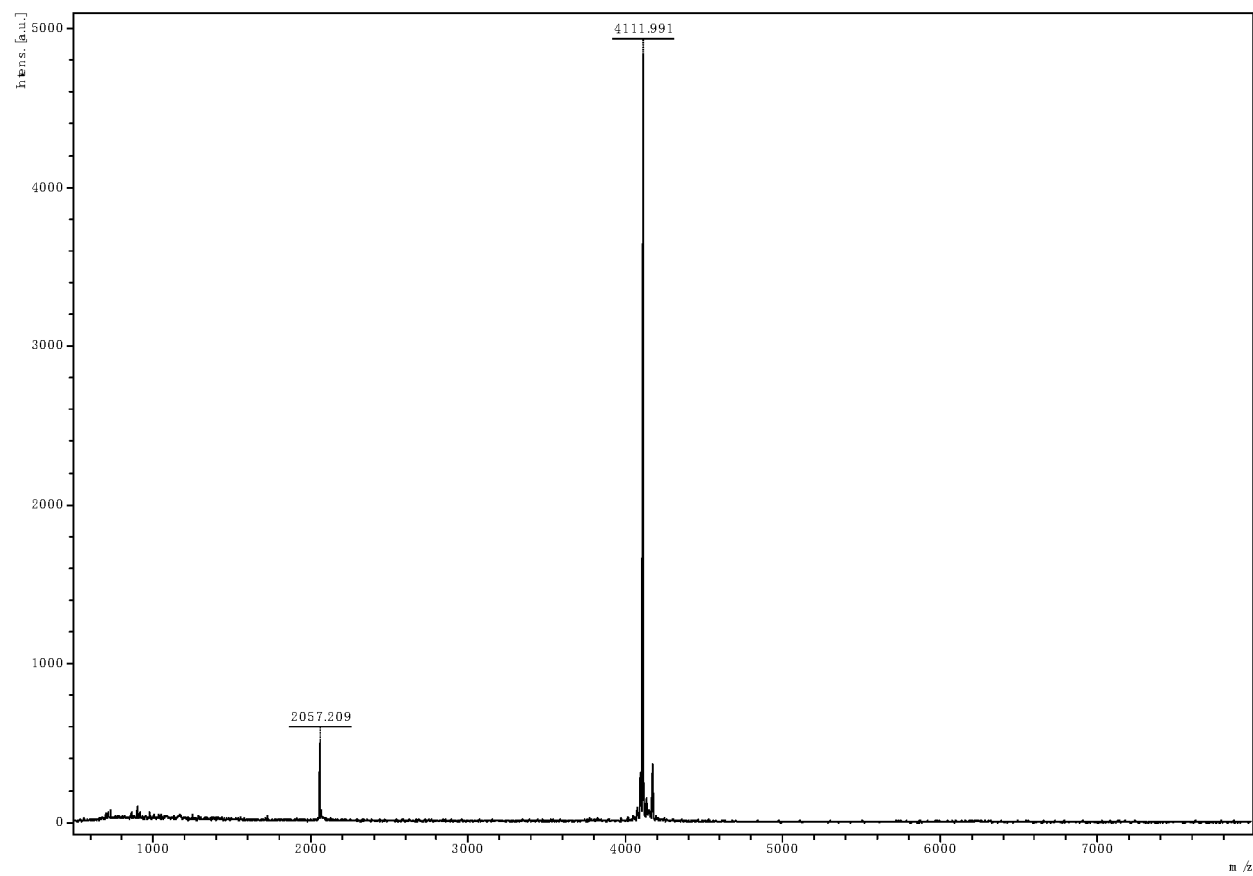


图 7

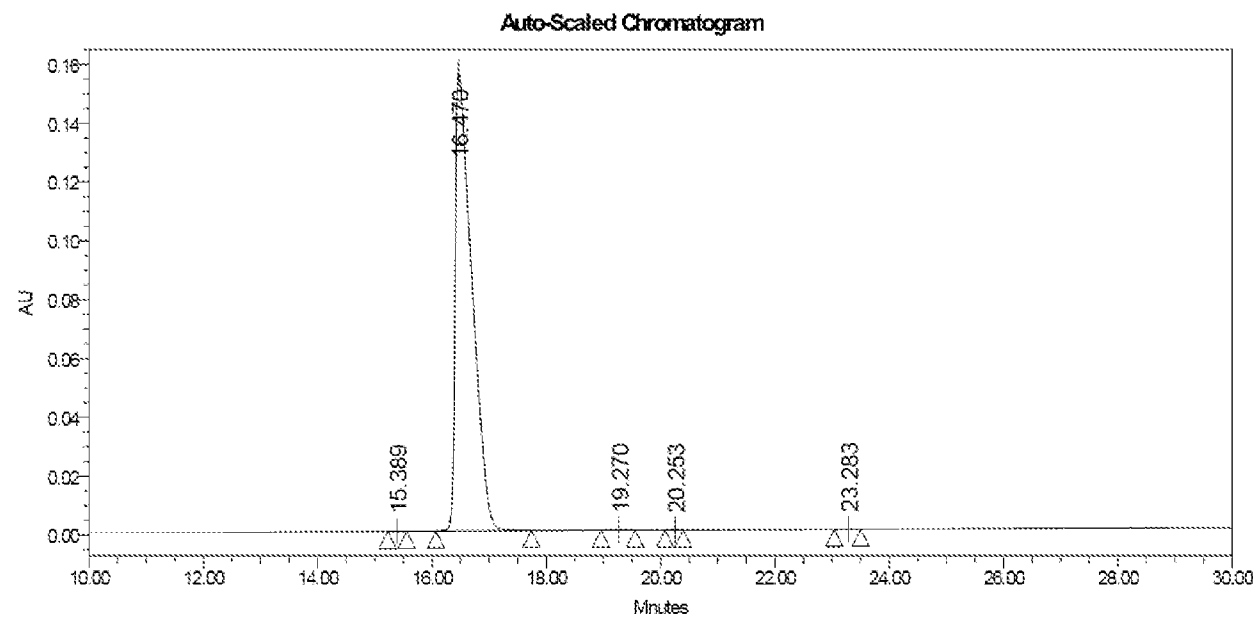


图 8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/101606

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 14/605(2006.01)i; C07K 1/20(2006.01)i; C07K 1/04(2006.01)i; C07K 1/06(2006.01)i; C07K 1/08(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, SIPOABS, DWPI, CNKI, google, baidu, patentics, NCBI, 深圳翰宇药业有限公司, 陈友金, 尹传龙, 宓鹏程, 陶安进, 袁建成, 索玛鲁肽, 多肽衍生化合物, 固相合成树脂, Fmoc-Gly-树脂, Fmoc/tBu策略, 偶联, 主链肽树脂, 脱除, 保护基, 肽树脂, 裂解, 脱除侧链保护基, 纯化, 氨基保护基, 结晶纯化, 结晶溶剂, 色谱柱, 十八烷基硅烷, 十八烷酸, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Arg(pbf)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Arg(pbf)-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Lys(X)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Gln(Trt)-Ala-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Aib-Glu(OtBu)-OH, Y-His(Z)-OH, Lys26, Fmoc-AEEA-AEEA-OH, Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu, RP-HPLC, H-His7-Aib8-Glu9-Gly10-Thr11-Phe12-Thr13-Ser14-Asp15-Val16-Ser17-Ser18-Tyr19-Leu20-Glu21-Gly22-Gln23-Ala24-Ala25-Lys26(PEG-PEG-γ-Glu-Octadecanoic acid)-Glu27-Phe28-Ile29-Ala30-Trp31-Leu32-Val33-Arg34-Gly35-Arg36-Gly37-OH, octadecanoic acid, 2-Chlorotrityl resin, Wang resin, Rink Acid resin, Mmt, ivDDe, DDe, Mtt, Alloc, Boc-His(Boc)-OH, Boc-His(trt)-OH, Trt-His(Boc)-OH, you jin chen, chuan long yin, peng cheng mi, an jin tao, jian cheng yuan.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 108359006 A (YANGTZE RIVER PHARMACEUTICAL GROUP; SICHUAN HAIRONG PHARMACEUTICAL CO., LTD. et al.) 03 August 2018 (2018-08-03) description, pages 5-8, claims 1-9	1-10
Y	CN 109369798 A (SUZHOU TIANMA PHARMA GROUP TIANJI BIO-PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 22 February 2019 (2019-02-22) description, pages 1-6, claims 1-10	1-10
A	CN 108059666 A (REALI TIDE BIOLOGICAL TECHNOLOGY (WEIHAI) CO., LTD.) 22 May 2018 (2018-05-22) entire document	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 “E” earlier application or patent but published on or after the international filing date
 “L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 “O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 “P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 “X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 “Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 “&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

08 November 2019

Date of mailing of the international search report

27 December 2019

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing
100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/101606

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 108676087 A (HANGZHOU SINOPEP AOSAINUO PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY DEVELOPMENT CO., LTD.) 19 October 2018 (2018-10-19) entire document	1-10
A	CN 109180801 A (SHANDONG HANTAI BIOLOGICAL TECHNOLOGY CO., LTD.) 11 January 2019 (2019-01-11) entire document	1-10
A	CN 109456401 A (CHENGDU NUOHE SHENGTAI BIOTECHNOLOGY CO., LTD.) 12 March 2019 (2019-03-12) entire document	1-10
A	CN 104402989 A (NOVO NORDISK A/S) 11 March 2015 (2015-03-11) entire document	1-10
A	CN 101133082 A (NOVO NORDISK A/S) 27 February 2008 (2008-02-27) entire document	1-10
A	ALBERICIO, F. et al. "Choosing the Right Coupling Reagent for Peptides: A Twenty-Five-Year Journey." <i>Org. Process Res. Dev.</i> , Vol. 22, 21 June 2018 (2018-06-21), pp. 760-772	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2019/101606

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	108359006	A	03 August 2018	None			
CN	109369798	A	22 February 2019	None			
CN	108059666	A	22 May 2018	CN	108059666	B	25 September 2018
CN	108676087	A	19 October 2018	None			
CN	109180801	A	11 January 2019	None			
CN	109456401	A	12 March 2019	CN	109456401	B	25 June 2019
CN	104402989	A	11 March 2015	KR	101205272	B1	11 January 2013
				HU	E028194	T2	28 December 2016
				ZA	200707261	B	28 May 2008
				US	8129343	B2	06 March 2012
				AU	2006224536	B2	05 April 2012
				NO	2018023	I1	05 July 2018
				IL	184051	A	31 August 2015
				RU	2007134156	A	27 April 2009
				DE	602006015928	D1	16 September 2010
				PT	1863839	E	10 November 2010
				EP	1863839	B1	04 August 2010
				IL	184051	D0	31 October 2007
				AT	476446	T	15 August 2010
				JP	2010116407	A	27 May 2010
				RU	2434019	C2	20 November 2011
				MX	2007011220	A	17 October 2007
				BR	PI0607762	B1	07 May 2019
				NO	337946	B1	18 July 2016
				JP	4585037	B2	24 November 2010
				US	2009156478	A1	18 June 2009
				AU	2006224536	A1	21 September 2006
				CN	101133082	A	27 February 2008
				JP	2013063984	A	11 April 2013
				KR	20070120089	A	21 December 2007
				ES	2557313	T3	25 January 2016
				EP	2322546	A1	18 May 2011
				ES	2350051	T3	17 January 2011
				NO	20075342	L	18 December 2007
				CN	101133082	B	13 January 2016
				DK	2322546	T3	14 December 2015
				US	2012295847	A1	22 November 2012
				NO	20075342	A	18 December 2007
				HU	S1800019	I1	28 June 2018
				PT	2322546	E	22 January 2016
				AU	2006224536	B9	10 May 2012
				NL	300936	I2	07 August 2018
				WO	2006097537	A2	21 September 2006
				EP	1863839	A2	12 December 2007
				JP	2008533105	A	21 August 2008
				CA	2601784	A1	21 September 2006
				CN	104017062	A	03 September 2014
				TW	I372629	B	21 September 2012
				WO	2006097537	A3	25 January 2007

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2019/101606

Patent document cited in search report				Publication date (day/month/year)		Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)	
				EP	2322546	B1	30 September 2015		
				BR	PI0607762	A2	23 March 2010		
				DK	1863839	T3	22 November 2010		
				TW	200700433	A	01 January 2007		
				ZA	200707261	A	28 May 2008		
				TW	I362392	B	21 April 2012		
CN	101133082	A	27 February 2008	KR	101205272	B1	11 January 2013		
				HU	E028194	T2	28 December 2016		
				ZA	200707261	B	28 May 2008		
				US	8129343	B2	06 March 2012		
				AU	2006224536	B2	05 April 2012		
				NO	2018023	I1	05 July 2018		
				IL	184051	A	31 August 2015		
				RU	2007134156	A	27 April 2009		
				DE	602006015928	D1	16 September 2010		
				PT	1863839	E	10 November 2010		
				EP	1863839	B1	04 August 2010		
				IL	184051	D0	31 October 2007		
				AT	476446	T	15 August 2010		
				JP	2010116407	A	27 May 2010		
				RU	2434019	C2	20 November 2011		
				CN	104402989	A	11 March 2015		
				MX	2007011220	A	17 October 2007		
				BR	PI0607762	B1	07 May 2019		
				NO	337946	B1	18 July 2016		
				JP	4585037	B2	24 November 2010		
				US	2009156478	A1	18 June 2009		
				AU	2006224536	A1	21 September 2006		
				JP	2013063984	A	11 April 2013		
				KR	20070120089	A	21 December 2007		
				ES	2557313	T3	25 January 2016		
				EP	2322546	A1	18 May 2011		
				ES	2350051	T3	17 January 2011		
				NO	20075342	L	18 December 2007		
				CN	101133082	B	13 January 2016		
				DK	2322546	T3	14 December 2015		
				US	2012295847	A1	22 November 2012		
				NO	20075342	A	18 December 2007		
				HU	S1800019	I1	28 June 2018		
				PT	2322546	E	22 January 2016		
				AU	2006224536	B9	10 May 2012		
				NL	300936	I2	07 August 2018		
				WO	2006097537	A2	21 September 2006		
				EP	1863839	A2	12 December 2007		
				JP	2008533105	A	21 August 2008		
				CA	2601784	A1	21 September 2006		
				CN	104017062	A	03 September 2014		
				TW	I372629	B	21 September 2012		
WO	2006097537	A3	25 January 2007						
EP	2322546	B1	30 September 2015						

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2019/101606

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		BR PI0607762 A2	23 March 2010
		DK 1863839 T3	22 November 2010
		TW 200700433 A	01 January 2007
		ZA 200707261 A	28 May 2008
		TW I362392 B	21 April 2012

A. 主题的分类 C07K 14/605(2006.01)i; C07K 1/20(2006.01)i; C07K 1/04(2006.01)i; C07K 1/06(2006.01)i; C07K 1/08(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类														
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) C07K 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNABS, SIPOABS, DWPI, CNKI, google, baidu, patentics, NCBI, 深圳翰宇药业有限公司, 陈友金, 尹传龙, 宓鹏程, 陶安进, 袁建成, 索玛鲁肽, 多肽衍生化合物, 固相合成树脂, Fmoc-Gly-树脂, Fmoc/tBu策略, 偶联, 主链肽树脂, 脱除, 保护基, 肽树脂, 裂解, 脱除侧链保护基, 纯化, 氨基保护基, 结晶纯化, 结晶溶剂, 色谱柱, 十八烷基硅烷, 十八烷酸, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Arg(pbf)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Arg(pbf)-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Lys(X)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Gln(Trt)-Ala-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Aib-Glu(OtBu)-OH, Y-His(Z)-OH, Lys26, Fmoc-AEEA-AEEA-OH, Octadecanoic acid(OtBu)-Glu-OtBu, RP-HPLC, H-His7-Aib8-Glu9-Gly10-Thr11-Phe12-Thr13-Ser14-Asp15-Val16-Ser17-Ser18-Tyr19-Leu20-Glu21-Gly22-Gln23-Ala24-Ala25-Lys26(PEG-PEG-γ-Glu-Octadecanoic acid)-Glu27-Phe28-Ile29-Ala30-Trp31-Leu32-Val33-Arg34-Gly35-Arg36-Gly37-OH, octadecanoic acid, 2-Chlorotriethyl resin, Wang resin, Rink Acid resin, Mmt, ivDDe, DDe, Mtt, Alloc, Boc-His(Boc)-OH, Boc-His(trt)-OH, Trt-His(Boc)-OH, you jin chen, chuan long yin, peng cheng mi, an jin tao, jian cheng yuan.														
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>CN 108359006 A (扬子江药业集团四川海蓉药业有限公司等) 2018年 8月 3日 (2018 - 08 - 03) 说明书第5-8页, 权利要求1-9</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 109369798 A (苏州天马医药集团天吉生物制药有限公司) 2019年 2月 22日 (2019 - 02 - 22) 说明书第1-6页, 权利要求1-10</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 108059666 A (润辉生物技术威海有限公司) 2018年 5月 22日 (2018 - 05 - 22) 全文</td> <td>1-10</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	Y	CN 108359006 A (扬子江药业集团四川海蓉药业有限公司等) 2018年 8月 3日 (2018 - 08 - 03) 说明书第5-8页, 权利要求1-9	1-10	Y	CN 109369798 A (苏州天马医药集团天吉生物制药有限公司) 2019年 2月 22日 (2019 - 02 - 22) 说明书第1-6页, 权利要求1-10	1-10	A	CN 108059666 A (润辉生物技术威海有限公司) 2018年 5月 22日 (2018 - 05 - 22) 全文	1-10
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求												
Y	CN 108359006 A (扬子江药业集团四川海蓉药业有限公司等) 2018年 8月 3日 (2018 - 08 - 03) 说明书第5-8页, 权利要求1-9	1-10												
Y	CN 109369798 A (苏州天马医药集团天吉生物制药有限公司) 2019年 2月 22日 (2019 - 02 - 22) 说明书第1-6页, 权利要求1-10	1-10												
A	CN 108059666 A (润辉生物技术威海有限公司) 2018年 5月 22日 (2018 - 05 - 22) 全文	1-10												
☒ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。														
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件														
国际检索实际完成的日期 2019年 11月 8日		国际检索报告邮寄日期 2019年 12月 27日												
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		受权官员 朱宁 电话号码 86-(10)-53961956												

C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 108676087 A (杭州诺泰澳赛诺医药技术开发有限公司) 2018年 10月 19日 (2018 - 10 - 19) 全文	1-10
A	CN 109180801 A (山东汉泰生物科技有限公司) 2019年 1月 11日 (2019 - 01 - 11) 全文	1-10
A	CN 109456401 A (成都诺和晟泰生物科技有限公司) 2019年 3月 12日 (2019 - 03 - 12) 全文	1-10
A	CN 104402989 A (诺和诺德公司) 2015年 3月 11日 (2015 - 03 - 11) 全文	1-10
A	CN 101133082 A (诺和诺德公司) 2008年 2月 27日 (2008 - 02 - 27) 全文	1-10
A	ALBERICIO, F. 等. "Choosing the Right Coupling Reagent for Peptides: A Twenty-Five-Year Journey." Org. Process Res. Dev., 第22卷, 2018年 6月 21日 (2018 - 06 - 21), 第760-772页	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2019/101606

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	108359006	A	2018年 8月 3日	无			
CN	109369798	A	2019年 2月 22日	无			
CN	108059666	A	2018年 5月 22日	CN	108059666	B	2018年 9月 25日
CN	108676087	A	2018年 10月 19日	无			
CN	109180801	A	2019年 1月 11日	无			
CN	109456401	A	2019年 3月 12日	CN	109456401	B	2019年 6月 25日
CN	104402989	A	2015年 3月 11日	KR	101205272	B1	2013年 1月 11日
				HU	E028194	T2	2016年 12月 28日
				ZA	200707261	B	2008年 5月 28日
				US	8129343	B2	2012年 3月 6日
				AU	2006224536	B2	2012年 4月 5日
				NO	2018023	I1	2018年 7月 5日
				IL	184051	A	2015年 8月 31日
				RU	2007134156	A	2009年 4月 27日
				DE	602006015928	D1	2010年 9月 16日
				PT	1863839	E	2010年 11月 10日
				EP	1863839	B1	2010年 8月 4日
				IL	184051	D0	2007年 10月 31日
				AT	476446	T	2010年 8月 15日
				JP	2010116407	A	2010年 5月 27日
				RU	2434019	C2	2011年 11月 20日
				MX	2007011220	A	2007年 10月 17日
				BR	PI0607762	B1	2019年 5月 7日
				NO	337946	B1	2016年 7月 18日
				JP	4585037	B2	2010年 11月 24日
				US	2009156478	A1	2009年 6月 18日
				AU	2006224536	A1	2006年 9月 21日
				CN	101133082	A	2008年 2月 27日
				JP	2013063984	A	2013年 4月 11日
				KR	20070120089	A	2007年 12月 21日
				ES	2557313	T3	2016年 1月 25日
				EP	2322546	A1	2011年 5月 18日
				ES	2350051	T3	2011年 1月 17日
				NO	20075342	L	2007年 12月 18日
				CN	101133082	B	2016年 1月 13日
				DK	2322546	T3	2015年 12月 14日
				US	2012295847	A1	2012年 11月 22日
				NO	20075342	A	2007年 12月 18日
				HU	S1800019	I1	2018年 6月 28日
				PT	2322546	E	2016年 1月 22日
				AU	2006224536	B9	2012年 5月 10日
				NL	300936	I2	2018年 8月 7日
				WO	2006097537	A2	2006年 9月 21日
				EP	1863839	A2	2007年 12月 12日
				JP	2008533105	A	2008年 8月 21日
				CA	2601784	A1	2006年 9月 21日
				CN	104017062	A	2014年 9月 3日
				TW	I372629	B	2012年 9月 21日
				WO	2006097537	A3	2007年 1月 25日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2019/101606

检索报告引用的专利文件				公布日 (年/月/日)		同族专利		公布日 (年/月/日)	
				EP	2322546	B1	2015年 9月 30日		
				BR	PI0607762	A2	2010年 3月 23日		
				DK	1863839	T3	2010年 11月 22日		
				TW	200700433	A	2007年 1月 1日		
				ZA	200707261	A	2008年 5月 28日		
				TW	I362392	B	2012年 4月 21日		
CN	101133082	A	2008年 2月 27日	KR	101205272	B1	2013年 1月 11日		
				HU	E028194	T2	2016年 12月 28日		
				ZA	200707261	B	2008年 5月 28日		
				US	8129343	B2	2012年 3月 6日		
				AU	2006224536	B2	2012年 4月 5日		
				NO	2018023	I1	2018年 7月 5日		
				IL	184051	A	2015年 8月 31日		
				RU	2007134156	A	2009年 4月 27日		
				DE	602006015928	D1	2010年 9月 16日		
				PT	1863839	E	2010年 11月 10日		
				EP	1863839	B1	2010年 8月 4日		
				IL	184051	D0	2007年 10月 31日		
				AT	476446	T	2010年 8月 15日		
				JP	2010116407	A	2010年 5月 27日		
				RU	2434019	C2	2011年 11月 20日		
				CN	104402989	A	2015年 3月 11日		
				MX	2007011220	A	2007年 10月 17日		
				BR	PI0607762	B1	2019年 5月 7日		
				NO	337946	B1	2016年 7月 18日		
				JP	4585037	B2	2010年 11月 24日		
				US	2009156478	A1	2009年 6月 18日		
				AU	2006224536	A1	2006年 9月 21日		
				JP	2013063984	A	2013年 4月 11日		
				KR	20070120089	A	2007年 12月 21日		
				ES	2557313	T3	2016年 1月 25日		
				EP	2322546	A1	2011年 5月 18日		
				ES	2350051	T3	2011年 1月 17日		
				NO	20075342	L	2007年 12月 18日		
				CN	101133082	B	2016年 1月 13日		
				DK	2322546	T3	2015年 12月 14日		
				US	2012295847	A1	2012年 11月 22日		
				NO	20075342	A	2007年 12月 18日		
				HU	S1800019	I1	2018年 6月 28日		
				PT	2322546	E	2016年 1月 22日		
				AU	2006224536	B9	2012年 5月 10日		
				NL	300936	I2	2018年 8月 7日		
				WO	2006097537	A2	2006年 9月 21日		
				EP	1863839	A2	2007年 12月 12日		
				JP	2008533105	A	2008年 8月 21日		
				CA	2601784	A1	2006年 9月 21日		
				CN	104017062	A	2014年 9月 3日		
				TW	I372629	B	2012年 9月 21日		
				WO	2006097537	A3	2007年 1月 25日		
				EP	2322546	B1	2015年 9月 30日		

国际申请号
PCT/CN2019/101606

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)		
		BR	PI0607762	A2	2010年 3月 23日
		DK	1863839	T3	2010年 11月 22日
		TW	200700433	A	2007年 1月 1日
		ZA	200707261	A	2008年 5月 28日
		TW	I362392	B	2012年 4月 21日