

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局



(43) 国际公布日  
2013年9月6日 (06.09.2013)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号  
WO 2013/127196 A 1

- (51) 国际分类号：  
C07K 7/64 (2006.01) A61P 15/10 (2006.01)  
C07K 1/06 (2006.01) A61P 15/00 (2006.01)  
C07K 1/04 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01)  
A61K 38/12 (2006.01) A61P 5/00 (2006.01)
- (21) 国际申请号： PCT/CN2012/084555
- (22) 国际申请日： 2012年11月14日 (4.11.2012)
- (25) 申请语言： 中文
- (26) 公布语言： 中文
- (30) 优先权：  
2012 10050125.6 2012年3月1日 (01.03.2012) CN  
2012 10218017.5 2012年6月28日 (8.06.2012) CN
- (72) 发明人及  
(71) 申请人 张嘎 (ZHANG, Ga) [CN/CN]; 中国河南省郑州市金水区经七路22号4号楼13层西北单元, Henan 450002 (CN)。
- (74) 代理人: 郑州联科专利事务所 (普通合伙) (ZHENGZHOU LIANKE PATENT AGENCY(CQ-MON PARTNERSHIP)); 中国河南省郑州市金水区红专路58号 Henan 450002 (CN)。
- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, ML, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则 4.17 的声明：

- 关于发明人身份(细则 4.17(i))
- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则 4.17(H))
- 发明人资格(细则 4.17(iv))

本国际公布：

- 包括国际检索报告(条约第 21条(3))。
- 包括说明书序列表部分(细则 5.2(a))。



WO 2013/127196 A1

(54) Title: MELANOCYTE-STIMULATING HORMONE ANALOGUE FORMED BY CONNECTING CIRCULAR CORE SEQUENCE AND BIOTIN OR MEMBRANE-PENETRATING PEPTIDE

(54) 发明名称 环状核心序列与生物素或穿膜肽相连而成的促黑激素类似物

(57) Abstract: Provided are a melanocyte-stimulating hormone analogue formed by connecting a circular core sequence and biotin or membrane-penetrating peptide, and the preparation method and use thereof, wherein the melanocyte-stimulating hormone analogue is formed by connecting the functional unit and biotin or membrane-penetrating peptide, and the structure of the functional unit is Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys), and the structure of the membrane-penetrating peptide is Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg or Arg-Arg-Arg. The melanocyte-stimulating hormone analogue can be absorbed by permeating the mucosa or skin for treatment of male and female sexual dysfunction, obesity and hypo-pigmentation.

(57) 摘要: 提供了环状核心序列与生物素或穿膜肽相连而成的促黑激素类似物及其制备方法和应用, 所述促黑激素类似物由功能单位与生物素或穿膜肽相连而成, 功能单位结构为 Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys), 穿膜肽结构为 Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg 或者 Arg-Arg-Arg。该促黑激素类似物可透过粘膜或皮肤吸入, 用于男女性功能障碍、肥胖症、色素沉着不足症的治疗。

## 环状核心序列与生物素或穿膜肽相连而成的促黑激素类似物

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种环状核心序列与生物素或穿膜肽相连而成的促黑激素类似物及其制备方法和应用。

### 背景技术

[0002] 随着生活节奏的加快，工作压力的加大，遗传因素的影响，男女性功能障碍、肥胖症、色素沉着不足症都日益凸显出来，严重影响人们的生活质量。其中，肥胖症是众所周知的导致动脉硬化、高血压、心脏病、糖尿病等常见疾病的因素之一，而男女性功能障碍和色素沉着不足症导致的性生活不和谐和皮肤癌等疾病也严重影响到患者的身心健康和家庭幸福。

[0003] 目前，治疗男性性功能障碍的一线药物为西地那非等磷酸二酯酶抑制剂，但此类药物对女性患者无效，而且部分患者报道响应逐渐消失。治疗肥胖症的药物也只有少数几个，如西布曲明和奥利司他。治疗色素沉着不足症的多肽药物也少之又少。PT-141 和 MT-II 是两种目前正在研发中的对男女性功能障碍、肥胖症、色素沉着不足症有一定疗效的多肽类药物。

[0004] 由于生物细胞膜的阻挡性，多肽等大分子药物很难由细胞膜直接进入体内，故目前使用的多肽类药物大多采用注射给药的给药方式，而男女性功能障碍、肥胖症、色素沉着不足症的治疗是长期的，如能研发出能经粘膜或皮肤给药的多肽类药物则可免除患者长期注射给药的不便和痛苦。因此，研发出一种能经粘膜或皮肤给药的用于治疗男女性功能障碍、肥胖症、色素沉着不足症的多肽类药物是必须和当务之急的，其具有广阔的市场前景。

[0005]  $\alpha$ -MSH 是一种源于前阿黑皮素 (POMC) 的线性十三肽。早在 20 世纪 50 年代，人们就发现对狗、猴、猫以及兔子等中枢给予  $\alpha$ -MSH 后能引起其性兴奋和食欲抑制，其作用机理是通过作用于促黑激素受体亚型 MC-Rs 中 MC-3、MC-4 受体而产生性行为 and 食欲抑制调节效应。后来，人们还发现对牛蛙等动物给予  $\alpha$ -MSH 后，其皮肤颜色会加深，其机制是通过作用于促黑激素受体亚型 MC-Rs 中的 MC-1 受体而产生皮肤色素调节效应。研究表明，MC-Rs 激动剂在治疗男女性功能障碍、肥胖症、色素沉着不足症等方面有潜在的应用价值。

[0006]  $\alpha$ -MSH 是一个线性十三肽，C 端含有酰胺结构，N 端乙酰化，其一级结构如下：

Ac-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub>

[0007] 人们后来研究发现： $\alpha$ -MSH 的最小活性序列是 His-Phe-Arg-Trp，围绕着此核心序

列，人们设计合成了一系列此类化合物，包括线性肽和环肽，在治疗男女性功能障碍、肥胖症、色素沉着不足症等方面有一定的疗效。其中，PT-141、MT-II 便是其中的两种。

[0008] 由于生物细胞膜的屏障，多肽等大分子不能直接进入细胞，这给许多疾病的治疗带来了困难。细胞穿膜肽（CPP）是一类能携带大分子物质进入细胞的短肽，其穿膜能力不依赖经典的胞吞作用，也有研究者称这类短肽为蛋白传导域（PTD）或特洛伊木马肽。

[0009] 人们发现和证实，人免疫缺损病毒 HIV-1 的反式激活蛋白 TAT 能跨膜转移到细胞膜和细胞核内。人们还发现 HIV-1 的 TAT 蛋白中的一个富含碱性氨基酸片段，此带正电荷的多肽片段与蛋白传导功能密切相关，称之为蛋白传导域。进一步研究发现，全长 86 个氨基酸残基的 TAT 蛋白中的第 49-57 残基组成的序列即可完全行使蛋白传导的功能，并且无细胞毒性。这些发现为研制一种高效、安全的载体，主动介导多肽类大分子跨越生物膜屏障提供了广阔的前景。

[0010] 生物素又称维生素 H，是人体必需维生素之一，有促进生长的作用，对白发、秃发有一定疗效。白发型是色素沉着不足症之一，促黑激素对其有很强治疗作用，将促黑激素环状核心序列与生物素创造性的结合在一起，在使毛发变黑的同时又能促进其生长，这是本发明在医药或化妆品领域的一种创新。

## 发明内容

[0011] 本发明的目的在于提供一种促黑激素类似物及其制备方法和应用。

[0012] 为实现上述目的，本发明采取了如下技术方案：

一种促黑激素类似物，其多肽结构（包括所有的对映体、非对映体、立体异构体等）如下：

$X-Z-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-Y$  和其无生理毒性的盐，其中，

X = 生物素酰基或无，

Z = Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg 或 Arg-Arg-Arg 或无，

Y = NH<sub>2</sub> 或 OH，

c = 环肽，

当 X = 生物素酰基时，Z = 无；

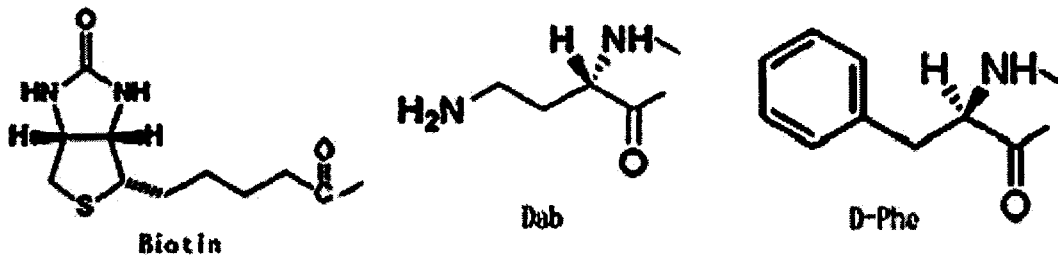
当 Z = Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg 或 Arg-Arg-Arg 时，X = 无；

X、Z 不能同时为无；

无生理毒性的盐是指可保留母体化合物预期生理活性而不会产生任何意料之外毒副作用的盐，具体可以为盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、草酸盐、酒石酸盐、琥珀酸盐、苹果酸盐、苯甲酸盐、海藻酸盐、甲磺酸盐、萘磺酸盐、钾盐、钠盐、锂盐、锌盐、铜盐、钡盐或钙盐。

[0013] 所述的促黑激素类似物，其多肽结构为下述六种时，疗效尤其好：

Biotin-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub> 和其无生理毒性的盐、  
 Biotin-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-OH 和其无生理毒性的盐、  
 Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub> 和其无生理毒性的盐、  
 Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-OH 和其无生理毒性的盐、  
 Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub> 和其无生理毒性的盐或  
 Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-OH 和其无生理毒性的盐；其中，Biotin=D-(+) 生物素酰基，Dab= (L) 2,4 二氨基丁酸残基，D-Phe= 右旋苯丙氨酸残基（结构式如下）。



[0014] 所述无生理毒性的盐优选为乙酸盐。上述促黑激素类似物中氨基酸残基除 D-Phe 外，其余皆为 (L) 型。

[0015] 所述促黑激素类似物的制备方法，采用固相合成法，具体包括以下步骤：先在固相树脂上制备出未与固相树脂裂解的、未脱侧链保护基的功能单位氨基酸序列，然后在固相树脂上将功能单位氨基酸序列的 N 末端进行生物素酰化，或者继续将负载单位氨基酸序列中的氨基酸残基依次从 C 端到 N 端分别与功能单位氨基酸序列的 N 末端连接，在脱除最后一个氨基酸残基的 N 端保护基后经裂解、纯化、干燥成肽；N 端生物素酰化的包含功能单位氨基酸序列的固相树脂也要经裂解、纯化、干燥成肽的步骤；其中，功能单位氨基酸序列为：Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)；

负载单位氨基酸序列为：Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg 或 Arg-Arg-Arg。

[0016] 所述促黑激素类似物在制备用于治疗男性勃起功能障碍、女性性欲低下、肥胖症、色素沉着不足症药物中的应用。

[0017] 所述促黑激素类似物的给药方式优选为粘膜给药、皮肤给药或注射给药。

[0018] 所述药物中含有具有下述六种结构的多肽成分中的至少一种以及可药用载体或赋形剂：

Biotin-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub>、

Biotin-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-OH

Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub>

Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-OH

Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub> 或

Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-OH

[0019] 其中：可药用载体或赋形剂可以为含有磷酸缓冲液的生理盐水。

[0020] 所述促黑激素类似物在制备促黑激素 MC-Rs 激动剂中的应用。

[0021] 所述 MC-Rs 仅指 MC-1 受体、MC-3 受体、MC-4 受体或 MC-5 受体。

[0022] HIV-1 TAT 蛋白的第 47~60 残基片段由十四个氨基酸残基构成，其一级结构为：

Tyr-Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-Pro-Pro-Gln-OH

[0023] 本发明将具有 MC-Rs 激动活性的促黑激素类似物的多肽序列与生物素或 HIV-1 TAT 蛋白的第 47~60 残基片段中的不同残基组成的不同多肽片段结合，设计出一种能经粘膜或皮肤吸入的促黑激素类似物，该促黑激素类似物具有 MC-Rs 激动剂的活性，可用于男女性功能障碍、肥胖症或色素沉着不足症的治疗。

[0024] 本发明提供的多肽由功能单位和生物素或负载单位两部分构成，其功能单位与生物素或负载单位之间由酰胺键连接。

[0025] 功能单位的结构是：Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-Y (Y=NH<sub>2</sub> 或 OH)，其环状结构由 Lactam 交联桥连接。c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys) 为其环状核心序列。Dab-D-Phe-Arg-Trp 为其核心序列。N 末端 Arg 为连接性氨基酸。该功能单位由一个七肽构成。从结构上看，其侧链连接成环状，脂溶性增加，更有利于透过粘膜、皮肤，其序列与其他促黑激素受体激动剂相似但不相同。

[0026] 将功能单位 N 端和生物素相连接构成 2 种多肽结构，即多肽 1 和多肽 2，结构式如下：

Biotin-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub> (多肽 1)；

Biotin-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-OH (多肽 2)。

[0027] 负载单位由 HIV-1 TAT 蛋白的第 47~60 片段中的不同氨基酸片段组成。

[0028] 负载单位 1 由 HIV-1 TAT 蛋白的第 55~57 氨基酸片段组成，含三个氨基酸残基，其结构为：Arg-Arg-Arg-OH。

[0029] 负载单位 2 由 HIV-1 TAT 蛋白的第 48~57 氨基酸片段组成，含十个氨基酸残基，其结构为：Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-OH。

[0030] 将功能单位 N 端分别与负载单位 1、2 连接组成 4 种多肽结构，即多肽 3、4、5 和 6，结构式如下：

Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub> (多肽3) ;  
 Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-OH (多肽4) ;  
 Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub> (多肽5) ;  
 Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-OH (多肽6)。

[0031] 本发明中常见英文缩写的含义为：

Biotin 为生物素酰基

c 为环肽

Dab 为 2,4 二氨基丁酸

Gly 为甘氨酸

Arg 为精氨酸

Lys 为赖氨酸

Gln 为谷氨酰胺

Asp 为天冬氨酸

D-Phe 为右旋苯丙氨酸

Trp 为色氨酸

DMF 为二甲基甲酰胺

DCM 为二氯甲烷

TFA 为三氟乙酸

HBTU 为苯并三唑-1-四甲基六氟磷酸酯

NMM 为 N-甲基吗啡啉。

[0032] 本发明将不同的负载单位与功能单位以肽键相连后进行试验。经实验结果证明：十肽负载单位与功能单位相连后形成的多肽最容易穿透不同粘膜（包括口腔粘膜、胃粘膜、鼻粘膜）；三肽负载单位与功能单位相连后形成的多肽最容易穿透皮肤。实验证明，本发明提供的负载单位可携带本发明提供的功能单位穿透粘膜和毛细血管壁，并可穿透血脑屏障进入大脑皮质。将本发明提供的负载单位或生物素与本发明提供的功能单位连接后形成的多肽作为药物，在相对很小剂量即可很容易经消化道粘膜和呼吸道粘膜吸收，从而使口服和粘膜给药成为可能，这是其他多肽类药物很难做到的。同样，由于本发明负载单位可携带功能单位穿透皮肤，使多肽经皮外给药成为可能。

[0033] 为观察不同的多肽载体对不同粘膜的穿透性，本发明分别将三肽载体（Arg-Arg-Arg-

OH)、十肽载体 (Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-OH)、十一肽载体 (Tyr-Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-OH) 与绿色荧光蛋白偶联在一起, 分别应用到大鼠的口腔粘膜、鼻粘膜、胃粘膜及皮肤, 用药后 15 分钟取血, 并杀死大鼠取口腔粘膜、鼻粘膜、胃粘膜及皮肤标本, 用组织化学方法观察穿透深度, 同时检测血中绿色荧光蛋白的含量。

[0034] 实验证明, 十肽载体最容易穿透不同粘膜, 而三肽载体最容易穿透皮肤。

[0035] 不同载体对不同粘膜的穿透性

	口腔粘膜	胃粘膜	鼻粘膜	皮肤
三肽载体	++	+	++	++++
十肽载体	++++	++	++++	++
十一肽载体	+++	+++	+++	++

动物实验证明, 多肽 5、6 经口腔粘膜给药, 或多肽 1、2 经注射给药, 或多肽 3、4 经皮肤给药, 都可诱发雄性大鼠的阴茎勃起及雌性大鼠的求偶行为。在 20 只雄性大鼠中, 有 17 只有明显阴茎勃起, 并有求偶行为。有勃起反应持续时间为 30 分钟到 2 小时, 平均 60 分钟。10 只雌性大鼠 8 只出现强烈求偶行为。对照组只口服生理盐水, 20 只雄性大鼠和 10 只雌性大鼠均未出现明显勃起和求偶行为。体内试验证明, 在给予本发明多肽的同时, 同时给予促黑激素 MC-3、MC-4 受体阻滞剂 SHU-9119 后, 各受试大鼠均未出现明显勃起和求偶行为。这说明本发明多肽可激活中枢促黑激素 MC-3、MC-4 受体, 并且是通过中枢促黑激素 MC-3、MC-4 受体起作用的, 其作用类似于天然神经递质。由于其作用靶点是中枢神经系统勃起中心, 除生理作用外还有心理正反馈作用, 可同时用于心理性和器质性男性勃起功能障碍的治疗。

[0036] 动物实验同时提示, 在有外界性刺激条件下, 本发明多肽能唤醒性欲低下女性的性欲, 并增加阴道壁血流。据统计性欲低下约发生于 30% 的女性, 目前尚无有效药物对其进行治疗。我们在动物实验中发现, 本发明多肽可选择性刺激性欲低下雌性大鼠的求偶行为, 同时发现, 阴道内温度升高, 说明阴道血流增加, 这些证据表明黑色素能神经系统不仅调节男性阴茎勃起和性欲, 而且也调节女性的性欲, 是目前所知的唯一明确调节女性性欲的系统, 也成为治疗女性性欲低下的希望。

[0037] 动物实验证明, 多肽 5、6 经口腔粘膜给药或多肽 1、2 经注射给药, 都可抑制小鼠的觅食行为, 从而减轻小鼠的体重。在 6 只小鼠中, 均有明显体重下降, 与对照组相比平均下降 5%; 对照组只口服生理盐水, 各 6 只小鼠未见明显体重下降。体内试验证明, 在给予本发明多肽的同时, 同时给予促黑激素 MC-3、MC-4 受体阻滞剂 SHU9119 后, 受试小鼠未

见明显体重下降。这说明本发明多肽能激活促黑激素 MC-3、MC-4 受体，并是通过促黑激素 MC-3、MC-4 受体起作用的，其作用类似于天然神经递质。

[0038] 动物实验证明，多肽 3、4、5、6 经皮肤给药或多肽 1、2 经注射给药，都可刺激黑色素的生成。在受试牛蛙或大鼠中，与对照组相比，皮肤黑度提高许多；对照组只给予生理盐水，未见皮肤颜色加深。这说明本发明多肽可激活促黑激素 MC-1 受体，并是通过促黑激素 MC-1 受体发挥作用，象天然神经递质一样起到促进皮肤色素生成作用。

[0039] 经大量动物实验表明，在试验狗体内长期大剂量给药，未发现明显低血压，也未发现明显的肝脏及肾脏损害。

#### 附图说明

[0040] 图 1 为实施例 12 的牛蛙试验结果，其中，A 为生理盐水对照组牛蛙；B 为多肽 1 试验组牛蛙。

#### 具体实施方式

[0041] 以下实施例仅用于解释本发明，但不能由此限制本发明。

#### [0042] 实施例 1

在氨基 (NH<sub>2</sub>) 型固相树脂上制备功能单位氨基酸序列

步骤 1、精确称取 10 克 (0.36 毫摩尔/克) 的 Fmoc-Lys(Mmt)-Linker Amide AM Resin 加入 200 毫升的反应瓶中，并加入 100 毫升 DMF 溶胀树脂 30 分钟，抽干，再用 DMF 振荡洗涤树脂三次，每次 50 毫升，2 分钟一次，抽干，加 50 毫升脱保护试剂 (20% 哌啶/DMF，即哌啶/DMF 混合液中含有 20% 体积百分数的哌啶) 振荡反应 30 分钟，抽出脱保护液，用 DMF 洗涤树脂三次，抽干，取少许茚三酮检测，呈阳性。

[0043] 步骤 2、依次向反应瓶中加入 50 毫升 DMF，三倍摩尔量 Fmoc-Trp-OH，三倍摩尔量 HBTU、三倍摩尔量 NMM，振荡反应 30 分钟，取少许树脂做茚三酮检测，呈阴性，抽出反应液，再用 DMF 振荡洗涤树脂三次，每次大约一分钟，抽干，加 50 毫升脱保护液于树脂中，振荡反应 30 分钟，取少许树脂做茚三酮检测，呈阳性，抽出脱保护液，用 DMF 振荡洗涤树脂三次，抽干。

[0044] 步骤 3、按步骤 2 的操作方法依次将保护氨基酸 Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-D-Phe-OH、Fmoc-Dab(Boc)-OH、Fmoc-Asp(0-2-Phipr)-OH、Fmoc-Arg(Pbf)-OH 连接到上步树脂上，N 末端 Fmoc-Arg(Pbf) 无脱保护步骤，构成多肽树脂，结构为：

Fmoc-Arg(Pbf)-Asp(0-2-Phipr)-Dab(Boc)-D-Phe-Arg(Pbf)-Trp-Lys(Mmt)-Linker Amide AM Resin。

[0045] 步骤 4、将已干燥的上步多肽树脂加入反应瓶中，再将已配制的 400 毫升



1%TFA/DCM 反应液 (即 TFA/DCM 混合液中含有 1%体积百分数的 TFA) 加入反应瓶中, 25 度下反应 1 小时, 反应结束后, 用 DCM 洗涤树脂三次, DMF 振荡洗涤树脂 4 次, 再用 5%NMM/DMF 反应液 (即 NMM/DMF 混合液中含有 5%体积百分数的 NMM) 洗涤树脂三次, 抽干, 茚三酮检测呈阳性。依次向反应瓶中加入 50 毫升 DMF、3.8 克 HBTU、1.1 毫升 NMM, 振荡反应 1 小时, 取少许树脂做茚三酮检测, 呈阴性, 抽出反应液, 再用 DMF 振荡洗涤树脂三次, 甲醇洗涤树脂三次, 干燥, 得到如下结构肽树脂:

Fmoc-Arg(Pbf)-c(Asp-Dab(Boc)-D-Phe-Arg(Pbf)-Trp-Lys)-Linker Amide AM Resin

步骤 5、将上步多肽树脂按步骤 2 中的脱保护方法脱除 N 端 Arg 上的 Fmoc 保护基后制得含功能单位氨基酸序列的肽树脂, 结构为:

Arg(Pbf)-c(Asp-Dab(Boc)-D-Phe-Arg(Pbf)-Trp-Lys)-Linker Amide AM Resin。

#### [0046] 实施例 2

##### 多肽 1 的合成

将实施例 1 制得的功能单位氨基酸序列多肽树脂按实施例 1 中步骤 2 的操作将生物素与其连接, 连接时间为 2 小时, 无脱保护步骤, 得到多肽树脂, 结构为:

Biotin-Arg(Pbf)-c(Asp-Dab(Boc)-D-Phe-Arg(Pbf)-Trp-Lys)-Linker Amide AM Resin。

[0047] 将上步树脂用三氟乙酸裂解得粗肽, 粗肽用高效液相色谱纯化 (色谱柱用 C-18, 洗脱液用 乙腈/水/1%TFA, 反相洗脱) 后, 冻干制得多肽 1, 结构为:

Biotin-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub>。

#### [0048] 实施例 3

##### 多肽 3 的合成

将实施例 1 制得的功能单位氨基酸序列多肽树脂按实施例 1 中步骤 2 的操作依次将保护氨基酸 Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Arg(Pbf)-OH 与其连接, 得到多肽树脂, 结构为: Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-c(Asp-Dab(Boc)-D-Phe-Arg(Pbf)-Trp-Lys)-Linker Amide AM Resin。

[0049] 将上步树脂用三氟乙酸裂解得粗肽, 粗肽用高效液相色谱纯化 (色谱柱用 C-18, 洗脱液用 乙腈/水/1%TFA, 反相洗脱) 后, 冻干制得多肽 3, 结构为:

Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub>。

#### [0050] 实施例 4

##### 多肽 5 的合成

将实施例 1 制得的功能单位氨基酸序列多肽树脂按实施例 1 中步骤 2 的操作依次将保护氨基酸 Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Gln(Trt)-OH、Fmoc-

Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Gly-OH 与其连接，得到多肽树脂，结构为：

Gly-Arg(Pbf)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-Gln(Trt)-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-

Arg(Pbf)-c(Asp- Dab(Boc)-D-Phe-Arg(Pbf)-Trp-Lys)- Linker Amide A M Resin。

[0051] 将上步树脂用三氟乙酸裂解得粗肽，粗肽用高效液相色谱纯化（色谱柱用 C-18，洗脱液用乙腈/水/1%TFA，反相洗脱）后，冻干制得多肽 5，结构为：

Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp- Dab-D-Phe- Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub>。

[0052] 实施例 5

在羟基(OH)型固相树脂上制备功能单位氨基酸序列

步骤 1、精确称取 10 克（0.73 毫摩尔/克）的 Fmoc-Lys(Mmt)-Wang Resin 加入 200 毫升的反应瓶中，并加入 100 毫升 DMF 溶胀树脂 30 分钟，抽干，再用 DMF 振荡洗涤树脂三次，每次 50 毫升，2 分钟一次，抽干，加 50 毫升脱保护试剂（20%哌啶/DMF，即哌啶/DMF 混合液中含有 20% 体积百分数的哌啶）振荡反应 30 分钟，抽出脱保护液，用 DMF 洗涤树脂三次，抽干，取少许茚三酮检测，呈阳性。

[0053] 步骤 2、依次向反应瓶中加入 50 毫升 DMF，三倍摩尔量 Fmoc-Trp-OH，三倍摩尔量 HBTU、三倍摩尔量 NMM，振荡反应 30 分钟，取少许树脂做茚三酮检测，呈阴性，抽出反应液，再用 DMF 振荡洗涤树脂三次，每次大约一分钟，抽干，加 50 毫升脱保护液于树脂中，振荡反应 30 分钟，取少许树脂做茚三酮检测，呈阳性，抽出脱保护液，用 DMF 振荡洗涤树脂三次，抽干。

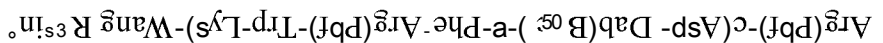
[0054] 步骤 3、按步骤 2 的操作方法依次将保护氨基酸 Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-D-Phe-OH、Fmoc-Dab(Boc)-OH、Fmoc-Asp(0-2-Phipr)-OH、Fmoc- Arg(Pbf)-OH 连接到上步树脂上，N 末端 Fmoc- Arg(Pbf) 无脱保护步骤，构成多肽树脂，结构为：

Fmoc- Arg(Pbf)-Asp(0-2-Phipr)-Dab(Boc)-D-Phe-Arg(Pbf)-Trp-Lys(Mmt)-Wang Resin。

[0055] 步骤 4、将已干燥的上步多肽树脂加入反应瓶中，再将已配制的 400 毫升 1%TFA/DCM 反应液（即 TFA/DCM 混合液中含有 1% 体积百分数的 TFA）加入反应瓶中，25 度下反应 1 小时，反应结束后，用 DCM 洗涤树脂三次，DMF 振荡洗涤树脂 4 次，再用 5%NMM/DMF 反应液（即 NMM/DMF 混合液中含有 5% 体积百分数的 NMM）洗涤树脂三次，抽干，茚三酮检测呈阳性，依次向反应瓶中加入 50 毫升 DMF、3.8 克 HBTU、1.1 毫升 NMM，振荡反应 1 小时，取少许树脂做茚三酮检测，呈阴性，抽出反应液，再用 DMF 振荡洗涤树脂三次，甲醇洗涤树脂三次，干燥，得到如下结构肽树脂：

Fmoc- Arg(Pbf)-c(Asp- Dab(Boc)-D-Phe-Arg(Pbf)-Trp-Lys)-Wang Resin。

[0056] 步骤 5、将上步多肽树脂按步骤 2 中的脱保护方法脱除 N 端 Arg 上的 Fmoc 保护基后制得含功能单位氨基酸序列的肽树脂，结构为：



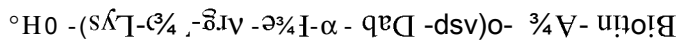
[00v] 实施例 6

多肽 2 的合成

将实施例 5 制得的功能单位氨基酸序列多肽树脂按实施例 5 中步骤 2 的操作将生物素与其连接，连接时间为 2 小时，无脱保护步骤，得到多肽树脂，结构为：



[0058] 将上步树脂用三氟乙酸裂解得粗肽，粗肽用高效液相色谱纯化（色谱柱用 C-18，洗脱 w 乙醇/水/1%TFA，反相洗脱），结构为：

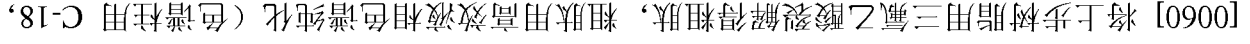


[0059] 实施例 7

多肽 4 的合成

将实施例 5 中制得的功能单位氨基酸序列多肽树脂按实施例 5 中步骤 2 的操作依次将保护氨基

脂，结构为：



[0060] 将上步树脂用三氟乙酸裂解得粗肽，粗肽用高效液相色谱纯化（色谱柱用 C-18，洗脱液用乙醇/水/1%TFA，反相洗脱），结构为：

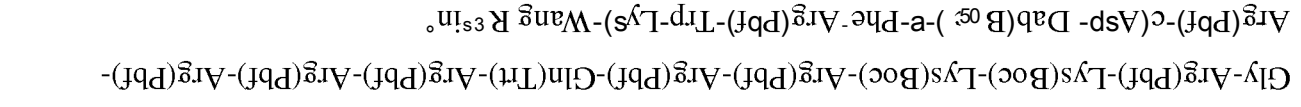


[0061] 实施例 8

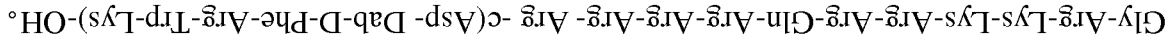
多肽 6 的合成

将实施例 5 中制得的功能单位氨基酸序列多肽树脂按实施例 5 中步骤 2 的操作依次将保护氨基

脂，结构为：



[0062] 将上步树脂用三氟乙酸裂解得粗肽，粗肽用高效液相色谱纯化（色谱柱用 C-18，洗脱液用乙醇/水/1%TFA，反相洗脱），结构为：



## [0063] 实施例 9

## 实验动物

成年雄性及雌性 SD 大鼠，重约 225 克到 250 克。单个笼养，SPF 饲养环境，模拟自然白昼及黑夜光线，充足食物和水，实验前给大鼠充足时间以适应环境，所有行为学研究都固定时间完成（14-18 点）。

## [0064] 实验方法及结果

口腔滴注本发明多肽（实施例 4 的多肽 5）可诱发阴茎勃起。

[0065] 实验发现经口腔滴注本发明多肽可诱发阴茎勃起。口腔滴注不同剂量本发明多肽 5（25，50，100 和 200 纳克/每克体重）后，动物实验证明，经口腔粘膜给药，功能单位氨基酸序列与负载单位氨基酸序列相连的多肽可诱发大鼠阴茎勃起，在剂量为 100 纳克/每克体重时，20 只大鼠中，有 17 只有阴茎勃起，11 只有强烈阴茎勃起，并有求偶行为，有勃起反应持续时间为 30 分钟到 2 小时，平均 60 分钟（见表 1）。本实验设对照组，为生理盐水组，各 20 只大鼠中，未见明显阴茎勃起。

[0066] 本发明多肽是通过中枢的 MC-3 和 MC-4 受体起作用。

[0067] SHU-9119 可选择性的阻滞 MC-3 和 MC-4 受体，在我们的实验中应用本发明多肽的同时，注射 SHU-9119（剂量 2 纳克/每克体重），结果发现，本发明多肽（剂量为 12.5,25,50, 和 100 纳克/每克体重）无法诱导勃起，在 20 只大鼠中，只有在 100 纳克/每克体重时，2 例仍观察到轻度勃起。说明本发明多肽是通过中枢的 MC-3 和 MC-4 受体起作用。

表 1、口腔滴注本发明多肽 5 可诱发阴茎勃起

剂量	12.5	25	50	100	0
勃起总数	9/20	15/20	18/20	17/20	0/20
强烈勃起	1/20	5/20	10/20	11/20	0/20

注：表中剂量单位为纳克/每克体重，0 表示生理盐水对照，下同。

[0068] 采用同样的剂量和施用方法，用多肽 6 代替多肽 5 取得近似的实验结果（见表 2）。

表 2、口腔滴注本发明多肽 6 可诱发阴茎勃起

剂量	12.5	25	50	100	0
勃起总数	8/20	16/20	18/20	18/20	0/20
强烈勃起	0/20	5/20	11/20	12/20	0/20

[0069] 采用同样的剂量、注射给药的方式，用多肽 1 或多肽 2 也取得近似的实验结果（见表 3 和 4）。

表 3、注射给药本发明多肽 1 可诱发阴茎勃起

剂量	12.5	25	50	100	0
勃起总数	8/20	17/20	18/20	19/20	0/20
强烈勃起	0/20	4/20	13/20	11/20	0/20

表 4、注射给药本发明多肽 2 可诱发阴茎勃起：

剂量	12.5	25	50	100	0
勃起总数	6/20	17/20	18/20	18/20	0/20
强烈勃起	0/20	6/20	12/20	11/20	0/20

[0070] 结论：本发明多肽是一种可经粘膜、肌肉吸收进入血流的多肽，动物实验证实其具有引发男性阴茎勃起的功能，可用于治疗男性勃起功能障碍。

#### [0071] 实施例 10

##### 实验动物

成年雄性及雌性 SD 大鼠，重约 225 克到 250 克。单个笼养，SPF 饲养环境，模拟自然白昼及黑夜光线，充足食物和水，实验前给大鼠充足时间以适应环境，所有行为学研究都固定时间完成（14-18 点）。

#### [0072] 实验方法及结果

口腔滴注本发明多肽（实施例 4 的多肽 5）可诱发雌性大鼠求偶行为

实验证明本发明多肽可使雌性大鼠发生求偶行为的改变。实验雌性大鼠在麻醉后行双侧卵巢切除术后，成为性欲低下型大鼠。实验中发现，口腔滴注本发明多肽 5（100 纳克/每克体重）后，雌性大鼠进入雄性大鼠所在的上层的频率由平均 3 次增加为 11 次，首次进入上层的时间由平均 11 分钟减少为 3 分钟。说明，口腔滴注本发明多肽 5 可刺激性欲低下的雌性大鼠的求偶行为。对阴道温度改变的观察中发现，阴道内温度升高，说明阴道血流增加。对照生理盐水无以上作用。

[0073] 本发明多肽是通过中枢的 MC-3 和 MC-4 受体起作用

SHU-9119 可选择性的阻滞 MC-3 和 MC-4 受体，在我们的实验中应用本发明多肽的同时，注射 SHU-9119（剂量 2 纳克/每克体重），结果发现，本发明多肽（剂量为 12.5, 25, 50, 和 100 纳克/每克体重）无法诱导明显求偶行为，在 10 只大鼠中，只有在 100 纳克/每克体重时，2 例仍观察到轻度求偶行为。说明本发明多肽是通过中枢的 MC-3 和 MC-4 受体起作用。

[0074] 采用同样的剂量、同样的施用方法，用多肽 6 代替多肽 5 取得近似的实验结果。

[0075] 采用同样的剂量、注射给药的方式，用多肽 1 或多肽 2 也取得近似的实验结果。

[0076] 结论：本发明多肽是一种可经粘膜、肌肉吸收进入血流的多肽，动物实验证实其具有提高女性性欲的功能，可用于治疗女性性欲低下。

[0077] 实施例 11

#### 实验动物

成年雄性及雌性昆明种小鼠，体重 30 克左右，分成若干组，每组 6 只。笼养，SPF 饲养环境，模拟自然白昼及黑夜光线，充足食物和水，实验前给小鼠充足时间以适应环境。

[0078] 实验方法及结果

肌肉注射本发明多肽（实施例 2 的多肽 1）可抑制食欲

实验发现经肌肉注射本发明多肽可抑制食欲。肌肉注射不同剂量本发明多肽 1（100 纳克/每克体重）后，动物实验证明，经肌肉注射给药，功能单位氨基酸序列与生物素相连的多肽可抑制小鼠食欲，在剂量为 100 纳克/每克体重时，6 只大鼠中平均体重比对照组下降 5%。本实验设对照组，为生理盐水组，6 只小鼠中，未见明显体重下降，结果见表 5。

[0079] 本发明多肽是通过中枢的 MC-3 和 MC-4 受体起作用

SHU-9119 可选择性的阻滞 MC-3 和 MC-4 受体，在我们的实验中应用本发明多肽的同时，注射 SHU-9119（剂量 2 纳克/每克体重），结果发现，本发明多肽（剂量为 100 纳克/每克体重）无法抑制食欲，说明本发明多肽是通过中枢的 MC-3 和 MC-4 受体起作用。

表 5、肌肉注射本发明多肽 1 可抑制小鼠食欲

天数 组别	小鼠体重（克）					
	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 9 天	第 11 天
对照组	28.6	28.9	29.3	29.1	30.0	30.2
给药组	28.7	27.9	28.2	28.6	28.7	28.6

[0080] 用同样的剂量、同样的施用方法用多肽 2 代替多肽 1 取得近似的实验结果（见表 6）。

表 6、肌肉注射本发明多肽 2 可抑制小鼠食欲。

天数 组别	小鼠体重（克）					
	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 9 天	第 11 天
对照组	27.6	27.9	28.3	28.1	29.0	30.0
给药组	27.7	26.9	27.2	27.6	27.7	27.4

[0081] 用同样的剂量、口腔滴注的方式用多肽 5 或多肽 6 也取得近似的实验结果（见表 7 和 8）。

表 7、口腔滴注本发明多肽 5 可抑制小鼠食欲。

天数 组别	小鼠体重 (克)					
	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 9 天	第 11 天
对照组	27.5	27.8	28.2	28.1	29.1	30.4
给药组	27.7	26.9	27.2	27.6	27.7	27.4

表 8、口腔滴注本发明多肽 6 可抑制小鼠食欲。

天数 组别	小鼠体重 (克)					
	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 9 天	第 11 天
对照组	27.5	27.8	28.2	28.1	29.1	30.4
给药组	27.5	27.0	27.0	26.6	27.0	27.2

[0082] 结论：本发明多肽是一种可经粘膜、肌肉吸收进入血流的多肽，动物实验证实其具有抑制食欲的作用，可用于肥胖症的治疗。

#### [0083] 实施例 12

实验动物：牛蛙。将牛蛙在自然光线下照射一周，使其肤色均匀。

#### [0084] 实验方法及结果

皮下注射本发明多肽（实施例 2 的多肽 1）可催生黑色素

实验发现经皮下注射本发明多肽可催生黑色素。皮下注射不同剂量本发明多肽 1（25，50，100 和 200 纳克/每克体重）后，动物实验证明，经皮下注射给药，功能单位氨基酸序列与生物素相连的多肽可催生黑色素，在剂量为 100 纳克/每克体重时，牛蛙可见皮肤颜色加深。对照组只注射生理盐水，其牛蛙中，未见明显肤色变化（见附图 1）。说明本发明多肽是通过 MC-1 受体起作用的。

[0085] 用同样的剂量、同样的施用方法用多肽 2 代替多肽 1 取得近似的实验结果。

[0086] 用 50 毫克/毫升溶液的剂量、皮肤涂抹的方式，用多肽 5 或多肽 6 进行试验，也取得近似的实验结果。

[0087] 结论：本发明多肽是一种可经肌肉、皮肤吸收进入血流的多肽，动物实验证实其具有催生黑色素的作用，可用于色素沉着不足和抗紫外线辐射治疗。

#### [0088] 实施例 13

实验动物

成年雄性及雌性 SD 大鼠，重约 225 克到 250 克。单个笼养，SPF 饲养环境，模拟自然白昼及黑夜光线，充足食物和水，实验前给大鼠充足时间以适应环境，所有行为学研究都固定时间完成（14-18 点）。

#### [0089] 实验方法及结果

将大鼠腹部的毛用脱毛剂脱除，雌雄各 10 只，将本发明多肽（实施例 3 的多肽 3）用生理

盐水配成 50 毫克/毫升的溶液，每日三次涂抹腹部裸露皮肤处，每次间隔 8 小时，涂药 2 小时后可观察到雄性大鼠的阴茎勃起现象和雌性大鼠发情现象（效果和多肽 5 相近）；经 7 天的连续给药，可见大鼠腹部给药处皮肤变黑。

[0090] 表 经皮给药本发明多肽 3 可诱发雄鼠阴茎勃起，雌鼠发情

剂量 50 毫克/毫升的溶液

雄鼠勃起总数 9/10 0/10

雌鼠发情总数 7/10 0/10

注：0 表示生理盐水对照。

[0091] 用多肽 4 代替多肽 3 后效果相似。

[0092] 表 经皮给药本发明多肽 4 可诱发雄鼠阴茎勃起，雌鼠发情

剂量 50 毫克/毫升的溶液

雄鼠勃起总数 8/10 0/10

雌鼠发情总数 6/10 0/10

注：0 表示生理盐水对照。

[0093] 结论：本发明多肽是一种可经皮肤吸收进入血流的多肽，动物实验证实其具有促进勃起和性欲、促生黑色素的作用，其作用于 MC-1、MC-3、MC-4 受体。

[0094] 实施例 14

初步大动物实验：在对实验狗皮下大剂量（200 微克/每千克体重）皮下注射本发明多肽（实施例 3 的多肽 5）的实验。注射后未见明显血压波动，肝肾功能指标正常，反应症状包括食欲降低，其中 2 次注射后发生呕吐。在用药后半年内观察无明显长期副作用。

[0095] 根据动物实验，建议剂量为每公斤体重 0.1 毫克，建议剂型为水剂或油剂舌下含服，也可制成粘膜吸入剂。



1. 一种促黑激素类似物，其特征在于，其多肽结构如下：

X-Z-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-Y 和其无生理毒性的盐，其中，  
X = 生物素酰基或无，

Z=Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg 或 Arg-Arg-Arg 或无，

Y=NH<sub>2</sub> 或 OH，

c=环肽，

当 X = 生物素酰基时，Z = 无；

当 Z=Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg 或 Arg-Arg-Arg 时，X = 无；

X、Z 不能同时为无；

无生理毒性的盐为盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、草酸盐、酒石酸盐、琥珀酸盐、苹果酸盐、苯甲酸盐、海藻酸盐、甲磺酸盐、萘磺酸盐、钾盐、钠盐、锂盐、锌盐、铜盐、钡盐或钙盐。

2. 如权利要求 1 所述的促黑激素类似物，其特征在于，其多肽结构为：

Biotin-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub> 和其无生理毒性的盐、

Biotin-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-OH 和其无生理毒性的盐、

Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub> 和其无生理毒性的盐、

Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-OH 和其无生理毒性的盐、

Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub> 和其无生理毒性的盐或

Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-OH 和其无生理毒性的盐；其中，

Biotin=D-(+) 生物素酰基，

Dab= (L) 2,4 二氨基丁酸残基，

D-Phe= 右旋苯丙氨酸残基。

3. 如权利要求 2 所述的促黑激素类似物，其特征在于，所述无生理毒性的盐为乙酸盐。

4. 权利要求 1 或 2 所述促黑激素类似物的制备方法，其特征在于，包括以下步骤：先在固相树脂上制备出未与固相树脂裂解的、未脱侧链保护基的功能单位氨基酸序列，然后在固相树脂上将功能单位氨基酸序列的 N 末端进行生物素酰化、或者继续将负载单位氨基酸序列中的氨基酸残基依次从 C 端到 N 端分别与功能单位氨基酸序列的 N 末端连接，在脱除最后一个氨基酸残基的 N 端保护基后经裂解、纯化、干燥成肽；N 端生物素酰化的包含功能单位氨基酸序列的固相树脂也要经裂解、纯化、干燥成肽的步骤；其中，

功能单位氨基酸序列为：Arg-c(Asp-Dab-D-Phe- Arg-Trp-Lys) ；

负载单位氨基酸序列为：Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg 或 Arg-Arg-Arg 。

5. 权利要求 1 或 2 所述促黑激素类似物在制备用于治疗男性勃起功能障碍、女性性欲低下、肥胖症或色素沉着不足症药物中的应用。

6. 权利要求 5 所述促黑激素类似物在制备用于治疗男性勃起功能障碍、女性性欲低下、肥胖症或色素沉着不足症药物中的应用，其特征在于，促黑激素类似物的给药方式为粘膜给药、皮肤给药或注射给药。

7. 权利要求 5 所述促黑激素类似物在制备用于治疗男性勃起功能障碍、女性性欲低下、肥胖症或色素沉着不足症药物中的应用，其特征在于，所述药物中含有具有下述结构的多肽成分中的至少一种以及可药用载体或赋形剂：

Biotin-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub>

Biotin-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-OH>

Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub>

Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-OH>

Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-NH<sub>2</sub> 或

Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-Arg-c(Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys)-OH>

8. 权利要求 1 或 2 所述促黑激素类似物在制备促黑激素 MC-Rs 激动剂中的应用。

9. 权利要求 8 所述促黑激素类似物在制备促黑激素 MC-Rs 激动剂中的应用，其特征在于，所述 MC-Rs 指 MC-1 受体、MC-3 受体、MC-4 受体或 MC-5 受体。

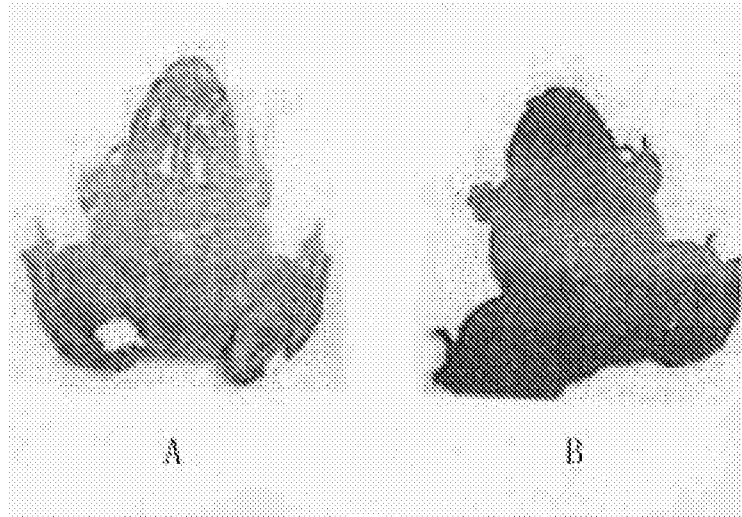


图 1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2012/084555

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See the extra sheet

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

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: C07K; A61K; A61P

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

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

DWPI; SIPOABS; BIOSIS; MEDLINE; Google Scholar and key words: melanocyte-stimulating hormone, biotin, fus+, cyclic, Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys, Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln- Arg-Arg-Arg, Arg-Arg-Arg, etc.

CNABS; CPRS; CNKI and key words: melanocyte stimulating hormone analog, biotin, cyclopeptide, fuse,

Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys, Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln- Arg-Arg-Arg, Arg-Arg-Arg, etc.

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 102131514 A (PALATIN TECHNOLOGIES INC.), 20 July 2011 (20.07.2011), claims 1-18, SEQ ID NO: 3 and SEQ ID NO: 4, and description, pages 10-16	1-9
Y	CN 101177450 A (WUHAN JUQI MEDICAL SCIENCE AND TECHNOLOGY CO., LTD.), 14 May 2008 (14.05.2008), claims 1-9, and description, pages 3-4	1-9
Y	CN 101724026 A (ZHANG, Ga), 09 June 2010 (09.06.2010), claims 1-6, and description, pages 3-5	1-9
Y	CN 101687914 A (NOVELLINO, E. et al.), 31 March 2010 (31.03.2010), claims 1 and 8-10	1-9

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 31 January 2013 (31.01.2013)	Date of mailing of the international search report 28 February 2013 (28.02.2013)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer  WANG, Boli  Telephone No.: (86-10) 62411994

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/CN2012/084555

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 102702330 A (ZHANG, Ga), 03 October 2012 (03.10.2012), claims 1-9	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT  
Information on patent family members

International application No.  
PCT/CN2012/084555

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 102131514 A	20.07.2011	W O 2009152079 A I	17.12.2009
		A U 2009257631 A I	17.12.2009
		CA 2727317 A I	17.12.2009
		U S 2011065652 A I	17.03.2011
		EP 2300036 A I	30.03.2011
		K R 20110040819 A	20.04.2011
		JP 2011522839 A	04.08.2011
		MXPA 10013436 A	30.06.2011
		Z A 201009165 A	28.03.2012
		N Z 590254 A	27.07.2012
CN 101177450 A	14.05.2008	None	
CN 101724026 A	09.06.2010	W O 2011054285 A I	12.05.2011
		CN 101724026 B	01.02.2012
CN 101687914 A	31.03.2010	W O 2008095995 A 2	14.08.2008
		W O 2008095995 A 3	08.01 .2009
		W O 2008095995 A 8	23.04.2009
		A U 2008212754 A I	14.08.2008
		EP 2118130 A 2	18.11 .2009
		CA 2677544 A I	14.08.2008
		INCHENP 200905306 E	22.01 .2010
		U S 2010099604 A I	22.04.2010
		IT 1376815 B	05.07.2010
		R U 2009133806 A	20.03.2011
CN 102702330 A	03.10.2012	None	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2012/084555

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 7/64 (2006.01) i

C07K 1/06 (2006.01) i

C07K 1/04 (2006.01) i

A61K 38/12 (2006.01) i

A61P 15/10 (2006.01) i

A61P 15/00 (2006.01) i

A 61 P 3/04 (2006.01) i

A61P 5/00 (2006.01) i

A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: C07K; A61K; A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词 (如使用))

DWPI; SIPOABS; BIOSIS; MEDLINE; Google Scholar 和关键词 :melanocyte-stimulating hormone, biotin, fus+, cyclic, Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys, Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln- Arg-Arg-Arg, Arg-Arg-Arg 等

CNABS; CPRS; CNKI 和关键词 :促黑激素类似物, 生物素, 环肽, 融合, Asp-Dab-D-Phe-Arg-Trp-Lys, Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg, Arg-Arg-Arg 等

C. 相关文件

类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN102131514A (帕拉丁科技公司)20. 7月 2011 (20. 07. 2011) 权利要求 1— 18, SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4, 说明书第 10-16 页	1-9
Y	CN101177450A (武汉聚奇医药科技有限公司)14. 5月2008 (14. 05. 2008) 权利要求 1—9, 说明书第 3—4 页	1-9
Y	CN101724026A (张嘎)09. 6月2010 (09. 06. 2010) 权利要求 1—6, 说明书第 3—5 页	1-9
Y	CN101687914A (托雷·诺韦洛等)31. 3月2010 (31. 03. 2010) 权利要求 1和 8— 10	1-9

因 其余文件在 C 栏的续页中列出。

因 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:	"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件
"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件	"X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性
"E" 在国际申请日的 3 个月之后公布的在先申请或专利	"Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性
"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的)	"&" 同族专利的文件
"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件	
"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件	

国际检索实际完成的日期 31. 1月 2013 (31. 01. 2013)	国际检索报告邮寄日期 28.2 月 2013 (28.02.2013)
---	--

ISA/CN 的名称和邮寄地址: 中华人民共和国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088 传真号: (86-10)62019451	受权官员  汪波莉 电话号码: (86-10) 62411994
--	---



c (续). 相关文件		
类 型	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 102702330 A (张 嘎 )03. 10 月 2012(03. 10. 2012) 权 利 要 求 1-9	1-9

国际检索报告

关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2012/084555

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN102131514A	20. 07. 2011	WO2009152079A1	17.12.2009
		AU2009257631A1	17.12.2009
		CA2727317A1	17.12.2009
		US2011065652A1	17.03.2011
		EP2300036A1	30.03.2011
		KR20 1100408 19A	20.04.2011
		JP2011522839A	04.08.2011
		MXPA10013436A	30.06.2011
		ZA201009165A	28.03.2012
		NZ590254A	27.07.2012
CN101177450A	14. 05. 2008	无	
CN101724026A	09. 06. 2010	WO2011054285A1	12.05.2011
		CN101724026B	01.02.2012
CN101687914A	31. 03. 2010	WO2008095995A2	14.08.2008
		WO2008095995A3	08.01.2009
		WO2008095995A8	23.04.2009
		AU2008212754A1	14.08.2008
		EP2118130A2	18.11.2009
		CA2677544A1	14.08.2008
		INCHENP200905306E	22.01.2010
		US2010099604A1	22.04.2010
		IT1376815B	05.07.2010
RU2009133806A	20.03.2011		
CN 102702330 A	03. 10. 2012	无	

主题的分类

C07K 7/64 (2006.01) !  
C 7K ( ) !  
C07K 1/04 (2006.01) !  
IK 3 / 12(200 ) !  
IP 15/  
A61P 15/ 00(2006.01) !  
A61P 3/ 04(2006.01) !  
A61P 5/ 00(2006.01) !

实际检索报告

申请号  
PCT/C