



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 (11)證書號數：TW I608013 B

(45)公告日：中華民國 106 (2017) 年 12 月 11 日

(21)申請案號：102132640

(22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 09 月 10 日

(51)Int. Cl. : *C07K14/605 (2006.01)* *A61K38/26 (2006.01)*
A61P3/04 (2006.01) *A61P3/06 (2006.01)*
A61P3/08 (2006.01)

(30)優先權：2012/09/17 歐洲專利局 12184744.6
 2012/09/17 美國 61/701,952
 2013/03/14 美國 61/784,294

(71)申請人：西蘭製藥公司 (丹麥) ZEALAND PHARMA A/S (DK)

丹麥

百靈佳殷格翰國際股份有限公司 (德國) BOEHRINGER INGELHEIM

INTERNATIONAL GMBH (DE)

德國

(72)發明人：托伯格 捷克 林德 TOLBORG, JAKOB LIND (DK)；佛斯傑勞 凱爾德
 FOSGERAU, KELD (DK)；諾瑞嘉 皮亞 (DK)；傑斯特 萊斯默思 JUST,
 RASMUS (DK)；萊伯 迪特 RIBER, DITTE (DK)；翰普瑞奇 戴特 沃夫岡
 HAMPRECHT, DIETER WOLFGANG (DE)；奧古斯丁 羅伯 AUGUSTIN,
 ROBERT (DE)；湯瑪斯 里歐 THOMAS, LEO (DE)；里斯 沃崗 RIST,
 WOLFGANG (DE)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

TW 201202265A1

WO 2012/153196A2

審查人員：林奕萍

申請專利範圍項數：15 項 圖式數：0 共 77 頁

(54)名稱

升糖素類似物

GLUCAGON ANALOGUES

(57)摘要

本發明提供治療肥胖症及超重、糖尿病及其他相關代謝病症之物質及方法。具體而言，本發明提供在該等方法中有效之新穎升糖素類似物肽。該等肽可藉由與人類升糖素相比增加對 GLP-1 受體之選擇性調介其效應。

The invention provides materials and methods for the treatment of obesity and excess weight, diabetes, and other associated metabolic disorders. In particular, the invention provides novel glucagon analogue peptides effective in such methods. The peptides may mediate their effect by having increased selectivity for the GLP-1 receptor as compared to human glucagon.

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

升糖素類似物

GLUCAGON ANALOGUES

【技術領域】

本發明係關於升糖素類似物及其醫療用途，例如用於治療肥胖症及超重、糖尿病及其他代謝病症。

【先前技術】

前原升糖素(Pre-proglucagon)係158個胺基酸之前體多肽，其在組織中經區別加工以形成多種結構相關之源自升糖素之肽，包括升糖素(Glu)、升糖素樣肽-1 (GLP-1)、升糖素樣肽-2 (GLP-2)及調酸素(OXM)。該等分子與眾多種生理功能有關，包括葡萄糖穩態、胰島素分泌、胃排空及腸道生長以及調節食物攝入。

升糖素係對應於前原升糖素之胺基酸53至81的29個胺基酸之肽。調酸素(OXM)係37個胺基酸之肽，其包括具有八肽羧末端延伸之升糖素之完整29個胺基酸序列(前原升糖素之胺基酸82至89，且稱為「插入肽1」或IP-1)。GLP-1之主要生物活性片段係以對應於前原升糖素之胺基酸98至127之30個胺基酸之C末端醯胺化肽形式產生。

升糖素有助於藉由結合肝細胞上之升糖素受體從而使肝經由糖原分解釋放以糖原形式儲存之葡萄糖來維持血糖濃度。當該等儲存物耗盡時，升糖素會刺激肝藉由糖質新生作用合成額外葡萄糖。此葡萄糖釋放至血流中，從而防止產生低血糖症。

GLP-1藉由改良葡萄糖刺激之胰島素分泌來降低升高之血糖濃度且主要經由減少食物攝入來促進體重減輕。

調酸素會因應食物攝取而釋放至血流中且與進餐卡路里含量(meal calorie content)成正比。已顯示OXM可在人類中阻抑食欲並抑制食物攝取(Cohen等人, Journal of Endocrinology and Metabolism, 88, 4696-4701, 2003; WO 2003/022304)。除與GLP-1之彼等效應類之彼等厭食效應外, OXM亦必須藉由另一機制影響體重, 此乃因經調酸素治療之大鼠顯示較成對進食之大鼠體重增加較少(Bloom, Endocrinology 2004, 145, 2687)。用OXM治療肥胖齧齒類動物亦改良其葡萄糖耐受性(Parlevliet等人, Am J Physiol Endocrinol Metab, 294, E142-7, 2008)並阻抑體重增加(WO 2003/022304)。

OXM活化升糖素及GLP-1受體, 其中對於升糖素受體之效能超過GLP-1受體的兩倍, 但不如天然升糖素及GLP-1對其各別受體有效。人類升糖素亦能夠活化兩種受體, 儘管相對於GLP-1受體, 升糖素受體強烈優先。另一方面, GLP-1不能活化升糖素受體。人們對調酸素之作用機制尚未完全瞭解。具體而言, 尚不瞭解激素之一些肝外效應是經由GLP-1及升糖素受體介導還是經由一或多種尚未識別之受體調介。

已顯示, 其他肽結合並活化升糖素與GLP-1受體二者(Hjort等人, Journal of Biological Chemistry, 269, 30121-30124, 1994), 且阻抑體重增加並減少食物攝入(例如, 參見WO 2006/134340、WO 2007/100535、WO 2008/10101、WO 2008/152403、WO 2009/155257、WO 2009/155258、WO2010/070252、WO2010/070253、WO2010/070255、WO2010/070251、WO2011/006497、WO2011/160630、WO2011/160633)。

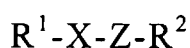
肥胖症係全球範圍內不斷增加之健康問題, 其與各種疾病(具體而言心血管疾病(CVD)、2型糖尿病、阻塞性睡眠呼吸中止症、某些類型之癌症及骨關節炎)相關。因此, 已發現肥胖症可縮短預期壽

命。根據由世界衛生組織(World Health Organization)進行之2005年預測，在世界範圍內存在4億分類為肥胖之成人(年齡> 15)。在美國，現在據信肥胖症係繼吸煙後之可預防死亡之第二主要原因。

肥胖症增加使得糖尿病增加，且約90%患有2型糖尿病之人可分類為肥胖。世界範圍內有2億4千6百萬人患有糖尿病，且到2025，估計會有3億8千萬患有糖尿病。許多患者具有額外心血管風險因子，包括高/異常LDL及甘油三酸酯以及低HDL。

【發明內容】

在第一態樣中，本發明提供具有下式之化合物：



其中

R^1 係H、 C_{1-4} 烷基、乙醯基、甲醯基、苯甲醯基或三氟乙醯基；

R^2 係OH或 NH_2 ；

X係具有下式之肽：

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD SKAAHDFVEWLLS (SEQ ID NO: 1)

HSQGTFTSDYSKYLD SKAAHDFVEWLLSA (SEQ ID NO: 2)

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD EKA AKDFIEWLLSA (SEQ ID NO: 4)

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD SKAAHDFVEWLESA (SEQ ID NO: 5)

HSQGTFTSDYSRYLD SKAAEDFVEWLLRA (SEQ ID NO: 6)

HSQGTFTSDYSKYLD SKAAEDFVEWLLRA (SEQ ID NO: 7)

HSQGTFTSDYSKYLD SKAAHDFVEWLLS (SEQ ID NO: 8)

HSQGTFTSDYSKYLD SKAAHDFVEWLLR (SEQ ID NO: 9)

HSQGTFTSDYSKYLD EKA AHEFVEWLESA (SEQ ID NO: 10)

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD EKA KRAKDFIEWLLS (SEQ ID NO: 11)

HSQGTFTSDYSRYLD SKAAHDFVEWLLSA (SEQ ID NO: 12)

H-Aib-HGTFTSDYSKYLESKAAEEFIEWLESA (SEQ ID NO: 17)

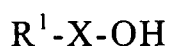
HSHGTFTSDYSKYLEEKA AHEFIEWLESA (SEQ ID NO: 18)

H-Aib-HGTFTSDYSKYLEEKA AHEFVEWLESA (SEQ ID NO: 19)

且Z不存在或係獨立地選自由以下組成之群之1至20個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr及Orn；

或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。

在第二態樣中，本發明提供下式之化合物：



其中

R^1 係H、 C_{1-4} 烷基、乙醯基、甲醯基、苯甲醯基或三氟乙醯基；

且X係SEQ ID NO: 3、13或14之肽：

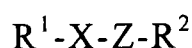
HSQGTFTSDYSKYLDKAAHDFVEWLLRA (SEQ ID NO: 3)

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDKAAHDFVEWLLSA (SEQ ID NO: 13)

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDKRAKDFIEWLLSA (SEQ ID NO: 14)

或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。

在第三態樣中，本發明提供具有下式之化合物：



其中

R^1 係H、 C_{1-4} 烷基、乙醯基、甲醯基、苯甲醯基或三氟乙醯基；

R^2 係OH或 NH_2 ；

X係SEQ ID NO: 15之肽：

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDKAAKDFIEWLESA (SEQ ID NO: 15)

或若其不同於SEQ ID NO: 15，則其在以下位置中之至多三者處由此而不同於SEQ ID NO: 15：

2位處之殘基係選自Ser及D-Ser

3位處之殘基係選自His及Hse

12位處之殘基係Arg

15位處之殘基係Glu

16位處之殘基係Ser

18位處之殘基係Arg

20位處之殘基係選自His及Glu

21位處之殘基係Glu

23位處之殘基係Val

28位處之殘基係選自Arg及Glu

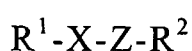
29位處之殘基不存在；

且Z不存在或係獨立地選自由以下組成之群之1至20個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr及Orn；

或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。

在某些實施例中，20位處之殘基不可變且係His。

化合物具有下式：



其中

R^1 係H、 C_{1-4} 烷基、乙醯基、甲醯基、苯甲醯基或三氟乙醯基；

R^2 係OH或 NH_2 ；

X係SEQ ID NO: 15之肽：

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDEKAAKDFIEWLESA (SEQ ID NO: 15)

或若其不同於SEQ ID NO: 15，則其在以下位置中之一者或二者處由此而不同於SEQ ID NO: 15：

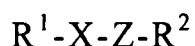
21位處之殘基係Glu

23位處之殘基係Val

且Z不存在或係獨立地選自由以下組成之群之1至20個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr及Orn；

或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。

在第四態樣中，本發明提供具有下式之化合物：



其中

R^1 係H、 C_{1-4} 烷基、乙醯基、甲醯基、苯甲醯基或三氟乙醯基；

R^2 係OH或 NH_2 ；

X係SEQ ID NO: 16之肽：

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD SKAAEDFVEWLESA (SEQ ID NO: 16)

或若其不同於SEQ ID NO: 16，則其在以下位置中之至多三者處由此而不同於SEQ ID NO: 16：

2位處之殘基係選自Ser及D-Ser

3位處之殘基係選自His及Hse

12位處之殘基係Arg

15位處之殘基係Glu

16位處之殘基係Glu

18位處之殘基係Arg

20位處之殘基係選自Lys及His

21位處之殘基係Glu

23位處之殘基係Ile

28位處之殘基係選自Arg及Glu

29位處之殘基不存在

且Z不存在或係獨立地選自由以下組成之群之1至20個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr及Orn；

或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。

化合物具有下式：

$R^1-X-Z-R^2$

其中

R^1 係H、 C_{1-4} 烷基、乙醯基、甲醯基、苯甲醯基或三氟乙醯基；

R^2 係OH或 NH_2 ；

X係SEQ ID NO: 16之肽：

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD SKAAEDFVEWLESA (SEQ ID NO: 16)

或若其不同於SEQ ID NO: 16，則其在以下位置中之一者或二者處由此而不同於SEQ ID NO: 16：

21位處之殘基係Glu

23位處之殘基係Ile

且Z不存在或係獨立地選自由以下組成之群之1至20個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr及Orn；

或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。

本發明之第三或第四態樣之化合物可包含具有以下序列之肽X：

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD EKA AKDFIEWLESA (SEQ ID NO: 15)

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD SKAAEDFVEWLESA (SEQ ID NO: 16)

H-Aib-QGTFTSDYSKYLEEKA AKDFIEWLESA (SEQ ID NO: 20)

H-Aib-QGTFTSDYSKYLESKAAEDFIEWLESA (SEQ ID NO: 21)

HSQGTFTSDYSKYLEEKA AKDFIEWLESA (SEQ ID NO: 22)

H-Aib-QGTFTSDYSKYLESKAAHDFVEWLESA (SEQ ID NO: 23)

H-Aib-QGTFTSDYSKYLESKAAEDFVEWLESA (SEQ ID NO: 24)

或

H-DSer-QGTFTSDYSKYLD EKA AKDFIEWLESA (SEQ ID NO: 25)。

在任一態樣中，本發明化合物可藉由下式：

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD SKAAHDFVEWLLS-OH

H-HSQTFTSDYSKYLD SKAAHDFVEWLLSA-OH

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD EKA AKDFIEWLLSA-NH₂

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD SKAAHDFVEWLESA-NH₂

H-HSQTFTSDYSRYLD SKAAEDFVEWLLRA-NH₂

H-HSQTFTSDYSKYLD SKAAEDFVEWLLRA-NH₂

H-HSQTFTSDYSKYLD SKAAHDFVEWLLS-NH₂

H-HSQTFTSDYSKYLD SKAAHDFVEWLLR-OH

H-HSQTFTSDYSKYLD EKA AHEFVEWLESA-NH₂

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD EKA RAKDFIEWLLS-OH

H-HSQTFTSDYSRYLD SKAAHDFVEWLLSA-NH₂

H-HSQTFTSDYSKYLD SKAAHDFVEWLLRA-OH

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD SKAAHDFVEWLLSA-OH

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD EKA RAKDFIEWLLSA-OH

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD EKA AKDFIEWLESA-NH₂

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD SKAAEDFVEWLESA-NH₂

H-Aib-HGTFTSDYSKYLESKAAEEFIEWLESA-OH

H-HSHGTFTSDYSKYLEEKAAHEFIEWLESA-OH

H-H-Aib-HGTFTSDYSKYLEEKAAHEFVEWLESA-NH₂

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEEKAAKDFIEWLESA-NH₂

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLESKAAEDFIEWLESA-NH₂

H-HSQTFTSDYSKYLEEKAAKDFIEWLESA-NH₂

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLESKAAHDFVEWLESA-NH₂

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLESKAAEDFVEWLESA-NH₂

H-H-DSer-QGTFTSDYSKYLD EKA AKDFIEWLESA-NH₂

或可為其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。

為避免產生疑問，在本發明之第三及第四態樣之化合物中，彼等未明確表明容許可變性之位置意欲固定且因此僅包括彼等位置處之所述殘基。

在本發明之所有態樣中，肽X或Z (若存在)中之胺基酸側鏈中之一或多種可結合至親脂性取代基。

較佳地，肽X中之胺基酸側鏈中之一或多者結合至親脂性取代基。

親脂性取代基可具有式 Z^1 ，其中 Z^1 係直接結合(共價連接)至X或Z之相關殘基之側鏈的親脂性部分，或具有式 Z^1Z^2 ，其中 Z^1 係親脂性部分， Z^2 係間隔體，且 Z^1 經由 Z^2 結合至X或Z之殘基之側鏈。

另外或另一選擇為，肽X或Z (若存在)中之一或多個胺基酸側鏈結合至聚合取代基。

在某些實施例中，肽X或X-Z僅帶有一個親脂性取代基及/或僅帶有一個聚合取代基。

下文更詳細闡述親脂性及聚合取代基。

親脂性部分及/或聚合取代基可結合至任何適宜殘基之側鏈。離胺酸殘基可尤其適宜，例如，12位(若存在)或17位處之離胺酸殘基。

因此，肽X可具有式：

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDISK*AAHDFVEWLLS

HSQGTFTSDYSKYLDISK*AAHDFVEWLLSA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDEK*AAKDFIEWLLSA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDISK*AAHDFVEWLESA

HSQGTFTSDYSRYLDISK*AAEDFVEWLLRA

HSQGTFTSDYSKYLDISK*AAEDFVEWLLRA

HSQGTFTSDYSKYLDISK*AAHDFVEWLLS

HSQGTFTSDYSKYLDISK*AAHDFVEWLLR
 HSQGTFTSDYSKYLDEK*AAHEFVEWLESA
 H-Aib-QGTFTSDYSKYLDEK*RAKDFIEWLLS
 HSQGTFTSDYSRYLDISK*AAHDFVEWLLSA
 HSQGTFTSDYSKYLDISK*AAHDFVEWLLRA
 H-Aib-QGTFTSDYSKYLDISK*AAHDFVEWLLSA
 H-Aib-QGTFTSDYSKYLDEK*RAKDFIEWLLSA
 H-Aib-QGTFTSDYSKYLDEK*AAKDFIEWLESA
 H-Aib-QGTFTSDYSKYLDISK*AAEDFVEWLESA
 H-Aib-HGTFTSDYSKYLESK*AAEEFIEWLESA
 HSHGTFTSDYSKYLEEK*AAHEFIEWLESA
 H-Aib-HGTFTSDYSKYLEEK*AAHEFVEWLESA
 H-Aib-QGTFTSDYSKYLEEK*AAKDFIEWLESA
 H-Aib-QGTFTSDYSKYLESK*AAEDFIEWLESA
 HSQGTFTSDYSKYLEEK*AAKDFIEWLESA
 H-Aib-QGTFTSDYSKYLESK*AAHDFVEWLESA
 H-Aib-QGTFTSDYSKYLESK*AAEDFVEWLESA
 H-DSer-QGTFTSDYSKYLDEK*AAKDFIEWLESA

其中「*」指示親脂性或聚合取代基、尤其親脂性取代基之位置。

本發明化合物可具有下式：

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDISK*AAHDFVEWLLS-OH
 H-HSQGTFTSDYSKYLDISK*AAHDFVEWLLSA-OH
 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDEK*AAKDFIEWLLSA-NH₂
 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDISK*AAHDFVEWLESA-NH₂
 H-HSQGTFTSDYSRYLDISK*AAEDFVEWLLRA-NH₂

H-HSQTFTSDYSKYLDSK*AAEDFVEWLLRA-NH₂
H-HSQTFTSDYSKYLDSK*AAHDFVEWLLS-NH₂
H-HSQTFTSDYSKYLDSK*AAHDFVEWLLR-OH
H-HSQTFTSDYSKYLDEK*AAHEFVEWLESA-NH₂
H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDEK*RAKDFIEWLLS-OH
H-HSQTFTSDYSRYLDSK*AAHDFVEWLLSA-NH₂
H-HSQTFTSDYSKYLDSK*AAHDFVEWLLRA-OH
H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDSK*AAHDFVEWLLSA-OH
H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDEK*RAKDFIEWLLSA-OH
H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDEK*AAKDFIEWLESA-NH₂
H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDSK*AAEDFVEWLESA-NH₂
H-H-Aib-HGTFTSDYSKYLESK*AAEEFIEWLESA-OH
H-HSHGTFTSDYSKYLEEK*AAHEFIEWLESA-OH
H-H-Aib-HGTFTSDYSKYLEEK*AAHEFVEWLESA-NH₂
H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEEK*AAKDFIEWLESA-NH₂
H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLESK*AAEDFIEWLESA-NH₂
H-HSQTFTSDYSKYLEEK*AAKDFIEWLESA-NH₂
H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLESK*AAHDFVEWLESA-NH₂
H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLESK*AAEDFVEWLESA-NH₂
H-H-DSer-QGTFTSDYSKYLDEK*AAKDFIEWLESA-NH₂

或可為其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。

在某些實施例中，X具有下式：

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHDFVEWLLS

HSQTFTSDYSKYLDS-K(十六醯基-isoGlu)-AAHDFVEWLLSA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-

AAKDFIEWLLSA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-

AAHDFVEWLESA

HSQGTFTSDYSRYLDS-K(十六醯基-isoGlu)-AAEDFVEWLLRA

HSQGTFTSDYSKYLDS-K(十六醯基-isoGlu)-AAEDFVEWLLRA

HSQGTFTSDYSKYLDS-K(十六醯基-isoGlu)-AAHDFVEWLLS

HSQGTFTSDYSKYLDS-K(十六醯基-isoGlu)-AAHDFVEWLLR

HSQGTFTSDYSKYLDE-K(十六醯基-isoGlu)-AAHEFVEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(十六醯基-isoGlu)-RAKDFIEWLLS

HSQGTFTSDYSRYLDS-K(十六醯基-isoGlu)-AAHDFVEWLLSA

HSQGTFTSDYSKYLDS-K(十六醯基-isoGlu)-AAHDFVEWLLRA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-

AAHDFVEWLLSA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-

RAKDFIEWLLSA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-

AAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-

AAEDFVEWLESA

H-Aib-HGTFTSDYSKYLEE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-

AAEEFIEWLESA

HSQGTFTSDYSKYLEE-K(十六醯基-isoGlu)-AAHEFIEWLESA

H-Aib-HGTFTSDYSKYLEE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-

AAHEFVEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLEEK-(十 六 醯 基 -isoGlu)-

AAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-S-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAEDFIEWLESA

HSQGTFTSDYSKYLEE-K(十六醯基-isoGlu)-AAKDFIEWLESA
H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-S-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHDFVEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-S-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAEDFVEWLESA

H-DSer-QGTFTSDYSKYLDE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAKDFIEWLESA

本發明化合物可為：
H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHDFVEWLLS-OH (化合物1)

H-HSQGTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHDFVEWLLSA-OH (化合物2)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAKDFIEWLLSA-NH₂ (化合物4)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHDFVEWLESA-NH₂ (化合物5)

H-HSQGTFTSDYSRYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAEDFVEWLLRA-NH₂ (化合物6)

H-HSQGTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAEDFVEWLLRA-NH₂ (化合物7)

H-HSQGTFTSDYSKYLDS-K(十六醯基-isoGlu)-AAHDFVEWLLS-
NH₂ (化合物8)

H-HSQGTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHDFVEWLLR-OH (化合物9)

H-HSQGTFTSDYSKYLDE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHEFVEWLESA-NH₂ (化合物10)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
RAKDFIEWLLS-OH (化合物11)

H-HSQGTFTSDYSRYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHDFVEWLLSA-NH₂ (化合物12)

H-HSQGTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHDFVEWLLRA-OH (化合物3)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHDFVEWLLSA-OH (化合物13)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
RAKDFIEWLLSA-OH (化合物14)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAKDFIEWLESA-NH₂ (化合物15)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAEDFVEWLESA-NH₂ (化合物16)

H-Aib-HGTFTSDYSKYLE-S-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAEEFIEWLESA-OH (化合物17)

H-HSHGTFTSDYSKYLEE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHEFIEWLESA-OH (化合物18)

H-H-Aib-HGTFTSDYSKYLEE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHEFVEWLESA-NH₂ (化合物19)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAKDFIEWLESA-NH₂ (化合物20)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-S-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAEDFIEWLESA-NH₂ (化合物21)

H-HSQTFTSDYSKYLEE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAKDFIEWLESA-NH₂ (化合物22)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHDFVEWLESA-NH₂ (化合物23)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAEDFVEWLESA-NH₂ (化合物24)

H-H-DSer-QGTFTSDYSKYLDE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAKDFIEWLESA-NH₂ (化合物25)

或可為其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。

對於僅由天然胺基酸組成之彼等肽序列X或X-Z，本發明進一步提供編碼如本文所定義肽X或X-Z之核酸(其可為DNA或RNA)。亦提供包含該核酸之表現載體及含有該核酸或表現載體之宿主細胞。宿主細胞通常能夠表現並視情況分泌所編碼肽X或X-Z。

本發明化合物係升糖素類似物肽。在上下文需要時，本文所提及升糖素類似物肽應理解為本發明化合物或肽X或X-Z。除非上下文另外指明或排除，否則所提及本發明化合物應包括其任何醫藥上可接受之鹽(例如乙酸鹽或氯化物鹽)或溶劑合物。

本發明提供組合物，其包含如本文所定義之本發明化合物(包括其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物，如已經闡述)、編碼肽X或X-Z之核酸、包含該核酸之表現載體或含有該核酸或表現載體之宿主細胞與載劑之混合物。在較佳實施例中，組合物係醫藥組合物且載劑係醫藥上可接受之載劑。升糖素類似物肽可呈升糖素類似物之醫藥上可接受之鹽形式。

發現本文所述化合物尤其可用於預防體重增加或促進體重損失。「預防」意指在與無治療比較時抑制或減輕，且未必意欲暗示體重增加之完全終止。肽可引起食物攝取或增加之能量消耗減少，從而對體

重產生所觀察效應。本發明化合物與其對體重之效應無關，可對葡萄糖控制及/或循環膽固醇含量具有有益效應，能夠降低循環LDL含量並增加HDL/LDL比率。因此，本發明化合物可用於任何由超重引起或特徵在於超重之病況的直接或間接療法，例如治療及/或預防肥胖症、病態肥胖症、肥胖症相關性發炎、肥胖症相關性膽囊疾病、肥胖症誘導型睡眠呼吸中止症。其亦可用於預防由葡萄糖控制不足或血脂異常(例如升高LDL含量或降低HDL/LDL比率)、糖尿病(尤其2型糖尿病)、代謝症候群、高血壓、致動脈粥樣化血脂異常、動脈粥樣硬化、動脈硬化、冠狀動脈心臟病、外周動脈疾病、中風或微血管疾病引起或特徵在於該等疾病之病況。其對該等病況之效應可係由於其對體重之效應或與其相關，或可與其無關。

本發明亦提供本發明化合物，其用於醫學治療之方法中，尤其用於治療如上文所述病況之方法中。

本發明亦提供本發明化合物之用途，其用於製備用於治療如上文所述病況之藥劑。

本發明化合物可作為組合療法之一部分與用於治療糖尿病、肥胖症、血脂異常或高血壓之藥劑一起投與。

在該等情形下，兩種活性劑可一起或分開且作為相同醫藥調配物之部分或作為單獨調配物給予。

因此，本發明化合物可與抗糖尿病藥劑組合使用，該抗糖尿病藥劑包括(但不限於)雙胍(例如二甲雙胍)、磺醯脲、美格替耐(meglitinide)或格列奈(glinide)(例如那格列奈(nateglinide))、DPP-IV抑制劑、格列酮(glitazone)、胰島素或胰島素類似物)。胰島素類似物之實例包括但不限於Lantus™、Novorapid™、Humalog™、Novomix™、Actraphane HM™、Levemir™及Apidra™。

化合物可進一步與抗肥胖症藥劑組合使用，該抗肥胖症藥劑包

括(但不限於)升糖素樣肽受體1激動劑、肽YY或其類似物、大麻素受體1拮抗劑、脂肪酶抑制劑、黑皮質素受體4激動劑或黑色素濃集激素受體1拮抗劑。

化合物可進一步與抗高血壓藥劑組合使用，該抗高血壓藥劑包括(但不限於)血管收縮素轉化酶抑制劑、血管收縮素II受體阻斷劑、利尿劑、 β -阻斷劑或鈣通道阻斷劑。

化合物可與抗血脂異常藥劑組合使用，該抗血脂異常藥劑包括(但不限於)他汀類(statin)、貝特(fibrate)、菸鹼酸(niacin)或膽固醇吸收抑制劑。

因此，本發明進一步提供組合物或治療套組，其包含本發明化合物及(例如)如上文所述之抗糖尿病藥劑、抗肥胖症藥劑、抗高血壓藥劑或抗血脂異常藥劑。亦提供該組合物或治療套組，其用於醫學治療之方法中，尤其用於治療如上文所述之病況。

本發明化合物可藉由合成化學法製得。因此，本發明提供本發明化合物之合成方法。

如已經闡述，本發明延伸至編碼肽序列X或X-Z之核酸、以及包含上述核酸序列之表現載體(視情況以可操作方式連接至序列以引導其表現)及含有核酸或表現載體之宿主細胞。較佳地，宿主細胞能夠表現並視情況分泌本發明化合物。

本發明提供產生本發明化合物之方法，該方法包含在適於表現肽序列X或X-Z之條件下培養宿主細胞並純化由此產生之化合物。若肽僅含有天然胺基酸，則此尤其有用。

若本發明化合物含有一或多個天然胺基酸，則該方法可包含表現含有一或多個與序列X或X-Z之差異之肽序列、視情況純化由此產生之化合物及添加或修飾一或多個胺基酸以產生本發明化合物或包含胺基酸序列X或X-Z之化合物。

不管使用何種方法產生本發明化合物，其皆可包含修飾序列X或X-Z之一或多個其他步驟，尤其用於引入一或多個如本說明書中別處定義之親脂性及/或聚合部分。

本發明進一步提供本發明之核酸、本發明之表現載體或能夠表現並視情況分泌本發明化合物之宿主細胞，其用於醫學治療方法中。應瞭解，核酸、表現載體及宿主細胞可用於治療本文所述之任何病況，其可經本發明化合物自身治療。在提及包含本發明化合物之治療組合物時，除非上下文另外需要，否則本發明化合物之投與或其任何治療使用因此應理解為涵蓋本發明之核酸、表現載體或宿主細胞之等效使用。

【圖式簡單說明】

無

【實施方式】

在本說明書通篇內，使用天然胺基酸之習用一字母及三字母密碼、以及其他胺基酸之公認三字母密碼，例如Aib(α -胺基異丁酸)、Hse(高絲胺酸)、Orn(鳥胺酸)、Dbu(2,4-二胺基丁酸)、Dpr(2,3-二胺基丙酸)。

升糖素係29個胺基酸之肽，其對應於前原升糖素之胺基酸53至81且具有序列His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr (SEQ ID NO: 26)。調酸素(OXM)係37個胺基酸之肽，其包括升糖素之完整29個胺基酸序列及八肽羧基端延伸部分(前原升糖素之胺基酸82至89，具有序列Lys-Arg-Asn-Arg-Asn-Asn-Ile-Ala (SEQ ID NO: 27)且稱為「插入肽1」或IP-1；因此，人類調酸素之全序列係His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr-Lys-Arg-Asn-Arg-Asn-Asn-

Ile-Ala) (SEQ ID NO: 28)。GLP-1之主要生物活性片段係以對應於前原升糖素之胺基酸98至127之30個胺基酸之C端醯胺化肽產生。

術語「天然升糖素」係指具有以下序列之天然人類升糖素：H-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr-OH (SEQ ID NO: 26)。

本發明化合物之序列X內之胺基酸可視為在習用N末端至C末端方向上自1至29連續編號。在提及X內之「位置」時應相應地理解如提及天然人類升糖素及其他分子內之位置。

本發明化合物可包含1至20個胺基酸之C末端肽序列Z，例如以穩定升糖素類似物肽之構象及/或二級結構，及/或使得升糖素類似物肽對酶水解更具耐性，例如如WO99/46283中所述。

若存在，則Z代表1至20個胺基酸殘基之肽序列，例如1至15範圍內、更佳1至10範圍內、具體而言1至7個胺基酸殘基範圍內，例如1、2、3、4、5、6或7個胺基酸殘基，例如6個胺基酸殘基。肽序列Z中之每一胺基酸殘基可獨立地選自Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu (2,4-二胺基丁酸)、Dpr (2,3-二胺基丙酸)及Orn (鳥胺酸)。較佳地，胺基酸殘基係選自Ser、Thr、Tyr、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr及Orn，更佳地僅選自Glu、Lys及Cys。上文提及之胺基酸可具有D-或L-構型，在某些實施例中，其具有L-構型。尤佳序列Z係4、5、6或7個連續離胺酸殘基(即Lys₃、Lys₄、Lys₅、Lys₆或Lys₇)且具體而言5或6個連續離胺酸殘基之序列。Z之其他例示性序列示於WO 01/04156中。或者，序列Z之C末端殘基可為Cys殘基。此可有助於修飾(例如 PEG化或結合至白蛋白)化合物。在該等實施例中，序列Z可(例如)僅為一個胺基酸長(即Z = Cys)或可為2、3、4、5、6或甚至更多個胺基酸長。因此，其他胺基酸用作肽X與末端Cys殘基之間

之間隔體。

肽序列Z與人類OXM之IP-1部分之相應序列(其具有序列Lys-Arg-Asn-Arg-Asn-Asn-Ile-Ala)具有25%以上序列一致性。

給定肽或多肽序列關於另一多肽序列(例如IP-1)之「胺基酸序列一致性百分比(%)」計算為在兩者彼此對準時，與另一多肽之相應序列中之相應定位之胺基酸殘基相同之給定肽序列中之胺基酸殘基的百分比，若需要引入空隙用於最佳對準。可使用WU-BLAST-2測定一致性%之值(Altschul等人，Methods in Enzymology, 266:460-480 (1996))。WU-BLAST-2使用若干搜索參數，其大部分設定為缺設值。利用以下值設定可調節參數：重疊間隙 = 1，重疊分數 = 0.125，字段臨限值(T) = 11。胺基酸序列一致性%之值係藉由以下方式測定：如由WU-BLAST-2測定之匹配相同殘基之數目除以參考序列之殘基之總數目(忽略藉由WU-BLAST-2引入參考序列中以使對準分值最大之空隙)乘以100。

因此，在Z視情況與IP-1之8個胺基酸對準時，其具有不超過2個與IP-1之相應胺基酸相同之胺基酸。

在某些實施例中，Z不存在。

本發明化合物中之一或多條胺基酸側鏈可結合至親脂性取代基。親脂性取代基可共價鍵結至胺基酸側鏈中之原子，或另一選擇為可藉由間隔體結合至胺基酸側鏈。親脂性取代基可結合至作為肽X之部分之胺基酸之側鏈，及/或結合至作為肽Z之部分之胺基酸之側鏈。

不希望受任何特定理論限制，認為親脂性取代基結合血流中之白蛋白，由此保護本發明化合物免受酶促降解且藉此延長化合物之半衰期。亦可調節化合物對(例如)升糖素受體及/或GLP-1受體之效能。

在某些實施例中，僅一條胺基酸側鏈係結合至親脂性取代基。在其他實施例中，兩條胺基酸側鏈各自結合至親脂性取代基。在其他

實施例中，三條或甚至更多條胺基酸側鏈各自結合至親脂性取代基。當化合物含有兩個或更多個親脂性取代基時，其可相同或不同。

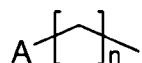
親脂性取代基可包含可直接共價鍵結至胺基酸側鏈中之原子的親脂性取代基 Z^1 或由其組成，或另一選擇為可藉由間隔體 Z^2 結合至胺基酸側鏈。

術語「結合」在此處用於闡述一個可識別化學部分與另一者之物理附接及此等部分間之結構關係。不應將其視為意指任一特定合成方法。

親脂性部分可經由酯、磺醯酯、硫酯、醯胺、胺基甲酸酯、脲或磺醯胺附接至胺基酸側鏈或附接至間隔體。因此，應理解，較佳地，親脂性取代基包括醯基、磺醯基、N原子、O原子或S原子，其形成酯、磺醯酯、硫酯、醯胺或磺醯胺之一部分。較佳地，親脂性取代基中之醯基與胺基酸側鏈或間隔體形成醯胺或酯之一部分。

親脂性部分可包括具有4至30個C原子之烴鏈。較佳地，其具有至少8或12個C原子，且較佳地，其具有24個C原子或更少C原子，或20個C原子或更少C原子。烴鏈可為直鏈或具支鏈且可為飽和或不飽和。應理解，烴鏈較佳經形成與胺基酸側鏈或間隔體之附接之一部分的部分(例如醯基、磺醯基、N原子、O原子或S原子)取代。最佳地，烴鏈經醯基取代，且因此，烴鏈可為烷醯基(例如棕櫚醯基、己醯基、月桂醯基、肉豆蔻醯基或硬脂醯基)之部分。

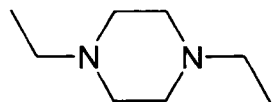
因此，親脂性部分可具有下文所示式：



A可為(例如)醯基、磺醯基、NH、N-烷基、O原子或S原子，較佳為醯基。n係3至29、較佳7至25、更佳11至21、甚至更佳15至19之整數。

烴鏈可進一步經取代。舉例而言，其可尤其在遠離間隔體或肽之分子之自由末端處進一步經至多三個選自 NH_2 、 OH 及 COOH 之取代基取代。舉例而言，其可包含游離羧酸基團。

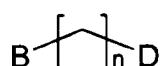
若烴進一步經取代，則其較佳進一步經僅一個取代基取代。或者另外，烴鏈可包括環烷烴或雜環烷烴，例如如下文所示：



較佳地，環烷烴或雜環烷烴係6員環。最佳地，其係六氫吡啶。

或者，親脂性部分可基於環戊醯菲基主鏈，其可部分或完全不飽和或飽和。主鏈中之碳原子可經 Me 或 OH 取代。舉例而言，親脂性取代基可為膽醯基、去氧膽醯基或石膽醯基。

如上文所提及，親脂性部分可藉由間隔體結合至胺基酸側鏈。當存在時，間隔體附接至親脂性部分且附接至胺基酸側鏈。間隔體可獨立地藉由酯、磺醯酯、硫酯、醯胺、胺基甲酸酯、脲或磺醯胺附接至親脂性部分且附接至胺基酸側鏈。因此，其可包括獨立地選自醯基、磺醯基、 N 原子、 O 原子或 S 原子之兩個部分。間隔體可具有下式：



其中 B 及 D 各自獨立地選自醯基、磺醯基、 NH 、 N -烷基、 O 原子及 S 原子，較佳選自醯基及 NH 。較佳地， n 係1至10、較佳1至5之整數。間隔體可進一步經一或多個選自 C_{0-6} 烷基、 C_{0-6} 烷基胺、 C_{0-6} 烷基經基及 C_{0-6} 烷基羧基之取代基取代。

或者，間隔體可具有兩個或更多個上式之重複單元。對於每一重複單元， B 、 D 及 n 各自獨立地經選擇。毗鄰重複單元可經由其各別 B 及 D 部分彼此共價附接。舉例而言，毗鄰重複單元之 B 及 D 部分可一

起形成酯、磺醯酯、硫酯、醯胺或磺醯胺。間隔體之每一末端處之游離B及D單元附接至如上文所述胺基酸側鏈及親脂性部分。

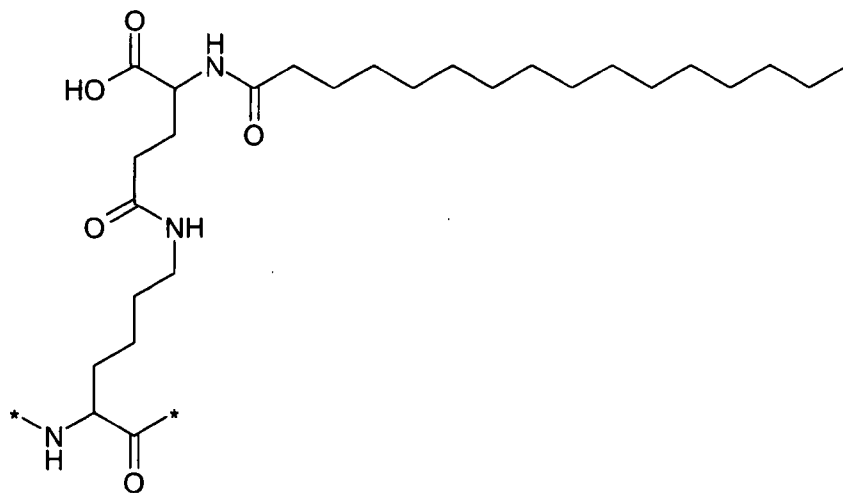
較佳地，間隔體具有5個或更少、4個或更少或3個或更少重複單元。最佳地，間隔體具有兩個重複單元，或係單一單元。

間隔體(或若其具有重複單元，則為間隔體之一或多個重複單元)可為(例如)天然或非天然胺基酸。應理解，對於具有官能化側鏈之胺基酸，B及/或D可為胺基酸之側鏈內之部分。間隔體可為天然或非天然胺基酸。舉例而言，間隔體(或若其具有重複單元，則為間隔體之一或多個重複單元)可為Gly、Pro、Ala、Val、Leu、Ile、Met、Cys、Phe、Tyr、Trp、His、Lys、Arg、Gln、Asn、 α -Glu、 γ -Glu、Asp、Ser、Thr、Gaba、Aib、 β -Ala、5-胺基戊醯基、6-胺基己醯基、7-胺基庚醯基、8-胺基辛醯基、9-胺基壬醯基或10-胺基癸醯基。

舉例而言，間隔體可為選自 γ -Glu、Gaba、 β -Ala及 α -Glu之單一胺基酸。

親脂性取代基可結合至本發明化合物中之任何胺基酸側鏈。較佳地，胺基酸側鏈包括羧基、羥基、硫醇、醯胺或胺基團，其用於與間隔體或親脂性取代基形成酯、磺醯酯、硫酯、醯胺或磺醯胺。舉例而言，親脂性取代基可結合至Asn、Asp、Glu、Gln、His、Lys、Arg、Ser、Thr、Tyr、Trp、Cys或Dbu、Dpr或Orn。較佳地，親脂性取代基結合至Lys。本文所提供式中示為Lys之胺基酸可由(例如)Dbu、Dpr或Orn替代，其中增加親脂性取代基。

包含親脂性部分及間隔體之親脂性取代基之實例示於下式中：



此處，本發明化合物中之Lys殘基經由醯胺部分共價附接至 γ -Glu(間隔體)。棕櫚醯基(即十六醯基)經由醯胺部分共價附接至 γ -Glu間隔體，由此產生十六醯基-isoGlu基團。

或者或另外，本發明化合物中之一或多條胺基酸側鏈可結合至聚合部分，以(例如)增加溶解性及/或活體內半衰期(例如血漿中)及/或生物利用度。亦已知該等修飾可降低治療蛋白及肽之清除率(例如腎清除率)。

熟習此項技術之讀者應充分認識可使用如以下文獻中列舉之一般合成方法用於與間隔體及親脂性部分實施偶合反應之適宜技術：例如，「Comprehensive Organic Transformations, A Guide to Functional Group Preparations」，第2版，Larock, R. C.；Wiley-VCH: New York, 1999。該等轉換可在合成製程期間之任何適宜階段發生。

聚合部分較佳係水溶性(兩親性或親水性)、非毒性且醫藥惰性。適宜聚合部分包括聚乙二醇(PEG)、PEG之均聚物或共聚物、PEG之單甲基取代之聚合物(mPEG)及聚氧乙烯甘油(POG)。參見(例如) *Int. J. Hematology* 68:1 (1998)；*Bioconjugate Chem.* 6:150 (1995)；及*Crit. Rev. Therap. Drug Carrier Sys.* 9:249 (1992)。

其他適宜聚合部分包括聚胺基酸，例如聚離胺酸、聚天冬胺酸及聚麩胺酸(例如，參見 Gombotz 等人，(1995)，*Bioconjugate*

Chem. , 第6卷 : 332-351 ; Hudecz等人 , (1992) , Bioconjugate Chem. , 第3卷 , 49-57 ; Tsukada等人 , (1984) , J. Natl. Cancer Inst. , 第73卷 : 721-729 ; 及Pratesi等人 , (1985), Br. J. Cancer , 第52卷 : 841-848)。

聚合部分可為直鏈或具支鏈。其分子量可為500-40,000 Da , 例如500-10,000 Da、1000-5000 Da、10,000-20,000 Da或20,000-40,000 Da。

本發明化合物可包含兩個或更多個該等部分 , 在該情形下所有該等部分之總分子量通常將屬於上文所提供範圍。

聚合部分可偶合(藉由共價連接)至胺基酸側鏈之胺基、羧基或硫醇基團。較佳實例係Cys殘基之硫醇基團及Lys殘基之 ϵ 胺基。亦可使用Asp及Glu殘基之羧基。

熟習此項技術之讀者應充分認識可用於實施偶合反應之適宜技術。舉例而言, 帶有甲氧基之PEG部分可使用自Nektar Therapeutics購得之試劑藉由馬來醯亞胺基連接偶合至Cys硫醇基團。關於適宜化學法之詳情, 亦參見WO 2008/101017及上文所引用參考文獻。

肽合成

本發明化合物可藉由標準合成方法、重組表現系統或任何其他現有技術方法製造。因此, 可以多種方式合成升糖素類似物, 包括(例如)包含以下之方法:

(a) 藉助固相或液相方法逐步或藉由片段組裝來合成肽, 並對最終肽產物進行分離及純化; 或

(b) 在宿主細胞中表現編碼該肽之核酸構築體並自宿主細胞或培養基回收表現產物; 或

(c) 實現編碼該肽之核酸構築體之無細胞活體外表現並回收表現產物;

或(a)、(b)及(c)之方法之任一組合，以獲得肽片段，隨後連接該等片段以獲得肽，並回收該肽。

較佳藉助固相或液相肽合成來合成本發明類似物。在此上下文中，可提及WO 98/11125及尤其Fields, GB等人，2002, 「Principles and practice of solid-phase peptide synthesis」。In: Synthetic Peptides (第2版)及其中之實例。

對於重組表現，通常將本發明之核酸片段插入適宜載體中以形成帶有本發明之核酸片段之選殖或表現載體；該等新穎載體亦係本發明之部分。端視應用目的及類型而定，載體可呈質粒、噬菌體、黏粒、微染色體或病毒形式，而且僅在某些細胞中瞬時表現之裸DNA亦係重要的載體。本發明之較佳選殖及表現載體(質粒載體)能夠自發複製，藉此出於對高程度表現或高程度複製之目的使得具有高拷貝數用於隨後選殖。

概言之，表現載體在5'→3'方向上且在可操作連接中包含以下特徵：驅動本發明之核酸片段表現之啟動子、視情況編碼使得能夠釋放(至細胞外相或(若適合)至外周質中)之前導肽的核酸序列、編碼本發明之肽之核酸片段及視情況編碼終止子之核酸序列。其可包含諸如可選擇標記及複製起點等額外特徵。在產生菌株或細胞系中與表現載體一起操作時，載體可較佳地能夠整合至宿主細胞基因組中。熟習此項技術者極為熟悉適宜載體且能夠根據其具體要求設計載體。

本發明之載體用於轉換宿主細胞以產生本發明化合物。亦係本發明之部分之該等經轉換細胞可為用於繁殖本發明之核酸片段及載體或用於重組產生本發明之肽之經培養細胞或細胞系。

本發明之較佳轉換細胞係微生物，例如細菌[例如埃希氏屬(*Escherichia*)(例如大腸桿菌(*E. coli*))、芽孢桿菌屬(*Bacillus*) (例如枯草芽孢桿菌(*Bacillus subtilis*))、沙門氏菌屬(*Salmonella*)或分枝桿菌屬

(*Mycobacterium*) (較佳非病原性，例如牛型分枝桿菌BCG(*M. bovis* BCG))、酵母(例如，釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)及甲醇酵母(*Pichia pastoris*))及原生動物。或者，經轉換細胞可衍生自多細胞有機體，即其可為真菌細胞、昆蟲細胞、海藻細胞、植物細胞或動物細胞(例如哺乳動物細胞)。出於選殖及/或最佳化表現之目的，經轉換細胞較佳能夠使本發明之核酸片段複製。表現核酸片段之細胞係本發明之有用實施例；其可用於小規模或大規模製本發明之肽。

在藉助轉換細胞產生本發明之肽時，方便但遠非必要地，表現產物分泌至培養基中。

功效

可使用相關化合物與GLP-1或升糖素(Glu)受體之結合作為激動劑活性之指示，但一般而言，較佳使用生物學分析，其量測由化合物與相關受體之結合引起之細胞內信號傳導。舉例而言，藉由升糖素激動劑活化升糖素受體將刺激細胞環狀AMP (cAMP)形成。類似地，藉由GLP-1激動劑活化GLP-1受體將刺激細胞cAMP形成。因此，可使用在表現該兩種受體中之一者之適宜細胞中產生cAMP來監測相關受體活性。因此可使用適宜細胞類型對(每一類型表現一種受體，而不表現另一者)之應用來測定對兩種受體類型之激動劑活性。

熟習此項技術者應瞭解，適宜分析模式及實例提供於下文中。GLP-1受體及/或升糖素受體可具有如實例中所述受體之序列。舉例而言，分析可利用具有原始登記號GI:4503947之人類升糖素受體(升糖素-R)及/或具有原始登記號GI:166795283之人類升糖素樣肽1受體(GLP-1R)。(倘若提及前體蛋白之序列，則當然應理解，分析可利用不具有信號序列之成熟蛋白)。

可使用EC₅₀值作為對給定受體之激動劑效能之數值量度。EC₅₀值係化合物在特定分析中達成化合物之一半最大活性所需濃度之量度。

因此，舉例而言，可認為在特定分析中 EC_{50} [GLP-1]低於升糖素之 EC_{50} [GLP-1]之化合物對GLP-1受體激動劑之效能高於升糖素。

本說明書中所述化合物通常為GluGLP-1雙重激動劑，如其能夠針對升糖素受體與GLP-1受體二者刺激cAMP形成之觀察所測定。可在獨立分析中量測每一受體之刺激且隨後彼此進行比較。

對於給定化合物而言，藉由比較對GLP-1受體之 EC_{50} 值(EC_{50} [GLP-1-R])與對升糖素受體之 EC_{50} 值(EC_{50} [升糖素R])，可如下計算相對GLP-1R選擇性(%)：

相對GLP-1R選擇性[化合物] = (EC_{50} [GLP-1R]) / (EC_{50} [升糖素-R])

術語「 EC_{50} 」代表通常對特定受體或用於受體功能之特定標記之等級上之半數最大有效濃度，且端視特定生物化學背景可指抑制或拮抗活性。

不希望受限於任何特定理論，化合物之相對選擇性使得可直接比較其對GLP-1或升糖素受體之效應與其對其他受體之效應。舉例而言，化合物之相對GLP-1選擇性愈高，化合物對GLP-1受體之效應與對升糖素受體之效應相比可愈大。通常，比較相同物種之升糖素及GLP-1受體(例如人類升糖素與GLP-1受體或鼠類升糖素與GLP-1受體)之結果。

本發明化合物可具有高於人類升糖素之相對GLP-1R選擇性，以便對於特定升糖素-R激動劑活性程度而言，化合物可展示高於升糖素之GLP-1R激動劑活性程度(即，對GLP-1受體之效能更大)。應理解，特定化合物對升糖素受體及GLP-1受體之絕對效能可高於、低於或近似等於天然人類升糖素之絕對效能，只要達成適當相對GLP-1R選擇性即可。

然而，本發明化合物之 EC_{50} [GLP-1R]可低於人類升糖素。化合

物之 EC_{50} [GLP-1-R]可低於升糖素，同時維持其 EC_{50} [升糖素-R]係人類升糖素之 EC_{50} [升糖素-R]之不超過10倍，係人類升糖素之 EC_{50} [升糖素-R]之不超過5倍，或係人類升糖素之 EC_{50} [升糖素-R]之不超過2倍。

本發明化合物之 EC_{50} [升糖素-R]可比人類升糖素之 EC_{50} [升糖素-R]之2倍小。該等化合物之 EC_{50} [升糖素-R]可比人類升糖素之 EC_{50} [升糖素-R]之2倍小且其 EC_{50} [GLP-1R]可比人類升糖素之 EC_{50} [GLP-1R]之1/2小，比人類升糖素之 EC_{50} [GLP-1R]之1/5小，或比人類升糖素之 EC_{50} [GLP-1R]之1/10小。

化合物之相對GLP-1R選擇性可介於0.05與20之間。舉例而言，化合物之相對選擇性可為0.05-0.20、0.1-0.30、0.2-0.5、0.3-0.7或0.5-1.0；1.0-2.0、1.5-3.0、2.0-4.0或2.5-5.0；或0.05-20、0.075-15、0.1-10、0.15-5、0.75-2.5或0.9-1.1。

在某些實施例中，可期望任何給定化合物對於升糖素-R及GLP-1R二者(例如對於人類升糖素及GLP-1受體)之 EC_{50} 應小於1 nM。

治療用途

本發明化合物可尤其為如下文所論述肥胖症及代謝疾病(包括糖尿病)提供有吸收力之治療及/或預防選擇。

糖尿病包含一群特徵在於源自胰島素分泌、胰島素作用或此二者之缺陷之高血糖症之代謝疾病。糖尿病之急性體徵包括過量尿液產生(導致之補償性口渴及增加之流體攝入)、視力模糊、無法解釋之體重減輕、嗜睡及能量代謝變化。糖尿病之慢性高血糖症與各種器官(尤其是眼睛、腎臟、神經、心臟及血管)之長期損害、功能障礙及衰竭相關。基於致病特性將糖尿病分類為1型糖尿病、2型糖尿病及妊娠糖尿病。

1型糖尿病佔所有糖尿病情形之5-10%且係由胰島素分泌性胰腺

β -細胞之自體免疫破壞引起。

2型糖尿病佔糖尿病情形之90-95%且係源自複雜的代謝病症組。2型糖尿病係內源性胰島素產生變得不足以維持血漿葡萄糖濃度低於診斷臨限之結果。

妊娠糖尿病係指妊娠期間識別之任何程度之葡萄糖失耐。

前期糖尿病包括空腹葡萄糖異常及葡萄糖耐受不良且係指發生於血糖濃度升高但低於針對糖尿病之臨床診斷所確定之濃度之彼等狀態。

大部分2型糖尿病及前期糖尿病患者因極普遍地存在其他代謝風險因子而處於增加之發病率及死亡率之風險下，該等其他代謝風險因素包括腹部肥胖症(腹部內部器官周圍脂肪組織過量)、致動脈粥樣化性血脂異常(血脂紊亂，包括高甘油三酸酯、低HDL膽固醇及/或高LDL膽固醇，其造成動脈壁中之斑塊堆積)、血壓升高(高血壓)、促血栓形成狀態(例如，血液中之高纖維蛋白原或纖維蛋白溶酶原活化物抑制劑-1)及促炎狀態(例如，血液中之升高之C反應蛋白)。

反之，肥胖症會增加產生前期糖尿病、2型糖尿病以及(例如)某些類型之癌症、阻塞型睡眠呼吸中止症及膽囊疾病之風險。

血脂異常與增加之心血管疾病之風險相關。高密度脂蛋白(HDL)具有臨床重要性，此乃因血漿HDL濃度與動脈粥樣硬化疾病風險之間存在逆相關。儲存於動脈粥樣硬化斑塊中之大多數膽固醇源自LDL且因此升高之低密度脂蛋白(LDL)之濃度與動脈粥樣硬化密切相關。HDL/LDL比率係動脈粥樣硬化且具體而言冠狀動脈粥樣硬化之臨床風險指標。

代謝症候群之特徵在於人之一組代謝風險因子。其包括腹部肥胖症(腹部內部器官周圍脂肪組織過量)、致動脈粥樣化性血脂異常(血脂紊亂，包括高甘油三酸酯、低HDL膽固醇及/或高LDL膽固醇，其

造成動脈壁中之斑塊堆積)、血壓升高(高血壓)、胰島素抗性葡萄糖不耐、促血栓形成狀態(例如，血液中之高纖維蛋白原或纖維蛋白溶酶原活化物抑制劑-1)及促炎狀態(例如，血液中之升高之C反應蛋白)。

患有代謝症候群之個體處於冠狀動脈心臟病及與動脈硬化之其他表現相關之其他疾病(例如，中風及外周血管疾病)之增加風險下。此症候群之主要潛在風險因子似乎為腹部肥胖症。

不希望受任何特定理論限制，相信本發明化合物用作人類升糖素-受體及人類GLP1-受體之雙重激動劑，此處縮寫為雙重GluGLP-1激動劑。雙重激動劑可組合升糖素對(例如)脂肪代謝之效應與GLP-1對(例如)血糖濃度及食物攝入之效應。因此，其可用於加速清除過量脂肪組織，誘導可持續體重減輕，並改良血糖控制。雙重GluGLP-1激動劑亦可用於降低諸如高膽固醇、高LDL-膽固醇或低HDL/LDL膽固醇比率等心血管風險因子。

因此，本發明化合物可在有需要之個體中用作醫藥劑，以用於防止體重增加，促進體重減輕，減少過重體重或治療肥胖症(例如，藉由控制食欲、進食、食物攝入、卡路里攝入及/或能量消耗)，包括病態肥胖症、以及相關疾病及健康狀況，包括(但不限於)肥胖症相關性炎症、肥胖症相關性膽囊疾病及肥胖症誘導型睡眠呼吸中止症。本發明化合物亦可用於治療由葡萄糖控制不良(包括代謝症候群)、胰島素抗性、葡萄糖失耐、前期糖尿病、增加之空腹葡萄糖、2型糖尿病、高血壓、動脈粥樣硬化、動脈硬化、冠狀動脈心臟病、外周動脈疾病及中風引起或與其相關之病況。該等病況中之一些可與肥胖症相關。然而，本發明化合物對該等病況之效應可經由對體重之效應來完全或部分地調介，或可獨立於其進行。

雙重GluGLP-1激動劑之協同效應亦可引起諸如高膽固醇及LDL等心血管風險因子減輕，該等風險因子可完全獨立於其對體重之效

應。

因此，本發明提供本發明化合物之用途，其用於治療有需要之個體之如上文所述病況。

本發明亦提供本發明化合物，其用於醫學治療之方法中，尤其用於治療如上文所述病況之方法中。

在較佳態樣中，所述化合物可用於治療糖尿病、尤其2型糖尿病。

在具體實施例中，本發明包含化合物之用途，其用於治療有需要之個體之糖尿病、尤其2型糖尿病。

在同樣較佳之態樣中，所述化合物可用於預防體重增加或促進體重減輕。

在具體實施例中，本發明包含化合物之用途，其用於在有需要之個體中預防體重增加或促進體重減輕。

在具體實施例中，本發明包含化合物之用途，其用於治療由超重引起或特徵在於超重之病況的方法中：例如治療及/或預防有需要之個體之肥胖症、病態肥胖症、手術之前病態肥胖症、肥胖症相關性發炎、肥胖症相關性膽囊疾病、肥胖症誘導型睡眠呼吸中止症、前期糖尿病、糖尿病(尤其2型糖尿病)、高血壓、致動脈粥樣化血脂異常、動脈粥樣硬化、動脈硬化、冠狀動脈心臟病、外周動脈疾病、中風或微血管疾病。

在另一態樣中，所述化合物可用於降低循環LDL含量及/或增加HDL/LDL比率之方法中。

在具體實施例中，本發明包含化合物之用途，其用於在有需要之個體中降低循環LDL含量及/或增加HDL/LDL比率之方法中。

在另一態樣中，所述化合物可用於降低循環甘油三酸酯含量之

方法中。

醫藥組合物

本發明化合物可調配為製備用於儲存或投與之醫藥組合物。該組合物通常包含治療有效量之呈適當形式且存於醫藥上可接受之載劑中之本發明化合物。

治療有效量之本發明化合物應取決於投與途徑、所治療哺乳動物之類型及所考慮具體哺乳動物之身體特性。用於測定此量之該等因素及其關係為熟習醫學技術之從業者所熟知。此量及投與方法可經調整以達成最佳功效，且其可取決於諸如重量、飲食、同時服用之藥物等因素及為彼等熟習醫學技術者所熟知之其他因素。最適於人類應用之劑量大小及給藥方案可藉由本發明獲得之結果指導，且可在經適當設計之臨床試驗中證實。本發明化合物尤其可用於治療人類。

有效劑量及治療方案可藉由習用手段測定，其中在實驗室動物中以低劑量開始且隨後增加劑量，同時監測效應，且亦系統地改變劑量方案。臨床醫師在測定給定個體之最佳劑量時可考慮眾多因素。此等考慮因素為熟習此項技術者已知。

術語「醫藥上可接受之載劑」包括任一標準醫藥載劑。用於治療用途之醫藥上可接受之載劑為醫藥技術領域所熟知，且闡述於(例如) Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing公司(A. R. Gennaro編輯，1985)中。舉例而言，可使用微酸性或生理pH下之無菌鹽水及磷酸鹽緩衝鹽水。pH緩衝劑可為磷酸鹽、檸檬酸鹽、乙酸鹽、叁(羥基甲基)胺基甲烷(TRIS)、N-叁(羥基甲基)甲基-3-胺基丙磺酸(TAPS)、碳酸氫銨、二乙醇胺、組胺酸(其係較佳緩衝液)、精胺酸、離胺酸或乙酸鹽或其混合物。該術語進一步涵蓋美國藥典(US Pharmacopeia)中所列示用於動物(包括人類)之任何藥劑。

術語「醫藥上可接受之鹽」係指本發明化合物中之任一者之鹽。鹽包括醫藥上可接受之鹽，例如酸加成鹽及鹼性鹽。酸加成鹽之實例包括鹽酸鹽、檸檬酸鹽及乙酸鹽。鹼性鹽之實例包括鹽，其中陽離子係選自鹼金屬(例如鈉及鉀)、鹼土金屬(例如鈣)及銨離子 $^+N(R^3)_3(R^4)$ ，其中 R^3 及 R^4 獨立地指定視情況經取代之 C_{1-6} -烷基、視情況經取代之 C_{2-6} -烯基、視情況經取代之芳基或視情況經取代之雜芳基。醫藥上可接受之鹽之其他實例闡述於「Remington's Pharmaceutical Sciences」，第17版，編輯，Alfonso R. Gennaro(編輯)，Mark Publishing公司，Easton, PA, U.S.A., 1985及最近版本及Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology中。

「治療」係獲得有益或期望臨床結果之方法。出於本發明之目的，有益或期望臨床結果包括(但不限於)症狀之減輕、疾病程度之減弱、穩定之疾病狀態(即，不惡化)、疾病進程之延遲或減緩、疾病狀態之改善或緩和及緩解(無論部分或全部)，無論可檢測或不可檢測。「治療」亦可意指與未接受治療者之預期存活期相比存活期延長。「治療」係意欲預防病症發生或改變病症病理所實施之干預。因此，在某些實施例中，「治療」係指治療性治療與預防性(prophylactic或preventative)措施二者。彼等需要治療者包括彼等已患有病症者以及彼等需預防病症者。治療意指當與不存在治療相比時抑制或減少病理或症狀(例如，體重增加、高血糖症)之增加，且未必意欲暗示相關病況之完全終止。

醫藥組合物可呈單位劑型。在此形式中，該組合物可分為含有適當量活性組份之單位劑量。單位劑型可為包裝製劑，該包裝含有分散量之製劑，例如存於小瓶或安瓿中之經包裝之錠劑、膠囊及粉劑。該單位劑型本身亦可係膠囊、丸劑或錠劑，或其可係適宜量之任何該等經包裝形式。其可以單一劑量可注射形式(例如呈筆形式)提供。在

某些實施例中，包裝形式包括具有使用說明書之標記或插入頁。組合物可經調配以用於任何適宜之投與途徑及手段。醫藥上可接受之載劑或稀釋劑包括彼等用於適於經口、直腸、鼻、局部(包括經頰及舌下)、經陰道或非經腸(包括皮下、肌內、靜脈內、皮內及經皮)投與之調配物中者。該等調配物可便利地以單位劑型存在且可藉由製藥技術中熟知之任何方法來製備。

皮下或經皮投與方式可尤其適於本文所述化合物。

本發明之組合物可進一步經由(例如)共價、疏水性及靜電相互作用在藥物載劑、藥物遞送系統及高級藥物遞送系統中複合或與其附接，以進一步增強化合物之穩定性，提高生物利用度，提高溶解度，降低不良效應，達成彼等熟習此項技術者所熟知之時間療法，及提高患者依從性或其任一組合。載劑、藥物遞送系統及高級藥物遞送系統之實例包括(但不限於)聚合物，例如纖維素及衍生物；多糖，例如葡聚糖及衍生物；澱粉及衍生物；聚(乙烯醇)、丙烯酸酯及甲基丙烯酸酯聚合物；聚乳酸及聚乙醇酸及其嵌段共聚物；聚乙二醇；載劑蛋白，例如白蛋白；凝膠，例如熱膠凝系統，例如彼等熟習此項技術者所熟知之嵌段共聚物系統；微胞、脂質體、微球體、奈米微粒、液晶及其分散液、彼等熟習在脂質-水系統中之相行為之技術者所熟知之L2相及其分散液、聚合物微胞、多重乳液、自乳化、自微乳化環糊精及其衍生物；及樹枝狀聚合物。

組合療法

本發明之化合物或組合物可作為組合療法之一部分與用於治療肥胖症、高血壓、血脂異常或糖尿病之藥劑一起投與。

在該等情形下，兩種活性劑可一起或分開且作為相同醫藥調配物之部分或作為單獨調配物給予。

因此，本發明之化合物或組合物可進一步與抗肥胖症藥劑組合

使用，該抗肥胖症藥劑包括(但不限於)升糖素樣肽受體1激動劑、肽YY或其類似物、大麻素受體1拮抗劑、脂肪酶抑制劑、黑皮質素受體4激動劑或黑色素濃集激素受體1拮抗劑。

本發明之化合物或組合物可與抗高血壓藥劑組合使用，該抗高血壓藥劑包括(但不限於)血管收縮素轉化酶抑制劑、血管收縮素II受體阻斷劑、利尿劑、 β -阻斷劑或鈣通道阻斷劑。

本發明之化合物或組合物可與血脂異常藥劑組合使用，該血脂異常藥劑包括(但不限於)他汀類、貝特、菸鹼酸及/或膽固醇吸收抑制劑。

此外，本發明之化合物或組合物可與抗糖尿病藥劑組合使用，該抗糖尿病藥劑包括(但不限於)雙胍(例如二甲雙胍)、磺醯脲、美格替耐或格列奈(例如那格列奈)、DPP-IV抑制劑、格列酮、不同GLP-1激動劑、胰島素或胰島素類似物。在較佳實施例中，化合物或其鹽與胰島素或胰島素類似物、DPP-IV抑制劑、磺醯脲或二甲雙胍、尤其磺醯脲或二甲雙胍組合用於達成充分血糖控制。胰島素類似物之實例包括(但不限於) Lantus、Novorapid、Humalog、Novomix及Actraphane HM、Levemir及Apidra。

實例

實例1：升糖素類似物之通用合成

在微波輔助合成器上使用標準Fmoc策略於NMP中在聚苯乙烯樹脂(TentaGel S Ram)上實施固相肽合成(SPPS)。使用HATU作為偶合試劑以及使用DIPEA作為鹼。使用六氫吡啶(20%，存於NMP中)進行去保護。類脯胺酸：若適當，使用Fmoc-Phe-Thr(psiMe,Mepro)-OH及Fmoc-Asp-Ser(psiMe,Mepro)-OH (自NovaBiochem購得)。

所用縮寫如下：

Boc： 第三丁基氧基羰基

ivDde :	1-(4,4-二甲基-2,6-二側氧基亞環己基)3-甲基-丁基
Dde :	1-(4,4-二甲基-2,6-二側氧基亞環己基)-乙基
DCM :	二氯甲烷
DMF :	<i>N,N</i> -二甲基甲醯胺
DIPEA :	二異丙基乙基胺
EDT :	1,2-乙二硫醇
EtOH :	乙醇
Et ₂ O :	二乙醚
HATU :	六氟磷酸 <i>N</i> -[(二甲基胺基)-1 <i>H</i> -1,2,3-三唑并[4,5- <i>b</i>]吡啶-1-基亞甲基]- <i>N</i> -甲基甲銨 <i>N</i> -氧化物
MeCN :	乙腈
NMP :	<i>N</i> -甲基吡咯啉酮
TFA :	三氟乙酸
TIS :	三異丙基矽烷

解離 :

藉由於室溫(r.t.)下用95/2.5/2.5 % (v/v) TFA/TIS/水處理2小時使粗製肽自樹脂解離。對於序列中具有甲硫胺酸之肽，使用95/5 (v/v) TFA/EDT之混合物。在減壓下去除大多數TFA且粗製肽沈澱並用二乙醚洗滌並於環境溫度下使其乾燥至恆定重量。

合成以下化合物：

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDK(十 六 醯 基 -isoGlu)-AAHDFVEWLLS-OH (化合物1)

H-HSQTFTSDYSKYLDK(十 六 醯 基 -isoGlu)-AAHDFVEWLLSA-OH (化合物2)

H-HSQTFTSDYSKYLDK(十 六 醯 基 -isoGlu)-AAHDFVEWLLRA-OH (化合物3)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAKDFIEWLLSA-NH₂ (化合物4)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHDFVEWLESA-NH₂ (化合物5)

H-HSQTFTSDYSRYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAEDFVEWLLRA-NH₂ (化合物6)

H-HSQTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAEDFVEWLLRA-NH₂ (化合物7)

H-HSQTFTSDYSKYLDS-K(十六醯基-isoGlu)-AAHDFVEWLLS-
NH₂ (化合物8)

H-HSQTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHDFVEWLLR-OH (化合物9)

H-HSQTFTSDYSKYLDE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHEFVEWLESA-NH₂ (化合物10)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
RAKDFIEWLLS-OH (化合物11)

H-HSQTFTSDYSRYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHDFVEWLLSA-NH₂ (化合物12)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHDFVEWLLSA-OH (化合物13)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
RAKDFIEWLLSA-OH (化合物14)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAKDFIEWLESA-NH₂ (化合物15)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAEDFVEWLESA-NH₂ (化合物16)

H-H-Aib-HGTFTSDYSKYLE-S-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAEEFIEWLESA-OH (化合物17)

H-HSHGTFTSDYSKYLEE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHEFIEWLESA-OH (化合物18)

H-H-Aib-HGTFTSDYSKYLEE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHEFVEWLESA-NH₂ (化合物19)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAKDFIEWLESA-NH₂ (化合物20)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-S-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAEDFIEWLESA-NH₂ (化合物21)

H-HSQGTFTSDYSKYLEE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAKDFIEWLESA-NH₂ (化合物22)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-S-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAHDFVEWLESA-NH₂ (化合物23)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-S-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAEDFVEWLESA-NH₂ (化合物24)

H-H-DSer-QGTFTSDYSKYLDE-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-
AAKDFIEWLESA-NH₂ (化合物25)

實例2：醯基化升糖素類似物之通用合成

如上文針對升糖素類似物之合成所述合成肽主鏈，只是在離胺酸殘基之側鏈上用肽對其進行醯基化直至附接至樹脂且在側鏈基團上完全保護，只是醯基化離胺酸上之 ϵ -胺。利用Fmoc-Lys(ivDde)-OH或Fmoc-Lys(Dde)-OH納入欲醯基化之離胺酸。利用Boc基團使用存於NMP中之Boc₂O保護肽之N末端。在肽仍附接至樹脂時，使用存於NMP中之5%胼水合物選擇性解離ivDde保護基團。隨後首先使未經保護之離胺酸側鏈與間隔體胺基酸樣Fmoc-Glu-OtBu偶合，隨後使用如

上文所述之標準肽偶合方法用六氫吡啶使其去保護並用脂肪酸鹽基化。或者，可在開始時以Boc-His(Boc)-OH形式納入N末端處之組胺酸。如上文所述實施自樹脂之解離及純化。

實例3：升糖素受體及GLP-1-受體功效分析

合成編碼人類升糖素受體(升糖素-R) (原始登記號P47871)或人類升糖素樣肽1受體(GLP-1R) (原始登記號P43220)之cDNA並將其選殖至含有Zeocin抗性標記之哺乳動物表現載體中。

藉由Attractene方法將表現升糖素-R或GLP-1-R之哺乳動物表現載體轉染至中國倉鼠卵巢(CHO)細胞中。藉由Zeocin選擇(250 µg/mL)在對選擇壓力具有抗性之細胞之有限稀釋後獲得穩定表現之純系。挑選升糖素-R及GLP-1-R細胞純系表現，使其繁殖並如下文所述在升糖素-R及GLP-1-R功效分析中進行測試。選擇一個升糖素-R表現純系及一個GLP-1-R表現純系用於化合物曲線分析(profiling)。

在分析之前24小時以30,000個細胞/孔在96孔微量滴定板中於100 µl生長培養基中之培養物中接種表現人類升糖素-R或人類GLP-1-R之CHO細胞。在分析當天，去除生長培養基並將細胞用200 µl分析緩衝液(Krebs-Ringer-緩衝液-KRBH)洗滌一次。去除緩衝液並將細胞於室溫下在含有增加濃度之測試肽之去離子水中之10 µl KRBH (KRBH + 10 mM HEPES, 5 mM NaHCO₃, 0.1 % (V/V) BSA)與0.1 mM IBMX中之培育15 min。藉由添加裂解緩衝液(0.1 % w/v BSA, 5 mM HEPES, 0.3 % v/v Tween-20)停止反應。於室溫下細胞裂解10 min後，將裂解物轉移至384孔板並添加10 µl如包含於AlphaScreen™ cAMP功能分析套組中之受體/供體珠粒混合物。於室溫下在黑暗中培育1小時後，藉由應用Perkin-Elmer之AlphaScreen™ cAMP功能分析套組根據製造商說明書測定cAMP含量。藉由應用電腦輔助曲線擬合來計算與參考化合物(升糖素及GLP-1)相比之EC₅₀及相對功效。如先前所定義計算GLP-1/

升糖素比率。參見表1A及1B。

化合物	EC50 hGCGR CHO-K1 [nM]	EC50 hGLP-1R CHO-K1 [nM]	GLP-1/ 升糖素之比率
1	0.90	0.54	0.60
2	0.31	0.77	2.48
3	0.35	0.91	2.60
4	1.56	0.38	0.24
5	0.46	0.16	0.35
6	0.46	0.35	0.76
7	0.45	0.27	0.60
8	0.29	0.41	1.41
9	0.25	0.35	1.40
10	0.23	0.23	1.00
11	0.61	0.64	1.05
12	0.43	0.37	0.86
13	0.98	0.51	0.52
14	0.54	0.53	0.98
15	0.61	0.19	0.31
16	1.58	0.20	0.13

表1A.

化合物	EC50 hGCGR CHO-K1 [nM]	EC50 hGLP-1R CHO-K1 [nM]	GLP-1/ 升糖素之比率
17	0.05 nM	0.23 nM	4.6
18	0.14 nM	0.87 nM	6.2
19	0.08 nM	0.27 nM	3.38
20	0.68 nM	0.23 nM	0.34
21	1.32 nM	0.12 nM	0.09
22	0.10 nM	0.24 nM	2.40

23	0.25 nM	0.13 nM	0.52
24	0.92 nM	0.11 nM	0.12
25	0.16 nM	0.31 nM	1.94

表1B

在不同實驗室中之使用相同方案實施之實驗中測試兩組化合物。

實例4：對內源GLP-1受體之激動活性

使用鼠類胰島素瘤細胞系測定測試化合物對內源GLP-1受體之激動活性。使用細胞內cAMP作為受體活化之指示劑。

將細胞以10,000個細胞/孔之密度在384孔板中培養24 h。去除培養基並於26℃下經15分鐘向孔中添加含有測試化合物或GLP-1（濃度自0.1 pM增加至100 nM)或溶劑對照(0.1% (v/v) DMSO)之10 µL KRBH緩衝液(NaCl 130 mM, KCl 3.6 mM, NaH₂PO₄ 0.5 mM, MgSO₄ 0.5 mM, CaCl₂ 1.5 mM)。

使用AlphaScreen cAMP功能分析套組(Perkin Elmer)量測細胞cAMP含量。使用Envision (PerkinElmer)根據製造商之推薦實施量測。

所有量測皆係一式四份地實施。

使用含有0.1% (v/v) DMSO之KRBH緩衝液中製備之cAMP標準曲線將結果轉化成cAMP濃度。所得cAMP曲線係絕對cAMP濃度(nM)對log (測試化合物濃度)來繪示並使用曲線擬合程式XLfit進行分析。

經計算以闡述每一測試化合物對內源GLP-1受體之效能以及激動活性的參數係：

pEC50 (EC50之負對數值，即產生cAMP含量之半數最大升高之濃度，反映測試化合物之效能)；

對照% (%CTL) (基於GLP-1誘導之最大cAMP反應(100 %CTL)正

規化之每一測試化合物濃度的cAMP升高%)。參見表2。

化合物	EC50 GLP-1R (鼠類胰島素瘤細胞) [nM]
1	1.47
2	1.41
3	1.06
4	0.95
5	0.54
6	1.14
7	0.84
8	0.95
9	1.02
10	0.33
11	1.01
12	1.62
13	1.06
14	0.72
15	0.30
16	0.33
17	0.89
18	0.99
19	0.33
20	0.27
21	0.30
22	0.35
23	0.31
24	0.33
25	0.41

表2.

實例5：對內源升糖素受體之激動活性

藉由量測測試化合物對原代大鼠肝細胞中之糖原合成之速率之效應測定其對內源升糖素受體之激動活性。在活化升糖素受體後，預計糖原合成速率會受抑制。藉由對界定時間段內納入細胞糖原儲存中之放射性標記之葡萄糖的量進行計數測定糖原合成速率。

於37°C 及5% CO₂下將原代大鼠肝細胞以40,000個細胞/孔之密度在24孔板中培養24小時。

丟棄培養基並用PBS洗滌細胞。隨後向孔中添加180 µL含有0.1% BSA及22.5 mM濃度之葡萄糖的基於KRBH之緩衝液，之後添加測試化合物及40 µCi/ml D-[U14C]葡萄糖(各自20 µL)。繼續培育3小時。

在培育時段結束後，抽出培育緩衝液並用冰冷PBS洗滌一次，之後藉由於室溫下與100 µL 1 mol/l NaOH一起培育30 min進行裂解。

將細胞裂解物轉移至96孔濾板並藉由將濾板於4°C 下培育120 min、之後用冰冷乙醇(70%)將濾板洗滌4次來使糖原沈澱。將所得沈澱過濾至乾燥並藉由使用Topcount閃爍計數器根據製造商之推薦測定所納入¹⁴C-葡萄糖之量。

包括具有媒劑對照(0.1% (v/v) DMSO，存於KRBH緩衝液中)之孔作為非抑制糖原合成(100 %CTL)之參照。包括未添加D-[U¹⁴C]葡萄糖之孔作為非特異性背景信號(自所有值減去)之參照。使用內源升糖素肽作為陽性對照。

至少一式三份地實施例所有處理。

經計算以闡述每一測試化合物對內源糖原受體之效能以及激動活性的參數係pEC50及%CTL。

藉由計算在測試化合物存在下與在減去背景CPM/孔後媒劑對照之CPM/孔比較的CPM/孔之便分別測定%CTL：

$$\frac{[\text{CPM/孔(基礎)} - \text{CPM/孔(試樣)}] * 100}{[\text{CPM/孔(基礎)} - \text{CPM/孔(對照)}]}$$

升糖素受體之活化劑可引起糖原合成速率受抑制且將產生介於0%CTL (完全抑制)與100%CTL (無可觀察到之抑制)之間之%CTL值。

所得活性曲線係絕對計數(單位：cpm/試樣)對log (測試化合物濃度)來繪示並使用曲線擬合程式XLfit進行分析。

pEC50 (EC50之負對數值)反映測試化合物之效能。

化合物	EC50 GLP-1R 大鼠肝細胞 [nM]
1	0.13
1	0.02
2	0.43
3	0.16
4	0.35
5	0.03
6	2.87
7	1.92
8	1.10
9	0.37
10	0.04
12	0.24
13	0.67
14	0.10
15	0.17
16	1.85
17	0.18
18	0.18

19	0.06
20	0.39
21	3.40
22	0.28
23	1.32
24	6.15
25	0.15

表3.

關於GLP-1R活化引用之術語 EC_{50} 及 pEC_{50} 可同等地視為關於糖原合成之 IC_{50} 及 pIC_{50} 。

實例6：藥物動力學參數之評估

在向C57Bl/6J小鼠皮下及靜脈內投與後測定測試化合物之藥物動力學參數。

自Taconic (Denmark)獲得8週齡之雄性C57Bl/6J小鼠，在到達測試設備時重約20-25 g。將小鼠圈養在III型歐洲標準籠中，12小時暗及12小時光之光循環(在06.00時點亮)。在整個實驗時段期間隨意投與兩種飲食(即Altromin 1324 (Altromin, Germany)及水)。在啟動實驗程序之前至少7天，將8-11週之動物導入實驗室，以確保適當適應。在取樣後，藉由頸椎脫臼使小鼠無痛致死。

首先將化合物於0.096%氨水中溶解至2 mg/ml之標稱濃度，且隨後在含有25 mM磷酸鹽緩衝液(pH 7.4)之無菌PBS中稀釋至期望投藥濃度(4 μ M)。給予對應於20 nmol/kg之皮下及靜脈內注射。投與GLP-1-升糖素雙重激動劑，在頸部區中皮下投與且經由側面尾部靜脈靜脈內投藥。

對於皮下投與至冰冷之 K_3 EDTA管中在0.5 h、2 h、4 h、6 h、12 h、16 h、20 h、24 h時刻時且對於靜脈內投與在10 min、30 min、3 h、6 h、12 h、18 h、24 h時刻時自眼眶叢收集血樣(250 μ l)並在20分

鐘取樣內於4℃下離心5分鐘。將血漿(>100 µl)分離至冰冷之Micronic管，立刻冷凍並保持於-70℃下直至使用LC-MS/MS分析各別GLP-1-升糖素化合物之血漿濃度。藉由WinNonLin v6.3 (Pharsight公司 Mountain View, Calif., USA)中之非房室方法分析各別血清濃度-時間曲線並測定所得藥物動力學參數。參見表4。

	SC				IV	
化合物	平均滯留時間(hr)	生物利用度(%)	Tmax (hr)	最終半衰期(hr)	清除率 (L/hr/kg)	最終半衰期(hr)
1	12.6	52	4	6.2	0.0102	5.2
2	11.2	59	4	5.1	0.0111	5.0
3	9.8	52	6	3.9	0.0115	4.1
4	12.5	53	4	6.4	0.0111	7.4
5	7.6	81	4	3.8	0.0111	4.0
6	10.6	47	4	4.3	0.0094	3.7
7	12.8	75	4	8.6	0.0132	5.5
8	8.1	42	4	4.1	0.0077	3.9
9	4.7	34	2	2.9	0.0383	0.9
10	6.5	80	2	3.7	0.0213	3.0
11	12.5	64	4	5.0	0.0094	3.9
12	8.3	43	6	4.3	0.0135	4.1
13	14.7	76	4	8.6	0.0089	6.3
14	12.2	64	4	6.1	0.0135	6.2
15	17.4	97	6	10.5	0.0077	6.0
16	7.5	80	2	5.0	0.0187	4.8

表4.

實例7：C57BL/6J小鼠中之經口葡萄糖耐受性測試(OGTT)

使雄性C57BL/6J小鼠禁食10 h，之後其接受2 g/kg體重之經口葡萄糖濃注。將肽溶解於經25 mM磷酸鹽緩衝之鹽水中並在葡萄糖濃注之前4 h以10 nmol/kg體重之劑量藉由皮下注射投與。對照動物僅接受

媒劑注射。組大小係每組7只動物。藉由尾部出血獲得投藥前及葡萄糖前(0 min)血樣並利用血糖測計儀量測血糖。在葡萄糖攻擊後15 min、30 min、60 min、90 min及120 min獲得用於量測血糖之尾部血液之額外試樣。藉由計算介於0 min與120 min之間之血糖-時間曲線下總面積(AUC)對葡萄糖偏移進行定量。藉由梯形法則在無基線校正情況下進行AUC之計算。數據表示為平均數 ± S.E.M。藉由單因子ANOVA、之後Tukey之後測試實施統計比較。單獨媒劑用作對照。參見表5。

化合物	AUC (% Ctrl)
1	66
2	66
3	70
4	65
5	46
6	50
7	57
8	50
9	57
10	46
11	61
12	56
13	55
14	59
15	42
16	44

表5

實例8：飲食誘導之肥胖C57BL/6J小鼠中升糖素-GLP-1受體雙重作用

激動劑對肥胖之亞慢性效應

將5週齡之雄性C57BL/6J小鼠(Taconic A/S, Denmark)在12:12小時光-暗循環下維持高脂肪飲食(總能量之60%來自脂肪，D12492，Research Diet公司) 20週。隨後將所有小鼠(每個籠圈養2只)模擬處理1週以使動物適應操作及注射。隨後，根據體脂肪質量(藉由磁共振技術量測)及體重將小鼠分成9組(n=9-12)。其後將動物用皮下注射(5 ml/kg)媒劑(25 mM磷酸鹽緩衝液，pH 7.4)或測試物質(每次投與5 nmol/kg，存於相等量之媒劑中)每日處理兩次，持續總共31天。在光期開始及結束時給予每日注射。貫穿研究每日測定體重、食物及水攝取。數據在表6中表示為平均體重變化± S.E.M.。S.E.M.定義為平均值之標準誤差且使用下式計算： $S.E.M. = SD / \sqrt{n}$ ，其中SD係標準偏差且n係觀察之數目(在此情形下動物/組)。

使用Graph Pad Prism第5版實施統計分析。使用單因子ANOVA、之後Dunnett之多重比較測試比較所量測參數。將認為在 $p < 0.05$ 下之差異具有統計學顯著性。

治療組	平均體重 變化(%)	SEM	對媒劑組之差 異之顯著性
媒劑	4.8	1.3	
利拉魯肽 (Liraglutide)	-2.3	1.5	**
化合物2	-5.1	1.9	***
化合物7	-8.7	1.5	***
化合物14	-9.5	1.1	***
化合物15	-10.9	1.6	***
化合物16	-12.2	1.1	***

** - $p < 0.01$ ，*** - $p < 0.001$ 對媒劑

表6.

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 丹麥商西蘭製藥公司
德商百靈佳殷格翰國際股份有限公司

<120> 升糖素類似物

<130> GRF/FP6921837

<140> TW 102132640

<141> 2013-09-10

<150> EP 12184744.6

<151> 2012-09-17

<150> US 61/701,952

<151> 2012-09-17

<150> US 61/784,294

<151> 2013-03-14

<160> 46

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> Aib

<220>

<221> SITE

<222> (16)..(16)

<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>

<221> SITE

<222> (16)..(16)

<223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 1

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser
20 25

<210> 2

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X

<220>

<221> SITE

<222> (16)..(16)

<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>

<221> SITE

<222> (16)..(16)

<223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 2

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser Ala
20 25

<210> 3

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體：請求項 2 之肽 X

<220>

<221> SITE

<222> (16)..(16)

<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>

<221> SITE

<222> (16)..(16)

<223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 3

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Arg Ala
20 25

<210> 4

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> Aib

<220>

<221> SITE

<222> (16)..(16)

<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>

<221> SITE

<222> (16)..(16)

<223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 4

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15

Lys Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Leu Ser Ala
20 25

<210> 5

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Aib

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 5

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala
20 25

<210> 6
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 6

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala Glu Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Arg Ala
20 25

<210> 7
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 7

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala Glu Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Arg Ala
20 25

<210> 8
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 8

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser
20 25

<210> 9
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 9

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Arg
20 25

<210> 10
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X

<220>
<221> SITE

<222> (16)..(16)
<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 10
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Glu Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala
20 25

<210> 11
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Aib

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 11
His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Leu Ser
20 25

<210> 12
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 12
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser Ala

20

25

<210> 13
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 2 之肽 X

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Aib

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 13

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser Ala
20 25

<210> 14
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 2 之肽 X

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Aib

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 14

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Leu Ser Ala
20 25

<210> 15
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 3 之肽 X

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Aib

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 15

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15

Lys Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala
20 25

<210> 16
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 6 之肽 X

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Aib

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 16

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala Glu Asp Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala
20 25

<210> 17
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Aib

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
 <221> SITE
 <222> (16)..(16)
 <223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 17

His Ala His Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Ser
 1 5 10 15

Lys Ala Ala Glu Glu Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala
 20 25

<210> 18
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X

<220>
 <221> SITE
 <222> (16)..(16)
 <223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
 <221> SITE
 <222> (16)..(16)
 <223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 18

His Ser His Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Glu
 1 5 10 15

Lys Ala Ala His Glu Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala
 20 25

<210> 19
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib

<220>
 <221> SITE
 <222> (16)..(16)
 <223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
 <221> SITE
 <222> (16)..(16)
 <223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 19

His Ala His Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Glu
 1 5 10 15

Lys Ala Ala His Glu Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala
 20 25

<210> 20
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 8 之肽 X

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Aib

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 請求項 14 中之 Lys (十六鹽基-isoGlu)

<400> 20
His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Lys Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala
20 25

<210> 21
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 8 之肽 X

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Aib

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 請求項 14 中之 Lys (十六鹽基-isoGlu)

<400> 21
His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala Glu Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala
20 25

<210> 22
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 8 之肽 X

<220>

<221> SITE
 <222> (16)..(16)
 <223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
 <221> SITE
 <222> (16)..(16)
 <223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 22

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Glu
 1 5 10 15

Lys Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala
 20 25

<210> 23
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體：請求項 8 之肽 X

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib

<220>
 <221> SITE
 <222> (16)..(16)
 <223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
 <221> SITE
 <222> (16)..(16)
 <223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 23

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Ser
 1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala
 20 25

<210> 24
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成構築體：請求項 8 之肽 X

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib

<220>
 <221> SITE
 <222> (16)..(16)
 <223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
 <221> SITE
 <222> (16)..(16)
 <223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 24

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala Glu Asp Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala
20 25

<210> 25
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 8 之肽 X

<220>
<221> SITE
<222> (2)..(2)
<223> Xaa 係 D-Ser

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 親脂性或聚合取代基之位置(請求項 12)

<220>
<221> SITE
<222> (16)..(16)
<223> 請求項 14 中之 Lys (十六醯基-isoGlu)

<400> 25

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15

Lys Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala
20 25

<210> 26
<211> 29
<212> PRT
<213> 智人

<400> 26

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 27
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 27

Lys Arg Asn Arg Asn Asn Ile Ala
1 5

<210> 28
<211> 37
<212> PRT
<213> 智人

<400> 28

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser

1 5 10 15
Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn
 20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
 35

<210> 29
<211> 48
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X-Z

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Aib

<220>
<221> VARIANT
<222> (29)..(48)
<223> 可存在或不存在。若存在，則代表獨立地選自由以下組成之群之
1 至 20 個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、
Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr 及 Orn

<400> 29
His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 35 40 45

<210> 30
<211> 49
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X-Z

<220>
<221> VARIANT
<222> (30)..(49)
<223> 可存在或不存在。若存在，則代表獨立地選自由以下組成之群之
1 至 20 個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、
Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr 及 Orn

<400> 30
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser Ala Xaa Xaa Xaa
 20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 35 40 45

Xaa

<210> 31
<211> 49
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X-Z

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Aib

<220>
<221> VARIANT
<222> (30)..(49)
<223> 可存在或不存在。若存在，則代表獨立地選自由以下組成之群之
1 至 20 個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、
Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr 及 Orn

<400> 31

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15

Lys Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Leu Ser Ala Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa

<210> 32
<211> 49
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X-Z

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Aib

<220>
<221> VARIANT
<222> (30)..(49)
<223> 可存在或不存在。若存在，則代表獨立地選自由以下組成之群之
1 至 20 個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、
Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr 及 Orn

<400> 32

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa

- <210> 33
- <211> 49
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X-Z

- <220>
- <221> VARIANT
- <222> (30)..(49)
- <223> 可存在或不存在。若存在，則代表獨立地選自由以下組成之群之 1 至 20 個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr 及 Orn

<400> 33

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala Glu Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Arg Ala Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa

- <210> 34
- <211> 49
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X-Z

- <220>
- <221> VARIANT
- <222> (30)..(49)
- <223> 可存在或不存在。若存在，則代表獨立地選自由以下組成之群之 1 至 20 個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr 及 Orn

<400> 34

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala Glu Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Arg Ala Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa

- <210> 35
- <211> 48

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X-Z

<220>
<221> VARIANT
<222> (29)..(48)
<223> 可存在或不存在。若存在，則代表獨立地選自由以下組成之群之
1 至 20 個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、
Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr 及 Orn

<400> 35
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser Xaa Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

<210> 36
<211> 48
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X-Z

<220>
<221> VARIANT
<222> (29)..(48)
<223> 可存在或不存在。若存在，則代表獨立地選自由以下組成之群之
1 至 20 個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、
Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr 及 Orn

<400> 36
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Arg Xaa Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

<210> 37
<211> 49
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X-Z

<220>
<221> VARIANT
<222> (30)..(49)
<223> 可存在或不存在。若存在，則代表獨立地選自由以下組成之群之
1 至 20 個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、
Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr 及 Orn

<400> 37

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15
Lys Ala Ala His Glu Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala Xaa Xaa Xaa
20 25 30
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa

<210> 38
<211> 48
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X-Z

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Aib

<220>
<221> VARIANT
<222> (29)..(48)
<223> 可存在或不存在。若存在，則代表獨立地選自由以下組成之群之
1 至 20 個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、
Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr 及 Orn

<400> 38
His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15
Lys Arg Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Leu Ser Xaa Xaa Xaa Xaa
20 25 30
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

<210> 39
<211> 49
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X-Z

<220>
<221> VARIANT
<222> (30)..(49)
<223> 可存在或不存在。若存在，則代表獨立地選自由以下組成之群之
1 至 20 個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、
Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr 及 Orn

<400> 39
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15
Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser Ala Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa

<210> 40
<211> 49
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 3 之肽 X-Z

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Aib

<220>
<221> VARIANT
<222> (30)..(49)
<223> 可存在或不存在。若存在，則代表獨立地選自由以下組成之群之
1 至 20 個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、
Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr 及 Orn

<400> 40

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15

Lys Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa

<210> 41
<211> 49
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 6 之肽 X-Z

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Aib

<220>
<221> VARIANT
<222> (30)..(49)
<223> 可存在或不存在。若存在，則代表獨立地選自由以下組成之群之
1 至 20 個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、
Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr 及 Orn

<400> 41

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala Glu Asp Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala Xaa Xaa Xaa

20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa

<210> 42
<211> 49
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X-Z

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Aib

<220>
<221> VARIANT
<222> (30)..(49)
<223> 可存在或不存在。若存在，則代表獨立地選自由以下組成之群之
1 至 20 個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、
Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr 及 Orn

<400> 42

His Ala His Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Ser
1 5 10 15

Lys Ala Ala Glu Glu Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa

<210> 43
<211> 49
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X-Z

<220>
<221> VARIANT
<222> (30)..(49)
<223> 可存在或不存在。若存在，則代表獨立地選自由以下組成之群之
1 至 20 個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、
Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr 及 Orn

<400> 43

His Ser His Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Glu Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa

<210> 44
<211> 49
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體：請求項 1 之肽 X-Z

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Aib

<220>
<221> VARIANT
<222> (30)..(49)
<223> 可存在或不存在。若存在，則代表獨立地選自由以下組成之群之
1 至 20 個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、
Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr 及 Orn

<400> 44

His Ala His Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Glu Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa

<210> 45
<211> 477
<212> PRT
<213> 智人

<400> 45

Met Pro Pro Cys Gln Pro Gln Arg Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu
1 5 10 15

Leu Ala Cys Gln Pro Gln Val Pro Ser Ala Gln Val Met Asp Phe Leu
20 25 30

Phe Glu Lys Trp Lys Leu Tyr Gly Asp Gln Cys His His Asn Leu Ser
35 40 45

Leu Leu Pro Pro Pro Thr Glu Leu Val Cys Asn Arg Thr Phe Asp Lys
50 55 60

Tyr Ser Cys Trp Pro Asp Thr Pro Ala Asn Thr Thr Ala Asn Ile Ser
65 70 75 80

Cys Pro Trp Tyr Leu Pro Trp His His Lys Val Gln His Arg Phe Val
85 90 95

Phe Lys Arg Cys Gly Pro Asp Gly Gln Trp Val Arg Gly Pro Arg Gly
 100 105 110
 Gln Pro Trp Arg Asp Ala Ser Gln Cys Gln Met Asp Gly Glu Glu Ile
 115 120 125
 Glu Val Gln Lys Glu Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser Phe Gln Val Met
 130 135 140
 Tyr Thr Val Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala Leu
 145 150 155 160
 Ala Ile Leu Gly Gly Leu Ser Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Ala Ile
 165 170 175
 His Ala Asn Leu Phe Ala Ser Phe Val Leu Lys Ala Ser Ser Val Leu
 180 185 190
 Val Ile Asp Gly Leu Leu Arg Thr Arg Tyr Ser Gln Lys Ile Gly Asp
 195 200 205
 Asp Leu Ser Val Ser Thr Trp Leu Ser Asp Gly Ala Val Ala Gly Cys
 210 215 220
 Arg Val Ala Ala Val Phe Met Gln Tyr Gly Ile Val Ala Asn Tyr Cys
 225 230 235 240
 Trp Leu Leu Val Glu Gly Leu Tyr Leu His Asn Leu Leu Gly Leu Ala
 245 250 255
 Thr Leu Pro Glu Arg Ser Phe Phe Ser Leu Tyr Leu Gly Ile Gly Trp
 260 265 270
 Gly Ala Pro Met Leu Phe Val Val Pro Trp Ala Val Val Lys Cys Leu
 275 280 285
 Phe Glu Asn Val Gln Cys Trp Thr Ser Asn Asp Asn Met Gly Phe Trp
 290 295 300
 Trp Ile Leu Arg Phe Pro Val Phe Leu Ala Ile Leu Ile Asn Phe Phe
 305 310 315 320
 Ile Phe Val Arg Ile Val Gln Leu Leu Val Ala Lys Leu Arg Ala Arg
 325 330 335
 Gln Met His His Thr Asp Tyr Lys Phe Arg Leu Ala Lys Ser Thr Leu
 340 345 350
 Thr Leu Ile Pro Leu Leu Gly Val His Glu Val Val Phe Ala Phe Val
 355 360 365
 Thr Asp Glu His Ala Gln Gly Thr Leu Arg Ser Ala Lys Leu Phe Phe
 370 375 380
 Asp Leu Phe Leu Ser Ser Phe Gln Gly Leu Leu Val Ala Val Leu Tyr
 385 390 395 400

Cys Phe Leu Asn Lys Glu Val Gln Ser Glu Leu Arg Arg Arg Trp His
405 410 415

Arg Trp Arg Leu Gly Lys Val Leu Trp Glu Glu Arg Asn Thr Ser Asn
420 425 430

His Arg Ala Ser Ser Ser Pro Gly His Gly Pro Pro Ser Lys Glu Leu
435 440 445

Gln Phe Gly Arg Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ser Ser Ala Glu Thr Pro
450 455 460

Leu Ala Gly Gly Leu Pro Arg Leu Ala Glu Ser Pro Phe
465 470 475

<210> 46
<211> 463
<212> PRT
<213> 智人

<400> 46

Met Ala Gly Ala Pro Gly Pro Leu Arg Leu Ala Leu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Met Val Gly Arg Ala Gly Pro Arg Pro Gln Gly Ala Thr Val Ser Leu
20 25 30

Trp Glu Thr Val Gln Lys Trp Arg Glu Tyr Arg Arg Gln Cys Gln Arg
35 40 45

Ser Leu Thr Glu Asp Pro Pro Pro Ala Thr Asp Leu Phe Cys Asn Arg
50 55 60

Thr Phe Asp Glu Tyr Ala Cys Trp Pro Asp Gly Glu Pro Gly Ser Phe
65 70 75 80

Val Asn Val Ser Cys Pro Trp Tyr Leu Pro Trp Ala Ser Ser Val Pro
85 90 95

Gln Gly His Val Tyr Arg Phe Cys Thr Ala Glu Gly Leu Trp Leu Gln
100 105 110

Lys Asp Asn Ser Ser Leu Pro Trp Arg Asp Leu Ser Glu Cys Glu Glu
115 120 125

Ser Lys Arg Gly Glu Arg Ser Ser Pro Glu Glu Gln Leu Leu Phe Leu
130 135 140

Tyr Ile Ile Tyr Thr Val Gly Tyr Ala Leu Ser Phe Ser Ala Leu Val
145 150 155 160

Ile Ala Ser Ala Ile Leu Leu Gly Phe Arg His Leu His Cys Thr Arg
165 170 175

Asn Tyr Ile His Leu Asn Leu Phe Ala Ser Phe Ile Leu Arg Ala Leu
180 185 190

Ser Val Phe Ile Lys Asp Ala Ala Leu Lys Trp Met Tyr Ser Thr Ala
195 200 205

Ala Gln Gln His Gln Trp Asp Gly Leu Leu Ser Tyr Gln Asp Ser Leu
210 215 220

Ser Cys Arg Leu Val Phe Leu Leu Met Gln Tyr Cys Val Ala Ala Asn
225 230 235 240

Tyr Tyr Trp Leu Leu Val Glu Gly Val Tyr Leu Tyr Thr Leu Leu Ala
245 250 255

Phe Ser Val Leu Ser Glu Gln Trp Ile Phe Arg Leu Tyr Val Ser Ile
260 265 270

Gly Trp Gly Val Pro Leu Leu Phe Val Val Pro Trp Gly Ile Val Lys
275 280 285

Tyr Leu Tyr Glu Asp Glu Gly Cys Trp Thr Arg Asn Ser Asn Met Asn
290 295 300

Tyr Trp Leu Ile Ile Arg Leu Pro Ile Leu Phe Ala Ile Gly Val Asn
305 310 315 320

Phe Leu Ile Phe Val Arg Val Ile Cys Ile Val Val Ser Lys Leu Lys
325 330 335

Ala Asn Leu Met Cys Lys Thr Asp Ile Lys Cys Arg Leu Ala Lys Ser
340 345 350

Thr Leu Thr Leu Ile Pro Leu Leu Gly Thr His Glu Val Ile Phe Ala
355 360 365

Phe Val Met Asp Glu His Ala Arg Gly Thr Leu Arg Phe Ile Lys Leu
370 375 380

Phe Thr Glu Leu Ser Phe Thr Ser Phe Gln Gly Leu Met Val Ala Ile
385 390 395 400

Leu Tyr Cys Phe Val Asn Asn Glu Val Gln Leu Glu Phe Arg Lys Ser
405 410 415

Trp Glu Arg Trp Arg Leu Glu His Leu His Ile Gln Arg Asp Ser Ser
420 425 430

Met Lys Pro Leu Lys Cys Pro Thr Ser Ser Leu Ser Ser Gly Ala Thr
435 440 445

Ala Gly Ser Ser Met Tyr Thr Ala Thr Cys Gln Ala Ser Cys Ser
450 455 460

發明摘要

※ 申請案號： 102132640

※ 申請日： 102/09/10

C07K 14/605 (2006.01)

A61K 38/26 (2006.01)

※IPC 分類： A61P 3/04 (2006.01)

A61P 3/06 (2006.01)

A61P 3/08 (2006.01)

【發明名稱】

升糖素類似物

GLUCAGON ANALOGUES

【中文】

本發明提供治療肥胖症及超重、糖尿病及其他相關代謝病症之物質及方法。具體而言，本發明提供在該等方法中有效之新穎升糖素類似物肽。該等肽可藉由與人類升糖素相比增加對GLP-1受體之選擇性調介其效應。

【英文】

The invention provides materials and methods for the treatment of obesity and excess weight, diabetes, and other associated metabolic disorders. In particular, the invention provides novel glucagon analogue peptides effective in such methods. The peptides may mediate their effect by having increased selectivity for the GLP-1 receptor as compared to human glucagon.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：(無)

【本代表圖之符號簡單說明】：

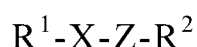
無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

申請專利範圍

1. 一種具有下式之化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物，



其中

R^1 係H、 C_{1-4} 烷基、乙醯基、甲醯基、苯甲醯基或三氟乙醯基；

R^2 係OH或 NH_2 ；

X係由以下序列組成之肽：

HSQGTFTSDYSKYLD SKAAEDFVEWLLRA (SEQ ID NO: 7)

且Z不存在或係獨立地選自由以下組成之群之1至20個胺基酸單元之序列：Ala、Leu、Ser、Thr、Tyr、Cys、Glu、Lys、Arg、Dbu、Dpr及Orn；

或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。

2. 如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物，其具有下式：



或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。

3. 如請求項1或2之化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物，其中該肽X或Z中之一或多個胺基酸側鏈結合至親脂性取代基。
4. 如請求項3之化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物，其中肽X具有下式：



其中“*”指示親脂性取代基之位置。

5. 如請求項4之化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物，其具有下式：

H-HSQTFTSDYSKYLDSK*AAEDFVEWLLRA-NH₂

或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物，其中“*”指示親脂性取代基之位置。

6. 如請求項4之化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物，其中肽X具有下式：

HSQTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-AAEDFVEWLLRA。

7. 如請求項6之化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物，其具有下式：

H-HSQTFTSDYSKYLDS-K(十 六 醯 基 -isoGlu)-AAEDFVEWLLRA-NH₂ (化合物7)

或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。

8. 一種醫藥組合物，其包含如請求項1至7中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物與醫藥上可接受之載劑之混合物。
9. 如請求項1或2之化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物，其用於醫學治療方法中。
10. 一種如請求項1至7中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物之用途，其係用於製備預防體重增加或促進體重減輕之藥劑。
11. 一種如請求項1至7中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物之用途，其係用於製備降低循環LDL含量及/或增加HDL/LDL比率之藥劑。
12. 一種如請求項1至7中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物之用途，其係用於製備治療由超重引起或特徵在於超重之病況的藥劑。

13. 一種如請求項1至7中任一項之化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物之用途，其係用於製備預防或治療下列病症之藥劑：肥胖症、病態肥胖症、手術之前之病態肥胖症、肥胖症相關性發炎、肥胖症相關性膽囊疾病、肥胖症誘導型睡眠呼吸中止症、糖尿病、代謝症候群、高血壓、致動脈粥樣化性血脂異常、動脈粥樣硬化、動脈硬化、冠狀動脈心臟病、外周動脈疾病、中風或微血管疾病。
14. 如請求項10至13中任一項之用途，其中該藥劑係作為組合療法之一部分與用於治療糖尿病、肥胖症、血脂異常或高血壓之藥劑一起投與。
15. 如請求項14之用途，其中
- (a) 用於治療糖尿病之該藥劑係雙胍(例如二甲雙胍(metformin))、磺醯脲、美格替耐(meglitinide)或格列奈(glinide)(例如那格列奈(nateglinide))、DPP-IV抑制劑、格列酮(glitazone)、不同GLP-1激動劑、胰島素或胰島素類似物；
 - (b) 用於治療肥胖症之該藥劑係升糖素樣肽受體1激動劑、肽YY受體激動劑或其類似物、大麻素受體1拮抗劑、脂肪酶抑制劑、黑皮質素受體4激動劑或黑色素濃集激素受體1拮抗劑；
 - (c) 用於治療高血壓之該藥劑係血管收縮素轉化酶抑制劑、血管收縮素II受體阻斷劑、利尿劑、 β -阻斷劑或鈣通道阻斷劑；或
 - (d) 用於治療血脂異常之該藥劑係他汀類(statin)、貝特(fibrate)、菸鹼酸(niacin)及/或膽固醇吸收抑制劑。