

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发 明 专 利 说 明 书

专利号 ZL 03804365.3

[51] Int. Cl.

A61K 38/30 (2006.01)

A61K 31/192 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007 年 8 月 22 日

[11] 授权公告号 CN 1332711C

[22] 申请日 2003.2.7 [21] 申请号 03804365.3

[30] 优先权

[32] 2002. 2. 20 [33] US [31] 60/358,184

[86] 国际申请 PCT/US2003/003111 2003. 2. 7

[87] 国际公布 WO2003/072195 英 2003. 9. 4

[85] 进入国家阶段日期 2004. 8. 20

[73] 专利权人 埃米球科技有限公司

地址 美国纽约

[72] 发明人 M·A·汗 B·E·琼斯

J·M·麦吉尔

[56] 参考文献

US 6,191,102 B1 2001. 2. 20

US 5,863,555 A 1999. 1. 26

US 5,849,322 A 1998. 12. 15

US 6,329,336 B1 2001. 12. 11

US 6,514,500 B1 2003. 2. 4

审查员 吴顺华

[74] 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

代理人 陈文平

权利要求书 2 页 说明书 80 页

[54] 发明名称

施用 GLP-1 分子的方法

[57] 摘要

本发明包括证明口服吸收可行的制剂，其中包含 GLP-1 化合物和特定递送剂的制剂。

1. 一种制剂，其包括 GLP-1 化合物和选自第 2、3、4、5、6、7、8、9、11、12、13、14、15、16、19、20、21、23、24、26、27、28、29、30、31、32、33、34、36、38、39、40、41、43、44、45、46、48、49、51、53、54、55、56 号递送剂的递送剂。

2. 根据权利要求 1 所述的制剂，其中 GLP-1 化合物选自 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13 和 SEQ ID NO: 14 的 GLP-1 化合物。

3. 根据权利要求 1 所述的制剂，其中 GLP-1 化合物选自 SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13 和 SEQ ID NO: 14 的 GLP-1 化合物。

4. 根据权利要求 1 所述的制剂，其中 GLP-1 化合物选自 SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13 和 SEQ ID NO: 14 的 GLP-1 化合物。

5. 根据权利要求 1 所述的制剂，其中 GLP-1 化合物是 SEQ ID NO: 13 或 SEQ ID NO: 14。

6. 根据权利要求 1 到 5 的任何一项所述的制剂，其中递送剂选自第 2、4、5、6、9、11、13、14、15、20、21、23、24、26、28、30、31、36、38、39、40、41、43、44、46、51 和 54 号递送剂。

7. 根据权利要求 1 到 5 的任何一项所述的制剂，其中递送剂是第 3 号递送剂。

8. 根据权利要求 1 到 5 的制剂，其中递送剂是第 7 号递送剂。

9. 根据权利要求 1 到 5 的任何一项所述的制剂，其中递送剂是第 8 号递送剂。

10. 根据权利要求 1 到 5 的任何一项所述的制剂，其中递送剂是

第 9 号递送剂。

11. 根据权利要求 1 到 5 的任何一项所述的制剂，其中递送剂是第 5 号递送剂。

12. 根据权利要求 1 到 5 的任何一项所述的制剂，其中递送剂是第 13 号递送剂。

13. 根据权利要求 1 到 5 的任何一项所述的制剂，其中递送剂是第 15 号递送剂。

14. 根据权利要求 1 到 5 的任何一项所述的制剂，其中递送剂是第 19 号递送剂。

15. 根据权利要求 1 到 5 的任何一项所述的制剂，其中递送剂是第 27 号递送剂。

16. 根据权利要求 1 到 5 的任何一项所述的制剂，其中递送剂是第 53 号递送剂。

17. 根据权利要求 1 到 5 的任何一项所述的制剂，其中递送剂是第 54 号递送剂。

18. 根据权利要求 1 到 5 的任何一项所述的制剂，进一步包括选自药物可接受缓冲液、悬浮剂、共溶剂、防腐剂和等渗剂的一种或多种赋形剂。

19. 根据权利要求 1 到 5 的任何一项所述的制剂，它是固体形式。

20. 根据权利要求 19 所述的制剂，它是片剂、胶囊或颗粒。

21. 根据权利要求 20 所述的制剂，它是粉末形式。

施用 GLP - 1 分子的方法

发明领域

本发明涉及用于口服给药的制剂，其中包括胰高血糖素样肽 - 1(GLP-1)化合物和特定的递送剂。该制剂的口服给药可以用于治疗 2 型糖尿病以及各种其他病症。

发明背景

在过去的几十年中，对糖尿病的治疗不断地得到改进。大约 90 % 的有糖尿病的人患有 2 型糖尿病，也称为非胰岛素依赖的糖尿病(NIDDM)。2 型糖尿病通常仍然产生胰岛素，但这样的胰岛素不能被身体的细胞有效地利用。这主要是因为对应于血糖水平的升高产生的胰岛素的量不足以允许细胞有效地吸收葡萄糖，所以降低血糖的水平。

大量的临床前和临床研究的数据表明，胰高血糖素样肽 - 1(GLP - 1)化合物在治疗 2 型糖尿病和其他症状中有很大的前景。GLP - 1 诱导了大量的生物学作用，如刺激胰岛素分泌，抑制胰高糖血素的分泌，抑制胃排空，增强葡萄糖的利用，诱导体重降低。另外，临床前的研究表明，GLP - 1 也可以起作用来防止随疾病发展而发生的 β 细胞破坏。也许，GLP - 1 的最突出的特征是它刺激胰岛素分泌但没有血糖过少的危险的能力，这一特征是当利用胰岛素治疗或一些类型的口服治疗时可以看到，这些治疗是通过增加胰岛素表达而起作用的。

但是，GLP - 1 治疗剂的开发是非常困难的。这主要是由于肽在制造过程中在溶液制剂中不稳定，并且在体内不稳定。利用 GLP - 1 化合物治疗血糖过多或其他症状的唯一公开的临床研究包括配制 GLP - 1 化合物，从而使它们可以通过皮下注射或通过连续的皮下输注或连续的静脉给药来递送。多数需要减重的 2 型糖尿病或肥胖患者是不会愿意接受可能一天有几次注射的治疗方案的。所以，需要开发 GLP

- 1 化合物治疗剂，可以通过或选的非侵入方法如通过口服来递送。

不幸的是，有许多影响口服递送肽的障碍。消化道的高酸含量和普遍存在的消化酶将经常在达到吸收位点之前降解蛋白质和肽。另外，许多肽不能有效地穿过小肠中的上皮膜的细胞到达血流中。最后，许多药物在消化道中的低 pH 水平时变得不溶，所以不能有效吸收。

在溶液制剂中相对不稳定的 GLP-1 化合物仅仅在相对狭窄的条件下保留在溶液中，并且当作为溶液制剂给药时在体内有一个相对短的半衰期的事实表明，这些化合物不可以通过口服途径有效地递送。所以，可以配制 GLP-1 化合物，使能够在口服给药后将生物活性分子吸收进血流中，这是出人意料的。

本发明包括与 GLP-1 化合物以非共价方式相互作用的特定递送剂分子的用途，所述方式使得化合物穿过肠胃道膜并且仍然保持治疗活性。尽管在本发明中利用的递送剂已经在一系列的美国专利中公开(参见例如，美国专利 5,541,155; 5,693,338; 5,976,569; 5,643,957; 5,955,503; 6,100,298; 5,650,386; 5,866,536; 5,965,121; 5,989,539; 6,001,347; 6,071,510; 5,820,881; 和 6,242,495; 同时参见 WO 02/02509; WO 01/51454; WO 01/44199; WO 01/32130; WO 00/59863; WO 00/50386; WO 00/47188; 和 WO 00/40203)，但包括 GLP-1 化合物与这些递送剂的口服给药制剂还没有被公开或建议。另外，许多参数影响了是否一个特别类别的化合物可以有效地结合一个或多个类别的递送剂来递送。例如，肽的构象，在某些配制条件下的分子上的表面电荷，溶解性特征(solubility profile)，作为配制成分的稳定性，以及蛋白酶消化的敏感性和体内稳定性都影响口服递送化合物的能力。

发明概述

本发明包括开发可以口服给药的包含 GLP-1 化合物和递送剂的新制剂。本发明提供了可以口服给药的制剂，其中含有 GLP-1 化合物和特定的递送剂。GLP-1 化合物可以是天然的 GLP-1; GLP-1 片段; GLP-1 类似物; 天然 GLP-1、GLP-1 片段或类似物的 GLP-1 衍生物; 和 Exendin-3 和 Exendin-4; 递送剂选自美国专利 5,541,155; 5,693,338; 5,976,569; 5,643,957; 5,955,503; 6,100,298;

5,650,386; 5,866,536; 5,965,121; 5,989,539, 6,001,347; 6,071,510; 5,820,881; 和 6,242,495; 和 WO 02/02509; WO 01/51454; WO 01/44199; WO 01/32130; WO 00/59863; WO 00/50386; WO 0047188; 和 WO 00/40203 描述的递送剂。

优选的 GLP-1 化合物是在下面的一个或多个位置有修饰的类似物或类似物的衍生物: 8, 12, 16, 18, 19, 20, 22, 25, 27, 30, 33 和 37, 并且与 Val⁸-GLP-1(7-37)OH 比较, 效力增强。优选的 GLP-1 化合物也如 SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 或 SEQ ID NO: 14 所示。更优选的 GLP-1 化合物是 SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 和 SEQ ID NO: 14 所示的化合物。

优选的递送剂如表 1 所述。更优选的递送剂是选自表 1 中第 1, 2, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 28, 30, 31, 35, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 46, 51, 52 和 54 号的递送剂。

本发明也包括在需要刺激的受试者中刺激 GLP-1 受体的方法, 所述的方法包括对受试者施用有效量的本文所述的口服制剂的步骤。需要刺激 GLP-1 受体的受试者包括非胰岛素依赖型糖尿病和肥胖症患者。

发明详述

在本说明书中利用的氨基酸的三字母缩写编码符合 PCT Administrative Instructions 的附件 C, 附录 2 的表 3 中的列表和 37C.F.R.§1.822(d)(1)(2000)。

为公开和描述本发明的目的, 术语和缩写定义如下。

术语“制剂”如本文所用指 GLP-1 化合物和与其结合的特定的递送剂, 可以口服给药, 以致 GLP-1 化合物可以通过肠胃道进入系统循环, 并且具有结合 GLP-1 受体的能力, 启动信号转导途径, 导致产生促胰岛素活性。

术语“口服”是指通过口腔释放一种化合物，使得该化合物穿过胃、小肠或大肠进入全身循环。

术语“GLP-1 化合物”是一些多肽，包括天然存在的 GLP-1 多肽 (GLP-1(7-37)OH 和 GLP-1(7-36)NH₂)；GLP-1 片段；GLP-1 类似物；天然存在的 GLP-1 多肽、GLP-1 片段或 GLP-1 类似物的 GLP-1 衍生物；Exendin-3 和 Exendin-4，其具有结合 GLP-1 受体能力，启动信号传导途径，导致产生促胰岛素活性(insulintropic activity)。

术语“促胰岛素活性”指应答升高的葡萄糖水平刺激胰岛素分泌，从而导致细胞吸收葡萄糖，降低血浆葡萄糖水平的能力。例如，利用实施例 1 所述的方法可以确定促胰岛素活性。如果在存在 GLP-1 分子时胰岛细胞分泌的胰岛素水平在背景水平以上，GLP-1 分子具有促胰岛素活性

术语“DPP IV 抗性”指具有扩展的代谢稳定性和提高的生物活性的 GLP-1 分子。例如 DPP IV 抗性可以利用实施例 2 中所述的方法来确定。如果存在 DPP IV 时 GLP-1 分子是具有 DPP IV 抗性的，GLP-1 分子是具有比延伸的天然 GLP-1 更高的代谢稳定性。DPP IV 抗性 GLP-1 分子可能在 DPP IV 识别位点(位置 8)具有氨基酸变化，或 DPP IV 抗性肽可能具有附加的基团，可以限制 DPP IV 到达识别位点的可能性。

“GLP-1 片段”是 GLP-1(7-37)OH 的 N 末端和/或 C 末端的一个或多个氨基酸或其类似物或衍生物截短后得到的多肽。描述 GLP-1(7-37)OH 的名称也应用到 GLP-1 片段。例如，GLP-1(9-36)指从 N 末端截去两个氨基酸和从 C 末端截去一个氨基酸后的 GLP-1 片段。在该片段中的氨基酸由与 GLP-1(7-39)OH 中相应氨基酸相同的号数表示。例如，GLP-1(9-36)OH 的 N 末端谷氨酸是在位置 9；位置 12，是苯丙氨酸；和位置 22 是甘氨酸，如在 GLP-1(7-37)OH。对于 GLP-1(7-36)OH，在 GLP-1(7-37)OH 中第 37 位的甘氨酸缺失。

“GLP-1 类似物”与 GLP-1(7-37)OH 或 GLP-1(7-37)OH 的片段具有足够的同源性，使类似物具有促胰岛素活性。优选地，GLP-1 类似物具有 GLP-1(7-37)OH 或其片段的氨基酸序列，已经过修饰，

使氨基酸在 GLP-1(7-37)OH 或 GLP-1(7-37)OH 片段的对应位置中的氨基酸有一个，两个，三个，四个或五个氨基酸的区别。在本文的 GLP-1 化合物的命名法中，替换氨基酸和它的位置在亲本结构之前表示。例如，Glu²²-GLP-1(7-37)OH 指这样一种 GLP-1 化合物，其中正常情况下在 GLP-1(7-37)OH 位置 22 的甘氨酸被谷氨酸替代；Val⁸-Glu²²-GLP-1(7-37)OH 表示这样一种 GLP-1 化合物，其中正常情况下在 GLP-1(7-37)OH 位置 8 的丙氨酸和在位置 22 的甘氨酸分别被缬氨酸和谷氨酸替代。

GLP-1 分子也包括多肽，其中在 GLP-1(7-37)OH 的 N 末端和/或 C 末端已经加入一个或多个氨基酸或其片段或类似物。优选地，这一类型的 GLP-1 分子已经达到约 39 个氨基酸。在“延伸”的 GLP-1 分子中的氨基酸由与 GLP-1(7-37)OH 中相应氨基酸相同的编号表示。例如，对于通过在 GLP-1(7-37)OH 的 N 末端加入两个氨基酸可得到的 GLP-1 分子，将 N 末端氨基酸定位于位置 5；对于通过在 GLP-1(7-37)OH 的 C 末端加入一个氨基酸得到的 GLP-1 分子，在位置 38 定位 C 末端氨基酸。所以，占据位置 12 的是苯丙氨酸，在这些“延伸”的 GLP-1 化合物中，如在 GLP-1(7-37)OH 中在这些“延伸”的 GLP-1 化合物的两端是甘氨酸占据的位置 22。延伸的 GLP-1 分子的氨基酸 1-6 优选地是与 GLP-1(1-37)OH 对应位置的氨基酸相同或是一个保守替换。延伸的 GLP-1 分子的氨基酸 38-45 优选地是与胰高糖血素或 Exendin-4 的对应位置上的氨基酸相同或有一个保守替换。

“GLP-1 衍生物”是指具有 GLP-1，GLP-1 片段，或 GLP-1 类似物的氨基酸序列，但另外它的氨基酸侧链基团， α -碳原子，末端氨基基团或末端羧基基团具有一个或多个化学修饰。化学修饰包括，但不限于，加入化学部分(moieties)，产生新的键，除去化学部分。在氨基酸侧链基团上的修饰包括，但不限于赖氨酸 ϵ -氨基基团的酰化，精氨酸、组氨酸或赖氨酸的 N 烷基化，谷氨酸或天冬氨酸羧基基团的烷基化，谷氨酰胺或天冬酰胺的脱酰化(deamidation)。末端氨基基团的修饰包括，但不限于，脱氨基，N-低级烷基，N-二-低级烷基，N 酰基修饰。末端羧基基团的修饰包括但不限于，酰胺，

低级烷基酰胺，二烷基酰胺，低级烷基酯修饰。低级烷基是 $C_1 - C_4$ 烷基。另外，一个或多个侧链基团或末端基团可以通过普通的蛋白质化学家已知的保护基团来保护。氨基酸的 α 碳可以被单-或二甲基化。

为了本发明的目的，利用体外 GLP-1 受体-信号实验可以确定是否特别延伸的 GLP-1 肽将在体内展示促胰岛素活性。包括在本发明中的延伸的 GLP-1 肽具有已知为 Val⁸-GLP-1(7-37)OH 的 DPP IV 抗性 GLP-1 类似物的体外效力的不少于 10 分之 1 的体外效力。更优选地，本发明的延伸的 GLP-1 肽是与 Val⁸-GLP-1(7-37)OH 相同的效力或更有效力。

“体外效力”如本文所用是肽在基于细胞的实验中激活 GLP-1 受体的肽的能力的测量。体外效力表示为“EC₅₀”，是在单剂量应答实验中导致 50% 的活性的化合物有效浓度。为了本发明的目的，利用荧光实验确定体外效力，其中利用了 HEK-293 Aurora CRE-BLAM 细胞，这些细胞稳定地表达人的 GLP-1 受体。这些 HEK-293 细胞具有稳定整合的 DNA 载体，具有驱动表达 β -半乳糖苷酶(BLAM)基因的 cAMP 应答元件(CRE)。GLP-1 拮抗剂与受体的相互作用启动一个信号，导致 cAMP 应答元件的激活和随后的 β 半乳糖苷酶的表达。然后，当用 β 半乳糖苷酶(Aurora 生物科学公司)裂解时可以在细胞中加入发射荧光的 β 半乳糖苷酶 CCF2/AM 底物，这些细胞已经接触了特定量的 GLP-1 拮抗剂，从而可以测定 GLP-1 拮抗剂效力。该实验进一步在 Zlokarnik, et al.(1998), 科学, 279: 84-88(也参见实施例 1)中进一步描述。在实施例 1 中列出的化合物的 EC₅₀ 的值是通过稀释范围 0.00003 纳摩尔到 30 纳摩尔的剂量应答曲线，利用如上所述的 BLAM 实验来确定的。通过将 Val⁸-GLP-1(7-37)OH 作为对照，与作为对照的参考曲线 1 比较建立了相对的体外潜能值。

术语“递送剂(delivery agent)”指美国专利 5,541,155; 5,693,338; 5,976,569; 5,643,957; 5,955,503; 6,100,298; 5,650,386; 5,866,536; 5,965,121; 5,989,539; 6,001,347; 6,071,510; 5,820,881; 和 6,242,495; 和 WO 02/02509; WO 01/51454; WO 01/44199; WO 01/32130; WO 00/59863; WO 00/50386; WO 00/47188; 和 WO 00/40203 中的分子。

递送剂通常是从氨基酸衍生的，并且用于本发明的口服制剂中。衍生的氨基酸也可以是聚氨基酸和肽的形式。氨基酸是任意的如下羧酸，其至少具有一个游离的胺基团(amine group)，包括天然存在的和合成的氨基酸。聚氨基酸是通过可以连接例如酯，酸酐或酸酐键的其他基团形成的键连接的肽或两个或多个氨基酸。肽是肽键结合的两个或多个氨基酸。肽可以在长度上改变，从有两个氨基酸的二肽到有几百个氨基酸的多肽的改变。优选地肽包括二肽，三肽，四肽，和五肽。

另外，本发明的递送剂可任选是盐形式的。盐的例子包括钠，盐，硫酸，磷酸，柠檬酸，乙酸，硫酸盐，氯，溴，碘，乙酸盐，丙酸盐，氢溴酸，氢氧化钠，氢氧化钾，氢氧化铵，和碳酸钾。

本发明的各种口服制剂可任选地包括药物可接受缓冲液。药物可接受缓冲液的例子包括磷酸缓冲液，如二碱基磷酸钠，TRIS，甘氨酸基甘氨酸，马来酸，乙酸钠，柠檬酸钠，酒石酸钠，或氨基酸，如甘氨酸，组氨酸，赖氨酸或精氨酸。其他药物可接受缓冲液是本领域技术人员已知的。优选地，缓冲液选自磷酸，TRIS，马来酸和甘氨酸。更优选地，缓冲液是 TRIS。

优选地，TRIS 的浓度是在约 1mM 和 100mM 之间。甚至更优选地，浓度是在约 10mM 和约 50mM 之间，最优选地，缓冲液是约 20mM。

调整口服制剂的 pH，提供稳定性，是口服给药可接受的。优选地，调整 pH 到约 7.0 到约 9.0 之间，更优选地，pH 是在约 7.4 到 8.4 之间。甚至更优选地，pH 是在约 7.8 到 8.4 之间。最优选地，pH 是在约 7.8 到 8.1 之间。

本发明的各种口服制剂可任选地包括一种悬浮剂。一些递送剂由于它们的可溶特征需要悬浮剂。悬浮剂的例子是羟丙基-甲基纤维素。优选地，羟丙基甲基纤维素的最后浓度是在约 2% 和约 10% 之间(重量/体积)。甚至更优选地，浓度是在约 2% 和约 5%(w/v)之间。最优选地，浓度是在约 3.9%(w/v)。

本发明的口服制剂可任选地包括共溶剂。由于它们的溶解特征，一些递送剂需要共溶剂。共溶剂的例子包括乙醇，N 甲基吡咯烷酮，N，N-二甲基乙酰胺，N，N 二甲基甲酰胺，glycofurol，ethoxydiol，丙

二醇，聚乙二醇 300 和聚丙烯吡咯烷酮。优选地，共溶剂的最后的浓度是在约 5 % 和约 30 % (体积/体积) 之间。甚至更优选地，浓度是在约 10 % 和约 25 % (v/v) 之间。最优选地，浓度是约 20 % (v/v)。

本发明的口服制剂可任选地包括防腐剂。防腐剂指在制剂中加入化合物，作用是抗微生物试剂。在本领域已知的防腐剂中，如胃肠外制剂中有效和可接受的是酚防腐剂，对羟基苯甲酸烷基酯，苜醇，氯丁醇，复山梨醇和其他相似的防腐剂，和其各种混合物。酚衍生物的例子包括甲酚，苯酚或甲酚和苯酚的混合物。甲酚的例子包括间甲酚，邻甲酚，对甲酚，氯甲酚，或其混合物。对羟基苯甲酸烷基酯包括对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯。浓度必须足够通过延迟微生物的生长来维持防腐剂的有效性。优选地，防腐剂是苯酚衍生物。更优选地，防腐剂是甲酚。甚至更优选地，防腐剂是间甲酚。

在最后的混合物中的防腐剂的优选的浓度是约 1.0mg/ml 到约 20.0mg/ml。更优选地，最后的混合物的防腐剂的浓度范围是约 2.0mg/mL 到约 8.0mg/ml，约 2.5mg/ml 到约 4.5mg/ml 和约 2.0mg/ml 到约 4.0mg/ml。最后混合物中的防腐剂的最优选的浓度是约 3.0mg/ml。

本发明的口服制剂可任选地包括等渗剂。等渗剂指，有生理耐受力的，只赋予制剂适当等渗性，防止静水流穿过细胞膜的化合物。这样的化合物的例子包括甘油，盐（例如 NaCl），和糖（例如葡聚糖，甘露糖和蔗糖）。这些化合物通常在已知浓度下用于这些目的。可以加入一个或多个等渗剂调整离子强度或等渗性。优选的等渗剂是 NaCl。NaCl 的浓度优选地在约 10mM 和 200mM 之间，更优选地是在约 50mM 和 150mM 之间，最优选地是约 100mM。

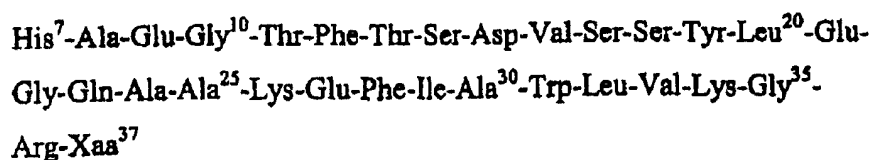
给药组合物可任选地是固体形式的，如片剂，胶囊或颗粒，如粉末。固体剂量形式可以通过混合化合物的固体形式和活性试剂的固体形式来制备。或者，固体可以从化合物和活性试剂的溶液，通过本领域已知的方法如冷冻干燥，沉淀，结晶和固体分散的来得到。

适于在本发明中使用的 GLP-1 化合物：

本发明的 GLP-1 化合物可以通过本领域已知的各种方法来制备，如固相合成化学，从天然来源的 GLP-1 分子纯化，重组 DNA 技术，和这些方法的结合。例如，美国专利 5,118,666，5,120,712，5,512,549；5,977,071；和 6,191,102 中描述了制备 GLP-1 肽的方法。

通过本领域的常规方法，GLP-1(7-37)OH 的氨基末端已经赋予编号残基 7，羧基末端已经赋予编号 37。在多肽中的其他氨基酸也连续地编号，如 SEQ ID NO: 1 所示。例如，位置 12 是苯丙氨酸，位置 22 是甘氨酸。

两个天然存在的截短的 GLP-1 肽是在式 I，SEQ ID NO: 1 中表示。



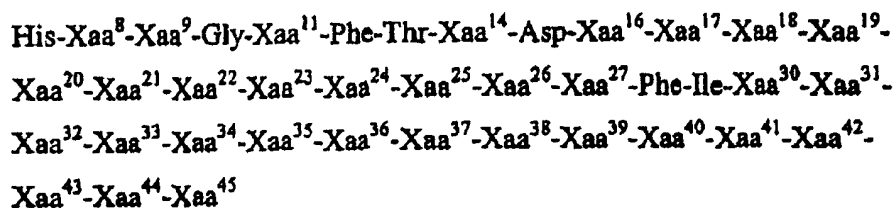
式 I, SEQ ID NO:1

其中：

Xaa³⁷ 是甘氨酸，或 -NH₂。

优选地，GLP-1 化合物具有 SEQ IDNO: 1 的氨基酸序列或者被修饰，使 SEQ ID NO: 1 有一个，两个，三个，四个或五个氨基酸的区别。

优选的 GLP-1 化合物的组由式 I(SEQ ID NO:2)的 GLP-1 类似物组成的。



式 I (SEQ ID NO:2)

其中:

Xaa⁸ 是 Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys;

Xaa⁹ 是 Glu, Asp, 或 Lys;

Xaa¹¹ 是 Thr, Ala, Gly, Ser, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys;

Xaa¹⁴ 是 Ser, Ala, Gly, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys;

Xaa¹⁶ 是 Val, Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Tyr, Glu, Asp, Trp, 或 Lys;

Xaa¹⁷ 是 Ser, Ala, Gly, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys;

Xaa¹⁸ 是 Ser, Ala, Gly, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, Trp, Tyr, 或 Lys;

Xaa¹⁹ 是 Tyr, Phe, Trp, Glu, Asp, Gln, 或 Lys;

Xaa²⁰ 是 Leu, Ala, Gly, Ser, Thr, Ile, Val, Glu, Asp, Met, Trp, Tyr, 或 Lys;

Xaa²¹ 是 Glu, Asp, 或 Lys;

Xaa²² 是 Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys;

Xaa²³ 是 Gln, Asn, Arg, Glu, Asp, 或 Lys;

Xaa²⁴ 是 Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Arg, Glu, Asp, 或 Lys;

Xaa²⁵ 是 Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys;

Xaa²⁶ 是 Lys, Arg, Gln, Glu, Asp, 或 His;

Xaa²⁷ 是 Leu, Glu, Asp, 或 Lys;

Xaa³⁰ 是 Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys;

Xaa³¹ 是 Trp, Phe, Tyr, Glu, Asp, 或 Lys;

Xaa³² 是 Leu, Gly, Ala, Ser, Thr, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys;

Xaa³³ 是 Val, Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Glu, Asp, 或 Lys;

Xaa³⁴ 是 Asn, Lys, Arg, Glu, Asp, 或 His;

Xaa³⁵ 是 Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys;

Xaa³⁶ 是 Gly, Arg, Lys, Glu, Asp, 或 His;

Xaa³⁷ 是 Pro, Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys, 或缺失;

Xaa³⁸ 是 Ser, Arg, Lys, Glu, Asp, 或 His, 或缺失;

Xaa³⁹ 是 Ser, Arg, Lys, Glu, Asp, 或 His, 或缺失;

Xaa⁴⁰ 是 Gly, Asp, Glu, 或 Lys, 或缺失;

Xaa⁴¹ 是 Ala, Phe, Trp, Tyr, Glu, Asp, 或 Lys, 或缺失;

Xaa⁴² 是 Ser, Pro, Lys, Glu, 或 Asp, 或缺失;

Xaa⁴³ 是 Ser, Pro, Glu, Asp, 或 Lys, 或缺失;

Xaa⁴⁴ 是 Gly, Pro, Glu, Asp, 或 Lys, 或缺失; 并且

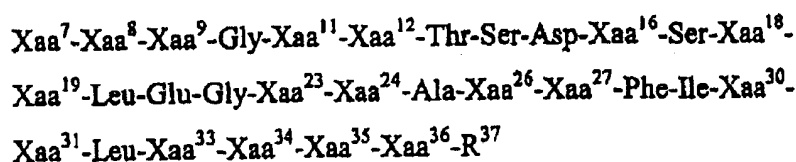
Xaa⁴⁵ 是 Ala, Ser, Val, Glu, Asp, 或 Lys, Ala-NH₂, Ser-NH₂, Val-NH₂, Glu-NH₂, Asp-NH₂, 或 Lys-NH₂, 或缺失;

条件是, 当 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43 或 44 位的氨基酸缺失时, 那么该氨基酸下游的各氨基酸也缺失。

优选地, 式 I 的 GLP-1 化合物含有少于 6 个与 GLP-1(7-37)OH 或 Exendin-4 的对应的氨基酸不同的氨基酸。更优选地, 与 GLP-1(7-37)OH 或 Exendin-4 的对应的氨基酸有不到 5 个氨基酸的区别。甚至更优选地, 与 GLP-1(7-37)OH 或 Exendin-4 的对应的氨基酸有不到 4 个氨基酸的区别。

本发明的 GLP-1 化合物包括式 I 的衍生物, 如 C-1-6-酯, 或酰胺, 或 C-1-6-烷基酰胺, 或其 C-1-6-二烷基酰胺。WO99/43706 描述了式 I 的 GLP-1 化合物的衍生物, 并且全部引入本文作为参考。如 WO99/43706 中所述衍生的式 I 的化合物和未衍生的包括在本发明中。

GLP-1 化合物的另一个优选的组由式 II(SEQ ID NO:3)的 GLP-1 类似物组成:



式 II (SEQ ID NO:3)

其中: Xaa⁷ 是: L-组氨酸, D-组氨酸, 脱氨基-组氨酸, 2-氨基-组氨酸, β-羟基-组氨酸, 高组氨酸(homohistidine), α-氟甲基组氨酸, 或α-甲基组氨酸;

Xaa⁸ 是 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Ser, 或 Thr;

Xaa⁹ 是 Thr, Ser, Arg, Lys, Trp, Phe, Tyr, Glu, 或 His;

Xaa¹¹ 是 Asp, Glu, Arg, Thr, Ala, Lys, 或 His;

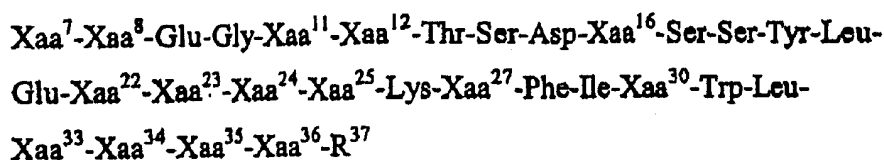
Xaa¹² 是 His, Trp, Phe, 或 Tyr;

Xaa¹⁶ 是 Leu, Ser, Thr, Trp, His, Phe, Asp, Val, Tyr, Glu, 或 Ala;

Xaa¹⁸ 是 His, Pro, Asp, Glu, Arg, Ser, Ala, 或 Lys;

Xaa¹⁹ 是 Gly, Asp, Glu, Gln, Asn, Lys, Arg, 或 Cys;
Xaa²³ 是 His, Asp, Lys, Glu, Gln, 或 Arg;
Xaa²⁴ 是 Glu, Arg, Ala, 或 Lys;
Xaa²⁶ 是 Trp, Tyr, Phe, Asp, Lys, Glu, 或 His;
Xaa²⁷ 是 Ala, Glu, His, Phe, Tyr, Trp, Arg, 或 Lys;
Xaa³⁰ 是 Ala, Glu, Asp, Ser, 或 His;
Xaa³¹ 是 Asp, Glu, Ser, Thr, Arg, Trp, 或 Lys;
Xaa³³ 是 Asp, Arg, Val, Lys, Ala, Gly, 或 Glu;
Xaa³⁴ 是 Glu, Lys, 或 Asp;
Xaa³⁵ 是 Thr, Ser, Lys, Arg, Trp, Tyr, Phe, Asp, Gly, Pro., His, 或 Glu;
Xaa³⁶ 是 Thr, Ser, Asp, Trp, Tyr, Phe, Arg, Glu, 或 His;
R³⁷ 是 Lys, Arg, Thr, Ser, Glu, Asp, Trp, Tyr, Phe, His, Gly, Gly-Pro, 或缺失。

GLP - 1 化合物的另一个优选的组由式 III(SEQ ID NO:4)的 GLP - 1 类似物组成:



式 III (SEQ ID NO:4)

其中: Xaa⁷ 是 L-组氨酸, D-组氨酸, 脱氨基-组氨酸, 2-氨基-组氨酸, β-羟基-组氨酸, 高组氨酸, α-氟甲基组氨酸, 或α-甲基组氨酸;

Xaa⁸ 是 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Ser, 或 Thr;
Xaa¹¹ 是 Asp, Glu, Arg, Thr, Ala, Lys, 或 His;
Xaa¹² 是 His, Trp, Phe, 或 Tyr;
Xaa¹⁶ 是 Leu, Ser, Thr, Trp, His, Phe, Asp, Val, Glu, 或 Ala;
Xaa²² 是 Gly, Asp, Glu, Gln, Asn, Lys, Arg, 或 Cys;

Xaa²³ 是 His, Asp, Lys, Glu, 或 Gln;
Xaa²⁴ 是 Glu, His, Ala, 或 Lys;
Xaa²⁵ 是 Asp, Lys, Glu, 或 His;
Xaa²⁷ 是 Ala, Glu, His, Phe, Tyr, Trp, Arg, 或 Lys;
Xaa³⁰ 是 Ala, Glu, Asp, Ser, 或 His;
Xaa³³ 是 Asp, Arg, Val, Lys, Ala, Gly, 或 Glu;
Xaa³⁴ 是 Glu, Lys, 或 Asp;
Xaa³⁵ 是 Thr, Ser, Lys, Arg, Trp, Tyr, Phe, Asp, Gly, Pro, His, 或 Glu;
Xaa³⁶ 是 Arg, Glu, 或 His;
R³⁷ 是 Lys, Arg, Thr, Ser, Glu, Asp, Trp, Tyr, Phe, His, Gly, Gly-Pro, 或缺失。

GLP - 1 化合物的另一个优选的组由式 IV(SEQ ID NO:5)的 GLP - 1 类似物组成的:

Xaa⁷-Xaa⁸-Glu-Gly-Thr-Xaa¹²-Thr-Ser-Asp-Xaa¹⁶-Ser-Ser-Tyr-Leu-
Glu-Xaa²²-Xaa²³-Ala-Ala-Xaa²⁶-Glu-Phe-Ile-Xaa³⁰-Trp-Leu-Val-Lys-
Xaa³⁵-Arg-R³⁷

式 IV (SEQ ID NO:5)

其中: Xaa⁷ 是 L-组氨酸, D-组氨酸, 脱氨基-组氨酸, 2-氨基-组氨酸, β-羟基-组氨酸, 高组氨酸, α-氟甲基-组氨酸, 或α-甲基-组氨酸;

Xaa⁸ 是 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Ser, Met, 或 Thr;
Xaa¹² 是 His, Trp, Phe, 或 Tyr;
Xaa¹⁶ 是 Leu, Ser, Thr, Trp, His, Phe, Asp, Val, Glu, 或 Ala;
Xaa²² 是 Gly, Asp, Glu, Gln, Asn, Lys, Arg, 或 Cys;
Xaa²³ 是 His, Asp, Lys, Glu, 或 Gln;
Xaa²⁶ 是 Asp, Lys, Glu, 或 His;
Xaa³⁰ 是 Ala, Glu, Asp, Ser, 或 His;

Xaa³⁵ 是 Thr, Ser, Lys, Arg, Trp, Tyr, Phe, Asp, Gly, Pro, His, 或 Glu;

R³⁷ 是 Lys, Arg, Thr, Ser, Glu, Asp, Trp, Tyr, Phe, His, Gly, Gly-Pro, 或缺失。

GLP-1 化合物的另一个优选的组由式 V (SEQ ID NO:6) 的 GLP-1 类似物组成:

Xaa⁷-Xaa⁸-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu-Glu-
Xaa²²-Xaa²³-Xaa²⁴-Ala-Lys-Glu-Phe-Ile-Xaa³⁰-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-
Arg-R³⁷

式 V (SEQ ID NO:6)

其中:

Xaa⁷ 是: L-组氨酸, D-组氨酸, 脱氨基-组氨酸, 2-氨基-组氨酸, β-羟基-组氨酸, 高组氨酸, α-氟甲基-组氨酸, 或α-甲基-组氨酸;

Xaa⁸ 是 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Ser, 或 Thr;

Xaa²² 是 Gly, Asp, Glu, Gln, Asn, Lys, Arg, 或 Cys;

Xaa²³ 是 His, Asp, Lys, Glu, 或 Gln;

Xaa²⁴ 是 Ala, Glu, His, Phe, Tyr, Trp, Arg, 或 Lys;

Xaa³⁰ 是 Ala, Glu, Asp, Ser, 或 His;

R³⁷ 是 Lys, Arg, Thr, Ser, Glu, Asp, Trp, Tyr, Phe, His, Gly, Gly-Pro, 或缺失。

式 I, II, III, IV 和 V 的优选的 GLP-1 化合物包括 GLP-1 类似物或 GLP-1 类似物的片段, 其中类似物或片段在位置 8(位置 8 类似物)含有一个除了丙氨酸以外的氨基酸。优选地, 这些位置 8 的类似物在位置 9, 11, 12, 16, 18, 22, 23, 24, 26, 27, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 和 37, 对应于天然的 GLP-1(7-37)OH 的氨基酸含有一个或多个另外的变化。同样优选的是, 这些类似物与天然 GLP-

1(7-37)OH 或 GLP-1(7-36)OH 中对应的氨基酸比较, 具有 6 个或更少的变化。更优选的类似物与天然 GLP-1(7-37)OH 或 GLP-1(7-36)OH 中对应的氨基酸比较具有 5 个或更少的变化, 或与天然的 GLP-1(7-37)OH 或 GLP-1(7-36)OH 的对应的氨基酸比较具有 4 或更少的变化。甚至更优选地, 这些类似物与天然 GLP-1(7-37)OH 或 GLP-1(7-36)OH 中的对应的氨基酸比较具有 3 或更少的变化。最优选地, 这些类似物与天然的 GLP-1(7-37)OH 中的氨基酸比较具有 2 或更少的变化。

式 II, III, IV 和 V 的优选的 GLP-1 化合物包括 GLP-1 类似物或 GLP-1 类似物的片段, 其中在位置 22 的甘氨酸和优选地在位置 8 的丙氨酸已经用另一个氨基酸替换。

当位置 22 是天冬氨酸, 谷氨酸, 精氨酸, 或赖氨酸时, 位置 8 优选地是甘氨酸, 缬氨酸, 亮氨酸, 异亮氨酸, 丝氨酸, 苏氨酸, 或甲硫氨酸, 更优选地是缬氨酸, 或甘氨酸。当位置 22 是磺酸(sulfonic acid)时, 如半胱氨酸, 位置 8 优选地是甘氨酸, 缬氨酸, 亮氨酸, 异亮氨酸, 丝氨酸, 苏氨酸, 或甲硫氨酸, 更优选地是缬氨酸或甘氨酸。

其他优选的 GLP-1 化合物包括式 IV 的 GLP-1 类似物(SEQ ID NO:5), 其中类似物具有 GLP-1(7-37)OH 的序列, 不同的是, 位置 8 的氨基酸优选地是甘氨酸, 缬氨酸, 亮氨酸, 异亮氨酸, 丝氨酸, 苏氨酸, 或甲硫氨酸, 更优选地是缬氨酸, 或甘氨酸, 位置 30 的是谷氨酸, 天冬氨酸, 丝氨酸, 或组氨酸, 更优选地是谷氨酸。

其他优选的 GLP-1 化合物包括式 IV(SEQ ID NO:5)的 GLP-1 类似物, 其中类似物具有 GLP-1(7-37)OH 的序列, 不同的是, 位置 8 的氨基酸优选地是甘氨酸, 缬氨酸, 亮氨酸, 异亮氨酸, 丝氨酸, 苏氨酸, 或甲硫氨酸, 更优选地是缬氨酸, 或甘氨酸, 位置 37 是组氨酸, 赖氨酸, 精氨酸, 苏氨酸, 丝氨酸, 谷氨酸, 天冬氨酸, 色氨酸, 酪氨酸, 苯丙氨酸, 更优选地是组氨酸。

其他优选的 GLP-1 化合物包括式 IV(SEQ ID NO:5)的 GLP-1 类似物, 其中该类似物具有 GLP-1(7-37)OH 的序列, 不同的是, 位置 8 的氨基酸优选地是甘氨酸, 缬氨酸, 亮氨酸, 异亮氨酸, 丝氨酸, 苏氨酸, 或甲硫氨酸, 更优选地是缬氨酸, 或甘氨酸, 位置 22 的是

谷氨酸, 赖氨酸, 天冬氨酸, 或精氨酸, 更优选地是谷氨酸, 或赖氨酸, 位置 23 是赖氨酸, 精氨酸, 谷氨酸, 天冬氨酸和组氨酸, 更优选地是赖氨酸或谷氨酸。

其他优选的 GLP-1 化合物包括式 V(SEQ ID NO: 6)的 GLP-1 类似物, 其中该类似物具有 GLP-1(7-37)OH 的序列, 不同的是, 位置 8 的氨基酸优选是甘氨酸, 缬氨酸, 亮氨酸, 异亮氨酸, 丝氨酸, 苏氨酸或甲硫氨酸, 更优选的是缬氨酸或甘氨酸; 位置 22 是谷氨酸, 赖氨酸, 天冬氨酸或精氨酸, 更优选的是谷氨酸或赖氨酸; 位置 27 的是丙氨酸, 赖氨酸, 精氨酸, 色氨酸, 酪氨酸, 苯丙氨酸, 或组氨酸, 更优选地是丙氨酸。

其他优选的 GLP-1 化合物包括式 II 的 GLP-1 类似物, 其中该类似物具有 GLP-1(7-37)OH 的序列, 不同的是, 位置 8 的氨基酸, 和选自位置 9, 位置 11, 位置 12, 位置 16, 位置 18, 位置 22, 位置 23, 位置 24, 位置 26, 位置 27, 位置 30, 位置 31, 位置 33, 位置 34, 位置 35, 位置 36 和位置 37 的一个, 两个, 或三个氨基酸在天然 GLP-1(7-37)OH 的对应位置的氨基酸是有区别的。

式 II 的其他优选的 GLP-1 化合物包括: Val⁸-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-GLP-1(7-37)OH, Glu²²-GLP-1(7-37)OH, Asp²²-GLP-1(7-37)OH, Arg²²-GLP-1(7-37)OH, Lys²²-GLP-1(7-37)OH, Cys²²-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Glu²²-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Asp²²-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Arg²²-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Lys²²-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Cys²²-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-Glu²²-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-Asp²²-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-Arg²²-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-Lys²²-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-Cys²²-GLP-1(7-37)OH, Glu²²-GLP-1(7-36)OH, Asp²²-GLP-1(7-36)OH, Arg²²-GLP-1(7-36)OH, Lys²²-GLP-1(7-36)OH, Cys²²-GLP-1(7-36)OH, Val⁸-Glu²²-GLP-1(7-36)OH, Val⁸-Asp²²-GLP-1(7-36)OH, Val⁸-Arg²²-GLP-1(7-36)OH, Val⁸-Lys²²-GLP-1(7-36)OH, Val⁸-Cys²²-GLP-1(7-36)OH, Gly⁸-Glu²²-GLP-1(7-36)OH,

Gly⁸-Asp²²-GLP-1(7-36)OH, Gly⁸-Arg²²-GLP-1(7-36)OH, Gly⁸-Lys²²-GLP-1(7-36)OH,
 Gly⁸-Cys²²-GLP-1(7-36)OH, Lys²³-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Lys²³-GLP-1(7-37)OH,
 Gly⁸-Lys²³-GLP-1(7-37)OH, His²⁴-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-His²⁴-GLP-1(7-37)OH,
 Gly⁸-His²⁴-GLP-1(7-37)OH, Lys²⁴-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Lys²⁴-GLP-1(7-37)OH,
 Glu³⁰-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Glu³⁰-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-Glu³⁰-GLP-1(7-37)OH,
 Asp³⁰-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Asp³⁰-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-Asp³⁰-GLP-1(7-37)OH,
 Gln³⁰-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Gln³⁰-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-Gln³⁰-GLP-1(7-37)OH,
 Tyr³⁰-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Tyr³⁰-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-Tyr³⁰-GLP-1(7-37)OH,
 Ser³⁰-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Ser³⁰-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-Ser³⁰-GLP-1(7-37)OH,
 His³⁰-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-His³⁰-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-His³⁰-GLP-1(7-37)OH,
 Glu³⁴-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Glu³⁴-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-Glu³⁴-GLP-1(7-37)OH,
 Ala³⁴-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Ala³⁴-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-Ala³⁴-GLP-1(7-37)OH,
 Gly³⁴-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Gly³⁴-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-Gly³⁴-GLP-1(7-37)OH,
 Ala³⁵-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Ala³⁵-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-Ala³⁵-GLP-1(7-37)OH,
 Lys³⁵-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Lys³⁵-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-Lys³⁵-GLP-1(7-37)OH,
 His³⁵-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-His³⁵-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-His³⁵-GLP-1(7-37)OH,
 Pro³⁵-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Pro³⁵-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-Pro³⁵-GLP-1(7-37)OH,
 Glu³⁵-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Glu³⁵-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-Glu³⁵-GLP-1(7-37)OH,
 Val⁸-Ala²⁷-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-His³⁷-GLP-1(7-37)OH,
 Val⁸-Glu²²-Lys²³-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Glu²²-Glu²³-GLP-1(7-37)OH,
 Val⁸-Glu²²-Ala²⁷-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Gly³⁴-Lys³⁵-GLP-1(7-37)OH,
 Gly⁸-His³⁷-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Glu²²-Ala²⁷-GLP-1(7-37)OH,
 Gly⁸-Glu²²-Ala²⁷-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Lys²²-Glu²³-GLP-1(7-37)OH, 和
 Gly⁸-Lys²²-Glu²³-GLP-1(7-37)OH.

用于本发明的另外的 GLP-1 类似物和衍生物的优选的组由式 VI 的分子组成(SEQ ID NO:7)

R₁-X-Glu-Gly¹⁰-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp¹⁵-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu²⁰-Y-Gly-
 Gln-Ala-Ala²⁵-Lys-Z-Phe-Ile-Ala³⁰-Trp-Leu-Val-Lys-Gly³⁵-Arg-R₂

式 VI (SEQ ID NO:7)

其中： R_1 选自 L-组氨酸，D-组氨酸，脱氨基-组氨酸，2-氨基-组氨酸， β -羟基-组氨酸，高组氨酸， α -氟甲基-组氨酸和 α 甲基组氨酸。

X 选自 Ala, Gly, Val, Thr, Ile 和 α -甲基-Ala;

Y 选自 Glu, Gln, Ala, Thr, Ser 和 Gly;

Z 选自 Glu, Gln, Ala, Thr, Ser 和 Gly; 和

R_2 是 Gly-OH。

用于本发明的另一组优选的 GLP-1 化合物公开在 WO 91/11457 中，主要包括 GLP-1(7-34), GLP-1(7-35), GLP-1(7-36)或者 GLP-1(7-37)，或其酰胺形式，和其药物可接受盐，其中具有选自下面的至少一个修饰：

(a) 甘氨酸，丝氨酸，半胱氨酸，苏氨酸，天冬酰胺，谷氨酰胺，酪氨酸，丙氨酸，缬氨酸，异亮氨酸，亮氨酸，甲硫氨酸，苯丙氨酸，精氨酸，或 D-赖氨酸替换位置 26 和/或位置 34 的赖氨酸；甘氨酸，丝氨酸，半胱氨酸，苏氨酸，天冬酰胺，谷氨酰胺，酪氨酸，丙氨酸，缬氨酸，异亮氨酸，亮氨酸，甲硫氨酸，苯丙氨酸，赖氨酸，或 D 精氨酸替换位置 36 的精氨酸；

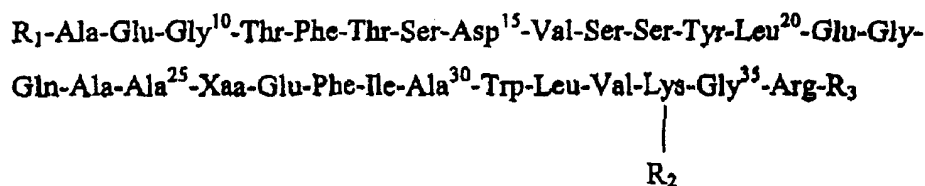
(b) 氧化抗性氨基酸替换位置 31 的色氨酸；

(c) 至少一个下面的替换：酪氨酸替换位置 16 的缬氨酸；赖氨酸替换位置 18 的丝氨酸；天冬氨酸替换位置 21 的谷氨酸；丝氨酸替换位置 22 的甘氨酸；精氨酸替换位置 23 的谷氨酸；精氨酸替换位置 24 的丙氨酸；谷氨酸替换位置 26 的赖氨酸；和

(d) 至少下面的一个替换：甘氨酸，丝氨酸或半胱氨酸替换位置 8 的丙氨酸；天冬氨酸，甘氨酸，丝氨酸，半胱氨酸，苏氨酸，天冬氨酸，谷氨酰胺，酪氨酸，丙氨酸，缬氨酸，异亮氨酸，亮氨酸，甲硫氨酸，或苯丙氨酸替换位置 9 的谷氨酸；丝氨酸，半胱氨酸，苏氨酸，天冬酰胺，谷氨酰胺，酪氨酸，丙氨酸，缬氨酸，异亮氨酸，亮氨酸，甲硫氨酸，或苯丙氨酸替换位置 10 的甘氨酸；谷氨酸替换位置 15 的天冬氨酸；和

(e) 在位置 7 用甘氨酸，丝氨酸，半胱氨酸，苏氨酸，天冬酰

胺, 谷氨酰胺, 酪氨酸, 丙氨酸, 缬氨酸, 异亮氨酸, 亮氨酸, 甲硫氨酸, 或苯丙氨酸或组氨酸的 D 或 N 酰化或烷基化形式替换组氨酸; 其中, 在替换中是(a), (b), (d)和(e), 替换的氨基酸可任选地是 D 形式, 位置 7 替换的氨基酸可任选地是 N 酰化形式或 N 烷基化形式。因为, 一种酶 - 二肽基 - 肽酶 IV(DPP IV), 可能导致观察到的给药的 GLP - 1 的快速体内失活[参见例如, Mentlein, R., 等人, Eur. J. Biochem., 214:829-835(1993)], 在融合蛋白质中能够免于 DPP IV 活性作用的 GLP - 1 类似物和衍生物是优选的, 其中 GLP - 1 化合物是 Gly⁸-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-GLP-1(7-37)OH, α-甲基 - Ala⁸-GLP-1(7-37)OH, 或者 Gly⁸-Gln²¹-GLP-1(7-37)OH 的融合蛋白更优选。另一组优选的用于本发明的 GLP - 1 化合物包括美国专利 5,512,549 要求保护的式 VII(SEQ ID NO:8)的化合物, 其特别地引入本文作为参考:



式 VII (SEQ ID NO:8)

其中: R₁ 选自包括 4 - 咪唑丙酰基, 4 - 咪唑乙酰基, 或者 4 - 咪唑 - α,α - 二甲基 - 乙酰基;

R₂ 选自 C₆ - C₁₀ 不分支的酰基, 或者不存在;

R₃ 选自 Gly-OH 或者 NH₂; 和

Xaa 是 Lys 或者 Arg。

用于本发明的式 VII 的更优选的化合物是其中 Xaa 是 Arg, R₂ 是 C₆-C₁₀ 未分支的酰基的化合物。用于本发明的式 IV 的更优选的化合物是其中 Xaa 是 Arg, R₂ 是 C₆-C₁₀ 未分支的酰基, R₃ 是 Gly-OH 的化合物。用于本发明的式 IV 的其他更优选的化合物是其中 Xaa 是 Arg, R₂ 是 C₆ - C₁₀ 未分支的酰基, R₃ 是 Gly-OH, R₁ 是 4 - 咪唑丙酰基的化合物。用于本发明的特别优选的式 IV 的化合物是其中 Xaa 是 Arg, R₂ 是 C₈ 未分支的酰基, R₃ 是 Gly-OH, R₁ 是 4 - 咪唑丙酰基的化合物。

其他优选的 GLP - 1 衍生物如美国专利 6,268,343B1 中所述。更

优选的 GLP-1 衍生物是 Arg³⁴Lys²⁶-(N-ε-(γ-Glu(N-α-十六烷酰基)))-GLP-1(7-37)。

优选地，GLP-1 化合物包括 GLP-1 类似物，其中这样的类似物或片段的骨架在位置 8 含有一个不是丙氨酸的氨基酸(位置 8 类似物)。骨架也可以在位置 7 包括 L-组氨酸，D-组氨酸，或组氨酸的修饰形式，如脱氨基-组氨酸，2-氨基-组氨酸，β-羟基-组氨酸，高组氨酸，α-氟甲基组氨酸，或α-甲基-组氨酸。优选地，与天然 GLP-1(7-37)OH 的对应氨基酸相比，这些位置 8 类似物在位置 12, 16, 18, 19, 20, 22, 25, 27, 30, 33 和 37 含有一个或多个其他变化。更优选地，与天然 GLP-1(7-37)OH 的对应氨基酸相比，这些位置 8 类似物在位置 16, 18, 22, 25 和 33 含有一个或多个其他的变化。

在优选的实施方案中，GLP-1 类似物是 GLP-1(7-37)OH，其中在位置 12 的氨基酸选自色氨酸或酪氨酸。更优选地，除了位置 12 的替换外，在位置 8 的氨基酸用甘氨酸，缬氨酸，亮氨酸，异亮氨酸，丝氨酸，苏氨酸，或甲硫氨酸来替换，更优选地用缬氨酸或甘氨酸来替换。甚至更优选地，除了在位置 12 和 8 的替换外，位置 22 的氨基酸是用谷氨酸替换的。

在另一个优选的实施方案中，GLP-1 类似物是 GLP-1(7-37)OH，其中位置 16 的氨基酸选自色氨酸，异亮氨酸，亮氨酸，苯丙氨酸或酪氨酸。更优选地，除了在位置 16 的替换外，在位置 8 的氨基酸是用甘氨酸，缬氨酸，亮氨酸，异亮氨酸，丝氨酸，苏氨酸，或甲硫氨酸来替换的，更优选地是用缬氨酸或甘氨酸来替换的。甚至更优选地，除了在位置 16 和 8 的替换外，可以用谷氨酸替换位置 22 的氨基酸。同样优选的是，除了位置 16 和 8 的替换外，位置 30 的氨基酸是用谷氨酸替换的。同样优选的是除了在位置 16 和 8 的替换外，位置 37 的氨基酸是用组氨酸替换的。

另一个优选的实施方案中，GLP-1 类似物是 GLP-1(7-37)OH，其中位置 18 的氨基酸选自色氨酸，酪氨酸，苯丙氨酸，赖氨酸，亮氨酸，或异亮氨酸，优选地是色氨酸，酪氨酸和异亮氨酸。更优选地，除了在位置 18 的替换外，用甘氨酸，缬氨酸，亮氨酸，异亮氨酸，

丝氨酸，苏氨酸，或甲硫氨酸来替换位置 8 的氨基酸，甚至更优选地用缬氨酸或甘氨酸来替换。甚至更优选地，除了在位置 18 和 8 的替换外，用谷氨酸替换位置 22 的氨基酸。同样优选地，除了在位置 18 和 8 的替换外，用谷氨酸来替换位置 30 的氨基酸。同样优选的是，除了位置 18 和 8 的替换外，用组氨酸来替换位置 37 的氨基酸。

另一个优选的实施方案中，GLP-1 类似物是 GLP-1(7-37)OH，其中在位置 19 的氨基酸选自色氨酸或苯丙氨酸，优选色氨酸。更优选地，除了在位置 19 的替换外，用甘氨酸，缬氨酸，亮氨酸，异亮氨酸，丝氨酸，苏氨酸，或甲硫氨酸来替换位置 8 的氨基酸，更优选地用缬氨酸或甘氨酸来替换。甚至更优选地，除了在位置 19 和 8 的替换外，位置 22 的氨基酸用谷氨酸来替换。同样优选的是，除了位置 19 和 8 的替换外，在位置 30 的氨基酸是用谷氨酸来替换的。同样优选的是，除了在位置 19 和 8 的替换外，在位置 37 的氨基酸是用组氨酸来替换的。

在另一个优选的实施方案中，GLP-1 类似物是 GLP-1(7-37)OH，其中位置 20 的氨基酸是苯丙氨酸，酪氨酸，或色氨酸。更优选地，除了位置 20 的替换外，位置 8 的氨基酸用甘氨酸，缬氨酸，亮氨酸，异亮氨酸，丝氨酸，苏氨酸，或甲硫氨酸来替换，更优选地是用缬氨酸或甘氨酸来替换。甚至更优选地，除了在位置 20 和 8 的替换外，位置 22 的氨基酸是用谷氨酸来替换的。同样优选的是，除了位置 20 和 8 的替换，位置 30 的氨基酸可以用谷氨酸来替换。同样优选的是，除了位置 20 和 8 的替换，位置 37 的氨基酸是用组氨酸来替换的。

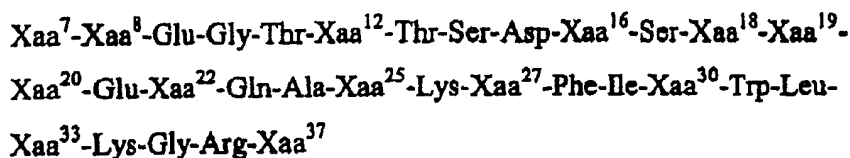
在另一个优选的实施方案中，GLP-1 类似物是 GLP-1(7-37)OH，其中位置 25 的氨基酸选自缬氨酸，异亮氨酸，和亮氨酸，优选缬氨酸。更优选地，除了在位置 25 的替换外，可以用甘氨酸，缬氨酸，亮氨酸，异亮氨酸，丝氨酸，苏氨酸，或甲硫氨酸来替换位置 8 的氨基酸，更优选地是用缬氨酸或甘氨酸来替换。甚至更优选地，除了位置 25 和 8 的替换外，位置 22 的氨基酸是用谷氨酸来替换的。同样优选的是，除了位置 25 和 8 的替换外，位置 30 的氨基酸是用谷氨酸来替换的。同样优选的是，除了位置 25 和 8 的替换外，位置 37

的氨基酸是用组氨酸来替换的。

另一个优选的实施方案中，GLP-1 类似物是 GLP-1(7-37)OH，其中位置 27 的氨基酸选自异亮氨酸或丙氨酸。更优选地，除了位置 27 的替换外，位置 8 的氨基酸用甘氨酸，缬氨酸，亮氨酸，异亮氨酸，丝氨酸，苏氨酸，或甲硫氨酸来替换，更优选地用缬氨酸或甘氨酸来替换。甚至更优选地，除了位置 27 和 8 的替换外，可以用谷氨酸替换位置 22 的氨基酸。同样优选地，除了位置 27 和 8 的替换外，可以用谷氨酸来替换位置 30 的氨基酸。同样优选地，除了位置 27 和 8 的替换外，可以用组氨酸来替换位置 37 的氨基酸。

在另一个优选的实施方案中，GLP-1 类似物是 GLP-1(7-37)OH，其中位置 33 的氨基酸是异亮氨酸。更优选地，除了位置 33 的替换外，位置 8 的氨基酸用甘氨酸，缬氨酸，亮氨酸，异亮氨酸，丝氨酸，苏氨酸，或甲硫氨酸来替换，更优选地是用缬氨酸或甘氨酸来替换。甚至更优选地，除了在位置 33 和 8 的替换外，位置 22 的氨基酸用谷氨酸来替换的。同样优选地，除了位置 33 和 8 的替换，位置 30 的氨基酸是用谷氨酸来替换的。同样优选的，除了位置 33 和 8 的替换外，可以用组氨酸来替换位置 37 的氨基酸。

GLP-1 化合物在一个或多个下面的位置有修饰：8, 12, 16, 18, 19, 20, 22, 25, 27, 30, 33 和 37。这些 GLP-1 化合物与 GLP-1(7-37)OH 比较，显示了较高的效力，并且包括了式 VIII 的氨基酸序列(SEQ ID NO:9):



式 VIII (SEQ ID NO:9)

其中：Xaa⁷ 是 L-组氨酸，D-组氨酸，脱氨基-组氨酸，2-氨基-组氨酸，β-羟基-组氨酸，高组氨酸，α-氟甲基组氨酸，或α-甲基-组氨酸；

xaa⁸ 是 Ala, Gly, Val, Leu, Ile, Ser, 或 Thr;

xaa¹² 是 Phe, Trp, 或 Tyr;
Xaa¹⁶ 是 Val, Trp, Ile, Leu, Phe, 或 Tyr;
Xaa¹⁸ 是 Ser, Trp, Tyr, Phe; Lys, Ile, Leu, Val;
Xaa¹⁹ 是 Tyr, Trp, 或 Phe;
Xaa²⁰ 是 Leu, Phe, Tyr, 或 Trp;
Xaa²² 是 Gly, Glu, Asp, 或 Lys;
Xaa²⁵ 是 Ala, Val, Ile, 或 Leu;
Xaa²⁷ 是 Glu, Ile, 或 Ala;
Xaa³⁰ 是 Ala 或 Glu;
Xaa³³ 是 Val 或 Ile; 并且
Xaa³⁷ 是 Gly, His, NH₂, 或缺失.

式 VIII 的一些优选的 GLP - 1 化合物包括 GLP-1(7-37)OH,

GLP-1(7-36)NH₂, Gly⁸-GLP-1(7-37)OH, Gly⁸-GLP-1(7-36)NH₂, Val⁸-GLP-1(7-37)OH,
Val⁸-GLP-1(7-36)NH₂, Leu⁸-GLP-1(7-37)OH, Leu⁸-GLP-1(7-36)NH₂,
Ile⁸-GLP-1(7-37)OH, Ile⁸-GLP-1(7-36)NH₂, Ser⁸-GLP-1(7-37)OH,

$\text{Ser}^8\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Thr}^8\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Thr}^8\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$,
 $\text{Val}^8\text{-Tyr}^{12}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Val}^8\text{-Tyr}^{12}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Val}^8\text{-Tyr}^{16}\text{-GLP-1(7-37)OH}$,
 $\text{Val}^8\text{-Tyr}^{16}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Val}^8\text{-Glu}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Val}^8\text{-Glu}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$,
 $\text{Gly}^8\text{-Glu}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Gly}^8\text{-Glu}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Val}^8\text{-Asp}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$,
 $\text{Val}^8\text{-Asp}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Gly}^8\text{-Asp}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Gly}^8\text{-Asp}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$,
 $\text{Val}^8\text{-Lys}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Val}^8\text{-Lys}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Gly}^8\text{-Lys}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$,
 $\text{Gly}^8\text{-Lys}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Leu}^8\text{-Glu}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Leu}^8\text{-Glu}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$,
 $\text{Ile}^8\text{-Glu}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Ile}^8\text{-Glu}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Leu}^8\text{-Asp}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$,
 $\text{Leu}^8\text{-Asp}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Ile}^8\text{-Asp}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Ile}^8\text{-Asp}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$,
 $\text{Leu}^8\text{-Lys}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Leu}^8\text{-Lys}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Ile}^8\text{-Lys}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$,
 $\text{Ile}^8\text{-Lys}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Ser}^8\text{-Glu}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Ser}^8\text{-Glu}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$,
 $\text{Thr}^8\text{-Glu}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Thr}^8\text{-Glu}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Ser}^8\text{-Asp}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$,
 $\text{Ser}^8\text{-Asp}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Thr}^8\text{-Asp}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Thr}^8\text{-Asp}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$,
 $\text{Ser}^8\text{-Lys}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Ser}^8\text{-Lys}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Thr}^8\text{-Lys}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$,
 $\text{Thr}^8\text{-Lys}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Glu}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Glu}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$,
 $\text{Asp}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Asp}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Lys}^{22}\text{-GLP-1(7-37)OH}$,
 $\text{Lys}^{22}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Val}^8\text{-Ala}^{27}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Val}^8\text{-Glu}^{22}\text{-Ala}^{27}\text{-GLP-1(7-37)OH}$,
 $\text{Val}^8\text{-Glu}^{30}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Val}^8\text{-Glu}^{30}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Gly}^8\text{-Glu}^{30}\text{-GLP-1(7-37)OH}$,
 $\text{Gly}^8\text{-Glu}^{30}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Leu}^8\text{-Glu}^{30}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Leu}^8\text{-Glu}^{30}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$,
 $\text{Ile}^8\text{-Glu}^{30}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Ile}^8\text{-Glu}^{30}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Ser}^8\text{-Glu}^{30}\text{-GLP-1(7-37)OH}$,
 $\text{Ser}^8\text{-Glu}^{30}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Thr}^8\text{-Glu}^{30}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Thr}^8\text{-Glu}^{30}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$,
 $\text{Val}^8\text{-His}^{37}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Val}^8\text{-His}^{37}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Gly}^8\text{-His}^{37}\text{-GLP-1(7-37)OH}$,
 $\text{Gly}^8\text{-His}^{37}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Leu}^8\text{-His}^{37}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Leu}^8\text{-His}^{37}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$,
 $\text{Ile}^8\text{-His}^{37}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Ile}^8\text{-His}^{37}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Ser}^8\text{-His}^{37}\text{-GLP-1(7-37)OH}$,
 $\text{Ser}^8\text{-His}^{37}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$, $\text{Thr}^8\text{-His}^{37}\text{-GLP-1(7-37)OH}$, $\text{Thr}^8\text{-His}^{37}\text{-GLP-1(7-36)NH}_2$ 。

具有多个替换的一些优选的式 VIII 的 GLP-1 化合物包括 GLP-1(7-37)OH, 其中位置 8 是缬氨酸或甘氨酸, 位置 22 是谷氨酸, 位置 16 是酪氨酸, 亮氨酸, 或色氨酸, 位置 18 是酪氨酸, 色氨酸, 或异

亮氨酸, 位置 25 是缬氨酸, 位置 33 是异亮氨酸。其他优选的 GLP-1 化合物包括如下: Val⁸-Tyr¹⁶-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Tyr¹²-Glu²²-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Tyr¹⁶-Phe¹⁹-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Tyr¹⁶-Glu²²-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Trp¹⁶-Glu²²-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Leu¹⁶-Glu²²-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Ile¹⁶-Glu²²-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Phe¹⁶-Glu²²-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Trp¹⁸-Glu²²-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Tyr¹⁸-Glu²²-GLP-1(7-37)OH, Val⁸-Phe¹⁸-Glu²²-GLP-1(7-37)OH, 和 Val⁸-Ile¹⁸-Glu²²-GLP-1(7-37)OH。

本发明的 GLP-1 化合物也包括 Exendin 化合物。Exendin-3 和 Exendin-4 是首先从 Helodermatidae 蜥蜴毒液分离的生物活性肽, 并且已经显示与 GLP-1 受体结合, 刺激了哺乳动物腔壁细胞中依赖 cAMP 的 H⁺ 生产。Exendin-3 和 Exendin-4 两者都是 39 个氨基酸肽, 约与 GLP-1 具有 53% 的同源性。它们的作用是 GLP-1 活性的有效力的拮抗剂。值得注意的是, N 末端截短的 Exendin 的衍生物, 称为 Exendin(9-39 个氨基酸), 是 Exendin-3, Exendin-4 和 GLP-1 的抑制剂。

Exendin 化合物通常包括具有 Exendin-3, Exendin-4, 或其类似物或片段的氨基酸序列的多肽。Exendin-3 和 Exendin-4 在美国专利 5,424,286 中公开。

Exendin-3 具有 SEQ ID NO: 10 的氨基酸序列:

His⁷-Ser-Asp-Gly¹⁰-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp¹⁵-Leu-Ser-Lys-Gln-Met²⁰-
Glu-Glu-Glu-Ala-Val²⁵-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu³⁰-Trp-Leu-Lys-Asn-
Gly³⁵-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly⁴⁰-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser⁴⁵-NH₂
(SEQ ID NO:10)

Exendin-4 具有 SEQ ID NO: 11 的氨基酸序列:

His⁷-Gly-Glu-Gly¹⁰-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp¹⁵-Leu-Ser-Lys-Gln-
Met²⁰-Glu-Glu-Glu-Ala-Val²⁵-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu³⁰-Trp-Leu-
Lys-Asn-Gly³⁵-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly⁴⁰-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser⁴⁵-
NH₂

(SEQ ID NO:11)

GLP-1 化合物也包括 Exendin 片段，是在从 Exendin 或 Exendin 类似物的 N 末端和/或 C 末端截短了一个或多个氨基酸后得到的多肽。另外，GLP-1 化合物包括 Exendin 多肽，其中在 Exendin 或其片段的 N 末端和/或 C 末端已经加入了一个或多个氨基酸。这一类型的 Exendin 化合物具有至多大约 45 个氨基酸。

GLP-1 化合物也包括“Exendin 类似物”。Exendin 类似物与 Exendin-4, Exendin-3 或其片段具有足够的同源性，使得类似物具有促胰岛素活性。Exendin 片段和/或类似物的活性可以利用体外实验(如实施例 1 中所述的那些)来评估。

优选地，Exendin 类似物具有 Exendin-4 或其片段的氨基酸序列，并且是经过修饰的，以致在 Exendin-4 或 Exendin-4 的片段的对应位置的氨基酸有一个，两个，三个，四个或五个氨基酸的区别。在命名本文所用 Exendin 化合物时，在原来的结构之前指明替代的氨基酸和它的位置。例如，Val⁸-Exendin-4 指明了一个 Exendin 化合物，其中正常情况下在 Exendin-4 的位置 8 的甘氨酸被缬氨酸替换。

另一组优选的 GLP-1 化合物由式 IX 的 GLP-1/Exendin-4 类似物组成(SEQ ID NO:12)。

Xaa⁷-Xaa⁸-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa¹⁶-Ser-Xaa¹⁸-Xaa¹⁹-
Xaa²⁰-Glu-Xaa²²-Xaa²³-Ala-Xaa²⁵-Xaa²⁶-Xaa²⁷-Phe-Ile-Xaa³⁰-Trp-
Leu-Xaa³³-Xaa³⁴-Gly-Xaa³⁶-R³⁷

式 IX (SEQ ID NO:12)

其中：

Xaa⁷ 是：L-组氨酸，D-组氨酸，脱氨基-组氨酸，2-氨基-

组氨酸, β -羟基-组氨酸, 高组氨酸, α -氟甲基-组氨酸或 α -甲基-组氨酸;

Xaa⁸ 是 Gly, Ala, 或 Val;

Xaa¹⁶ 是 Leu 或 Val;

Xaa¹⁸ 是 Lys 或 Ser;

Xaa¹⁹ 是 Gln 或 Tyr;

Xaa²⁰ 是 Met 或 Leu;

Xaa²² 是 Glu 或 Gln;

Xaa²³ 是 Glu 或 Gln;

Xaa²⁵ 是 Val 或 Ala;

Xaa²⁶ 是 Arg 或 Lys;

Xaa²⁷ 是 Leu 或 Glu;

Xaa³⁰ 是 Glu 或 Ala

Xaa³³ 是 Val 或 Lys;

Xaa³⁴ 是 Asn 或 Lys;

Xaa³⁶ 是 Gly 或 Arg; 并且

R³⁷ 是 Gly, Pro, Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser, 或缺失。

用于本发明的另外的 Exendin 类似物在 PCT 专利出版物 WO99/25728 (Beeley 等人); WO 99/25727 (Beeley 等人); WO 98/05351(Young 等人); WO99/40788(Young 等人); WO 99/07404 (Beeley 等人); 和 WO 99/43708(Knudsen 等人)中描述。

另一组优选的 GLP-1 化合物具有式 X 的氨基酸序列(SEQ ID NO:13)

Xaa⁷-Xaa⁸-Glu-Gly-Thr-Xaa¹²-Thr-Ser-Asp-Xaa¹⁶-Ser-Xaa¹⁸-Xaa¹⁹-
 Xaa²⁰-Glu-Xaa²²-Gln-Ala-Xaa²⁵-Lys-Xaa²⁷-Phe-Ile-Xaa³⁰-Trp-Leu-
 Xaa³³-Xaa³⁴-Gly-Xaa³⁶-Xaa³⁷-Xaa³⁸-Xaa³⁹-Xaa⁴⁰-Xaa⁴¹-Xaa⁴²-Xaa⁴³-
 Xaa⁴⁴-Xaa⁴⁵-Xaa⁴⁶-Xaa⁴⁷

式 X (SEQ ID NO:13)

其中：Xaa⁷ 是 L-组氨酸，D-组氨酸，脱氨基-组氨酸，2-氨基组氨酸，β-羟基-组氨酸，高组氨酸，α-氟甲基-组氨酸或α-甲基-组氨酸；

Xaa⁸ 是 Ala, Gly, Val, Leu, Ile, Ser, 或 Thr;

Xaa¹² 是 Phe, Trp, 或 Tyr;

Xaa¹⁶ 是 Val, Trp, Ile, Leu, Phe, 或 Tyr;

Xaa¹⁸ 是 Ser, Trp, Tyr, Phe, Lys, Ile, Leu, Val;

Xaa¹⁹ 是 Tyr, Trp, 或 Phe;

Xaa²⁰ 是 Leu, Phe, Tyr, 或 Trp;

Xaa²² 是 Gly, Glu, Asp, 或 Lys;

Xaa²⁵ 是 Ala, Val, Ile, 或 Leu;

Xaa²⁷ 是 Glu, Ile, 或 Ala;

Xaa³⁰ 是 Ala 或 Glu;

Xaa³³ 是 Val 或 Ile;

Xaa³⁴ 是 Lys, Asp, Arg, 或 Glu;

Xaa³⁶ 是 Gly, Pro, 或 Arg;

Xaa³⁷ 是 Gly, Pro, 或 Ser;

Xaa³⁸ 是 Ser, Pro, 或 His;

Xaa³⁹ 是 Ser, Arg, Thr, Trp, 或 Lys;

Xaa⁴⁰ 是 Ser 或 Gly;

Xaa⁴¹ 是 Ala, Asp, Arg, Glu, Lys, 或 Gly;

Xaa⁴² 是 Pro, Ala, NH₂, 或缺失;

Xaa⁴³ 是 Pro, Ala, NH₂, 或缺失;

Xaa⁴⁴ 是 Pro, Ala, Arg, Lys, His, NH₂, 或缺失;

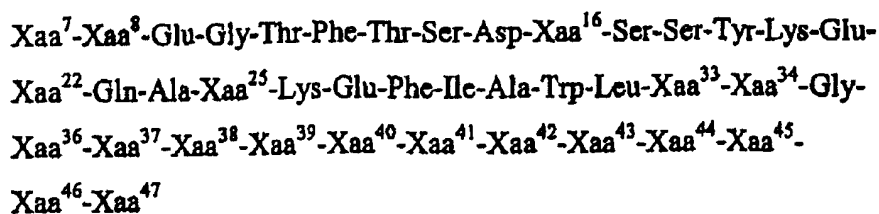
Xaa⁴⁵ 是 Ser, His, Pro, Lys, Arg, NH₂, 或缺失;

Xaa⁴⁶ 是 His, Ser, Arg, Lys, NH₂ 或缺失; 并且

Xaa⁴⁷ 是 His, Ser, Arg, Lys, NH₂ 或缺失;

条件是, 如果 Xaa⁴², Xaa⁴³, Xaa⁴⁴, Xaa⁴⁵, Xaa⁴⁶, 或者 Xaa⁴⁷ 缺失, 那么下游的各氨基酸也缺失, 并且 GLP-1 肽不具有在 Xaa³⁶ 开始的下面的 C 末端氨基酸延伸: Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-NH₂。

另一组优选的 GLP-1 化合物具有式 XI(SEQ ID NO:14)的氨基酸序列



式 XI (SEQ ID NO:14)

其中: Xaa⁷ 是 L-组氨酸, D-组氨酸, 脱氨基-组氨酸, 2-氨基-组氨酸, β -羟基-组氨酸, 高组氨酸, α -氟甲基-组氨酸, 或 α -甲基-组氨酸;

Xaa⁸ 是 Gly, Val, Leu, Ile, Ser, 或 Thr;

Xaa¹⁶ 是 Val, Trp, Ile, Leu, Phe, 或 Tyr;

Xaa²² 是 Gly, Glu, Asp, 或 Lys;

Xaa²⁵ 是 Ala, Val, Ile, 或 Leu;

Xaa³³ 是 Val 或 Ile;

Xaa³⁴ 是 Lys, Asp, Arg, 或 Glu;

Xaa³⁶ 是 Gly, Pro, 或 Arg;

Xaa³⁷ 是 Gly, Pro, 或 Ser;

Xaa³⁸ 是 Ser, Pro, 或 His;

Xaa³⁹ 是 Ser, Arg, Thr, Trp, 或 Lys;

Xaa⁴⁰ 是 Ser 或 Gly;

Xaa⁴¹ 是 Ala, Asp, Arg, Glu, Lys, 或 Gly;

Xaa⁴² 是 Pro 或 Ala;

Xaa⁴³ 是 Pro 或 Ala;

Xaa⁴⁴ 是 Pro, Ala, Arg, Lys, His, NH₂, 或缺失;

Xaa⁴⁵ 是 Ser, His, Pro, Lys, Arg, NH₂ 或缺失;

Xaa⁴⁶ 是 His, Ser, Arg, Lys, NH₂ 或缺失; 并且

Xaa⁴⁷ 是 His, Ser, Arg, Lys, NH₂ 或缺失;

条件是, 如果 Xaa⁴⁴, Xaa⁴⁵, Xaa⁴⁶, 或者 Xaa⁴⁷ 缺失, 那么下游的各氨基酸缺失, 并且 GLP-1 肽不具有在 Xaa³⁶ 开始的下面的 C 末端的氨基酸延伸: Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-NH₂。

式 X 和式 XI 的优选的实施方案包括 GLP-1 化合物, 它在位置 8 具有缬氨酸或甘氨酸, 在位置 22 具有谷氨酸。

适于在本发明中利用的递送剂:

可以通过本领域已知的有机化学方法和如 WO90/36480; WO96/30036; 美国专利 5,643,957; 美国专利 6,242,495 中所述制备本发明的递送剂, 这些文献全部引入本文作为参考。

本发明的许多递送剂可以容易地一些氨基酸制备, 这些氨基酸包括但不限于氨基辛酸, 丁酰基羟基氨基酸, 氨基苯基丁酸, 氨基苯基己酸, 氨基苯基丙酸, 氨基唾液酸, 氨基苯基琥珀酸, 氨基壬酸, 氨基尼克酸, 氨基戊酸, 氨基苯基乙酸, 氨基辛酸, 氨基十一烷酸, 氨基庚酸, 氨基羟苯酸, 和氨基癸酸。

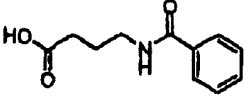
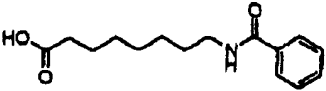
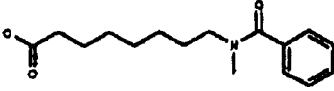
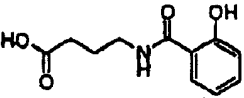
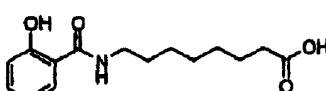
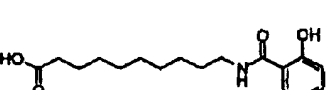
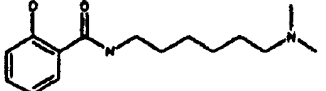
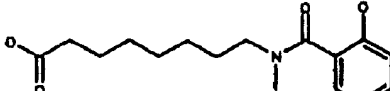
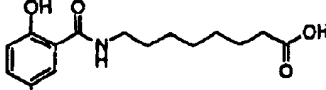
例如, 通过将单一的酸与适当的试剂反应可以制备递送剂, 所述适当的试剂是与存在于氨基酸中的游离氨基成分反应而形成酰胺的。保护基团可以用于避免如本领域的技术人员已知的不需要的副反应。

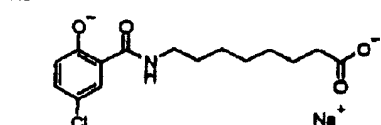
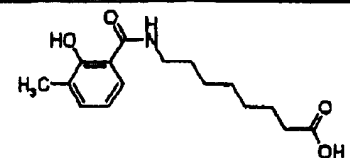
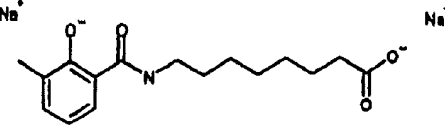
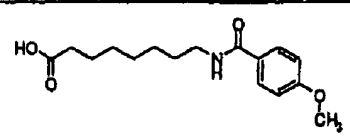
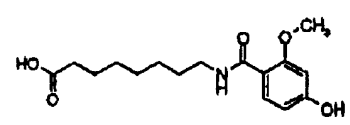
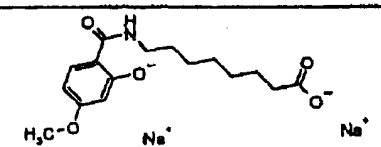
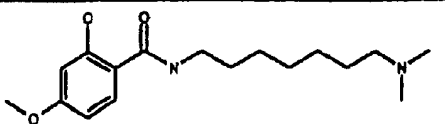
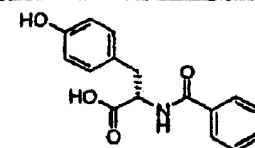
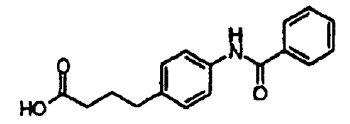
通过再结晶或通过通过固体柱支持物上分级分离可以纯化递送剂。适当的再结晶溶剂系统包括乙腈, 甲醇和四氢呋喃。可以利用以甲醇/正丙醇混合物作为移动相的适当的固体柱支持物(如氧化铝); 以四氟乙酸/乙腈混合物作为移动相的反相柱支持物; 以水作为移动相的离子交换层析进行分级分离。当进行阴离子交换层析时, 优选地利用随后的 0-500mM 的氯化钠梯度。

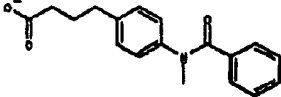
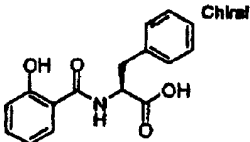
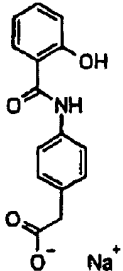
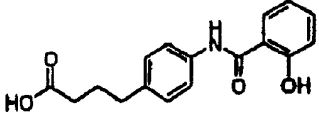
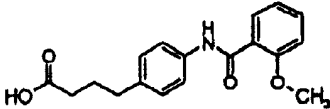
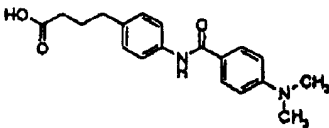
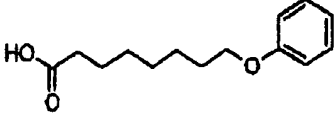
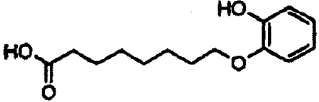
本发明的有用的递送剂在美国专利 5,541,155; 5,693,338; 5,976,569; 5,643,957; 5,955,503; 6,100,298; 5,650,386; 5,866,536; 5,965,121; 5,989,539; 6,001,347; 6,071,510; 5,820,881; 和 6,242,495; 和 WO 02/2509; WO 01/51454; WO 01/44199; WO 01/32130; WO 00/59863; WO 00/50386; WO 00/47188; 和 WO 00/40203 中有描述; 并且全部引入本文作为参考。本领域技术人员将能认识到, 递送剂的变化是允许的, 并且可以用于本发明中。

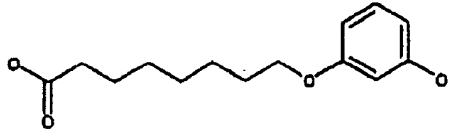
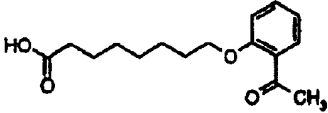
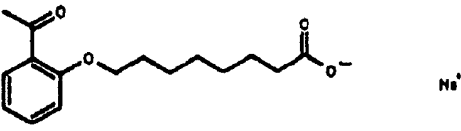
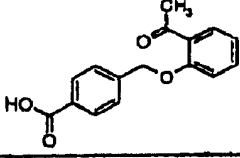
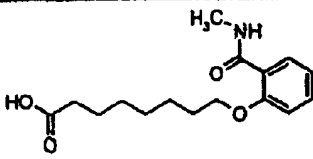
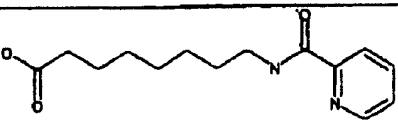
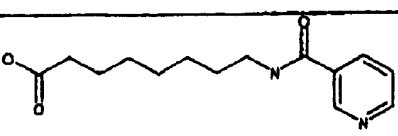
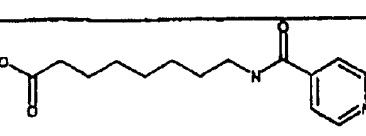
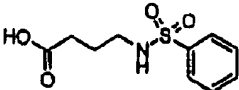
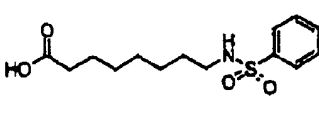
递送剂的例子在表 1 中有描述。优选的表 1 的递送剂是递送剂号 1, 2, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 28, 30, 31, 35, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 46, 51, 52, 和 54。

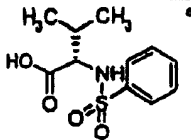
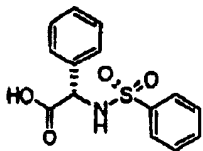
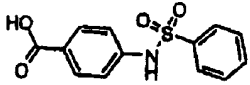
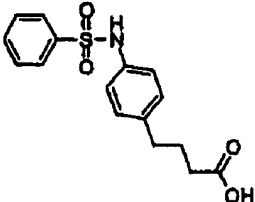
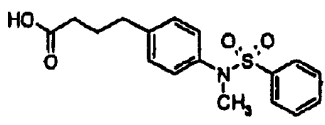
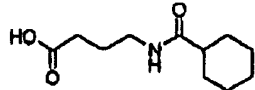
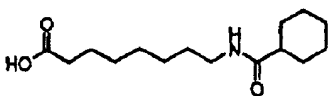
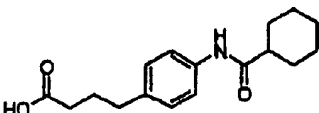
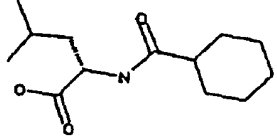
表 1. 递送剂

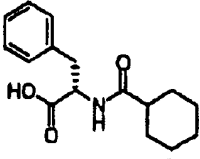
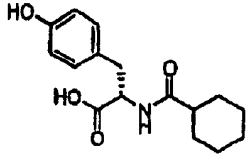
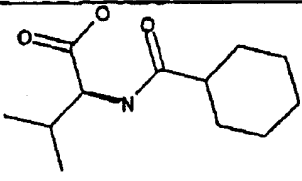
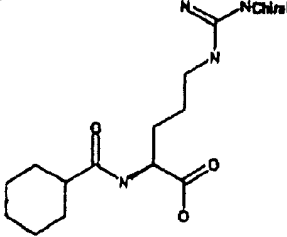
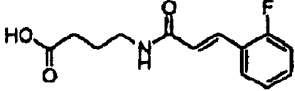
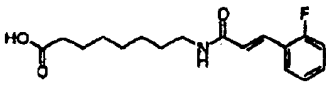
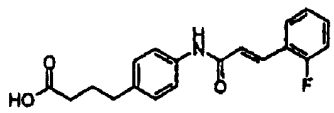
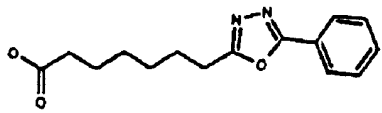
递送剂号	结构
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	

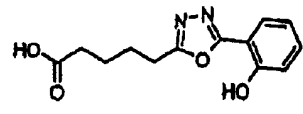
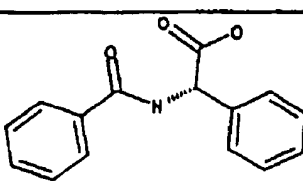
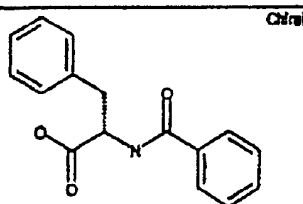
递送剂号	结构
10	Na^+  Na^+
11	
12	Na^+  Na^+
13	
14	
15	 Na^+
16	
17	
18	

递送剂号	结构
19	
20	
21	
22	
23	
24	
25	
26	

递送剂号	结构
27	
28	
29	
30	
31	
32	
33	
34	
35	
36	

递送剂号	结构
37	 <chem>CC[C@H](C(=O)O)NS(=O)(=O)c1ccccc1</chem>
38	 <chem>c1ccccc1[C@H](C(=O)O)NS(=O)(=O)c2ccccc2</chem>
39	 <chem>O=C(O)c1ccc(NS(=O)(=O)c2ccccc2)cc1</chem>
40	 <chem>O=C(O)CCC(=O)c1ccc(NS(=O)(=O)c2ccccc2)cc1</chem>
41	 <chem>O=C(O)CCC(=O)c1ccc(NS(=O)(=O)c2ccccc2)cc1</chem>
42	 <chem>O=C(O)CCC(=O)Nc1ccccc1</chem>
43	 <chem>O=C(O)CCCCCCC(=O)Nc1ccccc1</chem>
44	 <chem>O=C(O)CCC(=O)Nc1ccccc1</chem>
45	 <chem>CC[C@H](C(=O)O)Nc1ccccc1</chem>

递送剂号	结构
46	
47	
48	
49	
50	
51	
52	
53	

递送剂号	结构
54	
55	
56	

含有 GLP-1 化合物和递送剂的口服制剂可以用于治疗多种疾病和症状。GLP-1 化合物主要通过作用于 GLP-1 受体发挥生物学效果。所以，可以通过口服本发明的制剂来治疗应答 GLP-1 受体刺激或施用 GLP-1 化合物的疾病和/或症状。这些受试者被称作是“需要 GLP-1 化合物的治疗”或者“需要 GLP-1 受体的刺激”。包括在本发明中的是具有非胰岛素依赖的糖尿病，胰岛素依赖的糖尿病，休克(参见 WO 00/16797)，心肌梗塞(参见 WO 98/08531)，肥胖(参见 WO98/19698)，在外科后的代谢变化(参见美国专利 6,006,753)，功能性消化不良和刺激性肠道综合症(参见 WO 99/64060)的受试者。同样包括在本发明中的是需要用 GLP-1 化合物预防性治疗的受试者，例如有发展成非胰岛素依赖的糖尿病的危险的受试者(参见 WO 00/07617)。葡萄糖耐受性受损或禁食葡萄糖受损的受试者，体重比正常身高和体形受试者体重高约 25% 以上的受试者，部分胰腺切除的受试者，一个或多个亲族有非胰岛素依赖的糖尿病的受试者，具有妊娠糖尿病的受试者，和具有急性或慢性胰腺炎的受试者是有发展成非胰岛素依赖的糖尿病危险的。

本发明可以参考下面的实施例来更好地理解。这些例子用来代表本发明的特定的实施方案，并不限制本发明的范围。

实施例 1

促胰岛素活性的确定

促胰岛素活性的确定

胰腺组织的胶原酶消化物是在 Ficoll 梯度(在 Hank 的平衡溶液, pH 7.4 中 27%, 23%, 20.5%, 和 11%)上分离的。从 20.5% /11%的界面收集胰岛, 洗涤并在立体显微镜下挑除外分泌腺和其他组织。在用 10% 的胎牛血浆补充并且含有 11mM 的葡萄糖的 RPMI 1640 培养基, 在 37℃ 和 95% 的空气/5%CO₂ 过夜温育胰岛。在一个浓度范围, 优选地在含有 10% 胎牛血浆和 16.7mM 的葡萄糖的 RPMI 培养基中 3 纳摩尔到 30 纳摩尔中制备待研究的 GLP-1 化合物。然后, 通过移液管将约 8 到 10 的分离胰岛转移到在 96 孔微滴盘中总体积 250μL 的含有培养基的 GLP-1 化合物。在 37℃, 95% 的空气, 5% CO₂ 下温育胰岛 90 分钟。然后, 收集无胰岛培养基的等分试样, 利用 Equate 胰岛素 RIA 试剂盒(Binax, Inc., Portland, ME) 放射性免疫测试其中的 100μl 中存在的胰岛素的量。

实施例 2

存在 DPP IV 时的 GLP-1 的稳定性

通过在人血浆中温育 GLP-1 分子可以确定各个 GLP-1 分子的稳定性。在 37℃, 与 300pmol/L 的 GLP-1 分子温育从健康人的志愿者得到血浆(800μL), 时间达到 6 小时。然后根据 Deacon 等人, 在 J. Clin. Endocrinol. Metab. 80:952-957(1995)进行逆相 HPLC 和 RIA 分析。

实施例 3

递送剂号 15 的制剂

称重约 600mg 的 15 号递送剂到 I 型玻璃小瓶中, 加入 3mL 的碱 (0.1N NaOH, pH12.7), 最后浓度为 200mg/mL。调节 pH 到 7.1, 估计浓度为 171mg/ml。然后将 15 号递送剂用 Milli-Q® 水稀释到 150mg/ml。

实施例 4

40 号递送剂的制剂

在实施例 1 后, 在需要的浓度 150mg/ml 下, 40 和 9 号递送剂是不溶的。用碱液进一步稀释到 pH 11.5 也没有达到需要的 150mg/mL 的浓度。加入共溶剂也不能将递送剂溶解到需要的 150mg/mL 的浓度。测试的共溶剂包括乙醇, N 甲基吡咯烷酮, N, N-二甲基乙酰胺, N, N-二甲基甲酰胺, glycofurol, 乙氧二醇, 丙二醇, 聚乙二醇 300, 和聚乙烯吡咯烷酮。

但是, 对于 40 号递送剂, 称重 150mg 到 I 型小瓶中, 在其中再加入 1ml 的 Milli-Q® 水, 用 10N NaOH 调节 pH。利用这一途径, 得到 150mg/mL 的 40 号递送剂(pH 8.22)。

实施例 5

9 号递送剂的制剂

由于 9 号递送剂的水不溶性, 在 4% 重量/体积(含水)的悬浮剂羧基丙基甲基纤维素(Klucel®)中制备悬浮制剂。在含有 300mg 的 9 号递送剂的 I 型玻璃小瓶中加入约 1.7mL 的悬浮剂。在冰上冷却制备液 3 分钟, 接着在冰上利用 Misonix Sonicator® Ultrasonic Processor XL(3/16th 英寸微尖头)探针超声 30 分钟。超声波处理导致在将 9 号递送剂的平均颗粒大小在 pH7.98 从 48 μ M 降低到 8 μ M(Coulter®LS 颗粒大小分析仪)。然后, 将制剂用悬浮剂稀释到 150mg/mL。

实施例 6

其他递送剂

如上面的实施例 3 和 4 所述制备所有其他递送剂, 除了 10, 11, 12, 16, 18, 22, 25, 27, 33 和 52 号递送剂是如上面的实施例 5 中所述制备的。在两个分开的制剂中制备 46 号和 54 号递送剂: 一个根据实施例 3 或 4 来制备, 另一个根据实施例 5 来制备。

实施例 7

稳定性研究

对 9, 15 和 40 号递送剂进行稳定性研究。如上面所述新鲜制备的递送剂分别达到 150mg/mL 的需要的浓度。将样品分成 3 个 2mL 的等分试样, 存储在 -20°C, 4°C 和室温下 3 天。在存储期的最后进行 HPLC 测验和分析。结果表示在表 2。

表 2.递送剂 9, 15 和 40 的稳定性数据

温度	递送剂 40 号 (mg/mL)	递送剂 15 号 (mg/mL)	递送剂 9 号 (mg/mL)
-20℃	134.0	135.5	153.2
4℃	135.1	138.2	148.6
室温	135.3	137.4	146.0

实施例 8

GLP-1 化合物的制剂

通过在蒸馏水中溶解 GLP-1 化合物制备 Val⁸-Glu²²-GLP-1 的溶液, 达到 7mg/ml 的浓度。慢慢将 pH 用 2N NaOH 调节到 10.5, 接着在室温下温育 30 分钟。加入一体积的 1M Tris 缓冲液, pH8.0, 得到最后的缓冲液浓度 20mM Tris, 用 1N 或 5N HCl 将 pH 调节到 7.8。然后, 通过低蛋白质结合 0.22μM 针筒滤器(Millex GV, Millipore)过滤溶液, 通过 UV 光谱确定 GLP-1 化合物的浓度。将溶液用 20mM Tris 缓冲液, pH7.8 稀释到终浓度 5.5mg/mL。然后, 将肽溶液在-70℃储存在 1.0mL 等分试样中备用。

实施例 9

最终的制剂

在体内施用之前约 30 分钟到 1 小时, 将 4.5mL 的递送剂与 0.5mL 的 GLP-1 化合物结合, 新鲜制备最终的制剂。通过口服管饲雄性 Sprague Dawley 大鼠施用 2mL/kg(1.1mg/kg GLP-1 化合物, 300mg/kg 递送剂)最终的制剂, 这些大鼠在施用之前禁食了 12 小时。将 GLP-1 化合物单独进行皮下剂量给药, 用作对照(0.011mg/kg)。在下面的表格中显示了平均药物动力学参数。

表 3: 递送剂 9, 15 和 40 的平均药物动力学和生物利用率

递送剂#	制剂	T _{max} (min)	C _{max} (pg/mL)	AUC(pg*min/mL)	%F ^a
	溶液	10±0	3781±1097	93635±18531	
	溶液	NC ^b	NC ^b	NC ^b	NC ^b
40	溶液	6±3	6304±4929	94215±66732	1.01
15	溶液	5±0	25660±12522	254291±129387	2.72
9	Klucel 悬液	7±3	2637±2695	28144±38576	0.30

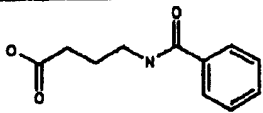
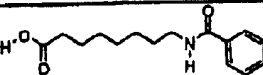
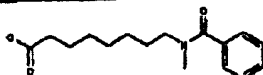
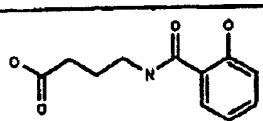
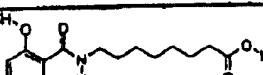
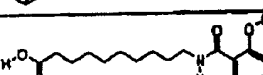
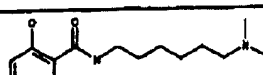
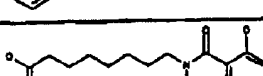
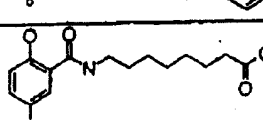
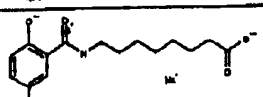
^a 相对于皮下给药的生物利用率

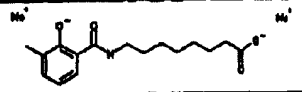
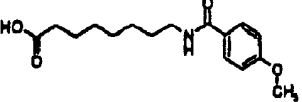
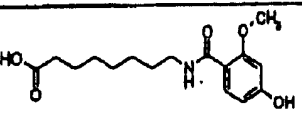
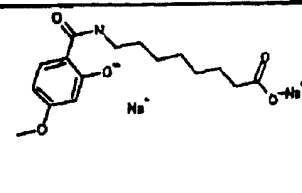
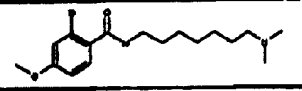
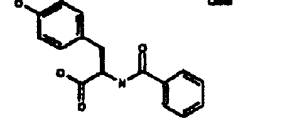
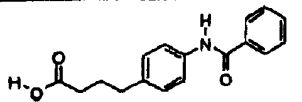
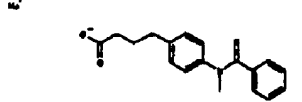
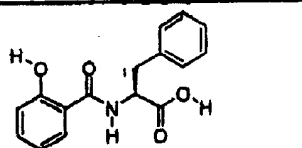
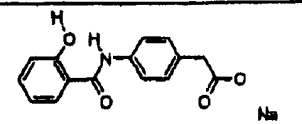
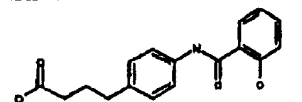
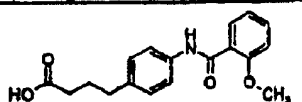
^b NC=在检测水平以下没有计算

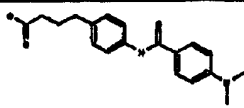
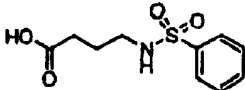
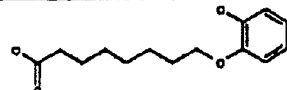
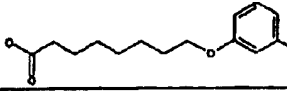
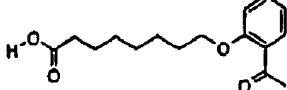
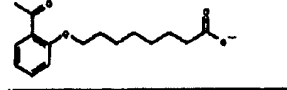
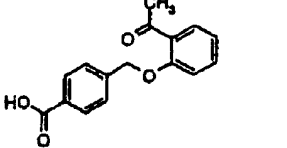
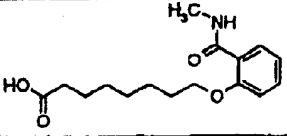
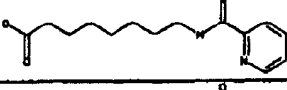
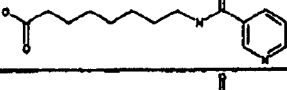
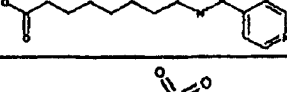
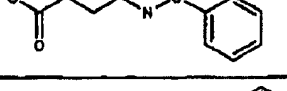
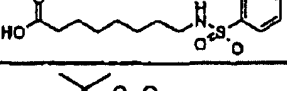
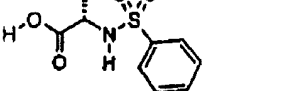
从上面的数据可知, 在用递送剂 15 号的制剂中口服施用 Val⁸-Glu²²-GLP-1 的生物利用率经计算是 2.72%, 在含有递送剂 40 号的制剂中 Val⁸-Glu²²-GLP-1 利用率经计算是 1.01%, 含有 Val⁸-Glu²²-GLP-1 的制剂中的利用率经计算是 0.3%。

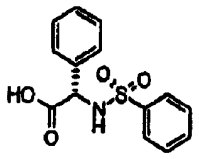
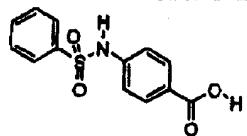
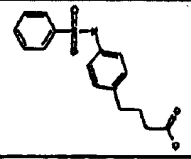
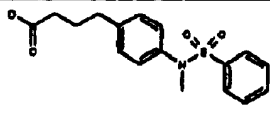
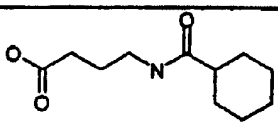
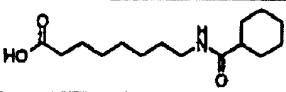
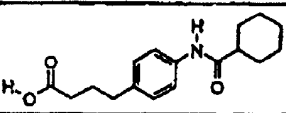
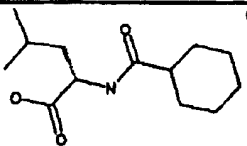
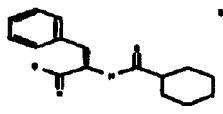
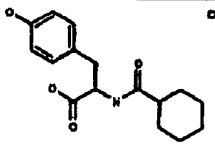
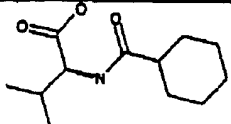
下面的表 4 显示了所有递送剂的药物动力学数据。

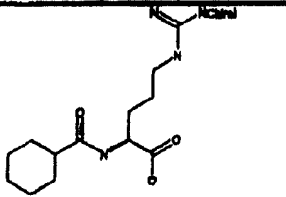
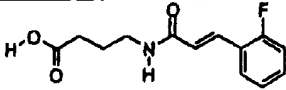
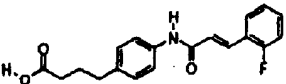
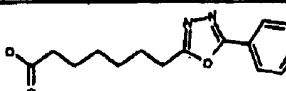
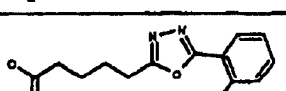
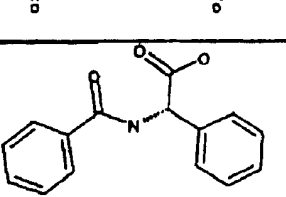
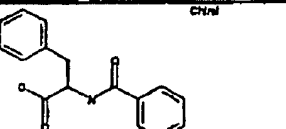
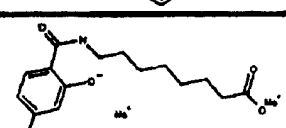
表 4. 递送剂 1 到 56 号的 Tmax, Cmax 和 AUC 药物动力学数据

#	递送剂	肽	制剂	T _{max} (min)	C _{max} (pg/mL)	AUC (pg*min/mL)
A	NA	A ^a	Tris 溶液	10 ± 0	3781	93635
B	NA	B ^b	Tris 溶液	NC ^c	NC ^c	NC ^c
1		A	Tris 溶液	NC ^c	NC ^c	NC ^c
2		A	Tris 溶液 ^d	5 ± 0	875	7202
3		A	Tris 溶液 ^h	5 ± 0	24505.8	237422.3
4		A	Tris 溶液	5 ± 0	297.2	NC ^c
5		A	Tris 悬液	5 ± 0	4022	40984
6		A	Tris 悬液	5 ± 0	3184	37926
7		A	Tris 溶液	5 ± 0	17576	204611
8		A	Tris 溶液	9 ± 8	13247.1	173548.6
9		A	Klucel 悬液 Klucel 悬液	7 ± 3 5 ± 0	2637 1619	28144 9889
10		A	Klucel 悬液	NC ^c	NC ^c	NC ^c
11		A	Klucel 悬液 Klucel 悬液	11 ± 6 6 ± 3	4760 1243.1	71350 12167.1

#	递送剂	肽	制剂	T max (min)	Cmax (pg/mL)	AUC (pg*min/mL)
12		A	Klucel 悬液	7 ± 3	4225	35239
13		A	Tris 悬液 ^d Tris 悬液	8 ± 3 8 ± 3	23297.1 6265	279725.0 82398
14		A	Tris 溶液 ^e	6 ± 3	12177.9	160066.6
15		A	Tris 溶液	5 ± 0	25660	254291
16		A	Klucel 悬液	5 ± 0	2113	19972
17		A	Tris 溶液 ^b	NC ^c	NC ^c	NC ^c
18		A	Klucel 悬液	NC ^c	NC ^c	NC ^c
19		A	Tris 悬液	5 ± 0	20704.9	290106.4
20		A	Tris 悬液	5 ± 0	1895	21948
21		A	Tris 悬液	6 ± 3	5833	57166
22		A	Klucel 悬液	NC ^c	NC ^c	NC ^c
23		A	Tris 溶液 ^d	5 ± 0	1930	15747

#	递送剂	肽	制剂	T _{max} (min)	C _{max} (pg/mL)	AUC (pg*min/mL)
24		A	Tris 溶液	13 ± 3	1885.3	21559.2
25		A	Klucel 悬液	NC ^c	NC ^c	NC ^c
26		A	Tris 溶液	5 ± 0	12841.0	113480.1
27		A	Klucel 溶液 ^a	5 ± 0	27898.3	299137.2
28		A	Tris 溶液 Tris 悬液	10 ± 7 9 ± 8	4220 1404	59543 13116
29		A	Tris 溶液	10 ± 7	5262	62303
30		A	Tris 溶液	5 ± 0	4174	35259
31		A	Tris 溶液	5 ± 0	3724	30164
32		A	Tris 悬液	6 ± 3	10315.9	130175.6
33		A	Klucel 悬液	5 ± 0	232.1	NC ^c
34		A	Tris 悬液	9 ± 8	756.1	6964.2
35		A	Tris 溶液	NC ^a	NC ^c	NC ^c
36		A	Tris 溶液	5 ± 0	4752	42036
37		A	Tris 溶液	NC ^a	NC ^c	NC ^c

#	递送剂	肽	制剂	T max (min)	Cmax (pg/mL)	AUC (pg*min/mL)
38	 Chiral	A	Tris 溶液	9 ± 3	556	5669
39		A	Tris 溶液	6 ± 3	815	6087
40		A	Tris 溶液	6 ± 3	6304	94215
41		A	Tris 溶液	5 ± 0	2117.0	21679.1
42		A	Tris 溶液	NC ^c	NC ^c	NC ^c
43		A	Tris 悬液	5 ± 0	962	7281
44		A	Tris 溶液	6 ± 3	4227	55671
45	 Chiral	A	Tris 溶液 ^b	6 ± 3	975.1	13468.0
46	 Boc-Val	A	Tris 溶液 Klucel 溶液	6 ± 3 5 ± 0	1746.1 544.2	19304.1 4789.7
47	 Chiral	A	Tris 溶液	NC ^c	NC ^c	NC ^c
48	 Chiral	A	Tris 溶液	5 ± 0	649.2	6068.5

#	递送剂	肽	制剂	T _{max} (min)	C _{max} (pg/mL)	AUC (pg*min/mL)
49		A	Tris 悬液	5 ± 0	165.7	NC ^e
50		A	Tris 溶液 ^d	NC ^e	NC ^e	NC ^e
51		A	Tris 溶液	5 ± 0	1076	10838
52		A	Klucel 悬液	NC ^e	NC ^e	NC ^e
53		A	Tris 悬液	6 ± 3	27467	337360
54		A	Klucel 悬液 Tris 悬液	6 ± 3 5 ± 0	18771.5 65729.5	218240.8 684087.3
55		A	Tris 溶液	6 ± 3	2398.9	20177.7
56		A	Tris 溶液	6 ± 3	3689.8	48324.4
15		B	Tris 溶液	5 ± 0	8122	82656

^a 利用的肽: HVEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGRG.

^b 利用的肽: HVEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLIKGGPSSGDP
PPS.

^c 由于数据不充分没有计算。

^d 制剂是含有少量未溶解的/纤维颗粒的溶液。

^e 制剂是混浊溶液。

^f 制剂是含有少量未溶解的颗粒的溶液。

- ^g 制剂是混浊的粘稠溶液。
- ^h 制剂是含有少量半透明的颗粒的溶液。
- ⁱ 制剂是不均匀的，有些成块的悬浮液。

序列表

<110> Eli Lilly & Company

<120> 施用 GLP-1 分子的方法

<130> X15557

<160> 14

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> misc_特征

<222> (31)..(31)

<223> Xaa = Gly 或缺失

<220>

<221> MOD_RES

<222> (30)..(30)

<223> 酰胺化, 如果第 31 位 Xaa 缺失

<400> 1

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

Gln	Ala	Ala	Lys	Glu	Phe	Ile	Ala	Trp	Leu	Val	Lys	Gly	Arg	Xaa
			20				25					30		

<210> 2

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> misc_特征

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 是 Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys

<220>

<221> misc_特征

<222> (3)..(3)

<223> Xaa 是 Glu, Asp, 或 Lys

<220>

<221> misc_特征

<222> (5)..(5)

<223> Xaa 是 Thr, Ala, Gly, Ser, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys

<220>

<221> misc_特征

<222> (8)..(8)

<223> Xaa 是 Ser, Ala, Gly, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys

<220>

<221> misc_特征

<222> (10)..(10)

<223> Xaa 是 Val, Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Tyr, Glu, Asp, Trp, 或
Lys

<220>

<221> misc_特征

<222> (11)..(11)

<223> Xaa 是 Ser, Ala, Gly, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys

<220>

<221> misc_特征
<222> (12)..(12)
<223> Xaa 是 Ser, Ala, Gly, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, Trp, Tyr, 或
Lys

<220>
<221> misc_特征
<222> (13)..(13)
<223> Xaa 是 Tyr, Phe, Trp, Glu, Asp, Gln, 或 Lys

<220>
<221> misc_特征
<222> (14)..(14)
<223> Xaa 是 Leu, Ala, Gly, Ser, Thr, Ile, Val, Glu, Asp, Met, Trp,
Tyr, 或 Lys

<220>
<221> misc_特征
<222> (15)..(15)
<223> Xaa 是 Glu, Asp, 或 Lys

<220>
<221> misc_特征
<222> (16)..(16)
<223> Xaa 是 Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys

<220>
<221> misc_特征
<222> (17)..(17)
<223> Xaa 是 Gln, Asn, Arg, Glu, Asp, 或 Lys

<220>
<221> misc_特征
<222> (18)..(18)
<223> Xaa 是 Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Arg, Glu, Asp, 或 Lys

<220>

<221> misc_特征
<222> (19).. (19)
<223> Xaa 是 Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys

<220>
<221> misc_特征
<222> (20).. (20)
<223> Xaa 是 Lys, Arg, Gln, Glu, Asp, 或 His

<220>
<221> misc_特征
<222> (21).. (21)
<223> Xaa 是 Leu, Glu, Asp, 或 Lys

<220>
<221> misc_特征
<222> (24).. (24)
<223> Xaa 是 Ala, Gly, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys

<220>
<221> misc_特征
<222> (25).. (25)
<223> Xaa 是 Trp, Phe, Tyr, Glu, Asp, 或 Lys

<220>
<221> misc_特征
<222> (26).. (26)
<223> Xaa 是 Leu, Gly, Ala, Ser, Thr, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys

<220>
<221> misc_特征
<222> (27).. (27)
<223> Xaa 是 Val, Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Glu, Asp, 或 Lys

<220>
<221> misc_特征
<222> (28).. (28)

<223> Xaa 是 Asn, Lys, Arg, Glu, Asp, 或 His

<220>

<221> misc_特征

<222> (29).. (29)

<223> Xaa 是 Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys

<220>

<221> misc_特征

<222> (30).. (30)

<223> Xaa 是 Gly, Arg, Lys, Glu, Asp, 或 His

<220>

<221> misc_特征

<222> (31).. (31)

<223> Xaa 是 Pro, Gly, Ala, Ser, Thr, Leu, Ile, Val, Glu, Asp, 或 Lys,
或缺失

<220>

<221> misc_特征

<222> (32).. (32)

<223> Xaa 是 Ser, Arg, Lys, Glu, Asp, 或 His, 或缺失

<220>

<221> misc_特征

<222> (33).. (33)

<223> Xaa 是 Ser, Arg, Lys, Glu, Asp, 或 His, 或缺失

<220>

<221> misc_特征

<222> (34).. (34)

<223> Xaa 是 Gly, Asp, Glu, 或 Lys, 或缺失

<220>

<221> misc_特征

<222> (35).. (35)

<223> Xaa 是 Ala, Phe, Trp, Tyr, Glu, Asp, 或 Lys, 或缺失

<220>

<221> misc_特征

<222> (36)..(36)

<223> Xaa 是 Ser, Pro, Lys, Glu, 或 Asp, 或缺失

<220>

<221> misc_特征

<222> (37)..(37)

<223> Xaa 是 Ser, Pro, Glu, Asp, 或 Lys, 或缺失

<220>

<221> misc_特征

<222> (38)..(38)

<223> Xaa 是 Gly, Pro, Glu, Asp, 或 Lys, 或缺失

<220>

<221> misc_特征

<222> (39)..(39)

<223> Xaa 是 Ala, Ser, Val, Glu, Asp, 或 Lys, 或缺失

<220>

<221> MOD_RES

<222> (39)..(39)

<223> 酰胺化: Ala, Ser, Val, Glu, Asp, 或 Lys 在此位置可被酰胺化

<220>

<221> misc_特征

<222> (31)..(38)

<223> 当此位置的氨基酸缺失时, 所有后续氨基酸缺失

<400> 2

His Xaa Xaa Gly Xaa Phe Thr Xaa Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35

<210> 3
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成构建体

<220>
<221> misc_特征
<222> (1)..(1)
<223> Xaa 是 L-组氨酸, D-组氨酸, 脱氨基组氨酸, 2-氨基组氨酸, beta-羟基组氨酸, 高
组氨酸, alpha-氟甲基组氨酸或 alpha-甲基组氨酸

<220>
<221> misc_特征
<222> (2)..(2)
<223> Xaa 是 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Ser, 或 Thr

<220>
<221> misc_特征
<222> (3)..(3)
<223> Xaa 是 Thr, Ser, Arg, Lys, Trp, Phe, Tyr, Glu, 或 His

<220>
<221> misc_特征
<222> (5)..(5)
<223> Xaa 是 Asp, Glu, Arg, Thr, Ala, Lys, 或 His

<220>
<221> misc_特征
<222> (6)..(6)

<223> Xaa 是 His, Trp, Phe, 或 Tyr

<220>

<221> misc_特征

<222> (10)..(10)

<223> Xaa 是 Leu, Ser, Thr, Trp, His, Phe, Asp, Val, Tyr, Glu, 或 Ala

<220>

<221> misc_特征

<222> (12)..(12)

<223> Xaa 是 His, Pro, Asp, Glu, Arg, Ser, Ala, 或 Lys

<220>

<221> misc_特征

<222> (13)..(13)

<223> Xaa 是 Gly, Asp, Glu, Gln, Asn, Lys, Arg, 或 Cys

<220>

<221> misc_特征

<222> (17)..(17)

<223> Xaa 是 His, Asp, Lys, Glu, Gln, 或 Arg

<220>

<221> misc_特征

<222> (18)..(18)

<223> Xaa 是 Glu, Arg, Ala, 或 Lys

<220>

<221> misc_特征

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 是 Trp, Tyr, Phe, Asp, Lys, Glu, 或 His

<220>

<221> misc_特征

<222> (21)..(21)

<223> Xaa 是 Ala, Glu, His, Phe, Tyr, Trp, Arg, 或 Lys

<220>

<221> misc_特征

<222> (24)..(24)

<223> Xaa 是 Ala, Glu, Asp, Ser, 或 His

<220>

<221> misc_特征

<222> (25)..(25)

<223> Xaa 是 Asp, Glu, Ser, Thr, Arg, Trp, 或 Lys

<220>

<221> misc_特征

<222> (27)..(27)

<223> Xaa 是 Asp, Arg, Val, Lys, Ala, Gly, 或 Glu

<220>

<221> misc_特征

<222> (28)..(28)

<223> Xaa 是 Glu, Lys, 或 Asp

<220>

<221> misc_特征

<222> (29)..(29)

<223> Xaa 是 Thr, Ser, Lys, Arg, Trp, Tyr, Phe, Asp, Gly, Pro, His,
或 Glu

<220>

<221> misc_特征

<222> (30)..(30)

<223> Xaa 是 Thr, Ser, Asp, Trp, Tyr, Phe, Arg, Glu, 或 His

<220>

<221> misc_特征

<222> (31)..(31)

<223> Xaa 是 Lys, Arg, Thr, Ser, Glu, Asp, Trp, Tyr, Phe, His, Gly,
Gly-Pro, 或缺失

<400> 3

Xaa Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Thr Ser Asp Xaa Ser Xaa Xaa Leu Glu Gly
1 5 10 15

Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Phe Ile Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
20 25 30

<210> 4

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> misc_特征

<222> (1)..(1)

<223> Xaa 是 L-组氨酸, D-组氨酸, 脱氨基组氨酸, 2-氨基组氨酸, beta-羟基组氨酸, 高组氨酸, alpha-氟甲基组氨酸或 alpha-甲基组氨酸

<220>

<221> misc_特征

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 是 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Ser, 或 Thr

<220>

<221> misc_特征

<222> (5)..(5)

<223> Xaa 是 Asp, Glu, Arg, Thr, Ala, Lys, 或 His

<220>

<221> misc_特征

<222> (6)..(6)

<223> Xaa 是 His, Trp, Phe, 或 Tyr

<220>

<221> misc_特征

<222> (10).. (10)

<223> Xaa 是 Leu, Ser, Thr, Trp, His, Phe, Asp, Val, Glu, 或 Ala

<220>

<221> misc_特征

<222> (16).. (16)

<223> Xaa 是 Gly, Asp, Glu, Gln, Asn, Lys, Arg, 或 Cys

<220>

<221> misc_特征

<222> (17).. (17)

<223> Xaa 是 His, Asp, Lys, Glu, 或 Gln

<220>

<221> misc_特征

<222> (18).. (18)

<223> Xaa 是 Glu, His, Ala, 或 Lys

<220>

<221> misc_特征

<222> (19).. (19)

<223> Xaa 是 Asp, Lys, Glu, 或 His

<220>

<221> misc_特征

<222> (21).. (21)

<223> Xaa 是 Ala, Glu, His, Phe, Tyr, Trp, Arg, 或 Lys

<220>

<221> misc_特征

<222> (24).. (24)

<223> Xaa 是 Ala, Glu, Asp, Ser, 或 His

<220>

<221> misc_特征

<222> (27)..(27)

<223> Xaa 是 Asp, Arg, Val, Lys, Ala, Gly, 或 Glu

 $\langle 220 \rangle$

<221> misc 特征

 $\langle 222 \rangle \quad (28) \dots (28)$

〈223〉 Xaa 是 Glu, Lys, 或 Asp

<220>

<221> misc_特征

<222> (29).. (29)

<223> Xaa 是 Thr, Ser, Lys, Arg, Trp, Tyr, Phe, Asp, Gly, Pro, His,
或 Glu

<220>

<221> misc_特征

<222> (30).. (30)

〈223〉 Xaa 是 Arg, Glu, 或 His

<220>

<221> misc_特征

 $\langle 222 \rangle \quad (31) \dots (31)$

<223> Xaa 是 Lys, Arg, Thr, Ser, Glu, Asp, Trp, Tyr, Phe, His, Gly,
Gly-Pro, 或缺失

<400> 4

Xaa Xaa Glu Gly Xaa Xaa Thr Ser Asp Xaa Ser Ser Tyr Leu Glu Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Phe Ile Xaa Trp Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
20 25 30

<210> 5

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> misc_特征

<222> (1)..(1)

<223> Xaa 是 L-组氨酸, D-组氨酸, 脱氨基组氨酸, 2-氨基组氨酸, beta-羟基组氨酸, 高组氨酸, alpha-氟甲基组氨酸或 alpha-甲基组氨酸

<220>

<221> misc_特征

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 是 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Ser, Met, 或 Thr

<220>

<221> misc_特征

<222> (6)..(6)

<223> Xaa 是 His, Trp, Phe, 或 Tyr

<220>

<221> misc_特征

<222> (10)..(10)

<223> Xaa 是 Leu, Ser, Thr, Trp, His, Phe, Asp, Val, Glu, 或 Ala

<220>

<221> misc_特征

<222> (16)..(16)

<223> Xaa 是 Gly, Asp, Glu, Gln, Asn, Lys, Arg, 或 Cys

<220>

<221> misc_特征

<222> (17)..(17)

<223> Xaa 是 His, Asp, Lys, Glu, 或 Gln

<220>

<221> misc_特征

<222> (20)..(20)

<223> Xaa 是 Asp, Lys, Glu, 或 His

<220>

<221> misc_特征

<222> (24).. (24)

<223> Xaa 是 Ala, Glu, Asp, Ser, 或 His

<220>

<221> misc_特征

<222> (29).. (29)

<223> Xaa 是 Thr, Ser, Lys, Arg, Trp, Tyr, Phe, Asp, Gly, Pro, His,
或 Glu

<220>

<221> misc_特征

<222> (31).. (31)

<223> Xaa 是 Lys, Arg, Thr, Ser, Glu, Asp, Trp, Tyr, Phe, His, Gly,
Gly-Pro, 或缺失

<400> 5

Xaa	Xaa	Glu	Gly	Thr	Xaa	Thr	Ser	Asp	Xaa	Ser	Ser	Tyr	Leu	Glu	Xaa
1				5					10					15	

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

<210> 6

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> misc_特征

<222> (1).. (1)

<223> Xaa 是 L-组氨酸, D-组氨酸, 脱氨基组氨酸, 2-氨基组氨酸, beta-羟基组氨酸, 高组氨酸, alpha-氟甲基组氨酸或 alpha-甲基组氨酸

<220>

<221> misc_特征

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 是 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Ser, 或 Thr

<220>

<221> misc_特征

<222> (16)..(16)

<223> Xaa 是 Gly, Asp, Glu, Gln, Asn, Lys, Arg, 或 Cys

<220>

<221> misc_特征

<222> (17)..(17)

<223> Xaa 是 His, Asp, Lys, Glu, 或 Gln

<220>

<221> misc_特征

<222> (18)..(18)

<223> Xaa 是 Ala, Glu, His, Phe, Tyr, Trp, Arg, 或 Lys

<220>

<221> misc_特征

<222> (24)..(24)

<223> Xaa 是 Ala, Glu, Asp, Ser, 或 His

<220>

<221> misc_特征

<222> (31)..(31)

<223> Xaa 是 Lys, Arg, Thr, Ser, Glu, Asp, Trp, Tyr, Phe, His, Gly,
Gly-Pro, 或缺失

<400> 6

Xaa Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Xaa

1	5	10	15
Xaa Xaa Ala Lys Glu Phe Ile Xaa Trp Leu Val Lys Gly Arg Xaa			
	20	25	30

<210> 7
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> 合成构建体

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa 是 L-组氨酸, D-组氨酸, 脱氨基组氨酸, 2-氨基组氨酸, beta-羟基组氨酸, 高组氨酸, alpha-氟甲基组氨酸或 alpha-甲基组氨酸

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa 是 Ala, Gly, Val, Thr, Ile, 和 alpha-甲基丙氨酸

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (15)..(15)
 <223> Xaa 是 Glu, Gln, Ala, Thr, Ser, 和 Gly

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (21)..(21)
 <223> Xaa 是 Glu, Gln, Ala, Thr, Ser, 和 Gly

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (31)..(31)
 <223> Xaa 是 Gly-OH

<400> 7

Xaa Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Xaa Gly
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Xaa Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Xaa
20 25 30

<210> 8

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1).. (1)

<223> Ala 被以下基团之一修饰: 4-咪唑丙酰基, 4-咪唑乙酰基, 或 4-咪唑-alpha, alpha-二甲基-乙酰基

<220>

<221> misc_特征

<222> (19).. (19)

<223> Xaa 是 Lys 或 Arg

<220>

<221> MOD_RES

<222> (27).. (27)

<223> Lys 具有 C6-C10 未分支酰基取代基, 或未被取代

<220>

<221> misc_特征

<222> (30).. (30)

<223> Xaa 是 Gly-OH 或缺失

<220>

<221> MOD_RES

<222> (29)..(29)

<223> 酰胺化, 如果第 30 位 Xaa 缺失

<400> 8

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

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

<210> 9

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> misc_特征

<222> (1)..(1)

<223> Xaa 是 L-组氨酸, D-组氨酸, 脱氨基组氨酸, 2-氨基组氨酸, beta-羟基组氨酸, 高组氨酸, alpha-氟甲基组氨酸或 alpha-甲基组氨酸

<220>

<221> misc_特征

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 是 Ala, Gly, Val, Leu, Ile, Ser, 或 Thr

<220>

<221> misc_特征

<222> (6)..(6)

<223> Xaa 是 Phe, Trp, 或 Tyr

<220>

<221> misc_特征

<222> (10)..(10)

<223> Xaa 是 Val, Trp, Ile, Leu, Phe, 或 Tyr

<220>

<221> misc_特征

<222> (12)..(12)

<223> Xaa 是 Ser, Trp, Tyr, Phe, Lys, Ile, Leu, Val

<220>

<221> misc_特征

<222> (13)..(13)

<223> Xaa 是 Tyr, Trp, 或 Phe

<220>

<221> misc_特征

<222> (14)..(14)

<223> Xaa 是 Leu, Phe, Tyr, 或 Trp

<220>

<221> misc_特征

<222> (16)..(16)

<223> Xaa 是 Gly, Glu, Asp, 或 Lys

<220>

<221> misc_特征

<222> (19)..(19)

<223> Xaa 是 Ala, Val, Ile, 或 Leu

<220>

<221> misc_特征

<222> (21)..(21)

<223> Xaa 是 Glu, Ile, 或 Ala

<220>

<221> misc_特征

<222> (24)..(24)

<223> Xaa 是 Ala 或 Glu

<220>

<221> misc_特征

<222> (27)..(27)

<223> Xaa 是 Val 或 Ile

<220>

<221> misc_特征

<222> (31)..(31)

<223> Xaa 是 Gly, His, NH₂, 或缺失

<220>

<221> MOD_RES

<222> (30)..(30)

<223> 酰胺化, 如果第 31 位 Xaa 缺失

<400> 9

Xaa	Xaa	Glu	Gly	Thr	Xaa	Thr	Ser	Asp	Xaa	Ser	Xaa	Xaa	Xaa	Glu	Xaa
1				5					10					15	

Gln	Ala	Xaa	Lys	Xaa	Phe	Ile	Xaa	Trp	Leu	Xaa	Lys	Gly	Arg	Xaa
			20					25					30	

<210> 10

<211> 39

<212> PRT

<213> Heloderma sp.

<220>

<221> MISC_特征

<222> (39)..(39)

<223> Exendin-3

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (39).. (39)
 <223> 第 39 位 Ser 可被酰胺化

<400> 10

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

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 11
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Heloderma sp.

<220>
 <221> MISC_特征
 <222> (39).. (39)
 <223> Exendin-4

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39).. (39)
 <223> 第 39 位 Ser 可被酰胺化

<400> 11

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

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

35

<210> 12

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> misc_特征

<222> (1)..(1)

<223> Xaa 是 L-组氨酸, D-组氨酸, 脱氨基组氨酸, 2-氨基组氨酸, beta-羟基组氨酸, 高组氨酸, alpha-氟甲基组氨酸或 alpha-甲基组氨酸

<220>

<221> misc_特征

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 是 Gly, Ala, 或 Val

<220>

<221> misc_特征

<222> (10)..(10)

<223> Xaa 是 Leu 或 Val

<220>

<221> misc_特征

<222> (12)..(12)

<223> Xaa 是 Lys 或 Ser

<220>

<221> misc_特征

<222> (13)..(13)

<223> Xaa 是 Gln 或 Tyr

<220>
<221> misc_特征
<222> (14).. (14)
<223> Xaa 是 Met 或 Leu

<220>
<221> misc_特征
<222> (16).. (16)
<223> Xaa 是 Glu 或 Gln

<220>
<221> misc_特征
<222> (17).. (17)
<223> Xaa 是 Glu 或 Gln

<220>
<221> misc_特征
<222> (19).. (19)
<223> Xaa 是 Val 或 Ala

<220>
<221> misc_特征
<222> (20).. (20)
<223> Xaa 是 Arg 或 Lys

<220>
<221> misc_特征
<222> (21).. (21)
<223> Xaa 是 Leu 或 Glu

<220>
<221> misc_特征
<222> (24).. (24)
<223> Xaa 是 Glu 或 Ala

<220>

<221> misc_特征
<222> (27).. (27)
<223> Xaa 是 Val 或 Lys

<220>
<221> misc_特征
<222> (28).. (28)
<223> Xaa 是 Asn 或 Lys

<220>
<221> misc_特征
<222> (30).. (30)
<223> Xaa 是 Gly 或 Arg

<220>
<221> misc_特征
<222> (31).. (31)
<223> Xaa 是 Gly, Pro, Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser,
或缺失

<400> 12

Xaa Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Glu Xaa
1 5 10 15

Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Phe Ile Xaa Trp Leu Xaa Xaa Gly Xaa Xaa
20 25 30

<210> 13
<211> 41
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成构建体

<220>
<221> misc_特征

<222> (1)..(1)

<223> Xaa 是 L-组氨酸, D-组氨酸, 脱氨基组氨酸, 2-氨基组氨酸, beta-羟基组氨酸, 高组氨酸, alpha-氟甲基组氨酸或 alpha-甲基组氨酸

<220>

<221> misc_特征

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 是 Ala, Gly, Val, Leu, Ile, Ser, 或 Thr

<220>

<221> misc_特征

<222> (6)..(6)

<223> Xaa 是 Phe, Trp, 或 Tyr

<220>

<221> misc_特征

<222> (10)..(10)

<223> Xaa 是 Val, Trp, Ile, Leu, Phe, 或 Tyr

<220>

<221> misc_特征

<222> (12)..(12)

<223> Xaa 是 Ser, Trp, Tyr, Phe, Lys, Ile, Leu, Val

<220>

<221> misc_特征

<222> (13)..(13)

<223> Xaa 是 Tyr, Trp, 或 Phe

<220>

<221> misc_特征

<222> (14)..(14)

<223> Xaa 是 Leu, Phe, Tyr, 或 Trp

<220>

<221> misc_特征

<222> (16)..(16)

<223> Xaa 是 Gly, Glu, Asp, 或 Lys

<220>

<221> misc_特征

<222> (19)..(19)

<223> Xaa 是 Ala, Val, Ile, 或 Leu

<220>

<221> misc_特征

<222> (21)..(21)

<223> Xaa 是 Glu, Ile, 或 Ala

<220>

<221> misc_特征

<222> (24)..(24)

<223> Xaa 是 Ala 或 Glu

<220>

<221> misc_特征

<222> (27)..(27)

<223> Xaa 是 Val 或 Ile

<220>

<221> misc_特征

<222> (28)..(28)

<223> Xaa 是 Lys, Asp, Arg, 或 Glu

<220>

<221> misc_特征

<222> (30)..(30)

<223> Xaa 是 Gly, Pro, 或 Arg

<220>

<221> misc_特征

<222> (31)..(31)

<223> Xaa 是 Gly, Pro, 或 Ser

<220>

<221> misc_特征

<222> (32)..(32)

<223> Xaa 是 Ser, Pro, 或 His

<220>

<221> misc_特征

<222> (33)..(33)

<223> Xaa 是 Ser, Arg, Thr, Trp, 或 Lys

<220>

<221> misc_特征

<222> (34)..(34)

<223> Xaa 是 Ser 或 Gly

<220>

<221> misc_特征

<222> (35)..(35)

<223> Xaa 是 Ala, Asp, Arg, Glu, Lys, 或 Gly

<220>

<221> misc_特征

<222> (36)..(36)

<223> Xaa 是 Pro, Ala, 或缺失

<220>

<221> misc_特征

<222> (37)..(37)

<223> Xaa 是 Pro, Ala, 或缺失

<220>

<221> misc_特征

<222> (38)..(38)

<223> Xaa 是 Pro, Ala, Arg, Lys, His, 或缺失

<220>

<221> misc_特征
 <222> (39).. (39)
 <223> Xaa 是 Ser, His, Pro, Lys, Arg, 或缺失

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (40).. (40)
 <223> Xaa 是 His, Ser, Arg, Lys, 或缺失

<220>
 <221> misc_特征
 <222> (41).. (41)
 <223> Xaa 是 His, Ser, Arg, Lys, 或缺失

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (35).. (41)
 <223> 酰胺化, 如果紧接的位置上的氨基酸缺失

<220>
 <221> MISC_特征
 <222> (36).. (40)
 <223> 如果此位置缺失, 则所有后续的氨基酸缺失

<400> 13

Xaa Xaa Glu Gly Thr Xaa Thr Ser Asp Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Glu Xaa
 1 5 10 15

Gln Ala Xaa Lys Xaa Phe Ile Xaa Trp Leu Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Xaa
 20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 35 40

<210> 14

<211> 41
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成构建体

<220>
<221> misc_特征
<222> (1)..(1)
<223> Xaa 是 L-组氨酸, D-组氨酸, 脱氨基组氨酸, 2-氨基组氨酸, beta-羟基组氨酸, 高
组氨酸, alpha-氟甲基组氨酸或 alpha-甲基组氨酸

<220>
<221> misc_特征
<222> (2)..(2)
<223> Xaa 是 Gly, Val, Leu, Ile, Ser, 或 Thr

<220>
<221> misc_特征
<222> (10)..(10)
<223> Xaa 是 Val, Trp, Ile, Leu, Phe, 或 Tyr

<220>
<221> misc_特征
<222> (16)..(16)
<223> Xaa 是 Gly, Glu, Asp, 或 Lys

<220>
<221> misc_特征
<222> (19)..(19)
<223> Xaa 是 Ala, Val, Ile, 或 Leu

<220>
<221> misc_特征
<222> (27)..(27)
<223> Xaa 是 Val 或 Ile

<220>

<221> misc_特征

<222> (28).. (28)

<223> Xaa 是 Lys, Asp, Arg, 或 Glu

<220>

<221> misc_特征

<222> (30).. (30)

<223> Xaa 是 Gly, Pro, 或 Arg

<220>

<221> misc_特征

<222> (31).. (31)

<223> Xaa 是 Gly, Pro, 或 Ser

<220>

<221> misc_特征

<222> (32).. (32)

<223> Xaa 是 Ser, Pro, 或 His

<220>

<221> misc_特征

<222> (33).. (33)

<223> Xaa 是 Ser, Arg, Thr, Trp, 或 Lys

<220>

<221> misc_特征

<222> (34).. (34)

<223> Xaa 是 Ser 或 Gly

<220>

<221> misc_特征

<222> (35).. (35)

<223> Xaa 是 Ala, Asp, Arg, Glu, Lys, 或 Gly

<220>

<221> misc_特征

<222> (36)..(36)

<223> Xaa 是 Pro 或 Ala

<220>

<221> misc_特征

<222> (37)..(37)

<223> Xaa 是 Pro 或 Ala

<220>

<221> misc_特征

<222> (38)..(38)

<223> Xaa 是 Pro, Ala, Arg, Lys, His, 或缺失

<220>

<221> misc_特征

<222> (39)..(39)

<223> Xaa 是 Ser, His, Pro, Lys, Arg, 或缺失

<220>

<221> misc_特征

<222> (40)..(40)

<223> Xaa 是 His, Ser, Arg, Lys, 或缺失

<220>

<221> misc_特征

<222> (41)..(41)

<223> Xaa 是 His, Ser, Arg, Lys, 或缺失

<220>

<221> misc_特征

<222> (38)..(40)

<223> 如果此位置的 Xaa 缺失, 则所有后续的氨基酸缺失

<220>

<221> MOD_RES

<222> (37)..(41)

<223> 酰胺化, 如果紧接的位置上 Xaa 缺失

<400> 14

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

Gln Ala Xaa Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Xaa
 20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 35 40