

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

C07K 7/08

C07K 14/72 A61K 38/10

A61K 38/16

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 99813664.6

[43]公开日 2001 年 12 月 26 日

[11]公开号 CN 1328568A

[22]申请日 1999.9.24 [21]申请号 99813664.6

[30]优先权

[32]1998.9.25 [33]JP [31]271626/1998

[86]国际申请 PCT/JP99/05216 1999.9.24

[87]国际公布 WO00/18793 日 2000.4.6

[85]进入国家阶段日期 2001.5.24

[71]申请人 武田药品工业株式会社

地址 日本大阪府

[72]发明人 北田千惠子 日沼州司

[74]专利代理机构 柳沈知识产权律师事务所

代理人 巫肖南

权利要求书 4 页 说明书 71 页 附图页数 1 页

[54]发明名称 肽衍生物

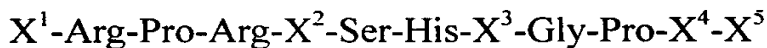
[57]摘要

一种被认为是 G 蛋白偶联型受体蛋白配体的新肽。
它的用途有:(1)开发 一种使用重组受体蛋白表达系统的受体结合鉴定系统和筛选待检药物;和(2) 开发药物,例如中枢功能控制剂,循环功能控制剂,心脏功能控制剂,免疫 功能控制剂,消化功能控制剂,代谢功能控制剂或生殖功能控制剂。

ISSN 1008-4274

权 利 要 求 书

1. 由以下公式代表的肽：



- 5 [其中 X^1 代表一个氢原子或一个包含 1-25 个氨基酸的氨基酸残基，其中无论相同与否每个氨基酸都有一个可被取代的侧链， X^1 也可代表一个肽链； X^2 代表一个含有可被取代的侧链的中性氨基酸残基； X^3 代表一个含有可被取代的侧链的中性氨基酸残基，一个含有可被取代的侧链的芳香族氨基酸或一个含有可被取代的侧链的碱性氨基酸残基； X^4 代表一种键或含有可被取代的侧链的中性或芳香族氨基酸残基； X^5 代表①一个含有可被取代的侧链的氨基酸残基或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物，②一个羟基或，③一个含有可被取代的侧链的氨基酸残基和一个含有可被取代的侧链的氨基酸结合的二肽链，或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的肽衍生物；
- 10 公式中 -Arg-Pro-Arg-，-Ser-His- 或 -Gly-Pro- 之每个氨基酸残基的一个侧链可以被取代；例外为 X^2 代表 Leu， X^3 代表 Lys， X^4 代表 Met， X^5 代表①Pro 或②Pro-Phe，公式中 -Arg-Pro-Arg- 代表未被取代的 -Arg-Pro-Arg-，-Ser-His- 代表未被取代的 -Ser-His-，-Gly-Pro- 代表未被取代的 -Gly-Pro- 的情况]，或它的一种酯，或它的一种盐。

- 20 2. 权利要求 1 的肽，其中 X^1 是一个含有可被取代的侧链的氨基酸残基，或其酯或其盐。

3. 权利要求 1 的肽，其中 X^1 是可被取代的 pGlu 或含有可被取代的侧链的 Gln，或其酯或其盐。

- 25 4. 权利要求 1 的肽，其中 X^1 由公式 $Y^1\text{-Y}^2$ 代表(其中 Y^1 代表包含 1-17 个氨基酸的氨基酸残基，其中无论相同与否每个氨基酸都有一个可被取代的侧链，或 Y^1 代表一个肽链， Y^2 代表包含 1-8 个氨基酸的氨基酸残基，其中无论相同与否每个氨基酸都有一个可被取代的侧链，或 Y^2 代表一个肽链)，或其酯或其盐。

- 30 5. 权利要求 4 的肽，其中 Y^2 是由以下公式所示肽链①公式 $B^1\text{-B}^2\text{-B}^3\text{-B}^4\text{-B}^5\text{-B}^6\text{-B}^7\text{-B}^8$ (其中从 B^1 到 B^8 ，无论相同与否，每个均代表含有可被取代的侧链的氨基酸残基)②公式 $B^2\text{-B}^3\text{-B}^4\text{-B}^5\text{-B}^6\text{-B}^7\text{-B}^8$ (其中的符号具有与上述相同的定义)，③公式 $B^3\text{-B}^4\text{-B}^5\text{-B}^6\text{-B}^7\text{-B}^8$ (其中的符号具有与上述相同的定义)，④

27

酸

是

或

今

或

幸。

无

且

8

迷

16

12

11

14

$A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中的符号具有与上述相同的定义), (n) 公式 $A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中的符号具有与上述相同的定义), (o) 公式 $A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中的符号具有与上述相同的定义), (p) 公式 $A^{16}-A^{17}$ (其中的符号具有与上述相同的定义), (q) 公式 A^{17} (其中 A^{17} 具有与上述相同的定义), 或其酯或其盐。

5 13. 权利要求 12 的氨基酸残基或肽, 其中 A^1 是含有芳香族侧链的氨基酸残基, 或其酯或其盐。

14. 权利要求 12 的肽, 其中 A^2 和 A^3 是含有可被取代的侧链的中性氨基酸残基, 或其酯或其盐。

10 15. 权利要求 12 的肽, 其中 A^4 是含有可被取代的侧链的中性或碱性 L-氨基酸残基。

16. 权利要求 12 的肽, 其中 A^5 是含有可被取代的侧链的 Pro, 或其酯或其盐。

17. 权利要求 12 的肽, 其中 A^6 和 A^9 , 无论相同与否, 均是含有可被取代的侧链的碱性氨基酸残基, 或其酯或其盐。

15 18. 权利要求 12 的肽, 其中 A^7 和 A^{10} , 无论相同与否, 各自是在其侧链上含有羟基的氨基酸残基或含有可被取代的侧链的中性氨基酸残基, 或其酯或其盐。

19. 权利要求 12 的肽, 其中 A^8 是在其侧链上含有羟基的氨基酸残基, 或其酯或其盐。

20 20. 权利要求 12 的肽, 其中 A^8 是 Ser, Pro 或 Hyp, 或其酯或其盐。

21. 权利要求 12 的肽, 其中 A^{10} 是在其侧链上含有羟基的氨基酸残基, 或其酯或其盐。

22. 权利要求 12 的肽, 其中从 A^{11} 到 A^{14} 的每一个, 无论相同与否, 是含有可被取代的侧链的中性氨基酸残基, 或其酯或其盐。

25 23. 权利要求 12 的肽, 其中 A^{15} 是一个含有芳香族侧链的氨基酸残基, 或其酯或其盐。

24. 权利要求 23 的肽, 其中 A^{15} 是 Trp, 或其酯或其盐。

25. 权利要求 12 的氨基酸残基或肽, 其中 A^{16} 和 A^{17} 的每一个, 无论相同与否, 代表含有可被取代的侧链的中性氨基酸残基, 或其酯或其盐。

30 26. 一种药物, 其包含权利要求 1 的肽或其酯或其盐。

27. 权利要求 26 的药物，其是中枢神经功能调节剂，循环功能调节剂，心脏功能调节剂，免疫功能调节剂，消化功能调节剂，代谢功能调节剂或生殖器官功能调节剂。

28. 权利要求 26 的药物，其是针对含 SEQ ID No.26 所示氨基酸序列之
5 蛋白质或其盐的激动剂。

说明书

肽衍生物

5 发明领域

本发明涉及新型肽及它们的应用,所述新型肽是孤儿 G 蛋白偶联型受体蛋白并具有针对 APJ 的配体活性。

背景技术

10 许多激素或神经递质通过存在于细胞膜上的特异受体调节生物体的功能。这些受体通常称作 G 蛋白偶联型受体或 7 段跨膜受体,因为它们多数通过活化偶联型鸟嘌呤核苷酸结合蛋白(有时简写作 G 蛋白)而实施细胞内信号转导,并且具有 7 段膜结构域的共同结构。

通过这些激素或神经递质与 G 蛋白偶联型受体的相互作用,可对生物体的重要功能进行调节,包括维持内环境稳定,以及调节生殖,个体发育,代谢,生长,神经系统,循环系统,免疫系统,消化系统,和代谢系统。尽管
15 已知生物功能的调节中存在各种激素或神经递质的受体蛋白,而且它们在这些功能的调节中起到重要作用,但不清楚是否存在未知活性物质如激素或神经递质,或相应受体。

最近几年已发现可利用与 G 蛋白偶联型受体蛋白部分结构的氨基酸序列相似性,经聚合酶链式反应(此后简写作 PCR)寻找编码新型受体蛋白的 DNA。这使得克隆大量的其配体尚未清楚的所谓孤儿 G 蛋白偶联型受体蛋白成为可能(Libert, F.等,科学, 244, 569-572, 1989, Welch, S.K., 等,生物化学和生物物理学研究通讯(Biochem. Biophys. Res. Commun.), 209, 606-613, 1995, Marchese, A.等,遗传(Genomics), 23, 609-618, 1994,
20 Marchese, A., 遗传, 29, 335-344, 1995)。而且通过基因组 DNA 或 cDNA 的随机测序发现了一个又一个新的 G 蛋白偶联型受体蛋白(Nomura, N., 等, DNA 研究, 卷 1, 27-35, 1994)。测定针对这些孤儿 G 蛋白偶联型受体蛋白的配体的通用方法只能是根据与 G 蛋白偶联型受体蛋白一级结构的相似性来估计。然而,在实际中,许多孤儿 G 蛋白偶联型受体蛋白表现出与已知受体的低序列同源性,因此仅从一级结构的相似性来估计配体很困难,除非它是
30 一个已知配体的受体亚型。推测存在许多相关的未知配体,因为在基因分析

中已经发现许多孤儿 G 蛋白偶联型受体蛋白,但至今只有少数针对孤儿 G 蛋白偶联型受体蛋白的配体被真正鉴定出来。

最近,一些研究已经报道通过将编码孤儿 G 蛋白偶联型受体蛋白的 cDNA 转移入动物细胞而寻找新的类鸦片肽(Reinsheid, R.K. 等, 科学, 270 卷, 792-794, 1995; Menular, J. C., 等, 自然, 377, 532-535, 1995)。然而,在这种情况下,根据配体与已知 G 蛋白偶联型受体蛋白的相似性和在组织中的分布,很容易推测它属于类鸦片肽家族。对通过类鸦片肽作用于生物机体的物质的研究和开发已有很长历史,而且已开发出多种拮抗剂和激动剂。因此,在一系列人工合成化合物中鉴定了该受体的激动剂和用这样的激动剂作为探针在转移了受体 cDNA 的细胞中检验了受体的表达之后,与激动剂类似的细胞内信号转导系统的激活剂得到鉴定和纯化以判定配体的结构。

据报道,以蜗牛的孤儿 G 蛋白偶联型受体蛋白(GRL104)作为指示剂,将其 cDNA 转移至 CHO 细胞,使受体表达细胞内游离钙水平特异性增加,由此鉴定了一种新的生理活性肽(Cox, K. J. A.等, 神经科学(Neurosci.), 17(4), 1197-1205, 1997)。这种生理活性肽与已知的白细胞激肽有高度同源性且发现 GRL104 与已知白细胞激肽反应。因此,可粗略预测相应配体的孤儿 G 蛋白偶联型受体蛋白是相当少的,并且当与已知的 G 蛋白偶联型受体蛋白家族的相似性很低时,关于配体的信息很有限且很难预测配体。

一个已报道的孤儿 G 蛋白偶联型受体蛋白是 APJ(O' Dowd, B.F., 等, 基因, 436, 355-359, 1993)。APJ 与血管紧张素受体(AT1)有低同源性。尽管 APJ 的天然配体和它的部分肽序列在 WO99/33976(日本专利申请第 220853-1998 号)有所描述,但是人工修饰的天然配体例如天然配体中有一个或多个组成型氨基酸被其他氨基酸取代或那些有一个或多个组成型氨基酸的侧链被相应取代基取代的配体均完全未知。

发明内容

对中枢神经系统,循环系统,生殖系统,免疫系统或消化器官中表达的一种孤儿 G 蛋白偶联型受体 APJ 的天然配体经人工修饰产生的肽,其与天然配体相比更有药用价值,其结构和功能尚未证实。

考虑到这些问题，发明者用所述天然配体的修饰产物和上述作为指示剂的受体蛋白之间结合特性的变化合成了各种新肽，并且通过预测和详细说明天然配体的活性位点发现了作为药物更有用的天然配体修饰物。

即，本发明涉及：

5 (1)由以下公式代表的肽：



10 [其中 X^1 代表一个氢原子或一个包含 1-25 个氨基酸的氨基酸残基，其中无论相同与否每个氨基酸都有一个可被取代的侧链，或 X^1 也可代表一个肽链； X^2 代表一个含有可被取代的侧链的中性氨基酸残基； X^3 代表一个含有可被取代的侧链的中性氨基酸残基，一个含有可被取代的侧链的芳香族氨基酸或一个含有可被取代的侧链的碱性氨基酸残基； X^4 代表一种键或含有可被取代的侧链的中性或芳香族氨基酸残基； X^5 代表①一个含有可被取代的侧链的氨基酸残基或一个 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物，②一个羟基或，③一个含有可被取代的侧链的氨基酸残基和一个含有可被取代的侧链的氨基酸结合的二肽链，或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的肽衍生物；公式中 -Arg-Pro-Arg-， -Ser-His- 或 -Gly-Pro- 之每个氨基酸残基的一个侧链可以被取代；例外为 X^2 代表 Leu， X^3 代表 Lys， X^4 代表 Met， X^5 代表①Pro 或②Pro-Phe，公式中 -Arg-Pro-Arg- 代表未被取代的 -Arg-Pro-Arg-， -Ser-His- 代表未被取代的 -Ser-His-， -Gly-Pro- 代表未被取代的 -Gly-Pro- 的情况]，或它的一种酯，或它的一种盐。

(2)(1)中所述的肽，其中 X^1 是一个含有可被取代的侧链的氨基酸残基，或其酯或其盐。

(3)(1)中所述的肽，其中 X^1 是可被取代的 pGlu 或含有可被取代的侧链的 Gln，或其酯或其盐。

25 (4)(1)中所述的肽，其中 X^1 由公式 $Y^1\text{-Y}^2$ 代表(其中 Y^1 代表包含 1-17 个氨基酸的氨基酸残基，其中无论相同与否每个氨基酸都有一个可被取代的侧链，或 Y^1 也可代表一个肽链， Y^2 代表包含 1-8 个氨基酸的氨基酸残基，其中无论相同与否每个氨基酸都有一个可被取代的侧链，或 Y^2 也可代表一个肽链)，或其酯或其盐。

30 (5)(4)中所述的肽，其中 Y^2 是由以下公式所示肽链①公式 $B^1\text{-B}^2\text{-B}^3\text{-B}^4\text{-B}^5\text{-B}^6\text{-B}^7\text{-B}^8$ (其中从 B^1 到 B^8 ，无论相同与否，每个均代表含有可被取代的侧

链的氨基酸残基)②公式 $B^2-B^3-B^4-B^5-B^6-B^7-B^8$ (其中符号具有与上述相同的定义), ③公式 $B^3-B^4-B^5-B^6-B^7-B^8$ (其中符号具有与上述相同的定义), ④公式 $B^4-B^5-B^6-B^7-B^8$ (其中符号具有与上述相同的定义), ⑤公式 $B^5-B^6-B^7-B^8$ (其中符号具有与上述相同的定义), ⑥公式 $B^6-B^7-B^8$ (其中符号具有与上述相同的定义), ⑦公式 B^7-B^8 (其中符号具有与上述相同的定义), ⑧公式 B^8 (其中 B^8 具有与上述相同的定义), 或其酯或其盐。

(6)(5)中所述的肽, 其中 B^1 是一个含有可被取代的侧链的中性氨基酸残基, 或其酯或其盐。

(7)(6)中所述的肽, 其中 B^1 是可被取代的 Gly, 或其酯或其盐。

10 (8)(5)中所述的肽, 其中 B^2 , B^3 和 B^4 中的每一个, 无论相同与否, 是含有可被取代的侧链的碱性氨基酸残基, 或其酯或其盐。

(9)(5)中所述的肽, 其中 B^5 是一个含有芳香族侧链的氨基酸残基, 或其酯或其盐。

15 (10)(5)中所述的肽, 其中 B^6 和 B^7 中的每一个, 无论相同与否, 是含有可被取代的侧链的碱性氨基酸残基, 或其酯或其盐。

(11)(5)中所述的肽, 其中 B^8 是含有可被取代的侧链的 Gln, 或其酯或其盐。

(12)(4)中所述的肽, 其中 Y^1 是由以下公式代表的氨基酸残基或肽链: (a) 公式 $A^1-A^2-A^3-A^4-A^5-A^6-A^7-A^8-A^9-A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中无论相同与否, 从 A^1 到 A^{17} 每个均代表含有可被取代的侧链的氨基酸残基), (b) 公式 $A^2-A^3-A^4-A^5-A^6-A^7-A^8-A^9-A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (c) 公式 $A^3-A^4-A^5-A^6-A^7-A^8-A^9-A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (d) 公式 $A^4-A^5-A^6-A^7-A^8-A^9-A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (e) 公式 $A^5-A^6-A^7-A^8-A^9-A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (f) 公式 $A^6-A^7-A^8-A^9-A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (g) 公式 $A^7-A^8-A^9-A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (h) 公式 $A^8-A^9-A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (i) 公式 $A^9-A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (j) 公式 $A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (k) 公式 $A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符

号具有与上述相同的定义), (l) 公式 $A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (m) 公式 $A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (n) 公式 $A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (o) 公式 $A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (p) 公式 $A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (q) 公式 A^{17} (其中 A^{17} 具有与上述相同的定义), 或其酯或其盐。

(13)(12)中所述的肽, 其中 A^1 是一个含有芳香族侧链的氨基酸残基, 或其酯或其盐。

10 (14)(12)中所述的肽, 其中 A^2 和 A^3 是一个含有可被取代的侧链的中性氨基酸残基, 或其酯或其盐。

(15)(12)中所述的肽, 其中 A^4 是中性的或碱性的含有可选择性取代的侧链的 L-氨基酸残基。

(16)(12)中所述的肽, 其中 A^5 是含有可被取代的侧链的 Pro, 或其酯或其盐。

15 (17)(12)中所述的肽, 其中 A^6 和 A^9 , 无论相同与否, 均是含有可被取代的侧链的碱性氨基酸残基, 或其酯或其盐。

(18)(12)中所述的肽, 其中 A^7 和 A^{10} , 无论相同与否, 各自是在其侧链上含有羟基的氨基酸残基或含有可被取代的侧链的中性氨基酸残基, 或其酯或其盐。

20 (19)(12)中所述的肽, 其中 A^8 是在其侧链上含有羟基的氨基酸残基, 或其酯或其盐。

(20)(12)中所述的肽, 其中 A^8 是 Ser, Pro 或 Hyp, 或其酯或其盐。

(21)(12)中所述的肽, 其中 A^{10} 是在其侧链上含有羟基的氨基酸残基, 或其酯或其盐。

25 (22)(12)中所述的肽, 其中从 A^{11} 到 A^{14} 的每一个, 无论相同与否, 是含有可被取代的侧链的中性氨基酸残基, 或其酯或其盐。

(23)(12)中所述的肽, 其中 A^{15} 是一个含有芳香族侧链的氨基酸残基, 或其酯或其盐。

(24)(23)中所述的肽, 其中 A^{15} 是 Trp, 或其酯或其盐。

30 (25)(12)中所述的氨基酸残基或肽, 其中 A^{16} 和 A^{17} 的每一个, 无论相同与否, 代表含有可被取代的侧链的中性氨基酸残基, 或其酯或其盐。

(26)包含(1)中所述的肽或其酯或其盐的药物。

(27)上面(26)中所述的药物是中枢神经功能调节剂，循环功能调节剂，心脏功能调节剂，免疫功能调节剂，消化功能调节剂，代谢功能调节剂或生殖器官功能调节剂。

5 (28)上面(26)中所述的药物是包含 SEQ ID No.26 所示的氨基酸序列或其盐的蛋白质的激动剂。

此外，本发明提供：

(29)(26)中所述的药物或类似物，其为以下疾病的治疗或预防药物，这些疾病例如：痴呆，抑郁症，ADHD(注意缺陷活动过多症，小(minimal)脑功能异常)综合征，意识障碍，焦虑症，精神分裂症，恐怖症，生长激素分泌障碍，多语症，贪食症，高胆固醇血症，高甘油酯血症，高脂血症，高催乳剂素血症，糖尿病，癌症，胰腺炎，肾脏疾病，Turner's 综合征，神经疾病，类风湿性关节炎，脊髓损伤，短暂缺血发作，肌萎缩性侧索硬化，急性心肌梗死，脊髓小脑退化，骨折，外伤，特异性皮炎，骨质疏松，哮喘，癫痫，
10 不育症，动脉硬化，肺气肿，肺水肿，乳汁减少或艾滋病。
15

附图简述

图 1 表示实施例 3 和 4 的肽以及实施例 1 中对应天然肽的酸化率的变化。

在此图中，▲-▲表示实施例 3 所得肽的酸化率变化量，□-□表示实施例 4 所得肽的酸化率变化量，●-●表示实施例 1 中相应天然肽的酸化率变化量。
20

发明的最佳实施方案

本发明中，氨基酸残基指当氨基酸形成肽键和通过失去水分子结合为蛋白质或肽时除 N-或 C-末端以外的结构部分。如 α -氨基酸残基指当 α -氨基酸
25 ($\text{H}_2\text{NC}(\text{R}^0)(\text{R}^1)\text{COOH}$ ： R^0 和 R^1 无论相同与否，都代表可任选的取代基)形成肽键并通过失去水分子而结合成蛋白质或肽时除 N-或 C-末端以外的- $\text{NHC}(\text{R}^0)(\text{R}^1)\text{CO-}$ 结构。在这种情况下，在 N-末端的氨基酸残基用 $\text{H}_2\text{NC}(\text{R}^0)(\text{R}^1)\text{CO-}$ 代表，在 C-末端的氨基酸残基为- $\text{NHC}(\text{R}^0)(\text{R}^1)\text{COOH}$ 。类似地， β -氨基酸残基指当 β -氨基酸($\text{H}_2\text{NC}(\text{R}^0)(\text{R}^1)\text{C}(\text{R}^2)(\text{R}^3)\text{COOH}$ ： R^0 ， R^1 ，
30 R^2 和 R^3 无论相同与否，都代表可任选的取代基)形成肽键并通过失去水分子而结合成蛋白质或肽时除 N-或 C-末端以外的- $\text{NHC}(\text{R}^0)(\text{R}^1)\text{C}(\text{R}^2)(\text{R}^3)\text{CO-}$ 结

构。在这种情况下，在 N-末端的氨基酸残基用 $\text{H}_2\text{NC}(\text{R}^0)(\text{R}^1)\text{C}(\text{R}^2)(\text{R}^3)\text{CO-}$ 代表，在 C-末端的氨基酸残基为 $-\text{NHC}(\text{R}^0)(\text{R}^1)\text{C}(\text{R}^2)(\text{R}^3)\text{COOH}$ 。 γ -氨基酸残基指当 γ -氨基酸($\text{H}_2\text{NC}(\text{R}^0)(\text{R}^1)\text{C}(\text{R}^2)(\text{R}^3)\text{C}(\text{R}^4)(\text{R}^5)\text{COOH}$ ： $\text{R}^0, \text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4$ 和 R^5 无论相同与否，都代表可任选的取代基)形成肽键并通过失去水分子而结合成蛋白质或肽时除 N-或 C-末端以外的 $-\text{NHC}(\text{R}^0)(\text{R}^1)\text{C}(\text{R}^2)(\text{R}^3)\text{C}(\text{R}^4)(\text{R}^5)\text{CO-}$ 结构。在这种情况下，N-末端的氨基酸残基用 $\text{H}_2\text{NC}(\text{R}^0)(\text{R}^1)\text{C}(\text{R}^2)(\text{R}^3)\text{C}(\text{R}^4)(\text{R}^5)\text{CO-}$ 代表，C-末端的氨基酸残基为 $-\text{NHC}(\text{R}^0)(\text{R}^1)\text{C}(\text{R}^2)(\text{R}^3)\text{C}(\text{R}^4)(\text{R}^5)\text{COOH}$ 。 ϵ -氨基酸残基指当 ϵ -氨基酸($\text{H}_2\text{NC}(\text{R}^0)(\text{R}^1)\text{C}(\text{R}^2)(\text{R}^3)\text{C}(\text{R}^4)(\text{R}^5)\text{C}(\text{R}^6)(\text{R}^7)\text{C}(\text{R}^8)(\text{R}^9)\text{COOH}$ ： $\text{R}^0, \text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4, \text{R}^5, \text{R}^6, \text{R}^7, \text{R}^8$ 和 R^9 无论相同与否，都代表可任选的取代基)形成肽键并通过失去水分子而结合成蛋白质或肽时除 N-或 C-末端以外的 $-\text{NHC}(\text{R}^0)(\text{R}^1)\text{C}(\text{R}^2)(\text{R}^3)\text{C}(\text{R}^4)(\text{R}^5)\text{C}(\text{R}^6)(\text{R}^7)\text{C}(\text{R}^8)(\text{R}^9)\text{CO-}$ 结构。在这种情况下，N-末端的氨基酸残基用 $\text{H}_2\text{NC}(\text{R}^0)(\text{R}^1)\text{C}(\text{R}^2)(\text{R}^3)\text{C}(\text{R}^4)(\text{R}^5)\text{C}(\text{R}^6)(\text{R}^7)\text{C}(\text{R}^8)(\text{R}^9)\text{CO-}$ 代表，C-末端的氨基酸残基为 $-\text{NHC}(\text{R}^0)(\text{R}^1)\text{C}(\text{R}^2)(\text{R}^3)\text{C}(\text{R}^4)(\text{R}^5)\text{C}(\text{R}^6)(\text{R}^7)\text{C}(\text{R}^8)(\text{R}^9)\text{COOH}$ 。

15 在此说明书中，氨基酸是天然或非天然氨基酸，其构型或为 D-或为 L-构型，而且也可以为 α, β, γ ，或 ϵ 型。

构成 α -氨基酸， β -氨基酸， γ -氨基酸，或 ϵ -氨基酸的侧链的基团包括：(1) C_{1-6} 烷基(如甲基，乙基，正丙基，异丙基，正丁基，异丁基，仲丁基，叔丁基，正戊基，优选 C_{1-3} 烷基)；(2)氰基；(3)卤素(如氟，氯，溴，和碘)；
20 (4)羟基- C_{1-6} 烷基(如羟甲基，和羟乙基)；(5) C_{1-6} 烷氧基(如甲氧基，乙氧基，正丙氧基，异丙氧基，正丁氧基，叔-丁氧基，优选 C_{1-3} 烷氧基)；(6) C_{1-6} 烷氧羰基(如甲氧羰基，乙氧羰基，异丙氧羰基，叔-丁氧羰基，优选 C_{1-3} 烷氧羰基)；(7) C_{1-4} 酰基(如甲酰基，乙酰基，丙酰基，丁酰基，和 C_{2-4} 烷酰基)；(8)羟基；(9)由公式 $-\text{S}(\text{O})_a\text{-R}^{21}$ 代表的基团[其中： a 代表 0 和 2 之间的整数，
25 R^{21} 代表 C_{1-6} 烷基(具体例子与上面相同)]如甲硫基，甲烷亚硫酰基，甲磺酰基，乙硫基，乙烷亚硫酰基，乙磺酰基；(10)苄氧羰基；(11)甲苯磺酰基；(12)氨基甲酰基；(13)巯基；(14)氨基；(15)磺基；(16)膦酰基；(17)磷酸基；(18)羧基；(19)四唑基；(20)氨基- C_{1-6} 烷基(如氨基甲基，氨基乙基)；(21)氨基丙烯基；(22)噻唑基；(23)噻吩基；(24)恶唑基；(25)呋喃基；(26)吡喃基；(27)吡啶基；
30 (28)pyrazyl 基；(29)吡嗪基；(30)嘧啶基；(31)吡啶 γ 噻基；(32)引哚基；(33)引哚二苯基；(34)异引哚基；(35)吡咯基；(36)咪唑基；(37)异噻唑基；(38)

吡唑基；(39)苯并吡喃基；(40)嘌呤基；(41)喹啉基；(42)喹啉基；(43)异喹啉基；(44)喹唑啉基；(45)喹喔啉基；(46)噌啉基；(47)吗啉基；(48)苯并噻吩基；(49)苯并呋喃基；(50)苯并咪唑基；(51)苯并咪唑基；(52) C_{3-8} 环烷基；(53)被上述(2)，(3)，(5)到(17)，和(20)到(52)所述的取代基取代的 C_{1-4} 烷基；(54)被上述(2)，(3)，(5)到(17)，和(20)到(52)所述的取代基取代的 C_{1-4} 酰基，例如甲酰基和 C_{2-4} 烷酰基；(55)被上述(1)到(52)所述的取代基(例如苯基，甲苯基，二甲苯基，苯乙烯基(styrenyl))取代的 C_{6-10} 芳基如苯基；(56)被上述(1)到(52)所述的取代基(例如甲基苯甲基，甲氧苯甲基)取代的 C_{7-15} 芳烷基例如苯甲基；(57) C_{7-15} 芳烷基(例如苯甲基，苯乙基，二苯甲基，萘甲基)；(58) C_{6-10} 芳基(例如苯基，萘基，蒽基，)；和(59)氢原子。

构成氨基酸残基的侧链和氮原子可结合形成环(例如脯氨酸)，或两条侧链结合形成环(例如3-氨基-降冰片烷-羧酸)。

α -氨基酸的例子包括甘氨酸，丙氨酸，缬氨酸，亮氨酸，异亮氨酸，丝氨酸，苏氨酸，半胱氨酸，蛋氨酸，天冬氨酸，谷氨酸，赖氨酸，精氨酸，苯丙氨酸，酪氨酸，组氨酸，色氨酸，天冬酰胺，谷氨酰胺，脯氨酸，2-哌啶酸，正亮氨酸， γ -甲基亮氨酸，叔亮氨酸，正缬氨酸，高精氨酸，高丝氨酸， α -氨基异丁酸， α -氨基丁酸，鸟氨酸， α -氨基己二酸，苯基甘氨酸，噻吩甘氨酸，环己基甘氨酸，环己基丙氨酸，噻吩丙氨酸，萘丙氨酸，八-氢-吲哚-2-羧酸，金刚石(adamantyl)丙氨酸，苯并噻吩丙氨酸，吡啶丙氨酸，哌啶丙氨酸，pyrazyl-丙氨酸，喹啉丙氨酸，噻唑丙氨酸，高半胱氨酸，高苯丙氨酸，瓜氨酸，高瓜氨酸，羟脯氨酸(Hyp)， α, β -二氨基丙酸， α, γ -二氨基丁酸，氨基丙二酸，1,2,3,4-四氢异喹啉-3-羧酸，青霉胺，环亮氨酸，和2-氨基-4-戊酸。

β -氨基酸的例子包括 β -丙氨酸， β -氨基丁酸，异天冬酰胺，3-氨基己二酸，3-氨基-苯基丙酸，3-氨基-2-羟基-4-苯基氨基丁酸，3-氨基-降冰片烷-羧酸，和3-氨基-二环庚烷羧酸。

γ -氨基酸的例子包括 γ -氨基丁酸，异谷氨酰胺，抑制素，4-氨基-3-羟基-5-环己基戊酸，4-氨基-3-羟基-5-苯基戊酸，6-氨基青霉胺和3-氨基金刚石(adamantine)-1-羧酸。

ϵ -氨基酸的例子包括 ϵ -氨基己酸和4-氨基甲基-环己烷羧酸。

所述天然氨基酸包括甘氨酸，丙氨酸，缬氨酸，亮氨酸，异亮氨酸，丝氨酸，苏氨酸，半胱氨酸，胱氨酸，蛋氨酸，天冬氨酸，谷氨酸，赖氨酸，精氨酸，苯丙氨酸，酪氨酸，组氨酸，色氨酸，天冬酰胺，谷氨酰胺，脯氨酸，鸟氨酸，和瓜氨酸。

- 5 所述非天然氨基酸有正亮氨酸， γ -甲基亮氨酸，叔亮氨酸，正缬氨酸，高精氨酸，高丝氨酸，氨基异丁酸，氨基己二酸(如 α -氨基己二酸)，苯甘氨酸，噻吩甘氨酸，环己基甘氨酸，氨基丁酸， β -丙氨酸，环己基丙氨酸，噻吩丙氨酸，萘丙氨酸，金刚石丙氨酸，苯并噻吩丙氨酸，吡啶丙氨酸，哌啶丙氨酸，pyrazyl-丙氨酸，喹啉丙氨酸，噻唑丙氨酸，异天冬酰胺，异谷氨酰胺，高半胱氨酸，高苯丙氨酸，高瓜氨酸，羟脯氨酸，二氨基丙酸，二氨基丁酸，氨基苯甲酸，以及上述天然和非天然氨基酸的N-甲基化氨基酸。
- 10

- 可以取代这些氨基酸残基的侧链的取代基包括(1) C_{1-6} 烷基(如甲基，乙基，正丙基，异丙基，正丁基，异丁基，仲丁基，叔丁基，正戊基，优选 C_{1-3} 烷基)；(2)氟基；(3)卤素(如氟，氯，溴，和碘)；(4)羟基- C_{1-6} 烷基(如羟甲基，和羟乙基)；(5) C_{1-6} 烷氧基(如甲氧基，乙氧基，正丙氧基，异丙氧基，正丁氧基，叔-丁氧基，优选 C_{1-3} 烷氧基)；(6) C_{1-6} 烷氧羰基(如甲氧羰基，乙氧羰基，异丙氧羰基，叔-丁氧羰基，优选 C_{1-3} 烷氧羰基)；(7) C_{1-4} 酰基(如甲酰基，乙酰基，丙酰基，丁酰基，和 C_{2-4} 烷酰基)；(8)羟基；(9)由公式-S(O) a -R²¹代表的基团[其中： a 代表0和2之间的整数，R²¹代表 C_{1-6} 烷基(具体例子与上面相同)]如甲硫基，甲烷亚硫酰基，甲磺酰基，乙硫基，乙烷亚硫酰基，乙磺酰基；(10)苄氧羰基；(11)甲苯磺酰基；(12)氨基甲酰基；(13)巯基；(14)氨基；(15)磺基；(16)膦酰基；(17)磷酸基；(18)羧基；(19)四唑基；(20)氨基- C_{1-6} 烷基(如氨基甲基，氨基乙基)；(21)氨基丙基；(22)噻唑基；(23)噻吩基；(24)恶唑基；(25)咪唑基；(26)吡唑基；(27)吡啶基；(28)pyrazyl基；(29)吡嗪基；
- 25 (30)嘧啶基；(31)吡啶 γ 噻基；(32)吲哚基；(33)吲哚二苯基；(34)异吲哚基；(35)吡咯基；(36)咪唑基；(37)异噻唑基；(38)吡唑基；(39)苯并咪唑基；(40)嘌呤基；(41)喹啉基；(42)喹啉基；(43)异喹啉基；(44)喹唑啉基；(45)喹喔啉基；(46)噌啉基；(47)吗啉基；(48)苯并噻吩基；(49)苯并咪唑基；(50)苯并咪唑基；(51)苯并咪唑基；(52) C_{3-8} 环烷基；(53)氧基；(54)被上述(2)，(3)，(5)到(19)，和(22)到(52)所述的取代基取代的 C_{1-4} 烷基；(55)被上述(2)，(3)，(5)到(17)，和(22)到(52)所述的取代基取代的 C_{1-4} 酰基，如甲酰基和 C_{2-4} 烷酰
- 30

基；(56)被上述(1)到(52)所述的取代基(如苯基，甲基，二甲苯基，苯乙烯基)取代的 C_{6-10} 芳基如苯基；(57)被上述(1)到(52)所述的取代基(如甲基苯甲基，甲氧苯甲基)取代的 C_{7-15} 芳烷基例如苯甲基；(58) C_{7-15} 芳烷基(如苯甲基，苯乙基，二苯甲基，萘甲基)；(59) C_{6-10} 芳基(如苯基，萘基，茚基)。

- 5 中性取代基包括(1) C_{1-6} 烷基(如甲基，乙基，正丙基，异丙基，正丁基，异丁基，仲丁基，叔丁基，正戊基，优选 C_{1-3} 烷基)；(2)氰基；(3)卤素(如氟，氯，溴，和碘)；(4)羟基- C_{1-6} 烷基(如羟甲基，和羟乙基)；(5)羟基；(6)氨基甲酰基；(7)巯基；(8)由公式-S(O) a -R²¹ 代表的基团(其中各符号定义与上述各自的定义相同)；(9) C_{6-10} 芳基(例如苯基，萘基，茚基，chromenyl)；(10)噻吩基；
10 (11)恶唑基；(12)呋喃基；(13)吡啶基；(14)吡啶二苯基；(15)异吡啶基；(16) C_{3-8} 环烷基；(17)氧基；(18)被上述(2)，(3)，(5)至(16)描述的取代基取代的 C_{1-6} 烷基；(19)被上述(1)到(16)所述的取代基(例如 基，甲基，二甲苯基，苯乙烯基)取代的 C_{6-10} 芳基如苯基和萘基；和(20)被上述(1)到(16)所述的取代基(例如甲基苯甲基，甲氧苯甲基)取代的 C_{7-15} 芳烷基例如苯甲基。

- 15 酸性取代基包括 C_{1-4} 烷基， C_{6-10} 芳基如苯基和萘基， C_{7-15} 芳烷基例如苯甲基，和已经各自被羧基，磺基，或四唑基取代的羧基。

- 碱性取代基包括(1)氨基- C_{1-6} 烷基(如氨基甲基，氨基乙基)；(2)氨基丙基；(3)吡啶基；(4)pyrazyl；(5)吡嗪基；(6)哒嗪基；(7)咪唑基；(8)吡唑基；(9)吡唑基；(10)吗啉基；(11)氨基；(12)被上述(3)至(10)所述的取代基取代的 C_{1-4} 烷基；
20 (13)被上述(1)到(11)所述的取代基取代的 C_{7-15} 芳烷基例如苯甲基；(14)被上述(1)到(11)所述的取代基取代的 C_{6-10} 芳基，如苯基和萘基。

在此说明书中，酸性氨基酸包括，如与含酸性基团如羧基，磺基或四唑基的侧链的氨基酸。具体例子包括谷氨酸，焦谷氨酸，天冬氨酸，磺基丙氨酸，高磺基丙氨酸，3-(5-四唑基)丙氨酸，和 2-氨基-4-(5-四唑基)丁酸。

- 25 在此说明书中，碱性氨基酸包括，如组氨酸，精氨酸，鸟氨酸，赖氨酸，二氨基丙酸，二氨基丁酸，和高精氨酸。

含有被取代的侧链的碱性氨基酸具体包括 N^α-乙酰精氨酸，N^α-甲苯磺酰精氨酸，N^ε-乙酰赖氨酸，N^ε-甲基赖氨酸，和 N^ε-甲苯磺酰赖氨酸。

- 在此说明书中，中性氨基酸具体包括丙氨酸，缬氨酸，正缬氨酸，亮氨酸，
30 异亮氨酸，别异亮氨酸，正亮氨酸，叔-亮氨酸， γ -甲基亮氨酸，脯氨酸，苯甘氨酸，苯丙氨酸，谷氨酰胺，天冬酰胺，丝氨酸，苏氨酸，甘氨酸，

半胱氨酸，蛋氨酸，色氨酸，羟脯氨酸(Hyp)和环己基丙氨酸。与被取代的侧链的中性氨基酸具体包括二苯丙氨酸。

在此说明书中，与芳香族侧链的氨基酸残基具体包括色氨酸，苯丙氨酸，酪氨酸，1-萘丙氨酸，2-萘丙氨酸，2-噻吩丙氨酸，组氨酸，吡啶丙氨酸(2-吡啶丙氨酸)，和邻甲基酪氨酸。侧链被取代的含有芳香族侧链的氨基酸残基具体包括 3-碘酪氨酸，对磷酸甲基苯丙氨酸和邻磷酸酪氨酸。

在此说明书中，带有含羟基的侧链的氨基酸残基具体包括丝氨酸，苏氨酸，酪氨酸和羟脯氨酸(Hyp)。

在此说明书中，遵循传统的肽标记规则，肽或肽链的左端指 N 末端(氨基末端)，右端即 C 末端(羧基末端)。

在本发明中肽或肽链的 C 末端通常是羧基(-COOH)或羧酸酯(-COO⁻)，但在某些情况下可以是酰胺(-CONH₂)或酯(-COOR)。酯中的 R 代表，如 C₁₋₆ 烷基包括甲基，乙基，正丙基，异丙基，或正丁基；C₃₋₈ 环烷基包括环戊基和环己基；C₆₋₁₂ 芳基包括苯基和 α -萘基；以及 C₇₋₁₄ 芳烷基包括苯基-C₁₋₂ 烷基如苯甲基，苯乙基和二苯甲基，或 α -萘基-C₁₋₂ 烷基如 α -萘甲基，还有通常用作口服给药的酯的新戊酰氧甲基。

当本发明的肽除 C 末端外还带有羧基或羧酸酯时，那些其基团被酰胺化或酯化的肽也包括在本发明的肽中。对于酯，在这种情况下，可以应用上述在 C 末端的酯。

本发明的肽和肽链包括其 N-末端氨基酸残基的氨基被以下基团取代的那些①C₂₋₆ 烷酰基，包括甲酰基和乙酰基，C₁₋₈ 酰基包括胍乙酰基，噻吩烯丙酰基，和吡啶乙酰基；②C₁₋₆ 烷基包括甲基，乙基，丙基，异丙基，丁基，异丁基，仲丁基，叔丁基，戊基，和己基；③C₆₋₁₀ 芳基包括苯基和萘基，或 C₇₋₁₆ 芳烷基包括苯甲基和苯乙基；④甲苯磺酰基(对甲苯磺酰基)；⑤苄氧羰基；⑥由公式-S(O)_a-R²²代表的基团[其中：a 代表 0 和 2 之间的整数；R²²代表 C₁₋₆ 烷基(具体例子与上面相同)]如甲硫基，甲烷亚硫酰基，甲磺酰基，乙硫基，乙烷亚硫酰基，乙磺酰基；⑦叔丁氧羰基；或⑧N-9-基甲氧羰基，那些经体内切割形成的 N-末端谷氨酰胺残基焦谷氨酰化的肽和肽链，那些使分子中氨基酸侧链的-OH，-SH，氨基，咪唑基，吡啶基和胍基等取代基受到相应保护基团(如 C₁₋₆ 酰基，包括 C₁₋₆ 烷酰基基如甲酰基和乙酰基)保护的肽和肽链，以及偶联蛋白，包括经糖链相连的所谓糖蛋白。

上面的公式：

X^1 -Arg-Pro-Arg- X^2 -Ser-His- X^3 -Gly-Pro- X^4 - X^5 其中在 -Arg-Pro-Arg-, -Ser-His-, 和 -Gly-Pro- 中每个氨基酸残基的侧链可以被取代, 取代基包括上述那些。

5 在此说明书中, X^1 代表 “一个氢原子或一个包含 1-25 个氨基酸的氨基酸残基, 其中无论相同与否每个氨基酸都有一个可被取代的侧链, X^1 也可代表一个肽链。”

10 所述 “1-25 个氨基酸的氨基酸残基, 其中无论相同与否每个氨基酸都有一个可被取代的侧链” 的取代基包括类似于上述 “可被氨基酸残基侧链取代的取代基” 的那些。

当 X^1 代表 “一个有可被取代的侧链的氨基酸” 时优选的例子包括可被取代的焦谷氨酸, 或含有可被取代的侧链的谷氨酰胺, 更优选焦谷氨酸或谷氨酰胺。

15 在所述 “有可被取代的侧链的氨基酸” “可被取代的焦谷氨酸”, 和 “含有可被取代的侧链的谷氨酰胺” 中代替氨基酸残基的取代基包括类似于上述 “可被氨基酸残基侧链取代的取代基” 的那些取代基。

“可被取代的焦谷氨酸” 的优选取代基包括苄氧羰基。

20 当 X^1 代表 “一个包含 2-25 个氨基酸的肽链, 其中无论相同与否每个氨基酸都有一个可被取代的侧链” 时, 具体例子包括由公式 Y^1 - Y^2 代表的肽, (其中 Y^1 代表包含 1-17 个氨基酸的氨基酸残基, 其中无论相同与否每个氨基酸都有一个可被取代的侧链, Y^1 也可代表一个肽链, Y^2 代表包含 1-8 个氨基酸的氨基酸残基, 其中无论相同与否每个氨基酸都有一个可被取代的侧链, Y^2 也可代表一个肽链)。

25 由上述 Y^1 和 Y^2 代表的氨基酸残基或肽链中氨基酸侧链的取代基包括与上述 “可被氨基酸残基侧链取代的取代基” 类似的取代基。

30 上述 Y^1 的具体例子包括由下述公式代表的氨基酸残基或肽链: (a) 公式 A^1 - A^2 - A^3 - A^4 - A^5 - A^6 - A^7 - A^8 - A^9 - A^{10} - A^{11} - A^{12} - A^{13} - A^{14} - A^{15} - A^{16} - A^{17} (其中无论相同与否, 从 A^1 到 A^{17} 每个均代表含有可被取代的侧链的氨基酸残基), (b) 公式 A^2 - A^3 - A^4 - A^5 - A^6 - A^7 - A^8 - A^9 - A^{10} - A^{11} - A^{12} - A^{13} - A^{14} - A^{15} - A^{16} - A^{17} (其中符号具有与上述相同的定义), (c) 公式 A^3 - A^4 - A^5 - A^6 - A^7 - A^8 - A^9 - A^{10} - A^{11} - A^{12} - A^{13} - A^{14} - A^{15} - A^{16} - A^{17} (其中符号具有与上述相同的定义), (d) 公式 A^4 - A^5 - A^6 - A^7 - A^8 - A^9 - A^{10} - A^{11} -

$A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (e)公式 $A^5-A^6-A^7-A^8-A^9-A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (f) 公式 $A^6-A^7-A^8-A^9-A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (g)公式 $A^7-A^8-A^9-A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (h)公式 $A^8-A^9-A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (i)公式 $A^9-A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (j)公式 $A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (k)公式 $A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (l)公式 $A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (m)公式 $A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (n)公式 $A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (o)公式 $A^{15}-A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (p)公式 $A^{16}-A^{17}$ (其中符号具有与上述相同的定义), (q)公式 A^{17} (其中 A^{17} 具有与上述相同的定义), 这里允许,

上述 A^1 代表有可被取代的侧链的氨基酸残基, 优选与芳香族侧链的氨基酸残基, 更优选与芳香族侧链的 L-氨基酸残基, 进而更优选 L-酪氨酸。

上述 A^2 和 A^3 , 无论相同与否, 各代表一个有可被取代的侧链的氨基酸残基, 优选有可被取代的侧链的中性氨基酸残基, 更优选有可被取代的侧链的中性 L-氨基酸残基, 进一步更优选 A^2 为 L-亮氨酸和 A^3 为 L-缬氨酸。

上述的 A^4 代表一个有可被取代的侧链的氨基酸残基, 优选有可被取代的侧链的中性或碱性氨基酸残基, 更优选有可被取代的侧链的中性 L-氨基酸残基或 L-碱性氨基酸, 进一步更优选 L-赖氨酸和 N^{ϵ} -乙酰赖氨酸。

上述的 A^5 代表一个有可被取代的侧链的氨基酸残基, 优选有可被取代的侧链的中性氨基酸残基, 更优选可被取代的 L-脯氨酸, 进一步更优选 L-脯氨酸。上述 A^6 和 A^9 , 无论相同与否, 各代表一个有可被取代的侧链的氨基酸残基, 优选有可被取代的侧链的碱性氨基酸残基, 更优选有可被取代的侧链的 L-碱性氨基酸残基, 进一步更优选 L-精氨酸。

上述 A^7 和 A^{10} , 无论相同与否, 各代表一个有可被取代的侧链的氨基酸残基, 优选侧链有羟基的氨基酸或有可被取代的侧链的中性氨基酸残基。

对于 A^7 , 可被取代的甘氨酸, 尤其甘氨酸是优选的。

上述的 A^8 代表一个有可被取代的侧链的氨基酸残基，优选在侧链有 L-脯氨酸或羟基的氨基酸残基，进一步更优选 L-丝氨酸，L-脯氨酸或羟脯氨酸 (Hyp)。

上述 A^{10} 优选代表侧链有羟基的氨基酸或与可被取代的侧链的中性氨基酸残基，更优选 L-丝氨酸，L-苏氨酸，或 L-天冬酰胺。

上述 A^{11} 至 A^{14} ，无论相同与否，各代表一个有可被取代的侧链的氨基酸残基，优选有可被取代的侧链的中性氨基酸残基，更优选 A^{11} 为甘氨酸， A^{12} 为 L-脯氨酸， A^{13} 为甘氨酸，和 A^{14} 为 L-丙氨酸和 L-脯氨酸。

上述 A^{15} 代表有可被取代的侧链的氨基酸残基，优选有芳香族侧链的氨基酸残基，更优选有芳香族侧链的 L-氨基酸残基，进而更优选 L-色氨酸。

上述 A^{16} 代表一个有可被取代的侧链的氨基酸残基，优选有可被取代的侧链的中性氨基酸残基，更优选有氨甲酰基的中性 L-氨基酸残基，进一步更优选 L-谷氨酰胺。

有氨甲酰基的中性 L-氨基酸残基包括 L-谷氨酰胺和 L-天冬酰胺。

上述 A^{17} 代表一个有可被取代的侧链的氨基酸残基，优选有可被取代的侧链的中性氨基酸残基，更优选有氨甲酰基的中性 L-氨基酸残基，进一步更优选甘氨酸。

上述 Y^2 的具体例子包括：

① 公式 $B^1-B^2-B^3-B^4-B^5-B^6-B^7-B^8$ ，其中从 B^1 到 B^8 ，无论相同与否，各代表含有可被取代的侧链的氨基酸残基，

② 公式 $B^2-B^3-B^4-B^5-B^6-B^7-B^8$ (其中符号具有与上述相同的定义)，

③ 公式 $B^3-B^4-B^5-B^6-B^7-B^8$ (其中符号具有与上述相同的定义)，

④ 公式 $B^4-B^5-B^6-B^7-B^8$ (其中符号具有与上述相同的定义)，

⑤ 公式 $B^5-B^6-B^7-B^8$ (其中符号具有与上述相同的定义)，

⑥ 公式 $B^6-B^7-B^8$ (其中符号具有与上述相同的定义)，

⑦ 公式 B^7-B^8 (其中符号具有与上述相同的定义)，

⑧ 公式 B^8 (其中 B^8 具有与上述相同的定义)。

B^1 代表一个有可被取代的侧链的氨基酸残基，优选有可被取代的侧链的中性氨基酸残基，更优选有可被取代的侧链的中性 L-氨基酸残基，进一步更优选可被取代的甘氨酸，最优选甘氨酸。

B^2 至 B^4 ，无论相同与否，各代表一个有可被取代的侧链的氨基酸残基，优选有可被取代的侧链的碱性氨基酸残基，更优选有可被取代的侧链的碱性 L-氨基酸残基，还更优选 B^2 为 L-精氨酸， B^3 为 L-精氨酸， B^4 为 L-赖氨酸。

上述 B^5 代表有可被取代的侧链的氨基酸残基，优选带芳香族侧链的氨基酸残基，更优选带芳香族侧链的 L-氨基酸残基，还更优选 L-苯丙氨酸。

上述 B^6 和 B^7 ，无论相同与否，各代表一个有可被取代的侧链的氨基酸残基，优选有可被取代的侧链的碱性氨基酸残基，更优选有可被取代的侧链的碱性 L-氨基酸残基，进一步更优选 L-精氨酸。

B^8 代表一个有可被取代的侧链的氨基酸残基，优选有可被取代的侧链的谷氨酰胺，更优选 L-谷氨酰胺。

Y^1 和 Y^2 的组合包括由以下公式代表的情况：

上述(a)表达的公式 + 上述①表达的公式，这种情况时 X^1 由 $A^1-A^2-A^3-A^4-A^5-A^6-A^7-A^8-A^9-A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}-B^1-B^2-B^3-B^4-B^5-B^6-B^7-B^8$ 代表：后面的组合中将忽略此解释，

- 15 上述(a)表达的公式 + 上述②表达的公式，
 上述(a)表达的公式 + 上述③表达的公式，
 上述(a)表达的公式 + 上述④表达的公式，
 上述(a)表达的公式 + 上述⑤表达的公式，
 上述(a)表达的公式 + 上述⑥表达的公式，
 20 上述(a)表达的公式 + 上述⑦表达的公式，
 上述(a)表达的公式 + 上述⑧表达的公式，
 上述(b)表达的公式 + 上述①表达的公式，
 上述(b)表达的公式 + 上述②表达的公式，
 上述(b)表达的公式 + 上述③表达的公式，
 25 上述(b)表达的公式 + 上述④表达的公式，
 上述(b)表达的公式 + 上述⑤表达的公式，
 上述(b)表达的公式 + 上述⑥表达的公式，
 上述(b)表达的公式 + 上述⑦表达的公式，
 上述(b)表达的公式 + 上述⑧表达的公式，
 30 上述(c)表达的公式 + 上述①表达的公式，
 上述(c)表达的公式 + 上述②表达的公式，

- 上述(c)表达的公式 + 上述③表达的公式,
 上述(c)表达的公式 + 上述④表达的公式,
 上述(c)表达的公式 + 上述⑤表达的公式,
 上述(c)表达的公式 + 上述⑥表达的公式,
 5 上述(c)表达的公式 + 上述⑦表达的公式,
 上述(c)表达的公式 + 上述⑧表达的公式,
 上述(d)表达的公式 + 上述①表达的公式,
 上述(d)表达的公式 + 上述②表达的公式,
 上述(d)表达的公式 + 上述③表达的公式,
 10 上述(d)表达的公式 + 上述④表达的公式,
 上述(d)表达的公式 + 上述⑤表达的公式,
 上述(d)表达的公式 + 上述⑥表达的公式,
 上述(d)表达的公式 + 上述⑦表达的公式,
 上述(d)表达的公式 + 上述⑧表达的公式,
 15 上述(e)表达的公式 + 上述①表达的公式,
 上述(e)表达的公式 + 上述②表达的公式,
 上述(e)表达的公式 + 上述③表达的公式,
 上述(e)表达的公式 + 上述④表达的公式,
 上述(e)表达的公式 + 上述⑤表达的公式,
 20 上述(e)表达的公式 + 上述⑥表达的公式,
 上述(e)表达的公式 + 上述⑦表达的公式,
 上述(e)表达的公式 + 上述⑧表达的公式,
 上述(f)表达的公式 + 上述①表达的公式,
 上述(f)表达的公式 + 上述②表达的公式,
 25 上述(f)表达的公式 + 上述③表达的公式,
 上述(f)表达的公式 + 上述④表达的公式,
 上述(f)表达的公式 + 上述⑤表达的公式,
 上述(f)表达的公式 + 上述⑥表达的公式,
 上述(f)表达的公式 + 上述⑦表达的公式,
 30 上述(f)表达的公式 + 上述⑧表达的公式,
 上述(g)表达的公式 + 上述①表达的公式,

- 上述(g)表达的公式 + 上述②表达的公式,
 上述(g)表达的公式 + 上述③表达的公式,
 上述(g)表达的公式 + 上述④表达的公式,
 上述(g)表达的公式 + 上述⑤表达的公式,
 5 上述(g)表达的公式 + 上述⑥表达的公式,
 上述(g)表达的公式 + 上述⑦表达的公式,
 上述(g)表达的公式 + 上述⑧表达的公式,
 上述(h)表达的公式 + 上述①表达的公式,
 上述(h)表达的公式 + 上述②表达的公式,
 10 上述(h)表达的公式 + 上述③表达的公式,
 上述(h)表达的公式 + 上述④表达的公式,
 上述(h)表达的公式 + 上述⑤表达的公式,
 上述(h)表达的公式 + 上述⑥表达的公式,
 上述(h)表达的公式 + 上述⑦表达的公式,
 15 上述(h)表达的公式 + 上述⑧表达的公式,
 上述(i)表达的公式 + 上述①表达的公式,
 上述(i)表达的公式 + 上述②表达的公式,
 上述(i)表达的公式 + 上述③表达的公式,
 上述(i)表达的公式 + 上述④表达的公式,
 20 上述(i)表达的公式 + 上述⑤表达的公式,
 上述(i)表达的公式 + 上述⑥表达的公式,
 上述(i)表达的公式 + 上述⑦表达的公式,
 上述(i)表达的公式 + 上述⑧表达的公式,
 上述(j)表达的公式 + 上述①表达的公式,
 25 上述(j)表达的公式 + 上述②表达的公式,
 上述(j)表达的公式 + 上述③表达的公式,
 上述(j)表达的公式 + 上述④表达的公式,
 上述(j)表达的公式 + 上述⑤表达的公式,
 上述(j)表达的公式 + 上述⑥表达的公式,
 30 上述(j)表达的公式 + 上述⑦表达的公式,
 上述(j)表达的公式 + 上述⑧表达的公式,

- 上述(k)表达的公式 + 上述①表达的公式,
 上述(k)表达的公式 + 上述②表达的公式,
 上述(k)表达的公式 + 上述③表达的公式,
 上述(k)表达的公式 + 上述④表达的公式,
 5 上述(k)表达的公式 + 上述⑤表达的公式,
 上述(k)表达的公式 + 上述⑥表达的公式,
 上述(k)表达的公式 + 上述⑦表达的公式,
 上述(k)表达的公式 + 上述⑧表达的公式,
 上述(l)表达的公式 + 上述①表达的公式,
 10 上述(l)表达的公式 + 上述②表达的公式,
 上述(l)表达的公式 + 上述③表达的公式,
 上述(l)表达的公式 + 上述④表达的公式,
 上述(l)表达的公式 + 上述⑤表达的公式,
 上述(l)表达的公式 + 上述⑥表达的公式,
 15 上述(l)表达的公式 + 上述⑦表达的公式,
 上述(l)表达的公式 + 上述⑧表达的公式,
 上述(m)表达的公式 + 上述①表达的公式,
 上述(m)表达的公式 + 上述②表达的公式,
 上述(m)表达的公式 + 上述③表达的公式,
 20 上述(m)表达的公式 + 上述④表达的公式,
 上述(m)表达的公式 + 上述⑤表达的公式,
 上述(m)表达的公式 + 上述⑥表达的公式,
 上述(m)表达的公式 + 上述⑦表达的公式,
 上述(m)表达的公式 + 上述⑧表达的公式,
 25 上述(n)表达的公式 + 上述①表达的公式,
 上述(n)表达的公式 + 上述②表达的公式,
 上述(n)表达的公式 + 上述③表达的公式,
 上述(n)表达的公式 + 上述④表达的公式,
 上述(n)表达的公式 + 上述⑤表达的公式,
 30 上述(n)表达的公式 + 上述⑥表达的公式,
 上述(n)表达的公式 + 上述⑦表达的公式,

- 上述(n)表达的公式 + 上述⑧表达的公式,
 上述(o)表达的公式 + 上述①表达的公式,
 上述(o)表达的公式 + 上述②表达的公式,
 上述(o)表达的公式 + 上述③表达的公式,
 5 上述(o)表达的公式 + 上述④表达的公式,
 上述(o)表达的公式 + 上述⑤表达的公式,
 上述(o)表达的公式 + 上述⑥表达的公式,
 上述(o)表达的公式 + 上述⑦表达的公式,
 上述(o)表达的公式 + 上述⑧表达的公式,
 10 上述(p)表达的公式 + 上述①表达的公式,
 上述(p)表达的公式 + 上述②表达的公式,
 上述(p)表达的公式 + 上述③表达的公式,
 上述(p)表达的公式 + 上述④表达的公式,
 上述(p)表达的公式 + 上述⑤表达的公式,
 15 上述(p)表达的公式 + 上述⑥表达的公式,
 上述(p)表达的公式 + 上述⑦表达的公式,
 上述(p)表达的公式 + 上述⑧表达的公式,
 上述(q)表达的公式 + 上述①表达的公式,
 上述(q)表达的公式 + 上述②表达的公式,
 20 上述(q)表达的公式 + 上述③表达的公式,
 上述(q)表达的公式 + 上述④表达的公式,
 上述(q)表达的公式 + 上述⑤表达的公式,
 上述(q)表达的公式 + 上述⑥表达的公式,
 上述(q)表达的公式 + 上述⑦表达的公式, 和
 25 上述(q)表达的公式 + 上述⑧表达的公式, 尤其优选
 上述(a)表达的公式 + 上述①表达的公式,
 上述(b)表达的公式 + 上述①表达的公式,
 上述(c)表达的公式 + 上述①表达的公式,
 上述(d)表达的公式 + 上述①表达的公式,
 30 上述(e)表达的公式 + 上述①表达的公式,
 上述(f)表达的公式 + 上述①表达的公式,

- 上述(g)表达的公式 + 上述①表达的公式，
 上述(h)表达的公式 + 上述①表达的公式，
 上述(i)表达的公式 + 上述①表达的公式，
 上述(j)表达的公式 + 上述①表达的公式，
 5 上述(k)表达的公式 + 上述①表达的公式，
 上述(l)表达的公式 + 上述①表达的公式，
 上述(m)表达的公式 + 上述①表达的公式，
 上述(n)表达的公式 + 上述①表达的公式，
 上述(o)表达的公式 + 上述①表达的公式，
 10 上述(p)表达的公式 + 上述①表达的公式，
 上述(q)表达的公式 + 上述①表达的公式。
- 尤其是，更优选的例子包括由上述(a)表达的公式 + 上述①表达的公式，以及上述(b)表达的公式 + 上述①表达的公式所示情况。
- 在上述(a)的公式 + 上述①的公式，以及上述(b)的公式 + 上述①的公式
 15 所示情况中，还更优选的例子如下所述。
- 上述(b)的公式 + 上述①的公式所示情况指，当 X^1 为 $A^2-A^3-A^4-A^5-A^6-A^7-A^8-A^9-A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}-B^1-B^2-B^3-B^4-B^5-B^6-B^7-B^8$ ，其中 A^2 至 A^{17} 和 B^1 至 B^8 具有与上述相同的意义时，优选的具体例子包括：
- 20 上述 A^2 和 A^3 ，无论相同与否，各代表一个有可被取代的侧链的中性 L-氨基酸残基，优选 A^2 为 L-亮氨酸和 A^3 为 L-缬氨酸；
- A^4 是有可被取代的侧链的中性 L-氨基酸残基或 L-碱性氨基酸残基，优选 L-谷氨酰胺，L-赖氨酸或 N^α -乙酰赖氨酸；
- A^5 是可被取代的 L-脯氨酸，优选 L-脯氨酸；
- 25 A^6 和 A^9 ，无论相同与否，各代表有可被取代的侧链的 L-碱性氨基酸残基，优选 L-精氨酸；
- A^7 是可被取代的甘氨酸，优选甘氨酸；
- A^8 是侧链与 L-脯氨酸或羟基的氨基酸残基，优选 L-丝氨酸，L-脯氨酸或羟脯氨酸(Hyp)；
- 30 A^{10} 是侧链有羟基的氨基酸残基或有可被取代的侧链的中性氨基酸残基，优选 L-丝氨酸，L-苏氨酸，或 L-天冬酰胺；

A^{11} 为甘氨酸, A^{12} 为 L-脯氨酸, A^{13} 为甘氨酸, A^{14} 为 L-丙氨酸或 L-脯氨酸;

A^{15} 为有芳香族侧链的 L-氨基酸残基, 优选 L-色氨酸;

A^{16} 为有氨基甲酰基的中性 L-氨基酸残基, 优选 L-谷氨酰胺;

5 A^{17} 为中性 L-氨基酸残基, 优选甘氨酸;

B^1 为有可被取代的侧链的中性 L-氨基酸残基, 优选可被取代的甘氨酸, 更优选甘氨酸;

B^2 至 B^4 , 无论相同与否, 各为有可被取代的侧链的碱性 L-氨基酸残基, 优选 B^2 为 L-精氨酸, B^3 为 L-精氨酸, B^4 为 L-赖氨酸;

10 B^5 为有芳香族侧链的 L-氨基酸残基, 优选 L-苯丙氨酸;

B^6 和 B^7 , 无论相同与否, 各为有可被取代的侧链的碱性 L-氨基酸残基, 优选 L-精氨酸;

B^8 为可被取代的谷氨酰胺, 优选 L-谷氨酰胺。

15 上述(a)的公式 + 上述①的公式所示情况指, 当 X^1 为 $A^1-A^2-A^3-A^4-A^5-A^6-A^7-A^8-A^9-A^{10}-A^{11}-A^{12}-A^{13}-A^{14}-A^{15}-A^{16}-A^{17}-B^1-B^2-B^3-B^4-B^5-B^6-B^7-B^8$, 其中 A^1 至 A^{17} 和 B^1 至 B^8 具有与上述相同的意义时, 优选的具体例子包括:

A^1 是具有芳香族侧链的 L-氨基酸残基, 优选 L-色氨酸;

A^2 和 A^3 , 无论相同与否, 各代表一个有可被取代的侧链的中性 L-氨基酸残基, 优选 A^2 为 L-亮氨酸和 A^3 为 L-缬氨酸;

20 A^4 是有可任选取代的侧链的中性 L-氨基酸残基或 L-碱性氨基酸残基, 优选 L-谷氨酰胺, L- α -氨基己二酸, L-赖氨酸和 N'-乙酰赖氨酸;

A^5 是可被取代的 L-脯氨酸, 优选 L-脯氨酸;

A^6 和 A^9 , 无论相同与否, 各代表有可被取代的侧链的 L-碱性氨基酸残基, 优选 L-精氨酸;

25 A^7 是可被取代的甘氨酸, 优选甘氨酸;

A^8 是侧链有 L-脯氨酸或羟基的氨基酸残基, 优选 L-丝氨酸, L-脯氨酸或羟脯氨酸(Hyp);

A^{10} 优选是侧链有羟基的氨基酸残基或与可任选取代的侧链的中性氨基酸残基, 优选 L-丝氨酸, L-苏氨酸, 或 L-天冬酰胺;

30 A^{11} 为甘氨酸, A^{12} 为 L-脯氨酸, A^{13} 为甘氨酸, 和 A^{14} 为 L-丙氨酸或 L-脯氨酸;

A¹⁵ 为有芳香族侧链的 L-氨基酸残基, 优选 L-色氨酸;

A¹⁶ 为有氨基甲酰基的中性 L-氨基酸残基, 优选 L-谷氨酰胺;

A¹⁷ 为中性 L-氨基酸残基, 优选甘氨酸;

5 B¹ 为有可任选取代的侧链的中性 L-氨基酸残基, 优选可被取代的甘氨酸, 更优选甘氨酸;

B² 至 B⁴, 无论相同与否, 各为有可被取代的侧链的碱性 L-氨基酸残基, 优选 B² 为 L-精氨酸, B³ 为 L-精氨酸, B⁴ 为 L-赖氨酸;

B⁵ 为有芳香族侧链的 L-氨基酸残基, 优选 L-苯丙氨酸;

10 B⁶ 和 B⁷ 的任意一个, 为有可被取代的侧链的碱性 L-氨基酸残基, 优选 L-精氨酸;

B⁸ 为可被取代的谷氨酰胺, 优选 L-谷氨酰胺。

对 X¹ 优选的具体例子包括:

(1) 氢原子,

15 (2) Leu-Val-Gln-Pro-Arg-Gly-Ser-Arg-Asn-Gly-Pro-Gly-Pro-Trp-Gln-Gly-Gly-Arg-Arg-Lys-Phe-Arg-Arg-Gln,

(3) pGlu,

(4) Leu-Val-Adi(NH₂)-Pro-Arg-Gly-Ser-Arg-Asn-Gly-Pro-Gly-Pro-Trp-Gln-Gly-Gly-Arg-Arg-Lys-Phe-Arg-Arg-Gln,

20 (5) Leu-Val-Lys(Ac)-Pro-Arg-Thr-Ser-Arg-Thr-Gly-Pro-Gly-Ala-Trp-Gln-Gly-Gly-Arg-Arg-Lys-Phe-Arg-Arg-Gln,

(6) Tyr-Leu-Val-Lys-Pro-Arg-Thr-Ser-Arg-Thr-Gly-Pro-Gly-Ala-Trp-Gln-Gly-Gly-Arg-Arg-Lys-Phe-Arg-Arg-Gln, 和

(7) Z-pGlu。

25 在此说明书中, X² 代表有可被取代的侧链的中性氨基酸残基, 优选有可被取代的侧链的 L-亮氨酸, 或有可被取代的侧链的 L-正亮氨酸, 更优选 L-亮氨酸, 或 L-正亮氨酸。

在此说明书中, X³ 代表有可被取代的侧链的中性氨基酸残基或有可被取代的侧链的碱性氨基酸残基。碱性氨基酸残基侧链的取代基包括 C₁₋₄ 酰基, 甲苯磺酰基和 C₁₋₆ 烷基。

30 C₁₋₄ 酰基包括甲酰基, 乙酰基, 丙酰基, 丁酰基, 和 C₂₋₄ 烷酰基。

C_{1-6} 烷基包括甲基, 乙基, 丙基, 异丙基, 丁基, 异丁基, 仲-丁基, 叔-丁基, 戊基, 和己基。

X^3 优选包括有可被取代的侧链的 L-赖氨酸, 有可被取代的侧链的 L-正亮氨酸, 和有可被取代的侧链的 L-精氨酸; 更优选 L-赖氨酸, L-正亮氨酸, 5 或 L-精氨酸, 它们每个的侧链可被 C_{1-4} 酰基(包括甲酰基, 乙酰基, 丙酰基, 丁酰基, 和 C_{2-4} 烷酰基)、 C_{1-6} 烷基(包括甲基, 乙基, 丙基, 异丙基, 丁基, 异丁基, 仲-丁基, 叔-丁基, 戊基, 和己基)或甲苯磺酰基取代; 还更优选 L-赖氨酸, L-正亮氨酸, L-精氨酸, N' -乙酰赖氨酸, N' -甲基赖氨酸, N' -甲苯磺酰赖氨酸, N' -甲苯磺酰精氨酸。

10 在此说明书中, X^4 代表有可被取代的侧链或键的中性或芳香族氨基酸残基或有可被取代的侧链的碱性氨基酸残基。 X^4 优选包括有可被取代的侧链或键的 L-正亮氨酸, 有可被取代的侧链的 L-蛋氨酸, 有可被取代的侧链的 L-蛋氨酸亚砷, 或有可被取代的侧链的 L-丙氨酸, 更优选一个键, L-正亮氨酸或 L-蛋氨酸, L-蛋氨酸亚砷, 和 L-环己基丙氨酸。

15 在此说明书中, X^5 代表①一个含有可被取代的侧链的氨基酸残基或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物, ②羟基或, ③由两个含有可被取代的侧链的氨基酸残基结合而成的二肽链, 或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的肽衍生物。

20 优选, X^5 代表①含可被取代的侧链的中性氨基酸残基或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物, ②羟基或, ③由一个含有可被取代的芳香族侧链的中性氨基酸残基和一个含有可被取代的侧链的氨基酸残基结合而成的二肽链, 或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的肽衍生物。

更优选, X^5 代表①含可被取代的侧链的 L-脯氨酸或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物, ②含有可被取代的侧链的 4-氯苯丙氨酸 25 或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物, ③含有可被取代的侧链的 2-萘丙氨酸或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物, ④含有可被取代的侧链的环己基丙氨酸或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物, ⑤羟基或, ⑥通过将可被取代的 L-脯氨酸与下列物质结合形成的二肽链: (a)含有可被取代的侧链的 L-苯丙氨酸, (b)含有可 30 被取代的侧链的 L-酪氨酸, (c)含有可被取代的侧链的 L-2-噻吩丙氨酸, (d)

含有可被取代的侧链的 L-苯甘氨酸或(e)含有可被取代的侧链的 L-2-吡啶甘氨酸，或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物。

- 还更优选，X⁵ 代表①L-脯氨酸，或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物，②4-氯苯丙氨酸，或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物，③2-萘丙氨酸，或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物，④环己基丙氨酸，或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物，⑤羟基，⑥通过 L-脯氨酸与 L-苯丙氨酸结合形成的二肽链，或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物，⑦通过 L-脯氨酸与 L-酪氨酸结合形成的二肽链，或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物，⑧通过 L-脯氨酸与 L-2-噻吩丙氨酸结合形成的二肽链，或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物，⑨通过 L-脯氨酸与 L-苯甘氨酸结合形成的二肽链，或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物，⑩通过 L-脯氨酸与 4-氯苯丙氨酸结合形成的二肽链，或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物，(11)通过 L-脯氨酸与 2-萘丙氨酸结合形成的二肽链，或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物，(12)通过 L-脯氨酸与 3-碘酪氨酸结合形成的二肽链，或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物，(13)通过 L-脯氨酸与邻甲基酪氨酸结合形成的二肽链，或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物，(14)通过 L-脯氨酸与 L-2-吡啶丙氨酸结合形成的二肽链，或 C-末端羧基已还原为羟甲基或甲酰基的氨基酸衍生物。

最优选，“-X⁴-X⁵”包括：

- (1) -Nle-Pro-Phe,
- (2) -Nle-Pro-Tyr,
- (3) -Nle-Pro,
- (4) -Nle,
- (5) -Met-Pro-Phe,
- (6) -Nle-Pro-Thi,
- (7) -Nle-Pro-Phg,
- (8) -Nle-Pro-Pya(2),
- (9) -Met(O),
- (10) -Met-Phe(C1)

(11) -Met-Pro-Phe(C1),

(12) -Met-Pro-Nal(2),

(13) -Met-Nal(2),

(14) -Met-Cha,

5 (15) -Cha-Pro-Phe,

(16) -Cha,

(17) -Met-Pro-Tyr(I), 和

(18) -Met-Pro-Tyr(Me)。

本发明肽的具体例子包括：

10 (1)Leu-Val-Gln-Pro-Arg-Gly-Ser-Arg-Asn-Gly-Pro-Gly-Pro-Trp-Gln-Gly-Gly-Arg-Arg-Lys-Phe-Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe,

(2)Leu-Val-Gln-Pro-Arg-Gly-Ser-Arg-Asn-Gly-Pro-Gly-Pro-Trp-Gln-Gly-Gly-Arg-Arg-Lys-Phe-Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-

15 Nle-Pro-Tyr,

(3)pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe,

(4)pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Tyr,

(5)pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro,

(6)pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle,

20 (7)Ac-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Tyr,

(8)Ac-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro,

(9)Ac-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle,

(10)pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys(Ac)-Gly-Pro-Met-Pro-Phe,

(11)pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys(Me)-Gly-Pro-Met-Pro-Phe,

25 (12)pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys(Ac)-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe,

(13)pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys(Me)-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe,

(14) pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys(Tos)-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe,

(15) pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Arg(Tos)-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe,

(16)pGlu-Arg-Pro-Arg-Nle-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe,

30 (17)pGlu-Arg-Pro-Arg-Nle-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Tyr,

(18)pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Thi,

- (19)pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Phg,
 (20)pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Pya(2),
 (21)Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Tyr,
 (22)Leu-Val-Adi(NH₂)-Pro-Arg-Gly-Ser-Arg-Asn-Gly-Pro-Gly-Pro-Trp-
 5 Gln-Gly-Gly-Arg-Arg-Lys-Phe-Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-
 Gly-Pro-Nle-Pro-Phe,
 (23)Leu-Val-Lys(Ac)-Pro-Arg-Thr-Ser-Arg-Thr-Gly-Pro-Gly-Ala-Trp-Gln-
 Gly-Gly-Arg-Arg-Lys-Phe-Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-
 Pro-Nle-Pro-Tyr,
 10 (24)Tyr-Leu-Val-Lys-Pro-Arg-Thr-Ser-Arg-Thr-Gly-Pro-Gly-Ala-Trp-Gln-
 Gly-Gly-Arg-Arg-Lys-Phe-Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-
 Pro-Nle-Pro-Phe,
 (25)Z-pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys(Ac)-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe,
 (26)Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met(O),
 15 (27)Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Tyr,
 (28)pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Phe(C1),
 (29)pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Pro-Phe(C1),
 (30)Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Pro-Nal(2),
 (31)Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Nal(2),
 20 (32)Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Pro-Phe(C1),
 (33)Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Phe(C1),
 (34)Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Cha,
 (35)pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Cha-Pro-Phe,
 (36)Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Cha,
 25 (37)Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Pro-
 Phe(C1),
 (38)Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Nle-Gly-Pro-Met-Pro-
 Phe(C1),
 (39)Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Nle-Gly-Pro-Met-Pro-Tyr(I),
 30 (40)Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Nle-Gly-Pro-Met-Pro-
 Tyr(Me) .

本发明中肽的盐，可以是与生理可接受的碱如碱性金属，或酸(有机或无机的酸)构成的，尤其优选生理可接受的酸加成盐。这些盐包括与无机酸(例如盐酸，磷酸，氢溴酸，和硫酸)形成的盐，或与有机酸(如乙酸，甲酸，丙酸，延胡索酸，马来酸，琥珀酸，酒石酸，柠檬酸，苹果酸，草酸，苯甲酸，甲磺酸和苯磺酸)形成的盐。

可从人或其他温血动物的组织或细胞经肽精制法获得天然配体，然后按照下述肽合成方法进行修饰而生产本发明的肽。或，也可不用天然配体做原料而是按照下述肽合成方法来生产这些肽。

当天然配体从人或其他温血动物的组织或细胞中生产时，精制和分离步骤包括，首先将上述组织和细胞匀浆，用酸抽提，然后用多种层析对抽提物进行加工，所述层析如盐析，透析，凝胶过滤，反相层析，离子交换层析，和亲和层析。

如天然配体可按 WO99/33976 (日本专利申请第 220853-1998)所述方法获得。

本发明的肽可用已知的肽合成法生产。如肽的合成可以应用固相和液相的合成方法。靶肽可以通过缩合可能构成本发明的肽的部分肽或氨基酸而生产，将残基部分缩合，然后如果产物有保护基则将保护基消除。已知的缩合方法或消除保护基的方法列于下：

1. M. Bodanszky 和 M. A. Ondetti, 肽合成, Interscience Publishers, New York, 1966.

2. Schoroeder 和 Luebke, 肽, Academic Press, New York, 1965.

3. Nobuo Izumiya 等, 肽合成的基础及实验(Fundamental and Experiments of peptide Synthesis), MARUZEN CO., LTD., 1975.

4. Haruaki Yajima 和 Shunpei Sakakibara, Lecture Series of the Biochemical Experiments 1, Chemistry of Proteins IV, 205, 1977.

5. Haruaki Yajima(编), 药用产品的开发(Development of Pharmaceutical Products(Sequel)卷 14, 肽合成, Hirokawa Shoten.

此反应后，可联合应用多种传统的纯化方法例如溶剂提取，蒸馏，柱层析，液体层析或重结晶来提取和分离本发明的肽。如果经上述方法获得的肽是游离基，可将其用已知方法转变成盐，如果它是相应盐，可将其用已知方法转变成游离基。

为缩合被保护的氨基酸或肽，可应用多种肽合成的活化剂，但是三磷
 5 𨫖，四甲基尿𨫖(tetramethyluroniums)，和碳二亚胺尤为合适。三磷𨫖包括苯
 并三唑-1-基-氧三(吡咯烷𨫖(pyrrolydino))磷𨫖六氟磷酸盐(PyBOP)，和溴三
 (吡咯烷𨫖)磷𨫖六氟磷酸盐(PyBroP)。四甲基尿𨫖包括 2-(1H-苯并三唑-1-
 基)-1,1,3,3-四甲基尿𨫖四氟硼酸盐，和邻(N-琥珀酰亚氨基)-1,1,3,3-四甲基尿
 𨫖四氟硼酸盐。

碳二亚胺包括 DCC，N,N'-二异丙基碳二亚胺，和 N-乙基-N'-(3-二甲
 基氨基丙基)碳二亚胺。在此缩合过程中优选加入消旋抑制剂例如 HONB，
 HOBt，或 HOObt。用于缩合的溶剂选自熟知的用于肽缩合反应的溶剂。

10 如可使用酸性酰胺诸如无水的或水化的 N，N-二甲基甲酰胺，N，N-二
 甲基乙酰胺，和 N-甲基吡咯烷酮，卤化烃诸如二氯甲烷，三氯甲烷，醇类诸
 如三氟乙醇，亚砷诸如二甲亚砷，叔胺例如吡啶，醚类诸如二噁烷和四氢呋
 喃，腈诸如乙腈和丙腈，酯诸如乙酸乙酯和乙酸甲酯，或这些物质的合适的
 混合物。

15 可以从已知的肽成键反应温度范围选择反应的温度，通常在-20℃到 50
 ℃之间。一般使用 1.5-4 倍过量的活化的氨基酸衍生物。在固相合成中，如
 果基于茚三酮反应的实验的结果显示缩合不完全，在不消除保护基的情况下
 重复缩合反应可获得充分的缩合。如果通过重复反应不能获得满意的缩合
 20 的反应。可用醋酸酐或 acetylmidazole 将未反应的氨基酸乙酰化，以不影响后面

原料氨基酸中氨基的保护基包括 Z，Boc，叔戊氧羰基，异冰片基氧羰
 基，4-甲氧基苄氧羰基，Cl-Z，Br-Z，金刚烷基氧羰基，三氟乙酰基，邻苯
 二甲酰基，甲酰基，2-硝基氧硫基(2-nitrophenylsulfenyl)，二苯基磷基硫代基
 (diphenylphosphinothioyl)和 Fmoc。对羧基的保护基包括，如上述作为 R 的
 25 C₁₋₆ 烷基，C₃₋₈ 环烷基，C₇₋₁₄ 芳烷基，也可用丙烯基，2-金刚烷基，4-硝基苄
 基，4-甲氧苄基，4-氯苄基，苯甲酰甲基，苄氧羰基肼，叔丁氧羰基肼和三
 苯甲基肼。

如丝氨酸和苏氨酸的羟基可经酯化作用或醚化作用来保护。适于这种酯
 化作用的基团包括低级(C₂₋₄)烷酰基例如乙酰基和引自有机酸的基团包括芳
 30 酰基如苯甲酰基。适于这种醚化反应的基团包括苯甲基，四氢吡喃基，叔-
 丁基和三苯甲基(Trt)。

对酪氨酸的酚羟基的保护基包括 Bzl, 2,6-二氯苯甲基, 2-硝基苯甲基, Br-Z 和叔-丁基。

对组氨酸咪唑基的保护基包括 Tos, 4-甲氧-2,3,6-三甲苯磺酰基(Mtr), DNP, Bom, Bum, Boc, Trt, 和 Fmoc。

5 对精氨酸胍基的保护基包括 Tos, Z, 4-甲氧-2,3,6-三甲苯磺酰基(Mtr), 对甲氧苯磺基(MBS), 2,2,5,7,8-五甲基苯并二氢吡喃-6-磺基(Pmc), 茱-2-磺基(Mts), 2,2,4,6,7-五甲基二氢苯并呋喃-5-磺基(Pbf), Boc, Z 和 NO₂。

对赖氨酸中侧链氨基的保护基包括 Z, Cl-Z, 三氟乙酰基, Boc, Fmoc, Trt, Mtr 和 4,4-二甲基 2,6-二氧环亚己基(Dde)。

10 对色氨酸吲哚的保护基包括甲酰基(For), Z, Boc, Mts 和 Mtr。

对天冬酰胺和谷氨酰胺的保护基包括 Trt, 咕吨基(Xan), 4,4'-二甲氧二苯甲基(Mbh)和 2,4,6-三甲氧苯基(Tmob)。

原料的活化羧基包括, 如相应酸酐, 叠氮化合物, 活化酯[醇(如与五氯酚, 2,4,5-三氯酚, 2,4-二硝基酚的酯, 氟甲基醇, 对硝基苯酚, HONB, N-羟基琥珀酰亚胺(suximide), 和 1-羟基苯并三唑(HOBT))]. 原料的活化氨基包括, 如相应的亚磷酰胺。

消除保护基的方法包括在催化剂如钯黑和 Pd/C 存在的条件下催化流动氢的还原; 用以下物质酸处理, 无水氟化氢, 甲磺酸, 三氟甲磺酸, 三氟乙酸, 溴三甲基硅烷/三甲基硅烷基溴化物(TMSBr), 三甲基硅烷基三氟甲磺酸, 四氟硼酸, 三(三氟)硼, 三溴化硼, 或以上这些的混合物; 用二异丙基乙胺, 三乙胺, 吡啶, 或哌嗪进行碱处理; 和在液氨中用钠进行还原。

25 当于-20 至 40℃进行酸处理的消除反应时, 加入阳离子清除剂如茴香醚, 酚, 硫代茴香醚, 间甲酚, 和对甲酚; 和二甲基硫化物, 1,4-丁二硫醇, 或 1,2-乙二硫醇较有效。用作组氨酸的咪唑保护基的 2,4-二硝基苯基用苯硫酚处理以消除, 用作色氨酸吲哚保护基的甲酰基可用稀释的氢氧化钠或稀释的氨进行碱处理来消除, 而不是在 1,2-乙二硫醇, 或 4-丁二硫醇存在时进行酸处理而去保护。

对不参与原料与保护基反应的功能基团的保护, 以及对保护基的消除和参与反应的功能基团的活化可从已知基团或已知方法中适当选择。

30 获得肽酰胺的方法包括: 使用适于合成酰胺形式或使氨基酸羧基端 α -羧基酰化的树脂进行固相合成, 向氨基端延长肽链到所需长度, 产生仅去除

所述肽链 N 末端 α -氨基的保护基的肽和只去除所述肽链 N 末端羧基的保护基的肽(或氨基酸),并在上述的混合溶剂中缩合这两种肽而获得肽酰胺。缩合反应详述如上。将经缩合反应获得的被保护的肽纯化之后,消除所有保护基以获得所需粗制多肽。这些粗制多肽可用任何已知的纯化方法纯化,并且

5 将主要级分冻干以获得所需肽酰胺。

为获得所述肽酯,在用所选醇与氨基酸羧基末端的 α -羧基缩合以获得氨基酸的酯后,可用类似于获得肽酰胺的方式获得所需肽酯。

本发明的肽可以是与已知功能或性质的蛋白质结合的融合蛋白。

10 本发明的肽可被用于①研究本发明的肽的生理活性,②开发应用了重组受体蛋白表达系统的受体结合分析系统和筛选可作为潜在药用产品的待检化合物和③开发药物,例如中枢神经功能调节剂,循环功能调节剂,心脏功能调节剂,免疫功能调节剂,消化功能调节剂,代谢功能调节剂或生殖器官功能调节剂。

15 特别是,因为筛选包括人类在内的温血动物的 G 蛋白偶联型受体蛋白的特异性激动剂或拮抗剂可通过下述使用重组 G 蛋白偶联型受体蛋白表达系统的受体结合分析系统进行,所述激动剂或拮抗剂可被用作预防或治疗药物。

而且,关于上面③,因为本发明的肽被鉴定为中枢神经系统,循环系统,心脏,免疫系统,消化系统,代谢系统,或生殖系统表达的 G 蛋白偶联型受体蛋白的配体,所以这些肽是有效的低毒性安全药物。因为本发明的肽参与
20 中枢神经的活动,循环功能,心脏功能,免疫功能,消化功能,代谢功能,或生殖器官功能,因此它们可被用作下列疾病的治疗或预防药物,这些疾病例如:痴呆包括与老年性痴呆有关的痴呆,脑血管性痴呆,与全身退化型的退化性疾病有关的痴呆(例如阿尔茨海默氏病,帕金森氏病,皮克病,亨廷顿病),与感染性疾病有关的痴呆(例如慢病毒感染诸如 Creutzfeldt-Jakob 病),
25 与内分泌疾病、代谢疾病或中毒性疾病有关的痴呆(例如甲状腺机能减退,维生素 B12 缺乏病,酒精中毒,和各种药物,金属或有机化合物中毒),与肿瘤性疾病(例如脑肿瘤)有关的痴呆,和与创伤病(例如慢性硬膜下血肿)有关的痴呆;抑郁症; ADHD(小脑功能异常)综合征;意识障碍;焦虑症;精神分裂症;恐怖症;生长激素分泌紊乱(例如巨人症,肢端肥大症);多语症;贪
30 食症;高胆固醇血症;高甘油酯血症;高脂血症;高催乳激素血症;糖尿病(例如糖尿病的并发症,糖尿病肾病,糖尿病神经病和糖尿病视网膜病);肿

瘤(例如乳腺癌, 淋巴细胞白血病, 肺癌, 膀胱癌, 卵巢癌和前列腺癌); 胰腺炎; 肾脏疾病(例如慢性肾衰, 肾炎); Turner's 综合征; 神经病; 类风湿性关节炎; 脊髓损伤; 短暂缺血发作; 肌萎缩性侧索硬化; 急性心肌梗死; 脊髓小脑退化; 骨折; 外伤; 特应性皮炎; 骨质疏松; 哮喘; 癫痫; 不育症;
5 动脉硬化; 肺气肿; 肺水肿或乳汁减少。而且它们也可被用作术后改善营养状态血压的药剂。

此外, 本发明的肽可被用作对 AIDS(获得性免疫缺陷综合征)等的治疗或预防药物。

当本发明的肽被用作上述药物时, 可按传统方法使用。如口服给药可以用糖衣或必要时的肠溶衣片剂, 胶囊, 酏剂或微胶囊, 非肠道给药以针剂形式例如用水或其他可以药用液体的无菌溶液, 或混悬剂。如通过将所述化合物或其盐与生理可接受的载体, 调味剂, 赋形剂, 载色剂, 防腐剂, 稳定剂和结合剂以生产实践中公认的所需单位剂量形式混合来生产。这些制剂中有效成分的含量应根据指定范围内的合适剂量来决定。
10

可以混合入片剂或胶囊中的添加剂包括, 如结合剂如明胶, 玉米淀粉, 西黄耆胶和阿拉伯胶, 赋形剂, 如结晶纤维素, 填充剂如玉米淀粉, 明胶, 藻酸, 润滑剂如硬脂酸镁, 增甜剂如蔗糖, 乳糖和糖精, 和调味剂如薄荷, 白珠树属卵圆形叶的香精剂和樱桃。当单位制剂形式是胶囊时, 除了上述物质类型也可以包含象油等液体载体。注射用无菌组合物可按照常规方法生产, 其中将活性物质或天然植物油如芝麻油和花生油溶于或悬浮于注射用载色剂如水中。
15
20

注射用水溶液包括, 如生理盐水, 含有葡萄糖和其他佐剂(例如 D-山梨醇, D-甘露醇, 氯化钠)的等渗溶液, 可以将它们与合适的溶解剂联合应用, 溶解剂包括醇(例如乙醇), 多元醇(例如聚丙二醇和聚乙二醇), 非离子表面活性剂(例如 polysorbate 80TM 和 HCO-50)。油类液体包括芝麻油和豆油, 作为溶解剂可以与苯甲酸苄酯或苯甲醇联合应用。
25

它们可以与以下物质联合应用, 如缓冲液(例如磷酸盐缓冲液和醋酸钠), 镇静剂(如苯扎氯铵和盐酸普鲁卡因), 稳定剂(如人血清白蛋白和聚乙二醇), 防腐剂(如苯甲醇和酚)和抗氧化剂。用于注射的制剂通常装入合适的安瓿内。用此方式生产的药物由于其安全性和低毒性可以给与, 如人或哺乳动
30

物(例如小鼠,大鼠,豚鼠,家兔,绵羊,猪,牛,猫,狗,猴, hamadryas 狒狒和黑猩猩)。

口服给药时本发明的肽的剂量,通常对体重 60 公斤的成年患者约 0.1-100mg/天,优选约 1.0-50mg/天,或更优选约 1.0-20mg/天,根据症状而变化。

- 5 非肠道给药时,尽管用药量根据受治疗者,靶器官,症状,或给药方法而变化,但优选如对体重 60 公斤的成年肺气肿患者,静脉注射约 0.01-30mg/天,优选约 0.1-20mg/天,更优选约 0.1-10mg/天。其他动物可按相当于 60 公斤的剂量给药。

- 与上述本发明的肽相关的 G 蛋白偶联型受体蛋白可以是来源于人或哺乳动物如温血哺乳动物(例如家兔,绵羊,山羊,大鼠,小鼠,豚鼠,牛,马,猪)和禽类(例如小鸡,鸽子,鸭,鹅,鹌鹑)的任何组织(例如垂体,胰腺,脑,肾,肝,生殖腺,甲状腺,胆囊,骨髓,肾上腺,皮肤,肌肉,肺,胃肠道,血管,和心脏)或细胞的 G 蛋白偶联型受体蛋白,并可以是包含等同于或实际等同于 SEQ ID No.: 26 所示氨基酸序列的任何物质。换言之, G 蛋白偶联型受体蛋白除包括含有本说明书中 SEQ ID No.: 26 所示氨基酸序列的蛋白质外,还包括含有与本说明书中 SEQ ID No.: 26 所示氨基酸序列有约 90-99.9% 同源性的氨基酸序列的蛋白质,及包括与含有本说明书中 SEQ ID No.: 26 所示氨基酸序列的那些蛋白质有实际上相同活性的蛋白质。

- 20 这些蛋白质表现的活性包括,如配体结合活性和信号转导活性。“实际上相同”意思是配体结合活性是性质相同的。因此,定量因素如配体结合活性的强度或诸如受体蛋白的分子量等因素可以是不同的。

- 25 另外, G 蛋白偶联型受体蛋白包括那些 N 末端的 Met 被保护基(例如 C₁₋₆ 酰基,包括 C₂₋₆ 烷酰基如甲酰基和乙酰基)所保护的蛋白,那些 Gln 的 N 末端在体内被切割和该 Gln 焦谷氨酸化的蛋白,那些分子中氨基酸残基的侧链被适当的保护基(例如 C₁₋₆ 酰基,有甲酰基和乙酰基)所保护的蛋白,以及偶联蛋白,包括经糖链结合而形成的所谓糖蛋白。

G 蛋白偶联型受体蛋白的盐包括那些与上述肽的盐类似的盐。

G 蛋白偶联型受体蛋白,其盐或部分肽可用已知的蛋白质纯化方法或按照上述已知肽合成法从人或温血动物的组织或细胞中生产。

- 30 对 G 蛋白偶联型受体蛋白的部分肽,如可以使用 G 蛋白偶联型受体蛋白分子中细胞膜外的暴露位点。换言之,它们是包含经 G 蛋白偶联型受体蛋白

白的疏水图谱分析为细胞外区(亲水位点)的部分的肽。类似地,也可应用包含疏水位点的肽。也可应用各自含有每个结构域的肽或同时含有多个结构域的部分肽。

至于 G 蛋白偶联型受体蛋白部分肽的盐,使用那些与上述肽的盐类似的

5 盐。

编码 G 蛋白偶联型受体蛋白的 DNA 可以是包含编码 G 蛋白偶联型受体蛋白的碱基序列的任何 DNA,所述蛋白包含与本说明书 SEQ ID No.: 26 所示氨基酸序列相同或实际相同的氨基酸序列。它们也可以是基因组 DNA,基因组 DNA 文库,从组织或细胞来源的 cDNA,从组织或细胞来源的 cDNA 文库,或合成的 DNA。用于文库的载体可以是噬菌体,质粒,粘粒,或噬菌粒。它们可用组织或细胞 RNA 级分的制备物直接经已知 RT-PCR 方法扩增。

10 更具体地,作为含与本说明书 SEQ ID No.: 26 所示氨基酸序列的 G 蛋白偶联型受体蛋白的编码 DNA,可使用包含本说明书中 SEQ. ID No.: 27 所示碱基序列的 DNA。

15 这里,将本发明的肽或其盐(此后简作本发明的肽等)的用途具体描述如下:

(1)配体肽缺乏症的预防或治疗性药物

根据本发明的肽等具有对抗 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的活性,本发明的肽等可被用作对配体肽或 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)缺乏症的预防或

20 治疗药物。

例如,如果某患者因体内 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)减少而不希望有配体的生理活性,诸如调节中枢神经功能,循环功能,心脏功能,免疫功能,消化功能,代谢功能和生殖器官功能,那么通过给予患者本发明的肽等以增加该患者体内配体肽的量,可使配体肽的活性充分有效。因此本发明的肽可

25 被用作对配体肽缺乏症的安全和低毒性的预防或治疗药物。

(2)定量测定 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的配体肽

因为本发明的肽等具有与 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)或其盐以及所述受体蛋白的部分肽或其盐结合的能力,因此可以高度敏感地测定 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)或其盐,或所述受体蛋白的部分肽,它们的酰胺,酯,或盐

30 的体内浓度。

对该 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的部分肽, 如可应用在 G 蛋白偶联型受体蛋白分子中暴露于细胞膜外的位点。换言之, 它们是包含通过 G 蛋白偶联型受体蛋白的疏水图谱分析为细胞外区(亲水位点)的部分的肽。类似地, 也可应用包含疏水位点的肽。也可应用各自含有每个结构域的肽或同时含有多个结构域的部分肽。

G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)部分肽的酰胺和酯可用获得本发明的肽的酰胺和酯的方法获得。类似于本发明肽盐的盐可被用作 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)部分肽的盐。

如该定量试验可与竞争试验联合应用。

换言之, 在标本中 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)或其盐, 或 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的部分肽, 它们的酰胺, 酯, 或盐的浓度, 可通过将其与本发明的肽等接触而测定。更详细地, 可按照诸如下面①和②描述的或与其类似的已知方法。

① Hiroshi Irie, 主编, 放射免疫分析, Kodansha, 1974

② Hiroshi Irie, 主编, 放射免疫分析(续), Kodansha, 1979

③ 筛选可能改变 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)和本发明的肽等的结合能力的化合物

可能改变本发明的肽等和 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的结合能力的化合物(例如肽, 蛋白质, 非肽化合物, 合成的化合物和发酵产物)或其盐, 可通过使用 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)或其盐, 或该受体蛋白部分肽, 它们的酰胺, 酯, 或盐筛选, 或通过建立重组受体蛋白(APJ)表达系统和使用与该表达系统的受体结合分析系统。这些化合物包括通过 G 蛋白偶联型受体(APJ)发挥细胞刺激活性(例如促进或抑制花生四烯酸释放, 乙酰胆碱释放, 细胞内钙释放, 细胞内 cAMP 产生, 细胞内 cGMP 产生, 磷酸肌醇产生, 膜电位变化, 细胞内蛋白质磷酸化, 和 c-fos 激活或 pH 值降低等活性)的化合物(G 蛋白偶联型受体的激动剂)和不包含所述的细胞刺激活性的化合物(G 蛋白偶联型受体的拮抗剂)。“改变结合能力”指抑制与本发明的肽等的结合和促进此结合。

也就是, 本发明提供筛选上述可能改变本发明的肽等和 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)结合能力的化合物或其盐的方法, 其特征为比较: (i)本发明的肽等与 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)或其盐, 或该受体蛋白的部分肽或其

盐相接触的情况和(ii)本发明的肽等和待检化合物与上述 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)或其盐, 或该受体蛋白部分肽, 它们的酰胺, 酯, 或盐接触的情况。

5 在本发明的筛选过程中, 在(i)本发明的肽等与上述 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ), 或该受体蛋白的部分肽相接触的情况和 (ii)本发明的肽等和待测化合物与上述上述 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ), 或该受体蛋白部分肽接触的情况中, 测定并比较本发明的肽等对 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)或该受体蛋白的部分肽的结合活性或细胞刺激活性。

本发明的筛选过程详细包括:

10 ① 筛选上述可能改变本发明的肽等和 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的结合能力的化合物或其盐的方法, 其特征的显示通过在将本发明的标记肽等与上述 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)或其盐, 或 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的部分肽或其酰胺、酯、或盐相接触的情况下, 和将本发明的标记肽等和待检化合物与 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)或其盐, 或 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的部分肽, 它们的酰胺, 酯, 或盐接触的情况下, 判定本发明的标记肽等对该 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)或该受体蛋白部分肽, 它们的酰胺, 酯, 或盐的结合能力并将它们对比。

20 ② 筛选上述可能改变本发明的肽等和 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的结合能力的化合物或其盐的方法, 其特征的显示通过在将本发明的标记肽等与包含 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的细胞或该细胞的膜部分接触的情况下, 和将本发明的标记肽等和待测化合物与包含 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的细胞或该细胞的膜部分接触的情况下, 判定本发明的标记肽等对细胞或细胞的膜部分的结合能力并将它们对比。

25 ③ 筛选上述可能改变本发明的肽等和 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的结合能力的化合物或其盐的方法, 其特征的显示通过在将本发明的标记肽等与经培养含有编码 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)DNA 的转化体而在细胞膜上表达的 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)相接触的情况下, 和将本发明的标记肽等和待测化合物与经培养含有编码 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)DNA 的转化体而在细胞膜上表达的 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)接触的情况下, 判定
30 与该 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)结合的本发明的标记肽等的结合能力并将它们对比。

④ 筛选上述可能改变本发明的肽等和 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的结合能力的化合物或其盐的方法,其特征的显示通过在将激活 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的化合物(例如本发明的肽)与包含 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的细胞接触的情况下,和将激活 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的化合物
5 和待测化合物与包含 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的细胞接触的情况下,判定通过 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)发挥作用的细胞刺激活性(例如促进或抑制花生四烯酸释放,乙酰胆碱释放,细胞内钙释放,细胞内 cAMP 产生,细胞内 cGMP 产生,磷酸肌醇产生,膜电位变化,细胞内蛋白质磷酸化,和 c-fos 激活或 pH 值降低等活性)并将它们对比。

10 ⑤ 筛选上述可能改变本发明的肽等和 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的结合能力的化合物或其盐的方法,其特征的显示通过在将激活 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的化合物(例如本发明的肽)与经培养含有编码 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)DNA 的转化体而在细胞膜上表达的 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ),和将激活 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的化合物和待测化合物与经培
15 养含有编码 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)DNA 的转化体而在细胞膜上表达的 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)接触的情况下,判定通过 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)发挥作用的细胞刺激活性(例如促进或抑制花生四烯酸释放,乙酰胆碱释放,细胞内钙释放,细胞内 cAMP 产生,细胞内 cGMP 产生,磷酸肌醇产生,膜电位变化,细胞内蛋白质磷酸化,和 c-fos 激活或 pH 值降低等活性)
20 并将它们对比。

这里,将本发明的筛选过程详细描述如下:

首先,用于本发明筛选过程的 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)可以是包含上述 G 蛋白偶联型受体蛋白或基部分肽的任何物质,优选人或温血动物器官的膜部分。然而,因为人源器官的获得性尤其受到限制,所以使用重组体大
25 量表达的 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)更适合于筛选。

当使用包含 G 蛋白偶联型受体蛋白的细胞或该细胞的膜部分实施本发明的筛选时可以应用后述的制备方法。

当使用包含 G 蛋白偶联型受体蛋白的细胞时,可以将该细胞用戊二醛或福尔马林固定。固定方法可以按照任何已知的方法完成。

包含 G 蛋白偶联型受体蛋白的细胞指表达 G 蛋白偶联型受体蛋白的宿主细胞。用作宿主的可以是埃希菌属, 芽孢杆菌属, 酵母, 昆虫或昆虫细胞, 和动物细胞。

对于埃希菌属, 使用大肠埃希菌 K12/DH1[美国国家科学院院报
5 (Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA), 第 60 卷, 160(1968)], JM103[核酸研究(Nucleic Acids Research), 第 9 卷, 309(1981)], JA221[分子生物学杂志, 第 20 卷, 517(1978)], HB101[分子生物学杂志, 第 41 卷, 459(1969)], 和 C600[遗传学, 第 39 卷, 440(1954)]。

对于芽孢杆菌属, 使用如枯草芽孢杆菌 MI114[基因, 第 24 卷, 255(1983)]
10 和 207-21[生物化学杂志, 第 95 卷, 87(1984)]。

对于酵母, 使用如酿酒酵母 AH22, AH22R⁻, NA87-11A, DKD-5D 和 20B-12。

对于昆虫, 使用如蚕的幼虫[自然, 第 315 卷, 592(1985)]。

对于昆虫细胞, 如果使用 AcNPV 病毒, 可以使用草地夜蛾(*Spondoptera*
15 *frugiperda*)细胞(Sf 细胞), 粉纹夜蛾(*Trichoplusia ni*)中肠的 MG1 细胞, 粉纹夜蛾卵的 High FiveTM 细胞, 甘蓝夜蛾(*Mamestra brassicae*)的细胞或 *Estigmena acrea* 的细胞。如果病毒是 BmNPV, 使用家蚕(*Bombyx mori*)的 N 细胞。至于 Sf 细胞, 使用如 Sf9 细胞(ATCC CRL1711), Sf21 细胞[均见 Vaughn, J.L. 等, 体外(in Vitro), 第 13 卷, 13, 213-217(1977)]。

20 对于动物细胞, 使用猴 COS-7 细胞, Vero 细胞, 中国仓鼠 CHO 细胞, DHFR 缺陷的中国仓鼠 CHO 细胞(dhfr-CHO 细胞), 小鼠 L 细胞, 小鼠 3T3 细胞, 小鼠骨髓瘤细胞, 人类 HEK293 细胞, 人 FL 细胞, 293 细胞, C127 细胞, BALB3T3 细胞和 Sp-2/O 细胞。

膜部分指在破碎细胞后通过任何已知的方法所获得的富含细胞膜的部分。
25 破碎细胞的方法包括用 Potter-elvehjem 型匀浆器压碎细胞, 用 Waring 搅拌器或 Polytron(Kinematica AG)破碎细胞, 用超声或用 French press 加压将细胞从细喷嘴处吹出。

细胞膜的分级分离主要应用离心分级分离诸如差速离心和密度梯度离心。
30 如细胞破碎后将流体短时间(通常约 1-10 分钟)低速离心(500rpm-3,000rpm), 将上清用较高速离心(15,000rpm-30,000rpm)通常离心 30 分钟至 2

小时以获得膜部分的沉淀。该膜部分富含表达的 G 蛋白偶联型受体蛋白和诸如细胞来源的磷脂和膜蛋白等膜成分。

每个细胞内 G 蛋白偶联型受体蛋白的量和包含该 G 蛋白偶联型受体蛋白的膜部分优选 10^3 - 10^8 个分子，最佳为 10^5 - 10^7 个分子。现表明每个膜部分表达量越多则配体结合活性越高(比活性)，因此可以建立高敏感度筛选系统且更多标本可以同一批被测定。

进行上述①至③程序以筛选可以改变本发明的肽等和 G 蛋白偶联型受体的结合能力的化合物，可使用适当的 G 蛋白偶联型受体级分和本发明的标记的肽等。G 蛋白偶联型受体级分优选天然型 G 蛋白偶联型受体部分，或有相同活性的重组 G 蛋白偶联型受体部分。相同活性这里指相同的配体结合活性等。作为标记的配体，使用标记的配体，标记配体的类似化合物等。如可使用 [^3H]， [^{125}I]， [^{14}C] 或 [^{35}S] 标记的配体。

更详细地，为筛选可以改变本发明的肽等和 G 蛋白偶联型受体蛋白结合能力的化合物，首先，用包含该 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的悬浮细胞和膜部分在合适的筛选缓冲液中进行受体制备。缓冲液可以是任何不抑制配体与受体结合的缓冲液诸如磷酸盐缓冲液 pH4-10(优选 pH6-8)和 Tris-盐酸缓冲液。为了降低非特异性结合，可以向缓冲液中加入表面活性剂诸如 CHAPS，吐温 80TM(Kao-Atlas)，毛地黄皂苷和脱氧胆酸。而且，为抑制受体或本发明的肽等分解，可以加入蛋白酶抑制剂诸如 PMSF，亮抑蛋白酶肽，E-64(Peptide Institute Inc.)和胃蛋白酶抑制剂。将一定量(5,000cpm-50,000cpm)的本发明的标记的肽等加入 0.01ml-10ml 该受体溶液，将 10^{-4} - $10^{-1} \mu\text{M}$ 待测化合物与之共存。为了解非特异性结合(NSB)，试管中加入极过量的本发明非标记肽等制备反应管。在 0°C - 50°C ，优选 4°C - 37°C ，反应 20 分钟-24 小时，优选，30 分钟-3 小时。反应后，用玻璃纤维滤纸过滤，用适量的同样缓冲液冲洗，玻璃纤维滤纸上残留的放射活性用液体闪烁计数器或 γ -计数器测量。以(B0-NSB)计数，即不含竞争物质的计数(B0)与非特异性结合(NSB)计数的差作为 100%，如果待测化合物的非特异性结合(NSB)不超过如 50%，则为有竞争抑制能力的待选化合物。

为筛选可能改变本发明的肽等和 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的结合能力的化合物，可以使用已知方法或可商业得到的测定试剂盒判定通过 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)发挥作用的细胞刺激活性(例如促进或抑制花生四烯

酸释放, 乙酰胆碱释放, 细胞内钙释放, 细胞内 cAMP 产生, 细胞内 cGMP 产生, 磷酸肌醇产生, 膜电位变化, 细胞内蛋白质磷酸化, 和 c-fos 激活或 pH 值降低等活性)。

更详细地, 首先, 将包含 G 蛋白偶联型受体蛋白的细胞在多孔平板上
5 培养。当进行筛选时, 先置换新鲜培养基或对细胞无毒性的缓冲液, 在提取细胞或回收上清以判断经相应方法所得产物之前, 加入待测化合物并保温一定时间。当利用细胞内的分解代谢酶测定作为细胞刺激活性指示剂的物质(例如花生四烯酸)的产生有困难时, 可加入该分解代谢酶的抑制剂进行测定。可以监测 cAMP 生成的抑制活性等活性, 作为细胞抑制活性, 所述细胞
10 受毛喉素等刺激而导致基本生产量增加。

为通过测定细胞刺激活性进行筛选, 需要表达相应 G 蛋白偶联型受体蛋白的细胞。对于表达本发明的 G 蛋白偶联型受体蛋白的细胞, 上述表达重组 G 蛋白偶联型受体蛋白的细胞系是合适的。

待测化合物包括肽, 蛋白, 非肽化合物, 合成的化合物, 发酵产物, 细胞
15 提取物, 植物提取物和动物组织提取物, 新化合物或已知化合物均可。

筛选可能改变本发明的肽等和 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的结合能力的化合物的试剂盒中包括: G 蛋白偶联型受体蛋白或其盐; G 蛋白偶联型受体蛋白的部分肽, 它们的酰胺, 酯, 或盐; 包含 G 蛋白偶联型受体蛋白的细胞; 或包含 G 蛋白偶联型受体蛋白的细胞的膜部分; 和本发明的肽等。

20 本发明的筛选试剂盒包括以下:

1. 筛选试剂

① 筛选用缓冲液和冲洗缓冲液

加有 0.05% 牛血清白蛋白(Sigma)的 Hank' s 平衡盐溶液(Gibco)

可以用 0.45 μ m 孔径过滤器过滤以灭菌并在 4℃ 贮存, 或可以在临用前
25 配置。

② G 蛋白偶联型受体(APJ)的制备

将表达 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的 CHO 细胞在 12 孔板上传代培养, 每孔 5×10^5 细胞, 37℃, 5% 二氧化碳和 95% 空气保温培养二天。

③ 本发明的标记的肽等

30 本发明的肽等用 [^{3} H], [^{125} I], [^{14} C] 或 [^{35} S] 标记, 溶于合适的溶剂或缓冲液, 贮存于 4℃ 或 -20℃, 并在临用前用试验缓冲液稀释至 1 μ M。

④本发明的肽等的标准溶液

将本发明的肽等溶于含 0.1%牛血清白蛋白(Sigma)的 PBS 至 1mM 并贮存于-20℃。

2. 试验

5 ① 将在 12 孔组织培养平板上培养的 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的细胞用 1ml 试验缓冲液冲洗 2 次后, 每孔加入试验缓冲液 490 μ l。

② 加入 5 μ l 10^{-3} - 10^{-10} M 待测化合物溶液后, 加入 5 μ l 本发明标记的肽等, 在室温下反应 1 小时。为了解非特异结合的量, 用 5 μ l 10^{-3} M 配体代替待测化合物加入。

10 ③ 弃去反应溶液后, 用 1ml 冲洗缓冲液冲洗三次。将与细胞结合的本发明的肽等溶于 0.2N NaOH-1%SDS, 并与 4ml 液闪剂(Wako Pure Chemical Industries, Ltd.)混合。

④ 用液体闪烁计数器(Beckman)测定放射活性并用下面的公式计算 [公式 1]

15 [公式 1]

$$PBM = [(B - NSB) / (B_0 - NSB)] \times 100$$

PMB: 最大结合百分数

B : 加入标本时的值

NSB: 非特异结合量

20 B₀ : 最大结合量

用本发明的筛选过程或筛选试剂盒获得的化合物和其盐是改变(抑制或促进结合)本发明的肽等与 G 蛋白偶联型受体(APJ)结合能力的化合物, 或更具体地, 是通过 G 蛋白偶联型受体发挥细胞刺激活性的化合物和其盐(所谓的 G 蛋白偶联型受体激动剂)或有该刺激活性的化合物(所谓的 G 蛋白偶联型受体拮抗剂)。所述化合物包括肽, 蛋白, 非肽化合物, 合成的化合物, 发酵产物, 细胞提取物, 新化合物或已知的化合物均可。

评定是否是 G 蛋白偶联型受体激动剂或拮抗剂的方法可以按照下述(i)或(ii)的方法。

30 (i) 进行上述①-③的结合试验以获得改变本发明的肽等和 G 蛋白偶联型受体(APJ)的结合能力的化合物(尤其地, 抑制结合者)后, 鉴定该化合物是否具有通过 G 蛋白偶联型受体(APJ)发挥的细胞刺激活性。没有细胞刺激活

性的化合物是 G 蛋白偶联型受体拮抗剂,有该活性的化合物或其盐是 G 蛋白偶联型受体激动剂。

- (ii) (a)将待测化合物与包含 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的细胞接触,判定通过 G 蛋白偶联型受体(APJ)发挥作用的细胞刺激活性。具有细胞刺激活性的化合物或其盐是 G 蛋白偶联型受体激动剂。(b)使激活 G 蛋白偶联型受体的化合物(例如本发明的肽等或 G 蛋白偶联型受体激动剂)与包含 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的细胞接触,以及使激活 G 蛋白偶联型受体的化合物(例如本发明的肽等或 G 蛋白偶联型受体激动剂)和待测化合物与包含 G 蛋白偶联型受体蛋白(APJ)的细胞接触,判定并比较通过 G 蛋白偶联型受体(APJ)发挥作用的细胞刺激活性。细胞刺激活性受 G 蛋白偶联型受体(APJ)激活后,可降低该活性的化合物或其盐是 G 蛋白偶联型受体拮抗剂。

因为该 G 蛋白偶联型受体的激动剂具有类似于本发明的肽等针对 G 蛋白偶联型受体(APJ)之生理活性的活性,其可作为安全、低毒性药物使用,如本发明的肽等一样。

- 另一方面,因为 G 蛋白偶联型受体拮抗剂可以抑制本发明的肽等针对 G 蛋白偶联型受体(APJ)的生理活性,所以它可作为抑制该受体活动安全、低毒性、药物使用。

- 因为本发明的肽等参与中枢神经功能,循环功能,心脏功能,免疫功能,消化功能,代谢功能,或生殖器官功能的活动,故上述的激动剂或拮抗剂可被用作疾病的治疗或预防药物,这些疾病诸如:痴呆包括与老年性痴呆有关的痴呆,脑血管性痴呆,与全身退化型的退化性疾病有关的痴呆(例如阿尔茨海默氏病,帕金森氏病,皮克病,亨廷顿病),与感染性疾病有关的痴呆(例如慢病毒感染诸如 Creutzfeldt-Jakob 病),与内分泌疾病,代谢疾病或中毒性疾病有关的痴呆,(例如甲状腺机能减退,维生素 B12 缺乏病,酒精中毒,和各种药物,金属或有机化合物中毒),与肿瘤性疾病(例如脑肿瘤)有关的痴呆,和与创伤病(例如慢性硬膜下血肿)有关的痴呆;抑郁症; ADHD(小脑功能异常)综合征;意识障碍;焦虑症;精神分裂症;恐怖症;生长激素分泌紊乱(例如巨人症,肢端肥大症);多语症;贪食症;高胆固醇血症;高甘油酯血症;高脂血症;高催乳激素血症;低血糖;垂体机能减退;垂体性侏儒症;糖尿病(例如糖尿病的并发症,糖尿病肾病,糖尿病神经病和糖尿病视网膜病);肿瘤(例如乳腺癌,淋巴细胞白血病,肺癌,膀胱癌,卵巢癌和前列腺

癌); 胰腺炎; 肾脏疾病(例如慢性肾衰, 肾炎); Turner's 综合征; 神经病; 类风湿性关节炎; 脊髓损伤; 短暂缺血发作; 肌萎缩性侧索硬化; 急性心肌梗死; 脊髓小脑退化; 骨折; 外伤; 特应性皮炎; 骨质疏松; 哮喘; 癫痫; 不育症; 动脉硬化; 肺气肿; 肺水肿或乳汁减少。而且它们也可被用作镇静催眠药, 改善术后患者营养状态的药剂和血管加压药和降压药。

此外, 本发明的肽可被用作对 AIDS(获得性免疫缺陷综合征)等的治疗或预防药物。

用上述筛选过程或筛选试剂盒所获得的化合物的盐可以是如可以药用的盐。如这些盐包括与无机碱形成的盐, 与有机碱形成的盐, 与无机酸形成的盐, 与有机酸形成的盐, 与碱性的或酸性的氨基酸形成的盐。

优选的与无机碱形成的盐有碱性金属盐例如钠盐和钾盐, 碱土金属盐例如钙盐和镁盐, 铝盐, 或铵盐。

与有机碱形成的盐优选的例子包括与三甲胺, 三乙胺, 吡啶, 甲基吡啶, 2,6-二甲基吡啶, 乙醇胺, 二乙醇胺, 三乙醇胺, 环己胺, 二环己胺或 N, N'-二苄乙烯二胺形成的盐。

与无机酸的盐的优选例子包括盐酸, 氢溴酸, 硫酸或磷酸的盐。

与有机酸的盐的优选例子包括与甲酸, 乙酸, 丙酸, 反丁烯二酸, 草酸, 酒石酸, 顺丁烯二酸, 柠檬酸, 琥珀酸, 苹果酸, 甲磺酸, 苯磺酸, 苯甲酸的盐。

与碱性氨基酸的盐的优选例子包括与精氨酸, 赖氨酸, 或鸟氨酸的盐。

与酸性氨基酸的盐的优选例子包括与天冬氨酸或谷氨酸的盐。

当用本发明的筛选过程或筛选试剂盒获得的化合物和其盐被用作上述药物时, 它们可与本发明的肽等一样, 以相同方式作为药物使用。

在本说明书和它的图中, 碱基, 氨基酸及其他的缩写依照 IUPAC-IUB 生化命名委员会的指定缩写或相关领域通用的缩写。部分实例如下。

当氨基酸存在光学异构体时, 除非特殊说明都是 L-构型。

DNA : 脱氧核糖核酸

CDNA : 互补的脱氧核糖核酸

A : 腺嘌呤

T : 胸腺嘧啶

G : 鸟嘌呤

	C	: 胞嘧啶
	Y	: 胸腺嘧啶或胞嘧啶
	N	: 胸腺嘧啶, 胞嘧啶, 腺嘌呤或鸟嘌呤
	R	: 腺嘌呤或鸟嘌呤
5	M	: 胞嘧啶或腺嘌呤
	W	: 胸腺嘧啶或腺嘌呤
	S	: 胞嘧啶或鸟嘌呤
	RNA	: 核糖核酸
	mRNA	: 信使核糖核酸
10	dATP	: 脱氧腺苷三磷酸
	dTTP	: 脱氧胸苷三磷酸
	dGTP	: 脱氧鸟苷三磷酸
	dCTP	: 脱氧胞苷三磷酸
	ATP	: 腺苷三磷酸
15	EDTA	: 乙二胺四乙酸
	SDS	: 十二烷基硫酸钠
	EIA	: 酶免疫分析
	Gly 或 G	: 甘氨酸
	Ala 或 A	: 丙氨酸
20	Val 或 V	: 缬氨酸
	Leu 或 L	: 亮氨酸
	Ile 或 I	: 异亮氨酸
	Ser 或 S	: 丝氨酸
	Thr 或 T	: 苏氨酸
25	Cys 或 C	: 半胱氨酸
	Met 或 M	: 蛋氨酸
	Glu 或 E	: 谷氨酸
	Asp 或 D	: 天冬氨酸
	Lys 或 K	: 赖氨酸
30	Arg 或 R	: 精氨酸
	His 或 H	: 组氨酸

	Phe 或 F	: 苯丙氨酸
	Tyr 或 Y	: 酪氨酸
	Trp 或 W	: 色氨酸
	Pro 或 P	: 脯氨酸
5	Asn 或 N	: 天冬酰胺
	Gln 或 Q	: 谷氨酰胺
	PGlu	: 焦谷氨酸
	Me	: 甲基
	Et	: 乙基
10	Bu	: 丁基
	Ph	: 苯基
	Nle	: 正亮氨酸
	Thi	: 2-噻吩丙氨酸
	Phg	: 苯甘氨酸
15	Pya(2)	: 2-吡啶丙氨酸
	Adi(NH ₂)	: 2-氨基己二酸-6 酰胺
	Hyp	: 羟脯氨酸
	Ac-Arg	: N ^ω -乙酰精氨酸
	Lys(Ac)	: N ^ε -乙酰赖氨酸
20	Lys(Me)	: N ^ε -甲基赖氨酸
	Lys(Tos)	: N ^ε -甲苯磺酰赖氨酸
	Arg(Tos)	: N ^ε -甲苯磺酰精氨酸
	Phe(Cl)	: 4-氯苯丙氨酸
	Nal(2)	: 2-萘丙氨酸
25	Cha	: 环己基丙氨酸
	Met(O)	: 蛋氨酸亚砷
	Tyr(Me)	: 邻甲基酪氨酸
	Tyr(I)	: 3-碘酪氨酸
	本说明书中所用的取代基, 保护基, 试剂用下述符号代表。	
30	Tos	: 对甲苯磺酰基
	HONB	: N-羟基-5-降冰片烯-2,3-二羧酰亚胺

	Bzl	: 苄基
	Z	: 苄氧羰基
	Br-Z	: 2-溴苄氧羰基
	Cl-z	: 2-氯苄氧羰基
5	Boc	: 叔丁氧羰基
	HOBt	: 1-羟基苯并三唑
	DCC	: N,N'-二环己基碳二亚胺
	TFA	: 三氟乙酸
	Fmoc	: N-9-芴基甲氧羰基
10	DNP	: 二硝基苯
	Bum	: 叔丁氧甲基
	Trt	: 三苯甲基
	Pbf	: 2,2,4,6,7-五甲基二氢苯并呋喃-5-磺酰基
	HOObt	: 3-羟基-4-氧-3, 4-二氢-1,2,3-苯并三嗪
15	TFE	: 三氟乙醇
	HOAt	: 1-羟基-7-氮杂苯并三唑
	PyBrop	: 溴三(吡咯烷鎓)磷鎓六氟磷酸盐
	TMS-Br	: 三甲基硅烷基溴化物
	TC	: 四氢噻唑-4(R)-羧基酰胺基
20	Bom	: 苄氧甲基
	NMP	: N-甲基吡咯烷酮
	PAM	: 苯乙酰胺甲基
	DCM	: 二氯甲烷
	DMF	: N,N-二甲基甲酰胺
25	DIEA	: N,N-二异丙基乙胺
	Clt	: 2-氯三苯甲基
	For	: 甲酰基

本说明书序列表中的序列编号指下述序列。

- [SEQ ID No.: 1]指实施例 1 中获得的肽的氨基酸序列。
- 30 [SEQ ID No.: 2]指实施例 2 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No.: 3]指实施例 3 中获得的肽的氨基酸序列。

- [SEQ ID No. : 4]指实施例 4 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 5]指实施例 5 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 6]指实施例 6 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 7]指实施例 7 中获得的肽的氨基酸序列。
- 5 [SEQ ID No. : 8]指实施例 8 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 9]指实施例 9 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 10]指实施例 10 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 11]指实施例 11 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 12]指实施例 12 中获得的肽的氨基酸序列。
- 10 [SEQ ID No. : 13]指实施例 13 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 14]指实施例 14 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 15]指实施例 15 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 16]指实施例 16 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 17]指实施例 17 中获得的肽的氨基酸序列。
- 15 [SEQ ID No. : 18]指实施例 18 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 19]指实施例 19 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 20]指实施例 20 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 21]指实施例 21 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 22]指实施例 22 中获得的肽的氨基酸序列。
- 20 [SEQ ID No. : 23]指实施例 23 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 24]指实施例 24 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 25]指实施例 25 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 26]指实施例 26 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 27]指指编码 SEQ ID NO:26 的氨基酸序列的 DNA 序列。
- 25 [SEQ ID No. : 28]指实施例 26 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 29]指实施例 27 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 30]指实施例 28 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 31]指实施例 29 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 32]指实施例 30 中获得的肽的氨基酸序列。
- 30 [SEQ ID No. : 33]指实施例 31 中获得的肽的氨基酸序列。
- [SEQ ID No. : 34]指实施例 32 中获得的肽的氨基酸序列。

[SEQ ID No.: 35]指实施例 33 中获得的肽的氨基酸序列。

[SEQ ID No.: 36]指实施例 34 中获得的肽的氨基酸序列。

[SEQ ID No.: 37]指实施例 35 中获得的肽的氨基酸序列。

[SEQ ID No.: 38]指实施例 36 中获得的肽的氨基酸序列。

5 [SEQ ID No.: 39]指实施例 37 中获得的肽的氨基酸序列。

[SEQ ID No.: 40]指实施例 38 中获得的肽的氨基酸序列。

[SEQ ID No.: 41]指实施例 39 中获得的肽的氨基酸序列。

[SEQ ID No.: 42]指实施例 40 中获得的肽的氨基酸序列。

实施例

10 尽管此后用实施例和实验实施例更详细地描述本发明，但它们不应理解为本发明的范围的限制。

实施例 1 (Leu-Val-Gln-Pro-Arg-Gly-Ser-Arg-Asn-Gly-Pro-Gly-Pro-Trp-Gln-Gly-Gly-Arg-Arg-Lys-Phe-Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe 的生产)

15 将 Fmoc-Phe-OH 导入市售 2-氯三苯甲基树脂(Clt 树脂, 1.3mmol/g)获得 0.25mmol Fmoc-Phe-O-Clt 树脂(0.32mmol/g), 取一份放入肽合成仪 ABI433A 的反应箱中, 以 Fmoc/DCC/HOBt 方法实施固相合成。作为对 Fmoc 氨基酸侧链的保护基, 分别用 Pbf 基保护 Arg, tBu 基保护 Ser, Boc 基保护 Trp 和 Lys, Trt 基保护 His, Asn 和 Gln。所用的其他氨基酸与未保护的侧链, 沿 N
20 末端方向(即上述序列中 Phe 到 Leu 的方向)引进这些氨基酸, 以获得所需被保护的肽树脂。

于室温下将 50mg(4.45mmol)上述树脂在 TFA, 硫代茴香醚, 间甲酚, 水和乙二硫醇(82.5: 5: 5: 5: 2.5)的 1ml 混合物中搅拌两小时后, 加入醚以沉淀出白色粉末, 将其离心, 弃去上清。将这些过程重复三次。残余物用水
25 提取并冻干获得 23.1mg 白色粉末。将获得的粗制肽用 TSK GEL ODS 120T 柱(20×300mm)进行制备层析, 用溶液 A: 0.1%TFA-水和溶液 B: 包含 0.1%TFA 的乙腈以 A/B: 85/15 至 75/25 的线性浓度梯度洗脱 60 分钟, 收集包含所需产物的级分, 经冻干产生 10.2mg 白色粉末。

(M+H)⁺经质谱分析: 4176.0(计算值: 4176.3)

30 HPLC 洗脱时间: 17.8 分钟

洗脱条件:

柱 : YMC A-301-3(4.6×100mm)

洗脱剂: 用溶液 A: 0.1%TFA-水和溶液 B: 包含 0.1%TFA 的乙腈, 以 A/B: 100/0 至 50/50 的线性浓度梯度洗脱(25 分钟)

流速 : 1.0ml/分。

5 实施例 2 (Leu-Val-Gln-Pro-Arg-Gly-Ser-Arg-Asn-Gly-Pro-Gly-Pro-Trp-Gln-Gly-Gly-Arg-Arg-Lys-Phe-Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Tyr 的生产)

把实施例 1 中待导入 2-氯三苯甲基树脂(Clt 树脂, 1.3mmol/g)的氨基酸换成 Fmoc-Tyr(tBu)-OH, 用同样方式实施合成和纯化, 经冻干获得 13.3mg 所需产品的白色粉末。

(M+H)⁺用质谱分析: 4192.0(计算值: 4192.3)

HPLC 洗脱时间: 16.9 分钟

洗脱条件:

柱 : YMC A-301-3(4.6×100mm)

15 洗脱剂: 用溶液 A: 0.1%TFA-水和溶液 B: 包含 0.1%TFA 的乙腈, 以 A/B: 100/0 至 50/50 的线性浓度梯度洗脱(25 分钟)

流速 : 1.0ml/分。

实施例 3 (pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe 的生产)

20 将 Fmoc-Phe-OH 导入市售 2-氯三苯甲基树脂(Clt 树脂, 1.3mmol/g)而获得的 0.25mmol Fmoc-Gly-O-Clt 树脂(0.392mmol/g)一份放入肽合成仪 ABI433A 的反应箱中, 以 Fmoc/DCC/HOBt 方法按顺序导入 Fmoc-Lys(Boc), Fmoc-His(Trt), Fmoc-Ser(tBu), Fmoc-Leu, Fmoc-Arg(Pbf), Fmoc-Pro, Fmoc-Arg(Pbf)和 Boc-Gln 而获得所需被保护的肽树脂。

25 将 1g 树脂放入 AcOH: TFA: DCM(1: 2: 7)的 20ml 混合物中并于室温下搅拌两小时后, 将混合物过滤以除去树脂, 蒸发除去溶剂, 经冻干获得 362mg 被保护的肽 (Boc-Gln-Arg(Pbf)-Pro-Arg(Pbf)-Leu-Ser(tBu)-His(Trt)-Lys(Boc)-Gly-OH)。

30 将 H-Phe-Obzl·HCl 按顺序与 Boc-Pro, Boc-Nle 和 Boc-Pro 缩合获得 180mg Boc-Pro-Nle-Pro-Phe-Bzl。

将 50mg Boc-Gln-Arg(Pbf)-Pro-Arg(Pbf)-Leu-Ser(tBu)-His(Trt)-Lys(Boc)-Gly-OH 和 3.96mg HOAt 溶于 DCM:DMF(4:1)的 700ml 混合物, 加入 19.7ml DIEA, 13.5mg PyBrop 和 18.2mg H-Pro-Nle-Pro-Phe-Obzl·HCl (用 4N-HCl/二噁烷处理 Boc-Pro-Nle-Pro-Phe-Bzl 而制备), 并同时用冰冷却, 除去冰浴后在室温下搅拌 1 小时。加入柠檬酸晶体中和后, 经蒸发除去溶剂并且将加水的固体沉淀用氯仿提取。将其用 1N 盐酸, 饱和碳酸氢钠溶液和饱和盐水洗, 用无水硫酸钠干燥, 蒸发除去溶剂, 加入醚过滤收集粉末并进一步用乙酸乙酯和醚再沉淀而纯化, 获 56mg Boc-Gln-Arg(Pbf)-Pro-Arg(Pbf)-Leu-Ser(tBu)-His(Trt)-Lys(Boc)-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe-Obzl。

10 将上述产物放入 982 μ l 硫代茴香醚, 110 μ l 间甲酚, 215 μ l 三异丙基硅烷和 4ml TFA 的混合物中, 室温搅拌 90 分钟, 然后加入 1.1ml TMS-Br, 冰浴中搅拌 1 小时, 除去冰浴后在 20℃ 水浴中再搅拌 1 小时。此反应后, 经蒸发去除反应液, 向残余物中加入醚离心沉淀出白色粉末, 弃去上清。将这些过程重复三次。残余物用水提取并冻干获得白色粉末。随后, 将获得的白色粉末溶于 80%AcOH 加热至 70℃ 保持 2 小时, 溶液用水稀释和冻干。将获得的粗制肽用 TSK GEL ODS 120T 柱(20×300mm)进行制备层析, 用溶液 A: 0.1%TFA-水和溶液 B: 包含 0.1%TFA 的乙腈以 A/B: 80/29 至 70/30 的线性浓度梯度洗脱 60 分钟, 收集含所需产物的级分, 经冻干产生 14mg 白色粉末。

20 (M + H)⁺用质谱分析: 1515.7(计算值: 1515.9)

HPLC 洗脱时间: 16.8 分钟

洗脱条件:

柱: Wakosil 5C18T(4.6×100mm)

洗脱剂: 用溶液 A: 0.1%TFA-水和溶液 B: 包含 0.1%TFA 的乙腈, 以

25 A/B: 95/5 至 45/55 的线性浓度梯度洗脱(25 分钟)

流速: 1.0ml/分。

实施例 4 (pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Tyr 的生产)

30 将实施例 3 中 H-Phe-Obzl·Hcl 换成 H-Tyr(tBu)·Obzl·Hcl, 以同样方式进行合成和纯化, 获得 29mg 白色粉末。

(M + H)⁺用质谱分析: 1532.0(计算值: 1531.9)

HPLC 洗脱时间：14.6 分钟

洗脱条件：

柱：Wakosil 5C18T(4.6×100mm)

洗脱剂：用溶液 A：0.1%TFA-水和溶液 B：包含 0.1%TFA 的乙腈，以

5 A/B：95/5 至 45/55 的线性浓度梯度洗脱(25 分钟)

流速：1.0ml/分。

实施例 5 (pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro 的生产)

用 H-Pro-OBzl·Hcl 代替实施例 3 中 H-Phe-Obzl·Hcl 合成 Boc-Pro-Nle-Pro-OBzl，以同样方式进行合成和纯化，获得 8mg 白色粉末。

10 (M+H)⁺用质谱分析：1368.4(计算值：1368.8)

HPLC 洗脱时间：13.8 分钟

洗脱条件：

柱：Wakosil 5C18T(4.6×100mm)

洗脱剂：用溶液 A：0.1%TFA-水和溶液 B：包含 0.1%TFA 的乙腈，以

15 A/B：95/5 至 45/55 的线性浓度梯度洗脱(25 分钟)

流速：1.0ml/分。

实施例 6 (pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle 的生产)

用 H-Nle-OBzl·Hcl 代替实施例 3 中 H-Phe-Obzl·Hcl 合成 Boc-Pro-Nle-Pro-OBzl，以同样方式进行合成和纯化，获得 9mg 白色粉末。

20 (M+H)⁺用质谱分析：1272.0(计算值：1271.7)

HPLC 洗脱时间：12.9 分钟

洗脱条件：

柱：Wakosil 5C18T(4.6×100mm)

洗脱剂：用溶液 A：0.1%TFA-水和溶液 B：包含 0.1%TFA 的乙腈，以

25 A/B：95/5 至 45/55 的线性浓度梯度洗脱(25 分钟)

流速：1.0ml/分。

实施例 7 (Ac-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Tyr 的生产)

将 0.5mmol 市售 Boc-Tyr(Br-Z)-OCH₂-PAM 树脂(0.69mmol/g 树脂)放入肽合成仪 ABI430A 的反应箱中，用 Boc-strategy(NMP-HOBt)肽合成方法按顺

30 序引入 Boc-Pro, Boc-Nle, Boc-Pro, Boc-Gly, Boc-Lys(Cl-z), Boc-His(Bom),

Boc-Ser(Bzl), Boc-Leu, Boc-Arg(Tos), Boc-Pro 和 Boc-Arg(Tos), 去除最后一个 Boc 基后, 用醋酸酐乙酰化, 获得所需被保护的肽。

- 将 0.25g 树脂放入 5ml 无水氟化氢中并于 0℃ 与 0.46g 对甲酚搅拌 60 分钟后, 经减压蒸发除去氟化氢, 残余物中加入二乙醚经过滤收集沉淀, 然后用醋酸水溶液提取。提取物充分浓缩并分别用蒸馏水和二乙醚提取, 收集水相以冻干后, 将其用少量醋酸水溶液溶解以便上样于 SephadexTMG-25 柱(2.0 × 80cm), 用此溶液充填柱并用此溶液显层, 收集主要级分经冻干获得 53mg 白色粉末。将该产物上样于反相层析柱(2.6 × 60cm)并用 200ml 0.1%TFA 水溶液冲洗, 用 300mg 0.1%TFA 水溶液和含 0.1%TFA 的 300ml 33%乙腈水溶液进行线性梯度洗脱, 将乙腈浓度约 20%的级分冻干获得 30mg 白色粉末。

(M + H)⁺用质谱分析: 1462.4(计算值: 1462.8)

实施例 8 (Ac-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro 的生产)

按顺序将氨基酸导入市售 Boc-Pro-OCH₂-PAM 树脂中, 用与实施例 7 中相同的方式完成合成和纯化, 获得 73mg 目的产物的白色粉末。

- 15 (M + H)⁺用质谱分析: 1299.5(计算值: 1299.8)

实施例 9 (Ac-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle 的生产)

将 Boc-Nle(0.57mmol/g)导入市售氯甲基树脂中进行肽合成, 用与上面相同的方式完成合成和纯化, 获得 29mg 目的产物的白色粉末。

(M + H)⁺用质谱分析: 1202.9(计算值: 1202.7)

- 20 实施例 10 (pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys(Ac)-Gly-Pro-Met-Pro-Phe 的生产)

使用市售 Boc-Phe-OCH₂-PAM 树脂(0.72mmol/g 树脂), 将 Boc-Lys(Cl-z)换成 Boc-Lys(Ac), Boc-Nle 换成 Boc-Met, 按与实施例 7 中相同的顺序导入氨基酸。不进行最后的乙酰化, 而是在与每个 Boc-氨基酸相同的条件下将 Z-pGlu 导入。将树脂用实施例 7 的方式进行氟化氢处理和纯化获得 70mg 目的产物的白色粉末。

(M + H)⁺用质谱分析: 1575.5(计算值: 1575.8)

实施例 11 (pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys(Me)-Gly-Pro-Met-Pro-Phe 的生产)

- 30 将实施例 10 中的 Boc-Lys(Ac)换成 Boc-Lys(Me-Boc), 以同样方式完成合成和纯化, 获得目的产物的白色粉末 35mg。

(M+H)⁺用质谱分析：1547.5(计算值：1547.8)

实施例 12 (pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys(Ac)-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe 的生产)

将实施例 10 中的 Boc-Met 换成 Boc-Nle，以同样方式完成合成和纯化，

5 获得目的产物的白色粉末 58mg。

(M+H)⁺用质谱分析：1558.1(计算值：1557.9)

实施例 13 (pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys(Me)-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe 的生产)

将实施例 11 中的 Boc-Met 换成 Boc-Nle，以同样方式完成合成和纯化，

10 获得目的产物的白色粉末 58mg。

(M+H)⁺用质谱分析：1529.6(计算值：1529.9)

实施例 14 (pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys(Tos)-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe 的生产)

将实施例 12 中的 Boc-Lys(Ac)换成 Boc-Lys(Tos)，以同样方式完成合成

15 和纯化获得目的产物的白色粉末 60mg。

(M+H)⁺用质谱分析：1670.2(计算值：1669.9)

实施例 15 (pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Arg(Tos)-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe 的生产)

使用与实施例 1 中相同的 Fmoc-Phe-O-Clt 树脂，用同样的方式导入靶氨

20 基酸序列。至于 Fmoc 氨基酸侧链的保护基，Tos 基仅用于保护第一个导入的 Arg，其余的 Arg 用 Pbf 基保护，Ser 用 tBu 基保护，Trp 和 Lys 用 Boc 基保护，His，Asn 和 Gln 用 Trt 基保护。其他氨基酸使用与未保护侧链的氨基酸或用未保护的 pGlu，以与实施例 1 相同的方式完成合成和纯化，获得目的产物的白色粉末 40mg。

25 (M+H)⁺用质谱分析：1697.7(计算值：1697.9)

实施例 16 (pGlu-Arg-Pro-Arg-Nle-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe 的生产)

以与实施例 15 相同的方式经使用 Pbf 作为所有 Arg 侧链的保护基，完成合成和纯化，获得目的产物的白色粉末 66mg。

30 (M+H)⁺用质谱分析：1515.8(计算值：1515.9)

实施例 17 (pGlu-Arg-Pro-Arg-Nle-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Tyr 的生产)

使用实施例 7 的可市售 Boc-Tyr(Br-Z)-OCH₂-PAM 树脂(0.69mmol/g 树脂), 将实施例 10 中的 Boc-Lys(Ac)换成 Boc-Lys(Cl-Z), 将 Boc-Leu 换成
5 Boc-Nle, 以同样方式完成合成和纯化, 获得目的产物的白色粉末 37mg。

(M+H)⁺用质谱分析: 1531.6 (计算值: 1531.9)

实施例 18 (pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Thi 的生产)

将实施例 3 中的 Phe 换成 Thi, 以同样方式完成合成和纯化, 获得目的
10 产物的白色粉末 21mg。

(M+H)⁺用质谱分析: 1521.7 (计算值: 1521.8)

实施例 19 (pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Phg 的生产)

将实施例 3 中的 Phe 换成 Phg, 以同样方式完成合成和纯化, 获得目的
15 产物的白色粉末 16mg。

(M+H)⁺用质谱分析: 1501.4 (计算值: 1501.8)

实施例 20 (pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Pya(2)的生产)

将实施例 3 中的 Phe 换成 Pya(2), 以同样方式完成合成和纯化, 获得目
20 的产物的白色粉末 25mg。

(M+H)⁺用质谱分析: 1516.7 (计算值: 1516.9)

实施例 21 (Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Tyr 的生产)

树脂用氟化氢处理, 不进行实施例 7 中的乙酰化, 以与实施例 3 同样的
方式完成纯化, 获得目的产物的白色粉末 85mg。

25 (M+H)⁺用质谱分析: 1421.0 (计算值: 1420.8)

实施例 22 (Leu-Val-Adi(NH₂)-Pro-Arg-Gly-Ser-Arg-Asn-Gly-Pro-Gly-Pro-Trp-Gln-Gly-Gly-Arg-Arg-Lys-Phe-Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe 的生产)

向与实施例 10 相同的树脂中按照序列的顺序导入 Boc-氨基酸, 用 Cl-Z
30 基保护 Lys, Bom 基保护 His, Bzl 基保护 Ser, Tos 基保护 Arg, For 基保护

Trp。将其用对甲酚和 1,4-丁二醇存在时用氯化氢处理反应并用与实施例 3 相同的方式纯化获得目的产物的白色粉末 20mg。

(M + H)⁺用质谱分析：4190.0(计算值：4190.4)

5 实施例 23 (Leu-Val-Lys(Ac)-Pro-Arg-Thr-Ser-Arg-Thr-Gly-Pro-Gly-Ala-Trp-Gln-Gly-Gly-Arg-Arg-Lys-Phe-Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Tyr 的生产)

10 向与实施例 7 相同的树脂中按照序列的顺序导入 Boc-氨基酸, 用作 Fmoc 氨基酸侧链的保护基有: 用 Ac 基只保护第一个 Lys, 用 Cl-Z 基保护其余 Lys, 用 Bom 基保护 His, 用 Bzl 基保护 Ser, 用 Tos 基保护 Arg, 用 For 基保护 Trp, 用与实施例 22 相同的方式解除封闭并纯化, 获得目的产物的白色粉末 24mg。

(M + H)⁺用质谱分析：4234.2(计算值：4234.4)

15 实施例 24 (Tyr-Leu-Val-Lys-Pro-Arg-Thr-Ser-Arg-Thr-Gly-Pro-Gly-Ala-Trp-Gln-Gly-Gly-Arg-Arg-Lys-Phe-Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe 的生产)

用作 Fmoc 氨基酸侧链的保护基有: 用 Pbf 基保护 Arg, tBu 基保护 Ser, Thr 和 Tyr, Boc 基保护 Trp 和 Lys, Trt 基保护 His, Asn 和 Gln, 用与实施例 1 相同的方式完成合成和纯化, 获得目的产物的白色粉末 17mg。

(M + H)⁺用质谱分析：4344.6(计算值：4344.5)

20 实施例 25 (Z-pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys(Ac)-Gly-Pro-Nle-Pro-Phe 的生产)

将实施例 15 中的 Arg(Tos)换成 Lys(Ac), pGlu 换成 Z-pGlu, 以同样方式完成合成和纯化, 获得目的产物的白色粉末 67mg。

(M + H)⁺用质谱分析：1692.2(计算值：1691.9)

25 实施例 26 (Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met(O)的生产)

30 使用可市售 Boc-Met(O)-OCH₂-PAM 树脂(0.72mmol/g 树脂), 按照序列顺序导入 Boc-氨基酸, 氨基酸的侧链中用 Cl-Z 基保护 Lys, 用 Bom 基保护 His, 用 Bzl 基保护 Ser, 用 Tos 基保护 Arg, 用与实施例 7 相同的方式解除封闭并纯化, 获得目的产物的白色粉末 19mg。

(M + H)⁺用质谱分析：1634.9(计算值：1634.9)

实施例 27 (Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Tyr 的生产)

当将 Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Nle-Pro-Tyr 导入实施例 2 中化合物生产过程时，除去树脂，用与实施例 2 相同的方式解除封闭并纯化，获得目的产物。

(M + H)⁺用质谱分析：1860.9(计算值：1861.1)

HPLC 洗脱时间：16.75 分钟

洗脱条件：

柱：YMC ODS AM-301，S-5mm，120A(4.6 × 100mm)

10 洗脱剂：用溶液 A：0.1%TFA-水溶液和 B：包含 0.1%TFA 的乙腈，以 A/B：100/0 至 50/50 的线性浓度梯度洗脱(25 分钟)

流速：1.0ml/分。

实施例 28 (pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Phe(Cl)的生产)

15 向可市售的 2-氯三苯甲基树脂(Clt 树脂，1.3mmol/g)中导入 Fmoc-Phe(Cl)-OH，获得 Fmoc-Phe(Cl)-O-Clt 树脂(0.42mmol/g)，用实施例 15 的同样方式按照序列的顺序向此树脂中导入氨基酸，并解除封闭并纯化，获得目的化合物。

(M + H)⁺用质谱分析：1471.0(计算值：1470.7)

20 HPLC 洗脱时间：19.39 分钟(洗脱条件：同实施例 27)

实施例 29 (pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Pro-Phe(Cl)的生产)

用与实施例 28 同样的方式获得目的产物。

(M + H)⁺用质谱分析：1567.7(计算值：1567.8)

25 HPLC 洗脱时间：19.81 分钟(洗脱条件：同实施例 27)

实施例 30 (Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Pro-Nal(2)的生产)

向可市售 2-氯三苯甲基树脂(Clt 树脂，1.3mmol/g)中导入 Fmoc-Nal(2)-OH，获得 Fmoc-Nal(2)-O-Clt 树脂(0.45mmol/g)，用实施例 15 的同样方式按照序列的顺序向此树脂中导入氨基酸，并解除封闭并纯化，获得目的化合物。

30

(M + H)⁺用质谱分析：1472.6(计算值：1472.8)

HPLC 洗脱时间：20.48 分钟(洗脱条件：同实施例 27)

实施例 31(Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Nal(2)的生产)

用与实施例 30 同样的方式获得目的产物。

(M+H)⁺用质谱分析：1375.5(计算值：1375.7)

5 HPLC 洗脱时间：20.35 分钟(洗脱条件：同实施例 27)

实施例 32 (Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Pro-Phe(Cl)的生产)

使用 Fmoc-Phe(Cl)-O-Clt 树脂(0.42mmol/g)，用与实施例 28 同样的方式获得目的产物。

10 (M+H)⁺用质谱分析：1456.5(计算值：1456.7)

HPLC 洗脱时间：19.71 分钟(洗脱条件：同实施例 27)

实施例 33 (Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Phe(Cl)的生产)

用与实施例 32 同样的方式获得目的产物。

(M+H)⁺用质谱分析：1359.6(计算值：1359.7)

15 HPLC 洗脱时间：19.32 分钟(洗脱条件：同实施例 27)

实施例 34 (Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Cha 的生产)

向可市售 2-氯三苯甲基树脂(Clt 树脂，1.3mmol/g)中导入 Fmoc-Cha-OH，获得 Fmoc-Cha-O-Clt 树脂(0.49mmol/g)，用实施例 31 的同样方式获得目的化合物。

20 (M+H)⁺用质谱分析：1331.7(计算值：1331.8)

HPLC 洗脱时间：19.46 分钟(洗脱条件：同实施例 27)

实施例 35 (pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Cha-Pro-Phe 的生产)

25 使用 Fmoc-Cha-O-Clt 树脂(0.32mmol/g)，用与实施例 28 同样的方式获得目的产物。

(M+H)⁺用质谱分析：1555.8(计算值：1555.9)

HPLC 洗脱时间：21.35 分钟(洗脱条件：同实施例 27)

实施例 36 (Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Cha 的生产)

30 用与实施例 34 同样的方式获得目的产物。

(M+H)⁺用质谱分析：1640.7(计算值：1640.9)

实施例 37 (Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Pro-Phe(Cl)的生产)

使用 Fmoc-Phe(Cl)-O-Clt 树脂(0.42mmol/g), 用与实施例 27 同样的方式获得目的产物。

5 (M + H)⁺用质谱分析: 1897.5(计算值: 1897.7)

实施例 38 (Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Nle-Gly-Pro-Met-Pro-Phe(Cl)的生产)

用与实施例 37 同样的方式获得目的产物。

(M + H)⁺用质谱分析: 1882.3(计算值: 1882.6)

10 **实施例 39** (Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Nle-Gly-Pro-Met-Pro-Tyr(I)的生产)

向可市售 2-氯三苯甲基树脂(Clt 树脂, 1.3mmol/g)中导入 Fmoc-Tyr(I)-OH, 获得 Fmoc-Tyr(I)-O-Clt 树脂(0.31mmol/g), 用与实施例 38 同样的方式获得目的产物。

15 (M + H)⁺用质谱分析: 1989.7(计算值: 1989.9)

实施例 40 (Arg-Arg-Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Nle-Gly-Pro-Met-Pro-Tyr(Me)的生产)

向可市售 2-氯三苯甲基树脂(Clt 树脂, 1.3mmol/g)中导入 Fmoc-Tyr(Me)-OH, 获得 Fmoc-Tyr(Me)-O-Clt 树脂(0.39mmol/g), 用与实施例 38

20 同样的方式获得目的产物。

(M + H)⁺用质谱分析: 1878.1(计算值: 1878.3)

实验实施例 1

将实施例 3 和 4 中的每种肽, 及实施例 1 中化合物(其中 Met 被非天然氨基酸 Nle 取代的肽)的相应天然肽用无菌蒸馏水溶解至浓度为 1×10^{-3} M,

25 并用含 0.1%BSA 的位点特异体(site sensor)培养基经系列稀释进行制备。如 WO 99/33976(日本专利申请第 220853-1998 号)所述制备 A10 受体 cDNA 导入型 CHO 细胞, 将其放入位点特异体工作站, 待每个细胞的酸化率稳定后, 通过转换通道将该溶液导入位点特异体的通道中, 使所述肽的稀释溶液与细胞反应 1 分 2 秒。将基础水平值设定为 100%, 计算细胞反应高峰点的酸化

30 率变化, 结果如图 1 所示。

实验实施例 2 对毛喉素所刺激的 cAMP 生成的抑制活性进行分析

将 WO 99/33976(日本专利申请第 220853-1998 号)中实施例 7 描述的 CHO-A10 克隆的六株细胞以每孔 3×10^5 细胞接种到 24 孔组织培养平板上, 并培养过夜。制备 0.2mM 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(IBMx)和包含 0.05%牛血清白蛋白的 Hank' s 平衡盐溶液(HBSS)作为试验缓冲液, 将每孔用 500 μ l 试验缓冲液洗两次, 在 37℃预保温 30 分钟。随后, 取样品每份 500 μ l, 用 500 μ l 试验缓冲液洗一次后, 溶于加了 1 μ M 毛喉素的试验缓冲液中, 加入各孔, 在 37℃保温 30 分钟。用不加毛喉素的试验缓冲液保温的孔获得细胞的基础 cAMP 生产(基础水平), 类似地, 用加了毛喉素的试验缓冲液保温的孔获得毛喉素所刺激的最大 cAMP 生产(最高水平)。完成保温后, 每孔用 500 μ l 试验缓冲液洗一次, 加入包括在 cAMP EIA 系统(Amersham Pharmacia Biotech)中的裂解缓冲液 IB 500 μ l, 并进行 cAMP 的提取。按照试剂盒的说明, 将每个提取物取 100 μ l 用于测定。对 cAMP 生产的抑制活性取最大值与加样孔中 cAMP 值的差值(cAMP 生产的抑制量), 也可取受毛喉素刺激后 cAMP 生产的增加量(最高水平与基础水平之差)的相对百分数, 根据剂量反应曲线确定 EC₅₀。

用实验实施例 2 的方法所测定的各实施例中化合物的活性列于表 1。

表 1

化合物	EC ₅₀ (nM)
实施例 2 中的化合物	0.41
实施例 3 中的化合物	0.28
实施例 4 中的化合物	0.19
实施例 10 中的化合物	0.25
实施例 29 中的化合物	0.48
实施例 30 中的化合物	0.28
实施例 31 中的化合物	0.30
实施例 32 中的化合物	0.20
实施例 33 中的化合物	0.10
实施例 34 中的化合物	0.37
实施例 35 中的化合物	0.34
实施例 36 中的化合物	0.16
实施例 37 中的化合物	0.14

实施例 38 中的化合物	0.35
实施例 1 中化合物(其中 Met 被非天然氨基酸 Nle 取代的肽)的相应天然肽	0.52

工业实用性

因为本发明的肽参与中枢神经的功能，循环功能，心脏功能，免疫功能，消化功能，代谢功能，或生殖器官功能的活动，因此上述的激动剂和拮抗剂可被用作对疾病的治疗或预防药物，这些疾病例如：痴呆包括与老年性痴呆有关的痴呆，脑血管性痴呆，与全身退化型的退化性疾病有关的痴呆(例如阿尔茨海默氏病，帕金森氏病，皮克病，亨廷顿病)，与感染性疾病有关的痴呆(例如慢病毒感染诸如 Creutzfeldt-Jakob 病)，与内分泌疾病，代谢疾病或中毒性疾病有关的痴呆，(例如甲状腺机能减退，维生素 B12 缺乏病，酒精中毒，和各种药物，金属或有机化合物中毒)，与肿瘤性疾病(例如脑肿瘤)有关的痴呆，和与创伤病(例如慢性硬膜下血肿)有关的痴呆；抑郁症；ADHD(小脑功能异常)综合征；意识障碍；焦虑症；精神分裂症；恐怖症；生长激素分泌紊乱(例如巨人症，肢端肥大症)；多语症；贪食症；高胆固醇血症；高甘油酯血症；高脂血症；高催乳激素血症；低血糖；垂体机能减退；垂体性侏儒症；糖尿病(例如糖尿病的并发症，糖尿病肾病，糖尿病神经病和糖尿病视网膜病)；肿瘤(例如乳腺癌，淋巴细胞白血病，肺癌，膀胱癌，卵巢癌和前列腺癌)；胰腺炎；肾脏疾病(例如慢性肾脏衰竭，肾炎)；Turner's 综合征；神经病；类风湿性关节炎；脊髓损伤；短暂缺血发作；肌萎缩性侧索硬化；急性心肌梗死；脊髓小脑退化；骨折；外伤；特应性皮炎；骨质疏松；哮喘；癫痫；不育症；动脉硬化；肺气肿；肺水肿或乳汁减少。而且它们也可被用作改善术后患者的营养状态的镇静催眠药和血管加压药和降压药。

此外，本发明的肽可被用作对 AIDS(获得性免疫缺陷综合征)等的治疗或预防药物。

序 列 表

<110> 武田工业药品株式会社

<120> 肽衍生物

<130> 2549W00P

<150> JP 10-271626

<151> 1998-9-25

<160> 42

<210> 1

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> Xaa 指 Nle.

<400> 1

Leu Val Gln Pro Arg Gly Ser Arg Asn Gly Pro Gly Pro Trp Gln Gly

1 5 10 15

Gly Arg Arg Lys Phe Arg Arg Gln Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly

20 25 30

Pro Xaa Pro Phe

35

<210> 2

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> Xaa 指 Nle.

<400> 2

Leu Val Gln Pro Arg Gly Ser Arg Asn Gly Pro Gly Pro Trp Gln Gly

1 5 10 15

Gly Arg Arg Lys Phe Arg Arg Gln Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly

20 25 30

Pro Xaa Pro Tyr

35

<210> 3

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 1 位的 Xaa 指 pGlu, 第 11 位的 Xaa 指 Nle

<400> 3

Xaa Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Xaa Pro Phe

1 5 10

<210> 4

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 1 位的 Xaa 指 pGlu, 第 11 位的 Xaa 指 Nle

<400> 4

Xaa Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Xaa Pro Tyr

1 5 10

<210> 5

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 1 位的 Xaa 指 pGlu, 第 11 位的 Xaa 指 Nle

<400> 5

Xaa Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Xaa Pro

1 5 10

<210> 6

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 1 位的 Xaa 指 pGlu, 第 11 位的 Xaa 指 Nle

<400> 6

Xaa Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Xaa

1 5 10

<210> 7

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 1 位的 Xaa 指 Ac-Arg, 第 10 位的 Xaa 指 Nle.

<400> 7

Xaa Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Xaa Pro Tyr

1 5 10

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 1 位的 Xaa 指 Ac-Arg, 第 10 位的 Xaa 指 Nle.

<400> 8

Xaa Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Xaa Pro

1 5 10

<210> 9

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 1 位的 Xaa 指 Ac-Arg, 第 10 位的 Xaa 指 Nle.

<400> 9

Xaa Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Xaa

1 5 10

<210> 10

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 1 位的 Xaa 指 pGlu, 第 8 位的 Xaa 指 Lys(Ac).

<400> 10

Xaa Arg Pro Arg Leu Ser His Xaa Gly Pro Met Pro Phe

1 5 10

<210> 11

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 1 位的 Xaa 指 pGlu, 第 8 位的 Xaa 指 Lys(Me).

<400> 11

Xaa Arg Pro Arg Leu Ser His Xaa Gly Pro Met Pro Phe

1 5 10

<210> 12

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 1 位的 Xaa 指 pGlu, 第 8 位的 Xaa 指 Lys(Ac), 第 11 位的 Xaa 指 Nle.

<400> 12

Xaa Arg Pro Arg Leu Ser His Xaa Gly Pro Xaa Pro Phe

1 5 10
 <210> 13
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <223> 第 1 位的 Xaa 指 pGlu, 第 8 位的 Xaa 指 Lys(Me), 第 11 位的 Xaa 指 Nle.
 <400> 13
 Xaa Arg Pro Arg Leu Ser His Xaa Gly Pro Xaa Pro Phe
 1 5 10
 <210> 14
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <223> 第 1 位的 Xaa 指 pGlu, 第 8 位的 Xaa 指 Lys(Tos), 第 11 位的 Xaa 指 Nle.
 <400> 14
 Xaa Arg Pro Arg Leu Ser His Xaa Gly Pro Xaa Pro Phe
 1 5 10

 <210> 15
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <223> 第 1 位的 Xaa 指 pGlu, 第 8 位的 Xaa 指 Arg(Tos), 第 11 位的 Xaa 指 Nle.
 <400> 15
 Xaa Arg Pro Arg Leu Ser His Xaa Gly Pro Xaa Pro Phe
 1 5 10
 <210> 16
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <223> 第 1 位的 Xaa 指 pGlu, Xaa on the 5th position 指 Nle, 第 11 位的 Xaa 指 Nle.
 <400> 16
 Xaa Arg Pro Arg Xaa Ser His Lys Gly Pro Xaa Pro Phe
 1 5 10
 <210> 17
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<223> 第 1 位的 Xaa 指 pGlu, Xaa on the 5th position 指 Nle, 第 11 位的 Xaa 指 Nle.

<400> 17

Xaa Arg Pro Arg Xaa Ser His Lys Gly Pro Xaa Pro Tyr

1 5 10

<210> 18

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 1 位的 Xaa 指 pGlu, 第 11 位的 Xaa 指 Nle, 第 13 位的 Xaa 指 Thi.

<400> 18

Xaa Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Xaa Pro Xaa

1 5 10

<210> 19

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 1 位的 Xaa 指 pGlu, 第 11 位的 Xaa 指 Nle, 第 13 位的 Xaa 指 Phg.

<400> 19

Xaa Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Xaa Pro Xaa

1 5 10

<210> 20

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 1 位的 Xaa 指 pGlu, 第 11 位的 Xaa 指 Nle, 第 13 位的 Xaa 指 Pya(2).

<400> 20

Xaa Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Xaa Pro Xaa

1 5 10

<210> 21

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 10 位的 Xaa 指 Nle.

<400> 21

Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Nle Pro Tyr

1 5 10

<210> 22

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 3 位的 Xaa 指 Adi(NH₂), 第 34 位的 Xaa 指 Nle.

<400> 22

```

Leu Val Xaa Pro Arg Gly Ser Arg Asn Gly Pro Gly Pro Trp Gln Gly
 1             5             10             15
Gly Arg Arg Lys Phe Arg Arg Gln Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly
             20             25             30
Pro Xaa Pro Phe
             35

```

<210> 23

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 3 位的 Xaa 指 Lys(Ac), 第 34 位的 Xaa 指 Nle.

<400> 23

```

Leu Val Xaa Pro Arg Thr Ser Arg Thr Gly Pro Gly Ala Trp Gln Gly
 1             5             10             15
Gly Arg Arg Lys Phe Arg Arg Gln Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly
             20             25             30
Pro Xaa Pro Tyr
             35

```

<210> 24

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 35 位的 Xaa 指 Nle.

<400> 24

```

Tyr Leu Val Lys Pro Arg Thr Ser Arg Thr Gly Pro Gly Ala Trp Gln
 1             5             10             15
Gly Gly Arg Arg Lys Phe Arg Arg Gln Arg Pro Arg Leu Ser His Lys
             20             25             30
Gly Pro Xaa Pro Phe
             35

```

<210> 25

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 1 位的 Xaa 指 Z-pGlu, 第 8 位的 Xaa 指 Lys(Ac), 第 11 位的 Xaa 指 Nle.

<400> 25

Xaa Arg Pro Arg Leu Ser His Xaa Gly Pro Xaa Pro Phe

1 5 10

<210> 26

<211> 380

<212> PRT

<213> 未知

<220>

<223>

<400> 26

Met Glu Glu Gly Gly Asp Phe Asp Asn Tyr Tyr Gly Ala Asp Asn Gln

1 5 10 15

Ser Glu Cys Glu Tyr Thr Asp Trp Lys Ser Ser Gly Ala Leu Ile Pro

20 25 30

Ala Ile Tyr Met Leu Val Phe Leu Leu Gly Thr Thr Gly Asn Gly Leu

35 40 45

Val Leu Trp Thr Val Phe Arg Ser Ser Arg Glu Lys Arg Arg Ser Ala

50 55 60

Asp Ile Phe Ile Ala Ser Leu Ala Val Ala Asp Leu Thr Phe Val Val

65 70 75 80

Thr Leu Pro Leu Trp Ala Thr Tyr Thr Tyr Arg Asp Tyr Asp Trp Pro

85 90 95

Phe Gly Thr Phe Phe Cys Lys Leu Ser Ser Tyr Leu Ile Phe Val Asn

100 105 110

Met Tyr Ala Ser Val Phe Cys Leu Thr Gly Leu Ser Phe Asp Arg Tyr

115 120 125

Leu Ala Ile Val Arg Pro Val Ala Asn Ala Arg Leu Arg Leu Arg Val

130 135 140

Ser Gly Ala Val Ala Thr Ala Val Leu Trp Val Leu Ala Ala Leu Leu

145 150 155 160

Ala Met Pro Val Met Val Leu Arg Thr Thr Gly Asp Leu Glu Asn Thr

165 170 175

Thr Lys Val Gln Cys Tyr Met Asp Tyr Ser Met Val Ala Thr Val Ser

180 185 190

Ser Glu Trp Ala Trp Glu Val Gly Leu Gly Val Ser Ser Thr Thr Val

195 200 205

Gly Phe Val Val Pro Phe Thr Ile Met Leu Thr Cys Tyr Phe Phe Ile

210	215	220
Ala Gln Thr Ile Ala Gly His Phe Arg Lys Glu Arg Ile Glu Gly Leu		
225	230	235
Arg Lys Arg Arg Arg Leu Leu Ser Ile Ile Val Val Leu Val Val Thr		
245	250	255
Phe Ala Leu Cys Trp Met Pro Tyr His Leu Val Lys Thr Leu Tyr Met		
260	265	270
Leu Gly Ser Leu Leu His Trp Pro Cys Asp Phe Asp Leu Phe Leu Met		
275	280	285
Asn Ile Phe Pro Tyr Cys Thr Cys Ile Ser Tyr Val Asn Ser Cys Leu		
290	295	300
Asn Pro Phe Leu Tyr Ala Phe Phe Asp Pro Arg Phe Arg Gln Ala Cys		
305	310	315
Thr Ser Met Leu Cys Cys Gly Gln Ser Arg Cys Ala Gly Thr Ser His		
325	330	335
Ser Ser Ser Gly Glu Lys Ser Ala Ser Tyr Ser Ser Gly His Ser Gln		
340	345	350
Gly Pro Gly Pro Asn Met Gly Lys Gly Gly Glu Gln Met His Glu Lys		
355	360	365
Ser Ile Pro Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Val Val Asp		
370	375	380

<210> 27

<211> 1140

<212> DNA

<213> 未知 n

<220>

<223>

<400> 27

ATGGAGGAAG GTGGTGATTT TGACAACTAC TATGGGGCAG ACAACCAGTC TGAGTGTGAG	60
TACACAGACT GGAAATCCTC GGGGGCCCTC ATCCCTGCCA TCTACATGTT GGTCTTCCTC	120
CTGGGCACCA CGGGAAACGG TCTGGTGCTC TGGACCGTGT TTCGGAGCAG CCGGGAGAAG	180
AGGCGCTCAG CTGATATCTT CATTGCTAGC CTGGCGGTGG CTGACCTGAC CTTCTGGGTG	240
ACGCTGCCCC TGTGGGCTAC CTACACGTAC CGGGACTATG ACTGGCCCTT TGGGACCTTC	300
TTCTGCAAGC TCAGCAGCTA CCTCATCTTC GTCAACATGT ACGCCAGCGT CTTCTGCCTC	360
ACCGGCCTCA GCTTCGACCG CTACCTGGCC ATCGTGAGGC CAGTGGCCAA TGCTCGGCTG	420
AGGCTGCGGG TCAGCGGGGC CGTGGCCACG GCAGTTCCTT GGGTGCTGGC CGCCCTCCTG	480
GCCATGCCTG TCATGGTGTT ACGCACCACC GGGGACTTGG AGAACACCAC TAAGGTGCAG	540
TGCTACATGG ACTACTCCAT GGTGGCCACT GTGAGCTCAG AGTGGGCCTG GGAGGTGGGC	600

CTTGGGGTCT CGTCCACCAC CGTGGGCTTT GTGGTGCCCT TCACCATCAT GCTGACCTGT 660
TACTTCTTCA TCGCCCAAAC CATCGCTGGC CACTTCCGCA AGGAACGCAT CGAGGGCCTG 720
CGGAAGCGGC GCCGGCTGCT CAGCATCATC GTGGTGCTGG TGGTGACCTT TGCCCTGTGC 780
TGGATGCCCT ACCACCTGGT GAAGACGCTG TACATGCTGG GCAGCCTGCT GCACTGGCCC 840
TGTGACTTTG ACCTCTTCCT CATGAACATC TTCCCCTACT GCACCTGCAT CAGCTACGTC 900
AACAGCTGCC TCAACCCCTT CCTCTATGCC TTTTTCGACC CCCGCTTCCG CCAGGCCTGC 960
ACCTCCATGC TCTGCTGTGG CCAGAGCAGG TGCAGGCA CCTCCCACAG CAGCAGTGGG 1020
GAGAAGTCAG CCAGCTACTC TTCGGGGCAC AGCCAGGGGC CCGGCCCAA CATGGGCAAG 1080
GGTGGAGAAC AGATGCACGA GAAATCCATC CCCTACAGCC AGGAGACCCT TGTGGTTGAC 1140

<210> 28

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 13 位的 Xaa 指 Met(0).

<400> 28

Arg Arg Gln Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Xaa

1 5 10 13

<210> 29

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 13 位的 Xaa 指 Nle.

<400> 29

Arg Arg Gln Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Xaa Pro Tyr

1 5 10 15

<210> 30

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 1 位的 Xaa 指 pGlu, 第 12 位的 Xaa 指 Phe(Cl).

<400> 30

Xaa Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Met Xaa

1 5 10 12

<210> 31

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 1 位的 Xaa 指 pGlu, 第 13 位的 Xaa 指 Phe(Cl).

<400> 31

Xaa Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Met Pro Xaa

1 5 10 13

<210> 32

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 12 位的 Xaa 指 Nal(2).

<400> 32

Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Met Pro Xaa

1 5 10 12

<210> 33

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 11 位的 Xaa 指 Nal(2).

<400> 33

Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Met Xaa

1 5 10 11

<210> 34

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 13 位的 Xaa 指 Phe(C1).

<400> 34

Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Met Pro Xaa

1 5 10 13

<210> 35

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 11 位的 Xaa 指 Phe(C1).

<400> 35

Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Met Xaa

1 5 10 11

<210> 36

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 11 位的 Xaa 指 Cha.

<400> 36

Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Met Xaa

1 5 10 11

<210> 37

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 1 位的 Xaa 指 pGlu, 第 11 位的 Xaa 指 Cha.

<400> 37

Xaa Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Xaa Pro Phe

1 5 10 13

<210> 38

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 13 位的 Xaa 指 Cha.

<400> 38

Arg Arg Gln Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Xaa

1 5 10 13

<210> 39

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 15 位的 Xaa 指 Phe(Cl).

<400> 39

Arg Arg Gln Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly Pro Met Pro Xaa

1 5 10 15

<210> 40

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 10 位的 Xaa 指 Nle, 第 15 位的 Xaa 指 Phe(Cl).

<400> 40

Arg Arg Gln Arg Pro Arg Leu Ser His Xaa Gly Pro Met Pro Xaa

1 5 10 15

<210> 41

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 10 位的 Xaa 指 Nle, 第 15 位的 Xaa 指 Tyr(I).

<400> 41

Arg Arg Gln Arg Pro Arg Leu Ser His Xaa Gly Pro Met Pro Xaa

1 5 10 15

<210> 42

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 第 10 位的 Xaa 指 Nle, 第 15 位的 Xaa 指 Tyr(Me).

<400> 42

Arg Arg Gln Arg Pro Arg Leu Ser His Nle Gly Pro Met Pro Xaa

1 5 10 15

说明书附图

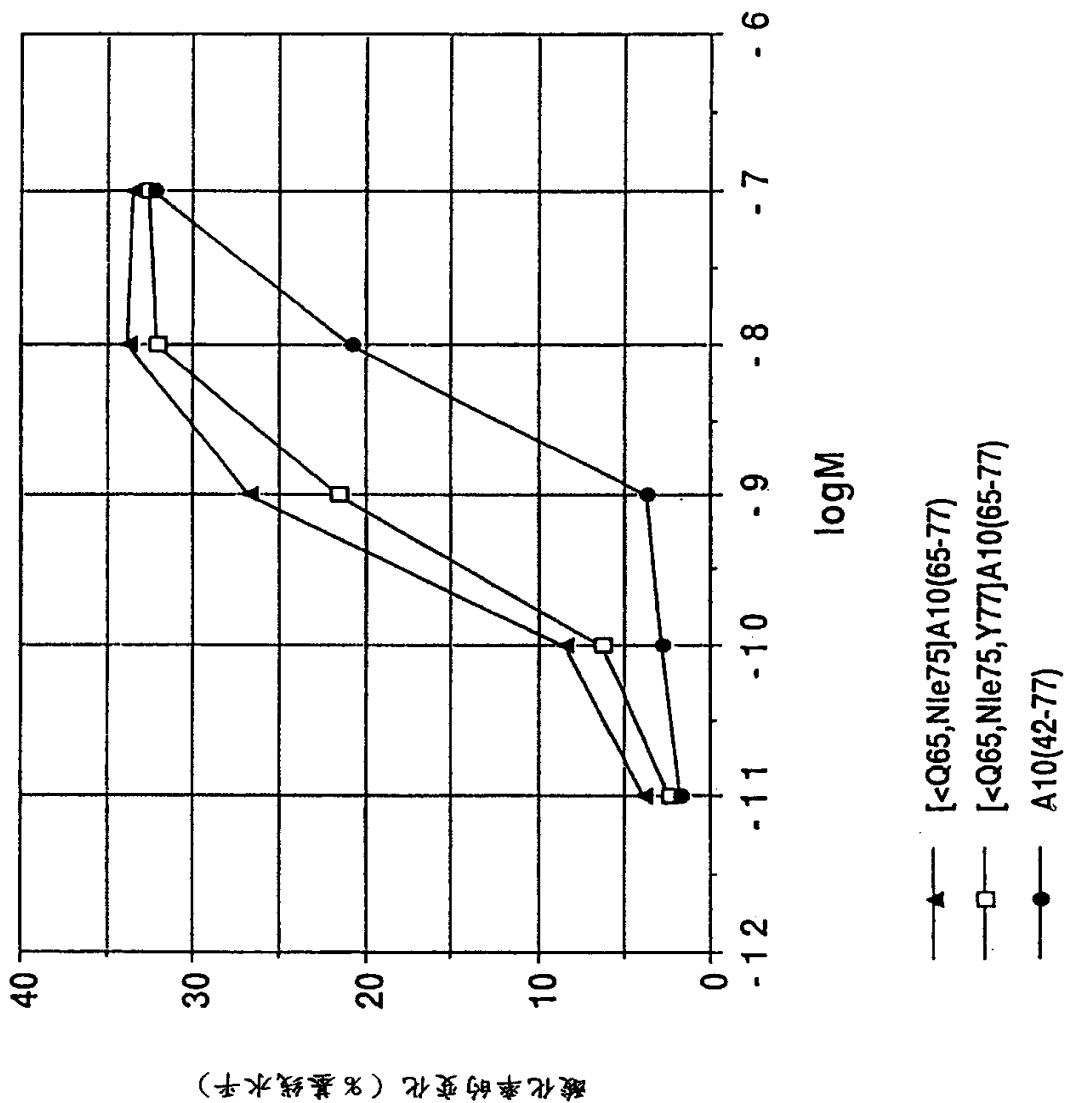


图 1