



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 106999602 B

(45) 授权公告日 2022.02.01

(21) 申请号 201580063041.8

(22) 申请日 2015.11.26

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 106999602 A

(43) 申请公布日 2017.08.01

(30) 优先权数据  
14195172.3 2014.11.27 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2017.05.19

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/EP2015/077757 2015.11.26

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02016/083499 EN 2016.06.02

(73) 专利权人 诺和诺德股份有限公司  
地址 丹麦鲍斯韦

(72) 发明人 P. 索尔伯格 J. 科福伊德

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司  
72001

代理人 张萍 鲁炜

(51) Int.Cl.  
A61K 47/54 (2017.01)  
A61K 47/59 (2017.01)

(56) 对比文件  
CN 101380476 A, 2009.03.11  
WO 2014202727 A1, 2014.12.24  
WO 2012140117 A1, 2012.10.18  
WO 2011080103 A1, 2011.07.07  
CN 103209711 A, 2013.07.17  
Knudsen LB等. Potent derivatives of glucagon-like peptide-1 with pharmacokinetic properties suitable for once daily administration.《Journal of Medicinal Chemistry》.2000,第43卷(第9期),

审查员 屈小又

权利要求书15页 说明书119页  
序列表4页 附图1页

### (54) 发明名称

GLP-1衍生物及其用途

### (57) 摘要

本发明涉及通式I的GLP-1类似物的衍生物,该衍生物包含衔接至该GLP-1类似物位置34、35、36、37或38处的Lys残基上的侧链,该侧链包含分支连接体,选自C18二酸、C20二酸和磺酸C16的第一和第二延长体,以及至少一个合并有乙二醇单元的连接体元件-1。连接体元件-1可并入可选的前连接体,和/或第一或第二后连接体中。本发明还涉及新型GLP-1类似物、新型侧链中间产物及其制备和用于制备生物活性肽和蛋白质的用途,以及该类似物和衍生物的药物组合物和医学应用。该衍生物具有极长的半衰期且同时保持令人满意的效力,这使得它们可能适合于每月一次给药。

1. 通式I的GLP-1类似物的衍生物,或其药学上可接受的盐:

Xaa<sub>7</sub>-Xaa<sub>8</sub>-Glu-Gly-Thr-Xaa<sub>12</sub>-Thr-Ser-Asp-Xaa<sub>16</sub>-Ser-Xaa<sub>18</sub>-Xaa<sub>19</sub>-Xaa<sub>20</sub>-Glu-Xaa<sub>22</sub>-Xaa<sub>23</sub>-Ala-Xaa<sub>25</sub>-Xaa<sub>26</sub>-Xaa<sub>27</sub>-Phe-Ile-Xaa<sub>30</sub>-Xaa<sub>31</sub>-Leu-Xaa<sub>33</sub>-Xaa<sub>34</sub>-Xaa<sub>35</sub>-Xaa<sub>36</sub>-Xaa<sub>37</sub>-Xaa<sub>38</sub>, 其中

Xaa<sub>7</sub>为L-组氨酸、脱氨基组氨酸;

Xaa<sub>8</sub>为Ala、Gly、Ser、Aib;

Xaa<sub>12</sub>为Phe或Leu;

Xaa<sub>16</sub>为Val或Leu;

Xaa<sub>18</sub>为Ser;

Xaa<sub>19</sub>为Tyr;

Xaa<sub>20</sub>为Leu;

Xaa<sub>22</sub>为Gly或Glu;

Xaa<sub>23</sub>为Gln或Arg;

Xaa<sub>25</sub>为Ala或Val;

Xaa<sub>26</sub>为Arg;

Xaa<sub>27</sub>为Glu;

Xaa<sub>30</sub>为Ala、Glu;

Xaa<sub>31</sub>为Trp或His;

Xaa<sub>33</sub>为Val;

Xaa<sub>34</sub>为Arg、His、Gln或Lys;

Xaa<sub>35</sub>为Gly、Ala;

Xaa<sub>36</sub>为Arg、Gly或Lys;

Xaa<sub>37</sub>为Gly、Pro或Lys;

Xaa<sub>38</sub>为Lys或不存在;

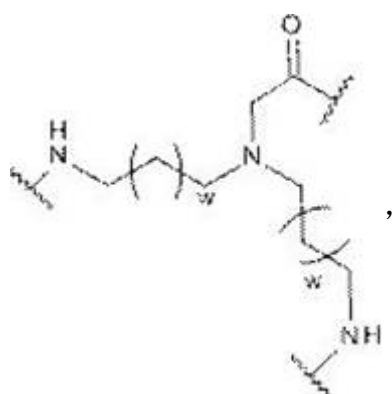
其中Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>和Xaa<sub>38</sub>中的至少一个为Lys;

该衍生物包含附接至Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基上的侧链,

该侧链包含:

(i) 化学式11的分支连接体

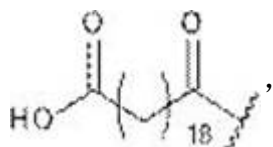
化学式11:



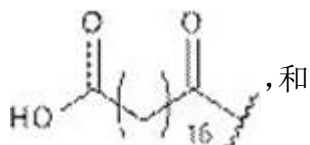
其中w为0-2范围内的整数;

(ii) 选自化学式12、化学式12a和化学式13的第一和第二延长体：

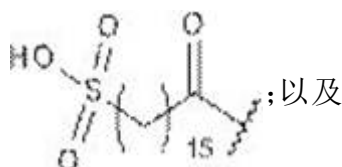
化学式12：



化学式12a：

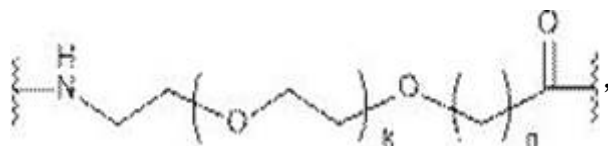


化学式13：



(iii) 至少一个化学式1的连接体元件-1：

化学式1：



其中k为1-23范围内的整数，且n为1-5范围内的整数；

其中所述分支连接体

a) 在其-CO端经由可选的前连接体连接至Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基，并且

b) 在其两个-NH端中的每一个处分别经由第一和第二后连接体分别连接至第一和第二延长体中每一个的-CO端；并且

其中

如果存在前连接体，则其包含连接体元件-1，或者

如果不存在前连接体，则第一后连接体和第二后连接体中的每一个包含连接体元件-1。

2. 权利要求1的衍生物，其中所述第一和第二后连接体中的每一个包含-NH基团和-CO基团。

3. 权利要求1的衍生物，其中所述类似物具有通式I'：

Xaa<sub>7</sub>-Xaa<sub>8</sub>-Glu-Gly-Thr-Xaa<sub>12</sub>-Thr-Ser-Asp-Xaa<sub>16</sub>-Ser-Xaa<sub>18</sub>-Xaa<sub>19</sub>-Xaa<sub>20</sub>-Glu-Xaa<sub>22</sub>-Xaa<sub>23</sub>-Ala-Xaa<sub>25</sub>-Xaa<sub>26</sub>-Xaa<sub>27</sub>-Phe-Ile-Xaa<sub>30</sub>-Xaa<sub>31</sub>-Leu-Xaa<sub>33</sub>-Xaa<sub>34</sub>-Xaa<sub>35</sub>-Xaa<sub>36</sub>-Xaa<sub>37</sub>-Xaa<sub>38</sub>，其中

Xaa<sub>7</sub>为L-组氨酸或脱氨基组氨酸；

Xaa<sub>8</sub>为Aib；

Xaa<sub>12</sub>为Phe；

Xaa<sub>16</sub>为Val；

Xaa<sub>18</sub>为Ser;  
Xaa<sub>19</sub>为Tyr;  
Xaa<sub>20</sub>为Leu;  
Xaa<sub>22</sub>为Glu;  
Xaa<sub>23</sub>为Gln;  
Xaa<sub>25</sub>为Ala;  
Xaa<sub>26</sub>为Arg;  
Xaa<sub>27</sub>为Glu;  
Xaa<sub>30</sub>为Ala或Glu;  
Xaa<sub>31</sub>为Trp;  
Xaa<sub>33</sub>为Val;  
Xaa<sub>34</sub>为Arg或Lys;  
Xaa<sub>35</sub>为Gly或Lys;  
Xaa<sub>36</sub>为Arg或Lys;  
Xaa<sub>37</sub>为Pro或Lys;  
Xaa<sub>38</sub>为Lys或不存在;

其中Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>和Xaa<sub>38</sub>中的至少一个为Lys。

4. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中在式I中,Xaa<sub>7</sub>为L-组氨酸或脱氨基组氨酸;Xaa<sub>8</sub>为Aib;Xaa<sub>12</sub>为Phe;Xaa<sub>16</sub>为Val;Xaa<sub>18</sub>为Ser;Xaa<sub>19</sub>为Tyr;Xaa<sub>20</sub>为Leu;Xaa<sub>22</sub>为Glu;Xaa<sub>23</sub>为Gln;Xaa<sub>25</sub>为Ala;Xaa<sub>26</sub>为Arg;Xaa<sub>27</sub>为Glu;Xaa<sub>30</sub>为Ala或Glu;Xaa<sub>31</sub>为Trp;Xaa<sub>33</sub>为Val;Xaa<sub>34</sub>为Arg或Lys;Xaa<sub>35</sub>为Gly或Lys;Xaa<sub>36</sub>为Arg或Lys;Xaa<sub>37</sub>为Pro或Lys;且/或Xaa<sub>38</sub>为Lys或不存在;并且其中Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>和Xaa<sub>38</sub>中的至少一个为Lys。

5. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多10个氨基酸改变。

6. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多9个氨基酸改变。

7. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多8个氨基酸改变。

8. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多7个氨基酸改变。

9. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多6个氨基酸改变。

10. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多5个氨基酸改变。

11. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多4个氨基酸改变。

12. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多3个氨基酸改变。

13. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 1)的序列相比,所

述GLP-1类似物具有最多2个氨基酸改变。

14. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多1个改变。

15. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有至少1个氨基酸改变。

16. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有至少2个氨基酸改变。

17. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有至少3个氨基酸改变。

18. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有至少4个氨基酸改变。

19. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有至少5个氨基酸改变。

20. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有至少6个氨基酸改变。

21. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述GLP-1类似物选自SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7和SEQ ID NO: 8的肽。

22. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二延长体中的每一个为化学式12。

23. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二延长体中的每一个为化学式12a。

24. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二延长体中的每一个为化学式13。

25. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述侧链连接至Xaa<sub>34</sub>的Lys残基。

26. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述侧链连接至Xaa<sub>35</sub>的Lys残基。

27. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述侧链连接至Xaa<sub>36</sub>的Lys残基。

28. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述侧链连接至Xaa<sub>37</sub>的Lys残基。

29. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述侧链连接至Xaa<sub>38</sub>的Lys残基。

30. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中在化学式11中,w为1。

31. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中存在所述前连接体。

32. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述前连接体包含连接体元件-1 (化学式1)。

33. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一后连接体和第二后连接体中的每一个包含连接体元件-1。

34. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中仅有所述前连接体包含连接体元件-1。

35. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一后连接体和第二后连接体中的每一个不包含连接体元件-1。

36. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述前连接体以及所述第一后连接体和第二后连接体中的每一个包含连接体元件-1。

37. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中不存在所述前连接体。

38. 权利要求1-3任一项的衍生物,其包含至少两次连接体元件-1。
39. 权利要求1-3任一项的衍生物,其包含m次连接体元件-1,其中m为2-12范围内的整数。
40. 权利要求39的衍生物,其中m为2。
41. 权利要求39的衍生物,其中m为4。
42. 权利要求39的衍生物,其中m为6。
43. 权利要求39的衍生物,其中m为8。
44. 权利要求39的衍生物,其中m为10。
45. 权利要求39的衍生物,其中m为12。
46. 权利要求1-3任一项的衍生物,其包含至少一个由q个并置连接体元件-1组成的构件,其中q为1-6范围内的整数,并且其中并置的意思是经由酰胺键互相连接。
47. 权利要求46的衍生物,其中q为2-6范围内的整数。
48. 权利要求46的衍生物,其中q为1。
49. 权利要求46的衍生物,其中q为2。
50. 权利要求46的衍生物,其中q为3。
51. 权利要求46的衍生物,其中q为4。
52. 权利要求46的衍生物,其中q为5。
53. 权利要求46的衍生物,其中q为6。
54. 权利要求46的衍生物,其包含q个并置连接体元件-1的恰好一个构件。
55. 权利要求54的衍生物,其中q为2、4或6。
56. 权利要求54的衍生物,其中q为2。
57. 权利要求54的衍生物,其中q为4。
58. 权利要求54的衍生物,其中q为6。
59. 权利要求54的衍生物,其中所述构件在所述前连接体中。
60. 权利要求46的衍生物,其包含q个并置连接体元件-1的恰好两个构件。
61. 权利要求60的衍生物,其中q为1。
62. 权利要求60的衍生物,其中q为2。
63. 权利要求60的衍生物,其中q为3。
64. 权利要求60的衍生物,其中q为4。
65. 权利要求60的衍生物,其中q为5。
66. 权利要求60的衍生物,其中q为6。
67. 权利要求60的衍生物,其中所述两个构件在所述第一和第二后连接体中,各有一个构件。
68. 权利要求46的衍生物,其包含q个并置连接体元件-1的恰好三个构件。
69. 权利要求68的衍生物,其中q为2或4。
70. 权利要求69的衍生物,其中q为2。
71. 权利要求69的衍生物,其中q为4。
72. 权利要求68的衍生物,其中所述三个构件在所述前连接体、第一后连接体和第二后连接体中,各有一个构件。

73. 权利要求1-3任一项所述的衍生物,其中所述前连接体如果存在的话则包含q次连接体元件-1,其中q为2、4或6。

74. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中k为1、3、11、15或23。

75. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中k为1。

76. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中k为3。

77. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中k为11。

78. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中k为15。

79. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中k为23。

80. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中n为1或2。

81. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中n为1。

82. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中n为2。

83. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中k为1且n为1。

84. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中k为3且n为2。

85. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中k为11且n为2。

86. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中k为15且n为2。

87. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中k为23且n为2。

88. 权利要求1-3任一项的衍生物,其包含化学式2的连接体元件-2:



89. 权利要求88的衍生物,其中化学式2是Lys的二价基团。

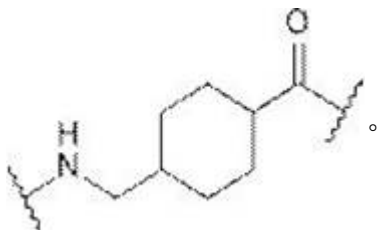
90. 权利要求88的衍生物,其中化学式2是eps-Lys的二价基团。

91. 权利要求88的衍生物,其中化学式2是L-eps-Lys的二价基团。

92. 权利要求88的衍生物,其包含p次连接体元件-2,其中p为0-2范围内的整数。

93. 权利要求92的衍生物,其中p为2。

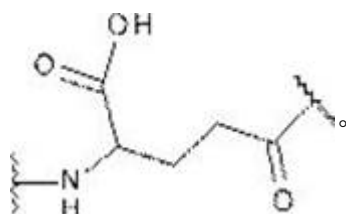
94. 权利要求1-3任一项的衍生物,其包含化学式3的连接体元件-3:



95. 权利要求94的衍生物,其中化学式3是氨甲环酸的二价基团。

96. 权利要求94的衍生物,其中化学式3是反式-4-(氨甲基)环己烷羧酸的二价基团。

97. 权利要求1-3任一项的衍生物,其包含化学式4的连接体元件-4:



98. 权利要求97的衍生物,其中化学式4是Glu的二价基团。

99. 权利要求97的衍生物,其中化学式4是gGlu的二价基团。

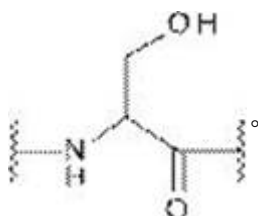
100. 权利要求97的衍生物,其中化学式4是L-gGlu的二价基团。

101. 权利要求1-3任一项的衍生物,其包含化学式5的连接体元件-5:



102. 权利要求101的衍生物,其中化学式5是4-氨基丁酸的二价基团。

103. 权利要求1-3任一项的衍生物,其包含化学式6的连接体元件-6:



104. 权利要求103的衍生物,其中化学式6是Ser的二价基团。

105. 权利要求103的衍生物,其中化学式6是L-Ser的二价基团。

106. 权利要求31的衍生物,其中所述前连接体包含恰好q次连接体元件-1,其中q为2、4或6。

107. 权利要求106的衍生物,其中q为2。

108. 权利要求106的衍生物,其中q为4。

109. 权利要求106的衍生物,其中q为6。

110. 权利要求106的衍生物,其中k为1。

111. 权利要求106的衍生物,其中n为1。

112. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述分支连接体在其-CO端直接连接至Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基。

113. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体各自包含恰好s次连接体元件-1,其中s为0或1-6范围内的整数,以及至少一个另外的连接体元件,其选自连接体元件-2、连接体元件-3、连接体元件-4、连接体元件-5和连接体元件-6。

114. 权利要求113的衍生物,其中该衍生物包含不超过四个相同或不同种类的另外的连接体元件。

115. 权利要求113的衍生物,其中该衍生物包含不超过三个相同或不同种类的另外的连接体元件。

116. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体各自包含恰好s次连接体元件-1,其中s为0或1-6范围内的整数,以及至少两个相同或不同种类的另外的连接体



元件,其选自连接体元件-2、连接体元件-3、连接体元件-4、连接体元件-5和连接体元件-6。

117. 权利要求116的衍生物,其中该衍生物包含不超过四个相同或不同种类的另外的连接体元件。

118. 权利要求116的衍生物,其中该衍生物包含不超过三个相同或不同种类的另外的连接体元件。

119. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的两次连接体元件-2和五次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

120. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的两次连接体元件-2和四次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

121. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-3、连接体元件-4和六次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

122. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的两次连接体元件-2和三次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为3且n为2,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

123. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的两次连接体元件-2和化学式1的连接体元件-1组成,其中k为23且n为2,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

124. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的两次连接体元件-2和化学式1的连接体元件-1组成,其中k为15且n为2,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

125. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的两次连接体元件-2和化学式1的连接体元件-1组成,其中k为11且n为2,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

126. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、两次连接体元件-2和五次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

127. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所

示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-3、连接体元件-4和五次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

128. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-3、连接体元件-4和四次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

129. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-3、连接体元件-4和两次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

130. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-3和连接体元件-4组成,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

131. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、两次连接体元件-2和四次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

132. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、两次连接体元件-2和六次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

133. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、连接体元件-4和四次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

134. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、连接体元件-4和五次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

135. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、连接体元件-4和六次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

136. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、连接体元件-3、连接体元件-4和四次化学式1

的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

137. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、连接体元件-3、连接体元件-4和五次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

138. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、连接体元件-3、连接体元件-4和六次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

139. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-4和四次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

140. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由连接体元件-4组成,其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

141. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-3、连接体元件-4和连接体元件-6组成,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

142. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述前连接体由经由酰胺键相互连接的两次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述前连接体在其-NH端连接至所述分支连接体的-CO端,并且在其-CO端连接至Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基。

143. 权利要求142的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个如权利要求128所限定。

144. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述前连接体由经由酰胺键相互连接的四次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述前连接体在其-NH端连接至所述分支连接体的-CO端,并且在其-CO端连接至Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基。

145. 权利要求144的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个如权利要求129所限定。

146. 权利要求144的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个如权利要求130所限定。

147. 权利要求144的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个如权利要求140

所限定。

148. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述前连接体由经由酰胺键相互连接的六次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述前连接体在其-NH端连接至分所述分支连接体的-CO端,并且在其-CO端连接至Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基。

149. 权利要求148的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个如权利要求130所限定。

150. 权利要求148的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个如权利要求141所限定。

151. 权利要求148的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个如权利要求140所限定。

152. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述分支连接体经由酰胺键,

a) 在其-CO端经由可选的前连接体连接至Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基,并且

b) 在其两个-N端中的每一个处分别经由第一和第二后连接体分别连接至第一和第二延长体中每一个的-CO端。

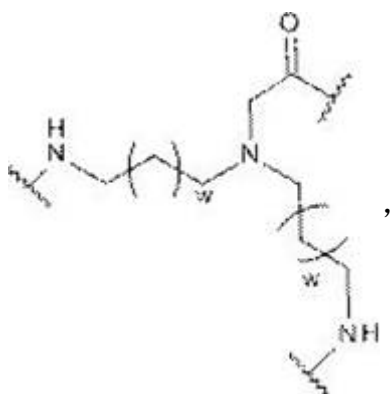
153. 权利要求1-3任一项的衍生物,或其药学上可接受的盐,其中Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>和Xaa<sub>38</sub>中的一个为Lys;

该衍生物包含附接至Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>和Xaa<sub>38</sub>的Lys残基上的侧链,

该侧链包含:

(i) 化学式11的分支连接体

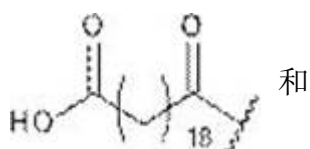
化学式11:



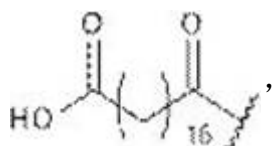
其中,w为1;

(ii) 选自化学式12和化学式12a的第一和第二延长体:

化学式12:



化学式12a:



(iii) 至少八次化学式1的连接体元件-1:

化学式1:



其中k为1且n为1;

其中所述分支连接体

- a) 在其-CO端经由可选的前连接体连接至Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基,并且
- b) 在其两个-NH端中的每一个处分别经由第一和第二后连接体分别连接至第一和第二延长体中每一个的-CO端;并且

其中

如果存在前连接体,则其包含至少两次连接体元件-1,或者

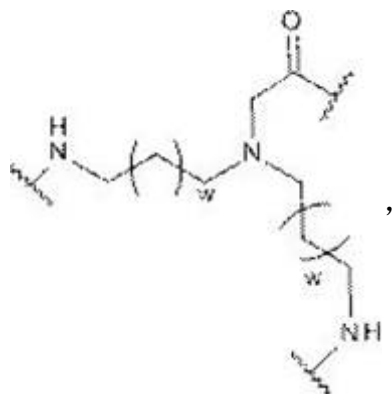
如果不存在前连接体,则第一后连接体和第二后连接体中的每一个包含至少四次连接体元件-1。

154. 权利要求1-3任一项的衍生物,或其药学上可接受的盐,其中Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>中的一个为Lys,并且该衍生物包含附接至Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基上的侧链,

该侧链由以下组成:

(i) 化学式11的分支连接体

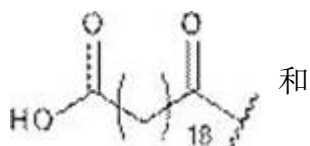
化学式11:



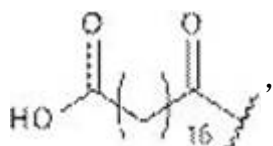
其中,w为1;

(ii) 选自化学式12和化学式12a的第一和第二延长体:

化学式12:

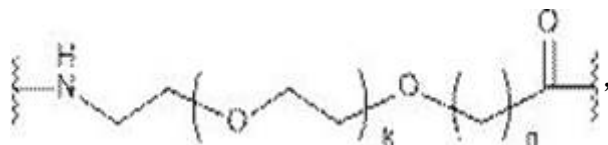


化学式12a:



(iii) 至少八次化学式1的连接体元件-1:

化学式1:



其中k为1且n为1;

其中所述分支连接体

- a) 在其-CO端经由可选的前连接体连接至Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa38的Lys残基的ε氨基,并且
- b) 在其两个-NH端中的每一个处分别经由第一和第二后连接体分别连接至第一和第二延长体中每一个的-CO端;并且

其中

如果存在前连接体,则其由二至四次连接体元件-1组成,或者

如果不存在前连接体,则第一后连接体和第二后连接体中的每一个由四至六次连接体元件-1组成。

155. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述GLP-1类似物与SEQ ID NO: 1相比具有以下改变: (8Aib, 22E, 26R, 34R), 以及另外, (i) 36K, (ii) 37K, 或 (iii) (37P和38K)。

156. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述GLP-1类似物具有SEQ ID NO: 2、4或6中任一个的序列。

157. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中整个分子中连接体元件-1的总数(“m”)为8-12。

158. 权利要求157的衍生物,其中整个分子中连接体元件-1的总数(“m”)为8、10或12。

159. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一后连接体和第二后连接体每一个中并置连接体元件-1的数目(“s”)为2-6。

160. 权利要求159的衍生物,其中所述第一后连接体和第二后连接体每一个中并置连接体元件-1的数目(“s”)为2、4或6。

161. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个包含一个化学式4的连接体元件-4,该连接体元件-4是gGlu的二价基团。

162. 权利要求161的衍生物,其中所述gGlu为L-形式。

163. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个包含一个化学式3的连接体元件-3,该连接体元件-3是氨甲环酸的二价基团。

164. 权利要求163的衍生物,其中该连接体元件-3是反式-4-(氨甲基)环己烷羧酸的二价基团。

165. 权利要求1-3任一项的衍生物,其中如果存在,则所述前连接体中并置连接体元件-1的数目为2-4。

166. 权利要求165的衍生物,其中所述前连接体中并置连接体元件-1的数目为2或4。

167. 权利要求1-3任一项的衍生物,其选自化学式23、化学式30、化学式31、化学式32和

化学式48;或其药学上可接受的盐。

168. GLP-1衍生物,其选自化学式21、化学式22、化学式23、化学式24、化学式25、化学式26、化学式27、化学式28、化学式29、化学式30、化学式31、化学式32、化学式33、化学式34、化学式35、化学式36、化学式37、化学式38、化学式39、化学式40、化学式41、化学式42、化学式43、化学式44、化学式45、化学式46、化学式47、化学式48、化学式49、化学式50、化学式51和化学式52;或其药学上可接受的盐。

169. 药物组合物,其包含根据权利要求1-168中任一项所述的衍生物以及药学上可接受的赋形剂。

170. 根据权利要求1-168中任一项的衍生物在制备药物中的用途,该药物用于

(i) 预防和/或治疗所有形式的糖尿病,和/或用于减少HbA1C;

(ii) 延缓或预防糖尿病进展,延缓糖耐量减低(IGT)进展成需要胰岛素的2型糖尿病,延缓或预防胰岛素抵抗,和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;

(iii) 改善 $\beta$ -细胞功能,和/或恢复 $\beta$ -细胞的葡萄糖敏感性;

(iv) 预防和/或治疗饮食失调;减少胃运动;延缓胃排空;增加身体活动;和/或预防和/或治疗肥胖症的共病;

(v) 预防和/或治疗糖尿病并发症;神经病;肾病;和/或视网膜病;

(vi) 改善脂质参数;

(vii) 预防和/或治疗心血管疾病;和/或降低血压。

171. 权利要求170的用途,其中所述神经病是周围神经病变。

172. 权利要求170的用途,其中所述糖尿病为高血糖症。

173. 权利要求170的用途,其中所述糖尿病为2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY(青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病。

174. 权利要求170的用途,其中所述糖尿病进展是指2型糖尿病的进展。

175. 权利要求170的用途,其中改善 $\beta$ -细胞功能是指减少 $\beta$ -细胞凋亡、提高 $\beta$ -细胞功能和/或 $\beta$ -细胞质量。

176. 权利要求170的用途,其中所述饮食失调是指肥胖症。

177. 权利要求170的用途,其中通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调。

178. 权利要求170的用途,其中所述药物用于治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症。

179. 权利要求170的用途,其中所述肥胖症的共病为骨关节炎和/或尿失禁。

180. 权利要求170的用途,其中所述糖尿病并发症为血管病。

181. 权利要求170的用途,其中所述改善脂质参数是指预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质;增加HDL;降低小而密的LDL;降低VLDL;降低甘油三酯;降低胆固醇;降低人的脂蛋白a(Lp(a))血浆水平;在体外和/或体内抑制载脂蛋白a(apo(a))的生成。

182. 权利要求170的用途,其中所述心血管疾病为综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失

常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、闭塞性动脉硬化、舒张期功能障碍和/或收缩期功能障碍。

183. 权利要求182 的用途,其中所述高血压为原发性高血压或急性高血压急症。

184. 权利要求170的用途,其中所述降低血压是指降低收缩压。



## GLP-1衍生物及其用途

### 技术领域

[0001] 本发明涉及胰高血糖素样肽1 (GLP-1) 的类似物的衍生物,更具体地涉及具有分支酰化的GLP-1衍生物,及其药学用途。

[0002] 序列表的援引并入

[0003] 标题为“序列表”的序列表为3822个字节,创建于2015年9月29日,并且通过引用并入本文。

[0004] 发明背景

[0005] WO 2005/027978A2公开了许多GLP-1衍生物,包括具有C12或C14脂肪酸的分支酰化的一些衍生物。

[0006] 于2014年6月19日提交并且要求2013年6月20日为最早优先权日的专利申请PCT/EP2014/062952 (WO 2014/202727 A1,公开日为2014年12月24日) 公开了许多具有分支酰化的GLP-1衍生物。

### 发明内容

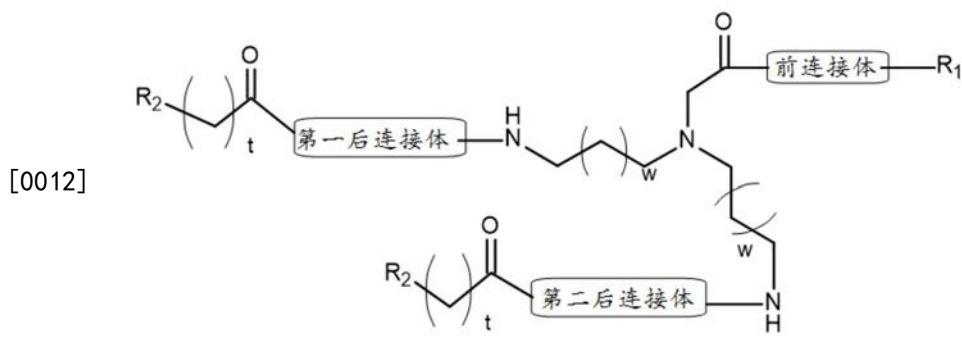
[0007] 司美鲁肽 (Semaglutide) 是一种用于每周给药一次的GLP-1衍生物,其处在Novo Nordisk A/S的研发中。该化合物在WO 2006/097537 A2的实施例4中公开。

[0008] 本发明涉及具有每月给药一次潜力的新型GLP-1衍生物。

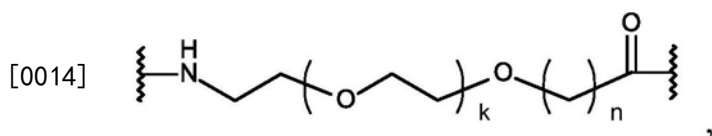
[0009] 在一个方面,本发明涉及GLP-1类似物的一种衍生物,其在对应于人天然GLP-1 (7-37) 的位置34、35、36、37或38的Lys残基处用两条酰基链经由一个相同的分支连接体 (Branched linker) 酰化,该连接体可被称为Gly (N) -双氨基-C2/C4) 的三价基团。每一条酰基链由经由所谓的后连接体 (Post-linker) 连接至该分支连接体上的两个长脂肪二酸或磺酸组成。该分支连接体经由可选的前连接体 (Pre-linker) 连接至GLP-1类似物的Lys<sup>34</sup>、Lys<sup>35</sup>、Lys<sup>36</sup>、Lys<sup>37</sup>或Lys<sup>38</sup>残基上。该衍生物进一步在其前连接体和/或后连接体部分中包含至少一个合并有乙二醇单元的连接体元件和可选的额外的连接体元件。

[0010] 在第二方面,本发明涉及新型GLP-1类似物,与天然GLP-1 (7-37) 相比,其包含以下改变: (7Imp,8Aib,22E,26R,34R,37K)、(8Aib,22E,26R,34R,37P) 或 (8Aib,22E,26R,34R,37P,38K);如SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的类似物。这些类似物是本发明GLP-1衍生物的新型肽中间体。

[0011] 在第三方面,本发明涉及与本发明GLP-1衍生物相关的新型侧链中间产物。这些化合物由式II定义:



[0013] 其中w为0-2,t为15、16或18,R<sub>1</sub>为-OH或合适的活化基团,R<sub>2</sub>为-COOH、-SO<sub>3</sub>H、合适的用于-COOH的保护基团,或合适的用于-SO<sub>3</sub>H的保护基团。R<sub>1</sub>基团例如可以是-OPfp或类似的离去基团,它与前连接体的-CO基团一起形成活性酯。R<sub>2</sub>基团例如可以是-COOtBu、-COSC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>或用于羧酸和磺酸基团的类似的保护基团。前连接体可以存在或可以不存在。式II化合物包含至少一个化学式1的连接体元件-1:



[0015] 其中k为1-23范围内的整数,且n为1-5范围内的整数。本发明还涉及这样的化合物用于附接至生物活性肽或蛋白质上的用途。

[0016] 在第四方面,本发明涉及包含此类衍生物或类似物和药学上可接受的赋形剂的药物组合物,及其医学用途。

[0017] 天然人GLP-1(7-37)的氨基酸序列作为SEQ ID NO:1包含在序列表中。SEQ ID NO:2-4和6-8是本发明GLP-1衍生物的具体GLP-1类似物,并且SEQ ID NO:5是一种GLP-1类似物,其被含入两种比较化合物中。

[0018] 本发明的衍生物具有极长的半衰期,并且仍然具有极好的效力。

## 附图说明

[0019] 本发明衍生物的结构在附图中更详细地描述,其中

[0020] 图1显示实施例12的衍生物的结构,其中增加的框和线示出本文对于该分子的部分所使用的术语。

[0021] 描述

[0022] 在下文中,希腊字母可由其符号或相应的书写名称表示,例如:α=alpha;β=beta;ε=epsilon;γ=gamma;δ=delta;ω=omega,等等。另外,希腊字母μ可用“u”表示,例如在μl=ul中或在μM=uM中。

[0023] 化学式中的星号(\*)或波浪线表示i)附接点,ii)基团,和/或iii)未共享的电子。

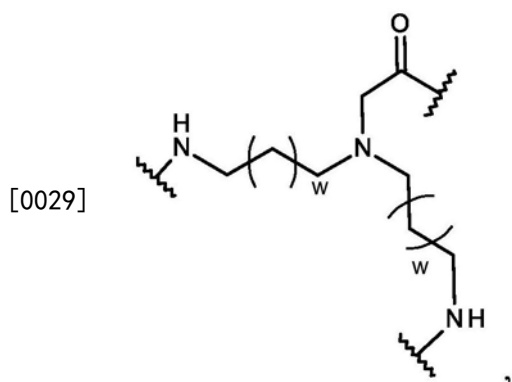
[0024] 在其第一方面,本发明涉及通式I的GLP-1类似物的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯:

[0025] Xaa<sub>7</sub>-Xaa<sub>8</sub>-Glu-Gly-Thr-Xaa<sub>12</sub>-Thr-Ser-Asp-Xaa<sub>16</sub>-Ser-Xaa<sub>18</sub>-Xaa<sub>19</sub>-Xaa<sub>20</sub>-Glu-Xaa<sub>22</sub>-Xaa<sub>23</sub>-Ala-Xaa<sub>25</sub>-Xaa<sub>26</sub>-Xaa<sub>27</sub>-Phe-Ile-Xaa<sub>30</sub>-Xaa<sub>31</sub>-Leu-Xaa<sub>33</sub>-Xaa<sub>34</sub>-Xaa<sub>35</sub>-Xaa<sub>36</sub>-Xaa<sub>37</sub>-Xaa<sub>38</sub>,其中

[0026] Xaa<sub>7</sub>为L-组氨酸、(S)-2-羟基-3-(1H-咪唑-4-基)-丙酸、D-组氨酸、脱氨基组氨酸、高组氨酸(homohistidine)、N<sup>a</sup>-乙酰基-组氨酸、N<sup>a</sup>-甲酰基-组氨酸、N<sup>a</sup>-甲基-组氨酸、3-吡啶基丙氨酸、2-吡啶基丙氨酸或4-吡啶基丙氨酸；Xaa<sub>8</sub>为Ala、Gly、Ser、Aib、(1-氨基环丙基)羧酸或(1-氨基环丁基)羧酸；Xaa<sub>12</sub>为Phe或Leu；Xaa<sub>16</sub>为Val或Leu；Xaa<sub>18</sub>为Ser、Val、Arg或Leu；Xaa<sub>19</sub>为Tyr或Gln；Xaa<sub>20</sub>为Leu或Met；Xaa<sub>22</sub>为Gly或Glu；Xaa<sub>23</sub>为Gln、Glu或Arg；Xaa<sub>25</sub>为Ala或Val；Xaa<sub>26</sub>为Arg；Xaa<sub>27</sub>为Glu或Leu；Xaa<sub>30</sub>为Ala、Glu或Arg；Xaa<sub>31</sub>为Trp或His；Xaa<sub>33</sub>为Val；Xaa<sub>34</sub>为Arg、His、Asn、Gln或Lys；Xaa<sub>35</sub>为Gly、Ala或Lys；Xaa<sub>36</sub>为Arg、Gly或Lys；Xaa<sub>37</sub>为Gly、Pro或Lys；Xaa<sub>38</sub>为Lys或不存在；其中Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>和Xaa<sub>38</sub>中的至少一个为Lys；该衍生物包含衔接至Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基上的侧链，该侧链包含：

[0027] (i) 化学式11的分支连接体：

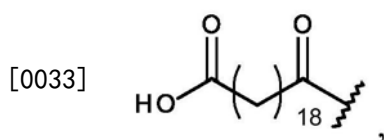
[0028] 化学式11：



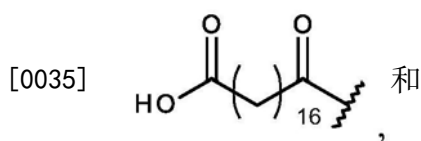
[0030] 其中w为0-2范围内的整数；

[0031] (ii) 选自化学式12、化学式12a和化学式13的第一和第二延长体(Protractor)：

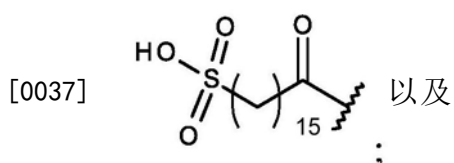
[0032] 化学式12：



[0034] 化学式12a：

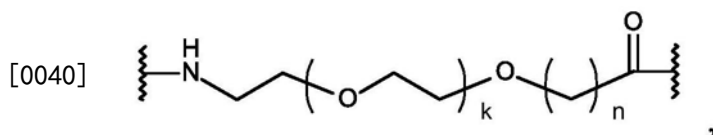


[0036] 化学式13：



[0038] (iii) 至少一个化学式1的连接体元件-1：

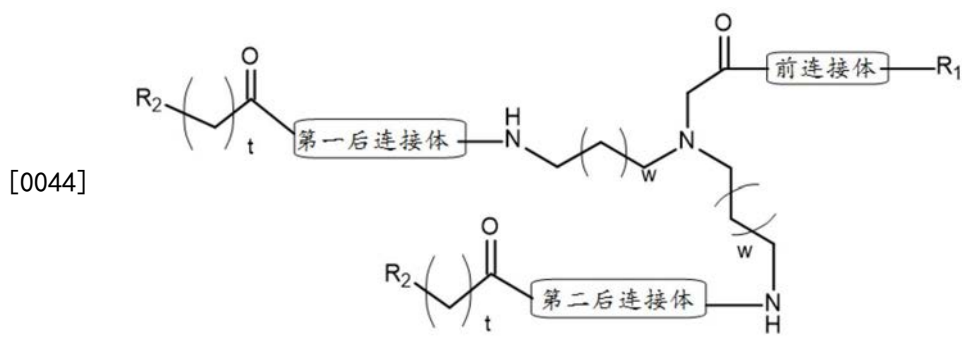
[0039] 化学式1：



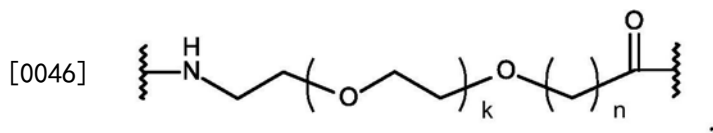
[0041] 其中k为1-23范围内的整数,且n为1-5范围内的整数;其中该分支连接体a)在其-CO端经由可选的前连接体连接至Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基,并且b)在其两个-NH端中的每一个处分别经由第一和第二后连接体分别连接至第一和第二延长体中每一个的-CO端;并且其中如果存在前连接体,则其包含连接体元件-1,或者如果不存在前连接体,则第一后连接体和第二后连接体中的每一个包含连接体元件-1。

[0042] 在其第二方面,本发明涉及一种GLP-1类似物,与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1)相比,其包含以下改变:(7Imp,8Aib,22E,26R,34R,37K)、(8Aib,22E,26R,34R,37P)或(8Aib,22E,26R,34R,37P,38K);或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0043] 在其第三方面,本发明涉及式II化合物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯:



[0045] 其中w为0-2范围内的整数,t为15、16或18,R<sub>1</sub>为-OH或合适的活化基团,R<sub>2</sub>为-COOH、-SO<sub>3</sub>H、合适的用于-COOH的保护基团,或合适的用于-SO<sub>3</sub>H的保护基团,前连接体是可选的;该侧链部分包含至少一个化学式1的连接体元件-1:



[0047] 其中k为1-23范围内的整数,且n为1-5范围内的整数;条件是如果存在前连接体,则其包含连接体元件-1且R<sub>1</sub>附接至其-CO基团,或者如果不存在前连接体,则第一后连接体和第二后连接体中的每一个包含连接体元件-1,且R<sub>1</sub>附接至在式II中前连接体的左手侧链上示出的-CO基团。本发明还涉及该化合物的制备,及其用于附接至生物活性肽或蛋白质上的用途。

[0048] 在其第四方面,本发明涉及一种包含本发明的衍生物或类似物和药学上可接受的赋形剂的药物组合物;以及本发明的衍生物或类似物作为药物的用途,特别是用于(i)预防和/或治疗所有形式的糖尿病,如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY (青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病,和/或用于减少HbA1C;(ii)延缓或预防糖尿病进展,如2型糖尿病的进展,延缓糖耐量减低(IGT)进展成需要胰岛素的2型糖尿病,延缓或预防胰岛素抵抗,和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;(iii)改善β-细胞功能,如减少β-细胞凋亡、提高β-细胞功能和/或β-细胞质量,和/或恢复β-细胞的葡萄糖敏感性;(iv)预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症,如

阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化；(v) 例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调，如肥胖症；治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症；减少胃运动；延缓胃排空；增加身体活动；和/或预防和/或治疗肥胖症的共病，如骨关节炎和/或尿失禁；(vi) 预防和/或治疗糖尿病并发症，如血管病；神经病，包括周围神经病变；肾病；和/或视网膜病；(vii) 改善脂质参数，如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质；增加HDL；降低小而密的LDL；降低VLDL；降低甘油三酯；降低胆固醇；降低人的脂蛋白a (Lp(a)) 血浆水平；在体外和/或体内抑制载脂蛋白a (apo(a)) 的生成；(viii) 预防和/或治疗心血管疾病，如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症 (acute hypertensive emergency)、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行 (闭塞性动脉硬化)、舒张期功能障碍和/或收缩期功能障碍；和/或降低血压，如降低收缩压；(ix) 预防和/或治疗胃肠疾病，如炎症肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎；消化不良；和/或胃溃疡；和/或炎症，如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮；(x) 预防和/或治疗危重病，如治疗危重患者、危重病多发性肾病 (Critical illness poly-nephropathy, CIPNP) 患者和/或潜在的CIPNP患者；预防危重病或CIPNP的进展；预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征 (SIRS)；预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可能性；和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢；(xi) 预防和/或治疗多囊卵巢综合征 (PCOS)；(xii) 预防和/或治疗脑部疾病，如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤；(xiii) 预防和/或治疗睡眠呼吸暂停；和/或 (xiv) 预防和/或治疗滥用，如酒精滥用和/或药物滥用。

[0049] 本发明还涉及如本文公开的GLP-1衍生物、GLP-1类似物、侧链中间产物和药物组合物及用途，其中用于定义这些发明的开放式术语如“包含”和“包括”可用封闭式术语如“由...组成”等代替。

[0050] GLP-1受体激动剂

[0051] 受体激动剂可被定义为与受体结合并引发天然配体典型的响应的类似物。完全激动剂可被定义为引发与天然配体相同量级的响应的激动剂 (参见例如，“Principles of Biochemistry”, AL Lehninger, DL Nelson, MM Cox, 第二版, Worth Publishers, 1993, 第763页)。

[0052] 因此，例如，“GLP-1受体激动剂”可被定义为能够与GLP-1受体结合并能够激活该GLP-1受体的化合物。而“完全”GLP-1受体激动剂可被定义为能够引发与天然GLP-1相似量级的GLP-1受体响应的GLP-1受体激动剂。

[0053] 结构特征

[0054] GLP-1类似物

[0055] 如本文所用的术语“GLP-1类似物”是指人胰高血糖素样肽-1 (GLP-1 (7-37)) 的类似物 (或变体)，(GLP-1 (7-37)) 的序列作为SEQ ID NO:1包含在序列表中。1. 具有SEQ ID NO:1序列的肽还可被称为“天然”GLP-1。

[0056] 本发明GLP-1衍生物中并入的GLP-1类似物可用以下式I来定义：

[0057] Xaa<sub>7</sub>-Xaa<sub>8</sub>-Glu-Gly-Thr-Xaa<sub>12</sub>-Thr-Ser-Asp-Xaa<sub>16</sub>-Ser-Xaa<sub>18</sub>-Xaa<sub>19</sub>-Xaa<sub>20</sub>-Glu-Xaa<sub>22</sub>-Xaa<sub>23</sub>-Ala-Xaa<sub>25</sub>-Xaa<sub>26</sub>-Xaa<sub>27</sub>-Phe-Ile-Xaa<sub>30</sub>-Xaa<sub>31</sub>-Leu-Xaa<sub>33</sub>-Xaa<sub>34</sub>-Xaa<sub>35</sub>-Xaa<sub>36</sub>-Xaa<sub>37</sub>-Xaa<sub>38</sub>,其中Xaa<sub>7</sub>为L-组氨酸、(S)-2-羟基-3-(1H-咪唑-4-基)-丙酸、D-组氨酸、脱氨基组氨酸、高组氨酸、N<sub>α</sub>-乙酰基-组氨酸、N<sub>α</sub>-甲酰基-组氨酸、N<sup>α</sup>-甲基-组氨酸、3-吡啶基丙氨酸、2-吡啶基丙氨酸或4-吡啶基丙氨酸;Xaa<sub>8</sub>为Ala、Gly、Ser、Aib、(1-氨基环丙基)羧酸或(1-氨基环丁基)羧酸;Xaa<sub>12</sub>为Phe或Leu;Xaa<sub>16</sub>为Val或Leu;Xaa<sub>18</sub>为Ser、Val、Arg或Leu;Xaa<sub>19</sub>为Tyr或Gln;Xaa<sub>20</sub>为Leu或Met;Xaa<sub>22</sub>为Gly或Glu;Xaa<sub>23</sub>为Gln、Glu或Arg;Xaa<sub>25</sub>为Ala或Val;Xaa<sub>26</sub>为Arg;Xaa<sub>27</sub>为Glu或Leu;Xaa<sub>30</sub>为Ala、Glu或Arg;Xaa<sub>31</sub>为Trp或His;Xaa<sub>33</sub>为Val;Xaa<sub>34</sub>为Arg、His、Asn、Gln或Lys;Xaa<sub>35</sub>为Gly、Ala或Lys;Xaa<sub>36</sub>为Arg、Gly或Lys;Xaa<sub>37</sub>为Gly、Pro或Lys;Xaa<sub>38</sub>为Lys或不存在;其中Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>和Xaa<sub>38</sub>中的至少一个为Lys。

[0058] 在该式中,氨基酸残基的编号遵循本领域中对于天然GLP-1已确立的实践,即,第一个(N-末端)氨基酸残基被编号为或对应于位置编号7,而向C-末端下游的后续氨基酸残基被编号为8、9、10等,直到最后一个(C-末端)氨基酸残基。在天然GLP-1中,C-末端氨基酸残基为Gly,编号为37。然而,从上式可以明显看出,在式I的肽中,C-末端氨基酸可以是Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>,即编号分别为37或38。存在C-末端氨基酸Xaa<sub>38</sub>的本发明GLP-1类似物可以被称为与天然GLP-1相比包含一个氨基酸的延伸。

[0059] 编号在序列表中不同,其中SEQ ID NO:1的第一个氨基酸残基(His)被指定为第1号,最后一个(Gly)被指定为第31号。然而,如上所述,在此我们遵循本领域中已确立的编号实践。

[0060] 本发明衍生物的GLP-1类似物中的每一种可参照以下两方面来描述:i)天然GLP-1(7-37)中与改变的氨基酸残基相对应的氨基酸残基的编号(即天然GLP-1中的相应位置),和ii)实际改变。

[0061] 换言之,本发明的GLP-1类似物可以参照天然GLP-1(7-37)肽来描述,即描述为与天然GLP-1(7-37)(SEQ ID NO:1)相比许多氨基酸残基已被改变的其变体。这些改变可独立地代表一个或多个氨基酸置换、添加和/或缺失。

[0062] 以下是适当的类似物命名的非限制性实例。

[0063] 并入实施例1衍生物中的GLP-1类似物在此可以被称为(8Aib,22E,26R,34R,37K)GLP-1(7-37)。当该实施例1类似物与天然GLP-1比对时,该类似物中根据该比对对应于天然GLP-1位置8的位置处的氨基酸为Aib,该类似物中对应于天然GLP-1位置22的位置处的氨基酸为E,该类似物中对应于天然GLP-1位置26的位置处的氨基酸为R,该类似物中对应于天然GLP-1位置34的位置处的氨基酸为R,且该类似物中对应于天然GLP-1位置37的位置处的氨基酸为K。该类似物中的所有其他氨基酸与天然GLP-1中的相应氨基酸相同。

[0064] 作为另一个实例,并入实施例10衍生物中的GLP-1类似物在此可以被称为(8Aib,22E,26R,34R,37P,38K)GLP-1(7-37)。当该实施例10类似物与天然GLP-1比对时,该类似物中根据该比对对应于天然GLP-1位置8的位置处的氨基酸为Aib,该类似物中对应于天然GLP-1位置22的位置处的氨基酸为E,该类似物中对应于天然GLP-1位置26的位置处的氨基酸为R,该类似物中对应于天然GLP-1位置34的位置处的氨基酸为R,该类似物中对应于天然GLP-1位置37的位置处的氨基酸为P,然后实施例10类似物包含K作为C-末端氨基酸,对此而言,其被称为对应于天然GLP-1中的位置38。该类似物中的每一个其他氨基酸都与天然GLP-

1中的相应氨基酸相同。

[0065] 通式I以类似的方式来理解。

[0066] 与SEQ ID NO:1相比,“包含”某些指定改变的类似物可包含进一步的改变。在特定的实施方案中,该类似物“具有”指定的改变。

[0067] 由以上可以明显看出,氨基酸残基可由其全名、其单字母编码和/或其三字母编码来表示。这三种方式完全等效。

[0068] 表述“等同于...的位置”或“相应位置”可用来参照参考序列如天然GLP-1(7-37)(SEQ ID NO:1)表征变异GLP-1(7-37)序列中的变化位点。等同或相应位置,以及变化编号,例如通过简单的书写和目测(目视检查)来容易地推断;以及/或者可使用标准蛋白质或肽比对程序,如基于Needleman-Wunsch算法的“align”。该算法在Needleman, S.B.和Wunsch, C.D., (1970), Journal of Molecular Biology, 48:443-453中描述,而align程序由Myers和W.Miller在“Optimal Alignments in Linear Space”CABIOS(computer applications in the biosciences) (1988) 4:11-17中描述。为了比对,可以使用默认的打分矩阵BLOSUM62和默认的单位矩阵(identity matrix),并可将空位中的第一残基的罚分设置为-12,或优选-10,而将空位中的其他残基的罚分设置为-2,或优选-0.5。

[0069] 在下文插入了这类比对的一个例子,其中第1号序列为SEQ ID NO:1的天然GLP-1,而第2号序列为其类似物(8Aib,22E,26R,34R,37P,38K)(SEQ ID NO:4):

# 比对的序列: 2

# 1: 1

# 2: 2

#矩阵: EBLOSUM62

#空位扣分: 10.0

#延伸扣分: 0.5

[0070]

#

#长度: 32

#同一性: 26/32 (81.2%)

#相似性: 28/32 (87.5%)

#空位: 1/32 (3.1%)

#得分: 135.0

1 HAEGTFTSDVSSYLEGOAAKEFIAWLVKGRG- 31

[0071]

| . | | | | | | | | | | | | | | . | | : | | | | | | | | : | | .

2 1 HXEGTFTSDVSSYLEEOAAREFIAWLVRGRPK 32

[0072] 当在该比对所示的位置编号(例如,序列1中的“1”和“31”,以及序列2中的“1”和“32”)上加6时,得到本文所用的位置编号。例如,在序列1(与SEQ ID NO:1相同)中,N-末端氨基酸(H)的位置编号为7,而C-末端氨基酸(G)的编号为37。关于序列2,N-末端氨基酸(H)

的编号为7,而C-末端氨基酸(K)的编号为38。

[0073] 如果在序列中包含没有单字母代码的特定氨基酸残基等(如Aib),如以上比对所示,出于比对的目的,可将它们替换为例如X。如需要,以后可以手动改正X。

[0074] 以下是由上述比对可以推出的非限制性实例:

[0075] 作为一个实例,可以推断出与序列1相比,序列2具有6个氨基酸改变(即,在比对中示出句号(“.”)、冒号(“:”)或水平连字符(“-”)的所有那些位置处)。

[0076] 作为另一个实例,可以推断出,例如,第2号序列包含38K,因为它在根据该比对对应于参考序列(序列1,SEQ ID NO:1)位置38的位置处具有K。

[0077] 类似地,序列2与序列1相比的其他所有改变都可从该比对推出。

[0078] 在下文中,没有说明光学异构体的本发明GLP-1类似物的所有氨基酸都应被理解是指L-异构体(除非另外说明)。

[0079] 用于并入本发明GLP-1衍生物中的本发明优选的GLP-1类似物,在标题为“特定实施方案”、“其他特定实施方案”和“另外的特定实施方案”的部分中公开。

[0080] GLP-1衍生物

[0081] 如本文在GLP-1类似物的情境中所用的,术语“衍生物”意指化学修饰的GLP-1类似物,其中一个或多个取代基已经共价附接至该类似物。

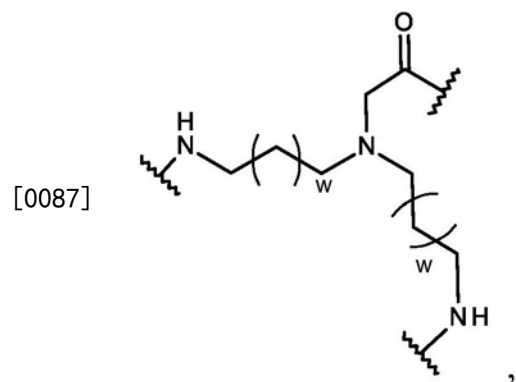
[0082] 本发明的GLP-1衍生物是式I的GLP-1类似物的衍生物,如以上标题为“GLP-1类似物”的部分中所定义的。

[0083] 本发明的GLP-1衍生物包含以下形式的取代基:附接至GLP-1类似物的位置34、35、36、37或38处Lys残基(即,附接至式I中的Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>)上的侧链。

[0084] 所述侧链能够与白蛋白形成非共价复合物,由此促进衍生物随血流的循环,并且由于GLP-1衍生物与白蛋白的复合物仅缓慢地分解以释放活性药物成分,因此还有延长该衍生物的作用时间的效果。

[0085] 所述侧链包含下式的分支连接体

[0086] 化学式11:



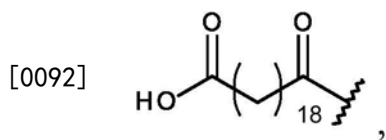
[0088] 其中w为0-2范围内的整数。

[0089] 在w为1的特定实施方案中,所述分支连接体可以被称为氨基-C3-(Gly (Bis))。

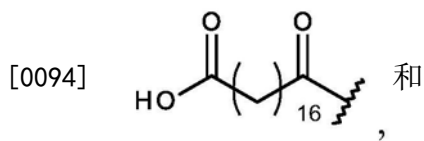
[0090] 所述侧链也包含第一和第二延长体,该延长体选自

[0091] 化学式12:

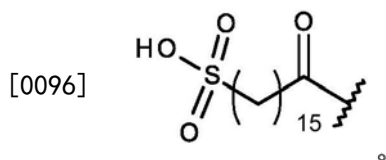




[0093] 化学式12a:



[0095] 化学式13:

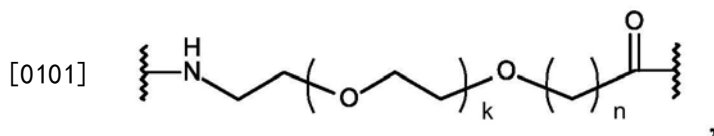


[0097] 化学式12可以被称为C20二酸。化学式12a可以被称为C18二酸。化学式13可以被称为磺酸-C16。

[0098] 所述分支连接体为三价基团,因此它用来提供具有双腿结构的侧链。该分支连接体的-CO端任选地经由所谓的前连接体共价结合至GLP-1类似物位置34、35、36、37或38处的Lys残基。在其两个-NH端中的每一个处,该分支连接体分别经由所谓的第一和第二后连接体分别连接至第一和第二延长体中每一个的-CO端。

[0099] 所述侧链部分进一步包含至少一个化学式1的连接体元件-1:

[0100] 化学式1:



[0102] 其中k为1-23范围内的整数,且n为1-5范围内的整数。

[0103] 在特定实施方案中,连接体元件-1可构成前连接体、第一后连接体和第二后连接体的一部分。

[0104] 在其他特定实施方案中,如果存在前连接体,则其包含连接体元件-1,或者如果不存在前连接体,则第一后连接体和第二后连接体中的每一个包含连接体元件-1。

[0105] 在又一个特定实施方案中,连接体元件-1结构(在整个GLP-1衍生物分子中)的总数至少为2。在另一个特定实施方案中,整个衍生物包含m个连接体元件-1结构,其中m的范围为2-12。

[0106] 若干q个连接体元件-1结构可以并置(互相连接成行),其中q的范围为1-6。本发明的衍生物可以包含,优选具有,并置连接体元件-1结构的一个、两个或三个这类构件。作为一个非限制性实例,在前连接体中可以存在并置连接体元件-1结构的一个构件,在第一和第二后连接体的每一个中各有一个。

[0107] 在特定实施方案中,连接体元件-1代表下列结构:8-氨基-3,6-二氧杂辛酸,缩写为Ado(当k=1且n=1时),dPEG4(当k=3且n=2时),dPEG12(当k=11且n=2时),dPEG16(当k=15且n=2时),或dPEG24(当k=23且n=2时)。

[0108] 许多其他的连接体元件可以并入本发明的衍生物中(可能以更多拷贝),如连接体元件-2(化学式2,也称为epsilon Lys,缩写为eps-Lys)、连接体元件-3(化学式3,也称为氨甲环酸,缩写为Trx)、连接体元件-4(化学式4,也称为gamma Glu,缩写为gGlu)、连接体元件-5(化学式5,也称为4-氨基丁酸,缩写为Abu)和/或连接体元件-6(化学式6,也称为丝氨酸,缩写为Ser)。

[0109] 在一个实施方案中,前连接体并入本发明的衍生物中,这意味着分支连接体经由这样的前连接体附接至GLP-1类似物。

[0110] 在另一个实施方案中,没有前连接体并入本发明的衍生物中,这意味着分支连接体直接附接至GLP-1类似物位置34、35、36、37或38处的Lys残基。

[0111] 优选的GLP-1衍生物,例如在各种连接体部分(前连接体、第一和第二后连接体)中具有连接体元件的特定组合的一些GLP-1衍生物,在标题为“特定实施方案”、“其他特定实施方案”和“另外的特定实施方案”的部分中公开。

[0112] 在特定实施方案中,各种连接体元件、GLP-1类似物、第一和第二延长体和分支连接体之间的所有连接都是酰胺键。

[0113] 实施例1-32的具体GLP-1衍生物中的每一个都是本发明特别优选的GLP-1衍生物,以及它们的药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0114] 如上所述,本发明的GLP-1衍生物和式II化合物(侧链中间体)的侧链可以被称为分支的,具有两条腿。

[0115] 在特定的实施方案中,两条腿是相似的,优选为基本相同的,或者最优选为相同的。

[0116] 在另一个特定的实施方案中,第一和第二延长体是相似的,优选为基本相同的,或者最优选为相同的。

[0117] 在更进一步的特定实施方案中,第一和第二后连接体是相似的,优选为基本相同的,或者最优选为相同的。

[0118] 术语“基本相同”包括与同一性的差异,该差异是由于一种或多种酯和/或酰胺的形成;优选由于一种或多种甲酯和简单酰胺的形成;更优选由于不超过两种甲酯和/或简单酰胺的形成;或者最优选由于不超过一种甲酯和/或简单酰胺的形成。

[0119] 在化学化合物如延长体和后连接体的情况下,可采用本领域已知的任何合适的计算机程序和/或算法来确定相似性和/或同一性。

[0120] 例如,可使用分子指纹来适当地确定两个延长体、两个后连接体或其整体(由延长体加后连接体组成)中两个分支或腿的相似性,分子指纹是指一种表示化学结构的数学方法(参见例如,Chemoinformatics:A textbook,Johann Gasteiger和Thomas Engel(编著),Wiley-VCH Verlag,2003)。

[0121] 合适的指纹的实例包括但不限于UNITY指纹、MDL指纹和/或ECFP指纹,如ECFP\_6指纹(ECFP代表延伸的连接性指纹)。

[0122] 在特定的实施方案中,将两个延长部分、两个连接体和/或两条完整侧链表示为a) ECFP\_6指纹;b) UNITY指纹;和/或c) MDL指纹。

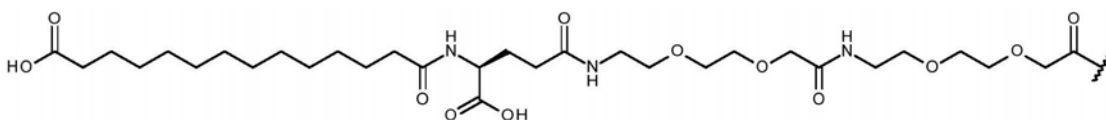
[0123] 无论使用a)、b)还是c),均优选使用谷本系数(Tanimoto coefficient)计算两个指纹的相似性。

[0124] 在特定的实施方案中,无论使用a)、b)还是c),两个延长部分、两个连接体和/或两条完整侧链的相似性分别为至少0.5 (50%);优选至少0.6 (60%);更优选至少0.7 (70%)或至少0.8 (80%);甚至更优选至少0.9 (90%);或最优选至少0.99 (99%)的相似性,如1.0 (100%)。

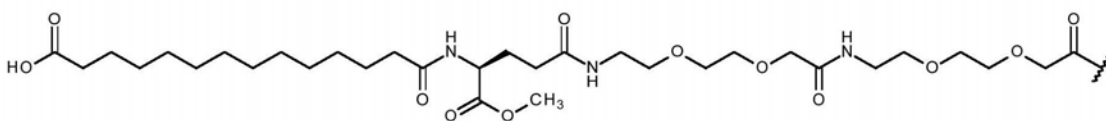
[0125] 可使用程序SYBYL (可从Tripos,1699South Hanley Road,St.Louis,MO 63144-2319USA获得) 计算UNITY指纹。可使用程序Pipeline Pilot (可从Accelrys Inc., 10188Telesis Court,Suite 100, San Diego,CA 92121,USA获得) 计算ECFP\_6和MDL指纹。

[0126] 更多细节,参见例如J.Chem.Inf.Model.2008,48,542-549; J.Chem.Inf.Comput.Sci.2004,44,170-178;J.Med.Chem.2004,47,2743-2749; J.Chem.Inf.Model.2010,50,742-754;以及均来自Accelrys Software Inc., San Diego, US的SciTegic Pipeline Pilot Chemistry Collection:Basic Chemistry User Guide, March 2008、SciTegic Pipeline Pilot Data Modeling Collection,2008,以及指南 [http://www.tripos.com/tripos\\_resources/fileroot/pdfs/Unity\\_111408.pdf](http://www.tripos.com/tripos_resources/fileroot/pdfs/Unity_111408.pdf)和 [http://www.tripos.com/data/SYBYL/SYBYL\\_072505.pdf](http://www.tripos.com/data/SYBYL/SYBYL_072505.pdf)。

[0127] 下文插入了相似性计算的一个实例,其中将已知GLP-1衍生物的已知整条侧链与其甲酯进行比较:



[0128]



[0129] 使用a) ECFP\_6指纹,相似性为0.798,使用b) UNITY指纹,相似性为0.957;而使用MDL指纹,相似性为0.905。

[0130] 在两条相同侧链(白蛋白结合部分)的情况下,该衍生物可被称为对称的。

[0131] 在特定的实施方案中,相似性系数为至少0.80,优选至少0.85,更优选至少0.90,甚至更优选至少0.95,或最优选至少0.99。

[0132] 本发明的衍生物和式II化合物(侧链中间体)可以以具有相同的分子式和键合原子顺序但仅其原子在空间中的三维朝向不同的不同立体异构形式存在。在实验部分中使用标准的命名法,以名称以及结构的方式说明了本发明的示例衍生物和式II化合物的立体异构现象。除非另外说明,否则本发明涉及所请求保护的衍生物/式II化合物的所有立体异构形式。

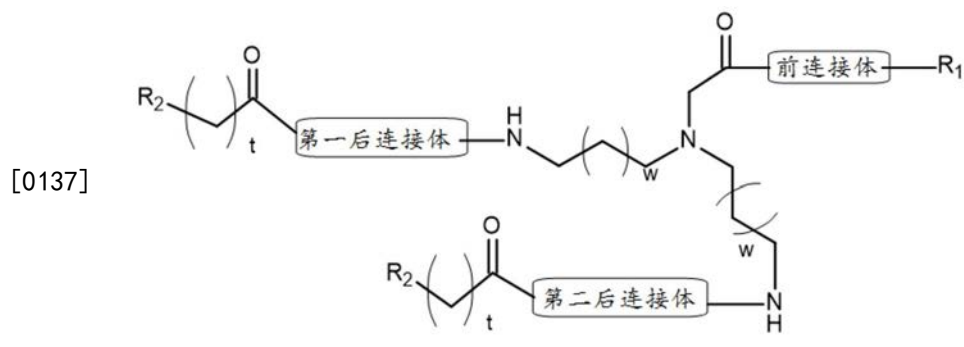
[0133] 本发明GLP-1衍生物的血浆浓度可采用任何合适的方法来确定。例如,可使用LC-MS (液相色谱质谱法),或免疫测定如RIA (放射免疫测定)、ELISA (酶联免疫吸附测定) 以及LOCI (发光氧通道免疫测定 (Luminescence Oxygen Channeling Immunoassay))。用于合适的RIA和ELISA测定的一般方案可见于例如WO 2009/030738的第116-118页。一种优选的测定为LOCI测定,其中LOCI是指发光氧通道免疫测定,其在Journal of Biomolecular Screening 2007,vol.12,p.240-247中由Poulsen和Jensen针对胰岛素测定进行了大致描

述。将供体珠子用链霉亲和素涂覆,同时使受体珠子与识别该肽的中间/C-末端表位的单克隆抗体缀合。将对N-末端具有特异性的另一单克隆抗体生物素化。将三种反应物与分析物混合并形成双位点的免疫复合物。照射该复合物使单态氧原子从供体珠子释放,该单态氧原子被引导至受体珠子中从而触发化学发光,在Envision酶标仪中测量该化学发光。光的量与化合物的浓度成比例。

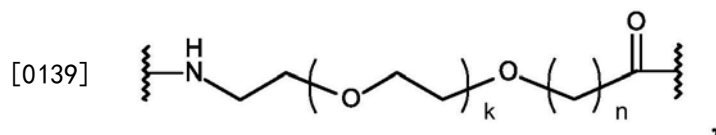
[0134] 本发明的GLP-1衍生物和类似物具有GLP-1活性。该术语是指与GLP-1受体结合并启动信号转导途径从而导致促胰岛素作用或本领域已知的其他生理效应的能力。例如,可以使用本文实施例33、34和/或36中描述的试验来测定本发明类似物和衍生物的GLP-1活性。

[0135] 侧链中间产物

[0136] 本发明还涉及式II化合物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯:



[0138] 其中w为0-2范围内的整数,t为15、16或18, $R_1$ 为-OH或合适的活化基团, $R_2$ 为-COOH、-SO<sub>3</sub>H、合适的用于-COOH的保护基团,或合适的用于-SO<sub>3</sub>H的保护基团,前连接体是可选的;该化合物包含至少一个化学式1的连接体元件-1:



[0140] 其中k为1-23范围内的整数,且n为1-5范围内的整数;条件是如果存在前连接体,则其包含连接体元件-1且 $R_1$ 附接至其-CO基团,或者如果不存在前连接体,则第一后连接体和第二后连接体中的每一个包含连接体元件-1,且 $R_1$ 附接至在式II中前连接体的左手侧链上示出的-CO基团。

[0141] 该化合物是一种中间产物,对此而言,它构成本发明GLP-1衍生物的非肽部分(或侧链部分)。

[0142] 如实验部分所述,本发明GLP-1衍生物的侧链部分可以经制备并附接至其肽部分,在肽合成过程中逐步直接附接至固体支持体上。

[0143] 或者,所述侧链部分可以直接在固体支持体上制备,随后利用适当的活化和保护基团附接至肽部分。作为一个非限制性实例,实施例11衍生物(化学式31)的化学式98的侧链部分可以通过以下步骤在2-氯三苯甲基树脂上制备:使用二异丙基乙胺(6当量)在二氯甲烷/N-甲基吡咯烷(1:1)中偶联Fmoc-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸(2当量)作为第一残基。该树脂然后用二氯甲烷/甲醇/二异丙基乙胺(85:10:5)洗涤两次,用二氯甲烷、N-甲基吡咯烷酮洗涤。然后通过用N-甲基吡咯烷酮中的20%哌啶处理(处理两次,各四分钟)来除去Fmoc

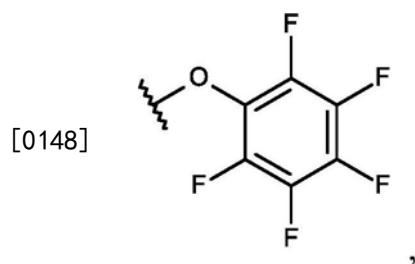
基团。随后,将树脂用NMP、DCM洗涤各三次,并使用二异丙基碳二亚胺、可力丁和 OxymaPure® (各8当量) 在N-甲基吡咯烷酮中进行Fmoc-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸(8当量) 的另一次偶联。随后,将树脂用NMP、DCM洗涤各三次,并如上所述除去Fmoc基团。然后可使用偶联、洗涤、Fmoc去除和洗涤的重复循环来偶联以下构件:N,N-双(N'-Fmoc-3-氨丙基)-甘氨酸半硫酸钾、Fmoc-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸、Fmoc-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸、Fmoc-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸、Fmoc-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸、Fmoc-Glu-OtBu、Fmoc-氨甲环酸和二十烷二酸单叔丁酯。然后可使用三氟乙醇/二氯甲烷(20:80)从树脂上释放粗侧链部分,并在真空中浓缩至干。如果需要,可以使用本领域已知的快速色谱法纯化该侧链部分。然后可以活化叔丁基保护的侧链部分(1.25当量) 以供与感兴趣的实施例11化合物的肽部分(1.0当量) 偶联,该偶联是通过将该侧链部分溶解在二甲基甲酰胺:四氢呋喃(1:1) 中。然后加入O-(N-琥珀酰亚胺基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓四氟硼酸盐(1.4当量),随后加入二异丙基乙酰胺(2.5当量),并搅拌1h。将肽部分(1.0当量) 溶解在200mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(水溶液)/四氢呋喃(5:2) pH 10.6中。在搅拌下将以上制备的侧链部分的OSuc酯逐滴添加到溶解的肽中,并用1N NaOH将pH保持在10.6-10.8。静置反应1h。使pH降至肽-侧链缀合物的等电点,并离心出沉淀物。将干燥的沉淀物用三氟乙酸/水(95:5) 处理30min,并倾倒至二乙醚中。通过离心分离最终产物。

[0144] 或者,可通过液相化学法制备侧链部分,随后利用适当的活化和保护基团如下文所述的那些基团将其附接至肽部分。

[0145] 或者,可以使用适当的保护基团分数步附接侧链部分。作为一个非限制性实例,经酰胺键和适当的保护基团连接在一起的化学式11的分支连接体和前连接体可以通过使用适当的活化基团如活性酯形成酰胺键而附接至肽部分的赖氨酸ε-氨基。随后,经酰胺键和适当的保护基团连接在一起的第一和第二后连接体和化学式12的第一和第二延长体可以附接至化学式11的分支连接体的远端氨基。

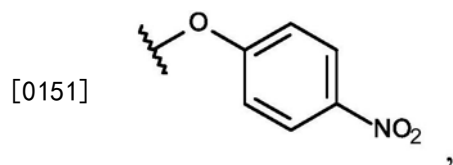
[0146] R<sub>1</sub>官能团的非限制性实例是-OH和其他合适的活化基团,例如但不限于,合适的离去基团形式的活化基团,例如但不限于,与前连接体的羰基(如近端羰基) 一起形成活性酯的合适的离去基团,例如但不限于,

[0147] 化学式120:



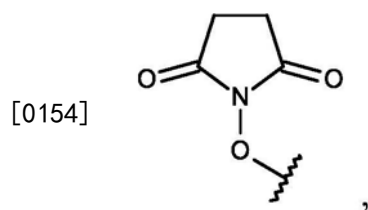
[0149] 其也可被称为-OPfp(2,3,4,5,6-五氟苯氧基),

[0150] 化学式121:



[0152] 其也可被称为-OPnp (4-硝基苯氧基), 和

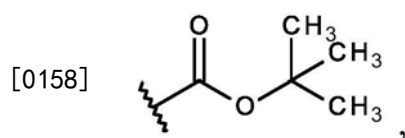
[0153] 化学式122:



[0155] 其也可被称为-OSuc ((2,5-二氧代吡咯烷-1-基)氧基), 等等。可以选择其他合适的活化基团, 例如但不限于, 根据M.Bodanszky, "Principles of Peptide Synthesis", 第2版, Springer Verlag, 1993的教导。

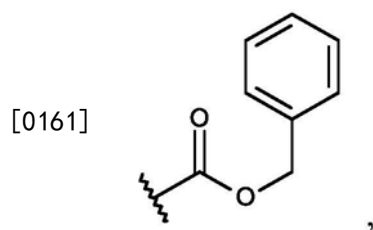
[0156]  $R_2$ 官能团的非限制性实例是-COOH、-SO<sub>3</sub>H和合适的羧酸或磺酸保护基团, 例如但不限于, 合适的非反应性酯或磺酸酯, 例如但不限于:

[0157] 化学式123:



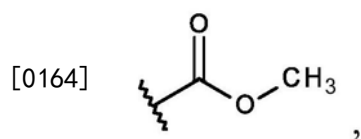
[0159] 其也可被称为-COOtBu (叔丁氧羰基),

[0160] 化学式124:



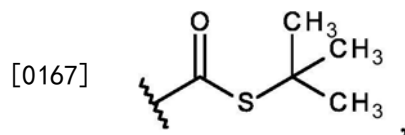
[0162] 其也可被称为-COOBz (苄氧羰基),

[0163] 化学式125:



[0165] 其也可被称为-COOMe (甲氧羰基),

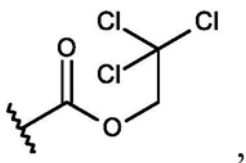
[0166] 化学式126:



[0168] 其也可被称为-COSC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (叔丁基磺酰羰基),

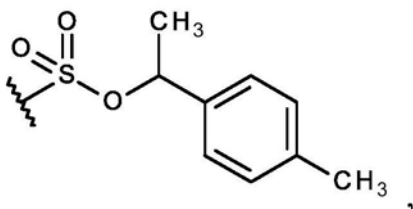
[0169] 化学式127:

[0170]

[0171] 其也可被称为- $\text{COCH}_2\text{CCl}_3$  (2,2,2-三氯乙氧羰基), 和

[0172] 化学式128:

[0173]



[0174] 其也可被称为- $\text{SO}_3\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}_6\text{H}_4$  (1-(对甲苯基)乙氧磺酰基), 等等。可以选择其他合适的非反应性酯、磺酸酯和其他羧酸或磺酸保护基团, 例如但不限于, 根据P.G.M. Wuts, T.W. Greene, "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", 第4版, John Wiley&Sons, Inc, 2007的教导。

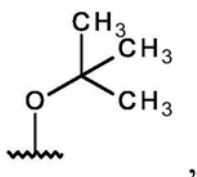
[0175] 在本发明侧链中间体化合物的一个实施方案中, 第一和第二后连接体各自包含s次化学式1的连接体元件-1, 其中s为0或1-6范围内的整数, 以及至少一个另外的连接体元件, 其选自化学式2的连接体元件-2、化学式3的连接体元件-3、化学式4的连接体元件-4、化学式5的连接体元件-5和化学式6的连接体元件-6; 其中在化学式4中, 游离酸基团(-COOH)被 $\text{R}_3$ 取代, 在化学式2中, 游离氨基(- $\text{NH}_2$ )被 $\text{R}_5$ 取代, 并且在化学式6中, 游离羟基(-OH)被 $\text{R}_4$ 取代, 其中 $\text{R}_3$ 为-COOH或合适的用于羧酸基团的保护基团;  $\text{R}_4$ 为-OH或合适的用于羟基的保护基团; 且 $\text{R}_5$ 为- $\text{NH}_2$ 或合适的用于氨基的保护基团。

[0176]  $\text{R}_3$ 官能团的非限制性实例是-COOH和合适的用于羧酸基团的保护基团, 例如但不限于, 合适的酯基团, 例如但不限于, -COOtBu (化学式123)、-COOBz (化学式124)、-COOMe (化学式125)、-COSc(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (化学式126) 和- $\text{COCH}_2\text{CCl}_3$  (化学式127) 等。可以选择其他合适的酯和用于羧酸基团的保护基团, 例如但不限于, 根据P.G.M. Wuts, T.W. Greene, "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", 第4版, John Wiley&Sons, Inc, 2007的教导。

[0177]  $\text{R}_4$ 官能团的非限制性实例是-OH和合适的用于羟基的保护基团, 例如但不限于, 合适的醚基团或合适的酯基团, 例如但不限于:

[0178] 化学式129:

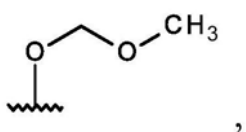
[0179]



[0180] 其也可被称为-OtBu (叔丁氧基),

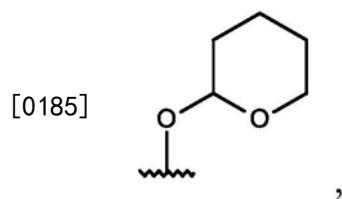
[0181] 化学式130:

[0182]



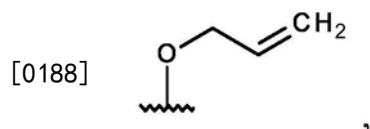
[0183] 其也可被称为- $\text{OCH}_2\text{OCH}_3$  (甲氧基甲氧基),

[0184] 化学式131:



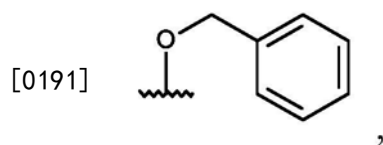
[0186] 其也可被称为四氢吡喃-2-基氧基,

[0187] 化学式132:



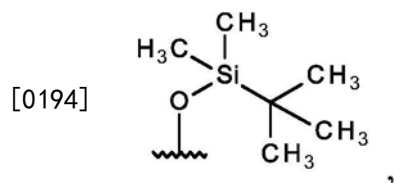
[0189] 其也可被称为- $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$  (烯丙基醚),

[0190] 化学式133:



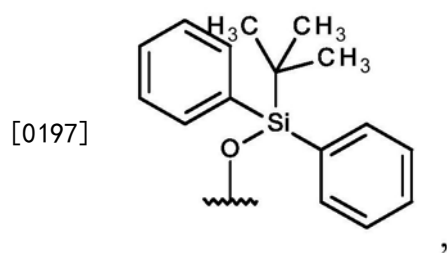
[0192] 其也可被称为-OBz (苄氧基),

[0193] 化学式134:



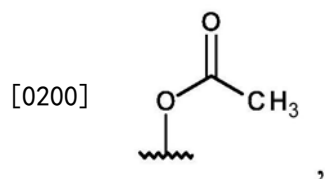
[0195] 其也可被称为- $\text{OSi}(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$  (叔丁基二甲基甲硅烷基醚),

[0196] 化学式135:



[0198] 其也可被称为- $\text{OSi}(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$  (叔丁基二苯基甲硅烷基醚),

[0199] 化学式136:

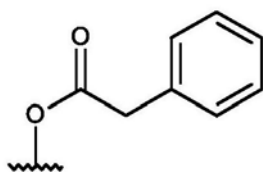


[0201] 其也可被称为- $\text{OCOCCH}_3$  (乙酸酯), 和

[0202] 化学式137:



[0203]

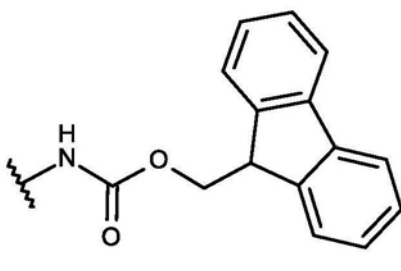


[0204] 其也可被称为-OCOC<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (苯甲酸酯), 等等。可以选择其他合适的醚、酯和其他用于羟基的保护基团, 例如但不限于, 根据P.G.M.Wuts, T.W.Greene, "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", 第4版, John Wiley&Sons, Inc, 2007的教导。

[0205] R<sub>5</sub>官能团的非限制性实例是-NH<sub>2</sub>和合适的用于氨基的保护基团, 例如但不限于, 合适的氨基甲酸酯, 例如但不限于:

[0206] 化学式138:

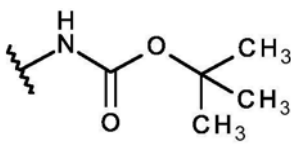
[0207]



[0208] 其也可被称为-NHFmoc (9H-芴-9-基甲氧羰基氨基),

[0209] 化学式139:

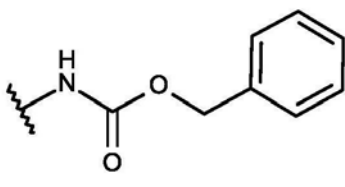
[0210]



[0211] 其也可被称为-NHBoc (叔丁氧羰基氨基), 和

[0212] 化学式140:

[0213]



[0214] 其也可被称为-NHCbz (苄氧羰基氨基), 等等。可以选择其他合适的氨基甲酸酯和其他用于氨基的保护基团, 例如但不限于, 根据P.G.M.Wuts, T.W.Greene, "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", 第4版, John Wiley&Sons, Inc, 2007的教导。

[0215] 大量本发明的特定侧链中间体化合物在标题为“特定实施方案”的部分中公开。

[0216] 特别感兴趣的是在以下表A中列出的化学式90至化学式116的侧链中间体化合物。请注意, 表A引用再下面的表B, 以定义第一后连接体、第二后连接体和前连接体的结构。表A还显示了本发明的特定GLP-1衍生物的化学式编号, 其合并有本发明的特定侧链中间体化合物。

[0217] 表A: 本发明的一些具体侧链中间体化合物

[0218]

中间体 化学式编号	相应衍生物 化学式编号	t	第一后连接体 和 第二后连接体	前连接体
化学式90	化学式21	18	化学式80	
化学式91	化学式22 化学式24	18	化学式81	
化学式92.	化学式23 化学式30	18	化学式63	
化学式93	化学式25	18	化学式82	
化学式94	化学式26	18	化学式77	
化学式95	化学式27	18	化学式78	
化学式96	化学式28	18	化学式79	
化学式97	化学式29	15	化学式69	
化学式98	化学式31	18	化学式65	化学式83
化学式99	化学式32	18	化学式66	化学式84
化学式100	化学式33 化学式50 化学式51 化学式52	18	化学式60	化学式85
化学式101	化学式34	15	化学式76	
化学式102	化学式35	15	化学式74	
化学式103	化学式36	15	化学式73	
化学式104	化学式37	15	化学式72	
化学式105	化学式38	15	化学式71	
化学式106	化学式39	15	化学式70	
化学式107	化学式40	15	化学式69	
化学式108	化学式41	15	化学式68	
化学式109	化学式42	15	化学式65	
化学式110	化学式43	15	化学式64	
化学式111	化学式44	18	化学式63	
化学式112	化学式45	18	化学式61	化学式85
化学式113	化学式46	18	化学式62	化学式85
化学式114	化学式47	18	化学式60	化学式84
化学式115	化学式48	16	化学式67	
化学式116	化学式49	16	化学式62	化学式84

[0219]

[0220]

表B:连接体元件的组合

[0221]

连接体元件	命名	结构
化学式60	Trx-gGlu	
化学式61	Trx-gGlu-Ser	
化学式62	gGlu	
化学式63	Trx-gGlu-6x Ado	
化学式64	Trx-gGlu-5x Ado	
[0222]	化学式65	Trx-gGlu-4x Ado
	化学式66	Trx-gGlu-2x Ado
	化学式67	gGlu-4xAdo
	化学式68	Abu-Trx-gGlu-6xAdo
	化学式69	Abu-Trx-gGlu-5xAdo

[0223]

化学式70	Abu-Trx-gGlu-4xAdo	
化学式71	Abu-gGlu-6xAdo	
化学式72	Abu-gGlu-5xAdo	
化学式73	Abu-gGlu-4xAdo	
化学式74	Abu-2xeps-Lys-6xAdo	
化学式75	Abu-2xeps-Lys-5xAdo	
化学式76	Abu-2xeps-Lys-4xAdo	
化学式77	2xeps-Lys-dPEG24	
化学式78	2xeps-Lys-dPEG16	
化学式79	2xeps-Lys-dPEG12	

化学式80	2xeps-Lys-5x Ado	
化学式81	2xeps-Lys-4x Ado	
[0224] 化学式82	2xeps-Lys-3x dPEG4	
化学式83	2xAdo	
化学式84	4xAdo	
化学式85	6xAdo	

[0225] 本发明还涉及本发明中间体侧链化合物的制备及其在其衍生物的形成下附接至生物活性肽或蛋白质上的用途。如何完成这一点的非限制性实例在上文中概述。其他的特定实施方案在标题为“特定实施方案”的部分中公开。

[0226] 在一些实施方案中，本发明的中间体侧链化合物能够与白蛋白形成非共价复合物。在一些实施方案中，当附接至生物活性肽或蛋白质时，这种效应转移至最终肽或蛋白质衍生物，后者相应地在体内表现出延长的作用持续时间。

[0227] 药学上可接受的盐、酰胺或酯

[0228] 本发明的衍生物、类似物和侧链中间体化合物可以是药学上可接受的盐、酰胺或酯的形式。

[0229] 例如，通过碱与酸之间的化学反应来形成盐，例如： $2\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 。

[0230] 所述盐可以是碱式盐、酸式盐，或其可以两者都不是（即，中性盐）。在水中，碱式盐产生氢氧根离子而酸式盐产生水合氢离子。

[0231] 可通过添加的分别在阴离子或阳离子基团之间的阳离子或阴离子形成本发明衍生物的盐。这些基团可以位于肽部分中，和/或本发明衍生物的侧链中。

[0232] 本发明衍生物的阴离子基团的非限制性实例包括在侧链（如果有的话）中以及在肽部分中的游离羧基。该肽部分通常包含在C-末端处的游离羧酸基团，并且其还可包含在内部酸性氨基酸残基如Asp和Glu处的游离羧基。

[0233] 肽部分中的阳离子基团的非限制性实例包括在N-末端处的游离氨基（若存在），以及内部碱性氨基酸残基如His、Arg和Lys的任何游离氨基。

[0234] 本发明衍生物的酯例如可通过游离的羧酸基团与醇或酚的反应形成，该反应导致

至少一个羟基被烷氧基或芳氧基替代。

[0235] 酯形成可涉及在肽的C-末端处的游离羧基,和/或侧链中的任何游离的羧基。

[0236] 本发明衍生物的酰胺例如可通过游离羧酸基团与胺或取代胺的反应,或通过游离或取代的氨基与羧酸的反应形成。

[0237] 酰胺形成可涉及在肽的C-末端处的游离羧基、侧链中的任何游离羧基、肽的N-末端处的游离氨基,以及/或者肽和/或侧链中的肽的任何游离或取代的氨基。

[0238] 在特定实施方案中,所述肽或衍生物是药学上可接受的盐的形式。在另一个特定的实施方案中,所述衍生物是药学上可接受的酰胺的形式,优选地在肽的C-末端处具有酰胺基团。在更进一步的特定实施方案中,所述肽或衍生物是药学上可接受的酯的形式。

[0239] 功能性质

[0240] 在特定实施方案中,本发明的衍生物在体外和体内具有极长的半衰期且同时具有极好的效力,这使得它们可能适合于每月一次给药。

[0241] 因此,在第一个功能方面,本发明的衍生物具有良好的效力。另外或可替代地,在第二方面,它们与GLP-1受体非常好地结合,例如,在高白蛋白浓度下。如通过它们与GLP-1受体强烈结合的能力以及激活该受体的能力所反映的,优选地它们是完全GLP-1受体激动剂。另外或可替代地,在第三功能方面,它们具有改善的药代动力学性质。

[0242] 生物活性-体外效力

[0243] 本发明衍生物的GLP-1类似物是生物活性肽或蛋白质的一个非限制性实例。

[0244] 根据第一功能方面,本发明的衍生物以及组成GLP-1类似物本身是生物活性的或有效的。

[0245] 在特定实施方案中,效力和/或活性是指体外效力,即在功能性GLP-1受体试验中的表现,更具体地是指激活人GLP-1受体的能力。

[0246] 可以例如在含有表达人GLP-1受体的膜的培养基中,和/或在使用表达人GLP-1受体的全细胞的试验中确定体外效力。

[0247] 例如,可以在报告基因试验中,例如在稳定转染的BHK细胞系中测量人GLP-1受体的响应,该细胞系表达人GLP-1受体并且含有与启动子偶联的cAMP响应元件(CRE) DNA以及萤火虫萤光素酶(CRE萤光素酶)基因。当cAMP由于GLP-1受体的激活而产生时,这进而导致萤光素酶得到表达。可通过添加萤光素来测定萤光素酶,该萤光素被该酶转化成氧化萤光素并产生生物发光,对该生物发光进行测量并将其作为体外效力的量度。这样的试验的一个非限制性实例在实施例33中描述。

[0248] 术语半数最大有效浓度( $EC_{50}$ )通常是指参照剂量响应曲线,诱导基线与最大值之间的一半的响应的浓度。 $EC_{50}$ 用作化合物效力的量度,并且是观察到其最大效应的50%时的浓度。

[0249] 本发明衍生物的体外效力可以如上所述确定,并且确定所讨论的衍生物的 $EC_{50}$ 。 $EC_{50}$ 值越低,效力越好。

[0250] 在特定实施方案中,本发明的衍生物非常有效,尽管事实上它们具有极长的半衰期。在特定实施方案中,本发明的衍生物具有对应于300pM或以下的 $EC_{50}$ 的体外效力,该体外效力采用实施例33的方法来确定。

[0251] 其他的特定实施方案在标题为“特定实施方案”、“其他特定实施方案”和“另外的

特定实施方案”的部分中公开。

[0252] 生物活性-体内药理学

[0253] 在另一个特定实施方案中,本发明的衍生物以及组分GLP-1类似物本身在体内是有效的,这可以如本领域所知在任何合适的动物模型以及临床试验中确定。

[0254] Sprague Dawley大鼠是合适的动物模型的一个实例,并且例如如实施例36所述,可以在这类大鼠体内确定对食物摄取和/或体重的急性影响。在特定实施方案中,在给药后48小时观察到本发明衍生物对食物摄取和体重的急性影响。

[0255] 其他的特定实施方案在标题为“特定实施方案”、“其他特定实施方案”和“另外的特定实施方案”的部分中公开。

[0256] 生物活性-体外受体结合

[0257] 根据第二功能方面,本发明的衍生物以及组分GLP-1类似物本身非常好地与GLP-1受体结合,例如在高白蛋白浓度下。可以如实施例34所述来确定。

[0258] 通常,在低白蛋白浓度下与GLP-1受体的结合应尽可能的好,这对应于较低的 $IC_{50}$ 值。

[0259] 在高白蛋白浓度下的 $IC_{50}$ 值反映血清白蛋白对该衍生物结合GLP-1受体的影响。如所知的,该GLP-1衍生物可以结合血清白蛋白,并且如果这样,则在高血清白蛋白浓度下的 $IC_{50}$ 值将高于在低白蛋白浓度下的 $IC_{50}$ 值。在高血清白蛋白浓度下升高的 $IC_{50}$ 值表示血清白蛋白结合竞争与GLP-1受体的结合导致与GLP-1受体的结合降低。

[0260] 在特定实施方案中,本发明的衍生物在低白蛋白浓度下非常好地结合GLP-1受体,但是它们在高白蛋白浓度下也非常好地结合。

[0261] 作为一个实例,在特定实施方案中,在2.0% HSA(高白蛋白)的存在下,本发明衍生物的GLP-1受体结合亲和力( $IC_{50}$ )为300nM或更低。

[0262] 其他的特定实施方案在标题为“特定实施方案”、“其他特定实施方案”和“另外的特定实施方案”的部分中公开。

[0263] 药代动力学谱

[0264] 根据第三功能方面,本发明的衍生物具有改善的药代动力学性质,如延长的终末半衰期和/或降低的清除率。

[0265] 终末半衰期的延长和/或清除率的降低意味着所讨论的化合物更慢地从身体中排除。对于本发明的衍生物,这需要药理作用持续时间的延长。

[0266] 本发明衍生物的药代动力学性质可以在药代动力学(PK)研究中在体内适当地确定。进行这样的研究来评价随着时间的推移,药物化合物在体内如何被吸收、分布并消除,以及这些过程如何影响化合物在体内的浓度。

[0267] 在药物开发的发现和临床前阶段,可使用诸如小鼠、大鼠、猴、犬或猪等动物模型来进行这种表征。这些模型中的任一种均可用于测试本发明衍生物的药代动力学性质。

[0268] 在这类研究中,通常以相关制剂的形式向动物静脉内(i.v.)、皮下(s.c.)或经口(p.o.)施用单剂量的药物。在给药后的预定时间点抽取血液样品,并用相关的定量试验分析样品的药物浓度。基于这些测量,绘制研究的化合物的时间-血浆浓度曲线,并对数据进行所谓的非房室药代动力学分析。

[0269] 对于大多数化合物,当在半对数图中绘制时,血浆-浓度曲线的末端部分将是线性

的,这表明在初始吸收和分布后,药物以恒定分数速率(fractional rate)从体内去除。该速率( $\lambda_z$ 或 $\lambda_z$ )等于该图末端部分的斜率的负数。由此速率,也可以按 $t_{1/2} = \ln(2) / \lambda_z$ 计算出终末半衰期(参见,例如,Johan Gabrielsson和Daniel Weiner:Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Data Analysis.Concepts&Applications,第3版,Swedish Pharmaceutical Press,Stockholm(2000))。

[0270] 清除率可以在静脉内给药后确定,并且其被定义为剂量(D)除以血浆浓度-时间曲线上的曲线下面积(AUC) (Rowland,M和Tozer TN:Clinical Pharmacokinetics:Concepts and Applications,第3版,1995Williams Wilkins)。

[0271] 在新药物化合物的评价中,终末半衰期和/或清除率的估计与对给药方案的评价有关,并且是药物开发中的重要参数。

[0272] 药代动力学谱-在小型猪体内的半衰期

[0273] 根据第三功能方面,本发明的衍生物具有改善的药代动力学性质。

[0274] 在特定实施方案中,药代动力学性质可在静脉内给药后以小型猪体内的终末半衰期( $T_{1/2}$ )来确定,例如,如本文实施例35所述。

[0275] 在特定实施方案中,本发明的衍生物在小型猪中具有出色的终末半衰期,使其适合于每月一次给药。在特定实施方案中,本发明衍生物在小型猪中静脉内给药后的终末半衰期至少为100小时。

[0276] 其他的特定实施方案在标题为“特定实施方案”、“其他特定实施方案”和“另外的特定实施方案”的部分中公开。

[0277] 生产过程

[0278] 诸如GLP-1 (7-37)的肽和GLP-1类似物的生产是本领域公知的。

[0279] 例如,可以通过经典的肽合成,例如使用t-Boc或Fmoc化学法的固相肽合成或其他完善的技术,来生产本发明衍生物的GLP-1部分(或其片段)以及本发明的GLP-1类似物,参见,例如,Greene和Wuts,“Protective Groups in Organic Synthesis”,John Wiley& Sons,1999,Florencio Zaragoza **Dörwald**,“Organic Synthesis on solid Phase”,Wiley-VCH Verlag GmbH,2000,以及由W.C.Chan和P.D.White编著的“Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis”,Oxford University Press,2000。

[0280] 另外,或可替代地,其可以通过重组方法来生产,即通过培养含有编码该类似物的DNA序列并能够在允许该肽表达的条件下在合适的营养培养基中表达该肽的宿主细胞。适合表达这些肽的宿主细胞的非限制性实例是:大肠杆菌(Escherichia coli)、酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae)以及哺乳动物BHK或CHO细胞系。

[0281] 包含非天然氨基酸和/或共价附接的N-末端单肽或二肽模拟物的本发明的那些衍生物可以例如如实验部分所述来生产。或者参见例如,Hodgson等人:“The synthesis of peptides and proteins containing non-natural amino acids”,Chemical Society Reviews,vol.33,no.7(2004),p.422-430;和名称为“Semi-recombinant preparation of GLP-1analogues”的WO 2009/083549A1。

[0282] 实验部分中包括制备多种本发明衍生物的方法的具体实例。

[0283] 药物组合物

[0284] 本发明还涉及包含本发明衍生物或其药学上可接受的盐、酰胺或酯以及药学上可



接受的赋形剂的药物组合物。这类组合物可以如本领域已知的进行制备。

[0285] 术语“赋形剂”广义地指活性治疗成分以外的任何组分。该赋形剂可以是惰性物质、非活性物质和/或无药用活性的物质。

[0286] 赋形剂可用于多种目的,例如,作为载体、媒介物、稀释剂、片剂助剂,和/或用于改善活性物质的给药和/或吸收。

[0287] 药物活性成分与各种赋形剂的制剂是本领域已知的,参见例如,Remington:The Science and Practice of Pharmacy (例如,第19版(1995)以及任何后续的版本)。

[0288] 赋形剂的非限制性实例是:溶剂、稀释剂、缓冲液、防腐剂、张度调节剂、螯合剂和稳定剂。

[0289] 制剂的实例包括液体制剂,即包含水的水性制剂。液体制剂可以是溶液或悬浮液。水性制剂通常包含至少50%w/w的水,或至少60%、70%、80%或甚至至少90%w/w的水。

[0290] 或者,药物组合物可以是固体制剂,例如,冻干或喷雾干燥的组合物,其可以原样使用,或由医师或患者在使用前向其添加溶剂和/或稀释剂。

[0291] 水性制剂的pH可以为pH 3至pH 10之间的任何值,例如约7.0至约9.5;或约3.0至约7.0,如7.0至9.5,或3.0至7.0。

[0292] 药物组合物可包含缓冲液。该缓冲液例如可选自乙酸钠、碳酸钠、柠檬酸盐、甘氨酸、组氨酸、赖氨酸、精氨酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、磷酸钠和三(羟甲基)-氨基甲烷、N,N-二羟乙基甘氨酸(bicine)、N-三(羟甲基)甲基甘氨酸(tricine)、苹果酸、琥珀酸盐、马来酸、富马酸、酒石酸、天冬氨酸,及其混合物。

[0293] 药物组合物可包含防腐剂。该防腐剂例如可选自苯酚、邻甲酚、间甲酚、对甲酚、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、2-苯氧乙醇、对羟基苯甲酸丁酯、2-苯基乙醇、苄醇、氯丁醇、和硫柳汞(thiomerosal)、溴硝醇、苯甲酸、咪唑啉基脒、氯己定(chlorohexidine)、脱氢乙酸钠、氯甲酚、对羟基苯甲酸乙酯、苄索氯铵、氯苯甘醚(chlorphenesine) (3对-氯苯氧基丙烷-1,2-二醇),及其混合物。防腐剂可以以0.1mg/ml至20mg/ml的浓度存在。药物组合物可包含等张剂。该等张剂例如可选自盐(例如氯化钠)、糖或糖醇、氨基酸(例如甘氨酸、组氨酸、精氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、天冬氨酸、色氨酸、苏氨酸)、醛醇(例如甘油(丙三醇)、1,2-丙二醇(丙二醇)、1,3-丙二醇、1,3-丁二醇)、聚乙二醇(例如PEG400)及其混合物。可以使用任何糖,如单糖、二糖或多糖或水溶性葡聚糖,包括例如果糖、葡萄糖、甘露糖、山梨糖、木糖、麦芽糖、乳糖、蔗糖、海藻糖、右旋糖酐、支链淀粉、糊精、环糊精、 $\alpha$ 和BHPD、可溶性淀粉、羟乙基淀粉和羧甲基纤维素-Na。糖醇被定义为具有至少一个-OH基团的C4-C8烃,并且包括例如甘露醇、山梨醇、肌醇、半乳糖醇、卫矛醇、木糖醇和阿糖醇。在一个实施方案中,该糖醇添加剂为甘露醇。

[0294] 药物组合物可包含螯合剂。该螯合剂例如可选自乙二胺四乙酸(EDTA)、柠檬酸和天冬氨酸的盐,及其混合物。

[0295] 药物组合物可包含稳定剂。该稳定剂可以为例如一种或多种氧化抑制剂、聚集抑制剂、表面活性剂和/或一种或多种蛋白酶抑制剂。这些不同种类的稳定剂的非限制性实例在下面公开。

[0296] 术语“聚集体形成”是指多肽分子之间的物理相互作用,其导致可保持可溶的寡聚物或从溶液中沉淀的较大可见聚集体的形成。在液体药物组合物的储存期间多肽的聚集体

形成可不利地影响该多肽的生物活性,导致该药物组合物的治疗效力的损失。此外,聚集体形成可导致其他问题,如当使用输注系统施用含有多肽的药物组合物时,管、膜或泵的阻塞。

[0297] 药物组合物可包含足以减少在组合物储存期间多肽的聚集体形成的量的氨基酸碱。术语“氨基酸碱”是指一种或多种氨基酸(如甲硫氨酸、组氨酸、咪唑、精氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、天冬氨酸、色氨酸、苏氨酸),或其类似物。任何氨基酸均可以以其游离碱形式或其盐形式存在。可以存在该氨基酸碱的任何立体异构体(即,L、D或其混合物)。

[0298] 当充当治疗剂的多肽为包含易受到甲硫氨酸残基向甲硫氨酸亚砷的氧化影响的至少一个甲硫氨酸残基的多肽时,可添加甲硫氨酸(或其他含硫氨基酸或氨基酸类似物)以抑制这样的氧化。可使用甲硫氨酸的任何立体异构体(L或D)或其组合。

[0299] 药物组合物可包含选自高分子量聚合物或低分子量化合物的稳定剂。该稳定剂例如可选自聚乙二醇(例如,PEG 3350),聚乙烯醇(PVA),聚乙烯吡咯烷酮,羧基-/羟基纤维素或其衍生物(例如,HPC、HPC-SL、HPC-L和HPMC),环糊精,含硫物质如单硫代甘油,硫代乙醇酸和2-甲基硫代乙醇,以及不同的盐(例如氯化钠)。药物组合物可包含其他的稳定剂,诸如但不限于,保护多肽免受甲硫氨酸氧化的甲硫氨酸和EDTA,以及保护多肽免受与冷冻-解冻或机械剪切有关的聚集的非离子型表面活性剂。

[0300] 药物组合物可包含一种或多种表面活性剂。术语“表面活性剂”是指由水溶性(亲水性)部分与脂溶性(亲脂性)部分组成的任何分子或离子。该表面活性剂例如可选自阴离子型表面活性剂、阳离子型表面活性剂、非离子型表面活性剂和/或两性离子表面活性剂。

[0301] 药物组合物可包含一种或多种蛋白酶抑制剂,例如,EDTA(乙二胺四乙酸)和/或苯脒盐酸盐。

[0302] 药物组合物的其他任选的成分包括例如润湿剂、乳化剂、抗氧化剂、填充剂、金属离子、油性载体、蛋白质(例如,人血清白蛋白、明胶)和/或两性离子(例如,氨基酸如甜菜碱、牛磺酸、精氨酸、甘氨酸、赖氨酸和组氨酸)。

[0303] 更进一步地,可以如在促胰岛素化合物的口服制剂的领域中已知的,例如,使用WO 2008/145728中描述的任一种或多种制剂配制药物组合物。

[0304] 施用的剂量可含有0.1mg-100mg所述衍生物,1-100mg所述衍生物,或1-50mg所述衍生物。

[0305] 所述衍生物可以以药物组合物的形式来施用。所述衍生物可以施用于有需要的患者的若干部位,例如,局部部位,如皮肤或粘膜部位;旁路吸收的部位,如动脉、静脉或心脏中;以及涉及吸收的部位,如皮肤中、皮肤下、肌肉中或腹部中。

[0306] 给药途径可以为,例如,舌;舌下;颊;口中;口服;胃中;小肠中;鼻;肺,如通过细支气管、肺泡或其组合;肠胃外、表皮;真皮;经皮;结膜;输尿管;阴道;直肠;和/或眼部。组合物可以是口服组合物,并且给药途径为经口服。

[0307] 组合物可以以若干种剂型施用,例如作为溶液;悬浮液;乳液;微乳液;多重乳液;泡沫;药膏;糊剂;石膏;软膏;片剂;包衣片剂;口香糖;冲洗剂(rinse);胶囊如硬或软的明胶胶囊;栓剂;直肠胶囊;滴剂;凝胶;喷雾剂;粉末;气雾剂;吸入剂;滴眼剂;眼用软膏;眼用冲洗剂;阴道子宫托;阴道环;阴道软膏;注射溶液;原位转化溶液如原位胶凝、凝固(setting)、沉淀以及原位结晶;输注溶液;或作为植入物。

[0308] 组合物可以是片剂(任选地包衣的)、胶囊或口香糖。

[0309] 例如,为了改善稳定性、生物利用度和/或溶解性,可将组合物进一步复合在药物载体或药物递送系统中。在特定实施方案中,可通过共价、疏水和/或静电相互作用将组合物附接至这样的系统。这样的复合的目的可以是为了例如减少不良效果、实现时间治疗和/或增加患者依从性。

[0310] 组合物还可用于控制释放、持续释放、延长释放、阻滞释放和/或缓慢释放的药物递送系统的制剂。

[0311] 可通过注射器(任选笔状注射器)或通过输注泵,经由皮下、肌内、腹膜内或静脉内注射进行肠胃外给药。

[0312] 组合物可以以溶液、悬浮液或粉末的形式经鼻给药;或者组合物可以以液体或粉末喷雾的形式经肺给药。

[0313] 经皮给药是更进一步的选择,例如通过无针注射、从贴片如离子电渗贴片,或经由经粘膜途径,例如经颊。

[0314] 组合物可以是稳定化的制剂。术语“稳定化的制剂”是指具有提高的物理和/或化学稳定性(优选兼具)的制剂。通常,直到到达失效时间之前,制剂在使用和储存期间(符合推荐的使用和储存条件)必须是稳定的。

[0315] 术语“物理稳定性”是指由于暴露于热机械应力和/或与去稳定化界面以及表面(如疏水表面)相互作用,导致多肽形成无生物活性和/或不可溶聚集体的倾向。可以在不同温度下暴露于机械/物理应力(例如搅拌)不同时间段后,通过目测和/或通过浊度测量来评价水性多肽制剂的物理稳定性。或者,可使用光谱剂(spectroscopic agent)或该多肽的构象状态的探针例如硫代黄素T或“疏水贴片”探针来评价物理稳定性。

[0316] 术语“化学稳定性”是指导致化学降解产物形成的多肽结构的化学(特别是共价)变化,该化学降解产物与完整的多肽相比可能具有降低的生物效力和/或增加的免疫原性作用。可以通过在暴露于不同环境条件后,经由例如SEC-HPLC和/或RP-HPLC测量各个时间点化学降解产物的量来评价化学稳定性。

[0317] 使用根据本发明的衍生物的治疗还可以与一种或多种额外的药理活性物质联合,该药理活性物质例如选自抗糖尿病剂、抗肥胖剂、食欲调节剂、抗高血压剂、用于治疗/或预防由糖尿病导致或与糖尿病相关的并发症的药剂,以及用于治疗/或预防由肥胖症导致或与肥胖症相关的并发症和病症的药剂。这些药理活性物质的实例是:胰岛素、磺酰脲、双胍、美各里替尼、葡糖苷酶抑制剂、胰高血糖素激动剂、胰高血糖素拮抗剂、DPP-IV(二肽基肽酶IV)抑制剂、涉及糖原异生和/或糖原分解的刺激的肝酶的抑制剂、葡萄糖摄取调节剂、改变脂质代谢的化合物如抗高血脂剂如HMG辅酶A抑制剂(他汀类)、抑胃多肽(GIP类似物)、降低食物摄取的化合物、RXR激动剂和作用于 $\beta$ -细胞的ATP-依赖性钾通道的药剂;消胆胺、考来替泊、氯贝丁酯、吉非贝齐、洛伐他汀、普伐他汀、辛伐他汀、普罗布考、右旋甲状腺素、那格列奈、瑞格列奈; $\beta$ -阻滞剂如阿普洛尔、阿替洛尔、噻吗洛尔、吲哚洛尔、普萘洛尔和美托洛尔,ACE(血管紧张素转化酶)抑制剂如贝那普利、卡托普利、依那普利、福辛普利、赖诺普利、法西多曲、喹那普利和雷米普利,钙通道阻滞剂如硝苯吡啶、非洛地平、尼卡地平、伊拉地平、尼莫地平、地尔硫卓和维拉帕米,以及 $\alpha$ -阻滞剂如多沙唑啉、乌拉地尔、哌唑啉和特拉唑啉;CART(可卡因苯丙胺调节转录物)激动剂、NPY(神经肽Y)拮抗剂、PYY激动剂、Y2受

体激动剂、Y4受体激动剂、混合Y2/Y4受体激动剂、MC4(黑皮质素4)激动剂、食欲素拮抗剂、TNF(肿瘤坏死因子)激动剂、CRF(促肾上腺皮质激素释放因子)激动剂、CRF BP(促肾上腺皮质激素释放因子结合蛋白)拮抗剂、尿促皮素激动剂、 $\beta 3$ 激动剂、胃酸调节素及类似物、MSH(促黑素细胞激素)激动剂、MCH(黑素细胞浓缩激素)拮抗剂、CCK(胆囊收缩素)激动剂、血清素再摄取抑制剂、血清素和去甲肾上腺素再摄取抑制剂、混合的血清素和去甲肾上腺素能化合物、5HT(5-羟色胺)激动剂、铃蟾肽激动剂、成纤维细胞生长因子21(FGF-21)、甘丙肽拮抗剂、生长激素、生长激素释放化合物、TRH(促甲状腺激素释放激素)激动剂、UCP 2或3(解偶联蛋白2或3)调节剂、瘦素激动剂、DA激动剂(溴隐亭、doprexin)、脂肪酶/淀粉酶抑制剂、RXR(类视黄醇X受体)调节剂、TR $\beta$ 激动剂;组胺H3拮抗剂、胃抑制多肽激动剂或拮抗剂(GIP类似物)、胃泌素以及胃泌素类似物。

[0318] 使用根据本发明的衍生物的治疗还可以与影响葡萄糖水平和/或脂质稳态的手术如胃束带或胃绕道手术联合。

[0319] 药物适应症

[0320] 本发明还涉及用作药物的本发明衍生物。

[0321] 在特定的实施方案中,本发明的衍生物可用于以下药物治疗:

[0322] (i) 预防和/或治疗所有形式的糖尿病,如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY(青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病,和/或用于减少HbA1C;

[0323] (ii) 延缓或预防糖尿病进展,如2型糖尿病的进展,延缓糖耐量减低(IGT)进展成需要胰岛素的2型糖尿病,延缓或预防胰岛素抵抗,和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;

[0324] (iii) 改善 $\beta$ -细胞功能,如减少 $\beta$ -细胞凋亡、提高 $\beta$ -细胞功能和/或 $\beta$ -细胞质量,和/或恢复 $\beta$ -细胞的葡萄糖敏感性;

[0325] (iv) 预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症,如阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化;

[0326] (v) 例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调,如肥胖症;治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症;减少胃运动;延缓胃排空;增加身体活动;和/或预防和/或治疗肥胖症的共病,如骨关节炎和/或尿失禁;

[0327] (vi) 预防和/或治疗糖尿病并发症,如血管病;神经病,包括周围神经病变;肾病;和/或视网膜病;

[0328] (vii) 改善脂质参数,如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质;增加HDL;降低小而密的LDL;降低VLDL;降低甘油三酯;降低胆固醇;降低人的脂蛋白a(Lp(a))血浆水平;在体外和/或体内抑制载脂蛋白a(apo(a))的生成;

[0329] (viii) 预防和/或治疗心血管疾病,如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行(闭塞性动脉硬化)、舒张期功能障碍和/或收缩期功能障碍;和/或降低血压,如降低收缩压;

[0330] (ix) 预防和/或治疗胃肠疾病,如炎性肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎;消化不良;和/或胃溃疡;和/或炎症,如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮;

[0331] (x) 预防和/或治疗危重病,如治疗危重患者、危重病多发性肾病(CIPNP)患者和/或潜在的CIPNP患者;预防危重病或CIPNP的进展;预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征(SIRS);预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可能性;和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢;

[0332] (xi) 预防和/或治疗多囊卵巢综合征(PCOS);

[0333] (xii) 预防和/或治疗脑部疾病,如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤;

[0334] (xiii) 预防和/或治疗睡眠呼吸暂停;和/或

[0335] (xiv) 预防和/或治疗滥用,如酒精滥用和/或药物滥用。

[0336] 在特定实施方案中,该适应症选自(i) - (xiv),如适应症(i) - (viii)、(x) - (xiii)和/或(xiv),并且以一种方式或其他方式与糖尿病有关。

[0337] 在另一个特定实施方案中,该适应症选自(i) - (iii)和(v) - (viii),如适应症(i)、(ii)和/或(iii);或适应症(v)、适应症(vi)、适应症(vii)和/或适应症(viii)。

[0338] 在又一个特定实施方案中,该适应症为(i)。在进一步的特定实施方案中,该适应症为(v)。在又一个特定实施方案中,该适应症为(viii)。

[0339] 特别优选以下适应症:2型糖尿病和/或肥胖症。

[0340] 在一些实施方案中,本发明涉及一种体重管理方法。在一些实施方案中,本发明涉及一种降低食欲的方法。在一些实施方案中,本发明涉及一种减少食物摄取的方法。

[0341] 一般而言,罹患肥胖症的所有受试者也被认为是罹患超重的。在一些实施方案中,本发明涉及一种治疗或预防肥胖症的方法。在一些实施方案中,本发明涉及本发明的衍生物或类似物用于治疗或预防肥胖症的用途。在一些实施方案中,罹患肥胖症的受试者是人,如成人或孩童(包括婴儿、儿童和青少年)。身体质量指数(BMI)是基于身高和体重的体脂肪的量度。计算公式为 $BMI = \text{体重(千克)} / \text{身高(米)}^2$ 。罹患肥胖症的人类受试者的BMI可为 $\geq 30$ ;该受试者也可被称为肥胖的。在一些实施方案中,罹患肥胖症的人类受试者的BMI可为 $\geq 35$ 或BMI在 $\geq 30$ 至 $<40$ 的范围内。在一些实施方案中,该肥胖症为重度肥胖症或病态肥胖症,其中人类受试者的BMI可为 $\geq 40$ 。

[0342] 在一些实施方案中,本发明涉及一种任选地在至少一种体重相关的共病的存在下治疗或预防超重的方法。在一些实施方案中,本发明涉及本发明的衍生物或类似物任选地在至少一种体重相关的共病的存在下治疗或预防超重的用途。在一些实施方案中,罹患超重的受试者是人,如成人或孩童(包括婴儿、儿童和青少年)。在一些实施方案中,罹患超重的人类受试者的BMI可为 $\geq 25$ ,诸如BMI $\geq 27$ 。在一些实施方案中,罹患超重的人类受试者的BMI在25至 $<30$ 的范围内或在27至 $<30$ 的范围内。在一些实施方案中,所述体重相关的共病选自高血压、糖尿病(诸如2型糖尿病)、血脂异常、高胆固醇和阻塞性睡眠呼吸暂停(obstructive sleep apnoea)。

[0343] 在一些实施方案中,本发明涉及一种减轻体重的方法。在一些实施方案中,本发明涉及本发明的衍生物或类似物用于减轻体重的用途。将要根据本发明经历体重减轻的人的BMI可为 $\geq 25$ ,例如BMI为 $\geq 27$ 或BMI为 $\geq 30$ 。在一些实施方案中,将要根据本发明经历体重

减轻的人的BMI可为 $\geq 35$ 或BMI为 $\geq 40$ 。术语“体重减轻”可包括肥胖症和/或超重的治疗或预防。

[0344] 特定实施方案

[0345] 以下是本发明的特定实施方案：

[0346] 1. 通式I的GLP-1类似物的衍生物，或其药学上可接受的盐、酰胺或酯：

[0347]  $\text{Xaa}_7\text{-Xaa}_8\text{-Glu-Gly-Thr-Xaa}_{12}\text{-Thr-Ser-Asp-Xaa}_{16}\text{-Ser-Xaa}_{18}\text{-Xaa}_{19}\text{-Xaa}_{20}\text{-Glu-Xaa}_{22}\text{-Xaa}_{23}\text{-Ala-Xaa}_{25}\text{-Xaa}_{26}\text{-Xaa}_{27}\text{-Phe-Ile-Xaa}_{30}\text{-Xaa}_{31}\text{-Leu-Xaa}_{33}\text{-Xaa}_{34}\text{-Xaa}_{35}\text{-Xaa}_{36}\text{-Xaa}_{37}\text{-Xaa}_{38}$ ，其中

[0348]  $\text{Xaa}_7$ 为L-组氨酸、(S)-2-羟基-3-(1H-咪唑-4-基)-丙酸、D-组氨酸、脱氨基组氨酸、高组氨酸、 $\text{N}^d$ -乙酰基-组氨酸、 $\text{N}^d$ -甲酰基-组氨酸、 $\text{N}^d$ -甲基-组氨酸、3-吡啶基丙氨酸、2-吡啶基丙氨酸或4-吡啶基丙氨酸；

[0349]  $\text{Xaa}_8$ 为Ala、Gly、Ser、Aib、(1-氨基环丙基)羧酸或(1-氨基环丁基)羧酸；

[0350]  $\text{Xaa}_{12}$ 为Phe或Leu；

[0351]  $\text{Xaa}_{16}$ 为Val或Leu；

[0352]  $\text{Xaa}_{18}$ 为Ser、Val、Arg或Leu；

[0353]  $\text{Xaa}_{19}$ 为Tyr或Gln；

[0354]  $\text{Xaa}_{20}$ 为Leu或Met；

[0355]  $\text{Xaa}_{22}$ 为Gly或Glu；

[0356]  $\text{Xaa}_{23}$ 为Gln、Glu或Arg；

[0357]  $\text{Xaa}_{25}$ 为Ala或Val；

[0358]  $\text{Xaa}_{26}$ 为Arg；

[0359]  $\text{Xaa}_{27}$ 为Glu或Leu；

[0360]  $\text{Xaa}_{30}$ 为Ala、Glu或Arg；

[0361]  $\text{Xaa}_{31}$ 为Trp或His；

[0362]  $\text{Xaa}_{33}$ 为Val；

[0363]  $\text{Xaa}_{34}$ 为Arg、His、Asn、Gln或Lys；

[0364]  $\text{Xaa}_{35}$ 为Gly、Ala或Lys；

[0365]  $\text{Xaa}_{36}$ 为Arg、Gly或Lys；

[0366]  $\text{Xaa}_{37}$ 为Gly、Pro或Lys；

[0367]  $\text{Xaa}_{38}$ 为Lys或不存在；

[0368] 其中 $\text{Xaa}_{34}$ 、 $\text{Xaa}_{35}$ 、 $\text{Xaa}_{36}$ 、 $\text{Xaa}_{37}$ 和 $\text{Xaa}_{38}$ 中的至少一个为Lys；

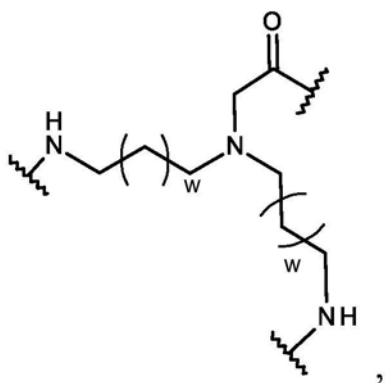
[0369] 该衍生物包含衔接至 $\text{Xaa}_{34}$ 、 $\text{Xaa}_{35}$ 、 $\text{Xaa}_{36}$ 、 $\text{Xaa}_{37}$ 或 $\text{Xaa}_{38}$ 的Lys残基上的侧链，

[0370] 该侧链包含：

[0371] (i) 化学式11的分支连接体

[0372] 化学式11：

[0373]

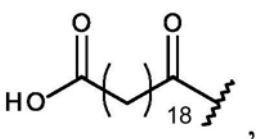


[0374] 其中w为0-2范围内的整数；

[0375] (ii) 选自化学式12、化学式12a和化学式13的第一和第二延长体；

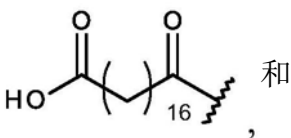
[0376] 化学式12：

[0377]



[0378] 化学式12a：

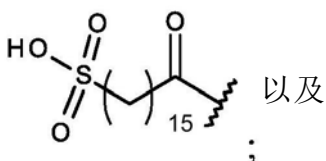
[0379]



和

[0380] 化学式13：

[0381]



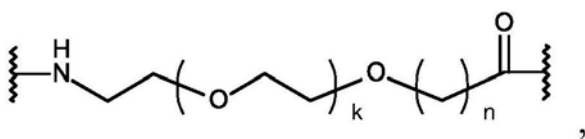
以及

；

[0382] (iii) 至少一个化学式1的连接体元件-1：

[0383] 化学式1：

[0384]



[0385] 其中k为1-23范围内的整数，且n为1-5范围内的整数；

[0386] 其中所述分支连接体

[0387] a) 在其-CO端经由可选的前连接体连接至Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基，并且

[0388] b) 在其两个-NH端中的每一个处分别经由第一和第二后连接体分别连接至第一和第二延长体中每一个的-CO端，第一和第二后连接体中的每一个优选地包含-NH基团和-CO基团；并且

[0389] 其中

[0390] 如果存在前连接体，则其包含连接体元件-1，或者

[0391] 如果不存在前连接体，则第一后连接体和第二后连接体中的每一个包含连接体元

件-1。

[0392] 2. 权利要求1的衍生物,其中所述类似物具有通式I' :

[0393] Xaa<sub>7</sub>-Xaa<sub>8</sub>-Glu-Gly-Thr-Xaa<sub>12</sub>-Thr-Ser-Asp-Xaa<sub>16</sub>-Ser-Xaa<sub>18</sub>-Xaa<sub>19</sub>-Xaa<sub>20</sub>-Glu-Xaa<sub>22</sub>-Xaa<sub>23</sub>-Ala-Xaa<sub>25</sub>-Xaa<sub>26</sub>-Xaa<sub>27</sub>-Phe-Ile-Xaa<sub>30</sub>-Xaa<sub>31</sub>-Leu-Xaa<sub>33</sub>-Xaa<sub>34</sub>-Xaa<sub>35</sub>-Xaa<sub>36</sub>-Xaa<sub>37</sub>-Xaa<sub>38</sub>, 其中

[0394] Xaa<sub>7</sub>为L-组氨酸或脱氨基组氨酸;

[0395] Xaa<sub>8</sub>为Aib;

[0396] Xaa<sub>12</sub>为Phe;

[0397] Xaa<sub>16</sub>为Val;

[0398] Xaa<sub>18</sub>为Ser;

[0399] Xaa<sub>19</sub>为Tyr;

[0400] Xaa<sub>20</sub>为Leu;

[0401] Xaa<sub>22</sub>为Glu;

[0402] Xaa<sub>23</sub>为Gln;

[0403] Xaa<sub>25</sub>为Ala;

[0404] Xaa<sub>26</sub>为Arg;

[0405] Xaa<sub>27</sub>为Glu;

[0406] Xaa<sub>30</sub>为Ala或Glu;

[0407] Xaa<sub>31</sub>为Trp;

[0408] Xaa<sub>33</sub>为Val;

[0409] Xaa<sub>34</sub>为Arg或Lys;

[0410] Xaa<sub>35</sub>为Gly或Lys;

[0411] Xaa<sub>36</sub>为Arg或Lys;

[0412] Xaa<sub>37</sub>为Pro或Lys;

[0413] Xaa<sub>38</sub>为Lys或不存在;

[0414] 其中Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>和Xaa<sub>38</sub>中的至少一个为Lys。

[0415] 3. 实施方案1-2中任一项的衍生物,其中在式I中,Xaa<sub>7</sub>为L-组氨酸或脱氨基组氨酸;Xaa<sub>8</sub>为Aib;Xaa<sub>12</sub>为Phe;Xaa<sub>16</sub>为Val;Xaa<sub>18</sub>为Ser;Xaa<sub>19</sub>为Tyr;Xaa<sub>20</sub>为Leu;Xaa<sub>22</sub>为Glu;Xaa<sub>23</sub>为Gln;Xaa<sub>25</sub>为Ala;Xaa<sub>26</sub>为Arg;Xaa<sub>27</sub>为Glu;Xaa<sub>30</sub>为Ala或Glu;Xaa<sub>31</sub>为Trp;Xaa<sub>33</sub>为Val;Xaa<sub>34</sub>为Arg或Lys;Xaa<sub>35</sub>为Gly或Lys;Xaa<sub>36</sub>为Arg或Lys;Xaa<sub>37</sub>为Pro或Lys;且/或Xaa<sub>38</sub>为Lys或不存在;并且其中Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>和Xaa<sub>38</sub>中的至少一个为Lys。

[0416] 4. 实施方案1-3中任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多10个氨基酸改变。

[0417] 5. 实施方案1-4中任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多9个氨基酸改变。

[0418] 6. 实施方案1-5中任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多8个氨基酸改变。

[0419] 7. 实施方案1-6中任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多7个氨基酸改变。



- [0420] 8.实施方案1-7中任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多6个氨基酸改变。
- [0421] 9.实施方案1-8中任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多5个氨基酸改变。
- [0422] 10.实施方案1-9中任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多4个氨基酸改变。
- [0423] 11.实施方案1-10中任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多3个氨基酸改变。
- [0424] 12.实施方案1-11中任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多2个氨基酸改变。
- [0425] 13.实施方案1-12中任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有最多1个改变。
- [0426] 14.实施方案1-13中任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有至少1个氨基酸改变。
- [0427] 15.实施方案1-14中任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有至少2个氨基酸改变。
- [0428] 16.实施方案1-15中任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有至少3个氨基酸改变。
- [0429] 17.实施方案1-16中任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有至少4个氨基酸改变。
- [0430] 18.实施方案1-17中任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有至少5个氨基酸改变。
- [0431] 19.实施方案1-18中任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1)的序列相比,所述GLP-1类似物具有至少6个氨基酸改变。
- [0432] 20.实施方案1-19中任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1)相比的氨基酸改变的编号通过书写和目测来鉴定。
- [0433] 21.实施方案1-20中任一项的衍生物,其中与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1)相比的氨基酸改变的编号通过使用标准蛋白质或肽比对程序来鉴定。
- [0434] 22.实施方案21的衍生物,其中所述比对程序是Needleman-Wunsch比对。
- [0435] 23.实施方案21-22中任一项的衍生物,其中使用缺省打分矩阵和缺省单位矩阵。
- [0436] 24.实施方案21-23中任一项的衍生物,其中所述打分矩阵为BLOSUM62。
- [0437] 25.实施方案21-24中任一项的衍生物,其中空位中的第一残基的罚分为-10(负十)。
- [0438] 26.实施方案21-25中任一项的衍生物,其中空位中的其他残基的罚分为-0.5(负零点五)。
- [0439] 27.实施方案21-26中任一项的衍生物,其中Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>和Xaa<sub>38</sub>中的一个为Lys。
- [0440] 28.实施方案1-27中任一项的衍生物,其中所述GLP-1类似物选自SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的肽。

- [0441] 29. 实施方案1-28中任一项的衍生物,其中所述第一和第二延长体中的每一个为化学式12。
- [0442] 30. 实施方案1-28中任一项的衍生物,其中所述第一和第二延长体中的每一个为化学式12a。
- [0443] 31. 实施方案1-28中任一项的衍生物,其中所述第一和第二延长体中的每一个为化学式13。
- [0444] 32. 实施方案1-31中任一项的衍生物,其中所述侧链连接至Xaa<sub>34</sub>的Lys残基。
- [0445] 33. 实施方案1-31中任一项的衍生物,其中所述侧链连接至Xaa<sub>35</sub>的Lys残基。
- [0446] 34. 实施方案1-31中任一项的衍生物,其中所述侧链连接至Xaa<sub>36</sub>的Lys残基。
- [0447] 35. 实施方案1-31中任一项的衍生物,其中所述侧链连接至Xaa<sub>37</sub>的Lys残基。
- [0448] 36. 实施方案1-31中任一项的衍生物,其中所述侧链连接至Xaa<sub>38</sub>的Lys残基。
- [0449] 37. 实施方案1-36中任一项的衍生物,其中在化学式11中,w为1。
- [0450] 38. 实施方案1-37中任一项的衍生物,其中存在所述前连接体。
- [0451] 39. 实施方案1-38中任一项的衍生物,其中所述前连接体包含连接体元件-1 (化学式1)。
- [0452] 40. 实施方案1-39中任一项的衍生物,其中所述第一后连接体和第二后连接体中的每一个包含连接体元件-1。
- [0453] 41. 实施方案1-39中任一项的衍生物,其中仅有所述前连接体包含连接体元件-1。
- [0454] 42. 实施方案1-39中任一项的衍生物,其中所述第一后连接体和第二后连接体中的每一个不包含连接体元件-1。
- [0455] 43. 实施方案1-39中任一项的衍生物,其中所述第一后连接体和第二后连接体均不包含连接体元件-1。
- [0456] 44. 实施方案1-40中任一项的衍生物,其中所述前连接体以及所述第一后连接体和第二后连接体中的每一个包含连接体元件-1。
- [0457] 45. 实施方案1-44中任一项的衍生物,其中不存在所述前连接体。
- [0458] 46. 实施方案1-45中任一项的衍生物,其中所述前连接体不存在。
- [0459] 47. 实施方案1-46中任一项的衍生物,其不具有前连接体。
- [0460] 48. 实施方案1-47中任一项的衍生物,其中所述第一后连接体和第二后连接体中的每一个包含连接体元件-1 (化学式1)。
- [0461] 49. 实施方案1-48中任一项的衍生物,其包含至少两次连接体元件-1。
- [0462] 50. 实施方案1-49中任一项的衍生物,其包含恰好m次连接体元件-1,其中m为2-12范围内的整数。
- [0463] 51. 实施方案50的衍生物,其中m为2。
- [0464] 52. 实施方案50的衍生物,其中m为4。
- [0465] 53. 实施方案50的衍生物,其中m为6。
- [0466] 54. 实施方案50的衍生物,其中m为8。
- [0467] 55. 实施方案50的衍生物,其中m为10。
- [0468] 56. 实施方案50的衍生物,其中m为12。
- [0469] 57. 实施方案1-56中任一项的衍生物,其包含至少一个由q个并置连接体元件-1组

成的构件,其中q为1-6范围内的整数,并且其中并置的意思是经由酰胺键互相连接。

[0470] 58.实施方案1-57中任一项的衍生物,其包含至少一个由经由酰胺键连接成行的q个连接体元件-1组成的构件,其中q为1-6范围内的整数。

[0471] 59.实施方案1-58中任一项的衍生物,其中q为2-6范围内的整数。

[0472] 60.实施方案57-59中任一项的衍生物,其中q为1。

[0473] 61.实施方案57-59中任一项的衍生物,其中q为2。

[0474] 62.实施方案57-59中任一项的衍生物,其中q为3。

[0475] 63.实施方案57-59中任一项的衍生物,其中q为4。

[0476] 64.实施方案57-59中任一项的衍生物,其中q为5。

[0477] 65.实施方案57-59中任一项的衍生物,其中q为6。

[0478] 66.实施方案57-65中任一项的衍生物,其包含q个并置连接体元件-1的恰好一个构件。

[0479] 67.实施方案66的衍生物,其中q为2、4或6。

[0480] 68.实施方案66-67中任一项的衍生物,其中q为2。

[0481] 69.实施方案66-67中任一项的衍生物,其中q为4。

[0482] 70.实施方案66-67中任一项的衍生物,其中q为6。

[0483] 71.实施方案66-70中任一项的衍生物,其中所述构件在所述前连接体中。

[0484] 72.实施方案57-65中任一项的衍生物,其包含q个并置连接体元件-1的恰好两个构件。

[0485] 73.实施方案72的衍生物,其中q为1、2、3、4、5或6。

[0486] 74.实施方案72-73中任一项的衍生物,其中q为1。

[0487] 75.实施方案72-73中任一项的衍生物,其中q为2。

[0488] 76.实施方案72-73中任一项的衍生物,其中q为3。

[0489] 77.实施方案72-73中任一项的衍生物,其中q为4。

[0490] 78.实施方案72-73中任一项的衍生物,其中q为5。

[0491] 79.实施方案72-73中任一项的衍生物,其中q为6。

[0492] 80.实施方案72-79中任一项的衍生物,其中所述两个构件在所述第一和第二后连接体中,各有一个构件。

[0493] 81.实施方案57-65中任一项的衍生物,其包含q个并置连接体元件-1的恰好三个构件。

[0494] 82.实施方案81的衍生物,其中q为2或4。

[0495] 83.实施方案80-82中任一项的衍生物,其中q为2。

[0496] 84.实施方案80-82中任一项的衍生物,其中q为4。

[0497] 85.实施方案81-84中任一项的衍生物,其中所述三个构件在所述前连接体、第一后连接体和第二后连接体中,各有一个构件。

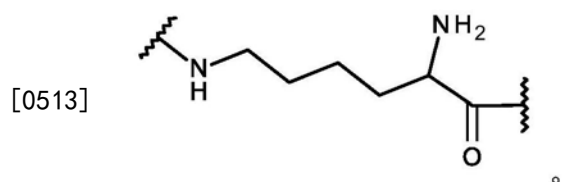
[0498] 86.实施方案1-85中任一项的衍生物,其中k为1、3、11、15或23。

[0499] 87.实施方案1-86中任一项的衍生物,其中k为1。

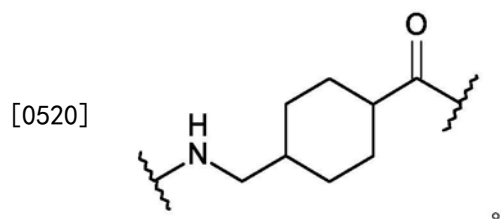
[0500] 88.实施方案1-86中任一项的衍生物,其中k为3。

[0501] 89.实施方案1-86中任一项的衍生物,其中k为11。

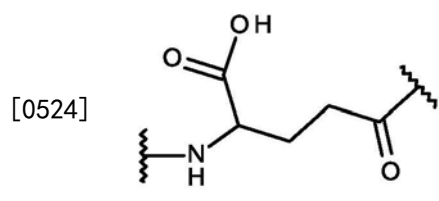
- [0502] 90. 实施方案1-86中任一项的衍生物, 其中k为15。
- [0503] 91. 实施方案1-86中任一项的衍生物, 其中k为23。
- [0504] 92. 实施方案1-91中任一项的衍生物, 其中n为1或2。
- [0505] 93. 实施方案1-92中任一项的衍生物, 其中n为1。
- [0506] 94. 实施方案1-93中任一项的衍生物, 其中n为2。
- [0507] 95. 实施方案1-94中任一项的衍生物, 其中k为1且n为1。
- [0508] 96. 实施方案1-94中任一项的衍生物, 其中k为3且n为2。
- [0509] 97. 实施方案1-94中任一项的衍生物, 其中k为11且n为2。
- [0510] 98. 实施方案1-94中任一项的衍生物, 其中k为15且n为2。
- [0511] 99. 实施方案1-94中任一项的衍生物, 其中k为23且n为2。
- [0512] 100. 实施方案1-99中任一项的衍生物, 其包含化学式2的连接体元件-2:



- [0514] 101. 实施方案100的衍生物, 其中化学式2是Lys的二价基团。
- [0515] 102. 实施方案100-101中任一项的衍生物, 其中化学式2是eps-Lys的二价基团。
- [0516] 103. 实施方案100-102中任一项的衍生物, 其中化学式2是L-eps-Lys的二价基团。
- [0517] 104. 实施方案100-103中任一项的衍生物, 其包含p次连接体元件-2, 其中p为0-2范围内的整数。
- [0518] 105. 实施方案104的衍生物, 其中p为2。
- [0519] 106. 实施方案1-105中任一项的衍生物, 其包含化学式3的连接体元件-3:

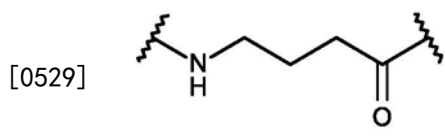


- [0521] 107. 实施方案106的衍生物, 其中化学式3是氨甲环酸的二价基团。
- [0522] 108. 实施方案106-107中任一项的衍生物, 其中化学式3是反式-4-(氨甲基)环己烷羧酸的二价基团。
- [0523] 109. 实施方案1-108中任一项的衍生物, 其包含化学式4的连接体元件-4:



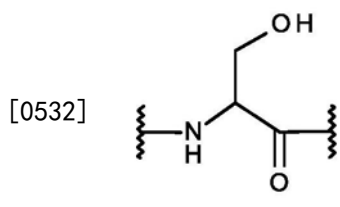
- [0525] 110. 实施方案109的衍生物, 其中化学式4是Glu的二价基团。
- [0526] 111. 实施方案109-110中任一项的衍生物, 其中化学式4是gGlu的二价基团。
- [0527] 112. 实施方案109-111中任一项的衍生物, 其中化学式4是L-gGlu的二价基团。

[0528] 113. 实施方案1-112中任一项的衍生物,其包含化学式5的连接体元件-5:



[0530] 114. 实施方案113的衍生物,其中化学式5是4-氨基丁酸的二价基团。

[0531] 115. 实施方案1-114中任一项的衍生物,其包含化学式6的连接体元件-6:



[0533] 116. 实施方案115的衍生物,其中化学式6是Ser的二价基团。

[0534] 117. 实施方案115-116中任一项的衍生物,其中化学式6是L-Ser的二价基团。

[0535] 118. 实施方案1-117中任一项的衍生物,其包含所述前连接体。

[0536] 119. 实施方案118的衍生物,其中所述分支连接体在其-CO端经由前连接体连接至Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基。

[0537] 120. 实施方案118-119中任一项的衍生物,其中所述前连接体包含恰好q次连接体元件-1,其中q为2、4或6。

[0538] 121. 实施方案120的衍生物,其中q为2。

[0539] 122. 实施方案120的衍生物,其中q为4。

[0540] 123. 实施方案120的衍生物,其中q为6。

[0541] 124. 实施方案120-123中任一项的衍生物,其中k为1。

[0542] 125. 实施方案120-124中任一项的衍生物,其中n为1。

[0543] 126. 实施方案1-117中任一项的衍生物,其不包含所述前连接体。

[0544] 127. 实施方案1-117和126中任一项的衍生物,其中所述分支连接体在其-CO端直接连接至Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基。

[0545] 128. 实施方案1-127中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体各自包含恰好s次连接体元件-1,其中s为0或1-6范围内的整数,以及至少一个另外的连接体元件,其选自连接体元件-2、连接体元件-3、连接体元件-4、连接体元件-5和连接体元件-6;其中该衍生物优选包含不超过四个、更优选不超过三个相同或不同种类的另外的连接体元件。

[0546] 129. 实施方案1-128中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体各自包含恰好s次连接体元件-1,其中s为0或1-6范围内的整数,以及至少两个相同或不同种类的另外的连接体元件,其选自连接体元件-2、连接体元件-3、连接体元件-4、连接体元件-5和连接体元件-6;其中该衍生物优选包含不超过四个、更优选不超过三个相同或不同种类的另外的连接体元件。

[0547] 130. 实施方案1-129中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的两次连接体元件-2和五次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0548] 131. 实施方案1-129中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的两次连接体元件-2和四次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0549] 132. 实施方案1-129中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-3、连接体元件-4和六次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0550] 133. 实施方案1-129中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的两次连接体元件-2和三次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为3且n为2,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0551] 134. 实施方案1-129中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的两次连接体元件-2和化学式1的连接体元件-1组成,其中k为23且n为2,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0552] 135. 实施方案1-129中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的两次连接体元件-2和化学式1的连接体元件-1组成,其中k为15且n为2,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0553] 136. 实施方案1-129中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的两次连接体元件-2和化学式1的连接体元件-1组成,其中k为11且n为2,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0554] 137. 实施方案1-129中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、两次连接体元件-2和五次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0555] 138. 实施方案1-129中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-3、连接体元件-4和五次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0556] 139. 实施方案1-129中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-3、连接体元件-4和四次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每

个-NH端。

[0557] 140. 实施方案1-129中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-3、连接体元件-4和两次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0558] 141. 实施方案1-129中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-3和连接体元件-4组成,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0559] 142. 实施方案1-129中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、两次连接体元件-2和四次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0560] 143. 实施方案1-129中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、两次连接体元件-2和六次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0561] 144. 实施方案1-129中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、连接体元件-4和四次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0562] 145. 实施方案1-129中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、连接体元件-4和五次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0563] 146. 实施方案1-129中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、连接体元件-4和六次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0564] 147. 实施方案1-129中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、连接体元件-3、连接体元件-4和四次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述

分支连接体的每个-NH端。

[0565] 148. 实施方案1-129中任一项的衍生物, 其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、连接体元件-3、连接体元件-4和五次化学式1的连接体元件-1组成, 其中k为1且n为1, 并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端, 并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0566] 149. 实施方案1-129中任一项的衍生物, 其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、连接体元件-3、连接体元件-4和六次化学式1的连接体元件-1组成, 其中k为1且n为1, 并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端, 并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0567] 150. 实施方案1-129中任一项的衍生物, 其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-4和四次化学式1的连接体元件-1组成, 其中k为1且n为1, 并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端, 并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0568] 151. 实施方案1-129中任一项的衍生物, 其中所述第一和第二后连接体中的每一个由连接体元件-4组成, 其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端, 并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0569] 152. 实施方案1-129中任一项的衍生物, 其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-3、连接体元件-4和连接体元件-6组成, 并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端, 并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[0570] 153. 实施方案1-152中任一项的衍生物, 其中所述前连接体由经由酰胺键相互连接的两化学式1的连接体元件-1组成, 其中k为1且n为1, 并且其中所述前连接体在其-NH端连接至所述分支连接体的-CO端, 并且在其-CO端连接至Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基。

[0571] 154. 实施方案153的衍生物, 其中所述第一和第二后连接体中的每一个如实施方案139所限定。

[0572] 155. 实施方案1-152中任一项的衍生物, 其中所述前连接体由经由酰胺键相互连接的四次化学式1的连接体元件-1组成, 其中k为1且n为1, 并且其中所述前连接体在其-NH端连接至所述分支连接体的-CO端, 并且在其-CO端连接至Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基。

[0573] 156. 实施方案155的衍生物, 其中所述第一和第二后连接体中的每一个如实施方案140所限定。

[0574] 157. 实施方案155的衍生物, 其中所述第一和第二后连接体中的每一个如实施方案141所限定。

[0575] 158. 实施方案154的衍生物, 其中所述第一和第二后连接体中的每一个如实施方案151所限定。

[0576] 159. 实施方案1-152中任一项的衍生物, 其中所述前连接体由经由酰胺键相互连



接的六次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述前连接体在其-NH端连接至分所述分支连接体的-CO端,并且在其-CO端连接至Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基。

[0577] 160. 实施方案158的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个如实施方案141所限定。

[0578] 161. 实施方案158的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个如实施方案152所限定。

[0579] 162. 实施方案158的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个如实施方案151所限定。

[0580] 163. 实施方案1-162中任一项的衍生物,其中所述分支连接体经由酰胺键,

[0581] a) 在其-CO端经由可选的前连接体连接至Xaa<sub>34</sub>、Xaa<sub>35</sub>、Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基,并且

[0582] b) 在其两个-N端中的每一个处分别经由第一和第二后连接体分别连接至第一和第二延长体中每一个的-CO端。

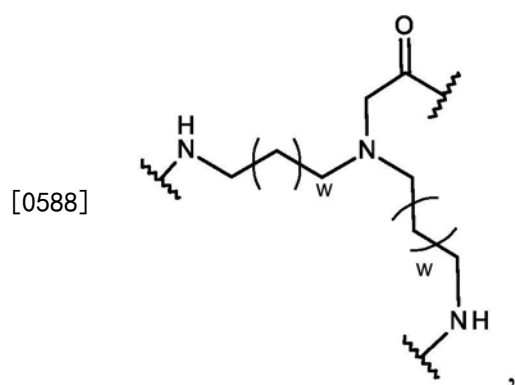
[0583] 164. 实施方案1-163中任一项的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯,其中Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>和Xaa<sub>38</sub>中的一个为Lys;

[0584] 该衍生物包含附接至Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>和Xaa<sub>38</sub>的Lys残基上的侧链，

[0585] 该侧链包含:

[0586] (i) 化学式11的分支连接体

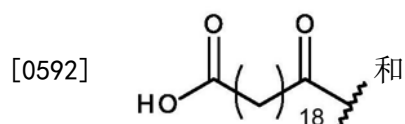
[0587] 化学式11:



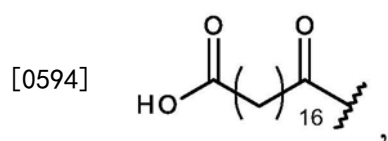
[0589] 其中,  $w$  为 1:

[0590] (ii) 选自化学式12和化学式12a的第一和第二延长体:

[0591] 化学式12:

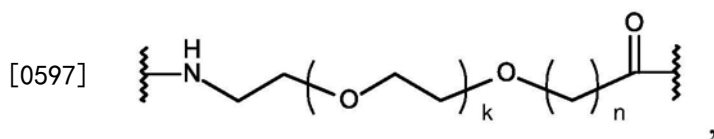


[0593] 化学式12a:



[0595] (iii) 至少八次化学式1的连接体元件-1:

[0596] 化学式1:



[0598] 其中k为1且n为1;

[0599] 其中所述分支连接体

[0600] a) 在其-CO端经由可选的前连接体连接至Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基, 并且

[0601] b) 在其两个-NH端中的每一个处分别经由第一和第二后连接体分别连接至第一和第二延长体中每一个的-CO端; 并且

[0602] 其中

[0603] 如果存在前连接体, 则其包含至少两次连接体元件-1, 或者

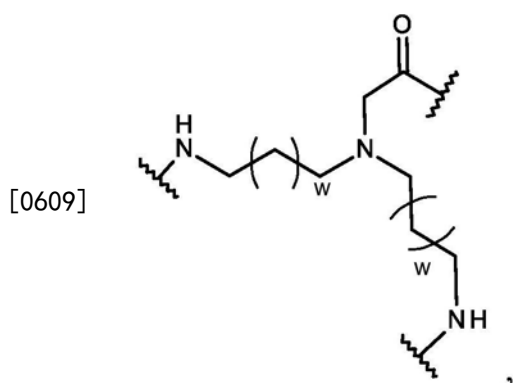
[0604] 如果不存在前连接体, 则第一后连接体和第二后连接体中的每一个包含至少四次连接体元件-1。

[0605] 165. 实施方案1-164中任一项的衍生物, 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯, 其中Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>中的一个为Lys, 并且该衍生物包含附接至Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基上的侧链,

[0606] 该侧链由以下组成:

[0607] (i) 化学式11的分支连接体

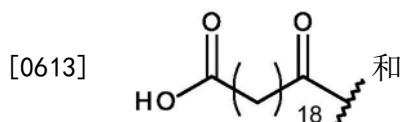
[0608] 化学式11:



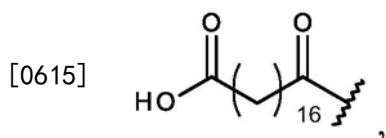
[0610] 其中, w为1;

[0611] (ii) 选自化学式12和化学式12a的第一和第二延长体:

[0612] 化学式12:

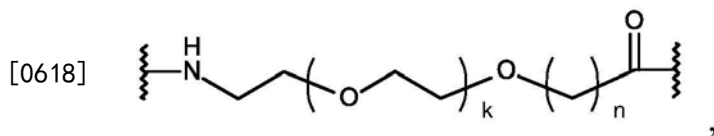


[0614] 化学式12a:



[0616] (iii) 至少八次化学式1的连接体元件-1:

[0617] 化学式1:



[0619] 其中k为1且n为1;

[0620] 其中所述分支连接体

[0621] a) 在其-CO端经由可选的前连接体连接至Xaa<sub>36</sub>、Xaa<sub>37</sub>或Xaa38的Lys残基的ε氨基, 并且

[0622] b) 在其两个-NH端中的每一个处分别经由第一和第二后连接体分别连接至第一和第二延长体中每一个的-CO端; 并且

[0623] 其中

[0624] 如果存在前连接体, 则其由二至四次连接体元件-1组成, 或者

[0625] 如果不存在前连接体, 则第一后连接体和第二后连接体中的每一个由四至六次连接体元件-1组成。

[0626] 166. 实施方案1-165中任一项的衍生物, 其中所述GLP-1类似物与SEQ ID NO:1相比具有以下改变: (8Aib, 22E, 26R, 34R), 以及另外, (i) 36K, (ii) 37K, 或 (iii) (37P和38K)。

[0627] 167. 实施方案1-166中任一项的衍生物, 其中所述GLP-1类似物具有SEQ ID NO:2、4或6中任一个的序列。

[0628] 168. 实施方案1-167中任一项的衍生物, 其中整个分子中连接体元件-1的总数 (“m”) 为8-12, 如8、10或12。

[0629] 169. 实施方案1-168中任一项的衍生物, 其中所述第一后连接体和第二后连接体每一个中并置连接体元件-1的数目 (“s”) 为2-6, 如2、4或6。

[0630] 170. 实施方案1-169中任一项的衍生物, 其中所述第一和第二后连接体中的每一个包含一个化学式4的连接体元件-4, 该连接体元件-4是gGlu的二价基团, 优选L-形式。

[0631] 171. 实施方案1-170中任一项的衍生物, 其中所述第一和第二后连接体中的每一个包含一个化学式3的连接体元件-3, 该连接体元件-3是氨甲环酸、优选反式-4-(氨甲基)环己烷羧酸的二价基团。

[0632] 172. 实施方案1-171中任一项的衍生物, 其中如果存在, 则所述前连接体中并置连接体元件-1的其数目为2-4, 如2或4。

[0633] 173. 实施方案1-172中任一项的衍生物, 其选自化学式23、化学式30、化学式31、化学式32和化学式48; 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0634] 174. 一种GLP-1衍生物, 优选实施方案1-173中任一项的衍生物, 其选自化学式21、化学式22、化学式23、化学式24、化学式25、化学式26、化学式27、化学式28、化学式29、化学式30、化学式31、化学式32、化学式33、化学式34、化学式35、化学式36、化学式37、化学式38、

化学式39、化学式40、化学式41、化学式42、化学式43、化学式44、化学式45、化学式46、化学式47、化学式48、化学式49、化学式50、化学式51和化学式52;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

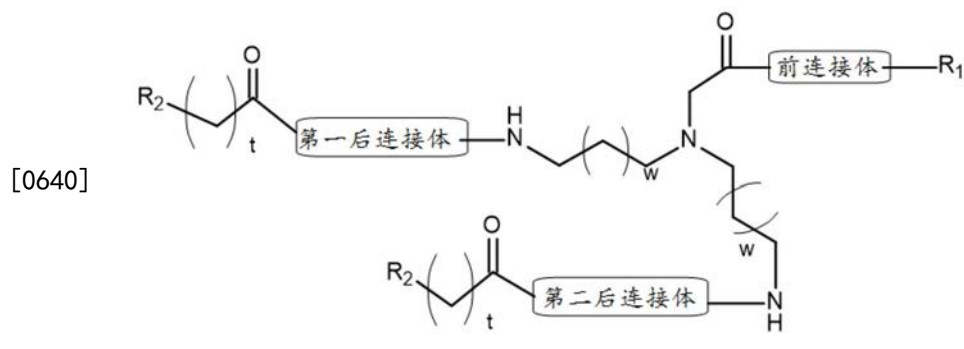
[0635] 175. 一种GLP-1衍生物, 优选实施方案1-174中任一项的衍生物, 其选自实施例1-32的化合物, 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0636] 176. 一种GLP-1类似物, 与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 相比, 其包含以下改变: (7Imp, 8Aib, 22E, 26R, 34R, 37K)、(8Aib, 22E, 26R, 34R, 37P) 或 (8Aib, 22E, 26R, 34R, 37P, 38K)。

[0637] 177. 一种GLP-1类似物, 如实施方案176的GLP-1类似物, 其选自SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0638] 178. 实施方案176-177中任一项的GLP-1类似物, 其为实施方案1-175中任一项的GLP-1衍生物的中间体。

[0639] 179. 式II化合物, 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯:



[0641] 其中

[0642] w为0-2范围内的整数,

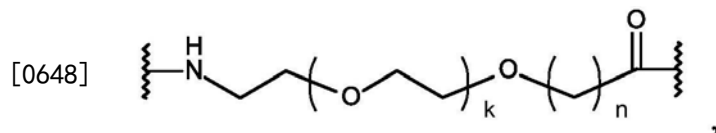
[0643] t为15、16或18,

[0644] R<sub>1</sub>为-OH或合适的活化基团,

[0645] R<sub>2</sub>为-COOH、-SO<sub>3</sub>H、合适的用于-COOH的保护基团, 或合适的用于-SO<sub>3</sub>H的保护基团,

[0646] 前连接体为可选的, 且第一和第二后连接体中的每一个优选包含-NH基团和-CO基团;

[0647] 该侧链部分包含至少一个化学式1的连接体元件-1:



[0649] 其中k为1-23范围内的整数, 且n为1-5范围内的整数; 条件是

[0650] 如果存在前连接体, 则其包含连接体元件-1且R<sub>1</sub>附接至其-CO基团, 或者

[0651] 如果不存在前连接体, 则第一后连接体和第二后连接体中的每一个包含连接体元件-1, 且R<sub>1</sub>附接至在式II中前连接体的左侧上示出的-CO基团。

[0652] 180. 实施方案179的化合物, 其中w为1。

[0653] 181. 实施方案179-180中任一项的化合物, 其中t为15且R<sub>2</sub>为-SO<sub>3</sub>H或合适的用于-SO<sub>3</sub>H的保护基团。

- [0654] 182. 实施方案179-180中任一项的化合物, 其中 $t$ 为16且 $R_1$ 为-OH或合适的活化基团。
- [0655] 183. 实施方案179-180中任一项的化合物, 其中 $t$ 为18且 $R_1$ 为-OH或合适的活化基团。
- [0656] 184. 实施方案179-183中任一项的化合物, 其中 $R_1$ 为-OH或合适的离去基团。
- [0657] 185. 实施方案179-184中任一项的化合物, 其中 $R_1$ 为-OH。
- [0658] 186. 实施方案179-184中任一项的化合物, 其中 $R_1$ 为合适的离去基团, 与羰基一起形成活性酯。
- [0659] 187. 实施方案179-184和186中任一项的化合物, 其中 $R_1$ 选自化学式120 (-OPfp)、化学式121 (OPnp) 和化学式122 (OSuc)。
- [0660] 188. 实施方案179-187中任一项的化合物, 其中 $R_2$ 为-COOH。
- [0661] 189. 实施方案179-187中任一项的化合物, 其中 $R_2$ 为-SO<sub>3</sub>H。
- [0662] 190. 实施方案179-187中任一项的化合物, 其中 $R_2$ 为合适的用于-COOH的保护基团。
- [0663] 191. 实施方案179-187中任一项的化合物, 其中所述用于-COOH的保护基团为合适的非反应性酯。
- [0664] 192. 实施方案191的化合物, 其中所述非反应性酯选自化学式123 (-COOtBu)、化学式124 (-COOBz)、化学式125 (-COOMe) 和化学式127 (-COCH<sub>2</sub>CCl<sub>3</sub>)。
- [0665] 193. 实施方案179-187中任一项的化合物, 其中 $R_2$ 为合适的用于-SO<sub>3</sub>H的保护基团。
- [0666] 194. 实施方案193的化合物, 其中所述用于-SO<sub>3</sub>H的保护基团为合适的磺酸酯。
- [0667] 195. 实施方案194的化合物, 其中所述磺酸酯选自化学式126 (-COSC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) 和化学式128 (-SO<sub>3</sub>CH(CH<sub>3</sub>)C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>)。
- [0668] 196. 实施方案179-195中任一项的化合物, 其中 $k$ 为1、3、11、15或23。
- [0669] 197. 实施方案179-196中任一项的化合物, 其中 $k$ 为1。
- [0670] 198. 实施方案179-196中任一项的化合物, 其中 $k$ 为3。
- [0671] 199. 实施方案179-196中任一项的化合物, 其中 $k$ 为11。
- [0672] 200. 实施方案179-196中任一项的化合物, 其中 $k$ 为15。
- [0673] 201. 实施方案179-196中任一项的化合物, 其中 $k$ 为23。
- [0674] 202. 实施方案179-201中任一项的化合物, 其中 $n$ 为1或2。
- [0675] 203. 实施方案179-202中任一项的化合物, 其中 $n$ 为1。
- [0676] 204. 实施方案179-202中任一项的化合物, 其中 $n$ 为2。
- [0677] 205. 实施方案179-204中任一项的化合物, 其中 $k$ 为1且 $n$ 为1。
- [0678] 206. 实施方案179-204中任一项的化合物, 其中 $k$ 为3且 $n$ 为2。
- [0679] 207. 实施方案179-204中任一项的化合物, 其中 $k$ 为11且 $n$ 为2。
- [0680] 208. 实施方案179-204中任一项的化合物, 其中 $k$ 为15且 $n$ 为2。
- [0681] 209. 实施方案179-204中任一项的化合物, 其中 $k$ 为23且 $n$ 为2。
- [0682] 210. 实施方案179-209中任一项的化合物, 其中存在所述前连接体。
- [0683] 211. 实施方案179-209中任一项的化合物, 其中不存在所述前连接体。
- [0684] 212. 实施方案179-211中任一项的化合物, 其包含至少两次连接体元件-1。

- [0685] 213. 实施方案179-212中任一项的化合物,其包含恰好m次连接体元件-1,其中m为2-12范围内的整数。
- [0686] 214. 实施方案213的化合物,其中m为2。
- [0687] 215. 实施方案213的化合物,其中m为4。
- [0688] 216. 实施方案213的化合物,其中m为6。
- [0689] 217. 实施方案213的化合物,其中m为8。
- [0690] 218. 实施方案213的化合物,其中m为10。
- [0691] 219. 实施方案213的化合物,其中m为12。
- [0692] 220. 实施方案179-219中任一项的化合物,其中所述第一和第二后连接体各自包含恰好s次化学式1的连接体元件-1,其中s为0或1-6范围内的整数,以及至少一个另外的连接体元件,其选自化学式2的连接体元件-2、化学式3的连接体元件-3、化学式4的连接体元件-4、化学式5的连接体元件-5和化学式6的连接体元件-6;其中
- [0693] 在化学式4中,游离酸基团(-COOH)被 $R_3$ 取代,
- [0694] 在化学式2中,游离氨基(-NH<sub>2</sub>)被 $R_5$ 取代,且
- [0695] 在化学式6中,游离羟基(-OH)被 $R_4$ 取代,
- [0696] 其中
- [0697]  $R_3$ 选自-COOH和合适的用于羧酸基团的保护基团;
- [0698]  $R_4$ 选自-OH和合适的用于羟基的保护基团;且
- [0699]  $R_5$ 选自-NH<sub>2</sub>和合适的用于氨基的保护基团。
- [0700] 221. 实施方案220的化合物,其中 $R_3$ 为-COOH。
- [0701] 222. 实施方案220的化合物,其中 $R_3$ 为合适的用于羧酸基团的保护基团。
- [0702] 223. 实施方案220的化合物,其中所述合适的用于羧酸基团的保护基团为合适的酯基团。
- [0703] 224. 实施方案223的化合物,其中所述合适的酯基团选自化学式123(-COOtBu)、化学式124(-COOBz)、化学式125(-COOMe)、化学式126(-COSC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)和化学式127(-COCH<sub>2</sub>CCl<sub>3</sub>)。
- [0704] 225. 实施方案220-224中任一项的化合物,其中 $R_4$ 为-OH。
- [0705] 226. 实施方案220-224中任一项的化合物,其中 $R_4$ 为合适的用于羟基的保护基团。
- [0706] 227. 实施方案226的化合物,其中所述合适的用于羟基的保护基团为合适的醚基团或合适的酯基团。
- [0707] 228. 实施方案227的化合物,其中所述合适的醚基团和合适的酯基团分别选自以下醚和酯基团:化学式129(-OtBu)、化学式130(-OCH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>)、化学式131(四氢吡喃-2-基氧基)、化学式132(-OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>)、化学式133(-OBz)、化学式134(-OSi(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)、化学式135(-OSi(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)、化学式136(-OCOCH<sub>3</sub>)和化学式137(-OCOC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)。
- [0708] 229. 实施方案220-228中任一项的化合物,其中 $R_5$ 选自-NH<sub>2</sub>和合适的用于氨基的保护基团。
- [0709] 230. 实施方案220-229中任一项的化合物,其中 $R_5$ 为-NH<sub>2</sub>。
- [0710] 231. 实施方案220-229中任一项的化合物,其中 $R_5$ 为合适的用于氨基的保护基团。
- [0711] 232. 实施方案231的化合物,其中所述合适的用于氨基的保护基团为合适的氨基

甲酸酯。

[0712] 233. 实施方案232的化合物, 其中所述合适的氨基甲酸酯选自化学式138 (-NHfmoc)、化学式139 (-NHboc) 和化学式140 (-NHcbz)。

[0713] 234. 实施方案220-233中任一项的化合物, 其中所述第一后连接体和第二后连接体中的每一个包含至少两个相同或不同种类的所述另外的连接体元件。

[0714] 235. 实施方案220-234中任一项的化合物, 其中所述第一后连接体和第二后连接体中的每一个包含不超过四个相同或不同种类的所述另外的连接体元件。

[0715] 236. 实施方案220-235中任一项的化合物, 其中所述第一后连接体和第二后连接体中的每一个包含不超过三个相同或不同种类的所述另外的连接体元件。

[0716] 237. 实施方案220-236中任一项的化合物, 其中所述一个或多个选自连接体元件-2 (eps-Lys)、连接体元件-4 (gGlu) 和连接体元件-6 (Ser) 的另外的连接体元件为L-形式。

[0717] 238. 实施方案220-237中任一项的化合物, 其中所述一个或多个选自连接体元件-3 (Trx) 的另外的连接体元件为反式-4- (氨甲基) 环己烷羧酸的二价基团。

[0718] 239. 一种化合物, 其选自化学式90、化学式91、化学式92、化学式93、化学式94、化学式95、化学式96、化学式97、化学式98、化学式99、化学式100、化学式101、化学式102、化学式103、化学式104、化学式105、化学式106、化学式107、化学式108、化学式109、化学式110、化学式111、化学式112、化学式113、化学式114、化学式115和化学式116; 或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[0719] 240. 实施方案239的化合物, 其中各种化学式编号在本说明书的表A和表B中定义。

[0720] 241. 实施方案239-240中任一项的化合物, 其为实施方案179-238中任一项的化合物。

[0721] 242. 实施方案179-241中任一项的化合物, 其为实施方案1-175中任一项的GLP-1衍生物的中间体。

[0722] 243. 实施方案179-242中任一项的化合物在其衍生物的形成下附接至生物活性肽或蛋白质上的用途。

[0723] 244. 实施方案243的用途, 在任何相关动物模型中, 与所述生物活性肽或蛋白质相比, 其在体内具有对所述衍生物延长作用持续时间和/或改善药代动力学性质的效果。

[0724] 245. 实施方案243-244中任一项的用途, 其中在Lys残基的 $\epsilon$ 氨基与以下基团之间形成酰胺键的情况下, 所述化合物附接至所述生物活性肽或蛋白质的Lys残基

[0725] i) 如果存在前连接体, 则该前连接体的-CO基团, 或者

[0726] ii) 如果不存在前连接体, 则该前连接体所附接的-CO基团, 参考式II。

[0727] 246. 实施方案243-245中任一项的用途, 其中所述生物活性肽或蛋白质为GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 或其类似物, 优选如实施方案1-28中任一项限定的类似物。

[0728] 247. 一种制备生物活性肽或蛋白质的衍生物的方法, 该方法包括将如实施方案179-242中任一项限定的化合物附接至所述生物活性肽或蛋白质。

[0729] 248. 实施方案247的方法, 其包括例如在固体支持体上或通过液相化学法合成所述化合物的步骤。

[0730] 249. 实施方案247-248中任一项的方法, 其包括例如使用适当的活化和保护基团将所述化合物附接至所述生物活性肽或蛋白质的步骤。

[0731] 250. 实施方案247-249中任一项的方法,其中在任何相关动物模型中,与所述药物肽相比,所述衍生物在体内具有改善的作用持续时间和/或改善的药代动力学性质。

[0732] 251. 实施方案247-250中任一项的方法,其中在Lys残基的 $\epsilon$ 氨基与以下基团之间形成酰胺键的情况下,所述化合物附接至所述生物活性肽或蛋白质的Lys残基

[0733] i) 如果存在前连接体,则该前连接体的-CO基团,或者

[0734] ii) 如果不存在前连接体,则该前连接体所附接的-CO基团,参考化学式II。

[0735] 252. 实施方案247-251中任一项的方法,其中所述生物活性肽或蛋白质为GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 或其类似物,优选如实施方案1-28中任一项限定的类似物。

[0736] 253. 制备根据实施方案179-242中任一项的化合物的方法,其在固体支持体上或通过液相化学法进行。

[0737] 254. 实施方案253的方法,其在固体支持体上进行。

[0738] 255. 实施方案253-254中任一项的方法,其中使用适当的活化和保护基团。

[0739] 256. 实施方案253-255中任一项的方法,其中所述化合物在合适的树脂上制备。

[0740] 257. 实施方案253-256中任一项的方法,其中溶解在适当溶剂中的适当保护的试剂与所述树脂偶联。

[0741] 258. 实施方案253-257中任一项的方法,其中通过适当的处理去除所述保护,并且进行一个或多个后续相应的偶联和脱保护步骤,在其之间具有树脂洗涤步骤。

[0742] 259. 实施方案253-258中任一项的方法,其中进行偶联、洗涤、保护去除和洗涤的重复循环。

[0743] 260. 实施方案253-259中任一项的方法,其产生实施方案179-242中任一项的粗化合物。

[0744] 261. 实施方案253-260中任一项的方法,其中使用合适的试剂从所述树脂上释放所述化合物。

[0745] 262. 实施方案253-261中任一项的方法,其中浓缩所述化合物,例如在真空中浓缩至干。

[0746] 263. 实施方案253-262中任一项的方法,其中例如使用快速色谱法纯化所述化合物。

[0747] 264. 实施方案253-265中任一项的方法,其中将所述化合物活化以供与生物活性肽或蛋白质偶联。

[0748] 265. 实施方案253-264中任一项的方法,其中将所述活化的化合物溶解在合适的溶剂中。

[0749] 266. 实施方案253-265中任一项的方法,其中将所述生物活性肽或蛋白质溶解在合适的溶剂中。

[0750] 267. 实施方案253-266中任一项的方法,其中在合适的pH下经合适的时间,在搅拌下将所述活化的化合物逐滴添加至溶解的肽或蛋白质中,然后放置适宜的时间以便发生反应。

[0751] 268. 实施方案253-267中任一项的方法,其中在附接反应后,将pH改变至所得衍生物(肽-侧链缀合物)的等电点,并且例如通过离心分离沉淀的衍生物。

[0752] 269. 实施方案253-268中任一项的方法,其中在一个或多个附加步骤中用合适的



洗涤介质洗涤所述沉淀物,然后分离,例如通过离心进行分离。

[0753] 270.制备根据实施方案179-242中任一项的化合物的方法,其中所述化合物通过液相化学法制备。

[0754] 271.实施方案270的方法,其中使用合适的活化和保护基团将所述化合物附接至生物活性肽或蛋白质。

[0755] 272.实施方案270-271中任一项的方法,其中对于这样制备的化合物与所述肽或蛋白质的附接,应用一个或多个如实施方案264-269中任一项所述的步骤。

[0756] 273.实施方案1-178中任一项的衍生物或类似物,其为GLP-1受体激动剂。

[0757] 274.实施方案1-178或273中任一项的衍生物或类似物,其为完全GLP-1受体激动剂。

[0758] 275.实施方案1-178或273-274中任一项的衍生物或类似物,其在体外具有生物活性。

[0759] 276.实施方案1-178或273-275中任一项的衍生物或类似物,其在体外是有效的。

[0760] 277.实施方案1-178或273-276中任一项的衍生物或类似物,其能够激活人GLP-1受体。

[0761] 278.实施方案1-178或273-277中任一项的衍生物或类似物,其在采用表达人GLP-1受体的全细胞的试验中能够激活人GLP-1受体,其中该试验在不存在HSA (0% HSA) 的情况下进行。

[0762] 279.实施方案1-178或273-278中任一项的衍生物或类似物,其中在报道基因试验中,如在实施例33的试验中测量人GLP-1受体的响应。

[0763] 280.实施方案273-279中任一项的衍生物或类似物,其中GLP-1受体激动、体外生物活性、体外效力或激活人GLP-1受体的能力分别基本如实施例33所述测定。

[0764] 281.实施方案1-178或273-280中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于300pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[0765] 282.实施方案1-178或273-281中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于200pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[0766] 283.实施方案1-178或273-282中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于100pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[0767] 284.实施方案1-178或273-283中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于75pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[0768] 285.实施方案1-178或273-284中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于50pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[0769] 286.实施方案1-178或273-285中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于25pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[0770] 287.实施方案1-178或273-286中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于15pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[0771] 288.实施方案1-178或273-287中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于10pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[0772] 289.实施方案1-178或273-288中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于

7.0pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[0773] 290. 实施方案1-178或273-289中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于5.0pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[0774] 291. 实施方案1-178或273-290中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于3.0pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[0775] 292. 实施方案1-178或273-291中任一项的衍生物或类似物,其中所述 $EC_{50}$ 基本如实施例33所述测定。

[0776] 293. 实施方案1-178或273-292中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于比司美鲁肽 $EC_{50}$ 的30倍更低的 $EC_{50}$ ,其中司美鲁肽的 $EC_{50}$ 以与该衍生物的 $EC_{50}$ 相同的方式测定。

[0777] 294. 实施方案1-178或273-293中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于比司美鲁肽 $EC_{50}$ 的20倍更低的 $EC_{50}$ ,其中司美鲁肽的 $EC_{50}$ 以与该衍生物的 $EC_{50}$ 相同的方式测定。

[0778] 295. 实施方案1-178或273-294中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于比司美鲁肽 $EC_{50}$ 的10倍更低的 $EC_{50}$ ,其中司美鲁肽的 $EC_{50}$ 以与该衍生物的 $EC_{50}$ 相同的方式测定。

[0779] 296. 实施方案1-178或273-295中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于比司美鲁肽 $EC_{50}$ 的7倍更低的 $EC_{50}$ ,其中司美鲁肽的 $EC_{50}$ 以与该衍生物的 $EC_{50}$ 相同的方式测定。

[0780] 297. 实施方案1-178或273-296中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于比司美鲁肽 $EC_{50}$ 的5倍更低的 $EC_{50}$ ,其中司美鲁肽的 $EC_{50}$ 以与该衍生物的 $EC_{50}$ 相同的方式测定。

[0781] 298. 实施方案1-178或273-297中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于比司美鲁肽 $EC_{50}$ 的2倍更低的 $EC_{50}$ ,其中司美鲁肽的 $EC_{50}$ 以与该衍生物的 $EC_{50}$ 相同的方式测定。

[0782] 299. 实施方案1-178或273-298中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于比司美鲁肽 $EC_{50}$ 更低的 $EC_{50}$ ,其中司美鲁肽的 $EC_{50}$ 以与该衍生物的 $EC_{50}$ 相同的方式测定。

[0783] 300. 实施方案1-178或273-299中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于比司美鲁肽 $EC_{50}$ 的一半更低的 $EC_{50}$ ,其中司美鲁肽的 $EC_{50}$ 以与该衍生物的 $EC_{50}$ 相同的方式测定。

[0784] 301. 实施方案1-178或273-300中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于比司美鲁肽 $EC_{50}$ 的30%更低的 $EC_{50}$ ,其中司美鲁肽的 $EC_{50}$ 以与该衍生物的 $EC_{50}$ 相同的方式测定。

[0785] 302. 实施方案1-178或273-301中任一项的衍生物或类似物,其中所述 $EC_{50}$ 基本如实施例33所述测定。

[0786] 303. 实施方案1-178或273-302中任一项的衍生物或类似物,其能够与GLP-1受体结合。

[0787] 304. 实施方案1-178或273-303中任一项的衍生物或类似物,其能够在低浓度HSA(最高0.001%最终测定浓度)下与GLP-1受体结合。

[0788] 305. 实施方案1-178或273-304中任一项的衍生物或类似物,其能够在高浓度HSA(2.0%最终测定浓度)下与GLP-1受体结合。

[0789] 306. 实施方案303-305中任一项的衍生物或类似物,其中所述与人GLP-1受体的结合在竞争结合试验中,如在实施例34的试验中测量。

[0790] 307. 实施方案303-306中任一项的衍生物或类似物,其中所述在体外与人GLP-1受体的结合基本如实施例34所述测定。

[0791] 308. 实施方案1-178或273-307中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以5.0nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

- [0792] 309. 实施方案1-178或273-308中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以3.0nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。
- [0793] 310. 实施方案1-178或273-309中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以2.0nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。
- [0794] 311. 实施方案1-178或273-310中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以1.0nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。
- [0795] 312. 实施方案1-178或273-311中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以0.50nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。
- [0796] 313. 实施方案1-178或273-312中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以0.30nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。
- [0797] 314. 实施方案1-178或273-313中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以0.15nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。
- [0798] 315. 实施方案1-178或273-314中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以0.10nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。
- [0799] 316. 实施方案308-315中任一项的衍生物或类似物,其中所述 $IC_{50}$ 基本如实施例34所述在具有最高0.001% HSA (最终测定浓度) 的反应中测定。
- [0800] 317. 实施方案1-178或273-316中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 $IC_{50}$ 的10倍更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。
- [0801] 318. 实施方案1-178或273-317中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 $IC_{50}$ 的8倍更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。
- [0802] 319. 实施方案1-178或273-318中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 $IC_{50}$ 的6倍更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。
- [0803] 320. 实施方案1-178或273-319中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 $IC_{50}$ 的4倍更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。
- [0804] 321. 实施方案1-178或273-320中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 $IC_{50}$ 的2倍更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。
- [0805] 322. 实施方案1-178或273-321中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 $IC_{50}$ 更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。
- [0806] 323. 实施方案1-178或273-322中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 $IC_{50}$ 的0.50倍更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。
- [0807] 324. 实施方案1-178或273-323中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 $IC_{50}$ 的0.25倍更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该

衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[0808] 325. 实施方案1-178或273-324中任一项的衍生物或类似物, 其在低浓度HSA下能够以比司美鲁肽 $IC_{50}$ 的0.15倍更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合, 其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[0809] 326. 实施方案317-325中任一项的衍生物或类似物, 其中所述 $IC_{50}$ 基本如实施例34所述在具有最高0.001% HSA (最终测定浓度) 的反应中测定。

[0810] 327. 实施方案1-178或273-326中任一项的衍生物或类似物, 其在2.0% HSA (最终测定浓度) 下能够以300nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[0811] 328. 实施方案1-178或273-327中任一项的衍生物或类似物, 其在2.0% HSA (最终测定浓度) 下能够以125nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[0812] 329. 实施方案1-178或273-328中任一项的衍生物或类似物, 其在2.0% HSA (最终测定浓度) 下能够以75nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[0813] 330. 实施方案1-178或273-329中任一项的衍生物或类似物, 其在2.0% HSA (最终测定浓度) 下能够以50nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[0814] 331. 实施方案1-178或273-330中任一项的衍生物或类似物, 其在2.0% HSA (最终测定浓度) 下能够以30nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[0815] 332. 实施方案1-178或273-331中任一项的衍生物或类似物, 其在2.0% HSA (最终测定浓度) 下能够以15nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[0816] 333. 实施方案1-178或273-332中任一项的衍生物或类似物, 其在2.0% HSA (最终测定浓度) 下能够以8nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[0817] 334. 实施方案327-333中任一项的衍生物或类似物, 其中所述 $IC_{50}$ 基本如实施例34所述在具有2.0% HSA (最终测定浓度) 的反应中测定。

[0818] 335. 实施方案1-178或273-334中任一项的衍生物或类似物, 其在2.0% HSA (最终测定浓度) 下能够以比司美鲁肽 $IC_{50}$ 更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合, 其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[0819] 336. 实施方案1-178或273-335中任一项的衍生物或类似物, 其在2.0% HSA (最终测定浓度) 下能够以比司美鲁肽 $IC_{50}$ 的0.5倍更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合, 其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[0820] 337. 实施方案1-178或273-336中任一项的衍生物或类似物, 其在2.0% HSA (最终测定浓度) 下能够以比司美鲁肽 $IC_{50}$ 的0.25倍更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合, 其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[0821] 338. 实施方案1-178或273-337中任一项的衍生物或类似物, 其在2.0% HSA (最终测定浓度) 下能够以比司美鲁肽 $IC_{50}$ 的0.10倍更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合, 其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[0822] 339. 实施方案1-178或273-338中任一项的衍生物或类似物, 其在2.0% HSA (最终测定浓度) 下能够以比司美鲁肽 $IC_{50}$ 的0.050倍更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合, 其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[0823] 340. 实施方案1-178或273-339中任一项的衍生物或类似物, 其在2.0% HSA (最终测定浓度) 下能够以比司美鲁肽 $IC_{50}$ 的0.020倍更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合, 其中司美鲁

肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[0824] 341. 实施方案335-340中任一项的衍生物或类似物, 其中所述 $IC_{50}$ 基本如实施例34所述在具有2.0% HSA (最终测定浓度) 的反应中测定。

[0825] 342. 实施方案1-178或273-341中任一项的衍生物, 其具有改善的药代动力学性质。

[0826] 343. 实施方案1-178或273-342中任一项的衍生物, 其具有延长的半衰期和/或降低的清除率。

[0827] 344. 实施方案1-178或273-343中任一项的衍生物, 其适合于每月一次给药。

[0828] 345. 实施方案1-178或273-344中任一项的衍生物, 用于皮下给药。

[0829] 346. 实施方案1-178或273-345中任一项的衍生物, 其中在药代动力学 (PK) 研究中在体内测试该衍生物。

[0830] 347. 实施方案1-178或273-346中任一项的衍生物, 其中在任何合适的动物模型如小鼠、大鼠、猴、狗或猪中测试该衍生物。

[0831] 348. 实施方案1-178或273-347中任一项的衍生物, 其与司美鲁肽进行比较。

[0832] 349. 实施方案1-178或273-348中任一项的衍生物, 其在小型猪中静脉内给药后与司美鲁肽相比在体内具有改善的终末半衰期 ( $T_{1/2}$ )。

[0833] 350. 实施方案349的衍生物, 其中使用任何合适的研究方案, 如实施例35所述的研究方案, 在小型猪中静脉内给药后在体内测定终末半衰期。

[0834] 351. 实施方案349-350中任一项的衍生物, 其中基本如实施例35所述, 在小型猪中静脉内给药后在体内测定终末半衰期。

[0835] 352. 实施方案1-178或273-351中任一项的衍生物, 其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期 ( $T_{1/2}$ ) 至少为100小时。

[0836] 353. 实施方案1-178或273-352中任一项的衍生物, 其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期 ( $T_{1/2}$ ) 至少为115小时。

[0837] 354. 实施方案1-178或273-353中任一项的衍生物, 其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期 ( $T_{1/2}$ ) 至少为130小时。

[0838] 355. 实施方案1-178或273-354中任一项的衍生物, 其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期 ( $T_{1/2}$ ) 至少为145小时。

[0839] 356. 实施方案1-178或273-355中任一项的衍生物, 其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期 ( $T_{1/2}$ ) 至少为155小时。

[0840] 357. 实施方案1-178或273-356中任一项的衍生物, 其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期 ( $T_{1/2}$ ) 至少为180小时。

[0841] 358. 实施方案1-178或273-357中任一项的衍生物, 其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期 ( $T_{1/2}$ ) 至少为200小时。

[0842] 359. 实施方案1-178或273-358中任一项的衍生物, 其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期 ( $T_{1/2}$ ) 至少为225小时。

[0843] 360. 实施方案1-178或273-359中任一项的衍生物, 其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期 ( $T_{1/2}$ ) 至少为以相同方式测定的司美鲁肽终末半衰期的2.0倍。

[0844] 361. 实施方案1-178或273-360中任一项的衍生物, 其在小型猪中静脉内给药后的

体内终末半衰期 (T<sub>1/2</sub>) 至少为以相同方式测定的司美鲁肽终末半衰期的2.5倍。

[0845] 362. 实施方案1-178或273-361中任一项的衍生物, 其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期 (T<sub>1/2</sub>) 至少为以相同方式测定的司美鲁肽终末半衰期的2.8倍。

[0846] 363. 实施方案1-178或273-362中任一项的衍生物, 其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期 (T<sub>1/2</sub>) 至少为以相同方式测定的司美鲁肽终末半衰期的3.0倍。

[0847] 364. 实施方案1-178或273-363中任一项的衍生物, 其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期 (T<sub>1/2</sub>) 至少为以相同方式测定的司美鲁肽终末半衰期的3.5倍。

[0848] 365. 实施方案1-178或273-364中任一项的衍生物, 其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期 (T<sub>1/2</sub>) 至少为以相同方式测定的司美鲁肽终末半衰期的4.0倍。

[0849] 366. 实施方案352-365中任一项的衍生物, 其中基本如实施例35所述测定终末半衰期 (T<sub>1/2</sub>)。

[0850] 367. 实施方案1-178或273-366中任一项的衍生物, 其在体内是有效的。

[0851] 368. 实施方案1-178或273-367中任一项的衍生物, 其在任何合适的动物模型如小鼠、大鼠或猪中测定时在体内是有效的。

[0852] 369. 实施方案368的衍生物, 其中所述动物模型为Sprague Dawley大鼠。

[0853] 370. 实施方案1-178或273-369中任一项的衍生物, 其中测定对食物摄取的急性影响, 其中急性优选指单次皮下注射适当剂量的所述衍生物。

[0854] 371. 实施方案370的衍生物, 其中适当剂量为100nmol/kg。

[0855] 372. 实施方案370的衍生物, 其中适当剂量为50nmol/kg。

[0856] 373. 实施方案1-178或273-372中任一项的衍生物, 其中测定对体重的急性影响, 并且其中急性优选指单次皮下注射适当剂量的所述衍生物。

[0857] 374. 实施方案373的衍生物, 其中适当剂量为100nmol/kg。

[0858] 375. 实施方案373的衍生物, 其中适当剂量为50nmol/kg。

[0859] 376. 实施方案1-178或273-375中任一项的衍生物, 其中使用任何合适的研究方案和方法, 例如如实施例36所述, 在Sprague Dawley大鼠中体内测定对食物摄取和/或体重的急性影响。

[0860] 377. 实施方案1-178或273-376中任一项的衍生物, 其中基本如实施例36所述, 在Sprague Dawley大鼠中体内测定对食物摄取和/或体重的急性影响。

[0861] 378. 实施方案367-377中任一项的衍生物, 其中所述急性影响为48h时至少-20%的食物摄取改变, 按 $\frac{[(48\text{h时的食物摄取}) - (\text{基线食物摄取})]}{(\text{基线食物摄取})} \times 100\%$ 计算, 其中基线食物摄取是指施用任何治疗前的水平。

[0862] 379. 实施方案367-378中任一项的衍生物, 其中所述急性影响为48h时至少-25%的食物摄取改变, 按 $\frac{[(48\text{h时的食物摄取}) - (\text{基线食物摄取})]}{(\text{基线食物摄取})} \times 100\%$ 计算, 其中基线食物摄取是指施用任何治疗前的水平。

[0863] 380. 实施方案367-379中任一项的衍生物, 其中所述急性影响为48h时至少-50%的食物摄取改变, 按 $\frac{[(48\text{h时的食物摄取}) - (\text{基线食物摄取})]}{(\text{基线食物摄取})} \times 100\%$ 计算, 其中基线食物摄取是指施用任何治疗前的水平。

[0864] 381. 实施方案367-380中任一项的衍生物, 其中所述急性影响为48h时至少-75%的食物摄取改变, 按 $\frac{[(48\text{h时的食物摄取}) - (\text{基线食物摄取})]}{(\text{基线食物摄取})} \times 100\%$

计算,其中基线食物摄取是指施用任何治疗前的水平。

[0865] 382.实施方案367-381中任一项的衍生物,其中所述急性影响为48h时至少-1%的体重改变,按 $\frac{[(48\text{h时的体重}) - (\text{基线体重})]}{(\text{基线体重})} \times 100\%$ 计算,其中基线体重是指施用任何治疗前的水平。

[0866] 383.实施方案367-382中任一项的衍生物,其中所述急性影响为48h时至少-4%的体重改变,按 $\frac{[(48\text{h时的体重}) - (\text{基线体重})]}{(\text{基线体重})} \times 100\%$ 计算,其中基线体重是指施用任何治疗前的水平。

[0867] 384.实施方案367-383中任一项的衍生物,其中所述急性影响为48h时至少-5%的体重改变,按 $\frac{[(48\text{h时的体重}) - (\text{基线体重})]}{(\text{基线体重})} \times 100\%$ 计算,其中基线体重是指施用任何治疗前的水平。

[0868] 385.实施方案367-384中任一项的衍生物,其中所述急性影响为48h时至少-8%的体重改变,按 $\frac{[(48\text{h时的体重}) - (\text{基线体重})]}{(\text{基线体重})} \times 100\%$ 计算,其中基线体重是指施用任何治疗前的水平。

[0869] 386.实施方案367-385中任一项的衍生物,其中所述急性影响为48h时至少-12%的体重改变,按 $\frac{[(48\text{h时的体重}) - (\text{基线体重})]}{(\text{基线体重})} \times 100\%$ 计算,其中基线体重是指施用任何治疗前的水平。

[0870] 387.药物组合物,其包含根据实施方案1-178或273-386中任一项所述的衍生物或类似物以及药学上可接受的赋形剂。

[0871] 388.根据实施方案1-178或273-386中任一项的衍生物或类似物,其用作药物。

[0872] 389.根据实施方案1-178或273-386中任一项的衍生物或类似物,其用于

[0873] (i) 预防和/或治疗所有形式的糖尿病,如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY(青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病,和/或用于减少HbA1C;

[0874] (ii) 延缓或预防糖尿病进展,如2型糖尿病的进展,延缓糖耐量减低(IGT)进展成需要胰岛素的2型糖尿病,延缓或预防胰岛素抵抗,和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;

[0875] (iii) 改善 $\beta$ -细胞功能,如减少 $\beta$ -细胞凋亡、提高 $\beta$ -细胞功能和/或 $\beta$ -细胞质量,和/或恢复 $\beta$ -细胞的葡萄糖敏感性;

[0876] (iv) 预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症,如阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化;

[0877] (v) 例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调,如肥胖症;治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症;减少胃运动;延缓胃排空;增加身体活动;和/或预防和/或治疗肥胖症的共病,如骨关节炎和/或尿失禁;

[0878] (vi) 预防和/或治疗糖尿病并发症,如血管病;神经病,包括周围神经病变;肾病;和/或视网膜病;

[0879] (vii) 改善脂质参数,如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质;增加HDL;降低小而密的LDL;降低VLDL;降低甘油三酯;降低胆固醇;降低人的脂蛋白a(Lp(a))血浆水平;在体外和/或体内抑制载脂蛋白a(apo(a))的生成;

[0880] (viii) 预防和/或治疗心血管疾病,如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行(闭塞性动脉硬化)、舒张期功能障碍和/或收缩期功能障碍;和/或降低血压,如降低收缩压;

[0881] (ix) 预防和/或治疗胃肠疾病,如炎性肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎;消化不良;和/或胃溃疡;和/或炎症,如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮;

[0882] (x) 预防和/或治疗危重病,如治疗危重患者、危重病多发性肾病(CIPNP)患者和/或潜在的CIPNP患者;预防危重病或CIPNP的进展;预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征(SIRS);预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可能性;和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢;

[0883] (xi) 预防和/或治疗多囊卵巢综合征(PCOS);

[0884] (xii) 预防和/或治疗脑部疾病,如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤;

[0885] (xiii) 预防和/或治疗睡眠呼吸暂停;和/或

[0886] (xiv) 预防和/或治疗滥用,如酒精滥用和/或药物滥用。

[0887] 390. 根据实施方案1-178或273-386中任一项的衍生物或类似物在制备药物中的用途,该药物用于

[0888] (i) 预防和/或治疗所有形式的糖尿病,如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY(青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病,和/或用于减少HbA1C;

[0889] (ii) 延缓或预防糖尿病进展,如2型糖尿病的进展,延缓糖耐量减低(IGT)进展成需要胰岛素的2型糖尿病,延缓或预防胰岛素抵抗,和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;

[0890] (iii) 改善 $\beta$ -细胞功能,如减少 $\beta$ -细胞凋亡、提高 $\beta$ -细胞功能和/或 $\beta$ -细胞质量,和/或恢复 $\beta$ -细胞的葡萄糖敏感性;

[0891] (iv) 预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症,如阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化;

[0892] (v) 例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调,如肥胖症;治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症;减少胃运动;延缓胃排空;增加身体活动;和/或预防和/或治疗肥胖症的共病,如骨关节炎和/或尿失禁;

[0893] (vi) 预防和/或治疗糖尿病并发症,如血管病;神经病,包括周围神经病变;肾病;和/或视网膜病;

[0894] (vii) 改善脂质参数,如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质;增加HDL;降低小而密的LDL;降低VLDL;降低甘油三酯;降低胆固醇;降低人的脂蛋白a(Lp(a))血浆水平;在体外和/或体内抑制载脂蛋白a(apo(a))的生成;

[0895] (viii) 预防和/或治疗心血管疾病,如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血



压、原发性高血压、急性高血压急症、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行(闭塞性动脉硬化)、舒张期功能障碍和/或收缩期功能障碍;和/或降低血压,如降低收缩压;

[0896] (ix) 预防和/或治疗胃肠疾病,如炎性肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎;消化不良;和/或胃溃疡;和/或炎症,如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮;

[0897] (x) 预防和/或治疗危重病,如治疗危重患者、危重病多发性肾病(CIPNP)患者和/或潜在的CIPNP患者;预防危重病或CIPNP的进展;预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征(SIRS);预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可能性;和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢;

[0898] (xi) 预防和/或治疗多囊卵巢综合征(PCOS);

[0899] (xii) 预防和/或治疗脑部疾病,如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤;

[0900] (xiii) 预防和/或治疗睡眠呼吸暂停;和/或

[0901] (xiv) 预防和/或治疗滥用,如酒精滥用和/或药物滥用。

[0902] 391. 方法,其用于

[0903] (i) 预防和/或治疗所有形式的糖尿病,如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY(青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病,和/或用于减少HbA1C;

[0904] (ii) 延缓或预防糖尿病进展,如2型糖尿病的进展,延缓糖耐量减低(IGT)进展成需要胰岛素的2型糖尿病,延缓或预防胰岛素抵抗,和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;

[0905] (iii) 改善 $\beta$ -细胞功能,如减少 $\beta$ -细胞凋亡、提高 $\beta$ -细胞功能和/或 $\beta$ -细胞质量,和/或恢复 $\beta$ -细胞的葡萄糖敏感性;

[0906] (iv) 预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症,如阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化;

[0907] (v) 例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调,如肥胖症;治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症;减少胃运动;延缓胃排空;增加身体活动;和/或预防和/或治疗肥胖症的共病,如骨关节炎和/或尿失禁;

[0908] (vi) 预防和/或治疗糖尿病并发症,如血管病;神经病,包括周围神经病变;肾病;和/或视网膜病;

[0909] (vii) 改善脂质参数,如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质;增加HDL;降低小而密的LDL;降低VLDL;降低甘油三酯;降低胆固醇;降低人的脂蛋白a(Lp(a))血浆水平;在体外和/或体内抑制载脂蛋白a(apo(a))的生成;

[0910] (viii) 预防和/或治疗心血管疾病,如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行(闭塞性动脉硬化)、舒张期功能障碍和/或收缩期功能障碍;和/或降低血压,如降低收缩压;

[0911] (ix) 预防和/或治疗胃肠疾病,如炎性肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎;消化不良;和/或胃溃疡;和/或炎症,如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮;

[0912] (x) 预防和/或治疗危重病,如治疗危重患者、危重病多发性肾病(CIPNP)患者和/或潜在的CIPNP患者;预防危重病或CIPNP的进展;预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征(SIRS);预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可能性;和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢;

[0913] (xi) 预防和/或治疗多囊卵巢综合征(PCOS);

[0914] (xii) 预防和/或治疗脑部疾病,如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤;

[0915] (xiii) 预防和/或治疗睡眠呼吸暂停;和/或

[0916] (xiv) 预防和/或治疗滥用,如酒精滥用和/或药物滥用;

[0917] 其中施用药学活性量的根据实施方案1-178或273-386中任一项的衍生物或类似物。

[0918] 其他特定实施方案

[0919] 以下是本发明的其他特定实施方案:

[0920] 1. 通式I的GLP-1类似物的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯:

[0921] Xaa<sub>7</sub>-Xaa<sub>8</sub>-Glu-Gly-Thr-Xaa<sub>12</sub>-Thr-Ser-Asp-Xaa<sub>16</sub>-Ser-Xaa<sub>18</sub>-Xaa<sub>19</sub>-Xaa<sub>20</sub>-Glu-Xaa<sub>22</sub>-Xaa<sub>23</sub>-Ala-Xaa<sub>25</sub>-Xaa<sub>26</sub>-Xaa<sub>27</sub>-Phe-Ile-Xaa<sub>30</sub>-Xaa<sub>31</sub>-Leu-Xaa<sub>33</sub>-Xaa<sub>34</sub>-Xaa<sub>35</sub>-Xaa<sub>36</sub>-Xaa<sub>37</sub>-Xaa<sub>38</sub>, 其中

[0922] Xaa<sub>7</sub>为L-组氨酸、(S)-2-羟基-3-(1H-咪唑-4-基)-丙酸、D-组氨酸、脱氨基组氨酸、高组氨酸、N<sup>α</sup>-乙酰基-组氨酸、N<sup>α</sup>-甲酰基-组氨酸、N<sup>α</sup>-甲基-组氨酸、3-吡啶基丙氨酸、2-吡啶基丙氨酸或4-吡啶基丙氨酸;

[0923] Xaa<sub>8</sub>为Ala、Gly、Ser、Aib、(1-氨基环丙基)羧酸或(1-氨基环丁基)羧酸;

[0924] Xaa<sub>12</sub>为Phe或Leu;

[0925] Xaa<sub>16</sub>为Val或Leu;

[0926] Xaa<sub>18</sub>为Ser、Val、Arg或Leu;

[0927] Xaa<sub>19</sub>为Tyr或Gln;

[0928] Xaa<sub>20</sub>为Leu或Met;

[0929] Xaa<sub>22</sub>为Gly或Glu;

[0930] Xaa<sub>23</sub>为Gln、Glu或Arg;

[0931] Xaa<sub>25</sub>为Ala或Val;

[0932] Xaa<sub>26</sub>为Arg;

[0933] Xaa<sub>27</sub>为Glu或Leu;

[0934] Xaa<sub>30</sub>为Ala、Glu或Arg;

[0935] Xaa<sub>31</sub>为Trp或His;

[0936] Xaa<sub>33</sub>为Val;

[0937] Xaa<sub>34</sub>为Arg、His、Asn或Gln;

[0938] Xaa<sub>35</sub>为Gly或Ala;

[0939] Xaa<sub>36</sub>为Arg或Gly;

[0940] Xaa<sub>37</sub>为Gly、Pro或Lys；

[0941] Xaa<sub>38</sub>为Lys或不存在；

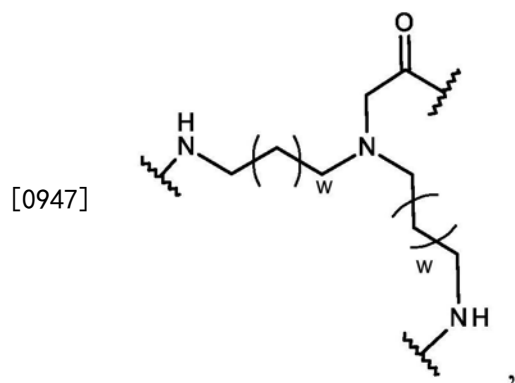
[0942] 其中Xaa<sub>37</sub>和Xaa<sub>38</sub>中的至少一个为Lys；

[0943] 该衍生物包含附接至Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基上的侧链，

[0944] 该侧链包含：

[0945] (i) 化学式11的分支连接体

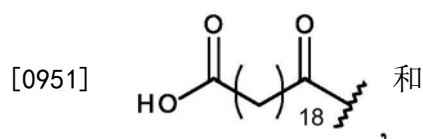
[0946] 化学式11：



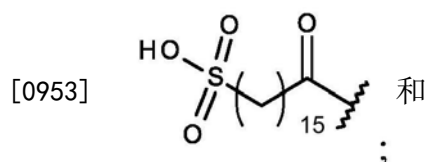
[0948] 其中w为0-2范围内的整数；

[0949] (ii) 选自化学式12和化学式13的第一和第二延长体：

[0950] 化学式12：

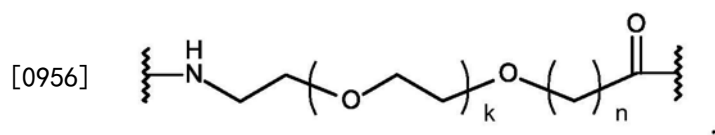


[0952] 化学式13：



[0954] (iii) 至少一个化学式1的连接体元件-1：

[0955] 化学式1：



[0957] 其中k为1-23范围内的整数，且n为1-5范围内的整数；

[0958] 其中所述分支连接体

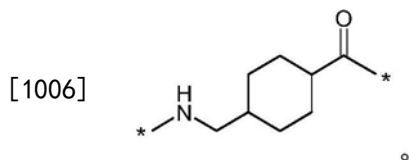
[0959] a) 在其-CO端经由可选的前连接体连接至Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基，并且

[0960] b) 在其两个-NH端中的每一个处分别经由第一和第二后连接体分别连接至所述第一和第二延长体中每一个的-CO端；并且

[0961] 其中所述前连接体、第一后连接体和第二后连接体中的至少一个包含连接体元件-1。

- [0962] 2. 实施方案1的衍生物, 其中Xaa<sub>7</sub>为L-组氨酸或脱氨基组氨酸; Xaa<sub>8</sub>为Aib; Xaa<sub>12</sub>为Phe; Xaa<sub>16</sub>为Val; Xaa<sub>18</sub>为Ser; Xaa<sub>19</sub>为Tyr; Xaa<sub>20</sub>为Leu; Xaa<sub>22</sub>为Glu; Xaa<sub>23</sub>为Gln; Xaa<sub>25</sub>为Ala; Xaa<sub>26</sub>为Arg; Xaa<sub>27</sub>为Glu; Xaa<sub>30</sub>为Ala; Xaa<sub>31</sub>为Trp; Xaa<sub>33</sub>为Val; Xaa<sub>34</sub>为Arg; Xaa<sub>35</sub>为Gly; Xaa<sub>36</sub>为Arg; Xaa<sub>37</sub>为Pro或Lys; 且Xaa<sub>38</sub>为Lys或不存在; 并且其中Xaa<sub>37</sub>和Xaa<sub>38</sub>中的至少一个为Lys。
- [0963] 3. 实施方案1-2中任一项的衍生物, 其中Xaa<sub>37</sub>和Xaa<sub>38</sub>中的一个为Lys。
- [0964] 4. 实施方案1-3中任一项的衍生物, 其中所述GLP-1类似物选自SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:4的肽。
- [0965] 5. 实施方案1-4中任一项的衍生物, 其中所述第一和第二延长体中的每一个为化学式12。
- [0966] 6. 实施方案1-4中任一项的衍生物, 其中所述第一和第二延长体中的每一个为化学式13。
- [0967] 7. 实施方案1-6中任一项的衍生物, 其中所述侧链连接至Xaa<sub>37</sub>的Lys残基。
- [0968] 8. 实施方案1-6中任一项的衍生物, 其中所述侧链连接至Xaa<sub>38</sub>的Lys残基。
- [0969] 9. 实施方案1-8中任一项的衍生物, 其中在化学式11中, w为1。
- [0970] 10. 实施方案1-9中任一项的衍生物, 其包含至少两次连接体元件-1。
- [0971] 11. 实施方案1-10中任一项的衍生物, 其包含恰好m次连接体元件-1, 其中m为2-12范围内的整数。
- [0972] 12. 实施方案11的衍生物, 其中m为2。
- [0973] 13. 实施方案11的衍生物, 其中m为6。
- [0974] 14. 实施方案11的衍生物, 其中m为8。
- [0975] 15. 实施方案11的衍生物, 其中m为10。
- [0976] 16. 实施方案11的衍生物, 其中m为12。
- [0977] 17. 实施方案1-16中任一项的衍生物, 其包含至少一个由q个并置连接体元件-1组成的组件, 其中q为1-6范围内的整数, 并且其中并置的意思是经由酰胺键互相连接。
- [0978] 18. 实施方案1-16中任一项的衍生物, 其包含至少一个由经由酰胺键连接成行的q个连接体元件-1组成的组件, 其中q为1-6范围内的整数。
- [0979] 19. 实施方案17-18中任一项的衍生物, 其中q为1。
- [0980] 20. 实施方案17-18中任一项的衍生物, 其中q为2。
- [0981] 21. 实施方案17-18中任一项的衍生物, 其中q为3。
- [0982] 22. 实施方案17-18中任一项的衍生物, 其中q为4。
- [0983] 23. 实施方案17-18中任一项的衍生物, 其中q为5。
- [0984] 24. 实施方案17-18中任一项的衍生物, 其中q为6。
- [0985] 25. 实施方案17-18中任一项的衍生物, 其包含恰好一个所述组件。
- [0986] 26. 实施方案25的衍生物, 其中q为2、4或6。
- [0987] 27. 实施方案17-18中任一项的衍生物, 其包含恰好两个所述组件。
- [0988] 28. 实施方案27的衍生物, 其中q为1、2、3、4、5或6。
- [0989] 29. 实施方案17-18中任一项的衍生物, 其包含恰好三个所述组件。
- [0990] 30. 实施方案29的衍生物, 其中q为2或4。

- [0991] 31. 实施方案1-30中任一项的衍生物,其中k为1、3、11、15或23。
- [0992] 32. 实施方案1-31中任一项的衍生物,其中n为1或2。
- [0993] 33. 实施方案1-32中任一项的衍生物,其中k为1且n为1。
- [0994] 34. 实施方案1-32中任一项的衍生物,其中k为3且n为2。
- [0995] 35. 实施方案1-32中任一项的衍生物,其中k为11且n为2。
- [0996] 36. 实施方案1-32中任一项的衍生物,其中k为15且n为2。
- [0997] 37. 实施方案1-32中任一项的衍生物,其中k为23且n为2。
- [0998] 38. 实施方案1-37中任一项的衍生物,其包含化学式2的连接体元件-2:
- [0999]  $*-\text{NH}-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CO}-*$ 。
- [1000] 39. 实施方案38的衍生物,其中化学式2是Lys的二价基团。
- [1001] 40. 实施方案38-39中任一项的衍生物,其中化学式2是eps-Lys的二价基团。
- [1002] 41. 实施方案38-40中任一项的衍生物,其中化学式2是L-eps-Lys的二价基团。
- [1003] 42. 实施方案38-41中任一项的衍生物,其包含p次连接体元件-2,其中p为0-2范围内的整数。
- [1004] 43. 实施方案42的衍生物,其中p为2。
- [1005] 44. 实施方案1-43中任一项的衍生物,其包含化学式3的连接体元件-3:



- [1007] 45. 实施方案44的衍生物,其中化学式3是氨甲环酸的二价基团。
- [1008] 46. 实施方案44-45中任一项的衍生物,其中化学式3是反式-4-(氨甲基)环己烷羧酸的二价基团。
- [1009] 47. 实施方案1-46中任一项的衍生物,其包含化学式4的连接体元件-4:
- [1010]  $*-\text{NH}-\text{CH}(\text{COOH})-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-*$ 。
- [1011] 48. 实施方案47的衍生物,其中化学式4是Glu的二价基团。
- [1012] 49. 实施方案47-48中任一项的衍生物,其中化学式4是gGlu的二价基团。
- [1013] 50. 实施方案47-49中任一项的衍生物,其中化学式4是L-gGlu的二价基团。
- [1014] 51. 实施方案1-50中任一项的衍生物,其包含化学式5的连接体元件-5:
- [1015]  $*-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{CO}-*$ 。
- [1016] 52. 实施方案51的衍生物,其中化学式5是4-氨基丁酸的二价基团。
- [1017] 53. 实施方案1-52中任一项的衍生物,其包含前连接体。
- [1018] 54. 实施方案53的衍生物,其中所述分支连接体在其-CO端经由前连接体连接至Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基。
- [1019] 55. 实施方案53-54中任一项的衍生物,其中所述前连接体包含恰好q次连接体元件-1,其中q为2、4或6。
- [1020] 56. 实施方案55的衍生物,其中q为2。
- [1021] 57. 实施方案55的衍生物,其中q为4。
- [1022] 58. 实施方案55的衍生物,其中q为6。

- [1023] 59. 实施方案53-58中任一项的衍生物,其中k为1。
- [1024] 60. 实施方案53-59中任一项的衍生物,其中n为1。
- [1025] 61. 实施方案1-52中任一项的衍生物,其不包含前连接体。
- [1026] 62. 实施方案1-52中任一项的衍生物,其中所述分支连接体在其-CO端直接连接至Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基。
- [1027] 63. 实施方案1-62中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体各自包含恰好s次连接体元件-1,其中s为0或1-6范围内的整数,以及至少一个另外的连接体元件,其选自连接体元件-2、连接体元件-3、连接体元件-4和连接体元件-5。
- [1028] 64. 实施方案1-63中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体各自包含恰好s次连接体元件-1,其中s为0或1-6范围内的整数,以及至少两个另外的连接体元件,其选自连接体元件-2、连接体元件-3、连接体元件-4和连接体元件-5。
- [1029] 65. 实施方案1-64中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的两次连接体元件-2和五次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。
- [1030] 66. 实施方案1-64中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的两次连接体元件-2和四次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。
- [1031] 67. 实施方案1-64中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-3和六次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。
- [1032] 68. 实施方案1-64中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的两次连接体元件-2和三次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为3且n为2,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。
- [1033] 69. 实施方案1-64中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的两次连接体元件-2和化学式1的连接体元件-1组成,其中k为23且n为2,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。
- [1034] 70. 实施方案1-64中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的两次连接体元件-2和化学式1的连接体元件-1组成,其中k为15且n为2,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。
- [1035] 71. 实施方案1-64中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的两次连接体元件-2和化学式1的连接体元件-1组成,其中k为11且n为2,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[1036] 72. 实施方案1-64中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、两次连接体元件-2和五次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[1037] 73. 实施方案1-64中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-3、连接体元件-4和六次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[1038] 74. 实施方案1-64中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-3、连接体元件-4和四次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[1039] 75. 实施方案1-64中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-3、连接体元件-4和两次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[1040] 76. 实施方案1-64中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-3和连接体元件-4组成,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[1041] 77. 实施方案1-64中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、两次连接体元件-2和四次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[1042] 78. 实施方案1-64中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、两次连接体元件-2和六次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

[1043] 79. 实施方案1-64中任一项的衍生物,其中所述第一和第二后连接体中的每一个由按所示顺序经由酰胺键相互连接的连接体元件-5、连接体元件-4和四次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述第一和第二后连接体中的每一个在其-NH端分别连接至所述第一和第二延长体的-CO端,并且在其-CO端连接至所述分支连接体的每个-NH端。

- [1044] 80. 实施方案1-79中任一项的衍生物,其中所述前连接体由经由酰胺键相互连接的两化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述前连接体在其-NH端连接至所述分支连接体的-CO端,并且在其-CO端连接至Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基。
- [1045] 81. 实施方案80的衍生物,其中所述第一和第二后连接体如实施方案74所限定。
- [1046] 82. 实施方案1-79中任一项的衍生物,其中所述前连接体由经由酰胺键相互连接的四次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述前连接体在其-NH端连接至所述分支连接体的-CO端,并且在其-CO端连接至Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基。
- [1047] 83. 实施方案82的衍生物,其中所述第一和第二后连接体如实施方案75所限定。
- [1048] 84. 实施方案1-79中任一项的衍生物,其中所述前连接体由经由酰胺键相互连接的六次化学式1的连接体元件-1组成,其中k为1且n为1,并且其中所述前连接体在其-NH端连接至所述分支连接体的-CO端,并且在其-CO端连接至Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基。
- [1049] 85. 实施方案84的衍生物,其中所述第一和第二后连接体如实施方案76所限定。
- [1050] 86. 实施方案1-85中任一项的衍生物,其中所述分支连接体经由酰胺键,
- [1051] a) 在其-CO端经由可选的前连接体连接至Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基,并且
- [1052] b) 在其两个-N端中的每一个处分别经由第一和第二后连接体分别连接至所述第一和第二延长体中每一个的-CO端。
- [1053] 87. GLP-1衍生物,优选实施方案1-86中任一项的衍生物,其选自化学式21、化学式22、化学式23、化学式24、化学式25、化学式26、化学式27、化学式28、化学式29、化学式30、化学式31、化学式32、化学式33、化学式34、化学式35和化学式36;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。
- [1054] 88. GLP-1衍生物,优选实施方案1-87中任一项的衍生物,其选自实施例1-16的化合物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。
- [1055] 89. GLP-1类似物,与GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 相比,其包含以下改变:(7Imp, 8Aib, 22E, 26R, 34R, 37K)、(8Aib, 22E, 26R, 34R, 37P) 或 (8Aib, 22E, 26R, 34R, 37P, 38K)。
- [1056] 90. 根据实施方案89的GLP-1类似物,其选自GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:1) 的以下类似物:(7Imp, 8Aib, 22E, 26R, 34R, 37K) 和 (8Aib, 22E, 26R, 34R, 37P, 38K);或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。
- [1057] 91. 实施方案89-90中任一项的GLP-1类似物,其为选自SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:4的肽;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。
- [1058] 92. 实施方案1-91中任一项的衍生物或类似物,其为GLP-1受体激动剂。
- [1059] 93. 实施方案1-92中任一项的衍生物或类似物,其为完全GLP-1受体激动剂。
- [1060] 94. 实施方案1-93中任一项的衍生物或类似物,其在体外具有生物活性。
- [1061] 95. 实施方案1-94中任一项的衍生物或类似物,其在体外为有效的。
- [1062] 96. 实施方案1-95中任一项的衍生物或类似物,其能够激活人GLP-1受体。
- [1063] 97. 实施方案1-96中任一项的衍生物或类似物,其在采用表达人GLP-1受体的全细胞的试验中能够激活人GLP-1受体,其中该试验在不存在HSA (0%HSA) 的情况下进行。
- [1064] 98. 实施方案1-98中任一项的衍生物或类似物,其中在报道基因试验中,如在实施例33的试验中测定人GLP-1受体的响应。
- [1065] 99. 实施方案92-98中任一项的衍生物或类似物,其中GLP-1受体激动、体外生物活



性、体外效力或激活人GLP-1受体的能力分别基本如实施例33所述测定。

[1066] 100. 实施方案1-99中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于300pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[1067] 101. 实施方案1-100中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于200pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[1068] 102. 实施方案1-101中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于100pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[1069] 103. 实施方案1-102中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于75pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[1070] 104. 实施方案1-103中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于50pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[1071] 105. 实施方案1-104中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于25pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[1072] 106. 实施方案1-105中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于15pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[1073] 107. 实施方案1-106中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于10pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[1074] 108. 实施方案1-107中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于7pM或更低的 $EC_{50}$ 。

[1075] 109. 实施方案100-108中任一项的衍生物或类似物,其中所述 $EC_{50}$ 基本如实施例33所述测定。

[1076] 110. 实施方案1-109中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于小于司美鲁肽 $EC_{50}$ 的30倍的 $EC_{50}$ ,其中司美鲁肽的 $EC_{50}$ 以与该衍生物的 $EC_{50}$ 相同的方式测定。

[1077] 111. 实施方案1-110中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于小于司美鲁肽 $EC_{50}$ 的20倍的 $EC_{50}$ ,其中司美鲁肽的 $EC_{50}$ 以与该衍生物的 $EC_{50}$ 相同的方式测定。

[1078] 112. 实施方案1-111中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于小于司美鲁肽 $EC_{50}$ 的10倍的 $EC_{50}$ ,其中司美鲁肽的 $EC_{50}$ 以与该衍生物的 $EC_{50}$ 相同的方式测定。

[1079] 113. 实施方案1-112中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于小于司美鲁肽 $EC_{50}$ 的7倍的 $EC_{50}$ ,其中司美鲁肽的 $EC_{50}$ 以与该衍生物的 $EC_{50}$ 相同的方式测定。

[1080] 114. 实施方案1-113中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于小于司美鲁肽 $EC_{50}$ 的5倍的 $EC_{50}$ ,其中司美鲁肽的 $EC_{50}$ 以与该衍生物的 $EC_{50}$ 相同的方式测定。

[1081] 115. 实施方案1-114中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于小于司美鲁肽 $EC_{50}$ 的2倍的 $EC_{50}$ ,其中司美鲁肽的 $EC_{50}$ 以与该衍生物的 $EC_{50}$ 相同的方式测定。

[1082] 116. 实施方案1-115中任一项的衍生物或类似物,其体外效力相当于小于司美鲁肽 $EC_{50}$ 的 $EC_{50}$ ,其中司美鲁肽的 $EC_{50}$ 以与该衍生物的 $EC_{50}$ 相同的方式测定。

[1083] 117. 实施方案110-116中任一项的衍生物或类似物,其中所述 $EC_{50}$ 基本如实施例33所述测定。

[1084] 118. 实施方案1-117中任一项的衍生物或类似物,其能够与GLP-1受体结合。

[1085] 119. 实施方案1-118中任一项的衍生物或类似物,其能够在低浓度HSA(最高

0.001%最终测定浓度)下与GLP-1受体结合。

[1086] 120.实施方案1-119中任一项的衍生物或类似物,其能够在高浓度HSA (2.0%最终测定浓度)下与GLP-1受体结合。

[1087] 121.实施方案118-120中任一项的衍生物或类似物,其中所述与人GLP-1受体的结合在竞争结合试验中,如在实施例34的试验中测定。

[1088] 122.实施方案118-121中任一项的衍生物或类似物,其中所述在体外与人GLP-1受体的结合基本如实施例34所述测定。

[1089] 123.实施方案1-122中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以5.0nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[1090] 124.实施方案1-123中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以3.0nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[1091] 125.实施方案1-124中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以2.0nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[1092] 126.实施方案1-125中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以1.0nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[1093] 127.实施方案1-126中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以0.50nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[1094] 128.实施方案1-127中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以0.30nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[1095] 129.实施方案1-128中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以0.15nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[1096] 130.实施方案123-129中任一项的衍生物或类似物,其中所述 $IC_{50}$ 基本如实施例34所述在具有最高0.001%HSA(最终测定浓度)的反应中测定。

[1097] 131.实施方案1-130中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以小于司美鲁肽 $IC_{50}$ 的10倍的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[1098] 132.实施方案1-131中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以小于司美鲁肽 $IC_{50}$ 的8倍的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[1099] 133.实施方案1-132中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以小于司美鲁肽 $IC_{50}$ 的6倍的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[1100] 134.实施方案1-133中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以小于司美鲁肽 $IC_{50}$ 的4倍的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[1101] 135.实施方案1-134中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以小于司美鲁肽 $IC_{50}$ 的2倍的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[1102] 136.实施方案1-135中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以小于司

美鲁肽 $IC_{50}$ 的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[1103] 137.实施方案1-136中任一项的衍生物或类似物,其在低浓度HSA下能够以小于司美鲁肽 $IC_{50}$ 的0.50倍的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[1104] 138.实施方案131-137中任一项的衍生物或类似物,其中所述 $IC_{50}$ 基本如实施例34所述在具有最高0.001% HSA(最终测定浓度)的反应中测定。

[1105] 139.实施方案1-138中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% HSA(最终测定浓度)下能够以300nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[1106] 140.实施方案1-139中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% HSA(最终测定浓度)下能够以125nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[1107] 141.实施方案1-140中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% HSA(最终测定浓度)下能够以75nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[1108] 142.实施方案1-141中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% HSA(最终测定浓度)下能够以50nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[1109] 143.实施方案1-142中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% HSA(最终测定浓度)下能够以30nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[1110] 144.实施方案1-143中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% HSA(最终测定浓度)下能够以15nM或更低的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合。

[1111] 145.实施方案139-144中任一项的衍生物或类似物,其中所述 $IC_{50}$ 基本如实施例34所述在具有2.0% HSA(最终测定浓度)的反应中测定。

[1112] 146.实施方案1-145中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% HSA(最终测定浓度)下能够以小于司美鲁肽 $IC_{50}$ 的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[1113] 147.实施方案1-146中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% HSA(最终测定浓度)下能够以小于司美鲁肽 $IC_{50}$ 的0.5倍的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[1114] 148.实施方案1-147中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% HSA(最终测定浓度)下能够以小于司美鲁肽 $IC_{50}$ 的0.25倍的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[1115] 149.实施方案1-148中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% HSA(最终测定浓度)下能够以小于司美鲁肽 $IC_{50}$ 的0.10倍的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[1116] 150.实施方案1-149中任一项的衍生物或类似物,其在2.0% HSA(最终测定浓度)下能够以小于司美鲁肽 $IC_{50}$ 的0.050倍的 $IC_{50}$ 与人GLP-1受体结合,其中司美鲁肽的 $IC_{50}$ 以与该衍生物的 $IC_{50}$ 相同的方式测定。

[1117] 151.实施方案146-150中任一项的衍生物或类似物,其中所述 $IC_{50}$ 基本如实施例34所述在具有2.0% HSA(最终测定浓度)的反应中测定。

[1118] 152.实施方案1-151中任一项的衍生物,其具有改善的药代动力学性质。

- [1119] 153. 实施方案1-152中任一项的衍生物,其具有延长的半衰期和/或降低的清除率。
- [1120] 154. 实施方案1-153中任一项的衍生物,其适合于每月一次给药。
- [1121] 155. 实施方案1-154中任一项的衍生物,其用于皮下给药。
- [1122] 156. 实施方案1-155中任一项的衍生物,其中在药代动力学(PK) 研究中在体内测试该衍生物。
- [1123] 157. 实施方案1-156中任一项的衍生物,其中在任何合适的动物模型如小鼠、大鼠、猴、狗或猪中测试该衍生物。
- [1124] 158. 实施方案1-157中任一项的衍生物,其与司美鲁肽进行比较。
- [1125] 159. 实施方案1-158中任一项的衍生物,其在小型猪中静脉内给药后与司美鲁肽相比在体内具有改善的终末半衰期( $T_{1/2}$ )。
- [1126] 160. 实施方案159的衍生物,其中使用任何合适的研究方案,如实施例35所述的研究方案,在小型猪中静脉内给药后在体内测定终末半衰期。
- [1127] 161. 实施方案159-160中任一项的衍生物,其中基本如实施例35所述,在小型猪中静脉内给药后在体内测定终末半衰期。
- [1128] 162. 实施方案1-161中任一项的衍生物,其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期( $T_{1/2}$ ) 至少为100小时。
- [1129] 163. 实施方案1-162中任一项的衍生物,其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期( $T_{1/2}$ ) 至少为115小时。
- [1130] 164. 实施方案1-163中任一项的衍生物,其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期( $T_{1/2}$ ) 至少为130小时。
- [1131] 165. 实施方案1-164中任一项的衍生物,其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期( $T_{1/2}$ ) 至少为145小时。
- [1132] 166. 实施方案1-165中任一项的衍生物,其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期( $T_{1/2}$ ) 至少为155小时。
- [1133] 167. 实施方案1-166中任一项的衍生物,其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期( $T_{1/2}$ ) 至少为以相同方式测定的司美鲁肽终末半衰期的2.0倍。
- [1134] 168. 实施方案1-167中任一项的衍生物,其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期( $T_{1/2}$ ) 至少为以相同方式测定的司美鲁肽终末半衰期的2.5倍。
- [1135] 169. 实施方案1-168中任一项的衍生物,其在小型猪中静脉内给药后的体内终末半衰期( $T_{1/2}$ ) 至少为以相同方式测定的司美鲁肽终末半衰期的2.8倍。
- [1136] 170. 实施方案162-169中任一项的衍生物,其中基本如实施例35所述测定终末半衰期( $T_{1/2}$ )。
- [1137] 171. 实施方案1-170中任一项的衍生物,其在体内是有效的。
- [1138] 172. 实施方案1-171中任一项的衍生物,其在任何合适的动物模型如小鼠、大鼠或猪中测定时在体内是有效的。
- [1139] 173. 实施方案172的衍生物,其中所述动物模型为Sprague Dawley大鼠。
- [1140] 174. 实施方案1-173中任一项的衍生物,其中测定对食物摄取的急性影响,其中急性优选指单次皮下注射100nmol/kg的所述衍生物。

[1141] 175. 实施方案1-174中任一项的衍生物,其中测定对体重的急性影响,并且其中急性优选指单次皮下注射100nmol/kg的所述衍生物。

[1142] 176. 实施方案1-175中任一项的衍生物,其中使用任何合适的研究方案和方法,例如如实施例36所述,在Sprague Dawley大鼠中体内测定对食物摄取和/或体重的急性影响。

[1143] 177. 实施方案1-176中任一项的衍生物,其中基本如实施例36所述,在Sprague Dawley大鼠中体内测定对食物摄取和/或体重的急性影响。

[1144] 178. 实施方案174-177中任一项的衍生物,其中急性影响为48h时至少-25%的食物摄取改变,按 $\frac{[(48\text{h时的食物摄取}) - (\text{基线食物摄取})]}{(\text{基线食物摄取})} \times 100\%$ 计算,其中基线食物摄取是指施用任何治疗前的水平。

[1145] 179. 实施方案174-178中任一项的衍生物,其中急性影响为48h时至少-50%的食物摄取改变,按 $\frac{[(48\text{h时的食物摄取}) - (\text{基线食物摄取})]}{(\text{基线食物摄取})} \times 100\%$ 计算,其中基线食物摄取是指施用任何治疗前的水平。

[1146] 180. 实施方案174-179中任一项的衍生物,其中急性影响为48h时至少-75%的食物摄取改变,按 $\frac{[(48\text{h时的食物摄取}) - (\text{基线食物摄取})]}{(\text{基线食物摄取})} \times 100\%$ 计算,其中基线食物摄取是指施用任何治疗前的水平。

[1147] 181. 实施方案174-180中任一项的衍生物,其中急性影响为48h时至少-5%的体重改变,按 $\frac{[(48\text{h时的体重}) - (\text{基线体重})]}{(\text{基线体重})} \times 100\%$ 计算,其中基线体重是指施用任何治疗前的水平。

[1148] 182. 实施方案174-181中任一项的衍生物,其中急性影响为48h时至少-8%的体重改变,按 $\frac{[(48\text{h时的体重}) - (\text{基线体重})]}{(\text{基线体重})} \times 100\%$ 计算,其中基线体重是指施用任何治疗前的水平。

[1149] 183. 实施方案174-182中任一项的衍生物,其中急性影响为48h时至少-12%的体重改变,按 $\frac{[(48\text{h时的体重}) - (\text{基线体重})]}{(\text{基线体重})} \times 100\%$ 计算,其中基线体重是指施用任何治疗前的水平。

[1150] 184. 药物组合物,其包含根据实施方案1-183中任一项的衍生物或类似物以及药学上可接受的赋形剂。

[1151] 185. 根据实施方案1-183中任一项的衍生物或类似物,其用作药物。

[1152] 186. 根据实施方案1-183中任一项的衍生物或类似物,其用于

[1153] (i) 预防和/或治疗所有形式的糖尿病,如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY (青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病,和/或用于减少HbA1C;

[1154] (ii) 延缓或预防糖尿病进展,如2型糖尿病的进展,延缓糖耐量减低(IGT)进展成需要胰岛素的2型糖尿病,延缓或预防胰岛素抵抗,和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;

[1155] (iii) 改善 $\beta$ -细胞功能,如减少 $\beta$ -细胞凋亡、提高 $\beta$ -细胞功能和/或 $\beta$ -细胞质量,和/或恢复 $\beta$ -细胞的葡萄糖敏感性;

[1156] (iv) 预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症,如阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化;

[1157] (v) 例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮

食失调,如肥胖症;治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症;减少胃运动;延缓胃排空;增加身体活动;和/或预防和/或治疗肥胖症的共病,如骨关节炎和/或尿失禁;

[1158] (vi) 预防和/或治疗糖尿病并发症,如血管病;神经病,包括周围神经病变;肾病;和/或视网膜病;

[1159] (vii) 改善脂质参数,如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质;增加HDL;降低小而密的LDL;降低VLDL;降低甘油三酯;降低胆固醇;降低人的脂蛋白a (Lp (a)) 血浆水平;在体外和/或体内抑制载脂蛋白a (apo (a)) 的生成;

[1160] (viii) 预防和/或治疗心血管疾病,如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行(闭塞性动脉硬化)、舒张期功能障碍和/或收缩期功能障碍;和/或降低血压,如降低收缩压;

[1161] (ix) 预防和/或治疗胃肠疾病,如炎性肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎;消化不良;和/或胃溃疡;和/或炎症,如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮;

[1162] (x) 预防和/或治疗危重病,如治疗危重患者、危重病多发性肾病(CIPNP) 患者和/或潜在的CIPNP患者;预防危重病或CIPNP的进展;预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征(SIRS);预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可能性;和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢;

[1163] (xi) 预防和/或治疗多囊卵巢综合征(PCOS);

[1164] (xii) 预防和/或治疗脑部疾病,如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤;

[1165] (xiii) 预防和/或治疗睡眠呼吸暂停;和/或

[1166] (xiv) 预防和/或治疗滥用,如酒精滥用和/或药物滥用。

[1167] 187. 根据实施方案1-183中任一项的衍生物或类似物在制备药物中的用途,该药物用于

[1168] (i) 预防和/或治疗所有形式的糖尿病,如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY (青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病,和/或用于减少HbA1C;

[1169] (ii) 延缓或预防糖尿病进展,如2型糖尿病的进展,延缓糖耐量减低(IGT) 进展成需要胰岛素的2型糖尿病,延缓或预防胰岛素抵抗,和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;

[1170] (iii) 改善 $\beta$ -细胞功能,如减少 $\beta$ -细胞凋亡、提高 $\beta$ -细胞功能和/或 $\beta$ -细胞质量,和/或恢复 $\beta$ -细胞的葡萄糖敏感性;

[1171] (iv) 预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症,如阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化;

[1172] (v) 例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调,如肥胖症;治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症;减少胃运动;延缓胃排空;增加身体活动;和/或预防和/或治疗肥胖症的共病,

如骨关节炎和/或尿失禁;

[1173] (vi) 预防和/或治疗糖尿病并发症,如血管病;神经病,包括周围神经病变;肾病;和/或视网膜病;

[1174] (vii) 改善脂质参数,如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质;增加HDL;降低小而密的LDL;降低VLDL;降低甘油三酯;降低胆固醇;降低人的脂蛋白a (Lp(a)) 血浆水平;在体外和/或体内抑制载脂蛋白a (apo(a)) 的生成;

[1175] (viii) 预防和/或治疗心血管疾病,如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行(闭塞性动脉硬化)、舒张期功能障碍和/或收缩期功能障碍;和/或降低血压,如降低收缩压;

[1176] (ix) 预防和/或治疗胃肠疾病,如炎性肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎;消化不良;和/或胃溃疡;和/或炎症,如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮;

[1177] (x) 预防和/或治疗危重病,如治疗危重患者、危重病多发性肾病(CIPNP) 患者和/或潜在的CIPNP患者;预防危重病或CIPNP的进展;预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征(SIRS);预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可能性;和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢;

[1178] (xi) 预防和/或治疗多囊卵巢综合征(PCOS);

[1179] (xii) 预防和/或治疗脑部疾病,如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤;

[1180] (xiii) 预防和/或治疗睡眠呼吸暂停;和/或

[1181] (xiv) 预防和/或治疗滥用,如酒精滥用和/或药物滥用。

[1182] 188. 方法,其用于

[1183] (i) 预防和/或治疗所有形式的糖尿病,如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY (青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病,和/或用于减少HbA1C;

[1184] (ii) 延缓或预防糖尿病进展,如2型糖尿病的进展,延缓糖耐量减低(IGT) 进展成需要胰岛素的2型糖尿病,延缓或预防胰岛素抵抗,和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;

[1185] (iii) 改善 $\beta$ -细胞功能,如减少 $\beta$ -细胞凋亡、提高 $\beta$ -细胞功能和/或 $\beta$ -细胞质量,和/或恢复 $\beta$ -细胞的葡萄糖敏感性;

[1186] (iv) 预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症,如阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化;

[1187] (v) 例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调,如肥胖症;治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症;减少胃运动;延缓胃排空;增加身体活动;和/或预防和/或治疗肥胖症的共病,如骨关节炎和/或尿失禁;

[1188] (vi) 预防和/或治疗糖尿病并发症,如血管病;神经病,包括周围神经病变;肾病;和/或视网膜病;

[1189] (vii) 改善脂质参数,如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质;增加HDL;降低小而密的LDL;降低VLDL;降低甘油三酯;降低胆固醇;降低人的脂蛋白a (Lp(a)) 血浆水平;在体外和/或体内抑制载脂蛋白a (apo(a)) 的生成;

[1190] (viii) 预防和/或治疗心血管疾病,如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行(闭塞性动脉硬化)、舒张期功能障碍和/或收缩期功能障碍;和/或降低血压,如降低收缩压;

[1191] (ix) 预防和/或治疗胃肠疾病,如炎性肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎;消化不良;和/或胃溃疡;和/或炎症,如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮;

[1192] (x) 预防和/或治疗危重病,如治疗危重患者、危重病多发性肾病(CIPNP) 患者和/或潜在的CIPNP患者;预防危重病或CIPNP的进展;预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征(SIRS);预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可能性;和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢;

[1193] (xi) 预防和/或治疗多囊卵巢综合征(PCOS);

[1194] (xii) 预防和/或治疗脑部疾病,如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤;

[1195] (xiii) 预防和/或治疗睡眠呼吸暂停;和/或

[1196] (xiv) 预防和/或治疗滥用,如酒精滥用和/或药物滥用;

[1197] 其中施用药学活性量的根据实施方案1-183中任一项的衍生物或类似物。

[1198] 另外的特定实施方案

[1199] 以下是本发明的另外的特定实施方案:

[1200] 1. 通式I的GLP-1类似物的衍生物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯:

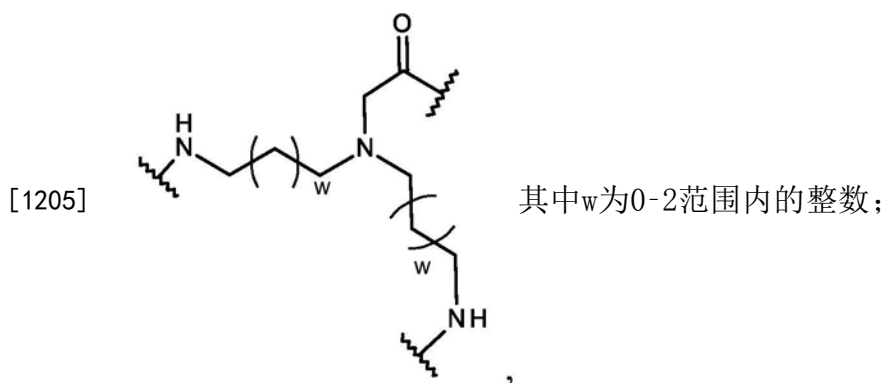
[1201] Xaa<sub>7</sub>-Xaa<sub>8</sub>-Glu-Gly-Thr-Xaa<sub>12</sub>-Thr-Ser-Asp-Xaa<sub>16</sub>-Ser-Xaa<sub>18</sub>-Xaa<sub>19</sub>-Xaa<sub>20</sub>-Glu-Xaa<sub>22</sub>-Xaa<sub>23</sub>-Ala-Xaa<sub>25</sub>-Xaa<sub>26</sub>-Xaa<sub>27</sub>-Phe-Ile-Xaa<sub>30</sub>-Xaa<sub>31</sub>-Leu-Xaa<sub>33</sub>-Xaa<sub>34</sub>-Xaa<sub>35</sub>-Xaa<sub>36</sub>-Xaa<sub>37</sub>-Xaa<sub>38</sub>, 其中

[1202] Xaa<sub>7</sub>为L-组氨酸、(S)-2-羟基-3-(1H-咪唑-4-基)-丙酸、D-组氨酸、脱氨基组氨酸、高组氨酸、N<sup>d</sup>-乙酰基-组氨酸、N<sup>d</sup>-甲酰基-组氨酸、N<sup>d</sup>-甲基-组氨酸、3-吡啶基丙氨酸、2-吡啶基丙氨酸或4-吡啶基丙氨酸;Xaa<sub>8</sub>为Ala、Gly、Ser、Aib、(1-氨基环丙基)羧酸或(1-氨基环丁基)羧酸;Xaa<sub>12</sub>为Phe或Leu;Xaa<sub>16</sub>为Val或Leu;Xaa<sub>18</sub>为Ser、Val、Arg或Leu;Xaa<sub>19</sub>为Tyr或Gln;Xaa<sub>20</sub>为Leu或Met;Xaa<sub>22</sub>为Gly或Glu;Xaa<sub>23</sub>为Gln、Glu或Arg;Xaa<sub>25</sub>为Ala或Val;Xaa<sub>26</sub>为Arg;Xaa<sub>27</sub>为Glu或Leu;Xaa<sub>30</sub>为Ala、Glu或Arg;Xaa<sub>31</sub>为Trp或His;Xaa<sub>33</sub>为Val;Xaa<sub>34</sub>为Arg、His、Asn或Gln;Xaa<sub>35</sub>为Gly或Ala;Xaa<sub>36</sub>为Arg或Gly;Xaa<sub>37</sub>为Gly、Pro或Lys;Xaa<sub>38</sub>为Lys或不存在;其中Xaa<sub>37</sub>和Xaa<sub>38</sub>中的至少一个为Lys;该衍生物包含衔接至Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基上的侧链,该侧链包含:

[1203] (i) 化学式11的分支连接体:

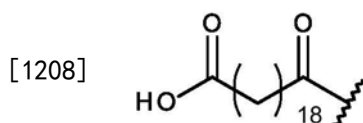
[1204] 化学式11:



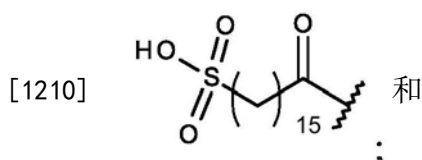


[1206] (ii) 选自化学式12和化学式13的第一和第二延长体:

[1207] 化学式12:

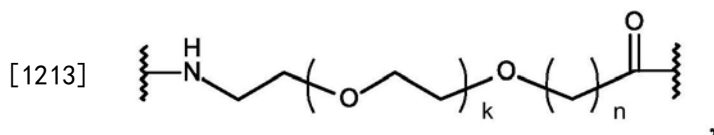


[1209] 化学式13:



[1211] (iii) 至少一个化学式1的连接体元件-1:

[1212] 化学式1:



[1214] 其中k为1-23范围内的整数,且n为1-5范围内的整数;

[1215] 其中所述分支连接体

[1216] a) 在其-CO端经由可选的前连接体连接至Xaa<sub>37</sub>或Xaa<sub>38</sub>的Lys残基的ε氨基,并且

[1217] b) 在其两个-NH端中的每一个处分别经由第一和第二后连接体分别连接至第一和第二延长体中每一个的-CO端;并且

[1218] 其中所述前连接体、第一后连接体和第二后连接体中的至少一个包含连接体元件-1。

[1219] 2. 实施方案1的衍生物,其中w为1。

[1220] 3. 实施方案1-2中任一项的衍生物,其包含恰好m次连接体元件-1,其中m为2-12范围内的整数。

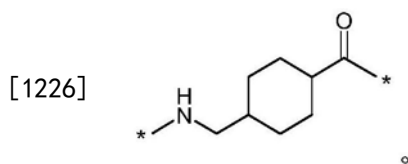
[1221] 4. 实施方案1-3中任一项的衍生物,其中k为1、3、11、15或23。

[1222] 5. 实施方案1-4中任一项的衍生物,其中n为1或2。

[1223] 6. 实施方案1-5中任一项的衍生物,其包含化学式2的连接体元件-2:

[1224] \*-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-CH(NH<sub>2</sub>)-CO-\*。

[1225] 7. 实施方案1-6中任一项的衍生物,其包含化学式3的连接体元件-3:



[1227] 8. 实施方案1-7中任一项的衍生物,其包含化学式4的连接体元件-4:

[1228]  $*-\text{NH}-\text{CH}(\text{COOH})-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-*$ 。

[1229] 9. 实施方案1-8中任一项的衍生物,其包含化学式5的连接体元件-5:

[1230]  $*-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{CO}-*$ 。

[1231] 10. 实施方案1-9中任一项的衍生物,其包含前连接体。

[1232] 11. 实施方案1-9中任一项的衍生物,其不包含前连接体。

[1233] 12. GLP-1衍生物,其选自化学式21、化学式22、化学式23、化学式24、化学式25、化学式26、化学式27、化学式28、化学式29、化学式30、化学式31、化学式32、化学式33、化学式34、化学式35和化学式36;或其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[1234] 13. 药物组合物,其包含根据实施方案1-12中任一项所述的衍生物以及药学上可接受的赋形剂。

[1235] 14. 根据实施方案1-12中任一项所述的衍生物,其用作药物。

[1236] 15. 根据实施方案1-12中任一项所述的衍生物,其用于

[1237] (i) 预防和/或治疗所有形式的糖尿病,如高血糖症、2型糖尿病、糖耐量减低、1型糖尿病、非胰岛素依赖性糖尿病、MODY (青年成熟发作型糖尿病)、妊娠糖尿病,和/或用于减少HbA1C;

[1238] (ii) 延缓或预防糖尿病进展,如2型糖尿病的进展,延缓糖耐量减低(IGT)进展成需要胰岛素的2型糖尿病,延缓或预防胰岛素抵抗,和/或延缓无需胰岛素的2型糖尿病进展成需要胰岛素的2型糖尿病;

[1239] (iii) 改善 $\beta$ -细胞功能,如减少 $\beta$ -细胞凋亡、提高 $\beta$ -细胞功能和/或 $\beta$ -细胞质量,和/或恢复 $\beta$ -细胞的葡萄糖敏感性;

[1240] (iv) 预防和/或治疗认知障碍和/或神经退行性病症,如阿尔茨海默病、帕金森病和/或多发性硬化;

[1241] (v) 例如通过减少食物摄取、降低体重、抑制食欲、诱导饱腹感来预防和/或治疗饮食失调,如肥胖症;治疗或预防暴食症、神经性贪食症和/或由抗精神病药或类固醇给药诱发的肥胖症;减少胃运动;延缓胃排空;增加身体活动;和/或预防和/或治疗肥胖症的共病,如骨关节炎和/或尿失禁;

[1242] (vi) 预防和/或治疗糖尿病并发症,如血管病;神经病,包括周围神经病变;肾病;和/或视网膜病;

[1243] (vii) 改善脂质参数,如预防和/或治疗血脂异常、降低总血清脂质;增加HDL;降低小而密的LDL;降低VLDL;降低甘油三酯;降低胆固醇;降低人的脂蛋白a(Lp(a))血浆水平;在体外和/或体内抑制载脂蛋白a(apo(a))的生成;

[1244] (viii) 预防和/或治疗心血管疾病,如综合征X、动脉粥样硬化、心肌梗死、冠心病、再灌注损伤、中风、脑缺血、早期心脏病或早期心血管疾病、左心室肥大、冠状动脉病、高血压、原发性高血压、急性高血压急症、心肌病、心功能不全、运动不耐受、急性和/或慢性心力

衰竭、心律不齐、心律失常、晕厥、心绞痛、心脏搭桥和/或支架再闭塞、间歇性跛行(闭塞性动脉硬化)、舒张期功能障碍和/或收缩期功能障碍;和/或降低血压,如降低收缩压;

[1245] (ix) 预防和/或治疗胃肠疾病,如炎性肠病、短肠综合征或克罗恩病或结肠炎;消化不良;和/或胃溃疡;和/或炎症,如银屑病、银屑病关节炎、类风湿性关节炎和/或系统性红斑狼疮;

[1246] (x) 预防和/或治疗危重病,如治疗危重患者、危重病多发性肾病(CIPNP)患者和/或潜在的CIPNP患者;预防危重病或CIPNP的进展;预防、治疗和/或治愈患者的全身性炎症反应综合征(SIRS);预防或降低患者在住院期间罹患菌血症、败血症和/或脓毒性休克的可能性;和/或稳定具有急性病的重症监护室患者的血糖、胰岛素平衡和可选的代谢;

[1247] (xi) 预防和/或治疗多囊卵巢综合征(PCOS);

[1248] (xii) 预防和/或治疗脑部疾病,如脑缺血、脑出血和/或创伤性脑损伤;

[1249] (xiii) 预防和/或治疗睡眠呼吸暂停;和/或

[1250] (xiv) 预防和/或治疗滥用,如酒精滥用和/或药物滥用。

[1251] 在一些实施方案中,本发明的GLP-1衍生物不选自化学式21、化学式22、化学式23、化学式24、化学式25、化学式26、化学式27、化学式28、化学式29、化学式30、化学式31、化学式32、化学式33、化学式34、化学式35、化学式36、化学式37、化学式38、化学式39、化学式40、化学式41、化学式42、化学式43、化学式44、化学式45、化学式46、化学式47、化学式48、化学式49、化学式50、化学式51和化学式52;并且也不是其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[1252] 在一些实施方案中,本发明的GLP-1类似物不选自SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8;并且也不是其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

[1253] 在一些实施方案中,本发明的中间产物不选自化学式90、化学式91、化学式92、化学式93、化学式94、化学式95、化学式96、化学式97、化学式98、化学式99、化学式100、化学式101、化学式102、化学式103、化学式104、化学式105、化学式106、化学式107、化学式108、化学式109、化学式110、化学式111、化学式112、化学式113、化学式114、化学式115和化学式116;并且也不是其药学上可接受的盐、酰胺或酯。

## 实施例

[1254] 该实验部分从缩写列表开始,随后是包含用于合成和表征本发明类似物和衍生物的一般方法的部分。然后是涉及具体GLP-1衍生物制备的多个实施例,最后包括涉及这些类似物和衍生物的活性和性质的多个实施例(标题为药理学方法的部分)。

[1255] 这些实施例用来说明本发明。

[1256] 缩写列表

[1257] Aib:  $\alpha$ -氨基异丁酸(2-氨基异丁酸)

[1258] Abu: 4-氨基丁酸

[1259] AcOH: 乙酸

[1260] Ado: 8-氨基-3,6-二氧杂辛酸

[1261] API: 活性药物成分

[1262] AUC: 曲线下面积

[1263] BG: 血糖

- [1264] BHK幼仓鼠肾  
[1265] BW:体重  
[1266] Boc:叔丁氧羰基  
[1267] Bom:苄氧基甲基  
[1268] BSA:牛血清白蛋白  
[1269] Bz:苄基  
[1270] BW:体重  
[1271] C20二酸:二十烷二酸  
[1272] CAS:化学文摘服务  
[1273] Clt:2-氯三苯甲基  
[1274] 可力丁(collidine):2,4,6-三甲基吡啶  
[1275] COOBz:苄氧羰基  
[1276] COOMe:甲氧羰基  
[1277] COOtBu:叔丁氧羰基  
[1278] DCM:二甲氧甲烷  
[1279] Dde:1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代环己基亚基)乙基  
[1280] DIC:二异丙基碳二亚胺  
[1281] DIPEA:二异丙基乙胺  
[1282] DMEM:Dulbecco改良Eagle培养基(DMEM)  
[1283] dPEG:离散聚乙二醇  
[1284] EDTA:乙二胺四乙酸  
[1285] EGTA:乙二醇四乙酸  
[1286] FCS:胎牛血清  
[1287] Fmoc:9-苄基甲氧羰基  
[1288] FI:食物摄取  
[1289] HATU:(0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脒鎓六氟磷酸盐)  
[1290] HBTU:(2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脒鎓六氟磷酸盐)  
[1291] HEPES:4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸  
[1292] HFIP 1,1,1,3,3,3-六氟-2-丙醇或六氟异丙醇  
[1293] HOAt:1-羟基-7-氮杂苯并三唑  
[1294] HOBt:1-羟基苯并三唑  
[1295] HPLC:高效液相色谱法  
[1296] HSA:人血清白蛋白  
[1297] IBMX:3-异丁基-1-甲基黄嘌呤  
[1298] Imp:咪唑丙酸(3-(咪唑-5-基)丙酸),别名为脱氨基组氨酸  
[1299] Inp:异哌啶酸  
[1300] i.v.静脉内  
[1301] ivDde:1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代环己基亚基)-3-甲基丁基  
[1302] IVGTT:静脉内葡萄糖耐量试验

- [1303] LCMS:液相色谱质谱法
- [1304] LYD:Landrace Yorkshire Duroc
- [1305] MALDI-MS:参见MALDI-TOF MS
- [1306] MALDI-TOF MS:基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱法
- [1307] MeOH:甲醇
- [1308] Mmt:4-甲氧基三苯甲基
- [1309] Mtt:4-甲基三苯甲基
- [1310] NHBoc:叔丁氧羰基氨基
- [1311] NHCbz:苄氧羰基氨基
- [1312] NHFmoc:9H-芴-9-基甲氧羰基氨基
- [1313] NMP:N-甲基吡咯烷酮
- [1314] OBz:苄氧基
- [1315] OPfp:2,3,4,5,6-五氟苯氧基
- [1316] OPnp:4-硝基苯氧基
- [1317] OSuc:(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)氧基
- [1318] OtBu:叔丁酯
- [1319] Oxyma **Pure®**:氰基-羟基亚氨基-乙酸乙酯
- [1320] Pbf:2,2,4,6,7-五甲基二氢苯并呋喃-5-磺酰基
- [1321] PBS:磷酸盐缓冲盐水
- [1322] PD:药效学
- [1323] PEG:聚乙二醇
- [1324] Pen/Strep:青霉素/链霉素
- [1325] PK:药代动力学
- [1326] PyBOP:苯并三唑-1-基-氧基三吡咯烷基磷六氟磷酸盐RP:反相
- [1327] RP-HPLC:反相高效液相色谱法
- [1328] RT:室温
- [1329] Rt:停留时间
- [1330] s.c.:皮下
- [1331] SD:标准偏差
- [1332] SEC-HPLC:尺寸排阻高效液相色谱法
- [1333] SEM:平均值的标准误差
- [1334] SPA:闪烁亲近测定法
- [1335] SPPS:固相肽合成
- [1336] 磺酸-C16:16-磺基十六烷酸
- [1337] tBu:叔丁基
- [1338] TFA:三氟乙酸
- [1339] TIS:三异丙基硅烷
- [1340] TLC:薄层色谱法
- [1341] Tos:对甲苯磺酸酯(或对甲苯磺酰基)

- [1342] Tris:三(羟甲基)氨基甲烷或2-氨基-2-羟甲基-丙烷-1,3-二醇
- [1343] Trt:三苯基甲基(三苯甲基)
- [1344] Trx:氨甲环酸(反式-4-(氨甲基)环己烷羧酸)
- [1345] UPLC:超高效液相色谱法
- [1346] 特殊材料与方法
- [1347] 二十烷二酸单叔丁酯
- [1348] Fmoc-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸
- [1349] Fmoc-15-氨基-4,7,10,13-四氧杂十五烷酸
- [1350] 1-(9-苄基甲氧羰基)氨基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氧杂三十九烷-39-酸
- [1351]  $\alpha$ -(9-苄基甲氧羰基)氨基- $\omega$ -羧基十六(乙二醇)
- [1352] Fmoc-氨甲环酸
- [1353] Fmoc-异哌啶酸
- [1354] Boc-Lys (Fmoc) -OH
- [1355] 4-(Fmoc-氨基)丁酸
- [1356] Fmoc-Glu-OtBu
- [1357] N,N-双(N'-Fmoc-3-氨丙基)-甘氨酸半硫酸钾
- [1358] 16-磺基-十六烷酸
- [1359] Fmoc-Lys (Mtt) -Wang树脂
- [1360] 化学方法
- [1361] 该部分分为两个:部分A涉及一般方法(制备方法(A1);以及检测和表征方法(A2)),以及部分B,其中描述了大量具体实施例化合物的制备和表征。
- [1362] A.一般方法
- [1363] A1.制备方法
- [1364] 该部分涉及固相肽合成方法(SPPS法,包括氨基酸脱保护方法,从树脂上切割肽的方法,以及其纯化方法),以及检测和表征所得肽的方法(LCMS、MALDI和UPLC方法)。在一些情况下,可通过将在二肽酰胺键上受保护的二肽与可在酸性条件下被切割的基团(诸如但不限于2-Fmoc-氧基-4-甲氧基苄基,或2,4,6-三甲氧基苄基)一起使用来改善肽的固相合成。在肽中存在丝氨酸或苏氨酸的情况下,可以使用假脯氨酸二肽(可从例如Novabiochem获得,也参见W.R.Sampson(1999),J.Pep.Sci.5,403)。所使用的Fmoc保护的氨基酸衍生物是推荐的标准品:例如由Anaspec、Bachem、Iris Biotech或Novabiochem提供的Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Arg (Pbf) -OH、Fmoc-Asn (Trt) -OH、Fmoc-Asp (OtBu) -OH、Fmoc-Cys (Trt) -OH、Fmoc-Gln (Trt) -OH、Fmoc-Glu (OtBu) -OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-His (Trt) -OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Lys (Boc) -OH、Fmoc-Met-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Ser (tBu) -OH、Fmoc-Thr (tBu) -OH、Fmoc-Trp (Boc) -OH、Fmoc-Tyr (tBu) -OH或Fmoc-Val-OH等。在没有任何其他说明时,使用天然L型的氨基酸。N-末端氨基酸在 $\alpha$ 氨基处经Boc保护(例如,对于在N-末端处具有His的肽,为Boc-His (Boc) -OH或Boc-His (Trt) -OH)。在使用SPPS进行模块化侧链或白蛋白结合部分附接的情况下,使用以下适当保护的构件,诸如但不限于Fmoc-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸、Fmoc-氨甲环酸、Fmoc-Glu-OtBu和二十烷二酸单叔丁酯。下述所有操作均

以250- $\mu$ mol的合成规模进行。

[1365] 1.树脂结合的经保护的肽骨架的合成

[1366] 方法:SPPS\_P

[1367] 使用相对于树脂负载(例如低负载Fmoc-Lys(Mtt)-Wang树脂(0.35mmol/g))六倍过量的Fmoc-氨基酸(在含有300mM HOAt或Oxyma **Pure**®的NMP中300mM),以250- $\mu$ mol的规模在来自Protein Technologies(Tucson,AZ 85714U.S.A.)的Prelude固相肽合成仪上进行SPPS\_P。使用在NMP中的20%哌啶进行Fmoc脱保护。使用在NMP中的3:3:3:4的氨基酸/(HOAt或Oxyma **Pure**®)/DIC/可力丁进行偶联。在脱保护与偶联步骤之间进行NMP和DCM顶部清洗(均为7ml,0.5min,2 $\times$ 2)。偶联时间通常为60分钟。对包括但不限于Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Aib-OH或Boc-His(Trt)-OH的一些氨基酸进行“双偶联”,意思是在第一次偶联(例如,60min)后,将树脂排干并添加更多试剂(氨基酸、(HOAt或Oxyma **Pure**®)、DIC和可力丁),并使混合物再次反应(例如,60min)。

[1368] 方法:SPPS\_L

[1369] 使用相对于树脂负载(例如低负载Fmoc-Lys(Mtt)-Wang树脂(0.35mmol/g))六倍过量的Fmoc-氨基酸(在含有300mM HOAt或Oxyma **Pure**®的NMP中300mM),以250- $\mu$ mol或100- $\mu$ mol的规模在来自CEM Corp.(Matthews,NC 28106,U.S.A.)的基于微波的Liberty肽合成仪上进行SPPS\_L。在最高75℃下使用在NMP中的5%哌啶进行Fmoc脱保护30秒,之后将树脂排干并用NMP洗涤,并且这次在75℃下重复Fmoc脱保护2分钟。使用在NMP中的1:1:1的氨基酸/(HOAt或Oxyma **Pure**®)/DIC进行偶联。偶联时间和温度通常为在最高75℃下5分钟。对于更大规模的反应,使用更长的偶联时间,例如10min。如果之前的氨基酸空间受阻(例如,Aib),则将组氨酸氨基酸在50℃下双偶联,或四重偶联。将精氨酸氨基酸在RT下偶联25分钟,随后加热至75℃持续5min。对诸如但不限于Aib的一些氨基酸进行“双偶联”,意思是在第一次偶联(例如,在75℃下5min)后,将树脂排干并添加更多试剂(氨基酸、(HOAt或Oxyma **Pure**®)和DIC),并且将混合物再次加热(例如,在75℃下5min)。在脱保护与偶联步骤之间进行NMP洗涤(5 $\times$ 10ml)。

[1370] 2.白蛋白结合物(侧链)的合成

[1371] 二十烷二酸单叔丁酯可以如本领域所知制备。关于方法,请参见W0 2010102886A1。

[1372] 16-磺基-十六烷酸可以如下制备:

[1373] 将16-十六内酯(150g,589mmol)溶解在MeOH(2500mL)中,并加入甲苯-4-磺酸(13.5g,71.0mmol)。将反应混合物加热至回流16hr。冷却后加入碳酸氢钠(8.40g,112mmol),并将反应混合物搅拌15分钟。蒸发溶剂,加入乙酸乙酯(2000mL),并用水(400mL)、10%碳酸氢钠溶液(2 $\times$ 400mL)和盐水(200mL)萃取该混合物。用无水MgSO<sub>4</sub>干燥、过滤并蒸发溶剂后,获得粗产物。将其从己烷(1500mL)中重结晶。过滤后,获得呈白色固体的16-羟基十六烷酸甲酯。

[1374] 产率:161.0g(96%)。

[1375] 将以上制备的酯溶解在DCM(1200mL)中。加入三乙胺(118mL,847.8mmol),将反应混合物冷却至0℃,并在10分钟内缓慢加入甲磺酰氯(55mL)。一小时后,使反应混合物升温

至室温,并搅拌过夜。16hr后加水(20mL),并搅拌该混合物30分钟。蒸发溶剂,加入乙酸乙酯(1600mL),并用1M HCl(2×600mL)、5%碳酸钠溶液(2×400mL)和水(400mL)萃取该混合物。用无水MgSO<sub>4</sub>干燥、过滤并蒸发溶剂后,获得呈白色固体的16-甲磺酰基十六烷酸甲酯。

[1376] 产率:205.1g(100%)。

[1377] 将以上制备的甲磺酸酯溶解在乙醇(2000mL)中,加入硫脲(81.0g,1.068mol)和NaI(92.2g,0.616mmol),并使反应混合物回流两天。冷却后蒸发溶剂并加入NaOH(184g)水(1600mL)溶液。将所得悬浮液加热2hr至回流,并倾倒入10%HCl(2000mL)中。15分钟后加入另一份浓HCl(120mL)。将白色沉淀物过滤,用水洗涤,干燥,并与甲苯一起蒸发数次。获得呈白色固体的16-巯基十六烷酸。

[1378] 产率:165.1g(100%)。

[1379] 将16-巯基十六烷酸(165.1g,0.572mmol)溶解在DCM(1600mL)中并加入2N HCl(800mL)。缓慢加入溴(200mL),形成第一白色沉淀物,该沉淀物在加入全部体积的溴后已经溶解。将混合物在室温下搅拌3小时。蒸发DCM和溴,加入三份DCM(3×500mL)并蒸发,以除去其余的溴。加入2M NaOH直到棕色消失,并将反应混合物加热至回流1小时。加入浓HCl至酸性pH,过滤出沉淀物,离心并用水倾析六次。获得呈白色固体的标题产物。

[1380] 产率:151.6g(74%)。

[1381] <sup>1</sup>H NMR谱(300MHz,DMSO,δ<sub>H</sub>):11.97(bs,1H);2.39(m,2H);2.18(t,J=7.3Hz,2H);1.49(m,4H);1.23(m,22H)。

### [1382] 3.侧链与树脂结合的经保护的肽骨架的附接

[1383] 当赖氨酸侧链上存在酰化时,根据延长部分和连接体附接的途径,将待酰化的赖氨酸的ε氨基用Mtt、Mmt、Dde、ivDde或Boc保护。用在NMP中的2%胍(2×20ml,每次10min)进行Dde-或ivDde-脱保护,随后是NMP洗涤(4×20ml)。用在DCM中的2%TFA和2-3%TIS(5×20ml,每次10min)进行Mtt-或Mmt-脱保护,随后是DCM(2×20ml)、在DCM中的10%MeOH和5%DIPEA(2×20ml)以及NMP(4×20ml)洗涤,或通过用六氟异丙醇/DCM(75:25,5×20ml,每次10min)处理,随后如上洗涤。在一些情况下,通过Liberty肽合成仪上的自动化步骤去除Mtt基团。通过用六氟异丙醇或六氟异丙醇/DCM(75:25)在室温下30分钟进行Mtt脱保护,随后用DCM(7ml×5)洗涤,接着用5%哌啶(7ml×5)洗涤及NMP洗涤。可通过树脂结合的肽的酰化或通过未保护的肽的溶液中的酰化,使延长部分和/或连接体附接至该肽。在延长部分和/或连接体与经保护的肽基树脂附接的情况下,通过使用SPPS和适当保护的构件,该附接可以是模块化的。

[1384] 方法:SC\_P

[1385] 如上所述去除N-ε-赖氨酸保护基团,并使用如上所述的适当保护的构件,通过Prelude肽合成仪上的一个或多个自动化步骤进行赖氨酸的化学修饰。如SPPS\_P中所述进行双偶联,每次偶联3小时。

[1386] 方法:SC\_L

[1387] 如上所述去除N-ε-赖氨酸保护基团,并使用如上所述的适当保护的构件,通过Liberty肽合成仪上的一个或多个自动化步骤进行赖氨酸的化学修饰。如SPPS\_L中所述进行双偶联。

[1388] 方法:SC\_M\_1



[1389] 如上所述去除N-ε-赖氨酸保护基团,并使用如上所述的适当保护的构件,通过一个或多个手动步骤进行赖氨酸的化学修饰。使用相对于树脂负载四或六倍过量的Fmoc-氨基酸(在含有300mM HOAt、Oxyma **Pure**®的NMP中300mM),以500-μmol的规模进行SC\_M\_1。在室温下使用在NMP中的20%哌啶进行Fmoc脱保护5分钟,之后将树脂排干并用NMP洗涤,并且这次在室温下重复Fmoc脱保护15分钟。在NMP中使用1:1:1氨基酸/Oxyma **Pure**®/DIC进行偶联。偶联时间通常为在室温下60分钟。对一些构件进行双偶联,意思是在第一次偶联后(例如,60min),将树脂排干并添加更多试剂(氨基酸、(HOAt或Oxyma **Pure**®)、DIC和可力丁),并使混合物再次反应(例如,60min)。

[1390] 方法:SC\_M\_2

[1391] Fmoc-L-半胱氨酸的偶联以250μmol或500-μmol的规模进行,其中使用三至四倍过量的溶解于DMF中的上述酸,并将该溶液与溶解于DMF中的PyBOP混合5分钟(在NMP中300mM,其含有DMF中的300mM PyBOP)。将该溶液添加至树脂中,随后添加DIPEA(酸/PyBOP/DIPEA (1:1:4))。将树脂振摇2小时。进行双偶联。

[1392] 方法:SC\_M\_3

[1393] 16-磺基-十六烷酸的偶联以250-μmol或500-μmol的规模进行,其中使用三至四倍过量的溶解于沸腾DMF中的该酸,随后缓慢冷却至50℃,并添加溶解于DMF中的PyBOP(在含有300mM PyBOP的DMF中40mM),之后将该溶液添加至树脂中。缓慢加入DIPEA(酸/PyBOP/DIPEA (1:1:4))。将树脂振摇2小时。进行双偶联或三偶联。

[1394] 4. 附接有或没有侧链的树脂结合肽的切割和纯化

[1395] 方法:CP\_M1

[1396] 合成后,用DCM洗涤树脂,并通过用TFA/TIS/水(95/2.5/2.5或92.5/5/2.5)处理2-3小时从树脂上切下肽,随后用二乙醚沉淀。将肽溶解于合适的溶剂(例如,30%乙酸)中,并使用乙腈/水/TFA,在C18, 5μm柱上通过标准RP-HPLC进行纯化。通过UPLC、MALDI和LCMS方法的组合分析级分,并将合适的级分合并,并冻干。

[1397] 如果需要,可利用本领域已知的方法将肽的抗衡离子交换为钠。作为一个实例,将大约2g肽溶解在250ml乙腈/水(50/50)中,并加载到制备型RP-HPLC系统上的Waters X-Bridge C8, 5μm, 50×250mm柱上。加样后,以60ml/min的流速用水洗柱8min,并以60ml/min的流速用0.01N NaOH pH 11洗柱2×8min。该肽的钠盐用60ml/min的等度水流洗脱10min,随后用5%至85%乙腈的线性梯度洗脱30min。

[1398] A2. 用于检测和表征的一般方法

[1399] 1. LC-MS方法

[1400] 方法:LCMS01

[1401] 在由Waters Acquity UPLC系统和来自Micromass的LCT Premier XE质谱仪组成的装置上进行LCMS01。洗脱液:A:在水中的0.1%甲酸;B:在乙腈中的0.1%甲酸。通过将适当体积的样品(优选2-10μl)注射到柱上并用A和B的梯度洗脱,在RT下进行该分析。UPLC条件、检测器设置和质谱仪设置为:柱:Waters Acquity UPLC BEH, C-18, 1.7μm, 2.1mm×50mm。梯度:在4.0min(备选8.0min)期间的线性5%-95%乙腈, 0.4ml/min。检测:214nm(来自TUV(可调谐的UV检测器)的模拟输出)MS电离模式:API-ES。扫描:100-2000amu(备选500-



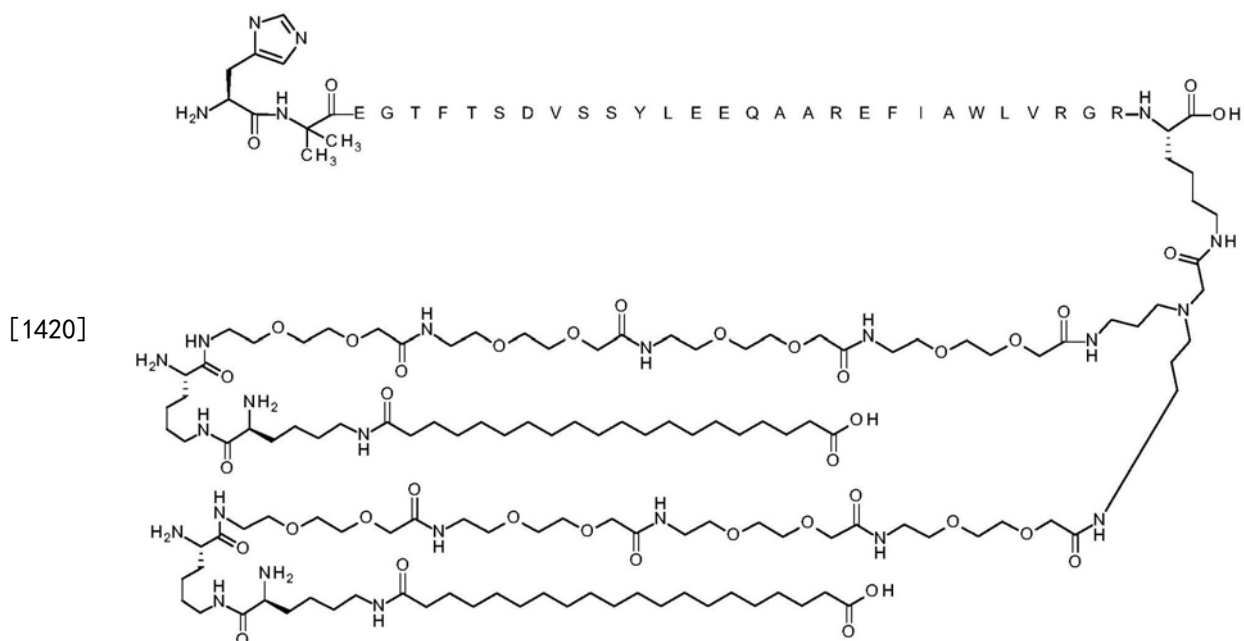


[1415] LCMS01:RT=2.07min,m/z:1587[M+4H]<sup>4+</sup>,1270[M+5H]<sup>5+</sup>

[1417] N{ε-37} - [2-[双[3-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ (2S)-2-氨基

[1418] -6-[[ (2S) -2-氨基-6- (19-羧基十九酰基氨基) 己酰基]氨基]己酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]丙基]氨基]乙酰基]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]-GLP-1- (7-37) -肽

[1419] 化学式22:



[1421] 该肽具有SEQ ID NO:2

[1422] 合成方法: SPPS L; SC L; SC M 3; CP M1

[1423] UPLC02:RT=8.80min

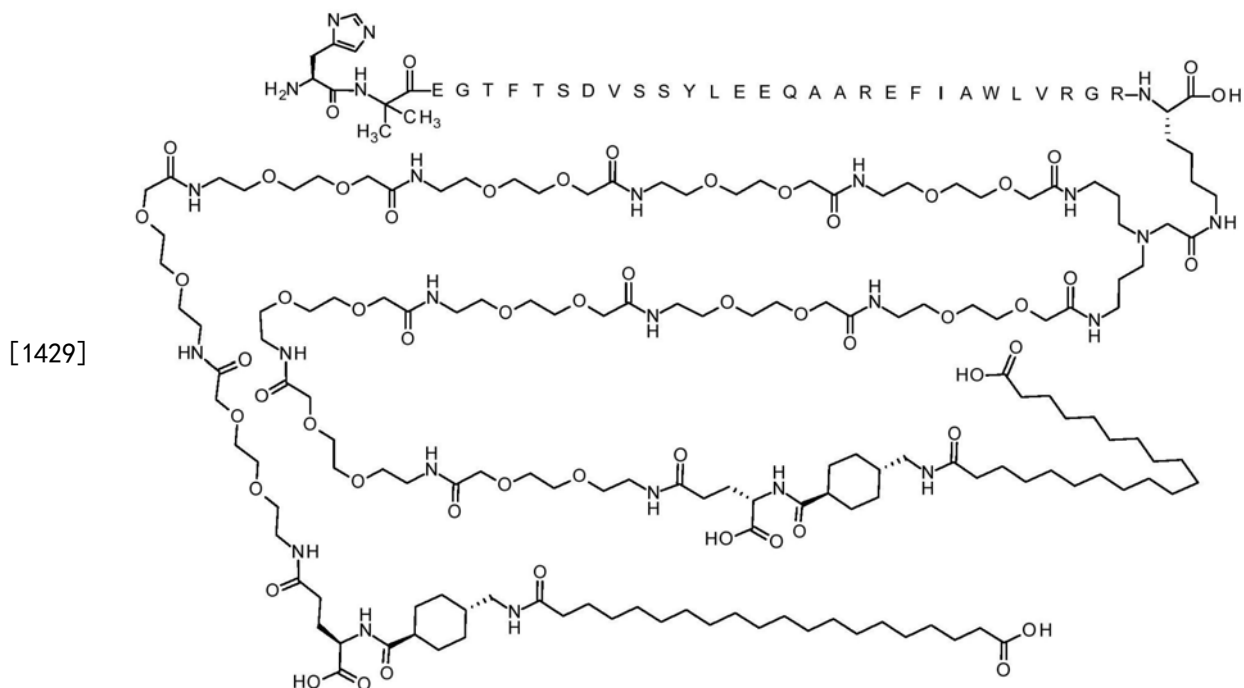
[1424] LCMS01:RT=2.11min,m/z:1517[M+4H]<sup>4+</sup>,1213[M+5H]<sup>5+</sup>

[1425] 实施例3

[1426]  $N\{\varepsilon-37\} - [2 - [\text{双}$

[1427] [3-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-[[4-[(19-羧基十九酰基氨基)甲基]环己烷羰基]氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]丙基]氨基]乙酰基]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-肽

[1428] 化学式23:



[1430] 该肽具有SEQ ID NO:2

[1431] 合成方法: SPPS P; SC P; CP M1

[1432] UPLC02:RT=10.5min

[1433] LCMS01:RT=2.6min,m/z:1668[M+4]<sup>4+</sup>,1335[M+5H]<sup>5+</sup>,1112[M+6H]<sup>6+</sup>

[1434] 实施例4

[1435] N{ε-37} - [2- [3- [[2- [2- [2- [[2- [2- [2- [[2- [2- [2- [[2- [2- [2- [[ (2S) -2-氨基

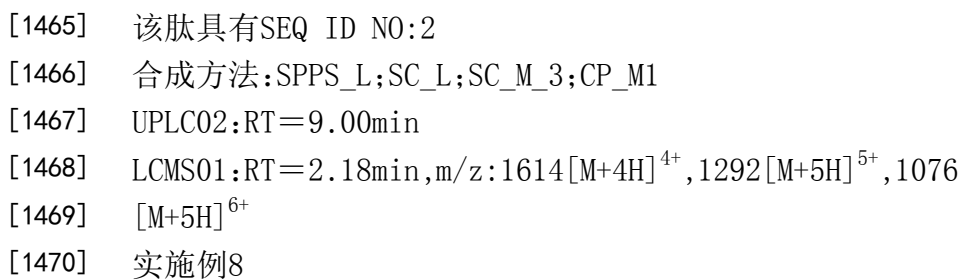
[1436] -6-[[ (2S) -2-氨基-6- (19-羧基十九酰基氨基) 己酰基]氨基]己酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]丙基

[1437] -[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(2S)-2-氨基-6-[[2S]-2-氨基-6-(19-羧基十九酰基氨基)己酰基]氨基]己酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]丙基]氨基]乙酰基]-[Imp7,Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-肽

[1438] 化学式24:







[1471] N{ε-37}-[2-[双[3-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(2S)-2-氨基  
[1472] -6-[[ (2S)-2-氨基-6-(19-羧基十九酰基氨基)己酰基]氨基]己酰基]氨基]乙氧  
基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧  
基]丙酰基氨基]丙基]氨基]乙酰基]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-  
肽

[1474]

Chemical structure of a macrocyclic peptide with a long poly(ethylene glycol) (PEG) linker. The structure shows a repeating unit of a peptide chain, including a long aliphatic chain, an amide bond, and a side chain containing a pyridine ring and a methyl group. The PEG linker is represented by a long chain of oxygen atoms connected by methylene groups.

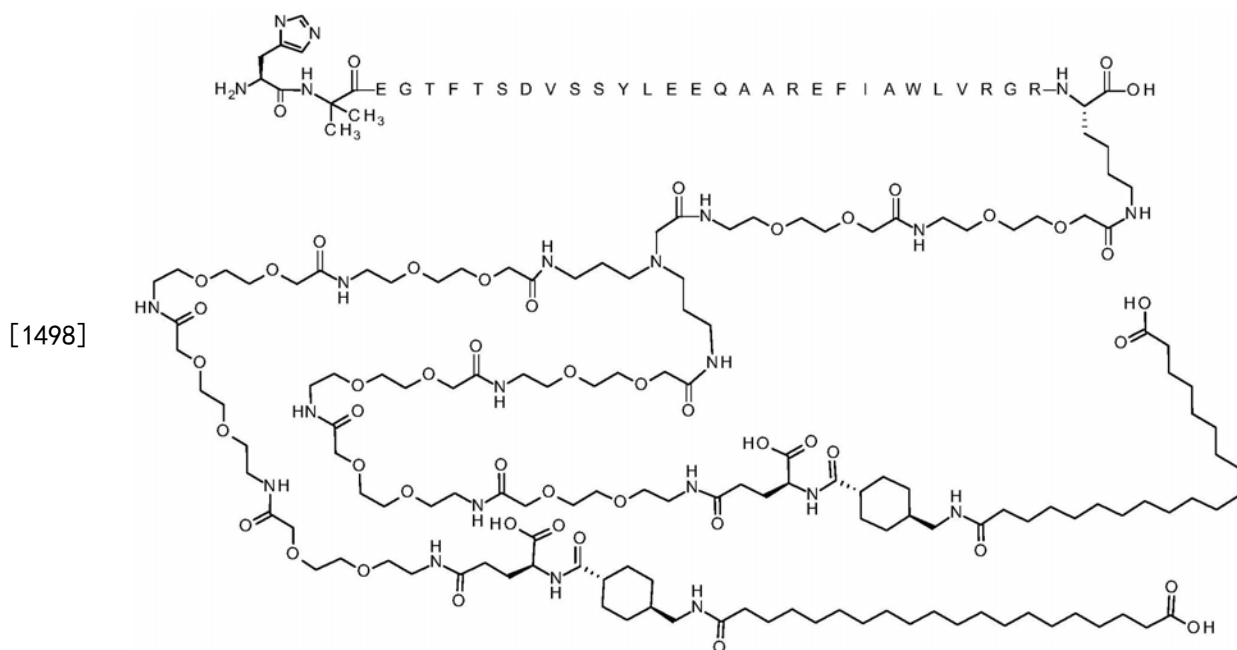
[1475] 该肽具有SEQ ID NO:2  
[1476] 合成方法:SPPS\_L;SC\_L;SC\_M\_3;CP\_M1  
[1477] UPLC02:RT=9.00min  
[1478] LCMS01:RT=2.19min,m/z:1526[M+4H]<sup>4+</sup>,1221[M+5H]<sup>5+</sup>  
[1479] 实施例9







[1497] 化学式31



[1499] 该肽具有SEQ ID NO:2

[1500] 合成方法: SPPS P; SC P; CP M1

[1501] UPLC02:RT=10.7min

[1502] LCMS01:RT=2.9min,m/z:1277[M+5H]<sup>5+</sup>,1064[M+6H]<sup>6+</sup>,912

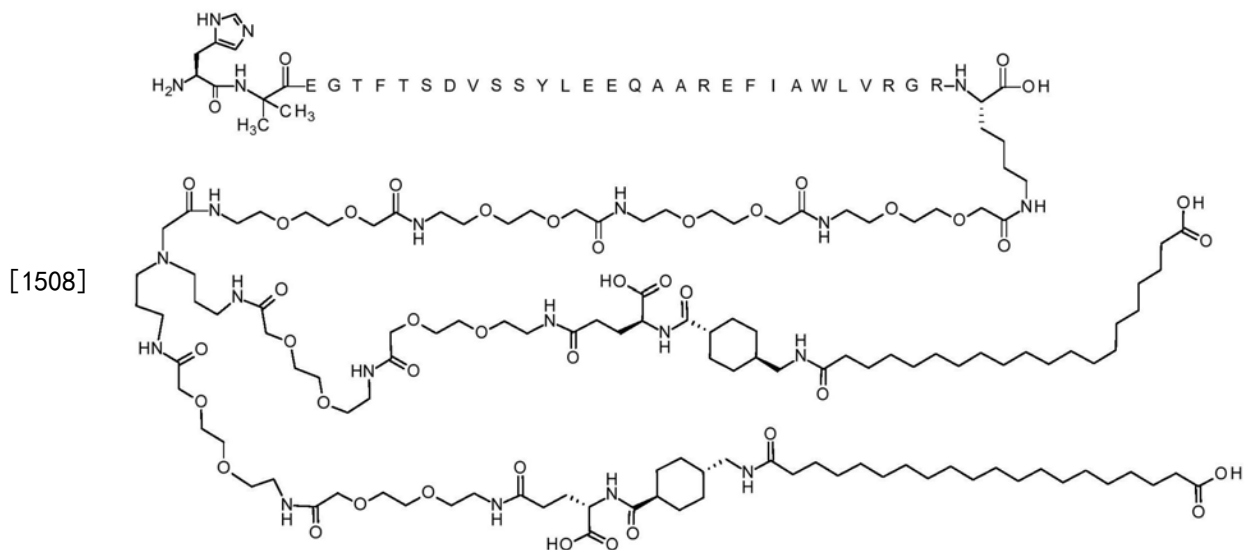
[1503]  $[M+7H]^{7+}$

[1504] 实施例12

[1505]    N<sup>{ε-37}</sup>-[2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [2-[双

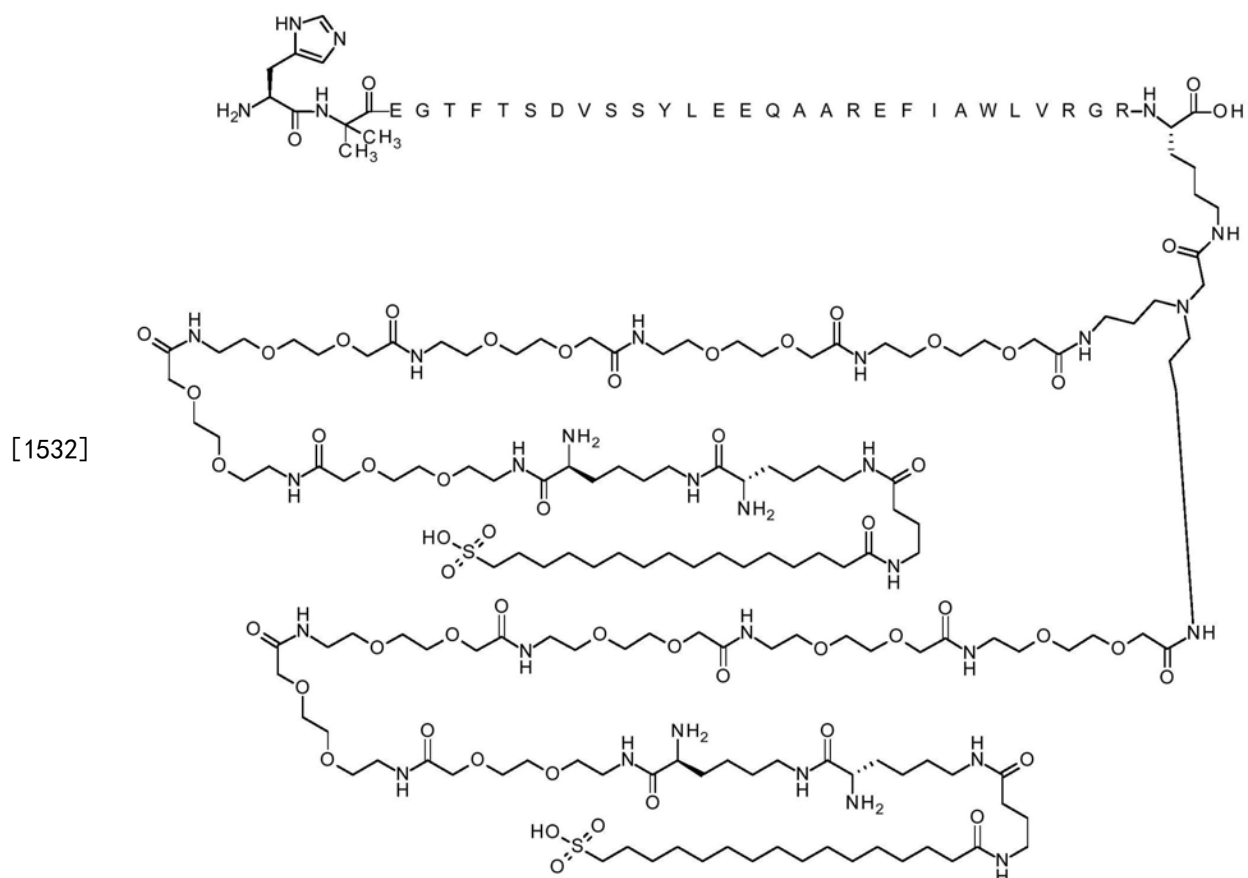
[1506] [3-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-[[4-[(19-羧基十九酰基氨基)甲基]环己烷羰基]氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]丙基]氨基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-肽

[1507] 化学式32:









[1533] 该肽具有SEQ ID NO:2

[1534] 合成方法:SPPS\_L;SC\_P;SC\_M\_3;CP\_M1

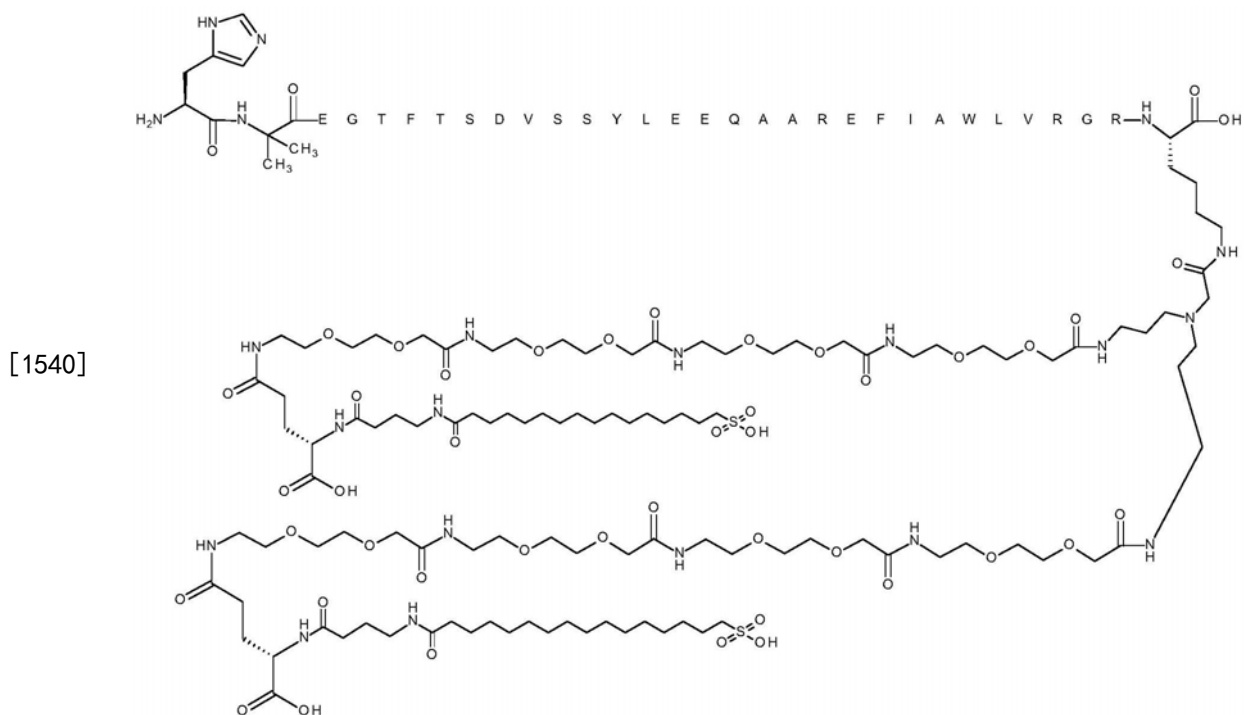
[1535] UPLC02:RT=7.11min

[1536] LCMS01:RT=1.77min,m/z:1361 [M+5H]<sup>5+</sup>,1134 [M+6H]<sup>6+</sup>,973 [M+7H]<sup>7+</sup>

[1537] 实施例16

[1538] N{ε-37}-[2-[双[3-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-羧基-4-[4-(16-磺基十六酰基氨基)丁酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]丙基]氨基]乙酰基]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-肽

[1539] 化学式36:



[1541] 该肽具有SEQ ID NO:2

[1542] 合成方法: SPPS L; SC L; SC M 3; CP M1

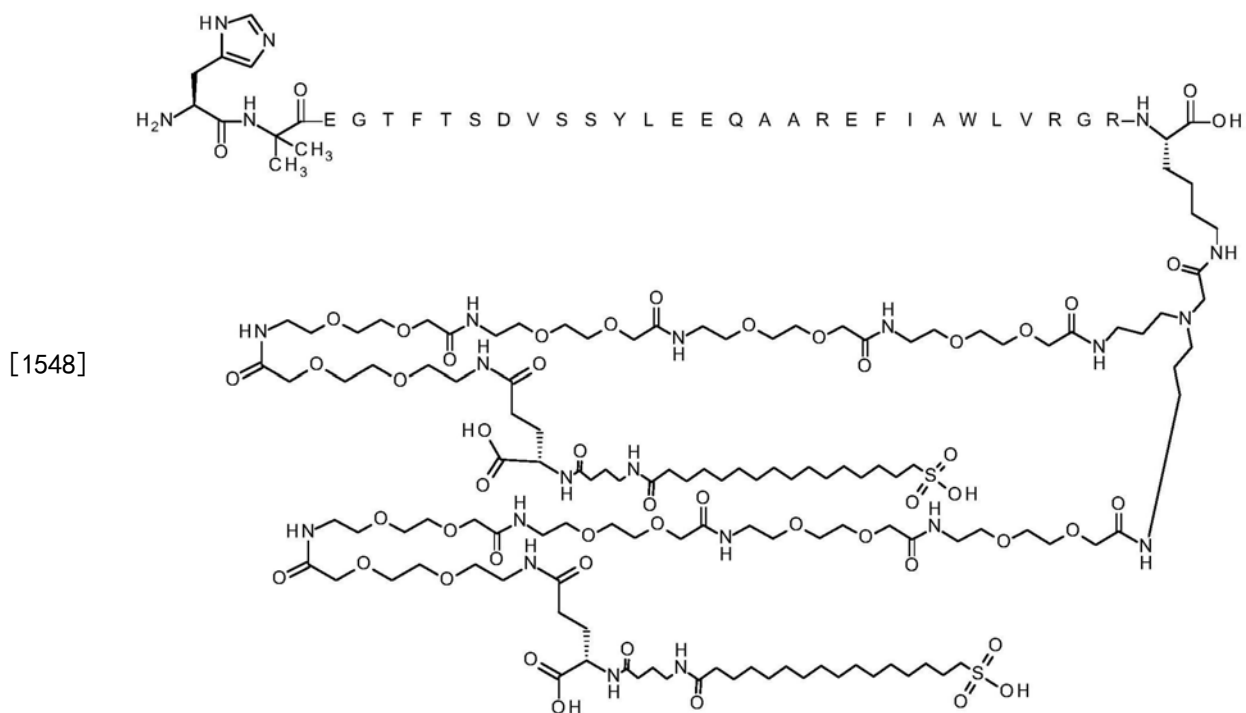
[1543] UPLC02:RT=8.24min

[1544] LCMS01:RT=2.01min,m/z:1493[M+4H]<sup>4+</sup>,1194[M+5H]<sup>5+</sup>

[1545] 实施例17

[1546] N{ε-37}-[2-[双[3-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [(4S)-4-羧基-4-[4-(16-磺基十六酰基氨基)丁酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]丙基]氨基]乙酰基]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-肽

[1547] 化学式37:



[1549] 该肽具有SEQ ID NO:2

[1550] 合成方法: SPPS L; SC P; SC M 3; CP M1

[1551] UPLC02:RT=7.8min

[1552] LCMS01:RT=2.27min,m/z:1565[M+4H]<sup>4+</sup>,1252[M+5H]<sup>5+</sup>

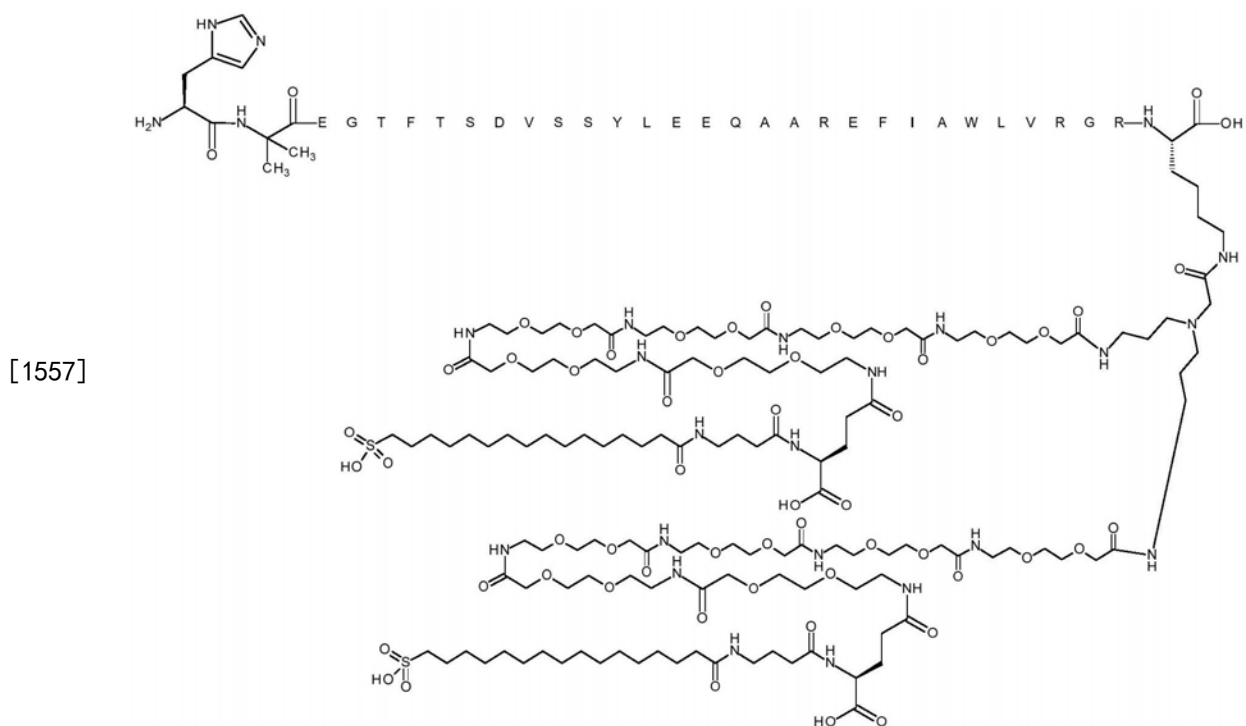
[1553] 实施例18

[1554]  $N\{\varepsilon-37\} - [2 - [\text{双}$

[1555] [3-[[[2-[2-[2-[[[2-[2-[2-[[[2-[2-[2-[[[2-[2-[2-[[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-羧基-4-[4-(16-磺基十六酰基氨基)丁酰基氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]丙基]氨基]乙酰基]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-肽

[1556] 化学式38:





该肽具有SEQ ID NO:2

[1558] 合成方法: SPPS L; SC P; SC M 3; CP M1

[1559] UPLC02:RT=7.74min

[1560] LCMS01:RT=2.24min,m/z:1638[M+4H]<sup>4+</sup>,1310[M+5H]<sup>5+</sup>

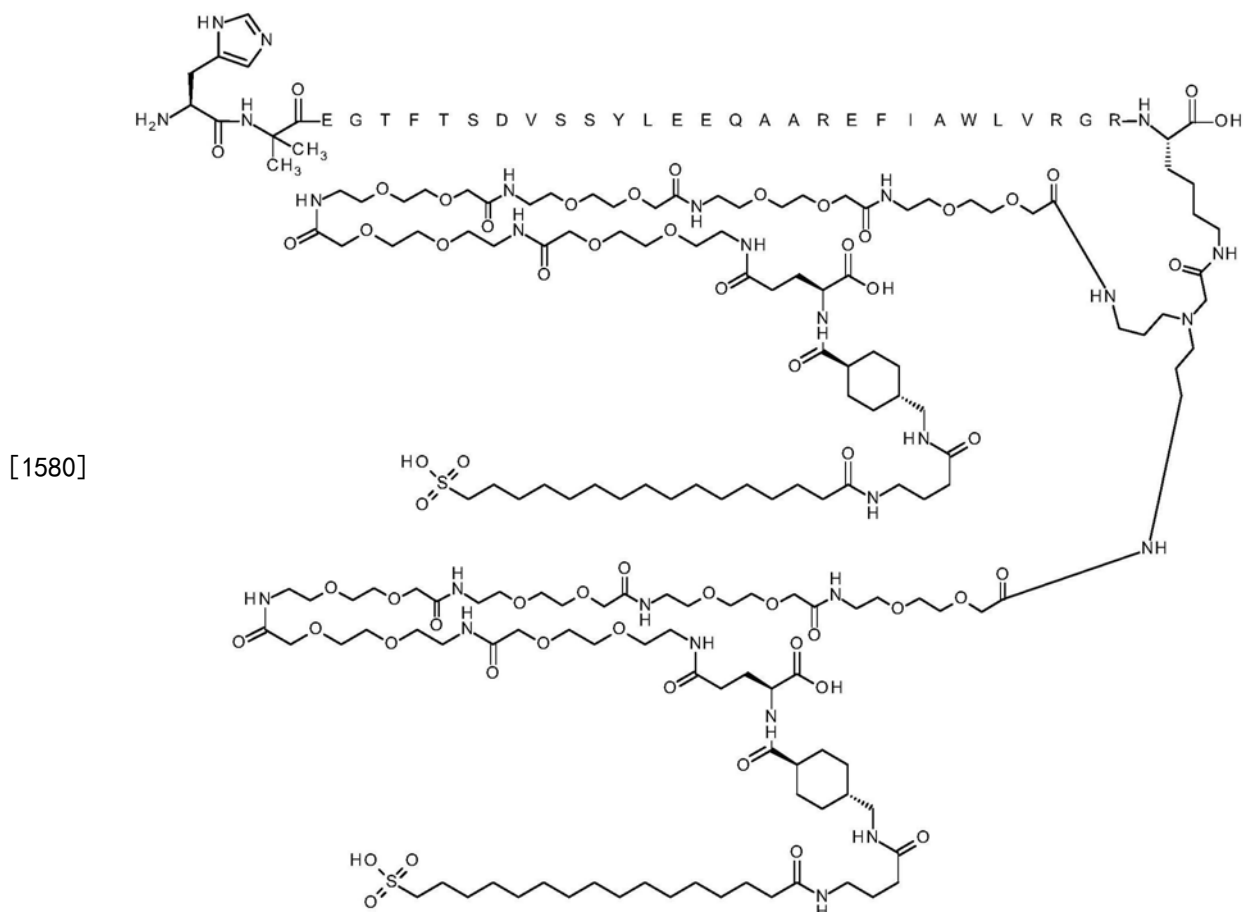
[1561] 实施例19

[1562] N{ε-37}-[2-[双[3-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [(4S)-4-羧基-4-[ [4-[ [4-(16-磺基十六酰基氨基)丁酰基氨基]甲基]环己烷羰基]氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]丙基]氨基]乙酰基]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-肽

[1563] 化学式39:







[1581] 该肽具有SEQ ID NO:2

[1582] 合成方法: SPPS L; SC P; SC M 3; CP M1

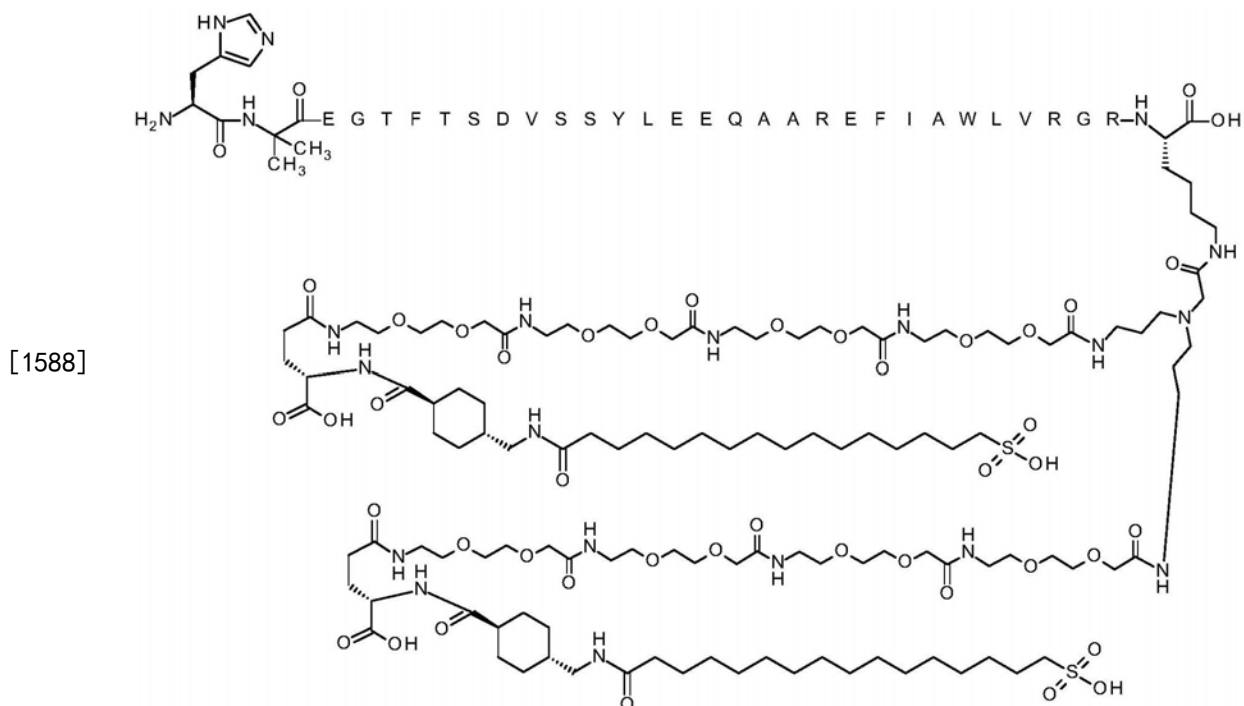
[1583] UPLC02:RT=7.76min

[1584] LCMS27:RT=3.4min,m/z:2276[M+3H]<sup>3+</sup>,1707[M+4H]<sup>4+</sup>,1366[M+5H]<sup>5+</sup>

[1585] 实施例22

[1586] N{ε-37}-[2-[双[3-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [(4S)-4-羧基-4-[ [4-[ (16-磺基十六酰基氨基)甲基]环己烷羰基]氨基]丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]丙基]氨基]乙酰基]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-肽

[1587] 化学式42:



[1589] 该肽具有SEQ ID NO:2

[1590] 合成方法: SPPS L; SC P; SC M 3; CP M1

[1591] UPLC02:RT=8.77min

[1592] LCMS29:RT=3.55min,m/z:2025[M+3H]<sup>3+</sup>,1519[M+4H]<sup>4+</sup>,1215[M+5H]<sup>5+</sup>

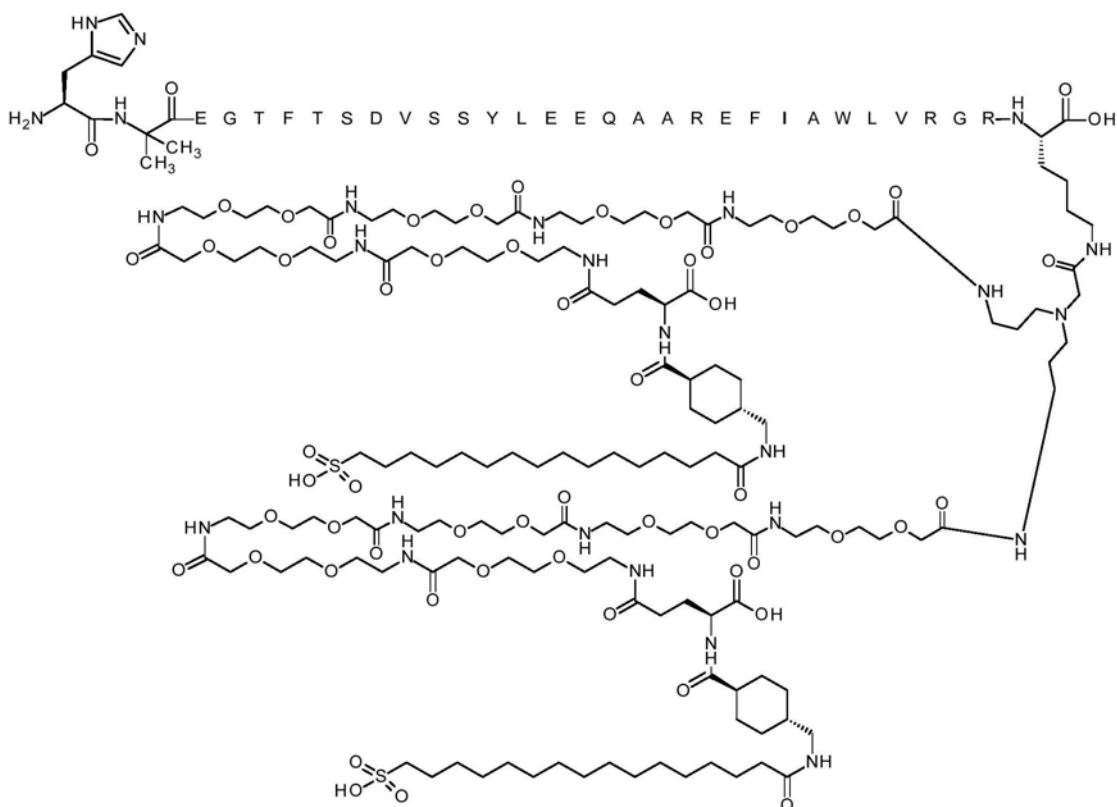
[1593] 实施例23

[1594] N{ε-37} - [2-[双[3-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[ [2-[2-[2-[  
[[ (4S) -4-羧基-4-[ [4-[ (16-磺基十六酰基氨基) 甲基] 环己烷羰基] 氨基] 丁酰基] 氨基] 乙  
氧基] 乙氧基] 乙酰基] 氨基] 乙氧基] 乙氧基] 乙酰基] 氨基] 乙氧基] 乙氧基] 乙酰基] 氨基]  
乙氧基] 乙氧基] 乙酰基] 氨基] 乙氧基] 乙氧基] 乙酰基] 氨基] 丙基] 氨基] 乙酰基] - [Aib8,  
Glu22, Arg26, Arg34, Lys37] - GLP-1 - (7-37) - 肽

[1595] 化学式43:



[1603] 化学式44:



[1605] 该肽具有SEQ ID NO:2

[1606] 合成方法: SPPS L; SC P; SC M 3; CP M1

[1607] UPLC02:RT=8.62min

[1608] LCMS27:RT=3.4min,m/z:2219[M+3H]<sup>3+</sup>,1664[M+4H]<sup>4+</sup>,1332[M+5H]<sup>5+</sup>

[1609] 实施例25

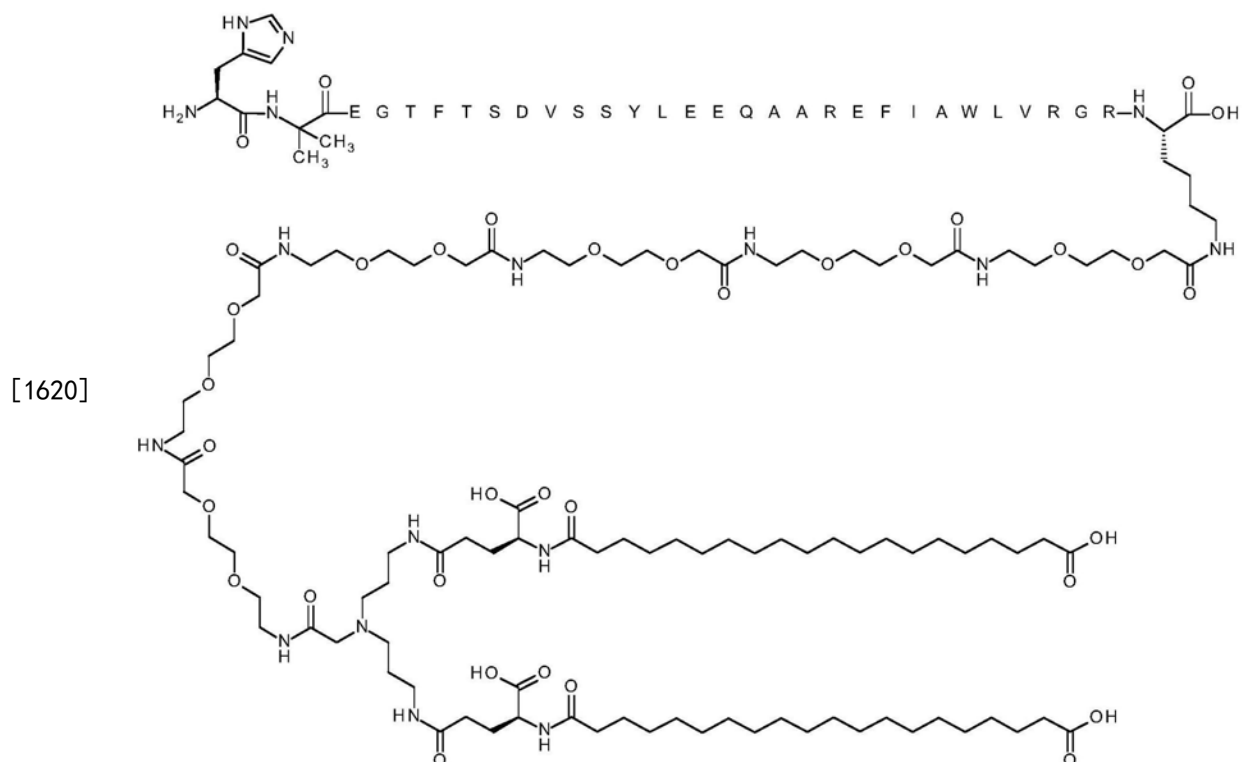
[illegible]

[1611] 化学式45:



[1619] 化学式46:





该肽具有SEQ ID NO:2

[1621] 合成方法: SPPS P; SC P; CP M1

[1622] UPLC02:RT=11.41min

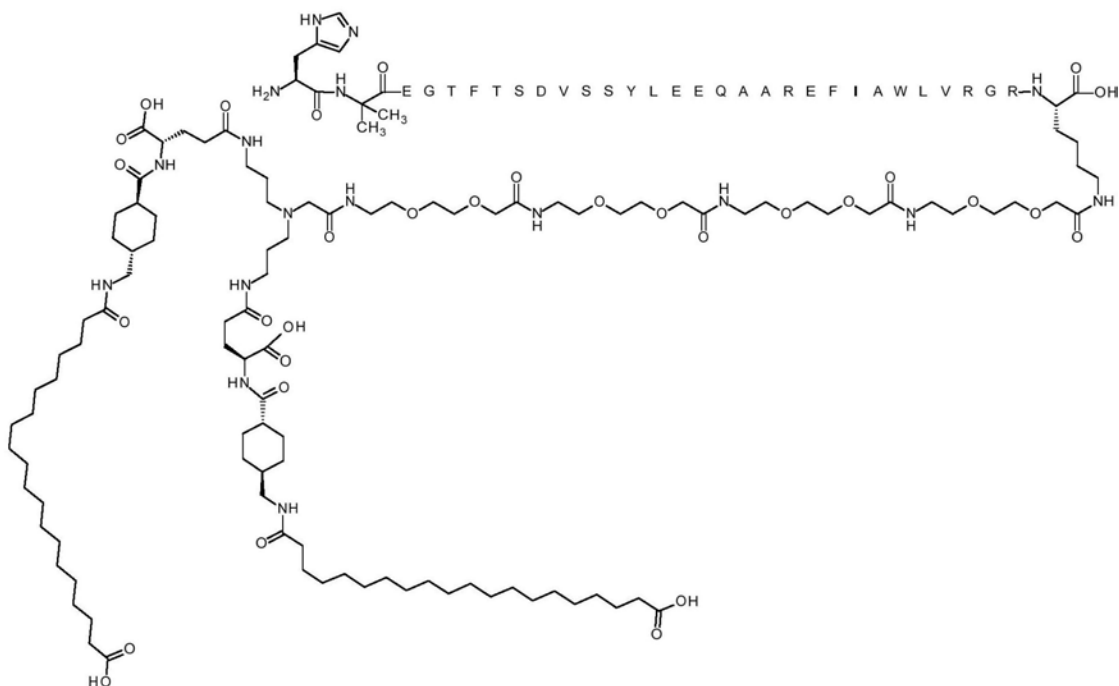
[1623] LCMS01:RT=2.34min,m/z:1381 [M+4H]<sup>4+</sup>,1105 [M+5H]<sup>5+</sup>

[1624] 实施例27

[1625] N{ε-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[双[3-[(4S)-4-羧基-4-[4-[4-(19-羧基十九酰基氨基)甲基]环己烷羰基]氨基]丁酰基]氨基]丙基]氨基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]-GLP-1-(7-37)-肽

[1626] 化学式47:

[1627]



该肽具有SEQ ID NO:2

[1628] 合成方法:SPPS\_P;SC\_P;CP\_M1

[1629] UPLC02:RT=12.1min

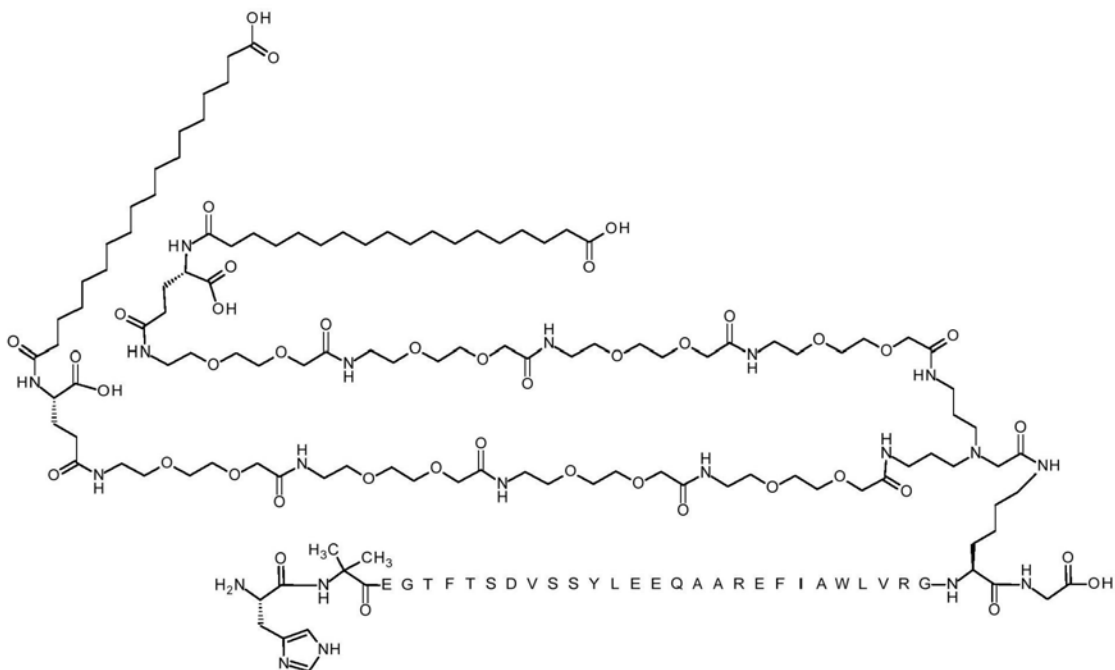
[1630] LCMS01:RT=2.57min,m/z:1836[M+3H]<sup>3+</sup>,1378[M+4H]<sup>4+</sup>,1102[M+5H]<sup>5+</sup>

[1631] 实施例28

[1632] N{ε-36}-[2-[双[3-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-(17-羧基十七酰基氨基)丁酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]丙基]氨基]乙酰基]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36]-GLP-1-(7-37)-肽

[1633] 化学式48:

[1634]







[1656] 化学式51:







[1686] UPLC02v01:Rt=12.9min

[1687] LCMS01v01:Rt=2.9;m/3=1494;m/4=1121

[1688] 药理学方法

[1689] 实施例33:体外效力

[1690] 本实施例的目的在于测试GLP-1衍生物的体外活性或效力。体外效力是全细胞试验中人GLP-1受体激活的量度。

[1691] 如下所述测定实施例1-32和比较实施例1-2的GLP-1衍生物的效力。也包括司美鲁肽以供比较。

[1692] 原理

[1693] 通过在报告基因试验中测量人GLP-1受体的应答来确定体外效力。在表达人GLP-1受体并含有与启动子偶联的cAMP响应元件(CRE)DNA以及萤火虫萤光素酶(CRE萤光素酶)基因的稳定转染的BHK细胞系中进行该试验。当人GLP-1受体被激活时,其导致cAMP的产生,这进而导致萤光素酶蛋白质得到表达。当试验温育完成时,添加萤光素酶底物(萤光素),并且该酶将萤光素转化成氧化萤光素从而产生生物发光。测量该发光作为该试验的读出。

[1694] 细胞培养和制备

[1695] 该试验中使用的细胞(克隆FCW467-12A/KZ10-1)是以BHKTS13作为亲本细胞系的BHK细胞。该细胞来源于表达人GLP-1受体的克隆(FCW467-12A),并且是通过用CRE萤光素酶进一步转染而建立的,从而获得本克隆。

[1696] 将细胞在细胞培养基中在5%CO<sub>2</sub>下培养。将细胞等分并储存在液氮中。在每次测定前取出等份,并在PBS中洗涤两次,之后以所需浓度悬浮在测定特异性缓冲液中。对于96孔板,制备悬浮液以得到 $5 \times 10^3$ 个细胞/孔的终浓度。

[1697] 材料

[1698] 在该试验中使用了以下化学物质:Pluronic F-68(10%)(Gibco2404)、人血清白蛋白(HSA)(Sigma A9511)、卵白蛋白(Sigma A5503)、不含酚红的DMEM(Gibco 11880-028)、1M HEPES(Gibco 15630)、Glutamax 100×(Gibco 35050)和steady-lite plus(PerkinElmer 6016757)。

[1699] 缓冲液

[1700] 细胞培养基由含有10%FBS(胎牛血清;Invitrogen 16140-071)的DMEM培养基、1mg/ml G418(Invitrogen 15140-122)、240nM MTX(氨甲蝶呤;Sigma M9929)以及1%pen/strep(青霉素/链霉素;Invitrogen15140-122)组成。

[1701] 测定培养基由不含酚红的DMEM、10mM HEPES和1×Glutamax组成。测定缓冲液由在测定培养基中的2%卵白蛋白和0.2%Pluronic F-68组成。

[1702] 程序

[1703] 1) 将细胞储备液在37℃水浴中解冻。

[1704] 2) 将细胞在PBS中洗涤三次。

[1705] 3) 对细胞进行计数并在测定培养基中调节至 $5 \times 10^3$ 个细胞/50μl( $1 \times 10^5$ 个细胞/ml)。将50μl等份的细胞转移至测定板的每个孔中。

[1706] 4) 将测试化合物和参考化合物的储备液在测定缓冲液中稀释至0.2μM的浓度。将化合物稀释10倍以得到以下的浓度: $2 \times 10^{-7}$ M、 $2 \times 10^{-8}$ M、 $2 \times 10^{-9}$ M、 $2 \times 10^{-10}$ M、 $2 \times 10^{-11}$ M、 $2 \times$

$10^{-12}\text{M}$ 、 $2 \times 10^{-13}\text{M}$ 和 $2 \times 10^{-14}\text{M}$ 。

[1707] 5) 将50 $\mu\text{l}$ 等份的化合物或空白从稀释板转移至测定板。在下列终浓度下测试化合物： $1 \times 10^{-7}\text{M}$ 、 $1 \times 10^{-8}\text{M}$ 、 $1 \times 10^{-9}\text{M}$ 、 $1 \times 10^{-10}\text{M}$ 、 $1 \times 10^{-11}\text{M}$ 、 $1 \times 10^{-12}\text{M}$ 、 $1 \times 10^{-13}\text{M}$ 和 $1 \times 10^{-14}\text{M}$ 。

[1708] 6) 将测定板在5%  $\text{CO}_2$ 培养箱中于37 $^{\circ}\text{C}$ 温育3h。

[1709] 7) 将测定板从培养箱中取出并使其在室温下静置15min。

[1710] 8) 向测定板的每个孔中添加100 $\mu\text{l}$ 等份的steady liteplus试剂。

[1711] 9) 将每个测定板用铝箔覆盖以避光,并在室温下振荡30min。

[1712] 10) 在BioTek Synergy 2Multi-Mode Reader中读取每个测定板。

[1713] 计算和结果

[1714] 将来自BioTek Synergy 2Multi-Mode Reader的数据传输至GraphPad Prism软件。该软件进行非线性回归(log (激动剂) 相对于响应(三个参数))。用该软件计算并以pM为单位报告的 $\text{EC}_{50}$ 值在以下表1中示出。

[1715] 对每个样品最少测量两个重复品。所报告的 $\text{EC}_{50}$ 值为每种化合物的所有测量值的平均值。

[1716] 表1:体外效力

[1717]	实施例编号	$\text{EC}_{50}$ (pM)
	1	10
	2	14
	3	20
	4	12
	5	10
	6	7.2



[1718]	7	6.6
	8	10
	9	1.6
	10	15
	11	17
	12	20
	13	36
	14	6.3
	15	5.6
	16	1.7
	17	1.2
	18	1.3
	19	1.4
	20	1.6
	21	1.5
	22	1.6
	23	1.4
	24	1.8
	25	30
	26	13
	27	41
	28	4.3
	29	7.1
	30	16
	31	9.5
	32	13
	比较实施例 1	14
	比较实施例 2	16
	司美鲁肽	8.3

[1719] 所有化合物均得出证实它们是GLP-1受体激动剂的效力数据。

[1720] 实施例34:GLP-1受体结合

[1721] 本实施例的目的在于测试GLP-1衍生物的体外受体结合。受体结合是衍生物对人GLP-1受体的亲和性的量度。

[1722] 原理

[1723] 在竞争结合试验中测量实施例1-32和比较实施例1-2的GLP-1衍生物与人GLP-1受体的受体结合。在这种类型的试验中,使标记的配体(在这种情况下为<sup>125</sup>I-GLP-1)与受体结

合。将每种衍生物以一系列浓度添加至含有人GLP-1受体的隔离的膜中,并监测标记的配体的置换。该受体结合被报告为一半的标记配体从受体上被置换时的浓度—— $IC_{50}$ 值。包括司美鲁肽作为比较化合物。为了测试该衍生物与白蛋白的结合,在低浓度的血清白蛋白(HSA)(最高0.001%最终测定浓度)下以及在相当高浓度的血清白蛋白(HSA)(2.0%最终测定浓度)的存在下进行该试验。在血清白蛋白的存在下 $IC_{50}$ 值的升高表明对血清白蛋白的亲合性,并且代表了用于预测测试物质在动物模型中延长的药代动力学谱的方法。包括司美鲁肽以供比较。

#### [1724] 材料

[1725] 在该试验中使用以下化学物质:人血清白蛋白(HSA)(Sigma A1653)、不含酚红的DMEM(Gibco 11880-028)、Pen/strep(Invitrogen 15140-122)、G418(Invitrogen 10131-027)、1M Hepes(Gibco 15630)、EDTA(Invitrogen 15575-038)、PBS(Invitrogen 14190-094)、胎牛血清(Invitrogen 16140-071)、EGTA、 $MgCl_2$ (Merck 1.05832.1000)、吐温20(Amresco 0850C335)、SPA颗粒(麦胚凝集素(WGA) SPA珠子,Perkin Elmer RPNQ0001)、 $[^{125}I]$ -GLP-1-(7-36) $NH_2$ (内部生产的)、OptiPlate<sup>TM</sup>-96(Packard 6005290)。

[1726] 缓冲液1由20mM Na-HEPES外加10mM EDTA组成,并且pH被调节至7.4。缓冲液2由20mM Na-HEPES外加0.1mM EDTA组成,并且pH被调节至7.4。测定缓冲液由补充有5mM EGTA、5mM  $MgCl_2$ 、0.005%吐温20的50mM HEPES组成,并且pH被调节至7.4。8%白蛋白储备液由以8% (w/v) 溶解在测定缓冲液中的HSA组成。0.02%白蛋白储备液由以0.02% (w/v) 溶解在测定缓冲液中的HSA组成。

#### [1727] 细胞培养和膜制备

[1728] 该试验中使用的细胞(克隆FCW467-12A)是以BHKTS13作为亲本细胞系的BHK细胞。该细胞表达人GLP-1受体。

[1729] 使细胞在DMEM、10%胎牛血清、1% pen/strep(青霉素/链霉素)和1.0mg/ml选择标记G418中在5%  $CO_2$ 下生长。为制备膜制品,使细胞生长至约80%汇合。将细胞在磷酸盐缓冲盐水中洗涤两次并收获。使用短暂的离心使细胞沉淀,并将细胞沉淀物保存在冰上。将细胞沉淀物用ULTRA-THURAX<sup>TM</sup>分散仪器在适量的缓冲液1(例如,10ml)中均质化20-30秒。将匀浆离心15分钟。将沉淀物重悬(均质化)在10ml缓冲液2中并离心。再一次重复该步骤。将所得的沉淀物重悬于缓冲液2中,并测定蛋白质浓度。将膜等分并储存在-80℃下。

#### [1730] 程序

[1731] 1. 对于存在低HSA(0.005%)的受体结合试验,向测定板的每个孔中添加50 $\mu$ l的测定缓冲液。试验继续步骤3。

[1732] 2. 对于存在高HSA(2%)的受体结合试验,向测定板的每个孔中添加50 $\mu$ l的8%白蛋白储备液。试验继续步骤3。

[1733] 3. 对测试化合物进行系列稀释以得到以下浓度: $8 \times 10^{-7}M$ 、 $8 \times 10^{-8}M$ 、 $8 \times 10^{-9}M$ 、 $8 \times 10^{-10}M$ 、 $8 \times 10^{-11}M$ 、 $8 \times 10^{-12}M$ 和 $8 \times 10^{-13}M$ 。将25 $\mu$ l添加至测定板的适当孔中。

[1734] 4. 将细胞膜等份解冻并稀释至其工作浓度。向测定板的每个孔中添加50 $\mu$ l。

[1735] 5. 将WGA SPA珠子以20mg/ml悬浮于测定缓冲液中。在临添加至测定板之前,将该悬浮液在测定缓冲液中稀释至10mg/ml。向测定板的每个孔中添加50 $\mu$ l。

[1736] 6. 通过向测定板的每个孔中添加25 $\mu$ l的 $[^{125}I]$ -GLP-1-(7-36) $NH_2$ 的480pM溶液来

开始温育。保留25μl等份以用于测量总计数/孔。

[1737] 7.将测定板在30℃下温育2h。

[1738] 8.将测定板离心10min。

[1739] 9.在Packard TopCountNXT仪器中读取测定板。

[1740] 计算

[1741] 将来自TopCount仪器的数据传输至GraphPad Prism软件。利用非线性回归分析各个重复实验。用该软件计算IC<sub>50</sub>值并以nM为单位报告。所报告的值每种化合物的所有测量值的平均值。

[1742] 结果

[1743] 获得以下结果：

[1744] 表2:GLP-1受体结合

实施例编号	低 HSA IC <sub>50</sub> (nM)	高 HSA IC <sub>50</sub> (nM)
1	0.12	10
2	0.19	11
3	0.41	22
4	0.13	45
5	0.16	14
6	0.05	9.0
7	0.07	19
8	0.19	27
9	0.16	29
[1745] 10	0.31	30
11	0.35	33
12	0.51	25
13	0.74	18
14	0.04	14
15	0.05	3.4
16	0.10	3.3
17	0.16	3.2
18	0.18	5.7
19	0.15	42
20	0.14	3.7
21	0.13	16

[1746]	22	0.12	47
	23	0.14	16
	24	0.16	32
	25	0.91	41
	26	0.36	29
	27	0.66	21
	28	0.68	140
	29	1.1	110
	30	1.2	4.1
	31	0.33	7.2
	32	0.72	7.4
	比较实施例 1	0.27	0.13
	比较实施例 2	1.42	0.52
	司美鲁肽	0.60	420

[1747] 所有化合物均显示出在不存在白蛋白的情况下有极好的与GLP-1受体的结合。

[1748] 实施例35:小型猪中的药代动力学研究

[1749] 本研究的目的在于确定GLP-1衍生物在静脉内施用于小型猪后的体内延长性,即GLP-1衍生物在体内的时间的延长以及由此导致的其作用时间的延长。这在药代动力学(PK)研究中完成,其中测定了所讨论的衍生物的终末半衰期。终末半衰期是指在终末消除阶段使某个血浆浓度减半所花的时间。

[1750] 实施例3、6、9和比较实施例1和2的衍生物以5nmol/kg给药。实施例1、2、4、5、10、11、12、26和27的衍生物以2nmol/kg给药。包括司美鲁肽以供比较(以1.5nmol/kg给药)。

[1751] 在本研究中使用从Ellegaard **Göttingen** Minipigs (Dalmose, Denmark) 获得的约7-14个月龄且重约16-35kg的雄性**Göttingen**小型猪。将小型猪单独地(具有永久导管的猪)或成组地圈养,并限制性地每日一次或两次饲以SDS小型猪饮食(Special Diets Services, Essex, UK)。

[1752] 在至少2周的适应后,将两个永久中心静脉导管植入每只动物的尾侧或颅侧腔静脉中。使动物在手术后恢复1周,然后用于重复的药代动力学研究,其中在连续GLP-1衍生物给药之间具有适当的洗脱期。

[1753] 将实施例3、10、11、12和27的GLP-1衍生物溶解在50mM磷酸钠、70mM氯化钠、0.05%聚山梨醇酯20, pH 7.4中,以达到20-40nmol/ml的浓度;将实施例1、2、4、5、6、9和比较实施例1和2的衍生物溶解在2mM乙酸钠、250mM甘油和0.025%聚山梨醇酯20, pH 4.0中, -均达到通常为20-60nmol/ml的浓度。将实施例26的衍生物溶解在8mM磷酸盐、184mM丙二醇, pH 7.8中,以达到40nmol/ml的浓度。将司美鲁肽在50mM磷酸钠、145mM氯化钠、0.05%聚山梨醇酯20, pH7.4中溶解至15nmol/ml。

[1754] 所述化合物的静脉注射液(体积对应于例如0.050-0.125ml/kg)通过一个导管或通过venflon给予,并在预定的时间点采集血样,直到给药后25天(优选通过另一个导管或通过静脉穿刺)。将血样(例如0.8ml)收集在EDTA缓冲液(8mM)中,随后在4℃和1942G下离心10分钟。

[1755] 将血浆移取至干冰上的Micronic管中,并在-20℃下保存,直到使用LOCI来分析相应GLP-1化合物的血浆浓度。通过Phoenix v.6.2(Pharsight Inc., Mountain View, CA, USA)或用于PK分析的其他相关软件中的非房室药代动力学方法分析单独的血浆浓度-时间曲线,并确定所得到的终末半衰期(调和平均值)。

[1756] 结果

[1757] 表3:小型猪中的药代动力学研究(i.v.)

[1758]	实施例编号	终末半衰期(h)
	1	130
	2	113
	3	159
	4	243
	5	122
	6	143
	9	104
	10	151
	11	160
	12	137
	26	131
[1759]	27	138
	比较实施例 1	3
	比较实施例 2	3
	司美鲁肽	55

[1760] 所测试的本发明衍生物具有极长的终末半衰期(至少为司美鲁肽的两倍,并且至少为比较实施例化合物的35倍)。

[1761] 实施例36:大鼠中的药效学研究

[1762] 本研究的目的是在瘦啮齿动物中证实GLP-1衍生物对食物摄取(FI)和体重(BW)的急性影响。

[1763] 如下所述通过单剂量研究在瘦Sprague Dawley雄性大鼠中测试实施例1-6、9-13和25-27的GLP-1衍生物。这些衍生物以50nmol/kg(实施例4、10-13和25-27)或100nmol/kg(实施例1-3、5、6和9)的剂量进行测试。

[1764] 每种化合物将要测试六只瘦雄性Sprague Dawley大鼠(~300g)(来自Taconic,

Denmark), 它们从出生起便饲以饮食NIH31 (NIH 31M Rodent Diet, 从Taconic Farms, Inc., US商购获得, 见www.taconic.com), 在大约10周龄时加入本研究。在到达时, 大鼠在颈背侧区插有一个芯片, 以用于在HM2自动食物摄取系统 (Ellegaard systems A/S, Faaborg, Denmark) 中登录。允许大鼠自由获取标准食物 (例如Altromin 1324, Brogaarden, Gentofte, Denmark) 和自来水, 并且保持于约22℃的恒温下。大鼠以每笼三只圈养, 在1-2周的适应后, 根据BW对其给药。给药后, 每天记录FI和BW, 持续144小时。实验后, 对大鼠施以安乐死。

[1765] 将动物分组以接受如下处理: 媒介物 (Vehicle), 皮下, 或GLP-1衍生物 (实施例1-6、9-13和25-27), 皮下, 其中媒介物为50mM磷酸钠、70mM氯化钠、0.05% 聚山梨醇酯80, pH 7.4 (实施例3、10-13和25-27), 或2mM乙酸钠、250mM甘油、0.025% (vol/vol) 聚山梨醇酯20, pH 4 (实施例1、2、4-6和9)。

[1766] 将GLP-1衍生物溶解在媒介物中至50或100nmol/ml的给药浓度。动物在实验开始时用1ml/kg (即300μl/300g大鼠) 的剂量体积皮下给药一次。

[1767] 给药前一天, 记录所有组的FI和BW以用作基线。给药当天, 在大约上午10点 (时间0) 给予GLP-1衍生物。以后各天, 采用自动食物和水记录系统 (HM2, 见上) 连续记录FI, 并每天一次测量BW。大鼠在数字计重秤 (精度为0.1g) 上单独称重。

[1768] 数据呈现为在48h时间点测量的FI或BW的变化百分比。例如, 每个个体在48h时的FI变化百分比如下计算:  $[(48h时的食物摄取) - (基线食物摄取)] / (基线食物摄取) \times 100\%$ , 其中基线FI是指施用任何处理前的水平-对于BW变化同样如此。负值表示%减少。

[1769] 获得了以下结果 (对应于各种处理的所有单独测定的平均值):

[1770] 表4: 大鼠中的药效学研究

	实施例编号	食物摄取的%变化	体重的%变化
		48h	48h
[1771]	1	-75	-12
	2	-83	-12
	3	-52	-8
	4	-56	-11
	5	-78	-13
	6	-77	-13
	9	-80	-14
	10	-31	-4
	11	-57	-7
	12	-53	-7
	13	-27	-3
	25	-29	-7
[1772]	26	-32	-3
	27	-21	-1

[1773] 所测试的衍生物在体内具有生物活性,并且在单次皮下注射50nmol/kg或100nmol/kg后48h时减少食物摄取和体重。补充说明一下,与体重相比,食物摄取是生物活性的更直接的量度,因为这是单剂量实验。

[1774] 虽然本文中已经说明并描述了本发明的某些特征,但本领域普通技术人员现将想到许多修改、替换、变化和等同方案。因此,应当理解,所附权利要求旨在涵盖落在本发明的真正精神内的所有这类修改和变化。

[0001]	<110>	诺和诺德股份有限公司
[0002]	<120>	GLP-1衍生物及其用途
[0003]	<130>	140101CN01
[0004]	<160>	8
[0005]	<170>	Novo Nordisk A/S PatSeq 1.0.5.5
[0006]	<210>	1
[0007]	<211>	31
[0008]	<212>	PRT
[0009]	<213>	智人
[0010]	<220>	
[0011]	<223>	天然GLP-1 (7-37)
[0012]	<400>	1
[0013]		His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
[0014]		1 5 10 15
[0015]		Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly
[0016]		20 25 30
[0017]	<210>	2
[0018]	<211>	31
[0019]	<212>	PRT
[0020]	<213>	人工序列
[0021]	<220>	
[0022]	<223>	GLP-1类似物
[0023]	<220>	
[0024]	<221>	Mod_Res
[0025]	<222>	(2) .. (2)
[0026]	<223>	/mod_res= "Aib (2-氨基异丁酸)"
[0027]	<400>	2
[0028]		His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
[0029]		1 5 10 15
[0030]		Gln Ala Ala Arg Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Lys
[0031]		20 25 30
[0032]	<210>	3
[0033]	<211>	31
[0034]	<212>	PRT
[0035]	<213>	人工序列
[0036]	<220>	
[0037]	<223>	GLP-1类似物
[0038]	<220>	



[0039] <221> Mod\_Res  
 [0040] <222> (1) .. (1)  
 [0041] <223> /mod\_res= "Imp (3-(咪唑-5-基)丙酸)"  
 [0042] <220>  
 [0043] <221> Mod\_Res  
 [0044] <222> (2) .. (2)  
 [0045] <223> /mod\_res= "Aib (2-氨基异丁酸)"  
 [0046] <400> 3  
 [0047] Xaa Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu  
 [0048] 1 5 10 15  
 [0049] Gln Ala Ala Arg Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Lys  
 [0050] 20 25 30  
 [0051] <210> 4  
 [0052] <211> 32  
 [0053] <212> PRT  
 [0054] <213> 人工序列  
 [0055] <220>  
 [0056] <223> GLP-1类似物  
 [0057] <220>  
 [0058] <221> Mod\_Res  
 [0059] <222> (2) .. (2)  
 [0060] <223> /mod\_res= "Aib (2-氨基异丁酸)"  
 [0061] <400> 4  
 [0062] His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu  
 [0063] 1 5 10 15  
 [0064] Gln Ala Ala Arg Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Pro Lys  
 [0065] 20 25 30  
 [0066] <210> 5  
 [0067] <211> 31  
 [0068] <212> PRT  
 [0069] <213> 人工序列  
 [0070] <220>  
 [0071] <223> GLP-1类似物  
 [0072] <220>  
 [0073] <221> Mod\_Res  
 [0074] <222> (2) .. (2)  
 [0075] <223> /mod\_res= "Aib (2-氨基异丁酸)"  
 [0076] <220>  
 [0077] <221> Mod\_Res

[0078] <222> (16) .. (16)  
 [0079] <223> /mod\_res= "Aib (2-氨基异丁酸)"  
 [0080] <220>  
 [0081] <221> Mod\_Res  
 [0082] <222> (29) .. (29)  
 [0083] <223> /mod\_res= "Aib (2-氨基异丁酸)"  
 [0084] <220>  
 [0085] <221> Mod\_Res  
 [0086] <222> (31) .. (31)  
 [0087] <223> /mod\_res= "酰胺化"  
 [0088] <400> 5  
 [0089] His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Xaa  
 [0090] 1 5 10 15  
 [0091] Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Xaa Arg Lys  
 [0092] 20 25 30  
 [0093] <210> 6  
 [0094] <211> 31  
 [0095] <212> PRT  
 [0096] <213>  
 [0097] <220>  
 [0098] <221> Mod\_Res  
 [0099] <222> (2) .. (2)  
 [0100] <223> /mod\_res= "Aib (2-氨基异丁酸)"  
 [0101] <400> 6  
 [0102] His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu  
 [0103] 1 5 10 15  
 [0104] Gln Ala Ala Arg Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Lys Gly  
 [0105] 20 25 30  
 [0106] <210> 7  
 [0107] <211> 31  
 [0108] <212> PRT  
 [0109] <213>  
 [0110] <220>  
 [0111] <221> Mod\_Res  
 [0112] <222> (2) .. (2)  
 [0113] <223> /mod\_res= "Aib (2-氨基异丁酸)"  
 [0114] <400> 7  
 [0115] His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu  
 [0116] 1 5 10 15

---

[0117]	Gln	Ala	Ala	Arg	Glu	Phe	Ile	Glu	Trp	Leu	Val	Arg	Gly	Lys	Gly	
[0118]				20				25					30			
[0119]	<210>	8														
[0120]	<211>	31														
[0121]	<212>	PRT														
[0122]	<213>															
[0123]	<220>															
[0124]	<221>	Mod_Res														
[0125]	<222>	(2) .. (2)														
[0126]	<223>	/mod_res= "Aib (2-氨基异丁酸)"														
[0127]	<400>	8														
[0128]	His	Xaa	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Val	Ser	Ser	Tyr	Leu	Glu	Glu
[0129]	1				5					10					15	
[0130]	Gln	Ala	Ala	Arg	Glu	Phe	Ile	Ala	Trp	Leu	Val	Lys	Gly	Arg	Gly	
[0131]					20				25					30		

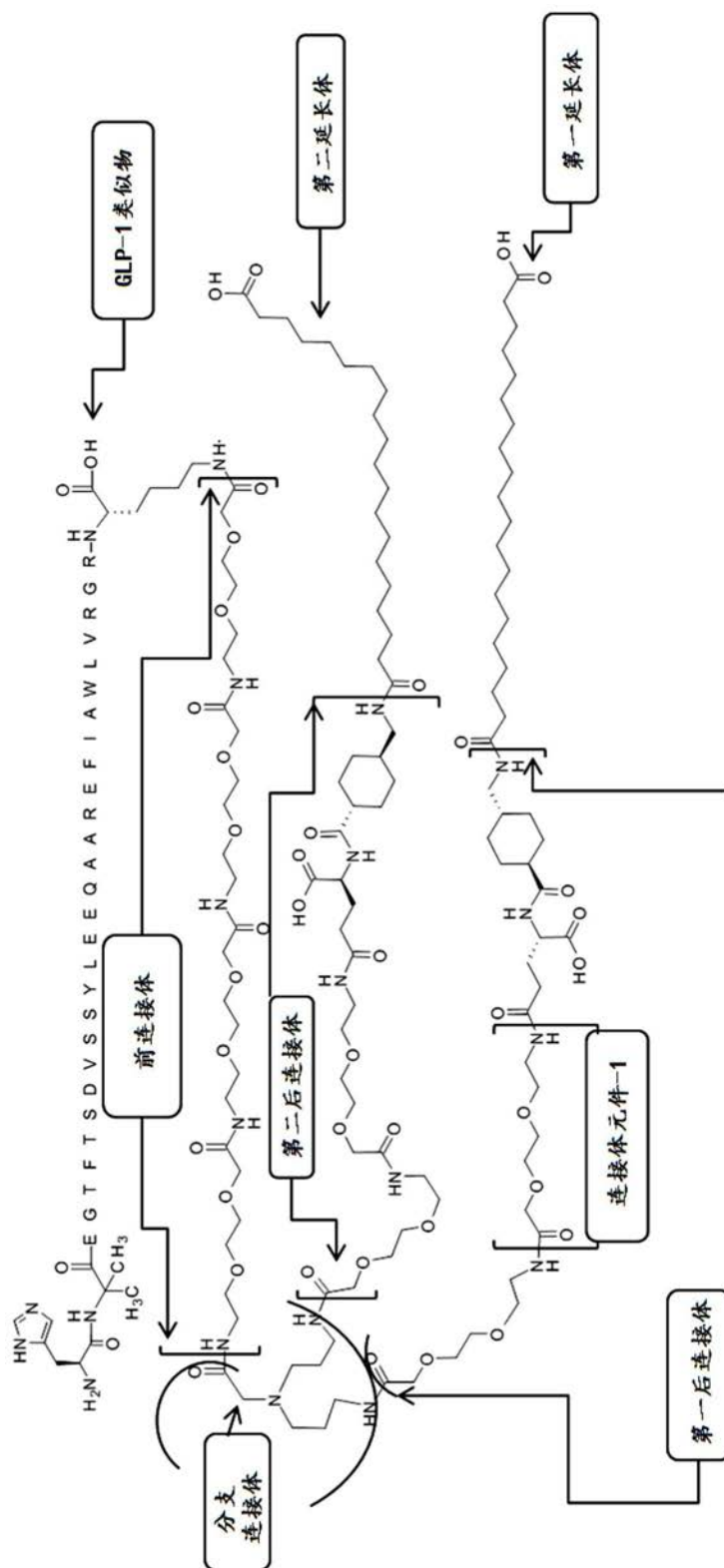


图1