

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200780028160.5

[51] Int. Cl.

C07K 7/06 (2006.01)

A61K 38/08 (2006.01)

A61K 38/26 (2006.01)

[43] 公开日 2009 年 7 月 29 日

[11] 公开号 CN 101495502A

[22] 申请日 2007.5.25

[21] 申请号 200780028160.5

[30] 优先权

[32] 2006.5.26 [33] US [31] 60/809,134

[86] 国际申请 PCT/US2007/069703 2007.5.25

[87] 国际公布 WO2007/140284 英 2007.12.6

[85] 进入国家阶段日期 2009.1.23

[71] 申请人 百时美施贵宝公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 威廉·R·尤因 克劳迪奥·马佩利

道格拉斯·J·里辛格

文格·G·李

理查德·B·萨爾斯基 朱晔恒

[74] 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

代理人 陈 桢

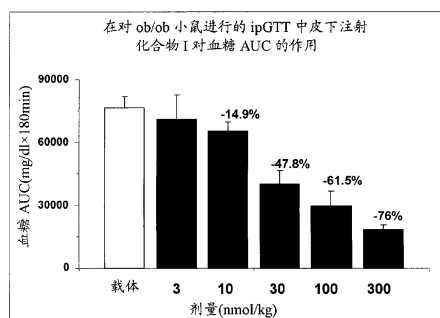
权利要求书 20 页 说明书 131 页 附图 9 页

[54] 发明名称

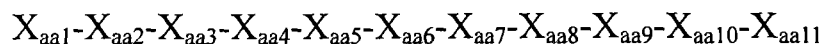
N 末端经修饰的 GLP-1 受体调节剂

[57] 摘要

本发明提供新的人胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 受体调节剂, 其具有类似于或优于天然 GLP-1 肽的生物活性, 因而可用于治疗或预防与 GLP 活性相关的疾病或病症。所述化合物包括经化学修饰的肽, 其不但可在 II 型糖尿病中刺激胰岛素的分泌, 而且还产生其它有益的促胰岛素响应。这些合成的肽 GLP-1 受体调节剂对溶蛋白性裂解表现出提高的稳定性, 这使它们成为理想的用于口服或肠胃外给药的治疗候选物。本发明的肽在糖尿病的功效模型中显示出期望的药物动力学性质和期望的效能。



1. 经分离的多肽，其包含式 I 的序列：



式 I

其中

X_{aa1} 为包含咪唑环基团或噻唑环基团的天然存在或非天然存在的氨基酸，诸如组氨酸或噻唑基丙氨酸；其中所述氨基酸的任何碳原子任选经氢或一个或多个烷基或一个或多个卤素取代；其中所述氨基酸的游离氨基任选经羟基或烷氧基代替，或任选经烷基、酰基、苯甲酰基、烷基氧基羰基、甲氧羰基、芳基氧基羰基、芳烷基氧基羰基、杂环基氧基羰基、杂芳基烷基氧基羰基、烷基氨甲酰基、芳基氨甲酰基、芳烷基氨甲酰基、杂环基磺酰基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、芳基烷基磺酰基、杂芳基烷基磺酰基或杂芳基磺酰基取代；且

其中 X_{aa1} 的氨基任选不存在，使得 X_{aa1} 为组氨酸的脱氨基酸或噻唑基丙氨酸的脱氨基酸，其中任何碳原子任选经烷基、卤素或羟基取代；

X_{aa2} 为选自以下的天然存在或非天然存在的氨基酸： α -氨基-异丁酸 (Aib)、L-丙氨酸、D-丙氨酸、N-甲基-L-丙氨酸、N-甲基-D-丙氨酸、L-脯氨酸、(S)- α -甲基-脯氨酸(α -Me-Pro)、L-氮杂环丁烷-2-羧酸(Azt)、(S)- α -甲基-氮杂环丁烷-2-羧酸(α -Me-Azt)、L-缬氨酸及(R)-或(S)-异缬氨酸，且其中所述氨基酸的碳原子任选经烷基或卤素中的一个或多个取代；

X_{aa3} 为含有包含羧酸基团的氨基酸侧链的天然存在或非天然存在的氨基酸，诸如天冬氨酸或谷氨酸；且其中所述氨基酸的任何碳原子任选经烷基或卤素中的一个或多个取代；

X_{aa4} 为甘氨酸；

X_{aa5} 为选自以下的天然存在或非天然存在的氨基酸：L-苏氨酸、L-别苏氨酸、L-丝氨酸、L-正缬氨酸及L-正亮氨酸；且其中所述氨基酸的任何碳原子任选经烷基或卤素中的一个或多个取代；

X_{aa6} 为包含经二取代的 α 碳的天然存在或非天然存在的氨基酸；其中所述氨基酸的侧链之一含有芳环或杂芳环，例如 α -甲基-苯基丙氨酸、 α -甲基-2-氟苯基丙氨酸及 α -甲基-2,6-二氟苯基丙氨酸；

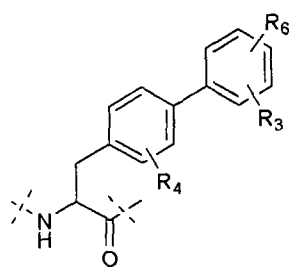
其中所述氨基酸的任何碳原子任选经一个或多个烷基取代；且其中所述氨基酸的任何碳原子任选经一个或多个卤素取代；

X_{aa7} 为包含经羟基取代的氨基酸侧链的天然存在或非天然存在的氨基酸，诸如 L-苏氨酸或 L-别苏氨酸；其中所述氨基酸的任何碳原子任选经烷基或卤素中的一个或多个取代；

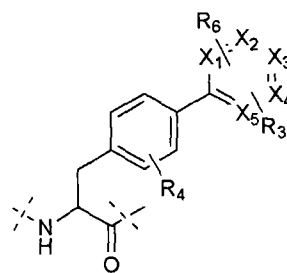
X_{aa8} 为选自以下的天然存在或非天然存在的氨基酸：L-丝氨酸、L-组氨酸及 L-天冬酰胺；其中所述氨基酸的一个或多个碳原子任选经烷基或卤素中的一个或多个取代；

X_{aa9} 为含有包含羧酸基团的氨基酸侧链的天然存在或非天然存在的氨基酸，诸如 L-天冬氨酸或 L-谷氨酸；其中所述氨基酸的一个或多个碳原子任选经烷基或卤素中的一个或多个取代；

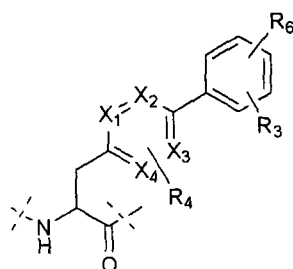
X_{aa10} 为式 II、III 或 IV 的天然存在或非天然存在的氨基酸：



式 II



式 III

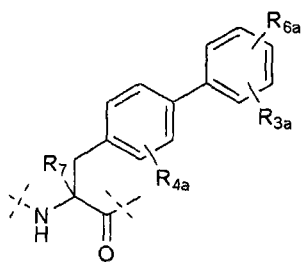


式 IV

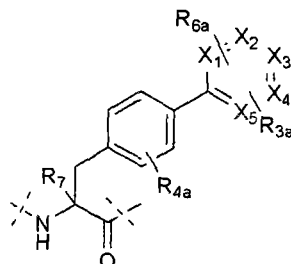
其中 R_3 、 R_4 及 R_6 各自选自氢、烷基、甲基、乙基、芳基、杂环基、杂芳基、卤素、羟基、羟基烷基、氰基、氨基、氨基烷基、羧基、羧基烷基、烷氧基、甲氧基、芳基氧基、羧酰胺基团、经取代的羧酰胺基团、烷基酯基团、芳基酯基团、烷基磺酰基及芳基磺酰基；且

其中 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及 X_5 各自为 C 或 N，其限制条件为 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及 X_5 中的至少一个为 N；

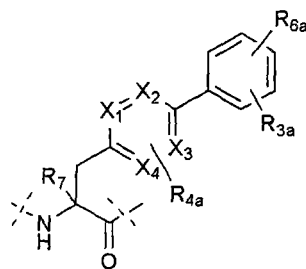
X_{aa11} 为式 IIa、IIIa 或 IVa 的天然存在或非天然存在的氨基酸：



式 IIa



式 IIIa



式 IVa

其中所述氨基酸的 C 末端羧基碳与氮连接形成羧酰胺(NH₂)、烷基羧酰胺(NHR₁)或二烷基羧酰胺(NR₁R₂);

其中 R₁ 及 R₂ 各自为烷基或芳基烷基;

其中 R_{3a}、R_{4a} 及 R_{6a} 各自选自氢、烷基、芳基、杂环基、杂芳基、卤素、羟基、羟基烷基、氰基、氨基、氨基烷基、羧基、羧基烷基、烷氧基、甲氧基、芳基氧基、羧酰胺基团、经取代的羧酰胺基团、烷基酯基团、芳基酯基团、烷基磺酰基及芳基磺酰基;

其中 R₇ 选自氢、甲基及乙基;

其中 X₁、X₂、X₃、X₄ 及 X₅ 各自为 C 或 N, 其限制条件为 X₁、X₂、X₃、X₄ 及 X₅ 中的至少一个为 N; 且

其中当 X_{aa10} 为式 II 的氨基酸时, X_{aa11} 不是式 IIa 的氨基酸。

2. 权利要求 1 的经分离的多肽, 其中 X_{aa10} 为式 II 的天然存在或非天然存在的氨基酸。

3. 权利要求 1 的经分离的多肽, 其中 X_{aa10} 为式 III 的天然存在或非天然存在的氨基酸。

4. 权利要求 1 的经分离的多肽, 其中 X_{aa11} 为式 IVa 的天然存在或非天然存在的氨基酸。

5. 权利要求 1 的经分离的多肽, 其中所述 X_{aa1} 选自 L-His、D-His、L-N-甲基-His、D-N-甲基-His、L-4-噻唑基-Ala、D-4-噻唑基-Ala、脱氨基-His、脱氨基-噻唑基-Ala、3-(1H-咪唑-4-基)-2-甲基丙酰基及(S)-3-(1H-咪唑-4-

基)-2-羟基丙酰基(L- β -咪唑乳酰基); 且

其中若存在末端氨基, 则所述末端氨基任选经氢、烷基、二烷基、酰基、苯甲酰基、烷基氧基羰基、甲氧羰基、芳基氧基羰基、芳烷基氧基羰基、杂环基氧基羰基、杂芳基烷基氧基羰基、烷基氨基甲酰基、芳基氨基甲酰基、芳烷基氨基甲酰基、杂环基磺酰基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、芳基烷基磺酰基、杂芳基烷基磺酰基或杂芳基磺酰基取代。

6. 权利要求1的经分离的多肽, 其中所述 X_{aa2} 选自 L-Ala、D-Ala、N-甲基-L-Ala、N-甲基-D-Ala、L-Pro、(S)- α -甲基-L-Pro(α -Me-Pro)、L-氮杂环丁烷-2-羧酸(Azt)、(S)- α -甲基-氮杂环丁烷-2-羧酸(α -Me-Azt)及 α -氨基异丁酸(Aib)。

7. 权利要求1的经分离的多肽, 其中所述 X_{aa3} 选自 L-Glu、L-Asp 和 L-Gla。

8. 权利要求1的经分离的多肽, 其中所述 X_{aa4} 为 Gly。

9. 权利要求1的经分离的多肽, 其中所述 X_{aa5} 选自 L-Thr、L-Nle、L-Nva、L-Aoc 和 L-别苏氨酸。

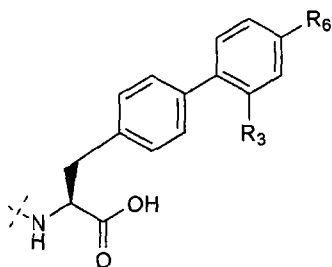
10. 权利要求1的经分离的多肽, 其中所述 X_{aa6} 选自 L- α -Me-Phe、L- α -Et-Phe、L- α -Me-2-氟-Phe、L- α -Me-3-氟-Phe、L- α -Me-2,3-二氟-Phe、L- α -Me-2,6-二氟-Phe 和 L- α -Me-Phe(五氟)。

11. 权利要求1的经分离的多肽, 其中所述 X_{aa7} 为 L-Thr 或 L-别苏氨酸。

12. 权利要求1的经分离的多肽, 其中所述 X_{aa8} 选自 L-Ser、L-His 和 L-Asn。

13. 权利要求1的经分离的多肽, 其中所述 X_{aa9} 为 L-Asp。

14. 权利要求1的经分离的多肽, 其中 X_{aa10} 为式 II 的天然存在或非天然存在的氨基酸, 其进一步经式 VI 定义:



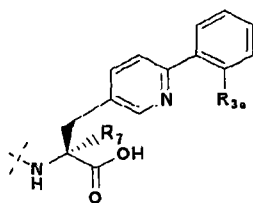
式 VI

其中 R_3 选自烷基及卤素; 且

R_6 选自羟基及甲氧基。

15. 权利要求 2 的经分离的多肽, 其中所述式 II 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自 4-[(4'-甲氧基-2'-乙基)-苯基]苯基丙氨酸、4-[(4'-乙氧基-2'-乙基)苯基]苯基丙氨酸、4-[(4'-甲氧基-2'-甲基)苯基]苯基丙氨酸、4-[(4'-乙氧基-2'-甲基)苯基]苯基丙氨酸、4-(2'-乙基苯基)苯基丙氨酸、4-(2'-甲基苯基)苯基丙氨酸、4-[(3',5'-二甲基)苯基]苯基丙氨酸、4-[(3',4'-二甲氧基)苯基]苯基丙氨酸及 4-[(2'-乙基-4'-羟基)苯基]苯基丙氨酸。

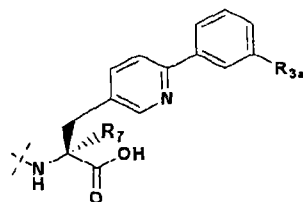
16. 权利要求 1 的经分离的多肽, 其中 X_{aa11} 为式 IVa 的天然存在或非天然存在的氨基酸, 其进一步经式 VIa 定义:



式 VIa

其中 R_{3a} 选自甲基、乙基及氟; 且其中 R_7 选自氢及甲基。

17. 权利要求 1 的经分离的多肽, 其中 X_{aa11} 为式 IVa 的天然存在或非天然存在的氨基酸, 其进一步经式 VIIa 定义:



式 VIIa

其中 R_{3a} 为甲氧基; 且

R_7 选自氢及甲基。

18. 权利要求 3 的经分离的多肽, 其中所述式 III 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自 4-[2'-(4'-甲氧基-6'-乙基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[2'-(4'-甲氧基-6'-甲基)吡啶基]-4-苯基丙氨酸、4-[2'-(6'-乙基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[2'-(6'-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[2'-(3',5'-二甲基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[2'-(4'-甲氧基-6'-乙基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[3'-(4'-甲氧基-6'-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[3'-(2'-乙基)吡啶基]苯基丙氨酸及 4-[3'-(6'-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸。

19. 权利要求 1 的经分离的多肽, 其中所述 X_{aa10} 为式 IV 的天然存在或

非天然存在的氨基酸。

20. 权利要求 19 的经分离的多肽, 其中所述式 IV 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自 4-[(4'-甲氧基-2'-乙基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸、4-[(4'-甲氧基-2'-甲基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸、4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸、4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸、4-[(3',5'-二甲基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸及 4-[(2'-乙基-4'-羟基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸。

21. 权利要求 1 的经分离的多肽, 其中所述 X_{aa11} 为式 IIa 的天然存在或非天然存在的氨基酸。

22. 权利要求 21 的经分离的多肽, 其中所述式 IIa 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自 4-(2'-甲基苯基)苯基丙氨酸、4-(2'-氟苯基)苯基丙氨酸、4-(2'-氯苯基)苯基丙氨酸、4-[(3',4'-二甲氧基)苯基]苯基丙氨酸及 4-[(3',5'-二甲基)苯基]苯基丙氨酸;

其中所述氨基酸的 C 末端羰基碳与氮连接形成羧酰胺(NH_2)、烷基羧酰胺(NHR_1)或二烷基羧酰胺(NR_1R_2), 其中 R_1 及 R_2 各自为烷基或芳基烷基;

其中 R_7 选自氢及甲基。

23. 权利要求 1 的经分离的多肽, 其中所述 X_{aa11} 为式 IIIa 的天然存在或非天然存在的氨基酸。

24. 权利要求 23 的经分离的多肽, 其中所述式 IIIa 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自 4-[(6'-甲基)-2'-吡啶基]苯基丙氨酸、4-[(6'-甲基)-3'-吡啶基]苯基丙氨酸、4-[(6'-乙基)-2'-吡啶基]苯基丙氨酸及 4-[(6'-乙基)-3'-吡啶基]苯基丙氨酸;

其中所述氨基酸的 C 末端羰基碳与氮连接形成羧酰胺(NH_2)、烷基羧酰胺(NHR_1)或二烷基羧酰胺(NR_1R_2), 其中 R_1 及 R_2 各自为烷基或芳基烷基;

其中 R_7 选自氢及甲基。

25. 权利要求 4 的经分离的多肽, 其中所述式 IVa 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自 4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸、4-(2'-氟苯基)-3-吡啶基丙氨酸、4-[(3',5'-二甲基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸、4-(4'-三氟甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸及 4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸。

26. 权利要求 1 的经分离的多肽, 其中 X_{aa1} 为选自 L-His、D-His、L-N-甲基-His、D-N-甲基-His、L- α -甲基-His、D- α -甲基-His、L-4-噻唑基丙氨酸、D-4-噻唑基丙氨酸、脱氨基-His、脱氨基-噻唑基丙氨酸、3-(1H-咪唑-4-基)-2-

甲基丙酰基、(S)-3-(1H-咪唑-4-基)-2-羟基丙酰基(L-β-咪唑乳酰基)、(R)-及(S)-3-(1H-咪唑-4-基)-2-甲氧基丙酰基的氨基酸;

其中若存在末端氨基,则所述末端氨基任选经氢、烷基、酰基、苯甲酰基、烷基氧基羰基(例如甲氧羰基)、芳基氧基羰基、芳烷基氧基羰基、杂环基氧基羰基、杂芳基烷基氧基羰基、烷基氨甲酰基、芳基氨甲酰基、芳烷基氨甲酰基、杂环基磺酰基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、芳基烷基磺酰基、杂芳基烷基磺酰基或杂芳基磺酰基取代;

X_{aa2}为选自 L-Ala、D-Ala、N-甲基-L-Ala、N-甲基-D-Ala、L-Pro、(S)-α-甲基-脯氨酸(α-Me-Pro)、L-氮杂环丁烷-2-羧酸(Azt)、(S)-α-甲基-氮杂环丁烷-2-羧酸(α-Me-Azt)及 α-氨基异丁酸(Aib)的氨基酸;

X_{aa3}为选自 L-Glu、L-Asp 及 L-Gla 的氨基酸;

X_{aa4}为 Gly;

X_{aa5}为选自 L-Thr、L-Nle、L-Nva、L-Aoc 及 L-别苏氨酸的氨基酸;

X_{aa6}为选自 L-α-Me-Phe、L-α-Et-Phe、L-α-Me-2-氟-Phe、L-α-Me-3-氟-Phe、L-α-Me-2,3-二氟-Phe、L-α-Me-2,6-二氟-Phe 及 L-α-Me-Phe(五氟)的氨基酸;

X_{aa7}为选自 L-Thr 及 L-别苏氨酸的氨基酸;

X_{aa8}为选自 L-Ser、L-His 及 L-Asn 的氨基酸;

X_{aa9}为 L-Asp;

X_{aa10}为选自式 II、III 及 IV 的氨基酸的天然存在或非天然存在的氨基酸;

其中式 II 为选自以下的氨基酸: 4-[(4'-甲氧基-2'-乙基)苯基]苯基丙氨酸、4-[(2'-乙基-4'-羟基)苯基]苯基丙氨酸、4-[(4'-乙氧基-2'-乙基)苯基]苯基丙氨酸、4-[(4'-甲氧基-2'-甲基)苯基]苯基丙氨酸、4-[(4'-乙氧基-2'-甲基)苯基]苯基丙氨酸、4-(2'-乙基苯基)苯基丙氨酸、4-(2'-甲基苯基)苯基丙氨酸、4-[(3',5'-二甲基)苯基]苯基丙氨酸及 4-[(3',4'-二甲氧基)苯基]苯基丙氨酸;

其中式 III 为选自以下的氨基酸: 4-[2'-(4'-甲氧基-6'-乙基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[2'-(4'-甲氧基-6'-甲基)吡啶基]-4-苯基丙氨酸、4-[2'-(6'-乙基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[2'-(6'-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[2'-(3',5'-二甲基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[2'-(4'-甲氧基-6'-乙基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[3'-(4'-甲氧基-6'-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[3'-(2'-乙基)吡啶基]苯基丙氨酸及 4-[3'-(6'-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸;

其中式 IV 为选自以下的氨基酸: 4-[(4'-甲氧基-2'-乙基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸、4-[(4'-甲氧基-2'-甲基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸、4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸、4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸及 4-[(3',5'-二甲基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸; 且

X_{aa11} 为选自式 IIa、IIIa 及 IVa 的氨基酸的天然存在或非天然存在的氨基酸;

其中式 IIa 为选自以下的氨基酸: 4-(2'-甲基苯基)苯基丙氨酸、4-(2'-氟苯基)苯基丙氨酸及 4-[(3',5'-二甲基)苯基]苯基丙氨酸;

其中式 IIIa 为选自以下的氨基酸: 4-(6'-甲基-2'-吡啶基)苯基丙氨酸、4-(6'-甲基-2'-吡啶基)苯基丙氨酸、4-(6'-乙基-2'-吡啶基)苯基丙氨酸及 4-(6'-乙基-3'-吡啶基)苯基丙氨酸;

其中式 IVa 为选自以下的氨基酸: 4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸、4-(2'-氟苯基)-3-吡啶基丙氨酸、4-[(3',5'-二甲基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸、4-(4'-三氟甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸及 4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸;

其中 C 末端羧基碳与氮连接形成羧酰胺(NH_2)、烷基羧酰胺(NHR_1)或二烷基羧酰胺(NR_1R_2), 其中 R_1 及 R_2 各自为烷基或芳基烷基;

其中 R_7 选自氢及甲基; 且

其中当 X_{aa10} 为式 II 的氨基酸时, X_{aa11} 不是式 IIa 的氨基酸。

27. 权利要求 1 的经分离的多肽, 其选自

SEQ ID No.	X_{aa1}	X_{aa2}	X_{aa3}	X_{aa4}	X_{aa5}	X_{aa6}	X_{aa7}	X_{aa8}	X_{aa9}	X_{aa10}	$X_{aa11}-NH_2$
133	脱氨基-His	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸- NH_2
134	脱氨基-His	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸- NH_2
135	脱氨基-His	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-氟苯基)-3-吡啶基丙氨酸- NH_2
136	脱氨基-His	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(3'-甲氧基苯基)-3-吡啶基丙氨酸- NH_2
137	(R)-ImP	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸- NH_2
138	(S)-ImP	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸- NH_2
139	CH ₃ O-CO-His	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸- NH_2
140	CH ₃ O-CO-His	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸- NH_2
141	CH ₃ O-CO-His	N-Me-D-Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸- NH_2
142	CH ₃ O-CO-His	N-Me-D-Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸- NH_2

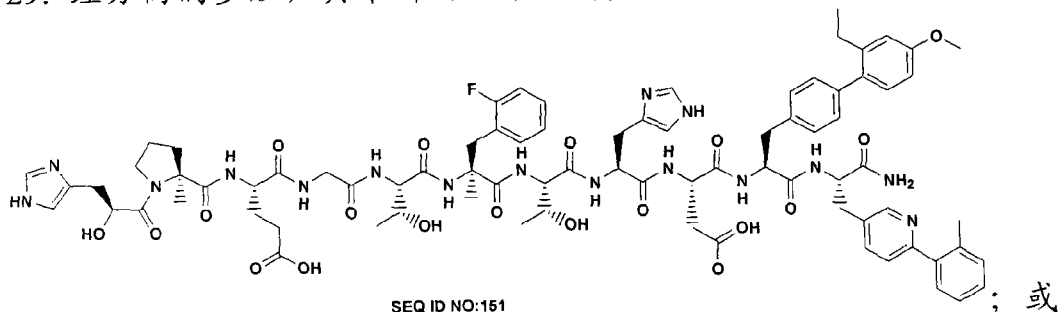
SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
143	CH ₃ S O ₂ -His	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
144	CH ₃ S O ₂ -His	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
145	L-乳 酰基 -His	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
146	L-乳 酰基 -His	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
151	L- β -咪 唑-乳 酰基	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
152	L- β -咪 唑-乳 酰基	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
153	L- β -咪 唑-乳 酰基	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
154	L- β -咪 唑-乳 酰基	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
155	L- β -咪 唑-乳 酰基	N-Me-D- Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
156	L- β -咪 唑-乳 酰基	N-Me-D- Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
157	CH ₃ O- CO-Hi s	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
158	CH ₃ O- CO-Hi s	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
159	CH ₃ O- CO-Hi s	N-Me-D- Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
160	CH ₃ O- CO-Hi s	N-Me-D- Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
161	CH ₃ O- CO-Hi s	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂ ; 及
162	CH ₃ O- CO-Hi s	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
163	L- β -咪 唑-乳 酰基	N-Me-D- Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
164	CH ₃ O- CO-Hi s	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O H-5'-I)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
165	脱氨 基-His	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
166	脱氨 基-His	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
167	(R)-Im p	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
168	(S)-Im p	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
169	(R)-Im p	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂

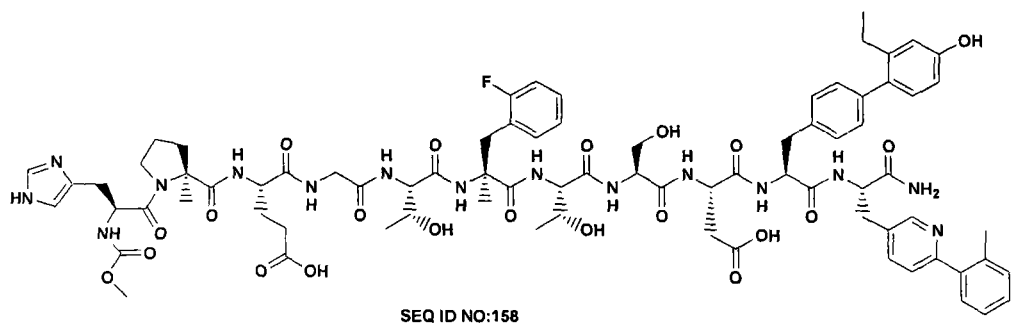
SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
170	(S)-Im p	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
171	(R)-I MeOp	(S)- α -Me -Pro	F	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
172	(S)-IM eOp	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
173	(R)-I MeOp	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
174	(S)-IM eOp	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂
175	(R)-I MeOp	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂ ，及
176	(S)-IM eOp	(S)- α -Me -Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O H)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基 丙氨酸-NH ₂ 。

28. 一种选自以下物质的经分离的多肽:

SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
151.	L- β -咪唑- 乳酰基	(S)- α -Me- Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡 啶基丙氨酸-NH ₂
152.	L- β -咪唑- 乳酰基	(S)- α -Me- Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡 啶基丙氨酸-NH ₂
153.	L- β -咪唑- 乳酰基	(S)- α -Me- Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡 啶基丙氨酸-NH ₂
154.	L- β -咪唑- 乳酰基	(S)- α -Me- Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡 啶基丙氨酸-NH ₂
155.	L- β -咪唑- 乳酰基	N-Me-D- Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡 啶基丙氨酸-NH ₂
156.	L- β -咪唑- 乳酰基	N-Me-D- Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡 啶基丙氨酸-NH ₂
157.	CH ₃ O-CO- His	(S)- α -Me- Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡 啶基丙氨酸-NH ₂
158.	CH ₃ O-CO- His	(S)- α -Me- Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡 啶基丙氨酸-NH ₂
159.	CH ₃ O-CO- His	N-Me-D- Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡 啶基丙氨酸-NH ₂
160.	CH ₃ O-CO- His	N-Me-D- Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡 啶基丙氨酸-NH ₂
161.	CH ₃ O-CO- His	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡 啶基丙氨酸-NH ₂ ，及
162.	CH ₃ O-CO- His	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2- 氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡 啶基丙氨酸-NH ₂ 。

29. 经分离的多肽，其中所述经分离的多肽包含





30. 一种药物组合物，其包含式 I 的经分离的多肽或含有 SEQ ID NO:1-157 及 159-179 的肽中任何一种的多肽及其可药用载体。

31. 一种药物组合，其包含式 I 的经分离的多肽或含有 SEQ ID NO:1-157 及 159-179 的肽中任何一种的多肽及至少一种选自以下的治疗剂：抗糖尿病剂、抗肥胖剂、抗高血压剂、抗动脉粥样硬化剂及降脂剂。

32. 权利要求 31 的组合，其中所述抗糖尿病剂为至少一种选自以下的药物：双胍类、磺酰脲类、葡萄糖苷酶抑制剂、PPAR γ 激动剂、PPAR α/γ 双重激动剂、aP2 抑制剂、DPP4 抑制剂、胰岛素增敏剂、人胰高血糖素样肽-1(GLP-1)、胰岛素、SGLT-2 抑制剂、GPR119 调节剂及美格列奈。

33. 权利要求 32 的组合，其中所述抗糖尿病剂为至少一种选自以下的药物：二甲双胍、格列本脲、格列美脲、格列吡脲、格列吡嗪、氯磺丙脲、格列齐特、阿卡波糖、米格列醇、吡格列酮、曲格列酮、罗格列酮、胰岛素、法格他扎(farglitazar)、伊格列酮、瑞格列扎(reglitazar)、巴格列酮(balaglitazone)、CAS RN: 335149-08-1、(Z)-1,4-二{4-[(3,5-二氧代-1,2,4-噁二唑烷-2-基)甲基]苯氧基}丁-2-烯、利格列酮(rivoglitazone)、rafaegron、瑞格列奈、那格列奈、(S)-2-苄基-4-氧代-4-(顺-全氢异吲哚-2-基)丁酸钙、tesaglitazar、N-[(1Z)-1-甲基-3-氧代-3-苯基-1-丙烯基]-4-[3-(5-甲基-2-苯基-4-噁唑基)丙基]L-苯基丙氨酸、5-[(2,4-二氧代-5-噁唑烷基)甲基]-2-甲氧基-N-[[4-(三氟甲基)苯基]甲基]苯甲酰胺、艾塞那肽(exenatide)、8-37-胰高血糖素样肽 I(人类)、N-[3-(1H-咪唑-4-基)-1-氧代丙基]-26-L-精氨酸-34-[N6-(1-氧代辛基)-L-赖氨酸]、8-36-胰高血糖素相关肽 1(八齿鼠(octodon degus))、N-[3-(1H-咪唑-4-基)-1-氧代丙基]-26-L-精氨酸-34-[N6-(1-氧代辛基)-L-赖氨酸]-36a 及维达列汀(vildagliptin)。

34. 权利要求 31 的组合，其中所述抗肥胖剂为至少一种选自以下的药物：CB-1 拮抗剂或反向激动剂、Y2 受体激动剂、Y4 受体激动剂、 β -3 肾上

腺素能激动剂、脂肪酶抑制剂、5-羟色胺再摄取抑制剂、多巴胺再摄取抑制剂、5-羟色胺及多巴胺再摄取抑制剂、甲状腺受体 β 化合物及厌食剂。

35. 权利要求 34 的组合, 其中所述抗肥胖剂为至少一种选自以下的药物: 利莫纳班、MK-0364、SLV-319、奥利司他、赛利司他(cetilistat)、rafabregon、N-[4-[2-[[[(2S)-3-[(6-氨基-3-吡啶基)氧基]-2-羟基丙基]氨基]乙基]苯基]-4-(1-甲基乙基)苯磺酰胺、西布曲明、托吡酯、axokine、右旋苯丙胺、芬特明、苯丙醇胺及马咧啉。

36. 权利要求 31 的组合, 其中所述降脂质剂为至少一种选自以下的药物: MTP 抑制剂、胆固醇酯转移蛋白、HMG CoA 还原酶抑制剂、角鲨烯合成酶抑制剂、苯乙酸衍生物、LDL 受体活性上调剂、脂氧化酶抑制剂及 ACAT 抑制剂。

37. 权利要求 36 的组合, 其中所述降脂质剂为至少一种选自以下的药物: 普伐他汀、洛伐他汀、辛伐他汀、阿托伐他汀、西立伐他汀、氟伐他汀、尼伐他汀、维沙他汀、非诺贝特、吉非贝齐、氯贝丁酯、阿伐麦布、N-[2,6-二(1-甲基乙基)苯基]-2-(十四烷基硫基)-乙酰胺、3-(13-羟基-10-氧代十四烷基)-5,7-二甲氧基-1(3H)-异苯并呋喃酮、torcetrapib 及(3 α ,4 α ,5 α)-4-(2-丙烯基胆甾烷-3-醇)。

38. 治疗或延迟以下疾病的进展或发作的方法: 糖尿病、糖尿病视网膜病、糖尿病神经病、糖尿病肾病、创伤愈合、胰岛素抵抗、高血糖症、高胰岛素血症、X 综合征、糖尿病并发症、游离脂肪酸或甘油血液水平提高、高脂血症、肥胖症、高甘油三酯血症、动脉粥样硬化或高血压, 所述方法包括向需要治疗的哺乳动物物种给药治疗有效量的式 I 的经分离的多肽或包含 SEQ ID NO:1-179 中任何一种的肽。

39. 权利要求 38 的方法, 其还包括同时或先后给药治疗有效量的一种或多种选自以下的治疗剂: 抗糖尿病剂、抗肥胖剂、抗高血压剂、抗动脉粥样硬化剂及降脂质剂。

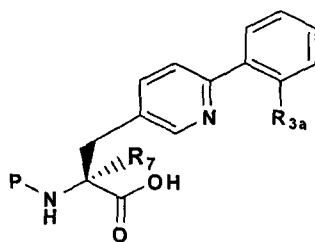
40. 权利要求 39 的方法, 其中所述抗糖尿病剂为至少一种选自以下的药物: 双胍类、磺酰脲类、葡萄糖苷酶抑制剂、PPAR γ 激动剂、PPAR α/γ 双重激动剂、 α P2 抑制剂、DPP4 抑制剂、胰岛素增敏剂、人胰高血糖素样肽-1(GLP-1)、胰岛素、SGLT-2 抑制剂、GPR119 调节剂及美格列奈; 其中所述抗糖尿病剂进一步定义为至少一种选自以下的药物: 二甲双胍、格列本

脲、格列美脲、格列吡脲、格列吡嗪、氯磺丙脲、格列齐特、阿卡波糖、米格列醇、吡格列酮、曲格列酮、罗格列酮、胰岛素、法格他扎、伊格列酮、瑞格列扎、巴格列酮、CAS RN: 335149-08-1、(Z)-1,4-二{4-[(3,5-二氧代-1,2,4-噁二唑烷-2-基)甲基]苯氧基}丁-2-烯、利格列酮、rafaegron、瑞格列奈、那格列奈、(S)-2-苄基-4-氧代-4-(顺-全氢异吲哚-2-基)丁酸钙、tesaglitazar、N-[(1Z)-1-甲基-3-氧代-3-苯基-1-丙烯基]-4-[3-(5-甲基-2-苯基-4-噁唑基)丙基]L-苯基丙氨酸、5-[(2,4-二氧代-5-噁唑烷基)甲基]-2-甲氧基-N-[[4-(三氟甲基)苯基]甲基]苯甲酰胺、艾塞那肽、8-37-胰高血糖素样肽 I(人类)、N-[3-(1H-咪唑-4-基)-1-氧代丙基]-26-L-精氨酸-34-[N6-(1-氧代辛基)-L-赖氨酸]、8-36-胰高血糖素相关肽 1(八齿鼠)、N-[3-(1H-咪唑-4-基)-1-氧代丙基]-26-L-精氨酸-34-[N6-(1-氧代辛基)-L-赖氨酸]-36a 及维达列汀;

其中所述抗肥胖剂为至少一种选自以下的药物: CB-1 拮抗剂或反向激动剂、Y2 受体激动剂、Y4 受体激动剂、 β -3 肾上腺素能激动剂、脂肪酶抑制剂、5-羟色胺再摄取抑制剂、多巴胺再摄取抑制剂、5-羟色胺及多巴胺再摄取抑制剂、甲状腺受体 β 化合物及厌食剂; 其中所述抗肥胖剂进一步定义为至少一种选自以下的药物: 利莫纳班、MK-0364、SLV-319、奥利司他、赛利司他、rafabregon、N-[4-[2-[[[(2S)-3-[(6-氨基-3-吡啶基)氧基]-2-羟基丙基]氨基]乙基]苯基]-4-(1-甲基乙基)苯磺酰胺、西布曲明、托吡酯、axokine、右旋苯丙胺、芬特明、苯丙醇胺及马吲哚;

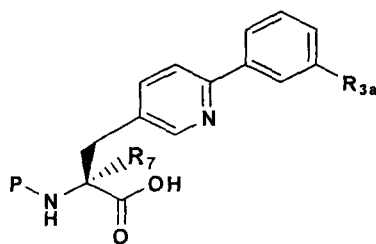
其中所述降脂质剂为至少一种选自以下的药物: MTP 抑制剂、胆固醇酯转移蛋白、HMG CoA 还原酶抑制剂、角鲨烯合成酶抑制剂、苯乙酸衍生物、LDL 受体活性上调剂、脂氧化酶抑制剂或 ACAT 抑制剂; 且其中所述降脂质剂进一步定义为至少一种选自以下的药物: 普伐他汀、洛伐他汀、辛伐他汀、阿托伐他汀、西立伐他汀、氟伐他汀、尼伐他汀、维沙他汀、非诺贝特、吉非贝齐、氯贝丁酯、阿伐麦布、N-[2,6-二(1-甲基乙基)苯基]-2-(十四烷基硫基)-乙酰胺、3-(13-羟基-10-氧代十四烷基)-5,7-二甲氧基-1(3H)-异苯并呋喃酮、torcetrapib 及(3 α ,4 α ,5 α)-4-(2-丙烯基胆甾烷-3-醇)。

41. 包含以下结构的化合物:



其中 P 为氢或苄基甲氧羰基(Fmoc)或叔丁氧基羰基(t-Boc); 且其中 R_{3a} 选自甲基、乙基及氟; 且其中 R_7 选自氢及甲基。

42. 包含以下结构的化合物:

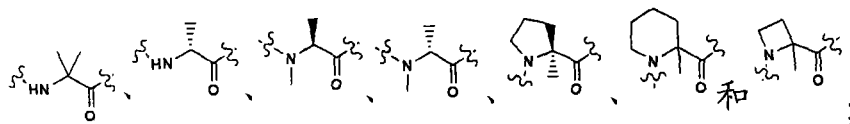


其中 P 为氢或苄基甲氧羰基(Fmoc)或叔丁氧基羰基(t-Boc); 且其中 R_{3a} 为甲氧基; 且其中 R_7 选自氢及甲基。

43. 权利要求 1 的经分离的多肽, 其中

X_{aa1} 为 L-组氨酸, 且其中 X_{aa1} 的氨基未经取代;

X_{aa2} 选自

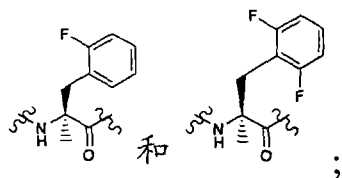


X_{aa3} 为 L-谷氨酸或 L-组氨酸;

X_{aa4} 为甘氨酸;

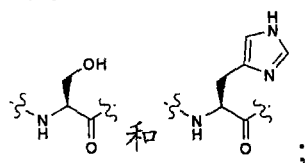
X_{aa5} 为 L-苏氨酸;

X_{aa6} 选自



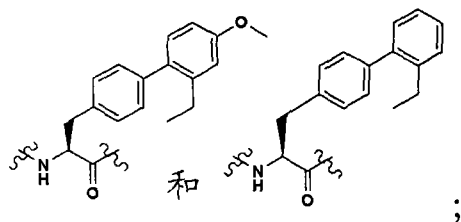
X_{aa7} 为 L-苏氨酸;

X_{aa8} 选自

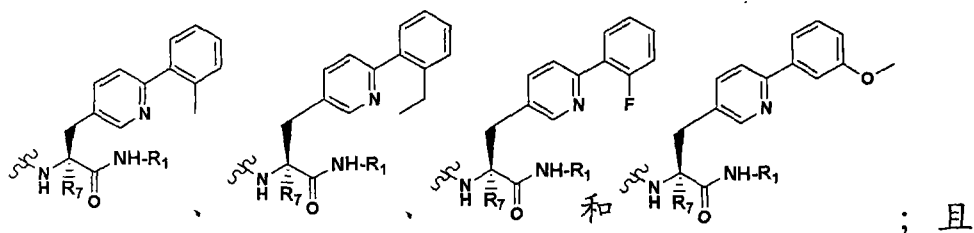


X_{aa9} 为 L-天冬氨酸;

X_{aa10} 为式 II 的天然存在或非天然存在的氨基酸, 其中所述式 II 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自



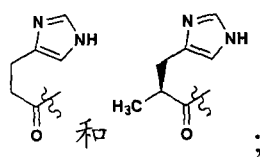
其中 X_{aa11} 为式 IVa 的天然存在或非天然存在的氨基酸, 其中所述式 IVa 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自



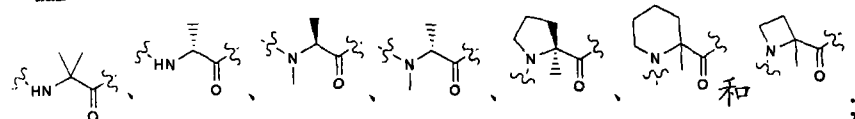
R_1 及 R_7 选自氢及甲基。

44. 权利要求 1 的经分离的多肽, 其中

X_{aa1} 选自



X_{aa2} 选自

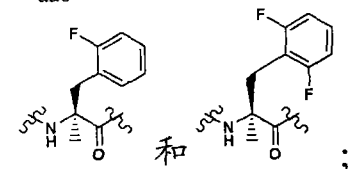


X_{aa3} 为 L-谷氨酸或 L-组氨酸;

X_{aa4} 为甘氨酸;

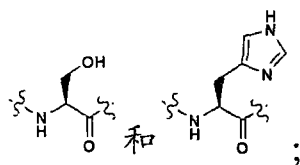
X_{aa5} 为 L-苏氨酸;

X_{aa6} 选自



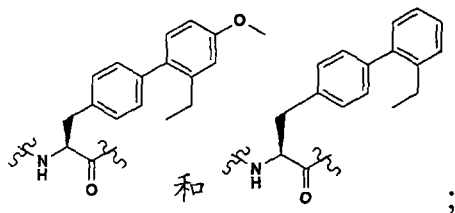
X_{aa7} 为 L-苏氨酸;

X_{aa8} 选自

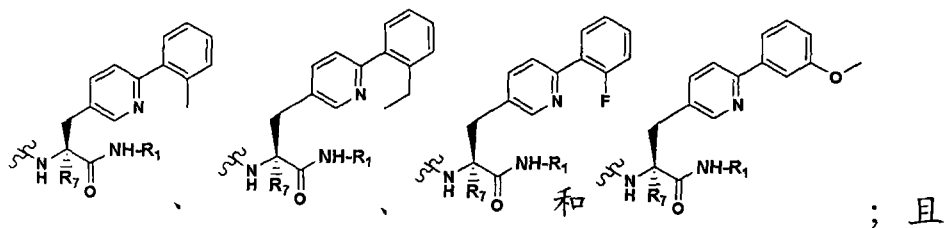


X_{aa9} 为 L-天冬氨酸;

X_{aa10} 为式 II 的天然存在或非天然存在的氨基酸, 其中所述式 II 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自

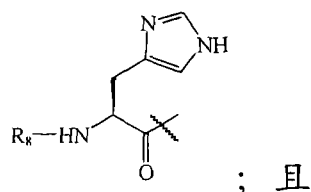


其中 X_{aa11} 为式 IVa 的天然存在或非天然存在的氨基酸, 其中所述式 IVa 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自

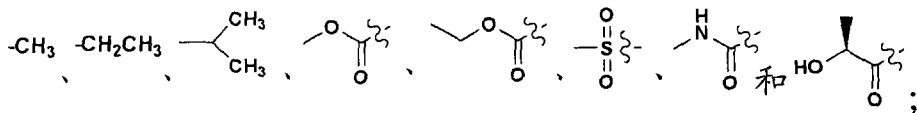


其中 R_1 及 R_7 选自氢及甲基。

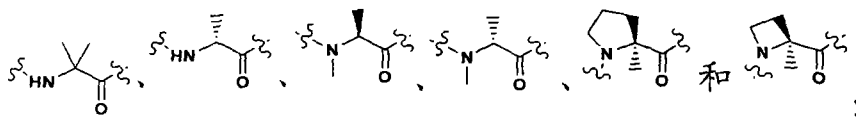
45. 权利要求 1 的经分离的多肽, 其中 X_{aa1} 为



R_8 选自



X_{aa2} 选自

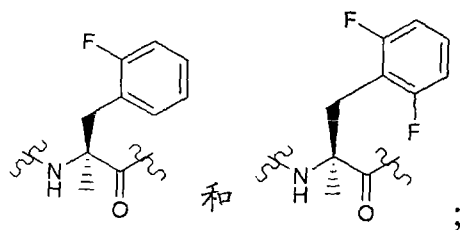


X_{aa3} 为 L-谷氨酸或 L-组氨酸;

X_{aa4} 为甘氨酸;

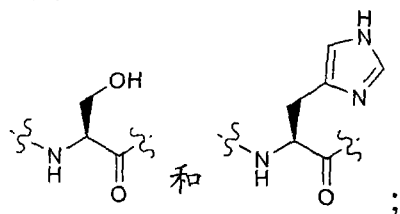
X_{aa5} 为 L-苏氨酸;

X_{aa6} 选自



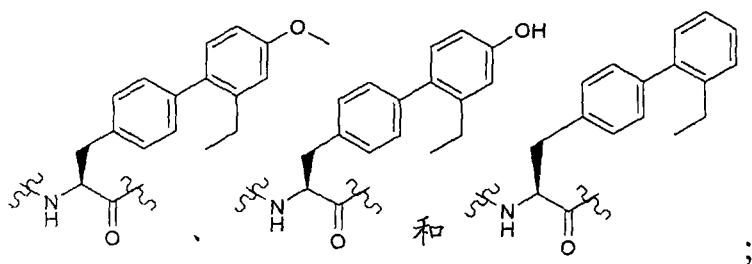
X_{aa7} 为 L-苏氨酸;

X_{aa8} 选自

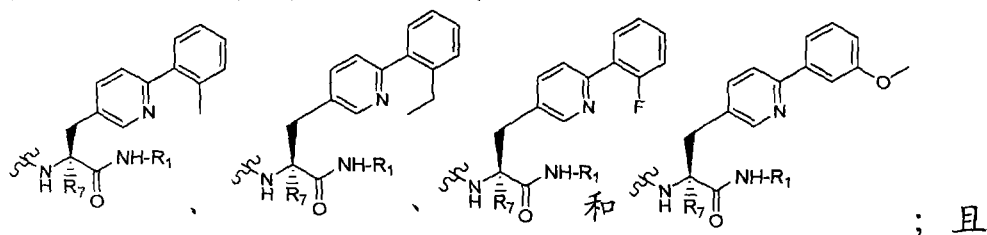


X_{aa9} 为 L-天冬氨酸;

X_{aa10} 为式 II 的天然存在或非天然存在的氨基酸, 其中所述式 II 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自



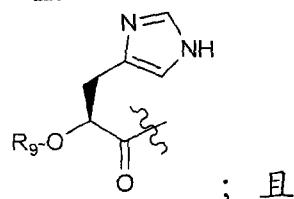
X_{aa11} 为式 IVa 的天然存在或非天然存在的氨基酸, 其中所述式 IVa 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自



其中 R_1 及 R_7 选自氢及甲基。

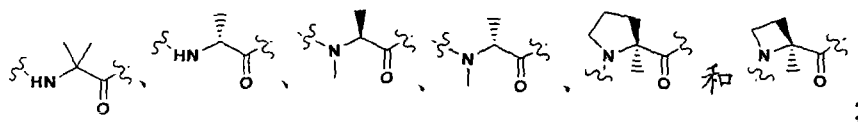
46. 权利要求 1 的经分离的多肽, 其中

X_{aa1} 为



R_9 选自氢及甲基;

X_{aa2} 选自

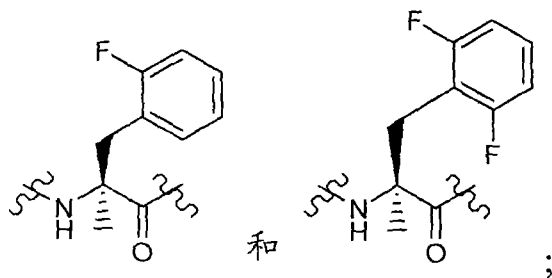


X_{aa3} 为 L-谷氨酸或 L-组氨酸;

X_{aa4} 为甘氨酸;

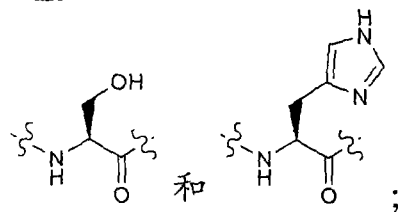
X_{aa5} 为 L-苏氨酸;

X_{aa6} 选自



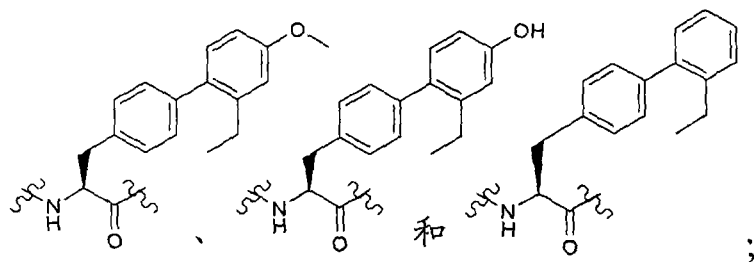
X_{aa7} 为 L-苏氨酸;

X_{aa8} 选自

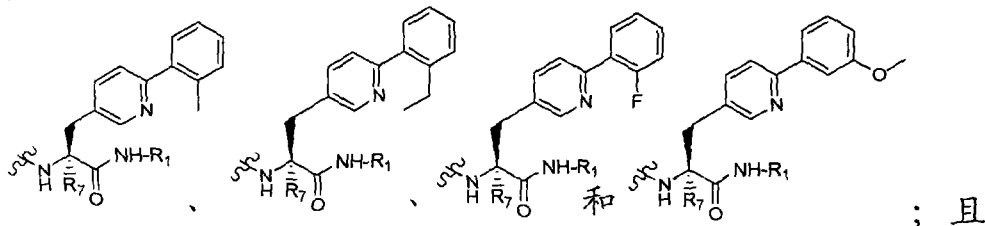


X_{aa9} 为 L-天冬氨酸;

X_{aa10} 为式 II 的天然存在或非天然存在的氨基酸, 其中所述式 II 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自



X_{aa11} 为式 IVa 的天然存在或非天然存在的氨基酸, 其中所述式 IVa 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自



其中 R_1 及 R_7 选自氢及甲基。

47. 一种多肽,其包含序列 Thr-Ser-Asp-Bip(2'-Et-4'-OH)-吡啶基丙氨酸 (SEQ ID NO:177), 其中所述多肽结合并活化 GLP-1 受体。

48. 权利要求 47 的多肽, 其中所述多肽还包含脯氨酸。

49. 权利要求 48 的多肽, 其中所述脯氨酸为从氨基末端残基起的第二个残基, 且为 α -甲基脯氨酸。

50. 权利要求 47 的多肽, 其中所述吡啶基丙氨酸为 4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸。

51. 权利要求 47 的多肽, 其中所述多肽还包含氨基末端的氨基甲酸酯。

52. 权利要求 47 的多肽, 其中所述 Thr-Ser-Asp-Bip(2'-Et-4'-OH)-吡啶基丙氨酸残基分别处于所述多肽的第七位、第八位、第九位及第十位, 且其中第二位包含 α -甲基脯氨酸。

53. 权利要求 47 的多肽, 其中所述多肽为包含 SEQ ID NO:158 的肽。

54. 一种多肽, 其包含 SEQ ID NO:158。

55. 一种药物组合物, 其包含 SEQ ID NO:158 的经分离的多肽及其可药用载体。

56. 一种药物组合, 其包含 SEQ ID NO:158 的经分离的多肽及至少一种选自以下的治疗剂: 抗糖尿病剂、抗肥胖剂、抗高血压剂、抗动脉粥样硬化剂及降脂剂。

57. 权利要求 56 的组合, 其中所述抗糖尿病剂为至少一种选自以下的药物: 双胍类、磺酰脲类、葡萄糖苷酶抑制剂、PPAR γ 激动剂、PPAR α/γ 双重激动剂、aP2 抑制剂、DPP4 抑制剂、胰岛素增敏剂、人胰高血糖素样肽-1(GLP-1)、胰岛素、SGLT-2 抑制剂、GPR119 调节剂及美格列奈。

58. 权利要求 57 的组合, 其中所述抗糖尿病剂为至少一种选自以下的药物: 二甲双胍、格列本脲、格列美脲、格列吡脲、格列吡嗪、氯磺丙脲、格列齐特、阿卡波糖、米格列醇、吡格列酮、曲格列酮、罗格列酮、胰岛素、法格他扎、伊格列酮、瑞格列扎、巴格列酮、CAS RN: 335149-08-1、(Z)-1,4-二{4-[(3,5-二氧代-1,2,4-噁二唑烷-2-基)甲基]苯氧基}丁-2-烯、利格列酮、rafaegron、瑞格列奈、那格列奈、(S)-2-苄基-4-氧代-4-(顺-全氢异吲哚-2-基)丁酸钙、tesaglitazar、N-[(1Z)-1-甲基-3-氧代-3-苯基-1-丙烯基]-4-[3-(5-甲基-2-苯基-4-噁唑基)丙基]L-苯基丙氨酸、5-[(2,4-二氧代-5-噁唑烷基)甲基]-2-甲氧基-N-[[4-(三氟甲基)苯基]甲基]苯甲酰胺、艾塞那肽、8-37-胰高血

糖素样肽 I(人类)、N-[3-(1H-咪唑-4-基)-1-氧代丙基]-26-L-精氨酸-34-[N6-(1-氧代辛基)-L-赖氨酸]、8-36-胰高血糖素相关肽 1(八齿鼠)、N-[3-(1H-咪唑-4-基)-1-氧代丙基]-26-L-精氨酸-34-[N6-(1-氧代辛基)-L-赖氨酸]-36a 及维达列汀。

59. 权利要求 56 的组合, 其中所述抗肥胖剂为至少一种选自以下的药物: CB-1 拮抗剂或反向激动剂、Y2 受体激动剂、Y4 受体激动剂、 β -3 肾上腺素能激动剂、脂肪酶抑制剂、5-羟色胺再摄取抑制剂、多巴胺再摄取抑制剂、5-羟色胺及多巴胺再摄取抑制剂、甲状腺受体 β 化合物及厌食剂。

60. 权利要求 59 的组合, 其中所述抗肥胖剂为至少一种选自以下的药物: 利莫纳班、MK-0364、SLV-319、奥利司他、赛利司他、rafabregon、N-[4-[2-[[[(2S)-3-[(6-氨基-3-吡啶基)氧基]-2-羟基丙基]氨基]乙基]苯基]-4-(1-甲基乙基)苯磺酰胺、西布曲明、托吡酯、axokine、右旋苯丙胺、芬特明、苯丙醇胺及马咧哌。

61. 权利要求 56 的组合, 其中所述降脂质剂为至少一种选自以下的药物: MTP 抑制剂、胆固醇酯转移蛋白、HMG CoA 还原酶抑制剂、角鲨烯合成酶抑制剂、苯乙酸衍生物、LDL 受体活性上调剂、脂氧化酶抑制剂及 ACAT 抑制剂。

62. 权利要求 61 的组合, 其中所述降脂质剂为至少一种选自以下的药物: 普伐他汀、洛伐他汀、辛伐他汀、阿托伐他汀、西立伐他汀、氟伐他汀、尼伐他汀、维沙他汀、非诺贝特、吉非贝齐、氯贝丁酯、阿伐麦布、N-[2,6-二(1-甲基乙基)苯基]-2-(十四烷基硫基)-乙酰胺、3-(13-羟基-10-氧代十四烷基)-5,7-二甲氧基-1(3H)-异苯并呋喃酮、torcetrapib 及(3 α ,4 α ,5 α)-4-(2-丙烯基胆甾烷-3-醇)。

N末端经修饰的 GLP-1 受体调节剂

本申请要求提交于 2006 年 5 月 26 日的美国专利申请 60/809,134 的优先权, 在此将其内容完整引入作为参考。

技术领域

本申请披露和要求保护的主体提供了新的人胰高血糖素样肽-1(GLP-1) 肽受体调节剂、激动剂或部分激动剂, 其展现出与天然肽 GLP-1 类似或优于天然肽 GLP-1 的生物学特性, 且与 GLP-1 天然序列相比, 对溶蛋白性裂解表现出提高的稳定性, 因此可用于糖尿病的治疗和改善。

背景技术

GLP-1 是在葡萄糖代谢及胃肠分泌和代谢中具有调节功能的重要胃肠激素。人 GLP-1 是起源于前胰高血糖素原(preproglucagon)的 30 个氨基酸的肽, 其例如在远端回肠的 L-细胞中及在脑中合成。对前胰高血糖素原进行加工以生成 GLP-1(7-36)酰胺和 GLP-2, 这主要发生在 L-细胞中。GLP-1 通常响应于食物摄取而分泌, 糖类和脂类尤其刺激 GLP-1 的分泌。GLP-1 已被鉴定为胰岛素释放的强效和高效刺激物。GLP-1 降低血浆胰高血糖素浓度, 减慢胃排空, 刺激胰岛素生物合成, 以及提高胰岛素敏感度(Nauck, 1997, Horm. Metab.Res. 47:1253-1258)。在患有葡萄糖耐量降低(impaired glucose tolerance)的受试者中, GLP-1 还提高 β -细胞感受和响应于葡萄糖的能力(Byrne, Eur. J. Clin. Invest., 28:72-78, 1998)。GLP-1 在人中的促胰岛素效应增加了葡萄糖代谢速率, 这部分是由于提高的胰岛素水平, 并且部分是由于提高的胰岛素敏感度(D'Alessio, Eur. J. Clin. Invest., 28:72-78, 1994)。GLP-1 的上述药理学性质使其成为治疗 II 型糖尿病的高度期望的治疗剂。

此外, 最近的研究已表明输注轻微超生理(supraphysiological)量的 GLP-1 在正常受试者中显著提高饱满感并且减少食物摄取(Flint, A., Raben, A., Astrup, A. and Holst, J.J., J.Clin.Invest, 101:515-520, 1998 和 Gutzwiller, J.P., Goke, B., Drewe, J., Hildebrand, P., Ketterer, S., Handschin, D., Winterhaider, R.,

Conen, D and Beglinger, C. Gut 44:81-86, 1999)。也已报道食物摄取和饱满感的作用在肥胖受试者中得以保持(Naslund, E., Barkeling, B., King, N., Gutniak, M., Blundell, J.E., Holst, J.J., Rossner, S., and Hellstrom, P.M., Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord., 23:304-311, 1999)。

在上文所引用的研究中也猜测 GLP-1 对胃排空具有显著的抑制作用。胃排空导致餐后葡萄糖波动(post-prandial glucose excursion)。已表明除对胰岛素分泌的刺激外, GLP-1 还刺激转录因子胰岛-十二指肠同源框-1(IDX-1)的表达, 同时刺激 β -细胞的再生, 由此可作为有效治疗和/或预防糖尿病的药物(Stoffers, D.A., Kieffer, T.J. Hussain, M.A., Drucker, D.J., Bonner-Weir, S., Habener, J.F. and Egan, J.M. Diabetes, 40:741-748, 2000)。也已表明 GLP-1 抑制胃酸分泌(Wettergren, A., Schjoldager, B., Mortensen, P.E., Myhre, J., Christiansen, J., Holst, J.J., Dig. Dis. Sci., 38:665-673, 1993), 这可提供保护作用以对抗胃溃疡。

GLP-1 是一种肠降血糖素激素(例如提高膳食所致胰岛素分泌的肠内激素)(Holst, J.J., Curr. Med. Chem., 6:1005-1017, 1999)。它是编码胰高血糖素原的胰高血糖素基因的产物。所述基因不但在胰的 A-细胞中表达, 而且还在肠粘膜的内分泌 L-细胞中表达。胰高血糖素原是含有 160 个氨基酸的肽(蛋白质)。对胰高血糖素原的进一步加工导致以下物质的产生: a)胰高血糖素, b)N 末端即可能无活性的片段, 以及 c)通常称为“主要胰高血糖素原片段”的大的 C 末端片段。C 末端片段被认为不具有生物活性。尽管此片段存在于胰中并且存在于肠的 L-细胞中, 但仅在肠中观察到“主要胰高血糖素原片段”的裂解产物, 所述裂解产生两种通常称为 GLP-1 和 GLP-2 的高度同源肽。这两种肽具有重要的生物活性。如此, 存在于 L-细胞中的 GLP-1 的氨基酸序列与胰高血糖素原的 78-107 部分相同。

目前, 涉及使用 GLP-1 型分子的治疗方法出现了重大的问题, 这是因为此类肽的血清半衰期非常短。例如 GLP-1(7-37)具有小于 5min 的血清半衰期。因此, 迫切需要具有延长的药效学分布且具有生物活性的 GLP-受体调节剂、激动剂或拮抗剂。本申请披露和要求保护的主题旨在满足这种需要和其它需要。

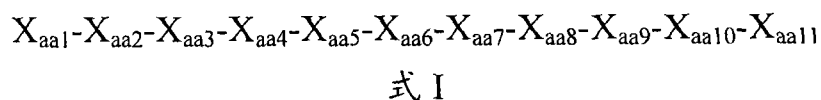
本申请披露了作为 GLP-1 受体调节剂、激动剂或部分激动剂的新肽, 其展现出与天然肽 GLP-1 类似或优于天然肽 GLP-1 的生物学特性, 因而可

用于糖尿病和相关病症的治疗和改善。

发明内容

本申请所述合成分离的肽作为期望的 GLP-1 受体激动剂或部分激动剂而能够调节 GLP-1 受体。这些合成的肽相对于 GLP-1 表现出相似的体内功效和卓越的药动力学性质，包括餐后血糖的降低和血浆胰岛素水平的伴随提高，因此使这些肽成为用于皮下制剂、肺制剂、鼻制剂、口腔制剂或持续释放制剂的理想治疗候选对象。

本申请所述主题的第一个实施方案为经分离的多肽，其包含式 I 的序列：



其中

X_{aa1} 为包含咪唑环基团或噻唑环基团的天然存在或非天然存在的氨基酸，诸如组氨酸或噻唑基丙氨酸；其中所述氨基酸的任何碳原子任选经氢或一个或多个烷基或一个或多个卤素取代；其中所述氨基酸的游离氨基可经羟基或烷氧基代替，或任选经氢、烷基、酰基、苯甲酰基、烷基氧基羰基(例如甲氧羰基)、芳基氧基羰基、芳烷基氧基羰基、杂环基氧基羰基、杂芳基烷基氧基羰基、烷基氨甲酰基、芳基氨甲酰基、芳烷基氨甲酰基、杂环基磺酰基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、芳基烷基磺酰基、杂芳基烷基磺酰基或杂芳基磺酰基取代；且

其中 X_{aa1} 的氨基任选不存在，使得 X_{aa1} 为组氨酸的脱氨基酸或噻唑基丙氨酸的脱氨基酸，其中任何碳原子任选经烷基、卤素或羟基取代；

X_{aa2} 为选自以下的天然存在或非天然存在的氨基酸： α -氨基-异丁酸(Aib)、D-丙氨酸、L-丙氨酸、N-甲基-L-丙氨酸、N-甲基-D-丙氨酸、L-脯氨酸、(S)- α -甲基-脯氨酸、L-氮杂环丁烷-2-羧酸(Azt)、(S)- α -甲基-氮杂环丁烷-2-羧酸(α -Me-Azt)、L-缬氨酸及(R)-或(S)-异缬氨酸，且其中所述氨基酸的碳原子任选经烷基或卤素中的一个或多个取代；

X_{aa3} 为含有包含羧酸基团的氨基酸侧链的天然存在或非天然存在的氨基酸，诸如天冬氨酸或谷氨酸；且其中所述氨基酸的任何碳原子任选经烷基或卤素中的一个或多个取代；

X_{aa4} 为甘氨酸;

X_{aa5} 为选自以下的天然存在或非天然存在的氨基酸: L-苏氨酸、L-别苏氨酸、L-丝氨酸、L-正缬氨酸及 L-正亮氨酸; 且其中所述氨基酸的任何碳原子任选经烷基或卤素中的一个或多个取代;

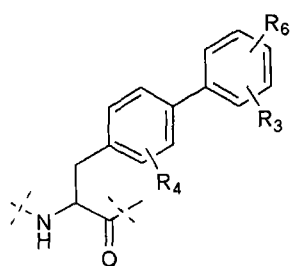
X_{aa6} 为包含经二取代的 α 碳的天然存在或非天然存在的氨基酸; 其中所述氨基酸的侧链之一含有芳环或杂芳环, 例如 α -甲基-苯基丙氨酸、 α -甲基-2-氟苯基丙氨酸及 α -甲基-2,6-二氟苯基丙氨酸, 其中所述氨基酸的任何碳原子任选经一个或多个烷基取代; 且其中所述氨基酸的任何碳原子任选经一个或多个卤素取代;

X_{aa7} 为包含经羟基取代的氨基酸侧链的天然存在或非天然存在的氨基酸, 诸如 L-苏氨酸或 L-别苏氨酸; 其中所述氨基酸的任何碳原子任选经烷基或卤素中的一个或多个取代;

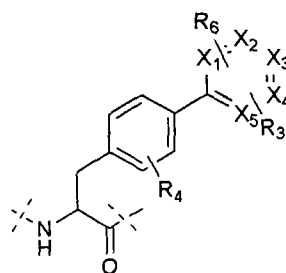
X_{aa8} 为选自以下的天然存在或非天然存在的氨基酸: L-丝氨酸、L-组氨酸及 L-天冬酰胺; 其中所述氨基酸的一个或多个碳原子任选经烷基或卤素中的一个或多个取代;

X_{aa9} 为含有包含羧酸基团的氨基酸侧链的天然存在或非天然存在的氨基酸, 诸如 L-天冬氨酸或 L-谷氨酸; 其中所述氨基酸的一个或多个碳原子任选经烷基或卤素中的一个或多个取代;

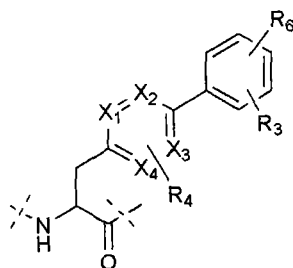
X_{aa10} 为式 II、III 或 IV 的天然存在或非天然存在的氨基酸:



式 II



式 III



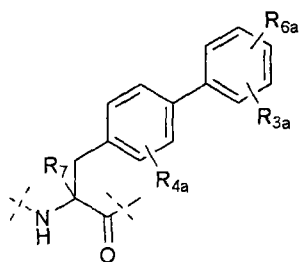
式 IV

其中 R_3 、 R_4 及 R_6 各自选自氢、甲基、乙基、烷基、芳基、杂环基、杂

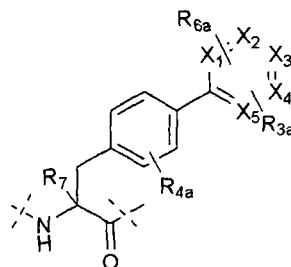
芳基、卤素、羟基、羟基烷基、氰基、氨基、氨基烷基、羧基、羧基烷基、甲氧基、烷氧基、芳基氧基、羧酰胺基团(carboxamide)、经取代的羧酰胺基团、烷基酯基团、芳基酯基团、烷基磺酰基及芳基磺酰基；且

其中 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及 X_5 各自为 C 或 N，其限制条件为 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及 X_5 中的至少一个为 N；

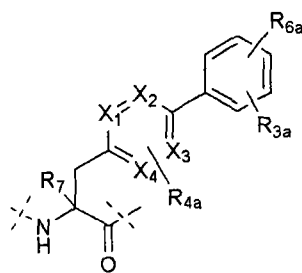
X_{aa11} 为式 IIa、IIIa 或 IVa 的天然存在或非天然存在的氨基酸：



式 IIa



式 IIIa



式 IVa

其中所述氨基酸的 C 末端羧基碳与氮连接形成羧酰胺(NH_2)、烷基羧酰胺(NHR_1)或二烷基羧酰胺(NR_1R_2)；

其中 R_1 及 R_2 各自为烷基或芳基烷基；

其中 R_{3a} 、 R_{4a} 及 R_{6a} 各自选自氢、烷基(例如甲基、乙基)、芳基、杂环基、杂芳基、卤素、羟基、羟基烷基、氰基、氨基、氨基烷基、羧基、羧基烷基、烷氧基、芳基氧基、羧酰胺基团、经取代的羧酰胺基团、烷基酯基团、芳基酯基团、烷基磺酰基及芳基磺酰基；

其中 R_7 选自氢、甲基及乙基；且

其中 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及 X_5 各自为 C 或 N，其限制条件为 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及 X_5 中的至少一个为 N；

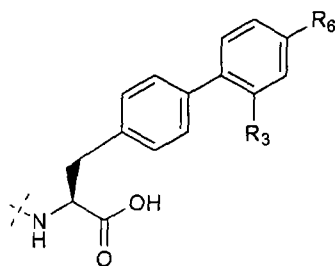
其中当 X_{aa10} 为式 II 的氨基酸时， X_{aa11} 不是式 IIa 的氨基酸。

式 II 的天然存在或非天然存在的氨基酸可还包含多于一个的 R_3 、 R_4 或 R_6 基团。式 III 的天然存在或非天然存在的氨基酸可还包含多于一个的 R_3 、 R_4 或 R_6 基团。式 IV 的天然存在或非天然存在的氨基酸可还包含多于一个

的 R_3 、 R_4 或 R_6 基团。式 V 的天然存在或非天然存在的氨基酸可还包含一个或多个 R_4 或 R_5 基团。

式 IIa 的天然存在或非天然存在的氨基酸可还包含多于一个的 R_{3a} 、 R_{4a} 或 R_{6a} 基团。式 IIIa 的天然存在或非天然存在的氨基酸可还包含多于一个的 R_{3a} 、 R_{4a} 或 R_{6a} 基团。式 IVa 的天然存在或非天然存在的氨基酸可还包含多于一个的 R_{3a} 、 R_{4a} 或 R_{6a} 基团。

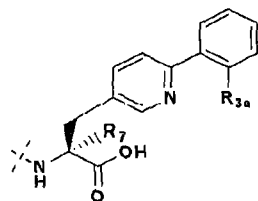
式 I 的第一个实施方案中的 X_{aa10} 也可以是式 VI 的化合物:



式 VI

其中 R_3 选自烷基(例如甲基、乙基)及卤素(例如氟、氯), 且 R_6 选自羟基及甲氧基。

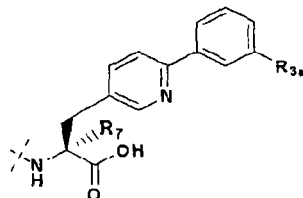
式 I 的第一个实施方案中的 X_{aa11} 也可以是式 VIa 的化合物:



式 VIa

其中 R_{3a} 选自甲基、乙基及氟; 且其中 R_7 选自氢及甲基。

式 I 的第一个实施方案中的 X_{aa11} 也可以是式 VIIa 的化合物:



式 VIIa

其中 R_{3a} 为甲氧基; 且其中 R_7 选自氢及甲基。

在另一个实施方案中,

X_{aa1} 选自 L-His(L-组氨酸)、D-His、L-N-甲基-His、D-N-甲基-His、L-4-噻唑基-Ala(L-4-噻唑基-丙氨酸)、D-4-噻唑基-Ala、脱氨基-His、脱氨基-噻唑基-Ala、3-(1H-咪唑-4-基)-2-甲基丙酰基、(S)-3-(1H-咪唑-4-基)-2-羟基丙

酰基(L-β-咪唑乳酰基)及(S)-或(R)-3-(1H-咪唑-4-基)-2-甲氧基丙酰基(ImeOp), 且

其中若存在末端氨基, 则所述末端氨基任选经氢、烷基、二烷基、酰基、苯甲酰基、烷基氧基羰基(例如甲氧羰基)、芳基氧基羰基、芳烷基氧基羰基、杂环基氧基羰基、杂芳基烷基氧基羰基、烷基氨基甲酰基、芳基氨基甲酰基、芳烷基氨基甲酰基、杂环基磺酰基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、芳基烷基磺酰基、杂芳基烷基磺酰基或杂芳基磺酰基取代;

X_{aa2}选自 L-Ala、D-Ala、N-甲基-L-Ala、N-甲基-D-Ala、L-Pro(L-脯氨酸)、(S)-α-甲基-L-Pro、L-氮杂环丁烷-2-羧酸(Azt)、(S)-α-甲基-氮杂环丁烷-2-羧酸(α-Me-Azt)及 α-氨基异丁酸(Aib);

X_{aa3}选自 L-Glu(L-谷氨酸)、L-Asp(L-天冬氨酸)及 L-Gla(L-γ-羧基谷氨酸);

X_{aa4}为 Gly(甘氨酸);

X_{aa5}选自 L-Thr(L-苏氨酸)、L-Nle(L-正亮氨酸)、L-Nva(L-正缬氨酸)、L-氨基辛酸(L-Aoc)及 L-别苏氨酸;

X_{aa6}选自 L-α-Me-Phe(L-α-甲基-苯基丙氨酸)、L-α-Et-Phe(L-α-乙基-苯基丙氨酸)、L-α-Me-2-氟-Phe、L-α-Me-3-氟-Phe、L-α-Me-2,3-二氟-Phe、L-α-Me-2,6-二氟-Phe 及 L-α-Me-Phe(五氟); 且

X_{aa7}为 L-Thr 或 L-别苏氨酸;

X_{aa8}选自 L-Ser(L-丝氨酸)、L-His 及 L-Asn(L-天冬酰胺);

X_{aa9}为 L-Asp;

X_{aa10}为式 II 的天然存在或非天然存在的氨基酸;

式 II 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自 4-[(4'-甲氧基-2'-乙基)-苯基]苯基丙氨酸、4-[(4'-乙氧基-2'-乙基)苯基]苯基丙氨酸、4-[(4'-甲氧基-2'-甲基)苯基]苯基丙氨酸、4-[(4'-乙氧基-2'-甲基)苯基]苯基丙氨酸、4-(2'-乙基苯基)苯基丙氨酸、4-(2'-甲基苯基)苯基丙氨酸、4-[(3',5'-二甲基)苯基]苯基丙氨酸、4-[(3',4'-二甲氧基)苯基]苯基丙氨酸及 4-[(2'-乙基-4'-羟基)苯基]苯基丙氨酸;

X_{aa10}为式 III 的天然存在或非天然存在的氨基酸;

式 III 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自 4-[2'-(4'-甲氧基-6'-乙基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[2'-(4'-甲氧基-6'-甲基)吡啶基]-4-苯基丙氨酸、

4-[2'-(6'-乙基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[2'-(6'-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[2'-(3',5'-二甲基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[2'-(4'-甲氧基-6'-乙基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[3'-(4'-甲氧基-6'-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[3'-(2'-乙基)吡啶基]苯基丙氨酸及4-[3'-(6'-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸;

X_{aa10} 为式 IV 的天然存在或非天然存在的氨基酸;

式 IV 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自 4-[(4'-甲氧基-2'-乙基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸、4-[(4'-甲氧基-2'-甲基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸、4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸、4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸、4-[(3',5'-二甲基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸及 4-[(2'-乙基-4'-羟基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸;

X_{aa11} 为式 IIa 的天然存在或非天然存在的氨基酸;

式 IIa 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自 4-(2'-甲基苯基)苯基丙氨酸、4-(2'-氟苯基)苯基丙氨酸及 4-[(3',5'-二甲基)苯基]苯基丙氨酸;

X_{aa11} 为式 IIIa 的天然存在或非天然存在的氨基酸;

式 IIIa 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自 4-[(6'-甲基)-2'-吡啶基]苯基丙氨酸、4-[(6'-甲基)-3'-吡啶基]苯基丙氨酸、4-[(6'-乙基)-2'-吡啶基]]苯基丙氨酸及 4-[(6'-乙基)-3'-吡啶基]]苯基丙氨酸;

X_{aa11} 为式 IVa 的天然存在或非天然存在的氨基酸;

式 IVa 的天然存在或非天然存在的氨基酸选自 4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸、4-(2'-氟苯基)-3-吡啶基丙氨酸、4-[(3',5'-二甲基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸、4-(4'-三氟甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸及 4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸; 且

其中所述氨基酸的 C 末端羧基碳与氮连接形成羧酰胺(NH_2)、烷基羧酰胺(NHR_1)或二烷基羧酰胺(NR_1R_2), 其中 R_1 及 R_2 各自为烷基或芳基烷基。

在另一个方面, X_{aa1} 为选自以下的氨基酸: L-His、D-His、L-N-甲基-His、D-N-甲基-His、L-4-噻唑基-Ala、D-4-噻唑基-Ala、脱氨基-His、脱氨基-噻唑基-Ala、3-(1H-咪唑-4-基)-2-甲基丙酰基、(S)-3-(1H-咪唑-4-基)-2-羟基丙酰基(L- β -咪唑乳酰基)及(S)-或(R)-3-(1H-咪唑-4-基)-2-甲氧基丙酰基(IMeOp);

其中若存在末端氨基, 则所述末端氨基任选经氢、烷基、酰基、苯甲酰基、烷基氧基羰基(例如甲氧羰基)、芳基氧基羰基、芳烷基氧基羰基、杂环基氧基羰基、杂芳基烷基氧基羰基、烷基氮甲酰基、芳基氮甲酰基、芳

烷基氨基甲酰基、杂环基磺酰基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、芳基烷基磺酰基、杂芳基烷基磺酰基或杂芳基磺酰基取代;

X_{aa2} 为选自以下的氨基酸: L-丙氨酸、D-丙氨酸、N-甲基-L-丙氨酸、N-甲基-D-丙氨酸、L-脯氨酸、(S)- α -甲基-L-脯氨酸、L-氮杂环丁烷-2-羧酸(Azt)、(S)- α -甲基-氮杂环丁烷-2-羧酸(α -Me-Azt)及 α -氨基异丁酸(Aib);

X_{aa3} 为选自 L-Glu、L-Asp 及 L-Gla 的氨基酸;

X_{aa4} 为 Gly;

X_{aa5} 为选自 L-Thr、L-Nle、L-Nva、L-Aoc 及 L-别苏氨酸的氨基酸;

X_{aa6} 为选自 L- α -Me-Phe、L- α -Et-Phe、L- α -Me-2-氟-Phe、L- α -Me-3-氟-Phe、L- α -Me-2,3-二氟-Phe、L- α -Me-2,6-二氟-Phe 及 L- α -Me-Phe(五氟)的氨基酸;

X_{aa7} 为选自 L-Thr 及 L-别苏氨酸的氨基酸;

X_{aa8} 为选自 L-Ser、L-His 及 L-Asn 的氨基酸;

X_{aa9} 为 L-Asp;

X_{aa10} 为选自式 II、III、IV 及 V 的氨基酸的天然存在或非天然存在的氨基酸;

其中式 II 为选自以下的氨基酸: 4-[(2'-乙基-4'-羟基)苯基]苯基丙氨酸、4-[(4'-甲氧基-2'-乙基)苯基]苯基丙氨酸、4-[(4'-甲氧基-2'-甲基)苯基]苯基丙氨酸、4-(2'-乙基苯基)苯基丙氨酸、4-(2'-甲基苯基)苯基丙氨酸、4-[(3',5'-二甲基)苯基]苯基丙氨酸及 4-[(3',4'-二甲氧基)苯基]苯基丙氨酸;

其中式 III 为选自以下的氨基酸: 4-[2'-(4'-甲氧基-6'-乙基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[2'-(4'-甲氧基-6'-甲基)吡啶基]-4-苯基丙氨酸、4-[2'-(6'-乙基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[2'-(6'-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[2'-(3',5'-二甲基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[2'-(4'-甲氧基-6'-乙基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[3'-(4'-甲氧基-6'-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[3'-(2'-乙基)吡啶基]苯基丙氨酸及 4-[3'-(6'-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸;

其中式 IV 为选自以下的氨基酸: 4-[(2'-乙基-4'-羟基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸、4-[(4'-甲氧基-2'-乙基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸、4-[(4'-甲氧基-2'-甲基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸、4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸、4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸及 4-[(3',5'-二甲基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸; 且

X_{aa11} 为选自式 IIa、IIIa 及 IVa 的氨基酸的天然存在或非天然存在的氨基酸;

基酸;

其中式 IIa 为选自以下的氨基酸: 4-(2'-甲基苯基)苯基丙氨酸、4-(2'-氟苯基)苯基丙氨酸及 4-[(3',5'-二甲基)苯基]苯基丙氨酸;

其中式 IIIa 为选自以下的氨基酸: 4-[2'-(6'-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[2'-(6'-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸、4-[2'-(6'-乙基)吡啶基]苯基丙氨酸及 4-[3'-(6'-乙基)吡啶基]苯基丙氨酸;

其中式 IVa 为选自以下的氨基酸: 4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸、4-(2'-氟苯基)-3-吡啶基丙氨酸、4-[(3',5'-二甲基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸、4-(4'-三氟甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸及 4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸;

其中当 X_{aa10} 为式 II 的氨基酸时, X_{aa11} 不是式 IIa 的氨基酸;

其中 C 末端羧基碳与氮连接形成羧酰胺(NH_2)、烷基羧酰胺(NHR_1)或二烷基羧酰胺(NR_1R_2), 其中 R_1 及 R_2 各自为烷基或芳基烷基; 且

其中 X_{aa10} 及 X_{aa11} 不同时为式 II 的氨基酸。

其它实施方案包括含有任何以下序列的经分离的多肽:

SEQ ID No.	X_{aa1}	X_{aa2}	X_{aa3}	X_{aa4}	X_{aa5}	X_{aa6}	X_{aa7}	X_{aa8}	X_{aa9}	X_{aa10}	$X_{aa11}-NH_2$
1	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Me)	4-(2'-吡啶基)苯基丙氨酸- NH_2
2	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(3',5'-二甲基)	4-(2'-吡啶基)苯基丙氨酸- NH_2
3	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-OBu)	4-(2'-吡啶基)苯基丙氨酸- NH_2
4	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Me)	4-(4'-吡啶基)苯基丙氨酸- NH_2
5	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Cl)	4-(4'-吡啶基)苯基丙氨酸- NH_2
6	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-甲氧基-5'-异丙基)	4-(4'-吡啶基)苯基丙氨酸- NH_2
7	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	Bip(2'-Me)- NH_2
8	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	4-[(2'-乙基-4'-甲氧基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸	Bip(2'-Me)- NH_2
9	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸- NH_2
10	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸- NH_2
11	脱氨基-His	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸- NH_2
12	脱氨基-His	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸- NH_2
13	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸- NH_2

SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
14	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
15	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[3-(4-甲基)吡啶基]]苯基丙氨酸-NH ₂
16	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[3-(4-甲基)吡啶基]]苯基丙氨酸-NH ₂
17	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3-哒嗪基)苯基丙氨酸-NH ₂
18	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3-哒嗪基)苯基丙氨酸-NH ₂
19	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[3-(4-Me-6-O Me)吡啶基]]苯基丙氨酸-NH ₂
20	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[3-(4'-甲基)吡啶基]]苯基丙氨酸	Bip(2'-Me)-NH ₂
21	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	4-[(4'-Me-6'-OMe)-3-吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-Me)-NH ₂
22	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[(4'-Me-6'-OMe)-3-吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-Me)-NH ₂
23	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[2(1H)吡啶酮基]苯基丙氨酸-NH ₂
24	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	Bip(8-喹啉)-NH ₂
25	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	Bip(3-喹啉)-NH ₂
26	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	Bip(6-喹啉)-NH ₂
27	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	Bip(5-喹啉)-NH ₂
28	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3-(6-OMe)吡啶基)苯基丙氨酸-NH ₂
29	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3-(2-甲氧基)吡啶基)苯基丙氨酸-NH ₂
30	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-吡啶基)苯基丙氨酸-NH ₂
31	脱氨基-His	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
32	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	4-(5-喹啉)苯基丙氨酸	Bip(2'-Me)-NH ₂
33	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	4-[3-(2'-OMe)吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-Me)-NH ₂
34	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	4-(6-喹啉)苯基丙氨酸	Bip(2'-Me)-NH ₂
35	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	4-(4'-吡啶基)苯基丙氨酸	Bip(2'-Me)-NH ₂
36	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	4-[4'-(3',5'-二甲基异恶唑)]苯基丙氨酸	Bip(2'-Me)-NH ₂
37	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2-三氟甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂

SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
38	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基-5-氟苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
39	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(4-甲磺酰基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
40	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
41	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
42	H	Aib	E	G	Nle	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
43	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[(2'-Cl-4'-CF ₃)-3'-吡啶基]苯基丙氨酸-NH ₂
44	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[3'-(2'-CN-6'-Me)吡啶基]苯基丙氨酸-NH ₂
45	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Cl)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
46	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2',4'-二甲氧基)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
47	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(3'-吡啶基)苯基丙氨酸	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
48	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(4'-吡啶基)苯基丙氨酸	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
49	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Me-3'-F)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
50	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-F)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
51	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[3'-(2'-Cl-6'-CF ₃)吡啶基]苯基丙氨酸	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
52	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	Bip(2'-Cl)-NH ₂
53	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	Bip(3'-Cl-4'-F)-NH ₂
54	H	Aib	E	G	Nva	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
55	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	Bip(3',5'-二甲基)-NH ₂
56	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	4-(2',3'-噻嗪基)苯基丙氨酸-NH ₂
57	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂

SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
58	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	4-[3'-(2'-Cl-6'-CF ₃)吡啶基]苯基丙氨酸-NH ₂
59	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	4-[3'-(2'-CN-6'-Me)吡啶基]苯基丙氨酸-NH ₂
60	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[3'-(4'-Me)吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-Cl)-NH ₂
61	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[3'-(4'-Me)吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(3'-Cl-4'-F)-NH ₂
62	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[3'-(4'-Me)吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(3',5'-二甲基)-NH ₂
63	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[3'-(4'-Me)吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-Me-4'-OMe)-NH ₂
64	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[3'-(4'-Me)吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-Me-3'-F)-NH ₂
65	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[3'-(4'-Me)吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-F)-NH ₂
66	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[(4'-Me-6'-OMe)-3-吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-Cl)-NH ₂
67	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[(4'-Me-6'-OMe)-3-吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(3',4'-二甲氧基)-NH ₂
68	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[(4'-Me-6'-OMe)-3-吡啶基]苯基丙氨酸	4-(2'-吡啶基)苯基丙氨酸-NH ₂
69	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[(4'-Me-6'-OMe)-3-吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-Me-4'-OMe)-NH ₂
70	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[(4'-Me-6'-OMe)-3-吡啶基]苯基丙氨酸	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
71	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et)	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
72	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[3'-(4'-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
73	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(4'-吡啶基)-苯基丙氨酸-NH ₂
74	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-喹啉)苯基丙氨酸-NH ₂
75	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-(2'-甲氧基)吡啶基)苯基丙氨酸-NH ₂
76	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-苯基-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
77	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3',5'-二甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
78	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[(3'-氟-4'-氟)苯基]-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
79	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3',4'-二甲氧基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
80	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[(2'-乙基-4'-甲氧基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂

SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
81	L-β-咪唑-乳酰基	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
82	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	2-(5-邻甲基苯基)噻吩基丙氨酸-NH ₂
83	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	2-[(5-(3'-甲氧基)苯基)噻吩基]丙氨酸-NH ₂
84	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	2-[(5-(3',5'-二甲基)苯基)噻吩基]丙氨酸-NH ₂
85	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	2-[(5-(3'-Cl-5'-F)苯基)噻吩基]丙氨酸-NH ₂
86	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-异丙氧基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
87	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基-5'-氟)苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
88	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-异丙氧基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
89	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	3-(4-Br)吡啶基丙氨酸-NH ₂
90	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(4'-甲氧基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
91	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基-4'-氟)苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
92	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
93	Il	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-三氟甲氧基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
94	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(4'-三氟甲氧基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
95	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
96	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基-4'-氟)苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
97	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Me-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
98	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-三氟甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
99	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(4'-氟苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂

SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
100	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-三氟甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
101	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-氯苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
102	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-氯苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
103	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(4'-异丙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
104	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3',5'-二甲基异噁唑-4'-基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
105	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[(2'-甲氧基)-甲氧基]苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
106	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(4'-三氟甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
107	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(4'-氯苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
108	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(4'-吡啶基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
109	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-甲氧基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
110	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(6'-甲氧基吡啶-3'-基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
111	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-异丙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
112	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲氧基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
113	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[(3',5'-二氟-2'-甲氧基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
114	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
115	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-氟苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
116	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-氟苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
117	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-甲氧基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂

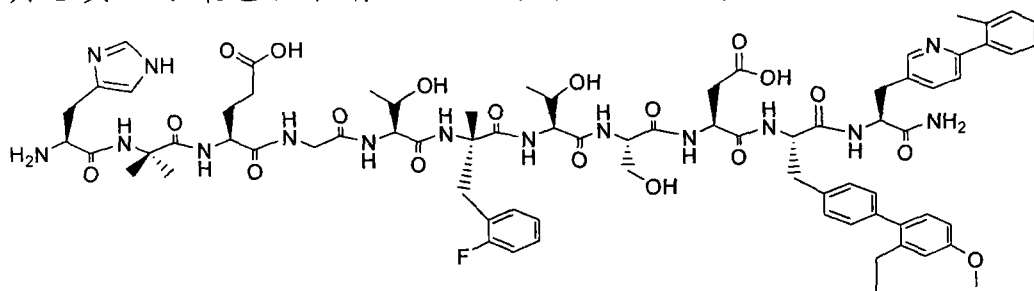
SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
118	H	(S)- α -Me-Pr o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯 基)-3-吡啶基丙 氨酸-NH ₂
119	H	N-Me -D-Al a	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯 基)-3-吡啶基丙 氨酸-NH ₂
120	H	(S)- α -Me-Pr o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯 基)-3-吡啶基丙 氨酸-NH ₂
121	H	(S)- α -Me-Pr o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	(S)-4-(2'-甲基 苯基)- α -Me-3- 吡啶基丙氨酸 -NH ₂
122	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	(S)-4-(2'-甲基 苯基)- α -Me-3- 吡啶基丙氨酸 -NH ₂
123	H	(S)- α -Me-Pr o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯 基)-3-吡啶基丙 氨酸-NH ₂
124	H	(S)- α -Me-Pr o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯 基)-3-吡啶基丙 氨酸-NH ₂
125	H	(S)- α -Me-Pr o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-甲氧基苯 基)-3-吡啶基丙 氨酸-NH ₂
126	H	(S)- α -Me-Pr o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-甲氧基苯 基)-3-吡啶基丙 氨酸-NH ₂
127	H	(S)- α -Me-Pr o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-氟苯 基)-3-吡啶基丙 氨酸-NH ₂
128	H	(S)- α -Me-Pr o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-氟苯 基)-3-吡啶基丙 氨酸-NH ₂
129	H	N-Me -L-Al a	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯 基)-3-吡啶基丙 氨酸-NH ₂
130	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯 基)-3,5-噻唑基 丙氨酸-NH ₂
131	H	(S)- α -Me-Pr o	D	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯 基)-3-吡啶基丙 氨酸-NH ₂
132	H	(S)- α -Me-Pr o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et)	4-(2'-乙基苯 基)-3-吡啶基丙 氨酸-NH ₂
133	脱氨基-His	(S)- α -Me-Pr o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯 基)-3-吡啶基丙 氨酸-NH ₂
134	脱氨基-His	(S)- α -Me-Pr o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯 基)-3-吡啶基丙 氨酸-NH ₂
135	脱氨基-His	(S)- α -Me-Pr o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-氟苯 基)-3-吡啶基丙 氨酸-NH ₂
136	脱氨基-His	(S)- α -Me-Pr o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-甲氧基苯 基)-3-吡啶基丙 氨酸-NH ₂

SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
137	(R)-Imp	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
138	(S)-Imp	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
139	CH ₃ O-CO-His	(S)- α -Me-Pr _o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
140	CH ₃ O-CO-His	(S)- α -Me-Pr _o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
141	CH ₃ O-CO-His	N-Me-D-Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
142	CH ₃ O-CO-His	N-Me-D-Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
143	CH ₃ SO ₂ -His	(S)- α -Me-Pr _o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
144	CH ₃ SO ₂ -His	(S)- α -Me-Pr _o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
145	L-乳酰基-His	(S)- α -Me-Pr _o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
146	L-乳酰基-His	(S)- α -Me-Pr _o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
147	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3',5'-二甲基)苯基-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
148	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
149	H	D-Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
150	H	Aib	H	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
151	L- β -咪唑-乳酰基	(S)- α -Me-Pr _o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O-Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
152	L- β -咪唑-乳酰基	(S)- α -Me-Pr _o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O-Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
153	L- β -咪唑-乳酰基	(S)- α -Me-Pr _o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
154	L- β -咪唑-乳酰基	(S)- α -Me-Pr _o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
155	L- β -咪唑-乳酰基	N-Me-D-Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O-Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂

SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
156	L-β-咪唑-乳酰基	N-Me-D-Ala	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O-Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
157	CH ₃ O-CO-His	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
158	CH ₃ O-CO-His	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
159	CH ₃ O-CO-His	N-Me-D-Ala	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
160	CH ₃ O-CO-His	N-Me-D-Ala	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
161	CH ₃ O-CO-His	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
162	CH ₃ O-CO-His	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
163	L-β-咪唑-乳酰基	N-Me-D-Ala	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
164	CH ₃ O-CO-His	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH-5'-I)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
165	脱氨基-His	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
166	脱氨基-His	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
167	(R)-Imp	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
168	(S)-Imp	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
169	(R)-Imp	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
170	(S)-Imp	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
171	(R)-IMeOp	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
172	(S)-IMeOp	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
173	(R)-IMeOp	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
174	(S)-IMeOp	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂

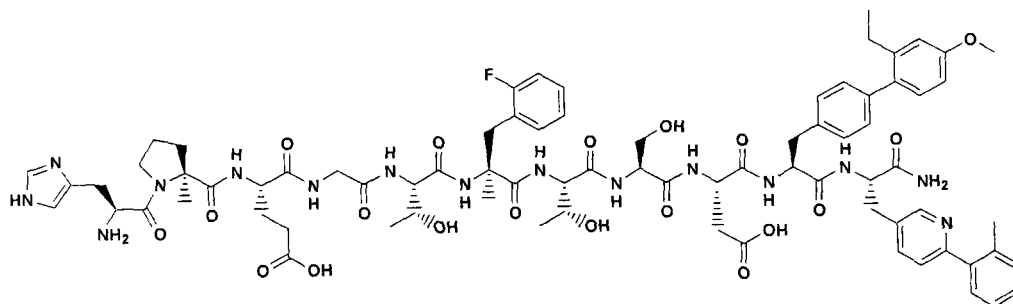
SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
175	(R)-lMeOp	(S)- α -Me-Pr _o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
176	(S)-lMeOp	(S)- α -Me-Pr _o	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
177							T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
178		(S)- α -Me-Pr _o					T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
179							T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂

其它实施方案包括含有以下结构的经分离的多肽:



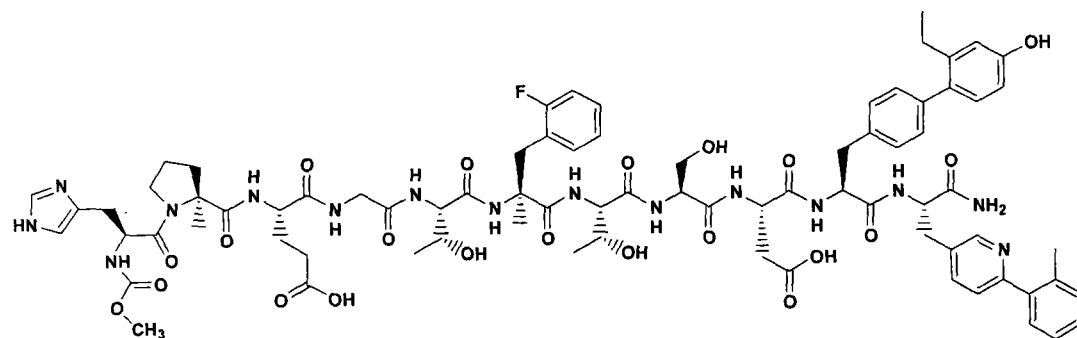
SEQ ID NO:9

; 或



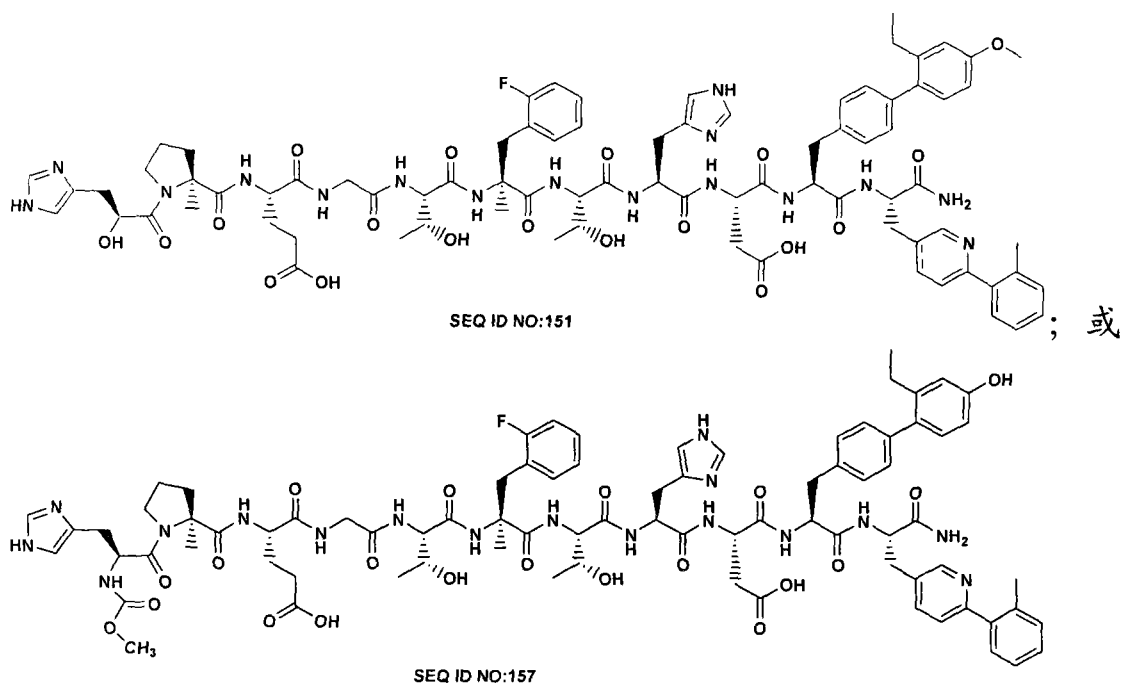
SEQ ID NO:118

; 或



SEQ ID NO:158

; 或



其它实施方案包括含有序列 Thr-Ser-Asp-Bip(2'-Et-4'-OH)-吡啶基丙氨酸(SEQ ID NO:177)或 Thr-Ser-Asp-Bip(2'-Et-4'-OH)吡啶基丙氨酸(SEQ ID NO:179)的多肽, 其中所述多肽结合并活化 GLP-1 受体。上述肽可还包含处于从氨基末端残基起第二个残基处的脯氨酸(例如 α -甲基脯氨酸)、经取代的吡啶基丙氨酸(例如 4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸)及氨基末端的氨基甲酸酯。

上述序列 SEQ ID NO:177 或 179 可分别处于包含所述序列的肽的第七个、第八个、第九个及第十个残基处。上述肽可还包含处于第 2 位的脯氨酸(例如 α -甲基脯氨酸)。包含序列 SEQ ID NO:177 的示范性肽为 SEQ ID NO:158 的肽。包含序列 SEQ ID NO:179 的示范性肽为 SEQ ID NO:157 的肽。

另一个实施方案为药物组合物, 其包含式 I 的经分离的多肽或含有 SEQ ID NO:1-179 中至少一种的肽。

另一个实施方案涉及药物组合, 其包含式 I 的经分离的多肽或含有 SEQ ID NO:1-179 中任何一种的肽及至少一种选自以下的治疗剂: 抗糖尿病剂、抗肥胖剂、抗高血压剂、抗动脉粥样硬化剂及降脂剂。

另一个实施方案涉及包含式 I 的经分离的多肽或含有 SEQ ID NO:1-179 中任何一种的肽的药物组合, 其中抗糖尿病剂选自双胍类、磺酰脲类、葡萄糖苷酶抑制剂、PPAR γ 激动剂、PPAR α/γ 双重激动剂、aP2 抑制剂、DPP4 抑制剂、SGLT-2 抑制剂、胰岛素增敏剂、人胰高血糖素样肽-1(GLP-1)、GPR119 调节剂、胰岛素及美格列奈(meglitinide)。

另一个实施方案涉及包含式I的经分离的多肽或含有 SEQ ID NO:1-179 中任何一种的肽的药物组合, 其中抗糖尿病剂选自二甲双胍(metformin)、格列本脲(glyburide)、格列美脲(glimepiride)、格列吡脲(glipiride)、格列吡嗪(glipizide)、氯磺丙脲(chlorpropamide)、格列齐特(gliclazide)、阿卡波糖(acarbose)、米格列醇(miglitol)、吡格列酮(pioglitazone)、曲格列酮(troglitazone)、罗格列酮(rosiglitazone)、莫格他唑(muraglitazar)、胰岛素、GI-262570、伊格列酮(isaglitazone)、JTT-501、NN-2344、L895645、YM-440、R-119702、AJ9677、瑞格列奈(repaglinide)、那格列奈(nateglinide)、KAD1129、AR-HO39242、GW-409544、KRP297、AC2993、LY315902 及 NVP-DPP-728A。

另一个实施方案涉及包含式I的经分离的多肽或含有 SEQ ID NO:1-179 中任何一种的肽的药物组合, 其中抗肥胖剂选自 CB-1 拮抗剂(或反向激动剂)、MCHR-1 拮抗剂、DGAT 抑制剂、 β -3 肾上腺素能激动剂、脂肪酶抑制剂、5-羟色胺(及多巴胺)再摄取抑制剂(reuptake inhibitor)、甲状腺受体 β 化合物(thyroid receptor beta compound)及厌食剂(anorectic agent)。

另一个实施方案涉及包含式I的经分离的多肽或含有 SEQ ID NO:1-179 中任何一种的肽的药物组合, 其中抗肥胖剂选自奥利司他(orlistat)、ATL-962、AJ9677、L750355、CP331648、acomplia、MK-0364、SLV-319、西布曲明(sibutramine)、托吡酯(topiramate)、axokine、右旋苯丙胺(dexamphetamine)、芬特明(phentermine)、苯丙醇胺(phenylpropanolamine)及马吲哚(mazindol)。

另一个实施方案涉及包含式I的经分离的多肽或含有 SEQ ID NO:1-179 中任何一种的肽的药物组合, 其中降脂质剂选自 MTP 抑制剂、胆固醇酯转移蛋白、HMG CoA 还原酶抑制剂、角鲨烯合成酶抑制剂、苯乙酸(fibric acid)衍生物、LDL 受体活性上调剂、脂氧化酶(lipoxygenase)抑制剂及 ACAT 抑制剂。

另一个实施方案涉及包含式I的经分离的多肽或含有 SEQ ID NO:1-179 中任何一种的肽的药物组合, 其中降脂质剂选自普伐他汀(pravastatin)、洛伐他汀(lovastatin)、辛伐他汀(simvastatin)、阿托伐他汀(atorvastatin)、西立伐他汀(cerivastatin)、氟伐他汀(fluvastatin)、尼伐他汀(nisvastatin)、维沙他汀(visastatin)、非诺贝特(fenofibrate)、吉非贝齐(gemfibrozil)、氯贝丁酯(clofibrate)、阿伐麦布(avasimibe)、TS-962、MD-700、CP-529414 及 LY295427。

另一个实施方案涉及治疗或延缓以下疾病的进展或发作的方法：糖尿病(diabetes)、糖尿病视网膜病(diabetic retinopathy)、糖尿病神经病(diabetic neuropathy)、糖尿病肾病(diabetic nephropathy)、创伤愈合(wound healing)、胰岛素抵抗(insulin resistance)、高血糖症(hyperglycemia)、高胰岛素血症(hyperinsulinemia)、X 综合征(Syndrome X)、糖尿病并发症(diabetic complication)、游离脂肪酸或甘油血液水平提高(elevated blood levels of free fatty acids or glycerol)、高脂血症(hyperlipidemia)、肥胖症(obesity)、高甘油三酯血症(hypertriglyceridemia)、动脉粥样硬化(atherosclerosis)或高血压(hypertension), 所述方法包括向需要治疗的哺乳动物物种给药治疗有效量的式 I 的经分离的多肽或含有 SEQ ID NO:1-179 中任何一种的肽。

另一个实施方案涉及治疗或延缓以下疾病的进展或发作的方法：糖尿病、糖尿病视网膜病、糖尿病神经病、糖尿病肾病、创伤愈合、胰岛素抵抗、高血糖症、高胰岛素血症、X 综合征、糖尿病并发症、游离脂肪酸或甘油血液水平提高、高脂血症、肥胖症、高甘油三酯血症、动脉粥样硬化或高血压, 所述方法包括同时或先后给药治疗有效量的一种或多种选自以下的治疗剂及式 I 的经分离的多肽或含有 SEQ ID NO:1-179 中任何一种的肽：抗糖尿病剂、抗肥胖剂、抗高血压剂、抗动脉粥样硬化剂及降脂剂。

另一个实施方案涉及治疗或延缓以下疾病的进展或发作的方法：糖尿病、糖尿病视网膜病、糖尿病神经病、糖尿病肾病、创伤愈合、胰岛素抵抗、高血糖症、高胰岛素血症、X 综合征、糖尿病并发症、游离脂肪酸或甘油血液水平提高、高脂血症、肥胖症、高甘油三酯血症、动脉粥样硬化或高血压, 所述方法包括向需要治疗的哺乳动物物种给药治疗有效量的上述药物组合中的任何一种。

本申请所述主题的另一个方面为所披露的肽作为放射性标记(radiolabel)在配体结合测定开发中的用途。例如, 可使用放射性同位素 ^{125}I 来制备 SEQ ID NO:164 的肽, 且所得放射性标记的肽可用于开发结合测定。可替换地且出于相同的目的, 可使用本领域技术人员已知的方法进行催化氟化来将 SEQ ID NO:164 的肽转化成放射性标记形式的 SEQ ID NO:158 的肽。

附图说明

图 1 显示了对 ob/ob 小鼠进行的 ipGTT(腹膜内葡萄糖耐量试验)中皮下注射化合物 I 对血糖的作用。

图 2 显示了对 ob/ob 小鼠进行的 ipGTT 中皮下注射化合物 I 对血浆胰岛素的作用。

图 3 显示了对 ob/ob 小鼠进行的 ipGTT 中皮下注射 SEQ ID NO:9 的化合物对血糖的作用。

图 4 显示了对 ob/ob 小鼠进行的 ipGTT 中皮下注射 SEQ ID NO:9 的化合物对血浆胰岛素的作用。

图 5 显示了对 ob/ob 小鼠进行的 ipGTT 中皮下注射 SEQ ID NO:118 的化合物对血糖的作用。

图 6 显示了对 ob/ob 小鼠进行的 ipGTT 中皮下注射 SEQ ID NO:151 的化合物对血糖的作用。

图 7 显示了对 ob/ob 小鼠进行的 ipGTT 中皮下注射 SEQ ID NO:151 的化合物对血浆胰岛素的作用。

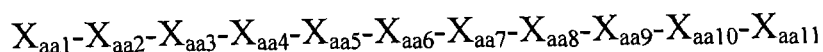
图 8 显示了对 ob/ob 小鼠进行的 ipGTT 中皮下注射 SEQ ID NO:158 的化合物对血糖的作用。

图 9 显示了对 ob/ob 小鼠进行的 ipGTT 中皮下注射 SEQ ID NO:158 的化合物对血浆胰岛素的作用。

具体实施方式

本申请所述合成分离的肽作为期望的 GLP-1 受体激动剂或部分激动剂而能够调节 GLP-1 受体。这些合成的肽相对于 GLP-1 表现出相似的体内功效和卓越的药理学性质，包括餐后血糖的降低和血浆胰岛素水平的伴随提高，因此使它们成为用于皮下制剂、肺制剂、鼻制剂、口腔制剂或持续释放制剂的理想治疗候选对象。

本申请描述和要求保护的主体包括经分离的多肽，其包含式 I 的序列：



式 I

其中

X_{aa1} 为包含咪唑环基团或噻唑环基团的天然存在或非天然存在的氨基酸，诸如组氨酸或噻唑基丙氨酸；其中所述氨基酸的任何碳原子任选经氢、

一个或多个烷基或一个或多个卤素取代；其中所述氨基酸的游离氨基任选经氢、羟基、烷基、酰基、苯甲酰基、烷氧基、烷基氧基羰基(例如甲氧羰基)、芳基氧基羰基、芳烷基氧基羰基、杂环基氧基羰基、杂芳基烷基氧基羰基、烷基氨基甲酰基、芳基氨基甲酰基、芳烷基氨基甲酰基、杂环基磺酰基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、芳基烷基磺酰基、杂芳基烷基磺酰基或杂芳基磺酰基取代；且

其中 X_{aa1} 的氨基任选不存在，使得 X_{aa1} 为组氨酸的脱氨基酸或噻唑基丙氨酸的脱氨基酸，其中任何碳原子任选经烷基、卤素或羟基取代；

X_{aa2} 为选自以下的天然存在或非天然存在的氨基酸： α -氨基-异丁酸、L-丙氨酸、D-丙氨酸、N-甲基-L-丙氨酸、N-甲基-D-丙氨酸、L-脯氨酸、(S)- α -甲基-脯氨酸、L-氮杂环丁烷-2-羧酸(Azt)、L- α -甲基-氮杂环丁烷-2-羧酸(α -Me-Azt)、L-缬氨酸及(R)-或(S)-异缬氨酸，且其中所述氨基酸的碳原子任选经烷基或卤素中的一个或多个取代；

X_{aa3} 为含有包含羧酸基团的氨基酸侧链的天然存在或非天然存在的氨基酸，诸如天冬氨酸或谷氨酸；且其中所述氨基酸的任何碳原子任选经烷基或卤素中的一个或多个取代；

X_{aa4} 为甘氨酸；

X_{aa5} 为选自以下的天然存在或非天然存在的氨基酸：L-苏氨酸、L-别苏氨酸、L-丝氨酸、L-正缬氨酸及L-正亮氨酸；且其中所述氨基酸的任何碳原子任选经烷基或卤素中的一个或多个取代；

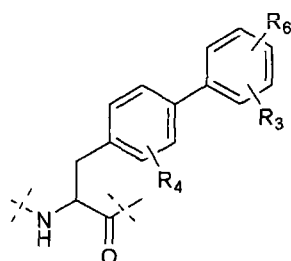
X_{aa6} 为包含经二取代的 α 碳的天然存在或非天然存在的氨基酸；其中所述氨基酸的侧链之一含有芳环或杂芳环，例如 α -甲基-苯基丙氨酸、 α -甲基-2-氟苯基丙氨酸或 α -甲基-2,6-二氟苯基丙氨酸，其中所述氨基酸的任何碳原子任选经一个或多个烷基取代；且其中所述氨基酸的任何碳原子任选经一个或多个卤素取代；

X_{aa7} 为包含经羟基取代的氨基酸侧链的天然存在或非天然存在的氨基酸，诸如L-苏氨酸或L-别苏氨酸；其中所述氨基酸的任何碳原子任选经烷基或卤素中的一个或多个取代；

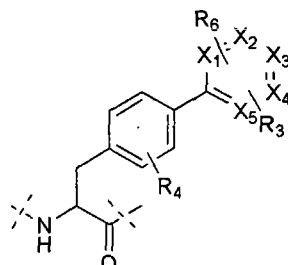
X_{aa8} 为选自以下的天然存在或非天然存在的氨基酸：L-丝氨酸、L-组氨酸及L-天冬酰胺；其中所述氨基酸的一个或多个碳原子任选经烷基或卤素中的一个或多个取代；

X_{aa9} 为含有包含羧基的氨基酸侧链的天然存在或非天然存在的氨基酸, 诸如 L-天冬氨酸或 L-谷氨酸; 其中所述氨基酸的一个或多个碳原子任选经烷基或卤素中的一个或多个取代;

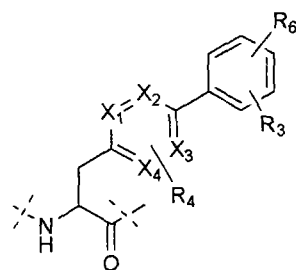
X_{aa10} 为式 II、III 或 IV 的天然存在或非天然存在的氨基酸:



式 II



式 III

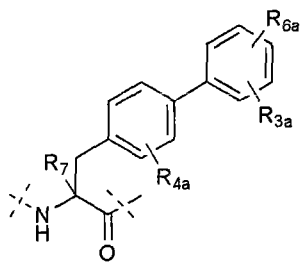


式 IV

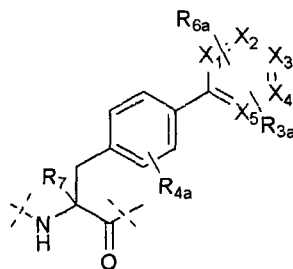
其中 R_3 、 R_4 及 R_6 各自选自氢、烷基、芳基、杂环基、杂芳基、卤素、羟基、羟基烷基、氰基、氨基、氨基烷基、烷氧基、芳基氧基、羧基、羧基烷基、羧酰胺基团、经取代的羧酰胺基团、烷基酯基团、芳基酯基团、烷基磺酰基及芳基磺酰基; 且

其中 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及 X_5 各自为 C 或 N, 其限制条件为 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及 X_5 中的一个为 N;

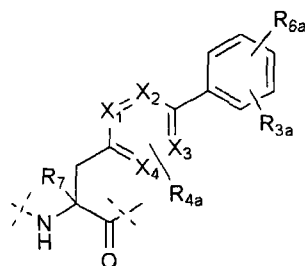
X_{aa11} 为式 IIa、IIIa 或 IVa 的天然存在或非天然存在的氨基酸:



式 IIa



式 IIIa



式 IVa

其中所述氨基酸的 C 末端羧基碳与氮连接形成羧酰胺(NH₂)、烷基羧酰胺(NHR₁)或二烷基羧酰胺(NR₁R₂);

其中 R₁ 及 R₂ 各自为烷基或芳基烷基;

其中 R_{3a}、R_{4a} 及 R_{6a} 各自选自氢、烷基、芳基、杂环基、杂芳基、卤素、羟基、羟基烷基、氰基、氨基、氨基烷基、烷氧基、芳基氧基、羧基、羧基烷基、羧酰胺基团、经取代的羧酰胺基团、烷基酯基团、芳基酯基团、烷基磺酰基及芳基磺酰基;

其中 R₇ 选自氢、甲基及乙基; 且

其中 X₁、X₂、X₃、X₄ 及 X₅ 各自为 C 或 N, 其限制条件为 X₁、X₂、X₃、X₄ 及 X₅ 中的一个为 N;

其中当 X_{aa10} 为式 II 的氨基酸时, X_{aa11} 不是式 IIa 的氨基酸。

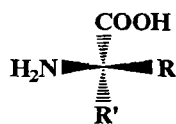
优选的实施为包含序列 Thr-Ser-Asp-Bip(2'-Et-4'-OH)-吡啶基丙氨酸(SEQ ID NO:177)或 Thr-Ser-Asp-Bip(2'-Et-4'-OH)-吡啶基丙氨酸(SEQ ID NO:179)的多肽, 其中所述多肽结合并活化 GLP-1 受体。上述肽可还包含处于从氨基末端残基起第二个残基处的脯氨酸(例如 α-甲基脯氨酸)、经取代的吡啶基丙氨酸(例如 4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸)及氨基末端的氨基甲酸酯。

优选的肽包括 SEQ ID NO:157 及 158 的肽, 且这些肽可包括在药物组合物及药物组合中。

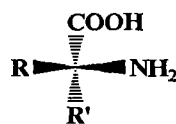
除非在特定的实例中另有限制, 本申请所提供的定义适用于但不限于

本说明书通篇所使用的术语。

氨基酸和肽化学领域的技术人员知道氨基酸包括以下通式所表示的化合物：



L-或 S- α -氨基酸
(如果 R=H)



D-或 R- α -氨基酸
(如果 R=H)

其中 R 和 R' 如本申请所描述。

除非另有说明，本申请单独使用或作为另一个基团的部分来使用的术语“氨基酸”包括但不限于与称为“ α ”碳的同一个碳相连的氨基和羧基，其中 R 和/或 R' 可以是天然或非天然的侧链，包括氢。“ α ”碳的绝对“S”构型通常称为“L”或“天然”构型。在 R 和 R' 取代基都等于氢的情况下，所述氨基酸为甘氨酸，并且不是手性的。

除非另有说明，本申请单独使用或作为另一个基团的部分来使用的术语“氨基醇”包括但不限于天然或非天然的氨基酸，其中羧基被代替(还原)为甲醇，例如缬氨醇(valinol)、甘氨酸(glycinol)、丙氨酸(alaninol)、芳基丙氨酸和杂芳基丙氨酸。

除非另有说明，本申请单独使用或作为另一个基团的部分来使用的术语“烷基”包括但不限于在正链中含有 1 至 40 个碳优选 1 至 20 个碳更优选 1 至 8 个碳的直链和支链烃，例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、叔丁基、异丁基、戊基、己基、异己基、庚基、4,4-二甲基戊基、辛基、2,2,4-三甲基戊基、壬基、癸基、十一烷基、十二烷基及它们的各种支链异构体等。此外，本申请所定义的烷基可任选在任何可用的碳原子上被一个或多个通常与所述链相连的官能团取代，以形成诸如三氟甲基、3-羟基己基、2-羧基丙基、2-氟乙基、羧基甲基、氰基丁基等那样的烷基，所述官能团例如为但不限于烷基、芳基、烯基、炔基、羟基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基、芳基烷基氧基、杂芳基氧基、杂芳基烷基氧基、烷酰基、卤素、羟基、硫代、硝基、氰基、羧基、羰基($\text{C}=\text{O}$)、氨基甲酰基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、酰氨基、烷基氨基、芳基酰氨基、杂芳基酰氨基、叠氮基、胍基、脒基、膦酰基(phosphonic)、次膦酰基(phosphinic)、磺酰基(sulfonic)、亚磺酰氨基、卤代芳基、 CF_3 、 OCHF_2 、 OCF_3 、芳基氧基、杂芳

基、环烷基烷氧基烷基、环杂烷基等。

除非另有说明，本申请单独使用或作为另一个基团的部分来使用的术语“烯基”包括但不限于在正链中含有 2 至 40 个碳及一个或多个双键优选 2 至 20 个碳及一至三个双键更优选 2 至 8 个碳及一至两个双键的直链和支链烃，如以上就“烷基”所描述，任何碳可任选被取代。

除非另有说明，本申请单独使用或作为另一个基团的部分来使用的术语“炔基”包括但不限于在正链中含有 2 至 40 个碳及一个或多个叁键优选 2 至 20 个碳及一至三个叁键更优选 2 至 8 个碳及一至两个叁键的直链和直链烃，如以上就“烷基”所描述，任何碳可任选被取代。

除非另有说明，本申请单独使用或作为另一个基团的部分来使用的术语“环烷基”包括但不限于含有 1 至 3 个环(附加或稠合)的饱和或部分不饱和(含有 1 或 2 个双键)的环烃，包括单环烷基、二环烷基和三环烷基，含有总共 3 至 30 个成环碳原子，优选 4 至 7 个碳形成一个环；所述环烷基可与就芳基所描述的 1 个芳族环稠合，所述环烷基包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、环癸基、环十二烷基、环己烯基、



任何所述基团可任选在任何可用的碳原子上被一个或多个选自以下的基团取代：氢、卤素、卤代烷基、烷基、卤代烷基、烷氧基、卤代烷氧基、烯基、三氟甲基、三氟甲氧基、炔基、环烷基烷基、苄基、杂环烷基、杂环烷基烷基、芳基、杂芳基、芳基烷基、芳基氧基、芳基氧基烷基、芳基烷氧基、芳基硫基、芳基偶氮基、杂芳基烷基、杂芳基烯基、杂芳基杂芳基、杂芳基氧基、羟基、硝基、氧代、氰基、羧基、羰基($\text{C}=\text{O}$)、氨基甲酰基、氨基、取代的氨基(其中所述氨基包括 1 或 2 个取代基，所述取代基为烷基、芳基或在定义中提及的任何其它芳基化合物)、酰氨基、叠氮基、胍基、脒基、脞基、脲基、次脞基、磺酰基、亚磺酰氨基、巯基、烷基硫基、芳基硫基、杂芳基硫基、芳基硫基烷基、烷氧基芳基硫基、烷基羰基、芳基羰基、烷基氨基羰基、芳基氨基羰基、烷氧基羰基、氨基羰基、烷基羰基氧基、芳基羰基氧基、烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、芳基亚磺酰基、芳基亚磺酰基烷基、芳基磺酰基氨基或芳基磺酰基氨基羰基或以上列出的任何烷基取

代基。

本申请单独使用或作为另一个基团的部分来使用的术语“芳基”表示但不限于在环部分中含有 6 至 10 个碳(例如苯基或萘基)的单环和二环芳族基团,并且可任选包括 1 至 3 个与“芳基”稠合的其它环(例如芳基、环烷基、杂芳基或杂环烷基环),以及可任选在任何可用的碳原子上被一个或多个选自以下的基团取代:氢、烷基、卤素、卤代烷基、烷氧基、卤代烷氧基、烯基、三氟甲基、三氟甲氧基、炔基、环烷基烷基、苄基、杂环烷基、杂环烷基烷基、芳基、杂芳基、芳基烷基、芳基氧基、芳基氧基烷基、芳基烷氧基、芳基硫基、芳基偶氮基、杂芳基烷基、杂芳基烯基、杂芳基氧基、杂芳基烷基氧基、杂芳基烷基氧基烷基、羟基、硝基、氧代、氰基、氨基、取代的氨基(其中所述氨基包括 1 或 2 个取代基,所述取代基为烷基、环烷基、杂环烷基、杂芳基或芳基或在定义中提及的任何其它芳基化合物)、巯基、烷基硫基、芳基硫基、杂芳基硫基、芳基硫基烷基、烷氧基芳基硫基、烷基羰基、芳基羰基、烷基氨基羰基、环烷基氨基羰基、芳基氨基羰基、杂芳基氨基羰基、杂芳基烷基氨基羰基、烷氧基羰基、氨基羰基、烷基羰基氧基、芳基羰基氧基、烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、芳基亚磺酰基、芳基亚磺酰基烷基、芳基磺酰基氨基或芳基磺酰基氨基羰基或以上列出的任何烷基取代基。

本申请单独使用或者作为另一个基团的部分来使用的术语“芳基烷基”包括但不限于具有一个芳基取代基的如上定义的烷基,例如苄基、苯乙基或萘基丙基,其中所述芳基和/或烷基可任选如上定义被取代。

本申请单独使用或作为另一个基团的部分来使用的术语“烷氧基”、“芳基氧基”、“杂芳基氧基”、“芳基烷基氧基”或“杂芳基烷基氧基”包括但不限于通过氧原子连接的如上定义的烷基或芳基。

本申请所使用的术语“杂环”、“杂环基”或“杂环的”表示但不限于未取代或取代的稳定的 4-、5-、6-或 7-元单环环系,其可以是饱和或不饱和的,以及由碳原子和一至四个选自氮、硫、氧和/或 SO 或 SO₂ 基团的杂原子组成,其中氮和硫杂原子可任选被氧化,以及氮杂原子可任选被季铵化。可在促成稳定结构形成的任何杂原子或碳原子上连接杂环。所述杂环基团的实例包括但不限于四氢呋喃基、四氢噻吩基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、氧代吡咯烷基、氧代哌嗪基、氧代哌啶基和噁二唑基。杂环基团可任选被一个

或多个官能团(例如就“烷基”或“芳基”所描述的官能团)取代。

本申请单独或作为另一个基团的部分来使用的术语“杂环烷基”表示但不限于具有杂环烷基取代基的如上定义的烷基，其中所述“杂环”和/或烷基可任选如上定义来取代。

本申请所使用的术语“杂芳基”表示但不限于含有一个或多个选自氮、硫、氧和/或 SO 或 SO₂ 基团的杂原子的 5-、6-或 7-元芳族杂环。所述环可与另一个芳基环或杂芳基环稠合。并且包括可能的 N-氧化物。所述杂芳基的实例包括但不限于呋喃基、吡咯基、噻吩基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、异噻唑基、噻唑基、咪唑基等。杂芳基可任选被一个或多个通常与所述链相连的官能团(例如就“烷基”或“芳基”所描述的官能团)取代。

本申请单独使用或作为另一个基团的部分来使用的术语“杂芳基烷基”表示但不限于具有杂芳基取代基的如上定义的烷基，其中所述杂芳基和/或烷基可任选如上定义来取代。

术语“受体调节剂”表示作用于 GLP-1 受体以改变 GLP-1 受体调节下游信号传导事件的能力的化合物。受体调节剂的实例包括标准药理学教科书(例如 E.M. Ross and T.P. Kenakin in Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th edition (2001) McGraw Hill, Chapter 2, pp. 31-43)中所定义的激动剂、拮抗剂、部分激动剂、反向激动剂、变构拮抗剂和变构增效剂。

本领域技术人员可容易地理解本发明中和本领域中所提供的这些术语的含义。

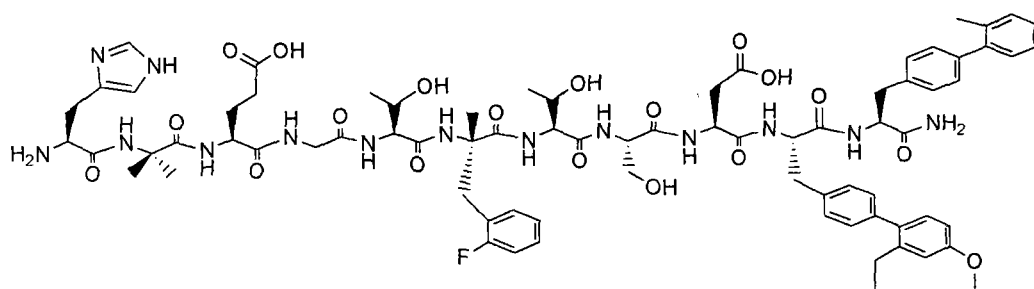
术语“糖尿病和相关疾病或相关病症”表示但不限于 II 型糖尿病、I 型糖尿病、葡萄糖耐量降低、肥胖症、高血糖症、X 综合征、代谢障碍综合征、糖尿病并发症以及高胰岛素血症。

本申请所使用的术语“调脂”剂或“降脂”剂表示但不限于具有以下机制的药物：降低 LDL 和/或提高 HDL 和/或降低甘油三酯和/或降低总胆固醇和/或治疗脂质紊乱的其它已知机制。

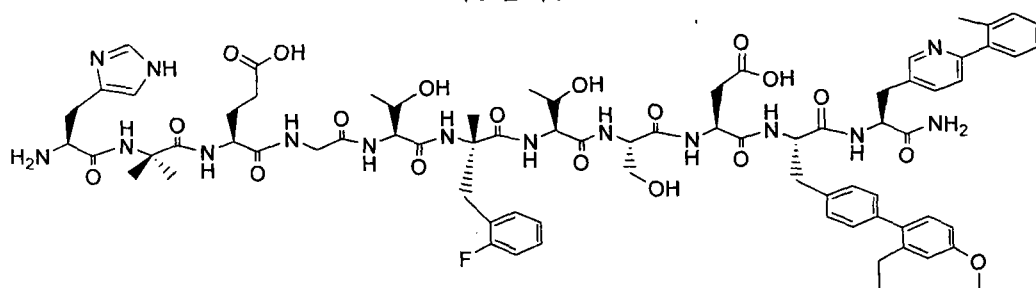
本申请所述治疗剂的给药方法包括但不限于给药治疗有效量的所述治疗剂。本申请所使用的术语“治疗有效量”表示但不限于治疗剂的量，其通过给药本申请描述的 GLP-1 受体调节剂来治疗或预防可治疗的病症。所述量足以显示出可检测的治疗作用或预防作用或改善作用。所述作用可包括例

如但不限于对本申请所列病症的治疗作用或预防作用。用于受试者的精确有效量取决于受试者的大小和健康、所治疗病症的性质和程度、治疗医生的建议以及选择用于给药的疗法或疗法的组合。因而，预先说明确切的有有效量是没有用的。

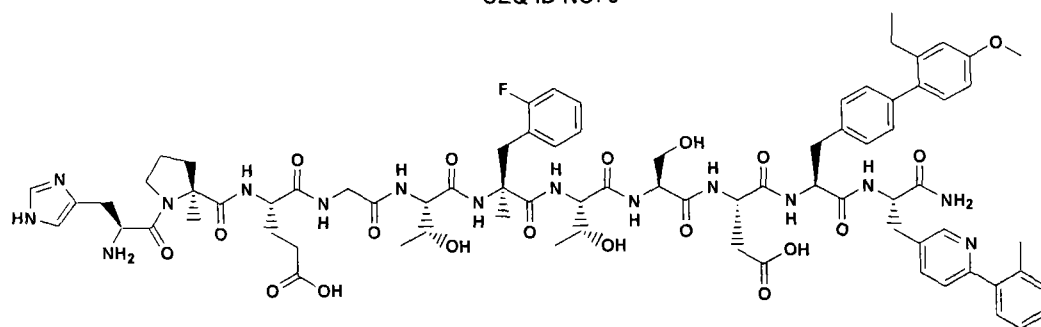
如所提供的表格及附图显示的那样，本申请披露及要求权利的肽在降糖效力模型(ob/ob 小鼠模型)中在接触足够的情况下展示出卓越的功效及卓越的药动学(通过对狗进行皮下注射来测量)。



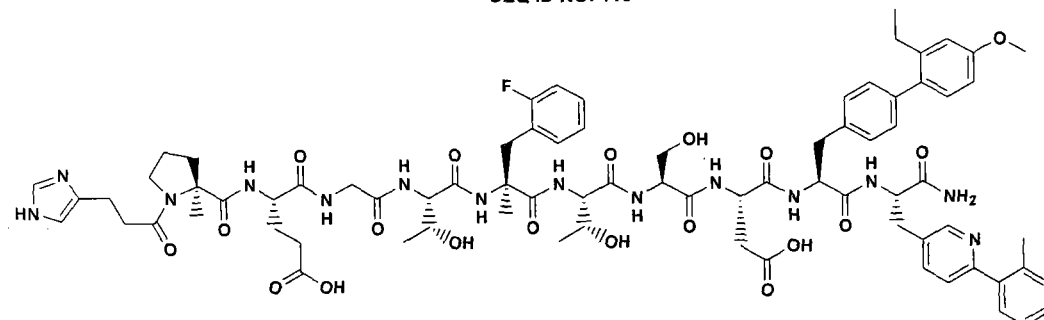
化合物 I



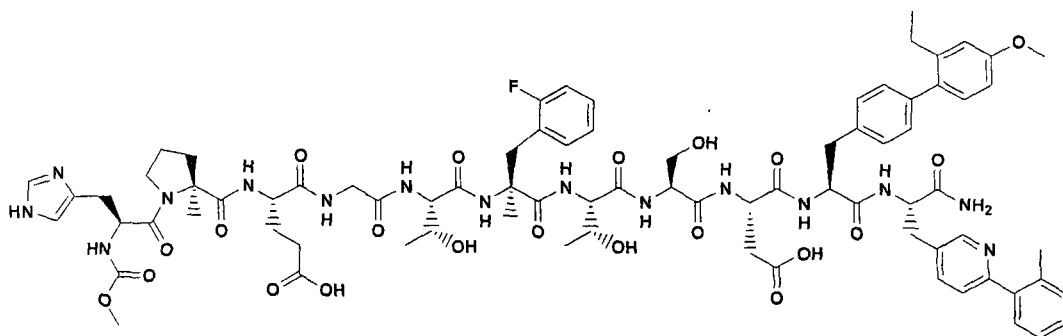
SEQ ID NO: 9



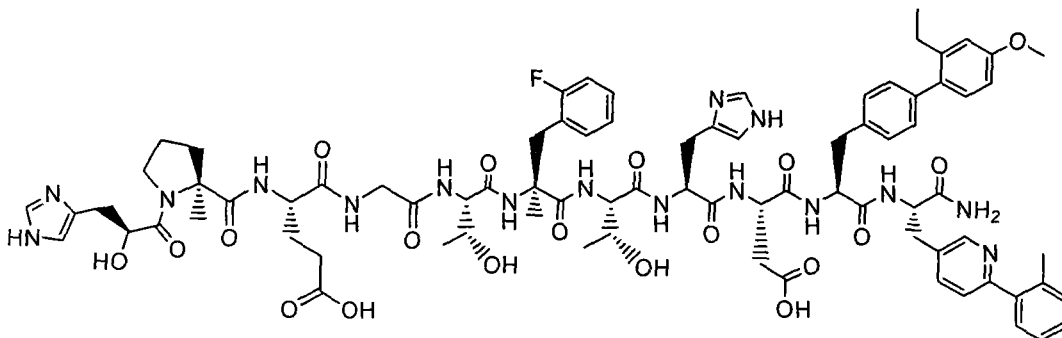
SEQ ID NO: 118



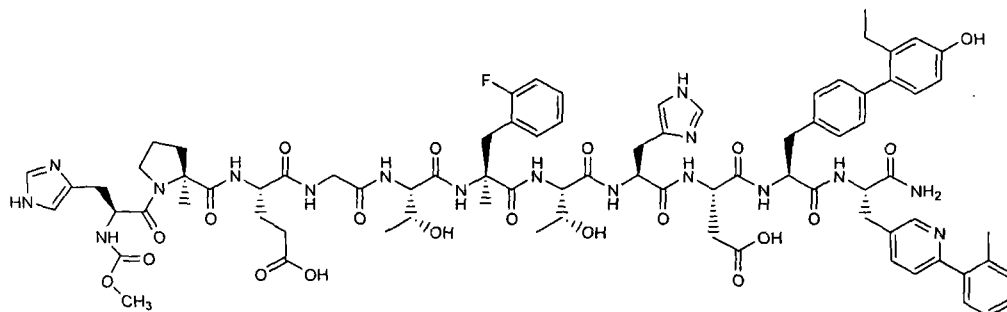
SEQ ID NO: 133



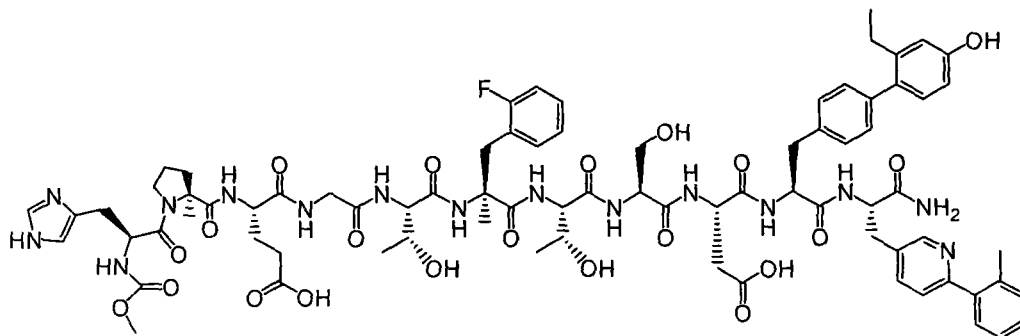
SEQ ID NO: 139



SEQ. ID NO: 151



SEQ ID NO:157



SEQ ID NO: 158

表 1

化合物/SEQ ID NO:	对 ob/ob 小鼠的效力	在 ipGTT 期间在 ob/ob 小鼠体内的 暴露/剂量(nM×h/nmol/kg)	在狗体内的暴露*(以 67μg/kg 进行皮下注射)
化合物 I	ED ₅₀ =50nmol/kg	22	89nM×h
9	ED ₅₀ =5nmol/kg	18	452nM×h
118	ED ₅₀ =2.5nmol/kg	4.4	4020nM×h
151	ED ₅₀ =1nmol/kg	16	1566nM×h
158	ED ₅₀ =2nmol/kg	11	1467nM×h

*化合物 I 及 SEQ ID NO:118 的化合物在丙二醇/pH 7.4 磷酸盐缓冲液 (1:1)中给药; SEQ ID NO:9、151 及 158 的化合物在 0.2M Tris 缓冲液(pH 8.0)

中给药。

表 2

化合物/SEQ ID No.	对 ob/ob 小鼠的效力: 腹膜内葡萄糖耐量试验中皮下注射化合物后的血糖 AUC 的减少百分数*	在狗体内的暴露*** (以 67 μ g/kg 进行皮下注射)
化合物 1	-15%(p=0.247, NS**)(10nmol/kg)	89nM $\times$ h
9	-68%(p<0.0001)(10nmol/kg)	1230nM $\times$ h
118	-70%(p<0.001)(10nmol/kg)	4020nM $\times$ h
130	-72%(p<0.0001)(10nmol/kg)	541nM $\times$ h
149	-54%(p<0.0001)(10nmol/kg)	940nM $\times$ h
140	-73%(p<0.001)(10nmol/kg)	283nM $\times$ h
120	-68%(p<0.0001)(10nmol/kg)	1116nM $\times$ h
139	-63%(p<0.01)(10nmol/kg)	1603nM $\times$ h
119	-61%(p<0.0001)(5nmol/kg)	1257nM $\times$ h
150	-38%(p<0.05)(10nmol/kg)	979nM $\times$ h

*AUC=曲线下面积。就每只动物而言, 使用空腹血浆葡萄糖值作为基线来计算 AUC 值。相对于同一研究中载体处置组的 AUC 来计算 AUC 的变化百分数。通过以下方法来确定所给出的 p 值: 利用方差分析(ANOVA)来与载体处置组进行比较, 随后进行 Fisher 因果检验(Fisher's post-hoc test)。

NS=在统计学上没有显著性。*给药载体为丙二醇/pH 7.4 磷酸盐缓冲液 (1:1)。

表 3a 及 3b 为在表达人或小鼠 GLP-1 受体的 CHO 细胞中刺激 cAMP 合成的效力及功效。

表 3a. 人 GLP-1 受体

	EC ₅₀ 平均值(nM)	E _{max} 平均值(%)	Hill 平均值	
SEQ ID NO:158 的化合物	0.018 $\pm$ 0.004	100.8 $\pm$ 6.7	1.5	n=10
SEQ ID NO:157 的化合物	0.026	99.4	1.9	n=1
SEQ ID NO:164 的化合物	0.010	97.2	1.5	n=1
SEQ ID NO:173(或 174)的化合物*	0.018	95.6	2.6	n=1
SEQ ID NO:174(或 173)的化合物*	0.024	103.7	2.7	n=1
SEQ ID NO:175(或 176)的化合物*	0.030	105.3	2.8	n=1
SEQ ID NO:176(或 175)的化合物*	0.030	95.8	3.1	n=1
GLP-1	0.010 $\pm$ 0.002	108.5 $\pm$ 5.8	1.6	n=10

表 3b. 小鼠 GLP-1 受体

	EC ₅₀ 平均值(nM)	E _{max} 平均值(%)	Hill 平均值	
SEQ ID NO:158 的化合物	0.191 $\pm$ 0.058	100.9 $\pm$ 7.2	1.5	n=10
SEQ ID NO:157 的化合物	0.046	106.4	2.9	n=1
SEQ ID NO:164 的化合物	0.055	103.0	2.7	n=1
SEQ ID NO:173(或 174)的化合物*	0.114	99.7	1.4	n=1
SEQ ID NO:174(或 173)的化合物*	0.273	105.0	2.1	n=1
SEQ ID NO:175(或 176)的化合物*	0.084	100.2	2.7	n=1
SEQ ID NO:176(或 175)的化合物*	0.126	104.7	1.9	n=1
GLP-1	0.041 $\pm$ 0.015	106.4 $\pm$ 14.5	1.9	n=10

*就表 3a 及 3b 而言, SEQ ID NO:173 及 SEQ ID NO:174 的化合物及 SEQ ID NO:175 及 SEQ ID NO:176 的化合物被制备成非对映异构体的混合物, 且通过 HPLC 分离为异构体 A 及 B(实施例 31)。3-(1H-咪唑-4-基)-2-甲氧基丙

酰基(IMeOp) X_{aa1} 基团的绝对构型尚未确定。

本申请所描述的肽及其类似物可通过化学合成利用各种固相技术来制备,所述固相技术参见例如 G. Barany and R.B. Merrifield, "The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology"; Volume 2-"Special Methods in Peptide Synthesis, Part A", pp. 3-284, E. Gross and J. Meienhofer, Eds., Academic Press, New York, 1980 和 J. M. Stewart and J. D. Young, "Solid-Phase Peptide Synthesis", 2nd Ed., Pierce Chemical Co., Rockford, IL, 1984。本发明所使用的期望策略基于 Fmoc(9-芴基甲氧羰基)基团用于 α -氨基的临时保护同时叔丁基用于氨基酸侧链的临时保护(参见例如 E. Atherton and R. C. Sheppard, "The Fluorenylmethoxycarbonyl Amino Protecting Group", in "The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology"; Volume 9-"Special Methods in Peptide Synthesis, Part C", pp. 1-38, S. Udenfriend and J. Meienhofer, Eds., Academic Press, San Diego, 1987)。

本发明的肽可在不溶性聚合物载体(support)(也称为“树脂”)上从所述肽的 C 末端开始以逐步的方式来合成。通过酰胺键或酯键的形成来将所述肽的 C 末端氨基酸悬挂(append)在树脂上,由此开始合成。这使最终释放的所得到的肽分别为 C 末端酰胺或羧酸。可替换地,在存在 C 末端氨基醇的情况下,可如本申请描述的那样,使 C 末端残基与 2-甲氧基-4-烷氧基苄醇树脂(SASRINTM, Bachem Bioscience, Inc., King of Prussia, PA)相连,且在完成肽序列组装后,以 THF 中的 $LiBH_4$ 释放所得到的肽(参见 J. M. Stewart and J. D. Young, 同上, p. 92)。

合成所使用的 C 末端氨基酸和所有其它氨基酸都需要使它们的 α -氨基和侧链官能团(如果存在)有差别地被保护,从而可在合成过程中选择性地除去 α -氨基保护基。氨基酸的偶联通过以下方法来进行:活化其羧基使之成为活性酯,以及使其与悬挂在树脂上的 N 末端氨基酸的解阻的(unblocked) α -氨基反应。重复上述顺序的氨基脱保护和偶联,直到组装出整个肽序列。然后从树脂释放肽,同时进行侧链官能团的脱保护,这通常在合适清除剂的存在下进行,以限制副反应。所得到的肽最后通过反相 HPLC 来纯化。

所需要的作为前体的肽基-树脂向最终肽的合成利用市售的交联聚苯乙烯聚合物树脂(Novabiochem, San Diego, CA 和 Applied Biosystems, Foster City, CA)。对于 C 末端羧酰胺,优选的固体载体为 4-(2',4'-二甲氧基苯基

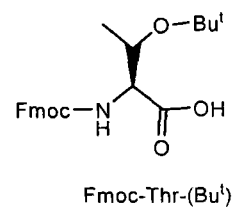
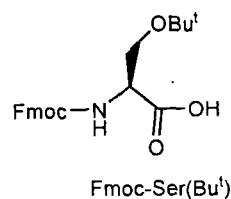
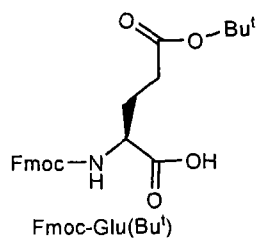
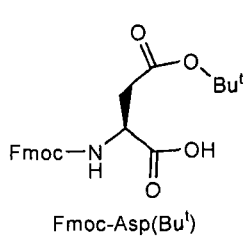
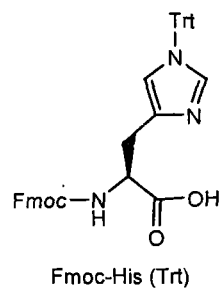
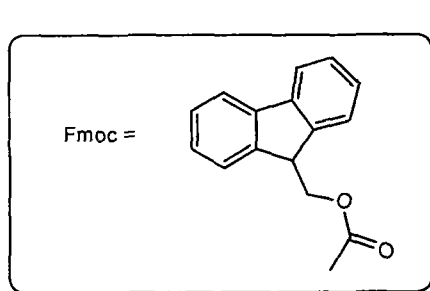
-Fmoc-氨基甲基)-苯氧基乙酰基-对甲基二苯甲胺树脂(Rink 酰胺 MBHA 树脂)、9-Fmoc-氨基-咕吨-3-基氧基-Merrifield 树脂(Sieber 酰胺树脂)和 4-(9-Fmoc)氨基甲基-3,5-二甲氧基苯氧基)戊酰基-氨基甲基-Merrifield 树脂(PAL 树脂)。第一氨基酸和随后氨基酸的偶联可利用 HOBT 或 HOAT 活性酯来实现,所述 HOBT 或 HOAT 活性酯分别从 DIC/HOBT、HBTU/HOBT、BOP 或 PyBOP 来制备,或从 DIC/HOAT 或 HATU/HOAT 来制备。对于受保护的肽片段,优选的固体载体为 2-氯三苯甲基氯树脂和 9-Fmoc-氨基-咕吨-3-基氧基-Merrifield 树脂(Sieber 酰胺树脂)。将第一氨基酸加载到 2-氯三苯甲基氯树脂上,这通过以下方法来最好地实现:使受 Fmoc 保护的氨基酸与树脂在二氯甲烷和 DIEA 中反应。如果需要,可加入少量 DMF 以促进氨基酸的溶解。

本申请所述肽类似物的合成可利用肽合成仪来进行,所述肽合成仪例如为 Advanced Chemtech Multiple Peptide Synthesizer(MPS396)或 Applied Biosystems Inc.肽合成仪(ABI 433a)。如果使用 MPS396,那么可同时合成至多 96 个肽。如果使用 ABI 433a 合成仪,那么可连续合成不同的肽。在两种情况下都利用本申请所描述的 Fmoc/叔丁基保护策略来进行逐步的固相肽合成。

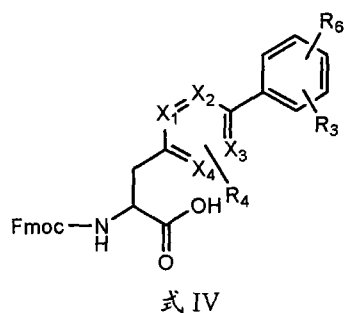
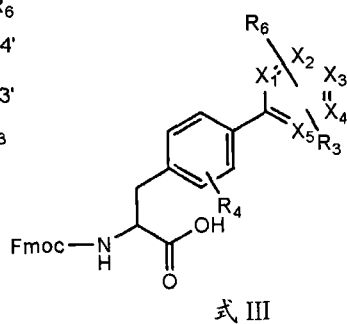
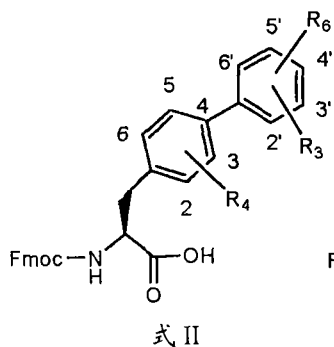
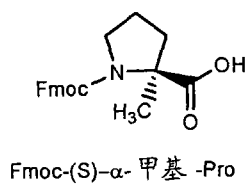
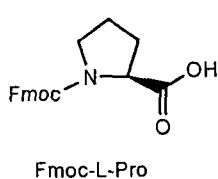
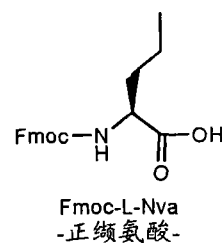
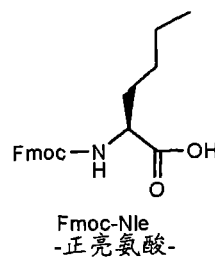
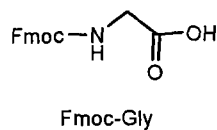
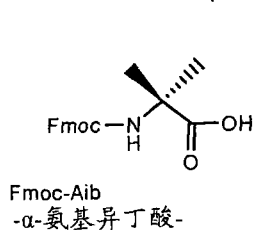
以两种方法中的一种将 X_{aa10} 位及 X_{aa11} 位的非天然非市售氨基酸引入到肽链中。在第一种方法中,使用适当的有机合成程序在溶液中制备经 Boc 或 Fmoc 保护的天然氨基酸。随后,将所得衍生物用于肽的逐步合成中。可替换地,使用合成有机化学程序,直接将所需非天然氨基酸构建于树脂上。当需要在 X_{aa6} 位或任何其它 X_{aa} 位引入非天然的非市售的氨基酸时,在溶液中合成所需的经 Fmoc 保护的天然氨基酸。随后,将上述衍生物用于逐步固相肽合成中。

以下显示了有用的 Fmoc-氨基酸衍生物。

在固相合成中使用的经正交保护的氨基酸的实例



在固相合成中使用的经保护的氨基酸



各种肽的肽基-树脂前体可利用任何标准操作来裂解或脱保护(参见例如 D. S. King et al. Int. J. Peptide Protein Res. 36, 1990, 255-266)。在期望的方

法中，在水的存在下使用 TFA 以及 TIS 作为清除剂。通常，将肽基-树脂在室温在 TFA/水/TIS(94:3:3, v:v:v; 1mL/100mg 肽基-树脂)中搅拌 2-6 小时。然后过滤掉用过的树脂，并且对 TFA 溶液进行浓缩或减压干燥。所得到的粗肽用 Et₂O 沉淀和洗涤，或直接再溶于 DMSO 或 50%乙酸水溶液中，以通过制备性 HPLC 来纯化。

可利用制备性 HPLC(例如在 Waters Model 4000 或 Shimadzu Model LC-8A 液相色谱上)进行纯化来得到具有期望纯度的肽。将粗肽的溶液注射到 YMC S5 ODS(20×100mm)柱中，并且用线性梯度的 MeCN 水溶液(MeCN 和水都用 0.1%TFA 缓冲)洗脱，流速为 14-20mL/min，洗脱液通过在 220nm 的 UV 吸收来监测。纯化的肽的结构可通过电喷雾 MS 分析来确证。

在本申请的实施例及其它地方使用以下缩写：

Ph=苯基

Bn=苄基

i-Bu=异丁基

i-Pr=异丙基

Me=甲基

Et=乙基

Pr=正丙基

Bu=正丁基

t-Bu=叔丁基

Trt=三苯甲基

TMS=三甲基硅基

TIS=三异丙基甲硅烷

Et₂O=乙醚

HOAc 或 AcOH=乙酸

MeCN 或 AcCN=乙腈

DMF=N,N-二甲基甲酰胺

EtOAc=乙酸乙酯

THF=四氢呋喃

TFA=三氟乙酸

TFE= α,α,α -三氟乙醇

Et₂NH=二乙胺

NMM=N-甲基吗啉

NMP=N-甲基吡咯烷酮

DCM=二氯甲烷

n-BuLi=正丁基锂

Pd/C=钯/碳

PtO₂=氧化铂

TEA=三乙胺

min=分钟

h 或 hr=小时

L=升

mL 或 ml=毫升

μL=微升

g=克

mg=毫克

mol=摩尔

mmol=毫摩尔

meq=毫当量

rt 或 RT=室温

sat 或 sat'd=饱和的

aq.=水溶液

mp=熔点

Bip=联苯基丙氨酸

LiBH₄=硼氢化锂

Mg=镁

BOP 试剂=苯并三唑-1-基氧基-三(二甲基氨基)-磷六氟磷酸盐(Castro 试剂)

PyBOP 试剂=苯并三唑-1-基氧基-三吡咯烷基磷六氟磷酸盐

HBTU=2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸盐

HATU=O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸盐

HCTU=2-(6-氯-1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸盐

TFFH=四甲基-氟甲脒鎓六氟磷酸盐

DMAP=4-(二甲基氨基)吡啶

DIEA=二异丙基乙胺

EDAC=3-乙基-3'-(二甲基氨基)丙基-碳二亚胺盐酸盐(或 1-[(3-(二甲基氨基)丙基)]-3-乙基碳二亚胺盐酸盐)

Fmoc 或 FMOC=苄基甲氧羰基

Boc 或 BOC=叔丁氧羰基

Cbz=苄氧羰基

HOBT 或 HOBT·H₂O=1-羟基苯并三唑水合物

Cl-HOBT=6-氯-苯并三唑

HOAT=1-羟基-7-氮杂苯并三唑

TLC=薄层色谱

HPLC=高效液相色谱

LC/MS=高效液相色谱/质谱

MS 或 Mass Spec=质谱

NMR=核磁共振

Sc 或 SC=皮下

IP 或 ip=腹膜内

GTT=葡萄糖耐量试验

肽化学领域的技术人员应该知道, 氨基酸存在 D 与 L 异构体, 且本申请披露及要求权利的主题(包括在序列表中提供的主题)包括使用在本申请所述肽的合成中所引入氨基酸的一种异构体或异构体的混合物。

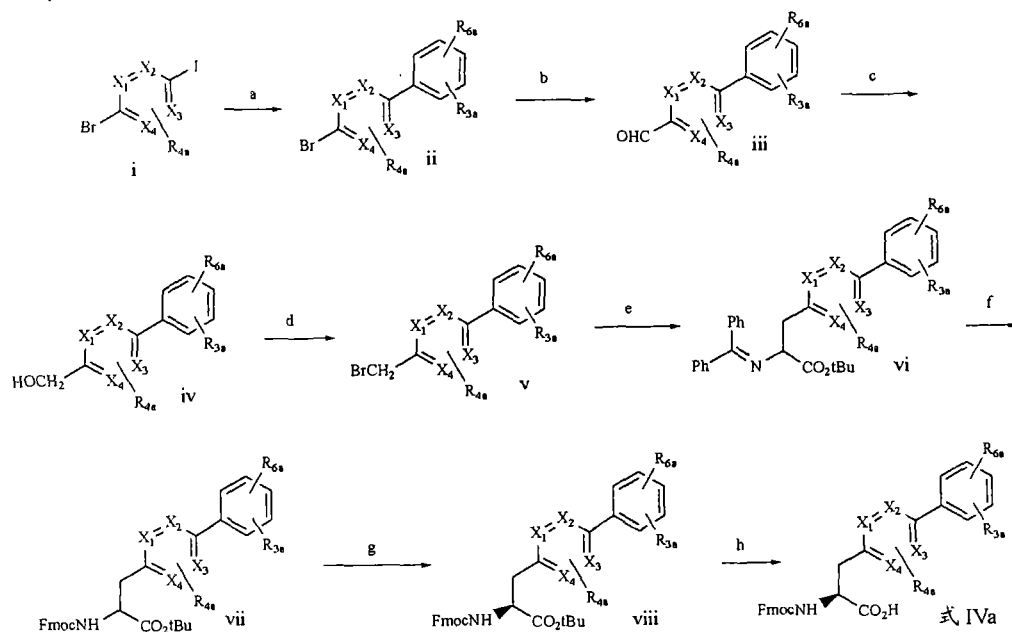
合成式 IVa 的氨基酸的通用程序

可通过几种方法来制备经保护的式 IVa 的氨基酸。例如(流程 A), 可通过标准文献方法经由钨介导的催化来使碘溴-杂环 **i**(其中 X₃=N)与硼酸偶联, 从而提供芳基杂环溴化物 **ii**, 通过将其锂化及与酰化剂(诸如二甲基甲酰胺)反应来提供醛 **iii**。通过硼氢化钠或类似试剂将醛还原成醇 **iv**, 且通过在 48% 氢溴酸中使 **iv** 长时间回流来制备相应的溴化物 **v**。按照 O'Donnell(Tetrahedron Letters 39 8775(1998))的方法, 使用手性催化剂以 **v** 使 2-(二苯基亚甲基氨基)乙酸叔丁酯发生烷基化, 产生手性酯 **vi**, 此后用强无水酸使其脱保护并用 Fmoc-Cl 处理, 提供主要为一种手性形式的 Fmoc 叔

丁酯 **vii**。由常用有机溶剂中使 **vii** 重结晶, 提供对映异构体过量 >95% 的 **viii**。使用强无水来酸除去酯, 提供式 IVa 的化合物。

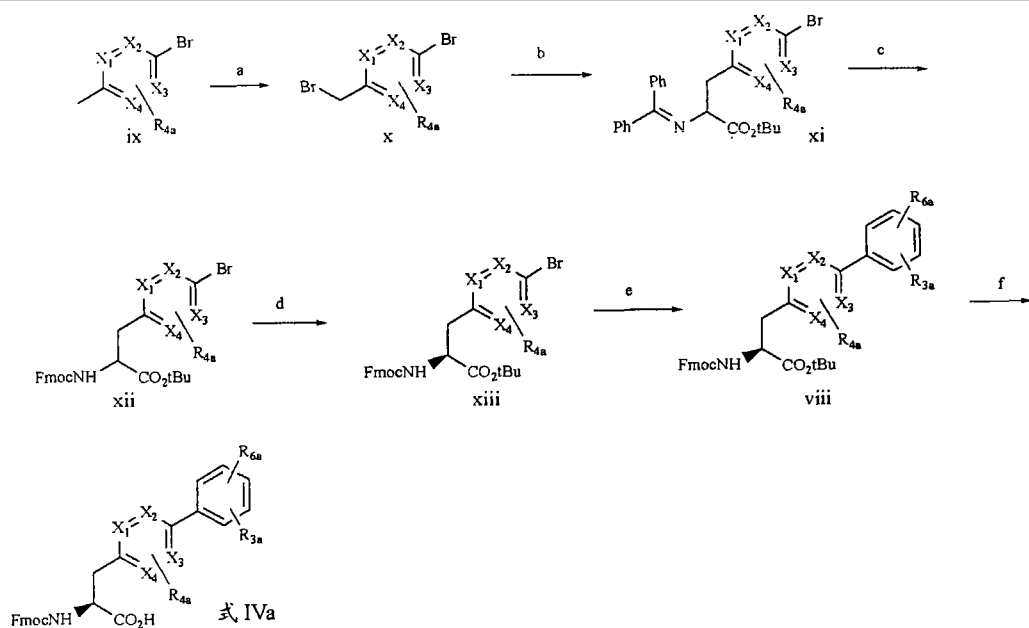
可替换地, 式 IVa 的化合物可通过以下方法来制备: 对甲基杂环 **ix** 进行自由基诱导的溴化(流程 B), 得到溴甲基杂环 **x**。如本申请描述的那样, 通过 O'Donnell 的方法对 **x** 进行烷基化, 然后进行类似的重结晶, 产生高度对映异构体过量的手性酯 **xiii**。如流程 A 中描述的那样进行硼酸偶联, 产生式 IVa 的化合物。

流程 A



a) $R_3aR_6aC_6H_3B(OH)_2$, $Pd(Ph_3P)_4$, 甲苯/10% Na_2CO_3 b) $s-BuLi$, DMF/甲苯
c) $NaBH_4/MeOH$ d) 48% HBr , 回流 e) $PhC=NCH_2CO_2tBu$, 手性催化剂, 2-叔丁基亚氨基-2-二乙氧基-1,3-二甲基-全氢-1,3,2-二氮杂磷杂环己烯/THF
f) **i**. 15% 柠檬酸 **ii**. $FmocCl$, $Na_2CO_3/THF-H_2O$ g) 重结晶 h) TFA

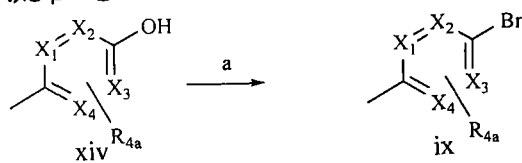
流程 B



a) NBS, AIBN/CCl₄ b) PhC=NCH₂CO₂tBu, 手性催化剂, 2-叔丁基氨基-2-二乙氧基-1,3-二甲氧-全氧-1,3,2-二氮杂磷杂环烯/THF c) i. 15% 柠檬酸 ii. FmocCl, Na₂CO₃/THF-H₂O d) 重结晶 e) R_{3a}R_{6a}C₆H₃B(OH)₂, Pd(Ph₃P)₄/甲苯 -10% Na₂CO₃ f) TFA

可通过用 NBS 处理, 由羟基杂环 **xiv** 制备化合物 **ix**(流程 C)。

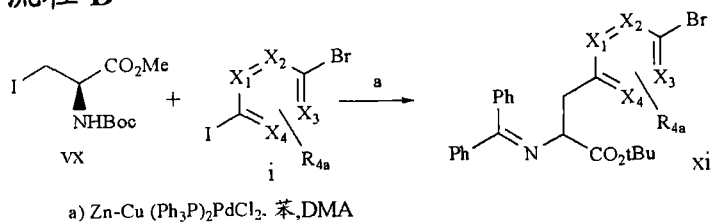
流程 C



a) NBS, AIBN/CCl₄

合成中间体 **ix** 的可选择方法使用 **vx** 即 3-碘-丙氨酸甲酯及 **i** 通过锌-铜偶联来合成(流程 D)。

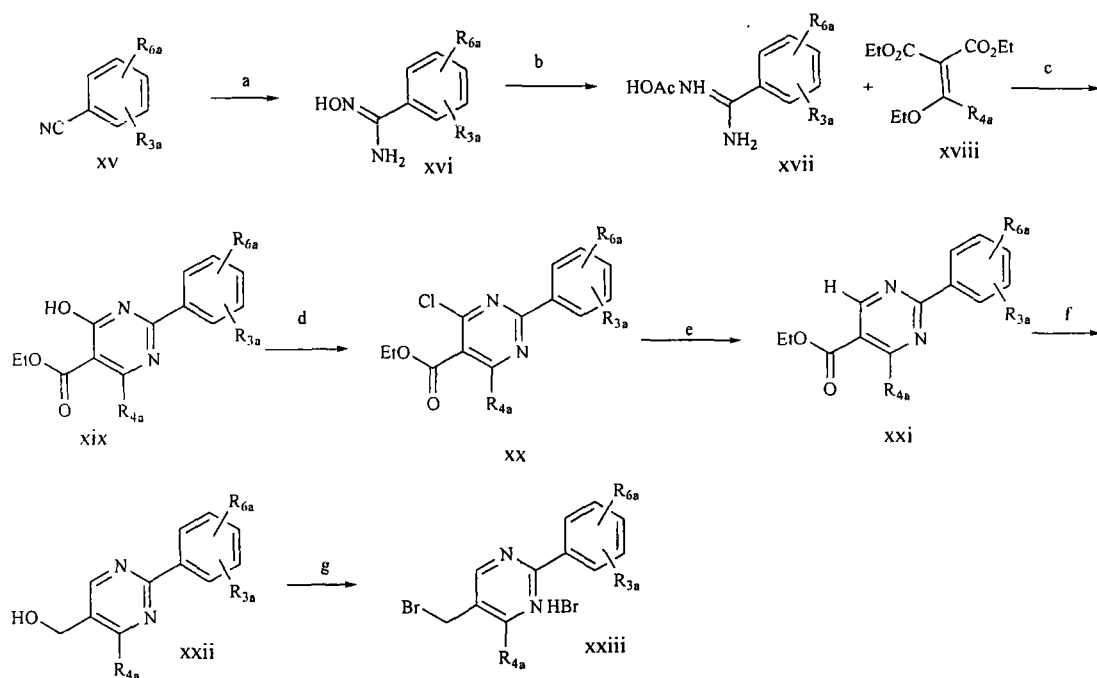
流程 D



a) Zn-Cu (Ph₃P)₂PdCl₂, 苯, DMA

芳基嘧啶基甲基溴化物 **xxiii**(X₂和 X₃=N 且 X₁和 X₄=CR_{4a})可由芳基甲腈 **xv** 来制备(流程 E)。

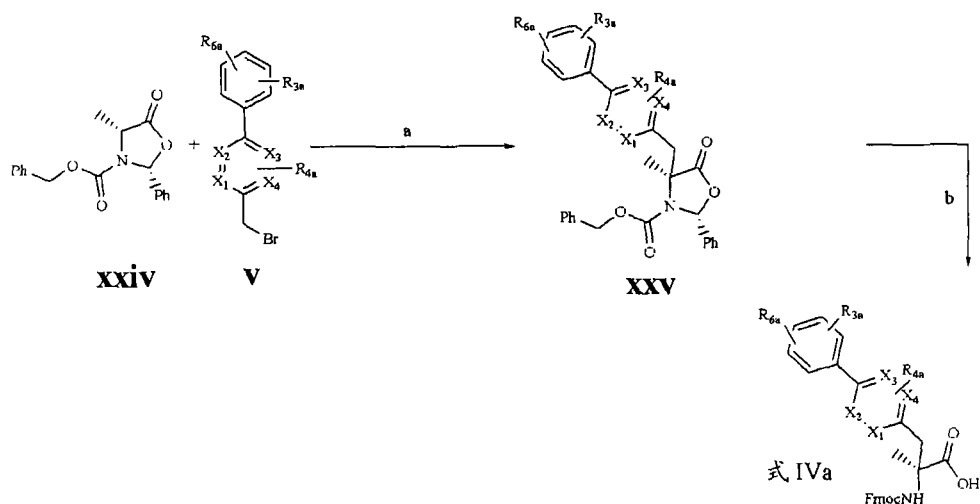
流程 E



由 **xv** 通过用盐酸羟胺处理所述腈来制备羟基嘧啶 **xvi**。对 **xvi** 进行氢化，得到嘧啶 **xvii**。使 **xvii** 与烯醇亚甲基丙二酸酯(enolmethylene malonate)缩合，产生嘧啶 **xix**，用磷酰氯使 **xix** 氯化，得到 **xx**。经由催化氢化来脱卤，产生 **xxi**，然后用 DiBAL 还原，提供醇 **xxii**。用磷酰溴处理所述醇，得到不稳定溴化物 **xxiii**，其必须立即如方案 A 中那样来使用，提供经保护的氨基酸 **vi**。

通过 Kapadia, J. Org. Chem. **66** 1903(2001)的方法由噁唑烷 **xxiv** 制备式 IVa 的化合物(R₇=Me)(流程 F)。因此，使用二(三甲基硅基)氨基钾(potassium hexamethyldisilazide)或其它强碱以 **v** 使 **xxiv** 发生烷基化来提供 **xxv**。用强酸对 **xxv** 进行水解，随后对所述胺进行保护(用 Fmoc-Cl 或 Fmoc-OSu 等)，得到式 IVa 型化合物。

流程 F



以下实施例说明了本申请描述和要求保护的发明的各种方法及具体实施方案。本领域技术人员应该理解的是，这些实施例不会限制本发明的范围，而是用于引导本领域技术人员实施本发明的实施方案。本申请披露的内容及权利要求书预期并涵盖其它实施方案。

实施例 1

肽的同时固相肽合成

使用以下手动程序以分批模式制备含有 X_{aa10} 位及 X_{aa11} 位的氨基酸的二肽基树脂，随后在 MPS-396 肽合成仪上利用自动同时合成方案来连续延长肽链。在上述通用实验方法及实施例 10-19 中描述了在手动偶联中使用的经 N- α -Fmoc 保护的联苯基丙氨酸或苯基-杂芳基-丙氨酸衍生物的合成。

通过用 DMF(4×10mL/g, 5min)洗涤，使量足以合成若干肽类似物的 9-Fmoc-氨基咕吨-3-基氧基-Merrifield 树脂(Sieber 酰胺树脂；载量为 0.5 至 0.7mmol/g)溶胀。随后，以 DMF 中的 20%哌啶处理两次(各自分别 5min 及 15min)，由此除去 Fmoc 基团(10mL/g)。用 DMF(4×10mL/g)及 NMP(4×10mL/g)洗涤树脂。将 Fmoc-L-4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-OH(HCl 盐)(1.1 当量)(或由式 IVa 表示的任何其它氨基酸)、PyBOP(1.1 当量)及 DIEA(3.3 当量)在 NMP 中的 0.5M 溶液添加至树脂中。随后，振荡或涡旋树脂 16-24 小时。使用定性茚三酮测试来监测偶联完成。抽干树脂，用 NMP(3×10mL/g)及 DMF(3×10mL/g)洗涤，并用 DCM 中的 10%乙酸酐处理 90min(10mL/g)。在 DCM 洗涤(4×10mL/g)后，接着进行 DIC/HOAt 介导的第二次手动偶联循环，以用 DMF 中的 20%哌啶除去 Fmoc 基团为起始，且在偶联步骤中使用如式 II 所表示的经 Fmoc 保护的联苯基丙氨酸类似物。此合成流程产生所需经 Fmoc 保护的二肽基-Sieber 酰胺树脂。

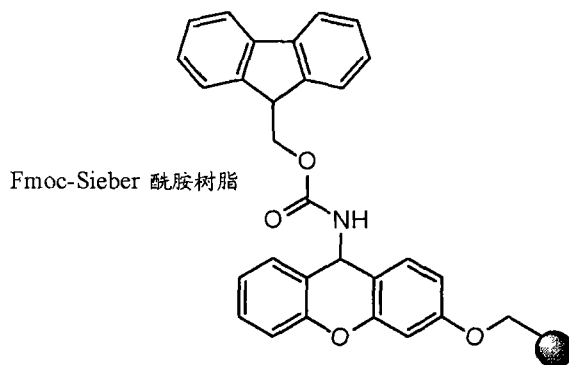
随后，将合成一组经设计的类似物所需的上述二肽基-树脂以下列方式用于每回合多达 96 种肽的自动 MPS 合成中。将二肽基-树脂于二氯甲烷/DMF(60:40)中的悬浮液加载到 Advanced ChemTech MPS 396 合成仪的 96 孔反应器中，体积相当于每反应器孔 0.01-0.025mmol(20-50mg)树脂。将反应器置于仪器上并抽干。接着，用 DMF(0.5-1.0mL, 3×2min)洗涤各孔，且如预先编程的序列合成表所确定的那样，使各孔经历组装各个肽序列所需次数的自动偶联循环。

以下描述了用于 96 种化合物的典型 0.025mmol/孔同时合成的详细逐步

合成方案。此方案适于在各个回合中同时合成 12 种至 96 种类似物的阵列。
通用合成方案描述于流程 1 中。

流程 1

GLP-1 受体调节剂肽类似物的自动合成



- 1) 哌啶/DMF (除去 Fmoc)
- 2) 1.1 当量 Fmoc-(S)-4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸 /PyBOP/DIEA/NMP (16 h);
- 3) (a) 重复步骤 1; (b) 2-4 当量 Fmoc-(S)-Bip(2'-Et-4'-OMe)/DIC/HOAt/NMP (16 hr);
- 4) (a) 重复步骤 1; (b) 5 当量 Fmoc-Xaa₉/DIC/HOBt (2 hr);
- 5) 重复步骤 4 使用 Fmoc-Xaa₈;
- 6) 重复步骤 4 使用 Fmoc-Xaa₇;
- 7) (a) 重复步骤 1; (b) Xaa₆/HOAt/DIC (6 hr)
- 8) (a) 重复步骤 1; (b) 10 当量 Fmoc-Xaa₅/HOAt/DIC (4 hr);
(c) 10% Ac₂O/DCM (30 min) [对未反应的胺进行封端的步骤];
- 9) 重复步骤 1; (b) 10 当量 Fmoc-Xaa₄/HOAt/DIC (2 hr);
- 10) 重复步骤 9 使用 Fmoc-Xaa₃;
- 11) 重复步骤 1; (b) 5 当量 Fmoc-Xaa₂/HOAt/DIC (16 hr);
- 12) 重复步骤 11 使用 Fmoc-Xaa₁/HOAt/DIC;
- 13) (a) 重复步骤 1; (b) 用 NMP 和 DCM 洗涤; (c) 真空干燥;
- 14) TFA/水/三异丙基甲硅烷 (2 hr);
- 15) RP-HPLC 纯化

Xaa1-Xaa2-Xaa3-Xaa4-Xaa5-Xaa6-Xaa7-Xaa8-Xaa9-Xaa10-Xaa11

在合成开始前,视需要制备以下试剂溶液并将其置于仪器上: DMF 中的 1.5M(15%)哌啶、NMP 中的 0.5M DIEA、NMP 中的 0.36M DIC 和 DMF 中的 1M(10%)乙酸酐。将所需经 Fmoc 保护的氨基酸制备成于 0.36M HOAt/NMP 中的 0.36M 溶液,且将其置于 32 位氨基酸架(32-position amino acid rack)中的适当位置。

通过用 DMF 中的 20%哌啶处理(1.0mL; 1×5min; 1×15min),使上文所制备的经 Fmoc 保护的二肽基-树脂脱保护。接着,用 NMP(8×1.0mL)洗涤树脂。

通过将适当 Fmoc-氨基酸(0.075mmol, 3.0 当量)、HCTU(0.075mmol, 3.0

当量)及 DIEA(0.15mmol, 6.0 当量)在 NMP(1mL)中的溶液手动添加至所有孔中来偶联下一个氨基酸(通常为 Fmoc-Asp(OtBu)-OH 或视需要经适当正交保护的另一种 Fmoc-氨基酸)。使偶联进行 3h。此后, 以氮气压力(3-5psi(磅/平方英寸))抽干反应器并用 NMP(4×1.0mL)洗涤各孔。

下一次偶联循环以如上所述除去 Fmoc 基团为起始, 且涉及如在此位置期望的序列取代所需要的那样, 偶联 Fmoc-Ser(tBu)-OH 或另一种 Fmoc-氨基酸。以与关于 Fmoc-Asp(OtBu)-OH 所述相同的方式进行偶联。以相同的方式进行下一个偶联步骤, 视需要将 Fmoc-Thr(tBu)-OH 或任何其它所选择的 Fmoc-氨基酸引入到此序列中。

如下偶联下一个 Fmoc-氨基酸(例如 Fmoc- α -甲基-Phe-OH 或其类似物): 在以常用方式进行 Fmoc 脱保护后, 手动添加 Fmoc-氨基酸(1-5 当量)、HOAt(1-5 当量)及 DIC(1-5 当量)在 NMP(1.0mL)中的溶液且使偶联进行 16-24 小时。在此情况下不重复进行偶联。在进行常用的偶联后洗涤后, 如本申请描述的那样用乙酸酐对肽基-树脂进行封端(cap)。

下一个偶联步骤涉及在此位置进行的序列代替所需要的 Fmoc-Thr(tBu)-OH 或取代类似物。如关于 Fmoc-Asp(OtBu)-OH 及其类似物的初始 MPS 偶联所描述的那样进行偶联, 但使用 10 当量 Fmoc-Thr(tBu)-OH 或取代类似物, 并使偶联进行 16hr, 且所使用的偶联试剂为 NMP 中的 DIC/HOAt。在进行常用的偶联后洗涤后, 以 DCM 中的 10%乙酸酐对肽基-树脂进行封端(1×1mL×60min)。

使用与关于偶联 Fmoc-Asp(OtBu)-OH 所述相同的偶联方案, 并将其重复用于接下来的三个氨基酸残基。如以上所述的 Fmoc-Thr(tBu)-OH 残基那样, 偶联 Fmoc-His(Trt)-OH 以便完成所需肽类似物的序列组装。为了偶联某些序列位置所需的市售及非市售的非天然的氨基酸, 使用与上文关于第 6 位(X_{aa6})的新颖氨基酸所述类似的单一偶联方案。

最后如上文所述, 用 DMF 中的 20%哌啶除去 Fmoc 基团, 且用 DMF(4×1.0mL)及 DCM(4×1.0mL)洗涤肽基-树脂。接着, 通过历时 10-15min 施加恒定的氮气压力(5psi), 在反应器区域对肽基-树脂进行干燥。

裂解/脱保护

如下通过用 TFA 裂解混合物进行处理, 使所需肽从其各自的肽基-树脂裂解/脱保护。将 TFA/DCM/三异丙基甲硅烷(70:28:2)(1.0mL)溶液添加至反

反应器区域的每一孔中,随后涡旋 10min。将此步骤再重复两次,且通过正压将孔中的 TFA 溶液收集到位于在反应器底部的匹配 96-小瓶区域(matching 96-vial block)的预称瓶重的小瓶中。封盖小瓶且再轻柔涡旋 90min。打开小瓶且在 SpeedVac™(Savant)中浓缩至约 0.2mL 的体积。接着,通过添加二异丙基醚(3mL)并进行简短涡旋来使粗肽沉淀。通过离心使沉淀物聚集,并滗掉上清液。在 SpeedVac™(Savant)中干燥小瓶,得到粗肽,产率通常 >100%(20-40mg)。将粗肽直接溶解于 2mL 0.6%的氢氧化铵中,通过如下的制备性 HPLC 进行纯化。

粗肽的制备性 HPLC 纯化

在 Waters Model 4000 或 Shimadzu Model LC-8A 液相色谱上进行制备性 HPLC。将粗肽的溶液各自注入 YMC S5 ODS(20×100mm)色谱柱中,且使用线性梯度的水中的 MeCN(二者经 0.1%TFA 缓冲)来洗脱。所使用的典型梯度为历时 15min 从 0.1%TFA/水中的 20%(0.1%TFA/MeCN)变成 0.1%TFA/水中的 50%(0.1%TFA/MeCN),流速为 14mL/min,且在 220nm 对洗脱液进行 UV 检测。通常在 10-11min 后,洗脱的所需产物与杂质良好分离,且通常以单一的 10-15mL 馏分将其收集于馏分收集器上。通过对所需肽的 HPLC 馏分进行冻干,得到呈无定形白色粉末的所需肽。

对经纯化的肽进行 HPLC 分析

在如上所述通过制备性 HPLC 进行纯化后,在由以下器件组成的 Shimadzu LC-10AD 或 LC-10AT 分析性 HPLC 系统上通过分析性 RP-HPLC 对各肽进行分析: SCL-10A 系统控制器、SIL-10A 自动注射器、SPD10AV 或 SPD-M6A UV/VIS 检测器或 SPD-M10A 二极管阵列检测器。使用 YMC ODS S3(4.6×50mm)色谱柱,并使用以下梯度中的一种进行洗脱: 历时 8min 从 A 中的 10%B 变成 A 中的 70%B, 2.5mL/min(方法 A); 历时 8min 从 A 中的 5%B 变成 A 中的 80%B, 2.5mL/min(方法 B); 历时 8min 从 A 中的 5%B 变成 A 中的 70%B, 2.5mL/min(方法 C); 历时 8min 从 A 中的 25%B 变成 A 中的 75%B, 2.5mL/min(方法 D); 历时 8min 从 A 中的 20%B 变成 A 中的 75%B, 2.5mL/min(方法 E); 历时 8min 从 A 中的 15%B 变成 A 中的 70%B, 2.5mL/min(方法 F); 历时 8min 从 A 中的 10%B 变成 A 中的 90%B, 2.5mL/min(方法 G); 历时 8min 从 A 中的 20%B 变成 A 中的 65%B, 2.5mL/min(方法 H); 历时 8min 从 A 中的 5%B 变成 A 中的 90%B,

2.0mL/min(方法 I); 历时 8min 从 A 中的 5%B 变成 A 中的 90%B, 2.5mL/min(方法 J); 历时 8min 从 A 中的 20%B 变成 A 中的 80%B, 2.5mL/min(方法 K); 历时 8min 从 A 中的 10%B 变成 A 中的 100%B, 2.5mL/min(方法 L); 历时 8min 从 A 中的 10%B 变成 A 中的 75%B, 2.5mL/min(方法 M)。流动相 A: 0.1%TFA/水; 流动相 B: 0.1%TFA/AcCN。纯度通常>90%。

通过质谱进行表征

通过流动注射模式或 LC/MS 模式的电喷雾质谱(ES-MS)来表征各肽。在所有分析中使用阳离子电喷雾模式及阴离子电喷雾模式的 Finnigan SSQ7000 单一四极质谱仪(ThermoFinnigan, San Jose, CA)。扫描时间为 1.0 秒, 得到质量范围为 300 至 2200amu 的全扫描数据。以单位分辨率操作四极。对于流动注射分析, 使质谱仪与 Waters 616 HPLC 泵(Waters Corp., Milford, MA)接口并装备有 HTS PAL 自动取样器(CTC Analytics, Zwingen, Switzerland)。将样品注入含有 50:50 水:AcCN 及 0.1%氢氧化铵的流动相中。用于分析的流速为 0.42mL/min 且注射体积为 6 μ l。将 ThermoSeparations Constametric 3500 液相色谱(ThermoSeparation Products, San Jose, CA)及 HTS PAL 自动取样器用于 LC/MS 分析。使用 Luna C₁₈, 5 微米色谱柱, 2 $\times$ 30mm(Phenomenex, Torrance, CA)达成色谱分离。用于分析的流速为 1.0mL/min 并对柱洗脱液进行分份, 从而使进入电喷雾界面的流速为 400 μ l/min。执行以下线性梯度: 历时 4min 从 A 中的 0%B 变成 A 中的 100%B, 其中流动相 A 为 98:2 水:AcCN 及 10mM 乙酸铵且流动相 B 为 10:90 水:AcCN 及 10mM 乙酸铵。在 220nm 监测 UV 响应。将样品溶解于 200 μ l 50:50 H₂O:MeCN(0.05%TFA)中。注射体积为 5 μ l。

在所有情况下, 实验测量的分子量与经计算的单同位素分子量相差不超过 0.5 道尔顿(Dalton)。

实施例 2

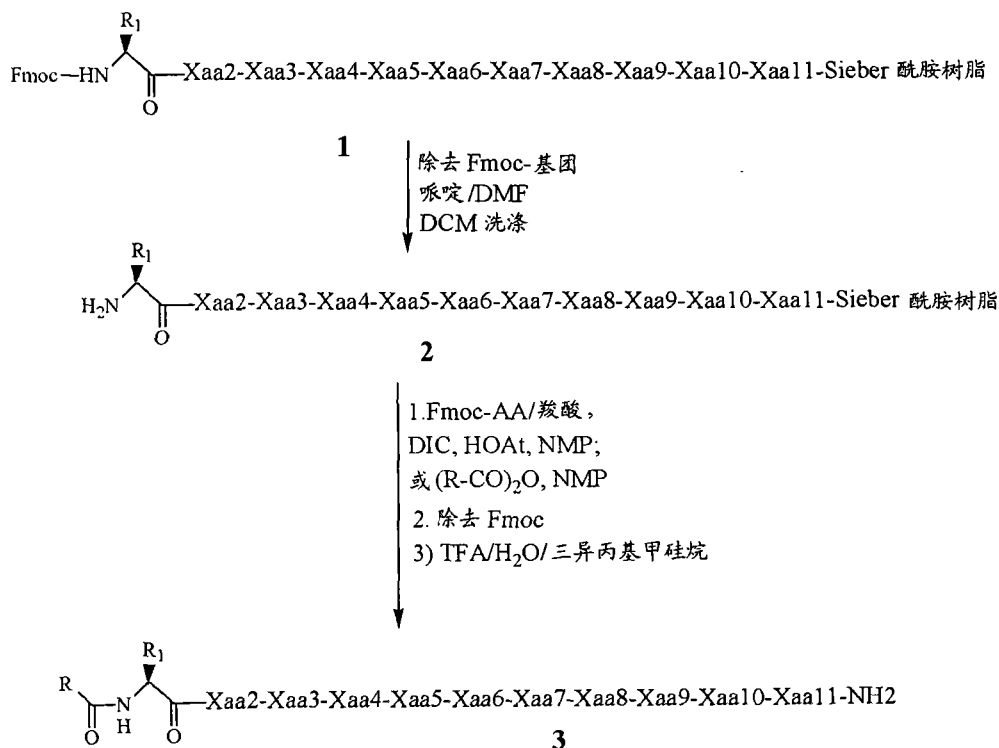
A. 合成 N-酰基化肽类似物的通用程序(流程 2)

以如本申请所述那样制备的经保护的肽基-树脂中间体(1)(0.015mmol)为起始, 合成 N-酰基化肽类似物, 这显示在流程 2 中。使用本申请所述的程序除去 Fmoc 基团, 且使用本申请所述通用方法中描述的偶联方案来使所得树脂中间体 2 与相关经 Fmoc 保护的氨基酸或羧酸发生偶联。在可使用适当酸酐的情况下, 使用 NMP 中的 5 当量酸酐来进行 N-酰基化。对所得 N-

酰基化肽类似物(3)进行裂解/脱保护并通过制备性 HPLC(使用本申请所述通用方法)加以纯化。

流程 2

合成 1 位残基经取代/经衍生化的肽类似物



B. 合成肽类似物的 N-氨基甲酸酯衍生物的通用程序

可由如本申请所述那样制备的经保护的肽基-树脂中间体

(1)(0.015mmol)为起始, 合成肽类似物的 N-氨基甲酸酯衍生物。使用本申请所述的程序除去 Fmoc 基团, 且使所得树脂中间体 2 在适当碱(诸如叔胺)的存在下与相关氯甲酸烷基酯/氯甲酸芳基酯反应, 或与一缩二碳酸酯(di-carbonate)或活性碳酸酯(诸如碳酸对硝基苯酯或碳酸苯酯或碳酸羟基琥珀酰亚胺(hydroxy-succinimidyl carbonate))反应。

C. 合成肽类似物的 N-脲衍生物的通用程序

可由如本申请所述那样制备的经保护的肽基-树脂中间体

(1)(0.025mmol)为起始, 合成肽类似物(例如 11 聚体)的 N-脲衍生物。使用本申请所述的程序除去 Fmoc 基团, 且使所得树脂中间体 2 与相关异氰酸酯(例如像在 K. Burgess et al., J. Am. Chem. Soc. 1997, 119, 1556-1564 中那样制备)反应; 可替换地, 可使树脂中间体 2 与相关氨基甲酰氯反应。类似地, 可通过以下方法来制备 10 聚体肽类似物的 N-脲衍生物: 以经保护的 10 聚体

肽基-树脂中间体为起始，除去 Fmoc，且使所得肽基-树脂中间体与相关异氰酸酯或氨基甲酰氯反应。

D. 合成肽类似物的 N-磺酰胺的通用程序

可由如本申请所述那样制备的经保护的肽基-树脂中间体

(1)(0.025mmol)为起始，合成肽类似物(例如 11 聚体)的 N-磺酰胺。使用本申请所述的程序除去 Fmoc 基团，且使所得树脂中间体 2 与相关磺酰氯反应。类似地，可通过以下方法来制备 10 聚体肽类似物的 N-磺酰胺：以经保护的 10 聚体肽基-树脂中间体为起始，除去 Fmoc，且使所得肽基-树脂中间体与相关磺酰氯反应。

E. 合成肽类似物的 N-磺酰胺衍生物的通用程序

可由如本申请所述那样制备的经保护的肽基-树脂中间体

(1)(0.025mmol)为起始，合成肽类似物(例如 11 聚体)的 N-磺酰胺衍生物。使用本申请所述的程序除去 Fmoc 基团，且使所得树脂中间体 2 与相关氨基磺酰氯 $R_4R_5N-SO_2-Cl$ 反应，得到磺酰胺中间体(参见例如 P. Davern et al. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, 1994(2), 381-387)。类似地，可通过以下方法来制备 10 聚体肽类似物的 N-磺酰胺衍生物：以经保护的 10 聚体肽基-树脂中间体为起始，除去 Fmoc，且使所得肽基-树脂中间体与相关氨基磺酰氯 $R_4R_5N-SO_2-Cl$ 反应。

实施例 3

使用 Applied Biosystems Model 433A 肽合成仪来固相合成肽类似物

以下为有关使用升级版 Applied Biosystems Model 433A 肽合成仪来固相合成典型肽类似物的一般描述。合成仪经升级的硬件及软件能够对 Fmoc 脱保护步骤进行电导率监测而对偶联进行反馈控制。所述方案允许的合成规模为 0.05 至 1.0mmol。

上文描述了两个非天然的 C 末端氨基酸的引入及肽类似物的同时合成。将上述经 Fmoc 保护的二肽基-树脂用于此 ABI 合成中。将经 Fmoc 保护的二肽基-树脂(0.1mmol)置于仪器上的适当尺寸容器中，用 NMP 洗涤 6 次，并以 22%哌啶/NMP 处理两次(分别为 2min 及 8min)来脱保护。再进行一次或两次经监测的脱保护步骤，直至监测选项的状态令人满意(最后两次基于电导率的脱保护峰相差<10%)。总的脱保护时间为 10-12min。经脱保护的二肽基-树脂用 NMP 洗涤 6 次，随后与下一个氨基酸偶联。通过下一步

骤中所使用的实施例来说明所述程序。

因此,接下来使用以下方法来偶联 Fmoc-Asp(OtBu)-OH: 将 Fmoc-Asp(OtBu)-OH(1mmol, 10 当量)溶解于 2mL NMP 中,并通过先后添加 DMF(2.2mL)中的 0.45M HBTU/HOBt 及 2M DIEA/NMP(1mL)来进行活化。接着,将经活化的经 Fmoc 保护的氨基酸的溶液转移至反应容器中,且使偶联进行 30 至 60min,这取决于脱保护步骤的反馈。随后,树脂用 NMP 洗涤 6 次,且使其再经历 8 次如上所述的脱保护/偶联循环,由此完成所需序列的组装。依次使用的 Fmoc-氨基酸为 Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc- α -甲基-Phe(2-氟)-OH 或其类似物、Fmoc-Thr(tBu)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Aib-OH 及 Fmoc-His(Trt)-OH。最后,如上文所述以 NMP 中的 22%哌啶除去 Fmoc 基团,且肽基-树脂用 NMP 及 DCM 洗涤 6 次,并在真空中进行干燥。

可替换地,使用经修改的偶联方案,其中通过先后添加 DMF(0.52mL)中的 0.5M HOAt 及 DIC(40 μ L)来活化经 Fmoc 保护的氨基酸(0.26mmol),手动将其转移至反应容器中并使其偶联 14-18hr。

裂解/脱保护

通过用 TFA/水/三异丙基甲硅烷(96:2:2)溶液(3.0mL)处理 2hr,使所需肽从其各自的肽基-树脂裂解/脱保护。滤除树脂,用 TFA(1.0mL)漂洗,且将合并的 TFA 滤液添加至 35mL Et₂O 中。通过离心收集所得沉淀物且最后干燥,得到 232mg 呈白色固体的粗肽产物。通过本申请所述制备性 HPLC 来纯化此粗肽产物。所使用的梯度为历时 40min 从 0.1%TFA/水中的 15%(0.1%TFA/MeCN)变成 0.1%TFA/水中的 45%(0.1%TFA/MeCN)。汇集含有纯产物的馏分并将其冻干,得到 28.4mg(18%回收率)纯产物。

实施例 4

合成由式 II-IV 及 IIa-IVa 表示的处于 X_{aa10} 位及 X_{aa11} 位的联苯基丙氨酸类似物

在这些类似物中,通过由式 II-IV 及 IIa-IVa 表示的经取代的氨基酸类似物(即联苯基丙氨酸类似物(Bip 类似物)或杂联苯基丙氨酸类似物)来表示 X_{aa10} 位及 X_{aa11} 位的残基,对于这些类似物而言,用以下两种方法之一将其引入到肽链中。

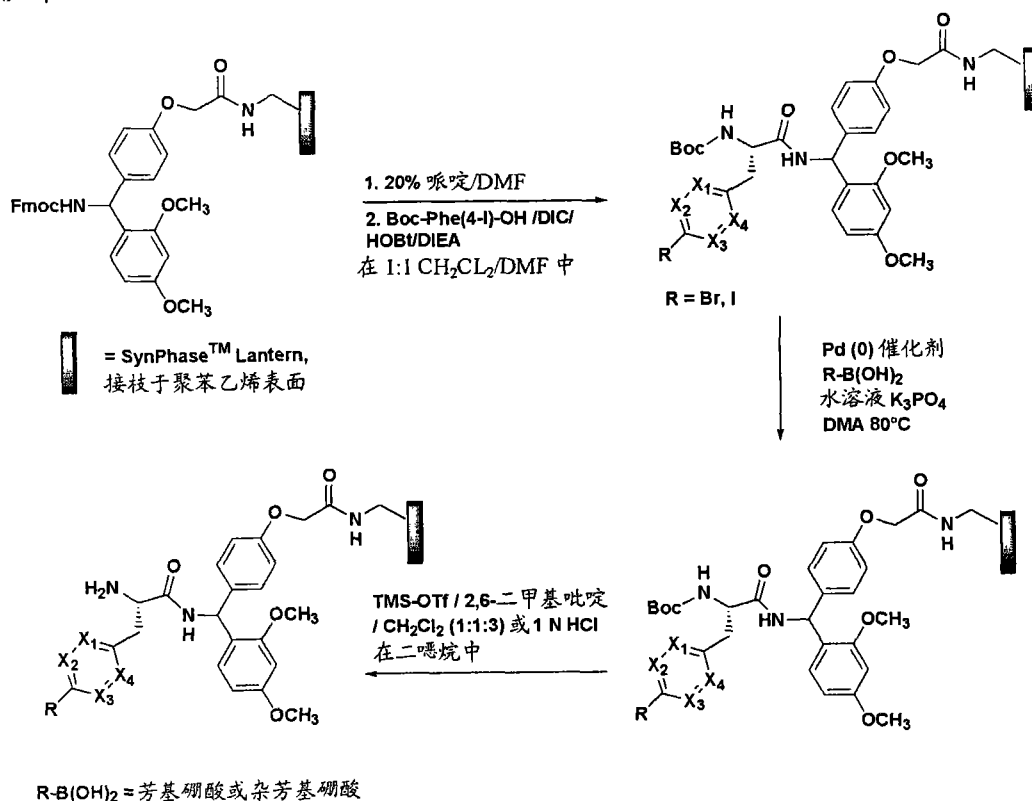
方法 A: 固相苏楚基缩合

在方法 A 中, 以适于进行随后固相肽合成来得到目标肽的方式进行固相苏楚基(Suzuki)缩合, 制备所需经修饰的联苯基丙氨酸或杂联苯基丙氨酸残基。当通过经修饰的联苯基丙氨酸或杂联苯基丙氨酸残基来表示目标肽中 X_{aa11} 位的氨基酸时, 如流程 3 所示制备所述残基。在除去 Boc 即 α -氨基保护基后, 使用如上所述的多种肽合成方法来继续使链延长, 得到所需肽或其衍生物。当经修饰的联苯基丙氨酸或杂联苯基丙氨酸类似物处于目标肽的 X_{aa10} 位时, 如流程 4 所示使用固体载体上的适当二肽来制备所需氨基酸。

接着, 使用含有所需经修饰的联苯基丙氨酸或杂联苯基丙氨酸衍生物的所得二肽基片段来进行目标肽或其衍生物的合成。当 X_{aa10} 位与 X_{aa11} 位均需要新颖的联苯基丙氨酸或杂联苯基丙氨酸残基时, 如流程 6(以下)所示进行两次连续的固相苏楚基反应。

制备含有由式 II-IV 及 IIa-IVa 表示的处于 X_{aa11} 位的氨基酸的 SynPhase™ Lantern 的通用程序(苏楚基偶联)

流程 3



通用程序 A

SynPhase™ Lantern(A 系列(0.075mmol/Lantern)或 D 系列(0.035mmol/Lantern)(Mimotopes)衍生化有 N- α -Boc-4-碘苯基丙氨酸残基, 其

直接经由 Knorr 键(Boc-氨基酸-树脂)或经由氨基酸-Knorr 键(Boc-二肽基-树脂)而相连,将所述 SynPhase™ Lantern 置于具有螺纹盖的 13×100mm 玻璃培养管中。对于 D 系列 Lantern,使用以下程序。对于涉及 A 系列 Lantern 的反应,使用类似的反应物比例。将芳基硼酸或杂芳基硼酸(0.140mmol, 4 当量)溶解于 0.30ml N,N-二甲基乙酰胺中。

将磷酸钾(0.280mmol, 8 当量, 0.14ml 的 2M 水溶液)添加至芳基硼酸或杂芳基硼酸的溶液中,随后添加含有 4.0mg 四(三苯基膦)钯(0)催化剂(约 10 摩尔%, 0.0035mmol)的 0.10ml N,N-二甲基乙酰胺溶液。以氮气流覆盖所得混合物,且紧密封盖反应容器,置在轨道振荡器上,在 80℃保持 17-20 小时。Lantern 用 3×1ml N,N-二甲基乙酰胺及 3×1ml 二氯甲烷洗涤(每次洗涤循环最少 3min),然后对 Boc 基团进行裂解(参见以下通用程序)。

通用程序 B

遵循通用程序 A 进行所述反应,但使用不同的催化剂。对于此程序而言,所使用的催化剂为二(三苯基膦)二氯化钯(II)。对于 D 系列 Lantern 级别反应而言,使用约 10mol%(0.0035mol)的催化剂。

裂解 Boc 基团的程序

方法 A

以下程序适用于 D 系列 Lantern(0.035mmol/Lantern)。对于 A 系列 Lantern(0.075mmol/Lantern),使用类似的适当比例的程序。用 0.5ml 由三氟甲磺酸三甲基硅酯、2,6-二甲基吡啶及二氯甲烷(按体积计为 1:1:3)组成的试剂溶液对如通用程序 A 或 B 所述那样制备的经 Boc 保护的 Lantern 进行处理。在温和搅拌下以上述试剂处理 2 次(各 1 小时),之后用 4×1.0ml 二氯甲烷、3×1.0ml N,N-二甲基甲酰胺及 3×1.0ml 二氯甲烷洗涤树脂。接着,使 Lantern 在肽序列合成中经历随后的酰基化反应(偶联反应)。

方法 B

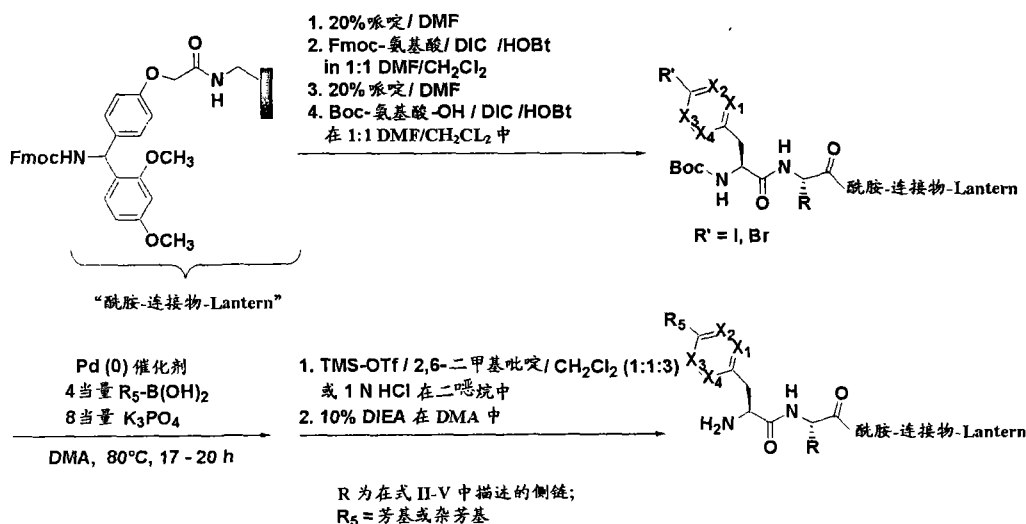
在室温及温和搅拌下用 0.5ml 无水 1,4-二噁烷中的 1N HCl 处理如通用程序 A 或 B 所述那样制备的经 Boc 保护的 Lantern。用 2×1.0ml 1,4-二噁烷、2×1.0ml N,N-二甲基乙酰胺中的 10%N,N-二异丙基乙胺(体积:体积)、3×1.0ml N,N-二甲基乙酰胺及 3×1.0ml 二氯甲烷洗涤 Lantern,提供用于随后酰基化反应(偶联反应)步骤的游离氨基-Lantern。

实施例 6

制备含有经修饰的处于 X_{aa10} 位的联苯基丙氨酸残基的 Lantern 的通用程序

如流程 4 所示, 利用上文关于苏楚基偶联所述的通用程序(A 或 B), 以及与 SynPhase™ Lantern 结合的氨基酸(处于 X_{aa11} 位)为起始, 得到含有经修饰的处于 X_{aa10} 位的 Phe 的所需二肽基 Lantern。

流程 4



实施例 7

制备含有由式 II-IV 及 IIa-IVa 表示的处于 X_{aa10} 位及 X_{aa11} 位的氨基酸的 Lantern 的通用程序

如下述流程 6 所述, 利用上文关于 X_{aa11} 位经修饰的类似物所述的程序(流程 1)并连续两次进行苏楚基偶联程序, 得到含有经修饰的处于 X_{aa10} 位及 X_{aa11} 位的苯基丙氨酸残基的二肽基 Lantern。

实施例 8

对 SynPhase™ Lantern 上的肽进行酰基化/延长的通用程序
用于 Fmoc 脱保护的程序

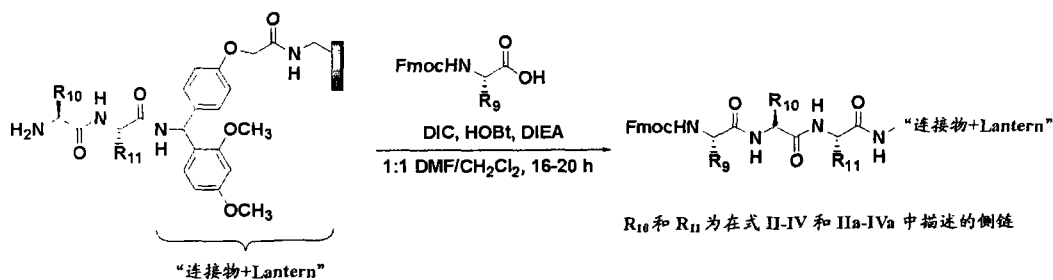
将 D 系列 SynPhase™ Lantern(每 Lantern 加载 0.035mmol)添加至 0.5ml 8:2 N,N-二甲基甲酰胺/哌啶(体积:体积)中。施加温和搅拌。1h 后, 用 3×1.0ml N,N-二甲基甲酰胺及 3×1.0ml 二氯甲烷洗涤 Lantern, 每次洗涤使 Lantern 浸泡至少 3min。

用于酰基化/氨基酸偶联的程序(流程 5)

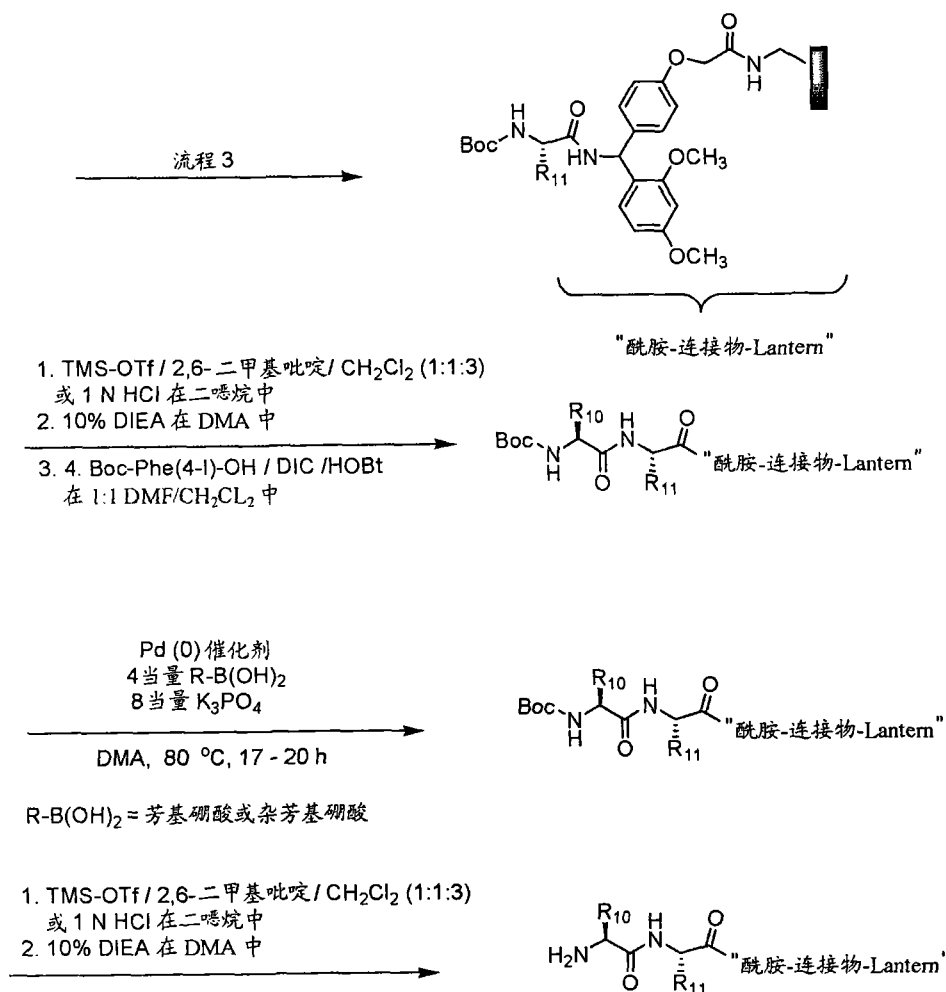
将侧链及 α -胺经保护的氨基酸(0.105mmol)溶解于 0.5ml 1:1 N,N-二甲基甲酰胺/二氯甲烷中。向此溶液中添加 N-羧基苯并三唑(0.105mmol)、N,N-

二异丙基乙胺(0.315mmol)及 N,N'-二异丙基碳二亚胺(0.105mmol)。使氨基酸溶液静置 10min, 此后将含有 α -胺经脱保护的肽的 D 系列 Lantern(0.035mmol/Lantern)添加至溶液中。封盖小瓶, 并轻柔搅拌 16-20h。接着, 用 3 $\times$ 1.0ml N,N-二甲基甲酰胺及 3 $\times$ 1.0ml 二氯甲烷洗涤 Lantern, 每次洗涤循环使 Lantern 浸泡 3-5min。

流程 5



流程 6



R_{10} 和 R_{11} 为在式 II-IV 和 IIa-IVa 中描述的侧链

实施例 9

经由片段缩合来制备肽的通用程序

在方法 A 中，进行固相苏楚基缩合，制备由式 II-IV 及 IIa-IVa 表示的处于 X_{aa10} 位及 X_{aa11} 位的所需氨基酸，这描述在实施例 7 中。自 X_{aa10} 位氨基酸除去 Boc 即 α -胺保护基，之后自载体裂解二肽。接着，使二肽与侧链经完全保护的 9 个氨基酸的肽偶联(参见下文)。随后对侧链进行脱保护并进行纯化，得到所需肽产物。在上述程序的变化中即对于固体载体而言，可将引入 X_{aa10} 位及 X_{aa11} 位氨基酸的二肽与侧链经完全保护的 9 个氨基酸的肽偶联，这描述在流程 10B 中。

方法 A: 溶液相片段缩合

在方法 A 中，进行固相苏楚基缩合及酰基化反应(如实施例 7 中所述)来制备与 SynPhase™ Lantern 结合的所需二肽，而 N-末端 α -胺经 Boc 保护或经 Fmoc 保护。在酸性条件下自 Lantern 载体裂解二肽。在 N-末端 α -胺经 Boc 保护的情况下，如流程 7 所示，进行的酸性裂解同时也实现了 α -胺的脱保护，且对这些物质进行纯化或直接将其用于片段偶联序列中。

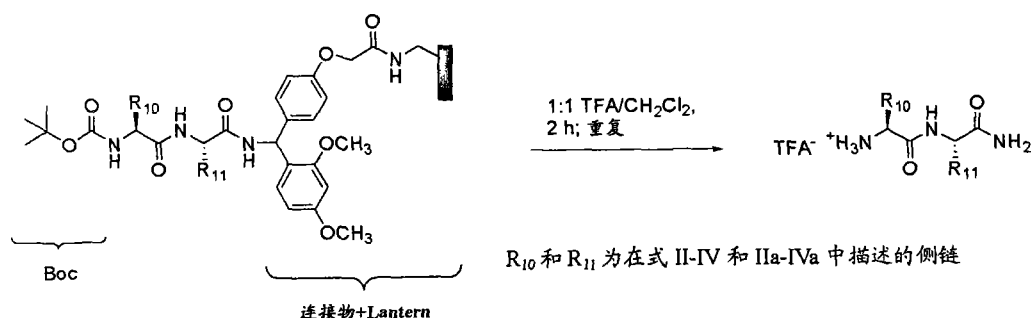
如流程 8 所示, 在酸性条件下对含有经 Fmoc 保护的 N-末端 α -胺的二肽进行裂解, 且在溶液中使 N-末端 α -胺脱保护。纯化这些二肽, 随后将其用于片段偶联序列中。

自 Synphase™ Lantern 裂解二肽的程序

程序 A(经 Boc 保护的二肽)(参见流程 7)

将D系列 SynPhase™ Lantern置于1打兰(dram)玻璃小瓶中。将1:1 TFA/二氯甲烷(0.5ml)溶液添加至小瓶中。封盖小瓶,并在轨道振荡器上温和搅拌(100rpm)2h。将裂解溶液转移至新小瓶中,并向Lantern中再添加0.5ml 1:1 TFA/二氯甲烷。再次封盖该小瓶,并在轨道振荡器上温和搅拌(100rpm)2h。将第二次裂解溶液添加至第一次裂解溶液中,且用二氯甲烷漂洗Lantern。将漂洗液添加至裂解溶液中,且蒸发溶剂,得到二肽,为 α -胺的TFA盐。

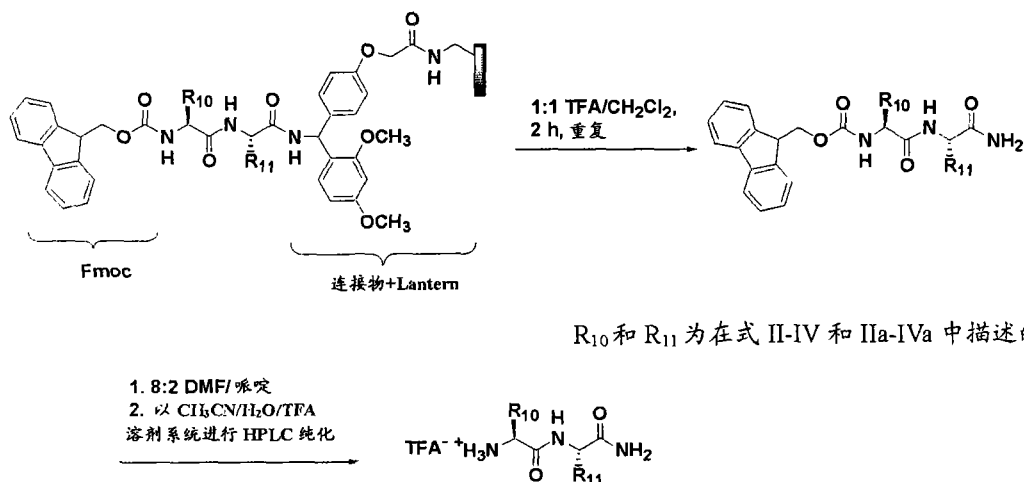
流程 7



程序 B(经 Fmoc 保护的二肽)(参见流程 8)

如上文程序 A 中所述, 自 SynPhase™ Lantern 裂解经 Fmoc 保护的二肽。用二氯甲烷漂洗 Lantern, 且自合并的漂洗液/裂解溶液蒸发溶剂。向所得残余物(在 1 打兰小瓶中)中添加 0.40ml 8:2 二甲基甲酰胺/哌啶(体积:体积)。封盖小瓶, 且使其反应 45min。蒸发掉剩余的溶剂, 且所得产物通过 HPLC(使用 C-18 色谱柱及 CH₃CN/H₂O/TFA 溶剂系统)来纯化, 蒸发溶剂后得到二肽, 为 α-胺的 TFA 盐。

流程 8

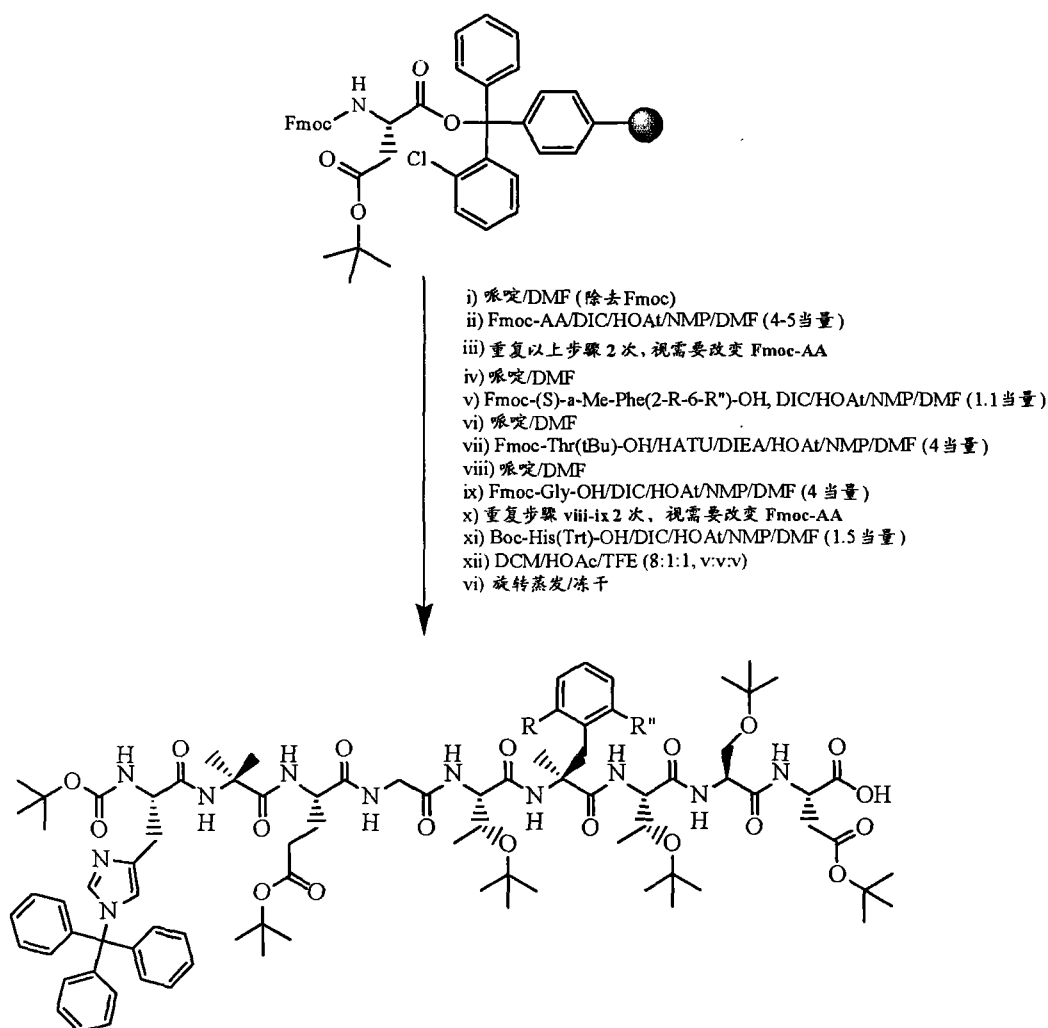


固相合成侧链经保护的 9 聚体肽 C 末端羧酸的程序(流程 9A)

在室温使 Fmoc-L-Ser(tBu)-OH(5 当量)、0.5M HOAt/DMF(5 当量)及 DIC(5 当量)在 NMP(5mL)中的溶液与 L-Asp(OtBu)-2-氯三苯甲基树脂(3.0g, 2.16mmol)一起涡漩 18hr。用 NMP 洗涤若干次后, 通过用 1.5M 哌啶/DMF 处理 2 次(5min 及 10min)来除去 Fmoc 基团。这些偶联及脱保护步骤重复七次, 组装所需序列, 但对于偶联 Fmoc-α-Me-Phe(2-R-6-R'')-OH 及 Boc-L-His(Trt)-OH 而言, 分别使用 1.1 当量及 1.5 当量 Fmoc-α-Me-Phe(2-R-6-R'')-OH 及 Boc-L-His(Trt)-OH, 且对于将 Fmoc-Thr(tBu)-OH 偶联至(S)-α-Me-Phe(2-R-6-R'')-肽基-树脂上而言, 使用 HATU/HOAt 及 DIEA(4 当量)。

组装完成后, 用 DCM 洗涤肽基-树脂, 随后通过在室温用 DCM/AcOH/TFE(8:1:1, v:v:v)处理 1h 来将经保护的 9 聚体肽 C 末端羧酸自树脂释放。滤除树脂, 且蒸发滤液至干, 将其再溶解于 AcCN/水(2:1)中并冻干两次, 得到 2.777g 纯度为 81%的产物, 其无需进一步纯化即用于随后的片段偶联步骤中。

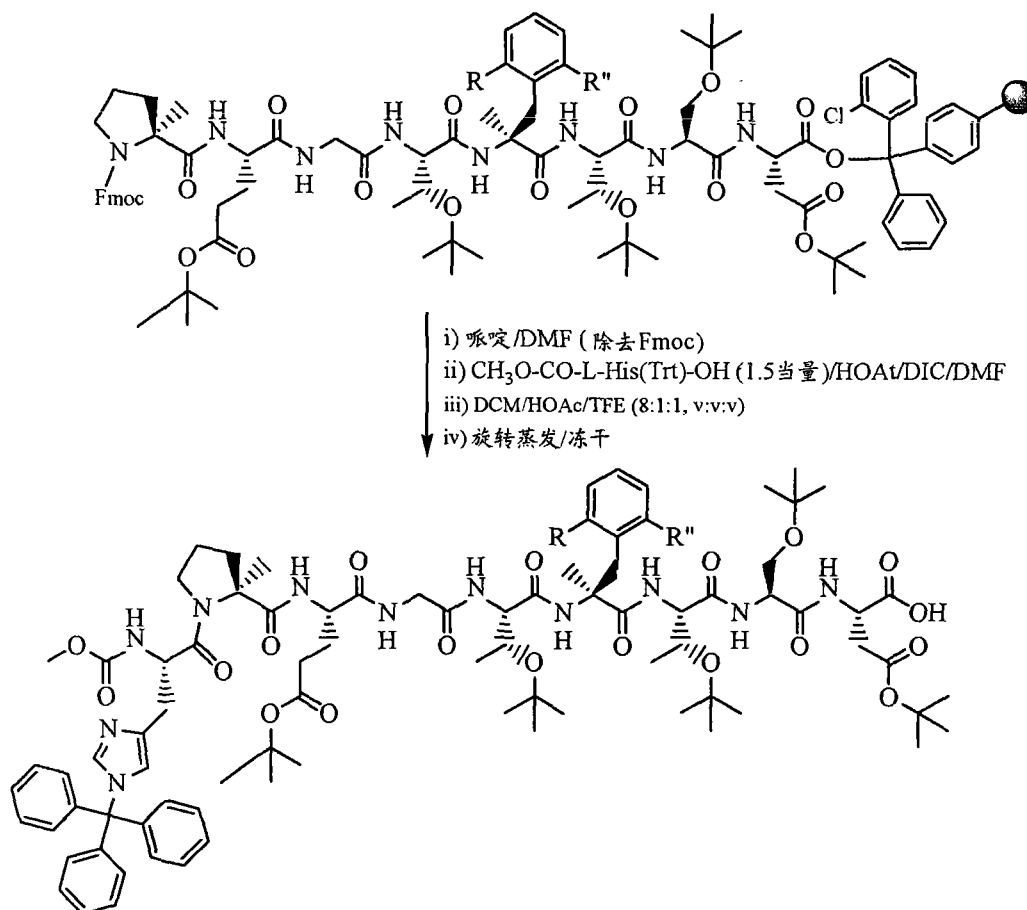
流程 9A



固相合成侧链经保护的 N-甲氧羰基 9 聚体肽 C 末端羧酸的程序(流程 9B)

如上文所述那样(流程 9A)来制备 N-Fmoc 侧链经保护的 8 聚体肽基-(邻-Cl)-三苯甲基树脂(3.5mmol)。除去 Fmoc 且以 DMF 洗涤后, 用含 0.546M HOAt 的 DMF(9.8mL, 5.33mmol)中的 N- α -甲氧羰基-N-im-三苯甲基-L-组氨酸(2.4g, 5.33mmol)处理肽基-树脂(3.5mmol), 随后添加 DMF(10mL)及 DIC(0.633mL, 5.33mmol)。搅拌 72 小时后, 用 DMF(4 $\times$ 50mL)及 DCM(2 $\times$ 50mL)洗涤 N 衍生化的 9 聚体肽基-树脂, 且通过在室温用 DCM/AcOH/TFE(8:1:1, v:v:v)处理 3h 将经保护的 9 聚体肽 C 末端羧酸自树脂释放。滤除树脂, 且蒸发滤液至干, 将其再溶解于 AcCN/水(1:1.4)中并冻干两次, 得到 4.05g 纯度为 71%的产物, 其无需进一步纯化即用于随后的片段偶联步骤中。

流程 9B



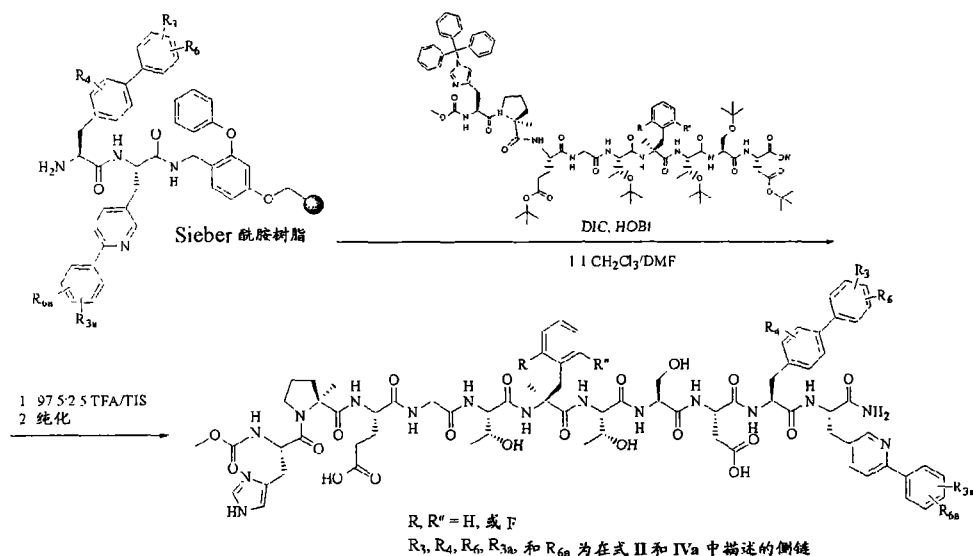
用于溶液相片段偶联反应的程序

在1打兰小瓶中以单一化合物的形式且在2ml 96孔板中以化合物平行阵列的形式进行这些反应。以下描述(如流程10所示)适用于单一化合物的情况,但与在96孔板中进行的反应完全类似。

在1.5ml玻璃小瓶中将二肽的TFA盐(0.01mmol)溶解于含有0.5%N,N-二异丙基乙胺的0.25ml THF中。将大孔碳酸酯树脂(MP-碳酸酯, 0.03mmol, Argonaut Technologies)添加至小瓶中。封盖小瓶,并在室温搅拌2h。过滤溶液,并通过蒸发除去过量溶剂。

将含有侧链经保护的9聚体肽C末端羧酸(0.008mmol)及N-羟基苯并三唑(HOBt, 0.008mmol)的0.15ml 9:1 氯仿/N,N-二甲基甲酰胺溶液添加至含有二肽胺的小瓶中。将二异丙基碳二亚胺(DIC, 0.08mmol)添加至0.05ml 9:1 氯仿/N,N-二甲基甲酰胺溶液中。封盖小瓶,且在室温在轨道振荡器上搅拌反应混合物16h。蒸发小瓶中剩余的溶剂。

用0.40ml 97.5:2.5 TFA/三异丙基甲硅烷(TFA/TIS)使肽侧链及N-末端α-胺脱保护,历时1h。蒸发掉剩余的溶剂,随后肽产物通过HPLC(使用CH₃CN/H₂O/TFA溶剂系统且通过检测所需产物的质量来触发洗脱液的收集)



方法 B: 使用溶液中的苏楚基偶联来合成由式 II-IV 及 IIa-IVa 表示的 Fmoc-氨基酸类似物

下述实施例说明了由式 II-IV 及 IIa-IVa 表示的若干 Fmoc-氨基酸类似物的合成，随后如本申请所述那样将其用于肽及其它肽类似物的固相合成。

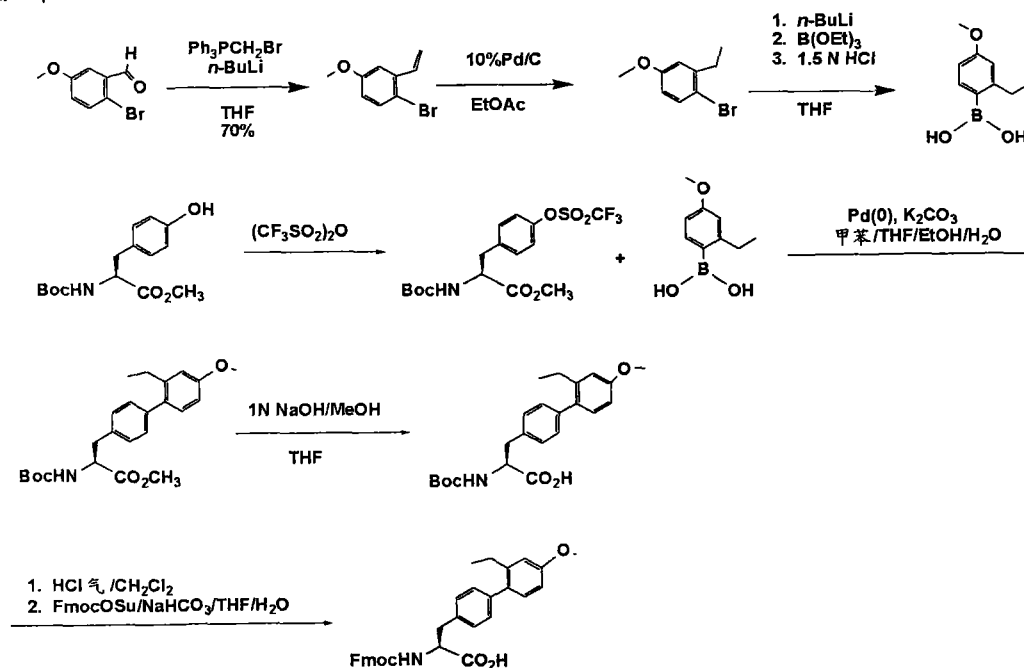
实施例 10

合成 Fmoc-(S)-2'-乙基-4'-甲氧基-联苯基丙氨酸

[Fmoc-(S)-Bip(2'-Et-4'-OMe)]

流程 11 描述了 Fmoc-(S)-2'-乙基-4'-甲氧基-联苯基丙氨酸的合成。

流程 11



Boc-L-酪氨酸-O-三氟甲磺酸酯(Boc-L-Tyrosine-O-triflate)

向在 N₂ 下保持在 -40℃ 的 25g(85mmol)Boc-L-酪氨酸甲酯及

36.25g(339mmol, 4 当量)2,6-二甲基吡啶于 200mL 无水 DCM 中的溶液中经 30min 缓慢添加 DCM(100ml)中的 47.74mg(169.5mmol, 2 当量)三氟甲磺酸酐。在-40℃将溶液再搅拌 2 小时。HPLC 分析指示反应完成。通过添加 20mL 水中止反应。分离各层, 且有机层用 3×200ml 1N HCl、200ml 饱和 Na₂CO₃、200ml 水及 200mL 盐水洗涤。有机层用硫酸镁干燥, 过滤并真空干燥, 得到呈红色油状物的粗产物。使其经历硅胶快速色谱(300g 硅胶, 梯度为己烷中的 0%EtOAc 至己烷中的 50%EtOAc)。真空浓缩含有产物的馏分, 得到呈白色固体的所需化合物(27g, 产率 75%)。

2-乙基-4-甲氧基-苯基硼酸

方法 A

将溴化甲基三苯基磷(199.5g, 0.465mol)在无水 THF(800ml)中的悬浮液净化 10min, 并将其冷却至 10℃。经 30min 缓慢添加正丁基锂(169ml, 0.465 mol, 2.75M 溶液)并搅拌 1h。经 30min 缓慢添加无水 THF(300ml)中的 2-溴-5-甲氧基苯甲醛(100g, 0.465mol)。添加后, 搅拌反应混合物 1h。添加石油醚(2L)且再搅拌反应混合物 30min。反应混合物用硅胶垫过滤。用乙醚洗涤硅胶垫。在低于 30℃的温度浓缩合并的有机洗涤液, 并通过 60-120 目硅胶色谱(使用 100%石油醚作为洗脱剂)来纯化粗产物。产量: 92g, 90%, 为浅黄色液体。

将乙酸乙酯(650ml)中的 2,2'-联吡啶(24.3g, 0.15mol)及 2-溴-5-甲氧基苯乙烯(65g, 0.31mol)冷却至 0℃。净化溶液, 且在氮气流下添加 10%钯/碳(16.25g, 25%)。在帕尔(Parr)振荡器中在 2kg 氢气压力下搅拌反应混合物 3 天。通过 HPLC 监测反应进程。反应混合物用硅藻土过滤并用 5%硫酸氢钾溶液洗涤滤液, 经硫酸钠干燥并在低于 30℃的温度浓缩。产量: 60g, 91%, 为浅黄色液体。

将 4-溴-3-乙基苯甲醚(94g, 0.437mol)在 THF(900ml)中的溶液冷却至 -78℃。在相同温度逐滴添加正丁基锂(249ml, 0.55mol)。在-78℃持续搅拌 1h。在-78℃缓慢添加硼酸三正丁酯(177ml, 0.655mol)。移开冷却浴, 使反应混合物温热至 0℃且在 0℃用 1.5N 盐酸中止。分离有机层。用乙酸乙酯萃取水层, 且用盐水洗涤合并的有机层, 然后浓缩。所得到的残余物在石油醚中搅拌 30min。过滤所得到的固体并在真空下干燥。产量: 65g, 82%, 为白色固体。

方法 B(参见流程 12)

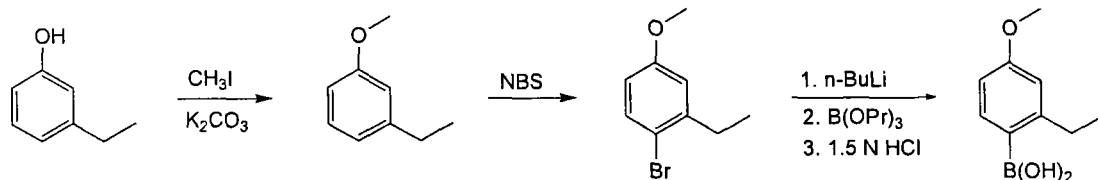
向 3-乙基苯酚(50g, 0.4 mol, 纯度为 98%, Fluka)及 K_2CO_3 (283g, 2.05mol) 在无水丙酮(500ml)中的混合物中添加甲基碘(290g, 2.05mol)。将反应混合物转移至高压釜中并在 70℃ 回流过夜。反应混合物用硅藻土垫过滤。用丙酮洗涤硅藻土垫且浓缩合并的滤液及洗涤液。将产物溶解于 DCM 中, 过滤并蒸发至干。产量: 50g, 90%, 为棕色液体。

在室温在黑暗中将 AcCN(1L)中的 3-乙基苯甲醚(50g, 0.3676mol)及 N-溴琥珀酰亚胺(72g, 0.4mol)搅拌 8h。在低于 40℃ 的温度浓缩反应混合物, 且将所得到的残余物再溶解于 CCl_4 中并过滤。浓缩滤液且产物通过分馏来纯化。产量: 35g, 43%, 为浅黄色液体。

如方法 A 中所述, 将 4-溴-3-乙基苯甲醚转化成相应的硼酸。

出于扩大反应规模的目的, 可使用格氏方法(Grignard method)来实现 4-溴-3-乙基苯甲醚向 2-乙基-4-甲氧基-硼酸的转化。此方法涉及通过以下方法来形成格氏试剂: 使 4-溴-3-乙基苯甲醚与 Mg(1.1 当量)在 THF 中反应, 随后使所得格氏中间体如方法 A 中所述那样与硼酸三正丁酯或硼酸三甲酯反应。

流程 12



Fmoc-(S)-2'-乙基-4'-甲氧基-联苯基丙氨酸

用氮气将无水甲苯(600ml)中的 Boc-L-酪氨酸-O-三氟甲磺酸酯(81g, 0.19mol)净化 10min。添加 200ml 水中的 K_2CO_3 (36g, 0.26mol), 随后添加 2-乙基-4-甲氧基-苯基硼酸(36g, 0.2mol), 且使用氮气将反应混合物净化 10min。添加 $Pd(PPh_3)_4$ (16.18g, 0.014mol)、乙醇(200ml)及 THF(400ml)并在搅拌下将反应混合物加热至 100℃, 保持 4h。真空浓缩反应混合物, 且将残余物溶解于 DCM(1.0L)中。用 10%氢氧化钠溶液和 15%柠檬酸溶液洗涤有机层, 经硫酸钠干燥并浓缩。粗产物通过 60-120 目硅胶柱色谱(石油醚中的 10%乙酸乙酯)来纯化。产量: 50g, 65%, 为黄色液体。

向 Boc-(S)-2'-乙基-4'-甲氧基-联苯基丙氨酸甲酯(60g, 0.146mol)在 THF(450ml)及甲醇(85ml)中的混合物中添加 85ml 水中的氢氧化钠(24g,

0.58mol)。在室温搅拌反应混合物过夜，浓缩并将残余物溶解于水(100ml)中，且用乙醚洗涤。使用 20%柠檬酸将水层酸化至 pH 为 1 且用乙酸乙酯萃取。萃取液用盐水洗涤，经硫酸钠干燥并蒸发至干。产量：55g，94%，为无色液体。

将 Boc-(S)-2'-乙基-4'-甲氧基-联苯基丙氨酸(55g, 0.138mol)溶解于无水 DCM(1 升)中且在室温用无水 HCl 气体处理 6h。过滤所得到的固体产物并在真空下干燥。产量：46g，100%。

向 THF(700ml)中的游离氨基酸盐酸盐(30g, 0.089mol)中添加 NaHCO₃(29g, 0.358mol)的水(240ml)溶液。经 30min 逐份添加 Fmoc-OSu(30g, 0.089mol)。在室温搅拌反应混合物过夜。在真空下除去 THF，然后添加水(2.0L)。用乙醚萃取澄清溶液，除去任何杂质。将水溶液酸化至 pH 为 1 且用乙酸乙酯萃取。用水及盐水洗涤有机层，且蒸发至干。产量：37g，80%。

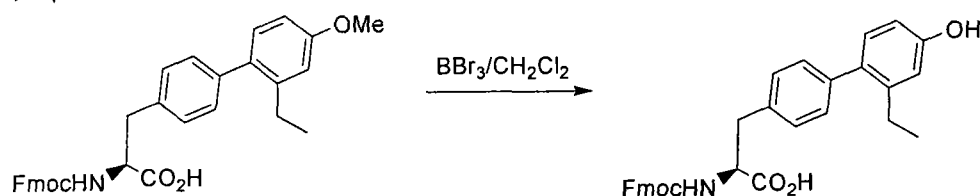
实施例 11

合成 Fmoc-(S)-2'-乙基-4'-羟基-联苯基丙氨酸

[Fmoc-(S)-Bip(2'-Et-4'-OH)]

以下流程 13 描述了 Fmoc-(S)-2'-乙基-4'-羟基-联苯基丙氨酸 [Fmoc-(S)-Bip(2'-Et-4'-OH)]的合成。

流程 13



经 20min 向在-12℃及氩气下搅拌的 4.46g(8.55mmol)(S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羧基氨基)-3-(2'-乙基-4'-甲氧基联苯-4-基)丙酸

[Fmoc-Bip(2'-Et-4'-OMe)-OH]于二氯甲烷(34mL)中的溶液中添加 21.4mL 1M 三溴化硼于二氯甲烷(21.2mmol)中的溶液。搅拌反应混合物，且当形成灰色浆液时，使其在原位温热至室温。3h 后，在室温将反应混合物缓慢添加至 300mL 经快速搅拌的水中。1h 后，用二氯甲烷(每次 100mL)萃取反应混合物 2 次。合并有机萃取液，干燥(MgSO₄)，过滤并蒸发，得到 4.65g 棕褐色泡沫状物。通过反相 HPLC(Luna 5μ C18 30×100mm 色谱柱；洗脱剂的梯度为 50%至 100%(10min)(900:100:1 水/AcCN/TFA 至 100:900:1 水/AcCN/TFA)；流速为 40mL/min；在 220nm 进行 UV 检测)来纯化所需产物。

部分蒸发所汇集的馏分,得到胶状物质,将其自剩余溶液中滗出,用水洗涤,将其再溶解于二氯甲烷中,干燥(MgSO_4),过滤并蒸发,得到 3.50g 呈白色无定形固体的产物,产率 81%。HPLC/MS: 保留时间=5.52min[Zorbax SB C18(4.6×75mm)色谱柱; 梯度为 0%至 100%(8min)(90:10:0.1 水/AcCN/TFA 至 10:90:0.1 水/AcCN/TFA 作为洗脱剂); 流速为 2.5mL/min; 在 220nm 进行 UV 检测]; $[\text{M}+\text{H}]^+=508$ 。 ^1H NMR($\text{DMSO}-d_6$): δ 12.77(br s, 1H), 9.29(s, 1H), 7.86(d, $J=7.7\text{Hz}$, 1H), 7.78(d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 7.65(t, $J=7.1\text{Hz}$, 2H), 7.38(m, 2H), 7.28(m, 4H), 7.11(d, $J=7.7\text{Hz}$, 2H), 6.85(d, $J=8.2\text{Hz}$, 1H), 6.65(d, $J=2.2\text{Hz}$, 1H), 6.57(dd, $J=2.2, 8.3\text{Hz}$, 1H), 4.20(m, 5H), 3.32(br s, 1H), 3.10(dd, $J=4.4, 13.8\text{Hz}$, 1H), 2.90(dd, $J=10.5, 13.2\text{Hz}$, 1H), 2.37(q, $J=7.7\text{Hz}$, 2H), 0.91(t, $J=7.7\text{Hz}$, 3H)。

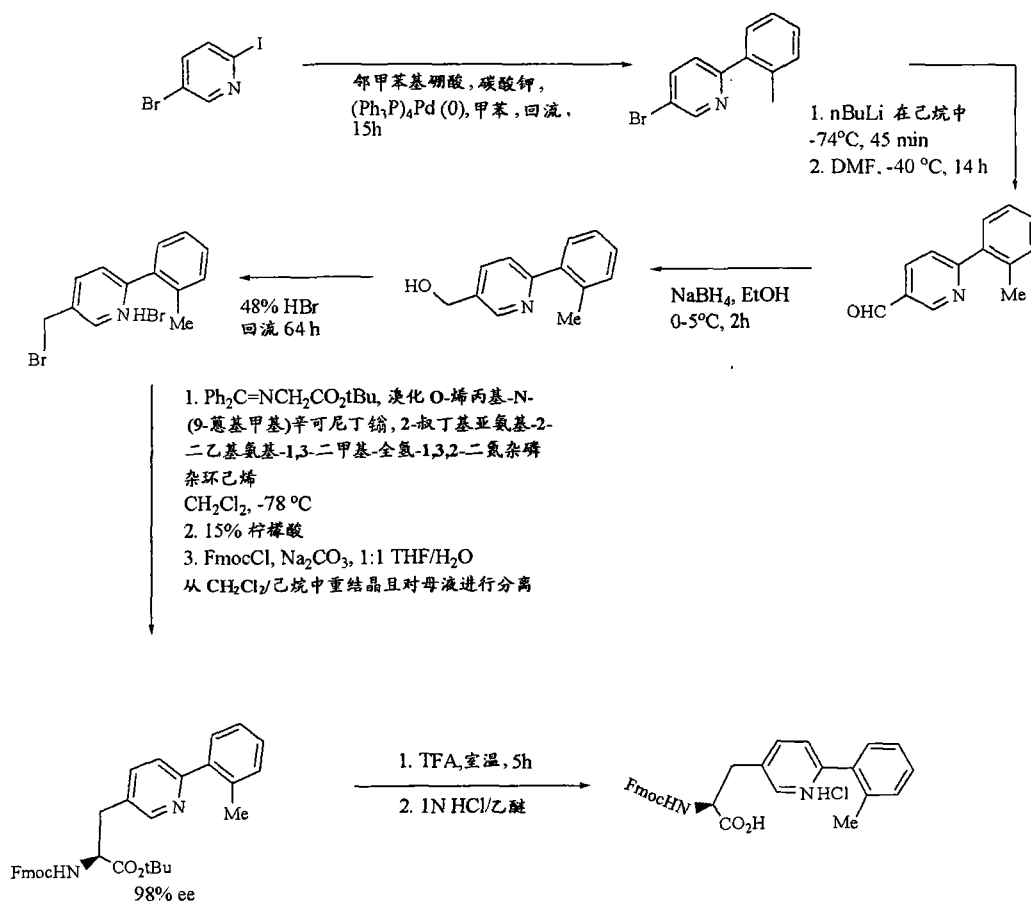
通过手性 HPLC(CHIRALPAK[®] AD, 10 μm , 50×500mm 色谱柱; 等度洗脱(正庚烷/AcCN/甲醇/TFA 839:80:80:1); 流速为 60mL/min; 在 217nm 进行 UV 检测)进一步纯化 2.28g 上述产物。蒸发所汇集的馏分,随后与氯仿(3×20mL)一起再蒸发,得到 2.17g 呈灰白色无定形固体的产物,产率 95%。反相 HPLC: 保留时间=21.42min[YMC ODS-A C18 3 μm (4.6×150mm)色谱柱; 梯度为 10%B 至 100%B(30min)(缓冲液 A 为水中的 0.1%TFA; 缓冲液 B 为 AcCN 中的 0.1%TFA); 流速为 1mL/min; 在 217nm 进行 UV 检测]。MS 分析: $[\text{M}+\text{NH}_3]^+=525.3$ 且 $[\text{M}-\text{H}]^-=506.2$ 。手性 HPLC 分析: >99%对映异构体过量,保留时间=12.17min[CHIRALPAK[®] AD, 10 μm , 4.6×250mm 色谱柱; 等度洗脱(正庚烷/AcCN/甲醇/TFA 799:100:100:1); 流速为 1mL/min; 在 217nm 进行 UV 检测]。 $[\alpha]_D^{25}=-12.6$ ($c=1.0$, 在 DMF 中)。

实施例 12

合成(2S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-邻甲苯基吡啶-3-基)丙酸盐酸盐[Fmoc-(S)-4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸盐酸盐]

以下流程 14 描述了(2S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-邻甲苯基吡啶-3-基)丙酸盐酸盐的合成。

流程 14



5-溴-2-邻甲苯基吡啶

向经氩气净化且经抽真空的 910mg(3.21mmol)5-溴-2-碘吡啶及 436mg(3.21mmol, 1.0 当量)2-邻甲苯基硼酸于 8mL 甲苯及 3.2mL 2M 碳酸钠水溶液中的浆液中添加 36mg(0.032mmol, 0.01 当量)四(三-苯基膦)钯。用氩气将反应混合物再净化并抽真空 2 次, 随后使其在氩气下回流 15h。冷却反应混合物, 且使其在水与 EtOAc 之间分配。分离各层, 且水层再用 EtOAc 萃取 1 次。合并有机萃取液, 用硫酸镁干燥, 过滤, 浓缩并真空干燥, 得到呈橙色油状物的粗产物。通过硅胶色谱(7:3 CH₂Cl₂/己烷)进行纯化, 得到 666mg 呈黄色油状物的标题化合物, 产率 84%。

6-邻甲苯基吡啶-3-甲醛

经 5min 向在 -74°C 及氩气下经搅拌的 125mg 上述化合物(0.50mmol)在 THF(2.0mL)中的溶液中添加 220μL 正丁基锂的己烷溶液(2.5M, 0.55mmol, 1.1 当量), 不允许使温度高于 -71°C。形成淡绿色溶液, 30min 后颜色变成深绿色。45min 后, 添加 49.4μL(0.61mmol, 1.2 当量)DMF 且使反应混合物温热至 -40°C。14h 后, 形成亮橙色溶液。用 10%柠檬酸中止反应且在室温迅速搅拌混合物 20min。所得鲜黄色溶液用 EtOAc 萃取两次。合并有机萃取

液, 用 MgSO_4 干燥, 过滤并浓缩, 得到黄色油状物。所得到的粗混合物通过硅胶色谱(使用乙酸乙酯/二氯甲烷(1:24)作为洗脱剂)(2.5×10cm 色谱柱)来纯化, 得到白色固体, 熔点 82-84℃, 90.3mg, 产率 91%。

(6-邻甲基苯基吡啶-3-基)甲醇

向 0-5℃ 的 1.070g(5.43mmol)6-邻甲基苯基吡啶-3-甲醛于 19mL 乙醇中的溶液中添加 287mg(7.5mmol, 1.4 当量)硼氢化钠。2h 后, 用饱和碳酸氢钠溶液淬灭反应混合物, 30min 后, 使其在二氯甲烷与盐水之间分配。以硫酸镁干燥有机萃取液并浓缩, 得到呈无色油状物的所述产物, 1.08g, 产率 100%。

5-(溴甲基)-2-邻甲基苯基吡啶氢溴酸盐

将 4.49g(22.5mmol)(6-邻甲基苯基吡啶-3-基)甲醇于 75mL 48% 氢溴酸中的溶液加热至回流, 保持 64h。使反应混合物部分冷却, 且通过真空蒸馏(2托(Torr)且 110℃)除去过量的氢溴酸, 直至烧瓶中剩余棕褐色固体残余物。使用置于蒸馏装置与真空泵之间的大 KOH 颗粒并进行蒸馏。使固体残余物浆化在乙醚中, 过滤并在氮气流下干燥, 得到 7.38g 产物, 产率 95%。

(2S)-2-(二苯基亚甲基氨基)-3-(6-邻甲基苯基吡啶-3-基)-丙酸叔丁酯

经 5min 向在 -78℃ 及氮气流下经搅拌的 800mg(2.33mmol)5-(溴甲基)-2-邻甲基苯基吡啶氢溴酸盐、689mg(2.33mmol, 1.0 当量)2-(二苯基亚甲基氨基)乙酸叔丁酯及 141mg(0.233mmol, 0.1 当量)溴化 O-烯丙基-N-(9-蒽基甲基)辛可尼丁鎓(O-allyl-N-(9-anthracenylmethyl)cinchonidinium bromide)在 14mL 二氯甲烷中的混合物中添加 1.687mL(5.83mmol, 2.5 当量)2-叔丁基亚氨基-2-二乙基氨基-1,3-二甲基-全氢-1,3,2-二氮杂磷杂环己烯。在 -78℃ 搅拌反应混合物 10h, 随后使其在原位温热至室温。混合物直接通过硅胶色谱(使用乙酸乙酯/二氯甲烷(1:4)作为洗脱剂)(5×10cm 色谱柱)来纯化, 得到棕褐色油状物, 1.10g, 产率 100%。

(2S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-邻甲基苯基吡啶-3-基)丙酸叔丁酯

向在室温及氮气流下经搅拌的 1.10g(2.33mmol)(2S)-2-(二苯基亚甲基氨基)-3-(6-邻甲基苯基吡啶-3-基)丙酸叔丁酯于 9mL THF 中的溶液中添加 9mL 水中的 2.795g(14.54mmol, 6.5 当量)柠檬酸。20h 后, 用水(5mL)稀释反应混合物且用乙醚(10mL)洗涤两次。接着, 用固体碳酸钠使水相达到 pH 为 9 且用二氯甲烷萃取两次。

合并二氯甲烷萃取液，用硫酸钠干燥并浓缩。将所得油状物溶解于 10mL THF 中，且在室温用 7.2mL 10%碳酸钠溶液，随后用 703mg(2.56mmol, 1.1 当量)9-苄基甲基氧基碳酰氯处理。14h 后，反应混合物用二氯甲烷萃取两次，用硫酸钠干燥，过滤，浓缩并通过硅胶色谱(使用乙酸乙酯/二氯甲烷 (1:19)作为洗脱剂)(2.5×10cm 色谱柱)来纯化，得到 1.082g 无色油状物，产率 91%。由 20mL 7:1 己烷:二氯甲烷重结晶，得到 287mg 白色固体。浓缩母液，得到 779mg 呈无定形白色固体的标题化合物，产率 63%。手性 HPLC 分析 (4.6×250mm AD 色谱柱, 38:1:1 庚烷:甲醇:乙醇作为洗脱剂, 流速为 1mL/min) 指示 98%对映异构体过量。

(2S)-2-(((9H-苄-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-邻甲基吡啶-3-基)丙酸盐盐酸盐

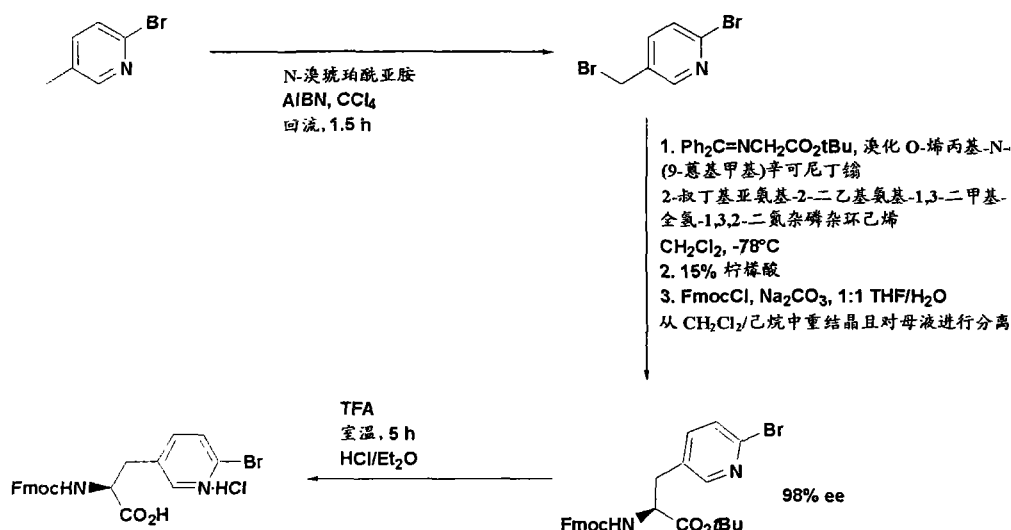
在室温将经填充有氯化钙的干燥管保护而使之不受大气影响的 1.75g(3.19mmol)(2S)-2-(((9H-苄-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-邻甲基吡啶-3-基)丙酸叔丁酯于 TFA(5.0mL)中的溶液搅拌 2 小时。在低于 40℃的温度真空浓缩反应混合物，并将所得橙色油状物溶解于 10mL 乙醚中，向所述乙醚中添加 5mL 1M HCl/乙醚溶液。过滤所得白色固体，并用乙醚洗涤，得到 1.65g 呈白色粉末的所需化合物，产率 100%。

实施例 13

合成(2S)-2-(((9H-苄-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-溴吡啶-3-基)丙酸盐盐酸盐

以下流程 15 描述了 2-(((9H-苄-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-溴吡啶-3-基)丙酸盐盐酸盐的合成。

流程 15



2-溴-5-(溴甲基)吡啶

向经搅拌的 10.320g(60.0mmol)5-甲基-2-溴吡啶及 5.339g(30.0mmol, 0.5 当量)经重结晶的 N-溴琥珀酰亚胺于 150mL 四氯化碳中的浆液中添加 200mg AIBN。用氩气将反应混合物净化 2 次并抽真空，随后使其在氩气下回流。90min 后，将反应混合物冷却至室温，过滤并浓缩滤液，得到黄色油状物。质子 NMR 表明，混合物含有 53%(mol)未经反应的 5-甲基-2-溴吡啶、43%的标题产物及 4%的 2-溴-5-(二溴甲基)吡啶。混合物无需进一步纯化即迅速用于以下程序中。

(S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-溴吡啶-3-基)丙酸叔丁酯

经 5min 向在 -78°C 及氩气下经搅拌的 2-溴-5-(溴甲基)吡啶(标称 26.4mmol)、7.798mg(26.4mmol, 1.0 当量)2-(二苯基亚甲基氨基)乙酸叔丁酯及 1.60mg(2.64mmol, 0.1 当量)溴化 O-烯丙基-N-(9-萘基甲基)辛可尼丁鎓在 100mL 二氯甲烷中的混合物中添加 11.46mL(39.6mmol, 1.5 当量)2-叔丁基氨基-2-二乙基氨基-1,3-二甲基-全氢-1,3,2-二氮杂磷杂环己烯。在 -78°C 搅拌反应混合物 7h，随后使其在原位温热至室温。接着，浓缩反应混合物，将其再溶解于 75mL THF 中且用 75mL 水中的柠檬酸(22g)加以处理。剧烈搅拌 7h 后，用乙醚(75mL)萃取混合物 2 次。合并有机萃取液并用水(25mL)洗涤 1 次。合并水性萃取液并用固体碳酸钠使其达到 pH 为 8。无需进一步处理即将水溶液用于下一反应中。

(S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-溴吡啶-3-基)丙酸叔丁酯

在室温将上述水溶液添加至 7.545g(27.5mmol, 1.04 当量)9-芴基甲基氧基碳酰氯于 75mL THF 中的溶液中。14h 后，用乙酸乙酯萃取反应混合物两

次,用硫酸镁干燥,过滤,浓缩并通过硅胶色谱(使用乙酸乙酯/二氯甲烷(1:24)作为洗脱剂)(12×25cm 色谱柱)加以纯化,得到 7.25g 无色油状物,产率 91%。由 120mL 5:1 己烷/二氯甲烷重结晶,得到少量白色固体,将其滤除。浓缩母液,得到 4.96g 呈无定形白色固体的标题化合物,产率 62%。手性 HPLC 分析(4.6×250mm AD 色谱柱, 38:1:1 庚烷:甲醇:乙醇作为洗脱剂,流速为 1mL/min)指示 97.2%对映异构体过量。

2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-溴吡啶-3-基)丙酸盐酸盐

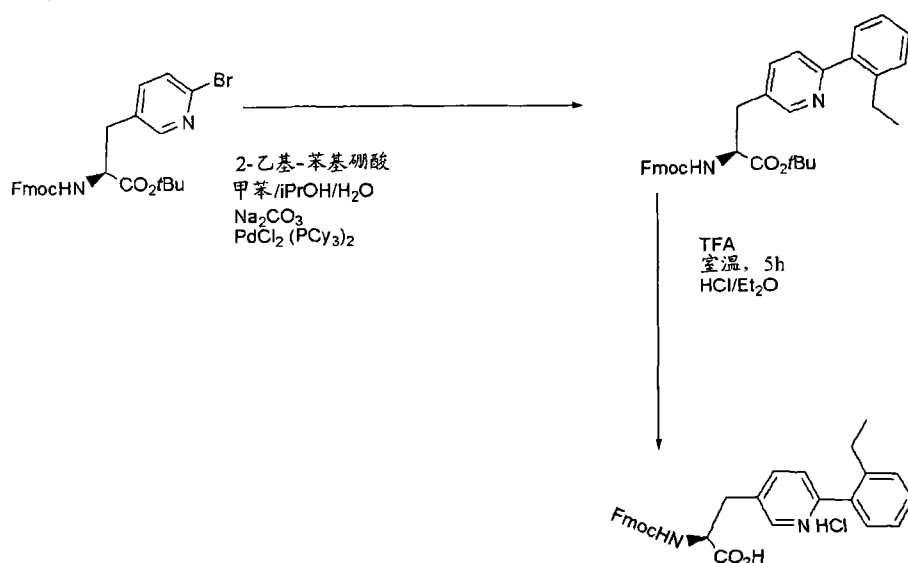
在室温将经填充有氯化钙的干燥管保护而使之不受大气影响的 1.02g(1.95mmol)(2S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-溴吡啶-3-基)丙酸叔丁酯于 TFA(3.0mL)中的溶液搅拌 2 小时。在低于 35℃的温度真空浓缩反应混合物,并将所得橙色油状物溶解于 3mL 二氯甲烷中,向所述二氯甲烷中添加 6mL 1M HCl/乙醚溶液。过滤所得白色固体,并用乙醚洗涤,得到 845mg 呈白色粉末的标题化合物,产率 86%。

实施例 14

合成(2S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-(2-乙基苯基)吡啶-3-基)丙酸盐酸盐[Fmoc-(S)-4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸]

以下流程 16 描述了(2S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-(2-乙基苯基)吡啶-3-基)丙酸盐酸盐的合成。

流程 16



(S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-(2-乙基苯基)吡啶-3-基)丙酸叔丁酯

向经搅拌的 1.75g(3.35mmol)(S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-溴-吡啶-3-基)丙酸叔丁酯及 1.005g(6.70mmol, 2 当量)2-乙基苯基硼酸于 50mL 1:1 异丙醇/甲苯中的浆液中添加 25.0mL 2M 碳酸钠水溶液。用氩气净化反应混合物 2 次并抽真空, 随后添加 124mg(0.167mmol, 0.05 当量)二(三环己基膦)二氧化钨(II), 且再次用氩气净化混合物并抽真空。在 80℃ 及氩气下加热经快速搅拌的混合物。20h 后, 将反应混合物冷却至室温, 且部分浓缩, 除去异丙醇。使残余物在乙酸乙酯与水之间分配, 且再用乙酸乙酯萃取水相 1 次。合并有机萃取液, 用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩, 得到褐色油状物。通过硅胶色谱(使用乙酸乙酯/二氯甲烷(1:9)作为洗脱剂)(5×15cm 色谱柱)来纯化, 得到 1.25g 呈无色油状物的所需化合物, 产率 77%。

(2S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-(2-乙基苯基)吡啶-3-基)丙酸盐酸盐

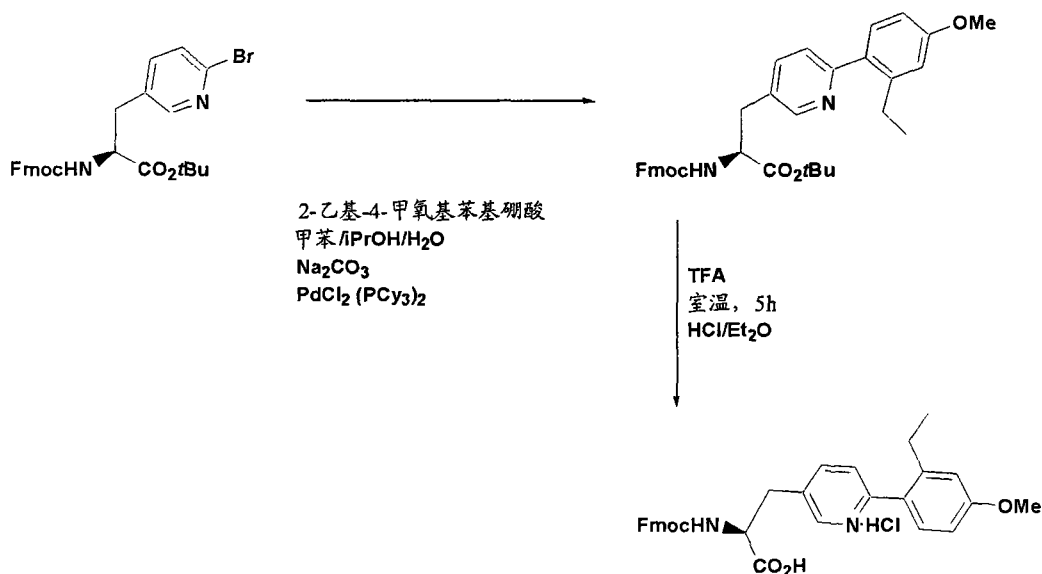
在室温将经填充有氯化钙的干燥管保护而使之不受大气影响的 1.53g(2.79mmol)(2S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-(2-乙基苯基)吡啶-3-基)丙酸叔丁酯于 TFA(5.0mL)中的溶液搅拌 2 小时。在低于 35℃ 的温度真空浓缩反应混合物, 并将所得橙色油状物溶解于乙醚中, 向所述乙醚中添加 6mL 1M HCl/乙醚溶液。过滤所得白色固体, 并用乙醚洗涤, 得到 1.38g 呈白色粉末的所需产物, 产率 93%。

实施例 15

合成(2S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-(2-乙基-4-甲氧基苯基)吡啶-3-基)丙酸盐酸盐[Fmoc-(S)-4-[(2'-乙基-4'-甲氧基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸]

以下流程 17 描述了(2S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-(2-乙基-4-甲氧基苯基)吡啶-3-基)丙酸盐酸盐的合成。

流程 17



(S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羧基氨基)-3-(6-(2-乙基-4-甲氧基苯基)吡啶-3-基)丙酸叔丁酯

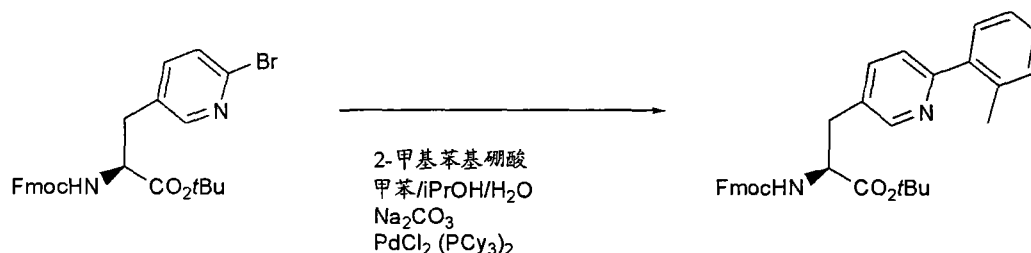
向经搅拌的 613mg(1.17mmol)(S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羧基氨基)-3-(6-溴-吡啶-3-基)丙酸叔丁酯及 422mg(2.34mmol, 2 当量)2-乙基-4-甲氧基苯基硼酸于 20mL 1:1 异丙醇/甲苯中的浆液中添加 10.0mL 2M 碳酸钠水溶液。用氩气净化反应混合物 2 次并抽真空, 随后添加 43.2mg(0.059mmol, 0.05 当量)二(三环己基膦)二氯化钯(II)且再次用氩气净化混合物并抽真空。在 80℃ 及氩气下加热经快速搅拌的混合物。9h 后, 将反应混合物冷却至室温, 且部分浓缩, 除去异丙醇。使残余物在乙酸乙酯与水之间分配, 且再用乙酸乙酯萃取水相 1 次。合并有机萃取液, 用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩, 得到褐色油状物。通过硅胶色谱(使用乙酸乙酯/二氯甲烷(3:17)作为洗脱剂)(5×15cm 色谱柱)来纯化, 得到 401mg 呈无色油状物的预期化合物, 产率 59%。

(2S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羧基氨基)-3-(6-(2-乙基-4-甲氧基苯基)吡啶-3-基)丙酸盐盐酸盐

在室温将经填充有氯化钙的干燥管保护而使之不受大气影响的 401mg(0.69mmol)(2S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羧基氨基)-3-(6-(2-乙基-4-甲氧基苯基)吡啶-3-基)丙酸叔丁酯于 TFA(2.0mL)中的溶液搅拌 2 小时。在低于 30℃ 的温度真空浓缩反应混合物, 并将所得橙色油状物溶解于乙醚中, 向所述乙醚中添加 2mL 1M HCl/乙醚溶液。过滤所得白色固体, 并用乙醚洗涤, 得到 336mg 呈白色粉末的所需产物, 产率 84%。

实施例 16**(S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-(2-甲基苯基)吡啶-3-基)丙酸叔丁酯的另一种合成方法**

以下流程 18 描述了(S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-(2-甲基苯基)吡啶-3-基)丙酸叔丁酯的另一种合成方法。

流程 18**(S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-(2-甲基苯基)吡啶-3-基)丙酸叔丁酯**

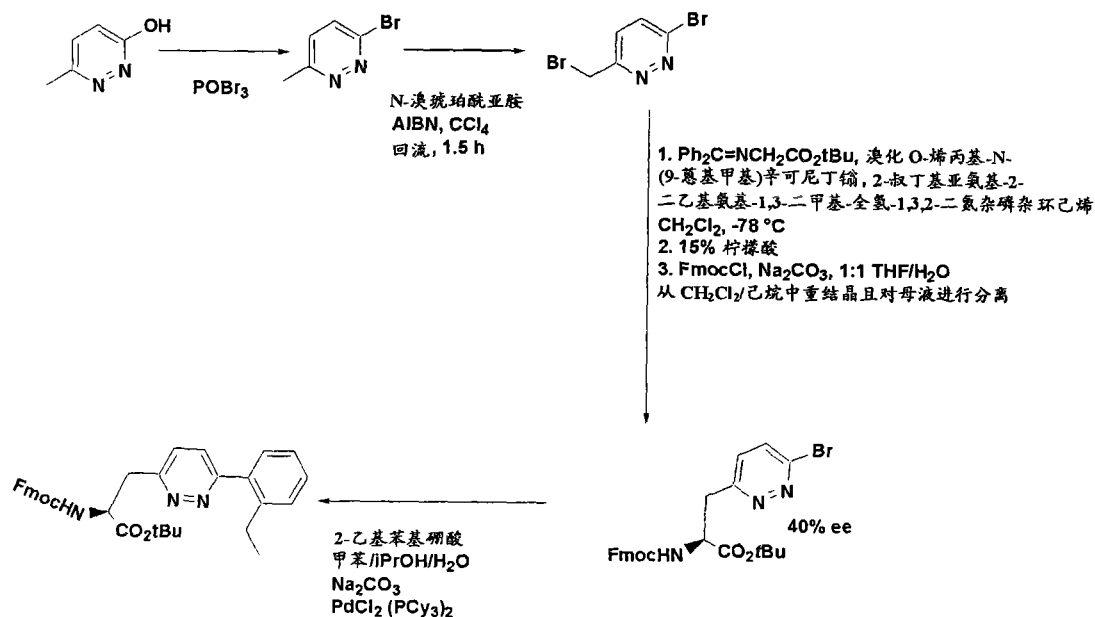
向经搅拌的 1.75g(3.35mmol)(S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-溴-吡啶-3-基)丙酸叔丁酯及 913mg(6.70mmol, 2 当量)2-甲基苯基硼酸于 50mL 1:1 异丙醇/甲苯中的浆液中添加 25.0mL 2M 碳酸钠水溶液。用氩气净化反应混合物 2 次并抽真空, 随后添加 124mg(0.167mmol, 0.05 当量)二(三环己基膦)二氯化钯(II)且再次用氩气净化混合物并抽真空。

使经快速搅拌的混合物在 80℃ 及氩气下加热。20h 后, 将反应混合物冷却至室温, 且部分浓缩, 除去异丙醇。使残余物在乙酸乙酯与水之间分配, 且再用乙酸乙酯萃取水相 1 次。合并有机萃取液, 用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩, 得到褐色油状物。通过硅胶色谱(使用乙酸乙酯/二氯甲烷(1:9)作为洗脱剂)(5×15cm 色谱柱)来纯化, 得到 1.81g 呈无色油状物的所需化合物, 产率 90%。

实施例 17**合成(2S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-(2-乙基苯基)哒嗪-3-基)丙酸叔丁酯[Fmoc-(S)-4-(2'-乙基苯基)-2,3-哒嗪基丙氨酸]**

以下流程 19 描述了(2S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-(2-乙基苯基)哒嗪-3-基)丙酸叔丁酯的合成。

流程 19



3-溴-6-甲基吡嗪

搅拌 2.20g 3-甲基哒嗪-6-醇(20.0mmol)及 13.06g 磷酰溴(45.6mmol, 2.3 当量)的混合物并将其加热至 130 摄氏度(油浴), 保持 50min。在冰浴中冷却固体反应混合物并添加约 20g 碎冰。在冰浴中冷却所得溶液, 并添加 50%KOH, 进行中和。收集所得固体, 用水洗涤且经空气干燥 15h。通过硅胶色谱(使用乙醚/二氯甲烷(3:17)作为洗脱剂)(5×15cm 色谱柱)来纯化, 得到 1.37g 呈淡黄色固体的标题化合物, 产率 39%。

3-溴-6-(溴甲基)吡啶

向 1.00g(5.78mmol)3-溴-6-甲基吡嗪及 1.03g(5.79mmol, 1.0 当量)经重结晶的 N-溴琥珀酰亚胺于 20mL 四氯化碳中的溶液中添加 95mg AIBN。用氩气将反应混合物净化 2 次并抽真空, 随后使其在氩气下回流。3h 后, 将反应混合物冷却至室温, 过滤并浓缩滤液, 得到黄色油状物。混合物直接通过硅胶色谱(使用己烷/二氯甲烷(1:9)作为洗脱剂)(5×12cm 色谱柱)来纯化, 得到 444mg 无色油状物, 产率 30%。

(S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-溴哒嗪-3-基)丙酸叔丁酯

经 5min 向在 -78°C 及氩气下经搅拌的 374mg(1.48mmol)3-溴-6-(溴甲基)吡嗪、439mg(1.48mmol, 1.0 当量)2-(二苯基亚甲基氨基)乙酸叔丁酯及 112mg(0.186mmol, 0.12 当量)溴化 O-烯丙基-N-(9-蒎基甲基)辛可尼丁鎓于 4mL 二氯甲烷中的混合物中添加 0.645mL(2.23mmol, 1.5 当量)2-叔丁基亚氨基-2-二乙基氨基-1,3-二甲基-全氢-1,3,2-二氮杂磷杂环己烯。在 -78°C 搅拌反应混合物 1h, 随后使其在原位温热至 -40°C 。16h 后, 混合物直接通过硅

胶色谱(使用乙酸乙酯/二氯甲烷(1:9)作为洗脱剂)(5×10cm 色谱柱)来纯化, 得到 540mg 黄色油状物, 产率 78%。

向在室温及氩气下经搅拌的上述产物于 10mL THF 中的溶液中添加 10mL 15%柠檬酸水溶液。16h 后, 用水(5mL)稀释反应混合物且用乙醚(10mL)洗涤两次。

接着, 用固体碳酸钠使水相达到 pH 为 9 且用二氯甲烷萃取两次。合并二氯甲烷萃取液, 用硫酸钠干燥并浓缩。将所得油状物溶解于 5mL THF 中且在室温用 5mL 10%碳酸钠溶液随后用 480mg(1.86mmol, 1.3 当量)9-苄基甲基氧基碳酸酐加以处理。6h 后, 用二氯甲烷萃取反应混合物两次, 用硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩并通过硅胶色谱(使用乙酸乙酯/二氯甲烷(1:5)作为洗脱剂)(5×15cm 色谱柱)加以纯化, 得到 507mg 无色油状物, 产率 65%。手性 HPLC 分析(4.6×250mm AD 色谱柱, 38:1:1 庚烷:甲醇:乙醇作为洗脱剂, 流速为 1mL/min)指示 40%对映异构体过量。

(2S)-2-(((9H-苄-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-(2-乙基苯基)吡嗪-3-基)丙酸叔丁酯

向经搅拌的 507mg(0.967mmol)(S)-2-(((9H-苄-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-溴吡嗪-3-基)丙酸叔丁酯及 290mg(1.93mmol, 2 当量)2-乙基苯基硼酸于 16mL 1:1 异丙醇/甲苯中的浆液中添加 8.0mL 2M 碳酸钠水溶液。用氩气净化反应混合物 2 次并抽真空, 随后添加 35.7mg(0.048mmol, 0.05 当量)二(三环己基膦)二氯化钨(II)且再次用氩气净化混合物并抽真空。在 90℃及氩气下加热经快速搅拌的混合物。

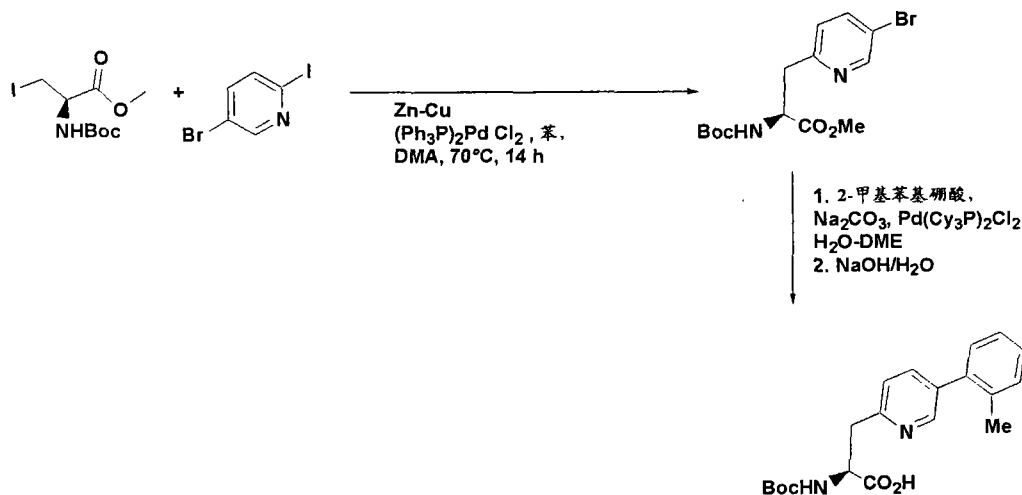
8h 后, 将反应混合物冷却至室温, 且部分浓缩, 除去异丙醇。使残余物在乙酸乙酯与水之间分配, 且再用乙酸乙酯萃取水相 1 次。合并有机萃取液, 浓缩并将残余物再溶解于 2mL THF 中。向此溶液中添加 300mg(1.17mmol)氯甲酸 9-苄基甲酯及 100μL 三乙胺。21h 后, 用乙酸乙酯稀释反应混合物且用盐水洗涤一次。用硫酸镁干燥有机相, 过滤并浓缩。通过硅胶色谱(使用乙酸乙酯/二氯甲烷(1:2)作为洗脱剂)(2.5×15cm 色谱柱)来纯化, 得到 428mg 呈无色油状物的所需化合物, 产率 81%。

实施例 18

合成(2S)-2-(叔丁氧羰基氨基)-3-(5-邻甲基苯基吡啶-2-基)丙酸 [Boc-(S)-4-(2'-甲基苯基)-2-吡啶基丙氨酸]

以下流程 20 描述了(2S)-2-(叔丁氧羰基氨基)-3-(5-邻甲苯基吡啶-2-基)丙酸的合成。

流程 20



(S)-2-(叔丁氧羰基氨基)-3-(5-溴吡啶-2-基)丙酸甲酯

将经氩气净化并抽真空的 210mg 锌-铜偶联物(zinc-copper couple)(根据 Organic Synthesis Collective Volume 5, page 855 来制备)及 580mg(1.76mmol)3-碘丙氨酸的浆液溶解于 7mL 苯中, 向所述苯中添加 0.5mL N,N-二甲基乙酰胺。在密封烧瓶中以超声波处理浆液 40min, 随后添加 500mg(1.76mmol, 1.0 当量)5-溴-2-碘吡啶及 82mg(0.11mmol, 0.06 当量)二(三苯基膦)二氯化钯。

用氩气将反应混合物再净化 2 次并抽真空, 随后使其在 70°C 及氩气下加热 15h。冷却反应混合物, 且使其在水与 EtOAc 之间分配。分离各层, 并再用 EtOAc 萃取水层 1 次。合并有机萃取液, 用硫酸镁干燥, 过滤, 浓缩并真空干燥, 得到呈黄色油状物的粗产物。通过硅胶色谱(使用 CH_2Cl_2 /己烷(3:1)作为洗脱剂)($2.5 \times 15\text{cm}$ 色谱柱)来纯化, 得到 288mg 呈黄色油状物的预期化合物, 产率 46%。

(2S)-2-(叔丁氧羰基氨基)-3-(5-邻甲苯基吡啶-2-基)-丙酸

向经搅拌的 285mg(0.79mmol)(S)-2-(叔丁氧羰基氨基)-3-(5-溴吡啶-2-基)丙酸甲酯及 162mg(1.19mmol, 1.5 当量)2-甲基苯基硼酸于 7mL 1,2-二甲氧基乙烷中的浆液中添加 168mg(1.59mmol, 2.0 当量)碳酸钠及 0.5mL 水。用氩气将反应混合物净化 2 次并抽真空, 随后添加 29mg(0.040mmol, 0.05 当量)二(三环己基膦)二氯化钯(II)且再次用氩气净化混合物并抽真空。在 80°C 及

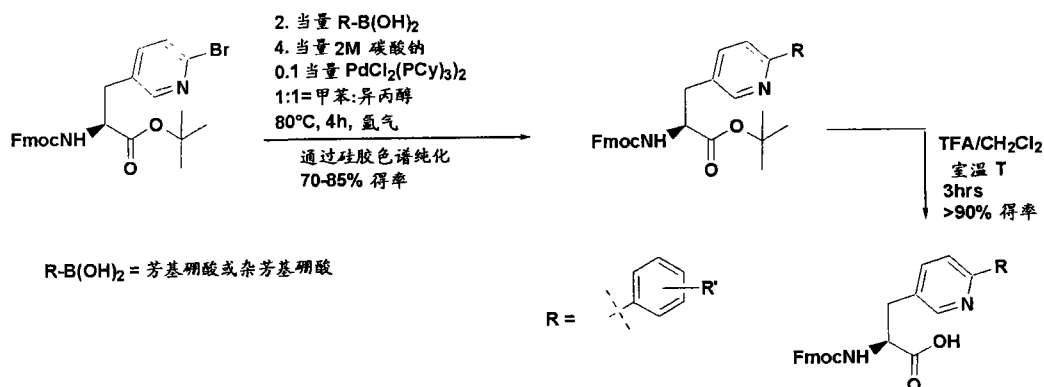
氩气下加热经快速搅拌的混合物。

14h 后, 将反应混合物冷却至室温, 且添加 4mL 1N 氢氧化钠溶液。将反应混合物加热至 70℃, 保持 1h。冷却至室温后, 用乙醚萃取混合物 1 次。用 10% 硫酸氢钠溶液将水相酸化至 pH 为 3, 接着用 DCM 萃取两次。合并 DCM 萃取液, 用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩, 得到黄色半固体。通过制备性反相 HPLC(YMC ODS S5 30×100mm 色谱柱, 10%至 90%AcCN/水梯度 (0.1%TFA), 10min), 浓缩后得到 46.5mg 呈白色无定形固体的所需产物, 产率 17%。

实施例 19

以下流程 21 描述了(2S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-苯基吡啶-3-基)丙酸酯类似物的通用合成方法。

流程 21



(2S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-[(3-氯-4-氟)苯基]吡啶-3-基)丙酸叔丁酯

向圆底烧瓶中添加 300mg Fmoc-L-(溴-3-吡啶基)丙氨酸(0.573mmol)、200mg 3-氯-4-氟苯基硼酸(1.145mmol, 2 当量)、1.145mL 2M 碳酸钠溶液(2.29mmol, 4 当量)、5mL 甲苯、5mL 异丙醇及 42mg PdCl₂(PCy)₃₂(0.0573mmol, 0.1 当量)。用氩气净化反应溶液, 随后使其达到 80℃, 保持 5h。将反应混合物冷却至室温, 且用 50mL EtOAc 加以稀释。用水(30mL)及盐水(20mL)洗涤溶液, 用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩。使粗油状物经历硅胶色谱(12g 硅胶, 0-40%EtOAc/己烷梯度), 得到 245mg 呈油状物的所需化合物(产率 75%)。

(2S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-[(3-氯-4-氟)苯基]吡啶-3-基)丙酸

向(2S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-[(3-氯-4-氟)苯基]吡啶-3-基)丙酸叔丁酯(240mg, 0.429mmol)及 3mL 二氯甲烷的溶液中添加 TFA(3mL)。在室温搅拌反应混合物 5h。蒸发溶剂至干且使残余物经历制备性 HPLC(甲醇-水梯度(0.1%TFA))。浓缩含有产物的馏分, 得到 200mg(产率 93%)呈 TFA 盐形式的所需化合物。

实施例 20

以含有处于第 10 位及第 11 位的非天然非市售氨基酸的二肽基树脂为起始合成肽的通用方法

使用以下程序于 Advanced Chemtech ACT 90 合成仪上以分批模式制备含有处于第 10 位及第 11 位的非天然非市售氨基酸的二肽基树脂, 随后利用自动同时合成方案于 MPS-396 肽合成仪上继续肽链延长。

通过用 DMF(2×10mL/g, 1min)洗涤来使量足以合成若干种肽类似物的 9-Fmoc-氨基咕吨-3-基氧基-Merrifield 树脂(Sieber 酰胺树脂; 载量为 0.5mmol/g; Novabiochem)溶胀。随后, 通过用 DMF 中的 20%哌啶(10mL/g)进行两次处理(各自分别 5min 及 15min)来除去 Fmoc 基团。用 DMF(2×10mL/g)及 NMP(4×10mL/g)洗涤树脂。将 Fmoc-(S)-4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-OH(HCl 盐)(1.2 当量)或其类似物、PyBOP(1.07 当量)、HOBt(1.07 当量)及 DIEA(3.6 当量)在 NMP 中的溶液添加至树脂中。随后, 振荡或涡旋树脂 18 小时。使用定性茚三酮测试来监测偶联完成。抽干树脂, 用 NMP(3×10mL/g)及 DCM(3×10mL/g)洗涤, 且用 DCM 中的 2.6%乙酸酐和 2.4%DIEA(v/v)历时 30min 对任何未经反应的胺进行封端。DMF 洗涤(3×10mL/g)后, 用 DCM 中的 10%乙酸酐和 2%DIEA(v/v)重复进行封端方案历时 30min。定量 Fmoc 确定测试指示 0.39mmol/g 取代(0.39 mmol/gram substitution)。

接着如上文所述, 以用 DMF 中的 20%哌啶除去 Fmoc 基团为起始, 且在若干次 DMF 洗涤后, 向脱保护的树脂中添加 Fmoc-L-(2'-乙基-4'-甲氧基)联苯基丙氨酸-OH(1.27 当量)或其类似物及 HOBt(1.29 当量)在 NMP(4mL)中的溶液, 对其进行涡旋 5min, 由此进行第二次手动偶联循环。接着, 将 DIC(1.27 当量)添加至树脂浆液中且振荡或涡旋树脂 15 小时。抽干树脂, 用 NMP(3×1.0mL/g)及 DCM(3×10mL/g)洗涤并随后用 DCM(10mL)中的 5.0%乙酸酐和 1.0%DIEA 进行封端 30min。最后用 DCM(3×10mL/g)洗涤树脂。此合成流程产生所需经 Fmoc 保护的二肽基-Sieber 酰胺树脂。

如前文所述除去 Fmoc 基团。将 Fmoc-L-Asp(OtBu)-OH(3 当量)及 HOBt(3 当量)在 NMP(2mL)中的溶液涡旋 5min, 随后添加 DIC(3 当量)。将所得溶液添加至树脂中。随后, 振荡或涡旋树脂 2 小时。抽干树脂, 且用 NMP(3×10mL/g)及 DCM(3×10mL/g)加以洗涤。使用定性茚三酮测试来监测偶联完成。

使上述树脂再经历 2 次如本申请所述的脱保护/偶联循环, 从而将 X_{aa7} 至 X_{aa11} 的所需序列组装到树脂上。依次使用的 Fmoc-氨基酸如下: Fmoc-L-Ser(tBu)-OH 及 Fmoc-L-Thr(tBu)-OH。使用以下方案来偶联 Fmoc-[(S)-2-氟-α-Me-Phe]-OH。将 Fmoc-[(S)-2-氟-α-Me-Phe]-OH(1.5 当量)、PyBOP(1.5 当量)、HOBt(1.5 当量)及 DIEA(3.0 当量)在 NMP(2mL)中的溶液添加至树脂中。随后, 振荡或涡旋树脂 2 小时。抽干树脂, 且用 NMP(3×10mL/g)及 DCM(3×10mL/g)加以洗涤。

为了偶联残基 X_{aa5}, 如前文所述除去 Fmoc 基团。短暂涡旋 Fmoc-The(tBu)-OH(5 当量)及 2-Cl-HOBt(5 当量)及 DIC(5 当量)在 NMP(4mL)中的溶液, 随后将其添加至树脂中。随后, 振荡或涡旋树脂 18 小时。抽干树脂, 且用 NMP(3×10mL/g)及 DCM(3×10mL/g)加以洗涤。用 DCM 中的 10.0% 乙酸酐(10mL/g)历时 30min 对树脂进行封端。DCM 洗涤(3×10mL/g)后, 如前文所述除去 Fmoc 基团, 且如关于 Fmoc-L-Asp(OtBu)-OH 所述那样, 对 Fmoc-Gly-OH 即残基 X_{aa4} 进行偶联/脱保护。使用所得 X_{aa4}-X_{aa11} 肽基-树脂来合成如下不同的肽类似物。

合成 SEQ ID NO:118 的化合物

使本申请所述的 X_{aa4}-X_{aa11} 肽基-树脂(0.067mmol)样品与经预先涡旋 5min 的 Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH(5 当量)即残基 X_{aa3} 及 0.5M HOAt(5 当量)在 DMF 中的溶液及 DIC(5 当量)一起涡旋 18 小时。抽干树脂, 用 DMF(4×3mL)洗涤。使结合树脂的肽(0.034mmol)脱保护, 且使其如前文关于残基 X_{aa3} 所述那样与 Fmoc-[(S)-α-Me-Pro]-OH(5 当量)偶联, 得到结合树脂的 Fmoc-[X_{aa2}-X_{aa11}]-肽。

使树脂(0.017mmol)脱保护且使其如关于残基 X_{aa2} 所述那样与 Boc-L-His(Trt)-OH(5 当量)偶联。通过用 TFA/水/三异丙基甲硅烷(94:3:3)(5.0mL)处理 3hr, 使所需肽从其各自的肽基-树脂裂解/脱保护。滤除树脂, 用 TFA(1.0mL)漂洗, 且蒸发合并的 TFA 滤液, 得到 39mg 呈油状固

体的粗肽产物。通过制备性 HPLC(使用的梯度为经 20min 从 0.1%TFA/水中的 5%(0.1%TFA/AcCN)变为 0.1%TFA/水中的 65%(0.1%TFA/AcCN))来纯化上述粗肽产物。汇集含有纯产物的馏分并将其冻干,得到 5.4mg(18.9%回收率)SEQ ID NO:118 的化合物。

合成 SEQ ID NO:119 的化合物

使上文合成方法中所述的 Fmoc-[X_{aa3}-X_{aa11}]-肽基-Sieber 树脂 (0.015mmol)样品与经预先涡漩 5min 的 Fmoc-[N-甲基-D-Ala]-OH(5 当量)及 0.5M HOAt(5 当量)在 DMF 中的溶液及 DIC(5 当量)一起涡漩 4 小时。抽干树脂且用 DMF(4×3mL)加以洗涤。通过用 DMF(3mL)中的 20%哌啶处理 5min 及 15min 来除去 Fmoc 基团。用 DMF(8×3mL)洗涤树脂,随后使其如前文合成中所述那样与 Boc-L-His(Trt)-OH(5 当量)偶联。通过用 TFA/水/三异丙基甲硅烷(94:3:3)(5.0mL)溶液处理 3hr,使所需肽从其各自的肽基-树脂裂解/脱保护。滤除树脂,用 TFA(1.0mL)漂洗,且蒸发合并的 TFA 滤液。将所得油状固体溶解于 AcCN/水(1:1)(2mL)中,且通过制备性 HPLC(所使用的梯度为经 20min 从 0.1%TFA/水中的 5%(0.1%TFA/MeCN)变为 0.1%TFA/水中的 65%(0.1%TFA/MeCN)加以纯化。汇集含有纯产物的馏分并将其冻干,得到 5.2mg(18.5%回收率)SEQ ID NO:119 的化合物。

合成 SEQ ID NO:133 的化合物

使先前合成中所述的经 Fmoc 脱保护的[X_{aa2}-X_{aa11}]-肽基-Sieber 树脂 (0.017mmol)样品与脱氨基-His(Trt)-OH(5 当量)及 HATU(5 当量)在含 0.5M HOAt 的 DMF(5 当量)中的溶液及 2M DIEA 于 NMP(5 当量)中的溶液一起涡漩 18 小时。抽干树脂,且用 DMF(6×2mL)及 DCM(3×2mL)加以洗涤。通过用 TFA/水/三异丙基甲硅烷(94:3:3)(5.0mL)溶液处理 3hr,使所需肽从其各自的肽基-树脂裂解/脱保护。滤除树脂,用 TFA(1.0mL)漂洗,且蒸发合并的 TFA 滤液。将所得油状固体(32mg)溶解于 AcCN/水(1:1)(2mL)中,且通过制备性 HPLC(所使用的梯度为经 20min 从 0.1%TFA/水中的 5%(0.1%TFA/MeCN)变为 0.1%TFA/水中的 65%(0.1%TFA/MeCN)加以纯化。汇集含有纯产物的馏分并将其冻干,得到 7.4mg(24.6%回收率)SEQ ID NO:133 的化合物。

合成 SEQ ID NO:120 的化合物

如实施例 3 中所述那样,使用 Applied Biosystems 433a 肽合成仪的

FastMoc™方案,使如前文所述那样制备的经 Fmoc 脱保护的 $[X_{aa10}-X_{aa11}]$ -二肽基-Sieber 树脂(0.05mmol)样品再经历 9 次偶联循环。

将经 Fmoc 保护的二肽基-树脂(0.05mmol)置于仪器上的适当尺寸的容器中,用 NMP 洗涤 6 次,并通过用 20%哌啶/NMP 进行两次处理(分别为 2min 及 8min)来脱保护。又进行一次经监测的脱保护步骤,直至监测选项的状态令人满意。总的脱保护时间为 10-12min。用 NMP 将经脱保护的二肽基-树脂洗涤 6 次,随后使其与下一个氨基酸发生偶联。通过下一步骤中所使用的实施例来说明所述程序。

接下来使用以下方法来偶联 Fmoc-L-Asp(OtBu)-OH: 将 Fmoc-L-Asp(OtBu)-OH(1mmol, 20 当量)溶解于 2mL NMP 中,并通过随后添加 DMF(2.2mL)中的 0.45M HBTU/HOBt 及 2M DIEA/NMP(1mL)来进行活化。接着,将经活化的经 Fmoc 保护的氨基酸的溶液转移至反应容器中,且使偶联进行 30-60min,这取决于来自脱保护步骤的反馈。接着,用 NMP 洗涤树脂 6 次且重复偶联方案。使其再经历 5 次如本申请所述的脱保护/偶联循环,从而完成所需 X_{aa4} 至 X_{aa11} 序列的组装。依次偶联的 Fmoc-氨基酸为 Fmoc-L-His(Trt)-OH、Fmoc-L-Thr(tBu)-OH、Fmoc-(S)-2-氟- α -Me-Phe-OH、Fmoc-L-Thr(tBu)-OH 及 Fmoc-Gly-OH。最后,用 NMP 及 DCM 洗涤肽基-树脂 6 次。将经 Fmoc 保护的二肽基-树脂(0.025mmol)以在 N,N-二甲基甲酰胺/二氯甲烷(55:45)中的浆液的形式添加至 ACT 396 多肽合成仪中。用 DMF 洗涤树脂 2 次且如实施例 1 中所述那样通过用 1.5M 哌啶/DMF 进行 2 次处理来使其脱保护。通过随后添加 DMF 中的 0.5M HOAt(4.0 当量)及 DIC(4.0 当量)来活化 Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH(4.0 当量),手动将其转移至反应容器中且使其偶联 2hr。在涡旋下用 NMP(4×0.5mL)漂洗树脂 1min。如关于前文偶联所述那样使 Fmoc 基团脱保护后,如下偶联 Fmoc-[(S)- α -Me-Pro]-OH: 通过随后添加经 NMP(0.12mL)稀释的 DMF 中的 0.5M HOAt(2.4 当量)及 DIC(2.4 当量)来使 Fmoc-[(S)- α -Me-Pro]-OH(2.4 当量)活化。将溶液手动转移至反应容器中且使其偶联 18hr。用 NMP 漂洗树脂。Fmoc 基团脱保护后,通过将 Fmoc-L-His(Trt)-OH(4 当量)在经 NMP(0.2mL)稀释的含 0.5M HOAt 的 DMF(4 当量)中的溶液及 DIC(4 当量)添加至反应容器中来偶联 Fmoc-L-His(Trt)-OH。使偶联反应进行 18hr。用 NMP 漂洗树脂。如关于前文偶联所述那样除去 Fmoc 基团。如实施例 1 中所述那样进行肽的 TFA 裂

解/脱保护。通过制备性 HPLC(所使用的梯度为经 20min 从 0.1%TFA/水中的 10%(0.1%TFA/MeCN)变为 0.1%TFA/水中的 60%(0.1%TFA/MeCN))来使其纯化。汇集含有纯产物的馏分并将其冻干, 得到 21.7mg(42%回收率)SEQ ID NO:120 的化合物。

实施例 21

合成 SEQ ID NO:151 的化合物

在 Advanced ChemTech Model 90 合成仪上在 50ml 反应器中以 2.67g(0.56mmol/g, 1.5mmol)Sieber 酰胺树脂为起始开始所述合成。用于逐步组装的通用脱保护/偶联重复循环如下:

1. DMF 洗涤 $1 \times 20\text{ml} \times 1\text{min}$;
2. DMF 中的 20%哌啶 $1 \times 20\text{ml} \times 5\text{min}$;
3. DMF 中的 20%哌啶 $1 \times 20\text{ml} \times 15\text{min}$;
4. DMF 洗涤 $3 \times 20\text{ml} \times 1\text{min}$;
5. NMP 洗涤 $4 \times 20\text{ml} \times 1\text{min}$;
6. 偶联步骤(参见下文);
7. DMF 洗涤 $4 \times 15\text{ml} \times 1\text{min}$;
8. Kaiser 茚三酮测试或裂解/脱保护伴有 HPLC 及质谱分析。

使用上述步骤 1 至 5, 将 Fmoc 基团自 Sieber 酰胺树脂除去。将 N- α -Fmoc-4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸(0.73g, 1.50mmol)、PyBOP(0.78g, 1.50mmol)及 HOBt(0.39g, 1.50mmol)溶解于 NMP(5ml)中, 随后将所述溶液添加至树脂中, 随后添加 DIEA(0.39g, 3.05mmol)。涡旋偶联混合物 16 小时。用 DCM 中的 10%乙酸酐($1 \times 50\text{mL} \times 60\text{min}$)处理树脂, 用 DCM($4 \times 50\text{mL} \times 1\text{min}$)洗涤且真空干燥过夜。Fmoc 确定测试表明取代程度为 0.456mmol/g。用 3.11g(1.42mmol)树脂继续合成。树脂脱保护后, 将 N- α -Fmoc-L-Bip(2'-Et-4'-OMe)-OH(0.98g, 1.9mmol)和 HCTU(0.78g, 1.9mmol)在 NMP(5ml)中的溶液添加至树脂中, 随后添加 DIEA(0.48g, 3.80mmol)且涡旋混合物 16hr。用 NMP 洗涤后, Kaiser 茚三酮测试呈阴性。树脂脱保护后, 使用 NMP(10ml)中的 HCTU(1.03g, 2.49mmol)及 DIEA(0.65g, 5.03mmol), 对 N- α -Fmoc-L-天冬氨酸 β -叔丁酯(0.6487g, 1.24mmol)进行偶联, 历时 48hr。树脂脱保护后, 使用 DMF(11.5mL, 6.3mmol)中的 0.546M HOAt 及 DIC(0.96mL, 6.3mmol), 对 N- α -Fmoc-N-im-三苯甲基-L-组氨酸(3.85g,

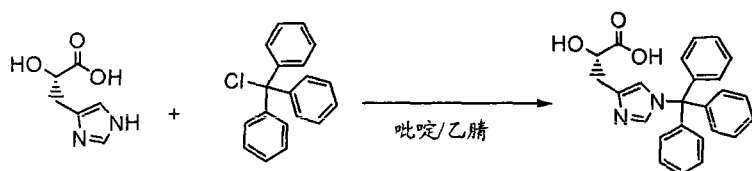
6.25mmol)进行偶联, 历时 16 小时。重复所述方案, 使 N- α -Fmoc-O-叔丁基-L-苏氨酸(2.5g, 6.30mmol)与树脂偶联。树脂脱保护后, 将含 0.546M HOAt 的 DMF(3.4mL, 1.87mmol)中的 N- α -Fmoc- α -甲基-2-氟-L-苯基丙氨酸(0.78g, 1.86mmol)添加至树脂中, 随后添加 DMF(3.5ml)中的 DIC(0.24g, 1.87mmol), 且使偶联进行 4 小时。树脂脱保护后, 使用 0.546M HOAt 于 DMF(25mL, 12.50mmol)中的溶液及 DIC(1.58mL, 12.52mmol), 对 N- α -Fmoc-O-叔丁基-L-苏氨酸(4.97g, 12.50mmol)进行偶联 16 小时。用 DMF(20mL)中的 10%乙酸酐历时 1 小时对树脂进行封端且用 DMF(4 $\times$ 20mL)加以洗涤。除去 Fmoc 基团, 且如关于先前 N- α -Fmoc-L-天冬氨酸 β -叔丁酯偶联步骤所述那样, 历时 90min 对 N-Fmoc-甘氨酸(1.11g, 3.75mmol)进行偶联, 随后以相同方式偶联 N- α -Fmoc-L-谷氨酸 γ -叔丁酯(1.60g, 3.75mmol)。使部分肽基-树脂(0.030mmol)脱保护, 且使用 DMF(0.110ml, 0.83mmol)中的 0.546M HOAt 及 DMF(0.1ml)中的 DIC(7.6mg, 0.06mmol)来偶联 N- α -Fmoc- α -甲基-L-脯氨酸(21.2mg, 0.06mmol)16 小时。最后, 将 NMP(0.9mL)中的 L- β -(N-1-三苯甲基)咪唑乳酸(39.8mg, 0.10mmol)及 HATU(38mg, 0.10mmol)添加至部分肽基-树脂(0.01mmol)中, 随后添加 DIEA(17.4mL, 0.10mmol)。涡漩 1 小时且用 NMP 洗涤后, 如上所述重复进行偶联且使其进行 48 小时。用 TFA/TIS/水(94:3:3)(2mL)处理结合树脂的肽, 随后以 TFA/TIS/水(94:3:3)漂洗两次(2 $\times$ 1mL)。真空浓缩合并的滤液, 得到 18.1mg(92%)粗肽。将其溶解于 2mL AcCN/水(1:1)中, 并将溶液加载于 Luna[C18(2), 5 μ m] Phenomenex 色谱柱(250 $\times$ 21.2mm I.D.)上。用溶剂 A 中 15%至 55%溶剂 B 的梯度以 15ml/min 的流速经 50min 洗脱色谱柱。溶剂 A 为水中的 0.1%TFA。溶剂 B 为 AcCN 中的 0.1%TFA。汇集含有纯产物的馏分并将其冻干, 得到 4.2mg SEQ ID NO:151 的化合物。

实施例 22

合成(S)-3-(N-1-三苯甲基-咪唑-4-基)-2-羟基丙酸(L- β -(N-1-三苯甲基)咪唑乳酸)

以下流程 22 描述了(S)-3-(N-1-三苯甲基-咪唑-4-基)-2-羟基丙酸的合成。

流程 22



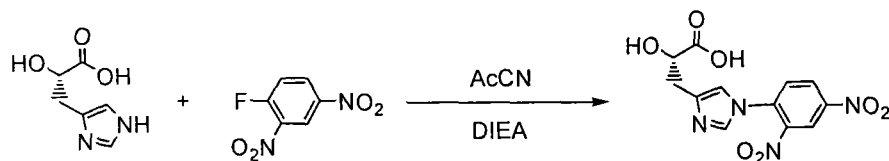
将(S)-3-(1H-咪唑-4-基)-2-羟基丙酸(0.5265g, 3.0mmol)及三苯甲基氯(1.2991g, 4.7mmol)装入100mL烧瓶中。在搅拌下添加吡啶/AcCN 1:1(20mL)。在油浴中在50℃至55℃加热烧瓶4小时。在旋转蒸发器上除去溶剂至接近干燥。向残余物中添加等体积的水及乙酸乙酯(各30mL)。搅拌混合物约20min。过滤收集所得固体,用水(2×10mL)随后用乙酸乙酯(2×10mL)洗涤,并在真空中进行干燥。产量: 0.6953g(58%)。

实施例 23

合成(S)-3-(N-1-(2,4-二硝基苯基)咪唑-4-基)-2-羟基丙酸(L-β-(N-1-(2,4-二硝基苯基)咪唑乳酸)

以下流程 23 描述了(S)-3-(N-1-(2,4-二硝基苯基)咪唑-4-基)-2-羟基丙酸的合成。

流程 23



将(S)-3-(1H-咪唑-4-基)-2-羟基丙酸一水合物(0.8971g, 5.2mmol)、AcCN(60mL)、DIEA(1.3438g, 10.4mmol)及1-氟-2,4-二硝基苯(0.9564g, 5.1mmol)装入圆底烧瓶中,用铝箔覆盖并搅拌过夜。过滤反应混合物并在减压下除去溶剂。油状残余物用二异丙基醚(2×20mL)研磨,随后将其溶解于氯仿(20mL)中并自氯仿及AcCN再蒸发。添加DCM(60mL),产生沉淀物,添加更多DCM(30mL)后在室温进行搅拌。收集固体产物,用DCM(2×10mL)洗涤并在真空中干燥过夜。产量: 1.37g(83%)。

实施例 24

合成 SEQ ID NO:158 的化合物

方法 A. 片段偶联(流程 10A 及 10B)

在8ml反应器中,以0.1896g(0.56mmol/g, 0.11mmol)Sieber酰胺树脂为起始,手动进行所述合成。使用以下循环将Fmoc基团自树脂除去:

1. DMF 洗涤 1×2ml×5min;

2. DMF 中的 20%哌啶 $1 \times 2\text{ml} \times 5\text{min}$;

3. DMF 中的 20%哌啶 $1 \times 2\text{ml} \times 15\text{min}$;

4. DMF 洗涤 $8 \times 2\text{ml} \times 1\text{min}$ 。

将 N- α -Fmoc-4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸 HCl 盐(0.0549g, 0.11mmol)及 PyBOP(0.0667g, 0.13mmol)溶解于 DMF(1ml)中。将此溶液添加至经脱保护的树脂中, 随后添加 DMF(1mL)中的 DIEA(0.0423g, 0.33mmol)。涡旋树脂 3.5 小时, 用 DMF 及 DCM($4 \times 2\text{mL} \times 1\text{min}$)洗涤。用 DCM(2mL)中的 10%乙酸酐将树脂处理过夜, 用 DCM($6 \times 2\text{mL} \times 1\text{min}$)洗涤且真空干燥 1 小时。产量: 0.2508g。Fmoc 确定测试表明取代程度为 0.35mmol/g。将 0.083g(0.029mmol)树脂用于下一步骤中。

使用上述循环 1 至 4 对树脂进行脱保护后, 将 N- α -Fmoc-L-Bip(2'-Et-4'-OH)-OH(0.0251g, 0.049mmol)、HOBt(0.0084g, 0.055mmol)及 DIC(0.0067g, 0.053mmol)在 DMF(1ml)中的溶液添加至树脂中。涡旋 16 小时后, 用 DMF 接着 DCM($4 \times 1\text{mL} \times 1\text{min}$)洗涤肽基-树脂。使用上述步骤 1 至 3 除去 Fmoc 基团, 随后以 DMF 接着 DCM($4 \times 1\text{mL} \times 1\text{min}$)加以洗涤。

用 TFA/三异丙基甲硅烷/水 96:2:2($2 \times 1\text{mL} \times 10\text{min}$)处理肽基-树脂。收集滤液并在真空中浓缩成残余物, 用二异丙基醚研磨所述残余物并离心, 得到固体产物。用二异丙基醚洗涤所述产物并在真空中干燥, 得到 0.0244g 二肽。将二肽溶解于 THF(1mL)中的 0.2%DIEA 中, 并用大孔三乙铵甲基聚苯乙烯碳酸酯树脂(macroporous triethylammonium methylpolystyrene carbonate resin)(0.0682g, 0.211mmol, Argonaut Technologies)处理 2 小时。除去树脂珠粒并用 THF 中的 0.2%DIEA($2 \times 1\text{mL}$)洗涤。真空干燥合并的滤液及洗涤液。向所得残余物中添加侧链经保护的 N-甲氧羰基 X_{aa1}-X_{aa9} 9 聚体肽(55.8mg, 0.035mmol)、HOBt(5.47mg, 0.036mmol)及 DIC(6 μ L, 0.035mmol)在 CHCl₃/DMF 9:1(1mL)中的溶液。涡旋所得溶液过夜。真空除去溶剂后, 所得残余物用 TFA(1mL)中的 2%三异丙基甲硅烷处理 90min, 此后添加二异丙基醚(20mL)。干燥沉淀的固体并将其溶解于 2mL 1.5%氢氧化铵中。用乙酸将 pH 值调至约 9.5。将此溶液加载于 Luna[C18(2), 5 μ m] Phenomenex 色谱柱(250 $\times$ 21.2mm I.D.)上。用梯度为 20%至 50%的溶剂 B 以 15ml/min 的流速经 60min 洗脱色谱柱。溶剂 A 为水中的 0.1%TFA。溶剂 B 为 AcCN 中的

0.1%TFA。汇集含有纯产物的馏分并将其冻干，得到 5.5mg SEQ ID NO:158 的化合物。

遵循流程 10B 中所述的方法以不同的片段偶联程序来合成 SEQ ID NO:158 的化合物。如此实施例中先前所述，在 8ml 反应器中以 0.1182g(0.47mmol/g, 0.056mmol)N- α -Fmoc-4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酰基-Sieber 酰胺树脂为起始，手动进行所述合成。用于将 Fmoc 基团自树脂除去的循环与上述循环相同。如上文所述，使 N- α -Fmoc-L-Bip(2'-Et-4'-OH)-OH(0.0419g, 0.083mmol)与树脂偶联。用 DCM(2mL)中的 10%乙酸酐处理树脂 30min，用 DCM 洗涤(6 $\times$ 2ml $\times$ 1min)及除去 Fmoc 基团，此后将侧链经保护的 N-甲氧羰基 X_{aa1}-X_{aa9} 9 聚体肽(0.1347g, 0.084mmol)、HOBt(0.0130g, 0.085mmol)及 DIC(0.0118g, 0.94mmol)在 DCM(0.1mL)及 DMF(0.45mL)中的溶液添加至经脱保护的二肽基-树脂中并涡漩混合物 4.5 小时。用 DMF 及 DCM(4 $\times$ 2mL $\times$ 1min)洗涤树脂，随后用 TFA 中的 2%三异丙基甲硅烷和 2%水处理(5 $\times$ 1mL $\times$ 3min)，收集滤液并使其静置 75min。在真空中除去溶剂并用二异丙基醚(20mL)研磨所得残余物，得到呈固体的粗肽(0.0818g)。如上文所述纯化此粗肽，但所使用的梯度为溶剂 A 中 25%至 35%的溶剂 B(历时 120min)，流速为 15ml/min。溶剂 A 为水中的 0.1%TFA。溶剂 B 为 AcCN 中的 0.1%TFA。汇集含有纯产物的馏分并将其冻干，得到 19mg SEQ ID NO:158 的化合物。

方法 B. 逐步延长(流程 1)

在 Advanced ChemTech Model 90 合成仪上 50ml 反应器中以 1.46g(0.72mmol/g, 1.05mmol)Sieber 酰胺树脂为起始进行所述合成。用于逐步组装的通用脱保护/偶联重复循环如下：

1. DMF 洗涤 1 $\times$ 15ml $\times$ 1min;
2. DMF 中的 20%哌啶 1 $\times$ 15ml $\times$ 5min;
3. DMF 中的 20%哌啶 1 $\times$ 15ml $\times$ 15min;
4. DMF 洗涤 4 $\times$ 15ml $\times$ 1min;
5. NMP 洗涤 4 $\times$ 15ml $\times$ 1min;
6. 偶联步骤(参见下文);
7. DMF 洗涤 4 $\times$ 15ml $\times$ 1min;
8. DCM 洗涤 4 $\times$ 15ml $\times$ 1min;

9. Kaiser 茚三酮测试或裂解/脱保护伴有 HPLC 及质谱分析。

使用上述步骤 1 至 5 将 Fmoc 基团自 Sieber 酰胺树脂除去。将 N- α -Fmoc-4-(2-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸 HCl 盐(1.0977g, 2.13mmol)、PyBOP(1.0972g, 2.11mmol)及 HOBt 一水合物(0.3228g, 2.11mmol)溶解于 DMF(8ml)中。将 DIEA(0.8052g, 6.23mmol)添加至溶液中, 随后将其添加至树脂中。涡旋偶联混合物 16 小时。用 DCM 中的 10%乙酸酐(1 $\times$ 15mL $\times$ 60min)处理树脂, 用 DCM(6 $\times$ 15mL $\times$ 1min)洗涤且真空干燥 6 小时。产量: 1.6816g。Fmoc 确定测试表明取代程度为 0.48mmol/g。用 0.8602g(0.41mmol)树脂继续合成。使树脂脱保护后, 将 N- α -Fmoc-L-Bip(2'-Et-4'-OH)-OH(0.2660g, 0.524mmol)、HOBt(0.0796g, 0.520mmol)及 DIC(0.0647g, 0.513mmol)在 DMF(8ml)中的溶液添加至树脂中且涡旋混合物 16hr。用 DMF 及 DCM 洗涤后, Kaiser 茚三酮测试呈阴性。树脂脱保护后, 使用 DMF/DCM(1:1)(6ml)中的 HOBt(0.1893g, 1.24mmol)及 DIC(0.1566g, 1.24mmol)来偶联 N- α -Fmoc-L-天冬氨酸 β -叔丁酯(0.6487g, 1.24mmol)45min。以 N- α -Fmoc-O-叔丁基-L-丝氨酸(0.4750g, 1.24mmol)及 N- α -Fmoc-O-叔丁基-L-苏氨酸(0.4924g, 1.24mmol)重复相同的偶联循环。树脂脱保护后, 使用 DMF/DCM(1:1)(6ml)中的 HOBt(0.1271g, 0.830mmol)及 DIC(0.1044g, 0.827mmol)来偶联 N- α -Fmoc- α -甲基-2-氟-L-苯基丙氨酸(0.3497g, 0.834mmol), 历时 1 小时。树脂脱保护后, 使用 0.5M HOAt 于 DMF(8.3mL, 4.15mmol)中的溶液及 DIC(0.5240mL, 4.15mmol)来偶联 N- α -Fmoc-O-叔丁基-L-苏氨酸(1.6413g, 4.14mmol), 历时 16 小时。DMF 及 DCM 洗涤后, 用 1ml TFA/TIS/水(96:2:2)处理 3mg 湿树脂, 历时 1.5 小时。滤除树脂, 且在旋转蒸发器中除去溶剂。将残余物溶解于 2ml 水/AcCN(1:1)中。HPLC 及 MS 分析表明无未偶联的肽。除去 Fmoc 基团, 且如先前关于 N- α -Fmoc-L-天冬氨酸 β -叔丁酯偶联步骤所述那样, 偶联 N-Fmoc-甘氨酸(0.3691g, 1.24mmol), 历时 1hr, 随后以相同方式偶联 N- α -Fmoc-L-谷氨酸 γ -叔丁酯(0.5297g, 1.24mmol)。随后, 使用 DMF/DCM(1:1)(6ml)中的 HOBt(0.1271g, 0.83mmol)及 DIC(0.1042g, 0.83mmol)来偶联 N- α -Fmoc- α -甲基-L-脯氨酸(0.2902g, 0.83mmol), 历时 3.5 小时。最后, 如关于偶联 N- α -Fmoc-O-叔丁基-L-苏氨酸与 N- α -Fmoc- α -甲基-2-氟-L-苯基丙氨酸所述那样, 使 N- α -Fmoc-N-im-三苯甲基-L-组氨酸(2.5564g, 4.13mmol)偶联 12 小时。如上文所述自肽基-树脂

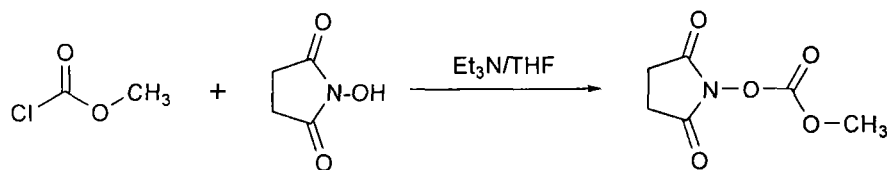
释放的经脱保护的肽样品经 MS 证实具有部分未偶联的肽。手动除去 Fmoc 基团，且用 DMF 及 DCM 洗涤，此后添加 N-(甲氧羰基氧基)琥珀酰亚胺 (0.2163g, 1.25mmol) 在 DCM(6mL) 中的溶液并涡旋混合物 16 小时。用 DCM(4×10ml×1min) 洗涤肽基-树脂。Kaiser 茚三酮测试呈阴性。用 TFA/TIS/水(96:2:2)(10mL) 处理 N-甲氧羰基衍生化的肽基-树脂 10min，随后又用每次 5mL 进行两次处理。使合并的滤液在室温再静置 2 小时。真空浓缩至约 4mL 后，在搅拌下将溶液逐滴添加至乙醚(50ml) 中。过滤收集所得固体，用乙醚(2×5ml) 洗涤且真空干燥，得到 0.691g(92%) 粗肽。此粗肽通过制备性 HPLC(使用本实施例方法 A 中所述的程序) 来纯化。

实施例 25

合成 N-(甲氧羰基氧基)琥珀酰亚胺[碳酸 2,5-二氧代吡咯烷-1-酯·甲酯]

以下流程 24 描述了 N-(甲氧羰基氧基)琥珀酰亚胺[碳酸 2,5-二氧代吡咯烷-1-酯·甲酯] 的合成。

流程 24



在 -5℃ 及氩气下以使温度保持在 +3℃ 以下的速率向经搅拌的 64.61g(0.561mol) N-羟基琥珀酰亚胺及 58.95g(0.624mol) 氯甲酸甲酯于 THF(900mL) 中的溶液中添加 82.6mL(0.593mol) 三乙胺。搅拌反应混合物，且使其温热至室温。15h 后，过滤所得浆液且用 THF(100mL) 洗涤固体。减压蒸发滤液，得到白色固体。由 EtOAc/己烷(2:1, 150mL) 重结晶，得到 79.4g 呈白色结晶的所需产物，产率 82%，熔点 84-86℃。

实施例 26

合成(R,S)-3-(1-(2,4-二硝基苯基)-咪唑-4-基)-2-甲基丙酸[α-甲基-β-[1-(2,4-二硝基苯基)-咪唑-4-基]丙酸, Imp(DNP)]

1-甲苯磺酰基-4(5)-羟基甲基咪唑

以下程序自 Agr. Biol. Chem., 38(5), 1097-1099, 1974 修改。向 Na₂CO₃(8.4g, 0.08 摩尔) 在水(40mL) 中的溶液中添加 4-(羟基甲基)咪唑盐酸盐(2.7g, 0.02 摩尔)。溶解完成后，经 5 分钟逐滴添加对甲苯磺酰氯(4.58g, 0.024 摩尔) 在乙酸乙酯(30mL) 中的溶液。搅拌反应混合物 5 小时。分离各层

并添加更多乙酸乙酯(20mL)。用 0.1M Na_2CO_3 (2×20mL)、水(1×20mL)及饱和 NaCl (1×20mL)洗涤有机相。用 2g MgSO_4 及 1g 活性炭处理乙酸乙酯层 10min。通过用硅藻土垫过滤来除去固体并在旋转蒸发器上除去溶剂。残余物开始结晶。添加新鲜乙酸乙酯(10mL)并用热风枪使溶液温热,使固体再溶解。使产物在室温结晶过夜。收集结晶物质,用乙酸乙酯(5mL)随后乙醚(10mL)洗涤,且真空干燥至恒重 3.59g。

1-甲苯磺酰基-4(5)-乙酰氧基甲基咪唑

将 1-甲苯磺酰基-4(5)-羟基甲基咪唑(2.52g, 10mmol)溶解于氯仿(10ml)中。在室温向其中逐滴添加三乙胺(2.02g, 20mmol),随后历经 15min 逐滴添加乙酸酐(1.33g, 13mmol)。在室温搅拌混合物 4 天,且以 LC/MS 监测。减压除去氯仿且将残余物溶解于乙酸乙酯(60mL)中。有机层依次用 0.1M 碳酸氢钠、水及饱和氯化钠(各为 1×40ml)洗涤。有机层同时用活性炭及硫酸镁处理,随后用硅藻土垫过滤。减压除去溶剂且将所得残余物溶解于温乙酸乙酯(10mL)中。向此溶液中缓慢添加 20ml 乙醚。在室温使溶液结晶过夜。收集结晶,用乙醚(2×10ml)洗涤且真空干燥过夜,得到 1.55g。

α -甲氧羰基- α -甲基- β -4-(1-甲苯磺酰基咪唑)-丙酸甲酯

以下程序自 Synthetic Communications, 19(7&8), 1157-1165, 1989 修改。将 1-甲苯磺酰基-4(5)-乙酰氧基甲基咪唑(0.3516g, 1.2mmol)及甲基丙二酸二甲酯(0.1485g, 1.0mmol)在 AcCN (2ml)中的溶液添加至经搅拌的粉末状 KOH (0.1694g, 3.0mmol)及溴化四丁基铵(0.0496g, 0.15mmol)在 AcCN (1ml)中的悬浮液中。通过 HPLC 分析确定反应在 40min 后完成。将反应混合物倾入乙醚(100ml)中,用硅藻土垫过滤且通过减压蒸发来除去溶剂。将残余油状物溶解于 30ml 乙酸乙酯中并用 0.1M NaHCO_3 (1×15ml)及饱和 NaCl (1×15ml)洗涤且以 MgSO_4 干燥。减压除去溶剂且将所得油状物置于干燥器中真空干燥 3 天,得到 0.207g。

α -甲基- β -4-咪唑丙酸

将 α -甲氧羰基- α -甲基- β -4-(1-甲苯磺酰基咪唑)-丙酸甲酯(0.186g, 0.5mmol)溶解于 2ml 甲醇中。向其中添加 1.5ml 1.0N NaOH 且搅拌反应混合物过夜。通过制备性 HPLC 进行纯化后,将冻干得到的产物(0.1366g)溶解于 5ml 1.0N NaOH 中并在用衬有 PTFE 的盖密封的 16×100mm 螺旋盖管中在 100℃加热 2 小时,随后添加 2ml 浓 HCl 且在 145℃加热 6 小时。形成所需

脱羧基的产物。过滤所有溶液并将其加载于 YMC G-340-10P ODS 50×20mm 制备性 HPLC 色谱柱上。用以下梯度即 0.1%TFA/水中 0%至 60%的 0.1%TFA/MeCN 经 60min 洗脱产物。汇集梯度中与 11min 至 13min 相应的馏分，冷冻并冻干，得到 32mg 产物。

α -甲基- β -[1-(2,4-二硝基苯基)-咪唑-4-基]丙酸

向 α -甲基- β -4-咪唑丙酸(0.0305g, 0.114mmol)及碳酸氢钠(0.0617g, 0.734mmol)在水(1mL)中的溶液(pH 为 8.04)中添加 2,4-二硝基氟苯(0.0323g, 0.174mmol)在 MeCN(1.0mL)中的溶液。涡漩反应混合物过夜。减压除去 MeCN，且将残余物再溶解于 2mL 水中，过滤并将其以两份试样(各自为 1.5mL 和 0.5mL)加载于 Phenomenex Luna C18(2)5 μ m 100×21.2mm 制备性 HPLC 色谱柱上。用以下梯度即 0.1%TFA/水中 0%至 80%的 0.1%TFA/MeCN 经 40min 洗脱产物。汇集梯度中与 12.5min 至 14.5min 相应的馏分并于 Savant SpeedVac™中干燥过夜。通过将水不溶性粗产物溶解于 DMSO 中来回收额外产物，随后如上文所述进行制备性 HPLC。冻干后合并馏分，得到 31mg 纯产物。

实施例 27

合成 SEQ ID NO:137 及 138 的化合物

如下文所述使(R,S)-3-(1-(2,4-二硝基苯基)-咪唑-4-基)-2-甲基丙酸与相关 X_{aa2}-X_{aa11}-肽基-Sieber 树脂偶联。

向(R,S)-3-(1-(2,4-二硝基苯基)-咪唑-4-基)-2-甲基丙酸(0.0267g, 0.083mmol)、6-Cl-HOBt(0.0151g, 0.089mmol)及 HCTU(0.0360g, 0.087mmol)在 1mL NMP/DCM(3:1)中的溶液中添加 DIEA(0.0315g, 0.244mmol)，短暂涡漩溶液，随后将其添加至如实施例 19 中所述那样制备的相关经 Fmoc 脱保护的 X_{aa2}-X_{aa11}-肽基-Sieber 树脂中。使偶联进行 16 小时。用 NMP 随后用 DCM(3×1.5mL×1min)洗涤肽基-树脂，随后用 DCM 中的 10%乙酸酐(1×2mL×90min)处理，随后用 DCM 接着用 DMF 洗涤(3×1.5mL×1min)。用 DMF(1.5mL)中的 10%噻吩处理肽基-树脂 1hr，且用 DMF 及 DCM(4×1.5mL×1min)洗涤。随后，用 TFA/DCM/TIS(3:1.9:0.1)(1mL)处理肽基-树脂 10min 并过滤。收集滤液且再轻柔涡漩 1 小时。在旋转蒸发器中将 TFA 混合物浓缩至约 0.5mL 并将其添加至 4mL MTBE 中。1hr 后，离心收集沉淀的产物，洗涤随后干燥，得到 0.0841g 粗产物。此粗产物通过如下的

制备性 HPLC 来纯化: 溶解粗肽且将其注入 Phenomenex Luna C18(2)(5 μ m, 250 $\times$ 30mm)色谱柱中, 并使用以下线性梯度即 0.1%TFA/水中 20%至 50%的 0.1%TFA/MeCN 以 15mL/min 的流速经 40min 加以洗脱, 且在 217nm 以 UV 检测洗脱液。汇集含有所需产物的馏分并冻干, 得到 26.7mg 纯度为 97.5% 的肽。

对所述肽进行制备性手性 HPLC 纯化

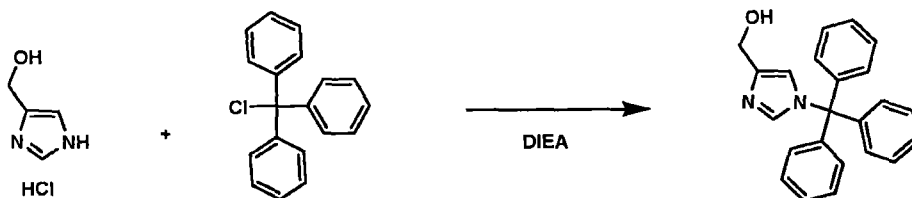
将非对映异构肽混合物(10mg)溶解于 MeCN/MeOH 中。将溶液加载到 Chirobiotic V 2.2 $\times$ 50cm, 5 μ m 色谱柱上并用 MeCN/MeOH/N(CH₂CH₃)₃/CH₃COOH 65/35/0.5/0.5 以 20mL/min 的流速进行洗脱。在 29min 与 35min 之间收集异构体 A。在 36min 与 44min 之间收集异构体 B。如上文所述进行第二轮纯化。合并含有异构体 A 的馏分, 将其浓缩至约 5mL, 用水/MeCN(4:1)稀释并使溶液冻干。以相同方式处理异构体 B。通过制备性 HPLC 将所得残余物转化成 TFA 盐。将各肽注入 Phenomenex Luna C18(2)5 μ m, 100 $\times$ 21.2mm 色谱柱中, 并使用以下线性梯度即 0.1%TFA/水中 20%至 50%的 0.1%TFA/MeCN 以 10mL/min 的流速经 40min 加以洗脱, 且在 217nm 以 UV 检测洗脱液。汇集含有所需产物的馏分, 冷冻并冻干, 得到 6.0mg 经纯化的肽异构体 A 及 4.9mg 经纯化的肽异构体 B。

实施例 28

合成(+)-及(-)-3-(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)-2-甲基丙酸[α -甲基- β -(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)丙酸, Imp(Trt)]

(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)甲醇

流程 25

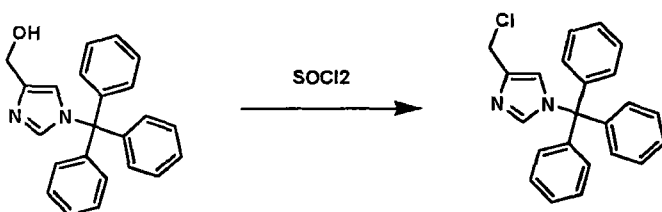


将 4-羟基甲基咪唑(4.53g, 34mmol)及三苯甲基氯(10.54g, 38mmol)溶解于 DMF(50mL)中。在搅拌下向其中添加 DIEA(13.46g, 104mmol)且搅拌反应混合物 14hr。将反应混合物倾入水(750mL)中并搅拌约 30min。收集所得固体, 用水(3 $\times$ 25mL)及二异丙基醚(3 $\times$ 25mL)洗涤, 且真空干燥, 得到 11.55g(99%)(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)甲醇。纯度(HPLC): 93%; 保留时间:

6.37min; 色谱柱: Phenomenex Luna C18(2)(5 μ m, 50 $\times$ 4.6mm); 梯度: 以 1.25mL/min 的流速历时 10min 从 A 中的 10%B 变为 A 中的 100%B。溶剂 A 为水中的 0.1%TFA; 溶剂 B 为 AcCN 中的 0.1%TFA。ES-MS: (M+H)⁺=341.1。

4-(氯甲基)-1-三苯甲基-1H-咪唑

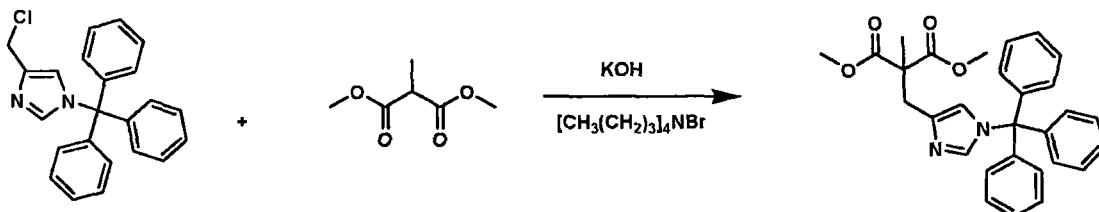
流程 26



经 6min 向经冰/水冷却的 4-羟基甲基-1-三苯甲基咪唑(6.13g, 18mmol) 在二氯甲烷(75mL)中的悬浮液中逐滴添加亚硫酸氯(5.0g, 42mmol)。移开冰/水浴且再搅拌反应混合物 30min。减压除去 DCM 及 SOCl₂。用二异丙基醚(200mL)研磨所得固体, 通过过滤进行收集并真空干燥, 得到 7.37g(>100%) 纯度为 83% 的 4-(氯甲基)-1-三苯甲基-1H-咪唑; 保留时间: 7.33min; 色谱柱: YMC ODS-A(3 μ m, 50 $\times$ 4.6mm); 梯度: 以 1.25mL/min 的流速历时 10min 从 A 中的 10%B 变为 A 中的 100%B。溶剂 A 为水中的 0.1%TFA; 溶剂 B 为 AcCN 中的 0.1%TFA。LC/MS: ESI(M+H)⁺=359.2。

2-甲基-2-((1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)甲基)丙二酸二甲酯

流程 27



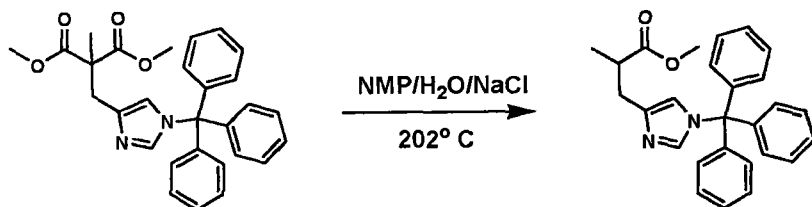
将 4-(氯甲基)-1-三苯甲基-1H-咪唑(2.73g, 7.6mmol)及 2-甲基丙二酸二甲酯(2.22g, 15.2mmol)溶解于 AcCN(30mL)中。经 6min 将此溶液添加至在 AcCN(2mL)中搅拌的新粉碎的 KOH(0.89g, 15.9mmol)及溴化四丁基铵(0.25g, 0.8mmol)中。搅拌 3 小时后, 添加更多经粉碎的 KOH(0.89g, 15.9mmol)并搅拌混合物过夜。

通过过滤除去固体并减压除去溶剂。将残余物溶解于 EtOAc(40mL)中并用水(2 $\times$ 20mL)随后用饱和 NaCl(1 $\times$ 20mL)洗涤。减压除去 EtOAc, 得到 3.46g 油状残余物。此残余物通过在硅胶 60(250g, 粒度为 0.040 至 0.063mm)

色谱柱(5.0×30cm)上进行的快速色谱(使用 $\text{CHCl}_3/\text{EtOAc}(9:1)$ 作为洗脱剂)来纯化。以 25mL 为单位收集馏分且在馏分 53 至 72 中发现纯产物。汇集这些馏分并减压除去溶剂。将所得残余物自 CHCl_3 (约 15mL)再蒸发两次,随后干燥,得到 1.72g 纯度为 98% 的 2-甲基-2-((1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)甲基)丙二酸二甲酯;保留时间: 13.02min; 色谱柱: YMC ODS-A($3\mu\text{m}$, $50\times 4.6\text{mm}$); 梯度: 以 1.25mL/min 的流速历时 20min 从 A 中的 10%B 变为 A 中的 100%B。溶剂 A 为水中的 0.1%TFA; 溶剂 B 为 AcCN 中的 0.1%TFA。LC/MS: $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=469.3$ 。 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 400\text{MHz})$: δ 1.42(s, 3H), 3.15(s, 2H), 3.63(s, 6H), 6.48(s, 1H), 7.05-7.15(m, 6H), 7.26(s, 1H) 7.28-7.37(m, 9H)。

2-甲基-3-(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)丙酸甲酯

流程 28



向含 2-甲基-2-((1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)甲基)丙二酸二甲酯(0.7344g, 1.57mmol)的 NMP(5mL)中添加 NaCl(0.212g)及水(0.3mL)且将混合物加热至回流(202°C), 保持 4.5hr。在分液漏斗中使反应混合物在水(20mL)与 EtOAc (20mL)之间分配。用 EtOAc ($2\times 20\text{mL}$)萃取水相并用水($2\times 20\text{mL}$)及饱和 NaCl($1\times 20\text{mL}$)洗涤合并的有机层并用 MgSO_4 干燥。减压除去 EtOAc , 得到 0.8g 油状残余物。此残余物通过以下方法来纯化: 使用 CHCl_3 ($5\times 20\text{mL}$)随后使用 CHCl_3 中的 20% EtOAc ($8\times 20\text{mL}$)经由硅胶垫(13.5g 硅胶 60, 粒度为 0.040 至 0.063mm)进行洗脱。干燥含有产物的馏分, 得到 0.45g 纯度为 79% 的 2-甲基-3-(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)丙酸甲酯; 保留时间: 7.35min; 色谱柱: YMC ODS-A($3\mu\text{m}$, $50\times 4.6\text{mm}$); 梯度: 以 1.25mL/min 的流速历时 10min 从 A 中的 10%B 变为 A 中的 100%B。溶剂 A 为水中的 0.1%TFA; 溶剂 B 为 AcCN 中的 0.1%TFA。LC/MS: $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=411.3$ 。

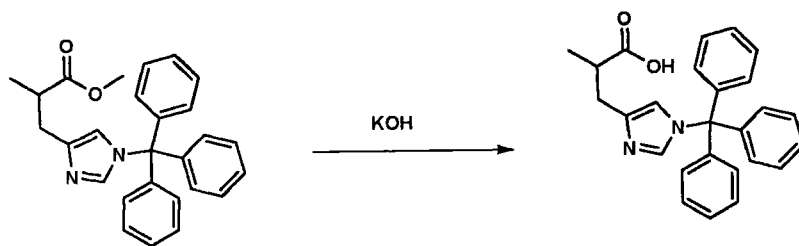
对 2-甲基-3-(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)丙酸甲酯的对映异构体进行手性分离

以每次 1-2.5mL 将外消旋的 2-甲基-3-(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)丙酸甲酯(0.45g)在异丙醇(2mL)及正庚烷(16mL)中的溶液加载到 Chiralcel OD 色

谱柱(20mm I.D.×500mm, Chiral Technologies Inc.)上并用庚烷中的 3%异丙醇以 10mL/min 的流速洗脱。在 58 至 70min 的馏分中收集较快洗脱的对映异构体; 在 75 至 100min 的馏分中收集较晚洗脱的对映异构体。通过减压除去溶剂并真空干燥, 得到每种对映异构体。这种方法得到 0.205g 较快洗脱的对映异构体即纯度为 98%的产物; 保留时间: 9.28min; 色谱柱: Phenomenex Luna C18(2)(5 μ m, 50×4.6mm); 梯度: 以 1.25mL/min 的流速历时 15min 从 A 中的 10%B 变为 A 中的 100%B。溶剂 A 为水中的 0.1%TFA; 溶剂 B 为 AcCN 中的 0.1%TFA。LC/MS: ESI(M+H)⁺=411.3; 旋光性: $[\alpha]_D^{25}=+12.9^\circ$ (c=1.05, 在 CHCl₃ 中)。较晚洗脱的对映异构体的产量为 0.203g(纯度为 98%); RT 为 9.27min。使用与关于较快洗脱的异构体所述相同的色谱柱及梯度。LC/MS: ESI(M+H)⁺=411.3; 旋光性: $[\alpha]_D^{25}=-13.5^\circ$ (c=1.16, 在 CHCl₃ 中)。

(+)-及(-)-2-甲基-3-(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)丙酸

流程 29



通过在 THF(2mL)及 1N LiOH(0.45mL)中搅拌 2 小时, 使 2-甲基-3-(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)丙酸甲酯的较快洗脱的对映异构体(0.186g, 0.453mmol)发生皂化。HPLC 分析表明 50%转化成产物。接近完全转化(97.5%)需要再添加两次 1N LiOH(各 0.1mL)及搅拌总共 36hr。减压浓缩并添加水(20mL)后, 用 DCM(3×20mL)萃取水相并用水及饱和氯化钠(各 1×20mL)洗涤合并的 DCM 萃取液, 且以 MgSO₄ 干燥。除去 DCM 且真空干燥所得固体, 得到 0.1728g 纯度为 97%的(+)-2-甲基-3-(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)丙酸; 保留时间: 9.36min; 色谱柱: YMC ODS-A(3 μ m, 50×4.6mm); 梯度: 以 1.25mL/min 的流速历时 15min 从 A 中的 10%B 变为 A 中的 100%B。溶剂 A 为水中的 0.1%TFA; 溶剂 B 为 AcCN 中的 0.1%TFA。LC/MS: ESI(M+H)⁺=397.30, (M-H)⁻=395.30。旋光性: $[\alpha]_D^{25}=+12.8^\circ$ (c=1.03, 在 CHCl₃ 中)。¹H-NMR(CD₃OD, 500MHz): δ 1.13(d, 3H), 2.57-2.65(m, 1H), 2.67-2.80(m, 1H), 2.82-2.92(m, 1H), 6.75(s, 1H), 7.10-7.17(m, 6H), 7.34-7.41(m, 9H), 7.58(s, 1H)。

如上文关于较快洗脱的对映异构体所述那样,使 2-甲基-3-(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)丙酸甲酯的较晚洗脱的对映异构体(0.181g, 0.442mmol)发生皂化,得到 0.163g 纯度为 97%的(-)-2-甲基-3-(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)丙酸;保留时间: 9.32min;色谱柱及梯度与关于(+)-异构体所述相同。LC/MS: ESI(M+H)⁺=397.24, (M-H)⁻=395.26。旋光性: $[\alpha]_D = -12.2^\circ$ (c=1.03, 在 CHCl₃ 中)。¹H-NMR(CD₃OD, 500MHz): δ 1.12(d, 3H), 2.56-2.64(m, 1H), 2.68-2.78(m, 1H), 2.82-2.90(m, 1H), 6.69(s, 1H), 7.10-7.16(m, 6H), 7.34-7.39(m, 9H), 7.45(s, 1H)。

实施例 29

合成 SEQ ID NO:167、168、169 及 170 的化合物

以 Sieber 酰胺树脂(9.56g, 0.72mmol/g, 6.88mmol)为起始,在 Advanced ChemTech Model 90 合成仪上组装 SEQ ID NO:167、168、169 及 170 的经保护的 X_{aa2}-X_{aa11} 肽序列,使用以下洗涤及脱保护方案:

1. DMF 洗涤 1×85ml×1min;
2. DMF 中的 20%哌啶 1×85ml×5min;
3. DMF 中的 20%哌啶 1×85ml×15min;
4. DMF 洗涤 3×85ml×1min;
5. NMP 洗涤 3×85ml×1min。

将(S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-(6-邻甲基吡啶-3-基)丙酸 HCl 盐(6.70g, 13.0mmol)、PyBOP(7.29g, 14.0mmol)及 HOBt 一水合物(2.14g, 14.0mmol)在 NMP(70ml)中的溶液添加至经脱保护的树脂中,随后添加 DIEA(7.28g, 56.3mmol)并涡旋混合物,直至对树脂样品进行的 Kaiser 茚三酮测试呈阴性(4.5hr)。树脂用 DMF(3×85mL×1min)随后用 DCM(7×85mL×1min)洗涤,且在真空中干燥,得到 11.344g。Fmoc 测定表明取代程度为 0.53mmol/g。通过上述步骤 1 至 4 使树脂脱保护及用 DMF 洗涤 6 次后,将(S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-3-((2'-乙基-4'-羟基)联苯-4-基)丙酸 [Fmoc-(S)-(2'-乙基-4'-羟基)-Bip-OH](3.79g, 7.47mmol)及 HOBt 一水合物(1.14g, 7.44mmol)在 DMF(50ml)中的溶液及 DIC(0.94g, 7.45mmol)添加至树脂中且涡旋混合物 20hr。树脂样品在 Kaiser 茚三酮测试中略呈阳性后,用 DMF 及 DCM(均为 4×85mL×1min)洗涤肽基-树脂,随后用 DCM 中的 10% 乙酸酐(1×100mL×30min)加以处理。用 DCM(4×85mL×1min)洗涤肽基-树脂

并取出约 1mmol 且在真空中干燥。

将二肽基-树脂(2.50g, 1.0mmol)加载到 ChemTech Model 90 合成仪的 50mL 反应器中。使用以下循环来除去 Fmoc 基团:

1. DMF 洗涤 $1 \times 25\text{ml} \times 1\text{min}$;
2. DMF 中的 20%哌啶 $1 \times 25\text{ml} \times 5\text{min}$;
3. DMF 中的 20%哌啶 $1 \times 25\text{ml} \times 15\text{min}$;
4. DMF 洗涤 $8 \times 25\text{ml} \times 1\text{min}$ 。

将 N- α -Fmoc-L-天冬氨酸 β -叔丁酯(1.2345g, 3.00mmol)及 HOBt 一水合物(0.4599g, 3.00mmol)在 DMF(5ml)中的溶液及 DIC(0.3829g, 3.03mmol)添加至经脱保护的肽基-树脂中且涡旋混合物 2 小时, 得到呈阴性的 Kaiser 茚三酮测试结果。用 DMF 随后用 DCM(均为 $4 \times 25\text{mL} \times 1\text{min}$)洗涤肽基-树脂并将其等分到 Model 90 合成仪的 2 个反应器中。随后如下文所述继续进行合成。使用以下循环来除去 Fmoc 基团:

1. DMF 洗涤 $1 \times 12\text{ml} \times 1\text{min}$;
2. DMF 中的 20%哌啶 $1 \times 12\text{ml} \times 5\text{min}$;
3. DMF 中的 20%哌啶 $1 \times 12\text{ml} \times 15\text{min}$;
4. DMF 洗涤 $8 \times 12\text{ml} \times 1\text{min}$ 。

将 N- α -Fmoc-N-im-三苯甲基-L-组氨酸或 N- α -Fmoc-O-叔丁基-L-丝氨酸(0.9282g, 1.50mmol)及 HOBt 一水合物(0.2296g, 1.50mmol)在 DMF/DCM(1:1)(10ml)中的溶液及 DIC(0.1995g, 1.58mmol)添加至经脱保护的树脂中。90min 后, 用 DMF 及 DCM(均为 $4 \times 12\text{mL} \times 1\text{min}$)洗涤肽基-树脂, 并得到呈阴性的 Kaiser 茚三酮测试结果。如所述那样除去 Fmoc 基团后, 如先前步骤中所述那样对 N- α -Fmoc-O-叔丁基-L-苏氨酸(0.6006g, 1.51mmol)进行偶联, 随后除去 Fmoc 基团。通过将 N- α -Fmoc- α -甲基-2-氟-L-苯基丙氨酸(0.4167g, 0.993mmol)及 HOBt 一水合物(0.1529g, 0.998mmol)在 DMF/DCM(1:1)(10ml) 中的溶液及 DIC(0.1260g, 0.998mmol)与经脱保护的肽基-树脂混合 4 小时来偶联 N- α -Fmoc- α -甲基-2-氟-L-苯基丙氨酸。用 DMF 及 DCM(均为 $4 \times 12\text{mL} \times 1\text{min}$)洗涤后, 肽基-树脂的样品给出呈阴性的 Kaiser 茚三酮测试结果。进行上述步骤 1 至 4 来除去 Fmoc 基团。

除去 Fmoc 基团后, 通过将 N- α -Fmoc-O-叔丁基-L-苏氨酸(1.9880g, 5.00mmol)在含 0.5M HOAt 的 DMF(10.0mL, 5.00mmol) 中的溶液及

DIC(0.6360g, 5.04mmol)与经脱保护的肽基-树脂混合 16 小时来偶联 N- α -Fmoc-O-叔丁基-L-苏氨酸。用 DMF 及 DCM(均为 4 $\times$ 12mL $\times$ 1min)洗涤后, 使用 1ml TFA/三异丙基甲硅烷/水(96:2:2)来裂解湿的肽基-树脂样品 1.5 小时, 且 HPLC 及 MS 分析表明仅存在极少量未偶联的肽。用 DCM 中的 10% 乙酸酐(1 $\times$ 12mL $\times$ 1hr)处理肽基-树脂, 随后用 DCM(6 $\times$ 12mL $\times$ 1min)洗涤。除去 Fmoc 基团后, 以在 DMF/DCM(1:1)(20ml)中的带有 HOBt 一水合物(0.4604g, 3.01mmol)及 DIC(0.3885g, 3.08mmol)的溶液的形式, 依次对 N-Fmoc-甘氨酸(0.8941g, 3.01mmol)及 N- α -Fmoc-L-谷氨酸 β -叔丁酯(1.2765g, 3.00mmol)进行偶联 2hr。每个偶联步骤后均得到呈阴性的 Kaiser 茚三酮测试结果。将由此得到的两种肽基-树脂各自转移至配有玻璃加料器(frit)的不同 35mL 注射器中并在真空中干燥。接着用 0.28mmol 各肽基-树脂继续合成。除去 Fmoc 基团后, 将 N- α -Fmoc- α -甲基-L-脯氨酸(0.3943g, 1.12mmol)在含 0.5M HOAt 的 DMF(2.24mL, 1.12mmol) 中的溶液及经额外 8mL DMF 稀释的 DIC(0.1413g, 1.12mmol)分成相等体积的两份, 将它们添加至各自经脱保护的肽基-树脂中。涡旋 12hr 且用 DMF 及 DCM(均为 3 $\times$ 8mL $\times$ 1min)洗涤后, 将肽基-树脂的 0.02mmol 等分试样置于 Advanced ChemTech Ω 396 合成仪的 3-4 个反应孔中。如下除去 Fmoc 基团:

1. DMF 中的 20%哌啶 1 $\times$ 1ml $\times$ 5min;
2. DMF 中的 20%哌啶 1 $\times$ 1ml $\times$ 15min;
3. NMP 洗涤 8 $\times$ 1ml $\times$ 1min。

将分成等体积 2 份的(+)-2-甲基-3-(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)丙酸(79.9mg, 0.202mmol)、TFFH(0.0538g, 0.204mmol)及 DIEA(0.0532g, 0.412mmol)在 DMF(2mL)中的溶液添加至相关经脱保护的肽基-树脂中, 混合 12hr 后, 用 NMP(2 $\times$ 1mL $\times$ 1min)随后用 DCM(3 $\times$ 1mL $\times$ 1min)加以洗涤。使用 TFA/TIS/水(96:2:2)来裂解少量树脂样品, 随后对产物进行的 HPLC 及 MS 分析表明几乎完全偶联。用 DCM 中的 10%乙酸酐(1 $\times$ 1mL $\times$ 1hr)处理肽基-树脂, 随后用 DCM(6 $\times$ 1.5mL $\times$ 1min)洗涤。

用 TFA/TIS/水 96:2:2(3 $\times$ 1mL $\times$ 30min)处理肽基-树脂且收集滤液并在旋转蒸发器中浓缩至接近干燥。通过添加二异丙基醚(5mL)来使粗肽沉淀, 用二异丙基醚洗涤并干燥。粗肽通过如本申请所述的制备性 HPLC(使用 YMC ODS-A(10 μ m, 250 $\times$ 20mm)色谱柱)来纯化。所使用的梯度为历时 60min 从 A

中的 25%B 变为 A 中的 55%B。溶剂 A 为水中的 0.1%TFA; 溶剂 B 为 AcCN 中的 0.1%TFA; 流速为 15mL/min。汇集含有纯产物的馏分并冻干。得到纯度为 95%的产物即 SEQ ID NO:169(或 170)的化合物; 保留时间: 22.0min; (色谱柱: YMC ODS-AQ 3 μ m(4.6 $\times$ 150mm); 梯度: 以 1mL/min 的流速历时 60min 从 A 中的 15%B 变为 A 中的 45%B)。ES-MS 分析: $(M+H)^+=1590.0$, $(M+2H)^+/2=795.9$ 。

得到纯度为 96%的产物即 SEQ ID NO:167(或 168)的化合物(72mg, 9% 回收率); 保留时间: 22.7min(色谱柱: YMC ODS-AQ 3 μ m(4.6 $\times$ 150mm); 梯度: 以 1mL/min 的流速历时 60min 从 A 中的 15%B 变为 A 中的 45%B)。ES-MS 分析: $(M+H)^+=1539.8$, $(M+2H)^+/2=770.9$ 。

实施例 30

合成 SEQ ID NO:157 的化合物

将 Fmoc-His(Trt)-OH(0.1278g, 0.206mmol)、TFFH(0.0542g, 0.205mmol) 及 DIEA(0.0533g, 0.412mmol)在 DMF(1mL)中的溶液添加至如实施例 29 中所述那样制备的相关经脱保护的肽基-树脂中。使用 Fmoc-His(Trt)-OH(0.1257g, 0.20mmol)及 DIC(0.0262g, 0.21mmol)在含 0.5M HOAt 的 DMF(0.40mL) 中的溶液及 DMF(0.40mL)来重复进行偶联。如下使肽基-树脂脱保护:

1. DMF 中的 20%哌啶 1 $\times$ 1ml $\times$ 5min;
2. DMF 中的 20%哌啶 1 $\times$ 1ml $\times$ 15min;
3. DMF 洗涤 8 $\times$ 1ml $\times$ 1min;
4. DCM 洗涤 3 $\times$ 1ml $\times$ 1min。

将碳酸 2,5-二氧化吡咯烷-1-酯·甲酯(0.0241g, 0.14mmol)溶解于 DCM(0.5mL)中, 将其添加至经脱保护的树脂中并涡漩混合物 14hr。用 DCM(4 $\times$ 1ml $\times$ 1min)洗涤后, 树脂样品给出呈阴性的 Kaiser 茚三酮测试结果。如实施例 29 中所述那样, 使粗产物自树脂裂解并沉淀, 得到 40mg 产物。通过如实施例 29 中所述的制备性 HPLC 来纯化此产物, 但所使用的梯度为历时 60min 从 A 中的 20%B 变为 A 中的 55%B。汇集含有纯产物的馏分并将其冻干, 得到 12.0mg(30%回收率)纯度为 97%的产物; 保留时间: 33.3min(色谱柱: YMC ODS-AQ 3 μ m(4.6 $\times$ 150mm); 梯度: 以 1mL/min 的流速历时 60min 从 A 中的 15%B 变为 A 中的 55%B)。ES-MS 分析:

$(M+H)^+=1648.8$, $(M+2H)^+/2=824.9$ 。

实施例 31

合成 SEQ ID NO:175 及 176 的化合物

将 2-甲氧基-3-(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)丙酸(0.0417g, 0.101mmol)、HATU(0.0390g, 0.103mmol)及 DIEA(0.0284g, 0.220mmol)在含 0.5M HOAt 的 DMF(0.202mL, 0.101mmol) 中的溶液及 DMF(0.2mL)添加至如实施例 29 中所述那样制备的经 Fmoc 脱保护的 X_{aa2} - X_{aa11} 肽基-树脂(0.010mmol)中, 其中 X_{aa8} =His。涡旋 14hr 后, 用 DMF 及 DCM(均为 $3\times 1\text{mL}\times 1\text{min}$)洗涤肽基-树脂, 随后用 DCM 中的 10%乙酸酐($1\times 1\text{mL}\times 30\text{min}$)处理, 随后用 DCM($6\times 1\text{mL}\times 1\text{min}$)洗涤。如实施例 29 中所述, 使用 TFA/TIS/水(96:2:2)将肽产物自树脂释放并使其脱保护。

通过如本申请所述的制备性 HPLC(使用以下梯度即历时 60min 从 A 中 30%的 B 变为 A 中 40%的 B)来纯化粗肽。溶剂 A 为水/AcCN(95:5)中的 10mM 磷酸钠(pH 为 7); 溶剂 B 为水/AcCN(20:80)中的 1mM 磷酸钠(pH 为 7); 色谱柱: Phenomenex Luna C18(2), (5 μm , 250 $\times$ 21.2mm); 流速: 15mL/min。汇集含有早期洗脱的非对映异构体(异构体 A)的馏分, 并将其浓缩至约 5mL。此溶液通过以下方法来脱盐: 在 Phenomenex Luna C18(2)色谱柱(5 μm , 100 $\times$ 21.2mm)中进行洗脱(使用以下梯度即历时 20min 从 A 中的 0%B 变为 A 中的 100%B)。溶剂 A 为水中的 0.1%TFA; 溶剂 B 为 AcCN 中的 0.1%TFA; 流速为 15mL/min。汇集含有产物的馏分并将其冻干, 得到 1.2mg 纯度为 93% 的 SEQ ID NO:175(或 176)的化合物; 保留时间: 40.4min; 色谱柱: YMC ODS-AQ 3 μm (4.6 $\times$ 150mm); 梯度: 以 1mL/min 的流速历时 60min 从 A 中的 15%B 变为 A 中的 45%B。ES-MS 分析: $(M+H)^+=1605.6$, $(M+2H)^+/2=803.5$ 。

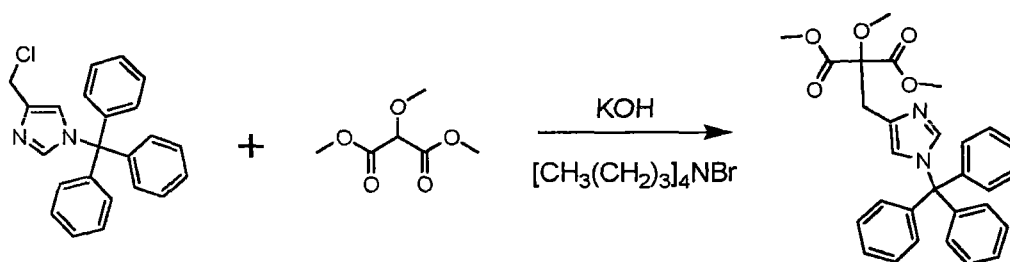
如上文所述, 通过第一个制备性 HPLC 步骤, 从含有较晚洗脱的非对映异构体的馏分得到 SEQ ID No:176(或 175)的化合物。产量: 3.0mg 纯度为 96%的产物; 在与上述相同的分析性 HPLC 条件下, 保留时间为 40.7min。ES-MS 分析: $(M+H)^+=1605.7$, $(M+2H)^+/2=803.7$ 。

实施例 32

合成 2-甲氧基-3-(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)丙酸

2-甲氧基-2-((1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)甲基)丙二酸二甲酯

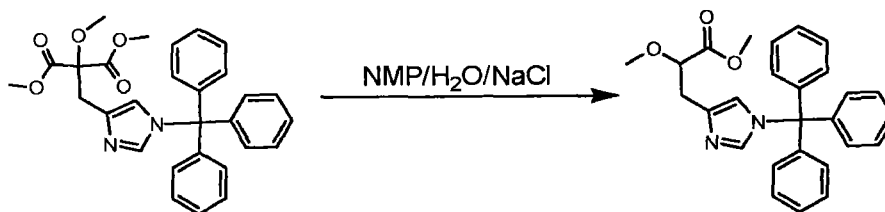
流程 30



将 4-(氯甲基)-1-三苯甲基-1H-咪唑(0.3655g, 1.02mmol)及 2-甲氧基丙二酸二甲酯(0.1822g, 1.25mmol)在 AcCN(10mL)中的溶液迅速添加至经搅拌的新粉碎的氢氧化钾(0.1760g, 3.14mmol)及溴化四丁基铵(0.0521g, 0.16mmol)在 AcCN(2mL)中的浆液中。16hr 后, 用乙酸乙酯(20mL)稀释反应混合物并用硅藻土垫过滤, 用 EtOAc(2×5mL)加以洗涤。用水(2×10mL)及饱和 NaCl(1×10mL)洗涤合并的有机层且用 MgSO_4 干燥。除去溶剂后得到的油状残余物(0.41g)通过在硅胶 60(42g, 粒度为 0.040 至 0.063mm)2.5×30cm 色谱柱上进行的色谱(使用 $\text{CHCl}_3/\text{EtOAc}(9:1)$ 作为洗脱剂)来纯化并收集 72×25mL 馏分。汇集馏分 28 至 72 并干燥, 得到 0.1628g(33%)纯度为 89.5%的 2-甲氧基-2-((1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)甲基)丙二酸二甲酯; 保留时间: 7.52min; 色谱柱: YMC ODS-A(3 μm , 50×4.6mm); 梯度: 以 1.25mL/min 的流速历时 10min 从 A 中的 10%B 变为 A 中的 100%B。溶剂 A 为水中的 0.1%TFA; 溶剂 B 为 AcCN 中的 0.1%TFA。LC/MS: $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=485.3$ 。 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 500\text{MHz})$: δ 3.39(s, 3H), 3.49(s, 2H), 3.69(s, 6H), 6.70(s, 1H), 6.99-7.03(m, 6H), 7.30-7.35(m, 9H), 7.92(s, 1H)。

2-甲氧基-3-(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)丙酸甲酯

流程 31

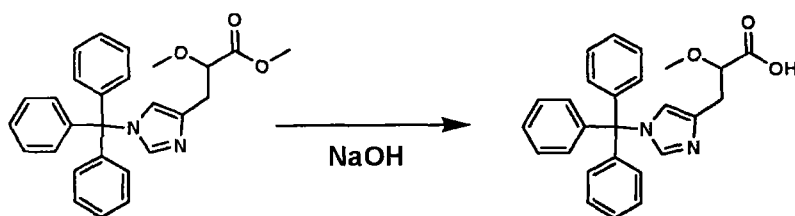


将 2-甲氧基-2-((1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)甲基)丙二酸二甲酯(0.1520g, 0.31mmol)及氯化钠(0.0398g, 0.68mmol)在 NMP(2mL)及水(0.3mL)中的溶液加热至 201℃, 保持 1hr。冷却至室温后, 添加乙酸乙酯(15mL)且用水(2×10mL)及饱和氯化钠(1×10mL)洗涤有机层随后以 NaSO_4 干燥。除去溶剂, 得到 0.1030g 粗产物。此粗产物通过在硅胶 60(11g, 粒度为 0.040 至 0.063mm)色谱柱(2.5×10cm)上进行的色谱(使用 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}(98:2)$ 作为洗脱剂)来纯

化且以 12mL 为单位收集馏分。汇集馏分 2 至 10 并干燥, 且如上所述再纯化残余物, 但使用 5g 硅胶且洗脱剂为 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}(99:1)$ 。汇集馏分 10 至 16, 干燥后得到 0.0592g(45%)纯度为 94.5%的 2-甲氧基-3-(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)丙酸甲酯; 保留时间: 7.29min; 色谱柱: YMC ODS-A($3\mu\text{m}$, $50\times 4.6\text{mm}$); 梯度: 以 1.25mL/min 的流速历时 10min 从 A 中的 10%B 变为 A 中的 100%B。溶剂 A 为水中的 0.1%TFA; 溶剂 B 为 AcCN 中的 0.1%TFA。LC/MS: $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=427.1$ 。

2-甲氧基-3-(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)丙酸

流程 32

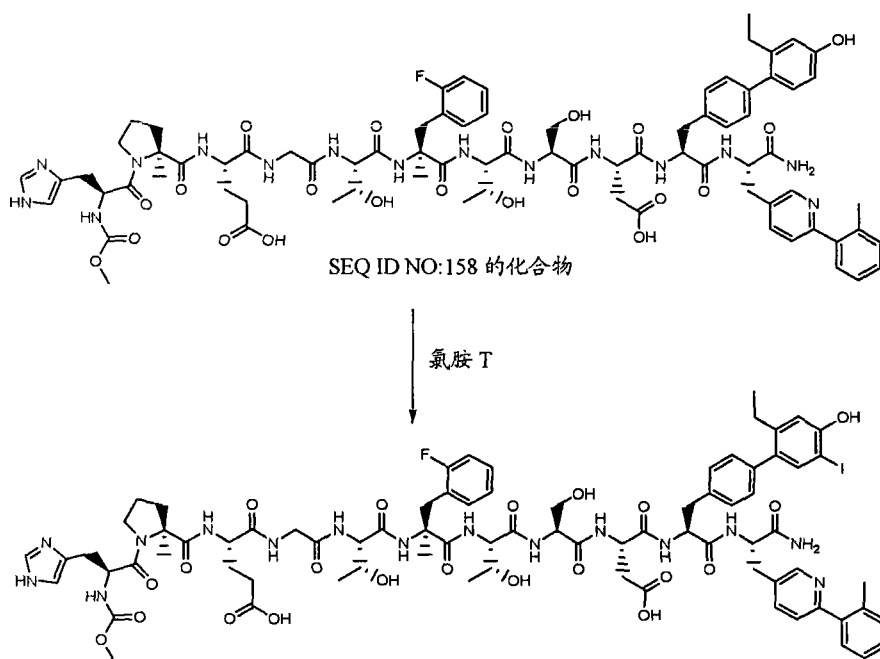


向 2-甲氧基-3-(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)丙酸甲酯(0.0592g, 0.139mmol)在四氢呋喃(1mL)、甲醇(1mL)及水(0.5mL)中的溶液中添加 2N NaOH(0.278mL)且搅拌反应混合物 1.75hr。除去有机溶剂且添加 1N KHSO_4 (5mL)及乙酸乙酯(10mL)。用水($2\times 5\text{mL}$)随后用饱和氯化钠($1\times 5\text{mL}$)洗涤有机相且用 MgSO_4 干燥。用 DCM($2\times 10\text{mL}$)再萃取合并的水层且以 MgSO_4 干燥。除去溶剂并真空干燥, 得到 0.0552g(96%)纯度为 92.6%的 2-甲氧基-3-(1-三苯甲基-1H-咪唑-4-基)丙酸; 保留时间: 6.80min; 色谱柱: Phenomenex Luna C18(2)($5\mu\text{m}$, $50\times 4.6\text{mm}$); 梯度: 以 1.25mL/min 的流速历时 10min 从 A 中的 10%B 变为 A 中的 100%B。溶剂 A 为水中的 0.1%TFA; 溶剂 B 为 AcCN 中的 0.1%TFA。LC/MS: $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=413.1$ 。 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 500\text{MHz})$: δ 3.10-3.18(m, 1H), 3.31-3.38(m, 1H), 3.45(s, 3H), 4.26-4.31(m(1H), 6.86(s, 1H), 7.04-7.11(m, 6H), 7.37-7.47(m, 9H), 8.16(s, 1H)。

实施例 33

合成 SEQ ID NO:164 的化合物

流程 33



向 SEQ ID NO:158 的化合物(0.0211g, 0.0132 摩尔)在 AcCN(0.610mL)及碘化钠水溶液(3.93mg/mL, 0.610mL, 0.016mmol)中的溶液中添加氯胺 T(10.05mg/mL, 0.540mL, 0.016 摩尔)在水/AcCN(1:1)中的溶液。涡旋所得溶液 35min 并过滤, 且产物通过本申请所述的制备性 HPLC 来纯化。色谱柱: Phenomenex Luna C18(2)(5 μ m, 250 $\times$ 21.2mm); 梯度: 历时 60min 从 A 中的 15%B 变为 A 中的 75%B。溶剂 A 为水中的 0.1%TFA; 溶剂 B 为 AcCN 中的 0.1%TFA; 流速为 15mL/min。汇集含有纯产物的馏分并将其冻干, 得到 11.6mg 纯度为 99%的碘化肽; 保留时间: 30.41min; 色谱柱: YMC ODS-AQ(3 μ m, 4.6 $\times$ 150mm); 梯度: 以 1mL/min 的流速历时 60min 从 A 中的 15%B 变为 A 中的 75%B。溶剂 A 为水/AcCN(95:5)中的 10mM 磷酸钠(pH 为 7.5); 溶剂 B 为水/AcCN(20:80)中的 1mM 磷酸钠(pH 为 7.5); ES-MS 分析: (M+H)⁺=1725.0, (M+2H)⁺/2=863.0。

实施例 34

示范性的肽描述于表 3C 中。

表 3C

SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
1	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Me)	4-(2'-吡啶基)苯基丙氨酸-NH ₂
2	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(3',5'-二甲基)	4-(2'-吡啶基)苯基丙氨酸-NH ₂
3	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-OBu)	4-(2'-吡啶基)苯基丙氨酸-NH ₂
4	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Me)	4-(4'-吡啶基)苯基丙氨酸-NH ₂

SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
5	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Cl)	4-(4'-吡啶基)苯基丙氨酸-NH ₂
6	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-甲氧基-5'-异丙基)	4-(4'-吡啶基)苯基丙氨酸-NH ₂
7	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	Bip(2'-Me)-NH ₂
8	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	4-[(2'-乙基-4'-甲氧基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸	Bip(2'-Me)-NH ₂
9	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
10	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
11	脱氨基-His	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
12	脱氨基-His	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
13	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
14	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
15	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[3-(4-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸-NH ₂
16	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[3-(4-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸-NH ₂
17	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3-噻嗪基)苯基丙氨酸-NH ₂
18	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3-噻嗪基)苯基丙氨酸-NH ₂
19	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[3-(4-Me-6-OMe)吡啶基]苯基丙氨酸-NH ₂
20	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[3-(4'-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-Me)-NH ₂
21	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	4-[(4'-Me-6'-OMe)-3-吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-Me)-NH ₂
22	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[(4'-Me-6'-OMe)-3-吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-Me)-NH ₂
23	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[2(1H)吡啶酮基]苯基丙氨酸-NH ₂
24	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	Bip(8-喹啉)-NH ₂
25	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	Bip(3-喹啉)-NH ₂
26	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	Bip(6-喹啉)-NH ₂
27	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	Bip(5-喹啉)-NH ₂

SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
28	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3-(6-OMe)吡啶基)苯基丙氨酸-NH ₂
29	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3-(2-甲氧基)吡啶基)苯基丙氨酸-NH ₂
30	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-吡啶基)苯基丙氨酸-NH ₂
31	脱氨基-His	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
32	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	4-(5-喹啉)苯基丙氨酸	Bip(2'-Me)-NH ₂
33	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	4-[3-(2'-OMe)吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-Me)-NH ₂
34	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	4-(6-喹啉)苯基丙氨酸	Bip(2'-Me)-NH ₂
35	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	4-(4'-吡啶基)苯基丙氨酸	Bip(2'-Me)-NH ₂
36	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	4-[4'-(3',5'-二甲基异噁唑)]苯基丙氨酸	Bip(2'-Me)-NH ₂
37	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2-三氟甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
38	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2-甲基-5-氟苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
39	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(4-甲烷磺酰基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
40	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
41	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
42	H	Aib	E	G	Nle	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
43	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[(2'-Cl-4'-CF ₃)-3'-吡啶基]苯基丙氨酸-NH ₂
44	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[3'-(2'-CN-6'-Me)吡啶基]苯基丙氨酸-NH ₂
45	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Cl)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
46	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2',4'-二甲氧基)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
47	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(3'-吡啶基)苯基丙氨酸	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
48	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(4'-吡啶基)苯基丙氨酸	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂

SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
49	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Me-3'-F)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
50	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-F)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
51	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[3'-(2'-Cl-6'-CF ₃)吡啶基]苯基丙氨酸	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
52	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	Bip(2'-Cl)-NH ₂
53	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	Bip(3'-Cl-4'-F)-NH ₂
54	H	Aib	E	G	Nva	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
55	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	Bip(3',5'-二甲基)-NH ₂
56	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	4-(2',3'-噻嗪基)苯基丙氨酸-NH ₂
57	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
58	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	4-[3'-(2'-Cl-6'-CF ₃)吡啶基]苯基丙氨酸-NH ₂
59	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸	4-[3'-(2'-CN-6'-Me)吡啶基]苯基丙氨酸-NH ₂
60	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[3'-(4'-Me)吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-Cl)-NH ₂
61	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[3'-(4'-Me)吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(3'-Cl-4'-F)-NH ₂
62	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[3'-(4'-Me)吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(3',5'-二甲基)-NH ₂
63	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[3'-(4'-Me)吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-Me-4'-OMe)-NH ₂
64	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[3'-(4'-Me)吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-Me-3'-F)-NH ₂
65	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[3'-(4'-Me)吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-F)-NH ₂
66	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[(4'-Me-6'-OMe)-3-吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-Cl)-NH ₂
67	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[(4'-Me-6'-OMe)-3-吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(3',4'-二甲氧基)-NH ₂
68	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[(4'-Me-6'-OMe)-3-吡啶基]苯基丙氨酸	4-(2'-吡啶基)苯基丙氨酸-NH ₂
69	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[(4'-Me-6'-OMe)-3-吡啶基]苯基丙氨酸	Bip(2'-Me-4'-OMe)-NH ₂
70	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[(4'-Me-6'-OMe)-3-吡啶基]苯基丙氨酸	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
71	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et)	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂

SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
72	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	4-[3'-(4'-甲基)吡啶基]苯基丙氨酸	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
73	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(4'-吡啶基)-苯基丙氨酸-NH ₂
74	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-喹啉)苯基丙氨酸-NH ₂
75	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-(2'-甲氧基)吡啶基)苯基丙氨酸-NH ₂
76	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-苯基-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
77	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3',5'-二甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
78	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[(3'-氟-4'-氟)苯基]-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
79	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3',4'-二甲氧基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
80	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[(2'-乙基-4'-甲氧基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
81	L-β-咪唑-乳酰基	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
82	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	2-(5-邻甲苯基)噻吩基丙氨酸-NH ₂
83	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	2-[(5-(3'-甲氧基)苯基)噻吩基]丙氨酸-NH ₂
84	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	2-[(5-(3',5'-二甲基)苯基)噻吩基]丙氨酸-NH ₂
85	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	2-[(5-(3'-Cl-5'-F)苯基)噻吩基]丙氨酸-NH ₂
86	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-异丙氧基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
87	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基-5'-氟)苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
88	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-异丙氧基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
89	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	3-(4-Br)吡啶基丙氨酸-NH ₂
90	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(4'-甲氧基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
91	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基-4'-氟)苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
92	H	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂

SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
93	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-三氟甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
94	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(4'-三氟甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
95	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
96	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基-4'-氯)苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
97	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Me-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
98	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-三氟甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
99	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(4'-氟苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
100	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-三氟甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
101	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-氯苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
102	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-氯苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
103	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(4'-异丙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
104	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3',5'-二甲基异噁唑-4'-基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
105	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[(2'-甲基-4'-甲氧基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
106	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(4'-三氟甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
107	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(4'-氯苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
108	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(4'-吡啶基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
109	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-甲氧基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
110	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(6'-甲氧基吡啶-3'-基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
111	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-异丙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
112	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲氧基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
113	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-[(3',5'-二氟-2'-甲氧基)苯基]-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂

SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
114	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
115	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-氟苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
116	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-氟苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
117	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-甲氧基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
118	H	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
119	H	N-Me-D-Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
120	H	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
121	H	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	(S)-4-(2'-甲基苯基)- α -Me-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
122	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	(S)-4-(2'-甲基苯基)- α -Me-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
123	H	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
124	H	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
125	H	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-甲氧基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
126	H	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-甲氧基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
127	H	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-氟苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
128	H	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-氟苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
129	H	N-Me-L-Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
130	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3,5-噻唑基丙氨酸-NH ₂
131	H	(S)- α -Me-Pro	D	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
132	H	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et)	4-(2'-乙基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
133	脱氨基-His	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
134	脱氨基-His	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂

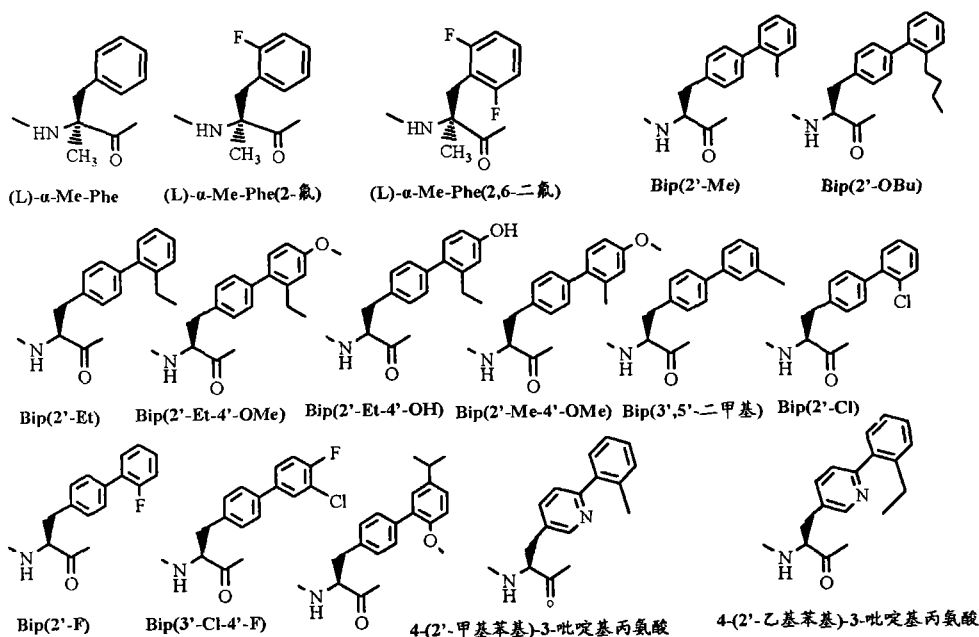
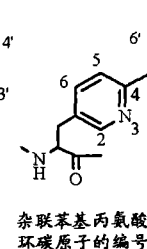
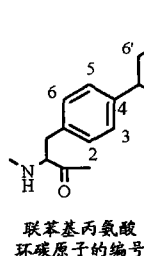
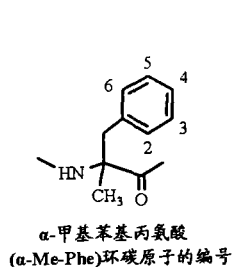
SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
135	脱氨基-His	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-氟苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
136	脱氨基-His	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3'-甲氧基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
137	(R)-Imp	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
138	(S)-Imp	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
139	CH ₃ O-C O-His	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
140	CH ₃ O-C O-His	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
141	CH ₃ O-C O-His	N-Me-D-Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
142	CH ₃ O-C O-His	N-Me-D-Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
143	CH ₃ SO ₂ -His	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
144	CH ₃ SO ₂ -His	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
145	L-乳酸基-His	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
146	L-乳酸基-His	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2,6-二氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
147	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(3',5'-二甲基)苯基-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
148	H	Aib	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
149	H	D-Ala	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
150	H	Aib	H	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
151	L- β -咪唑-乳酸基	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O-Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
152	L- β -咪唑-乳酸基	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O-Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
153	L- β -咪唑-乳酸基	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
154	L- β -咪唑-乳酸基	(S)- α -Me-Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂

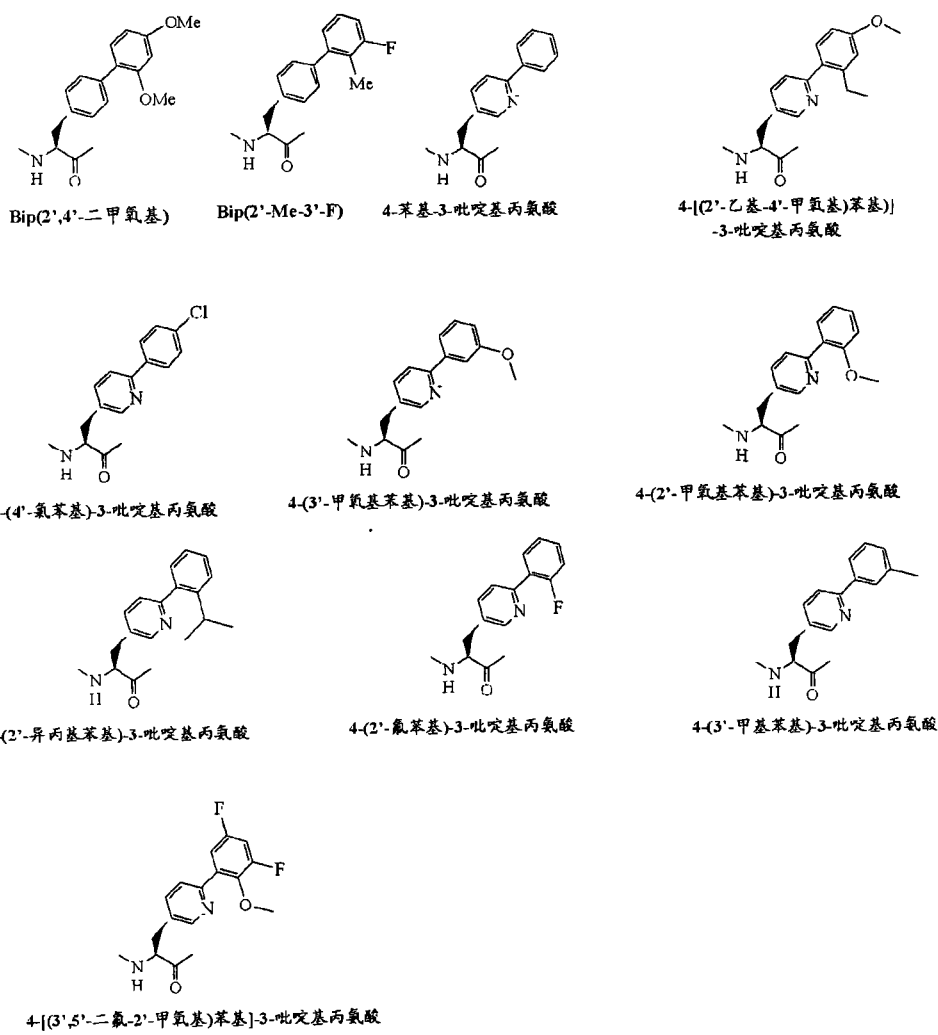
SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
155	L-β-咪唑-乳酰基	N-Me-D-Ala	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-O-Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
156	L-β-咪唑-乳酰基	N-Me-D-Ala	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-O-Me)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
157	CH ₃ O-C-O-His	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
158	CH ₃ O-C-O-His	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
159	CH ₃ O-C-O-His	N-Me-D-Ala	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
160	CH ₃ O-C-O-His	N-Me-D-Ala	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
161	CH ₃ O-C-O-His	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
162	CH ₃ O-C-O-His	Aib	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
163	L-β-咪唑-乳酰基	N-Me-D-Ala	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
164	CH ₃ O-C-O-His	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH-5'-I)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
165	脱氨基-His	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
166	脱氨基-His	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
167	(R)-Imp	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
168	(S)-Imp	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
169	(R)-Imp	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
170	(S)-Imp	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
171	(R)-IMe Op	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
172	(S)-IMe Op	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OMe)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
173	(R)-IMe Op	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂
174	(S)-IMe Op	(S)-α-Me-Pro	E	G	T	L-α-Me-Phe(2-氟)	T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3-吡啶基丙氨酸-NH ₂

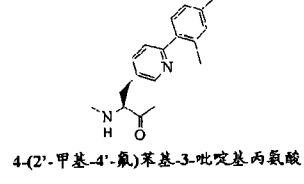
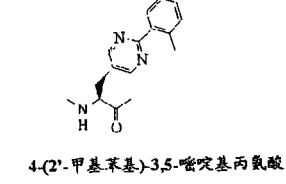
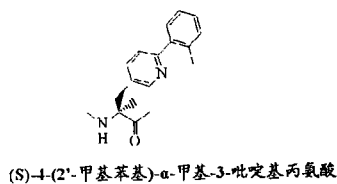
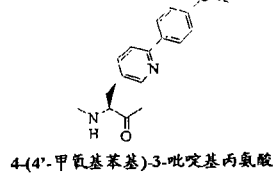
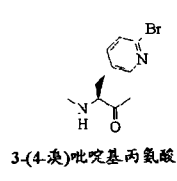
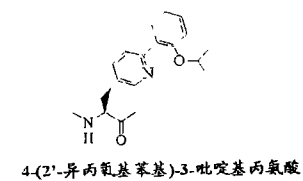
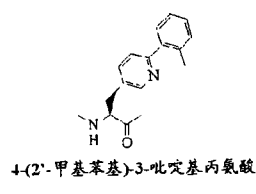
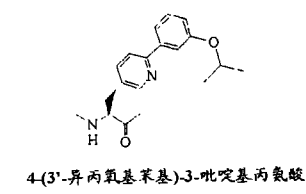
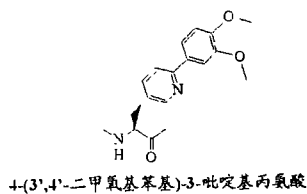
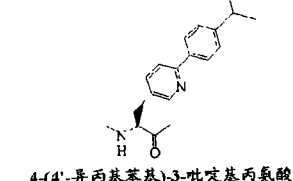
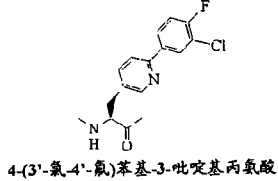
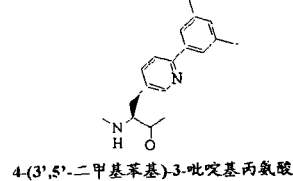
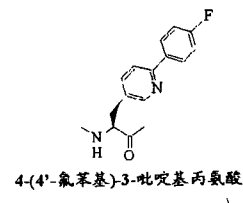
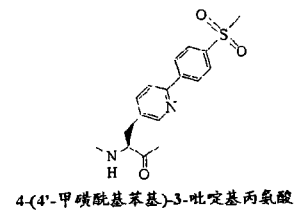
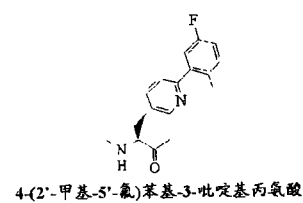
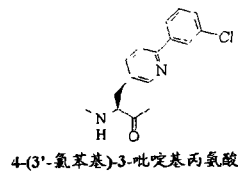
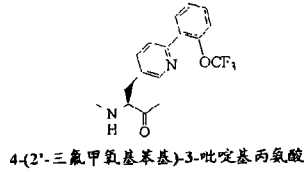
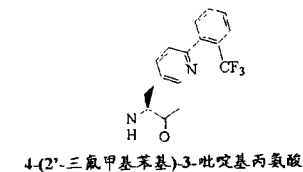
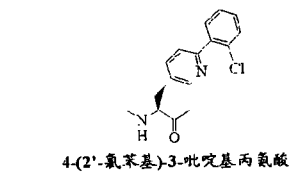
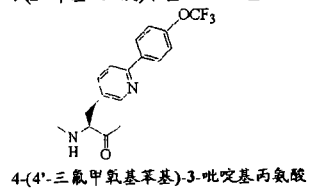
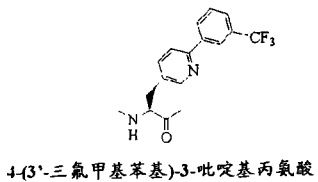
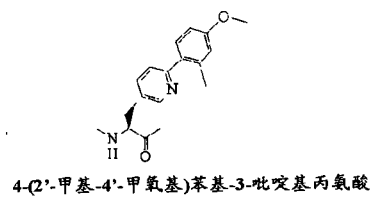
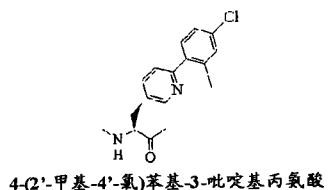
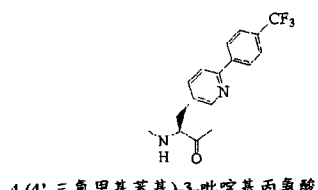
SEQ ID No.	X _{aa1}	X _{aa2}	X _{aa3}	X _{aa4}	X _{aa5}	X _{aa6}	X _{aa7}	X _{aa8}	X _{aa9}	X _{aa10}	X _{aa11} -NH ₂
175	(R)-IMe Op	(S)- α - Me- Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3- 吡啶基丙氨酸 -NH ₂
176	(S)-IMe Op	(S)- α - Me- Pro	E	G	T	L- α -Me-Phe(2-氟)	T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3- 吡啶基丙氨酸 -NH ₂
177							T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3- 吡啶基丙氨酸 -NH ₂
178		(S)- α - Me- Pro					T	S	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3- 吡啶基丙氨酸 -NH ₂
179							T	H	D	Bip(2'-Et-4'-OH)	4-(2'-甲基苯基)-3- 吡啶基丙氨酸 -NH ₂

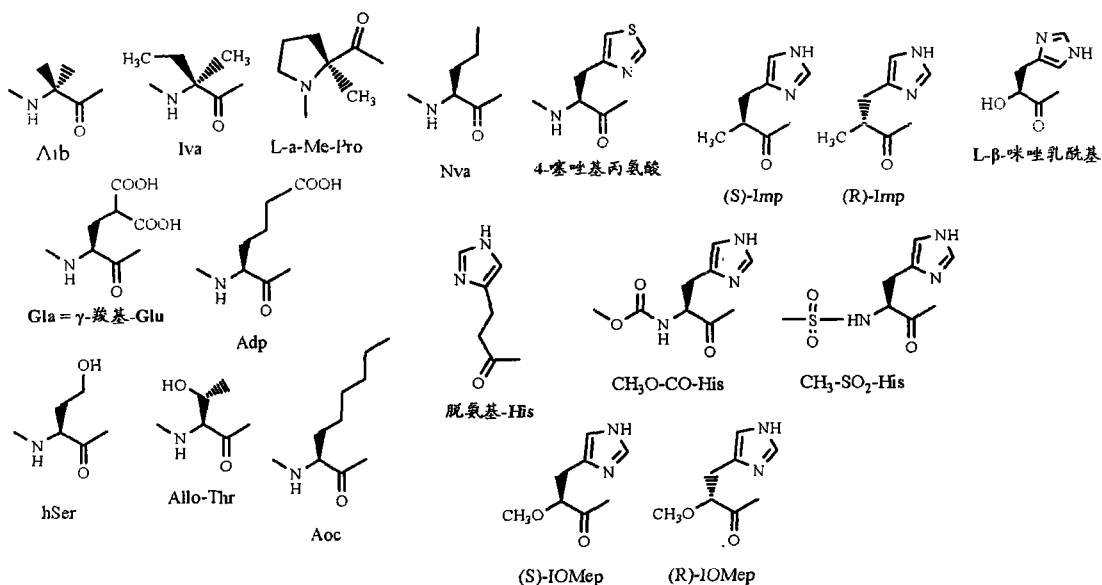
氨基酸缩写及结构

A = L-Ala; aIa = D-Ala
 Aib = α -氨基异丁酸
 Bip = L-4,4'-联苯基丙氨酸
 D = L-Asp
 E = L-Glu
 G = Gly
 H = L-His
 Ile = L-正亮氨酸
 Nva = L-正缬氨酸
 F = L-Phe
 S = L-Ser
 T = L-Thr.









氨基酸及肽化学领域的技术人员应该理解的是，在 4 位或对位具有苯基取代基的苯基丙氨酸氨基酸可另外定义为 4-(苯基)苯基丙氨酸或 4,4'-联苯基丙氨酸，因此可缩写为“Bip”。对于在“氨基酸缩写及结构”章节及本申请的表格中所示的缩写而言，联苯基丙氨酸氨基酸例如可缩写为“Bip(2'-Me)”，其意在表示在其 4 位经 2'-甲基苯基取代的苯基丙氨酸，其中 2'-甲基相对于苯基环的连接点处于邻位。

实施例 35

cAMP 测定

GLP-1 受体为 G 蛋白偶联受体。GLP-1(7-36)-酰胺即生物活性形式与 GLP-1 受体结合且经由信号转导引起腺苷酰基环化酶的活化且使细胞内 cAMP 浓度增加。为了监测肽在刺激 GLP-1 受体方面的激动作用，通过测定细胞内 cAMP 含量来监测腺苷酰基环化酶的活性。全长人胰高血糖素样肽-1 受体在 CHO-K1 细胞中稳定表达且建立无性繁殖系。对响应于饱和剂量 GLP-1 而 cAMP 含量增加最大的克隆进行筛选，且所选择的克隆为克隆 CHO-GLP1R-19。

在 Ham's F12 营养培养基(Gibco #11765-054)、10%FBS、1×L-谷氨酰胺、1×Pen/Strep 及 0.4mg/ml G418 中培养所述细胞。将 CHO-GLP-1R-19 细胞(100μl 培养基中有 20,000 个细胞)置于 96 孔组织培养微量滴定板的每个孔中且在 37℃及 5%CO₂ 气氛下孵育过夜。在测定当天用 100μl 经磷酸盐缓冲的盐水(PBS)洗涤细胞一次。在开始测定前，使用 Biomek 2000 来连续稀释所有肽。连续稀释在 100%DMSO 中进行。得到肽培养板，随后使用 Platamate

Plus 来启动测定；将 1.5 μ L 化合物转移至 V 形底的培养板中，且将补充有 100 μ M 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(非选择性磷酸二酯酶抑制剂)的 150 μ L 测定缓冲液添加至培养板中，得到 1:100 的稀释度及最终浓度为 1%的 DMSO。

为了得到 cAMP 标准曲线，在溶胞试剂 1(Amersham cAMP SPA 试剂盒)中形成一系列稀释度的 cAMP，其范围为 0.2-25.6 皮摩尔/孔。手动添加 50 μ L 各 cAMP 标准品，并使用多头移液器(multidrop)添加 70 μ L 混合试剂(Amersham cAMP SPA 试剂盒)。随后，密封培养板且在 15 小时后在 Trilux 计数器上计数。使用此标准曲线，将 CPM 转化成 cAMP 的皮摩尔数。

在 Platemate Plus 上进行的 cAMP 测定方案

将细胞培养板及肽培养板加载到 Platemate 上。自孔中抽出培养基并丢弃。接着，以每孔 100 μ L 添加来自肽培养板的肽/缓冲液混合物，启动测定。孵育 30min 后，除去肽/缓冲液且每孔添加 50 μ L 溶胞试剂 1 溶液。将培养板在室温保持 1 小时，若冷冻且密封，则保持过夜。使用多头移液器添加 70 μ L cAMP 检测试剂(对与 SPA 珠粒接合的 125 I-cAMP 类似物、抗 cAMP 抗体及抗兔抗体(均来自 Amersham cAMP SPA 试剂盒)进行预混合)并密封培养板。15 小时后，在 Trilux 计数器上对培养板进行计数。

一式两份地测定化合物在半对数浓度下的剂量依赖性。在各 96 孔板中，在七种半对数剂量下测定 GLP-1(对照)及五种化合物(一式两份)。将 10nM GLP-1 置于另外 10 个孔中，用作测定最大活性的参考标准。使用已知量的 cAMP 来确定标准曲线。由 cAMP 标准曲线确定经处理的细胞所合成的 cAMP 的量，且计算相对于 GLP-1 所刺激的最大活性的百分比并依据对数化合物浓度进行标绘。通过非线性回归曲线拟合(4 参数 S 形剂量-应答曲线)来分析数据，确定化合物的 EC₅₀。例如，本申请所述的肽的 EC₅₀ 值在 0.0005nM 至 10nM 的范围内，更优选地在 0.0005nM 至 0.200nM 的范围内。

可选择地，以每孔 10,000 个细胞将表达 GLP-1 受体的 CHO 细胞置于 384 孔板中，并如上文所述在 37 $^{\circ}$ C 及 5%CO₂ 中培养过夜。用肽基 GLP-1 受体激动剂进行处理后，遵循制造商的方案用 HithunterTM XS cAMP 试剂盒(DiscoverX[®])测量 cAMP 的细胞内水平。

实施例 36

活体内研究

将肽以与给药剂量(nmol/kg)等同的浓度(nmol/ml)溶于合适的载体

(vehicle)中,从而使每只小鼠都可接受相同体积/重量的给药溶液。基于进食血浆葡萄糖和体重,对雄性 C57BL/6J-ob/ob 小鼠(10 周龄)进行随机化分组,每组有六只小鼠。禁食过夜后,对小鼠进行称重,然后置于实验室中。在实验室环境中放置 30 钟后,在-30min 经由尾梢对小鼠进行取血,然后立即皮下(sc)注射载体或溶于载体中的所述肽(0.1ml 溶液/100g 体重)。在时间 0 对小鼠进行取血,然后腹膜内注射 50%葡萄糖(2g/kg),启动腹膜内葡萄糖耐量试验(ipGTT)。注射葡萄糖后,在 30、60、120 和 180min 对小鼠进行取血。将血液样品置于 EDTA 钾中,在研究过程中置于冰上,随后在 4°C 以 3000rpm 离心 10min。将血浆样品稀释 11 倍,用于在 Cobas 系统中进行葡萄糖分析。另一份血浆样品(5 μ l)用 20 μ l 样品稀释剂(胰岛素 ELISA 测定试剂盒, Crystal Chem Inc.)稀释 5 倍,并且贮存在-20°C,用于随后利用超灵敏度小鼠胰岛素 ELISA 试剂盒(Crystal Chem Inc.)来进行分析。

化合物 I 及 SEQ ID NO:9、118、151 及 158 的化合物在 ob/ob 小鼠(胰岛素抵抗的小鼠模型)中的体内降糖特性描述如下。在腹膜内葡萄糖耐量试验(ipGTT)中,皮下给药化合物 I 使餐后葡萄糖偏移曲线变弱,且血糖曲线下面积(AUC)在 0 与 180min 之间以剂量依赖的方式降低(图 1)。确定化合物 I 的 ED₅₀ 为 50 纳摩尔/千克。在这些动物中,餐后血浆胰岛素水平出现伴随且统计学显著的剂量依赖性增加(图 2)。在经化合物 I 治疗的动物中,血糖的改变与胰岛素的改变之间的相关性(图 1 及图 2)表明,降糖作用由所述化合物刺激胰岛素释放所介导。

更明显且出人意料的是,在向 ob/ob 小鼠皮下给药 SEQ ID NO:9、118、151 及 158 的化合物后,这些化合物对于餐后血糖产生时间依赖(0 与 180min 或 210min 之间)且统计学显著的降低(图 3、5、6 及 7)。SEQ ID NO:9 的化合物对餐后葡萄糖的作用在 1-100nmol/kg 之间为剂量依赖性且血糖 AUC 在 100nmol/kg 剂量时降低 85.8%(图 3)。SEQ ID NO:9 的化合物的 ED₅₀ 经测定为 5 纳摩尔/千克。SEQ ID NO:9 的化合物对血糖的作用亦通过在这些动物体中显著增加餐后胰岛素来实现(图 4)。对胰岛素的作用似乎具有剂量依赖性,且在 30nmol/kg 剂量时 AUC 具有 187.7%的最大增加(图 4)。

SEQ ID NO:118 的化合物对餐后葡萄糖的作用在 1-30nmol/kg 之间为剂量依赖性且血糖 AUC 在 30nmol/kg 剂量时降低 81%(图 5)。SEQ ID NO:118 的化合物的 ED₅₀ 经测定为 2.5 纳摩尔/千克。

SEQ ID NO:151 的化合物对餐后葡萄糖的作用在 0.03 与 3nmol/kg 之间为剂量依赖性且血糖 AUC 在 3nmol/kg 剂量时降低 67%(图 6)。SEQ ID NO:151 的化合物的 ED₅₀ 经测定为 1 纳摩尔/千克。

SEQ ID NO:158 的化合物对餐后葡萄糖的作用在 0.1 与 10nmol/kg 之间为剂量依赖性且血糖 AUC 在 10nmol/kg 剂量时降低 66%(图 7)。SEQ ID NO:151 的化合物的 ED₅₀ 经测定为 2 纳摩尔/千克。

实施例 37

犬药物动力学研究

在雄性比格犬(beagle dog)(n=3-4, 14±1kg)中确定了 SEQ ID NO:9、118、151 及 158 的化合物的药物动力学参数。禁食过夜后, 每只动物通过经由股静脉进行静脉内推注(67μg/kg)或通过 在肩胛骨附近进行皮下注射来接受 SEQ ID NO:9、118、151 及 158 的化合物(67μg/kg)。遵循交叉设计, 每只动物接受静脉内或皮下给药, 而在两次给药之间有一周的清除时间。用于两种给药途径的给药载体为丙二醇:pH 为 7.4 的磷酸盐缓冲液(50:50)或 0.2M Tris(pH 为 8.0)。在以下时间点将系列血液样品收集在含有 EDTA 的微量离心管中: 给药前、静脉内给药后 0.083、0.25、0.5、0.75、1、2、4、6、8、24 和 30 小时; 给药前、皮下给药后 0.25、0.5、0.75、1、2、4、6、8、24 和 30 小时。在每个时间点都收集约 0.3mL 血液。立即在 4°C 对血液样品进行离心。所得到的血浆用干冰冷冻, 并且贮存在-20°C。利用以下所描述的 LC-MS/MS 测定来确定血浆药物水平。

通过 LC-MS/MS 对 SEQ ID NO:158 的化合物进行定量

通过以下方法对来自体内犬研究的血浆样品进行处理以供分析: 用两体积的乙腈(含有内标)使血浆蛋白沉淀。对样品进行涡旋混合, 然后离心除去沉淀的蛋白质。将所得到的上清液转移到 96-孔板中, 然后注射 10μL 用于 TFC-LC/MS/MS 分析。

TFC-HPLC 系统(Cohesive TX-1 Flux, Aria 2300 System)由加载泵、洗脱泵及 CTC PAL 自动取样器(Cohesive Technologies, Franklin, MA)组成。在线样品处理所使用的色谱柱为作为分析色谱柱的 Phenomenex Synergi Fusion-RP(C18, 2.0×50mm, 4 μ)(Phenomenex, Torrance, CA)及作为提取色谱柱的 Turbo-Flow(TF)HTLC Cyclone 色谱柱(0.5×50mm)(Cohesive Technologies, Franklin, MA)。流动相 A 由 10mM 甲酸铵及 0.1%甲酸的水溶

液组成且流动相 B 由 AcCN 中的 0.1% 甲酸组成。使用 Turbo-Flow 色谱得到较为清洁的样品。使用快速梯度洗脱用于分离分析物。将样品注入 Turbo-Flow HTLC Cyclone 色谱柱中且使用 100% H₂O 以 1.5 mL/min 将分析物与生物流体组份分离。反冲 TF 色谱柱且通过经 2 min 快速上升至 60% B 且以 0.3 mL/min 保持 30 秒, 将来自 TF 的分析物洗脱回 HPLC 分析性色谱柱, 使分析物分离且将分析物从 HPLC 色谱柱洗脱到质谱仪中。再洗涤两根色谱柱 1 分钟, 随后在初始条件下重新平衡两根色谱柱。

使 HPLC 与 Sciex API 4000 质谱仪(Applied Biosystems, Foster City, CA) 接界, 且装备有 TurboIonspray 电离源。将超高纯度的氮气用作喷雾及涡流气体。涡流气体的温度设定为 300°C 且界面加热器设定为 60°C。使用选择反应监测(SRM)用于数据采集。在 Q1 中选择 SEQ ID NO:158 的化合物的多电荷离子物质即 $(M+2H)^{2+}$, 且在 Q2 中以 3.5×10^{-3} 托(torr)压力的高纯度氮气碰撞解离这些物质, 形成特定的产物离子, 随后在 Q3 中进行监测。离子转换及电压概述如下(表 4)。

表 4

用于 LC-MS/MS 样品分析的监测转换及质谱仪设定	
SRM 转换(mz)	800.0→152.0
去簇电压(V)	100
碰撞能量(V)	91

一式两份地对 1 至 1000 nM 范围内的标准曲线浓度进行分析。以通过浓度倒数加权的线性回归($1/\chi^2$)对曲线进行拟合。亦在各分析设定中对在空白基质中制备的与标准品具相同浓度的质量控制(QC)样品进行分析。对于分析 SEQ ID NO:158 的化合物而言, 大于 80% 的经计算 QC 浓度与标称浓度相差不超过 20%, 这表明测定效能是可接受的。

数据分析

通过非隔室方法(noncompartmental method)使用 KINETICA™ 软件程序来分析 SEQ ID NO:158 的化合物的血浆浓度对时间的数据。直接记录实验观察得到的 $C_{\max}$ 及 $T_{\max}$ 值。使用线性求和及对数梯形求和的组合来计算 AUC_{0-n} 及 AUC_{tot} 值。在静脉内给药后计算总血浆清除率(CLP)、末端半衰期($t_{1/2}$)、平均保留时间(MRT)及稳态分布体积(V_{ss})。使用总血浆清除率及血液与血浆浓度的比值来计算总血液清除率(CLB)。将 CLB 及 V_{ss} 值分别与文献中所报导的标准肝血流及身体水份总量值进行比较。得到皮下给药 SEQ ID NO:158 的化合物后的剂量归一化 AUC 值与静脉内给药 SEQ ID NO:158 的

化合物后的剂量归一化 AUC 值的比值, 由此估计皮下给药的绝对生物利用度(以%表示)。

犬药物动力学结果

在雄性比格犬中 SEQ ID NO:9、151 及 158 的化合物在静脉内(IV)及皮下(SC)给药后的药物动力学参数分别概述于表 5A、5B 及 5C 中。

SEQ ID NO:158 的化合物展现出低的全身清除率($0.51 \pm 0.08 \text{ mL/min/kg}$)。稳态分布体积(V_{ss})为 $0.15 \pm 0.02 \text{ L/kg}$, 这表明血管外分布是有限的。据估计清除半衰期为 $4.4 \pm 0.4 \text{ h}$, 且平均保留时间为 $4.9 \pm 0.7 \text{ h}$ 。皮下给药 $67 \mu\text{g/kg}$ 后达到峰浓度的时间(T_{max})为 $1.4 \pm 0.7 \text{ h}$ 。皮下给药后的最大血浆浓度(C_{max})为 $279 \pm 82 \text{ nM}$ 。SEQ ID NO:158 的化合物在犬中的皮下给药生物利用度为 $110 \pm 49\%$ 。

表 5A. SEQ ID NO:9 的化合物在犬中的药物动力学参数
(给药媒剂为 0.2M Tris(pH 为 8.0))

参数	静脉内(n=3, 平均值±SD)	皮下(n=3, 平均值±SD)
剂量($\mu\text{g/kg}$)	67	67
$C_{max}(\text{nM})$	-	116 ± 34
$T_{max}(\text{h})$	-	1.1 ± 0.6
$AUC_{tot}(\text{nM} \times \text{h})$	529 ± 125	452 ± 153
$CLP(\text{mL/min/kg})$	1.4 ± 0.4	-
$V_{ss}(\text{L/kg})$	0.21 ± 0.07	-
$t_{1/2}(\text{h})$	7.1 ± 2.1	2.6 ± 1.2
$MRT(\text{h})$	2.4 ± 0.5	3.6 ± 1.0
生物利用度(%)	-	93 ± 22

表 5B. SEQ ID NO:151 的化合物在犬中的药物动力学参数

参数	静脉内(n=3, 平均值±SD)	皮下(n=3, 平均值±SD)
剂量($\mu\text{g/kg}$)	67	67
$C_{max}(\text{nM})$	-	252 ± 15
$T_{max}(\text{h})$	-	1.8 ± 0.5
$AUC_{tot}(\text{nM} \times \text{h})$	1519 ± 424	1566 ± 235
$CLP(\text{mL/min/kg})$	0.49 ± 0.16	-
$V_{ss}(\text{L/kg})$	0.13 ± 0.05	-
$t_{1/2}(\text{h})$	4.0 ± 0.2	4.4 ± 1.4
$MRT(\text{h})$	4.4 ± 0.1	5.8 ± 1.0
生物利用度(%)	-	110 ± 41

表 5C. SEQ ID NO:158 的化合物在犬中的药物动力学参数

参数	静脉内(n=3, 平均值±SD)	皮下(n=3, 平均值±SD)
剂量($\mu\text{g/kg}$)	67	67
$C_{max}(\text{nM})$	-	279 ± 82
$T_{max}(\text{h})$	-	1.4 ± 0.7
$AUC_{tot}(\text{nM} \times \text{h})$	1385 ± 227	1467 ± 563
$CLP(\text{mL/min/kg})$	0.51 ± 0.08	-
$V_{ss}(\text{L/kg})$	0.15 ± 0.018	-
$t_{1/2}(\text{h})$	4.4 ± 0.4	3.9 ± 1.3
$MRT(\text{h})$	4.9 ± 0.7	5.2 ± 1.5

参数	静脉内(n=3, 平均值±SD)	皮下(n=3, 平均值±SD)
生物利用度(%)	-	110±49

实施例 38

肠胃外给药途径

如下所述制备具有以下组成的用于肺部给药/吸入给药或经鼻给药的液体制剂。

成分	量
肽药物	10mg
HCl 或 NaOH	用于将 pH 值调至 5-8 之间
SBE-环糊精(Captisol)	50mg
纯化水	加量至 1ml

将经称重的肽在最佳 pH 值下溶解于部分水中。将 Captisol 添加至药物溶液中且搅拌约 5min。添加 NaOH 及 HCl, 将 pH 值调至所需值(介于 5-8 之间)。添加纯化水, 使最终体积达到 1ml。可在调节 pH 值前视需要添加其它无活性成分, 诸如防腐剂、抗氧化剂、缓冲盐及共溶剂。添加水至所需的目标体积。

可用注射器微型喷射器或喷气或超声喷雾器将上述溶液制剂以细微喷雾的形式给药至肺部。可用计量经鼻喷射泵或注射器微型喷射器将上述溶液给药至鼻腔。

如下所述制备具有以下组成的用于肺部给药/吸入给药或经鼻给药的干粉制剂。

成分	量
肽药物	10mg
乳糖	90mg

在 Turbula[®]混合器中将质量平均空气动力学直径(MMAD)优选小于 5 微米的经称重的肽与吸入级的乳糖(30-100 μ m)(Respitose, DMV International)共混 5min。可通过粉末吹入器或干粉吸入器将上述干粉共混物给药至肺部。

如下所述制备具有以下组成的用于肺部给药/吸入给药或经鼻给药的混悬液制剂。

成分	量
肽药物	10mg
卵磷脂	0.1%
推进剂气体	1ml

将微米化的肽均匀混悬在卵磷脂与推进剂气体(诸如氢氟碳化合物(HFA))的混合物中。将混悬液转移至加压计量吸入器中。

在大鼠中自溶液制剂的肽吸收

药物动力学参数	气管内给药	鼻内给药
剂量(mg/kg)	1	0.6

药物动力学参数	气管内给药	鼻内给药
AUC(nM·h)	918.9±103	177±77
C _{max} (nM)	359±50.9	236±125
T _{max} (h)	0.03	0.17

将溶液形式(上文所述)的肽给药至经腹膜内注射戊巴比妥(pentobarbital)而麻醉的雄性 Sprague-Dawley 大鼠。用注射器微型喷射器将药物引入到气管中来评估肺部给药,或用移液管将药物滴至各鼻孔内来鼻内给药。将来自经插管的颈动脉的血液样品收集到经肝素化的真空容器中,历时 4hr。离心血液样品,将所分离的血浆贮存在-80℃,直至 LC/MS 分析。由血浆-时间浓度曲线计算药物动力学参数并将其报导于表中。每种给药途径使用三只大鼠。以平均值±标准偏差的形式提供数据。所报导的 T_{max} 为平均值。

用途和组合

A. 用途

本申请所描述的主题提供具有卓越性质并且作为 GLP-1 受体调节剂的新颖的肽,这些肽例如对于 GLP-1 受体具有激动剂活性。此外,与 GLP-1 天然序列相比,本申请所描述的肽对溶蛋白性裂解表现出提高的稳定性。

因此,可将本申请所描述的化合物给药于哺乳动物,优选为人类,用于治疗多种病症和疾病,包括但不限于治疗或延缓以下疾病的进展或发作:糖尿病(优选为 II 型糖尿病、葡萄糖耐量降低、胰岛素抵抗以及糖尿病并发症例如肾病、视网膜病、神经病和白内障)、高血糖症、高胰岛素血症、高胆固醇血症、游离脂肪酸或甘油血液水平提高、高脂血症、高甘油三酯血症、肥胖症、创伤愈合、组织缺血、动脉粥样硬化、高血压、AIDS、肠病(例如坏死性肠炎、微绒毛包含病或腹部疾病)、炎性肠综合征、化学疗法诱发的肠粘膜萎缩或损伤、神经性厌食症、骨质疏松症、代谢障碍综合征以及炎性肠病(例如克罗恩病(Crohn's disease)和溃疡性结肠炎)。本申请所描述的化合物也可用于提高高密度脂蛋白(HDL)的血液水平。

此外,可利用本申请所描述的化合物来治疗在 Johansson J. Clin. Endocrinol. Metab., 82, 727-34(1997)中所详述的统称为“X 综合征”或代谢综合征的病症、疾病和病患。

B. 组合

本申请所描述和要求保护的主体包括药物组合物,所述药物组合物含有单独或与可药用载体或稀释剂组合的作为活性成分的治疗有效量的至少一种式 I 化合物。任选地,本申请所描述的化合物可单独使用,与本申请所

描述的其它化合物联用,或与一种或多种其它治疗药物(例如抗糖尿病药物)或其它药学活性物质联用。

本申请所描述的化合物可与其它 GLP-1 受体调节剂(例如激动剂或部分激动剂诸如肽激动剂)或用于治疗上述疾病的其它合适治疗药物联用,所述其它合适治疗药物包括抗糖尿病药、抗高血糖药、降血脂药/降脂药、抗肥胖症药(包括食欲抑制剂/调节剂)和抗高血压药。此外,本申请所描述的化合物可与一种或多种以下治疗药物联用:不育症药物、治疗多囊性卵巢综合征的药物、治疗生长疾病(growth disorder)的药物、治疗虚弱(frailty)的药物、治疗关节炎的药物、预防移植中同种异体移植物排斥的药物、治疗自身免疫性疾病的药物、抗 AIDS 药物、抗骨质疏松药物、治疗免疫调节疾病的药物、抗凝血药物、治疗心血管疾病的药物、抗菌药物、抗精神病药物、治疗慢性炎性肠病或综合征的药物和/或治疗神经性厌食症的药物。

与本申请所述化合物联用的合适抗糖尿病药物的实例包括双胍类(例如二甲双胍或苯乙双胍)、葡萄糖苷酶抑制剂(例如阿卡波糖或米格列醇(miglitol))、胰岛素类(包括促胰岛素分泌剂或胰岛素敏化剂)、氯茴苯酸类(例如瑞格列奈(repaglinide))、磺脲类(例如格列美脲(glimepiride)、格列本脲、格列齐特、氯磺丙脲和格列吡嗪)、双胍/格列本脲组合(例如 Glucovance[®])、噻唑烷二酮类(例如曲格列酮(troglitazone)、罗格列酮(rosiglitazone)和吡格列酮(pioglitazone))、PPAR- α 激动剂、PPAR- γ 激动剂、PPAR- α/γ 双重激动剂、糖原磷酸化酶抑制剂、脂肪酸结合蛋白(aP2)抑制剂、DPP-IV 抑制剂、GPR119 调节剂以及 SGLT2 抑制剂。

其它合适的噻唑烷二酮类包括 Mitsubishi's MCC-555(公开于美国专利 5,594,016)、Glaxo-Wellcome's GL-262570、恩格列酮(CP-68722, Pfizer)或达格列酮(CP-86325, Pfizer)、伊格列酮(isaglitazone) (MIT/J&J)、JTT-501(JPNT/P&U)、L-895645(Merck)、R-119702(Sankyo/WL)、NN-2344(Dr. Reddy/NN)或 YM-440(Yamanouchi)。

合适的 PPAR- α/γ 双重激动剂包括莫格他唑(muraglitazar)(Bristol-Myers Squibb)、AR-HO39242(Astra/Zeneca)、GW-409544(Glaxo-Wellcome)、KRP297(Kyorin Merck)以及在以下文献中公开的物质: Murakami et al, "A Novel Insulin Sensitizer Acts As a Coligand for Peroxisome Proliferation-Activated Receptor Alpha (PPAR alpha) and PPAR gamma. Effect

on PPAR alpha Activation on Abnormal Lipid Metabolism in Liver of Zucker Fatty Rats”, Diabetes 47, 1841-1847 (1998)和 2000 年 9 月 18 日提交的美国专利申请 09/644,598, 在此将其所公开的内容引入作为参考, 使用其中所列出的剂量, 本申请优选使用其中的优选化合物。

合适的 aP2 抑制剂包括在以下文献中公开的物质: 1999 年 9 月 7 日提交的美国专利申请 09/391,053 和 2000 年 3 月 6 日提交的美国专利申请 09/519,079, 使用其中所列出的剂量。

可与本申请所述化合物联用的合适 DPP4 抑制剂包括在 WO99/38501、WO99/46272、WO99/67279(PROBIODRUG)、WO99/67278(PROBIODRUG)和 WO99/61431(PROBIODRUG)中公开的物质、Hughes et al, Biochemistry, 38(36), 11597-11603, 1999 所公开的 NVP-DPP728A(1-[[[2-[(5-氰基吡啶-2-基)氨基]乙基]氨基]乙酰基]-2-氰基-(S)-吡咯烷)(Novartis)、LAF237、saxagliptin、MK0431、Yamada et al, Bioorg. & Med. Chem. Lett. 8(1998)1537-1540 所公开的 TSL-225(色氨酸基-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-羧酸)、Ashworth et al, Bioorg. & Med. Chem. Lett., Vol. 6, No. 22, pp 1163-1166 and 2745-2748(1996)所公开的 2-氰基 pyrrolidide 类和 4-氰基 pyrrolidide 类, 使用以上文献中所列出的剂量。

合适的氯茴苯酸类包括那格列奈(nateglinide)(Novartis)或 KAD1229(PF/Kissei)。

可与本申请所述 GLP-1 受体调节剂(例如激动剂或部分激动剂)联用的其它合适胰高血糖素样肽-1(GLP-1)化合物的实例包括 GLP-1(1-36)酰胺、GLP-1(7-36)酰胺、GLP-1(7-37)(公开于授权给 Habener 的美国专利 5,614,492)以及 C2993(Amylin)、LY-315902(Lilly)和 NN2211(Novo Nordisk)。

与本申请所述化合物联用的合适降血脂药物/降脂药物的实例包括一种或多种 MTP 抑制剂、HMG CoA 还原酶抑制剂、角鲨烯合成酶抑制剂、苯乙酸(fibric acid)衍生物、ACAT 抑制剂、脂氧化酶(lipoxygenase)抑制剂、胆固醇吸收抑制剂、回肠 Na⁺/胆汁酸协同转运蛋白抑制剂、LDL 受体活性上调剂、胆汁酸螯合剂、胆固醇酯转移蛋白(例如 CP-529414(Pfizer))和/或烟酸及其衍生物。

如上所述可使用的 MTP 抑制剂包括在以下文献中公开的物质: 美国专利 5,595,872、美国专利 5,739,135、美国专利 5,712,279、美国专利 5,760,246、美国专利 5,827,875、美国专利 5,885,983 以及美国专利 5,962,440, 在此将

其全部引入作为参考。

可与一种或多种式I化合物联用的HMG CoA还原酶抑制剂包括在美国专利 3,983,140 中公开的美伐他汀及相关化合物、在美国专利 4,231,938 中公开的洛伐他汀(美维诺林(mevinolin))及相关化合物、在美国专利 4,346,227 中公开的普伐他汀及相关化合物以及在美国专利 4,448,784 和 4,450,171 中公开的辛伐他汀及相关化合物。本申请可使用的其它 HMG CoA 还原酶抑制剂包括但不限于在美国专利 5,354,772 中公开的氟伐他汀、在美国专利 5,006,530 和 5,177,080 中公开的西立伐他汀(cerivastatin)、在美国专利 4,681,893、5,273,995、5,385,929 和 5,686,104 中公开的阿托伐他汀、在美国专利 5,011,930 中公开的阿伐他汀(atavastatin)(Nissan/Sankyo 的尼伐他汀(nisvastatin)(NK-104))、在美国专利 5,260,440 中公开的维沙他汀(visastatin)(Shionogi-Astra/Zeneca(ZD-4522))以及在美国专利 5,753,675 中公开的相关抑制素化合物、在美国专利 4,613,610 中公开的甲羟戊酸内酯衍生物的吡唑类似物、在 PCT 申请 WO 86/03488 中公开的甲羟戊酸内酯衍生物的茚类似物、在美国专利 4,647,576 中公开的 6-[2-(取代的吡咯-1-基)-烷基]吡喃-2-酮及其衍生物、Searle 的 SC-45355(3-取代的戊二酸衍生物)二氯乙酸乙酯、在 PCT 申请 WO 86/07054 中公开的甲羟戊酸内酯的咪唑类似物、在法国专利 2,596,393 中公开的 3-羧基-2-羟基-丙烷-膦酸衍生物、在欧洲专利申请 0221025 中公开的 2,3-二取代的吡咯、呋喃和噻吩衍生物、在美国专利 4,686,237 中公开的甲羟戊酸内酯的萘基类似物、在美国专利 4,499,289 中公开的八氢萘、在欧洲专利申请 0142146 A2 中公开的美维诺林(洛伐他汀)的酮类似物以及在美国专利 5,506,219 和 5,691,322 中公开的喹啉和吡啶衍生物。

期望的降血脂药物为普伐他汀、洛伐他汀、辛伐他汀、阿托伐他汀、氟伐他汀、西立伐他汀、阿伐他汀和 ZD-4522。

此外,抑制 HMG CoA 还原酶的膦酸化合物(例如在 GB 2205837 中公开的物质)适于与本申请所描述的化合物联用。

适于在本申请中使用的角鲨烯合成酶抑制剂包括但不限于在美国专利 5,712,396 中公开的 α -膦酰基-磺酸酯、Biller et al, J. Med. Chem., 1988, Vol. 31, No. 10, pp 1869-1871 所公开的物质(包括类异戊二烯(膦基-甲基)膦酸酯)及其它已知的角鲨烯合成酶抑制剂(例如在美国专利 4,871,721 和 4,924,024

以及 Biller, S.A., Neuenschwander, K., Ponpipom, M.M., and Poulter, C.D., Current Pharmaceutical Design, 2, 1-40(1996)中公开的物质)。

此外,适于在本申请中使用的其它角鲨烯合成酶抑制剂包括 P. Ortiz de Montellano et al, J. Med. Chem., 1977, 20, 243-249 所公开的萜类焦磷酸酯、Corey and Volante, J. Am. Chem. Soc., 1976, 98, 1291-1293 所公开的法尼基二磷酸酯类似物 A 和前角鲨烯焦磷酸酯(PSQ-PP)类似物、McClard, R.W. et al, J.A.C.S., 1987, 109, 5544 所报道的膦基磷酸酯和 Capson, T.L., PhD dissertation, June, 1987, Dept. Med. Chem. U of Utah, Abstract, Table of Contents, pp 16, 17, 40-43, 48-51, Summary 所报道的环丙烷类。

可与一种或多种式 I 化合物联用的苯乙酸衍生物包括: 非诺贝特、吉非贝齐、氯贝丁酯、苯扎贝特、环丙贝特、克利贝特等、在美国专利 3,674,836 中公开的普罗布考及相关化合物(优选为普罗布考和吉非贝齐)、胆汁酸螯合剂(例如考来烯胺、考来替泊和 DEAE-葡聚糖凝胶(Secholex[®], Policexide[®]))以及保脂妥(Rhone-Poulenc)、Eisai E-5050(N-取代的乙醇胺衍生物)、伊马昔尔(HOE-402)、四氢抑脂素(tetrahydrolipstatin)(THL)、istigmastanylphos-phorylcholine(SPC, Roche)、氨基环糊精(Tanabe Seiyoku)、Ajinomoto AJ-814(甾衍生物)、甲亚油酰胺(Sumitomo)、Sandoz 58-035、American Cyanamid CL-277,082 和 CL-283,546(二取代的脲衍生物)、烟酸、阿昔莫司、阿昔吠喃、新霉素、对氨基水杨酸、阿司匹林、在美国专利 4,759,923 中公开的聚(二烯丙基甲胺)衍生物、在美国专利 4,027,009 中公开的季胺聚(氯化二烯丙基二甲铵)和紫罗烯类以及其它已知的降血清胆固醇药物。

可与一种或多种式 I 化合物联用的 ACAT 抑制剂包括在以下文献中公开的物质或 TS-962(Taisho Pharmaceutical Co. Ltd): Drugs of the Future 24, 9-15(1999),(Avasimibe(阿伐麦布)); “The ACAT inhibitor, CI-1011 is effective in the prevention and regression of aortic fatty streak area in hamsters”, Nicolosi et al, Atherosclerosis(Shannon, Irel).(1998), 137(1), 77-85; “The pharmacological profile of FCE 27677: a novel ACAT inhibitor with potent hypolipidemic activity mediated by selective suppression of the hepatic secretion of ApoB100-containing lipoprotein”, Ghiselli, Giancarlo, Cardiovasc. Drug Rev.(1998), 16(1), 16-30; “RP 73163: a bioavailable

alkylsulfinyl-diphenylimidazole ACAT inhibitor”, Smith, C., et al, Bioorg. Med. Chem. Lett.(1996), 6(1), 47-50; “ACAT inhibitors: physiologic mechanisms for hypolipidemic and anti-atherosclerotic activities in experimental animals”, Krause et al, Editor(s):Ruffolo, Robert R., Jr.; Hollinger, Manfred A., Inflammation: Mediators Pathways(1995), 173-98, Publisher: CRC, Boca Raton, Fla.; “ACAT inhibitors: potential anti-atherosclerotic agents”, Sliskovic et al, Curr. Med. Chem.(1994), 1(3), 204-25; 和““Inhibitors of acyl-CoA:cholesterol O-acyl transferase(ACAT)as hypocholesterolemic agents. 6. The first water-soluble ACAT inhibitor with lipid-regulating activity. Inhibitors of acyl-CoA:cholesterol acyltransferase(ACAT). 7. Development of a series of substituted N-phenyl-N'-[(1-phenylcyclopentyl)methyl]ureas with enhanced hypocholesterolemic activity”, Stout et al, Chemtracts: Org. Chem.(1995), 8(6), 359-62.

降血脂药物可以是 LD2 受体活性的上调剂例如 MD-700(Taisho Pharmaceutical Co. Ltd)和 LY295427(Eli Lilly)。

与本申请所述化合物联用的合适胆固醇吸收抑制剂的实例包括 SCH48461(Schering-Plough)以及在 Atherosclerosis 115, 45-63(1995)和 J. Med. Chem. 41, 973(1998)中公开的物质。

与本申请所述化合物联用的合适回肠 Na^+ /胆汁酸协同转运蛋白抑制剂的实例包括在 Drugs of the Future, 24, 425-430(1999)中公开的化合物。

可与一种或多种式 I 化合物联用的脂氧化酶抑制剂包括 15-脂氧化酶 (15-LO)抑制剂, 例如在 WO 97/12615 中公开的苯并咪唑衍生物、在 WO 97/12613 中公开的 15-LO 抑制剂、在 WO 96/38144 中公开的异噻唑酮类以及 Sendobry et al, “Attenuation of diet-induced atherosclerosis in rabbits with a highly selective 15-lipoxygenase inhibitor lacking significant antioxidant properties”, Brit. J. Pharmacology(1997)120, 1199-1206 和 Cornicelli et al, “15-Lipoxygenase and its Inhibition: A Novel Therapeutic Target for Vascular Disease”, Current Pharmaceutical Design, 1999, 5, 11-20 所公开的 15-LO 抑制剂。

与本申请所述化合物联用的合适抗高血压药物的实例包括 β 肾上腺素能阻断剂、钙通道阻断剂(L型和 T型, 例如地尔硫草、维拉帕米、硝苯地

平、氨氯地平(mybfradil)、利尿剂(例如氯噻嗪、氢氯噻嗪、氟甲噻嗪、氢氟噻嗪、苄氟噻嗪、甲基氯噻嗪、三氯噻嗪、泊利噻嗪、苄噻嗪、依他尼酸替尼酸(ethacrynic acid tricrynafen)、氯噻酮、呋塞米、musolimine、布美他尼、triamtrenene、阿米洛利和螺内酯)、肾素抑制剂、ACE抑制剂(例如卡托普利、佐芬普利、福辛普利、依那普利、ceranopril、西拉普利(cilazopril)、地拉普利、喷托普利、喹那普利、雷米普利和赖诺普利)、AT-1受体拮抗剂(例如氯沙坦、厄贝沙坦和缬沙坦)、ET受体拮抗剂(例如西他生坦(sitaxsentan)、阿曲生坦(atrsentan)和在美国专利5,612,359和6,043,265中公开的化合物)、双重ET/AII拮抗剂(例如在WO 00/01389中公开的化合物)、中性肽链内切酶(NEP)抑制剂、血管肽酶(vasopepsidase)抑制剂(双重NEP-ACE抑制剂)(例如奥马曲拉和gemopatrilat)以及硝酸脂类。

与本发明所述化合物联用的合适抗肥胖症药物的实例包括NPY受体拮抗剂、NPY-Y2或NPY-Y4受体激动剂、胃泌酸调节素(Oxyntomodulin)、MCH拮抗剂、GHSR拮抗剂、CRH拮抗剂、 β -3肾上腺素能激动剂、脂酶(lipase)抑制剂、5-羟色胺(和多巴胺)再摄取抑制剂(reuptake inhibitor)、甲状腺受体 β 药物(thyroid receptor beta drug)、CB-1拮抗剂和/或厌食药物(anorectic agent)。

可任选与本发明所述化合物联用的 β -3肾上腺素能激动剂包括AJ9677(Takeda/Dainippon)、L750355(Merck)或CP331648(Pfizer)或在美国专利5,541,204、5,770,615、5,491,134、5,776,983和5,488,064中公开的其它已知 β -3激动剂,优选为AJ9677、L750,355和CP331648。

可任选与本发明所述化合物联用的脂酶抑制剂的实例包括奥利司他(orlistat)或ATL-962(Alizyme),优选为奥利司他。

可任选与式I化合物联用的5-羟色胺(和多巴胺)再摄取抑制剂可以是西布曲明(sibutramine)、托吡酯(topiramate)(Johnson & Johnson)或睫状体神经营养因子(axokine)(Regeneron),优选为西布曲明和托吡酯。

可任选与本发明所述化合物联用的甲状腺受体 β 化合物的实例包括甲状腺受体的配体,例如在WO97/21993(U. Cal SF)、WO99/00353(KaroBio)和WO 00/039077(KaroBio)中公开的化合物,优选为KaroBio申请的化合物。

可任选与本发明所述化合物联用的CB-1拮抗剂的实例包括CB-1拮抗剂和利莫那班(rimonabant)(SR141716A)。

NPY-Y2 和 NPY-Y4 受体激动剂的实例分别包括 PYY(3-36)和胰多肽(PP)。

可任选与本申请所述化合物联用的厌食药物包括右旋苯丙胺(dexamphetamine)、芬特明(phentermine)、苯丙醇胺(phenylpropanolamine)或马吲哚(mazindol)，优选为右旋苯丙胺。

合适的抗精神病药物的实例包括氯氮平、氟哌啶醇、奥氮平(Zyprexa[®])、Prozac[®]和阿立哌唑(Abilify[®])。

在此将上述专利和专利申请引入作为参考。

以上其它治疗药物，当与本申请所描述的化合物联用时，可例如以在 Physician's Desk Reference 中说明的量、以在上述专利中列出的量或以本领域普通技术人员所另外确定的量来使用。

剂量及制剂

合适的式 I 肽或更具体为含有 SEQ ID NO:1-179 中任何一种的肽可按单独化合物的形式和/或与可用载体混合的形式以药物制剂的形式来向患者给药以治疗糖尿病和其它相关疾病。糖尿病治疗领域的技术人员可容易地确定向需要这种治疗的哺乳动物(包括人类)施用所述化合物的剂量和给药途径。给药途径可包括但不限于口服给药、口内(intraoral)给药、直肠给药、经皮给药、含服(buccal)给药、鼻内给药、肺部给药、皮下给药、肌肉内给药、皮内给药、舌下给药、结肠内给药、眼内给药、静脉内给药或肠内给药。根据给药途径基于可接受的药学实践(Fingl et al., in "The Pharmacological Basis of Therapeutics", Ch. 1, p.1, 1975; "Remington's Pharmaceutical Sciences", 18th ed., Mack Publishing Co, Easton, PA, 1990)来配制化合物。

本申请所描述的可药用的肽组合物可按多种剂型来给药，例如片剂、胶囊剂(片剂和胶囊剂各自包括持续释放制剂或定时释放制剂)、丸剂、粉末剂、颗粒剂、酏剂、原位凝胶剂(in situ gel)、微球剂、结晶复合物(crystalline complexe)、脂质体、微乳剂、酏剂、混悬剂、糖浆剂、喷雾剂和乳剂。本申请所描述的组合物也可按口服形式、静脉内(推注或输注)形式、腹膜内形式、皮下形式、经皮形式或肌肉内形式来给药，所有形式都使用药学领域普通技术人员所熟知的剂型。组合物可单独给药，但通常与药物载体一起给药，所述药物载体根据所选择的给药途径和标准药学实践来选择。

本申请所述组合物的给药方案当然随已知的因素而变化，例如具体药

物的药效学特征及其给药模式和途径；受试者的物种、年龄、性别、健康、医疗条件和体重；症状的性质和程度；当前治疗的种类；治疗的频率；给药途径，患者的肾功能和肝功能；以及期望的效应。医生或兽医可确定所需药物的有效量并且开具处方，以预防、对抗或阻止疾病状态的进程。

通过一般指导，活性成分当用于适应作用时的每日口服剂量的范围为约 0.001 至 1000mg/kg 体重，优选为约 0.01 至 100mg/kg 体重/日，最优选为约 0.6 至 20mg/kg/日。对于静脉内给药，在恒定速率输注过程中，活性成分当用于适应作用时的每日剂量为 0.001ng 至 100.0ng/分钟/千克体重。所述恒定静脉内输注可优选以 0.01ng 至 50ng/分钟/千克体重的速率来给药，最优选以 0.01ng 至 10.0mg/分钟/千克体重的速率来给药。本申请所描述的组合物可按单一每日剂量来给药，或可按每日二次、三次或四次的分份剂量来给药总每日剂量。本申请所描述的组合物也可通过储库制剂(depot formulation)来给药，所述储库制剂允许药物如期望的那样在日/周/月时段内持续释放。

本申请所描述的组合物可按鼻内形式通过局部使用合适的鼻内载体来给药，或通过经皮途径使用经皮皮肤贴剂来给药。当以经皮给药系统的形式进行给药时，药物给予在整个给药方案中当然是连续的，而不是间断的。

组合物通常以与合适药物稀释剂、赋形剂或载体(在本申请中统称为药物载体)混合的形式来给药，所述药物载体鉴于期望的给药形式来合适地选择，并且与常规药学实践相符，给药形式有口服片剂、胶囊剂、酏剂，喷雾剂(含有或不含有抛射剂)和糖浆剂。

例如，对于以片剂或胶囊剂的形式进行口服给药，活性药物组分可与口服无毒性可药用惰性载体组合，所述口服无毒性可药用惰性载体例如但不限于乳糖、淀粉、蔗糖、葡萄糖、甲基纤维素、硬脂酸镁、磷酸二钙、硫酸钙、甘露醇和山梨醇；对于以液体形式进行口服给药，口服药物组分可与任何口服无毒性可药用惰性载体组合，所述口服无毒性可药用惰性载体例如但不限于乙醇、甘油和水。此外，当期望或需要时，也可将合适的粘合剂、润滑剂、崩解剂和着色剂引入到混合物中。合适的粘合剂包括但不限于淀粉、凝胶、天然糖类(例如但不限于葡萄糖或 β -乳糖)、玉米甜味剂、天然胶类和合成胶类(例如阿拉伯胶、西黄耆胶或海藻酸钠)、羧甲基纤维素、聚乙二醇和蜡类。在这些剂型中使用的润滑剂包括油酸钠、硬脂酸钠、硬

脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠和氯化钠。崩解剂包括但不限于淀粉、甲基纤维素、琼脂、膨润土和黄原胶(xanthan gum)。

本申请所描述的组合物也可按混合胶束给药系统或脂质体给药系统的形式来给药,所述给药系统例如为小单层脂质体、大单层脂质体和多层脂质体。脂质体可从多种磷脂(例如胆固醇、硬脂酰胺或磷酸卵磷脂)来制备。可加入渗透促进剂,以提高药物吸收。

因为已知前药可提高药物的多种期望的性质(即溶解度、生物利用度、制造等),所以本申请所描述的化合物可按前药的形式来给药。因而,本申请所描述的主题意在涵盖本申请所要求保护的化合物的前药、给药这些前药的方法以及含有这些前药的组合物。

本申请所描述的组合物还可与作为靶向药物载体的可溶性聚合物结合。所述聚合物可包括聚乙烯吡咯烷酮、吡喃共聚物、聚羟基丙基-异丁烯酰胺-苯酚、聚羟基乙基天冬酰胺苯酚或被棕榈酰基取代的聚氧化乙烯-聚赖氨酸。此外,本申请所描述的组合物可与一类生物可降解的聚合物组合,用于实现药物的控制释放,所述生物可降解的聚合物例如为聚乳酸、聚乙醇酸、聚乳酸和聚乙醇酸的共聚物、聚 ϵ -己内酯、聚羟基丁酸、聚原酸酯(polyorthoester)、聚缩醛、聚二氢吡喃、聚氰基酰化物(polycyanoacrylate)以及水凝胶的交联或两亲性嵌段共聚物。

适于给药的剂型(药物组合物)可含有约0.01毫克至约500毫克活性成分/剂量单位。在这些药物组合物中,按组合物的总重量计,活性成分通常以约0.5-95%重量的量存在。

明胶胶囊剂可含有活性成分和粉末状载体(例如乳糖、淀粉、纤维素衍生物、硬脂酸镁和硬脂酸)。类似的稀释剂可用于制备压制片剂。片剂和胶囊剂都可制造成持续释放的产品,以在数小时内提供持续释放的药物。压制片剂可以是糖包衣或膜包衣的,以掩盖任何不良的味道及保护片剂免于受空气影响,或可以是肠溶衣包衣的,以在胃肠道中选择性地崩解。

口服给药的液体制剂可含有着色剂和调味剂,以提高患者接受性。

水、合适的油、盐水、右旋糖(葡萄糖)水溶液以及相关糖溶液和二醇(例如丙二醇或聚乙二醇)通常是用于肠胃外溶液剂(parenteral solution)的合适载体。用于肠胃外给药的溶液优选含有活性成分的水溶性盐、合适的稳定剂以及缓冲物质(如果需要)。抗氧化剂(例如单用或联用的亚硫酸氢钠、亚

硫酸钠或抗坏血酸)为合适的稳定剂。也使用枸橼酸及其盐和 EDTA 钠。此外, 肠胃外溶液剂可含有防腐剂(例如苯扎氯铵, 对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯和氯丁醇)。

合适的药物载体参见 Remington: “The Science and Practice of Pharmacy”, Nineteenth Edition, Mack Publishing Company, 1995 即本领域的标准参考书。

以下举例说明了用于给药本申请所述化合物的代表性的药物剂型。

胶囊剂

可通过用 100 毫克粉末状活性成分、150 毫克乳糖、50 毫克纤维素和 6 毫克硬脂酸镁填充标准的两段式硬明胶胶囊来制备很多种单位胶囊剂。

软明胶胶囊剂

可制备活性成分在可消化油(例如大豆油、棉籽油或橄榄油)中的混合物, 然后通过容积泵(positive displacement pump)将其注射到明胶中, 以形成含有 100 毫克活性成分的软明胶胶囊。可对胶囊进行洗涤和干燥。

片剂

片剂可通过常规操作来制备, 从而使剂量单位例如含有 100 毫克活性成分、0.2 毫克胶状二氧化硅、5 毫克硬脂酸镁、275 毫克微晶纤维素、11 毫克淀粉和 98.8 毫克乳糖。可使用合适的包衣, 以提高适口性或延缓吸收。

注射剂

本申请所述肽组合物的注射剂可能需要或不需要使用赋形剂(例如管理单位所批准的赋形剂)。这些赋形剂包括但不限于溶剂和共溶剂、增溶剂、乳化剂或增稠剂、螯合剂、抗氧化剂和还原剂、抗菌性防腐剂、缓冲剂和 pH 调节剂、填充剂、保护剂和张力调节剂及特别的添加剂。注射剂必须是无菌和无热原的, 以及就溶液形式而言必须是不含颗粒物的。

适于注射给药的肠胃外组合物(parenteral composition)可通过以下方法来制备: 对例如 1.5 重量%活性成分的可药用缓冲溶液进行搅拌, 所述可药用缓冲溶液可含有或不含共溶剂或其它赋形剂。可用氯化钠来使溶液等渗, 然后灭菌。

混悬剂

可制备用于口服给药和/或肠胃外给药的水性混悬剂, 从而使例如每 5mL 含有 100mg 细微分散的活性成分、20mg 羧甲基纤维素钠、5mg 苯甲酸钠、1.0g 山梨醇溶液(U.S.P.)和 0.025mL 香草醛或其它适口调味剂。

生物可降解的微粒剂

适于注射给药的持续释放的肠胃外组合物可例如通过以下方法来制备：将合适的生物可降解聚合物溶于溶剂中，向聚合物溶液中加入待引入的活性成分，以及从基质除去溶剂，由此形成聚合物基质，而活性成分遍及在基质中。

可在本发明的教导下对本申请所描述和要求保护的主体进行多种改动和变化。因此应该理解的是，在所附权利要求书的范围内，除本申请所具体描述的内容外，还可实施权利要求书所描述的其它主题。

权利要求书所描述的主题不应该局限在上述具体实施方案的范围内，这些具体实施方案意在作为要求保护的主体中的单个实施方案。除本申请所显示和描述的内容外，本领域技术人员还可通过上述描述和附图来理解功能上等同的方法和组成。这些改动在所附权利要求书的范围内。在此将本申请所引用的全部文献完整引入作为参考。

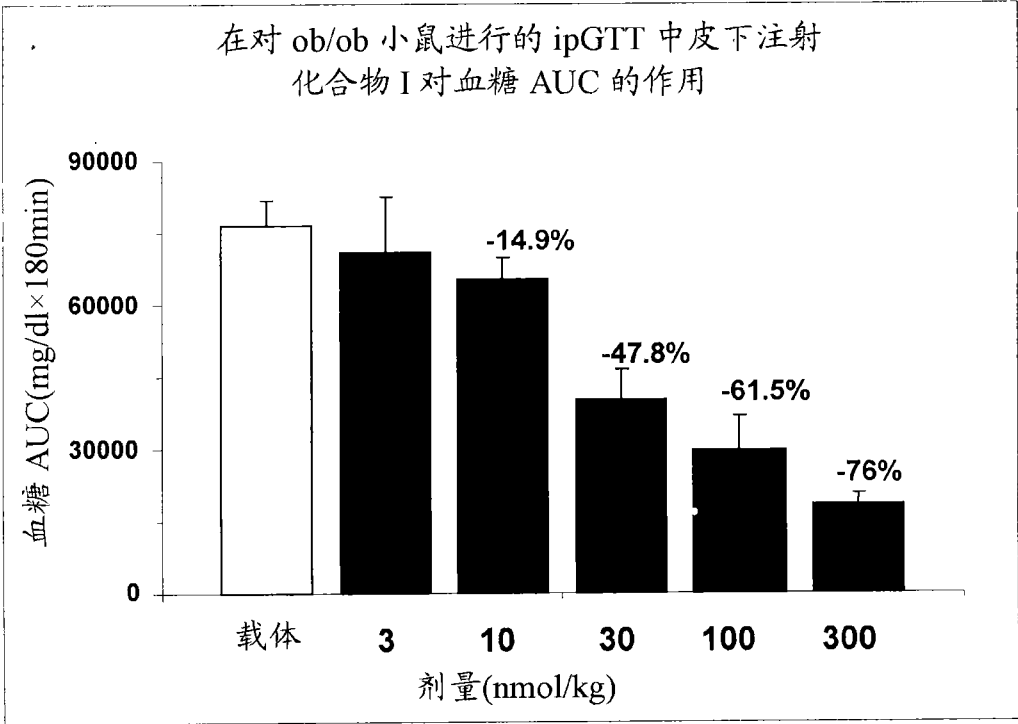


图 1

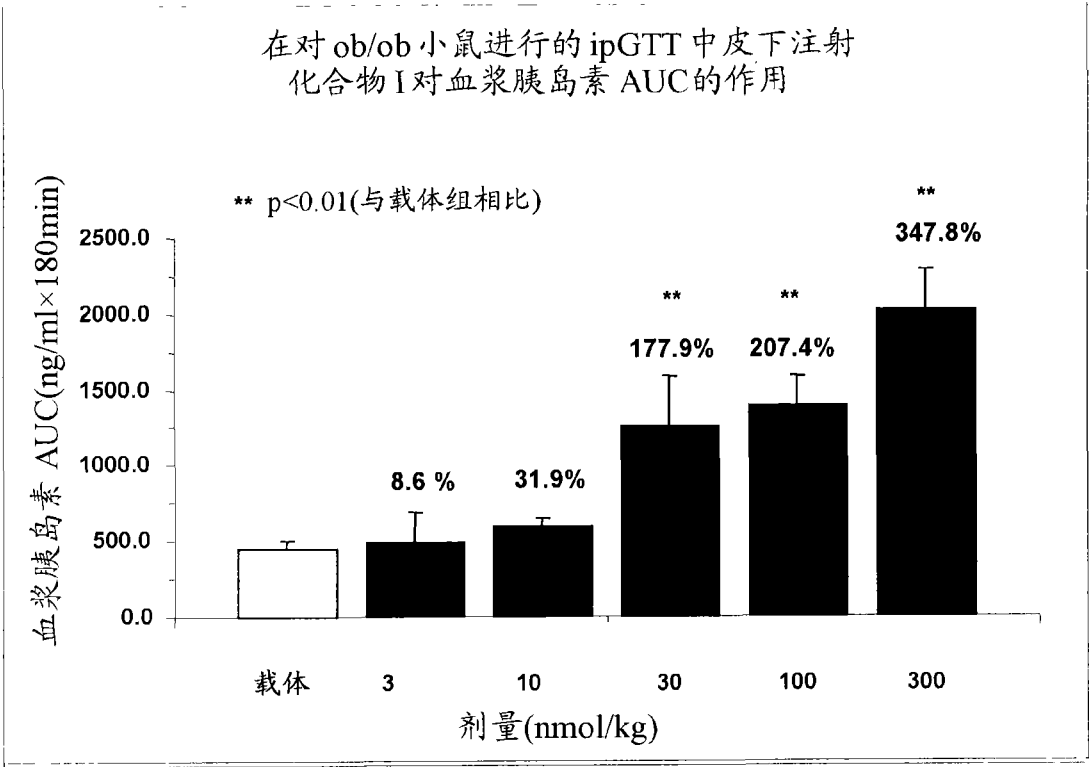


图 2

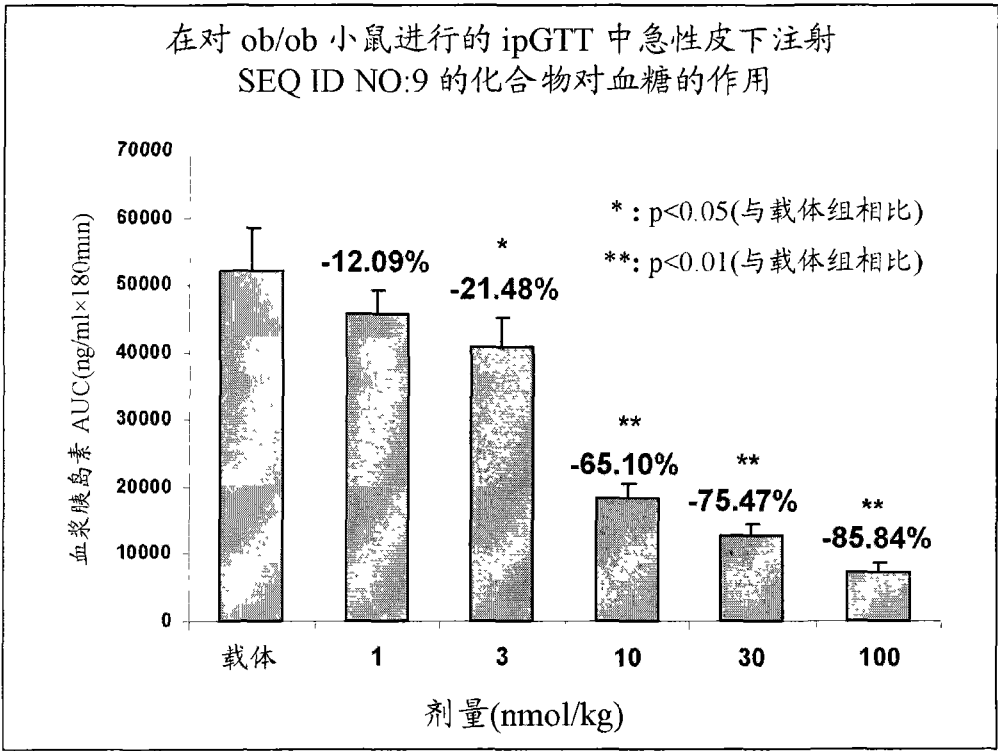


图 3

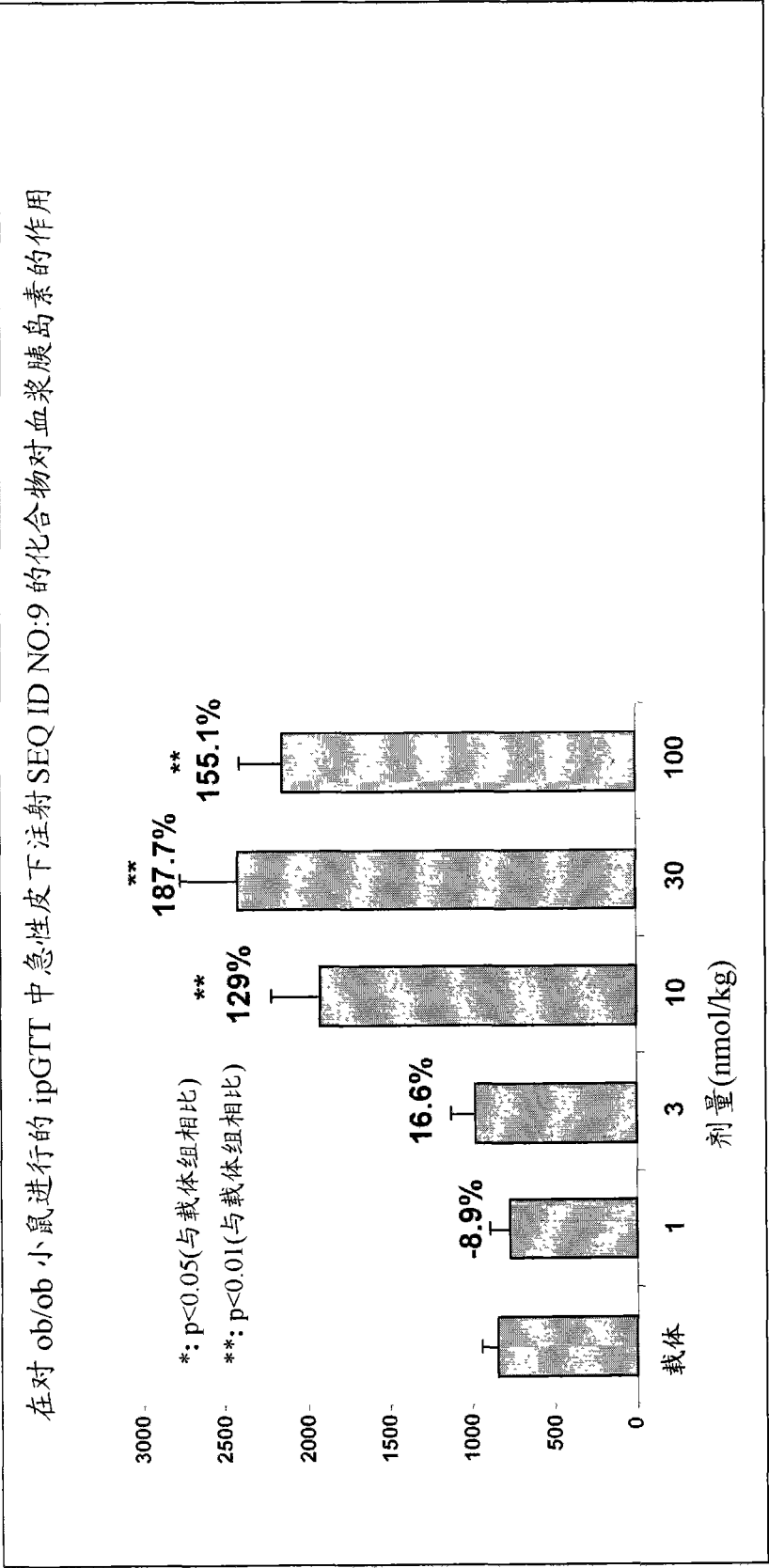


图 4

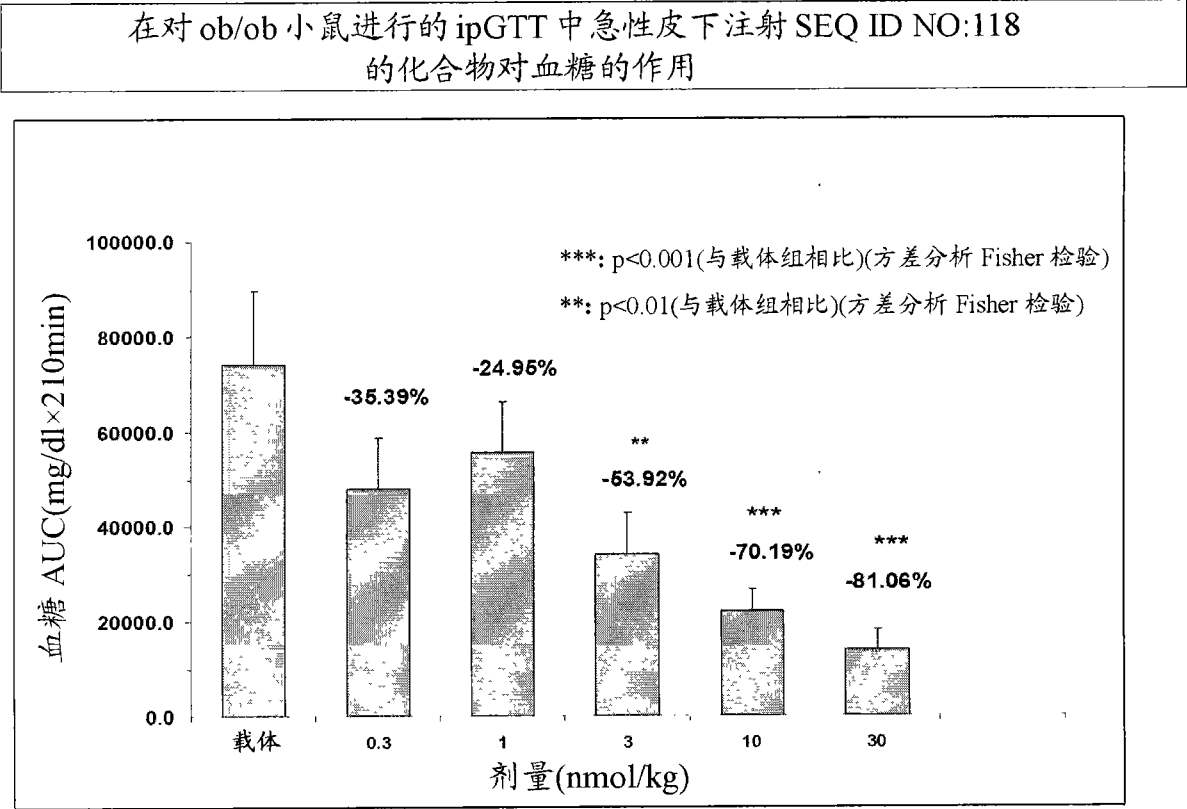


图 5

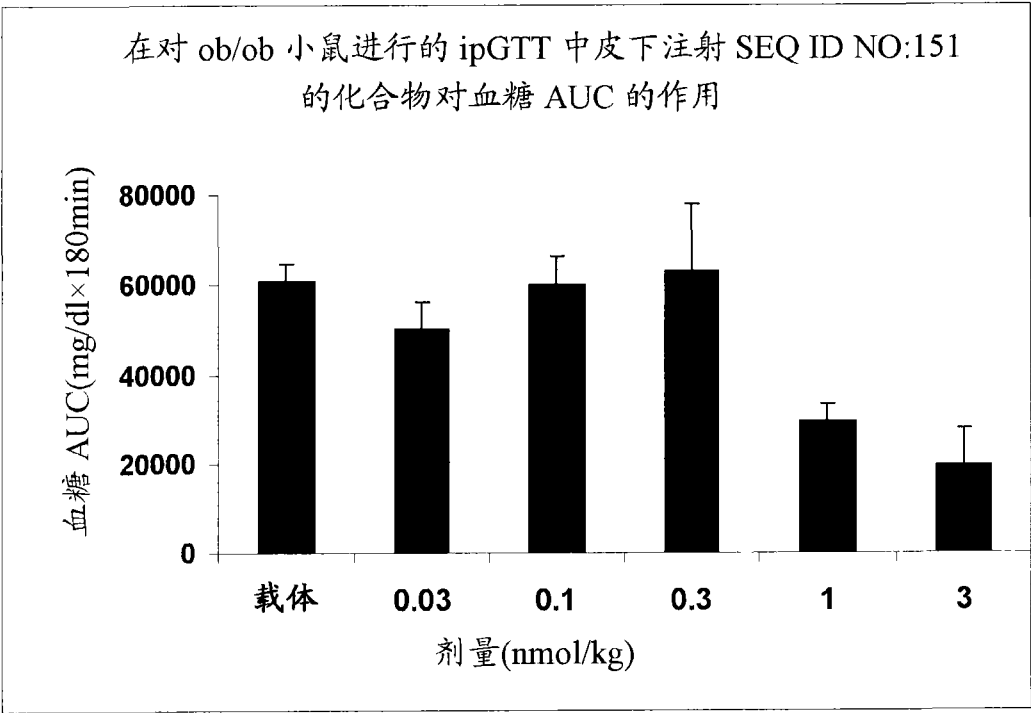


图 6

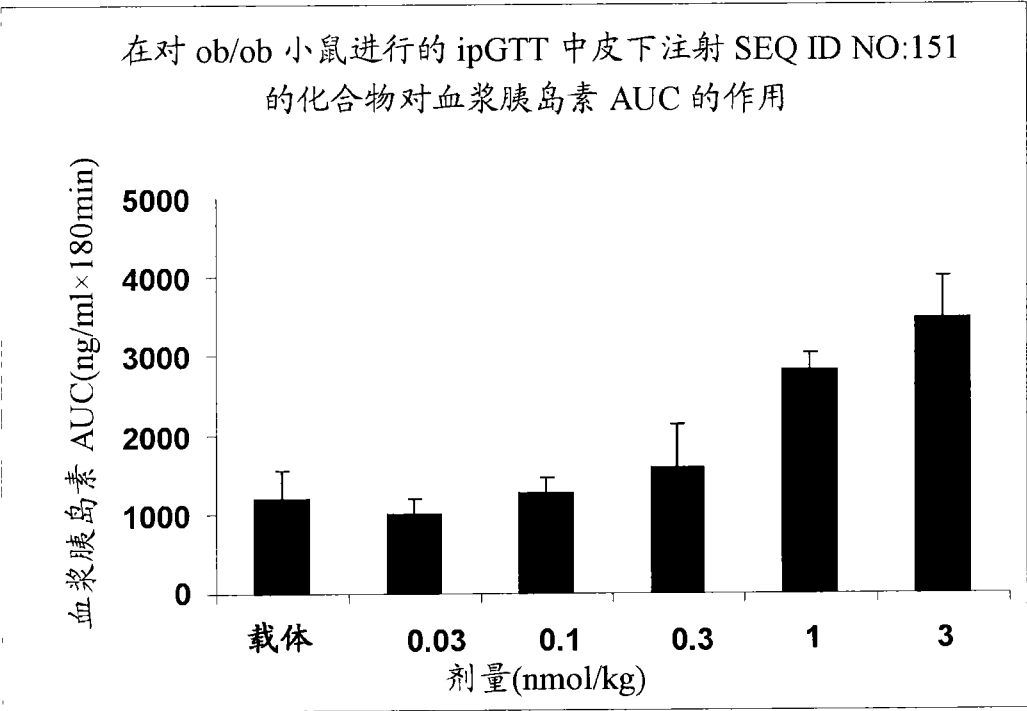


图 7

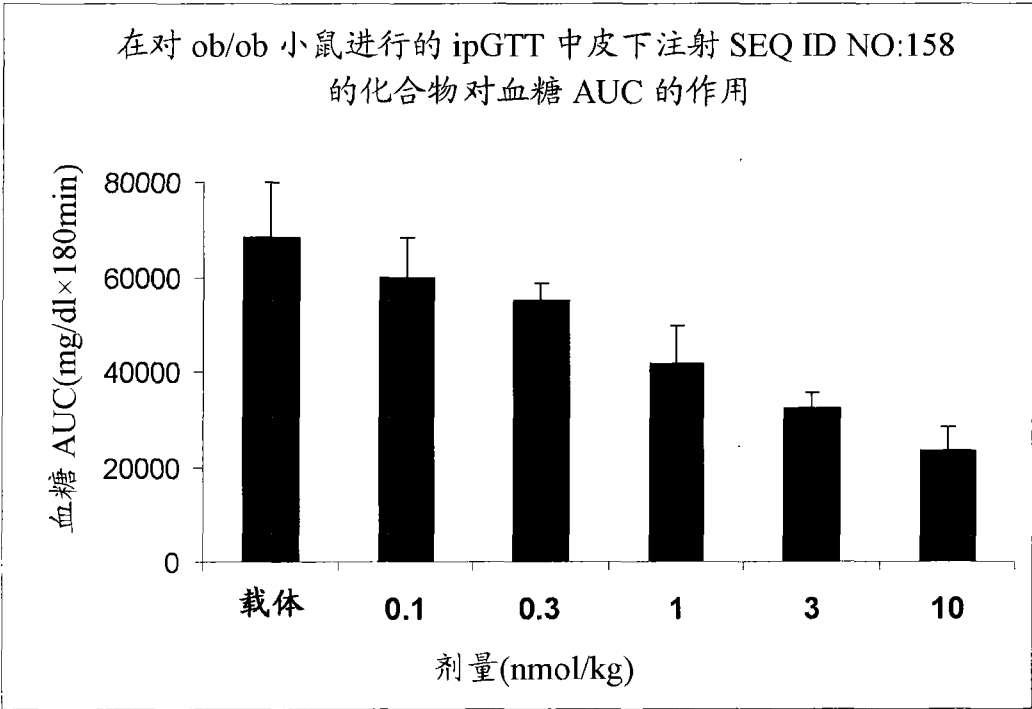


图 8

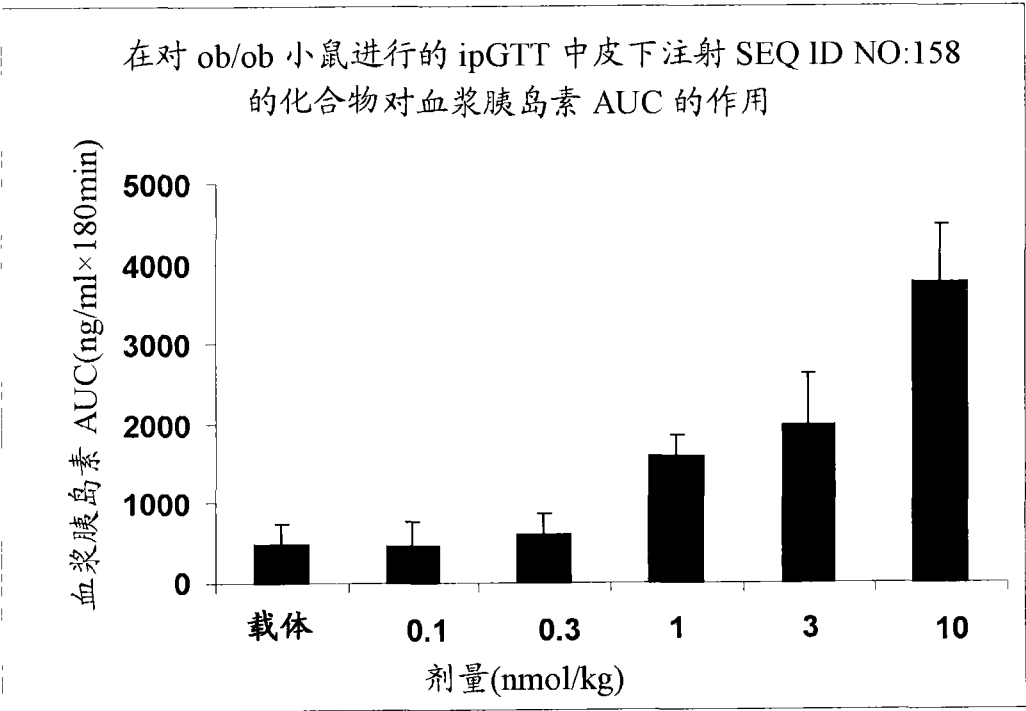


图 9